

الكشف عن اللفحة النارية (*Erwinia amylovora* (Burrill) على أشجار التفاحيات في محافظة السويداء، جنوب سورية

خلدون الجبر

كلية الزراعة الثانية، فرع السويداء، جامعة دمشق، سورية، البريد الإلكتروني: kaljebr@hotmail.com

المخلص

الجبر، خلدون. 2012. الكشف عن اللفحة النارية (*Erwinia amylovora* (Burrill) على أشجار التفاحيات في محافظة السويداء، جنوب سورية. مجلة وقاية النبات العربية، 30: 131-134.

تم التحري خلال موسمي 2006 و 2007 عن وجود مرض اللفحة النارية على أشجار التفاحيات في محافظة السويداء، جنوب سورية، حيث جمعت على مدار أربعة أشهر من كلا الموسمين - من شهر نيسان/أبريل وحتى شهر تموز/يوليو 450 عينة من 20 حقلاً، مثلت حقول مزارعين، ومجمعات وراثية، تضمنت هذه العينات 250 عينة تفاح، 120 عينة أجاص و 80 عينة سفرجل. تم اختيار العينات من الأشجار التي أظهرت بعض الأعراض المشابهة لأعراض اللفحة النارية، مثل لفحة الأزهار ولفحة الطرود وتقرحات الأفرع والساق. تم الكشف عن وجود بكتيريا *Erwinia amylovora* بواسطة اختبار القدرة الإراضية، كما تم اختبار العينات نفسها بالطريقة المصلية باستخدام طريقة الاحتواء المزدوج بالأجسام المضادة (DAS-ELISA). تم رصد أعراض نموذجية لمرض اللفحة البكتيرية، وتركزت هذه الأعراض على طرود السفرجل والتفاح، حيث أخذت الطرود المصابة مظهر عصا الراعي (Shepherd's crook)، كما ترافقت مع وجود إفرازات بكتيرية كريمية اللون على الجزء المصاب. أظهرت اختبارات القدرة الإراضية إصابة 63 عينة مثلت 14% من العينات المدروسة ببكتيريا *E. amylovora*، وتم تأكيد هذه النتائج بواسطة الاختبارات المصلية باستخدام اختبار DAS-ELISA، حيث تكشفت الإصابة في العينات المصابة نفسها، وتوزعت الإصابات على أشجار السفرجل 54 عينة، والتفاح 9 عينات، ولم يتم الكشف عن إصابات على أشجار الأجاص. تعطي هذه النتائج مؤشرات مهمة من أجل اتخاذ كافة الاحتياطات اللازمة لمنع انتشار هذه المسببات بشكل وبائي، وضرورة تطبيق تدابير صحة نباتية صارمة في مزارع السفرجل التي تكشفت فيها هذه الإصابات. كلمات مفتاحية: تفاح، أجاص، سفرجل، إيلزا، القدرة الإراضية، بكتيريا اللفحة النارية، *E. amylovora*.

المقدمة

مائي، ثم تذبل وتتحول للون البني، ثم تأخذ اللون المسود، وتبقى محنطة على الشجرة، كما تبدي الطرود الفتية مظهراً مميزاً كعصا الراعي (Shepherd's crook)، وتظهر اللفحة على الساق أو الأصل على شكل تقرحات، وقد تتطور تشققات في المنطقة الفاصلة بين المنطقة المصابة والسليمة، كما تتلون الأنسجة المصابة تحت القلف باللون البني المحمر، وتفرز كافة أجزاء النبات المصابة باللفحة النارية في ظروف الحرارة المناسبة والجو الرطب إفرازات بكتيرية كريمية (Ooze)، تتحول مع مرور الزمن إلى لون مسود (19، 21).

تعدُّ بكتيريا اللفحة النارية من أهم الآفات الحجرية في منطقة أوروبا وحوض المتوسط، حيث تصنف في قائمة A2 الصادرة عن EPPO (15).

