مجله به‌نژادی نهال و بذر
جلد ۱-۲۹، شماره ۲، سال ۱۳۹۲

مقایسه کارآئی شاخص‌های ارزیابی حساسیت به آتشک در درخت به (*Cydonia oblonga* Mill.) در شرایط باغ

Comparison of Efficiency of Indices for Fire Blight Susceptibility Evaluation in Quince (*Cydonia oblonga* Mill.) in Orchard Condition

سمانه احمدی[۱]، مهدی علیپور[۲]، حمید عبداللهی[۳] و داریوش آتشکار[۴]

۱- کارشناس ارشد آزمایشگاه، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت
۲- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، گروه علوم باغبانی، تهران
۳ و ۴- به ترتیب دانشیار و مربی، مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۵/۴ **تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۱۰/۲۱**

چکیده

احمدی، س.، علیپور، م.، عبداللهی، ح. و آتشکار، د. ۱۳۹۲. مقایسه کارآئی شاخص‌های ارزیابی حساسیت به آتشک در درخت به (*Cydonia oblonga* Mill.) در شرایط باغ. **مجله به‌نژادی نهال و بذر ۱-۲۹:** ۳۴۷ - ۳۳۱.

این تحقیق در سال‌های ۱۲۳۸۸ و ۱۳۸۹ با هدف ارزیابی کارآئی شاخص‌های ارزیابی مقاومت و انتخاب شاخص مناسب جهت استفاده در باغ، روی ۳۰ ژنوتیپ به موجود در باغ کلکسیون کمال‌شهر کرج کشور انجام شد. حساسیت ژنوتیپ بر اساس سه شاخص، بلتسویل (I_{USDA})، حساسیت واریته‌ای (I_{SV}) و فراوانی (I_F) ارزیابی و سپس این شاخص‌ها با درصد کلی خسارت آتشک (I_T) مقایسه شدند. در بین سه شاخص فوق، I_F با بالاترین ضریب همبستگی، نزدیک‌ترین شاخص به I_T بود، با این وجود هر یک از شاخص‌های I_{USDA}، I_{SV} و I_F به صورت منفرد کارآئی متفاوتی در برآورد واقعی نوع و شدت خسارت بیماری روی درخت داشتند و در نتیجه تقسیم‌بندی ژنوتیپ‌ها نیز در کلاس‌های مختلف مقاومت تحت تاثیر نوع شاخص بود. با هدف تجمیع شاخص‌های فوق، استفاده از تجزیه خوشه‌ای ضمن مقایسه رفتار هر ژنوتیپ بر مبنای هر شاخص، نتایج قابل اعتمادتری به منظور قضاوت در رابطه با حساسیت آن‌ها در مقایسه با کاربرد یک شاخص منفرد را نشان داد. بر اساس این نتایج ژنوتیپ‌های به استان گیلان با بیش‌ترین تحمل تجمعی شاخص‌ها به عنوان منابع برتر مقاومت به آتشک شناسائی شدند.

واژه‌های کلیدی: به، آتشک، ارقام مقاوم، شاخص بلتسویل، شاخص حساسیت واریته‌ای، شاخص فراوانی، تجزیه خوشه‌ای.

نویسنده مسئول: hamidabdollahi@spii.ir تلفن: ۰۲۶۳۶۷۰۲۵۴۱

مقدمه

به گیاهی متعلق به خانواده گل‌سرخیان (Rosaceae) و زیرخانواده دانه‌داران (Pomoideae) است (Bell and Leitao, 2011). درخت به در میان گونه‌های درختان میوه دانه‌دار از نظر اهمیت تولید، رتبه سوم و از نظر فراوانی بعد از سیب، گلابی و گلابی آسیایی رتبه چهارم را به خود اختصاص داده است. کشورهای چین (۱۰۵ هزار تن)، ترکیه (۹۶ هزار تن)، ازبکستان (۶۰ هزار تن)، مراکش (۴۰ هزار تن)، ایران (۳۵ هزار تن)، آرژانتین (۲۶ هزار تن) و آذربایجان (۲۵ هزار تن) عمده‌ترین تولیدکنندگان این میوه هستند (Anonymous, 2009). مهم‌ترین مشکل پرورش به در ایران بیماری آتشک است و در این بین انتخاب ارقام مقاوم بهترین شیوه مهار محسوب می‌شود. به دلیل ساختار متفاوت رشد رویشی و زایشی درخت به در مقایسه با درختان سیب و گلابی، شاخص‌های ارزیابی مقاومت که عمدتاً برای این میزبان‌ها تکامل یافته‌اند، در درخت به کارآئی متفاوتی می‌تواند داشته باشند.

بیماری آتشک با عامل باکتریایی *Erwinia amylovora* (Burrill) Winslow *et al*. اولین بار در سال ۱۷۸۰ در کشور آمریکا مشاهده و از آن‌جا به سایر نواحی پرورش میوه‌های دانه‌دار در اروپا و خاور میانه گسترش یافت (van der Zwet and Keil, 1979). این بیماری برای اولین بار در ایران در سال ۱۳۶۸ در برغان کرج مشاهده شد (Zakeri and Sharifnabi, 1991). طغیان ابتدایی بیماری در استان‌های قزوین و آذربایجان غربی در سال ۱۳۷۳ گزارش شد (Mazarei *et al*., 1994) و به تدریج این بیماری در سایر استان‌ها نظیر خراسان رضوی (Zohur and Rahmani Moghadam, 2004)، گیلان (Ali and Kazempour, 2004) و فارس (Sahandpour and Ghasemi, 2004) مشاهده شد. این بیماری همچنان به سمت استان‌های جنوبی‌تر کشور در حال پیش‌روی است و با توجه به حساسیت بیش‌تر گلابی و به در مقایسه با سیب به بیماری، میزان خسارت نیز روی این دو میزبان بالاتر است.

اولین ارزیابی حساسیت درخت به نسبت به بیماری آتشک توسط معروفی و مصطفوی (Maroofi and Mostafavi, 1996) انجام شد. در این تحقیق مقایسه‌ای بین مقاومت ارقام مختلف به موجود در کشور گزارش نشد. با توجه به خسارت شدید بیماری آتشک در باغ‌های به در استان‌های مختلف، جمع آوری ژرم‌پلاسم به کشور با هدف ارزیابی مقاومت آن‌ها به این بیماری از سال ۱۳۸۳ آغاز شد (Abdollahi *et al*., 2013) و ارزیابی مقدماتی این ژرم‌پلاسم در شرایط گلخانه‌ای انجام شد (Abdollahi *et al*., 2008). علیپور و همکاران (Alipour *et al*., 2011) همبستگی میان برخی خصوصیات رویشی با تحمل به بیماری آتشک را در چهارده ژنوتیپ مختلف به مورد ارزیابی

قرار دادند و گزارش کردند که در میان صفات مورد ارزیابی تنها صفت طول نوک برگ با میزان حساسیت به بیماری ($r = 0.55$) همبستگی داشت.

