



جمهوری اسلامی ایران

وزارت جهاد کشاورزی  
سازمان ترویج آموزش و تحقیقات کشاورزی  
مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر  
بخش تحقیقات باغبانی

## اصلاح سیب



تالیف: جولز جنیک، جیمز ان. کومیس، سوزان کی. براون و مینو همت

ترجمه: علی ایمانی، داریوش آتشکار و رعنا دستجردی

اعضاء هیات علمی بخش تحقیقات باغبانی، مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر

تابستان ۱۳۸۷

عنوان : اصلاح سیب

نویسنده : Jules Janick., James. N Cummis., Susan K. Brown and Minou Hemmat

مترجمین: علی ایمانی، داریوش آتشکار و رعنا دستجردی

در صورتی که اثر ترجمه باشد لطفاً عنوان و مشخصات کامل

گردآورنده :

ناظر :

ویراستار : حسن حاج نجاری

در صورت تجدید چاپ لطفاً تاریخ انتشار چاپ های

چاپ: اول

ویرایش: اول

محل نشر:

نام ناشر: دفتر انتقال یافته های موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر

تاریخ نشر: ۱۳۸۷

تعداد صفحات : ۸۱ صفحه

تیراژ: ۱۰ نسخه

زبان متن : فارسی

لطفاً موضوع کتاب یا نشریه خود را حدود ۵۰ کلمه

موضوع :

ایران یکی از کشورهای عمده پرورش دهنده سیب در دنیا به شمار رفته و دارای ذخایر ارزشمندی از ژرم پلاسما سیب می باشد. استفاده از این سرمایه ملی در قالب برنامه های اصلاحی سیب امکان پذیر است. نشریه پیوست دارای مطالب سودمندی در رابطه با اصلاح سیب شامل موضوعات جدید در اصلاح، فنون به نژادی، بیوتکنولوژی، سیستم های اصلاحی، استراتژی اصلاح، اصلاح برای صفات ویژه، اصلاح در رابطه با بیماری های سیب و اصلاح پایه بوده و به بیان اهداف و راهکارهای مهم در اصلاح سیب اشاره می نماید.

نوع :

نشریه ادواری

نشریه ×

کتاب

---

نام نشریه: اصلاح سیب

نویسنده (گان): Jules Janick., James. N Cummis., Susan K. Brown and Minou Hemmat

مترجمین: علی ایمانی، داریوش آتشکار و رعنا دستجردی

ویراستار: حسن حاج نجاری

ناشر: موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر- دفتر انتقال یافته ها

سال انتشار: تابستان ۱۳۸۷

تعداد صفحات: ۸۱

تیراژ: ۱۰۰ نسخه

این نشریه به تأیید کمیته انتشارات موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر رسیده و تحت شماره .....۸۷/۸۸۲ مورخ ۱۳۸۷/۶/۳۰... در مرکز اطلاعات و مدارک علمی کشاورزی به ثبت رسیده است.

## فهرست مطالب

صفحه	عنوان
۶	پیشگفتار مترجمین
۷	مقدمه
۸	منشاء و گسترش اولیه
۱۱	هدفهای اصلاحی جدید در اصلاح سیب
۱۴	افزایش بازار پسندی
۱۷	کاهش هزینه های تولید
۱۸	تکنیک های اصلاح
۱۸	گرده افشانی و جمع آوری گرده
۱۹	اخته سازی
۲۰	دورگ گیری
۲۰	آماده سازی بذر
۲۱	نونهایی
۲۲	گزینش دانهال
۲۳	گزینش اولیه
۲۴	ارزیابی میوه
۲۵	یادداشت برداری ها
۲۵	موتاسیون ها و شیمرها
۲۷	بیوتکنولوژی
۲۷	ریز ازدیادی
۲۸	جنین زائی رویشی ( غیر جنسی)
۲۸	نجات جنین
۲۸	کشت پرتوپلاست
۲۸	باززائی
۲۹	مارکرهای مولکولی
۳۱	انتقال ژن
۳۲	سیستم های اصلاح
۳۵	عقیمی و خودناسازگاری
۳۶	هاپومیکیسی
۳۸	پارتنوکاری
۳۹	خویشتن آمیزی
۴۰	دگر آمیزی و تلاقی برگشتی
۴۰	صفات مونوژنی
۴۱	صفات پلی ژنی
۴۲	ترکیب والدین
۴۲	سهم والدین
۴۴	استراتژی اصلاح

۴۵	اصلاح برای صفات ویژه
۴۵	قدرت رشد
۴۷	مقاومت به سرما
۴۸	نیاز سرمایی
۴۹	فصل گلدهی
۴۹	طول دوره نونهالی
۵۰	تیپ های اسپور
۵۱	اندازه میوه
۵۲	شکل میوه
۵۳	زمان رسیدن
۵۳	رنگ میوه
۵۵	زنگار
۵۶	رنگ گوشت
۵۶	اکسیده شدن گوشت
۵۷	بافت گوشت
۵۷	طعم میوه
۵۸	ناهنجاری های میوه
۵۹	مقاومت در برابر بیماری ها
۶۰	لکه سیاه سیب
۶۳	سفیدک پودری سیب
۶۴	شانکر درختان میوه
۶۴	آتشک درختان سیب
۶۵	پوسیدگی طوقه
۶۶	زنگ سیب
۶۷	بلاچ سیب
۶۷	بلاچ برگ
۶۷	پوسیدگی انباری
۶۷	بیماری های ویروسی
۶۸	مقاومت در برابر آفات
۶۹	اصلاح پایه ها
۷۲	دستاوردها و انتظارات
۷۴	منابع

## پیشگفتار مترجمین

تولیدات باغبانی به صورت عام و پرورش محصولات دانه دار به صورت خاص نقش ویژه ای در تغذیه و نیز اقتصاد کشورها ایفا می کنند. پس از انقلاب اسلامی با احداث باغات سیب و افزایش سطح زیر کشت و به دنبال آن تولید ۲/۵ میلیون تن محصول سیب، کشور جمهوری اسلامی ایران در سال ۱۳۸۲ موفق به کسب جایگاه پنجم تولید کننده سیب در سطح جهان گردید.

امروزه شاهد پیشرفت صنعت سیب کاری در دنیا هستیم. این پیشرفت مدیون فراهم آوردن نهاده ها، تجهیزات و امکانات لازم از نظر شرایط پرورش و استفاده از فنون نوین باغبانی به ویژه توجه به اصلاح ژنتیکی سیب برای بهبود صنعت سیب کاری می باشد. همان گونه که اشاره شد یکی از راه های پیشرفت و افزایش کم و کیفی تولید در پرورش سیب، تولید ارقام مناسب در قالب انجام برنامه های هدفمند به نژادی است. امروزه تولید ارقام جدید در جهان همواره غالباً با بهره گیری از روش های کلاسیک اصلاح ژنتیکی صورت گرفته که منجر به معرفی ارقام با عملکرد بیشتر و بهبود کیفیت از نظر صفات مطلوب (زمان گلدهی، زمان رسیدن، کیفیت میوه، عادت رشد) در رقم و ارتقاء کیفیت پایه های رویشی (کنترل رشد تاج، مقاومت به تنش های غیرزنده سرما، خشکی، بافت خاک و کیفیت آب، و مقاومت در برابر آفات و بیماری ها) می گردد. تکنیک دورگ گیری کنترل شده ادامه یافت، به طوری که این روش هم اکنون اساس برنامه های اصلاح سیب را تشکیل می دهد. از سوی دیگر روش های نوین اصلاحی نیز مانند جهش زایی به روش های شیمیایی، پرتوتابی و ایجاد تنوع ساختمانی از طریق کشت بافت با تولید سلول های جهش یافته، آمزاج پرتوپلاست، کشت و نجات جنین های دورگ و انتخابی، انتقال ژن، انتخاب و همگروه سازی ژنوتیپ های برتر در کنار روش های کلاسیک اصلاح ژنتیکی دنبال می شوند.

در این رابطه نشریه موجود یکی از مفیدترین منابع در زمینه به نژادی سیب از جنبه های مختلف نظیر نحوه انتخاب ارقام (دیرگل، خودگشن، مقاوم به آفات و بیماری ها، سازگار به شرایط محیطی، مقاوم به سرما و سایر تنش ها) بشمار می رود. اهمیت ویژه این نشریه از آنجا ناشی می شود که مطالب نگاشته شده آن در راستای حل مشکلات و معضلات موجود در سیستم تحقیقاتی سیب بوده و می تواند گام مثبتی در جهت بهبود اصلاح سیب در کشور باشد. امید است که کوشش در برگردان این اثر، مفید واقع شده و نشریه مذکور بتواند مورد استفاده محققان، دانشجویان و علاقمندان دانش سیب کاری قرار گیرد.

## مقدمه

سیب از مهم ترین میوه‌های معتدله است که کشت و پرورش آن از دیرباز در مناطق اروپا و آسیا متداول بوده است. سیب برای رومی‌ها و یونانی‌ها محصول شناخته شده ای بوده به گونه ای که تئوفراستوس ۲۳۰۰ سال پیش، قرن سوم قبل از میلاد، در کتاب خود از آن نام برده است. در حال حاضر سیب به دلیل قدرت سازگاری بالا و تنوع ژنتیکی فراوان تقریباً در مناطق مختلف جهان پراکنده شده است. همین موضوع سبب شده تا محققین با انتخاب و گزینش ارقام سازگار برای هر منطقه، درصدد توسعه کشت این محصول در نواحی مختلف باشند. این گزینش‌ها برای توسعه کشت سیب چه به نواحی سرد تر و چه مناطق گرم تر همچنان ادامه دارد. هم‌اکنون باغ‌های سیب در مناطقی نظیر سیبری و شمال چین که درجه حرارت در زمستان گاه به ۴۰- درجه سانتیگراد نیز می‌رسد و نیز در ارتفاعات بالا و همچنین در کلمبیا و اندونزی واقع در خط استوا جایی که امکان تولید دو محصول طی یک سال را دارند، گسترش یافته‌اند (Janick, 1974). طبق آمار نامه F.A.O در سال ۱۹۹۵ میلادی، تولید جهانی سیب به مرز ۴۹ میلیون تن رسیده است. به این ترتیب سیب از نظر تولید جهانی پس از مرکبات (۸۵ میلیون تن)، انگور (۵۶ میلیون تن) و موز (۵۳ میلیون تن) رتبه چهارم را دارا می‌باشد. کشورهای عمده تولید کننده سیب به تفکیک قاره در جدول ۱ نشان داده شده‌اند.

سیب یک محصول پرمصرف است که به صور مختلف تازه خوری و بلافاصله پس از برداشت، یا پس از انبارمانی در تمام طول سال و نیز فرآوری شده (سس، آب سیب، برگه، ژله، مربا، کنسرو و غیره) مصرف می‌شود. علاوه بر این گوشت سیب به عنوان منبع پکتین برای تهیه شیرینی، کیک، کلوچه و پای کاربرد دارد (Dowining, 1989). سیب به عنوان سمبل سلامت انسان شناخته شده، به طوری که در مثل آمده است خوردن یک سیب در روز انسان را از پزشک بی‌نیاز می‌کند و در مثال دیگری از سیب به عنوان سمبل خوبی‌ها یاد شده است. برخی ارقام سیب (Crabs) را به دلیل دارا بودن گل، شاخ و برگ و میوه جذابشان پرورش داده و امروزه از متداول ترین درختان زینتی بشمار می‌روند. در حالی که در گذشته کشت و استفاده از ارقام بومی متداول بود و باغداران در هر منطقه برای خود از ارقام محلی مشخصی استفاده می‌کردند ولی امروزه با گسترش شبکه‌های تولید و حمل و نقل و همچنین نیاز به عملکرد و کیفیت بالا، تعداد معدودی از ارقام غالب تجارتي در مناطق عمده سیب کاری مورد استفاده قرار می‌گیرند. برای مثال، از رایج ترین ارقامی که تاکنون به طور گسترده کشت شده‌اند می‌توان به 'گلدن دلشیز'، 'دلشیز' و موتانت های سرخ آن که هر دو از دانه‌های تصادفی با منشاء آمریکایی هستند، اشاره کرد. رقم شناخته شده 'گلدن دلشیز' به طور گسترده و موفقیت آمیز در برنامه‌های اصلاحی مورد استفاده قرار گرفته و هیبریدهای حاصل از آن به عنوان ارقام جدید، صنعت سیب کاری را متحول کرده‌اند.

با توجه به تکثیر غیر جنسی و طول عمر زیاد درختان سیب، ارقام شناخته شده آن از صدها سال قبل تاکنون بدون تغییر پرورش داده می‌شوند. کلکسیون‌ها به عنوان منابع بزرگ ژرم پلاسم جهانی، موزه‌های زنده‌ای هستند که گسترش و اهمیت سیب را نشان داده و دربرگیرنده منابع وسیعی از ژن‌های مطلوب هستند. از نظر تاریخی کلکسیون سیب برای اولین بار در ایتالیا ایجاد گردید. اگر چه اصلاحگران، ارقام قدیمی را به دلیل داشتن میوه نامطلوب نسبت به ارقام جدید، کمتر مورد استفاده قرار می‌دهند، ولی این ارقام هنوز به عنوان بانک ژن زنده و ارزنده در دسترس هستند. در سال‌های اخیر ارقام تجارتي در اکثر برنامه‌های اصلاحی اغلب به عنوان والد مورد استفاده قرار گرفته‌اند. انتقال صفات جدید به ارقام تجاری و ارقام پایه به کمک روش دورگ‌گیری درون گونه‌ای صورت می‌گیرد، ولی انجام آن به مراحل اصلاحی بلند مدت نیاز دارد. وقوع پیشرفت‌های جدید در بیوتکنولوژی گیاهی و امکان انتقال ژن تقریباً از هر منبعی به درختان سیب زمینه‌ساز برای از بین بردن انواع محدودیت‌های زمانی و محیطی فراهم شده است.

جدول ۱- تولید جهانی سیب ۱۹۹۴ (منبع: فائو ۱۹۹۵)

کشورهای عمده تولیدکننده سیب	تولید (میلیون تن)	کشورهای عمده تولید کننده سیب	تولید (میلیون تن)
آسیا	۲۰/۴	آمریکای شمالی	۶
چین	۱۲	ایالات متحده امریکا	۴/۹
ایران	۱/۶	مکزیک	۰/۵
هند	۱/۲	کانادا	۰/۵
ژاپن	۱	آمریکای جنوبی	۲/۷
اروپا	۱۳/۲	آرژانتین	۱
فرانسه	۲/۲	برزیل	۰/۸
ایتالیا	۲/۲	آفریقا	۱/۳
روسیه	۱/۷	آفریقای جنوبی	۰/۶
رومانی	۱/۴	مصر	۰/۳
لهستان	۱/۴	مراکش	۰/۳
آلمان	۰/۹	اقیانوسیه	۰/۹
اسپانیا	۰/۷	نیوزلند	۰/۵
مجارستان	۰/۷	استرالیا	۰/۳
هند	۰/۷		

### منشا اولیه سیب و انتشار آن در جهان

سیب به همراه اکثر میوه های معتدله نظیر گلابی، آلو، هلو، زردآلو، گیلاس، توت فرنگی، تمشک و سیاه توت به خانواده گلسرخیان (*Rosaceae*) تعلق دارد. سیب، گلابی، به، زبان گنجشک کوهی و برخی جنس های غیر مشهور در زیر خانواده (*pomoidea*) تحت عنوان میوه های دانه دار طبقه بندی می شوند. یکی از مشخصات عمده این زیر خانواده داشتن مادگی ۲ تا ۵ برچه ای است که توسط یک پوشش گوشتی احاطه شده است. بر اساس یافته های محققین، جنس (*Malus*) دارای ۲۵ تا ۳۰ گونه و چندین زیر گونه است که به نام سیب های زینتی شهرت دارند. بسیاری از این ارقام فقط به دلیل برخورداری از گل های متراکم و میوه های زینتی شان کشت می شوند (جدول ۲).

به علت خود ناسازگاری رایج در سیب، اکثر گونه ها در باغ ها، باغ های گیاهشناسی و نیز کلکسیون های که دارای جنس مالوس هستند با هم تلاقی پیدا کرده و درختان حاصل از تلاقی آنها تقریباً همیشه به عنوان هیبریدهای بین گونه ای و بین رقمی محسوب می گردند. بنابراین اطمینان کردن به اسامی داده شده به این گروه از دورگ های به دست آمده از تلاقی آزاد بسیار مشکل است. سیب کاشته شده فعلی احتمالاً ناشی از تلاقی درون گونه ای است که درحال حاضر نام دو قسمتی *Malus × domestica* به عنوان نام علمی مناسب برای سیب پذیرفته شده است (Korban and Skirvin, 1984).

در خصوص شجره و منشاء سیب به نظر می رسد که جد اصلی آن *Malus sieversii* است که به صورت وحشی از کوه های هیونلی (تیان شان) واقع در خط مرزی غرب چین و شوروی سابق منشاء گرفته و تا حاشیه دریای خزر پراکنده شده است (Morgan and Richards, 1993). این گونه دارای تنوع زیادی است و درختان وحشی آن با میوه هایی متفاوت از نظر رنگ و طعم در مناطق مختلف گسترش یافته است. قزاقستان و سایر کشورهای آسیای مرکزی بویژه اطراف آلماتا به عنوان محل پیدایش اولین والد های سیب در جهان شناخته شده و اصلی ترین مرکز پیدایش گونه سیب و بزرگترین منطقه تنوع سیب در دنیا بشمار می روند.

تحقیقات انجام شده جهت جمع آوری ژرم پلاسما سیب از منطقه مذکور نشان داد که *M. sieversii* دارای تنوع بسیار زیادی بوده و در عین حال کلیه خصوصیات موجود در *M. domestica* را نیز در بردارد (Forsline et al., 1994, Forsline, 1995) و اولیوف (۱۹۳۰) در حین کاوش ها و مطالعات خود در جنگل های قفقاز و ترکمنستان، به انواع سیب های وحشی دست یافت که دارای میوه های متفاوت از نظر اندازه بوده و برخی از آن ها از نظر کیفیت بسیار خوب بودند.

از گونه هایی که در ساختار ژنتیکی اولیه سیب (*M. domestica*) نقش داشته اند می توان به *M. orientalis* اشاره کرد. این گونه دارای میوه های دیررس با طعم تلخ است. گونه *M. sylvestris* یا سیب زینتی اروپائی میوه هایی با رنگ زمینه سبز مایل به زرد و اندازه کوچک با طعم گس دارد. هر دو گونه فوق، *M. orientalis* و *M. sylvestris* در منطقه وسیعی از انگلستان تا بالکان و شمال ترکیه گسترش یافته اند. تعدادی از گونه های سیب در منطقه شرق آسیا وجود دارند که از بین آن ها می توان به *M. Baccata* (سیب کوچک و مقاوم سیبری)، *M. mandshurica* (سیب زینتی منچورین) و *M. prunifolia* (سیب زینتی چینی) نام برد. فهرستی از بخش های گیاه شناسی (*Malus (sections)*) مربوط به گونه های اولیه و گونه های هیبرید سیب در جدول (۲) ارائه شده است.

به نظر می رسد که کشت و کار سیب برای اولین بار توسط یونانی ها و رومی ها انجام گرفته و در نتیجه سفرها و تهاجمات نظامی آنان، به سایر قسمت های اروپا و آسیا گسترش یافته است. در قرون وسطی احداث، توسعه و کشت و کار های بعدی باغات در اطراف صومعه ها متمرکز شد. ارقام سیب در زمان های خیلی دور گزینش و ازدیاد شده اند، زیرا تمدن های پیشین، حداقل ۲۰۰۰ سال قبل، فنون پیوند را می شناخته اند. در اواخر قرن سیزدهم، ارقام زیادی با نام های مشخص مانند 'پیرمین' و 'کوستارد'<sup>۱</sup> شناخته می شدند. تاریخچه و ادبیات سیب اخیراً در کتاب سیب تالیف A. Richards و Morgan J. (1993) و ارائه شده است.

تا نیمه دوم قرن بیستم اکثر ارقام سیب دنیا، فقط ارقام بذری بودند که گزینش آن ها به صورت تصادفی توسط باغداران انجام گرفته بود، در حالی که هم اکنون بیش از ۱۰/۰۰۰ رقم سیب به صورت رسمی ثبت شده است، اما فقط تعداد کمی از آن ها، حدود ۴۰ رقم، در مقیاس تجارتي در سراسر دنیا کشت می شوند (Way et al., 1990). در سال ۱۹۸۳، بهترین ارقام شناخته شده سیب در دنیا، دانهال های تصادفی یافت شده با منشأ آمریکای شمالی بودند که در قرون ۱۸ و ۱۹ معرفی شده بودند. از جمله این ارقام می توان به 'گلدن دلشیز'<sup>۲</sup> (۶/۳ میلیون تن، منشأ آمریکا)، 'دلشیز'<sup>۳</sup> (۳ میلیون تن منشأ آمریکا)، 'کوکس اورنج پین'<sup>۴</sup> (۱/۷ میلیون تن، منشأ انگلیس)، 'رم بیوتی'<sup>۵</sup> (۰/۸ میلیون تن، منشأ آمریکا)، 'بل دوبوسکوپ'<sup>۶</sup> (۰/۷ میلیون تن، منشأ هلند)، 'گرانی اسمیت'<sup>۷</sup> (۰/۶ میلیون تن، منشأ استرالیا)، 'جوناتان'<sup>۸</sup> (۰/۵ میلیون تن، منشأ آمریکا)، 'رینت دو کانادا' (۰/۴ میلیون تن، منشأ فرانسه)، 'مک اینتاش' (۰/۳ میلیون تن، منشأ کانادا) و 'ورچستر پیرمین' (۰/۳ میلیون تن، منشأ انگلیس) اشاره کرد. ورود و کشت سیب در آمریکا ابتدا به صورت بذر بوده است، بعد ها نیز پس از کاشت بذور باقیمانده از صنایع سیب ده ها میلیون دانهال توسط باغداران پرورش و تحت ارزیابی قرار گرفتند.

ارزیابی این دانهال ها مهم ترین موفقیت میوه کاری ایالات متحده در قرن نوزدهم و اوایل قرن بیستم بود. سیب 'دلشیز' (کشف شده در آیوا در سال ۱۸۷۲) هنوز هم رقم غالب کشت شده در ایالات متحده است. رقم

1 - pearmain

2- Costard

3 - Cox' orange pipin

4 - Rom beauty

5 - Belle de beskoope

6 -Granny smith

7 -Jonathan

گلدن دلیشنز (یافت شده در غرب ویرجین در سال ۱۹۰۵) بیشترین سطح زیر کشت را به خود اختصاص داده است. از سایر ارقام تجارتي رایج در نواحی تولید سیب می‌توان به 'مک اینتاش' در شمال شرق ایالات متحده و شرق کانادا، 'جوناتان' در ناحیه Midwest، 'یورک امپریال' در دره Shenandoah، 'گرانی اسمیت' در استرالیا، 'کوکس اورنج پیپین' در انگلیس و 'بل دوبوسکوپ' در هلند اشاره کرد.

به نژادی کنترل شده سیب توسط Thomas A. Kinaht (۱۸۳۸-۱۷۵۹) شروع شد. او برای اولین بار ارقامی تولید کرد که دارای والدین مشخص بودند. پس از آن تکنیک دورگ گیری کنترل شده ادامه یافت، به طوری که این روش هم اکنون اساس برنامه های اصلاح سیب را تشکیل می‌دهد. قابل ذکر است که این برنامه در مقایسه با سایر درختان میوه موفق نبوده است. توجه به کارهای اصلاحی انجام شده در گذشته مویب آن است که عدم موفقیت در این امر بیشتر به دلیل ضعف در انتخاب والدین بوده است. در نیمه اول قرن بیستم در امریکا فقط تعداد کمی از ارقام مهم مانند 'کورتلند'، 'بن دیویس' × 'مک اینتاش' و 'آیدارد' ('واگنر' × 'جوناتان') از دورگ گیری کنترل شده به دست آمدند. علیرغم وجود این مشکلات در روش دورگ گیری کنترل شده، صدها دانهال به همین روش تولید و نام گذاری شده و در طی ۲۵ سال گذشته روش تولید دانهال های حاصل از دورگ گیری جایگاه مهمی در تولید جهانی سیب یافته است. برخی ارقام به دست آمده از روش دورگ گیری کنترل شده شامل 'الستار'، 'گالا'، 'جوناکلد'، 'موتسو' و 'پینک لیدی' (کلاً دانهال های 'گلدن دلیشنز' و 'امپایر' و 'فوجی' (دانهال های 'دلیشنز') هستند. از میان ۲۵ رقم حاصل از تلاقی های انجام شده در ژاپن نیز ۹ مورد (۳۶٪) از دانهال های 'گلدن دلیشنز' هستند (Bessho et al, 1993). رقم برابر<sup>۱</sup> جدیدترین رقم نیوزیلند حاصل از یک دانهال تصادفی است. انتقال ژن مقاومت به قارچ عامل لکه سیاه سیب *Venturia inaequalis* به ارقام تجارتي با گرفتن ژن VF از گونه سیب *M. floribunda 821*، نشان دهنده ظرفیت تلاقی های بین گونه ای در انتقال ژن های جدید است (Crosby et al., 1992). همچنین استفاده از موتانت های طبیعی سیب (جهش های جوانه‌ای) در ارقام موجود را می‌توان یکی از فنون مهم در اصلاح سیب برشمرد. بیشتر موتانت های انتخاب شده بر اساس جهش در جهت بهبود رنگ بوده اند. در عین حال جهش هایی که عادت میوه دهی درختان را به فرم متراکم (اسپور) تغییر دهند در ارقام 'دلیشنز' و 'گلدن دلیشنز' بسیار مهم قلمداد شده اند. فن آوری جدید انتقال ژن امیدواری هایی را برای اصلاح سیب در آینده فراهم کرده است. با استفاده از این فنون می‌توان ژن های مقاوم به آفات و بیماری ها را در یک مرحله به ارقام سیب انتقال داد. هم اکنون برخی از موارد انتقال ژن به سیب در مرحله آزمایشی هستند.

### هدف های اصلاحی جدید در سیب

درخت سیب به عنوان گیاهی مرکب از پایه و پیوندک و گاه از یک بخش سوم به نام میان پایه، که هر یک از نظر ساختار ژنتیکی متفاوت هستند، تشکیل می‌شود. در این شرایط اصلاح ژنتیکی به هر دو قسمت پایه و پیوندک تعمیم می‌یابد. در دهه ۱۹۸۰ تلاش در خصوص کشت درختان بدست آمده از قلمه های ریشه دار شده سیب آغاز شد. این گونه مواد گیاهی را می‌توان با استفاده از روش ریز ازدیادی به صورت تجارتي تولید کرد. خسارت استفاده از تنظیم کننده های رشد برای کنترل رشد درختان خود ریشه دار (بدون استفاده از پایه)، گرایش به استفاده از این گونه نهال ها را از بین برد، اما استفاده از این نوع مواد گیاهی در مورد باغات متراکم همچنان جذاب باقی مانده است. متأسفانه برخی از مشکلات مربوط به پایه از جمله عوامل تضعیف کننده در صنعت سیب محسوب می‌شوند. به عنوان مثال بروز بیماری آتشک در پایه رویشی M26 یا از بین رفتن درختان روی پایه رویشی مارک (Mark) در مناطق مختلف تولید سیب در ایالت متحده، یک مشکل اقتصادی جدی را به وجود

آورد. علیرغم این مشکل، موج جدیدی از انواع پایه های رویشی معرفی شده که قادر به استقرار و رشد در دامنه‌ای وسیع از شرایط محیطی بودند توانستند با القاء زود باردهی، تولید و کیفیت میوه خوب در ارقام پیوندی، دربخش گسترده ای از دنیا مطرح شده و مورد استفاده قرار گیرند. در بسیاری از نواحی جنوب اروپا تمایل بسیار زیادی برای استفاده از پایه رویشی M9 وجود دارد. با این حال برخی عقیده دارند هنوز درختانی با اندازه کمی کوچک تر و با پا کوتاهی بیشتر نسبت به M9 مطلوب ترند. به علت عمر طولانی باغات استاندارد، هر ساله فقط ۳٪ از درختان بارور جایگزین می‌شوند. بنابراین تقاضای رقم در صنعت سیب کاری به تدریج تغییر یافته است. شواهد نشان می‌دهد که وقوع تغییرات ناگهانی در استفاده از ارقام فعلی تحت کشت امکان پذیر است. برای مثال ۲۶٪ از کل ارقام کاشته شده در ایالت واشنگتن در سال ۱۹۹۲، به رقم فوجی اختصاص یافت. اگر چه تولید کنندگان سیب تمایل به حفظ شرایط موجود داشته و سعی می‌کنند که تعداد ارقام از ۱۲ رقم تجاوز نکند، اما جذابیت ارقام جدید برای تولید کنندگان نهال بسیار جدی است، زیرا این ارقام دارای میوه هایی با بازارپسندی بالا بوده و خریداران حاضر به پرداخت قیمت بیشتری برای آن هستند. این وضعیت مخصوصاً هنگامی که در بازار مصرف محدودیت ارقام وجود داشته باشد بیشتر به چشم می‌خورد. خزانه داران به عنوان فروشندگان نهال به طور دایم جویای سود بیشتر هستند و این سود را با کنترل منابعی از ارقام و موتانت های جدید مشتق از ارقام قدیمی به دست می‌آورند. هدف از اصلاح ژنتیکی، افزایش بازار پسندی میوه یا تولید گیاه زینتی جدید و نیز معرفی ارقام جدیدی است که هزینه تولید را کاهش دهند.

جدول ۲- بخش‌ها (Sections) و گونه‌های عمده *Malus*

بخش‌ها	n	آپومیکیسی	اندازه قطر میوه (cm)	کاسگل (calyx)	تعداد برچه	قدرت انبارمانی
(۱) بخش						
زیر بخش (۱-۱) <i>Pumilae</i>						
سری (۱-۱-۱) <i>Pumilae</i>						
<i>M. asiatica</i> Nakai	34	NO	>2	P	5	NO
<i>M. domestica</i> Borkh.	34,51,68	NO	>2	P	5	NO
<i>M. micromalus</i> Makino	34	NO	1	D	-	-
<i>M. orientalis</i> Uglitzk. Ex Juz.	-	-	-	-	-	-
<i>M. prunifolia</i> (willd) Borkh.	34	NO	>2	P	5	YES
<i>M. pumila</i> Miller	34	NO	>2	P	5	NO
<i>M. sieversii</i> (Lodeb) M. Roemer	-	-	>2	P	5	NO
<i>M. spectabilis</i> (Aiton) Borkh	34,68	NO	>2	P	5	YES
<i>M. sylvestris</i> Miller	34	NO	>2	P	5	NO
سری (۱-۱-۲) <i>Baccatae</i>						
<i>M. Baccata</i> (L) Borkh	34,68	NO	2	P	5	YES
<i>M. floribunda</i> (Siebold)	34	NO	1	D	4,5	YES
Ex. Van Houte						
<i>M. halliana</i> Koehne	34	NO	1	D	3,4,5	YES
<i>M. hupehensis</i> (Pampan) Rehder	51	YES	1	D	3,4	YES
<i>M. mandshurica</i> (Maxim)	34	NO	1	D	5	YES
<i>V. Komarov</i>						
<i>M. sikkimensis</i> (Wenzig)	51	YES	1	D	4,5	YES
Koekne ex C. Schneider						
زیر بخش (۱-۲) <i>Sieboldiana</i>						
<i>M. sarhentii</i> Rehder	68	YES		D	3,4,5	YES
<i>M. sieboldii</i> (Regel) Rehder		34-85			3,4,5	YES
زیر بخش (۱-۳) <i>Kansuenses</i>						
Subsection C. <i>Kansuenses</i>						
سری (۱-۳-۱) <i>Kansuenses</i>						
Series a. <i>Kansuenses</i>						
<i>M. fusca</i> (Raf) C. Schneider	34	NO	1	D	2,3,4	YES
<i>M. kansuensis</i> (Batalin)	-	NO	1	D	3,4,5	YES
C. Schneider						
<i>M. komarovii</i> (sarg) Rehder	-	-	1	D	-	YES
<i>M. toringoides</i> (Rehder)	51	YES	1	D	4,5	YES
Hughes						
<i>M. transitoria</i> (Batalin)	-	-	1	D	5	YES
C. Schneider						
سری (۲-۱-۳) <i>Yunnanenses</i>						
Series b. <i>Yunnanenses</i>						

ادامه جدول ۲-

<i>M. fusca</i> (Raf) C.Schneider	34	NO	1	D	2,3,4	YES
<i>M. kansuensis</i> (Batalin ) C. Schneider	-	NO	1	D	2,3,4	YES
<i>M. komarovii</i> (sarg.) Rehder	-	-	1	D	-	YES
<i>M. toringoides</i> (Rehder) Hughes	51	YES	1	D	3,4	YES
<i>M. transitoria</i> (Batalin) C. Schneider	-	-	1	D	5	YES
<i>Erioblobus</i> (بخش ۳)						
<i>M. trilobata</i> (poiret) C. Schneider	-	NO	2	P	5	-
<i>Chloromeles</i> (بخش ۴)						
<i>M. angustifolia</i> (Aiton) Michaux	34	NO	>2	P	5	NO
<i>M. coronaria</i> (L.) Miller	51(68)	YES?	<2	P	5	NO
<i>M. ioensis</i> (Alph. Wood) Britton	34	NO	<2	P	5	NO
<i>Docyniopsis</i> (بخش ۵)						
<i>M. doumeri</i> (Bois) A. Chev.	-	NO	<2	P	5	NO
<i>M. melliana</i> (Hand. Mazz) Rehder	-	-	<2	P	5	NO
<i>M. tschonoskii</i> (Maxim.) C. Schneider	34	NO	<2	P	5	NO

(ویزان) D: (پایدار) P

### جدول ۳- فهرست هیبریدهای بین گونه ای جنس Malus

---

<i>M. × adstringens</i> Zabel. ( <i>baccata</i> × <i>Pumila</i> )
<i>M. × arnoldiana</i> (Rehd.) Sarg. ( <i>baccata</i> × <i>floribunda</i> )
<i>M. × Cours.</i> ( <i>pumila-atrosanguinea</i> Dum. × <i>prunifolia</i> )
<i>M. × atrsanguinea</i> (Spaeth) Schneid. ( <i>halliana</i> × <i>sieboldii</i> )
<i>M. × dawsonia</i> Rehd. ( <i>fusca</i> × <i>pumila</i> )
<i>M. × gloriosa</i> Lem. ( <i>pumila niedzwetskyana</i> × <i>scheideckert</i> )
<i>M. × hartwigii</i> Koehne ( <i>halliana</i> × <i>baccata</i> )
<i>M. × heterophylla</i> Spach ( <i>coronaria</i> × <i>pumila</i> )
<i>M. × magdeburgensis</i> Schoch. ( <i>spectabilis</i> × <i>pumila</i> )
<i>M. × platycarpa</i> Rehd. ( <i>coronaria</i> × <i>domestica</i> )
<i>M. × purpurea</i> (Barbier) Rehd. ( <i>niedzwetskyana</i> × <i>atrosanguinea</i> )
<i>M. × robusta</i> (Carr) Rehd Zab. ( <i>floribunda</i> × <i>prunifolia</i> )
<i>M. × soulardii</i> (Bailey) Brit. ( <i>ioensis</i> × <i>pumila</i> )
<i>M. × sublobata</i> (Dipp.) Rehd. ( <i>prunifolia</i> × <i>sieboldii</i> )

---

منبع: way et al., (1990)

#### افزایش بازار پسندی

بازار پسندی سیب به دلیل استفاده های گوناگون از میوه آن، به آسانی قابل تعریف نیست. در حقیقت محصول سیب دارای بازارهای متعددی است. بازار تازه خوری، انباری، فرآوری شده، بازار محلی، تجارتي و یا صادراتی برای این محصول وجود دارند. بازار حالت پویا داشته و ایستایی ندارد، بنابر این شاخص های کیفی مطلوب در طول زمان تغییر می کند. اگر ایده های به نژادگر از نظر کیفیت میوه نسبت به سلیقه بازار متفاوت باشد، مشکلات زیادی برای رقم تولید شده به وجود خواهد آمد. بزرگترین بازار سیب به بازار تازه خوری اختصاص دارد که در این شرایط میوه بر اساس ظاهر (اندازه، رنگ، شکل و عاری بودن ازهر گونه عارضه) و کیفیت (مزه و طعم) به فروش می رسد.

