

ارزیابی مقاومت نسبی پنج پایه درختان میوه هسته‌دار به *P. drechsleri* و *Phytophthora cactorum*

Evaluation of Relative Resistance in Five Stone Fruit Rootstocks to *Phytophthora cactorum* and *P. drechsleri*

هومن شریفی^۱، ناصر بوذری^۲ و منصوره کشاورزی^۳

۱- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج

۲ و ۳- استادیار، موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۱۲/۱۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۶/۱۵

چکیده

شریفی، ه.، بوذری، ن. و کشاورزی، م. ۱۳۹۴. ارزیابی مقاومت نسبی پنج پایه درختان میوه هسته‌دار به *Phytophthora cactorum* و *P. drechsleri*. مجله به‌نژادی نهال و بذر ۱-۳۱: ۲۲۳-۳۰۷.

مرگ درختان توسط قارچ‌های بیماری‌زای خاکزی از مهم‌ترین مشکلات باغ‌های درختان میوه هسته‌دار در ایران است. گونه‌های *Phytophthora* از مهم‌ترین بیمارگرهایی هستند که به طور ویژه از رشد طوقه و ریشه درختان میوه هسته‌دار جلوگیری می‌کنند. این پژوهش به منظور ارزیابی مقاومت نسبی پنج پایه جدید درختان میوه هسته‌دار به نام‌های *Penta*، *Cadaman*، *Tetra*، *Mr.S2/5* و *GF677* به قارچ‌های *Phytophthora cactorum* و *P. drechsleri* در آزمایشگاه با روش مستقیم شاخه بریده فعال و غیرفعال و همچنین گلدان‌هایی که خاک آن‌ها به طور مصنوعی با قارچ مایه‌زنی شده بود انجام شد. مایه بیمارگر که مدت ۶-۴ هفته روی ورمیکولیت حاوی عصاره شاهدانه رشد داده شده بود، در کنار طوقه و ریشه پایه‌ها قرار داده شد. چهار ماه پس از مایه‌زنی طول تکروز اندازه‌گیری شد. پایه‌ها حساسیت متفاوتی به دو گونه فیتوفتورا نشان دادند. بر اساس نتایج، بیماری‌زایی *P. drechsleri* کمتر از *P. cactorum* بود. در روش‌های آزمایشگاهی و گلخانه‌ای، پایه‌های *Cadaman* و *GF677* بیشترین میزان طول تکروز و پایه‌های *Tetra* و *Penta* کمترین طول تکروز را داشتند و مقاومت نسبی بالاتری به پوسیدگی طوقه نشان دادند.

واژه‌های کلیدی: پوسیدگی طوقه، پایه‌های رویشی، کوتاهی عمر، *Phytophthora*.

مقدمه

آلودگی جهت توسعه بیماری ضروری به نظر می‌رسد (Browne and Mircetich, 1996)؛ Jeffers and Aldwinckle, 1986؛ Macdonald and Duniway, 1978 a,b؛ Harris and Tobutt, 1986). به طول انجامیدن دوره غرقابی می‌تواند وقوع و شدت بیماری‌های فیتوفتورا را با افزایش دادن ترشح و پراکندگی زئوسپورها یا افزایش حساسیت پایه‌های هلو افزایش دهد (Wilcox, 1993)؛ Wilcox and Mircetich, 1985 a,b؛ Blaker and Macdonald, 1981).

دورگ‌گیری بین گونه‌ای گوجه‌ها و نیز بین هلو و گوجه به منظور تولید پایه‌های متحمل، منتج به ایجاد چندین پایه رویشی جدید برای هلو شده که در سال‌های اخیر به صورت تجاری تولید شده‌اند (Renaud *et al.*, 1988)، اما در زمینه حساسیت و تحمل دقیق این پایه‌ها به پوسیدگی فیتوفتورایی ریشه و طوقه (PRCR: *Phytophthora root and crown rot*) و گال طوقه اطلاعات محدودی وجود دارد (Bliss *et al.*, 1999؛ Thomidis, 2000). مایه‌زنی شاخه‌های بریده در آزمایشگاه یا ساقه‌های درختان در باغ با این عوامل بیماری‌زا به عنوان یک روش ارزیابی مقاومت می‌تواند به کار برده شود. روش دیگر ارزیابی مقاومت پایه‌ها به بیماری، مایه‌زنی مصنوعی نهال‌ها در گلدان یا مزرعه است (Jeffers *et al.*, 1982)؛ Matheron *et al.*, 1998؛ Stylianides *et al.*, 1985

پوسیدگی طوقه، یقه و ریشه ناشی از گونه‌های فیتوفتورا از مهم‌ترین بیماری‌های خاکزاد درختان میوه در دنیا است (Banihashemi and Sartipi, 2004). پوسیدگی طوقه در درختان سیب و گلابی بیشتر به وسیله *Phytophthora cactorum* ایجاد می‌شود. این بیماری روی درختان میوه هسته‌دار به وسیله چندین گونه فیتوفتورایی دیگر نظیر *P. megasperma*، *P. cambivora* و *P. syringa* ایجاد می‌شود (Thomson and Ockey, 2000). این گونه‌ها معمولاً در خاک‌هایی با رطوبت بالا و دمای ۱۳ تا ۲۱ درجه سانتی‌گراد بیشتر فعال هستند و همچنین نسبت به سایر گونه‌های بیماری‌زا پراکنش بیشتری برخوردار دارند (Ershad, 1995؛ Thomson and Ockey, 2000).

پوسیدگی یقه نهال‌ها و پوسیدگی طوقه و ریشه پایه‌ها به وسیله گونه‌های فیتوفتورا از مشکلات جدی بالقوه‌ای هستند که استقرار و حفظ باروری باغ‌های هلو را محدود کرده است. سالیانه پوسیدگی ریشه، طوقه و یقه باعث مرگ و میر تعداد زیادی از درختان و زیان‌های اقتصادی در بیشترین مناطق پرورش هلو دنیا می‌شود (Stylianides *et al.*, 1985)؛ Kouyeas, 1977؛ Haygood *et al.*, 1986؛ Kephart and Dunegan, 1948).

