

## جدازایی عامل بیماری سرطان طوقه از قلمه های آلوده انگور و اثر تیمارهای حرارتی و شیمیایی بر رفع آلدگی از آنها\*

Isolation of Crown Gall Disease Agent from Infected Grape Cuttings & Effect of Thermo-chemotherapy Treatments on Deleting of Infection from Them

حسن محمودزاده\*\* و عباس داوودی

بخش تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر مرکز تحقیقات آذربایجان غربی و بخش تحقیقات  
گیاه پزشکی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان قزوین

دریافت ۸۵/۸/۷ پذیرش ۱۳۸۷/۳/۱

### چکیده

با هدف جدازایی عامل بیماری سرطان طوقه و بررسی اثر تیمارهای حرارتی و شیمیایی  
بر باکتری زدایی عامل از قلمه های آلوده و تاثیر تیمارها بر برخی صفات رویشی و زایشی  
نهالهای حاصله در دو رقم انگور، آزمایشی به صورت اسپلیت- اسپلیت پلات با طرح پایه  
بلوکهای کامل تصادفی در چهار تکرار (۴۰ قلمه در هر کرت) طی سه سال در ایستگاه  
تحقیقات انگور تاکستان انجام شد. جدازایی و شناسایی جدایه های باکتری با روش های  
متداول صورت گرفت. نوع رقم در دو سطح، تیمارهای حرارتی در چهار سطح و تیمارهای

\* نتایج حاصل از طرح تحقیقاتی مشترک بخش های تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر و  
گیاه پزشکی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان قزوین با عنوان "بررسی اثرات  
تیمارهای حرارتی و شیمیایی بر باکتری زدایی عامل بیماری سرطان طوقه و ریشه و چند  
صفت باگی قلمه های دو رقم انگور تجاری" با شماره مصوب ۳۰۵-۱۰۱۲-۸۳۰۱۷

می باشد.

\*\*مسئول مکاتبات

شیمیایی در چهار سطح فاکتورهای مورد بررسی بودند. پس از انجام تیمارها، قلمه ها در خزانه محزا و بستره عاری از عامل بیماری ریشه دار گردیدند. طی سه سال اثر تیمارها بر میزان کاهش آلدگی در نهالهای حاصله با مشاهده تشکیل غده و کشت عصاره نهالها روی محیطهای کشت اختصاصی بررسی شد. همچنین به دنبال تیمارها درصد جوانه های زنده، تسریع در شروع رشد جوانه ها، وزن ریشه تولیدی، وزن نهال در سال اول و زمان شروع گلدهی پادداشت گردید. متوسط داده های مربوط به ۲۰ قلمه در هر واحد آزمایشی، معیار داده ها برای هر تیمار در تکرار بوده است. تجزیه واریانس با نرم افزار MSTAT-C و مقایسه میانگین با آزمون LSD انجام شد. از ۲۰ جدایه باکتری بر اساس آزمونهای بیوشیمیایی، فیزیولوژیکی و مرفوژیکی، خصوصیات فوتیجی ۱۷ استرین جدا شده با گونه *Agrobacterium tumefaciens* و سه استرین نیز با خصوصیات افتراقی *A. vitis* مطابقت داشت. نتایج بررسی نشان داد که اثر تیمارها در هر دو رقم برکاهش گال زایی در نهالهای حاصله یکسان بوده و تیمارهای توام گرمادرمانی با  $40^{\circ}\text{C}$  به مدت ۱۵ دقیقه به همراه مصرف مواد شیمیایی بیشتر از ۹۵٪ آلدگی را کاهش داده است، ولی بیش از ۵۰٪ مرگ جوانه ها را به دنبال داشته است. تیمار  $50^{\circ}\text{C}$  به مدت ۳۰ دقیقه با ترکیب شیمیایی اریتروماسین سولفات یک درهزار با بیش از ۹۰٪ کاهش آلدگی و زنده ماندن بیش از ۷۲٪ جوانه ها بدون اختلاف معنی داری با تیمار قبلی، نتیجه رضایت بخشی را در کاهش آلدگی نهالهای حاصله داشته است. برتری صفاتی نظری میزان ریشه زایی قلمه ها (۱۹۷.۳۲۵ گرم درنهال)، تسریع در باردهی و تولید محصول در سال سوم (۶۸۴ گرم در هر نهال) مربوط به تیمار مذکور می باشد.

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

#### مقدمه

عامل بیماری سرطان طوقه انگور باکتری خاکزادی به نام *Agrobacterium tumefaciens* است که یکی از بیماریهای خطناک و مهم انگور می باشد. سابقاً این باکتری به سه بیوار ۱، ۲ و ۳ تقسیم می گردید که بیوار ۳ آن به نام گونه جدید *A. vitis* نامگذاری شده است، زیرا فقط روی انگور بیماری زایی می کند (Perry & Kado 1982). این بیماری از اکثر مستانهای ایران گزارش شده است (Fatehi Paykani 1997).

نابودی کامل تاکهای آلدگ در سالهای بعد نتیجه این بیماری خواهد بود (Burr *et al.* 1998). با توجه به زندگی ساپروفتی عامل بیماری در داخل خاک و اندامهای مو و انتقال آن از طریق سیستم آوندی، احتمالاً در همه اندامهای آلدگ وجود دارد (Burr *et al.* 1989). بنابراین قلمه یا پیوندکهایی که به منظور تکثیر از پایه مادری آلدگ استفاده از قلمه یا پیوندکهایی که از عامل داد. در این شرایط جهت جلوگیری از شیوع آلدگ استفاده از قلمه یا پیوندکهایی که از عامل بیماری رها سازی شده اند، توصیه می گردد (Goussard 1997). مطالعات زیادی در مورد اثر تیمارهای حرارتی و شیمیایی به منظور باکتری زدایی از قلمه ها و پیوندکهای مورد استفاده در تکثیر صورت گرفته است که هیچکدام نتایج صدرصد موفقیت آمیزی در پی نداشته است. بازی و همکاران (Bazzi *et al.* 1991) اثرات تیمارهای حرارتی را با توجه به خطرات کمتر آنها نسبت به مواد شیمیایی برتر شناخته اند ولی دریافتند که احتمال مرگ قلمه ها یا پیوندکها در تیمارهای حرارتی دمای بالا بیشتر از تیمارهای شیمیایی بوده است. آزمایشاتی به منظور باکتری زدایی از قلمه‌ها با تیمارهای حرارتی آب گرم در زمانهای متفاوت انجام شده است و تیمار  $50^{\circ}\text{C}$  به مدت نیم ساعت آلدگ را تا حد زیادی کاهش داده بود (Burr *et al.* 1989). در آزمایشی دیگر اثرات تیمارهای حرارتی آب گرم بر قلمه‌های تهیه شده از شاخه‌های یکساله و پیوندکهای تهیه شده از پایه‌های مادری آلدگ، مورد بررسی قرار گرفت که تأثیر آنها در رفع آلدگی  $100\%$  نبوده است (Goussard 1997). تیمارهای شیمیایی و حرارتی که به طور مجزا به منظور کاهش آلدگ قلمه های تهیه شده از پایه مادری آلدگ انجام شد، به طور کامل آلدگ را رفع نکردند (Mahmoudzadeh *et al.* 2003). اوغلی و همکاران (Ophel *et al.* 1995) با تیمارهای حرارتی و شیمیایی در کشورهایی مانند ایتالیا و بلغارستان از پایه های پیوندی با ارزشی نظری K5140 و همچنین ارقامی مانند شاردونی، زانتی کورانت و نیز پایه رامسی جمعیت باکتری را به حداقل ممکن کاهش دادند به طوری که فقط  $16-21\%$  از مواد مادری تیمار شده آلدگ مجدد را نشان داده اند. جهت باکتری زدایی از قلمه ها و پیوندکهای انگور ترکیبات شیمیایی آنتی بیوتیکی نظری (استرپتومایسین سولفات، کانامایسین)، سوموم مسی، کلرید جیوه و الكل استفاده شده است که نتایج صدرصد موفقیت آمیز نبوده است (Webester *et al.* 1986). در مطالعه اثر تیمارهای حرارتی و شیمیایی بر کاهش آلدگ در قلمه