سیب در مدت کوتاهی از سال (تقریباً سه ماه) تولید می شود؛ اما در تمام طول سال مورد مصرف قرار می گیرد. بنابراین ارقامی در صنعت سیب کاری اهمیت پیدا می کنند که قدرت انبار مانی طولانی داشته باشند. مختصات بازار جهانی سیب توسط O. Rourke (۱۹۹۴) بررسی شد. متخصصین به نژادی سیب معمولاً در برنامه های اصلاحی، اهداف خود را همواره بر اساس تقاضای بازار تنظیم کرده اند. بازاری که اکنون به سوپر مارکت های زنجیره ای تبدیل شده است. امروزه دو گروه متقاضی عمده برای ارقام جدید سیب وجود دارند. گروه اول شامل باغداران و تولید کنندگان میوه که در اروپا به صورت باغ های خانوادگی شکل گرفته اند و گروه دوم شامل زنجیره عرضه مستقیم میوه به خریداران می باشند. ارقام 'فریهر ون برلپش'<sup>۹</sup> و 'انتاریو'<sup>۱۰</sup> هرگز جایی را بازار تجاری باز نکردند؛ اما هر دو رقم در آلمان برای بازارهای کوچک اهمیت دارند. در ایالات متحده امریکا، اگرچه ارقام مقاوم به لکه سیاه نتوانستند هرگز بازار تجارتي را به خود اختصاص دهند، اما ارقام 'لیبرتی'<sup>۱۱</sup>، 'رد فری'<sup>۱۲</sup> و 'جونافری'<sup>۱۳</sup> برای تولید کنندگان محصولات ارگانیک و علاقمندان آماتور باغبانی اهمیت فراوانی

<sup>9</sup> - Freiherr Von berlepsch

<sup>10</sup> - Onrario

<sup>11</sup> - Liberty

<sup>12</sup> - Redfree

<sup>13</sup> - jonafree

یافته‌اند. ارقام جدیدتر سیب مانند 'گلد راش'<sup>۱۴</sup>، 'انترپرایز'<sup>۱۵</sup> و 'پرستین'<sup>۱۶</sup> این روند را تشدید می‌کنند. بدیهی است که اهداف بازار باید توسط به نژادگر به دقت شناسایی شود، تا وی را قادر سازد که خلا و تقاضای موجود در بازار را برآورده سازد. به نژادگر مسئولیت دارد که با معرفی هر رقم الزاماً حداقل یک سیستم مقدماتی پرورش را نیز معرفی کند. سیستم مدیریت باغ ضمن آن که باید در برگیرنده مشخصات و ظرفیت خطا در رقم جدید باشد، بایستی توانایی پاسخگویی به اشتباهات احتمالی در امر عملیات به زراعی و داشت را نیز داشته باشد. تعداد بسیار کمتری از ارقام سیب صرفاً برای فرآوری اختصاص یافته‌اند. برای مثال در اروپا ارقامی با مقدار تانن بالا برای فرآورده‌های خاص کاربرد دارند. ارقام مناسب سیب برای بازار فرآوری باید از عملکرد بسیار بالا، اندازه درشت و کیفیت تعریف شده از نظر سایر مشخصات برای فرآورده در دست تهیه برخوردار باشند. خصوصیات مانند مقدار بالای مواد جامد قابل حل، نسبت خاصی از قند به اسید، رنگ گوشت، زرد و قهوه ای نشدن گوشت و طعم مناسب از مهمترین صفات کیفی میوه هستند. در مورد ارقام بازار فرآوری، شکل ظاهری چندان مهم نیست. البته بازارهای اختصاصی سیب نیز وجود دارند. این نوع بازارها در برگیرنده بازارهای کوچکی مانند بازارهای نوبرانه هستند که برای میوه های خیلی زودرس و سیب هایی با ویژگی های منحصر به فرد (مانند میوه های پوشیده از زنگار، طعم انحصاری و یا اندازه های مخصوص، سیب های بسیار ریز تا ارقام بسیار درشت) اختصاص یافته اند. روش های متداول اصلاح بر روی کیفیت سیب متمرکز شده است. ارایه تعریف کیفیت میوه به نوبه خود مشکل و پیچیده است، زیرا کیفیت تنها به ژنتیک گیاه بستگی ندارد، بلکه متأثر از عملیات تولید، مدیریت باغ و شرایط آب و هوایی نیز می‌باشد. به نژادگران در روش های سنتی اصلاح ارقام در جهت افزایش کیفیت، بر بهبود صفاتی مثل اندازه، ظاهر و ویژگی های انباری متمرکز شده اند. در دو دهه ۱۹۲۰ و ۱۹۳۰ بیش از ۴۰ برنامه اصلاحی در شمال آمریکا و تعداد بیشتری در سایر مناطق تولید انجام شده است. این برنامه ها براساس تلاقی بین ارقام موجود بود که منجر به تولید ارقامی نظیر 'کورتلند'<sup>۱۷</sup>، 'امپایر'<sup>۱۸</sup>، 'فورچن'<sup>۱۹</sup>، 'فوجی'<sup>۲۰</sup>، 'گالالا'<sup>۲۱</sup>، 'آیدارد'<sup>۲۲</sup>، 'جوناکلد'<sup>۲۳</sup>، 'مکون'<sup>۲۴</sup>، 'مل رز'<sup>۲۵</sup>، 'موتسو'<sup>۲۶</sup>، 'پینک لیدی'<sup>۲۷</sup> و 'اسپارتان'<sup>۲۸</sup> گردید.

یاد آوری می‌نماید که عوامل منحصر به فرد مربوط به کیفیت در قسمت اصلاح صفات خاص به تفصیل بحث خواهد شد. علاوه بر آنچه ذکر شد، سلیقه های محلی نیز اثر فوق العاده‌ای بر چگونگی تعریف کیفیت و غالب

---

14-Goldrush

15-Enterprise

16-Pristin

17- Cortland

18-Empire

19-Fortune

20-Fuji

21-Gala

22-Idared

23-Jonagold

24-Macoun

25-Melrose

26-Mutsu

27-Pink Lady

28- Espartan

شدن یک رقم در بازار داشته است. برای مثال در شمال شرقی ایالات متحده تقاضا برای رقم مک اینتاش<sup>۲۹</sup> بسیار بالا و تقریباً منحصر به فرد است، ولی این وضعیت در سایر مناطق آمریکا و اروپا وجود نداشته است، به طوری که در بقیه مناطق آمریکا از همین رقم استقبال نشده است. ضمن این که، ذائقه بیشتر مردم آسیا سیب هایی با طعم ملایم، شیرین و کم اسید را می‌پسندند در صورتی که در اروپا و غرب آمریکا طعم ترش بازارپسندی بیشتری دارد.

علاوه بر این، ظاهر میوه بیشترین اثربخشی و سهم را در میزان بازارپسندی دارد. معمولاً تقاضای بازار به سوی میوه های بدون لک گرایش یافته است، به طوری که زنگار حتی در مقادیر کم یک نقص جدی به شمار می‌رود. البته در این مورد استثناهائی هم وجود دارد، مثلاً هنوز هم در بازارهای محدود و کوچک در آمریکا، تقاضا برای میوه هایی که کاملاً پوشیده از زنگار باشند، وجود دارد. به طور قطع وجود زنگار در سیب، اثر منفی و قابل توجهی بر کیفیت میوه و در نتیجه بر سطح تقاضا می‌گذارد. اگر چه این صفت تاثیر منفی چندانی بر روی کیفیت خوراکی میوه نداشته و ممکن است اثر مثبت نیز داشته باشد. در گذشته سیب های سبز رنگ فقط برای پختن استفاده می‌شد، اما این شرایط با معرفی رقم گرانی اسمیت تغییر یافت. هم اکنون بازار میوه تازه خوری میوه هایی با رنگ های زرد، قرمز، سبز، میخکی (زرد کم رنگ) و سایر سیب های یک رنگ و نیز دارای ترکیبی از رنگ ها را می‌پذیرد. میوه های دو رنگ یا سه رنگ شبیه 'کاکس اورنج پین' در اروپا رواج داشته و در این کشورها سیب های دارای لکه رنگ روی واضح صورتی و سرخ بر روی زمینه زرد بازار پسندی بیشتری دارد. اما لکه رنگ های سرخ و یا زرد و سرخ بر روی زمینه سبز که منجر به ایجاد رنگ جگری تیره می‌شود، در اروپا نامرغوب بشمار می‌رود. آمریکایی ها لکه رنگ روی کم رنگ و اروپایی ها رنگ های نواری را ترجیح می‌دهند.

شکل میوه نیز حائز اهمیت است. از این نظر میوه های تخم مرغی و مخروطی شکل مقبولیت بیشتری دارند. شکل های کروی قابل قبول هستند، اما در حال حاضر انواع پهن و بشقابی در بازارهای جهانی غیرقابل قبول هستند. در سلیقه رایج برای شکل استدلال خاصی وجود ندارد. شکل مخروطی خاص رقم دلشز با لب های چند قسمتی در مقطع انتهای کاسبرگ برای این رقم بازار پسندی ایجاد کرده است و در مناطق مختلف ایالات شرقی و غربی آمریکا محلول پاشی های خاصی از جیبرلین ها و اکسین ها برای دستیابی به این شکل مطلوب انجام می‌گیرد. بطور کلی در ژاپن گرایش به سوی سیب های درشت با قطری از ۷۰ تا ۸۵ میلیمتر است و حتی سیب های درشت تر را می‌پسندند ولی در آمریکا سیب های با قطر کوچکتر از ۵۷ میلیمتر غیر قابل قبول هستند و سیب های کوچک تر از این اندازه در گروهی از ارقام زینتی که تحت عنوان کرب (میوه ریز) هستند به مصرف آب میوه می‌رسند. البته بعضی از مشتری ها سیب های ریز را می‌پسندند، اما این گرایش محدود است و در تعیین قیمت در بازار جایگاه ندارد. ازین رو به نظر می‌رسد در خصوص میوه های ریز، ضرورت یک برنامه بازار یابی و بسته بندی ویژه محسوس است.

## کاهش هزینه های تولید

یکی از راه های افزایش سود اقتصادی در پرورش سیب، معرفی راهکارهایی است که باعث کاهش هزینه تولید می شوند. یکی از راهبردهای دستیابی به سطوح بالای عملکرد را می توان به تلفیقی از عوامل مختلف مانند قدرت سازگاری محیطی، پیش رسی، ظرفیت تولید بالای رقم و ثبات سالانه تولید دانست. برای کاهش هزینه های تولید می توان از روش های مختلف استفاده کرد. آسان سازی برداشت از طریق استفاده از پایه های پاکوتاه و افزایش مقاومت به آفات و بیماری ها از جمله این روش ها می باشد. بهبود کیفیت محصول در ارقامی که فاقد صفات کیفی مورد نظر هستند در صورت افزایش مراقبت های داشت از طریق انجام عملیات نوین به زراعی امکان پذیر می باشد؛ اما در برخی موارد این روش ها گران قیمت بوده و با خطرات زیست محیطی و بهداشتی برای مصرف کنندگان همراه است. برای مثال ارزش رقم خوش طعم 'مک اینتاش' به دلیل برخی صفات نامطلوب مانند ریزش زود هنگام، نرم بافت گوشت میوه و کم رنگی پایین آمده است. برای رفع این مشکل، تولیدکنندگان از محلول پاشی قبل از برداشت با مواد ضد جیبرلینی شبیه دامینوزاید تحت نام تجارتي آلا ر استفاده می کردند. این ماده با جلوگیری از ریزش میوه و افزایش ماندگاری باعث افزایش رنگ و سفتی بافت میوه هنگام رسیدن می گردید. اما به تدریج این ماده شیمیایی به علت انتقادهای عمومی مبنی بر سرطان زا بودن آن از رده خارج شد. در حال حاضر اگر چه استفاده از رقم مک اینتاش به طور کلی از بین نرفته است، اما سطح زیر کشت آن به شدت کاهش یافته و با ارقامی مثل 'امپایر' جایگزین شده است. اکنون تحقیقاتی در دست انجام است که با انتقال ژن های خاص به رقم مک اینتاش، از تجمع اتیلن در آن جلوگیری کرده تا این مشکل برطرف گردد.

اصلاح در جهت افزایش قدرت سازگاری برای پرورش سیب در نواحی حاشیه ای یک ضرورت اولیه بشمار می رود. در راستای دستیابی به این هدف اصلاحگران جهت اصلاح را به سوی صفات دیگر مانند افزایش مقاومت به سرما برای مناطقی که زمستان های سرد و طولانی دارند، کاهش نیاز سرمای، مقاومت به آفتاب سوختگی و یا دیررسی برای مناطق نیمه گرمسیری را تغییر داده اند تا کشت و پرورش سیب را در این گونه مناطق امکان پذیر سازند. ایجاد مقاومت ژنتیکی به آفات و بیماری ها در مناطقی که امکان استفاده از سایر روش ها وجود ندارد، به عنوان یک نیاز ضرورت می یابد. تولید ارقام مقاوم، ضمن کاهش هزینه های تولید، یک راهبرد اساسی و مهم برای سازگاری ارقام محسوب می گردد. از آن جایی که مصرف کننده و خریدار عمده هر دو براساس رقم، ظاهر، کیفیت و قیمت اقدام به خرید می کنند. بایستی در نظر داشت که سیب می تواند با هزینه های کمتر تولید و به قیمت های پایین تر نیز عرضه شود، در حالی که خریداران از قیمت بازار خبر داشته ولی از چگونگی کاهش هزینه ها از طریق مدیریت باغ اطلاعی ندارند. اصلاحگر باید بداند که ارقام جدید سیب مقاوم به آفات، اگر چه ممکن است برای برخی پرورش دهندگان مفرح و جالب باشند، اما اگر از نظر کیفیت قابل رقابت نباشند به موفقیت چندانی در بازار دست نخواهند یافت. هم اکنون گروهی از مصرف کنندگان به خرید محصولات ارگانیک، یعنی سیب هایی که احتمالاً بدون استفاده از آفت کش ها و سموم تولید می شوند گرایش یافته اند. وجود چنین ظرفیتی در بازار مصرف را می توان یک نقطه عطف هرچند به صورت محدود برای این بازار خاص قلمداد کرد. کلام آخر در این مقوله این است که با پایان یافتن عملیات اصلاحی، مهم ترین عامل تعیین کننده قیمت در صحنه رقابت در بازار میوه، فقط کیفیت میوه است.

## تکنیک های اصلاح

### زیست شناسی گل

تنوع ژنتیکی زیادی در ارقام مختلف سیب از نظر اندازه جام گل، شکل گلبرگ، رنگ گل (از سفید تا صورتی پررنگ) به چشم می خورد. به طور کلی گل ها با دم گل های نسبتاً کوتاه معمولاً همزمان با رشد برگ ها در گل آذین گرز بر روی شاخه های تیپ اسپور (میخچه ای) تولید می شوند، ولی در برخی ارقام از جوانه های انتهایی یا جانبی شاخه های حاصل از رشد فصل قبل نیز به وجود می آیند. هر گل از پنج گلبرگ، پنج کاسبرگ و حدود ۲۰ پرچم و مادگی پنج خامه ای تشکیل شده است. تخمدان حاوی پنج برچه و هر برچه حاوی دو تخمک است، که در صورت تلقیح کامل هر میوه حاوی ۱۰ بذر خواهد بود. با این حال در برخی ارقام تعداد بذر بیشتر است. به عنوان مثال 'لیبرتی' و 'نوردن اسپای'<sup>۳۰</sup> معمولاً دارای ۱۲ تا ۱۸ بذر و پایه 'اوتوا'<sup>۳</sup> اغلب دارای ۲۰ تا ۳۰ بذر است.

### گرده افشانی

انتقال مکانیکی دانه گرده از بساک به کلاله گل، گرده افشانی نام دارد. گرده افشانی پیش نیاز تلقیح تخمک و تشکیل بذر و نمو میوه است. اکثر ارقام سیب دگر گرده افشان هستند. بنابراین انتقال گرده از گل های یک درخت به کلاله گل درخت یک رقم دیگر (که از نظر ژنتیکی با هم متفاوت هستند)، ضروری است. در باغ، گرده افشانی به وسیله حشرات به ویژه زنبور عسل که در جستجوی گرده یا شهد گل هستند، انجام می گیرد. ساختمان گل در سیب به گونه ای است که برای عمل گرده افشانی تناسب یافته اند، اما در تعدادی از ژنوتیپ ها مثل 'دلشیز'، پرچم ها طویل تر از خامه هستند. این امر باعث می شود زنبور بدون برخورد به کلاله، گل ها را بازدید کند. وجود این صفت در گل ممکن است باعث کاهش قابل ملاحظه محصول گردد.

### جمع آوری گرده

جمع آوری گرده نخستین مرحله از فرآیند دو رگ گیری است. جمع آوری گل ها در مرحله بادکنکی<sup>۳۱</sup> درست قبل از باز شدن گلبرگ ها و قبل از شکفتن بساک ها صورت می گیرد، اگرچه بهتر است هنوز کمی زودتر تهیه شوند. به این منظور با مالش گل ها بر روی یک الک (غربال)، بساک جدا شده و به یک پتری دیش یا ظرف مشابه منتقل می شود تا دیواره بساک ها خشک و شکافته شوند. بساک های جمع آوری شده بر روی کاغذ پخش شده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای معمولی اتاق زیر نور رها می شوند تا دیواره بساک ها خشک و ترکیده شوند. دانه های گرده ای که به این ترتیب به دست آمده اند را می توان بلافاصله استفاده کرد. از آن جایی که گل های ارقام سیب به صورت همزمان باز نمی شوند و ممکن است چندین هفته بین زمان گلدهی ارقام زود گل و دیرگل فاصله وجود داشته باشد، لذا گرده والد های ارقام زود گل را بایستی زودتر تهیه و برای زمان مورد نظر ذخیره کرد. روش دیگر تهیه دانه های گرده قرار دادن شاخه های بریده در حال گل دهی در یک ظرف آب در محل گلخانه است. دانه های گرده خشک جمع آوری شده، جهت تبادل ژرم پلاسم قابل استفاده هستند. دانه های گرده را می توان در یک دسیکاتور (خشکاننده) حاوی کلرید کلسیم برای مدت یک سال در دمای ۱۵- درجه سانتی گراد به راحتی نگهداری کرد. همچنین دانه های گرده سیب را می توان به مدت طولانی در دمای تبریدی<sup>۳۲</sup> نگهداری کرد (Hamma and Towill, 1995). برای تعیین قوه نامیه دانه گرده می توان پس از رنگ آمیزی با استوکارمن (Marks, 1954) و یا تحریک آنها به وسیله جوانه زنی بر روی یک قطره محلول ساکارز (۲/۵ تا ۲۰٪) درصد جوانه زنی را زیر میکروسکوپ تعیین کرد. اغلب محققین محلول آبی ساکارز ۱۰٪ و یا محیط آگاریزه ۵٪، در دمای ۲۰ درجه سانتی گراد را برای رشد مطلوب لوله گرده توصیه می کنند. به علاوه وجود ۱۰ پی پی ام (P.P.m.) عنصر بور در محیط کشت، جوانه زنی را افزایش می دهد (Thompson and Batjer, 1950).

30-Northern Spy

31-Ballon Stage

32 - Cryogenic

## اخته کردن

قبل از تلاقی، گل های والد ماده معمولاً در مرحله بادکنکی اخته می شوند. حذف گلبرگ ها در عمل اخته

کردن به سه منظور انجام می شود:

(۱) جلوگیری از خود گرده افشانی (اگر چه وجود پدیده خود ناسازگاری در سیب این عمل را منتفی

می سازد).

(۲) قرار گرفتن کلالة در معرض دگرگشنی.

(۳) به حداقل رساندن بازدید گل ها توسط زنبور و سایر حشرات گرده افشان و کاهش آلودگی با گرده های

ناخواسته.

هنگامی که دورگ گیری برای مطالعات ژنتیکی انجام می گیرد، برای جلوگیری از آلودگی توسط گرده های ارقام ناخواسته، بایستی گل ها بطور دقیق و صحیح ایزوله شوند. به این منظور اغلب گل های اخته شده را در پاکت قرار می دهند، اما اگر انجام تلاقی ها قسمتی از یک برنامه به نژادی است که به منظور تولید ارقام اصلاح شده صورت می گیرد، کنترل ۱۰۰٪ ضروری نیست. معمولاً عمل اخته کردن توسط ناخن و با برداشتن کاسبرگ، گلبرگ و پرچم در مرحله ای که گل ها به وضعیت بادکنکی رسیده اند به راحتی قابل انجام است. در این شرایط فقط کلالة ها به همراه مادگی و نهنج باقی می مانند. از سایر روش های اخته کردن گل می توان به استفاده از قیچی های کوچک که دارای شیار در تیغه خود هستند، اشاره کرد (Barrett and Arisni, 1952). محققین دانشگاه کورنل در جینوا، در برنامه های اصلاحی خود، عمل گرده افشانی را یک بار پس از اخته کردن و بار دوم یک یا چند روز بعد از گرده افشانی اول انجام می دهند. انجام گرده افشانی در دو نوبت باعث می شود تا اثرات منفی و نامطلوب محیطی بر روند تلاقی کاهش یابد. درختان سیب گل های فراوان تولید می کنند ولی فقط تعداد کمی از آن ها به میوه تبدیل می شوند. اساساً عمل اخته کردن بر روی دو گل از هر خوشه اعمال شده و سایر گل های خوشه حذف می شوند. میوه گل های اخته شده نسبت به میوه های اخته نشده به آسانی قابل شناسایی هستند، زیرا میوه های حاصل از گل های اخته شده فاقد کاسه گل می باشند. برای سهولت در شناسایی گل آذین اخته شده، یک گل اخته نشده را به عنوان علامت تشخیص خوشه باقی می گذارند که پس از انجام گرده افشانی گل نیز حذف می شود. تجربه نشان داده است که حشرات گل های بدون گلبرگ و پرچم را ملاقات نمی کنند، بنابراین لزومی به ایزوله سازی گل های اخته شده وجود ندارد (visser, 1951).

برای انجام دگر گرده افشانی از سایر فنون نیز می توان استفاده کرد. یکی از این روش ها، گرده افشانی گل ها در زیر پاکت های ایزوله کننده در مرحله بادکنکی از طریق بازکردن گل ها با دست است. با این روش از ایجاد زخم در گل و نیز از ملاقات گل ها توسط حشرات گرده افشان جلوگیری می شود. گل ها پس از تلاقی باید اتیکت زده شوند تا میوه های به دست آمده دورگ، قابل تشخیص باشند. این روش در اروپا استفاده زیادی دارد. روش دیگر بریدن شاخه های شکوفای یک رقم با صفات مطلوب و قرار دادن آنها در یک قفس توری بزرگ ضد زنبوری است که پوشش کل تاج رقم والد را تضمین کند. در این شرایط با قرار دادن یک کندو داخل قفس امکان ملاقات زنبور ها و انجام تلاقی ها تضمین خواهد شد. اما اگر تعداد زنبورهای درون قفس بیش از حد زیاد باشد، این احتمال وجود دارد که زنبورها دانه های گرده را از سطح کلالة گل های اخته شده برداشته و تشکیل میوه را کاهش دهند. پژوهشگران در یک روش جدید، اقدام به انتخاب و بریدن شاخه های گل زای یک رقم خاص با یک ژن نشانگر غالب می کنند. به این ترتیب شناسایی نتایج مورد نظر در مرحله نونهالی در بین نونهال های سایر ارقام امکان پذیر می گردد. به عنوان مثال می توان شاخه های بریده ارقام مقاوم به بیماری ها مانند رقم لیبرتی یا 'گلدراش' را در 'باغ' فوجی و 'گالا' گذاشت تا بذور هیبرید را از آنها جمع آوری و پس از کاشت دوباره، دورگ های مطلوب را در بین دانهال ها تشخیص و انتخاب کرد. آخرین تکنیک، جمع آوری بذور حاصل از گرده افشانی آزاد از باغ هایی است که در آنها دو رقم تجارتي خوب

کاشته شده باشد. برای مثال رقم امپایر از بین بذور آزاد گرده افشانی شده که از یک باغ احداث شده فقط از دو رقم 'مک اینتاش' و 'دلیشنز' جمع آوری شده بودند، و دقیقاً در سالی انتخاب شد که کلیه تلاقی های دستی با شکست مواجه شده بودند.

## دورگ گیری

عمل گرده افشانی را می توان با فرو بردن یک قلم موی نرم و کوچک به داخل ظروف شیشه ای کوچک حاوی دانه گرده و آغشته کردن سطح کلاله به آن انجام داد. قبل از به کار بردن مجدد قلم مو برای گرده جدید بایستی آن ها را با فرو بردن در الکل ۹۵٪ از گرده های قبلی پاک و خشک کرد. روش دیگر از طریق تماس مداد پاک کن و یا انگشت سبابه با دانه گرده و سپس انتقال دانه های گرده به سطح کلاله است. در روش انتقال دانه گرده از طریق انگشت، دانه گرده به مقدار زیادی منتقل می گردد و لذا حشرات گرده افشان به خاطر رنگ زرد گرده موجود در سطح کلاله به سوی آن جذب می شوند. در انتقال گرده بایستی از روش سریع و مؤثر استفاده نمود. برخی محققین، گل ها را بلا فاصله بعد از عمل اخته کردن گرده افشانی می کنند و بعضی دیگر این عمل را به روزهای بعد موکول می کنند که کلاله برای پذیرش گرده آماده تر باشد. بهتر است از انجام عمل گرده افشانی هنگامی که درجه حرارت زیر ۵+ درجه سانتی گراد است، اجتناب کرد، زیرا دمای پایین بازدارنده رشد لوله گرده است. در عمل دو رگ گیری ممکن است تمام درخت با یک نوع والد نر گرده افشانی شده و یا این که قسمت هایی از یک درخت با والد های مختلف تلقیح شود. در این حالت بایستی دقت شود تا از اختلاط گرده ها جلوگیری به عمل آید. کئولمانز<sup>۳۳</sup> و همکاران (۱۹۹۴) برای بهبود تشکیل بذر و جوانه زنی آنها اثر تعداد کلاله های گرده افشانی شده در هر گل، تعداد گل ها در هر خوشه و گرده افشانی کننده ها را بررسی کردند. تشکیل بذر با افزایش تعداد کلاله های گرده افشانی شده در هر گل افزایش یافت. بر عکس بررسی درصد تشکیل میوه در گل آذین در مقایسه بین تیمار یک گل در خوشه و سه گل در خوشه نشان داد که تفاوت ناچیز است. نوع گرده افشان تاثیر مشخصی بر روی تشکیل نهایی میوه نداشت، اما اثرات ژنوتیپی مشهود بود. در تمام گرده افشان های مورد مطالعه، تعداد بذر تشکیل شده در میوه با جوانه زنی همبستگی منفی نشان داد. همچنین تاخیر در برداشت، جوانه زنی بذر را کاهش داد.

## آماده سازی بذر

میوه های حاصل از دو رگ گیری بایستی کمی قبل از رسیدن برداشت شوند. در صورتی که برنامه کاشت بذور برای سال بعد وجود نداشته باشد، بذور خشک را می توان انبار کرد. نحوه انبار یا نگهداری بذور توسط الیس (۱۹۸۵) بررسی شده است. چنانچه بذور سیب استراتیغیه نشوند جوانه نخواهند زد. بنابراین به منظور پس رسی بذور را باید برای یک دوره معین در شرایط سرد و مرطوب قرار داد تا در طی آن تغییرات لازم در جنین اتفاق افتد. اگر بذور از میوه جدا نشوند، آسان ترین روش این است که میوه های حاوی بذر را در جای خنک و بالاتر از دمای فریزر قرار داد تا استراتیغیه شوند ولی در این شرایط ممکن است قارچ های مختلف ایجاد کپک زدگی نموده و مشکل ساز گردند. در زمان برداشت، بایستی بذور میوه هایی که پوسیده و یا آسیب دیده اند را حذف کرد. روش متداول در اکثر برنامه های اصلاحی جدا کردن بذر از میوه کمی قبل از بلوغ میوه است. به منظور جلوگیری از تلفات بذور هیبرید در اثر مخلوط شدن میوه های هیبرید با میوه های غیر هیبرید ریزش یافته پا درختی، بویژه اگر بر روی درخت بیش از یک تلاقی صورت گرفته باشد، و نیز به منظور جلوگیری از به سرقت رفتن میوه ها، برداشت قبل از بلوغ کامل میوه صورت می گیرد. در دانشگاه کورنل (جینوا) هر یک از میوه های هیبرید را قبل از زمان رسیدن روی درختان با اتیکت علامت گذاری می کنند، تا از مخلوط شدن میوه های حاصل از گرده های متعلق به ارقام مختلف پرهیز شود. به منظور پاسخ به نیاز سرمای و جهت پس رسی، بذور در دمای بین صفر تا ۱۰ درجه سانتیگراد قرار داده می شوند، دمای

مطلوب برای این امر بین ۳ تا ۵ درجه سانتیگراد است. زمان مورد نیاز از ۶ تا ۱۴ هفته و تا حدودی بسته به دما متفاوت است. آبوت (۱۹۵۵) نشان داد که دما برای پس رسی حائز اهمیت است. دمای بالای ۱۷ درجه سانتیگراد در فرآیند پس رسی اختلال ایجاد می‌کند. بایستی توجه داشت که هر قدر بذور مدت زمان طولانی تری در دمای بالاتر از ۱۷ درجه سانتیگراد نگهداری شوند به همان نسبت به زمان سرمادهی بیشتری جهت جوانه زنی نیاز خواهند داشت. بذور را می‌توان در جعبه های پلی اتیلن حاوی فیلترهای کاغذی مرطوب یا پیت ماس مرطوب که به صورت جزئی آغشته به قارچ کش هستند، استراتیفه نمود. فرآیند استراتیفه کردن معمولاً در ۶ هفته کامل می‌شود، اما لازم است هر چند وقت یک بار ظهور ریشه چه ها بررسی و کنترل شود. وقتی که بیش از ۵۰٪ بذور جوانه زدند می‌توان آن ها را در جعبه بذر و یا سینی های ویژه دارای حفره های کوچک کشت کرد و در شرایط مطلوب رشد نهال قرار داد. پوسیدگی بذر، بویژه وقتی بذور خوب تمیز نشده و در سینی کشت شده اند ممکن است طی دوره استراتیفه شدن مشکل ایجاد کند.

عامل اصلی پوسیدگی بذر، قارچ *Rhizoctonia solani* Kuhn است که با نفوذ از بخش بیرونی نوک بذر به درون بذر باعث پوسیدگی جنین می‌شود. این بیماری به سرعت از بذری به بذر دیگر سرایت می‌کند. معمولاً ضد عفونی سطحی بذور توسط محلول هیپوکلرید کلسیم (۱۰ گرم در ۱۴۰ میلی لیتر آب) به مدت ۵ دقیقه و سپس شستشوی آن ها قبل از استراتیفه کردن صورت می‌گیرد. در دانشگاه کورنل (جینوا) بذور را قبل از استراتیفه شدن به مدت یک شبانه روز در محلول سوسپانسیون اشباع از قارچ کش کاپتان خیسانده و اغلب پس از کشت، یک تیمار قارچ کش دوم نیز انجام می‌دهند.

### نونهالی

درختان سیب از زمان جوانه زنی تا مرحله بلوغ مراحل مختلف رشد را طی می‌کنند. در مرحله نونهالی وقتی هیچ گلی تولید نمی‌شود، تفاوت زیادی بین این گیاهان و درختان بالغ وجود دارد. در این مرحله برگ ها معمولاً کوچکتر و دندان های حاشیه برگ ها ظریف تر هستند. جست ها نازکتر بوده و نسبت به ساقه اصلی زاویه بسته ایجاد می‌کنند. تاریخ جوانه زنی برگ ها در بهار زود هنگام و در پاییز نیز دیرتر خزان می‌کنند. آغاز مرحله بلوغ با تشکیل و شکوفایی جوانه های گل قابل تشخیص است. بین این دو مرحله یک مرحله انتقال وجود دارد که قسمت بالایی گیاه بالغ و قسمت پایین آن هنوز در مرحله نونهالی است. ریشه زایی قلمه های بر گرفته از درختان بالغ (ارقام پیوندک) اغلب اگر غیر ممکن نباشد، بسیار مشکل است. در صورتی که قلمه های بر گرفته از دانهال های جوان به آسانی ریشه می‌دهند، اما این سهل ریشه زایی با افزایش سن آن ها کاهش می‌یابد. این موضوع بیانگر انتقال تدریجی از مرحله جوانی و نونهالی به مرحله بلوغ است. دوره نونهالی از ۳ تا ۱۰ سال و یا بیشتر طول می‌کشد. طول دوره نونهالی تحت تاثیر ژنوتیپ و عملیات باغبانی تغییر می‌کند. به تازگی روش های کوتاه کردن دوره نونهالی مورد بررسی قرار گرفته است (Kemmer, 1953; Mutawski, 1955; visser, 1964).

محققین در تلاشند تا از طریق حلقه برداری و یا انجام تیمارهایی بر روی ریشه و شاخه ها مرحله نونهالی را کوتاه کنند. البته باید اشاره نمود بکارگیری روش هایی که رشد دانهال های خیلی جوان را دچار محدودیت سازد، طول دوره نونهالی را کوتاه نمی‌کند، اما حقیقت این است که این گونه عملیات نتایج منفی داشته و حتی این مرحله را طولانی و آغاز میوه دهی را نیز به تاخیر می‌اندازند. روش های کشت کنترل کننده رشد دانهال ها فقط زمانی مؤثر هستند که دانهال ها به مرحله معینی از نمو رسیده باشند. Way در سال ۱۹۷۱ نشان داد که حلقه برداری پوست در نهال های ۴ ساله سیب باعث القا گل دهی در درختان می‌شود، اما نهال های ۳ ساله واکنش خاصی را به این تیمار نشان نمی‌دهند. برخی عملیات باغبانی دیگر نیز در کوتاه کردن دوره نونهالی مؤثر هستند. نهال ها بایستی پر رشد و با سرعت رشد زیاد پرورش یابند. برای تحقق این امر باید از هر گونه محدودیت رشد در مراحل اولیه جلوگیری کرد و چنانچه این امر غیر ممکن است هرگونه دخالت و عملیات اضافی را به حداقل رسانند. دانهال های بذری در سال اول

در گلخانه با نگهداری در شرایط مداوم رشد به گل رفته اند (Aldwinckle et al., 1976). دانهال های پرورش یافته در شرایط مطلوب گلخانه در تراکم بالا در صورت آبیاری و تغذیه خوب در نخستین فصل رشد ممکن است به ارتفاع ۳ متر نیز برسند در حالی که در شرایط هوای آزاد درختان به ارتفاع ۱ متر می‌رسند. این نهال ها را می‌توان به طور مستقیم در زمین اصلی مستقر کرده و نیازی به کاشت آن ها در نهالستان نیست، زیرا فرآیند گلدهی به تاخیر می‌افتد. دانهال ها باید به رشد مداوم خود به طور آزادانه ادامه دهند. از آن جایی که دانهال ها نخست در بخش بالایی تاج کوچک خود به بلوغ می‌رسند، بنابراین نباید آن ها را هرس کرد تا زودتر به مرحله گل و میوه دهی برسند (Brown, 1964, Zimmetman, 1971).

Tydenam و Alston در سال ۱۹۶۵ نشان دادند که نونهالی را می‌توان به طور قابل ملاحظه ای با استفاده از پیوند دانهال ها بر روی پایه های رویشی پا کوتاه کاهش داد. به این منظور در اواخر تابستان (فصل رشد سال دوم) اقدام به تهیه پیوندک از بخش بالای شاخه اصلی کرده و بر روی پایه های پاکوتاه M7 و M27 پیوند سرشاخه کرد. لازم به ذکر است این پایه ها بصورت کوردن، خیلی متراکم تربیت شده و هر سال در اواخر تابستان شاخه های جانبی آن هرس می‌شوند. نتایج به دست آمده نشان داد که ۹ سال بعد از جوانه زنی بذر، ۸۸٪ از ۹۰۲ دانهال پیوندی (پیوند جوانه) به میوه دهی رسیدند، در صورتی که فقط ۴۹٪ از دانهال های غیر پیوندی در همین مدت زمان به مرحله میوه دهی رسیدند. برای جلوگیری از آلودگی بایستی از پایه های عاری از ویروس استفاده کرد. مرحله نونهالی مشکلات خاصی را برای اصلاحگران پایه ایجاد می‌کند. در تکثیر پایه ها به روش خوابانیدن کپه ای، گیاهان نو نهال معمولاً به طور کامل خاردار، سهل ریشه زا، زود برگ ده (به علت شکست زود هنگام خواب جوانه) و دارای خزان دیر هنگام هستند. ارزیابی پایه ها در برنامه اصلاح دانشگاه کرنل ( ایستگاه جینوا ) معمولاً در سال سوم وقتی که خصوصیات نونهالی تا حدودی متوقف شده، انجام می‌گیرد.

### گزینش دانهال

به محض جوانه زنی بذر ها و ظهور نخستین برگ ها می‌توان ارزیابی دانهال ها را در فرآیند طولانی اصلاح شروع کرد. برخی از این گزینش ها به طور طبیعی اتفاق می‌افتد. برخی ارقام و پایه های رویشی مانند رقم گلدن دلشز و پایه M9 و بسیاری از ارقام دیگر حامل ژن کشنده مغلوب کنترل کننده صفت رنگ پریدگی هستند (Klein et al., 1961) و با کاربرد یکی از این ارقام در تلاقی ها انتظار می‌رود که ۲۵٪ از دانهال ها از بین بروند. اتخاذ تصمیم برای غربال و حذف دانهال های نا مطلوب باید به طور سریع انجام گردد، زیرا هر نوع تاخیر در تصمیم گیری باعث افزایش هزینه ها می‌شود. مهم تر این که بی توجهی و تاخیر در غربال به ایجاد محدودیت بیشتر در انتخاب دانهال های برتر می‌انجامد (Cummins and Aldwinckle. 1988).

