دانشگاه پیام نور

پایان نامه برای دریافت درجه کارشناسی ارشد

در رشته مهندسی بیوتکنولوژی کشاورزی

عنوان پایان نامه:

غربال و شناسایی ژنوتیپ های چغندر قند مقاوم به ریزومانیا با استفاده از نشانگر مولکولی RAPD

اساتید راهنما

دکتر پیمان نوروزی و دکتر محمد علی ملبوبی

اساتید مشاور

دکتر اباذر رجبی و دکتر بخشی خانیکی

نگارش

رامین فلاح زاده

پاییز ۱۳۸۹

چکیده

بیماری ریزومانیا (ریشه گنایی) یکی از مخرب ترین بیماری های چغندر قند در جهان است که علاوه بر کاهش شدید وزن ریشه موجب کاهش مقدار قند نیز می گردد. یکی از روش های مقابله با این بیماری استفاده از ارقام مقاوم است. ردیابی ژن های مقاومت با استفاده از نشانگرهای مولکولی ضروری می باشد . در این تحقیق از یک نشانگر مولکولی ناجفت RAPD (Random amplified polymorphic DNA)، موسوم به PN_3، پیوسته با ژن مقاومت به ریزومانیا برای شناسائی تک بوته های هموزیگوت غالب مقاوم در ۲۸ ژنوتیپ چغندرقند شامل پنج توده S_1، ١٦ لاین اوتایپ، دو لاین گرده افشان و پنج هیبرید و مجموعا " مشتمل بر ۱۵۵۱ تک بوته کشت شده در مزرعه استفاده شد. برای این منظور پس از نمونه برداری برگ از گیاهان مزرعه ای، اقدام به استخراج DNA ژنومی گردید. سپس آزمون RAPD-PCR بر روی نمونه های گیاهی با آغازگرهای مربوطه انجام گرفت. محصول واکنش در ژل اگارز ۱/۲ درصد الکتروفورز و پس از رنگ آمیزی، الگوی باندی نمونه ها مشاهده گردید. سپس بر اساس درصد بوته های هموزیگوت غالب ، داده ها در قالب طرح کاملا" تصادفی نامتعادل مورد تجزیه واریانس قرار گرفت. نتایج نشان داد که بین کلیه ژنوتیپ ها اختلاف معنی داری از نظر صفت درصد بوته های هموزیگوت غالب وجود دارد. با انجام مقایسه میانگین ها، ژنوتیپ ها در ۱۸ گروه طبقه بندی شدند. ضمنا تجزیه خوشه ای ژنوتیپ ها بر مبنای درصد بوته های هموزیگوت غالب انجام و ژنوتیپ ها در چهار گروه مجزا تفکیک شدند. نتایج این تحقیق نشان داد که می توان از نشانگر مولکولی PN_3 جهت ارزیابی سریع ژرم پلاسم چغندرقند در مراحل انتخاب گیاهان مقاوم در طی فرایند تهیه رقم بهره برداری نمود.

فهرست مطالب

۱- مقدمه ۷

۲- کلیات و بررسی منابع ۱۰

۲-۱- اهمیت چغندر قند ۱۰

۲-۲- گیاه شناسی چغندرقند ۱۱

۲-۳- بیماری های ویروسی و شبه ویروسی چغندر قند ۱٤

۲-٤- ناقل ویروس های خاکزاد چغندر قند ۱٤

۲-۵- ویروس زردی نکروتیک رگبرگ چغندر قند (BNYVV) ۱۵

۲-۵-۱- پاتوتیپ های ویروس ۱۷

۲-۵-۲- ناقل ویروس عامل بیماری ریزومانیا ۱۹

۲-۵-۳- اهمیت اقتصادی بیماری ریزومانیا ۲۱

۲-۵-٤- پراکنش جغرافیایی بیماری ۲۳

۲-۵-۵- علائم بیماری ۲٤

۲-۵-٦- رابطه ویروس با ناقل ۲۷

۲-۵-۷- رابطه ویروس با گیاه ۲۸

۲-٦- روش های تشخیص بیماری ۲۹

۲-٦-۱- روش های تشخیص سریع ویروس ها ۳۲

۲-٦-۱-۱- روش های سرولوژیکی ۳۲

۲-٦-۱-۲- ELISA ۳۳

۲-۷- روش های مدیریت بیماری ریزومانیا ۳٤

۲-۷-۱- مکانیسم مقاومت در ویروس ۳٤

۲-۷-۳- منابع ژنتیکی مقاومت به ویروس BNYVV ۳۵

۲-۷-٤- منابع مقاومت به قارچ P. betae ۳۸

۲-۷-۵- مقاومت تراریختی به ویروس ۳۹

۲-۷-٦- خاموشی RNA ٤۰

۲-۸- نشانگرهای ژنتیکی ٤۰

۲-۸-۱- نشانگرهای مورفولوژیک ٤۱

۲-۸-۲- نشانگرهای مولکولی ٤۱

۲-۸-۳- نشانگرهای پروتئینی ٤۲
۲-۸-٤- نشانگرهای DNA ٤۲
۲-۸-٤-۱ انواع نشانگرهای مولکولی DNA ٤۳
۲-۸-٤-۲- اهمیت نشانگرهای DNA ٤۳
۲-۸-٤-۳- کاربرد نشانگرهای مولکولی DNA ٤۳
۲-۸-٤-٤- اهمیت نشانگرهای DNA در بررسی منابع مقاومت به بیماری ٤٤
۲-۹- نشانگر RAPD ٤٤
۲-۹-۱- مزایای نشانگر RAPD ٤٤
۲-۹-۲- معایب نشانگر RAPD ٤٤
۲-۱۰- انتخاب به کمک نشانگر ٤٥
۲-۱۱- استفاده از نشانگرهای مولکولی برای شناسایی مقاومت ٤٦
۲-۱۲- بررسی منابع ژنتیکی مقاومت به ویروس BNYVV ٤۸
۲-۱۳- شناسایی نشانگرهای مولکولی پیوسته با ریزومانیا ٥۰
۳- مواد و روش ها ٥۲
۳-۱- مواد گیاهی ٥۲
۳-۲- استخراج DNA ٥۲
۳-۲-۱- مراحل استخراج DNA از نمونه های گیاهی ٥۳
۳-۳- تعیین کمیت و کیفیت DNA ٥٤
۳-٤- رقیق کردن DNA نمونه ها ٥٥
۳-٥- رقیق کردن آغازگرها ٥٥
۳-٦- واکنش زنجیره ای پلیمراز ٥٥
۳-٦-۱- اجزاء واکنش زنجیره ای پلیمراز وغلظت های مورد نیاز هر یک ٥٦
۳-٦-۲- شرایط واکنش زنجیره ای پلیمراز برای RAPD ٥٦
۳-۷- طرز تهیه بافر و ژل آگارز ٥۷
۳-۸- الکتروفورز محصولات واکنش ٥۷
۳-۹- تهیه 6x-loading (Dye) ٥۸
۳-۱۰- نمایان سازی باندهای تفکیک شده در ژل آگارز ٥۸
۳-۱۱- محاسبات آماری ٥۸

