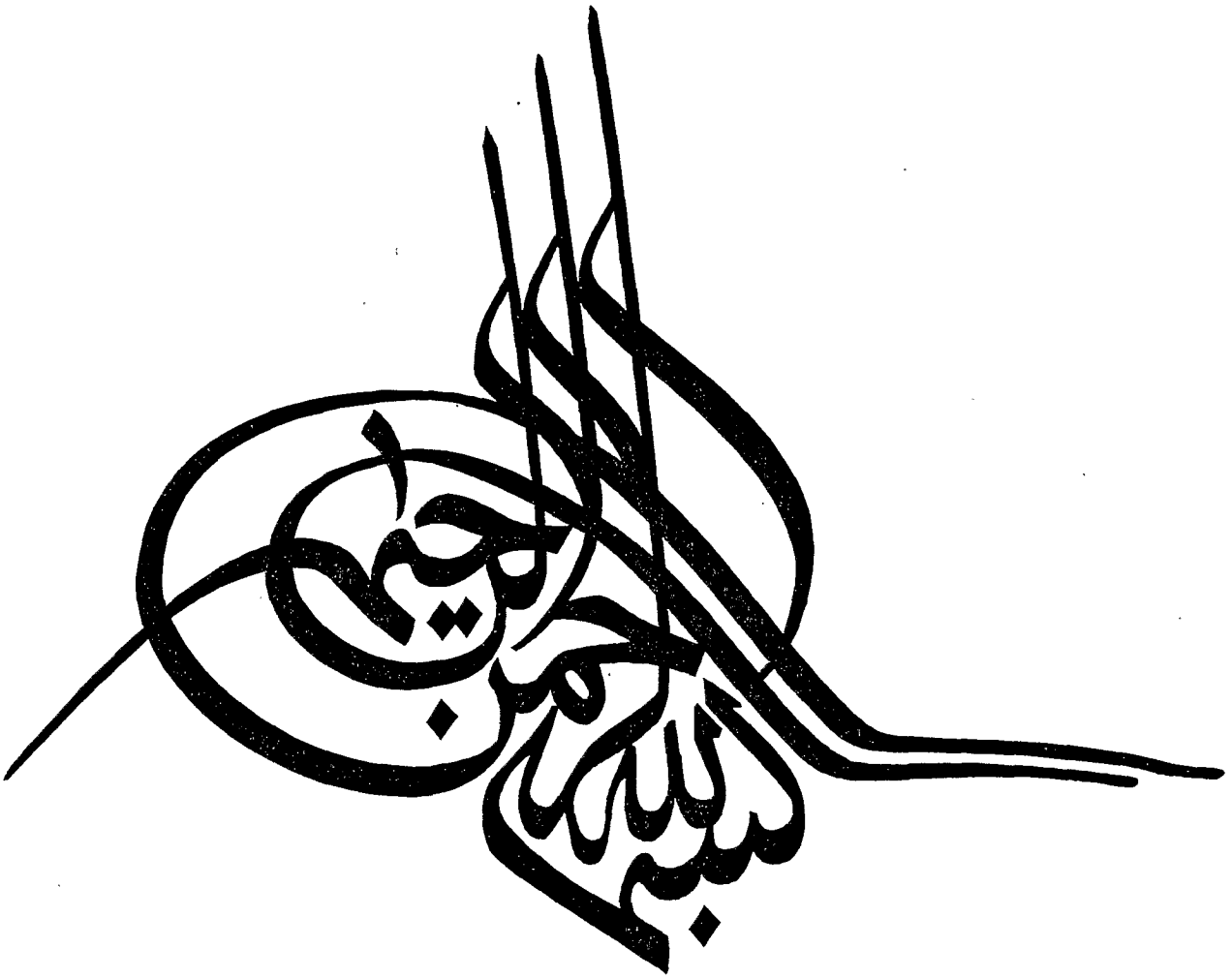

١٠٢٢٥٣

وزارت علوم، تحقیقات و فناوری
دانشگاه بین المللی امام خمینی (ره)
دانشکدهٔ فنی و مهندسی
گروه بیوتکنولوژی کشاورزی

عنوان:

جداسازی و شناسایی مورفولوژیک و مولکولی عامل بیماری سفیدک پودری انگور

نگارش:
رحمن یوسفی

استاد راهنما:
دکتر رامین حسینی

اساتید مشاور:
دکتر احمد عباسی مقدم
دکتر قاسمعلی گروسی
مهندس رزاز هاشمی

مرکز اطلاعات و مدارک علمی ایران

پایان نامه جهت دریافت درجهٔ کارشناسی ارشد در رشتهٔ بیوتکنولوژی کشاورزی

تیرماه ۱۳۸۷

۱۳۸۷ /۷/ ۱۱

۱۰۲۲۵۲

دانشگاه بین المللی امام خمینی(ره)

دانشکدهٔ فنی و مهندسی

گروه بیوتکنولوژی کشاورزی

بدینوسیله گواهی می‌شود جلسهٔ دفاع از پایان نامهٔ کارشناسی ارشد رحمن یوسفی دانشجوی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی کشاورزی تحت عنوان "جداسازی و شناسایی مورفولوژیک و مولکولی عامل بیماری سفیدک پودری انگور" در تاریخ ۱۳۸۷/٤/۱۷ با موفقیت برگزار و با نمرهٔ ۱۹٫۶ و رتبهٔ عالی مورد تأیید هیات داوران به شرح ذیل قرار گرفت:

۱- استاد راهنما: دکتر رامین حسینی

۲- استاد مشاور: دکتر احمد عباسی مقدم

۳- استاد مشاور: دکتر قاسمعلی گروسی

٤- استاد مشاور: مهندس سید رزاز هاشمی

۵- داور خارجی: دکتر علیرضا احمدی

٦- داور داخلی: دکتر امیر حسین بیکی

۷- نمایندهٔ تحصیلات تکمیلی: دکتر رحیم حداد

تقدیم به پدر، مادر

برادر و خواهرانم

تشکر و قدردانی

سپاس و ستایش خداوند بلند مرتبه را که هر چه داریم از اوست و هر چه نداریم از حکمت اوست. سر بر آستان جلال یکتایش می‌سایم که دگر بار توفیق اندوختن دانش هر چند اندک را روزیم فرمود. بر خود لازم می‌دانم که از اولین و بزرگترین معلمان زندگی‌ام، پدر و مادر عزیزم که همچون دو فرشتهٔ سبک بال، بال‌های پر مهر خود را بر لحظه لحظهٔ زندگی من گستردند و بعد از خدای مهربان در تنگنای زندگی یگانه حامی من بودند و امید رسیدن به آینده‌ای روشن و پر فروغ را در دلم شکوفا ساختند، از صمیم قلب تشکر و قدردانی کنم.

ناگفته پیداست طی این طریق، بی مدد چراغ پرفروغ اساتید ارجمند و گرامی مقدور و میسر نبوده و نخواهد بود.

از زحمات استاد ارجمند، جناب آقای دکتر رامین حسینی به خاطر راهنمایی‌های ارزشمندشان در مسیر اجرای این تحقیق صمیمانه تشکر و قدردانی می‌نمایم.

از آقایان دکتر قاسمعلی گروسی، دکتر احمد عباسی مقدم و مهندس رزاز هاشمی به خاطر قبول مشاوره این پروژه و یاری بنده در طی مراحل انجام آن صمیمانه تشکر می‌نمایم.

از اساتید محترم گروه بیوتکنولوژی کشاورزی که در طی مراحل انجام تحقیق از دانسته‌های علمی خود دریغ نفرمودند کمال تشکر را دارم.

و در پایان از دوستان ارجمندم جناب آقای روح اله مالکی، خانم ساره عرب بافرانی و خانم صدیقهٔ حاتمی که در طی مراحل انجام تحقیق از کمک‌های بی‌دریغشان بهره مند بودم کمال تشکر را دارم.

چکیده:

سفیدک پودری انگور (*Erysiphe necator*)، یکی از مهمترین بیماری‌های انگور از لحاظ اقتصادی در سراسر دنیاست. بدلیل طبیعت انگل اجباری بودن این قارچ و مشکلات کار با انگل‌های اجباری، تحقیقات کمی بر روی این قارچ صورت گرفته است. هدف از این مطالعه، ارزیابی تنوع ژنتیکی میان ۲۴ جدایهٔ قارچ سفیدک پودری انگور در استان قزوین و شهرستان شهریار بود.

بمنظور ارزیابی تنوع ژنتیکی، از ۱۱ آغازگر تصادفی RAPD استفاده شد. پس از بهینه سازی روش استخراج DNA ژنومی، آزمایش‌های PCR و الکتروفورز محصولات نهایی، باندهایی که بطور نسبی از وضوح بهتری برخوردار بودند در تجزیه و تحلیل آماری وارد شدند. برای انجام محاسبات آماری، باندهای با اندازهٔ بین ۲۹۰۰-۲۰۰ جفت باز و درجهٔ چند شکلی بالا انتخاب شدند. در مجموع ۹۷ باند تولید شد. از میان آغازگرهای مورد استفاده، ۷ آغازگر بیشترین چند شکلی را نشان دادند. بیشترین تعداد باندهی مربوط به آغازگر D و کمترین تعداد باندهی مربوط به آغازگر U۱۹ بود. درصد چند شکلی از ۸۷/۵٪ در E۰۷ تا ۱۰۰٪ برای آغازگرهای J۲۰ و C۰۸ متغیر بود. متوسط باندهی برای هر آغازگر ۱۳/۸۵ بود. تجزیهٔ کلاستر بر اساس حضور یا عدم حضور باند با استفاده از ضریب تشابه جاکارد به روش UPGMA انجام گرفت و بر اساس دندروگرام حاصل، نمونه ها در ۷ گروه طبقه بندی شدند. دامنهٔ ضرائب تشابه جاکارد بین ۰/۰۹۴ تا ۰/۵۹ متغیر بود. بیشترین میزان تشابه (۰/۵۹) بین نمونه های Sh۱ و Sh۲ و کمترین تشابه بین نمونه های Sh۱ و Q۱ مشاهده شد. شناسایی مورفولوژیکی جدایه‌ها به کمک میکروسکوپ نوری انجام شد. چهار صفت مورفولوژیکی جدایه‌های قارچی اندازه گیری شد. نتایج مورفولوژیکی تایید کرد که جدایه‌های مورد بررسی، سفیدک پودری انگور (*E. necator*) است. به کمک روش UPGMA و ماتریس فاصلهٔ اقلیدسی دندروگرام تنوع مورفولوژیکی جدایه‌های قارچی ترسیم گردید. نتایج نشان داد که هیچ همبستگی بین نتایج RAPD و مورفولوژیک وجود ندارد.

