



۱۳۸۶ / ۱۲ / ۲۰

۹/۱۱



دانشگاه بوعلی سینا
دانشکده کشاورزی
گروه گیاهپزشکی

پایان نامه

برای دریافت درجه کارشناسی ارشد در رشته بیماری شناسی گیاهی

عنوان:

بررسی تنوع بیولوژیکی و ملکولی جدایه های ویروس موزائیک زرد کدو (ZYMV)
در ایران

اساتید راهنما:

دکتر محمد جواد سلیمانی

و

دکتر کاوه بنانج

پژوهشگر:

مهدی صفایی زاده

۱۳۸۶ / ۱۲ / ۲۵

اسفندماه ۱۳۸۵

۹۶۰۱۱

همه امتیازهای این پایان نامه به دانشگاه بوعلی سینا تعلق دارد، در صورت استفاده از تمام یا بخشی از مطالب پایان نامه در مجلات، کنفرانسها و یا سخنرانیها، باید نام دانشگاه بوعلی سینا و نام دانشجو با ذکر مأخذ و ضمن کسب مجوز کتبی از دفتر تحصیلات تکمیلی دانشگاه ثبت شود. در غیر اینصورت مورد پیگرد قانونی قرار خواهد گرفت.



دانشکده کشاورزی

با نام و یاری خداوند متعال

پایان نامه کارشناسی ارشد رشته بیماری شناسی گیاهی

آقای مهدی صفایی زاده

تحت عنوان

" بررسی تنوع بیولوژیکی و مولکولی ویروس موزائیک زرد کدو (ZYMV) در ایران "

به ارزش ۶ واحد در روز چهارشنبه مورخ ۸۵/۱۲/۲۳ و در محل دانشکده کشاورزی با حضور جمعی از اساتید و دانشجویان برگزار گردید و با نمره ۱۹.۵۰۰ و درجه عالی به تصویب کمیته تخصصی زیر رسید.

امضاء
امضاء

دکتر محمدجواد سلیمانی
دکتر کاوه بناج

۱- اساتید راهنما

امضاء
امضاء
امضاء
امضاء

دکتر مسعود شمس بخش
دکتر دوستمیراد ظفری

۲- اساتید داور

دکتر محمدجواد سلیمانی

۳- مدیر گروه

۴- سرپرست تحصیلات تکمیلی دانشکده

دکتر فرشاد دشتی

تقدیم به:

پدر و مادر عزیزم
و همه خوبیها.....

تشکر و قدردانی

بار الها تو را سپاس که توفیق قدم گذاشتن در راه شناخت راز و رمزهای خلقت حکیمانه ات را به من عطا فرمودی، کاستی هایم را به کرم جبران فرما و این دستاورد ناچیز را بپذیر. لازم می دانم مراتب سپاس و امتنان خود را از کلیه عزیزانی که در مراحل مختلف این تحقیق به طور صمیمانه یاریم نموده اند، تشکر و قدردانی نمایم:

جناب آقای دکتر محمد جواد سلیمانی استاد راهنمای بزرگوار، که با راهنمایی های ارزنده خود، در تمام مراحل تحصیل دانشگاه، همراهیم نموده و همواره مرا مورد لطف و محبت خویش قرار داده اند، بی تردید حوصله، دقت نظر و تأمل ایشان نقش به سزایی در موفقیت این تحقیق داشته است، توفیق روز افزون این دانشمند گرانقدر را از درگاه خداوند متعال خواستارم.

از جناب آقای دکتر دوستمیراد ظفوری بخاطر رهنمودهای ارزنده، تشویق ها و حمایت مای بی دریغ، در تمامی مراحل این تحقیق از تدوین پروپوزال تا تدوین نتایج، و کمک شایان توجه در تصحیح متن پیش نویس پایان نامه با کمال دقت، که همواره مدیون بزرگواریهای ایشان هستم.

از دانشمند ارجمند جناب آقای دکتر مسعود شمس بخش که بنده حقیقتاً علاقه مندی خود به تحصیل در ویروس شناسی را مرحون زحمات دلسوزانه و حسن برخورد ایشان می دانم، بدون شک ایشان یکی از ذخایر ارزشمند جامعه علمی کشور می باشند و مساعدت ها و راهنمایی های ارزنده این دانشمند بزرگوار، نقش بسزایی در موفقیت این تحقیق داشته است که بدون کمکها و همکاری های صمیمانه ایشان، در قسمتهای مختلف پایان نامه، امکان جمع بندی و نتیجه گیری از مطالب میسر نبود، توفیق و بهروزی این دانشمند گرانقدر را از درگاه خداوند سبحان خواستارم.

