دانشکده کشاورزی

پایان‌نامه کارشناسی ارشد در رشته بیماری شناسی گیاهی

بررسی مقاومت ارقام مختلف چغندر قند به ویروس پیچیدگی شدید بوته چغندر قند با استفاده از همسانه عفونت زای ویروس

توسط:

زهره فتاحی

اساتید راهنما:

دکتر سید علی اکبر بهجت نیا

دکتر علی رضا افشاریفر

شهریور ماه ۱۳۸۸

This page was created using **Nitro PDF** trial software.
To purchase, go to http://www.nitropdf.com/

This page was created using **Nitro PDF** trial software.
To purchase, go to http://www.nitropdf.com/

بنام خدا

اظهار نامه

اینجانب زهره فتاحی (۸۵۰۶۱۷) دانشجوی رشته گیاه پزشکی گرایش بیماری شناسی گیاهی دانشکده ی کشاورزی اظهار می کنم که این پایان نامه حاصل پژوهش خودم بوده و در جاهایی که از منابع دیگران استفاده کرده ام نشانی دقیق و مشخصات کامل آن را نوشته ام. همچنین اظهار می کنم که تحقیق و موضوع پایان نامه ام تکراری نیست و تعهد می نمایم بدون مجوز دانشگاه دستاوردهای آن را منتشر ننموده و یا در اختیار غیر قرار ندهم. کلیه حقوق این اثر مطابق با آیین نامه مالکیت فکری و معنوی متعلق به دانشگاه شیراز است.

نام و نام خانوادگی: زهره فتاحی

تاریخ و امضا: ۸۵/۱۱/۱۷

This page was created using **Nitro PDF** trial software.
To purchase, go to http://www.nitropdf.com/

به نام خدا

بررسی مقاومت ارقام مختلف چغندر قند به ویروس پیچیدگی شدید بوته چغندر قند با استفاده از همسانه عفونت زای ویروس

به کوشش

زهره فتاحی

پایان نامه

ارائه شده به تحصیلات تکمیلی دانشگاه به عنوان بخشی

از فعالیت های تحصیلی لازم برای اخذ درجه کارشناسی ارشد

در رشته‌ی:

بیماری شناسی گیاهی

از دانشگاه شیراز

شیراز

جمهوری اسلامی ایران

ارزیابی شده توسط کمیته پایان نامه با درجه: عالی

دکتر سید علی اکبر بهجت نیا، استادیار بخش گیاهپزشکی (رئیس کمیته) .....

دکتر علی رضا افشاریفر، دانشیار بخش گیاه پزشکی (رئیس کمیته).....

دکتر کرامت اله ایزدپناه، استاد بخش گیاهپزشکی .....

دکتر حبیب الله حمزه زرقانی، استادیار بخش گیاه پزشکی.....

شهریور ۱۳۸۸

This page was created using **Nitro PDF** trial software.
To purchase, go to http://www.nitropdf.com/

تقدیم به

خانواده عزیزم

This page was created using **Nitro PDF** trial software.
To purchase, go to http://www.nitropdf.com/

سپاسگزاری

الهی، به هر نفس که می کشم و به هر قدم که می نهم تو را می ستایم .

سپاسگزاری خالصانه خود را به همه کسانی که در مراحل مختلف زندگی مرا یاری نمودند، تقدیم می نمایم.

سپاس فراوان از استاد دلسوز و مهربانم جناب آقای دکتر سید علی اکبر بهجت نیا که با همراهی ها، همدلی ها و راهنمای ها یشان همواره پشتیبان من بودند.

سپاسگزار استاد والا مقامم جناب آقای دکتر کرامت اله ایزدپناه هستم که همواره بزرگوارانه راهنما و هدایت گر من بودند. از استاد گرامیم جناب آقای دکتر افشاریفر به جهت راهنمای ها و یاری ها ی دلسوزانه شان سپاسگزارم. قدردان راهنمای های استاد عزیزم جناب آقای مهندس تقی زاده در پیشبرد این پایان نامه هستم.

از اساتید گرامی، آقایان دکتر بنی هاشمی، دکتر تقوی و دکتر نیازی، دکتر فاطمی و دکتر کارگر که افتخار شاگردیشان را داشته ام، متشکرم.

