ارزیابی پتانسیل ژنوتیپ‌های امید بخش زودرس سیب بومی به پوسیدگی سیاه میوه (*Diplodia seriata*)

رعنا دستجردی[1*]، سیما دامیار[1]، سیامک حنیفه[2]، سولماز نادی[1] و اصغر سلیمانی[1]

۱- موسسه تحقیقات علوم باغبانی، کرج، ایران. ۲- مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی آذربایجان غربی، ارومیه، ایران.
*نویسنده مسئول: raana_dastjerdi@yahoo.com

چکیده

سه ژنوتیپ امیدبخش زودرس سیب بومی موجود در کلکسیون ژرم‌پلاسم سیب کمال‌شهر کرج از نظر حساسیت به بیمارگر مولد پوسیدگی سیاه میوه (*Diplodia seriata*) مورد ارزیابی قرار گرفتند. دو هفته قبل از تاریخ برداشت معمول در ژنوتیپ‌های مورد نظر، میوه‌ها برداشت و در شرایط آزمایشگاهی توسط میسلیوم جوان قارچ مایه‌زنی شدند. آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی با ۳ تکرار و ۱۰ نمونه در هر واحد آزمایشی انجام شد. ارزیابی حساسیت نسبی ژنوتیپ‌ها در برابر بیماری از طریق محاسبه میانگین مساحت زخم شش روز پس از مایه‌زنی صورت گرفت. هر سه ژنوتیپ مورد مطالعه نسبت به عامل بیماری حساسیت نشان دادند. در تیمار شاهد هیچ علائمی از آلودگی مشاهده نگردید. ژنوتیپ H1-SH با دارا بودن بیشترین مساحت زخم حساسیت بالائی را در برابر بیماری نشان داد. KH-2 با کمترین میانگین مساحت زخم به عنوان ژنوتیپ با تحمل نسبی بالا شناسائی گردید. این ژنوتیپ بومی زودرس در مقایسه با ارقام تجاری گلدن دلیشز و فوجی، که تاکنون نیمه مقاوم معرفی شده‌اند، از مقاومت بالاتری در برابر پاتوژن برخوردار بود.

کلمات کلیدی: سیب، پوسیدگی سیاه، ژنوتیپ، حساسیت به بیماری

مقدمه

ایران از جمله خواستگاه‌های سیب (*Malus pumila* Miller) در دنیاست و گونه‌ها و ژنوتیپ‌های متنوعی از این درخت در کشور وجود دارد. تلاش‌های متمرکزی که در طی سالیان متمادی در راستای حفظ و نگهداری این منابع با ارزش ژنتیکی در کشور انجام شده این گونه را از خطر انقراض نجات داده است. کلکسیون ژرم پلاسم سیب بومی ایستگاه تحقیقات باغبانی کمال شهرکرج یکی از مهم‌ترین مجموعه‌های باغی کشور است که بالغ بر ۴۰۰ ژنوتیپ سیب کشور را نگهداری و ارزیابی می‌نماید (دامیار و علیزاده، ۱۳۹۱). گونه‌های مختلف جنس Botryosphaeria از جمله پاتوژن‌های شناخته شده در درختان میوه هسته‌دار و دانه‌دار می‌باشند (Slippers *et al*., 2007). "Botryosphaeria" obtusa (Schwein.) Shoemaker با مرحله غیرجنسی *Diplodia seriata* عامل پوسیدگی سیاه میوه (Black rot)، لکه برگی چشم قورباغه‌ای، شانکر و مرگ سرشاخه در بسیاری از مناطق سیب-کاری دنیا است (Beisel *et al*., 1984; Jones & Aldwinckle, 1990; Borovinova, 2000; Trapman *et al*., 2008). گزارشات، حضور این گونه را به تنهائی بر روی بیش از ۲۵۰ میزبان مختلف تائید می‌نماید (Farr *et al*., 2008). در ایران، *D. malorum* و *D. seriata* برای اولین بار به عنوان عوامل بیماری شانکر تنه و خشکیدگی شاخه سیب در باغات آذربایجان‌غربی جداسازی و بیماری‌زائی آن‌ها بر روی میوه سیب به اثبات رسیده است (حنیفه و همکاران، ۱۳۹۲ و ۱۳۹۳). خسارت ناشی از قارچ *D. seriata* بر روی میوه در جنوب شرقی ایالت متحده تا ۵۰ درصد (Jones & Aldwinckle., 1990) و در باغات ارگانیک سیب در هلند تا ۲۵ درصد (Trapman *et al*., 2008) تخمین زده شده است. در کشور ما، میزان خسارت عوامل مختلف پوسیدگی میوه سیب و هم‌چنین میزان مقاومت ارقام و ژنوتیپ‌ها در برابر بیماری تا حد زیادی ناشناخته باقی مانده است، اگر چه علائم بیماری عمدتا در باغات مشاهده می‌شود. در این تحقیق به منظور تکمیل بانک اطلاعاتی موجود برای ژرم‌پلاسم امیدبخش سیب موجود در