یا پیوندکها، اثرات نامطلوب دماهای بالا و نیز مواد شیمیایی مورد استفاده دیده شده است که بر این اساس وامپل و همکاران (Wample *et al.* 1993) ظرفیت تحمل قلمه‌ها و پیوندکهای بعضی از ارقام را ارزیابی نموده که نتایج آن به صورت اثر منفی دماهای بالا و طولانی مدت (۶۰°C) بیش از نیم ساعت) بر نابودی قلمه‌ها و نیز بعضی از مواد شیمیایی مورد استفاده مانند  $\text{AgCl}_2$  با غلظت ۱۰ ppm را مشاهده نمودند. اثر تیمارهای شیمیایی نظیر استفاده از آنتی بیوتیکها در محیط کشت بر جلوگیری از رشد کلونیهای باکتری *Agrobacterium spp.* موثر شناخته شده است (Ophel *et al.* 1990). همچنین در تحقیقی دیگر علاوه بر اثر آیش و رعایت تنابوب زراعی در کاهش آلودگی خاکهای آلوده به عامل بیماری سرطان طوفه و ریشه، برای جلوگیری از شیوع بیماری از طریق مواد مادری مورد استفاده در تکثیر (قلمه‌ها و پیوندکها) که از پایه مادری آلوده تهیه شده اند، تیمارهای حرارتی آب گرم و استفاده از بعضی از آنتی بیوتیکها نیز موثر تشخیص داده شدند (Webster *et al.* 1986). تیمار حرارتی بالا با مدت زمان کوتاه نیز برای باکتری زدایی از قلمه‌ها و پیوندکها از دماهای پایین با مدت طولانی که برای ویروس زدایی استفاده می‌گردد، موثرتر شناخته شدند (PU *et al.* 1993). همچنین اثر تیمارهای شیمیایی نظیر استفاده از آنتی بیوتیکهای اریتروماسین یک در هزار، استرپتوماسین سولفات یک در هزار، استفاده از نفت سفید برای انهدام گالهای و همچنین کلرید جیوه با غلظت ۱۰ ppm آزمایش قرار گرفته که نتایج صدرصد موفقیت آمیزد ری نداشته است (Ophel *et al.* 1990).

فاتحی پیکانی (1997) اثرات بعضی از آنتی بیوتیکها نظیر پنی سیلین، اوروومایسین، استرپتوماسین، آمپی سیلین (همگی با غلظت یک در هزار ماده خالص) و کلرید مس ۱/۵ در هزار را در محیط کشت بر رشد کلونیهای آگروباکتریوم وینیس آزمایش کرده است که بعضی از تیمارها از تشکیل کلونیها ممانعت کرده اند. هدف این آزمایش دستیابی به روشی است که به آسانی بتوان آلودگی عامل بیماری سرطان طوفه را در قلمه‌های آلوده انگور کاهش داد تا از انتقال آن توسط نهالهای آلوده به سایر مناطق و تاکستانهای دیگر جلوگیری به عمل آورد و در ضمن به روشی موثرتر از روش‌های معمول باکتری زدایی از مواد مادری مورد استفاده در تکثیر انگور دست یافت. انجام تیمارهای حرارتی و شیمیایی در این آزمایش بسیار راحت و کم خطر بوده و نسبت به سایر روش‌های کنترل این بیماری نظیر مبارزه

بیولوژیک هزینه بسیار کمتری را دارد و بر این اساس با انجام این بررسی امکان دستیابی به بهترین روش باکتری‌زدایی که یکی از موثرترین راههای کنترل بیماری می‌باشد، میسر خواهد شد.

### روش بررسی

#### ۱- نمونه برداری و جداسازی باکتری از نمونه‌های آلدود

در مرحله اول با مراجعه به تاکستانهای آلدود در منطقه قزوین، از تاک‌های شدیداً آلدود ارقام سفید بی‌دانه و حسینی ده پایه علامتگذاری و از شاخه‌های آلدود دارای غده، نمونه‌برداری انجام شد. شاخه‌ها در آزمایشگاه با محلول کلروکس ۱۰٪ به مدت ۱۰ دقیقه ضدغونی سطحی و سپس با آب مقطر استریل شستشو شدند. پس ازله کردن قطعاتی از شاخه هادرهای سترون، مقداری از عصاره‌های حاصله به محیط‌های کشت YNA و Schaad (1988) متقل شده، در درجه سانتی گرادنگهداری شدند. سپس کلنی‌های شبیه *Agrobacterium* (کلنی‌های برچسته، مدور و برآق به رنگ سفید شیری یا پژاژروی محیط YNA و همچنین کلنی‌های سبز متالیک از روی محیط کشت D1 انتخاب شده و هر کلنی بصورت جداگانه بر روی محیط‌های اختصاصی کشت داده شدند. (Fahy & Perseley 1983, Roy & Sasser 1983, Schaad 1988). عصاره‌گیری از شیره آوندی به کمک یک انبرسترون و یا یجادزخم درگیاه و جمع آوری شیره گیاهی بوسیله سرنگ انجام شد. عصاره‌های حاصل روی محیط کشت RS کشت شده و سپس کلنی‌های حاصله روی محیط کشت YNA خالص سازی شدند (Schaad 1988). کلنی‌های خالص شده، جهت انجام آزمونهای لازم دریخچال نگهداری شدند.

