دانش بیماری‌شناسی گیاهی (شاپای ا: ۶۲۹۰-۲۵۸۸، شاپای چ: ۹۲۷۰-۲۲۵۱)
سال دهم، جلد ۲، بهار و تابستان ۱۴۰۰
Plant Pathology Science (eISSN:2588-6290, pISSN:2251-9270)
Vol. 10(2), 2021

Research Article

Relative levels of resistance to bacterial canker in Iranian apricot hybrids

ROGHAYEH MOHAMMADI [1], MANSUREH KESHAVARZI [2]✉,
NADER HASSANZADEH [1], JALIL DEJAMPOUR[3], AFAGH FARHADNEJAD[4]
1. Department of Plant Protection, College of Agriculture and Food Sciences, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran. 2.Cold and Temperate Fruits Center, Horticultural Sciences Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Karaj, Iran. 3.Agricultural Research, Education and Extension Organization, East Azarbaijan Center, Tabriz, Iran. 4.Technology Affairs Office, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Tehran, Iran.

Received: 04.04.2021 Accepted: 09.16.2021

Mohammadi R, Keshavarzi M, Hassanzadeh N, Dejampour J, Farhadnejad A (2021) Relative resistance levels to bacterial canker in Iranian apricot hybrids. Plant Pathology Science 10(2):15-29. Doi: 10.2982/PPS.10.2.15.

Abstract

Introduction: Bacterial canker caused by *Pseudomonas syringae* is one of the most damaging diseases in apricots. This experiment was conducted to evaluate relative resistance to the disease in 22 selected local apricot hybrids including AD507, AD405, and HS731 which were recently released as Jalil, Parsi and Shanli. **Material and Methods:** Evaluation methods included artificial inoculation of two-year-old seedlings in an orchard and of cut shoots in the laboratory. Initially, the pathovar identity of local *P. syringae* strains were determined using LOPAT and GATTa tests and three isolates were used as inoculum. The inoculation was done in the seedling stem and after one year and 1.5 years, canker length was recorded. **Result:** The pathovar of all isolates was identified as *P. syringae* pv. *syringae*. The longest and shortest cankers were observed in AD1033 and AC113 with averages of 34.76 mm and 8.35 mm, respectively. The cut shoot bioassay was not practical for apricots. The hybrids were classified into four groups including highly resistant, resistant, moderately resistant, and susceptible. **Conclusion:** AD1033, AD1042, AD940, AD811, HS210, DM101, HS203 have been classified as susceptible and should not be used in breeding programs and orchard establishment/replacement. Jalil, Parsi, and Shanli were rated as resistant, and moderately resistant, respectively.

Keywords: Hybrid, *Pseudomonas syringae*, Susceptibility

✉kmansureh@gmail.com

مقاله پژوهشی

سطح نسبی مقاومت به شانکر باکتریایی در دورگ‌های ایرانی زردآلو

رقیه محمدی[۱]، منصوره کشاورزی[۲]✉، نادر حسن‌زاده[۱]، جلیل دژمپور[۳]، آفاق فرهادنژاد [۴]

۱. گروه گیاه‌پزشکی دانشکده کشاورزی و صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی
۲. پژوهشکده میوه‌های معتدله و سردسیری، موسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج . ۳. سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مرکز تحقیقات کشاورزی آذربایجان شرقی، تبریز.
۴. دفتر امور فناوری، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران.

دریافت: ۱۴۰۰/۰۱/۱۵ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۶/۲۵

محمدی ر، کشاورزی م، حسن‌زاده ن، دژمپور ج، فرهادنژاد ا (۱۴۰۰) سطح نسبی مقاومت به شانکر باکتریایی در دورگ‌های ایرانی زردآلو. دانش بیماری‌شناسی گیاهی ۱۰(۲): ۲۹-۱۵. Doi: 10.2982/PPS.10.2.15.

چکیده

مقدمه: شانکر باکتریایی با عامل *Pseudomonas syringae* یکی از مهم‌ترین بیماری‌های خسارت‌زا در زردآلو است. این پژوهش با هدف ارزیابی مقاومت نسبی به شانکر باکتریایی در ۲۲ دورگ منتخب بومی زردآلو از جمله AD507، AD405، HS731 که اخیراً با نام‌های جلیل، پارسی و شانلی معرفی شده‌اند، انجام شد. **مواد و روش‌ها:** روش‌های آلوده‌سازی شامل مایه‌زنی مصنوعی نهال‌های دو ساله در شرایط باغی و شاخه‌های بریده در شرایط آزمایشگاهی بود. در ابتدا، پاتوار جدایه‌های بومی *P. syringae* توسط آزمون‌های LOPAT و GATTa مشخص و مخلوط سه جدایه در تهیه مایه تلقیح به کار برده شد. مایه‌زنی در ساقه نهال‌ها انجام و ۱ و ۱/۵ سال بعد، طول شانکر یادداشت‌برداری شد. **یافته‌ها:** پاتوار سویه‌ها *P. syringae* pv. *syringae* تشخیص داده شد. بیشترین و کمترین طول شانکر به ترتیب در هیبریدهای AD1033 و AC113 معادل ۳۴/۷۶ میلی‌متر و ۸/۳۵ میلی‌متر دیده شد. روش مایه‌زنی شاخه بریده برای ارزیابی واکنش رقمهای زردآلو مناسب نبود. هیبریدها در پنج گروه بسیار مقاوم، شش هیبرید مقاوم، هشت هیبرید نسبتا مقاوم و هفت هیبرید حساس بودند. **نتیجه‌گیری:** هیبریدهای AD1033, AD1042, AD940, AD811, HS210, DM101, HS203 حساس شناخته شدند، که پیشنهاد می‌شود در برنامه‌های اصلاحی و احداث/جایگزینی باغها به‌کار برده نشوند. رقمهای جلیل، پارسی و شانلی به‌ترتیب مقاوم و نسبتا مقاوم تشخیص داده شدند.

