



دانشگاه فردوسی مشهد
دانشکده کشاورزی
گروه گیاهپزشکی

پایان نامه کارشناسی ارشد

**شناسایی و تعیین برخی خصوصیات بیولوژیکی و مولکولی
ویروس موزائیک کلم گل در استان‌های خراسان رضوی، شمالی
و آذربایجان غربی**

آزاده انتظاری

شهریورماه ۱۳۹۱



دانشگاه فردوسی مشهد
دانشکده کشاورزی
پایان نامه کارشناسی ارشد

**شناسایی و تعیین برخی خصوصیات بیولوژیکی و مولکولی
ویروس موزائیک کلم گل در استان‌های خراسان رضوی، شمالی
و آذربایجان غربی**

آزاده انتظاری

استاد راهنما

دکتر بهروز جعفرپور

استاد مشاور

دکتر محسن مهرور

شهریورماه ۱۳۹۱



دانشگاه فردوسی مشهد
دانشکده کشاورزی، گروه گیاهپزشکی

از این پایان نامه کارشناسی ارشد توسط خانم آزاده انتخاری دانشجوی مقطع کارشناسی ارشد رشته بیماری شناسی گیاهی، در تاریخ ۱۳۹۱/۶/۲۶ در حضور هیات داوران

دفاع گردید. پس از بررسی های لازم، هیات داوران این پایان نامه را با نمره ، حروف ، و با درجه مورد تایید قرارداد / نداد.

عنوان پایان نامه: شناسایی و تعیین برخی خصوصیات بیولوژیکی و مولکولی ویروس موزائیک کلم گل در استان های خراسان رضوی، شمالی و آذربایجان غربی

امضاء	موسسه / دانشگاه	گروه	مرتبه علمی	نام و نام خانوادگی	سمت در هیات داوران
	دانشکده کشاورزی	گیاهپزشکی	استاد	آقای دکتر بهروز جعفرپور	استاد راهنما
	دانشکده کشاورزی	گیاهپزشکی	استادیار	آقای دکتر محسن مهرور	استاد مشاور
	دانشکده کشاورزی	گیاهپزشکی	دانشیار	خانم دکتر عصمت مهدیخانی مقدم	استاد داور
	دانشکده کشاورزی	گیاهپزشکی	استادیار	آقای دکتر محمد زکی عقل	استاد داور
	دانشکده کشاورزی	گیاهپزشکی	استادیار	خانم دکتر ساره بقائی	نماینده تحصیلات تکمیلی

تعهد نامه

عنوان پایان نامه :

شناسایی و تعیین برخی خصوصیات بیولوژیکی و مولکولی ویروس موزائیک کلم گل در استان های خراسان رضوی، شمالی و آذربایجان غربی

اینجانب **آزاده انتظاری** دانشجوی دوره کارشناسی ارشد رشته بیماری شناسی گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد تحت راهنمایی آقای دکتر بهروز جعفرپور متعهد می شوم:

- نتایج ارائه شده در این پایان نامه حاصل مطالعات علمی و عملی اینجانب بوده، مسئولیت صحت و اصالت مطالب مندرج را به طور کامل بر عهده می گیرم.

- در خصوص استفاده از نتایج پژوهشهای محققان دیگر به مرجع مورد نظر استناد شده است.

- مطالب مندرج در این پایان نامه را اینجانب یا فرد دیگری به منظور اخذ هیچ نوع مدرک یا امتیازی تاکنون به هیچ مرجعی تسلیم نکرده است.

- کلیه حقوق معنوی این اثر به دانشگاه فردوسی مشهد تعلق دارد. مقالات مستخرج از پایان نامه، ذیل نام دانشگاه فردوسی مشهد (Ferdowsi University of Mashhad) به چاپ خواهد رسید.

- حقوق معنوی تمام افرادی که در به دست آمدن نتایج اصلی پایان نامه تاثیر گذار بوده اند در مقالات مستخرج از رساله رعایت خواهد شد.

- در خصوص استفاده از موجودات زنده یا بافتهای آنها برای انجام پایان نامه، کلیه ضوابط و اصول اخلاقی مربوطه رعایت شده است.