٤- نتایج و بحث ٥٩
٤-١- استخراج DNA ٥٩
٤-٢- بهینه سازی شرایط واکنش PCR برای RAPD ٥٩
٤-٣- تجزیه واریانس (طرح کاملا تصادفی نا متعادل) ٦٢
٤-٤- مقایسه میانگین ها ٦٢
٤-٥- تجزیه خوشه ای ژنوتیپ ها ٦٣
٤-٦- آزمون توافق نسبت های مندلی در ژنوتیپ های S_1 ..... ٦٤
٤-٧- نتایج درصد بوته های هموزیگوت غالب در ژنوتیپ های مختلف بر اساس نشانگر ناجفت PN_3 ..... ٦٥
٥- نتیجه گیری ٦٧
فهرست منابع ٦٨

فهرست اشکال

شکل ٢-١- شماتیک ژنوم ویروس BNYVV ١٦
شکل ٢-٢- چرخه زندگی بیماری ریزومانیا و ناقل آن ٢١
شکل ٢-٣- تفاوت چغندر قند های سالم و چغندرقندهای آلوده به ویروسBNYVV ٢٢
شکل ٢-٤- ریشه چغندر قند آلوده به ویروسBNYVV ٢٦
شکل ٢-٥- تقسیم بندی کلی نشانگرها ٤١
شکل ٤-١- الگوی الکتروفورزی ژل آگارز ٠.٨ درصد برای برخی DNA های ژنومی استخراج شده ٥٩
شکل٤-٢- نیمرخ تهیه شده از نشانگر ناجفت PN_3 ..... ٦١
شکل٤-٣- نیمرخ تهیه شده از نشانگر ناجفت PN_3 ..... ٦١
شکل٤-٤- نیمرخ تهیه شده از نشانگر ناجفت PN_3 ..... ٦١
شکل٤-٥- مقایسه میانگین درصد بوته های هموزیگوت غالب درژنوتیپ های مورد بررسی ٦٣
شکل٤-٦- دندروگرام تجزیه خوشه ای ٢٨ ژنوتیپ به روش UPGMA با استفاده از مربع فاصله اقلیدسی..... ٦٤

فهرست جداول

جدول ۲-۱- گونه های جنس **Beta** شامل تاکسونومی بخش بتا ۱۲

جدول ۳-۱- تعداد بوته به تفکیک ژنوتیپ ۵۲

جدول ۳-۲- تهیه ۱۰۰ میلی لیتر بافر استخراج **DNA** ۵۳

جدول ۳-۳- تهیه محلول **SDS %5** ۵۳

جدول ۳-٤- تهیه **EDTA, 0.5M (PH=8)** ۵۳

جدول ۳-۵- اجزاء واکنش زنجیره ای پلیمراز وغلظت های مورد نیاز هر یک ٥٦

جدول ۳-٦- شرایط واکنش زنجیره ای پلیمراز برای **RAPD** ٥٦

جدول ۳-۷- اجزای مورد نیاز برای تهیه بافر یک‌لیتر **5X – TBE** ٥٧

جدول ۳-۸- اجزاء مورد نیاز برای تهیه **6x-louading (Dye)** ٥٨

جدول ٤-۱- نتایج تجزیه واریانس برای صفت درصد بوته های هموزیگوت غالب ٦٢

جدول ٤-۲- مقدار مربع کای (χ^2) برای پنج ژنوتیپ S_1 ..... ٦٥

جدول ٤-۳- نتایج درصد بوته های هموزیگوت غالب در ژنوتیپ های مختلف بر اساس نشانگر PN_3 ..... ٦٥

جدول ٤-٤- نسبت های مندلی مورد انتظار و مشاهده شده ٦٦

جدول ٤-۵- نتایج آزمون کای اسکور در ژنوتیپ های مختلف ٦٦

فصل اول

۱ –مقدمه

شکر یا ساکارز یکی از ترکیبات مهم و با ارزش در رژیم غذایی بشر است. چغندر قند همراه با نیشکر از مهمترین منابع تامین کننده ساکارز هستند. در اواسط قرن نوزدهم فعالیت های به نژادی منظم و وسیعی روی چغندر آغاز گردید و در نتیجه سه دهه فعالیت های به نژادی روی چغندر قند عیار ریشه آن به ۱۸ تا ۲۰ درصد رسانده شد. در حال حاضر چغندر قند به طور وسیعی در کشورهای مختلف جهان تولید می شود (خواجه پور، ۱۳۸٦).

با توسعه کشت چغندرقند در سراسر جهان این گیاه تبدیل به منبع مهمی برای ساکارز گردید. در بعضی از کشورهای اروپایی به طور میانگین از هر هکتار چغندرقند بیش از ۵۰ تن ریشه با عیار ۱٦ درصد تولید می شود. در بعضی نواحی امریکا عملکرد هایی نزدیک به ۷۰ تن ریشه در هکتار تولید می گردد که از آن ۱۲ تن قند به دست می آید.

تا قرن نوزدهم نیشکر تنها منبع تولید شکر در جهان بود اما طی قرن نوزدهم کشت محصول چغندرقند که از فرانسه شروع شده بود سهم قابل ملاحظه‌ای از تولید شکر را به خود اختصاص داد (Cook & Scott, 1993).

تولید جهانی شکر پیوسته در حال افزایش است به طوری که تولید جهانی آن از ۵۰ میلیون تن در سال ٦۰–۱۹۵۹ به ۷۳ میلیون تن در سال ۷۰–۱۹٦۹ و از ۸٤ میلیون تن در سال ۱۹۸۰ به ۱۰۹ میلیون تن در سال ۲۰۰٤ به ۱٤٤ ملیون تن رسیده است.

سطح کشت جهانی چغندرقند بالغ بر ۹ میلیون هکتار است. در حال حاضر بیش از ۳٤ میلیون تن از تولید شکر جهانی (۲۹ درصد) را به خود اختصاص داده است که تقریبا ۲۷ میلیون تن آن در اروپا، ٤/۵ میلیون تن در آمریکای مرکزی و شمالی، ۲/۵ میلیون تن در آسیا (که از این مقدار، ۷٤۵ هزار تن در ایران تولید می‌شود)، ۸٤۰ هزار تن در آفریقا و ٤۵۰ هزار تن در آمریکای جنوبی تولید می‌شود (Draycott., 2006).

در ایران سطح زیر کشت چغندرقند در سال ۱۳۸۵ در حدود ۲۵۰ هزار هکتار بوده است که از این سطح حدود یک میلیون تن شکر سفید با میانگین عملکرد شکر سفید حدود ۵/۲ تن در هکتار تولید گردید. در حالی که در سال ۱۳۸۸ سطح زیر کشت چغندرقند در کشور به ۵٤٤۰٤ هکتار با عملکرد ۳۷۵۲۰۷ تن ریشه رسیده است (Anonymous, 2000). دلایل احتمالی این کاهش را بایستی در واردات شکر، جایگزینی زراعت چغندر با برخی محصولات استراتژیک دیگر همچون گندم و جو و نیز عدم خرید تضمینی چغندر از سوی دولت دانست.

