

بررسی نقش پایه ژنوتیپ‌هایی از درخت "به" (*Cydonia oblonga*) بر حساسیت به بیماری آتشک

The role of some quince stock (*Cydonia oblonga*) genotypes
in susceptibility to fire blight disease

سara مهرابی‌پور^{۱*}، حمید عبداللهی^۲، نادر حسن‌زاده^۱ و ایوبعلی قاسمی^۳

۱- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران

۲- بخش تحقیقات باگبانی مؤسسه اصلاح و تهیه نهال و بذر

۳- مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان اصفهان

(تاریخ دریافت: آذر ۱۳۸۷، تاریخ پذیرش: آذر ۱۳۸۹)

چکیده

بیماری آتشک یکی از مخرب‌ترین بیماری‌های درختان میوه دار است و درخت "به" (*Cydonia oblonga*) نیز یکی از حساس‌ترین گونه‌های میزبان بیماری به حساب می‌آید. در بین روش‌های مبارزه، استفاده از ارقام مقاوم یا متحمل اقتصادی‌ترین روش می‌باشد. این تحقیق به منظور بررسی اثر پایه در تحمل به بیماری در ژنوتیپ‌های پیوندی درخت "به" انجام شد. سیزده ژنوتیپ "به" منطقه مرکزی کشور همراه با "به" رقم اصفهان روی دو پایه "به" و زالزالک پیوند و در بهار سال ۱۳۸۶ با تزریق مخلوطی از سه جدایه باکتری بیمارگر شامل Ea273 و Z1 و S1 مورد ارزیابی مقاومت به بیماری قرار گرفتند. ارزیابی‌ها بر اساس دو شاخص سرعت پیشرفت نکروز و شاخص حساسیت رقم صورت پذیرفت. روی پایه "به" رقم "به" اصفهان و ژنوتیپ SHA1 به ترتیب با ۵۷/۹ و ۹۰/۴ درصد و روی پایه زالزالک، ژنوتیپ‌های PH2 و NB3 به ترتیب با ۷۱/۵ و ۱۰۰ درصد پیشرفت نهایی نکروز کمترین و بیشترین میزان

* Corresponding author: Sara_mehrabi@yahoo.com

علائم را نشان دادند. در مجموع بررسی‌ها نشان داد که پایه زالزالک موجب افزایش شدت خسارت در ۱۱ ژنوتیپ و کاهش خسارت در سه ژنوتیپ در مقایسه با پایه "به" می‌شود. میزان تفاوت در مقاومت روی دو نوع پایه در ژنوتیپ‌های KVD3 و NB3 بیشترین و در ژنوتیپ‌های NB2 و PH2 کمترین مقدار بود. طبق نتایج در اغلب ژنوتیپ‌های "به" کاربرد پایه زالزالک نمی‌تواند عامل مؤثری در افزایش مقاومت به آتشک محسوب شود.

واژه‌های کلیدی: آتشک، درخت "به"، *Cydonia oblonga*, پایه، مقاومت.

Abstract

Fire blight caused by *Erwinia amylovora* (Burrill) Winslow *et al.* is one of the most catastrophic bacterial diseases of pome fruits. Among the various host plants, the quince (*Cydonia oblonga*) tree is one of the most susceptible hosts to the disease. Using the tolerant cultivars is the most economic method for disease control. This research was carried out in order to study the rootstock role on susceptibility of budded quince genotypes to the disease. 13 quince genotypes from central region of Iran, as well as cultivar "Isfahan" as control, were budded on quince and crataegus rootstocks and were evaluated for fire blight resistance in the greenhouse condition by using Ea273, S1 and Z1 isolates of bacteria in spring, 2007. Resistances were evaluated by necrosis progress rate and index of varietal susceptibility (I.V.S) in the shoots. On quince rootstock, the cultivar "Isfahan" and genotype SHA1 with 57.9 and 90.4% final disease progress, showed the lowest and highest symptoms respectively, while on crataegus rootstock, PH2 and NB3 genotypes with 71.5 and 100% final disease progress showed the lowest and highest symptoms, respectively. Results showed crataegus rootstock increased damage severity in 11 genotypes and decreased in other 3, compared with quince rootstock. Effect of rootstock type on the susceptibility changes in KVD3 and NB3 were the highest and in NB4 and PH2 were the lowest. According to the results in most quince genotypes, the crataegus rootstock can not be effective to increase resistance to disease.

Key words: Fire blight, quince tree, *Cydonia oblonga*, rootstock, resistance

مقدمه

بیماری آتشک (Fire blight) به ۲۰۰ گونه از ۴۰ جنس گیاهی تیره گل‌سرخیان خسارت وارد می‌کند. میزان‌های عمدۀ آن شامل جنس‌های "به" (*Cydonia*), گلابی (*Pyrus*), سیب

از گیل (*Malus*), زالزالک (*Crataegus*), پیراکانتا (*Pyracantha*) و شیرخشت (*Cotoneaster*) هستند. "به"، گلابی و سبب از حساس‌ترین میزان‌ها می‌باشند (Beer, 1979; Van der Zwet and Keil, 1979).

باکتری عامل بیماری آتشک نام دارد و به

خانواده Enterobacteriaceae تعلق دارد (Van der Zwet and Keil, 1992; Thomson, 1992).

باکتری عامل بیماری گرم منفی، دارای کپسول، تاثرک‌های محیطی و بی‌هوای اختیاری است.

بیماری آتشک برای اولین بار در اوخر قرن هجدهم در ایالت نیویورک مشاهده شد. این

بیماری در ایران برای اولین بار در سال ۱۳۶۸ بر روی درختان گلابی در منطقه برغان کرج

مشاهده شد (Zakeri & Sharifnabi, 1991). به دنبال بروز بیماری، خسارات هنگفتی به باغات

مناطق مختلف مانند آذربایجان شرقی، قزوین، زنجان، خراسان، گیلان، فارس و تهران تحمیل

گردیده است (Hassanzadeh, 1995; Zakeri and sharifnabi, 1991; Sahand pour and Ghasemi, 2004)

روش‌های متعدد مبارزه شده است ولی تاکنون هیچ کدام از این روش‌ها به عنوان روش مبارزه

قطعی مؤثر واقع نشده است. از این میان می‌توان به مبارزه شیمیایی، مبارزه بیولوژیکی، حذف

منابع زمستان‌گذران، از بین بردن بافت‌های آلوده، روش‌های به زراعی، سیستم‌های پیش‌آگاهی

و در نهایت استفاده از ارقام مقاوم و متحمل اشاره کرد (Van der Zwet and Keil, 1979).

