

واکنش تعدادی از ژنوتیپ‌های کلکسیون سیب بومی ایران به *Erwinia amylovora*

Response of some Apple Genotypes from Local Apple Collection of Iran to
Erwinia amylovora

امید ملکی بالاجو^۱، منصوره کشاورزی^۲، یونس رضایی دانش^۳، سیما دامیار^۲ و
مراد جعفری^۳

۱- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان
۲- به ترتیب استادیار و کارشناس، موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج
۳- استادیار، دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه

تاریخ دریافت: ۱۳۸۸/۱۱/۴ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۹/۶/۲۵

چکیده

ملکی بالاجو، ا.، کشاورزی، م.، رضایی دانش، ی.، دامیار، س.، و جعفری، م. ۱۳۹۰ واکنش تعدادی از ژنوتیپ‌های کلکسیون سیب بومی ایران به *Erwinia amylovora* مجله به‌نژادی نهال و بذر ۱-۲۷: ۲۳-۳۶.

در این تحقیق مقاومت نسبی ۵۸ رقم و ژنوتیپ سیب بومی در کنار دو رقم خارجی به نام‌های M26 و Golden delicious به عنوان شاهد، به باکتری *Erwinia amylovora* (Burrill.) Winslow et al. عامل بیماری آتشک گلایی بررسی شد. سوبه‌های باکتری عامل آتشک از باغ‌های درختان میوه دانه‌دار مناطق ارومیه، کرج، مشهد، زنجان، شاهرود، قزوین و سنندج جمع‌آوری و با آزمون‌های فنوتیپی و مولکولی شناسایی شدند. مخلوط هفت سوبه بیمارزا از مناطق مختلف به عنوان مایه باکتری به کار برده شد. ارزیابی مقاومت ژنوتیپ‌ها با تزریق سرشاخه نهال‌های یکساله پیوندی بر روی پایه M26 در شرایط گلخانه انجام و شدت بلایت شش هفته پس از مایه‌زنی تعیین شد. بر اساس نتایج این پژوهش، ۵٪ ارقام و ژنوتیپ‌های مقاوم (ارقام موروتی، قرمز تابستانه و سفید و قرمز)، ۱۷٪ نیمه مقاوم، ۱۸٪ نیمه حساس، ۲۸٪ حساس و ۳۲٪ بسیار حساس بودند. با توجه به این یافته‌ها می‌توان نتیجه گرفت که ژرم‌پلاسِم سیب بومی ایران نسبت به بیماری آتشک نسبتاً حساس است.

واژه‌های کلیدی: سیب، ارقام بومی، آتشک، مقاومت، *Erwinia amylovora*.

مقدمه

گیاهی، با محدودیت‌هایی مواجه شده است (Chiou and Jones, 1993; Norelli *et al.*, 2003). با توجه به در دسترس نبودن روش مبارزه قاطع و سم اختصاصی، انتخاب و کاشت ارقام مقاوم می‌تواند راهکاری مناسب و اقتصادی برای کنترل این بیماری باشد (Paulin and Le Lezec, 1987; van der Zwet and Keil, 1979; Thomas and Jones, 1992; Paulin and Lespinasse, 1987).

از اواسط قرن نوزدهم، به وجود اختلافاتی در میزان مقاومت درختان میوه دانه‌دار به بیماری آتشک پی برده شد. چنین تفاوت‌هایی بیشتر در بین گونه‌های سیب (Malus)، گلابی (Pyrus)، به (Cydonia) و پیراکانتا (Pyracantha) مشاهده شده است (van der Zwet and Keil, 1979). با توجه به اهمیت کاربرد ارقام مقاوم، برنامه‌های به‌گزینی و اصلاحی متعددی بمنظور ایجاد مقاومت به آتشک در سیب انجام شده و ادامه دارد (Aldwinckle *et al.*, 1999; Aldwinckle and van der Zwet, 1979). در کشور آلمان، برنامه‌های به‌گزینی و اصلاحی متعددی به منظور اصلاح سیب برای مقاومت به آتشک در دست اجرا است (Fischer and Ritscher, 1993, 1999; Laux and Zeller, 2006). در مجارستان نیز برنامه مشابهی اجرا می‌شود (Toth *et al.*, 2006). در یک برنامه غربالگری وسیع، ژرم پلاسما سیب کشورهای چین، روسیه، ترکیه و آلمان مورد ارزیابی مقاومت به آتشک قرار گرفت

بیماری آتشک با عامل *Erwinia amylovora* یکی از مهم‌ترین و قدیمی‌ترین بیماری‌های شناخته شده در خانواده گل‌سرخیان است که تاکنون از حداقل ۲۰۰ گونه گیاهی متعلق به ۴۰ جنس از این خانواده گزارش شده است (Vanneste, 2001). این بیماری در ایران برای اولین بار در سال ۱۳۶۸ از کرج و سپس به تدریج از اکثر مناطق کشت درختان میوه دانه‌دار در استان‌های قزوین، آذربایجان غربی، زنجان، آذربایجان شرقی، کردستان، سمنان، گیلان، فارس و خراسان گزارش شد (به نقل از Hassanzade and Keshavarzi, 2007). آلودگی‌های شدید این بیماری در کشور سبب نابودی درختان به (*Cydonia oblonga*) در بعضی از مناطق کشور شده و به دلیل خسارت زیاد و هزینه‌های سنگین کنترل، تولید گلابی را نیز رفته رفته غیراقتصادی می‌کند و ممکن است تولید عمده‌ترین میوه دانه‌دار کشور یعنی سیب را نیز به مخاطره اندازد.

