

UDC 634.11:633.814:632.3  
AGRIS H20

https://doi.org/10.33619/2414-2948/99/13

## МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ БАКТЕРИАЛЬНОГО ОЖОГА НА РАСТЕНИЯХ СЕМЕЧКОВЫХ КУЛЬТУР В ЗАПАДНОЙ ЧАСТИ АЗЕРБАЙДЖАНА

©Гулиева З. М., ORCID: 0009-0006-8773-6978, Азербайджанский государственный аграрный университет, г. Гянджа, Азербайджан, zumrud248@gmail.com

## METHODS FOR THE DETERMINATION OF FIRE BLIGHT ON POME FRUIT CROP PLANTS IN THE WESTERN PART OF AZERBAIJAN

©Guliyeva Z., ORCID: 0009-0006-8773-6978, Azerbaijan State Agrarian University, Ganja, Azerbaijan, zumrud248@gmail.com

*Аннотация.* Бактериальный ожог, вызываемый *Erwinia amylovora* (Burrill, 1882) Winslow et al., 1920, приводит к значительным потерям производства в странах, которые являются первыми в мире по производству семечковых культур. Основной путь заражения многих плодовых культур, в том числе яблонь и груш проходит через вновь распустившиеся цветки. Бактерия зимует в ткани коры по краю язв, образовавшихся на ветвях и стеблях в результате заражения в предыдущем году и становится источником заражения в следующем. Определение распространенности болезни на территориях с большим количеством плодовых садов важно с точки зрения борьбы с болезнью. Поэтому целью работы является изучение распространенности заболевания в Гянджа-Дашкесанском и Газах-Товузском экономических районах, а также точная диагностика полученных изолятов *E. amylovora* классическими и молекулярными методами. Для этого деревья в исследуемых яблоневых и грушевых садах были обследованы на болезнь, из зараженных растений выделен возбудитель, проведены морфологический, биохимический, физиологический и молекулярный анализы. Среди 36 бактериальных изолятов, полученных из 27 образцов зараженных растений, в 11 в результате морфологических, биохимических, физиологических и молекулярных тестов была определена *Erwinia amylovora*.

*Abstract.* Fire blight caused by *Erwinia amylovora* (Burrill, 1882) Winslow et al., 1920 causes significant production losses in the world's leading pome fruit crop producing countries. The main route of infection of many fruit crops, including apple and pear trees, is through newly blooming flowers. The bacterium overwinters in the bark tissue along the edges of cankers formed on branches and stems as a result of infection in the previous year and becomes a source of infection in the next year. Determining the prevalence of the disease in areas with a large number of orchards is important from the point of view of disease control. Therefore, the purpose of the work is to study the prevalence of the disease in the Ganja-Dashkesan and Gazakh-Tovuz Economic Regions, as well as the accurate diagnosis of the obtained *E. amylovora* isolates using classical and molecular methods. For this purpose, trees in the studied apple and pear orchards were examined for the disease, the pathogen was isolated from infected plants, and morphological, biochemical, physiological and molecular analyzes were carried out. Among 36 bacterial isolates obtained from 27 samples of infected plants, *Erwinia amylovora* was identified in 11 as a result of morphological, biochemical, physiological and molecular tests.

**Ключевые слова:** плодородство, яблоня, груша, плодовые сады, эрвиния, бактериальный ожог, молекулярное определение.

**Keywords:** fruit growing, *Malus*, *Pyrus*, orchards, *Erwinia amylovora*, fire blight, molecular determination.

Большая часть общего объема сельскохозяйственной продукции нашей страны приходится на садоводство. Яблоки и груши имеют для Азербайджана большой потенциал с точки зрения производства и территории. В 2021 году на посевной площади в Гянджа-Дашкесанском и Газах-Товузском экономических районах было 2576,4 га яблок, 1409,5 га груш и 372,8 га айвы.

Существует множество фитопатогенных вирусов, грибов и бактериальных заболеваний, влияющих на продуктивность и качество семечковых растений. Среди этих заболеваний одним из наиболее вредоносных бактериальных заболеваний является бактериальная ожоговая болезнь. Согласно всемирному исследованию, бактериальный ожог вызывает *Erwinia amylovora* (Burrill, 1882) Winslow et al., 1920, входящая в десятку основных бактериальных заболеваний, влияющих на урожайность и качество сельскохозяйственных культур во всем мире [2, 3, 5, 12].

