پژوهش‌نامه کشاورزی و منابع طبیعی شماره ۱۴، سال ۱۳۹۱
(ویژه‌نامه انگور)

اثر تیمارهای حرارتی و شیمیایی بر باکتری عامل بیماری سرطان طوقه و چند صفت باغی قلمه‌های دو رقم انگور تجاری

حسن محمودزاده[۱]، عباس داودی[۲]

چکیده

با هدف بررسی اثر تیمارهای حرارتی و شیمیایی بر کاهش جمعیت باکتری عامل بیماری سرطان طوقه در قلمه‌های تهیه شده از پایه‌های مادری آلودهٔ دو رقم انگور تجاری شامل سفید بیدانه و حسینی، آزمایشی به صورت کرت‌های دو بار خرد شده با طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی در ۴ تکرار طی سال‌های ۱۳۸۵-۱۳۸۳ در ایستگاه تحقیقات اسماعیل آباد و ایستگاه تحقیقات انگور تاکستان انجام شد. ارقام به عنوان فاکتور اصلی، تیمارهای حرارتی در چهار سطح به عنوان فاکتور فرعی و تیمارهای شیمیایی نیز در چهار سطح به عنوان فاکتور فرعی- فرعی (زیر فرعی) مورد بررسی قرار گرفتند. به دنبال ریشه زایی و رشد قلمه‌ها، طی ۲ سال اثر تیمارها بر میزان کاهش جمعیت باکتری در قلمه‌ها، درصد جوانه‌های زنده، زمان شروع رشد جوانه‌ها، اندازه وزن ریشه تولیدی، وزن کل نهال در سال اول و زمان شروع گل‌دهی یادداشت گردید. تجزیه واریانس با نرم افزار MSTAT-C و مقایسه میانگین با آزمون LSD انجام شد. نتایج نشان داد که اثر تیمارها در هر دو رقم بر کاهش جمعیت باکتری یکسان بوده و تیمارهای توأم گرما درمانی با ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه به همراه مصرف مواد شیمیایی بیشتر از ۹۵٪ باکتری را از بین برده ولی بیش از ۵۰٪ مرگ جوانه‌ها را به دنبال داشته است، ولی تیمار ۵۰ درجه به مدت ۳۰ دقیقه با ترکیب شیمیایی اریترومایسین و استرپتومایسین سولفات ۱ در هزار بدون داشتن اختلاف معنی‌داری با تیمار ۶۰ درجه سانتی‌گراد از لحاظ باکتری‌زدایی، با بیش از ۹۰٪ کاهش جمعیت باکتری و بیش از ۷۲٪ زنده ماندن جوانه‌ها، نتیجه رضایت بخش تری را در باکتری‌زدایی از قلمه‌های در حال رکود داده است. برتری صفات با ارزش نظیر میزان ریشه‌زایی قلمه‌ها (۱۹۷/۳۲۵ گرم در نهال) و میزان عملکرد در سال سوم (۶۸۴ گرم در هر نهال) مربوط به تیمار مذکور می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: گرما درمانی، شیمیوتراپی، بیماری سرطان طوقه و ریشه، ارقام انگور

مقدمه

استان قزوین یکی از مراکز عمده تولید انگور ایران است که متأسفانه مواردی از آلودگی بیماری سرطان طوقه و ریشه در موستان‌های این استان دیده شده است (فاتحی پیکانی، ۱۳۷۶). عامل بیماری باکتری خاکزادی به نام *Agrobacterium tumefaciens* است که یکی از بیماری‌های خطرناک و مهم انگور می‌باشد. این باکتری به سه بیووار ۱، ۲ و ۳ تقسیم می‌گردید که بیووار ۳ آن به نام گونه‌ای جدید *A. vitis* نام‌گذاری گردید زیرا فقط روی انگور بیماری زایی می‌کرد (فاهی و پیرسلی، ۱۹۸۳ و حسن زاده، ۱۳۷۴). این بیماری علاوه بر کاهش شدید عملکرد در سال‌های اول آلودگی حتی تا ۸۰٪ ، در سال‌های بعد باعث نابودی کامل تاک‌های آلوده خواهد شد (فاتحی پیکانی، ۱۳۷۶ و پیغامی، ۱۳۷۲) این معضل نه تنها خاص استان قزوین نبوده بلکه در اکثر استان‌های انگور خیز کشور نظیر آذربایجان

[۱] - استادیار پژوهش مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان آذربایجان غربی
[۲] - عضو هیأت علمی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان قزوین

غربی مشاهده می‌شود که در مواردی نابودی کامل موستان را سبب شده است. بنابراین قلمه یا پیوندک‌هایی که به منظور تکثیر از پایه مادری آلوده تهیه می‌شوند، آلودگی را انتقال خواهند داد. یعنی نهال‌هایی که از این قلمه‌ها باز زایی می‌شوند، احتمال آلودگی دارند بر این اساس با آلوده بودن پایه مادری، نهال‌های ایجاد شده از آن‌ها نیز آلوده خواهند بود. در این صورت استفاده از قلمه یا پیوندک‌هایی که به این ترتیب از عامل بیماری رهاسازی شده‌اند، به عنوان راهی نجات بخش جهت جلو گیری از شیوع آلودگی در نهالستان خواهد بود (محمودزاده، ۱۳۷۹). انجام تیمارهای حرارتی بسیار راحت و کم خطر بوده و نسبت به سایر روش‌های کنترل این بیماری نظیر مبارزه بیولوژیک هزینه بسیار کمتری را دارد.