کلکسیون تحقیقاتی کمال‌شهر کرج و نیز استفاده از آنها در برنامه‌های اصلاحی آینده، میزان مقاومت/حساسیت این منابع بومی ژنتیکی در برابر قارچ عامل پوسیدگی سیاه میوه مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه، پتانسیل ژنتیکی سه ژنوتیپ زودرس امیدبخش انتخابی سیب موجود درکلکسیون ژرم پلاسم سیب بومی، واقع در ایستگاه تحقیقات باغبانی کمال‌شهرکرج در شرایط آزمایشگاه در برابر قارچ *D. seriata* عامل بیماری پوسیدگی سیاه میوه که قبلاً بیماری‌زایی آن به اثبات رسیده، مورد بررسی قرار گرفت (حنیفه و همکاران، ۱۳۹۳). ژنوتیپ‌های انتخابی شامل H1-SH، KH-2، GO-N3 بوده و ارقام گلدن دلیشز و فوجی به عنوان استانداردهای جهانی (نیمه مقاوم) در نظر گرفته شدند. به منظور اجرای آزمایش، دو تا سه هفته قبل از تاریخ برداشت معمول در ژنوتیپ‌های مورد نظر، زخمی به قطر ۲ و عمق ۱۰ میلی‌متر در میوه‌های سالم و عاری از هر گونه آلودگی ایجاد گردید. سپس قطعه‌ای از میسیلیوم جوان قارچ بر روی محیط کشت PDA در محل زخم قرار گرفته و کاملا با پارافیلم مسدود شد. میوه‌ها در سینی‌های درب‌دار پلاستیکی و در دمای ۲۳-۲۱ °C قرار گرفتند. میزان پیشرفت عامل بیماری به صورت روزانه یادداشت‌برداری گردید. شش روز پس از مایه‌زنی، ارزیابی شدت بیماری در میوه‌های مایه‌زنی شده از طریق محاسبه مساحت زخم با استفاده از فرمول بیضی (cm^2) انجام شد. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار و ۱۰ نمونه (میوه) در هر واحد آزمایشی انجام شد. برای میوه‌های شاهد از محیط‌کشت PDA عاری از بیمارگر استفاده گردید. تجزیه واریانس داده‌های بدست آمده با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.1.3 و مقایسه میانگین به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد.

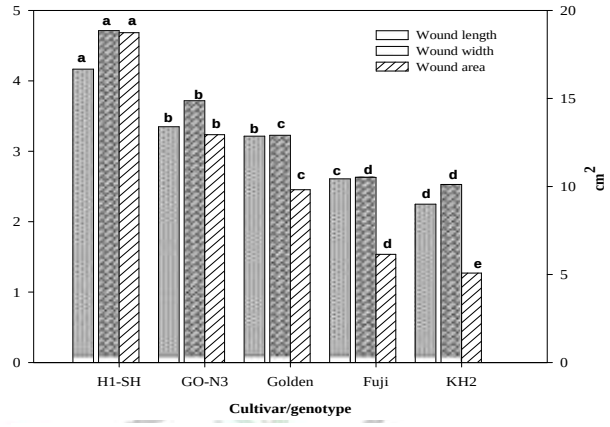
نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که بین ژنوتیپ‌ها و ارقام مورد بررسی از نظر شدت آلودگی در طی زمان‌های مختلف پس از مایه‌زنی اختلاف معنی‌داری وجود دارد (جدول۱). بر اساس گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها با استفاده از آزمون دانکن بیشترین مساحت زخم در ژنوتیپ H1-SH (۱۸/۸ cm^2) و کمترین وقوع بیماری در ژنوتیپ KH2 (۵ cm^2) به وقوع پیوسته است (شکل ۱). ژنوتیپ GO-N3 با دارا بودن ۱۲/۹ سانتی متر مربع مساحت زخم از حساسیت متوسطی در برابر بیماری برخوردار بود. به این ترتیب ژنوتیپ بومی KH-2 در مقایسه با ارقام تجاری گلدن دلیشز و فوجی، که نیمه مقاوم معرفی شده‌اند (Biggs & Miller, 2004)، مقاومت بالاتری را نشان داد. در میوه‌های شاهد هیچ‌گونه علائمی از آلودگی و وقوع بیماری مشاهده نگردید (شکل ۳). اثر متقابل زمان و ژنوتیپ/رقم تفاوت معنی‌داری را در سطح احتمال یک درصد در تمامی صفات اندازه‌گیری‌شده نشان داد؛ به طوری که میزان پیشرفت بیماری در ژنوتیپ H1-SH (حساس‌ترین ژنوتیپ) در مقایسه با ژنوتیپ KH-2 با شیب بسیار بیشتری انجام گرفته بود (شکل ۲). نتایج این تحقیق بیانگر آن است که در بین ژرم‌پلاسم سیب بومی، ژنوتیپ‌های باارزش ژنتیکی بسیار خوبی وجود دارند که در مقایسه با ارقام تجاری خارجی از مقاومت مطلوبی در برابر بیماری‌های مهم برخوردار بوده و می‌توانند در برنامه‌های به‌نژادی سیب مورد استفاده به‌نژادگران قرار گیرند.

