

Научная статья

Original article

UOT 634.11:633.814:632.3

DOI 10.55186/25876740_2024_8_7_15

**ОБНАРУЖЕННАЯ В ЗАПАДНОЙ ЧАСТИ АЗЕРБАЙДЖАНА У
ГРУШИ (*PYRUS COMMUNIS*) И ВЫЗЫВАЮЩАЯ БАКТЕРИАЛЬНЫЙ
ОЖОГ *ERWINIA AMYLOVORA* (BURR.) WINSLOW ET AL.
ИССЛЕДОВАНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ ИХ ИЗОЛЯТОВ К МЕДНОМУ
КУПОРОСУ И СТРЕПТОМИЦИНУ
INVESTIGATION OF THE LEVEL OF RESISTANCE TO COPPER SULFATE
AND STREPTOMYCIN OF THE ISOLATES OF *Erwinia amylovora* WHICH
CAUSE FIRE BLIGHT DISEASE IN PEAR (*Pyrus communis*) IN THE
WESTERN REGION OF AZERBAIJAN**



Кулиева Зумруд Мехман, докторант Азербайджанский Государственный Аграрный Университет г. Гянджа пр.Ататюрка,450 zumrud248@gmail.com
ORCID:0009-0006-8773-6978

Guliyeva Zumrüd Mehman, doktoral student Azerbaijan State Agrarian University, Ganja. Atatürk Ave., 450, zumrud248@gmail.com, ORCID:0009-0006-8773-6978

Аннотация. Бактериальное ожоговое заболевание, вызываемое возбудителем *Erwinia amylovora*, является одним из самых серьезных бактериальных заболеваний плодовых деревьев. Болезнь наносит большой ущерб не

только урожаю этого года, но и самому растению. После благоприятных погодных условий урожай во время цветения сильно снижается, в некоторых случаях даже полностью заканчивается. Это снижение урожайности плодов существенно влияет на урожайность в следующем году. У чувствительных растений инфекция распространяется по дереву так быстро, что после заражения, спасти его становится невозможно даже с помощью эффективных и неотложных вмешательств.

Вскоре после появления первых признаков инфекции растение может полностью погибнуть. Лечение болезни - очень сложный процесс. Применение химических средств при борьбе с болезнью не имеет такой высокой эффективности. Кроме того, применение химикатов также приводит к нарушению экологического баланса, образованию изолятов, устойчивых к повреждениям и пестицидам в виде остатков в составе растений и окружающей среде. В связи с этим в последние годы биологические методы борьбы с болезнями стали более предпочтительными.

Исследование было проведено на груше обыкновенной (*Pyrus communis*) в западном регионе Азербайджана, которая вызывает бактериальный ожог *Erwinia amylovora* (Burr.) Winslow et al. целью которого было определение чувствительности их изолятов к медному купоросу и стрептомицину.

Abstract. Fire blight caused by the pathogen *Erwinia amylovora* is one of the most serious bacterial diseases of fruit trees. The disease causes great damage not only to the crop of that year, but also to the plant itself. After favorable weather conditions, the yield during flowering is greatly reduced, in some cases it even ends completely. This reduction in fruit yield significantly affects the next year's yield. In susceptible host plants, the infection spreads through the tree so rapidly that once the tree becomes infected with the disease, it cannot be saved even with effective and immediate interventions.

Shortly after the first sign of infection appears, the biki can die completely. Managing the disease is a very difficult process. The application of chemicals during the fight against the disease is not very effective. In addition, application of chemical

substances causes disturbance of the ecological balance, residual damage in the plant and environment, and formation of isolates resistant to pesticides. In this regard, in recent years, more priority has been given to biological control in the management of the disease.

The study of *Erwinia amylovora* (Burr.) Winslow et al., which was found in pear (*Pyrus communis*) plant in the western region of Azerbaijan and caused fire blight disease. aimed to determine the level of sensitivity of isolates to copper sulfate and streptomycin.

Ключевые слова: бактериальный ожог, *Erwinia amylovora*, медный купорос, стрептомицин, чувствительность

Key words: fire blight, *Erwinia amylovora*, copper sulfate, streptomycin, susceptibility

Введение. Бактериальный ожог - одно из самых разрушительных заболеваний плодовых культур, и почти во всем мире применяется карантин. Возбудитель болезни не только влияет на урожай этого года, но также может поражать стволы, основные ветви и побеги деревьев, высушивая дерево и влияя на будущий урожай [2].