در اغلب کشورهای جهان به تنها به عنوان پایه نیمه پاکوتاه کننده تا کاملاً پاکوتاه کننده برای احداث باغ‌های گلابی مورد استفاده است و به همین دلیل خسارت آتشک روی پایه‌ها به دلیل عدم وجود سرشاخه‌ها ترد و آبدار محدود است. بررسی میزان مقاومت این پایه‌ها به بیماری آتشک نشان‌دهنده حساسیت بالای اغلب آن‌ها به بیماری آتشک بوده است (Radnia, 1996). از طرفی در بین کشورهای اصلی تولید کننده به، تنها در سه کشور ایران، ترکیه و آذربایجان میزان خسارت بیماری آتشک قابل توجه است و سایر کشورهای تولید کننده فاقد آلودگی بوده و یا خسارت بیماری در این کشورها زیاد نیست. کلکسیون به وزارت کشاورزی آمریکا تا انتهای سال ۲۰۱۱ میلادی دارای ۱۵۹ ژنوتیپ به از هفده کشور مختلف جهان بوده است. در این مجموعه به معرفی سطح مقاومت به آتشک در ژرم‌پلاسم جمع‌آوری شده اقدام شده است (van der Zwet and Keil, 1979). در این کلکسیون ژرم‌پلاسم محدودی از ایران وجود دارد. در یونان انستیتو پومولوژی ناوسا (Pomology Institute of Naoussa) در برنامه جمع‌آوری ژرم‌پلاسم به این کشور که بین سال‌های ۱۹۸۰ تا ۱۹۸۳ انجام شد بالغ بر ۴۹ ژنوتیپ و رقم مربوط به مناطق مختلف این کشور را جمع‌آوری و در قالب کلکسیون نگهداری کرد. برنامه ارزیابی این کلکسیون با نشانگر ISSR نشان‌دهنده همبستگی سه مکان ژنی UBC891، UBC811 و UBC827 با تحمل به آتشک بوده است (Ganopoulos *et al.*, 2011). در برنامه دیگری روی ارزیابی مقاومت به آتشک در ژرم‌پلاسم یونان و هیبریدهای حاصل از آن، شماری از آن‌ها بسیار متحمل به آتشک گزارش شدند (Papachatzis *et al.*, 2011). در ترکیه بنلی‌اغلو و اردوغان (Benlioglu and Erdogan, 1999) به جداسازی عامل بیماری آتشک و آنتاگونیست‌های مربوطه از درختان به پرداختند لیکن مقاومت ارقام مورد بررسی واقع نشد.

مقایسه فیزیولوژی گلدهی و ساختار رشد رویشی و زایشی در درخت به موید تفاوت قابل توجه این ساختارها در این درخت با دو درخت سیب و گلابی است. به این صورت که در درخت سیب و گلابی تمایز جوانه گل در سال قبل اتفاق افتاده و هر دو نسبت به درخت به زودگل هستند. بر عکس در درخت به، تعداد قابل توجهی سرشاخه جوان به طور همزمان در ابتدای فصل شروع به رشد کرده و گل‌انگیزی و باز شدن شکوفه‌ها در انتهای این شاخه‌های در حال رشد در همان سال انجام می‌شود (Westwood, 1993). این ساختار متفاوت رشدی سبب می‌شود تا در این درخت تعداد

بسیار زیادی شاخه در حال رشد فصل جاری در معرض بیماری آتشک قرار گرفته که خسارت بیماری روی آن‌ها شدید خواهد بود. بر همین اساس، شاخص‌های مورد استفاده نظیر شاخص بلتسویل (Beltsville) وزارت کشاورزی آمریکا (I_{USDA})، شاخص حساسیت واریته‌ای (Index of Susceptibility of Variety:I_{SV}) و شاخص فراوانی (Index of Frequency:I_F) کارآئی متفاوتی در ارزیابی واقعی خسارت آتشک در این درخت می‌توانند داشته باشند و یا ممکن است به طور واقعی نشانگر شدت خسارت بیماری نباشند. شاخص بلتسویل (I_{USDA}) به منظور ارزیابی مقاومت ارقام و ژنوتیپ‌های بانک ژن ایالات متحده در سال ۱۹۷۰ در بلتسویل توسط وان‌درزوئت و همکاران (van der Zwet *et al.*, 1970) معرفی شد و تاکنون به عنوان شاخصی با کارآئی مطلوب در ارزیابی مقاومت به آتشک در درختان بالغ مورد استفاده قرار گرفته است (Lespinasse and Aldwinckle, 2000). این شاخص همچنین در برنامه‌های به‌نژادی برای گزینش دانهال‌های ۵ تا ۶ ساله حاصل از دورگ گیری استفاده شده است (Hunter, 1993). شاخص بلتسویل اگرچه شاخص مناسبی برای ارزیابی خسارت آتشک در درختان سیب و گلابی است، ولی در این شاخص بیش‌تر توزیع کل خسارت در سرتاسر درخت مد نظر قرار گرفته و در صورتی که در یک میزبان همانند درخت به نسبت شاخه‌های درحال رشد به کل درخت زیاد باشد ممکن است کارآئی متفاوتی داشته باشد. شاخص حساسیت واریته‌ای (I_{SV}) نیز به عنوان یک شاخص با کارآیی بالا در ارزیابی مقاومت ارقام سیب و گلابی به آتشک معرفی شده است. همچنین نشان داده شده است که در سیب و گلابی ارتباط بالائی بین این شاخص و حساسیت به آتشک در باغ وجود دارد (Lespinasse and Aldwinckle, 2000). این شاخص نیز صرفاً روی شاخه‌های درحال رشد متمرکز شده و اگرچه شاخص مناسبی برای ارزیابی آتشک روی یکی از آسیب‌پذیر ترین بخش‌های میزبان است، لیکن گستره و خسارت آتشک را روی بخش‌های مسن‌تر مد نظر قرار نمی‌دهد. شاخص فراوانی (I_F) در ارزیابی مقاومت ارقام سیب کشور به بیماری در شرایط کلکسیون استفاده شد (Abdollahi and Majidi Heravan, 2005). این شاخص همبستگی بالائی با دو شاخص فوق داشت و به جای تمرکز روی درصد پیشرفت آتشک روی تعدادی شاخه محدود، به فراوانی شاخه‌های خسارت دیده به کل شاخه‌های درخت می‌پردازد. بر این اساس، این که یک شاخص تا چه اندازه قادر به ارائه معیار صحیحی از تحمل ژنوتیپ به بیماری باشد تا حد زیادی به ساختار رشد میزبان و حساسیت بخش‌های مختلف در ارتباط است. با توجه به موارد فوق، به منظور برآورد میزان واقعی خسارت در باغ روی ژنوتیپ‌های مختلف و میزان تحمل اختصاص داده شده با استفاده از این شاخص‌ها،

