مدیریت تحصیلات تکمیلی
دانشکده کشاورزی
گروه گیاهپزشکی

پایان نامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد
در رشته بیماری‌شناسی گیاهی

اثر کودهای بیولوژیک در افزایش مقاومت خیار گلخانه‌ای به شبه‌قارچ *Pythium aphanidermatum*

استاد راهنما:
دکتر سید کاظم صباغ

استادان مشاور:
دکتر ناصر پنجه‌که
دکتر احمد غلامعلی‌زاده آهنگر

تهیه و تدوین:
شاهو ولی‌زاده

آبان ۱۳۹۲

تقدیم به

حمد و سپاس یگانه نگارنده کتاب، هستی را که با الطاف بیکرانش این توفیق را ارزانی ام داشت تا بتوانم در راه ارتقای دانش خویش گامی بردارم.

نگاشتن این رساله داعیه شناخت علم نیست، بلکه نشانه دوست داشتن آن است. در هدف پرستش زیبایی به سوی کمال بهتر دیدم که در تار و پود علم به جستجویش باشم.

تقدیم به دستان پر مهر پدر و مادرم

برای:

لبخندشان که حالا کمتر به چشم می آید اما هنوز از ته دل است و خوش آهنگ...

به:

چشمانشان که خسته اند اما پر امید... امید به من... که نهراسم از زندگی... دلیلی بودند برای آنچه که امروز از زندگی می خواهم.

تقدیم به

خواهر و برادر عزیزم به پاس همراهی بی دریغ شان و تحمل تمام دغدغه ها و نگرانی هایم در طول دوران تحصیل

سپاسگزاری

با متین سپاس تو را که جهت عنایت به این هدف مقدس در انجام پروژه و نگاشتن این رساله در خدمت استاد گرانقدرم **جناب آقای دکتر سید کاظم صباغ** کسب فیض نمودم که از صمیم قلب کمال سپاس و تشکر را از لطف و محبت بی شائبه شان دارم و صمیمانه از جناب **آقای دکتر ناصر بچه که** و از جناب **آقای دکتر احمد غلامعلی زاده آهنگر** که طی انجام این پژوهش دلسوزانه یاری ام دادند و از تجارب ارزنده شان بهره مندم ساختند تشکرم.

در پایان از تمامی عزیزان که صمیمانه در تمامی مراحل این پایان نامه یار و غمخوارم بودند و کلیه مهربانانی که یاد و خاطرشان در ذهنم جاودانه است، کمال تشکر و قدردانی را دارم. در آخر از دوستان عزیزم خانم ها، **محبوبه نوری**، **فاطمه خسروی مقدم**، **بصیرا کرمانی زاده**، **حلیه حسینی** و **حمیده خواجه** و آقایان **پیام محمودی**، **علیرضا شاکری**، **آزاد لاوا**، **محمد علی خانلر**، **مسعود هاشمی** و تمامی دوستانی که طی این مدت با شکیبایی تام از ابراز محبت و همکاری دریغ ننموده اند و به عناوین مختلف یار و یاورم بودند سپاسگزارم. این پروژه در **پژوهشکده زیست فناوری دانشگاه زابل** انجام گرفته و مجریان این تحقیق مراتب سپاسگزاری خود را از مسئولین پژوهشکده ابراز می دارند.

چکیده

خیار با نام علمی *Cucumis sativus* یکی از رایج‌ترین و گسترده‌ترین محصولات صیفی جهان می-باشد. آفات و عوامل بیماری‌زا از جمله، بوته‌میری گیاهان جالیزی، مهم‌ترین عوامل محدود کننده کشت این محصول بوده و منجر به کاهش عملکرد این گیاه در گلخانه‌ها و مزارع می‌شوند. مبارزه بیولوژیک با این بیماری با توجه به مزایایی که نسبت به سایر روش‌های مبارزه دارد، بهترین روش مبارزه با بیماری در گلخانه می باشد. کودهای بیولوژیک از جمله قارچ مایکوریز *Glomus mosseae*، نیتروکسین و ورمی‌کمپوست به عنوان فاکتورهای کنترل بیولوژیک در مقابل شبه‌قارچ *Pythium aphanidermatum* عامل بوته‌میری خیار استفاده شدند. کاربرد این کودها در بستر کاشت بذر خیار رقم ES-2862 در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار انجام شد. تلقیح بوته‌ها با عامل بیماری در مرحله سه برگی صورت گرفت. مقاومت گیاهچه‌ها در مقابل بیماری و صفات زراعی گیاهچه‌ها اندازه‌گیری شد. تجزیه داده‌ها با نرم افزار SPSS صورت گرفت و مقایسه میانگین صفات با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال ۵٪ انجام گردید. نتایج نشان داد تمام تیمارها با شاهد اختلاف معنی‌دار داشتند. جهت بررسی مکانیسم مولکولی مقاومت گیاهچه‌های خیار در مقابل بیماری، تغییرات بیان ژن *Cupi4* و ژن *Chitinase* با روش qRT-PCR اندازه‌گیری شد. آنالیز داده‌ها با روش pffafl انجام گرفت و میزان بیان ژن‌های مورد نظر برای تمام تیمارها بررسی شد. نتیجه به دست آمده نشان داد که بیان این دو ژن تحت اثر تیمارها قرار گرفته و تیمارهای مایکوریزدار اثر افزایشی بیشتری نسبت به سایر تیمارها روی بیان این ژن‌ها داشت. با توجه به نتایج بدست آمده می‌توان از این کودها هم به عنوان تقویت کننده گیاه و هم به عنوان عوامل بیوکنترل بیماری استفاده کرد.