مرحله دانهالی بهترین زمان برای گزینش مقاومت در مقابل بیماری هایی نظیر لکه سیاه و زنگ سیب *Gymnosporangium juniperi virginianae Schw* است که بر روی برگ های جوان آلودگی ایجاد می‌کنند. تلقیح برگ های جوان با محلول تعلیقی (سوسپانسیون) اسپورهای قارچ، آلودگی را طی چند هفته نشان می‌دهد. در این شرایط دانهال های حساس را می‌توان به راحتی حذف کرد. فقط گزینش برای مقاومت به لکه سیاه می‌تواند تعداد نتاج را ۵۰ الی ۸۰ درصد، بسته به معیارهای گزینش، کاهش دهد. علاوه بر این، تلقیح دانهال ها به باکتری عامل بیماری آتشک *Erwinia amylovora* (Burrill) هنگامی که نهال ها به ارتفاع ۵۰ الی ۹۰ سانتی متری رسیده اند سبب حذف درصد بالایی از نتاج می‌گردد. برخی دیگر از بیماری ها نظیر سفیدک باید پس از دو ساله شدن دانهال ها مورد ارزیابی واقع شوند. البته حذف دانهال های نامطلوب در مراحل اولیه رشد حائز اهمیت است. بسیاری از خصوصیات رشد مانند ضعیف بودن، تولید شاخه های طویل و دوکی شکل و سایر معایب رشدی که مانع تولید دانهال های مطلوب می‌شوند در همان سال های اولیه قابل ارزیابی هستند. باید توجه کرد که هر نقصی که بر اساس آن دانهال حذف می‌گردد باید به اندازه کافی قانع کننده باشد. همین طور در مراحل دانهالی، برخی صفات وابسته

نظیر دیر برگدهی که با دیر گلدهی در ارتباط است، نیز قابل تشخیص می باشند. از این رو هنگامی که هدف از اصلاح گزینش ارقام دیر گل است، می توان گزینش را در همان مراحل اولیه رشد انجام داد. به همین ترتیب اصلاحگران پایه نیز جهت کاهش جمعیت اولیه مورد آزمایش می توانند عمل حذف برخی دانهال ها را از نظر حساسیت به *phytophthora* آتشک و شته مومی سیب قبل از آغاز هر نوع ارزیابی صفات باغبانی انجام دهند

### گزینش اولیه

همیشه تحقیقات زیادی برای انجام عملیات پیش گزینی و ارزیابی دانهال ها به منظور بررسی و تعیین وجود همبستگی بین برخی صفات رویشی و مرفولوژیک در مرحله نونهالی با برخی صفات زایشی و خصوصیات میوه در دوران بلوغ انجام می گیرد. وجود هر نوع همبستگی مثبت با صفات نامطلوب میوه برای غربال در دوره نونهالی بسیار با ارزش است. این نوع همبستگی ها باید الزاما دارای دو مشخصه باشند: اولاً میزان همبستگی بالا باشد و دوماً صفت مربوطه در گیاهان نونهال به راحتی قابل تشخیص باشد. سهولت تشخیص صفت حائز اهمیت فراوان است زیرا انجام هر نوع اندازه گیری صفات زمان بر است، بویژه این که اگر اندازه گیری ها از طریق آنالیزهای شیمیایی پیچیده صورت گیرند ارزش همبستگی را به عنوان یک روش عملی پیش گزینش به شدت کاهش می دهد. هر چند تعداد قابل توجهی از انواع همبستگی ها بین صفات مختلف مشخص و معرفی شده اند، اما تعداد کمی از آنها برای اصلاحگران با ارزش هستند. Nybom (۱۹۵۹) به وجود همبستگی بین pH شیره خام برگ و pH آب میوه دست یافت. برگ های تیپ شیرین دارای  $pH = 5/7$  و تیپ اسیدی  $pH = 5/5$  تا  $5/6$  داشتند. این روش چندان قابل اعتماد نیست، چون تفاوت ها آن قدر کوچکند که خطای مشاهده شده در داخل نمونه های حاصل از یک دانهال، اغلب بیشتر از خطای موجود بین نمونه های دانهال ها نسبت به یکدیگر است. از دیگر همبستگی های یافت شده می توان به همبستگی بین رنگ قرمز میوه و رنگدانه آنتوسیانین در قسمت های دیگر درخت مثل شاخه های یک ساله یا دم برگ ها اشاره کرد. از آن جایی که توزیع آنتوسیانین در درخت به عوامل زیادی بستگی دارد، و استثناهای زیادی به چشم می خورند، اهمیت این نوع همبستگی صفات به عنوان روش پیش گزینی همواره کاهش می یابد. فقط در نتایج حاصل از درختانی که تمام بافت آن ها با رنگدانه آنتوسیانین آمیخته است مثل *Malus pumila niedzwetzkyana schneid* می توان دانهال های برگ قرمزی را گزینش کرد که درختانی با برگ ها و شاخه های قرمز، میوه هایی با پوست و گوشت قرمز ارغوانی تولید می کنند. وجود برخی همبستگی های با ارزش بین دیر برگدهی و دیر گلدهی و همچنین بین طول دوره نونهالی و سن باردهی در درختان تکثیر شده به روش رویشی و نیز سایر همبستگی های مفید بین صفات که دارای ارزش گزینشی هستند، در همین مجموعه مورد بحث قرار خواهند گرفت. برخی محققین عقیده دارند که گزینش برای تیپ و فرم درخت را می توان در مراحل اولیه رشد دانهال انجام داد، ولی تجربه ارزیابی نتایج 'مک اینتاش ویجیک'، موتانت هتروزایگوس که بوسیله یک ژن غالب برای صفت عادت رشد عمودی کنترل می شود، نشان داد که این نوع گزینش سودمند نیست. در آینده، پیش گزینی برای صفات مهم با بهره گیری از نشانگرهای ملکولی می تواند صورت گیرد. درباره این موضوع در قسمت بیوتکنولوژی بیشتر بحث خواهد شد.

### ارزیابی میوه

زمانی که دانهال ها به مرحله گلدهی و میوه دهی می رسند، مهم ترین قسمت ارزیابی دانهال یعنی ارزیابی کیفیت آغاز می گردد. محققین بطور فزاینده و مستمر روش هایی را برای تعیین کیفیت میوه جستجو می کنند که با ذائقه مصرف کننده ارتباط داشته باشد (Redalen, 1988). برای ارزیابی میوه صفات زیادی وجود دارد. چنانچه هر کدام از این صفات با معیارها و استانداردهای موجود جهانی تطابق نداشته باشد، دانهال خود بخود حذف شده تلقی می شود. برای مثال اندازه میوه یکی از این صفات است که به راحتی قابل اندازه گیری است. قطر کمتر از ۶۰ میلی متر برای ارقام تجاری با مصرف تازه خوری، خیلی کوچک است. رنگ میوه از دیگر صفات مهم است. در خصوص این صفت، رنگ های زرد شفاف، قرمز روشن، سبز روشن، یا دورنگ بودن ترجیح داده می شوند. میوه ها باید عاری از زنگار

باشند، هر چند میوه های ترش مزه و یا کاملاً زنگاری در برخی بازار های کوچک اولویت دارند، میوه های با رنگ تیره مناسب نیستند.

شکل میوه نیز مهم است. سیب های بد شکل و یا با شکل نامنظم بویژه خیلی پهن یا بشقابی بازار پسندی ندارند. طعم دارای بالا ترین اهمیت است. بسیاری از دانهال ها دارای میوه هایی با مقدار اسید اندک بوده و در نتیجه خیلی شیرین و یا بی مزه به نظر می رسند. این نوع طعم فقط در برخی از بازار های آسیایی مورد پسند واقع می شود. گاه ممکن است میوه دارای عطر بسیار تند و از طعم شبه رازیانه برخوردار باشد. این نوع میوه ها اغلب مناسب باغ های خانگی بوده و به دلیل عدم استقبال عموم مصرف کنندگان جهت تولید تجارتي پذیرفته نیستند. طعم مطلوب را می توان به میوه های ملس یا میخوش (اندک ترش) و با طعم خوشایند اطلاق کرد. اما تقاضا برای سیب هایی با طعم کامل و تند رو به افزایش است. از دیگر ویژگی های مهم سیب می توان به طعم سیب پس از پایان دوره انباری اشاره کرد. سیب هایی که دچار طعم آلدئیدی شده و یا بی مزه باشند، قابل پذیرش نخواهند بود. سیب هایی که دارای طعم خیلی ملایم باشند اغلب پس از دوران انبار مانی به دلیل کاهش اسیدیته طعم ضعیفی می یابند. بافت گوشت میوه بایستی سفت، ترد و آبدار بوده و محصول در صورت برخورداری از این صفات دارای قدرت انبارمانی بالا باشد. سیب های نرم بازار پسندی مطلوبی ندارند. ارقام دارای پوست میوه خیلی ضخیم و یا خیلی نازک و حساس به سایدگی مانند رقم سارپرایز<sup>۳۴</sup> مشکل ساز هستند.

پس از انجام ارزیابی های لازم از میوه افراد هیبرید، میوه هایی که صفات مطلوب و مورد نظر را داشته باشند انتخاب و وارد مرحله بعدی یعنی مرحله ارزیابی عملکرد می شوند. لازم به ذکر است که توجه به عاری بودن از آلودگی و ویروسی دانهال های گزینش شده نیز ضروری است. برای تعیین عملکرد، باید تعدادی از درختان روی پایه های مهم تجاری تکثیر و با اجرای آزمایشات هدایت شده و دقیق و با استفاده از ارقام شاهد استاندارد، وزن محصول و عادت باردهی رقم تعیین گردد. همزمان با این آزمایشات، دانهال های گزینش شده بر روی درختان پیوند بالغ می شوند تا مقدار بیشتری میوه از رقم جدید تولید شده و امکان انجام آزمون تعیین سطح حساسیت رقم جدید به بیماری های انباری فراهم گردد. پس از این مرحله دانهال های امید بخش جهت بررسی رفتار گیاه به مناطق مختلف آب و هوایی منتقل می شوند. در این آزمایشات فقط دانهال هایی که از عملکرد سالانه بالایی برخوردار هستند، مطلوب تلقی می گردند. در طی مراحل گزینش، لازم است هر سلکسیون که نتواند استاندارد لازم را بدست آورد بدون هیچ گونه تردید و انعطاف پذیری حذف شود. بایستی در نظر داشت که هیچ دانهالی کامل نبوده و در نتیجه نمی توان انتظار داشت که تمام صفات مطلوب را در بر داشته باشد، اما اصلاحگر باید قادر به اتخاذ تصمیم مناسب در بین دو روش افراطی حذف همه دانهال ها و یا معرفی همه ژنوتیپ ها، باشد و به صورت متعادل عمل کند. از آن جایی که کارایی و میزان عملکرد ژنوتیپ ها در مکان های مختلف، متفاوت است، لذا انجام آزمایش های سازگاری گسترده برای دانهال های امید بخش یک ضرورت است.

#### یادداشت برداری ها

یک قسمت مهم در هر برنامه اصلاحی انجام یادداشت برداری های دقیق و صحیح است. این که چه صفاتی بایستی اندازه گیری شوند و تا چه اندازه به صفت های جزئی پرداخته شود بستگی کامل به حجم اطلاعات مورد نیاز برای استفاده در آینده دارد. در حال حاضر فهرست های توصیف نامه برای درختان سیب در دسترس همگان قرار دارند (Watkins and Smith, 1982). گزینش ها را می توان بر اساس تعدادی از صفات پیشنهادی از سوی Blazek و Paprstein (۱۹۸۸) انجام داد. معمولاً برای اصلاحگر درگیر شدن در مطالعات ژنتیکی اغواکننده است، اما بسیاری از اصلاحگران آن قدر در رکوردگیری زیاده روی می کنند که از هدف اصلی خود که حرکت به سوی تولید رقم جدید است، باز می مانند. به طور کلی بهتر است انجام مطالعات ژنتیکی بر روی تلاقی های ویژه انجام گیرد، زیرا استخراج

داده های زیاد و پر حجم از تمام تلاقی ها سود مند نیست. روش های رکورد گیری مزرعه ای متفاوت هستند. یک سیستم مناسب، استفاده از طبقه بندی عددی از پیش تعیین شده ( کد ) است. در این روش معمولاً از مقیاس های ۵ تا ۱ یا از ۹ تا ۰ جهت صرفه جویی در زمان و فضا استفاده می شود. رکوردگیری های کیفی و کد بندی نشده قابل استفاده در برنامه های کامپیوتری نیستند. جزئیات ویژه مربوط به هر نهال را می توان در یک سطر از جدول کد دهی به صورت مجزا حفظ کرد.

### موتاسیون ها و شیمرها

جهش جوانه<sup>۳۵</sup> نوعی جهش است که طی آن از یک سلول جهش یافته یک جوانه تشکیل شده و رشد می کند. معمولاً شاخه حاصل از این جوانه نسبت به سایر شاخه های موجود بر روی همان درخت، فقط در یک صفت متفاوت است. این نوع موتاسیون ها می توانند در کلیه اندام های گیاهی به وقوع پیوندند. دو نوع جهش مهم در سیب وجود دارد:

۱) موتاسیون هایی که در یک ژن اتفاق می افتد و باعث ایجاد صفاتی می شود که از سایر صفات درخت و میوه متفاوت است.

۲) موتاسیون هایی که سطح پلوئیدی را تغییر می دهند.

موتاسیون هایی که ظاهر میوه را تحت تاثیر قرار می دهند به آسانی قابل تشخیص بوده و از رایج ترین انواع جهش هستند. برای مثال افزایش میزان آنتوسیانین در لایه های خارجی سلول های پوست میوه متداول ترین نوع جهش بوده و موتانت های پوست قرمز بسیاری از ارقام رایج و مشهور از این نوع جهش ها بوجود آمده اند. ارقام نظیر 'کوکس اورنج پی پین'، 'دلشیز'، 'استار'، 'گالا'، 'جوناکلد'، 'رم بیوتی' و 'واین سپ' مستعد بروز این نوع موتاسیون ها هستند. در حالی که سایر ارقام رایج شناخته شده پایدارتر بوده و به ندرت می توان در آن ها جهش ایجاد کرد. کلیه جهش های پوست قرمز یک رقم به هیچ وجه یکسان نیستند، بلکه جدای از تفاوت های موجود از نظر بزرگی لکه رنگ رو و یا تیپ رنگ رو، از نظر شدت رنگ در لایه های سلولی خارجی نیز متفاوت هستند (Dayton, 1959). موتاسیون ها اغلب به یک لایه سلولی در مرستم انتهایی محدود می شوند؛ بنابراین گیاه یک شیمر پریکینال (دست در دستکش) به نظر می رسد. موتاسیون ها معمولاً وراثت پذیر نیستند، مگر این که لایه دوم سلولی (L-2) که در بردارنده گامت می باشد را نیز در بر گیرند (Pratt, 1983). جهش های جوانه توام با افزایش رنگ ممکن است خیلی با ارزش باشند. این افراد جهش یافته ها (موتانت ها) بایستی تکثیر و با کلون مادری از نظر برتری مقایسه شوند. گاه در میوه ارقام جهش یافته، کاهش زنگار، عاری بودن از زنگار و یا زنگار گرفتگی کامل ایجاد می شود که در برخی موارد ممکن است این جهش ها مطلوب باشند. موتاسیون های موثر در عادت رشد، به ویژه تیپ های رشد اسپور یا رشد متراکم که درختان اسپور و یا درختان پاکوتاه ایجاد می کنند، فوق العاده با ارزش بوده و همه اصلاحگران جهت تولید ارقام تجاری مهم در جستجوی آن هستند. موتاسیون های نامطلوب با صفات کم ارزش تر نسبت به گیاهان مادری نیز تولید می شوند. بنابراین باید دقت شود که این نوع موتانت ها انتخاب و تکثیر نشوند. این دقت عمل در گزینش جوانه، اساس حفاظت از تمامیت ژنتیکی گیاه مادری نیز می باشد. میزان جهش های نقطه ای بر ژن های منفرد را می توان توسط پرتوتابی توسط اشعه X، اشعه گاما یا نوترونهای حرارتی افزایش داد. در سال ۱۹۵۹، بی شاپ توانست از این طریق دو موتانت با میوه قرمز پررنگ مایل به تیره را از 'کورتلند'، دو موتانت از 'سن دیو'<sup>۳۶</sup> با رنگ کمتر و زنگار بیشتر و یک موتانت از 'گلدن راست'<sup>۳۷</sup> با زنگار کمتر نسبت به رقم اصلی تولید کند. لاپینز و سایرین (۱۹۶۵) از طریق پرتو دهی موتانت های متراکم ایجاد کردند. دز موثر برای پیوندک های خواب

35 - Bud sport

36- Sandew

37-Golden russet

۳-۵ کیلو راد (k rad) و برای جوانه های تابستانی در حال خواب ۲-۴ کیلو راد یا  $10^6 \times 15/6 - 3/9$  ترمال نوترون در سانتی متر مربع است. موتانت های حاصل از مواد پرتو دهی شده به سرعت خود را نشان نمی دهند و در صورت ادامه رشد طبیعی گیاه اصلی، رشد موتانت متوقف می شود. وقتی که پیوندک های خواب تحت تیمار جهش زایی قرار گیرند، بایستی پیوند شاخه شوند. بنابراین باید ده جوانه از قاعده شاخه و یا جست های حاصل از این جوانه ها را جدا کرده و بر روی پایه های پاکوتاه پیوند کرد. موتانت ها احتمالاً خود را در نسل دوم رویشی (یا بعد از پیوند دوم) نشان می دهند. Lacey و Campbell (۱۹۸۷) برای تولید و گزینش سیب های موتانت، آزمایشات لازم را تعریف و روش های آزمایشی لازم جهت تبیین ماهیت گیاهان موتانت را تعیین کردند.

از سایر جهش های مهم در اصلاح سیب می توان به جهش های غول یا بزرگ<sup>۳۸</sup> اشاره کرد (Einset and Imbofe, 1947, 1949, 1951). در این نوع جهش ها اغلب تغییراتی در سطح پلوئیدی و نوعاً دوبرابر شدن تعداد کروموزوم ها نسبت به گیاه مادری رخ می دهند. در این صورت رقم دیپلوئید تبدیل به تتراپلوئید شده و یا تری پلوئید به هگزاپلوئید تبدیل می شود. این موتانت ها را معمولاً می توان از طریق تولید میوه های درشت، که گاه دو برابر حجم میوه های نوع دیپلوئید را دارند، شناسایی کرد. میوه ها جدا از اندازه بزرگ، معمولاً چاق تر و دارای شکل نامنظم تری هستند که البته ارزش تجارتي ندارند. جهش های غول در تعدادی از ارقام رایج سیب فعلی به صورت خودبخود اتفاق افتاده و توسط باغداران جستجو گر کشف شده اند. اکثر این تتراپلوئیدها شیمیرهای پریکلینال بوده و می توان آن ها را بر اساس وضعیت بافت های 4x و 2x گروه بندی کرد. چهار لایه مریستم انتهایی (L-1 تا L-4) وجود دارند که می توان آن ها را بر اساس اندازه هسته به صورت ۲-۲-۲-۲، ۲-۲-۲-۴، ۲-۲-۴-۴، یا خیلی به ندرت ۴-۴-۴-۴ بر اساس دیپلوئید یا تتراپلوئید بودن سلول طبقه بندی کرد. رفتار کروموزومی این جهش ها بر اساس محل بافت 4x متفاوت است. فقط زمانی که لایه (L-2) به بافت مریستمی 4x تبدیل شود، درختان حاصل تتراپلوئید خواهند بود. بنابراین بسیاری از جهش های غول جوانه، صرف نظر از داشتن مشخصات رشد تتراپلوئیدی، از نظر ژنتیکی رفتار مشابه دیپلوئیدها را دارند. سیتو شیمیرهای ۲-۲-۴-۴ مشابه تتراپلوئید ها هستند، اما از نظر اصلاحی مثل یک دیپلوئید عمل می کنند (Pratt, 1983). با این وجود، احتمال تولید گیاهان تتراپلوئید یکنواخت از جهش های جوانه ای ۲-۲-۴-۴ از طریق تحریک به رشد کردن شاخه ها، از بافت درونی یا از ریشه جوش های نمو یافته از پیوند وجود دارد، زیرا ریشه ها رشد خود را از لایه سوم مریستمی (L-3) شروع می کنند. یکی از روش های تولید گیاهان تتراپلوئید سیتو شیمیر این است که درختان یک ساله حاصل از جوانه های جهش غول را در جعبه های بزرگ پرورش می دهند و سپس آنها را از ۳۰ سانتی متری قطع و به این ترتیب تمام جوانه ها و هر نوع اندام رشد یافته که در ناحیه جوانه های حذف شده و یا پایه ها ظاهر میشوند را حذف می کنند. این کار موجب تحریک گیاه به تشکیل گره های کروی شکل در محل میان گره ها می شود. این میانگره های متورم شکاف برداشته و تولید جوانه های نابجا کرده و سپس تبدیل به شاخه می شوند. با توجه به اینکه شاخه های ناحیه آوند آبکش رشد یافته اند، بایستی از نوع سیتوشیمیر ۴-۴-۴-۴ باشند. اگرچه تمام جهش یافته های 4x (تتراپلوئیدی) خودبخود به وجود می آیند، ولی این احتمال وجود دارد که بتوان آن ها (تتراپلوئید) را با استفاده از تیمار کلشی سین بر روی نقطه رشد نیز به وجود آورد (Hunter, 1954). این نوع تتراپلوئیدهای القایی احتمالاً سیتو شیمیر خواهند بود.

## بیوتکنولوژی (فن آوری زیستی)

### ریز ازدیادی

اطلاعات در خصوص کشت بافت سیب توسط زیمرمن (۱۹۹۱-۱۹۸۴) و اسکروین (۱۹۸۶) مرور شده است. پروتکل های استاندارد در خصوص ریز ازدیادی ارقام و پایه های سیب با استفاده از پرآوری شاخساره<sup>۳۹</sup> به دست آمده اند. محیط کشت پرآوری بر اساس نمک های محیط کشت موراشیچ و اسکوگ همراه با مواد آلی و افزودنی های نظیر هورمون های گروه سیتوکینین مثل بنزیل آمینوپورین (۴/۴ میکرومولار)، تیدیازورون (۰/۱ میکرومولار)، هورمون های گروه اکسین از جمله ایندول بوتیریک اسید (۰/۵ میکرومولار) و هورمون جیبرلین، بویژه جیبرلیک اسید (۱/۴ میکرومولار)، ساکارز (۸۷/۶ میلی مولار) و آگار (ژله ای کردن محیط کشت) تهیه می‌گردد.

محیط کشت ریشه زایی را می‌توان با کاهش غلظت نمک ها و ساکارز به نصف، حذف  $GA_3$  , BA و تغییر دادن غلظت IBA تهیه کرد. روش ساده تر این است که شاخساره ها به مدت ۳ الی ۷ روز در تاریکی در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد و در محیط کشت مایع حاوی ۴۳/۸ میلی مولار ساکارز و ۱/۵ میکرومولار IBA قرار گیرند (Zimmerman and Fordham, 1985). پروتکل های ریز ازدیادی سیب بر حسب ژنوتیپ و سایر موارد تغییر کرده و در حال حاضر بسیاری از آنها اختصاصی هستند.

از کشت بافت می‌توان به عنوان روش ازدیاد ارقام درختان میوه روی ریشه های خود<sup>۴۰</sup> استفاده کرد، اما در نتایج به دست آمده تفاوت های زیاد به چشم می‌خورد. درختان به دست آمده از قلمه های ریشه دار شده ارقام سیب دارای رشد قوی و انشعابات (شاخه های) آزاد فراوان هستند. گلدهی آن ها ممکن است در مقایسه با درختان پیوندی، که معمولا مسن تر هستند، به تاخیر افتد. پایه های پرشاخه در سال دوم و در خزانه میوه تولید خواهند کرد. اندازه درخت در گیاهان خودریشه دار در هر رقم، متفاوت خواهد بود. پایه های رویشی سیب از طریق ریز ازدیادی در کشورهای کانادا، ایتالیا، فرانسه و آمریکا تکثیر شده اند، ولی هزینه های آن از نظر اقتصادی نسبت به تکثیر از طریق خوابانیدن کپه ای رقابتی نیست. بنابراین ریز ازدیادی برای ایجاد پایه های مادری اولیه و با هدف استفاده از آن ها در تکثیر کلونی رقم پایه های مقاوم به بیماری به روش خوابانیدن کپه ای به کار می‌رود. جهت جلوگیری از وقوع تغییرات ژنتیکی در فرآیند ریز ازدیادی، ضرورت دارد هر ساله اقدام به برداشت نمونه از گیاه مادری شود. بروز تغییرات ژنتیکی یا مخلوط شدن مواد حاصل از ریز ازدیادی با سایر نمونه ها باعث می‌شود که برخی خزانه داران از کاربرد پایه های به دست آمده به روش ریز ازدیادی پرهیز کنند.

### جنین زائی رویشی (بدنی)

جنین زائی با القای بافت های خورش بذر (Eichholtz, 1979) و پینه (کالوس) حاصل از کشت بافت شاخه های بر گرفته از نونهال سیب، یا از کشت بافت جوانه های گل و قطعات گلبرگ های درختان بالغ امکان پذیر می‌شود (James et al., 1994). با این وجود، هیچ گونه گزارشی از نمو کامل دانهال های زنده از جنین زائی نابجا وجود ندارد.

### نجات جنین

رشد و نمو جنین های نارس (۸ روز بعد از گرده افشانی) به طور موفقیت آمیز گزارش شده است (Zhang and Lespinasse, 1988)، اما تلاش ها برای نجات جنین دورگ های حاصل از تلاقی های بین گونه ای یا بین جنسی همچنان بی نتیجه مانده است.

### کشت پروتوپلاست

39-proliferation

40 -Own Rooted

جداسازی پروتوپلاست‌های زنده از شاخساره‌های درون شیشه، کالوس و سوسپانسیون سلولی ژنوتیپ‌های مختلف سیب و گیاهان اتو-تروف از ارقام اسپارتان<sup>41</sup> و M7 گزارش شده است (Patat-Bhatt *et al.*, 1988). willin. (Patat-Bhatt *et al.*, 1988) و Johansson (1989) با استفاده از کشت پروتوپلاست مزوفیل برگ‌های بر گرفته از سیب ژنوتیپ A1583، درختی با تاج افراشته یا ستونی را باززایی کردند. هیچ گزارشی از امتزاج موفقیت آمیز پروتوپلاست و باززایی بعدی در سیب ارائه نشده است.

## باززایی

یک سیستم باززایی کارآمد، اولین پیش نیاز جهت ایجاد تغییرات ژنتیکی و یا تولید سیب ترار ریخته<sup>42</sup> است (Skirvin *et al.*, 1986). از عوامل مؤثر در باززایی می‌توان به محیط کشت، سن، ژنوتیپ و جهت قرارگیری ریزنمونه و شرایط انکوباسیون اشاره کرد (James *et al.*, 1988; Welander, 1988; Fasolo *et al.*, 1989). نتایج مثبتی از باززایی ریزنمونه‌های بر گرفته از اندام‌های مختلف گیاهی، شاخه و برگ (Welander, 1988)، پهنک برگ (Elobeidy and Korban, 1988) و رگبرگ‌ها (James *et al.*, 1988) در کشت بافت حاصل شده است. به منظور تلقیح آگروباکتریوم معمولاً از برگ‌ها استفاده می‌شود، زیرا در تهیه این بافت گیاهی از نظر تعداد محدودیتی وجود ندارد (James and Dandekar, 1991). برای القای بالا ترین سطح از باززایی، بایستی از ریزنمونه‌هایی استفاده شود که زمان بازکشت آن‌ها بین ۲۰ تا ۴۰ روز باشد (Bondt *et al.*, 1994). به منظور جلوگیری از شیشه‌ای شدن بایستی از ایجاد رطوبت اشباع در محیط کشت پرهیز کرد. اعمال تاریکی به مدت ۱ تا ۴ هفته باززایی را تحریک می‌کند. قبل از شروع کار برای تولید سلول‌های تراریخته، بایستی اثر آمینوگلیکوزیدها را بر باززایی و رشد ریزنمونه‌ها تعیین کرد، زیرا در تحقیقات تولید سلول‌های تراریخته، برای کنترل رشد و زنده ماندن آگروباکتریوم بعد از آلودگی از سفوناکسیم استفاده می‌شود. اثر تحریک کنندگی آمینوگلیکوزیدها بر روی مورفونز در سیب مشاهده شده است (Maheswaran *et al.*, 1992).

## مارکرهای مولکولی

مارکرهای بیوشیمیایی نظیر آیزوآنزیم‌ها به طور گسترده در گیاهان مطالعه شده و بسیاری از صفات گیاهان با پلی مورفیسیم آیزوآنزیمی همبستگی داشته است. به دلیل بالا بودن سطح هتروزیگوسیتی و پلی مورفیسیم در سیب می‌توان روش‌های آیزوآنزیمی را به عنوان یک روش قابل اعتماد برای شناسایی رقم پیوندک و پایه به حساب آورد (Vinterhalter and James, 1983, 1986; Weeden and lamb, 1985, 1987; Menendez *et al.*, 1986; Weller and Costant, 1987; Managanaris and Alston, 1989; Samimy and Cummins, 1992).

با استفاده از سیستم آنزیمی‌گرده طبیعت الپولوپلوئیدی ژنوم سیب به وضوح نشان داده شد. وجود قطعیت از این مطلب که معمولاً در گیاهان تریپلوئید طبیعی والد مادری گامت دیپلوئید تولید می‌کند، صرفاً با استفاده از ایزوآنزیم ۶- فوسفو گلوکونات دهیدروژناز نشان داده شده است. تحقیقات نشان داده است که ایزوآنزیم ای.د.اچ-۲ بر روی گروه سوم موجود در نقشه ژنی سیب که مسئول تقسیم رنگ میوه است (Weeden *et al.*, 1994) ثابت شده است. لینکاژ قوی بین ژن‌های رنگ سبز پریده، (ACP-1) اسید فسفاتاز (ENP-1) اندوفسفاتاز ثابت شده است (Manganaris and alston, 1989). تعدادی از صفات مهم تجاری سیب با مکان آیزوآنزیمی<sup>43</sup> پیوستگی دارند. بعنوان مثال خودناسازگاری به GOT-1, Aat-c) و مقاومت به لکه سیاه

41 -Spartan

42 -Apple Transformation

43 -Isozyme Loci

(VF) در حدود 8 cm از PGM-1 بر روی گروه لینکاژ سیب پیوستگی دارد (Manganaris *et al.*, 1994). مقاومت به سفیدک به وسیله دو مارکر آیزوزایمی Acp-3 و Aat-p Got-2 کاملاً پیوسته شناخته شده است (Manganaris, 1989). اگرچه ۱۹ مارکر آیزوزایمی بر روی نقشه لینکاژ (پیوستگی) سیب، ترسیم شده است ولی روش آن هنوز محدودیت هایی دارد. آیزوزایم هایی که نقش متابولیسم معینی نشان می دهند و همچنین دارای تعداد آیزوزایم های محافظت شده بالا می باشند، سودمند هستند (Weeden, 1989). با این وجود، تعداد آیزوزایم هایی را که بتوان به عنوان محک به کار برد محدود است. اکثر این ها دارای مونومرفیسم (یک شکلی) هستند و برای نشان دار کردن ژن (شناسایی ژن) ارزش محدود دارند. توسعه فنون PCR روش جدیدی را برای تشخیص پلی مرفیسم (چند شکلی) DNA به وسیله تکرار قطعات خاص آن (Amplifying Specific DNA Fragments) فراهم نموده است. استفاده از روش RAPD برای تعیین نقشه ژنتیکی و نشاندار کردن ژن در بسیاری از گونه های مختلف گیاهی از جمله سیب مفید و قابل اعتمادتر است (Weeden *et al.*, 1992). در این روش معمولاً از DROP (Decamer Random Oligonucleotide Primers) استفاده می شود (Williams *et al.*, 1990). از مزیت تکنیک RAPD می توان به تهیه مارکرهاي ژنتیکی متعدد در زمان کوتاه اشاره کرد، که این امر سبب می شود از آن به عنوان یک روش مناسب برای انتخاب نقشه ژنتیکی گیاهان مهم اقتصادی استفاده کرد. براساس مطالعات RAPD یک پیوستگی ژنتیکی در تلاقی سیب 'رم بیوتی' با 'وایت انجل' یافت شده است و نقشه ژنتیکی نتایج دیگری نیز تحت بررسی و تهیه است (King, 1995., Conner *et al.*, 1995). در یک مطالعه دو نتایج خواهر و برادر سیب، Conner و همکاران (۱۹۹۵) سودمندی آزمون مارکرهاي مولکولی را در رابطه با تفاوت در زمینه های عوامل ژنتیکی و محیطی گزارش کرده اند. تقریباً نیمی از صفاتی که به مارکرها مربوط بود در هر دو نتایج آشکار شد.

یکی از مارکرهاي مهم برای شناسایی رقم، مارکرهاي RAPD هستند. Landry و همکاران (1994) از مارکرهاي RAPD برای آنالیز فیلوژنی (ارتباط خویشاوندی) ۲۵ پایه سیب استفاده کرده و یک سیستم انگشت نگاری<sup>۴۴</sup> برای پایه های سیب را ارائه کردند.

در اصلاح سیب از مارکرهاي RAPD به عنوان نشانگرهای مفید یاد شده است (Welsh and McClelland, 1990., Williams *et al.*, 1990). این نوع مارکرها اصلاحگران سیب را قادر می سازند تا در مرحله رشد دانهال، هر ناحیه ژنوم بسیار سریع شناسایی و مورد هدف قرارگیرد (Weeden, 1989). مزیت مهم این تکنیک آن است که برای شناسایی یک صفت مطلوب، نقشه ژنتیکی لازم نیست. عامل مهم در انتخاب مارکر، گزینش صحیح از یک تلاقی برای شناسایی صفتی ویژه می باشد. تکنیک آنالیز تفکیک توده ای<sup>۴۵</sup> یک روش سریع در شناسایی مارکرها در هر توده است. در این روش، یک ژن یا یک صفت ویژه تفکیک می شود (Michelmores *et al.*, 1991). با استفاده از تکنیک BAS در سیب مقاومت به لکه سیاه (VF) در گونه *Malus floribunda* شناسایی شده است (Hemmat *et al.*, 1995; yang and kruger, 1994; koller *et al.*, 1994; Durham Korban, 1994). با استفاده از مارکرهاي متعدد RAPD در رابطه با مکان ژنی (VF) نسبت حضور 821 DNA *Malus floribunda* در هر یک از ۳۰ رقم سیب شناسایی شده است (S. Tartarini, اطلاعات شخصی).

Hemmat و همکاران (1995) با ارائه یک نقشه ژنتیکی از ناحیه مقاومت به لکه سیاه، سه مارکر RAPD و یک مارکر آیزوزایمی PGM-1 را در رابطه با مکان ژنی VF معرفی کردند. این مارکرها برای گزینش

و غربال کردن هیبریدها از نظر مقاومت به لکه سیاه بسیار مهم هستند. بسیاری از صفات در سیب مثل باردهی انتهایی، شکست خواب جوانه های گل، زمان گلدهی و تولید ریشه جوش از طریق مارکرهای RAPD دارای نقشه ژنتیکی و در یک گروه لینکاژ هستند (Lawson *et al.*, 1995). مارکرهای آنتوسیانین رنگ میوه نیز شناسایی شده و حضورشان در بسیاری از ارقام سیب قرمز ثابت شده است (R.Cheng, اطلاعات منتشر نشده). یک مارکر RAPD برای عادت رشد افراشته (CO) که از انشعاب دهی جانبی جلوگیری میکند استفاده از توالی ساده تکراری<sup>۴۶</sup> (SSR) شناسایی شده است. این مارکر دارای پلی مرفیسم (چند شکلی) بالایی است (Hemmat *et al.*, 1995).

این SSR روی ۱۱ گروه لینکاژ 'وایت انجل'<sup>۴۷</sup> × 'رم بیوتی' دارای نقشه ژنتیکی مشخص است. یک مارکر ژنتیکی نیز (OPAT20) برای سفیدک سطحی (*Podosphaera leucotricha*) گزارش شده است (Markussen *et al.*, 1995). این نشانگر دارای نقشه ژنتیکی در فاصله ژنتیکی 4 cM از ژن PII موجود در *M. Robusta* می باشد. استفاده از این مارکر در مطالعات نتاج تبدیل به یک روش رایج برای گزینش ژنوتیپ های مقاوم شده است. از صفات پیچیده دیگر می توان به عادت انشعاب دهی، زمان گلدهی، شکست خواب جوانه و میزان اسیدیته اشاره نمود. مبنای ژنتیکی این صفات با استفاده از مارکرهای مولکولی و آیزوزیمی تحت بررسی است. زمانی که بر صفات کمی کار می شود این مارکرها به منظور گزینش دانهال ها از ظرفیت بیشتری برخوردار هستند و بعداً به آن پرداخته خواهد شد (Hagens, 1992; Conner *et al.*, 1995).

#### انتقال ژن

انتقال ژن در سیب نخستین بار توسط James و همکاران (۱۹۸۷) با استفاده از باکتری میانجی آگروباکتریوم برپهنک برگ سیب رقم گرینزلیوز<sup>۴۸</sup> از طریق عامل انتقال دهنده pBin 6 گزارش شد. پرتوکل روش های انتقال ژن به صورت کامل توسط James و Dandekar (۱۹۹۱) منتشر شده است. با وجود این، سیستم های انتقال ژن از طریق آگروباکتریوم برای هر محصول و در حقیقت برای هر رقم باید بهینه سازی شوند. برای ایجاد تغییر ژنتیکی، ریز نمونه ها را از گیاهان مستقر در محیط کشت تهیه کرده و مجدداً با آگروباکتریوم حامل پلاسمید کشت می گردند. گیاهان تراریخته تحت شرایط ویژه باز زایی می شوند. اگر چه گیاهان سیب تراریخته تولید شده اند، ولی تا کنون میزان باززایی حتی در ارقام سهل باززا نیز کم بوده است (James *et al.*, 1993 a, b) اما نسبت هایی از ۲۰٪ و یا بیشتر در ارقام مستعد گزارش شده است. از عوامل مهمی که بر روی انتقال ژن تاثیر دارند می توان به شرایط قبل از کشت، نژاد باکتری مورد استفاده، زخم نمودن بافت برگ قبل از تیمار باکتری، نحوه تلقیح باکتری و شرایط کشت همراه (گیاه-باکتری) ریز نمونه، ژنوتیپ، سیستم باززایی و شرایط انتخاب گیاهان تراریخت اشاره نمود (James 1991; James and Dandekar, 1991; Welander and Maheswaran, 1991; Bondt *et al.* 1994).

