

182A



F70PQ

دانشکده کشاورزی

گروه بیماری شناسی گیاهی

رساله دکتری

عنوان

مطالعه نژادهای فیزیولوژیک در جمعیت ایرانی

عامل بوته میری سویا *Phytophthora sojae*

با استفاده از روش‌های کلاسیک و مولکولی

نگارنده

عباس محمدی

استاد راهنما

دکتر عزیز الله علیزاده

اساتید مشاور

دکتر منصوره میرابوالفتحی دکتر ناصر صفائی

مهرماه ۱۳۸۶

۴۲۰۳۸

دستورالعمل حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهش های علمی دانشگاه تربیت مدرس

مقدمه: با عنایت به سیاست های پژوهشی دانشگاه در راستای تحقق عدالت و کرامت انسان ها که لازمه شکوفایی علمی و فنی است و رعایت حقوق مادی و معنوی دانشگاه و پژوهشگران، لازم است اعضای هیات علمی، دانشجویان، دانش آموختگان و دیگر همکاران طرح در مورد نتایج پژوهش های علمی که تحت عنوانین پایان نامه، رساله و طرح های تحقیقاتی با هماهنگی دانشگاه انجام شده است، موارد ذیل را رعایت نمایند:

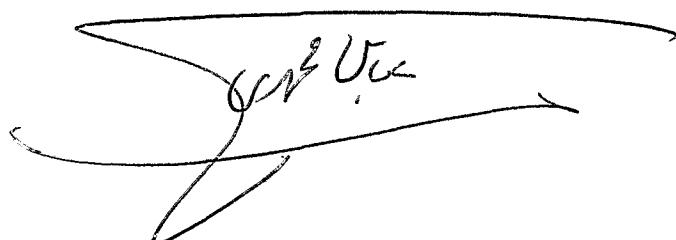
ماده ۱- حقوق مادی و معنوی پایان نامه ها، رساله های مصوب دانشگاه متعلق به دانشگاه است و هر گونه بهره برداری از آن باید با ذکر نام دانشگاه و رعایت آیین نامه ها و دستورالعمل های مصوب دانشگاه باشد.

ماده ۲- انتشار مقاله یا مقالات مستخرج از پایان نامه/رساله به صورت چاپ در نشریات علمی و یا ارائه در مجتمع علمی می باید به نام دانشگاه بوده و استاد راهنما نویسنده مسئول مقاله باشند. تبصره: در مقالاتی که پس از دانش آموختگی به صورت ترکیبی از اطلاعات جدید و نتایج حاصل از پایان نامه و رساله منتشر می شود نیز باید نام دانشگاه درج شود.

ماده ۳- انتشار کتاب حاصل از نتایج پایان نامه، رساله و تمامی طرح های تحقیقاتی دانشگاه باید با مجوز کتبی صادره از طریق حوزه پژوهشی دانشگاه و بر اساس آیین نامه های مصوب انجام شود.

ماده ۴- ثبت اختراع و تدوین دانش فنی و یا ارائه در جشنواره های ملی، منطقه ای و بین المللی که حاصل نتایج مستخرج از پایان نامه، رساله و تمامی طرح های تحقیقاتی دانشگاه باید با هماهنگی استاد راهنما یا مجری طرح از طریق حوزه پژوهشی دانشگاه انجام گیرد.

ماده ۵- این دستورالعمل در ۵ ماده و یک تبصره در تاریخ ۱۳۸۴/۰۴/۲۵ در شورای پژوهشی دانشگاه به تصویب رسیده و از تاریخ تصویب لازم الاجرا است و هرگونه تخلف از مفاد این دستورالعمل از طریق مراجع قانونی قابل پیگیری خواهد بود.



تقدیم به

پدر و مادر مهربان

و

همسر عزیزم

که در طول تحقیق بار زندگیم را با صبوری به
دوش کشیدند

به نام خدا

با سپاس از ایزد منان که به برکت وجود هشتمین نور ولایت بر من منت نهاد و رسیدن به این مقطع از علم و تحصیل را به من عطا کرد، بر خود لازم می دانم از اساتید و دوستانی که در انجام این رساله مرا یاری کردن تشكیر و قدردانی نمایم.

از استاد گرامی جناب آقای دکتر علیزاده که در تمام مراحل این تحقیق با راهنمایهای دلسوزانه خود مشوق بnde بودند کمال تشكیر و قدردانی را دارم. از خانم دکتر میرابوالفتحی که با مشاورت و راهنمایهای خود در مراحل انجام این تحقیق مرا یاری کردن تشكیر و قدردانی میکنم. از جناب آقای دکتر صفائی که مرا حل مولکولی این رساله با مشاورت و همکاریهای ایشان ممکن گردید تشكیر و قدردانی می کنم.