از اساتید محترم گروه گیاهپزشکی دانشگاه، اساتید ارجمند و گرانقدر جناب آقای پروفیسور محمد خانجانی، جناب آقای دکتر مجید کزازی و دکتر مددی که با حمایت های بی دریغ، به طور مستمر و دلسوزانه، نقش به سزایی در شکل گیری این پایان نامه داشته اند، سلامتی و بهروزی این عزیزان را از درگاه خداوند متعال خواستارم.

از استاد محترم و گرانقدر جناب آقای دکتر خداکرمی که افتخار شاگردی ایشان را داشته و همواره از مساعدتها و همکاریهای بی شائبه و صادقانه ایشان بهره مند بوده ام.

از معاونت محترم تحصیلات تکمیلی دانشکده کشاورزی، جناب آقای دکتر فرشاد دشتی که همواره با حمایت های بی دریغ، به طور مستمر و دلسوزانه نقش به سزایی در شکل گیری این پایان نامه داشته اند.

از ریاست محترم دانشکده کشاورزی، جناب آقای دکتر احمدوند که مدیون رهنمودها، حمایت ها و حسن برخورد ایشان هستم.

از سرپرست محترم تحصیلات تکمیلی دانشگاه، جناب آقای دکتر اوحدی که همواره از حمایت های بی دریغ، رهنمودهای ارزنده و دلسوزانه ایشان برخوردار بوده ام.

از اساتید ارجمند و بزرگوار جناب آقای پروفیسور عزیز اله علیزاده و جناب آقای دکتر حسین معصومی که با راهنمایی های ارزنده، مساعدتها، حمایت های بی دریغ، بی شائبه و صادقانه نقش به سزایی در شکل گیری این پایان نامه داشته اند.

همچنین از معاونت محترم امور مالی و اداری دانشگاه، جناب آقای دکتر ساکی، معاونت محترم آموزشی دانشکده کشاورزی، جناب آقای دکتر سپهری، معاونت محترم پژوهشی دانشکده کشاورزی، جناب آقای دکتر بانژاد، مدیر محترم گروه بیوتکنولوژی دانشگاه بوعلی سینا، جناب آقای دکتر پیری به خاطر مساعدتها و همکاریهای بی شائبه و صادقانه، نهایت تشکر و قدر دانی را دارم.

بر خود لازم می دانم از خانواده عزیزم که در تمامی لحظات زندگی تکیه گاهم بوده و بدون هیچ چشم داشتی محبت های بی دریغشان را نثارم نموده اند، نهایت سپاسگذاری را داشته باشم، سلامتی و بهروزی این عزیزان را از درگاه ایزد منان خواستارم.

مهدی صفایی زاده

چکیده:

گیاهان خانواده کدوئیان مورد هجوم ویروسهای متعددی در سراسر جهان قرار می گیرند، به منظور تعیین شایع ترین ویروس آلوده کننده کدوئیان در استانهای خوزستان، همدان و مرکزی ۳۲۴ نمونه بصورت تصادفی از ۳۵ منطقه در این استانها در سال زراعی ۱۳۸۵ جمع آوری گردید و با استفاده از آنتی سرمهای علیه ZYMV, CABYV, CMV, WMV, PRSV, SqMV, MNSV, WmCSV و ZYFV و روش آزمون داس الیزا مورد بررسی قرار گرفتند، در هر سه استان مورد بررسی ZYMV به عنوان شایع ترین ویروس با فراوانی ۴۱/۶۶٪ بود. ویروس موزائیک زرد کدو (ZYMV)، یکی از مهم ترین ویروسهای آلوده کننده تیره کدوئیان در جهان می باشد که باعث موزائیک، نکروز و بدشکلی شدید می شود. وجود این ویروس در ایران، برای اولین بار در سال ۱۳۶۷ با استفاده از روش الیزا به اثبات رسیده اما خصوصیات بیولوژیکی و ملکولی جدایه های ایرانی تعیین نگردیده است. به منظور بررسی تنوع بیولوژیکی و ملکولی این ویروس در ایران، ۱۳ جدایه خالص بیولوژیکی از مناطق مختلف ایران شامل؛ خراسان، مازندران، تهران (کرج و ورامین)، اصفهان، کرمان، یزد، خوزستان (جزایر خوزستان، دز خوزستان)، همدان (امزاجرد و یک جدایه بندرزاد)، استان مرکزی (ساوه و خشکرد)، ابتدا تنوع بیولوژیکی آنها در ۵۲ گونه از ۱۵ خانواده گیاهی، شامل؛ کدوئیان، بقولات، آستراسه، پدالیاسه، سولاناسه، کنوپودیاسه، آمارانتاسه، پوآسه، کروسیفر، لیلیاسه، کانابیناسه، مالواسه، آمبلیفرا، اتوفوریاسه و لیناسه مورد بررسی قرار گرفت، جدایه های مورد مطالعه بر اساس علائم ایجاد شده در میزبانهای اصلی و افتراقی به سه گروه تقسیم شدند؛ در یک گروه جدایه های کرج، مازندران و بندر زاد همدان قرار دارند، در گروه دوم جدایه های خراسان، ورامین، اصفهان، یزد، کرمان، امزاجرد همدان، ساوه و خشکرد استان مرکزی و در گروه سوم جدایه های استان خوزستان قرار گرفتند. در خصوص بررسی های ملکولی نیز با استفاده از تکنیک RT-PCR با استفاده از آغازگرهای اختصاصی ناحیه انتهایی Nib و قسمت 5' ژن کدکننده پروتئین پوششی (CP) ویروس موزائیک زرد کدو، قطعه ای حدود ۵۸۰ جفت باز تکثیر گردید و پس از خالص سازی DNA از محصول واکنش زنجیره ای پلیمرز با استفاده از آنزیمهای برشی *Pvu II* و *Eco RV* در تکنیک RFLP تنوع ملکولی جدایه های ویروس ZYMV در ایران مورد بررسی قرار گرفت، که در بررسی الگوی برشی هیچ تفاوتی بین جدایه ها مشهود نبود.

واژه های کلیدی: ویروس موزائیک زرد کدو، ایران، پراکنش، تنوع بیولوژیکی، تنوع ملکولی

صفحه	فهرست مطالب	عنوان
۱	مقدمه
		فصل اول : بررسی منابع
۷	۱-۱- خصوصیات گیاهشناسی و اهمیت تیره کدوئیان
۹	۲-۱- اهمیت مطالعه ویروس های گیاهی در خانواده کدوئیان
۱۰	۱-۲-۱- ویروس موزائیک زرد کدو
۱۰	۲-۲-۱- ویروس موزائیک خیار
۱۱	۳-۲-۱- ویروس موزائیک کدو
۱۱	۴-۲-۱- ویروس موزائیک هندوانه
۱۱	۵-۲-۱- ویروس موزائیک خربزه درختی
۱۲	۶-۲-۱- ویروس زردی شته زاد کدوئیان
۱۲	۷-۲-۱- ویروس لکه مرده طالبی
۱۳	۸-۲-۱- ویروس لکه حلقوی توتون
۱۳	۹-۲-۱- ویروس نقطه ای زرد کدو
۱۶	۳-۱- ویروس موزائیک زرد کدو، تاریخچه و گسترش جغرافیایی
۱۹	۴-۱- ویژگی های تیره Potyviridae
۲۲	۱-۴-۱- رابطه فیلوژنتیکی جنس های خانواده Potyviridae
۲۲	۲-۴-۱- ویژگی های ویروس موزائیک زرد کدو (ZYMV)
۲۳	۵-۱- تاریخچه ویروس موزائیک زرد کدو در ایران
۲۴	۶-۱- تنوع ژنتیکی ویروس موزائیک زرد کدو
۲۴	۱-۶-۱- تنوع بیولوژیکی
۲۷	۱-۶-۱- الف- انتقال ویروس موزائیک زرد کدو از طریق بذر
۲۸	۱-۶-۱- ب- علفهای هرز میزبان ویروس موزائیک زرد کدو
۲۹	۲-۶-۱- تنوع سرولوژیکی ویروس موزائیک زرد کدو
۳۳	۳-۶-۱- تکنیک های مولکولی در تعیین جدایه های ویروس موزائیک زرد کدو