بهترین زمان کنترل شیمیایی بیماری آتشک در مرحله شکوفه است و موثرترین برنامه، یک نوبت محلول‌پاشی با سموم مسی در مرحله تورم جوانه و ۴-۲ اسپری استرپتومایسین در طول مرحله شکوفه است (Maxon-Stein *et al.*, 2002). اما سموم مسی اثر نامطلوبی روی میوه دارند (Steiner, 1990) و کاربرد استرپتومایسین نیز به دلیل ظهور سویه‌های مقاوم و خطر انتقال افقی ژن مقاومت به آنتی‌بیوتیک به باکتری‌های بیماریزای جانوری و

حاشیه کامل، گرد و محدب انتخاب و بر روی آگار مغذی خالص سازی شدند. تک کلنی‌ها بلافاصله مورد آزمون‌های تولید لوان، عدم تولید رنگدانه فلورسنت، بیماری‌زایی در برش‌های گلابی نارس (رقم بارتلت) و واکنش‌های گرم و فوق حساسیت در برگ شمعدانی قرار گرفتند. در صورت انطباق، سایر آزمون‌های رایج بیوشیمیایی / فیزیولوژیک بر روی آن‌ها انجام و شناسایی تکمیلی با آزمون PCR انجام شد. مخلوط PCR به صورت کیت آماده (Bioner) شامل آنزیم تک DNA پلیمرز، DNTP، پی، کلریدمنیزیم، بافر PCR و آب دو بار تقطیر (حجم نهایی ۲۰ µl) بود که ۱ میکرولیتر آغازگر AMSbR، ۱ میکرولیتر آغازگر AMSbI (۲۰ پیکومول از هر آغازگر) به آن اضافه شد (Bereswill et al., 1995) در این تحقیق استخراج DNA انجام نشد و تنها یک تک کلونی از کشت ۴۸ ساعته باکتری به عنوان DNA الگو به مخلوط PCR افزوده شد. برسویل و همکاران (Bereswill et al., 1992) از کشت ۲۴ ساعته باکتری در محیط آبگوشت غذایی (Nutrient broth) پس از سانتریفوژ و محلول‌سازی مجدد آن در آب مقطر به عنوان DNA الگو استفاده کردند. باکتری *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* (اهدایی پروفیسور منسفیلد، دانشگاه لندن) و آب مقطر استریل به عنوان شاهد به کار برده شدند. چرخه‌های حرارتی (Bereswill et al., 1995) شامل واسرشته‌سازی اولیه در دمای ۹۴°C به مدت ۵ دقیقه و ۳۷ چرخه شامل واسرشته‌سازی

و در گروه‌های مختلف مقاومت از بسیار حساس تا مقاوم گروه‌بندی شدند (Aldewinckle et al., 2002). در ایالات متحده نیز برنامه به‌گزینی ارقام سیب برای مقاومت به آتشک انجام شده است (Aldewinckle et al., 1999). با توجه به وجود منابع غنی سیب در کلکسیون سیب بومی ایرن واقع در موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر و این که بسیاری از این مواد دارای بازارپسندی مطلوب و پتانسیل ترویج و گسترش کشت هستند، در این تحقیق مقاومت ۵۸ رقم ژنوتیپ سیب محلی به بیماری آتشک مورد بررسی قرار گرفت تا ژنوتیپ‌های مقاوم در برنامه‌های به‌نژادی، ترویجی یا در احداث باغ به کار برده شوند.

مواد و روش‌ها

در اواخر بهار سال ۱۳۸۸، نمونه‌های برگ آلوده یا میوه نارس با تراوشات اوز (ooze) از باغ‌های درختان میوه دانه‌دار مناطق ارومیه، کرج، زنجان، سنندج، قزوین، شاهرود و مشهد جمع‌آوری شدند. به منظور جداسازی باکتری، قطعاتی از ناحیه حد فاصل بافت بیمار و سالم جداسازی و در هاون چینی استریل حاوی ۵ میلی‌لیتر آب مقطر استریل له شد و یک لوپ از محلول حاصله روی محیط آگار مغذی (Nutrient Ager) به روش مخطط کشت و به مدت ۷۲ ساعت کشت در دمای ۲۵°C نگهداری شد. تک کلونی‌های کوچک، براق، به رنگ سفید مایل به آبی کمرنگ با

شرایط گلخانه (دمای °C ۳۰-۲۸ و رطوبت نسبی بالای ۸۵ درصد) مورد ارزیابی مقاومت قرار گرفتند.

آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳-۶ تکرار انجام شد. مایه‌زنی در بهار و به روش تزریق سرشاخه در شش سرشاخه ۳۰-۴۰ سانتی‌متری از هر نهال انجام شد. بدین منظور با استفاده از سرنگ انسولین، مایه باکتری به زیر اپیدرم نوک شاخه‌ها تزریق شد. شش هفته بعد، شدت بلایت با استفاده از رابطه:

$$\text{شدت بلایت} = \frac{\text{طول نکروز}}{\text{طول شاخه مایه‌زنی شده}} \times 100$$

اندازه‌گیری و محاسبه شدت بلایت (Le Lezec and Paulin, 1984) و ارقام بر حسب شدت بلایت (۱۰۰-۰) توسط سیستم گروه‌بندی پنج‌گانه (Le Lezec et al., 1997) در گروه‌های مقاوم تا بسیار حساس (۵-۱) به صورت زیر رتبه‌بندی شدند:

گروه مقاوم: شدت بلایت ۰ تا ۲۰ درصد
گروه نیمه مقاوم: شدت بلایت ۲۰ تا ۴۰ درصد
گروه نیمه حساس: شدت بلایت ۴۰ تا ۶۰ درصد
گروه حساس: شدت بلایت ۶۰ تا ۸۰ درصد
گروه بسیار حساس: شدت بلایت ۸۰ تا ۱۰۰ درصد

تجزیه خوشه‌ای میانگین شدت بلایت به روش فاصله متوسط میانگین جفت گروه‌های موازنه نشده (UPGMA) با استفاده از نرم‌افزار SPSS انجام شد.

