مجله به‌نژادی نهال و بذر
جلد ۱-۲۶ ، شماره ۳، سال ۱۳۸۹

# ارزیابی مقاومت نسبی یازده پایه سیب به پوسیدگی طوقه ناشی از قارچ *Phytophthora cactorum*

# Evaluation of Relative Resistance in Eleven Apple Rootstocks to Crown Rot Caused by *Phytophthora cactorum*

رعنا دستجردی[۱] و سیما دامیار[۲]

۱ و ۲- به ترتیب مربی و محقق، موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج.

**تاریخ دریافت: ۱۳۸۸/۴/۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۸/۸/۱۴**

## چکیده

**دستجردی، ر.، و دامیار، س. ۱۳۸۹** ارزیابی مقاومت نسبی یازده پایه سیب به پوسیدگی طوقه ناشی از قارچ *Phytophthora cactorum*. **مجله به‌نژادی نهال و بذر ۱-۲۶:** ۳۱۱ - ۲۹۷.

**در سال‌های ۱۳۸۴ و ۱۳۸۵ میزان مقاومت نسبی یازده نوع پایه رویشی سیب به بیماری پوسیدگی طوقه ناشی از قارچ *Phytophthora cactorum* به صورت فاکتوریل با دو فاکتور نوع پایه‌های سیب و سال، در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار و چهار گیاه در هر واحد آزمایشی بررسی شد. کلیه پایه‌ها به جز مربائی به طریق رویشی تکثیر شدند. پس از تهیه زادمایه قارچ، ارزیابی میزان مقاومت پایه‌های سیب به پوسیدگی طوقه در گلدان‌هائی که خاک آن‌ها به طور مصنوعی آلوده شده بود انجام شد. سه ماه پس از مایه‌زنی، مقاومت پایه‌ها با اندازه‌گیری طول زخم در ناحیه طوقه، مساحت شانکر ایجاد شده، درصد حلقه‌برداری طوقه و میزان مرگ ومیر نهال‌ها ارزیابی شد. تجزیه واریانس مرکب نشان داد که اثر پایه بر میانگین صفات اندازه‌گیری شده در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود. پایه MM106 با میانگین مساحت زخم ۴/۷۲ سانتی‌مترمربع، میزان حلقه‌برداری طوقه۸۹/۳۳ درصد، میانگین طول شانکر ۵/۲۸ سانتی‌متر و ۸۳/۳۳ درصد مرگ‌ومیر نهال‌ها بالاترین میزان حساسیت را نشان داد. در مقایسه با این پایه، پایه‌های M9، آزایش و CK1 تا حد زیادی مقاوم و پایه‌های مربائی و MM111 نیمه حساس بودند. پایه‌های گمی آلماسی و CK2 نیمه مقاوم و پایه‌های B9، M27 و M26 تحمل نسبی در برابر قارچ داشتند. اثر متقابل سال و پایه بر صفات مذکور معنی‌دار نبود.**

**واژه‌های کلیدی: پایه‌های سیب، پوسیدگی طوقه، *Phytophthora cactorum*، مقاومت نسبی.**

نویسنده مسئول: rdastjerdi@yahoo.com

**مقدمه**

پوسیدگی طوقه ناشی از قارچ فیتوفترا *Phytophthora* spp. از مهم‌ترین بیماری‌های خاکزاد درختان سیب است. این بیماری که از بیشتر مناطق مناسب برای رشد درختان سیب گزارش شده است، سبب زوال تدریجی و مرگ درختان در باغات و مناطق آلوده می‌شود (Browne and Mircetich, 1988؛ Janick *et al.*, 1996). خسارت سنگین به پایه‌های سیب ناشی از قارچ فیتوفترا، اولین بار در سال ۱۹۲۵ از کالیفرنیا گزارش شد (Rose and Lindegren, 1925). در حال حاضر نیز پوسیدگی طوقه و ریشه از عوامل اولیهٔ ایجاد زوال و مرگ درختان میوه در شمال امریکا محسوب می‌شود. اگر چه گونه‌های *P. cryptogea*، *P. cactorum*، *P. cambivora*، *P. drechsleri*، *P. megasperma*، *P. Parasitica*، *P. genapodyides* و چندین گونهٔ ناشناخته از قارچ فیتوفترا به عنوان عامل پوسیدگی طوقه و ریشه درختان سیب گزارش شده‌اند (Smith *et al.*, 1990؛ Lattore *et al.*, 2001)، ولی در تحقیقات انجام شده برای جداسازی عامل بیماری از درختان بیمار در بیشتر موارد گونه *P. cactorum* از درختان سیب آلوده جداسازی و شناسایی شده است (Jeffers and Aldwinckle, 1988). در حقیقت *P. cactorum* ضمن آن که از نظر جغرافیایی، وسیع‌ترین پراکنش را در باغات سیب داشته، در آزمون‌های بیماریزایی نیز از جملهٔ بیماریزاترین عوامل قارچی درختان سیب بوده و از این رو سیب از قدیمی‌ترین میزبان‌های این گونه معرفی شده است (Smith *et al.*, 1990). در ایران نیز این قارچ اولین بار در سال ۱۹۷۷ توسط ارشاد (Ershad, 1992) از طوقه و میوهٔ سیب جداسازی شد. بر اساس مطالعات بنی‌هاشمی (Banihashemi, 1995a,b)، قارچ *P. cactorum* عامل پوسیدگی طوقه و زوال تدریجی درختان سیب در استان فارس بوده است. اگر چه فیتوفترا گاهی به عنوان عامل پوسیدگی یقه، طوقه و ریشه (Collar, Crown and Root rot) از درختان گلابی جداسازی و گزارش شده است (Elean and Paplomatas, 1999)، اما این بیمارگر به ندرت درختان گلابی را مورد حمله قرار می‌دهد.

بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه درختان سیب، مخصوصاً در مناطقی که خاک زهکشی مناسبی ندارند، سبب مرگ درختان کاملاً بزرگ می‌شود. هر چند کنترل شیمیایی بیماری تا حدودی امکان‌پذیر است، لیکن کاربرد سموم شیمیایی ضمن بالا بردن هزینه های تولید، مشکلات زیست محیطی را نیز در بردارد. در مدیریت تلفیقی آفات و بیماری‌ها، کاربرد پایه‌های مقاوم سیب از مهم‌ترین راهکارهای کنترل بیماری محسوب می‌شود. در این میان استفاده از پایه‌های پاکوتاه شناخته شده وارداتی و به خصوص پایه‌های پاکوتاه محلی به دلایلی

از جمله سازگاری با اقلیم منطقه، جلوگیری از خطر ورود آفات و بیماری‌ها به داخل کشور، صرفه‌جوئی در هزینه‌های تولید و نیز امکان استفاده از این پایه‌ها در سیستم‌های کاشت متراکم باغات سیب بسیار حائز اهمیت است (Ghasemi, 2003).

نتایج مطالعات مختلف نشان داده که تنوع موجود در ژرم‌پلاسم سیب بالا بوده و درجات متفاوتی از مقاومت به *P. cactorum* در بین آن‌ها مشاهده شده است. شناسایی، توارث و استفاده از مقاومت ژنتیکی در برابر قارچ *P. cactorum* در بین سلکسیون‌های جنس مالوس (*Malus* spp.) ارزیابی و مورد تحقیق قرار گرفته است. برای مثال مقاومت نسبی هجده سلکسیون از سیزده گونه و هیبرید جنس مالوس، به سه گونهٔ مختلف از قارچ فیتوفترا (*P. cambivor*، *P. cryptogea*، *P. cactorum*) در منطقه کالیفرنیا مورد بررسی قرار گرفت (Browne *et al*., 1995). محققین در بین سلکسیون‌های مورد بررسی، شش سلکسیون بسیار مقاوم به *P. cactorum* معرفی شد و *M. halliana*، *M. magdeburgensis* و *M. sargentii* به هر سه گونه قارچ مقاوم بودند. تنوع مشابهی نیز در بررسی پایه‌های رویشی سیب به گونه‌های قارچ فیتوفترا مشاهده شد.

مقاومت نسبی سیزده نوع پایه سیب به سه گونه از قارچ فیتوفترا در شرایط کنترل شده و با استفاده از سه روش مختلف بررسی شد. در آزمایش‌های انجام شده در خاک آلوده به قارچ *P. cactorum*، متوسط آلودگی در پایه‌های M9، MARK، Bud118 و Bud9 ۱۱-۲ درصد بود. پایه‌های MM106، Ant313 و دانهال‌های *Malus domestica*، ۹۶-۷۴ درصد آلودگی نشان دادند. این دو پایه به عنوان پایه‌های بسیار حساس به بیماری معرفی شدند. قارچ *P. cambivora* تنها ۹ درصد آلودگی را در پایه‌های MARK و Bud118 ایجاد کرد. پایه‌های Bud9، M7 و P18 تحمل متوسط داشتند و میانگین آلودگی در سایر پایه‌ها ۹۸-۴۷ درصد بود. درآزمایش‌های انجام شده با قارچ *P. cryptogea*، بیشتر پایه‌ها مقاومت نسبی نشان دادند و متوسط پوسیدگی ریشه در آن‌ها ۱۰-۱ درصد برآورد شد. میزان آلودگی در پایه‌های M4، MM111، Ant 313 و P18، ۴۲-۱۸ درصد بود (Browne and Mircetich, 1993). این آزمایش‌ها نشان داد که مقاومت پایه‌های مختلف سیب به قارچ فیتوفترا بسته به گونه قارچ و روش ارزیابی مقاومت متفاوت است. زوندو و همکاران (Zondo *et al*., 2001) در بررسی مقاومت پایه‌های سیب به جدایه‌های مختلف *P. cactorum* نشان دادند که همه جدایه‌های قارچی جمع‌آوری شده از مناطق مختلف بر روی پایه‌های سیب بیماریزا بودند اما شدت بیماریزائی آن‌ها متفاوت بود.

نتایج تحقیقات مختلف بیانگر آن است که درجه حساسیت پایه‌های سیب در فصول مختلف سال فرق می‌کند، به گونه‌ای که

پایه‌ها در طول تابستان حساسیت بیشتری در برابر بیماری نشان می‌دهند. همچنین مطالعات مختلف، اثر معنی‌دار حجم زادمایه اولیه و سن گیاه را بر میزان حساسیت پایه‌های سیب به اثبات رسانده است (Zondo *et al*., 2007؛ Zondo *et al*., 2001؛ Browne and Mircetich, 1993؛ Krober and Kranatz, 1979). براون و میرستیچ (Browne and Mircetich, 1993) در مطالعات خود نشان دادند هنگامی که نهال‌های ده ماهه سیب *Malus domestica* به خاک آلوده با قارچ *P. cryptogea* منتقل شدند، مقاومت نسبتاً بالائی در برابر قارچ نشان دادند، اما بیان مقاومت در دانهال‌های ۷-۵ هفته‌ای بسیار اندک و تقریباً ناچیز بود. آن‌ها چنین نتیجه‌گیری کردند که مقاومت دانهال با بالا رفتن سن گیاه افزایش می‌یابد، اما کروبر و همکاران ( Krober and Kranatz, 1979) در تحقیقات خود بر روی درختان چند ساله سیب، گسترش بیشتر قارچ بر روی درختان ده ساله را در مقایسه با درختان چهار ساله به اثبات رساندند.

ارزیابی مقاومت هفت پایه سیب به قارچ *P. cactorum* در کرت‌های آزمایشی برای اولین بار نشان داد که می‌توان مقاومت به *P. cactorum* را با استفاده از مایه‌زنی مصنوعی قارچ در شرایط باغ نیز بررسی کرد (Utkhede *et al*., 2002). در مطالعه مذکور پایه‌های B9، J9، P2، M9 و M26 کمترین حساسیت را به قارچ عامل پوسیدگی طوقه نشان دادند، اما هیچ یک از پایه‌ها کاملاً مقاوم گزارش نشدند.