مراتب سپاس خود را حضور سایر اساتید گرامی بخش گیاهپزشکی ابراز می دارم.

همواره مدیون زحمات و فداکاری های، خانواده عزیزم هستم.

از کمک های بی شائبه مسئولین و کارکنان مرکز تحقیقات ویروس شناسی گیاهی و بخش گیاهپزشکی نهایت سپاسگزاری را می نمایم.

از همکاری ها و همفکری های تمامی دوستان خوبم در طی این مدت بی نهایت سپاسگزارم.

هزینه های مربوط به این تحقیق از محل اعتبارات بخش ویروس شناسی تامین شده که بدین وسیله قدردانی می گردد.

This page was created using **Nitro PDF** trial software.
To purchase, go to http://www.nitropdf.com/

چکیده

بررسی مقاومت ارقام مختلف چغندر قند به ویروس پیچیدگی شدید بوته چغندر قند با استفاده از همسانه عفونت زای ویروس

به وسیله ی:

زهره فتاحی

در این بررسی به منظور تاثیر نوع رقم چغندر قند و روش آلوده شدن گیاهان به ویروس پیچیدگی شدید بوته چغندر قند (Beet severe curly top virus, BSCTV) مطالعه ای در قالب طرح آماری کاملاً تصادفی بر روی ۱۸ رقم چغندر قند انجام شد. ۱۸ گیاه از هر رقم در ۶ گلدان کشت داده شد. برای مایه زنی ارقام از همسانه عفونت زای جدایه ایرانی BSCTV استفاده و ارقام با دو روش آگروواینوکولیشن (آزمایش اول) و انتقال با زنجره ناقل (*Circulifer hematoceps*) ویروس دار مایه زنی شدند. در آزمایش اول پس از ۲۱ روز و ۳۵ روز و در آزمایش دوم پس از ۲۱ روز از زمان مایه زنی از گیاهان استخراج DNA صورت گرفت و میزان همانند سازی ویروس با انجام PCR مورد بررسی قرار گرفت. شدت علائم بیماری در ۴ درجه از درجات صفر (فقدان علائم) تا ۳ (مرگ گیاه) یادداشت شد. تجزیه و تحلیل داده ها در آزمایش اول نشان داد تنها رقمی که تمام گیاهان تیمار در آن آلوده به ویروس بوده و علائم شدید نشان دادند رقم Brigita بود. در نتیجه این رقم به عنوان رقم شاهد در نظر گرفته شد و سایر ارقام با آن مقایسه شدند. تجزیه واریانس ارقام چغندر قند از نظر شدت بیماری نشان داد که بین ارقام از نظر مقاومت به بیماری با رقم شاهد تفاوت معنی دار وجود دارد. بر این اساس ارقام به ۳ گروه شامل متحمل(HM1990, 7233, H5505 (BR1, FIMMA,)، حساس (رسول، افشاری، هیبرید بالک شیراز، P.P.8، P.P.22، Dorothea، زرقان، ریزوفورت، IC، Flores، Hilma و Polyrow) و خیلی حساس (Brigita) طبقه بندی شدند. در نهایت با مقایسه داده های حاصل از مایه زنی گیاهان چغندر قند با دو روش فوق الذکر مشخص گردید میزان آلودگی به ویروس در انتقال با زنجره ناقل در اکثر ارقام کمتر از روش آگروواینوکولیشن بود.

This page was created using **Nitro PDF** trial software.
To purchase, go to http://www.nitropdf.com/

فهرست مطالب

عنوان صفحه

فصل اول : مقدمه ۱

فصل دوم : مروری بر پژوهش های گذشته ۴

۲-۱- تاریخچهٔ وقوع و پراکنش بیماری پیچیدگی بوتهٔ چغندر قند ۴

۲-۲- جایگاه تاکسونومی عامل بیماری پیچیدگی بوته چغندرقند ۵

۲-۳- انتقال ویروس پیچیدگی بوته چغندرقند با حشره ناقل ۷

۲-۴- سایر روش های انتقال ویروس پیچیدگی بوته چغندرقند ۸

۲-۵- انتقال ویروس پیچیدگی بوته چغندرقند به روش Agroinoculation ۹

۲-۶- علائم بیماری پیچیدگی بوته چغندرقند ۱۰

۲-۷- کنترل بیماری پیچیدگی بوته چغندرقند ۱۳

۲-۸- مقاومت به ویروس پیچیدگی بوته چغندرقند ۱۵

فصل سوم : مواد و روش ها ۱۷

۳-۱- کشت و پرورش گیاهان استفاده شده در این تحقیق ۱۷

۳-۲- همسانه عفونت زای استفاده شده ۱۷

۳-۳- کشت باکتری ۱۸

This page was created using **Nitro PDF** trial software.
To purchase, go to http://www.nitropdf.com/

