

ارزیابی دانهال‌های ارقام پاکوتاه سیب جهت گزینش پایه‌های متحمل به قارچ
Phytophthora cactorum عامل بیماری پوسیدگی طوقه

Evaluation of Apple Dwarf Cultivars Seedlings for Selection of Rootstocks
Tolerant to *Phytophthora cactorum*, Causal Agent of Crown Rot Disease

سونیا سروری^۱، حسن حاج نجاری^۲، سعید رضایی^۳ و حمیدرضا زمانی‌زاده^۴

۱، ۳، ۴- به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد بیماری شناسی گیاهی، استادیار و دانشیار، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران
۲- استادیار، موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج

تاریخ دریافت: ۱۳۸۸/۲/۲ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۸/۱۰/۲۴

چکیده

سروری، س.، حاج نجاری، ح.، رضایی، س.، و زمانی‌زاده، ح. ر. ۱۳۸۹ ارزیابی دانهال‌های ارقام پاکوتاه سیب جهت گزینش پایه‌های متحمل به قارچ *Phytophthora cactorum* عامل بیماری پوسیدگی طوقه. مجله به‌نژادی نهال و بذر ۱-۲۶: ۲۰۴-۱۹۳.

پوسیدگی طوقه در برخی پایه‌های رویشی وارداتی سیب مشکل مهمی در احداث باغات نیمه‌متراکم و متراکم به شمار می‌رود. ارقام بومی پاکوتاه سیب با سازگاری به شرایط اقلیمی کشور، منبع ژنتیکی مناسبی برای گزینش ارقام متحمل به این بیماری هستند. پیش از این صفات رویشی و زایشی ارقام سیب در کرج بررسی و ارقام آرایش، زینتی، مربایی کمال‌آباد، مربائی اصفهان و رقم وارداتی نوردردن اسپای به عنوان والد انتخاب شدند. در تحقیق حاضر میوه‌های هیبرید حاصل از گرده‌افشانی آزاد ارقام فوق در سال ۱۳۸۶ جمع‌آوری و بذرگیری شد. تمام دانهال‌های ارقام فوق، در گلخانه با *Phytophthora cactorum* مایه‌زنی شدند و خسارت هر یک از نتاج در جمعیت‌های هاف سیب (half sib) یا حاصل از گرده‌افشانی آزاد با توجه به علایم ظاهری بیماری در برگ و ساقه ارزیابی شد. دانهال‌ها از نظر تحمل به پوسیدگی طوقه در شش گروه کدهی و دانهال‌های دارای تحمل شناسایی و گزینش شدند. رقم مربایی اصفهان با درصد سبز شدن بالا و ارتفاع کم به عنوان رقم پایه پاکوتاه مطلوب ارزیابی شد و تحمل مناسبی نیز به پوسیدگی طوقه نشان داد. رقم زینتی علی‌رغم درصد پائین سبز شدن، با نشان دادن صفت پاکوتاه‌کنندگی و تحمل به پوسیدگی طوقه نیز رقم مطلوبی ارزیابی شد.

واژه‌های کلیدی: سیب، ارقام بومی پاکوتاه، پوسیدگی طوقه، پایه‌ها، تحمل، دانهال.

مقدمه

جنس *Malus*، دارای تنوع زیادی است و شناسایی گونه‌ها در داخل آن آسان نیست. بشر بیش از چندین هزار سال، ارقام سیب را جمع‌آوری، جابه‌جا، دورگ‌گیری و انتخاب کرده است (Radnia, 1996). بیماری پوسیدگی فیتوفتورائی طوقه با عامل *Phytophthora cactorum* از مهم‌ترین بیماری‌های قارچی سیب است که هر ساله خسارات زیادی به نهال‌ها و درختان در نهالستان‌ها و باغات وارد می‌کند. در اثر آلودگی به بیماری پوسیدگی فیتوفتورائی به تدریج از قدرت رویشی درخت و رشد سرشاخه‌ها کاسته شده و درخت ظاهری ضعیف و پژمرده پیدا می‌کند و بعد از چند سال می‌میرد (Ashkan, 1999). این بیماری از حدود دهه ۱۹۶۰ در دنیا اهمیت پیدا کرده است. گونه *P. cactorum* از بیشتر مناطق جغرافیایی دنیا گزارش شده (Jones and Aldwinckle, 1990). تبدیل به یک مشکل اساسی و جهانی در تولید محصول سیب شده است (Latorre et al., 1997). پوسیدگی طوقه بیماری جدی پایه‌های سیب به ویژه در خاک‌هایی با زهکشی ناقص یا رطوبت بالا است. بسیاری از ارقام سیب به پوسیدگی طوقه فوق‌العاده حساس هستند و پایه‌های حساس مقاومت پیوندک را به بیماری پوسیدگی طوقه شدیداً تحت تاثیر قرار می‌دهند (رادنیا، ۱۹۹۶). جدایه‌های مختلف قارچ عامل