سابقه کشت چغندرقند در ایران بسیار زیاد است. اولین کارخانه قند در ایران در سال ۱۲۷٤ هجری شمسی در جنوب تهران (منطقه کهریزک) تاسیس شده (Alimoradi, 2003). بهره برداری از این کارخانه بعد از

یک دوره توقف طولانی در سال ۱۳۱۰ هجری شمسی با ظرفیت ۱۰۰ تن چغندر در شبانه روز مجددا آغاز گردید (کولیوند، ۱۳٦٦). در حال حاضر در حدود ۵۱ هزار هکتار از اراضی کشور به کشت چغندرقند اختصاص دارد که میزان شکر به دست آمده از آن در حدود ۲۳۰ هزار تن و میانگین عملکرد ریشه در حدود ۳٤ تن در هکتار می باشد.

چغندرقند گیاهی است با مواد معدنی بسیار و همچنین ذخیره کننده ساکارز در ریشه خود و نیز با توجه به سایه اندازی در مزرعه و بافت لطیفی که در برگ ها دارد، از این رو بدیهی است که مورد ه جوم آفات و بیماری های متعددی قرار گیرد. از طرفی هر گونه صدمه به ریشه و برگ های چغندرقند به طور معنی داری می تواند کمیت و کیفیت محصول را کاهش دهد (Asadi, 2007).

چغندر قند از جوان ترین گیاهان زراعی محسوب می شود که از ۲۰۰ سال پیش در اروپا کشت می شود (Cooke & Scott, 1993). گیاه چغندرقند از اروپا به نواحی وسیعی از دنیا وارد شده و در نواحی توسعه خود با بسیاری از بیماری های ناشناخته روبرو بوده است. یکی از این بیماریها و مهمترین آن ها، بیماری ریشه گنایی یا همان ریزومانیا (Rhizomonia) میباشد. این بیماری سبب شده که بعضی از این نواحی از کشت و تولید چغندرقند خروج و در پارهای نواحی تولید محصول را شدیداً تحت تاثیر قرار دهد (دارابی و همکاران۱۳۸۲, Cook & Scott, 1993).

بیماری ریشه ریشی چغندرقند که عامل آن نوعی ویروس است از جمله بیماری های مخربی است که با حمله به سیستم ریشه ای گیاه ظاهر ضعیف و ریش ریش مانندی را ایجاد می کند و باعث کاهش عملکرد ریشه ها به میزان ۵۰٪ یا بیشتر (Lamey et al, 1992) و عیار قند تا کمتر از ۱۰ درصد (Scholten et al, 1997) می شود. بیماری ریزومانیا به تکثیر بیش از حد ریشه های موئین در نتیجه آلودگی ریشه ها ب ه ویروس زردی نکروتیک رگبرگ چغندرقند (BNYVV) اطلاق می گردد (Wisler. & Duffus, 2000).

بیماری ریزومانیا در حال حاضر در دنیا از تمامی بیماری های چغندر قند مهمتر است. خسارت آن در ارقام حساس بیش از ۸۰٪ است و در مواردی به صد در صد می رسد. امروزه بیماری ریزومانیا در بیشتر مناطق چغندرقند کاری دنیا گسترش یافته است که این امر بیان کننده اهمیت مطالعه آن می‌باشد (Scholten & Lange, 2000; Putz et al.,1990). در سال‌های اخیر بیماری ریزومانیا در ایران در حال گسترش بوده و در برخی مناطق حالتی بحرانی در زراعت چغندرقند پیدا کرده است. این بیماری را به این علت ریزومانیا یا دیوانگی ریشه می‌گویند که ریشه‌های جانبی نکروتیک، سیاه و به طور غیر طبیعی تکثیر می شوند (Cook - scott, 1993).

روش‌های متفاوتی برای کاهش میزان خسارت این بیماری پیشنهاد شده است ، ولی تنها راه حفاظت محصول چغندر قند در مزرعهٔ آلوده به ریزومانیا، کشت ارقام مقاوم است. به دلیل اهمیت بالای بیماری تا کنون تحقیقات وسیعی برای دست یابی به ارقام مقاوم انجام گرفته است. یکی از مؤثرترین منابع مقاومت

در منابع مربوط به شرکت هولی (Holly) پیدا شد. مقاومت موجود در منبع هولی توسط یک ژن غالب کنترل می شود این ژن که مقاومت بالایی در مقابل بیماری ایجاد می کند، Rz_1 نامیده شده است (Asher et al, 1996; Scholten et al, 1997; Lewellen et al, 1987). با این وجود مقاومت ایجاد شده توسط این ژن در ژنوتیپ های مختلف یکسان نمی باشد و عوامل متعددی بیان این ژن را تحت تأثیر قرار می دهند. به طور مثال مقاومت ایجاد شده توسط ژن مذکور در هیبریدهای دیپلوییدمؤثرتر از هیبریدهای تریپلوییدست. علاوه بر این مقاومت به ویروس در تعدادی از زیر گونه وحشی B.vulgaris subsp.maritima (L)Arcang. یافت شده است (Lewellen, 1990 & Whitney, 1989). یکی از مهمترین منابع مقاومت در این زیرگونه WB42 می باشد که به نظر می رسد مقاومت آن مؤثرتر از هولی است. مقاومت موجود در WB42 در جایگاه ژنی متفاوتی نسبت به هولی قرار دارد و این مقاومت Rz_2 نامیده شد. مقاومت در WB42 به صورت غالب کنترل می شود (Francis et al; 1999 & Amiri et al; 2003a,b). اخیرا منابع مقاوم دیگری شناسایی و Rz_3 و Rz_4 نامیده شده اند.

نشانگرهای مولکولی پیوسته به صفات مهم زراعی، بازده اصلاح این گیاهان را به طور قابل ملاحظه ای افزایش داده است (Seefelder et al, 2000). یک نشانگر مولکولی برای یک ژن خاص ، قسمتی از DNA است که کاملا به ژن پیوسته می باشد. بنابراین، هر گیاه که حاوی یک نشانگر خاص باشد حاوی ژن پیوسته به آن نیز خواهد بود (Francis, 1999). نشانگرهای مولکولی به دو دسته تقسیم می شوند مبتنی بر PCR و غیر مبتنی بر PCR (نقوی و همکاران، ۱۳۸٦).