کلمات کلیدی: *Erysiphe necator*، انگور، PCR، RAPD، تجزیهٔ کلاستر، صفات مورفولوژیک

فهرست مطالب

عنوان	صفحه
چکیده	
فصل اول: مقدمه و کلیات	
۱-۱) مقدمه	۱
۱-۲) تاریخچه و منشاء پیدایش انگور	۳
۱-۳) سطح زیر کشت، میزان تولید و عملکرد	۳
۱-٤) اهمیت بیماری‌های انگور	٥
۱-٥) تشخیص عوامل بیماریزا	٦
۱-٥-۱) ضرورت تشخیص عوامل بیماریزا	٦
۱-٥-۲) روش‌های تشخیص عوامل بیماریزا	٦
۱-٥-۲-۱) کاوشگرهای اختصاصی	۷
۱-٥-۲-۲) روش‌های مبتنی بر PCR	۷
۱-٥-۲-۳) آغازگرهای اختیاری	۸
۱-٥-۲-٤) SCAR	۸
۱-٥-۲-٥) بررسی ژن‌های ریبوزومی	۸
۱-٦) تجزیه و تحلیل تنوع ژنتیکی	۹
۱-٦-۱) تخمین فاصلهٔ ژنتیکی	۹
۱-٦-۲) روش‌های چند متغیرهٔ تفکیک ژنتیکی افراد	۱۰
۱-٦-۳) تجزیه و تحلیل خوشه‌ای	۱۰
۱-۷) قارچ‌ها	۱۱
۱-۸) آسکومیست‌ها	۱٤
۱-۸-۱) خانوادهٔ اریزیفاسه	۱٥
۱-۸-۲) مشخصات مورفولوژیکی قارچ‌های اریزیفاسه	۱۷
۱-۸-۲-۱) اندام‌های رویشی	۱۷
۱-۸-۲-۲) زاد آوری غیر جنسی	۱۷
۱-۸-۲-۳) زاد آوری جنسی	۱۸
۱-۸-۳) سفیدک پودری (حقیقی) مو	۱۹

۱-۸-٤) چسبیدگی ساختارهای آلودگی سفیدک پودری به سطح کوتیکول میزبان ۲۱
۱-۸-٥) گسترش بیماری روی حبه های انگور ۲۱
۱-۸-٦) نشانه‌های بیماری ۲۲
۱-۸-۷) قارچ عامل بیماری و زیست شناسی آن ۲۳
۱-۸-۸) اهمیت اقتصادی بیماری ۲٦
۱-۸-۹) مدیریت کنترل بیماری ۲۷
۱-۹-۸-۱) ارقام مقاوم ۲۷
۱-۹-۸-۲) عملیات زراعی ۲۸
۱-۹-۸-۳) کنترل زیستی ۲۸
۱-۹-۸-٤) کنترل شیمیایی ۲۹
۱-۸-۱۰) DMI ها و اثر آنها روی سفیدک‌های پودری ۳۰
۱-۹) اهداف مطالعه ۳۱

فصل دوم: بررسی منابع

۲-۱) کشف قارچ سفیدک پودری انگور ۳۳
۲-۲) طبقه بندی قارچ‌های سفیدک پودری ۳۳

فصل سوم: مواد و روش‌ها

۳-۱) جمع آوری نمونه ٤۱
۳-۲) ضد عفونی سطحی مواد گیاهی ٤۱
۳-۳) کشت و واکشت جدایه‌های قارچی ٤۲
۳-٤) استخراج DNA قارچ ٤۲
۳-٥) استخراج DNA از انگور ٤٥
۳-٦) تعیین کمیت DNA ٤۷
۳-۷) تعیین کیفیت DNA ٤۷
۳-۸) رقیق سازی DNA ٤۸
۳-۹) شرایط واکنش PCR ٤۸
۳-۱۰) تشخیص جدایه‌های سفیدک پودری مقاوم از جدایه‌های حساس

نسبت به کاربرد قارچکش‌های بازدارندهٔ دمتیلاسیون استرول‌ها (DMIs) ٤٨
۳-۱۱) واکنش RAPD ٥١
۳-۱۲) الکتروفورز قطعات حاصل از تکثیر PCR روی ژل آگارز ٥٣
۳-۱۳) TBE پنج برابر ٥٣
۳-۱٤) تجزیه و تحلیل آماری ٥٤
۳-۱٥) بررسی‌های مورفولوژیکی ٥٤
۳-۱٦) محلول رنگ آمیزی ٥٥

