بسم الله الرحمن الرحيم

دانشگاه تربیت مدرس
دانشکده کشاورزی

پایان نامه برای دریافت درجه کارشناسی ارشد
رشته: بیماری شناسی گیاهی

عنوان

تنوع ژنتیکی برخی جدایه‌های ایرانی *Macrophomina phaseolina*، عامل پوسیدگی ذغالی سویا

نگارنده
فرناز جلالی

استاد راهنما
دکتر ناصر صفایی

استاد مشاور
دکتر سعید عباسی

اردیبهشت ۱۳۸۸

تقدیم به:

پدر گرامیم و مادر عزیزم

که سرمایه امروزم را مدیون تلاش دیروز آنها می دانم

و تقدیم به:

هر آنکه به من آموخت

تقدیر و تشکر

حمد و سپاس بیکران پروردگار را سزد که به انسان قدرت تفکر و اندیشیدن عطا فرموده و به او اختیار داد تا راهش را برگزیند.

اکنون که در پرتو عنایات و الطاف الهی این پایان نامه به پایان رسیده است بر خود لازم می دانم کمال تشکر و سپاسگزاری خود را از تمام سرورانی که مرا در انجام این پژوهش یاری فرمودند، اعلام دارم.

این پژوهش نتیجه زحمات و روشنگریهای استاد راهنمای ارجمند جناب آقای دکتر ناصر صفایی و استاد مشاور گرانقدر جناب آقای دکتر سعید عباسی است که در طی این پژوهش با راهنماییهای ارزنده و صمیمانه خویش مرا در دستیابی به نتایج بهتر یاری فرموده و همواره با نظرات ارزشمند خویش مرا یاری داده اند. نهایت سپاسگزاری و قدردانی خود را به محضر این دو استاد گرانقدر ابراز می نمایم.

از اساتید ارجمند جناب آقای دکتر واهبه میناسیان و جناب آقای دکتر ابراهیم محمدی گل تپه که به عنوان اساتید محترم داور این پژوهش قبول زحمت فرمودند، قدردانی و تشکر می نمایم.

از استاد ارجمند و مدیر گروه محترم گروه بیماری شناسی گیاهی جناب آقای دکتر مسعود شمس بخش به خاطر مساعدت اینجانب در برگزاری جلسه دفاع به عنوان نماینده محترم تحصیلات تکمیلی و نیز تمامی مساعدت های دلسوزانه ایشان در طی ایام تحصیل نهایت سپاس را دارم.

از زحمات تمامی اساتید بزرگواری که در طی دوران تحصیل از دوره کارشناسی تا این مقطع مشوق و راهنمایم بوده و از محضر ایشان بهره فراوان برده ام قدردانی و تشکر نموده، توفیق روزافزون استادان گرانقدر و فاضل را از درگاه خداوند متعال خواهانم.

از کارشناسان محترم آزمایشگاه بیماری شناسی گیاهی آقایان مهندس وامقی و مهندس ساداتی کمال تشکر را دارم.

از دوستان، همکلاسی ها و هم آزمایشگاهی های عزیزی که از ایشان بسیار آموختم سپاسگزارم و موفقیت و بهروزی یکایک ایشان را از درگاه خداوند متعال خواستارم.

چکیده

بیماری پوسیدگی ذغالی سویا که به وسیله قارچ *Macrophomina phaseolina* ایجاد می‌شود، یکی از مخرب‌ترین بیماری‌های سویا در سطح جهان می‌باشد. در ایران نیز این بیماری در بسیاری از مناطق کشت سویا، خسارت قابل توجهی را به این محصول وارد می‌کند. به منظور بررسی تنوع ژنتیکی و بیماریزایی در جمعیت این بیمارگر، در سال ۱۳۸۵ مناطق کشت سویا در استان‌های گلستان، مازندران، اردبیل و لرستان مورد بازدید قرار گرفت. نمونه‌های دارای علائم پژمردگی و وجود خال‌های سیاه‌رنگ در طوقه و ساقه گیاهان جمع‌آوری، و در مجموع ۴۸ جدایه از بیمارگر جداسازی گردید. از این میان۲۴ جدایه به عنوان نماینده بر اساس پراکنش جغرافیایی انتخاب گردیدند. به منظور اثبات تعلق این جدایه‌ها به گونه *M. phaseolina* از آغازگرهای اختصاصی گونه استفاده گردید. این آغازگرها یک قطعه ۳۵۰ جفت بازی ویژه *M. phaseolina* را در جدایه‌های این قارچ تکثیر کردند که در سایر قارچ‌های مورد آزمایش مشاهده نگردید. در بررسی فنوتیپ کلرات در میان جدایه‌ها ۵ جدایه (۲۰٪) حساس به کلرات و ۱۹جدایه (۸۰٪) مقاوم به کلرات ارزیابی گردیدند. آزمون‌های بیماریزایی در شرایط گلخانه‌ای و درون شیشه‌ای، صورت گرفت. در هر دو آزمون تمامی جدایه‌های مورد بررسی روی رقم ویلیامز سویا بیماریزا بودند. نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که در سطح یک درصد اختلاف معنی‌داری در بیماریزایی (ویرولانس) جدایه‌ها وجود دارد و در هر دو مورد جدایه‌های حساس به کلرات کم آزارترین جدایه‌ها روی بذر و ساقه سویا رقم حساس ویلیامز بودند. بررسی تنوع ژنتیکی جدایه‌ها با استفاده از سه نشانگر مولکولی مختلف RAPD، ISSR و rep-PCR صورت گرفت. از مجموع ۱۵ آغازگر RAPD، هشت آغازگر و از

