مجله به‌نژادی نهال و بذر
جلد ۱-۳۰، شماره ۲، سال ۱۳۹۳

مقاومت به بیماری آتشک در پایه‌های جدید نیمه پاکوتاه‌کننده گلابی در شرایط درون‌شیشه‌ای و گلخانه

Resistance of New Semi-Dwarfing Pear Rootstocks to Fire Blight *In Vitro* and Greenhouse Conditions

سعیدرضا آذرآبادی[۱]، حمید عبداللهی[۲] و محمد ترابی[۳]

۱ و ۳- به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و استاد، دانشگاه آزاد اسلامی ورامین، واحد ورامین- پیشوا، دانشکده کشاورزی، گروه بیماری‌شناسی گیاهی، ورامین
۲- دانشیار، موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۵/۳۱ **تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۱۲/۱**

چکیده

آذرآبادی، س. ر.، عبداللهی، ح. و ترابی، م. ۱۳۹۳. مقاومت به بیماری آتشک در پایه‌های جدید نیمه پاکوتاه‌کننده گلابی در شرایط درون‌شیشه‌ای و گلخانه. **مجله به‌نژادی نهال و بذر ۱-۳۰:** ۲۴۲ - ۲۲۷.

آتشک بیماری مهم درختان میوه دانه‌دار از جمله گلابی بوده و استفاده از ارقام و پایه‌های مقاوم یکی از موثرترین روش‌های مبارزه با آن بیماری است. در این تحقیق، ارزیابی مقاومت و بررسی رفتار پایه‌های جدید نیمه پاکوتاه‌کننده گلابی شامل OHF87 و پیرودوارف (Pyrodwarf) همراه با دو رقم شاهد حساس بارتلت (Bartlett) و مقاوم درگزی در پاسخ به حمله بیماری در شرایط درون شیشه‌ای و گلخانه مورد بررسی و مقایسه قرار گرفت. مواد گیاهی پس از تکثیر با مخلوطی از سویه‌های Ea273، K1 و Z2 باکتری عامل بیماری (*Erwinia amylovora*) مایه‌زنی شد و پیشرفت بیماری به ترتیب در مدت ۶ و ۱۴ روز در شرایط درون شیشه و گلخانه ارزیابی شد. ارزیابی مقاومت در شرایط گلخانه نشانگر بیش‌ترین سطح مقاومت در رقم درگزی و سپس پایه‌های OHF87 و پیرودوارف و در نهایت رقم بارتلت بود. نتایج ارزیابی مقاومت در شرایط درون شیشه منطبق با ارزیابی گلخانه‌ای بود. در شرایط گلخانه‌ای دو معیار سرعت پیشرفت نکروز و پیشرفت نهایی نکروز و در شرایط درون شیشه‌ای، شاخص سرعت پیشرفت نکروز در تعیین مقاومت موثر بود. همچنین به صورت تکمیلی، مقاومت پایه‌های جدید OHF40، OHF69، OHF333 و FOX11 تنها در شرایط درون‌شیشه بررسی و نتایج بیانگر بیش‌ترین سطح مقاومت به بیماری به ترتیب در پایه‌های OHF69، شاهد درگزی، OHF333، شاهد بارتلت، OHF40 و FOX11 بود. بر اساس نتایج به دست آمده، پایه‌های OHF69، OHF87 و OHF333 پایه‌های مقاوم نسبت به بیماری آتشک هستند ولی توسعه پایه OHF40 در کشور لازم است پس از بررسی بیش‌تری انجام شود.

واژه‌های کلیدی: گلابی، بیماری آتشک، پایه‌های جدید، مقاومت، *Erwinia amylovora*.

نویسنده مسئول: hamidabdollahi@spii.ir تلفن: ۰۲۶۳۶۷۰۲۵۴۱

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

گلابی (*Pyrus communis* L.) پس از سیب مهم‌ترین میوه دانه‌دار ایران و جهان محسوب می‌شود که به همراه «به» سه میزبان اصلی و اقتصادی بیماری آتشک هستند. تمامی میزبان‌های آتشک به خانواده گلسرخیان (Rosaceae) تعلق دارند (Venisse *et al.*, 2002؛ Oh and Beer, 2005). بر اساس آخرین آمار سازمان خوار و بار و کشاورزی فائو در سال ۲۰۰۹ میلادی، کشورهای چین، ایتالیا و آمریکا به ترتیب با ۱۳، ۰/۸۵ و ۰/۷۹ میلیون تن، مهم‌ترین تولیدکننده‌های گلابی بوده و در همین سال ایران با حدود ۱۶/۵ هزار تن تولید گلابی، پانزدهمین تولیدکننده گلابی در جهان بوده است (Anonymous, 2009). مهم‌ترین مشکل پرورش گلابی در ایران بیماری آتشک است و در این بین انتخاب ارقام مقاوم، بهترین شیوه مهار و مبارزه با بیماری محسوب می‌شود. عامل بیماری آتشک، باکتری *Erwinia amylovora* است که متعلق به خانواده انتروباکتریاسه (Entrobacteracea) و دارای تاژک‌های محیطی و کپسول است (Thomson, 1992). بیماری آتشک در سال ۱۷۸۰ از آمریکا شناسائی و سپس از آمریکا به اروپا و از آن‌جا به خاورمیانه منتقل شد (van der Zwet and Keil, 1979). این بیماری در سال ۱۳۶۸ برای اولین بار در ایران، در باغی واقع در منطقه برغان کرج مشاهده و گزارش شد (Zakeri and Sharif Nabi, 1991). در سال ۱۳۷۳ اولین طغیان بیماری در استان‌های آذربایجان غربی و قزوین گزارش شد (Mazarei *et al.*, 994). بیماری آتشک سبب ایجاد بلایت شکوفه و سرشاخه‌ها شده و در میزبان‌های حساس قادر به ایجاد خسارت در بازوها و حتی تنه بوده و از این راه موجب نابودی کامل درخت می‌شود (Agrios, 2005). آتشک فاقد یک روش مبارزه قطعی بوده و مهم‌ترین اصل در برنامه‌های مبارزه با این بیماری بر پایه خارج نمودن باکتری از باغ و کاهش مایه تلقیح برای آلودگی‌های بعدی استوار است. استفاده از ارقام مقاوم و متحمل به آتشک نه تنها به طور طبیعی موجب کاهش جمعیت باکتری در باغ می‌شود، بلکه هزینه سایر روش‌های مبارزه با بیماری را به طور قابل‌توجهی کاهش می‌دهد (van der Zwet and Keil, 1979).