*E. amylovora* — граммотрицательный факультативно-анаэробный палочковидный и перитрихозный жгутиковый бактериальный фитопатоген, принадлежащий к семейству Enterobacteriaceae [14]. Клетки бактерий вирулентного или авирулентного типа имеют размеры 0,6–2,5×0,5–1,2 мкм. Точка термической гибели бактерий, растущих *in vitro* при температуре 21–28°C, составляет 45–50°C, а оптимальное развитие pH — 6,0–7,5°C. В литературе сообщается, что возбудитель вызывает заболевание у 129 видов растений, принадлежащих к 37 родам семейства Розоцветные. К наиболее важным плодовым деревьям, экономически повреждаемым *E. amylovora*, относятся груша, яблоня, айва [16].

#### Материал и методы исследования

Исследования проводились в селе Гапанлы Шамкирского района, Гейгельского, Самухского, Товузского районов. В мае-августе 2019 года были проведены маршрутные проверки в районах выращивания яблок и груш. Исследования проводились в 5 разных яблоневых и 6 разных грушевых садах в 8 различных селах 4 районов. Количество деревьев, подлежащих изучению при маршрутных обследованиях, рассчитывалось по общему количеству деревьев в каждом научном центре с учетом количества деревьев в регионах [10] и определялось для включения в исследование. Зараженность деревьев выражали по шкале тяжести заболевания от 1 до 10 [16].

В обследованных садах рассчитывали частоту распространения болезни (P — распространенность), процент зараженности (I — заболеваемость) и тяжесть заболевания (S — тяжесть) [4].

В лабораторию для выделения было доставлено 27 различных образцов с типичными симптомами заболевания, которые хранились в холодильнике при температуре +4°C до начала выделения процесса заболевания. Основным объектом исследования являются заболевания основных бактериальных болезней (*Erwinia amylovora*) яблони, груши и айвы. У сортов Голден Делишес, Гала больные образцы (побеги, листья, ветки) собирали с деревьев с признаками бактериального ожога в апреле, мае, июне, июле. Наблюдения в садах проводились по модели Лазарова [10], а минимальное количество деревьев, подлежащих обследованию в садах, определялось по общему количеству деревьев (Таблица 1).

Таблица 1

КОЛИЧЕСТВО ДЕРЕВЬЕВ, ПОДЛЕЖАЩИХ НАБЛЮДЕНИЮ

<i>Общее количество деревьев</i>	<i>Количество деревьев под наблюдением</i>
1–20	20
21–70	21–30
71–150	31–40
151–500	41–80
510–1000	15%
Более 1000	5%

Тяжесть заболевания у растений измеряли по шкале от 1 до 10, адаптированной Zwet и Keil [20] (Таблица 2).

Таблица 2

СТЕПЕНЬ РАЗВИТИЯ БОЛЕЗНИ У РАСТЕНИЙ

1 балл	Признаков болезни нет
2 балла	1–3% симптомов или наблюдение симптомов у детей 1 года
3 балла	4–6% симптомов или наблюдение симптомов у детей 1–2 лет
4 балла	Симптомы наблюдаются у 7–12% или у 1/8 детей в возрасте 1–3 лет
5 баллов	Симптомы наблюдаются у 13–25% или ¼ трехлетних детей
6 баллов	У 26–50% наблюдаются симптомы или симптомы у ½ из 3-летних детей
7 баллов	51–75% симптомов или симптомов наблюдаются в ¼ нижних частей дерева и старых ветвей
8 баллов	76–88% симптомов или симптомов наблюдаются на ½ нижних сторон и старых ветвях дерева
9 баллов	89–99% симптомов или симптомов на туловище
10 баллов	100% симптомы или гибель всего дерева

Тяжесть заболевания, заболеваемость и распространенность болезни в исследуемых садах рассчитывали по формулам Бора и Караджи [2].

