پژوهش در علوم باغبانی
جلد ۱، شماره ۱، بهار و تابستان ۱۴۰۱ (ص ۱۲۲-۱۰۱)
Journal of Reserch in Horticultural Science
Vol. 1, No.1 spring and summer 2022 (101-122)
تارنمای مجله: https://rhsj.areeo.ac.ir

بیماری‌های ناشی از *Xylella fastidiosa* و روش‌های پیشگیری و ریشه‌کنی آن در مناطق آلوده

مریم غایب زمهریر*

دانشیار بیماری‌شناسی گیاهی بخش تحقیقات بیماری‌های گیاهان، موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

چکیده

در سال‌های اخیر، علائم بیماری‌های ناشی از *Xylella fastidiosa* در برخی از مناطق ایران در درختان میوه و غیر مثمر گزارش شده است. این باکتری یک گاما پروتئوباکتر گرم منفی چوب‌کبریتی شکل است که معمولاً علایم سوختگی برگ ایجاد می‌کند. این باکتری توسط شیره آوند چوب و حشرات متعلق به راسته Hemiptera و زیر راسته Auchenorrhyncha انتقال می‌یابد. باکتری با تغذیه ناقلین از شیره آوند چوبی گیاهان آلوده، وارد بدن آن‌ها شده و بلافاصله نیز قابلیت انتقال به گیاهان سالم را دارد. بیماری‌های ناشی از *X.fastidiosa* عمدتاً در مناطق گرمسیر و نیمه‌گرمسیر رخ می‌دهد و گزارش این پروکاریوت از چند محصول در ایران می‌تواند زنگ خطری برای گسترش آن در سایر محصولات اقتصادی و مهم از جمله زیتون و مرکبات باشد. روش‌های سرولوژیکی و مولکولی برای ردیابی پاتوژن، مناسب هستند. از طرف دیگر راه‌کارهای مؤثر برای مدیریت بیماری‌های ناشی از این باکتری در حال توسعه است. پیشگیری و کنترل اقدامات مناسبی هستند که برای به حداقل رساندن تأثیر شیوع *X.fastidiosa* و مهار شیوع بیماری باید انجام شود. در کنار هر استراتژی که برای مدیریت آلودگی‌های ناشی از *X.fastidiosa* به کار گرفته می‌شود، اجرای ' روش‌های مناسب مدیریت باغ' نباید نادیده گرفته شود. برنامه ویژه ردیابی پاتوژن باید در نهالستان‌ها اجرا شود. در این مقاله مروری به بررسی راهکارهای موجود برای مدیریت بیماری‌های ناشی از باکتری *X.fastidiosa* خواهیم پرداخت و راهبردهای خاص برای اجرای برنامه احتمالی، از جمله کنترل بیولوژیکی و شیمیایی، تغذیه، مدیریت و بهترین اقدامات باغی ارائه خواهد شد.

واژگان کلیدی: بادام، برگ سوختگی، ، چنار، مرکبات، *Xylella fastidiosa*..

Diseases Caused by *Xylella fastidiosa* and Methods of Prevention and Eradication in Infected Areas

Maryam Ghayeb Zamharir*

Associate Professor of plant pathology in Plant Diseases Department, Iranian Research Institute of Plant protection, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran

Abstract

In recent years, symptoms of *Xylella fastidiosa* have been reported on fruit trees and barren trees in some parts of Iran. This bacterium is a gram-negative gamma proteobacter of rod-shape prokaryotes, which mainly causes leaf burn symptoms. *X. fastidiosa* is transmitted exclusively by wood sap and insect belonging to the order Hemiptera and suborder Auchenorrhyncha. The vector acquires this bacterium by feeding on wood sap of an infected plant, and can inoculate it into healthy plants immediately after acquisition. Diseases caused by *X. fastidiosa* occur mainly in tropical and subtropical regions, and the report of this prokaryote from several crops in Iran can be a warning sign for its spread to other important economic products such as olives and citrus. Serological and molecular methods are suitable for pathogen detection. On the other hand, effective strategies for managing diseases caused by this bacterium are being developed. Prevention and control are appropriate measures that should be taken to reduce the impact of *X. fastidiosa* outbreak and control the outbreak. Along with any strategy used to manage *X. fastidiosa* infestations, the implementation of "appropriate garden management practices" should not be overlooked. A special monitoring program to search for pathogens should be carried out in each nursery in the designated areas. In this article, we will review existing strategies for managing diseases caused by the bacterium *X. fastidiosa*, and provide specific strategies for implementing a possible program, including biological and chemical control, nutrition, management, and best gardening practices.

Keywords: Almond، Citrus، Scorch، *Xylella fastidiosa*.

* نویسنده مسئول: zamharir2005@yahoo.com

۱- مقدمه

باکتری *Xylella fastidiosa* ، عامل گروهی از بیماری‌های ویران‌گر محصولات کشاورزی در تعدادی از کشورها است. در حقیقت، اعضای زیرگونه‌های *X. fastidiosa* و نژادهای آن‌ها، عامل بیماری‌زا در بیش از ۳۰۰ گونه گیاهی میزبان هستند (EFSA 2013;2016a,)، که در بین آن‌ها بیماری‌هایی با اهمیت اقتصادی از جمله بیماری پیرس انگور(PD)؛ کلروز ابلق مرکبات (CVC)؛ بیماری فونی هلو(PPD)؛ سوختگی برگ آلو(PLS)؛ سوختگی حاشیه‌ای برگ سنجد(OLS) ، بادام(ALS) ، قهوه(CLS) ، و تعدادی درختان جنگلی و سایه‌انداز وجود دارد. علاوه‌براین، *X. fastidiosa* باعث آلودگی علف‌های هرز نیز می‌شود. بسیاری از علف‌های هرز، گیاهان وحشی علفزارها و درختان غیرمثمر، ممکن است بدون بروز علائم، حامل این عامل بیماری‌زا باشند (Rapicavoli *et al.*, 2017). در سال‌های اخیر این باکتری از محصولات مختلف شامل بادام، انگور، پسته، چنار در ایران گزارش شده است (Amanifar *et al.*, 2014; 2016; 2019).

۲- خصوصیات ریخت‌شناسی و جایگاه طبقه‌بندی Xylella fastidiosa

باکتری *X. fastidiosa* یک گاما پروتئوباکتر گرم منفی چوب‌کبریتی شکل است که اندازه هر سلول باکتری ۳/۵ -۰/۹× ۰/۳۵-۰/۲۵ ماکرومتر است. این باکتری بدون تاژک بوده و دیواره سلولی مواج دارد (Wells *et al.*, 1987) (شکل ۱). جایگاه تاکسونومیکی آن به شرح زیر است:

Kingdom: Bacteria

Phylum: Proteobacteria

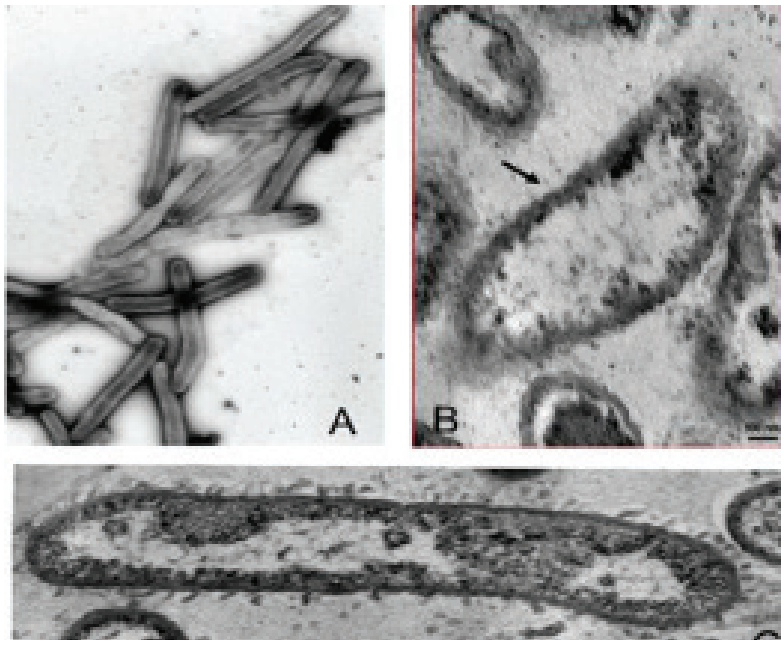
Class: Gammaproteobacteria

Order: Xanthomonadales

Family: Xanthomonadaceae

Genus: Xylella

Species: Xylella fastidiosa



شکل ۱- A: سلول‌های *X. fastidiosa* از کشت خالص سویه سالنتینین (CoDiRO)این باکتری

B وC : نماهای میکروسکوپ الکترونی از سلول‌های *X.fastidiosa*

از نظر تاکسونومیکی، *X. fastidiosa* یک جنس تک‌گونه‌ای است و شامل سویه‌هایی می‌شود که از نظر ژنتیکی، بیولوژیکی (دامنه میزبان) و از نظر جغرافیایی با یکدیگر تفاوت دارند و در زیرگونه‌های *X. fastidiosa spp. fastidiosa*، *X. fastidiosa spp. Multiplex*، *X. fastidiosa spp. Sandyi* و *X. fastidiosa spp. pauca* قرار دارند (جدول ۱). اخیراً زیرگونه پنجم *X. fastidiosa spp. morus* و گونه *X. taiwanensis* پیشنهاد شده است که ثبت آن‌ها به عنوان زیرگونه و گونه در حال بررسی است (Su *et al.,* 2016).

