بسم الله الرحمن الرحیم

وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
موسسه تحقیقات علوم با غبانی
پژوهشکده میوه های معتدله و سردسیری

نشریه فنی

نگرشی بر بیماری سرطان طوقه و ریشه انگور با تاکید بر استفاده از پایه های مقاوم در کنترل آن

تألیف: ولی الله رسولی و حسن محمود زاده

اعضای هیات علمی مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان‌های قزوین و آذربایجان غربی

نشریه شماره:

۵٤۷۷۲ مورخ ۹۷/۱۰/۱٦

از مرکز فناوری اطلاعات و مدارک علمی کشاورزی

فهرست مطالب

۱) مقدمه ۱

۲) معرفی بیماری سرطان طوقه مو ۱

۳) عامل بیماری ۲

۴) علائم بیماری و نحوه خسارت ۴

۵) چرخه بیماری ۶

۶) عوامل مؤثر در انتقال و انتشار عامل بیماری ۹

۷)روش‌های کنترل ۱۱

۷-۱) روش‌های پیشگیری از آلودگی و انتشار بیماری ۱۱

۷-۲) مبارزه با بیماری در صورت آلوده بودن تاک‌های مورد استفاده در تکثیر ۱۳

۷-۳) مبارزه شیمیایی با عامل بیماری سرطان طوقه در تاکستان آلوده ۱۴

۷-۴) مبارزه بیولوژیک با عامل بیماری سرطان طوقه ۱۵

۸) رویکردهای نوین در مبارزه و ایجاد مقاومت در برابر بیماری سرطان طوقه مو ۱۹

۹) نتیجه گیری و توصیه فنی کاربردی ۲۱

۱۰) منابع مورد استفاده ۲۲

فهرست شکل‌ها

شکل ۱: شکل شماتیک باکتری و کلونی آن در زیر میکروسکپ ۳

شکل ۲: تشکیل کلونی و شکل آنها روی محیط کشت اختصاصی ۴

شکل ۳: غده های سرطان طوقه در اندامهای مختلف مو ۶

شکل ۴: چرخه و نحوه انتقال بیماریسرطان طوقه مو ۷

شکل ۵: روش انتقال پلاسمید Ti به درون سلول گیاهی ۸

فهرست جدول‌ها

جدول ۱: نژادهای بیماری زای مورد استفاده در تلقیح دانهال‌ها.....۱۸

جدول ۲: پایه ها و ارقام مورد استفاده در آزمایش ارزیابی سازگاری.....۱۹

جدول ۳: فهرست پرایمرهای مشتق از پلاسمید Ti.....۱۹

۱) مقدمه

انگور یکی ازمحصولات باغی با ارزش است که در اکثر مناطق مساعد دنیا کشت می‌شود. استفاده از این محصول به‌صورت تازه خوری، آب انگور، سبزه وکشمش و همچنین کاربرد آن درصنایع تخمیری به‌عنوان شاخص‌های اهمیت آن به حساب می‌آیند. علاوه برمصارف یادشده درتهیه سرکه جهت ترشیجات و تهیه آبغوره ونیز شیره انگور وحتی برگ آن نیز مورداستفاده قرارمی‌گیرد. به دلایل ذکرشده توسعه سطح زیر کشت انگور درمناطقی با آب و هوای مساعد در ایران جهت افزایش تولید، به منظور توسعه صادرات غیر نفتی، خصوصاً کشمش می‌تواند از اتکای اقتصاد ایران به محصول نفت بکاهد و جزو صادرات ارزآور برای ایران باشد. ارزش غذایی انگور بسیار بالاست و براساس پژوهش‌های سازمان خواربار جهانی (FAO) مقدار انرژی موجود درهر ۱۰۰ گرم انگورتازه ۶۷ کیلو کالری و هر۱۰۰ گرم کشمش برابر۲۶۸ کیلو کالری می باشد(فائو، ۲۰۱۶).

۲) معرفی بیماری سرطان طوقه مو

تولیدمحصول انگور دردنیا و ایران بامشکلات جدی روبروست. آفات خطرناکی نظیر فیلوکسرا، کرم خوشه خوار انگور وبیماری‌هایی نظیر سرطان طوقه و انواع سفیدک‌ها این محصول را تهدید می‌نمایند. درکشورهای اروپایی و آمریکا هزینه مبارزه با بیماری باکتریایی سرطان طوقه بسیار بالاست. این بیماری تهدیدی جدی برای اکثر تاکستان‌ها دراین کشورها به‌حساب می آید، به‌طوری‌که در تاکستان‌های آمریکا، بیماری یاد شده پس از ۳ سال، نابودی تاکستان‌ها را سبب شده است. نخستین گزارش ازآلودگی تاکستان‌ها به این باکتری مربوط به تاکستان‌های فرانسه است که درسال ۱۸۵۳ میلادی گزارش شده است و مسری بودن آنرا محققی بنام کاروا درسال ۱۸۹۸ ازایتالیا گزارش نموده است. درسال ۱۸۷۰ تا ۱۸۹۰ عامل این بیماری روی درختچه رز، تمشک، چغندرقند نیزدیده شد و در ایالات متحده آمریکا، اولین بار سال ۱۸۸۹ گزارش شده است. سپس Townsend و Smith درسال ۱۹۰۷ اعلام کردند که سرطان طوقه وریشه انگور، بیماری باکتریایی است و عامل آنرا شناسایی

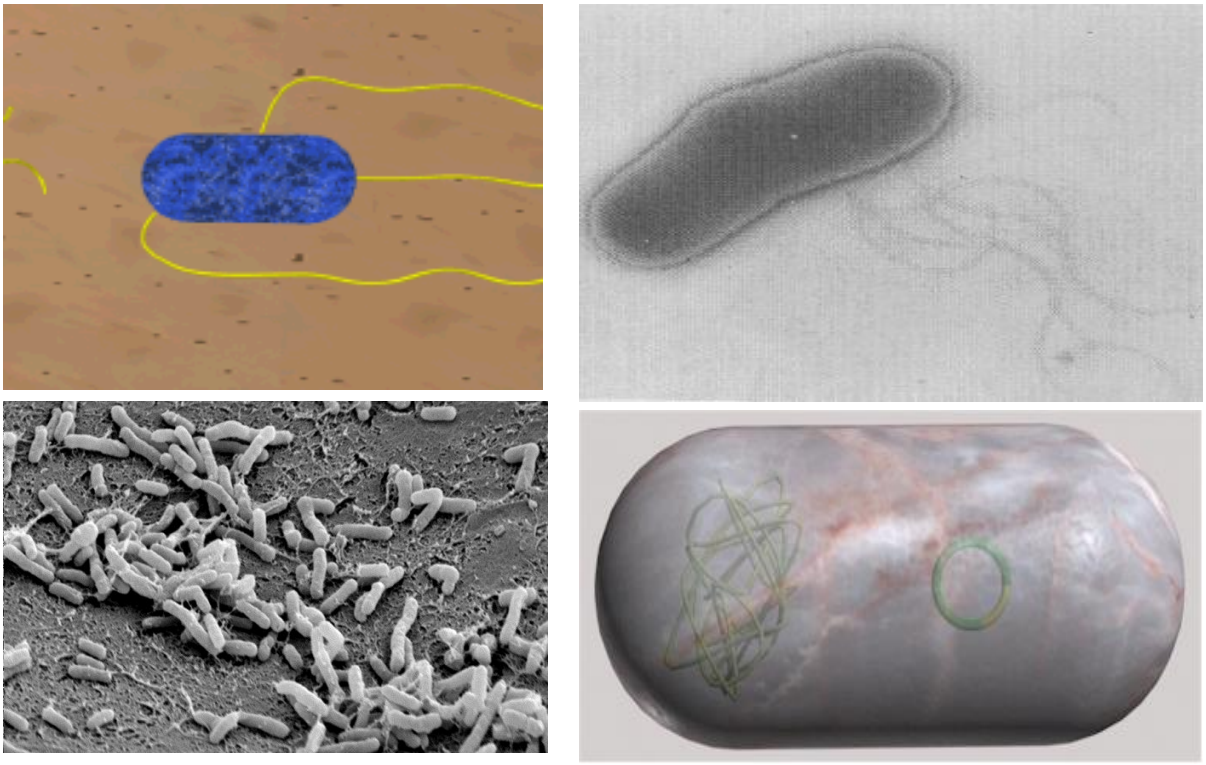
وگزارش کردند. وجود این بیماری به‌تدریج ازآفریقای جنوبی، نیوزیلند، استرالیا، کانادا، کشورهای اروپایی، آسیایی وآمریکای جنوب نیز گزارش شده است. درایران اولین بار درسال ۱۳۳۷ از موهای آلوده دریک تاکستان از ارومیه گزارش شده است ودرحال حاضر دراکثر استان‌های انگورخیز آلودگی دیده می‌شود. به عبارت دیگر اکثر تاکستان‌های ایران آلوده به عامل بیماری سرطان طوقه هستند (فاتحی، ۱۳۷۶؛ محمودزاده، ۱۳۷۹). کاهش شدید رشد رویشی و زایشی (عملکرد) درتاکستان‌ها درنتیجه این بیماری کاملاً شناخته شده است، به گونه‌ای که عامل بیماری سرطان طوقه را سومین عامل بیماریزای مهم گیاهی ازنوع پروکاریوت‌ها درآمریکا ذکرکرده‌اند. در آفریقای جنوبی کاهش رشد و عملکرد تاکستان‌ها بعد از آلودگی تا ۵۰ درصد برآورد شده است و دامنه آلودگی بین ۱۰ تا ۷۵ درصد گزارش شده است. براساس گزارشات موجود در ایران این عامل در پاره‌ای موارد سبب نابودی کامل تاکستان‌ها شده است ودر مواردی ۷۵ درصد کاهش عملکرد را سبب شده است وحتی دراستان‌های آذربایجان غربی وکهگیلویه و بویراحمد بخشی از تاکستان‌ها به‌طورکامل دراثر ابتلا به این بیماری از بین رفته‌اند. بیماری سرطان طوقه در باغات شهرهای قزوین، تاکستان، قم، اراک، بروجرد، ابهر، کرمانشاه، اصفهان، نجف آباد، شهرکرد، بروجن و در استان‌های آذربایجان‌غربی وشرقی،کردستان، زنجان، فارس وخراسان دیده شده است و احتمال انتشار آن به سایر مناطق انگورکاری نیز وجود دارد که نیاز به بررسی و پیگیری بیشتری دارد. به‌طور متوسط آلودگی تاک‌ها در بعضی از تاکستان‌های آذربایجان تا ۵۰ درصد گزارش شده است و میزان خسارت این بیماری روی ارقام باارزش عسکری وسفید بیدانه تا ۷۲/۴۴ درصد و روی رقم نسبتاً مقاوم چفته ۲۲/۴۳ درصدگزارش شده است (اشکان، ۱۳۷۴).