После определения распространенности болезни на деревьях по шкале от 1 до 10 рассчитывали тяжесть болезни (S), процент заражения болезнью (I) и распространенность болезни (P) в саду по следующим формулам:

$$S = \frac{\sum (\text{кол. больн. деревьев} \times \text{шкала баллов})}{\text{максимальная тяжесть заболевания} \times \text{количество наблюдаемых деревьев}} \times 100$$

$$I = \frac{\sum (\text{кол. больных растений} \times S)}{\text{количество наблюдаемых деревьев} \times 100} \times 100$$

$$P = \frac{\sum (\text{количество садов с болезнями})}{\text{количество наблюдаемых садов}} \times 100$$

*Сбор образцов.* Симптоматические образцы следует собрать индивидуально или в клубок и как можно скорее доставить в лабораторию и либо начать анализ, либо сохранить при температуре 4–8°C. Образцы были собраны из цветков, клубнелуковиц, ветвей, стеблей и плодов с симптомами заболевания. Прежде всего, необходимо четко определить симптомы заболеваний. Хотя отобранные образцы имеют симптомы заболеваний, являющихся объектом исследования, более целесообразно, чтобы эти заболевания не находились на последних стадиях своего развития. При сборе проб следует соблюдать осторожность, чтобы не собрать сильно поврежденные части растений. Потому что в поврежденных частях с большей

вероятностью будут присутствовать сапрофитные организмы. По этой причине собранные образцы должны быть свежими и зелеными [6, 7].

При отборе проб из симптоматического зоба следует использовать некротические и здоровые части. При отборе проб цветов берут один или несколько цветков вместе со стеблем. При сборе проб следует отбирать листья, особенно с некротическими жилками (лист не должен быть полностью покрыт симптомом). При отборе пробы из стебля пробу берут из части, на которой проявляются симптомы, путем ее отрыва от слоя коры стебля с помощью стерильного ланцета.

*Изоляция.* После того, как собранные образцы были завернуты в бумагу, их доставили в растительную клинику отдела защиты растений АДАУ в полиэтиленовом пакете с холодной цепью. По мнению Х. М. Аксо, в эпифитный период патогенных бактерий необходимо собирать большое количество проб. Например, *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* при изолировании в пыльниках рекомендуется собирать образцы из 100 листьев, 200 побегов, 200 цветков или 100 плодов [6].

Для процесса выделения необходимы свежеприготовленные экстракты. После промывки образцов водопроводной водой для поверхностной дезинфекции образцов можно использовать 70%-ный спирт или 1%-ный раствор NaOCl (выдерживать 2–3 минуты). Образцы, промытые водопроводной водой, протирали и поверхность дезинфицировали 70% спиртом. Образцы промывали 3 раза (выдерживая каждый раз по 15–20 секунд) стерильной водой, а затем сушили сушильной бумагой. Образцы тканей, содержащие больные и здоровые части, помещали в стерильные полиэтиленовые пакеты для измельчения и гомогенизировали в физиологическом буфере (0,85% NaCl) или стерильной дистиллированной воде с добавлением пестика и выдерживали при комнатной температуре в течение 30 минут. Из полученных образцов через микропипетку отбирали 70 мкл, добавляли к искусственной питательной среде Nutrient Agar (NA) и культивировали с помощью багета. Посаженные чашки Петри выдерживали в инкубаторе при температуре 26°C в течение 24–48 часов. В течение инкубационного периода чашки Петри периодически проверяли для наблюдения за ростом бактерий. Колонии светло-молочного цвета отбирали из колоний, образовавшихся на питательной среде NA, линейно высаживали на искусственную питательную среду King B и выдерживали в инкубаторе при температуре 26°C в течение 24 часов 36 бактериальных колоний из 27 инфицированных образцов были очищены и сохранены в 30% глицерине при температуре 20°C для биохимических, физиологических, биохимических и молекулярных диагностических тестов [8].

*Питательные среды, используемые в анализах.* Их высевали в чашки Петри, содержащие искусственные питательные среды, содержащие агар Кинга Б и 5% сахарозный агар (СНА). После инкубации чашек Петри при 25°C в течение 48 часов отбирали и очищали нефлуоресцентные колонии бактерий левантного типа.