جدول ۱- زیرگونه‌های شناخته شده *X. fastidiosa* spp. ، مبدا و میزبان اصلی آن‌ها.

زیرگونه	مبدا جغرافیایی بالقوه	میزبانهای اصلی
X. fastidiosa fastidiosa	آمریکای مرکزی	بادام و انگور
X. fastidiosa multiplex	جنوب ایالات متحده آمریکا	درختان هسته دار و سایه اندازو زیتون درآمریکا
X. fastidiosa sandyi	نامشخص	سنجد و مگنولیا
X. fastidiosa pauca	آمریکای جنوبی	مرکبات، قهوه، زیتون (ایتالیا، اسپانیا، آرژانتین و برزیل)

در میزبان‌های آلوده *X. fastidiosa*به شکل‌های زیر وجود دارند:

الف) سلول‌های متحرک، یعنی سلول‌های باکتریایی از یک آوند به آوند دیگر در جهت‌های رو به بالا و رو به پایین حرکت می‌کند و تکثیر می‌شوند؛ ب) سلول‌های چسبنده‌ای که نوعی مخاط یا بیوفیلم ایجاد می‌کنند که مسئول انسداد آوندها و اختلال در جریان صعودی شیره خام است. شدت بیماری‌زایی پاتوژن تا حد زیادی بستگی به تعادل مناسب این دو شکل باکتریایی دارد که توسط یک مولکول سیگنال قابل انتشار (DSF مانند 2-Z-tetradecenoic acid و cis-11-methyl-2-dodecenoic acid) تنظیم می‌شود. به این ترتیب با افزایش چسبندگی سلولهای *X. fastidiosa*، توانایی حرکت باکتری در میزبان کاهش می‌یابد (Nascimento *et al.,* 2016).

۳- بیماری پیرس

در سال ۱۹۸۷ به‌عنوان *X. fastidiosa* باکتری در ایالات متحده (PD) عامل بیماری پیرس انگور و (Wells *et al.,* 1987) آمریکا شناخته شد در سال ۱۸۸۴ سبب تهدید صنعت انگورکاری کالیفرنیا را به دلیل وجود ناقل فعال یعنی زنجرک *Homalodisca vitripennis* (Purcell and Feil, 2001) شد(Pierce, 1892). این ناقل یک تهدید جدی برای انگورکاری کالیفرنیا محسوب می‌شود، زیرا حرکت آن سریع‌تر از زنجرک‌های درختی بومی منطقه بوده و در جمعیت‌های بالایی روی مرکبات و سایر درختان زینتی تکثیر می‌یابد. گسترش این بیماری در باغات انگور کالیفرنیا ارتباط مستقیم با افزایش جمعیت ناقل در تاکستان‌ها داشت و خطر ورود سویه زردی ابلق مرکبات (citrus variegated chlorosis) را به ایالات متحده آمریکا افزایش داد. مشخص‌ترین علائم اولیه بیماری پیرس در انگور، سوختگی حاشیه برگ است. به این ترتیب که حاشیه برگ به طور ناگهانی قهوه‌ای و خشک می‌شود، در حالی که بافت‌های مجاور زرد یا قرمز باقی می‌مانند (شکل ۲). کم کم این خشکیدگی در تمام سطح پهنک برگ گسترش می‌یابد، به طوری که پهنک برگ ممکن است پلاسیده شده، از دمبرگ جدا شود و فقط دمبرگ متصل به آن به شاخه آویزان

شکل ۲- بیماری پیرس انگور ناشی از *X. fastidiosa* subsp. Fastidiosa . A: سوختگی حاشیه برگ انگور B: ریزش برگ و C: جا ماندن دمبرگ برگ روی شاخه یا علامت چوب کبریتی (عکس ازنگارنده).

بماند (که به این حالت چوب کبریتی می‌گویند). تاک‌های آلوده به‌طور غیریکنواخت سبز هستند و شاخه‌های خشک و قهوه‌ای در بین بافت سبز نمایان می‌شوند. در سال‌های آتی، تاک‌های آلوده دیر سبز می‌شوند و تولید شاخه‌های کلروز کوتوله می‌کنند. بقای درخت پس از آلودگی به این باکتری بستگی به گونه و رقم انگور دارد. رقم‌های اروپایی انگور (*Vitis vinifera*) بسیار حساس‌تر از گونه‌های آمریکایی *Vitis* و *Muscadinia* به این بیماری هستند و ۲-۵ سال بعد از آلودگی می‌میرند. این بیماری در سال ۲۰۱۴ از ایران از روی انگور از طریق کشت و ردیابی سرولوژیکی گزارش شد (Amanifar *et al*., 2014).

٤- کلروز یا زردی ابلق مرکبات

زیرگونه pauca از *X. fastidiosa* دو بیماری کلروز ابلق مرکبات (CVC) در برزیل و سوختگی حاشیه برگ قهوه یا (CLS) Coffea arabica در آمریکای مرکزی ایجاد می‌کند. درختان مرکبات می‌توانند علائم کلروز ابلق مرکبات را در نهالستان نیز بروز دهند. درختان جوان‌تر به طور سیستمک تحت تأثیر باکتری قرار می‌گیرند و کل نهال علایم بیماری را نشان می‌دهد، درحالی که درختان مسن‌تر از ۱۵ سال ممکن است به‌طور کامل علایم را بروز ندهند و تنها در یک یا دو شاخه اصلی علائم بیماری را بروز دهند. درختان آلوده علایم زردی شبیه به کمبود روی با زردی بین رگبرگ‌ها را نشان می‌دهند (شکل ۳) (De Souza et al., 2014).

زردی در برگ‌های جوان ظاهر می‌شود و تا زمانی‌که آن‌ها بالغ شوند این زردی را همراه دارند. درختانی که تازه آلوده شده‌اند، علائم خفیفی از خود نشان می‌دهند، در حالی‌که درختانی که برای مدت طولانی‌تری تحت تأثیر پاتوژن قرار دارند، زردی وسیعی در قسمت سایه‌انداز خود بروز می‌دهند. به مرور زمان با بالغ شدن برگ‌ها، لکه‌های قهوه‌ای روشن تا قهوه‌ای تیره یا حتی نکروزه در زیر پهنک برگ مشاهده می‌شود در حالی‌که در روی پهنک تنها زردی مشاهده می‌شود. اندازه میوه بسیار کاهش می‌یابد و پوست آن به همین ترتیب تبدیل به بافت سختی می‌شود که می‌تواند به دستگاه‌های آبمیوه‌گیری آسیب برساند. مقدار قند میوه‌های آلوده بالاتر از میوه‌های سالم است. شکوفه و میوه به‌طور هم زمان روی درختان آلوده مشاهده می‌شود. در درختان آلوده، میوه‌ها کوچک هستند و زودتر می‌رسند. درختان آلوده کوتوله و با رشد و نمو کمتری نسبت به

شکل ۳- زردی ابلق مرکبات ناشی از *X. fastidiosa* spp. Puaca. A**: کوتولگی درخت در مقایسه با درختان سالم،** B**: زردی ابلق برگ و** C**: کوچک شدن میوه در مقایسه با میوه درختان سالم (عکس از** H. Della Coletta Filho**).**

شکل ٤- علایم سوختگی (زوال) درخت زیتون جوان آلوده به Xylella **به دلیل خشک شدن وسیع قسمت سایه انداز درخت (عکس از(** IPSP (Sanzani et al., 2012**).**

درختان سالم هستند. برخی شاخه‌های آلوده می‌میرند و در نتیجه قسمت سایه‌انداز درخت کوچک می‌شود، اما درختان آلوده نمی‌میرند (De Souza et al., 2014). تا کنون گزارش مکتوبی از این بیماری در ایران وجود نداشته است.

۵- زوال زیتون

در سال ۲۰۱۳، *X. fastidiosa* را در درختان زیتون آپولیان آلوده به بیماری زوال سریع و سوختگی حاشیه برگ، گزارش کردند (Saponari et al., 2013). در درختان آلوده به این پاتوژن، علائم این بیماری ابتدا در شاخه‌های بالایی مشاهده می‌شود و سپس به شاخه‌های پائینی گسترش می‌یابد (شکل ۴). سوختگی بافت از نوک برگ‌ها شروع می‌شود و به سمت دمبرگ پیش می‌رود و در نهایت در کل پهنک برگ نمایان می‌شود (شکل ۵).

شکل ۵- A: زردی اولیه برگ که قبل از سوختگی انتهایی برگ (B) اتفاق می‌افتد که در ادامه منجر به خشک شدن شاخه‌ها (C) و ساقه‌ها (D) می‌شود (Frisullo *et al.*, 2015).

برگ‌های مرده به شاخه‌ها متصل می‌مانند و در زمستان با ریزش باران خزان می‌کنند. این علائم شبیه عارضه شدید 'بروسکا' (زیتون) است ، این عارضه یک عارضه فیزیولوژیکی شناخته شده و قدیمی زیتون است (Sanzani *et al.*, 2012) و از پایان قرن هجدهم در همان مناطقی که بیماری جدید (زوال سریع زیتون) در حال گسترش بود، وجود داشته است (Frisullo *et al.*, 2015). از جمله عوامل ایجاد کننده 'بروسکا' که به‌طور تجربی توسط باغدارن محلی شناسایی شد، سمیت ناشی از آلودگی آب‌های زیرزمینی، آلودگی شدید به *Colletotrichum* (عامل آنتراکنوز زیتون)، مدیریت ضعیف باغ‌ها یا آلودگی‌های شدید به پروانه کرم خراط (*Zeuzera pyrina*) بود. هیچ‌کدام از این عوامل بر خلاف عامل این عارضه جدید، گیاه زیتون را به سرعت نابود نمی‌کنند و آلودگی به این عوامل منجر به مرگ درختان زیتون طی چند سال پس از آلودگی اتفاق می‌افتد (Frisullo *et al.*, 2015).

