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

بررسی اثرات پایه‌های هیبرید مقاوم به سرطان طوقه و ریشه بر رشد و عملکرد دو رقم انگور تجاری در استان قزوین

حسن محمودزاده[۱]، عباس داودی[۲]

چکیده

با هدف بررسی اثر هیبریدهای انگور مقاوم تا نسبتاً مقاوم به بیماری سرطان طوقه و مطالعه سازگاری پیوند، آلودگی نهال‌های پیوندی، القای مقاومت و برخی صفات کمی و کیفی دو رقم انگور تجاری پس از پیوند، آزمایش فاکتوریل با طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار (۲۰ نهال در هر تکرار)، طی ۵ سال در ایستگاه تحقیقات انگور تاکستان انجام شد. نهال‌های پیوندی و غیر پیوندی از ارقام تجاری با مخلوطی از استرین‌های بیماری‌زای آگروباکتریوم تلقیح شدند. طی دو سال شدت بیماری روی نهال‌ها بررسی شد. جهت ارزیابی آلودگی عصاره نهال‌ها روی محیط‌های کشت D1 و NA انجام شد. درصد قلمه‌های ریشه‌دار، میزان ریشه‌زایی، اندازه رشد، طول دوره رشد یک ساله، میزان موفقیت پیوند، اندازه رشد نهال‌ها، شدت آلودگی نهال‌ها پس از تلقیح، شروع باردهی و صفات کمی و کیفی انگور یادداشت گردید. تجزیه آماری با نرم افزار SPSS انجام شد. نتایج نشان داد که دورگه‌ها از نظر صفات رویشی و مقاومت به بیماری پس از پیوند اختلاف دارند. از نظر تعداد قلمه‌های ریشه‌دار، دورگه H2 برتر از بقیه بود، در حالی که دورگه H3 از لحاظ میزان ریشه‌زایی و رشد شاخه‌ها برتر بود. همچنین دورگه H1 دوره رویشی بیشتری نسبت به سایر دورگه‌ها داشت. میزان موفقیت پیوند بین دورگه‌ها اختلاف نداشت ولی میزان رشد پیوندک‌ها روی آن‌ها با هم اختلاف داشت. گال‌زایی پس از تلقیح باکتری، به استثنای پیوند روی پایه‌های H4 و H6 با شدت‌های متفاوت دیده شد و القای باردهی در نهال‌های پیوند شده سریع‌تر بوده است.

واژه‌های کلیدی: انگور، دورگه بین گونه‌ای، پایه پیوندی، شاخص‌های رشدی، سرطان طوقه

مقدمه

ایران یکی از مناطق عمده تولید انگور در آسیا بوده و استان قزوین با حدود ۳۶۰۰۰ هکتار باغ انگور یکی از مهم‌ترین مراکز تولید انگور در ایران است (آمار نامه کشاورزی، ۱۳۸۳). متأسفانه در اکثر موستان‌های این استان بیماری باکتریایی سرطان طوقه شایع است (فاتحی پیکانی، ۱۳۷۶). عامل بیماری سرطان طوقه انگور باکتری خاک زادی است که جنس آن *Agrobacterium* می‌باشد. از این جنس ۷ گونهٔ بیماری‌زا شناسایی شده است که مهم‌ترین گونه‌های آن *A. vitis* و *A. tumefaciens* می‌باشند. گونه دوم عامل ایجاد سرطان ریشه، ساقه و طوقه در گیاهان مختلف می‌باشد و روی تعداد زیادی از گیاهان دولپه‌ای (حدود ۶۰۰ گونه) ایجاد بیماری می‌کند. نژادهایی نظیر GG49، GG230، AG57، KW180، K1059 از *A. vitis* به طور اختصاصی روی تاک ایجاد بیماری می‌کنند (مظفر و مهرآوران ۱۳۷۳).

---

[۱] - استادیار پژوهش مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان آذربایجان غربی

[۲] - عضو هیأت علمی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان قزوین

عامل بیماری در داخل غده‌های سرطانی و در تاک‌هایی که به صورت سیستمیک آلوده شده باشند، زمستان‌گذرانی کرده و در تاکستان باقی می‌مانند. باکتری در شیره گیاهی خصوصاً شیرهٔ خام، در بافت کالوس و ریشهٔ قلمه‌های آلوده ریشه دار شده، قابل جداسازی و تشخیص است و انتقال آن در داخل بافت‌ها و اندام‌های گیاهی از طریق شیرهٔ گیاهی صورت می‌گیرد و در فصل بهار وقتی که شیرهٔ خام از انتهای شاخه‌های هرس شده خارج می‌شود، این باکتری نیز از طریق ریشه به اندام‌های هوایی منتقل می‌شود (اشکان، ۱۳۷۴).

نخستین گزارش از آلودگی تاکستان‌ها به این باکتری مربوط به تاکستان‌های فرانسه است که در سال ۱۸۵۳ میلادی گزارش شده است و مسری بودن آن را محققی بنام Karwa در سال ۱۸۹۸ از ایتالیا گزارش نموده است (مظفر و مهرآوران ۱۳۷۳). این بیماری در ایران اولین بار در سال ۱۳۴۷ از تاک‌های آلوده دریک تاکستان از ارومیه گزارش گردیده است و در حال حاضر در اکثر استان‌های انگور خیز آلودگی دیده می‌شود، به عبارت دیگر اکثر تاکستان‌ها ایران آلوده به عامل بیماری سرطان طوقه می‌باشند (فاتحی پیکانی، ۱۳۷۶). کاهش شدید رشد رویشی و زایشی تاکستان‌ها در نتیجه این بیماری کاملاً شناخته شده است، به گونه‌ای که عامل بیماری سرطان طوقه را سومین عامل بیماری‌زای مهم گیاهی از نوع پروکاریوتها ذکر کرده‌اند (اشکان، ۱۳۷۴). کنترل این بیماری خطرناک با روش‌های معمول ممکن نیست ولی با پیوند ارقام حساس روی پایه پیوندی مقاوم، در بالاتر از سطح خاک، احتمال انتقال آلودگی کمتر شده و ترکیب پیوندی، مقاوم به بیماری خواهد بود (Stover and Burr, 1998). به این طریق می‌توان جلوی صدمات ناشی از بیماری را گرفت. در این تحقیق سعی شده است تا با پیدا کردن پایه پیوندی مناسب که ضمن مقاوم بودن در برابر بیماری بر سایر صفات ارقام تجاری پیوند شده اثر منفی نداشته باشد، راهی مطمئن برای مقابله با این بیماری خطرناک ارائه کرد.

