تأثیر ویروس موزائیک چغندر بر میزان تولید بذر چغندرقند در شرایط گلخانه

Effect of beet mosaic virus on sugar beet seed yield in greenhouse condition

صادق جلالی [۱]، غلامحسین مصاحبی [۲] و محمود اخوت [۲]

ص, جلالی. غ, ح, مصاحبی و م, اخوت. ۱۳۸۱. تأثیر ویروس موزائیک چغندر بر میزان تولید بذر چغندرقند در شرایط گلخانه. **چغندرقند ۱۸(۲): ۱۰۹-۱۱۸**

چکیده

به منظور بررسی تأثیر ویروس موزائیک چغندر (Beet Mosaic Virus, BMV) **روی تولید بذر چغندرقند، یک جدایه از ویروس مذکور که از مزارع چغندرقند کرج جدا شده بود، پس از خالص‌سازی بیولوژیک در گیاه سلمک (***Chenopodium amaranticolor***) در چغندر برگی** *Beta vulgaris* cv.*Cicla* **تکثیر شد. عصاره حاوی ویروس در یک آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تیمار و چهار تکرار روی برگ بوته‌های چغندرقند (رقم‌تجاری۷۲۳۳) در دو مرحله قبل و بعداز سرمادهی بوته‌ها مایه‌زنی گردید. پس از تولید و رسیدگی بذر، بذرهای هر بوته در هر تیمار به طور مجزا برداشت و محاسبات آماری انجام شد.**

مقایسه تیمارها نشان داد که آلودگی بوته‌ها به ویروس فوق قبل از سرمادهی تأثیر زیادی در کاهش تولید بذر دارد به طوری که متوسط کاهش عملکرد بذر در بوته‌های آلوده شده نسبت به بوته‌های سالم در تیمار شاهد، ٤٣ درصد بود و با آن اختلاف معنی‌داری داشت. آلودگی بوته‌ها بعد از مرحله سرمادهی در کاهش تولید بذر اثر کمتری داشت به طوری که کاهشی برابر با هفت درصد نسبت به شاهد (سالم) نشان داد و اختلاف بین آنها معنی‌دار نبود. ساقه گل‌دهنده در بوته‌های آلوده ۳۳/۲ درصد نسبت به بوته‌های سالم (شاهد) کاهش رشد نشان داد.

واژه‌های کلیدی : تولید بذر, چغندرقند ، ویروس موزائیک چغندر،

۱- پژوهنده بخش تحقیقات آفات و بیماریهای گیاهی – مرکز تحقیقات کشاورزی اصفهان

۲ – دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران

مقدمه

ویروس موزائیک چغندر (Beet Mosaic Virus, BMV) ابتدا در سال ۱۸۹۸ در شمال فرانسه و سپس در سال ۱۹۱۵ از آمریکا و سایر کشورهای اروپایی گزارش شده است (Duffus,1963). این ویروس برای اولین بار توسط راسل نامگذاری و توصیف گردید (Russell,1971) . در ایران بیماری مزبور در سال ۱۳۴۲ از مزارع چغندرکاری کرج، اصفهان، شیراز و مشهد مشاهده و گزارش شد (رضائیان ۱۳۴۸). ویروس توسط شتهها خصوصاً شته سبز هلو (*Myzus persicae* Sutz.) با راندمان بالای ۵۰ درصد به طور ناپایا منتقل می‌گردد (Sylvester,1952). در سال‌های اخیر این ویروس در مزارع چغندرقند مناطق مختلف کرج شیوع چشمگیری داشته و میزان آلودگی بعضی از مزارع تا ۴۵ درصد نیز گزارش شده است (جلالی، ۱۳۷۲).

ویروس موزائیک چغندرقند در نواحی معتدل خصوصاً در مناطقی که کشت چغندرقند برای تولید بذر انجام می شود به دلیل مهیا بودن منابع آلودگی در اوایل فصل شیوع بیشتری دارد، به طوری که میزان آلودگی و مسافت بین مزارع چغندرقند بذری و مزارع کشت بهاره رابطه مستقیمی وجود دارد. آلودگی در مزارعی که مجاور یا با فاصله‌ای کمتر از ۱۶ کیلومتر از مزارع بذری بودند برابر با ۴۳ تا ۷۰ درصد و مزارعی که در ۳۰ کیلومتری یا بیشتر مزارع بذری قرار داشتند بین یک تا ۱/۵ درصد بوده است (Shepherd *et al.* 1964; Duffus, 1963) . وجود گونه‌های علف‌هرز مانند شیرتیغک (*Sonchus arvensis*) به عنوان میزبان زمستانه ویروس و تاج خروس (*Amaranthus retroflexus*) به عنوان میزبان ثانویه موجب شیوع بیشتر این ویروس در مزارع می‌شود (جلالی ، ۱۳۷۴).