در سال ۲۰۰۶، بررسی مقاومت نسبی بیست و دو پایه جدید سیب به پوسیدگی طوقه ناشی از قارچ *P. cactorum* با استفاده از روش شاخه بریده انجام شد. در این آزمون طول زخم نکروز، به عنوان معیار حساسیت پایه‌ها در نظر گرفته شد. نتایج نشان داد که پایه SJM189 کمترین حساسیت و پایه‌های SJP84-5162 و SJM15 بیشترین حساسیت را در برابر قارچ عامل بیماری داشتند. در این تحقیق هیچ کدام از پایه‌های مورد بررسی مقاومت کاملی را از خود نشان ندادند (Carisse and Khanizadeh, 2006).

در ایران تاکنون تحقیق در خصوص مقاومت پایه‌های سیب به قارچ فیتوفترا انجام نشده است. پژوهش‌های انجام شده در مورد پایه‌های سیب نشان داده که پایه‌های محلی پاکوتاه ایرانی از جمله گمی آلماسی، آزایش و مربایی با داشتن خصوصیاتی مشابه با پایه‌های رویشی پاکوتاه اصلاح شده خارجی می‌توانند به عنوان پایه پاکوتاه در تکثیر ارقام داخلی سیب به کار روند (Ghasemi, 2003). از این رو این مطالعه به منظور بررسی و مقایسه میزان مقاومت برخی پایه‌های تجاری سیب با سه پایه محلی پا کوتاه در شرایط سیب‌کاری کشور انجام شد.

**مواد و روش‌ها**

**تهیه مواد گیاهی و زادمایه قارچ**

مواد گیاهی مورد نیاز جهت اجرای طرح، نهال‌های یک ساله سیب از یازده نوع پایه مختلف بودند که در سال‌های ۱۳۸۳ و ۱۳۸۴ به طریق رویشی و با استفاده از قلمه‌های خشبی و نیمه‌خشبی یا به روش خوابانیدن کپه‌ای یا شیاری در گلخانه و نهالستان بخش تحقیقات باغبانی موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر تکثیر شدند.

علیرغم اعمال تیمارهای هورمونی مختلف، تکثیر رقم مربائی از طریق قلمه نیمه‌خشبی و خشبی امکان‌پذیر نشد، از این رو تکثیر این رقم از طریق بذر انجام شد. به منظور رفع نیاز سرمائی بذرها، تعداد ۳۰۰ عدد بذر مربائی در سردخانه با دمای ۱±۴ °C به مدت ۷۰-۶۰ روز و در تاریکی مطلق (Browne and Mircetich, 1988) قرار گرفتند. پس از آن، بذرهای جوانه زده به گلدان‌های پلاستیکی حاوی مخلوط خاک باغچه، ماسه و کود حیوانی (به نسبت ۱:۱:۱ ) منتقل و مراقبت‌های لازم در خصوص دانهال‌های مذکور اعمال شد.

جدایه قارچ *P. cactorum* که در تابستان ۱۳۸۲ از طوقه درختان سیب پایه MM106 در اطراف شیراز (حومه قلات) جداسازی شده بود، در زمستان ۱۳۸۲ توسط آقای دکتر ضیاءالدین بنی‌هاشمی، استاد بیماری‌شناسی بخش گیاهپزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز جهت مطالعات مقاومت در اختیار طرح قرار گرفت.

مایه قارچ در فلاسک‌های حاوی گندم ضدعفونی شده تهیه شد (Banihashemi and Moradi, 2004). برای این منظور ۶۰ گرم بذر گندم پس از شستشو، در یک فلاسک ۲۵۰ میلی‌لیتری محتوی آب به مدت ۲۴ ساعت خیسانده شد. پس از حذف آب اضافی، محتویات فلاسک در سه روز متوالی هر بار به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۱۲۱°C و فشار ۱/۲ اتمسفر سترون شد و سپس از حاشیه پرگنه سه روزه قارچ رشد یافته در محیط PDA (Potato Dextrose Agar)، هشت دیسک ۸-۶ میلی‌متری برداشته و به هر فلاسک اضافه شد. فلاسک‌ها در انکوباتوری با حرارت ۲۵°C و تاریکی مطلق قرار گرفتند. پس از ۴-۳ هفته، رشد و تکثیر قارچ بر روی گندم به خوبی انجام و مایه قارچ آماده مایه‌زنی بود.

**مایه‌زنی طوقه و ارزیابی مقاومت پایه‌ها در خاک**

آزمایش به صورت فاکتوریل با دو فاکتور نوع پایه ( در ۱۱ سطح) و سال، در پایه طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار و چهار گیاه در هر واحد آزمایشی، در اوائل شهریور ماه سال‌های ۱۳۸۴ و ۱۳۸۵ در گلخانه بخش تحقیقات باغبانی، موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر در کرج انجام شد. به منظور مایه‌زنی طوقه در پایه‌های یک ساله سیب، ابتدا خاک سترون شده هر گلدان تا منطقه ریشه کنار زده شد.