Первичные признаки бактериального ожога, вызванного возбудителем *E. amylovora*, обычно появляются на цветах ранней весной в жаркую влажную погоду. Цветы сначала выглядят пышными, затем быстро увядают, цвет варьируется от коричневого до чёрного и могут упасть с дерева или свисать. На листьях вдоль основной жилки и по краям листьев наблюдаются коричневаточерные пятна [1]. В то время как у листьев груши наблюдается изменение цвета на темно-коричневый или коричневый, у яблок появляется коричневый цвет, а у айвы - красновато-коричневый. Наиболее характерным признаком сгоревших побегов является превращение кончиков побегов в пастушьё основание или крючковидную форму [3].

Плодовые инфекции обычно начинаются на стебле. Незрелые плоды сначала становятся водянистыми, затем коричневыми, увядают, мумифицируются и в конечном итоге становятся черными. Зараженные болезнью плоды остаются висеть на дереве в течение нескольких месяцев после заражения. Во влажных условиях на любой недавно инфицированной части могут появиться капли липких выделений молочного цвета. Эти капли называются экссудатом и обычно становятся коричневыми при контакте с воздухом. Капли могут сливаться вместе, образуя более крупные капли. В конце концов, бактерии могут распространиться на корень дерева и вызвать высыхание всего дерева. Это заболевание называют “бактериальным ожогом”, вследствие его сходства с внешним видом сгоревшего дерева. [3].

Во время борьбы с болезнью следует следить за тем, чтобы посадочный материал не распространился с зараженных территорий. Чтобы свести к минимуму источник заражения болезнью, необходимо проводить осмотры садов в определенные периоды и уничтожать эти растительные остатки или растения путем сжигания, в случае обнаружения первых признаков болезни.

При лечении болезни также применяется механический метод. Во время обрезки на места срезов веток следует нанести 10% гипохлорид натрия и закрыть место садовой мазью, чтобы предотвратить заражение растения другими патогенами. Инструменты, используемые при обрезке, необходимо продезинфицировать. В период вегетации дерева следует часто осматривать, обрезая зараженные ветки не менее чем на 30-40 см ниже места заражения. Работы по уходу за садом следует проводить регулярно, избегая чрезмерного внесения удобрений. Предпочтение следует отдавать системе капельного полива.

Химическая борьба считается во многих странах мира одним из самых эффективных методов борьбы с бактериальным ожоговым заболеванием, которое наносит серьезный ущерб урожайности и качеству производства фруктов. Поскольку соединения меди, применяемые в химической борьбе,

менее затратны, чем другие средства, их широко применяют в зимний и период цветения.

Тот факт что в последние годы болезнь нанесла экономический ущерб во многих странах, привел к проведению исследований более эффективных методов борьбы с ней.

Другой метод, используемый для борьбы с болезнью - это антибиотики, которые были открыты и начали использоваться в 1950-х годах [3].

Несмотря на то, что краткосрочном применении химические средства борьбы показывают эффективность против других болезней растений, их устойчивое использование против патогенов растений бактериальной природы может привести к появлению резистентности к этим химическим веществам [7].

Впервые он был обнаружен в США в 1971 году, и развил резистентность к стрептомицину, который использовался в борьбе с бактериальным ожогом растений, возбудителем которого является *E. amylovora* [6].

Одним из важнейших бактериальных заболеваний плодовых культур в мире, в том числе и в нашей стране, является болезнь “бактериальный ожог”, вызываемая бактерией *Erwinia amylovora*. Возбудитель обладает способностью заражать другие растения. Однако основной ущерб он наносит плодовым растениям [9].

Хотя наиболее эффективным методом борьбы с болезнью является химический метод, он также имеет некоторую степень недостатков. Длительное применение химических агентов, особенно медьсодержащих перепатов, создает устойчивость к патогенам.

Определение уровня резистентности возбудителя бактериальной ожоговой болезни *Erwinia amylovora* (*burr.*) *Winslow et al.*, обнаруженной в груше обыкновенной (*Pyrus communis*) в западном регионе Азербайджана, его изолятов к медному купоросу и стрептомицину имеет большое значение для выбора правильной стратегии борьбы с болезнью. Эта исследовательская

работа была направлена на определение устойчивости изолятов бактериального ожога, обнаруженных в фруктовых садах, выращиваемыми в западных регионах Азербайджана, к медьсодержащим перепаратам и стрептоцину.

