





پایان نامه‌ی کارشناسی ارشد رشته‌ی گیاه‌پزشکی گرایش بیماری‌شناسی گیاهی

بررسی کارآیی عصاره پنج نوع گیاه برای ایجاد مقاومت اکتسابی در  
برابر بیماری سفیدک پودری خیار

استاد راهنما:

دکتر عبدالحسین جمالی زواره

استاد مشاور:

دکتر علی اکبر فدایی تهرانی

پژوهشگر:

اعظم سیروس نجف‌آبادی

اسفند ماه ۱۳۹۰



پایان نامه خانم سیروس نجف‌آبادی جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد رشته گیاه‌پزشکی گرایش بیماری‌شناسی گیاهی با عنوان «بررسی کارآیی عصاره پنج نوع گیاه برای ایجاد مقاومت اکتسابی در برابر بیماری سفیدک پودری خیار» در تاریخ ۱۳۹۰/۱۲/۰۹ با حضور هیئت داوران زیر بررسی و با نمره ۱۹/۵۰ مورد تصویب نهایی قرار گرفت.

۱. استاد راهنمای پایان نامه

دکتر عبدالحسین جمالی زواره (استادیار)

۲. استاد مشاور پایان نامه

دکتر علی اکبر فدایی تهرانی (استادیار)

۳. استادان داور پایان نامه

دکتر مجید اولیاء (استادیار)

دکتر عبدالرحمن محمدخانی (استادیار)

دکتر سید حسن طباطبائی  
معاون پژوهشی و تحصیلات تکمیلی  
دانشکده کشاورزی

کلیه حقوق مادی مترتب بر نتایج مطالعات، ابتكارات  
و نوآوری‌های ناشی از تحقیق موضوع این پایان نامه  
متعلق به دانشگاه شهر کرد است.

## مشکر و قدردانی

ای د تو عیان هاونهان هاهمیچ

پندار و یقین ها و گمان ها همیچ

از ذات تو مطلع اشان توان داد

کانجاكه تویی بودنشان ها همیچ

سپاس بی کران خدای راه، آن نخستین بی پیشین و آن واپسین بی پسین، سپاسی جاودا ز که انجامش نباشد، به شماره دنیا نماید، به پیان نرسد و به زمان در نگنج، سپاسی که راهی باشد بر بستش، پناهگاهی از عذابش، آسایشی از خشم، یاوری بر اطاعتی، مانع از نافرمانیش، و مددی بر ادای حق و تکلیفیش. خداوندی که به حکمت ناب ازی و قدرت خاص لمیزی خویش انسان را کرامتی تجلید تا از سرچشم سرشار فیض الی جام کوارای علم و دانش بتوش و بستره بخود خویش راعرصه رشد و تعالی نماید.

اینک که به یاری خداوند متعال، این پژوهش به پیان رسید بر خود لازم می دانم از زحات تامی کسانی که مراد این راه یاری نمودند مشکر کنم.

نخست از محبت های خالصانه و حیات های بی درین پرور و مادر غیرزم که همواره تکیه گاهی امن و استوار برایم بوده اند و تثویت های آن ها همواره محرك در پویایی و اعلایم بود، صمیمان مشکر و قدردانی می نمایم و از خواهر غیرزم به پاس محبت، بهمی و همراهی صمیمان مشکر می نمایم.

مراتب تقدیر و مشکر خود را از جانب آقای دکتر عبدالحسین جمالی زواره استاد راهنمای بزرگوارم که از محضر ایشان در دوران دانشجویی و راهنمایی های ارزنده شان در تامی مرادی اجرای پیان نامه ببردم، ارزاز می نمایم. همچنین از زحات بی درین جانب آقای دکتر علی اکبر فدایی تسلی که همواره از مشاوره ایشان ببره مند بودم، قدردانی می نمایم.

از اساتید محترم داور جانب آقای دکتر محمد اویاء و جانب آقای دکتر عبدالرحمن محمد خانی که زحمت مطالعه و تصحیح این پیان نامه را متحمل شدند و همچنین از جانب آقای دکتر خدا مباباشی امامی ناینده محترم تحصیلات تکمیلی نهایت تقدیر و مشکر را در ارم بمناسبت و لطف جانب آقای دکتر شریفی (میرکروه زیست شناسی) و جانب آقای دکتر علی تدین کمال مشکر را در ارم.

از جانب آقای دکتر نعمتی که هر چند انتخاب شکرده دیگر از این را نداشت، ولی همواره مراسمنده بزرگواری های خود نمودند، سپاسگزارم.

از همکاری کارشناس محترم آزمایشگاه یاری شناسی گیایی جانب آقای مهندس کبیری و کارشناسان آزمایشگاه های حشره شناسی، باغبانی، علوم دامی و حاکشانی مشکر می نمایم.

د پیان قدرشناس دوستان و همراهانم خانم هایده فاطمه هاشمی، طاهره سادات عسکریان، هانیمه رأبی، المسیرا هادی، سعیدا بن علی، مریم شیرازی، مسارتی، اکرم عبدالهی، فاطمه شبانی، مریم پیراوش، مریم پور عزیزی و آقای فرید ثابت می باشم، که نقش گفتار و نقائیشان همواره بر لوح خسیرم خواهد ماند.

امید آنکه این قدرشناسی اندک میکشی باشد در قالب یاری و همکاری صمیمان بهم این بزرگواران و غیران.

## تقدیم به

پدر و مادر عزیز و محترم باشند

دو اقیانوس بی کران هم و محبت، صفا و صمیمت، گذشت و ایثار

آنان که رسم حیات را بر لوح وجود مک نمودند و شوق تلاش را در عرصه زندگی ام آفریدند، آنان که به من آموختند نیک ییندیشم و پاک زندگی کنم، آنان که کیمیایی همراهی پایانشان مامن من است، آنان که نقطه امید و تکلیف کاه زندگی ام هستند، آنان که بر هر چیزی چهره شان و بر هر تار سپید مویشان هزاران دین دارم، آنان که کوشیدند تا بیاسایم، رنج کشیدند تا بیاراهم، صبر و برداشیان تکلیف کاهم، وجود و ایماشان افتخارم و تداوم سایه شان آرزویم.