سپس حدود ۵۰ میلی‌گرم مایه قارچ دور طوقه نهال‌ها اضافه شد. برای گلدان‌های شاهد از گندم عاری از قارچ استفاده شد. پس از مایه‌زنی، سوراخ زهاب گلدان‌ها توسط پارافین مسدود و گلدان‌ها به مدت ۲۴ ساعت با آب در حالت اشباع نگهداری شدند. با سپری شدن این زمان سوراخ زهاب باز شد. ده روز پس از مایه‌زنی و پس از آن هر دو هفته یکبار برای تحریک، تولید و آزادسازی زئوسپورهای قارچ، خاک هر گلدان به مدت ۲۴ ساعت به صورت غرقابی آبیاری شد. زهاب گلدان‌ها پس از آبیاری، جمع‌آوری شده و جهت ردیابی و بررسی حضور قارچ فیتوفترا در خاک، از طعمه برگ مرکبات (Banihashemi, 1995b) استفاده شد. گلدان‌ها در طی آزمایش درون زیر گلدانی پلاستیکی قرار گرفتند و سعی شد با اضافه کردن آب به زیر گلدانی‌ها خاک آن‌ها مرطوب باقی بماند. در بین مراحل غرقاب کردن، گلدان‌ها متناسب با نیاز آن‌ها آبیاری شدند. دمای گلخانه در طول مراحل آزمایش بین ۳۰-۱۸ °C متغیر بود.

پس از مایه‌زنی، گلدان‌ها روزانه مورد بازدید قرار گرفته و ظهور و پیشرفت بیماری به صورت زردی، پژمردگی، خشکی و مرگ نهال‌ها یادداشت‌برداری شد. حدود سه ماه پس از مایه‌زنی، نهال‌هائی که علائمی از بیماری و خشکیدگی را نشان دادند به طور کامل از خاک خارج شده و ریشه آن‌ها با آب کاملاً تمیز شد. طول زخم ناشی از پوسیدگی طوقه، مساحت شانکر ایجاد شده، درصد حلقه‌برداری طوقه (Girdling) و درصد مرگ ومیر نهال‌ها تعیین شد (Browne *et al.*, 1995؛ Browne and Mircetich, 1993). طوقه برخی از نهال‌های بیمار به طور تصادفی برای جداسازی مجدد عامل بیماری به آزمایشگاه منتقل شد. نهال‌های بدون نشانه‌های بیماری، تا شروع فصل رویشی جدید در گلخانه نگهداری شدند و علائمی در آن‌ها مشاهده نشد. با آغاز فصل رویشی، طوقه برخی از این نهال‌ها مورد بازبینی قرار گرفت. آزمایش‌های ارزیابی مقاومت، دو سال پی در پی اجرا شد و نتایج مشابهی به دست آمد. نتایج دو آزمون، ترکیب و به صورت مرکب مورد تجزیه آماری قرار گرفت.

**نتایج و بحث**

نام و مشخصات پایه‌های سیب استفاده شده در این آزمایش در جدول ۱ تشان داده شده‌اند.

علائم بیماری روی نهال‌های مایه‌زنی شده بعد از ۲۱-۱۸ روز به صورت زردی، پژمردگی برگ‌ها و خشکیدگی شاخه‌ها نمایان شد. میزان پوسیدگی طوقه در گلدان‌های شاهد که با گندم عاری از قارچ مایه‌زنی شده بودند، بسیار ناچیز بود. به منظور یکپارچه‌سازی واریانس داخل میانگین تیمارها، هر جا که لازم بود عمل نرمال کردن داده‌ها با استفاده از تبدیل داده (Transformation)انجام شد. نتایج تجزیه واریانس مرکب داده‌ها در دو سال آزمایش و

جدول ۱- پایه‌های سیب انتخاب شده برای ارزیابی مقاومت به *Phytophthora cactorum*

Table 1. Selected apple rootstocks for evaluation of resistance to *Phytophthora cactorum*

| پایه<br>Rootstock | محل تهیه گیاه مادری<br>Area of mother plant | | روش تکثیر<br>Propagation method | |
|---|---|---|---|---|
| M26 | Khorasan (Torogh) | خراسان (طرق) | Mound layring | خوابانیدن کپه‌ای |
| M27 | Khorasan (Torogh) | خراسان (طرق) | Mound layring | خوابانیدن کپه‌ای |
| M9 | Karaj | کرج | Mound layring | خوابانیدن کپه‌ای |
| B9 | Karaj | کرج | Mound layring | خوابانیدن کپه‌ای |
| CK1* | Russia | روسیه | Semi hardwood/ Hardwood cutting | قلمه نیمه‌خشبی و خشبی |
| CK2* | Russia | روسیه | Semi hardwood/ Hardwood cutting | قلمه نیمه‌خشبی و خشبی |
| Gami almasi | Uromieh | ارومیه | Semi hardwood/ Hardwood cutting | قلمه نیمه‌خشبی و خشبی |
| Azayesh | Isfahan | اصفهان | Mound layring | خوابانیدن کپه‌ای |
| Morabbaei | Karaj | کرج | Seed | بذر |
| MM106 | Khorasan (Torogh) | خراسان (طرق) | Mound layring | خوابانیدن کپه‌ای |
| MM111 | Khorasan (Torogh) | خراسان (طرق) | Mound layring | خوابانیدن کپه‌ای |

* پایه‌های CK1 و CK2 برای اولین بار به تعداد محدود توسط بخش تحقیقات باغبانی موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر از کشور روسیه وارد شده‌اند.

* CK1 and CK2 were entered to Iran from Russia for the first time by Seed and Plant Improvement Institute .

در پایه‌های مختلف سیب در جدول ۲ نشان داده شده است.