۳۳ ۱-۶-۳-الف- آنالیز آنزیم‌های برشی
۳۳ ۱-۶-۳-ب- تکنیک HMA
۳۵ ۱-۶-۳-ج- بررسی توالی نوکلئوتیدی اسیدهای آمینه
۳۶ ۱-۶-۴- تاریخچه بررسی تنوع بیولوژیکی، سرولوژیکی و مولکولی ویروس موزاییک زرد کدو
	فصل دوم: مواد و روش‌ها
۴۷ ۲-۱- نمونه برداری
۵۵ ۲-۲- انجام آزمون DAS - ELISA
۵۷ ۲-۳- بررسی‌های بیولوژیکی
۵۷ ۲-۳-۱- تکثیر ویروس در میزان تکثیری
۵۷ ۲-۳-۲- خالص سازی بیولوژیکی
۵۸ ۲-۳-۳- بررسی تنوع بیولوژیکی و تعیین دامنه میزبانی ویروس موزاییک زرد کدو
۶۱ ۲-۴- بررسی‌های مولکولی
۶۲ ۲-۴-۱- استخراج RNA - Total
۶۲ ۲-۴-۲- تعیین کیفیت RNA استخراج شده
 ۲-۴-۲- تکثیر ناحیه انتهایی Nib و قسمت 5' ژن کدکننده پروتئین پوششی (CP) ویروس موزاییک زرد کدو با استفاده از آزمون RT - PCR
۶۳ ۲-۴-۲- استفاده از آزمون RT - PCR
۶۷ ۲-۴-۲- خالص DNA از محصول واکنش زنجیره ای پلیمراس
 ۲-۴-۵- انجام آزمون RT_PCR_RFLP بر روی بخش انتهایی ناحیه Nib و قسمت 5' ژن کدکننده پروتئین پوششی (CP) ویروس موزاییک زرد کدو، جهت گروه بندی جدایه های ایرانی ویروس ZYMV
۶۸ فصل سوم - نتیجه و بحث
 ۳-۱- تعیین پراکنش ویروس های MNSV, SqMV, PRSV, WMV, CMV, CABYV, ZYMV
۷۱ WmCSV و ZYFV در استان‌های خوزستان، همدان و مرکزی
۸۳ ۳-۲- تعیین تنوع بیولوژیکی جدایه های مختلف ویروس موزاییک زرد کدو
۱۰۳ ۳-۳- نتایج استخراج RNA - Total و آزمون RT - PCR
۱۰۵ ۳-۴- نتایج RT - PCR_RFLP
۱۰۸ ۳-۵- بحث و پیشنهادات
۱۰۸ ۳-۵-۱- پراکنش ویروس‌های آلوده کننده کدوئیان در استان‌های خوزستان، همدان و مرکزی

صفحه	فهرست مطالب	عنوان
۱۱۳	۳-۵-۲- بررسیهای بیولوژیکی
۱۱۷	۳-۵-۳- بررسی های ملکولی
۱۲۰	فصل چهارم - منابع مورد استفاده

مقدمه

در دو دهه اخیر، ویروس موزائیک زرد کدو (Zucchini yellow mosaic virus, ZYMV) به عنوان مهم ترین بیمارگر ویروسی کدوئیان در بسیاری از نقاط دنیا ظاهر گشته و باعث ایجاد خسارت های شدیدی گردیده است. منشأ^۱، مکانیزم های تکامل^۲ و انتشار جهانی^۳ ویروس ZYMV، سئوالات بسیار مهمی را در مورد چگونگی ظهور و بروز^۴ ویروس ها مطرح می نماید. وجود تنوع فراوان بیولوژیکی، سرولوژیکی و مولکولی در بین جدایه های این ویروس، مشکلات جدی را در مطالعه اپیدمیولوژی ویروس موزائیک زرد کدو و راهکار های کنترل میزان آلودگی و خسارت آن ایجاد نموده است (دزبیز و همکاران، ۲۰۰۲).^۵

از زمان اولین گزارش ویروس موزائیک زرد کدو (ZYMV) تاکنون، این ویروس تنوع بیولوژیکی، سرولوژیکی و مولکولی بسیار زیادی از خود نشان داده است. جدایه های جنوب غرب فرانسه علائم ملایم تری نسبت به جدایه های جنوب شرق فرانسه از خود نشان داده و با جدایه های ایتالیا بسیار متفاوت بودند (لیزا و لکوک، ۱۹۸۴).^۶ اطلاع از وجود جدایه های ویروس ZYMV در یک منطقه جغرافیایی در فراهم نمودن تعیین پاتوتیپ ها و همچنین برنامه هایی که نهایتاً منجر به غربال کردن مجموعه های ژرم پلاسم (germpasm) کدوئیان در جهت بدست آوردن ارقام مقاوم و یا متحمل به این ویروس می شود، بسیار مفید واقع خواهد شد (پفوسر و باثومن، ۲۰۰۲).^۷