فصل چهارم: نتایج و بحث

٤-۱) بررسی‌های مورفولوژیکی ٥٧
٤-۲) آغازگرهای تصادفی (RAPD) ٦٢
٤-۳) تائید گونهٔ قارچی مورد مطالعه به کمک PCR با پرایمرهای اختصاصی ٧٥
٤-۲) شناسایی جدایه‌های حساس و مقاوم سفیدک پودری انگور به قارچکش‌های بازدارندهٔ دمتیلاسیون استرول‌ها (DMIs) به کمک واکنش PCR ٧٦
٤-۳) تائید گونهٔ قارچی مورد مطالعه به کمک PCR با پرایمرهای اختصاصی ٧١
٤-٦) نتیجه گیری نهایی ٧٨
٤-٧) پیشنهادها ٧٩

فهرست جدول‌ها

عنوان	صفحه
جدول (۱-۱) سطح زیر کشت، میزان تولید و عملکرد ارقام مختلف انگور در استان قزوین	٤
جدول (۲-۱) مقیاس‌ها و ضرائب تخمین فواصل ژنتیکی	۹
جدول (۱-۳) ترکیبات بافر استخراج	٤۳
جدول (۲-۳) ترکیبات بافر استخراج جهت استخراج DNA قارچی	٤٤
جدول (۳-۳) ترکیبات بافر استخراج جهت استخراج DNA قارچی	٤٥
جدول (٤-۳) ترکیبات بافر استخراج انگور	٤۷
جدول (٥-۳) لیست آغازگرهای اختصاصی استفاده شده در تکثیر ژن $P\text{-}450_{14DM}$	٤۹
جدول (٦-۳) لیست آغازگرهای اختصاصی استفاده شده در تشخیص جهش در نوکلئوتید٤٦۲	٥۰
جدول (۷-۳) لیست آغازگرهای اختصاصی استفاده شده برای تشخیص جدایه‌های جهش یافته و جهش در نوکلئوتید ٤٦۲	٥۰
جدول (۸-۳) ترکیبات واکنش زنجیره‌ای پلیمراز	٥۰
جدول (۹-۳) چرخه‌های حرارتی واکنش زنجیره‌ای پلی مراز	٥۱
جدول (۱۰-۳) آغازگرهای اختصاصی استفاده شده برای تکثیر ناحیهٔ ITS	٥۱
جدول (۱۱-۳) ترکیبات واکنش زنجیره ای پلیمراز RAPD-PCR	٥۲
جدول (۱۲-۳) چرخه‌های حرارتی واکنش زنجیره ای پلی مراز RAPD	٥۲
جدول (۱۳-۳) لیست آغازگرهای استفاده شده در واکنش RAPD	٥۲
جدول (۱٤-۳) ترکیبات بافر TBE پنج برابر	٥٤
جدول (۱٥-۳) مواد و مقادیر لازم جهت تهیهٔ بافر بارگذاری (٦×)	٥٤
جدول (۱٦-۳) ترکیبات و مقدار آنها در محلول لاکتوفنول	٥٥
جدول (۱-٤) شماره، نام و محل جمع آوری جدایه‌های *E. necator*	۷٤

فهرست شکل‌ها

عنوان	صفحه
شکل (۱-۱) انواع مختلف کنیدیوفورهای حامل کنیدیوم	۱۸
شکل (۲-۱) علائم بیماری روی ساقه، برگ و میوهٔ انگور	۲۳
شکل (۳-۱) زنجیرهٔ کنیدیایی سفیدک پودری انگور	۲٤
شکل (٤-۱) اندام بارده جنسی قارچ	۲۵
شکل (۵-۱) چرخهٔ زندگی عامل بیماری سفیدک پودری انگور	۲٦
شکل (۱-٤) علائم قارچ روی برگ، ساقه و میوه	۵۸
شکل (۲-٤) زنجیرهٔ بهم پیوستهٔ کنیدیهای قارچ	۵۹
شکل (۳-٤) کنیدی و کنیدیوفور قارچ	۵۹
شکل (٤-٤) فرم جنسی قارچ	٦۰
شکل (۵-٤) الگوی باندهی تکثیر شده با آغازگر E07	٦۵
شکل (٦-٤) الگوی باندهی تکثیر شده با آغازگر C08	٦۵
شکل (۷-٤) الگوی باندهی تکثیر شده با آغازگر P06	٦٦
شکل (۸-٤) الگوی باندهی تکثیر شده با آغازگر J20	٦٦
شکل (۹-٤) الگوی باندهی تکثیر شده با آغازگر D	٦۷
شکل (۱۰-٤) الگوی باندهی تکثیر شده با آغازگر P14	٦۷
شکل (۱۱-٤) الگوی باندهی تکثیر شده با آغازگر U19	٦۸
شکل (۱۲-٤) الگوی باندهی حاصل از پرایمرهای اختصاصی ناحیهٔ ITS	۷۱

فهرست نمودارها

عنوان	صفحه
نمودار (۱-٤) دندروگرام شباهت مورفولوژیکی ۲٤ جدایهٔ قارچ عامل بیماری سفیدک پودری انگور به روش UPGMA	٦١
نمودار (۲-٤): تعداد باندهای تکثیر شده توسط هر آغازگر	٦٨
نمودار (۳-٤) تعداد باندهای چند شکل تکثیر شده توسط هر آغازگر	٦٩
نمودار (٤-٤) درصد باندهای چند شکل تکثیر شده توسط هر آغازگر	٦٩
نمودار (٥-٤) محدودهٔ اندازهٔ باندهای تکثیر شده برای هر آغازگر	۷۰
نمودار (٦-٤) دندروگرام فاصلهٔ ژنتیکی ۲٤ جدایهٔ قارچ عامل بیماری سفیدک پودری انگور برمبنای ضریب تشابه جاکارد	۷۱
نمودار (۷-٤) همبستگی بین نتایج RAPD و داده‌های مورفولوژیک	۷۷

