

وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی

موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور

گزارش نهایی پروژه تحقیقاتی

اتیولوژی و کنترل ناهنجاری(های) میوه ارقام سیب گلدن دلشیز و رد
دلشیز در باغهای سمیرم

احمد حیدریان

وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی

موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور

بخش تحقیقات گیاهپزشکی اصفهان

عنوان پروژه:

اتیولوژی و کنترل ناهنجاری(های) میوه ارقام سیب گلدن دلشیز و رد دلشیز در باغ‌های سمیرم
کارفرما: سازمان جهاد کشاورزی استان اصفهان براساس تفاهم‌نامه شماره‌ی ۱۳۱۸۷/۳۰۰ مورخ ۱۳۹۲/۱/۵
ناظر: مدیریت حفظ نباتات استان اصفهان

- شماره مصوب پروژه: ۹۴۱۲۳-۱۶-۳۸-۴۷

- عنوان طرح: (در صورت زیر طرح بدون پروژه)

- شماره مصوب طرح: (در صورت زیر طرح بدون پروژه)

- نام و نام خانوادگی مجری مسئول: احمد حیدریان

- نام و نام خانوادگی مجری/مجریان: احمد حیدریان و محمدرضا نعمت‌اللهی

- نام و نام خانوادگی ناظر(ان): رسول شریفی، کارشناس حفظ نباتات استان اصفهان

- نام و نام خانوادگی مشاور(ان):

- نام و نام خانوادگی همکار(ان): محمود رهنما، حسن الماسی

محل اجرا: شهرستان سمیرم

تاریخ شروع: ۱۳۹۴

- مدت اجرا: یک سال

- ناشر (موسسه/پژوهشکده/مرکز ملی): مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی اصفهان

- شمارگان (تیراژ):

- تاریخ انتشار: ۱۳۹۴

فهرست مطالب

عنوان	صفحه
چکیده.....	۱
واژه‌های کلیدی.....	۱
مقدمه.....	۲
مواد و روش‌ها.....	۶
۱- نمونه برداری.....	۶
۲- بررسی‌های آزمایشگاهی عوامل بیماری‌زا.....	۶
۲-۱- عوامل بیماری‌زای قارچی.....	۶
۲-۲- عوامل بیماری‌زای باکتریایی.....	۶
۲-۳- علائم احتمالی ویروسی و ویروئیدی.....	۶
۳- بررسی نقش حشرات.....	۷
۴- بررسی تاثیر سوء سموم شیمیایی.....	۸
۵- ارزیابی عناصر غذایی.....	۹
۶- تجزیه آماری غلظت عناصر و نسبت آن‌ها.....	۱۰
۶-۱- تجزیه عناصر و نسبت آن‌ها در میوه.....	۱۰
۶-۲- مقایسه‌های متعامد.....	۱۰
۶-۳- تجزیه عناصر در برگ و میوه رقم رد دلشز.....	۱۱
۶-۴- تعیین همبستگی بین غلظت و نسبت عناصر در برگ و میوه رقم رد دلشز.....	۱۱
۷- بررسی و تفکیک علائم اختلالات کلسیمی مشاهده شده در باغ‌های تجاری سمیرم و پادنا.....	۱۱
نتایج و بحث.....	۱۱
۱- نقش عوامل بیماری‌زا.....	۱۱
۱-۱- عوامل بیماری‌زای قارچی و باکتریایی.....	۱۱
۱-۲- مشاهده علائم احتمالی ویروسی و ویروئیدی.....	۱۲
۲- نقش حشرات.....	۱۳
۳- تاثیر سوء سموم شیمیایی.....	۱۶
۴- تجزیه آماری عناصر و نسبت آن‌ها.....	۱۸

۱-۴- تجزیه عناصر و نسبت آن‌ها در میوه	۱۸
۲-۴- مقایسه‌های متعامد	۱۹
۳-۴- بررسی غلظت عناصر و نسبت آن‌ها در برگ و میوه رقم رد دلشز	۲۲
۴-۴- همبستگی بین برگ و میوه برای غلظت عناصر و نسبت آن‌ها در رقم رد دلشز	۲۴
۵- تفکیک علائم اختلالات کلسیمی در باغ‌های تجاری سمیرم و پادنا	۲۵
نتیجه‌گیری کلی	۲۶
پیشنهادها	۲۷
سپاس‌گزاری	۲۸
منابع	۲۸

فهرست جدول‌ها

عنوان	صفحه
جدول ۱- مشخصات سموم مورد آزمایش جهت بررسی نقش این سموم و یا مخلوط آن‌ها در بروز لکه	۹
جدول ۲- مقایسه متوسط دما، رطوبت نسبی روزانه و متوسط بارندگی ماهیانه سمیرم	۱۲
جدول ۳- تجزیه‌وارینس غلظت عناصر و نسبت آن‌ها در میوه‌های سیب (دو رقم در دو منطقه)	۱۸
جدول ۴- مقایسه میانگین‌های غلظت عناصر و نسبت آن‌ها در میوه‌های سیب (دو رقم در دو منطقه)	۱۹
جدول ۵- مقایسه‌های متعامد بین گروه‌های تیماری برای غلظت عناصر و نسبت آن‌ها	۱۹
جدول ۶- مقایسه میانگین‌های گروه‌های تیماری برای غلظت عناصر و نسبت آن‌ها	۲۲
جدول ۷- تجزیه‌وارینس غلظت عناصر و نسبت آن‌ها در برگ و میوه سیب رقم رد دلشز	۲۳
جدول ۸- مقایسه میانگین‌های غلظت عناصر و نسبت آن‌ها در برگ و میوه‌های سیب رقم رد دلشز	۲۴
جدول ۹- ضرایب همبستگی بین برگ و میوه برای غلظت عناصر و نسبت آن‌ها در رقم رد دلشز	۲۵

فهرست شکل‌ها

عنوان	صفحه
شکل ۱- نصب آستین توری روی درخت: (a) توری حاوی شاخه شته زده و توری شاهد (عاری از شته) و (b) تلقیح شاخه داخل آستین توری با قراردادن شاخه حاوی شته داخل آن.	۷
شکل ۲- نحوه تمایز علائم خسارت سن‌ها و سنک‌ها از علائم سایر عوامل خسارت‌زا (آفات و بیماری‌ها):	۸
شکل ۳- نمایی از سم‌پاشی درختان انتخابی ارقام: (a) گلدن دلشیز و (b) رد دلشیز.	۹
شکل ۴- علائم بیماری لکه‌سیاه روی ارقام (a) رد دلشیز و (b) گلدن دلشیز.	۱۲
شکل ۵- (a) علائم احتمالی ویروسی روی رقم گلدن دلشیز.	۱۳
شکل ۶- علائم خسارت شته سبز سیب.	۱۴
شکل ۷- تجمع شته سبز سیب روی میوه داخل آستین توری.	۱۴
شکل ۸- شته قرمز (احتمالاً گونه <i>D. depecta</i>): (a) کلونی شته داخل آستین توری و (b) علائم خسارت شته.	۱۴
شکل ۹- علائم خسارت سنک‌های خانواده <i>Miridae</i>	۱۵
شکل ۱۰- علائم خسارت شدید سنک‌های <i>Miridae</i> و بروز عارضه صورت‌گربه‌ای.	۱۵
شکل ۱۱- نمایی از پوشش گیاهی موجود در کف و حاشیه باغات سیب (منطقه پادنا).	۱۵
شکل ۱۲- علائم شبیه خسارت سن‌های <i>Pentatomidae</i> روی رقم رد دلشیز (به پراکندگی علائم در کل سطح میوه توجه شود).	۱۶
شکل ۱۳- تمایز علائم خسارت سن‌ها از سایر عوامل خسارت‌زا (آفات و بیماری‌ها).	۱۶
شکل ۱۴- علائم عارضه زنگار میوه ناشی از پاشش سموم و یا کودهای شیمیایی.	۱۷
شکل ۱۵- علائم زنگار شدید روی میوه: (a و b) رقم گلدن دلشیز، c و d) رقم رد دلشیز.	۱۸
شکل ۱۶- علائم اختلالات کلسمی روی گلدن دلشیز.	۲۵
شکل ۱۷- علائم اختلالات کلسمی روی رد دلشیز.	۲۶

چکیده

هدف از این تحقیق بررسی علت بروز لکه روی میوه ارقام سیب رد دلشیز و گلدن دلشیز در باغ‌های تجاری شهرستان سمیرم بود. در این راستا بررسی‌ها در زمینه‌های گیاه‌پزشکی (آفات، عوامل بیماری‌زا و مصرف سموم) و تغذیه گیاه (عناصر غذایی) متمرکز گردید. نقش آفات با استفاده از آستین‌های توری و نقش عوامل بیماری‌زا با بررسی علائم و کشت‌های آزمایشگاهی انجام شد. نتایج نشان داد ویروس *Apple Chlorotic Leaf Spot Virus*، ویروئید *Apple scar skin viroid*، قارچ *Fusicladium pomi* (Fr.) Lind و سمیرم عامل لکه‌سیاه، شته سبز سیب و سنک‌های خانواده *Miridae* در باغ‌های سیب سمیرم علائمی مشابه اختلالات کلسیمی روی میوه می‌دهند که خسارت آن‌ها براساس مجموع علائم از اختلالات کلسیمی قابل تمایز است. در سال‌های اخیر علائم اختلالات کلسیمی در باغ‌های تجاری سیب شهرستان سمیرم نیز بروز و توسعه یافته است. جهت بررسی علت بروز و توسعه این علائم روی میوه در دو منطقه اصلی سیب‌کاری (سمیرم و پادنا) در فاز سوم رویشتی درختان، طبق روش استاندارد از درختان رد دلشیز (نمونه میوه و برگ) و گلدن دلشیز (نمونه میوه) نمونه برداری تصادفی انجام گرفت. سپس غلظت عناصر (کلسیم، پتاسیم، منیزیم و ازت) در یک نمونه مرکب از هر باغ تعیین و نسبت‌های N/Ca^{2+} ، K^+/Ca^{2+} ، Mg^{2+}/Ca^{2+} ، $(K^+ + Mg^{2+})/Ca^{2+}$ و $(N + K^+ + Mg^{2+})/Ca^{2+}$ محاسبه شد. با توجه به وجود تغییرات نامنظم در نمونه‌برداری‌ها، سه مقایسه متعامد (شامل گروه‌های تیماری ارقام، مناطق و بروز علائم) در قالب طرح کاملاً تصادفی نامتعادل انجام گردید. نتایج نشان داد که حالت دارای علائم برای میوه‌های رد دلشیز صرفاً با کمبود کلسیم همراه است، اما برای میوه‌های گلدن دلشیز هر دو حالت کمبود و زیادبود کلسیم دیده می‌شود. مقایسه‌های متعامد نشان داد که رقم رد دلشیز نسبت به رقم گلدن دلشیز از حساسیت بیشتری برخوردار است و شرایط در باغ‌های منطقه پادنا برای بروز اختلالات کلسیمی نسبت به سمیرم مساعدتر است. مقایسه متعامد بین تیمارهای دارای علائم در مقابل فاقد علائم اختلاف معنی‌دار برای نسبت‌های K^+/Ca^{2+} ، $(K^+ + Mg^{2+})/Ca^{2+}$ و $(N + K^+ + Mg^{2+})/Ca^{2+}$ را نشان داد، درحالی‌که، برای نسبت‌های N/Ca^{2+} و Mg^{2+}/Ca^{2+} اختلاف معنی‌دار بین دو گروه دارای علائم و فاقد علائم دیده نشد. لذا این عارضه رابطه منفی با مقدار پتاسیم و نسبت K^+/Ca^{2+} و رابطه مثبت با مقدار کلسیم موجود در میوه دارد. بررسی علائم مشاهده شده نشان داد که سه نوع ناهنجاری اختلالات کلسیمی شامل لکه‌تلخ (روی هر دو رقم)، چوب‌پنبه‌ای‌شدن (روی رد دلشیز) و لکه‌نقطه‌ای‌عدسک (روی گلدن دلشیز) در باغ‌ها وجود دارد.

واژه‌های کلیدی: اختلالات کلسیمی، دلشیز، لکه، عناصر غذایی

مقدمه

منطقه سمیرم دارای فاکتورهای محیطی مناسب برای درخت سیب (*Malus x domestica* Borkh) است که آن را از نظر عمل کرد، افزایش ماده سازی و طعم میوه در شرایط بهینه قرار داده و باعث شده که میوه سیب در این منطقه از کیفیت بالایی برخوردار باشد و جایگاه خاصی را در بازار جهانی به خود اختصاص دهد. نظر به جایگاه ویژه این محصول در بازار جهانی، تحقیقات در خصوص عوامل محدودکننده آن لازم است. در این راستا بررسی ناهنجاری های میوه سیب که در سال های اخیر در بعضی باغ های تجاری روی ارقام رد دلشیز و گلدن دلشیز شایع گردیده دارای اهمیت ویژه ای است. کیفیت میوه سیب تابع تعداد زیادی از شیوه های مدیریتی از جمله گرده افشانی، هرس، تنک کردن، تغذیه گیاه، مقدار محصول، نوع خاک و شرایط آب و هوایی است (Buccheri and Vaio 2004; Bound and Telias et al. 2001; Paulo et al. 2008). علاوه بر آن، عوامل دیگر مانند آفات و بیماری ها نیز روی ظاهر میوه های سیب تاثیر می گذارند و ممکن است باعث بروز ناهنجاری (هایی) در میوه شوند که به دنبال آن کیفیت میوه کاهش پیدا می کند. به عنوان مثال گونه هایی از جنس *Alternaria* باعث لکه روی میوه سیب می شوند (Harteveld et al. 2013). همچنین بیماری پوسیدگی تلخ (bitter rot) ناشی از قارچ *Colletotrichum* spp. (Dario et al. 2013) و بیماری پوسیدگی میوه بروکز (Brooks fruit spot) ناشی از قارچ *Mycosphaerella pomi* (Shigemitsu et al. 2005) روی میوه های سیب لکه ایجاد می کنند. ویروس *Apple chlorotic leaf spot virus* روی میوه های گلدن دلشیز (Wood and Welsh 1989; wood 2001) و ویروئید *Apple scar skin virioid* روی میوه های رد دلشیز (Koganezawa and Ito, 2003) نیز لکه ایجاد می کنند.

برخی حشرات ممکن است سبب بروز لکه های قرمز روی میوه های سیب و یا بدشکلی آن ها شوند. در بین شته های خانواده Aphididae، گونه *Aphis pomi* موسوم به شته سبز سیب در باغ های سیب، باعث بروز لکه های قرمز روی میوه ها می گردد. تغذیه این شته طی فصل روی ارقام گلدن دلشیز و گرانی اسمیت سبب بروز نقاط قرمز رنگ می گردد که این لکه ها معمولاً تا زمان برداشت محو می شوند (Beers et al. 1993). از نظر خسارت، سنک های خانواده Miridae در باغ های سیب به دو گروه تقسیم می شوند. گروه اول از سنک های خانواده Miridae مانند گونه های مختلف جنس های *Lygocoris*، *Plesiocoris* و *Caloris* در باغ های سیب آفت محسوب می شوند (Alford 1984). علاوه بر آن، گونه *Lygus lineolaris* (Palisat de Beauvois) موسوم به سن گیاهی خال دار (Anonymos 2011) و سن های *Lygus* spp. باعث بروز عارضه صورت گریه ای (-cat facing) در میوه های سیب می شوند (Alford 1984). گروه دوم از این سنک ها اساساً شکارچی هستند اما بعضاً از گیاه نیز تغذیه می کنند. به عنوان مثال خسارت پوره های گونه *Campylomma verbasci* (Meyer-Duer) روی میوه در اوایل فصل به صورت زگیل برجسته چوب پنبه ای تقریباً تیره یا بدشکلی و موقعی که میوه ها رشد کرده اند به صورت لکه های سیاه کوچک دیده می شود (Jones et al. 2015). این سنک در ایران سه نسل دارد و در استان آذربایجان غربی باعث بروز ناهنجاری در میوه های سیب می شود (Pourhadji 2000). علاوه بر سنک های خانواده Miridae، برخی گونه ها از سن های خانواده Pentatomidae مانند گونه *Acrosternum hilare* (Say) نیز از آفات مهم درختان سیب در آمریکا است که روی میوه سیب باعث ایجاد ناهنجاری می شوند. خسارت این حشره باعث فرو رفتگی های کم عمق در سطح میوه می شود که پوست زیر آن

به صورت چوب‌پنبه‌ای قهوه‌ای روشن در می‌آید. خسارت معمولاً در اواخر تابستان رخ می‌دهد و میوه‌های خسارت‌دیده در زمان برداشت روی درخت آویزان باقی می‌مانند (Anonymous 2011). در بین شپشک‌های خانواده Diaspididae، گونه‌های *Quadraspidiotous osteraeformis* (Curtis)، *Q. pyri* (Lichtenstein) (معروف به سپردار زرد گلابی)، *Aulacaspis rosae* (Bouche) و *Lepidosaphes ulmi* (L.) (معروف به سپردار واوی نارون) به عنوان سپردارهای فعال در باغ‌های سیب دنیا هستند که باعث کاهش کیفیت و پایین آمدن درجه کیفیت میوه‌های سیب می‌شوند. علاوه بر آن، شپشک سان‌ژوه (*Q. perniciosus* Comstock) به عنوان یکی از آفات مهم درختان سیب دنیا محسوب می‌شود (Hoyt 1993; Weinzierl 2011). در محل تغذیه این شپشک روی میوه لکه‌های قرمز شکل می‌گیرد و اندکی فرورفته به نظر می‌رسد (Hoyt 1993). تریپس غربی گل (*Frankliniella occidentalis* Pergande) از خانواده Tripidae از آفات فعال در باغ‌های سیب آمریکا است که خسارت آن به صورت لکه گل‌مانند (pansy spot) می‌باشد، که در واقع محل تخم‌گذاری تریپس است (Terry and Alston 2011).