مطالعات زیادی در مورد اثر تیمارهای حرارتی و شیمیایی به منظور باکتری‌زدایی از قلمه‌ها و پیوندک‌های مورد استفاده در تکثیر صورت گرفته است که هیچ‌کدام نتایج صد در صد موفقیت آمیز را در پی نداشته است. بازی و همکاران (۱۹۹۱) اثرات تیمارهای حرارتی را با توجه به خطرات کمتر آن‌ها نسبت به تیمارهای شیمیایی برای انسان برتر شناخته‌اند ولی دریافتند که احتمال مرگ قلمه‌ها یا پیوندک‌ها در تیمارهای حرارتی دمای بالا بیشتر از تیمارهای شیمیایی بوده است. بور و همکاران (۱۹۸۹) آزمایشاتی را به منظور باکتری زدایی از قلمه‌ها با تیمارهای حرارتی آب گرم با زمان‌های متفاوت انجام دادند که تیمار ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۰/۵ساعت نتایج جالبی را در پی داشته است و آلودگی را تا حد زیادی کاهش داده است. گوسارد (۱۹۷۷) اثرات تیمارهای حرارتی آب گرم را بر قلمه‌های تهیه شده از شاخه‌های یک ساله و پیوندک‌های تهیه شده از پایه‌های مادری آلوده، مطالعه کرده است که تأثیر آن‌ها در رفع آلودگی ۱۰۰٪ نبوده است. محمودزاده (۱۳۷۹) اثرات تیمارهای شیمیایی و حرارتی را به طور مجزا بر کاهش آلودگی قلمه‌های تهیه شده از پایه مادری آلوده، با هدف تکثیر این قلمه‌ها و تولید نهال‌های سالم انجام دادند که هیچ‌کدام به طور کامل آلودگی را رفع نکردند. اوفیل و همکاران (۱۹۹۵) با تیمارهای حرارتی و شیمیایی در کشورهایی مانند ایتالیا و بلغارستان از پایه‌های پیوندی با ارزشی نظیر K5140 و همچنین ارقامی مانند شاردونی، زانتی کورانت و نیز پایه رامسی جمعیت باکتری را به حداقل ممکن کاهش دادند به طوری که فقط ۱۶-۲٪ از مواد مادری تیمار شده آلودگی مجدد را نشان داده‌اند. وبستر و همکاران (۱۹۸۶) جهت باکتری زدایی از قلمه‌ها و پیوندک‌های انگور از ترکیبات شیمیایی آنتی‌بیوتیک‌ها نظیر (استرپتومایسین سولفات، کانامایسین....)، سموم مسی، کلرید جیوه و الکل استفاده کرده‌اند که نتایج صد درصد موفقیت آمیز نبوده است. در مطالعه اثر تیمارهای حرارتی و شیمیایی بر کاهش آلودگی در قلمه یا پیوندک‌ها، اثرات نامطلوب دماهای بالا و نیز مواد شیمیایی مورد استفاده دیده شده است که بر این اساس وامپل و همکاران (۱۹۹۱) ظرفیت تحمل قلمه‌ها و پیوندک‌های بعضی از ارقام را ارزیابی نموده که نتایج آن به صورت اثر منفی دماهای بالا و طولانی مدت (۶۰ درجه سانتی‌گراد بیش از نیم ساعت) بر نابودی قلمه‌ها و نیز بعضی از مواد شیمیایی مورد استفاده مانند $AgCl_2$ با غلظت ۱۰ppm را مشاهده نموده‌اند. اوفیل و همکاران (۱۹۹۵) نیز اثر تیمارهای شیمیایی نظیر استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها را در محیط کشت موثر بر جلوگیری از رشد کلونی‌های باکتری *Agrobacterium* spp. را مطرح کرده‌اند. همچنین وبستر و همکاران (۱۹۸۶) علاوه بر آیش و رعایت تناوب زراعی در خاک‌های آلوده به عامل بیماری سرطان طوقه و ریشه برای جلوگیری از شیوع بیماری از طریق مواد مادری مورد استفاده در تکثیر (قلمه‌ها و پیوندک‌ها) که از پایه مادری آلوده تهیه شده‌اند، تیمارهای حرارتی آب گرم و استفاده از بعضی از آنتی‌بیوتیک‌ها را موثر دانسته‌اند.

پی یو وگودمن (۱۹۹۳) تیمار حرارتی بالا با مدت زمان کوتاه برای باکتری‌زدایی از قلمه‌ها و پیوندک‌ها را مؤثرتر از دماهای پایین با مدت طولانی که برای ویروس زدایی استفاده می‌گردد، شناخته‌اند. اوفیل و همکاران (۱۹۹۵) در

بلغارستان اثر تیمارهای شیمیایی نظیر استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های اریترومایسین ۱ در هزار، استرپتومایسین سولفات ۱ در هزار، استفاده از نفت سفید برای انهدام گال ها و همچنین کلرید جیوه ppm۱۰ را آزمایش کرده‌اند که نتایج صد درصد موفقیت‌آمیز در پی نداشته‌اند. فاتحی پیکانی (۱۹۹۷) اثرات بعضی از آنتی‌بیوتیک‌های نظیر پنی‌سیلین، اورومایسین، استرپتومایسین، آمپی‌سیلین (همگی با غلظت ۱ در هزار ماده خالص) و کلرید مس ۱/۵ در هزار را در محیط کشت بر رشد کلونی‌های آگروباکتریوم ویتیس آزمایش کرده است که بعضی از تیمارها از تشکیل کلونی‌ها ممانعت کرده‌اند. هدف از بررسی حاضر دستیابی به روشی است که به آسانی بتوان جمعیت باکتری عامل بیماری سرطان طوقه را در قلمه‌های آلوده انگور کاهش و از انتقال آن توسط نهال‌های آلوده به سایر مناطق و تاکستان‌های دیگر جلوگیری به عمل آورده و در عین حال به روشی مؤثرتر از روش‌های معمول باکتری‌زدایی از مواد مادری مورد استفاده در تکثیر انگور دست یافت. از آنجا که انجام تیمارهای حرارتی و شیمیایی در این آزمایش بسیار راحت و کم خطرتر بوده و نسبت به سایر روش‌های کنترل این بیماری نظیر مبارزه بیولوژیک هزینه بسیار کمتری دارد، بر این اساس با انجام این بررسی امکان دستیابی به بهترین روش باکتری‌زدایی که یکی از مؤثرترین راه‌های کنترل بیماری می‌باشد، میسر شد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش طی سه سال (۱۳۸۵-۱۳۸۲) در ایستگاه اسماعیل آباد، ایستگاه تحقیقات انگور تاکستان و آزمایشگاه مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی قزوین به شرح زیر اجرا شده است.

۱- نمونه برداری و تهیه مواد گیاهی آزمایش

در این آزمایش با مراجعه به تاکستان‌های آلوده در منطقه قزوین، تاک‌های شدیداً آلوده دارای گال روی شاخه و تنه، از ارقام سفید بی‌دانه و حسینی علامت‌گذاری و نسبت به انجام تست تشخیص آلودگی جدایه‌ها اقدام گردید. جدایه‌های باکتری بدست آمده از پایه‌های مادری انگور از نظر واکنش در برابر آزمون‌های گرم، کاتالاز، تولید اندول، هیدرولیز اسکولین، تحمل نمک ۲٪، قلیایی نمودن شیر لیتموس، تولید ۳- کتولاکتوز، رشد در دمای ۳۵ درجه سانتیگراد، هیدرولیز توئین ۸۰، ژلاتین و نشاسته، احیای نیترات، استفاده از سیترات و استفاده از منابع کربنی مختلف و رشد روی محیط‌های کشت اختصاصی مورد بررسی قرار گرفتند. در آذر ماه از پایه‌های مادری آلوده قلمه‌های خشبی ساده به طول cm ۴۰-۶۰ سانتیمتر با حداقل ۸ گره تهیه و در یخچال نگهداری شدند.