پوسیدگی طوقه سیب از کرج و میاندوآب توسط ارشاد در سال ۱۹۷۷، زکیئی و ارشاد در سال ۱۹۸۶، زکیئی و علوی در سال ۱۹۸۶ و نیز از آذربایجان غربی توسط ایرانی در سال ۲۰۰۶ جمع‌آوری شده‌اند (نقل از Ershad, 1992)؛ (Abbasi and Ali Abadi, 2007). برای کنترل بیماری پوسیدگی طوقه استفاده از پایه‌های متحمل، اصلاح سیستم‌های آبیاری، اصلاح و زهکشی خاک و کاهش استفاده از کودهای نیتروژن پیشنهاد شده است که مهم‌ترین آن استفاده از پایه‌های مقاوم است. نهال‌های بذری و پایه‌های مالینگ (M) که برای تکثیر استفاده می‌شوند درجات مختلفی از مقاومت به این بیماری را دارند، به عنوان مثال پایه M-9، M-26 مقاومت مناسب، M2 و M4 مقاومت متوسط، M7 و M7a حساسیت متوسط، پایه‌های مالینگ مرتنون (MM) و MM-104 حساسیت فوق‌العاده و MM-106 حساسیت زیاد دارند (Jones and Aldwinckle, 1990). در یک بررسی مقاومت نسبی پایه‌های جدید سیب سری (St-Jean-Morden) SJM و (ST-Jean-1984) SJP84 به *P. cactorum* ارزیابی شد. در این بررسی از شاخه‌های بریده شده برای بررسی مقاومت ۲۲ پایه سیب به پوسیدگی طوقه ناشی از *P. cactorum* استفاده شد. قبل از آن بیماری‌زایی چهار جدایه از قارچ عامل بیماری روی پایه‌های سیب با استفاده از شاخه‌های بریده تایید شد. در هر دو آزمایش طول زخم‌ها به عنوان معیار حساسیت در نظر

و *P. cryptogea* در خاکی که به طور مصنوعی آلوده شده بود ارزیابی شد. برای بررسی از طول زخم روی شاخه‌های بریده و ساقه استفاده شد. نتایج نشان داد که ارقام M.9 مقاوم، M.7 با مقاومت متوسط و MM.106 حساس بودند (Browne and Mircetich, 1993). در حال حاضر پایه‌های مورد استفاده در باغات سیب کشور به صورت عمده از نوع بذری هستند که این موجب کاهش کمی و کیفی محصول و افزایش هزینه‌ها می‌شود. درختان سیب روی پایه‌های بذری از سازگاری خوب برخوردارند و درصد بالای نهال‌های قابل فروش را به خود اختصاص داده‌اند (رادنیا، ۱۹۹۶) ولی مشکلات زیادی در کیفیت محصول و میزان عملکرد ایجاد می‌کنند. پایه‌های رویشی رایج در کشور، به ویژه پایه بسیار متداول MM106، علیرغم امتیازات ویژه، به دلیل حساسیت ژنتیکی موجب شیوع بیماری پوسیدگی طوقه در باغات کشور شده‌اند. ارقام بومی پاکوتاه می‌توانند والدین مناسبی برای تولید پایه‌های متحمل باشند. خصوصیات رویشی این ارقام قبلاً در شرایط کرج بررسی شده است. بر اساس نتایج ارزیابی‌های انجام شده در سال‌های ۸۶-۱۳۸۳ بر روی ۱۰۸ رقم سیب بومی و وارداتی موجود در ایستگاه تحقیقات کمال‌آباد کرج، ارقام بومی پاکوتاه و سازگار به خاک‌های سنگین و آهکی کشور شامل آرایش، زینتی، مربایی و رقم وارداتی نوردن اسپای به عنوان منابع ژنتیکی پایه و والدهای مادری مناسب شناسایی شدند (Hajnajari, 2006). انتخاب والد