واژگان کلیدی: حساسیت، هیبرید، *Pseudomonas syringae*

مقدمه **Introduction**

زردآلو (*Prunus armeniaca* L.) از جمله میوه‌های اصلی هسته‌دار در آب و هوای مدیترانه‌ای است

✉ kmansureh@gmail.com

(Hormaza 2002). سطح زیر کشت و تولید جهانی این محصول در سال ۲۰۱۹ به ترتیب ۵۶۱،۷۵۰ هکتار و ۴،۰۸۳،۸۶۱ تن در سال بوده است. در همین سال، سطح زیر کشت و تولید این محصول در ایران به ترتیب برابر ۵۶،۰۹۰ هکتار و ۳۲۹،۶۳۸ تن بوده و پس از ترکیه و ازبکستان، مقام سوم جهانی از نظر تولید را به خود اختصاص داده است (FAO 2017) و بیش از ۳۰ درصد آن در استان آذربایجان شرقی تولید می‌شود. ژنوتیپ‌های زردآلوی بومی ایران تنوع قابل ملاحظه‌ای دارند که به دلیل ازدیاد سنتی به طریقه بذری بوده است اما به تدریج با رونق روش‌های تکثیر پیوندی، برخی رقمها بومی مانند نصیری، اردوباد، شکرپاره، شمس، نخجوان و قرمز شاهرودی جای ژنوتیپ‌های متفرق بومی را گرفته و در سراسر کشور گسترش یافته‌اند.

باکتری *Pseudomonas syringae* یکی از مهم‌ترین عوامل بیماری‌زای گیاهی است که در طیف وسیعی از گیاهان تک‌لپه و دولپه خسارت‌زا بوده و در لوبیا، نخود، سورگوم، کیوی و درختان میوه هسته‌دار، از اهمیت اقتصادی بالایی برخوردار است (Gilbert et al. 2010). شانکر باکتریایی که با نام‌های بلاست جوانه، بلاست شکوفه، سرخشکیدگی و بلایت سرشاخه نیز شناخته می‌شود، از مهم‌ترین بیماری‌های ناشی از این باکتری و از علل اصلی مرگ زودرس درختان میوه هسته‌دار است. شانکر باکتریایی در اغلب مناطق کشت درختان میوه هسته‌دار شایع بوده و به خصوص در شرایط سرد و مرطوب بسیار خسارت‌زا است و می‌تواند موجب افت عملکرد ناشی از صدمه به درختان بارده و مرگ درختان بالغ، جوان و نهال شود. میزان خسارت اقتصادی آن در باغها جوان معادل ۷۵-۱۰ درصد و در باغها مسن ۲۵-۱۰ درصد و گاهی ۸۵ درصد برآورد شده است (Endert Hattingh and Roos 1995 and Ritchie 1984,). میزان خسارت آن در ایالات متحده آمریکا به جمعیت باکتری *P. syringae* و جمعیت نماتد حلقوی (*Mesocriconema xenoplax*) در خاک بستگی دارد و در ایالت اورگون تا ۷۵ درصد باغها جوان گیلاس را می‌خشکاند (Burke et al. 1976). شانکر باکتریایی تنها عامل محدودکننده کشت درختان میوه هسته‌دار در جنوب شرقی انگلستان بوده و ۴۳-۱۰ درصد درختان باغها جوان آلو را می‌خشکاند (English et al. 1980). این بیماری در زردآلو نیز از اهمیت اقتصادی بالایی برخوردار است (Kennelly et al. 2007). در ترکیه، این بیماری مهم‌ترین عامل محدودکننده کشت زردآلو در برخی مناطق با بیش از ۸۰ درصد شیوع بوده است (Donmez et al. 2009). در ایران این بیماری اولین بار توسط بهار و همکاران در درختان زردآلوی اصفهان مشاهده و میزان خسارت آن ۵۰-۲۲ درصد ذکر شد (Bahar et al. 1981). سپس عامل آن در مازندران، دماوند، کهگیلویه و بویراحمد و البرز، *P. s.* pv. *syringae* تشخیص داده شد (Karimi-Kurdistani et al. 2008, Shamsbakhsh and Rahimian 1989, Erfaninik et al. 2018, Banapur et al. 1990,

(Keshavarzi and Bouzari 2014,). شانکر باکتریایی اکنون در کلیه مناطق کشت و پرورش زردآلو، هلو، گوجه، گیلاس شلیل و آلبالو و سایر درختان میوه هسته‌دار کشور گسترش دارد و در برخی مناطق مانند استان‌های خراسان، تهران، مرکزی، گلستان، مازندران، آذربایجان شرقی، آذربایجان غربی و کردستان بسیار خسارتزا است، به نحوی‌که از ۴۰،۸۸۳ هکتار سطح مبارزه با بیماری‌های گیاهی در سال ۱۳۸۱، ۵۶۵۰ هکتار مربوط به مبارزه با شانکر باکتریایی بوده است (Agricultural data 2002). نشانه‌های این بیماری به رقم، سن و بافت مورد تهاجم درخت، خصوصیات سویه باکتری عامل و شرایط محیطی بستگی دارد. این باکتری به شاخه، تنه، جوانه، شکوفه، برگ و میوه حمله می‌کند و موجب کاهش عملکرد و گاهی مرگ درختان مسن و زوال درختان جوان می‌شود. تشکیل شانکر از مشخص‌ترین نشانه آن است. نواحی شانکر اندکی فرورفته تیره و گاهی توأم با تراوش صمغ هستند، در برگ، لکه‌های آبسوخته ایجاد می‌شود که نهایتاً قهوه‌ای و خشک شده و به برگ حالت غربالی می‌دهد. روی میوه‌های آلوده لکه‌های سطحی و قهوه‌ای به وجود می‌آید (Kennelly et al. 2007).

مدیریت این بیماری به دلیل نبود منابع مقاومت، فقدان سموم شیمیایی و عوامل بیوکنترل مناسب و حفاظت باکتری *P. syringae* در درون بافت گیاه در مرحله اندوفیتی، عملاً غیرقابل حصول است (Kennelly et al. 2007). مبارزه شیمیایی عملاً تأثیرگذاری بالایی ندارد زیرا ترکیبات مسی علاوه بر تأثیر کم و امکان گیاه سوزی، وارد چرخه‌های اکولوژیک می‌شوند و تجمع مس در خاک و منابع آبی، اثرات مخربی بر محیط‌زیست و میکروارگانیسم‌های دخیل در تجزیه مواد آلی خاک دارد. آنتی بیوتیک‌هایی مانند استرپتومایسین و اریترومایسین نیز هزینه‌بر بوده و موجب ظهور مقاومت در جمعیت‌های باکتری می‌شوند و در بسیاری کشورها مجاز نیستند. لذا شناسایی و استفاده از رقمها مقاوم زردآلو می‌تواند یکی از گزینه‌های اقتصادی و کاربردی در مدیریت مؤثر این بیماری باشد (Bassi 1999). در این ارتباط غربالگری‌های وسیعی در شرایط آلودگی طبیعی یا آلوده‌سازی مصنوعی باغی (مشابه پژوهش حاضر) انجام شده که مبین اهمیت مقاومت به شانکر در برنامه‌های اصلاحی هسته‌داران است. در رومانی، ۵۴۰ رقم زردآلو با منشأ آسیا، ایالات متحده، کانادا، جمهوری چک، چین، فرانسه، آلمان، هند، یوگسلاوی، ایتالیا، هلند، مولداوی، رومانی، اسپانیا، ترکیه، اوکراین و مجارستان از جنبه خصوصیات باغی و مقاومت به شانکر بررسی و تنوع قابل ملاحظه‌ای در آن‌ها مشاهده شد (Balan et al. 2006). غربالگری مشابهی در طی ۱۹۸۰-۱۹۸۸ در کوئینزلند روی ۴۰۰ واریته هسته‌دار از ۱۵ کشور مختلف انجام شد (Topp et al. 1989). در اتحادیه اروپا نیز پروژه مشترکی بر روی بیماری‌های باکتریایی زردآلو از جمله شانکر انجام و نتایج جدیدی در ارتباط با حساسیت رقمها و خسارت شانکر به دست آمد (Prunier et al. 1997). مطالعات انجام شده بر روی