تاریخ: ۱۳۹۱/۶/۲۶

نام و امضاء دانشجو:

آزاده انتظاری

مالکیت نتایج و حق نشر

- کلیه حقوق معنوی این اثر و محصولات آن (مقالات مستخرج، برنامه های رایانه ای، نرم افزارها و تجهیزات ساخته شده) به دانشگاه فردوسی مشهد تعلق دارد و بدون اخذ اجازه کتبی از دانشگاه قابل واگذاری به شخص ثالث نیست.
- استفاده از اطلاعات و نتایج این پایان نامه بدون ذکر مرجع مجاز نیست.

چکیده

ویروس موزائیک کلم گل (*Cauliflower mosaic Virus-CaMV*) عضو تیپ جنس *Caulimovirus* از خانواده *Caulimoviridae* می باشد که به عنوان مهم ترین ویروس آلوده کننده گیاهان خانواده کروسیفرا در ایران شناخته شده است. به منظور شناسایی و تعیین برخی از خصوصیات بیولوژیکی و مولکولی *CaMV* در طی سال های ۱۳۸۹-۱۳۹۰ تعداد ۳۵۸ نمونه گیاهی مشکوک به آلودگی از مزارع کاشت کلم گل و شلغم در استان های خراسان رضوی، شمالی و آذربایجان غربی جمع آوری شد. در ابتدا جهت ارزیابی وجود ویروس در نمونه های مشکوک به آلودگی از آزمون سرولوژیکی *DAS-ELISA* استفاده گردید. نتایج حاصله نشان داد که از میان ۲۹۹ نمونه برگی کلم گل، ۱۴۶ نمونه و از میان ۵۹ نمونه برگی شلغم ۳۶ نمونه آلوده به این ویروس بودند. به منظور تکثیر *CaMV*، بر روی گیاهان محک *Brassica oleracea var. Brassica rapa cv. Just Right*، *Datura stramonium* و *gongyloides* مایه زنی انجام شد. جهت شناسایی، تعیین قابلیت انتقال و بررسی تنوع ژنتیکی در جدایه های ایرانی شناسایی شده در این تحقیق، به ترتیب چارچوب های ژنی چهارم (ORF IV)، دوم (ORF II) و ششم (ORF VI) ویروس با اندازه های تقریبی ۱۴۰۰، ۷۲۴ و ۱۵۰۰ جفت باز در آزمون *PCR* تکثیر و از میان نمونه های آلوده شش جدایه جهت تعیین توالی نوکلئوتیدی انتخاب شدند. رسم درخت فیلوژنتیکی برای هر سه ژن با استفاده از نرم افزار *MEGA 5* و بکارگیری روش *Neighbor joining* انجام شد. نتایج حاصل از هم ردیف سازی چندگانه توالی های نوکلئوتیدی چارچوب ژنی دوم جدایه های ایرانی با سایر جدایه های موجود در بانک ژن نشان داد که جدایه های ایرانی به جز جدایه *CaMV-Msh8* دارای بیشترین درصد تشابه با جدایه ای از چین (AF140604)، ۹۹/۴٪-۹۸/۷٪ می باشند و این در حالی است که جدایه *CaMV-Msh8* دارای بیشترین درصد تشابه با جدایه ای از اصفهان (AY703456)، ۹۸/۷٪ بود. مقایسه توالی های آمینواسیدی *ORF II* جدایه های ایرانی با سایر جدایه های موجود در بانک ژن و مشاهده اسید های آمینه گلايسين (G) و ایزولوسين (I) به ترتیب در موقعیت های ۹۴ و ۱۰۵ آمینو اسیدی، احتمال قابلیت انتقال تمامی جدایه های ایرانی توسط شته ناقل را تأیید نمود. نتایج به دست آمده از هم ردیف سازی چندگانه توالی های نوکلئوتیدی چارچوب ژنی چهارم جدایه های ایرانی با سایر جدایه های موجود در بانک ژن نشان داد که جدایه های ایرانی دارای بیشترین درصد تشابه در سطح nt با جدایه هایی از مجارستان و چین به میزان ۹۶/۹٪-۹۶/۵٪ و ۹۶/۴٪-۹۶٪ می باشند. آنالیز مولکولی و رسم درخت تبارزایی *ORF VI* مربوط به شش جدایه نشان داد که جدایه های شناسایی شده از کلم گل دارای بیشترین شباهت در سطح nt با جدایه ای از چین به میزان (۹۸/۶٪-۹۸/۳٪) می باشند و این در حالی است که جدایه جدا شده از شلغم دارای بیشترین شباهت در سطح nt با جدایه ای از میبد یزد (DQ870916)، ۹۷/۷٪ بود. شباهت جدایه *CaMV-Turnip2* در سطح nt، ۸۵/۵٪-۸۵٪ با جدایه های شناسایی شده از کلم گل بوده که در درخت فیلوژنتیکی رسم شده مجزا از این جدایه ها و در گروه I قرار گرفت. این مطالعه اولین گزارش از وجود ویروس موزائیک کلم گل در استان خراسان شمالی و بعضی از شهرستان های استان خراسان رضوی می باشد.