در بین روش‌های مبارزه، اقتصادی‌ترین روش استفاده از ارقام مقاوم یا متحمل به بیماری

است. (Davoudi et al. 2000) مقاومت ۱۰۰ رقم سبب و ۴۰ رقم گلابی را نسبت به بیماری

آتشک ارزیابی نمودند که در این بررسی بر اساس شاخص حساسیت رقم، ارقام سبب در ۵

کلاس حساسیت و ارقام گلابی در دو کلاس حساسیت طبقه‌بندی شدند. همچنین

Hassanzadeh et al. (1998) مقاومت نسبی ۳۵ رقم گلابی نسبت به بیماری آتشک را ارزیابی

نمود و آن‌ها را در کلاس‌های مختلف حساسیت طبقه‌بندی کردند.

Abdollahi et al. (2008 b) مقاومت ژنتیک‌هایی از درخت "به" نسبت به بیماری آتشک

"به" را ارزیابی نمودند. در بین مواد گیاهی مورد ارزیابی، "به" رقم اصفهان با حدود ۵۰٪ و

ژنتیک SHA1 با بیش از ۹۰٪ پیشرفت نهایی نکرده به ترتیب کمترین و بیشترین حساسیت را

نسبت به بیماری داشتند. ارزیابی همبستگی صفات مختلف رویشی با تحمل به بیماری بیانگر بالاترین همبستگی بین رشد رویشی جوانه‌های جانبی با حساسیت به آتشک خصوصاً در مرحله ابتدایی استقرار بیماری در سرشاخه‌ها بود. در ارزیابی‌های باغی انجام شده توسط Abdollahi and Majidi Heravan (2005) گروه سیب‌های ارقام تیپ اسپور (۶۷/۶٪)، ارقام داخلی (۵۹/۵٪) و در نهایت ارقام خارجی (۶/۴۳٪) مشاهده شد. همچنین میزان فراوانی ارقام کاملاً مقاوم در ارقامی که از نواحی شمال شرقی کشور منشأ گرفته بودند تقریباً دو برابر ارقام منشأ گرفته از نواحی شمال غرب بود. Norelli *et al.* (2003) به ارزیابی مقاومت در ۴۹ پایه مختلف سیب پرداختند، نتایج تحقیق آنان نشان داد که برخی از پایه‌ها مانند M26 و M9 جزو حساس‌ترین پایه‌ها نسبت به بیماری آتشک هستند و برخی از پایه‌ها مانند M7 و تعدادی از پایه‌های Geneva جز مقاوم‌ترین پایه‌ها هستند. به دلیل اهمیت اقتصادی بالای میزان‌های اصلی باکتری عامل بیماری آتشک، تاکنون حساسیت ارقام مهم و موجود دو گونه سیب و گلابی در کشور به آتشک مورد بررسی قرار گرفته است (Davoudi *et al.*, 2000; Maroofi and Mostafavi, 1996). لذا با توجه به اهمیت و خسارت قابل توجه این بیماری روی درخت "به" (*Cydonia oblonga* Mill.) در کشور، انجام تحقیق به منظور مقایسه مقاومت ارقام و ژنوتیپ‌ها و بررسی نقش عامل پایه روی حساسیت رقم دارای اهمیت است. از طرفی با توجه به اینکه ارقام درخت "به" به طور عمده در کشور روی دو پایه "به" و زالزالک پیوند می‌شوند و این پایه‌ها هر کدام خصوصیات رویشی و زایشی رقم را بطور قابل توجهی تحت تأثیر قرار می‌دهند، تحقیق اخیر برای بررسی نقش پایه روی حساسیت ژنوتیپ‌های "به" نسبت به بیماری آتشک طرح‌ریزی شد.

روش بررسی

نمونه‌برداری و جداسازی: در طی فروردین و اردیبهشت سال‌های ۱۳۸۵ و ۱۳۸۶ از باغات سیب، گلابی و "به" در مناطق مختلف آلوده به بیماری آتشک شامل باغ‌های تهران، کرج، شهریار، زنجان، قزوین، لوسانات، مشهد، نیشابور، سمنان، لرستان و تبریز بازدید و از بافت‌های آلوده نمونه‌برداری انجام شد. پس از ضد عفونی سطحی نمونه‌ها از حد فاصل بافت

سالم و آلوه قسمتی جدا و توسط آب مقطر سترون سوسپانسیون باکتری تهیه شد. سوسپانسیون حاصل بر روی محیط کشت جامد LB به صورت مختلط کشت و در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد نگهداری شد. پس از دو تا سه روز پرگرهای کوچک، کرم تا شیری رنگ و محدب انتخاب شده و بر روی آنها خالص‌سازی انجام شد. در مجموع تعداد ۲۰ جدایه خالص‌سازی شد و آزمون‌های مختلف فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی برای شناسایی جدایه‌ها انجام شد.

تکثیر و نگهداری ژنوتیپ‌های "به": ژنوتیپ‌های "به" منطقه مرکزی کشور طی سال‌های ۱۳۷۷-۱۳۸۰ جمع‌آوری و شناسایی گردیده بود (Abdollahi *et al.*, 2008a). ژنوتیپ‌های شناسایی شده شامل ۱۴ ژنوتیپ و رقم (KVD1, KVD2, KM1, ET1, NB1, NB3, KVD4, PK2, SHA1, SVS1, SVS2, PH2, NB4) و "به" رقم اصفهان (KVD3) به عنوان شاهد، روی پایه‌های بذری یکنواخت "به" و زالزالک در نهالستان بخش تحقیقات با غبانی مؤسسه اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج پیوند زده شدند. در اسفند ماه سال ۱۳۸۵ زمانی که نهال‌ها یکساله شدند، از نهالستان به گلخانه بخش تحقیقات با غبانی کرج، منتقل شده و پس از رشد سرشاخه‌ها و رسیدن آن‌ها به ارتفاع ۴۵-۳۰ سانتی‌متر در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار و با شش نمونه مورد ارزیابی مقاومت قرار گرفتند.