واژگان کلیدی: بوته‌میری خیار، بیان ژن‌های مقاومت، مورفولوژی گیاه

فهرست مطالب

۱-۱- مقدمه ۱

۱-۲- اهداف تحقیق ۴

۲-۱- خیار ۶

۲-۱-۱- گیاه‌شناسی خیار ۶

۲-۱-۲- شرایط اکولوژیکی پرورش خیار ۷

۲-۱-۳- اهمیت اقتصادی خیار در ایران و جهان ۷

۲-۲- بیماری بوته‌میری جالیز ۸

۲-۲-۱- بیماری بوته‌میری خیار ناشی از شبه قارچ *Pythium* ۹

۲-۲-۲- جایگاه جنس *Pythium* ۹

۲-۲-۳- نحوه خسارت و بقاء گونه‌های *Pythium* ۱۰

۲-۲-۴- علایم بیماری بوته‌میری خیار ۱۲

۲-۲-۵- مبارزه با بیماری بوته‌میری خیار ۱۲

۲-۳- لزوم استفاده از کودهای بیولوژیک ۱۳

۲-۴- نیتروکسین ۱۴

۲-۵- ورمی‌کمپوست ۱۴

۲-۶- مایکوریز (قارچ ریشه) ۱۵

۲-۷- پروتئین‌های مرتبط با بیماری‌زایی ۱۶

۲-۸- بیان ژن ۱۷

۲-۸-۱- اندازه گیری بیان ژن ۱۸

۲-۸-۲- روش qRT-PCR ۱۹

۲-۸-۳- استفاده از تکنیک رنگ آمیزی فلورسنت DNA مانند SYBER Green ۲۰

۲-۹- ژن‌ها ۲۰

۲-۹-۱ ژن *Cupi4* ۲۰

۲-۹-۲-ژن *Chitinase* ۲۱

۳-۱- تهیه تیمار ۲۳
۳-۲- کاشت گلخانه‌ای ۲۳
۳-۳-تلقیح شبه قارچ *P. aphanidermatum* ۲۳
۳-۳-۱- شدت بیماریزایی شبه قارچ *P.aphanidermatum* ۲۴
۳-۴- اندازه گیری صفات زراعی گیاهچه..... ۲۴
۳-۵- استخراج RNA ۲۵
۳-۶- تعیین کمیت و کیفیت RNA ۲۵
۳-۶-۱- تعیین غلظت و کیفیت RNA توسط طیف سنجی نوری ۲۶
۳-۶-۲- طرز تهیه EDTA یک میلی مولار جهت شست و شوی کووت..... ۲۷
۳-۶-۳- طرز تهیه Tris.cl 10 mM جهت رقیق سازی RNA ۲۷
۳-۶-۴- تعیین کیفیت RNA توسط ژل آگارز..... ۲۷
۳-۷- سنتز cDNA ۲۸
۳-۸- طراحی آغازگرها ۲۹
۳-۸-۱- رقیق کردن آغازگرها ۳۰
۳-۹- انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمراز PCR ۳۰
۳-۹-۱- انجام Real time PCR ۳۱
۳-۹-۲- Threshold و مقدار Ct ۳۲
۳-۱۰- پردازش اطلاعات و آنالیزهای آماری..... ۳۳
۴-۱- تأثیر کودهای بیولوژیک بر صفات زراعی خیار ۳۶
۴-۲- شدت بیماری زایی شبه قارچ *P. aphanidermatum*..... ۳۷
۴-۳- نتایج استخراج RNA ۳۸
۴-۴- نتایج تعیین غلظت و کیفیت RNA توسط اسپکتروفتومتری ۳۸
۴-۵- نتایج مربوط به PCR شیب دمایی ۳۹
۴-۶- نتایج منحنی استاندارد ۳۹
۴-۶-۱- منحنی استاندارد ژن *Actin* ۳۹

۲-۶-۴- منحنی استاندارد ژن *Cupi4* ۴۰
۳-۶-۴- منحنی استاندارد ژن *Chitinase* ۴۰
۴-۷- نتایج واکنش Real Time PCR ۴۱
۱-۷-۴- منحنی تکثیر ژن ۴۱
۴-۸- نتایج آنالیز منحنی ذوب ۴۲
۱-۸-۴- منحنی تغییرات ذوب بر حسب دمای ژن*Cupi4* ۴۲
۲-۸-۴- منحنی تغییرات ذوب بر حسب دمای ژن *Chitinase* ۴۳
۳-۸-۴- منحنی تغییرات ذوب بر حسب دمای ژن*Actin* ۴۳
۴-۹- تغییرات بیان ژن‌های*Cupi4* و *Chitinase* در حضور کودهای بیولوژیک ۴۴
۱-۹-۴- میزان تظاهر ژن *Cupi4* ۴۴
۲-۹-۴- میزان تظاهر ژن *Chitinase* ۴۵
۱۰-۴-تغییرات بیان ژن‌های *Cupi4* و *Chitinase* در مقابل عامل بیماری ۴۶
۱۱-۴- بحث ۴۷
۱۲-۴- نتیجه گیری کلی ۵۱
پیشنهادات ۵۳
منابع ۵۴

فهرست جدول‌ها

جدول ۱-۳- مواد مورد نیاز جهت الکتروفورز ۲۸
جدول ۲-۳- مخلوط اول جهت ساخت cDNA ۲۸
جدول۳-۳- مخلوط دوم جهت ساخت cDNA ۲۹
جدول۴-۳- مشخصات آغازگر ژن‌های مورد نظر ۳۰
جدول۵-۳ مقدار مواد لازم جهت واکنش Real time PCR ۳۱
جدول۶-۳- شرایط دمایی و زمانی واکنش Real time PCR ۳۲
جدول۱-۴- مقایسه میانگین‌ها صفات زراعی خیار تحت اثر تیمار های مختلف با آزمونLSD ۳۶