کلید واژه ها: ویروس موزائیک کلم گل (*CaMV*)، *DAS-ELISA*، *PCR*.

فهرست مطالب

فصل اول

مقدمه

- ۱-۱- خصوصیات گیاه مورد آزمایش در این تحقیق..... ۱
- ۱-۱-۱- کلم گل ۱
- ۱-۱-۱-۱- منشأ کلم گل ۱
- ۱-۱-۱-۲- گیاه شناسی کلم گل ۱
- ۱-۱-۱-۳- نیازهای محیطی ۳
- ۱-۱-۱-۴- سطح زیر کشت ۳
- ۱-۲- اهمیت بررسی ویروس موزائیک کلم گل ۴
- ۱-۳- اهداف تحقیق ۵

فصل دوم

بررسی منابع

- ۱-۲- تاریخچه ۷
- ۲-۲- بررسی ویروس موزائیک کلم گل CaMV در ایران ۹
- ۳-۲- جایگاه ویروس در طبقه بندی ویروس های گیاهی ۹
- ۴-۲- مشخصات خانواده ۱۰
- ۵-۲- مشخصات ویروس ۱۳
- ۵-۲-۱- مشخصات مورفولوژیک ۱۳
- ۵-۲-۲- خصوصیات فیزیکوشیمیایی ۱۳
- ۵-۲-۳- خصوصیات بیوشیمیایی ۱۳
- ۵-۲-۴- خصوصیات آنتی ژنتیکی و روابط سرولوژیک ۱۸
- ۶-۲- سیتو پاتولوژی ۱۹
- ۷-۲- دامنه میزبانی ۲۰
- ۸-۲- علائم ویروس ۲۱
- ۹-۲- گیاهان محک ۲۱
- ۱۰-۲- میزبان غیر حساس ویروس ۲۴
- ۱۱-۲- گونه های تکثیری و آزمایشی ۲۴

- ۳-۶-۱- شرح روش استخراج..... ۴۲
- ۳-۶-۲- مواد لازم جهت تهیه بافر استخراج..... ۴۳
- ۳-۷-۱- ارزیابی کیفیت DNA استخراج شده..... ۴۴
- ۳-۷-۲- اسپکتروفتومتری..... ۴۴
- ۳-۷-۳- الکتروفورز..... ۴۵
- ۳-۸- نگهداری DNA..... ۴۵
- ۳-۹- آغازگرها..... ۴۵
- ۳-۱۰- واکنش زنجیره ای پلیمرز (PCR)..... ۴۸
- ۳-۱۰-۱- انجام PCR به روش دستی..... ۴۸
- ۳-۱۰-۲- روش کار با استفاده از کیت Accupower PCR Premix, Kit, Bioneer..... ۴۸
- ۳-۱۱- تشخیص فرآورده های PCR..... ۵۰
- ۳-۱۱-۱- الکتروفورز ژل آگارز..... ۵۰
- ۳-۱۲- استخراج DNA از روی ژل آگارز..... ۵۰
- ۳-۱۳- توالی یابی DNA..... ۵۱
- ۳-۱۴- نرم افزارهای بکاربرده شده جهت انجام آنالیزهای مولکولی..... ۵۱

فصل چهارم

نتایج

- ۴-۱- شناسایی ویروس موزائیک کلم گل در مزارع..... ۵۳
- ۴-۲- علائم ویروس موزائیک کلم گل در مزارع آلوده..... ۵۵
- ۴-۳- نتایج آزمون الیزا و شناسایی گیاهان آلوده به ویروس موزائیک کلم گل..... ۵۸
- ۴-۴- مایه زنی مکانیکی..... ۵۹
- ۴-۴-۱- مایه زنی مکانیکی و علائم بیماری روی گیاهان محک..... ۵۹
- ۴-۵- ارزیابی کیفی و کمی DNA..... ۶۱
- ۴-۵-۱- نتایج آزمون اسپکتروفتومتری و نانودراپ..... ۶۱
- ۴-۵-۲- ارزیابی کیفیت DNA از طریق الکتروفورز..... ۶۲
- ۴-۶- آنالیز محصول PCR..... ۶۲
- ۴-۷- نتایج توالی یابی..... ۶۴
- ۴-۸- بررسی های فیلوژنتیکی..... ۶۵