نتایج و بحث

در مجموع شانزده سویه باکتری از نمونه‌های

در دمای °C ۹۴ به مدت ۳۰ ثانیه، اتصال در دمای °C ۴۹ به مدت یک دقیقه و اتساع در °C ۷۲ به مدت یک دقیقه بود که با مرحله اتساع نهایی در دمای °C ۷۲ به مدت ۵ دقیقه خاتمه یافت. محصولات PCR به مدت ۳۰ دقیقه در آگارز ۱٪ در ۷۰-۸۰ ولت الکتروفورز شدند و پس از رنگ‌آمیزی با اتیدیم برومید، از باندهای DNA توسط ژل داک (Uvitec) عکس‌برداری شد.

به منظور تهیه مایه باکتری (Inoculum)، از هر منطقه یک سویه انتخاب و به مدت یک شب در محیط LB (Luria Broth) در شیکرانکوباتور با دمای °C ۲۵ و سرعت ۱۵۰ دور در دقیقه کشت شدند و سپس میزان جذب نوری هر یک در طول موج ۶۶۰ نانومتر روی ۰/۲ (معادل ۱۰^۸ cfu/ml) تنظیم (Baysal and Zeller, 2004) و حجم‌های مساوی از آن‌ها با هم مخلوط و به عنوان مایه باکتری به کار برده شد.

مواد گیاهی مورد استفاده در این آزمایش ۵۸ ژنوتیپ محلی سیب شامل ۳۹ رقم (یک رقم از آذربایجان شرقی، دو رقم از آذربایجان غربی، ۲۸۷ رقم از تهران، دو رقم از فارس، دو رقم از کردستان و چهار رقم از استان مرکزی) و ۱۹ ژنوتیپ (یک ژنوتیپ از آذربایجان شرقی، ۱۲ ژنوتیپ از تهران، یک ژنوتیپ از سمنان، پنج ژنوتیپ از کهگیلویه و بویر احمد و یک ژنوتیپ از همدان) بود. ارقام سیب خارجی M26 و Golden delicious به ترتیب به عنوان شاهد‌های بسیار حساس و نیمه حساس به کار برده شدند. مواد گیاهی بر روی پایه رویشی M26 پیوند شدند و نهال‌های پیوندی در یک سالگی در

(Differential virulence) در ارقام مختلف سیب را منتقسی می‌سازد (Norelli *et al.*, 1984, 1986). در ایالات متحده، ۱۰٪ سویه‌های *E. amylovora* بررسی شده دارای ویرولانسی افتراقی بر روی سیب بودند (Vanneste, 2001؛ Fazio *et al.*, 2006) و از این رو توصیه شده است که در ارزیابی ارقام سیب از مخلوط سویه‌ها استفاده شود (Vanneste, 2000؛ Norelli *et al.*, 1987؛ Pauline *et al.*, 1986). تاکنون ویرولانسی افتراقی سویه‌های مختلف *E. amylovora* در ارقام مختلف گلابی گزارش نشده است (Quamme and Bonn, 1981).

در این تحقیق، به منظور رفع احتمال تاثیر پایه بر شدت بلایت در رقم (van der Zwet and Keil, 1979؛ Thompson, 1987)، کلیه ارقام روی پایه رویشی یکنواخت M26 پیوند شدند. این پایه یکی از رایج‌ترین پایه‌های پاکوتاه‌کننده است که در بسیاری از باغ‌های مدرن و متراکم سیب مورد استفاده قرار می‌گیرد (Thomas and Jones, 1992). روش ارزیابی مقاومت به آتشک در این بررسی، تزریق سرشاخه در شرایط گلخانه و شاخص اندازه‌گیری، نسبت طول نکرز به طول شاخه بود که هر دو در برنامه‌های به‌نژادی معتبر هستند (Vanneste, 2001؛ Le Lezec and Paulin, 1984) ارزیابی مقاومت در شرایط کنترل‌شده گلخانه، احتمال تاثیر عوامل طبیعی از جمله سطوح

آلوده جمع‌آوری شده از مناطق مختلف جداسازی شد (سه سویه از ارومیه، دو سویه از کرج، سه سویه از مشهد، یک سویه از زنجان، سه سویه از شاهرود، دو سویه از قزوین و دو سویه از سنندج). کلیه سویه‌ها در مدت ۴۸ ساعت رشد بر روی محیط آگار غذایی (NA)، کلونی‌های کوچک، مدور، برجسته و برآق، با حاشیه کامل و به رنگ سفید مایل به آبی کم رنگ ایجاد کردند. در آزمون اثبات بیماری‌زایی، سه روز پس از مایه‌زنی لکه‌های تیره آسوخته و اوز شیری رنگ بر روی برش‌های نارس گلابی مشاهده شد. نتایج آزمون‌های فوتیپی نشان داد که سویه‌های مورد مطالعه متعلق به گونه *E. amylovora* هستند (جدول ۱). بر اساس نتایج PCR، در کلیه سویه‌ها قطعه ۱/۶ کیلوبازی تکثیر شد (شکل ۱) اما نوار مشابهی در نمونه‌های *X. c. pv. vesicatoria* یا آب مقطر استریل تکثیر نشد. قطعه تکثیر شده DNA مربوط به بخشی از ژن *ams* است که اختصاصی گونه *Erwinia amylovora* است و در سایر باکتری‌های بیماری‌زای گیاهی وجود ندارد (Bereswill *et al.*, 1995). نتایج مجموعه این آزمایش‌ها نشان داد که سویه‌های باکتری جدا شده از مناطق مختلف متعلق به باکتری *E. amylovora* بودند.

