





دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

دانشکده تولید گیاهی

پایان نامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد (M.Sc) در رشته بیماری شناسی گیاهی

ردیابی سرولوژیکی و مولکولی ویروس موزایک کاهو (LMV) در منطقه گرگان

پژوهش و نگارش:

سپیده علی جانی

استاد راهنما:

دکتر سعید نصرالله نژاد

اساتید مشاور:

مهندس مجید جعفری، مهندس فاطمه زینتی فخرآباد

زمستان ۱۳۹۳

تعهدنامه پژوهشی

نظر به اینکه انجام فعالیت‌های پایان‌نامه‌های تحصیلی با بهره‌گیری از حمایت‌های علمی، مالی و پشتیبانی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان صورت می‌پذیرد، به منظور رعایت حقوق دانشگاه، نسبت به رعایت موارد زیر متعهد می‌شوم:

۱. این گزارش حاصل فعالیت‌های علمی-پژوهشی و دانش و آگاهی نگارنده است مگر آنکه در متن به نویسندگان یا پدیدآورنده اثر ارجاع داده شده باشد.

۲. چاپ هر تعداد نسخه از پایان‌نامه با کسب اجازه کتبی از مدیریت تحصیلات تکمیلی دانشگاه خواهد بود.

۳. انتشار نتایج پایان‌نامه به هر شکل (از قبیل کتاب، مقاله و همایش) با اطلاع و کسب اجازه کتبی از استاد راهنما خواهد بود. نام کامل دانشگاه:

به فارسی: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

و به انگلیسی: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

در بخش آدرس‌دهی درج خواهد شد.

۴. در انتشار نتایج پایان‌نامه در قالب اختراع، اکتشاف و موارد مشابه، نام کامل دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان به عنوان عضو حقوقی در انتهای فهرست اسامی درج گردد.

۵. تعیین ترتیب اسامی نویسندگان در انتشار نتایج مستخرج از پایان‌نامه و هر گونه تفاوت احتمالی در آن با فهرست مصوب اسامی هیات راهبری پایان‌نامه با تایید استاد راهنمای اول خواهد بود.

اینجانب سپیده علی جانی دانشجوی بیماری‌شناسی گیاهی مقطع کارشناسی ارشد تعهدات فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده و به آن ملتزم می‌شوم.

نام و نام خانوادگی و امضاء

تقدیر و تشکر

پس بی پایان پروردگاری بهتار که فرصت علم و دانش را ارزانیم داشت و در تمام مراحل زندگی یاریم نمود. به راستی که سیمودن این راه دشوار زندگی جزء با اتکا به قدرت لایزال او ممکن نیست و تنها یاری و التفات اوست که انسان می تواند بر مشکلات فائق آید. حال که بخارش این رساله به اتمام رسیده است، بر خود لازم می دانم از عزیزانی که باهدلی و بهماری ایشان مرا تا این وادی یاری نموده اند، تشکر نمایم.

شکر و سپاس از یاری و بزرگواری استاد راهنمایم جناب آقای دکتر نصراننده نژاد که بخط به خط بهمراهمم کردند علم و دانش خود را بر من ارزانی داشتند و در پناه یاری ایشان سخت ترین محظت این راه، شیرین ترین خاطر اتم شد. تلاش و یاری ایشان را می ستایم. از اساتید مشاور و کرانه سرکار خانم مهندس فاطمه زینتی فخرآباد و جناب آقای مهندس مجید جعفری که در نهایت لطف و مودت در تمام مراحل اجرایی پایان نامه اینجانب را ارشاد نموده اند، کمال تشکر را دارم.

از داوران کرامی جناب آقایان دکتر کامران رهنما و سید اسماعیل رضوی که داوری این پایان نامه را بر عهده داشتند و با سخنان سنجیده و دلسوزانه خود در مقطع کارشناسی ارشد، بنده را در یافتن راه تلاش و پشتکار راهنما بودند، نهایت تشکر و سپاس را دارم. با تشکر از یکانه برادر دلسوز و مهربانم.

تقدیرم به خاک سرودی آراش، بخش هزار پدر و مادرم اسوه های ایمان و گذشت، معنی تحقیقی صداقت و محبت.