بر خود لازم می دانم که از جناب آقای دکتر ابراهیم محمدی گل تپه که هم در مقام استادی و هم در سمت مدیریت گروه بیماری شناسی دلسوزانه اینجانب را کمک و یاری کردن تشكیر و قدردانی نمایم. از جناب آقای دکتر شمس بخش مدیر گروه بیماری شناسی گیاهی که از مقطع کارشناسی ارشد تا کنون افتخار شاگردی ایشان را داشته ام قدردانی میکنم. همینطور از جناب آقای دکتر پورجم که هم در سمت مدیریت گروه و هم ریاست دانشکده یاریگر اینجانب بودند کمال تشكیر را دارم. از استاد گرامی جناب آقای دکتر مظفری که در تمام مراحل انجام این رساله با سعه صدر مرا یاری کردن و در بدترین شرایط کاری، راهنمایهای ایشان مرا بر مشکلات فائق آورده تشكیر می کنم و برای ایشان آرزوی موفقیت در تمام مراحل زندگی را دارم. از استاد فرزانه جناب آقای دکتر میناسان که مرا در انجام این تحقیق یاری کردن تشكیر و قدردانی می کنم. از کارشناسان گروه بیماری شناسی گیاهی آقایان مهندس مليحی و مهندس وامق و آقای ساداتی و از جناب آقای مهندس صادقی برای تامین بذور ارقام افتراقی قدردانی میکنم.

از دوستان عزیزم آقایان درویش نیا، اسکندری، رضایی دانش، سراجی، جمالی، خراسانی، درخشنان، صابری، رمجی و خانمها میرزاگی، زمانی، رنجبران، باکوبی و بقیه دانشجویان بیماری شناسی گیاهی که در طول تحصیل دوستانه و صادقانه مرا یاری کردن تشكیر و قدردانی می کنم. آرامش و آسایش من در طول این تحقیق مدیون زحمات و تشویقهای پدر و مادر و همسر مهربانم و خانواده ایشان بود که بار زندگی مرا در طی این تحقیق به دوش کشیدند. بر خود لازم می دانم که از آنها تشكیر و قدردانی نمایم و برایشان آرزوی سعادت و خوشبختی در تمام مراحل زندگی دارم.

در پایان از تمام کسانی که به هر نحو در انجام این تحقیق مرا یاری کردن تشكیر و قدردانی می نمایم.

فهرست مطالب:

۱	مقدمه:
۲	۱-۱- سویا(Soybean)
۳	۱-۱-۱- گیاهشناسی سویا.
۶	۱-۱-۴- تاریخچه و تولید سویا در ایران
۸	۱-۲- بیماری بوته میری سویا
۹	۱-۳- علائم و سیکل بیماری:
۱۱	۱-۴- طبقه بندی عامل بیماری:
۱۴	۱-۵- تعامل گیاه سویا با <i>P. sojae</i>
۱۴	۱-۵-۱- جذب زئوسپورها به سمت ریشه سویا
۱۵	۱-۵-۲- حساسیت و مقاومت سویا به <i>P. sojae</i>
۱۷	۱-۵-۳- ژنتیک تعامل سویا و قارچ <i>P. sojae</i>
۱۹	۱-۶- الیسیتینها(Elicitins)
۲۰	۱-۷- نژادهای <i>P. sojae</i>
۲۰	۱-۷-۱- تعاریف
۲۱	۱-۷-۲- تاریخچه نژادهای <i>P. sojae</i>
۲۲	۱-۷-۳- پراکنش نژادهای <i>P. sojae</i>
۲۸	۱-۸- مطالعه نژادهای <i>P. sojae</i> با نشانگرهای مولکولی
۳۳	۱-۸-۲- مطالعات انجام شده در ایران
۳۴	۲- مواد و روش ها.
۳۴	۲-۱- نمونه برداری
۳۴	۲-۲- جداسازی بیمارگر
۳۴	۲-۲-۱- جداسازی از بافت آلووده
۳۵	۲-۲-۲- جداسازی از خاک آلووده
۳۵	۲-۲-۲-۱- جداسازی با گیاهچه رقم حساس
۳۵	۲-۲-۲-۲- جداسازی با برگ رقم حساس
۳۵	۲-۳- خالص سازی
۳۵	۲-۴- شناسایی جدایه ها