- ۴-۸-۱- مقایسه هم ردیف سازی چندگانه..... ۶۵
- ۴-۸-۲- شباهت میان توالی های CaMV و مقایسه آن با دیگر جدایه های موجود در بانک ژن ۶۷
- ۴-۸-۲-۱- نتایج حاصل از تعیین ترادف ORF II..... ۶۷
- ۴-۸-۲-۲- نتایج حاصل از تعیین ترادف ORF IV ۷۳
- ۴-۸-۲-۳- نتایج حاصل از تعیین ترادف ORF VI ۷۷

فصل پنجم

نتیجه گیری و پیشنهادات

- ۵-۱- نتیجه گیری کلی ۸۵
- ۵-۲- پیشنهادات..... ۸۸
- منابع..... ۸۹

پیوست اسامی لاتین

فهرست شکل ها

- شکل ۱-۲. ساختار خطی و حلقوی ژنوم ویروس موزائیک کلم گل ۱۴
- شکل ۲-۲. شته *Myzus persicae* ناقل ویروس موزائیک کلم گل ۲۵
- شکل ۱-۴. علائم رگبرگ روشنی، رگبرگ نواری و چروکیدگی در برگ های آلوده به CaMV ۵۵
- شکل ۲-۴. علائم موزائیک در برگ های آلوده به CaMV جمع آوری شده از روستای ده نو نیشابور ۵۶
- شکل ۳-۴. علائم آلودگی CaMV در بوته های کلم گل در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه فردوسی مشهد ۵۶
- شکل ۴-۴. علائم آلودگی CaMV در نمونه های جمع آوری شده از شهرستان بجنورد ۵۷
- شکل ۵-۴. علائم آلودگی CaMV در نمونه های جمع آوری شده از منطقه مهرآباد مشهد ۵۷
- شکل ۶-۴. علائم رگبرگ روشنی و رگبرگ نواری در گیاه شلغم آلوده به CaMV ۵۸
- شکل ۷-۴. علائم آلودگی CaMV در برگ های داتوره مایه زنی شده با جدایه CaMV-Turnip2 ۶۰
- شکل ۸-۴. علائم آلودگی CaMV در برگ های کلم قمری مایه زنی شده با جدایه CaMV-Turnip2 ۶۱
- شکل ۹-۴. ارزیابی کیفیت DNA کل با استفاده از نانودراپ ۶۱
- شکل ۱۰-۴. نمونه های DNA استخراج شده به روش CTAB بر روی ژل آگارز ۱ درصد ۶۲
- شکل ۱۱-۴. الکتروفورز محصول PCR قطعه تکثیر شده در محدوده ۷۲۴ جفت باز ۶۳
- شکل ۱۲-۴. الکتروفورز محصولات PCR قطعات تکثیر شده در محدوده ۱۴۰۰ و ۱۵۰۰ جفت باز ۶۳
- شکل ۱۳-۴. درخت تکاملی رسم شده با نرم افزار MEGA 5 با استفاده از ترادف نوکلئوتیدی ORF II ۷۰
- شکل ۱۴-۴. هم ردیف سازی چندگانه ترادف های های آمینو اسیدی ORF II ۷۲
- شکل ۱۵-۴. درخت تکاملی رسم شده با نرم افزار MEGA 5 با استفاده از ترادف نوکلئوتیدی ORF IV ۷۴
- شکل ۱۶-۴. هم ردیف سازی توالی های آمینو اسیدی ORF IV و مشاهده ناحیه حفاظت شده Zinc finger ۷۵
- شکل ۱۷-۴. هم ردیف سازی چند گانه توالی های آمینو اسیدی چارچوب ژنی چهارم و مشاهده insertion ۷۶
- شکل ۱۸-۴. درخت تکاملی رسم شده با نرم افزار MEGA 5 با استفاده از ترادف نوکلئوتیدی ORF VI ۷۹
- شکل ۱۹-۴. مقایسه توالی های آمینو اسیدی P۶ جدایه های ایرانی با بعضی از جدایه های موجود در بانک جهانی ژن ۸۱