حساس‌ترین درختان زیتون آلوده به این عوامل درختان ارقام محلی ایتالیا مانند Cellina di Nardò و Ogliarola salentina هستند (شکل ۶)که قرن‌هاست تولیدکنندگان سعی در نجات آن‌ها از طریق هرس جوان‌سازی شدید برای تحریک رشد دارند. در واقع، پوشش گیاهی جدید که از اسکلت درختان هرس شده حاصل می‌شود، سریع پژمرده و خشک می‌شود (شکل‌های ۷-۸).

شکل ٦- A: علائم ابتدایی آلودگی، B: مرحله گسترش، C و D: مراحل انتهایی عارضه زوال سریع زیتون تا مرحله مرگ و میر زیتون (Frisullo *et al.*, 2015).

شکل ۷- تنه درختان زوال زده که شبیه اسکلت درختی است که قرن‌ها خشک شده است، به شدت هرس شده‌اند تا باعث تحریک گیاه به تولید پاجوش شوند، تعدادی پاجوش تولید شد که سپس از بین رفتند (Frisullo *et al.*, 2015).

شکل ۸- سرنوشت'Gigante di Alliste' ، یک درخت یادبود در استان لچه ایتالیا با سن تقریبی ۱۵۰۰ سال. A: اولین علائم آلودگی در ماه مارس سال ۲۰۱۵ ظاهر شد، B: توسعه بیماری در درخت، C: این درخت در زمستان به شدت هرس شد و تا ماه ژوئن ۲۰۱٦ پوشش گیاهی جدید از بین رفت و درخت زوال یافت. این درخت با انواع مختلف ترکیبات (القای مقاومت ، کنترل‌کننده‌های بیولوژیک ، ترکیبات مسی) تیمار شد اما هیچ فایده‌ای نداشت (Frisullo *et al.*, 2015).

در بسیاری از این درختان، بافت نکروز قهوه‌ای رنگی در چوب شاخه‌ها، ساقه‌ها و تنه ایجاد می‌شود که مرتبط به آلودگی به گونه‌های قارچی متعلق به جنس‌های *Phaemoni-* ، *Phaeoacremonium* ، *Pleumostomophora* ، *ella* و *Neofusicoccum* است (Nigro *et al.,* 2013; 2014) و محل نفوذ کرم خراط منشا شروع آلودگی به این قارچ‌ها است (شکل ۹).

شکل ۹- مقطع شاخه‌های زیتون که چوب‌های نکروزه را نشان می‌دهد و توسط گونه‌های مختلف قارچ ایجاد می‌شوند. محل نفوذ قارچ از محل ورود کرم خراط به چوب است (Nigro ***et al.,*** 2013; 2014).

این بیماری در ابتدا به‌دلیل حضور هم‌زمان عوامل اصلی خسارت‌زا (پروانه‌ها، قارچ‌ها و باکتری *X. fas-tidiosa*) که در بالا نام برده شد، با عنوان خشکیدگی سریع زیتون (CoDiRO) معرفی شد. با زوال درختان قدیمی، بعداً عارضه به زوال سریع زیتون (OQDS) تغییر نام یافت و مشاهدات میدانی نشان داد که حضور لارو کرم خراط در نمونه‌ها، اتفاقی بود و قارچ‌ها در تعداد زیادی از درختان جوان دارای علائم همراه با *X. fastidiosa* نبودند و بنابراین، قارچ‌ها تنها تشدیدکننده بیماری ناشی از زایللا شناخته می‌شوند. مانند همه زیرگونه‌ها و سویه‌های *X. fas-tidiosa* ، سویه CoDiRO در آوند چوب گیاهان میزبان رشد می‌کند و به سمت بالا و پایین حرکت می‌کند. کلنی‌های باکتریایی و بیوفیلم مرتبط با آن، آوند چوب را مسدود می‌کنند و منجر به مسدود شدن حرکت رو به بالا آب و مواد غذایی می‌شود و از این رو علائم آن شبیه پاسخ فیزیولوژیکی گیاه به تنش کم آبی است. خشکیدگی برگ و متعاقب آن خشکی شاخه‌ها و ساقه‌ها در درجه اول به‌دلیل مسدود شدن آوندها است. با این حال، همان‌طور که در بالا اشاره شد، اخیراً در مورد بیماری پیرس انگور نشان داده شده است چندین عامل بیماری‌زایی در بیمارگری پاتوژن نقش دارند (Nascimento *et al*., 2016; Burbank and Stenger, 2016; Gouran *et al.,* 2016).

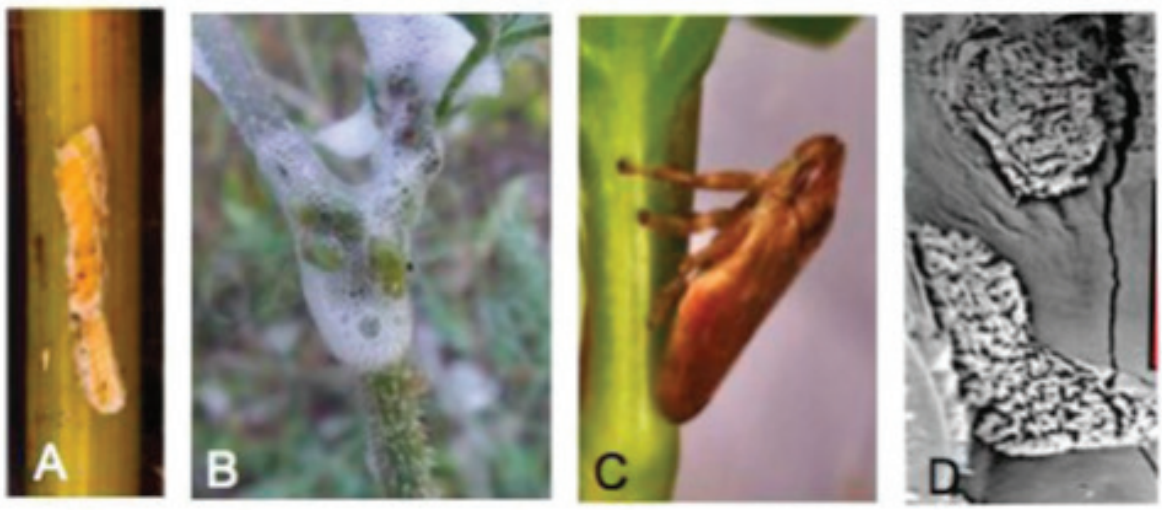
٦- همه‌گیری شناسی

همان‌طور که گفته شد، *X. fastidiosa* منحصراً توسط شیره آوند چوب و حشرات متعلق به راسته Hemiptera و زیر راسته Auchenorrhyncha انتقال می‌یابد. ناقل با تغذیه از آوند چوبی یک گیاه آلوده، این باکتری را کسب می‌کند و می‌تواند بلافاصله پس از کسب، آن را به گیاهان سالم تلقیح کند. این باکتری به کانال هوایی حشره ناقل و قسمت‌هایی از معده (precibarium وcibarium) چسبیده و تکثیر می‌شوند. این نشان می‌دهد که مراحل پوره‌ای ناقل بعد از پوست‌اندازی آلودگی را از دست می‌دهد، زیرا که منشاء معده اکتودرمال است و با پوست‌اندازی پوره، تجدید می‌شود. بنابراین، حشرات بالغ نوظهور برای به دست آوردن باکتری و گسترش آن باید از گیاه آلوده تغذیه کنند. باکتری از طریق تخم به نتاج ناقل

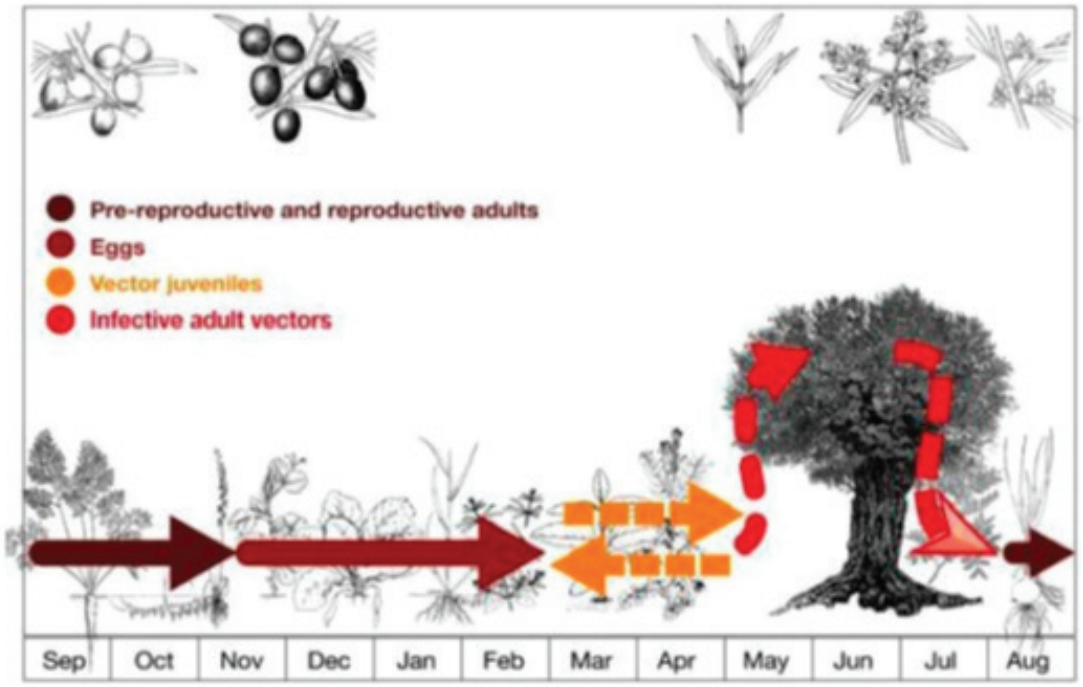
منتقل نمی‌شود. حشرات بالغ بال‌دار به‌دلیل تحرک بیش‌تر برای گسترش *X. fastidiosa* مستعد هستند (Freitag, 1951).