انتقال ژن به سیب از طریق آگروباکتریوم را می توان یک روش پایدار و با توارث مندی متداول به شمار آورد (James *et al.*, 1994). در سیب، ژن های متعدد شناسایی شده و از طریق آگروباکتریوم قابل انتقال هستند. از جمله این ژن ها می توان به ژن پروتئین کریستالی حشره کش (ICP) موجود در باکتری *Bacillus thuringiensis* پروتئین بازدارنده تریپسین (Ely, 1993; James *et al.*, 1993) (cpti)، پپتیدهای لیتیک برای مقاومت به بیماری باکتریایی (Norelli *et al.*, 1994)، ژن های ضد پیری برای کاهش نرمی بافت (Gray *et al.*, 1994)؛ (yao *et al.*, 1995)، ژن های مقاومت به ویروس و ژن های کیتیناز مقاومت به بیماری

46 - Simple Sequence Repeat

47 - White Angel

48 - Greensleeves

قارچی (Mauren *et al.*, 1992) در سیب و ژن های کیفی برای مقاومت به آفات مهم اشاره نمود. این ژن ها هم اکنون در دسترس بوده و می توان در آینده از آن ها در زمینه اصلاح (انتقال ژن) درختان سیب بهره جست (Brown, 1992). از این ژن ها می توان به ژن های غالب مقاومت به عامل لکه سیاه (Knight and Alston, 1969) *Venturia inaequalis* ژن های مقاومت به عامل سفیدک سطحی سیب (*podospaera Leucotricha*) (Knight and Alston 1969) و ژن های مقاومت به شته مومی سیب (*Eriosoma lanigerum*)، و نیز ژن Co که عادت رشد افراشته را در درختان سیب کنترل می کند به عنوان ژن های مفید اشاره نمود (lapins and Watkins, 1973). تکنیک های لازم برای جداسازی، شناسایی و انتقال ژن های مقاوم (به بیماری) به ارقام موجود در دسترس هستند (Martin, 1996; Michelmore, 1995; Michelmore *et al.*, 1992 a, b). از ارقام تراریخته می توان به 'دلشیز' (Srisikandarajah *et al.*, 1994)، 'گرینزیوز' (James *et al.*, 1989)، 'مک ایتاش' (Bolar, 1995) و 'رویال گالا' (Yao *et al.*, 1995) و همچنین پایه های M.7 و M.26 اشاره کرد (Norelli *et al.*, 1994; Maheswaran *et al.*, 1992; Lambert and Tepfer, 1993).

یک راهبرد موثر برای کنترل کرم سیب، انتقال ژن حامل صفت حشره کش توسط پروتئین های باکتری *B. Thuringiensis* می باشد. کاربرد کنترل شیمیایی به منظور کاهش آلودگی ثانویه کرم سیب، باعث از بین رفتن شکارچی هایی نظیر کنه ها و شته ها می شود. از این رو کنترل ژنتیکی کرم سیب می تواند تاثیر مهمی بر سایر آفات سیب داشته باشد. حداقل ۴۰ ژن حشره کش برای کنترل حشرات diptera, lepidoptera و coleoptera جدا سازی و توالی های DNA آنها مقایسه شده است (Hofte and Whiteley, 1989). کریستال خالص سازی شده و تصفیه شده پروتئین های حشره کش (ICPS) رمز شده باژن های Cryla (b) و Cryla (c) در مقابل کرم سیب بسیار سمی بوده اند (Vail *et al.*, 1991).

ژن cryla (c) ابتدا با استفاده از پلاسמיד pwB 139 حاوی قطعه فعال HD-73 رمز کننده فعالیت حشره کشی ژن Cryla (c) به دست آمده از سوش HD-73 باکتری *B. thuringiensis* معرفی شد (Dandekar *et al.*, 1992). سطوح پائین از بیان ژن های انتقال یافته در میان ۲۷ لاین تراریخته مستقل مشاهده شد که نخستین انتقال ژن به گیاهان سیب دریافت کننده ژن خارجی به شمار می رود. متعاقباً ژن مقاوم به کرم سیب که لاروهای آن را می کشد به ۴۰۰ گیاه منتقل شد که تحت آزمایش و بررسی می باشند (Dandekar, اطلاعات شخصی).

پایه M.7 تراریخته از طریق انتقال ژن attacinE حاصل از *Hyalophoras cecropia* به وجود آمده است (Norelli *et al.*, 1994). نتایج آزمایشات گلخانه ای و باغی افزایش مقاومت یک لاین تراریخته سیب در مقابل بیماری آتشک را نشان داده است. ژن attacinE از جمله پروتئین هایی است که در مقابل آلودگی باکتریایی عمل تخریبی دارد (Bowman and Hultmark., 1987). با این وجود، این پروتئین ها به طور سریع در گیاهان تغییر یافته و تجمع فراوان آن ها در گیاهان ممکن است برای افزایش بازده آن ها لازم باشد. آزمایشات باغی در ارزیابی 'رویال گالا' و M.x تراریخته شده با ژن attacinE و سه پروتئین تخریبی دیگر شروع شده است (H. E. Aldwinckle, اطلاعات شخصی).

#### سیستم های اصلاح

اکثر سیب های کشت شده دیپلوئید ( $2n=34$ ) و در مرحله تقسیم میوز دارای ۱۷ کروموزم هستند (Zhang *et al.*, 1988 a, b, c; Lespinasse *et al.*, 1979). اگر چه اکثر صفات مطالعه شده در سیب از طریق پلی ژنی (چند ژنی) کنترل می شوند ولی صفاتی نیز وجود دارند که توسط یک ژن کنترل شده و تفرق دیپلوئیدی نشان

می‌دهند. طبق فرضیه های Darlington و Moffett (۱۹۳۰) این پلی پلوئیدهای مرکب، بخشی تتراپلوئید و بخشی هگزاپلوئید با پایه کروموزومی  $x=7$  بوده که در تیره گل سرخیان متداول است. تعداد کروموزوم های با پایه ۸ و ۹ در تیره گل سرخیان اشاره شده است. Sax (۱۹۳۱) نظریه ای ارائه کرد که طبق آن تمام گیاهان زیر تیره پوموئیده، آلپلوئید هستند و از هیبرید دوبرابر شده بین دو والد جداگانه با جد مشترک دارای پایه های کروموزومی ۸ و ۹ مشتق شده اند. طبق اظهارات Dermen (۱۹۴۹)، نظریه Sax در کل قابل قبول است، ولی به دلیل تنوع زیاد در بین جنس های زیر تیره پوموئیده هر جنس باید به طور مستقل به وجود آمده باشد. مطالعات الکتروفورز هفت آنزیم گرده در سیب نشان داد که وراثت پذیری دو ژن برای پنج آنزیم، و کنترل تک ژنی برای دو آنزیم بوده است. این نتایج موید وجود آلپلوئیدی در سیب است (Chevreau et al., 1985).

تریپلوئیدی ( $n = 51$ ) در ارقام سیب قابل وقوع است. این ژنوتیپ ها به طور طبیعی از باروری گامت های دیپلوئید کاهش نیافته به وجود می‌آیند. در میان ارقام کشت شده سیب، بروز تریپلوئیدی بسیار رایج و قابل انتظار است. طبق بررسی های انجام شده تریپلوئیدها در حدود ۱۰٪ از کل ارقام کشت شده را تشکیل می‌دهند، ولی میزان بروز آن میان جمعیت حاصل از والدهای دیپلوئید ۳٪ است. تعدادی از ارقام تریپلوئید دارای اهمیت اقتصادی هستند، که در بین آن ها می‌توان به 'بلنهم اورنج'، 'رود آیلند گرینینگ'، 'بالدوین'، 'گراونشتاین'، 'استیمن واین سپ' و اخیراً 'جوناکلد' و 'موتسو' اشاره نمود. در حقیقت تمام دانهال های امید بخش به دست آمده از رقم واین سپ مانند 'استیمن واین سپ'، 'ماموت بلک توپگ' تریپلوئید هستند. به نظر می‌رسد شانس به وجود آمدن خود به خود تریپلوئیدها نسبت به دیپلوئیدها بیشتر است. وجود برخی صفات مانند رشد قوی و میوه های درشت تر در ارقام تریپلوئید را می‌توان به عنوان یک امتیاز در گزینش آن ها موثر دانست. با وجود این توان تولید گرده در تریپلوئیدها اندک است که این وضعیت در باغ مشکل گرده افشانی را به وجود می‌آورد. تریپلوئیدها معمولاً نیاز به گرده زای دیپلوئید دارند و البته گرده زای دیپلوئید نیز به نوبه خود برای تشکیل میوه به گرده زای دیپلوئید دیگری نیاز دارد. تریپلوئیدها بذور زنده معدود تولید می‌کنند، اما اگر به طور صحیح گرده افشانی شوند میوه کافی تولید خواهند کرد. میزان تولید بذر کم (به دلیل آنیوپلوئیدی) ممکن است باعث عدم سال آوری گردد. از تریپلوئیدها نمی‌توان بعنوان والد در برنامه های اصلاحی استفاده کرد چون در صورت تلاقی با گرده خود و یا گرده سایر ژنوتیپ ها، عملاً تمام دانهال های به دست آمده آنیوپلوئید خواهند شد. این دانهال ها دارای رشد ضعیف بوده و به ندرت به درخت تبدیل می‌شوند. از میان ۳۲۹ دانهال حاصل از گرده افشانی آزاد تریپلوئید، هاپلوئید (۶٪) درخت، دیپلوئید (۱۸٪) درخت، تریپلوئید (۱۸٪) درخت و تتراپلوئید (۳٪) ۱۰٪ درخت و آنیوپلوئید (۹۲/۸٪) درخت بودند (Einset, 1945). هر چند اگر تریپلوئیدها به عنوان والد پدری انتخاب شوند گامت های ۳۴ کروموزومی معدود تولید می‌کنند و گامت هایی با پایه کروموزومی  $2x$  تعادل یافته بر گامت های آنیوپلوئیدی، مزیت انتخابی دارند. 'هکوتو'<sup>۵۱</sup> یک دانهال تریپلوئید است که در میان ۷۹ هیبرید حاصل از تلاقی بین 'فوجی' دیپلوئید (والد مادری) و 'موتسو' تریپلوئید (والد پدری) گزینش شده است (H. Bessho, اطلاعات شخصی).

ارقام تتراپلوئید ( $2n = 68$ ) به صورت موتانت هایی با میوه درشت روی درختان ارقام دیپلوئید کشف شده اند. معمولاً این نوع شیمیرهای جهش یافته از نظر تجاری ارزشی ندارند. تتراپلوئیدها معمولاً دارای شاخه های زبر و ضخیم، انشعابات پراکنده با میانگره های کوتاه و میوه های بزرگ، پهن و تا حدودی با شکل های نامنظم هستند. حداقل دو فرم تتراپلوئید 'یلوترانسپارنت'<sup>۵۱</sup> نسبت به ارقام دیپلوئید از نظر اصلاحی مهم

بوده و در مقیاس محدود کشت می‌شوند. از ارقام جهش یافته تتراپلوئید می‌توان به 'پرین ترانسپارنت'<sup>۵۲</sup> اشاره نمود. این رقم یک درخت نیمه پاکوتاه با محصول دهی منظم، شکل میوه خوب و قطر میوه ۶۰ تا ۶۵ میلی متر است که برخلاف رقم دیپلوئید 'یلوترانسپارنت' دارای رشد قوی با میوه به قطر ۴۰ تا ۵۰ میلی متر و دو سال آور است. تتراپلوئیدهای خودبخود جهش یافته به صورت شیمیر با یک یا چند لایه بافت دیپلوئید بر لایه های تتراپلوئید نیز پدید می‌آیند. اگر تتراپلوئیدی از لایه L-2 بوجود آید، در آن صورت موتانت مربوطه تولید گامت های دیپلوئید می‌کند. چنانچه موتانت به وجود آمده با دیپلوئیدها تلاقی یابد، تولید نتاج تریپلوئید می‌کند. بنابراین در برنامه های اصلاحی می‌توان از طریق تلاقی این نوع والدین (تتراپلوئیدها با دیپلوئیدها) تعداد زیادی هیبرید تریپلوئید تولید کرد. با وجود این، این نوع تریپلوئیدها شباهت کامل به تریپلوئیدهای حاصل از سلول تخم زای دیپلوئید کاهش نیافته و تلقیح شده با گرده هاپلوئید نداشته و با ارزش تر از آنان نیز نیستند. دلیل برتری تریپلوئیدهای طبیعی طبق نظر Knight و Alston در سال ۱۹۶۹ آن است که در تریپلوئیدهای حاصل از تلاقی 2x و 4x، گامت های هر دو والد میوز را متحمل می‌شوند و بنابراین دارای یک طبقه بندی مجدد تصادفی در ژن ها می‌باشند، اما تریپلوئیدهای طبیعی معمولاً از تلقیح یک سلول تخم کاهش نیافته توسط یک دانه گرده هاپلوئید به وجود می‌آیند. دانه گرده تمام فرآیند تفرق (segregation) را متحمل می‌شود، اما گامت مادری یا هیچ تغییری متحمل نشده و یا حداقل جور شدن مجدد را متحمل می‌شود. این عمل باعث می‌شود که تریپلوئیدهای حاصل دوسوم ساختار ژنومی والدین را به طور کامل یا با تغییرات مختصر از والدین دارا شوند. در این صورت اگر والد مادری خیلی خوبی باشد، احتمالاً صفات خوب گیاه مادری با یک ژنوم اضافی منجر به گیاه تریپلوئید خوب می‌شود. 'جوناکلد' حاصل از تلاقی بین 'جوناتان' دیپلوئید و 'گلدن دلینز' دیپلوئید به دست آمده و یک گیاه تریپلوئید است که گیاه مادری آن ('گلدن دلینز') کاهش کروموزومی نداشته است، اما هنوز به درستی روشن نیست که آیا کل ژنوم 'گلدن دلینز' دست نخورده است و یا شاید تغییراتی از تقسیم ثانویه در میوز را متحمل شده است.

مشکل کار برد اصلاحی و تولید گیاهان تریپلوئید حاصل از عدم کاهش کروموزومی فراوانی پایین آن ها است. بنابراین باید تعداد زیادی از دانهال ها را برای دستیابی به گیاهان تریپلوئید و گزینش بعدی آنها پرورش داد. روش مورد استفاده توسط Alston و Knight (۱۹۶۲) عبارت از جمع آوری بذور میوه های حذف شده (درجه ۳) در اتاق بسته بندی می باشد. این روش در شرایطی که والدین بذور شناخته شده و حتی گرده افشان ها نیز مشخص هستند به کار می رود. در این روش با جدا کردن درشت ترین بذرها از بین توده بذری موجود، و گزینش دانهال ها براساس اندازه برگ و قدرت رشد می‌توان تعدادی گیاه تری پلوئید را بدون نیاز به پرورش هزاران دانهال بدست آورد. تولید تتراپلوئیدها از طریق تری پلوئیدهای گرده افشانی شده با دیپلوئیدها نیز مقدور است. تعداد بذور تولید شده مطلوب به این روش بسیار کم بوده و بیشتر آن ها دانهال های آنیوپلوئید تولید می‌کنند. Laubscher و Hurter (۱۹۶۰) از شمارش کروموزوم های نوک ریشه ۸۸۴ دانهال حاصل از دانهال های تریپلوئید کشت شده به طور مخلوط در باغ گیاهان دیپلوئید، در مجموع ۸ دانهال تتراپلوئید به نسبت ۱ به ۱۱۰ دانهال تتراپلوئید به دست آوردند. تمام گیاهان تریپلوئید به یک شکل پاسخ نمی‌دهند و بعضی از آنها گیاهان تتراپلوئید بیشتری نسبت به بقیه تولید می‌کنند (Einset, 1954). تتراپلوئیدها را می‌توان از تلاقی سلول تخم زای ۵۱ کروموزومی کاهش نیافته با دانه گرده ۱۷ کروموزومی به دست آورد. تصور می‌شود که تتراپلوئید های تولید شده به این روش به احتمال زیاد نسبت به تتراپلوئید های تولید شده از طریق دیپلوئید های تیمار شده با کلشیسین، الگوی اصلاحی برتری محسوب شده و لذا بر آن ها مزیت دارند. نخستین رقم تتراپلوئید

معرفی شده به این روش رقم سوئدی آلفا - ۶۸<sup>۵۲</sup> است. از هگزاپلوئیدهای به دست آمده از طریق تیمار تریپلوئیدها با کلشیسین می‌توان به شیم‌های ۳-۳-۳ و ۶-۶-۳ به 'پاراگون' و 'استیمن واین سپ' اشاره کرد. یکی از معایب دانهال‌های پلی‌پلوئیدی، طولانی بودن دوره نونهالی است (برخی تریپلوئیدهای طبیعی به صورت استثنایی دوره نونهالی معمولی دارند). دوره طولانی نونهالی با کند شدن ورود به مرحله باردهی، پس از تکثیر اندام‌های بالغ همبستگی دارد.

### عقیمی و ناسازگاری

دو پدیده عمده ناباروری در سیب عبارتند از عقیمی و ناسازگاری. عقیمی در مواردی به وجود می‌آید که در آن نمو گرده، کیسه جنین، جنین و آندوسپرم (بافت خورش) با مانع مواجه شود. این حالت در ارقام تریپلوئید به دلیل عدم تعادل کروموزومی در گامت مشهود بوده و در نتیجه در این ارقام فقط درصد کمی دانه گرده مطلوب تولید شده و تشکیل بذر ضعیف است. در برخی از دیپلوئیدها مقدار زیادی از دانه‌های گرده سقط می‌شوند. این پدیده احتمالاً به دلیل وجود ژن‌های مغلوب‌کننده در شرایط هتروزیگوسی در اسپروفیت می‌باشد.

ناسازگاری جنسی به حالتی گفته می‌شود که در آن دانه گرده نمی‌تواند به طرف پایین‌خامه رشد کرده و تلقیح را به انجام رساند. این حالت در سیب به طور گسترده مشاهده می‌شود. در سیب خود ناسازگاری بسیار متداول بوده و حتی مواردی از ناسازگاری در تلاقی نیز به چشم می‌خورد. سیب دارای سیستم ناسازگاری گامتوفیتی است که در آن رشد لوله گرده در خامه متوقف می‌گردد. تفاوت میزان جوانه زنی دانه گرده در گرده افشانی‌های ناسازگار در مقایسه با سازگار خیلی قابل توجه نیست و به رشد لوله گرده در مرحله بعد نیز ارتباط ندارد. تحقیق بر روی آل S سیب در فهم این سیستم ناسازگار کمک می‌کند (Battle et al., 1995).

تقریباً تمام ارقام سیب تا حدودی خود ناسازگار هستند و برخی به طور کامل خود ناسازگارند. حتی آن دسته از ارقامی که به ظاهر خودسازگار هستند در صورتی که دگر گرده افشانی شوند تعداد بذر میوه بیشتری تشکیل می‌دهند. Brittain (۱۹۳۳) در مقایسه بین دو روش تلاقی بر روی چند هزار گل از ارقام 'کوکس اورنج پیپین'، 'گلدن راست' و 'نوردن اسپای' مشاهده کرد که میانگین تشکیل میوه با انجام ایزولاسیون گل‌ها در حدود ۱/۵٪ و در حالت دگرگشنی به ۷٪ رسیده است. در سیب دگر ناسازگاری خیلی متداول نیست، اما مواردی نیز در بین خویشاوندان نزدیک گزارش شده است. موتانت‌های یک رقم در تلاقی با رقم مادری و با سایر موتانت‌های آن ناسازگار است اما این ضرورتاً پدیده خود ناسازگاری است.

ارقام تریپلوئید در بسیاری از موارد رفتار دیپلوئیدها را از خود نشان داده و از درجات متفاوت خودناسازگاری برخوردار هستند. این ارقام در صورت گرده افشانی با دیپلوئیدها میوه بیشتری تولید می‌کنند، اما در صورت تلاقی با سایر تریپلوئیدها تفاوت و تنوع بیشتری را نشان می‌دهند. تتراپلوئیدهای طبیعی بسیار متغیر هستند، برخی خود بارور و برخی دیگر به دلیل از بین رفتن ناسازگاری گامتوفیتی در گامت‌های دیپلوئید تا حدودی خودبارور هستند. در یک سری از تلاقی‌های انجام شده توسط Brown (۱۹۷۵) تغییرات در میزان تشکیل میوه به صورت زیر مشاهده شد (جدول ۴).

### جدول ۴- تغییرات تشکیل میوه در تلاقی سیب‌ها با سطح کروموزومی متفاوت

درصد تشکیل میوه	تلاقی
۹	$4x \times 2x$
۳	$2x \times 4x$
۷	$3x \times 4x$
معادل گرده افشانی آزاد	$4x \times 4x$

### هاپومیکیسی

در برخی از گیاهان ظاهراً تولید بذر به روش معمول صورت می‌گیرد، اما در حقیقت بذر هاپومیکتیک از سلول تخم‌زای تلقیح نشده واقع در سلول‌های دیپلوئید بافت خورش و یا از برخی سلول‌های مگا گامتوفیت به وجود می‌آید. این نوع تولید بذر به عنوان هاپومیکیسی شناخته می‌شود. برخی گیاهان هر دو نوع بذر جنسی و غیر جنسی (هاپومیکتیک) را تولید می‌کنند. اگر بذر از سلول‌های مادری دیپلوئید بافت خورش ایجاد شده باشند، گیاهان حاصل از این بذر شبیه گیاه مادری بوده و هیچ تفرقی نشان نمی‌دهند. بنابراین این نوع بذر (هاپومیکیسی) را می‌توان شکلی از یک فرم ازدیاد غیر جنسی یا رویشی دانست. اما در صورتی که بذر هاپومیکتیک از سلول‌های تخم‌زای هاپلوئید به وجود آیند، گیاهان حاصل از آن‌ها ممکن است هاپلوئید بوده و تفرق نشان دهند. در چنین گیاهانی اگر کروموزوم‌ها به صورت طبیعی و یا توسط تیمار کلشیسین دو برابر شوند، گیاهان حاصل کاملاً هموزیگوت خواهند بود. فنون مختلفی برای تولید گیاهان هاپلوئید وجود دارد. گیاهان هاپلوئید ممکن است به صورت خودبخود به وجود آیند (۱/۱۰۰۰). چنین گیاهانی معمولاً بسیار ضعیف بوده و قدرت زنده ماندن را ندارند. برای گزینش گیاهان هاپلوئید، نخست گرده افشانی توسط یک دانهال نشانگر غالب هموزیگوت انجام گرفته و سپس به گزینی دانهال‌های حاصل از طریق شناسایی صفت مغلوب در آن‌ها صورت می‌گیرد. با استفاده از این تکنیک ۱۳ گیاه هاپلوئید شناسایی شده است (Lespinasse and Chereau, 1987). کروموزوم‌های برخی از این هاپلوئیدها دوبرابر سازی شده اند.

از سایر فنون توصیه شده برای تولید گیاهان هاپلوئید می‌توان به موارد زیر اشاره کرد :

- (۱) کشت درون شیشه اندام جنسی نر بساک حاوی گرده ( Androgenesis )
- (۲) کشت درون شیشه اندام جنسی ماده تخمک بارور نشده ( Ginogenesis )
- (۳) پرتوتابی مستقیم گرده بر روی گیاه و کشت درون شیشه جنین‌های نارس<sup>۵۴</sup>

(Hofer and Lespinasse ,1996)

هر چند تولید گیاهان هاپلوئید با استفاده از روش‌های مذکور تا حدودی موفقیت آمیز بوده است، ولی کاربرد این روش‌ها هنوز در سیب موفقیتی در پی نداشته است. گیاهان هموزیگوت سیب، مواد ارزشمند اولیه برای انجام مطالعات سیتولوژی و ژنتیک قلمداد می‌شوند، اما در ارزش اصلاحی هاپلوئیدها اغراق شده است. هاپلوئیدهای تصادفی یا دوبله شده، فاقد ارزش واقعی بوده و فقط یک مدل ژنتیکی محسوب می‌شوند. وقتی دو سیب هاپلوئید دوبله شده به صورت تصادفی تلاقی می‌یابند، نتاج F1 یکنواخت تولید خواهند کرد، اما این نوع ژنوتیپ‌ها احتمالاً برتری خاصی نسبت به یک سلکسیون هتروزیگوس تصادفی حاصل از تلاقی دیپلوئید با دیپلوئید ندارند. علیرغم این فرضیه که هر چند تعدادی از انتخاب‌های طبیعی از رشد رویشی بیشتری برخوردار

هستند، ولی به دلیل وجود ژن های مغلوب مهلک در آنان زنده نمی‌مانند. هیچ مدرک مستندی برای اثبات همبستگی بین انتخاب طبیعی برای تولید هاپلوئید های زنده و پایا به عنوان والد های مطلوب در باغبانی وجود ندارد. به علاوه گزینش هاپلوئیدهای امید بخش بسیار مشکل است. دلیل این امر آنست که شانس انتخاب هاپلوئید امید بخش فوق العاده اندک است. چنین هاپلوئیدهایی باید از طریق تلاقی بین هم<sup>۵۵</sup> آزمون شده و سپس نتایج آن ها مورد ارزیابی قرار گیرند. این روش برای تولید سلکسیون های سیب بسیار ضعیف و ناکارآمد قلمداد می‌شود، زیرا ژنوتیپ های برتری که از تلاقی یک دیپلوئید هتروزیگوت با یک دیپلوئید هتروزیگوت دیگر به دست می‌آیند را می‌توان از طریق ازدیاد رویشی همگروه سازی و تثبیت کرد. دانهال های سیب دارای مرحله نونهالی هستند که این نیز خود مشکل‌ساز است. تولید بذور هاپومیکت به این روش ممکن است یک تکنیک امیدبخش برای تولید پایه های بذری یکنواخت باشد. چنین پایه هایی هرچند از طریق بذر ازدیاد شده اند ولی عاری از ویروس نیز می باشند. اما بعید است که این روش مقرون به صرفه باشد، زیرا در حال حاضر تکثیر انبوه کلون های عاری از ویروس از طریق خوابانیدن کپه ای انجام می‌گیرد.

در هر صورت محدودیت های ذکر شده در خلوص ارقام بارور به پایه ها نیز تعمیم می‌یابد، زیرا هاپومیکسی اختیاری مشخصه تعدادی از گونه های جنس *Malus* است که احتمالاً دارای منشا هیبرید بوده و در ارقام کاشته شده اتفاق نمی‌افتد. گونه های هاپومیکت مورد بررسی همگی پلی پلوئید هستند. *Malus sikkimensis* یک گیاه تریپلوئید است، *M. M.lanceifolia* , *M. Platycarpa* , *M.toringoides* , *M. hupehensis* , *M.coronaria* در هر دو شکل تریپلوئید و دیپلوئید دیده شده اند؛ *M. sargentii* تتراپلوئید است *M. sieboldii* به صورت دیپلوئید، تری پلوئید، تتراپلوئید و پنتاپلوئید یافته شده است. احتمال دارد که شکل های دیپلوئید *M. seiboldii* هیبرید های جنسی با سایر گونه ها باشند. در شرایط طبیعی این گونه ها به طور آزاد به وسیله بذور هاپومیکت زادآوری می‌کنند، اما اکثر آن ها در صورت تلاقی با دیپلوئید های جنسی می‌توانند هیبریدهای جنسی تولید کنند. Sax (۱۹۵۹) نشان داد که *M. sargentii* تتراپلوئید، وقتی که با گرده درخت دیپلوئید جنسی تلقیح شود گیاه مادری تتراپلوئید و هیبریدهای تریپلوئید و پنتاپلوئید تولید می‌کند. دانهال های به دست آمده از گونه های هاپومیکت ضرورتاً یکسان نیستند و تا حدودی تغییرات در بین آنان مشاهده می‌شود. اهمیت این صفت در گونه های *Malus* این است که دانهال بعضی از آنها به اندازه کافی یکنواخت بوده و اگر به عنوان پایه مورد استفاده قرار گیرد عاری از ویروس هستند.

مسائل مربوط به ناسازگاری پایه و پیوندک و حساسیت به ویروس ها در قسمت اصلاح پایه های سیب مورد بحث قرار خواهد گرفت. Hanna Schmidt (۱۹۵۸) ثابت کرد که تولید والد های هاپومیکت راهی برای تولید پایه های کلونال از طریق بذر برشمرده می‌شود. برخی از سلکسیون های *M. sargentii* × M9 به دست آمده، هاپومیکت اختیاری هستند و ۶۰ تا ۹۰ درصد کلون های مادری را تولید می‌کنند. این هیبریدها را می‌توان با استفاده از یک گرده افشان هموزیگوت برگ قرمز و تولید دانهال های برگ قرمز شناسایی کرد. ارزیابی باغی دانهال های انتخابی حاصل از تلاقی *M. sargentii* × M.9 به دلیل عملکرد پایین و میوه های کوچک، امیدوارکننده نبوده است (Schmidt, 1988).

نحوه وراثت پذیری هاپومیکت خیلی روشن نیست. طبق نظر Sax (۱۹۵۹) هاپومیکسی یک صفت غالب است که در نسل اول در تلاقی های کنترل شده قابل مشاهده است. اما مطالعات Schmidt (۱۹۶۴-۱۹۸۸) نشان می‌دهد که هاپومیکسی یک صفت مغلوب است ولی براساس پلوئیدی گونه متغیر است. هیبریدهای تریپلوئید هاپومیکت در تلاقی با فرم های آمفی میکت *M. sieboldii* دارای نتایج به نسبت ۶ نتایج آمفی میکت و یک نهال هاپومیکت هستند. اما در تلاقی های بین هاپومیکت ها (با تعداد کروموزوم های زیاد) و آمفی میکت ها (با تعداد

کروموزوم های کم) نسبت هایومیکت ها بالاتر بوده و این نسبت با تفاوت از نظر تعداد کروموزوم ها افزایش می یابد.

### پارتنوکاری (بکرزایی)

سیب معمولاً دارای ۱۰ تخمک بوده اما جهت تشکیل میوه ضرورتاً همه آن ها تلقیح و تبدیل به بذر نمی شوند. اغلب برای نمو میوه وجود یک بذر در میوه کافی است. بنابراین حتی در صورت بالا بودن میزان عقیمی نیز می توان انتظار میوه های فراوان را داشت. به علاوه این احتمال نیز وجود دارد که برخی ارقام در شرایط خاص بدون تلقیح و بدون باروری، میوه های بکرزا تولید کنند. کیفیت میوه هایی که از این طریق به وجود می آیند، برحسب نوع رقم متفاوت است. در برخی ارقام، میوه ها کوچک و بد شکل هستند و در برخی دیگر میوه ها شکل، اندازه و ظاهر طبیعی دارند. میوه های بکرزا زودتر می رسند و نسبت به میوه های بذر دار از عمر انباری کمتری برخوردارند.

در یک آزمایش کلاسیک و حساس Chan و Chain (۱۹۶۷) با حذف میوه های بذر دار از ارقام سیب بدون گلبرگ 'اسپنسر سیدلس'<sup>۵۶</sup> و 'اهایو - ۳'<sup>۵۷</sup> ثابت کردند که حضور بذر ها از تشکیل گل برای سال آینده جلوگیری می کند و فقدان گلهی به خاطر رقابت برای عناصر غذایی بین میوه های بدون دانه در حال رشد نیست. دوره بحرانی رقابت سه هفته بعد از گرده افشانی است. این دو رقم بی گلبرگ، هر سال محصول بدون بذر تولید می کنند چون حشرات به دلیل نبودن گلبرگ، در این ارقام فعالیت ندارند، اما همین ارقام در صورت گرده افشانی مصنوعی میوه های بذر دار تولید می کنند. استفاده از ارقام بکرزا همواره توصیه شده است، زیرا این نوع ارقام در سال هایی که احتمال خسارت به دلیل وقوع سرمای دیر رس بهاره و ایجاد شرایط نامساعد برای گرده افشانی وجود دارد، توانایی تولید محصول را در خود حفظ می کنند (Thiele, 1950). برخی ارقام پرمحصول تولید میوه های بکرزا می کنند، اما به نظر نمی رسد این نوع ارقام در مقیاس وسیع پرورش داده شوند. Ewert در سال ۱۹۰۹، کشت سیب های بکرزا را به دلیل مشکلات ناشی از مسائل تلقیح توصیه کرد. سایر محققین نیز اصلاح برای تولید ارقام بکرزا را پیشنهاد نموده اند، اما تا کنون کارهای اصلاحی ناچیزی در این خصوص انجام گرفته است. اصلاح سیب برای تلقیح دوصفت بی گلبرگی و رشد افراشته در دورگ گیری های بین ارقام سیب 'ولینگتون بلوملس' با 'مک اینتاش ویجیک' و تلاقی برگشتی دانهال های بالغ با عادت رشد افراشته گلبرگ دار با سیب بدون گلبرگ 'اسپنسر سیدلس' با موفقیت انجام شده است (Tobutt, 1994). ترکیب این دو صفت (رشد افراشته و گل های بدون گلبرگ) در یک رقم برای جلوگیری از سال آوری و احداث باغات متراکم بدون نیاز به گرده افشانی توسط زنبور می تواند مفید واقع شود.

### خویشتن آمیزی (Inbreeding)

خویشتن آمیزی در سیب به دلیل کاهش قدرت رشد هیبریدها، عموماً به عنوان یک روش نامطلوب اصلاحی محسوب می شود. هرچند قدرت رشد هیبرید را می توان به وسیله تلاقی بین لاین های خالص ایجاد کرد، اما این روش یک رهیافت اصلاحی امید بخش نیست، چون گیاهان هتروزیگوت به دست آمده از تلاقی بین دو والد هتروزیگوت را می توان بصورت کلونی ازدیاد کرد. با این وجود، چون ارقام پررشد نیاز به هرس سنگین سالانه دارند، بنابراین کاهش محدود قدرت رشد به روش خویشتن آمیزی قابل حصول و دستیابی است. این کار برای برخی مناطق قابل توصیه است.

به دلیل خود ناسازگاری، هر نوع برنامه خویشتن آمیزی در سیب از طریق خودباروری برای رسیدن به هدف مشکل است. برای تولید تعداد کمی میوه باید تعداد زیادتری از گل ها را خویشتن آمیزی کرد تا بتوان تعداد

کمی بذر به دست آورد. میانگین تشکیل میوه از طریق خویشتن آمیزی در تعداد زیادی از ارقام در حدود ۲٪ و تعداد بذر در هر میوه به طور متوسط یک تا دو عدد گزارش شده است. فقط در حدود ۳٪ بذر جوانه می‌زنند و تعداد زیادی از آن‌ها ضعیف بوده و در نهایت از بین می‌روند. این موضوع احتمالاً در اثر بروز ژن‌های کشنده در حالت هموزیگوسی است. در نهایت تعداد کمی از بذر به دانهال‌هایی تبدیل می‌شوند که توانایی رسیدن به مرحله گل و میوه دهی را دارند. نتایج حاصل از خودباروری نشان می‌دهد تعداد اندکی از نتایج قابلیت خودباروری داشته و می‌توان آنها را دوباره خودبارور نمود. در مؤسسه جون اینس<sup>۵۸</sup>، برای گزینش دانهال‌های خودبارور و با قدرت رشد بالاتر، عمل خودگشنی در سه نسل انجام می‌شود. با این وجود، مقایسه دانهال‌های حاصل از خودگشنی نسل سوم، درجه متفاوت خویشتن آمیزی در سیب رقم کوکس اورنج پی پین را نشان داده است. در این مطالعه، دانهال‌ها در اثر خویشتن آمیزی با پدیده افزایش مرگ و میر و کاهش قدرت رشد روبرو هستند (جدول ۵).

Karnatz (۱۹۸۸) در مطالعات خود خویشتن آمیزی را به عنوان یک روش اصلاحی مطرح کرد. وی برخی سلکسیون‌های امیدبخش به دست آمده از خویشتن آمیزی 'گلدن دلینز' را گزینش کرد. وقتی که والدین از درجه خویشاوندی مشترک برخوردار باشند، خویشتن آمیزی افزایش می‌یابد. بنابراین در عمل تلاقی بین ارقامی که ظاهراً درجه خویشاوندی دور دارند، بایستی از شجره نامه آن‌ها استفاده کرد. خویشتن آمیزی ممکن است از تلاقی بین کولتیوارهای جدید ناشی شده باشد؛ ارقامی که اجداد بسیاری از آنان 'گلدن دلینز' یا 'دلینز' بوده اند.