ارزیابی مقاومت میزبان‌های مختلف بیماری آتشک به منظور گزینش ارقام متحمل‌تر می‌تواند در شرایط باغ یا کلکسیون تحقیقاتی، شرایط گلخانه‌ای و یا در شرایط درون شیشه‌ای (*In vitro*) انجام شود. ارزیابی مقاومت ارقام و ژنوتیپ‌های مختلف درختان میوه دانه‌دار شامل درخت سیب (Abdollahi and Majhidi Heravan, 2005)، گلابی (Davoudi *et al.*, 2005) و به (Ahmadi *et al.*, 2013) نسبت به بیماری

Archive of SID

www.SID.ir

آتشک طی یک دهه اخیر در شرایط باغی در کشور انجام شده است. ارزیابی‌های باغی بسیار طولانی مدت بوده و نتایج حاصل بسته به شدت طغیان بیماری، می‌تواند از سالی به سال دیگر متفاوت باشد. به همین دلیل، بررسی مقاومت در شرایط گلخانه‌ای می‌تواند در کنار ارزیابی‌های باغی منجر به تکمیل اطلاعات مقاومت ارقام شود. ارزیابی مقدماتی مقاومت ارقامی از سیب و گلابی در شرایط گلخانه‌ای نسبت به بیماری آتشک توسط داوودی (Davoudi, 1998) انجام شد. در این تحقیق، با ارزیابی بیش از ۴۰ رقم گلابی متعلق به گونه *P. communis*، ۶۲/۵ درصد از ارقام بسیار حساس و ۳۷/۵ درصد در گروه حساس و نیمه حساس طبقه‌بندی شدند. همچنین ۲۳ درصد از ارقام سیب مقاوم، ۱۱ درصد نیمه‌مقاوم و مابقی در کلاس‌های نیمه حساس تا بسیار حساس قرار گرفتند. در سال‌های ۱۹۹۹-۱۹۹۷، تحقیقی در یونان برای ارزیابی مقاومت به آتشک در میزبان‌های مختلف بیماری از جمله سیب و گلابی انجام و ارقام اروپائی این درختان با ترکیب پنج سویه گزینش شده عامل بیماری در گلخانه مایه‌زنی شدند. در بین ارقام سیب و گلابی، سطوح مختلفی از حساسیت در ارزیابی گلخانه‌ای مشاهده شد (Tsiantos and Psallidas, 2004). در یک تحقیق دیگر، ژرم پلاسم سیب کشورهای چین، روسیه، ترکیه و آلمان برای مقاومت به آتشک مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج بیانگر امکان طبقه‌بندی این ژرم‌پلاسم در گروه‌های مقاوم تا بسیار حساس بود (Aldwinckle *et al*., 2002).

علاوه بر کاربرد محیط‌های باغی یا کلکسیونی و همچنین محیط‌های گلخانه‌ای برای ارزیابی مقاومت، شرایط درون شیشه‌ای نیز به منظور گزینش اولیه میزبان‌های آتشک (Abdollahi *et al*., 2004) و سایر بیماری‌ها نظیر لکه سیاه (Kellerhals *et al*., 2013) مورد استفاده قرار گرفته است. ارزیابی مقاومت درختان میوه در شرایط درون‌شیشه‌ای نسبت به بیماری‌ها مختلف به‌دلیل امکان انجام آزمایش به دفعات مکرر طی یک سال و عدم تاثیرشرایط محیطی روی پیشرفت بیماری می‌تواند صرفاً جهت ارزیابی مقدماتی و سپس تایید نهائی در شرایط گلخانه‌ای و باغی مورد استفاده واقع شود. در یک برنامه ارزیابی مقاومت هشت رقم گلابی در شرایط درون‌شیشه‌ای به بیماری آتشک، پیشرفت بیماری بسته به رقم پس از گذشت ۳ تا ۹ روز متوقف شد و در پایان رقم مارگوریت مارولات (Margeurite Marollat) بیش‌ترین سطح مقاومت و رقم سالیزبوری (Salisbury) بیش‌ترین حساسیت را نشان دادند (Paprstein *et al*., 2013). ارزیابی‌های مشابهی روی سایر میزبان‌های بیماری آتشک، شامل درخت سیب (Sedlak *et al*., 2013) و درخت به (Khosravinezhad *et al*., 2013)، بیانگر امکان استفاده از این روش برای ارزیابی مقدماتی آن‌ها به بیماری بوده است. به غیر از کاربرد سیستم درون شیشه با هدف بررسی

Archive of SID

www.SID.ir

مقاومت، این روش کاربرد گسترده‌ای در رابطه با شناسائی مکانیسم‌های اثر متقابل باکتری عامل بیماری با میزبان در زمینه بررسی تظاهر ژن‌ها (Hassani *et al*., 2013؛ Abdollahi, 2003)، تحریک سیستم دفاع اکتسابی میزبان (Shahini Sogh *et al*., 2010؛ Erfani Nia *et al*., 2013)، تولید رادیکال‌های فعال اکسیژن (Azarabadi *et al*., 2013) و بررسی نقش ارگانل‌ها در این اثر متقابل (Abdollahi and Ghahremani, 2011) داشته است.

در سال‌های اخیر، شماری از پایه‌های جدید گلابی اصلاح شده در کشورهای آمریکا، آلمان و ایتالیا به صورت کشت بافتی به کشور وارد و در برنامه‌های ریزازدیادی مورد تکثیر نیمه انبوه تا انبوه قرار گرفته‌اند. با توجه به سهولت نسبی تکثیر درون‌شیشه و سازگاری دو پایه پیرودوارف و OHF87، تاکنون این دو پایه به نهالستان منتقل و مورد ارزیابی‌های سازگاری قرار گرفته‌اند. سایر پایه‌ها در حال حاضر در شرایط درون شیشه موجود هستند. با توجه به اهمیت بیماری آتشک در گلابی، در این تحقیق به ارزیابی مقدماتی و مقایسه تحمل این پایه‌ها نسبت به این بیماری در شرایط گلخانه‌ای و درون‌شیشه‌ای پرداخته شده است.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و جدایه‌های باکتری