رقمها زردآلو در ترکیه نشان داد که مقاومت نسبی رقمها بومی از مقاوم تا حساس متفاوت بود (Donmez et al. 2009). سینگ و وانی مقاومت شماری از رقمها محلی زردآلوی هند را ارزیابی و آن‌ها را در گروه‌های مقاوم، نسبتاً مقاوم و حساس رده‌بندی کردند، همه رقمها با افزایش سن حساس‌تر شدند و تنها درختان آلوده مسن‌تر از ده سال صمغ زدگی داشتند (Singh and Wani 2005). همچنین از ۲۲ رقم زردآلوی بومی هند که در شرایط آلودگی طبیعی ارزیابی شدند، هیچ‌یک مقاوم نبودند (Agrawala and Sharma 1970). در ایران نیز محدود مطالعاتی بر روی مقاومت رقمها مختلف زردآلو به این بیماری انجام شده است. که مقاومت تعدادی از رقمها و ژنوتیپ‌های بومی ایران را با روش مایه‌زنی نهال در شرایط باغی بررسی کرده و تنوع قابل ملاحظه‌ای مشاهده کردند (Keshavarzi and Bouzari 2014). چنین تنوعی در مشاهدات برخی بر روی شدت آلودگی طبیعی به شانکر در درختان بالغ زردالوی مشهد نیز مشاهده شد (Jafarpour 1993). در راستای تکمیل این اطلاعات، در این پژوهش، مقاومت نسبی به شانکر باکتریایی در تعدادی از هیبریدهای منتخب بومی زردآلو که برخی در شرف معرفی بودند، ارزیابی شد.

مواد و روش‌ها Material and Methods

تعداد ۲۲ دورگ منتخب حاصل از "برنامه اصلاح زردآلو" ارزیابی شدند (جدول ۱). این مواد گیاهی از سال ۱۳۷۸ با انجام دورگ‌گیری‌های هدفمند در ایستگاه تحقیقات باغبانی سهند آذربایجان شرقی ایجاد شده و در قطعه باغی به مساحت تقریبی ۲۰۰۰ مترمربع در فواصل یک متر در چهار متر در هشت ردیف کشت شده بودند (Dejampour 2016). مواد گیاهی مذکور در بهار ۱۳۹۳ بر روی پایه بذری زردآلو تلخه پیوند شدند. سپس در زمستان ۱۳۹۴ به کرج منتقل و در سه تکرار در فواصل ۰/۵ متر در ۱/۵ متر، در باغ بیماری شناسی پژوهشکده میوه‌های معتدله و سردسیری کشت شدند. مواد گیاهی مادری مورد استفاده جهت آزمایش نهال پیوندی یا شاخه بریده سالم و فاقد نشانه بیماری بودند.

تعداد پنج جدایه بومی باکتری *P. syringae* که قبلاً از درختان زردآلو، گیلاس و بادام آلوده به شانکر در استان‌های البرز و چهارمحال و بختیاری جداسازی و شناسایی شده و قدرت بیماری‌زایی و واکنش فوق حساسیت آن‌ها به اثبات رسیده (Keshavarzi and Bouzari 2914)، مورد استفاده قرار گرفتند. جدایه‌ها در محیط غذایی مایع (Nutreient Broth) حاوی ۳۰٪ گلسیرول مایع در فریزر ۸۰- درجه سلسیوس در آزمایشگاه بیماری‌شناسی پژوهشکده میوه‌های معتدله و سردسیری، کرج نگهداری می شوند. شناسایی پاتوار جدایه‌ها بر اساس آزمون‌های GATTa (Gelatin liquification, Aesculin

جدول ۱. مشخصات هیبریدهای زردآلوی منتخب بررسی شده در این پژوهش.

Table 1. Characteristics if selected apricot hybrids studied in this research.

Hybrid	Sugar content (%)	Fruit size	Flesh color	Ripening date	Fruiting type	Flesh firmness	Stone adherence
AD940	18.6	5	1	9	3	7	3
AD517	19	5	4	5	3	5	5
AD503	19	7	5	5	3	7	1
AD507	22.4	7	4	5	3	5	1
AD640	19.5	7	3	5	3	7	1
AC113	19.2	7	3	5	3	7	1
AD921	19.6	7	3	7	3	5	1
AD940	22.3	7	3	5	3	5	1
AD1033	26	5	3	5	2	5	1
AD1042	18.4	5	5	5	2	5	1
HS201	23	5	4	5	1	5	1
HS203	22	5	5	5	3	7	1
HS514	21.6	5	3	6	3	5	1
HS222	18.7	5	2	3	2	3	1
HS731	19.7	7	4	5	3	5	1
HS210	27	7	4	5	1	7	1
DM101	17	7	4	3	3	5	1
AD405	19	7	3	5	3	5	1
AC108	20.2	7	3	5	2	3	1

شرح کدها و مقیاس‌ها: AD: ژنوتیپ‌های حاصل از دورگ‌گیری فاز اول،HS: ژنوتیپ‌های حاصل از دورگ‌گیری فاز دوم، AC: ژنوتیپ‌های بومی انتخابی، DM: هیبریدهای فاز سوم، اندازه میوه: ۳= کوچک ۵ = متوسط ۷= بزرگ، رنگ گوشت: ۱= سبز مایل به سفید ۲= سفید ۳= کرم ۴= نارنجی روشن ۵= نارنجی ۶= نارنجی تیره، سفتی گوشت: ۱= خیلی نرم ۳= نرم ۵= متوسط ۷= سفت ۹= خیلی سفت، چسبندگی هسته به گوشت: ۱= ندارد ۳= کم ۵= متوسط ۷= زیاد، زمان رسیدن: ۱= خیلی زود ۳= زود ۵= متوسط ۷= دیر ۹= خیلی دیر، تیپ باردهی: ۱=غالباً روی سیخک‌ها ۲= روی سیخک‌ها و شاخه یکساله ۳= غالباً روی شاخه‌های یکساله، همه دورگ‌ها از نظر تلخی مغز، شیرین هستند.