چندین عامل مانند رطوبت بیش از حد خاک، دمای پایین، زخم، نوع پایه و زمان

آهکی با محتویات آهک متوسط تا زیاد (حداکثر ۹ درصد) مقاومت دارد. Mr.S2/5 نسبتاً متحمل به پوسیدگی ریشه ناشی از *Armillaria* است. حساسیت آن به زنگ و *Verticillium dahliae* گزارش شده است. Mr.S2/5 برای خاک‌های سنگین و خشک مناسب نیست (Fideghelli et al., 1998)؛ (Reighard and Loreti, 2008).

پایه GF677 هیبرید طبیعی *Prunus persica* × *P. amygdalus* از منطقه ای در جنوب شرقی فرانسه منشأ گرفته است. پایه‌ای بسیار قوی است و درختان روی این پایه ۲۰-۱۰ درصد بزرگ‌تر از پایه‌های هلو هستند. متحمل به غلظت بالای آهک در خاک و حساس به خفگی ریشه است (Cummins, 1991). GF677 مناسب‌ترین پایه مورد استفاده در خاک‌های آهکی برای غلبه بر کلروز ناشی از آهک است، اما به نماتدهای مولد گره ریشه به جز *Meloidogyne incognita* حساس است. پایه GF677 به *Verticillium sp.* نیمه مقاوم است (Kamali et al., 2001).

پایه Cadaman هیبرید *Prunus persica* × *P. davidiana* است. این پایه به وسیله موسسه INRA فرانسه معرفی شده است. پایه Cadaman مقاوم به غرقاب نشان می‌دهد و متحمل به کمبود آهن و بیماری واکاری درختان میوه هسته‌دار است. هم‌چنین به *M. incognita* و *Meloidogyn javanica*

(Kim et al., 1985).

پایه پنتا (Penta) گزینشی از نهال بذری گرده‌افشانی آزاد رقم Imperial Epineuse است که توسط موسسه تحقیقاتی پرورش میوه در رم ایتالیا معرفی شده و نام تجاری آمریکایی آن Empyrean 2 است. این پایه به *Armillaria mellea* و *Verticillium dahlia* مقاوم است. سازگاری پیوند این پایه با هلو، شلیل، زردآلو، آلو و گوجه بسیار خوب است (Nicotra and Moser, 1997)؛ (Fideghelli et al., 1998).

پایه تترا (Tetra) گزینشی از نهال بذری گرده‌افشانی آزاد رقم (*Prunus domestica*) Reine Claude است که توسط موسسه تحقیقاتی پرورش میوه در رم ایتالیا معرفی شده و نام تجاری آمریکایی آن Empyrean 3 است (Nicotra and Moser, 1997). پایه تترا به آسانی می‌تواند خود را با انواع خاک‌ها سازگار کرده و به حالت غرقابی و محتویات بالای آهک مقاوم است. به علاوه این پایه در برابر *Meloidogyne ornaria*، *Armillaria mellea* و *Phytophthora cactorum* مقاوم است، ولی مقاومت متوسطی به *Meloidogyne Javanica* دارد (Fideghelli et al., 1998).

پایه Mr.S2/5 گزینش توده‌ای از گرده‌افشانی آزاد جمعیت پایه‌های بذری *Prunus cerasifera* است. این پایه در مقایسه با پایه GF1869 به حالت غرقابی خاک بسیار مقاوم است. این پایه هم‌چنین به خاک‌های

مورد ارزیابی قرار گرفته است. بر اساس نتایج حاصله، میزان حساسیت با توجه به نوع گونه فیتوفتورا متنوع بود. جدایه‌های *P. citrophthora* و *P. parasitica* بیشترین بیماری‌زایی را داشتند. جدایه *P. citricola* از بیماری‌زایی متوسطی برخوردار بود. کمترین میزان بیماری‌زایی مربوط به جدایه *P. cactorum* بود. هر دو پایه مورد ارزیابی، حساسیت مشابهی نشان دادند (Exadaktylou and Thomidis, 2005). آزمایش دیگری مقاومت چهار پایه Cadaman، Mr.S2/5، Nemaguard و Viking در مقابل پوسیدگی ریشه و طوقه در شیلی بررسی شد. نتایج نشان داد که پایه Mr.S2/5 به پوسیدگی ریشه ناشی از *P. cryptogae*، نسبتاً مقاوم بود. برای همه پایه‌ها پس از اشباع خاک با آب و تکرار دفعات اشباع کردن خاک پوسیدگی فیتوفتورایی ریشه و طوقه (PRCR) افزایش یافت (Guzman et al., 2007).

تامییدیس و همکاران (Thomidis et al., 2001) در یونان مقاومت نسبی چهار پایه GF677، KIDI، GF305 و PR204 به *P. megasperma* و *P. cactorum* را در باغ و گلخانه مورد بررسی قرار دادند. این پایه‌ها درجات مختلفی از حساسیت به *P. cactorum* را نشان دادند. پایه GF305 کمترین حساسیت و KIDI بیشترین حساسیت را به فیتوفتورا دارا داشتند. پایه‌های GF677 و PR204 از نظر حساسیت متوسط بودند. گیاهانی

مقاوم است، ولی میزبان خوبی برای *Meloidogyne xenoplax* است. با توجه به رشد زیاد، این پایه مناسب برای سیستم‌های کشت متراکم نیست (Reighard and Loreti, 2008).