جدول۳-۴- میزان بیان ژن *Cupi4* در تیمارهای کود بیولوژیک..... ۴۵

جدول۳-۴- میزان بیان ژن *Chitinase* در تیمارهای کود بیولوژیک..... ۴۶

جدول۴-۴- بیان ژن‌های*Cupi4* و *Chitinase* در مقابل استرس تلقیح عامل بیماری‌زا در مقایسه با شاهد سالم..... ۴۷

فهرست شکل‌ها

شکل۱-۲- گل‌های نر و ماده در خیار ۶

شکل۲-۲- چرخه زندگی *Pythium spp.*..... ۱۱

شکل ۱-۳- دستگاه اسپکتوفتومتری ۲۶

شکل ۲-۳- ترموسایکلر ساخت شرکت Eppendorf..... ۳۱

شکل۳-۳- دستگاه Rotor-Gene corbett مدل 3000 ..... ۳۲

شکل۱-۴- شدت بیماری زایی در گیاهچه های خیار ۳۷

شکل۲-۴- عکس ژل استخراج RNA..... ۳۸

شکل۳-۴- عکس ژل PCR شیب دمای..... ۳۹

شکل۴-۴- منحنی استاندارد ژن *Actin* ۴۰

شکل۵-۴- منحنی استاندارد ژن*Cupi4* ۴۰

شکل ۶-۴- منحنی استاندارد ژن *Chitinase*..... ۴۱

شکل ۷-۴- منحنی تکثیر ژن..... ۴۱

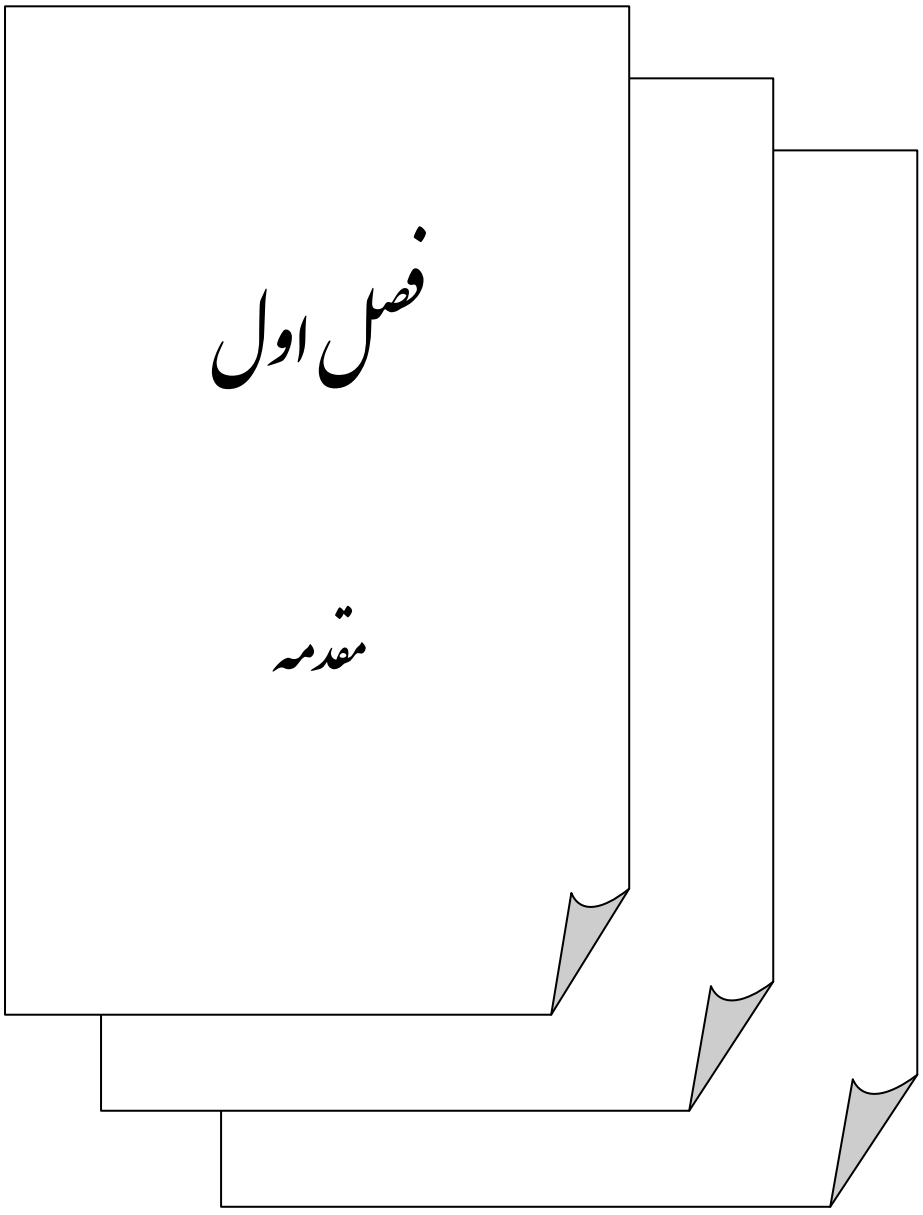
شکل ۸-۴- منحنی تغییرات ذوب بر حسب دمای ژن*Cupi4* ۴۲

شکل ۹-۴- منحنی تغییرات ذوب بر حسب دمای ژن*Chitinase* ۴۳

شکل ۱۰-۴- منحنی تغییرات ذوب بر حسب دمای ژن*Actin* ۴۳

شکل۱۱-۴- تغییرات بیان ژن‌های *Chitinase* و *Cupi4* در تیمارهای کود بیولوژیک..... ۴۴