مطالعات زیادی در زمینه پیشگیری، کنترل و مبارزه با بیماری سرطان طوقه و ریشه در دنیا انجام شده است. شدت و ضعف بروز بیماری ارتباط مستقیمی با نوع رقم دارد به طوری که در بین ارقام موجود در منطقه ارومیه رقم سفید بی‌دانه بالاترین حساسیت را داشته است (پیغامی، ۱۳۷۲). به دلیل اینکه پیشرفت بیماری سرطان طوقه رابطه نزدیکی با بروز صدمات سرمازدگی در تاکستان‌ها دارد هر اقدامی در جهت کاهش خسارات سرما می‌تواند در پیشگیری این بیماری مؤثر باشد. استفاده از کودهای پتاسه میزان مقاومت در برابر سرمای زمستان را افزایش می‌دهد و از آسیب یخبندان زمستانه می‌کاهد (Burr et al., 1998). در بعضی از ایالات کشور آمریکا استفاده از تاک‌های چند تنه‌ای متداول است که معمولاً ۵-۳ تنه در نظر می‌گیرند و در این روش حتی در صورت از بین رفتن بعضی از تنه‌ها در اثر یخبندان یا آلودگی باکتریایی می‌توان آن‌ها را حذف کرد و از بقیه استفاده نمود. این روش به حذف کامل بیماری نمی‌انجامد بلکه راهی مطمئن در برداشت محصول بوده و بیماری را در حد قابل قبولی کنترل می‌نماید و از کاهش شدید راندمان در تاکستان جلوگیری می‌کند (Goodman, Grim and Frank, 1993). جلوگیری از زخمی شدن ریشه، طوقه، تنه و شاخه‌ها به وسیله ادوات کشاورزی، یا حشرات تغذیه کننده از ریشه و جلوگیری از شانکرها که در اثر سرمای زمستانه به وجود می‌آیند، می‌تواند در پیشگیری مؤثر باشد زیرا مقدار زخم‌ها را به حداقل رسانده و منافذ ورودی عامل بیماری به داخل اندام‌های گیاهی را کاهش می‌دهد (مظفر و مهرآوران، ۱۳۷۳). تاکنون روش‌های مؤثر و مطمئنی برای مبارزه شیمیایی با عامل بیماری سرطان طوقه پیدا نشده است اگرچه از ترکیبات شیمیایی مختلف مانند ترکیبات مسی به صورت آزمایشی استفاده شده است ولی استفاده از سموم مسی و درصد موفقیت کنترل عامل بیماری امیدوار کننده نبوده است. استفاده از ماده شیمیایی ایزوتیوسیانات[1] با نام تجاری ورلیکس[2] احتمالاً آلودگی در تاک‌ها را

[1] -Isotiosyanate
[2] -Vorlix

شدیداً کاهش داده است و مصرف ترکیبات آگروسین[1] و گالیکس[2] نیز رشد غده‌های سرطانی را تا حد زیادی کاهش داده‌اند، در صورتی که در آزمایش دیگر استعمال اگروسین روی باکتری بی‌تأثیر بوده است (اشکان، ۱۳۷۴). برای مبارزه از ترکیبات آنتی‌بیوتیک نظیر استرپتوماسین، ترامایسین و کانامایسین استفاده شده است که نتایج صد درصد موفقیت‌آمیز نبوده است (محمود زاده، ۱۳۷۹). علاوه بر این مواد ترکیبات شیمیایی نظیر پینتریکسیل[3]، سیپوریکس[4]، استرپتومایسین سولفات، ویبرومایسین[5]، شیمیوسایکلار[6]، نیستاتین[7] و باکتریوم در غلظت‌های کم بر روی ده نژاد باکتری جدا شده از تاک‌های آلوده در یوگسلاوی اثرات رضایت بخش بر کنترل بیماری را داشته‌اند که در بین آن‌ها استرپتومایسین سولفات بهتر از همه عمل کرده است (Chi, Hypuchao and Chai, 1997). همچنین ترکیبات شیمیایی اکسی تتراسیکلین هیدروکلراید، وانکومایسین و اوروومایسین نیز در این مبارزه مورد استفاده قرار گرفته‌اند که تأثیر اندکی در کنترل بیماری داشته‌اند (فاتحی پیکانی، ۱۳۷۶).

در فرانسه ضدعفونی تنه موها و شاخه‌ها با ترکیبی شیمیایی از مخلوط بوردو به اضافه ماده دی‌نیتروارتوکرزول (DNOC) با سولفات مس به میزان ۵٪ در کنترل عامل بیماری مؤثر بوده است. در سوئیس نیز پیش تیمار خزانه‌ها با ترکیب اکسی‌کینولین میزان این بیماری را کاهش داده است. استفاده از ژل‌کلسیم‌آلژینات که روی سطوح زخمی و بریده شده تاک‌ها مالیده می‌شود و توانسته است در کنترل بیماری تا حدی مؤثر باشد. برای مبارزه بیولوژیک با باکتری عامل بیماری سرطان طوقه از گونه دیگری از آگروباکتریوم بنام رادیوباکتر[8] استفاده شده است **(گودمن، گریم و فرانک، ۱۹۹۳)** .

