

# هرس جوان سازی درخت سیب



PTMP/SK/R&D/A/ Apple tree rejuvenation pruning02 /12022023

## مقدمه

بر اساس فرضیه اثر جوان سازی بر افزایش سطح سلامت درختان در شرایط اقلیمی کرج و با هدف بررسی سطح آلودگی درختان مستقر در کلکسیون ملی ارقام (Varieties) یا کاشتارهای (Cultivars) تجاری بومی و وارداتی سیب اقدام به هرس سنگین درختان مسن سیب بر پایه های بذری گردید. نمونه برداری از جست های پررشد علفی با کوتیکول نازک درختان پس از سربرداری طی چندسال در فصول مختلف صورت گرفت. آزمونهای الایزا و PCR-RT در قالب طرح مشترک با موسسه تحقیقات گیاه پزشکی به عمل آمد. نتایج غیرمنتظره و امیدوارکننده با تلفیق نتایج آزمون الایزا طی سه مرحله غربالگری و همچنین PCR-RT نشان داد ارقام یلوترنسپرنت ۱، رداسپور کوپر ۲، استار کینگ ۱، مکینتاش ۱ و گلوکنافل ۱ عاری از چهار ویروس مهم سیب ASPV، ACLSV، ASGV و ToRSV بودند. تعدادی بیشتری از ارقام مشکوک به آلودگی به یک ویروس بودند. گروه بزرگی فقط آلوده به یک ویروس با بسامد بالای ACLSV بودند.

## ترکیبات برگ سیب و جوان سازی

مطالعات انجام شده بر محتوای ترکیبات فنولی برگ های سیب نشان داد بین کاشتارها اختلاف معنی دار وجود دارد. کاشتار آلداس Aldas، دارای بیشترین میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدها بود. فلوریدزین در دامنه ۷.۷۷ تا ۱۳.۳۶ میلی گرم در لیتر به عنوان رایج ترین ترکیب در برگ ها بود و لیگول Ligol با بیشترین میزان از این ترکیب گزارش شد. بررسی درون شیشه ای عصاره های برگ کاشتارهای سیب نشان دهنده وجود همبستگی مثبت بین فعالیت قوی انتی اکسیدانی با میزان کل ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی طی آزمون های مختلف بود. نتایج این تحقیقات نشان می دهد همزمان با تحریک قدرت رویشی اندام هوایی، تمامی فرایندهای سوخت و ساز سلولی و نیز بیوسنتز ترکیبات انتی اکسیدانی افزایش می یابد. به دنبال افزایش فعالیت انتی اکسیدانی ترکیبات فنولی قدرت دفاعی گیاه بهبود می یابد و در نتیجه آلودگی های قارچی دفع و یا کم می شوند. بر همین اساس، برخی محققین در آمریکای لاتین با هدف مدیریت تلفیقی و تولید محصول سالم به جای کاربرد سموم اقدام به جوان سازی درختان رقم هلوی بومی کردند. تیمار جوان سازی موجب افزایش رشد شاخه ها، اندازه برگ، تراکم گلدهی، بهبود عملکرد و یکنواختی اندازه میوه ها و از همه مهمتر موجب کنترل آفات و بیماری ها گردید. نتایج این بررسی سه ساله اثبات نمود تیمار جوان سازی به طور معنی داری موجب کاهش ابتلای درختان به بیماری های قارچی مونیلیا Monilia و کورینیوم Coryneum نسبت به شاهد گردید. در آلمان تیپ های متفاوت آلو با میوه های بسیار کوچک کشت و کار می شد و رقم Hauszwetsche رایج ترین آلو بود. طی یک



