

ارزیابی مقاومت به بیماری آتشک و نشانگرهای وابسته به آن در برخی ارقام گلابی اروپایی و آسیایی

Evaluation of Fire Blight Resistance and the Related Markers in some European and Asian Pear Cultivars

جواد عرفانی^۱، حمید عبداللهی^۲، علی عبادی^۳، محمدرضا فتاحی^۴
و کاظم ارزانی^۵

۱، ۳ و ۴- به ترتیب دانشجوی سابق دکتری علوم باغبانی، استاد و دانشیار، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج
۲- دانشیار، مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج
۵- استاد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۷/۲۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۱۲/۱۰

چکیده

عرفانی، ج.، عبداللهی، ح.، عبادی، ع.، فتاحی مقدم، م. ر. و ارزانی، ک. ۱۳۹۲. ارزیابی مقاومت به بیماری آتشک و نشانگرهای وابسته به آن در برخی ارقام گلابی اروپایی و آسیایی. *مجله به‌نژادی نهال و بذر* ۱-۲۹: ۶۷۲-۶۵۹.

بیماری آتشک یکی از بیماری‌های مخرب درختان میوه دانه‌دار است که توسط باکتری *Erwinia amylovora* ایجاد می‌شود. هدف از این تحقیق، تعیین سطح مقاومت و مقایسه آن در سی رقم گلابی اروپایی و آسیایی با مایه‌زنی ترکیبی از چهار سویه باکتری *E. amylovora* بود. بررسی آلودگی سرشاخه‌ها ۳، ۶، ۹، ۱۲ و ۱۸ روز بعد از مایه‌زنی با باکتری انجام و ارزیابی مقاومت بر اساس صفت سرعت پیشرفت نکروز و شاخص حساسیت وارپته‌ای (I.V.S.) که به صورت نسبت طول منطقه نکروزه شده به طول کل شاخه بود محاسبه شد. نتایج بررسی مقاومت به بیماری آتشک، تفاوت معنی‌داری را در بین ارقام گلابی نشان داد. ارقام مختلف گلابی سطوح مختلفی از مقاومت را در برابر این بیماری از ۰/۴٪ تا ۱۰۰٪ از خود نشان دادند. در این مطالعه ارقام به چهار گروه از خیلی حساس تا مقاوم دسته‌بندی شدند. پیشرفت بیماری در ارقام خیلی حساس ۸۱ تا ۱۰۰٪، در ارقام حساس ۵۱ تا ۸۰٪، ارقام نیمه مقاوم ۱۱ تا ۵۰٪ و ارقام مقاوم صفر تا ۱۰٪ بود. سه رقم درگزی، هراسوییت و نطنزی به عنوان ارقام مقاوم، چهارده رقم نیمه مقاوم، ده رقم حساس و سه رقم محمد علی، دوشس و KS6 به عنوان ارقام خیلی حساس شناسایی شدند. نتایج به دست آمده از آغازگرهای تخصصی وابسته به بیماری آتشک با آغازگر RLG1 و CH02c02b آلل مقاومت به بیماری آتشک را در رقم درگزی و برخی دیگر از ارقام مورد مطالعه شناسایی کرد.

واژه‌های کلیدی: گلابی، بیماری آتشک، ارقام مقاوم، نشانگرهای مولکولی، شاخص حساسیت.

مقدمه

معتدله از یک سو و کارآئی موثر استفاده از ارقام متحمل و مقاوم به بیماری آتشک در این درخت از سوی دیگر سبب شده تا تلاش‌های زیادی برای شناسایی ارقام مقاوم به بیماری آغاز شود. واندر زوئت و کیل (van der Zwet and Keil, 1979) حساسیت نسبی پنج گونه مهم گلابی را به بیماری آتشک مشخص و بیش از ۴۰۰ رقم گلابی را از نظر مقاومت به بیماری آتشک دسته‌بندی کردند. اولین برنامه گزینش ارقام متحمل به آتشک سیب و گلابی در کشور توسط معروفی و مصطفوی (Maroofi and Mostafavi, 1996) انجام و شماری از ارقام متحمل به طور مقدماتی معرفی شدند. متعاقب آن طی دو برنامه مستقل ارزیابی مقاومت ارقام سیب و گلابی کشور به بیماری در شرایط گلخانه‌ای توسط داوودی (Davoudi, 1998) و در شرایط باغی توسط عبداللهی و مجیدی‌هروان (Abdollahi and Majidi Heravan, 2005) بررسی شد و ارقام متحمل این دو محصول با خصوصیات کیفی برتر میوه مورد معرفی و به منظور احداث باغ‌های جدید خصوصاً در درخت گلابی مورد استفاده قرار گرفت (Abdollahi, 2011). پس از آن ملکی بالاجو و همکاران (Maleki Balajoo et al., 2011) به ارزیابی مقاومت تعدادی از ارقام و ژنوتیپ‌های سیب کلکسیون جدید ژرم‌پلاسم سیب بومی کشور پرداختند. ارقام گلابی مورد ارزیابی در تحقیقات اولیه مشتمل بر ارقامی بود که تا سال