يتم كشف بكتيريا اللفحة النارية باستخدام الأوساط المغذية القياسية شبه الانتخائية (4، 9)، كما يتم الكشف عنها باستخدام بعض الطرائق المصلية، مثل: اختبار التراص (Agglutination test)، واختبار الانتشار المزدوج (Double-diffusion test)، واختبار إيلزا (ELISA)، واختبار الوميض المناعي (Immunofluorescence)، واختبار الانتشار المناعي (Immunodiffusion) (7، 11، 14، 17)، وتستخدم اختبارات القدرة الإراضية للكشف عن بكتيريا اللفحة

تعدُّ التفاحيات من الأشجار المثمرة المهمة التي تزرع في سورية، وبلغت المساحة المزروعة بالتفاحيات عام 2008 حوالي 51.990 هكتاراً، قدر إنتاجها بحوالي 389.575 طناً، وبلغت مساحة التفاحيات في محافظة السويداء في العام نفسه 12.715 هكتاراً، قدر إنتاجها بحوالي 57.830 طناً (1). ويعتبر مرض اللفحة النارية الناتج عن بكتيريا سالبة الغرام (*Erwinia amylovora* (Burrill) من أهم الأمراض البكتيرية التي تصيب عديداً من الأنواع ضمن الفصيلة الوردية *Rosaceae*، وبعدُّ التفاح (*Malus domestica* Borkh.) والأجاص (*Pyrus communis* Linnaeus) والسفرجل (*Cydonia oblonga* Mill.) من أهم المحاصيل البستانية التي تتعرض للإصابة بهذا المرض (3، 21). تنتشر *E. amylovora* بشكل واسع، فهي مسجلة في 46 بلداً (20)، اكتشفت في مصر عام 1964 (5)، وفي تركيا عام 1985 (13)، وفي لبنان عام 1999 (18) وفي سورية عام 2008 (2).

تصيب بكتيريا *E. amylovora* الأزهار والأوراق والطرود والثمار غير الناضجة، حيث تظهر الأعراض على شكل أنسجة ذات مظهر

ساعتين بواسطة جهاز Multiskan EX المصنع في شركة Thermo Labsystems الفنلندية، عند طول موجة 405 نانومتراً، وكُرر كل اختبار مرتين، وعدت العينة مصابة ببكتيريا *E. amylovora* إذا زاد متوسط قيم قراءتها عن ضعفي متوسط قيم قراءات الشاهد السليم (6).

النتائج والمناقشة

تم رصد أعراض نموذجية لمرض اللفحة البكتيرية، وتركزت هذه الأعراض على طرود السفرجل والتفاح، حيث أخذت الطرود المصابة مظهر عصا الراعي، كما ترافقت مع وجود إفرازات بكتيرية كريمية اللون على الجزء المصاب (الشكلين 1 و 2). لوحظ انتشار هذه الأعراض على أشجار السفرجل بشكل كبير جداً مقارنة بأشجار التفاح على الرغم من تجاور الأشجار في بعض البساتين، حيث زرعت صفوف من أشجار التفاح والسفرجل بشكل متناوب أحياناً، أو تجاورت بساتين السفرجل والتفاح. وقد لوحظ عدم انتشار هذا المرض على الأزهار رغم حساسيتها الكبيرة اتجاه هذه البكتيريا، ورصدت الأعراض على الطرود الغضة فقط، وقد يعود ذلك لسيادة ظروف باردة في بداية الموسم أثناء فترة الإزهار، في حين ارتفعت درجات الحرارة في أواخر الربيع وبداية الصيف، حيث تراوحت ما بين 15 و 30 °س، وترافقت مع ظروف من الرطوبة النسبية العالية (70-80%) على مدار عدة أيام، مما ساهم في انتشار الإصابة على الطرود الغضة.

أظهرت اختبارات القدرة الإراضية إصابة 63 عينة تمثلت 14% من العينات المدروسة ببكتيريا *E. amylovora*، حيث لوحظ تلون المنطقة المحيطة بحجر البذور بلون داكن بعد ثلاثة أيام من إجراء العدوى، وتشكلت الإفرازات البكتيرية الكريمية بعد 7-15 يوماً من إجراء العدوى (شكل 3).