۳-۲- تعیین نژاد جدایه های بیمارگر	۳۶
۲-۴- مطالعات مولکولی	۳۸
۱-۴-۲- تهیه ترده میسیلیوم	۳۸
۲-۴-۲- استخراج DNA	۳۸
۲-۴-۲- شناسایی و تایید گونه قارچ با آغازگر اختصاصی	۳۹
۲-۴-۲- مطالعه نماینده نژادها با آغازگرهای اختصاصی و مارکرهای مولکولی	۴۱
۲-۴-۲-۱- تکثیر ناحیه ITS با آغازگرهای ITS4 و ITS5	۴۱
۲-۴-۲-۲- تکثیر ژن الیستین	۴۲
۲-۴-۳- تعیین تنوع ژنتیکی جدایه های قارچ <i>P. sojae</i> بر اساس انگشت نگاری با DNA	۴۲
۲-۴-۴- استفاده از نشانگر RAPD و تکنیک مولکولی RAPD-PCR	۴۲
۲-۴-۴-۲- تعیین تنوع ژنتیکی جدایه های قارچ <i>P. sojae</i> بر اساس انگشت نگاری با DNA	۴۳
۲-۴-۴-۳- استفاده از نشانگر ISSR	۴۳
۲-۴-۵- تجزیه و تحلیل داده ها	۴۳
۲-۴-۵-۱- رتبه بندی داده های حاصل از الکتروفورز (Scoring)	۴۳
۲-۴-۵-۲- تجزیه خوش های (Cluster analysis)	۴۴
۲-۴-۵-۳- طراحی آغازگر SCAR بر اساس مارکر RAPD359	۴۴
۲-۴-۶- تعیین توالی ناحیه ITS جدایه های <i>P. sojae</i>	۴۵
۳- نتیجه و بحث:	۴۶
۳-۱- نمونه برداری	۴۶
۳-۲- جداسازی عامل بیماری	۴۶
۳-۲-۱- جداسازی از بافت	۴۶
۳-۲-۲- جداسازی از خاک	۴۶
۳-۲-۲-۱- جداسازی با تله برگ رقم حساس	۴۷
۳-۲-۲-۲- جداسازی با گیاهچه رقم حساس	۴۹
۳-۳- شناسایی عامل پوسیدگی ریشه و طوفه سویا	۴۹
۳-۴- تعیین نژاد عامل بیماری	۵۷
۳-۵- تشخیص <i>Phytophthora sojae</i> با استفاده از آغازگرهای اختصاصی	۷۰
۳-۶- تکثیر ژن Sojein1 با آغازگرهای اختصاصی	۷۱

۳-۷- تعیین تنوع ژنتیکی جدایه‌های قارچ <i>P. sojae</i> بر اساس انگشت‌نگاری DNA با استفاده از نشانگر RAPD	۷۲
۳-۷- تعیین تنوع ژنتیکی جدایه‌های قارچ <i>P. sojae</i> بر اساس انگشت‌نگاری DNA با استفاده از نشانگر ISSR	۸۲
۳-۸- تکثیر ناحیه ITS با آغازگرهای اختصاصی	۸۸
۳-۹- تعیین توالی ناحیه تکثیر شده توسط آغازگرهای اختصاصی	۸۹
۳-۱۰- تعیین توالی ناحیه ITS جدایه های <i>Phytophthora sojae</i>	۹۱
نتیجه گیری:	۹۶
منابع:	۹۸

فهرست اشکال

- شکل ۱-۱- سیکل زندگی قارچ *Phytophthora sojae* ۱۰
- جدول ۱-۲- ارقام افتراقی سویا استفاده شده برای آزمایش تعیین نژاد *Phytophthora sojae* ۳۷
- شکل ۲-۳- اندامهای رویشی و زایشی *Phytophthora sojae* ۵۱
- جدول ۳-۱- جدایه های *Phytophthora sojae* جمع آوری شده از مناطق سویا کاری ایران ۵۷
- شکل ۳-۲- واکنش ارقام افتراقی به جدایه های *Phytophthora sojae* ۵۹
- جدول ۳-۳- نژادهای *Phytophthora sojae* در هر منطقه ۶۰
- شکل ۳-۴- تکثیر ناحیه ITS قارچ *Phytophthora sojae* بوسیله آغازگرهای اختصاصی ۷۱
- شکل ۳-۵- ناحیه ۷۰۰ جفت بازی تکثیر شده *sojein1* در جدایه های *Phytophthora sojae* ۷۲
- شکل ۳-۶- الگوی باندی مربوط به محصولات PCR متعلق به ۵۰ جدایه منتخب *Phytophthora sojae* با استفاده از آغازگر تصادفی RAPD359 ۷۳
- شکل ۳-۷- دنдрوگرام ترسیم شده بر اساس روش UPGMA برای ۵۰ جدایه منتخب ۷۴
- شکل ۳-۸- الگوی باندی مربوط به محصولات PCR متعلق به ۵۰ جدایه منتخب *Phytophthora sojae* با استفاده از آغازگر تصادفی RAPD359 ۷۵
- شکل ۳-۹- دندرôگرام ترسیم شده بر اساس روش UPGMA برای ۵۰ جدایه منتخب *Phytophthora sojae* با استفاده از آغازگر تصادفی OPA20 ۷۶
- شکل ۳-۱۰- الگوی باندی مربوط به محصولات PCR متعلق به ۵۰ جدایه منتخب *Phytophthora sojae* با استفاده از آغازگر تصادفی OPE07 ۷۷
- شکل ۳-۱۱- دندرôگرام ترسیم شده بر اساس روش UPGMA برای ۵۰ جدایه منتخب *Phytophthora sojae* با استفاده از آغازگر تصادفی OPE07 ۷۸
- شکل ۳-۱۲- الگوی باندی مربوط به محصولات PCR متعلق به ۴۰ جدایه منتخب *Phytophthora sojae* با استفاده از آغازگر تصادفی RAPD77 ۷۹
- شکل ۳-۱۳- دندرôگرام ترسیم شده بر اساس روش UPGMA برای ۴۰ جدایه منتخب *Phytophthora sojae* با استفاده از آغازگر تصادفی RAPD77 ۸۰
- شکل ۳-۱۴- دندرôگرام ترسیم شده بر اساس روش UPGMA برای ۴۰ جدایه منتخب *Phytophthora sojae* با استفاده از مجموع آغازگرها تصادفی ۸۲