۲- تعیین آلودگی قلمه‌ها

علاوه بر انجام تست آلودگی بر روی پایه‌های مادری آلوده برای حصول اطمینان از آلودگی قلمه‌های تهیه شده، آن‌ها نیز به طور جداگانه مورد تست آلودگی قرار گرفتند. ابتدا قلمه‌ها از وسط به دو نیم تقسیم شدند و پس از شماره‌گذاری نیمه اول برای تست آلودگی و نیمه دوم برای اعمال تیمارها مورد استفاده قرار گرفتند. برای اطمینان از آلودگی قلمه‌ها کشت عصاره تهیه شده از آن‌ها روی محیط‌های اختصاصی نظیر D1، 1A، MRS (Modified RS) و محیط عمومی NA (آگار غذایی) انجام شد. پس از دو روز نگهداری تشتک‌های کشت شده در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد کلونی‌های مروارید شکل ظاهر شده بر روی محیط کشت برای اثبات بیماری‌زایی بر روی گیاهان محک شامل دیسک‌های هویج، نشاهای گوجه فرنگی، نهال‌های انگور و آفتابگردان مورد استفاده قرار گرفتند.

۳- انجام تیمارهای باکتری زدایی

پس از اطمینان از آلودگی قلمه‌ها و اثبات بیماری‌زایی جدایه‌های باکتری، تیمارهای آزمایشی بر روی نیمه دوم قلمه‌های آلوده به صورت کرت‌های دو بار خرد شده (اسپلیت- اسپلیت پلات) با طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با ۴ تکرار اعمال گردید که در آن **فاکتور اصلی نوع رقم:** در دو سطح (سفید بی‌دانه و حسینی)؛ و **فاکتور فرعی تیمارهای حرارتی در** ۴ سطح {شاهد (بدون تیمار حرارتی)، تیمار حرارتی آب گرم ۴۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ ساعت، تیمار حرارتی آب گرم ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۰/۵ ساعت و تیمار حرارتی آب گرم ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه}، **فاکتور فرعی- فرعی کاربرد مواد شیمیایی در** ۴ سطح شامل شاهد (بدون تیمار شیمیایی)، محلول استرپتومایسین سولفات ۱ در هزار، محلول اریترومایسین ۱ در هزار و محلول کلرید مس ۱/۵ در هزار بوده است. برای هر واحد آزمایشی ۲۰ قلمه انتخاب شده و در اعمال تیمارهای شیمیایی تمام قلمه‌ها به مدت ۱ ساعت در محلول‌های مذکور نگهداری شدند. در مجموع ۲۵۶۰ قلمه تیمار گردیدند. تیمارهای حرارتی با استفاده از دستگاه حمام آب گرم (بن ماری) در دماهای فوق‌الذکر صورت گرفت.

۴- کاشت قلمه‌های تیمار شده و یادداشت‌برداری‌ها

در هر واحد آزمایشی ۴۰ قلمه با فاصله ۲۰cm از هم، در گلخانه کشت شدند. بستر کاشت با مخلوطی از پرلیت، خاکبرگ و ماسه بادی با نسبت حجمی ۱:۲:۱ ضدعفونی شده با فرم آلدئید و بخار آب تهیه و سپس تست عدم آلودگی بستر کاشت به روش رای و ساسسر (۱۹۸۳) انجام شد. آبیاری قلمه‌ها و سایر عملیات مدیریتی به روش متداول صورت گرفت و طوری عمل شد که احتمال آلودگی ثانوی از بین برود. در سال اول درصد قلمه‌های زنده پس از تیمار با شمارش تعداد نهال‌های رشد کرده تعیین و یادداشت گردید. تعیین درصد نهال‌های سالم و عاری از بیماری پس از انجام تیمارها با مشاهدات بصری و میکروسکوپی به صورت تشکیل غده‌های سرطانی در سال سوم و نیز از طریق کشت عصاره اندام‌های نهال‌های در حال رشد روی محیط کشت اختصاصی D1 و محیط کشت عمومی آگار غذایی (NA) صورت گرفت. در پایان سال اول نهال‌ها به خزانه هوای آزاد منتقل شده و در سال دوم نهال‌ها با فاصله ۴×۲ متر در زمین اصلی کشت گردیدند.

طی سه سال یادداشت برداری از میزان کاهش جمعیت باکتری در نهال‌ها و تعیین درصد نهال‌های سالم، درصد نهال‌های از بین رفته، زمان باز شدن جوانه‌ها از سال اول تا سوم، اندازه وزن تر نهال پس از برگ‌ریزی در پایان سال اول، وزن تر ریشه‌های تولیدی در سال اول و زمان ظهور اولین علایم بلوغ به صورت گل‌دهی در نهال‌ها انجام شد. برای داده‌های مذکور با استفاده از نرم افزار MSTATC تجزیه واریانس صورت گرفت و مقایسه میانگین‌ها با آزمون LSD انجام گردید. همچنین همبستگی بین میزان کاهش جمعیت باکتری در نهال‌ها پس از انجام تیمارها با سایر صفات مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج و بحث

در مجموع از تعداد ۲۰ پایه مادری شدیداً آلوده ارقام سفید بیدانه و حسینی (هر رقم ۱۰ پایه) تعداد ۲۰ جدایه باکتری جداسازی گردید که بر اساس نتایج آزمون‌های بیوشیمیایی، فیزیولوژیکی و مرفولوژیکی انجام شده بر روی جدایه‌ها (جدول ۱) خصوصیات فنوتیپی ۱۷ استرین جدا شده از پایه‌های مادری آلوده دو رقم انگور مورد بررسی با گونه *Agrobacterium tumefaciens* کاملاً مطابقت داشت. مشخصات فنوتیپی ۳ استرین نیز با خصوصیات

افتراقی *A.vitis* مشابهت داشت. در نتیجه برای حصول شرایط یکسان در آزمایش تنها از پایه‌های آلوده به *A.tumefacience* برای انجام آزمایش استفاده شد. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که جدایه‌های *A.tumefaciens* از نظر بیماری‌زایی روی گیاهان محک مختلف با هم کمی تفاوت دارند. چنین استنباط می‌شود که برای اثبات بیماری‌زایی جدایه‌های باکتری مذکور بهتر است تنها به یک گیاه محک اکتفا ننمود (جدول ۱). تحقیقات سایرین نیز نشان داده است که عوامل متعددی از جمله پلاسمید Ti ، زمینه کروموزومی باکتری و تنوع ژنتیکی میزبان در تعیین دامنه میزبانی نقش دارند (پیری و کادو،۱۹۸۲).