#### ۲- بررسی خصوصیات فنوتیپی جدایه‌ها

تعیین خصوصیات مرفولوژیکی و بیوشیمیایی جدایه‌های بدست آمده با بکارگیری روش‌های استاندارد باکتری شناسی اقدام گردید (Schaad 1988). جدایه‌های باکتری از نظر واکنش در برابر آزمونهای گرم، کاتالاز، تولید اندول، هیدرولیز اسکولین، تحمل نمک ۰/۲٪، قلیایی نمودن شیر لیتموس، تولید ۳-کتو لاکتوز، رشد در دمای ۳۵°C، 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. (Fahy & Perseley 1983, Roy & Sasser 1983, Schaad 1988) ۲- تعیین آلودگی قلمه ها

در آذر ماه از پایه های مادری آلوده قلمه های خشبي ساده به طول cm ۶۰-۴۰ سانتیمتر با حداقل ۸ گره تهیه و در یخچال نگهداری شدند. علاوه بر انجام آزمون آلودگی بر روی پایه های مادری آلوده برای حصول اطمینان از آلودگی قلمه های تهیه شده، آنها نیز به طور جداگانه مورد آزمون آلودگی قرار گرفتند. ابتدا قلمه ها از وسط به دو نیم تقسیم شدند و پس از شماره گذاری نیمه اول برای آزمون آلودگی و نیمه دوم برای اعمال تیمارها مورد استفاده قرار گرفتند. برای اطمینان از آلودگی قلمه ها کشت عصاره تهیه شده از آنها روی محیطهای اختصاصی MRS (Modified RS), IA و محیط عمومی NA (آگار غذایی) انجام شد. پس از دو روز نگهداری تستکهای کشت شده در دمای ۲۵°C 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.

۴- اثبات بیماریزایی جدایه های باکتری تعداد ۲۰ جدایه باکتری برای انجام آزمون اثبات بیماریزایی مورد استفاده قرار گرفتند. گیاهان گوجه فرنگی، آفتابگردان، هویج و انگور رقم سفید بیدانه به عنوان گیاهان محک انتخاب شدند. ابتدا محل مایه زنی بوسیله الكل اتیلیک ۹۶ درجه ضدغونی شد و سپس بوسیله اسکالپل سترون، زخمی به عمق ۱ تا ۲ میلی متر به صورت اریب که آوندهای چوب را دربر گیرد، در شاخه مو و ساقه گیاهان علفی ایجاد گردید. پس از قرار دادن حدود یک میلی لیتر سوسپانسیون حاوی  $^{10} \times 5$  سلول باکتری در محل زخم، بوسیله پنبه مرطوب و پارافیلم آن محل پوشانیده شد. گیاهان شاهد نیز به روش فوق و بوسیله آب مقطر سترون، مایه زنی شدند (Fahy & Parsley 1983, Schaad 1988). آزمون اثبات بیماریزایی روی ریشه هویج نیز به روش شاد انجام گرفت (Schaad 1988).

#### ۵- انجام تیمارهای باکتری زدایی

پس از اطمینان از آلودگی قلمه ها و اثبات بیماریزایی جدایه های باکتری، تیمارهای آزمایشی بر روی نیمه دوم قلمه های 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 بی دانه و حسینی)، فاکتور فرعی تیمارهای حرارتی در ۴ سطح شاهد (بدون تیمار حرارتی)، تیمار حرارتی آب گرم  $40^{\circ}\text{C}$  به مدت یک ساعت، تیمار حرارتی آب گرم  $50^{\circ}\text{C}$  به مدت نیم ساعت و تیمار حرارتی آب گرم  $60^{\circ}\text{C}$  به مدت ۱۵ دقیقه بودند. همچنین فاکتور فرعی-فرعی در این آزمایش استعمال مواد شیمیایی در ۴ سطح شاهد (بدون تیمار شیمیایی)، محلول استرپتوکوکسین سولفات یک در هزار، محلول اریتروماسین یک در هزار و محلول کلرید مس  $1/5$  در هزار بوده است. برای هر واحد آزمایشی ۲۰ قلمه انتخاب شده و در اعمال تیمارهای شیمیایی تمام قلمه‌ها به مدت یک ساعت در محلولهای مذکور نگهداری شدند. در مجموع ۲۵۶۰ قلمه تیمار گردیدند. تیمارهای حرارتی با استفاده از دستگاه حمام آب گرم (بن ماری) صورت گرفت.

#### ۶- کاشت قلمه‌های تیمار شده و یادداشت برداری‌ها

در گلخانه، در هر واحد آزمایشی ۴۰ قلمه با فاصله  $20\text{ cm}$  از هم کشت شدند. بستر ریشه‌زایی مخلوطی از پرلیت، خاکبرگ و ماسه بادی بوده که با فرم آلدئید و بخار آب ضدغونی گردید. آزمون عدم آلوگی بستر به روش رای و ساسسر (Roy & Sasser 1983) انجام شد. آبیاری قلمه‌ها و سایر عملیات مدیریتی در شرایط کنترل شده انجام شد تا احتمال آلوگی ثانوی از بین برود. در سال اول درصد قلمه‌های زنده با شمارش تعداد نهالهای رشد کرده یادداشت گردید. تعیین درصد نهالهای سالم و عاری از بیماری از طریق مشاهده چشمی بصورت تشکیل غده‌های سرطانی در سال سوم و نیز از طریق کشت عصاره اندامهای نهالهاروی محیطهای کشت D1 و آکار غذایی (NA) صورت گرفت. در پایان سال اول نهالها از گلخانه به خزانه هوای آزاد که به صورت کنترل شده اداره می‌شد، منتقل شدند. در سال دوم نهالها با فاصله  $2 \times 4$  متر در زمین اصلی کشت گردیدند. در طی سه سال یادداشت برداری از تعداد نهالهای فاقد علایم بیماری جهت تعیین درصد نهالهای سالم، درصد نهالهای ازبین رفت، زمان باز شدن جوانه‌ها از سال اول تا سوم، وزن تر نهال، وزن تر ریشه‌های تولیدی پس از برگریزی در پایان سال اول و زمان ظهور اولین علایم بلوغ به صورت گلدهی در نهالها انجام شد. برای داده‌های مذکور با استفاده از نرم افزار MSTAT-C تجزیه واریانس صورت گرفت و مقایسه میانگینها با آزمون LSD انجام گردید. همچنین همبستگی بین صفت کاهش

آلودگی در نهالها با سایر صفات مورد بررسی قرار گرفت.