## و تقدیم به

گلستان خواهرم

که زمزمهه زلال محبتش، همیشه در کوش جانم طنین انداز بوده است.

## چکیده

استفاده از ترکیبات طبیعی گیاهان برای کنترل بیماری‌ها، بدليل مزایایی که بر ترکیبات شیمیایی سنتری دارند، مورد توجه و تحقیق قرار گرفته است. مطالعه مکانیسم‌های کنترل بیماری توسط عصاره‌های گیاهی نشان داده است که ترکیبات بیولوژیکی فعال موجود در آنها ممکن است، تأثیر مستقیم ضد میکروبی داشته باشند یا بعنوان محرك عمل کرده و با القاء مقاومت در گیاه میزبان منجر به کاهش توسعه بیماری شوند. در این پژوهش تأثیر پنج عصاره گیاهی در کنترل بیماری سفیدک پودری خیار و امکان القاء مقاومت در گیاه در برابر این بیماری بررسی شده است. از بین پنج عصاره آزمایش شده در گلخانه، عصاره استونی ۵٪ فلفل و چغندر و عصاره متانولی ۵٪ اسفناج و شلغم، در مقایسه با عصاره گیاه *Reynoutria sachalinensis* که کاربرد تجاری در کنترل بیماری دارد، تأثیر نسبی در پیشگیری از بیماری سفیدک پودری خیار داشتند. از طرف دیگر، عصاره متانولی ۵٪ شلغم، مؤثرترین عصاره در درمان بیماری بود و به اندازه قارچ‌کش پنکونازول در درمان بیماری مؤثر بود. همچنین آزمایش نشان داد که ۲۴ ساعت قبل از تلقیح، بهترین زمان کاربرد عصاره‌های اسفناج و *R. sachalinensis* برای کنترل بیماری است و کاربرد عصاره‌های فلفل و شلغم، ۲۴ ساعت پس از تلقیح در کنترل بیماری مؤثرتر است. لذا درجه تأثیر عصاره‌ها، تحت تأثیر زمان کاربرد، فاکتورهای محیطی، غلظت و نوع حلال قرار می‌گیرد. از نظر کنترل سیستمیک بیماری، عصاره چغندر تأثیر نسبی داشت و عصاره‌های اسفناج و *R. sachalinensis* مؤثر نبودند. بعلاوه، از نظر ممانعت از تندش اسپور قارچ بیمارگ در سطح برگ تلقیح شده، عصاره اسفناج کمترین تأثیر را داشت و از نظر آماری در گروه شاهد قرار گرفت. در بوته خیار تیمار شده با عصاره اسفناج، با یا بدون تلقیح بیمارگ، فعالیت ویژه آنزیم  $\beta$ - $\beta$ -گلوکاناز بصورت موضعی افزایش یافت و در بوته تیمار شده با عصاره چغندر، با یا بدون تلقیح بیمارگ، فعالیت این آنزیم بصورت سیستمیک افزایش یافت. با توجه به مجموع نتایج، بنظر می‌رسد که کنترل بیماری توسط عصاره برگ اسفناج از طریق القاء مقاومت در گیاه باشد و احتمالاً افزایش فعالیت آنزیم  $\beta$ - $\beta$ -گلوکاناز در این مقاومت نقش دارد. از طرف دیگر، گرچه بخشی از کنترل بیماری توسط عصاره چغندر می‌تواند ناشی از خاصیت قارچ‌کشی باشد، اما با توجه به کنترل بیماری در برگ دوم که دور از تماس مستقیم عصاره است، احتمالاً نقش القاء مقاومت گیاه در کنترل بیماری نیز قابل توجه است، و همراه بودن کنترل بیماری در برگ دوم با افزایش فعالیت آنزیم  $\beta$ - $\beta$ -گلوکاناز در این برگ، احتمال دخالت این آنزیم در القاء مقاومت به بیماری را تقویت می‌کند.

**واژه‌های کلیدی:** *Podosphaera fusca*, القاء مقاومت، عصاره‌های گیاهی، قارچ‌کش پنکونازول، عصاره *Reynoutria sachalinensis* آنزیم  $\beta$ - $\beta$ -گلوکاناز

فهرست مطالب

عنوان	صفحة
	فصل اول - مقدمه
۷	۱-۱- کلیات
۷	۲-۱- اهداف اصلی طرح
۹	۳-۱- ساختار پایان نامه
۹	فصل دوم - بررسی منابع
۱۰	۱-۲- تاریخچه خیار
۱۰	۲-۱- بررسی وضعیت تولید در جهان
۱۱	۲-۲- مشخصات گیاهشناسی خیار
۱۲	۱-۲- شرایط آب و هوایی، خاک و pH مناسب
۱۲	۲-۱- بیماری سفیدک پودری (سطحی) خیار
۱۲	۲-۲- تاریخچه، انتشار و اهمیت
۱۲	۲-۳- نشانه‌های بیماری
۱۳	۲-۴- عامل بیماری
۱۴	۲-۵- زیست‌شناسی
۱۵	۲-۶- کنترل بیماری
۱۷	۳-۱- القاء مقاومت در خیار در برابر بیماری‌ها
۱۷	۳-۲- مفهوم مقاومت القایی
۱۸	۳-۳- شواهد بیولوژیکی برای القاء مقاومت در خیار
۲۰	۳-۴- القاء مقاومت در برابر بیماری سفیدک پودری خیار
۲۱	۴-۱- مکانیزم‌های مقاومت خیار در برابر بیماری‌ها
۲۳	۴-۲- نقش آنزیم $\beta$ -۱و۳- گلوکاتانز در مقاومت
۲۴	۴-۳- اثر عصاره‌های طبیعی بر میزان مولکول‌های بیوشیمیایی و آنزیم‌های مرتبط با دفاع گیاه
۲۴	۵-۱- سابقه القاء مقاومت در گیاهان در برابر بیماری‌ها توسط عصاره‌های گیاهی
۲۶	۵-۲- کاربرد عصاره‌های گیاهی برای القاء مقاومت در برابر سفیدک پودری
۲۸	۶-۱- معرفی گیاهان و قارچکش مورد استفاده
۲۸	۶-۲- گیاه اسفناج
۲۸	۶-۳- گیاه چغندر
۲۹	۶-۴- گیاه فلفل سبز
۲۹	۶-۵- گیاه شلغم
۲۹	۶-۶- گیاه ترب
۳۰	۶-۷- گیاه <i>Reynoutria sachalinensis</i>
۳۰	۶-۸- قارچکش پنکونازول
۳۱	فصل سوم - مواد و روش‌ها
۳۱	۱-۱- تهیه ترکیبات مورد استفاده
۳۱	۱-۲- استخراج عصاره‌های گیاهی