مجموع ۱۰ آغازگر ISSR، سه آغازگر که واجد چند شکلی و تکرار پذیری بیشتری بودند به همراه آغازگرهای ERIC1R ، ERIC2I ، BOX1A و REP2I انتخاب و برای تکثیر DNA جدایه‌ها به کار رفتند. تجزیه و تحلیل خوشه‌ای داده‌ها با استفاده از نرم افزار MVSP، روش UPGMA و ضریب تشابه جاکارد صورت گرفت. دندروگرام حاصل از مجموع آغازگرهای RAPD در سطح تشابه ۴۲ درصد جدایه‌ها را به سه گروه تفکیک کرد. بر این مبنا به استثنای جدایه مازندران، جدایه‌های مربوط به سایر استان‌ها از جدایه‌های استان گلستان تفکیک گردیدند. دندروگرام حاصل از مجموع آغازگرهای ISSR جدایه‌ها را در سطح تشابه ۵۸ درصد به سه گروه تقسیم نمود. به کمک این نشانگر به استثنای جدایه A-Mo از استان اردبیل، سایر جدایه‌های غیر استان گلستان از جدایه‌های استان گلستان تفکیک گردیدند. دندروگرام حاصل از مجموع آغازگرهای rep-PCR نیز جدایه‌ها را در سطح تشابه ۵۹ درصد به هفت گروه تقسیم نمود. گرچه این گروه‌ها به لحاظ جغرافیایی قابل توجیه نبودند. نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل ۲۰۵۳ باند الگوی باندی حاصل از تلفیق داده‌های سه نشانگر RAPD, rep-PCR و ISSR، بر اساس ضریب جاکارد در سطح تشابه ۴۷ درصد جدایه‌ها را به سه گروه تقسیم نمود. بر این مبنا به استثنای جدایه A-Mo از استان اردبیل، سایر جدایه‌های غیر استان گلستان از جدایه‌های استان گلستان تفکیک گردیدند که با نتایج حاصل از نشانگر ISSR مطابقت داشت. در میان لوکوس‌های مورد بررسی، تعداد لوکوس‌های پلی مورفیک به ازای هر آغازگرRAPD (۱۲لوکوس)، ISSR (۱۴ لوکوس)، rep-PCR (۱۲ لوکوس) مورد مقایسه قرار گرفت که نتیجه آن بیانگر مناسب‌تر بودن استفاده از نشانگر ISSR در مقایسه با RAPD و rep-PCR در تعیین تنوع ژنتیکی *M. phaseolina*، بود. این نخستین مطالعه از بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت‌های ایرانی *M. phaseolina*، عامل پوسیدگی ذغالی سویا با استفاده از سه نشانگر مولکولی مختلف می‌باشد.

واژه های کلیدی: *Macrophomina phaseolina*، سویا، RAPD، ISSR، rep-PCR.

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فصل اول: مقدمه

مقدمه ۱

فصل دوم: بررسی منابع

۲-۱ گیاه شناسی سویا ۴

۲-۲ آمار تولید جهانی سویا ۴

۲-۳ ارزش غذایی سویا ۵

۲-۴ بیماری پوسیدگی ذغالی سویا ۸

۲-۵ رده بندی شبه جنس *Macrophomina* ۱۲

۲-۶ منابع تنوع پذیری در قارچهای بیماریزای گیاهی ۱۴

۲-۷ دینامیک تنوع ۱۶

۲-۷-۱ انتخاب ۱۷

۲-۷-۲ مهاجرت و جریان ژن ۱۷

۲-۷-۳ موتاسیون ۱۸

۲-۷-۴ نوترکیبی ۱۹

۲-۸ نشانگرهای مولکولی مبتنی بر DNA ۲۰

۲-۸-۱ پلی مورفیسم قطعات تکثیر یافته DNA با آغازگرهای تصادفی ۲۲

۲-۸-۲ ریز ماهواره‌ها Microsatelites ۲۶

۲-۸-۳ نشانگر ISSR ۲۸

۲-۸-۴ نشانگر rep-PCR ۲۹

۲-۸-۵ نشانگر URP-PCR ۳۰

۲-۸-۶ آغازگرهای اختصاصی مبتنی بر ITS ۳۱

۲-۸-۷ چند شکلی قطعات برشی با طول محدود(RFLP) ۳۲

۲-۸-۸ پلی مورفیسم طول باند تکثیر شده(AFLP) ۳۳

۲-۹ سابقه بررسی تنوع ژنتیکی جدایه‌های ایرانی*Macrophomina phaseolina* در ایران ۳۵