پایه‌های جدید نیمه پاکوتاه‌کننده گلابی سری الدهم× فارمینگدال (OH×F) شامل OHF69 (Daynir- Farold®69)، OHF40 (Daygon- Farold®40)، OHF333 (Brokmal- Delbard®333)، OHF87 (Daytor) از کشور آمریکا، FOX11 از کشور ایتالیا و پیرودوراف (Pyrodwarf) از کشور آلمان همراه با دو رقم شاهد حساس بارتلت (Barttlet) از کشور انگلیس و رقم درگزی از ارقام بومی و مقاوم به آتشک ایران در این تحقیق مورد بررسی قرار گرفتند. دو پایه OHF87و پیرودوراف در کنار ارقام شاهد هم در شرایط درون‌شیشه و هم گلخانه مورد بررسی قرار گرفتند و سایر پایه‌ها به صورت تکمیلی در شرایط درون شیشه بررسی شدند. کلیه پایه‌ها در شرایط درون شیشه‌ای و عاری از ویروس به تدریج از سال ۱۳۸۶ به بعد وارد کشور شده و روی محیط کشت QL تغییر یافته همراه با ویتامین‌های محیط کشت MS، ۳۰ گرم بر لیتر سوکروز، ۰/۳ گرم بر لیتر پکتین مرکبات، ۱ میلی‌گرم بر لیتر BAP و ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر NAA پرآوری شدند (Leblay *et al*., 1991). به منظور ریشه‌زائی و انتقال پایه‌ها به محیط گلخانه از پروتکل ریزازدیادی گلابی ارائه شده توسط عبداللهی و همکاران (Abdollahi *et al*., 2004) و خدائی چگینی و همکاران (Khodaee Chegini *et al*., 2011) استفاده شد. pH محیط‌های کشت، همگی قبل از اضافه کردن آگار روی ۵/۷ تنظیم و سپس آگار به میزان ۱۰ گرم بر لیتر به محیط‌ها اضافه

Archive of SID

www.SID.ir

شد. مواد گیاهی درون شیشه، در اتاق رشد با دوره نوری ۱۶ ساعت نور ایجاد شده با استفاده از لامپ‌های فلئورسنت سفید با شدت نور ۴ میکرومول بر ثانیه و دمای شبانه‌روزی ۲۴ درجه سانتی گراد نگهداری شدند. مواد گیاهی ریشه‌دار شده در بهار سال ۱۳۹۰ به نهالستان بخش تحقیقات باغبانی موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر منتقل و پس از دو فصل رشد، در اسفند ماه ۱۳۹۱ به گلخانه ارزیابی مقاومت منتقل شدند. به منظور ارزیابی مقاومت به بیماری آتشک، از مخلوطی از سویه‌های باکتری عامل بیماری شامل دو سویه بومی K1 و Z2 و سویه آمریکائی Ea273 به عنوان باکتری استاندارد بیماری‌زایی استفاده شد.

ارزیابی‌ها در شرایط گلخانه‌ای

پایه‌های پیرودوارف و OHF87 همراه با دو رقم شاهد بارتلت و درگزی به ترتیب حساس و مقاوم در گلدان‌های ۲۵ کیلوئی حاوی نسبت‌های مساوی ماسه، کود دامی پوسیده و خاک مزرعه در سه تکرار و دو پایه در هر گلدان در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی کاشته شده و از ارتفاع ۶۰ سانتی‌متری به منظور تحریک رشد شاخه‌های فرعی سربرداری شدند. نگهداری و مراقبت نهال‌های کاشته شده در گلخانه شامل آبیاری هفتگی و مبارزه با آفات گلخانه ای به ویژه شته‌ها و کنه‌ها تا زمان آماده شدن سرشاخه‌ها برای مایه‌زنی انجام شد.

به منظور تهیه مایه تلقیح، کشت‌های باکتری در محیط کشت LB مایع درون شیکر در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و با ۱۲۰ دور در دقیقه شب‌گذران شدند. پس از تهیه مایه تلقیح، مخلوطی از سه سویه بیماری‌زا با کدورت ۱ (OD = 1) در طول موج ۶۰۰ نانومتر تهیه و ۱ میلی‌لیتر آن با سرنگ انسولین به ازای هر سر شاخه در دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۸۵ تا ۹۰ درصد به ارقام و پایه‌ها تزریق شد. تزریق مایه تلقیح روی ۳ تا ۶ سرشاخه در هر گلدان انجام شد. همچنین در هر کرت آزمایشی یک سرشاخه به عنوان شاهد منفی با آب مقطر استریل مایه‌زنی شدند. تزریق مایع تلقیح در دو شاهد بارتلت و درگزی به صورت مشابهی انجام شد. بلافاصله پس از تزریق مایه تلقیح، سرشاخه‌ها با مه‌پاش حاوی آب مقطر مرتباً آب‌پاشی شدند تا شرایط برای استقرار آلودگی بهینه شود. برای به حداقل رساندن فرار شاخه ها از آلودگی در روز بعد روی همه شاخه‌ها تزریق مجدد انجام شد.

شاخص های مورد استفاده برای ارزیابی مقاومت شامل پیشرفت نهایی نکروز و درصد میانگره نکروزه بود. پیشرفت نهایی نکروز به صورت درصد بخش آتشک زده به طول کل آن شاخه محاسبه شد. پیشرفت بیماری در شرایط گلخانه‌ای به مدت ۱۴ روز تا توقف کامل نکروز در سرشاخه‌ها به صورت روزانه بر اساس شاخص‌های فوق مورد بررسی قرار گرفت. داده‌ها در نرم افزار اکسل (Excel) وارد و با استفاده از نرم‌افزار سیگماپلات

Archive of SID

www.SID.ir

(Sigma plot) تجزیه آماری شدند.