Патогенность очищенных изолятов проверяли на плодах груши, а также на сорванных побегах и соцветиях груши. Изоляты диагностировали по реакции Грама, росту колоний на средах King B и SNA, а также тесту на гиперчувствительность к табаку (Таблица 3).

Таблица 3

ПИТАТЕЛЬНЫЙ АГАР (NA)

Питательная среда	Химический состав	Количество
	Картофельный крахмал	10 г
	Питательный бульон	8 г
	Агар	15 г

Питательная среда	Химический состав	Количество
	Дистиллированная вода	1000 мл
Автоклавируют в течение 20 мин при температуре 121°C		
King B		
King B	1000 мл питательной среды King B	
	Химический состав	Количество
	Пептон	20 г
	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1,5 г
	MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	1,5 г
	Глицерин	10 мл
	Агар	16 г
Его автоклавируют в течение 20 минут при температуре 121°C		
SNA		
	Химический состав	Количество
SNA	Агар	13 г
	Сахароза	50 г
	Дистиллированная вода	1000 мл
Автоклавируют в течение 20 мин при температуре 121°C		

#### Обсуждение и анализ исследования

Для диагностики болезнетворных бактерий были проведены биохимические и физиологические анализы. Для диагностики использовали гидроксид калия (KOH), колонии левана типа на 5% сахарозном питательном агаре (СНА), оксидазную, аргининдегидролазную, окислительно-ферментационную, индолообразовательную и гидролизную реакции желатина. Применяли рост возбудителя при 36°C, образование помутнения в среде LB, содержащей 5% NaCl, и тесты на чувствительность (HR) в табаке [7, 15, 16].

Таблица 4

#### РАСТВОРЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ПРИ ОКРАСКЕ ПО ГРАМУ

Состав суспензии	Количество
А жидкость: Кристалл фиолетовый	2 г/л
Этиловый спирт (95%)	20 мл
В жидкость: (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> C <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	0,8 г/л
Дистиллированная вода	80 мл
Растворы А и Б готовят отдельно, смешивают и пропускают через фильтровальную бумагу	
Состав раствора Люголя	Количество
Йод (J)	1 г
Кристалл фиолетовый KJ	2 г/л
Дистиллированная вода	300 мл
Состав раствора сафранина	Количество
Сафранин	2,5 г/л
Этиловый спирт (95%)	100 мл
Дистиллированная вода	100 мл

Проводили тест на окрашивание по Граму, чтобы определить, являются ли полученные бактериальные изоляты грам (+) или грамотрицательными (Таблица 4).

*Тест KOH.* Этот тест проводился для всех изолятов, полученных в ходе анализа. После добавления в стакан капли свежеприготовленного 3%-ного раствора гидроксида калия его отбирали у очищенных бактерий в искусственную питательную среду с помощью посевной палочки, добавляли к раствору и волнообразно перемешивали в течение 15–20 секунд.

Нитевидное удлинение наблюдалось при поднятии инокулятивной палочки. Появление положительной реакции, то есть изолят по Граму (–), а отсутствие удлинения — отрицательная реакция, то есть изолят по Граму (+) [14].

Все изоляты показали положительную реакцию на тест КОН. Другими словами, в результате теста произошло нитевидное удлинение в результате разрушения клеточной стенки изолятов в КОН.

*Каталазный тест.* Этот тест проводился для всех полученных изолятов. В химический стакан добавляли 1 мл 3%-ного перекиси водорода (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), затем очищенные бактерии собирали инокулятивной палочкой и смешивали с раствором. Образование пузырьков воздуха в результате реакции показало, что изолят отреагировал положительно [12].

*Окислительно-ферментативный тест:* Для определения утилизации углеводов в аэробной и анаэробной среде проводили окислительно-ферментативный тест (Таблица 5).