شکل۱۲-۴- تغییرات بیان ژن‌های *Chitinase* و *Cupi4* در بوته های تلقیح شده(St)..... ۴۶


فصل اول
مقدمه

۱-۱- مقدمه

خیار با نام علمی *Cucumis sativus* یکی از رایج‌ترین و گسترده‌ترین محصولات صیفی جهان می-باشد. این گیاه میزبان بسیاری از عوامل بیماری‌زای خاک‌زاد و هوازاد است. قارچ‌ها، باکتری‌ها، ویروس‌ها، نماتدها، ریکتسیاها و گیاهان انگل گل‌دار از جمله عوامل بیماری‌زایی می‌باشند که در مراحل مختلف رشد و نمو گیاه بر آن تأثیر می‌گذارند. بیماری‌هایی از قبیل لکه زاویه‌ای برگ کدوئیان، سفید دروغی، بوته‌میری جالیز، سفید سطحی، آلودگی ناشی از نماتدها و ویروس موزائیک خیار از جمله مهم‌ترین بیماری‌های خیار به شمار می‌روند (تولایی، ۱۳۸۱).

خیار به بیماری‌های مختلف گیاهچه‌ای نظیر پوسیدگی بذر، مرگ گیاهچه قبل و یا پس از سبز شدن و آلودگی ریشه‌ها و محور زیر لپه حساس است. بوته‌میری در اثر هجوم شبه‌قارچ فیتوفتورا و بوته‌میری در اثر هجوم شبه‌قارچ پیتیوم به عنوان بیماری‌های مرگ گیاهچه خیار نام برده می‌شود، به دلیل شباهت بیماری-های مزبور به هم، بیماری‌های گیاهچه‌ای با نام عامل بیماری مشخص می‌شود، مانند مرگ گیاهچه ناشی از شبه‌قارچ پیتیوم و مرگ گیاهچه ناشی از شبه‌قارچ فیتوفتورا (نوری، ۱۳۸۰). عامل بیماری در تمام مراحل رشدی در صورت وجود شرایط مساعد می‌تواند بوته‌ها را مورد حمله قرار دهد. محل حمله شبه‌قارچ باریک و نرم گردیده و از بین می‌رود (روانلو و بنی هاشمی، ۱۳۸۱).

در سال‌های اخیر کشت گلخانه‌ای برای تولید خارج فصل، استفاده بهینه از منابع آب و خاک، به‌ویژه بهره‌گیری از قطعات کوچک و امکانات موجود در روستاها و حاشیه شهرهای پرجمعیت به‌شدت در حال گسترش بوده و به‌عنوان یک عامل ایجاد اشتغال مطرح می‌باشد. خیار به‌عنوان یکی از مهم‌ترین محصولات گلخانه‌ای، میزبان بسیاری از بیمارگرهای قارچی، باکتریایی و ویروسی است. در میان این بیماری‌ها، بوته-میری جالیز ناشی از شبه‌قارچ *Pythium aphanidermatum* به‌عنوان مهم‌ترین عامل پوسیدگی ریشه و طوقه در گلخانه‌ها، از جمله عوامل محدود کننده کشت محصول می‌باشد (اسماعیلی شیرازی فرد و بنی-هاشمی، ۱۳۸۷؛ الهی نیا، ۱۳۸۷). از آنجایی که این بیماری در اکثر نقاط ایران خسارت زیادی وارد می‌کند پیشگیری و مبارزه با آن ضرورت دارد.

مشکلات اکولوژیکی، بهداشتی و زیست محیطی ناشی از مصرف سموم شیمیایی و مقاومت بیمارگرها نسبت به آن‌ها، محققان را بر آن داشته تا جهت حفاظت از گیاهان به دنبال روش‌های جایگزین و بی‌ضرر برای طبیعت باشند. با توجه به این مهم و هزینه‌های بالای مبارزه شیمیایی و مشکلات زیست محیطی ناشی از آن (تغییر در کیفیت آب و خاک) استفاده از روش‌های کنترل زیستی نسبت به سایر روش‌های کنترل کننده بیماری، از اهمیت بالایی برخوردار است.

یکی از اهداف نیل به کشاورزی پایدار، تولید محصولات عاری از سموم و کودهای شیمیایی می‌باشد. با این حال در کشور ما تولید محصولات گلخانه‌ای با هدف افزایش عملکرد و با مصرف بیش از حد و نامتعادل کودهای شیمیایی انجام می‌گیرد. یکی از راه های کاهش مصرف این‌گونه کودها، استفاده از فرآورده های آلی و میکروبی می‌باشد.

به طور کلی محصولاتی شامل سلول‌های زنده از گونه‌های مختلف میکروارگانیسم‌ها که توانایی تبدیل عناصر غذایی از فرم غیر قابل جذب به فرم قابل جذب برای استفاده گیاهان را دارند، به عنوان کودهای بیولوژیکی محسوب می‌شوند. استفاده از باکتری‌های افزایش دهنده‌ی رشد و میکروارگانیزم‌های همزیست با ریشه‌ی گیاه به خصوص قارچ‌های ریشه در بالا بردن استراتژی‌های گیاه برای رشد می‌تواند مفید واقع شوند (Kohler *et al*., 2009). باکتری‌های افزایش دهنده‌ی رشد با کاتابولیسم‌های قابل تغییر، توانایی بالای کلونیزه کردن ریشه‌ها و تولید آنزیم‌ها و متابولیت‌هایی به مقاوم سازی گیاه در برابر تنش‌های زنده و غیر زنده کمک می‌کنند (Vessey, 2003). این باکتری‌ها می‌توانند روی رشد گیاه به طور غیر مستقیم با کاهش بیمارگرهای گیاهی و یا مستقیم از طریق آسان کردن جذب مواد غذایی از محیط، اثر روی تولید هورمون‌های گیاهی (مثل اکسین، سیتوکینین و یا ژیبرلین) و یا کاهش آنزیمی سطح اتیلن گیاه اثر بگذارند (Glick *et al*., 1997, Kohler *et al*., 2006).