شکل ۱۴-۳- الگوی باندی مربوط به محصولات PCR متعلق به ۴۵ جدایه منتخب <i>Phytophthora</i>	۸۴
با استفاده از آغازگر ISSR1 <i>sojae</i>	
شکل ۱۵-۳- دندروگرام ترسیم شده بر اساس روش UPGMA برای ۴۰ جدایه منتخب	۸۴
با استفاده از آغازگر ISSR1 <i>Phytophthora sojae</i>	
شکل ۱۶-۳- دندروگرام ترسیم شده بر اساس روش UPGMA برای ۲۶ جدایه منتخب	۸۴
با استفاده از مجموع آغازگرها تصادفی و ISSR <i>Phytophthora sojae</i>	
شکل ۱۷-۳- الگوی باندی مربوط به محصولات PCR متعلق به ۲۵ جدایه منتخب <i>Phytophthora</i>	۸۸
<i>sojae</i> با استفاده از آغازگر SCAR	
شکل ۱۸-۳- الگوی باندی مربوط به محصولات PCR متعلق به ۵۰ جدایه منتخب <i>Phytophthora</i>	۹۰
<i>sojae</i> با استفاده از آغازگرهای ITS4 و ITS5	
شکل ۱۹-۳- تنظیم توالی ناحیه تکثیر شده <i>Phytophthora sojae</i> با آغازگرهای اختصاصی Ps1 و Ps2 در جدایه های ایرانی و جدایه های بانک ژن	۸۹
شکل ۲۱-۳- تنظیم توالی ناحیه ITS جدایه های ایرانی <i>Phytophthora sojae</i> با توالیهای بانک ژن	۹۶
شکل ۲۲-۳- درخت فیلورژنی ترسیم شده بر اساس توالی ناحیه تکثیر شده ITS جدایه های ایرانی <i>P. sojae</i> و مقایسه آن با توالی های موجود در بانک ژن	۹۷
شکل ۲۲-۳- درخت فیلورژنی ترسیم شده بر اساس توالی ناحیه تکثیر شده ITS جدایه های ایرانی <i>P. sojae</i> و مقایسه آن با توالی های موجود در بانک ژن	۹۷

خلاصه:

بیماری پوسیدگی ریشه و طرقه سویا که توسط قارچ *Phytophthora sojae* ایجاد می‌گردد، مهمترین بیماری مزارع سویا در ایران است. بیش از ۱۴۰ جدایه قارچ *P. sojae* در فصول زراعی ۱۳۸۴ و ۱۳۸۳ از مزارع استانهای لرستان، گلستان، مازندران و دشت مغان جمع آوری گردید. جداسازی عامل بیماری از بافت آلوده با استفاده از محیط نیمه اختصاصی PARPH و جداسازی از خاک به روش تله برگ سویا صورت گرفت. شناسایی جدایه‌ها با استفاده از خصوصیات مورفولوژیکی و آغازگرهای اختصاصی انجام گردید. تعیین نژاد جدایه‌های قارچی با روش تلقیح هیپوکوتیل بر روی ۱۰ رقم افتراقی که هر کدام حامل یکی از ژنهای مقاومت به *P. sojae* بودند، انجام شد. یک گروه از جدایه‌ها فقط روی رقم Harosoy بیماریزا بودند و به عنوان نژاد ۱ شناسایی شدند. گروه دوم که به عنوان نژاد ۳ شناسایی شدند بر روی ارقام Harosoy و Union بیماریزا بودند. هر دو نژاد از تمام مناطق آلوده جداسازی گردیدند و در هر سه ناحیه نژاد ۱ در جدایه‌های آزمون شده غالب بود. با استفاده از نشانگرهای RAPD و ISSR تنوع موجود در ۵۰ جدایه از نژادها و مناطق مختلف بررسی شد. نتایج مطالعات تنوع جمعیت نشان داد که کمتر از ۱۵ درصد تنوع در جدایه‌ها وجود دارد. هیچ گونه همبستگی بین نژادهای فیزیولوژیک، پراکنش جغرافیایی و نشانگرهای مولکولی مطالعه شده در این تحقیق وجود نداشت. علاوه بر مطالعه تنوع جمعیت، با استفاده از آغازگرهای اختصاصی، ناحیه ITS حدود ۲۳ جدایه از نژادها و مناطق مختلف تکثیر و تعیین توالی گردید. جدایه‌های بررسی شده در چهار گروه قرار گرفتند. گروه بندی جمعیت ایرانی *P. sojae* بر اساس توالی ناحیه ITS نیز نتوانست جدایه‌های مناطق یا نژادهای مختلف را از هم تفکیک نماید. بنابراین نتایج این تحقیق نشان داد که نژادهای *P. sojae* موجود در مزارع ایران دارای منشاء یکسان بوده و تنوع جمعیت موجود در ایران تنوع بسیار پایینی دارد. به نظر می‌رسد که این قارچ به همراه بذر به ایران وارد شده و در طی سالیان متعددی به مناطق مختلف پراکنده شده است.