بیماری آتشک (Fire blight) یکی از بیماری‌های مخرب در خانواده گلسرخیان (Rosaceae) و به خصوص در زیر خانواده دانه‌دارها (Pomoideae) شامل سیب و گلابی است. اولین گزارش از بیماری آتشک، در سال ۱۷۹۴ بر اساس مشاهداتی که در اوایل سال ۱۷۸۰ در آمریکا انجام شده بود منتشر شد (van der Zwet and Keil, 1979). این گزارش نشان داد اختلالاتی در باغ‌های سیب و گلابی در نواحی دره هادسون نیویورک به وجود آمد و یکصد سال بعد از آن عامل بیماری آتشک به طور کامل شناسایی شد. بیماری آتشک در ایران برای اولین بار در سال ۱۳۶۸ در درختان گلابی منطقه برغان کرج مشاهده شد (Zakeri and Sharifnabi, 1991). در اثر گسترش این بیماری خسارات سنگینی به باغ‌های مناطق مختلف کشور مانند آذربایجان شرقی، قزوین، زنجان، خراسان، گیلان، فارس و تهران وارد شده است (Sahandpour and Ghasemi, 2004؛ Zohour and Rahmani Moghadam, 2004؛ Zakeri and Sharifnabi, 1991). عامل بیماری آتشک، باکتری *Erwinia amylovora* متعلق به خانواده انتروباکتریاسه (Enterobacteriaceae) و از نوع گرم منفی است (Vanneste, 2000) و هر ساله به باغ‌های سیب و گلابی خسارات زیادی وارد می‌کند. اهمیت اقتصادی گلابی در بین درختان میوه

۱۳۷۵ در کلکسیون مرکزی گلابی موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر موجود بود. طی دو دهه اخیر تعداد قابل توجهی از ارقام جدید و تجارتي گلابی متعلق به دو گونه اروپائی (*Pyrus communis* L.) و گلابی آسیائی (*Pyrus serotina* Rehd.) به کشور وارد و در کنار ارقام بومی کلکسیون‌های استانی موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کشت و سازگاری و خصوصیات مورفولوژیک آنها مورد بررسی قرار گرفته است (Arzani, 2005؛ Abdollahi, 2011)، لیکن مقاومت آنها نسبت به بیماری آتشک به طور دقیق مورد بررسی قرار نگرفته است.

این تحقیق با هدف غربال شماری از ارقام جدید گلابی برای مقاومت به بیماری آتشک انجام شد. همچنین شماری از ارقام گلابی که در بررسی‌های قبلی مد نظر قرار نگرفته بودند، در این تحقیق مورد ارزیابی مقاومت، صفات وابسته به مقاومت و بررسی نشانگرهای مولکولی وابسته با آن قرار گرفتند.

مواد و روش‌ها

ارزیابی مقاومت سی رقم گلابی اروپایی و آسیایی در شرایط گلخانه با ترکیبی از چهار سویه *E. amylovora* شامل سویه‌های Z1، Z2، K1 (Abdollahi and Akbari Mehr, 2008) و E273 (ATCC 49946) (Sebahia et al., 2010) مولد عامل بیماری آتشک مورد ارزیابی قرار گرفت. این سویه‌ها قبلاً در آزمایش‌های مختلف

مورد بررسی قرار گرفته و بیماری‌زایی آنها به اثبات رسیده بود. ارقام گلابی اروپایی و سویه‌های باکتری از موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج و ارقام گلابی آسیایی از دانشگاه تربیت مدرس تهیه شد. در شهریور سال ۱۳۸۸ این ارقام روی پایه گلابی رقم درگزی در نهالستان موسسه پیوند و گیاهان در شرایط مزرعه در فصل بهار و تابستان ۱۳۸۹ رشد کردند. در اواخر اسفند ۱۳۸۹ نهال‌های پیوندی به گلدان‌های ۲۰ کیلویی منتقل و به گلخانه موسسه با فتوپریود معمولی، دمای 26 ± 5 درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۸۵-۷۰٪ دارای سیستم خنک کننده و رطوبت ساز انتقال داده شدند. برای تحریک رشد فرعی جوانه‌ها، سرشاخه‌ها در ارتفاع ۵۰ سانتی‌متری گیاه قطع و نهال‌ها تقریباً به مدت ۶۵ روز در این شرایط نگهداری شدند تا شاخه‌های جدید به اندازه ۲۵ الی ۳۵ سانتی‌متر رشد کردند. نهال‌ها در اواخر اردیبهشت سال ۱۳۹۰ برای مایه‌زنی با باکتری آماده شدند. در این تحقیق از طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار و ۹ نهال برای هر رقم استفاده شد. در هر گلدان سه نهال و از هر نهال سه شاخه انتخاب شدند. در هر گلدان، دو نهال با باکتری آلوده و یک نهال به عنوان شاهد در نظر گرفته شد که با آب مقطر تیمار شد.

سویه‌های باکتری *E. amylovora* به طور جداگانه در حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر به مدت یک شب در محیط کشت مایع LB کشت و بعد از سانتریفیوژ با یک دیگر مخلوط شدند

(Yamamoto *et al.*, 2000). برای یکسان سازی غلظت DNA استخراج شده به منظور انجام واکنش PCR، همه نمونه‌ها در حجم ۲۰۰ میکرولیتر با غلظت ۱۰ نانوگرم DNA در ماکرولیتر آماده شدند. سایر اجزاء واکنش PCR و همچنین پروفیل دمائی مورد استفاده برای تکثیر قطعات DNA بر اساس گزارش خان و همکاران (۲۰۰۷) مورد استفاده قرار گرفت. دمای اتصال آغازگرها ۵۵ درجه سانتی‌گراد برای آغازگر SSR و ۵۹ درجه سانتی‌گراد برای آغازگر SCAR به مدت یک دقیقه در نظر گرفته شد. قبل از بارگذاری محصول PCR به دست آمده از دو آغازگر SSR، پنج ماکرولیتر بافر فرم آمید به هر نمونه اضافه و بعد از آن در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه واسرشت و بلافاصله به روی یخ منتقل شدند. در نهایت ۲-۳ ماکرولیتر از مخلوط حاصل به علاوه دو سایز مارکر (۵۰ و ۱۰۰ جفت باز) در ژل اکریل آمید ۶٪ (ضخامت ۰/۴ میلی‌متر) بارگذاری و با ولتاژ ۶۵ وات و دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱-۲ ساعت بستگی به اندازه آلل الکتروفورز شد.