در سال‌های اخیر تکنیک‌های مولکولی به نحوی مؤثر در مراحل تشخیص و مدیریت بیماری‌های گیاهی به کار گرفته شده‌اند. تکنولوژی Real-time PCR با نتایج سریع و قابل اعتماد بدون نیاز به اتیدیوم بروماید (ماده سرطان زا و مضر برای محیط زیست که استفاده آن در سایر روش‌های مولکولی رایج است)

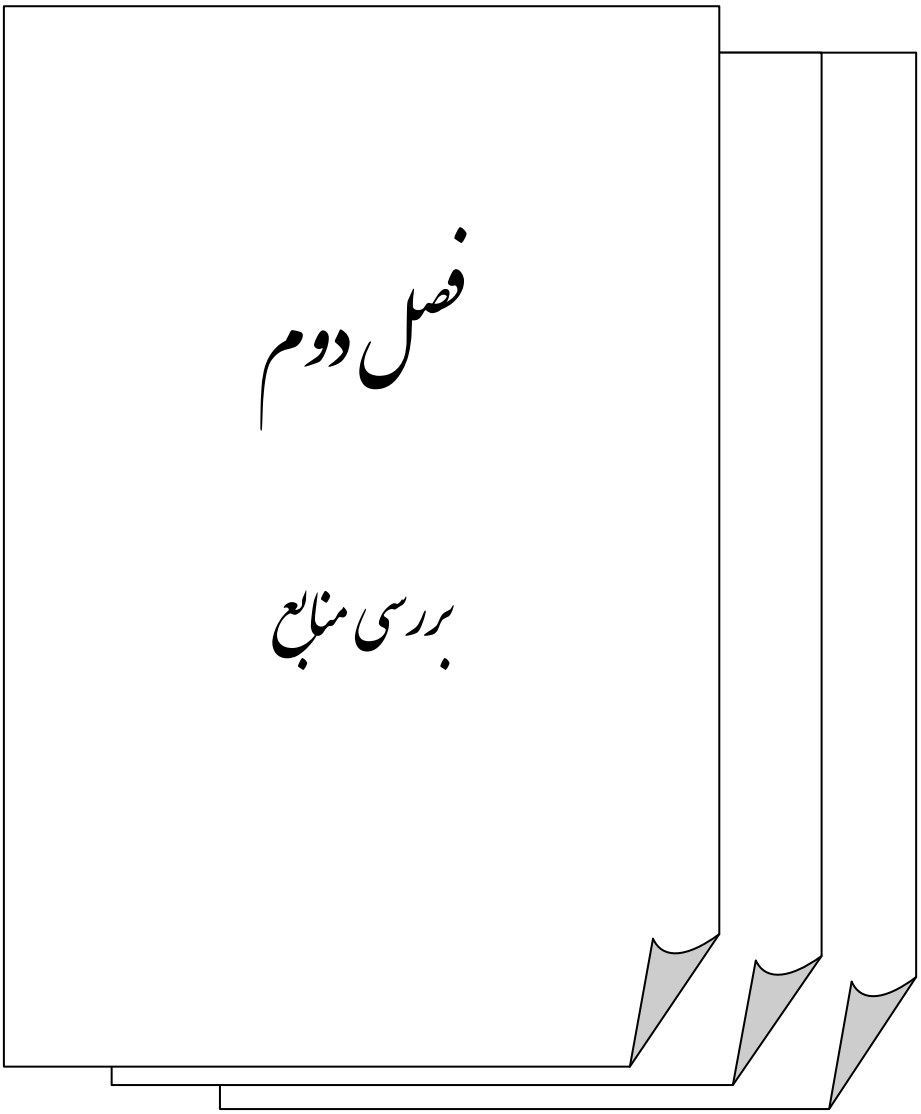
این امکان را می‌دهد که بتوان به طور همزمان DNA قارچ و گیاه میزبان را کمیت سنجی کرد (Gayoso *et al.*, 2007). در مقایسه با روش‌های معمولی، روش Real-time PCR زمان لازم برای آنالیزها را کاهش داده و به عنوان یک ابزار عالی برای تشخیص کمی عوامل بیماری‌زا و نیز ردیابی و توسعه بیماری و انسداد گیاه توسط این عوامل می‌تواند استفاده گردد. ارزیابی مقاومت از این طریق بسیار سریع‌تر و دقیق‌تر از مشاهده چشمی علایم می‌باشد و به کمک این تکنیک کولتیوارهای مقاوم می‌توانند معرفی شوند.

