جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

جداسازی عامل بیماری سرطان طوقه از قلمه های آلوده انگور و اثر تیمارهای حرارتی و شیمیایی بر رفع آلودگی ازآنها*

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 داودی**

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 جداسازی 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 (٤٠ قلمه در هر کرت) طی سه سال در ایستگاه تحقیقات انگور تاکستان انجام شد. جداسازی و شناسایی جدایه های باکتری با روشهای 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 باغی قلمه های دو رقم انگور تجاری" با شماره مصوب ۸۳۰۱۷-۱۰۱۲-۰۵-۳ می‌باشد.

**مسئول مکاتبات

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

شیمیایی در چهار سطح فاکتورهای مورد بررسی بودند. پس از انجام تیمارها، قلمه ها در خزانه مجزا و بستری عاری از عامل بیماری ریشه دار گردیدند. طی سه سال اثر تیمارها بر میزان کاهش آلودگی 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 جوانه‌ها، وزن ریشه تولیدی، وزن نهال در سال اول و زمان شروع گلدهی یادداشت 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 مرفولوژیکی، خصوصیات فنوتیپی 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°C ٦٠ به مدت ۱۵ دقیقه به همراه مصرف مواد شیمیایی بیشتر از ۹۵٪ آلودگی را کاهش داده است، ولی بیش از ۵۰٪ مرگ جوانه ها را به دنبال داشته است. تیمار°C ۵۰ به مدت ۳۰ دقیقه با ترکیب شیمیایی اریترومایسین سولفات یک درهزار با بیش از ۹۰٪ کاهش آلودگی و زنده ماندن بیش از ۷۲٪ جوانه ها بدون اختلاف معنی داری با تیمارقبلی، نتیجه رضایت بخشی را در کاهش آلودگی نهالهای حاصله داشته است. برتری صفاتی نظیر میزان ریشه زایی قلمه ها (۱۹۷،۳۲۵ گرم درنهال)، تسریع در باردهی و تولید محصول در سال سوم (٦٨٤ 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 انگورباکتری خاکزادی به نام *Agrobacterium tumefaciens* است که یکی از بیماریهای خطرناک و مهم انگور می باشد. سابقاً این باکتری به سه بیوار۱، 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 موستانهای ایران گزارش شده است(Fatehi Paykani 1997). کاهش شدید عملکرد در سالهای اول آلودگی تا ۸۰٪ و