#### جدول شماره ۵- همبستگی مرگ و میر و قدرت رشد با خویشتن آمیزی

متوسط ارتفاع (متر) بعد از شش سال	مرگ و میر (%)	ضریب خویشتن آمیزی
۲/۶۲	۳/۲	۰/۰۰۰
۲/۰۰	۲۹/۵	۰/۶۲۵
۱/۵۶	۵۵/۰	۰/۸۷۵

مأخذ: Brown , 1975

#### دگر آمیزی<sup>۵۹</sup> و تلاقی برگشتی<sup>۶۰</sup>

دگر آمیزی بین ارقام، مبنا و اساس اکثر برنامه‌های اصلاحی می‌باشد. این عمل معمولاً با هدف تلفیق کیفیت‌های مطلوب والد‌های پدری و مادری و تولید نتایج برتر صورت می‌گیرد. در حال حاضر اکثر برنامه‌های اصلاحی برای دستیابی به اهداف ویژه متمرکز شده‌اند. بنابراین انتخاب والد‌ها به گونه‌ای صورت می‌گیرد که از نظر صفات مورد نظر مکمل یکدیگر بوده و دگر آمیزی به منظور انتقال صفات خاص به نتایج صورت می‌گیرد. نتایج انتخاب شده برتر مجدداً با کولتیوارهای انتخابی بصورت برگشتی تلاقی داده می‌شوند. این تلاقی‌های برگشتی تا زمان انتقال صفات مطلوب از گونه به رقم، ادامه می‌یابد. در این موارد تعدادی تلاقی برگشتی نیز برای انتقال یک ژن خاص، برای مثال ژن حامل صفت مقاومت به بیماری به والد دیگر، انجام می‌گیرد. لازم به ذکر است که خویشتن آمیزی در همان نسبت‌های ذکر شده در برنامه‌های خود تلقیحی و در تلاقی برگشتی صورت می‌پذیرد. ژن غالب منفرد مقاومت (مثل ژن *VF* مقاوم به لکه سیاه)، موجود در گونه‌های جنس *Malus* از طریق فرآیند تلاقی برگشتی تغییر یافته جهت پرهیز از خویشتن آمیزی به ارقام کاشته شده سیب انتقال یافته است (Crosby

58- John Innes Institute

59 -Out Breeding

60 -Back Crossing

et al., 1992). جلوگیری از خویشتن آمیزی از طریق تغییر متناوب کولتیوارهایی که برای انتقال صفت مطلوب از والد اصلی به انجام می‌رسد، صورت می‌گیرد تا مشکلاتی مانند کاهش قدرت رشد و ناسازگاری نیز حذف گردند.

### صفاتی که به وسیله یک ژن کنترل می‌شوند

در اوان وقوع تحولات علم ژنتیک در جهان، همراه با کشف تفرق های ساده از تفاوت های موجود بین ژن های منفرد، انتظار می‌رفت که در اصلاح گیاهان انقلاب عظیمی رخ دهد، اما این رخداد فقط برای برخی از گیاهان اتفاق افتاد. وقتی درختان میوه تلاقی داده شدند تفکیک صفات ساده مطابق کنترل ژن های منفرد واقع نگردید و دلایل آن نیز برای مدت زمان طولانی نا شناخته باقی ماند. بعدها مشخص شد که تمام صفات مهم مثل شکل میوه، اندازه و رنگ میوه همگی از نوع صفات کمی هستند. در آن زمان این موضوع به راحتی قابل فهم نبود و تصور می‌شد که ژنتیک مندلی قادر به حل مشکلات عمده اصلاحگران میوه نیست. از آن پس تعدادی از صفات تحت کنترل یک ژن، بویژه در ارتباط با مقاومت به بیماری ها کشف شدند. همچنین صفات دیگری مانند آلینیسیم (زالی)، بی گلبرگی، فناپذیری و رشد افراشته (جدول ۶) شناسایی شد.

جدول ۶- ژن های سیب

ژن	اثر ژن (مقاومت به آفات)	رقم دارای ژن مقاومت
Er	شته مومی	نوردن اسپای
Sd1	Dysaphis devecta	کاکس اورنج پپین
Sd2	Dysaphis devecta	نوردن اسپای
Sd3	Dysaphis devecta (59/90)	(M.robusta MAL)
Sdp	Dysaphis devecta	مک اینتاش
Smh	Dysaphis plantaginea (MAL 59/90)	(M.robusta)
hypersensitivity		

یکی از نخستین صفات کشف شده در سیب که به وسیله یک ژن منفرد غالب در *Malus pumila* کنترل می‌شود، صفت رنگ کامل آنتوسیانین است که از گونه *M. pumila niedzwetzkyana* منشأ گرفته است (Lewis and Crane, 1938). در میان دانهال های برگ قرمز حاصل از تلاقی *M. P. niedzwetzkyana* با سیب های معمولی (برگ سبز)، تفاوت قابل ملاحظه ای در شدت رنگدانه وجود داشت. این موضوع نشان دهنده آن است که عوامل دیگری در این پدیده دخالت دارند. به علاوه می‌توان یک طبقه بندی مناسب برای دانهال ها از نظر وجود رنگ آنتوسیانین و یا فقدان رنگ در آن ها تهیه کرد. رنگ قرمز هموزیگوسی به ندرت ایجاد می‌شود. 'رویالتی'<sup>۶۱</sup> یکی از ارقام معدودی است که ۱۰۰٪ نتاج آن برگ قرمز هستند. اغلب سیب های برگ قرمز بر خلاف پیش بینی ها، بیشتر نتاج غیربرگ قرمز تولید میکنند. از تلاقی بین دو رقم برگ سبز × برگ قرمز کمتر از ۱۵٪ نتاج برگ قرمز حاصل می‌شود (چاپ نشده، J. N. Cummins). زمانی که یک صفت به وسیله یک ژن غالب کنترل می‌شود انتقال آن به سایر ارقام سیب به راحتی انجام می‌پذیرد. تعداد نسل های مورد نیاز به طور کامل به کیفیت رقمی که در آن صفت مطلوب یافت می‌شود بستگی دارد. اگر صفت دلخواه در رقم مورد نظر وجود داشته باشد، احتمالاً فقط یک نسل مورد نیاز است، به عبارت دیگر برای انتقال و تثبیت صفت مطلوب موجود در یک گونه از جنس *Malus* یک رقم تجارتي با میوه های درشت، باید تلاقی ها و تلاقی های برگشتی چندین نسل (۵ الی ۶ نسل) تکرار گردند. بنابراین اگر حداقل ۴ سال زمان برای هر نسل لازم باشد، با انجام ۵ تلاقی برگشتی حداقل به ۲۰ سال وقت نیاز

است. این موضوع اگر چه یک چشم انداز ترسناک را برای اصلاحگر ترسیم می‌کند، ولی انجام آن برای اصلاحگران جوان امکان پذیر است. به علاوه با استفاده از روش های انتقال ژن از طریق مهندسی ژنتیک امکان کاهش این مدت به صورت قابل توجه وجود دارد.

در صورتی که صفت مغلوب باشد (مثل بی‌گلبرگی) همان طوری که اکثر موتاسیون ها این طور هستند، کار اصلاح بسیار پیچیده و طولانی می‌شود. زمانی که یک رقم حامل یک صفت مغلوب با یک رقم طبیعی تلاقی می‌یابد،  $F_1$  آن طبیعی است. صفت مغلوب با فراوانی  $1/4$  در نسل دوم ( $f_2$ ) در تلاقی خواری یا با فراوانی  $1/2$  در تلاقی برگشتی با والد مغلوب ظاهر می‌شود.

**صفاتی که به وسیله چند ژن کنترل می‌شوند**

صفاتی نظیر اندازه، شکل میوه و میزان باردهی تحت کنترل چند ژن قرار دارند. بدین معنی که با تلاقی دو رقم، گستره وسیع و بسیار متنوعی از تمام این صفات در دانهال های بالغ ظاهر خواهند شد، به طوری که نمی‌توان آنها را در طبقات جداگانه‌ای گروه بندی کرد. اکثر صفات چند ژنی رفتار مستقل نشان می‌دهند. دامنه تنوع بستگی به تظاهر صفات در والدین دارد و میانگین صفات نتاج معمولاً میانگین والدین است. در برخی تلاقی ها، در یک سیستم صفات افزایشی و در مواردی که غالبیت وجود ندارد میانگین صفات نتاج همان میانگین صفات والدین می‌باشد، ولی در موارد دیگر می‌تواند بیشتر یا کمتر از میانگین والدین باشد.

میزان انحراف و جهت آن بستگی به غالبیت یا اپیستازی و تفاوت بین فنوتیپ غالب و مغلوب دارد. هرگاه تعداد دانهال ها در مقابل ارزش صفات قرار گیرند، یک منحنی توزیع ساده در حدود میانگین بدست می‌آید. در وضعیتی که هیچ غالبیتی وجود ندارد و ارزش والدین شناخته شده است پیش بینی میانگین نتاج آسان بوده و نسبت نتاج، بالاتر و پایین تر از ارزش والدین قرار می‌گیرد. صفاتی که به این شکل رفتار می‌کنند، از صفاتی هستند که تحت تاثیر فشار گزینشی زیاد قرار نگرفته‌اند. شکل میوه صفتی است که بر اساس آن هیچ گزینش شاخصی چه برای انواع بسیار پهن، بشقابی و چه برای انواع کشیده آن صورت نگرفته است. حالت های خاصی وجود دارند که برای بیان ارزش محدودیت هایی وجود دارد. بنابراین اگر ماه جولای زودترین زمان برای رسیدن میوه‌ها باشد این بدان معنی است که این ماه حداقل زمان لازم از گلدهی تا نمو میوه است، دامنه زمانی که میوه طی آن امکان رسیدن می‌یابد. لذا ماه جولای به عنوان پایین‌ترین ارزش ثابت مطرح می‌شود. نتاج دو والد زودرس به دلیل وجودعامل محدود کننده زمانی جولای توزیع یک جانبه ای را نشان می‌دهد و فقط نتاجی را تولید می‌کنند که در این ماه و یا دیرتر از آن می‌رسند، ولی زودتر از آن نمی‌رسند. در چنین حالاتی میانگین نتاج نسبت به میانگین والدین بالاتر است.

مکرر اتفاق می‌افتد که میانگین والدین به طور قابل توجهی از میانگین نتاج بالاتر است، اگرچه فرم توزیع آن همان منحنی ساده باشد. چنین وضعیتی در صفاتی اتفاق می‌افتد که طی نسل های متعدد در معرض فشار شدید گزینش واقع می‌شوند. در مواردی که گزینش انجام شده همیشه در منتهی الیه منحنی واقع است، میانگین نتاج به طرف میانه دامنه تفرق برای صفت مزبور تمایل می‌یابند. یک مثال از این نوع، اندازه میوه در شرایطی است که غربال شدید سیب های ریز و زینتی باعث می‌شود تا میانگین نتاج به  $40\%$  کمتر از میانگین والدین برسد (Brown, 1960). به این ترتیب اصلاحگر باید دقت کند که انجام اندازه گیری متریک بسیاری از صفات را دچار انحراف می‌کند. بنابراین تلاقی سیب‌های درشت و ریز، اغلب هیبریدهایی را به وجود می‌آورد که به نظر می‌رسد به والد ریز نزدیک تر هستند و غالبیت برای صفت ریز بودن را قوت می‌دهند. منحنی برای اندازه میوه در مقیاس کلان نشان خواهد داد که اغلب هیبریدها در حالت بینابین قرار داشته و ژن هایی که صفت اندازه میوه را کنترل می‌کنند، بیشتر با افزایش لگاریتمی عمل می‌کنند تا با افزایش حسابی.

علاوه بر داشتن صفاتی که با یک ژن ساده و یا چند ژن کنترل می شوند، ممکن است سیستمی وجود داشته باشد که یکی بر دیگری تاثیرگذار شده و این باعث ابهام بیشتر می شود. چنین حالتی در توارث صفتی مانند غلظت اسید مالیک میوه دیده می شود، به گونه ای که سطح متوسط تا بالای اسید بر حالت کم اسید غالب است، اما در میان هر دو تیپ از سیبها دامنه ای از تفرق شبیه به کنترل پلی ژنی وجود دارد (Brown and Harvey, 1971). در بسیاری از صفات کمی که با ژن های زیادی کنترل می شوند، کنترل نهائی اغلب توسط تعداد کمی از ژن ها، که هر کدام اثر بزرگی دارند، صورت می گیرد. این ژن های مؤثر و معدود را می توان از طریق لینکاژ توسط نشانگرهای مولکولی شناسایی کرد. بنابراین تهیه نقشه ژنوم سیب می تواند گزینش برای صفات کمی را نیز تسریع بخشد.

### سهم والدین

وقتی که داده های یادداشت برداری شده مربوط به صفات جزئی میوه و درخت در دانهال های نتاج برای سال های متمادی جمع آوری شوند، این امکان به وجود می آید که با استفاده از این داده ها سهم هر یک از والد ها را بر نتاج محاسبه کرد. به این شکل می توان با ثبت داده های مربوط به صفات مختلف، به روش فوق طبقه بندی دانهال ها در گروه های معین و مناسب، انجام آنالیز را امکان پذیر ساخت. گیلبرت در سال ۱۹۶۷ روشی را برای آنالیز سری تلاقی های دو والدی عنوان کرد. در این روش، وقتی از والد های مشترک استفاده می شود، می توان تأثیر اصلی هر یک از والد ها را بر هر صفت محاسبه کرد. انجام چنین کاری با قرار دادن داده ها در تلاقی های دی آلی ممکن می گردد، زیرا تلفیق توانائی ها حالت افزایشی دارد. اثرات محاسبه شده اصلی برای هر والد با دقت قابل توجهی به عنوان میانگین نتاج از ترکیب والدین تست نشده قابل پیش بینی است.

### گزینش والدین

از آنجایی که اصلاح سیب اغلب بر اساس گزینش نتاج حاصل از تلاقی والدین کاملاً هتروزیگوت بوده است، بنابراین بایستی به گزینش والدین توجه خاص معطوف داشت و گرنه برنامه اصلاح بی اساس و بر مبنای اتفاق و تصادف قرار گرفته و نتایج اصلاح غیر قابل پیش بینی خواهد شد. اگر هدف عمده اصلاح، انتقال یک صفت تحت کنترل یک ژن بزرگ و یا چند ژن باشد، انتخاب حداقل یکی از والدین محدود به کولتوارهایی می گردد که حامل این ژن ها هستند. با وجود این، اکثر صفات مهم به صورت چند ژنی کنترل می شوند، لذا برای هر صفت دامنه قابل توجهی از تفرق وجود خواهد داشت و اصلاحگر بایستی در جستجوی تظاهر ایده آل هر ژن باشد. خوشبختانه رفتار اصلاحی لاین های والد با هتروزیگوسی بالا، با در نظر گرفتن صفات قابل اندازه گیری که سطح پایینی از غالبیت ژنتیکی دارند، اغلب قابل پیش بینی است. همان طوری که نشان داده شده است. میانگین صفات نتاج تقریباً به میانگین والدین نزدیک تر است. هدف اصلی بایستی تلفیق والد های باشد که در مجموع، کلیه صفات انتخابی مورد نظر را در حداکثر تظاهر خود و نزدیک به اپتیوموم در بر داشته باشند. بنابراین، اگر صفت چند ژنی مقاومت به سفیدک مد نظر قرار گیرد، باید یکی از والدین و در صورت امکان هر دو والد از درجه بالای مقاومت برخوردار باشند تا در بین توده بسیار بزرگی از نتاج مقاوم تولید شده، امکان گزینش برای صفات دیگر نیز وجود داشته باشد. احتمالاً، واقع بینانه تر آن است که انتخاب والدین با صفات مکمل هم صورت گیرد تا بتوان نتاجی را گزینش کرد که دربردارنده صفات مطلوب موجود در هر دو والد باشند.

پس از انتخاب والدین، اصلاح گر بایستی تعداد نتاج مورد نیاز را تعیین کند تا از نظر منطق اصلاحی مطمئن باشد که تمام صفات لازم در برنامه طراحی شده در دورگ گیری جهت دستیابی به رقم جدید سیب را در تملک خود دارد. Williams (۱۹۵۹) با استفاده از یادداشت برداری های خود نتیجه گرفت که درصد دانهال های مطلوب که بتوان آنها را به عنوان دستاورد اصلی در یک برنامه اصلاح سیب برای صفات چند ژنی برشمرد، به ندرت به بیش از ۴۰٪ از کل نتاج می رسد و برای هر صفت افزایشی این میزان به سرعت کاهش می یابد. بنابراین

در یک برنامه اصلاحی که هدف اصلی، صفات چند ژنی مثل مقاومت به سفیدک، اندازه میوه، زمان رسیدن، طعم، مزه، رنگ پوست باشند، به ترتیب مقادیر ۱۰، ۲۰، ۲۰، ۴۰٪ یک تخمین منطقی به نظر می‌رسد. به فرض این که این صفات کاملاً مستقل عمل کنند، به ارث رسیدن این صفات در بین ۶۲۵۰ نتاج هیبرید به احتمال ۱۶ در ۱۰۰۰۰۰ بوده است. حتی در مورد یک دانهال هیبرید که بتواند ترکیبی از ۵ صفت را به ارث ببرد، وسعت نتاج هنوز باید از مقدار فوق بیشتر باشد تا بتوان با احتمال بیشتری به دستیابی به تلفیق های نادر<sup>۶۲</sup> امیدوار بود. با وجود این تجربه، غربال کردن پایه ها نشان می‌دهد که این تخمین ها بطور کامل خوشبینانه بوده است (Cummins and Aldwinckle, 1983). علاوه بر صفات قابل تعریف قبلی، صفات کوچکتر دیگری نظیر طعم و بافت میوه وجود دارند که بایستی در برنامه های اصلاحی (گزینش والدین) آنها را منظور کرد. در صورت ناچیز انگاشتن این صفات، شکست برنامه به نژادی رقم خواهد خورد. چنانچه اصلاح گر در برنامه ریزی آینده خود ارزیابی تعداد ۳۰۰۰۰ نتاج هیبرید را پس از رسیدن به دوره باردهی قرار دهد، در عمل متوجه خواهد شد که ارزیابی بیش از حد وسیع در دوره باردهی، در یک برنامه اصلاحی امکان پذیر نبوده و باید از آن پرهیز کند. با وجود این در هر برنامه اصلاحی جدی، به شرط این که در گزینش والدین دقت کافی صورت گیرد، بایستی نتاج با اندازه بزرگتر (تعداد بیشتر) برنامه ریزی شوند. به جای پرورش تمام دانهال ها تا مرحله میوه دهی بایستی حدالمقدور کلیه دانهال های نامطلوب را در مراحل اولیه رشد حذف کرد. برای مثال ممکن است یک نسبت بالا از دانهال ها را به دلیل حساسیت زیاد به سفیدک در فصل دوم رشد حذف کنیم. با وجود این، نتاج را می‌توان با افزایش تعداد سیکل (چرخه) های سلکسیون بهبود بخشید.

#### استراتژی اصلاح

Bringhurst در سال ۱۹۸۲ به عنوان یک اصلاحگر و بر اساس تجربیاتش در محصولاتمانند توت فرنگی و اووکادو، اقدام به ارائه یک آنالیز کارآمد و دقیق جهت اصلاح میوه کرد. پیشنهادات وی به ویژه در مورد اصلاح سیب بسیار مناسب به نظر می‌رسد، چرا که اخیراً اغلب کارهای اصلاحی در این خصوص بر روی ارزیابی تنوع طبیعی موجود متمرکز بوده است.

استراتژی سنتی اصلاح میوه شامل شناسایی فنوتیپ های برتر، ازدیاد ژنوتیپ های گزینش شده برتر، تکمیل عملیات داشت و بهینه کردن مدیریت باغ، که باعث افزایش کارایی ارقام انتخابی به گزینی شده می‌گردد، دو رگگیری بین بهترین ژنوتیپ های انتخابی و سپس تداوم چرخه اصلاح بوده است. این روش اصلاح ممکن است یک شکل از گزینش توده ای دوره ای<sup>۶۳</sup> تلقی شود که در آن مفهوم کلیدی اصلاح شامل انتخاب بهترین افراد و تداوم تولید نوترکیب ها<sup>۶۴</sup> در چندین چرخه است. اصلاحگران چندین موضوع اصلاحی را به طور همزمان ادامه می‌دهند و در ضمن ادامه آن برنامه، از بهترین افراد یا دانهال های انتخابی بعنوان والدین نسل آینده استفاده می‌کنند. اکنون مشخص شده است وقتی که یک توده اصلاح می‌شود شانس برای معرفی ژنوتیپ های برتر افزایش می‌یابد. آزمایشات در رابطه با محصولات متعدد از جمله سیب نشان داده است که این استراتژی موفقیت آمیز است. تحلیل Bringhurst در خصوص دلایل شکست برنامه های اصلاحی از نظر تأثیرگذاری بر صنعت سیب عبارتند از:

#### (۱) کافی نبودن حمایت

به دلیل وجود فشار بیش از حد گزینش است که برنامه اصلاحی منتج به تولید کولتیوارهای موجود شده اند، بنابراین بعید به نظر می‌رسد در برنامه های اصلاحی موردی بتوان دانهال های برتر ایجاد کرد. این را

62- rare recombinants

63- recurrent mass selection

64- recombination

تجربه نیز ثابت کرده است. بسیاری از برنامه‌های اصلاحی در سراسر ایالات متحده موفقیت‌آمیز نبوده و با شکست مواجه شده‌اند. فقط برنامه‌های طولانی مدت اصلاحی موفقیت‌آمیز بوده‌اند. این نوع برنامه‌ها نیاز به حمایت مداوم و استراتژی طولانی مدت دارند. به علت عدم سرمایه‌گذاری، این احتمال پدید می‌آید که اصرار بیش از حد بر اهداف کوتاه مدت برنامه‌های اصلاحی، این نوع برنامه‌ها در حکم اهداف برنامه‌های بلند مدت، مورد ارزشیابی قرار گیرند. حصول پیشرفت در اصلاح میوه نیاز به زمان طولانی دارد و به دست آوردن نتیجه خوب در یک زمان کوتاه مقدور نمی‌باشد.

#### ۲) معیوب بودن استراتژی

پیشرفت ژنتیکی در گزینش دوره ای<sup>۶۵</sup> نیاز به تداوم چندین نسل در برنامه‌های اصلاحی دارد. صرف منابع ژنتیکی موجود در تلاقی‌های متعدد به منظور دستیابی به بهترین ترکیب‌های تلاقی و تکرار تلاقی‌های مناسب در مراحل بعدی صورت می‌گیرد. معمولاً خطا در استفاده غیر اصولی از زمان و منابع موجود ایجاد می‌شود. اشتباهات در این نوع برنامه‌ها بسیار هزینه‌بردار است. آزمایشات گسترده در انجام تلاقی‌های نامطلوب منطقی و عاقلانه نیست. نتایج نهایی آزمایش هر چه باشد، اتلاف مواد ژنتیکی ارزشمند که به گزینی در داخل آن انجام گشته است را جبران نخواهد کرد.

#### ۴) جهت‌گیری اشتباه

تأکید بی‌جهت بر صفاتی که از اهمیت و اولویت لازم برخوردار نیستند، اصلاحگر را به بیراهه می‌کشاند. لذا می‌بایست مهم‌ترین صفات را تشخیص داده و جهت اصلاح را به صورت صحیح تعیین کرد. برای مثال اصلاحگر نباید روی بیماری‌ها و آفات متمرکز شود که قابل کنترل بوده و یا دارای اهمیت جزئی هستند. قدرت کار گروهی اصلاح سیب توسط پوردو و روتج<sup>۶۶</sup> در دانشگاه ایلی‌نویز را باید به این دلیل دانست که تشخیص آنان در تأکید بر انتقال ژن VF (ژن مقاوم به لکه‌های سیب) به تیپ‌های سیب سازگار بسیار صحیح بوده است. از سایر خطرات می‌توان به استفاده از روش‌های غیرمعقول، عدم اندازه‌گیری صحیح، شکست در آغاز عملیات در سطوح بالاتر و پیشرفته، شکست به تداوم بخشیدن به نسل‌های متوالی، شکست در حذف نتایج نامطلوب (اصلاحگر بایستی بیرحم باشد) و شکست در احیای (تکرار) برنامه اصلاح اشاره کرد. چون اصلاحگر درختان میوه نظیر درخت سیب، به غیر از چند نسل محدود، زمان بیشتری در اختیار ندارد، می‌بایست چندین برنامه را به طور همزمان انجام دهد. در پایان Bringham<sup>۶۷</sup> به این مطلب اشاره می‌کند که هر کولتیوار برای خود دارای صفات ویژه است و ممکن است نیاز به عملیات باغبانی ویژه نیز داشته باشد. بنابراین لازم است اصلاحگر و باغدار جهت افزایش عملکرد کولتیوار جدید، عملیات باغبانی ویژه آن را به اجرا گذارند.

#### اصلاح برای صفات ویژه

##### قدرت رشد

مطالعه وراثت پذیری قدرت رشد به دلیل دخالت و تأثیر عوامل متعدد در این پدیده مشکل است. به عنوان مثال ارقام والد معمولاً روی پایه‌هایی رشد می‌کنند که قدرت رشد را کنترل می‌کنند، در حالی که دانهال‌های هیبرید اساساً بر روی ریشه‌های خود رشد می‌کنند. Spinks (۱۹۳۶) در یک بررسی مقدماتی نتیجه گرفت که بین اندازه و توان رویشی چه در بین دانهال‌های نتاج و چه در والدین همبستگی وجود ندارد. Watkins و Spangelo (۱۹۷۰) در آنالیز دی‌آلل قدرت رشد دانهال‌ها که با صفت رشد طولی افراد اندازه‌گیری می‌شود، دریافتند که میانگین رشد نتاج در یک گروه می‌تواند برابر با میانگین رشد والدین باشد، در حالی که ممکن است در گروه دیگر تفاوت قابل توجهی میان نتاج و والدین وجود داشته باشد. این موضوع بیانگر آن است که عوامل متعددی در

۶۵- recurrent selection

۶۶- purdue and Rutger

قدرت رشد دانهال ها دخالت دارند و مشکل عمده هنگامی بوجود می آید که سعی در تشخیص قدرت رشد والدین باشد. به عنوان یک موضوع کاربردی، قدرت رشد متفاوت دانهال ها را می توان با استفاده از پایه های انتخابی کنترل کرد.

در مورد اثر خویشتن آمیزی و آنیوپلوئیدی بر کاهش قدرت رشد قبلاً بحث شد. جالب توجه است که تریپلوئیدی قدرت رشد را افزایش می دهد در حالی که تتراپلوئیدی آن را کاهش می دهد. با توجه به این موضوع می توان گفت که تریپلوئیدی در سیب از نظر شرایط فیزیولوژیکی مناسب قلمداد میشود.

یکی از مهمترین دلایل استفاده از پایه ها کنترل اندازه درخت است. در اوایل برنامه های اصلاحی در انگلستان، بیشتر تلاش در جهت افزایش قدرت رشد دانهال ها شکل می گرفت، اما امروزه در تولید و پرورش سیب تمایل به سوی تولید درختان پاکوتاه و زود بارده به منظور سهولت در برداشت محصول تغییر یافته است. برای جبران کاهش اندازه درخت در باغات جدید، تراکم کشت به مقدار زیادی افزایش یافته است.

هیچ نوع تمایز قابل درکی بین یک کلون (رقم) خود ریشه دار و یک نهال پیوندی که روی یک پایه قوی پرورش داده می شود و یا کلون دیگری که تمایل به پاکوتاه کنندگی دارد و از آن به عنوان یک پایه پاکوتاه کننده نیز استفاده می شود، وجود ندارد. امروزه عموماً از اصطلاح فشرده برای توصیف درخت های کم رشد یا پاکوتاه استفاده می شود، بدون در نظر گرفتن این که آیا صفت پاکوتاهی مربوط به خصوصیات ژنتیکی رقم است یا بر اثر عوامل دیگر مانند استفاده از پایه های پاکوتاه کننده یا انجام هرس تابستانه است (Cummins and Aldwinckle, 1983). به عنوان نمونه پاکوتاهی را می توان در ارقام غیر پیوندی تیپ اسپور 'اورگون اسپور' 'دلینز'، 'دلکن'، 'دلینز' و 'نوگت گلدن دلینز' مشاهده کرد. با این وجود ارقام فوق وقتی که به عنوان پایه یا میان پایه استفاده می شوند نمی توانند باعث القاء صفت پاکوتاهی در رقم شوند. از پایه های پاکوتاه شاخص می توان به M8, M9, Bud9, p22 و Mark که بسیار پاکوتاه کننده بوده ولی با ارقام با عادت رشد متراکم متفاوت هستند، اشاره کرد.

مکانیسم فیزیولوژیک پاکوتاه کنندگی و پاکوتاه بودن هنوز به طور واضح درک نشده است، اما برخی همبستگی ها برای پیش بینی ظرفیت پاکوتاهی ژنوتیپ های مطرح به عنوان پایه های بالقوه به دست آمده است. Hutchison (۱۹۶۷) اطلاعات خود را در خصوص نتایج به دست آمده از بررسی های انجام شده بر نتاج M9 ارائه کرده است. می توان بر مبنای این اطلاعات پاکوتاه ترین و کم رشدترین افراد یک خانواده را با مشاهده ساده قدرت رشد گیاهان پیوند نشده شناسایی کرد. Beakbane و همکاران (۱۹۳۹، ۱۹۴۱، ۱۹۹۷، ۱۹۷۵) وجود همبستگی بین صفت تمایل به پاکوتاهی و صفات متنوع ساختاری یا تشریحی گیاهان را گزارش کردند. این صفات شامل درصد بافت زنده در مقطع عرضی ریشه، نسبت پوست به چوب، درصد بافت اشعه های آوندی در مقطع عرضی ریشه و تراکم بالای روزنه ها در برگ ها است. در برخی از برنامه های اصلاحی پایه از صفت نسبت پوست به چوب برای کاهش جمعیت یا انتخاب یک تعداد محدود از نتاج که به احتمال زیاد پاکوتاه هستند، استفاده می کنند. طبق نظر Schneider و Lockard (۱۹۸۱) پوست را می توان بعنوان عامل کلیدی برای مکانیسم پاکوتاهی محسوب کرد، زیرا در پوست درختان پاکوتاه انتقال اکسین، قند و سایر ترکیبات کاهش می یابد. در دانشگاه کورنل (ایستگاه جینوا) از آزمایش پیوند درختان در باغ برای ارزیابی القای صفت پاکوتاه کنندگی قدرت رشد استفاده می کنند. ظاهراً برای آزمون الگوی رشد درختان در باغ، نتایج آزمون در سال پنجم به خوبی نمایان می شود. ارتباط بین ریشه دهی قلمه ها و پاکوتاهی از زمان قرون وسطی بخوبی شناخته شده است. تمامی ارقامی که از طریق ریشه های نابجا از قلمه های بر گرفته از شاخه های بالغ به راحتی ریشه دار می شوند، در صورت استفاده به عنوان پایه الزاماً صفت پاکوتاهی را القاء نخواهند کرد. ولی تمامی پایه های پاکوتاه کننده متداول حامل این صفت هستند (Tukey, 1964). استعداد پاکوتاه کنندگی ظاهراً تحت کنترل تعدادی از ژن ها است،

اما مطالعات کمی در این خصوص انجام گرفته است. درنتیج  $M8 \times M9$  (هر دو پاکوتاه‌کننده) نزدیک به  $1/4$  دانهاال ها مانند والدین پاکوتاه بودند، اما از نظر قدرت رشد، میانگین آنها از والدین بالاتر بود. کمتر از  $5\%$  دانهاال های حاصل از تلاقی  $M9$  با والد با رشد شبیه مثل  $M9$  و در برخی تلاقی ها کمتر از  $1\%$  مشابه  $M9$  بودند اگر ارقام میوه، پاکوتاه‌کننده باشند صفت پاکوتاهی پیچیده تر می‌شود. ضمن اینکه مطالعات کمتری در رابطه با پاکوتاهی و زود باردهی صورت گرفته است.

## مقاومت به سرما

در اقلیم هایی با زمستان سرد، مهم ترین ویژگی درخت مقاومت به سرمای سخت می باشد. چون بسیاری از ارقام به شدت آسیب دیده و در شرایط سرمای شدید از بین می روند. تولید ارقام مقاوم به سرمای زمستانه یک نیاز همیشگی است، زیرا در صورت تحمل و عدم خسارت، امکان گسترش سیب کاری به نواحی سردتر نیز ایجاد می شود. تفاوت های زیادی از نظر مقاومت به سرما در میان ارقام و گونه های مختلف سیب وجود داشته و امکان اصلاح برای افزایش مقاومت به سرما وجود دارد. مروری بر اصلاح و گزینش برای مقاومت به سرما در درختان میوه خزان کننده توسط Quamme و Stuchnoff (۱۹۸۳) و Saveljev (۱۹۸۸) انجام شده است. گیاهان برای زنده ماندن در دمای یخبندان دارای مکانسیم هایی هستند که از طریق آنها از یخ زدن بافت های خود با استفاده از کاهش نقطه انجماد و سوپرکولینگ<sup>۶۷</sup> جلوگیری نموده و لذا متحمل به سرما هستند. گونه های چوبی مثل سیب این توانایی را دارند که توسط شیره سلولی سوپرکولینگ شده و تا دمای ۴۰- درجه سانتیگراد بافت های خود را به صورت زنده و فعال حفظ کنند. سوپر کولینگ عمیق عبارت است از فرار از انجماد تا دمایی که محلول سلولی بصورت خودبخودی تبدیل به کریستال های یخ شود. انجماد بافت در دمای سوپرکولینگ کشنده بوده و زمان و درجه ای که سوپرکولینگ عمیق در آن اتفاق می افتد تعیین کننده محدودیت های تولید در مناطق قطبی است. با تشخیص نقطه سوپرکولینگ می توان شرایط مبنا را برای اندازه گیری سطح مقاومت به سرما فراهم نمود. درعین حال، این تکنیک برای نگهداری شاخه ها تحت عنوان روش تبریدی<sup>۲</sup> برای حفظ ژرم پلاسما کاربرد دارد (Sakai, 1984). فنون متعددی برای ارزیابی ارقام به مقاومت زمستانه وجود دارد. روش مرسوم با تکیه بر آزمایشات زمستانی بوده که غیر قابل اعتماد است، زیرا بیشترین خسارت های سرمای زمستان، مربوط به سرمای شدید اواخر پاییز می باشد. این کاهش دما ممکن است موجب خسارت به تنه و شاخه ها قبل از سازگاری به تنش شود. خو کردن به سرما<sup>۶۸</sup> با عوامل محیطی از قبیل کوتاه شدن طول روز، تغییر در کیفیت نور و کاهش درجه حرارت همراه است. بیشتر خسارت های مربوط به یخبندان مربوط به زمانی است که هوا در زمستان به طور ناگهانی گرم شده و بافت ها را از حالت مقاوم بودن خارج کند. پس از این حالت بافت ها آسیب پذیر شده و از یخبندان صدمه می بینند. استفاده از روش های کمی همراه با مشاهدات برای آزمون مقاومت به سرما حائز اهمیت است، زیرا همیشه مشاهدات باغی تحت شرایط طبیعی به تنهایی قابل اعتماد نیستند. روش های کمی شامل آزمایشات یخ زدگی مصنوعی با استفاده از اتاق های رشد است. در این روش می توان سطح خسارت را با استفاده از قهوه ای شدن بافت ها یا با کمک یکی از روش های متعدد مشاهده ای زنده ماننی ارزیابی کرد. روش هدایت الکتریکی بر این اساس استوار است که شاخه ها و یا سایر قسمت های زنده گیاه پس از انجماد و خیساندن در آب خالص فاقد این الکترولیت ها هستند. میزان الکترولیت های خارج شده از گیاه با بررسی وضعیت هدایت الکتریکی آب قابل اندازه گیری است. آنالیز منحنی های دمایی، دمای ذوب را با انحراف از پروفیل دما - زمان در طول سرمادهی ثابت، آشکار می کند. این آزمایش برای تعیین تفاوت ارقام سیب در مقاومت چوب آنها به کار می رود.

صفت مقاومت به سرما بصورت چند ژنی کنترل می شود و توزیع فراوانی در نتاج، تشکیل یک منحنی نرمال را در حدود میانگین می دهند. در بیشتر نتاج، دانهال هایی وجود دارند که نسبت به والدین از مقاومت بیشتری برخوردارند.

Watkins و Spangelo (۱۹۷۰) از آنالیز دی آلی دانهال های سیب به دست آمده از والدین مقاوم استفاده کرده و با استفاده از انجماد مصنوعی آنها را ارزیابی کردند. به نظر آنها اثر افزایشی، یک موضوع مهم

67- Supercooling

68 -Acclimation

برای تعداد زیادی از اصلاحگران کشورهای کانادا، شمال ایالات متحده، سوئد، شمال چین و روسیه بوده است (Saveljev, 1988). هدف این نوع برنامه های اصلاحی با محوریت مقاومت به سرما عمدتاً برای توسعه ارقام مقاوم جهت تولید سیب بیشتر برای تامین مصارف محلی بوده و لذا گسترش این ارقام به منظور رقابت در بازارهای تجاری جهان نبوده است. از نیم قرن پیش ارقام مقاوم در دسترس جهت کاشت در نواحی حاشیه ای شامل ارقام 'دوشس اولدنبورگ'، 'یلوترانسپارنت'، 'ولتی'، 'کارلاموف' و تیپ های متعدد 'آنتونوکا' بودند. تمام این ارقام از کیفیت پایین برخوردار بوده اند، اما توانایی زنده ماندن حتی در زمستان های سردتر را دارند. اصلاحگران موفق به معرفی ارقام مقاوم به سرما شامل 'فانتزی'، 'فایر ساید'، 'هانسون'، 'هانی کریسپ'، 'لوبو'، 'ماننت'، 'نوردرن لایت' شده اند. پایه های مقاوم به سرمای حاصل از برنامه های اصلاحی شمال شامل 'آلنارپ ۲'، 'بمالی' و 'بوداگوسکی' از روسیه، 'مارک' و سری های 'P' از لهستان می باشند.