۲-۱- اهداف تحقیق

با توجه به اهمیت موضوع دو هدف برای انجام این تحقیق در نظر گرفته شد:

۱- تعیین میزان مقاومت خیار گلخانه‌ای کوددهی شده با کودهای بیولوژیک به بیماری بوته‌میری جالیز

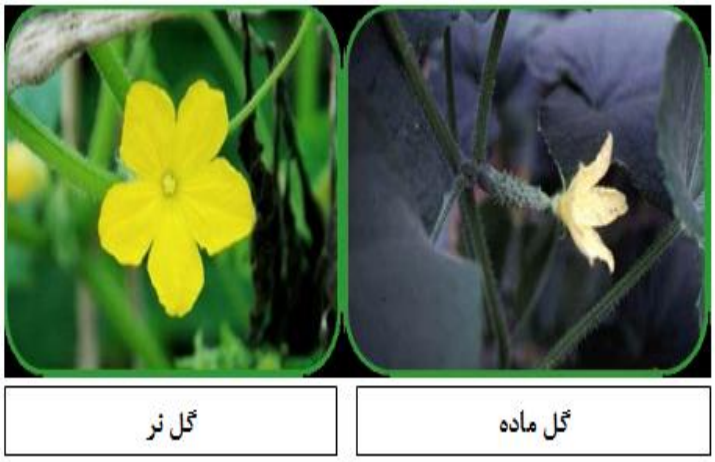
۲- تعیین میزان بیان ژن‌های مقاومت در بوته‌های خیار آلوده به بیماری بوته‌میری جالیز نسبت به گیاهان سالم


فصل دوم
بررسی منابع

۱-۲- خیار

۱-۱-۲- گیاه‌شناسی خیار:

خیار با نام علمی *Cucumis sativus* L. از خانواده کدوئیان (Cucurbitaceae) می‌باشد. واژه خیار ریشه فارسی داشته و از زبان فارسی به زبان عربی داخل شده است. این گیاه از هند، منطقه‌ای بین بنگال (Bay Bangal) و کوه‌های هیمالیا منشأ گرفته است (Peirce, 1987; Smith, 1997). خیار گیاهی خزنده است که دارای برگ‌هایی نسبتاً کوچک به رنگ سبز روشن می‌باشد، برگ‌ها دارای بریدگی‌های کم عمق بوده که آن را به پنج قسمت تقسیم می‌کنند و قسمت وسطی آن نوک تیز است. ساقه خیار رونده و کرک‌دار بوده در مقطع زاویه‌دار می‌باشد. در خیار گل‌های نر و ماده روی یک بوته قرار دارند به عبارت دیگر خیار گیاهی یک پایه است (شکل ۱-۲). گل‌ها می‌توانند چند نوع باشند: گل کامل که شامل اندام نر (پرچم) و ماده (مادگی) است که البته در خیار نادر است (Mills, 2001)، گل نر که فاقد مادگی است و گل ماده که فاقد پرچم است (Smith, 1997).



شکل ۱-۲- گل‌های نر و ماده در خیار

۲-۱-۲- شرایط اکولوژیکی پرورش خیار

خیار گیاهی یک ساله و گرمسیری است. این گیاه به آب و گرمای زیادی احتیاج دارد. خیار در تمام مراحل رشد نسبت به سرما و یخبندان حساس است. برای رشد و بالاترین میزان تولید محصول، بستر کشت باید زهکشی مناسب داشته باشد، با توجه به خواسته‌های گرمائی خیار نیازهای آبی خیار نیز بسیار زیاد می‌باشد خاک مورد استفاده باید قدرت نگهداری آب را داشته باشد و همچنین از نفوذپذیری و قابلیت تهویه خوبی برخوردار باشد و خواسته‌های ریشه خیار را در این مورد برآورده سازد. خاک‌های سنگین با زه‌کشی ضعیف برای تولید خیار مناسب نیستند زیرا ریشه‌های این گیاه به شرایط کمبود اکسیژن بسیار حساس می-باشند (Peirce, 1987). خاک‌های لومی- شنی با زه‌کش مناسب و pH بین ۶/۸- ۶ بهترین گزینه برای کشت خیار می‌باشد (Peirce, 1987; Marr, 1995). بهترین دما برای جوانه‌زنی بذرها ۲۷-۲۹°C و حداکثر رشد رویشی بوته‌های خیار در دمای ۲۳-۳۰°C صورت می‌گیرد (Wittwer and Honma, 1979; Marr, 1995). نیاز آبی بوته‌های خیار بسته به نوع خاک، دمای محیط و شدت تابش متفاوت است. آب آبیاری نباید سرد باشد زیرا می‌تواند باعث کاهش رشد و در نتیجه کاهش محصول گردد (Wittwer and Honma, 1979).

۲-۱-۳- اهمیت اقتصادی خیار در ایران و جهان

طبق آمار فائو در سال ۲۰۱۱ سطح زیر کشت جهانی خیار، ۲۴۸۸۶۰۰ هکتار با عملکرد متوسط ۱۶/۷ تن در هکتار و تولید ۴۱۷۴۳۸۴۰ تن می‌باشد که بالاترین تولید متعلق به کشور چین با ۲۶۵۵۹۶۰۰ تن (۶۳/۵ درصد) بوده که از سطحی معادل ۱۵۵۳۱۰۰ هکتار به‌دست می‌آید. متوسط عملکرد این کشور ۱۷/۱ تن می‌باشد. ایران با تولید سالانه بیش از دو میلیون تن خیار پس از چین و ترکیه در رتبه سوم تولید این محصول در جهان قرار دارد. در ایران حدود ۴ هزار هکتار برابر با ۲/۵۳ درصد از زمین‌های محصولات زراعی کشور در سال زراعی ۸۸-۱۳۸۷، به کشت انواع مختلف محصولات جالیزی اختصاص داشته است. در بین محصولات جالیزی خیار سطحی معادل با ۲۶/۳۸ درصد این زمین‌ها را به خود اختصاص داده است.

استان‌های کرمان، خراسان‌رضوی، خوزستان، فارس و سیستان و بلوچستان بیش از نیمی از سطح و تولید محصولات جالیزی را دارا می‌باشند.