امروزه با استفاده از روش نشانگرهای مولکولی که نسبت به روش های فنوتیپی دقیق تر و سریع تر بوده و وابسته به فصل خاصی از سال برای ارزیابی نمونه های گیاهی نیست به عنوان روش جایگزین می توان گیاهان دارندۀ ژن مقاومت را در سطح ژنوتیپی شناسایی نمود. بنابر این نشانگرهای مولکولی می توانند ابزاری مفید برای انتخاب ژنوتیپ های مقاوم به ریزومانیا باشند (نوروزی ، ۱۳۸۷). هدف از این تحقیق شناسایی و غربال سریع ژرم پلاسم چغندرقند مقاوم به ریزومانیا از منبع زراعی هولی با استفاده از نشانگر رپید می باشد تا بدین وسیله بتوان این گیاهان را با اطمینان زیاد، شناسایی و در روش های مختلف اصلاحی مورد استفاده قرار داد.

فصل دوم

۲ -کلیات و بررسیمنابع

۲-۱- اهمیت چغندر قند

چغندر قند از مهمترین منابع تأمین کننده ساکارز در جهان است. ساکارز فرآورده ای با خاصیت شیرین کنندگی و قابلیت نگهداری بالا است که امکان می دهد به عنوان اجزای تشکیل دهنده یا افزودنی در طیف وسیعی از غذاها، نوشیدنی ها و مواد دارویی مصرف گردد. با وجود هشدارهایی در خصوص اثرات سوئی که شکر بر سلامت انسان دارد و با وجود رقابت روز افزون سایر قندها (ایزو گلوکز [۱] تهیه شده از غلات و شربت غلیظ فروکتوز تهیه شده از ذرت [۲]) – و شیرین کننده های شیمیایی (ساخارین [۳]، آسپارتان [۴] و سایکلومات ها[۵])، همچنان تقاضا برای مصرف ساکارز ادامه دارد. اگر چه هزاران سال از کشت گیاه چغندر می گذرد، لیکن اهمیت آن به عنوان منبع غذا و منبع قند در سال های اخیر شناخته شده است. علاوه بر این چغندرقند در تولید فراورده‌هایی مانند اسید گلوتامیک، اسید سیتریک، اسید گالاکترونیک ، ویتامین B_{12}، دی‌ساکاریدهای نادر و با ارزش و تولید سوخت از جمله بیومتانول کاربرد دارد (Baciu, 2004). امروزه چغندر قند در اروپا، آسیا، شمال آفریقا و شمال آمریکا و حتی در بخش هایی از جنوب آمریکا کشت می شود. اما در زمان های قدیم نیز انواع چغندر در کشورهای مدیترانه ای کشت می شده است. در قرن پنجم پیش از میلاد، از این گیاه برای مصارف درمانی استفاده می شد. در قرن هفدهم چغندر در اروپا کشت و برگ‌ها و ریشه های آن توسط انسان وهمچنین به عنوان علوفه استفاده می شده. در نیمه قرن هجدهم یک شیمیدان بنام آندریاس ماراگراف[۶] (1747) برای اولین بار توانست کریستال‌های قند را از چغندر بدست آورد و بیان کرد که مزه شیرین شیره چغندر و نیشکر یکی است (اعضا هیأت علمی مؤسسه تحقیقات اصلاح وتهیه بذر چغندر قند، ۱۳۷۷، محمدی گل تپه وهمکاران، ۱۳۷۸). از آن پس این گیاه به عنوان منبع قند محسوب گردید و این اولین گام در توسعه چغندر در صنعت غذایی برای استخراج قند بود.

1- Isoglucose
2- High fructose com
3- Saccharin
4- Aspartane
5- Cyclamate
6- Andreas Marggraf

حدود ٤٠ سال بعد فردی بنام کارل آخارد[1]، فعالیت ماراگراف را ادامه داد و نوعی چغندر قند با بافت و پوست سفید، مخروطی شکل و با خلوص شیره بالا که حاوی مقادیر متنابهی از قند برای تولید ساکارز بود، جداسازی ومعرفی نمود. وی همچنین اولین کارخانه قند در دنیا را در سال ۱۸۰۲ میلادی در منطقه لوورسیلیسپا[2] تأسیس نمود. ناپلئون نیز در فرانسه به دلایل سیاسی علاقه زیادی به محصول چغندر قند نشان داد که در توسعه صنعت اروپا بسیار تأثیر گذار بود. در نیمه قرن نوزدهم ویلمورین [3]، توسط کشت مکانیزه افزایش قابل ملاحظه ای در تولید محصول چغندر قند ایجاد کرد. در نیمه دوم قرن نوزدهم کارخانه های بزرگی در بسیاری از مناطق اروپا تأسیس و شروع به تولید شکر با مقیاس زیاد نمودند. به علت استفاده از بذور مولتی ژرم[4] (بذر مجتمع یا چند جوانه ای) کارگران زیادی برای تنک کردن مزرعه مورد نیاز بود. ساویتسکی[5] در سال ۱۹۳۰ بذور منورژوم[6] (تک بذر یا تک جوانه) را در میان ژرم پلاسم چغندر قند یافت و شروع به تولید، پرورش و تکثیر گونه‌های تک بذر نمود. یکی دیگر از گام های مهم در اصلاح چغندر قند، جداسازی گیاهان نرعقیم[7] بود که توسط اون[8] صورت گرفت که امروزه در اصلاح ارقم هیبرید بکار می‌روند (Winner, 1993).

۲-۲- گیاه شناسی چغندرقند

چغندر قند[9] (*Beta vulgaris* L.) با نام علمی *Beta Vulgaris* و نام انگلیسی Sugar beet یک گیاه زراعی مهم از رده دو لپه ای ها[10] زیر رده بی گلبرگ ها[11] ، راسته خمیده جنین ها[12] و خانواده کنوپودیاسه[13] است (قهرمان،۱۳٦۹). اخیرا چغندرقند از خانواده آمارانتاسه[14] نامیده می شود (Grimmer et al., 2007). این خانواده شامل ۱٤۰۰ گونه است که در ۱۰۵ جنس طبقه بندی شده اند (Watson & Dallwitz, 1992). اعضای این خانواده دو لپه ای و معمولا علفی هستند. گونه های مهم اقتصادی در این خانواده شامل چغندرقند، چغندرهای علوفه ای، باغی، برگی (همگی *Beta vulgaris*) و اسفناجی می باشد (پیلن و همکاران، ۱۹۹۲).[1]

1- Carl Achar
2- Lower Silesia
3- De vilmorin
4- Multigerm
5- Savitsky
6- Monogerm
7- Maie- sterile
8- Owen
9- (Beta vulgaris subsp. Vulgris)
10- Dicotyledones
11- Apetales
12- Curvembryales
13- Chenopodiaceae
14- Amaranthace

جنس Beta که *B.vulgaris* متعلق به آن است به ۱۵ گونه تقسیم می شود که شامل ٤ بخش است (جدول ۲-۱)

۱ -Beta (در گذشته Vulgaris)، ۲- Corolinae، ۳- Procumbents (در گذشته Patellares)، ٤- Nanae (جونگ و همکاران، ۱۹۹۳).[1]