### نیاز سرمایی

درختان سیب برای رشد مناسب به یک دوره مشخص سرما در طول فصل خواب نیاز دارند. در مناطق نیمه گرمسیری اغلب نیاز سرمایی برآورده نشده و باعث طولانی شدن دوره خواب یا خزان دیر هنگام برگ ها می شود. ارقامی که با نیاز سرمایی کم تولید شده اند از کیفیت خوبی برخوردار نیستند. Oppenheimer و SLor در (۱۹۶۸) فلسطین اشغالی در تلاقی بعضی از این ارقام با ارقامی با کیفیت مناسب، ارقام 'آدینا'، 'اینشمرو اسکور'، ارقامی با نیاز سرمایی کم و کیفیت مناسب را معرفی کردند. زودبرگ دهی به عنوان شاخص گزینش برای این صفت مطرح بوده و دانهال هایی که خواب جوانه هایشان زودتر شکسته شده و زودبرگ ده هستند انتخاب شده اند. این صفت ظاهراً دارای سیستم کنترل چند ژنی است. حدود ۳۰ درصد نتایج  $F_1$  و ۴۰ درصد تلاقی های برگشتی ارقام دلیشز و جوناتان در آزمون بعدی به اندازه کافی زود برگ ده باقی ماندند. یافته های اخیر در مکزیک و آفریقای جنوبی در رابطه با جهش های با نیاز سرمایی پایین حاصل از گلدن دلیشز و سایر آزمون ها احتمالاً مکانیسم های ساده تری را نشان می دهند (Caped, 1992). احتمال حذف نیاز سرمایی وجود دارد، چون برخی از ارقام زودبرگ ده بعد از زمستان های گرم نسبت به زمستان های سرد، زودتر برگ می دهند. حدود چهل سال است که اصلاحگران از ژرم پلاس م معرفی شده توسط Oppenheimer برای ایجاد ارقام با نیاز سرمایی حداقل و با کیفیت بالاتر و توان تولیدی بیشتر استفاده می کنند. در بررسی های انجام شده بر روی رقم آدینا با نیاز سرمایی کم مشخص شد که این صفت بوسیله یک ژن بزرگ و چندین ژن کوچک کنترل می شود (Haugge and Cummins, 1991). مولی دلیشز بطور موفقیت آمیزی به عنوان یک منبع با نیاز سرمایی کم در برنامه های اصلاحی کشور برزیل استفاده شده است (F. Denardi، اطلاعات شخصی). ارقام جدید با نیاز سرمایی پایین که در بازار جا پیدا کرده اند عبارتند از ارلی دل، گلدینا، پرینسزا، سامردل و رقم پریمیسیا که یک رقم مقاوم به لکه سیاه و با نیاز سرمایی پایین بوده در کشور برزیل معرفی شده است.

### فصل گلدهی

به منظور دست یافتن به بالاترین سطوح تولید در سیب دگر گرده افشانی نه تنها یک ضرورت است بلکه همزمانی گلدهی رقم گرده افشان با رقم اصلی هنوز از اهمیت بیشتری برخوردار است. ارقام خیلی زودگل و یا دیرگل نیاز به توجه ویژه ای جهت ارقام مناسب گرده افشان از نظر همزمانی گلدهی دارند. این مشکل با وجود طیف وسیعی از سیب های زینتی گرده دهنده کاهش یافته است. معمولاً این طور متداول شده است که از ارقام گرده افشان متوسط گل تا متوسط دیرگل جدید که با اغلب ارقام تجاری تطابق گلدهی دارند استفاده گردد. دیرگلی برای جلوگیری از خسارت سرمای دیررس بهاره مهم است. موضوع دیگر در برنامه های اصلاح، تولید

ارقام با گلدهی دیر هنگام یا همان ارقام دیرگل است، به طوری که تمام گل ها خطر سرمای بهاره را پشت سرگذاشته باشند. البته پیشرفت در اصلاح ارقام به دلیل تعارض صفت دیرگلدهی با صفت زودرسی موفق نبوده است، زیرا ارقام زودرس به کم ترین زمان برای نمو و رسیدن میوه نیاز دارند. وراثت پذیری زمان گلدهی به صورت چند ژنی کنترل می شود و تخمین قابل توجهی از میانگین زمان گلدهی نتاج با استفاده از میانگین والدین به دست می آید. توزیع دانهال ها در حدود میانگین نرمال به نظر می رسد و بدین صورت است که دانهال های دیرگل نسبت به هر دو والد خود بطور نرمال یافت می شوند. رابطه مثبتی بین زمان شروع برگ دهی و زمان گلدهی توسط Tydeman (۱۹۶۴) و Murawski (۱۹۶۷) یافته شده است. بنابراین دانهال های زودبرگ ده و یا حتی متوسط برگده را می توان در دومین سال رشد شناسایی و گزینش کرد. دومین عامل تعیین کننده در خسارت سرمای بهاره حساسیت گل ها به این نوع تنش است. در مجموع، گل ها در آخرین مراحل نمو حساس تر هستند، زیرا خامه گل به سرما حساسیت بیشتری دارد. خوشبختانه تمام گل های موجود در یک جوانه درخت سیب در یک مرحله از نمو قرار ندارند، بنابراین در کنار خسارت وارد شده به تعدادی از گل ها، تعداد دیگری از آسیب سرما مصون باقی می ماند. اگر چه تفاوت هایی بین شکوفه ها در حساسیت به سرما وجود دارد ولی ظاهراً گزینش براین اساس انجام نمی گیرد. ارقام تتراپلوئید و تری پلوئید مانند 'جوناکلد' و 'موتسو' به دلیل برخورداری از سلول های بزرگتر نسبت به ارقام دیپلوئید به سرما حساس تر هستند. مقاومت درختان به سرمای زمستانی و مقاومت گل ها به خسارت سرمای دیررس بهاره ظاهراً به صورت مستقل به ارث می رسند.

### طول دوره نونهالی

طول دوره نونهالی در دانهال ها جزء مهمترین صفات اولیه است، زیرا تعیین کننده تعداد سال هایی است که بایستی نتاج تا رسیدن به مرحله بلوغ فضا را اشغال کرده و قابل ارزیابی شوند. به علاوه، طول دوره نونهالی با صفت زودرسی و احتمالاً عملکرد همبستگی دارد. در برخی از والدین زودگل ده تعداد زیادی از نتاج به دلیل کوتاه بودن طول دوره نونهالی، به مدت ۳ یا ۴ سال، در سرعت دادن به برنامه اصلاحی کمک می کنند، ولی برعکس، دانهال های نتاج یک رقم مانند نوردن اسپای ممکن است جهت رسیدن به مرحله گلدهی به ده سال و حتی بیشتر زمان نیاز داشته باشند. تعیین وراثت پذیری صفت طول دوره نونهالی در میان کولتیوارها مشکل است، زیرا معمولاً طول دوره نونهالی ارقام قدیمی مشخص نیست. مطالعات انجام گرفته بر نتاج مختلف نشان می دهد که این صفت بصورت کمی کنترل می شود. Visser (۱۹۷۰) وجود یک همبستگی مثبت بین مرحله رویشی یک رقم والد از زمان تکثیر تا میوه دهی و طول دوره نونهالی نتاج حاصل از این والدین را نشان داد. وجود این قطعیت که دانهال ها برای رسیدن به مرحله گلدهی و میوه دهی بایستی الزاماً به یک اندازه مشخص رسیده باشند، نشان می دهد که دانهال های قوی تر می توانند در کوتاه ترین زمان به اندازه مناسب و نیز مرحله بلوغ برسند. به طور کلی، ارقام پلی پلوئید دوره نونهالی طولانی تری داشته و دانهال های آنها گرچه ممکن است نسبت به دیپلوئیدها اندازه بزرگتر داشته باشند، اما سال های بیشتری برای رسیدن به میوه دهی لازم دارند. گزینش دوره ای برای صفت زودگل دهی را می توان بطور طبیعی با استفاده از دانهال های زود گل ده در میان دانهال های تفرق یافته نتاج انجام داده و یا با غربال دائمی نونهال هایی که پس از گذشت ۵ یا ۶ سال از استقرار هنوز به گل دهی نرسیده اند، به پایان رساند. توانایی القای صفت زودرسی در گزینش پایه، صفت بسیار مهمی بشمار می رود. در دانشگاه کرنل ژنو، این صفت را با پیوند 'دلیشز' و 'نوردن اسپای' که دیررس هستند، به عنوان شاهد بر پایه های تولید شده ارزیابی می کنند.

### تیپ های اسپور

تیپ های اسپور با عادت رشد متراکم، طول میانگره های کوتاه، شاخه دهی جانبی محدود، تولید زیاد اسپورهای میوه دهنده، درختان بارور با پیشرسی در باردهی و باردهی منظم و زیاد در سال های اولیه شناخته

می‌شوند. تیپ‌های اسپور گاهی اوقات به موتانت‌های پاکوتاه و متراکم گفته می‌شود، اما ممکن است درختان متراکم بدون عادت اسپوردهی وجود داشته باشند. عادت رشدی اسپور به وسیله ایجاد جهش جوانه پدید می‌آید. کلون‌های متراکم اسپور مشتق شده از 'دلشیز' و سایر کولتیوارها با استفاده از پایه‌های رویشی قوی و افزایش عملکرد، صنعت سیب را به صورت قابل توجهی متحول کرده‌اند. وراثت پذیری صفت شکل تاج به صورت چندژنی کنترل می‌شود، اما اصلاح برای صفت عادت رویشی به صورت مؤثر به دلیل ایجاد تفرق دایمی در نتاج به شکل‌های مختلف درختان بدون اسپور، کم اسپور تا درختانی با تیپ کاملاً اسپور مشکل است (Blazek, 1983; Lapins, 1983). اگر چه ژنوتیپ‌های برخوردار از صفت پاکوتاهی با منشاء ژنتیکی، در ظاهر شبیه تیپ‌های متراکم هستند، اما تمام پاکوتاه‌ها اسپور نیستند. Decourty (۱۹۶۷) پس از مطالعه و تحلیل صفت پاکوتاهی ثابت کرد که این صفت بوسیله یک ژن ساده مغلوب کنترل شده و کولتیوارهای مختلف از جمله 'گلدن دلشیز' برای این صفت هتروزیگوت هستند. ژنوتیپ‌های پاکوتاه بررسی شده توسط Alston (۱۹۷۶) به واسطه وجود ترکیبات مختلفی از ژن‌های مغلوب ایجاد شده بودند. تیپ‌های جدید اسپور هم از طریق القاء جهش در کولتیوارهای موجود و هم به وسیله روش‌های اصلاح کلاسیک قابل تولید می‌باشند. القای جهش به روش پرتوتابی بر پیوندک‌های در حال خواب صورت می‌پذیرد. آزمایشات نشان می‌دهند که مناسب‌ترین میزان پرتودهی با اشعه X برای سیب ۳ کیلو راد است. پیوندک‌ها پس از تیمار پرتودهی، بر روی پایه‌ها پیوند شده و گزینش برای تیپ‌های متراکم در طول اولین فصل رشد انجام می‌گیرد. شاخص انتخاب بر اساس نسبت طول به قطر شاخه‌ها است که بایستی این نسبت کمتر از ارقام استاندارد بوده و شاخه‌ها میانگره‌های کوتاه‌تر داشته باشند انتخابی که فقط بر اساس طول میانگره کوتاه انجام گیرد، غیر قابل اعتماد است. درختانی را که موتانت بر آنها پیوند شده از بالای محل پیوند قطع نموده و شاخه‌های جانبی نیز به منظور تحریک به رشد جوانه‌های در حال استراحت از ته قطع می‌شوند و گزینش مجدداً تکرار می‌شود. این عمل را میتوان تا سه سال تکرار کرد. در بین چنین موتانت‌های متراکم انتخابی می‌توان یک گزینش دوباره برای پیش‌رسی محصول و تولید اسپور انجام داد. جزئیات این نوع روش‌ها توسط Visser و همکاران (۱۹۷۱) تشریح شده است. تمام تیپ‌های اسپوری که در اصلاح بکار می‌روند رفتار مشابه نشان نمی‌دهند. Lapins (۱۹۶۹) گزارش کرد که یک موتانت اسپور 'مک اینتاش' حاصل از پرتوتابی در تلاقی با 'گلدن دلشیز' هیچ دانه‌الی با تیپ رشد متراکم تولید نکرد. دلیل این امر آنست که برخی موتانت‌ها شیمیر هستند و لزوماً در لایه دوم مریستم‌ها واقع نمی‌باشند. بر خلاف مثال فوق، ۴۴٪ از نتاج حاصل از تلاقی تیپ متراکم مک اینتاش و یجیک که خوداز جهش خودبخودی ایجاد شده‌اند، در تلاقی با با گلدن دلشیز عادت رشدی متراکم نشان دادند. نوعاً موتانت‌های بیش از حد متراکم دارای میانگره‌های خیلی کوتاه و رشد خفیف شاخه‌های جانبی و تولید اسپور فراوان بوده و با این مشخصات متمایز می‌شوند (Kelsey and Brown, 1992). تفرق داده‌ها بر این دلالت دارد که ژنوتیپ برای یک موتانت غالب (تحت عنوان Co) به عنوان کد) برای رشد عمودی هتروزیگوت است، اما ژن‌های تغییر دهنده بر نسبت‌های تفرق و فرم‌های حاصله تأثیر می‌گذارند. در انگلستان، Co به منظور تولید درختان رشد عمودی برای باغ‌های خانوادگی استفاده شده است که شامل یک کولتیوار زینتی تحت عنوان می‌پول<sup>۶۹</sup> و چند کولتیوار تازه خوری دیگر است (Tobutt, 1985). ارقام حامل ژن Co در یک کار تحقیقی با یک والد حامل صفت بی‌گلبرگی به منظور تولید درختان پارتنوکارپ با تیپ رشدی افزاشته تلاقی داده شدند (Tobutt, 1994). برای تشویق باغداران به استفاده از ارقام بی‌گلبرگ پارتنوکارپ و با تیپ رشد عمودی و نیز مقاوم به پوسیدگی طوقه، پیشنهاد شده است که از تکنیک کشت بافت برای تولید گیاهان خود ریشه دار شده با قیمت ارزان جهت استفاده در سیستم‌های کشت متراکم استفاده شود.

در صورت حل شدن مشکلات مربوط به توان رویشی بیش از حد درختان تکثیر شده به روش ریز ازدیادی، تغییرات بسیار زیادی در سیستم پرورش سیب به وقوع می‌پیوندد.

در بعضی از موارد، در موتانت های تولید شده با صفت رشد اسپوری صفات دیگری مانند صفت دیررسی و صفت افزایش حساسیت به عارضه زنگار نیز تلفیق می‌شود. برای مثال چندین کولتیوار جهش یافته اسپور به دست آمده از گلدن دلشز نسبت به رقم اصلی ۴ تا ۷ روز دیرتر می‌رسند و حساسیت بیشتری به زنگار دارند. جالب این که چنین تیپ‌های اسپوری مشتق شده از گلدن دلشز مکرراً عادت رشد اسپوری خود را از دست می‌دهند، ولی صفات دیررسی میوه و حساسیت به زنگار در آنها باقی می‌ماند.

### اندازه میوه

اندازه میوه یکی از صفات تعیین‌کننده و بحرانی در انتخاب دانهال های سیب است. اگر میوه‌ها به اندازه دلخواه نرسند باید دانهال های مربوطه را بدون انجام سایر ارزیابی ها حذف کرد. اندازه میوه تا حدودی یک صفت متغیر است که تحت تأثیر شرایط محیطی و به خصوص ظرفیت ژنوتیپ از نظر سطح عملکرد است. زیرا اندازه میوه را با تنک کردن میوه‌ها می‌توان تا حدودی بهبود بخشید. اگر دانهال های نتاج و والدین تحت شرایط مساوی و قابل مقایسه کشت شوند، تشخیص استاندارد بودن اندازه میوه در رقم جدید مشکل زیادی ایجاد نخواهد کرد. راه های مختلفی برای بیان اندازه میوه وجود دارند، اما عمومی‌ترین راه همان قطر میوه است. حداقل اندازه قابل قبول برای قطر میوه سیب ۶۵ میلی‌متر است.

واحد مورد استفاده جهت تعیین اندازه میوه، حجم میوه است که توسط Brown (۱۹۶۰) برای آنالیز وراثت پذیری مورد استفاده قرار گرفته است و با فرمول:

$$\text{حجم میوه (mL)} = \left\{ \frac{(\text{شعاع (mm)} \times \text{طول (mm)})^2}{1000} \right\} \times 2/7$$

محاسبه می‌شود. هر چند در این روش، دقت اندازه گیری کمتر از روش غوطه ورسازی است، ولی امکان استفاده داده ها در تعیین محیط میوه را نیز فراهم می‌سازد. طبقه بندی دانهال ها بر اساس اندازه میوه نشان داد که صفت اندازه میوه به صورت چند ژنی کنترل شده و توزیع نرمال آن در حدود میانگین است. اثر والدین بر اندازه میوه در نتاج به میزان اثر آنان بر صفات دیگر نیست. در بین نتاج درصد اندکی از دانهال ها دارای میوه‌های درشت‌تر از والد درشت میوه هستند و اغلب اوقات ۵۰٪ یا بیشتر نتاج نسبت به والد ریز میوه، میوه های کوچک تر تولید می‌کنند. تأثیر والدین بر اندازه میوه میوه‌های کوچک تری، در صورت در دست داشتن داده های لازم از تعداد بسیار زیادی از نتاج با تلقی آنان به عنوان یک دی آلل ناقص قابل محاسبه بوده و روش آن به وسیله Gilbert (۱۹۶۷) تشریح شده است. این روش بسیار دقیق‌تر از اقدام به ارزیابی میانگین نتاج و مقایسه آن با میانگین والدین است. اندازه میوه با گزینش شدید در طی سالیان متمادی از سیب های وحشی ریز تا اندازه‌های تجاری امروزی به طور چشم گیری افزایش داشته است. در جایی که انتخاب با شدت زیاد انجام شود، گرایش میانگین نتاج کاهش اندازه میوه نسبت به میانگین والدین است. بنابراین در بسیاری از آنالیزهای انجام گرفته بر روی تلاقی‌ها، اندازه میوه در نتاج نسبت به میانگین اندازه میوه والدین کوچک تر و به حدود ۲۴٪ می‌رسد. این بدان معنی است که ارقامی که دارای اندازه میوه قابل قبولی هستند، نتاجی تولید می‌کنند که اندازه میوه در آنها کم تر از اندازه تجاری است. در بعضی از دانهال های حاصل از تلاقی بین کولتیوارها برخلاف میزان محصول، دانهال یا دانهال های اندکی وجود دارند که اندازه میوه آنها قابل قبول باشد. در مجموع استفاده از والدین با میوه‌های درشت تر، باعث تولید تعداد نتاج بیشتری در اندازه قابل قبول می‌شود. بنابراین انتخاب دانهال هایی با میوه‌های خیلی درشت لزوماً بعنوان کولتیوارهای تجاری نیست، بلکه این نتاج خود بعنوان یک والد برای افزایش دادن به تعداد دانهال های میوه درشتی است که گزینش آن ها جهت سایر صفات مطلوب امکان پذیر می‌گردد.

### شکل میوه

میوه های سیب از نظر شکل متفاوت بوده و از خیلی پهن بشقابی تا کشیده متغیر هستند. اگر شکل میوه با نسبت طول به قطر میوه تعریف شده و بصورت درصد بیان گردد، در آن صورت، سیب های خیلی پهن دارای نمره حدود ۶۵٪ بوده و سیب های خیلی کشیده به نمره ۱۰۰٪ می رسند. به علاوه، طول میوه به ندرت از قطر آن بیشتر می شود. این روش، روش قابل قبولی برای سیب های مخروطی که به طرف نوک باریک تر می شوند و یا دارای سایر بی نظمی ها در پیرامون میوه هستند، محسوب نمی شود. Wilcox و Angelo (۱۹۳۷) ثابت کردند که صفت مخروطی نوک باریک به ندرت در میان سیب های پهن یافت می شود (۱٪)، ولی در سیب های گرد و متمایل به کشیده متداول تر است (۳۲٪). با تقسیم دامنه نسبت ها از ۶۵ تا ۱۰۰٪ به فاصله های ۵٪ از یکدیگر ۸ گروه از شکل های مختلف میوه بدست می آید که با طبقه بندی میوه دانهال ها بر اساس گروه های شکلی، توزیع فراوانی در میان ۸ گروه برای نتاج مختلف امکان پذیر می گردد. شکل میوه اکثر دانهال ها در بین شکل میوه پدري و مادري قرار می گیرد. اگر چه توزیع فراوانی شکل میوه نتاج فراتر از والدین نیز می رود ولی اغلب یک منحنی توزیع نرمال در حدود میانگین را تشکیل می دهد (Brown, 1960).

با مطالعه تعداد زیادی از نتاج، می توان سهم والدین را در شکل میوه نتاج در کولتیوارهای مختلف محاسبه کرد. مطالعه میوه ها در ۳۵ نهال از نتاج بارور نشان داد که یک تشابه قابل توجه بین میانگین واقعی شکل میوه نتاج، میانگین تخمینی نتاج (که از جمع اثرات اصلی محاسبه شده والدین بدست می آید) و میانگین ارزش والدین وجود دارد (Brown, 1975). بنابراین با استفاده از روش نسبت طول به قطر میوه در والدین، پیش بینی به نسبت دقیق از میانگین شکل میوه نتاج و دامنه گروه های شکلی آنان امکان پذیر است. به خاطر عدم بازار پسندی میوه های تخم مرغی شکل بهتر است که اصلاحگر کولتیوارهای با میوه های تخم مرغی شکل را بعنوان والد استفاده نکرده و حذف کند.

میزان برجستگی های طولی روی میوه ها در تعداد اندکی از درختان جوان نشان داد که نتاج بدست آمده از والدین با میوه های زاویه دار در نسل بعد دانهال هایی با غالبیت شکلی زاویه دار تولید می کنند (Spinks, 1936). عملاً تمام نتاج سیب دانهال هایی با میوه های خیلی زاویه دار، اندکی زاویه دار و بی زاویه خواهند داشت ولی نسبت هر یک از گروه های شکلی در میوه ها بسته به نوع والدین مورد استفاده متفاوت خواهد بود.

### زمان رسیدن

زمان رسیدن میوه صفت مهمی به شمار می رود. اگر چه حمل با کشتی از یک سوی کره زمین به سوی دیگر و بهبود شرایط انبارداری، بازار تقاضا را در بعضی از مناطق برای ارقام خیلی زودرس و خیلی دیررس تحت تأثیر قرار داده است، اما اغلب کشورها به دنبال اصلاح و تولید کولتیوارهای زودرس و یا دیررس هستند. برخی از مطالعات (Brown, 1960; Tancred et al 1995) نشان می دهند که صفت زمان رسیدن با چندین ژن کنترل شده و از وراثت پذیری بالا برخوردار است، ضمن برخوردار بودن از اجزای ژنتیکی غالب افزایشی واریانس برای تنوع ژنتیکی است. برخلاف وجود بعضی توانایی ها از ترکیب پذیری اختصاصی و برخی توزیع های غیرنرمال خانواده ها و مسائل مربوط به بهترین استراتژی برای پیش بینی زمان رسیدن، محاسبه زمان رسیدن محصول والدین است. نتاج حاصل از تلاقی بین والد های زودرس دامنه توزیع اندکی داشته که بدون شک به دلیل وجود زمان محدود بین گلدهی تا نمو کامل میوه است. بنابراین هنگامی که والدین خیلی زودرس با هم تلاقی داده می شوند، میانگین نتاج به میانگین والدین کاملاً نزدیک است، اما چون ارقام خیلی زودرس کیفیت پایینی دارند، ممکن است تلاقی بین زودرس ها با هم کار مناسبی نباشد و بهتر است که سیب های زودرس با سیب های میان رس ولی با کیفیت بالاتر تلاقی داده شوند تا بتوان نتاج زودرس ممتاز و با کیفیت را انتخاب کرد.

اصلاح سیب در مناطق بسیار گرم و خشک همراه با تابستان های طولانی در غرب استرالیا (که در اواخر پاییز با شبهای سرد نیز همراه است) توسط John Cripps با موفقیت انجام گرفته است. در چنین آب و هوای

نامساعدی، حتی یک کولتیوار خیلی دیررس مانند گرانی اسمیت (۱۷۰ روز پس از گلدهی)، میوه ها در دوره گرما به زمان برداشت رسیدند، ولی کیفیت میوه ها قابل قبول نبود. در بین نتایج گزینش شده حاصل از تلاقی 'گلدن دلیشز' و 'لیدی ویلیامز' مشاهده شد که تاریخ رسیدن از ۲ تا ۸ هفته نسبت به زمان رسیدن 'گرانی اسمیت' به تعویق افتاد، ولی میوه های 'پینک لیدی'، 'سان داونر' و 'بیگ تایم' به ترتیب ۲، ۴ و ۶ هفته بعد از گرانی اسمیت و پس از پایان فصل گرما می‌رسند. البته وقتی که شب ها خنک تر باشند، تعادل مناسبی بین قند و اسید برقرار شده و میوه خوش طعم تر می‌شود. چنین کولتیوارهایی برای مناطقی مانند آفریقای جنوبی، جنوب شرقی ایالات متحده و کالیفرنیا، احتمالاً مصر و بعضی مناطق خاورمیانه می‌توانند امید بخش باشند. اخیراً پینک لیدی بطور وسیع در جنوب فرانسه و واشنگتن کاشته می‌شود.

## رنگ میوه

رنگ میوه اساساً توسط رنگ زمینه و سپس با رنگدانه های آنتوسیانینی موجود روی رنگ زمینه تعیین می‌شود. رنگ زمینه میوه نارس سبز تیره است. با نزدیک شدن به مرحله رسیدگی (۱) رنگ سبز به تدریج کمرنگ شده تا کاملاً محو گردد و سپس رنگ زمینه میوه در یک دامنه از کرم کمرنگ تا زرد تند قرار می‌گیرد. (۲) رنگ سبز ممکن است کاملاً محو نشده به وضعیت های متفاوتی از حالت زرد متمایل به سبز تا سبز متمایل به زرد در آید. (۳) رنگ سبز ممکن است محو نشده و رنگ سبز زمینه به همان حالت باقی بماند.

رنگ زمینه میوه بصورت چند ژنی کنترل شده و دامنه رنگ زرد و دامنه رنگ سبز ممکن است به صورت مستقل کنترل شوند (Brown, 1975). تولید آنتوسیانین در پوست میوه می‌تواند فعال یا غیرفعال باشد. اگر رنگدانه در پوست میوه تولید نشود رنگ پوست میوه زرد و یا سبز رنگ باقی می‌ماند. چنانچه رنگدانه تولید شود به صورت های مختلف از جمله خال های قرمز کوچک تا نوارهای رنگی و از قرمز کم رنگ تا قرمز تند خودنمایی می‌کند. تراکم رنگ از خیلی کم رنگ تا خیلی پررنگ و وسعت لکه به صورت نواری تا پوشش کامل میوه متغیر است. مطالعه تمام ابعاد مربوط به رنگ میوه پیچیده و اغلب گمراه کننده است، زیرا بیان کلیه این صفات تحت تأثیر مرحله بلوغ میوه، شرایط عمومی آب و هوایی، عوامل تغذیه، کاشت و داشت و میکرو کلیمای داخل تاج درخت قرار می‌گیرد. صفت تولید آنتوسیانین معمولاً بر صفت بی رنگدانه ای غالبیت دارد و بیشتر کولتیوارهای سیب سرخ برای این صفت هتروزیگوت به نظر می‌رسند، چون در صورتی که با هم تلاقی داده شوند فقط تعداد کمی از دانهال ها میوه بدون رنگ تولید خواهند کرد (Crane, 1953). رنگ گیری میوه اغلب نواری شکل است، اما به صورت لکه ای نیز ایجاد می‌شود. این ها دو صفت متمایز بوده و می‌توانند به صورت نواری، نواری بر روی لکه و یا لکه ای به تنهایی ایجاد شوند. Wilcox و Angelo (۱۹۳۶) دریافتند که با طبقه بندی دانهال ها به میوه های دارای رنگ نواری و بی نوار (شامل میوه های بی رنگ و کم رنگ)، صفت رنگ نواری کم و بیش مانند یک ژن اصلی رفتار کرده و در ۱۰۰٪ میوه هایی که با رنگ نواری تولید می‌کنند، تفرق نواری و بی نوار به نسبت ۱ به ۱ یا ۳ به ۱ است. لکه رنگ رو ممکن است ظاهر شود، اما در بعضی از حالات به دلیل حساسیت بیش از حد به نور ناپایدار است. گروهی از کولتیوارهایی که سیب زرد تولید می‌کنند چنانچه کاملاً در معرض نور قرار گیرند در آنان لکه رنگ روی سرخ کوچک ایجاد می‌شود، بنابراین ممکن است که ارقام با رنگ میوه زرد در تلاقی ها نتایج معدودی با میوه رنگین تولید کنند. به طور معمول اگر میوه های با لکه رنگ رو با هم تلاقی داده شوند، نتایج آنها دارای میوه هایی با رنگ و یا بدون رنگ رو خواهند بود اما میوه با رنگ نواری تولید نخواهند کرد (Spinks, 1936). تراکم رنگ قرمز تولید شده به مقدار خیلی زیاد بستگی به رنگ زمینه دارد. لکه قرمز خیلی براق وقتی تولید می‌شود که رنگ زمینه تقریباً سفید باشد و بالعکس لکه رنگ رو زمانی خفه و متمایل به قهوه ای به نظر می‌رسد که رنگ زمینه سبز است. چون رنگ های کدر و خفه جذابیت چندانی ندارند. بنابراین رنگ زمینه به عنوان عامل مهم در رنگ گیری میوه محسوب می‌شود. وجود لکه رنگ رو و تراکم رنگ رو صفات کمی هستند. در بیشتر

خانواده ها یک شیب ممتد از رنگ وجود داشته و میانگین سطح رنگ میوه ها در نتاج با میانگین رنگ در دو والد پدری و مادری نسبت دارد. رنگدانه های آنتوسیانین به صورت محلول در سلول های اپیدرم و لایه های زیر اپیدرم وجود دارند، اما تمام سلول ها دارای آنتوسیانین نیستند. برخی ژنوتیپ ها در اپیدرم میوه خود آنتوسیانین ندارند. تراکم رنگ بستگی به درصد سلول های زیر اپیدرمی دارای آنتوسیانین دارد (Dayton, 1959). از آنجائی که رنگ یک صفت بسیار مطلوب به شمار می رود، برای تولید موتانت های سرخ رنگ، از کولتیوارهایی که خود آن ها دارای بیشترین پوشش قرمز بوده و تراکم رنگ بیشتری نیز داشته باشند، استفاده می شود. اغلب این موتانت ها به طور طبیعی به وجود آمده اند و تعدادی نیز از طریق پرتو دهی تولید شده اند. بسیار طبیعی است که هنگام اصلاح سیب های سرخ، انتخاب موتانت های سرخ را به عنوان والد، نسبت به رقم اصلی ترجیح دهند. زیرا اعتقاد بر این است که موتانت های سرخ والد های بهتری هستند. Bergendal (۱۹۷۰) رقم گلدن دلشیز را با ۶ رقم اصلی و موتانت های سرخ آن ها تلاقی داده و نتاج هر یک از تلاقی ها را پرورش داد. در تمام حالات نسبت دانهال ها در رنگ زمینه و در تمام گروه ها شبیه رقم اصلی و موتانت آن ها بود. در نتاج ۴ جفت از والدین از نظر تراکم رنگ سرخ هیچ تفاوتی وجود نداشت، در صورتی که تراکم رنگ در ۲ جفت از والدین کاملاً متفاوت بود. Misic و Tesovic (۱۹۷۰) سلول های تشکیل دهنده سه لایه خارجی پوست میوه را از نظر میزان رنگیزه بررسی کرده و نشان دادند که تعداد سلولهای دارای رنگیزه در اپیدرم دلشیز و ریچارد برابر است، اما سلول های رنگیزه دار در لایه های زیر اپیدرمی (لایه ۲) در ریچارد دو برابر مقدار آنها در رقم دلشیز بود. این نتایج یافته های Dayton (۱۹۵۹) را تأیید کرده و ثابت کرد که جهش در لایه ۲ اتفاق افتاده است. آزمایشات بافت شناسی از سلول های سه لایه خارجی پوست میوه در ارقام و موتانت های سرخ آنها نشان خواهد داد که آیا یک موتانت سرخ در تلاقی با یک رقم اصلی نتاج سرخ زیادی تولید می کند یا این که از این نظر همانند رقم اصلی رفتار خواهند کرد.

در گذشته موتانت های رنگی به دلیل تأیید مراجع قانونی دارای اهمیت بسیار زیادی بودند. کاشف موتانت جدید می توانست آنرا تحت مالکیت قانونی خود قرار دهد و هیچ تعهد حقوقی هم به معرفی کننده کولتیوار اصلی که موتانت از آن ایجاد شده بود نداشت. بنابراین تولید موتانت های جدید از نظر رنگ میوه، یک راه میانبر قانونی بر علیه قانون مالکیت معنوی ثبت ارقام ایجاد کرده بود.

برای حل این معضل، موسسات ثبت ارقام در قرارداد های جدید ثبت ارقام چنین قید می کنند که کلیه موتانت های طبیعی ایجاد شده به تولید کننده اصلی تعلق دارند. روشن است که بعضی از بندهای قرارداد می بایست منصفانه تنظیم شوند. به طوری که عدالت بین تولید کننده اصلی کولتیوار و کاشف موتانت های مشتق از آن رعایت شود.

هم اکنون در دانشگاه ایلی نویز مطالعاتی در دست اجرا می باشد. هدف این مطالعات جداسازی طبیعت شیمیری موجود در موتانت های طبیعی گالا است (مکتوبات شخصی، R. skirvin). شواهد اولیه نشان می دهد که درختان بارور یک موتانت سرخ گالا که به روش باز زایی شده از برگ آن تولید شده اند، میوه هایی تولید کرده که دارای یکنواختی بسیار زیاد ولی کم رنگ هستند. این نتایج القا کننده این است که روش باززایی احتمالاً برای مهندسی شیمیری امید بخش نیست، بلکه بهتر است باززایی بر روی برگ کولتیوارهایی صورت گیرد که میوه رنگ روی نواری دارند (Compton and veilleux, 1992).

## زنکار

زنکار در میوه سیب در شدت های مختلف به صورت میوه های کاملاً زنکار گرفته تا میوه های بدون زنکار و یا حالات بینابین پدید می آید. در بعضی از کشورها زنکار میوه را مطلوب می دانند، زیرا این صفت توأم با افزایش طعم و عطر است. در بعضی از ژنوتیپ ها زنکار محدود به حفره انتهایی و یا دم گل در میوه ها می شود و در بعضی دیگر بصورت لکه های روی میوه به وجود می آید. صفت حساسیت به زنکار در میوه ها منشاء ژنتیکی

دارد، اما عوامل بیرونی مانند دمای پایین، رطوبت بالا در اوایل نمو میوه و نیز انجام هرگونه محلول پاشی در به وجود آمدن زنگار نقش دارند. 'گلدن دلشیز' به صورت خاص به زنگار حساس است، اما امروزه موتانت های متحمل از این کولتیوار مشتق شده و معرفی شده اند. وجود زنگار به صورت لکه ای در کولتیوارهایی مثل 'گلدن دلشیز' نا مطلوب به شمار می رود، اما در برخی مانند 'کاکس اورنج پی پین' قابل تحمل تر است. اطلاعات مربوط به وراثت پذیری زنگار از تعداد اندکی از نتاج در دسترس است. به این صورت که نتاج از نظر شدت عارضه زنگار به انواع بدون زنگار، (که زنگار فقط در حفره ی دم میوه تشکیل می شود)، زنگار متوسط (لکه های زنگار روی میوه) و زنگار گرفتگی کامل گروه بندی می شوند (Brown, 1975). در دو گروه از نتاج به دست آمده از تلاقی دو والد پدری و مادری حساس به زنگار، تقریباً ۵۰٪ از دانهال های گروه اول دارای میوه های کاملاً زنگار گرفته و نتاج گروه دوم دامنه ای از کم تا متوسط را نشان دادند. مشابه این وضعیت، در تلاقی 'کاکس اورنج پی پین' (کولتیواری با تحمل متوسط) با یک کولتیوار بسیار حساس 'اگرمونت راست' ۷۰٪ مشاهده شده است، به طوری که ۵۰٪ از نتاج دارای میوه های به شدت زنگار گرفته بودند و نیمی دیگر از نتاج در سطح جزئی تا متوسط دچار عارضه شدند. وقتی 'مک اینتاش' با 'اگرمونت راست' تلاقی یافت، در یک گروه به نسبت کوچک از نتاج، میوه دانهال های مربوطه زنگار کمی داشتند. در کولتیوار کاکس اورنج پاپین و کولتیوار بسیار حساس 'گلدن راست' فقط ۲۵٪ از دانهال های تولید شده حساسیت زیاد نشان دادند. در تعدادی از نتاج که حاصل تلاقی بین کولتیوارهای متحمل (با شدت متوسط زنگار) و ژنوتیپ های دارای مقاومت بیشتر به زنگار بودند، تعداد اندکی از دانهال های با میوه کاملاً زنگار گرفته بوجود آمد. با توجه به نتایج به دست آمده از این تحقیقات می توان با قاطعیت کامل گفت که عوامل مختلفی (بیش از یک عامل) در بروز عارضه دخالت دارند، زیرا کلیه ارقام حساس به زنگار به صورت مشابه واکنش نشان نمی دهند.