میزان تولید خیار در ایران ۱۶۰۳۷۳۷ تن در سطحی معادل با ۸۲۸۹۶ هکتار می‌باشد. به‌عبارت دیگر عملکرد تولید این محصول در کشور ۱۲۴۲۹/۷۹ کیلوگرم در کشت آبی و ۷۵۶۸/۰۷ کیلوگرم در کشت دیم می‌باشد. در استان کرمان از مجموع ۲۰۳۳۷ هکتار زمینی که زیر کشت خیار می‌باشند، ۴۵۴۹۲۳ تن محصول برداشت می‌شود (متوسط عملکرد در کرمان ۱۷۸۶۳/۲ کیلوگرم و در جنوب این استان ۲۲۵۲۰ کیلوگرم در هکتار است). متوسط عملکرد خیار در ایران ۲۲ تن و بیشترین عملکرد مربوط به استان چهارمحال‌وبختیاری به میزان ۳۸/۷۱ تن می‌باشد. استان‌های مهم تولیدکننده خیار، کرمان (منطقه جیرفت و کهنوج)، لرستان، خوزستان و ایلام می‌باشند. منطقه جیرفت و کهنوج ۲۶ درصد از تولید کشور را در اختیار دارند (آمارنامه کشاورزی، ۱۳۸۸).

۲-۲- بیماری بوته‌میری جالیز

بوته‌میری گیاهان جالیزی از دیر زمان در ایران به خصوص در اصفهان و سایر مناطقی که کشت این گیاهان بیشتر معمول می‌باشد، شایع بوده است. این بیماری اولین بار در ایران سال ۱۳۲۳ توسط قوام الدین شریف در اصفهان روی خربزه دیده شد که عملاً از خیلی قبل از آن هم وجود داشته است (اعتباریان، ۱۳۸۱). در سال ۱۳۵۵ با بررسی‌های بیشتر توسط ارشاد عامل آن گونه *Pythium ultimum* Trow Teran معرفی شد. همچنین دو سال بعد گونه *P. aphanidermatum* Fitzp - Maharlu به عنوان عامل این بیماری در ایران معرفی شد (ارشاد، ۱۳۷۴).

برای اولین بار در سال ۱۹۶۸ گونه *Phytophthora melonis* از گیاهان خیار بیمار در ژاپن جدا گردید که علاوه بر خیار روی هندوانه و کدو تنبل نیز بیماری‌زا بود. مشخص شد که میزبان‌های *P. melonis* به تیره کدوییان محدود می‌باشد (Katsura, 1986). گفته شده است که عامل‌های اصلی بوته-میری خیار را *Pythium aphanidermatum*، *Pythium irregulare* و *Pythium sp.* می‌باشد که از این بین *P. aphanidermatum* بیشترین اهمیت را دارد (Favrin *et al.*, 1987). در خاورمیانه عامل

بوته‌میری کدوئیان *Phythophtora drechsleri* شناسایی شد، اما در چین و تایوان این بیمارگر به عنوان *Phythophtora melonis* گزارش گردید (Ho, 1986). سه گونه‌ی *P. aphanidermatum*، *P. ultimum* و *P. irregular* با فراوانی ۹/۹، ۸/۳ و ۴/۵ درصد از کل نمونه‌های جمع‌آوری شده از گلخانه-های خیار در جیرفت گزارش شده‌اند (Zamanizadeh *et al*., 2010).

بیمارگرهای قارچی دیگر مانند *Rhizoctonia sp*.، *Fusarium sp*. و *Macrophomina phaseolina* نیز سبب بوته‌میری خیار در مزرعه و گلخانه‌ها می‌گردند (Lida *et al*., 1983; Abbasi *et al*., 2004; Roberts *et al*., 2005; Vinodhini and Narayanan, 2008; Chehri *et al*., 2010).

۱-۲-۲- بیماری بوته‌میری خیار ناشی از شبه قارچ *Pythium*

گونه‌های پیتیوم طیف وسیعی از گیاهان را مورد حمله قرار می‌دهند. بیشتر گونه‌ها باعث پوسیدگی‌های ریشه، مرگ گیاهچه‌ها، پوسیدگی طوقه، غده و پیاز می‌شوند. قادر به پارازیته کردن بذر، گیاهچه و سایر مراحل رشدی طیف وسیعی از گیاهان هستند (Robertson, 1980). که باعث ایجاد بوته‌میری می‌شود. اما بیشترین خسارت زمانی است که شبه‌قارچ به بذرها و ریشه‌های گیاهچه قبل و بعد از جوانه‌زنی حمله می‌کند (Agrios, 2005).