Levan production,) LOPAT و hydrolysis, Tyrosinase activity, Tartarate utilization. Oxidase activity, Potato soft rot, Arginine dihydrolase activity, Tobacco hypersensitivity) انجام شد. آزمون‌های LOPAT برای تمایز گونه *P. syringae* از سایر گونه‌های فلوروسنت و آزمون‌های GATTa برای تمایز پاتوارهای مختلف گونه *P. syringae* به کار برده می شوند (Lelliott and Stead 1987, Schaad et al. 2001). پس از تعیین پاتوار، سه جدایه *P.s.* pv. *syringae* به‌طور تصادفی انتخاب و در تهیه مایه تلقیح به کار برده شد. در هر جدایه، کلنی‌های سه‌روزه رشد کرده روی محیط آگار غذایی در پنج میلی‌لیتر آب مقطر سترون حل و غلظت سوسپانسیون‌های حاصله توسط اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۰۰ نانومتر، روی ۰/۲-۰/۱ تنظیم شد.

سپس حجم‌های مساوی از سوسپانسیون‌ها مخلوط و به کار برده شد. در کلیه آزمایش‌ها، آب مقطر سترون به‌جای مایه تلقیح، به‌عنوان شاهد منفی به کار برده شد.

ارزیابی واکنش نهال بر اساس روش (Santi et al. 2004) و ارزیابی شاخه بریده با همین روش پس از تغییراتی، انجام شد. مایه‌زنی نهال‌ها در پاییز ۱۳۹۵ در شرایط باغی انجام شد. بدین منظور، با استفاده از اسکالپل ضدعفونی شده، در تنه هر نهال ۳ زخم (به نحوی که از پوست رویی رد شده و به بافت چوبی برسد) ایجاد شد. اولین زخم در ارتفاع تقریبی ۳۰ سانتی‌متر از سطح خاک ایجاد شد. سپس توسط سمپلر، ۲۵ میکرو لیتر مایه تلقیح در هر زخم ریخته و با پارافـیلم بسته شد. یک هفته بعد پارافیلم‌ها باز شدند. یک و ۱/۵ سال بعد، طول نکروز و یک سال پس از مایه‌زنی، قطر تنه در محل شانکر با استفاده از کولیس دیجیتال اندازه‌گیری شد. آزمایش ارزیابی مقاومت نهال در قالب طرح کاملاً تصادفی با نه تکرار (سه زخم در تنه سه هیبرید) انجام شد. به‌منظور ارزیابی مقاومت شاخه بریده در شرایط آزمایشگاهی، شاخه‌های دوساله (با طول تقریبی ۲۰ سانتی‌متر) در بهمن‌ماه جمع آوری شده و به‌مدت پنج دقیقه در هیپوکلریدسدیم ۵٪ ضدعفونی و سپس سه بار شسته شدند. شاخه‌های هر هیبرید به‌طور جداگانه دسته و سر و ته دسته‌ها بریده شد. سپس پنج میلی‌لیتر مایه تلقیح بر سطح برش سرهای هم‌ردیف شده پخش و با یک پارافـیلم بزرگ بسته شد. ته شاخه‌ها در شیشه‌های مربایی حاوی دو سانتی‌متر آب گذاشته شد و در اتاق رشد (دمای ۲۵ درجه سلسیوس، رطوبت بالای ۹۰٪) قرار داده شدند. پس از یک هفته، پارافیلم‌ها باز و نمونه‌ها به سردخانه (دمای ۱۰- درجه سلسیوس) منتقل و یک هفته بعد، درون ظروف مرطوب چیده شده و به گلخانه (دمای ۱۵ درجه سلسیوس، نور طبیعی) منتقل شدند. ایجاد فرورفتگی و تیرگی پوست ناحیه مایه‌زنی در طی یک ماه بررسی شد. آزمایش شاخه بریده در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۱۵ تکرار (شاخه بریده) انجام شد. در کلیه آزمایش‌ها، بخشی از مواد گیاهی (نهال و شاخه بریده) به عنوان شاهد منفی استفاده شد که به‌جای مایه تلقیح، با آب مقطر سترون تلقیح شدند. تجزیه واریانس و مقایسه میانگین داده‌ها بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن توسط نرم‌افزار SAS و تجزیه کلاستر توسط نرم‌افزار SPSS انجام شد.