۳) عامل بیماری

عامل بیماری باکتری است متعلق به ردهٔSchizomycetes، راستهٔ آن Eubacteriales، از خانوادهٔ Rhizobiaceae وجنس آن *Agrobacterium* می‌باشد. از این جنس ۷ گونهٔ بیماری‌زا شناسایی شده است که مهم‌ترین آنها *Agrobacterium tumefaciens* و*Agrobacterium vitis* هستند. گونه اول عامل ایجاد سرطان

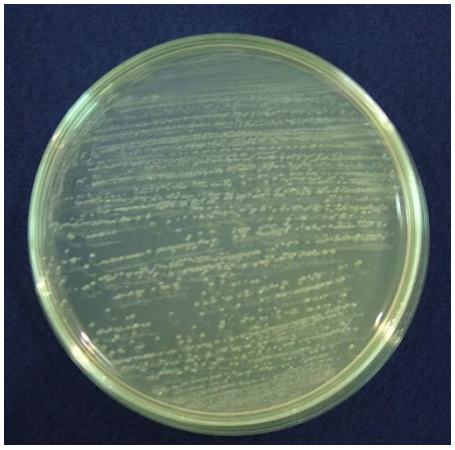
ریشه، ساقه و طوقه در گیاهان مختلف می‌باشد و روی تعداد زیادی از گیاهان دولپه‌ای (حدود ۶۰۰ گونه) ایجاد بیماری می‌کند و گونه دوم بطور اختصاصی در تاک بیماریزا می باشد. نژادهایی نظیر GG49، GG230، AG57، KW180، K1059 از *A. vitis* روی تاک ایجاد بیماری می‌کنند (بینی و همکاران، ۲۰۰۸).

از نژادهای بیماریزای *A. tumefaciens* می‌توان C58 را نام برد. باکتری مذکور به شکل میله‌ای کوتاه یا چوب کبریتی با ابعاد µm ۳- ۱/۵ × ۰/۸ است که دارای ۴-۱ تاژک محیطی ویا جانبی بوده، متحرک یا فاقد تحرک و گرم منفی است (شکل ۱).



شکل ۱: شکل شماتیک باکتری و کلونی آن در زیر میکروسکپ

روی محیط‌های کشت عمومی و اختصاصی ، کلونی‌های سفید، برجسته، گرد، درخشنده و شفاف را تشکیل می‌دهد (شکل ۲).



شکل ۲: تشکیل کلونی و شکل آنها روی محیط کشت اختصاصی

گونه *Agobacterium tumefaciens* دارای ۳ بیووار (Biovar) است که بیووار ۳ آن روی تاک فعالیت می‌کند و معمولاً با واکنش‌های بیوشیمیایی آزمایشگاهی قابل تشخیص است. با توجه به فعالیت انحصاری آن روی تاک اخیراً بنام گونه‌ای جدید *A. vitis* نامگذاری شده است (بینی و همکاران، ۲۰۰۸).

گونه‌ای از این جنس به نام *Agobacterium radiobacter* وجود دارد که بصورت همنشین با عامل سرطان طوقه در خاک و در بافت‌های سالم گیاهان و حتی درداخل غده‌های سرطانی ایجاد شده یافت شده ولی بیماریزا نمی‌باشد (بور و همکاران، ۱۹۹۸).

