بسم الله الرحمن الرحيم

دانشکده کشاورزی
بخش گیاهپزشکی

پایان نامه تحصیلی برای دریافت درجه کارشناسی ارشد رشته مهندسی گیاهپزشکی گرایش بیماری شناسی گیاهی

تعیین خصوصیات مولکولی تعدادی از جدایه‌های ایرانی ویروس V سیب زمینی

مؤلف:
سکینه مرادی

استاد راهنما:
دکتر حسین معصومی

اساتید مشاور:
دکتر جهانگیر حیدرنژاد
دکتر اکبر حسینی پور

شهریور ۱۳۹۲

این پایان نامه به عنوان یکی از شرایط درجه کارشناسی ارشد به

بخش گیاهپزشکی
دانشکده کشاورزی
دانشگاه شهید باهنر کرمان

تسلیم شده است و هیچگونه مدرکی به عنوان فراغت از تحصیل دوره مذبور شناخته نمی‌شود.

دانشجو: سکینه مرادی

استادراهنما: دکتر حسین معصومی

استادمشاور اول: دکتر جهانگیر حیدرنژاد

استاد مشاور دوم: دکتر اکبر حسینی پور

داور اول: دکترحمید محمدی

داور دوم: دکتر مهدیه اسدی

نماینده تحصیلات تکمیلی دانشکده در جلسه دفاع: دکتر جعفر ذوالعلی

معونت پژوهشی و تحصیلات تکمیلی دانشکده: دکتر مجید رحیم پور

حق چاپ محفوظ و مخصوص به دانشگاه شهید باهنر کرمان است

تقدیم به:

ایزدیکتا

وآشکار است این حقیقت که:

طبیعت سرتاسر هنر است

وبی‌نقض است،

هرآنچه که آفریده‌ی خداست.

تقدیم به:

پدرومادر گرانقدرم

که وجود سبزشان امید راهم است،

عشق و صبوریشان دلیل راهم و

امروز من، حاصل عمر آنهاست.

تقدیم به:

همسر عزیزم جناب آقای دکتر احمد پوراکبری

تقدیم به:

برادرعزیزم سعید

و خواهران مهربانم

تشکروقدردانی:

سپاس و ستایش بر خدای جل و جلاله که آثار قدرت او بر چهره روز روشن، تابان است و انوار حکمت او در دل شب تار، درخشان. آفریدگاری که خویشتن را به ما شناساند و درهای علم را بر ما گشود و عمری و فرصتی عطا فرمود تا بدان، بنده ضعیف خویش را در طریق علم و معرفت بیازماید.

از خانواده عزیزم که لذت و غرور دانستن، جسارت خواستن، عظمت رسیدن و تمام تجربه‌های یکتا و زیبای زندگیم مدیون حضور سبز آنهاست، بسیار سپاسگذارم.
از همسر عزیزم، به پاس تمام خوبیهایش، به پاس عاطفه سرشار و گرمای امید بخش وجودش و به پاس محبت های بی دریغش که هرگز فروکش نمی‌کند، کمال سپاسگذاری را دارم.

ازاستاد بزرگوارم جناب آقای دکترحسین معصومی که صبورانه خطاهای من را بردباری نمودند و راهنما و پشتیبان بزرگی در جهت رفع مشکلات این مسیر بودند و زحمت راهنمایی این تحقیق را برعهده داشتند سپاسگزارم. و شاگردی من نزد ایشان برای بنده بسی افتخار بود. به امید روزی که بتوانم قسمتی از حق شاگردی خود را نزد این استاد بزرگوار و مهربان ادا کنم.

ازاساتید ارجمند جناب آقای دکتر اکبر حسینی پور و دکتر جهانگیر حیدرنژاد از ارشادات مفیدشان در مقام مشاور کمال استفاده را نموده‌ام تشکر می‌نمایم.

از اساتید بزرگوار جناب آقای دکتر حمید محمدی وخانم دکتر مهدیه اسدی که بزرگوارانه زحمت داوری این تحقیق را پذیرفتند بسیار سپاسگزارم.
به پاس کسب دانش از محضر تمامی اساتید بخش گیاهپزشکی دانشگاه شهید با هنرکرمان مراتب قدردانی خود را تقدیم می‌دارم.
با سپاس از جناب آقای مهندس مداحیان و از بهترین و صمیمانه‌ترین دوستانم که به تعبیر سهراب " بهتر از آب روان اند" سرکار خانم مهندس سارا داور، سرکار خانم مهندس شبنم پیشیار، سرکار خانم مهندس پریسا حسن شیخی، سرکار خانم مهندس فائزه مرتضوی و سرکار خانم مهندس سارا سامی، متشکرم. زحمات همه عزیزانی را که بنده را به نوعی یاری فرمودند و مجال نام بردنشان در این مقال نمی گنجد ارج می‌نهم.
در پایان سلام و درود می دارم بر روان پاک اسطوره ایمان، عشق و عمل، شادروان مهندس افضلی پور