فهرست جدول ها

- جدول ۳-۱. مناطق نمونه برداری و تعداد نمونه های کلم گل جمع آوری شده از مناطق مختلف ۳۶
- جدول ۳-۲. مناطق نمونه برداری و تعداد نمونه های شلغم جمع آوری شده از مناطق مختلف ۳۶
- جدول ۳-۳. ترادف آغازگرهای اختصاصی مربوط به CaMV ۴۷
- جدول ۳-۴. مواد لازم و مقدار آن برای تکثیر دی ان ای در واکنش PCR ۴۸
- جدول ۳-۵. محتویات کیت (Accupower PCR premix ,Kit Bioneer) ۴۹
- جدول ۳-۶. برنامه PCR برای تکثیر قطعه ۷۲۴ bp مربوط به ORF II ویروس ۴۹
- جدول ۳-۷. برنامه PCR برای تکثیر قطعه ۱۴۰۰ bp مربوط به ORF IV ویروس ۴۹
- جدول ۳-۸. برنامه PCR برای تکثیر قطعه ۱۵۰۰ bp مربوط به ORF VI ۵۰
- جدول ۴-۱. مناطق نمونه برداری و تعداد نمونه های کلم گل آلوده به CaMV ۵۴
- جدول ۴-۲. مناطق نمونه برداری و تعداد نمونه های شلغم آلوده به CaMV ۵۴
- جدول ۴-۳. علائم جدایه های ایرانی انتخاب شده جهت تعیین ترادف نوکلئوتیدی ۵۵
- جدول ۴-۴. واکنش جدایه های ایرانی CaMV بر روی گیاهان محک ۶۰
- جدول ۴-۵. مشخصات توالی های ثبت شده در پایگاه اطلاعاتی EMBL مربوط به جدایه های ایرانی CaMV ۶۴
- جدول ۴-۶. مشخصات جدایه های CaMV مورد استفاده در آنالیزهای فیلوژنتیکی ۶۶
- جدول ۴-۷. مشاهده تغییرات نوکلئوتیدی در موقعیت های مختلف چارچوب ژنی دوم CaMV ۷۱
- جدول ۴-۸. درصد شباهت aa و nt بین ترادف های چارچوب ژنی دوم (ORF II) ۸۲
- جدول ۴-۹. درصد شباهت aa و nt بین ترادف های چارچوب ژنی چهارم (ORF IV) ۸۳
- جدول ۴-۱۰. درصد شباهت aa و nt بین ترادف های چارچوب ژنی ششم (ORF VI) ۸۴

فهرست علائم و اختصارات

aa	Amino acid	آمینواسید
bp	Base pair	جفت باز
CaMV	Cauliflower mosaic virus	ویروس موزائیک کلم گل
CP	Coat protein	پروتئین پوششی
dNTP	Deoxy nucleotide three phosphat	داکسی نوکلئوتید تری فسفات
DEP	Dilution end point	آخرین حد رقیق سازی
DAS-ELISA	Double-antibody sandwich-enzyme linked immunosorbent assay	آزمون دو طرفه الایز
IB	Inclusion bodies	اجسام سلولی
LIV	Longevity in vitro	پایداری در آزمایشگاه
MP	Movement protein	پروتئین حرکتی
nt	Nucleotide	نوکلئوتید
ORF	Open reading frame	چارچوب باز خواندنی
OD	Optical density	چگالی نوری
PCR	Polymerase chain reaction	واکنش زنجیره ای پلیمرز
RT	Reverse transcriptase	ترانس کریپتاز برگردان
TIP	Thermal inactivation point	دمای غیرفعال سازی

فصل اول

مقدمه

۱-۱- خصوصیات گیاه مورد آزمایش در این تحقیق

۱-۱-۱- کلم گل

۱-۱-۱-۱- منشأ کلم گل

کلم گل با نام علمی *Brassica oleracea var. botrytis* L.، گیاهی است متعلق به جنس *Brassica* و خانواده *Brassicaceae* (سوناریش و همکاران، ۲۰۱۲) که منشأ آن متعلق به قبرس و سواحل مدیترانه می باشد (راجوندرا، ۲۰۰۵). نام این گیاه از ریشه لاتین *Caulis* (cabbage) و *Flower* تشکیل شده است (طباطبایی، ۱۳۶۵).