در زمینه اثر کلسیم در بهبود کیفیت میوه بررسی‌هایی شده است، کلسیم ماده مغذی با بالاترین اثر روی انبارداری و کیفیت سیب است، زیرا به ثبات غشاء و فرآیندهای غشایی کمک می‌کند و بخش جدایی‌ناپذیر از دیواره سلولی است. هنگامی که سطح کلسیم در میوه از مقدار نرمال کم‌تر می‌شود، میوه‌ها به تعداد زیادی از ناهنجاری‌ها از جمله لکه تلخ (bitter pit)، شکستگی‌های داخلی (internal breakdown)، لکه چوب‌پنبه‌ای (cork spot) و لکه نقطه‌ای عدسک (lenticel blotch pit) حساس می‌شوند که منجر به کاهش عمر میوه و بازارپسندی آن می‌شوند (Hewett and Watkin 1991). کلسیم هم‌چنین تاثیر مستقیم روی صفاتی مانند رسیدن میوه، تنفس، تولید اتیلن و استحکام بافت میوه دارد (Fallahi et al. 2002). لکه تلخ اختلال فیزیولوژیکی مرتبط با کلسیم است که در تمام مناطق سیب‌کاری جهان مشاهده می‌شود و باعث بروز لکه روی میوه و کاهش کیفیت و بازارپسندی آن می‌شود (Ferguson and Watkins 1989; Amarante et al. 2005). این عارضه، با آب‌گزیدگی بافت سطحی میوه شروع می‌شود و به دنبال آن بافت‌ها از هم پاشیده و خشک می‌شوند که سرانجام زخم‌های فرورفته قهوه‌ای تیره روی سطح میوه ظاهر می‌شود. علائم لکه تلخ سیب به صورت حفره‌های مجزا در بخش‌های بیرونی گوشت میوه و غالباً زیر پوست ظاهر می‌شود به طوری که از هم پاشیدگی خارجی‌ترین لایه سلولی باعث فرو رفتگی‌ها در پوست می‌شود. حفره‌های داخل بافت میوه غالباً از بیرون قابل رؤیت نیستند و ممکن است در عمق بافت میوه به وجود آیند. غالباً حفره‌ها به طرف گل‌گاه میوه قرار دارند (Ferguson and Watkins 1989; Amarante et al. 2006). در سطح سلولی علائم کمبود کلسیم با نشت غشاءها شروع می‌شود که منجر به پلاسمولیز سلول و از کار افتادن غشاء و فرایندهای آن می‌شود (Freitas et al. 2010). کلسیم از نظر ساختاری متصل به ذرات خاک با بار الکتریکی منفی (ظرفیت تبادل کاتیونی) و قابل حل در محلول خاک است. کلسیم قابل حل در محلول خاک تنها فرم قابل دسترس گیاهان است که وابسته به مقادیر محدود کلسیم در خاک و کودهای کلسیمی و جذب کلسیم توسط ریشه است. گیاهان کلسیم را از محلول خاک در تماس با سطح ریشه می‌گیرند که با حرکت ریشه به سمت مواد غذایی در هنگام رشد ریشه و یا جریان توده و انتشار مواد غذایی به سمت ریشه اتفاق می‌افتد. جذب کلسیم به داخل ریشه به مقدار زیاد به صورت ژنتیکی کنترل می‌شود و تاحدودی نیز به کلسیم عرضه شده در محیط ریشه

بستگی دارد. فاکتورهای کنترل شده ژنتیکی مانند نرخ رشد ریشه و فعالیت مسیرهای جذب کلسیم توسط ریشه، انتقال به داخل آوندهای چوبی و متعاقب آن انتقال به اندامهای دیگر گیاه را تحت تاثیر قرار می دهند (McLaughlin and Wimmer 1999; Freitas *et al.* 2011). همچنین ژنهایی در سبب تشخیص داده شده که مشخص می کند لکه تلخ منشاء وراثتی دارد که شرایط محیطی و عملیات کشاورزی تاثیر به سزایی در بروز و توسعه آن دارند (Buti *et al.* 2015).

کلسیم در سطح ریشه از طریق مسیرهای آپوپلاستیک و سیمپلاستیک به داخل آوندهای چوبی ریشه انتقال پیدا می کند (Karley and White 2009). بعد از انتقال کلسیم به آوندهای چوبی ریشه، کلسیم در ساقه ها از طریق جریان آب در آوندهای چوبی در پاسخ به پتانسیل منفی آب در برگ و میوه (ناشی از رشد و تعرق) به سمت برگ و میوه حرکت می کند. حرکت کلسیم در آوندهای چوبی از ریشه به سمت برگ یا میوه وابسته به ظرفیت تبادل کاتیونی موجود در دیواره های سلول های چوبی در طول مسیر انتقال و میزان تعرق و رشد برگ و میوه است (Taylor and Locascio 2004; Freitas and Mitcham 2012). جذب آب در برگ های بالغ تنها از طریق آوندهای چوبی است در حالی که جریان آوند آبکش مستقماً از برگ به سمت اندام های ذخیره ای مانند میوه است (Ho and White 2005). جذب کلسیم توسط میوه به میزان یون کلسیم در شیره آوند چوبی و نسبت جذب شیره از آوند چوبی به آوند آبکش بستگی دارد که تحت تاثیر نرخ رشد و تعرق برگ و میوه قرار می گیرد (Freitas and Mitcham 2012). اگرچه تحقیقات زیادی طی سالیان متمادی نشان داده که ناهنجاری های کمبود کلسیم در میوه مانند لکه تلخ در سیب و پوسیدگی گل گاه در گوجه فرنگی، فلفل و هندوانه ناشی از کمبود غلظت کلسیم در میوه است اما شواهد اخیر نشان می دهد که میزان کل کلسیم بافت میوه ممکن است تنها علت کمبود کلسیم و توسعه اختلال در میوه نباشد. غالباً میوه های با علائم کمبود دارای غلظت های مساوی یا بیش تر از کلسیم نسبت به میوه های سالم هستند (Val *et al.* 2008; Saure 2005; Ho and White 2005).

درک مکانیزم های توسعه ناهنجاری کمبود کلسیم در گیاهان یک چالش بزرگ برای بیش از ۱۰۰ سال بوده است. مطالعات قبلی فرضیه هایی را حمایت می کند که ناهنجاری های ناشی از کمبود کلسیم به واسطه مکانیزم هایی است که در اثر کاهش جذب کلسیم از خاک، کاهش جذب کلسیم میوه از گیاه، جابه جایی کلسیم در میوه و همچنین در نتیجه تفسیم بندی (partitioning) غیرطبیعی کلسیم سلولی به وجود می آید (Saure 2005; Ho and White 2005). شواهد جدید نشان می دهد که ناهنجاری های کمبود کلسیم ممکن است ناشی از تفسیم بندی غیرعادی کلسیم سلولی و توزیع آن باشد که منجر به کمبود موضعی کلسیم در سلول می شود (Freitas *et al.* 2010). اگر تفسیم بندی کلسیم سلولی به درستی تنظیم نشده باشد بافت میوه با میزان کل کلسیم بالا علائم کمبود را بروز خواهد داد (Park *et al.* 2005). مکانیزم هایی که تفسیم بندی کلسیم سلولی را تنظیم می کنند آخرین و مهم ترین فاکتور کنترل اختلالات ناشی از کمبود کلسیم در بافت میوه با سطوح کافی از میزان کل کلسیم هستند. تغییر در فاکتورهای محیطی و یا تنظیم کننده های رشد باعث تغییرات ناگهانی در تفسیم بندی کلسیم سلولی می گردد که منجر به کمبود کلسیم موضعی سلول، مرگ سلول و بروز و توسعه علائم کمبود کلسیم در بافت میوه می شوند (Taylor and Locascio 2004; Ho and White 2005). اگرچه مکانیزم های تنظیم کننده تفسیم بندی کلسیم سلولی، یک ابزار قوی در پیش گیری

اختلالات فیزیولوژیکی ناشی از کلسیم در بافت میوه هستند اما اطلاعات کمی در این زمینه موجود است و در آینده مطالعات بیش‌تری لازم است تا این مکانیزم‌ها بهتر درک شوند (Freitas and Mitcham 2012). در ایران تحقیقات بسیاری در خصوص ضرورت محلول‌پاشی با کلرور کلسیم برای بهبود کمی و کیفی میوه‌های سیب (Malakouti and Tabatabai 2001, Shahabi and Malakouti 2000) و ناهنجاری‌ها و بیماری‌های فیزیولوژیکی زیادی مانند لکه‌تلخی، آردی‌شدن، آب‌گزشتن و غیره مرتبط با کم‌بود کلسیم در سیب (Fallahi et al. 2001; Alipour et al. 1999; Malakouti et al. 1997; al. 1997) و ارزیابی نسبت K^+/Ca^{2+} در میوه سیب (Manouchehri and Malakouti 2000; Shahabi and Malakouti 2000) انجام شده است.

پاشش انواع مواد شیمیایی (کودها و سموم شیمیایی) می‌تواند باعث بروز علائم گیاه‌سوزی روی میوه‌ها گردد. این نوع علائم که دارای شکل خاصی می‌باشد اصطلاحاً زنگار میوه (fruit russeting) نامیده می‌شود، که سبب کاهش بازارپسندی میوه می‌گردد. مشخص شده است که محلول‌پاشی درختان با کودهای تقویتی اگر نامناسب استفاده شوند یا فرمولاسیون مطلوبی نداشته باشند سبب زنگار میوه شود (Rosenberger 2014). پاشش کودهای حاوی عناصر خاص مانند مس، روی و کلسیم اگر هنگام پاشش توزیع یکنواختی ایجاد نگردد سبب بروز زنگار میوه می‌گردد (Pscheidt and Ocamb 2015). کاربرد برخی سموم و یا مخلوط سموم در باغات سیب ممکن است سبب گیاه‌سوزی و یا بروز عارضه زنگار میوه شود. به‌عنوان مثال مشخص شده است که کاربرد سم دیازینون ممکن است باعث بروز عارضه زنگار میوه روی رقم گلدن دلشز شود. همچنین اختلاط این سم با کاپتان با خطر گیاه‌سوزی و یا زنگار همراه است (Anonymous 2015). علاوه بر مواد شیمیایی عوامل متعدد دیگری مانند سرمازدگی، آفتاب‌سوختگی، برخی آفات و بیماری‌ها و غیره (McNall 1998; Rosenberger 2014) نیز می‌توانند باعث بروز زنگار میوه شوند که علائم تیپیک آنها تقریباً با یکدیگر متفاوت است.

در سال‌های اخیر بروز و توسعه اختلالات کلسیمی روی میوه‌های ارقام رد دلشز و گلدن دلشز در باغ‌های تجاری سیب سمیرم مورد توجه جدی باغداران و کارشناسان قرار گرفته است. شدت خسارت این ناهنجاری‌ها به‌حدی بوده که باغداران جهت کنترل و پیش‌گیری آن‌ها به‌طور خودسرانه و ناآگاهانه نسبت به مصرف انواع مواد و کودهای شیمیایی اقدام می‌نمودند. تحقیق حاضر به‌منظور بررسی این عارضه و تشخیص دلایل بروز و توسعه آن طی سال‌های زراعی ۹۴-۱۳۹۳ انجام شد.

نظر به این‌که شناخت علمی و دقیق در خصوص عارضه لکه‌های قرمزرنگ روی میوه‌های ارقام رد دلشز و گلدن دلشز در باغ‌های تجاری شهرستان سمیرم وجود نداشت، در این پژوهش بررسی‌های اولیه در خصوص شناسایی علت یا عوامل بوجود آورنده این ناهنجاری (ها) برپایه زمینه‌های مختلف گیاه‌پزشکی (بیماری‌ها، آفات و سموم شیمیایی)، تغذیه، باغبانی و تغییر شرایط اقلیمی متمرکز گردید.

مواد و روش‌ها

۱- نمونه برداری

نمونه‌برداری از درختان سیب رد دلشیز و گلدن دلشیز (پایه بذری) باغ‌های تجاری در دو منطقه سمیرم و پادنا در استان اصفهان انجام شد. به این منظور در هر منطقه بسته به بروز اختلالات از ۳ تا ۵ باغ دارای علائم (حاوی هر دو رقم) نمونه‌برداری شد. در هر باغ ۳ درخت دارای علائم به صورت تصادفی در نظر گرفته شد و از هر درخت ۱۰ میوه با علائم و ۱۰ میوه بدون علائم تقریباً هم‌اندازه و از قسمت بیرونی وسط درخت به صورت تصادفی برداشته شد و یک نمونه مرکب (با تعداد لکه متفاوت) از آن‌ها با حداقل ۱۲ میوه سیب تهیه و برای آنالیز عناصر غذایی مورد نظر به آزمایشگاه (سبزآزمای سپاهان) ارسال گردید (Schumacher and Fankhauser 1974; Moor et al. 2006). در حد امکان سعی گردید میوه‌ها در اوایل صبح برداشت شوند که تعرق گیاه حداقل و پتانسیل آب گیاه شبیه به پتانسیل آب خاک است (Miqueloto et al. 2014). با توجه به این‌که نگهداری میوه‌ها در شرایط سرد باعث کاهش میزان کلسیم پکتیک و قابل حل در آن‌ها می‌شود درحالی‌که، کلسیم غیر قابل حل در واکوئل‌ها (به‌خصوص کلسیم فسفات، کلسیم اکسالات و کلسیم سیلیکات) افزایش پیدا می‌کند (Jian-Hui and Wei 2004)، نمونه‌برداری در فاز سوم رویشی میوه (حداقل ۷۰ روز بعد از تمام‌گل‌دهی) انجام شد که میزان مواد غذایی در میوه از ثبات برخوردار باشد (Nachtigall and Dechen 2006).

۲- بررسی‌های آزمایشگاهی عوامل بیماری‌زا

۲-۱- عوامل بیماری‌زای قارچی

برای ردیابی عوامل بیماری‌زای احتمالی قارچی تعدادی از میوه‌های سیب که مشکوک به عوامل بیماری‌زا بودند با اتانول ۷۰٪ ضد عفونی سطحی شدند و از حاشیه لکه‌ها روی محیط‌های غذایی سبزمینی دکستروز آگار (PDA) و عصاره جو آگار (MA) کشت داده و در دمای $20 \pm 2^\circ\text{C}$ نگهداری شدند. تعدادی دیگر از میوه‌های دارای علائم نیز پس از ضد عفونی سطحی در محیط مرطوب قرار داده شدند.

۲-۲- عوامل بیماری‌زای باکتریایی

برای ردیابی عوامل بیماری‌زای احتمالی باکتریایی، از حاشیه لکه‌ها تعدادی قطعه‌های پوست و بافت میوه برداشته شد و با اسکالپل استریل به قطعات ریز خرد گردید. سپس در آب مقطر استریل قرار داده شدند و پس از یک ساعت از سوسپانسیون حاصل روی محیط غذایی NA به صورت خطوط زیگزاگ کشت داده شد و در دمای $20 \pm 2^\circ\text{C}$ نگهداری شدند.

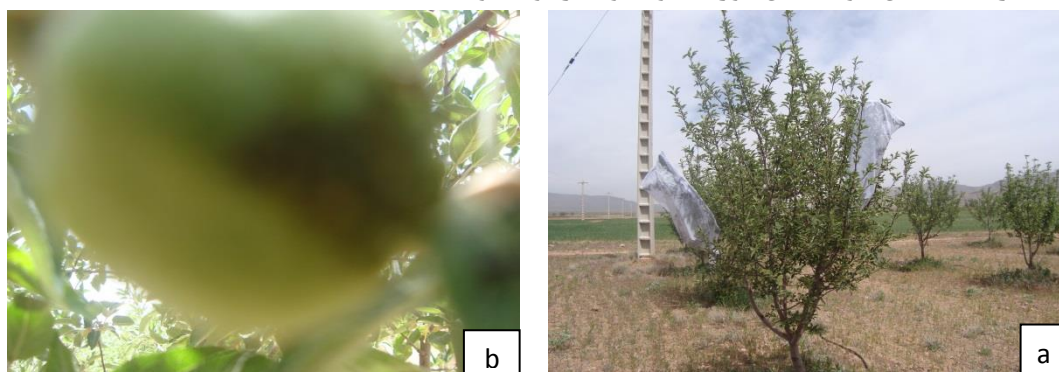
۲-۳- علائم احتمالی ویروسی و ویروئیدی

در تابستان سال ۱۳۹۴ علائمی به شکل دایره‌های نامنظم به رنگ قرمز و بعضاً منظم و بدون رنگ روی میوه‌های رقم گلدن دلشیز در بعضی باغ‌های تجاری مورد مطالعه مشاهده گردید. با توجه به شباهت این علائم با بیماری‌های ویروسی نسبت به نمونه‌برداری از برگ و میوه آن‌ها اقدام و در آزمایشگاه مورد بررسی قرار گرفت. علاوه بر آن، روی میوه‌های رقم رد دلشیز درختان مسن در منطقه پادنا لکه‌های دایره‌ای شکل غالباً در قسمت گل‌گاه میوه رویت گردید. با بزرگ‌تر شدن میوه رنگ زمینه‌ای میوه‌ها در این نقاط زرد روشن گردید که با علائم ویروئیدی مشابهت داشت.

۳- بررسی نقش حشرات

بعد از ریزش گل‌ها و قبل از تشکیل میوه‌ها به‌طور منظم از باغ‌های تجاری سیب (ارقام رد دلشیز و گلدن دلشیز) در دو منطقه پادنا و حنا بازدید شد. بندپایان (حشرات و کنه‌ها) فعال روی درختان سیب و پوشش کف باغ با استفاده از روش سینی و ضربه و روش تورزنی جمع‌آوری گردید. سپس در آزمایشگاه این بندپایان به گروه‌های مختلف تفکیک گردید. بررسی‌های مقدماتی نشان‌داد که در باغات سیب منطقه چند گروه از حشرات (شامل شته‌ها، سن‌ها، سنک‌ها و شپشک‌ها) فعال‌اند که خسارت آن‌ها به‌صورت علائم مورد نظر روی میوه‌ها می‌باشد. نمونه حشرات جمع‌آوری شده از گروه‌های فوق با استفاده از منابع شناسایی شد و در صورت لزوم جهت تعیین یا تأیید نام علمی نزد متخصصین مربوطه ارسال گردید.

جهت بررسی نقش شته‌ها در بروز لکه‌ها روی میوه، شاخه‌های درختان سیب که روی آن‌ها میوه‌های تازه تشکیل شده بود، در اوایل اردیبهشت از وجود همه حشرات فعال به جز شته‌ها پاک شد و سپس این شاخه‌ها با آستین توری پوشانده شد. هم‌زمان شاخه دیگری از همان درخت انتخاب و پس از حذف همه حشرات فعال روی آن، با آستین توری پوشانده شد (شکل ۱). در صورت لزوم و جهت افزایش جمعیت شته‌های مورد نظر در داخل آستین‌های توری، در زمان نصب، شاخه حاوی شته‌ها (از گونه تحت بررسی) در داخل آستین توری قرار داده شد. آستین‌های توری روی دو رقم رد دلشیز و گلدن دلشیز، هر کدام در ۵ تکرار، در دو منطقه نصب شد. هر تکرار یا درخت شامل دو آستین توری آلوده و غیرآلوده بود.

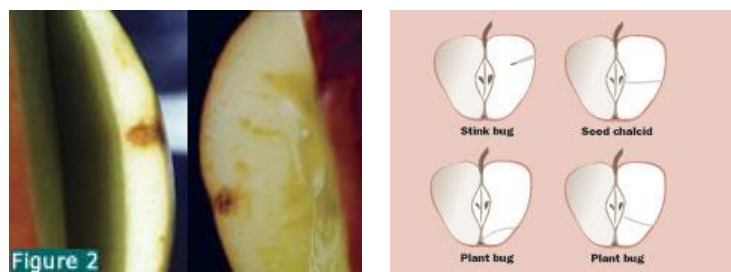


شکل ۱- نصب آستین توری روی درخت: (a) توری حاوی شاخه شته زده و توری شاهد (عاری از شته) و (b) تلقیح شاخه داخل آستین توری با قراردادن شاخه حاوی شته داخل آن.