ارزیابی‌ها در شرایط درون‌شیشه‌ای

ارقام و پایه‌های گلابی ذکر شده در ارزیابی گلخانه‌ای، شامل دو پایه پیرودوارف و OHF87 همراه با دو رقم شاهد بارتلت و درگزی در محیط درون شیشه تکثیر و بر اساس روش ذکر شده توسط عبداللهی و همکاران (۲۰۰۴) روی محیط کشت QL تغییر یافته (Leblay *et al.*, 1991) مورد ارزیابی مقاومت قرار گرفتند. به این منظور، با انجام پیش تکثیر مواد گیاهی به دفعات لازم، پس از رشد ۳۰ روزه سرشاخه‌های درون شیشه، شاخه‌چه‌هائی با حداقل ۲/۵ سانتی متر ارتفاع با مخلوطی از سه سویه باکتری Ea273، Z1 و K1 که در بررسی گلخانه‌ای استفاده شد، مایه‌زنی شدند. تهیه مایه تلقیح همانند ارزیابی گلخانه‌ای انجام شد. برای مایه‌زنی شاخه‌چه‌ها، ۲۰۰ میکرولیتر مایه تلقیح با استفاده از سمپلر استریل در لوله‌های آزمایش حاوی محیط کشت در بردارنده اندیکاتور pH، بروموکرزول سبز (Geen Bromo Crosol) با غلظت ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر به منظور ارزیابی رشد و فعالیت باکتری در محیط اضافه شد (Abdollahi *et al.*, 2004). آزمایش به صورت بلوک‌های کامل تصادفی در پنج تکرار برای هر پایه و رقم انجام شد. شاهد منفی همانند شاهدهای مورد استفاده در گلخانه با آب مقطر استریل تزریق شدند. ارزیابی‌ها به مدت ۱۴۴ ساعت پس از مایه‌زنی انجام و داده‌ها همانند بررسی‌های گلخانه‌ای مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

ارزیابی‌ها تکمیلی پایه‌ها در شرایط درون‌شیشه‌ای

علاوه بر دو پایه پیرودوارف و OHF87، پایه‌هائی که تاکنون صرفاً به صورت کشت بافتی بوده و به شرایط خارج شیشه منتقل نشده‌اند، شامل پایه‌های OHF40، OHF69، OHF333 و FOX11 به صورت درون شیشه مورد ارزیابی مقاومت قرار گرفتند. به منظور امکان مقایسه نتایج این پایه‌ها با میزان مقاومت ارزیابی شده در بررسی‌های قبلی، همچنان از دو شاهد بارتلت و درگزی استفاده شد. کلیه مراحل انجام این بررسی‌ها همانند آزمایش قبلی ارزیابی مقاومت در شرایط درون شیشه‌ای بود.

نتایج و بحث

بررسی‌های اولیه بیانگر موفقیت کامل مایه‌زنی در کلیه پایه‌ها و ارقام مورد آزمایش بود و با توجه به تکرار مایه‌زنی در روز بعد میزان فرار از آلودگی در ارزیابی‌های گلخانه‌ای به کم‌تر از ۱/۵ درصد کاهش پیدا کرد. این در حالی بود در ارزیابی‌های درون شیشه‌ای با توجه به مناسب بودن شرایط محیطی، فرار از آلودگی مشاهده نشد.

Archive of SID

www.SID.ir

ارزیابی مقاومت در شرایط گلخانه

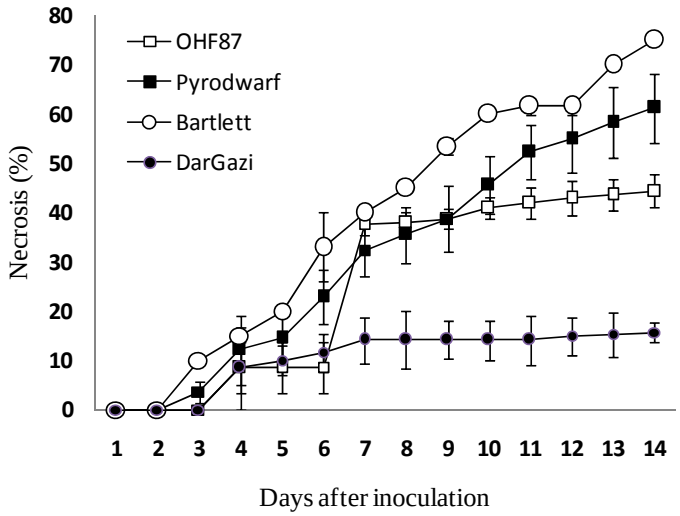
نتایج ارزیابی‌ها در شرایط گلخانه‌ای نشانگر تفاوت قابل توجه در سرعت پیشرفت نکروز و پیشرفت نهایی نکروز در سرشاخه‌های ارقام و پایه‌های گلابی مورد آزمایش در شرایط گلخانه‌ای بود (شکل ۱). اولین علائم نکروز روی سرشاخه‌های کلیه ارقام و پایه‌ها پس از گذشت ۲ تا ۳ روز از مایه‌زنی اولیه مشاهده شد. مقایسه پیشرفت نهایی نکروز، حاکی از گروه‌بندی آماری پایه پیرودوارف در کنار شاهد حساس بارتلت بود. پایه OHF87 حساسیت کم‌تری به بیماری آتشک در مقایسه با پایه پیرودوارف نشان داد و از نظر آماری میزان پیشرفت بیماری در این پایه تفاوت معنی‌داری با رقم مقاوم درگزی نداشت. با استفاده از تقسیم‌بندی لسپیناس و پائولین (Lespinasse and Paulin, 1990) بر اساس پیشرفت نهایی نکروز، پایه پیرودوارف همراه با شاهد بارتلت در کلاس حساس، پایه OHF87 در کلاس نیمه مقاوم و رقم شاهد درگزی در کلاس مقاوم طبقه‌بندی شدند. مقایسه نتایج سرعت پیشرفت نکروز با تعداد میانگره‌های آلوده بیانگر نزدیک‌تر شدن رفتار دو پایه پیرودوارف و OHF87 به یک‌دیگر از نظر سرعت توسعه علائم بود (شکل ۲).

بررسی والدین مورد استفاده برای اصلاح و گزینش دو پایه مورد مطالعه حاکی از نقش دو رقم مقاوم به آتشک الدهم (Oldhome) و فارمینگدال (Farmingdale) در راستای تولید پایه OHF87 (Westwood, 1993) و نقش دو رقم الدهم و لوئیزبون (Louise Bonne d'Avranches) در راستای تولید پایه پیرودوارف (Jacob, 1998) بوده است. با توجه به مقاومت بالای دو رقم الدهم و فارمینگدال به بیماری، ظاهراً در این‌جا پایه OHF87 سطح بالاتری از مقاومت در مقایسه با پایه پیرودوارف به صورت هیبرید بین یک رقم مقاوم و یک رقم نیمه مقاوم (لوئیزبون) را کسب کرده است. با توجه به نتایج به دست آمده به نظر می‌رسد استفاده از رقم لوئیزبون می‌تواند به تولید نتاج نسبتاً حساس به بیماری آتشک منجر شود.