تمام حشرات تغذیه‌کننده از شیره آوند چوب در اروپا و منطقه مدیترانه باید به‌عنوان ناقل بالقوه در نظر گرفته شود، اما احتمال بیش‌تری برای ناقل بودن برخی از گونه‌ها به‌دلیل توزیع جغرافیایی گسترده آن‌ها، فراوانی و دامنه میزبانانی که از آن‌ها تغذیه می‌کنند، وجود دارد. به‌عنوان مثال اعضای خانواده‌های Cicadellidae (زنجرک‌ها)، Aphrophoridae(spittlebugs) و Cercopidae froghoppers)) در قاره آمریکا ناقل این باکتری هستند. همه اعضای این سه خانواده باید به‌عنوان ناقلین بالقوه در منطقه‌ای که در آن شرایط آب و هوایی مساعد وجود دارد در نظر گرفته شوند (Saponari *et al*., 2014).

ساپوناری و همکاران (۲۰۱۴) و کورنارا و همکاران (۲۰۱۶)، به‌صورت آزمایشی مشخص کردندPhilaenus spumarius ، (شکل۱۰) تنها ناقل زوال زیتون است که تاکنون مشخص شده است. از جمعیت سن‌های بالغ مورد بررسی ۲۵ تا ۷۱ درصد آلوده به *X. fastidiosa* بودند و انتقال آزمایشی با جمعیت سن‌های بالغ در گیاهان جوان زیتون، سنجد، مرکبات، انگور، GF677 (Prunus persica x Prunus amygdalus) و پروانش انجام شد، نشان داد که P. spumarius این باکتری را به همه گونه‌های گیاهی فوق به جز انگور، هسته‌دارها و مرکبات انتقال داده است. در این درختان (انگور، هسته‌دارها و مرکبات) آلودگی محدود به محل تغذیه است و به‌طور سیستمیک آلودگی حاصل نمی‌شود (شکل ۱۱) (Cavalieri et al., 2016).



شکل ۱۰- A: تخم‌های *Philaenus spumarius* **روی ساقه علف‌های هرز. B: پوره‌های** *P. spumarius* **در لانه فوم: C:** *P. spumarius* **بالغ؛ D: کلنی‌های** *X. fastidiosa* **استرین** CoDiRO **در معده جلویی** *P. spumarius* بالغ (Cornara *et al.* 2016).



شکل ۱۱- چرخه بیولوژیکی *Philaenus spumarius* در شبه جزیره سالنتو (Cornara and Porcelli, 2014).

گسترش طبیعی *X. fastidiosa* توسط زنجرک‌ها و سنک‌هایی انجام می‌شود که پاتوژن می‌تواند در بدن آن‌ها تکثیر شده و پایدار بماند. ناقلین در طول عمر خود می‌توانند مسافت‌های نسبتاً کوتاهی پرواز کنند (۱۰۰ متر ، – EFSA ۲۰۱۳) ، حشرات ناقل می‌توانند به‌کمک باد به مسافت‌های دورتری از محل آلودگی اولیه منتقل شوند. این رفتار به‌همراه تراکم و ترکیب گیاهان میزبان فضای سبز، نقش مهمی در پراکندگی ناقل و بیماری دارد. با این حال، انسان با روش‌های دیگری نیز می‌تواند کانون‌های آلودگی جدید، در مکان‌هایی که امکان گسترش ناقل وجود ندارد، ایجاد کند. در میان این روش‌ها، تکثیر رویشی از طریق پیوند است که به‌طور متداول برای تکثیر بسیاری از گونه‌های گیاهی از جمله چندین میزبان *X. fastidiosa* مورد استفاده قرار می‌گیرد و یک روش خطرناک برای انتشار بیماری در مسافت‌های متوسط و طولانی است که از طریق حمل و نقل و تجارت مواد گیاهی آلوده، به‌ویژه نهال تولیدی اتفاق می‌افتد (Occhibove et al., 2020).

حمل و نقل ناقلین آلوده به Xylella توسط وسایل نقلیه (اتومبیل، کامیون ، اتوبوس ، لوازم کشاورزی و انسان (شکل ۱۲) یکی دیگر از روش‌های گسترش بیماری است. در حقیقت، ظهور ناگهانی زوال سریع زیتون در سال ۲۰۱۵ در حومه اوریا، روستایی در استان بریندزی که حدود ۵۰ کیلومتر از کانون آلودگی در استان لچ فاصله داشت، منسوب به حمل و نقل غیرفعال ناقلین آلوده بوده است. برای جلوگیری از گسترش ناخواسته آلودگی، چند قانون ساده باید بعد از بازدید از مناطق آلوده وضع شود. به‌عنوان مثال موها و لباس‌ها را قبل از حرکت و جابه‌جایی وسایل نقلیه برس بزنید تا مطمئن شوید حشرات ناقل به آن نچسبیده‌اند. پنجره‌ها را در حین پارک کردن در مناطق آلوده یا عبور از مناطق آلوده ببندید. از جمع‌آوری گیاهان و علف‌های هرز و وحشی در مناطق آلوده اجتناب کنید.

شکل ۱۲- (A) *Philaenus spumarius* بالغ روی موهای راننده ماشین ؛ (B) روی بدنه خودرو پارک شده در نزدیکی باغ زیتون آلوده (EFSA, 2015).

دو مسیر اصلی برای ورود پاتوژن به مناطق غیرآلوده وجود دارد. اول گیاهان میزبان زیرا *X. fastidiosa* می‌تواند در گیاه میزبان در هنگام حمل و نقل زنده بماند. علاوه بر این، دامنه میزبانی وسیع، شامل ۳۵۹ گونه گیاهی از جمله هیبریدهای گیاهی حاصل از ۲۰۴ جنس و ۷۵ خانواده مختلف گیاه شناسی (EFSA, 2016b)، گسترش و آلودگی حاصل از ناقل را در مناطق مختلف، تسهیل می‌کند. دوم حشرات ناقل آلوده: ناقلین می‌توانند از دو مسیر اصلی حرکت کنند: همراه بودن با گیاهان یا قسمت‌های گیاهی یا جابه‌جایی به تنهایی از طریق حمل و نقل (بر روی وسایل نقلیه یا مو و لباس سرنشینان اتومبیل). اما از هر دو راه احتمال ورود و ایجاد آلودگی وجود دارد، زیرا توانایی ناقلین آلوده برای زنده ماندن طی حمل و نقل بسته به شرایط حمل و نقل و روش‌های مدیریت آفات که در مبدا مواد تکثیری گیاهی، اعمال می‌شود، کم است.

۷- ردیابی

آزمایش‌های سرولوژیکی و مولکولی برای غربال‌گری تعداد زیادی نمونه، مناسب هستند. فهرست روش‌های مورد استفاده در زیر ارائه شده است (EPPO, 2010; 2014).

سرولوژی: آزمایش‌های سرولوژیکی که طی سال‌های متمادی تهیه شده‌اند شامل الایزا (Sherald and Lei, 1991)، MEIF[1] ایمنی‌سنجی لکه‌ای مستقیم بافت[2] ، وسترن بلات (Lee *et al.*, 1992; Chang *et al.*, 1993) و ایمونوفلورسانس (Carbajal *et al.*, 2004) هستند. ایمونوفلورسانس (IF) می‌تواند برای غربال‌گری و شناسایی *X. fastidiosa* در مواد گیاهی و کشت خالص باکتری استفاده شود.

ردیابی مولکولی: ردیابی‌های مولکولی مبتنی بر واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR)(Minsavage et al., 1994; Rodrigues et al., 2003; Huang et al., 2006; Huang, 2009)،PCR RFLP (Mehta et al., 2001)[3]، RAPD، real-time PCR و LAMP[4] (Oliveira et al., 2002; Guan et al., 2013) برای ردیابی باکتری موجود در انگور ، مرکبات، بادام، زیتون و سایر میزبان‌ها استفاده شده‌اند. آزمایش‌ای Immunocapture-PCR (IC-PCR) و PCR ایمونو (I-PCR) روش بسیار حساس و سریع

1. Membrane entrapment immunofluorescence
2 . Direct tissue blot immunoassay
3 . Random-amplified polymorphic DNA
4 . Loop-mediated isothermal amplification

برای غربال‌گری *X. fastidiosa* هستند که به‌هیچ مرحله غنی‌سازی یا خالص‌سازی DNA نیاز ندارند (Peroni *et al*., 2008). همچنین Nested PCR برای تشخیص باکتری در حشرات ناقل مورد استفاده قرار گرفته است (Bextine *et al*., 2004). یک روش ریزآرایی جریان جانبی چند منظوره[1] نیز برای تشخیص *X. fastidiosa* در مرکبات توسعه یافته است، که به نظر می‌رسد حساس و دقیق است (Cary and Stub-ben, 2011).