#### نتیجه

##### ۱- جداسازی و شناسایی جدایه های باکتری

در مجموع از تعداد ۲۰ پایه مادری آلوده ارقام انگور سفید بیدانه و حسینی ۲۰ جدایه باکتری جداسازی گردید که بر اساس نتایج آزمونهای بیوشیمیایی، فیزیولوژیکی و مرفلوژیکی انجام شده بر روی آنها خصوصیات فوتیپی ۱۷ استرین جدا شده با گونه *Agrobacterium tumefaciens* کاملاً مطابقت داشته است و با *A. vitis* متفاوت بود (جدول ۱). مشخصات فوتیپی سه استرین نیز با خصوصیات افتراقی *A. vitis* مطابقت داشت. در نتیجه برای حصول شرایط یکسان در آزمایش تنها از پایه های آلوده به *A. tumefaciens* برای انجام آزمایش استفاده شد.

##### ۲- بیماریزایی جدایه ها

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که جدایه های *A. tumefaciens* از نظر بیماریزایی روی گیاهان محک مختلف با هم کمی تفاوت نشان می دهند، به عنوان مثال جدایه ۱۹ علاوه بر انگور روی گوجه فرنگی و هویج بیماریزایی می کند ولی روی آفتابگردان بیماریزایی ندارد. چنین استنباط می شود که برای اثبات بیماریزایی جدایه های باکتری مذکور بهتر است تنها به یک گیاه محک اکتفا نشود (جدول ۱). تحقیقات نشان داده است که عوامل متعددی از جمله پلاسمید *Ti*، زمینه کروموزومی باکتری و تنوع ژنتیکی میزان در تعیین دامنه میزانی نقش دارند (Perry & Kado 1982).

##### ۳- اثر تیمارهای حرارتی و شیمیایی بر باکتری زدایی و کاهش آلودگی

نتایج تجزیه واریانس داده ها پس از تیمارهای شیمیایی و حرارتی نشان داد که اثر انفرادی و یا ترکیبی تیمارهای مذکور بر باکتری زدایی عامل بیماری سلطان طوقه و برخی از صفات مورد مطالعه در آزمایش متفاوت است. واکنش نوع رقم به تیمارهای یاد شده نیز دارای اختلاف معنی داری است به عبارت دیگر دو رقم مذکور واکنشهای متفاوت نشان دادند (جدول ۲). مقایسه میانگین داده ها نشان داد که اثر تیمارها بر صفات مورد بررسی در دو رقم انگور متفاوت می باشد (جدول ۳).

جدول ۱- خصوصیات فنوتیپی جدایه های باکتری *Agrobacterium tumefaciens* جدایه از پایه های مادری دو رقم انگور سفید بیدنه و حسینی

Table1. Phonotypical characteristics of isolates of *Agrobacterium tumefaciens* isolated from grape stocks of two cultivars, "Sefid Bidaneh" & "Hosseini"

واکنش جدایه ها																			آزمون	Test	
Reaction of Isolates																					
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(Gram	واکنش	
																			reaction)	گرم	
+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	(Oxidase)	اکسیداز	
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	(Catalase)	کاتالاز	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(Nitrate reduction)	احیای نیترات	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(Indol production)	تولید اندول	
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	(Esculin Hydrolysis)	هیدرولیز اسکولین	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(Hydrolyses of Tween 80)	هیدرولیز توئین ۸۰	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(Gelatin)	ژلاتین	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(Starch)	نشاسته	
-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	+	-	+	از	استفاده	
																			(Citrate utilization)	سیترات	
+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	کتو لاکتوز	تولید ۳-	
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	(3-Ketolactose production)	۳-کتو لاکتوز	
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	درجه ۳۵ در	رشد در ۳۵ درجه	
																			سانتیگراد	(Growth at 35° C)	

Table 1. (continued)

																				تحمل	نمک	روی	شیر	اثر	NaCl)
																				(Growth in 2% ۲)					
Alk	Alk	Alk	Alk	Alk	Alk	Alk	Alk	Alk	Alk	Alk	Alk	Alk	Alk	Alk	Alk	Alk	Alk	Alk	Alk	Alk	Alk	Alk	Alk	Alk	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(Erythritol)	
+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	(Melezitose)
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	(Sucrose)
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	(Lactose)
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	(Maltose)
-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	(Malonic acid)	-	مالونیک اسید	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(Mucic acid)	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(L-Tartaric acid)	
-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	ال- تارتاریک اسید
رشد (growth on)																									بر روی
+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	(1A medium)
-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	(D1 medium)	D1	محیط کشت	1A	محیط کشت
+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	(MRS medium)	MRS	محیط کشت	MRS	(Pathogenicity on)
بیماریزابی روی																									بیماریزابی روی

جدول ۱ - (ادامه)

Table 1. (continued)

جدول ۱ - (ادامه)																								گوجه (Tomato)
+	-	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	فرنگی
-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	هویچ (carrot)
+	-	+	+	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-	(Sun flower)	-	-	-	آفتابگردان
+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	انگور (Grapevine)

+: واکنش مثبت، وجود فعالیت یا استفاده از ترکیبات

-: واکنش منفی، عدم وجود فعالیت یا عدم استفاده از ترکیبات

- : Negative reaction or growth Alk

Alk: Alkaline

: قلیایی

در بررسی اثر انفرادی تیمارهای حرارتی مرگ تعدادی از قلمه‌ها مشاهده شد. خصوصاً تیمار  $60^{\circ}\text{C}$  درجه سانتیگراد سبب مرگ درصد بالایی از جوانه‌ها گردید، در صورتیکه تیمار  $50^{\circ}\text{C}$  به مدت ۳۰ دقیقه نتیجه بهتری را داشته است (جدول ۳)، که منطبق با نتایج تحقیقات گوسارد (Goussard 1997) می‌باشد. مشابه نتایج اوپل و همکاران (Ophel et al. 1995) اثر تیمارهای شیمیایی بر باکتری زدایی و سایر صفات مورد مطالعه نشان داد که این تیمارها نسبت به شاهد برتر بوده و بر خلاف تیمار دمای بالاتر از  $50^{\circ}\text{C}$ ، این تیمارها سبب مرگ جوانه قلمه‌ها نشده‌اند، ولی اثر آنها بر باکتری زدایی از قلمه‌ها کمتر بوده است. بیشترین وزن ریشه باززنایی شده و وزن تر نهالهای یکساله پس از تیمار قلمه‌ها با کلرید مس حاصل شده است که البته فقط نسبت به شاهد برتر بوده است. اثر این تیمارها بر زمان بازشدن جوانه‌ها با همدیگر و با شاهد اختلاف معنی داری نداشته‌اند (جدول ۴). اختلاف بین ارقام در صفات مورد بررسی پس از تیمارهای مذکور مشابه با نتایج کار استاور (Stover, 1993) بوده است.