پژوهش نامه کشاورزی و منابع طبیعی

جدول ۱- خصوصیات فنوتیپی جدایه‌های *Agrobacterium tumefaciens* از پایه‌های مادری دو رقم انگور سفید بی‌دانه و حسینی

Test آزمون	واکنش جدایه‌ها Reaction of Isolates																			
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
واکنش گرم (Gram reaction)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
اکسیداز (Oxidase)	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
کاتالاز (Catalase)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
احیای نیترات (Nitrate reduction)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
تولید ایندول (Indol production)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
هیدرولیز اسکولین (Esculin Hydrolysis)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
هیدرولیز توئین ۸۰ (Hydrolyses of Tween 80)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ژلاتین (Gelatin)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
نشاسته (Starch)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
استفاده از سیترات (Citrate utilization)	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-
تولید ۳-کتولاکتوز (3-Ketolactose production)	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	_	+
رشد در ۳۵ درجه سانتیگراد (Growth at 35° C)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
تحمل نمک ۲٪ (Growth in 2% NaCl)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
اثر روی شیر لیتموس (Litmus milk reaction)	Alk	Alk	Alk	Alk	Alk	Alk	Alk	Alk	Alk	Alk	Alk	Alk	Alk	Alk	Alk	Alk	Alk	Alk	Alk	Alk
استفاده از (Utilization from)																				
اریتریتول (Erythritol)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ملزیتوز (Melezetose)	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+
سوکروز (Sucrose)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
لاکتوز (Lactose)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
مالتوز (Maltose)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
مالونیک اسید (Malonic acid)	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-
میوسیک اسید (Mucic acid)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ال- تارتاریک اسید (L-Tartaric acid)	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-
رشد بر روی (growth on)																				
محیط کشت 1A (1A medium)	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
محیط کشت D1 (D1 medium)	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+
محیط کشت MRS (MRS medium)	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-
بیماری‌زایی روی (Pathogenicity on)																				
گوجه فرنگی (Tomato)	+	-	+	-	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-	-	+	+	-	+	+
هویج (carrot)	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+
آفتابگردان (Sun flower)	+	-	+	+	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-
انگور (Grapevine)	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-

+: واکنش مثبت، وجود فعالیت یا استفاده از ترکیبات -: واکنش منفی، عدم وجود فعالیت یا عدم استفاده از ترکیبات قلیایی Alk: Alkaline

اثر تیمارهای حرارتی و شیمیایی بر باکتری زدایی

بررسی نتایج تجزیه واریانس داده‌ها پس از تیمارهای شیمیایی و حرارتی نشان داد که اثر انفرادی و یا ترکیبی تیمارهای مذکور بر کاهش جمعیت باکتری عامل بیماری سرطان طوقه و برخی از صفات مورد مطالعه در آزمایش متفاوت می‌باشد. واکنش نوع رقم به تیمارهای یاد شده نیز دارای اختلاف معنی‌داری است به عبارت دیگر ارقام مختلف به تیمارهای مذکور واکنش‌های متفاوت نشان داده‌اند (جدول ۲).

جدول ۲- تجزیه واریانس داده‌های حاصل از اثر تیمارهای شیمیایی و حرارتی بر باکتری زدایی و برخی صفات قلمه‌ها و نهال‌های حاصله از آن‌ها در دو رقم انگور تجاری پس از اعمال تیمارها

منابع تغییرات	df	میانگین مربعات					
		درصد نهال‌های سالم	درصد قلمه‌های زنده	وزن تر ریشه	وزن تر نهال	عملکرد (باردهی)	زمان باز شدن جوانه
تکرار	۲	۴۸۶.۲۷ns	۴۹.۸۳ns	۱۱۱.۰۱۹ns	۱۹۴۶.۲۴ns	۱۴۲۱.۰۱۹ns	۹۸.۶۳ns
نوع رقم	۱	۲۷۵۴۱.۳۶ns	۱۷۸۵.۳۲۴**	۱۶۶۵۷۸.۳۵**	۲۳۹۷۶۸.۹۶**	۱۹۵۴۷۸.۳۵**	۴۳۷۵.۳*
اشتباه A	۲	۲۴.۳۸	۱۸.۹۷	۴۹.۳۱۷	۵۸.۳۶۱	۸۹.۳۲۸	۳۵.۸۳۱
تیمارهای حرارتی	۳	۱۷۴۵.۲۸**	۶۷۸.۲۸**	۴۴۵۱۰.۵۵۸**	۶۵۴۷۶.۲۵**	۳۲۴۵۰.۵۵۸**	۳۶۹۵.۲۳**
اثر متقابل تیمارهای حرارتی و نوع رقم	۳	۲۳۵۷.۸۵ns	۸۹.۲۴*	۹۰۰۵.۴۰۸**	۱۲۷۳۶.۹۴*	۷۵۰۵.۴۰۸**	۸۶۹.۳۶۱*
اشتباه B	۱۲	۴۵.۷۸۹	۲۳.۷۴	۴۳.۴۱۶	۸۹.۳۶۵	۷۹.۴۳۵	۲۲.۸۱۷
تیمارهای شیمیایی	۳	۲۵۴.۳۲۱*	۴۸۶.۴۳۹*	۴۱۷۱.۲۳۰**	۸۲۶۵.۳۴۰**	۶۲۴.۲۸۲ ns	۴۲۳.۱۲*
اثر متقابل تیمارهای شیمیایی و نوع رقم	۳	۲۱۳.۸۷ns	۲۷۶.۳۲۰**	۹۶۳.۵۴۹**	۱۲۴۷۵.۳۹۲**	۸۷۲۳.۵۴۹**	۲۹۷.۱۸۴ns
اثر متقابل تیمارهای شیمیایی و حرارتی	۹	۷۸۹.۳۶**	۳۴۶.۲۸۹*	۸۷۱.۵۲۸**	۹۶۸۱.۲۵*	۴۲۵۸۱.۵۲۸**	۵۳۶.۸۶۱**
اثر متقابل تیمارهای شیمیایی و حرارتی و رقم	۹	۱۲۸۷.۳۶۹**	۷۳۵.۴۳۶**	۹۳۶.۴۴۸**	۱۱۷۵.۲۳۹**	۷۲۳۶.۴۴۸**	۹۸۴.۳۶*
اشتباه C	۴۸	۴۲.۵۶۸	۳۶.۳۹۱	۴۲.۴۳۶	۵۶.۲۴۶	۹۶۱.۴۳۶	۳۲.۸۶۰
دقت آزمایش	–	٪۴/۹۸	٪۱۲/۸۷	٪۲/۹۶	٪۱۲/۹۶	٪۸/۸۹	٪۸/۷۸

*) در سطح احتمال ۵٪ معنی دار **) در سطح احتمال ۱٪ معنی دار ns) غیر معنی دار

با توجه به اختلافات معنی‌دار در جدول تجزیه واریانس برای داده‌های بدست آمده از آزمایش، مقایسه میانگین داده‌ها جهت تعیین تیمارهای برتر با آزمون LSD انجام گردید که این مقایسات معنی‌دار بودن اختلافات بین ارقام را در برخی از صفات مورد بررسی به وضوح نشان داده است (جدول ۳).