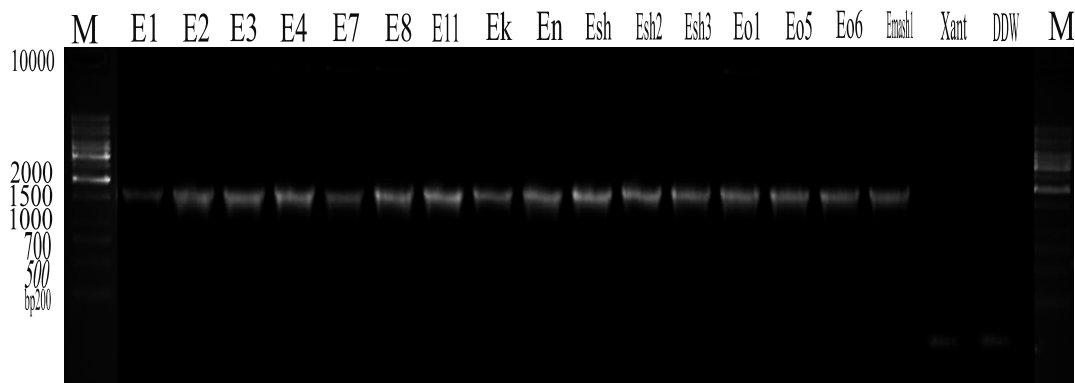
مایه باکتری متشکل از سویه‌های EO1 از ارومیه، Esh از شاهرود، En از مشهد، Ek از کرج، E4 از سنندج، E1 از زنجان و E3 از قزوین بود. کاربرد سویه‌های متنوع احتمال دخالت ویرولانسی افتراقی سویه‌ها

جدول ۱- خصوصیات فنوتیپی سویه‌های *Erwinia amylovora* جمع‌آوری شده از مناطق مختلف ایران

Table 1. Phenotypical characteristics of *Erwinia amylovora* strains collected from different regions of Iran

آزمون	واکنش	آزمون	واکنش
Test	Reaction	Test	Reaction
HR reaction	+	Oxidase	-
Arginine dihydrolase	-	Reducing compounds from sucrose	+
Lipid hydrolase	-	H ₂ S production	-
Gram reaction	-	Indole formation	-
Number of flagella	1-8	Gelatin hydrolysis	+
O/F	+/weak	Starch hydrolysis	-
Growth at 35° C	+	Catalase	+
Growth at 36° C	-	Urease	-
5% NaCl tolerance	+	Nitrate reduction	-
6% NaCl tolerance	-	Levan formation	+
Litmus milk:		Lecithinase	-
Alkaline	-	MR	-
Acidic	+	VP	+
Oxidase	-	Casein hydrolysis	-
Citrate utilization	+	Ammonia production	-

+: Positive reaction; -: Negative reaction



شکل ۱- تکثیر قطعه ۱/۶ کیلوبازی مربوط به ژن *ams* در سویه‌های *Erwinia amylovora* و عدم وجود آن در نمونه‌های شاهد

Fig. 1. Amplification of a 1.6 kb band corresponding to *ams* gene of *E. amylovora* strains and its absence in control samples

مقاومت به بیماری آتشک اختلاف معنی‌داری (P < 0.01) وجود دارد. در ارقام حساس، ۱-۲ روز پس از مایه‌زنی، افتادگی خفیف سرشاخه‌ها ظاهر شد و تا روز هفتم، بلایت به برگ‌ها گسترش یافت و در مدت ۱۲ روز، سرعصابی شدن شدید و سیاهی سرشاخه‌ها که تا ۳۰ روز پس از مایه‌زنی کاملاً خشک شدند، مشاهده شد.

مختلف مایه باکتری، بر شدت بلایت را کاهش می‌دهد، ضمن این که مقادیر شدت بلایت در شرایط گلخانه با میزان حساسیت ارقام در شرایط طبیعی ارتباط مستقیم دارد (Quamme et al., 1976; Vanneste, 2001).
نتایج تجزیه واریانس شدت بلایت نشان داد که بین ارقام و ژنوتیپ‌های مختلف از نظر

۲۸٪ مقاوم و از ۱۹۷ و رقم معرفی شده در سال‌های ۱۹۷۴-۱۹۲۰ در کشورهای اروپایی و آمریکا، ۴۱٪ مقاوم بودند (van der Zwet and Keil, 1979)، این در حالی است که تنها ۵٪ ارقام و ژنوتیپ‌های محلی بررسی شده در این تحقیق در گروه مقاوم رتبه‌بندی شدند. نتایج بررسی‌های معرفی و مصطفوی (Marofi and Mostafavi, 1996) روی تعداد دیگری از ارقام سیب ایرانی و خارجی هم نشان داد که ۲۶٪ ارقام مقاوم بودند که اکثر آن‌ها، خارجی بودند. داوودی (Davoodi, 1998) نیز در ارزیابی ۱۵۰ رقم محلی و خارجی سیب نشان دادند که ۳۰٪ آن‌ها بسیار حساس، ۲۷٪ حساس، ۱۵٪ نیمه حساس، ۱۱٪ نیمه مقاوم و ۲۳٪ مقاوم بودند که اکثر ارقام مقاوم، خارجی و به خصوص از ارقام آمریکایی بودند که قبلاً به عنوان ارقام مقاوم به عامل بیماری آتشک معرفی شده بودند.