В качестве объекта исследования из плодовых культур было выбрано груша обыкновенная (*Pyrus communis*).

Цель исследования. Исследование устойчивости к медному купоросу и стрептомицину бактериального ожога

Методы исследования. Маршрут обследования проводились в 8 сёлах 4 районов в различных яблоневых и грушевых садах. Интенсивность заражения деревьев было оценено по шкале от 1 до 10 [8]. Были рассчитаны частота распространения болезни в садах (P, prevalence), процент заражения (I, incidence) и тяжесть заболевания (S, severity) [4]. 27 различных образцов с основными признаками заболевания были доставлены в Лабораторию диагностики заболеваний АГАУ и хранились в холодильнике при +4°C до начала процессов изоляции.

Изоляция была проведена в чашках Петри в виде прямой изоляции, изоляции листьев и изоляции древесины.

В прямой изоляции из частей с симптомами заболевания брали небольшой кусочек и выдерживали 2 минуты в 1% растворе гипохлорида натрия и промывали стерильной водой. Затем помещали искусственную питательную среду в Петри, один раз капали на нее стерильную воду и оставляли на 15-30 минут.

При изоляции листьев поверхность листьев с признаками болезни промывали, а с части, как здоровой, так и с признаками болезни, срезали части с помощью стерильного режущего инструмента и выдерживали 2 минуты в растворе гипохлорида натрия. Затем срезанные части промывали стерильной водой и измельчали в стеклянной посуде с добавлением стерильной воды.

При изоляции основания и древесной части с признаками болезни срезали частички, подержали 2 минуты в растворе гипохлорида натрия и

промыли стерильной водой. Затем этот образец разрезали на кусочки длиной в несколько мм в стерильной среде, и эти маленькие кусочки замачивали в 5 мл стерильной воды в течение 30 минут. [3].

Эти суспензии для диагностики *E.amylovora* были получены методом линейного посева путем взятия через с помощью стерильного инструмента в искусственных питательных средах SNA, MS, King B и в колониях, полученных в результате инкубации в течение 48-72 часов при температуре 25-27°C.

Основным объектом исследования был - бактериальный ожог (*Erwinia amylovora*), который является одним из основных бактериальных заболеваний таких плодовых растений как яблоко (*Malus P.Mill*), относящийся к семейству Розовые (*Rosaceae*), подсемейству яблоневые (*Maloideae*) и отдельным родам, груша (*Pyrus L.*), и айва (*Cydonia oblonga*). А как сорт яблони были выбраны Голдэн Дэлишес (Golden Delicious), Гала (Gala) и в апреле, мае, июне, июле с деревьев были собраны больные экземпляры (побеги, листья, ветки) с признаками бактериального ожога. Наблюдения в садах проводились по модели, использованной Лазаровым [10], и минимальное количество деревьев, подлежащих обследованию в садах, определялось общим количеством деревьев.

Обсуждение и анализ исследования. В ходе исследования в селе Гапанлы Шамкирского района были собраны больные экземпляры деревьев с признаками бактериального ожога. Из собранных образцов были получены чистые изоляты, и для уточнения диагноза были применены некоторые биохимические тесты. Точный диагноз был поставлен путем проведения ПЦР-теста изолятов с положительным результатом.

Таблица 1.

**Результаты анализов, используемых при определении полученных
ИЗОЛЯТОВ**

Изолят	Флуоресцентная реакция	КОН	Чувствительность	Гидролиз крахмала	Патогенность	Окрашивание по грамму	Окислительный- ферментативный	Тест на плавление	36°	Тест на сырые яички	Тест на пектолитичес- кую актив- ность карбоф Эскулин	Дегидролиз аргинина	
X1a	-	+	+	+	+	-	+	-	-	+	-	+	-
X1b	-	+	+	+	+	-	+	-	-	+	-	+	-
X2a	-	+	+	+	+	-	+	-	-	+	-	+	-
X2b	-	+	+	+	+	-	+	-	-	+	-	+	-
X3	-	+	+	+	+	-	+	-	-	+	-	+	-
X5	-	+	+	+	+	-	+	-	-	+	-	-	-
X6a	-	+	+	+	+	-	+	-	-	+	-	+	-
X6b	-	+	+	+	+	-	+	-	-	+	-	+	-
X6c	-	+	+	+	+	-	+	-	-	+	-	+	-
X7a	-	+	+	-	+	-	+	-	-	+	-	-	-
X7b	-	+	+	-	+	-	+	-	-	+	-	+	-
X8	-	+	+	+	+	-	+	-	-	+	-	+	-
X9	-	+	+	+	+	-	+	-	-	+	-	+	-
X11	-	+	+	+	+	-	+	-	-	+	-	+	-