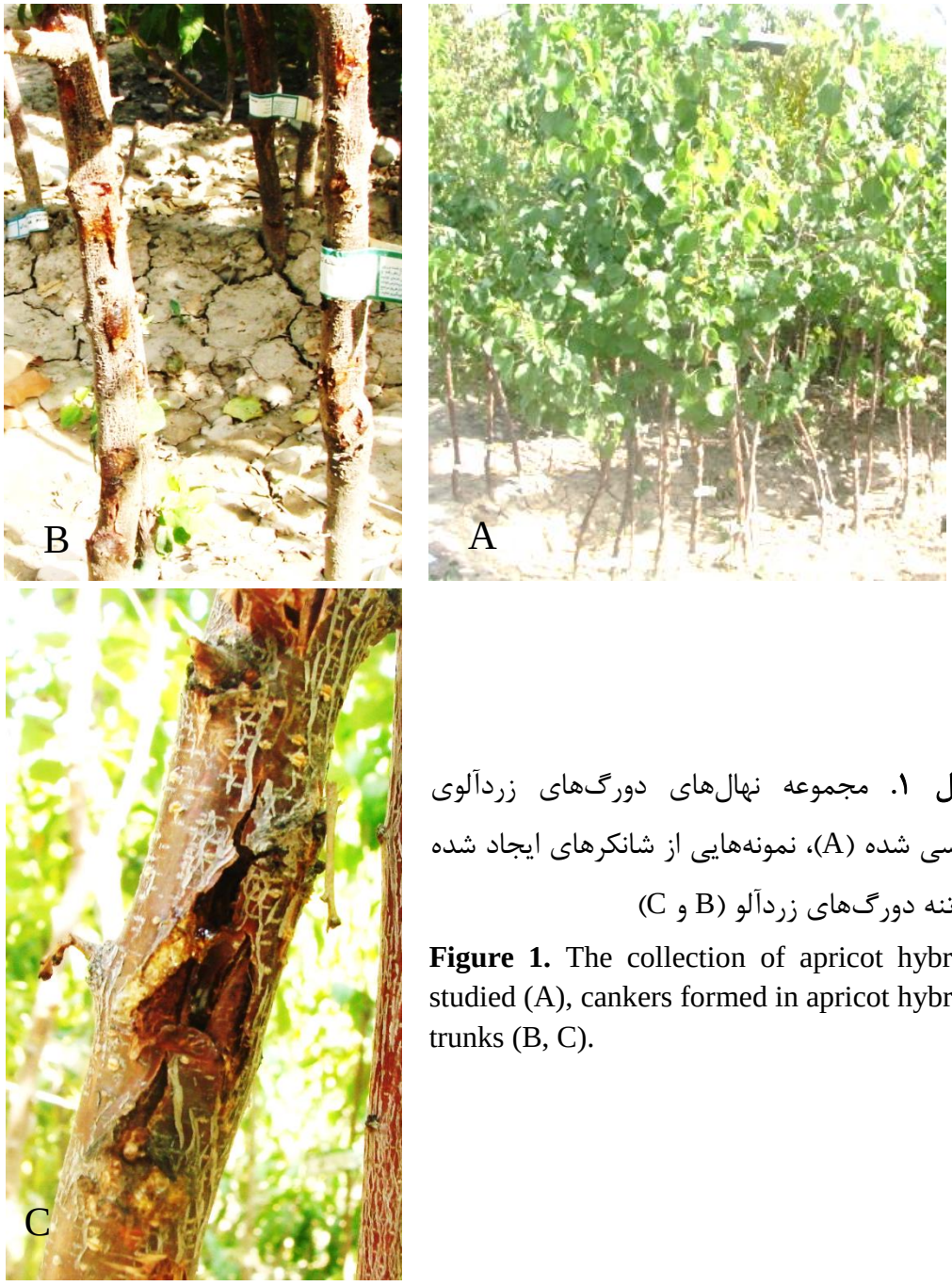
یافته‌ها و بحث Results and Discussion

آزمون‌های بیوشیمیایی LOPAT و GATTa در این پژوهش، برای تعیین پاتوار پنج جدایه بومی *P. syringae* استفاده شد. این آزمون‌ها توسط سایر محققین نیز بدین منظور به کار برده شده‌اند (Kaluzna et al. 2010). در کلیه جدایه‌ها، نتایج آزمون‌های LOPAT به قرار +---+ (تولید لوان

مثبت، تولید اکسیداز، پوسیدگی سیب‌زمینی، تولید آرجینین دهیدرولاز منفی و واکنش فوق حساسیت توتون مثبت) و GATTa به‌قرار --++ (سیالیت ژلاتین و هیدرولیز اسکولین منفی، فعالیت تیروزیناز و مصرف تارتارات مثبت) بود و لذا گونه جدایه‌های فلوروسنت مورد استفاده، *P. syringae* و پاتوار آن‌ها *P. syringae* pv. *syringae* تشخیص داده شد. سه جدایه *P. syringae* pv. *syringae* به طور راندم انتخاب و مخلوط آن‌ها در تهیه مایه تلقیح به کار برده شد. استفاده از مخلوط جدایه‌ها احتمال پاسخ‌های میزبان-اختصاصی و ضعف در قدرت پاتوژنیسیته باکتری را می‌کاهد. سوش‌های مختلف این باکتری قدرت‌های پاتوژنیسیته و ویرولنس متفاوتی دارند که ناشی از ساختار و ترکیبات مختلف لیپوپلی‌ساکاریدی دیواره سلولی و تنوع ژن‌های ویرولنس آن‌هاست. این تفاوت‌ها بر قدرت تشخیص و انگیزش مکانیسم‌های دفاعی سلول گیاهی و در نتیجه، بر شدت بیماری تأثیر می‌گذارند (Zamze 1983).

زخم‌های کوچکی در روش ارزیابی باغی تا انتهای زمستان در محل‌های مایه‌زنی در تنه نهال‌ها پدیدار شدند که به تدریج بزرگ شده و به شانکرهای تیره فرورفته و گاهاً صمغ‌زا تبدیل شدند (شکل ۱). این در حالی بود که در در تنه گیاهان کنترل منفی تلقیح شده با آب مقطر شانکری ایجاد نشد. در روش ارزیابی آزمایشگاهی، شاخه‌های بریده در شرایط مرطوب اتاق رشد، کپکی و غیرقابل داده برداری شدند و لذا این روش برای ارزیابی مقاومت زردآلو کاربردی نبود. این در حالی است که شاخه‌های بریده گیلاس و آلبالو قابل آلوده سازی و ارزیابی در شرایط آزمایشگاهی مشابه پژوهش حاضر بوده‌اند (Farhadfar et al. 2016, Baba-Ali et al. 2013, Santi et al. 2004).

روش‌های ارزیابی باغی و آزمایشگاهی به‌کار برده شده در این پژوهش دارای مرحله‌ای از سرمادهی (۱۰- درجه سلسیوس در آزمایشگاه و دمای طبیعی زمستان در باغ) بودند. ارتباط بین دمای زمستان گذرانی/یخزدگی و شدت شانکر در برخی گزارش‌ها آمده است. برخی نشان دادند که برودت زمستان در ایجاد و گسترش شانکر در درختان زردآلو و هلو اهمیت دارد، همچنین توانایی باکتری *P. syringae* در تشکیل هسته‌های یخ نقش مهمی در ایجاد و توسعه شانکر دارد (Klement et al. 1984). برخی معتقدند که مصرف قند توسط جمعیت در حال تکثیر این باکتری، موجب حساس شدن بافت آبکش و کامبیوم به یخزدگی و متعاقباً به باکتری *P. syringae* می‌گردد (Dowler and Weaver 1975). برخی محققین دیگر معتقدند که تشکیل هسته‌های یخ موجب افزایش دمای یخزدگی و در نتیجه افزایش حساسیت به برودت و متعاقباً، افزایش حساسیت به باکتری *P. syringae* می‌شود (Arny et al. 1976)، در حالی‌که برخی معتقدند که یخزدگی و برودت، *P. syringae* را به تولید بیشتر سم سیرینگومایسین تحریک کرده و در نتیجه نکروز تشدید می‌شود (Sinden et al.