چکیده

ویروس V سیب‌زمینی (PVV) از جنس پوتی‌ویروس بوده و یکی از سه پوتی ویروس مهم آلوده کننده سیب زمینی در اروپا می باشد، اما مطالعات مولکولی کمی بر روی این ویروس انجام گردیده است. علی رغم کشت وسیع رقم‌های سیب‌زمینی در ایران، ارزیابی مشخصی نسبت به آلودگی ارقام مختلف به PVV انجام نگردیده است. به منظور شناسایی، تعیین پراکنش و برخی از مشخصات مولکولی جدایه‌های ایرانی این ویروس، طی فصول زراعی سال‌های۱۳۸۹ لغایت ۱۳۹۱ از مزارع سیب‌زمینی استان‌های کرمان، هرمزگان، اصفهان، فارس، همدان، اردبیل، آذربایجان شرقی، آذربایجان غربی و خراسان شمالی تعداد ۱۱۸۹ نمونه گیاهی دارای علائم ویروسی نمونه‌برداری به عمل آمد. جهت تشخیص آلودگی ویروسی نسبت به PVV از آزمون ساندویچ دو طرفه الایزا استفاده گردید. نتایج به‌دست‌آمده از این آزمون بیانگر گسترش بسیار-محدود ویروس در ارقام مختلف سیب‌زمینی به جز رقم بومی زردی در استان کرمان می باشد. به نحوی‌که از میان ۱۸۱ نمونه گیاه سیب زمینی رقم زردی جمع‌آوری شده از منطقه دشت خاک شهرستان زرند تعداد ۲۶ نمونه آلودگی به PVV را نشان دادند. علائم PVV برروی این رقم بومی به صورت تاولی شدن سطح برگها و موزائیک شدید بود. دلیل این آلودگی بالا نسبت به PVV در این منطقه می تواند کشت رقم بومی زردی و حساسیت بالای این رقم به‌PVV باشد. به منظور مطالعات مولکولی وتعیین جایگاه تکاملی جدایه‌های ایرانیPVV چهار جدایه از این ویروس انتخاب و آر ان ای کل از گیاه آلوده جداسازی و مورد مطالعات مولکولی قرار گرفت. بر پایه دندروگرام رسم شده جدایه‌های مورد بررسی در سه گروه فیلوژنتیکی قرار گرفته که گروه I شامل جدایه‌های گزارش شده از کشورهای اروپایی و گروه III شامل دو جدایه از کشور پرو می‌باشد. تمامی جدایه‌های ایرانیPVV از دیگر جدایه‌های گزارش شده در دنیا مجزا گشته و گروه فیلوژنتیکیII را تشکیل دادند. همچنین بر پایه درخت فیلوژنتیکی رسم شده بر اساس توالی ژن P1 جدایه ایرانیKER.LAL.P و دیگر جدایه‌های موجود در بانک ژن، جدایه‌هایPVV به دو گروه اصلیI و II تقسیم می‌گردند در گروه II فقط جدایه هایPA1.1 و PA1.0 از کشور پرو قرار می‌گیرند، که از جدایه‌های اروپایی گروه I مجزا می‌گردند. جدایه ایرانی KER.LAL.P نیز از دیگر جدایه‌های موجود مجزا می‌گردد. با توجه به نتایج بدست آمده جدایه‌های اروپایی و پرو PVV بر پایه بررسی هر کدام از ژن هایCP و P1 در دو گروه مجزا قرار می‌گیرند و جدایه‌های ایرانی نیز از دیگر جدایه‌ها مجزا می گردند. این گروه‌بندی جغرافیایی بیانگر آن است، که جابجایی های بین قاره‌ای مواد گیاهی یا ناقلین ویروسی آلوده به

PVV اهمیت زیادی در گسترش این ویروس در سراسر جهان نداشته است. نتایج این بررسی بیانگر آنست که PVV دارای انتشار محدودی در ارقام تجاری سیب‌زمینی در مزارع ایران می‌باشد. با این وجود، یک رقم محلی با آلودگی بالا نسبت به PVV ردیابی گردید. دلیل آلودگی پائین ارقام تجاری سیب زمینی به PVV در ایران احتمالا می‌تواند وجود ژن‌های مقاوم علیه این ویروس و عدم وجود این ژن‌ها در رقم بومی زردی و در نتیجه آلودگی بالای این رقم باشد، که این موضوع نیاز به بررسی‌های بیشتر و تکمیلی دارد.

واژگان کلیدی: ویروس V سیب‌زمینی، رقم بومی، DAS-ELISA، پروتئین پوششی، جایگاه تکاملی