سطوح مختلف مقاومت بر علیه این ویروس در گیاهان مختلف تیره کدوئیان نسبت به جدایه های این ویروس که از مناطق جغرافیایی مختلف جداسازی گردیده اند کاملاً متفاوت می باشد، به عنوان مثال در گیاه کدو تنبل واریته نیجریه^۸ سطوح بالایی از مقاومت نسبت به جدایه فلوریدایی این ویروس مشاهده می شود، در حالیکه همین واریته نسبت به جدایه کونکتیکوت^۹ بسیار حساس است؛ بنابراین اختلاف در پاسخ واریته های مختلف کدوئیان نسبت به جدایه های مختلف ویروس ZYMV در برنامه های اصلاح گیاهان مقاوم به این ویروس بایستی مورد توجه قرار گیرد (پفوسر و باثومن، ۲۰۰۲).

¹ origin

² mechanisms for evolution

³ worldwide spread

⁴ emergence

⁵ Desbiez *et al.*

⁶ Lisa and Lecoq

⁷ Pfosser, Baumann

⁸ Nigerian Local

⁹ Connecticut

جدایه‌های ZYMV دارای تنوع بیولوژیکی در میزبان‌های آزمایشی هستند، گرچه میزبان‌های طبیعی این ویروس اکثراً از خانواده کدوئیان گزارش گردیده‌اند، با وجود این، اعضاء ۱۱ خانواده از دولپه‌ای‌ها نیز در دامنه میزبانی آزمایشی این ویروس قرار می‌گیرند، که این با توجه به نوع جدایه ویروسی متغیر می‌باشد. بغیر از خانواده کدوئیان در میزبان‌های آزمایشی معمولاً یا علائم خفیف است یا این که بصورت تک‌لکه است (دزبیز و همکاران، ۱۹۹۷). بعنوان مثال برخی جدایه‌ها می‌توانند گیاه نخودفرنگی را بطور سیستمیک آلوده کنند بدون اینکه هیچگونه علائم قابل مشاهده‌ای از خود نشان دهند (لرمن و همکاران، ۱۹۸۳؛ آنتیگلوس و همکاران، ۱۹۸۹)^۱.

بررسی و تعیین تنوع بیولوژیکی و ملکولی در بین جدایه‌های ویروس ZYMV نقش بسیار مهمی در فهم مکانیسمها و عواملی که باعث بروز تنوع در بین جدایه‌های این ویروس می‌شوند، دارد؛ این مطلب خصوصاً در بررسی و نهایتاً تعیین ژنهای مسئول بروز مقاومت در گیاهان تیره کدوئیان بسیار مهم است. و برنامه‌های اصلاحی در جهت بدست آوردن گیاهان مقاوم به این ویروس بهترین رویکرد قابل استفاده می‌باشد، همچنین از آنجایی که ظهور جدایه‌های جدید ویروسی می‌توانند باعث شکسته شدن مقاومت در گیاه میزبان گردند، گروهبندی جدایه‌های ZYMV نقش مهمی در اتخاذ راهکارهای مناسب در برنامه‌های مدیریتی این ویروس دارد (دزبیز و همکاران، ۱۹۹۶)، لذا اطلاع از تنوع بیولوژیکی و ملکولی ویروس ZYMV در یک منطقه جغرافیایی با اقلیم‌های آب و هوایی متفاوت نقش بسیار مهمی در ارائه استراتژیهای مدیریت این ویروس در آینده، خواهد داشت (دزبیز و همکاران، ۱۹۹۶).

استان خوزستان با سطح زیر کشت ۳۰۸۰۶ هکتار و تولید حدود ۳۵۰۰۰۰ تن محصولات جالیزی که بخش اعظم آنرا گیاهان خانواده کدوئیان تشکیل می‌دهد مقام دوم را در کشور دارا می‌باشد. همچنین استان همدان از نظر سطح زیر کشت ۱۴۸۸۰ هکتار و با تولید ۲۱۴۰۷۰ تن محصولات جالیزی بویژه کدو و خیار مقام چهارم را در کشور دارا می‌باشد. استان مرکزی نیز با ۴۸۰۰ هکتار و تولید ۸۹۰۰۰ تن محصول در بین استان‌های کشور در مقام چهاردهم قرار دارد (آمارنامه کشاورزی، ۱۳۸۱). علی‌رغم اهمیت ویژه‌ای که محصولات کدوئیان در اقتصاد کشاورزی سه استان مذکور دارند ولی در مورد وقوع و پراکنش بیماری‌های ویروسی کدوئیان در استان‌های همدان، خوزستان و مرکزی تاکنون بررسی مدونی انجام نشده است. انجام این تحقیق کمک زیادی به شناخت بیماری‌های ویروسی مهم

^۱ Lesemann et al. & Antiglius et al.

