جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مجله دانش گیاه‌پزشکی ایران
دوره ۴۱، شماره ۲، ۱۳۸۹ (۲۵۹-۲۵۱)

پراکنش سه ویروس مهم شته بُرد کلزا در استان گلستان

آتنا زاهدی طبرستانی[۱]، مسعود شمس بخش[۲]* و ناصر صفایی[۳]
۱، ۲، ۳، دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و دانشیاران دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس، تهران
(تاریخ دریافت: ۸۹/۵/۱۶ - تاریخ تصویب: ۸۹/۱۲/۴)

چکیده

ویروس‌های موزائیک شلغم (TuMV)، موزائیک کلم گل (CaMV) و زردی غربی چغندرقند (BWYV) مهم‌ترین ویروس‌های کلزا در دنیا به شمار می‌آیند، به منظور بررسی پراکنش ویروس‌های یاد شده در استان گلستان طی دو سال زراعی ۱۳۸۷و ۱۳۸۸ از مزارع واقع در سه ناحیه مهم کشت کلزای این استان نمونه‌برداری تصادفی انجام شد. نمونه‌های جمع‌آوری شده با استفاده از آزمون سرولوژیکی الایزا مستقیم (DAS-ELISA) مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج این تحقیق نشان داد که در سال زراعی ۱۳۸۷، ۴/۵٪ نمونه‌ها به TuMV، ۲/۵٪ نمونه‌ها به CaMV و ۶٪ از نمونه‌ها به BWYV و در سال زراعی ۱۳۸۸، ۸/۳۳٪ نمونه‌ها به TuMV، ۱/۶۶٪ نمونه‌ها به CaMV و ۶/۳۳٪ از نمونه‌ها به BWYV آلوده بودند. بررسی آماری این داده‌ها نشان داد که فاکتور نوع ویروس برای سال زراعی ۱۳۸۷ و فاکتور ناحیه در سال زراعی ۱۳۸۸ معنی‌دار بودند. به علاوه، آلودگی نمونه‌ها به BWYV با استفاده از روش RT-PCR نیز تأیید گردید. این اولین گزارش از وقوع آلودگی مزارع کلزای استان گلستان به BWYV، TuMV و CaMV می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: ***Brassica napus*, BWYV, CaMV, TuMV.**

مقدمه

کلزا (*Brassica napus* L.) در میان نباتات روغنی از جایگاه ویژه‌ای برخوردار است و توسعه کشت آن در ایران می‌تواند تا حد بسیار زیادی روغن مورد نیاز کشور را تامین سازد. کلزا با تأمین ۱۴٪ روغن مورد نیاز جهان پس از سویا در مقام دوم قرار دارد (FAO, 1999). در ایران، استان گلستان با در اختیار داشتن ۲۶/۲ درصد بیشترین سطح برداشت را دارد (آمارنامه کشاورزی، ۱۳۸۸). بیماری‌های ویروسی کلزا در کاهش کیفیت و کمیت محصول اهمیت ویژه‌ای دارند و چندین ویروس مختلف می‌توانند گیاه کلزا را آلوده سازند که از این میان سه ویروس شته بُرد موزائیک شلغم، موزائیک کلم گل و زردی شلغم از مهم‌ترین و اقتصادی‌ترین این ویروس‌ها به شمار می‌آیند (Lathan *et al.*, 2003).

ویروس موزائیک شلغم (Turnip mosaic virus, TuMV) متعلق به جنس *Potyvirus* و خانواده *Potyviridae* از ویروس‌های آلوده‌کننده محصولات تیره چلیپائیان به شمار می‌رود (Walsh & Jenner, 2002). حداقل ۸۹ گونه شته از جمله شته سبز هلو (*Myzus persicae*) و شته مومی کلم (*Brevicoryne brassica*) به صورت ناپایا (Non-persistent) این ویروس را منتقل می‌کنند (Fereras & Moreno, 2009; Hollings & Brunt, 1981). علائم آلودگی به این ویروس در گیاه کلزا شامل توقف رشد، عدم تشکیل گل و یا تولید

* نویسنده مسئول: مسعود شمس‌بخش تلفن: ۰۹۱۲-۳۲۰۱۸۹۲ E-mail: shamsbakhsh@modares.ac.ir

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

غلاف‌های پژمرده و چروکیده می‌باشد که در مواردی می‌تواند منجر به نابودی کامل محصول گردد (Stavlone *et al.*, 1998). در ایران نخستین بار این ویروس از استان فارس گزارش شد (Izadpanah, 1982). سپس از گیاه شب‌بو از اصفهان گزارش شد (Bahar *et al.*, 1985). همچنین آلودگی ویروس موزائیک شلغم در گیاه کلزا از استان‌های فارس، مازندران و تهران گزارش شده است (Shahraeen *et al.*, 2003).

