

# هرس جوان سازی درخت سیب



PTMP/SK/R&D/A/ Apple tree rejuvenation pruning03 /13022023

## مقدمه

بر اساس استانداردهای جهانی امکان تولید هسته‌های اولیه و احداث باغ مادری عاری از ویروس (free Virus) و کنترل ویروس (tested Virus) به صورت مستقیم و بدون هزینه‌های سالم‌سازی فراهم شد. غربال کلکسیون هسته (Core collection)، باغ هیبرید plot Selection، باغ مادری orchard Mother برای ویروس‌های مهم در هر محصول، با ردگیری و تشخیص ویروس‌ها امکان شناسایی گروهی از درختان سالم ارقام قابل دستیابی است. روش غربال با حذف هزینه‌های هنگفت و زمان‌بر سالم‌سازی و تولید مستقیم هسته‌های پیش‌تکثیر، احداث باغ مادری سالم و تولید نهال عاری از ویروس و کنترل ویروس را فراهم می‌سازد. به این شکل، سالم‌سازی به درختان آلوده به ۲-۳ ویروس محدود خواهد شد. توصیه می‌شود برای رسیدن به نتایج مطلوب در مناطقی با تابش بالای آفتاب، ساعات ابری کم، رطوبت نسبی پایین بر نمونه‌های علفی تازه‌رسته برگرفته پس از هرس سنگین جوان‌سازی اقدام شود.

## مدیریت بیماری ویروسی

مدیریت بیماری ویروسی نیاز به تشخیص دقیق و سریع جنس، خانواده، نژاد (Strain) یا واریانت (Variant) بیمارگر دارد. فنون تشخیص و کنترل ویروس دربرگیرنده شاخص‌هایی چون دقت، سطح ردگیری، شناسایی همزمان چند آلودگی (Multiplexing)، تعیین کمیت (Quantification) و قابلیت طراحی (Designability) می‌باشد. کنترل بیماری‌های ویروسی در دو محور اصلی مصون سازی با استفاده از ارقام مقاوم و انجام اقدامات حفاظتی برای جلوگیری از انتشار ویروس خلاصه می‌شود.

## اقدامات پیشگیرانه

اقدامات پیشگیرانه دربرگیرنده مجموعه‌ای از روش‌های بسیار متفاوت است. این اقدامات عبارتند از:

۱) وارد کردن ترکیب‌های پیوندی کنترل ویروس درختان میوه از خارج از کشور، قرنطینه دو ساله گیاهان زیر نظارت سازمان حفظ نباتات

۲) خرید و وارد کردن هسته‌های اولیه عاری از ویروس کاشتارها و یا پایه‌های رویشی در شرایط درون شیشه با اخذ گواهی سلامت از کشور مبدا



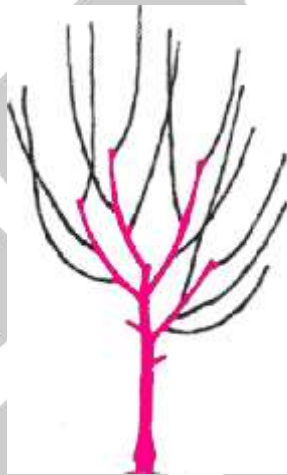
# هرس جوان سازی درخت سیب



PTMP/SK/R&D/A/ Apple tree rejuvenation pruning03 /13022023

۳) وارد کردن پیوندک و قلمه ارقام با گواهی از کشور مبدا

۴) صدور گواهی سلامت عاری از ویروس (Virus free) و کنترل ویروس (Virus tested) برای ارقام و پایه‌های رویشی در دست تکثیر در نهالستان‌ها که همگی برای جلوگیری از ورود و انتشار آلودگی در جغرافیای باغبانی کشور به‌شمار می‌روند. هرچند عملیات قرنطینه بر آن گروه از مواد گیاهی که به صورت رسمی به کشور وارد می‌شود توسط سازمان حفظ نباتات صورت می‌گیرد ولی هیچ گونه اقدامات پیشگیرانه‌ای در نهالستان‌ها، جابه‌جایی و توزیع نهال در سطح داخلی بین استان‌ها صورت نمی‌گیرد. شیوع غالب بیماری‌های ویروسی به دلیل نبود باغ‌های مادری سالم در اغلب مناطق تولید نهال کشور می‌باشد.