فهرست مطالب صفحه

فصل اول: مقدمه

۱-۱- معرفی گیاه سیب‌زمینی ۱
۱-۱-۱-مشخصات گیاه شناسی سیب زمینی ۱
۱-۲- منشأ سیب‌زمینی ۱
۱-۳- سیب زمینی در جهان ۲
۱-۴- سیب زمینی در ایران ۲
۱-۵- ارزش غذایی سیب زمینی ۲
۱-۶- ارقام سیب زمینی ۳
۱-۷- بیماری‌های سیب‌زمینی ۳
۱-۷-۱- بیماری‌های ویروسی سیب‌زمینی ۴
۱-۷-۱- ۱- تاریخچه، انتشار و اهمیت بیماری های ویروسی سیب زمینی در جهان و ایران ۴
۱-۷-۱- ۲- ویروس Y سیب‌زمینی (*Potato VirusY*, PVY) ۴
۱-۷-۱- ۳- ویروس A سیب‌زمینی (*Potato virus A*, PVA) ۵
۱-۷-۱- ۴- ویروس M سیب‌زمینی (*Potato virus M*, PVM) ۵
۱-۷-۱- ۵- ویروس S سیب‌زمینی (*Potato virus S*, PVS) ۵
۱-۷-۱- ۶- ویروس X سیب‌زمینی(*Potato virus X*, PVX) ۶
۱-۷-۱-۷- ویروس لوله‌ای شدن برگ سیب‌زمینی (*Potato leaf roll virus*, PLRV) ۶
۱-۷-۱-۸- ویروس V سیب‌زمینی (*Potato virus V* , PVV) ۶

فصل دوم: مروری برمنابع

۲-۱- خانواده Potyviridae ۸
۲-۲- عملکرد ژن‌ها در خانواده Potyviridae ۹
۲-۲-۱- پروتئین P1 ۹
۲-۲-۲- Helper component protein (HC-Pro) ۹
۲-۲-۳- پروتئینP3 ۱۰
۲-۲-۴- Cylindrical inclusion protein (CI) ۱۰
۲-۲-۵- 6K proteins ۱۰
۲-۲-۶- Genome – linked viral protein (VPg) ۱۱

۲-۲-۷-Small nuclear inclusion protein (NIa) ۱۱
۲-۲-۸- Large nuclear inclusion protein(NIb) ۱۱
۲-۲-۹- Coat protein (CP) ۱۲
۲-۳- ویروس V سیب‌زمینی در جهان ۱۲
۲-۴- ویروس V سیب‌زمینی در ایران ۱۳
۲-۵- مشخصات ویروس V سیب‌زمینی ۱۳
۲-۶- رابطه سرولوژیکی ویروس V سیب‌زمینی (PVV) با سایر ویروس‌ها ۱۴
۲-۷- دامنه میزبانی PVV ۱۴
۲-۷-۱- میزبان‌های تکثیری ۱۵
۲-۷-۲- میز بانهای تشخیصی PVV ۱۵
۲-۸- نژادهای PVV ۱۵
۲-۹- انتقال PVV ۱۵
۲-۱۰- هدف از بررسی ۱۶

فصل سوم: مواد و روش‌ها

۳-۱- نمونه برداری از مزارع سیب‌زمینی ۱۷
۳-۲- آزمون الایزا ۱۷
۳-۲-۱- مراحل الایزای ساندویچ دو طرفه ۱۷
۳-۲-۲- بافرهای مورد استفاده در آزمون‌های الایزا ۱۸
۳-۳- نگهداری و تکثیر جدایه‌های PVV جهت مطالعات مولکولی ۱۹
۳-۳-۱- بافر فسفات ۰/۱ مولار pH= ۷ ۲۰
۳-۴- مطالعات مولکولی ۲۰
۳-۴-۱- استخراج Total RNA با استفاده از کیت High pure viral nucleic acid ۲۰
۳-۴-۲- آزمون واکنش زنجیره ای پلیمراز به روش نسخه برداری معکوس ۲۲
۳-۴-۲-۱- مرحله سنتز cDNA ۲۲
۳-۴-۲-۲- مراحل آزمون PCR ۲۲
۳-۴-۳- آغازگرهای اختصاصی مورد استفاده جهت تکثیر ژن پروتئین پوششی جدایه-های PVV ۲۳

۳-۴-۴- الکتروفورزافقی ۲۳
۳-۴-۴-۱- تهیه بافر TBE ۲۳
۳-۴-۴-۲- آماده سازی نشانگر مولکولی ۲۳
۳-۵- همسانه سازی و تعیین توالی ژن پروتئین پوششی جدایه‌های مختلف PVV ۲۴
۳-۵-۱- قراردادن قطعه DNA موردنظر درون ناقل (Ligation) ۲۴
۳-۵-۱-۱- خالص سازی محصول پی.سی.آر ۲۴
۳-۵-۲- مراحل آماده سازی باکتری جهت عمل ترنسفورماسیون (Transformation) ۲۵
۳-۵-۲-۱-کشت باکتری *Escherichia coli* برروی محیط کشت جامد LB (Luria Bertani) ۲۵
۳-۵-۲-۲-کشت باکتری *E.coli* در محیط مایع C-medium ۲۵
۳-۵-۲-۳- تهیه سلولهای مستعد (competent cell) باکتری *E.coli* ۲۶
۳-۵-۳- انتقال پلاسمید نوترکیب به درون باکتری E.coli (Transformation) ۲۶
۳-۵-۴- محیط کشت جامد حاوی آمپی سیلین، IPTG و X-gal ۲۷
۳-۵-۵- انتخاب پرگنه جهت استخراج پلاسمید نوترکیب ۲۷
۳-۵-۶- استخراج پلاسمید نوترکیب از باکتری توسط روش Boiling ۲۷
۳-۵-۷- استخراج پلاسمید نوترکیب از باکتری با استفاده از کیت ۲۸
۳-۵-۷-۱- مواد تشکیل دهنده بافرهای استفاده شده در استخراج پلاسمید ۲۹
۳-۵-۸- هضم آنزیمی پلاسمید (Digestion) ۲۹
۳-۵-۹- انجام الکتروفورز جهت بررسی صحت انجام عمل هضم آنزیمی پلاسمید و همسانه سازی ۲۹
۳-۶- نگهداری باکتری حاوی پلاسمید نوترکیب ۳۰
۳-۷-آماده سازی نمونه‌ها به منظور تعیین توالی نوکلئوتیدی ۳۰
۳-۸- تعیین ترادف قطعه ژن پروتئین پوششی جدایه‌های ایرانی PVV و مقایسه آن‌ها با سایر جدایه‌های موجود در بانک ژن ۳۰