این پژوهش برنامه ریزی و به اجرا گذاشته شد. انتخاب شاخص بهینه در این ارزیابی‌ها سبب افزایش اعتماد در برنامه‌های گزینشی و به‌نژادی به آتشک در این میزبان حساس خواهد شد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه برروی ۳۰ ژنوتیپ به بومی ایران انجام شد. کلیه ژنوتیپ‌ها توسط عبداللهی و همکاران (۲۰۱۲) از مناطق مختلف کشور جمع‌آوری و در کلکسیون ملی به ایران در سال‌های ۱۳۸۴ و ۱۳۸۵ کاشته شدند. ژنوتیپ‌ها از استان‌های اصفهان (ET1، KM1، KVD1، KVD2، KVD3، KVD4، NB2، NB3، NB4، PH2، PK2، SHA1، SVS1 و SVS2)، خراسان (M1 تا M8) و گیلان (AS1، AS2، ASM1، ASM2، ASM3، ASP1، ASP2 و M9) جمع‌آوری شدند. این مجموعه در کمال‌شهر کرج با مشخصات جغرافیایی ۳۵/۸ درجه شمالی و ۵۰/۸ درجه شرقی با میانگین بارش سالیانه ۲۴۴/۱ میلی‌متر و میانگین کم‌ترین دمای سالیانه ۱۰/۵- درجه سانتی‌گراد و بیش‌ترین دمای سالیانه ۴۰ درجه سانتی‌گراد (میانگین سال‌های ۲۰۰۵-۱۹۹۰) واقع شده است. درختان مورد مطالعه در این تحقیق شش ساله بوده و با فاصله ۵×۶ متر روی پایه‌های بذری به اصفهان کاشته شده‌اند.

ارزیابی خسارت بر اساس آلودگی طبیعی طی طغیان‌های آتشک در سال‌های ۱۳۸۸ و ۱۳۸۹ که در آن کلیه درختان به و گلابی ایستگاه به طور قابل توجهی مورد حمله عامل بیماری قرار گرفتند انجام شد. در این تحقیق سه شاخص مختلف به منظور ارزیابی حساسیت ژنوتیپ‌ها به آتشک مورد استفاده قرار شد. این شاخص‌ها شامل شاخص بلتسویل (I_{USDA})، شاخص حساسیت واریته‌ای (I_{SV}) و شاخص فراوانی (I_F) بودند. در ارزیابی مقاومت ارقام با استفاده از شاخص I_{USDA} کدگذاری با توجه به سن شاخه‌هایی که بیماری در آن نفوذ کرده بود انجام گرفت، بر این اساس درختان فاقد علایم کد ۱۰، درختان دارای علائم در شاخه‌های سال جاری کد ۹، درختان دارای علائم در شاخه‌های یک ساله و دوساله به ترتیب کدهای ۸ و ۷ را دریافت کردند. به دلیل عدم پیشرفت باکتری عامل بیماری در بخش‌های مسن‌تر درخت، کدهای ۶ و پائین‌تر این شاخص مورد استفاده واقع نشد. شاخص I_{SV} به صورت درصد طول بخش نکروزه حاصل از پیشرفت آتشک در سرشاخه نسبت به طول کل سرشاخه اندازه گرفته شد. ارزیابی مقاومت با استفاده از شاخص I_F به صورت درصد تعداد سرشاخه نکروزه به کل سر شاخه‌های درخت انجام شد. به منظور کسب شاخص بهتری از شدت خسارت آتشک و مقایسه این سه شاخص با آن، شاخص حجم تاج آسیب دیده درخت بدون تبعیض بین بخش‌های مسن یا جوان و یا رویشی و یا زایشی محاسبه و به عنوان شاخص خسارت کل (I_T) ارزیابی شد. به این منظور نسبت بخش آلوده شده به کل حجم تاج محاسبه و در عدد صد

ضرب شد.

برآورد شاخص‌ها روی درختان در اواسط اسفند و به دلیل ادامه بارندگی تا انتهای خرداد ماه هر سال تکرار شد. کلیه شاخص‌ها بر روی پنج درخت و حداقل ده نمونه در هر درخت ارزیابی شدند. داده‌ها در نرم‌افزار Excel ثبت و تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS انجام شد. برای انجام تجزیه خوشه‌ای، داده‌ها با استفاده از Z-score استاندارد شده و با استفاده از روش Ward و فاصله اقلیدسی خوشه مربوطه رسم شد. ارزیابی همبستگی با استفاده از نرم‌افزار SPSS انجام شد و برای صفات پیوسته از روش پیرسون (Pearson) و برای صفات گسسته (Ranked) از روش (Spearman) استفاده شد.