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر تیمارهای شیمیایی و حرارتی بر صفات مورد بررسی در قلمه‌های ریشه دار شده دو رقم انگور

نوع رقم Cultivars	میانگین مقادیر عددی صفات					
	درصد نهال‌های سالم	درصد قلمه‌های زنده	وزن تر ریشه (گرم)	وزن تر نهال یک ساله (گرم)	زمان باز شدن جوانه (روز)	عملکرد در سال سوم (باردهی) (گرم)
سفید بیدانه	۷۸a	۷۷.۲۵a	۱۴۰.۳۶b	۲۸۹.۴۸۵b	۳۷.۵۲b	۴/۲۵a
حسینی	۸۵a	۷۰.۴۳۷b	۱۷۶.۴۶۴a	۳۲۷.۲۳۶a	۳۳.۴۴۲a	۳/۷۵b
LSD5%	۹.۴۶۲	۴.۴۷۸	۲۲.۵۳۲	۱۸.۹۸۷	۳.۲۶۶	۰/۴۵

میانگین‌ها در هر ستون که دارای یک حرف مشترک نیستند بر اساس آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ تفاوت معنی دار دارند.

نتایج حاصله با کار مشابه گوسارد (۱۹۷۷) مطابقت دارد. مشابه کار اوفیل و همکاران (۱۹۹۵) اثر انفرادی تیمارهای شیمیایی بر صفات مورد بررسی نشان داد که در اکثر موارد تیمارهای شیمیایی نسبت به شاهد برتر بوده‌اند،

در حالی که صفت درصد قلمه‌های زنده تحت تأثیر تیمارهای مذکور قرار نگرفته است. بیشترین وزن ریشه بـاز زایـی شده و وزن تر نهال‌های یک ساله مربوط به تیمار کلرید مس بوده که البته فقط نسبت به شاهد برتر بوده است. اثر این تیمارها بر زمان باز شدن جوانه‌ها با همدیگر و با شاهد اختلاف معنی‌داری نداشته‌اند (جدول ۴). اختلاف بین ارقام در صفات مورد بررسی پس از تیمارهای مذکور با نتایج کار استاور (۱۹۹۳) مشابه بوده است.

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر تیمارهای حرارتی و شیمیایی به صورت انفرادی بر صفات مورد بررسی روی قلمه‌های آلوده و ریشه دار شده پس از تیمار

تیمار Treatments	زمان باز شدن جوانه (روز)	وزن تر نهال یک ساله (گرم)	وزن تر ریشه (گرم)	درصد قلمه‌های زنده	درصد نهال‌های سالم	عملکرد در سال سوم (باردهی) (گرم)
شاهد	۴۱.۳۲۵c	۲۱۷.۶۳۵d	۱۱۹.۳۴۴c	۹۲.۱۲۵a	۰c	۰d
۴۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ دقیقه	۳۷.۲۰۴b	۲۵۷.۴۸۹c	۱۲۸.۷۹۳b	۸۳.۵b	۲۵b	c۳۳۲
۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه	۳۲.۲۱۴a	۳۲۷.۳۲۸a	۱۹۷.۳۲۵a	۷۲.۷۵c	۹۵a	a۶۸۴
۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه	۳۴.۸۷a	۲۹۶.۷۸۴b	۱۸۶.۳۴۲a	۴۷d	۹۸a	b۵۴۶
LSD5%	۷/۲۸۵	۱۲/۴۵	۱۳/۱۲	۳/۱۰۸	۱۵/۲۷	۱۲۲/۴۸
شاهد	۳۶.۷۹۵a	۲۶۶.۰۵۲b	۱۳۱.۰۵۸b	۷۴.۲۵a	۰b	۰c
استرپتومایسین ۱ در هزار	۳۶.۱۲۵a	۳۰۴.۷۲a	۱۶۰.۶۷a	۷۵a	۲۴a	b۲۴۹
اریترومایسین ۱ در هزار	۳۶.۱۳۸a	۳۳۰۹.۱۲a	۱۶۶.۵۶۵a	۷۲.۵b	۲۷a	a۳۶۲
کلرید مس ۱/۵ در هزار	۳۹.۴a	۳۱۱.۶۲a	۱۶۸.۲۸۵a	۷۳.۶۲۵ab	۲۵a	ab۲۸۷
LSD5%	۲/۸۲۵	۹/۳۴۵	۸/۰۶۲۵	۷/۳۲۵	۱۰/۲۵	۹۸/۲۵

اثر متقابل فاکتورهای مورد مطالعه نشان داد که بیشترین درصد قلمه‌های زنده مربوط به تیمـار شـاهد در رقـم سفید بیدانه بوده است که با شاهد رقم حسینی اختلاف معنی‌داری ندارد و کمترین آن مربوط به تیمار ترکیبی اسـتفاده از دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه و ماده شیمیایی اریترومایسین در هر دو رقم بوده است. وزن تر ریشـه تولیدی و همچنین وزن تر نهال یک ساله مربوط به تیمار ۵۰ درجه سـانتی‌گـراد در ۳۰ دقیقـه و استرپتومایسـین ۱ در هزار بهترین نتیجه را داشته که از این نظر بین ارقام نیز اختلاف وجود داشته است. در صفت زمان شروع رشد جوانه‌ها نیز تیمار مذکور بدون استفاده از مواد شیمیایی در رقم حسینی برتر از سایر تیمارها بوده است و بر اثـر تیمـار مـذکور جوانه‌ها در سال اول آزمایش سریع‌تر رشد کرده‌اند که این امر مشابه نتایج کار وبستر و همکاران (۱۹۸۶) بـوده اسـت (جدول۵). تجزیه واریانس همبستگی صفات مورد مطالعه در قلمه‌ها با تیمارهای حرارتی حـاکی از وجـود اختلافـات معنی‌دار می‌باشد (جدول ۶) و محاسبه ضرایب همبستگی آن‌ها نیز نشان داد که همبستگی مثبت یا منفی بـین صـفات وجود دارد، بطوریکه همبستگی بین صفات قلمه‌های عاری شده از باکتری به دنبال تیمار با صفات وزن تر ریشه‌هـای تولید شده، وزن تر نهال و وزن تر ریشه‌های تولیدی معنی‌دار است (P< ٪۵) (جدول ۷). نتـایج منفـی برخـی از ایـن تیمارها در از بین رفتن قلمه‌ها در آزمایشات وامپل و همکاران (۱۹۹۳) و همچنین پی یو و همکاران (۱۹۹۳) نیز دیده شده است. آن‌ها نشان دادند که ظرفیت تحمل قلمه‌ها و پیوندک‌های بعضی از ارقام انگور نسبت بـه تیمارهـا متفـاوت است و در اکثر موارد دماهای بالا و طولانی مدت بالاخص ۶۰ درجه سانتی‌گراد بـیش از نـیم سـاعت سـبب نـابودی قلمه‌ها گردیده است و همچنین برخی از مواد شیمیایی مورد استفاده مانند $AgCl_2$ با غلظت ۱۰ppm نیز مشکل آفـرین بوده است.