علاوه بر گروه‌بندی ارقام بر اساس سیستم گروه‌بندی پنج‌گانه، داده‌ها از نظر آماری نیز گروه‌بندی شدند. برش دندروگرام به دست آمده از تجزیه خوشه‌ای مقادیر شدت بلایت در فاصله تقریبی ۵ واحد موجب گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها در پنج کلاستر عمده شد (شکل ۲) که بر اساس آزمون F و آزمون مقایسه t، اختلاف معنی‌داری (P < 0.01) بین آن‌ها وجود داشت. کلاستر اول شامل ارقام و ژنوتیپ‌های بسیار حساس و کلاستر دوم شامل تعدادی از ارقام و ژنوتیپ‌های بسیار حساس به اضافه حساس بود. کلاستر سوم دارای دو گروه مجزا (نیمه حساس و حساس)، کلاستر

در گروه‌بندی ارقام بر اساس روش (Le Lezec et al., 1997) رقم شاهد M26 در گروه بسیار حساس و رقم Golden delicious در گروه نیمه حساس قرار گرفتند که این نتایج با نتایج بررسی‌های انجام شده قبلی مطابقت دارد (Thomas and Jones, 1992; Vanneste, 2001).

از ۶۰ ژنوتیپ مورد مطالعه، ۵٪ مقاوم (موروتی، قرمز تابستانه و سفید و قرمز)، ۱۷٪ نیمه مقاوم، ۱۸٪ نیمه حساس، ۲۸٪ حساس و ۳۲٪ در گروه بسیار حساس رتبه‌بندی شدند (جدول ۲). تفکیک داده‌های مربوط به این ژنوتیپ‌ها نشان داد که در ارقام، ۷/۵٪ مقاوم (موروتی، قرمز تابستانه، سفید و قرمز)، ۱۷٪ نیمه مقاوم، ۱۷٪ نیمه حساس، ۲۴/۵٪ حساس و ۳۴٪ بسیار حساس بودند. هیچ یک از ژنوتیپ‌ها به عنوان مقاوم ارزیابی نشد و ۱۶٪ ژنوتیپ‌ها در گروه نیمه مقاوم، ۲۱٪ در گروه نیمه حساس، ۳۷٪ در گروه حساس و ۲۶٪ در گروه بسیار حساس قرار گرفتند. از گروه نیمه مقاوم، ژنوتیپ‌های B1، گلاب دماوند و ملایر ۹ و از گروه بسیار حساس، ارقام شفیع‌آبادی شهریار، گلاب رسمی، گلاب کهنز شهریار، گلاب جنتی، شمیرانی دیررس و ژنوتیپ B3 خصوصیات تجاری مطلوبی دارند (نتایج گزارش‌های تحقیقاتی بخش تحقیقات باغبانی).

مقایسه نتایج این تحقیق با گزارش‌های موجود در سایر کشورها نشان می‌دهد که ارقام و ژنوتیپ‌های محلی نسبت به ارقام تجاری خارجی از مقاومت پائین‌تری به بیماری آتشک برخوردار هستند. به عنوان مثال، از ۱۹۳ رقم تجاری سیب که قبل از سال ۱۹۲۰ در دنیا معرفی شدند،

جدول ۲- میانگین شدت بلایت در ارقام و ژنوتیپ‌های سیب بومی مناطق مختلف ایران
Table 3. Mean fireblight severity in apple cultivars/genotypes from different regions of Iran

Cultivar (C)/genotype (g)	نام رقم/ژنوتیپ	Code	Original province	Fireblight severity (%)	Response
Movruti (C)	موروتی	MO	Tehran	14.47a	R
Ghermez-e-Tabestane (C)	قرمز تابستانه	GHT	Tehran	19.02ab	R
Sefid va Ghermez (C)	سفید و قرمز	SVGH	Tehran	19.36abc	R
Sefid-e-Valee (C)	سفید والی	SV	Fars	22.78abcd	MR
B1 (G)	B1	BY	Tehran	23.78 abcde	MR
Senjedi (C)	سنجدی	MNJ	East-Azarbijan	26.02 abcdef	MR
Majidi (C)	مجیدی	J	Tehran	27.71 abcdefg	MR
Malayer No9 (G)	ملایر ۹	MN	Hamadan	29.81 abcdefgh	MR
Torshak-e-Damavand (C)	ترشک دماوند	TD	Tehran	30.12 abcdefgh	MR
Golab-e-Damavand (G)	گلاب دماوند	GD	Tehran	30.74 abcdefgh	MR
Urange (C)	اورنگه	A	Tehran	30.76 abcdefghi	MR
Momen-e-Zemestane (C)	مومن زمستانه	MZ	Markazi	34.22 abcdefghij	MR
Haji Shahriar (C)	حاجی شهریار	HS	Markazi	35.58 abcdefghijk	MR
Mahali No1 (G)	محلی ۱	SHYM	Kohgiluyeh Boyer-Ahmad	42.15 abcdefghijkl	MS
Mahali No6 (G)	محلی ۶	SHSHM	Kohgiluyeh Boyer-Ahmad	42.48 abcdefghijkl	MS
Sangi-e-Damavand (C)	سنگی دماوند	SD	Tehran	42.94 abcdefghijkl	MS
Taleghan No1(G)	طالقان ۱	SHYT	Tehran	47.89 abcdefghijklm	MS
Mahalee No5 (G)	محلی ۵	SHPM	Kohgiluyeh Boyer-Ahmad	52.63 abcdefghijklmn	MS
Golden delicious (C)	گلدن دلشیز	F	Foreign cultivar	53.79 abcdefghijklmn	MS
Khorya Sengani (C)	خوریا سنگانی	KHS	Tehran	54.70 abcdefghijklmn	MS
Haji-e-Chalus (C)	حاجی چالوس	HCH	Tehran	56.92 bcdefghijklmno	MS

R: Resistant; MR: Moderately Resistant; MS: Moderately Susceptible; S: Susceptible; HS: Highly Susceptible

میانگین‌ها با حروف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ هستند.