شکل ۱- هرس جوان‌سازی درخت سیب

## سطوح ردگیری ویروس

شناسایی صحیح ویروس‌ها برای مدیریت بیماری یک مرحله چالشی است. ردگیری و شناسایی ویروس‌ها بر اساس اختصاص یک ویروس در یک نمونه گیاهی به گروهی از ویروس‌ها با ویژگی‌های مشترک می‌باشد. در بسیاری از موارد به شناسایی گونه ویروس یا استفاده از فنون سرولوژیک بسنده می‌شود، ولی ردگیری می‌تواند واحدهای طبقه‌بندی شده (Taxonomic) بالاتر تا تعیین جنس و خانواده و یا در اجزای ریزتر در حد نژاد (Strain) نظیر شناسایی واریانت‌ها، موتانت‌ها یا سرو تایپ‌ها (Serotypes) با مشخصات متمایز زیستی یا ملکولی از طریق به‌کارگیری مونوکلونال آنتی‌بادی‌ها (Monoclonal antibodies) باشد. ظهور فناوری‌های توالی‌یابی با توان بالا (High-Throughput Sequencing) یک انقلاب در زمینه تشخیص ویروس‌های گیاهی



# هرس جوان سازی درخت سیب

PTMP/SK/R&D/A/ Apple tree rejuvenation pruning03 /13022023



است. کشف ویروس جدید لوتئوویروس (luteovirus) در سیب از این جمله است. از دیگر فناوری‌ها میتوان از نام برد ( Nanopore sequencing ) و توالی‌یابی نانوحفره (SMRT) Molecule Real-Time (SMRT) ردگیری ویروس بایستی بر اساس روش‌های حساس و در طیف گسترده صورت گیرد، تا آنجا که گفته می‌شود حذف مواد عاری از ویروسی که مشکوک به آلودگی هستند به دلیل ریسک انتشار مواد آلوده و گسترش بیماری ارجحیت دارد. بهره‌گیری از تجهیزات ردگیری در محل، به شدت در تصمیم‌گیری سریع برای جلوگیری از واردات و صادرات ژرم پلاسما آلوده و شیوع بیماری کمک می‌کند. توالی‌یابی با ظرفیت بالا High-Throughput Sequencing (HTS) که به عنوان توالی‌یابی نسل بعد شناخته می‌شود که در کشف انواع آلودگی‌های ویروسی موجود در نمونه‌های بسیاری از محصولات باغبانی کارآیی بسیار بالایی داشته است. در سطح جهانی، استقبال روزافزونی از این ابزار در قرنطینه و نهالستان‌ها به چشم می‌خورد.

## سالم سازی

در شرایطی که هسته اولیه سالم ارقام و کاشتهای تجاری ارزشمند در دسترس نباشند تولید گیاهان سالم با حذف ویروس‌های اصلی هر محصول برای عینیت بخشیدن و شکل‌گیری یک باغبانی پیشرو و اقتصادی ضرورت می‌یابد. سالم سازی با بهره‌گیری از فنون مختلف گرمادرمانی (Thermotherapy)، شیمی‌درمانی (Chemotherapy)، برق درمانی (Electrotherapy)، سرمادرمانی (Cryotherapy) و کشت بافت به تنهایی و یا در تلفیق با دیگر فنون انجام می‌گیرد. روش‌های مختلفی چون کشت رئوس مریستمی (Shoot tip culture)، گرما درمانی، شیمی درمانی و یا ریزپیوند (Shoot tip-grafting) به تنهایی و یا در تلفیق با یکدیگر برای حذف آلودگی‌های ویروسی از درختان میوه و پایه‌های رویشی کاربرد یافته است. تیمار گرمادرمانی در درجات دمایی مختلف، شیمی درمانی با استفاده از انتی ویروس ریباویرین (Ribavirin) به تنهایی و یا در تلفیق با دیگر تیمارها برای حذف سه ویروس Apple stem grooving (ASGV), Apple stem pitting virus (ASPV virus) and Apple stem chlorotic leaf spot virus (ACLSV)، از رقم سیب Xinhongjiangjun رایج در کشور چین به عنوان بزرگترین تولیدکننده جهانی سیب اعمال شد. کارآیی حذف آلودگی‌ها با استفاده از دو جفت آغازگر برای هر ویروس توسط RT-PCR (reverse-transcription polymerase chain reaction) مشخص گردید. استفاده از ۱۵ و ۲۵ میکروگرم/میلی‌لیتر ریباویرین علی‌رغم کند کردن رشد رویشی مواد گیاهی، با حذف ۷۴.۴٪ تا ۷۵٪ از آلودگی ویروسی زنده مانده تمام گیاهان حفظ شد. میانگین نرخ حذف ویروس در تیمار دمایی ۳۴-۳۶ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ روز حداکثر به ۴۵٪ رسید. افزایش دما موجب افزایش