۳-۴- تهیه زادمایه باکتری حاوی همسانه عفونت زای BSCTV-Ir برای مایه زنی و ایجاد آلودگی بوته های چغندر قند و تعیین کمترین غلظت عفونت زای باکتری ۱۸
۳-۵- استخراج دی.ان.ای از بافت گیاهی ۲۰
۳-۵-۱ استخراج دی. ان. ای از بافتهای گیاهی با استفاده از فنول-کلروفرم ۲۰
۳-۵-۲ طرز تهیه فنول اشباع جهت استخراج DNA از بافت گیاهی ۲۱
۳-۵-۳ استخراج DNA از بافت های گیاهی با استفاده از محلول CTAB ۲۲
۳-۵-۴ استخراج دی.ان.ای با استفاده از روش سیلیکا ماتریکس ۲۲
۳-۶- آزمون زنجیره ای پلیمراز (PCR) ۲۳
۳-۷- تهیه ژل و انجام الکتروفورز برای بررسی نتایج آزمون PCR ۲۵
۳-۸- طرح آزمایش ارزیابی مقاومت ارقام چغندر قند پس از مایه زنی با روش اگرواینوکولیشن ۲۶
۳-۹- مایه زنی ارقام با زنجرک ناقل BSCTV-Ir برای ارزیابی میزان مقاومت آنها به ویروس ۲۷
۳-۱۰- روش های تجزیه آماری ۲۸
۳-۱۰-۱- تجزیه آماری داده های بدست آمده از مایه زنی ارقام مختلف چغندر قند با همسانه عفونت زای BSCTV-Ir ۲۸
۳-۱۰-۲- تجزیه آماری ارقام چغندر قند پس از مایه زنی با زنجرک ناقل ۲۹
فصل چهارم : نتایج ۳۱

۴-۱- تعیین بهترین غلظت سوسپانسیون باکتری حاوی همسانه عفونت زای BSCTV-Ir برای ایجاد آلودگی چغندر قند به ویروس ۳۱
۴-۲- واکنش فنوتیپی ارقام چغندر قند پس از مایه زنی با سوسپانسیون باکتری حاوی همسانه عفونت زای BSCTV-Ir ۳۵
۴-۳- بررسی نمونه ها با روش PCR ۳۹

This page was created using **Nitro PDF** trial software.
To purchase, go to http://www.nitropdf.com/

۴-۴- نتیجه بررسی آماری مقاومت ارقام چغندر قند در روش مایه زنی با همسانه عفونت زای BSCTV-Ir ۴۸
۴-۴-۲- مقایسه میانگین ارقام با رقم شاهد ۵۱
۴-۵- تجزیه واریانس شدت بیماری ارقام مختلف چغندر قند با استفاده از داده های به دست آمده از مایه زنی ارقام با زنجرک ناقل BSCTV-Ir..... ۵۲
۴-۶- مقایسه میزان شدت علائم گیاهان مایه زنی شده به روش آگروواینوکولیشن با گیاهان مایه زنی شده با زنجرک ناقل BSCTV-Ir ۵۵
فصل پنجم : بحث و نتیجه گیری ۵۷
فهرست منابع ۶۲

This page was created using **Nitro PDF** trial software.
To purchase, go to http://www.nitropdf.com/

فهرست جداول

عنوان و شماره .....صفحه

جدول ۳-۱ میزان واحد پرگنه ساز (CFU) سوسپانسیون باکتری در چگالی های نوری مختلف.....۱۹