### رنگ گوشت

رنگ گوشت میوه از سفید تا کرم و زرد کم رنگ متغیر است و ممکن است سبز روشن و حتی در بعضی مواقع قرمز رنگ نیز باشد. گروه بندی رنگ ها مرز مشخصی نداشته و گاه با هم تداخل دارند. رنگ مطلوب گوشت زرد روشن است، زیرا این رنگ هم توسط عموم مصرف کنندگان سیب تازه خوری وهم صنایع عمل آوری مانند سس و برگه پذیرفته شده است. گوشت سفید رنگ نیز مطلوب است و حتی در مناطقی هم که رقمی مانند مک اینتاش از نظر کیفیت یک سیب شاخص و استاندارد تلقی شده است، نیز رنگ ایده آل تلقی میشود. رنگ سرخ گوشت حتی در مواردی که رنگ سرخ از پوست به گوشت نشت می کند، مورد پسند نیست. Brown (۱۹۷۵) به منظور پیش بینی رنگ نتاج با توجه به رنگ والدین یک پروتکل تهیه و ارائه کرد. اثرات والدین بر میزان رنگ نتاج در جدول شماره (۷) ارائه شده است. جدول بیانگر توزیع هر گروه رنگ در بین دانهال ها است، هرچند ارزیابی رنگ سبز گوشت در صورت کم بودن تعداد نتاج نیاز به دقت عمل خاص دارد.

جدول ۷- درصد تقریبی نقش والدین در رنگ گوشت میوه نتاج

فنونتیپ والدین		فنونتیپ نتاج			
		سبز	زرد	کرم	سفید
سفید	۰	۲۴	۲۲	۴	
کرم	۸	۲۹	۸	۵	
زرد	۳۵	۱۲	۳		
سبز	۰	۳۱	۱۹		

## اکسید شده شدن گوشت

صفت قهوه ای شدن گوشت میوه پس از برش، دیگر به عنوان عاملی مهم تر از رنگ گوشت شناخته می شود. ظهور این تغییرات به دلیل قرار گرفتن پلی فنل اکسیدانهای موجود در معرض هوا است. سیب هایی که گوشت آنها قهوه ای شود برای مصارفی مانند سالاد و یا به صورت پوست کنده جذاب نیستند. در ایالات متحده جهت جلوگیری از قهوه ای شدن گوشت هنگام تهیه سس و برگه، سیب های پوست کنده را در محلول سولفیت غوطه ور می کنند. احتمالاً این تیمار به زودی غیر قانونی خواهد شد. در این صورت برای فرآوری به جز استفاده از ارقام مقاوم نظیر 'گلدن راش' و 'NY 674' راه دیگری وجود نخواهد داشت. در حالی که صفت تمایل به قهوه ای شدن گوشت در بازار تازه خوری اهمیت تعریف شده ای پیدا می کند، ولی در صنعت فرآوری به شکل خاص مشکل زا و بحران آفرین تلقی می شود. مکانیزم های مقاومت نیز متفاوت اند. ارقام مقاوم به قهوه ای شدن ممکن است دارای میزان کمتری از پلی فنل اکسیدانها، تانن ها و میزان بالاتری از اسید اسکوربیک و یا تلفیقی از ترکیبات فوق باشند. تا کنون هیچ گونه گزارشی در خصوص وراثت پذیری صفت قهوه ای شدن گوشت منتشر نشده است، اما تحقیقات در این مورد در دانشگاه کرنل - جینوا در حال انجام است. یک سلکسیون پیشرفته از 'NY 674' با سطح پایین پلی فنل اکسیدان و مقاومت عالی به قهوه ای شدن گوشت با تعدادی از کولتیوارهای مختلف با دامنه ای از سطوح متفاوت حساسیت تلاقی داده شده اند. تجزیه داده های بدست آمده از نتاج بایستی بتواند عوامل و صفاتی که در قهوه ای شدن دخالت دارند را مشخص کرده و نحوه وراثت پذیری آنها را تعیین کند.

## بافت گوشت

بافت گوشت همواره اهمیت رو به تزایدی در قابلیت پذیرش کلی میوه یافته است. مقالات معدودی در مورد ارزیابی و یا نحوه وراثت پذیری این صفت به چاپ رسیده است. بافت گوشت صفت پیچیده ای تلقی شده و به نظر می رسد که بین بافت گوشت و تولید اتیلن همبستگی وجود داشته باشد. کولتیوارها بطور وسیعی در صفت بافت گوشت و ماندگاری آن در طول دوره انبارمانی با هم تفاوت نشان می دهند. کولتیوار مک اینتاش به دلیل داشتن بافت نرم مقبول نیست، در صورتی که دو کولتیوار جدید 'گلدراش' و 'هانی کریسپ'<sup>۷۱</sup> با داشتن گوشت ترد بازارپسندی خوبی دارند. تردی گوشت در رقم گلدراش باعث می شود تا در شرایط سرد انبار به مدت یک سال ماندگاری داشته باشد.

## طعم میوه

طعم میوه یکی از مهم ترین شاخص های گزینش دانهال های سیب است. از آن جایی که ترکیبات پیچیده ای از قبیل اسیدها، قندها، تانن و مواد معطره در ایجاد طعم میوه نقش دارند، آنالیز این صفت مشکل است. مروری که توسط Yahia (۱۹۹۴) بر تحقیقات انجام شده در خصوص طعم میوه ها انجام شد نشان داد که صدها ترکیب فرار در طعم میوه دخالت دارند، ولی هنوز نقش دقیق هر یک از این ترکیبات بصورت منفرد و یا در تلفیق با یکدیگر بر چگونگی تعیین طعم شناخته نشده است. اگر چه ارزیابی طعم سلیقه ای بوده و متغیر است ولی بازار پسندی میوه قابلیت پذیرش آن را توجیه می کند. طعم و مزه سیب بر اساس اسیدیته (ترش) و شیرین بودن تعریف می شود. در نهایت، صرف نظر از عطر میوه توازن بین دو مزه ترش و شیرین، ملاک اولیه بازار پسندی میوه قرار می گیرد. میوه هایی که دارای اسیدیته بالا و مقدار قند پایین باشند، به دلیل ترشی زیاد خوشمزه نیستند، همین طور میوه هایی که دارای میزان قند بالا و اسیدیته پایین باشند به دلیل بیش از حد شیرین بودن ذائقه پسند نمی باشند. اسید موجود در میوه بالغ عمدتاً اسید مالیک بوده و تحت عنوان درصد اسید مالیک در آب

میوه و یا pH آب میوه قابل اندازه گیری است. قندهای اصلی شامل فروکتوز، ساکارز و گلوکز هستند که با استفاده از رفرکتومتر بصورت درصد کل قندها در آب میوه به راحتی قابل اندازه گیری هستند (Brown and Harvey, 1971). اسیدیته (ترش مزگی) و شیرینی میوه وراثت پذیری مستقل دارند. در آنالیز انجام شده بر تعداد بیش از ۱۰۰ رقم سیب، عمده سیب های بازارپسند برای تازه خوری در گروه هایی قرار می گیرند که دارای نسبت اسید متوسط / قند متوسط، نسبت اسید متوسط / قند بالا و اسید کم / قند متوسط هستند. وراثت پذیری صفت مزه شیرین، که به وسیله غلظت قند در آب میوه اندازه گیری می شود، یک الگوی کمی با توزیع نرمال نتاج در حدود میانگین را نشان می دهد و به میانگین والدین بسیار نزدیک است. وراثت پذیری صفت ترش مزگی یا اسیدیته از این رو دارای پیچیدگی است که در دو الگوی متفاوت در آن دخالت دارند. یک الگوی کنترل ساده ژنی، با غالبیت متوسط تا زیاد اسیدیته، بر یک الگوی کمی با ترشی بسیار کم تفوق می یابد. میوه های خیلی کم اسید که اغلب شیرین نامیده می شوند دارای ۰/۱ تا ۰/۳ درصد اسید مالیک هستند. در نتایجی که یک والد یا والدین آنها در اسیدی بودن هموزیگوس (MaMa) باشند تمام دانهال ها اسیدیته معمولی خواهند داشت. در سایر نتایج،  $Ma\ ma \times Ma\ ma$  یا  $ma\ ma \times Ma\ ma$  یک چهارم یا نصف دانهال ها از تیپ شیرین خواهند بود. در مجموع دانهال هایی که دارای میزان اسیدیته خیلی پایین هستند نامطلوب تلقی شده و باید حذف شوند. در نتایجی که یک یا هر دو والد هموزیگوس غالب باشند، توزیع اسیدیته به صورت نرمال و میانگین نتاج تقریباً نزدیک به میانگین والدین است. در نتایجی که شیرین ها دارای تفرق هستند، میانگین نتاج ترش باقی مانده تا اندازه ای نسبت به میانگین والدین بالاتر است. با دست یافتن به چنین اطلاعاتی، انجام یک برآورد و تخمین مناسب از میانگین نتاج برای غلظت اسید مالیک از میانگین والدین ممکن و عملی است.

یک ترسیم غیر معمول از صفت مزه شیرین، به خاطر این است که طعم نامطلوب آن باعث شود در طول گزینش به آن ارزش منفی داده شود، چرا که تاکنون ارقام کمی شناخته شده اند که برای صفت اسیدیته غالب هموزیگوس باشند و عمده ارقام مورد مطالعه هتروزیگوت هستند. این موضوع بیانگر آن است که در موارد مشابه مثال فوق، هرگاه سلکسیون برای صفات کمی، اقتصادی مطرح باشد باید گزینش هتروزیگوس ها برای صفت طبیعی انجام شود (Williams and Brown, 1956).

با دانستن غلظت قند و اسید مالیک در میوه های هر کولتیوار، می توان والدین را به نحوی گزینش کرد که اغلب نتاج میوه هایی با ترکیب مناسبی از قند و اسید تولید کنند. اگر ژنوتیپ Ma شناخته شود، تعداد نتایجی که میوه شیرین تولید کرده و باید حذف شوند قابل پیش بینی خواهد بود. چنانچه در هتروزیگوت ها یک برتری گزینشی، وجود داشته باشد، پس نتاج  $mama \times MaMa$  تماماً هتروزیگوس بوده و چنین تلاقی هایی با ارزش قلمداد می شوند. در یک مقایسه بین تعدادی از کولتیوارها، موتانت های رنگی مربوطه و موتانت های تتراپلوئید آنها هیچ گونه تفاوت عمده ای از نظر میزان قند و اسید در میوه ها نشان ندادند.

### ناهنجاری های میوه

برخی از عیوب گوشت میوه تأثیر مهمی بر روی کیفیت میوه دارند، این نقایص شامل موارد زیر هستند: ترک خوردگی میوه (Opara et al., 1996)، کمبودکلسیم که باعث لکه تلخی میشود (Ferguson and Watkins, 1989)، و عارضه آب گزیدگی گوشت میوه (Marlow and Loescher, 1984).

هر یک از این عوارض هم تحت تأثیر محیط و هم ژنوتیپ قرار دارند. بنابراین توجه به حساسیت ارقام در برابر چنین عارضه هایی در فرآیند گزینش مهم بوده و بایستی در فرایند گزینش مورد توجه قرار گیرند. ترک خوردگی ها از نظر شکل، شدت و علت متفاوت هستند. این موضوع به این معنی است که تیپ ترک خوردگی از ترک خوردگی سطحی تا ترک های عمیق در گوشت میوه نوسان داشته و در شدت ترک خوردگی نیز تفاوت به چشم می خورد. در این میان حساسیت های وراثتی جایگاه خود را دارند.

ترک خوردگی میوه به صورت قابل ملاحظه ای تحت تأثیر میزان رطوبت موجود در داخل گیاه است. ترک خوردگی شدید میوه در ارقام حساس می‌تواند باعث زیان‌های غیر قابل جبران گردد. نحوه وراثت پذیری ترک خوردگی هنوز مشخص نشده است. کمبود کلسیم میوه از طریق محلول پاشی و گاه توسط کوددهی از طریق خاک کنترل می‌شود، اما در صورت وجود حساسیت ژنتیکی کولتیوار، مشکلات جدی در تولید محصول ایجاد می‌شود. بررسی‌ها نشان داده است که دانه‌های مقاوم به لکه تلخی در مقایسه با دانه‌های حساس، در پوست میوه، میوه و بافت برگ میزان بالایی از کلسیم، بر و نیز میزان کمتری از منیزیم و پتاسیم دارند. چنین تصور می‌شود که ژن‌های BP-1 و BP-2 انباشتگی و توزیع کلسیم میوه را کنترل می‌کنند (Korban and Swiader, 1984). عارضه لکه تلخی به شدت تحت تأثیر نوع پایه قرار دارد، که احتمالاً می‌تواند به دلیل تأثیر پایه در جذب و انتقال کلسیم باشد. در آفریقای جنوبی استفاده از پایه‌های M7 و MM106 باعث کاهش عارضه لکه تلخی در میوه‌های 'گلدن دلشز' شده است.

وقوع عارضه آب‌گزیدگی می‌تواند به دلیل تغییرات ایجاد شده در غشاء سلول‌های میوه طی دوره رسیدن باشد. در نتیجه این عمل شیره سلولی در فضای بین سلولی تجمع یافته و غلظت سوربیتول را افزایش می‌دهد. این تغییر توأم با افزایش مزه شیرینی و به وجود آمدن طعم خاصی است که بیشتر در بازارهای ژاپن مورد پسند است. این عارضه در بعضی از کولتیوارها در دوره انبارمانی از بین می‌رود، اما در حالت‌های شدید منجر به تجزیه و فساد بافت میوه در انبار شده و در فواصل هر هفته منجر به ایراد خسارات می‌گردد. اغلب کولتیوارها دارای درجات متفاوت حساسیت به این عارضه هستند. آب‌گزیدگی در بعضی از کولتیوارهای جدید نظیر 'فوجی' و 'ویلیامز پراید' شدید است. فقط تعداد کمی از کولتیوارها ممکن است کاملاً مقاوم باشند، به عنوان مثال 'مک اینتاش' مقاوم است و این عارضه در رقم گلدن دلشز کمتر مشاهده می‌شود.

#### مقاومت به بیماری‌ها

بیش از چند قرن است که درختان سیب بر اساس توان بارآوری بیشتر، طعم بهتر، بازار پسندی و دوره انبارمانی طولانی‌تر گزینش شده‌اند. طی فرآیند به‌نژادی بسیاری از صفات مطلوب مانند مقاومت ژنتیکی گونه‌ها در مقابل بیماری‌ها و آفات از بین رفته‌اند (Jones and Aldwinckle, 1990). باغات تجارتي برای تولید بیشتر میوه سالم‌تر، نیازمند کاربرد حجم عظیمی از مواد شیمیایی هستند. با توجه به این‌که هنوز ارقام متعددی از درختان سیب از مقاومت لازم ژنتیکی در برابر اغلب بیماری‌ها و آفات برخوردار هستند، به نظر می‌رسد که امکان اصلاح ژنتیکی درختان سیب نیز وجود داشته و می‌توان ارقامی با مقاومت چندگانه به بسیاری از آفات و بیماری‌ها تولید کرد. این هدف در ابتدا به عنوان روشی برای کاهش هزینه‌های تولید مطرح شد ولی بعدها عوامل دیگری مانند نگرانی مصرف‌کنندگان از کاربرد آفت‌کش‌های شیمیایی و رونق گرفتن بازار میوه‌های تولید شده بدون استفاده از ترکیبات آفت‌کش (تولید میوه‌های ارگانیک) اهمیت بیشتری یافت. تولیدکنندگان میوه‌های ارگانیک سعی دارند با بهره‌گیری از روش‌های غیر شیمیایی مصرف سموم و آفت‌کش‌ها را کاهش دهند. استفاده از مقاومت ژنتیکی ارقام یکی از این گزینه‌ها است. اصلاح درختان به شکلی که در برابر کلیه تنش‌ها مقاوم باشند بعید است. در حال حاضر فقط برخی از ارقام قدیمی مقاوم به بیماری‌مانند 'پریستین'<sup>۷۲</sup>، بدون استفاده از قارچ‌کش میوه‌های سالم تولید می‌کنند. مقاومت به بیماری، نه تنها برای تولیدکنندگان میوه‌های ارگانیک بلکه برای باغات کوچک نیز اهمیت خواهد داشت. در آینده شاید بتوان میوه‌هایی را بدون مصرف حشره‌کش و کنه‌کش و تنها با کاربرد ترکیبی از روش‌های کنترل از جمله ایجاد مقاومت (از طریق انتقال ژن)، استفاده از تله‌ها و حشرات مفید تولید کرد. در حقیقت، در مدیریت تلفیقی آفات (IPM) هدف، کاهش مصرف آفت

کش ها (نه حذف محلول پاشی ها به صورت کامل) با استفاده از سایر فنون مانند پیش بینی حمله آفات و بیماری ها، استفاده از حشرات مفید و نیز استفاده از ارقام دارای مقاومت ژنتیکی است.

بسیاری از آفات و عوامل بیماری زا که مقاومت میزبان در برابر آن ها شناخته شده است، قابلیت غلبه بر مقاومت میزبان را از خود نشان داده اند. برای مثال در آلمان، ژن مقاوم به عامل بیماری لکه سیاه سیب *Venturia inaequalis* (ژن VF) در برابر عامل بیماری زا مغلوب شده است (parisi et al., 1993)؛ همچنین عامل بیماری زای سفیدک پودری (*podosphaera leucotrichum*) نیز بر ژن اصلی مقاومت سیب غالب گشته است. گاه حتی در یک فصل رشد، برخی نژادهای باکتریایی عامل آتشک موفق به ایجاد بیماری در کلون هایی که قبلاً مقاوم بوده اند، می شوند. اگر چه ژن های BT (*Bacillus turengiensis*) در آزمایشات اولیه برای حفظ نیمی از سطح تحمل رقم امیدوار کننده به نظر می رسند، اما وجود سوسپانسیون کریستالی اسپورهای BT بیانگر غلبه حشرات در طول زمان بر این مقاومت است (Cummins and Aldwinckle, 1992). مشکلات دیگری نیز در این زمینه وجود دارد. برای مثال در برخی موارد بیش از یک عامل در ایجاد بیماری نقش داشته و بنابراین مقاومت رقم نیز نسبی است، زیرا ارقام جدید می توانند در برابر فقط یکی از عوامل بیماری زا مقاوم بوده و ممکن است دارای مقاومت به دیگر عوامل نباشند. برای مثال، قارچ *phytophthora cactorum* عامل پوسیدگی طوقه در درختان سیب می باشد، اما اکنون ثابت شده است که چندین گونه قارچی فیتوفترا پایه های سیب را مورد حمله قرار داده و علائم مشابهی را نیز در این درختان ایجاد می کنند (Mircetich and Browne, 1989; Jeffers and Wilcox, 1990).

هدف اصلاحگران سیب باید به حداقل رساندن احتمال شکستن و فرو ریختن این گونه مقاومت ها باشد. به نظر میرسد که دو انتخاب در برابر ما وجود دارد: یک راه حل، هر می شکل کردن ژن های مقاومت و راه حل دوم رسیدن به نتایج با سطح تحمل بیشتر و نه با مقاومت کامل است، زیرا احتمالاً این شکل از مقاومت از پایداری بیشتری برخوردار است (Kellerhals and Furrer, 1994).

اگر چه اجرای یک برنامه اصلاحی در راستای ایجاد مقاومت در برابر بیماری مشکل است، ولی نا امید کننده نیست. بسیاری از ژن های حامل مقاومت برای مدت های طولانی پایداری نشان داده اند. برای مثال رقم دلشیز هنوز هم از مقاومت کافی در برابر آتشک برخوردار است و یا سیب *Malus floribunda* 821 بیش از صد سال است که توانسته در ایالات متحده مقاومت در برابر بیماری لکه سیاه را در خود حفظ نماید. به همین ترتیب شته مومی سیب در مناطق مختلف کشور چک با استفاده از یک مقاومت جزئی موجود در کولتیوار نوردن اسپای تحت کنترل نگاه داشته شده است.

#### لکه سیاه سیب

این بیماری مهمترین بیماری سیب در جهان است که توسط قارچ *Venturia inaequalis* ایجاد می گردد. قارچ عامل بیماری به برگ ها حمله کرده و در حالت بحرانی موجب ریزش شدید برگ ها می شود. این قارچ به شاخه ها نیز حمله می کند و سبب بدشکلی میوه و کاهش بازار پسندی آن می گردد. اگر چه کنترل شیمیایی بیماری امکان پذیر است، ولی با صرف هزینه های بالا و دیگر مشکلات همراه است. یک استراتژی منطقی برای مبارزه با بیماری، اصلاح ارقام در راستای مقاومت به بیماری است. این روش سال ها است که در اکثر کشورهای جهان تجربه شده است و اکنون ارقام جدید که از مقاومت بالقوه در برابر بیماری برخوردارند، نیز در دسترس هستند.

دو نوع از مقاومت وجود دارد: مقاومت چند ژنی و مقاومت تک ژنی. مطلوب ترین و پایدارترین فرم مقاومت، ترکیبی از دو مقاومت مذکور است. همان گونه که در مورد سایر بیماری ها مشاهده می شود، برخی کولتیوارها بسیار مقاوم تر از سایرین هستند، بنابراین می توان در داخل آنان ارقامی را که دارای تحمل بالا بوده

و مقاومت کامل هم ندارند گزینش کرد. از سوی دیگر در بین بیوتیپ های پاتوژن نیز انواع متفاوت وجود دارند و به همین دلیل وقتی کشت هایی از پاتوژن که از یک تک اسپور تشکیل شده اند بر روی برگ های ارقام مختلف تلقیح شوند، برخی ارقام علائم مثبت و برخی علائم منفی نشان می دهند. به هر شکل ژن مقاومتی که بر علیه نژادهای مختلف پاتوژن فعال نگردد، قابل اطمینان نیست.

اگر چه زمانی رقم آنتونوکا پولتوبوتانا<sup>۷۳</sup> دارای مقاومت چند ژنی در برابر تمام نژادهای شناخته شده پاتوژن بود، اما امروزه این رقم نیز توسط برخی از نژادهای پاتوژن آسیب پذیر شده است. مشابه این مورد نوعی از مقاومت چند ژنی در سلکسیون های برخی گونه ها به ویژه *M. xzumi calocarpa* و *M. Baccata*، *M. sargentii* یافت شده است (shay et al. 1962). برخی از فرم های *Antonovka* و سلکسیون هایی از نتاج آن به طور وسیع بویژه در اروپا و در برنامه های اصلاحی مورد استفاده قرار گرفته اند.

برنامه های اصلاحی مدرن برای مقاومت به بیماری لکه سیاه توسط L. F. Hough و با مشاهده مصونیت باغی نتاج حاصل از تلاقی بین گونه ای در دانشگاه ایلی نوین آغاز شد (crosby et al., 1992). برنامه مشترکی به وسیله L. F. Hough (در دانشگاه ایلی نوین و بعدها در دانشگاه روتگر) و J. R. shay (در دانشگاه پوردو) ارائه شد. بعدها E. B. Williams, J. Janick, J. A. Crosby (از دانشگاه پوردو)؛ S. S. Korban (از دانشگاه ایلی نوین)؛ و D. F. Dayton (از دانشگاه ایلی نوین)؛ و Goffreda (از دانشگاه روتگر) نیز به آنها ملحق شدند. در قالب این برنامه، برخی پروژه های اصلاحی مقاومت به بیماری بصورت مستقل در مراکز مختلف علمی جهان از جمله دانشگاه کرنل ایالات متحده، استرالیا، برزیل، کانادا، چکسلواکی، فرانسه، آلمان، مجارستان، ایتالیا و رومانی به اجرا گذاشته شد. گونه هایی از قبیل *M. atrosanguinea*، *M. micromalus*، *M. prunifolia* و گونه های دیگر به این پروژه ها وارد شدند، اما جالب ترین پیشرفت ها در پروژه ای که بر روی گونه *M. floribunda* متمرکز شد، به دست آمده است. برخی از این گونه ها، حامل ژن مقاومت در برابر تعدادی دیگر از بیماری ها مثل آتشک، زنگ سیب سرو کوهی یا سفیدک هستند و برخی نیز متحمل به حشرات و کنه ها می باشند. برخی از سلکسیون های 'انترپرایز' و 'لیبرتی' مقاومت چند گانه به بیماری ها نشان می دهند. در حال حاضر حدود ۷۰ کولتیوار سیب، از برنامه های اصلاحی مختلف در سرتاسر جهان، بر اساس بیان ژن مقاومت VF معرفی شده اند که البته تعدادی از آن ها مانند 'انترپرایز'، 'گلدن راش'، 'جونافری'، 'لیبرتی'، 'پریستاین' از جمله ارقام مهم و امیدبخش می باشند. از ارقام مقاوم به لکه سیاه که اکنون به طور وسیع مورد استفاده قرار می گیرند می توان به 'جودلین'<sup>۷۴</sup> (یک نوع سیب ساندرسی<sup>۷۵</sup> که بیش از یک میلیون درخت آن در فرانسه کشت شده) اشاره کرد.

روش متداول جهت آزمون مقاومت به لکه سیاه، پرورش دانهال ها در گلخانه، در حرارت ۲۰-۱۸ درجه سانتی گراد است. با ظهور اولین برگ های حقیقی در بین لپه ها، عمل اسپورپاشی دانهال ها با سوسپانسیون اسپور قارچ انجام می گیرد. سپس به منظور جلوگیری از خشک شدن برگ ها، دانهال ها توسط پوشش پلی اتیلن به مدت ۴۸ ساعت پوشانده شده و یا آنها را در یک اتاقک مرطوب نگهداری می کنند. پس از ۱۰ روز عمل تلقیح مجدداً انجام می گیرد. اسپورزائی قارچ عامل بیماری بر روی دانهال های حساس به زودی آغاز می شود که در این حالت می توان دانهال های حساس را حذف کرد. آلودگی مطلوب و رضایت بخش فقط بر روی برگ های بسیار جوان ایجاد خواهد شد.

نحوه تهیه مایه تلقیح به این صورت است که کنیدی های حاصل از کشت های آزمایشگاهی همه نژادهای قارچ *v. inaequalis* در داخل ظرفی شسته شده و به این سوسپانسیون جدایه های جمع آوری شده از دیگر

73 -Antonovaka Poltobotanaja

74 - Judeline

75 - Juice Apple

منابع نیز اضافه می‌گردد. به این ترتیب یک سوسپانسیون اسپور از قارچ که نماینده مخلوط پاتوژن باشد به دست می‌آید. نژادها و جدایه‌ها ممکن است به طور جداگانه روی دانه‌های جوان و حساس تلقیح شده و شستشوی کنیدی‌ها از برگ‌ها انجام گیرد. سوسپانسیون کنیدی را می‌توان برای یک سال بصورت منجمد نگهداری کرد. مقاومت در برابر آلودگی برگی عموماً با مقاومت به آلودگی میوه همبستگی دارد. ارزیابی میزان مقاومت براساس علائم ایجاد شده روی برگ‌های جوان رشد یافته در شرایط گلخانه صورت گرفته و به شکل زیر رتبه بندی می‌شود:

۰: فاقد هر گونه آلودگی مشهود

۱: لکه‌های آلودگی نوک مدادی و بدون اسپور زائی

۲: زخم‌های کلروز یا نکروز نامرتب و بدون اسپور زائی

۳: زخم‌های حاوی اسپور زائی محدود

۴: زخم‌ها با اسپور زائی فراوان و وسیع

رتبه M نیز برای نمایش مخلوط نکروز، عدم اسپور زائی و وجود لکه‌های اسپوری پراکنده اضافه شده است (Shay and Haugh, 1952). در این میان رتبه ۴ به عنوان رتبه حساس در محیط میدانی شناخته شده است و بقیه رتبه‌ها بیانگر مقاومت میدانی هستند. ارقامی با این درجات از مقاومت، زمانی که در هوای آزاد و یا در مناطق رشد عامل لکه سیاه قرار گیرند علائمی از آلودگی نشان نمی‌دهند. با بهره‌گیری از مفهوم گسترده مقاومت، تلاقی‌های هتروزیگوس مقاوم با هموزیگوس‌های حساس دارای تفرق به نسبت ۱: مقاوم و ۱: حساس هستند، اما مقاومت قابل قبول (کاملاً غیر اسپورزا در رتبه‌های ۰، ۱، ۲) کمتر (به طور معمول ۳۰٪) است. استفاده از تلاقی‌های داخلی (آزمون‌های آلی) نشان داد که در میان ۲۵ منبع مقاومت، ۱۱ منبع ناشی از همان ژن مقاومت VF است که در *M. floribunda* 821 یافت شده است. در مجموع ۶ لوکوس (مکان ژنی) برای مقاومت کیفی (خزانه ژنی تعریف شده) شناسایی شده‌اند که به شرح ذیل می‌باشند (جدول شماره ۸).

جدول شماره ۸- لوکوس‌های (مکان‌های ژنی) شناسایی شده برای مقاومت کیفی

منبع اصلی ژن	علامت اختصاری ژن
<i>M. floribunda</i>	Vf
<i>M. micromalus</i>	Vm
<i>M. pumila</i> R12740-7A (A Russian Apple ; perhaps <i>M. Sieversii</i> )	Vv
<i>M. baccata jackii</i>	Vbj
<i>Hansen s baccata</i>	Vb
<i>Antonovka</i>	Va

تا سال ۱۹۹۳، پنج نژاد بیماری زای مختلف از قارچ عامل لکه سیاه شناسایی شده‌اند و نژاد ششم نیز اخیراً در آلمان کشف و معرفی شده است (Parisi., et al ۱۹۹۳) (جدول شماره ۹).

جدول شماره ۹- نژاد‌های بیماری زای مختلف شناسایی و معرفی شده از قارچ عامل لکه سیاه

نژاد	محل انتشار	رقام حساس سبب
۱	سراسر جهان	اغلب کولتیوارهای رایج در جهان
۲	داکوتای جنوبی (آمریکا)	<i>M. baccata</i> , Dolgo, Alexis و جدایه‌هایی از <i>Bittercrab</i> , R12740-7A, Geneva
۳	کانادا (Nova scotia)	Geneva
۴	آمریکا (ایندیانا) Lafayette	جدایه‌هایی از R12740-7A

Micromalus pit type resistance , <i>M. atrosanguinea</i> 804	انگلستان ( نروژ)	۵
Mx perpetu and <i>M. floribunda</i> 804 , prima vf رقم	آلمان ( Ahrensburg )	۶

مهاجم بودن جدایه های متعلق به نژاد ۶ ثابت نشده است. این جدایه حتی در اهرنسبورگ آلمان نیز شیوع بیشتری نیافته لذا آینده ژن مقاومت vf در هاله‌ای از ابهام است. در واقع هنوز روشن نیست که آیا نژاد ۶ یک موتانت جدید است یا فقط یک بیوتیپ که همواره وجود داشته است. ظهور این نژاد تاکیدی بر لزوم ترکیب ژن های کمی و کیفی است و به طور دقیق هر دانهال با واکنش های تیپ ۳ ، مقاومت را محدود می‌کند. تا زمان ظهور و پیدایش نژاد ۶، رتبه ۲ همواره نمایانگر واکنش ایمنی میدانی بوده است، اما ثابت شده است که گزارشات قبلی در خصوص سطوح کم آلودگی گیاهان مقاوم به لکه سیاه اساس علمی صحیح ندارند. 'پریمما'<sup>۷۶</sup> ، اولین کولتیوار مقاوم به لکه سیاه، فقط واکنش تیپ ۳ را نشان داده و محدودیت اسپورزائی در برگ ها، فقط در برخی ژنوتیپ ها و در برخی مناطق رخ می‌دهد. در حال حاضر در فرانسه عملاً میلیون ها درخت سیب رقم جودلاین که حامل ژن مقاومت vf هستند، به بهترین شکل در برابر بیماری لکه سیاه مقاومت نشان می‌دهند.

#### سفیدک پودری سیب

این بیماری بوسیله قارچ *podosphaera leucotricha* ایجاد می‌گردد. سفیدک از جمله مهم ترین بیماری های سیب بویژه در مناطق مرطوب بشمار می‌رود. اگر چه آسیب وارد شده به میوه در این بیماری چشمگیر نیست، اما بیماری درختان را ضعیف کرده و در صورت حمله به دانهال ها باعث مرگ آنان می‌شود. این بیماری از جمله مشکلات عمده نهالستان ها و بستر های تکثیر است، به طوری که حمله قارچ به برگ ها و شاخه های جوان تاثیر محسوس بر کمیت و کیفیت میوه می‌گذارد. شدت شیوع بیماری بسته به اقلیم متفاوت است، اما در مجموع این بیماری در کلیه مناطق رشد و پرورش سیب یافت می‌شود. برخی ارقام بسیار حساس و برخی تا حدود زیادی مقاومت دارند. در بین این دو حد، یک دامنه وسیع از درجات متفاوت از تحمل به بیماری یافت شده است. برای مثال کولتیوارهای 'دلشز' و 'مک اینتاش' و نیز پایه های رویشی سری مالینگ مرتون در شرایط باغ، مقاومت نشان می‌دهند در حالی که 'ایدارد' و 'جاناتان' و پایه های مالینگ به شدت به بیماری حساس هستند. هر چند هنوز این سؤال باقی است که آیا می‌توان مصونیت پایدار و مقاوم را در بین ارقام کشت شده سیب یافت، اما به هر شکل می‌توان ارقامی از سیب را که تا حد زیادی متحمل بوده و به ندرت آلودگی شاخه ایجاد می‌کنند گزینش کرد. مقاومت به سفیدک پودری می‌تواند وراثت کمی داشته و هیچ نشانه ای از غالبیت نیز ظاهر نگردد (Brown, 1959). ارزیابی مستقیم مقاومت به سفیدک پودری در بین کولتیوارها سو و جهت مطمئن برای رفتار اصلاحی آنها ایجاد می‌کند، اما تنوع موجود در مقاومت تا زمانی که دانهال ها دو ساله شوند ممکن نیست.

Lapins و McIntosh در سال ۱۹۹۶، در بین ۲۱ کلون 'مک اینتاش' پرورش یافته از قلمه هایی که تحت تاثیر اشعه X در شدت های متفاوت (۵-۳/۷۵ کیلوراد) قرار گرفته بودند، اختلافات زیادی را در حساسیت به سفیدک پودری مشاهده کردند. بیشتر آنها سطح معمولی از حساسیت را نشان دادند، اما برخی حساسیت زیادی داشته و برخی نیز کاملاً مقاوم بودند. تغییرات مشاهده شده در مقاومت، موتاسیون تلقی گردید.

علاوه بر مقاومت چند ژنی، ایمنی تک ژنی از *Mx robusta* ، *Mx Zumi* (kinght and Alston, 1968-1972, Alston, 1977) و نیز از یک هیبرید بین گونه ای ناشناخته در آرپورتوم مورتون

(Dayton, 1977, ) گزارش شده است (*M. sargentii M. baccata jackii* , *M. x zumi calocarpa*) (Korban and Dayton, 1983).

در حال این نوع مقاومت های تک ژنی دربرابر حمله نژادهای مختلف بیماری زای قارچ از پای در آمده اند. اخیراً تلاش های زیادی در جهت اصلاح مقاومت به سفیدک پودری با استفاده از روش های سنتی (Janse et al., 1994, Kruger, 1994, Schmidt, 1994) و جدید (Battle and Alston, 1994) انجام گرفته است.

#### شانکر سیب

شانکر شاخه یا شانکر حلقوی درختان سیب توسط قارچ *Necteria galligena* Bres ایجاد می گردد. این بیماری در حال توسعه بوده و نگرانی های زیادی را در میان باغداران ایجاد کرده است. درختان کاشته شده در خاک های سنگین برای حمله قارچ بسیار مستعد هستند. تحقیقات کمی در خصوص این بیماری انجام گرفته، اما پرواضح است که ارقام از نظر حساسیت به بیماری اختلافات زیادی دارند. برخی کولتیوارها، به خصوص سیب های شربتی بسیار مقاوم گزارش شده اند (Wormald, 1955). همین طور پایه های رویشی M1 و M12 نیز از مقاومت بالایی در برابر بیماری برخوردارند (Moore, 1960). اصلاح و سلکسیون درون ژنوتیپ هایی که درجات مختلفی از مقاومت را دارا می باشند، می تواند سبب ایجاد ارقامی با مقاومت بالا و کیفیت تجاری خوب شود. در آلمان، مقاومت به شانکر از جمله اهداف مهم برنامه های اصلاحی است (اطلاعات شخصی H. Schmidt).

شانکر والس، که توسط عامل بیماری زای قارچی *valsa ceratosperma* Maire ایجاد می شود از جمله بیماری های مهم در ژاپن است، اما تاکنون هیچ یک از ارقام سیب پرورش یافته در آن مناطق، مقاومتی را در برابر قارچ مذکور نشان نداده اند. *M. sieboldii* به این قارچ مقاومت محدودی نشان داده است (et al. 1994). (Bessho)

#### آتشک

این بیماری باکتریایی توسط باکتری *Erwinia amylovora* ایجاد می گردد. باکتری قادر به ایجاد آلودگی و بیماری در بیشتر اعضای زیر تیره دانه دارها (پوموئیده)<sup>۷۷</sup> می باشد. اگر چه این بیماری در سیب شدت کمتری دارد، ولی مصونیت کامل در هیچ کدام از ارقام سیب مشاهده نشده است. باکتری مذکور در گلابی می تواند بیماری نابود کننده ای باشد. این بیماری اولین بار در ایالات متحده مشاهده و گزارش شد، اما در حال حاضر بیماری در حال شیوع به اغلب مناطق سیب کاری در جهان است. باکتری عامل بیماری گل ها، میوه، شاخه ها و پاجوش ها را مورد حمله قرار می دهد. میزان حساسیت درختان به باکتری مذکور بستگی به شرایط رشدی، میزان گلهی و شرایط محیطی در زمان وجود ماده آلودگی دارد. این موضوع سبب می شود که گزارشات متناقضی از حساسیت یا مقاومت رقم بیان گردد، اگر چه این موضوع شاید به دلیل وجود نژادهای بیولوژیکی متفاوت باکتری نیز باشد (Nonnecke, 1948). تمام ارقام سیب، در صورت وجود مایه تلقیح باکتری و تزریق آن به داخل بافت آبدار، حساس هستند ولی در برخی گونه ها، مصونیت مشاهده شده است. برخی کولتیوارها مقاومت قابل ملاحظه ای در برابر پیشرفت سریع بیماری به داخل بافت را نشان می دهند. مقاومت بسیار بالایی نیز در *M. robusta* × H-12، *M. robusta* و *M. fusca* مشاهده شده است. 'اسپلندور'<sup>۷۸</sup> نیز تقریباً به بیماری ایمن است، 'دلشز' و 'واین سپ' در بین مقاوم ترین ارقام جای دارند در حالی که 'جوناتان'، 'رم بیوتی' و 'یورک امپریال' بسیار حساس هستند. کولتیوارهای جدید مثل 'فوجی' و 'گالا' هم حساسیت بالایی به آتشک دارند. جالب توجه است که برخی سلکسیون های مقاوم به لکه سیاه از قبیل 'پریمایا'، 'پریسیلا'، 'انتر پرایز' و 'لیبیتی' دارای مقاومت خوبی به آتشک نیز هستند. احتمالاً مقاومت به آتشک به طور اتفاقی از *M. Floribunda* و در طول

77 -Pomoideae

78 -Spelendour

مقاومت به لکه سیاه، انتقال یافته است. هنوز برخی سلکسیون های مقاوم به لکه سیاه تا حد زیادی به آتشک حساس هستند. رقم امید بخش دیگری به نام 'op 25 - Co' به دلیل وجود حساسیت به بیماری آتشک هرگز معرفی نشد.