Таблица 5

ОКИСЛИТЕЛЬНО-ФЕРМЕНТАТИВНЫЙ ТЕСТ

Пептон	1 г/л
NH <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1 г/л
KCl	0,2 г/л
MgSO <sub>4</sub> ×7H <sub>2</sub> O	0,2 г/л
Бромтимоловый синий	0,08 г/л
Дистиллированная вода	900 мл
Агар	3 г/л

После того, как вышеуказанные химические вещества были измерены с использованием электронных весов, за исключением агара, и растворены в колбе Эрленмейера, pH раствора довели до 7,0–7,1 с помощью 40% NaOH, и цвет среды становился оливково-зеленым. Среду гомогенизировали после добавления агара и автоклавирования при 121°C. Полученную смесь разделили на пробирки по 6–7 мл и стерилизовали в автоклаве при 121°C в течение 15 минут и оставляли замерзать в вертикальном положении. 10 г глюкозы растворяли в 100 мл дистиллированной воды и далее стерилизовали методом тиндализации. Его готовили в количестве 0,5 мл и добавляли к питательным средам, приготовленным в пробирках емкостью 6–7 мл в асептических условиях при температуре 45–50 °C.

Для каждого бактериального изолята использовали две пробирки с кислородом и одну без кислорода. В пробирки через палочку вносили инокулят из очищенных бактерий на специальных питательных средах. Затем в одну из этих пробирок наливали 3%-ный агар, прекращали его контакт с воздухом и создавали бескислородную среду. Пробирки маркировали и закрывали ватой, а изоляты инкубировали при 24–26°C в течение 7–14 дней. В конце инкубационного периода он меняет цвет с оливково-зеленого на желтый в результате продукции кислоты из глюкозы в экспонированных и экспонированных пробирках [1].

Изоляты меняли цвет среды с оливково-зеленого на желтоватый, в этом случае результат теста считался положительным. В результате этого теста было установлено, что все изоляты осуществляли факультативное анаэробное дыхание.

*Тест на растворение желатина.* Химические вещества, приведенные ниже, взвешивали в соответствии с заданными размерами и гомогенизировали при 121°C, добавляя 1 л дистиллированной воды. В пробирки через палочку вносили инокулят из очищенных бактерий на специальных питательных средах. Чтобы понять, расплавилась среда в пробирке

или нет, пробирки перед анализом выдерживали в холодильнике при +4°C в течение 30 минут, разжижение среды в пробирке оценивали как положительный случай, а затвердевание как отрицательный случай [10].

Все изоляты *E. amylovora*, инокулированные в подготовленные стеклянные пробирки, растворяли твердый желатин в жидкости.

**Флуоресцентная пигментация:** После линейного посева среды King Б от очищенных бактерий на специальные питательные среды через инокуляционную палочку ее инкубировали в течение 2 суток в инкубаторе при температуре 24–26°C. Чтобы обнаружить флуоресцентные свойства растущих культур, их исследовали под УФ (ультрафиолетовым) трансиллюминатором, и те, которые продуцировали сине-зеленый пигмент, оценивались как положительные, а другие — как отрицательные [9].

**Рост изолятов при 36°C.** Изоляты, выращенные на среде с питательным агаром (NA), инкубировали в инкубаторе при 36°C в течение 2-3 дней и оценивали как положительные или отрицательные, если на среде происходил рост бактерий. Все изоляты, высеванные в среду NA, инкубировали при 36°C в течение 2–3 дней, и в конце инкубации у всех изолятов не было обнаружено развития колоний.

**Тест на сырые груши:** незрелые груши сначала тщательно промывают в водопроводной воде, затем выдерживают в 10%-ном гипохлорите натрия в течение 2–4 минут, затем стерилизуют поверхность, пропуская через стерильную воду 3 раза. В стерильной камере из груш нарезают ломтики толщиной 7–8 мм, специальным инструментом вскрывают отверстия и помещают их в стерильные влажные чашки Петри. Бактериальные изоляты плотностью 108 клеток/мл заносят пипеткой в лунки на этих срезах и инкубировали при 27°C. Были отобраны изоляты, вызывающие размягчение тканей и бактериальный экссудат [19].

Все изоляты показали положительную реакцию на тест с сырой грушей. Иными словами, в лунках, засеянных бактериальной суспензией, наблюдались характерные выделения молочного цвета (бактериальный экссудат) *E. amylovora*.