بر اساس نتایج تجزیه واریانس مرکب، اثر پایه بر صفات اندازه‌گیری شده در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود (جدول ۲). اکثر پایه‌ها در هر دو سال تکرار آزمون، عکس‌العمل‌های یکسان و مشابهی را در برابر بیماری نشان دادند. بیشترین میزان پوسیدگی و بروز علائم در پایه MM106 مشاهده شد. در این پایه میانگین مساحت زخم ۴/۷۲ سانتی‌مترمربع، درصد حلقه‌برداری طوقه ۸۹/۳۳، میانگین طول شانکر ۵/۲۸ سانتی‌متر و درصد مرگ و میر نهال‌ها ۸۳/۳۳ بود (شکل ۱). پایه MM106 از جمله پایه‌های رویشی متداول سیب در ایران است. اگر چه این پایه به دلیل نیمه پاکوتاهی و عدم پاجوش‌دهی مورد توجه فراوان باغداران قرار گرفته، اما حساسیت فوق‌العاده زیادی به قارچ فیتوفترا دارد (Browne and Mircetich, 1993؛ Jeffers and Aldwinckle, 1988). در این پژوهش حدود سه هفته پس از مایه‌زنی، اولین علایم در پایه MM106 به صورت پژمردگی انتهایی ظاهر شد. مقایسه مساحت زخم و پیشرفت طولی بیماری بر روی طوقه نهال‌های

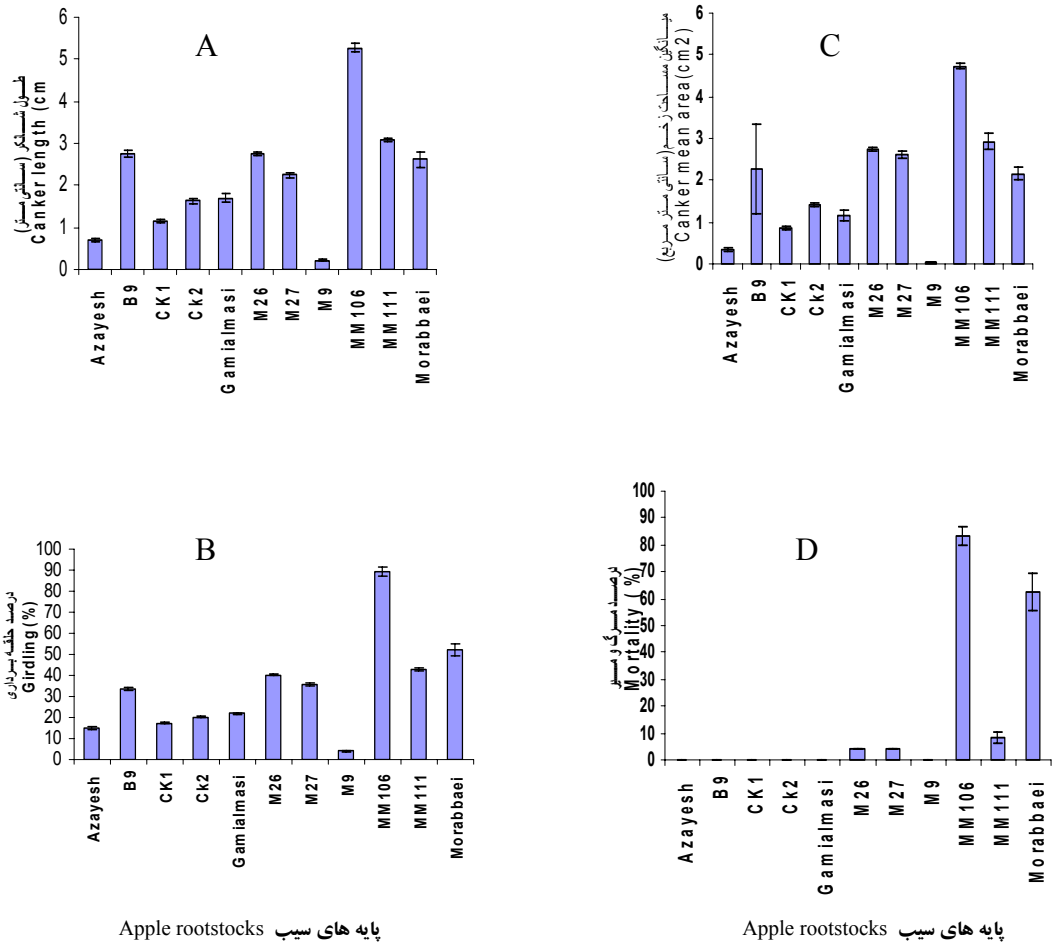
جدول ۲- تجزیه واریانس اثر سال، نوع پایه و اثر متقابل آن‌ها بر صفات اندازه‌گیری شده بیماری
Table 2. Variance analysis for the effects of year, rootstock and their interactions on measured characteristics of disease

| S.O.V. | منابع تغییرات | درجه آزادی df. | میانگین مربعات MS | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | طول شانکر Canker length (cm) | میانگین مساحت زخم Canker mean area ($cm^2$) | درصد حلقه‌برداری طوقه Crown girdling (%) | درصد مرگ و میر Mortality (%) |
| Year | سال | 1 | 0.09 $^{ns}$ | 0.004 $^{ns}$ | 0.09 $^{ns}$ | 0.79 $^{ns}$ |
| Year (rep) | خطای سال | 4 | 0.34 | 0.080 | 0.32 | 1.97 |
| Rootstock | پایه | 10 | 11.36$^{**}$ | 1.210$^{**}$ | 22.77$^{**}$ | 52.07$^{**}$ |
| Rootstock × Year | پایه × سال | 10 | 0.08 $^{ns}$ | 0.005 $^{ns}$ | 0.02 $^{ns}$ | 1.00$^{ns}$ |
| Error | خطا | 40 | 0.30 | 0.021 | 0.28 | 2.79 |
| Total | کل | 65 | | | | |
| CV% | ضریب تغییرات | | 25.30 | 9.70 | 9.63 | 71.8 |

$^{ns}$ و **: به ترتیب غیر معنی دار و معنی دار در سطح احتمال ۱٪.

$^{ns}$ and **: Not significant and significant at 1% probability level, respectively.