روش های زیادی برای آزمون میزان حساسیت دانهال ها به این بیماری وجود دارد، اما روش معمول شامل تلقیح باکتری به نوک شاخه های انتهایی فعال و در حال رشد است. سپس با گذشت زمانی کوتاه، فاصله آلودگی شاخه از نوک اندازه گیری شده و میزان مقاومت بین دانهال ها مقایسه می شود.

به نظر می رسد که برای دستیابی به یک مقاومت مطلوب (نه ایمنی کامل) در برابر بیماری آتشک، می توان از طریق انتخاب دقیق والدین و غربال در مناطقی که بیماری وجود دارد، اقدام کرد. در ایالات متحده، دانهال های حساس، به ندرت در باغ از بیماری در امان می مانند و سلکسیون های بسیار حساس به راحتی شناسایی می شوند. آتشک در پایه های درختان میوه بسیار اهمیت دارد، زیرا انتقال عامل بیماری از بالا به پایین، از گل و شاخه به تنه منجر به مرگ درخت خواهد شد. چندین پایه رویشی شامل M26، اوتاوا ۳، آرنارپ ۲ و M9 تا حد بسیار زیادی به این بیماری حساس هستند. این موضوع عمق فاجعه را در جنوب اروپا، جایی که M9 به وفور کشت می شود، نشان می دهد. در برنامه اصلاحی جینوا، غربال کردن برای مقاومت به آتشک، یک اولویت اساسی است. آتشک سبب محدود کردن استفاده از برخی کولتیوارها مثل گالا و برخی پایه های رویشی مانند M29 در برخی مناطق ایالت متحده شده است.

امکان به دست آوردن مقاومت از طریق انتقال ژن در دانشگاه کرنل جینوا در دست بررسی است. نتایج نشان می دهد که مقاومت می تواند به وسیله انتقال ژن *attacin E* از *Hyalophoras cecropia* ایجاد شود (Norelli et al. 1994).

### پوسیدگی طوقه

این بیماری عمدتاً به وسیله قارچ *Phytophthora cactorum* در مناطق معتدل بوجود می آید، اما دیگر گونه های فیتوفترا نیز در سایر مناطق در ایجاد بیماری دخالت دارند. متأسفانه مقاومت به *P. cactorum* مقاومت در برابر سایر گونه های قارچ را ایجاد نمی کند. ژئوسپورهای موجود در خاک، پوست درختان سیب را در سطح زمین یا نزدیک به آن آلوده می کنند. برای جلوگیری از آلودگی پیوندک می توان عمل پیوند را در ۶۰ سانتی متری یقه انجام داد. این بیماری از طریق ایجاد پوسیدگی حلقه ای تنه اصلی به ویژه در مناطقی که زهکشی نامناسب دارند، شروع شده و قادر به نابود کردن یک درخت کاملاً بزرگ است. با توجه به این که پایه و پیوندک هر دو ممکن است مورد حمله واقع شوند، استفاده از پایه مقاوم ضروری بوده و داشتن کولتیوارهای مقاوم نیز بسیار مطلوب است. مقاومت به این قارچ در سلکسیون هایی که از طریق قلمه تکثیر می شوند نیز ضرورت دارد. به نظر می رسد که مقاومت در برابر این قارچ از هردو نوع چند ژنی و تک ژنی است. بر اساس روش Meller و McIntosh (۱۹۵۴) و با استفاده از مخلوط مایه تلقیح قارچ برای آلودگی درختان، محققین دریافتند که ژن مقاومت به بیماری به طور کامل یا نسبی غالب می باشد. والدین مقاوم × مقاوم فقط ۷٪ دانهال های حساس ایجاد می کنند. والدین مقاوم × حساس، ۲۴٪ و والدین حساس × حساس، ۹۳٪ دانهال های حساس به وجود می آورند. در دهه ۱۹۷۰، Alston ژن غالب مقاوم را در کولتیوار نوردن اسپای گزارش کرد. مقاومت متوسط به پوسیدگی طوقه در برخی از پایه های مالینگ مرتون از رقم نوردن اسپای گرفته شده است. منابع مقاومت در برخی از پایه های پاکوتاه M9، M7 و اوتاوا ۳ نیز وجود دارد، اما سطح بالایی از مقاومت به وسیله نوول، *angustifolia* ( *M × magdeburgensis* (*M × sublobata*) انتقال یافته است (Cummins and Aldwinckle, 1983) با این همه در بیماری زایی جدایه های قارچی اختلافات زیادی وجود دارد.

یک روش سریع برای پیش‌گزینش مقاومت به بیماری پوسیدگی طوقه توسط Watkins و Werts در سال ۱۹۷۱ ارائه شد. این روش بعدها به وسیله Cummins و Aldwinckle در سال ۱۹۸۳ اصلاح شد. در این روش دانه‌های جوان ۲-۳ هفته ای مستقر شده در مخلوطی از پیت و شن، توسط سوسپانسیون زئوسپورهای قارچ غرقاب و به این ترتیب عمل مایه زنی انجام می‌گیرد. اثرات حمله قارچ پس از یک هفته مشاهده می‌شود، اما نتایج کامل پس از دو هفته قابل بررسی است. با کاربرد این روش فقط دانه‌های مقاوم یا متحمل برای آزمایشات بعدی باقی خواهند ماند. در برنامه اصلاح پایه، در دانشگاه کرنل ژنو فقط ۱۵ تا ۳۰ درصد دانه‌های تلقیح شده با *P. cactorum* و *P. megasperma* زنده ماندند. روش‌های دیگر آزمون ارقام و دانه‌ها، معمولاً وابسته به کشت قارچ در آزمایشگاه و سپس مایه زنی دیسک‌های آگار آلوده شده با قارچ به ساقه درختان در حال رشد و یا به داخل ساقه‌های قطع شده در شرایط کنترل شده گلخانه و یا آزمایشگاه و سپس اندازه‌گیری سطح آلودگی پس از یک مدت معین می‌باشد (Sewell and Wilson, 1959). این روش‌ها احتمالاً فقط قسمت معینی از عکس‌العمل گیاه به فیتوفترا را در باغ‌ها منعکس می‌کنند.

### زنگ سیب

عامل بیماری زنگ سیب-سروکوهی، قارچ *Gymnosporangium juniperi virginianae* Schw. است. این قارچ به برگ‌ها و میوه‌های سیب حمله می‌کند. سروکوهی (*Juniperus virginiana* L.) میزبان واسط قارچ است. این بیماری از جمله بیماری‌های مهم در شرق ایالات متحده می‌باشد. زنگ به، زنگ زالک و یک گونه قارچی دیگر زنگ زالک در ژاپن اهمیت فوق‌العاده‌ای دارند. تعدادی از کولتیوارهای تجارتي دارای کیفیت مطلوب مقاوم به بیماری گزارش شده‌اند. به نظر Moore در سال ۱۹۹۵ و Shay و Haugh در سال ۱۹۵۲ مقاومت توسط وسیله یک ژن منفرد غالب کنترل می‌شود. به این ترتیب 'مک اینتاش' و 'آرکانزاس بلک' از نظر مقاومت هموزیگوس بوده، 'دلشیز'، 'واین سپ' و 'ولف ریور' هتروزیگوس، 'جوناتان' و 'رم بیوتی' کاملاً حساس می‌باشند. اما بر اساس نظر Mowry در سال ۱۹۶۴، و Aldwinckle و همکاران<sup>۷۸</sup> (۱۹۷۷) و نیز Korban و Chen<sup>۷۹</sup> (۱۹۸۷)، مقاومت به وسیله دو ژن غالب و حساسیت از طریق دو ژن مغلوب کنترل می‌شود. به این ترتیب 'پریسیلا' از نظر مقاومت هموزیگوس غالب بوده و 'گلدن دلشیز' حساس است (Aldwinckle et al. ۱۹۷۷).

### بلاچ سیب<sup>۷۹</sup>

Dayton و Mowry در سال ۱۹۶۴ نتایج حاصل از تلاقی‌های کنترل شده را از نظر حساسیت به عامل بیماری قارچی *phyllosticta solitaria* E.& E. بررسی و بحث و تحلیل کردند. آن‌ها دریافتند که حساسیت به وسیله دو ژن کاملاً غالب با واکنش اپیستازی مغلوب دو تایی بین جفت ژن‌ها کنترل می‌شود و امکان تخمین ضعیف فنوتیپ رقمی که علائم بیماری را نشان دهد وجود ندارد.

### بلاچ برگی

عامل بیماری بلاچ برگی<sup>۸۰</sup> قارچ *Glomerella cingulata* است. 'گلدن دلشیز' از یک ژن غالب (Gb) هتروزیگوس برخوردار است، که این ژن باعث حساسیت این کولتیوار به یک نژاد از قارچ می‌شود. طبق مشاهدات Camilo, 1989، کلیه جدایه‌های قارچ مذکور بر روی تمام کلون‌های سیب به جز '22- Mx sieboldii 2892' ایجاد بیماری می‌کنند.

### پوسیدگی‌های انباری

بیماری های پوسیدگی میوه در انبار ناشی از گونه های مختلف قارچ *Gloeosporium* بویژه *G. perennans* Zellar&Cilds می باشد. در بررسی بیش از ۲۰۰ کولتیوار سیب، برخی بسیار حساس بوده و حدود ۵٪ آنها تا حد بالایی متحمل بودند. در این میان رقم کراورت روژ<sup>۸</sup> متحمل ترین کولتیوار بود (Alston, 1967). تعداد کمی از نتایج حاصل از تلاقی 'کاکس اورنج پی پین' (بسیار حساس به پوسیدگی انباری) با کولتیوار کراورت روژ مقاومت نسبی قابل ملاحظه ای به عامل قارچ مذکور نشان دادند. براساس مطالعات انجام شده، دانهال های فوق (با ۰/۸ زخم در میوه) مقاومت بیشتری را در مقایسه با دانهال های به دست آمده از خودگشنی 'کوکس اورنج پپین' (با ۴/۷ زخم در میوه)، نشان دادند. در این آزمایشات در میان مقاوم ترین ارقام، 'جوناتان' و موتانت رنگی آن برخی از مشتقات 'جوناتان' مانند 'Jonared'، هم مقاومت خوبی به این پاتوژن نشان دادند. روش تعیین میزان حساسیت، غوطه ورکردن میوه ها در سوسپانسیون اسپور با غلظت ۵۰۰۰۰ اسپور در میلی لیتر و سپس قرار دادن آن ها در پاکت های کاغذی در دمای ۵ درجه سانتی گراد به مدت ۵ ماه است. برای انجام آزمون تعداد ۵ عدد یا بیشتر میوه مورد نیاز است.

### بیماری های ویروسی

بیماری های ایجاد شده به وسیله ویروس ها، ویروئیدها و شبه میکوپلاسماها از جمله مشکلات تولید کنندگان نهال و پرورش دهندگان درختان میوه به شمار می آیند؛ زیرا بسیاری از بیماری های ویروسی مانند ویروس نقش حلقوی گوجه فرنگی (tomato ringspot virus)، چوب گوش خرگوشی (rubbery wood) و پهن شدن شاخه (flat limb) از آلودگی های جدی ویروسی به شمار رفته و سبب تخریب و نابودی درختان می شوند. برخی از ویروس ها بر کارایی درختان تاثیر گذاشته و بیشتر آنها افت محصول را به دنبال دارند. ویروس ها به راحتی از طریق پیوند منتقل می شوند. از این رو وجود پایه ها و نیز ارقام میوه عاری از ویروس از اهمیت خاصی برخوردارند. عکس العمل کولتیوارهای مختلف سیب به ویروس ها تا حد زیادی متفاوت است. تعدادی از ویروس ها بدون ایجاد علائم مشخص، در بسیاری از کولتیوارها حضور دارند. برخی دیگر از ویروس ها مثل ویروس موزائیک نوار گلبرگی (vein-banding mosaic) شدت علائم، از یک کد به کد دیگر، فرق می کند به گونه ای که برخی ارقام علائم شدید و برخی علائم ملایم را نشان می دهند. عده ای از ارقام نیز میزبان بدون علامت می باشند (Luckwill, 1953).

برخی ویروس ها یا علائم شدیدی را ایجاد می کنند و یا باعث بروز هیچ علامتی نمی شوند. علیرغم حضور بسیاری از ویروس ها در کولتیوارهای مختلف تا چندی پیش امکان تشخیص آن ها وجود نداشت، اما با شناسایی و معرفی گیاهان محک (که علائم ویروس را به وضوح نشان می دهند) تشخیص چنین ویروس هایی امکان پذیر شده است (Fridlund, 1989). امروزه بسیاری از ویروس ها با روش سرولوژیکی الایزا (ELISA) نیز قابل تشخیص هستند. اصلاح برای ایجاد مقاومت بر علیه ویروس ها تقریباً غیر ممکن است، زیرا بسیاری از ارقام علیرغم آلودگی به ویروس علائمی در ظاهر گیاه نشان نمی دهند. دلایلی وجود دارد که نشان می دهد حساسیت ممکن است به نتایج منتقل شود.

پایه نوول که حساس به ویروس شکاف تنه سیب (apple stem-grooving virus ASGV) است حساسیت را به بیش از نیمی از دانهال هایش منتقل می کند. ایجاد مقاومت در برابر ویروس ها یکی از موفقیت های مهندسی ژنتیک بوده است (Grumet, 1994). این روش هم اکنون در سیب نیز در دست بررسی است (Mauren et al. 1992).

پایه MM106 به ویروس لکه حلقوی گوجه فرنگی (TRsV) بسیار حساس است. انتقال مقاومت به این پایه از طریق مهندسی ژنتیک در جینوا شروع شده است (گزارشات شخصی، D. Gonsalves).

## مقاومت به آفات

برنامه اصلاح جهت ایجاد مقاومت در برابر آفات اولین بار برای شته مومی سیب در استرالیا، نیوزیلند، امریکای جنوبی و جنوب شرقی ایالت متحده شروع شد. شته مومی سیب (*Eriosoma lanigerum* Hausm.) از جمله مهم ترین آفات سیب است که گسترش جهانی دارد. این آفت نه تنها ساقه را در بخش های بالای یقه مورد حمله قرار می دهد، بلکه سبب ایجاد شانکر می شود. این آفت در شرایط خاص و در مناطقی که تجمع کلون های آفت زیاد است باعث مرگ ریشه می گردد. مناطقی با سطح آلودگی بالا به وسیله آفت کش ها تیمار می شوند، اما سالم سازی ریشه ها غیر ممکن است. این آفت از جمله آفات بسیار مهم نهالستان ها و بسترهای تکثیری است. در اوائل دهه ۱۹۲۰ به نژادگران، اصلاح برای ایجاد مقاومت به این آفت را در ایالت جون اینس، ایستگاه تحقیقات مالینگ در انگلستان و دپارتمان کشاورزی ایالات متحده شروع کردند. سیب 'نوردن اسپای' و برخی از کولتیوارهای مشتق شده آن از جمله 'ایوریس دبل ویگور'<sup>۸۲</sup> به شته مومی مقاومت نشان دادند، لذا کم و بیش به عنوان پایه مورد استفاده قرار گرفتند. به دنبال آن Cummins و همکاران در سال ۱۹۸۱، *M. tschonokii*، *M. hupehensis*، *M. Robusta* × (*Robusta5*)، *M. halliana* را مقاوم معرفی کردند. مقاومت موجود در 'ایریش پیچ'<sup>۸۳</sup>، پایه M15 و هیبرید *M. micromalus* به نتاج یا حداقل به (F1) منتقل نمی شود. در انگلستان از تلاقی 'نوردن اسپای' با M1، M2، M9، M15 نتاجی به دست آمد که شدیداً در جهت مقاومت به شته مومی غربال شده بودند. به نژادگران وزارت کشاورزی ایالات متحده نیز در ابتدا برای ایجاد مقاومت به 'نوردن اسپای' روی آوردند. برنامه اصلاحی امریکا موجب تولید 'اسپای-۲۲۷-S' شد که امروزه توسط ویروس شناسان برای تشخیص ویروس خط شدن تنه<sup>۸۴</sup> (apple stem-pitting virus ASPV) در سیب مورد استفاده قرار می گیرد. سری پایه های *Merton Immune* حاصل برنامه های اصلاح سیب در انگلستان بوده است که مرتون ایمون ۷۹۳<sup>۸۵</sup> مشتق شده از آن هنوز هم مورد استفاده قرار می گیرد، ضمن این که پایه های MM111 و MM106 مورد پذیرش جهانی قرار گرفته اند.

ژن های مقاومت در برابر شته خونی سیب (*Dysaphis plantaginea*) و نیز ژن مقاومت به شته خونی عامل پیچیدگی برگ درختان سیب نیز یافته شده است. هر یک از این مقاومت ها به وسیله یک ژن غالب مختلف کنترل می شوند (جدول ۴). مقاومت در برابر شته خونی پیچیدگی برگ (*D. depecta*) به وسیله یک ژن غالب (Smh) کنترل می شود. این ژن در سلکسیون حاصل از گرده افشانی آزاد *M. robusta* به دست آمده است. Briggs و Alston در سال ۱۹۷۰، سه بیوتیپ از شته خونی عامل پیچیدگی برگ و حداقل ۳ ژن مقاومت را در گیاه میزبان گزارش کردند. سیب 'کاکس اورنج پی پین' حامل ژن مقاومت d s ۱ بوده و به بیوتیپ های ۱ و ۲ شته خونی مقاوم است؛ این در حالی است که سیب رقم 'نوردن اسپای' حاصل ژن مقاومت sd ۲ بوده و فقط به بیوتیپ ۲ شته خونی مقاوم است. یک سلکسیون از *M. robusta* نیز دارای ژن مقاومت sd ۳ و مقاوم به هر سه بیوتیپ ۱، ۲ و ۳ این آفت است.

Goonewardene و همکاران در سال ۱۹۹۸ نتاج، اکسشن ها و سلکسیون های مقاوم به لکه سیاه را غربال کردند. آنها از مشاهدات خود در نهالستان، گلخانه و آزمایشگاه، چندین سلکسیون و نتاج مقاوم یا تحمل چند گانه به آفت و بیماری را یافتند. از حشرات مورد مطالعه می توان به لیسه سیب *Rhagoletis pomonella* (Walsh)، کرم سیب (*Laspyresia pomonella* L.)، کنه قرمزروپایی (*panonychus ulmi* Koch.)، سوسک آلو (*conotrachelus nenuphar*) و عامل پیچیدگی برگ (*Argyrotaenia velutinana* Walker.)

82 - Ivorys Double Vigour

83 - Irish Peach

84 - Stem Pitting

85 - Merton Immune 793

اشاره کرد. مقاومت به حشرات نوعاً از طریق مقایسه وضعیت چگونگی تغذیه حشرات از میوه های ریزش خرداد نسبت به شاهد، به دست می آید. هفت سلکسیون سیب ( E31-10, E29-56, E7-54, D7-47, E36-7, E14-32, ) به عنوان لاین های برتر و دارای مقاومت چند گانه به آفات و بیماری ها در حال حاضر در دست ارزیابی هستند (Goonewardene, 1987; Goonwardene and Howard, 1989). بررسی نتایج سیب های تراریخته حاصل از انتقال ژن BT، نشان می دهد که امکان معرفی کولتیوارهای دارای مقاومت به حشرات پروانه ای، از جمله لیسه سیب و کرم سیب، نیز وجود دارد. ولی هنوز معلوم نیست که آیا راهبرد اصلی، اضافه کردن این ژن ها به کولتیوارهای تجاری جدید است یا این که باید به تولید گیاهان تله (برای مثال از طریق وارد کردن ژن ها به سیب های زینتی گرده افشان) به منظور کاهش سطوح جمعیت حشرات در باغات تجاری روی آورد (اطلاعات شخصی، Dandekar). پیشرفت های اخیر در بیوتکنولوژی، روزنه ای جدید در خصوص مقاومت درختان سیب در برابر حشرات را گشوده است.

### اصلاح پایه ها

پایه بخش حساس درختان سیب است، از این رو اصلاح پایه باید با همان دقت و توجه به کار رفته در اصلاح کولتیوارهای پیوندی صورت پذیرد. پایه باید به بسیاری از نیازهای ویژه پاسخ دهد. دوره آزمون پایه طولانی و مشکل است. اصلاح پایه زمانی انجام می گیرد که پیوندک روی پایه پیوند خورده و زمان میوه دهی درخت فرارسیده باشد، تنها در این صورت است که پتانسیل پایه قابل ارزیابی است. برنامه های اصلاح پایه به وسیله (Ferre and Carlson, 1987, Cummins Aldwinckle, 1983) مرور شده است. برای هر پایه احتیاجات و نیازهای خاصی وجود دارد که از آن جمله می توان به سهولت تکثیر (رویشی یا بذری)، ساقه عمودی و بدون سیخک، سهولت و تناسب فرم برای پیوند زدن جوانه و شاخه بر آن، سیستم ریشه ای قابل قبول که لنگرگاهی خوب برای درخت ایجاد کرده و نیاز به استفاده از قیم نباشد، فقدان ناسازگاری پایه و پیوندک ارقام، عدم پاجوش دهی و نیز به نداشتن برجستگی های ریشه روی تنه ( طرح اولیه پرموردیای ریشه ) اشاره کرد. پایه باید قادر به القای محصول دهی سریع و زیاد بوده و به علاوه از مقاومت در برابر تعدادی از آفات و بیماری ها برخوردار باشد. بالاخره این که پایه های اختصاصی باید دامنه ای از توان کنترل رشد رقم پیوندی را نیز برخوردار باشند. اهداف برنامه اصلاح پایه سیب در دانشگاه کورنل جینوا در جدول ۱۰ ارائه شده است، اما در سایر نقاط جهان اهداف خاص دیگری می تواند مد نظر باشد. برای مثال در مناطق مختلف صفاتی مانند مقاومت پایه به سرما، سازگاری به خاک های قلیایی، سازگاری با خاک های اشباع از آب جهت افزایش جذب کلسیم، به منظور ممانعت از عوارضی مثل لکه تلخی و یا مقاومت به بیماری های خاص ریشه ای مانند پوسیدگی سیاه ریشه ناشی از قارچ *Xylaria mali* ( که محدود به ایالت شمال امریکاست)، یا پوسیدگی روزلینیای ریشه ( محدود به هند و کالیفرنیا ) و یا *S. rolfsii* (در فلسطین اشغالی و دیگر مناطق معتدله) اولویت می یابند. در حال حاضر دامنه وسیعی از پایه های رویشی با قدرت پاکوتاه کنندگی متفاوت، از پاکوتاه با تاج متراکم تا درختان پررشد با تاج گسترده وجود دارند. اما اکنون نیاز مهم وجود پایه های مقاوم به سرما و نیز مقاوم به آفات و بیماری ها می باشد. یکی از مشکلات پایه های رویشی، وجود بیماری های ویروسی در آنهاست، که احتمالاً در پایه ها وجود دارند و از آنها به پیوندک منتقل می شوند. یک راه برای غلبه بر این مشکل، تکثیر پایه از طریق بذر است. سال ها است که این روش به کار گرفته می شود، اما یکی از دلایل گرایش به پایه های کلونال، فقدان یکنواختی در بین دانهال ها بود. آن دسته از دانهال هایی که برای پایه استفاده می شدند تنوع بسیار زیادی (که خاص جمعیت های دانهال های بذری است) را نشان می دادند. در سال های اخیر از دانهال های هاپومیکت که از یکنواختی بیشتری برخوردارند و از تلاقی بین گونه ای *Malus* بوجود آمده اند نیز استفاده می شود. دانهال های هاپومیکت نیز مشکلات خاص خود را دارند. برخی از آنها بیشترین حساسیت ممکن را به آلودگی ویروسی

موجود در پیوندک نشان می‌دهند. از جمله مزیت های دانهال های هاپومیکت سهولت تکثیر، یکنواختی و عاری از ویروس بودن آنها است. برخی از گونه ها مثل *M. Toringoides* *M. sikkimensis* , *M. hupehensis* , *M. sargentii* , *M. sieboldii* از نظر هاپومیکی بررسی شده اند و هیبریدهای بین گونه ای برخی از آن ها نیز تولید شده اند. *M. hupehensis* و *M. sikkimensis* هاپومیکت مستقل بوده و قادر به تولید بذور هاپومیکت بدون گرده افشانی می باشند، لذا دانهال های تیپ مادری را ایجاد می‌کنند. گونه های دیگر، هاپومیکت اختیاری و درصد کمی از دانهال ها ممکن است هیبرید باشند. از آن جایی که ارقام هموزیگوس آن نیاز به گرده افشانی دارند، می‌توان آنها را با یک گیاه برگ قرمز هموزیگوس گرده افشانی کرد و به این وسیله هیبریدهای نامطلوب را از طریق شناسایی دانهال های برگ قرمز حذف نمود. وقتی کلون های عاری از ویروس به عنوان پیوندک استفاده شوند بیشتر ناسازگاری ها از بین می‌روند. برخی از هیبریدهای *M. sieboldii* تجانس خوبی را از نظر پیوندک های آلوده به ویروس نشان داده و به آلودگی های پنهان ویروسی متحمل بوده اند (Schmidt, 1970).

ارزیابی پایه های رویشی به دلیل طبیعت آنها یک کار بلند مدت و مشکل است. در مراحل اولیه هر دانهال جدید باید از نظر سهولت ریشه زایی، تولید تعداد جست خوب، سرعت تکثیر، و داشتن کیفیت مطلوب برای ایجاد گیاه سالم ارزیابی گردد. اگر وارد کردن ژن مقاومت به آفات و بیماری ها نیز مد نظر باشد در همین مرحله از ارزیابی این انتقال نیز انجام می‌گیرد. اما آزمون نهایی از پایه های امید بخش جهت سازگاری باید در مناطق مختلف انجام شود. در امریکای شمالی، ارزیابی تجانس پایه و پیوندک (stionics) در هر منطقه در حال انجام است.

جدول شماره ۱۰- اهداف اصلاحی دانشگاه کورنل، اولویت بندی اهداف اصلاحی پایه

۱- اهداف اصلاحی ضروری

استاندارد مطلوب	استاندارد حداقل	اهداف
R5	M7	مقاوم به آتشک <i>Erwinia amylovora</i>
BUD9	M9	مقاوم به پوسیدگی طوقه <i>phytophthora spp</i>
A2	MM106	سهولت تکثیر
O3	MM106	تنه نسبتاً بدون خار و صاف
A2	MM106	جای کمی در ردیف ها گرفته و به آسانی قابل پیوند باشد.
M9	MM106	القاء محصول زیاد و زود باردهی
M9	M2	مقاوم شدن زود هنگام پیوندک و پایه
A2	MM111	مقاوم به سرمای زیاد در اواسط زمستان
K-14	M9	دیر برگ دهی در بهار
Hibernal	M2	عاری از گره های پوستی
Delicious	M7	نشان دادن واکنش به TmRsv
	M7	عدم القای حساسیت به آتشک در پیوندک

۲- اهداف اصلاحی مهم

استاندارد مطلوب	استاندارد حداقل	اهداف
R5	MM111	مقاوم به شته مومی سیب
M7	M26	ساختار ریشه ای قوی
M111	M7	توان لنگرگاهی خوب در خاک
Hibernal	MM106	پاجوش نداشته و یا کم داشته باشد
M9	M2	القای زودرسی میوه
Novole	R5	مقاوم به موش باغی
R5	M26	مقاوم به سرمای زیاد در اواسط زمستان
M9	M9	مقاوم به ویروس لکه برگی کلروز، ویروس شکاف تنه و ویروس خط شدن تنه

۳- اهداف اصلاحی مفید

استاندارد	هدف
Bud 9	برگ قرمز یا متمایز کننده
M7	مقاومت متوسط به عامل لکه سیاه سیب
M9	مقاومت متوسط به عامل سفیدک پودری سیب
Sugar crab	مقاوم به موش صحرایی

۴- اهداف اصلاحی خاص

استاندارد	هدف
M9	کنترل رشد درخت در یک دامنه مشخص از قدرت پا کوتاه کنندگی
Alnarp 2	قوی رشد
M13	متحمل به خاک هایی که زهکش خوب ندارند
MM111	متحمل به خشکی

دستاوردها و انتظارات

سیب محصولی باستانی بوده و به طور مرتب از دیر باز توسط بشر تحت گزینش قرار گرفته است. تا چندی قبل صنعت سیب به سلکسیون های ارقام و پایه از سوی خزانه داران و تولید کنندگان سیب متکی بود، از این رو حدود ۱۲ ژنوتیپ از پایه و پیوندک بخش اعظم بازار تجارت جهانی را به خود اختصاص داده بودند. در بیشتر موارد عملیات مدیریت باغی راهی برای کاهش نواقصی بود که در این ژنوتیپ ها وجود داشت. به عنوان مثال با ترکیبات خاصی از پایه ها، کنترل آفات و بیماری ها به روش شیمیایی و مواد تنظیم کننده رشد و همین طور روش های خاص انبار مانی سعی در کاهش نواقص پایه ها و ارقام به عمل می آمد. اصلاح گیاهان در نیمه اول قرن بیستم ارقام جدیدی را به صنعت سیب ارائه نکرد، اما در نیمه دوم همین قرن نتایج معرفی شده و به دست آمده از تعدادی از برنامه های اصلاحی سبب شد که به تدریج ارقام سنتی با ارقام جدید جایگزین شوند.

هم اکنون تقاضا برای ارقام جدید حاصل از اصلاح به روش سنتی افزایش یافته و تعدادی از سلکسیون های امید بخش در تمام دنیا تحت آزمایش قرار دارند. بعضی از این ارقام ضمن داشتن مقاومت به بیماری های مختلف، دوره انبارمانی طولانی و بافت میوه بهبود یافته، از مقاومت زمستانه و یا فرم های رویشی گوناگون نیز برخوردار هستند. بعضی از این ژنوتیپ ها توأم با روش های کشت متراکم می توانند در آینده اثر عمیقی بر صنعت سیب جهان داشته باشند. گزینش ژنوتیپ های برتر از جمعیت هایی با تنوع ژنتیکی حاصل از تلاقی های جنسی روش پر قدرتی است، زیرا یک فرآیند تکاملی داشته و پیشرفت آن حالت تجمعی می یابد. در این شرایط افراد گیاهی برتر بصورت مستمر بعنوان والد در چرخه های بعدی اصلاح، مورد استفاده قرار خواهند گرفت. بنابراین هنگامی که برنامه های اصلاحی در بلند مدت به خوبی پشتیبانی شوند، بهبود ژنتیکی سیب دچار تحولات بنیادین خواهد شد. برنامه های موفق هم اکنون در آمریکا، ژاپن، استرالیا، نیوزیلند و کشورهای مختلف اروپایی در حال اجرا است. در هر صورت محدودیت هایی در برابر روش سنتی اصلاح گیاهان مخصوصاً در درختان میوه با طول دوره بلند نو نهالی وجود دارد و این مشکل در ژنوتیپ های برتر گزینش شده به آسانی قابل مشاهده است. بنابراین باید به تنوع ایجاد شده به صورت طبیعی اعتماد کرد، زیرا چنین تنوعی ممکن است گاه غیر قابل دسترس بوده و یا در مواد گیاهی بسیار ابتدائی و سازگاری نشده وجود داشته باشند. تعدادی از محدودیت های موجود در ناتوانی سیستم جنسی عبارتند از پذیرش ژن های موجود در گونه های دورتر و بویژه ناتوانی سیستم جنسی برای وارد کردن تغییرات کوچک در ترکیب ژنتیکی گیاهان بدون از دست دادن صفات مناسب و منحصر به فرد در آنها؛ هم چنین شناسایی و تشخیص ترکیب های تلاقی با فراوانی اندک و یا نادر و نیز وابستگی روش های مرسوم اصلاح به چرخه زمانی نسل ها، فضای لازم جهت پرورش جمعیت به منظور دستیابی به ترکیب های تلاقی مناسب و منابع ژنتیکی و در نهایت تشخیص و ارزیابی نتایج مطلوب حاصل از تلاقی ها از جمله دیگر محدودیت ها بر شمرده می شوند. بعضی از این محدودیت ها با استفاده از استراتژی های جدید و پیشرفت در بیوتکنولوژی قابل حل می باشد. DNA نو ترکیب بصورت خاص برای اصلاحگران میوه جذاب است، زیرا راه را جهت غلبه بر محدودیت های سیستم جنسی هموار می کند. این کار از طریق وارد کردن ژن های خارجی هتروفور مهم و غیر قابل استفاده ممکن می شود. نکته مهم آنست که وارد کردن تغییرات دلخواه کوچک و تعریف شده در ژنوتیپ های موجود نیز امکان پذیر می باشد. استفاده از نشانگرهای مولکولی، ضمناً تسهیل در گزینش، باعث تشخیص کلون ها با دقت بسیار بالا در حفظ کولتیوار گشته و شاید برای تشخیص آنها با یک نشانگر ژنتیکی نیز به کار روند. پیشرفت های اخیر توسط نسل جدیدی از اصلاحگران میوه ثابت کرده است که این تکنولوژی های جدید در سیب کاربرد عملی دارند. امروزه انتقال ژن های مؤثر علیه بیماری آتشک و وارد کردن ژن هایی از *Bacillus thuringiensis* که کنترل آفات پروانه ای از قبیل کرم سیب را امکان پذیر کرده اند، در دست آزمون هستند. چشم اندازهای آینده خیلی امیدوارکننده به نظر می رسند. بنابراین مشخص است که تکنولوژی های جدید نخواهند توانست جایگزین روش های مرسوم اصلاح گردند، بلکه صرفاً به عنوان

مکمل باید مد نظر قرار گیرند. در نهایت بیشترین پیشرفت ها در تغییرات DNA به واسطه وارد کردن ژن های منفرد است که این خود ارائه دهنده یک رهیافت محافظه کارانه در اصلاح می باشد. در حقیقت تغییرات عمیق و شگرف ساختار ژنتیکی هنوز هم بایستی بر اساس روش های ترکیب تلاقی جنسی استوار باشند. این سوال باقی است که چگونه اصلاحگران با چالش های موجود مواجه خواهند کرد؟ در حال حاضر بیشتر آنها در استخدام مراکز تحقیقاتی دولتی، ایالتی و یا دانشگاه ها هستند و در این گونه مراکز منابع مالی جهت ادامه برنامه های بلند مدت بسیار محدود است. بخش خصوصی، بویژه نهالستان های تولید کننده نهال سیب هنوز به حیطه اصلاح سیب وارد نشده اند و به استفاده از تنوع طبیعی و موتانت های دریافتی از پرورش دهندگان سیب و توزیع ارقام گزینش شده از سوی بخش های تحقیقاتی دولتی اکتفا کرده اند. آن چیزی که امروزه به وضوح مورد نیاز است سطوحی جدید از همکاری بین برنامه های اصلاحی در داخل و بین کشورها و نیز بین بخش خصوصی و دولتی است. برنامه همکاری اصلاح در جهت مقاومت به بیماری ها بین دانشگاه های پوردو، روتگرز و دانشگاه ایلی نویز (که مدت ۴۰ سال ادامه دارد) یکی از بهترین نمونه ها است، اما فضای همکاری های آتی به دلیل پشتیبانی ضعیف مراکز علمی تحقیقاتی تاریک به نظر می رسد.

در اروپا سه برنامه همکاری مشترک به عنوان مدل های مناسب برای آینده در دست سازمان دهی است:

(۱) اصلاح سیب در INRA و نهالستان های خصوصی

(۲) اصلاح سیب در مرکز تحقیقات مالینگ شرقی که توسط گروهی از تولید کنندگان نهال امریکایی

و اروپایی در حال تدوین است.

(۳) اصلاح سیب در بلژیک با مشارکت بین به نژادگران دانشگاه و خزانه داران بخش خصوصی

علیرغم این ابهامات و مسائل، واضح است که آینده اصلاح سیب با انگیزه بیشتر و با معرفی تکنولوژی جدید ژن ها و معرفی ارقام جدید ادامه خواهد یافت. بدون شک همواره سیب یکی از متداول ترین میوه ها برای نوع بشر بوده و این گونه نیز باقی خواهد ماند. بنابراین همواره اصلاحگران نقش کلیدی را در این صنعت برعهده خواهند داشت.