گونه	تعداد کروموزوم (2n)
بخش۱: Beta	
B. vulgaris ssp. Vulgaris L.	۱۸
B. vulgaris ssp. maritima L.	۱۸
B. adanesis	۱۸
B. patula	۱۸
B. macrocarpa	۳٦ ، ۱۸
بخش۲: Corolinae	
B. macrorhiza	۳٦
B. lomatogona	۱۸
B. coralliflora	۳٦
B. trigyna	٥٤
B. intermedia	۱۸
بخش۳: Nanae	
B. nana	۱۸
بخش٤: Procumbents	
B. procumbens	۱۸
B. webbiana	۱۸
B. patellaris	۳٦ ، ۱۸

جدول ۲-۱- گونه های جنس بتا (Beta) شامل تاکسونومی بخش بتا

1- Vulgares
2- Corllinae
3- Nanae
4- Procumbents

Ford-Lioyd و Williams (1975) پیشنهاد نمودند که تمام گونه های تشخیص داده شده در گروه ولگاره به یک گونه ولگاریس محدود شوند که منتج به هشت زیر گونه که تکامل چغندر قند را نشان می دهد.
دراین طبقه بندی، چغندر زراعی جزء Beta vulgaris ssp (چغندر برگی) یا Beta vulgaris ssp. Vulgaris (چغندر ریشه ای) بوده که هر دو از یک جد مشترک Beta vulgaris ssp.provulgaris مشتق شده اند. این جد مشترک هنوز در ترکیه وجود دارد (اعضاء هیأت علمی مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر چغندر قند، ۱۳۷۷).

تمام نمونه های وحشی گروه بتا به استثنای گونه های تتراپلوئید *B. macrocarpa Guss* دیپلوییید و دارای 2n = 2x = 18 کروموزوم می باشند (Scholten., et al., 1997 و امیری، ۱۳۸۲).

گروه بتا: چغندرهای قند زراعی[1] در این گروه قرار دارند و می توان آن را براساس خصوصیات ظاهری به چهار گروه تقسیم نمود:

۱- چغندر باغی یا لبویی[۱]: که به عنوان یک سبزی ریشه ای برای مصارف انسانی کشت می شود. همه این چغندر ها دارای اندام های ذخیره ای آبدار (غالباً کره ای شکل) هستند که بافت چوبی و سخت آن بسیار ناچیز است.

۲- چغندر علوفه ای[۲]: که به عنوان غذای دام استفاده می شوند و مشخصه آن محور زیر لپه و طوفه بزرگ است.

۳- چغندر برگی[۳]: که مشتمل بر دو نوع مجزای چغندر اسفناجی[٤] (برگهای آن برای سالاد مورد استفاده قرار گرفته یا مانند اسفناج حقیقی پخت و پز می شوند) و چغندر کلم دریایی [٥] (دارای دمبرگ و میانبرگ سفید، کلفت و آبدار که برای تهیه سالاد مصرف می‌شود) است.

٤- چغندر قند: که برای تولید شکر کشت می شود، ولی فرآورده های جانبی دیگری هم دارد.

گروه Procumbents: به عنوان مهمترین منابع مقاومت به آفات و بیماری ها در کارهای اصلاحی شناخته شده و در کنار ساحل و همچنین در درون جزایر دیده شده است. موطن اصلی این گروه غرب مدیترانه شامل جنوب غربی اسپانیا، ساحل شمالی آفریقا، دماغه سبز، جزایر قناری، سالواژ و جزایر مدیرا است.

1- Beta vulgaris
2- Garden beet or red beet
3- Fodder beet
4- Swiss chard
5- Spinach beet
6- Sea kale beet

دارای دو سطح مختلف پلوئیدی؛ شامل دیپلوئیدی و تتراپلوئیدی بوده و با گروه بتا تلاقی پیدا می کند ولی نتایج بارور تولید نمی شود (اعضاء هیأت علمی مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر چغندر قند، ۱۳۷۷).
گروه Corollinae: مرکز این گروه درآسیای میانه و از شرق تا ایران و از غرب تا اروپای شرقی نیز پراکنده شده است. بیشتر در جزایر و درارتفاع بیش از ۳۰۰ متر از سطح دریا یافت می شوند. دارای سطوح مختلف پلوئیدی از دیپلوئید تا هگزاپلوئید بوده و خویشاوندی دوری با *B.vulgaris* دارد، ولی دورگ گیری با آن نتایج عقیم تولید می‌کند (اعضاء هیأت علمی مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر چغندر قند، ۱۳۷۷).
گروه Nanae: این گروه در مناطق برف گیر کوه های Taiyetos , Parnassos, Olympus یونان متمرکزند. فقط یک گونه دیپلوئید دارد که خویشاوندی بسیار دوری با چغندر زراعی داشته و دارای بذر منوژرم بوده وحالت بوته به صورت خوابیده می باشد (Saunders et al., 1990).

۲-۳-۵- بیماری های ویروسی و شبه ویروسی چغندر قند

زردی چغندر قند (ویروس زردی چغندر BYV) به اسفناج نیز حمله می کند (محمدی گل تپه و همکاران، ۱۳۷۸؛ خدابنده، ۱۳۷۲)- کوتولگی زرد چغندر (ویروس کوتولگی زرد چغندر BYSV)– زردی غربی چغندر (ویروس زردی غربی چغندر BWYV)- زردی مسری کاهو (ویروس های زردی مسری کاهو LIYV)- زردی رگبرگ چغندر- زردی شفاف چغندر (Beet Yellow Net Virus)– ریزومانیا (ویروس زردی نکروتیک رگبرگ های چغندر قند BNYVV)- موزائیک خیار (CMV)- موزاییک چغندر قند (ویروس موزاییک چغندر شته سبزهلو و شته سیاه باقلا) (محمدی گل تپه و همکاران، ۱۳۷۸؛ خدابنده، ۱۳۷۲)- پیچیدگی برگ چغندر قند (ویروس پیچیدگی برگ چغندر قند BLCV)- پیچیدگی نوک برگ چغندر قند- بدشکلی چغندر قند- بیماری پیچیدگی وتورم رگبرگ های چغندر قند (زنجرهای از تیره Jassidae) (خدابنده، ۱۳۷۲).

۲-٤- ناقل ویروس های خاکزاد چغندر قند

گیاه چغندر قند میزبان ویروس های خاکزادی از جمله ویروس زردی نکروتیک رگبرگ های چغندر قند، ویروس خاکزاد چغندر قند[۱]، ویروس موزائیک خاکزاد چغندر قند[۲] و ویروس BVQ [۳] می باشد. هر چهار نوع ویروس مذکور دارای یک ناقل مشترک به نام قارچ پلی میکسا بتاکسکین[٤] هستند.
(Tamada, 1975; Ivanovic et al. 1983; Abe & Tamada, 1986; Wisler et al. 1994;Stas et al. 2001). این ویروس ها از انواع ویروس های میله ای شکل و متعلق به خانواده توبی- ویریدا [٥] هستند.

1- Beet soil- borne virus
2- Beet soil- borne mosaic virus
3- Beet virus Q
4- Polymyxa betae Keskin
5- Tobiviridae

BSBMV و BNYVV از نوع بنی ویروس [1] (Tamada, 1999; Lee et al. 1998,2000)، BVQ و BSBV از نوع پومو ویروس [2] می‌باشند (Koenig et al. 1998, 2000).