ویروس موزائیک کلم گل (Cauliflower mosaic virus, CaMV) متعلق به جنس *Caulimovirus* و خانواده *Caulimoviridae* یکی از عوامل خسارت زا به محصولات خانواده *Brassicasae* می‌باشد؛ این ویروس نیز توسط تعدادی از گونه‌های شته از جمله شته سبز هلو (*M. persicae*) به روش ناپایا منتقل می‌شود (Hollings & Brunt, 1981). گیاهان آلوده از رشد کمی برخوردارند و میزان گلدهی و تولید بذر در آنها به طور قابل توجهی کاهش می‌یابد. کاهش میزان محصول به ویژه در ارقام مختلف کلم گل بین ۲۰ تا ۵۰ درصد گزارش شده است (Sutic *et al.*, 1999; Shepherd, 1981). در گیاهان آلوده به CaMV، دامنه متفاوتی از علائم مانند سبز زردی (chlorosis)، موزائیک (mosaic)، رگبرگ روشنی (vein clearing)، بدشکلی برگ (leaf deformation) و بازماندن از رشد (stunting) ایجاد می‌گردد (Shepherd, 1981). اولین بار ویروس CaMV در ایران از مزارع کلم گل در استان اصفهان گزارش شد (بهار و همکاران، ۱۳۶۵). پس از آن این ویروس از مزارع کلزا استان‌های فارس، مازندران و تهران گزارش شده است (Shahraeen *et al.*, 2003).

ویروس زردی غربی چغندرقند (Beet western yellows virus, BWYV) متعلق به جنس *Polerovirus* و خانواده *Luteoviridae* با دامنه میزبانی وسیع می‌باشد. ویروس زردی غربی چغندرقند توسط دامنه وسیعی از شته‌ها منتقل می‌شود اما شته سبز هلو (*Myzus persicae*) ناقل کارای این ویروس بوده که ویروس را به روش پایا و غیر تکثیری منتقل می‌کند (Stevens *et al.*, 2008). گیاهان آلوده شده توسط این ویروس دامنه وسیعی از علائم را تولید می‌کنند، قرمز و بنفش شدن حاشیه برگ‌ها، شکنندگی و سخت شدن برگ‌های آلوده، کوتولگی از علائم آلودگی به این ویروس است (Stevens *et al.*, 2008). در ایران این ویروس از مزارع کلزای استان‌های زنجان، فارس، مازندران، تهران و هرمزگان گزارش شده است (Shahraeen *et al.*, 2003). بررسی مزارع کلزا ایالت استرالیای جنوب غربی، آلودگی ۰/۰۴٪ در سال ۲۰۰۱ و ۰/۰۸٪ در سال ۲۰۰۲ برای ویروس BWYV را نشان داده است (Coutts, 2006).

بررسی آلودگی‌های ویروسی مزارع کلزای استان‌های زنجان، مازندران، تهران، فارس و هرمزگان نشان داده است که از ۵۸۱ نمونه دارای علایم آلودگی ویروسی جمع‌آوری شده در این استان‌ها ۱۴/۴۵٪ به BWYV، ۱۲/۹٪ به CaMV و ۹/۳٪ به TuMV آلوده بوده‌اند (Shahraeen et al., 2003). پراکنش ویروس‌های کلزا در استان آذربایجان غربی نشان داد که ۶۰٪ نمونه‌ها به ویروس موزائیک کلم گل آلوده بودند (Sahandi *et al.*, 2004). بررسی وضعیت آلودگی نمونه‌های جمع‌آوری شده از مزارع کلزای استان فارس با استفاده از آزمون الایزا نشان داد که ۷۰٪ از نمونه‌ها دارای آلودگی توأم به BWYV و CaMV و ۱۰٪ نمونه‌ها به TuMV آلوده بودند (Kamran *et al.*, 2004). میزان آلودگی اعلام شده در پژوهش‌های یاد شده بر اساس نمونه‌برداری از نمونه‌های دارای علائم می‌باشد و نشان دهنده پراکنش ویروس‌ها در مناطق مورد مطالعه نمی‌باشد، با توجه به افزایش سریع سطح زیر کشت کلزا در استان گلستان و اهمیت بیماری های ویروسی به دلیل آب و هوای مساعد برای شیوع حشرات ناقل این ویروس‌ها (Sadeghi, 2003)، هدف از انجام این پژوهش مطالعه پراکنش دقیق ویروس‌های مهم شته بُرد مزارع کلزا در استان گلستان می‌باشد.

مواد و روش‌ها

روش نمونه‌برداری

طی بازدید از مزارع کلزای استان گلستان به عنوان مهم‌ترین استان تولیدکننده کلزای کشور در فصل‌های زراعی سال‌های (۱۳۸۷ و ۱۳۸۸) در مجموع ۶۰۰ نمونه

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

به صورت تصادفی از سه منطقه غربی، شرقی و جنوبی استان گلستان (شکل ۱) که دارای شرایط اقلیمی متفاوتی هستند، جمع‌آوری شد، بدین صورت که در هر منطقه مورد بررسی ده مزرعه انتخاب و از هر مزرعه ده نمونه برداشت گردید. به منظور جمع‌آوری نمونه‌ها پس از ورود به داخل مزرعه، به صورت زیگزاکی حرکت و به فاصله هر چهار متر یک نمونه برداشت شد، از جمع‌آوری نمونه‌ها در اطراف مزارع و جوی‌های آب به دلیل حضور بیشتر ناقلان و علف‌های هرز خودداری به عمل آمد. از هر نمونه شامل برگ‌های انتهایی، میانی و پائینی بوته در کیسه های نایلونی به طور جداگانه جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل شد. همه بوته‌های نمونه‌برداری شده در اوایل مرحله گلدهی بوده و در طول نمونه‌برداری محل جمع‌آوری و وجود هرگونه علائم غیرعادی ثبت گردید.