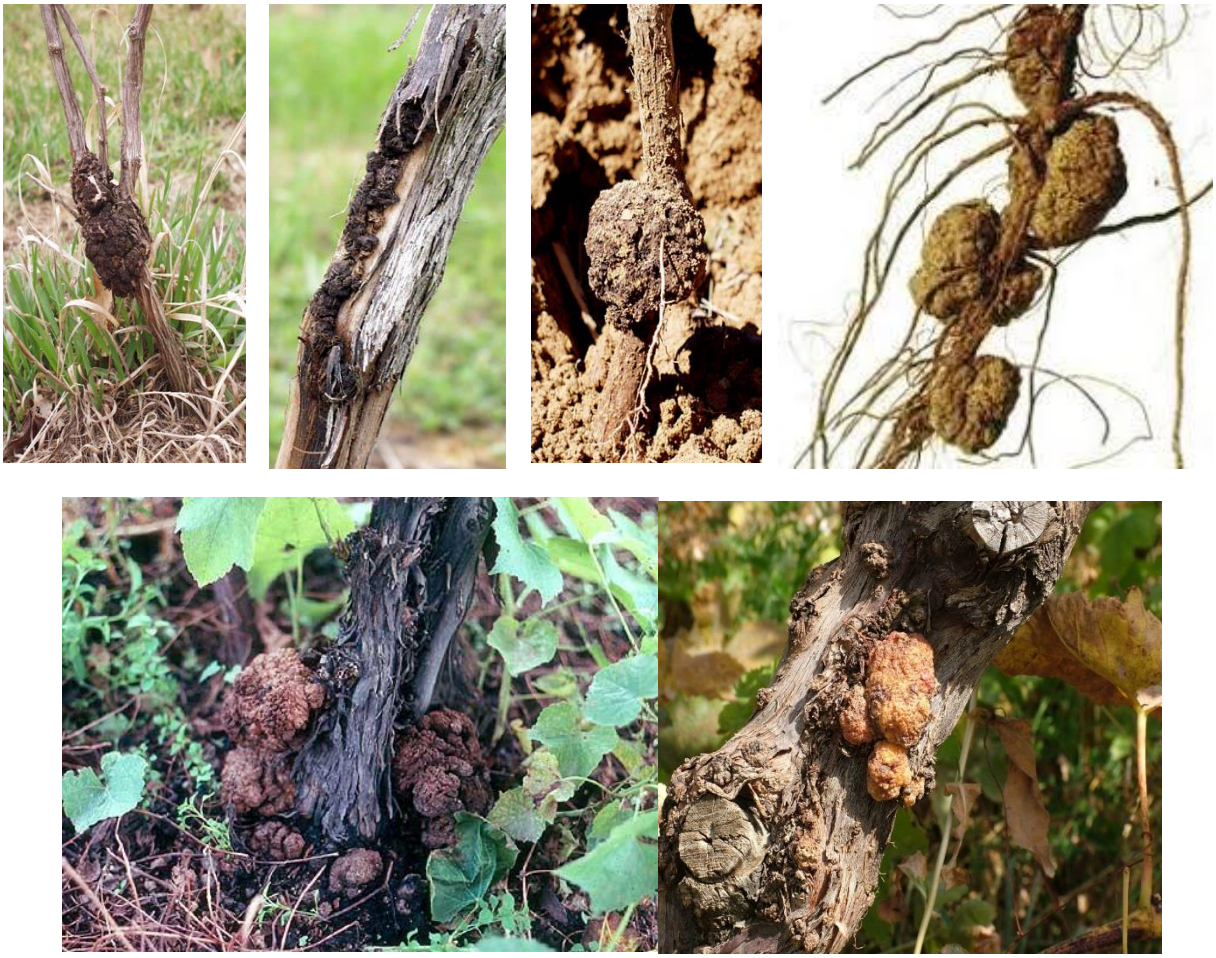
٤) علائم بیماری و نحوه خسارت

بارزترین علایم بیماری سرطان طوقه انگور، غده‌های گوشتی است که درواکنش به آلودگی بوجود می‌آید. این غده‌های سرطانی از سلول‌های بدون تمایز و بافتی بهم ریخته ونامنظم آبکش اولیه و ثانویه تشکیل شده است. همچنین آوندهای چوب نیزدر این غده‌ها بصورت منقطع و درهم ریخته دیده می‌شود. دراطراف محل آلودگی تقسیم سلولی سریع‌تر صورت می‌گیرد و افزایش اندازه سلول‌هابه‌صورت غیرعادی[۵] و یا افزایش تعداد سلول‌ها[۶] در این ناحیه ایجاد غده‌های سرطانی ثانوی را می‌نماید که عاری ازباکتری بوده و در فاصله‌ای دورتر ازغده‌های اولیه یا محل آلودگی اولیه بوجود می‌آیند واین نشان می‌دهد که باکتری تولید موادی قابل نفوذ

وتحرک را می‌نماید که درداخل بافت‌های گیاهی انتشاریافته وسبب ایجاد ناهنجاری درتقسیم سلولی می‌گردد(بور و همکاران، ۱۹۹۸).

غده‌های سرطانی گاهی ممکن است دارای لایه خارجی چوبی بوده و در بخش داخلی سفت و چوبی شوند. ثابت شده است که در بافت‌های گیاهی آلوده بدلیل تراوشات الکترولیتی، سلول‌ها متلاشی می‌گردند و متلاشی شدن ساختمان سلولی بافت‌های آلوده درشاخه‌ها و ریشه‌ها بطور معنی‌داری توسط نژادهای بیماریزا اثبات شده است. میزان این تراوشات در ارقام مختلف انگور بستگی به نوع گونه ونژادهای مختلف باکتری عامل سرطان طوقه دارد که هرچه این تراوشات بیشتر باشد میزان حساسیت این ارقام نیز بیشتر خواهد بود(بور و همکاران، ۱۹۹۸) (شکل۳).

تقسیم سلولی درناحیه آلوده که بدون تمایز صورت می‌گیرد با استفاده از مواد غذایی و انرژی تولیدی گیاه انجام می‌شود. بدلیل عدم تمایز سلول‌های بوجودآمده، بافت‌های آوندی در غده‌ها ایجاد نشده که این امر سبب می‌گردد پس ازمدتی امکان تغذیهٔ سلول‌هایی که به این نحو تقسیم می‌گردند از بین برود و نتیجه آن خشک شدن و مرگ غده‌ها است، به‌طوری‌که پس از ۳-۲ سال مرگ سلول‌ها و جداشدن توده سلولی از سطح اندام آلوده قابل مشاهده است.



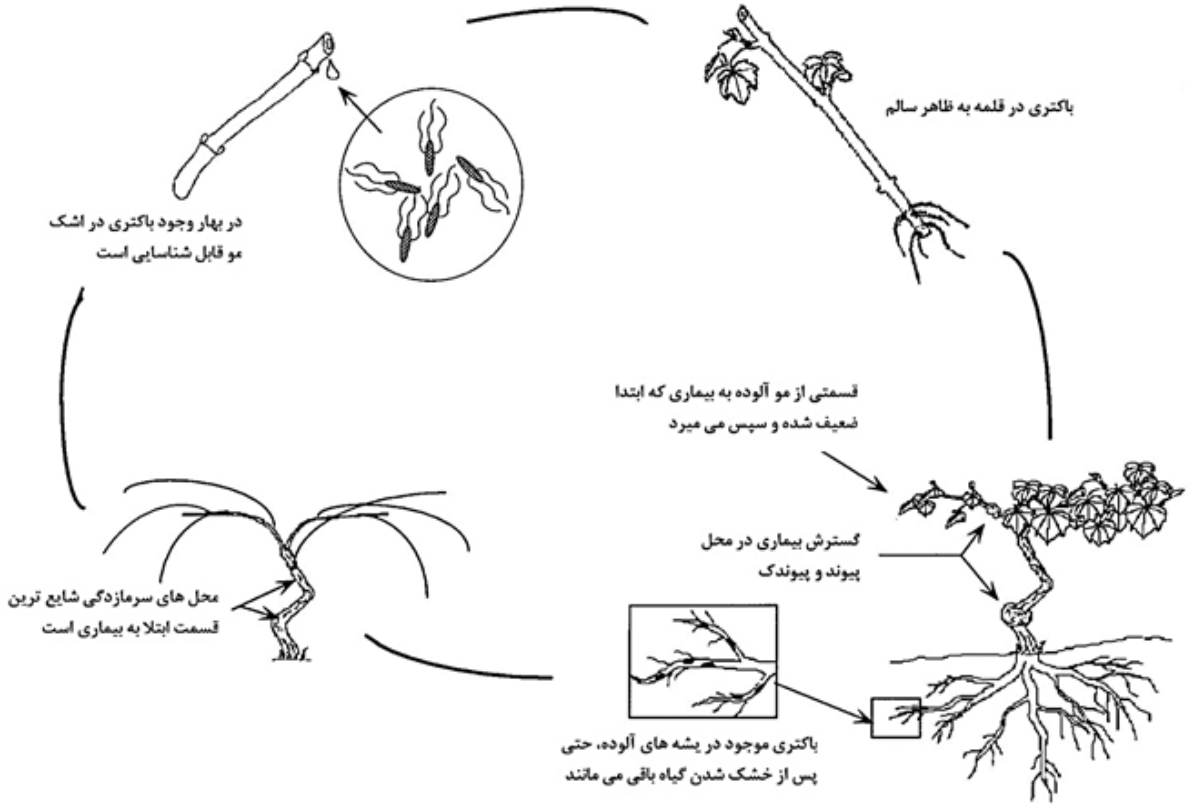
شکل ۳: غده های سرطان طوقه در اندام‌های مختلف مو

۵) چرخه بیماری

باکتری مدت‌های طولانی می‌تواند به حالت ساپروفیت درخاک‌های مرطوب زندگی نماید و رشد کلونی-های آن در دمای ۲۴ درجه سانتی‌گراد بسیار سریع است، که این دما برای رشد و توسعهٔ غده‌های سرطانی نیز مناسب می‌باشد. دورهٔ کمون آن در بهار و پاییز نسبتاً طولانی ودرتابستان کوتاه است (مظفر و مهرآوران، ۱۳۷۳).