بیووار[9]ها و نژادهایی از این گونه شناسایی شده‌اند که می‌توانند به صورت موفقیت‌آمیز رشد غده‌های سرطانی را در تاک‌ها متوقف سازند. از مهم‌ترین بیووارهای مورد استفاده این گونه در مبارزه با عامل بیماری سرطان طوقه می توان به بیووار[2] و نژادهای F2/5, K84, HLB-2 اشاره کرد که غده زایی و رشد و نمو غده سرطانی در تاک را کنترل می‌کنند. نژاد F2/5 باکتری *A. radiobacter* تولید ماده‌ای بنام آگروسین – ۸۴ می‌کند که استفاده از این ماده بدون خود باکتری سنتز کننده آن نیز، از غده زایی جلوگیری می‌کند (اشکان، ۱۳۷۴). استفاده از ارقام، هیبریدها و گونه‌های مقاوم نیز توصیه شده است، به طور مثال پایه گلوار[10] که رقمی از *Vitis riparia* است مقاومت بسیار خوبی را در پیوندک‌ها (در حدود ۹۱٪) القاء کرده است که به نظر می‌رسد از طریق تولید ماده‌ای بنام آگروسین باشد که مقاومت را در بعضی از ارقام بالا می‌برد و ژن عامل آن شناسایی شده است (بور و دیگران، ۱۹۹۸).

ایستویر و بور (۱۹۹۶) هیبرید 110R که از تلاقی *V. berlandieri* × *V. rupestris* بدست آمده است به عنوان پایه مقاوم معرفی کردند. محمود زاده (۱۳۷۹) در ایران مطالعاتی را در زمینه مقاومت بعضی از هیبریدهای بین گونه‌ای موهای اروپایی *V.vinifera* با موهای آمریکایی نظیر *V. rupestris* انجام داد و مقاومت نسبی بعضی از این دورگه‌ها را مشخص نمود.

تعدادی از گونه‌های وحشی موهای آسیایی در چین را Chi & et al., 1997 شناسایی کرده و مقاومت آن‌ها را در برابر بیماری سرطان طوقه و ریشه سنجیده‌اند که به نتایج مطلوبی در زمینهٔ مقاومت به این بیماری دست یافته‌اند.

---

[1] -Agrocin
[2] -Galix
[3] -pentrexil
[4] -Cyporex
[5] -Vebromycin
[6] -Chemocyclar
[7] -Nystatin
[8] -*Agrobacterium radiobacter*
[9] -Biovars
[10] -Glorie

مقاومت بعضی از گونه‌های موهای موجود در آسیای شرقی و هیبریدهای آن‌ها با موهای اروپایی را Szedgi, Karbuli and Kedida, 1984 آزمایش کرده که بعضی از این هیبریدهای مقاومت نسبی نشان داده‌اند ولی کیفیت میوه آن‌ها چندان مناسب نبوده است.

فاتحی پیکانی (۱۳۷۶) در بررسی راه‌های مبارزه با این بیماری در مناطق کرج و تاکستان، روش‌های شیمیایی مبارزه را ناکافی بوده و تاکید بر استفاده از ارقام مقاوم و پایه‌های پیوندی مقاوم برای کنترل بیماری است و یکی از راه‌های کاهش خسارت عامل بیماری سرطان طوقه و ریشه را استفاده از پایه‌های پیوندی مقاوم معرفی کرده‌اند و بر لزوم دقت در حین پیوند به منظور جلوگیری از آلودگی محل پیوند از طریق قیچی آلوده و یا چاقوی پیوندی را تاکید می‌نماید. با توجه به تقسیم شدید سلولی در ناحیه پیوند، در صورت آلودگی این ناحیه حتی در یک ترکیب از پایه پیوندی مقاوم و رقم حساس، احتمال تشکیل غده سرطانی در محل پیوند وجود خواهد داشت (Cleveland and Goodman, 1986) ، بنابراین در حین اجرای پیوند، از آلوده شدن محل پیوند به هر نحو ممکن باید جلوگیری شود. احتمال ترشح بعضی از مواد آنتی باکتریال از پایه‌های پیوندی مقاوم نظیر آگروسین را Szedgi, Karbuli and Otten, 1989 تایید نموده و چنین بیان کرده‌اند که القای مقاومت نسبی در یک ترکیب پیوندی از پایه مقاوم و پیوندک حساس می‌تواند به دلیل ذکر شده باشد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق به صورت آزمایشی ۵ ساله در ایستگاه‌های تحقیقاتی اسماعیل آباد و تحقیقات انگور تاکستان وابسته به مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی قزوین انجام شده است. آزمایش به صورت فاکتوریل با طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی در ۴ تکرار اجرا گردید. فاکتورهای مورد بررسی عبارتند

از فاکتور A (نوع پایه) که شامل

a_0) عدم استفاده از پایه پیوندی

a_1) هیبرید ۱ [(H1) *V. vinifera* cv. Jighjigha × *V. rupestris* cv. Du Lot]

a_2) هیبرید ۲ [(H2) *V. vinifera* cv. Alibaba × *V. rupestris* cv. Du Lot]

a_3) هیبرید ۳ [(H3*) V. vinifera cv.* Gara ouzum *x Vitis rupestris* cv. Du Lot]

a_4) هیبرید ۴ [(H4) *V. vinifera* cv. Jighjigha × Riparia Gloire]

a_5) هیبرید ۵ [(H5) *V. vinifera* cv. Alibaba × 110R*]

a_6) هیبرید ۶ [(H6) *V. vinifera* cv. Gharaozum × Kober 5BB]

110R* از تلاقی *Vitis berlandieri* cv. Ressguier N°$_2$ × *Vitis rupestris* cv. Martin بدست آمده است.

و فاکتور B شامل:

b_1 (رقم سفید بی دانه) و b_2(رقم دانه دار صاحبی) به عنوان پیوندک.

بر این اساس ترکیب تیمارهای مورد نظر به شرح زیر خواهند بود.

a0b1, a0b2, a1b1, a1b2, a2b1, a2b2, a3b1,
a3b2, a4b1, a4b2, a5b1, a5b2, a6b1, a6b2

تیمارهای که سطح اول آن‌ها a_0 می‌باشند تیمارهای شاهد هستند به این معنی که قلمه‌های دو رقم تجاری ریشه‌دار شده و غیر پیوندی می‌باشند. برای هر رقم تجاری و دورگه ۴۰ قلمه به طول ۲۰ سانتی‌متر حداقل با ۴ گره تهیه و در خزانه کشت گردید. پس از ریشه‌زایی و رشد قلمه‌ها مطالعه برخی از صفات

شاخص و برتر نظیر درصد ریشه‌زایی قلمه‌ها، میزان ریشه‌زایی، اندازه رشد شاخه‌ها در طی فصل رویشی و طول دوره رشد از شروع رشد تا برگ‌ریزی انجام گردید. همچنین هم زمان با این عملیات ۲۰ قلمه از شاخه یک ساله با رشد مناسب از دورگه‌ها تهیه و در اسفند پیوند شدند.