شکل ۱- نقشه نواحی مختلف کشت کلزا در استان گلستان

آزمون سرولوژیکی

تشخیص آلودگی نمونه‌های جمع‌آوری شده به ویروس‌های موزائیک کلم گل، زردی غربی چغندرقند و موزائیک شلغم به روش ساندویچ دوطرفه الیزا (Double Antibody Sandwich DAS-ELISA) مطابق روش توصیفی (Clarck & Adams, 1977) با استفاده از رقت ۱:۲۰۰ آنتی‌بادی‌های اختصاصی تهیه شده از شرکت DSMZ (برانشوایک-آلمان) انجام گرفت. در هر بشقابک سه چاهک به عنوان شاهد منفی با عصاره گیاه سالم، یک چاهک به عنوان شاهد مثبت با عصاره گیاه آلوده و یک چاهک با بافر عصاره‌گیری (Blank) پر شد. به منظور تکرار آزمایش، عصاره هر نمونه به طور تصادفی در دو چاهک ریخته شد. میزان تغییر رنگ ایجاد شده در ماده زمینه نیتروفنیل فسفات (Merck) در طول موج ۴۰۵ نانومتر به وسیله دستگاه الایزا خوان (ELISA-reader) مدل Anthos 2020 (ساخت ایتالیا) هر پانزده دقیقه مورد ارزیابی قرار گرفت. آزمایش برای همه‌ی نمونه‌ها ۲ تا ۴ بار تکرار شد.

استخراج RNA کل

از گیاهان آلوده به ویروس زردی غربی چغندرقند با استفاده از روش توصیف شده (de Miranda *et al.*, 1995) انجام شد. به این منظور ۰/۵ گرم بافت برگ تازه یا نگهداری شده در ۷۰- درجه سلسیوس با کمک ازت مایع کاملاً به صورت پودر در آمد و به میکروتیوب ۲

میلی لیتری منتقل شد و به آن ۱ میلی‌لیتر بافر استخراج (شامل استات سدیم ۰/۱ مولار، اسید آسکوربیک ۰/۱ مولار pH:۵/۵ و سلولاز ۱/۵٪) اضافه گردید و به خوبی با بافر مخلوط شد. سپس به میزان یک سوم مخلوط آماده شده کلروفرم و بوتانول به نسبت مساوی اضافه و به مدت پنج دقیقه با استفاده از ورتکس مخلوط شد. سپس به مدت ۱۰ دقیقه در ۶۰۰۰ دور در دقیقه و در دمای ۴ درجه سلسیوس میانگریز شد. سپس فاز رویی به میکروتیوب جدیدی منتقل شده و ۸٪ و ۱٪ از حجم به ترتیب PEG 6000 و کلرید سدیم به مخلوط اضافه شد و سپس به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه و دمای ۴ درجه سلسیوس میانگریز شد. بر روی رسوب به دست آمده ۴۰۰ میکرولیتر بافر (شامل تریس HCl ۰/۱ مولار، ۱۰ میلی‌مولارEDTA، ۲٪ SDS و ۵۰ میلی مولار کلرید سدیم) اضافه شد. سپس به مخلوط فوق به میزان مساوی ۲۰۰ میکرولیتر فنل و کلروفرم اضافه شد و به مدت ۱۰ دقیقه میانگریز انجام شد. پس از آن RNA کل توسط اتانول و استات سدیم ۳ مولار رسوب داده شد و رسوب به دست آمده با اتانول ۷۰٪ شستشو شد. در نهایت رسوب در ۲۰ میکرولیتر آب تیمار شده با DEPC (شرکت سیناژن، ایران) حل شد، محلول حاصل تا زمان استفاده در دمای ۷۰- درجه سلسیوس نگهداری شد.

واکنش نسخه برداری معکوس و تهیه cDNA

برای ردیابی RNA ویروسی، آغازگر رفت (Forward) 5´-ATGAATACGGTCGTGGGTAG-3´ و توالی آغازگر برگشت (Riverse) 5´-CCAGCTATCGATGAAGAACCATTG-3 بر اساس توالی جدایه BWYV-fl1 موجود در NCBI (Accession No: BWYV-fl1 X13063) از ناحیه توالی حفاظت شده ژن رمزکننده پروتئین پوششی با استفاده از برنامهprimer3 طراحی و توسط شرکت سیناژن (ایران) ساخته شدند. واکنش در حجم ۴/۵ میکرولیتر شامل ۱۵ میکروگرم RNA و ۲۰ پیکومول آغازگر معکوس در دمای ۹۴ درجه سلسیوس به مدت ۵ دقیقه آغاز و سپس با اضافه کردن ۱۰mM دزوکسی نوکلئوتید تری‌فسفات (dNTPs)، آنزیم بازدارنده ریبونوکلئاز، M-MuLV RT و آب تیمار شده با DEPC حجم نهایی به ۱۰ میکرولیتر رسانده شد و به۶۰ دقیقه در ۴۲ درجه سلسیوس در دستگاه ترموسایکلر (اپندورف، آلمان) قرار گرفت.