На следующем этапе исследования изучалась устойчивость к сульфату меди и стрептомицину в полученных изолятах. С этой целью стрептомицин в дозах 0,1, 0,3, 1, 3, 10, 30, 100 мкг/мл и медного купороса в дозах 1, 3, 10, 30, 50, 100, 150, 200, 300, 400, 500 использовались дозы мкг/мл. Для изготовления суспензий использовались высокочувствительные весы.

Для доз стрептомицина 0,1, 0,3, 1 и 3 мкг/мл; 0,01 г стрептомицина взвешивали на высокоточных весах и добавляли в 10 мл стерильной дистиллированной воды, смешивали в вихревом смесителе до полного растворения, а для доз 1000 мкг/мл, 10, 30 и 100 мкг/мл взвешивали 0,1 г стрептомицина и

добавляли в 10 мл стерильной дистиллированной воды, смешивали в вихревом смесителе для получения суспензии 10000 $\mu\text{г}/\text{мл}$.

Для доз стрептомицина 0,1, 0,3, 1 и 3 $\mu\text{г}/\text{мл}$; с помощью микропипетки из суспензии 1000 $\mu\text{г}/\text{мл}$ брали 0,1, 0,3, 1,3 мл соответственно и доводили объем до 1000 мл.

Для доз стрептомицина 10, 30 и 100 $\mu\text{г}/\text{мл}$ из резервной суспензии 10000 $\mu\text{г}/\text{мл}$ с микропипеткой брали 1, 3, 10 мл соответственно, а общий объем готовили 1000 мл и добавляли в охлажденную до температуры 48°C пищевую среду SNA, смешивали в вихревом смесителе и разливали в Петри для хранения. В среду добавляли стерильный SNA (питательный агар сахарозы), охлажденный до 100°C, встряхивали в лабораторном встряхивателе и разливали среду в чашки Петри.

Для 1 и 3 $\mu\text{г}/\text{мл}$ дозы медного купороса; взвешивали 0,01 г медного купороса и добавляли в 10 мл стерильной воды и смешивали лабораторным смесителем и получили 1000 $\mu\text{г}/\text{мл}$, для доз 10, 30 и 50 $\mu\text{г}/\text{мл}$; после взвешивания 0,1 г медного купороса добавляли в 10 мл стерильной воды и смешивали лабораторным смесителем и получали 10000 $\mu\text{г}/\text{мл}$, для доз 1, 100, 200, 300, 400 и 500 $\mu\text{г}/\text{мл}$; взвешивали 1 г медного купороса и добавляли в 10 мл стерильной воды, смешивали лабораторным смесителем и получали 100000 $\mu\text{г}/\text{мл}$. Для доз медного купороса 1 и 3 $\mu\text{г}/\text{мл}$; из суспензии 1000 $\mu\text{г}/\text{мл}$ брали микропипеткой по 1 и 3 мл соответственно. Для доз 10, 30 и 50 $\mu\text{г}/\text{мл}$ из резервной суспензии 100000 $\mu\text{г}/\text{мл}$ брали 1, 2, 3, 4, 5 мл соответственно и добавляли в искусственную питательную среду SNA таким образом, чтобы общий объем составлял 1000 мл, и потом питательную среду разливали в чашки Петри.

Бактерии культивируемые в искусственной питательной среде SNA в течение 1 дня добавляли в пробирки, содержащие 9 мл физиологического раствора (смесь 0,85% NaCl и стерильной дистиллированной воды), и настраивали густоту суспензии на спектрофотометре так, чтобы она составляла 0,1 (108 ч/мл) при 660 нм. Затем эти пробирки были разбавлены до 10⁻⁵. Из

полученного раствора брали 0,1 мл и высевали в Петри, содержащие медный купорос и стрептомицин, по 4 повтора на каждую дозу. Чашки Петри инкубировали при температуре 27 °С в течение 48 часов и в конечном итоге были подсчитаны образовавшиеся колонии. В качестве контроля не было добавлено никаких химических веществ.