فصل چهارم: نتایج

۴-۱- شناسایی وتعیین پراکنش ویروس V سیب‌زمینی (PVV) درمزارع ایران ۳۲
۴-۲- استخراج Total RNA و آزمون RT – PCR ۳۳

۴-۳- همسانه سازی جدایه‌های PVV ۳۳
۴-۴- تعیین تنوع ژنتیکی جدایه‌های PVV در ایران ۳۴

فصل پنجم: بحث

۵-۱- بحث ۳۵
منابع ۳۹
فصل ششم
فهرست جداول

جدول ۱-۱- مهمترین ویروس‌های آلوده کننده سیب‌زمینی ۴۷
جدول ۲-۱- واکنش گیاهان آزمون نسبت به PVV ۴۷
جدول ۳-۱- مناطق نمونه برداری شده در ایران به منظور شناسایی و تعیین پراکنش PVV ۴۸
جدول۳-۲- مواد لازم جهت ساختن cDNA در مرحله RT ۴۸
جدول ۳-۳- مواد لازم جهت انجام آزمون PCR در یک واکنش ۵۰ میکرولیتری ۴۹
جدول ۳-۴- خصوصیات آغازگر مورد استفاده جهت تکثیر قطعه ژن پروتئین پوششی جدایه‌های مختلف PVV ۴۹
جدول ۳-۵- مواد مورد نیاز جهت انجام واکنش Ligation ۵۰
جدول ۳-۶- مواد مورد نیاز جهت تهیه ۱۰۰ میلی لیترمحیط کشت جامد ۵۰
جدول ۳-۷- مواد و مقادیر مورد نیاز جهت تهیه ۱۰۰ میلی‌لیتر STET ۵۰
جدول ۳-۸- مواد لازم جهت تهیه Suspension buffer ۵۱
جدول ۳-۹- مواد لازم جهت تهیه Lysis Buffer ۵۱
جدول ۳-۱۰- مواد لازم جهت تهیه Binding buffer ۵۱
جدول ۳-۱۱- مواد لازم جهت تهیه بافرشستشو (Wash buffer I) ۵۱
جدول ۳-۱۲- مواد لازم جهت تهیه بافرشستشو (Wash buffer II) ۵۱
جدول ۳-۱۳- مواد لازم جهت تهیهElution buffer ۵۲
جدول ۳-۱۴- جدول مواد مورد نیاز جهت عمل هضم آنزیمی ۵۳
جدول۴-۱- میزان آلودگی ویروسی مزارع سیب‌زمینی استان کرمان نسبت به PVV ۵۳
جدول۴-۲- میزان آلودگی ویروسی مزارع سیب‌زمینی استان همدان نسبت به PVV ۵۳
جدول ۴-۳- میزان آلودگی ویروسی مزارع سیب‌زمینی استان فارس نسبت به ۵۳

PVV
جدول ۴-۴- میزان آلودگی ویروسی مزارع سیب‌زمینی استان اصفهان نسبت به PVV ۵۴
جدول ۴-۵- میزان آلودگی ویروسی مزارع سیب‌زمینی استان هرمزگان نسبت به PVV ۵۴
جدول ۴-۶- میزان آلودگی ویروسی مزارع سیب‌زمینی استان اردبیل نسبت به PVV ۵۵
جدول ۴-۷- میزان آلودگی ویروسی مزارع سیب‌زمینی استان آذربایجان غربی نسبت به PVV ۵۵
جدول ۴-۸- میزان آلودگی ویروسی مزارع سیب‌زمینی استان آذربایجان شرقی نسبت به PVV ۵۶
جدول ۴-۹- میزان آلودگی ویروسی مزارع سیب‌زمینی استان خراسان شمالی نسبت به PVV ۵۶
جدول ۴-۱۰- نام جدایه‌های ایرانی ویروس V سیب‌زمینی (PVV) به همراه مناطق جمع‌آوری آن‌ها ۵۷
جدول ۴-۱۱- جدایه‌های مورد بررسی PVV موجود در بانک ژن جهت مقایسه و رسم دندروگرام و تعیین جایگاه فیلوژنتیکی جدایه‌های ایرانی PVV ۵۸
جدول ۴-۱۲- درصد تشابه ترادف‌های نوکلئوتیدی و اسیدهای آمینه ژن CP جدایه‌های مختلف PVV گزارش شده در دنیا و جدایه‌های ایرانی مورد بررسی در این تحقیق ۵۹