اثر متقابل فاکتورهای مورد مطالعه نشان داد که بیشترین درصد قلمه‌های زنده مربوط به تیمار شاهد در رقم سفیدبیدانه بوده است که با شاهد رقم حسینی اختلاف معنی داری ندارد و کمترین آن مربوط به تیمار ترکیبی استفاده از دمای  $60^{\circ}\text{C}$  به مدت ۱۵ دقیقه و ماده شیمیایی

اریتروماسین در هر دو رقم بوده است. بیشترین وزن تر ریشه تولیدی و وزن تر نهال یکساله جدول ۲- تجزیه واریانس دادهای حاصل از اثر تیمارهای شیمیایی و حرارتی بر باکتری زدایی و برخی صفات قلمه ها و نهالهای حاصله از آنها در دو رقم انگور تجاری پس از اعمال تیمارها

Table 2- Variance analysis of thermo-chemotherapy treatments on reducing the population of crown gall agent in grape cuttings & some characteristics of rooted cuttings in two cultivars of grapevine

Date of Bud burst	عملکرد (باردهی) Yield	میانگین مربعات (MS (Mean Square)						منابع تغییرات Sources of Variation	
		زمان باز شدن جوانه	وزن تر نهال Fresh Weight of rooted cutting	وزن تر ریشه Fresh weight of root	درصد قلمه های زنده % vival cuttings	درصد نهالهای بدون گال % Rooted cuttings without gall	df		
۹۸.۶۳ns	۱۴۲۱.۰۱۹ns	۱۹۴۶.۲۴ns	۱۱۱.۰۱۹ns	۴۹.۸۳ns	۴۸۶.۲۷ns	۲		تکرار	
۴۳۷۵.۳*	**۱۹۵۴۷۸.۳۵	۲۳۹۷۶۸.۹۶**	**۱۶۶۵۷۸.۳۵	۱۷۸۰.۳۲۴**	۲۷۵۴۱.۳۶ns	۱		نوع رقم	
۳۵۸۳۱	۸۹.۳۲۸	۵۸.۳۶۱	۴۹.۳۱۷	۱۸.۹۷	۲۴.۳۸	۲		اشتباه A	
۳۶۹۵.۲۳**	**۳۲۴۵۰.۰۵۸	۶۰۴۷۶.۲۰**	**۴۴۵۰.۰۵۸	**۶۷۸.۲۸	۱۷۴۵.۲۸**	۳		تیمارهای حرارتی	
۸۶۹.۳۶۱*	**۷۵۰.۵۴۰۸	۱۲۷۳۶.۹۴*	**۹۰۰.۵۴۰۸	*۸۹.۲۴	۲۳۵۷.۸۵ns	۳		اثر متقابل تیمارهای حرارتی و	
۲۲۸۱۷	۷۹.۴۳۵	۸۹.۳۶۵	۴۳.۴۱۶	۲۳.۷۴	۴۵.۷۸۹	۱۲		نوع رقم	
۴۲۳.۱۲*	۶۲۴.۲۸۲ ns	۸۷۶۵.۳۴**	۴۱۷۱.۲۳۰**	*۴۸۶.۴۳۹	۲۵۴.۳۲۱*	۳		اشتباه B	
۲۹۷.۱۸۴ns	۸۷۲۳.۰۵۴۹**	۱۲۴۷۵.۳۹۲**	۹۶۳.۵۴۹**	**۲۷۶.۳۲۰	۲۱۳.۸۷ns	۳		تیمارهای شیمیایی	
۵۳۶.۸۶۱**	۴۲۵۸۱.۰۵۲۸**	۹۶۸۱.۰۲۵*	۸۷۱.۰۵۲۸**	*۲۴۶.۲۸۹	۷۸۹.۳۶**	۹		اثر متقابل تیمارهای شیمیایی و	
۹۸۴.۳۶*	۷۲۳۶.۴۴۸**	۱۱۷۵.۲۳۹**	۹۳۶.۴۴۸**	**۷۳۵.۴۳۶	۱۲۸۷.۳۶۹**	۹		نوع رقم	
۳۲۸۶۰	۹۶۱.۴۳۶	۵۹.۰۲۶	۴۲.۰۴۶	۳۶.۳۹۱	۴۲.۰۵۶۸	۴۸		اثر متقابل تیمارهای شیمیایی و	
								حرارتی	
								اثر متقابل تیمارهای شیمیایی و	
								حرارتی و رقم	
								اشتباه C	
								دقت آزمایش	
%۸/۷۸	%۸/۸۹	%۱۲/۹۶	%۰/۹۶	%۱۲/۸۷	%۴/۹۸	-			

\*) در سطح احتمال ۰.۵٪ معنی دار (Significant at the 0.05 level)

\*\*) در سطح احتمال ۰.۱٪ معنی دار (Significant at the 0.01 level)

(no significant) ns

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

Table 3- Mean comparison of thermo-chemotherapy treatments effect on reducing the population of crown gall agent in grape cuttings & some characteristics of rooted cuttings in two cultivars of grapevine

میانگین مقادیر عددی صفات							نوع رقم Cultivars
عملکرد در سال سوم (باردهی) (گرم) Yield (gr)	زمان باز شدن جوانه (روز) Date of Bud burst	وزن تر نهال یکساله (گرم) Fresh weight of annual rooted cuttings(gr)	وزن تریشه (گرم) Fresh weight of root(gr)	درصد قلمه های زنده % vival cuttings	درصد نهال های بدون علایم گال % Rooted cuttings without gall		
۴/۲۵a	۳۷,۵۲b	۲۸۹,۴۸۵b	۱۴۰,۳۶b	۷۷,۲۵a	۷۸a	سفید بیدانه	
۳/۷۵B	۳۳,۴۴۲a	۳۲۷,۲۳۶a	۱۷۶,۴۶۴a	۷۰,۴۳۷b	۸۵a	حسینی	
۰/۴۵	۳,۲۶۶	۱۸,۹۸۷	۲۲,۵۳۲	۴,۴۷۸	۹,۴۶۲	LSD5%	