جهت بررسی نقش سن‌ها و سنک‌ها در بروز لکه‌ها روی میوه، ابتدا نسبت به جمع‌آوری این حشرات اقدام شد تا بتوان از این حشرات جهت تلقیح شاخه‌های محصورشده در آستین‌های توری استفاده نمود. متأسفانه تعداد حشرات جمع‌آوری به‌حد کافی نرسید و بنابراین امکان رهاسازی این حشرات در داخل آستین توری فراهم نگردید.

در نمونه‌برداری‌های متوالی از باغات هر منطقه، نمونه میوه‌های حاوی علائم لکه قرمز یا بدشکلی جمع‌آوری شده و به آزمایشگاه منتقل گردید. در آزمایشگاه بر اساس منابع نسبت به تفکیک علائم و شناسایی عامل یا عوامل موثر در بروز این لکه‌ها اقدام گردید. تفکیک علائم خسارت گونه‌های مختلف شته‌های فعال در باغ‌های سیب طبق نظر Alford (1984) انجام شد. اصولاً خسارت سن‌ها و سنک‌ها روی میوه سیب با خسارت برخی آفات و بیماری‌ها شباهت دارد. خسارت سنک‌های Miridae روی میوه با خسارت برخی آفات دیگر مانند

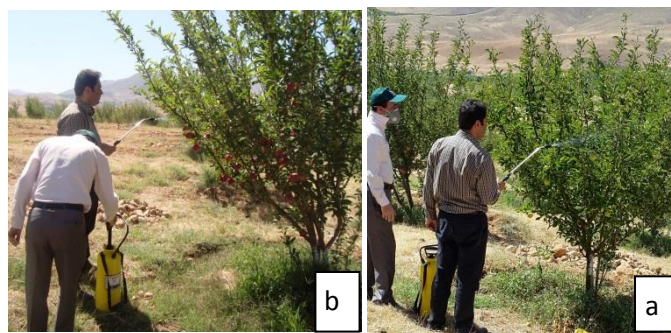
سن‌های Pentatomidae و زنبور مغزخوار سیب شباهت دارد. تفکیک این علائم بر مبنای برش طولی در محل فرورفتگی و بررسی میزان گسترش لوله تغذیه در زیر پوست میوه میسر می‌شود. لوله تغذیه سنک‌های Miridae به صورت یک لوله باریک است که به سمت هسته یا دم‌میوه کشیده می‌شود (Anonymous 2011) (شکل ۲). لازم به ذکر است که زنبور مغزخوار سیب (*Torymus varians* (Hymenoptera: Torymidae) تاکنون از ایران گزارش نشده است. همچنین خسارت سن‌های Pentatomidae به علائم عارضه اختلالات کلسیمی مانند بیماری لکه تلخ شبیه است. تمایز این دو بدین ترتیب است که خسارت سن‌ها به صورت یک لکه مخروطی با رنگ روشن‌تر است و نسبت به لکه تلخ حالت چوب‌پنبه‌ای کم‌تری دارد. ضمناً خسارت سن‌ها معمولاً در نیمه بالایی میوه ولی خسارت لکه تلخ غالباً در نیمه پایینی میوه بروز می‌کند (Jones et al. 2015) (شکل ۲). بنابراین با بررسی شکل لکه زیر پوست میوه و نحوه پراکنش لکه‌ها روی سطح میوه می‌توان مشخص نمود که لکه‌های مورد نظر مربوط به کدام گروه عوامل است.



شکل ۲- نحوه تمایز علائم خسارت سن‌ها و سنک‌ها از علائم سایر عوامل خسارت‌زا (آفات و بیماری‌ها): الف) برش طولی محل فرورفتگی و بررسی میزان گسترش لوله تغذیه، که به ترتیب مسیر لوله تغذیه زنبور مغزخوار سیب (شکل بالا چپ)، سن‌های Pentatomidae (شکل بالا راست)، و سن‌های Miridae (شکل پایین چپ و راست) را نشان می‌دهد (اقتباس از Anonymous 2011). ب) بررسی شکل لکه زیر پوست میوه جهت تمایز علائم خسارت سن‌های Pentatomidae از علائم خسارت بیماری‌های وابسته به کمبود عناصر، که به ترتیب خسارت بیماری لکه تلخ (شکل راست) و خسارت سن‌های Penatomidae (شکل چپ) را نشان می‌دهد (اقتباس از Jones 2015).

۴- بررسی تاثیر سوء سموم شیمیایی

یکی از فرضیه‌ها در باره علت بروز لکه‌ها روی میوه در باغ‌های منطقه، تاثیر سوء یکی از سموم کنه‌کش بود. جهت بررسی نقش این سم و سایر سموم در بروز لکه‌های مورد نظر، یک باغ سیب تجاری حاوی درختان دو رقم رد دلشیز و گلدن دلشیز در منطقه تل‌تپه شهرستان بیده (پادنا) انتخاب گردید. نقش این عوامل در دو مرحله سم‌پاشی به شرح زیر ارزیابی شد. در هر مرحله درختان هر رقم با پاشیدن رنگ سفید روی تنه درخت علامت‌گذاری شده و با سم یا مخلوط سموم مورد نظر در غلظت‌های معین سم‌پاشی گردید (شکل ۳). سپس در فواصل زمانی هفتگی تا زمان برداشت محصول، درختان انتخابی مورد بازدید قرار گرفت و هر نوع لکه یا علائم خاص روی میوه‌ها بررسی شد. مشخصات سموم مورد آزمایش در جدول ۱ آورده شده است. کلیه سم‌پاشی‌ها با استفاده از یک سم‌پاشی پستی دستی و به صورتی انجام شد که یک پوشش مناسب در سطح برگ و میوه درختان قرار گیرد.



شکل ۳- نمایی از سم‌پاشی درختان انتخابی ارقام: (a) گلدن دلشیز و (b) رد دلشیز.

جدول ۱- مشخصات سموم مورد آزمایش جهت بررسی نقش این سموم و یا مخلوط آن‌ها در بروز لکه

نام عمومی	نام تجاری	نوع آفت کش	فرمولاسیون	شرکت سازنده
آزوسیکلوتین	پروپال	کنه‌کش	WP 25%	واردکننده شرکت گیاه‌پرستان اطلس
استامی‌پراید	موسپیلان	حشره‌کش	SP 20%	کیمیا گوه‌رخاک
پروپارژیت	امایت	حشره‌کش - کنه‌کش	EC 57%	مجمع شیمیایی آبیگ
ایمیداکلوپراید	کنفیدور	حشره‌کش	SC 35%	سینوکم نینگو چین
آبامکتین	ورتی‌مک	حشره‌کش - کنه‌کش	EC 1.8%	ماهر شیمی
دلتامترین	دسیس	حشره‌کش	EC 2.5%	شیم‌گرو یزد
دiazinon	دiazinon	حشره‌کش	EC 60%	مشک‌فام

مرحله اول: در اواسط خرداد درختان انتخابی با سم مشکوک به‌عنوان عامل بروز لکه‌ها یعنی کنه‌کش آزوسیکلوتین (پروپال) با برچسب کارخانه المحمودیه عراق سم‌پاشی شد. این سم‌پاشی با ۳ تکرار روی هر رقم انجام گرفت. به این منظور ۹ درخت از هر رقم توسط ۳ غلظت ۰/۵ در هزار (غلظت توصیه شده)، ۱ در هزار و ۱/۵ در هزار (به ترتیب ۲ و ۳ برابر غلظت توصیه شده) سم‌پاشی شد.

مرحله دوم: از آنجایی که باغداران منطقه جهت کنترل آفات مختلف از مخلوط سموم کنه‌کش و حشره‌کش استفاده می‌نمایند، جهت بررسی نقش این سموم و یا اختلاط آن‌ها در بروز لکه یا زنگار میوه با توجه به اطلاعات جمع‌آوری شده از باغداران، ۵ ترکیب سمی انتخاب گردید. در اواخر خرداد درختان انتخابی با مخلوط سموم مورد استفاده توسط باغداران سم‌پاشی گردید. این سم‌پاشی با ۳ تکرار روی هر رقم انجام گرفت. ترکیبات سموم سم‌پاشی شده و دز مصرفی آن‌ها به شرح زیر است:

- ۱- استامی‌پراید (۰/۵ در هزار) + پروپارژیت (۱ در هزار) + ایمیداکلوپراید (۰/۵ در هزار)
- ۲- استامی‌پراید (۰/۵ در هزار) + آبامکتین (۰/۵ در هزار) + دلتامترین (۰/۵ در هزار)
- ۳- استامی‌پراید (۰/۵ در هزار) + پروپال (۰/۵ در هزار) + ديازینون (۱ در هزار)
- ۴- استامی‌پراید (۰/۵ در هزار) + پروپال (۱ در هزار) + ديازینون (۱ در هزار)
- ۵- استامی‌پراید (۰/۵ در هزار) + پروپال (۱/۵ در هزار) + ديازینون (۱ در هزار)

۵- ارزیابی عناصر غذایی

تحقیقات اخیر (Ferguson and Watkins 1989; Amarante *et al.* 2006; Lanauskas and Kvikliene 2006; Freitas *et al.* 2010) نشان داده است که غلظت عناصر پتاسیم، ازت و منیزیم جذب کلسیم در میوه و نقش آن در سطح سلولی را تحت تاثیر قرار می‌دهند و نسبت‌های این عناصر برای پیش‌بینی دقیق حساسیت

میوه به اختلالات کلسیمی کفایت می‌کند. بنابراین در تحقیق حاضر غلظت عناصر کلسیم، پتاسیم، منیزیم و ازت ردیابی گردید و سپس نسبت‌های N/Ca^{2+} ، K^+/Ca^{2+} ، Mg^{2+}/Ca^{2+} ، $(K^+ + Mg^{2+})/Ca^{2+}$ و $(N + K^+ + Mg^{2+})/Ca^{2+}$ محاسبه شد.

اگرچه میزان کلسیم و منیزیم در پوست بیش‌تر از گوشت میوه سیب است اما غالب این عناصر در پوست ممکن است متصل به دیواره سلولی باشد که غیر قابل حل در آب است (Amarante et al. 2013). بنابراین ردیابی میزان عناصر غذایی در میوه‌های بدون پوست انجام گرفت. به این منظور سه لایه ۵ میلی‌متری به‌صورت شعاعی از بافت میوه، از قسمت‌های دم‌میوه، وسط (بدون قسمت مرکزی برچه) و گل‌گاه هر میوه از نمونه مرکب برداشته شد (Amarante et al. 2006, Miqueloto et al. 2014) و سپس میزان کلسیم، منیزیم، ازت و پتاسیم برحسب درصد وزن خشک اندازه‌گیری شد. بررسی‌های اولیه نشان داد که این عارضه در رقم رد دلشز بیش‌تر است، بنابراین نمونه‌برداری از برگ درختان رد دلشز مطابق روش استاندارد جونز و همکاران (Jones et al. 1991) انجام شد.

غلظت ازت (N) به روش کج‌دال (Kjeldahl)، کلسیم (Ca^{2+}) و منیزیم (Mg^{2+}) با دو روش جذب اتمی و تیتراسیون و پتاسیم (K^+) توسط دستگاه فلیم‌فتومتر (Flamephotometer) اندازه‌گیری شد (Moor et al., 2006).

۶- تجزیه آماری غلظت عناصر و نسبت آن‌ها

با توجه به نمونه‌برداری‌های منظم از باغ‌های تجاری سیب (ارقام رد دلشز و گلدن دلشز) در دو منطقه سمیرم و پادنا، جهت بررسی نقش عناصر غذایی و نسبت آن‌ها چند تجزیه آماری مدنظر قرار گرفت. از آنجایی که تعداد تکرار برای همه نمونه‌ها یکسان نبود و نمونه‌های فاقد علائم یک نمونه مرکب از دو منطقه بود، از طرح کاملاً تصادفی نامتعادل جهت تجزیه آماری مقادیر عناصر مورد ارزیابی و نسبت آن‌ها استفاده شد. قبل از تجزیه‌وارینس، توزیع داده‌ها با استفاده از تبدیل زاویه‌ای نرمال گردید. میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن مقایسه گردید. تجزیه‌های آماری عبارت‌بودند از:

۶-۱- تجزیه عناصر و نسبت آن‌ها در میوه

این تجزیه برای میوه دو رقم (رد دلشز و گلدن دلشز) در دو منطقه (سمیرم و پادنا) در دو گروه (دارای علائم و فاقد علائم) با ۶ تیمار (رد دلشز- دارای علائم- سمیرم، رد دلشز- دارای علائم- پادنا، رد دلشز- فاقد علائم- سمیرم و پادنا، گلدن دلشز- دارای علائم- سمیرم، گلدن دلشز- دارای علائم- پادنا و گلدن دلشز- فاقد علائم- سمیرم و پادنا) انجام شد.

۶-۲- مقایسه‌های متعامد

انجام تجزیه‌وارینس و مقایسه میانگین‌ها نشان داد نمونه‌برداری‌های انجام‌شده با تغییرات نامنظم همراه است که باعث شده سهم تکرارهای تیمارهای مختلف در خطای آزمایش متفاوت شود و در نتیجه دقت انجام مقایسه‌های مختلف، متفاوت گردد. مناسب‌ترین روش برای رفع این مشکل، تفکیک مجموع مربعات تیمار به مقایسه‌های مختلف و همچنین تفکیک مجموع مربعات خطا به اجزاء متناظر با آن‌ها است. در این حالت میانگین مربعات هر مقایسه در برابر خطای متعلق به آن مقایسه، آزمون می‌گردد (Yazdi Samadi et al. 2002). بر این‌اساس سه مقایسه متعامد برای سه گروه تیماری منظور شد که عبارت‌بودند از: مقایسه گروه

تیماری ارقام (رد دلشیز در مقابل گلدن دلشیز)، مقایسه گروه تیماری مناطق (سمیرم در مقابل پادنا) و مقایسه گروه تیماری علائم (دارای علائم در مقابل فاقد علائم).

۳-۶- تجزیه عناصر در برگ و میوه رقم رد دلشیز

در این تجزیه غلظت عناصر و نسبت آن‌ها در برگ و میوه رقم رد دلشیز در دو منطقه (سمیرم و پادنا) بررسی گردید. تیمارها عبارت بودند از: میوه- دارای علائم- سمیرم، میوه- دارای علائم- پادنا، میوه- فاقد علائم- سمیرم و پادنا، برگ- دارای علائم- سمیرم، برگ- دارای علائم- پادنا و برگ- فاقد علائم- سمیرم و پادنا.

۴-۶- تعیین همبستگی بین غلظت و نسبت عناصر در برگ و میوه رقم رد دلشیز

برای این که مشخص گردد غلظت کدام یک از عناصر اندازه گیری شده و یا نسبت آن‌ها در میوه با برگ همبسته است تجزیه فوق روی رقم رد دلشیز (بروز و توسعه اختلالات کلسیمی روی آن بیش تر بود) انجام شد.

۷- بررسی و تفکیک علائم اختلالات کلسیمی مشاهده شده در باغ‌های تجاری سمیرم و پادنا

شروع بروز علائم مربوط به اختلالات کلسیمی در مردادماه روی درختان رد دلشیز و گلدن دلشیز (۷ تا ۳۵ ساله) در باغ‌های تجاری سمیرم و پادنا دیده شد. درختان دارای علائم غالباً به صورت لکه‌ای یا تک‌درخت و در نقاط مختلف باغ پراکنده بودند. مطالعات اولیه نشان داد که در شیب‌های جنوبی و قسمت‌هایی از باغ که بافت شنی یا سنگلاخی داشتند و تنش‌های آبی به خاطر خشک‌سالی در آن‌ها اعمال می‌شد علائم بیش تر مشاهده گردید. علائم اولیه به صورت فرورفتگی‌های مجزا در لایه پوستی میوه است که قهوه‌ای و خشکیده به نظر می‌رسند و غالباً در قسمت گل‌گاه و در بعضی موارد در سراسر میوه پراکنده‌اند.

نتایج و بحث

۱- نقش عوامل بیماری‌زا

۱-۱- عوامل بیماری‌زای قارچی و باکتریایی

در کشت‌های متعدد نمونه‌های دارای لکه با علائم متفاوت روی محیط‌های غذایی و قراردادن در محیط‌های مرطوب، هیچ نوع باکتری جداسازی نگردید و فقط یک مورد قارچ با علائم خاص شبیه بیماری لکه‌سیاه سیب جداسازی شد. روی میوه‌های رد دلشیز و گلدن دلشیز در مناطق پادنا و سمیرم لکه‌های غالباً قرمز رنگ با شکاف یا حفره در وسط آن و یا لکه‌های دایره‌ای نامنظم به رنگ قهوه‌ای زیتونی در سطح پوست در شهرپور مشاهده گردید (شکل ۴). از این میوه‌ها یک نمونه قارچ روی محیط غذایی PDA جداسازی گردید با مایه‌زنی حاشیه کلنی‌های ۷ روزه به قطر ۳ میلی‌متر زیر پوست میوه‌های سیب و قراردادن در محیط مرطوب در دمای اتاق بیماری‌زایی آن‌ها ثابت گردید. جداسازی مجدد قارچ از نمونه‌های مایه‌زنی شده امکان‌پذیر بود. بررسی میکروسکوپی نشان داد که مشخصات مرفولوژیکی قارچ جدا شده با مشخصات قارچ *Fusicladium pomi* (Fr.) Lind (Hashemi et al. 2014) فرم غیرجنسی *Venturia inaequalis* عامل لکه‌سیاه سیب مطابقت می‌نماید. وقوع و خسارت بیماری سال به سال بسته به شرایط دمایی و رطوبت نسبی فرق می‌کند. در سال‌هایی که تابستان نسبتاً خنک و رطوبت نسبی بالا باشد امکان بروز و توسعه آن بیش تر است. شرایط خنک و مرطوب برای وقوع بیماری لازم است، بارندگی‌های مکرر در بهار شرایط را برای بروز و توسعه آن بیش تر فراهم می‌کند (MacHardy 1996). مقایسه متوسط میانگین دمای روزانه، متوسط میانگین رطوبت نسبی روزانه و بارندگی در ماه‌های تابستان سمیرم در مقایسه با داده‌های ۱۳ سال متوالی گذشته (جدول ۲) نشان می‌دهد که تابستان

۱۳۹۳ و ۱۳۹۴ نسبت به متوسط میانگین ۱۳ سال گذشته به ترتیب گرم تر و خنک تر است در حالی که، متوسط میانگین رطوبت نسبی در سال ۱۳۹۳ کم تر و در سال ۱۳۹۴ بیش تر است. در سال ۱۳۹۳ میزان بارندگی صفر بوده است در صورتی که ۵ میلی متر بارندگی در سال ۱۳۹۴ وجود داشته که در مقایسه با ۱۳ سال گذشته بیش تر بوده است. بنابراین، تابستان ۱۳۹۳ گرم تر و رطوبت نسبی و میزان بارندگی در این سال نسبت به ۱۳ سال قبل کم تر بوده است و تابستان سال ۱۳۹۴ خنک تر و رطوبت نسبی و بارندگی بیش تری نسبت به ۱۳ سال قبل داشته است.