واکنش‌های زنجیره‌ای پلیمراز (PCR)

واکنش در حجم ۲۰ میکرولیتر شامل ۲/۵ میکرولیتر از محصول RT، ۱۰ پیکومول از هر آغازگر، ۲ میلی‌مولار کلرید منیزیم ($MgCl_2$)، ۲ میکرولیتر بافر واکنش ۱۰x (500 mM KCl, Tris-HCl (اسیدیته ۸/۴))، ۱/۵ میلی‌مولار (dNTPs)، و ۱/۲۵ واحد آنزیم پلی‌مراز (*Taq* Polymerase) (سیناژن، ایران) و در دستگاه ترموسایکلر اپندورف (Eppendorf gradient, Germany) انجام شد.

واسرشته‌سازی اولیه در دمای ۹۵ درجه سلسیوس به مدت دو دقیقه صورت گرفت. سپس ۳۳ چرخه شامل واسرشته‌سازی در دمای ۹۵ درجه سلسیوس، به مدت ۳۰ ثانیه؛ اتصال آغازگرها به رشته الگو در دمای ۶۱ درجه‌ی سلسیوس، به مدت ۳۰ ثانیه؛ گسترش رشته جدید در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۷۰ ثانیه انجام شده و در پایان گسترش نهایی در دمای ۷۲ درجه‌ی سلسیوس به مدت پنج دقیقه انجام شد.

روش‌های آماری

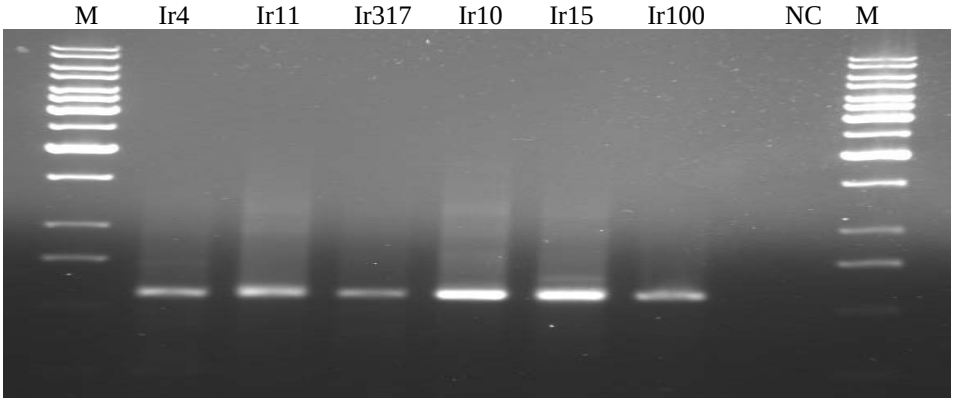
داده‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی با آرایش فاکتوریل با سه فاکتور A (منطقه مورد بررسی)، B (زمین زراعی) و C (ویروس‌های مورد بررسی) با نرم‌افزار MSTATC برای دو سال زراعی ۱۳۸۷ و ۱۳۸۸ تجزیه شد.

نتایج و بحث

از ۳۰۰ نمونه برداشت شده از نواحی مختلف استان گلستان در سال زراعی (۱۳۸۷)، ۱۸ نمونه (۶٪) به آنتی بادی ویروس زردی غربی چغندرقند، ۱۴ نمونه (۴/۵٪) به آنتی بادی ویروس موزائیک شلغم و ۸ نمونه (۲/۵٪) به آنتی بادی ویروس موزائیک کلم گل در آزمون الایزا واکنش مثبت نشان دادند. در سال زراعی (۱۳۸۸) از ۳۰۰ نمونه برداشت شده، ۱۹ نمونه (۶/۳۳٪) به

آنتی‌بادی ویروس زردی غربی چغندرقند، ۲۵ نمونه (۸/۳۳٪) به آنتی‌بادی ویروس موزائیک شلغم و ۵ نمونه (۱/۶۶٪) به آنتی‌بادی ویروس موزائیک کلم گل آلوده بودند. آلودگی نمونه‌ها به ویروس زردی غربی چغندرقند توسط واکنش RT-PCR نیز تأیید شد و قطعات DNA مورد انتظار به اندازه ۵۶۳ جفت باز تکثیر گردید (شکل۲).

پراکنش ویروس زردی غربی چغندرقند در نواحی مختلف استان در سال ۱۳۸۷ نشان داد که ناحیه جنوبی با ۱۰٪، ناحیه غربی با ۹٪ و ناحیه شرقی با ۲٪ به ترتیب دارای بیشترین و کمترین میزان آلودگی بودند (شکل۲).



شکل ۲- قطعات DNA تکثیر شده با استفاده از RT-PCR و جفت آغازگرهای اختصاصی BWYV در ژل آگارز ۱/۲٪. راهک M، نشانگر اندازه 1Kb (GeneRuler, Fermentas)، راهک Ir4 جدایه منطقه غربی استان گلستان(سال ۱۳۸۷)، راهک Ir11 منطقه جنوبی استان گلستان (سال ۱۳۸۸)، راهک Ir317 جدایه استان تهران (دانشکده کشاورزی تربیت مدرس)، راهک Ir10 منطقه غربی استان گلستان (سال ۱۳۸۸)، راهک Ir15 جدایه استان تهران (دانشکده کشاورزی تربیت مدرس) و راهک Ir100 جدایه استان تهران (دانشکده کشاورزی تربیت مدرس) می‌باشد.