سپیده علی جانی

زمستان ۱۳۹۳

چکیده

ویروس موزاییک کاهو (*Lettuce mosaic virus, LMV*) از بیماری‌های مخرب و مهم اقتصادی است که متعلق به جنس *Potyvirus* و از خانواده *Potyviridae* می‌باشد. در سال‌های اخیر علائم بیماری ویروسی (موزائیک) در سطح وسیعی از مزارع کاهو استان گلستان شایع شده است. به منظور ردیابی ویروس LMV، ۹۳ نمونه مشکوک به بیماری که دارای علائم موزاییک، پیسک، کوتولگی، کاهش رشد، بدشکلی برگ‌ها و عدم تولید تاج طبیعی بودند طی سال زراعی ۹۳-۱۳۹۲ از استان گلستان جمع‌آوری گردید و درون کیسه‌های پلاستیکی منفرد، در مجاورت یخ به آزمایشگاه منتقل گردید. سپس از طریق آزمون DAS-ELISA و با استفاده از آنتی‌سرم منوکلونال ویروس LMV مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج آزمون سرولوژیکی نشان داد که تعداد ۸۰ نمونه از نظر آلودگی به ویروس مثبت بودند، در حالی که علائم زردی در تست الیزا منفی بوده است. از بین نمونه‌های آلوده، تعدادی از نمونه‌ها به منظور ردیابی ویروس همسانه‌سازی و تعیین ترادف گردیدند. RNA کل با استفاده از کیت mRNA از نمونه‌های مذکور استخراج شد و در آزمون RT-PCR با استفاده از آغازگر عمومی پوتی ویروس (Oligo1n/Oligo2n)، قطعه‌ای به طول ۳۲۷ جفت باز که مربوط به ژن پروتئین پوششی این ویروس می‌باشد تکثیر گردید. توالی‌های بدست آمده، با توالی‌های منتخب از کشورهای مختلف دنیا در GenBank، مقایسه گردید. هم‌ردیف‌سازی‌های چندگانه و آنالیزهای فیلوژنتیک و تعیین نسبت جانشینی نامترادف (dN) به جانشینی مترادف (dS) با نرم‌افزارهای DNAMAN، DNASTAR، ClustalX و MEGA5 انجام و درخت فیلوژنتیک به روش Neighbor-joining ترسیم گردید. نتیجه تعیین توالی مشخص نمود که نمونه‌های استان گلستان به ویروس موزاییک کاهو (LMV) *Lettuce mosaic virus* آلوده می‌باشند. نتیجه حاصل از آنالیزهای فیلوژنتیکی تعیین نمود که جدایه گلستان دارای شباهت ۹۹/۷ درصدی در سطح نوکلئوتیدی با جدایه فرانسه (Z78229) می‌باشد و در سطح آمینواسیدی بیشترین درصد تشابه (۱۰۰ درصد) را با یک جدایه‌ی دیگر از فرانسه (Z78230) داشت. نسبت dN/dS در گروه‌های فیلوژنتیک کمتر از ۱ تعیین شد. بر اساس اطلاعات موجود، این اولین گزارش از آلودگی ویروس موزاییک کاهو (LMV) و تعیین توالی ناحیه CP ژنوم این ویروس در استان گلستان می‌باشد.

کلمات کلیدی: ویروس موزاییک کاهو (LMV)، آزمون سرولوژیکی DAS-ELISA، RT-PCR.