صفحه	عنوان
۴۳	۴-۳-۴- عصاره برگ فلفل
۴۳	۴-۳-۵- عصاره برگ ترب
۴۶	۴-۳-۶- بحث
۵۱	۴- بررسی خواص قارچ‌کشی عصاره‌های گیاهی
۵۱	۴-۱- بررسی اثر عصاره‌های گیاهی بر میزان تندش اسپور بیمارگر
۵۲	۴-۵- تغییرات میزان فعالیت آنزیم $\beta$ -۱ و ۳- گلوکاناز بوته خیار
۵۲	۴-۵-۱- وضعیت فعالیت آنزیم $\beta$ -۱ و ۳- گلوکاناز در گیاه سالم
۵۳	۴-۵-۲- وضعیت فعالیت آنزیم $\beta$ -۱ و ۳- گلوکاناز در بوته تلقیح شده با بیمارگر
۵۳	۴-۳-۵- بحث
۵۶	۴-۵-۴- وضعیت فعالیت آنزیم $\beta$ -۱ و ۳- گلوکاناز در گیاه پس از کاربرد عصاره برگ اسفناج
۵۸	۴-۵-۱- بحث
۶۲	۴-۵-۵- وضعیت فعالیت آنزیم $\beta$ -۱ و ۳- گلوکاناز در گیاه پس از کاربرد عصاره برگ چغندر
۶۴	۴-۵-۱- بحث
۶۸	۴-۶- نتیجه‌گیری نهایی
۶۹	۴-۷- پیشنهادات
۷۰	منابع

## فهرست جدول‌ها

عنوان	صفحة
جدول ۱-۲: مواد غذایی موجود در خیار (گرم در هر ۱۰۰ گرم قابل مصرف)	۱۱
جدول ۲-۲ : املاح معدنی و ویتامین های موجود در خیار (میلی گرم در هر ۱۰۰ گرم قابل مصرف)	۱۱
جدول ۴-۱- تجزیه واریانس میزان آلودگی برگ خیار به سفیدک پودری در غلظتهاي مختلف عصاره‌های گياهي متفاوت در دو زمان	۴۴
جدول ۴-۲- نتایج بررسی زمان مؤثر کاربرد هر عصاره در کنترل سفیدک پودری خیار	۴۴
جدول ۴-۳- نتایج بررسی مؤثرترین حلال هر عصاره در کنترل سفیدک پودری خیار	۴۵
جدول ۴-۴- نتایج بررسی مؤثرترین غلظت هر عصاره در کنترل سفیدک پودری خیار	۴۵
جدول ۴-۵- نتایج بررسی سیستمیک بودن اثر هر عصاره در کنترل بیماری سفیدک پودری خیار	۴۵
جدول ۴-۶- مقایسه میانگین اثر متقابل حلال × غلظت	۴۶
جدول ۴-۷- مقایسه میانگین میزان تأثیر پنج عصاره در کنترل سفیدک پودری خیار به تفکیک زمان کاربرد	۵۰
جدول ۴-۸- روند تغییر مقدار کل پروتئین محلول و میزان فعالیت آنزیم $\beta$ -۱ و ۳ - گلوکاتاز در طول زمان در برگ خیار سالم	۵۴
جدول ۴-۹- روند تغییر مقدار کل پروتئین محلول و میزان فعالیت آنزیم $\beta$ -۱ و ۳ - گلوکاتاز در طول زمان در برگ خیار تلقیح شده با عامل سفیدک پودری	۵۴
جدول ۴-۱۰- تغییرات مقدار کل پروتئین محلول برگ اول و دوم بوته تیمار شده با عصاره اسفناج در مقایسه با شاهد در فواصل زمانی مختلف پس از کاربرد عصاره	۵۷
جدول ۴-۱۱- تغییرات مقدار کل پروتئین محلول برگ اول و دوم بوته تیمار شده با عصاره اسفناج و تلقیح شده با بیمارگر در مقایسه با شاهد بیمار در فواصل زمانی مختلف پس از تلقیح	۵۷
جدول ۴-۱۲- مقایسه مقدار کل پروتئین محلول برگ اول بوته‌های سالم و تلقیح شده با بیمارگر که با عصاره اسفناج تیمار شده‌اند	۵۷
جدول ۴-۱۳- تغییرات فعالیت ویژه $\beta$ -۱ و ۳- گلوکاتاز برگ اول و دوم بوته تیمار شده با عصاره اسفناج در مقایسه با شاهد در فواصل زمانی مختلف پس از کاربرد عصاره	۵۸
جدول ۴-۱۴- تغییرات فعالیت ویژه $\beta$ -۱ و ۳- گلوکاتاز برگ اول و دوم بوته تیمار شده با عصاره اسفناج و تلقیح شده با بیمارگر در مقایسه با شاهد بیمار در فواصل زمانی مختلف پس از تلقیح	۵۸
جدول ۴-۱۵- مقایسه مقدار فعالیت ویژه $\beta$ -۱ و ۳- گلوکاتاز برگ اول بوته‌های سالم و تلقیح شده با بیمارگر که با عصاره اسفناج تیمار شده‌اند	۵۸
جدول ۴-۱۶- تغییرات مقدار کل پروتئین محلول برگ اول و دوم بوته تیمار شده با عصاره چغندر در مقایسه با شاهد در فواصل زمانی مختلف پس از کاربرد عصاره	۶۳
جدول ۴-۱۷- تغییرات مقدار کل پروتئین محلول برگ اول و دوم بوته تیمار شده با عصاره چغندر و تلقیح شده با بیمارگر در مقایسه با شاهد بیمار در فواصل زمانی مختلف پس از تلقیح	۶۳
جدول ۴-۱۸- مقایسه مقدار کل پروتئین محلول برگ اول بوته‌های سالم و تلقیح شده با بیمارگر که با عصاره چغندر تیمار شده‌اند	۶۳
جدول ۴-۱۹- تغییرات فعالیت ویژه $\beta$ -۱ و ۳- گلوکاتاز برگ اول و دوم بوته تیمار شده با عصاره چغندر در مقایسه با شاهد در فواصل زمانی مختلف پس از کاربرد عصاره	۶۴