همچنین پراکنش ویروس زردی غربی چغندرقند در نواحی مختلف استان در سال ۱۳۸۸ نشان داد که نواحی جنوبی و غربی با ۷٪ و ناحیه شرقی با ۵٪ به ترتیب بیشترین و کمترین مناطق آلوده بودند (شکل ۲). پراکنش ویروس موزائیک کلم گل در نواحی مختلف استان در سال ۱۳۸۷ نشان داد که ناحیه غربی با ۵٪، ناحیه جنوبی با ۴٪ و ناحیه شرقی با ۱٪ به ترتیب بیشترین و کمترین مناطق آلوده بودند. همچنین پراکنش ویروس موزائیک کلم گل در نواحی مختلف استان در سال ۱۳۸۸ نشان داد که ناحیه جنوبی با ۳٪، ناحیه غربی با ۲٪ و ناحیه شرقی بدون آلودگی به ترتیب بیشترین و کمترین مناطق آلوده بودند. در مقایسه دو سال زراعی کاهش پراکنش این ویروس در هر سه ناحیه در سال ۱۳۸۷ نسبت به سال ۱۳۸۸ مشاهده شد. پراکنش ویروس موزائیک شلغم در نواحی مختلف استان در سال ۱۳۸۷ نشان داد که ناحیه جنوبی استان با ۹٪ آلودگی پراکنش بیشتری از نواحی غربی و شرقی و همین بررسی در سال ۱۳۸۸ نمایانگر پراکنش بالاتر ویروس موزائیک شلغم نسبت به نواحی غربی و شرقی بود. در بررسی پراکنش ویروس‌های شته بُرد کلزا در دو سال زراعی ۸۷-۱۳۸۶ و ۸۸-۱۳۸۷ نواحی جنوبی و غربی با داشتن حداکثر پراکنش ویروس‌ها مهم ترین نواحی آلوده بودند. ناحیه جنوبی در سال ۱۳۸۷با داشتن حداکثر مطلق دما و کمترین میزان رطوبت نسبی و همچنین بیشترین ساعات آفتابی دارای شیوع بالاتری از ویروس‌های مورد مطالعه نسبت به نواحی غربی و شرقی استان بود. از آنجایی که این سه ویروس توسط شته‌ها منتقل می‌گردند و ساعات آفتابی و رطوبت مناسب و کم هوا به تکثیر بیشتر شته‌ها در منطقه کمک می‌کند می‌توان درصد بالای بیشتر حضور ویروس‌ها را در ناحیه

جنوبی استان توجیه نمود، از طرفی بر اساس وضعیت جوی استان در سال ۱۳۸۸ که نمایانگر وجود سرعت باد مناسب به همراه حداکثر ساعات آفتابی در نواحی شرقی و جنوبی استان می‌باشد، بیشترین درصد آلودگی ویروس در این مناطق قابل توجیه است. وجود باد به انتشار هر چه بیشتر ناقلین کمک نموده و میزان ساعات آفتابی روز در مزرعه به هر چه بیشتر شدن فعالیت ناقلین کمک می‌کند. میزان پراکنش ویروس زردی غربی چغندرقند در ناحیه جنوبی استان در سال ۱۳۸۷ (شکل۳) بالاترین مقدار در سه ناحیه بود که از دلایل کافی برای توجیه این درصد می‌توان به بالاتر بودن ساعات آفتابی و حداکثر مطلق دما در این نواحی اشاره نمود، همچنین در سال ۱۳۸۸ حضور ویروس‌ها بیشتر در نواحی غربی و جنوبی استان بیشتر دیده شد که حداکثر سرعت باد از عوامل مهم آن پیش‌بینی می‌شود.

به دلیل شته بُرد بودن سه ویروس نامبرده حضور متفاوت ویروس‌ها در هر سال و کاهش یا افزایش درصد پراکنش آنها در هر سال می‌تواند دلایل متعددی داشته باشد که از دلایل مهم آن می‌توان به اختلاف میانگین دمای سال‌های زراعی ۸۷-۱۳۸۶ و ۸۸-۱۳۸۷ اشاره کرد (بر اساس میانگین دمای هوا در ایستگاه‌های سینوپتیک استان در جدول‌های ۱ و ۲).