شكل 1. أعراض اللفحة النارية على طرد سفرجل، وتظهر الإفرازات البكتيرية كريمية اللون في المنطقة المصابة.

Figure 1. Fire blight symptoms on a quince shoot, showing Ooze in the affected areas.

النارية، باستخدام أجزاء نباتية حساسة للمرض (10، 16)، ويمكن الكشف عنها باستخدام اختبار فرط الحساسية على نبات التبغ (10)، وتعتبر الطرائق الجزيئية أكثر الطرائق حساسية (8)، ويعد اختبار pEA29-PCR أكثر هذه الاختبارات شيوعاً (12).

رصدت أعراض مشابهة لأعراض اللفحة النارية على أشجار التفاحيات في بساتين محافظة السويداء في جنوب سورية، وقد هدف البحث إلى الكشف عن وجود بكتيريا اللفحة النارية على هذه الأشجار، من أجل اتخاذ التدابير والاحتياطات اللازمة، علماً بأن مساحة التفاحيات المزروعة في محافظة السويداء تشكل 25% من مساحة التفاحيات المزروعة في سورية (1).

مواد البحث وطرقه

تم إجراء البحث خلال موسمي 2006 و 2007، حيث جمعت على مدار أربعة أشهر - من كل موسم - ما بين شهر نيسان/أبريل وحتى شهر تموز/يوليو 450 عينة من 20 حقلاً، مثلت حقول مزارعين في محافظة السويداء، ومجمعات وراثية في مركز البحوث العلمية الزراعية في السويداء. تضمنت هذه العينات 250 عينة تفاح، 120 عينة أجاص، و 80 عينة سفرجل، وقد تم اختيار العينات من الأشجار التي أظهرت بعض الأعراض المشابهة لأعراض اللفحة النارية، مثل لفحة الأزهار ولفحة الطرود (مظهر عصا الراعي) وتقرحات الأفرع والساق، ولذلك لم يتناسب عدد هذه العينات مع مساحات الأنواع المزروعة في المنطقة.

تم إجراء اختبار القدرة الإراضية على شرائح من ثمار التفاح غير الناضجة سماكتها 0.5-1 سم بعد أن تم تطهير هذه الثمار بمادة هيبوكلوريت الصوديوم 0.5%، حيث أخذ جزء من النسيج المراد اختباره، ونقع لمدة ساعة في كمية مناسبة من الماء المعقم (5-10 غرام عينة/ 2 مل ماء معقم، بعدها طحنت العينة، وتم سحب حوالي 0.5 مل من المعلق الناتج، وحقنت في منطقة حجر البذور لشرائح ثمار التفاح غير الناضجة، واعتمدت ثلاث شرائح لكل عينة، وضعت هذه الشرائح ضمن كيس نايلون على طبق من ورق النشاف المعقم المبلل بالماء المعقم، وحضنت عند درجة حرارة الغرفة (حوالي 25°س)، وتم مراقبة هذه الشرائح لمدة 21 يوماً.

تم اختبار العينات نفسها بالطريقة المصلية باستخدام طريقة إليزا بالاحتواء المزدوج بالأجسام المضادة (DAS-ELISA)، واعتمدت لهذه الغاية الأمصال المنتجة من قبل شركة LOEWE، ألمانيا (Cat. No. 07069)، وطبق الاختبار وفق توصيات الشركة الصانعة، واستخدمت فيه أطباق إليزا من ماركة Nunc MaxiSorp™، تم قراءتها بعد



شكل 3. اختبار القدرة الإمبراضية على شريحة من ثمرة تفاح غير ناضجة، وتظهر الإفرازات البكتيرية كريمية اللون بعد أسبوع من العدوى.

Figure 3. Pathogenicity test on an unripe apple fruit slice, where Ooze appeared one week after artificial inoculation.