آزمون انتخاب بیماری‌زاترین جدایه‌ها: به منظور استفاده از بیماری‌زاترین جدایه‌ها در برنامه گرینش ژنوتیپ‌های متحمل گونه "به" نسبت به بیماری آتشک، جدایه‌ها در شرایط درون‌شیشه (*In Vitro*) بر روی دو ژنوتیپ گلابی هاروسوئیت و پایرودوآرف، مورد ارزیابی قرار گرفتند. سرشاخه‌های بسیار جوان ژنوتیپ‌های مورد آزمایش بر روی محیط کشت MS در لوله‌های آزمایش قرار داده شدند و با ۱۰۰ میکرومتر از کشت‌های شب‌گذران باکتری که در سطح محیط کشت ریخته شد، آلوه شدند. بر اساس آزمایشات و بررسی‌های انجام شده با توجه به سرعت پیشرفت علائم، سه جدایه به عنوان جدایه‌های بیماری‌زاتر تحت کدھای Z1 و S1، Ea273 و Z1 انتخاب و از آن‌ها به عنوان زادمایه جهت ارزیابی مقاومت استفاده شد.

تزریق عامل بیماری و ارزیابی مقاومت: به این منظور کشت‌های شب‌گذران باکتری در محیط کشت مایع LB با کدورت ۲، در طول موج ۶۰۰ نانومتر در سانتریفیوژ رسوب داده شد،

غلظت بهینه زادمایه بر اساس آزمایش مقدماتی تعیین شده بود که در آن حداقل احتمال فرار از بیماری در سرشاخه‌ها مشاهده شده بود (Abdollahi *et al.*, 2004)، سپس محیط کشت مایع LB که باکتری در آن رشد کرده بود، از لوله فالکون خالی گردید و به جای آن رسوب باکتری توسط بافر فسفات ($\text{pH}=7$) با حجم معادل محلول اولیه، رقیق شد. زادمایه به میزان یک میلی‌لیتر به ازای هر سرشاخه تزریق شد، در هنگام تزریق زیر سر سرنگ پنهانی قرار داده شد تا زادمایه اضافی را جذب کند. پس از تزریق مایه تلقیح کف گلخانه به مدت یک ماه مرتبط نگه داشته شد به طوری که حداقل رطوبت ۸۰ درصد و دمای گلخانه بین ۲۵ تا ۳۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. برای به حداقل رساندن فرار شاخه‌ها از آلودگی در روز بعد روی همه شاخه‌های تزریق شده در روز قبل، تزریق مجدد سرشاخه‌ها برای هر دو پایه "به" و زالزالک انجام شد. ارزیابی مقاومت بر اساس سرعت پیشرفت نکروز و شاخص حساسیت رقم (I.V.S) در سرشاخه‌های مبتلا شده با آتشک تعیین شد. شاخص حساسیت رقم به صورت درصد بخش آلدود به طول کل شاخساره یکساله محاسبه شد. طبقه‌بندی ارقام در کلاس‌های مختلف حساسیت به روش Le Lezec and Paulin (1984) انجام گرفت. ارزیابی مقاومت بر اساس سرعت پیشرفت نکروز در پایه‌های "به" ۴، ۸ و ۲۲ روز بعد از مایه‌زنی و در پایه‌های زالزالک ۴، ۸، ۱۱، ۱۵ و ۲۱ روز بعد از مایه‌زنی با باکتری انجام شد.

تجزیه‌های آماری: رسم منحنی‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری Microsoft-Excel انجام شد و برای محاسبات آماری از نرم‌افزار SAS استفاده شد. به منظور تعیین شدت بیماری در ژنتیپ‌های مورد بررسی، آزمایشی به صورت طرح کاملاً تصادفی در ۳ تکرار و با ۶ نمونه انجام شد. در طرح کاملاً تصادفی، تمام واحدها شانس مساوی برای دریافت هر یک از تیمارها داشتند. این طرح زمانی مورد استفاده قرار می‌گیرد که واحدهای آزمایشی یکنواخت باشند. سه عدد روی سطر در نرم افزار SAS، عدد اول شماره تکرار، حرف دوم تیمار مورد نظر و عدد سوم درصد آلودگی را نشان می‌داد. گزاره CLASS متغیر طبقه‌بندی داده‌ها یعنی تیمار و گزاره MODEL مدل تجزیه واریانس را مشخص کرد. گزاره MEANS باعث مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون کمترین اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد شد و گزاره‌های بعدی میانگین‌ها را با استفاده از آزمون دانکن مورد مقایسه قرار داد.

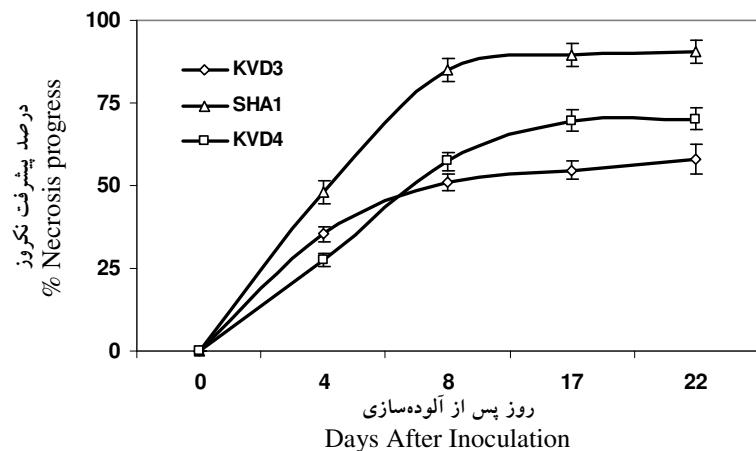
نتیجه و بحث

ارتباط سرعت پیشرفت نکروز با شاخص حساسیت رقم: در کلیه ژنوتیپ‌های پیوند شده روی هر دو نوع پایه "به" و زالزالک، پس از گذشت سه الی چهار روز از آلووده‌سازی، اولین علائم بیماری ظاهر شد. همچنین در ژنوتیپ‌های پیوند شده روی پایه "به" ۲۲ روز و در ژنوتیپ‌های پیوند شده روی پایه زالزالک ۲۱ روز پس از آلووده‌سازی با باکتری پیشرفت نکروز و گسترش علائم بطور کامل متوقف شد.