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

نابودی کامل تاکهای آلوده در سالهای بعد نتیجه این بیماری خواهد بود (Burr *et al.*1998). با توجه به زندگی ساپروفیتی عامل بیماری در داخل خاک و اندامهای مو و انتقال آن از طریق سیستم آوندی، احتمالاً در همه اندامهای آلوده وجود دارد (Burr *et al.*1989). بنابراین قلمه یا پیوندکهایی که به منظور تکثیر از پایه مادری آلوده تهیه می شوند، آلودگی را انتقال خواهند داد. در این شرایط جهت جلوگیری از شیوع آلودگی استفاده از قلمه یا پیوندکهایی که از عامل بیماری رها سازی شده اند، توصیه می گردد(Goussard 1997). مطالعات زیادی در مورد اثر تیمار های حرارتی و شیمیایی به منظور باکتری زدایی از قلمه ها و پیوندکهای مورد استفاده در تکثیر صورت گرفته است که هیچکدام نتایج صددرصد 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 تیمار های 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 ۵۰°C به مدت نیم ساعت آلودگی را تا حد زیادی کاهش داده بود (Burr *et al.*1989). درآزمایشی دیگر اثرات تیمارهای حرارتی آب گرم بر قلمه‌های تهیه شده از شاخه‌های یکساله و پیوندکهای تهیه شده از پایه‌های مادری آلوده،مورد بررسی قرار گرفت که تأثیر آنها در رفع آلودگی ۱۰۰٪ نبوده است (Goussard 1997). تیمارهای شیمیایی و حرارتی که به طور مجزا به منظور کاهش آلودگی قلمه های تهیه شده از پایه مادری آلوده انجام شد، به طور کامل آلودگی را رفع نکردند (Mahmoudzadeh *et al.* 2003). *اوفل* و همکاران (Ophel *et al.* 1995) با تیمارهای حرارتی و شیمیایی در کشورهایی مانند ایتالیا و بلغارستان از پایه های پیوندی با ارزشی نظیرK5140 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 داده اند. جهت باکتری زدایی از قلمه ها و پیوندکهای انگور ترکیبات شیمیایی آنتی بیوتیکی نظیر (استرپتومایسین سولفات،کانامایسین.)، سموم مسی ،کلرید جیوه و الکل استفاده شده است که نتایج صددرصد موفقیت آمیز نبوده است (Webester *et al.*1986). 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 (Wample *et al*.1993) ظرفیت تحمل قلمه ها و پیوندکهای بعضی از ارقام را ارزیابی نموده که نتایج آن به صورت اثر منفی دماهای بالا و طولانی مدت (٦٠°C بیش از نیم ساعت) بر نابودی قلمه ها و نیز بعضی از مواد شیمیایی مورد استفاده مانند AgCl2 با غلظت ۱۰ppm 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 درتحقیقی دیگر علاوه براثر آیش و رعایت تناوب زراعی درکاهش آلودگی خاکهای آلوده به عامل بیماری سرطان طوقه و ریشه، برای جلوگیری از شیوع بیماری از طریق مواد مادری مورد استفاده در تکثیر (قلمه ها 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(Webester *et al*.1986). تیمار حرارتی بالا با مدت زمان کوتاه نیز برای باکتری زدایی از قلمه ها و پیوندکها از دماهای پایین با مدت طولانی که برای ویروس زدایی استفاده می گردد، موثرتر شناخته شدند(PU *et al.* 1993) . همچنین اثر تیمارهای شیمیایی نظیر استفاده از آنتی بیوتیکهای اریترومایسین یک در هزار، استرپتومایسین سولفات یک در هزار، استفاده از نفت سفید برای انهدام گالها و همچنین کلرید جیوه با غلظت ppm ۱۰مورد آزمایش قرارگرفته که نتایج صددرصد موفقیت آمیزدر پی نداشته است (Ophel *et al.* 1990). *فاتحی پیکانی* (Fatehi Paykani 1997) اثرات بعضی از آنتی بیوتیکها نظیر پنی سیلین، اورومایسین، استرپتومایسین، آمپی سیلین (همگی با غلظت یک در هزار ماده خالص) و کلرید مس ۱/۵در هزار را در محیط کشت بر رشد کلونیهای آگروباکتریوم ویتیس 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 طوقه را در قلمه های 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 می باشد، میسر خواهد شد.

روش بررسی

۱- نمونه برداری و جداسازی باکتری از نمونه های آلوده

در مرحله اول با مراجعه به تاکستانهای آلوده در منطقه قزوین، از تاک های شدیداً آلوده ارقام سفید بی دانه و حسینی ده پایه علامتگذاری و از شاخه های آلوده دارای غده، نمونه‌برداری انجام شد. شاخه ها در آزمایشگاه با محلول کلروکس ۱۰٪ به مدت ۱۰ دقیقه ضدعفونی سطحی و سپس با آب مقطر استریل شستشو شدند.پس ازله کردن قطعاتی ازشاخه هادرهاون های سترون،مقداری ازعصاره های حاصله به محیط های کشتYNAو Schaad D1(1988) منتقل شده،دردمای۲۸درجه سانتی گرادنگهداری شدند.سپس کلنی های شبیه *Agrobacterium* (کلنی های برجسته، مدور وبراق به رنگ سفید شیری یابژازروی محیطYNAوهمچنین کلنی های سبزمتالیک ازروی محیط کشتD1 انتخاب شده وهرکلنی بصورت جداگانه برروی محیط های اختصاصی کشت داده شدند (Fahy & Perseley 1983,Roy & Sasser 1983, Schaad 1988).. عصاره گیری ازشیره آوندی به کمک یک انبرسترون ویاایجادزخم درگیاه وجمع آوری شیره گیاهی بوسیله سرنگ انجام شد. عصاره‌های حاصل روی محیط کشتRS کشت شده وسپس کلنی های حاصله روی محیط کشتYNA خالص سازی شدند (Schaad 1988).کلنی های خالص شده،جهت انجام آزمونهای لازم دریخچال نگهداری شدند.