فهرست پیوست‌ها

عنوان	صفحه
پیوست ۱	۸۵
پیوست ۲	۸۸-۸۶
پیوست ۳	۸۹
پیوست ٤	۹۰
پیوست ۵	۹۲-۹۱

فصل اول

مقدمه و کلیات

۱-۱. مقدمه

انگور گیاهی است از تیرهٔ آمپلی‌داسه[1]، که آنرا ویتاسه[2] نیز می‌نامند. گیاهان این تیره، درختچه‌هایی هستند که داری ساقه‌های گره‌دار و پیچک‌های بالارونده می‌باشند. این پیچک‌ها در مقابل برگ‌های پنجه‌ای گیاه قرار گرفته‌اند و گیاه از آنها جهت بالا رفتن استفاده می‌کند. تیرهٔ آمپلی‌داسه شامل ده جنس مختلف می‌باشد، که در میان آنها فقط ویتیس[3] دارای ارزش غذایی بوده و از نظر اقتصادی مهم می‌باشد. جنس ویتیس، بطور گسترده‌ای در آسیای شرقی، خاورمیانه، اروپا و آمریکا گسترش یافته است. این جنس به نوبهٔ خود دارای دو زیر جنس است که از لحاظ تعداد کروموزوم متفاوت می‌باشند (تفضلی، ۱۳۷۰) که عبارتند از:

۱- زیر جنس موسکادینه[4]: تمامی گونه‌های آن وحشی بوده و تعداد کروموزوم‌های آن ۲n=۴۰ می‌باشد. از مشخصات این زیر جنس، تولید خوشه‌های کوچک و ضخیم بودن پوست حبه‌ها است. حبه پس از رسیدن از خوشه جدا می‌گردد. از صفات خوب گونه‌های این زیر جنس، مقاومت به فیلوکسرا و بیماری‌های قارچی و نماتد می‌باشد (امیر قاسمی، ۱۳۸۲). دو تا سه گونهٔ مهم در این گروه قرار می‌گیرند. گونهٔ اصلی ویتیس رتوندیفولیا[5] بوده، گونهٔ ویتیس مونسونیانا[6] بصورت وحشی در نواحی جنوب شرقی آمریکا گسترش یافته است و گونهٔ ویتیس پوپنویی[7] نیز احتمالاً در این گروه قرار می‌گیرد (حریقی، ۱۳۸۵).

۲- زیر جنس یوویتیس[8]: تعداد کروموزوم‌های آن ۲n=۳۸ بوده و تمامی گونه‌های قابل کشت که از نظر اقتصادی مهم هستند (از جمله گونهٔ ویتیس وینیفرا که تمام ارقام و پایه‌های ایرانی نیز به این گونه تعلق دارند)، در این زیر جنس قرار دارند (تفضلی،۱۳۷۰). در این زیر جنس خوشه کشیده بوده، حبه‌ها پس از رسیدن روی محور خوشه باقی می‌مانند و پوست حبه نازک است. انگور اروپایی[9]، کونکورد[10] و اکثر گونه‌های دیگر بجز دو تا سه گونه در این گروه قرار دارند (حریقی، ۱۳۸۵).

---

[1] - Ampelidaceae
[2] - Vitaceae
[3] - Vitis
[4] - Muscadinae
[5] - *V. rotundifolia*
[6] - *V. munsoniana*
[7] - *V. popenoeii*
[8] -Euvitis
[9] - *Vitis vinifera*
[10] -*Vitis labrusca*

مهمترین ارقام مورد استفاده در جهان در جنس ویتیس، سه گونه و یک هیبرید هستند. بیش از ۹۰٪ انگور تولیدی در جهان متعلق به گونهٔ ویتس وینیفرا یا انگور اروپایی است. بیش از ۵۰۰۰ رقم از این گونه در جهان وجود دارد. برخی محققین، تعداد ارقام متعلق به این گونه را بیش از ۱٤۰۰۰ تخمین می‌زنند. در جهان، مهمترین رقم حبهٔ سفید، کاردونی[1] و مهمترین ارقام حبهٔ قرمز، مارلوت[2]، کابرنت ساویگنون[3] و پینوت نویر[4] هستند. برخی ارقام این گونه از قبیل تامسون[5]، فاقد بذر بوده و جهت تولید کشمش استفاده می‌شوند. گونه ویتیس رتوندیفولیا[6]، از گروه موسکادینه در مقایسه با ارقام متعلق به گونهٔ ویتیس وینیفرا نسبت به بیماری‌ها مقاومتر است. بدلیل دارا بودن ٤۰ عدد کروموزوم (در مقایسه با ۳۸ عدد کروموزوم در گروه یوویتیس) تلاقی آن با بقیهٔ گونه‌ها امکانپذیر نیست. برخی ارقام این گونه از قبیل کووارت[7]، هانت[8]، نوبل[9] و ساتلند[10] دارای حبه‌های قرمز رنگ و ارقامی از قبیل کارلوس[11]، هیگینس[12]، فرای[13] و سامیت[14] دارای حبهٔ زرد رنگ هستند. در این گونه، رقم یا ارقام بدون دانه وجود ندارد.