گرفته شد. پایه SJM189 کمترین حساسیت را به *P. cactorum* داشت و SJP84-5162 و SJM15 حساس‌ترین پایه‌ها بودند. پایه‌های SJM188 ، SJP84-5217 ، MM.111 ، SJM127 ، SJP84-5218 و MM.106 نیز حساسیت زیادی نشان دادند (Carisse and Khanizadeh, 2006). برای ارزیابی مقاومت پایه‌های سیب به پوسیدگی ریشه، طوقه و یقه ایجاد شده توسط قارچ *Phytophthora cactorum* زیست‌سنجی روی ساقه و دانه‌های سیب انجام شد. ارزیابی مقاومت روی ساقه براساس اندازه زخم ایجاد شده بود و مشاهده شد که روی پایه MM.106 زخم‌های بزرگ‌تری ایجاد شد (Zondo et al., 2001). هیجده گونه هیبرید سیب در گلخانه برای مقاومت به پوسیدگی ریشه و طوقه ناشی از قارچ‌های *P. cactorum* ، *P. cambivora* و *P. cryptogea* مورد ارزیابی قرار گرفتند. گیاهچه‌های هفت تا نه هفته‌ای به خاکی که به طور مصنوعی با قارچ‌های مذکور آلوده شده بودند، منتقل شدند. گیاهان هر دو هفته به مدت ۴۸ ساعت غرقاب شدند و تا سه ماه بعد از انتقال از نظر شدت بیماری بررسی شدند. بر اساس نتایج بیشتر گونه‌های *Malus domestica* حساس بودند ولی *M. sargentii* دارای مقاومت نسبی بود (Browne et al., 1995). سیزده رقم سیب جهت مقاومت به پوسیدگی طوقه و ریشه ناشی از قارچ‌های *P. cambivora* ، *P. cactorum* ،

نوردن اسپای در این آزمایش‌های به‌نژادی پایه‌های سیب به دلیل بر خورداری از ژن مقاومت به *P. cactorum* بوده است (Janick et al., 1996). بررسی عوامل موثر بر پیشرفت پوسیدگی طوقه سیب نشان داده است که با افزایش سن گیاه حساسیت آن به بیماری افزایش می‌یابد. حساس‌ترین مرحله رشدی گیاه در زمان تورم جوانه‌ها تشخیص داده شده است. از سوی دیگر دمای ۱۸ تا ۲۲°C برای پیشرفت بیماری به عنوان دمای بهینه تعیین شده است، همچنین با افزایش رطوبت نسبی میزان آلودگی به بیماری افزایش می‌یابد (Gupta and Singh, 1979). این تحقیق با هدف ارزیابی میزان تحمل نتاج هاف سیب از ارقام پاکوتاه انتخابی و گزینش دانهال‌های دارای تحمل قابل قبول به بیماری پوسیدگی طوقه و شناسایی والد مناسب و متحمل به این بیماری انجام شد. ژنوتیپ‌های هیبرید هاف سیب، نتاج هیبرید به دست آمده از والد‌های مادری شناخته شده حاصل از تلاقی‌های گرده‌افشانی آزاد (Open pollinated) ارقام انتخابی هستند.

مواد و روش‌ها

با توجه به نتایج تحقیقات قبلی ارقام پاکوتاه محلی آرایش، زینتی، مربایی کمال‌آباد، مربایی اصفهان و نوردن اسپای از میان ارقام کلکسیون بخش باغبانی برای بذرگیری انتخاب شدند. در سال ۱۳۸۶، در ارقام پاکوتاه انتخابی

فوق یک هفته قبل از رسیدن میوه‌های حاصل از گرده‌افشانی آزاد چیده و بذرگیری از آنها انجام شد. بذرها ابتدا شستشو و سپس در سایه خشک شدند. پس از سه هفته نگهداری در پاکت در دمای محیط، به سردخانه منتقل شدند. با آماده شدن خزانه در نهالستان و مساعد بودن شرایط اقلیمی بذرها در گلدان‌های بزرگ کاشته و در زمستان سرمادهی را در شرایط طبیعی گذراندند. حدود سه ماه پس از سبز شدن، دانهال‌های جوان مربوط به هر رقم به گلدان‌های انفرادی، به ارتفاع ۲۰ و قطر ۱۰ سانتی‌متر منتقل و سپس در گلخانه با دمای کنترل شده ۲۰°C در موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر نگهداری شدند. تعداد بذر هر یک از پنج توده بذری در دست آزمایش قبل از کاشت شمارش شد، پس از سبز شدن بذرها، با شمارش دانهال‌های بذری سبز شده نسبت به کل دانهال‌های کاشته شده، درصد سبز شدن آنها محاسبه شد. در طول مدت رشد دانهال‌ها با یادداشت برداری‌های منظم ارتفاع دانهال‌ها، تعداد برگ سالم و سوخته، و آنتوسیانین اندازه‌گیری شد. همزمان با مدیریت دانهال‌ها در گلخانه، اقدام به جداسازی سوش‌های قارچی فیتوفترا شد. جدایه‌های قارچ عامل بیماری پوسیدگی طوقه از باغ‌های آلوده در منطقه طرق مشهد و کمال‌آباد کرج تهیه شد. نمونه برداری از قسمت طوقه درختان با علائم مشهود و با تراشیدن پوست درخت و برداشت بافت بین قسمت سالم و آلوده انجام شد. نمونه‌ها به آزمایشگاه بیماری‌شناسی