آنالیزهای فیلوژنتیکی

	فصل اول: مقدمه
۲	۱-۱ مقدمه
۱۲	۱-۲ میزبان
۱۳	۳-۱ گیاه‌شناسی
۱۳	۱-۳-۱ انواع کاهو از نظر مورفولوژی
۴	۱-۱-۳-۱ انواع هددار
۴	۱-۱-۳-۱ کاهو فری یا کریسپ هد (Crisphead)
۱۴	۲-۱-۳-۱ نوع باترهد یا بیب لتوس (Butterhead)
۱۴	۳-۱-۳-۱ کاهو رومن (L.sativa var.longifolia (Roman,Romaine)
۵	۲-۱-۳-۱ انواع بدون هد
۵	۱-۲-۳-۱ کاهو برگ (L.sativa var . crispa (Losse leaf)
۵	۲-۲-۳-۱ کاهو لاتین (L.sativa (Latin)
۱۵	۳-۲-۳-۱ کاهو ساقه‌ای (L. sativa var. asparagina (Stem)
۱۵	۴-۲-۳-۱ کاهو هندی (L.indica)
۶	۵-۲-۳-۱ کاهو بذر روغنی (L.serriola (Oil-seed)
۶	۴-۱ ارزش غذایی و دارویی
۱۶	۵-۱ تولید و عملکرد
۷	۶-۱ شرایط آب و هوایی
۷	۷-۱ شرایط رشدی
۸	۸-۱ آفات و بیماری‌ها
۹	۹-۱ فرضیه‌ها

۱-۱۰ اهداف ۹

فصل دوم: بررسی منابع

- ۱-۲ ویژگی‌های جنس پوتی ویروس ۱۲
- ۱-۱-۲ ویروس موزاییک کاهو ۱۲
- ۲-۱-۲ دامنه میزبانی ۱۳
- ۳-۱-۲ روش‌های انتقال ۱۳
- ۴-۱-۲ علائم بیماری ناشی از ویروس موزاییک کاهو ۱۴
- ۵-۱-۲ سابقه ویروس موزاییک کاهو در خارج از کشور ۱۴
- ۶-۱-۲ وضعیت ویروس موزاییک کاهو در ایران ۱۹

فصل سوم: مواد و روش‌ها

- ۱-۳ نمونه‌برداری از مزارع کاهو اطراف شهرستان گرگان ۲۲
- ۲-۳ آزمون ساندریچ دوطرفه الایزا (DAS-ELISA) ۲۳
- ۱-۲-۳ مرحله اول پوشش دادن چاهک‌های بشقابک با IgG-LMV ۲۳
- ۲-۲-۳ مرحله دوم ریختن آنتی‌ژن (عصاره‌ها) در چاهک‌ها ۲۴
- ۳-۲-۳ مرحله سوم ریختن آنتی‌بادی متصل شده به آنزیم (IgG-AP) ۲۴
- ۴-۲-۳ مرحله چهارم ریختن سوبسترا ۲۴
- ۳-۳ ارزیابی نتایج آزمون الایزا ۲۵
- ۴-۳ استخراج RNA کل گیاهی ۲۶
- ۱-۴-۳ بررسی کمیت و کیفیت RNA کل استخراج شده ۲۶
- ۵-۳ واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR) ۲۷
- ۱-۵-۳ آغازگرهای عمومی ۲۷
- ۶-۳ روش تهیه ژل و الکتروفورز در ژل آگارز ۳۰
- ۷-۳ روش مقایسه توالی نوکلئوتیدی ویروس LMV استان گلستان با توالی‌های مشابه در سایر جدایه‌های موجود در بانک ژن ۳۱

فصل چهارم: نتایج

۳۴	۱-۴ نتایج نمونه برداری
۳۵	۲-۴ نتایج آزمون DAS-ELISA
۳۵	۳-۴ نتایج آزمون RT-PCR و الکتروفورز
۳۶	۴-۴ نتایج تعیین توالی
	۵-۴ مقایسه شباهت‌ها و تفاوت‌های پروتئین پوششی جدایه ایران با سایر جدایه‌های LMV در
۳۹	سطوح نوکلئوتیدی و آمینو اسیدی
۴۱	۶-۴ آنالیزهای فیلوژنتیک و تنوع ژنتیکی
۴۳	فصل پنجم: بحث
۵۰	منابع
۵۷	ضمایم

فهرست جداول

عنوان	صفحه
جدول ۳-۱. مواد لازم در مخلوط واکنش نسخه برداری معکوس (RT).....	۳۵
جدول ۳-۲. توالی و موقعیت آغازگرهای مورد استفاده در این تحقیق.....	۳۶
جدول ۳-۳. مواد لازم و مقدار هر یک از آنها برای تهیه محلول پایه PCR.....	۳۷
جدول ۳-۴. سیکل های حرارتی برنامه ریزی شده برای انجام PCR.....	۳۸
جدول ۴-۱. محل جمع آوری، تعداد نمونه های آلوده و درصد آلودگی در استان گلستان.....	۴۲
جدول ۴-۲. تنوع ژنتیکی و نسبت بررسی جانشینی آمینواسیدی در جدایه های مختلف LMV در جمعیت ها و گروه های فیلوژنتیک.....	۵۰