صفحه	عنوان
٦٤	جدول ٤-٢٠- تغییرات فعالیت ویژه $\beta$ - ۳ و ۱- گلوکاناز برگ اول و دوم بوته تیمار شده با عصاره چغندر و تلقیح شده با بیمارگر در مقایسه با شاهد بیمار در فواصل زمانی مختلف پس از تلقیح
٦٤	جدول ٤-٢١- مقایسه فعالیت ویژه $\beta$ - ۳ و ۱- گلوکاناز برگ اول بوته‌های سالم و تلقیح شده با بیمارگر که با عصاره چغندر تیمار شده‌اند

## فهرست شکل‌ها

عنوان	صفحه
شکل ۱-۴- اندام‌های تولیدمثُل غیرجنسی قارچ <i>P. fusca</i> : (۱) کنیدی‌ها (۲) کنیدیوفور و زنجیره کنیدی‌ها	۴۱
شکل ۲-۴- فرآیند توسعه قارچ <i>P. fusca</i> در سطح برگ خیار: ۱ و ۲- تندش اسپور و ظهور ریسه تندشی، ۳- توسعه ریسه‌های قارچ، ۴- وضعیت کنیدیوفور و زنجیره کنیدی	۴۱
شکل ۳-۴- مقایسه میزان آلودگی برگ‌های اول (تیمار شده) و برگ‌های دوم (تیمار نشده) در تیمار عصاره‌های مختلف	۵۰
شکل ۴-۴- میزان کاهش بیماری توسط ترکیبات مختلف به تفکیک زمان کاربرد	۵۱
شکل ۵-۴- میزان تندش اسپورهای قارچ <i>P. fusca</i> پس از تلقیح در سطح برگ خیار تیمار شده با عصاره‌های مختلف	۵۲
شکل ۶-۴- مقایسه تغییرات مقدار کل پروتئین محلول در بوته سالم و تلقیح شده	۵۵
شکل ۷-۴ - مقایسه تغییرات فعالیت ویژه $\beta$ - ۱ و ۳- گلوکاناز در بوته سالم و تلقیح شده	۵۵
شکل ۸-۴- نمودار تغییرات مقدار کل پروتئین محلول عصاره برگ خیار پس از کاربرد عصاره اسفناج روی برگ اول	۶۰
شکل ۹-۴- نمودار تغییرات مقدار کل پروتئین محلول عصاره برگ خیار پس از کاربرد عصاره اسفناج روی برگ اول و تلقیح بیمارگر روی بوته	۶۰
شکل ۱۰-۴- نمودار تغییرات فعالیت ویژه $\beta$ - ۱ و ۳- گلوکاناز عصاره برگ خیار پس از کاربرد عصاره اسفناج روی برگ اول	۶۱
شکل ۱۱-۴- نمودار تغییرات فعالیت ویژه $\beta$ - ۱ و ۳- گلوکاناز عصاره برگ خیار پس از کاربرد عصاره اسفناج روی برگ اول و تلقیح بیمارگر روی بوته	۶۱
شکل ۱۲-۴- نمودار تغییرات مقدار کل پروتئین محلول عصاره برگ خیار پس از کاربرد عصاره چغندر روی برگ اول	۶۶
شکل ۱۳-۴- نمودار تغییرات مقدار کل پروتئین محلول عصاره برگ خیار پس از کاربرد عصاره چغندر روی برگ اول و تلقیح بیمارگر روی بوته	۶۶
شکل ۱۴-۴- نمودار تغییرات فعالیت ویژه $\beta$ - ۱ و ۳- گلوکاناز عصاره برگ خیار پس از کاربرد عصاره چغندر روی برگ اول	۶۷
شکل ۱۵-۴- نمودار تغییرات فعالیت ویژه $\beta$ - ۱ و ۳- گلوکاناز عصاره برگ خیار پس از کاربرد عصاره چغندر روی برگ اول و تلقیح بیمارگر روی بوته	۶۷

## فصل اول

### مقدمه

#### ۱- کلیات

خیار یکی از سبزیجاتی است که در تمام طول سال به عنوان یک مکمل غذایی مصرف می‌شود. میوه این گیاه به صورت تازه و یا خیارشور نیز مورد استفاده قرار می‌گیرد. در چین، هند، اندونزی، مالزی و بعضی کشورهای دیگر، گاهی قبل از خوردن آن را می‌پزند. میوه‌های خیار در تهیه‌ی نوعی ادویه‌کاری و چاشنی در هند استفاده می‌شوند. خیار هنوز هم در بعضی تولیدات آرایشی و بهداشتی شامل عطرها، لوسيون‌ها، صابون‌ها و شامپوها به کار می‌رود و پزشکان گیاهی، از ریشه، برگ و ساقه‌های خیار ترکیبات دارویی تهیه می‌کنند. از نظر اقتصادی، خیار چهارمین سبزی مهم بعد از گوجه فرنگی، کلم پیچ و پیاز محسوب می‌شود (روبینسون و دکر- والترز، ۱۹۹۷).