جدول ۳-۲ نوع و مقدار مواد مورد استفاده در آزمون واکنش زنجیره ای پلی مراز ۲۴

جدول ۳-۳ آغازگر ها ی مورد استفاده برای تکثیر قطعه ۴۹۵ جفت بازی جدایه BSCTV-Ir ۲۵

جدول ۳-۴ - سیکل دمایی واکنش PCR ۲۵

جدول ۴ – ۱ ارقام هجده گانه چغندر قند بر پایه نوع علائم ایجاد شده درآنها پس از ۲۱ روز از مایه زنی با سوسپانسیون باکتری حاوی همسانه عفونت زای BSCTV-Ir.....۳۷

جدول ۴ – ۲ ارقام هجده گانه چغندر قند بر پایه نوع علائم ایجاد شده درآنها پس از ۳۵ روز از مایه زنی با سوسپانسیون باکتری حاوی همسانه عفونت زای BSCTV-Ir ۳۸

جدول ۴ – ۳ واکنش گیاهان ارقام هجده گانه چغندر قند مایه زنی شده با سوسپانسیون باکتری حاوی همسانه عفونت زای BSCTV-Ir ۴۶

جدول۴-۴ : نتایج تجزیه آماری اثر زمان و اثر متقابل زمان-رقم ۴۸

جدول۴-۵ : نتایج آزمون تجزیه واریانس مقاومت ارقام چغندر قند ۴۸

جدول۴-۶ : مقایسه میانگین شدت بیماری ارقام چغندر قند با شاهد ۵۱

This page was created using **Nitro PDF** trial software.
To purchase, go to http://www.nitropdf.com/

فهرست شکل ها

عنوان.....صفحه

شکل ۲-۱- وجود نقاط برجسته در روی رگبرگ ها و چروکیدگی برگ چغندر قند در اثر آلودگی به ویروس کرلی تاپ ۱۱

شکل ۲-۲- حلقه های قهوه ای آوند ها در مقطع عرضی ریشه چغندر قند آلوده به ویروس کرلی تاپ.....۱۲

شکل ۲-۳- آلودگی طبیعی بوته خیار به ویروس کرلی تاپ.....۱۳

شکل ۴ – ۱ پیچیدگی شدید برگها، تورم زگیل مانند در زیر رگبرگ ها، لوله شدن و راست ایستادن برگها و کاهش رشد در گیاهچه های چغندرقند ۲۱ روز بعد از مایه زنی با رقت های (A) OD=0.35، (B) OD=0. 5، (C) OD=0.9، (D) OD=1.1، (E) OD=0.15، (F) OD=0.15، (G) OD=2.0 و(H) OD=2.4 سوسپانسیون حاوی همسانه عفونت زای BSCTV-Ir ۳۲

شکل ۴ – ۲: نقوش الکتروفورزی محصولات PCR تکثیر شده با آغازگر های اختصاصی ویروسBSCTV-Ir حاصل از دی. ان. ای. استخراج شده گیاهان چغندرقند مایه زنی شده با همسانه عفونت زای BSCTV-Ir پس از ۲۱ روز از زمان مایه زنی.....۳۳

شکل ۴ – ۳: نقوش الکتروفورزی محصولات PCR تکثیر شده با آغازگر های اختصاصی ویروس BSCTV-Ir حاصل از دی. ان. ای. استخراج شده گیاهان چغندرقند مایه زنی شده با همسانه عفونت زای BSCTV-Ir پس از ۳۵ روز از زمان مایه زنی.....۳۴

شکل۴-۴ شدت علائم بیماری پیچیدگی بوته چغندرقند در ۴ درجه ۳۶

This page was created using **Nitro PDF** trial software.
To purchase, go to http://www.nitropdf.com/