Means with similar letters are not significantly different at 1% probability level.

Table 2. Continued

ادامه جدول ۲

Cultivar (C)/genotype (g)	نام رقم/ژنوتیپ	Code	Original province	Fireblight severity (%)	Response
SanganieTaleghan(C)	سنگانی طالقان	ST	Tehran	57.33 bcdefghijklmnop	MS
Torsh-e-Chalus (C)	ترش چالوس	TCHA	Tehran	59.54bcdefghijklmnopq	MS
Ghanati (C)	قناتی	GH	Markazi	61.39bcdefghijklmnopq	S
Mashhadi No3 (G)	مشهدی ۳	SHCM	Tehran	61.90bcdefghijklmnopq	S
Bazri No1 (G)	بذری ۱	BZY	Tehran	63.63bcdefghijklmnopq	S
Sahfiabadi-e-Chalus (C)	شفیع ابادی چالوس	SHACH	Tehran	64.17bcdefghijklmnopq	S
Kule Kee (C)	کوله کی	KK	Kordestan	67.03bcdefghijklmnopq	S
Torsh No2 (G)	ترش ۲	TDO	Tehran	67.99bcdefghijklmnopq	S
Boshghabi-e-Damavand(C)	بشقابی دماوند	BD	Tehran	68.37cdefghijklmnopq	S
Arus-e-Gusht Ghermez (C)	عروس گوشت قرمز	AGGH	Markazi	72.20defghijklmnopq	S
B2 (G)	B2	BDO	Tehran	72.90efghijklmnopq	S
Ghermez Orumie (C)	قرمز ارومیه	GHMO	West-Azarbajan	73.35efghijklmnopq	S
Mahali No3 (G)	محلی ۳	SHSM	Kohgiluyeh Boyer-Ahmad	74.23efghijklmnopq	S
Torshak-e-Chalus (C)	ترشک چالوس	TCH	Tehran	75.06efghijklmnopq	S
Yasuj No8 (G)	یاسوج ۸	SHHY	Kohgiluyeh Boyer-Ahmad	76.06efghijklmnopq	S
A2 (G)	A2	ADO	East-Azarbajan	76.57fghijklmnopq	S
Torshak-e-Ghermez (C)	ترشک قرمز	TGH	Tehran	78.31ghijklmnopq	S
P Sefid (C)	پی سفید	PS	Kordestan	78.48ghijklmnopq	S
Shahrud No10 (G)	شاهرود ۱۰	SHD	Semnan	80.04hijklmnopq	HS
Sharbee (C)	شرابی	SH	Tehran	80.78ijklmnopq	HS
Taleghan No2 (G)	طالقان ۲	SHDT	Tehran	81.08jklmnopq	HS
Sarcheshme (G)	سرچشمه	SCH	Tehran	81.11jklmnopq	HS

R: Resistant; MR: Moderately Resistant; MS: Moderately Susceptible; S: Susceptible; HS: Highly Susceptible

میانگین‌ها با حروف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ هستند.

Means with similar letters are not significantly different at 1% probability level.