۲-بررسی خصوصیات فنوتیپی جدایه ها

تتعین 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 ۲٪، قلیایی نمودن شیر لیتموس، تولید ۳- کتولاکتوز، رشد در دمای°C ۳۵، 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)

۳- تعیین آلودگی قلمه ها

در آذر ماه از پایه های مادری آلوده قلمه های خشبی ساده به طول cm ٤٠-٦٠ سانتیمتر با حداقل ۸ گره تهیه و در یخچال نگهداری شدند. علاوه بر انجام آزمون آلودگی بر روی پایه‌های 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 ازشماره 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 D1، 1A،(MRS (Modified RS و محیط عمومی NA (آگار غذایی) انجام شد. پس از دو روز نگهداری تشتکهای 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.

٤- 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 الکل اتیلیک ۹٦ درجه ضدعفونی 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 ۵×۱۰^{۸} 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 ٤ تکرار اعمال گردید که در آن فاکتور اصلی نوع رقم در دو سطح (سفید بی دانه و حسینی)، فاکتور فرعی تیمارهای حرارتی در ٤ سطح شاهد (بدون تیمار حرارتی)، تیمار حرارتی آب گرم ٤٠°C به مدت یک ساعت، تیمار حرارتی آب گرم ٥٠°C به مدت نیم ساعت و تیمار حرارتی آب گرم ٦٠°C به مدت١٥ دقیقه بودند. همچنین فاکتور فرعی- فرعی در این آزمایش استعمال مواد شیمیایی در ٤ سطح شاهد (بدون تیمار شیمیایی)، محلول استرپتومایسین سولفات یک در هزار، محلول اریترومایسین یک درهزار و محلول کلرید مس ١/٥ درهزار بوده است. برای هر واحد آزمایشی ٢٠ قلمه انتخاب شده و در اعمال تیمارهای شیمیایی تمام قلمه ها به مدت یک ساعت در محلولهای مذکور نگهداری شدند. در مجموع ٢٥٦٠ قلمه تیمار گردیدند. تیمارهای حرارتی با استفاده از دستگاه حمام آب گرم (بن ماری) صورت گرفت.

٦- کاشت قلمه‌های تیمار شده و یادداشت برداری‌ها

در گلخانه، در هر واحد آزمایشی ٤٠ قلمه با فاصله ٢٠cm از هم کشت شدند. بستر ریشه‌زایی مخلوطی از پرلیت، خاکبرگ و ماسه بادی بوده که با فرم آلدئید و بخار آب ضدعفونی گردید. آزمون عدم آلودگی بستر به روش رای و ساسسر (Roy & Sasser 1983) انجام شد. آبیاری قلمه ها و سایر عملیات مدیریتی در شرایط کنترل شده انجام شد تا احتمال آلودگی ثانوی از بین برود. در سال اول درصد قلمه های زنده با شمارش تعداد نهالهای رشد کرده یادداشت گردید. تعیین درصد نهالهای سالم و عاری از بیماری از طریق مشاهده چشمی بصورت تشکیل غده های سرطانی در سال سوم و نیز از طریق کشت عصاره اندامهای نهالهاروی محیطهای کشت D1 و آگار غذایی (NA) صورت گرفت. در پایان سال اول نهالها از گلخانه به خزانه هوای آزاد که به صورت کنترل شده اداره می شد، منتقل شدند. در سال دوم نهالها با فاصله ٤×٢ 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 رفته، زمان باز شدن جوانه ها 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 داده های 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 مرفولوژیکی انجام شده بر روی آنها خصوصیات فنوتیپی ۱۷ استرین جدا شده با گونه *Agrobacterium tumefaciens* کاملا مطابقت داشته است و با *A. vitis* متفاوت بود (جدول ۱). مشخصات فنوتیپی 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. tumefacience* 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 رو ی 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 میزبان در تعیین دامنه میزبانی 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 سرطان 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 دادهها نشان داد که اثر تیمارها بر صفات مورد بررسی در دو رقم انگور متفاوت می‌باشد (جدول ۳).