فهرست اشکال

شکل ۴-۱- علائم موزائیک، تاولی و رگبرگ روشنی بر روی رقم سیب‌زمینی آلوده به PVV جمع‌آوری شده از مزارع سیب‌زمینی منطقه دشت خاک شهرستان زرند استان کرمان ۶۰
شکل ۴-۲- علائم بدشکلی و تاولی بر روی گیاه سیب‌زمینی آلوده به PVV جمع‌آوری شده از مزارع سیب‌زمینی منطقه دشت خاک شهرستان زرند استان کرمان ۶۰
شکل ۴-۳- الکتروفورز محصول PCR تکثیر شده با آغازگرهای PVV-F و PVV-R و تشکیل باند ۸۲۰ جفت بازی در ژل آگاروز ۶۱
شکل ۴-۴- الکتروفورز پلاسمید نوترکیب حاوی قطعه ژن پروتئین پوششی جدایه‌های PVV هضم شده با آنزیم‌های *Pst*I و *Eco*RI و تشکیل باند ۸۲۰ جفت بازی درون ژل آگاروز ۱٪ ۶۲
شکل ۴-۵- درخت فیلوژنتیکی رسم شده با استفاده ازتوالی اسید نوکلئیک ژن CP جدایه‌های ایرانی PVV و دیگر جدایه‌های ثبت شده در بانک ژن ۶۳

شکل ۵-۱- درخت فیلوژنتیکی رسم شده با استفاده ازتوالی اسید نوکلئیک ژن P1 جدایه ایرانی PVV و دیگر جدایه‌های ثبت شده در بانک ژن ۶۴

فصل اول

مقدمه

۱-۱- معرفی گیاه سیب زمینی

سیب زمینی(Potato) با اسم علمی*Solanum tuberosum* متعلق به خانواده Solanaceae است، و یکی از مهمترین گیاهان دو لپه‌ای در تغذیه انسان می‌باشد. این محصول در جهان از نظر اهمیت در مقام پنجم و بعد از محصولاتی چون گندم، برنج، ذرت وجو قرار دارد. سیب زمینی بعد از ذرت، دارای گسترده ترین توزیع در دنیا می‌باشد (هوکر، ۱۳۷۹).

۱-۱-۱-مشخصات گیاهشناسی سیب‌زمینی

سیب زمینی گیاهی است یکساله که به طریقه غیرجنسی با تولید غده و به روش جنسی با تولید بذر حقیقی تکثیر می گردد. ساقه سیب‌زمینی منشعب و کرکدار است، ارتفاع این گیاه به ۳۰ تا ۶۰ سانتیمتر می رسد. برگ‌های آن کمی کرکدار و هر برگ مرکب دارای ۴ برگچه یا بیشتر می باشد. رنگ گل‌ها متفاوت است ولی بیشتر به رنگ سفید، سرخ، کبود و ارغوانی دیده می-شود. ریزوم‌ها که از ساقه‌های زیرزمینی گیاه به وجود می‌آیند، غالباً از نظر طول متفاوت بوده و طول آن‌ها بین ۵ تا ۱۰ سانتی‌متر است. غده‌ها در انتهای ریزوم‌ها رشد می‌کنند و در حقیقت ساقه‌های تغییر شکل یافته هستند. هر چشم غده دارای سه یا بیشتر جوانه است و زمانی که سیب زمینی کشت می‌شود و یا در انبار جوانه می‌زند، از این جوانه‌ها گیاهان جدید به وجود می‌آیند (خواجه پور، ۱۳۸۵).

۱-۲- منشأ سیب‌زمینی

به عقیده اسکات سرخپوستان اینکا اولین بار سیب‌زمینی را در ۲۰۰ سال قبل از میلاد کشف نمودند. در سال ۱۵۳۷ جنگ جویان آسیایی به کشت آن بوسیله سرخپوستان اینکا که آن را «پایا» می‌نامیدند، واقف شدند. این محصول سپس وارد اسپانیا و از آنجا به ایتالیا وسایر نقاط اروپای مرکزی انتشار یافت و بتدریج بصورت یک محصول غذایی اصلی در اروپا درآمد. سیب زمینی در سال ۱۷۱۹ از ایرلند وارد ایالات متحده شد و نخستین بار در لاندون دری در ایالت همشایرکشت گردید (ریچ، ۱۳۷۰). مبدأ سیب زمینی در کوهستان‌های آمریکای جنوبی است که در آن مکان از دیرباز به عنوان یک محصول مهم غذایی مطرح بوده است. در قرن شانزدهم میلادی، سیب زمینی به اروپا وارد شد و بتدریج به صورت یک محصول مهم غذایی درآمد و از طریق اسپانیا و ایرلند به سایر نقاط جهان گسترش یافته است. در قرن ۱۸ و ۱۹ میلادی در کشورهای مختلف اروپایی سیب زمینی به طور گسترده برای تولید پوره سیب‌زمینی مورد استفاده قرار گرفت. در آمریکای شمالی نیز، در جایی که مهاجران از اروپا، غده‌های سیب‌زمینی را با

خود آورده بودند، این محصول جای خود را در میان سایر محصولات پیدا کرد. در طی قرن نوزدهم سیب‌زمینی عمدتاً توسط استعمارگران از اروپا به چند کشور گرمسیری و نیم گرمسیری وارد شد.کشورهای چین، روسیه، اکراین، هند، لهستان و آمریکا از لحاظ سطح زیر کشت به ترتیب مهمترین تولیدکنندگان سیب زمینی درجهان به شمار می روند (رضایی و همکاران، ۱۳۷۵).