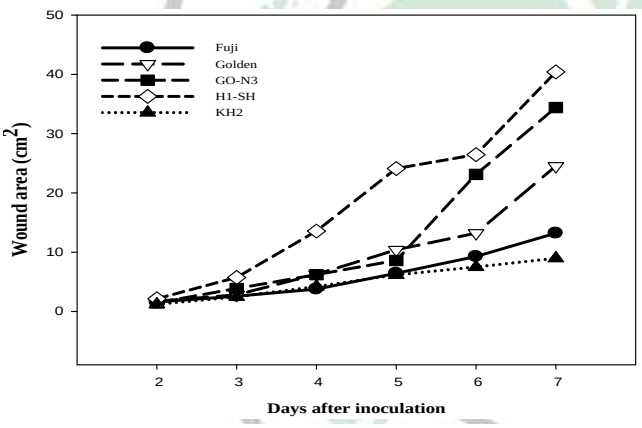
جدول۱- تجزیه واریانس اثر ژنوتیپ/رقم، زمان پس از مایه‌زنی و اثر متقابل آنها بر صفات اندازه‌گیری شده

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات		
		طول زخم	عرض زخم	مساحت زخم
ژنوتیپ/رقم	۴	۹۷/۹۴ **	۱۴۴/۱۷ **	۹۳/۱۵ **
زمان پس از مایه‌زنی	۵	۲۹۴/۷۶ **	۳۳۰/۰۲ **	۲۴۴/۸۱ **
زمان × ژنوتیپ/رقم	۲۰	۱۰/۲۲ **	۱۴/۴۶ **	۹/۴ **
خطا	۸۷۰	۰/۴۷۷	۰/۴۷۹	۰/۳۳۱
ضریب تغییرات (٪)		۲۲/۱۶	۲۰/۵۸	۲۰/۰۶

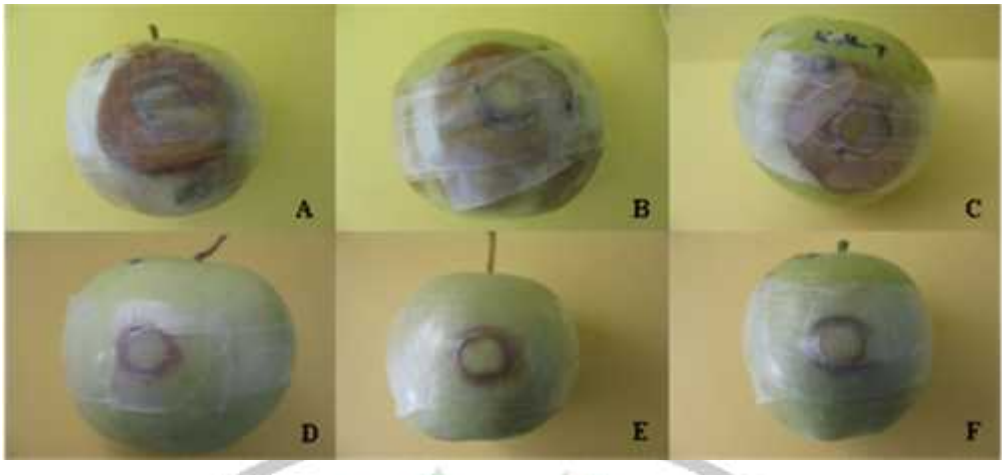
** معنی دار در سطح احتمال یک درصد



شکل ۱- مقایسه میانگین طول زخم، عرض زخم و مساحت زخم در ارقام و ژنوتیپ های مورد ارزیابی.