روش‌های مبتنی بر PCR (PCR معمولی، real-time PCR و LAMP) از روش‌های سرولوژی حساس‌تر و دقیق‌تر هستند و قدرت بالایی در ردیابی تعداد کم باکتری در گیاهان و حشرات ناقل دارند. اگرچه آزمایشات متعدد PCR به‌طور دقیق آلودگی به *X. fastidiosa* را در نمونه‌های خالص DNA آلوده تشخیص داده است. باید در نظر داشته باشید که مشکل عمده در آزمایش PCR از نمونه‌های جمع آوری شده از محیط، و وجود بازدارنده‌های PCR در این نمونه‌ها است (Bextine *et al*., 2004; Chen *et al*., 2008; Fatmi *et al*., 2005).

ارزیابی مقایسه‌ای عملکرد روش‌های مختلف نشان داد که: اول، تمام روش‌های تشخیصی آزمایش شده قادر به شناسایی باکتری بیماری‌زا در گیاهان بدون علامت بودند، دوم، LAMP با استفاده از شیره خام روش غربال‌گری قابل اعتماد و سریع است. سوم، PCR کمی (real-time PCR) بالاترین میزان حساسیت تشخیصی را دارد. چهارم، اگرچه DTBIA حساسیت کم‌تری نسبت به روش‌های دیگر دارد، ولی برای تشخیص باکتری زایللا در محموله‌های صادراتی و وارداتی، و کنترل نهالستان‌ها، مفید خواهد بود (Loconsole *et al*., 2016).

ظهور روش‌های نوآورانه مانند توالی‌یابی نسل جدید (NGS) اجازه داده است مطالعه عمیق داده‌های ژنومی گونه‌های مختلف بیماری‌زای پاتوژن (X. fastidiosa) و میزبان اصلی آن، هر دو، انجام شود. در واقع، پیش‌نویس توالی ژنوم سویه CoDiRO جدا شده از گیاهان زیتون در سایپرز در جنوب ایتالیا، و یک جدایه باکتریایی *X. fastidiosa* آلوده‌کننده قهوه تعیین و ثبت شده است (Giampetruzzi *et al*. 2015a; 2015b).

۸ – مدیریت بیماری‌های ناشی از *X. fastidiosa*

اگرچه راهبردهای مختلف درمانی در برابر *X. fastidiosa* آزمایش شده است و در ابتدا برای مدیریت بیماری پیرس انگور در ایالات متحده آمریکا بررسی شد (Hopkins, 2014)، اما هنوز هیچ روش موثری برای درمان گیاهان آلوده به *X. fastidiosa* وجود ندارد. با این حال ، راهبردهای مدیریتی می‌تواندشامل موارد زیر باشد:

۱) ممانعت از ورود پاتوژن و ناقل (قرنطینه)، همان‌طور که قبلاً اشاره شد به دلیل تجارت جهانی گیاهان دشوار است.

۲) استفاده از حشره‌کش‌های سیستمیک برای مبارزه با ناقلین و کنترل گسترش ثانویه آلودگی در یک محصول، نتایج این روش موقت است مگر اینکه سمپاشی به مرور تکرار شود.

۳) کشت در مناطقی که شرایط آب و هوایی برای پاتوژن نامساعد باشد (کنترل جغرافیایی).

۴) از بین بردن میزبان‌های اولیه و متناوب آلوده پاتوژن و ناقل (های) آن.

۵) به حداقل رساندن تنش‌های ناشی از خشکسالی، علف‌های هرز، تولید بیش از حد، سایر بیماری‌ها، و در درجه اول مواردی که به چوب آسیب می‌زنند.

۶) استفاده از گیاهان مقاوم یا متحمل

۷) بهبود ژنتیکی از طریق ویرایش ژنوم از طریق

1. Multiplexed lateral flow microarray assay

سیستم CRISPR-Cas برای افزودن ژن‌های مطلوب (به‌عنوان مثال مقاومت) به ژنوم میزبان حساس.

۸) بیوکنترل، یعنی نوعی از حفاظت تقاطعی با استفاده از یک سویه باکتریایی غیر بیماری‌زا (EB92-1) که زمانی‌که به میزبان تلقیح می‌شود، رشد گونه‌های بیماری‌زا را مهار می‌کند (Hopkins, 2014).

۹) تراریخت کردن گیاه با ژن rpfF از *X. fastidiosa* ، که عامل انتقال سیگنال را کد می‌کند و رشد کلنی‌های باکتریایی را تنظیم می‌کند (Lindow, 2014).

بنابراین پیشگیری و کنترل، اقدامات مناسبی هستند که برای به حداقل رساندن تأثیر شیوع *X. fastidiosa* و مهار شیوع بیماری باید انجام شود. اطلاعات اساسی برای دستیابی به این اهداف و نتایج حاصل از کار فوق در جنوب ایتالیا توسط محققان مختلف ارائه شده است. این مطالعات منجر به ارائه دستورالعمل اجرایی برای مهار بیماری بر اساس نظارت دقیق منطقه آلوده، از بین بردن منابع تلقیح شده و کنترل ناقلین آنها شد.

۸-۱- روش‌های مناسب مدیریت باغ

در کنار هر راهبردی که برای مدیریت آلودگی‌های ناشی از *X. fastidiosa* به کار گرفته می‌شود، اجرای 'روش‌های مناسب مدیریت باغ' نباید نادیده گرفته شود. اگرچه این روش‌های به باغی برای حفاظت گیاهان از آلودگی کافی نیست، مدیریت صحیح باغ (به‌عنوان مثال خاک‌ورزی خاک، اقدامات محافظت در برابر حشرات ناقل، هرس، کود و کود آبیاری)، ممکن است در کاهش زیستگاه‌های جمعیت ناقل و در نتیجه قابلیت انتقال آن‌ها تأثیر داشته باشد و منجر به کاهش آلودگی شود.

مدیریت خاک: شیوه‌های مدیریت خاک برای مناطق با آب و هوای گرم و خشک و محتوای کم ماده آلی (در خاک) با اهداف زیر اجرا می‌شود:

۱) بهبود حفاظت از آب با کاهش تبخیر و تعرق خاک

۲) افزایش میزان تخلخل خاک برای بهبود نفوذ و ذخیره آب

۳)تقویت هوادهی خاک

۴)حفاظت از خاک بدون علفهای هرز و پوشش گیاهی و درنتیجه کاهش رقابت در برابر آب/ مواد مغذی

۵) افزایش فسفر و پتاسیم و مواد ارگانیک خاک

خاک‌ورزی خاک باید از صدمه به ریشه‌ها، جلوگیری کند تا مانع نفوذ عوامل بیماریزای خاکزی به ریشه‌ها شود. رطوبت خاک باید در حد کافی نگهداری شود تا از شکل‌گیری لایه سخت، توده‌های بزرگ خاک (کلوخ) یا فرسایش بیش از حد و از بین رفتن ساختار خاک جلوگیری شود. هنگامی که این اقدامات به درستی انجام شود، از فرسایش خاک جلوگیری می‌شود.

هرس: باغ‌ها باید هر سال یا حداقل هر دو سال یک بار هرس شوند تا بهترین شرایط رشد با هوادهی و روشنایی مناسب برای قسمت سایه‌انداز درخت فراهم شود. با این حال ، اقدامات زیر توصیه می‌شود:

۱)پس از هرس سطوح برش‌خورده با فرمولاسیون‌های مس محلول‌پاشی شود تا شاخه‌های هرس شده را محافظت نماید. این کار ورود حشرات و پاتوژن‌ها را از محل هرس به تنه گیاه، کاهش می‌دهد.

۲)شاخه‌های کوچک را بریده و بقایای هرس سوزانده شوند تا از بقای ناقلین جلوگیری شود. شاخه‌ها و تنه‌های بریده شده را می‌توان جابجا کرد زیرا ناقلین نمی‌توانند باکتری‌ها را از بافت‌های چوب پنبه‌ای کسب کنند.

۳) اگرچه هیچ مدرکی وجود ندارد که *X. fastidiosa* می‌تواند از طریق سطح آلوده وسایل هرس منتقل شود (انتقال مکانیکی)، برای احتیاط بهتر است ابزار هرس با هیپوکلریت سدیم یا نمکهای

آمونیوم ضد عفونی شوند.

۴) اگر علائم اولیه آلودگی زود تشخیص داده شود، هرس سریع و هدفمند شاخه‌ها/ ساقه‌های آلوده ممکن است پیشرفت آلودگی را کند نماید. هرس هدفمند و به موقع در برزیل روشی برای جلوگیری از گسترش *X. fastidiosa pauca* عامل بیماری کلروز ابلق مرکبات (CVC) گزارش شده است (De Souza *et al.*, 2014).