فهرست جداول

صفحه	عنوان
۲۲	شکل ۱-۳ گیاه مشکوک به آلودگی LMV.....
۳۵	شکل ۱-۴ علائم ویروس موزاییک کاهو (LMV).....
۳۶	شکل ۲-۴ الگوی الکتروفورز محصول واکنش RT-PCR ویروس موزاییک کاهو.....
۳۷	شکل ۳-۴ دندروگرام ترسیم شده جدایه ایرانی LMV به روش Neighbour-joining.....
	شکل ۴-۴ درصد شباهت و تفاوت جدایه LMV ایران با جدایه‌های موجود در بانک ژن براساس
۴۰	همردیف‌سازی ترادف‌های نوکلئوتیدی ناحیه کد کننده CP.....
	شکل ۴-۴ درصد شباهت و تفاوت جدایه LMV ایران با جدایه‌های موجود در بانک ژن براساس
۴۱	همردیف‌سازی ترادف‌های آمینواسیدی ناحیه کد کننده CP.....

فصل اول

مقدمه

۱-۱ مقدمه

ویروس‌ها، انگل‌های اجباری بسیار کوچکی هستند که دارای یک تا چند ژن می‌باشند. این ژن‌ها مانند ژن‌های سلولی می‌توانند جهش‌زا و تکامل یابند (پوررحیم و همکاران، ۱۳۸۱). تکامل ویروس‌ها موضوع تحقیقات و نظریه‌های زیادی در چند دهه‌ی گذشته بوده است. کشاورزان اهمیت درک تکامل ویروسی را در مبارزه با بیماری‌های ویروسی محصولات‌شان شناخته‌اند. هدف اصلی مطالعه‌ی تکامل در گروه فهم دقیق چگونگی تکامل و اینکه چگونه آن‌ها ساختار ژنتیکی جمعیت‌شان را شکل می‌دهند می‌باشد. هدف دیگر، درک تاریخچه‌ی تکاملی موجودات و در نتیجه روابط تاکسونومیکی میان آن‌ها است. هر دو جنبه‌ی پژوهش‌های تکاملی، تاریخچه‌ی طولانی در ویروس‌شناسی گیاهی دارد و در چند دهه‌ی اخیر، خصوصاً از زمان دسترسی به روش‌های تجزیه و تحلیل مولکولی مانند روش‌های سریع تعیین توالی نوکلئوتیدی، بیشتر مورد توجه قرار گرفته است (نساج حسینی و احمدوند، ۱۳۸۹). در سال‌های اخیر بیشترین فعالیت‌های تحقیقاتی در زمینه کنترل بیماری‌های ویروسی شامل اصلاح ارقام مقاوم با روش‌های ژنتیکی، کنترل ناقلین با استفاده از روش‌های مختلف، تولید بذور عاری از ویروس و تولید گیاهان تراریخته است که حامل ژن‌های ویروسی هستند و موجب بروز مقاومت در برابر ویروس می‌گردند (پوررحیم و همکاران، ۱۳۸۱).

۱-۲ میزبان

کاهو (*Lactuca sativa*) یکی از گیاهان مهم تیره‌ی مرکبان، راسته (میناسیان) *Asterales* و خانواده *Lactuceae* می‌باشد. ۲۵۰۰ سال قبل از میلاد مسیح، در مصر قدیم از کاهو نام برده شده است. تاریخ بیانگر آن است که کاهو جز سبزی‌هایی بوده است که اروپاییان وقتی در سال ۱۴۹۴ در سرزمین خود استقرار یافتند، آن را شناخته‌اند و مورد استفاده غذایی قرار دادند (ادواردجی ۱۳۹۱، وین، اچ. سی ۱۳۸۵). در سال ۱۸۰۶ آقای "مک کاهون" از ۱۶ رقم کاهو نام برده است. این رقم‌ها به وسیله کلمبوس برای اولین بار به آمریکا برده شد و از جمله گیاهانی است که بعد از کشف آمریکا کشت گردیده است (دانشور ۱۳۷۹). منشا کاهو شرق مدیترانه است، انواع وحشی کاهو اغلب دارای برگ‌ها و ساقه‌های بدون هد، طعم تلخ و حاوی مقدار زیادی شیرابه می‌باشند. کاهو جز سبزی‌های