شکل ۴ – ۵: نقوش الکتروفورزی محصولات PCR تکثیر شده با آغازگر های اختصاصی ویروس BSCTV-Ir حاصل از دی. ان. ای. استخراج شده از گیاهان رقم BRIGITA چغندرقند مایه زنی شده با همسانه عفونت زای BSCTV-Ir پس از۲۱ روز از زمان مایه زنی..... ۳۹
شکل ۴ – ۶: نقوش الکتروفورزی محصولات PCR تکثیر شده با آغازگر های اختصاصی ویروس BSCTV-Ir حاصل از دی. ان. ای. استخراج شده از گیاهان رقم BR1 چغندرقند مایه زنی شده با همسانه عفونت زای BSCTV-Ir پس از ۲۱روز از زمان مایه زنی..... ۴۰
شکل ۴ – ۷: نقوش الکتروفورزی محصولات PCR تکثیر شده با آغازگر های اختصاصی ویروس BSCTV-Ir حاصل از دی. ان. ای. استخراج شده از گیاهان رقم رسول چغندرقند مایه زنی شده با همسانه عفونت زای BSCTV-Ir پس از ۲۱روز از زمان مایه زنی..... ۴۰
شکل ۴ – ۸: نقوش الکتروفورزی محصولات PCR تکثیر شده با آغازگر های اختصاصی ویروس BSCTV-Ir حاصل از دی. ان. ای. استخراج شده از گیاهان رقم FLORES چغندرقند مایه زنی شده با همسانه عفونت زای BSCTV-Ir پس از ۲۱روز از زمان مایه زنی..... ۴۰
شکل ۴ – ۹: نقوش الکتروفورزی محصولات PCR تکثیر شده با آغازگر های اختصاصی ویروس BSCTV-Ir حاصل از دی. ان. ای. استخراج شده از گیاهان رقم HILMA چغندرقند مایه زنی شده با همسانه عفونت زای BSCTV-Ir پس از ۲۱روز از زمان مایه زنی..... ۴۱
شکل ۴ – ۱۰: نقوش الکتروفورزی محصولات PCR تکثیر شده با آغازگر های اختصاصی ویروس BSCTV-Ir حاصل از دی. ان. ای. استخراج شده از گیاهان رقم ۷۲۳۳ چغندرقند مایه زنی شده با همسانه عفونت زای BSCTV-Ir پس از ۲۱روز از زمان مایه زنی..... ۴۱

This page was created using **Nitro PDF** trial software.
To purchase, go to http://www.nitropdf.com/

شکل ۴ – ۱۱: نقوش الکتروفورزی محصولات PCR تکثیر شده با آغازگر های اختصاصی ویروس BSCTV-Ir حاصل از دی. ان. ای. استخراج شده از گیاهان رقم DOROTHEA چغندرقند مایه زنی شده با همسانه عفونت زای BSCTV-Ir پس از ۲۱روز از زمان مایه زنی..... ۴۱
شکل ۴ – ۱۲: نقوش الکتروفورزی محصولات PCR تکثیر شده با آغازگر های اختصاصی ویروس BSCTV-Ir حاصل از دی. ان. ای. استخراج شده از گیاهان رقم افشاری چغندرقند مایه زنی شده با همسانه عفونت زای BSCTV-Ir پس از ۲۱روز از زمان مایه زنی..... ۴۲
شکل ۴ – ۱۳: نقوش الکتروفورزی محصولات PCR تکثیر شده با آغازگر های اختصاصی ویروس BSCTV-Ir حاصل از دی. ان. ای. استخراج شده از گیاهان رقم هیبرید بالک شیراز چغندرقند مایه زنی شده با همسانه عفونت زای BSCTV-Ir پس از ۲۱روز از زمان مایه زنی..... ۴۲
شکل ۴ – ۱۴: نقوش الکتروفورزی محصولات PCR تکثیر شده با آغازگر های اختصاصی ویروس BSCTV-Ir حاصل از دی. ان. ای. استخراج شده از گیاهان رقم H5505 چغندرقند مایه زنی شده با همسانه عفونت زای BSCTV-Ir پس از ۲۱روز از زمان مایه زنی..... ۴۳
شکل ۴ – ۱۵: نقوش الکتروفورزی محصولات PCR تکثیر شده با آغازگر های اختصاصی ویروس BSCTV-Ir حاصل از دی. ان. ای. استخراج شده از گیاهان رقم PP8 چغندرقند مایه زنی شده با همسانه عفونت زای BSCTV-Ir پس از ۲۱روز از زمان مایه زنی..... ۴۳
شکل ۴ – ۱۶: نقوش الکتروفورزی محصولات PCR تکثیر شده با آغازگر های اختصاصی ویروس BSCTV-Ir حاصل از دی. ان. ای. استخراج شده از گیاهان رقم FIMMA چغندرقند مایه زنی شده با همسانه عفونت زای BSCTV-Ir پس از ۲۱روز از زمان مایه زنی..... ۴۳