# هرس جوان سازی درخت سیب



PTMP/SK/R&D/A/ Apple tree rejuvenation pruning02 /12022023

دوره هفت ساله ۱۹۸۲-۱۹۷۶ میلادی، یک به‌نژادگر به نام Hartman اقدام به ارزیابی و به‌گزینی ۱۲ کلون برتر آلو از نظر صفات عملکرد، اندازه میوه و قند بالا نمود. سال ۱۹۷۸ ارقام گزینش شده را تکثیر کرد و آزمایشات سازگاری را در شش منطقه آغاز کرد. پس از پنج سال در سال ۱۹۸۳ میلادی اقدام به پیش‌گزینی Pre-selection ژنوتیپ‌های سازگار برای مناطق مختلف کرد. عملکرد در درخت کلون‌های برتر، بیرون از زیستگاه اصلی خود، معادل ۵۰ کیلوگرم در درخت و با میوه‌هایی با میانگین وزن پایین ۲۸ تا ۲۳ گرم ثبت شد. هارتمن دلیل عملکرد متفاوت و غیریکنواختی اندازه میوه کلون‌ها همراه با تولید سیخک روی شاخه‌ها را به جوان‌سازی نسبت داد. در نهایت شش کلون آلو Etscheid , Chraderhof 100, Gunser, Wolff, Meschenmoser, hüfer معرفی شدند. وی بدون اشاره به آلودگی‌های ویروسی اذعان نمود پس از هرس جوان‌سازی قلمه‌های خشبی سالم برای تکثیر انبوه بین باغداران توزیع شده است.

## ترکیبات فاز انتقالی به بلوغ و جوان‌سازی

ژنتیک گیاه مهمترین عامل در تحول و انتقال بافت مریستمی از مرحله جوانی به مرحله بلوغ است. گذر به مرحله گلدهی از بخش بالایی تاج آغاز می‌شود و رفته رفته به پایین تاج گسترش می‌یابد. در عین حال این فرآیند تحت تاثیر عوامل محیطی و یا برخی تیمارها می‌تواند به یکباره کل تاج درخت را در برگرد. هرس جوان‌سازی فرایندی در جهت عکس تغییر فاز دوره نونهالی به بلوغ است. اظهار داشت در پایان مرحله جوانی و انتقال به فاز بالغ، نهال بر مبنای الگوی ژنتیک موجود در مریستم‌های انتهایی محتوای متفاوت پروتئین‌ها در مرکبات و نیز ترکیبات پلی‌پپتیدی در کاشتار گیلان استلا (Stella) ثبت شده است. برخی ترکیبات پلی‌آمین‌ی ردیابی شده در برگ نهال‌های درختان میوه طی فرآیند تغییر فاز دوره جوانی به بلوغ، در برگ درختان جوان‌سازی شده نیز شناسایی شده‌اند.

## واکنش گیاه به آلودگی ویروسی از طریق تغییر متابولیت‌ها و ترکیبات درون سلولی

در لیتوانی، طی بررسی ترکیبات شیمیایی برگ درختان سیب در شرایط معمول رشد، توسط گاز کروماتوگرافی و گاز کروماتوگرافی-مس اسپکترومتری، ۲۸ ترکیب شامل انواع روغن فرار، چهار ترکیب ترپنوئیدی و هیدروکربن‌های الیفاتیکی ردگیری و شناسایی شد. واکنش آنزیم‌های انتی‌اکسیدانی بر اثر آلودگی ویروس لکه سبزد سیب (ACLSV) عامل بیماری ویرولا (viruela)، بر رقم اندیکاتور بسیار حساس 'GF305' هلو به این ویروس، قبل از انکوباسیون کوتاه مدت و پس از انکوباسیون بلند مدت با تیمار سرمایی مطالعه شد. انکوباسیون





کوتاه مدت ACLSV موجب تغییرات معنی دار فعالیت های اسکوربات پراکسیداز، پراکسیداز و کاتالاز گردید. اعمال انکوباسیون بلندمدت هیچنوع علائم ظاهری روی برگ ها و خسارت به غشاهای سلولی مزوفیل هلو از نوع پراکسایش لیپیدها تولید نشد، ولی علی رغم هرگونه واکنش ریخت شناسی بررسی ها نشان داد افزایش ترکیبات آنزیمی و همچنین فعالیت های انتی اکسیدانی برگ ها در چرخه آنزیمی - ascorbate glutathione cycle با فعالیت های آنزیمی glutathione-S- transferase و superoxide dismutase همبستگی داشت. سایر بیمارگرها نیز به صورت مشابه عمل می کنند. برای مثال بیمارگر پوسیدگی طوقه در بافت های گیاهی میزبان، تغییرات فیزیولوژیک ایجاد می کند. علاوه بر این، تغییراتی نظیر اختلال در سوخت و ساز اسیدهای آمینه، افزایش محتوای کل قند، کاهش جزئی محتوای سلولز و سطح نیتروژن، پتاسیم و فسفر کل گزارش شده است. سطح فتوسنتز و تبخیر و تعرق گیاهان آلوده به بیمارگرهای ویروسی دچار ایستایی شد.