در تحقیقی که بنی‌هاشمی و سرتیپی (Banihashemi and Sartipi, 2004) روی نهال‌های شش ماهه بادام ارقام مامائی، محب علی، تلخه بی‌نام نجف‌آباد، تلخه ساده و سنگی تلخ ریز از نیریز و هلوی بذری تلخ اصفهان و زردآلوی هلندر به *P. cactorum* انجام دادند، رقم مامائی حساس‌ترین، هلوی بذری تلخ، زردآلوی هلندر و بادام تلخه نجف‌آباد مقاوم‌ترین بودند.

فلاحی‌نژاد و آرمین (Fallahinezhad and Armin, 2013) مقاومت نسبی پنج ژنوتیپ پاکوتاه محلب ۲۴، ۱۰۰، ۱۵۵، ۱۳۶ و ۲۶۸ را به *Phytophthora citrophthora* و *P. citricola* در آزمایشگاه و گلخانه مورد بررسی قرار دادند. ژنوتیپ ۱۵۵ بیشترین مقاومت و ژنوتیپ‌های ۲۴ و ۲۶۸ بیشترین حساسیت را دارا بودند. ژنوتیپ‌های ۱۰۰ و ۱۳۶ مقاومت متوسطی به دو گونه فیتوفتورا نشان دادند. قدرت تهاجم *P. citricola* کمتر از *P. citrophthora* بود.

حساسیت پایه‌های Gisela5 و Maxma14 به *P. citricola*، *P. cactorum* و *P. parasitica* در یونان

تهیه مایه بیمارگر

جدایه‌های قارچ *Phytophthora cactorum* و *Phytophthora drechsleri* از آقای دکتر ضیاء‌الدین بنی‌هاشمی، استاد بیماری‌شناسی گروه گیاهپزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز تهیه شد. برای تهیه مایه بیمارگر از محیط عصاره شاهدانه - ورمیکولیت استفاده شد (Banihashemi and Fatehi, 1989). براساس این روش، ۲۰۰ میلی‌لیتر ورمیکولیت با ۱۲۰ میلی‌لیتر عصاره شاهدانه (عصاره ۶۰ گرم دانه خرد شده شاهدانه در یک لیتر آب مقطر) در فلاسک ۵۰۰ میلی‌لیتری به مدت یک ساعت در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار یک اتمسفر اتوکلاو شد. پس از سرد شدن محیط از حاشیه پرگنه سه روزه قارچ رشد یافته در محیط کشت CMA، هشت بلوک ۸-۶ میلی‌متری برداشته و به هر فلاسک اضافه شد. فلاسک‌ها در انکوباتوری با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و تاریکی مطلق قرار داده شدند و پس از چهار هفته مورد استفاده قرار گرفتند.

ارزیابی مستقیم مقاومت به *P. cactorum* و *P. drechsleri* با روش مایه‌زنی شاخه بریده ارزیابی مستقیم روشی آزمایشگاهی است که توسط مترون و متجکا (Matheron and Matejka, 1988) شرح داده شده است. در این روش شاخه‌های فعال به طول ۸-۶ سانتی‌متر از هر پایه در اواخر تیر ۱۳۹۰ تهیه شد. این شاخه‌ها با محلول هیپوکلرید سدیم

که با *P. megasperma* در باغ و گلخانه آلوده شدند، علائمی از بیماری را نشان ندادند. اگر چه در آزمون شاخه‌های آلوده درون شیشه، نکرزوه شدن بافت به *P. megasperma* مشاهده شد.

در ایران بررسی‌هایی در زمینه مقاومت پایه‌های گوناگون سیب به بیماری فیتوفتورا صورت انجام شده است (Soroori et al., 2010)؛ (Dastjerdi and Damyar, 2010)، ولی در مورد پایه‌های درختان میوه هسته‌دار، با توجه به این که تقریباً تا سال‌های اخیر هیچ گونه پایه‌ای در ایران موجود نبوده است، تحقیقات عمده‌ای انجام نشده است. این در حالی است که گزارش‌هایی در خصوص پوسیدگی طوقه ناشی از بیماری‌های قارچی به ویژه فیتوفتورا و به دنبال آن کوتاهی عمر درختان میوه هسته‌دار موجود است (Bouzari and Tatari, 2008).

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

در این آزمایش از پنج پایه درختان میوه هسته‌دار به نام‌های Penta، Tetra، Mr.S2/5، Cadaman و GF677 که همه آن‌ها به جز پایه GF677 از جدیدترین پایه‌های معرفی شده درختان میوه هسته‌دار در دنیا هستند و به تازگی توسط بخش تحقیقات باغبانی موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر وارد کشور شده‌اند، استفاده شد.

هریک از قارچ‌های *P. cactorum* و *P. drechsleri* در داخل هر ظرف شیشه‌ای انتقال یافت. درب شیشه‌ها سپس برای جلوگیری از خشک شدن بسته شدند و در انکوباتور تاریک در دمای ۲۳ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند، تا پرگنه قارچ تمام سطح محیط کشت را بپوشاند. از هر پایه شاخه‌های یک ساله به طول ۷ سانتی‌متر با محلول هیپوکلرید سدیم ۴/۸ درصد به مدت ۵ دقیقه ضدعفونی و سپس سه مرتبه با آب مقطر استریل آبکشی شدند. به وسیله یک چاقوی نوک تیز، یک سانتی‌متر از پوست قسمت پایین هر تکه شاخه بریده شد تا کامبیوم در معرض عامل مایه‌زنی قرار گیرد. تعداد نه تکرار از هر پایه انتخاب شد و در داخل ظرف‌های شیشه‌ای قرار گرفتند. سرشیشه‌ها بسته شد و در انکوباتور تاریک در دمای ۲۳ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. پس از شش روز شاخه‌ها از شیشه‌ها بیرون آورده و با یک تیغ تیز پریدرم آن‌ها نمایان شد. طول نکرروز هر شاخه خارج شده از شیشه اندازه‌گیری شد. با کاستن عمق محیط کشت CMA داخل شیشه از طول کل نکرروز محاسبه شده شاخه، مقدار طول نکرروز به دست آمد.