برای الکتروفورز محصول PCR به دست آمده از آغازگر SCAR، ۵ میکرولیتر بافر بارگذاری به هر نمونه اضافه شد. در نهایت ۷-۸ میکرولیتر از مخلوط حاصل به علاوه سایز مارکر ۱۰۰ جفت باز در ژل آگاروز ۲٪ با ولتاژ ۷۵ ولت الکتروفورز شد. پس از این مرحله ژل به مدت ۱۵ دقیقه در محلول اتیدیوم بروماید

(Davoudi, 1998). سایر اجزاء مایه‌زنی سرشاخه‌ها مشتمل بر غلظت باکتری، تامین رطوبت محیط مطابق با روش فوق انجام شد. ارزیابی مقاومت ارقام بر اساس سرعت پیشرفت نکروز و شاخص حساسیت وارته‌ای (I.V.S.) که به صورت نسبت طول منطقه نکروزه شده به طول کل شاخه بود محاسبه شد. ارزیابی آلودگی در روزهای ۳، ۶، ۹، ۱۲ و ۱۸ روز بعد از مایه‌زنی باکتری انجام شد. به منظور تعیین ارتباط صفات رویشی با مقاومت به بیماری آتشک، برخی از صفات مثل طول میان‌گره در کل شاخه، درصد ماده خشک ۱۰ سانتی‌متر از انتهای شاخه و طول شاخه هم اندازه‌گیری شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار Excel، SPSS و SAS انجام شد. برای مقایسه بین ارقام از تجزیه واریانس و آزمون دانکن استفاده شد.

ارزیابی ارتباط بین مقاومت به بیماری و مکان‌های ژنی وابسته برای همه ارقام به علاوه ۱۷ نمونه دیگر با چهار آغازگر اختصاصی مقاومت به بیماری آتشک مورد بررسی قرار گرفت. در این آزمایش از دو آغازگر SCAR (AE10-375 و GE-8019) که در سیب و دو آغازگر SSR (RLG1 و CH02c02b) که در گلابی شناسایی شده بودند، استفاده شد (Bokszczanin *et al.*, 2009). DNA ژنومی از بافت برگ‌های جوان استخراج شد

نشانه‌ای از آلودگی در ارقام مقاوم قابل مشاهده نبود. اولین علائم آلودگی در روز سوم در ارقام بسیار حساس مانند محمد علی، KS6 و دوشس شناسایی شد، اما در بیشتر ارقام به غیر از درگزی، هاروسوئیت و نظنزی علائم اولیه آلودگی در روز ششم مشاهده و ثبت شد. در ارقام هاروسوئیت و نظنزی علائم بسیار کمی از بیماری در روز ۱۲ ظاهر شد اما هیچ پیشرفتی از بیماری در رقم درگزی حتی در روز ۱۸ دیده نشد. در این مطالعه این رقم به عنوان یکی از بهترین ارقام برای مقاومت به بیماری آتشک بود.

۰/۵ میکروگرم در لیتر رنگ آمیزی و عکس برداری شد.

نتایج و بحث

ارقام گلابی مورد ارزیابی در جدول ۱ و توالی آغازگرهای اختصاصی مقاومت به آتشک در جدول ۲ نشان داده شده‌اند. بعد از مایه‌زنی باکتری، بروز علائم آلودگی در سرشاخه‌ها نشان دهنده موفقیت آمیز بودن آلوده‌سازی سرشاخه‌ها بود. علائم بیماری مانند بافت پژمرده و نکروز در برگ‌ها و نوک ساقه ارقام حساس مشاهده شد در حالی که هیچ

جدول ۱- ارقام گلابی مورد استفاده در ارزیابی مقاومت به بیماری آتشک
Table 1. Pear cultivars used for evaluation of fire blight resistance

کد رقم	نام رقم	گونه	کد رقم	نام رقم	گونه
Cultivar code	Cultivar name	Species	Cultivar code	Cultivar name	Species
1	Beurre Diel	<i>P. communis</i>	16	Beurre Hardy	<i>P. communis</i>
2	Spadona	<i>P. communis</i>	17	KS6*	<i>P. serotina</i>
3	Felestini	<i>P. communis</i>	18	KS9*	<i>P. serotina</i>
4	Bartlett	<i>P. communis</i>	19	KS7*	<i>P. serotina</i>
5	Seif Tabriz	<i>P. communis</i>	20	Mohamad Ali	<i>P. communis</i>
6	Harrow Sweet	<i>P. communis</i>	21	Bulghar No. II	<i>P. serotina</i>
7	Passe Crassane	<i>P. communis</i>	22	Beiroti	<i>P. communis</i>
8	Packhams Triumph	<i>P. communis</i>	23	Natanzi	<i>P. communis</i>
9	Dargazi	<i>P. communis</i>	24	Domkaj Sabz	<i>P. communis</i>
10	Alvert	<i>P. communis</i>	25	Louise Bonne	<i>P. communis</i>
11	Beurre d' Amanlis	<i>P. communis</i>	26	KS8*	<i>P. serotina</i>
12	Unknown 3	<i>P. communis</i>	27	Doyenne du Comice	<i>P. communis</i>
13	Unknown 1	<i>P. communis</i>	28	Unknown 2	<i>P. communis</i>
14	Shahak	<i>P. communis</i>	29	Shahmive	<i>P. communis</i>
15	Duchesse	<i>P. communis</i>	30	Coscia	<i>P. communis</i>