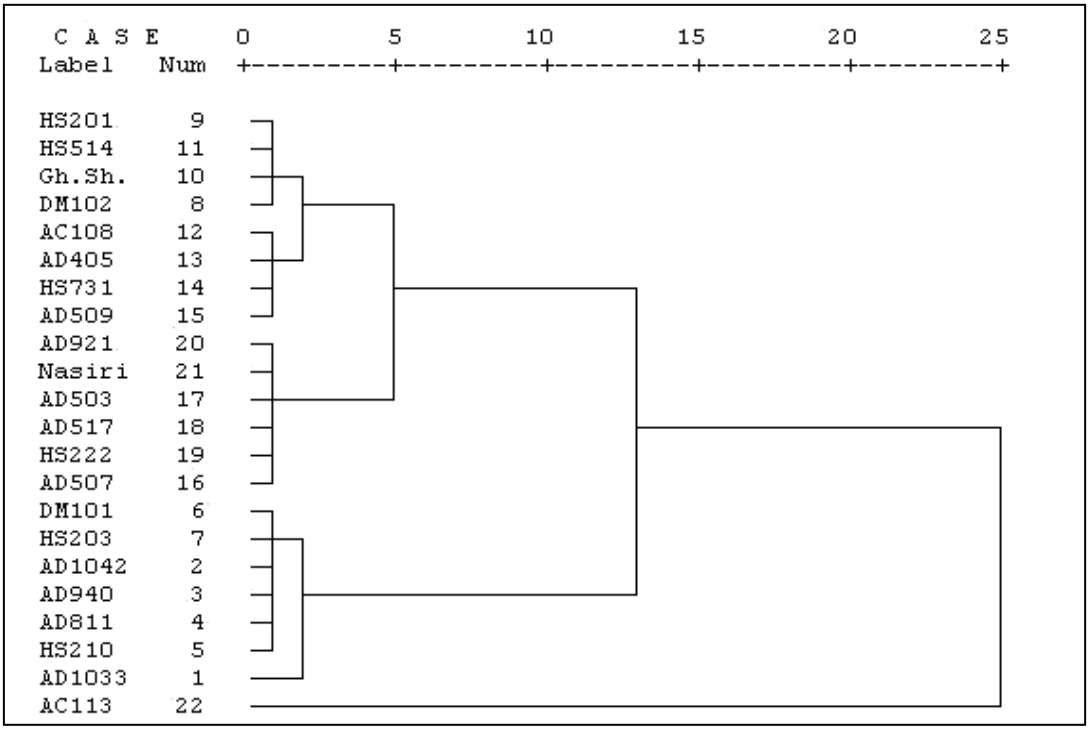
شکل ۱. مجموعه نهال‌های دورگ‌های زردآلوی بررسی شده (A)، نمونه‌هایی از شانکرهای ایجاد شده در تنه دورگ‌های زردآلو (B و C)

Figure 1. The collection of apricot hybrids studied (A), cankers formed in apricot hybrids trunks (B, C).

1971). صرف‌نظر از این‌که کدامیک از نظریه‌های فوق توضیح دقیق‌تری از چگونگی ارتباط برودت و شانکر ارائه دهند، همگی مبین اهمیت سرمادهی در توسعه شانکر هستند.

نتایج تجزیه واریانس میانگین داده‌ها نشان داد که طول شانکر در هیبریدهای مختلف تفاوت معنی داری داشت. میانگین طول شانکر یک‌ساله معادل ۱۴/۱۳ میلی‌متر و شانکر یک و نیم ساله معادل ۲۱/۷۹ میلی‌متر بود و تفاوت معنی‌داری داشتند. در انتهای دوره داده برداری، بیشترین و کم‌ترین

طول شانکر به‌ترتیب در هیبریدهای AD1033 و AC113 و معادل ۳۴/۷۶ و ۸/۳۵ میلی‌متر دیده شد و بر این اساس، هیبریدهای AD1033 و AC113 به ترتیب حساس‌ترین و مقاوم‌ترین ارزیابی شدند (جدول ۲). نتایج گروه‌بندی بر اساس آنالیز کلاستر طول شانکر، هیبریدها را در چهار گروه مقاومتی شامل یک هیبرید AC113 بسیار مقاوم (معادل ۴/۵ درصد)، شش هیبرید مقاوم (معادل ۲۷/۲۷ درصد)، هشت هیبرید نسبتامقاوم (معادل ۳۶/۳۶ درصد) و هفت هیبرید حساس (معادل ۳۱/۸۱ درصد) بودند (شکل ۲). هیبریدهای AD1033, AD1042, AD940, AD811, HS210, DM101, HS203 در گروه حساس رده‌بندی شدند.تعیین سطح مقاومت رقمها و ژرم‌پلاسم زردآلو بر مبنای اندازه‌گیری طول شانکر در برخی دیگر از پژوهشهای داخلی و بین‌المللی نیز آمده و غربالگری‌های وسیعی روی آلودگی‌های طبیعی باغی یا با آلوده‌سازی مصنوعی در شرایط باغی (مشابه پژوهش حاضر) انجام شده که مبین اهمیت شناسایی مقاومت به شانکر در برنامه‌های اصلاحی در درختان میوه هسته‌دار است (Prunier et al. 1997, Balan et al. 2006, Topp et al. 1989, Singh and Wani 2005, Agrawala and Sharma 1970, Keshavarzi and Bouzari 2014, Jafarpour 1993). ترکیبهای پلی‌فنلی چوب در مقاومت به بیماری نقش دارند (Santi et al. 2004).



شکل ۲. گروه‌بندی هیبریدهای زردآلو بر اساس میانگین طول شانکر

Figure 2. Classification of apricot hybrids based on mean canker length.

جدول ۲. میانگین طول شانکر، قطر تنه و نسبت طول شانکر/قطر تنه در هیبریدهای زردآلو*.

Table 2. Mean canker length, trunk diameter at inoculation site and canker length/trunk diameter in apricot hybrids*.

Hybrid	Length of 1 year-old canker (mm)	Length of 1.5 years-old canker (mm)	Trunk diameter 1 year post-inoculation (mm)	Canker length/trunk diameter
AD1033	20.00 a	34.76 a	17.09 a	1.34 a-d
AD1042	19.29 ab	29.35 ab	14.54 ab	1.31 a-e
AD940	19.14 ab	28.94 ab	12.11 bc	1.79 a
AD811	18.75 abc	28.35 ab	11.64 b-d	1.62 a-c
HS210	17.78 a-c	27.67 a-c	16.28 a	1.08 ed
DM101	17.80 a-d	26.7 a-d	9.97 b-f	1.75 ab
HS203	17.75 a-e	26.61 a-d	11.71 b-d	1.31 a-e
DM102	15.00 a-e	24.12 a-e	10.52 bcde	1.44 a-d
HS201	14.86 a-e	22.13 a-f	14.90 ab	0.99 de
Gh.Sh.	14.80 a-e	22.2 b-f	11.72 b-d	1.25 b-e
HS514	13.77 b-e	22.15 b-e	10.86 b-e	1.31 a-e
AC108	13.44 b-e	20.18 c-f	9.91 b-f	1.36 a-d
AD405	13.36 b-e	19.86 c-f	11.18 b	1.10 c-e
HS731	13.00 c-f	19.5 c-f	9.29 d-f	1.29 a-e
AD509	11.57 d-g	19.13 c-f	11.97 b-d	0.99 de
AD507	12.25 e-g	16.35 d-f	9.38 c-f	1.22 b-e
AD503	10.67 e-g	15.5 d-f	10.59 b-e	0.94 de
AD517	10.00 e-g	15.45 d-f	10.08 b-e	0.97 de
HS222	10.00 e-g	15e f	8.87 ef	1.73 c-e
AD921	9.63 e-g	14.45 ef	9.19 d-f	1.07 ed
Nasiri	8.23 fg	13.87 ef	11.45 b-e	0.78 e
AC113	6.43 g	8.05 f	7.38 f	0.96 de