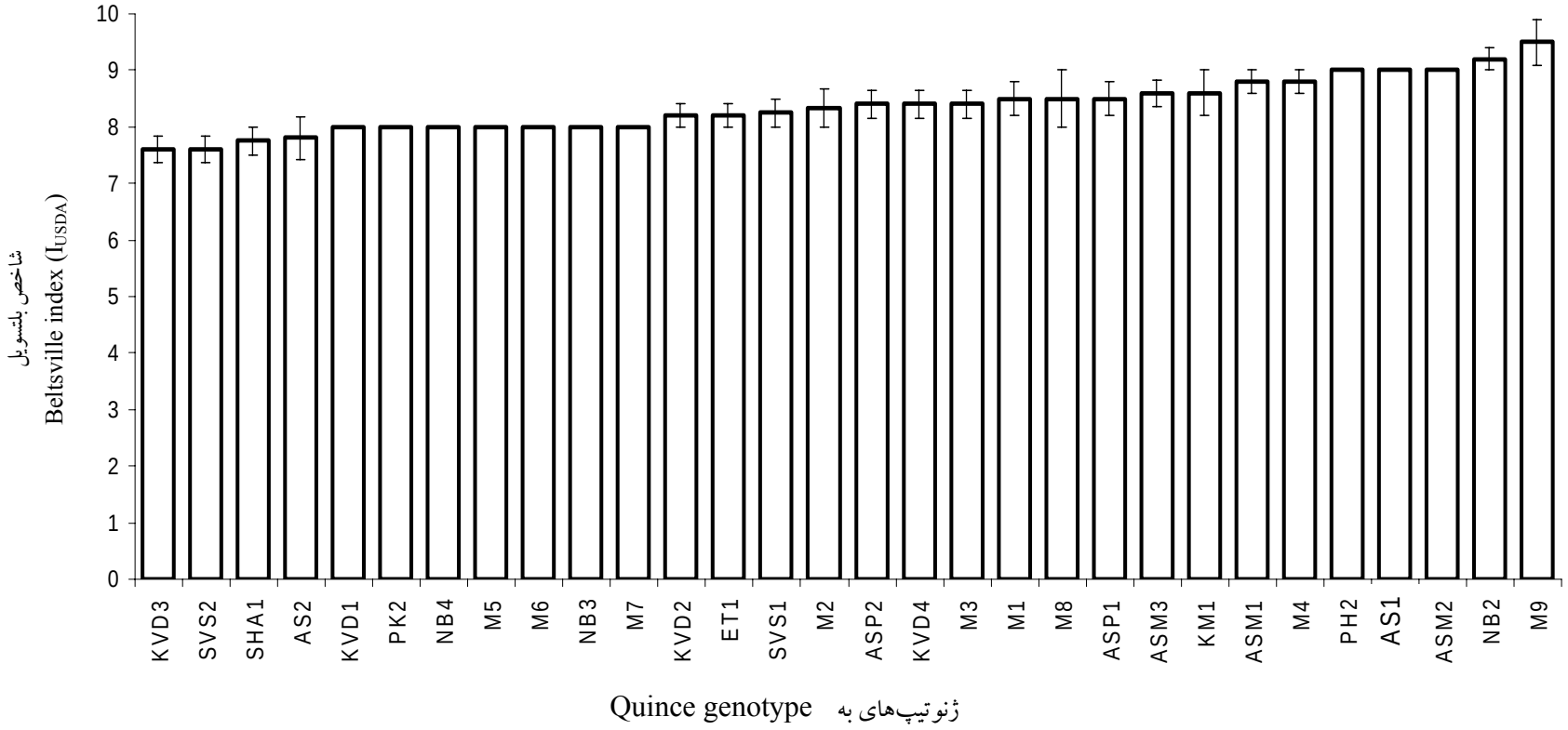
نتایج و بحث

مقایسه شدت خسارت آتشک روی ژنوتیپ‌های به بیانگر تفاوت قابل ملاحظه شدت پیشرفت بیماری در آن‌ها بود. علی‌رغم ادامه بارندگی تا انتهای خرداد ماه، پیشرفت چندانی در سرشاخه‌های آتشک زده طی خرداد ماه مشاهده نشد و داده‌های آخر بهار با داده‌های اردیبهشت ماه برابر بودند.

ارزیابی بر اساس شاخص بلتسویل

نتیجه ارزیابی مقاومت ارقام نسبت به بیماری آتشک با استفاده از شاخص I_{USDA} نشان داد که ژنوتیپ M9 با میانگین نفوذ ۹/۵ و ژنوتیپ‌های KVD3 و SVS2 با میانگین نفوذ ۷/۶ به ترتیب مقاوم‌ترین و حساس‌ترین ژنوتیپ‌ها در بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه نسبت به بیماری آتشک بودند (شکل ۱). بر اساس مشاهدات، میزان نفوذ بیماری در ژنوتیپ‌های جمع آوری شده از استان گیلان نسبت به ژنوتیپ‌های سایر مناطق کم‌تر بود و به طور عموم این ژنوتیپ‌ها از شدت خسارت پائین‌تری برخوردار بودند. از جمله ژنوتیپ‌های متحمل این استان M9، ASM2 و AS1 با میانگین شاخص بلتسویل ۹ برای ژنوتیپ اول و میانگین حدود ۸ برای دو ژنوتیپ بعدی قابل ذکر است. مشاهده مورفولوژیک این ژنوتیپ‌ها نشان داد که این گروه بیش‌تر دارای تیپ‌های وحشی بوده و ضمن داشتن کیفیت میوه پائین‌تر، میزان حساسیت به کلروز ناشی از کمبود آهن نیز در آن‌ها کم‌تر بود (Abdollahi *et al.*, 2012). لذا به نظر می‌رسد به دلیل وجود ژن‌های تحمل به تنش‌های محیطی در اثر گزینش‌های طبیعی متوالی این ژنوتیپ‌ها، آستانه تحمل به آتشک نیز در آن‌ها از این امر استثناء نیست.

با توجه به گروه‌بندی حساسیت ارائه شده در شاخص بلتسویل که توسط وان‌درزوئت و همکاران (۱۹۷۰) ارائه شد، کلیه ژنوتیپ‌های به موجود در کلکسیون به غیر از چهار ژنوتیپ KVD3، SVS2، SHA1 و AS2 در گروه خیلی مقاوم قرار گرفتند و چهار ژنوتیپ KVD1، PK2، NB4 و M5 نیز در گروه مقاوم طبقه‌بندی شدند. مقایسه همبستگی این شاخص



شکل ۱- مقایسه خسارت بیماری آتشک روی ژنوتیپ های مختلف به با استفاده از شاخص بلتسویل (I_{USDA})

Fig. 1. Comparison of fire blight damage on quince genotypes using Beltsville index (I_{USDA})

با شاخص خسارت آتشک کل (I_T) نشان‌دهنده همبستگی بالای این دو شاخص (r = -0.719) و معنی‌دار بودن این همبستگی در سطح احتمال ۹۹٪ بود (جدول ۱). نکته مهم در این بود که خسارت آتشک در سال‌های مورد بررسی (۱۳۸۸ و ۱۳۸۹) قابل توجه و تعداد قابل توجهی از ژنوتیپ‌ها (نظیر SVS2) از آتشک به طور شدیدی دچار خسارت شدند، لیکن در نتایج گروه‌بندی حساسیت مشاهده شده که بیش‌تر آن‌ها به طور برابر در گروه خیلی مقاوم طبقه‌بندی شدند. بر اساس کنار هم قرار دادن نتایج گروه‌بندی حساسیت به دست آمده در شاخص بلتسویل و نتایج همبستگی می‌توان این طور جمع‌بندی کرد که اگرچه شاخص بلتسویل به عنوان شاخصی پیوسته با خسارت کلی آتشک روی درخت است، لیکن گروه‌بندی مقاومت حاصل از به کار گرفتن این شاخص که برای درختان سیب و گلابی تکامل یافته است، فاقد کارآئی لازم در تعیین میزان مقاومت درخت به است. بر این اساس در صورتی که یک ژنوتیپ به با استفاده از این گروه‌بندی در گروه خیلی مقاوم و یا مقاوم رده‌بندی شود، در باغ واقعاً واکنش مقاومت نشان نخواهد داد.

جدول ۱- همبستگی بین شاخص‌های بلتسویل (I_{USDA})، حساسیت واریته‌ای (I_{SV})، فراوانی (I_F) و خسارت کل (I_T) استفاده شده در ارزیابی مقاومت به بیماری آتشک روی درختان به

Table 1. Correlation between indices of Beltsville (I_{USDA}), varietal susceptibility (I_{SV}), frequency (I_F) and total damage (I_T) used for fire blight resistance evaluation on quince tress