This page was created using **Nitro PDF** trial software.
To purchase, go to http://www.nitropdf.com/

شکل ۴ – ۱۷: نقوش الکتروفورزی محصولات PCR تکثیر شده با آغازگر های اختصاصی ویروس BSCTV-Ir حاصل از دی. ان. ای. استخراج شده از گیاهان رقم HM1990 چغندرقند مایه زنی شده با همسانه عفونت زای BSCTV-Ir پس از ۲۱روز از زمان مایه زنی..... ۴۴

شکل ۴ – ۱۸: نقوش الکتروفورزی محصولات PCR تکثیر شده با آغازگر های اختصاصی ویروس BSCTV-Ir حاصل از دی. ان. ای. استخراج شده از گیاهان رقم IC چغندرقند مایه زنی شده با همسانه عفونت زای BSCTV-Ir پس از ۲۱روز از زمان مایه زنی..... ۴۴

شکل ۴ – ۱۹: نقوش الکتروفورزی محصولات PCR تکثیر شده با آغازگر های اختصاصی ویروس BSCTV-Ir حاصل از دی. ان. ای. استخراج شده از گیاهان رقم POLYROW چغندرقند مایه زنی شده با همسانه عفونت زای BSCTV-Ir پس از ۲۱روز از زمان مایه زنی..... ۴۵

شکل ۴ – ۲۰: نقوش الکتروفورزی محصولات PCR تکثیر شده با آغازگر های اختصاصی ویروس BSCTV-Ir حاصل از دی. ان. ای. استخراج شده از گیاهان رقم PP22 چغندرقند مایه زنی شده با همسانه عفونت زای BSCTV-Ir پس از ۲۱روز از زمان مایه زنی..... ۴۵

شکل ۴ – ۲۱: نقوش الکتروفورزی محصولات PCR تکثیر شده با آغازگر های اختصاصی ویروس BSCTV-Ir حاصل از دی. ان. ای. استخراج شده از گیاهان رقم ریزوفورت چغندرقند مایه زنی شده با همسانه عفونت زای BSCTV-Ir پس از ۲۱روز از زمان مایه زنی..... ۴۵

شکل ۴ – ۲۲: نقوش الکتروفورزی محصولات PCR تکثیر شده با آغازگر های اختصاصی ویروس BSCTV-Ir حاصل از دی. ان. ای. استخراج شده از گیاهان رقم زرقان چغندرقند مایه زنی شده با همسانه عفونت زای BSCTV-Ir پس از ۲۱روز از زمان مایه زنی..... ۴۶

This page was created using **Nitro PDF** trial software.
To purchase, go to http://www.nitropdf.com/

شکل ۴-۲۳: مقایسه شاخص شدت بیماری (Disease Severity Index, DSI) ارقام پس از نرمال سازی در دو زمان ۴۹
شکل ۴-۲۴: میانگین DSI ارقام بر اساس زمان ۵۰

شکل۴-۲۵: مقایسه میانگین مقاومت (به بیماری پیچیدگی بوته) در ارقام چغندر قند مورد مطالعه با روش مقایسه میانگین بونفرونی ۵۳
شکل ۴-۲۶: گروه بندی ارقام چغندر قند بر اساس سطح مقاومت به بیماری پیچیدگی بوته با استفاده از نرم افزار آماری SAS ۵۴
شکل۴-۲۷: مقایسه میزان شدت علائم در گیاهان مایه زنی شده ارقام چغندر قند به دو روش آگروواینوکولیشن و زنجرک ناقل BSCTV-Ir..... ۵۵

This page was created using **Nitro PDF** trial software.
To purchase, go to http://www.nitropdf.com/

فصل اول

مقدمه

چغندرقند با نام علمی *Beta vulgaris* L. گیاهی است دو ساله از تیرهٔ اسفناج (*Chenopodiaceae*) که به دلیل تولید مقدار زیاد قند اهمیت اقتصادی فوق العاده ای دارد (خواجه پور، ۱۳۸۵). این محصول علاوه بر ایران در بیش از ۴۲ کشور دیگر جهان کشت می شود (Whitney & Duffus, 1986). چغندرقند مورد حمله عوامل بیماری زای زیادی قرار می گیرد. از جمله عوامل بیماری زای چغندرقند، ویروس ها هستند.