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

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

آزمون Test	واکنش جدایه ها 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 اندول (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)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+

جدول ۱- (ادامه) Table 1. (continued)

تحمل نمک (Growth in 2% NaCl) ٪۲	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
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	Alk	Alk	Alk	Alk	Alk	Alk	Alk	Alk	Alk	Alk	Alk	Alk	Alk	Alk
استفاده از (Utilization from)																																		
اریتریتول (Erythritol)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ملزیتوز (Melezetose)	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
سوکوروز (Sucrose)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
لاکتوز (Lactose)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
مالتوز (Maltose)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
مالونیک اسید (Malonic acid)	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
میوسیک اسید (Mucic acid)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ال- تارتاریک اسید (L-Tartaric acid)	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
رشد (growth on) بر روی																																		
محیط کشت 1A (1A medium)	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
محیط کشت D1 (D1 medium)	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
محیط کشت MRS (MRS medium)	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
بیماریزایی روی (Pathogenicity on)																																		

جدول ۱– (ادامه) Table 1. (continued)

گوجه فرنگی (Tomato)	+	+	-	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+
هویج (carrot)	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	-
آفتابگردان (Sun flower)	-	-	+	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	+
انگور (Grapevine)	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+

+: واکنش مثبت، وجود فعالیت یا استفاده از ترکیبات +: Positive reaction or growth

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

- : Negative reaction or growth Alk

: قلیایی Alk: Alkaline

در بررسی اثر انفرادی تیمارهای حرارتی مرگ تعدادی از قلمه ها مشاهده شد. خصوصاً تیمار ۶۰°C درجه سانتیگراد سبب مرگ درصد بالایی از جوانه ها گردید، در صورتیکه تیمار ۵۰ °C به مدت ۳۰ دقیقه نتیجه بهتری را داشته است (جدول ۳)، که منطبق با نتایج تحقیقات *گوسارد* (Goussard 1997) می‌باشد. مشابه نتایج *اوفیل* 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 ۵۰°C ، این تیمارها سسب مرگ جوانه قلمه ها نشده اند، ولی اثر آنها برباکتری زدایی از قلمه ها کمتر بوده است. بیشترین وزن ریشه باززایی شده و وزن تر نهالهای یکساله پس از تیمار قلمه ها 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 نداشته اند(جدول ٤). 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 قلمه های 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 ۶۰°C به مدت ۱۵ دقیقه و ماده شیمیایی

اریتروماییسین در هر دو رقم بوده است. بیشترین وزن تر ریشه تولیدی و وزن تر نها ل یکساله

جدول ۲- تجزیه واریانس دادهای حاصل از اثر تیمارهای شیمیایی و حرارتی بر باکتری‌زدایی 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