بررسی سرعت رشد بیماری در سرشاخه‌ها نشان داد که در اغلب ژنوتیپ‌های پیوند شده بر روی هر دو پایه "به" و زالزالک سرعت پیشرفت نکروز در ارتباط مستقیم با شاخص حساسیت رقم بود. به این ترتیب که ژنوتیپ‌های دارای شاخص حساسیت رقم بیشتر، سرعت پیشرفت نکروز بالاتری داشتند (شکل ۱ و ۲). تنها مورد استثناء در ژنوتیپ‌های پیوندی روی پایه "به" در رقم KVD3 دیده شد که پس از سپری شدن حدود هشت روز از آلووده سازی، پیشرفت بیماری در این ژنوتیپ کند شد (شکل ۱). در ژنوتیپ‌های پیوند شده بر روی پایه زالزالک این استثناء در ژنوتیپ NB3 مشاهده شد. به این صورت که در این ژنوتیپ تا حدود چهار روز پس از آلووده‌سازی، سرعت پیشرفت نکروز نسبتاً کند ولی پس از آن سرعت پیشرفت نکروز افزایش قابل ملاحظه‌ای یافت. در سایر ژنوتیپ‌های پیوندی روی پایه زالزالک، ژنوتیپ‌های با شاخص حساسیت رقم بیشتر، سرعت پیشرفت نکروز بالاتری داشتند (شکل ۲).

مقایسه شاخص حساسیت رقم در ژنوتیپ‌های درخت "به": مقایسه شاخص حساسیت رقم در ژنوتیپ‌های رشد یافته بر روی پایه "به" نشان داد که رقم "به" اصفهان (کد KVD3) با ۵۷/۹ درصد پیشرفت نهایی نکروز در سرشاخه‌ها کمترین میزان خسارت و ژنوتیپ SHA1 با ۹۰/۴ درصد پیشرفت نهایی نکروز، بیشترین میزان خسارت را نشان دادند (شکل ۳). مقایسه این شاخص در ژنوتیپ‌های رشد یافته بر روی پایه زالزالک نشان دهنده این مطلب بود که ژنوتیپ PH2 با ۷۱/۵ درصد پیشرفت نهایی نکروز کمترین و ژنوتیپ NB3 با صد درصد پیشرفت نهایی نکروز بیشترین میزان خسارت را متحمل شدند (شکل ۴).

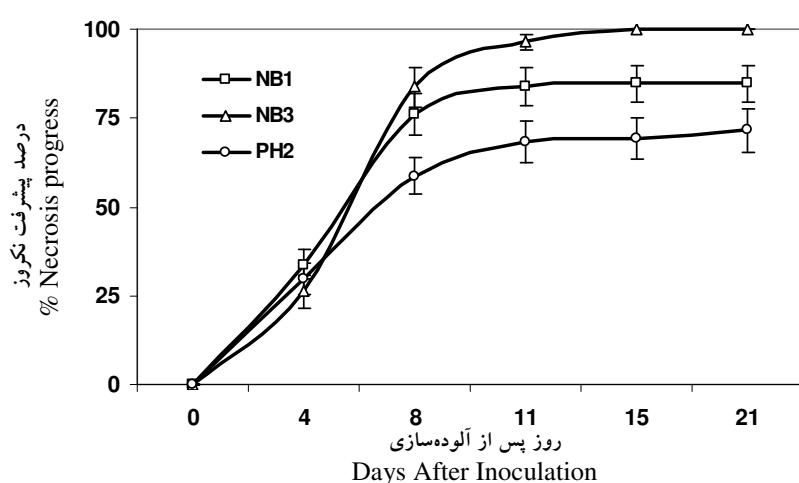
مهرابی پور و همکاران: بررسی نقش پایه ژنوتیپ‌هایی از درخت "به" بر حساسیت به بیماری آتشک



شکل ۱- مقایسه سرعت پیشرفت نکروز در سرشاخه‌های آلوده شده

برخی ژنوتیپ‌های پیوندی بر روی پایه "به"

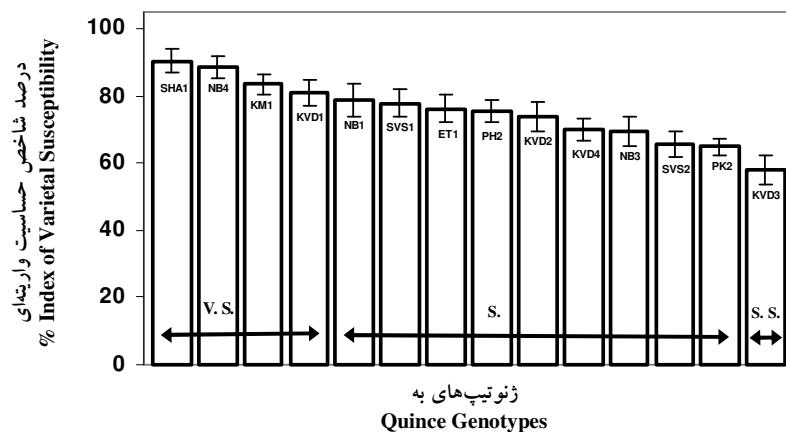
Fig. 1. Comparison of necrosis progress rate in the inoculated shoots of some budded quince genotypes on quince rootstock



شکل ۲- مقایسه سرعت پیشرفت نکروز در سرشاخه‌های آلوده شده

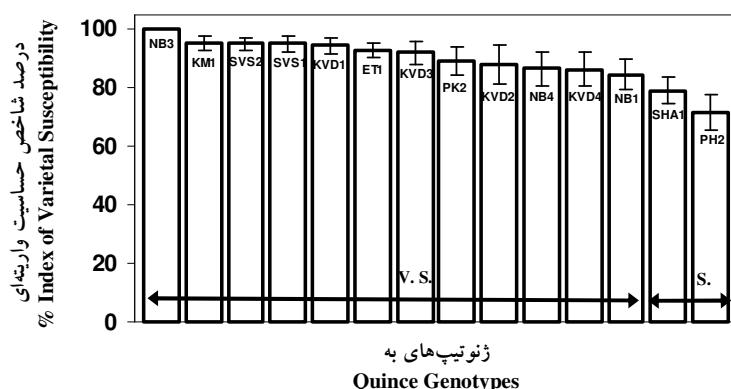
برخی ژنوتیپ‌های پیوندی بر روی پایه زالزالک

Fig. 2. Comparison of necrosis progress rate in the inoculated shoots of some budded quince genotypes on crataegus rootstock