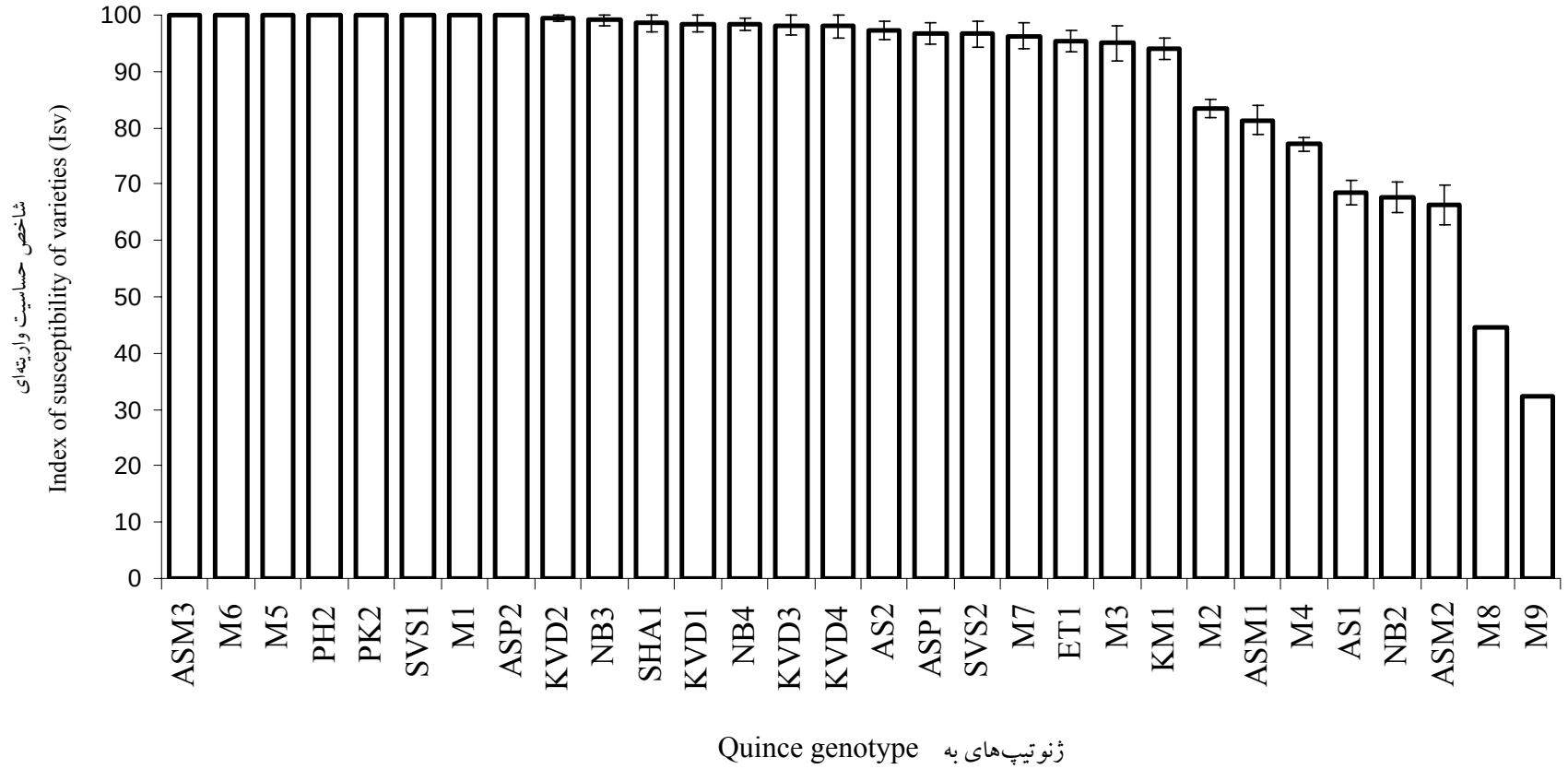
Index	I_{SV}	I_F	I_T
I_{USDA}	-0.455^{*}	-0.686^{**}	-0.719^{**}
I_{SV}		$0.352^{n.s}$	0.529^{**}
I_F			0.863^{**}

*، ** و ns: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ ، ۱٪ و غیر معنی‌دار.

*, ** and ns: Significant at 5%, 1% and not significant, respectively.

ارزیابی بر اساس شاخص حساسیت واریته‌ای

نتیجه ارزیابی مقاومت ارقام با استفاده از شاخص حساسیت واریته‌ای نشان داد که ژنوتیپ M9 با ۳۲ درصد و ژنوتیپ‌های ASM3، M6، M5، PH2، PK2، SVS1، M1 و ASP2 با صددرصد پیشرفت نکروز در سرشاخه‌های آتشک زده به ترتیب مقاوم‌ترین و حساس‌ترین ژنوتیپ‌ها در بین ژنوتیپ‌های مورد بررسی نسبت به بیماری آتشک بودند (شکل ۲). در گروه‌بندی مقاومت ارائه شده در این شاخص در درخت سیب توسط کلین‌همپل و همکاران (Kleinhempel *et al.*, 1984)، تمامی



شکل ۲- مقایسه خسارت بیماری آتشک روی ژنوتیپ‌های مختلف به با استفاده از شاخص حساسیت واریته‌ای (I_{SV})

Fig. 2. Comparison of fire blight damage on quince genotypes using index of susceptibility of varieties (I_{SV})

ژنوتیپ‌های مورد ارزیابی در گروه خیلی حساس طبقه‌بندی شدند. در گروه‌بندی مقاومت ارائه شده در این شاخص توسط لسپیناس و پائولین (Lespinasse and Pauline, 1990) نیز نتایج مشابهی به دست آمد.

شاخص حساسیت واریته‌ای با شاخص خسارت کل دارای همبستگی پائین‌تری ($r = 0.529$) با سطح احتمال معنی‌دار ۹۹٪ بود (جدول ۱). مقایسه ضریب همبستگی دو شاخص بلتسویل و حساسیت واریته‌ای با خسارت کل آتشک نشان‌دهنده نزدیکی بیش‌تر شاخص بلتسویل با خسارت کل آتشک در درخت بود. این نتیجه از آن‌جا ناشی می‌شود که در شاخص حساسیت واریته‌ای، فقط بخشی از درخت برای ارزیابی مقاومت مدنظر قرار می‌گیرد در صورتی که در شاخص بلتسویل خسارت آتشک به طور عمومی‌تری روی درخت در نظر گرفته می‌شود.

گروه‌بندی مقاومت ارائه شده توسط کلین‌همپل و همکاران (۱۹۸۴) و لسپیناس و پائولین (۱۹۹۰) در شاخص حساسیت، ارقام را صرفاً بر اساس میزان پیشرفت در سرشاخه یک‌ساله در کلاس بسیار حساس و یا حساس طبقه‌بندی می‌کنند، در صورتی که خسارت واقعی آتشک و میزان حساسیت یک درخت فراتر از خسارت روی شاخه یک‌ساله آن است. لذا بر اساس همبستگی پائین‌تر مشاهده شده بین خسارت آتشک کل و شاخص حساسیت واریته‌ای و منطقه محدود مورد نظردر این شاخص روی درخت، اگرچه در ارزیابی‌های گلخانه‌ای دارای ارزش بالائی است، لیکن در ارزیابی‌های باغی حداقل در درخت به، دارای ارزش پائین‌تری بوده و در برنامه‌های به‌نژادی غیر قابل استفاده است. بر عکس در درختان بالغ سیب میزان این همبستگی و درنتیجه کارآئی آن بالا بوده است (Abdollahi and Majidi Heravan, 2005). از نظر فیزیولوژیک به نظر می‌رسد حساسیت زیاد درخت به در مقایسه با درختان سیب و گلابی که سبب پیشرفت سریع و نسبتاً زیاد بیماری در سرشاخه‌های حساس و آبدار آن در ابتدای بهار روی درخت می‌شود سبب کاهش قدرت تفکیک کنندگی ارقام توسط این شاخص می‌شود. بر عکس در سیب و گلابی مکانسیم‌های مقاومت موثرتر سبب توقف کامل و یا پیشروی نسبتاً کم آتشک در شاخه‌های یک‌ساله شده و در نتیجه تمایز ارقام حساس و مقاوم با کاربرد این شاخص قابل انجام خواهد شد (Davoudi, 1998).