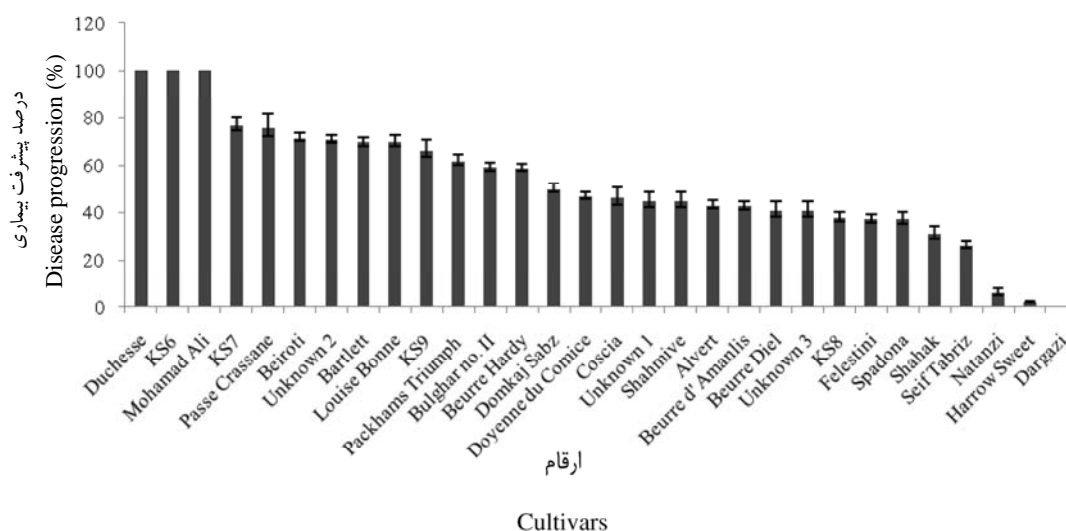
ارقام مختلف گلابی سطوح مختلفی از مقاومت را در برابر این بیماری از ۰/۴٪ تا ۱۰۰٪ از خود نشان دادند. در این مطالعه ارقام به چهار گروه از

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های ارزیابی مقاومت به بیماری آتشک، تفاوت معنی‌داری را در بین ارقام نشان داد (شکل ۱).

جدول ۲- آغازگرهای مورد استفاده برای ارزیابی مارکرهای گزارش شده برای مقاومت ارقام گلابی به بیماری آتشک

Table 2. Primers used for evaluation of SSR markers related to the fire blight resistance in pear cultivars

آغازگر Primer	توالی Sequence	گیاه Plant	رفرنس Reference
RLG1	F AAGTCTGGGAGGATTCAAGT R CATCCACAAAGTCCCTATCA	Pear گلابی	Bokszczanin <i>et al.</i> (2009)
CH02c02b	F TGCATGCATGGAAACGAC R TGGAAAAAGTCACACTGCTCC	Pear گلابی	Bokszczanin <i>et al.</i> (2009)
AE10-375	F CTGAAGCGCACGTTCTCC R CTGAAGCGCATCATTTCTGATAG	Apple سیب	Khan <i>et al.</i> (2007)
GE-8019	F TTGAGACCGATTTTCGTGTG R TCTCTCCCAGAGCTTCATTGT	Apple سیب	Khan <i>et al.</i> (2007)



شکل ۱- مقایسه میانگین پیشرفت بیماری در سی رقم گلابی (هجده روز بعد از آلودگی)
Fig. 1. Comparison of means of disease progression in thirty pear cultivars (eighteen day after inoculation)

دوین دو کومیس، کوشیا، نامشخص ۱، شاه میوه، آلورت، بیوره آمانلیس، بیوره دیل ، نامشخص ۳، KS8، فلسطینی، اسپادونا، شاهک و سیف تبریز)، ۱۰ رقم به عنوان حساس (KS7، پاس کراسان، بیروتی، نامشخص ۲، بارلت، لوئیس بون، KS9، پکهامز تریموف ، بلغار شماره ۲ و بیوره هاردی) و سه رقم محمد علی، دوشس و رقم ژاپنی KS6 به عنوان ارقام خیلی

خیلی حساس تا مقاوم دسته‌بندی شدند. پیشرفت بیماری در ارقام خیلی حساس ۸۱ تا ۱۰۰٪، در ارقام حساس ۵۱ تا ۸۰٪، ارقام نیمه مقاوم ۱۱ تا ۵۰٪ و ارقام مقاوم صفر تا ۱۰٪ بود که این تقسیم‌بندی بر اساس درصد پیشرفت نکرورز در کل شاخه انجام شد. سه رقم درگزی، هاروسوئیت و نطنزی به عنوان ارقام خیلی مقاوم، ۱۴ رقم به عنوان نیمه مقاوم (دم کج سبز،

در گروه نیمه مقاوم، تفاوت معنی داری از پیشرفت بیماری در روزهای سوم، ششم و نهم، بعد از آلودگی دیده شد ولی بعد از روز نهم سرعت پیشرفت بیماری کم شد و تا روز ۱۸ گسترش بیماری تفاوت معنی داری با روز نهم نداشت. نتایج مربوط به تجزیه واریانس شاخص حساسیت و برخی صفات رویشی مربوط به ارقام گلابی در جدول ۳ درج شده است.

نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس برای صفات خصوصیت سرعت رشد و طول میانگره نشان داد که تفاوت معنی داری بین ارقام برای این صفت در رابطه با تحمل به بیماری آتشک وجود دارد. نتایج مقایسه میانگین برای صفت طول میانگره در شکل ۳ نشان داده شده است. ارقامی که دارای سرعت رشد بالا با فواصل میانگره بیش تر بودند حساسیت بیش تری در برابر بیماری آتشک داشتند در حالی که ارقامی مانند در گزی، سیف تبریز، نطنزی، شاهک، KS8 و هاروسوئیت در مقایسه با سایر ارقام دارای سرعت رشد کم تری بوده و مقاومت بیشتری در برابر بیماری آتشک داشتند. نتایج برخی از تحقیقات نشان داده که ترکیب پروهگزادین - کلسیم یک تنظیم کننده رشد گیاهی است که رشد شاخه و گسترش بیماری آتشک را در سیب متوقف می کند. این ترکیب رشد طولی ساقه را به واسطه کنترل هورمون جیبرلین کاهش می دهد (Rademacher, 2000). این ترکیب هیچ گونه اثری روی باکتری *E. amylovora* ندارد اما به

حساس شناسایی شدند (شکل ۱). تمامی طول شاخه در ارقام خیلی حساس در روز ۱۸ در اثر پیشرفت باکتری آلوده و از بین رفت. گزارش های متعددی در مورد حساسیت و یا مقاومت نسبت به باکتری *E. amylovora* در بسیاری از گیاهان میزبان این باکتری به عنوان مثال در سیب (Gardner *et al.*, 1980)؛ (Korba *et al.*, 2008)، گلابی (Korba and Kudela, 2004)؛ (Oitto *et al.*, 1970)، گلابی و به (Bell *et al.*, 2004)، تمشک سیاه (Stewart *et al.*, 2003) و تمشک قرمز (Ries and Otterbacher, 1977) منتشر شده است. در این گزارش ها وجود سطوح مختلفی از مقاومت در بین گیاهان میزبان نشان داده شده است.

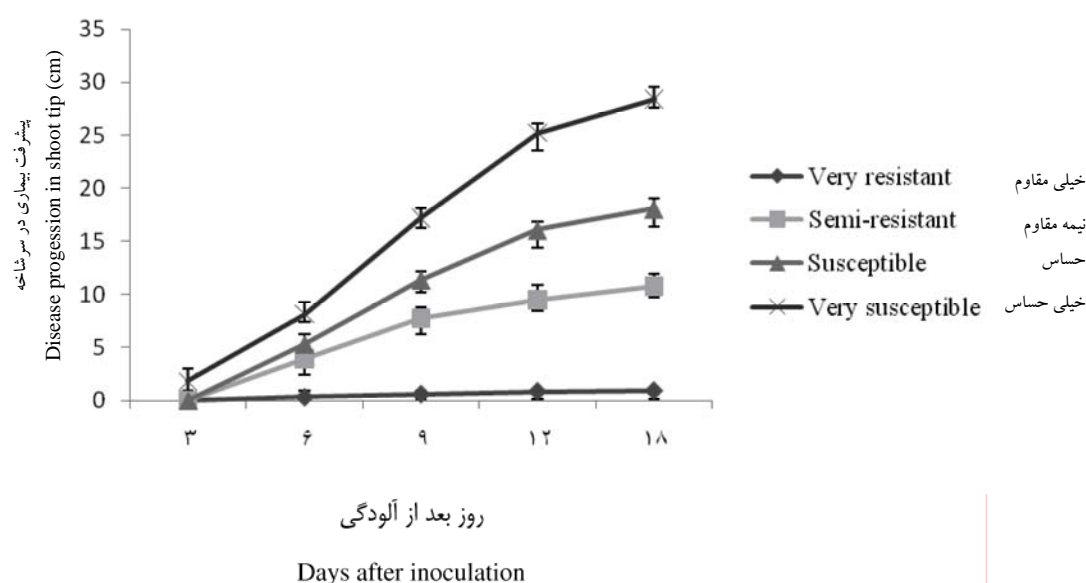
بررسی سرعت توسعه بیماری در سرشاخه ها نشان داد در اغلب ارقام گلابی، سرعت پیشرفت نکروز در ارتباط با شاخص حساسیت رقم بود. به این ترتیب که ارقام با شاخص حساسیت بیش تر، دارای سرعت نکروز بالاتری بودند. میانگین سرعت پیشرفت نکروز در گروه های حساس تا مقاوم از روز سوم تا روز ۱۸ در شکل ۲ نشان داده شده است. نتایج نشان داد سرعت پیشرفت بیماری در ارقام گروه خیلی حساس و حساس در مراحل مختلف ارزیابی نسبت به ارقام گروه نیمه مقاوم و مقاوم بیش تر بود. تفاوت معنی داری هم در بین مراحل مختلف ارزیابی در گروه های حساس دیده شد.

جدول ۳- تجزیه واریانس شاخص حساسیت وارسته‌ای و برخی صفات رویشی در ارقام گلابی
Table 3. Variance analysis of index of varietal susceptibility and some vegetative characters in pear cultivars

S.O.V.	منابع تغییرات	درجه آزادی df.	شاخص حساسیت Susceptibility index	طول میانگره Internode length	ماده خشک سرشاخه Shoot dry matter
Cultivar	رقم	29	2015.15**	1.12**	21.20**
Error	اشتباه	60	8.48	0.05	1.99
CV.(%)	درصد ضریب تغییرات	-	5.62	5.37	5.15