کلمات کلیدی: ITS, ISSR, RAPD، نژاد، تلقیح هیپوکوتیل، ارقام افتراقی، *Phytophthora sojae* و تعیین توالی

مقدمة

مقدمه:

دانه های روغنی پس از غلات مهمترین محصولات استراتژیک کشاورزی هستند. گیاه سویا با داشتن ۲۰-۲۵ درصد روغن و حدود ۴۰ درصد پروتئین، بیش از ۵۰ درصد تولید دانه های روغنی را به خود اختصاص داده است (لطیفی، ۱۳۷۲).

سویا از گیاهان زراعی است که در مناطق مختلف کشور در استانهای گلستان، مازندران، لرستان و اردبیل کشت می‌گردد. بر اساس آمار شرکت دانه های روغنی سطح زیر کشت سویا در سالهای مختلف متفاوت بوده و بیش از ۸۰ هزار هکتار اراضی کشور به کشت این گیاه اختصاص یافته است (آمار شرکت توسعه دانه های روغنی سال های ۱۳۴۶-۸۲). یکی از عوامل تاثیر گذار بر میزان تولید سویا در ایران خصوصاً در استان لرستان بیماری پوسیدگی ریشه و ساقه ناشی از قارچ *Phytophthora sojae* است که میزان خسارت آن بسته به شرایط آب و هوایی و نوع رقم متفاوت است (رضایی و علیزاده، ۱۳۷۷). به دلیل خاکزد بودن عامل بیماری کنترل آن بسیار مشکل و تنها با ارقام مقاوم یا متحمل قابل انجام است (Erwin & Ribeiro, 1996). گیاه سویا بومی ایران نیست بنابراین شناخت ژنتیک عامل بیماری برای معرفی ارقام جدید ضروری است. رابطه بین گیاه و قارچ از رابطه ژن برای ژن پیروی می‌کند. تا کنون ۱۳ ژن مقاومت در گیاه سویا شناخته شده که مقاومت حاصل از تعامل آنها با ژنهای غیر بیماریزایی بیمارگر در گیاه اغلب به صورت مقاومت عمودی و تک ژنی است (Burnham et al., 2003). با استناد به واکنش مجموعه ای از ارقام افتراقی حاوی حداقل یکی از ژنهای فوق در برابر ژنهای غیر بیماریزایی جدایه های مختلف بیمارگر، نژادهای عامل بیماری شناسایی و نامگذاری شده اند. بیش از ۵۰ نژاد قارچ شناخته شده که پراکنش آنها در مناطق مختلف از هم متفاوت است (Schmitthenner et al., 1994). بیشترین تنوع نژادهای *P. sojae* در آمریکا مشاهده گردیده ولی تعداد محدودی از نژادها نیز از کشورهای دیگر گزارش گردیده است (Kaitany et al., 2001). مطالعات صورت گرفته در مورد این بیماری در ایران بسیار محدود است. بیولوژی عامل بیماری مورد بررسی قرار گرفته و مقاومت برخی ارقام به این عامل

بیماری تست گردیده است. تعداد محدودی جدایه نیز جهت تعیین نژاد تست گردیده اند(رضایی و علیزاده، ۱۳۷۷، میرابولفتحی و همکاران، ۱۳۷۹ و صادقی و میرابولفتحی، ۱۳۸۶).