پرمصرف دنیا در ایران است. طبق آمار منتشر شده از سوی سازمان کشاورزی و خواروبار جهانی در سال ۲۰۰۵ این گیاه در میان سبزی‌های برگ‌ی مقام اول را در جهان و ایران دارد (پیوست ۱۳۸۸).

۳-۱ گیاه‌شناسی

کاهو گیاهی یک ساله و روز بلند است که از یک نوع کاهوی وحشی خاردار به نام *Lactuca scariola* و یا *L. serriola* که هر دو بومی آسیا می‌باشند، گرفته شده است. این گیاه پس از کاشت، ریشه عمودی عمیق و سپس ریشه‌های فرعی که وظیفه جذب مواد غذایی را برعهده دارند تولید می‌کند، ریشه اصلی گاهی تا عمق یک متر هم نفوذ می‌کند. برگ‌ها بدون دمبرگ و به صورت یک روزت متراکم هستند که به فرم‌های صاف، فری یا مجعد وجود دارند. رنگ برگ‌ها از سبز تیره تا سبز روشن متغیر است. دماهای مطلوب برای تشکیل هد (دمای ۱۹ درجه سانتی‌گراد در روز و ۱۱ درجه سانتی‌گراد در شب) می‌باشد. گل آذین کاهو کلاپرک^۱ است که دارای تعداد زیادی گلچه می‌باشد. کاهو خود گرده افشان اجباری است. علت خود گرده افشانی اجباری این است که دانه‌های گرده چسبنده هستند و با باد منتقل نمی‌شوند و حشرات کمی گل‌های کاهو را گرده افشانی می‌کنند. میوه کاهو فندقه می‌باشد و بذره‌های آن کوچک و به رنگ سفید با سایه زرد، زرد، قهوه‌ای، خاکستری و سیاه می‌باشند (حسن‌دخت ۱۳۹۱، پیوست ۱۳۸۸).

۳-۱-۱ انواع کاهو از نظر مورفولوژی

رقم‌های مختلف کاهو از نظر شکل، اندازه و رنگ با هم تفاوت دارند. طبقه‌بندی انواع کاهو بر اساس تفاوت در شکل برگ، اندازه، درجه رزتی و شکل هد می‌باشد و سایر صفات مانند رنگ و نوع ساقه اهمیت چندانی ندارند. از نظر ظاهری، کاهو دارای انواع هد دار یا بدون هد می‌باشد.

^۱. Co rymbose

۱-۳-۱ انواع همدار

۱-۳-۱-۱ کاهو فری یا کریسپ هد^۱

یک نوع کاهو با هد نرم و بزرگ است که نام تجارتي آن آيسبرگ^۲ است. رسيدن بيش از حد آن باعث تلخ شدن طعم کاهو می شود. اين نوع کاهو مقاوم به صدمه مکانیکی و جابجایی به مسافت های طولانی می باشد.

۱-۳-۱-۲ نوع باترهد یا بیب لتوس^۳ (Butterhead)

این نوع کاهو از اروپا منشا گرفته است و بسیار مرسوم است. رقم های باترهد گاهی کاهوی کلمی^۴ نیز نامیده می شوند و به خاطر کیفیت و طعم مطبوع در سطح وسیع کشت می شوند. دو نوع مهم وجود دارد که یکی بی تفاوت به طول روز با هد نسبتاً محکم و دیگری روز کوتاه دارای هد کوچک با فشردگی کم و بیشتر در گلخانه کشت می شود. برگ های همه انواع باترهد نسبتاً لاغر و دارای بافت نرم هستند. رنگ برگ های بیرونی کم رنگ تر از انواع آيسبرگ هستند و رنگ برگ های درونی مایل به زرد است.