نهال‌های ریشه دار هیبریدها به عنوان پایه مادری در زمین اصلی در ایستگاه اسماعیل آباد نگهداری می‌شوند. پیوند از نوع نیمانیم انگلیسی و اسکنه رومیزی اجرا گردید. پس از اطمینان از کالوس‌زایی در محل پیوند آن‌ها را به خزانه اصلی در هوای آزاد منتقل نمودیم. پیوندک‌ها از ارقام تجاری سفید بی‌دانه و سرخ صاحبی تهیه شدند. همزمان با پیوند، قلمه های تیمار شاهد نیز در خزانه کشت شدند که همان ارقام تجاری غیر پیوندی هستند. پیوند از بالای ۲۰ سانتی‌متر انجام شد.

متأسفانه در سال اول به دلیل بارش تگرگ نهال‌های پیوندی از بین رفتند و مجدداً در سال دوم از هیبریدها قلمه تهیه و روی آن‌ها پیوند زده شد. روی نهال‌های پیوندی و غیر پیوندی پس از اطمینان از رشد پیوندک‌ها و ریشه‌زایی قلمه‌های شاهد، در اوایل تیر نسبت به آلودگی مصنوعی پایه‌های پیوندی و تیمار شاهد با استفاده از آلوده نمودن خاک خزانه و تلقیح باکتری از طریق سوسپانسیون باکتری حاوی $۱۰^{۸}$×۱۰ سلول باکتری در هر میلی‌لیتر اقدام گردید. برای تهیه سوسپانسیون مذکور ابتدا با جداسازی مخلوطی از استرین‌های بیماری‌زای آگروباکتریوم از تاکستان‌های آلوده منطقه، باکتری مذکور را روی محیط‌های کشت D1 و MRS (RS تغییر یافته[1]) کشت داده و پس از تشکیل کلونی، سوسپانسیون را با استفاده از آب مقطر استریل، تهیه نموده و تلقیح نهال‌ها در خزانه از طریق تزریق عصاره توسط سرنگ و ایجاد زخم با اسکالپل آلوده به سوسپانسیون باکتری و قرار دادن پنبه مرطوب آلوده در محل زخم و پوشاندن آن با نوار پارا فیلم انجام شد (حاتمی، ۱۳۷۰).

در پایان سال سوم پس از تعیین و جداسازی نهال‌های سالم از نهال‌های پیوندی آلوده که با علایم ظاهری آلودگی (وجود غده در محل تلقیح) مشخص شدند، نهال‌های سالم را با فواصل ۲×۴ متر از هم در زمین اصلی کاشته و هرس فرم روی آن‌ها انجام شد و نهال‌های آلوده را حذف نمودیم. درصد نهال‌های که در محل تلقیح و یا محل پیوند علایم بیماری را به صورت بصری نشان دادند، یادداشت گردیدند. جهت ارزیابی نهال‌ها با تست عصاره آن‌ها روی محیط‌های کشت D1 و NA[2] عدم آلودگی نهال‌های پیوندی روی پایه‌های مذکور مشخص گردید. در طی دو سال با رویت اولین علایم بلوغ در نهال‌های سالم و آلوده، عملکرد و صفات کیفی میوه نیز اندازه گیری شد.

فاکتورهای مورد بررسی در میوه به شرح زیر بوده است:

الف: شاخص‌های کمی

۱- متوسط عملکرد هر بوته در هر تیمار

۲- اندازه وزن و قطر حبه‌ها

۳- طول و عرض و وزن خوشه

ب) شاخص‌های کیفی محصول شامل:

۱- نسبت قند به اسیدیته میوه

[1] -Modified RS
[2] -Nutrient Agar

۲- اسیدیته (TA)

۳- کل مواد جامد قابل میوه (TSS)

۴- PH میوه

برای داده‌های بدست آمده با استفاده از نرم افزار آماری SPSS تجزیه و تحلیل آماری انجام شد و مقایسه میانگین با آزمون LSD صورت گرفت. همبستگی صفات مذکور با نوع پایه و اثر آلودگی مصنوعی ترکیب پیوندی از طریق آزمون‌های همبستگی نیز تعیین گردید.

نتایج

تجزیه واریانس داده‌های حاصل از رکوردگیری درصد ریشه‌زایی قلمه‌ها، میزان ریشه تولیدی (وزن خشک ریشه‌ها)، اندازه رشد شاخه و ریشه (وزن تر نهال) در طی فصل رویشی و طول دوره رشد از شروع رشد (پنبه‌ای شدن جوانه‌ها) تا برگ‌ریزی با شمارش تعداد قلمه‌های ریشه‌دار شده، توزین وزن خشک ریشه‌ها و نیز توزین وزن نهال‌ها و تعداد روز از شروع رشد تا پایان برگ‌ریزی در طی سال اول کاشت قلمه‌ها نشان داد که در اکثر صفات مورد بررسی، اختلاف معنی‌داری بین دورگه‌ها وجود دارد (جدول ۱).