۲-۵- ویروس زردی نکروتیک رگبرگ چغندر قند [3] (BNYVV)

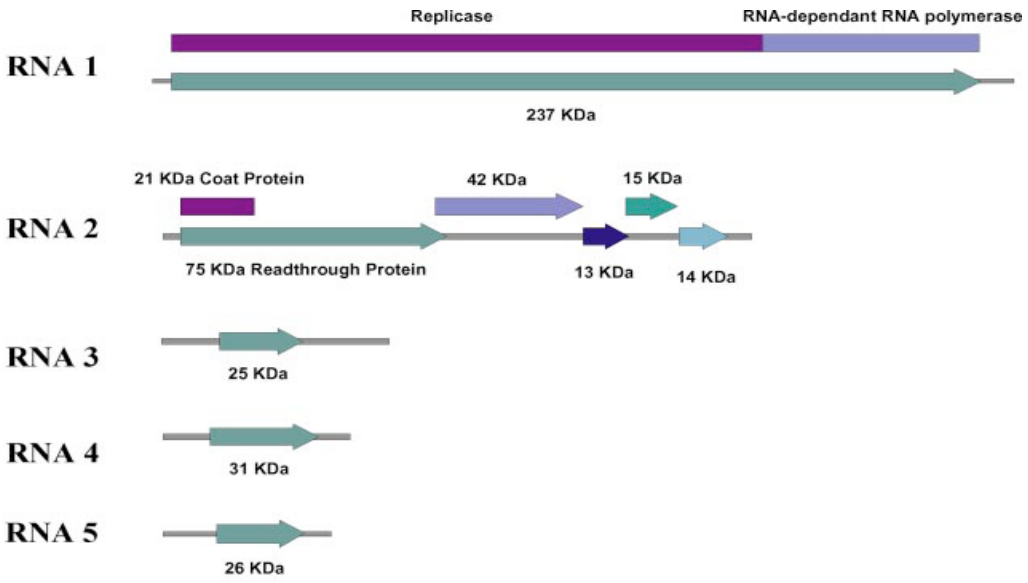
عامل بیماری ویروس زردی نکروتیک رگبرگ چغندر قند BNYVV (Beta necrotic yellow vein virus) است (Tamada, 1975). عامل بیماری در خاک زیست می کند و توسط ادوات کشاورزی، آب آبیاری و... منتشر می شود (Richards & Tamada, 1992).

کانوا در سال ۱۹٦٦ این بیماری را به دلیل ریشکی شدن و رشد غیر طبیعی ریشه چغندر، ریزومانیا به معنای دیوانگی (گنایی) ریشه نامید. سپس در ژاپن نیز این بیماری در سطح وسیعی از مزارع چغندر قند مشاهده گردید. BNYVV ویروسی است میله ای شکل، خمش ناپذیر و چند پیکره ای با طول های مختلف از جنس Benyvirus که در طبیعت با قارچ Polymyxa betae keskin انتقال می یابد (Regenmortel et al.,2000). در طبقه بندی قبلی ویروس زردی نکروتیک رگبرگ چغندرقند جزء جنس فورووِیروس [4] دسته بندی می شد. ولی کمیته بین المللی رده بندی ویروس ها (ICTV)در سال ۱۹۹۷ این جنس را به ٤ جنس فورووِیروس، پوموویروس [5] ، پوکلیویروس [6] و بنی ویروس [7] تقسیم کرد. بر اساس این طبقه بندی ویروس BNYVV در جنس بنی ویروس قرار می گیرد. (Tamada, 1999; Webster & Granoff, 1999; Lee et al., 2001; Torrance & mayo, 1997; Rush,2003; Shirako & Wilson, 1999). بنی ویروس ها همگی توسط قارچ منتقل می شوند و ذرات آنها به شکل ویرون های میله ای خمش ناپذیر و با ژنوم چند بخشی مشتمل بر دو، چهار و گاهی پنج RNA ی تک لای مثبت می باشند (Rush, 2003; Scholten & Lange, 2000). در اروپا و ژاپن چندین سویه ژنوتیپیک از BNYVV شناخته شده است و آن هایی که یک RNA پنجم دارند به نظر بیماری زا تر و مهاجم تر می رسند (Richards & Tamada, 1992). طول ٤ ذره ژنومی BNYVV به ترتیب برابر ۳۹۰، ۲٦۵، ۱۰۰ و ۸۵ نانومتر و عرض آنها ۲۰ نانومتر است (Scholten & Lange, 2000; Rush & Heidel, 1995).

مشاهده شده که ایزوله های BNYVV از نظر سرولوژیکی به یکدیگر شبیه می باشند (Kuszala et al., 1986) آنتی بادی ها درون ایزوله های این ویروس یکسان است و نمی‌توان با استفاده از آنتی بادی ها بدست آمده از آنها و استفاده به عنوان آنتی سرم در آزمون الایزا، این ایزوله ها را جدا نمود. بنابراین برای جداسازی ایزوله ها باید از روش های مولکولی استفاده کرد. ایزوله های BNYVV دارای ٤ یا ۵ نوع

1- Benivirus
2- Pomovirus
3- Beet Necrotic Yellow Vein Virus
4 - Furovirus
5 - Pomovirus
6 - Pechluvirus
7 - Benyvirus

RNA همراه با چندین رشته RNA ی مفهوم اضافی هستند (ss RNAs[1]) (Putz, 1977; Jupin et al., 1991; Tamada, 1999)



شکل ۲-۱- شماتیک ژنوم ویروس BNYVV. شامل ٤ RNA تشکیل دهنده ویروس کامل. لازم به ذکر است که RNA شماره ٥ تنها در پاتوتیپ P گزارش شده است.

ژنوم BNYVV متشکل از ٤ یا ٥ RNA است ژنوم BNYVV شامل پنج رشته RNA مثبت است که به ترتیب اندازه RNA_1 تا RNA_5 نامیده می‌شود که به طو رجداگانه درون پوشش های میله ای شکل ویروس قرار دارند.

همه رشته‌ها RNA ها دارای یک ساختار کلاهکی(Cap) در انتهای ناحیه '٥ و یک دم پلی A در انتهای ناحیه '۳ می باشند (Wisler & Duffus, 1994). وجود جعبه ها نیز دلالت بر چهار چوب خواندن آزاد در ژنوم دارند پروتئین ۲۳۷ کیلو دالتونی، توسط DNA_1 کد می شود و به دو پروتئین کوچکتر با اندازه های ۱٥۰ و ٦٦ کیلو دالتون تقسیم می شود (نقطه تقسیم بوسیله پیکان مشخص شده است).