MM106 نیز نشان داد که بیشترین مساحت زخم مربوط به این پایه است. بسیاری از گلدان‌های MM106 در جریان آزمایش از بین رفتند، درحالی که علائم بیماری در سایر پایه‌های مورد مطالعه به صورت کاهش رشد، رنگ‌پریدگی برگ‌ها و پژمردگی نمایان شده و درصد مرگ ومیر نهال‌ها درآن‌ها اندک و یا در برخی موارد صفر بود. هر چند برخی محققین نسبت مرگ و میر نهال‌ها را در جریان آزمایش‌های گلخانه‌ای به عنوان شاخص مقاومت یا حساسیت گیاه به قارچ *P. cactorum* معرفی کرده‌اند (Banihashemi and Moradi, 2004؛ McIntosh, 1968)، اما در این تحقیق میزان مرگ ومیر در برخی از پایه‌ها که از تحمل نسبی برخوردار بودند (مثل B9)، صفر بود. این نتیجه با نتایج براون و همکاران (Browne *et al*., 1995) مطابقت دارد. مطالعات مختلف نشان داده است که سن و بلوغ گیاه اثر معنی‌داری بر میزان حساسیت پایه در برابر قارچ دارد (Zondo *et al*., 2001؛ Zondo *et al*., 2007؛ Browne *et al*., 1995؛ Krober *et al*., 1979؛ Browne and Mircetich, 1993) در مطالعات انجام شده بر روی دانهال‌های سیب به قارچ عامل پوسیدگی طوقه، دانهال‌ها در مرحله ۳-۲ هفتگی (۳-۲ برگی شدن)، زمانی که بافت طوقه و هیپوکوتیل ریشه از نظر مورفولوژیکی نابالغند،




شکل ۱- اجزاء مقاومت نسبی یازده پایه سیب به پوسیدگی طوقه ناشی از *Phytophthora cactorum*

Fig. 1. Relative resistance of eleven apple rootstocks to crown rot caused by *Phytophthora cactorum*

A- طول پوسیدگی طوقه( طول عمودی زخم ناشی از پوسیدگی طوقه )

A. Crown rot length (vertical length of crown rot lesions)

B- درصد حلقه برداری طوقه( برآورد چشمی از گسترش جانبی زخم در پیرامون طوقه)

B. Percent of crown rot girdling ( visual estimates of lateral extent of crown lesions around crown circumference)

C- میانگین مساحت زخم

C. Canker mean area

D- درصد مرگ و میر نهال ها

D. Mortality (%)

* بارهای عمودی خطای استاندارد از میانگین را نشان می دهند.

* Vertical bars indicate +/- standard error of mean

مورد ارزیابی مقاومت قرار گرفته و شده است (McIntosh, 1968؛ لذا همواره مرگ و میر نهال‌ها شاخص Banihashemi and Moradi, 2004)، اما در مقاومت و حساسیت در نظر گرفته پژوهش حاضر تماس قارچ با پایه‌های سیب

برای اولین بار زمانی انجام شد که نهال‌ها یکساله بوده و بافت بیرونی طوقه کاملاً سخت و لیگنینی شده بود. این موضوع بیانگر آن است که بافت طوقه در پایه‌های یکساله از نظر مورفولوژیکی شباهت بیشتری به گیاهان کامل داشته و لذا بیان مقاومت یا حساسیت در آن‌ها می‌تواند تا حدودی قابل تعمیم باشد. شباهت بیشتر بافت گیاه در نهال‌های بزرگ‌تر از ۹-۷ هفته‌ای به درختان بالغ، موجب شده است تا همواره اصلاح‌گران پایه‌های درختان میوه، گیاهان را در این مرحله مورد ارزیابی مقاومت قرار دهند (Browne *et al*., 1995). به علاوه به نظر می‌رسد مرگ و میر نهال با حساسیت پایه نیز رابطه نزدیکی دارد، به طوری که در مطالعه حاضر اکثر پایه‌های MM106 به دلیل حساسیت زیاد، در طول آزمایش از بین رفتند. به دلیل تاخیر در توقف رشد، ریزش برگ و شروع دوره خواب در درختانی که بر روی پایه MM106 قرار دارند، مقاومت پایه مذکور به سرمای زمستان اندک است (Ferree and Carlson, 1987). با توجه به نقش سرمای زمستانه در ایجاد زخم و گسترش بیماری پوسیدگی طوقه (Bus, 1994) و همچنین حساسیت این پایه (MM106) به *P. cactorum*، استفاده از آن در مناطقی با زمستان‌های سرد و یا در زمین‌های آلوده به هیچ وجه قابل‌توصیه نیست.

پایه‌های MM111، M26، M27 و B9 به ترتیب نیمه‌حساس بودند. در مقایسه با این پایه‌ها، میانگین مساحت زخم، درصد حلقه‌برداری طوقه و طول شانکر در پایه‌های M9، آزایش، CK1، گمی آلماسی و CK2 اندک بود (شکل ۱).

پایه M9 ضمن دارا بودن صفات مطلوب نظیر زود باردهی، مقاومت بسیار بالائی را در برابر قارچ *P. cactorum* از خود نشان داد، به گونه‌ای که در طول آزمایش، علائم بسیار اندکی از بیماری در این پایه شد. این نتیجه با نتایج دیگر محققین تطابق کامل داشت (Browne and Mircetich, 1993). پایه‌های پا کوتاه آزایش و CK1 به همراه پایه M9 علائم خفیفی از بیماری را نشان دادند. میانگین مساحت زخم در این پایه‌ها به ترتیب ۰/۰۵، ۰/۳۵ و ۰/۸۴ سانتی‌مترمربع و درصد حلقه‌برداری طوقه در آن‌ها ۴، ۱۵ و ۱۷/۵ بود. پایه‌های CK2 و گمی آلماسی نیز نیمه‌مقاوم ارزیابی شدند. بررسی‌های انجام شده نشان داده است که پایه‌های محلی آزایش و گمی آلماسی همانند پایه M9 دارای خاصیت پاکوتاه‌کنندگی و القاء زودباردهی در درختان پیوندی هستند (Ghasemi, 2003). این پایه‌ها مقاومت خوبی را نیز در برابر سرمای زمستانه از خود نشان دادند. با توجه به حساسیت بسیار زیاد پایه M9 به بیماری آتشک (Fire blight) و شته مومی (Bus, 1994) و همچنین نیاز این پایه به خاک‌های حاصلخیز، استفاده از پایه‌های محلی مذکور در مناطقی از کشور که خطر سرمای زمستانه و به دنبال آن آلودگی طبیعی، پایه‌های