مایه‌زنی طوقه و ارزیابی مقاومت در پایه‌های

ریشه‌دار گلدانی

آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با پنج تیمار و شش تکرار برای هر تیمار در گلخانه

۴/۸ درصد به مدت ۱۰ دقیقه ضدعفونی و سپس سه مرتبه با آب شستشو شدند. پنج تیمار و نه تکرار برای هر تیمار با دو قارچ *P. cactorum* و *P. drechsleri* مایه‌زنی شدند. نه شاخه هم به عنوان شاهد با CMA بدون میسیلیوم بیمارگر مایه‌زنی شدند. برای مایه‌زنی یک دیسک ۶ میلی‌متری از بیمارگرهای پنج روزه کشت شده در وسط شاخه‌ها در زیر پوست قرار داده شد و سپس با پارافilm برای جلوگیری از خشک شدن بسته شدند. شاخه‌های مایه‌زنی شده برای ۵-۶ روز در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در محیط مرطوب و تاریک نگهداری شدند. پس از حذف سطح پوست (پریدرم) و مکان‌یابی حاشیه بافت مرده، طول زخم اندازه‌گیری شد.

ارزیابی در شرایط درون شیشه‌ای

در این روش ارزیابی، شاخه‌های در حال خواب پایه‌های مورد آزمایش با روشی که توسط جیفرز و همکاران (Jeffers et al., 1982) و اسکات و همکاران (Scott et al., 1992) تشریح شده، مایه‌زنی شدند. محیط کشت CMA که به آن آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین (Ampicillin ۲۵۰ میلی‌گرم بر لیتر) و ریفامپیسین (Rifampicin ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر) افزوده شده بود، در ظرف‌های شیشه‌ای (قطر ۹ سانتی‌متر و ارتفاع ۱۲ سانتی‌متر) به عمق حدود ۱۰ میلی‌متر ریخته شد. دو تکه از آگار حاوی میسیلیوم از

همان روش، منتهی با ورمیکولیت حاوی عصاره بذر شاهدانه مایه زنی شدند. دمای هوای گلخانه در طول مدت این آزمایش بین ۱۸-۳۲ درجه سانتی‌گراد متغیر بود. پس از چهار ماه نهال‌ها از خاک خارج شده و طول نکروز اندازه‌گیری شد. نهال‌هایی که علائمی از بیماری و خشکیدگی را نشان دادند به طور کامل از خاک خارج شده و ریشه آن‌ها با آب، کاملاً تمیز شد و میزان پیشروی بیمارگر روی طوقه و ساقه و میزان مرگ و میر مورد بررسی قرار گرفت. از محل نکروز شاخه‌ها و طوقه نهال‌های مایه‌زنی شده از حد فاصل بافت سالم و آلوده برشی تهیه شده با هیپوکلرید سدیم ۰/۵ درصد ضدعفونی و ۳ بار با آب مقطر استریل شستشو داده شد و روی کاغذ صافی خشک شد، سپس روی محیط کشت CMA قرار داده شد و در انکوباتور با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و تاریکی قرار گرفت. پس از سه روز رشد شبه قارچ روی محیط کشت مورد بررسی قرار گرفت و با مشاهده ریشه‌ها توسط میکروسکوپ تایید شد. نتایج آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی و با استفاده از نرم‌افزار SAS و مقایسه میانگین‌ها با کمک آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد.

نتایج و بحث

در جدول ۱ نام پایه‌های مورد آزمایش و ارتفاع آن‌ها در ابتدای شروع آزمایش نشان داده شده است.

بیماری‌شناسی موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر انجام شد. مواد گیاهی مورد نیاز برای انجام آزمایش پایه‌های Tetra، Penta، Mr.S2/5، GF677 و Cadaman بودند که به طریق رویشی و با استفاده از قلمه‌های نیمه خشبی در گلخانه تکثیر شدند. پس از تهیه قلمه‌های نیمه خشبی و ضدعفونی آن‌ها با استفاده از محلول بنومیل ۱/۵ در هزار، به منظور تیمار هورمونی قلمه‌ها، ۱-۲ سانتی‌متر انتهای هر قلمه به مدت چند ثانیه در محلول ۳۰۰۰ ppm ایندول-۳ بوتیریک اسید (IBA) که در الکل اتانول ۷۰ درصد حل شده بود قرار گرفت. انتهای هر قلمه در بستر کاشت پرلیت جای گرفته و قلمه‌ها در بستر پاگرم با دمای تحتانی ۲۳-۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. قلمه‌ها به محض ریشه‌زایی به گلدان‌های پلاستیکی منتقل شدند. خاک اطراف هر نهال هشت ماهه که میانگین ارتفاع آن‌ها با شش تکرار اندازه‌گیری شد، تا عمق سه سانتی‌متر کنار زده شد و ۳۰ میلی‌لیتر از مایه بیمارگر در اطراف طوقه و ریشه اصلی نهال‌ها قرار داده شد (Banhashemi, 1995). هر هفته یک بار سوراخ زهاب گلدان‌ها توسط پارافین جامد به مدت ۲۴ ساعت بسته شد و در حالت غرقاب نگهداری شدند. سپس با برداشتن پارافین، حالت غرقابی برطرف شد. برای ردیابی و بررسی حضور شبه قارچ فیتوفترا در خاک، از طعمه برگ مرکبات استفاده شد (Banhashemi, 1995). گیاهان شاهد هم به

جدول ۱- مقایسه میانگین ارتفاع گیاه در پنج پایه درختان میوه هسته‌دار
Table 1. Mean comparison of plant height in five stone fruit rootstocks

پایه Rootstock	ارتفاع گیاه Plant height (cm)
Penta	29.66b
GF 677	37.03a
Mr.S 2/5	29.10b
Tetra	28.25c
Cadaman	36.58a

میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

Means followed by the same letters are not significantly different at 5% level of probability.