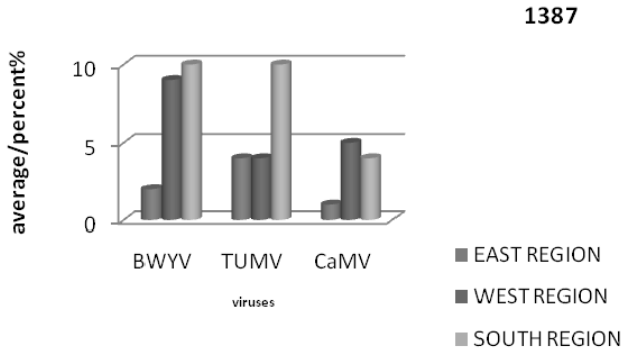
در بررسی آماری داده‌ها در سال ۱۳۸۷ فاکتور ویروس معنی‌دار بود که نمایانگر این است که پراکنش ویروس‌های مختلف در مزارع مورد مطالعه متفاوت است. از طرفی این بررسی در سال ۱۳۸۸ پراکنش ویروس‌های در تواحی مختلف متفاوت بود. این اختلاف پراکنش ویروس‌ها در سال ۱۳۸۸ ممکن است به دلیل تفاوت شرایط اقلیمی مناطق به دست آمده باشد.

جدول ۱- داده‌های ایستگاه‌های سینوپتیک در نواحی غربی، شرقی و جنوبی استان گلستان

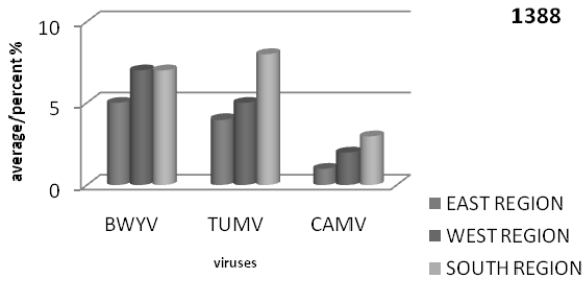
نام ایستگاه	منطقه مورد بررسی	دما	رطوبت نسبی	ساعات آفتابی	حداکثر سرعت باد (m/s)
گرگان	جنوب	۲۹/۴	۷۵	۱۳۰/۸	۲۷۰/۱۲
گنبدکاووس	شرق	۲۹/۴	۷۸	۱۳۱/۰	۲۲۰/۲۰
کلاله	غرب	۲۸/۶	۸۱	۱۳۳/۲	۱۸۰/۲۰
مراوه تپه	شرق	۲۸/۲	۷۰	۱۵۲/۴	۱۵۰/۲۰
علی آباد کتول	جنوب	۳۰/۸	۷۷	۱۱۶/۷	۲۷۰/۱۵
فرودگاه گرگان	جنوب	۳۰/۰	۷۹	۱۳۵/۱	۲۵۰/۱۸

جدول ۲- میانگین درجه هوا (درجه سانتی‌گراد) در ایستگاه‌های سینوپتیک استان در دو سال زراعی ۸۷-۱۳۸۶ و ۸۸-۱۳۸۷

نام ایستگاه	منطقه مورد بررسی	دوره آماری	میانگین دما دوره آماری	میانگین دما اسفند ۸۶	میانگین دما اسفند ۸۷
گرگان	۸۵-۱۳۶۳	جنوب	۰۹/۷	۱۲/۳	۱۲/۱
گنبدکاووس	۸۵-۱۳۷۱	شرق	۱۰/۳	۱۲/۹	۱۲/۸
کلاله	۸۵-۱۳۸۰	غرب	۱۰/۷	۱۲/۶	۱۲/۶
مراوه تپه	۸۵-۱۳۷۲	شرق	۰۹/۹	۱۳/۰	۱۲/۷
علی آباد کتول	۸۵-۱۳۸۳	جنوب	۱۱/۲	۱۲/۲	۱۲/۹
فرودگاه گرگان	****	جنوب	****	۱۱/۹	۱۲/۰



شکل ۳- بررسی پراکنش ویروس‌های BWYV، TuMV و CaMV در سه منطقه مورد بررسی در سال ۸۷-۱۳۸۶



شکل ۴- بررسی پراکنش ویروس‌های BWYV، TuMV و CaMV در سه منطقه مورد بررسی در سال ۸۸-۱۳۸۷

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس داده‌های سال‌های زراعی ۱۳۸۷ و ۱۳۸۸

منبع تغییرات	درجه آزادی	مجموعه مربعات ۱۳۸۷	مجموعه مربعات ۱۳۸۸	F Value ۱۳۸۷	F Value ۱۳۸۸
ناحیه	۲	۰/۰۰۷	۰/۱۵۶	۰/۲۴۲۳	۵/۱۰۳۹*
زمین زراعی	۹	۰/۱۴۸	۰/۰۵۵	۱/۱۵۵۹	۰/۳۹۷۱
ناحیه- زمین زراعی	۱۸	۰/۱۰۳	۰/۲۰۶	۰/۴۰۴۱	۰/۷۴۸۱
ویروس	۲	۰/۱۸۳	۰/۰۷۲	۶/۴۶۶۶*	۲/۳۵۷۳**
ناحیه - ویروس	۴	۰/۰۸۰	۰/۱۰۵	۱/۴۰۳۴	۱/۷۲۰۶
زمین زراعی- ویروس	۱۸	۰/۱۳۵	۰/۲۱۳	۰/۵۳۰۵	۰/۷۷۳۸
ناحیه - زمین زراعی - ویروس	۳۶	۰/۵۱۰	۰/۳۹۸	۰/۹۹۹۰	۰/۷۲۲۸
خطا	۸۱۰	۱۱/۴۸۶	۱۲/۳۹۷		
کل	۸۹۹	۱۲/۶۵۲	۱۳/۶۰۳		

* $P \leq ۰/۰۱$

** $P \leq ۰/۱$

نتایج تجزیه واریانس و مقایسه میانگین در جدول‌های ۳ و ۴ آورده شده است.