جدول ۱- تجزیه واریانس داده‌های مربوط به برخی از صفات دورگه‌ها در پایان سال اول آزمایش

منابع تغییرات	df	MS			
		درصد ریشه زایی قلمه ها	میزان ریشه تولیدی (وزن خشک ریشه‌ها)	اندازه رشد شاخه و ریشه (وزن تر نهال)	طول دوره رشد
تکرار	۳	۴۷۹/۲۵ns	۲۴۶/۸۷*	۲۸۶/۸۷۱ns	۸۳/۱۴ns
تیمار (دورگه‌ها)	۵	۲۵۴۹/۳۶۸*	۹۸۷/۳۲۵**	۱۲۵۷/۶۳۲**	۷۲۹/۴۸۳**
اشتباه آزمایشی	۱۵	۱۲۵/۴۷	۲۴/۳۶۵	۱۱۴/۳۸۹	۲۲/۸۵۴

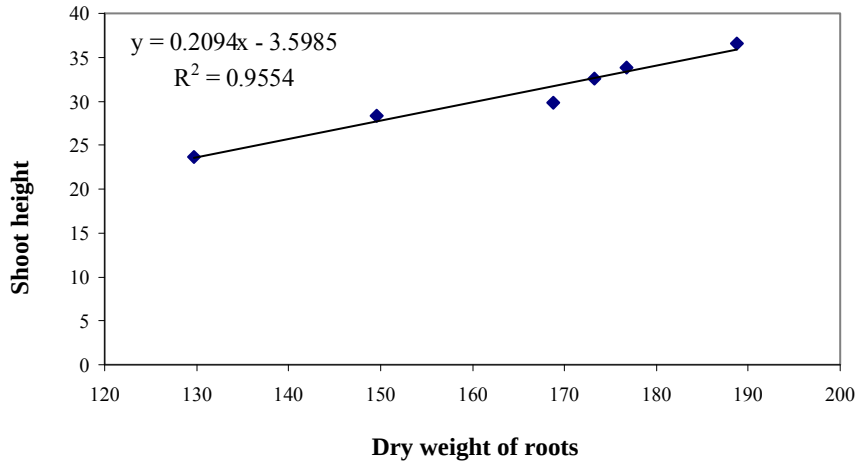
ns غیر معنی‌دار، * معنی‌دار در سطح ۵٪ ، ** معنی‌دار در سطح ۱٪

بر این اساس مقایسه میانگین داده‌های بدست آمده با آزمون LSD انجام شد (جدول ۲). با توجه به نتایج بدست آمده، پایه H1 دارای بیشترین طول دوره رشد در یک فصل رویشی بود در حالی که میزان رشد شاخه‌ها و ریشه‌زایی قلمه‌ها فقط نسبت به H4 بیشتر بود. قلمه‌های پایه H3 دارای بیشترین ریشه و شاخه رشد کرده بودند و از نظر درصد ریشه‌زایی و بقا نیز مشابه پایه H2 بوده و نسبت به بقیه پایه‌ها برتر بوده است. پایه‌های H6 و H4 دارای دوره رشد کوتاه‌تری نسبت به بقیه بودند ولی در بررسی برخی صفات نظیر ریشه‌زایی و رشد شاخه‌ها نسبت به H1 و H2 برتر ظاهر شده‌اند.

جدول ۲- مقایسه میانگین داده‌های مربوط به صفات رویشی پایه‌های دورگه‌ها و اطلاعات مربوط به شروع و پایان رشد

دو رگه‌ها	تاریخ شروع رشد جوانه	تاریخ برگ‌ریزی	مدت دوره رشد رویشی (روز)	درصد قلمه‌های ریشه دار شده	وزن خشک ریشه (گرم)	وزن تر نهال (گرم)
H1	۸۱/۲/۱۲	۸۱/۹/۱۴	۲۱۷a	۷۵b	۱۴۹/۵۷d	۴۲۸/۳۷۵c
H2	۸۱/۲/۱۶	۸۱/۹/۱۳	۲۱۲b	۸۵a	۱۶۸/۷۵c	۴۲۹/۸۷۵bc
H3	۸۱/۲/۱۴	۸۱/۹/۱۲	۲۱۳b	۸۲/۵a	۱۸۸/۷۵a	۴۳۶/۶۲۵ a
H4	۸۱/۲/۱۳	۸۱/۸/۲۸	۲۰۰c	۶۵c	۱۷۶/۷۵b	۴۳۳/۸۷۵b
H5	۸۱/۲/۱۸	۸۱/۸/۲۷	۱۹۴d	۷۵b	۱۲۹/۷۵e	۴۲۳/۶۸۸d
H6	۸۱/۲/۱۱	۸۱/۸/۲۶	۲۰۰c	۷۵b	۱۷۳/۲۵bc	۴۳۲/۵۶۳b
LSD5%			۴/۲۸	۵/۲۴	۵/۴۲۳	۳/۲۸۷

همبستگی صفات مورد مطالعه در دورگه‌ها نتایج متفاوت را نشان داده است ولی غالباً بین وزن خشک ریشه و وزن تر نهال همبستگی مثبت و معنی دار بوده است (جدول ۳ و نمودار ۱).



نمودار ۱- همبستگی بین طول شاخه (سانتیمتر) و وزن خشک ریشه (گرم) در دورگه‌های انگور

نتایج تجزیه واریانس داده‌های حاصل از میزان موفقیت پیوند، اندازه رشد نهال‌های پیوندی در سال اول، شدت آلودگی نهال‌ها پس از تلقیح باکتری، شروع بار دهی درصد گیرایی پیوند، درصد نهال‌های پیوندی و غیر پیوندی سالم پس از آلودگی مصنوعی، درصد نهال‌های پیوندی زنده از مجموع نهال‌های با پیوند موفق در سال سوم و درصد نهال‌های پیوندی و غیر پیوندی بارده و سالم در سال سوم و چهارم آزمایش نشان داد که بین تیمارها اختلاف معنی‌دار وجود دارد (جدول ۳). همچنین از نظر میزان موفقیت پیوند (گیرایی پیوند) نیز در سال سوم مطالعه گردید که نتایج حاصل از آن نشان دهنده عدم اختلاف بین دورگه‌ها می‌باشد. نتایج بدست آمده از اندازه‌گیری صفات کمی و کیفی میوه تاک‌های پیوندی روی پایه‌های مختلف و غیر پیوندی ارقام تجاری و تجزیه واریانس آن‌ها اختلاف معنی‌دار تیمارهای اعمال شده بر روی اکثر صفات را نشان می‌دهد (جدول ۵). با توجه به نتایج بدست آمده مقایسه میانگین داده‌ها با آزمون LSD در جدول ۷ نشان داده شده است.