تأثیر این بیماری بر میزان عملکرد ریشه بستگی به سن گیاه در زمان آلوده شدن و نژاد ویروس دارد. در یک آزمایش نشان داده شد هنگامی که بوته‌ها در مرحله ۴-۲ و ۱۲-۱۰ برگی به این ویروس آلوده شوند کاهش عملکرد ریشه به ترتیب برابر با ۲۱ و هفت درصد است (Bennett,1964) . در بررسی دیگری تأثیر سه نژاد H, L, M ویروس بر کاهش عملکرد اندام هوایی، ریشه و قند مطالعه گردیده است. بوته‌هایی که در مرحله ۶-۴ برگی به‌نژاد شدید ویروس آلوده شدند، کاهش عملکرد اندام هوایی برابر با ۲۵/۹ و عملکرد ریشه برابر با ۲۰/۴ درصد بود و لیکن تأثیر آن در کاهش عملکرد قند بسیار ناچیز بوده است(Shepherd & Till 1965).

در ایران خسارت این بیماری بر عملکرد ریشه و قند بررسی شده است. مقدار کاهش عملکرد ریشه و قند به ترتیب برابر با ۳۱ و یک درصد تعیین شده است (علیزاده، ۱۳۴۹). تأثیر این ویروس بر میزان تولید بذر به

زمان آلودگی بوته و نـژاد ویـروس بسـتگی دارد. خسـارت حاصل از آلودگی به این ویروس بر میـزان تولیـد بـذر در آمریکا بررسی و مشاهده شد که کاهش میـزان بـذر بـین ۱۳/۳ تا ۱۷/۴ درصد و کاهش جوانه‌زنـی ایـن بـذور بـین ۳/۶ تا ۶/۶ درصد بوده است (Brewbaker,1942).

این ویروس همچنین بر قدرت رویـش بـذر تـأثیر دارد به طوری که طـول ریشـه‌چه‌هـای بـذرهای بدسـت آمـده از گیـاهان آلـوده نسبـت بـه بـذر گیـاهـان سالـم ۲۶/۵ درصـد کاهـش نـشان داده اسـت (Stakie & Jasnic,1985).

پژوهش حاضر جهت بررسی تـاثیر جدایـه ایرانـی این ویروس بر میزان تولید بذر چغندرقند انجام شده است.

مواد و روش‌ها

پرورش بوته‌های چغندرقند در گلخانه

بـذر چغندرقنـد رقـم تجـاری ۷۲۳۳ پـس از ضدعفونی بـا هیپوکلرایدسـدیم و شستشـو بـا آب مقطـر استریل درون گلدان‌هایی با دهانه ۳۰ سانتیمتر در گلخانه کاشته شد. آزمایش در قالب یک طرح کاملاً تصـادفی بـا سه تیمار و هر تیمار شامل ۲۴ گلدان انجام شد. پـس از سبز شدن بذرهای بوته‌های اضافی حذف و در هر گلـدان تنها یـک بوتـه نگهـداری و پـرورش داده شـد. تیمارهـا عبارت بودند از آلودگی بوتـه‌هـا در مرحلـه چهـار برگـی، آلودگی بوته‌ها بعد از مرحله سرمادهی و تیمار شـاهد کـه تنها با بافر فسفات ۰/۰۱ مولار مایه‌زنی شد.

جداسازی و تکثیر ویروس موزاییک چغندر قند

خالص‌سـازی بیولوژیـک ویـروس با مـایه‌زنـی یـک جدایـه ویـروس (BMV) کـه از مـزارع چغندرقنـد کمال‌آباد (کرج) جمع‌آوری شـده بـود روی گیـاه سـلمک (*Ch. Amaranticolor*) انجام و پس از سـه بـار پاسـاژ متوالی روی این گیاه سپس روی چغنـدربرگی رقـم (*B. vulgaris* cv. Cicla) تکثیر گردید (Walkey, 1985).