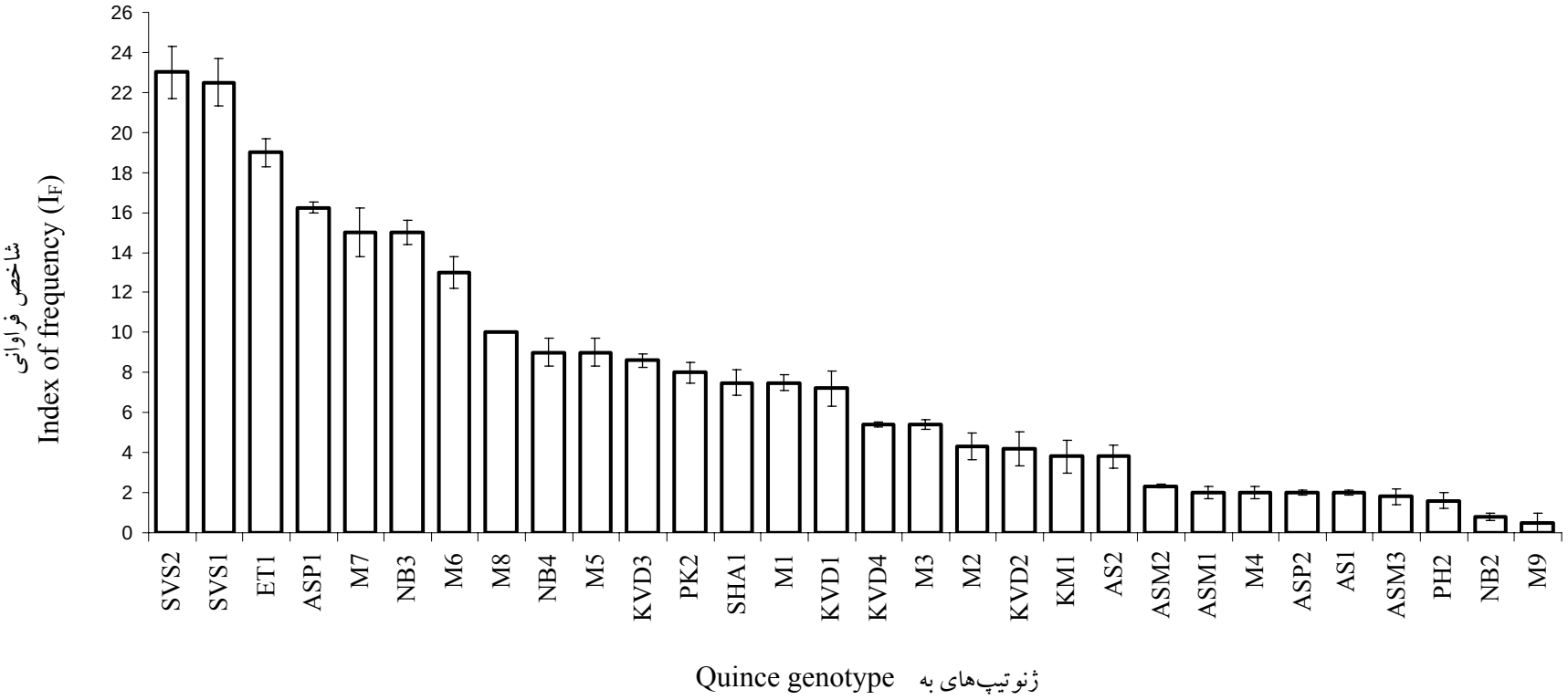
ارزیابی بر اساس شاخص فراوانی

نتیجه ارزیابی مقاومت ارقام نسبت به این بیماری با استفاده از شاخص I_F نیز نشان داد که ژنوتیپ M9 با فراوانی ۰/۵ درصد سرشاخه‌های آتشک زده و ژنوتیپ‌های SVS2 و SVS1 به ترتیب با میانگین فراوانی ۲۳ و ۲۲/۵ درصد سرشاخه‌های آتشک زده به ترتیب مقاوم‌ترین و حساس‌ترین ژنوتیپ‌ها در بین ژنوتیپ‌های مورد

بررسی نسبت به بیماری آتشک بودند (شکل ۳). در نتیجه این بررسی نیز مشخص شد که اغلب ژنوتیپ‌های منطقه گیلان دارای کم‌ترین فراوانی خسارت آتشک بودند که از جمله این ژنوتیپ‌ها M9، ASM3، AS1، ASP2، ASM1 و ASM2 قابل ذکرند. در یک جمع‌بندی از نتایج سه شاخص مختلف مورد استفاده در این تحقیق، مشخص شد که مقاومت ژنوتیپ‌های منطقه گیلان بیش‌تر از ژنوتیپ‌های منطقه اصفهان و خراسان بود. کلاس‌های مقاومت در این شاخص با هدف گروه‌بندی ارقام تاکنون تعریف نشده است، لیکن آن‌چه در مقایسه این شاخص با دو شاخص دیگر آشکار می‌شود دامنه وسیع‌تر داده‌ها از کم‌تر از یک درصد تا بیش از ۲۲ درصد در بین ژنوتیپ‌ها است. این مشخصه بیانگر این است که امکان دستیابی به کلاس‌های مقاومت واقعی و مبنتی بر خسارت آتشک کل با استفاده از این شاخص بالاتر است.