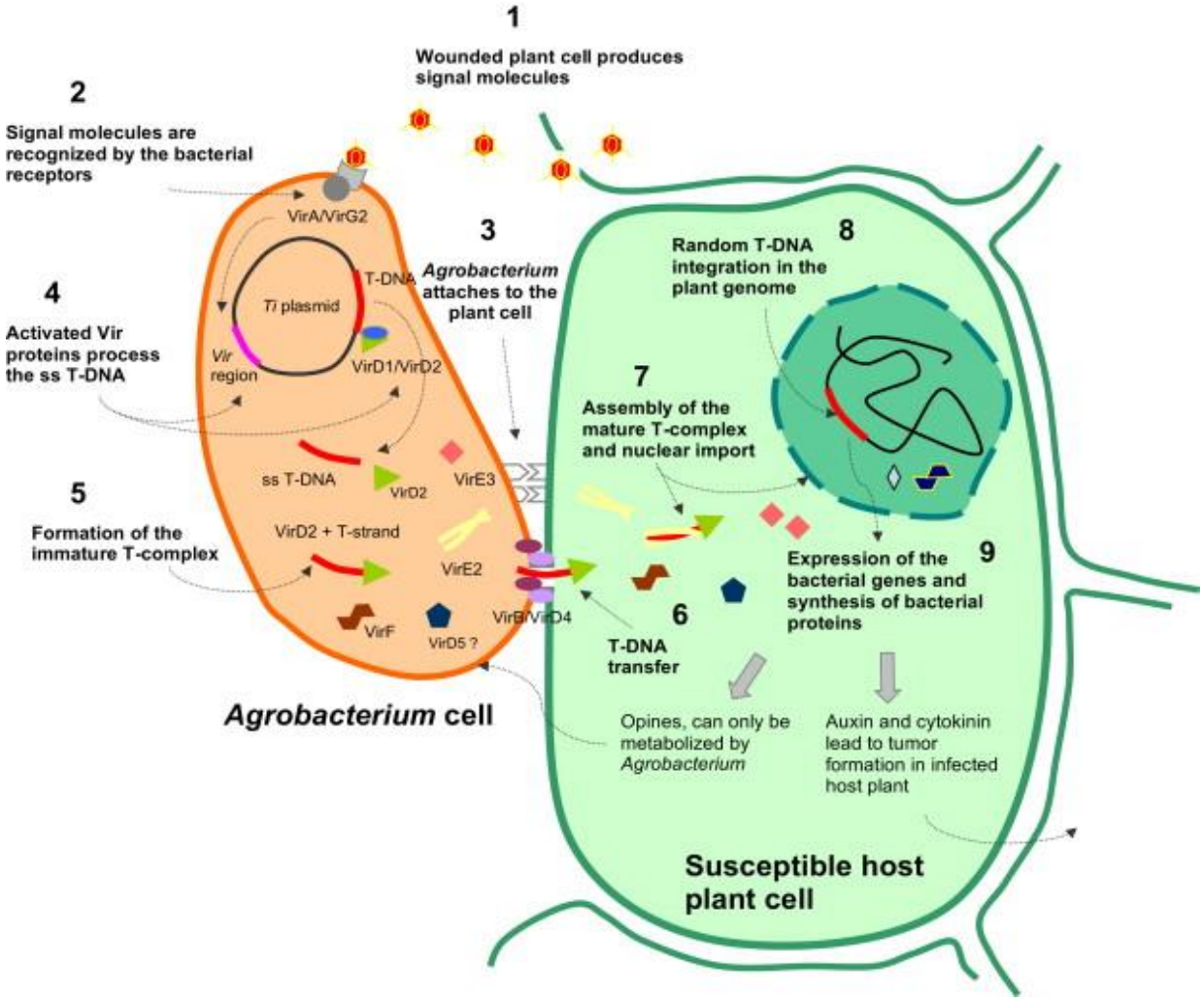
عامل بیماری در داخل غده‌های سرطانی ودرتاک‌هایی که بصورت سیستمیک آلوده شده باشند، زمستان-گذرانی کرده و درتاکستان باقی می‌مانند. باکتری درشیره گیاهی خصوصاً شیرهٔ خام، در بافت کالوس و ریشهٔ قلمه‌های آلوده ریشه‌دار شده، قابل جداسازی و تشخیص است و انتقال آن در داخل بافت‌ها و اندام‌های گیاهی از طریق شیرهٔ گیاهی صورت می‌گیرد و در فصل بهار وقتی که شیرهٔ خام از انتهای شاخه‌های هرس شده خارج

می‌شود (اشک یاگریه) این باکتری نیز از طریق ریشه به اندام‌های هوایی منتقل می‌شود (شکل ۴) (پیغامی، ۱۳۷۲).



شکل ٤: چرخه و نحوه انتقال بیماریسرطان طوقه مو

بررسی‌های جدید نشان داده است که باکتری مولد سرطان طوقه دارای پلاسمیدی است که ژن ایجاد غده‌های سرطانی درگیاهان دولپه‌ای را حمل می‌کند و این پلاسمید اصطلاحاًTiنامیده می‌شود (شکل۵).



شکل ۵: روش انتقال پلاسمید Ti به درون سلول گیاهی

بخشی از پلاسمید که بنامT- DNA (Transferred DNA) نامیده می‌شود حاوی ژن بیوسنتز اسید اندل استیک بوده که پس از انتقال به ژنوم سلول گیاهی بخشی از DNA سلول میزبان را در اختیار گرفته و ازطریق تغییر در فرایند سنتز تنظیم کننده‌های رشد تقسیم سلولی را سبب می‌گردد، به‌طوری‌که سلول‌های آلوده حتی بدون حضور باکتری درمحیط کشت بطور غیرطبیعی رشد کرده و تقسیم می‌شوند. علاوه بر نقش هورمونی باکتری مذکوربه این نکته پی برده شده است که ژن‌های القاکننده سرطان طوقه آگروباکتریوم، کدکننده آنزیم‌هایی هستند که درمتابولیسم مواد لازم برای تقسیم و رشد سلول‌های گیاهی تأثیر می‌گذارند و منجر به تولید غده‌های سرطانی می‌گردند. ژن‌های T-DNA دستور ساخت آنزیم‌هایی را می‌دهند که موجب تولید

ترکیباتی بنام اوپاینمی‌گردند. این مواد مشتقات اسید آمینه منحصر بفرد با وزن ملکولی کم هستند که بعنوان منبع مغذی مورد مصرف باکتری عامل ایجاد سرطان طوقه قرارمی‌گیرند. ژن‌های حاوی رمز استفاده از اوپاین‌ها بر روی پلاسمید Ti قراردارند(کلولند و گودمن، ۱۹۸۶).

طبقه بندی پلاسمیدهای Ti براساس نوع اوپاین‌های موجود درغده های سرطانی ایجاد شده صورت می‌گیرد. چهار نوع اوپاین توسط نژادهای مختلف *Agrobacterium tumefaciens* تولیدمی‌شود.تاکنون دونوع از پلاسمیدهای Ti شناخته شده‌اند که عبارتنداز نوع (نوپالین / اگروسینوپین ـ ای) که توسط Eliis و Murphy درسال ۱۹۸۱ شناسایی شده است ونیزنوع (اوکتوپین/ اگروپین) که توسط Fenwick و Firmin درسال ۱۹۷۸ معرفی شده‌اند.اوپاین‌ها ازترکیبات طبیعی گیاه نبوده اما توسط باکتری القا می‌شوند و نوع اوپاین‌های تولیدشده بستگی به نژاد باکتری دارد که می‌تواند آنرا کاتابولیزه نماید. بخش T- DNA درباکتری مذکور ایجاد بیماری سرطان طوقه درگیاهان میزبان را می‌نماید زیرا حاوی ژن‌های متعدد بنام انکوژن می باشد، که پس از انتقال به ژنوم گیاهی ایجاد غده‌های سرطانی را دربخش آلوده سبب می‌شوند. درصورتیکه پلاسمید، T –DNA یا انکوژن‌ها از *A. tumefaciens* حذف گردند این باکتری دیگر قادر به بیماریزایی نخواهد بود(محمودزاده، ۱۳۷۹).

٦) عوامل مؤثر در انتقال و انتشار عامل بیماری

باکتری عامل بیماری سرطان طوقه می‌تواند از راه‌های مختلف انتشار یافته و تاک‌ها را آلوده نماید. بطورکلی در مناطقی که انگورهای گونه وینیفرایا هیبریدهای بین‌گونه‌ای آن کشت می‌شوند این احتمال وجود دارد که سرما و یخبندان زمستانه سبب ایجاد زخم‌ها و ترک‌هایی در اندام‌های هوایی یا زیرزمینی تاک‌ها گردد که مکان‌های مساعد برای ورود باکتری به دستجات آوندی و انتقال آن می‌باشد. دیده شده است که بدنبال وقوع

یخبندان در تاکستانی که خاک آن آلوده بوده، درصد بالای از تاک‌ها به این بیماری مبتلا شده‌اند(گودمن، گریم و فرانک[1]، ۱۹۹۳).

آلوده بودن خاک تاکستان یا اراضی که در نظر است برای احداث باغ انگور اختصاص یابد، به عنوان دومین عامل اساسی در انتشار بیماری شناخته شده است. در خاک‌های آلوده اغلب تاک‌ها آلوده شده و درصد تشکیل غده‌های سرطانی روی ریشه و اندام هوایی که در تماس با خاک هستند، بیشتر می‌باشد. در سیستم‌های تربیت جوی و پشته‌ای که اندام‌های تاک عموماً در تماس با خاک تاکستان هستند، این زمینه بسیار مساعد بوده و در صورت آلوده بودن خاک تاکستان، فاکتوری مؤثر در انتشار بیماری خواهد بود (محمودزاده، ۱۳۷۹) .