Заключение. Основная цель проведенного исследования-определить чувствительность к химическим веществам, используемым для лечения бактериального ожога, заболевания бактериального происхождения, которое заражает плодовые растения.

В борьбе с фитопатогенным организмом в первую очередь следует начать эпидемиологические исследования. Исследования должны применяться в основном в регионах Азербайджана, где много плодовых садов. В результате проведенных исследований была определена чувствительность изолятов при использовании медьсодержащих соединений и стрептоцина, которые чаще используются для борьбы с возбудителем *E.amylovora*, распространенная в западном регионе страны и вызывающая большие потери урожая в плодовых садах, являющийся объектом иностранного карантина для страны.

Результаты, полученные в ходе исследования, были получены в основном в грушевых и яблоневых садах в западных регионах Азербайджана и это первое исследование, которое определяет чувствительность обнаруженных в стране изолятов бактериального ожогового заболевания, вызванного возбудителем *E.amylovora*, к химическим веществам.

Выявление в данном исследовании чувствительности изолятов возбудителя бактериального ожога, являющегося одним из наиболее значимых возбудителей бактериальных заболеваний растений, вызывающих большие потери урожая у плодовых культур, имеющих экономическое значение, к химическим веществам, используемым при химической борьбе с болезнью, обнаруженным в западном регионе Азербайджана, является очень важным вопросом с точки зрения правильного определения доз химических веществ,

используемых при борьбе с болезнью. Однако во время борьбы с болезнью наряду с химической борьбой следует применять и другие средства борьбы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Agrios GN (2005) Plant Pathology. 5th Edition, Academic Press, 922 pp.
2. Anonim 2008. Zirai Mücadele Teknik Talimatı, Cilt:4, syf:71
3. Baştaş, K. K. ve Saygılı, H., 2008. Ateş Yanıklığı Hastalığı, Fire Blight, *Erwinia amylovora*. Bitki Bakteri Hastalıkları Kitabı S: 61-68 (Editörler: Saygılı H., Şahin F. and Aysan Y.)
4. Bora T, Karaca İ (1970). Kültür bitkilerinde hastalığın ve zararın ölçülmesi. Ziraat Fakültesi Yardımcı Ders Kitabı. Yayın No: 167, pp.43. Ege Üniversitesi, İzmir
5. EPPO (2013) PM 7/20 (2) *Erwinia amylovora*. EPPO Bulletin 43(1): 21-45.
6. Schroth, M. N., Thomson, S. V., and Moller, W. J., 1978. Streptomycin resistance in *Erwinia amylovora*. *Phytopathology* 69: 565-568.
7. Sobieczewski, P., Chiou, C. S and Jones, A. L., 1991. Streptomycin-resistant epiphytic bacteria with homologous DNA for streptomycin resistance in Michigan Apple orchards. *Plant Dis.*, 75,1110-1113
8. Soylu EM, Soylu S, Kara M, Kurt Ş (2020) Sebzelelerde sorun olan önemli bitki fungal hastalık etmenlerine karşı vermikomposttan izole edilen mikrobiyomların in vitro antagonistik etkilerinin belirlenmesi. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üni. Tarım ve Doğa Derg.* 23: 7-18
9. Vanneste LJ (2000). Fire Blight, The Disease and Its Causative Agent, *Erwinia Amylovora*, CABI publishing, New Zealand.
10. Zwet T, Keil HL (1979). Fire Blight A Bacterial Disease Of Rosaceous Plants. United Department of Agricultural handbook: 510 Washington, USA.

© Кулиева З.М., 2024, *International agricultural journal*, 2024, №1, 185-195

Для цитирования: Кулиева З.М. Обнаруженная в западной части Азербайджана у груши (*pyrus communis*) и вызывающая бактериальный ожог *erwinia amylovora* (burr.) winslow et al. исследование устойчивости их изолятов к медному купоросу и стрептомицину/ *International agricultural journal*, 2024, №1, 185-195