* اعداد در هر ستون که با حروف متفاوت دنبال شده‌اند اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال کمتر از ۱ ٪ دارند.

*In each column, values followed with different letters are significantly different at ≤1% probability level

قطر تنه در محل مایه‌زنی و نسبت طول شانکر به قطر تنه در هیبریدها متفاوت بود. بیشترین قطر تنه در هیبریدهای HS210 و AD1033 و کم‌ترین آن در AC113 و بیشترین نسبت طول شانکر/قطر تنه در AD940 و کم‌ترین آن در Nasiri دیده شد (جدول ۲). بررسی همبستگی صفات ذکر شده نشان داد که طول شانکر با قطر تنه ارتباط مستقیم داشت (R^2=0.691, P<0.0001) بدین معنی که شانکرهای بزرگ‌تر در تنه‌های قطورتر ایجاد شده بود. چنین ارتباطی در نهال‌های گیلاس، بادام و هلو نیز گزارش شده است (Farhadfar et al. 2016, Cao et al. 1999). بنابراین قطر اندام نیز به‌عنوان شاخصی در گروه‌بندی واکنش رقمها می‌تواند در نظر گرفته شود. این نتیجه‌گیری در آزمایش حاضر منظور و نسبت طول شانکر/قطر تنه به‌عنوان شاخص جدیدی به‌کار برده شد. بررسی همبستگی نشان داد که طول شانکر/قطر تنه با طول شانکر ارتباط مستقیم (R^2=0.618, P<0.0001) و با قطر تنه

ارتباطی نداشت (R^2=-0.098, P=0.57). بر این اساس به نظر می‌رسد که شاخص طول شانکر/قطر تنه قادر به ارائه اطلاعات جدیدی در ارتباط با رده بندی مقاومتی رقمها نبوده و محاسبه آن در مرحله نونهالی ضرورت ندارد. همبستگی مستقیم طول شانکر با قطر تنه می‌تواند ناشی از سرعت رشد رویشی رقم باشد بدین معنی که رقمها پر رشدتر، حداقل در مرحله نونهالی، حساسیت بالاتری به شانکر دارند. در این صورت، می‌توان تصور کرد که تغذیه بیش از حد نهال‌ها در نهالستان می‌تواند آن‌ها را برای ابتلا به شانکر حساس کند یا شانکرهای موجود را تشدید کند. این مفهوم در حد نظریه بوده و نیازمند بررسی بیشتر است.

از بین دورگ‌های منتخب مورد بررسی در این پژوهش، هیبریدهای AD507، AD405، HS731 در سال ۱۳۹۷ به ترتیب تحت نام‌های جلیل، پارسی و شانلی معرفی شدند. رقم پارسی دارای میوه بزرگ تخم‌مرغی شکل، خوش رنگ، خوش طعم، هسته جدا با مغز شیرین، سفتی بافت متوسط، بازارپسند و مناسب برای تازه‌خوری و خشکباری می‌باشد. این رقم میان‌رس و خود ناسازگار بوده و رقمها گرده دهنده مناسب آن اردباد ۹۰، هفت برادران و جلیل هستند. رقم جلیل دارای میوه بزرگ تخم‌مرغی شکل، شیرین (۲۲ درصد قند)، خوش طعم، سفتی بافت متوسط، رنگ گوشت نارنجی روشن و رنگ رو قرمز، هسته جدا با مغز شیرین، بازارپسند و برای تازه‌خوری و خشکباری مناسب است. جلیل رقمی میان رس و خودناسازگار بوده و رقمها گرده دهنده مناسب آن آیباتان، کانینو و AC113 هستند. رقم شانلی دارای میوه بزرگ تخم مرغی شکل، شیرین (۱۹ درصد قند)، خوش رنگ، خوش طعم، سفتی بافت متوسط، هسته جدا با مغز شیرین، بازارپسند و مناسب برای تازه‌خوری می‌باشد. این رقم میان‌رس و خودناسازگار بوده و رقمها گرده دهنده مناسب آن مراغه‌ای، کانینو و پارسی هستند. در این پژوهش، سطوح نسبی مقاومت به شانکر باکتریایی در رقمها جدید جلیل، پارسی و شانلی به ترتیب مقاوم، حد وسط و حد وسط تعیین شد.

نتیجه‌گیری Conclusion

یافته‌های این پژوهش، نشان دادند روش شاخه بریده روش مناسبی برای ارزیابی واکنش به شانکر باکتریایی در زردآلو نمی‌باشد. برخی هیبریدها و به خصوص AD1033, AD1042 به شانکر باکتریایی حساس هستند و توصیه می‌شود به عنوان پایه یا رقم در برنامه‌های اصلاحی یا توسعه‌ای به کار برده نشوند. واکنش رقم‌های جدید جلیل، پارسی و شانلی به شانکر باکتریایی به ترتیب مقاوم، نسبتامقاوم و نسبتامقاوم برای نخستین بار گزارش می‌شود.

References منابع

Agrawala RK, Sharma VC (1970) Natural varietal infectibility of stone fruits with bacterial canker. Indian Journal of Agricultural Sciences 40:559-561.

Agricultural Data (2002) Crop Products in Year 2000-2001. Ministry Jihad-e-Keshavarzi, Tehran, Iran. (In Persian with English abstract). 50P.

Arny DC, Lindow SE, Upper CD (1976) Frost sensitivity of *Zea mays* increased by application of *Pseudomonas syringae*. Nature 262:282-284.

Baba-Ali A, Keshavarzi M, Bouzari N, Shakib AM, Hoseinova S (2013) Relative resistance of some local and commercial cherry genotypes to *Pseudomonas syringae*. Seed and Plant Journal 29:295-310. (In Persian with English Abstract). 2:295-310.