آلوده‌سازی بوته‌های چغندرقند

جهت آلوده‌سازی بوته‌های چغنـدر قنـد پـرورش یافته در گلخانه، تعداد ۲۴ بوتـه چغندرقنـد رقـم تجـاری ۷۲۳۳ را در مرحله چهار برگی انتخاب و دو برگ انتهـایی آنها با عصاره حاوی ویروس موزائیک چغندر به همراه بافر فسـفات ۰/۰۱ مـولار مایـه‌زنـی شـد. پـس از مشـاهده نشانه‌هـای آلـودگی در بوتـه‌هـای مایـه‌زنـی شـده بـرای تحریک بوته‌ها به ساقه روی (Bolting) ، بوتـه‌هـای ۴۵ روزه چغندرقند به اتاقک رشد انتقال و در دمـای ۱/۵ ± ۸ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسـبی ۷۰ درصـد و ۱۲ سـاعت نور به مدت ۵۰ روز نگهداری شد. سپس بوته‌ها مجدداً به گلخانه انتقـال و در دمـای ۳ ± ۲۷ درجـه سـانتی‌گـراد (دمای محیط) و رطوبت ۵۵ درصد نگهداری و قبـل از بـه ساقه رفتن بوته‌ها تعداد ۲۴ بوته دیگـر (تیمـاردوم) طبـق

روش مذکور به ویروس آلوده شدند. بوته‌های شاهد نیز تنها با بافر فسفات ۰/۰۱ مولار به همراه پودر ساینده مایه‌زنی شد. ساقه‌روی بوته‌های سرما دیده پس از ۱۰-۸ روز شروع گردید. با زردشدن رنگ برگها و رسیدن بذرها، طول ساقه‌های گل دهنده اندازه‌گیری و بذرهای مربوط به هر بوته به طور منفرد جمع‌آوری و توزین گردید.

تاثیر ویروس بر جوانه زنی بذرها

جهت اندازه‌گیری قوه نامیه بذرهای چغندرقند از روش ارایه شده توسط انجمن بین‌المللی آزمایش بذر استفاده شد (Ellis *et al*. 1985). بذرهای مربوط به گیاهان آلوده و سالم چغندرقند را به مدت یک ماه در یخچال و دمای چهار درجه سانتی‌گراد نگهداری و سپس از هر نمونه ۲۵۰ بذر بطور تصادفی انتخاب و در پنج پتری دیش روی کاغذ مرطوب در انکوباتور در دمای ۲۳ درجه سانتیگراد به مدت دو هفته نگهداری و پس از جوانه زدن تعداد بذرهای جوانه زده براساس روش (Stakie & Jasnic, 1985) شمارش گردید.

نتیجه و بحث

با مایه‌زنی عصاره حاوی ویروس موزائیک چغندرقند روی برگ گیاه سلمک پس از گذشت هشت روز لکه‌های موضعی کرم رنگ به قطر ۳-۲ میلیمتر ایجاد گردید با انتخاب یک تک لکه و مایه زنی مجدد آن روی گیاه سلمک، خالص‌سازی بیولوژیک ویروس انجام گرفت و سپس با مایه زنی یک تک لکه روی بوته‌های چغندربرگی، ویروس تکثیر شد.

آلوده‌سازی بوته‌های چغندرقند در مرحله چهار برگی انجام و تمامی ۲۴ بوته مایه‌زنی شده آلودگی به ویروس را پس از هشت روز با ایجاد موزائیک در برگ‌ها نشان دادند. بنابراین مشخص گردید که ویروس موزائیک چغندرقند به راحتی با مایه زنی مصنوعی منتقل می‌گردد.

بوته‌های آلوده رشدی به مراتب کمتر از بوته‌های سالم داشت (شکل ۱) و سطح برگ‌ها به شدت کوچک و پیچیدگی داشتند. پس از سرمادهی بوته‌ها و قرار دادن مجدد آنها در شرایط گلخانه (دمای ۳ ±۲۷ درجه سانتی‌گراد) ابتدا بوته‌های آلوده شروع به ساقه‌روی نموده و ساقه‌روی بوته‌های سالم پس از بوته‌های آلوده شروع شد (شکل ۲). همچنین گلدهی در بوته‌های آلوده شده قبل از سرمادهی، زودتر از بوته‌های سالم و یا بوته‌های آلوده شده بعد از سرمادهی مشاهده گردید. به نظر می‌رسد آلودگی موجب تحریک گیاه به تولید بذر گشته است. با اندازه‌گیری طول ساقه بوته‌های هر تیمار، میانگین طول ساقه به ترتیب در بوته‌های سالم، بوته‌های آلوده شده قبل از سرمادهی و بوته‌های آلوده شده بعد از سرمادهی به ترتیب برابربا ۶۰/۴ ، ۴۰/۳ و ۵۸/۹ سانتی‌متر بود. مقایسه میانگین طول ساقه در تیمارهای آزمایش نشانگر آن است که بوته‌هایی که در مرحله چهار برگی به ویروس آلوده