## فرآیند فعالیت ویروس در میزبان

بیمارگر ویروسی چرخه سوخت و ساز سلول میزبان را به خدمت می گیرد و سنتز پروتئین در سطح ریبوزوم را از مسیر مورد نیاز و طبیعی گیاه میزبان خارج میکند به طوریکه گیاه مجبور به سنتز پروتئینهای ویروس میشود. بیماریهای ویروسی در بسیاری از موارد در گیاهان علائم آشکار ایجاد نمی کنند بلکه به صورت پنهان توان تولیدی درختان آلوده را کاهش می دهند و اثر منفی بر کیفیت و عملکرد محصول می گذارند. وقتی غلظت ویروس در درختان جوان و مسن در سطوح پایین باشد هرچند علائم مشهودی ایجاد نمی شود ولی افت عملکرد، کاهش اندازه میوه، عدم رنگ گیری کامل، کاهش تراکم رنگ رویی از جمله نشانه های نامحسوس فعالیت و خسارات بار ویروسها به شمار می روند. بیشترین میزان غلظت ویروس mosaicvirus Apple در برگ های جوان نهال های آلوده به ویروس جوان چهار رقم سیب قبل از شروع گلدهی مشاهده شد. در اواخر فروردین میانگین غلظت ویروس ApMV در برگ ها ۱.۹ برابر بیشتر از گلبرگ ها، ۴۱ برابر بیشتر نسبت به جوانه های خواب و ۸۱ برابر بیشتر از بافت زاینده بود. غلظت ویروس در نمونه های برگی جوان برداشت شده پس از فروردین ماه به مرور کاهش یافت به طوری که در مرداد میزان آلودگی به صفر رسید. برای ردگیری ASPV با استفاده از روش پیوند دوبله (method grafting Double) از رقم محک سیب ۲۲۷ Spy استفاده شد. ناسازگاری بین پایه پیوندک و علائم epinasty روی گیاه محک ظاهر شد.