Bahar M, Mogahedi H, Akhyanii A (1981). Apricot bacterial canker in Isfahan. Iranian Journal of Plant Pathology 18:58-68. (In Persian with English Abstract).

Balan V, Oprea M, Drosu S, Chireceanu C, Tudor V, Petrisor C (2006) Maintenance of biodiversity of apricot tree phenotypes in Romania. Acta Horticulturae 701: 199-206

Banapur A, Zakeri Z, Amani G (1990). Cherry bacterial canker in Tehran. Proceedings of the 9th Plant Protection Congress of Iran, Mashhad, Iran, p.94. (In Persian).

Bassi D (1999) Apricot culture: present and future. Acta Horticulturae 488: 35-40.

Burke MJ, Gusta LV, Quamme HA, Weiser CJ, Li PH (1976) Freezing and injury in plants. Annual Review of Plant Physiology 27:507-528.

Cao T, Sayler R J, DeJong TM, Kirkpatrick BC, Bostock RM, Shackel KA (1999) Influence of stem diameter, water content, and freezing-thawing on bacterial canker development in excised stems of dormant stone fruit. Phytopathology 89:962-966

Dejampour J (2016) Evaluation of apricot hybrids to obtain new cultivars. Final Report 39267, Agricultural Research, Education and Extension Organisation of Iran. 46P. (In Persian).

Donmez M, Karlidag H, Esitken A (2009). Identification of resistance to bacterial canker (*Pseudomonas syringae* pv. *syringae*) disease on apricot genotypes grown in Turkey. European Journal of Plant Pathology 126:241-247.

Dowler WM, Weaver DJ (1975) Isolation and characterization of fluorescnt pseudomonads from apparently healthy peach trees. Phytopathology 65:233-236.

Endert E, Ritchie DF (1984) Detection of pathogenicity, measurement of virulence and determination of strain variation in *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*. Plant Disease 68:677-680

English H, Davis JR, DeVay JE, Lownsbery BF (1980) Bacterial canker, an important decline disease of apricots and other stone fruits in California. Acta Horticulturae 85:235-242.

Erfaninik M, Rezae, R, Charehgani H (2018) Identification of the causal agent of bacterial canker of stone fruit trees *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* in Kohgiluyeh and Boyer-Ahmad province and comparison of some cherry cultivars resistance to it. Applied Research in Plant Protection 7:31-44. (In Persian with English Abstract).

FAO (2017) FAOSTAT database results. http:/faostat.fao.org/faostat/servlet.

Farhadfar S, Keshavarzi M, Bouzari N, Ladan Moghadam A, Soleimani A (2016) Susceptibility of cherries to bacterial canker in field and laboratory. International Journal of Agriculture and Forestry 6:20-27

Gilbert V, Planchon V, Legras F, Maraite H, Bultreys A (2010) Patogenicity and aggressiveness in populations of *P. syringae* from Belgian fruit orchards. European Journal of Plant Pathology 126:263-277.

Hattingh M J, Roos IMM (1995) Bacterial Canker. Pp. 48-50. In: JM Ogawa and EI Zehr (ed.), Compendum of Stone Fruit Diseases, APS Press.

Hormaza JI (2002) Molecular characterization and similarity relationships among apricot (*Prunus armeniaca* L.) genotypes using simple sequence repeats. Theoretical and Applied Genetics 104:321-328.

Jafarpour B (1993). Resistant cultivars of apricot to bacterial canker (*Pseudomonas syringae* pv. *syringae*) in Mashhad. Currents in Plant Science, Biotechnology and Agriculture 18:327-332.

Kałuzna M, Puławska J, Sobiczewski P (2010) The use of PCR melting profile for typing of *Pseudomonas syringae* isolates from stone fruit trees. European Journal of Plant Pathology 126:437-443.

Karimi-kurdistani G, Harighi B (2008) Phenotypic and molecular properties of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* the causal agent of bacterial canker of stone fruit trees in Kurdistan province. Journal of Plant Pathology 90:81-86. (In Persian with English Abstract).

Kennelly MM, Cazorla FM, de Vincente A, Ramos C, Sundin GW (2007) *Pseudomonas syringae* diseases of fruit trees, progress toward understanding and control. Plant Disease 91:4-17.

Keshavarzi M, Bouzari N (2014) Bacterial canker resistance in a number of selected apricot genotypes. Final Report 46359, Agricultural Research, Education and Extension Organization of Iran. 35P. (In Persian with English Abstract).

Klement Z, Rozsnyay DS, Balo E, Prileszky M (1984) The effect of cold on development of bacterial canker in apricot trees infected with *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*. Physiological Plant Pathology 24:237-246

Lelliott RA, Stead DE (1987) Method for the Diagnosis of Bacterial Disease of Plants. Blackwell Scientific Publications, 216p.

Prunier J-P, Psallidas P, Scortichini M, Simeone AM, Martins JMS, Lopez MM (1997) European co-operative research on apricot bacterial diseases. In XI International Symposium on Apricot Culture. 488:699-704

Santi F, Russell K, Menard M, Dufour J (2004) Screening wild cherry for resistance to bacterial canker by laboratory and field tests. Forest Pathology 34:349-362.

Schaad NW, Jones JB, Chun W (2001) Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria. 3rd ed., APS Press. 373P.

Shams Bakhsh M, Rahimian H (1989) Characterization of stone fruits bacterial canker in Mazandaran. Proceedings of the 9th Plant Protection Congress of Iran, Mashhad, p.134. (In Persian with English abstract).

Sinden SI, De Vay JE, Backman PA (1971) Properties of syringomycin, a wide spectrum antibiotic and phytotoxin produced by *Pseudomonas syringae,* and its role in bacterial canker disease of peach trees. Physiological Plant Pathology 1:199-213.

Singh HV, Mir MS, Wani MA (2005) Effect of host genotype and age of plant on resistance to gummosis disease in apricot of Kargil. Annals of Plant Protection Sciences 13:152-155:

Sobiczewski P, Jones AL (1992) Effect of exposure to freezing temperatures on necrosis in sweet cherry shoots inoculated with *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* or *P. s.* pv. *morsprunorum.* Plant Disease 76:447-451.

Topp BL, Heaton JB, Russell DM (1989) Introduction and evaluation of stone fruit varieties for the Granit belt of Queensland. In Australian Temperate Fruits Review Conference 240:39-42.

Weaver DJ (1978) Interaction of *Pseudomonas syringae* and freezing in bacterial canker on excised peach twigs. Phytopathology 68:1460-1463.

Zamze S (1983) The structure of lipopolysaccharide from *Pseudomonas syringae* pv. *morsporonorum* and its role in canker decay. PhD Thesis, National Academic Awards. Thames Polytechnic.