فصل سوم: مواد و روش‌ها

۳-۱ جداسازی قارچ عامل بیماری ۳۶

۳-۲ خالص سازی و نگهداری بیمارگر ۳۶

۳-۳ شناسایی مورفولوژیکی بیمارگر ۳۷

۳-۴ تهیه توده میسلیومی ۳۷

۳-۵ استخراج DNA ۳۸

۳-۶ تعیین کمیت و کیفیت DNA ۳۹

عنوان **صفحه**

۳-۷ شناسایی مولکولی *M. phaseolina* ۴۰
۳-۸ بررسی فنوتیپ‌های کلرات ۴۱
۳-۹ آزمون های بیماریزایی ۴۱
۳-۹-۱ آزمون بیماریزایی در شرایط درون شیشه‌ای ۴۲
۳-۹-۲ آزمون بیماریزایی در شرایط گلخانه ۴۳
۳-۱۰ بررسی تنوع ژنتیکی جدایه‌ها ۴۴
۳-۱۰-۱ نشانگر RAPD ۴۴
۳-۱۰-۲ نشانگر ISSR ۴۶
۳-۱۰-۳ نشانگر rep-PCR ۴۷
۳-۱۰-۳-۱ نشانگر ERIC ۴۷
۳-۱۰-۳-۲ نشانگر BOX ۴۸
۳-۱۰-۳-۳ نشانگر REP ۴۸
۳-۱۱ تجزیه داده‌ها ۵۰
فصل چهارم: نتایج
۴-۱ جداسازی قارچ عامل بیماری ۵۱
۴-۲ شناسایی قارچ عامل بیماری ۵۴
۴-۳ شناسایی مولکولی گونه ۵۶
۴-۴ تعیین فنوتیپ مقاومت به کلرات ۵۸
۴-۵ آزمون‌های بیماریزایی ۵۹
۴-۵-۱ آزمون بیماریزایی در شرایط درون شیشه‌ای ۵۹
۴-۵-۲ آزمون بیماریزایی در شرایط گلخانه ۶۲
۴-۶ بررسی تنوع ژنتیکی جدایه‌ها ۶۴
۴-۶-۱ نشانگر RAPD ۶۴
۴-۶-۲ نشانگر ISSR ۷۹
۴-۶-۳ نشانگر rep-PCR ۸۶
۴-۶-۳-۱ نشانگر ERIC ۸۶
۴-۶-۳-۲ نشانگر BOX ۹۲
۴-۶-۳-۳ نشانگر REP ۹۴
فصل پنجم: بحث
۵-۱ بحث ۱۰۲
۵-۲ جمع بندی ۱۱۰
۵-۳ پیشنهادات ۱۱۱

عنوان **صفحه**

فهرست مراجع ۱۱۲

فهرست جداول

عنوان **صفحه**

جدول ۲-۱ مقایسه ارزش غذایی سویا با مهم‌ترین فرآورده های کشاورزی..... ۶
جدول ۳-۱ توالی آغازگرهایRAPD ، ISSR و rep-PCR..... ۵۰
جدول ۴-۱ مشخصات جدایه‌های *M. phaseolina* عامل پوسیدگی ذغالی سویا جمع‌آوری شده از چهار استان کشور..... ۵۲
جدول ۴-۲ مشخصات فنوتیپی جدایه‌های *M. phaseolina* جداسازی شده..... ۵۴
جدول۴ -۳ مشخصات فنوتیپی جدایه‌های*M. phaseolina* در آزمون مقاومت به کلرات..... ۵۸
جدول ۴-۴ تجزیه واریانس مربوط به آزمون بیماریزایی ۲۴ جدایه *Macrophomina phaseolina* در شرایط درون شیشه‌ای..... ۶۱
جدول ۴-۵ تجزیه واریانس مربوط به آزمون بیماریزایی ۲۴ جدایه *Macrophomina phaseolina* در شرایط گلخانه. ۶۳

فهرست نمودارها

عنوان **صفحه**

نمودار۴-۱ مقایسه میانگین داده‌های حاصل از آزمون بیماری‌زایی ۲۴ جدایه *Macrophomina phaseolina* بر روی بذور رقم ویلیامز سویا..... ۶۱

نمودار۴-۲ مقایسه میانگین داده‌های حاصل از تلقیح ۲۴ جدایه *Macrophomina phaseolina* در آزمون بیماری‌زایی بر روی رقم ویلیامز سویا..... ۶۳