شکل ۳- مقایسه شاخص حساسیت رقم در سرشاخه‌های آلوده شده ژنوتیپ‌های "به" پیوندی روی پایه "به". V. S.: بسیار حساس؛ S.: حساس؛ S. S.: نیمه حساس

Fig. 3. Comparison of index of varietal susceptibility in the inoculated shoots of quince genotypes budded on quince rootstock. V. S.: Very Susceptible; S.: Susceptible; S. S.: Semi Susceptible



شکل ۴- مقایسه شاخص حساسیت رقم در سرشاخه‌های آلوده شده ژنوتیپ‌های "به" پیوندی روی پایه زالزالک. V. S.: بسیار حساس؛ S.: حساس؛ S. S.: نیمه حساس

Fig. 4. Comparison of index of varietal susceptibility in the inoculated shoots of quince genotypes budded on crataegus rootstock. V. S.: Very Susceptible; S.: Susceptible; S. S.: Semi Susceptible

بر اساس نتایج به دست آمده در پایه "به" ارقام مقاوم و نیمه مقاوم دیده نشد و ژنوتیپ‌های پیوند شده بر روی این پایه در سه گروه نیمه حساس، حساس و خیلی حساس طبقه‌بندی شدند. از این میان رقم "به" اصفهان (کد KVD3) که به عنوان شاهد استفاده شده بود در گروه نیمه حساس قرار گرفت و ژنوتیپ‌های KM1، KVD1، SHA1 و NB4 در گروه خیلی حساس و سایر ژنوتیپ‌ها شامل ET1، KVD2، KVD4، NB1، NB3، PK2، PH2 و SVS1 و SVS2 در گروه حساس طبقه‌بندی شدند. در ژنوتیپ‌های پیوند شده بر روی پایه زالزالک ارقام مقاوم، نیمه مقاوم و نیمه حساس مشاهده نشد و ژنوتیپ‌های PH2 و SHA1 در گروه حساس و سایر ژنوتیپ‌ها شامل ET1، KVD2، KVD3، KVD1، KM1، NB3، NB1، PK2، NB4 و SVS2 در گروه خیلی حساس قرار گرفتند (شکل ۴).

در این تحقیق دامنه حساسیت ۵۷ تا ۹۰ درصد برای ژنوتیپ‌های پیوندی روی پایه "به" و ۷۱ تا ۱۰۰ درصد برای ژنوتیپ‌های پیوندی روی پایه زالزالک مشاهده شد که این مطلب نشان دهنده تفاوت کم حداقل و حداقلتر سطح تحمل به آتشک در درخت "به" با وجود هر نوع پایه‌ای می‌باشد. بطور کلی هرچه گونه میزبان به بیماری حساس‌تر باشد دامنه تحمل محدودتری به بیماری در ژنوتیپ‌ها و ارقام مختلف آن به بیماری مشاهده می‌شود. به این ترتیب با توجه به تحمل بیشتر درخت سیب به بیماری نسبت به دو درخت گلابی و "به"، بیشترین دامنه تفاوت در تحمل به بیماری در این گونه گزارش شده است، به نحوی که ارزیابی مقاومت نشان دهنده شاخص حساسیت رقم صفر تا ۹۸ درصد در ارقام و پایه‌های سیب بوده است (Tsiantos & Psallidas, 2004, Norelli *et al.*, 2003). گونه حساس‌تر به آتشک گلابی اروپایی (*Pyrus communis* L.) دامنه شاخص حساسیت رقم محدودتری را نسبت به گونه سیب نشان داده است (Davoudi *et al.*, 2000). به این ترتیب با توجه به اینکه پایه زالزالک نسبت به پایه "به" عمدتاً تحمل کمتری را در ژنوتیپ‌های پیوندی القا نمود دامنه تحمل روی پایه زالزالک نسبت به پایه "به" کمتر بود.

جدول ۱- تجزیه واریانس شاخص حساسیت رقم ژنوتیپ‌های "به" روی پایه "به"

Table 1. Variance analysis of Index of Varietal Susceptibility in quince genotypes budded on quince rootstock.

منابع تغییر (Sources of variation)	درجه آزادی (DF)	مجموع مربعات (SS)	میانگین مربعات (MS)	F
ژنوتیپ (Genotype)	13	19404.32	1492.641	5.25**
ژنوتیپ تکرار (Genotype*Repeat)	28	21286.58	760.235	
خطای کل (Total Error)	210	59736.42	284.461	
ضریب تغییرات (Coefficient of Variations)		22.44		

xx اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۱

جدول ۲- مقایسه میانگین شاخص حساسیت رقم ژنوتیپ‌های "به" اصفهان روی پایه "به"

Table 2. Variance analysis of Index of Varietal Susceptibility in quince genotypes budded on quince rootstock.

نام ژنوتیپ (Genotype)	درصد میانگین شاخص حساسیت رقم (% Index of Varietal Susceptibility)	گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها به روش دانکن در سطح احتمال یک درصد (Duncan Grouping of Genotypes)	گروه حساسیت (Susceptibility group)
SHA1	90.18	A	Very Susceptible
NB4	88.58	A	Very Susceptible
KM1	83.48	AB	Very Susceptible
KVD1	80.54	AB	Very Susceptible
NB1	78.67	ABC	Very Susceptible
SVS1	77.31	ABC	Susceptible
ET1	76.22	ABC	Susceptible
PH2	75.48	ABC	Susceptible
KVD2	73.71	ABC	Susceptible
KVD4	70.23	ABC	Susceptible
NB3	69.16	ABC	Susceptible
SVS2	65.63	BC	Susceptible
PK2	64.95	BC	Susceptible
KVD3	57.88	C	Semi Susceptible

مهرابی پور و همکاران: بررسی نقش پایه ژنوتیپ‌هایی از درخت "به" بر حساسیت به بیماری آتشک

جدول ۳- تجزیه واریانس شاخص حساسیت رقم ژنوتیپ‌های "به" روی پایه زالزالک

Table 3. Variance analysis of Index of Varietal Susceptibility in quince genotypes budded on crataegus rootstock.