انتشار و انتقال باکتری عامل بیماری ممکن است بوسیله آب، حشرات، حیوانات اهلی یا وحشی و حتی انسان بصورت ناخواسته صورت گیرد. آب باران و آب مورد استفاده در آبیاری ممکن است با شستشوی خاک و پخش ذرات آن، باکتری را با خود حمل کرده و از بخش آلوده تاکستان به بخش سالم یا حتی از تاک‌های آلوده به سالم انتقال دهد. انسان با انجام عملیات زراعی مختلف و در مراحل تولید ممکن است عامل بیماری را ناخواسته به تاکستان‌های سالم انتقال دهد، نظیر استفاده از ابزار کشاورزی مانند گاوآهن، دیسک، قیچی باغبانی، چاقوی پیوندی و سایر ادوات مورد استفاده در هرس و تکثیر و تهیه زمین، امکان انتقال عامل بیماری را فراهم می‌سازد.

بعضی از حشرات مانند شته‌ها، تریپس تاک، کنه گال نمدی و بالاخص زنجره که از آفات مکنده هستند و از شیره پرورده تغذیه می‌کنند، ممکن است ضمن تغذیه از تاک‌های آلوده، باکتری را همراه شیره پرورده مکیده و ضمن حرکت و فعالیت و تغذیه روی تاک‌های سالم، آنها را آلوده نمایند. با توجه به اینکه درختچه انگور عمدتاً از طریق غیر جنسی تکثیر می‌شود و روش‌هایی مانند قلمه‌زنی، پیوند و خوابانیدن برای تکثیر آن مورد

[1]Goodman, Grim and Frank

استفاده قرار می‌گیرد، در صورتی‌که قلمه‌ها یا پیوندک‌ها آلوده به عامل بیماری سرطان طوقه باشند، می‌توانند منبع آلودگی تاکستان‌هایی شوند که نهال‌های آنها به این روش بدست آمده‌اند (محمودزاده، ۱۳۷۹).

۷)روش‌های کنترل

۷-۱) روش‌های پیشگیری از آلودگی و انتشار بیماری

بدلیل 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 بطوری‌که در بعضی مناطق درختچه‌های جوان تاک را برای حفاظت از خطر سرما در پاییز با خاک می‌پوشانند، هر چند که تأثیر این تیمار در جلوگیری از بیماری کاملاً ثابت نشده است ولی انباشتن خاک دراطراف تنه یکی از راه‌های جلوگیری از سرمازدگی بحساب می‌آید. خاک دادن تنه تا بالای محل پیوند در باغات احداثی از ترکیب پایه پیوندی باعث محافظت جوانه‌های پیوندک می‌شود در صورتی‌که در ایستگاه تحقیقات خلعت‌پوشان تبریز بدلیل آلودگی خاک تاکستان، کوتاه بودن تنه تاک‌ها و عدم استفاده از پایه‌های پیوندی مقاوم این کار نتیجه عکس داده است.استفاده از کودهای پتاسه میزان مقاومت در برابر سرمای زمستان را افزایش می‌دهد و از آسیب یخبندان زمستانه می‌کاهد. 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(بور و دیگران[۲]، ۱۹۹۸).

جلوگیری از زخمی‌شدن ریشه، طوقه، تنه و شاخه‌ها بوسیله ادوات کشاورزی، یا حشرات تغذیه کننده از ریشه و جلوگیری از شانکرها که در اثر سرمای زمستانه بوجود می‌آیند، می‌تواند در پیشگیری مؤثر باشد زیرا

[2]Burr et al.

مقدار زخم‌ها را به حداقل رسانده و منافذ ورودی عامل بیماری بداخل اندام‌های گیاهی را کاهش می‌دهد(مظفر و مهرآوران، ۱۳۷۳).

ضروری است برای تهیه قلمه‌ها و پیوندک‌ها جهت تکثیر، از باغات مادری و پایه‌هایی استفاده گردد که در بررسی‌های میکروسکپی و مشاهدات مزرعه‌ای علایم آلودگی را نشان نداده باشند. استفاده از ارقام، هیبریدها و گونه‌های مقاوم توصیه شده است، بطور مثال پایه گلوار که رقمی از *Vitis riparia* است مقاومت بسیار خوبی را در پیوندک‌ها (در حدود ۹۱٪) القاء کرده است که بنظر می‌رسد از طریق تولید ماده‌ای بنام آگروسین باشد که مقاومت را در بعضی از ارقام بالا می‌برد و ژن عامل آن شناسایی شده است. لازم به ذکر است که سازگاری این پایه در ایران مورد بررسی قرار نگرفته است(بور و دیگران، ۱۹۹۸).

کنترل نهال‌ها در خزانه و بررسی سلامتی آنها در حین انتقال به باغ از راه‌های اصلی کنترل این بیماری است. اجرای صحیح عملیات پیوند و تهیه قلمه در خزانه نظیر استفاده از قیچی باغبانی و چاقوی پیوندی سالم و پیچیدن صحیح محل با نوارهای تمیز و عاری از آلودگی، ضدعفونی مرتب وسایل کار همراه با سایر نکات بهداشتی در خزانه آلودگی را به حداقل می‌رساند و ضدعفونی قیچی باغبانی، چاقوی پیوندی در حین هرس و پیوندزنی با موادی باکتری‌کش نظیر الکل صنعتی، ترکیبات مسی باکتری‌کش و هیپوکلریت سدیم۱۰ درصد از آلوده شدن درختچه‌های سالم و مواد مادری به عامل بیماری می‌کاهد. به وسیله پنبه آغشته به الکل صنعتی (۹۰ درصد) و مالیدن بر روی تیغه قیچی باغبانی و چاقوی پیوند می‌توان آن‌ها را ضد عفونی نموده و تا حدود زیادی می‌توان از انتشار بیماری جلوگیری نمود. غوطه‌ور نمودن تیغه قیچی باغبانی و چاقوی پیوند به مدت یک دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم (محلول‌های سفید کننده شوینده) یکی دیگر از روش‌های ضدعفونی ابزارآلات است(محمودزاده، ۱۳۷۹).

در صورت آلوده بودن خاک، از کشت تاک در آن حداقل به مدت پنج سال باید خودداری کرد و یا در مقیاس کوچک نظیر گلخانه و شاسی یا خزانه هوای آزاد، با ضدعفونی خاک از طریق استفاده از ترکیبات مسی

باکتری‌کش یا و یا ترکیبی مانند فرمالین از شدت آلودگی کاست. برای این منظور ترکیبات مسی با غلظت ۱/۵ در هزار با آب مخلوط نموده و به سطح خاک پاسیده سپس به وسیله روتیواتور باغی، سم با خاک کاملاً مخلوط می‌گردد (محمودزاده، ۱۳۷۹).

استفاده از حشره‌کش‌ها (۱/۵ تا ۲ در هزار سم دیازینون به میزان ۲۰ لیتر پای هر تاک) در خاک و یا ضدعفونی خاک بمنظور کاهش حشرات ریشه‌خوار خاکزی در خزانه‌ها توصیه می‌گردد و همچنین در صورت آلوده بودن منطقه، خزانه را باید به نقاط دورتر و غیرآلوده منتقل نمود. رعایت مواردی مانند عدم آبیاری تاکستان با آبی که از تاکستان آلوده می‌گذرد، خودداری از کاشت مجدد تاک در خاک‌هایی که سابقاً تاکستان بوده و آلودگیداشته است (قبل از اتمام دوره عاری سازی و قرنطینه)، و کشت گیاهان غیر میزبان از جمله ذرت و سایر غلات در خاک‌های آلوده به این باکتری، مجموعه عملیاتی است که از آلودگی درختچه‌های تاک پیش‌گیری می‌نماید و همچنین رعایت نکات بهداشت نظیر جمع‌آوری و سوزاندن گیاهان و شاخه‌های آلوده موجب کاهش جمعیت عامل بیماری می‌شود (محمودزاده، ۱۳۷۹) .

۷-۲) مبارزه با بیماری در صورت آلوده بودن تاک‌های مورد استفاده در تکثیر

گرما درمانی[1] بیشتر به منظور باکتری‌زدایی از اندام‌های آلوده مورد استفاده در تکثیر، صورت می‌گیرد. در این زمینه آزمایشات متعددی در دنیا روی ارقام مختلف انگور انجام شده است و نتایج نشان داده است که حرارت مرطوب در دماها و زمان‌های متفاوت سبب کاهش جمعیت باکتری در اندام‌های آلوده تاک شده است. خصوصاً تیمارهای حرارتی نظیر ۴۰ یا ۵۰ درجه سانتی‌گراد در زمان‌های ۹۰ یا ۳۰ دقیقه نه تنها کاهش جمعیت باکتری را در قلمه‌ها و پیوندک‌ها بدنبال داشته است بلکه باعث بهبود جوانه‌زنی و گیرایی پیوند نیز شده است. گرمادرمانی روی قلمه و پیوندک‌های تاک در دوره خواب شاخه‌ها انجام می‌شود و انجام تیمارهای

1- Thermotherapy

گرمادرمانی بعد از سپری شدن خواب قلمه‌ها و پیوندک‌ها با استفاده از دمای بالا و زمان طولانی حرارت‌دهی موجب از بین‌رفتن قلمه‌ها و پیوندک‌ها می‌شود(محمودزاده، ۱۳۷۹).