مربوط به تیمار  $50^{\circ}\text{C}$  در ۳۰ دقیقه و استرپتومایسین یک درهزار بوده است و از این نظر بین ارقام نیز اختلاف وجود داشته است. در صفت زمان شروع رشد جوانه ها ( Bud Burst ) نیز تیمار مذکور بدون استفاده از مواد شیمیابی در رقم حسینی برتر از سایر تیمارها بوده است و بر اثر تیمار مذکور جوانه ها در سال اول آزمایش سریعتر رشد کرده اند که این امر مشابه نتایج کار ویستر و همکاران (Webster *et al.* 1986) بوده است (جدول ۵). تجزیه واریانس همبستگی صفات مورد مطالعه در قلمه ها با تیمارهای حرارتی حاکی از وجود اختلافات معنی دار می باشد (جدول ۶) و محاسبه ضرایب همبستگی آنها نیز نشان داد که همبستگی مثبت یا منفی بین صفات وجود دارد، بطوریکه همبستگی بین صفت درصد نهال های بدون علایم بیماری با صفات وزن تر نهال و وزن تر ریشه های تولیدی معنی دار است ( $P < 0.05$ ) (جدول ۷). نتایج منفی برخی از این تیمارها در ازبین رفتن قلمه ها در آزمایشات وامپل و همکاران

(Wample *et al.* 1993) و همچنین پیوو و همکاران (Pu *et al.* 1993) نیز دیده شده است. آنها

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر تیمارهای حرارتی و شیمیایی بصورت انفرادی بر صفات مورد بررسی روی قلمه های آلوده و ریشه دار شده پس از تیمار

Table 4- Mean comparison of individual effect of thermo-chemotherapy treatments on infected cuttings & rooted cuttings after treatments

تیمار Treatments	زمان باز شدن جوانه (روز) Date of Bud burst( day)	وزن تر نهال یکساله (گرم) Fresh weight of annual rooted cuttings(gr)	وزن تریشه (گرم) Fresh weight of root (gr)	وزن قلمه های زنده (گرم) % vival cuttings	درصد قلمه های بدون علایم گال % Rooted cuttings without gall	درصد نهال های بدون علایم گال % Rooted cuttings without gall	عملکرد در سال سوم (باردهی) (گرم) Yield (gr)
CONTROL	۴۱,۳۲۵c	۲۱۷,۶۳۵d	۱۱۹,۳۴۴c	۹۲,۱۲۵a	۰c	۰d	
40 °C/ 60 MIN							
50 °C/ 30 MIN	۳۷,۲۰۴b	۲۵۷,۴۸۹c	۱۲۸,۷۹۳b	۸۳,۰b	۲۵b	۰c۳۳۲	
60 °C/ 15 MIN	۳۲,۲۱۴a	۳۲۷,۳۲۸a	۱۹۷,۳۲۵a	۷۲,۷۵c	۹۰a	a۶۸۴	
	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	۳۳۰,۹,۱۲a	۱۶۶,۰۶۵a	۷۲,۰b	۲۷a	a۳۶۲	
کلرید مس ۱/۵ در هزار	۲۹,۴a	۳۱۱,۶۲a	۱۶۸,۰۸۵a	۷۳,۶۲۵ab	۲۵a	ab۲۸۷	
LSD5%	۲/۸۲۵	۹/۳۴۵	۸/۰۶۲۵	۷/۳۲۵	۱۰/۲۵	۹۸/۲۵	

نشان دادند که ظرفیت تحمل قلمه ها و پیوندکهای بعضی از ارقام انگور نسبت به تیمارها متفاوت است و در اکثر موارد دماهای بالا و طولانی مدت بالا  $60^{\circ}\text{C}$  بیش از نیم ساعت سبب نابودی قلمه ها گردیده است و همچنین برخی از مواد شیمیایی مورد استفاده مانند

AgCl2 با غلظت ۱۰ ppm نیز مشکل آفرین بوده است.