## علائم اختصاصی بیماری ویروسی

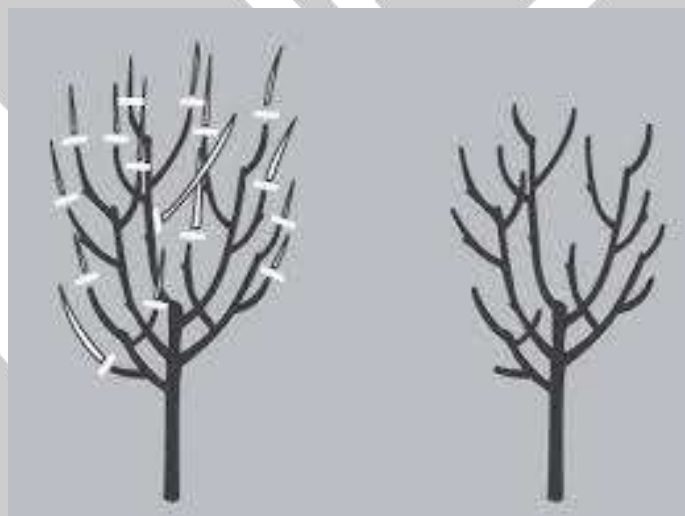


# هرس جوان سازی درخت سیب



PTMP/SK/R&D/A/ Apple tree rejuvenation pruning02 /12022023

بررسی‌های سالانه درختان طی ارزیابی خصوصیات رویشی ارقام سیب مستقر در کلکسیون علائم پسرفت رشدی، کاهش شادابی و سلامت اندام هوایی مشاهده شد. جدای از علائم مربوط به فقر عناصر معدنی مهم چون آهن، کلسیم، پتاسیم و روی مانند کم برگی، کاهش سبزی‌نگی، زرد برگی، سوختگی حاشیه برگ‌ها علائمی چون ریزبرگی، رزت شدن سرشاخه‌ها، کتابی شدن و خمیدگی سرشاخه‌های علفی ثبت گردید. به دنبال شدت یافتن علائم درختان دچار زوال شدند به طوری‌که این درختان طی سال‌های بعد در مرحله‌های شروع گلدهی، تمام گل تا فندقه سبز خشک شدند. مجموع این علائم نشان دهنده آلودگی‌های ویروسی در باغ ارقام تجاری کلکسیون کرج بودند که قبل از شروع غربال مشخص نبود. این مطالعات و بررسی‌های ملکولی منتج به ردگیری و تشخیص ۲۶ درخت آلوده به دو ویروس و شش درخت آلوده به سه ویروس گردید. درختان آسیب دیده به طور معمول پس از یک دوره سه تا پنج ساله از ظهور علائم مختلف دچار ضعف و زوال می‌شدند. بررسی‌ها نشان داد آلودگی‌های پنهان موجب افت شدید قدرت رشد، تغییر ساختار درخت، افت کیفیت میوه مانند کاهش قند کل میوه (Brix Grade)، بروز ناهنجاری‌های فیزیولوژیک و کاهش چشمگیر عملکرد در درخت می‌گردند.



شکل ۱- هرس جوان سازی درخت سیب

## مبارزه

کنترل بیماری‌های ویروسی به دلیل پیچیدگی، قابلیت انتقال ویروس و نیز تغییرپذیری ژنتیکی بالای آن بسیار دشوار است. راه‌های مبارزه با آلودگی‌های ویروسی می‌تواند استفاده از ارقام مقاوم، پیشگیری از انتشار





ویروس از طریق قرنطینه، حذف گیاهان آلوده، کنترل ناقل‌های طبیعی، سالم سازی، صدور گواهی سلامت و دیگر روش‌ها باشد.

## ایمن سازی گیاه از طریق به‌نژادی

یکی از راهبردهای کنترل آلودگی استفاده از ارقام مقاوم است. این مقاومت می‌تواند از طریق مقاومت ژنتیکی ناشی از به‌نژادی، انتقال ژن و یا دیگر روش‌ها باشد. به‌نژادی برای ایجاد مقاومت به ویروس در گیاهان همواره به عنوان موثرترین و ساده‌ترین راه برای جلوگیری از خسارت‌های حاصل از بیماری‌های ویروسی کاربرد دارد. سازوکارهای مقاومت بسیار متفاوت و تحت اثرات متقابل مراحل چرخه ویروس و گیاه میزبان می‌باشد. مقاومت به آلودگی می‌تواند دارای تفاوت‌هایی از نظر اختصاصی بودن، پایداری و ماندگاری داشته باشد. به‌نژادی برای مقاومت به ویروس یک فرایند طولانی و پرهزینه است، بنابراین برای مقرون به صرفه بودن الزاماً بایستی از حفاظت ماندگار برخوردار باشد. امکان پذیر بودن پیش‌بینی ماندگاری مقاومت ژنتیک میزبان به بیماری ویروسی بستگی به طبیعت مقاومت، تغییرات ژنتیک لازم برای یک ویروس برای غلبه به مقاومت میزبان و تاثیر این تغییرات بر سازگاری ویروس دارد. تغییرات ژنتیک مورد نیاز برای داخل کردن ژن‌های مقاومت از کاشتارهای تجاری یا گونه‌های وحشی به ارقام حساس با استفاده از تلاقی‌های برگشتی رایج‌ترین روش ایمن سازی در برابر آلودگی‌های ویروسی است. ایمن سازی به دو شکل است.