سیب را تهدید می‌کند، قابل توصیه است. کاربرد پایه‌های پا کوتاه محلی به دلائلی از جمله سازگاری با اقلیم منطقه، کاهش احتمال ورود آفات و بیماری‌ها به داخل کشور، صرفه‌جوئی در هزینه‌های تولید و نیز امکان استفاده از آن‌ها در سیستم‌های کاشت باغات متراکم سیب بسیار حائز اهمیت است. تکثیر و رشد رویشی پایه CK1 نیز در شرایط گلخانه بسیار مطلوب است. بنابراین بررسی خصوصیات و ارزیابی میزان سازگاری این پایه‌ها در شرایط اقلیمی کشور ما همچنان نیازمند تحقیقات جامع و گسترده‌ای است.

در تحقیق براون و میرستیچ (Browne and Mircetich, 1993) پایه M26 به همراه تعدادی دیگر از پایه‌های مورد آزمایش، مقادیر متوسطی از پوسیدگی طوقه را در برابر قارچ *P. cactorum* نشان دادند. در این پژوهش نیز پایه‌های M27 و B9 به همراه پایه M26 پاسخ مشابهی را در برابر قارچ عامل بیماری از خود نشان داده و از تحمل نسبی برخوردار بودند. پایه MM111 نیز مانند پایه‌های MM106 و مربائی، نیمه حساس ارزیابی شدند. در تحقیقات انجام شده بر روی پایه MM111، این پایه همواره حساسیت نسبی به قارچ *P. cactorum* نشان داده است (Browne and Mircetich, 1993)، اما با توجه به مقاومت پایه MM111 در برابر خشکی خاک و شرایط نامساعد و همچنین خصوصیات مطلوب پایه M26 از جمله پاکوتاهی، مقاومت به سرمای زمستانه و قابلیت رشد در خاک‌های فقیر (Ghasemi, 2001)، به نظر می‌رسد امکان کاربرد این پایه‌ها فقط در برخی مناطق خاص و البته با در نظر گرفتن تدابیر بهداشتی و زراعی وجود دارد.

در این مطالعه تلاش‌های انجام شده جهت تکثیر رقم محلی و پاکوتاه مربایی موفقیت‌آمیز نبود، لذا این رقم به طریق بذری و با استفاده از بذرهای جمع‌آوری شده از کلکسیون سیب در ایستگاه تحقیقات باغبانی کمال‌شهر تکثیر شد. مایه‌زنی دانهال‌های ۷-۶ ماهه مربائی، درجات مختلفی از مقاومت را در بین آن‌ها نشان داد (شکل ۲). بالا بودن تنوع ژنتیکی در بذر، اختلافات فاحش مقاومت تا حساسیت را در بین دانهال‌های مربایی کاملاً توجیه می‌کند. برخی نهال‌های مایه‌زنی شده دچار مرگ ومیر شده و برخی دیگر از مقاومت خوبی در برابر قارچ برخوردار بودند. براون و همکاران (Browne *et al.*, 1995) نیز در بررسی مقاومت دانهال‌های *Malus fusca* به قارچ عامل پوسیدگی طوقه، دامنه متنوعی از حساسیت تا مقاومت را گزارش کردند. آن‌ها عامل اصلی تنوع مقاومت در بین دانهال‌های مذکور را، محل جمع‌آوری اولیه بذرها دانستند. هر چند رقم مربائی از ارقام بومی و پاکوتاه سیب در ایران است که با داشتن خصوصیاتی مشابه پایه‌های پا کوتاه اصلاح شده، می‌تواند در تکثیر ارقام داخلی مورد استفاده قرار گیرد، اما عدم شناخت کافی از صفات مطلوب و نیز سخت

شکل ۲- واکنش متفاوت دانهال‌های مربائی به قارچ *Phytophthora cactorum* درشرایط گلخانه
Fig. 2. Different interactions in Morabbaei seedlings to *Phytophthora cactorum* in greenhouse conditions

ریشه‌زابودن قلمه‌های آن، استفاده از آن را در بین محققین و پرورش‌دهندگان سیب در ایران محدود کرده است. در حال حاضر به منظور معرفی این رقم به عنوان پایه، تحقیقات در زمینه سازگاری با ارقام تجارتی، دستیابی به راه‌های ساده جهت تکثیر غیر جنسی و نیز بررسی مقاومت آن در برابر آفات و بیماری‌ها در دست اجرا است. در همین راستا یافته‌های این تحقیق وجود مقاومت را در برخی از بذرهای رقم مربائی به اثبات رساند. این موضوع از چند جهت حائز اهمیت است. از یک سو انتخاب بذر مقاوم و تکثیر غیرجنسی آن‌ها از طریق قلمه یا کشت بافت واند منجر به تولید پایه‌های یکنواخت شده و نگرانی محققین را از بروز واکنش‌های متفاوت نهال‌های بذری این پایه، کاملاً برطرف سازد. از سوئی دیگر هر چند جمع شدن همه صفات مطلوب در یک پایه امکان‌پذیر نیست، اما اگر بتوان در بین نهال‌های بذری و ارقام بومی، پایه‌ای را متحمل به عوارض و بیماری‌های مهم به دست آورد می‌توان در برنامه‌های به نژادی پایه‌های سیب از این منابع طبیعی مقاومت ژنتیکی استفاده کرده و در جهت اصلاح سایر موارد گام برداشت. شناسائی و انتقال ژن‌های مقاومت از اهداف مهم برنامه‌های اصلاحی پایه‌های سیب در تحقیقات باغبانی محسوب می‌شود (Bus, 1994).