کشت حاوی میسلیموم زیر پوست قرار داده شد و روی آن پارافیلیم کشیده شد. شاخه‌ها به سه گروه تقسیم شدند که در هر گروه برای هر جدایه چهار تکرار و چهار شاخه هم به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. در تیمار شاهد از محیط کشت فاقد میسلیموم استفاده شد. شاخه‌های گروه اول در دسیکاتور مرطوب قرار داده شدند. گروه دوم در ظرفی با شرایطی شبیه دسیکاتور که برای همین منظور تهیه شده بود و گروه سوم در یک ظرف به صورتی قرار داده شدند که انتهای شاخه‌ها در آب قرار قرار گیرند. پس از بیست روز شاخه‌ها بررسی و طول زخم‌های ایجاد شده روی آن‌ها اندازه گرفته شد (Utkhede and Quamme, 1988)؛ (Carisse and Khanizadeh, 2006).

آزمون بیماری‌زایی روی میوه سیب هم انجام شد. در این مورد نیز از محیط کشت حاوی میسلیموم و برای شاهد محیط کشت فاقد میسلیموم استفاده شد. مقداری از پوست میوه سیب به همراه مقدار کمی از گوشت میوه با اسکالپل کنار زده شد و محیط حاوی قارچ زیر آن قرار داده شد و سپس توسط وازلین اندود شد. برای هر جدایه چهار تکرار و برای شاهد نیز چهار میوه در نظر گرفته شد. سیب‌ها درون کیسه پلاستیکی و در انکوباتور در دمای 25°C قرار داده شدند. برای تهیه اینوکولوم، قارچ *P. cactorum* روی بذر ذرت استریل شده تکثیر شدند. به این صورت که دانه‌های ذرت از ۲۴ ساعت قبل خیسانده شد، سپس حدود ۱۰۰

واحد علوم و تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی منتقل شدند و در محیط کشت انتخابی BNPRAH (بنومیل ۵۰٪، ۲۰ mg، نیستاتین mg ۲۵، ۲۵ mg PCNB، ۵۰ mg، ریفامپین سیلین ۱۰ g، آمپی سیلین ۵۰۰ mg، هایمکسازول ۲۰ mg، محیط کشت آرد ذرت-آگار یک لیتر) کشت و در انکوباتور با دمای 25°C و تاریکی قرار داده شدند. شش جدایه به دست آمد. پس از رشد میسلیموم‌های قارچی شبیه به فیتوفترا، خالص‌سازی به روش کشت نوک ریشه (Hyphal tip culture) و با استفاده از محیط آب آگار یک درصد انجام شد و کشت‌های خالص به محیط کشت CMA درون لوله انتقال داده شدند. از بذر شاهدانه و محیط کشت سیب‌زمینی دکستروز آگار (PDA) برای تولید اندام‌های تولیدمثل قارچ استفاده شد. اندازه‌گیری ابعاد این اندام‌ها انجام شد و به کمک نرم‌افزار آنالیز تصویری، اقدام به اندازه‌گیری قطر و اندازه ۵۰ عدد آوگونوم، آسپور و اسپورانژیوم، ضخامت دیواره آسپور، ضخامت آنتریدی و ارتفاع پاپیل شد. جدایه‌ها با استفاده از کلید شناسایی استامپ و همکاران (Stamps et al., 1990) شناسایی شدند.

آزمون بیماری‌زایی برای همه جدایه‌ها انجام شد و این آزمون روی شاخه‌های بریده سیب حساس به بیماری (پایه مالینگ مرتون ۱۰۶) و میوه سیب در آزمایشگاه انجام شد، به این صورت که قسمتی از پوست شاخه‌های بریده شده به طول ۲ تا ۳ سانتی‌متر برداشته و محیط

مختلف از نظر شدت تحمل به بیماری پوسیدگی طوقه طبقه‌بندی و کددهی شدند. بیماری از صفات کیفی استفاده شد ولی به هر کدام عددی داده شد صورت کمی درآیند، از این اعداد در آزمون فریدمن (Friedman) استفاده شد و ارزیابی مقاومت این پنج رقم در ۱۸ زمان، با استفاده از نرم‌افزار SPSS انجام شد. همچنین درصد تلفات در هر رقم با استفاده از تعداد دانه‌های خشک شده نسبت به کل دانه‌ها برای بررسی تکمیلی محاسبه شد.