۱- مقاومت مستقیم از نوع واکنش فوق حساس است که توسط پروتئین‌های مقاومت هدایت می‌شود. رمزگزاری شده با ال‌های غالب (alleles Dominant) به طور مشخص قادر به شناسایی یک توالی یا یک الگوی تطبیقی از ویروس ژن است (Avirulence determinant, Avr) که القاکننده مرگ سلول آلوده است. در شرایط مرگ سلولی، امکان انتقال ویروس به سلول‌های مجاور از بین می‌رود و از ایجاد آلودگی سیستمیک جلوگیری می‌شود. به این ترتیب ژن‌های ویروس مهلک خاموش و غیر فعال می‌شود (silencing Gene). تیم پژوهشگر چین و ژاپنی از تولید واکسن گیاهی بر علیه یک ویروس (ALSv) Apple latent spherical virus ایزوله شده از درخت سیب در ژاپن خبر می‌دهند. سطح مقاومت یا تحمل میزبان به آلودگی به احتمال با نبود آلودگی و فقدان علامت از طریق آنالیز زنده‌مانی میزبان قابل ارزیابی است.

۲- مقاومت غیرفعال توسط ال‌های مغلوب مقاوم Resistance recessive alleles گیاه میزبان علیه ویروس مهاجم رمزگزاری می‌شوند. به‌نژادگران به طور معمول به دنبال مقاومت کامل در ژرم پلاسم و کاشتارهای



# هرس جوان سازی درخت سیب



PTMP/SK/R&D/A/ Apple tree rejuvenation pruning02 /12022023

درختان میوه هستند به طوری که ویروس در آن‌ها آلودگی سیستمیک ایجاد نکند. آزمون الایزا و هیبریداسیون ملکولی ابزار مناسبی برای تشخیص بررسی مقاومت تعداد زیادی از ژرمپلاسم و کاشتهای تجاری به صورت همزمان می‌باشد. در صورت امکان پذیر نبودن ایجاد مقاومت کامل در عملیات به‌نژادی، می‌توان از مقاومت نسبی به معنای کاهش انباشتگی ویروس یا کاهش غلظت ویروس نیز بهره گرفت. در همین جهت تحمل نسبی به مفهوم کاهش خسارت ویروس بدون تاثیر بر تکثیر آن نیز می‌تواند راهکار مناسبی باشد. به هر شکل، به‌نژادی برای مقاومت به ویروس برای بسیاری از گونه‌های گیاهی و ویروسی به علت نادر بودن ژن‌های مقاوم در خویشاوندی‌های ژنتیک سازگار متناسب نیست. ژن‌های موتانت‌های مقاوم به ویروس می‌توانند در بسیاری از اعمال مهم زیستی دخالت نمایند لذا احتمال واکنش‌های نامطلوب و غیرمنتظره در فرآیند رشد و فیزیولوژی گیاه در این موتانت‌ها دور از انتظار نیست. به همین دلیل برخی محققین اظهار داشتند علی‌رغم گسترش فنون بیوشیمی گیاهی و فناوری‌های ریزملکولی، برنامه‌های جهش‌زایی گیاهان دچار وقفه شده‌اند. اکنون تلفیق تنوع با جمعیت‌های جهش یافته با استفاده از روش‌های بسیار جدید غربال، شناسایی صفاتی که از طریق متدهای غربال کلاسیک به‌نژادی امکان پذیر نبود در سطح ملکولی میسر شده است. به‌نژادگران اقلیم گیاهی علاقمند به تنوع ژنتیک میزبان هستند ولی نایستی از تنوع ژنتیک ویروس‌ها غفلت شود. شناسایی واریانت‌های ویروس با جهش‌های ناگهانی آن با استفاده از Multiplex real-time PCR به عنوان ابزار ارزشمندی برای شناسایی انتشار سه ویروس مهم سیب برشمرده شده است. یک روش دیگر مصون سازی حفاظت تقاطعی Cross protection ایجاد مقاومت علیه سویه‌های خشن و مهاجم ویروس از طریق واکسینه کردن گیاهان با تلقیح سویه ضعیف شده همان ویروس است.

منبع

حاج نجاری، حسن. (۱۴۰۰). سالم‌سازی درختان سیب با استفاده از تکنیک هرس جوان‌سازی. تهران: مؤسسه تحقیقات علوم باغبانی، پژوهشکده میوه‌های معتدله و سردسیری