خانواده *Brassicaceae* یا *Cruciferae* که با نام های *Crucifers* (کروسیفرها)، *mustard family* (خانواده خردل) و یا *cabbage family* (خانواده کلم) نیز شناخته می شوند، یکی از خانواده های گیاهان گلدار (*Angiosperms*) می باشد. اطلاق نام *Brassicaceae* به این خانواده به دلیل در برگرفتن جنس معروف *Brassica* می باشد (طباطبایی، ۱۳۶۵).

این خانواده دارای بیش از ۳۳۰ جنس و در حدود ۳۷۰۰ گونه می باشد که یکی از گونه های مشهور آن *Brassica oleracea* بوده که علاوه بر کلم گل، در بر گیرنده کلم برگ، کلم بروکسل، کلم پیچ، کلم بروکلی و... می باشد (طباطبایی، ۱۳۶۵).

۱-۱-۱-۲- گیاه شناسی کلم گل

کلم گل یکی از متداول ترین سبزیجات مورد استفاده در رژیم غذایی بسیاری از کشورها است. این گیاه به دلیل ارزش غذایی بالا از نظر میزان انرژی، مواد معدنی، انواع ویتامین ها خصوصاً ویتامین های C و A که باعث شده کلم گل به عنوان یک آنتی اکسیدان عمل کند و در بین سایر سبزیجات موقعیت ممتازی را به خود اختصاص

داده و منبع بسیار مناسبی برای تأمین بخشی از مواد حیاتی مورد نیاز بدن انسان می باشد (سوناریش و همکاران، ۲۰۱۲).

نام صحیح فارسی این گیاه "کلم گل" است و نام "گل کلم" که گاهی به اشتباه گفته می شود، درست نیست (طباطبایی، ۱۳۶۵).

کلم گل گیاهی است سالانه یا دو سالانه، از گیاهان عالی و گلدار و جزء رده دولپه‌ای ها می باشد. در این گیاه گل مانند تمام کلم ها دارای ۴ کاسبرگ، ۴ گلبرگ، ۶ پرچم بوده که ۲ عدد آنها کوتاه و ۴ عدد آن ها بلند است و هریک به یک بساک ختم می شوند. گل یک پایه و ۲ جنسی است ولی چون قسمت خوراکی کلم گل غنچه های نشکفته آن است، هرگز اجازه نمی دهند که گل آن به مرحله شکفتن برسد و قبل از باز شدن محصول کلم را برداشت می کنند (طباطبایی، ۱۳۶۵).

مجموعه غنچه های نشکفته، جسم تقریباً گرد و مسطحی را تشکیل می دهند که از گپه های متراکم که هریک خوشه ی متراکمی از غنچه ها می باشد، ساخته شده اند که به آن ها کورد (Curd) می گویند (صبغ شوشتری، ۱۳۷۴).

مادگی دارای یک تخمدان و دو خانه است که به وسیله یک پرده نازک و سطحی ازهم جدا می شود و دانه ها بر روی آن چسبیده اند. میوه کلم گل از نوع خورجین است که دانه های کوچک سبز مایل به زرد و فاقد آلبومین در داخل آن به صورت برجسته دیده می شود. ساقه صاف، استوانه ای به طول تقریباً ۷۰-۱۵ سانتی متر است و ریشه آن محوری و نسبتاً عمیق بوده و دارای ریشه های فرعی و سطحی زیاد می باشد. برگ های کلم گل مسطح، موج دار، کمی گوشتی، رویه برگ ها کمی مومی، به رنگ سبز یا سبز مایل به آبی بوده، طول برگ ها تقریباً ۳۰-۴۰ سانتی متر است (طباطبایی، ۱۳۶۵).

ویژگی های کورد یا توده خوراکی که اصطلاحاً گل کلم نامیده می شود، مانند شکل، رنگ، اندازه، تراکم و فشردگی از معیارهای مهم در شناخت بوته های مطلوب و حذف بوته های نامطلوب می باشد. دامنه وزن مطلوب برای یک کورد سالم ۲-۰/۵ کیلوگرم در نظر گرفته می شود (صبغ شوشتری، ۱۳۷۴).