تجزیه آماری داده‌ها نشان داد که اثر سال و نیز اثر بر متقابل سال و پایه بر میانگین صفات مورد ارزیابی، در سطح ۱٪ معنی‌دار نبوده است (جدول ۲). در این آزمایش‌ها قارچ عامل بیماری مجدداً از طوقه‌های بیمار جداسازی شد و در تمام موارد ریشه عاری از بیماری بود. این نتایج تا حدودی بیانگر آن است که طوقه درختان سیب بیش از ریشه مورد حمله گونه‌های

فیتوفترا قرار می‌گیرد. از این رو مدیریت طوقه در جلوگیری از گسترش بیماری بسیار حائز اهمیت است. انتخاب و کاربرد پایه‌های مقاوم به تنهائی، راهکار اجرائی مناسب جهت پیشگیری از بیماری پوسیدگی طوقه در باغات سیب نیست. علاوه بر انتخاب پایه مقاوم، فراوانی گونه قارچی و شدت تهاجم آن، میزان زادمایه اولیه قارچ، محل آلودگی و نیز سن گیاه باید مورد توجه قرار گیرد (Banihashemi and Moradi, 2004). همچنین تهیه نهال سالم، استفاده از روش آبیاری قطره‌ای، توجه به عملیات زراعی از جمله غنی‌سازی خاک از مواد آلی جهت تسریع فعالیت آنتاگونیست‌ها، مدیریت این بیماری را آسان می‌کند و از انتشار و فعالیت عوامل پوسیدگی طوقه و ریشه جلوگیری خواهد کرد.

**سپاسگزاری**

از آقای دکتر ضیاالدین بنی‌هاشمی استاد بخش بیماری‌شناسی گیاهی دانشگاه شیراز به خاطر در اختیار قرار دادن جدایه قارچ عامل بیماری صمیمانه سپاسگزاری می‌شود.

**References**

**Banihashemi, Z. 1995a.** Identification of phytophthora species associated with pistachio gummosis in southern Iran. Acta Horticulturae 419: 349-353.

**Banihashemi, Z. 1995b**. Role of *Phytophthora cactorum* on decline of fruit and nut trees in Fars province. Proceedings of the 12th Iranian Plant Protection Congress. Karaj, Iran. Page 103 (in Farsi).

**Banihashemi, Z., and Moradi, M. 2004**. The frequency of isolation of *Phytophthora* spp. from crown and root of pistachio nut tree and reaction of the crown and root to the casual agents. Iranian Journal of Plant Pathology 40: 57-75 (in Farsi).

**Browne, G. T., and Mircetich, S. M. 1988**. Effects of flood duration on the development of phytophthora root and crown rots of apple. Phytopathology 78: 846-851.

**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.

**Bus, V. 1994**. Pest and disease resistance in pipfruit rootstocks. The Orchardist 67: 57-

63.

**Carisse, O., and Khanizadeh, S. 2006.** Relative resistance of newly released apple rootstocks to *Phytophthora cactorum*. Canadian Journal of Plant Science 86: 199-204.

**Elean, K., and Paplomatas, E. J. 1999.** Collar rot caused by *Phytophtora citrophthora* on pear trees in Greece. Phytoparasitica 24: 142-148.

**Ershad, J. 1992**. Phytophthora Species In Iran (Isolation, Purification and Identification). Agricultural Research Organization, Tehran, Iran. 217pp. (in Farsi).

**Ferree, D., and Carlson, R. 1987.** Apple rootstocks. In: Roy, R. C., and Robert, F. C.(eds.), Rootstocks For Fruit Crops, Part 4. John Wiley and Sons Inc., New York.

**Ghasemi, A. A. 2003**. Study of different asexual propagation methods in local dwarf apple rootstocks. Abstract Book of the 3rd Iranian Congress of Horticultural Science. Karaj, Iran. Page 140 (in Farsi).

**Janick, J., Cummins, J. N., Brown, S. K., and Hemmat, M. 1996.** Tree and tropical fruits. pp. 1-79. In: Janick, J., and Moore, J. N. (eds.), Fruit Breeding, Vol. 1. John Wiley and Sons Inc., New York.

**Jeffers, S. N., and Aldwinckle, H. S. 1988.** Phytophthora crown rot of apple trees sources of *Phytophthora cactorum* and *Phytophthora combivora* as primary inoculum. Phytopathology 78: 328-335.

**Krober, H., and Karnatz, A. 1979**. Susceptibility of apple cultivars to *Phytophthora cactorum* and its dependence on different factors. Zeitschrift Fur Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz 86: 1-11.

**Lattore, B. A., Rioja, M. E., and Wilcox, W. F. 2001**. Phytophthora species associated with crown and root rot of apple in Chile. Plant Disease 85: 603-606.

**McIntosh, D. L. 1968.** Resistance to *Phytophthora cactorum* among open-pollinated seedlings of apple varietes and species. American Society of Horticultural Science 93: 71-76.

**Rose, D. H., and Lindegren, C. C. 1925**. Phytophthora rot of pears and apples. Journal of Agricultural Research 30: 463-368.

**Smith, V. L., Wilcox, W. F., and Harman, G. E. 1990**. Potential for biological control of phytophthora root and crown rots of apple by *Trichoderma* and *Gliocladium* spp. Phytopathology 80: 880-885.

**Utkhede, R. S., Quamme, H. A., and Brownlee, R. 2002**. Incidence of *Phytophthora cactorum* crown and root rot on seven apple rootstocks artificially infected in the orchard. Journal of American Pomological Society 56: 168-172.

**Zondo, P. T., Denman, S., and Labuschagne, I. F. 2007.** Effect of season and aggressiveness of isolates on the response of two apple rootstocks to *Phytophthora cactorum* infection. Australian Journal of Plant Pathology 36: 240-244.

**Zondo, P. T., Labuschagne, I. F., and Denman, S. 2001.** Apple rootstock resistance against crown, collar and root rot (*Phytophthora cactorum*). Deciduous Fruit Grower 51: 12-13.