** : Significant at 1% probability level.

** : معنی دار در سطح احتمال ۱٪.



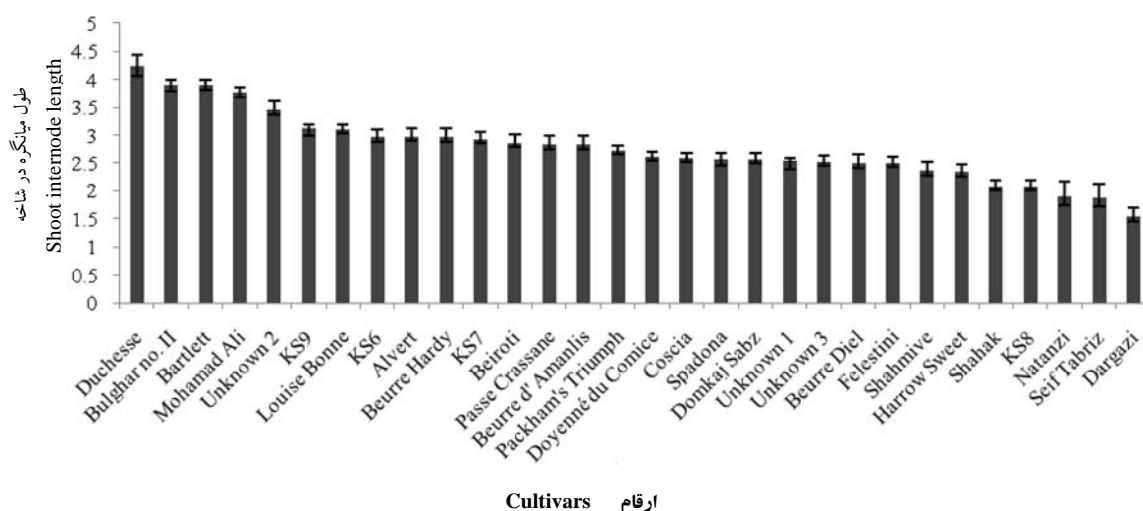
شکل ۲- مقایسه سرعت پیشرفت نکروز در سرشاخه‌های آلوده شده ارقام گلابی در گروه‌های مختلف مقاومت به بیماری

Fig. 2. Comparison of necrosis progression rate in the inoculated shoot tips of pear cultivars in various classes of resistance

ممکن است در افزایش مقاومت موثر باشند (Halbwirth *et al.*, 2002؛ Rademacher, 2000).

همچنین نتایج به دست آمده از جدول تجزیه واریانس برای صفت درصد ماده خشک سرشاخه تفاوت معنی‌داری را بین ارقام نشان

واسطه کاهش قدرت رشد گیاه، سبب ایجاد تحمل بیشتر به رشد باکتری در بافت‌های میزبان می‌شود. به علاوه نتایج تحقیقات نشان داده که در گیاهانی که با پروهگزادین - کلسیم تیمار شده بودند، مسیرهای بیوسنتزی ترکیباتی مانند فنیل پروپانویید فعال شده بود که

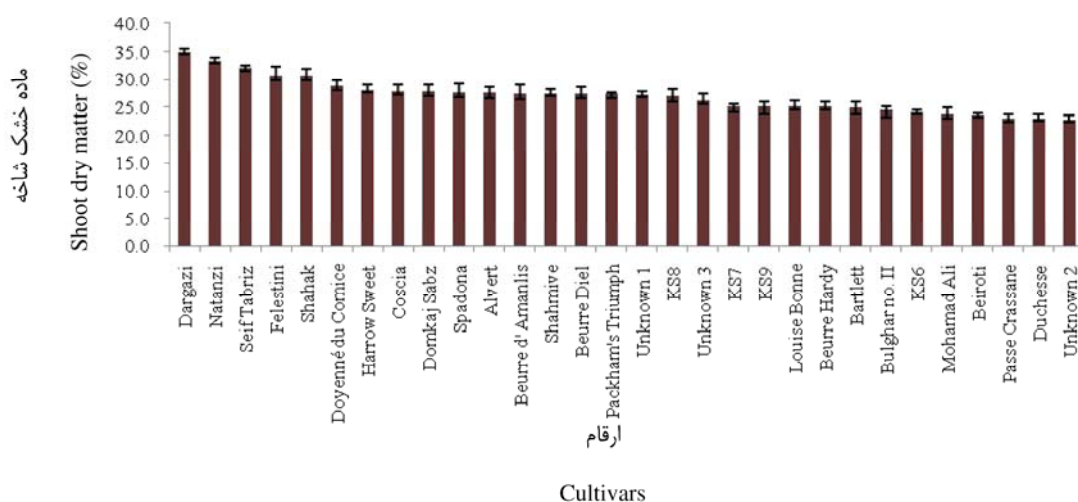


شکل ۳- مقایسه طول میانگره در سی رقم گلابی
Fig. 3. Comparison of internode length in thirty pear cultivars

دارای چند شکلی مشخصی در بین نمونه‌های مورد بررسی بودند. آغازگر RLG1 آللی با اندازه ۱۹۶ جفت باز را در رقم درگری و گونه *P. × bretschneideri* تکثیر کرد که از نمونه‌های بسیار مقاوم در برابر بیماری آتشک هستند (شکل ۵). گونه *P. × bretschneideri* در این تحقیق در آزمایش تکمیلی مقاومت به بیماری آتشک به دلیل اندازه بسیار کوچک گیاهچه‌های موجود مورد ارزیابی مقاومت قرار نگرفت، ولی منابع موجود نشان می‌دهد ارقام متعلق به این گونه جزء ارقام بسیار مقاوم به بیماری آتشک هستند. این گونه یک هیبرید مشترک بین گونه *P. ussuriensis* با سایر گونه‌های موجود در شرق آسیا است و به عنوان یک والد متحمل به بیماری آتشک در برنامه‌های به نژادی گلابی مورد