فهرست شکل‌ها

عنوان **صفحه**

شکل ۲-۱منشاء تنوع ژنتیکی در جمعیت بیمارگران گیاهی..... ۱۶
شکل۳-۱ مقیاس شش‌گانه به کار رفته برای ارزیابی شدت بیماریزایی جدایه‌ها..... ۴۳
شکل ۴-۱ چند تصویر از مشخصات فنوتیپی جدایه های قارچی مورد بررسی..... ۵۶
شکل۴-۲ الگوی باندی حاصل از ۲۴ جدایه‌ی *M. phaseolina* با استفاده از آغازگرهای ITS..... ۵۷
شکل ۴-۳ مشخصات فنوتیپ‌های حاصل از رشد *M. phaseolina* بر روی محیط حاوی کلرات..... ۵۹
شکل ۴-۴ الف) بذرهای آلوده با جدایه‌های *M. phaseolina* در مقایسه با ب) بذرهای شاهد در آزمون بیماریزایی در شرایط درون شیشه‌ای..... ۶۰
شکل ۴-۵ الف)گیاه شاهد سویا در مقایسه با ب)گیاه آلوده سویا در آزمون بیماریزایی..... ۶۲
شکل۴-۶ الگوی باندی حاصل از ۲۴ جدایه *M. phaseolina* با استفاده از آغازگرOPA02..... ۶۴
شکل۴-۷ دندروگرام ترسیم شده بر اساس روش UPGMA برای ۲۴ جدایه منتخب *M. phaseolina* با استفاده از آغازگر OPA02..... ۶۵
شکل۴-۸ الگوی باندی حاصل از ۲۴ جدایه *M. phaseolina* با استفاده از آغازگرOPA04..... ۶۶
شکل۴-۹ دندروگرام ترسیم شده بر اساس روش UPGMA برای ۲۴ جدایه منتخب *M. phaseolina* با استفاده از آغازگر OPA04..... ۶۷
شکل۴-۱۰ الگوی باندی حاصل از ۲۴ جدایه *M. phaseolina* با استفاده از آغازگرOPA07..... ۶۸
شکل۴-۱۱ دندروگرام ترسیم شده بر اساس روش UPGMA برای ۲۴ جدایه منتخب *M. phaseolina* با استفاده از آغازگر OPA07..... ۶۸
شکل۴-۱۲ الگوی باندی حاصل از۲۴ جدایه *M. phaseolina* با استفاده از آغازگرOPA09..... ۶۹
شکل۴-۱۳ دندروگرام ترسیم شده بر اساس روش UPGMA برای ۲۴ جدایه منتخب *M. phaseolina* با استفاده از آغازگر OPA09 ..... ۷۰
شکل۴-۱۴ الگوی باندی حاصل از ۲۴ جدایه ی *M. phaseolina* با استفاده از آغازگرOPA16..... ۷۱
شکل۴-۱۵ دندروگرام ترسیم شده بر اساس روش UPGMA برای ۲۴ جدایه منتخب *M. phaseolina* با استفاده از آغازگر OPA16. ..... ۷۲
شکل۴-۱۶ الگوی باندی حاصل از ۲۴ جدایه‌ی *M. phaseolina* با استفاده از آغازگرOPC18..... ۷۳
شکل۴-۱۷ دندروگرام ترسیم شده بر اساس روش UPGMA برای ۲۴ جدایه منتخب *M. phaseolina* با استفاده از آغازگر OPC18..... ۷۴
شکل۴-۱۸ الگوی باندی حاصل از ۲۴ جدایه *M. phaseolina* با استفاده از آغازگرR28 ..... ۷۵
شکل۴-۱۹ دندروگرام ترسیم شده بر اساس روش UPGMA برای ۲۴ جدایه منتخب *M. phaseolina* با استفاده از آغازگر R28 ..... ۷۵
شکل۴-۲۰ الگوی باندی حاصل از ۲۴ جدایه *M. phaseolina* با استفاده از آغازگرRC09..... ۷۶
شکل۴-۲۱ دندروگرام ترسیم شده بر اساس روش UPGMA برای ۲۴ جدایه منتخب *M.* ۷۷