گونهٔ ویتس لابروسکا: مهمترین رقم این گونه کونکورد[15] نام دارد. ارقام دیگر متعلق به این گونه نیاگارا[16]، ایزابلا[17]، دلوار[18] و کاتاوبا[19] هستند. در این گونه ارقام با حبهٔ آبی تیره، قرمز و سفید رنگ وجود دارد. میوه در برخی ارقام فاقد دانه است.

هیبریدهای فرانسوی– آمریکایی: ورود آفت فیلوکسرا[20] به اروپا در سال ۱۸٦۰ میلادی باعث از بین رفتن ارقام حساس ویتیس وینیفرا گردید که در نتیجه نیاز به تولید پایه‌های مقاوم احساس شد. از تلاقی گونهٔ ویتیس لابروسکا و برخی گونه‌های دیگر با ارقام متعلق به گونهٔ ویتیس وینیفرا هیبریدهای جدیدی با درجات مختلف مقاومت به آفت بدست آمد. بعلاوه، این ارقام نسبت به

---

1 - Chardonnay
2 - Marlot
3 - Chabernt sauvignon
4 - Pinot noir
5 - Thompson seedless
6 - *V. rotundifolia*
7 - Cowart
8 - Hunt
9 - Noble
10 - Southland
11 - Carlos
12 - Higgins
13 - Fray
14 - Summit
15 - Concord
16 - Niagara
17 - Isabella
18 - Delware
19 - Catawba
20 - Phylloxera

ویتیس وینیفرا میوهٔ با کیفیت بهتر و میزان محصول بیشتری تولید می‌نمایند و نسبت به یخزدگی زمستانه تحمل بیشتری دارند. در ایران بیش از ۲۵۰ رقم مختلف انگور کاشته می‌شود که بدلیل عدم بررسی کامل، ممکن است ارقام مشابهی با اسامی مختلف در نقاط مختلف نامگذاری شده باشند. مهمترین این ارقام عبارتند از: بیدانه، شاهانی، عسکری، یاقوتی، صاحبی، فخری، رازقی، حسینی، ریش بابا، شیرازی، الحقی، رشه، علائی و حلاقی (حریقی، ۱۳۸۵).

۲-۱. تاریخچه و منشاء پیدایش انگور

شواهد نشان می‌دهد ویتیس وینیفرا، بومی منطقهٔ اطراف دریای خزر است و یکی از اولین گیاهانی است که بصورت اهلی کشت شده است. قدمت کشت آن به حدود ۷۰۰۰ سال قبل از میلاد بر می‌گردد. کشت مو، اولین بار از ارمنستان شروع شده و سپس به طرف شرق (ایران و افغانستان) و غرب (اروپا) گسترش یافته است. بذر انگور در ظروف برنزی با قدمت ۳۵۰۰ سال قبل از میلاد مسیح در اروپا بدست آمده است. تاریخچهٔ کشت آن در مصر به حدود ۲٤۰۰ سال قبل از میلاد بر می‌گردد. انگور از طریق ایران به هندوستان و سپس به خاور دور انتقال یافته است. ارقامی از انگور که جهت تولید شراب استفاده می‌شده‌اند، حدود ٦۰۰ سال قبل از میلاد به یونان، روم و جنوب فرانسه منتقل شده است و پس از آن به تمام اروپا گسترش یافته است. در حدود سال‌های ۱۷۰۰ میلادی رقم ویتیس وینیفرا، توسط ناخدایان اسپانیایی به آمریکا منتقل شد و در حال حاضر در مناطق مهمی از قبیل کالیفرنیا، واشنگتن، اورگون، پنسیلوانیا و میشیگان از اهمیت و گسترش زیادی برخوردار است. گونهٔ ویتیس روتوندیفولیا بومی منطقهٔ جنوبی ویرجینیا، نواحی مرکزی فلوریدا و نواحی غربی و شرقی تگزاس است. گونه‌های ویتیس لابروسکا اولین بار بصورت وحشی در بخش‌های جنوبی کارولینا و نواحی غربی از قبیل کوه‌های تنسی شناسایی شده است. این ارقام جهت تولید پایه‌های مقاوم به فیلوکسرا بعداً به اروپا منتقل شدند (حریقی، ۱۳۸۵).