۱-۳- سیب زمینی در جهان

در کشورهای صنعتی بیشترین تولید در مناطق معتدله، متمرکز می‌باشد. تقریباً یک سوم این محصول در کشورهای در حال توسعه، عمدتاً درکشورهای آسیایی تولید می‌شود (خواجه پور، ۱۳۸۵). در طول دهه گذشته، کل مساحت زیر کشت سیب‌زمینی در جهان از جمله در اروپای غربی اندکی کاهش یافته، اما در کشورهای آسیایی با اقتصاد متمرکز نسبتاً ثابت مانده و در کشورهای در حال توسعه به استثنای آمریکای لاتین به طور قابل ملاحظه ای افزایش یافته است. بیشترین افزایش تولید این محصول در آسیا و آفریقا دیده می‌شود و کشور چین بزرگترین تولید کننده سیب‌زمینی در جهان است. بر اساس گزارش فائو، سطح زیر کشت سیب زمینی درجهان طی سال ۲۰۱۲ حدود ۱۹۳۲۱۱۹۸ هکتار با عملکرد ۳۶۸۳۷۴۱۱۲ تن بوده است (FAO, 2012).

۱-۴- سیب زمینی در ایران

احتمالا سیب زمینی در قرن هفدهم به ایران وارد گردیده است (خواجه پور، ۱۳۸۵). سیب زمینی در ایران چهارمین گیاه زراعی از لحاظ تولید بعد از گندم، ذرت و برنج می‌باشد (کوچکی و همکاران، ۱۳۶۹). در ایران استان‌های همدان، زنجان،آذربایجان‌شرقی و غربی، اردبیل، اصفهان، فارس، کرمان، خراسان و سمنان دارای بیشترین سطح زیر کشت سیب‌زمینی می‌باشند. به علاوه اینکه تولید سیب‌زمینی دیم در استان‌های مازندران، گیلان و سمنان انجام می‌شود (خواجه پور، ۱۳۸۵).

۱-۵- ارزش غذایی سیب زمینی

غده‌های سیب زمینی حاوی ۶۳ تا ۸۰ درصد آب، ۱۲ تا ۳۰ درصد نشاسته، ۱/۵ تا ۲ درصد پروتئین و ۲ تا ۳ درصد الیاف و مواد معدنی هستند. ارزش غذایی سیب زمینی اولاً به این علت است که غده‌ها سرشار از نشاسته هستند و ثانیاً منبع با اهمیتی برای ویتامین ث می‌باشد. مواد تشکیل‌دهنده‌ی سیب‌زمینی بسته به نوع رقم، نوع زمین، روش کشت، میزان کود، میزان رسیدگی

غده و شرایط انباری متفاوت است. در سیب‌زمینی مقادیر زیادی ویتامین مثل ویتامین‌های، A، B_1، B_2 و C وجود دارد. همچنین پتاس در سیب‌زمینی به حد کافی موجود است. مواد رنگی، اسیدهای آلی، هورمون‌ها و دیاستاز وجود دارد. مقدار ویتامین C در سیب‌زمینی بیش از سایر ویتامین ها و مواد معدنی در آن می‌باشد (هوکر، ۱۳۷۹). به دلیل داشتن اهمیت اساسی سیب‌زمینی به عنوان منبع غذایی و یک منبع درآمد برای بسیاری از کشورها در سراسر جهان، ایالات متحده، سال ۲۰۰۸ را به عنوان سال بین المللی سیب‌زمینی نامید (Al-Mrabeh, 2010).

۱-۶- ارقام سیب‌زمینی

از ارقام تجاری مختلف سیب‌زمینی به آگریا، مارفونا، مارادونا، پی کاسو، کوزیما، سانته، دیانت، کاسر، ماندیال و آریندا می‌توان اشاره نمود. از سایر ارقام موجود در جهان می‌توان به رقم آلمرا (Almera)، که دومین واریته پرمحصول بوده و واریته مناسبی جهت برشته نمودن سیب-زمینی است اشاره نمود. رقم بورن (Burren) که مقاوم به خشکی است یک عنوان واریته مهم برای مناطق مدیترانه‌ای می‌باشد. بورن یک سیب‌زمینی دارای غده‌های طویل و گرد می‌باشد و دارای قابلیت ذخیره‌ای خوبی می‌باشد. رقم بانبا (Banba) یک واریته بسیار پرمحصول است که دارای غده‌های بزرگ و طویل می‌باشد (Haggart, J. 1990).