عنوان **صفحه**

phaseolina با استفاده از آغازگر RC09 . .....
شکل۴-۲۲ دندروگرام ترسیم شده بر اساس روش UPGMA برای ۲۴ جدایه منتخب *M. phaseolina* حاصل از تلفیق داده های الگوی باندی RAPD..... ۷۸
شکل۴-۲۳ الگوی باندی حاصل از ۲۴ جدایه منتخب *M. phaseolina* با استفاده از آغازگرISSR02 ۷۹
شکل۴-۲۴ دندروگرام ترسیم شده بر اساس روش UPGMA برای ۲۴ جدایه منتخب *M. phaseolina* با استفاده از آغازگر ISSR02..... ۸۰
شکل۴-۲۵ الگوی باندی حاصل از ۲۴ جدایه منتخب *M. phaseolina* با استفاده از آغازگرP4 ..... ۸۱
شکل ۴-۲۶ دندروگرام ترسیم شده بر اساس روش UPGMA برای ۲۴ جدایه منتخب *M. phaseolina*با استفاده از آغازگر P4..... ۸۲
شکل۴-۲۷ الگوی باندی حاصل از ۲۴ جدایه منتخب *M. phaseolina* با استفاده از آغازگرPCMS ۸۳
شکل۴-۲۸ دندروگرام ترسیم شده بر اساس روش UPGMA برای ۲۴ جدایه منتخب *M. phaseolina* با استفاده از آغازگر PCMS ۸۴
شکل۴-۲۹ دندروگرام ترسیم شده بر اساس روش UPGMA برای ۲۴ جدایه منتخب *M. phaseolina* با استفاده از تلفیق داده های حاصل از الگوهای باندی ISSR..... ۸۵
شکل۴-۳۰دندروگرام ترسیم شده بر اساس روش UPGMA برای ۲۴ جدایه منتخب *M. phaseolina*با استفاده از تلفیق داده های حاصل از الگوهای باندی ISSR و RAPD..... ۸۶
شکل۴-۳۱ الگوی باندی حاصل از ۲۴ جدایه منتخب *M. phaseolina* با استفاده از آغازگر ERIC1R ۸۷
شکل۴-۳۲ دندروگرام ترسیم شده بر اساس روش UPGMA برای ۲۴ جدایه منتخب *M. phaseolina* با استفاده از آغازگرERIC 1R..... ۸۸
شکل۴-۳۳ الگوی باندی حاصل از ۲۴ جدایه منتخب *M. phaseolina* با استفاده از آغازگرERIC2I ۸۹
شکل۴-۳۴ دندروگرام ترسیم شده بر اساس روش UPGMA برای ۲۴ جدایه منتخب *M. phaseolina* با استفاده از آغازگرERIC 2I ۹۰
شکل۴-۳۵ دندروگرام ترسیم شده بر اساس روش UPGMA برای ۲۴ جدایه منتخب *M. phaseolina* با استفاده از هر دو آغازگرERIC ۹۱
شکل۴-۳۶ الگوی باندی حاصل از ۲۴ جدایه منتخب *M. phaseolina* با استفاده از آغازگرB0X1A ۹۳
شکل۴-۳۷ دندروگرام ترسیم شده بر اساس روش UPGMA برای ۲۴ جدایه منتخب *M. phaseolina* با استفاده از آغازگرBOX1A..... ۹۳
شکل۴-۳۸ الگوی باندی حاصل از ۲۴ جدایه منتخب *M. phaseolina* با استفاده از آغازگرREP2I..... ۹۵
شکل۴-۳۹ دندروگرام ترسیم شده بر اساس روش UPGMA برای ۲۴ جدایه منتخب *M. phaseolina* با استفاده از آغازگر REP2I..... ۹۵
شکل۴-۴۰ دندروگرام ترسیم شده بر اساس روش UPGMA برای ۲۴ جدایه منتخب *M. phaseolina* با استفاده از مجموع آغازگرهای rep-PCR..... ۹۷

عنوان **صفحه**

شکل۴-۴۱ دندروگرام ترسیم شده بر اساس روش UPGMA برای ۲۴ جدایه منتخب *M. phaseolina* با استفاده از مجموع آغازگرهای rep-PCR و RAPD ۹۸

شکل۴-۴۲ دندروگرام ترسیم شده بر اساس روش UPGMA برای ۲۴ جدایه منتخب *M. phaseolina* با استفاده از مجموع آغازگرهای rep-PCR و ISSR..... ۹۹

شکل۴-۴۳ دندروگرام ترسیم شده بر اساس روش UPGMA برای 24 جدایه منتخب *M. phaseolina* با استفاده از تلفیق داده های حاصل از دو نشانگر ERIC و ISSR..... ۱۰۰

شکل ۴-۴۴ دندروگرام ترسیم شده بر اساس روش UPGMA برای ۲۴ جدایه منتخب *M. phaseolina* با استفاده از تلفیق داده‌های حاصل از سه نشانگر rep-PCR, RAPD و ISSR..... ۱۰۱

فصل ۱

مقدمه

کشت دانه‌ی روغنی سویا در ایران، بیش از هفتاد سال سابقه دارد. در سال ۱۳۱۷ مقداری بذر سویای خوراکی برای گیلان و مقداری بذر سویای علوفه‌ای برای کرج وارد گردید، ولی کشت آن توفیقی نداشت. در سال ۱۳۴۱ گروه صنعتی بهشهر مقداری بذر سویا از ژاپن وارد کرد و با زارعان قرارداد بست. از آن زمان همواره کشت و تولید سویا در ایران مورد توجه بوده و رو به گسترش می باشد (سعادت لاجوردی، ۱۳۵۹).