۳-۱. سطح زیر کشت، میزان تولید و عملکرد

سطح زیر کشت جهانی انگور ۷،۹۰۵ هزار هکتار، با متوسط تولید ۸،۳٤۹ کیلوگرم در هکتار می‌باشد. تا قبل از جنگ جهانی دوم، ایران بزرگترین و مهمترین کشور تولید کنندهٔ کشمش و شیرهٔ انگور در جهان بوده است. انگور در بیش از ۸۹ کشور تولید می‌شود. ۱۰ کشور اصلی تولید کننده به ترتیب عبارتند از: ایتالیا، فرانسه، آمریکا، اسپانیا، چین، ترکیه، ایران ، آرژانتین، استرالیا و شیلی. ایران ٤٪ تولید جهانی را دارا می‌باشد. میانگین تولید جهانی، ۹/۱ تن در هکتار بوده و ایالات متحدهٔ آمریکا

با تولید ۱۸/۳۰ تن در هکتار دارای بالاترین میانگین تولید است (حریقی، ۱۳۸۵). در حال حاضر کشور ما از نظر سطح زیر کشت، در رتبهٔ هفتم و از لحاظ تولید، در رتبهٔ هشتم جهانی قرار دارد که دلیل اصلی آن، ادارهٔ تاکستان‌های ایران به شیوهٔ سنتی است (سازمان بین المللی انگور و شراب، ۲۰۰۵).

سطح زیر کشت تاکستان‌های کشور ۳۱۵ هزار هکتار می‌باشد، که بیش از ۹۳٪ آن را درختان بارور تشکیل می‌دهند. استان فارس با سهم ۲۱/٤۰ درصدی، بیشترین سطح زیر کشت را در کشور داراست. استان‌های قزوین، خراسان رضوی، آذربایجان شرقی، آذربایجان غربی، همدان و خراسان شمالی به ترتیب در رتبه های بعدی قرار دارند. میزان تولید انگور کشور حدود ۲/۹٦ میلیون تن می‌باشد، که استان فارس با سهم ۱۳/۹۲ درصدی در جایگاه نخست قرار دارد (آمارنامهٔ کشاورزی، ۱۳۸۵).

میزان تولید انگور آبی کشور ۱۲،۳۱۵ کیلوگرم در هکتار می‌باشد، که بالاترین راندمان تولید آبی ۲۹،۱۵۹ کیلوگرم در هکتار و متعلق به استان کهکیلویه و بویراحمد است. متوسط تولید انگور دیم نیز ۳،٦۵۹ کیلوگرم در هکتار می‌باشد که بیشترین آن ۱۰،۰۰۰ کیلوگرم و مربوط به استان گلستان و بوشهر می‌باشد (آمارنامهٔ کشاورزی، ۱۳۸۵).

از آنجا که تحقیق حاضر در استان قزوین انجام شده است سطح زیر کشت و همچنین میزان تولید ارقام مختلف انگور در این استان بر مبنای آمارنامهٔ سازمان جهاد کشاورزی استان، در جدول (۱-۱) آورده شده است.

جدول ۱-۱: سطح زیر کشت، میزان تولید و عملکرد ارقام مختلف انگور در استان قزوین (اقتباس از آمارنامهٔ جهاد کشاورزی استان قزوین، سال ۱۳۸۵)

نام رقم	سطح زیر کشت با احتساب درختان پراکنده (هکتار)				میزان تولید (تن)		عملکرد (کیلوگرم)	
	غیر بارور		بارور					
	آبی	دیم	آبی	دیم	آبی	دیم	آبی	دیم
انگور بیدانه	۱۳۲۷	۱	۲۵۷۰۲	۳۱۸	۳۲۱۰۰۵	۱۵۸۵	۱۲٤۸۹	٤۹۳۱
انگور عسگری	۲۱٦	۱۰	۳۷۷۷	۲۲٦	۳۷۱٤۰	۸۸۵/۵	۹۸۳۳	۳۹۱۸
انگور شاهرودی	۳۰	۰	۲۷٤	۰	۱۹۱۸	۰	۷۰۰۰	۰
انگور یاقوتی	٤۲	۰	٥٤۱	٦	۲٦۲٤	۱۵/۱	٤۸۵۰	۲۵۱۷
انگور شاهانی	۲۰۱	۰	۳۱۸۵	۱۱۸	۲۱۲۹۰	٤۱۳	٦٦۸٤	۳۵۰۰
جمع کل	۱۸۱٦	۱۱	۳۳٤۷۹	٦٦۸	۳۸۳۹۷۷	۲۸۹۸/٦	٤۰۸۵٦	۱٤۸٦٦

بیشترین سطح زیر کشت و همچنین عملکرد مربوط به رقم بیدانه، در شهرستان تاکستان با سطح زیر کشت ۲۱،۲۳۵ هکتار (آبی و دیم) و میزان تولید ۲٦۹،٥٤۸/٥ (تن) است (آمارنامه جهاد کشاورزی، شهرستان قزوین، ۱۳۸٥).

٤-۱. اهمیت بیماری‌های انگور

یکی از مشکلات مهمی که کشاورزی کشور ما با آن مواجه است مسالهٔ حیاتی حفظ نباتات است، زیرا هر ساله خسارات هنگفتی در اثر حملهٔ آفات و بیماری‌های گیاهی مختلف به مزارع و باغات، به کشاورزان وارد می‌شود (بهداد، ۱۳٦٤). عوامل مختلفی از قبیل قارچ‌ها، ویروس‌ها، باکتری-ها، حشرات مختلف، علف‌های هرز، پرندگان و سرمازدگی بر روی کمیت و کیفیت محصول انگور تاثیر می‌گذارند (حریقی، ۱۳۸٥). اکثر بیماری‌های گیاهی که هم اکنون در تمام مناطق جهان و بخصوص در ایران دامن‌گیر کشاورزان و باغداران می‌باشد بیماری‌هایی است که عامل آنها را قارچ‌ها تشکیل می‌دهند. بعنوان مثال می‌توان بیماری زنگ غلات را که خسارت آن در ایران فقط در سال ۱۳٤۳ شمسی حدود سه میلیارد ریال بر آورد شده است نام برد (بهداد، ۱۳٦٤).