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

Table 5- Mean comparison of interaction effects of studied factors in experiment

تبارها Treatments	زمان باز شدن جوانه (روز) Date of Bud burst( day)	وزن ترنهال یکساله (گرم) Fresh weight of rooted cuttings(gr)	وزن ترپشه (گرم) Fresh weight of root(gr)	وزن قلمه های زنده % vival cuttings	درصد قلمه های بدون علایم گال % Rooted cuttings without gall	درصد نهال های بدن % gall	عملکرد در سال سوم (باردهی) (گرم) Yield (gr)
a1b1c1	cd <sup>41,68</sup>	۲۳۵,۶۳ gh	f <sup>۱۰,۸,۸۶</sup>	a <sup>*95</sup>	n <sup>۱,۲۵</sup>	.f	
a1b1c2	d <sup>۴۴,۳۲</sup>	h <sup>۲۲۷,۳۲</sup>	e <sup>f1۲۰,۵۴</sup>	a <sup>۹۳</sup>	klm <sup>۹,۲۵</sup>	.f	
a1b1c3	cd <sup>۴۲,۳۲</sup>	gh <sup>۲۴۳,۴۵</sup>	f <sup>۱۰,۸,۴۴</sup>	a <sup>۹۴</sup>	k <sup>۱۲,۱۵</sup>	۵۲/۵def	
a1b1c4	b <sup>c۴۹,۴</sup>	h <sup>۲۲۶,۷۸</sup>	f <sup>۱۱۲,۷۶</sup>	a <sup>۹۲</sup>	k <sup>۱۹,۸</sup>	.f	
a1b2c1	b <sup>c۷۷,۸۵</sup>	f <sup>۲۶۵,۴۴</sup>	d <sup>e1۳۴,۲۳</sup>	a <sup>۸۹</sup>	hijk <sup>۴۶,۷۷</sup>	۱۲۴/۲۵de	
a1b2c2	bcd <sup>۳۸,۷۴</sup>	f <sup>۷۷۸,۹۸</sup>	e <sup>۱۲۹,۴۱</sup>	ab <sup>۸۷</sup>	hijk <sup>۴۶,۲۸</sup>	۱۲۵/۲۶de	
a1b2c3	b <sup>c۷۵,۳۶</sup>	e <sup>۷۸۴,۳۶</sup>	d <sup>e1۳۳,۹۶</sup>	a <sup>۹۰</sup>	hij <sup>۷۷,۴۹</sup>	۱۴۳,۴۵de	
a1b2c4	c <sup>۴۰,۴۵</sup>	e <sup>f۷۹۸,۶۵</sup>	d <sup>۱۴۹,۴۴</sup>	ab <sup>۸۸</sup>	fgh <sup>۷۷,۱۴</sup>	۲۲۵,۲۵cd	
a1b3c1	ab <sup>۳۳,۲۴</sup>	d <sup>e۳۰,۲,۲۵</sup>	c <sup>۱۷۴,۹۸</sup>	bc <sup>۷۹</sup>	cdv <sup>۸,۵۶</sup>	۵۶,۷۷a	
a1b3c2	ab <sup>۳۱,۳۶</sup>	e <sup>f۳۱,۴,۲۹</sup>	c <sup>d۱۷۱,۵۸</sup>	bc <sup>۸۱</sup>	cda <sup>۸,۲۵</sup>	۶۴,۴۵a	
a1b3c3	ab <sup>۳۴,۴۸</sup>	efg <sup>۷۹۹,۳۶</sup>	bc <sup>۱۹۲,۴۵</sup>	cv <sup>۵</sup>	dev <sup>۸,۱۶</sup>	۵۲,۲۵a	
a1b3c4	ab <sup>۳۲,۶۴</sup>	d <sup>e۳۱۲,۹۸</sup>	c <sup>۱۸۱۳۲</sup>	bcw <sup>v</sup>	bc <sup>۸۹,۲۶</sup>	۶۱,۵a	
a1b4c1	b <sup>۳۴,۳۲</sup>	def <sup>۷۸۷,۳۲</sup>	c <sup>d۱۷۲,۲۲</sup>	ef <sup>۵</sup>	a <sup>۹۹,۵</sup>	۴۲۱/۴۵b	
a1b4c2	r <sup>۷,۹۶</sup> bc	ef <sup>۷۷۷,۵۷</sup>	c <sup>۱۷۵,۳۵</sup>	ef <sup>v</sup>	a <sup>۹۹,۲۵</sup>	۳۹۸/۲۶bc	
a1b4c3	ab <sup>۳۵,۴۸</sup>	f <sup>۷۶۹,۸۵</sup>	c <sup>۱۸۰,۴۳</sup>	e <sup>۵۱</sup>	ab <sup>۹۴,۲۵</sup>	۴۹۶/۵۶b	
a1b4c4	cd <sup>۴۰,۷۷</sup>	f <sup>۷۶۹,۳۶</sup>	c <sup>۱۸۴,۶۵</sup>	e <sup>۵۲</sup>	a <sup>۹۵,۲۸</sup>	۴۱۲/۴۵bc	
a2b1c1	cd <sup>۳۲,۲۴</sup>	g <sup>۲۵۶,۷۷</sup>	e <sup>f۱۲۴,۶۳</sup>	a <sup>۹۳</sup>	n <sup>۲,۲۵</sup>	.f	
a2b1c2	cd <sup>۴۱,۲۶</sup>	fg <sup>۷۶۶,۷۷</sup>	e <sup>f۱۱۸,۲۵</sup>	a <sup>۹۱</sup>	mnr <sup>۴,۲۸</sup>	.f	
a2b1c3	b <sup>c۴۰,۷۷</sup>	fg <sup>۷۷۸,۴۷</sup>	d <sup>e۱۳۳,۶۴</sup>	a <sup>۸۹</sup>	hij <sup>۲۵,۱۸</sup>	۶۵/۲۴ef	
a2b1c4	cd <sup>۳۳,۲۲</sup>	f <sup>۷۶۹,۲۶</sup>	e <sup>۱۷۷,۶۵</sup>	a <sup>۹۰</sup>	hi <sup>۷۷,۱۳۵</sup>	۵۲/۳۵ef	
a2b2c1	b <sup>۳۶,۶۲</sup>	e <sup>r,۵,۷۸</sup>	d <sup>۱۵۷,۳۵</sup>	b <sup>۸۴</sup>	gh <sup>۳۳,۴۸</sup>	۱۵۹/۲۵de	
a2b2c2	ab <sup>۷۷,۴۵</sup>	d <sup>۳۱۲,۳۴</sup>	d <sup>۱۴۹,۶۴</sup>	bc <sup>۸۰</sup>	fgh <sup>۷۷,۶۵</sup>	۱۴۶/۴۵de	
a2b2c3	b <sup>۳۴,۷۸</sup>	d <sup>e۳۱۴,۹۷</sup>	d <sup>۱۰۹,۴۸</sup>	cv <sup>۴</sup>	gh <sup>۹۵,۱۷</sup>	۲۱۴/۷۵cd	
a2b2c4	b <sup>c۳۸,۲۱</sup>	d <sup>e۳۱۱,۳۷</sup>	c <sup>d۱۶۱,۸۷</sup>	cv <sup>۶</sup>	eff <sup>۱,۲۵</sup>	۱۲۸/۵۵e	
a2b3c1	a <sup>r,۳۲</sup>	ab <sup>۷۶۹,۹۵</sup>	b <sup>۲۱۱,۲۶</sup>	d <sup>۶۵</sup>	bcv <sup>۸,۲۹</sup>	۴۱۷/۴۵b	
a2b3c2	a <sup>*۲۹,۷۸</sup>	ab <sup>۴۰,۲,۲۴</sup>	a <sup>۲۲۸,۳۷</sup>	cv <sup>۰</sup>	bv <sup>۹,۱۲۵</sup>	۵۱۴/۲۶b	
a2b3c3	ab <sup>۳۳,۱۲</sup>	a <sup>*۴۱۴,۵۲</sup>	a <sup>*۲۳۵,۴۷</sup>	cdv <sup>۱</sup>	b <sup>۸۲,۱۵</sup>	۵۸۹/۴۵a	
a2b3c4	a <sup>۳۱,۶۵</sup>	a <sup>۴۰,۶,۳۲</sup>	a <sup>۲۲۴,۹۶</sup>	cd <sup>۶۴</sup>	b <sup>۸۱,۳۵</sup>	۶۱۰/۱۸a	
a2b4c1	b <sup>c۷۷,۵۴</sup>	b <sup>c۳۸۹,۴۴</sup>	b <sup>۲۰۳,۳۵</sup>	ef <sup>۴۴</sup>	a <sup>۹۲,۲۵</sup>	۳۴۵/۳۶bc	
a2b4c2	b <sup>c۷۶,۱۴</sup>	c <sup>۷۷۱,۷۸</sup>	b <sup>c۱۹۲,۲۱</sup>	e <sup>۵۱</sup>	a <sup>۹۴,۲۸</sup>	۳۸۷/۲۹bc	
a2b4c3	ab <sup>۳۳,۲۵</sup>	cd <sup>۳۶۷,۹۲</sup>	c <sup>۱۸۸,۶۵</sup>	f <sup>۳۷</sup>	a <sup>۹۶,۳۲</sup>	۴۱۴/۴۸b	

a2b4c4	a۳۱,۲۷	ab۳۹۸,۲۴	b۲۰۳,۶۵	e۴۹	a۹۴,۲۳	۴۶۵/۵۸b
LSD5%	۴/۳۲۸	۲۱/۱۵۷	۱۳/۹۷۶	۸/۷۴۹	۴/۲۵	۱۲۸/۵

جدول ۶- تجزیه واریانس همبستگی صفات نهالهای ریشه دار پس از تیمارهای حرارت درمانی به منظور باکتری زدایی از قلمه‌ها

Table 6- Variance analysis of correlation between rooted cuttings characteristics after thermotherapy treatments