نتایج و بحث

برای شناسایی جدایه‌ها از کلید شناسایی استامپ و همکاران (۱۹۹۰) استفاده شد. در این کلید اندام‌های جنسی فاکتور مهمی برای شناسایی به شمار می‌روند. قارچ روی محیط کشت آگاردار رشد نسبتاً سریع داشت. کلونی‌های قارچ تقریباً صاف و یا کمی پرزدار، گرد با حاشیه‌ای صاف، شعله‌ای، شعاعی و یا گل‌سرخ نامنظم بودند. ریشه‌ها در محیط کشت یکنواخت و تقریباً ظریف و اغلب محتوی آن‌ها دانه دانه‌ای بود. عرض ریشه‌ها متغیر بوده و بین ۴ تا ۷ میکرومتر بود. انشعابات اکثراً با زاویه قائمه بوده، شاخه‌های فرعی در محل انشعاب باریک شده و سپس به فاصله کمی آماس کرده بودند (Ershad, 1992; Stamps et al., 1990). اسپورانژیوفرها ساده بوده و اسپورانژیوم‌ها اغلب کروی و دارای پاییل بزرگ نیم کروی بودند. اندازه اسپورانژیوم‌ها

گرم بذر ذرت در ارلن ریخته شد و سه روز متوالی اتوکلاو شد و روز بعد قطعه‌هایی از حاشیه کشت تازه سه جدایه بیماریزای قارچ، از هر جدایه به میزان مساوی و به صورت مخلوط به هر ارلن اضافه شد. ارلن‌ها در دمای 25°C و در تاریکی نگه‌داری شدند. پس از حدود یک ماه مایه قارچ آماده شد (Alexander and Stewart, 2001). دانه‌های مورد ارزیابی در شرایط گلخانه کنترل شده بخش تحقیقات باغبانی در موسسه تحقیقات نهال و بذر در گلدان‌هایی که خاک آن‌ها با استفاده از بذر آلوده شده ذرت آلوده شده بود کاشته شدند. در هر گلدان ۹ عدد بذر آلوده ذرت در خاک پای هر گیاهچه قرار داده شد و برای گلدان‌های شاهد نیز از ۹ عدد بذر ذرت آلوده نشده در خاک پای گیاهچه استفاده شد. پس از مایه‌زنی برای فعالیت بهتر قارچ، گیاهچه‌ها به مدت ۲۴ ساعت غرقاب شدند (Browne et al., 1995). برای بررسی میزان خسارت و ارزیابی حساسیت و سطح تحمل ارقام آزمایشی دانه‌ها به مدت چهار ماه بررسی شدند، در مدت یادداشت‌برداری دمای گلخانه روی $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ تنظیم شد. علائمی به صورت پژمردگی برگ‌ها، فروافتادن و در نهایت سبز خشک شدن گیاه در این مدت هر سه روز یک بار یادداشت‌برداری شد (Alexander and Stewart, 2001). شدت خسارت هر یک از نتاج در جمعیت‌های هاف سیب تحت آزمایش ارزیابی و در شش گروه

روز روی شاخه‌های مایه‌زنی شده در محل مایه‌زنی و اطراف آن نکروز و قهوه‌ای شدن بافت مشاهده شد ولی شاخه‌های شاهد فاقد هرگونه زخمی بودند. در آزمون بیماری‌زایی روی میوه سیب نیز پس از دو روز علائم پوسیدگی نرم در اطراف محل مایه‌زنی به خوبی مشهود بود ولی شاهد‌ها سالم ماندند. در ارزیابی دانه‌ها، بذره‌های ارقام مربایی اصفهان و پس از آن آرایش بیشترین درصد سبز شدن را نشان دادند (جدول ۱). ارقام زینتی و مربایی اصفهان به ترتیب دارای کمترین میانگین ارتفاع (بیشترین پاکوتاه‌کنندگی) بودند (جدول ۱). ارزیابی دانه‌ها از نظر شدت خسارت فیتوفتورا براساس گروه‌های تعریف شده انجام شد (جدول ۲) که بر اساس آن نتایج رقم زینتی بیشترین سطح تحمل به پوسیدگی طوقه را نشان دادند و علاوه بر این به عنوان پاکوتاه‌ترین جمعیت ارزیابی شد. رقم مربایی اصفهان تحمل خوبی نسبت به پوسیدگی طوقه داشت ولی رقم نوردن اسپای حساس ارزیابی شد. دانه‌های شاهد فاقد علائم مذکور بودند.