من الجدير ذكره أن المساحات المزروعة بأشجار السفرجل لا تشكل أكثر من 0.1% من مساحة التفاحيات المزروعة في محافظة السويداء، لكن هذه النتائج تعتبر مؤشراً مهماً من أجل اتخاذ كافة الاحتياطات اللازمة لمنع انتشار مسببات اللفحة النارية بشكل وبائي، وضرورة تطبيق تدابير صحة نباتية صارمة في مزارع السفرجل التي تكشفت فيها هذه الإصابات.



شكل 2. أعراض اللفحة النارية على طرد تفاح، يبدي مظهر عصا الراعي Shepherd's crook، وتظهر الإفرازات البكتيرية كريمية اللون.

Figure 2. Fire blight symptoms on an apple branch showing the typical shepherds crook appearance in addition to the Ooze.

تم تأكيد النتائج السابقة بوساطة الاختبارات المصلية باستخدام اختبار DAS-ELISA، حيث تكشفت الإصابة في العينات المصابة نفسها، وتوزعت الإصابات على أشجار السفرجل (54 عينة)، والتفاح (9 عينات)، ولم يتم الكشف عن إصابات على أشجار الأجاص. وصلت نسبة انتشار اللفحة النارية على أشجار السفرجل إلى 67.5%، بينما كانت نسبة الإصابة على أشجار التفاح 3.6%، وقد يعزى هذا الانتشار الواسع على أشجار السفرجل لحساسيتها العالية للإصابة.

Abstract

Al-Jabor, K. 2012. Detection of Fire Blight *Erwinia amylovora* (Burrill) in Pome Fruit Trees in Sweida Governorate, Southern Syria. Arab Journal of Plant Protection, 30: 131-134.

A survey was conducted in 2006 and 2007 to detect fire blight causal organism (*Erwinia amylovora*) on pome trees in Al Sweida governorate, southern Syria. 450 samples (250 from apple, 120 from pear and 80 from quince) from 20 commercial orchards and genetic blocks were collected during four months, each season (from April to July). Samples were collected from trees showing symptoms suggestive of the occurrence of fire blight. DAS-ELISA and pathogenicity assays were conducted to identify *E. amylovora* infections in these samples. Typical symptoms of fire blight (shepherd's crook and bacterial ooze) were observed on some quince and apple samples. Pathogenicity assays showed that 63 samples (14%) were infected with *E. amylovora*, DAS-ELISA confirmed the presence of the fire blight bacterium in the same samples (54 quince samples and 9 apple and pear samples were *E. amylovora* free). These findings call for adopting strict phytosanitary measures to prevent epidemic spread of *E. amylovora*, and apply strict measures on quince infected orchards.

Keywords: Apple, Pear, Quince, ELISA, Pathogenicity, *Erwinia amylovora*

Corresponding author: Khaldoun Al-Jabor, Second Faculty of Agriculture, Sweida Branch, Damascus University, Syria, Email: kaljebr@hotmail.com

References

- في وزارة الزراعة والإصلاح الزراعي في الجمهورية العربية السورية: 83، 84، 91.
- Ammonuneh H., M.I.E. Arabi and A. Al-Daoude.** 2008. The first record and distribution of fire blight

المراجع

- المجموعة الإحصائية الزراعية السنوية.** 2008. مساحة وإنتاج وعدد أشجار التفاحيات حسب المحافظات لعام 2008 مع تطورها على مستوى القطر من 1999-2008، قسم الإحصاء، مديرية الإحصاء والتخطيط، إدارة الشؤون الاقتصادية الزراعية