با گرمادرمانی، کشورهای مانند آمریکا، ایتالیا، بلغارستان و ... از پایه‌های پیوندی با ارزش، مانند K ۵۱۴۰ نژادی از باکتری آگروباکتریوم تومیفسینس بیووار ۳ را که بیماری‌زا می‌باشد، باکتری‌زدایی نموده‌اند و همچنین ارقامی تجاری مانند شاردونی، زانتی کورانت نیز که از ارقام با ارزش هستند، از طریق تیمارهای حرارت درمانی و پیوند بر روی پایه‌های پیوندی رامسی و K ۵۱۴۰ جمعیت باکتری را به پایین‌ترین حد تقلیل داده‌اند. در این مطالعه فقط ۲ درصد از موهای تیمار شده آلودگی را نشان داده‌اند، در صورتی که ۶۰ ٪ از موهای شاهد دارای غده‌های سرطانی بوده‌اند. با انجام تیمارهای حرارتی بر روی قلمه‌ها نتایج نشان داده است که فقط ۱۶ ٪ این قلمه‌ها پس از بازاریابی ریشه واندام‌های هوایی در خزانه آلودگی داشته‌اند در صورتی‌که آلودگی در شاهد ۶۰ ٪ بوده است(محمودزاده، ۱۳۷۹، چی، هیپوچائو و چایی، ۱۹۹۷).

۷-۳) مبارزه شیمیایی با عامل بیماری سرطان طوقه در تاکستان آلوده

تاکنون روش‌های مؤثر و مطمئنی برای مبارزه شیمیایی با عامل بیماری سرطان طوقه پیدا نشده است اگرچه از ترکیبات شیمیایی مختلف مانند ترکیبات مسی بصورت 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] با غلظت ۱/۵ درهزارآلودگی در تاکها را شدیداً کاهش داده است و مصرف ترکیبات آگروسین[3] و گالیکس[4] با غلظت ۱۵۰ppm نیز رشد غده‌های سرطانی را تا حد زیادی کاهش داده‌اند، در صورتی که در آزمایش دیگر استعمال اگروسین روی باکتری بی‌تأثیر بوده است(محمودزاده، ۱۳۷۹).

1- Isthiocyanat
2- Vorlex
3- Agrocin
4- Gallex

برای کنترل رشد باکتری در محیط کشت از ترکیبات آنتی بیوتیک نظیر استرپتوماسین، ترامایسین و کانامایسین (با غلظت ۱/۵ درهزار ماده موثره استفاده شده است که نتایج صددرصد موفقیت‌آمیز بوده است. در باغات انگور آلوده محلولپاشی ترکیبات مذکور موفقیت زیادی به دنبال نداشته است. علاوه بر این مواد ترکیبات شیمیایی نظیر پینتریکسیل، سیپوریکس، استرپتومایسین سولفات، ویبرومایسین، شیمیوسایکلار، نیستاتین و باکتریوم در غلظت‌های کم بر روی ده نژاد باکتری جدا شده از تاکهای آلوده اثرات رضایت بخش بر کنترل رشد کلونی‌های باکتری در محیط کشت داشته‌اند که در بین آنها استرپتومایسین سولفات بهتر از همه عمل کرده است. همچنین ترکیبات شیمیایی اکسی تتراسیکلین هیدروکلراید، وانکومایسین و اوورومایسین نیز در این آزمایش 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 باضافه ماده دی‌نیترو ارتوکرزول (DNOC) با سولفات مس به میزان ۵٪ در کنترل عامل بیماری مؤثر بوده است. در سویس نیز پیش تیمار خزانه‌ها با ترکیب اکسی‌کینولین میزان این بیماری را کاهش داده است.استفاده از ژل کلسیم‌آلژینات با غلظت ۵ درهزار ماده خالص که روی سطوح زخمی و بریده شده تاک‌ها مالیده می‌شود و توانسته است در کنترل بیماری تا حدی مؤثر باشد، اگرچه استفاده از این مواد به خاطر قیمت بالا در ایران مقرون به صرفه نمی باشد(محمودزاده، ۱۳۷۹).

۷-٤) مبارزه بیولوژیک با عامل بیماری سرطان طوقه

برای مبارزه بیولوژیک با باکتری عامل بیماری سرطان طوقه از گونه دیگری از آگروباکتریوم بنام رادیوباکتر استفاده شده است. بیووارها و نژادهایی از این گونه شناسایی شده‌اند که می‌توانند بصورت موفقیت‌آمیز رشد غده‌های سرطانی را در تاکها متوقف سازند. از مهم‌ترین بیووارهای مورد استفاده این گونه در مبارزه با عامل بیماری سرطان طوقه می‌توان به بیووار ۱ و نژادهای F2/5, K84, HLB-2 اشاره کرد که القا غده‌زایی 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 سنتزکننده آن نیز، از غده‌زایی جلوگیری می‌کند(چی و همکاران، ۱۹۹۷).

در طول مدت ۱۵ سال عامل بیماری سرطان طوقه با بکارگیری نژاد K84 بخوبی کنترل شده است. سنتز آگروسین توسط ژن‌های مستقر در پلاسمید باکتری *A. radiobacter*صورت می‌گیرد، لذا احتمال انتقال پلاسمید آن به باکتری مولد بیماری سرطان طوقه وجود دارد. که در اینصورت باکتری به آگروسین مقاوم گشته و کنترل بیماری با آن مختل خواهد شد. انتقال پلاسمید مولد آگروسین (Pag K84) به عامل بیماری سرطان طوقه بدلیل مختل شدن کنترل بیولوژیکی سبب نگرانی است. برای رفع این نگرانی با ساخت یک جهش یافتهحذفی بنام (Pag K1026) که فاقد ژن مذکور میباشد، و با کیفیت همانند نژاد K84 قادر است عامل سرطان طوقه تاک را کنترل نماید و استفاده از آن، این اطمینان را بوجود می‌آورد که خطر از بین رفتن تأثیر مبارزه بیولوژیک، علیه عامل سرطان طوقه به حداقل خواهد رسید. تولید آگروسین –۸۴ توسط پلاسمیدی بنام (Pag K84) صورت می‌گیرد. اندازه این پلاسمید ۸۴ Kb یعنی تقریبا معادل ۱/۴ پلاسمید Ti می‌باشد. محل استقرار ژن کدکننده سنتزآگروسین روی پلاسمید شناخته شده است(کلاری لیز و همکاران، ۲۰۱۰).

نژادی از *A. tumefaciens* بنام D۲۸۶ شناسایی شده است که از درخت اوکالیپتوس در آفریقای جنوبی جداسازی شده است که با ترشح نوعی آنتی‌بیوتیک قادر است از رشد نژادهای بیماری‌زا جلوگیری نماید. از همین‌گونه نژادی بنام J۷۳ از درخت گوجه در آفریقای جنوبی بدست آمده است که جزو بیووارهای ۲ می‌باشد و قادر است با تولید نوعی آنتی بیوتیک باکتری را از پلاسمید Ti عاری سازد. همچنین از باکتری *A. tumefaciens* نژاد K۱۰۲۶ بصورت تجارتی تحت نام نوگال[1] در بازار بفروش می‌رسد که در کنترل بیولوژیکی

1- Nogall

این بیماری مؤثر است و فرمولاسیون آن از خاک Peat حاوی $۱۰^{۹}$ سلول باکتری در هر گرم از این جدایه می‌باشد (دات و همکاران، ۲۰۰۷).

مشکل اساسی مبارزه بیولوژیک علیه این بیماری هزینه‌های بالای آن است بطوری‌که در آمریکا برای مبارزه بیولوژیک در هر ایکر بانژاد K84 هزینه معادل ۴۷/۲۶ دلار لازم است ولی در مراحل اولیه ظهور این عارضه در صورت مبارزه بیولوژیک این هزینه کاهش می‌یابد خصوصا اگر از ترکیب گالیکس (Gallex) استفاده شود مبارزه مؤثرتر خواهد بود(دات و همکاران، ۲۰۰۷).