با توجه به سطح زیر کشت وسیع خیار در ایران، تنوع مکان‌های پرورش خیار (فضای آزاد یا در زیر انواع پوشش‌ها) و کشت تحت شرایط آب و هوایی گوناگون، این گیاه مورد حمله آفات و بیماری‌های زیادی قرار می‌گیرد که بیماری‌هایی همچون موزائیک خیار، سفیدک پودری، بوته میری و نماتد مولد گره ریشه از جمله بیماری‌های مهم آن محسوب می‌شوند.

سفیدک پودری یکی از بیماری‌های مهم گیاهان خانواده کدوئیان از جمله خیار است که معمولاً در نواحی گرم و خشک و کمباران شیوع دارد و در ایران نیز از دیر زمان در مناطق کشت گیاهان جالیزی وجود داشته است. عامل سفیدک پودری جالیز، عمدتاً قارچ *Podosphaera fusca* (Fr.) U. Braun & N. Shishkoff [syn. *Sphaerotheca fuliginea* (Schlecht. Ex. Fr.) Pollacci] می‌باشد و خسارت آن نسبت به سایر بیماری‌های جالیز در درجه اول اهمیت قرار دارد (بهداد، ۱۳۵۹).

raigترین شیوه برای کنترل این بیماری، استفاده از قارچکش‌ها است، اما کاربرد مکرر ترکیبات قارچکش برای انسان و محیط زیست اثرات جنبی نامطلوبی دارد و نیز منجر به توسعه مقاومت در جمعیت‌های پاتوژن می‌شود (مک گرات، ۱۹۹۶). لذا اخیراً استفاده از نمک‌های معدنی، روغن‌های معدنی و گیاهی، عصاره‌ها و

فرآوردهای گیاهی، عوامل بیولوژیکی و عوامل القاکننده مقاومت در میزبان، برای کنترل سفیدک پودری توسعه یافته است (لیو و همکاران، ۲۰۱۰).

القاء مقاومت به مفهوم فعال کردن مقاومت گیاهانی است که در حالت عادی حساس به بیماری هستند، بدون اینکه ساختار ژنتیکی گیاهان مذکور از طریق اصلاح نزاد یا مهندسی ژنتیک تغییر کند. ایده اصلی این است که ژن‌هایی برای مقاومت یا واکنش‌های دفاعی در گیاهان وجود دارد که بطور معمول بیان نمی‌شوند، مگر اینکه یک «القاکننده مقاومت» آنها را فعال کرده یا بیان آنها را افزایش دهد و یا اینکه تغییراتی در متابولیسم گیاه، اثرات این ژن‌ها را افزایش دهد (استپنر و شونبک، ۱۹۹۵). بنابراین در مقاومت القایی درجه بالایی از مقاومت گیاه در زمان کوتاهی ایجاد می‌شود، در صورتیکه روش‌های مرسوم اصلاح نباتات، نیاز به زمان طولانی دارد و معمولاً بر سایر خصوصیات مطلوب گیاه (مثل عملکرد و کیفیت) اثر منفی می‌گذارد (دعیف و همکاران، ۱۹۹۷).

برای القاء مقاومت در گیاهان از عوامل القاکننده مختلفی استفاده می‌شود که از جمله می‌توان کاربرد عوامل بیمارگر در مرحله غیرحساس گیاه، کاربرد عوامل بیمارگر ضعیف شده، کاربرد میکرووارگانیسم‌های غیربیمارگر و ساپروفیت‌ها یا متابولیت‌های آنها، کاربرد برخی ترکیبات شیمیایی و عصاره‌ها و فرآوردهای گیاهی، قارچی و جلبکی را ذکر کرد.

گیاهان منبع بزرگی از انواع مولکول‌های فعال بیولوژیکی به شمار می‌روند. استفاده از عصاره‌های گیاهی در شکل خام یا خالص شده بعلت دارابودن خصوصیات مفید (عدم ایجاد آلودگی زیست محیطی، تجزیه آسان، سمیت کم برای انسان و حیوان، گیاه‌سوزی جزئی و احتمال کمتر ایجاد استرین‌های مقاوم بوسیله پاتوژن در برابر آن‌ها) می‌تواند سهم مهمی در مدیریت بیماری‌های گیاهی از جمله سفیدک پودری کدوئیان داشته باشد (لیو و همکاران، ۲۰۱۰).

مطالعات انجام شده روی مکانیزم‌های کنترل بیماری بوسیله عصاره‌ها یا فرآوردهای گیاهی نشان داده است که اجزاء بیولوژیکی فعال موجود در آنها ممکن است، تأثیر مستقیم ضد میکروبی (انساری، ۱۹۹۵ و آمادیوها، ۲۰۰۰) داشته باشند و یا عنوان محرک (elicitor)، با تحریک عکس‌العمل‌های دفاعی گیاه میزبان (القاء مقاومت) منجر به کاهش توسعه بیماری شوند (اشنايدر و الیچ، ۱۹۹۴). برای تشخیص اینکه کاهش توسعه بیماری در اثر کاربرد عصاره‌ها، ناشی از کدامیک از دو فرآیند مذکور است، لازم است (۱) تأثیر مستقیم عصاره‌های مؤثر در کنترل بیماری، روی قارچ بیمارگر مشخص گردد. (۲) تأثیر عصاره‌های مذکور روی برخی از مکانیزم‌های دفاعی گیاه خیار (از جمله تغییر فعالیت آنزیم  $\beta$ -۱ و  $\beta$ -۳-گلوکاناز) در طی تعامل میزبان و پاتوژن بررسی گردد.

وجود گزارشات متعدد در مورد ارتباط مقاومت گیاهان با تغییر در واکنش‌های دفاعی گیاه (از جمله تغییر فعالیت آنزیم‌های مرتبط با دفاع گیاه) (وایدیاسکاران، ۱۹۹۲) اهمیت بررسی آنزیمی را مشخص می‌کند.