۱-۱-۱-۳- نیازهای محیطی

کلم گل گیاه آب و هوای معتدله نیمه مرطوب است و در مناطق با آب و هوای مدیترانه ای با موفقیت کشت می شود. این گیاه روشنایی دوست و روز بلند است و طول بهینه نور در روز ۱۷ ساعت (۱۴ ساعت در مناطق جنوبی) می باشد. اما باید توجه داشت که تابش شدید آفتاب به گیاه صدمه می زند (طباطبایی، ۱۳۶۵).

نکته مهمی که در رابطه با این محصول وجود دارد این است که وزن توده خوراکی و کیفیت محصول در درجه اول بستگی به شرایط آب و هوایی و روش های کاشت دارد. باید توجه داشت که تفاوت قابل ملاحظه ای میان اپتیمم دامنه دمایی مورد نیاز برای زمان کاشت تا آغاز جوانه زنی و اپتیمم دامنه دمایی مطلوب برای رشد جوانه های کلم گل وجود دارد. از سوی دیگر رابطه تنگاتنگی میان دامنه دمایی در اوایل دوره رشد، کیفیت جوانه ها و تولید محصول کلم گل نیز قابل مشاهده است (اوزون و پکسن، ۲۰۰۰).

به طور کلی کلم گل گیاهی است نسبتاً رطوبت دوست که نیاز به رطوبت نسبی بالای هوا و رطوبت بالا و ثابت خاک دارد اما رطوبت بیش از حد هوا برگ های این گیاه را می پوساند. از نظر شرایط خاک برای کاشت کلم، خاک های نیمه سبک و نیمه سخت شنی-رسی بازه کشی مطلوب و رطوبت مناسب، توصیه می شود. کلم گل به خاک های حاصل خیز با مواد آلی کافی به دلیل ضعیف بودن سیستم ریشه نیاز دارد. ترکیبات گوگردی خاک را به خوبی تحمل می کند و به مقدار کم آن نیاز دارد. برای توسعه مطلوب ریشه کلم گل بهترین pH، ۶/۵-۷/۵ می باشد (طباطبایی، ۱۳۶۵).

۱-۱-۱-۴- سطح زیر کشت

طبق محاسبات انجام شده، میزان تولید جهانی کلم گل از ۴/۶۳ میلیون تن در سال ۱۹۸۱-۱۹۷۹ تا ۸/۸۶ میلیون تن در سال ۱۹۹۱-۱۹۸۹ و ۱۵/۷۲ میلیون تن در سال ۲۰۰۱ می رسد. عمده ترین تولید کنندگان کلم گل در جهان به ترتیب چین (۳۰۳/۰۰۰ هکتار) و هند (۲۶۰/۰۰۰ هکتار) می باشند. همچنین از کشورهای ایتالیا، اسپانیا، هلند و مکزیک نیز می توان به عنوان مهم ترین نواحی تولید کلم گل در جهان اشاره کرد (راجاوندرا، ۲۰۰۵).

در ایران در سال های اخیر، سطح زیر کشت محصولات تیره کلم به خصوص کلم گل افزایش یافته است به طوری که سطح زیر کشت این محصول از ۸۰۰ هکتار با تولید ۲۰ هزار تن در سال ۲۰۰۰، به ۱۰۰۰ هکتار با تولید ۲۵ هزار تن در سال ۲۰۰۳ رسیده است (فرزادفر و همکاران، ۲۰۰۷). طبق انتشار آمار در سال ۱۳۸۵-۱۳۸۶ در آمارنامه کشاورزی مبنی بر عملکرد در هکتار محصولات سالانه شهرستان های متعلق به استان خراسان رضوی از

نظر تولید سبزیجات برگی، تربت حیدریه با تولید ۲۲۵۰۴ کیلوگرم در هکتار، نیشابور با ۲۲۱۸۹ کیلوگرم در هکتار و مشهد با ۲۰۳۹۹ کیلوگرم در هکتار به ترتیب رتبه های یک تا سه را به خود اختصاص داده اند.

۱-۲- اهمیت بررسی ویروس موزائیک کلم گل

بیماری های ویروسی متعددی انواع مختلفی از سبزیجات را تحت تأثیر قرار می دهند. یکی از پر مصرف ترین و متداول ترین سبزیجات در برنامه غذایی، انواع کلم خصوصاً کلم گل، کلم برگ و کلم قمری می باشند. طبق بررسی های انجام شده این محصولات اغلب به میزان ۱۰۰٪ به وسیله بیماری های ویروسی تحت تأثیر قرار می گیرند (اسپنس و همکاران، ۲۰۰۷).