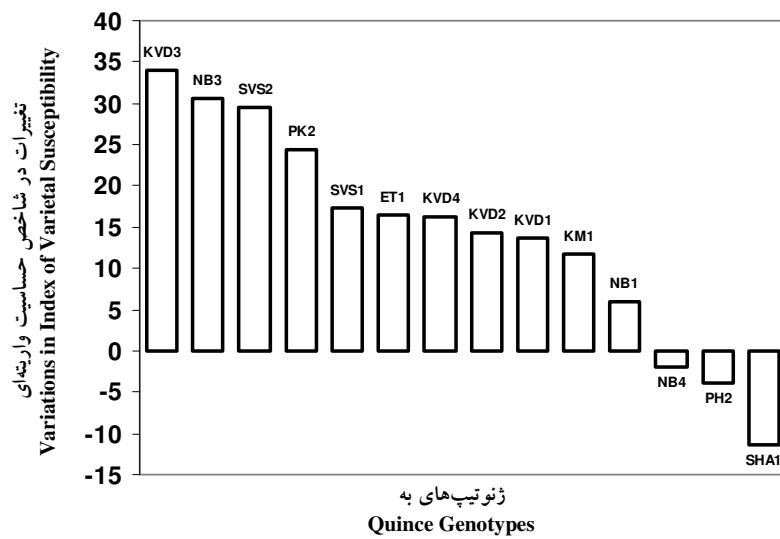
منابع تغییر (Sources of Variation)	درجه آزادی (DF)	مجموع مربعات (SS)	میانگین مربعات (MS)	F
ژنوتیپ (Genotype)	13	12987.55	999.042	3.01**
ژنوتیپ [*] تکرار (Genotype*Repeat)	28	14082	502.960	
خطای کل (Total Error)	210	69685.35	331.835	
ضریب تغییرات (Coefficient of Variations)	20.39			

٪٪ اختلاف معنی دار در سطح احتمال ٪.۱

جدول ۴- مقایسه میانگین شاخص حساسیت رقم ژنوتیپ‌های "به" اصفهان روی پایه زالزالک

Table 4. Means comparison of Index of Varietal Susceptibility in quince genotypes budded on crataegus rootstock

نام ژنوتیپ (Genotype)	درصد میانگین شاخص حساسیت رقم (% Index of Varietal Susceptibility)	گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها به روش دانکن در سطح احتمال یک درصد (Duncan Grouping of Genotypes)	گروه حساسیت (Susceptibility group)
NB3	100	A	Very Susceptible
KM1	95.64	AB	Very Susceptible
SVS2	95.09	AB	Very Susceptible
SVS1	95.03	AB	Very Susceptible
KVD1	94.47	AB	Very Susceptible
ET1	92.63	AB	Very Susceptible
KVD3	91.97	AB	Very Susceptible
PK2	89.29	AB	Very Susceptible
KVD2	88.19	ABC	Very Susceptible
NB4	86.64	ABC	Very Susceptible
KVD4	86.45	ABC	Very Susceptible
NB1	84.86	ABC	Very Susceptible
SHA1	79.15	BC	Susceptible
PH2	71.51	C	Susceptible



شکل ۵- تأثیر استفاده از پایه "به" روی تحمل ژنوتیپ‌های مختلف پیوندی نسبت به بیماری آتشک در مقایسه با پایه زالزالک. تغییرات در جهت مثبت بیانگر نقش مؤثر پایه "به" برای افزایش مقاومت و تغییرات در جهت منفی بیانگر نقش مؤثر پایه زالزالک برای افزایش مقاومت است.

Fig. 5. Effect of quince rootstock on fire blight resistance in budded quince genotypes, compared with crataegus rootstock. Positive sites in histogram show the effective role of quince rootstock to increase resistance and negative sites show the effective role of crataegus rootstock to increase resistance.

نتایج آزمون‌های تجزیه واریانس: لازم به ذکر است که در شاخه‌های مایه‌زنی شده با آب مقطر استریل و با فر فسفات، هیچ نوع علائم بیماری مشاهده نشد، لذا از ذکر نتایج شاهد صرف نظر گردید. همان‌طور که در جداول (۱، ۲، ۳ و ۴) مشاهده می‌شود، بین ژنوتیپ‌های مختلف از نظر مقاومت به بیماری آتشک، اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد وجود دارد.

بررسی نقش پایه: از مقایسه نتایج به دست آمده روی دو پایه می‌توان نتیجه‌گیری کرد که در صورت یکسان بودن ژنوتیپ‌ها، با شرایط برابر آزمایش و با وجود جدایه‌های یکسان باکتری به عنوان زادمایه، استفاده از پایه‌های مختلف می‌تواند بطور مؤثری سبب تغییر در آستانه تحمل ژنوتیپ پیوندی نسبت به بیماری آتشک شود. به این ترتیب که ژنوتیپ NB3 در

پایه زالزالک در گروه خیلی حساس طبقه‌بندی شد و پیشرفت نهایی نکروز در آن صد درصد بود، در حالی که با شرایط یکسان آزمایش بر روی پایه "به" همین ژنوتیپ در گروه حساس قرار گرفت که نشان دهنده تأثیر مثبت پایه "به" روی تحمل این ژنوتیپ به بیماری است. برخلاف ژنوتیپ NB3، ژنوتیپ SHA1 در پایه زالزالک در گروه حساس طبقه‌بندی شد در حالی که همین ژنوتیپ در پایه "به" در گروه خیلی حساس طبقه‌بندی شد. به همین ترتیب سایر ژنوتیپ‌های پیوند زده بر روی پایه‌های مختلف "به" و زالزالک از نظر حساسیت و مقاومت با یکدیگر تفاوت‌هایی داشتند (شکل ۳ و ۴).