منابع تغییرات Sources of Variation	df	MS (Mean Square) میانگین مربعات					
		درصد نهالهای بدون گال % Rooted cuttings without gall	درصد قلمه های زنده % vival cuttings	وزن تر ریشه Fresh weight of root	وزن تر نهال Fresh Weight of rooted cutting	عملکرد (باردهی) Yield	زمان باز شدن جوانه Date of Bud burst
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*
	۱۲	۴۵،۷۸۹	۲۳،۷۴	۴۳،۴۱۶	۸۹،۳۶۵	۷۹،۴۳۵	۲۲،۸۱۷
اشتباه B	۳	۲۵۴،۳۲۱*	*۴۸۶،۴۳۹	**۴۱۷۱،۲۳۰	**۸۲۶۵،۳۴۰	۶۲۴،۲۸۲ ns	۴۲۳،۱۲*
تیمارهای شیمیایی	۳	۲۱۳،۸۷ns	**۲۷۶،۳۲۰	**۹۶۳،۵۴۹	**۱۲۴۷۵،۳۹۲	**۸۷۲۳،۵۴۹	۲۹۷،۱۸۴ns
اثر متقابل تیمارهای شیمیایی و نوع رقم	۹	**۷۸۹،۳۶	*۳۴۶،۲۸۹	**۸۷۱،۵۲۸	*۹۶۸۱،۲۵	**۴۲۵۸۱،۵۲۸	**۵۳۶،۸۶۱
	۹	**۱۲۸۷،۳۶۹	**۷۳۵،۴۳۶	**۹۳۶،۴۴۸	**۱۱۷۵،۲۳۹	**۷۲۳۶،۴۴۸	*۹۸۴،۳۶
اثر متقابل تیمارهای شیمیایی و حرارتی	۴۸	۴۲،۵۶۸	۳۶،۳۹۱	۴۲،۴۳۶	۵۶،۲۴۶	۹۶۱،۴۳۶	۳۲،۸۶۰
اثر متقابل تیمارهای شیمیایی و حرارتی و رقم اشتباه C							
دقت آزمایش	–	٪۴/۹۸	٪۱۲/۸۷	٪۲/۹۶	٪۱۲/۹۶	٪۸/۸۹	٪۸/۷۸

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

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

ns) غیر معنی دار(no significant)

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر تیمارهای شیمیایی 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

نوع رقم Cultivars	میانگین مقادیر عددی صفات					
	درصد نهال های بدون علایم گال % Rooted cuttings without gall	درصد قلمه های زنده % vival cuttings	وزن تر ریشه (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	عملکرد در سال سوم (باردهی) (گرم) Yield (gr)
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

مربوط به تیمار ۵۰°C در۳۰ 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 شیمیایی 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 وبستر و همکاران (Webester *et al.* 1986) بوده است (جدول۵). تجزیه واریانس همبستگی صفات مورد مطالعه در قلمه‌ها 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< ٪۵) (جدول ۷). نتایج منفی برخی از این تیمارها در ازبین رفتن قلمه ها در آزمایشات *وامپل* و همکاران

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

جدول ٤- 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 تررریشه (گرم) Fresh weight of root (gr)	درصد قلمه های زنده % vival cuttings	درصد نهال های بدون علایم گال % Rooted cuttings without gall	عملکرد در سال سوم (باردهی) (گرم) Yield (gr)
CONTROL	٤١،٣٢٥c	٢١٧،٦٣٥d	١١٩،٣٤٤c	٩٢،١٢٥a	٠c	d٠
40 ºC/ 60 MIN	٣٧،٢٠٤b	٢٥٧،٤٨٩c	١٢٨،٧٩٣b	٨٣،٥b	٢٥b	c٣٣٢
50 ºC/ 30 MIN	٣٢،٢١٤a	٣٢٧،٣٢٨a	١٩٧،٣٢٥a	٧٢،٧٥c	٩٥a	a٦٨٤
60 ºC/ 15 MIN	٣٤،٨٧a	٢٩٦،٧٨٤b	١٨٦،٣٤٢a	٤٧d	٩٨a	b٥٤٦
LSD5%	٧/٢٨٥	١٢/٤٥	١٣/١٢	٣/١٠٨	١٥/٢٧	١٢٢/٤٨
شاهد	٣٦،٧٩٥a	٢٦٦،٠٥٢b	١٣١،٠٥٨b	٧٤،٢٥a	٠b	٠c
استرپتومایسین ۱ در هزار	٣٦،١٢٥a	٣٠٤،٧٢a	١٦٠،٦٧a	٧٥a	٢٤a	b٢٤٩
اریترومایسین ۱ در هزار	٣٦،١٣٨a	٣٣٠٩،١٢a	١٦٦،٥٦٥a	٧٢،٥b	٢٧a	a٣٦٢
کلرید مس ۱/۵ در هزار	٣٩،٤a	٣١١،٦٢a	١٦٨،٢٨٥a	٧٣،٦٢٥ab	٢٥a	ab٢٨٧
LSD5%	٢/٨٢٥	٩/٣٤٥	٨/٠٦٢٥	٧/٣٢٥	١٠/٢٥	٩٨/٢٥