بین دو صفت درصد عاری شدن قلمه‌ها از باکتری (درصد قلمه‌های سالم پس از تیمار) با زمان باز شدن جوانه‌ها روی قلمه‌ها همبستگی معنی‌دار و منفی است و این نشان می‌دهد که هرچه میزان آلودگی قلمه‌ها به دنبال تیمارها کمتر شده باشد باز شدن جوانه‌ها زودتر شروع خواهد شد به عبارت دیگر به دنبال این تیمارها پنبه‌ای شدن جوانه‌ها سریع‌تر شروع خواهد شد و نتیجه آن رشد بیشتر شاخه‌ها طی فصل رشد می‌باشد که البته در خزانه هوای آزاد احتمال آسیب سرمای دیررس بهاره وجود دارد.

بررسی‌ها نشان داد که همبستگی بین صفت درصد قلمه‌های سالم پس از تیمارها با سایر صفات وجود نداشته است (جدول ۷) و هر چه میزان ریشه باز زایی شده از قلمه‌ها بیشتر باشد، اندازه رشد شاخه بیشتر شده ولی جوانه‌های روی قلمه‌ها دیرتر شروع به رشد خواهند کرد. به عبارت دیگر باز زایی شاخه به تأخیر افتاده و به این ترتیب حجم ریشه‌های تولید شده از قلمه بیشتر خواهد شد که بسیار مناسب است. بین صفت وزن خشک ریشه با میزان رشد شاخه و در نتیجه وزن تر نهال همبستگی مثبت است. همبستگی منفی و شدید وزن ریشه و زمان رشد جوانه‌ها روی قلمه‌ها نیز به این دلیل است که در مراحل اولیه، باز زایی ریشه سریع‌تر از رشد جوانه‌ها بوده است. همبستگی صفات پس از تیمارهای شیمیایی قلمه‌ها به منظور باکتری‌زدایی پس از تجزیه واریانس داده‌ها حاکی از معنی دار بودن اختلافات بین آن‌ها در سطح ۵٪ می‌باشد (جداول ۹ و ۸).

جدول ۵- مقایسه میانگین صفات مورد بررسی ناشی از اثرات متقابل فاکتورهای مورد بررسی در آزمایش

تیمارها	زمان باز شدن جوانه (روز)	وزن تر نهال یک ساله (گرم)	وزن تر ریشه (گرم)	درصد قلمه‌های زنده	درصد نهال‌های سالم	عملکرد در سال سوم (باردهی) (گرم)
a1b1c1	۴۱/۶۸cd	۲۳۵/۶۳gh	۱۰۸/۸۶f	۹۵a*	۱/۲۵n	۰f
a1b1c2	۴۴/۳۲d	۲۲۷/۳۲h	۱۲۰/۵۴ef	۹۳a	۹/۲۵klm	۰f
a1b1c3	۴۲/۳۲cd	۲۴۳/۴۵gh	۱۰۸/۴۴f	۹۴a	۱۲/۱۵kl	۵۲/۵ef
a1b1c4	۳۹/۴bc	۱۱۲/۷۴h	۱۱۲/۷۴f	۹۲a	۹/۸۸kl	۰f
a1b2c1	۳۷/۸۵bc	۲۶۵/۴۴f	۱۳۴/de۲۳	۸۹a	۲۴/hijk۲۷	۱۲۴/۲۵de
a1b2c2	۳۸/۷۴bcd	۲۷۸/۹۸f	۱۲۹/۴۱e	۸۷ab	۲۶/۲۸hijk	۱۲۵/۲۶de
a1b2c2	۳۵/۳۶bc	۲۸۴/۳۶e	۱۳۳/۹۶de	۹۰a	۲۷/۴۹hij	۱۴۳/۴de
a1b2c4	۴۰/۴c	۲۹۸/۶۵ef	۱۴۹/۴۴d	۸۸ab	۳۲/۱۴fgh	۲۲۵/۲۵cd
a1b3c1	۳۴/۴۸ab	۲۹۹/۳۶de	۱۹۲/۴۵c	۷۵bc	۷۸/۵۶cd	۵۴۶/۲۷a
a1b3c2	۳۱/۳۶ab	۳۰۴/۲۹ef	۱۷۱/۵cd	۸۱bc	۸۲/۲۵cd	۶۴۸/۴۵a
a1b3c3	۳۴/۴۸ab	۲۹۹/۳۶efg	۱۹۲/۴۵bc	۷۵c	۷۸/۱۶de	۵۲۴/۲۵a
a1b3c4	۳۲/۶۴ab	۳۱۲/۹۸de	۱۸۱/۳۲c	۷۷bc	۸۹/۲۶bc	۶۱۴/۵a
a1b4c1	۳۴/۳۲b	۲۸۷/۳۴def	۱۷۲/۲۲cd	۴۵ef	۹۹/۵a	۴۲۱/۴۵b
a1b4c2	۳۷/۹۶bc	۲۷۴/۵۶ef	۱۷۵/۳۵c	۴۷e	۹۹/۲۵a	۳۹۸/۲۶bc
a1b4c2	۳۵/۴۸ab	۲۶۹/۸۵f	۱۸۰/۴۳c	۵۱e	۹۴/۲۵ab	۴۹۶/۵۶b
a1b4c4	۴۰/۸۷cd	۲۶۹/۳۶f	۱۸۴/۶۵c	۵۳e	۹۵/۲۸a	۴۱۲/۴۵bc
a2b1c1	۴۳/۲۴cd	۲۵۶/۸۷g	۱۲۴/۶۳ef	۹۳a	۲/۲۵n	۰f
a2b1c2	۴۱/۲۶cd	۲۶۶/۳۷fg	۱۱۸/۲۵ef	۹۱a	۴/۲۸mn	۰f
a2b1c3	۴۰/۲۷bc	۲۷۸/۴۷fg	۱۳۳/۶۴de	۸۹a	۲۵/۱۸hij	۶۵/۲۴ef
a2b1c4	۴۳/۳۲cd	۲۶۹/۲۶f	۱۲۷/۶۵e	۹۰a	۲۷/۱۳۵hi	۵۲/۳۵ef