نشانه‌ای از نکروز و تغییر رنگ بافت مشاهده نشد. نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس نشان داد که میانگین طول نکروز شاخه‌های بریده با هر دو بیمارگر *P. drechsleri* و *P. cactorum* در سطح احتمال یک درصد تفاوت معنی‌داری با یک‌دیگر داشتند (جدول ۲).

ارزیابی مستقیم مقاومت به فیتوفتورا با روش شاخه بریده بیمارگرهای *P. cactorum* و *P. drechsleri* هر دو سبب ایجاد نکروز در شاخه‌های بریده شدند. در شاخه‌هایی که به عنوان شاهد در نظر گرفته شده بود و با CMA و بدون میسلیوم بیمارگر مایه‌زنی شده بودند،

جدول ۲- تجزیه واریانس طول نکروز در شاخه‌های بریده پنج پایه درختان میوه هسته دار مایه زنی شده با *P. drechsleri* و *P. cactorum*

Table 2. Analysis of variance for necrosis length in cutting twigs of five stone fruit rootstocks inoculated with *P. drechsleri* and *P. cactorum*

S.O.V.	منابع تغییرات	درجه آزادی df.	طول نکروز Length of necrosis	
			<i>P. cactorum</i>	<i>P. drechsleri</i>
Rootstock	پایه	4	216.51**	197.77**
Error	خطا	32	74.72	0.61
C.V.%	درصد ضریب تغییرات		14.30	8.97

** : معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد.

** : Significant at 1% probability level.

نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان دادند که پایه‌های GF677 و Cadaman بیشترین طول نکروز را داشتند و پس از آن‌ها پایه Mr.S2/5 بود، در صورتی که پایه‌های Penta و Tetra کمترین طول نکروز را در مقابل هر دو قارچ *P. cactorum* و *P. drechsleri* نشان دادند (جدول ۳).

جدول ۳- مقایسه میانگین‌های طول نکروز در شاخه‌های بریده پنج پایه درختان میوه هسته‌دار مایه زنی شده با *P. cactorum* و *P. drechsleri*

Table 3. Mean comparison of necrosis length in cutting twigs of five stone fruit rootstocks inoculated with *P. drechsleri* and *P. cactorum*

پایه Rootstock	Length of necrosis (mm) طول نکروز	
	<i>P. cactorum</i>	<i>P. drechsleri</i>
Penta	4.59c	4.40c
GF677	14.80a	13.84a
Mr.S2/5	7.58b	7.05b
Tetra	4.98c	4.64c
Cadaman	14.01a	13.58a

میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حروف مشترک هستند، در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

Means within each column followed by the same letters are not significantly different at 5% level of probability.

ارزیابی درون شیشه‌ای مقاومت به قارچ

P. drechsleri و *P. cactorum*

در این روش نیز هر دو عامل قارچی *P. drechsleri* و *P. cactorum* موجب ایجاد نکروز در شاخه‌ها شدند. تفاوت‌های مشخصی در میزان طول نکروز بین شاخه پایه‌های درختان میوه هسته‌دار وجود داشت (جدول ۴).

زخم شاخه‌های مایه‌زنی شده با *P. drechsleri* و *P. cactorum* رنگ قهوه‌ای مشخصی را در بافت نشان می‌داد. در شیشه‌هایی که به عنوان شاهد در نظر گرفته شده بود و محیط CMA فاقد جدایه‌های عامل بیماری بود، نشانه‌ای از نکروز و تغییر رنگ بافت مشاهده

نشد.

بیشترین طول نکروز در در شاخه‌های GF677 با هر دو بیمارگر مایه‌زنی شده مشاهده شد، که به وضوح بالاتر از سایر پایه‌های مورد بررسی بود. پایه Cadaman در مرتبه بعدی قرار داشت. طول نکروز در پایه Mr.S2/5 متوسط بود و پایه‌های Penta و Tetra کمترین طول شانکر را نشان دادند (جدول ۵).

ارزیابی مقاومت پایه‌ها در گلدان‌های مایه‌زنی

شده با *P. drechsleri* و *P. cactorum*

گلدان‌هایی که با *P. cactorum* و *P. drechsleri* مایه‌زنی شده بودند، پس از

جدول ۴- تجزیه واریانس طول نکروز در شاخه‌های بریده پنج پایه درختان میوه هسته‌دار مایه‌زنی شده با *P. drechsleri* و *P. cactorum* در شرایط درون شیشه‌ای

Table 4. Analysis of variance for necrosis length in cutting twigs of five stone fruit rootstocks inoculated with *P. drechsleri* and *P. cactorum* in vitro

S.O.V.	منابع تغییرات	درجه آزادی df.	میانگین مربعات MS	
			<i>P. cactorum</i>	<i>P. drechsleri</i>
Rootstock	پایه	4	259.24**	224.56**
Error	خطا	32	4.73	3.14
C.V. (%)	درصد ضریب تغییرات		19.77	17.62

** : معنی دار در سطح احتمال یک درصد.

** : Significant at 1% probability level.

جدول ۵- مقایسه میانگین‌های طول نکروز در شاخه‌های بریده پنج پایه درختان میوه هسته‌دار مایه‌زنی شده با *P. cactorum* و *P. drechsleri* در شرایط درون شیشه‌ای

Table 5. Mean comparison of necrosis length in cutting twigs of five stone fruit rootstocks inoculated with *P. drechsleri* and *P. cactorum* in vitro

پایه Rootstock	طول نکروز Length of necrosis (mm)	
	<i>P. cactorum</i>	<i>P. drechsleri</i>
Penta	6.32d	5.8d
GF677	17.27a	16.39a
Mr.S2/5	9.47c	9.04c
Tetra	5.96d	5.00d
Cadaman	15.51b	13.99b

میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حروف مشترک هستند، در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

Means within each column followed by the same letters are not significantly different at 5% level of probability.