F	میانگین مربعات (MS)	مجموع مربعات (SS)	درجه آزادی (df)	منابع تغییر Sources of variation	
				رگرسیون (Regression)	باقي مانده (Residual)
** ۲۲/۴۱	۱۱۰/۰۳	۴۴۰/۱۱	۴		
-	۴/۵۱	۴۹/۵۹	۱۱		
۰.۴/۸۹ = ضریب دقت آزمایش	-	۴۸۹/۷۹	۱۵	کل (Total)	

(\*\*) در سطح احتمال ۱٪ معنی دار (Significant at the 0.01 level)

بین صفات درصد نهال های بدون عالیم گال و زمان بازشدن جوانه ها روی قلمه ها همبستگی معنی دار و منفی است و این نشان می دهد که هرچه میزان آلودگی قلمه ها کمتر باشد باز شدن جوانه ها زودتر شروع خواهد شد و نتیجه آن رشد بیشتر شاخه ها در طی فصل رشد خواهد بود که البته در خزانه هوای آزاد احتمال آسیب سرمای دیرس بهاره وجود خواهد داشت (جدول ۷). نتایج نشان داد که هر چه میزان ریشه باززنایی شده از قلمه ها بیشتر باشد، اندازه رشد شاخه بیشتر شده ولی جوانه های روی قلمه ها دیرتر شروع به رشد خواهند کرد یعنی بازنایی شاخه به تاخیر می افتد و به این ترتیب حجم ریشه های تولید شده از قلمه بیشتر خواهد شد که بسیار مناسب است. همبستگی صفات پس از تیمارهای شیمیایی قلمه ها به منظور باکتری زدایی پس از تجزیه واریانس داده ها حاکی از معنی دار بودن اختلافات بین آنها در سطح ۵٪ می باشد (جداول ۹ و ۸).

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 معنی داری دارند. در هر دو آزمایش ترمومترایی و شیمیوتراپی با

کاهش درصد نهال‌های بدون عالیم گال، وزن خشک ریشه‌های باززایی شده و همچنین وزن تر نهالها سیر صعودی دارد که در تیمارهای شیمیایی این روند کنترل بوده است و نتایج حاصله منطبق با نتایج تحقیق بازی و همکاران (Bazzi et al. 1991) می‌باشد.

#### جدول ۷- ضرایب همبستگی صفات درآزمایش تیمارهای حرارت درمانی برای باکتری زدایی از قلمه‌های آلوده

Table 7- Correlation coefficient of rooted cuttings characteristics after thermotherapy treatments

وزن تر نهال یکساله (گرم) Fresh weight of annual rooted cuttings(gr)	درصد قلمه‌های زنده % vival cuttings	وزن تریشه (گرم) بدون عالیم گال % Rooted cuttings without gall	درصد نهال‌های بدون عالیم گال % Rooted cuttings without gall	درصد قلمه‌های زنده % vival cuttings	وزن تریشه (گرم) Fresh weight of root(gr)	وزن تر نهال یکساله (گرم) Fresh weight of annual rooted cuttings(gr)	زمان باز شدن جوانه (روز) Date of Bud burst( day)
-	-	-	-	ns <sup>*</sup> /۲۱			
-	-	ns <sup>*</sup> /۱۷		* <sup>*</sup> /۰۵۳۱			
-	***/۷۱۷	ns <sup>*</sup> /۱۵۶		***/۰/۷۷۵			
** -*/۸۵۱	** -*/۷۷۳	ns <sup>*</sup> /۱۴۷		** -*/۸۶۸			

(\*) در سطح احتمال ۵٪ معنی دار (Significant at the 0.05 level)

(\*\*) در سطح احتمال ۱٪ معنی دار (Significant at the 0.01 level)

(no significant) غیر معنی دار ns

با توجه به نتایج بدست آمده در صورتیکه 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 داد. تیمار گرمادرمانی با دمای ۵۰°C به مدت ۳۰ دقیقه به همراه استفاده از باکتری کش استرپتومایسین سولفات با غلظت ۱/۵ در هزارماده خالص نتایج رضایت بخش را در کاهش میزان تولید گال در نهالهای

حاصله پس از تیمار به همراه داشته است و ضمناً اثرات مثبت دیگر این تیمارها را در مواردی نظیر رشد بهتر، ریشه زایی آسانتر در طی یک فصل رویشی نیز مشهود است، که نشان دهنده اهمیت این اقدامات در پیشگیری از وقوع بیماری می باشد.

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

Table 8: Variance analysis of correlation between rooted cuttings characteristics after chemotherapy treatments

F	میانگین مربعات (MS)	مجموع مربعات (SS)	درجه آزادی (df)	منابع تغییر Sources of variation
۵/۰۲*	۲۵/۵۶	۱۰۲/۲۳	۴	رگرسیون (Regression)
-	۵/۹۶	۷۶/۳۰	۱۵	باقی مانده (Residual)
۰/۶۰۸ = ضریب دقت آزمایش	-	۱۷۸/۵۳	۱۹	کل (Total)

(\*) در سطح احتمال ۰.۵٪ معنی دار (Significant at the 0.05 level)

#### جدول ۹- ضرایب همبستگی صفات درآزمایش تیمارهای شیمیایی برای باکتری زدایی از قلمه های آلوده

Table 9- Correlation coefficient of rooted cuttings characteristics after chemotherapy treatments

درصد نهال های بدون عالیم وزن تریشه (گرم) Fresh weight of root(gr)	درصد قلمه های زنده % vival cuttings	% Rooted cuttings without galls	درصد قلمه های زنده % vival cuttings وزن تریشه (گرم) Fresh weight of root(gr)
-	-	۰/۳۷۴ ns	درصد قلمه های زنده % vival cuttings وزن تریشه (گرم) Fresh weight of root(gr)
-	۰/۲۷۷ ns	۰/۵۱۵*	

جدول ۹- (ادامه)

Table 9. (continued)

وزن تر نهال یکساله	•/۳۵۱ ns	وزن تر نهال	•/۷۱۷**
Fresh weight of annual rooted cuttings(gr)			
زمان باز شدن جوانه (روز)	ns •/۳۴۸	ns •/۱۴۳	•/۵۷۷ **

\*) در سطح احتمال ۰.۵٪ معنی دار (Significant at the 0.05 level)

\*\*) در سطح احتمال ۰.۱٪ معنی دار (Significant at the 0.01 level) Ns (غیر معنی دار) (No significant)

**منابع**

جهت ملاحظه به صفحات (۱۴۶-۱۴۴) متن انگلیسی مراجعه شود.

نشانی نگارندگان: حسن محمودزاده، استادیار پژوهشی بخش تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان آذربایجان غربی و عباس داودی، عضو هیات علمی بخش تحقیقات گیاه پزشکی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان قزوین