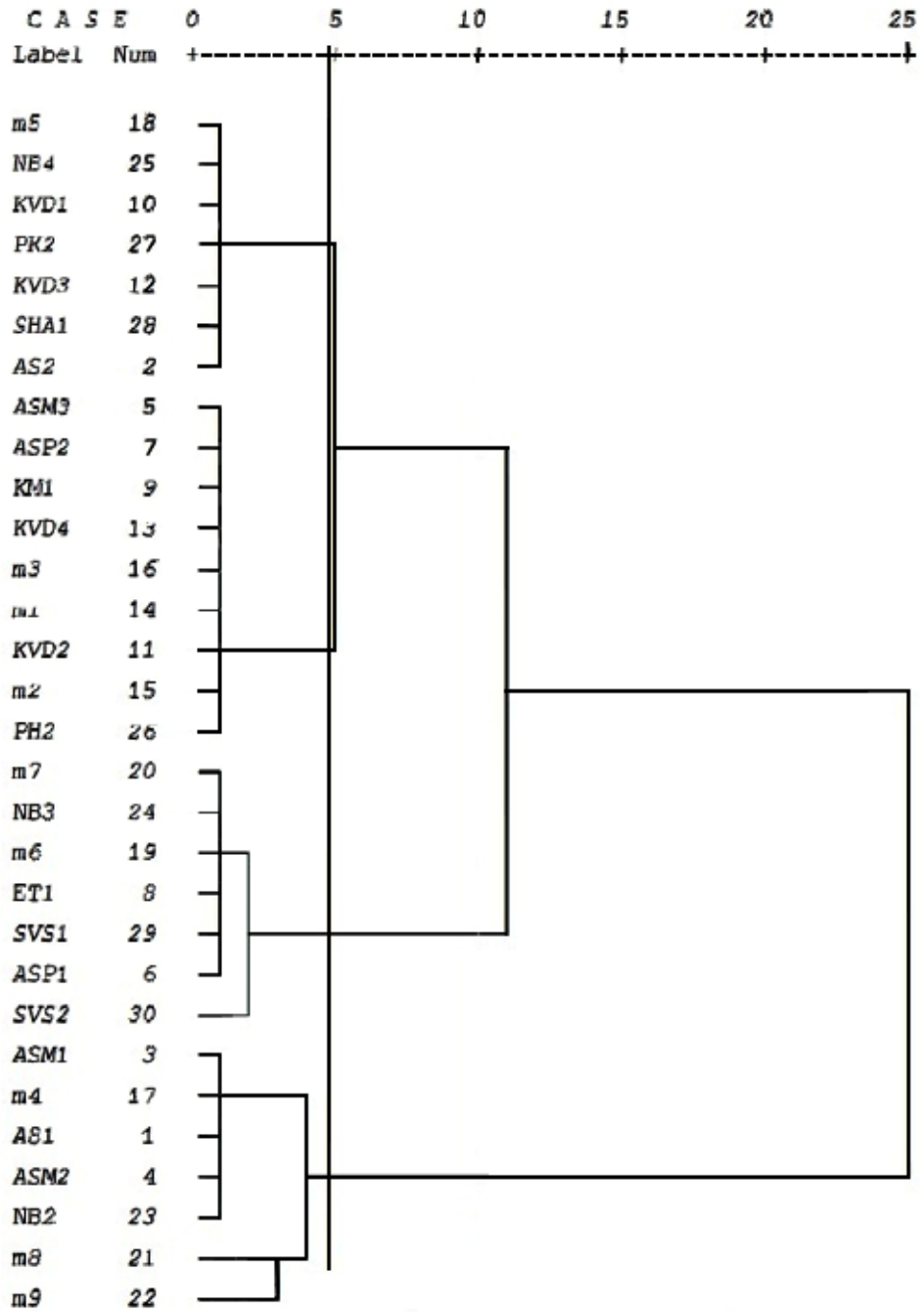
همبستگی شاخص فراوانی شاخه‌های آتشک زده با خسارت آتشک کل در این تحقیق در مقایسه با دیگر شاخص‌ها بالاترین ($r = 0.869$ با سطح معنی‌دار بودن ۹۹٪) مقدار بود. این همبستگی از نظر واقعی بودن میزان خسارت آتشک بسیار قابل توجه و از نظر ارتباط با خسارت به درختان و تولید میوه از این نظر دارای اهمیت است که هرچه تعداد سرشاخه‌های آلوده بیش‌تر باشد نه تنها هزینه هرس و مبارزه را بالاتر خواهد برد، بلکه کاهش محصول بیش‌تری را این درخت به همراه خواهد داشت. نکته اخیر صرفاً در این میزبان حاکم بوده و به دلیل ساختار متفاوت باردهی درختان سیب و گلابی بالا بودن این شاخص حتماً معادل با افت شدید باردهی نخواهد بود.

تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌های مختلف به با استفاده از نتایج فوق، در فاصله ژنتیکی ۵، ژنوتیپ‌ها را به چهار گروه تقسیم کرد (شکل ۴). گروه اول شامل ژنوتیپ‌های M5، NB4، KVD1، PK2، KVD3، SHA1 و AS2 بودند. این گروه دارای کم‌ترین میانگین در شاخص بلتسویل و بیش‌ترین میانگین در شاخص حساسیت واریته‌ای بودند. همچنین اغلب این ژنوتیپ‌ها از استان اصفهان جمع‌آوری شده بودند. با توجه به تجزیه و تحلیل نتایج به دست آمده از سه شاخص بلتسویل، حساسیت واریته‌ای و فراوانی، ژنوتیپ‌های این گروه در دسته ژنوتیپ‌های با حساسیت زیاد تا متوسط قرار گرفتند. گروه دوم شامل ژنوتیپ‌های ASM3، ASP2، KM1، KVD4، M3، M1، KVD2، M2 و PH2 بودند. این گروه با میانگین فراوانی ۴ بعد از گروه چهارم کم‌ترین فراوانی سرشاخه‌های آتشک زده را در بین ارقام مورد مطالعه دارا بودند. با توجه به تجزیه و تحلیل نتایج به دست آمده از سه شاخص بلتسویل، حساسیت واریته‌ای و فراوانی، اغلب ژنوتیپ‌های این گروه در دسته ژنوتیپ‌های با مقاومت متوسط تا زیاد قرار گرفتند. در این گروه ژنوتیپ‌هایی از مناطق



شکل ۳- مقایسه خسارت بیماری آتشک روی ژنوتیپ‌های مختلف به با استفاده از شاخص فراوانی (I_F)

Fig. 3. Comparison of fire blight damage on quince genotypes using index of frequency (I_F)



شکل ۴- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای واکنش ژنوتیپ‌های به نسبت به بیماری آتشک در شرایط باغ بر اساس سه شاخص بلتسویل (I_{USDA})، حساسیت واریته‌ای (I_{SV}) و فراوانی (I_F)

Fig. 4. Dendrogram of cluster analysis on response of quince genotypes to fire blight in orchard condition based on three I_{USDA}, I_{SV} and I_F indices

مختلف قرار داشتند. گروه سوم شامل ژنوتیپ‌های M7، NB3، M6، ET1، SVS1، ASP1 و SVS2 بودند. اغلب ژنوتیپ‌های این گروه نیز متعلق به استان اصفهان بود. اعضای این گروه تفاوت زیادی در میانگین فراوانی سرشاخه‌های آتشک زده (۱۷/۶۸) با سایر ژنوتیپ‌ها داشتند (جدول ۲). اعضای این گروه نیز خود به دو دسته تقسیم شدند به طوری که ژنوتیپ SVS2 خود به تنهایی در یک گروه و بقیه در گروه دیگر قرار گرفتند. ژنوتیپ SVS2 در این گروه دارای کم‌ترین میانگین در شاخص بلتسویل و بیش‌ترین میانگین در شاخص I_F بود. با توجه به نتایج به دست آمده از سه شاخص فوق، ژنوتیپ‌های این گروه در دسته ژنوتیپ‌های حساس تا متوسط قرار گرفتند. گروه چهارم شامل ژنوتیپ‌های ASM1، M4، AS1، ASM2، NB4، M8 و M9 بودند. اعضای این گروه خود به سه دسته تقسیم شدند به طوری که ژنوتیپ‌های M9 و M8، به ترتیب از گیلان و خراسان هرکدام به تنهایی در یک گروه و بقیه در گروهی جداگانه قرار گرفتند. این ژنوتیپ‌ها به جز ژنوتیپ‌های NB4 و M8 در نتیجه ارزیابی با سه شاخص مختلف در گروه ژنوتیپ‌های با مقاومت بالا قرار گرفتند که همگی متعلق به منطقه گیلان بودند. این ژنوتیپ‌ها در ارزیابی مقاومت با استفاده از شاخص‌های حساسیت واریته‌ای و فراوانی دارای کم‌ترین میانگین و در ارزیابی آتشک با استفاده از شاخص بلتسویل بیش‌ترین میانگین را به دست آوردند (جدول ۲) که موید مقاومت بالاتر آن‌ها به بیماری است.