جدول ۴- نتایج مقایسه میانگین داده‌ها

سال	ویروس A	ویروس B	ویروس C	ناحیه ۳	ناحیه ۲	ناحیه ۱
۱۳۸۷	B	A	A		NS	
۱۳۸۸		NS		B	AB	A

با اهمیت‌ترین ویروس‌های کلزا در ایران BWYV، CaMV و TuMV به ترتیب با ۱۴/۴۵٪، ۱۲/۹٪ و ۹/۳٪ آلودگی گزارش شده است (Shahraeen *et al.*, 2003). آنها به منظور بررسی میزان وقوع این سه ویروس در مهم‌ترین نواحی کشت کلزا نمونه‌های علائم‌دار یا مشکوک به آلودگی را جمع‌آوری نمودند. نتایج تحقیق

حاضر که دو سال زراعی متوالی در استان گلستان انجام گرفت با نتایج این محققین مغایرت دارد، اختلاف در نحوه نمونه‌برداری می‌تواند دلیل اصلی این مغایرت باشد، در تحقیق حاضر نمونه‌برداری بدون توجه به علائم و به صورت تصادفی انجام شد. هر چند اختلاف در محدوده جغرافیایی و سال‌های نمونه‌برداری نیز می‌تواند از دلایل مغایرت در نتایج باشد، اختلافات آب و هوایی در هر سال زراعی، اوج حضور ناقلین فعال در زمان حساسیت گیاهان میزبان و حتی اختلاف در زمان نمونه‌برداری‌ها طی فصل رشدی نیز می‌تواند به عنوان عوامل فرعی این اختلافات قلمداد گردد. Sahandi *et al.* (2004) نمونه‌های دارای علائم مراحل مختلف قبل گلدهی، گلدهی و مرحله تشکیل غلاف مزارع استان آذربایجان غربی را جمع‌آوری و با آزمون الایزا آلودگی به ویروس موزائیک کلم گل را مورد بررسی قرار دادند. از ۸۰ نمونه برداشت شده ۶۰٪ نمونه‌ها آلوده به ویروس بودند، تفاوت در نحوه نمونه‌برداری، استان محل نمونه‌برداری و طبیعتاً اختلاف در آب و هوای دو استان و حضور ناقلین با توجه به شرایط آب و هوایی از علل تفاوت قابل توجه آلودگی کلزا به CaMV در استان آذربایجان غربی نسبت به استان گلستان باشد. نتایج این تحقیق با بررسی Coutts *et al.* (2006) مطابقت دارد، در بررسی آنها نیز حضور سه ویروس یادشده در مزارع کلزا طی دو سال انجام و پراکنش ویروس‌ها با توجه به نحوه نمونه‌برداری تصادفی از مزارع مشابه این پژوهش می‌باشد. درصدهای اعلام شده توسط آنها به درصدهای واقعی آلودگی نزدیک‌تر می‌باشد. معمولاً در کشور ما گیاهان خانواده *Brassicasea* طی دو فصل بهار و پائیز کشت و به ترتیب در تابستان و زمستان برداشت می‌شوند، به این ترتیب منابع آلودگی طی فصول مختلف سال حفظ شده و به گسترش بعدی این ویروس‌ها کمک می‌کنند، اختلاف اندک بین درصدهای آلودگی در دو سال زراعی ۱۳۸۷و ۱۳۸۸ را نیز شاید بتوان به تفاوت شرایط آب و هوایی در این دو سال نسبت داد، سرمای زودرس در زمستان سال ۱۳۸۷ باعث رشد ضعیف و به تعویق افتادن رشد بوته‌های کلزا در مزارع شده و دوره گلدهی در این گیاهان که به طور طبیعی از اواخر اسفندماه آغاز می‌شود را به اواسط فروردین ماه تغییر داد، با توجه به این وضعیت تخم شته‌های ناقل بیماری دیرتر از موعد هر ساله تفریخ گشته و شته‌ها مدت زمان کمتری بر روی گیاهان کلزا بسر بردند، از آنجایی که انتقال هر سه ویروس یاد شده با ناقلین شته اتفاق می‌افتد این تأخیر زمانی ممکن است در اختلاف نتایج مؤثر بوده باشد. از دیگر عوامل می‌توان به شرایط محیطی، تناوب زراعی و دیگر فعالیت‌های زراعی، شته‌های ناقل و جهت باد که میزان جابجایی و انتقال شته‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهد، اشاره نمود. در تحقیق انجام شده در دو سال پیاپی پراکنش ویروس زردی غربی چغندرقند نسبت به ویروس‌های دیگر از درصد بالاتر و یکنواخت‌تری برخوردار بوده است. از آنجایی که این ویروس دارای دامنه میزبانی وسیع بر روی محصولات مهم زراعی دیگر که در استان کشت می‌شوند از جمله کلم، کاهو و غیره می‌باشد می‌تواند بر روی میزبان‌های دیگر نیز حفظ

گردد، به این دلیل وقوع آن در دو سال پیاپی در مزارع قابل توجیه می‌باشد. نتایج این پژوهش وجود ویروس‌های شته بُرد (TuMV, CaMV, BWYV) را در مناطق مختلف کشت کلزا در استان گلستان تأیید می‌کند و آنها را به عنوان عوامل بالقوه خسارت‌زا باید مدنظر داشت. اما در سال‌هایی که این مطالعه انجام شد، میزان شیوع این ویروس‌ها هیچ گاه از ۸/۳۳٪ بالاتر نرفت و نشان داد که این ویروس‌ها عوامل محدودکننده گسترش کشت این محصول در استان گلستان و احتمالاً سایر استان‌های همجوار با شرایط آب و هوایی مشابه نمی‌باشد.