حدود چهار ماه مورد بررسی نهایی قرار گرفتند. تجزیه و تحلیل‌های آماری نشان دادند که واکنش پایه‌های مختلف در مقابل بیماری متفاوت بود (جدول ۶). در گلدان‌های شاهد هیچ‌گونه شواهدی دال بر وجود عوامل بیماری مشاهده نشد. علائم بیماری روی نهال‌های مایه‌زنی شده بعد از ۲۵-۳۰ روز به صورت زردی، پژمردگی برگ‌ها و خشکیدگی شاخه‌ها نمایان شد. در مایه‌زنی با *Phytophthora cactorum* پایه GF677 بیشترین طول زخم (پیشروی بیماری) را نشان داد و پایه‌های Cadaman و Mr.S2/5 به ترتیب در مرتبه‌های بعدی قرار داشتند. پایه‌های Tetra و Penta پایین‌ترین طول نکروز را نشان دادند ولی تفاوت معنی‌داری با یک‌دیگر نداشتند (جدول ۷).

جدول ۶- تجزیه واریانس طول نکروز در نهال‌های پنج پایه درختان میوه هسته‌دار مایه‌زنی شده با *P. drechsleri* و *P. cactorum* در گلخانه

Table 6. Analysis of variance for necrosis length in seedling of five stone fruit rootstocks inoculated with *P.cactorum* and *P. drechsleri* in glasshouse

S.O.V.	منابع تغییرات	درجه آزادی df.	میانگین مربعات MS	
			<i>P. cactorum</i>	<i>P. drechsleri</i>
Rootstock	پایه	4	256.03**	209.21**
Error	خطا	32	37.11	18.81
C.V. (%)	درصد ضریب تغییرات		29.53	24.82

** : معنی دار در سطح احتمال یک درصد.

** : Significant at 1% probability level.

جدول ۷- مقایسه میانگین‌های طول نکروز در نهال‌های پنج پایه درختان میوه هسته‌دار مایه‌زنی شده با *P. drechsleri* و *P. cactorum* در گلخانه

Table 7. Mean comparison of necrosis length in seedling of five stone fruit rootstocks inoculated with *P. cactorum* and *P. drechsleri* in glasshouse

پایه Rootstock	طول نکروز Length of necrosis (mm)	
	<i>P. cactorum</i>	<i>P. drechsleri</i>
Penta	15.00c	12.00c
GF 677	29.68a	21.88ab
Mr.S 2/5	18.52bc	16.92bc
Tetra	14.88c	11.63c
Cadaman	25.05ab	20.93ab

میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حروف مشترک هستند، در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

Means within each column followed by the same letters are not significantly different at 5% probability level.

در ورمیکولیت و تولید مرتب زئوسپورها باعث آلودگی بیشتر شده است.

به طور کلی نتایج روش‌های شاخه بریده آزمایشگاهی و گلخانه‌ای به کار رفته در این تحقیق مشابه بودند. روش گلخانه با آلوده کردن خاک گلدان‌ها و غرقاب کردن متناوب، مناسب‌ترین و واقع‌بینانه‌ترین روش ارزیابی حساسیت پایه‌های درختان میوه هسته‌دار در

در گلدان‌هایی که با *P. drechsleri* مایه‌زنی

شده بودند، پایه‌های GF677 و Cadaman

بیشترین میزان طول زخم (پیشروی بیماری) را نشان دادند و پایه Mr.S2/5 پس از آنها قرار داشت. پایه‌های Penta و Tetra هم کمترین طول نکروز را نشان دادند. میانگین طول نکروز در روش مایه زنی خاک گلدان بیشتر از سایر روش‌ها بود. احتمالاً میزان فعالیت عامل بیماری

در جدایه *P. cactorum* بیشتر از *P. drechsleri* بود و این گونه شدت بیماری‌زایی بیشتری داشت.

نتایج این تحقیق نشان داد که پایه‌های GF677 و Cadaman به هر دو گونه فیتوفتورا حساس بوده، بنابراین استفاده از این دو پایه در باغ‌هایی که احتمال آلودگی به این دو گونه فیتوفتورا وجود دارد توصیه نمی‌شود. این پایه‌ها وقتی در حضور عامل بیماری برای مدت طولانی در خاک اشباع با آب قرار گرفتند حساس بودند. این احتمال وجود دارد که گیاهان در شرایط تنش غرقابی به عامل بیماری حساس‌تر باشند (Mirecetch and Wilox, 1985). نتایج این مطالعه و تحقیقات دیگر نشان داده که اجتناب از دوره‌های طولانی مدت و مکرر از اشباع خاک تا حد زیادی موجب به حداقل رساندن تلفات ناشی از پوسیدگی طوقه و ریشه متأثر از گونه‌های فیتوفتورا می‌شود (Wilox and Mirecetch, 1985a)؛ (Blaker and Macdonald 1981)؛ (Wilox, 1993).

تامی‌دیس و همکاران (Thomidis et al., 2001) نشان دادند GF677 دارای طول نکروز ۱۶/۹ mm در مایه‌زنی شاخه بریده با *P. cactorum* بوده و از حساسیت متوسطی در برابر *P. cactorum* برخوردار است. در این آزمایش نیز در روش شاخه بریده طول نکروز در GF677 با نتایج تامی‌دیس و

مقابل تهاجم و آلودگی با گونه‌های فیتوفتورا است (Thomidis et al., 2001). در این روش با آلوده‌سازی مصنوعی خاک، سیکل بیماری به طور مرتب هر هفته یک بار و در فواصل آبیاری برای حدود چهار ماه تکرار شد و در این مدت تمامی مراحل بیماری در گیاه شامل زردی، پژمردگی برگ‌ها و خشکیدگی شاخه‌ها و میزان پیشروی بیماری و میزان مرگ و میر نهال‌ها نمایان شد. نتایج مرگ و میر در مایه‌زنی با جدایه *P. cactorum*، در پایه GF677/۳۳ درصد و در پایه Cadaman ۱۶/۶۶ درصد بود ولی در پایه‌های Tetra، Penta و Mr.S2/5 مرگ و میری مشاهده نشد. در مایه‌زنی با جدایه *P. drechsleri* میزان مرگ و میر در پایه GF677 ۱۶/۶۶ درصد و در Cadaman نیز ۱۶/۶۶ درصد بود، ولی درصد مرگ و میر با این جدایه در پایه‌های Tetra، Penta و Mr.S2/5 صفر بود.