آبیاری: استرس آبی ممکن است عامل تعیین‌کننده در افزایش حساسیت گیاه به عوامل بیماری‌زا باشد. در مناطقی که درختان در شرایط خشک مدیریت می‌شوند، استفاده از تمام روش‌های احتیاطی و فنون مورد استفاده در کشاورزی در شرایط خشک ضروری است. بنابراین، آبیاری هر زمان لازم بود، برای جلوگیری از تنش خشکی توصیه می‌شود. به‌این منظور، ممکن است باغداران از سیستم‌های آبیاری میکرو به‌صورت آبیاری قطره‌ای یا زیر سطحی را استفاده کنند. آبیاری ممکن است از برخی اثرات نامطلوب، با توجه به مرحله فنولوژی گیاه جلوگیری کند. برای اطمینان از رشد صحیح درختان در طول فصل رشد، نیاز به افزودن کودهای آلی و معدنی مناسب در طول سال است.

۸-۲- نظارت

نظارت فرآیندی است که به موجب آن اطلاعات مربوط به یک آفت خاص برای یک منطقه خاص از منابع مختلف جمع‌آوری می‌شود تا اجازه استفاده از آنها توسط سازمان ملی گیاه‌پزشکی داده شود (Anonymous, 2006).

برنامه‌های نظارت برای *X. fastidiosa* باید برای هر منطقه بومی‌سازی شود. به‌ویژه، نظارت باید ابعاد مختلف خطر در محیط پیرامون منطقه مورد نظارت در کل زنجیره‌های تولید و تجارت شامل ۱) منابع ژنتیکی (گیاهان مادری، کلکسیون‌های مختلف)؛ ۲) مواد گیاهی نهالستان‌ها که آماده توزیع برای کاشت هستند؛ ۳) نظارت بر وضعیت گیاهی محیط پیرامون (محصولات زراعی، مزارع کنترل نشده، محیط های طبیعی، باغ ها و پارک‌ها) را در برگیرد. به‌طور خاص نظارت و ارزیابی وضعیت بهداشتی تولید گیاهان مادری مهم است، زیرا آنها می‌توانند به‌عنوان منبع انتشار مواد گیاهی تکثیری مورد استفاده قرار گیرند. کنترل عدم آلودگی مواد تکثیری گیاهی به *X. fastidiosa* ، که در نهالستان‌ها تکثیر شده‌اند و برای توزیع در بخش کشاورزی و محیط‌های طبیعی آماده شده‌اند، یک اقدام اساسی است. این کنترل می‌تواند بااستفاده از روش‌های خوب کشاورزی مانند استفاده از مواد تکثیری سالم، کنترل حشرات ناقل و علف‌های هرز، درختچه‌ها و گیاهان حساس دیگر که می‌توانند میزبان پاتوژن و همچنین ناقل آن باشند، انجام شوند. ارزیابی وضعیت سلامت محیط، به این منظور ضروری است که بدانیم ۱) آیا پاتوژن وارد منطقه شده است یا نه. ۲) آیا پاتوژن در حال گسترش است؛ ۳) آیا حشرات ناقل احتمالی وجود دارند یا نه.

از آن‌جا که دامنه میزبانی *X. fastidiosa* بسیار گسترده است، و ناقلین بالقوه به تعداد زیاد (به‌عنوان مثال همه حشرات تغذیه‌کننده آوند) و به‌طور گسترده وجود دارند، و بیماری در حوزه مدیترانه گسترده شده است، ریشه‌کن کردن گیاهان بیمار به شدت نیاز به دستورالعمل‌های دقیق و قوی دارد تا هر چه سریع‌تر در گیاهان آلوده، وحشی، گیاهان زینتی و فضای سبز که ممکن است میزبان باکتری و ناقلین آن در منطقه آلوده باشند، اقدام نمود. تاریخچه بیماری‌های ناشی از *Xylella* در مناطق جدید نشان می‌دهد که پس از آنکه باکتری به‌طور کامل در یک منطقه مستقر شود، نمی‌توان آن را ریشه کن کرد (Purcell, 2013).

نتایج مشاهدات باغ‌های زیتون آلوده آپولیان در زمان شیوع بیماری در درختان زیتون و گیاهان

دیگر، که توسط مقامات ایتالیایی در پایان سال ۲۰۱۳ گزارش شد، نشان می‌دهد که ردیابی زودهنگام *X. fastidiosa* در مناطق و میزبانانی که سابقه قبلی آلودگی در آنها نبوده است، دشوار است. در ابتدا این بیماری درختان زیتون به عوامل دیگر ارتباط داده شد (Martelli *et al*., 2016). منحصراً با ارزیابی‌های آزمایشگاهی (الیزا که با PCR تأیید شد) عامل اصلی بیماری تشخیص داده شد (Saponari *et al.*, 2013). بنابراین، تنها با تکیه بر مشاهدات چشمی نمی‌توان علائم ناشی از *X. fastidiosa* را شناسایی کرد. دوره‌ای وجود دارد که در آن گیاهان آلوده می‌توانند منبع آلودگی برای آلودگیهای ثانویه باشند، اگرچه علائمی از خود نشان نمی‌دهند.

در شرایطی که بیماری شیوع نیافته است، نظارت باید بر اساس ارزیابی خطر، با تمرکز بر حفاظت از گیاهان و ذخایر ژنتیکی و در خطرناک‌ترین مسیرهای واردات، به خصوص هدف قرار دادن خطوط واردات از کشورهایی که پاتوژن در آنها ردیابی شده است، باشد.

از آنجا که تشخیص و تمایز علائم همیشه از سایر بیماری‌ها یا اختلالات آسان نیست، و آلودگی‌های بدون علائم نیز داریم، بازرسی‌های مشاهده‌ای باید توسط بازرسان مجرب انجام شود و توسط متخصصان آموزش‌دیده به‌طور آزمایشگاهی بررسی شوند. به‌دلیل نقش برجسته آلودگی‌های مخفی (بدون علائم)، گیاهان بدون علائم نیز باید انتخاب و برای تشخیص زود مورد آزمایش قرار گیرند (آزمایش‌های تشخیصی نباید تنها برای تأیید علائم آشکار استفاده شود). آزمایشگاه‌ها موظفند بلافاصله هرگونه پاتوژن قرنطینه‌ای شناسایی شده را به مراجع ذی صلاح اعلام کنند و ترجیحاً باید ثابت کنند که این ظرفیت را دارند که طبق بالاترین استاندارد (اعتباربخشی) *X. fastidiosa* را شناسایی کنند. از هر گیاه میزبان باید تعداد کافی نمونه تهیه شود و تعداد گیاهان میزبان نمونه‌برداری شده در هر مکان باید امکان تشخیص دقیق آلودگی را فراهم کند و باید بر اساس روش‌های نمونه‌برداری آماری انجام شود (Madden and Hughes, *1999*).

۸-۳- انتخاب مکان‌های پرخطر

فاصله تا مکان‌های مشخص شیوع بیماری، در تعیین میزان خطر تهدیدکننده یک منطقه جدید، نقش دارد. همانطور که ذکر شد، انتشار باکتری‌ها در درجه اول توسط حشرات ناقلی است که در مسافت‌های کوتاه پرواز می‌کنند اما می‌توانند در بسیاری از مناطق با مسافت‌های طولانی‌تر (از مبدا آلودگی) با حمل و نقل غیرفعال (به‌عنوان مثال باد، وسایل نقلیه) منتقل شوند. در نتیجه، در مکان‌هایی با فاصله چند کیلومتری از مکان‌های شیوع بیماری نیز ممکن است در معرض خطر بالای آلودگی باشند. این خصوصاً در مواردی اتفاق می‌افتد که میزبان بین یک مکان خاص و منطقه‌ای که بیماری در آن شیوع یافته دسترسی داشته باشد. در این حالت، گیاهان میزبان در این بین به عنوان 'سنگ فرش' عمل می‌کنند و دو منطقه میزبانی را به هم متصل می‌کنند و منجر به گسترش بیماری می‌شوند.

عکس‌های هوایی و نقشه‌های زراعی یک ابزار دیگر برای بررسی مناطق وسیع و برای شناسایی زود هنگام شیوع احتمالی بیماری است، که مشاهدات میدانی را فراهم می‌کند و نمونه برداری را در مناطقی که گمان می‌رود آلوده باشد یعنی در مناطق پرخطر، میسر می‌کند (D'Onghia *et al.,* 2014; Santoro *et al.*, 2014). به‌عنوان مثال، گوالانو و همکاران (Gualano *et al.,* 2014) نشان دادند چگونه تصاویر هوایی با وضوح بالا و پردازش شده با داده‌های مرئی و مادون قرمز نزدیک می‌تواند برای شناسایی درختان آلوده به *X. fastidiosa* مورد استفاده قرار گیرند.

از آنجا که انتخاب مناطق نمونه‌برداری برای نظارت بر اساس مناطق پرخطر با خطا همراه است، نمونه‌برداری باید به‌صورت تصادفی در مناطق مختلف انجام شود (Anonymous, 2006). گسترش ناقل‌های آلوده و انتقال و جابه‌جایی مواد تکثیری گیاهی در مسافت‌های طولانی توسط انسان، اگر میزبان حساس، ناقل و شرایط اقلیمی گسترش بیماری در آن مناطق وجود داشته باشد، نیاز به نظارت در مناطقی دور از مکان‌های شناخته شده که آلودگی در آن شیوع دارد را ضروری می‌کند.یکی از راه‌های پرداختن به این موضوعات، اولویت‌بندی نظارت و نمونه‌برداری بر اساس میزان خطر هر منطقه است اما باید مناطق با خطر آلودگی کمتر را نیز بر اساس نمونه‌برداری طبقه‌بندی شده، نمونه‌برداری نمود. منطقه باید به طبقات مختلف تقسیم شود که ارزش هر منطقه بر اساس میزان خطر آن منطقه برای آلودگی است. تعداد نمونه‌ای که در هر طبقه از منطقه باید جمع‌آوری شود با میزان خطر آلودگی آن منطقه ارتباط دارد. واضح است، طبقاتی که هیچ میزبان و یا ناقلی در آن حضور ندارند و شرایط آب و هوایی آن نیز برای بیماری مساعد نیست، میزان خطرش صفر است و مورد بررسی قرار نمی‌گیرند. ردیابی و نمونه‌برداری تصادفی غیرهدفمند نیز برای تخمین شیوع و توزیع بیماری برای اطلاع از ارزیابی خطر بیماری و ارائه اطلاعات اپیدمیولوژی لازم است (Anonymous, 2006).