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 بالاخص$٦٠^{\circ}C$ بیش از نیم ساعت سبب نابودی قلمه ها گردیده است و همچنین برخی از مواد شیمیایی مورد استفاده مانند

AgCl2 با غلظت ۱۰ppm 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

تیمارها Treatments	زمان باز شدن جوانه (روز) Date of Bud burst(day)	وزن تر نهال یکساله گرم) Fresh weight of 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	عملکرد در سال سوم (باردهی) (گرم) Yield (gr)
a1b1c1	cd۴۱,۶۸	۲۳۵,۶۳ gh	f۱۰۸,۸۶	a*۹۵	n۱,۲۵	۰f
a1b1c2	d۴۴,۳۲	h۲۲۷,۳۲	ef۱۲۰,۵۴	a۹۳	klm۹,۲۵	۰f
a1b1c3	cd۴۲,۳۲	gh۲۴۳,۴۵	f۱۰۸,۴۴	a۹۴	kl۱۲,۱۵	۵۲/۵ef
a1b1c4	bc۳۹,۴	h۲۲۶,۷۸	f۱۱۲,۷۴	a۹۲	kl۹,۸۸	۰f
a1b2c1	bc۳۷,۸۵	f۲۶۵,۴۴	de۱۳۴,۲۳	a۸۹	hijk۲۴,۲۷	۱۲۴/۲۵de
a1b2c2	bcd۳۸,۷۴	f۲۷۸,۹۸	e۱۲۹,۴۱	ab۸۷	hijk۲۶,۲۸	۱۲۵/۲۶de
a1b2c3	bc۳۵,۳۶	e۲۸۴,۳۶	de۱۳۳,۹۶	a۹۰	hij۲۷,۴۹	۱۴۳,۴۵de
a1b2c4	c۴۰,۴۵	ef۲۹۸,۶۵	d۱۴۹,۴۴	ab۸۸	fgh۳۲,۱۴	۲۲۵,۲۵cd
a1b3c1	ab۳۳,۲۴	de۳۰۲,۲۵	c۱۷۴,۹۸	bc۷۹	cd۷۸,۵۶	۵۴۶,۲۷a
a1b3c2	ab۳۱,۳۶	ef۳۰۴,۲۹	cd۱۷۱,۵۸	bc۸۱	cd۸۲,۲۵	۶۴۸,۴۵a
a1b3c3	ab۳۴,۴۸	efg۲۹۹,۳۶	bc۱۹۲,۴۵	c۷۵	de۷۸,۱۶	۵۲۴,۲۵a
a1b3c4	ab۳۲,۶۴	de۳۱۲,۹۸	c۱۸۱۳۲	bc۷۷	bc۸۹,۲۶	۶۱۴,۵a
a1b4c1	b۳۴,۳۲	def۲۸۷,۳۴	cd۱۷۲,۲۲	ef۴۵	a۹۹,۵	۴۲۱/۴۵b
a1b4c2	۳۷,۹۶ bc	ef۲۷۴,۵۶	c۱۷۵,۳۵	e۴۷	a۹۹,۲۵	۳۹۸/۲۶bc
a1b4c3	ab۳۵,۴۸	f۲۶۹,۸۵	c۱۸۰,۴۳	e۵۱	ab۹۴,۲۵	۴۹۶/۵۶b
a1b4c4	cd۴۰,۸۷	f۲۶۹,۳۶	c۱۸۴,۶۵	e۵۳	a۹۵,۲۸	۴۱۲/۴۵bc
a2b1c1	cd۴۳,۲۴	g۲۵۶,۸۷	ef۱۲۴,۶۳	a۹۳	n۲,۲۵	۰f
a2b1c2	cd۴۱,۲۶	fg۲۶۶,۳۷	ef۱۱۸,۲۵	a۹۱	mn۴,۲۸	۰f
a2b1c3	bc۴۰,۲۷	fg۲۷۸,۴۷	de۱۳۳,۶۴	a۸۹	hij۲۵,۱۸	۶۵/۲۴ef
a2b1c4	cd۴۳,۳۲	f۲۶۹,۲۶	e۱۲۷,۶۵	a۹۰	hi۲۷,۱۳۵	۵۲/۳۵ef
a2b2c1	b۳۶,۶۲	e۳۰۵,۷۸	d۱۵۷,۳۵	b۸۴	gh۳۳,۴۸	۱۵۹/۲۵de
a2b2c2	ab۳۷,۴۵	d۳۱۲,۳۴	d۱۴۹,۶۴	bc۸۰	fgh۳۴,۶۵	۱۴۶/۴۵de