۲-۲-۲- جایگاه جنس *Pythium*

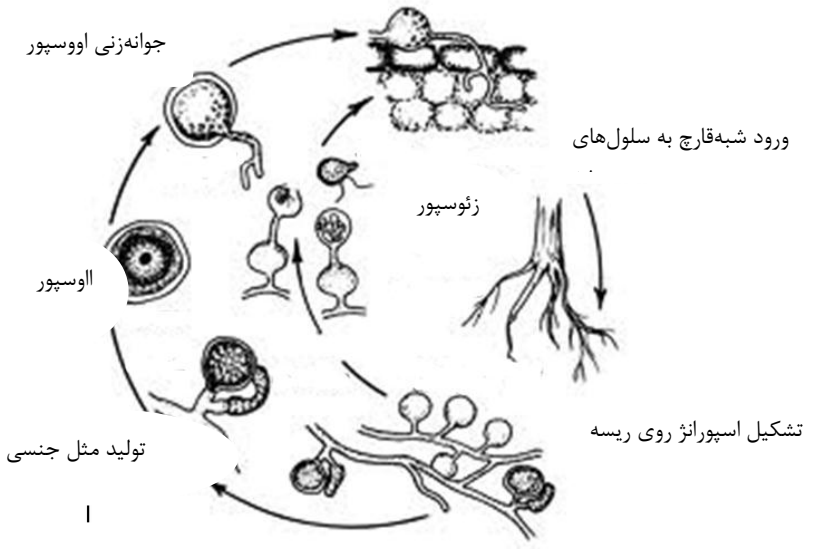
جنس پیتیوم متعلق به خانواده Pythiaceae، راسته Pythiales، رده Oomycetes، شاخه Oomycota و سلسله Chromista می‌باشد (Krik *et al*., 2008). این جنس در سراسر جهان گسترش دارد و دارای بیش از ۱۵۰ گونه می‌باشد (Krik *et al*., 2008). در حال حاضر جنس *Pythium* به عنوان جنس تیپ خانواده‌ی Pythiaceae Schroter شناخته می‌شود (Waterhouse; 1973 Plaats – Niterink, 1981). این جنس اولین بار به وسیله‌ی Pringsheim در سال ۱۸۵۸ معرفی شد. Pringsheim این جنس را در خانواده‌ی Saprolegniaceae قرار داد اما de Bary در سال ۱۸۸۱ جایگاه آن را به خانواده‌ی Peronosporaceae تغییر داد (Waterhouse, 1973; Plaats –Niterink, 1981).

در سال ۱۸۹۷ Schroter خانواده‌ی Pythiaceae را برای این جنس تعریف کرد. مونوگراف این جنس توسط Butler (۱۹۰۷)، Mathews (۱۹۳۱)، Sideris (۱۹۳۱، ۱۹۳۲)، Middelton (۱۹۴۳) و Frezzi (۱۹۵۶) به تألیف در آمده است. Plaat- Niterink (۱۹۸۱) آخرین مونوگراف جنس *Pythium* را به تحریر درآورد. او ۸۵ گونه را توصیف کرد که از این بین ۷ گونه هتروتالیک بودند.

۳-۲-۲- نحوه خسارت و بقاء گونه‌های *Pythium*

گونه‌های پیتیومی می‌توانند هم به صورت ساپروفیتی و هم به صورت پارازیتی زندگی کنند. در پیتیوم فرایند آلودگی (فرایند ایجاد رابطه‌ی پارازیتیسم پاتوژن با میزبان) همراه با تشکیل کیست توسط زئوسپور در سطح ریشه است، زئوسپور تاژک خود را از دست داده، یک دیواره ضخیم پیدا می‌کند و به سطح ریشه چسبیده، جوانه زده و لوله تندش رشد می‌کند که به سطح ریشه نفوذ می‌کند. به‌طور کلی نفوذ شبه‌قارچ اغلب از ناحیه نوک ریشه، ناحیه طویل شونده و ریشه‌های مویین جوان صورت می‌گیرد. این بیمارگر علاوه بر نفوذ مستقیم به کمک میخ رخنه و فعالیت‌های آنزیمی، قادر به ورود از طریق محل زخم‌ها مثل محل خروج ریشه‌های جانبی است. پس از ورود به اندازه کافی پیشروی نموده تا شرایط برای تشکیل کلنی در نزدیک ریشه، فراهم آید (Plaats-Niterink, 1981). شبه‌قارچ پیتیوم قادر است به صورت میسیلیوم در خاک یا گیاهان باقی‌مانده از کشت قبلی و یا زئوسپور همراه با آب آبیاری به گلخانه‌ها وارد شود. پیتیوم با تشکیل اسپورانژیوم که از هر کدام صدها زئوسپور آزاد می‌شود سبب تشدید آلودگی می‌گردد. زئوسپورها به سطح ریشه چسبیده، جوانه می‌زنند و در نهایت با کلونیزه کردن بافت گیاه سبب ایجاد علائم می‌گردند (شکل ۲-۲).

آنزیم‌های پکتولیتیکی ترشح شده توسط شبه‌قارچ، تیغه‌های میانی سلول‌های مجاور را حل می‌نماید و باعث متلاشی شدن بافت می‌شود. سپس شبه‌قارچ در بین یا وسط سلول‌ها رشد کرده و باعث تخریب بیشتر بافت‌ها می‌گردد.



شکل ۲-۲- چرخه زندگی *Pythium spp.*

در نقاطی که شبه‌قارچ وارد سلول‌های گیاهی می‌شود، قطر هیف آن به نصف حالت طبیعی تقلیل می-یابد. آنزیم‌های پروتئولیتیک، پروتوپلاسم سلول‌ها را تجزیه می‌کند. مدت کوتاهی پس از نفوذ هیف پیتیوم، پروتوپلاست سلول‌های میزبان گرانوله و قهوه‌ای شده و اندامک‌های آن شدیداً آسیب می‌بینند. این تغییرات در سلول‌هایی که جلوتر از محل نفوذ پیتیوم قرار دارند و نیز سلول‌های مجاور سلول‌های آلوده نیز شناسایی شده است. این امر ثابت می‌کند که این شبه‌قارچ مواد سمی قابل نفوذی را به‌طور فعال تولید می‌کند که سلول به سلول منتقل می‌شوند (Raftoyannis and Dick, 2006).

آنزیم‌های سلولیتیک[۱] و پکتولیتیک[۲] در چندین گونه‌ی پیتیومی مشخص شده‌اند. از تعدادی از گونه‌های پیتیومی فیتوتوکسین‌ها نیز جداسازی شده‌اند که می‌تواند در توانایی بیماری‌زایی آن‌ها نقش اساسی داشته باشد (Raftoyannis and Dick, 2006).

[۱] cellulytic
[۲] pectolytic