شده‌اند با بوته‌های تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری داشته‌اند (جدول۱). به این ترتیب محرز می‌گردد که کاهش رشد از علائم این بیماری به حساب می‌آید و این کاهش رشد هم در عملکرد ریشه و هم در تولید بذر خود را نشان می‌دهد. (Bennett, 1964; Brewbaker, 1942)

پس از گلدهی و تشکیل بذر از هر بوته به طور منفرد بذرگیری و توزین گردید. متوسط میزان بذر برای هر بوته سالم، بوته آلوده قبل از سرمادهی و بوته آلوده شده بعداز سرمادهی به ترتیب برابر با ۹/۶ ، ۵/۵ و ۷/۸ گرم بود. مقایسه میانگین میزان بذر در تیمار آلودگی قبل از مرحله سرمادهی نسبت به بوته‌های شاهد سالم اختلاف بسیار معنی‌داری داشته (جدول ۲) که نشان دهنده آن است که زمان آلودگی بوته‌ها در کاهش میزان بذر تاثیر زیادی داشته است به عبارت دیگر هر چه سن گیاه در زمان آلودگی بیشتر باشد تاثیر ویروس در کاهش بذر کمتر بوده است به طوری که این کاهش در بوته‌هایی که قبل از سرمادهی (مرحله ۴برگی) به ویروس آلوده شده بودند نسبت به بوته‌های سالم (شاهد) برابر با ۴۳ درصد و برای بوته‌های آلوده شده بعداز سرمادهی (بوته‌های ۹۵ روزه) برابر با هفت درصد بود و با شاهد سالم اختلاف معنی‌داری نداشت (جدول۱). یافته‌های سایر محققین نیز مؤید این مطلب است که هرچه گیاه زودتر آلوده گردد خسارت بیشتری متحمل می‌گردد(Brewbaker, 1942). اما نتایج این تحقیق خسارتی معادل نصف محصول را (۴۳ درصد) نشان می‌دهد. این خسارت در مقایسه با تحقیقات سایر محققین (Brewbaker, 1942) که خسارتی معادل یک سوم نتایج تحقیق حاضر را گزارش می‌کند, شاید به دلیل مهیا بودن شرایط آزمایش برای یک آلودگی موفق در شرایط گلخانه باشد. این ویروس در طبیعت توسط شته‌ها و به صورت ناپایا منتقل می‌شود (Sylverster, 1952). به همین خاطر خسارت بیماری در مزارع چغندرقند بذری کمتر از میزانی است که در این تحقیق بدست آمده است. به هر حال برای کاهش خسارت بیماری توصیه شده است که مزارع بذری باید در مناطقی ایجاد شود که چغندرقند جهت تولید ریشه کشت نمی‌شود و یا فاصله آنها بیش از ۳۰ کیلومتر باشد. از طرف دیگر مبارزه با علف‌های هرز که میزبان ویروس موزائیک چغندرقند می‌باشد شامل گونه‌های مختلف شیر تیغک که میزبان زمستانی ویروس بوده و به طور وسیعی در اطراف مزارع و جوی‌های آب وجود دارد و همچنین گیاه تاج خروس که خصوصاً در ایجاد آلودگی‌های اولیه در مزارع تولید ریشه دخیل می‌باشند در کاهش آلودگی بسیار موثر است.

با قرار دادن بذرهای حاصل از بوته‌های سالم و آلوده روی کاغذ مرطوب و نگهداری آنها در دمای ۲۳ درجه سانتی‌گراد، این بذرها پس از سه روز شروع به

جوانه‌زنی نموده‌اند. درصد جوانه‌زنی بذرها به ترتیب برای بوته‌های شاهد ۹۲ درصد، بوته‌های آلوده شده قبل از سرمادهی ۸۷/۶ درصد و بوته‌های آلوده شده بعداز سرمادهی برابر با ۹۰/۴ درصد تعیین شد و هیچگونه اختلاف معنی‌داری بین جوانه‌زنی بذور بوته‌های سالم و آلوده مشاهده نشد (جدول ۱). بروباکر (Brewbaker, 1942) نیز کاهش جوانه‌زنی ۶/۶-۳/۶ درصد را گزارش کرده بود.

سپاسگزاری

نگارندگان لازم میدانند از مساعدت‌های گروه گیاهپزشکی دانشکده کشاورزی کرج به خاطر فراهم نمودن امکانات لازم (گلخانه و اتاق حرارت ثابت) و همچنین مؤسسه تحقیقات چغندرقند کرج به خاطر در اختیار قرار دادن بذرهای مورد نیاز وسرکار خانم سوسن موذنی صمیمانه تشکر نمایند.