مقایسه نتایج پیشرفت نهایی نکروز در ارقام و پایه‌ها نشانگر پیشرفت بسیار کم بیماری در سرشاخه‌های گلابی رقم درگزی بود. این سطح بسیار بالای مقاومت در این رقم، در سایر تحقیقات انجام شده نیز مشاهده شده است. به صورتی که در بررسی عرفانی و همکاران (Erfani *et al.*, 2013) میزان پیشرفت نهائی نکروز در شرایط بسیار مطلوب گلخانه‌ای برای توسعه علائم آتشک بیش از ۵ درصد نبود. نتایج مشابهی در مورد سطح مقاومت بسیار مطلوب این رقم به بیماری در باغ نیز به دست آمده است. وجود این سطح مقاومت به آتشک در این رقم شناسائی ساختارهای مقاومت و استفاده از آن را در تولید ارقام مقاوم به بیماری دوچندان می‌کند.

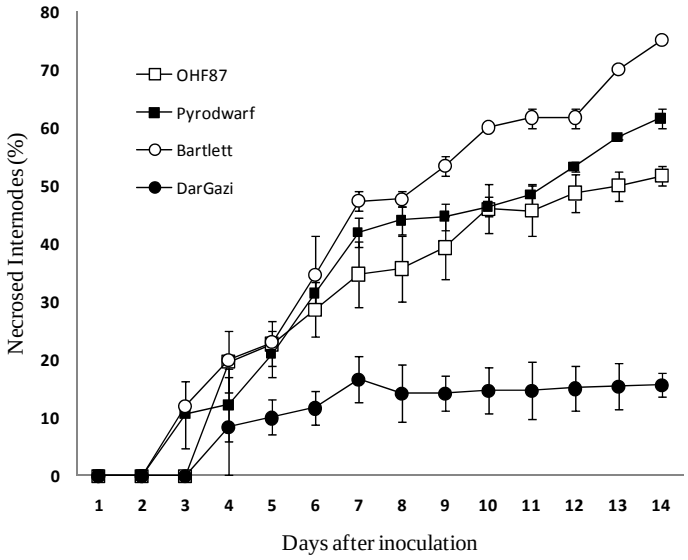
Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۱- سرعت پیشرفت نکروز در پایه‌های گلابی پیرودوارف و OHF87 و ارقام شاهد در ارزیابی‌های گلخانه‌ای

Fig. 1. Necrose progress rate in Pyrodwarf and OHF87 pear rootstocks and control cultivars in greenhouse evaluations



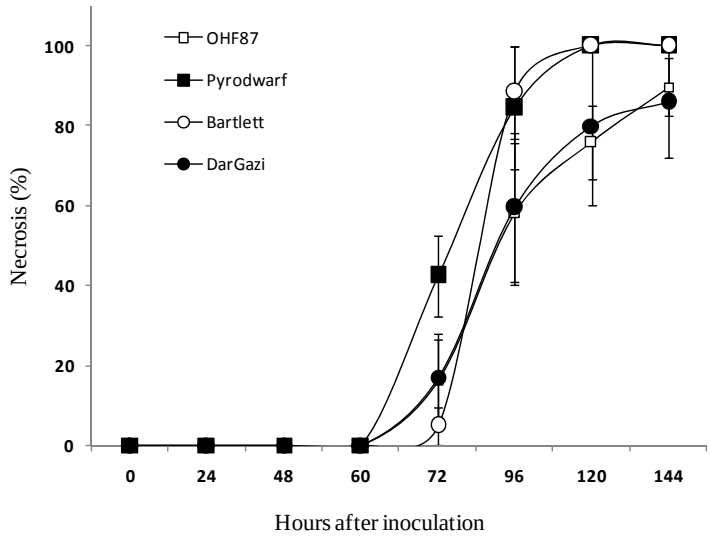
شکل ۲- درصد میانگره آلوده در پایه‌های گلابی پیرودوارف و OHF87 و ارقام شاهد در ارزیابی‌های گلخانه‌ای

Fig. 2. Necrosed internodes in Pyrodwarf and OHF87 pear rootstocks and control cultivars in greenhouse evaluations

www.SID.ir

ارزیابی مقاومت در شرایط درون شیشه‌ای

نتایج ارزیابی مقاومت پایه‌های پیرودوارف و OHF87 در شرایط درون شیشه‌ای نیز تایید کننده نتایج حاصل از ارزیابی گلخانه‌ای بوده، لیکن در این‌جا به دلیل عدم وجود شاخه‌های چوبی و ساختارهای مقاومتی گیاه کامل، میزان پیشرفت نهائی آتشک در کلیه سرشاخه‌های مورد استفاده تقریباً با اندک تفاوتی به میزان ۱۰۰ درصد رسید. در هر دو شاخص سرعت پیشرفت نکروز و درصد میانگره‌های آلوده، پیشرفت نهائی نکروز در پایه OHF87 و رقم درگزی به حدود ۸۰ درصد و در پایه پیرودوارف و رقم بارتلت به ۱۰۰ درصد بالغ شد (شکل‌های ۳ و ۴).

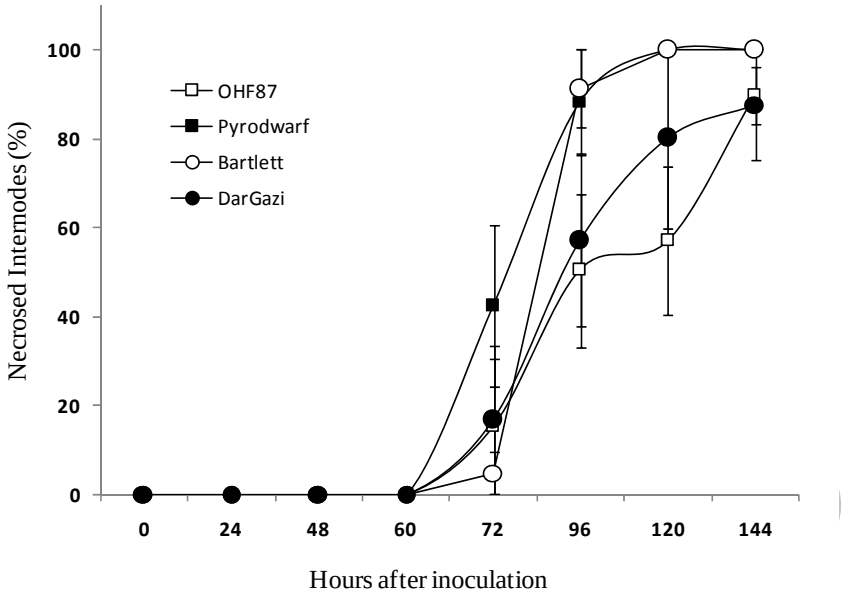


شکل ۳- سرعت پیشرفت نکروز در پایه‌های گلابی پیرودوارف و OHF87 و ارقام شاهد در ارزیابی‌های درون شیشه‌ای