بر اساس مطالعات انجام شده، آنزیم  $\beta$ -۱ و  $\beta$ -۳-گلوکاناز به دو طریق در مکانیسم دفاعی گیاه موثر است:

(۱) به طور مستقیم با هضم دیواره سلولی، پاتوژن را ضعیف کرده و آن را از بین می‌برد (۲) با هضم دیواره سلولی، الیسیتورهایی را تولید کرده که می‌توانند زنجیره‌ای از مکانیزم‌های دفاعی بعدی را فعال کنند (پوداک و همکاران، ۲۰۰۹). تجمع این آنزیم هیدرولیزکننده در گیاه، به دخالت آن در مقاومت علیه قارچ‌هایی اشاره دارد که یکی از ترکیبات اصلی دیواره سلولی آن‌ها  $\beta$ -۱ و  $\beta$ -۳-گلوکان است (انفوکا و بوکینور، ۱۹۹۷).

## ۱-۲- اهداف اصلی طرح

- ۱- بررسی امکان کنترل بیماری سفیدک پودری خیار توسط عصاره چند گیاه
- ۲- بررسی امکان ایجاد مقاومت اکتسابی در خیار علیه سفیدک پودری توسط عصاره چند گیاه
- ۳- بررسی تأثیر عصاره‌های مؤثر در القاء مقاومت روی برخی مکانیزم‌های دفاعی گیاه خیار (از جمله تغییر فعالیت یک آنزیم دفاعی) و امکان دخالت این اثر در کنترل بیماری سفیدک پودری خیار

## ۱-۳- ساختار پایان نامه

این پایان نامه مشتمل بر چهار فصل است که در فصل اول به اهمیت موضوع تحقیق و ارائه مختصر نتایج مطالعات علمی و پژوهش‌های انجام شده پرداخته شده است. فصل دوم در برگیرنده بررسی منابع همراه با کاستی‌ها و نکات مهم احتمالی در ارتباط با موضوع تحقیق است. بیان کامل روش پژوهش به نحوی که منعکس کننده چگونگی انجام کار و اصول به کار گرفته شده می‌باشد، در فصل سوم گنجانده شده است. در فصل چهارم، تشریح کامل روش تجزیه و تحلیل و چگونگی دستیابی به نتایج همراه با داده‌ها، جدول‌ها و شکل‌های مربوطه و سایر اطلاعات به دست آمده و همچنین مقایسه با نتایج سایر تحقیقات مشابه ارائه شده است. در انتهای فصل چهارم نتیجه‌گیری کلی از آزمایش و پیشنهاداتی در راستای تکمیل نتایج این مطالعه ارائه گردیده است.

## فصل دوم

### بررسی منابع

#### ۲-۱- تاریخچه خیار

خیار یک گیاه بسیار قدیمی است که کشت آن در روم و یونان باستان مرسوم بوده و بعضی‌ها قدمت آن را به بیش از ۵۰۰۰ سال پیش تخمین می‌زنند. مبدأ پیدایش این گیاه به درستی مشخص نیست. عده‌ای آن را بومی نواحی گرم شمال شرقی هندوستان دانسته‌اند و بعضی‌ها عقیده دارند که نوع خودروی آن در ارتفاعات هیمالیا یافت شده است. محققان از نظر جغرافیایی دو منطقه را منشأ آن می‌دانند، یکی آفریقا که بیشترین گونه‌های خیار مربوط به آنجاست و دیگری شامل مناطق جنوبی و شرقی هیمالیاست. دکاندول عقیده دارد که خیار بومی آسیاست و شاید هندوستان مرکز اولیه آن باشد. دلیل این موضوع کشف گیاهی خیار مانند به نام *Royle cucumis hard wickii* در دامنه کوههای هیمالیاست. بنا بر نظر دکاندول و نظریه گیاهشناس مشهور انگلیسی سرژوزف هوکر که نمونه‌های این خیار وحشی را در دامنه هیمالیا جمع‌آوری نموده، می‌توان گفت که در حقیقت این گونه وحشی در حوزه تغییرات ارثی و آمیزشی خیار اهلی بوده و جزئی از آن است و تا به حال شواهدی که عکس آن را ثابت کند به دست نیامده است. به نظر برخی از محققان، گسترش خیار از هندوستان به چین و به سمت غرب بوده است. آنچه مسلم است، این گیاه از مصر به مناطق ساحلی دریای مدیترانه (یونان و ایتالیا) برده شده و از آنجا به اروپای شمالی راه یافته است. پرورش خیار گلخانه‌ای اولین بار در قرن نوزدهم با ارقامی که از هندوستان به اروپا برده شد، انجام گرفت (وب سایت وزارت جهاد کشاورزی، ۲۰۰۸).

#### ۲-۱-۱- بررسی وضعیت تولید در جهان

طبق آمار سازمان خواروبار جهانی (FAO) در سال ۲۰۰۵، سطح زیر کشت جهانی خیار ۲۴۸۸۶۰۰ هکتار با متوسط عملکرد ۱۶/۷ تن در هکتار و تولید ۴۱۷۴۳۸۴۰ تن بوده است. کشور چین با تولید

۲۶۵۵۹۶۰۰ تن (۶۳/۵ درصد) از سطحی معادل ۱۵۵۳۱۰۰ هکتار و متوسط عملکرد ۱۷/۱ تن در هکتار بالاترین تولید را داشته است. در این سال، ایران با تولید ۱۴۰۰۰۰۰ تن خیار از سطحی معادل ۸۰۰۰۰ هکتار، حدود ۳/۳ درصد از تولید را در اختیار داشته که بیشترین سطح زیر کشت متعلق به منطقه جیرفت و کهنوج بود که حدود ۲۶ درصد از تولید کشور را در اختیار داشت (فائز، ۲۰۰۵ و وب سایت وزارت جهاد کشاورزی، ۲۰۰۸). همچنین طبق آمار فائز در سال ۲۰۰۹، ایران با تولید حدود ۱۷۳۵۰۱۰ تن خیار، بعد از چین و ترکیه مقام سوم جهانی را به خود اختصاص داده است (فائز، ۲۰۰۹).

## ۱-۲- مشخصات گیاه‌شناسی خیار

خیار گیاهی است یکساله، دولپه، از تیره کدوئیان (*Cucurbitaceae*), که نام علمی آن *Cucumis sativus* L. می‌باشد و تاکنون ۳۰ نوع از آن در آسیا و آفریقا به ثبت رسیده است.