روغن سویا که از دانه‌های آن استحصال می‌گردد، یکی از روغن‌های عمده گیاهی است که در تغذیه انسان مورد استفاده قرار می‌گیرد. روغن مذبور به مقدار زیادی حاوی اسیدهای چرب لینولئیک و اولئیک می‌باشد که در فیزیولوژی تغذیه از اهمیت زیادی برخوردارند. در روغن سویا، میزان اسید چرب لینولئیک در مقایسه با دیگر اسیدهای چرب بیشتر است. در انسان، این اسید چرب در سنتز هورمونی به نام پروستاگلاندین(prostaglandine)که بر روی عضلات صاف قلب تاثیر مثبت دارد، نقش مهمی را ایفا می-کند. روغن سویا غیر از مصارف آشپزخانه در صنایع رنگ، صابون، لاک، شمع، چسب، مرکب چاپ، کف پوش و غیره مورد استعمال فراوانی دارد. دانه سویا علاوه بر روغن، یک منبع پروتئین گیاهی محسوب می‌شود. پس از روغن‌کشی از دانه سویا، مقدار زیادی پروتئین در کنجاله آن باقی می‌ماند که از لحاظ مصارف غذایی حائز اهمیت زیادی است. پروتئین دانه سویا از لحاظ کمی و کیفی بر پروتئین حبوبات برتری داشته و به ویژه اسیدهای آمینه پروتئین سویا نظیر لایسین(lysine)، والین (valine)، فنیل

آلانین(phenylalanine)، لوسین(leucine) و آرژینین(argentine) در سطح بالایی قرار دارند (آلیاری، ۱۳۷۹). دانه‌های سویا علاوه بر این غنی از کلسیم، آهن، ویتامین‌های A، B و B_2 می‌باشند که در غذای انسان ارزش زیادی دارند (Wiess, 199).

متأسفانه علی‌رغم استعداد قابل توجهی که در زمینه تولید دانه‌های روغنی از جمله سویا در کشور وجود دارد، هنوز بخش قابل توجهی از مصرف روغن در کشور از طریق واردات تأمین می‌شود. گزارشات مرکز آمار جهانی حاکی است در سال ۲۰۰۵ میلادی، ایران دهمین وارد کننده دانه‌های روغنی در جهان بوده، در این سال حدود ۱/۱۵ میلیون تن روغن گیاهی توسط ایران وارد شده است (افشار، ۱۳۸۵). بدون شک، نیل به خودکفایی کامل در زمینه تولید روغن و تأمین نیاز رو به تزاید کشور که پیامد طبیعی افزایش جمعیت می‌باشد، تلاشی مضاعف را می‌طلبد تا ضمن حمایت از تولید داخلی، سطح زیر کشت دانه‌های روغنی در مناطق مستعد افزایش یافته و عملکرد در واحد سطح، بهبود یابد.

بدون شک در راه دست‌یابی به عملکرد بالاتر محصول، عوامل متعددی از جمله تأمین به موقع نهاده‌های کشاورزی، استفاده از روش‌های نوین زراعی، افزایش ضریب مکانیزاسیون و معرفی ارقام پرمحصول و مناسب برای مناطق مختلف دخالت دارند. در این راستا کنترل عوامل بیماریزای گیاهی نیز از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. بیماری‌های گیاهی همواره به عنوان یکی از عوامل مهم در کاهش بازدهی محصولات کشاورزی مطرح بوده و به استناد آمار سالیانه حدود ۱۴ درصد از محصولات کشاورزی در اثر خسارت ناشی از بیماری‌های گیاهی از بین می‌روند(Agrios, 2005). لذا کنترل این عوامل مخرب گامی در راستای افزایش عملکرد می‌باشد.

پوسیدگی ذغالی یکی از مخرب‌ترین بیماری‌های سویا می‌باشد که در مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری با آب و هوای نیمه‌خشک، خسارت قابل توجهی را به این محصول وارد می‌سازد. قارچ عامل بیماری- *Macrophomina phaseolina*- قارچی پلی‌فاژ می‌باشد که بیش از ۵۰۰ گونه گیاهی متعلق به

۱۰۰ خانواده اعم از تک لپـه و دو لپـه را آلـوده مـی‌کنـد (Dhingra and Sinclair, 1977; Sinclair and Backman, 1989). در شرایط مساعد این قارچ سبب بیماری‌های بسیاری از جمله مرگ گیاهچـه، بلایـت گیاهچه، پوسیدگی طوقه، پوسیدگی ساقه، پوسیدگی ذغالی و پوسیدگی ریشه در بـسیاری از محـصولات مهم و اقتصادی می‌گردد(Babu *et al*., 2007).

در ایران این بیمارگر از استان‌های آذربایجان شرقی و غربی، اردبیـل، گـیلان، مازنـدران، گلـستان، خوزستان، یزد، لرستان، خراسان، شیراز، اصفهان، و مرکزی توسط محققان ایرانی جداسـازی شـده اسـت (ارشاد، ۱۳۷۴).