**Проверка пектолитической активности на картофеле.** Клубни картофеля промывали щеткой в проточной воде, выдерживали в 1% растворе NaOCl в течение 2–4 минут для дезинфекции поверхности и трижды промывали стерильной водой. Клубни картофеля очищали стерильным скальпелем после прохождения через пламя. После этого процесса клубни картофеля нарезают ломтиками толщиной 7–8 мм и вскрывают лунки с помощью стерилизованного специального инструмента. Срезы помещают на стерильную влажную фильтровальную бумагу в стерильные чашки Петри. В лунки пипеткой добавляли по 25 мкл бактериальной суспензии, приготовленной из бактериальных изолятов, выращенных на питательной среде NA. Инкубировали в инкубаторе при температуре 25°C в течение двух дней. Размягчение в инокулированных лунках оценивалось как положительное [12].

**Тест на чувствительность (RH) табака.** Все изоляты выращивали в среде NA при 24–26°C в течение 24–48 часов и готовили суспензии с концентрацией 108 клеток/мл. Эти суспензии вводили между двумя эпидермисами между жилками на нижней поверхности листа табака (*Nicotiana tabacum* сорта Samsun H) с помощью стерильной иглы для подкожных инъекций. Инъекцированные растения инкубировали в течение 48–72 часов и наблюдали реакцию чувствительности.

Таблица 6

УСЛОВИЯ PCR-АНАЛИЗА НА *E. amylovora*

1 цикл		30 цикл		1 цикл	1 цикл
95°C 3 мин	94°C 30 сек	60°C 30 сек	72°C 1 мин	72°C 5 мин	15°C ∞

Таблица 7

ПРОТОКОЛ PCR НА *E. amylovora*

Химический состав	Начало	Конечная консистенция	Необходимое количество
PCR буферный раствор	10х	1х	2,5 мд
MgCl <sub>2</sub>	25 Мм	1,5 Мм	1,2 мкл
dNTPS	2,5 Мм	0,1 Мм	1 мкл
G <sub>1</sub> F	10 Мм	0,4 Мм	1 мкл
G <sub>2</sub> R	10 Мм	0,4 Мм	1 мкл
H <sub>2</sub> O	-	-	13,1 мкл
Taq-полимераза	5 U	1 U	0,2 мкл
Пример нуклеиновой кислоты	107 КОЕ/мл	-	5 μ
Общий объем	-	-	25 мкл

Заключение

В проведенных исследованиях в западной части Азербайджана определена современная ситуация с *E. amylovora*, которая является одним из возбудителей бактериального заболевания растений, вызывающего потери урожая плодовых растений. В собранных пробах проводили процесс выделения бактериального возбудителя, биохимический анализ и определение патогенности. По анализам получен положительный результат.

В результате проведенных исследований отражена современная ситуация с *E. amylovora*, являющейся возбудителем бактериального фитофтороза в грушевых садах западного региона страны.

Список литературы:

1. Ayers S. H., Rupp P. A study of the alkali-forming bacteria found in milk. US Department of Agriculture, 1919. №782.
2. Bastas K. K. First report of *Erwinia amylovora* on firethorn (*Pyracantha coccinea*) and Mountainash (*Sorbus* sp.) in Turkey // Plant disease. 2012. V. 96. №12. P. 1818-1818. <https://doi.org/10.1094/PDIS-01-12-0014-PDN>
3. Bastas K. K., Sahin F. First report of fire blight caused by *Erwinia amylovora* on meadowsweet (*Spiraea prunifolia*) in Turkey // Plant Disease. 2014. V. 98. №1. P. 153-153. <https://doi.org/10.1094/PDIS-03-13-0220-PDN>
4. Bora T., Karaca İ. Kültür bitkilerinde hastalığın ve zararın ölçülmesi // Ege Üniversitesi Yardımcı Ders Kitabı, Yayın. 1970. V. 167
5. Cabrefiga J., Montesinos E. Analysis of aggressiveness of *Erwinia amylovora* using disease-dose and time relationships // Phytopathology. 2005. V. 95. №12. P. 1430-1437. <https://doi.org/10.1094/PHTO-95-1430>
6. Aksoy H. M., Armağan Ö. Z. Bakteriyel patojenlere karşı bitkilerdeki dayanıklılık mekanizmaları // Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi. 2012. V. 27. №3. P. 165-173. <https://doi.org/10.7161/anajas.2012.273.165>
7. Schaad N. W., Jones J. B., Chun W. Laboratory guide for the identification of plant pathogenic bacteria. – American Phytopathological society (APS press), 2001. №. Ed. 3.
8. King E. O., Ward M. K., Raney D. E. Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescein // The Journal of laboratory and clinical medicine. 1954. V. 44. №2. P. 301-307. <https://doi.org/10.5555/uri:pii:002221435490222X>
9. Darrell J. H., Wahba A. H. Pyocine-typing of hospital strains of *Pseudomonas pyocyanea* // Journal of Clinical Pathology. 1964. V. 17. №3. P. 236. <https://doi.org/10.1136%2Fjcp.17.3.236>