برگ بوته‌های خیار به رنگ سبز روشن است و بریدگی‌های کم عمقی برگ خیار را به پنج قسمت تقسیم می‌کند و در قسمت وسط دارای نوک تیزی بوده و کناره‌های آن مضرس و برگ فاقد گوشوارک است. گل‌ها تک جنسی، از نوع نر یا ماده هستند که روی یک پایه قرار دارند. کاسه گل متصل و دارای پنج لوب عمیق و جام گل نیز از پنج گلبرگ پیوسته تشکیل یافته است. تخدمان زیرین و با تمکن جانبی است. تعداد گل‌های نر همیشه زیادتر از تعداد گل‌های ماده بوده و معمولاً قبل از گل‌های ماده ظاهر می‌شوند. در خیارهای اصلاح شده و مخصوص کشت در گلخانه، بوته‌های خیار، گل‌های ماده تولید کرده و این ارقام به نام «ماده گل» معروفند و راندمان آن‌ها نسبت به ارقام یک پایه بالاتر است. گرده افتشانی در خیار معمولاً غیرمستقیم است. طول عمر بوته خیار خیلی کوتاهتر از طول عمر سایر گیاهان این خانواده می‌باشد. ریشه خیار سطحی و گسترشده است و فقط تعداد محدودی از ریشه‌ها می‌توانند به عمق بیش از ۰/۵ متر نفوذ کنند. انشعابات زیاد اطراف ریشه باعث می‌شود تا سیستم ریشه‌ای این گیاه سطحی و در عمق کمی از خاک قرار گیرد. میوه خیار از نوع سته (نوعی میوه حقیقی ناشکوفا که پریکارب آن کاملاً گوشته و آبدار است) و سه حجره‌ای و فاقد آلبومن می‌باشد. سطح میوه در ابتدای رشد خاردار بوده ولی با رسیدن میوه صاف می‌شود. تمام ارقام خیار دارای هفت جفت کروموزوم می‌باشند (هزاد، ۱۳۷۵؛ بیدریغ، ۱۳۷۹ و محمدی، ۱۳۸۷)

میوه خیار دارای حدود ۹۶ تا ۹۷ درصد آب بوده، ولی به علت وفور ویتامین‌ها، املاح معدنی و اسیدهای آلی (جدوال ۱-۲ و ۲-۲) در رژیم‌های غذایی امروزی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (وب سایت دانشنامه رشد، ۲۰۱۱).

جدول ۲-۱: مواد غذایی موجود در خیار (گرم در هر ۱۰۰ گرم قابل مصرف)

مواد سلولزی	کربوهیدرات	چربی	پروتئین	آب
۰/۹	۱/۸	۰/۲	۰/۶	۹۶/۸

جدول ۲-۲: املاح معدنی و ویتامین‌های موجود در خیار (میلی گرم در هر ۱۰۰ گرم قابل مصرف)

ویتامین C	نیاسین	ریبوفلافوین	تیامین	ویتامین A	پتاسیم	منیزیم	آهن	فسفر	کلسیم
۸	۰/۲	۰/۰۳	۰/۰۲	۰/۱۷	۱۴	۸	۰/۵	۲۵	۱۵

### ۳-۱-۲- شرایط آب و هوایی، خاک و pH مناسب

خیار در مقابل سرما حساس و طالب آب و هوای نسبتاً گرم است، چنانچه دما در شب پایین تر از ۵°C باشد، میوه‌ها به حد کافی تشکیل نمی‌شوند و یا اختلالات فیزیولوژیکی در آنها ظاهر می‌گردد. حداقل دما برای جوانه‌زنی بذر خیار حدود ۱۲°C است و برای رشد و نمو، دمای بالای ۱۰°C لازم است. گل‌ها در دمای ۱۵°C به بالا باز می‌شوند و عمل لقاح در دمای ۲۶ تا ۲۹ درجه سانتی‌گراد انجام می‌گیرد. خاک مناسب کشت خیار باید از ۴۰ تا ۲۰ درصد ذرات خاک و ۶۰ تا ۸۰ درصد حفره‌های آب و هوا تشکیل شود، ظرفیت نگهداری آب کافی و pH بین ۵/۵ تا ۷/۵ داشته باشد و نیز از نفوذپذیری و قابلیت تهווیه خوبی برخوردار باشد (وب سایت وزارت جهاد کشاورزی، ۲۰۰۸).

### ۲-۲- بیماری سفیدک پودری (سطحی) خیار

#### ۲-۲-۱- تاریخچه، انتشار و اهمیت

یکی از بیماری‌های مهم گیاهان خانواده کدوئیان بالاخص خیار، خربزه، هندوانه، طالبی و کدو، سفیدک سطحی است که اغلب در نواحی گرم و خشک و کم باران شیوع دارد. این بیماری، اولین بار در سال ۱۸۰۰ روی کدوئیان مشاهده شده است. در ایران، بیماری از دیرزمان به خصوص در مناطقی که کشت گیاهان جالیزی در آنجا معمول بوده، وجود داشته است و اولین گزارش کتبی مربوط به اسفندیاری در سال ۱۳۲۶ است. سفیدک سطحی را زارعین به خوبی می‌شناسند و در اصفهان به آن نمکه می‌گویند و در بعضی از نقاط دیگر به نام شته سفید و یا در آذربایجان به نام آق مشهور است. این بیماری از اکثر مناطق جالیزکاری از قبیل سواحل دریای مازندران، اصفهان، تهران، قم، همدان، کرج، خوزستان، تبریز، بروجرد، ورامین، شهر ری (بهداد، ۱۳۵۹) و استان فارس (بنی هاشمی و ذاکری، ۱۳۶۸) گزارش شده است و احتمالاً در سایر نواحی ایران نیز وجود دارد. خسارت سفیدک سطحی نسبت به سایر بیماری‌های جالیز در درجه اول اهمیت قرار دارد. در مزارع آلوده خیار به جای ده نوبت فقط دو تا پنج نوبت می‌توان محصول برداشت نمود (بهداد، ۱۳۵۹).