a2b2c3	b۳۴,۷۸	de۳۱۴,۹۷	d۱۵۹,۴۸	c۷۴	gh۳۵,۱۷	۲۱۴/۷۵cd
a2b2c4	bc۳۸,۲۱	de۳۱۱,۳۷	cd۱۶۱,۸۷	c۷۶	ef۴۱,۲۵	۱۲۸/۵۵e
a2b3c1	a۳۰,۳۲	ab۳۶۹,۹۵	b۲۱۴,۲۶	d۶۵	bc۷۸,۲۹	۴۸۷/۴۵b
a2b3c2	a*۲۹,۷۸	ab۴۰۲,۲۴	a۲۲۸,۳۷	c۷۰	b۷۹,۱۲۵	۵۱۴/۲۶b
a2b3c3	ab۳۳,۱۲	a*۴۱۴,۵۲	a*۲۳۵,۴۷	cd۷۱	b۸۲,۱۵	۵۸۹/۴۵a
a2b3c4	a۳۱,۶۵	a۴۰۶,۳۲	a۲۲۴,۹۶	cd۶۴	b۸۱,۳۵	۶۱۰/۸۵a
a2b4c1	bc۳۷,۵۴	bc۳۸۹,۴۴	b۲۰۳,۳۵	ef۴۴	a۹۲,۲۵	۳۴۵/۳۶bc
a2b4c2	bc۳۶,۱۴	c۳۷۱,۷۸	bc۱۹۲,۲۱	e۵۱	a۹۴,۲۸	۳۸۷/۲۹bc
a2b4c3	ab۳۳,۲۵	cd۳۶۷,۹۲	c۱۸۸,۶۵	f۳۶	a۹۶,۳۲	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 ٦- تجزیه واریانس همبستگی صفات نهالهای ریشه دار پس ازتیمارهای حرارت درمانی به منظور باکتری‌زدایی ازقلمه‌ها

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

منابع تغییر Sources of variation	درجه آزادی (df)	مجموع مربعات(SS)	میانگین مربعات(MS)	F
رگرسیون(Regression)	٤	٤٤٠/١١	١١٠/٠٣	** ٢٢/٤١
باقی مانده(Residual)	١١	٤٩/٥٩	٤/٥١	–
کل (Total)	١٥	٤٨٩/٦٩	–	دقت آزمایش = ضریب ٪٤/٨٩

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

بین صفات درصد نهال های بدون علایم گال وزمان بازشدن جوانه ها روی قلمه ها همبستگی معنی‌دار 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 باززایی شده از قلمه ها بیشتر باشد، اندازه رشد شاخه بیشتر شده ولی جوانه های روی قلمه ها دیرتر شروع به رشد خواهندکرد یعنی باززایی 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 درسطح ۵٪ می‌باشد (جداول ۹و 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 ترموتراپی و شیمیوتراپی با

کاهش درصد نهال های بدون علایم گال، وزن خشک ریشه های باززایی شده و همچنین وزن تر نهالها سیرصعودی دارد که در تیمارهای شیمیایی این روند کندتر بوده است و نتایج حاصله منطبق با نتایج تحقیق *بازی* و همکاران (Bazzi *et al.* 1991) می باشد.