براساس مطالعه علائم مشاهده شده بیماری، بر تمام ژنوتیپ‌های موجود در هر جمعیت از نتایج متعلق به هر یک از والد‌های مادری و علایم مشاهده شده در آزمون بیماری‌زایی نوع و شدت خسارت تعریف و طبقه‌بندی شد. ارزیابی دانه‌ها به کمک جدولی که در آن گیاهان از نظر شدت خسارت به شش کلاس سطح تحمل تفکیک شدند انجام شد (جدول ۲). ارزیابی

۶۹/۲ - ۵۰/۷۷ × ۶۹/۴۴ - ۴۷/۲۴ و قطر اسپورانژیوم ۵۹/۸۲ میکرومتر بود. متوسط ارتفاع ۵۰ عدد پاپیل ۲/۱۴ میکرومتر بود. اسپورانژیوم‌ها تمایز یافته و تولید زئوسپور کرده بودند.

از آنجایی که قارچ هموتال بوده لذا در کشت‌های تک ریشه اعضای جنسی نر (آنتریدی) و ماده (اُوگونیوم) تشکیل شده بودند. اُوگونیوم‌ها کروی شکل با دیواره صاف بودند و اندازه اُوگونیوم‌ها بین ۲۷/۵۸ تا ۳۹/۵۶ میکرومتر و قطر متوسط ۳۴/۶۸ میکرومتر بود. آنتریدی‌ها اغلب به صورت پارازن و به ندرت آمفیژن در نزدیکی پایه اُوگونیوم به آن چسبیده بود. متوسط ضخامت آنتریدی ۱۲/۴۲ میکرومتر بود. اُسپوره‌های کروی شکل با دیواره صاف دیده شدند که تقریباً تمام اُوگونیوم را پر کرده بودند. اندازه اُسپورها بین ۱۹/۶۴ تا ۳۱/۴۴ میکرومتر و قطر متوسط آن‌ها ۲۳/۲۸ میکرومتر بود. ضخامت دیواره اُسپورها بین ۱/۲۳ تا ۲/۸۸ میکرومتر و اندازه متوسط ۲/۱۷ میکرومتر بود. با توجه به مشخصات ذکر شده و مطابقت دادن آن‌ها با کلید استامپ و همکاران (۱۹۹۰)، گونه قارچ *Phytophthora cactorum* تشخیص داده شد.

در آزمون بیماری‌زایی سه جدایه برای تهیه مایه و مایه‌زنی دانه‌ها انتخاب شد. مایه‌زنی با مخلوط جدایه‌ها انجام شد. در آزمون بیماری‌زایی به روش شاخه‌های بریده، پس از ۲۰

جدول ۱- درصد سبزشدن و میانگین ارتفاع گیاه در پنج توده بذری حاصل از گرده‌افشانی آزاد در ارقام انتخابی سیب

Table 1. Germination percentage and plant height mean in open pollinated descendents of five seed populations obtained from selected apple cultivars

رقم Cultivars	درصد سبزشدن Germination (%)	ارتفاع گیاه Plant height (cm)
Azayesh	16.23	11.44
Morabbaei Isfahan	20.38	6.01
Morabbaei Kamalabad	1.66	6.79
Northern Spy	13.71	9.49
Zinati	6.49	5.54

جدول ۲- کدهای مربوط به شدت خسارت پوسیدگی طوقه
Table 3. Ranking of crown rot severity

Symptoms	علائم	کد شدت خسارت Severity codes
Resistant and healrhy	سالم و مقاوم	1
Less symptoms and beginning of chlorosis	علائم بسیار ضعیف و شروع کلروز	2
Complete chlorosis, wilting and beginning of green drying	کلروز کامل، پژمردگی و شروع سبز خشکی	3
Leaf browning in 1/3 of leaves	قهوه‌ای شدن یک سوم برگ‌ها	4
Leaf browning in 2/3 of leaves	قهوه‌ای شدن دو سوم برگ‌ها	5
Complete drying of leaves and stem	خشکیدگی کامل برگ‌ها و ساقه	6

دانهال‌ها در مقاطع زمانی سه روزه و در ۱۸ مطالعه در سطح احتمال ۵٪ اختلاف معنی‌داری زمان انجام شد و تجزیه داده‌ها با استفاده از آزمون فریدمن نشان داد زمان‌ها بین ارقام مورد افزایش یافت (جدول ۳). نتایج آزمون فریدمن