کشور ما ارقام مورد نیاز خود را از کشورهای دیگر وارد می کرد ولی در حال حاضر به دلیل محدودیت وارد کردن ارقام جدید و نیاز به ارائه ارقام سازگار با شرایط بومی کشور، توسعه کشت ارقام مناسب با نیاز مناطق مختلف ضروری است. در این راستا شناخت ژنتیک عامل بیماریزا و تعیین نژاد آن از گامهای اساسی است. تا با استناد به وضعیت جمعیت بیمارگر، ارقام مناسب برای هر منطقه معرفی گردد. از طرفی مطالعه مولکولی جمعیت این قارچ تا کون صورت نگرفته و اطلاعات کافی در این زمینه در دسترس نیست. در این تحقیق تلاش شد تا از استانهای گلستان، مازندران، لرستان و مزارع دشت مغان که مناطق اصلی کشت سویا در کشور هستند نمونه های آلوده جمع آوری و عامل بیماری جدا گردد. از آنجایی که جمعیت بیمارگر در خاک دارای تنوع بیشتری نسبت به جمعیت موجود در بافت آلوده است، از خاک مزارع آلوده نمونه برداری و با استفاده از تله برگ جداسازی صورت گرفت. نژادهای عامل بیماری در مناطق مختلف در شرایط گلخانه و با استفاده از ارقام افتراقی شناسایی گردید. با توجه به وقت گیر بودن تستهای تعیین نژاد که در گلخانه صورت می گیرد و تاثیر پذیری این آزمایشات از شرایط محیطی، توسعه روشهایی پایدارتر و مطمئن تر ضروری است. در این راستا سعی شد ژنهایی از قارچ که مرتبط با بیماری‌ای هستند و یا نشانگرهای تصادفی برای گروه بندی جمعیت قارچ استفاده گردد.

۱-۱-۱- سویا (Soybean)

۱-۱-۱- گیاه‌شناسی سویا

سویا *Glycine max*(L.)Merr گیاهی است یک‌ساله از خانواده بقولات (Fabaceae)، زیر خانواده پروانه آسایان (Papilionoideae) و طایفه لوپیاپیان (Phaseoleae)، که یک ساقه اصلی مستقیم و شاخه‌های منشعب و رشد بوته مانند، برگ‌های مرکب سه برگچه‌ای پر مانند دارد. برگچه‌ها پهن، بیضی- تخم مرغی تا تخم مرغی کشیده و کرکدار هستند. گلها به رنگ ارغوانی یا سفید و به صورت خوش‌های جانبی کوتاه روی پایکهای محدود (Determinate) یا نامحدود (Indeterminate) تولید می‌شوند. میوه به صورت نیام کشیده یا مستقیم و پوشیده از کرک، یک تا سه بذر. بیضی تا کروی در هر غلاف وجود دارد. رنگ بذرها متنوع و زرد کمرنگ، سبز زیتونی و یا قهوه‌ای تا سیاه مایل به قرمز است. وزن یک‌صد دانه از ۱۰ تا ۲۰ گرم متغیر می‌باشد (یوسفی، ۱۳۷۴) و (Hymowitz & Sing, 1987).

۱-۱-۲- تاریخچه و پراکنش سویا

گونه زراعی سویا هیچگاه در طبیعت یافت نشده است. به نظر می‌رسد این گیاه به صورت وحشی ابتدا در چین و نواحی مجاور آن در شوروی سابق، کره، ژاپن و تایوان وجود داشته، گیاهی یک یا دو ساله و از نظر کروموزومی دیپلوئید است (Hymowitz & Sing, 1987). در تاکسونومی گیاهی، سویای وحشی با نام *Glycine sojae* Sieb. and Zucc. شناخته می‌شود. طی قرون هفدهم تا یازدهم قبل از میلاد مسیح در زمان سلسله شانگ یا پیش از آن تلاش‌هایی برای اهلی کردن این گونه صورت گرفت اما نتیجه‌ای در بر نداشت. پس از آن یک فرم سویایی زراعی به نام *G. gracilis* به وجود آمده که به نظر می‌رسد حد واسط گونه‌های سویایی وحشی و اهلی باشد. نام این گونه بعد‌ها به *G. max f. sp. gracilis* تغییر یافت (Hymowitz & Sing, 1987). برخی متخصصین طبقه بندی معتقدند احتمالاً سویایی زراعی از *G. ussuriensis* Regals and Maack گیاه

خزنده ای متعلق به شمال چین، کره و تایوان به وجود آمده است (لطیفی، ۱۳۷۲). جنس *Glycine* دارای زیر جنسهای متعددی است که بعضی از آنها گیاهان خزنده چند ساله بوده، در استرالیا، آفریقا و جنوب غربی آسیا یافت می شوند. کوشش برای دورگ گیری این گونه ها با *G. max* بی نتیجه بوده است (لطیفی، ۱۳۷۲). جنس *Glycine* دارای ۹ گونه می باشد که یکی از آنها گونه زراعی *G. max* است (یوسفی، ۱۳۷۴).