در نتیجه ارزیابی ژنوتیپ‌ها در سه شاخص، ژنوتیپ‌های ASM1، M4، AS1، ASM2، KM1 و M9 به عنوان مقاوم‌ترین و ژنوتیپ‌های M5، NB3، M6 و SVS1 به عنوان حساس‌ترین ژنوتیپ‌ها در بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه انتخاب شدند. مشاهدات و تجزیه و تحلیل‌های آماری نشان داد که ژنوتیپ‌های منطقه اصفهان و خراسان عموماً مقاومت کم‌تری نسبت به آتشک در مقایسه با ژنوتیپ‌های منطقه گیلان دارا بودند. همچنین مقایسه نتایج به دست آمده از این سه شاخص نشان داد که هیچ‌کدام از این شاخص‌ها به تنهایی مناسب ارزیابی مقاومت آتشک در باغ نیستند و در صورت نیاز به مطالعه آتشک در درخت کامل بهتر است از شاخص‌های بیش‌تری استفاده شود و ضمن تجمیع این شاخص‌ها، نتیجه جامع‌تری از خسارت آتشک روی بخش‌های مختلف درخت در کنار یک‌دیگر قرار داده و بر اساس داده‌های تجمع یافته روی حساسیت ژنوتیپ‌ها و ارقام تصمیم گرفت. از طرفی مشخص است که انجام آزمایش‌های ارزیابی مقاومت در باغ در میزبانی نظیر به تا چه اندازه اهمیت داشته و صرفاً پس از عبور از آزمایش‌های میان مدت باغی امکان معرفی ارقام متحمل به آتشک در این درخت امکان پذیر خواهد بود.

References

Abdollahi, H., Alipour, M., Khorramdel Azad, M., Mehrabipour, S., Ghasemi, A., Adli, M., Atashkar, D., and Akbari, M. 2013. Establishment of quince (*Cydonia oblonga* Mill.) germplasm collection from various regions of Iran. Acta Horticulturae 976: 199-206.

Abdollahi, H., Ghasemi, A., and Mehrabipour, S. 2008. Evaluation of fire blight resistance in some quince (*Cydonia oblonga* Mill.) genotypes. II. Resistance of genotypes to the disease. Seed and Plant 24: 529-541 (in Persian).

Abdollahi, H., and Majidi Heravan, E. 2005. Relationship between fire blight resistance and different characteristics of apple (*Malus domestica* Borkh.) cultivars. Seed and Plant 21: 501-513 (in Persian).

Ali, B., and Kazempour, M. N. 2004. Presentation of *Erwinia amylovora* from Guilan province. Proceedings of the 16th Iranian Plant Protection Congress, Tabriz, Iran. Page 422 (in Persian).

Alipour, M., Abdollahi, H., and Mehrabipour, S. 2011. Correlation between vegetative characters and fire blight vulnerability in quince (*Cydonia oblonga* Mill.). Proceedings of the 7th Iranian Horticultural Science Congress, Isfahan, Iran. Page 334 (in Persian).

Anonymous. 2009. FAO Statistics for Perennial Crops and Fruits. FAO Publication, Rome, Italy.

Bell, L. R., and Leitao, M. J. 2011. Cydonia. pp. 1-16. In: Chittaranjan, K.(ed.). Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, Germany.

Benlioglu, K., and Erdogan, O. 1999. Detection of bacterial microflora antagonistic to *Erwinia amylovora* on apple, pear and quince trees. Acta Horticulturae 489: 315-323.

Davoudi, A. 1998. Evaluation of fire blight resistance in some apple and pear cultivars. M.Sc. Thesis, University of Tabriz, Tabriz, Iran. 200pp. (in Persian).

Ganopoulos, I., Merkouropoulos, G., Pantazis, S., Tsipouridis, C., and Tsaftaris, A. 2011. Assessing molecular and morpho-agronomical diversity and identification

of ISSR markers associated with fruit traits in quince (*Cydonia oblonga*). Genetics and Molecular Research 10: 2729-2746.

Hunter, D. M. 1993. Pear breeding for the 21st century–program and progress at Harrow. Acta Horticulturae 338: 377–383.

Kleinhempel, H., Keagler, H., Ficke, W., and Schaefer, H. J. 1984. Methods of testing apple for resistance to fire blight. Acta Horticulturae 151: 261-265.

Lespinasse, Y., and Aldwinckle, H. S. 2000. Breeding for resistance to fire blight. pp. 253-273. In: Vanneste, J. L.(ed.). Fire Blight: The Disease and its Causative Agent, *Erwinia amylovora*. CAB International Publishing, Wallingford, UK.

Lespinasse, Y., and Paulin, J. P. 1990. Apple breeding program for fire blight resistance: strategy used and first results. Acta Horticulturae 273: 285-291.

Maroofi, A., and Mostafavi, M. 1996. Evaluation of the resistance of apple, pear and quince varieties to fire blight. Acta Horticulturae 411: 395-400.

Mazarei, M., Zakeri, Z., and Hassanzadeh, N. 1994. Fire blight situation on fruit trees in West Azerbaijan and Ghazvin provinces. Iranian Journal of Plant Pathology 30: 25-32 (in Persian).

Papachatzis, A., Kalorizou , H., Vagelas, I., Sotiropoulos , T., and Tsipouridis, K. 2011. Screening quince cultivars and hybrids for resistance to fire blight (*Erwinia amylovora*). Acta Horticolturae 918: 933-936.

Radnia, H. 1996. Tree Fruits Rootstocks. Agricultural Education Publisher. Karaj, Iran. 637 pp. (in Persian).

Sahandpour, A., and Ghasemi, A. 2004. Occurrence of the fire blight of pome trees in Fars province. Proceedings of the 16th Iranian Plant Protection Congress, Tabriz, Iran, Page 429 (in Persian).

Van der Zwet, T., and Keil, H. L. 1979. Fire Blight: A Bacterial Disease of Rosaceous Plants. Agricultural Handbook No. 510, United States Department of Agriculture, Washington DC, USA. 650pp.

Van der Zwet, T., Oitto, W. A., and Brooks, H. J. 1970. Scoring system for rating the severity of fire blight in pear. Plant Disease Reporter 54: 835–839.

Westwood, M. N. 1993. Temperate-Zone Pomology Physiology and Culture. Timber Press Inc., Portland, Oregon, USA. 624pp.

Zakeri, Z., and Sharifnabi, B. 1991. Pear fire blight disease in Karaj. Proceedings of

the 10th Iranian Plant Protection Congress, Kerman, Iran. Page 157 (in Persian).

Zohur, A., and Rahmani Moghadam, N. 2004. Outbreak of fire blight in Khorasan province. Proceedings of the 16th Iranian Plant Protection Congress, Tabriz, Iran. Page 423 (in Persian).