# هرس جوان سازی درخت سیب



PTMP/SK/R&D/A/ Apple tree rejuvenation pruning03 /13022023

تعاونی پترو تمدن مهمام پارس

معنی دار رشد و تکثیر نمونه‌ها شد ولی در دمای ۳۸ درجه سانتی‌گراد هیچ شاخه جانبی رشد نکرد. تلفیق تیمارهای گرمادرمانی ۳۶ درجه سانتی‌گراد با شیمی درمانی ( $25\mu\text{g/ml}$ ) نرخ حذف ویروس‌ها تا ۳۵٪ افزایش یافت. کارآیی حذف آلودگی ویروسی از جوانه‌های انتهایی و جانبی به ترتیب برابر ۶۵.۳٪ و ۷۲.۷٪ بود. نتایج این بررسی نشان داد حذف ASPV آسان‌تر از حذف ACLSV و ASGV بود. کشت رئوس مریستمی نمونه‌های برگرفته از درختان سیب ارقام Danhong, Hongan, Saenara, Summerdream به مدت چهار هفته تحت گرمادرمانی در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. سپس با استفاده از آغازگرها اقدام به ردگیری چهار ویروس مهم سیب توسط RT-PCR گردید. میزان سالم سازی ارقام سیب به ترتیب برابر ۲۸٪، ۱۶٪، ۱۲٪ و ۱۲٪ بود. آنان نتیجه گرفتند گرمادرمانی روش مناسبی برای تولید گیاهان سالم است. برای کاهش خسارات حاصل از انتشار وسیع Apple proliferation virus در نهالستان‌ها و باغ‌های مسن سیب روش‌های مبارزه متفاوتی به کار گرفته شده است. در اولین تیمار کنترل فیزیکی، قرار دادن نهال‌های آلوده سه ساله سیب به مدت دو روز در هوای گرم ۳۸ درجه سانتی‌گراد اثر درمانی اساسی داشت، به حدی که فعالیت حیاتی میکوپلاسما در محل پیوند نیز متوقف شد. این تیمار در جوانه‌های نهال‌های پیوندی ناهنجاری هورمونی کمتری در مقایسه با شاهد (تیمار نشده) ایجاد نمود. دومین تیمار: روی قلمه‌های ارقام سیب در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد تا ۵۵٪ موفقیت داشت و جوانه‌ها هیچ مشکلی نداشتند. سومین تیمار: غوطه‌ورسازی قلمه‌ها در آب‌گرم ۵۰ درجه سانتی‌گراد برای دو ساعت بسیار خسارت بار بود. چهارمین تیمار: پرتودهی با اشعه ایکس و ماوراء بنفش اثرات در حد متوسط نشان داد. تیمارهای شیمی‌درمانی مورد استفاده در اولین تیمار: موثرترین داروهای شیمیایی شناسایی شده با سمیت کمتر به ترتیب نزولی عبارتند از:

۱. Pyoctamin 10%

۲. Chloramphenicol 10%

۳. Tetracyclin و Penicillin با اثر درمانی ۱۰۰٪ و میزان موفقیت موفقیت به ترتیب ۵۵٪، ۴۴٪، ۳۵٪

و ۲۲٪ را داشتند. چهار دارو از نه داروی آزمایش شده بر درختان همان ارقام در مرحله باردهی طی دو سال، بر اساس متغیرهای رقم و سیستمیک بودن دارو، دامنه واکنش وسیعی در قابلیت انتقال مشاهده شد. برای مثال در آخرین تیمار ۱.۱٪ Topsin M، ۰.۰۷۶٪ Derosal، ۰.۱٪ Benlate و در نهایت ۰.۲٪ Kasumin در ۱۶ واریانت شدت بیماری کاهش نیافت بلکه موجب افزایش میزان خسارت در گیاه میزبان گردید.

احداث اولین باغ‌های کنترل ویروس سیب در کشور



# هرس جوان سازی درخت سیب



PTMP/SK/R&D/A/ Apple tree rejuvenation pruning03 /13022023

تعاونی پترو تمدن مهام پارس

در الگوی جدید واردات ژرم پلاس، قبل از سفارش ترکیب‌های پایه پیوندی درخواستی، تعداد نهال از هر ترکیب پیوندی و مناطق مختلف آزمایشات سازگاری به صورت هدفمند مشخص شد. در یک پروژه ملی از ۲۰ ترکیب پایه پیوندی، همواره ترکیب نهال شاهد پایه-رقم گلدن دلشز بر پایه بذری همسال انتخاب شد. پایه‌های رویشی جدید سالم کنترل و ویروس برای همه مناطق اختصاص یافت. سال ۱۳۸۴، پس از دریافت نهال‌های ترکیب‌های پیوندی کنترل و ویروس یک ساله تامین شده در حد قابل قبول در چهار استان البرز، اصفهان، خراسان رضوی و آذربایجان غربی توزیع شد. در شرایطی که تحقیقات و تاسیسات سالم‌سازی ابتدایی در کشور پا نگرفته بود، برای اولین بار دسترسی محدود به هسته‌های اولیه عاری از ویروس ترکیب‌های پیوندی تجاری سیب میسر شد. ویژگی‌های نهال با ذکر نام رقم-پایه رویشی و سطح سلامت گیاهان از آلودگی‌های ویروسی توسط برچسب‌های آبی و سفید رنگ الحاقی همراه با گواهی سلامت عاری از ویروس‌های مهم مورد نظر از سوی مؤسسه تحقیقات میوه کاری رم ارائه شد. به این ترتیب، همزمان ۵۸۰ اصله از رقم پایه‌های رویشی (Cultivar rootstock) مالینگ و مالینگ مرتون عاری از ویروس MM106, M9, MM111, M26 با اهداف تحقیقات کاربردی پس از قرنطینه احداث کلکسیون پایه، تشکیل هسته‌های اولیه، باغ مادری پایه سالم با احداث خزانه تکثیر عاری از ویروس بین چهار استان توزیع شد. زمستان ۱۳۸۴، چهار باغ تحقیقاتی عاری از ویروس در مناطق ایزوله استان‌های هدف احداث شد. تحقیقات سازگاری منطقه‌ای ارقام در قالب طرح ملی کلید خورد. صفات رویشی و نیز بررسی تجانس (Graft affinity) هر یک از ارقام بر پایه‌های کلونی انتخابی همراه با مقایسه با گیاهان هم‌سال آلوده (شاهد) انجام پذیرفت. در پایان ارقام فوجی کیکو، گالاشنیگا، ردچیف و جوناگلد معرفی شدند. متأسفانه آمار دقیقی در خصوص نهال‌های آلوده در کشور و شیوع آلودگی‌های ویروسی در دست نیست. به احتمال زیاد یکی از دلایل عمده میانگین عملکرد در واحد سطح پایین باغ‌های سیب کشور به دلیل عدم سلامت نهال و نیز نبود علائم ویروسی بویژه در سنین جوانی نهال می‌باشد. طی دو دهه اخیر تحقیقات وسیعی بر تاثیر سلامت نهال بر کیفیت و کمیت محصول و صفات رویشی درختان سیب صورت گرفته است که در ذیل به آن اشاره خواهد شد.