جدول ۲- مقایسه متوسط دما، رطوبت نسبی روزانه و متوسط بارندگی ماهیانه سمیرم در سال های ۹۴-۱۳۹۳ در

مقایسه با سال های ۹۳-۱۳۸۱

Table 2. Weather conditions in 2014 and 2015 in Semirom: daily average mean air temperature, relative humidity and mean monthly precipitation compared to the same figures for 2002-14

Months	2014			2015			2002-14		
	Temp.(°C)	Precip.(mm)	RH(%)	Temp.(°C)	Precip.(mm)	RH(%)	Temp.(°C)	Precip.(mm)	RH(%)
Mar./April	8.9	73.8	40	9.9	88	41	8.92	77.75	41.38
April/May	14.3	22.8	36	15	19	30.5	14.39	14.55	32
May/June	20.3	0	19.5	21.5	0.5	20	20.20	0.57	18.69
June/July	24.2	0	17	24.3	1.5	18	24.20	1.19	16.92
July/Aug.	24.9	0	17	22.7	2.5	18.5	24.08	1.17	16.54
Aug./Sep.	21	0	15.5	20	1	26	21.38	0.83	16.50

با توجه به این که تابستان ۱۳۹۴ نسبت به ۱۳ سال قبل از آن خنک تر، رطوبت نسبی بالاتر و میزان بارندگی بیش تر بوده است (جدول ۲) لذا امکان بروز و توسعه این بیماری دور از انتظار نبود.

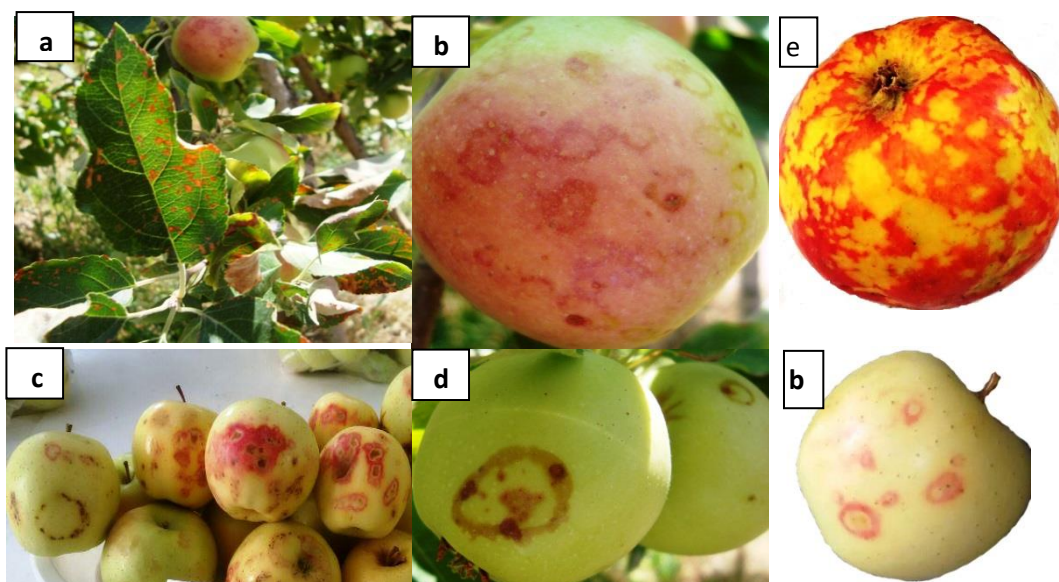


شکل ۴- علائم بیماری لکه سیاه روی ارقام (a) رد دلشز و (b) گلدن دلشز.

۱-۲- مشاهده علائم احتمالی ویروسی و ویروئیدی

علائم نقطه نقطه نکروزه همراه با پیچیدگی و بدشکلی روی برگ و رزت دایره ای بدون رنگ و رنگی روی رقم گلدن دلشز در شهریور ۱۳۹۴ در بعضی باغ های تجاری پادنا رویت گردید (شکل ۵). علائم به صورت نیم دایره و غالباً دایره ای روی میوه ها مشاهده گردید که با بزرگ تر شدن میوه نیز توسعه پیدا می کرد. این علائم مشابه *Apple russet ring virus* بود. این ویروس در کشورهای نیوزلند، کانادا، آمریکا و سوئیس روی رقم گلدن دلشز مشاهده شده است (Wood and Welsh 1989; wood 2001). بروز و شدت علائم تابع تغییرات فصلی دما است به این صورت که اگر بهار و اوایل تابستان خنک باشد بیماری از شدت بیش تری برخوردار است (Wood 1972; Wood 2001). با توجه به آمارهای هواشناسی (جدول ۲) بهار و تابستان ۱۳۹۴ خنک تر بوده و باعث شده که این ویروس از حالت نهفته خارج شده و علائم مربوط به آن بروز نماید. تحقیقات روی رزت دایره ای (russet ring) در نیم کره شمالی نشان داده است که عامل اصلی تعداد زیادی از ناهنجاری های رزت

دایره‌ای نژادهای خاصی از *Apple chlorotic leaf spot virus* می‌باشد که حالت نقطه‌نقطه و چین‌وچروک در برگ نیز ایجاد می‌کند (Desvignes and Boye 1988; Hansen and Parish 1990). این علائم با علائم مشاهده شده در باغ‌های پادنا مطابقت می‌نماید (شکل ۵). بررسی‌های آزمایشگاهی اولیه روی برگ‌ها وجود این ویروس را محرز نمود و تحقیقات تکمیلی در این خصوص ادامه دارد. این ویروس تنها از طریق پیوند جوانه و ریشه انتقال پیدا می‌کند و انتقال آن در طبیعت شناخته نشده است (Saksena and Mind 1969).



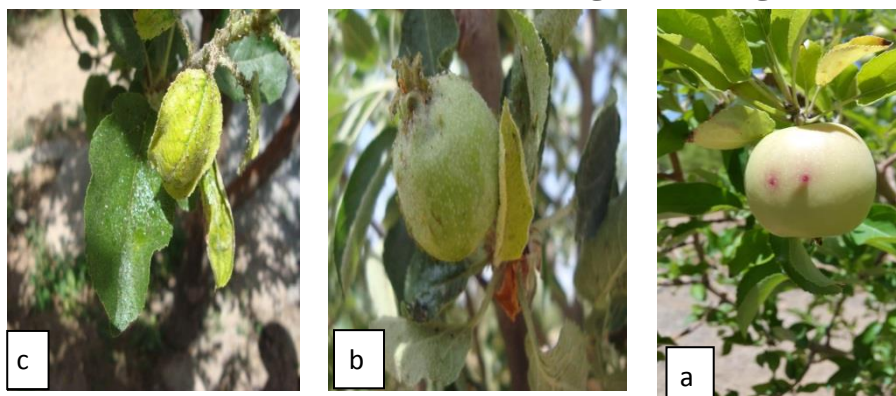
شکل ۵- (a) علائم احتمالی ویروسی روی رقم گلدن دلشیز (a) نقطه‌نقطه و پیچیدگی برگ، (b و c) دایره‌های رنگی (d) دایره‌های بدون رنگ و علائم ویروئیدی روی رقم رد دلشیز

همان‌طور که در شکل ۵ مشاهده می‌شود علائم روی میوه رقم رد دلشیز احتمالاً مربوط به *Apple scar skin viroid* است. این ویروئید روی سیب (Nome et al. 2012)، پنی‌رک (*Malus sylvestris*) و گلابی وحشی (*Pyrus amygdaliformis*) (Desvignes et al. 1999) و اخیراً روی زردآلو و گیلان (Kaponi et al. 2010) گزارش شده است. خسارت آن به میوه است (Koganezawa and Ito, 2003) و در طبیعت توسط مگس سفید انتقال پیدا می‌کند (Walia et al. 2015).

۲- نقش حشرات

علائم خسارت شته‌ها در آستین‌های توری تحت رهاسازی دو گونه شته دیده شد. این علائم برای شته سبز سیب به صورت نقطه گرد قرمز رنگ روی سطح پوست میوه بود. این نقاط قرمز روی رقم گلدن دلشیز که رنگ میوه آن نسبت به رقم رد دلشیز روشن‌تر بود، بیش‌تر نمایان بود (شکل ۶). در این موارد وجود کلونی شته، پیچیدگی شاخ‌وبرگ آلوده، و عسلک ترشح شده نیز وجود داشت (شکل ۷). مجموع این علائم، خسارت شته‌ها را با علائم خاص لکه‌های مورد نظر روی میوه متمایز می‌نماید. نمونه‌هایی از یک نوع شته قرمز رنگ در یکی از باغ‌های منطقه حنا مشاهده و جمع‌آوری گردید و روی شاخه‌های آلوده این درختان آستین توری نصب گردید. در ابتدا تصور می‌شود این شته‌ها متعلق به گونه *D. plantaginae* باشند، اما بررسی خصوصیات مورفولوژیک حشرات و علائم خسارت آن (Alford 1984) مشخص نمود که این شته احتمالاً به گونه *D. devecta* تعلق دارند. این گونه شته باعث پیچش برگ‌ها و قرمز شدن حاشیه برگ‌ها در محل پیچش شده بود

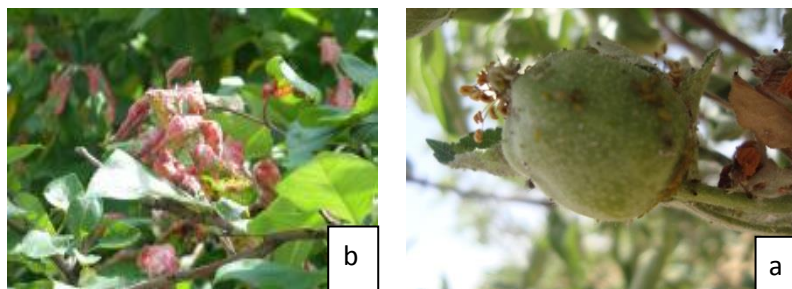
(شکل ۸). لازم به ذکر است که در مورد هر دو گونه شته، روی میوه‌های سالم داخل پوشش توری علائم خاص لکه قرمز (اختلالات کلسیمی) نیز دیده می‌شد.



شکل ۶- علائم خسارت شته سبز سیب: (a) علائم اولیه محل نیش شته روی میوه، (b) علائم تجمع و تغذیه شته روی شاخه، برگ و میوه و (c) تجمع عسلک روی شاخه و برگ درخت.

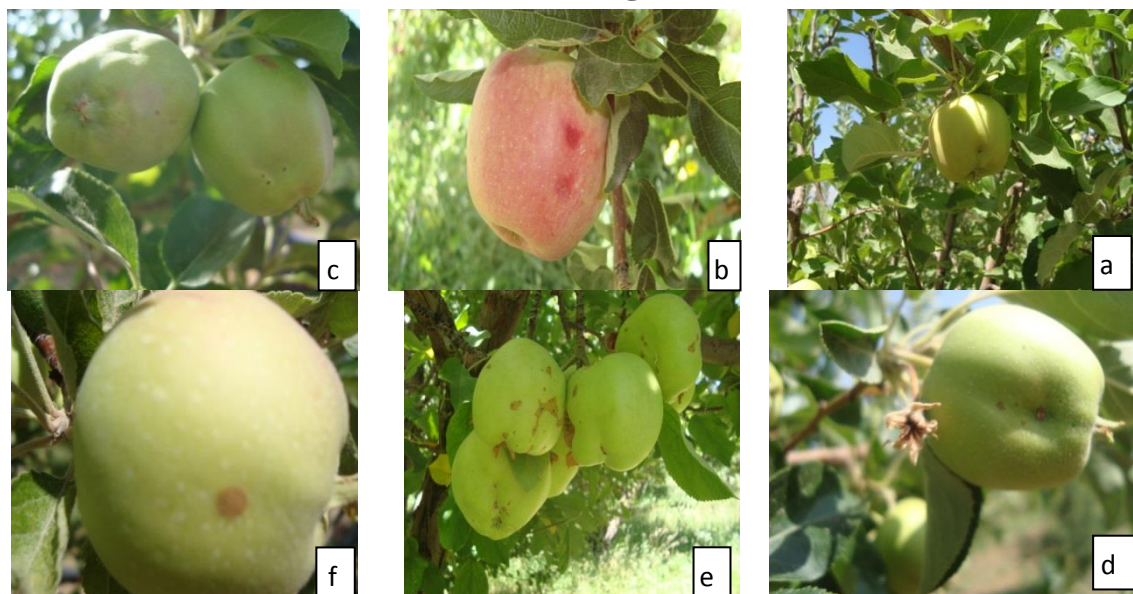


شکل ۷- تجمع شته سبز سیب روی میوه داخل آستین توری.



شکل ۸- شته قرمز (احتمالاً گونه *D. devecta*): (a) کلونی شته داخل آستین توری و (b) علائم خسارت شته. خسارت ناشی از سن‌ها و سنک‌ها به صورت موضعی در برخی باغ‌های جلب توجه می‌نمود. بررسی حشرات جمع‌آوری شده و نحوه خسارت آن‌ها روی میوه‌ها نشان داد که خسارت اصلی بدشکلی میوه مربوط به سنک *C. verbasici* است. خسارت این سنک‌ها در زمان نیش‌زدن به صورت لکه یا نقاط قرمز یا مایل به قهوه‌ای در یک فرورفتگی روی سطح میوه بود که باعث بدشکلی میوه‌ها شده بود (شکل ۹). در صورت افزایش جمعیت این سنک و سایر گونه‌های *Miridae* شدت خسارت افزایش یافته و میوه دچار بدشکلی شدید می‌گردد که اصطلاحاً عارضه صورت‌گربه‌ای نام دارد (شکل ۱۰). این وضعیت عموماً در باغ‌هایی دیده شد که کف باغ و یا حاشیه آن‌ها دارای پوشش سبز و یا علف هرز فراوان بودند (شکل ۱۱). این پوشش محل فعالیت پوره‌های سنک‌ها می‌باشند و با خشک شدن آن‌ها احتمال خسارت سنک‌ها روی میوه‌ها افزایش می‌یابد. برش طولی

محل فرورفتگی و بررسی میزان گسترش لوله تغذیه در آزمایشگاه (شکل ۱۳) نشان داد که علائم مشاهده شده فوق روی میوه‌ها مربوط به سنک‌های *Miridae* می‌باشد.



شکل ۹- علائم خسارت سنک‌های خانواده *Miridae*: (a و b) علائم اولیه محل نیش گونه *C. verbasci* به ترتیب روی میوه‌های ارقام گلدن دلشیز و رد دلشیز، (c) علائم اولیه خسارت گونه *C. verbasci*



شکل ۱۰- علائم خسارت شدید سنک‌های *Miridae* و بروز عارضه صورت‌گرفته‌ای.

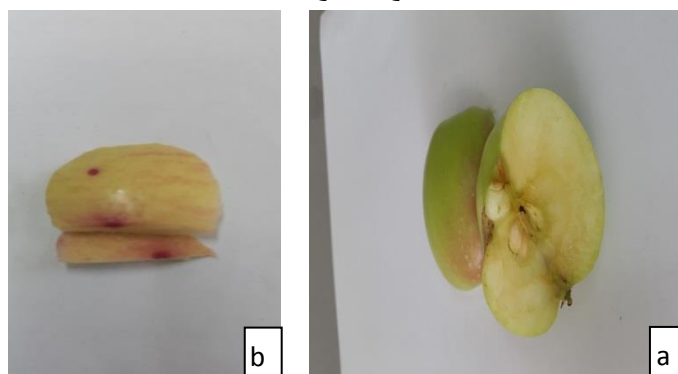


شکل ۱۱- نمایی از پوشش گیاهی موجود در کف و حاشیه باغات سیب (منطقه پادنا).

در باغ‌های سیب به‌ویژه در منطقه حنا نوعی علائم شبیه خسارت سن‌های *Pentatomidae* دیده شد (شکل ۱۲). این علائم به‌طور عمومی روی اکثر درختان رد دلشیز بازدید شده مشهود بود، در حالی‌که، در این باغ‌ها تعداد بسیار معدودی از سن‌های *Pentatomidae* جمع‌آوری گردید. بررسی دقیق نمونه‌های جمع‌آوری‌شده در آزمایشگاه (شکل ۱۳) و همچنین نحوه پراکنش لکه‌ها روی میوه (شکل ۱۲) نشان داد که این علائم به سن‌ها مربوط نبوده و در واقع علائم عارضه اختلالات کلسیمی مانند بیماری لکه‌تلخ می‌باشد.



شکل ۱۲- علائم شبیه خسارت سن‌های *Pentatomidae* روی رقم رد دلشیز (به پراکندگی علائم در کل سطح میوه توجه شود).



شکل ۱۳- تمایز علائم خسارت سن‌ها از سایر عوامل خسارت‌زا (آفات و بیماری‌ها): (a) برش طولی محل فرورفتگی و بررسی میزان گسترش لوله تغذیه، که نشان‌دهنده لوله تغذیه سن‌های *Miridae* است. (b) بررسی لکه زیر پوست میوه که نشان‌دهنده بیماری‌های وابسته به کمبود عناصر مانند لکه تلخ است.