a2b2c1	۳۶/۶۲b	۳۰۵/۷۸e	۱۵۷/۳۵d	۸۴b	۳۳/۴۸gh	۱۵۹/۲۵de
a2b2c2	۳۷/۴۵ab	۳۱۲/۳۴d	۱۴۹/۶۴d	۸۰bc	۳۴/۶۵fgh	۱۴۶/۴۵de
a2b2c3	۳۴/۷۸b	۳۱۴/۹۷de	۱۵۹/۴۸d	۷۴c	۳۵/۱۷gh	۲۱۴/۷۵cd
a2b2c4	۳۸/۲۱bc	۳۱۱/۳۷de	۱۶۱/۸۷cd	۷۶c	۴۱/۲۵ef	۱۲۸/۵۵e
a2b3c1	۳۰/۳۲a	۳۶۹/۹۵ab	۲۱۴/۲۶b	۶۵d	۷۸/۲۹bc	۴۸۷/۴۵b
a2b3c2	۲۹/۷۸a*	۴۰۲/۲۴ab	۲۲۸/۳۷a	۷۰c	۷۹/۱۲۵b	۵۱۴/۲۶b
a2b3c3	۳۳/۱۲ab	۴۱۴/۵۲a*	۲۳۵/۴۷a*	۷۱cd	۸۲/۱۵b	۵۸۹/۴۵a
a2b3c4	۳۱/۶۵a	۴۰۶/۳۲a	۲۲۴/a۹۶	۶۴cd	۸۱/۳۵b	۶۱۰/۸۵a
a2b4c1	۳۷/۵۴bc	۳۸۹/۴۴bc	۲۰۳/۳۵b	۴۴ef	۹۲/۲۵a	۳۴۵/۳۶bc
a2b4c2	۳۶/۱۴bc	۳۷۱/۷۸c	۱۹۲/۲۱bc	۵۱e	۹۴/۲۸a	۳۸۷/۲۹bc
a2b4c3	۳۳/۲۵ab	۳۶۷/۹۲cd	۱۸۸/۶۵c	۳۶f	۹۶/۳۲a	۴۱۴/۴۸b
a2b4c4	۳۱/۲۷a	۳۹۸/۲۴ab	۲۰۳/۶۵b	۴۹e	۹۴/۲۳a	۴۶۵/۵۸b
lsd5%	۴/۳۲۸	۱/۱۵۷	۱۳/۹۷۶	۸/۷۴۹	۴/۲۵	۱۲۸/۵

میانگین‌ها در هر ستون که دارای یک حرف مشترک نیستند بر اساس آزمون حداقل اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵٪ تفاوت معنی دار دارند.

جدول ۶- تجزیه واریانس همبستگی صفات نهال‌های ریشه‌دار پس از تیمارهای حرارت درمانی به منظور باکتری‌زدایی از قلمه‌ها

منابع تغییر Sources of variation	درجه آزادی (df)	مجموع مربعات(SS)	میانگین مربعات(MS)	F
رگرسیون(Regression)	۴	۴۴۰/۱۱	۱۱۰/۰۳	۲۲/۴۱ **
باقی مانده(Residual)	۱۱	۴۹/۵۹	۴/۵۱	–
کل (Total)	۱۵	۴۸۹/۶۹	–	٪۴/۸۹ = ضریب دقت آزمایش

**) در سطح احتمال ۱٪ معنی دار

جدول ۷- ضرایب همبستگی صفات در آزمایش تیمارهای حرارت درمانی برای باکتری زدایی از قلمه‌های آلوده

	درصد نهال‌های سالم	درصد قلمه‌های زنده	وزن تر ریشه (گرم)	وزن تر نهال یک ساله (گرم)
درصد قلمه‌های زنده	۰/۲۱ns	–	–	–
وزن تر ریشه (گرم)	۰/۵۳۱*	۰/۱۷ns	–	–
وزن تر نهال یک ساله (گرم)	۰/۷۷۵**	۰/۱۵۶ns	۰/۷۱۷**	–
زمان باز شدن جوانه (روز)	– ۰/۸۶۸**	۰/۱۴۷ns	–۰/۷۷۳**	–۰/۸۵۱**

*)در سطح احتمال ۵٪ معنی دار **) در سطح احتمال ۱٪ معنی دار ns)غیر معنی دار

نتایج نشان داد که پس از تیمارهای شیمیایی بین صفات اندازه وزن تر نهال و وزن تر ریشه همبستگی مثبت وجود دارد و همچنین صفات درصد نهال‌های سالم پس از تیمار با وزن تر ریشه همبستگی مثبت و معنی‌داری دارند. همبستگی منفی و معنی‌دار بین صفات زمان باز شدن جوانه‌ها با وزن تر ریشه و وزن تر نهال یک ساله در این تیمارها نیز همانند تیمارهای حرارتی بوده و تفسیر آن نیز همانند این تیمارها می‌باشد. در هر دو آزمایش ترموتراپی و

شیمیوتراپی با کاهش درصد آلودگی قلمه‌ها، وزن خشک ریشه‌های باز زایی شده و همچنین وزن تر نهال‌ها سیر صعودی دارد که در تیمارهای شیمیایی این روند کندتر بوده یعنی تیمارهای شیمیایی کمتر از تیمارهای حرارتی سبب افزایش ریشه زایی شده‌اند که نتایج حاصله منطبق با نتایج بازی و همکاران (۱۹۹۱) می‌باشد.

جدول ۸- تجزیه واریانس همبستگی صفات مورد مطالعه پس از تیمار شیمیایی برای باکتری زدایی از قلمه‌های آلوده

منابع تغییر	درجه آزادی	مجموع مربعات (SS)	میانگین مربعات (MS)	F
رگرسیون(Regression)	۴	۱۰۲/۲۳	۲۵/۵۶	۵/۰۲*
باقی مانده(Residual)	۱۵	۷۶/۳۰	۵/۹۶	-
کل (Total)	۱۹	۱۷۸/۵۳	-	ضریب دقت آزمایش = ۶/۰۸٪

*)در سطح احتمال ۵٪ معنی دار

جدول ۹- ضرایب همبستگی صفات در آزمایش تیمارهای شیمیایی برای باکتری زدایی از قلمه‌های آلوده

	درصد نهال‌های سالم	درصد قلمه‌های زنده	وزن تر ریشه (گرم)
درصد نهال‌های سالم	۰/۳۷۴ ns	-	-
وزن تر ریشه (گرم)	۰/۵۱۵*	۰/۲۷۷ ns	-
وزن تر ریشه (گرم)	۰/۳۵۱ ns	۰/۱۸۷ ns	۰/۷۱۷**
زمان باز شدن جوانه (روز)	۰/۱۴۳ns	۰/۳۴۸ns	-۰/۵۷۷**

*)در سطح احتمال ۵٪ معنی دار **) در سطح احتمال ۱٪ معنی دار ns)غیر معنی دار

پیشنهادات

با توجه به نتایج بدست آمده در صورتی که از پایه‌های مادری آلوده به عامل بیماری سرطان طوقه برای تهیه قلمه یا پیوندک جهت تکثیر استفاده گردد می‌توان با انجام تیمارهای حرارت درمانی و شیمیایی درصد آلودگی را تا حد قابل قبول کاهش داده و خصوصاً تیمار گرمادرمانی با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه یا استفاده از باکتری کش استرپتومایسین سولفات با غلظت ۱/۵ در هزار ماده خالص نتایج رضایت بخش را در کاهش آلودگی بدست آورد و ضمناً اثرات مثبت دیگر این تیمارها را در مواردی نظیر رشد بهتر، ریشه‌زایی آسان‌تر طی یک فصل رویشی می‌توان مشاهده کرد که این گونه اقدامات پیشگیرانه را با اهمیت می‌سازد.