روش استفاده از K84 به این صورت است که سوسپانسیونی از نژاد K84 با غلظت $۱۰^{۷}$ تا $۱۰^{۸}$ سلول در هر میلی‌لیتر آب مقطر تهیه کرده و بذرها یا ریشه‌های گیاهچه‌های مورد نظر را قبل از کاشت با سوسپانسیون باکتری آغشته می‌سازند. نژاد K84 باکتری *A. radiobacter* از سال ۱۹۷۳ بصورت تجارتی در استرالیا کاربرد داشته است و در حال حاضر نیز در اکثر کشورهای دنیا مورد مصرف قرار می‌گیرد. این شیوه مبارزه تقریبا نسبت به روش‌های شیمیایی، بدلیل ارزانتر و مؤثرتر بودن ارجعیت دارد (ورگا و ژدی، ۲۰۰۹).

توانایی تولید آنتی‌بیوتیکی بنام آگروسین – ۸۴ توسط باکتری، عامل مهمی در کنترل بیولوژیکی است. متأسفانه بیووار ۱ آگروباکتریوم که اوکتوپین تولید می‌کند و نیز بیووار ۳ که عامل سرطان طوقه تاک می‌باشد نسبت به نژاد K84 مقاومند و آنتی‌بیوتیک آگروسین آنها را نابود نمی‌سازد. بطور کلی درکنترل بیولوژیکی عامل سرطان طوقه تاک، در دنیا از جنس، گونه و نژادهای مختلف باکتری استفاده می‌گردد(ورگا و ژدی، ۲۰۰۹).

۷-۵) کنترل ژنتیکی و به‌نژادی

ایستویر و بور (۱۹۹۶) هیبرید 110R که از تلاقی *V. berlandieri* × *V. rupestris* بدست آمده است به عنوان پایه مقاوم معرفی کردند. محمودزاده(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 دورگه ها را مشخص نمود. چای و دیگران[3] (۱۹۹۷) تعدادی از گونه‌های وحشی موهای آسیائی را در چین 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. زگدی، کاربولی و کدیدا[4] (۱۹۸۴) مقاومت بعضی از گونه‌های موهای موجود در آسیای شرقی و هیبریدهای آنها با موهای اروپایی را 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 دانسته 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 کرده اند و بر لزوم دقت در حین پیوند به منظور جلوگیری از آلودگی محل پیوند از طریق قیچی آلوده و یا چاقوی پیوندی را تاکید می نماید. کلیویلند و گودمن[5] (۱۹۸۶) توضیح داده‌اند که 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، بنابراین در حین اجرای پیوند، از آلوده شدن محل پیوند به هر نحو ممکن باید جلوگیری شود. زگدی، کاربولی و اوتن[6](۱۹۸۹) احتمال ترشح بعضی از مواد آنتی باکتریال را از پایه‌های پیوندی مقاوم نظیر آگروسین، تایید نموده و چنین بیان کرده‌اند که القای مقاومت نسبی در یک ترکیب پیوندی از پایه مقاوم و پیوندک حساس می تواند به دلیل ذکر شده باشد.

جدول ۱: نژادهای بیماری زای مورد استفاده در تلقیح دانهال‌ها

Strain	Characteristic	Origin
A. vitis		
CG230	Vitopine Ti†	USA, T.J. Burr
AG57	Octopine Ti, LHR‡	Crete, C. Panagopoulos
NW180	Octopine Ti	Germany, E. Bien

[3]Chi et al.
[4]Szedgi, Karbuli and Kedida
[5]Cleveland and Goodman
[6]Szedgi, Karbuli and Otten

K1059	Octopine Ti	Australia, A. Kerr
A. tumefaciens biovar 1		
1/12	Nopaline Ti plasmid	Bulgaria, I. Popova
16/6	Nopaline Ti plasmid	Hungary, S. Süle

†Ophel and Kerr (1990)

‡Limited host range; Panagopoulos and Psallidas (1973)

جدول ۲: پایه ها و ارقام مورد استفاده در آزمایش ارزیابی سازگاری

Hybrids as Rootstocks*	Scion or self-rooted cultivar
H1: *V. vinifera* cv. 'Jighjigha' × *V. rupestris* cv. 'Du Lot'	*V. vinifera* cv. 'Red Sahebi'
H2: *V. vinifera* cv. 'Alibaba' × *V. rupestris* cv. 'Du Lot'	*V. vinifera* cv. 'Thompson seedless'
H4: *V. vinifera* cv. 'Jighjigha' × Riparia Gloire	
H5: *V. vinifera* cv. 'Alibaba' × 110R	
H6: *V. vinifera* cv. 'Gharaozum' × Kober 5BB	

*Mahmoodzadeh et al., 2004.

۸) رویکردهای نوین در مبارزه و ایجاد مقاومت در برابر بیماری سرطان طوقه مو

الف)شناسایی وجود آلودگی در قلمه ها و پایه های مو به وسیله PCRBio- : در این روش از قسمتهای مختلف پلاسمید Ti پرایمر تهیه می‌نمایند. در جدول ۱ فهرست این پرایمرها آورده شده است. سپس از قسمت‌های مختلف گیاه مانند ریشه، ساقه و یا برگ عصاره گیاهی تهیه می‌نمایند. بدیهی است که در صورت آلوده بودن گیاه به باکتری سرطان طوقه، در عصاره آن نیز باکتری وجود خواهد داشت. نمونه‌ای از عصاره را همراه یکی از پرایمرهای موجود در جدول ۳ در PCR قرار داده و عمل تکثیر را انجام داده و محصول آن را روی ژل آگاروز، الکتروفورز می‌کنند. در صورت وجود باند در ژل دلیل بر آلوده بودن بافت به باکتری عامل سرطان طوقه خواهد بود.

جدول ۳: فهرست پرایمرهای مشتق از پلاسمید Ti

پرایمر	نقطه هدف	منبع
VCF3/VCR3	بیماریزایی C	سوزوکی و همکاران، ۲۰۰۴
virD2A/2C	بیماریزایی D	هاس و همکاران، ۱۹۹۵
virFF1/virFR2	بیماریزایی F	بینی و همکاران، ۲۰۰۸
virD2S4F/virD2S4R	بیماریزایی D	بینی و همکاران، ۲۰۰۸

PGF/PGR	پلی گالاکتروناز	سگادی و بوتکا، ۲۰۰۲
OCTF/OCTR	اکتاپاین	بینی و همکاران، ۲۰۰۸
NOPF/NOPR	نوپالین	بینی و همکاران، ۲۰۰۸
VISF/VISR	ویتروپین	بینی و همکاران، ۲۰۰۸

استفاده از آنتی باکتری‌ها: پپتیدهای ضد باکتریایی پروتئین‌های کوچک طبیعی هستند که به وسیله حیوانات و بعضی گیاهان تولید می‌شود. این ترکیبات باعث از بین رفتن باکتری‌ها و قارچ‌ها می‌شوند که فعالیتی شبیه آنتی-بیوتیک‌ها را از خود نشان می‌دهند. جهت ایجاد مقاومت به عامل سرطان طوقه، دو آنتی میکروب بنام Cecropin B و MSI-99 که به ترتیب از کرم ابریشم و وزغ آفریقایی بدست آمده است، مؤثر بود. پس از کلون کردن و انتقال ژن‌های کد کننده این دو پپتید به گیاه مو باعث مقاومت گیاهان ترانس ژنیک به باکتری مولد سرطان طوقه گردید (کلیر و همکاران، ۲۰۱۰).

ب) مقاومت پایه: در اثر حمله پاتوژن‌ها به گیاه باعث تحریک سیکنال‌های انتقال پیام آلودگی به سایر سلول‌های گیاهی می‌شود و در اثر این پدیده سایر سلولها به آن پاتوژن مقاومت نشان می‌دهد که به این پدیده مقاومت پایه یا BR (Basal Resistance) گویند. در هنگامی‌که باکتری عامل سرطان طوقه به گیاه مو حمله می‌کند به وسیله سازوکارهای خود باعث از کار افتادن این سیستم می‌شود. به وسیله کلون کردن و انتقال ژن کد کننده پپتیدهای حاصل از Flagellin باعث تولید پیام رسان‌های علیه باکتری عامل سرطان طوقه در مو گشته که باعث ایجاد مقاومت پایه در مو می‌گردد(وارگا و شگدی، ۲۰۰۹).