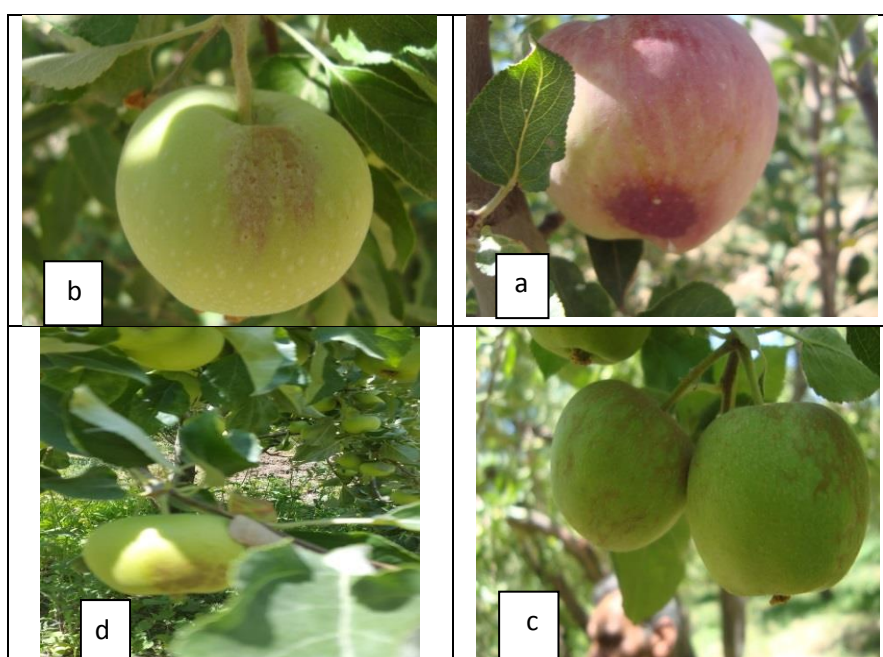
علائم ناشی از برخی عارضه‌ها که در سیب با کمبود عناصر غذایی همراه است به‌ویژه لکه چوب‌پنبه‌ای (corky spot) و لکه تلخ (bitter pit) ممکن است با خسارت سن‌ها اشتباه شوند (Brown 2003). به‌طور کلی کمبود وابسته به کلسیم علائمی با یک ناحیه بی‌رنگ و فرورفته در سطح میوه به‌وجود می‌آید که در زیر آن گوشت میوه ظاهر چوب‌پنبه‌ای پیدا کرده است (Faust and Shear 1968). شپشک سان ژوه می‌تواند باعث بروز لکه‌های قرمز روی سطح میوه سیب گردد (Weinzierl 2011)، اما وجود این شپشک در باغات منطقه هنوز ثابت نشده است. در طی این تحقیق خسارت ناشی از شپشک واوی سیب روی میوه‌ها مشاهده شد.

۳- تاثیر سوء سموم شیمیایی

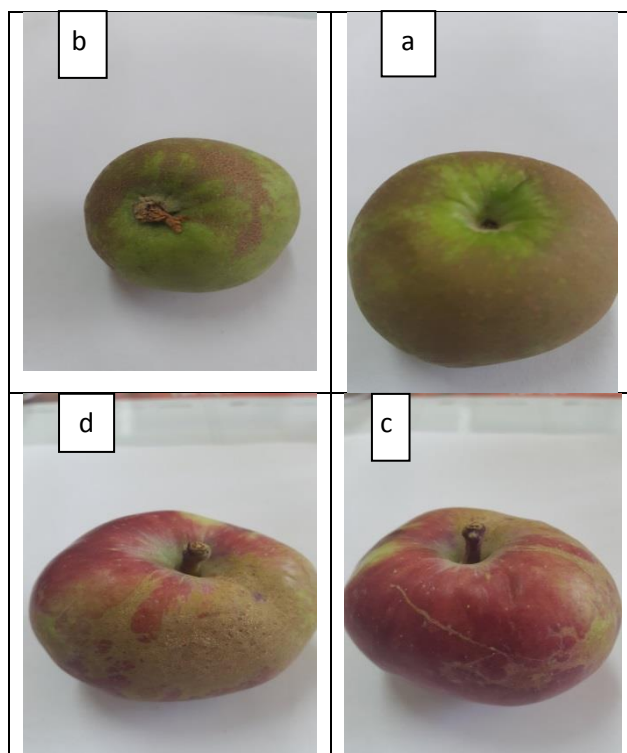
سم‌پاشی‌های انجام‌شده در هر دو مرحله علائم خاصی را روی میوه ایجاد نکرد، البته در بعضی تکرارها علائمی مشاهده گردید که در شاهدها هم قابل رویت بود. این در حالی است که علائم عارضه زنگار میوه در باغ‌های تحت بررسی دیده شد. این علائم عمدتاً به‌صورت موردی به‌خصوص در اواخر فصل (مرداد و شهریور) مشاهده شد. علت یا علل بروز این عارضه در این مطالعه مشخص نشد. به‌نظر می‌رسد مصرف سموم حشره‌کش و کنه‌کش به‌تنهایی و یا اختلاط آن‌ها با همدیگر باعث گیاه‌سوزی و بروز عارضه زنگار میوه نمی‌گردد و در این موارد عوامل دیگری که باعث توزیع غیر یکنواخت محلول سم یا کود روی درخت و میوه‌ها می‌شود در بروز زنگار میوه دخالت دارد. براساس بررسی‌های به‌عمل‌آمده در خصوص نوع و نحوه مصرف انواع کودها و سموم

شیمیایی در باغ‌ها، می‌توان به عواملی مانند نوع سم‌پاش مورد استفاده (از نظر داشتن یا نداشتن هم‌زن)، زمان سم‌پاشی، دفعات سم‌پاشی، اختلاط سموم حشره‌کش و کنه‌کش با سموم قارچ‌کش و یا کودهای شیمیایی اشاره نمود.

بررسی شاخ‌وبرگ درختان با میوه‌های ر زنگار زده نشان‌داد که زنگار ناشی از مواد شیمیایی ممکن است با سوختگی شاخه و برگ‌ها همراه باشد (شکل ۱۴)، که این گیاه‌سوزی به شناسایی عامل اصلی زنگار میوه کمک می‌نماید. در برخی موارد زنگار شدید روی سطح میوه‌ها دیده شد (شکل ۱۵)، در این موارد شناسایی عامل و یا عوامل زنگار میسر نگردید. اصولاً شناسایی علت یا علل عارضه زنگار میوه مشکل است زیرا که معمولاً چندین عامل باعث بروز زنگار می‌شوند، الگوی خسارت ناشی از عوامل مختلف شبیه یکدیگر است و علائم معمولاً چند هفته پس از شروع ظاهر می‌شود (Rosenberger 2014).



شکل ۱۴- علائم عارضه زنگار میوه ناشی از پاشش سموم و یا کودهای شیمیایی: *a* و *b* شروع علائم به ترتب روی ارقام رد دلشیز و گلدن دلشیز، *c* پیشرفت علائم و چوب‌پنبه‌ای شدن سطح میوه، *d* علائم معمولاً همراه با سوختگی جزئی برگ‌ها



شکل ۱۵- علائم زنگار شدید روی میوه: *a* و *b* رقم گلدن دلشیز، *c* و *d* رقم رد دلشیز

۴- تجزیه آماری عناصر و نسبت آن‌ها

۴-۱- تجزیه عناصر و نسبت آن‌ها در میوه

تجزیه واریانس غلظت عناصر و نسبت آن‌ها در میوه‌های دو رقم سیب در دو منطقه نشان داد که برای عناصر ازت، پتاسیم، کلسیم و نسبت‌های N/Ca^{2+} ، K^+/Ca^{2+} ، Mg^{2+}/Ca^{2+} ، $(K^++Mg^{2+})/Ca^{2+}$ و $(N+K^++Mg^{2+})/Ca^{2+}$ اختلاف معنی‌دار وجود دارد (جدول ۳).

جدول ۳- تجزیه واریانس غلظت عناصر و نسبت آن‌ها در میوه‌های سیب (دو رقم در دو منطقه)

Table 3. Analysis of variance of elements concentration and their ratios in apple fruits (two varieties in two regions)

S.O.V.	منابع تغییرات	درجه آزادی (df)	میانگین مربعات (MS)								
			N	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺	N/Ca ²⁺	K ⁺ /Ca ²⁺	Mg ²⁺ /Ca ²⁺	(K ⁺ +Mg ²⁺)/Ca ²⁺	(N+K ⁺ +Mg ²⁺)/Ca ²⁺
Treatment	تیمار	5	0.0667**	0.046**	0.001*	0.0662**	0.0025 ^{ns}	0.0603**	0.0018*	0.0393**	0.0747**
Error	خطا	12	0.0083	0.0069	0.0001	0.0064	0.0011	0.0028	0.0001	0.0028	0.0033

ns, ** و *: به ترتیب فاقد اختلاف معنی‌دار، دارای اختلاف معنی‌دار در سطح ۱٪ و ۵٪.

ns, ** and *: Not significant, Significant at 1% and 5% probability level respectively.

مقایسه میانگین‌های غلظت عناصر و نسبت آن‌ها (جدول ۴) نشان داد که حالت دارای علائم برای میوه‌های رد دلشیز صرفاً با کمبود کلسیم همراه است اما برای میوه‌های گلدن دلشیز هر دو حالت کمبود و زیادبود کلسیم دیده می‌شود. غالب تحقیقات نشان می‌دهد که لکه‌تلخ در نتیجه کمبود کلسیم است اما برخی تحقیقات مشخص می‌کند لکه‌تلخ در میوه‌های با کلسیم یکسان یا بیش‌تر نسبت به میوه‌های سالم نیز بروز می‌کند (Bramlage *et al.* 1974; Ferguson and Watkins 1989; Steenkamp *et al.* 1980; Amarante *et al.*

2006; Ho and White 2005; Val *et al.* 2008) همان طور که در جدول ۴ ملاحظه می شود تغییرات نامنظم بین تیمارها وجود دارد که احتمالاً به خاطر یکسان نبودن تکرارها رخ داده است. طبق نظر متخصصین آمار (Yazdi Samadi *et al.* 2002) بهترین راه برای رفع این مشکل انجام مقایسه های متعامد گروه های تیماری می باشد که ذیلاً به آن پرداخته می شود.

جدول ۴- مقایسه میانگین های غلظت عناصر و نسبت آن ها در میوه های سیب (دو رقم در دو منطقه)

Table 4. Mean comparison of elements concentration and their ratios in apple fruits (two varieties in two regions)

Treatment	تیمار	(Mean) میانگین								
		N	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺	N /Ca ²⁺	K ⁺ /Ca ²⁺	Mg ²⁺ /Ca ²⁺	(K ⁺ +Mg ²⁺) /Ca ²⁺	(N+K ⁺ +Mg ²⁺) /Ca ²⁺
With Symp.-Red-Semirom	دارای علائم- رد- سمیرم	0.15c	0.72c	0.03c	0.07c	2.08ab	10.27a	0.46a	10.74a	12.83a
With Symp.-Red-Padana	دارای علائم- رد- پادنا	0.16c	0.72c	0.04c	0.05c	3.19a	14.56a	0.88a	15.44a	18.63a
Without-Symp.-Sem. and Padana	فاقد علائم- رد- سمیرم و پادنا	0.23c	0.94c	0.04c	0.09c	2.35ab	9.81a	0.48a	10.29a	12.64a
With Symp.-Golden-Semirom	دارای علائم- گلدن- سمیرم	18.96a	17.55a	0.44a	17.10a	1.41ab	0.08b	0.03b	11.32b	0.11b
With Symp.-Golden-Padana	دارای علائم- گلدن- پادنا	0.13c	0.74c	0.02c	0.06c	2.07ab	11.91a	0.47a	12.38a	14.46a
Without-Symp.-Golden-Sem. and Padana	فاقد علائم- گلدن- سمیرم و پادنا	9.85b	9.24b	0.29b	9.15b	0.90b	0.41b	0.17b	1.29b	0.69b

میانگین ها با حروف مشابه بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ اختلاف معنی دار ندارند.

Similar letters in each column indicate no significant differences at 5% level of Duncan's multiple range test.

۴-۲- مقایسه های متعامد

مقایسه های متعامد نشان داد که برای غلظت عناصر مورد ارزیابی و نسبت آن ها در میوه های رد دلشیز در مقابل گلدن دلشیز در سطح ۱٪ اختلاف معنی دار وجود دارد (جدول ۵).

جدول ۵- مقایسه های متعامد بین گروه های تیماری برای غلظت عناصر و نسبت آن ها

Table 5. Orthogonal contrasts between treatment groups for elements concentration and their ratios

گروه تیماری (treat. group)	مقایسه (contrast)	درجه آزادی (df)	(MS) میانگین مربعات								
			N	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺	N/Ca ²⁺	K ⁺ /Ca ²⁺	Mg ²⁺ /Ca ²⁺	(K ⁺ +Mg ²⁺) /Ca ²⁺	(N+K ⁺ +Mg ²⁺) /Ca ²⁺
^a ارقام (cultivars)	رد در مقابل گلدن (Red Vs. Golden)	1	0.16**	0.111**	0.002**	0.173**	0.007*	0.154**	0.004**	0.097**	0.200**
^b مناطق (regions)	سمیرم در مقابل پادنا (Semirom Vs. Padana)	1	0.129**	0.94**	0.001**	0.124**	0.003 ^{ns}	0.081**	0.004**	0.052**	0.117**
^c علائم (symptoms)	دارای علائم در مقابل فاقد علائم (with symp. Vs. witho. Symp.)	1	0.0002 ^{ns}	0.0009 ^{ns}	0.0001**	0.001 ^{ns}	0.001 ^{ns}	0.22*	0.0002 ^{ns}	0.020*	0.023*

ns, ** و *: به ترتیب فاقد اختلاف معنی دار، دارای اختلاف معنی دار در سطح ۱٪ و ۵٪.

ns, ** and *: Not significant, Significant at 1% and 5% probability level respectively.

a: مقایسه تیمارهای دارای علائم- رد- سمیرم، دارای علائم- رد- پادنا، فاقد علائم- رد- سمیرم و پادنا با تیمارهای دارای علائم- گلدن- سمیرم، دارای علائم- گلدن- پادنا، فاقد علائم- گلدن- سمیرم.

b: مقایسه تیمارهای دارای علائم- رد- سمیرم، دارای علائم- گلدن- سمیرم با تیمارهای دارای علائم- رد- پادنا، دارای علائم- گلدن- پادنا.

c: مقایسه تیمارهای دارای علائم- رد- سمیرم، دارای علائم- رد- پادنا، دارای علائم- گلدن- سمیرم، دارای علائم- گلدن- پادنا با تیمارهای فاقد علائم- رد- سمیرم و پادنا، فاقد علائم- گلدن- سمیرم و پادنا.

مقایسه میانگین گروه ارقام (رد دلشیز در مقابل گلدن دلشیز) نشان داد که غلظت عناصر در میوه های رقم رد

دلشیز به طور معنی داری نسبت به میوه های رقم گلدن دلشیز کمتر و نسبت های N/Ca^{2+} , K^+/Ca^{2+} , $(K^+ + Mg^{2+})/Ca^{2+}$ و $(N + K^+ + Mg^{2+})/Ca^{2+}$ بیش تر می باشد (جدول ۶). این وضعیت نشان می دهد که رقم رد دلشیز نسبت به رقم گلدن دلشیز در برابر اختلالات کلسیمی حساس تر یا مستعدتر است. در باغ های تجاری مناطق سمیرم و پادنا نیز بروز و شدت علائم این اختلالات روی رد دلشیز به مراتب بیش تر از گلدن دلشیز است. در یک تحقیق ویژگی های فیزیولوژیکی، فیزیوشیمیایی و مواد معدنی مرتبط با بروز لکه تلخ در ارقام سیب فوجی (Fuji) و کاتارینا (Catarina) مورد بررسی قرار گرفته، نتایج در خصوص مواد معدنی نشان داده که مقدار کلسیم در رقم کاتارینا نسبت به فوجی کم تر بوده و نسبت های N/Ca^{2+} , K^+/Ca^{2+} , $(K^+ + Mg^{2+})/Ca^{2+}$ و $(N + K^+ + Mg^{2+})/Ca^{2+}$ در بافت قسمت گل گاه میوه بیش تر بوده است که باعث گردیده وقوع و شدت لکه تلخ روی این رقم بعد از انبارداری بیش تر باشد (Miqueloto et al. 2014).

اختلاف معنی دار برای میانگین های عناصر و نسبت آن ها در میوه های دارای علائم بین دو محل نمونه برداری مورد انتظار بود (جدول ۶). کاسرو و همکاران (Casero et al. 2010) معتقدند شرایط رویشی یا آب و هوایی متفاوت در طول فصل باعث تجمع بیش تر سایر عناصر معدنی نسبت به کلسیم در میوه می شود که این تغییرات نسبت بروز و توسعه لکه تلخ را تحت تاثیر قرار می دهد. با توجه به این که غلظت عناصر در میوه های برداشت شده از منطقه پادنا نسبت به منطقه سمیرم کم تر است و به همین ترتیب نسبت های K^+/Ca^{2+} , $(K^+ + Mg^{2+})/Ca^{2+}$ و $(N + K^+ + Mg^{2+})/Ca^{2+}$ در میوه های منطقه پادنا بیش تر از سمیرم است. در مجموع به نظر می رسد که شرایط محیطی و اقلیمی در باغ های منطقه پادنا (برای هر دو رقم) برای بروز و توسعه اختلالات کلسیمی نسبت به سمیرم مساعدتر است. پادنا از نظر تقسیم بندی های اقلیمی به روش کوپن (Koppen) دارای زمستان های معتدل سرد با تابستان های خشک است در صورتی که سمیرم زمستان های معتدل سرد اما تابستان های گرم و خشک دارد (Karimi 1987). مطالعات قبلی در استونی، فنلاند و شیلی نشان داده است که دوره های رویشی خشک برای توسعه اختلالات فیزیولوژیکی در سیب مطلوب هستند (Dris et al. 1998; Yuri 1995). همچنین مشخص گردیده که تعداد زیادی از فاکتورهای محیطی مانند خشکی، رطوبت نسبی، نور و شرایط نامتعادل مواد معدنی در جذب، انتقال کلسیم به میوه، نقش کلسیم در سلول و حساسیت میوه به ناهنجاری های ناشی از کمبود کلسیم، نقش اساسی دارند (Ho and White 2005). خشک سالی و کاهش رطوبت نسبی باعث تنش آبی در گیاهان و محدود شدن حرکت کلسیم آوند چوبی به میوه می شود. علاوه بر آن، خشکی تعداد آوندهای چوبی فعال در میوه را کاهش می دهد که نتیجه آن کاهش توان بالقوه میوه در جذب کلسیم است. تنش های آبی در گیاه باعث کاهش جذب کلسیم و افزایش انواع اکسیژن واکنش پذیر در بافت میوه و آسیب دیدن غشای پلاسمایی می شود که به دنبال آن علائم کمبود کلسیم در میوه توسعه پیدا می کند (Yu et al. 2006; Ho and White 2005; Davies et al. 2000; Freitas and Mitcham 2012). نور و دمای هوای بالا به واسطه افزایش فتوسنتز باعث افزایش رشد میوه می شوند که نتیجه آن افزایش حساسیت میوه به ناهنجاری های ناشی از کمبود کلسیم خواهد بود (Ho and White 2005, Bertin et al. 2000). ناهنجاری های ناشی از کمبود کلسیم در شدت نور و دمای هوای بالاتر در شرایطی که میوه در حال رشد و توسعه است افزایش پیدا می کند (Hwan et al. 1998). علاوه بر آن، افزایش دما و نور باعث کاهش رطوبت نسبی می شود که نتیجه آن افزایش حساسیت میوه به ناهنجاری های ناشی از کمبود کلسیم می شود (Ho 1999).