بطور کلی ۱۱ ژنوتیپ از مجموع ۱۴ ژنوتیپ مورد آزمایش شامل: KVD1، KM1، ET1، KVD2، KVD3، KVD4، PK2، NB3، NB1، SVS1 و SVS2 بر روی پایه "به" نسبت به پایه زالزالک حساسیت کمتری به بیماری نشان دادند. تنها در سه ژنوتیپ NB4، PH2 و SHA1 مشاهده شد که کاربرد پایه "به" به ترتیب سبب افزایش ۲/۹ و ۱۱/۳ درصدی به بیماری شد (شکل ۵). مقایسه رقم "به" اصفهان (کد KVD3) پیوندی بر روی پایه "به" و زالزالک نشان داد که سطح بیماری در این ژنوتیپ زمانی که بر روی پایه "به" پیوند شده بود در حدود ۳۴ درصد کاهش می‌یابد و این میزان افزایش تحمل به بیماری در اثر نقش پایه در هیچ کدام از دیگر ژنوتیپ‌ها مشاهده نشد. شکل ۵ نشان دهنده این مطلب است که نقش مثبت پایه "به" روی افزایش تحمل رقم نسبت به بیماری آتشک در همه ژنوتیپ‌ها یکسان نبوده و در ۶ ژنوتیپ KVD1، KM1، SVS2 و PK2 افزایش تحمل بالای ۲۰ درصد، در ۶ ژنوتیپ ET1، KVD3، KVD4 و SVS1 بین ۱۰ الی ۲۰ درصد و در ژنوتیپ NB1 زیر ۱۰ درصد بود و در سه ژنوتیپ دیگر کاربرد این پایه سبب افزایش حساسیت ژنوتیپ پیوندی "به" بیماری شد. به طور کلی در دیگر گونه‌های میزان آتشک نیز نقش پایه روی حساسیت رقم پیوندی و نقش رقم پیوندی روی حساسیت پایه نسبت به بیماری آتشک (Lespinasse and Aldwinckle, 2000; Aldwinckle *et al.*, 2003) مشخص شده است. به نظر می‌رسد بیشترین تأثیر پایه روی حساسیت رقم پیوندی نسبت به بیماری از طریق تغییر در عادت‌های رشد رقم اعمال می‌شود (Lespinasse and Aldwinckle, 2000). تأثیر نوع پایه در عادت‌های رشد رقم پیوندی در درخت زیتون در صفاتی نظیر سطح برگ، ناهنجاری‌های ساقه،

قدرت رشد و شکل آوندهای آبکش (Trifilo *et al.*, 2007)، در درخت گلابی روی صفاتی نظری قدرت رشد، قطر و طول شاخساره‌ها (Kviklys and Kvikliene, 2004; Lombard and Westwood, 1987) و در درخت سیب روی صفاتی نظری رشد کلی شاخساره، وزن خشک، زاویه شاخه‌ها، زمان باز شدن جوانه‌ها، ارتفاع و رشد کلی درخت، طول میانگره و سرعت طویل شدن شاخساره‌ها (Tworkoski and Miller, 2007) نشان داده شده است.

در این تحقیق نیز مقایسه برخی خصوصیات رشد رویشی ژنتیپ‌های پیوندی "به" روی دو پایه زالزالک و "به" نشان داد که استفاده از پایه "به" در مقایسه با پایه زالزالک سبب افزایش تعداد گره، افزایش سرعت چوبی شدن، میزان رشد و فاصله میانگره شاخساره ژنتیپ‌های پیوندی شد. نوع پایه در این ژنتیپ‌ها روی زمان باز شدن جوانه‌های رویشی تأثیر چندانی نداشت. بر اساس نتایج Abdollahi and Majidi Heravan (2005) صفت سرعت چوبی شدن شاخساره همبستگی بالایی با میزان تحمل به بیماری آتشک در ارقام بومی سیب نشان داد. بطور کلی سرعت بالای چوبی شدن شاخساره‌ها بیانگر سطح بالاتر وجود مواد فنلی در بافت‌های گیاهی که پیش ساخت لیگنین در زنجیره بیوشیمیابی این ماده است می‌باشد. ارتباط میزان مواد فنلی و سطح تحمل به بیماری آتشک در ارقام متتحمل و حساس درخت گلابی مورد بررسی قرار گرفته و مشخص شده ارقام متتحمل‌تر دارای سطح بالاتری از آربوتین (Gunen *et al.*, 2005) و فعالیت بیشتری از آنزیم پلی فنل اکسیداز (Honty *et al.*, 2005) در بافت‌ها می‌باشدند. همچنین با توجه به اینکه مواد فنلی بخشی از مکانیسم‌های سیستم دفاع آنتی اکسیدانی گیاه بر علیه عوامل بیماری‌زا از جمله بیماری آتشک می‌باشند، لذا سطح بالاتر تحمل در بافت‌های واجد سرعت چوبی شدن بیشتر که طبعاً مواد فنلی بیشتری دارند چندان دور از انتظار نیست.

ارزیابی‌ها در باغ و گلخانه ثابت کرده است که همبستگی بالایی بین شاخص‌های مختلف ارزیابی به بیماری آتشک وجود دارد. به این ترتیب که شاخص فراوانی سرشاخه‌های آتشک زده با عمق پیشرفت باکتری شاخص (USDA) همبستگی در سطح احتمال ۹۹/۹ درصد را نشان داده است (Abdollahi and Majidi Heravan, 2005). بر اساس نتایج به دست آمده در تحقیق حاضر، پایه زالزالک نمی‌تواند به عنوان عامل مؤثری جهت افزایش مقاومت به بیماری

مهرابی‌پور و همکاران: بررسی نقش پایه ژنتیک‌هایی از درخت "به" بر حساسیت به بیماری آتشک

آتشک در ژنتیک‌های مختلف محسوب گردد و توصیه می‌شود در مناطق آلوده به بیماری آتشک از پایه زالزالک استفاده نشود. خوشبختانه کاربرد زالزالک به عنوان پایه برای درخت "به" در حال حاضر صرفاً در منطقه مرکزی ایران مرسوم است که این منطقه نیز عمدتاً به لحاظ شرایط اقلیمی تاکنون عاری از طغیان بیماری آتشک بوده است.*

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از کلیه محققان و کارمندان بخش تحقیقات با غبانی مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج و آزمایشگاه بیماری‌شناسی گیاهی واحد علوم و تحقیقات که در فراهم آوردن شرایط انجام این تحقیق ما را باری نمودند صمیمانه تقدیر و تشکر می‌شود.