در مناطقی که بیماری در آن شیوع یافته است، باید ردیابی‌های فشرده برای شناسایی همه مکان‌های آلوده انجام شود. در چنین موارد خاصی، ردیابی و نمونه‌برداری بر اساس نقشه خطر بیماری انجام می‌شود. تحقیقات برای ردیابی آلودگی و گسترش بیماری باید با سازماندهی انجام شود و محدوده توزیع بیماری، برای ترسیم محدوده انتشار و شناسایی نواحی در معرض خطرباید مشخص شود.

۸-٤- نظارت بر فعالیت‌های نهالستان‌ها

یک برنامه ویژه نظارت برای جستجوی عامل بیماری‌زا باید در هر نهالستان در مناطق مشخص شده وجود داشته باشد. بررسی‌ها باید حداقل دو بار در سال در هر نهالستان با گیاهان میزبان و همچنین نظارت بر گیاهان میزبان مجاور نهالستان‌ها انجام شود. علاوه‌بر این، بررسی باید در آزمایشگاه‌های معتبر برای یک درصد از گیاهان موجود در هر منطقه انجام شود به گونه‌ای که در هر منطقه بیش از ۱۰۰ گیاه در هر قطعه نمونه‌برداری نشود. نمونه‌ها باید مطابق با مقررات از گونه‌های غیرمیزبان نیز تهیه شود. نظارت بر گیاهان میزبان به روش زیر انجام می‌شود:

- معاینه چشمی تمام گیاهان میزبان؛
- جمع‌آوری نمونه از گیاهان علائم‌دار و بدون علائم؛
- جمع‌آوری نمونه از حشرات ناقل به وسیله توری و تله‌های چسبنده زرد.
- برای هر منطقه، باید یک برگه اطلاعات که نتایج کل بازرسی‌ها در آن گزارش شده است همراه با تجزیه و تحلیل‌های مرتبط تهیه شود.

۹- نتیجه‌گیری

بیماری‌های مهم و اقتصادی پیرس انگور(PD)؛ کلروز ابلق مرکبات (CVC)؛ بیماری فونی هلو(PPD)؛ سوختگی برگ آلو(PLS)؛ سوختگی حاشیه‌ای برگ سنجد(OLS)، بادام(ALS)، قهوه(CLS) در جهان گسترش دارند و بر اثر آلودگی به باکتری *X. fastidiosa* ایجاد می‌شوند. هر چند تاریخچه ردیابی این بیماری‌ها به کمتر از یک دهه می‌رسد اما به‌دلیل اهمیت این بیماری و انتقال آن‌ها از طریق مواد تکثیری و حشرات ناقل، شناسایی، مطالعه و آشنایی با روش‌های مدیریتی آن‌ها، ضروری است. تجربه کشورهایی که موفق به مدیریت اپیدمی‌های ناشی

از این باکتری شده‌اند نشان می‌دهد که با نظارت بر فعالیت‌های نهالستان‌ها، بومی‌سازی برنامه‌های نظارت برای *X. fastidiosa* برای هر منطقه آلودگی، اجرای روش‌های مناسب مدیریت باغ شامل مدیریت آبیاری، مدیریت آفات و علف‌های هرز، هرس و خاک‌ورزی مناسب، می‌توان ضمن کاهش خسارت ناشی از این باکتری از انتشار آن به مناطق دیگر نیز جلوگیری نمود.

تضاد و تعارض منافع: نویسنده هر گونه تعارض و تضاد منافع اعم از تجاری و غیر تجاری و شخصی را که در ارتباط مستقیم یا غیر مستقیم با اثر منتشر شده است رد می نمایند.

منابع

Amanifar, N., Taghavi, M., Izadpanah, K. & Babaei, G. (2014). Isolation and pathogenicity of *Xylella fastidiosa* from grapevine and almond in Iran. *Phytopathologia Mediterranea*, 53(2), 318−327.

Amanifar, N., Taghavi, M. & Salehi, M. (2016). *Xylella fastidiosa* from almond in Iran: overwinter recovery and effects of antibiotics. *Phytopathologia Mediterranea*, 55, 337−345.

Amanifar, N., Babaei, G., Mohammadi, A.H. (2019). *Xylella fastidiosa* causes leaf scorch of pistachio (Pistacia vera) in Iran. *Phytopathologia Mediterranea*, 58 (2), 369-378.

Anonymous. (2006). International Standards for Phytosanitary Measures. 1 to 24. ISPM No. 6. Guidelines for Surveillance (1997), 65 pp. Rome, FAO.

Bextine, B., Tuan, S.J., Shaikh, H., Blua, M. & Miller, T.A. (2004). Evaluation of methods for extracting *Xylella fastidiosa* DNA from the glassy-winged sharpshooter. *Journal of Economical Entomolgy,* 97, 757–763.

Burbank, L.P. & Stenger, D.C. (2016). A temperature-independent cold-shock protein homolog acts as a virulence factor in *Xylella fastidiosa*. *Molecullar Plant Microbe Interaction*, 29, 335–344.

Carbajal, D., Morano, K.A. & Morano, L.D. (2004). Indirect immunofluorescence microscopy for direct detection of *Xylella fastidiosa* in xylem sap. *Current Microbiology*, 49, 372–375.

Cary, R.B. & Stubben, C.J. (2011). Multiplexed lateral flow microarray assayfor detection of citrus pathogens *Xylella fastidiosa* and *Xanthomonasaxonopodis* pv citri. U.S. Patent No. 7,910,309. 22 March 2011.

Cavalieri, V., Cornara, D., Dongiovanni, C., Altamura, G., Boscia, D., Porcelli,F., Bosco, D. & Saponari, M. (2016). Transmission of *Xylella fastidiosa* to differenthost plants by naturally infected Philaenus *spumarius*. Book of AbstractsXXIII, Convegno Nazionale della Società Italiana di PatologiaVegetale, Rome: 40–41.

Chang, C.J., Garnier, M., Zreik, L., Rossetti, V. & Bové, J.M. (1993). Culture and serological detection of the xylem-limited bacterium causing citrus variegated chlorosis and its identification as a strain of *Xylella fastidiosa*. *Currrent Microbiology*, 27, 137–142.

Chen, J., Livingston, S., Groves, R. & Civerolo, E.L. (2008). High throughput PCR detection of *Xylella fastidiosa* directly from almond tissues. *Journal of Microbiology Methods*, 73, 57–61.

Cornara, D. & Porcelli, F. (2014). Observations on the biology and ethology of Aphrophoridae: *Philaenus spumarius* in the Salento peninsula. *Journl of PlantPathology*, 96, S4.98.

Cornara, D., Saponari, M., Zeilinger, A.R., de Stradis, A., Boscia, D., Loconsole, G., Bosco, D., Martelli, G.P., Almeida, R.P.P. & Porcelli, F. (2016). Draft genome sequence of the *Xylella fastidiosa* CoDiRO strain. *Genome Announcements*, 3, e01538-14.

D'Onghia, A.M., Santoro, F., Yaseen, T., Djelouah, K., Guario, A., Percoco, A. & Valentini, F. (2014). An innovative monitoring model of *Xylella fastidiosa* in Apulia. *Journal of Plant Pathology*, 96, S4.99.

de Souza, A.A., Cristofani-Yaly, M., Della Coletta Filho, H. & Machado, M.A. (2014). Some approaches aiming at Citrus variagated chlorosis control in Brazil. Presentation at the International Symposium on the European outbreak of *Xylella fastidiosa* in olive. Gallipoli-Locorotondo, Italy. *Journal of Plant Pathology*, 96, S498–S4.99.

EFSA. (2013). Statement of EFSA on host plants, entry and spread pathways and risk reduction options for Xylella fastidiosa Wells et al. *EFSA Journal*, 11, 3468.

EFSA. (2015). Scientific opinion on the risk to plant health posed by *Xylella fastidiosa* in the EU territory, with the identification and evaluation of risk reduction options. *EFSA Journal*, 13, 3989.

EFSA. (2016a). Update of a database of host plants of *Xylella fastidiosa*: 20 November 2015. *EFSA Journal*, 14, 4378.

EFSA. (2016b). Treatment solutions to cure Xylella fastidiosa diseased plants. *EFSA Journal*, 14, 4456.

EPPO. (2010). ELISA tests for plant patogenic bacteria. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, 40, 369–372.

EPPO. (2014). Diagnostic protocols for regulated pests. *Xylella fastidiosa. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, 34, 187–192.

EPPO. (2015). EPPO Reporting Service No. 10 – 2015 Num. article: 2015/181. *EPPO Global Database,* https://gd.eppo.int/reporting/article-5128

Fatmi, M., Damsteegt, V.D. & Schaad, N.W. (2005). A combined agarabsorption and BIO-PCR assay for rapid, sensitive detection of *Xylella fastidiosa* in grape and citrus. *Plant Pathology*, 54, 1–7.