گسترش بیماری‌های مختلف وابسته به شرایط محیطی بوده در صورت مساعد بودن شرایط جهت گسترش، بیماری می‌تواند موجب کاهش محصول به مقدار ۲۰ تا ۸۰ درصد گردد. برای مثال، بالا بودن رطوبت محیط برای مدت زمان طولانی موجب فراهم شدن شرایط همه‌گیر شدن بیماری-هایی از قبیل پوسیدگی خاکستری، سفیدک داخلی و سایر بیماری‌های میوه و اندام‌های هوایی می-گردد. بیماری آنتراکنوز از اروپا منشا گرفت و قبل از گسترش سفیدک سطحی و داخلی مهمترین بیماری انگور در اروپا محسوب می‌گردید (حریقی، ۱۳۸٥).

برخی عوامل بیماری، در صورت انتقال به نقاط دیگر می‌توانند به صورت همه‌گیر درآیند. برای مثال، در اواسط سدهٔ ۱۸۰۰ میلادی قارچ عامل بیماری سفیدک سطحی از آمریکا به اروپا انتقال یافت و به سرعت در تمام اروپا گسترش پیدا کرد. آفت ریشهٔ انگور (فیلوکسرا) در سال ۱۸٦٥ میلادی در غرب فرانسه مشاهده شد و سپس به تمام اروپا گسترش یافت. در تلاش جهت تهیهٔ پایه‌های مقاوم به این آفت، گونه‌های آمریکایی ویتیس به اروپا وارد شد و همراه با آن برخی عوامل بیماریزا نیز انتقال پیدا کردند. عامل بیماری سفیدک داخلی اولین بار در سال ۱۸۷۸ میلادی در جنوب غربی فرانسه مشاهده شد و بلافاصله در تمام فرانسه و بقیهٔ کشورهای اروپایی گسترش یافت. آمار دقیقی در خصوص میزان خسارت ناشی از بیماری‌های انگور در ایران در دست نیست. بیماری‌های مختلفی

از قبیل سفیدک سطحی، سفیدک داخلی، لکه برگی و شانکر ساقهٔ مو، پوسیدگی خاکستری انگور، بیماری آنتراکنوز، پوسیدگی قارچ عسلی ریشه، بیماری باکتریایی سرطان طوقهٔ مو، نماتد مولد غده ریشه، نماتد خنجری، بیماری ویروسی برگ بادبزنی مو و ویروس پیچیدگی برگ مو، از ایران گزارش شده است (حریقی، ۱۳۸۵).

۵-۱. تشخیص عوامل بیماریزا

۱-۵-۱. ضرورت تشخیص عوامل بیماریزا

ضعف عملکرد گیاه ممکن است به دلیل عوامل مختلف مثل شرایط محیطی نامناسب، ناکافی بودن مواد غذایی و یا آفات و بیماری‌ها باشد. تشخیص عوامل چنین بیماری‌هایی به روش شناسایی قابل اعتماد عوامل اختصاصی آلوده کننده بستگی دارد. عامل بیماریزا ممکن است ویروس، باکتری، قارچ، نماتد یا ترکیبی از این عوامل باشد. علائم حاصل از این بیماریها و عوامل محیطی ممکن است همیشه به آسانی قابل تشخیص نباشند. روش‌های مولکولی راه حل‌های جامعی را برای تشخیص این احتمالات و شناسایی ژنوتیپ یا گونهٔ اختصاصی عوامل بیماری‌زا ارائه داده‌اند (باقری و همکاران، ۱۳۸۱).

۲-۵-۱. روش‌های تشخیص عوامل بیماریزا

گسترهٔ کاملی از روش‌های مولکولی برای تشخیص عوامل بیماریزا به کار می‌روند. روش‌هایی نظیر ریبوتایپینگ[1] (بررسی ژن‌های RNA ریبوزومی)، بررسی مقدار DNA پلاسمید، RAPD-PCR (روش‌های مرتبط با آن) و هضم DNA با آنزیم‌های برشی اندونوکلئاز و بدنبال آن الکتروفورز روی ژل، روش‌هایی هستند که ممکن است برای تشخیص ریزسازواره‌ها[2] به کار روند. بررسی کشت خالص این سازواره‌ها، نقطهٔ شروع در ایجاد یک روش تشخیص است. اما در نهایت آزمونی که بتواند بطور مستقیم به تشخیص گیاه بیمار بپردازد، ضروری است. لازمهٔ استفاده از روش‌های مولکولی در گیاه بیمار این است که روش، مبتنی بر توالی DNA باشد و بتواند عامل بیماری‌زا را از گیاه میزبان تشخیص دهد. در بیماری‌های ریشه، ممکن است به دستور کارهایی جهت بررسی نمونه-های خاک نیاز باشد. حساسیت بیشتر از طریق قرار دادن آزمون بر روی ژن‌های چند نسخه‌ای و

[1] Ribotyping
[2] Microorganisms