قارچ عامل بیماری خاک‌زاد و بذرزاد می‌باشد(Ndiaye, 2007)؛ گسترده بودن دامنه میزبانی، انتـشار وسیع جغرافیایی و قدرت بقای زیاد از یک سو و پیچیدگی محیط خـاک کـه موجـب ناکارآمـدی کنتـرل شیمیایی می‌شود، مدیریت و مهار این بیماری را بغرنج ساخته است. از این رو، همانند سایر بیمـاری‌هـای خاکزاد، استفاده از ارقام مقاوم در تلفیق با روش‌های زراعی، مناسب‌ترین، اقتصادی‌ترین و عملـی‌تـرین راه کنترل این بیماری می‌باشد. در این راستا، بدیهی است به منظور تـدوین و اجـرای برنامـه‌هـای بهنـژادی، شناخت ساختار جمعیت عامل بیماریزا و دقت و سهولت ارزیابی مقاومت از اهمیت ویژه‌ای برخوردارند. در واقع، یکی از دلایل عمده عدم توفیق در مدیریت بیماری‌های گیاهی ناشـی از شـناخت انـدک از سـاختار ژنتیکی جمعیت‌های بیمارگر می‌باشد(Martin and English ,1997).

از این رو پژوهشی که در پیش‌رو دارید با اهداف زیر به اجرا درآمد:

- مطالعه تنوع بیماریزایی جمعیت *M. phaseolina* عامل پوسیدگی ذغالی سویا
- بررسی تنوع ژنتیکی این بیمارگر با استفاده از نشانگرهای مولکولی
- بررسی رابطه بین تنوع بیماریزایی و تنوع ژنتیکی در این بیمارگر

فصل۲

بررسی منابع

۲-۱ گیاه‌شناسی سویا

از لحاظ پیشینه سویا یکی از قدیمی‌ترین گیاهان اهلی می‌باشد که در حدود ۲۸۰۰ سال پیش از میلاد در چین شناخته شده بود و جزء پنج دانه مقدس(جو، برنج، گندم، ارزن و سویا) به شمار می‌آمد(آلیاری، ۱۳۷۹). در مورد خاستگاه سویا نظریه‌های متعددی وجود دارد. عده‌ای مرکز اولیه و ثانویه ژنی سویا را به ترتیب نیمه شرقی شمال چین و منچوری می‌دانند و عده‌ای معتقدند که جنس *Glycine* دارای دو مرکز ژنی، یکی در شرق آفریقا و دیگری در منطقه استرالیا و یک مرکز فرعی در چین می‌باشد. گیاه‌شناسان روسی معتقدند که سویای اهلی حاصل قرن‌ها اصلاح نژاد و انتخاب از یک شکل اجدادی شبیه سویای وحشی می‌باشد (Wiess, 199).

سویای زراعی با نام علمی*Glycine max* (L.) Merril گیاهی یک‌ساله، دو لپه، خود گشن، روز کوتاه، متعلق به خانواده Fabaceae، زیر خانواده *Papilionoidae*، قبیله *Phassoleae*، زیر قبیله *Glycinae* و جنس *Glycine* می‌باشد (Wiess, 199).

۲-۲ آمار تولید جهانی سویا

تولید جهانی سویا از ۱۹۹۹ تا ۲۰۰۲ افزایش چشمگیری داشته و از ۱۵۷ میلیون تن در هکتار به ۱۸۰ میلیون تن در هکتار رسیده است. از میان کشورهای عمده تولید کننده سویا در سال ۲۰۰۲، ایالات

متحده با ۴۱ درصد سطح زیر کشت جهانی، در مقام اول بوده و پس از آن کشورهای برزیل، آرژانتین، چین و هند به ترتیب با ۱۸، ۱۱، ۱۰ و ۹ درصد سطح زیر کشت جهانی، در رتبه‌های بعدی جای می‌گیرند. با استناد بر آمار منتشر شده توسط FAO در سال ۲۰۰۲، سهم ایران از تولید جهانی سویا معادل با ۱۱۱۳/۹ هزار تن بوده است.

در سال زراعی ۷۷-۱۳۷۶ میزان تولید سویا در ایران حدود ۷۹۹/۱۲۸ هزار تن بوده است. بررسی میزان تولید سالانه در سال‌های ۶۸ تا ۷۷ نشان می‌دهد که روند افزایش تولید، متناسب با گسترش سطح کشت بوده و در سال ۷۷، حدود ۸۳ درصد نسبت به سال ۶۸ افزایش تولید مشاهده می‌شود. در همین سال زراعی از کل تولید سویای کشور، ۵۱ درصد در استان گلستان، ۳۷/۵درصد در استان مازندران، ۲/۵ درصد در استان لرستان و ۸/۴ درصد در استان‌های اردبیل، آذربایجان غربی، خراسان، کرمانشاه و خوزستان تولید شده است (بی نام، ۱۳۷۹).