جدول ۷- ضرایب همبستگی صفات درآزمایش تیمارهای حرارت درمانی برای باکتری زدایی از قلمه های آلوده

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

	درصد نهال های بدون علایم گال % Rooted cuttings without gall	درصد قلمه های زنده % vival cuttings	وزن ترریشه (گرم) Fresh weight of root(gr)	وزن تر نهال یکساله (گرم) Fresh weight of annual rooted cuttings(gr)
درصد قلمه های زنده % vival cuttings	ns۰/۲۱	–	–	–
وزن ترریشه (گرم) Fresh weight of root(gr)	* ۰/۵۳۱	ns۰/۱۷	–	–
وزن تر نهال یکساله (گرم) Fresh weight of annual rooted cuttings(gr)	** ۰/۷۷۵	ns۰/۱۵٦	**۰/۷۱۷	–
زمان باز شدن جوانه (روز) Date of Bud burst(day)	** – ۰/۸٦۸	ns۰/۱٤۷	** –۰/۷۷۳	** –۰/۸۵۱

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

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

ns)غیر معنی دار(no significant)

با توجه به نتایج بدست آمده درصورتیکه از پایه های مادری آلوده به عامل بیماری سرطان طوقه برای تهیه قلمه یا پیوندک جهت تکثیر استفاده گردد، می توان با انجام تیمارهای حرارت درمانی وشیمیایی درصد آلودگی را تا حد قابل قبول کاهش داد. تیمار گرمادرمانی با دمای$۵۰^{\circ}C$ به مدت ۳۰ دقیقه به همراه استفاده از باکتری کش استرپتومایسین سولفات با غلظت ۱/۵ در هزارماده خالص نتایج رضایت بخش را درکاهش میزان تولید گال در نهالهای

حاصله پس از تیمار به همراه داشته است و ضمناً اثرات مثبت دیگر این تیمارها را درمواردی 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 برا ی باکتری زدایی

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

منابع تغییر Sources of variation	درجه آزادی (df)	مجموع مربعات(SS)	میانگین مربعات(MS)	F
رگرسیون (Regression)	٤	۱۰۲/۲۳	۲۵/۵٦	۵/۰۲*
باقی مانده(Residual)	۱۵	۷٦/۳۰	۵/۹٦	–
کل (Total)	۱۹	۱۷۸/۵۳	–	٪٦/۰۸ = ضریب دقت آزمایش

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

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

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

	درصد نهال های بدون علایم گال % Rooted cuttings without galls	درصد قلمه های زنده % vival cuttings	وزن ترریشه (گرم) Fresh weight of root(gr)
درصد قلمه های زنده % vival cuttings	ns ۰/۳۷٤	–	–
وزن ترریشه (گرم) Fresh weight of root(gr)	*۰/۵۱۵	ns ۰/۲۷۷	–

جدول ۹- (ادامه) Table 9. (continued)

وزن تر نهال یکساله (گرم) Fresh weight of annual rooted cuttings(gr)	۰/۳۵۱ ns	۰/۱۸۷ ns	۰/۷۱۷**
زمان باز شدن جوانه (روز) Date of Bud burst(day)	ns۰/۱۴۳	ns۰/۳۴۸	** -۰/۵۷۷

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

**) در سطح احتمال ۱٪ معنی دار (Significant at the 0.01 level) Ns)غیر معنی دار (No significant)

منابع

جهت ملاحظه به صفحات (146-144) 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