مقایسه متعادل بین تیمارهای دارای علائم در مقابل فاقد علائم نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار برای عنصر منیزیم (در سطح ۰.۱٪) و برای نسبت های K^+/Ca^{2+} ، $(K^+ + Mg^{2+})/Ca^{2+}$ و $(N + K^+ + Mg^{2+})/Ca^{2+}$ در سطح ۰.۵٪ بود (جدول ۳). میانگین نسبت های K^+/Ca^{2+} ، $(K^+ + Mg^{2+})/Ca^{2+}$ و $(N + K^+ + Mg^{2+})/Ca^{2+}$ در گروه دارای علائم به ترتیب ۱۰/۵۱، ۱۱/۲۱ و ۱۳/۱۳ و در گروه فاقد علائم به ترتیب با ۵/۱۱، ۵/۷۹ و ۶/۶۶ بود (جدول ۶). این نسبت ها در گروه دارای علائم دو برابر گروه فاقد علائم است. این در حالی است که برای نسبت های N/Ca^{2+} و Mg^{2+}/Ca^{2+} اختلاف معنی دار بین دو گروه دارای علائم و فاقد علائم دیده نشد که بیانگر نقش اساسی پتاسیم در بروز و توسعه اختلالات کلسیمی در هر دو منطقه سمیرم و پادنا روی هر دو رقم تحت بررسی می باشد. بنابراین عارضه فیزیولوژیکی مورد مطالعه رابطه منفی با مقدار پتاسیم و نسبت K^+/Ca^{2+} و رابطه مثبت با مقدار کلسیم موجود در میوه دارد.

تحقیق حاضر اظهار نظرهای سایر محققین در خارج (Amarante 2006; Miqueloto 2014) و داخل (Shahabi and Malakouti 2000, Manouchehri and Malakouti 2000; Dilmaghani Hassanlouei *et al.* 2004) را تایید و نشان می دهد که این ناهنجاری به طور مشخص علاوه بر کلسیم تحت تاثیر مواد غذایی دیگر نیز قرار دارد. پتاسیم به عنوان یک عنصر غذایی درگیر در فرایندهای بزرگ شدن سلول شناخته شده است؛ زیادی پتاسیم باعث رشد سریع گیاه و میوه می شود که منجر به کاهش جذب کلسیم در میوه، کاهش مقدار کلسیم میوه و حساسیت بالای میوه به اختلالات ناشی از کمبود کلسیم می شود. کاتیون های پتاسیم و منیزیم در اتصال به سایت ها در غشای پلاسمایی با کلسیم رقابت می کنند؛ بنابراین زیادی پتاسیم و منیزیم باعث جایگزینی آن ها در سطح غشای پلاسمایی خواهد شد که نقشی در ساختار و عمل کرد غشای پلاسمایی ندارند، در نتیجه غشای پلاسمایی نشت خواهد کرد و باعث حساسیت بافت میوه به اختلالات ناشی از کمبود کلسیم می شود (Yermiyahu *et al.*, 1994; Elumalai *et al.*, 2002; Freitas *et al.*, 2010; Freitas *et al.*, 2012). مشخص شده است که کلسیم به تنهایی بهترین پارامتر برای تعیین وقوع لکه تلخ نیست بلکه بروز و توسعه آن با نسبت های K^+/Ca^{2+} ، N/Ca^{2+} ، K^+/Ca^{2+} ، Mg^{2+}/Ca^{2+} ، $(K^+ + Mg^{2+})/Ca^{2+}$ و $(N + K^+ + Mg^{2+})/Ca^{2+}$ و رقم در ارتباط است (Miqueloto *et al.* 2014; Benavides *et al.* 2001; Amarante *et al.* 2006, 2009). یافته های تحقیق حاضر نیز این موضوع را تایید می نماید. میزان کلسیم، منیزیم، پتاسیم و ازت استاندارد (به ترتیب با ۰/۰۴-۰/۰۵، ۰/۰۴-۰/۰۶، ۰/۰۹-۱/۰۴ و ۰/۲۹-۰/۴۳ میلی گرم در ۱۰۰ گرم ماده خشک) در میوه ارقام رد و گلدن دلشز است (Malakouti 2014). در تحقیق حاضر میزان این عناصر در میوه نسبت به مقدار توصیه شده و شاهد منطقه دارای نوسان است (جدول ۴). غلظت بالای عناصر غذایی ازت، پتاسیم و منیزیم نسبت به کلسیم منجر به عدم تعادل غذایی و در نتیجه بیش تر شدن نسبت های K^+/Ca^{2+} ، N/Ca^{2+} و $(K^+ + Mg^{2+})/Ca^{2+}$ در میوه می شوند که به واسطه آن کاهش معنی داری در استحکام بافت میوه در دوران انبارداری دیده می شود (Casero *et al.* 2010). تحقیقات نشان می دهد که میوه های با کمبود کلسیم و سطوح بالای نسبت های K^+/Ca^{2+} ، N/Ca^{2+} ، $(K^+ + Mg^{2+})/Ca^{2+}$ و $(N + K^+ + Mg^{2+})/Ca^{2+}$ به لکه تلخ مستعدتر هستند (Miqueloto *et al.* 2014; Amarante *et al.* 2009; Ferguson and Watkins 1989) که با یافته های این تحقیق مطابقت می نماید. وقوع لکه تلخ در ارتباط با کمبود کلسیم و زیادبود پتاسیم، منیزیم و ازت در میوه تشخیص داده شده است (Ferguson and Watkins 1989; Saure 2005; Amarante *et al.* 2006). کلسیم

به طور مستقیم در سازمان دهی ساختار دیواره سلولی ایفای نقش می کند، وقتی غلظت آن در بافت کم است استحکام بافت به علت محدودیت ارتباط بین پروتئین های دیواره سلولی در لاملای میانی کاهش می یابد (Qiu *et al.* 1995; Poovaiah 1986). کاهش میزان کلسیم و متعاقب آن افزایش مقادیر نسبت های K^+/Ca^{2+} ، N/Ca^{2+} ، $(K^+ + Mg^{2+})/Ca^{2+}$ و $(N + K^+ + Mg^{2+})/Ca^{2+}$ در میوه باعث بروز لکه تلخ به خصوص در گل گاه می شود (Ferguson and Watkins 1989). لکه تلخ یک عارضه فیزیولوژیکی در میوه های سیب است که اساساً در هنگام انبارداری اتفاق می افتد. اما در مواردی به صورت حاد قبل از برداشت نیز بروز می کند. این عارضه با فروپاشی سلول های گوشت درست زیر پوست مشخص می شود که باعث تورفتگی های کم عمق تیره در سطح پوست و غالباً در قسمت گل گاه میوه می شود (Ferguson and Watkins 1989; Saure, 2005; Amarante *et al.* 2006). در باغ های تجاری سمیرم و پادنا علائم مربوط به اختلالات ناشی از کلسیم در سال های اخیر به علت تغییرات آب و هوایی و استفاده بیش از حد بعضی عناصر غذایی به منظور مقابله با خشک سالی و رنگ اندازی میوه ها در شرایط باغ اتفاق می افتد که غالباً تا زمان برداشت میوه های دارای علائم ریزش می کنند یا این که باغداران نسبت به حذف آن ها قبل از انتقال به سردخانه اقدام می کنند.

جدول ۶- مقایسه میانگین های گروه های تیماری برای غلظت عناصر و نسبت آن ها

Table 6. Means comparison of elements concentration and their ratios for treatment groups

گروه تیماری (treat. group)	مقایسه* (contrast)	تیمار (treatment)	میانگین (Mean)								$(K^+ + Mg^{2+})/Ca^{2+}$	$(N + K^+ + Mg^{2+})/Ca^{2+}$
			N	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺	N/C ²⁺ a	K ⁺ /Ca ²⁺	Mg ²⁺ /Ca ²⁺			
ارقام (cultivars)	رد در مقابل گلدن (Red Vs. Golden)	رد دلشیز (Red del.)	0.71b	0.76b	0.04b	0.07b	2.58a	11.81a	0.63a		12.53a	15.11a
		گلدن دلشیز (Golden Del.)	7.27a	7.06a	0.19a	6.59a	1.61b	6.03b	0.28b		6.84b	7.43b
مناطق (regions)	سمیرم در مقابل پادنا (Semi. Vs. Pad.)	سمیرم (Semirom)	6.42a	6.33a	0.17a	5.75a	11.86a	6.78b	0.32b		7.60b	8.59b
		پادنا (Padena)	0.14b	0.73b	0.03b	0.05b	2.63a	13.24a	0.67a		13.91a	16.54a
علائم (symptoms)	دارای علائم در مقابل فاقد علائم (with sympt. Vs. witho. Sympt.)	دارای علائم (with sympt.)	2.58a	3.13a	0.09b	2.49a	2.30a	10.51a	0.52a		11.21a	13.13a
		فاقد علائم (witho. sympt.)	5.04a	5.09a	0.17a	4.62a	1.62a	5.11b	0.32a		5.79b	6.66b

میانگین ها با حروف مشابه بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ اختلاف معنی دار ندارند.

Similar letters in each column indicate no significant differences at 5% level of Duncan's multiple range test.

a: گروه های تیماری مشابه جدول ۵ است.

۴-۳- بررسی غلظت عناصر و نسبت آن ها در برگ و میوه رقم رد دلشیز

تجزیه واریانس غلظت عناصر و نسبت آن ها در برگ و میوه های سیب رقم رد دلشیز در دو منطقه سمیرم و پادنا نشان داد که بین تیمارهای غلظت همه عناصر مورد ارزیابی و نسبت های آن ها در سطح ۱٪ اختلاف معنی دار وجود دارد (جدول ۷).

جدول ۷- تجزیه واریانس غلظت عناصر و نسبت آن‌ها در برگ و میوه سیب رقم رد دلشیز

Table 7. Analysis of variance of elements concentration and their ratios in fruits and leaves of Red delicious

S.O.V.	منابع تغییرات	درجه آزادی (df)	میانگین مربعات (MS)								
			N	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺	N /Ca ²⁺	K ⁺ /Ca ²⁺	Mg ²⁺ /Ca ²⁺	(K ⁺ +Mg ²⁺) /Ca ²⁺	(N+K ⁺ +Mg ²⁺) /Ca ²⁺
Treatment	تیمار	5	0.0047**	0.0013**	0.002**	0.01**	0.0051**	0.065**	0.009**	0.0063**	0.066**
Error	خطا	14	0.0004	0.0001	0.0003	0.0001	0.0004	0.0022	0.0001	0.002	0.002

**: تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۱٪

**: Significant at 1% probability level.

مقایسه میانگین‌ها (جدول ۸) نشان می‌دهد که تیمارهای مختلف میوه برای عناصر و نسبت‌های مورد ارزیابی (غیر از نسبت Mg^{2+}/Ca^{2+}) در یک گروه آماری قرار گرفته‌اند، اما بین تیمارهای مختلف برگ برای عناصر پتاسیم، کلسیم و نسبت Mg^{2+}/Ca^{2+} اختلاف معنی دار وجود دارد و برای سایر عناصر و نسبت‌ها اختلاف معنی دار دیده نشد. مقایسه میانگین‌ها نشان می‌دهد که غلظت همه عناصر در برگ به‌طور معنی داری چندین برابر غلظت همان عناصر در میوه است و به همین ترتیب نسبت‌های عناصر در برگ چندین برابر کم‌تر از همان نسبت‌ها در میوه است (جدول ۸). به عبارتی دیگر، کاهش غلظت کلسیم در میوه نسبت به برگ باعث گردیده تا نسبت‌ها در میوه افزایش پیدا کنند. این موضوع احتمالاً به واسطه تجمع بیش‌تر عناصر در برگ نسبت به میوه در نتیجه تعرق بیش‌تر در برگ و انتقال کم‌تر کلسیم از برگ به میوه نسبت به سایر عناصر است (Ho and White 2005). ازت، منیزیم و پتاسیم بر خلاف کلسیم تحرک زیادی در گیاه دارند و از طریق آوندهای آبکش در کل گیاه انتقال پیدا می‌کنند. همچنین نرخ تعرق در برگ‌ها بیش‌تر از میوه است که نتیجه آن غلظت بیش‌تر کلسیم در برگ نسبت به میوه می‌باشد. انتقال کلسیم به میوه، علاوه بر اندازه میوه، تحت تاثیر فشار جزئی بخار آب جو و نسبت برگ به میوه نیز قرار دارد (Tromp 1975; Ferguson and Watkins 1989; Freitas *et al.* 2011). علاوه بر آن، از دست دادن قابلیت آوند چوبی باعث کاهش جذب، انتقال و توزیع نابرابر کلسیم در میوه می‌شود که برای بروز و توسعه لکه تلخ مطلوب است. از دست دادن عمل کرد آوندهای چوبی ممکن است در ارتباط با افزایش در تعداد و یا طول شدن سلول‌های پارانشیمی باشد که باعث فشردن آوندهای چوبی می‌شوند بدون آن که روی آوندهای آبکش تاثیر بگذارند (Lang and Ryan 1994; Freitas *et al.* 2010; Miqueloto *et al.* 2014). در این حالت عمل کرد آوندهای آبکش به خاطر این که از سلول‌های زنده تشکیل شده‌اند بدون تغییر باقی می‌ماند و همچنان به حمل و نقل پتاسیم، منیزیم و ازت در طول رشد میوه ادامه می‌دهند. بدین ترتیب زیاده‌بود این عناصر در میوه نسبت به کلسیم رخ می‌دهد، که برای بروز و توسعه لکه تلخ مطلوب است. انتقال کلسیم به میوه به‌طور انحصاری از طریق آوندهای چوبی و به صورت غیرفعال است که با تعرق و رشد میوه کنترل می‌شود (Drazeta *et al.* 2004; Miqueloto *et al.* 2014; Taylor and Locascio 2004). هر چقدر اندازه میوه سیب بزرگ‌تر باشد به خاطر بزرگ‌تر شدن سلول‌ها میزان کلسیم رقیق‌تر و حساس‌تر به لکه تلخ است. از دست دادن عمل کرد دستجات اولیه آوند چوبی در قسمت گل‌گاه میوه بیش‌تر است به این دلیل بروز علائم لکه تلخ در این قسمت از میوه بیش‌تر مشاهده می‌شود (Saure 2005; Miqueloto *et al.* 2014). کاهش تعرق برگ (با افزایش رطوبت نسبی) و کاهش تنش آبی گیاه باعث افزایش جذب کلسیم میوه و کاهش حساسیت میوه به اختلالات ناشی از کم‌بود کلسیم می‌شود (Guichard *et al.* 2005). برگ‌ها و میوه برای آب آوند چوبی و مواد غذایی در گیاه رقابت می‌کنند و سرانجام نرخ جذب از آوند

چوبی با نرخ‌های تعرق و رشد این اندام‌ها تعیین می‌شود (Passam *et al.* 2007). به‌علت این که نرخ تعرق در برگ‌ها بیش‌تر از میوه است در نتیجه غلظت کلسیم در برگ نیز بیش‌تر از میوه است (Freitas *et al.* 2011).

جدول ۸- مقایسه میانگین‌های غلظت عناصر و نسبت آن‌ها در برگ و میوه‌های سیب رقم رد دلشز
Table 8. Means comparison of elements concentration and their ratios in fruits and leaves Red delicious

تیمار (treatment)	میانگین (Mean)								
	N	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺	N /Ca ²⁺	K ⁺ /Ca ²⁺	Mg ²⁺ /Ca ²⁺	(K ⁺ +Mg ²⁺) /Ca ²⁺	(N+K ⁺ +Mg ²⁺) /Ca ²⁺
میوه- دارای علائم- سمیرم (fruit-with sympt.-Sem.)	0.152b	0.72c	0.034b	0.073c	2.085a	10.278a	0.465b	10.743a	12.830a
میوه- دارای علائم- پادنا (fruit-with sympt.-Sem.)	0.160b	0.72c	0.044b	0.053c	3.190a	14.565a	0.880a	15.448a	16.638a
میوه- فاقد علائم- سمیرم و پادنا (fruit-witho. sympt.-Sem. and Pad.)	0.235b	0.94bc	0.046b	0.098c	2.355a	9.810a	0.480b	10.290a	12.645a
برگ- دارای علائم- سمیرم (leave-with sympt.-Sem.)	1.252a	1.302b	0.397a	1.512ab	0.870b	0.908b	0.272b _c	1.183b	2.050b
برگ- دارای علائم- پادنا (leave-with sympt.-Pad.)	1.072a	1.312b	0.500a	1.425b	0.80ab	0.948b	0.375b _c	1.325b	2.123b
برگ- فاقد علائم- سمیرم و پادنا (leave-witho. Sympt.-Sem. And Pad.)	1.310a	1.985a	0.36a	2.075a	0.70ab	0.995b	0.195c	1.190b	1.890b

میانگین‌ها با حروف مشابه بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ اختلاف معنی‌دار ندارند.

Similar letters in each column indicate no significant differences at 5% level of Duncan's multiple range test.

۴-۴- همبستگی بین برگ و میوه برای غلظت عناصر و نسبت آن‌ها در رقم رد دلشز

ضرایب همبستگی بین برگ و میوه برای غلظت هر عنصر و نسبت آن‌ها در رقم رد دلشز در دو منطقه سمیرم و پادنا نشان داد که برای ازت و پتاسیم به‌ترتیب در سطح ۵٪ و ۱٪ همبستگی مثبت و معنی‌دار وجود دارد (جدول ۹). با در نظر گرفتن تجزیه‌واریناس عناصر و نسبت آن‌ها در برگ (جدول ۷) و ضرایب همبستگی بین برگ و میوه، نتیجه گرفته می‌شود که بر مبنای غلظت عناصر و یا نسبت آن‌ها در برگ‌های درختان سیب رقم رد دلشز نمی‌توان نسبت به احتمال بروز اختلالات کلسیمی (مانند لکه‌تلخ، لکه‌چوب‌پنبه‌ای و لکه‌نقطه‌ای‌عدسک) اظهار نظر قطعی کرد. کلسیم یک عنصر غذایی است که با دیگر عناصر به‌خاطر انتقال مقدار کم آن به داخل میوه نسبت به برگ اختلاف دارد (Saure 2002). محققان معتقداند که مانع اصلی در انتقال کلسیم به میوه، تا حدودی نقص در کانال‌های انتقال یا نیروهای محرک برای انتقال کلسیم است، اما مانع اصلی کنترل هورمونی بالاخص جیبرلین می‌باشد که از نظر فیزیولوژیکی نشان داده شده باعث مهار انتقال کلسیم می‌شود. تغییر سطح جیبرلین تحت تاثیر فاکتورهای محیطی می‌تواند عامل اختلاف‌های مشاهده شده در میزان کلسیم در میوه در سال‌ها و نواحی مختلف باشد. جیبرلین علاوه بر محدود کردن جذب کلسیم، تقسیم‌بندی و توزیع آن‌را در سطح سلول تحت تاثیر قرار می‌دهد (Saure 2005). جیبرلین‌ها مانع تمایز بافت و در نتیجه مانع توسعه آوندهای چوبی در بافت میوه می‌شوند، آن‌ها باعث بزرگ شدن سلول و انسداد آوندهای چوبی می‌شوند که مانع از حرکت آب و مواد غذایی به داخل میوه می‌شوند (Ho and White 2005).