۱-۳-۱-۳ کاهو رومن (*L. sativa var. longifolia* (Roman, Romaine))

این نوع کاهو به عنوان کاهو رومن شناخته شده است و معمولاً در مناطق مدیترانه ای کاشته می شود. نام آن از نام جزیره کاس در بخش شرقی مدیترانه، نزدیک ترکیه گرفته شده است. این کاهو دارای برگ های بزرگ، خشن و رگبرگ های برجسته و گسترده می باشد. رنگ برگ از سبز مایل به زرد تا سبز تیره، متفاوت است. برگ ها طویل شده و فرم روزت آن حالت ایستاده دارد، اگرچه گاهی کاملاً پهن است.

¹. Crisphead

². Iceberg

³. Bibb lettuce

⁴. Cabbage lettuce

۱-۳-۱-۲ انواع بدون هد

L. sativa var. crispa (Losse leaf) کاهو برگ ۱-۳-۱-۲

رقم‌های کاهو برگی در مزارع خانگی و در محیط‌های کنترل شده کشت می‌شوند. برگ‌های آن پهن (مانند انواع کریسپ هد) یا لب‌دار و یا طویل (مانند انواع رومن) می‌باشند. گاهی دارای روزت ایستاده یا پهن هستند. ممکن است لبه برگ‌ها صاف یا چین‌دار باشند. برگ‌های آن به رنگ سبز یا زرد دیده می‌شوند و گاهی دارای آنتوسیانین هستند.

L. sativa (Latin) کاهو لاتین ۱-۳-۱-۲

این نوع کاهو Grasse هم نامیده می‌شود و دارای منشا اروپایی می‌باشد. این نوع کاهو در آمریکای جنوبی و نواحی کوچکی از آمریکا کشت می‌شود. ساختار ایستاده و برگ‌های طویل آن شبیه انواع کاهوی رومن است، اما برگ‌ها کوتاه‌تر هستند. بافت برگ آن نرم بوده و شبیه انواع کاهو باترهد نوع بیب می‌باشد، اما گاهی ضخیم می‌شوند و برخی رقم‌ها برگ‌های چرمی دارند.

L. sativa var. asparagina (Stem) کاهو ساقه‌ای ۱-۳-۱-۳

کاهو ساقه‌ای به عنوان کاهوی Celtuce یا کاهو مارچوبه‌ای معروف است. همچنان که از نام آن پیداست برای تولید ساقه کاشته می‌شود. برگ‌های آن بلند و ممکن است کاملاً باریک یا مانند انواع برگ‌های رومن پهن باشد که در این نوع کاهو هد تشکیل نمی‌شود.

L. indica کاهو هندی ۱-۳-۱-۴

کاهو هندی گیاهی چند ساله و بومی کشورهای آسیایی می‌باشد و در چین، ژاپن و برخی کشورهای جنوب شرقی آسیا کشت می‌شود.

۱-۳-۲-۵ کاهو بذر روغنی (*L. serriola* (Oil-seed))

گروهی از کاهوها هستند که از مرحله رزتی خیلی سریع وارد مرحله زایشی می‌شوند، اما دارای ویژگی‌هایی هستند که شبیه انواع اولیه *L. sativa* می‌باشد. این نوع کاهو برگ‌های بزرگ و باریک تولید می‌کند و سریع به مرحله گلدهی می‌رسند (حسن‌دخت ۱۳۹۱، دانشور ۱۳۷۹).

۱-۴ ارزش غذایی و دارویی

کاهو منبع غنی ویتامین A، C، مواد معدنی مانند کلسیم، آهن، سدیم، فسفر، ترکیبات فنولی و دارای مواد ضروری برای سلامت انسان می‌باشد. به علاوه به علت دارا بودن سلولز زیاد حرکت دودی روده‌ها را نیز آسان می‌سازد. در رژیم‌های لاغری به علت کالری بسیار کمی که دارد، مصرف اولیه و تازه آن توصیه می‌شود. ترکیب شیمیایی کاهو بسته به نوع، رقم و شرایط محیطی منطقه کشت متفاوت است و دارای برخی از خواص درمانی، ضد اسپاسم، ملین، ضد نفخ، خلط‌آور، آرام‌بخش، خواب‌آور، ضد درد و اشتهاآور می‌باشد. همچنین در پیشگیری از یبوست و سرطان‌های دستگاه گوارش و کاهش خطر عوارض قلبی و عروقی موثر است (پیوست ۱۳۸۸، دانشور ۱۳۷۹، مولا باگال و همکاران ۲۰۱۰).