جدول ۳- تجزیه واریانس داده‌های مربوط به صفات نهال‌های پیوندی و غیر پیوندی در آزمایش

منابع تغییرات	df	MS			
		بار دهی نهال‌های پیوندی و غیر پیوندی سالم و آلوده	نهال‌های باقی مانده پیوندی	نهال‌های سالم پس از آلودگی مصنوعی	گیرایی پیوند
تکرار	۳	۸۵۹/۲۵ns	۱۲۶۶/۸۷ns	۷۶۵/۸۴۳۱ns	۱۴۸/۱۴ns
نوع پایه پیوندی(A)	۶	۸۴۲۵/۲۳۶**	۹۸۵۴/۰۴۵**	۱۵۳۵۰/۵۱۰**	۹۸۵/۳۴۳*
نوع رقم(B)	۱	۲۴۸۵/۱۴۲ns	۱۲۴۵/۲۳۵*	۳۷۸/۴۵۸*	۱۲۵/۲۷۹ns
اثر متقابل (AB)	۶	۱۷۴۸/۸۸*	۳۷۷۸/۸۹۵**	۴۱۴۸/۶۶۵*	۳۴۸/۸۶۱*
اشتباه آزمایشی	۳۹	۸۷.۲۶۸	۱۷۸.۴۶۵	۲۴۵.۸۷۲	۸۹.۳۶۴

ns غیر معنی دار، * معنی دار در سطح ۵٪ ، ** معنی دار در سطح ۱٪

بر این اساس مقایسات میانگین داده‌ها با آزمون LSD انجام شد (جدول ۵).

جدول ۴- مقایسه میانگین داده‌های برخی از صفات نهال‌ها پس از آلودگی مصنوعی در طی ۳ سال

تیمار	درصد گیرایی پیوند	درصد نهال‌های سالم پس از آلودگی (محاسبه بر اساس تعداد نواحی تلقیح شده)	درصد نهال‌های باقی مانده پیوندی در سال سوم از مجموع نهال‌های موفق	درصد نهال‌های پیوندی و غیر پیوندی سالم و آلوده بارده در سال سوم
رقم سفید بی‌دانه (A0B1)(SB)	–	۲c	–	۲cd
رقم سرخ صاحبی (A0B2)(SA)	–	۴bc	–	۵c
H1SB	۲۵c	۱۷b	۲۵b	۶c
H1SA	۲۷c	۱۶b	۳۳b	۸c
H2SB	۴۴bc	۱۸b	۱۸bc	۱۵c
H2SA	۵۶b	۱۸b	۲۷b	۲۳bc
H3SB	۶۴a	۲۹b	۱۹bc	۱۲c
H3SA	۵۸b	۱۷b	۳۱b	۱۱c
H4SB	۸۵a	۷۴a	۸۸a	۳۸a
H4SA	۸۶a	۷۸a	۸۵a	۴۲a
H5SB	۸۳a	۱۹b	۲۷b	۲۶bc
H5SA	۷۵a	۱۲bc	۱۴c	۲۳bc
H6SB	۸۶a	۷۷a	۸۶a	۴۵a
H6SA	۸۳a	۷۵a	۸۷a	۴۸a
LSD 5%	۲۸/۴۵	۱۴/۲۷۵	۱۲/۶۵۸	۱۸/۹۶۸
MS	منابع تغییرات	df		

جدول ۵- تجزیه واریانس داده‌های حاصل از صفات کمی و کیفی میوه بدست آمده از تیمارهای مختلف

منابع تغییرات		عملکرد	طول خوشه	عرض خوشه LN (Data)	وزن خوشه	قطر حبه LN (Data)	وزن حبه	TSS	PH	TSS/TA SQRT (Data)	TA
تکرار	۳	۲۲/۷۸ns	۴۰۷/۵۵*	۰/۱۴۹ns	۱۷۸/۱۳ns	۰/۳۱۰ns	۱۲۴۱/۲۶۵*	۰/۱۲۵ns	۱۳/۹۱۳ns	۱۰/۰۴۱*	۰/۱۶۵ ns
نوع پایه پیوندی(A)	۶	۶۳/۷۳*	۳۴/۴۲*	۰/۱۳۳*	۱۱۲۰۰۴/۳۳**	۰/۰۶۴**	۵/۰۱۰ns	۴/۶۹۸**	۰/۲۸۳**	۱/۶۰۳**	۰/۰۱۱*
نوع رقم(B)	۱	۱/۲ns	۱۰/۶۹ns	۰/۳۰۸ns	۴۴۳۲/۲۲**	۰/۰۰۹ns	۴/۸۱ns	۰/۲۵ns	۰/۲۷۶*	۰/۹۴۹*	۰/۰۱۷*
اثر متقابل AB	۶	۴/۰۷۵**	۷/۵۸۹ns	۰/۰۴۲*	۳۸۹۳/۶۲*	۰/۰۰۸ns	۲/۱۵۹ns	۰/۸۱۴*	۰/۰۲ns	۰/۱۵۸ *	۰/۰۰۴ ns
اشتباه آزمایشی	۳۹	۲/۷	۱۲/۴۵۱	۰/۵۴	۱۲۴/۲۵	۰/۰۱۲	۱/۷۵۴	۰/۴۵	۰/۰۲۸	۰/۰۱۷	۰/۰۲۴۵
ضریب تغییرات		۵/۲	۷/۵۶۲	۱۰/۴۲۶	۶/۳۶۲	۱۲/۲۲۱	۷/۸۹	۴/۷۵	۸/۳	۹/۳۴	۲۱/۱۰

جدول ۶- مقایسه میانگین برخی از صفات کمی و کیفی میوه بدست آمده از تیمارهای مختلف در نهال‌های غیر پیوندی و نهال‌های پیوندی سالم