جدول ۹- ضرایب همبستگی بین برگ و میوه برای غلظت عناصر و نسبت آنها در رقم رد دلشیز

Table 9. Correlation coefficients between fruits and leaves for elements concentration and their ratios in Red delicious

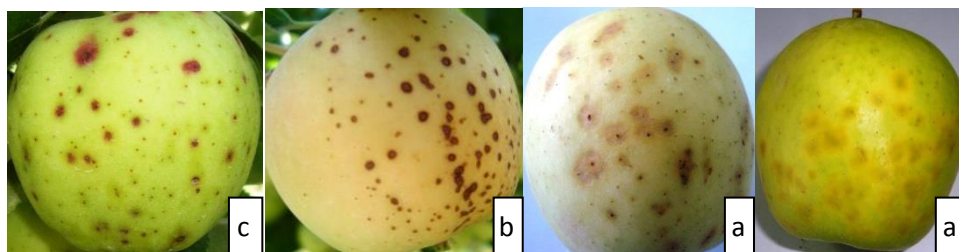
عنصر (mineral)	ضریب همبستگی (r)	نسبت عناصر (minerals ratio)	ضریب همبستگی (r)
N	0.682*	N/Ca ²⁺	0.316 ^{ns}
K ⁺	0.944**	K ⁺ /Ca ²⁺	0.212 ^{ns}
Mg ²⁺	0.240 ^{ns}	Mg ²⁺ /Ca ²⁺	0.316 ^{ns}
Ca ²⁺	0.271 ^{ns}	(K ⁺ +Mg ²⁺)/Ca ²⁺	0.214 ^{ns}
		(N+K ⁺ +Mg ²⁺)/Ca ²⁺	0.138 ^{ns}

ns, **, * و *: به ترتیب فاقد اختلاف معنی دار، دارای اختلاف معنی دار در سطح ۱٪ و ۵٪.

ns, ** and *: Not significant, Significant at 1% and 5% probability level respectively.

۵- تفکیک علائم اختلالات کلسیمی در باغ‌های تجاری سمیرم و پادنا

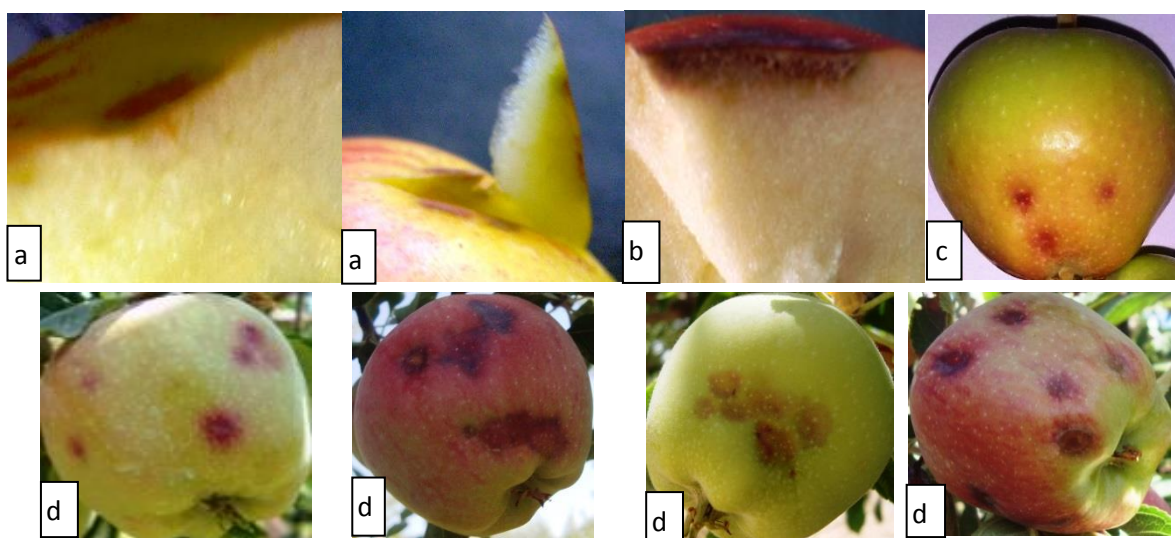
علائم مربوط به اختلالات کلسیمی روی رقم گلدن دلشیز غالباً به صورت سطحی (شکل ۱۶) دیده شد که در سطح پوست و به صورت پراکنده در سراسر میوه و به رنگ‌های قهوه‌ای تیره و روشن رؤیت گردید. در تجزیه عناصر در حالتی که رنگ لکه‌ها قهوه‌ای تیره است پتاسیم اضافی و در حالتی که رنگ لکه‌ها قهوه‌ای روشن است پتاسیم و ازت اضافی و موقعی که ترکیبی از این دو نوع علائم وجود داشت منیزیم اضافی نسبت به نمونه فاقد علائم در میوه‌ها مشاهده شد (شکل ۱۷). این علائم در شرایط باغ فقط در پوست دیده می‌شود اما بعد از برداشت ممکن است به زیرپوست و لایه بیرونی گوشت میوه نیز توسعه پیدا کند. کمبود کلسیم در دیواره سلولی فعالیت آنزیم‌هایی مانند پلی‌گالاکتروناز که نقش اساسی در نرم شدن بافت میوه دارند را افزایش می‌دهد (Huber et al. 2001). کلسیم پیوندهای یونی با آنیون فسفات فسفولیپیدهای غشای پلاسمایی می‌دهد که باعث حفظ آن می‌شود (Freitas et al. 2010). علاوه بر آن، سطوح بالای پتاسیم و منیزیم و کمبود کلسیم ممکن است منجر به رقابت عناصر برای سایت‌های اتصال کلسیم در غشای پلاسمایی بشود که منجر به فروپاشی غشای پلاسمایی و مرگ سلول خواهد شد (Freitas et al. 2010). زیادی ازت باعث افزایش رشد ساقه و برگ می‌شود که نتیجه آن افزایش حرکت کلسیم به سمت برگ‌ها و دور شدن از میوه در نتیجه افزایش تعرق برگ در کل گیاه است. زیادی ازت همچنین باعث بزرگ شدن سریع اندازه سلول‌ها و میوه و در نتیجه رقیق شدن بیش تر مقدار کلسیم موجود در میوه می‌شود (Saure 2001, 2005; Ho and White 2005). ارتباط بسیار قوی بین زیادی ازت و کاهش استحکام بافت میوه وجود دارد به خاطر این که زیادی ازت توانایی بافت مزوکارپ را در تجمع کلسیم کاهش می‌دهد.



شکل ۱۶- علائم اختلالات کلسیمی روی گلدن دلشیز (a) زیادبود پتاسیم و ازت، (b) زیادبود پتاسیم و (c) زیادبود منیزیم.

Fig.16. Calcium disorders symptoms on Golden Delicious a) high potassium and nitrogen b) high potassium and c) high magnesium

علائم ناشی از اختلالات کلسیمی روی رقم رد دلشیز به دو صورت سطحی و عمقی دیده شد. در حالت سطحی لکه‌ها فقط در پوست و در حالت عمقی به لایه‌های گوشتی زیرپوست نیز نفوذ می‌کند و حالت چوب‌پنبه‌ای به خود می‌گیرد (شکل ۱۷). اختلالات چوب‌پنبه‌ای شدن (corking disorders) در اپیدرم، هیپودرم و قسمت‌های قشر بیرونی میوه اتفاق می‌افتد، لکه تلخ معمولاً در کورتکس (گوشت) درست زیر اپیدرم (پوست) و لکه نقطه‌ای عدسک (از عدسک‌ها شروع و فقط در پوست است) مشاهده می‌شود (Simons 1962, 1968). بنابراین در مجموع در باغ‌های تجاری سیب شهرستان سمیرم سه نوع عارضه اختلالات کلسیمی شامل لکه تلخ (روی هر دو رقم رد دلشیز و گلدن دلشیز)، چوب‌پنبه‌ای شدن (روی رقم رد دلشیز) و لکه نقطه‌ای عدسک (روی رقم گلدن دلشیز) دیده می‌شود.



شکل ۱۷- علائم اختلالات کلسیمی روی رد دلشیز: (a) لکه‌های سطحی، (b و c) حالت چوب‌پنبه‌ای به ترتیب زیرپوست و روی پوست و (d) فرم‌های مختلف خسارت اختلالات کلسیمی.

Fig.18. Calcium disorder symptoms on Red Delicious a) surface spot b and c) cork spot under and on the surface of skin

نتیجه‌گیری کلی

- ۱- اکثر اختلالات موجود روی میوه ارقام رد دلشیز و گلدن دلشیز در باغ‌های تجاری شهرستان سمیرم مربوط به کمبود کلسیم یا عدم تعادل بین کلسیم و عناصر غذایی پتاسیم و ازت است. (غالباً باغ‌داران برای کاهش تنش‌های آبی ناشی از خشک‌سالی و رنگ‌انداختن میوه‌ها بدون برنامه مشخص از پتاسیم و برای بزرگ‌تر شدن اندازه میوه‌ها از منابع ازته یا کودهای حیوانی به صورت بی‌رویه استفاده می‌کنند که نتیجه آن عدم تعادل بین کلسیم و عناصر پتاسیم و ازت در میوه خواهد بود).
- ۲- بهترین شاخص برای تعیین احتمال بروز اختلالات کلسیمی در باغ‌های تجاری سمیرم نسبت K^+/Ca^{2+} و بعد از آن نسبت‌های N/Ca^{2+} و $(K^++N)/Ca^{2+}$ است.
- ۳- هر دو رقم موجود در باغ‌های منطقه نسبت به اختلالات کلسیمی حساس‌اند اما رد دلشیز مستعدتر است.
- ۴- غالب تحقیقات انجام‌شده روی ناهنجاری‌های ناشی از کلسیم بعد از برداشت و در سردخانه انجام شده

- است. نتایج این تحقیق نشان داد که احتمال بروز این ناهنجاری ها در فاز سوم رویشی نیز وجود دارد. بعضی علائم مشاهده شده مربوط به ویروس ها است که غالباً توسط نهال های آلوده به باغ ها آورده شده اند و به صورت نهفته در درختان بوده اند که با مساعد شدن شرایط به خصوص دما بروز و توسعه پیدا کرده اند.
- ۵- خسارت برخی آفات موجود در باغات منطقه، از جمله شته سبز سیب و سنک های خانواده Miridae، روی میوه سیب شبیه علائم اختلالات کلسیمی می باشد. خسارت این آفات بر اساس مجموع علائم از اختلالات کلسیمی قابل تمایز می باشد.
- ۶- ویروس *Apple chlorotic leaf spot virus* روی میوه و برگ دلشیز و ویروئید *Apple scar skin viroid* نیز روی میوه های رد دلشیز علائم لکه ایجاد می نمایند.

پیشنهادهای

- ۱- با توجه به این که فعالیت ترکیبی تمام مکانیزم هایی که غلظت و متمرکز کردن کلسیم سلولی در بافت میوه را کنترل می کنند حساسیت میوه به اختلالات کلسیمی را تعیین خواهد کرد، بنابراین برای هر ژنوتیپ و شرایط محیطی، استراتژی قابل اعتماد برای پیش گیری از اختلالات کلسیمی، بایستی ابتدا روی تشخیص تنگناهای محدود کننده جذب کل کلسیم و یا تنظیم به موقع تقسیم بندی کلسیم سلولی در بافت میوه متمرکز شود و بعد از تشخیص تنگناهای محدود کننده اختلالات مربوط به کلسیم، استراتژی های کنترل می تواند به طور موثر انجام شود.
- ۲- با توجه به این که اختلالات کلسیمی منشا ژنتیکی دارد، اصلاح واریته های راه حل مطلوب است. انتظار بر این است که بین ارقام تجاری از نظر حساسیت به این عارضه اختلاف وجود دارد که مستلزم بررسی بیشتر است.
- ۳- تعداد عکس العمل های متقابلی که جذب و توزیع کلسیم را تحت تاثیر قرار می دهند آن قدر زیاد است که بعید به نظر می رسد در آینده نزدیک بدون کاربرد مستقیم آن در اندام های حساس شاهد حذف کامل کمبود کلسیم باشیم (Bangerth 1979)، این وضعیت اساساً تا آلان تغییر نکرده است (Saure 2005). محلول پاشی کلسیم از اکثر ناهنجاری های فیزیولوژیکی جلوگیری می کند (Lotze and Theron 2006) اما میزان موفقیت با توجه به ژنتیک رقم، فصل رشد و شرایط محیطی متفاوت است. افزایش کلسیم در میوه در اثر محلول پاشی آن، به طور معمول کم است یا حتی وجود ندارد (Neilsen and Neilsen 2002; Paulo 2008). بنابراین، بایستی هم زمان با کاربرد کلسیم از طریق محلول پاشی، نقش سایر عوامل به خصوص تنظیم کننده های رشد نیز مد نظر قرار گرفته و بررسی شود.
- ۴- مقادیر آستانه حداقل که در آن به احتمال زیاد اختلالات کلسیمی اتفاق می افتد و یا آستانه حداکثر که در آن انتظار می رود میوه در سلامت باشد سال به سال و منطقه به منطقه به دلایل ناشناخته تغییر می کند و بنابراین نظرات مختلفی درباره زمان درمان و میزان درمان ارائه شده است (Benavides et al. 2001; Kadir 2004) لذا در باغ های تجاری با توجه به تغییرات اقلیمی و خشک سالی های اخیر بایستی برنامه های تحقیقاتی مستمر در خصوص تنگناها ادامه داشته باشد.
- ۵- نظر به تاثیر سایر عناصر غذایی در بروز و توسعه اختلالات کلسیمی بایستی مدیریت تغذیه ای باغ ها

براساس اصول علمی و شرایط هر منطقه در ابتدای هر سال تنظیم و به باغداران ارائه گردد. در این راستا ایجاد یک باغ پایلوت در هر منطقه که در آن شرایط بهینه تغذیه رعایت شده باشد، می تواند به عنوان الگو مورد استفاده باغداران قرار گیرد.

۶- در خصوص نهال های عاری از ویروس و ویروئید بایستی اقدامات بنیادی و اساسی در تولید و توزیع نهال صورت گیرد.

۷- نسبت به شناسایی مکان های عاری از ویروس و ویروئید در راستای برنامه سالم سازی اقدام گردد.

۸- در باغ های سیب منطقه علائم تیپیک زنگار میوه ناشی از عوامل مختلف از جمله کودهای شیمیایی، سرمازدگی، آفتاب سوختگی و بیماری سفیدک پودری مشهود بود و در برخی موارد به خصوص در اواخر فصل و همزمان با محلول پاشی کلسیم شیوع داشت. بنابراین لازم است مطالعه جامعی درباره عوامل موثر در بروز زنگار میوه در باغات منطقه و بررسی راهکارهای پیش گیری و کنترل آن انجام گیرد.

۹- غالباً چند سم به صورت مخلوط و در بعضی موارد مخلوط با کودهای شیمیایی روی درختان محلول پاشی می گردد، این درحالی است که سم پاش ها معمولاً همزن ندارند و باعث می گردد که محلول توزیع یکنواخت نداشته باشد و باعث بروز عارضه زنگار میوه گردد. بنابراین توصیه می شود حتی المقدور از اختلاط سموم با یکدیگر و یا اختلاط سموم با کودها خودداری شود و کودهای شیمیایی به صورت خاک کاربرد مصرف شوند.

سپاس گزاری: به طور خاص از جناب مهندس اصغر ممسن زاده کرمانی که پیگیری های میدانه و دلسوزانه در راستای تصویب و اجرای این پروژه نمودند تشکر و قدردانی می گردد.

References

- Alford, D. V. 1984. A colour atlas of fruit pests, their recognition, biology and control. Wolfe Publication 320 p.
- Alipour, Z., S. Ebrahimi, A. A. Shahabi and M. J. Malakouti. 2001. Calcium news (Role of calcium in improving the quality of agricultural products). *Technical Bulletin* No. 265. Supreme Council of biofertilizers and efficient use of fertilizers and Pesticides in Agriculture. Karaj. Iran.
- Amarante, C. V. T., A. Miqueloto, S.T.D. Freitas, C.A. Steffens, J. P. G. Silveira and T.R. Corrêa. 2013. Fruit sampling methods to quantify calcium and magnesium contentsto predict bitter pit development in 'Fuji' apple: A multivariate approach. *Scientia Horticulturae* 157 : 19-23.
- Amarante, C. V. T., D. V. Chaves and P. R. Ernani. 2006. Analise multivariada de atributos nutricionais associados ao bitter pit em mac, as Gala. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 41: 841-846.
- Amarante, C. V. T., P. R. Ernani and C. A. Steffens. 2009. Predição de "bitter pit" em maçãs 'Gala' por meio da infiltração dos frutos com magnésio. *Revista Brasileira de Fruticultura* 31: 962-968.
- Amarante,, C. V. T. , P. R. Ernni and D. V. Chaves. 2005. Fruit infiltration with magnesium is a feasible way to predict bitter pit susceptibility in 'Gala' apples grown in Southern Brazil. *Acta Horticulturae* 682: 1271-1274.
- Anonymous. 2011. Tarnished plant bug and other stinging insects. Available at:

- <http://www.omafra.gov.on.ca/english/crops/facts/tarbug.htm>.
- Anonymous. 2015c. Insecticides and miticides. Available at: ipm/ncsu.edu/apple/orchardguide/insectices.pdf.
- Bangerth, F. 1979. Calcium-related physiological disorders in plants. *Annu. Rev. Phytopathol.* 17, 97–122.
- Banuelos, G.S., Bangerth, F., Marschner, H., 1987. Relationship between polar basipetal auxin transport and acropetal Ca²⁺ transport into tomato fruits. *Physiologia Plantarum* 71: 321–327.
- Beers, E. H., S. C. Hoyt, and M. J. Villet. 1993. Apple aphid and spirea aphid. Available at: Jenny.tfrec.wsu.edu/opm/dispalyspecies.php?pn=380.
- Benavides, A., I. Recasens, T. Casero and J. Puy. 2001. Chemometric analyses of ‘Golden Smoothee’ apples treated with two pre-harvest calcium spray strategies in the growing season. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 81: 943-952.
- Bertin, N., S. Guichard, C. Leonardi, J. J. Longuenesse, D. Langlois, and B. Navez. 2000. Seasonal evolution of the quality of fresh glasshouse tomatoes under Mediterranean conditions, as affected by air vapour pressure deficit and plant fruit load. *Annals of Botany* 85: 741–750.
- Bound, S. A. and C. R. Summers. 2001. The effect of pruning level and timing on fruit quality in red ‘Fuji’ apple. *Acta Horticulturae*, Wageningen 557: 295-302.
- Bramlage, W. J., M. Drake and J. H. Baker. 1974. Correlations of calcium content of ‘Baldwin’ apples with leaf calcium, tree yield and occurrences of physiological disorders and decay. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 94(4): 379-380.
- Brown, M. W. 2003. Characterization of stink bug (Heteroptera: Pentatomidae) damage to mid- and late-season apples. *Journal of Agricultural and Urban Entomology* 20(4): 193-202.
- Buccheri, M. and C. Di Vaio. 2004. Relationship among seed number, quality, and calcium content in apple fruits. *Journal of Plant Nutrition*, Monticello 27(10): 1735-1746.
- Buti, M., L. Poles, D. Caset, P. Magnago, F. Fernandez, R. J. Colgan, R. Velasco and D. J. Sargent. 2015. Identification and validation of a QTL influencing bitter pit symptoms in apple (*Malus × domestica*). *Molecular Breeding* 35:29.
- Casero, T., A. L. Benavides and I. Recasens. 2010. Interrelation Between Fruit Mineral Content and Pre-harvest Calcium Treatments on ‘Golden Smoothee’ Apple Quality. *Journal of Plant Nutrition* 33: 27–37.
- Dario, L., V. Darko, S. Zdravka, S. Silvio and P. Ivan. 2013. Identification of *Colletotrichum* Species Causing Bitter Rot of Apple and Pear in Croatia. *J. Phytopathology* 161:284–286.
- Davies, W. J., M. A. Bacon, D. S. Thompson, W. Sobeih and L. G. Rodrigez. 2000. Regulation of leaf and fruit growth in plants growing in drying soil: Exploration of the plants’ chemical signaling system and hydraulic architecture to increase the efficiency of water use in agriculture. *Journal of Experimental Botany* 51:1617–1626.
- Desvignes J. C., N. Grasseau, R. Boyé, D. Cornaggia, F. Aparicio, F. Di Serio, R. Flores. 1999. Biological properties of apple scar skin viroid: isolates, host range, different sensitivity of apple cultivars, elimination, and natural transmission. *Plant Disease* 83: 768-772.
- Desvignes, J. C. and R. Boye. 1988. Different diseases caused by the chlorotic leaf spot virus on the fruit trees. *Acta Horticulturae* 235 :31-36.
- Dilmaghani Hassanlou, M. R., M. Taheri and M. J. Malakouti. 2004. The Interactive Effects of Potassium and Calcium on the K/Ca and Quality of Apple Fruits (in Naghadeh). *Journal of Agricultural Engineering Research* 5(20): 71-84.
- Drazeta, L. L., A. Lang, A. J. Hall and R. K. Volz. 2004. Causes and effects of changes in xylem functionality in apple fruit. *Annals of Botany* 93: 275-282.
- Dris, R., R. Niskanen and E. Fallahi. 1998. Nitrogen and calcium nutrition and fruit quality of commercial apple cultivars grown in Finland. *Journal of Plant Nutrition* 21: 2389-2402.
- Elumalai, R. P., P. Nagpal and J. W. Reed. 2002. A mutation in the Arabidopsis KT2/KUP2 potassium transporter gene affects shoot cell expansion. *Plant Cell* 14: 119–131.

- Fallahi, E., B. Fallahi, J. B. Retamales, C. Valdes and S.J Tabatabaei. 2002. Prediction of apple fruit quality using preharvest mineral nutrients. *Acta Horticulturae*, Wageningen 594: 427-433.
- Fallahi, E., W. S. Conway, K. D. Hickey and E. Carle Sams. 1997. The role of calcium and nitrogen in postharvest quality and disease resistance of apples. *Hort Science* 32(5): 831-835.
- Faust, M. and C.B. Shear. 1968. Corking disorders of apples: A physiological and biochemical review. *Botanical Review* 34: 441-469.
- Ferguson, I. B. and C. B. Watkins. 1989. Bitter pit in apple fruit. *Horticultural Reviews* 11: 289-355.
- Freitas, S. T. D. and Mitcham, E. J. 2012. Factors Involved in Fruit Calcium Deficiency Disorders. *Horticultural Reviews*, Volume 40, First Edition. Edited by Jules Janick. Wiley-Blackwell. Published by John Wiley & Sons, Inc.
- Freitas, S. T. D., C. V. T. Amarante, J. M. Labavitch, and E. Mitcham. 2010. Cellular approach to understand bitter pit development in apple fruit. *Postharvest Biology and Technology* 57:6–13.
- DeKock, P.C., R.H.E. Inkson, and A. Hall. 1982. Blossom-end rot of tomato as influenced by truss size. *Journal of Plant Nutrition* 5: 57–62.
- Freitas, S. T. D., K. A. Shackel, and E. J. Mitcham. 2011. Absciscic acid triggers whole-plant and fruit-specific mechanisms to increase fruit calcium uptake and prevent blossom end rot development in tomato fruit. *Journal of Experimental Botany* 62: 2645–2656.
- Guichard, S., C. Gary, C. Leonardi, and N. Bertin. 2005. Analysis of growth and water relations of tomato fruit in relation to air vapor pressure deficit and plant fruit load. *Journal of Plant Growth Regulation* 24: 201–213.
- Hansen, A. J. and C. L. Parish. 1990. Transmissible fruit disorders. Pp. 77-78 in: Jones, A. L.; Aldwinckle, H. S. ed. Compendium of apple and pear diseases. APS Press, The American Phytopathological Society 100 p.
- Harteveld, D. O. C., O. A. Akinsanm and A. Drenth. 2013. Multiple *Alternaria* species groups are associated with leaf blotch and fruit spot diseases of apple in Australia. *Plant Pathology* 62: 289–297.
- Hashemi S. A., S. A. Khodaparast, S. A. Elahinia, R. Zare and M. Mousakhah. 2014. A preliminary study on the genus *Fusicladium* s. l. in Iran. *Mycologia Iranica* 1(1): 27 – 33.
- Hewett, E. W. and C. B. Watkins. 1991. Bitter pit control by sprays and vacuum infiltration of calcium in “Cox”s Orange Pippin” apples. *Hort Science* 26: 284-286.
- Ho, L. C and P. J. White. 2005. A cellular hypothesis for the induction of blossom-end rot in tomato fruit. *Annals of Botany* 95: 571–581.
- Ho, L. C. 1999. The physiological basis for improving tomato fruit quality. *Acta Horticulture* 487: 33–40.
- Hoyt, S. C. 1993. San Jose scale. Available at: Jenny.tfrec.wsu.edu/opm/dispalyspecies.php?pn=490.
- Huber, D. J., Y. Karakurt and J. Jeong. 2001. Pectin degradation in ripening and wounded fruits. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal* 13: 224-241.
- Hwan, C. I., L. E. Ho, K. T. Young, W. Y. Hoe, and K. Y. Sam. 1998. Effects of high humidity on occurrence of tomato blossom-end rot. *Korean Journal of Horticultural Science & Technology* 39: 247–249.
- Jian-Hui, C. and Z. Wei. 2004. Effect of calcium deficiency in apple (*Malus pumila*) fruitson calcium fractions, subcellular distribution and ultra structure of pulp cells. *Scientia Agricultura Sinica* 37: 572–576.
- Jian-Hui, C. and Z. Wei. 2004. Effect of calcium deficiency in apple (*Malus pumila*) fruitson calcium fractions, subcellular distribution and ultra structure of pulp cells. *Scientia Agricultura Sinica* 37: 572–576.

- Jones, J. B. J. R., B. Wolf and H. A. Mills 1991. Plant analysis handbook: a practical sampling, preparation, analysis, and interpretation guide. Athens (GA): Micro-Macro Publishing. 213 p.
- Jones, W., J. Brunner, E. Jupfermqan and C. Lin-Xiao. 2015. Quick identification guide to apple postharvest defects and disorders. Available at: http://entomology.tfrec.wsu.edu/Cullage_Site/Cards.html.
- Kadir, S. A. 2004. Fruit quality at harvest of 'Jonathan' apple treated with foliarly-applied calcium chloride. *Journal of Plant Nutrition* 27: 1991-2006.
- Kaponi M. S, M. Luigi, M. Barba, T. Sano, P. E. Kyriakopoulou. 2010. First report and molecular analysis of apple scar skin viroid in sweet cherry. *Julius-Kühn Archives* 427: 361-365.
- Karimi, M. 1987. Climate of Central Iran. Isfahan University of Technology. Isfahan, Islamic Republic of Iran. 165p (In Persian).
- Karley, A. J. and P. J. White. 2009. Moving cationic minerals to edible tissue: Potassium, magnesium, calcium. *Curr. Opin. Plant Biology* 12: 291-298.
- Koganezawa H. and T. Ito. 2003. Apple fruit crinkle viroid. In: Hadidi A., Flores R., Randles J.W., Semancik J.S. (eds.). Viroids, pp. 150-152. CSIRO Publishing, Collingwood, Australia.
- Lanauskas, J. and N. Kvikliene. 2006. Effect of calcium foliar application on some fruit quality characteristics of 'Sinap Orlovskij' apple. *Agronomy Research* 4: 31-36.
- Lang, A. and K. G. Ryan. 1994. Vascular development and sap flow in apple pedicels. *Annal of Botany* 74: 381-388.
- Lotze, E. and K. I. THERON. 2006. Dynamics of calcium uptake with preharvest sprays to reduce bitter pit in 'golden delicious'. *Acta Horticulturae*, Wageningen, 721: 313-320.
- MacHardy, W. E. 1996. Apple Scab Biology, Epidemiology, and Management. APS Press St. Paul 545 p.
- Malakouti M. J. and Tabatabai S. J. 2000. Calcium news (the role of Calcium in improving in Calcareous soils of Iran). *Technical Bulletin No. 148*. Publish agricultural education. Agricultural Research, Educatin and Extention Organization. Ministry of Agriculture. Karaj. Iran.
- Malakouti, M. J. 2014. Recommendations for Optimal Fertilizer Use in Agricultural Crops of Iran: Determination of Amount, Type and Time of Fertilizer Application for the Purpose of Achieving Self-Sufficiency, Food Security, Sustainable Agriculture and Increasing Farmers' Income. Mobaleghan Press, Second Edition, 318p.
- Malakouti, M. J. and S. J. Tabatabai. 2001. Calcium news (the role of Calcium in improving in Calcareous soils of Iran). *Technical Bulletin No. 148*. Publish agricultural education. Agricultural Research, Educatin and Extention Organization. Ministry of Agriculture. Karaj. Iran.
- Malakouti, M. J., S. J. Tabatabai, A. Shahabi and E. Fallahi. 1999. Effects of calcium chloride on apple fruit quality of trees grown in calcareous soil. *Journal of Plant Nutrition* 22 (9): 1451-1456.
- Manoucheri, S. and M. J. Malakouti. 2000. Assess the ratio of potassium to calcium in apples. Supreme Council of Biofertilizers and Efficient use of Fertilizers and Pesticides in Agriculture. *Technical Publication No. 205*. Tehran. Iran.
- McLaughlin, S. B. and R. Wimmer. 1999. Tansley review No. 104 calcium physiology and terrestrial ecosystem processes. *New Phytologist*. 142: 373-417.
- McNall, L. R. 1998. Factors affecting fruit russet. Nutrient Technologies. LRM042498. 2 p.
- Miqueloto, A., C. V. T. Amarante, C. A. Steffens, A. D. Santos and E. Mitcham. 2014. Relationship between xylem functionality, calcium content and the incidence of bitter pit in apple fruit. *Scientia Horticulturae*. 165: 319-323.

- Moor, U., K. Karp, P. P. Ldma, L. Asafova and M. Starast. 2006. Post-harvest disorders and mineral composition of apple fruits as affected by pre-harvest calcium treatments. *Acta Agriculturae Scandinavica*. 56: 179-185.
- Nachtigall, G. R. and A. R. Dechen. 2006. Seasonality of nutrients in leaves and fruits of apple trees. *Scientia Agricola*. 63: 493–501.
- Neilsen, G. H. and D. Neilsen. 2002. Effect of foliar zinc, form and timing of Ca sprays on fruit Ca concentration in new apple cultivars. *Acta Horticulturae*, Wageningen, 594:435-443.
- Nome, c., A. Giagetto, M. Rossini, L. Di Feo and A. Nieto. 2012. First report of *Apple scar skin viroid* (ASSVd) in apple trees in Argentina. *New Disease Reports* 25: 3. [<http://dx.doi.org/10.5197/j.2044-0588.2012.025.003>].
- Park, S., N. H. Cheng, J. K. Pittman, K. S. Yoo, J. Park, R. H. Smith, and K. D. Hirschi. 2005. Increasing calcium levels and prolonged shelf live in tomatoes expressing Arabidopsis H^+/Ca^{2+} transporters. *Plant Physiology*. 139: 1194–1206.
- Passam, H. C., I. C. Karapanos, P. J. Bebeli, and D. Savvas. 2007. A review of recent research on tomato nutrition, breeding and postharvest technology with references to fruit quality. *The European Journal of Plant Science and Biotechnology*. 1: 1–21.
- Paulo R. E., D. Jaques, V. T. D. Cassandro, C. R. Diorvania and A. R. Douglas. 2008. Preharvest calcium sprays were not always needed to improve quality of "Gala" apple in Brazil. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal - SP 30(4): 892-896.
- Poovaiah, B. W. 1986. Role of calcium in prolonging storage life of fruits and vegetables. *Food Technology*. 40: 86-89.
- Pourhadji, A. 2000. Study biology of *Campylomma verbasci* (Myer- Dur) (Hem.: Miridae) and its losses in apple orchards in West Azerbaijan Province. *Journal of Entomological Society of Iran* 20: 46-56.
- Pscheidt, J. W. and C. M. Ocamb (Eds.). 2015. Apple (*Malus* spp.)- Fruit russetting. *Pacific Northwest Plant Disease Management Handbook*. Oregon State University. pnwhandbooks.org/plantdisease/node/2654.
- Qiu, Y., M. S. Nishina and R. E. Paull. 1995. Papaya fruit growth, calcium uptake, and fruit ripening. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 120: 246-253.
- Rosenberger, D. A. 2014. Adjusting spray programs to suppress fruit russet and minimize phytotoxicity risks for apples. *New York Fruit Quarterly* 22(1): 3-7.
- Saksena K. N. and G. I. Mink. 1969. Purification and properties of Apple chlorotic leaf spot virus. *Phytopathology* 59: 84-88.
- Saure, M. C. 2001. Blossom-end rot of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.): A calcium or a stress-related disorder. *Scientia Horticulturae*. 90: 193–208.
- Saure, M. C. 2002. New views of the prerequisites for an occurrence of bitter pit in apple and its control by calcium sprays. *Acta Horticulturae*. 594: 421–425.
- Saure, M. C. 2005. Calcium translocation to fleshy fruit: Its mechanism and endogenous
- Schumacher, R. and F. Fankhauser. 1974. Stippenbildung und Mineralstoffgehalt von Äpfeln in Abhängigkeit von ihrer Stellung in der Baumkrone. *Schweizer Forschung für Landwirtschaft*. 13: 353–364.
- Shahabi A. and M. J. Malakouti. 2000. Calcium sprays undeniable necessity to improve the qualitative properties of stored fruit in calcareous soils country. *Technical Bulletin* No. 136. Publish agricultural education. Agricultural Research, Education and Extension Organization. Ministry of Agriculture. Karaj. Iran.
- Shigemitsu, A., F. Takashi and H. Yukio. 2005. Role of *Cylindrosporium*-type conidia of *Mycosphaerella pomii* (Pass.) Lindau: cause of Brooks fruit spot of apple, as an infection source in apple orchards. *Journal of General Plant Pathology* 71: 357–359.
- Simons, R. K. 1962. Anatomical studies of the bitter pit area of apples. *American Society for Horticultural Science*. 81: 41-51.

- Steenkamp, J. and O.T. De Villiers. 1980. The role of organic acids and nutrient elements in relation to bitter pit in Golden Delicious apples. *Acta Horticulture*. 138: 35-42.
- Taylor, M. D. and S. J. Locascio. 2004. Blossom-end rot: A calcium deficiency. *Journal of Plant Nutrition*. 27: 123–139.
- Terry, L. I. and D. G. Alston. 2011. *Western flower thrips*. Utah pests field sheet. Utah State University Extension and Utah Plant Pest Diagnostic Laboratory. ENT-157-98.
- Tromp, J. 1975. The effect of temperature on growth and mineral nutrition of fruits of apple, with special reference to calcium. *Physiologia Plantarum* 33: 87-93.
- Val, J., M. A. Gracia, E. Monge, and A. Blanco. 2008. Visual detection of calcium by GBHA staining in bitter pit-affected apples. *Food Science and Technology International*. 14: 315–319.
- Walia, Y., S. Dhir, A. A. Zaidi and V. Hallan. 2015. Apple scar skin viroid naked RNA is actively transmitted by the whitefly *Trialeurodes vaporariorum*. *RNA Biology* 12:1131-1138.
- Weinzierl, R. 2011. A newsletter for commercial growers of fruit and vegetable crops. *Illinois Fruit and Vegetable News* 17 (6): 53-62.
- Wood, G. A. 1972. Russet ring and some associated virus disorders of apple (*Malus sylvestris* L. Mill.) in New Zealand. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 15: 405-412.
- Wood, G. A. 2001. Sensitivity of apple (*Malus domestica*) indicator cultivars to russet ring disease, and the results of graft-transmission trials of other fruit-affecting disorders of apple. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science* 29: 255-265
- Wood, G. A. and M. F. Welsh. 1989. Apple leaf pucker and some lesser known bark, blossom and fruit disorders. Pp. 20-33 in: *Virus and virus-like diseases of pome fruit and simulating non-infectious disorders*. SP0003. Washington State University, Washington. 330 p.
- Yazdi Samadi, B., A. Rezaei and M. Valyzadeh. 2002. *Statistical designs in agricultural research*. Tehran University Publication. 764p. (In Persian).
- Yermiyahu, U., S. Nir, G. Ben-Hayyim, and U. Kafkafi. 1994. Quantitative competition of calcium with sodium or magnesium for sorption sites on plasma membrane vesicles of melon (*Cucumis melo* L.) root cells. *The Journal of Membrane Biology*. 138: 55–63.
- Yu, G., D. G. Choi, J. H. Bae and S. Guak. 2006. Effect of substrate EC and water content on the incidence of brown fruit stem and blossom end rot in glasshouse sweet pepper. *Journal of Bio-Environment Control*. 15: 167–172.
- Yuri, J. A. 1995. Calcium in Pome fruits: the Chilean experience. *Proceedings Calcio en Fruticultura International Symposium*. Talca, Chile. 17-18 October. pp. 105-128.