Table 2. Continued

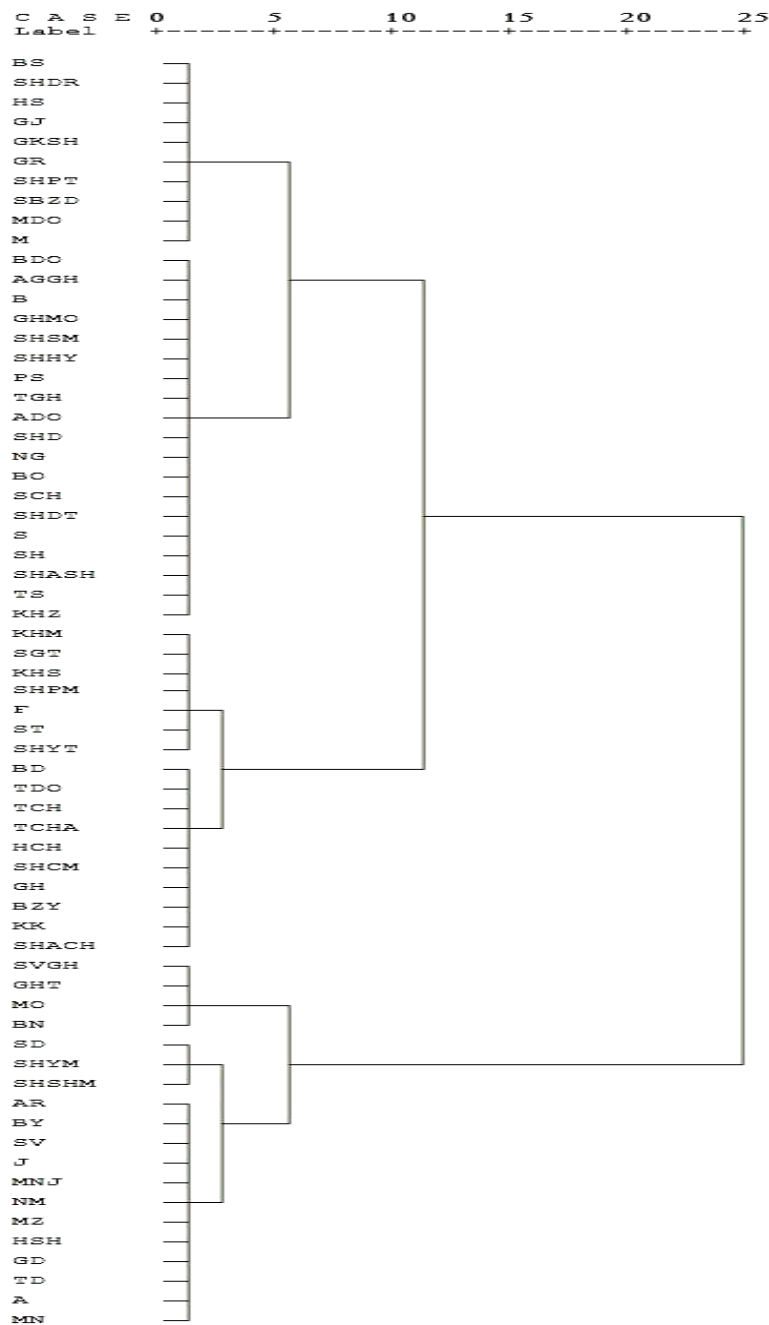
ادامه جدول ۲

Cultivar (C)/genotype (g)	نام رقم/ژنوتیپ	Code	Original province	Fireblight severity (%)	Response
Sattari (C)	ستاری	S	Markazi	84.28jklmnopq	HS
Arus-e-Khan Zeinal (C)	عروس خان زینال	KHZ	Fars	84.42klmnopq	HS
Boshghabee Orumie (C)	بشقابی ارومیه	BO	West-Azarbaijan	86.38klmnopq	HS
Sahfiabadi Shahriar (C)	شفیع ابادی شهریار	SHASH	Tehran	86.43klmnopq	HS
M26	M26	M	Foreign cultivar	86.97lmnopq	HS
Torshak-e-Sefid (C)	ترشک سفید	TS	Tehran	88.32lmnopq	HS
Momen (C)	مومن	MDO	Tehran	93.56mnopq	HS
Sabzeh Damavand (C)	سبزه دماوند	SBZD	Tehran	94.07nopq	HS
Taleghan No5 (G)	طالقان ۵	SHOT	Tehran	94.49nopq	HS
Golab-e-Rasmi (C)	گلاب رسمی	GR	Tehran	97.53opq	HS
Golab-e-Kohanz Shahriar (C)	گلاب کهنز شهریار	GKSH	Tehran	98.31opq	HS
Golab-e-Jannatee (C)	گلاب جنتی	GJ	Tehran	98.78pq	HS
Haji Sefid (C)	حاجی سفید	HS	Tehran	99.49q	HS
Shemiranee Dir Ras (C)	شمیرانی دیررس	SHDR	Tehran	100.00q	HS
B3 (G)	B3	BS	Tehran	100.00q	HS

R: Resistant; MR: Moderately Resistant; MS: Moderately Susceptible; S: Susceptible; HS: Highly Susceptible

میانگین‌ها با حروف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ هستند.

Means with similar letters are not significantly different at 1% probability level.



شکل ۲- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای ۵۸ رقم و ژنوتیپ سیب بومی ایران بر اساس شدت بلایت ناشی از آتشک به روش UPGMA.

Fig. 2. Cluster analysis of apple cultivars and genotypes based on the fireblight severity using UPGMA method

می‌دهد، اما با سیستم گروه‌بندی پنج‌گانه (Le Lezec *et al.*, 1997) چندانی نداشت و به نظر می‌رسد که این نوع سیستم‌ها، بدون توجیه آماری فقط جنبه قراردادی و کاربردی دارند.

چهارم شامل ارقام مقاوم و کلاستر پنجم دارای دو گروه مجزا (نیمه حساس و نیمه مقاوم) بود. بر این اساس، با وجودی که کلاستربندی حاصله قرابت گروه‌های موجود در هر کلاستر را نشان

حال حاضر در اپیدمی‌های آتشک نقش چندانی ندارند اما ترویج و توسعه کشت ارقام حساس و بازارپسندی همچون انواعی از سیب گلاب یا شفیع آبادی در مناطق آلوده به آتشک باید با دقت و برنامه‌ریزی بیشتری مورد توجه مسئولین و باغداران قرار گیرد.

براساس نتایج این تحقیق مشاهده می‌شود که درصد بالایی از ارقام و ژنوتیپ‌های مورد مطالعه سیب ایران حساس و بسیار حساس هستند که بر خلاف تصور رایج مبنی بر مقاومت نسبی گیاه سیب به بیماری آتشک است. اکثر این ارقام و ژنوتیپ‌ها به صورت پراکنده و در مناطق محدودی در کشور کاشته می‌شوند بنابراین در