جدول ۱ – تاثیر ویروس موزائیک چغندر روی تولید میزان بذر درگلخانه و درصد جوانه‌زنی بذر چغندرقند

Table 1 The effect of beet mosaic virus on seed yield in greenhouse condition and germination of sugar beet seed

تیمارها Treatments	متوسط طول ساقه (سانتی‌متر) Mean of stem length (cm)	متوسط تولید بذر (گرم) Mean seed yield (gr.)	درصد جوانه‌زنی بذر % seed germination
شاهد (سالم) Control (Health)	60.40	9.6	92
آلودگی قبل از سرمادهی Infection before vernalization	40.3	5.5	87.6
آلودگی بعداز سرمادهی Infection after vernalization	58.91	7.8	90.4
LSD 1%	3.09	0.76	NS

جدول ۲ – تجزیه واریانس طول ساقه گل دهنده و عملکرد بذر در شرایط گلخانه

Table 2 Analysis of variance of stem length and seed yield in greenhouse condition

منابع تغییرات SOV	درجه آزادی DF	میانگین مربعات MS طول ساقه	 عملکرد بذر
تیمار Treatment	2	493 **	20.0 **
خطا Error	9	0.76	0.059
ضریب تغییرات C.V.		1.64	3.04

**: Significant at 1% level

ns : non significant

** : معنی‌دار در سطح ۱٪

n.s: عدم وجود اختلاف معنی‌دار

شکل ۱- علائم موزائیک در برگها و کاهش رشد بوته چغندر قند آلوده به ویروس موزائیک چغندر (چپ) در مقایسه با بوته سالم (راست)

Fig.1 Mosaic symptoms on leaves and decrease of plant growth in infected plant (left) and healthy plant (right)

شکل ۲- کاهش طول ساقه و گل آذین در بوته چغندرقند آلوده به ویروس موزائیک چغندر (چپ) در مقایسه با بوته سالم (راست)

Fig. 2 Decrease of stem and panicle length in infected plant to beet mosaic virus (left) and healthy plant (right)

منابع مورد استفاده References

جلالی، ص. ۱۳۷۲. بررسی عوامل ویروسی ایجادکننده موزائیک در چغندرقند در منطقه کرج. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران –کرج ، ۱۰۶ صفحه

جلالی، ص. ۱۳۷۴. معرفی دو میزبان طبیعی ویروس موزائیک چغندر در منطقه کرج. دوازدهمین کنگره گیاهپزشکی ایران، آموزشکده کشاورزی کرج ، صفحه ۱۲۷

رضائیان، م .ع. ۱۳۴۸. بیماری ویروس موزائیک چغندرقند، پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران، ۸۶ صفحه

علیزاده ، ج. ۱۳۴۹. بررسی خسارت ویروس موزائیک چغندرقند، گزارش سالیانه طرح بررسی بیماریهای مهم نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران. ۱۱۴ صفحه

Bennett CW (1964) Isolates of beet mosaic virus with different degree of virulence. J.Am.Soc. Sugarbeet Tech. 13: 27-32

Brewbaker HE (1942) Mosaic and seed production. J.Am.Soc.Sugarbeet Tech. 3:381-385

Duffus JE (1963) Incidence of beet virus diseases in relation to over wintering beet fields. Plant Dis. Rep., 47: 428-430

Ellis RH, Hong TD, ROBERTS EH (1985) Hand book of seed technology for genebanks, Vol II. IBPGR publication, 667pp

Russell GE (1971) Beet mosaic virus. CMI/CAB Description of Plant Viruses, No.53, 4pp

Shepherd RJ, HILL FJ, HALL DH (1964) Losses caused by mosaic virus in California grown sugarbeets. J. Am.Soc. Sugarbeet Tech . 13: 244-251

Shepherd RJ, TILL BB (1965) Effect of strains of beet mosaic virus on the yield of sugar beets. Plant Dis.Rep.,49: 961-963

Stakie D, JASNIC S (1985) Effect of beet mosaic virus on germination of sugarbeet seeds and on length of primary roots. Rew. of Plant Path. 65: 940-943

Sylvester ES (1952) Comparative transmission of beet mosaic virus by four aphid species. Phytopathology . 42: 252-254

Walkey DGA (1985) Applied plant virulogy. seven ed. Redwood Burn Ltd. 329 pp