سویای اهلی که در تاکسونومی گیاهی با نام علمی *Glycine max* (L.) Merr شناخته می شود طی قرون یازدهم تا هفتم قبل از میلاد مسیح در زمان سلسله کو در چین به صورت زراعی در آمده است (Smith & Huyser, 1987). موطن اصلی سویا شمال شرق چین و منچوری بوده سپس به مناطق دیگر جهان گسترش یافته است (لطیفی، ۱۳۷۲). سویای اهلی تنوع ظاهری زیادی دارد که ناشی از توسعه نژادهای زراعی در آسیای شرقی بوده و بعدها یکساله شده است، نسل های پیاپی زارعین این گیاه را یرای تغذیه، تعلیف، مراسم مذهبی، یادبودها و یا به دلیل ارزش‌های دارویی کشت داده و مورد استفاده قرار داده اند. امروزه این نژادهای زراعی به عنوان منابع ژنتیکی در مجموعه های ذخیره ژنتیکی سویا نگهداری می شوند. در سال ۱۷۶۵ یک دریانورد بنام ساموئل باون که در استخدام کمپانی هند شرقی بود سویا را از چین به لندن و سپس به مزرعه خود در ساوانا (مستعمره جورجیا) برداشت. وی سس سویا را تولید کرد و به لندن صادر نمود. در سال ۱۸۵۱ سویا توسط دکتر بنجامین فرانکلین ادواردز به ایالات میانی نیمه غربی آمریکا معرفی شد. وی بذور را از ماهیگیران ژاپنی که با کشتی آوکلند سفر می کردند گرفت. تا سال ۱۸۵۴ بذوری که به ایالت ایلینویز آورده شده بودند تکثیر و در تمام آمریکا متشر و توسط کشاورزان ارزیابی شد. طی قرن نوزدهم سویا بیشتر در مراکز تحقیقاتی تولید می گردید که به جز موراد محدودی نتیجه اکثر تحقیقات مثبت بود و به دلیل توانایی تولید، عملکرد بالا و قابلیت تطبیق آن با شرایط اقلیمی و خاکهای متنوع ارزش زیادی پیدا

کرد. سویا در شرق به عنوان غذای انسانی و حیوان دارای سابقه‌ای بسیار قدیمی است
. (Smith & Huyser, 1987)

در آمریکا سویا ابتدا به منظور تعلیف دام تولید می‌شد و سپس به منظور افزایش ازت خاک در تناوب با ذرت کشت گردید. استفاده موفقیت آمیز از سویا به عنوان دانه روغنی در اروپا طی دهه اول قرون بیستم توجه آمریکاییها را جلب کرد اما تولید محدود سویا در آمریکا نیاز به واردات را اجتناب ناپذیر می‌نمود. در سال ۱۹۱۱ برای اولین بار در آمریکا روغن و کنجاله سویا با استفاده از سویای وارداتی از منچوری تولید شد. تا سال ۱۹۱۷ واردات از منچوری ادامه داشت اما در این سال آسیابهای پنبه دانه در جنوب متوجه امکان استفاده از سویا به عنوان دانه روغنی شدند و با تولید کنندگان سویا قرارداد بستند.

عامل دیگری که باعث افزایش سطح زیر کشت سویا گردید خسارت شدید کرم غوزه پنبه در جنوب آمریکا بود که باعث شد تا سویا جایگزین آن شود. در سال ۱۹۲۸ گروههای متعددی در ایلی نویز بیست هزار هکتار از مزارع را به کشت سویا اختصاص دادند تا سویای کافی برای روغن کشی تامین شود. با وجود افزایش سطح زیر کشت طی سالهای ۱۹۲۰-۳۰ بیشتر محصول تولید شده جهت تعلیف دام مورد استفاده قرار می‌گرفت. با قبول کنجاله سویا به عنوان مکمل غذایی و غذای طیور، سطح بیشتری از مزارع زیر کشت سویا قرار گرفت و سویا به عنوان یکی از مهمترین محصولات کشاورزی آمریکا و جهان شناخته شد.

تولید سویا در جهان از سال ۱۹۷۰ تقریباً دو برابر شد. آمریکا، بربزیل، چین و آرژانتین کشورهای عمدۀ تولید کننده سویا در جهان می‌باشند و بیش از ۹۵ درصد تولید سویا در جهان را دارا می‌باشند. سطح زیر کشت سویا در دنیا حدود ۵۲ میلیون هکتار و تولید آن حدود ۹۵ میلیون تن است (Smith & Huyser, 1987).

۱-۳-۱- اهمیت سویا

سویا را می توان بعد از گیاهانی نظیر غلات کشت نمود(لطیفی، ۱۳۷۲ و یوسفی، ۱۳۷۴). به دلیل داشتن لپه های محتوی ۳۶-۴۰ درصد پروتئین و ۱۸-۲۲ درصد روغن، منبع بسیار مهمی برای تغذیه دام و تهیه روغن خوراکی است(لطیفی، ۱۳۷۲).

فرآورده های سویا را به سه گروه دسته بندی می شوند: دانه، روغن و کنجاله. روغن سویا یکی از انواع صلی روغن های خوراکی است و برای خوراک انسان به صور مختلف به خصوص مارگارین و روغن جامد مورد استفاده قرار می گیرد. کنجاله سویا به عنوان یک منبع پروتئین جهت اختلاط با سایر خوراکهای دام و طیور به میزان زیادی استفاده می شود. به عنوان منبع غذای انسانی نیز به مقدار کم استفاده می گردد. نوسانات قیمت سویا بیشتر تحت تاثیر استفاده از روغن و کنجاله است. دانه سویا حاوی پروتئین، چربی، هیدرات کربن و عناصر دیگر می باشد که پروتئین و چربی بسته به تغییرات آب و هوایی و ژنتیک گیاه به ترتیب ۳۶-۴۰ و ۱۸-۲۲ درصد ترکیبات دانه را تشکیل می دهد(لطیفی، ۱۳۷۲).