شکل ۲- روند پیشرفت بیماری در ژنوتیپ‌ها/ارقام مورد بررسی در طی زمان‌های مختلف پس از مایه‌زنی.



شکل ۳- مقایسه عکس‌العمل ژنوتیپ‌های H1-SH ، GO-N3 و KH-2 (به ترتیب A، B و C) در برابر *D. seriata* قارچ عامل پوسیدگی سیاه میوه در مقایسه با شاهد (D، E و F) شش روز پس از مایه‌زنی در شرایط آزمایشگاه.

منابع

۱. حنیفه، س.، قوستا، ی.، عباسی، س.، و فیلیپس، ا. ۱۳۹۲. اولین گزارش از *Diplodia malorum* Fuckel عامل بیماری شانکر درختان سیب در ایران. بیماریهای گیاهی. ۲۷۳-۲۷۱: ۴۹.

۲. حنیفه، س.، قوستا، ی.، و عباسی، س. ۱۳۹۳. اولین گزارش از *Diplodia seriata* عامل بیماری شانکر و خشکیدگی شاخه‌های درختان سیب در ایران. بیماریهای گیاهی. ۱۹۰-۱۸۹ :۵۰.

۳. دامیار، س.، و علیزاده، ا. ۱۳۹۱. ارزیابی مقدماتی خصوصیات رویشی و زایشی ژرم پلاسم سیب بومی کشور. گزارش نهائی مصوب.

4. Beisel, M., Hendrix, F. F., and Starkey, T. E. 1984. Natrual inoculation of apple buds by *Botryosphaeria obtusa*. Phytopathology 74:335-338.

5. Biggs, A. R., and Miller, S. S. 2004. Relative susceptibility of selected apple cultivars to fruit rot caused by *Botryosphaeria 4btuse*. Hortscience 39:303-306.

6. Borovinova, M. 2000. Black rot of apple *Botryosphaeria obtusa* (Schwein.) Shoemaker. Plant Science 37:50-55.

7. Farr, D. F., Rossman, A. Y., Palm, M. E., and McCray, E. B. 2008. Fungal Databases, Systematic Botany & Mycology Laboratory, ARS, USDA. Retrieved January 17, 2008, from http://nt.ars-grin.gov/fungaldatabases/

8. Slippers, B., Smit, W. A., Crous, P. W., Coutinho, T. A., Wingfield, B. D., and Wingfield, M. J. 2007. Taxonomy, phylogeny and identification of *Botryosphaeriaceae* associated with pome and stone fruit trees in South Africa and other regions of the world. *Plant Pathology* 56:128–139.

9. Trapman, M., Maxin, P., and Weber, R. W. S. 2008. *Diplodia seriata*, cause of black fruit rot in organically grown apples in Holland, Belgium and Northern Germany. 13th International Conference on Cultivation Technique and Phytopathologycal Problems in Organic Fruit-Growing. Weinsburg, Germany. P, 177-181.

10. Jones, A. L., and Aldwinckle, H. S. 1990. Compendium of Apple and Pear Diseases. APS Press, St. Paul, Minn, USA.

Relative susceptibility of best early apple genotypes to fruit black rot (*Diplodia seriata*)

R. Dastjerdi[1*], S. Damyar[1], S. Hanifeh[2], S. Nadi[1] and A. Soleimani[1]

1- Horticultural Science Research Institute (HSRI), Karaj, Iran. 2- Agricultural and Natural Resources Research and training Center, West Azerbaijan, Urmia, Iran.

[*]Corresponding author: raana_dastjerdi@yahoo.com

Abstract

Three early apple genotypes were tested in laboratory for their relative susceptibility to black rot pathogen *Diplodia seriata*. Two weeks before usual harvest time wounded fruits were inoculated with mycelium from young fungal culture. The experiment was conducted in a Completely Randomized Design with three replications and 10 samples in each replicate. The mean lesion area six days after inoculation was used as an indicator shows disease severity in different genotypes/cultivars. None of the control fruits developed black rot during the time after inoculation. Disease severity ranged from 18.8 cm^2 for H1-SH local genotype to 5.0 cm^2 for KH-2 genotype. This early local genotype showed a higher tolerance comparing Fuji and Golden Delicious which have been introduced as least susceptible cultivars.

Key words: Apple, Black rot, Genotype, Resistance