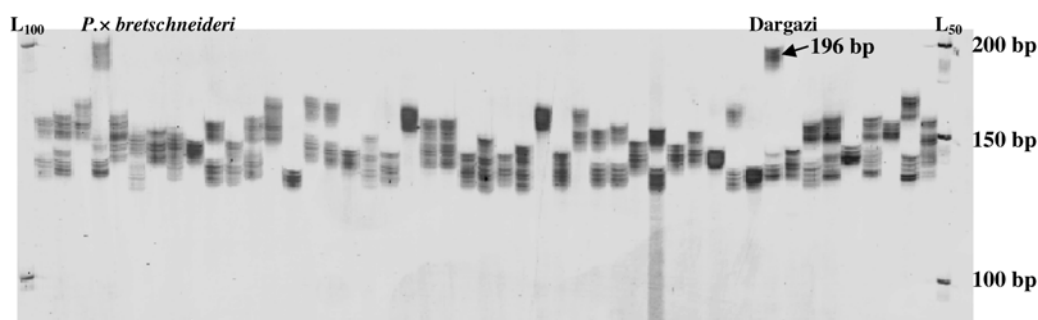
داد. ارقامی که دارای ماده خشک بیشتر در سرشاخه‌ها بودند در برابر بیماری آتشک مقاومتر بودند. مقایسه میانگین میان ارقام برای این صفت در شکل ۴ آمده است. بر اساس نتایج عبداللهی و مجیدی‌هروان (Abdollahi and Majidi Heravan, 2005)، صفت سرعت چوبی شدن شاخساره همبستگی بالایی با تحمل به بیماری آتشک در ارقام سیب دارد. به طور کلی سرعت بالای چوبی شدن شاخساره‌ها بیانگر سطح بالاتر مواد فنلی در بافت‌های گیاهی است که این ترکیبات پیش ماده مورد نیاز برای سنتز لیگنین در زنجیره بیوشیمیایی است.

نتایج به دست آمده از آغازگرهای SCAR که در سیب شناسایی شده بود چند شکلی مشخصی در بین ارقام گلابی مورد بررسی نشان نداد. دو آغازگر SSR به نام‌های RLG1 و



شکل ۴- مقایسه درصد ماده خشک سرشاخه در سی رقم گلابی

Fig. 4. Comparison of shoot dry matter in thirty pear cultivars

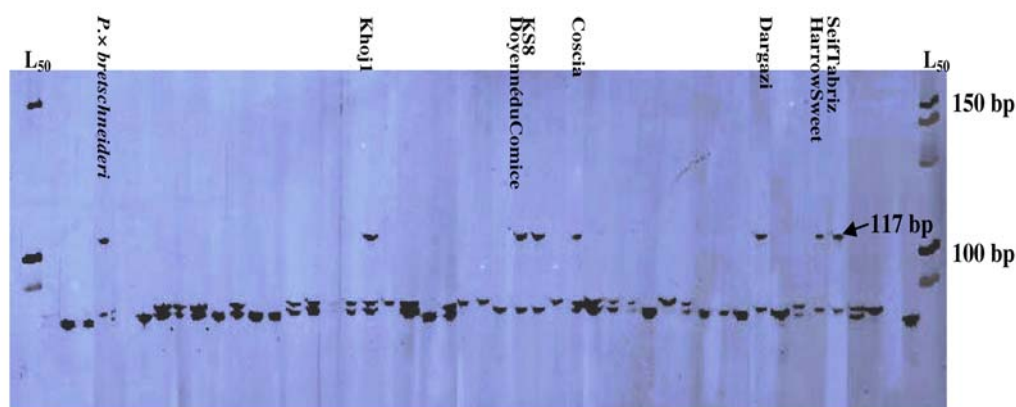


شکل ۵- الگوی بانندی به دست آمده از آغازگر RLG1

Fig. 5. Banding patterns generated by primer RLG1

RLG1 آلل مقاومت به بیماری آتشک را در این گونه هم نشان داده است (Bokszczanin *et al.*, 2009). نتایج به دست آمده از آغازگر CH02c02b، آلل مقاومت به اندازه ۱۱۷ جفت باز را در برخی ارقام مانند سیف تبریز، هارسوئیت، درگری، کوشیا، KS8، دوین دوکومیس، خوج ۱ و گونه بیشتر این ارقام در آزمایش تکمیلی مقاومت به

استفاده قرار گرفته است (van der Zwet and Keil, 1979). گزارش‌های منتشر شده از مقاومت به بیماری آتشک در گونه *P. ussuriensis* نشان داده که این گونه یکی از گونه‌های بسیار مقاوم در برابر بیماری آتشک است (Hancock and Lobos, 2008) و آغازگر *P. x bretschnideri* نشان داد (شکل ۶).



شکل ۶- الگوی بانندی به دست آمده از آغازگر CH02c02b
Fig. 6. Banding patterns generated by primer CH02c02b

ارقام در شرایط مشابه تحت تاثیر بیماری آتشک قرار گرفتند. این رقم اغلب در شمال شرقی کشور کشت و کار می شود ولی از نظر کیفیت میوه چندان مطلوب نیست، هر چند که از بذر آن به عنوان پایه برای سایر ارقام گلابی استفاده می شود. رقم در گزی همچنین می تواند به عنوان یک والد برای انتقال ژن مقاومت در برنامه های به نژادی گلابی استفاده شود.

بیماری آتشک مورد استفاده قرار گرفته بودند و در گروه ارقام مقاوم قرار داشتند. نتایج این تحقیق نشان داد که در بین ارقام مورد مطالعه سطوح مختلفی از مقاومت به بیماری آتشک وجود دارد که نشان دهنده وجود پتانسیل کافی برای برنامه به نژادی گلابی به منظور مقاومت به این بیماری است. رقم در گزی در شرایط باغ هم درجه بالایی از مقاومت نسبت به این بیماری داشت در صورتی که بسیاری از

References

- Abdollahi, H. 2011.** Pear, Botany, Cultivars and Rootstocks. Plant Production Deputy, Ministry of Jihad-e-Agriculture, Agricultural Education Publisher, Tehran, Iran. 200pp. (in Persian).
- Abdollahi, H., and Akbari Mehr, H. 2008.** Evaluation of fire blight resistance in some quince (*Cydonia oblonga* Mill.) genotypes. I. Isolation, evaluation and selection of causal bacterial (*Erwinia amylovora*) isolates. Seed and Plant 24: 515-528 (in Persian).