ج) استفاده از ژن VirE1 : در انتقال T-DNA به گیاه آلوده وجود پروتئین‌های حاصل از VirE1 و VirE2 به عنوان عامل حفاظتی T-DNA ضروری است. هرگاه ژنVirE1 را پس ازکلون کردن،به گیاه منتقل گردد، گیاه دارای مقدار زیادی پروتئین VirE1 خواهد شد که در هنگام حمله باکتری این پروتئین با پروتئین VirE2 جفت شده در نتیجه پروتئینی برای حفاظت T-DNA باقی نخواهد ماند. بنابراین T-DNA

پس از ورود به درون سلول گیاهی توسط آنزیم‌های ریبونوکلئاز هضم شده وسرطان طوقه ایجاد نخواهد شد (جودی و همکاران، ۲۰۰۵).

د) بوته‌های مو تراریخت با ژن Magaininکه از نوعی قورباغه استخراج شده است می‌توان به مقدار زیادی علائم بیماری را کاهش داد. این ژن کد کننده نوعی پپتید آنتی میکروب می‌باشد (ویدال و همکاران، ۲۰۰۶).بروز پپتیدهای لیتیک در موهای تراریختباعث مقاومت نسبتاً بالای این گیاه در برابر باکتری‌های مولد سرطان طوقه شده است (گری و همکاران، ۲۰۰۵). این استراتژی باعث مقاومت گیاه در برابر اکثر باکتری‌هایی که در آوندهای چوبی فعال می‌باشند نیز شد (دیدو و همکاران، ۲۰۰۷).

۹) نتیجه گیری و توصیه فنی کاربردی

با توجه به اینکه اقدامات درمانی در تاک‌های آلوده به بیماری سرطان طوقه، تأثیر قطعی ندارد، لذا به طور کلی در کنترل این بیماری، دو اقدام از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. اولین مورد پیشگیری از آلودگی تاکستان به بیماری است که در این مورد رعایت بهداشت باغ مانند جلوگیری از صدمه زدن و زخمی کردن تنه تاک است که در هنگام کنترل علف‌های هرز، شخم و روتیواتور زدن باید رعایت گردد. همچنین ضدعفونی تیغه قیچی و چاقوی باغبانی است که قبل از هرس انجام گرفته و حتی الامکان هرس تاک‌های آلوده در آخر از سایر تاک-های سالم انجام گیرد.

دومین مورد در کنترل بیماری سرطان طوقه، استفاده از پایه‌های پیوندی مقاوم به سرطان طوقه است که در این مورد پایه‌های H4 و H6 قابل استفاده بوده که در تغییر رقم تاکستان، احداث تاکستان‌های جدید و یا احیای تاکستان‌ها می‌توان از آنها بهره جست. در این مورد پایه‌های مقاوم در زمین اصلی کشت و ارقام تجاری در روی آنها پیوند می‌گردد. از نهال‌های پیوندی نیز که پایه مقاوم به بیماری است نیز می‌توان استفاده نمود.

۱۰) منابع مورد استفاده

- اشکان، سید محمد.(۱۳۷۴). بیماریهای تاک.تهران: مرکز نشر دانشگاهی.
- پیغامی، ابراهیم.(۱۳۷۲). بیماریهای مهم درختان میوه. تبریز: انتشارات عمیدی تبریز.
- حاتمی، بیژن.(۱۳۷۰). راهنمای آزمایشات صحرایی در گیاهپزشکی. تهران: انتشارات نشر ارکان .
- دادگر، علی.(۱۳۶۹). شناسایی و مطالعه انگورهای منطقه ارومیه. پایان نامه دوره کارشناسی ارشد باغبانی ، دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران.
- فاتحی پیکانی، حسین. (۱۳۷۶). بررسی سرطان طوقه مو در مناطق کرج و تاکستان. پایان نامه دوره کارشناسی ارشد گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی کرج، دانشگاه تهران.
- فائو، سازمان غذا و کشاورزی. ۲۰۱۶. آمار تولید محصولات کشاورزی.
- مظفر، احمد و حمید مهرآوران. (۱۳۷۳). بیماری های گیاهی، ارومیه: انتشارات دانشگاه ارومیه.
- محمودزاده، حسن. (۱۳۷۹). مطالعه و بررسی عوامل انتشار و نحوه خسارت باکتری عامل بیماری سرطان طوقه مو و انتخاب هیبریدها و ارقام مقاوم و روش های عملی جلوگیری از گسترش آن در موستان های ایران. پایان نامه دوره دکتری باغبانی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران.
- محمودزاده، حسن و همکاران. ۱۳۸۱. معرفی چند دورگه بین گونه‌ای انگور مقاوم به بیماری باکتریایی سرطان طوقه و ریشه. علوم و فنون باغبانی شماره ۳ (۱و۲): ۴۶-۳۹
- محمودزاده حسن. (۱۳۸۶).بررسی اثرات پایه های هیبرید مقاوم به سرطان طوقه و ریشه بررشد وعملکرد دو رقم انگور تجاری در استان قزوین. گزارش نهایی ثبت شده به شماره ۸۷/۶۹۹ مورخ ۱۳۸۷/۵/۱۶ مرکز انتشارات سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
- Bini, F., Kuczmog, A., Putnoky, P., Otten, L., Bazzi, C., Burr, T.J., Szegedi, E. 2007 (in press). Novel pathogen-specific primers for the detection of *Agrobacterium vitis* and *Agrobacterium tumefaciens*. Vitis, 3: 1-9.

- Bini, F; Kuczmog A. ; Putnoky P. ; Otten L. ; Bazzi C.; Burr T.; Szegedi E. 2008. Novel pathogen-specific primers for the detection of Agrobacterium vitis and Agrobacterium tumefaciens. Vitis, 47 issue: 3 page: 181
- Bini,F., Geider K and Bazzi C. 2008. Detection of Agrobacterium vitis by PCR using novel virD2 gene-specific primers that discriminate two subgroups. Eur J Plant Pathol 122:403–411
- 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.
- Chi, L., Hepuchao, C. & Chai, JH. (1997). The resistance of wild species in China to*Agrobacterium tumefacifaciens*. *Acta Horticulture Sinicia,* 24: 123-129.
- Claire-Lise Rosenfield, Suren Samuelian, Jose R. Vidal, and Bruce I. Reisch. 2010. Transgenic disease resistance in Vitis vinifera: potential use and screening of antimicrobial peptides . American Journal of Enology and Viticulture 31: 348-357
- Clevland, G.L. & Goodman, R.N. (1986). A proposed basis for varietals differences in sensitivity of grapes to crown gall disease. *Phytopathology,* 76, 11170.
- Dutt M, Li ZT, Kelley KT, Dhekney SA, Van Aman M, Tattersall J, Gray DJ (2007) Transgenic rootstock protein transmission in grapevines. Acta Hort 738:749-754
- 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.
- Haas, J.H., Moore, L.W., Ream, W., Manulis, S. (1995). Universal PCR primers for detection of phytopathogenic Agrobacterium strains. Appl. Anvironm. Microbiol. 61:2879-2884.
- Jodi Humann, Sarah Andrews, and Walt Ream. (2005). VirE1-Mediated Resistance to Crown Gall in Transgenic Arabidopsis thaliana. Department of Microbiology, Oregon State University, Corvallis 97331.
- Mahmoudzadeh, H, et al. (2004). Evaluation of crown gall resistance in *Vitis vinifera* and Hybrids of *Vitis* spp. VITIS. 42 (2). 75-79.
- Mahmoudzadeh, H, et al. (2008). Susceptibility of some grapevine cultivars and rootstocks to crown-gall disease. South African Journal of Viticulture and Enology. Vol. 29 (2). 83-88.
- 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.
- Suzaki, K., Yoshida, K., Sawada, H. (2004). Detection of tumorigenic Agrobacterium strains from infected apple saplings by colony PCR with improved PCR primers. J. Gen Plant Pathol 70:342-347.
- Szegedi, E. and Bottka, S. (2002). Detection of Agrobacterium vitis by polymerase chain reaction in grapevine bleeding sap after isolation on a semiselective medium. Vitis 41:37-42.
- Szegedi, E. Karbuly, J. & Kdeda, I. (1984). Crown gall resistance in East Asian *Vitis* species and their *V. vinifera* hybrids. *Vitis*, 23, 26-32.
- 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.

- Varga, G. Jand Szegedi, E. (2009). Basal resistance: an alternative defence strategy against crown gall disease. Research Institute for Viticulture and Enology of Ministry of Agricultural and Rural.
- Vidal JR, Kikkert JR, Malnoy MA, Wallace PG, Barnard J, Reisch BI (2006) Evaluation of transgenic ‘Chardonnay’ (Vitis vinifera) containing magainin genes for resistance to crown gall and powdery mildew. Transgenic Res 15:69-82