۲-۳ ارزش غذایی سویا

دانه سویا حاوی پروتئین، روغن، هیدرات کربن و عناصر معدنی می‌باشد. پروتئین و روغن که قسمت اعظم ارزش تجاری سویا را شامل می‌شود، حدود ۶۰ درصد دانه را تشکیل می‌دهند که به طور عمده در لپه‌ها قرار دارند. مقدار پروتئین و روغن دانه به دلیل تغییرات آب و هوایی و اختلاف ژنتیکی به ترتیب بین ۳۰ الی ۴۰ و ۱۲ الی ۲۴ درصد متغیر است. (لطیفی، ۱۳۷۲). همچنین دانه‌ها از نظر مواد غذایی غنی از کلسیم، آهن، ویتامین‌های A، B و B_2 می‌باشند که در غذای انسان ارزش زیادی دارند (Wiess, 199). اهمیت جهانی سویا به ویژه از دیدگاه درصد پروتئین از جدول زیر قابل استنباط می باشد:

جدول ۲-۱ مقایسه ارزش غذایی سویا با مهم‌ترین فرآورده های کشاورزی

فرآورده ها	درصد لیسیتین	درصد هیدرات های کربن	درصد روغن	درصد پروتئین
سویا	۱	۲۰	۱۸	۳۶
لوبیا-عدس	ناچیز	۴۴	۱-۲	۲۳
گوشت گاو با چربی	۱	-	۷	۲۰
تخم مرغ	۳	-	۱۲	۱۲/۵
شیر گاو	۰/۷	۴/۹	۳/۵	۳/۷

اگر ارزش غذایی شیر برابر ۱۰۰ فرض شود، ارزش غذایی گوشت برابر ۷۷ و ارزش غذایی سویا برابر ۷۱ خواهد بود. بنابراین سویا از لحاظ ارزش در جیره غذایی متداول انسان در مقام سوم قرار دارد. سویا با توجه به درصد بالای پروتئین در بین گیاهان تولید کننده پروتئین، نظیر انواع حبوبات ارزش غذایی بیشتری داشته و از این حیث ارزش آن همانند گوشت می باشد(آلیاری، ۱۳۷۹).

کنجاله سویا حاوی ویتامین‌های A، B و B_2 بوده و از آرد آن در تولید شیرینی جات، ماکارونی، نان، و فرآورده های لبنی استفاده می شود. با افزودن آرد سویا به نان هایی که از آرد ذرت، سیب زمینی شیرین و غیره(که ارزش غذایی کمتری دارند) حاصل می شوند، می‌توان ارزش غذایی نان حاصله را افزایش داد. برای مثال در کشور برزیل بر اساس قانون، افزودن پنج درصد آرد سویا به آرد مورد طبخ اجباری است. از آن جایی که در آرد سویا نسبت به آرد گندم هیدرات های کربن به شکل نشاسته کمتر است، بنابراین این آرد برای بیماران دیابتی مطلوب تر خواهد بود. همچنین آرد سویا در تولید انواع بیسکویت ها مورد استفاده قرار می گیرد. آرد سویا در تهیه شیر خشک و شیر سویا نیز مورد بهره برداری

قرار گرفته و از شیر سویا می توان فرآورده هایی نظیر کره، ماست، خامه، پنیر، مایونز، دوغ، سرشیر و غیره تولید نمود. شیر سویا از لحاظ ترکیبات همانند شیر گاو می باشد و پنیر سویا نیز توسط اضافه نمودن مایه پنیر به شیر سویا حاصل می گردد.

از کنجاله سویا به مقدار زیادی در مرغداری ها و پروار بندی احشام استفاده می شود. کنجاله مذبور به دلیل لیستین بالا، در رشد حیوانات جوان و جوجه ها اهمیت ویژه ای دارد. جوانه های سویا بـه عنـوان سبزی خوردنی و دانه های تازه سویا در پخت و تهیه کنسرو مورد استفاده قرار می گیرند.

کنجاله سویا بیش از ۷۰ درصد پروتئین دارد که در صـنایع تولیـد پـروتئین، مـواد زائـد آن نظیـر هیدرات های کربن، پوسته، روغن و غیره حذف شده و سرانجام پروتئین جدا شده سـویا (بـا بـیش از ۹۵ درصد پروتئین) حاصل می گردد. امروزه در کشورهای اروپایی، آسیایی و آمریکایی از پروتئین جـدا شـده سویا، گوشت سویا، سوسیس و کالباس سویا تهیه می گردد. پروتئین جدا شده سویا در دستگاه به رشـته های باریکی همانند فیبرهای گوشت طبیعی تبدیل شده که در مراحل بعد با اضافه نمودن رنـگ، طعـم و مواد چسباننده، محصولی به نام T.V.P(پـروتئین گیـاهی، Textured Vegetable Protein) حاصـل مـی گردد که در اشکال گوشت، سوسیس و کالباس به بازار عرضه مـی شـود. همچنـین از بـذرهای بـو داده و آسیاب شده سویا ماده اولیه قهوه سویا حاصل می شود.

بوته سویا به عنوان علوفه تر و خشک استفاده تعلیفی دارد. علوفه تر سویا همراه با علوفـه تـر ذرت بهترین علوفه سیلویی را برای احتشام تشکیل می‌دهد. ارزش غذایی علوفه خشک سویا برابر ارزش غذایی علوفه خشک یونجه و شبدر می‌باشد(آلیاری، ۱۳۷۹).