- Abdollahi, H., and Majidi Heravan, E. 2005.** Relationship between fire blight resistance and different characteristics of apple (*Malus domestica* Borkh.) cultivars. Seed and Plant 21: 501-513 (in Persian).
- Arzani, K. 2005.** Progress in the national Asian pear project: a study on the adaptation of some Asian pear (*Pyrus serotina* Rehd.) cultivars to Iranian environmental conditions. Acta Horticulturae 671: 209-212
- Bell, A. C., Ranney, T. G., Eaker, T. A., and Sutton, T. B. 2004.** Resistance to fire blight among flowering pears and quince. HortScience 40: 413-415.
- Bokszczanin, K., Dondini, L., and Przybyla, A. A. 2009.** First report on the presence of fire blight resistance in linkage group 11 of *Pyrus ussuriensis* Maxim. Journal of Applied Genetics 50: 99-104.
- Davoudi, A. 1998.** Evaluation of fire blight resistance in some apple and pear cultivars. MSc. Thesis, University of Tabriz, Tabriz, Iran. 200pp. (in Persian).
- Gardner, R. G., Cummins, J. N., and Aldwinckle, H. S. 1980.** Fire blight resistance in the Geneva apple rootstock breeding program. Journal of the American Society for Horticultural Science 105: 907-912.
- Halbwirth, H., Kampan, W., Stich, K., Fischer, T. C., Meisel, B., Forkmann, G., and Rademacher, W. 2002.** Biochemical and molecular biological investigation with respect to induction of fire blight resistance in apple and pear by transiently altering the flavonoids metabolism with specific enzyme inhibitors. Acta Horticulturae 590: 485-492.
- Hancock, J. F., and Lobos, G. A. 2008.** Pears. pp. 299-335. In: Hancock, J. F. (ed.). Temperate Fruit Crop Breeding. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, Germany.
- Khan, A. M., Durel, C. E., Duffy, B., Drouet, D., Kellerhals, M., Gessler, C., and Patocchi, A. 2007.** Development of molecular markers linked to the 'Fiesta' linkage group 7 major QTL for fire blight resistance and their application for marker-assisted selection. Genome 50: 568-577.
- Korba, J., and Kudela, V. 2004.** Evaluation of the fire blight susceptibility of pear genotypes following inoculation. Acta Fytotechnica et Zootechnica 7: 144-146.
- Korba, J., Sillerova, J., and Kudela, V. 2008.** Resistance of apple varieties and selections to *Erwinia amylovora* in the Czech Republic. Plant Protection Science 44: 91-96.

- Maleki Balajoo, O., Keshavarzi, M., Rezaei Danesh, Y., Damyar, S., and Jaafari, M. 2011.** Response of some apple genotypes from local apple collection of Iran to *Erwinia amylovora*. Seed and Plant Improvement Journal 27-1 (1): 23-36 (in Persian).
- Maroofi, A., and Mostafavi, M. 1996.** Evaluation of the resistance of apple, pear and quince varieties to fire blight. Acta Horticulturae 411: 395-400.
- Oitto, W. A., van der Zwet, T., and Brooks, H. J. 1970.** Ratings of pear cultivars for resistance to fire blight. HortScience 5: 474-476.
- Rademacher, W. 2000.** Growth retardants: Effects on gibberellin biosynthesis and other metabolic pathways. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology 51: 501-531.
- Ries, S. M., and Otterbacher, A. G. 1977.** Occurrence of fire blight on thornless blackberry in Illinois. Plant Disease Reporter 61: 232-235.
- Sahandpour, A., and Ghasemi, A. 2004.** Outbreak of fire blight of pome fruits in Fars province. Proceedings of the 16th Iranian Plant Protection Congress. University of Tabriz, Tabriz, Iran. Page 423 (in Persian).
- Sebaihia, M., Bocsanczy, A. M., Biehl, B. S., Quail, M. A., Perna, N. T., Glasner, J. D., DeClerck, G. A., Cartinhour, S., Schneider, D. J., Bentley, S. D., Parkhill, J., and Beer, S. V. 2010.** Complete genome sequence of the plant pathogen *Erwinia amylovora* strain ATCC 49946. Journal of Bacteriology 192: 2020–2021.
- Stewart, P. J., Clark, J. R., and Fenn, P. 2003.** Evaluation of resistance to *Erwinia amylovora* and *Botryosphaeria dothidea* in Eastern U.S. blackberry cultivars. Horticultural Studies 12: 32-34.
- van der Zwet, T., and Keil, H. L. 1979.** Fire blight: A Bacterial Disease of Rosaceous Plants. United States Department of Agriculture. Agricultural Handbook No. 510, Washington DC, USA. 650 pp.
- Vanneste, J. L. 2000.** Fire Blight: The Disease and its Causative Agent, *Erwinia amylovora*. CAB International Publisher, Wallingford, UK. 369pp.
- Yamamoto, T., Iketani, H., Ieki, H., Nishizawa, Y., Notsuka, K., Hibi, T., Hayashi, T., and Matsuta, N. 2000.** Transgenic grapevine plants expressing a rice chitinase with enhanced resistance to fungal pathogens. Plant Cell Reports 19: 639-646.

- Zakeri, Z., and Sharifnabi, B. 1991.** Fire blight disease of pear in Karaj. Proceedings of the 10th Iranian Plant Protection Congress. Kerman, Iran. Page 157 (in Persian).
- Zohour, A., and Rahmani Moghadam, N. 2004.** Outbreak of fire blight in Khorasan province. Proceedings of the 16th Iranian Plant Protection Congress, University of Tabriz, Tabriz, Iran. Page 423 (in Persian).