10. Klement Z., Rudolph K., Sands D. C. *Methods in Phytobacteriology* // Akademia Kiado, Budapest, XIV+ 568s. 1990.
11. Lazarov A., Grigorov P. *Karantina na rastenijata Zemizdat* //Sofia, Bulgaria. 1961.
12. Lelliott R. A., Stead D. E. *Methods for the diagnosis of bacterial diseases of plants.* Blackwell Scientific Publications, 1987.
13. Mansfield J., Genin S., Magori S., Citovsky V., Sriariyanum M., Ronald P., Foster G. D. *Top 10 plant pathogenic bacteria in molecular plant pathology* // *Molecular plant pathology*. 2012. V. 13. №6. P. 614-629. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2012.00804.x>
14. Sands D. C. *Physiological criteria-determinative tests* // *Methods in phytobacteriology*. 1990. P. 133-143.
15. Schaad NW, Jones JB, Chun W (2001) *Laboratory Guide for the Identification of Plant Pathogenic Bacteria* (No. Ed. 3). American Phytopathological Society (APS Press)
16. Soylu E. M., Soylu S., Merve K. A., Şener K. U. *Sebzelelerde sorun olan önemli bitki fungal hastalık etmenlerine karşı vermikomposttan izole edilen mikrobiyomların in vitro antagonistik etkilerinin belirlenmesi* // *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*. 2020. V. 23. №1. P. 7-18. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdogavi.601936>
17. Taylor R. K., Guilford P. J., Clark R. G., Hale C. N., Forster R. L. S. *Detection of Erwinia amylovora in plant material using novel polymerase chain reaction (PCR) primers* // *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*. 2001. V. 29. №1. P. 35-43. <https://doi.org/10.1080/01140671.2001.9514158>
18. Van Der Zwet T., Keil H. L. *Fire blight: A bacterial disease of rosaceous plants.* US Department of Agriculture, 1979. №510.
19. Zwet T. *Identification, symptomatology, and epidemiology of fire blight on Le Conte pear in the Nile Delta of Egypt* // *Plant disease*. 1986. V. 70. №3. P. 230-234. <https://doi.org/10.1094/PD-70-230>
20. Van Der Zwet T., Keil H. L. *Fire blight: A bacterial disease of rosaceous plants.* US Department of Agriculture, 1979. №510.

#### References:

1. Ayers, S. H., & Rupp, P. (1919). *A study of the alkali-forming bacteria found in milk* (No. 782). US Department of Agriculture.
2. Bastas, K. K. (2012). First report of *Erwinia amylovora* on firethorn (*Pyracantha coccinea*) and Mountainash (*Sorbus* sp.) in Turkey. *Plant disease*, 96(12), 1818-1818. <https://doi.org/10.1094/PDIS-01-12-0014-PDN>
3. Bastas, K. K., & Sahin, F. (2014). First report of fire blight caused by *Erwinia amylovora* on meadowsweet (*Spirea prunifolia*) in Turkey. *Plant Disease*, 98(1), 153-153. <https://doi.org/10.1094/PDIS-03-13-0220-PDN>
4. Bora, T., & Karaca, İ. (1970). *Kültür bitkilerinde hastalığın ve zararın ölçülmesi.* *Ege Üniversitesi Yardımcı Ders Kitabı, Yayın, 167.*
5. Cabrefiga, J., & Montesinos, E. (2005). Analysis of aggressiveness of *Erwinia amylovora* using disease-dose and time relationships. *Phytopathology*, 95(12), 1430-1437. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-95-1430>
6. Aksoy, H. M., & Armağan, Ö. Z. (2012). Bakteriyel patojenlere karşı bitkilerdeki dayanıklılık mekanizmaları. *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi*, 27(3), 165-173. <https://doi.org/10.7161/anajas.2012.273.165>
7. Schaad, N. W., Jones, J. B., & Chun, W. (2001). *Laboratory guide for the identification of plant pathogenic bacteria* (No. Ed. 3). American Phytopathological society (APS press).