بیشترین گونه‌ی سیب‌زمینی مصرفی در ایران رقم گلاره می‌باشد و در ایران عمده ارقام تحت کشت بطور کلی شامل:

۱- ارقام با سطح زیر کشت زیاد شامل اگریا و مارفونا

۲- ارقام با سطح زیر کشت متوسط بورن، سانته، کایزور و غیره...

۳- ارقام با سطح زیر کشت کم شامل آلمرا، بانبا، سانتاتا، اسپیروت، مارلا، سانتاتا، فونتانا و مونیال (طباطبایی، ۱۳۶۵).

۱-۷- بیماری‌های سیب‌زمینی

سیب‌زمینی گیاهی است که بیشتر از سایر محصولات زراعی از آفات و بیماری‌ها صدمه می-بیند. در صورت عدم کنترل آنها، خسارت زیادی به این محصول وارد می‌کنند. از عوامل مهم در کاهش محصول سیب‌زمینی انواع بیماری‌های قارچی، باکتریایی، ویروسی، ویروئیدی، فیتوپلاسمایی، نماتدی و بیماری‌های فیزیولوژیکی ناشی از شرایط نامساعد محیطی می باشد (کوچکی و همکاران، ۱۳۶۹).

۱-۷-۱- بیماری‌های ویروسی سیب‌زمینی

۱-۷-۱-۱- تاریخچه، انتشار و اهمیت بیماری‌های ویروسی سیب‌زمینی در جهان و ایران

در سال ۱۹۱۳ مشخصات بیماری‌های ویروسی سیب‌زمینی توسط اورتن نوشته شد. Quanjer در سال ۱۹۱۶ عامل پیچیدگی برگ سیب‌زمینی را کشف نمود و این کشف مبدا اصلی و مهم مطالعات ویروسی سیب‌زمینی قرار گرفت. در ایران بیماری‌های ویروسی سیب‌زمینی اولین بار در سال ۱۳۳۰ توسط استیارت کارشناس بلژیکی از اطراف تبریز گزارش شده است. اولین قدم مثبت در راه شناسایی بیماری‌های ویروسی سیب‌زمینی در ایران از سال ۱۳۴۳ توسط علیرضا کریمی انجام شده است (منوچهری کاشانی، ۱۳۴۷). حدود ۴۰ گونه ویروس آلوده‌کننده سیب‌زمینی در سراسر دنیا گزارش شده است (Valkon, 2007). بیماری‌های ویروسی فاکتور محدود کننده تولیدات سیب‌زمینی در جهان می‌باشد. سیب‌زمینی گیاهی است که بیش از سایر گیاهان توسط ویروس‌ها صدمه می‌بیند. علت آن این است که یک بار آلودگی برای یک بوته کافی است تا تمام نسل‌های بعدی را نیز آلوده نماید. از آنجا که سیب‌زمینی از راه غده تکثیر می‌شود و شرایط غده برای تکثیر ویروس مناسب می‌باشد، بنابرین ویروس‌های مختلفی در طبیعت گیاه سیب‌زمینی را آلوده می‌نمایند. بیماری‌های ویروسی سیب‌زمینی ندرتاً باعث مرگ گیاه می‌شوند و زیان آنها بیشتر متوجه کاهش محصول است. کاهش اندازه غده‌ها در اثر آلودگی به ویروس به صورت تدریجی می‌باشد و بنابرین کمتر توجه کشاورزان به این مشکل جلب می‌گردد (جدول ۱-۱) (Burrows and Zitter, 2005).

۱-۷-۱-۲- ویروس Y سیب‌زمینی[1] (PVY)

ویروس Y سیب‌زمینی دارای پیکره خمش‌پذیر و مارپیچی به ابعاد ۱۱۰×۷۳۰ nm می‌باشد. علائم در سیب‌زمینی بر حسب سویه ویروس و رقم سیب‌زمینی کاملاً متفاوت می‌باشد و معمولاً شامل موزائیک، بدشکلی برگ‌ها و نکروز سطح برگ‌ها می‌باشد. انتشار PVY بیشتر به وجود شته‌های بالدار بستگی دارد. حداقل ۲۵ گونه شته ذکر شده‌اند که قادر به انتقال این ویروس می‌باشند. از بین گونه‌های مختلف، شته سبز هلو کارآمدترین گونه در بسیاری از مناطق و فصل‌ها به شمار می‌آید (هوکر، ۱۳۷۹).

1. *Potato Virus Y*

۱-۷-۱-۳- ویروس A سیب زمینی[۲] (PVA)

این ویروس به طریق مکانیکی و توسط شته منتقل می‌شود. نشانه‌های این بیماری معمولاً به این دلیل که این ویروس به صورت مخلوط با سایر ویروس‌ها در گیاه سیب‌زمینی بوده و علایم سایر ویروس‌ها، علائم آن را می‌پوشانند، به خوبی قابل رویت نیست. از علایم ایجادشده توسط این ویروس می‌توان موزاییک خفیف و یا نقطه نقطه شدن همراه با موجدارشدن حاشیه برگ‌ها را ذکر نمود (Bartels, 1971).