References

- Aldewinckle, H. S., Gustafson, H. C., Forsline, P. L., and Reddy, M. W. 2002.** Fireblight resistance of *Malus* species from China, Russian Caucasus, Turkey and Germany. *Acta Horticulturae* 590: 369-372.
- Aldewinckle, H. S., Gustafson, H. C., and Forsline, P. L. 1999.** Evaluation of the core subset of the USDA apple germplasm collection for resistance to fireblight. *Acta Horticulturae* 489: 269-272.
- Aldewinckle, H. S., van der Zwet, T. 1979.** Recent progress in breeding for fireblight resistance in apples and pears in North America. *EPPO Bulletin* 9: 13-25.
- Bayasal, O., and Zeller, W. 2004.** Extract of *Hedera helix* induces resistance on apple rootstock M26 similar to Acibenzolar-S-methyl against fireblight (*Erwinia amylovora*). *Physiological and Molecular Plant Pathology* 65: 305-315.
- Bereswill, S., Bugert, P., Bruchmuller, I., and Geider, K. 1995.** Identification of fire blight pathogen, *Erwinia amylovora*, by PCR assay with chromosomal DNA. *Applied and Environmental Microbiology* 61: 2636-2642.
- Bereswill, S., Pahl, A., Bellemann, P., Wolfgang, Z., and Geider, K. 1992.** Sensitive and specific detection of *Erwinia amylovora* by polymerase chain reaction analysis. *Applied and Environmental Microbiology* 58: 3522-3526.
- Chiou, C. S., and Jones, A. L. 1993.** Nucleotide sequence analysis of a transposon (Tn5393) carrying streptomycin resistance genes in *Erwinia amylovoera* and other gram-negative bacteria. *Journal of Bacteriology* 175: 732-740.
- Davoodi, A. 1998.** Evaluation of a number of apple and pear cultivars to fireblight. MSc. Thesis, College of Agriculture, Tabriz University, Tabriz, Iran (in Persian).

- Fazio, G., Aldwinckle, H. S., McQuinn, R. P., and Robinson, T. L. 2006.** Differential susceptibility of fireblight in commercial and experimental apple rootstock cultivars. *Acta Horticulturae* 704: 527-530.
- Fischer, C., and Richter, K. 1993.** Breeding for fireblight resistance in apple. *Acta Horticulturae* 338: 413-414.
- Fischer, C., and Richter, K. 1999.** Results on fireblight resistance in Pillnitz apple breeding programme. *Acta Horticulturae* 489: 279-285.
- Hassanazadeh, N., and Keshavarzi, M. 2007.** Fireblight in Iran: Past and current situation. Proceedings of the International Congress on Improvement of Fruit, Small fruit, Nuts and Vine Assortments Under Recent Management Conditions, Samokhvalovichy Blarus. pp. 132-135.
- Laux, P., and Zeller, W. 2006.** Fireblight resistance in extensive pome fruit production in Germany. *Acta Horticulturae* 704: 531-534.
- Le lezec, M., Lecomte, P., Laurens, F., and Michelesi, J.C. 1997.** Sensibilite varietale au feu bacterian (1^{re} partie). *L'Arboriculture Fruitiere* 503: 57-62.
- Le lezec, M., Paulin, J. P. 1984.** Shoot susceptibility to fire blight of some apple cultivars. *Acta Horticulturae* 151: 277-287.
- Maroofi, A., and Mostafavi, M. 1996.** Evaluation of the resistance of apple, pear and quince varieties to fireblight. *Acta Horticulturae* 411: 395-399.
- Maxson-stein, K., Shong-yang, H. E., Hammerschmidt, R., and Jones, A. L. 2002.** Effect of treating apple trees with ASM on fireblight and expression of PR proteins genes. *Plant Disease* 68: 785-790.
- Norelli, J. L., Aldwinckle, H. S., and Beer, S. V. 1984.** Differential host × pathogen interactions among cultivars of apple and strains of *Erwinia amylovora*. *Phytopathology* 74: 136-139.
- Norelli, J. L., Aldwinckle, H. S., and Beer, S. V. 1986.** Differential susceptibility of *Malus* spp. Robusta 5, Novole and Ottawa 523 to infection by *Erwinia amylovora*. *Plant Disease* 70: 1017-1019.
- Norelli, J. L., Aldwinckle, H. S., and Beer, S. V. 1987.** Evaluation and selection of fireblight resistance in apple with reference to differential virulence in *Erwinia amylovora*. *Acta Horticulturae* 217: 263-264.
- Norelli, J. L., Jones, A. L., and Aldwinckle, H. S. 2003.** Fireblight management in the twenty-first century. *Plant Disease* 87: 756-765.

- Paulin, J.P., and Le lezec, M. 1987.** Shoot and blossom susceptibility to fire blight of apple cultivars. *Acta Horticulturae* 217: 311-315.
- Paulin, J. P., and Lespinasse, Y. E. 1987.** Evaluation with different isolates of *Erwinia amylovora* for the susceptibility to fire blight of apple cultivars. *Acta Horticulturae* 217: 253-261.
- Quamme, H. A., and Bonn, W. A. 1981.** Virulence of *Erwinia amylovora* and its influence on the determination of fireblight resistance of pear cultivars and seedlings. *Canadian Journal of Plant Pathology* 3: 187-190.
- Quamme, H. A., van der Zwet, T., and Dirks, V. 1976.** Relationship of fireblight resistance of young pear seedlings inoculated in the greenhouse to mature seedling tress naturally infected in the field. *Plant Disease Reporter* 60: 660-664.
- Steiner, P.W. 1990.** Predicting apple blossom infections by *Erwinia amylovora* using the MARYBLYT model. *Acta Horticulturae* 273: 139-148.
- Thomas, T. M., and Jones, A. L. 1992.** Severity of fire blight on apple cultivars and strains in Michigan. *Plant Disease* 76: 1049-1052.
- Thompson, J. M. 1987.** Effect of rootstock on fireblight in several apple cultivars. *HortScience* 6: 167-168.
- Toth, M., Kasa, M., Gonder, M., Honty, K., and Hevesi, M. 2006.** First results of fireblight resistance screening in a Hungarian apple breeding program. *Acta Horticulturae* 704: 345-550.
- van der Zwet, T., and Keil, H. L. 1979.** Fire blight, A bacterial disease of rosaceous plants. U.S. Dept. Agri., Agriculture Handbook, No. 510. pp. 200.
- Vanneste, J. L. 2001.** Fire Blight, the Disease and its Causative Agent, *Erwinia amylovora*. CAB International, Wallingford, Oxon, UK.