سیب از جمله MM106 و آرایش که از طریق غیرجنسی تکثیر شده بودند در موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر قبلاً ارزیابی و گزارش شده بود که پایه MM106 به بیماری پوسیدگی طوقه حساسیت شدیدی دارد (Dastjerdi *et al.*, 2008). پایه مذکور جهت آزمون بیماری زایی در این آزمایش به عنوان رقم حساس استفاده شد. تاکنون کار مشابهی در کشور به روش گزینش دانه‌ها از والد‌های با خصوصیات ارزیابی شده انجام نشده است. نتایج گزینش مقدماتی از بین ژنوتیپ‌های حاصل از گرده‌افشانی آزاد ارقام والد انتخابی پاکوتاه نشان داد که رقم زینتی به عنوان رقم سیب بومی کشور سطح بالایی از تحمل به پوسیدگی طوقه را دارد و علاوه بر این دارای ویژگی پاکوتاه‌کنندگی در بیشترین سطح بین جمعیت‌های بذری در دست آزمایش بود. بنابراین رقم زینتی می‌تواند به عنوان منبع ژنتیک مطلوب و ایده‌آل برای تولید پایه‌های متحمل به بیماری پوسیدگی طوقه و پاکوتاه‌کننده مورد استفاده قرار گیرد. نکته بسیار مهم دیگر حاصل این پژوهش این بود که ثابت شد سطح تحمل ژنتیکی هر سه رقم بومی کشور شامل مربایی، آرایش و زینتی از نوردردن اسپای بالاتر است. بر اساس گزارش سایر محققین در جهان رقم نوردردن اسپای به عنوان رقمی با تحمل بالا به پوسیدگی طوقه در دنیا شناخته می‌شود (Janick *et al.*, 1996). نتایج تحقیق حاضر نشان داد که ژنوتیپ‌های بومی کشورمان منابع ناشناخته ارزشمندی در مقاومت به بیماری

در ۱۸ زمان نشان داد که در مجموع رقم نوردردن اسپای دارای بیشترین میزان خسارت (۸۲/۸۴) حساس‌ترین رقم و زینتی با داشتن کمترین میزان خسارت (۱۹/۶۶) متحمل‌ترین رقم بود (جدول ۳). درصد نهال‌های خشک شده (درصد تلفات) که در آخرین زمان یادداشت برداری محاسبه شد به ترتیب در رقم نوردردن اسپای ۷۸/۳۷٪، آرایش ۶۹/۲۳٪، مربایی کمال‌آباد ۵۵/۵۵٪، مربایی اصفهان ۵۴/۱۹٪ و زینتی ۵۳/۱۲٪ بود.

این تحقیق با هدف گزینش مقدماتی پایه‌های مقاوم از بین دانه‌های بذری هاف سیب از پنج جمعیت ژنتیکی متفاوت که والد مادری دارای صفت کوتاه‌کنندگی و سازگاری خوب با خاک‌های کشور بود، انجام شد. با مایه‌زنی مصنوعی قارچ عامل بیماری به دانه‌ها گروهی از آن‌ها به دلیل حساسیت حذف شدند و تعداد معدودی دانه‌ها مقاوم باقی ماند که می‌توان از هر جمعیت با تکثیر غیرجنسی پایه‌های رویشی مقاوم تولید کرد. البته این تحقیق تا این مرحله فقط پیش‌گزینی دانه‌های مقاوم بود و جمعیت‌های متحمل باقی مانده، هنوز در موسسه نهال و بذر کرج برای مایه‌زنی مجدد که به علت تکرار آزمایش و بررسی تحمل دانه‌ها با افزایش سن آن‌ها انجام می‌شود و نیز برای بررسی‌های بعدی شامل آزمون‌های سهل ریشه‌زایی، و سازگاری پایه و پیوندک حفظ شده‌اند.

سطح تحمل یازده رقم از پایه‌های رویشی

جدول ۳- ارزیابی مقاومت ارقام سیب در زمان‌های ۱ تا ۱۸ به منظور تعیین حساس‌ترین و متحمل‌ترین رقم به بیماری پوسیدگی طوقه با استفاده از مجموع نتایج حاصل از آزمون فریدمن و تعیین معنی‌دار بودن تفاوت‌های بین ارقام در زمان‌های مختلف یادداشت‌برداری

Table 3. Evaluation of resistance of apple cultivars in temporal intervals 1 to 18 and determination of more susceptible and tolerant cultivar to crown rot disease using total of Friedman test's results and defining significant correlation between cultivars and different recording times

Cultivar	t1	t2	t3	t4	t5	t6	t7	t8	t9	t10	t11	t12	t13	t14	t15	t16	t17	t18	Total
Northern Spy	5	5.00	4.67	3.67	4	4.33	3.67	5	5.00	5.00	5.00	4	5.00	5.00	5.00	4.17	5	4.33	82.84
Azayesh	4	4.00	4.33	5.00	5	4.67	5.00	4	4.00	4.00	4.00	3	3.67	3.00	3.00	3.67	3	2.67	70.01
Morabbaei Kamalabad	3	2.67	3.00	3.33	3	3.00	3.33	3	2.33	2.67	2.33	5	2.83	3.33	2.33	2.00	1	2.00	50.15
Morabbaei Isfahan	2	2.33	2.00	1.67	2	2.00	2.00	2	2.67	2.33	2.67	2	2.50	2.67	3.67	4.17	4	4.67	47.35
Zinati	1	1.00	1.00	1.33	1	1.00	1.00	1	1.00	1.00	1.00	1	1.00	1.00	1.00	1.00	2	1.33	19.66
Asymp.sig.	0.038*	0.017*	0.041*	0.031*	0.043*	0.029*	0.017*	0.022*	0.022*	0.022*	0.017*	0.022*	0.022*	0.017*	0.027*	0.022*	0.022*	0.017*	

*: معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد.