۱-۷-۱-۴-ویروس M سیب‌زمینی[۳](PVM)

این ویروس در سراسر دنیا در ارقام بومی سیب‌زمینی یافت می‌شود. پیکره‌های PVM میله‌ای راست تا نسبتاً خمش پذیر هستند. علائم این ویروس روی برگ‌ها از خفیف تا شدید متغیر می-باشد. این علائم شامل رنگ پریدگی، موزائیک، بدشکلی و لوله‌ای شدن برگ‌ها وکم رشدی می‌باشد(هوکر،۱۳۷۹).

۱-۷-۱-۵-ویروس S سیب زمینی[۴] (PVS)

ذرات PSV رشته‌ای راست تا نسبتاً خمیده به ابعاد تقریبی۱۲ nm × ۶۵۰ می‌باشند. این ویروس در بسیاری از ارقام معمولی سیب‌زمینی بدون علائم است. علائم این ویروس شامل فرورفتگی جزئی رگبرگ‌ها و کم‌رشدی می‌باشد. ویروس S سیب‌زمینی باعث آلودگی غده می‌گردد و به‌آسانی به طور مکانیکی با شیره گیاهی آلوده انتقال می‌یابد (هوکر، ۱۳۷۹).

۱-۷-۱-۶-ویروس X سیب زمینی[۵](PVX)

ویروس X سیب زمینی به طریقه مکانیکی قابل انتقال بوده و با تماس با بوته‌های مجاور توسط باد و عملیات زراعی منتقل می‌گردد. این ویروس همچنین ممکن است از طریق تماس ریشه‌ها نیزمنتقل گردد. زئوسپورهای قارچ عامل بیماری زگیل سیب‌زمینی (*Synchitrium endobioticum*) نیز قادرند ویروس مزبور را به بوته‌های سیب‌زمینی منتقل نمایند. شش درصد

---

2 . *Potato virus A*

3. *Ptato Virus M*

4 . *Potato virus S*

5. *Potato virus X*

وزن این ذرات را اسید ریبونوکلئیک تشکیل می‌دهد. PVX در تمام مناطق کشت سیب‌زمینی وجود دارد. برآورد کاهش محصول در نتیجه آلودگی به این ویروس به بیش از ۱۵٪ می رسد. علائم PVX ممکن است در گیاه نهفته باشد و هیچ گونه علامت برگی یا اثر ظاهری در گیاه ایجاد نکند، تنها در صورتی که گیاهان آلوده با گیاهان سالم مقایسه شوند علائم مشخص می‌گردد. در مواردی نیز علائمی به صورت ماتل(برگ رنگی) خفیف تا شدید و کاهش اندازه برگچه مشاهده می‌گردد (Buchen-Osmond, 2002).

۱-۷-۱-۷-ویروس لوله‌ای شدن برگ سیب‌زمینی[۶] (PLRV)

پیکره‌های این ویروس چند وجهی و انتقال آن توسط شته با رابطه پایا می‌باشد. انتقالPLRV از سالی به سال دیگر توسط غده‌های آلوده می‌باشد. رنگ بوته‌های بیمار روشن تر از بوته‌های سالم است و در واقع رنگ پریده می‌باشند و گیاهان آلوده کوتوله می‌شوند. همچنین این ویروس در آوندهای آبکش ایجاد نکروز می‌نماید (Harrison, 1984).

۱-۷-۱-۸-ویروس V سیب‌زمینی[۷] (PVV)

ویروس V سیب‌زمینی از جنس پوتی‌ویروس (Potyvirus) وخانواده پوتی‌ویریده (Potyviridae) می‌باشد. این ویروس دارای پیکره‌های خمش‌پذیر به اندازه ۱۲-۱۳nm × ۷۲۰-۷۰۰ و ژنوم آن حاویRNA تک رشته‌ای مثبت (ssRNA) به طول ۹۸۵۱ نوکلئوتید می‌باشد. این ویروس دارای یک قاب باز خوانی بزرگ (ORF) بوده، که قسمت‌های اصلی ژنوم آن به‌ترتیب Viral protein genome (VPg)، منطقه ترجمه نشده (Non translated region) 5´NTR، یک قاب خوانی بزرگ که به یک پلی پروتئین بزرگ ترجمه‌شده و منطقه ترجمه نشده3´NTR می-باشد (Fribourg and Nakashima, 1984; Jones and Fuller, 1984). ژنوم این ویروس نیز به روش پلی‌پروتئین ترجمه می‌شود (Oruetxebrria and valkonen, 2001). در این حالت ابتدا ORF ویروس به یک پلی‌پروتئین بزرگ ترجمه می‌شود، سپس این پلی‌پروتئین تحت تاثیر سه پروتئاز ویروسی به پروتئین‌های کوچکترکه دارای وظایف خاص هستند تقسیم می‌گردد (Hull, 2002). این ویروس به‌راحتی از طریق مایه‌زنی مکانیکی منتقل می‌شود. این ویروس توسط شته‌ها

---

[6] .*Potato leaf roll virus*

[7] . *Potato virus V*