12. **Merighi, M., A. Sandrini, S. Landini, S. Ghini, S. Girotti, S. Malaguti and C. Bazzi.** 2000. Chemiluminescent and colorimetric detection of *Erwinia amylovora* by immunoenzymatic determination of PCR amplicons from plasmid pEA29. *Plant Disease*, 84: 49-54.
13. **Momol, M.T. and W. Zeller.** 1992. Identification and spread of *Erwinia amylovora* on pear in Turkey. *Plant Disease*, 76: 1114-1116.
14. **Mráz, I., I. Pánková, K. Petrzik and M. Síp.** 1999. *Erwinia* and *Pseudomonas* bacteria can be reliably screened by an improved serological agglutination test. *Journal of Phytopathology*, 147: 429-431.
15. **OEPP/EPPO.** 1983. Data sheets on quarantine organisms No. 52. *Erwinia amylovora*. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, 13: 1.
16. **Ritchie, D.F. and E.J. Klos.** 1974. A laboratory method of testing pathogenicity of suspected *Erwinia amylovora* isolates. *Plant Disease Reporter*, 58: 181-183.
17. **Roberts, P.** 1980. Problems encountered during immunofluorescent diagnosis of fire blight. *Plant Pathology*, 29: 93-97.
18. **Saad A.T., L. Hanna, O.J. Asly and E. Choueiri.** 1999. The distribution and host range of the first serious outbreak of fire blight in Lebanon. *Acta Horticulturae*, 489:65-69.
19. **van der Zwet, T.** 1986. Identification, symptomatology, and epidemiology of fire blight on Le Conte pear in the Nile Delta of Egypt. *Plant Disease*, 70: 230-234
20. **van der Zwet, T.** 2002. Present world-wide distribution of fire blight. *Acta Horticulturae*, 590: 33-34.
21. **van der Zwet, T. and H.L. Keil.** 1979. Fire blight, a bacterial disease of Rosaceous plants. *Agriculture Handbook, Science and Education Administration USDA. Beltsville, USA:USDA, No. 510:200 pp.*
- pathogen, *Erwinia amylovora*, in Syria. *Australasian Plant Pathology*, 37:137-140.
3. **Bradbury, J.F.** 1986. *Guide to plant pathogenic bacteria.* CAB International, Wallingford, UK. 332 pp.
4. **Crosse, J.E. and R.N. Goodman.** 1973. A selective medium for and a definitive colony characteristic of *Erwinia amylovora*. *Phytopathology*, 63:1425-1426.
5. **El Helaly, A.F., M.K. Abo El Dahab and M.A. El Goorani.** 1964. The occurrence of the fire blight disease of pear in Egypt. *Phytopathologia Mediterranea*, 3: 156-163.
6. **Gorris, M.T., M. Cambra, P. Llop, M.M. Lopez, P. Lecomte, R. Chartier and J.P. Paulin.** 1996. A sensitive and specific detection of *Erwinia amylovora* based on the ELISA-DASI enrichment method with monoclonal antibodies. *Acta Horticulturae*, 411: 41-45.
7. **Gugerli, P. and S.C. Gouk.** 1994. Identification of *Erwinia amylovora* with monoclonal antibodies. In: *Plant Pathogenic Bacteria.* Paris, France: INRA, 325-330.
8. **Guilford, P.J., R.K. Taylor, R.G. Clark, C.N. Hale and R.L.S. Forster.** 1996. PCR-based techniques for the detection of *Erwinia amylovora*. *Acta Horticulturae*, 411: 53-56.
9. **Ishimaru, C. and E.J. Klos.** 1984. New medium for detecting *Erwinia amylovora* and its use in epidemiological studies. *Phytopathology*, 74: 1342-1345.
10. **Jones, A.L. and K. Geider.** 2001. Gram-negative bacteria *Erwinia amylovora* group. Pages 40-55. In: *Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria*, 3rd edition. N.W. Schaad, J.B. Jones and W. Chun. (eds.). St. Paul, Minnesota, USA: APS Press.
11. **Laroche, M., C. Givron and M. Verhoyen.** 1987. Use of the ELISA method to identify *Erwinia amylovora* by means of its metabolites. *Bulletin OEPP*, 17: 205-210.

Received: December 13, 2010; Accepted: March 24, 2011

تاريخ الاستلام: 2010/12/13؛ تاريخ الموافقة على النشر: 2011/3/24