کدوئیان در این استان‌ها خواهد نمود که در آینده از این اطلاعات می‌توان در اتخاذ برنامه‌های مدیریت بیماری‌های ویروسی استفاده نمود.

فرضیات و اهداف انجام این تحقیق به شرح زیر می‌باشد:

الف_ فرضیات:

۱. پراکنش ویروس‌های مهم گیاهی در بین گیاهان خانواده کدوئیان در استانهای مورد نظر متفاوت است.

۲. برخی از ویروس‌های آلوده کننده کدوئیان شایعتر و از فراوانی بیشتری در گیاهان تیره کدوئیان برخوردار هستند.

۳. تنوع جدایه‌های ویروسی در بین گیاهان خانواده کدوئیان متغیر و متفاوت می‌باشد.

۴. جدایه‌های ایرانی ویروس موزائیک زرد کدو (ZYMV) دارای دامنه میزبانی و تنوع بیولوژیکی متفاوت می‌باشند.

۵. جدایه‌های ایرانی ویروس موزائیک زرد کدو (ZYMV) دارای خصوصیات ملکولی متفاوت می‌باشند.

ب_ هدف‌ها:

۱. تعیین پراکنش ویروس‌های مهم آلوده کننده کدوئیان در استانهای همدان، خوزستان و مرکزی.

۲. مشخص نمودن شایع ترین ویروس آلوده کننده کدوئیان در استانهای همدان، خوزستان و مرکزی.

۳. تعیین خصوصیات بیولوژیکی جدایه‌های ایرانی ویروس موزائیک زرد کدو (ZYMV).

۴. تعیین خصوصیات ملکولی جدایه‌های ایرانی ویروس موزائیک زرد کدو (ZYMV).

بر اساس بررسی مقالات منتشر شده در نشریات معتبر علمی داخل و یا خارج کشور هیچ گونه گزارشی در مورد نژاد(های) ویروس موزائیک زرد کدو در ایران وجود ندارد. همچنین از آنجا که مبارزه شیمیایی تأثیر چندانی در مدیریت این بیماری ویروسی ندارد، به منظور کاهش میزان آلودگی و خسارت ویروس موزائیک زرد کدو، استراتژی‌های کنترل از قبیل تولید گیاهان متحمل و یا مقاوم از طریق بکارگیری روش‌های کلاسیک و یا از طریق روش‌های نوین (pathogen-derived resistance) در بسیاری از کشورهای دنیا طراحی و در دسترس قرار گرفته است. حفاظت تقاطعی (cross-protection) یکی دیگر از روش‌های کنترل ویروس‌های گیاهی و از جمله ویروس موزائیک زرد کدو می‌باشد.

تشخیص و شناسایی جدایه(های) ویروس موزائیک زرد کدو در ایران، تعیین خصوصیات بیولوژیکی و مولکولی آنها و تعیین پراکنش جغرافیایی ویروس‌های آلوده کننده کدوئیان در

استانهای مورد بررسی از مهمترین اهداف این پژوهش به شمار می آیند و با استفاده از نتایج این تحقیق، امکان استفاده از ارقام متحمل به منظور کنترل و کاهش میزان خسارت ویروس موزائیک زرد کدو (ZYMV)، امکان پذیر خواهد شد.

فصل اول:

بررسی منابع

۱-۱- خصوصیات گیاهشناسی و اهمیت تیره کدوئیان

کدوئیان از متنوع‌ترین تیره‌های سلسله گیاهی بوده و به سرما بسیار حساس می‌باشند، لذا بطور طبیعی در مناطق گرمسیر و نیمه گرمسیر جهان کشت می‌شوند و غالباً با اتکاء به پیچک‌های خود به گیاهان و یا قیم‌هایی در اطراف رشد می‌کنند (راینسون و دکر-والتر، ۱۹۹۷).^۱ برگ‌ها بصورت متناوب ساده، بدون گوشوارک، پهنک بزرگ با بریدگیهای عمیق است، گل‌ها تک جنسی، یکپایه، منظم پنج‌پر منفرد و یا برروی گل آذین گرزنی واقع است، کاسبرگ‌ها متصل به هم و همچنین در قاعده به لوله‌ جام گل اتصال دارند، گل‌های نر دارای پرچم بوده که به جام گل متصل نیستند، برخی از گیاهان این تیره دارای پرچم‌های پلی آدلف (چند گروه پرچم) هستند بدین صورت که از دو دسته پرچم دوتایی و یک پرچم آزاد تشکیل شده است، تخمدان اغلب تحتانی و خامه مادگی به کلاله سه شاخه ختم می‌شود. مادگی دارای ۳ برچه و هر برچه دارای تعداد زیادی تخمک و از گون با تمکن کناری است. میوه دارای اپی کارپ ضخیم و چرمی^۲ است (راینسون و دکر-والتر، ۱۹۹۷). از نظر اکولوژیکی گیاهان این خانواده دولپه ای می‌باشند، و از نظر تاکسونومیکی به دو زیر خانواده^۳، ۸ قبيله^۴، ۱۱۸ جنس^۵ و ۸۵۲ گونه^۶ تقسیم می‌شوند (جفری، ۱۹۹۰).^۷ چهار محصول اصلی این خانواده شامل هنداونه (*Citrullus lanathus*)، خیار (*Cucumis sativus*)، طالبی (*Cucumis melo*) و کدو (*Cucurbita spp.*) و ۵ محصول مهم دیگر یعنی لوف^۸ (*Luffa acutangula*)، بوتل یورد^۹ (*Lagenaria siceraria*)، کایوت^{۱۰} (*Sechium edule*) و طالبی تلخ (*Momordica charantia*) متعلق به زیر خانواده Cucurbitaceae می‌باشند (راینسون و دکر-والتر، ۱۹۹۷). در این خانواده ریشه‌ها اغلب سطحی بوده و به عنوان مثال ریشه خیار تا عمق یک متری و کدو تا عمق دو متری خاک نفوذ نماید. عمده حجم ریشه در عمق ۶۰ سانتی متری خاک است در این خانواده حجم ریشه بیش از حجم ساقه است و سیستم آوندی بصورت بی‌کولاتریال^{۱۱} (دو آوند آبکش در طرفین و یک آوند چوبی در وسط قرار دارد) (مبلی ۱۳۷۳ و پیوست ۱۳۷۷) می‌باشد. میوه در این خانواده از بسیاری جنبه‌ها شامل اندازه، رنگ، شکل

¹ Rubinson and Decker Walter

² pepo

³ subfamily

⁴ tribe

⁵ genus

⁶ species

⁷ Jeffrey

⁸ Luffa

⁹ Bottle yourd

¹⁰ Chayote

¹¹ Bicollateral

و ترئیانات بسیار متنوع است، میوه گیاه کدو^۱ بزرگترین میوه در سلسله گیاهی است (رابینسون و دکر- والتر، ۱۹۹۷).

مهمترین جنس‌های این خانواده به شرح زیر می‌باشد:

۱- جنس (*Cucumis*): به دو گونه *C. sativus* و *C. melo* تقسیم بندی می‌شود، منشأ خیار (*Cucumis sativus*) را به کوه‌های هیمالیا در نپال و همچنین در شرق ایران (خراسان) به ۳ میلیون سال قبل نسبت می‌دهند (رابینسون و دکر- والتر، ۱۹۹۷). گونه *Cucumis melo* همان خربزه وطالبی می‌باشد که قادر به گشن‌گیری با یکدیگر هستند، منشأ آن‌ها نیز ایران می‌باشد، این گیاه در سال ۱۶۸۳ میلادی به کالیفرنیا منتقل گردیده است (پوستچی ۱۳۵۰). براساس نظر هوکر گونه و رقم‌های اصلی خربزه از یک رقم وحشی به نام *Cucumis trigonus* که در ایران نیز موجود است به‌وجود آمده‌اند (پوستچی، ۱۳۵۰).

۳- جنس کدو (*Cucurbita*): دارای ۵ گونه اصلی و حدوداً ۱۰ گونه وحشی است (رابینسون و دکر- والتر، ۱۹۹۷) و میوه دارای پوستی ضخیم و چوبی می‌باشد. براساس بررسی‌های انجام شده روی آیزوزایم‌ها، جنس‌های *Cucurbita* را به ۷ گروه فایلوژنتیکی تقسیم نموده‌اند (رابینسون و پوکالسکی، ۱۹۹۰)^۲، منشأ اکثر گونه‌های جنس *Cucurbita* مکزیک است اما منشأ گونه‌های دیگری شامل *C. maxima* امریکای جنوبی است، گونه‌های وحشی این جنس تلخ و غیرقابل مصرف خوراکی هستند. که منشأ اصلی آنها آرژانتین و اروگوئه می‌باشد. این گیاه تحمل بسیار زیادی نسبت به سرما دارد (رابینسون و دکر- والتر، ۱۹۹۷). مهم‌ترین گونه‌های این جنس شامل *C. pepo*، *C. moschata*، *C. maxima*، *C. ficifolia*، *C. argyrosperma* است. گونه‌ای بسیار پلی‌مورفیک بوده و شامل گونه‌های مختلف کدوی تابستانه^۳، کدوی زینتی، کدوی زمستانه^۴ و پامپکین^۵ است (رابینسون و دکر- والتر، ۱۹۹۷).