یکی از مهم ترین بیماری های اقتصادی چغندرقند، بیماری پیچیدگی بوته یا کرلی‌تاپ چغندرقند می باشد که توسط حداقل چهار گونه ویروس متعلق به تیرهٔ Geminiviridae و جنس Curtorirus شامل *Beet curly top virus*(*BCTV*)، *Beet severe curly top virus*(*BSCTV*)، *Beet mild curly top virus* و *Spinach curly top virus* ایجاد می‌شود (Stanley *et al*., 2005). این بیماری اولین بار در سال ۱۸۸۹ در نواحی غربی امریکا مشاهده شد (Ling, 1969)، در دهه ۱۹۲۰ در آن نواحی به شدت گسترش یافت به طوری که موجب توقف کاشت چغندرقند در آن مناطق گردید و صنایع چغندرقند را به ورشکستگی کشاند (Bennett, 1971). تا سال ۱۹۵۷ تصور این بود که این بیماری محدود به نواحی غرب آمریکا است تا اینکه در همان سال بیماری از مزارع چغندرقند منطقه (Eskisehir) ترکیه نیز گزارش شد و مشخص گردید بیماری در غرب ترکیه گسترش داشته و میزان آلودگی آن ۳۲ درصد برآورد شد (Bennett, 1971).

بیماری پیچیدگی بوته چغندرقند در ایران اولین بار در سال ۱۳۴۶ از مزارع چغندرقند مرودشت و زرقان فارس گزارش شد (ایزدپناه، ۱۳۴۶ ; Gibson, 1967). در سالهای اخیر

This page was created using **Nitro PDF** trial software.
To purchase, go to http://www.nitropdf.com/

بیماری مذکور در ایران گسترش یافته و از مناطق چغندرقند کاری اصفهان، کرمان و خراسان نیز گزارش و میزان آلودگی در مزارع چغندرقند کاری فسا ، تا ۱۰۰ درصد نیز مشاهده شده است (خیری، ۱۳۷۰).

در ایران مشخص شده که یک جدایه از BSCTV (BSCTV-Ir) و ویروس جدیدی به نام ویروس ایرانی پیچیدگی بوته چغندر قند (*Beet curly top Iran virus*) عامل بیماری پیچیدگی بوته چغندر و چند گیاه زراعی مهم دیگر می باشد (Briddon *et al*., 1998).

BSCTV و ویروس های مشابه دارای دامنهٔ میزبانی وسیعی شامل بیش از ۳۰۰ گونهٔ گیاهی از ۴۴ خانواده می باشد (Bennett, 1971). علاوه بر چغندرقند این ویروس از ۲۳ گونه از گیاهان زراعی از جمله اسفناج، شلغم، کنجد، پنبه، آفتابگردان، ترب، شاهی، خیار، گوجه فرنگی، بامیه، لوبیا، عدس و علف های هرز سلمک،پیچک صحرایی و عروسک پشت پرده جدا شده است (آل یاسین و ایزدپناه، ۱۳۷۴).

دراثر آلودگی به ویروس مذکور علائمی نظیر کوتولگی بوته ، لوله‌شدن برگ و تورم و تغییرشکل رگبرگها بروز می‌کند (Bennett, 1971).

این ویروس ها دارای ژنوم DNA تک لای حلقوی هستند که در پیکره های ایزومتریک دوقلو احاطه شده اند. بعلاوه این ویروس ها محدود به آوند آبکشی اند و انتقال مکانیکی آن ها به راحتی صورت نمی گیرد. انتقال از طریق بذر امکان پذیر نمی باشد اما به طور مؤثری توسط زنجرک های چغندرقند *Circulifer tenellus* و *Circulifer haematoceps* انتقال داده می شود (Harrison, 1985 ; Bennett, 1971).

یکی از تکنیک‌های مورد استفاده برای انتقال جمینی ویروس ها از جمله ویروس پیچیدگی بوته چغندر قند در آزمایشگاه، مایه زنی به کمک *Agrobacterium tumefaciens* (Agroinoculation یا Agroinfection) است. در این روش نسخه های تکرار شده ژنوم دی.ان.ای ویروس با استفاده از *Agrobacterium* به بافت‌های گیاهی انتقال داده می شود.