منابع

- ABDOLLAHI, H., E. Rugini, M. Ruzzi and R. Muleo, 2004. *In vitro* system for studing the interaction between *Erwinia amylovora* and genotypes of pear. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 79: 203-212.
- ABDOLLAHI, H. and E. MAJIDI HERAVAN, 2005. Relation between fire blight resistance and different characteristics of apple (*Malus domestica* Borkh.) cultivars. Fruit Growing 17: 90-95.
- ABDOLLAHI, H., A. GHASEMI and M. ADLI, 2008a. Collecting and collection establishment of *Cydonia oblonga* Mill. Germplasm from different regions of Iran. Proceeding of the 10th Iranian congress of genetic, Plant section, Tehran, Iran. p.192.
- ABDOLLAHI, H., A. GHASEMI and S. MEHRABI POUR, 2008b. Evaluation of fire blight resistance in some quince (*Cydonia oblonga* Mill.) genotypes from central regions of

* نشانی نگارندگان: مهندس سارا مهرابی‌پور، دانشجوی کارشناسی ارشد و دکتر نادر حسن‌زاده، دانشیار گروه بیماری‌شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، صندوق پستی ۴۹۳۳، کد ۱۴۱۵۵، تهران، ایران؛ دکتر حمید عبداللهی، استادیار بخش با غبانی مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، صندوق پستی ۴۱۱۹، کد ۳۱۵۸۵، کرج، ایران؛ مهندس ایوبعلی قاسمی، محقق مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان اصفهان، صندوق پستی ۸۱۷۸۵، کد ۱۹۹، اصفهان، ایران.

- Iran. Seed and Plant 24: 529-541.
- ALDWINCKLE, H. S., N. LOGIUDICE, G. FAZIO, J. L. NORELLI, T. L. ROBINSON, H. T. HOLLERAN, and W. C. JOHNSON, 2003. Resistance of apple rootstocks to fire blight infection caused by internal movement of *Erwinia amylovora* from scion infections. Acta Hort. 663: 229-234.
- BEER, S. V. 1979. Fire blight inoculum, sources and dissemination. Phytopathology 688: 235-238.
- DAVOUDI, A., E. MAJIDI HERAVAN, H. RAHIMIAN and M. VALIZADEH, 2000. Evaluation of resistance to fire blight of some apple and pear cultivars. Proceeding of the 14th Iranian plant protection congress, Volume 2: Plant diseases and weeds, Isfahan, Iran, p. 139.
- GUNEN, Y., A. MISIRLI and R. GULCAN, 2005. Leaf phenolic content of pear cultivars resistant or susceptible to fire blight. Sci. Hort. 105: 213-221.
- HASSANZADEH, N. 1995. Fire blight of pear, apple and quince trees. Agricultural Research, Education and Extentation Organization publication, Technical issue, No. 1: 18 p.
- HASSANZADEH, N., E. MAJIDI HERAVAN and A. MAREFAT, 1998. The primarily selection of tolerant pear cultivars to fire blight of pome trees in greenhouse condition. Proceeding of the 13th Iranian plant protection congress, Volume 2: Plant diseases and weeds, Karaj, Iran, p. 245.
- HONTY, K., M. HEVESI, M. TOTH, and E. STEFANOVITIS-BANYAI, 2005. Some biochemical changes in pear fruit tissue induced by *Erwinia amylovora*. Proceedings of the 8th Hungarian Congress on Plant Physiology and the 6th Hungarian Conference on Photosynthesis 49: 127-129.
- KVIKLYS, D. and N. KVIKLIENE, 2004. Pear rootstock effect on growth, productivity and fruit internal quality. Acta Hort. 658: 359-364.
- LE LEZEC, M. and J. P. PAULIN, 1984. Shoot susceptibility to fire blight of some apple cultivars. Acta Hort. 151: 277-287.
- LESPINASSE, Y. and H. S. ALDWINCKLE, 2000. Breeding for Resistance to Fire Blight. In: J. L. Vanneste (ed.). Fire Blight: The Disease and its Causative Agent, *Erwinia amylovora*. CABI International Publishing, p. 253-273.
- LOMBARD, P. B. and M. N. WESTWOOD, 1987. Pear Rootstocks. Pp. 145-183, In R. C. Rom and R. F. Carlson. (eds.). Rootstocks for Fruit Crops, John Wiley & Sons.

- MAROOFI, A. and M. MOSTAFAVI, 1996. Evaluation of the resistance of apple, pear and quince varieties to fire blight. *Acta Hort.* 411: 395-400.
- NORELLI, J. L., H. T. HOLLERAN, W. C. JOHNSON, T. L. ROBINSON and H. S. ALDWINCKLE, 2003. Resistance of Geneva and other apple rootstock to *Erwinia amylovora*. *Plant Dis.* 87: 26-32.
- SAHAND POUR, A. and A. GHASEMI, 2004. Occurrence of the fire blight of pome trees in Fars province. Proceeding of the 16th Iranian plant protection congress, Volume 2: Plant diseases and weeds, Tabriz, Iran, p. 429.
- THOMSON, S. V. 1992. Fire Blight of Apple and Pear. Pp. 32-65, In J. Komar and H. S. Chaube (eds.). *Plant Disease of International Importance*, APS Press.
- TRIFILO` P., M. LOGULLO, A. NARDINI, F. PERNICE and S. SALLEO, 2007. Rootstock effects on xylem conduit dimensions and vulnerability to cavitation of *Olea europaea* L. *Trees* 21: 549-556.
- TSIANTOS, J. and P. PSALLIDAS, 2004. Fire blight resistance in various loquat, apple and pear cultivars and selections in Greece. *J. Plant Pathol.* 86: 227-232.
- TWORKOSKI, T. and S. MILLER, 2007. Rootstock effect on growth of apple scions with different growth habits. *Sci. Hort.* 107: 335-343.
- VAN DER ZWET, T. and H. L. KEIL, 1979. Fire blight: A Bacterial Disease of Rosaceous Plants. United States Department of Agriculture. Agricultural Handbook No.510: 650 p.
- ZAKERI, Z. and B. SHARIFNABI, 1991. Fire blight of pear in Karaj. Proceeding of the 10th Iranian plant protection congress, Kerman, Iran, p. 157.
- ZOHOUR, E. and N. RAHMANI MOGHADAM, 2004. Occurrence of fire blight in Khorasan province. Proceeding of the 16th Iranian plant protection congress, Volume 2: Plant diseases and weeds, Tabriz, Iran, p. 423.

Address of the authors: Eng. S. MEHRABI POUR and Dr. N. HASSANZADEH, Department of Plant Pathology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, P.O.Box. 4933, Tehran, 14155, Iran; Dr. H. ABDOLLAHI, Horticultural Research Department, Seed and Plant Improvement Institute, P.O.Box. 4119, Karaj, 31585, Iran; Eng. A. GHASEMI, Seed and Plant Section, Agriculture and Natural Research Center of Isfahan, P.O.Box 199, Isfahan, 81785, Iran.