Freitag, H. (1951). Host range of the Pierce's disease virus of grapes as determined by insect transmission. *Phytopathology*, 41, 920–34.

Frisullo, S., Camele, I., Agosteo, G.E., Boscia, D. & Martelli, G.P. (2015). Brief historical account of olive leaf scorch ("brusca") in the Salento peninsula of Italy and state-of-the-art of the olive quick

decline syndrome. *Journal of Plant Pathology*, 96, 441–449.

Giampetruzzi, A., Chiumenti, M., Saponari, M,. Donvito, G., Italiano, A., Loconsole, G., Boscia, D., Cariddi, C., Martelli, G.P. and Saldarelli, P. (2015a). Transcriptome profiling of two olive cultivars in response to infection by the CoDiRO strain of Xylella fastidiosa subsp. pauca. *BMC Genomics,* 17, DOI: 10.1186/s12864-016-2833-9.

Giampetruzzi, A., Loconsole, G., Boscia, D., Calzolari, A., Chiumenti, M., Martelli, G.P., Saldarelli, P., Almeida, R.P.P. and Saponari, M. (2015b). Draft genome sequence of CO33, a coffee-infecting isolate of *Xylella fastidiosa. Genome Announcements*, 3, e01472-15.

Gouran, H., Gillespie, H., Nascimento, R., Chakraborty, S. & Zaini, P.A. (2016). The secreted protease PrtA controls cell growth, biofilm formation and pathogenicity in *Xylella fastidiosa. Scientific Reports*, 6, 31098. DOI: 10.1038/ srep31098.

Gualano, S., Tarantino, E., Santoro, F., Valentini, F., Dongiovanni, N. & D'Onghia, A.M. (2014). Analisi assistita da immagini aeree ad elevate risoluzione geometrica per il riconoscimento del CoDiRO associato al batterio *Xylella fastidiosa* in Puglia. Atti Conferenza della Federazione Italiana delle Associazioni Scientifiche per le Informazioni Territoriali e Ambientali (ASITA).

Guan, W., Shao, J., Singh, R., Davis, R.E., Zhao, T. & Huang, Q. (2013). A TaqMan-based real time PCR assay for specific detection and quantification of *Xylella fastidiosa* strains causing bacterial leaf scorch in oleander. *Journal of Microbiology Methods*, 92, 108–112.

Hopkins, D.L. (2014). Control strategies for *Xylella fastidiosa*. *Journal of Plant Pathology*, 96, S4.99-S4.100.

Huang, Q. (2009). Specific detection and identification of *Xylella fastidiosa* strains causing oleander leaf scorch using polymerase chain reaction. *Current Microbiolgy*, 58, 393–398.

Huang, Q., Bentz, J. & Sherald, J.L. (2006) Fast, easy and efficient DNA extraction and one-step polymerase chain reaction for the detection of *Xylella fastidiosa* in potential insect vectors. *Journal of Plant Pathology*, 88, 77–81.

Lee, R.F., Beretta, M.J.G., Derrick, K.S. & Hooker, M.E. (1992). Development of a serological assay for citrus variegated chlorosis: A new disease of citrus in Brazil. *Procedding of Florida State Horticultural Society,* 105, 32–35.

Lindow, S., Newman, K., Chatterjee, S., Baccari, C., Iavarone, A.T. & Ionescu, M. (2014). Production of *Xylella fastidiosa* diffusible signal factor in transgenic grape causes pathogen confusion and reduction in severity of Pierce's disease. *Mollecular Plant-Microbe Interactions*, 27, 244–254.

Loconsole, G., Saponari, M., Boscia, D., D'Attoma, G., Morelli, M., Martelli, G.P. & Almeida, R.P.P. (2016). Intercepted isolates of *Xylella fastidiosa* in Europe reveal novel genetic diversity. European *Journal of Plant Pathology*, 145, DOI: 10.1007/s10658-016-0894-x.

Martelli, G.P., Boscia, D., Porcelli, F. & Saponari, M. (2016). The olive quick decline syndrome in

south-east Italy: a threatening phytosanitary emergency. *European Journal of Plant Pathology*, 44, 235–243.

Mehta, A., Leite, R.P. Jr. & Rosato, Y.B. (2001). Assessment of the genetic diversity of *Xylella fastidiosa* isolated from citrus in Brazil by PCR-RFLP of the 16S rDNA and 16S-23S inter-genic spacer and rep-PCR fingerprinting. *Antonie van Leeuwenhoek*, 79, 53–59.

Minsavage, G.V., Thompson, C.M., Hopkins, D.L., Leite, R.M.V.B.C. & Stall, R.E. (1994). Development of a polymerase chain reaction protocol for detection of *Xylella fastidiosa* in plant tissue. *Phytopathology*, 84, 456–461.

Nascimento, R., Gouran, H., Chakraborty, S., Gillespie, H.W., Almeida-Souza, H.O., Tu, A., Raio, B-J., Feldstein, P.A., Bruening, G., Goulart, L.R. & Dandekar, A.M. (2016). The type II secreted lipase/esterase LesA is a key virulence factor required for *Xylella fastidiosa* pathogenesis in grapevines. *Scientific Repprts*, 6, DOI: 10.1038/srep18598.

Nigro, F., Boscia, D., Antelmi, I. & Ippolito, A. (2013). Fungal species associated with a severe decline of olive in southern Italy. *Journal of Plant Pathology*, 95, 668.

Nigro, F., Antelmi, I. & Ippolito, A. (2014). Identification and characterization of fungal species associated with the quick decline of olive. *Journal of Plant Pathology*, 96, S4-101-S4.102.

Oliveira, D.C. & de Lencastre, H. (2002). Multiplex PCR strategy for rapid identification of structural types and variants of the mec element in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus. Antimicrobial Agents Chemotherapy*, 46, 2155–2161.

Pathol., 96: 7–14.

Occhibove, F., Chapman D.S., Mastin A.J., Parnell S.S.R., Agstner B., Mato-Amboage R., Jones G., Dunn M., Pollard C.R.J., Robinson J.S., Marzano M., Davies A.L., White R.M., Fearne A. & White S.M. (2020). Eco-Epidemiological Uncertainties of Emerging Plant Diseases: The Challenge of Predicting Xylella fastidiosa Dynamics in Novel Environments. *Phytopathology*, 110, 1740- 1750.

Peroni, L.A., dos Reis, J.R.R., Della Coletta-Filho, H., de Souza, A.A., Machado, M.A. & Stach-Machado, D.R. (2008). Assessment of the diagnostic potential of immunocapture-PCR and immuno-PCR for citrus variegated chlorosis. *Journal of Microbiology Methods*, 75, 302–307.

Pierce, N.B. (1892). The California vine disease. U.S. Department of Agriculture, *Division of Vegetable Pathology Bulletin*, 2: 215 pp.

Purcell, A. & Feil, H. (2001). Glassy-winged sharpshooter. *Pestic. Outlook*, 12, 199–203.

Purcell, A. 2013. Paradigms: examples from the bacterium *Xylella fastidiosa. Annu. Rev. Phytopathol*, 51: 339–356.

Purcell, A.H. 1997. *Xylella fastidiosa*, a regional problem or global threat? *J. Plant Pathol*., 79: 99–105.

Rodrigues, J.L.M., Silva-Stenico, M.E., Gomes, J.E., Lopes, J.R.S. & Tsai, S.M. (2003). Detection and diversity assessment of Xylella fastidiosa in field-collected plant and insect samples by using 16S rRNA and gyrB sequences. Applied and Environmental Microbiology, 69, 4249–4255.

Rapicavoli J, Ingel B, Blanco-Ulate B, Cantu D, Roper C. (2018) Xylella fastidiosa: an examination of a re-emerging plant pathogen. Mollecular Plant Pathology, 19(4), 786-800.

Santoro, F., Favia, G., Valentini, F., Gualano, S., Guario, A., Percoco, A. & D'Onghia, A.M. (2014). Development of an Information Acquisition System for field monitoring of Xylella fastidiosa. Journal of Plant Pathology, 96, S4. 111.

Sanzani, S.M., Schena, L., Nigro, F., Sergeeva, V., Ippolito, A. & Salerno, M.G. (2012). Abiotic diseases of olive. Journal of Plant Pathology, 94, 469–491.

Saponari, M., Boscia, D., Nigro, F. & Martelli, G.P. (2013). Identification of DNA sequences related to Xylella fastidiosa in oleander, almond and olive trees exhibiting leaf scorch symptoms in Apulia (southern Italy). Journal of. Plant Pathology, 95, 659–668.

Saponari, M., Loconsole, G., Cornara, D., Yokomi, R.K., de Stradis, A., Boscia, D., Bosco, D., Martelli, G.P., Krugner, R.C. & Porcelli, F. (2014). Infectivity and transmission of Xylella fastidiosa by Philaenus spumarius (Hemiptera: Aphrophoridae) in Apulia, Italy. Journal of Economical Entomology, 107, 1316–1319.

Sherald, J.L. & Lei, J.D. (1991). Evaluation of a rapid ELISA test kit for detection of Xylella fastidiosa in landscape trees. Plant Disease, 75, 200–203.

Wells, J.M., Raju, B.C., Hung, H.Y., Weisburg, W.G., Mandelco-Paul, L. & Brenner, D.J. (1987). Xylella fastidiosa gen. nov., sp. nov.: gram-negative, xylem-limited, fastidious plant bacteria related to Xanthomonas spp. Internatinal Journal of Systematic Bacteriology, 37, 136–143.