Fig. 3. Necrose progress rate in Pyrodwarf and OHF87 pear rootstocks and control cultivars *in vitro* evaluations

نکته حائز اهمیت در ارزیابی درون شیشه تفاوت سرعت توسعه علائم در ارقام و پایه‌های مقاوم و حساس به بیماری بود. بر همین اساس، با توجه به عدم تفاوت قابل توجه پیشرفت نهائی نکروز در گروه‌های حساس و مقاوم در شرایط درون شیشه‌ای، به نظر می‌رسد استفاده از سرعت پیشرفت نکروز، صرف نظر از پیشرفت نهائی آن در سرشاخه‌های درون شیشه، بتواند به عنوان اصلی‌ترین معیار در گزینش اولیه و مقدماتی ژنوتیپ‌ها در این شرایط مورد استفاده قرار گیرد. نتایج حاصل از این بررسی با گزارش قهرمانی و عبداللهی (۲۰۱۱) در رابطه با شناسائی و مقایسه مکانیسم‌های مقاومت به آتشک در پایه

www.SID.ir



شکل ۴- درصد میانگره آلوده در پایه‌های گلابی پیرودوارف و OHF87 و ارقام شاهد در ارزیابی‌های درون شیشه

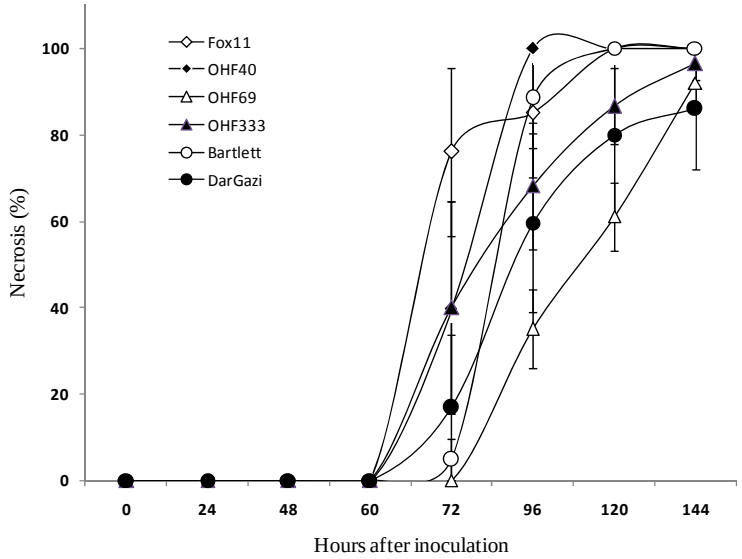
Fig. 4. Necrosed internodes in Pyrodwarf and OHF87 pear rootstocks and control cultivars *in vitro* evaluations

سیب متحمل (MM111) و پایه نیمه حساس (MM106) منطبق است، به صورتی که در این بررسی نیز میزان پیشرفت نهائی نکروز در هر دو پایه کامل بوده، لیکن تنها عامل تمایز دهنده مقاومت در آن‌ها سرعت پیشرفت بیماری در شاخه‌چه‌های درون شیشه بود.

ارزیابی‌ها تکمیلی پایه‌ها در شرایط درون‌شیشه‌ای

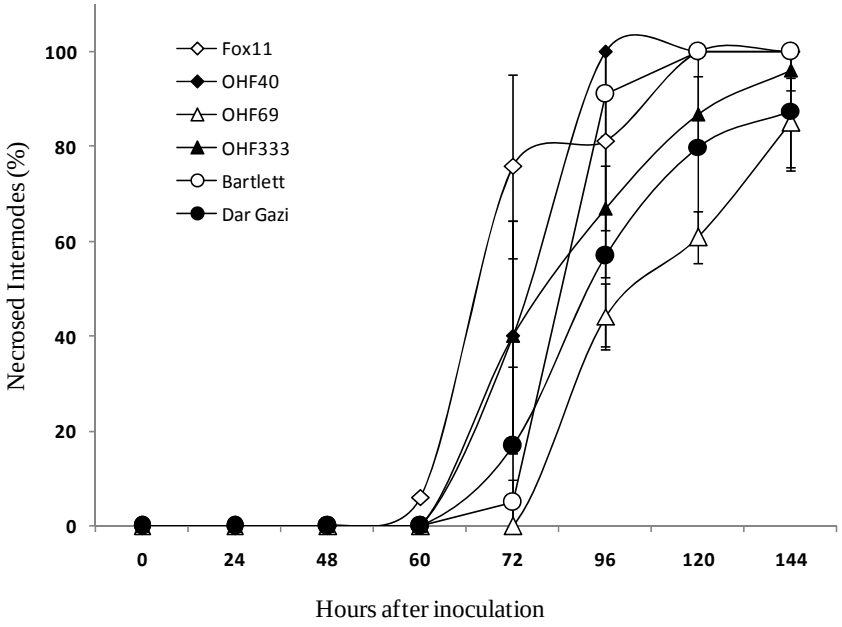
در این تحقیق ارزیابی مقاومت پایه‌های OHF69، OHF333، OHF40 و FOX11 به دلیل دشواری در سازگاری آن‌ها به شرایط گلخانه و نهالستان، صرفاً در شرایط درون شیشه انجام شد. بر اساس نتایج حاصل، رده‌بندی مقاومت از بالاترین تحمل به ترتیب شامل OHF69، شاهد درگزی، OHF333، شاهد بارتلت، OHF40 و FOX11 بود (شکل‌های ۵ و ۶). هر دو شاخص سرعت پیشرفت نکروز و درصد میانگره‌ها آلوده در این آزمایش نیز به صورت مشابهی قادر به تمایز سطح مقاومت پایه‌ها و ارقام شاهد نسبت به بیماری آتشک بودند. بر اساس طبقه‌بندی حاصل، پایه OHF69 نسبت به شاهد درگزی دارای تحمل بالاتری بوده و از این نظر می‌تواند به عنوان یک گزینه بسیار مطلوب در ارزیابی‌های بعدی مورد استفاده قرار گیرد. همچنین در بررسی انجام شده توسط آذرآبادی و همکاران (Azarabadi *et al.*, 2013) روی مقایسه روند تولید رادیکال‌های پراکسید هیدروژن (H_2O_2) و سوپراکسید (O_2^-) در پایه‌های گلابی در

www.SID.ir



شکل ۵- سرعت پیشرفت نکروز در ارزیابی تکمیلی پایه‌های گلابی و ارقام شاهد در شرایط درون شیشه‌ای