همه RNA ها توسط یک نوع پوشش پروتئین ویروس پوشیده شده اند. به بیان دیگر دارای یک نوع کپسید[2] با وزنی معادل ۲۱ کیلو دالتون هستند (Putz, 1977). در انتهای '5 دارای ساختار CAP و در انتهای '3 نیز دارای یک دم پلی A در حدود ٦٥ تا ۱٤۰ نوکلئوتید آدنین می باشند (Putz et al., 1983).

برای ایجاد آلودگی ٤ نوع RNA مورد نیاز است. ویروس توسط ناقلی به نام قارچ پلی میکسا بتا به درون ریشه ها نفوذ می کند، سپس به مقدار زیادی در گیاه تکثیر می یابد و به تدریج علائم آلودگی در گیاه ظاهر

1- Single strand RNAs
2- Capsid

می شوند، (Koenig & Burgermeister, 1989; Tamada & Abe, 1989; Tamada et al., 1990; Jupin et al.,1991;Tamada, 1999).

RNA_1 در ژنوم چند بخشی این ویروس، آنزیم RNA پلیمراز ویروس را رمز می کند (Tamada & Abe, 1989).

RNA_1 و RNA_2 برای آلودگی ضروری هستند و همیشه در بافت آلوده وجود دارند اما RNA هایی دیگر ممکن است در آلودگی‌های مکانیکی حذف شوند (Koenig et al.,1986; Koenig & Burgermeister,1989).

RNA_3 در ظهور علائم آلودگی، هم درریشه میزبان طبیعی و هم در برگ های گیاهانی که مورد تلقیح این ویروس قرار گرفته اند نقش دارد و ممکـــن است تکثیـــر ویروس و گستـــرش آن را در ریشه های چغندر قند آسان نماید (Tamada et al., 1999).

RNA_4 برای موثر بودن انتقال توسط قارچ ناقل وموفقیت آمیز بودن آلودگی طبیعی ضروری می باشد (Richards & Tamada, 1992; Tamada & Abe, 1989; Bouzoubaa et al., 1985). زمانی که RNA_3 در ایزوله های BNYVV حضور داشته باشد انتقال ویروس توسط ناقل بسیار کارآمدتر ومقدار ویروس در ریشه بیشتر است (Tamada & Abe, 1989).

زمانی که BNYVV به درون گیاه منتقل شد RNA_4 و RNA_3 معمولاً یا ناپدید می شوند و یا دستخوش تغییراتی می شوند و یا خود به خود حذف می گردند. در مواقعی که ناقل طبیعی وجود ندارد، RNA_2 و RNA_1 برای حفظ ویروس کافی می باشند (Burgermeister et a., 1986; Kuszala et al., 1986; Koenig & Burgermeister., 1989; Bouzoubaa et al., 1991; Tamada, 1999). نهایتاً چنین پنداشته می شود که برای پایداری و موثر بودن ویروس در بیماری زائی در طبیعت به هر چهار جزء RNA نیاز باشد.

RNA_5 در برخی از جدایه‌های جمع‌آوری شده از ژاپن (Koeing et al., 1997) چین، فرانسه (Miyanishi et al.,1999) و قزاقستان (Koeing & Lennefors, 2000)، آسیا (Tamada et al., 1989; Koenig & Lennefors, 2000) و انگلستان (Harju & Richard –Molard, 2002) گزارش شده است.

در مقایسه با ایزوله هایی که فقط RNA های ۱ تا ٤ را دارند، مشخص شده که ایزوله های BNYVV که حاوی RNA_5 نیز می باشند علائم شدیدتری از بیماری در میزبان ایجاد می کنند و قدرت بیماری زایی بالاتری نیز دارند (Koenig et al., 1997b; Heijbroek et al.,1999; Link et al.,2005). همچنین تعامل بین RNA های ۳، ٤ و ٥ نیز می تواند باعث ایجاد علائمی شود (Tamada et al., 1989).

۲-۵-۱- پاتوتیپ های ویروس

با استفاده از تجزیه RFLP (چند شکلی طول قطعات حاصل از هضم) (Kruse et al., 1994)، یا SSCP (چند شکلی ناشی از صورت بندی تک رشته)(Koenig et al., 1995) محصولات RT-PCR سه پاتوتیپ

A، B و P برای ویروس BNYVV شناسایی شده است (Lennefors et al., 2000; Koenig & Lennefors., 2000). البته این کار با استفاده از الکتروفورز ژل آگارز یا اکریل آمید محصولات RT-PCR نیز انجام شده است (Wisler et al., 1994).در تمامی این مطالعات، RT-PCR با استفاده از آغازگرهای اختصاصی ویژه نواحی خاص از ۵ قطعه RNA ی ژنوم BNYVV انجام می گیرد. انواع A و B مرکب از چهار نوع RNA ژنومی هستند (Richards & Tamada, 1992) و نوع P علاوه بر این ٤ رشته دارای پنجمین رشته RNA نیز می باشد. ایزوله A فراوان ترین نوع در طبیعت است (Kruse et al., 1994; Koenig et al.,1995). شواهد تجربی نشان می دهد که ایزوله های BNYVV که دارای RNA_5 هستند، دارای بیمار ی زایی بیشتری بوده و ارقام مقاوم چغندر را بطور جزئی آلوده می کند (Tamada et al., 1996).

پاتوژن نوع A در یونان، یوگسلاوی، اسپانیا بخشی از فرانسه بلژیک، هلند، انگلستان، ترکیه، قزاقستان، چین،ژاپن و آمریکا شناسایی شده است (Kruse et al.,1994). این پاتوژن در ایران نیز گزارش شده است (غلامی و همکاران، ١٣٨٦). پاتوژن نوع B در آلمان و نواحی بالای دره راین و در فرانسه مشاهده شده است (Lennefors et al., 2000; Koenig et al., 2000; Scholten & Lange., 2000). آلودگی مخلوط به تیپ A و B در مناطق مرزی دو کشور فرانسه و آلمان (Scholten & Lange, 2000) و در اتریش (کروسه و همکاران، ١٩٩٤) مشاهده شده است. این مشاهدات نشان می دهند که منشا ویروس در مرکز اروپا ممکن است در مقایسه با جنوب و شمال غربی اروپا متفاوت باشد. در انگلستان هر دو تیپ A و B همچنین آلودگی مخلوط با هر دو تیپ شناسایی شده است.

بنابراین، احتمالا ویروس از نقاط مختلف اروپا به انگلستان وارد شده است. تیپ های A و B در سوئد نیز مشاهده شده اند (Lennefors et al, 2000).

پاتوژن نوع P تاکنون در شهر پیتیورز فرانسه (Richard- Molard., 2002; Koenig et al., 1997b ، Lennefors et al., 2000)، چین و ژاپن (میانیشی و همکاران، ١٩٩٩، Tamada & Abe., 1989)، قزاقستان (Koenig & Lennefors., 2000) و اخیرا در انگلستان (Harju & Richard- Molard., 2001) شناسایی شده است. تا سال ٢٠٠١ پاتوتیپ P در اروپا تنها در پیتیورز فرانسه مشاهده شده بود ولی در این سال در دو مزرعه انگلستان نیز این تیپ برای اولین بار گزارش شد. این تیپ دارای RNA_5 بوده که احتمالا دلیل بیماری زایی بیشتر آن نیز می باشد (Lennefors et al, 2000). نام گذاری تیپ P به محل شناسایی آن یعنی شهر پیتیورز فرانسه باز می گردد.