منابع مورد استفاده

۱- الهی نیا، سید علی. ۱۳۷۷ . قارچ شناسی و بیماری‌های گیاهی مقدماتی، صفحه (۳۹۳-۳۸۱) انتشارات دانشگاه گیلان،۴۲۱ ص.
۲- پیغامی، ابراهیم. ۱۳۷۲ . بیماری‌های مهم درختان میوه ، صفحه (۱۶۹-۱۶۵) انتشارات عمیدی تبریز،۲۴۴ص.
۳- حسن زاده، نادر. ۱۳۷۴ . اصول و روش‌های باکتری شناسی گیاهی. مرکز انتشارات علمی دانشگاه آزاد اسلامی،۵۴۱ص.
۴- فاتحی پیکانی، حسین. ۱۳۷۶. بررسی سرطان طوقه مو در مناطق کرج و تاکستان. پایان‌نامه کارشناسی ارشد رشته گیاه پزشکی، دانشکده کشاورزی کرج.

۵- محمود زاده، حسن. ۱۳۷۹. مطالعه و بررسی بیماری سرطان طوقه و ریشه در موستان‌های ایران، پایان‌نامه دکتری رشته باغبانی دانشگاه آزاد واحد علوم و تحقیقات تهران.

6- Bazzi, C; C, Prazza; T.J. Burr; C.L. Moore and F. Aclerio.1991. Hot Water treatments of dormant grape cuttings: Its effects on *Agrobacteriam tumefaciens* and on grafting and growth. Vitis 30:3,177-187.
7- Burr, TJ; K. Ophel; B.H. Katz and A. Kerr.1989. Effects of hot water treatments on Systemic *Agrobacterium tumefaciens* biovar 3 in dormant grape cuttings. Plant Disease.73: 3,242-245.
8- Fahy, P.C. and G.L. Perseley. 1983. Plant bacterial disease: A diagnostic guide. Academic Press. Australia. 378 p.
9- Fatehy Paykani, H. 1997. Study on grape crown gall disease in Karaj and Takestan Region. MSc Thesis. University of Tehran, Karaj Faculty of Agriculture, plant protection course.
10- Goussard, PQ.1997.Effects of hot Water treatments on vine cutting and one year–old grafts.
11- Ophel, K; P. Nicholas; P. Magarey and A. Bass.1995. Hot water Treatments of dormant grape cutting, reduced crown gall disease incidence in a field nursery. American Journal of Enology and Viticulture. 41:4,325-326.
12- Perry, K.L. and C.I. Kado. 1982. Characteristics of Ti plasmid from broad- host- range and ecologically specific biotype 2 and 3 strains of *Agrobacterium tumifaciens*. J. Bacteriol. 151: 345-350.
13- PU, X.A and R.U. Goodman.1993. Effects of fumigation and biological control on infection of indexed crown gall free grape plants. American Journal of Enology and Viticulture.44: 3,241-249.
14- Roy, M. A. and M. Sasser. 1983. A medium selective for Agrobacterium tumefaciens biovar 3. (Abstr.) Phytopathology 73, 810.
15- Schaad, N.W. (ed). 1988. Laboratory Guide for Identification of plant pathogenic bacteria. 2nd. Ed. Amer. Phytopathol. Soc. St. Paul, MN. Press, USA. 164 p.
16- Stover, E.1993. Resistance to crown gall in *vitis*: Studies directed toward the identification of crown gall resistant rootstocks. Ph.D Thesis. University of Maryland, College Park. Vitis: 16:272-276.
17- Wample, R.L.; A. BARY and T.J. BURR.1991. Heat tolerance of dormant *Vitis vitifera* cutting. American Journal of Enology and Viticulture. 24:1,67-72.
18- Wample, RL.1993. Influence of pre and post treatments storage on bud break of hot–water treatment cutting of cabernet sauvignon. American Journal of Enology and Viticulture.44: 153-158.
19- Webester, J; M. DOSSCNTOS and J.A. THOMSON.1986. Agrocin-producing *Agrobacterium tumefaciens* strain active against grapevine isolates. Applied and Environmental Microbiology.52: 217-219.

Effect of Thermo-chemotherapy Treatments on Reducing the Population of Crown Gall Agent in Grape Cuttings

Hasan Mahmoodzadeh, Abbas Davoodi

Abstract

In order to effect of hot water and chemical treatments on reducing of bacterium from infected cuttings and some characteristics of rooted cuttings cvs. Sefid Bedaneh and Hossaini, an experiment was conducted in Grape Research Station of Takestan for 3 years. The Experiment was carried out as Split-Split plot design based on CRBD, with 4 replications and 40 samples in plot. Isolation and identification of bacteria isolates was carried out by using common methods such as selective media and test on indicator plants. Treatments were included; cultivars (Main Factor), Hot-Water (sub-plot) and chemical treatments (sub-sub plot). Cuttings were rooted in non-infected media of Perlite, sand and compost soil (v/v) in an isolated nursery. The effect of treatments on infection was evaluated by observation of gall formation and bacterium growing on selective media for 2 years. Analysis of variance was done by MSTAT-C program and means were comprised by LSD method. *Agrobacterium tumefaciens* characteristics were observed on the 17 strains of 20 isolates so 3 of it were *A. vitis*. Effect of combined treatments on vitality and growth characteristics varied with different cultivars and treatments. Variation of the number of healthy rooted cuttings, cuttings survival, roots fresh weight and weight of shoots were observed. However, flower initiation was affected by treatments in the two cultivars. Results showed that agent of crown gall was eradicated or reduced below the level of detection in dormant cuttings of two cvs. of grapes by combined Hot water treatment (50ºC/30 min)× chemical treatment (Streptomycin Sulfate 1000 ppm). Although, a treatment 60 ºC/15 min was more effective, but it killed high number of cuttings. Rooting of cuttings, fruit production and other characteristics were admissible by combined chemical treatment (Streptomycin Sulfate 1000 ppm and 50ºC/30 min).

Key words: thermotherapy, Chemotherapy, crown gall, grape sensitive cultivars.