روش شاخه بریده هم می‌تواند روش مناسبی برای تعیین حساسیت به گونه‌های فیتوفتورا به طور نسبی و نه تمامی مراحل بیماری باشد (Thomidis et al., 2001). روش شاخه بریده در درجه اول برای تعیین بیماری‌زایی گونه‌ها و شدت نسبی آن در جدایه‌های فیتوفتورا استفاده شده می‌شود (Jeffer et al., 1982). در روش‌های شاخه بریده فعال و غیر فعال دو گونه *P. cactorum* و *P. drechsleri* از نظر قدرت بیماری‌زایی تفاوت معنی‌داری نشان ندادند. ولی در روش گلخانه‌ای طول نکروز و مرگ و میر

پایه Penta و Tetra در برابر *P. cactorum* کمترین طول نکرورز را دارا بوده و مقاوم به این گونه فیتوفتورا هستند و پایه GF677 حساسیت بیشتری نسبت به این دو پایه در برابر *P. cactorum* برخوردار دارد.

براساس نتایج حاصل از این تحقیق پایه Tetra و Penta در مقایسه با پایه‌های Tetra و Penta حساسیت بیشتری در برابر *P. cactorum* و *P. drechsleri* برخوردار داشت. پایه‌های Tetra و Penta که از گونه‌های آلو هستند، مقاومت بیشتری نسبت به هر دو عامل بیماری‌زای فیتوفتورا داشتند. استفاده از این پایه‌ها علاوه بر محاسنی که در سازگاری با انواع مختلف میوه‌های هسته‌دار دارند، در کنترل بیماری‌های ناشی از فیتوفتورا نیز می‌توانند مؤثر باشند.

همکاران (۲۰۰۱) تشابه دارد.

در آزمایشی در یونان حساسیت چهارده پایه از جمله Mr.S2/5 و GF677 را نسبت به *Phytophthora citrophthora* بررسی کردند و این دو پایه حساسیت مشابه‌ای در برابر *P. citrophthora* نشان دادند (Tsipouridis and Thomidis, 2004). نتایج این تحقیق نشان داد که این دو پایه در برابر *P. drechsleri* و *P. cactorum* از حساسیت متفاوتی برخوردار بودند.

فیدیکلی و همکاران (Fideghelli *et al.*, 1998) چنین گزارش دادند که پایه GF677 حساسیت متوسطی به *Phytophthora cactorum* دارد، در حالی که پایه‌های Tetra و Penta مقاوم به *P. cactorum* بودند. نتایج این آزمایش نیز نشان داد که دو

References

- Banihashemi, Z. 1995.** 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 224 (in Persian).
- Banihashemi, Z., and Fatehi, J. 1989.** Reaction of cucurbit cultivars to *Phytophthora drechsleri* and *P. capsici* in greenhouse. Proceedings of the 9th Iranian Plant Protection Congress, Mashhad, Iran. Page 89 (in Persian).
- Banihashemi, Z., and Sartipi, A. 2004.** Identify *Phytophthora* species associated with crown rot of stone fruit trees in Fars province by the reaction of *phytophthora cactorum*. Science and Technology of Agriculture and Natural Resources 8: 241-248 (in Persian).
- Bouzari, N., and Tatari, M. 2008.** Short life of peach and nectarine trees and introduce the most important features of the rootstocks. Technical Bulletin. Publication of

- Agricultural Research, Education and Extension, Ministry of Agriculture, Tehran, Iran. Publication No. 4/23/24/10042 (in Persian).
- Blaker, N. S., and Macdonald, J. D. 1981.** Predisposing effect of soil moisture extremes on the susceptibility of rhododendron to phytophthora root and crown rot. *Phytopathology* 71: 831-834.
- Bliss, F. A., Almehti, A. A., Dandekar, A. M., Schuerman, P. L., and Bellaloui, N. 1999.** Crown gall resistance in accessions of 20 *Prunus* species. *HortScience* 34: 326-330.
- Browne, G. T., and Mircetich, S. M. 1996.** Effects of month of inoculation on severity of disease caused by *Phytophthora* spp. in apple root, crowns and excised shoots. *Phytopathology* 86: 290-294.
- Cummins, J. N. 1991.** Register of new fruit and nut varieties . *HortScience* 30(6): 1135-1150.
- Dastjerdi, R., and Damyar, S. 2010.** Evaluation of relative resistance in eleven apple rootstocks to crown rot caused by *Phytophthora cactorum*. *Seed and Plant Improvement Journal* 26-1 (3): 297-311 (in Persian).
- Ershad, D. 1995.** Fungi of Iran. Ministry of Agriculture, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Publication No. 10, Tehran, Iran. 874pp. (in Persian).
- Exadaktylou, E., and Thomidis, T. 2005.** Susceptibility of Gisela 5 and Maxma 14 cherry rootstocks to *Phytophthora* species. *Scientia Horticulturae* 106: 125-128.
- Fallahinezhad, S., and Armin, M. 2013.** Evaluation of relative resistance in some selected genotypes Mahaleb (*Prunus mahaleb* L.) dwarf to *Phytophthora* species. *Journal of Novel Applied Sciences* 2(12): 661-665.
- Fideghelli, C., Della Strada, G., Grassi, F., and Morico, G. 1998.** The peach industry in the world: present situation and trend . *Acta Horticulturae* 465: 29-40.
- Guzman, G., Latrre, B. A., and Wilox, W. F. 2007.** Relative susceptibility of peach rootstock to crown gall and phytophthora root and crown rot in Chile. *Ciencia Investigation Agraria* 34(1): 23-32.
- Harris, D. C., and Tobutt, K. R. 1986.** Factors influencing the mortality of apple seedlings inoculated with zoospores of *Phytophthora cactorum*. *HortScience* 61: 457-464.