*: Significant at 1% probability level.

پوسیدگی طوقه هستند. استفاده از این پایه‌های پاکوتاه بومی باعث افزایش تراکم کاشت می‌شود و علاوه بر آن با سازگاری بالا به شرایط آب و هوایی و خاک کشور و تحمل به بیماری پوسیدگی فیتوفترایی طوقه، عملکرد محصول در واحد سطح را افزایش داده و هزینه‌های تولید کاهش می‌یابد و باعث بالا بردن کیفیت محصول در باغات می‌شود. در آزمایش‌های تکمیلی بعدی باید گزینش نهایی سطح تحمل در ژنوتیپ‌های گزینش شده و نیز آزمون سهل ریشه‌زایی بر آنان انجام شود.

References

- Abbasi, M., and Ali Abadi, 2007.** Catalogue of reported fungi in abstracts articles in 12th to 17th Iranian Plant Protection Congress (1995-2006). Iran Plant Protection Research Institute, Tehran, Iran. 202 pp. (in Farsi).
- Alexander, B. J. R., and Stewart, A. 2001.** Glasshouse screening for biological control agents of *Phytophthora cactorum* on apple (*Malus domestica*). New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science 29: 159-169.
- Ashkan, M. 1999.** Apple and Pear Diseases. Markaz Nashr-e-Daneshgahi, Tehran, Iran. 392 pp. (in Farsi).
- Browne, G. T., and Mircetich, S. M. 1993.** Relative resistance of thirteen apple rootstocks to three species of Phytophthora. Phytopathology 83: 744-749.
- Browne, G. T., Mircetich, S. M., and Cummins, J. N. 1995.** Relative resistance of eighteen selections of *Malus* spp. to three species of Phytophthora. Phytopathology 85: 72-76.
- Carisse, O., and Khanizadeh, S. 2006.** Relative resistance of newly released apple rootstocks to *Phytophthora cactorum*. Canadian Journal of Plant Science 86: 199-204.
- Dastjerdi, R., Damyar, S., and Farhadnejad, A. 2008.** Evaluation of apple vegetative rootstocks for resistance to *Phytophthora cactorum*. Proceedings of the 18th Iranian Plant Protection Congress. Bu Ali Sina University, Hamedan, Iran. Page 88. (in Farsi).
- Ershad, J. 1992.** Phytophthora Species in Iran (Isolation, Purification, Identification). Agricultural Research, Education and Extension Organizatin, Tehran, Iran. 217 pp. (in Farsi).
- Gupta, V. K., and Singh, K. 1979.** Factors affecting the development of collar rot (*Phytophthora cactorum*) of apple. Gartenbauwissenschaft 44: 29-32.

- Hajnajari, H. 2006.** Genetic variability of the most important vegetative and productive characters within 108 apple cultivars. Proceedings of the 9th Iranian Genetics Congress. Milad Hospital. Tehran, Iran. Page 141 (in Farsi).
- Janick, J., Cummins J. N., Brown, S. K., and Hemmat, M. 1996.** Apples. pp. 1- 77. In: Fruit Breed, Volume I: Tree and Tropical Fruits
- Jones, A. L., and Aldwinckle, H.S. 1990.** Compendium of Apple and Pear Diseases. APS Press, USA.
- Latorre, B. A., Rioja, M. E., and Wilcox, W. F. 1997.** Root and crown rot of apple. Revista Frutícola 18: 97-103.
- Radnia, H. 1996.** Rootstocks for Fruit Crops. Nashr-e Amuzesh-e-Keshavarzi, Karaj, Iran. 637 pp.(in Farsi).
- Stamps, D. J. , Waterhouse, G. M. , Newhook, F. J., and Hall, G. S. 1990.** Revised tabular key to the species of *Phytophthora*. C.A.B International Mycological Institute, No. 162, Wellingford, UK.
- Utkhede, R.S., and Quamme, H. A. 1988.** Use of the excised shoot assay to evaluate resistance to *Phytophthora cactorum* of apple rootstock cultivars. Canadian Journal of Plant Science 68: 851-857.
- Zondo, T., Labuschagné, I., and Denman, S. 2001.** Apple rootstock resistance against crown, collar and root rot (*Phytophthora cactorum*): the way ahead. Deciduous Fruit Grower 51: 12-13.