۱-۵ تولید و عملکرد

آسیا، آمریکای شمالی و اروپا به ترتیب مقام‌های اول تا سوم تولید کاهوی جهان را به خود اختصاص داده‌اند. چین از نظر تولید و آمریکا از نظر میزان عملکرد در واحد سطح، مقام اول را دارند. کشت کاهو جهانی و یکی از مهم‌ترین سبزیجات مصرفی در جهان است. امروزه بیشترین مصرف کننده‌های برگ گیاه در برزیل هستند و چیزی بالغ بر ۳۰۰۰۰ هکتار در آنجا (سائوپائولو) کشت می‌شود (حسن‌دخت ۱۳۹۱، پاوان و همکاران ۲۰۰۸).

استرالیا، ژاپن و فلسطین اشغالی تولید کنندگان مهم کاهو هستند. مقادیر کمتری در چند کشور آمریکای جنوبی و مرکزی، آفریقا و چین تولید می‌شوند (ادواردجی ۱۳۹۱). با توجه به بازار جهانی دو کشور اسپانیا و ایتالیا ۹٪ مسئول تولید جهانی کاهو هستند. اسپانیا، ایتالیا، ترکیه و فرانسه نیز از تولید

کنندگان مهم کاهو در حوزه مدیترانه هستند. عملکرد تولید این محصول در این کشورها تقریباً ۳ میلیون تن در سال است (یوروستات ۲۰۱۲).

سطح زیرکشت کاهو در ایران ۱۳ هزار هکتار، تولید ۴۰۳ هزار تن و متوسط عملکرد ۳۲ تن در هکتار می‌باشد و در استان گلستان سطح زیر کشت کاهو تقریباً ۷۰۰ - ۸۰۰ هکتار است (بی‌نام ۱۳۹۱). یکی از چالش‌های مهم در تولید سبزی‌ها، اطمینان از بازار فروش و امکان تأمین مداوم محصول در طول سال است (جوانمردی ۱۳۸۹، حسندخت ۱۳۹۱).

۶-۱ شرایط آب و هوایی

کاهو بهترین رشد و نمو را در آب و هوای معتدل دارد و در مناطقی که متوسط دمای ماهیانه بین ۱۲ تا ۱۵ درجه سانتی‌گراد است به خوبی پرورش می‌یابد. جهت رشد بهینه، کاهو مقدار زیادی نور طلب می‌کند ولی دما نباید بیش از حد متعارف باشد، اگر دما بالا باشد برگ‌های آن شروع به نوک سوختگی می‌کند. نسبت به سرما مقاوم است و می‌تواند دمای حدود صفر و یا کمی پایین‌تر را تحمل کند (پیوست ۱۳۸۸).

۷-۱ شرایط رشدی

خاک‌های نیمه سنگین همراه با مواد هوموسی که دارای نفوذپذیری مناسب و ظرفیت نگهداری بالای آب و خاک‌هایی با زهکشی کافی (خاک‌های لومی شنی و یا لومی رسی یا خاک‌های آلی) برای کشت کاهو مطلوب هستند. در این بین خاک‌های شنی لومی و سیلتی لومی به شرط آن که از نظر مواد آلی کاملاً غنی باشد نسبت به سایر خاک‌ها ارجحیت دارد. مناسب‌ترین pH خاک برای زراعت کاهو بین ۷/۵ تا ۵/۵ است (پیوست ۱۳۸۸). کاهو به فشردگی و اسیدیته خاک حساس است و در خاک‌های معدنی، pH باید بالاتر از ۵/۵ باشد و محدوده ۷/۲ - ۶/۵ برای آن قابل قبول است. در ۵/۵ - pH=۵/۲ علائم مسمومیت آلومینیوم و آهن و علائم کمبود کلسیم، فسفر، منیزیم و مولیبدن مشاهده می‌شود. شوری زیاد خاک باعث پفی شدن^۱ و چرمی شدن^۲ برگ‌های بیرونی و تلخ شدن گیاهان