سپاسگزاری

از قطب علمی مدیریت تلفیقی آفات و بیماری‌های گیاهان دانه روغنی و گروه بیماری‌شناسی دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس برای حمایت مالی از این پژوهش قدردانی می‌شود.

REFRENCES

1. Agriculture Jehad Ministry (2009). *Agriculture Statistics*, Vol. 1. Crop production. pp. 133.
2. Bahar, M., Danesh, D. & Dehghan, M. (1985). Turnip mosaic virus in stock plant. *Iranian Journal of Plant Pathology*, 21(1-4), 33-39. (In Farsi).
3. Bahar, M., Ahoonmanesh, A. & Dehghan, M. (1986). Infection of cauliflower by Cauliflower mosaic virus in Isfahan. In: Proceedings of *the 8th Iranian Plant Protection Congress*, 30 Aug-4 Sep., University of Isfahan, Iran, p. 114.
4. Clark, M. F. & Adams, A. N. (1977). Characteristics of the microplate method of enzyme linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *Journal of General Virology*, 34, 475–483.
5. Coutts, B. A., Hawkes, JR. & Jones, R. (2006). Occurrence of beet western yellows virus and its aphid vectors in over-summering broad-leafed weeds and volunteer crop plants in the Grainbelt region of south-western Australia. *Australian Journal of Agricultural Research*, 57, 975-982.
6. de Miranda, J. R., Stevens, M., de Bruyne, E., Smith, H. G., Bird, C. & Hull, R. (1995). Sequence comparison and classification of beet luteovirus isolates. *Archives of Virology*, 140, 2183-2200.
7. Food and Agriculture Organization. (1999). *FAO production yearbook 1999*, FAO, Rome, Italy. pp. 328.
8. Fereras, A. & Moreno, A. (2009). Behavioral aspects influencing plant virus transmission by homopteran insects. *Virus Research*, 10, 1-11.
9. Hollings, M. & Brunt, A. (1981). Potyviruses. *In Handbook of Plant Virus Infections and Comparative Diagnosis*, 731–807.
10. Izadpanah, K. (1982). *List of plant viral disease in Fars province*. University of Shiraz, Iran, p.188. (In Farsi)
11. Kamran, R., Shahraeen, N., Dehghanyar, H. & Sahandi, A. (2004). Report on occurrence of oilseed rape virus diseases in Fars. In: Proceedings of *the 16th Iranian Plant Protection Congress*, 28 Aug-1 Sep., University of Tabriz, Iran, p. 293.
12. Lathan, L. J., Smith, L. J. & Jones, R. A. C. (2003). Incidence of three viruses in vegetable brassica plantings and associated wild radish weeds in south-west Australia. *Australian Journal of plant Pathology*, 32, 387-391.
13. Sadeghi, E. (2003). Vectors of plant viruses. Agricultral Research and Education Organization, *Research Institute of Forests and Rangelands*, p. 274. (In Farsi).
14. Sahandi, A., Dehghanyar, H., Ghorbani, SH., Pourrahim, R. & Shahraeen, N. (2004). Isolation, biological properties and purification of Cauliflower mosaic virus (CaMV-Caulimovirus) from oilseed rape plants from Ourmia area. In: Proceedings of *the 16th Iranian Plant Protection Congress*, 28 Aug-1 Sep., University of Tabriz, Iran, p. 292.
15. Shahraeen, N., Farzadfar, Sh. & Lesemann, D. E. (2003). Incidence of viruses infecting winter oilseed rap (*Brassica napus* ssp. *oleifera*) in Iran. *Journal of Phytopathology*, 155, 614-616.
16. Shepherd, R. J. (1981). *Cauliflower Mosaic Virus. Descriptions of Plant Viruses*. Association of Applied Biologists, Wellesbourne, UK, 243.
17. Stavlone, L., Alioto, D., Ragozzino, A. & Laliberte, J. F. (1998). Variability among Turnip mosaic virus isolates. *Phytopathology*, 88, 1200-1204.
18. Stevens, M., Mcgrann, G. & Clark, B. (2008). *Turnip yellows virus (syn Beet western yellows virus): an emerging threat to European oilseed rape production?* Research review, p. 69.
19. Sutic, D., Ford, R. E. & Tosic, M. T. (1999). *Handbook of Plant Virus Disease*. CRC Boca Raton, Florida:USA. 219–225.
20. Walsh, J. A. & Jenner, C. E. (2002). Turnip mosaic virus and the quest for durable resistance. *Molecular Plant Pathology*, 3(5), 289-300.