- Haygood, R. A. Graves, C. H. ., and Ridings, W. H. 1986.** Phytophthora root rot and stem canker of peach trees in Mississippi. Plant Disease 70: 866-868.
- Jeffers, S. N., and Aldwinckle, H. S. 1986.** Seasonal variation in extent of colonization of two apple rootstocks by five species of Phytophthora. Plant Disease 70: 941-945.
- Jeffers, S. N., Aldwinckle, S., Burr, T. J., and Arneson, P. A. 1982.** Phytophthora and Pythium species associated with crown rot in New York apple orchards. Phytopathology 72: 533-538. .
- Kamali, K., Majidi, E., and Zarghami, R. 2001.** Micropropagation of GF677 rootstocks (*Prunus amygdalus* × *Prunus persica*). HortScience 26: 951-986.
- Kephart, J. E., and Dunegan, J. C. 1948.** Infection of seedling peach stems by zoospores of *Phytophthora cactorum*. Phytopathology 38: 580-581.
- Kim, S. H., D Amico, J. F., and Jafee, B. A. 1985.** Association of *Phytophthora cryptogea* with peach collar rot in Pennsylvania. Phytopathology 75: 626 (Abstract).
- Kouyeas, H. 1977.** On the apoplexy caused by phytophthora collar rot. EPPO Bulletin 7: 117-124.
- Macdonald, J. D., and Duniway, J. M. 1978a.** Influence of materic and osmotic components of water potential on zoospores. Phytopathology 68: 751-757.
- Macdonald, J. D., and Duniway, J. M. 1978b.** Influence of soil texture and temperature on the motility of *Phytophthora cryptogea* and *P. megasperma* zoospores. Phytopathology 68: 1627-1630.
- Matheron, M. E., and Matejka, J. C. 1988.** Phytophthora root and crown rot of apple trees in Arizona. Plant Disease 72: 481-484.
- Matheron, M. E., Wright, G., and Porchas, M. 1998.** Resistance to *Phytophthora citrophthora* and *P. parasitica* and nursery characteristic of several citrus rootstocks. Plant Disease 82: 1217-1225.
- Nicotra, A., and Moser, L. 1997.** Two new rootstocks for peach and nectarines; Penta and Tetra. Acta Horticulturae 451: 269-271.
- Reighard, G. L. 2000.** Peach rootstocks for the United States: are foreign rootstocks the answer. HortTechnology 10: 714-718.

- Reighard, G. L. ., and Loreti, F. 2008.** Rootstock development. pp: 193-215. In: Layne, D. L., and Bassi, D. (eds.). The Peach; Botany, Production and Uses. CAB International Publishing, Wallingford, UK.
- Renaud, R., Bernhard, R., Grasselly, C., and Dosba, F. 1988.** Diploid plum x peach hybrid rootstocks for stone fruit trees. HortScience 23: 115-116.
- Scott, E. S., Wicks, T. G., Lee, T. C. 1992.** The development of an assay for resistance to *Phytophthora cambivora* in almond rootstocks using shoots excised from tissue cultures. Plant Pathology 41: 639-645.
- Soroori, S., Hajinajari, H., Rezaie, S., and Zamanizade, H. R. 2010.** Evaluation of apple dwarf cultivars seedlings for selection of rootstocks tolerant to *Phytophthora cactorum*, causal agent of crown rot disease. Seed and Plant Improvement Journal 26-1 (2): 193-204 (in Persian).
- Stylianides, D. C., Chitzanidis, A., and Theochari-Athanaïou, I. 1985.** Evaluation of resistance to *Phytophthora* spp. and *Rhizoctonia solani* in stone fruit rootstocks. Options Mediterrannes 85: 73-78.
- Thomidis, T. 2000.** Field susceptibility of four peach rootstocks to *Phytophthora citrophthora* and *P. syringae*. Phytopathologia Mediterranea 39: 404-409.
- Thomidis, T., Cullum, J., Elena, K., and Jeffers, S. N. 2001.** Relative resistance of four peach rootstocks to *Phytophthora cactorum* and *Phytophthora megasperma*. Journal of Phytopathology 149: 599-604.
- Thomson, S. V., and Ockey, S. C. 2000.** Phytophthora crown and collar rot of fruit trees. Utah Plant Disease Control no.6, Utah State University Cooperative Extension, Logan, USA. 3pp.
- Tsipouridis, C., and Thomidis, T. 2004.** Effect of 14 peach rootstocks on the yield, fruit quality, mortality, girth expansion and resistance to frost damages of may crest peach variety and Their susceptibility on *Phytophthora citrophthora*. Scientia Horticulturae 103: 421-428.
- Wilox, W. F. 1993.** Incidence and severity of crown and root rots on four apple rootstocks following exposure to *Phytophthora* species and waterlogging. Journal of American Society for Horticultural Sciences 118: 63-67.

ارزیابی مقاومت نسبی پنج پایه درختان میوه هسته‌دار به *P. drechsleri* و *Phytophthora cactorum*

Wilcox, W. F., and Mircetich, S. M. 1985a. Effects of flooding duration on the development of phytophthora root and crown rots of cherry. *Phytopathology* 75: 1451-1455.

Wilcox, W. F., and Mircetich, S. M. 1985b. Pathogenicity and relative virulence of seven *Phytophthora* spp. on Mahaleb and Mazzard cherry. *Phytopathology* 75: 221-226.