Schirmer و همکارانش (2005) براساس تحقیقاتی که بر روی RNA_5 انجام دادند پیشنهاد کردند که برخی ایزوله های آسیایی، بایستی منجر به ایجاد ایزوله نوع J شده باشند.

BNYVV دارای ۳ پروتئین جابجایی است که بلوک ژنی سه گانه نامیده می شود و مرکب از P15، P13 P42 می باشد (Gilmer et al., 1992) این پروتئین ها به صورت بسیار تخصصی با هم در تعامل بوده و به منظور انتقال RNA از سلولی به سلول دیگر فعالیت می کنند (Lauber et al., 1998). P42 می تواند به هر دو نوع RNA ی تک رشته ای و دو رشته ای و همچنین مولکول DNA متصل شود، بنابراین می تواند با ویروس همراه شود (Bleykasten et al., 1996). تصور می شود که P13 وP15 باعث اتصال و ایجاد ارتباط مکانیکی مجموعه ویروس– P42 با پلاسمودسماتا و تغییر اندازه پلاسمودسماتا شده تا RNA ویروس بتواند از این طریق از سلولی به سلول دیگر منتقل شود (Erhardt et al., 2000). ویروس در ریشه های فرعی جانبی نسبت به ریشه اصلی به مقدار زیاد یافت می شود (محمودی، ۱۳۸٦؛ Gunchedi, 1987 ;Buttner & Burcky., 1990). بیشترین غلظت ویروس در نوک ریشه اصلی بوته های بالغ و تکامل یافته دیده می شود. در شرایط طبیعی ویروس به تنهایی قادر به آلوده کردن ریشه چغندر نیست و به وارد شدن داخل زئوسپور قارچ پارازیت ناقل خود Polymyx betae بستگی دارد. همچنین ویروس بدون حفاظت اسپورهای استراحتی قارچ قادر به زنده ماندن در ریشه نیست. با وجود این، ویروس قادر است به صورت یخ زده در بافت گیاه آلوده دوام آورده و تا حدی نیز در عصاره استخراج شده از گیاه باقی بماند.

۲-۵-۲- ناقل ویروس عامل بیماری ریزومانیا

قارچ Polymyxa betae Keskin ناقل ویروسهای جنس بنی ویروس‌ها از پارازیت‌های اجباری خاکزی است که بر اساس مطالعات تاکسو نومی در شاخه Plasmodiophoromycota و رده Plasmodiophoromycete قرار دارد (Brunt & Richards., 1989; Keskin.,1964). این رده دارای یک راسته (Plasmodiophorales) و یک تیره (Plasmodiophoraceae) است (Karling., 1968).

تعیین حدود جنس این قارچ ها بر اساس مورفولوژی و آرایش اسپورهای مقاوم و تفکیک گونه ها بر اساس اختصاصیت میزبانی می باشد. در Plasmodiophorales، ده جنس وجود دارد که تا کنون فقط اعضاء دو جنس Polymyxa وSpongospora به عنوان ناقل ویروس شناخته شده اند. چرخه زندگی این قاچ ها شامل دو مرحله پلاسمودیومی متفاوت بنام اسپورانژیال و اسپوروژنیک است (دارابی و همکاران، ۱۳۸۲). در مرحله اسپورانژیال، زوئوسپورانژیوم با دیواره نازک و در مرحله اسپوروژنیک، اسپور مقاوم تولید می شود. اسپورهای مقاوم P.betae چند وجهی به قطر ۷-٤ میکرومتر، دارای دیواره ضخیم و به صورت دسته های ۳۰۰-٤ تایی به طور محکم به یکدیگر متصل شده اند که به هر دسته، سیستوسور[1] می گویند. در یک سلول ریشه ممکن است یک یا چند تا سیستوسور وجود داشته باشد. زوئوسپور قارچ های پلاسمودیوفوروئید، دو تاژک شلاقی با طول نامساوی دارند که در جلو پیکره قرار گرفته است. زوئوسپور در چرخه زندگی این قارچ ها ، هم با جوانه زدن اسپورهای مقاوم (زوئوسپورهای اولیه) و هم

1- cystosorus

زوئوسپورانژیوم (زوئوسپورهای ثانویه) تولید می شود. این زوئوسپورها از نظر مورفولوژیکی به هم شبیه اند (دارابی و همکاران، ۱۳۸۲).

بعضی از محققان بر اساس مطالعات مولکولی، پلاسموفورومیست‌ها را جزء پروتوسیست‌ها [۱] طبقه بندی می‌کنند و ارتباطی بین آنها و اسکومیست‌ها[۲]، بازیدیومیست‌ها[۳] و اوومیست‌ها[۴] قائل نیستند (Braselton., 1995; Ward & Adams.,1998).

قارچهای پلاسمودیوفوروئید، پروتوپلاست چند سلولی بدن دیواره را که به آنها پلاسمودیوم[۵] گفته می‌شود تولید می‌کند.

اسپورهای استراحتی قارچ پلی میکسا در حضور ریشه گیاه حساس و رطوبت کافی ، جوانه می‌زنند و زئوسپورهای اولیه را به وجود می‌آورند. این زئوسپورها در تماس با ریشه‌های مویین گیاه حساس و یا سلول‌های اپیدرمی به دیواره آنها می‌چسبند و با استفاده از اندام خنجر مانند خود که استاکل[۶] نامیده می‌شود دیواره سلول را پاره می‌کنند و محتویات کیست[۷] خود را به داخل سلول وارد می‌کنند. در داخل سلول محتویات زئوسپور اولیه شروع به تقسیم صلیبی کرده، پلاسمودیوم چند هسته‌ای را به وجود می‌آورد که پلاسمودیوم‌ها به پلاسمودیوم اسپورانژال[۸] توسعه پیدا می‌کنند. در این مرحله زئوسپورانژیوم[۹] با دیواره نازک نازک تولید و به آزاد سازی زئوسپورهای ثانویه ختم می‌شود. این زئوسپورها ثانویه هستند که شنا کنان به طرف بوته‌ها و ریشه‌های مجاور می‌روند و آنها را آلوده می‌سازند. این مرحله، مرحله فعال و شیوع بیماری است. چرخه‌های بسیاری از تولید زئوسپور ممکن است در طول دوره رویش تکمیل شود. پلاسمودیوم‌ها همچنین می‌توانند به پلاسمودیوم اسپوروژنیک[۱۰] تبدیل شوند و اسپورهای مقاوم را تولید کنند (شکل ۲-۲).

1- Protozoa
2- Ascomycetes
3- Basidiomycetes
4- Oomycetes
5- Plasmodium
6- Stachell
7- Cyst
8- Sporangial
9- Zosporangia
10- Sporogenic