در میان تعداد زیادی از ویروس هایی که در گیاهان خانواده کروسیفر شناسایی شده اند، ویروس موزائیک کلم گل (CaMV) و ویروس موزائیک شلغم (TuMV)، گسترش جهانی دارند و در نقاط مختلف جهان خصوصاً در نواحی معتدل بر روی میزبان های مختلف خود و همچنین در محصولات تجاری مهمی یافت می شوند. ویروس موزائیک کلم گل در مقایسه با ویروس موزائیک شلغم به دلیل بالا بودن میزان خسارت از اهمیت ویژه ای برخوردار است. وقوع آلودگی CaMV، ۶۰٪ و TuMV، ۴۰٪ در میزبان های گیاهان خانواده کروسیفر گزارش شده است (اسپنس و همکاران، ۲۰۰۷).

در ایران، CaMV به عنوان اصلی ترین بیماری ویروسی آلوده کننده گیاهان خانواده کروسیفر شامل:

B.oleracea var. italica, *B.oleracea var. botrytis*, *Brassica oleracea var. acephala*
B.oleracea var. capitata, *B.rapa*, *B.napus*, *B.pekinensis* و *Raphanus sativus* می باشد. که در تمامی این میزبان ها CaMV اغلب باعث ایجاد موزائیک و رگبرگ روشنی می شود (شهرآئین، ۲۰۱۲).

درمیان میزبان های مختلف گزارش شده برای این ویروس، کلم گل از اهمیت ویژه ای برخوردار بوده، به طوری که CaMV به عنوان مهم ترین عامل خسارت زا و کاهش عملکرد در این میزبان معرفی شده است. گیاهان آلوده کلم گل از رشد کمی برخوردار بوده و میزان گل دهی و تولید بذر در آنها به طور قابل توجهی کاهش می یابد (فرزادفر و همکاران، ۲۰۰۷).

آلودگی های ویروسی ممکن است به صورت انفرادی یا مخلوط باشد. آلودگی های مخلوط ویروس موزائیک کلم گل با برخی از ویروس ها خصوصاً ویروس موزائیک شلغم از اهمیت ویژه ای برخوردار بوده و باعث ایجاد واکنش افزایشنده و تأثیر منفی بر روی میزان محصول می گردد. به طوری که همراه شدن این دو ویروس باعث ظهور

زودهنگام و افزایش شدت بروز علائم بیماری می شود. در چنین شرایطی کاهش قابل توجهی در میزان محصول مشاهده می شود (اسپنس و همکاران، ۲۰۰۷).

۱-۳- اهداف تحقیق

نظر به اینکه کلم گل یکی از سبزیجات پر مصرف در رژیم غذایی آدمی است و سطح زیر کشت وسیعی را در نقاط مختلف جهان خصوصاً در مناطق معتدل به خود اختصاص داده است (راجاوندرا، ۲۰۰۵)، همچنین سطح زیر کشت این محصول در سال های اخیر در ایران نیز افزایش یافته است (فرزادفر و همکاران، ۲۰۰۷). از طرفی طبق بررسی های انجام شده، ویروس موزائیک کلم گل (CaMV)، اصلی ترین ویروس آلوده کننده گیاهان خانواده کروسیفر می باشد و باعث کاهش قابل توجه محصول در این گیاهان می گردد (اسپنس و همکاران، ۲۰۰۷). در کشور ما معمولاً گیاهان تیره کلم طی دو فصل بهار و پاییز کشت و به ترتیب در تابستان و زمستان برداشت می شوند (صباغ شوشتری، ۱۳۷۴). به این ترتیب منابع آلودگی طی فصول مختلف سال حفظ شده و به گسترش بعدی این ویروس کمک می کند. با توجه به اینکه کلم گل یکی از گیاهان باغی مهم و پر مصرف در استان های مختلف کشور، اعم از استان های خراسان رضوی، شمالی و آذربایجان غربی نیز می باشد، جهت تکمیل مطالعات انجام شده بر روی این ویروس و تعیین برخی از خصوصیات مولکولی و بیولوژیکی CaMV در استان های مذکور، اقدام به انجام این تحقیق گرفته شد.