تیمار	صفات									
	عملکرد (کیلوگرم نهال)	طول خوشه (سانتیمتر)	عرض خوشه (سانتیمتر)	وزن خوشه (گرم)	قطر حبه (میلی‌متر)	وزن حبه (گرم)	TSS (درجه بریکس)	TA (میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم)	TSS/TA SQRT (Data)	PH
رقم سفید بی‌دانه (A0B1)(SB)	۱/۲۵۴d	۱۴/۵۴c	۸/۶۵ab	۲۶۸/۲۴d	۹/۲۱cd	۰/۹c	۲۲/۵a	۰/۵۴b	۴۱/۹b	۴/۲۳b
رقم سرخ صاحبی (A0B2)(SA)	۱/۹۵۸c	۱۲/۳۶d	۷/۲۴c	۲۵۴/۶۳e	۱۰/۸۴bc	۱/۲۱b	۱۹/۵c	۰/۵۸a	۴۶/۲۵a	۴/۶۵ab
H4SB	۲/۲۵b	۱۴/۲۵c	۸/۲۴b	۳۱۲/۱۴c	۱۰/۱۴c	۱/۱۲bc	۲۳/۲۵a	۰/۴۵d	۴۲/۸۶b	۵/۱۲a
H4SA	۲/۵۶ab	۱۶/۴۸b	۹/۵۴ab	۳۶۵/۲۵b	۱۱/۲۸bc	۱/۳۱a	۲۰/۵b	۰/۴۴e	۴۰/۱b	۵/۲۲a
H6SB	۲/۷۴۵a	۱۷/۲۹a	۸/۹۸a	۳۷۴/۵۸a	۱۱/۵۴b	۱/۲۲b	۲۲/۷۵a	۰/۴۸c	۴۹/۵۸a	۴/۹۸a
H6SA	۲/۹۸۰a	۱۷/۸۶a	۹/۶۹a	۳۸۶/۲۳a	۱۳/۸۲a	۱/۳۴a	۱۹/۷۵bc	۰/۴۷f	۴۳/۱۷ab	۴/۸۵ab
LSD 5%	۰/۲۵۷	۱/۲۸۵	۰/۹۹۵	۱۲/۵۴	۰/۸۵۴	۰/۱۲۵	۲/۲۵۷	۰/۰۹۸	۵/۶۴۵	۰/۷۸۸

بحث و نتیجه‌گیری

مشابه نتایج استویر و بور(۱۹۹۸) در این آزمایش دورگه‌های مورد مطالعه در برابر بیماری از خود مقاومت نشان دادند. دلیل این امر شاید وجود حداقل یک والد از گونه‌های مقاوم آمریکایی باشد که به عنوان مثال گونه‌های نظیر *V. rupestris* یا *V. berlandieri* و یا هیبرید 110 R که از تلاقی آن‌ها بدست آمده است در این تلاقی‌ها مورد استفاده بوده‌اند که منطبق با مطالعات گودمن، گریم و فرانک (۱۹۹۳) و زگدی، کاربولی و اوتن (۱۹۸۹) این گونه‌ها و نتاج تلاقی‌های آن‌ها نظیر پایه 120AA از خود مقاومت نشان داده‌اند.

بر اساس مطالعات قبلی دورگه‌های مورد بررسی در این آزمایش دارای مقاومت نسبی یا زیاد در برابر بیماری سرطان طوقه و ریشه هستند ولی نتایج پس از پیوند نشان داد که دو هیبریدH4 و H6 علاوه بر مقاومت بالای نهال‌های پیوندی به بیماری مذکور در افزایش کیفیت میوه استحصالی نیز موثر بوده‌اند؛ و می‌توان آن‌ها را به عنوان پایه برتر

معرفی و در تولید نهال‌های پیوندی مقاوم از آن استفاده کرد (جدول۷). لازم به ذکر است که هیبریدهای مورد استفاده در این آزمایش از نظر تولید محصول و کیفیت میوه فاقد ارزش تجاری هستند و فقط در صورت استفاده به عنوان پایه پیوندی یا به عنوان منابع ژنی مقاوم در برابر این بیماری قابل استفاده هستند. با توجه به مقاومت گونه‌های آمریکایی مو در برابر آفت فیلوکسرا[1] و استفاده از آن‌ها به عنوان پایه پیوندی که تنها راه اقتصادی مبارزه با این آفت در آمریکا و اروپا به حساب می‌آید موضوع استفاده از دورگه مذکور به عنوان پایه پیوندی مناسب جهت مقابله با این بیماری و مقاومت احتمالی آن‌ها در برابر آفت فیلوکسرا می‌تواند به عنوان یکی از راه‌های مؤثر در امر مبارزه و کنترل بیماری سرطان طوقه و ریشه انگور مطرح گردد.

بر این اساس با توجه به خاک زی بودن عامل بیماری سرطان طوقه و ریشه، صدمات شدید این عامل در ناحیه ریشه و طوقه، در صورتی که به عنوان پایه پیوندی این پایه‌ها بالاتر از سطح خاک در محل اصلی کاشت (۳۰-۲۰ سانتی‌متر بالاتر) پیوند شوند و به سیستم هدایت داربستی هدایت شوند می‌توانند در کنترل بیماری مذکور موثر باشند. همچنین می‌توان از این پایه‌ها به عنوان ذخایر و الک در برنامه‌های دو رگ گیری یا برنامه‌های اصلاحی انتقال ژن (مهندسی ژنتیک)، جهت تولید گیاهان ترانسژنیک[2] بکار گیری شوند.

زگدی و همکاران (۱۹۸۴) تعدادی از گونه‌های وحشی مو را در دنیا شناسایی کرده‌اند که در برابر این بیماری مقاومت نشان داده‌اند، به طوری که بعضی از گونه‌های آسیایی مو در چین ویژگی مقاومت را به خوبی نشان داده‌اند ولی از نظر کمیت و کیفیت میوه چندان مطلوب نبوده‌اند و توصیه شده است که از آن‌ها به عنوان پایه‌های پیوندی مقاوم استفاده گردد که مشابه نتایج بدست آمده از تحقیق ما می‌باشد.

پیشنهادات

بر اساس نتایج می‌توان گفت که برتری دورگه‌های H2 و H3 نسبت به بقیه تیمارها در صفات رویشی مورد بررسی مشخص بوده ولی سایر بررسی‌ها نشان داد که نهال‌های پیوندی روی این پایه‌ها در برابر بیماری حساس بوده و با توجه به مقاومت بالای نهال‌های پیوندی روی پایه‌های H4 و H6 این پایه‌ها را به عنوان پایه‌های مقاوم در تولید نهال‌های مقاوم به این بیماری می‌توان معرفی کرد. با توجه افزایش کمی و کیفی محصول روی پایه‌های مذکور در سال اول پس از بار دهی لازم است که نتایج در سال بعد نیز بررسی و پس از تجزیه‌های آماری دو ساله در خصوص اثر این پایه‌ها بر عملکرد و کیفیت انگور ارقام یاد شده نسبت به معرفی این پایه‌ها اقدام کرد. زیرا هدف اصلی از این پژوهش دستیابی به یک پایه با بیشترین تأثیر مثبت بر پیوندک جهت افزایش میزان مقاومت در برابر بیماری سرطان طوقه می‌باشد و در حین حال این پایه باید بر ویژگی‌های کمی و کیفی محصول نیز اثرات مثبت داشته باشد.