کل محصول تولید شده سویا در جهان به کنجاله و روغن تبدیل می شود. کنجاله سویا در تجارت جهانی جایگاه ویژه‌ای دارد و در سالهای ۱۹۸۷-۸ حدود ۶۰ درصد تولید کنجاله های دانه های روغنی را تشکیل می داده است(Smith & Huyser, 1987).

۱-۱-۴- تاریخچه و تولید سویا در ایران

از سابقه زراعت سویا در ایران اطلاعی در دست نیست. از سالها پیش در گیلان زراعت یک رقم سویا که آنرا پشم باقلا یا خرس باقلا و یا کرد باقلا می نامند معمول بوده است(یوسفی، ۱۳۷۴). سابقه کشت سویا در ایران به سالهای میانی دهه ۱۳۴۰ مربوط می شود که با وارد کردن ارقام از ایالات متحده، ژاپن و برزیل، در استانهای مازندران، گلستان و لرستان گسترش یافته است(یوسفی،

(۱۳۷۴). براساس آمار شرکت کشت و توسعه دانه های روغنی، سطح زیر کشت سویا در سالهای مختلف متفاوت بوده است. در سال ۱۳۴۶ سطح زیر کشت سویا در ایران ۳۸۳۱ هکتار و میزان محصول ۲۰۵۵ تن بوده است. عملکرد در واحد سطح نیز ۵۳۶ کیلوگرم بوده است. در بعضی سالها (سال ۱۳۷۳) بیش از ۱۰۳ هزار هکتار از اراضی کشور زیر کشت این محصول قرار داشته است. در سالهای ۸۱-۸۲ بیش از ۶۴ هزار هکتار از اراضی کشور به این محصول اختصاص یافته و حدود ۱۷۷ تن سویا در مناطق گرگان، گنبد، بابل، ساری، لرستان، اردبیل، کرمانشاه و دزفول بوده خریداری شده است. در مناطق شمالی کشت این محصول از کشت بهاره به کشت دوم پس از برداشت غلات منتقل گردیده است. در استان اردبیل و خوزستان هم به صورت کشت دوم مورد استفاده قرار می گیرد(آمار منتشر نشده شرکت دانه های روغنی در سالهای ۱۳۴۶-۸۲).

۱-۲- بیماری بوته میری سویا

۱-۲-۱- پراکنش بیماری :

بوته میری سویا یکی از معضلات کشت این گیاه در مناطق مرطوب و یا مناطق با کشت غرقابی می باشد. این بیماری میلیونها دلار در سال خسارت به بار می اورد (McBlain *et al.*, 1991). اشمتنر (Schmitthenner, 1985) معتقد است که بیماری بوته میری سویا تنها بیماری فیتوفتراای حبوبات و دانه های روغنی است. دوپنیک (Doupnik, 1993) این بیماری را به عنوان دومین عامل خسارت سویا معرفی کرده است. این بیماری توسط قارچ *Phytophthora sojae* ایجاد می گردد (Erwin & Ribeiro, 1996) Schmitthenner, 1985).

بیماری پوسیدگی ریشه و ساقه سویا از عواملی است که میزان تولید این محصول را به ویژه در مناطق با رطوبت بالا و کشت ارقام حساس به شدت کاهش می دهد (Schmitthenner *et al.*, 1996). این بیماری از کشورهای آمریکا (Pegg *et al.*, 1994), استرالیا (Schmitthenner *et al.*, 1994), Kaufmann & Gerdemann, 1958)، آرژانتین (Barreto *et al.*, 1995)، ایران (رضایی و علیزاده، ۱۳۷۷) و میرabolفتحی و همکاران، ۱۳۷۷)، ژاپن (Forster *et al.*, 1994)، برباز (Costamilan, 1996) و چین (Kyle *et al.*, 1994) گزارش گردیده است. سویا مهمترین میزان این بیمارگر است ولی روی بعضی گیاهان دیگر (1998) گزارش گردیده است. سویا میزان این بیمارگر می نماید و احتمال می رود این خصوصاً گونه های جنس *Lupin* نیز ایجاد بلاست و پوسیدگی می نماید (Erwin & Ribeiro, 1996). گیاهان میزان طبیعی عامل بیماری باشند.

۱-۲-۲- تاریخچه بیماری :

بوته میری سویا برای اولین بار به عنوان یک بیماری جدید در سال ۱۹۴۸ از ایالت ایندیانا ایالت ایالت اوهایو و سایر ایالت‌های شمالی نیمه غربی آمریکا علائم آمریکا گزارش گردید. در سال ۱۹۵۱ در ایالت اوهایو و سایر ایالت‌های شمالی نیمه غربی آمریکا علائم