آلودگی به روش agroinoculation، نیازمند وارد کردن کپی‌های دو پار (dimeric) از ژنوم ویروس در بین قلمروهای T-DNA در ناقل‌های دوتایی*A. tumefaciens* است. این همسانه ها را اصطلاحاً همسانه های عفونت زا (infectious clones) می نامند.

This page was created using **Nitro PDF** trial software.
To purchase, go to http://www.nitropdf.com/

در روش Agroinfection آزاد شدن دی. ان ای مونومرحلقوی بیماری‌زای ویروس از ترادف تکرارشوندهٔ پشت سرهم ژنوم ویروس توسط فرآیند نوترکیبی که در نتیجهٔ یک فرآیند crossing-over حاصل می‌شود و یا مکانیسم همانندسازی دایرهٔ غلتان ویروس که در آن همانندسازی از یک منشاء همانندسازی آغاز شده و در منشاء همانندسازی دیگر ختم می‌شود صورت می‌گیرد (Rigden *et al*., 1996; Martin *et al*., 2000).

استفاده از روش Agroinfection مستلزم وجود همسانه عفونت زای ویروس می باشد. خوشبختانه همسانه عفونت زای ویروس BSCTV-Ir در مرکز تحقیقات ویروس شناسی گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز تولید شده و در این مرکز وجود دارد. این همسانه منبع نامحدودی از ایجاد آلودگی با ویروس برای ارزیابی مقاومت ارقام گیاهان میزبان به ویروس و مطالعات دیگر فراهم کرده است (Ebadzad sahraei *et al*,2008) روش دیگر ایجاد آلودگی در ارقام چغندر برای ارزیابی مقاومت مایه زنی ارقام بوسیله زنجرک های ناقل می باشد که با آلودگی طبیعی چغندر در مزرعه همخوانی بیشتری دارد.

هدف از این تحقیق بررسی مقاومت ارقام مختلف چغندر قند به بیماری پیچیدگی بوته در شرایط گلخانه بود. از دو روش Agroinoculation با استفاده از همسانه عفونت زای BSCTV-Ir و انتقال بوسیله ناقل (*C. hematoceps*) برای ایجاد آلودگی ارقام و ارزیابی مقاومت آنها به BSCTV-Ir استفاده شد.

This page was created using **Nitro PDF** trial software.
To purchase, go to http://www.nitropdf.com/

فصل دوم

مروری بر پژوهش‌های گذشته

۲-۱- تاریخچهٔ وقوع و پراکنش بیماری پیچیدگی بوته‌ای چغندر قند

از جمله بیماری‌های مهم چغندر قند در نواحی خشک و نیمه خشک جهان بیماری پیچیدگی بوته یا کرلی‌تاپ چغندرقند می‌باشد (Stenger *et al.* 1997). این بیماری، در شمال غرب و غرب آمریکای شمالی از کانادا تا مکزیک و در شرق مدیترانه و ایران شناخته شده می‌باشد (Stenger *et al.* 1997; Sutic *et al.*, 1999). به جهت اشتباه شدن علائم این بیماری با سایر بیماری‌ها و آسیب‌های گیاهی، زمان ظهور بیماری پیچیدگی بوته‌ای چغندرقند در آمریکا مشخص نمی‌باشد اگر چه قبل از سال ۱۸۸۸ علائم بیماری مزبور در چغندرلبویی در نبراسکا دیده شده است. در سال ۱۸۹۹ خسارات شدیدی در نتیجهٔ شیوع این بیماری در آمریکا گزارش گردید و صنعت چغندرقند این کشور نیز دچار زیان های اقتصادی شدیدی شد (Stenger *etal.* 1997). در دهه ۱۹۲۰ در آن نواحی به شدت گسترش یافت به طوری که موجب توقف کاشت چغندرقند در آن مناطق گردید و صنایع چغندرقند را به ورشکستگی کشاند (Bennett, 1977). اگر چه از طریق مبارزه با زنجرک ناقل تا حدودی جلوی این بیماری در امریکا گرفته شد ولی دوباره در سال ۲۰۰۱ به صورت یک مشکل جدی در کشاورزی کالیفرنیا بروز کرد (Wintermanttel *et al.*2003).

This page was created using **Nitro PDF** trial software.
To purchase, go to http://www.nitropdf.com/