منابع مورد استفاده

۱- اشکان، سید محمد.۱۳۷۴. بیماری‌های تاک. تهران: مرکز نشر دانشگاهی. ۲۴۵ صفحه.

۲- پیغامی، ابراهیم. ۱۳۷۲. بیماری‌های مهم درختان میوه. تبریز: انتشارات عمیدی تبریز. ۱۴۸ صفحه.

۳- حاتمی، بیژن. ۱۳۷۰. راهنمای آزمایشات صحرایی در گیاه‌پزشکی. تهران: انتشارات نشر ارکان. ۲۱۸ صفحه.

[1] - phyloxera

[2] - Transgenic plant

۴- دادگر، علی.۱۳۶۹. شناسایی و مطالعه انگورهای منطقه ارومیه. پایان نامه دوره کارشناسی ارشد باغبانی، دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران.

۵- فاتحی پیکانی، حسین. ۱۳۷۶. بررسی سرطان طوقه مو در مناطق کرج و تاکستان. پایان نامه دوره کارشناسی ارشد گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی کرج، دانشگاه تهران.

۶- مظفر، احمد و حمید مهرآوران. ۱۳۷۳. بیماری‌های گیاهی، ارومیه: انتشارات دانشگاه ارومیه. ۴۶۷ صفحه.

۷- محمود زاده، حسن. ۱۳۷۹. مطالعه و بررسی عوامل انتشار و نحوه خسارت باکتری عامل بیماری سرطان طوقه مو و انتخاب هیبریدها و ارقام مقاوم و روش‌های عملی جلوگیری از گسترش آن در موستان‌های ایران. پایان نامه دوره دکتری باغبانی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران.

۸- وزارت جهاد کشاورزی. آمارنامه کشاورزی. ۱۳۸۳. انتشارات معاونت آموزش و تجهیز نیروی انسانی.

9- Burr, T.S., Bazzi, C., Sule, S., & Otten, L. 1998. Crown gall of grape: Biology of *Agrobacterium vitis* and the development of disease control strategies. *Plant Disease,* 82, 1288-1297.

10- Chi, L., Hepuchao, C. & Chai, JH. 1997. The resistance of wild species in China to *Agrobacterium tumefacifaciens*. *Acta Horticulture Sinicia,* 24: 123-129.

11- Clevland, G.L. & Goodman, R.N. 1986. A proposed basis for varietals differences in sensitivity of grapes to crown gall disease. *Phytopathology,* 76, 11170.

12- Goodman, R.N., Grimm, R. & Frank, M. 1993. The influence of grape rootstock on crown gall infection process and on tumor development. *American. Journal of Enology and Viticulture*, 44 (1), 22-26.

13- Stover, E. & Burr, T.J. (1998). The effects of rootstocks resistance to crown gall (*Agrobacterium* spp) on the susceptibility of scions grapevine. In Proceedings of I*nternational Symposium on Plant Phatology*, November 18-19, 1998. Germany, 23-24.

14- Szegedi, E. Karbuly, J. & Kdeda, I. (1984). Crown gall resistance in East Asian *Vitis* species and their *V. vinifera* hybrids. *Vitis,* 23, 26-32.

15- Szegedi, E. Korbuly, J. & Otten, L. (1989). Types of resistance of grapevine varieties to isolates of *Agrobacterium tumefacifaciens* biotype3. *Physiological and Molecular plant pathology*.35 (1), 35-43.

پژوهش نامه کشاورزی و منابع طبیعی

Study on Effects of Crown Gall Rootstock Resistance Hybrids on Two Commercial Grape Cultivars in Qazvin Province

Hasan Mahmoodzaeh, Abbas Davoodi

Abstract

The effects of 6 interspecific hybrid rootstocks on the susceptibility of grafted scions to crown gall were studied during 6 years in field as well as greenhouse experiments. The experiments were conducted to study some of the best characteristics, got importance in propagation of grape rootstocks, such as number of rooted cuttings, rate of rooting, fresh weight of annual sapling, and seasonal growth period from growth start to dormancy. The experiment will carry out during 2002 - 2007 based on a RCBD with 4 replications on the six interspecific hybrids of *Vitis*. Data were analyzed by MSTATC software and means comparisons will carry out using LSD method. Based on 3 years study, results showed that there are differences among the hybrids, significantly. Also, it was observed a correlation between rate of root formation and shoot growth. H2 hybrid had the greatest number of rooted cuttings. Also, in H3 rooting and shoots growth were the highest; and H1 had the longest seasonal growth period among the hybrids. Incidence of crown - gall on susceptible grape scion cultivars (*Vitis vinifera* cvs. Sefid Bidaneh and 'Red Sahebi') was not affected by their grafting onto resistant rootstocks including H4 and H6, or on self-rooted rootstocks, when the inoculated vines were monitored over a 3 month period in a greenhouse. *A. vitis*, induced significantly larger galls on 'Thompson seedless' and 'Red Sahebi', when these were growing as self-rooted plants than grafted on H6 and H4. Observations over a 4-year period in field showed that there is no difference in crown-gall incidence until the third and fourth years. Scions grafted on the rootstocks of H4 and H6 had a 18.5% and 6.8% incidence compared to 85% for self-rooted vines. Incidence of crown gall was 18% on H6 compared to 68% on H1. During 5-year period, many self-rooted vines died as compared with only few scions grafted onto H4 and H6 rootstocks. In the end of the experiments, many pathogenic strains of *Agrobacterium* spp. were isolated from the roots of 'Thompson seedless' and 'Red Sahebi' vines, but not from roots or vines when H4 and H6 rootstock was used.

Key words: Grapevines, interspecies hybrids, growth index, evaluation, H4, H6