۴- جنس هندوانه (*Citrullus*): این گیاه از نظر تاکسونومیک شامل ۴ گونه است. *C. ecirrhosus*، *lanatus* و یک گونه جدید *C. rehmi* بومی افریقا است، جنس *C. colocynthis* (هندوانه ابوجهل) بومی هندوستان و بیابانهای کویری ایران است و گیاهی دائمی

^۱ *Cucurbita maxima*

^۲ Robinson and puchalski

^۳ Zucchini

^۴ acorns

^۵ pumpkin

است که میوه آن کوچکترین میوه در این خانواده می باشد و ماده کولوسینت^۱ از آن تهیه می گردد که مصرف دارویی دارد. در حال حاضر کولتیوارهای تریپلوئید هندوانه تهیه گردیده است.

۵- جنس لوف (Luffa): میوه این جنس گاهی با خیار اشتباه می شود درحالی که از نظر تاکسونومیکی در یک جنس جداگانه از گیاه خیار قرار می گیرد، مهمترین گونه های این جنس L. *acutangula* و L. *cylindrica* می باشند که منشأ آن ها دنیای قدیم است (راینسون و دکر- والتز، ۱۹۹۷).

گونه های وحشی کدوئیان به عنوان علف هرز مزارع به شمار می روند اما تاکنون در ایران تنها یک گونه از این خانواده با نام *Ecballium elaterium* در مزارع چغندر قند استان اردبیل به عنوان علف هرز شناسایی شده است (شیمی و ترمه، ۱۳۸۲). بنابر گزارش سازمان خواربار جهانی^۲، هندوانه پر مصرف ترین گیاه تیره کدوئیان است و بنابراین گزارش ۱/۸۲۴/۰۰۰ هکتار از مزارع جهان به کشت این محصول اختصاص دارد (راینسون و دکر- والتز، ۱۹۹۷) که ۲۹/۳۶۰/۰۰۰ تن تولید سالانه داشته است، بعد از هندوانه، خیار و سپس طالبی، کدو مسمایی و کدو در مرتبه های بعدی از نظر تولید جهانی قرار دارند. تولید خیار بطور متوسط ۴۵ تن در هکتار می باشد. کشور چین بزرگترین تولید کننده کدوئیان در جهان به شمار می رود. بعد از چین کشورهای ترکیه و سپس ایران در مرتبه های بعدی در تولید هندوانه و طالبی قرار دارند (راینسون و دکر- والتز، ۱۹۹۷).

۱-۲- اهمیت مطالعه ویروس های گیاهی در خانواده کدوئیان

بیماری های ویروسی کدوئیان یک مشکل جهانی است. نتایج یک بررسی در دانشگاه ایواایی نشان داد، که مهم ترین دلیل محدود کننده کشت کدوئیان، بیماری های ویروسی شته زاد می باشد که می تواند باعث افت محصول حتی تا صد درصد گردد (اولمن، ۱۹۹۱)^۳. تا سال ۱۹۹۶، ۳۵ ویروس مختلف از تیره کدوئیان جدا گردیده است (پروویدنتی، ۱۹۹۶)^۴ که از این بین ۹ ویروس بذرزاد می باشد (جدول ۱-۱). اساساً در جهان ویروس های تیره پوتی ویریده تأثیر بسیار مخربی در کشت کدوئیان دارند.

مهم ترین آن ها به ترتیب پراکنش و خسارت اقتصادی شامل ویروس موزاییک زرد کدو (*Zucchini yellow mosaic virus*)، ویروس موزاییک هندوانه (*Watermelon mosaic virus*، WMV) و ویروس لکه حلقوی خربزه درختی (*Papaya ringspot virus*، PRSV) می باشند،

¹ Colocynth

² FAO

³ Ullman

⁴ Provvidenti