Fig. 5. Necrose progress rate in pear rootstocks and control cultivars *in vitro* complementary evaluations



شکل ۶- درصد میانگره در ارزیابی تکمیلی پایه‌های گلابی و ارقام شاهد در شرایط درون شیشه‌ای

Fig. 6. Necrosed internodes in pear rootstocks and control cultivars *in vitro* complementary evaluations

www.SID.ir

عکس‌العمل به حمله باکتری *E. amylovora* مشاهده شد که پایه OHF69 به مجرد ورود عامل بیماری نسبت به تولید رادیکال پراکسید هیدروژن اقدام کرده و از تولید این رادیکال به عنوان سدی در برابر پیشرفت بیماری استفاده می‌کند. چنین روندی در رابطه با رادیکال سوپراکسید مشاهده نشد. همچنین سایر پایه‌های گلابی سرعت کم‌تری از تولید رادیکال پراکسید هیدروژن را بروز دادند، به صورتی که رابطه مستقیمی بین سرعت تولید این رادیکال و میزان مقاومت به آتشک در گلابی مشاهده شد.

نتایج رده‌بندی مقاومت به دست آمده از این بررسی نشان دهنده این است که دورگیری بین دو رقم مقاوم به آتشک الدهم و فارمینگدال منجر به ایجاد پایه‌هائی با سطوح متفاوتی از مقاومت به آتشک شده است، به صورتی که در پایه OHF69 میزان مقاومت بسیار قابل توجه و حتی در سطح بالاتری نسبت به رقم شاهد درگزی مشاهده شد. میزان مقاومت پایه OHF333 در حد مابین شاهد مقاوم درگزی و شاهد حساس بارتلت بود و مقاومت پایه OHF40 حتی از شاهد بارتلت نیزکم‌تر بود. این دامنه گسترده مقاومت همگی از تلاقی دو رقم فوق حاصل شده و نشان‌دهنده این است که استفاده از آن‌ها به صورت مطلق تضمین کننده تولید پایه‌های مقاوم به آتشک نخواهد بود. همچنین پایه FOX11 به عنوان یک دانهال تصادفی از گلابی ولپینه (Volpina) در دانشگاه بولونیا ایتالیا تولید و در ارزیابی‌های مقدماتی حساسیت قابل توجهی به بیماری آتشک و مقاومت مطلوبی به بیماری سرطان طوقه (*Agrobacterium tumefaciens*) نشان داده است (Quartieri *et al.*, 2011). نتایج حاصل از این تحقیق نیز تایید کننده حساسیت بسیار زیاد این بیماری نسبت به بیماری آتشک بود.

تاکنون بررسی جامعی روی ارزیابی مقاومت طیف گسترده‌ای از پایه‌های دورگ الدهم×فارمینگدال انجام نشده و مقایسه نتایج حاصل از ارزیابی‌های گلخانه‌ای و درون شیشه نیز گزارش نشده است. در این بررسی این ارزیابی‌ها به صورت مقدماتی انجام و مشخص شد که در صورت وجود ویژگی‌های مطلوب باغبانی پایه OHF69 به عنوان مقاوم‌ترین پایه می‌تواند برای ارقام گلابی مورد استفاده قرار گیرد. همچنین تکثیر پایه OHF40 که از سوی بخش خصوصی به صورت انبوه مد نظر قرار گرفته است لازم است با تامل و تجدید نظر بیش‌تری انجام شود. در رابطه با پایه پیرودوارف نیز که به صورت انبوه در کشور تکثیر یافته و توزیع شده است، خوشبختانه میزان حساسیت مشاهده شده چندان زیاد نیست. علاوه بر شاخص میزان تحمل به آتشک، از عوامل تعیین کننده در طغیان بیماری و ایجاد خسارت روی پایه، میزان پاجوش‌دهی آن به عنوان تنها راه نفوذ بیماری در پایه قابل ذکر است. خوشبختانه استفاده وسیع از ارقام بسیار مقاوم به آتشک در

Archive of SID

www.SID.ir

باغ‌های گلابی که طی سال‌های اخیر انجام شده است، مانع از نفوذ بیماری از سمت بخش‌های هوائی به پایه خواهد شد. ارزیابی‌های اخیر روی خصوصیات باغی پایه پیرودوارف به عنوان پایه پیشرو گلابی نشان داده که میزان تولید پاجوش به عنوان راه نفوذ باکتری در این پایه چندان زیاد نبوده و به نظر می‌رسد که علی‌رغم حساسیت متوسط این پایه به بیماری آتشک، عدم پاجوش‌دهی بتواند به عنوان سدی در برابر نفوذ بیماری عمل کند.

سپاسگزاری

بدین وسیله از آقای مصطفی محمدی به خاطر تهیه و تامین مواد گیاهی مورد استفاده تشکر وقدردانی می‌شود. از همکاری کلیه کارکنان آزمایشگاه کشت بافت و بیوتکنولوژی بخش تحقیقات باغبانی موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر نیز سپاسگزاری می‌شود.

References

Abdollahi, H. 2003. Molecular biology of interaction between *Erwinia amylovora* and pear (*Pyrus communis* L.) genotypes with different susceptibility to fire blight. Ph.D, Thesis, University of Florence, Italy. 200pp.

Abdollahi, H., and Ghahremani, Z. 2011. The role of chloroplasts in interaction of *Erwinia amylovora* with host plants. Acta Horticulturae 896: 215-221.

Abdollahi, H., and Majidi Heravan, E. 2005. Relation between fire blight resistance and different vegetative and reproductive traits in apple (*Malus domestica* Bork.) cultivars. Seed and Plant 21: 501-513 (in Persian).

Abdollahi, H., Ruzzi, M., Rugini, E., and Muleo, R. 2004. An *in vitro* system for studing the interaction between *Erwinia amylovora* and genotypes of pear. Plant Cell Tissue and Organ Culture 79: 203-212.

Agrios, G. N. 2005. Plant Pathology. 5th Edition. Elsevier Academic Press, The Netherlands. 948pp.