## ارزیابی عملکرد درختان کنترل و ویروس و آلوده

و سلامت منطقه به علت عدم کاشت درخت‌های میوه قبل از احداث سیب بود. نتایج بررسی‌های سه ساله در باغ آزمایشی کنترل و ویروس ایستگاه مشکین آباد در مقایسه با درختان آلوده به ویروس باغ تحقیقاتی کمال‌شهر نشان داد درخت‌های آلوده توانایی تبدیل گل به میوه کمتری نسبت به درخت‌های سالم دارند. در مجموع،



# هرس جوان سازی درخت سیب



PTMP/SK/R&D/A/ Apple tree rejuvenation pruning03 /13022023

آلودگی‌های ویروسی باعث کاهش قدرت رشد، عملکرد و حتی زوال درخت‌های آلوده شدند. هرچند در تعداد زیادی از تلفیق‌های ویروس- میزبان سرعت تنفس افزایش می‌یابد ولی بافت‌های میزبان نکروزه نمی‌شوند. ممکن است این وضعیت قبل از ظاهر شدن علائم ویروسی ایجاد شود و پس از توسعه بیماری ادامه یابد. سطح تنفس گیاهان در آلودگی‌های مزمن اغلب کمتر از مقدار طبیعی است. در نتیجه درخت‌های آلوده توانایی کمتری در تشکیل میوه نسبت به درخت‌های سالم دارند. نتیجه پژوهش‌های انجام شده در کرج، ارومیه و سمیرم نشان داد عامل‌های ویروسی بر ویژگی‌های وزن میوه، تعداد عدسک، طول دم میوه، طول میوه، نسبت طول به قطر میوه و نیز ویژگی عملکردی درصد میوه‌بندی درخت‌های آلوده تاثیر منفی داشت. هر گونه کاهش در سطح فتوسنتز به احتمال موجب بروز اختلال‌های متفاوت فیزیکی و شیمیایی می‌گردد. بر اساس نتیجه‌های پژوهش‌های مختلف در سطح جهان، با افزایش سن درخت‌های آلوده و افزایش غلظت ویروس‌ها در اندام‌های رویشی، به ویژه در برگ‌ها به عنوان واحدهای فتوسنتزی، کاهش کیفیت میوه از دیدگاه ویژگی‌های ظاهری، شکل، اندازه، شدت رنگ رویی و ارزش غذایی نیز سرعت می‌یابد. به نظر می‌رسد افزایش سرعت زوال و کوتاهی عمر درخت‌ها به دلیل کاهش سطح فتوسنتز با توجه به شکل تخریبی ویروس‌ها در انحراف تولید زیستی طبیعی آمینواسیدها و عدم تشکیل پروتئین‌های مورد نیاز در گیاه میزبان باشد. پژوهش‌های مقایسه‌ای بین درختان سالم و آلوده در کرج نشان داد پس از ریزش‌های سه گانه درصد میوه‌بندی و قدرت حفظ میوه با افزایش تعداد ویروس‌های مهم کاهش یافت. با توجه به نتیجه‌های پژوهش‌های بومی در خصوص کاهش درصد میوه‌بندی و عملکرد گیاهان آلوده می‌توان اذعان داشت علیرغم وجود ساعت‌های آفتابی زیاد، سطح تشعشع بالا و رطوبت نسبی پایین شرایط اقلیمی مطلوبی در مناطق عمده تولید سیب کشور، آلودگی‌های ویروسی یکی از عامل‌های مؤثر در پایین بودن سطح عملکرد در واحد سطح سیب بشمار می‌رود. بیمارگرهای ویروسی به راحتی هم از طریق ابزارهای باغبانی، پیوند و نیز توسط ناقل‌هایی چون قارچ‌ها، حشرات مکنده و یا نماتدها انتقال می‌یابند و درون گیاه از سلول به سلول منتقل می‌شوند. رعایت استانداردهای لازم در خصوص حفظ فاصله باغ‌های مادری سالم برای حفاظت از مواد گیاهی عاری از ویروس ضرورت دارد.

منبع

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