این بیماری برگ‌ها، ساقه‌ها و میوه‌های خیار را در گلخانه و مزرعه در سرتاسر جهان مورد حمله قرار می‌دهد (بتیول و همکاران، ۲۰۰۸). در برگ‌های مورد حمله این بیمارگر، اختلال در فتوسنتر و تنفس و مرگ زودرس برگ‌ها اتفاق می‌افتد که منجر به کاهش تولید میوه، نارس ماندن یا رسیدگی نابهنجام و ایجاد طعم و رایحه نامطلوب در میوه می‌شود. به علاوه، در گیاهان آلوده به سفیدک پودری، احتمال آلوده شدن با سایر عوامل بیماریزا، بیشتر است (ویورمس و همکاران، ۱۹۹۹).

میزان خسارت بیماری در غیاب ارقام مقاوم در جرجیای آمریکا ۱۲ درصد، کالیفرنیا ۱۵ تا ۲۵ درصد و در اونتاریو ۵۰ درصد گزارش شده است (اعتباریان، ۱۳۷۶).

### ۲-۲-۲- نشانه‌های بیماری

اولین علائم بیماری بصورت لکه‌های کوچک سفید آردآلود روی برگ‌ها و ساقه‌ها می‌باشد که به تدریج سطح آن‌ها را گرد سفیدرنگی فرا می‌گیرد و به زودی بیماری توسعه یافته، ظرف مدت کوتاهی پوشش قارچی، هر دو سطح برگ را فرا می‌گیرد. نشانه‌های اولیه بیماری، اکثراً موقعی ظاهر می‌شود که اولین گل‌های خیار باز شده و بوته هنوز ساقه خزندۀ خود را ایجاد نکرده است. برگ‌های مبتلا به سفیدک، خشک و شکننده شده

و مخصوصاً در مورد برگ هندوانه، لکه‌ها به زودی قهوه‌ای رنگ می‌گردند. در بوته‌های مبتلا، میوه‌ها زودتر از موعده مقرر رسیده، پوست آن‌ها خوب تشکیل نشده و بافت آن‌ها نرم می‌گردد. علاوه بر این، گوشت میوه، بی مزه و مواد جامد محلول در آن‌ها به طور قابل ملاحظه‌ای کم می‌گردد. ممکن است میوه‌ها به مرحله برداشت نرسیده، کوچک باقی بمانند و شکل آن‌ها نامنظم شده و اغلب علائم آفتاب سوختگی نشان دهند (پوستچی، ۱۳۵۰).

### ۲-۲-۳- عامل بیماری

بطور کلی عامل سفیدک سطحی جالیز سه گونه قارچ متعلق به راسته *Erysiphales* به اسامی:

- 1) *Erysiphe cichoracearum* De Candolle
- 2) *Podosphaera fusca* (Fr.) U. Braun & N. Shishkoff [syn. *Sphaerotheca fuliginea* (Schlect. Ex Fr.) Pollacci]
- 3) *Leveillula taurica* (Lev.) Arnad

می‌باشد. دو گونه اول شایع‌ترین گونه‌های ایجادکننده سفیدک پودری کدوئیان هستند که میزان گسترش این دو گونه در مناطق و روی میزبان‌های مختلف، متفاوت است. گونه سوم نیز روی خیار گلخانه‌ای در جزیره Crete و لیبی گزارش شده است (ولکاو و مشوا، ۲۰۰۲).

در ایران به احتمال زیاد عامل سفیدک سطحی جالیز، *P. fusca* می‌باشد (بهداد، ۱۳۵۹؛ بنی هاشمی و ذاکری، ۱۳۶۸ و اعتباریان، ۱۳۷۶) و تنها ارشاد گزارش کرده که فقط روی یک نمونه که از بروجرد جمع آوری شده، گونه *E. cichoracearum* دیده شده است (بهداد، ۱۳۵۹). در ژاپن و فرانسه نیز گونه *P. fusca* گسترش و اهمیت بیشتری دارد (باردین و همکاران، ۱۹۹۹؛ هوسویا و همکاران، ۱۹۹۹).

الگوی گسترش دو گونه اول در فصول مختلف سال و در مناطق و روی میزبان‌های مختلف نشان می‌دهد که این دو گونه احتمالاً از نظر نیازهای اقلیمی کمی اختلاف دارند. عموماً شیوع *E. cichoracearum* که به بارندگی‌های زیاد متحمل تر است، در اوایل فصل و در فضاهای کنترل شده بیش از مزرعه است. از طرف دیگر *P. fusca* به شرایط خشک مقاوم است و در گلخانه‌های با تهویه خوب و در فضاهای باز و در طول تابستان، شیوع دارد (بلانکارد و همکاران، ۱۹۹۴).

شناسایی گونه سفیدک پودری مبتنی بر مورفولوژی کنیدی‌ها (شکل و اندازه، وجود یا عدم وجود اجسام فیبروزین و جهت جوانه‌زنی کنیدی‌ها) و ویژگی‌های کلیستوتیسیوم (اندازه سلول پریدیال، تعداد آسک و آسکوپسپور) است (ناگی، ۱۹۷۰).

تشخیص دو گونه شایع عامل سفیدک پودری جالیز مخصوصاً در مرحله تولید مثل جنسی از روی مشخصات کلیستوتیسیوم آن‌ها بسیار ساده و آسان است. کلیستوتیسیوم *Podosphaera* محتوی فقط یک آسک است، در صورتیکه در داخل کلیستوتیسیوم *Erisiphe* بیش از یک آسک وجود دارد. در مرحله تولیدمثل غیرجنسی، کنیدیوفور کوتاه بوده و کنیدی‌ها به صورت زنجیری روی آن قرار دارند. کنیدی‌های دارای جوانه‌های دو شاخه مؤید گونه *P. fusca* می‌باشند (بنی هاشمی و ذاکری، ۱۳۶۸). از طرف دیگر قارچ *P. fusca* در مزرعه لایه قهوه‌ای رنگی روی شاخه و برگ بوته مبتلا ایجاد می‌کند، در صورتیکه پوشش مربوط به *E. cichoracearum* سفید آرد مانند می‌باشد (بهداد، ۱۳۵۹).