8. King, E. O., Ward, M. K., & Raney, D. E. (1954). Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescin. *The Journal of laboratory and clinical medicine*, 44(2), 301-307. <https://doi.org/10.5555/uri:pii:002221435490222X>
9. Darrell, J. H., & Wahba, A. H. (1964). Pyocine-typing of hospital strains of *Pseudomonas pyocyanea*. *Journal of Clinical Pathology*, 17(3), 236. <https://doi.org/10.1136%2Fjcp.17.3.236>
10. Klement, Z., Rudolph, K., & Sands, D. C. (1990). Methods in Phytobacteriology. *Akademia Kiado, Budapest, XIV+ 568s*.
11. Lazarov, A., & Grigorov, P. (1961). Karantina na rastenijata Zemizdat. *Sofia, Bulgaria*.
12. Lelliott, R. A., & Stead, D. E. (1987). *Methods for the diagnosis of bacterial diseases of plants*. Blackwell Scientific Publications.
13. Mansfield, J., Genin, S., Magori, S., Citovsky, V., Sriariyanum, M., Ronald, P., ... & Foster, G. D. (2012). Top 10 plant pathogenic bacteria in molecular plant pathology. *Molecular plant pathology*, 13(6), 614-629. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2012.00804.x>
14. Sands, D. C. (1990). Physiological criteria-determinative tests. *Methods in phytobacteriology*, 133-143.
15. Schaad NW, Jones JB, Chun W (2001) Laboratory Guide for the Identification of Plant Pathogenic Bacteria (No. Ed. 3). American Phytopathological Society (APS Press)
16. Soylu, E. M., Soylu, S., Merve, K. A. R. A., & Şener, K. U. (2020). Sebzelerde sorun olan önemli bitki fungal hastalık etmenlerine karşı verimkomposttan izole edilen mikrobiyomların in vitro antagonistik etkilerinin belirlenmesi. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 23(1), 7-18. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.601936>
17. Taylor, R. K., Guilford, P. J., Clark, R. G., Hale, C. N., & Forster, R. L. S. (2001). Detection of *Erwinia amylovora* in plant material using novel polymerase chain reaction (PCR) primers. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 29(1), 35-43. <https://doi.org/10.1080/01140671.2001.9514158>
18. Van Der Zwet, T., & Keil, H. L. (1979). *Fire blight: A bacterial disease of rosaceous plants* (No. 510). US Department of Agriculture.
19. Zwet, T. (1986). Identification, symptomatology, and epidemiology of fire blight on Le Conte pear in the Nile Delta of Egypt. *Plant disease*, 70(3), 230-234. <https://doi.org/10.1094/PD-70-230>
20. Van Der Zwet, T., & Keil, H. L. (1979). *Fire blight: A bacterial disease of rosaceous plants* (No. 510). US Department of Agriculture.

Работа поступила  
в редакцию 06.01.2024 г.

Принята к публикации  
12.01.2024 г.

Ссылка для цитирования:

Гулиева З. М. Методы определения бактериального ожога на растениях семечковых культур в западной части Азербайджана // Бюллетень науки и практики. 2024. Т. 10. №2. С. 105-114. <https://doi.org/10.33619/2414-2948/99/13>

Cite as (APA):

Guliyeva, Z. (2024). Methods for the Determination of Fire Blight on Pome Fruit Crop Plants in the Western Part of Azerbaijan. *Bulletin of Science and Practice*, 10(2), 105-114. (in Russian). <https://doi.org/10.33619/2414-2948/99/13>