Ahmadi, S., Alipour, M., Abdollahi, H., and Atashkar, D. 2013. Comparison of efficiency of indices for fire blight susceptibility evaluation in quince (*Cydonia oblonga* Mill.) in orchard condition. Seed and Plant Improvement Journal 29-1: 331-347 (in Persian).

Archive of SID

www.SID.ir

Aldewinckle, H. S., Gustafon, H. C., and Reddy, M. W. 2002. Fire blight resistance of Malus species from China, Russian, Turkey and Germany. Acta Horticulturae 590: 369-372.

Anonymous 2009. FAO Production Yearbook. FAO Publications, Rome, Italy.

Azarabadi, S. R., Abdollahi, H., Torabi, M., and Hassani, M. 2013. Contrast generation of hydrogen peroxide and superoxide radicals in pears following attack of *Erwinia amylovora*. Proceedings of the 13th ISHS International Workshop on Fire Blight, Zurich, Switzerland. Page 78 (Abstract).

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

Davoudi, A., Majidi, E., Rahimian, H., and Valizade, M. 2005. The intensity of disease of pear cultivars to fire blight with use the standard system of USDA. Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources, Water and Soil Science 9: 159-168.

Erfani, J., Abdollahi, H., Ebadi, A., Fatahi Moghadam, M. R., and Arzani, K. 2013. Evaluation of fire blight resistance and the related markers in some European and Asian pear cultivars. Seed and Plant Improvement Journal 29-1 (4): 659-672 (in Persian).

Erfani Nia, K., Hassani, M., Hamzaban, L., and Abdollahi, H. 2013. Mechanism of different salicylic acid effects on fire blight control of apple and pear. Proceedings of the 13th ISHS International Workshop on Fire Blight, Zurich, Switzerland. Page 67 (Abstract).

Ghahremani, Z., and Abdollahi, H. 2011. Induction of systemic acquired resistance by salicylic acid against fire blight apple and pear. Acta Horticulturae 896: 155-163.

Hassani, M., Salami, A., Hamzaban, L., Abdollahi, H., and Sadeghnejad, S. 2013. Expression of some *PR* genes of apples in responses to attack of *Erwinia amylovora*. Proceedings of the 13th ISHS International Workshop on Fire Blight, Zurich, Switzerland. Page 87 (Abstract).

Jacob, H. B. 1998. Pyrodwarf, a new clonal rootstock for high density pear orchards. Acta Horticulturae 475: 169–178.

Archive of SID

www.SID.ir

Kellerhals, M., Baumgartner, I. O., Leumann, L., Luss, L., and Patocchi, A. 2013. Breeding high quality apples with fire blight resistance. Proceedings of the 13th ISHS International Workshop on Fire Blight, Zurich, Switzerland. Page 52 (Abstract).

Khodaee Chegini, F., Abdollahi, H., Ershadi, A., and Esna Ashri, H. 2011. Determination of micro-propagation protocol for OH×F333 and OH×F69 pear clonal rootstock. Seed and Plant Production 27-2: 297-302 (in Persian).

Khosravinezhad, F., Abdollahi, H., Salehi, Z., and Azarabadi, S. R. 2013. Evaluation of fire blight resistance in some Quince (*Cydonia oblonga* Mill.) Genotypes *in vitro*. Proceedings of the 8th Iranian Congress of Biotechnology, University of Tehran, Iran. PP. 1-5 (in Persian).

Leblay, C., Chevreau, E., and Robin, L. M. 1991. Adventitious shoot regeneration from *in vitro* leaves of several pear cultivars (*Pyrus communis* L.). Plant Cell Tissue and Organ Culture 25: 99-105.

Lespinasse, Y., and Paulin, J. P. 1990. Apple breeding program for fire blight resistance: strategy used and first results. Acta Horticulturae 273: 285-295.

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

Oh, C. S., and Beer, S. V. 2005. Molecular genetics of *Erwinia amylovora* involved in development of fire blight. FEMS Microbiology Letters 253: 185-192.

Paprstein, F., Sedalk, J., Sillerova, J., and Kobra, J. 2013. *In vitro* evaluation of cultivar resistance to fire blight. Proceedings of the 13th ISHS International Workshop on Fire Blight, Zurich, Switzerland. Page 84 (Abstract).

Quartieri, M., Marangoni, B., Schaivon, L., Tagliavini, M., Bassi, D., Previati, A., and Gianini, M. 2011. Evaluation of pear rootstock selections. Acta Horticulturae 909: 153–159.

Shahini Sogh, F., **Kheshavarzi, M., Hasanzade, N., Hashemi, M., Abdollahi, H., and Tavousi, M. 2010.** *In vitro* evaluation of acibenzolar-s-methyl on inhibition of fire blight in apple cv. Golden delicious. Iranian Journal of Plant Pathology 49: 267-278.

Archive of SID

www.SID.ir

Sedlak, J., Paprstein, F., Korba, J., and Sillverova, J. 2013. Improvement of system for testing of pome fruit resistance to *Erwinia amylovora* using *in vitro* artificial inoculation. Proceedings of the 13th ISHS International Workshop on Fire Blight, Zurich, Switzerland. Page 85 (Abstract).

Thomson, S. V. 1992. Fire blight of apple and pear. pp. 32-65. In: Kumar, J., Chaube, H. S., Singh, U. S., and Mukhopadhyay, A. N. (eds.) Plant Disease of International Importance, Vol. III. Diseases of Fruit Crops. Prentice Hall, Inc. New York, USA.

Tsiantos, J., and Psallidas, P. 2004. Fire blight resistance in various loquant, apple and pear cultivars and selection in Greece. Journal of Plant Pathology 86: 227-232.

van der Zwet, T., and Keil, H. L. 1979. Fire blight: A Bacterial Disease of Rosaceous Plants. United States Department of Agriculture, Agricultural Handbook Number 510. 650pp.

Venisse, J. S., Malnoy, M., Faize, M., Paulin, J. P., and Brisset, M. N. 2002. Modulation of defence responses of Malus during compatible and incompatible interactions with *Erwinia amylovora*. Molecular Plant Microbe Interactions 15: 1204-1212.

Westwood, M. N. 1993.Temperate Zone Pomology, Physiology and Culture. Timber Press, USA. 535pp.

Zakeri, Z., and Sharif Nabi, B. 1991. Fire blight disease of pear in Karaj. Proceedings of the 10th Iranian Plant Protection Congress. Kerman, Iran. Page 157 (in Persian).

Archive of SID

www.SID.ir