^۱ . Puffiness

^۲ . Thick leathery

می‌شود (حسن‌دخت ۱۳۹۱). می‌توان حاصلخیزی و ساختار خاک را از طریق افزودن کودهای آلی بهبود داد. کود حیوانی لازم، به نوع زمین و میزان کود داده شده در کشت‌های قبلی بستگی دارد و باید یکی دو ماه قبل از زمان کاشت به زمین استفاده گردد و به وسیله دیسک به زیر خاک برده می‌شود. برای صرفه جویی در مصرف کودهای حیوانی می‌توان با کشت کودهای سبز، از قبیل یونجه، شبدر، سوژا و انواع لوبیا به مقدار زیادی مواد آلی و هوموس خاک را تامین نمود. علاوه بر کود نیترا ته از کودهای فسفره و پتاسیمی نیز استفاده می‌شود. در زمین‌های فقیر باید مقدار بیشتری کود به زمین داده شود. آبیاری کم عمق با دفعات زیاد بهتر از آبیاری عمیق با دفعات کمتر است. مرطوب نگه‌داشتن سطح بستر برای مدت طولانی از اهمیت زیادی برای تولید کاهو برخوردار است (جوانمردی ۱۳۸۹، دانشور ۱۳۷۹).

۸-۱ آفات و بیماری‌ها

خوشبختانه کاهو مورد حمله تعداد محدودی حشره قرار می‌گیرد که از جمله مهم‌ترین آن‌ها شته و تریپس را می‌توان نام برد. آگروتیس، پرودنیا، کارادرینا، حلزون و کرم‌های طوقه‌بر نیز که در صورت وجود، داخل خاک به سر می‌برند. بهترین روش غیرشیمیایی کندن بوته‌های آلوده از مزارع مجاور و از بین بردن کرم‌ها است. انواع سموم شیمیایی مانند مالاتیون، دیازینون، توکسافن و کارباریل در دفع این آفات موثر هستند (دانشور، ۱۳۷۹).

از مهم‌ترین بیماری‌های قارچی می‌توان سفیدک دروغی، پوسیدگی اسکروتینیایی، کپک خاکستری و از بیماری‌های ویروسی کاهو، موزاییک کاهو (LMV)، رگبرگ درشتی، زردی چغندر غربی، زردی و کلروز کاهو، ویروس پژمردگی نقطه‌ای گوجه‌فرنگی (TSWV) و را نام برد (ادواردجی، ۱۳۹۱). سایر بیماری‌های ویروسی گزارش شده از گیاه کاهو به شرح زیر است GRSV, Levx, RUCMV, ArMV, TNV, LNYV, LCV, LIYV, CMV, Bimv, LeMOV, LBV_aV, MLBVV و BWYV. INSV, TuMV که انتقال این ویروس‌ها اغلب توسط شته‌ها صورت می‌گیرد (دیزجی و همکاران، ۱۳۸۶، محمد بیگی و همکاران، ۱۳۹۱، عبد الوهاب، ۲۰۱۲، پاون و همکاران، ۲۰۰۸).

۹-۱ فرضیه‌ها

- ۱- ویروس LMV در مزارع کاهو منطقه گرگان وجود دارد.
- ۲- ممکن است جدایه‌های جدیدی در منطقه وجود داشته باشد.

۱۰-۱ اهداف

- ۱- ردیابی ویروس موزاییک کاهو در منطقه گرگان
- ۲- تعیین توالی نوکلئوتیدی ژن پروتئین پوششی ویروس و مقایسه آن با سایر جدایه‌های ویروس موجود در بانک ژن
- ۳- رسم درخت فیلوژنتیکی جدایه منطقه گرگان و مقایسه آن با سایر جدایه‌های دنیا

فصل دوم

بررسی منابع