دانشکده کشاورزی

گروه گیاهپزشکی

پایان نامه کارشناسی ارشد

شناسایی نماتدهای انگل گیاهی مزارع و گلخانه های خیار منطقه جیرفت و کهنوج و بررسی تنوع ژنتیکی درون گونه ای *Meloidogyne cruciani* با استفاده از نشانگر RAPD-PCR

حمیدرضا رفیعی

بهمن ماه ۱۳۸۷

دانشگاه فردوسی مشهد

پایان نامه کارشناسی ارشد

شناسایی نماتدهای انگل گیاهی مزارع و گلخانه های خیار منطقه جیرفت و کهنوج و بررسی تنوع ژنتیکی درون گونه ای *Meloidogyne cruciani* با استفاده از نشانگر RAPD-PCR

حمیدرضا رفیعی

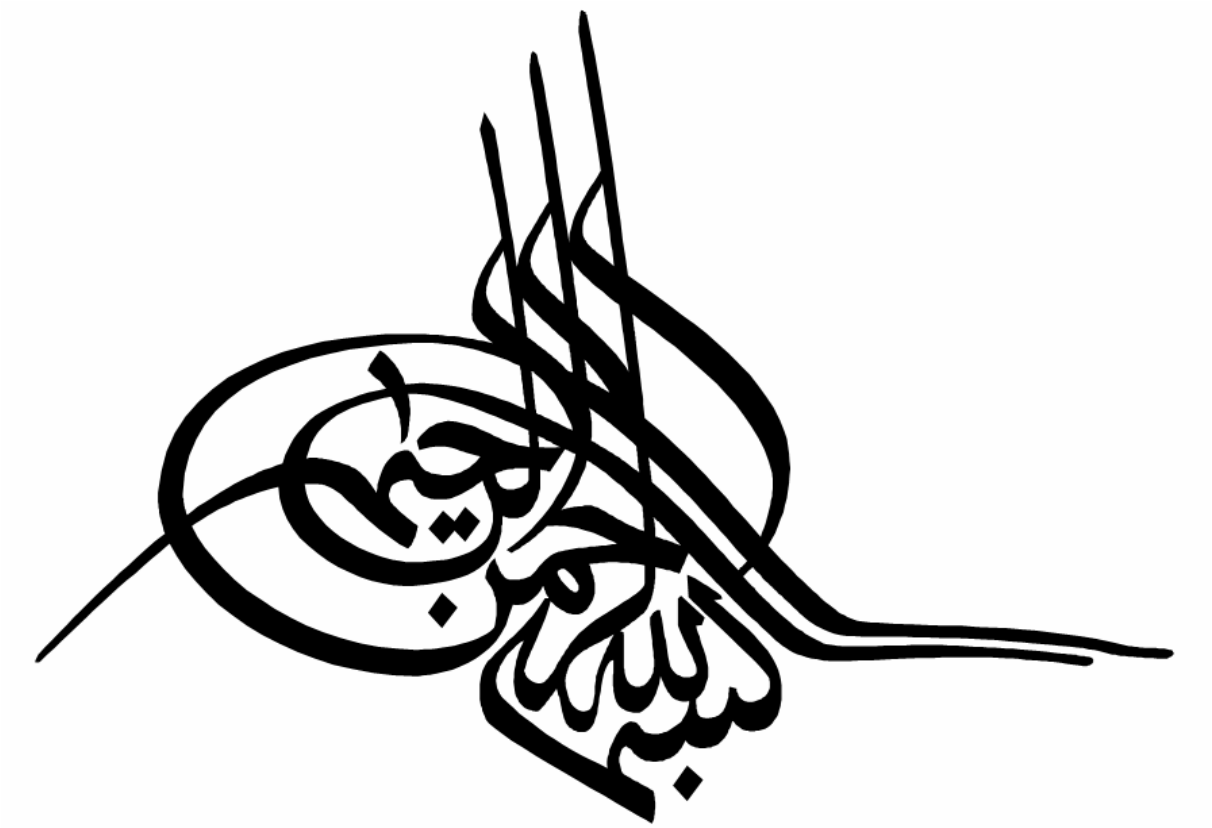
استاد راهنما

عصمت مهدیخانی مقدم

استاد مشاور

موسی نجفی نیا

بهمن ماه ۱۳۸۷


بسم الله الرحمن الرحيم

تعهدنامه

عنوان پایان نامه: شناسایی نماتدهای انگل گیاهی مزارع و گلخانه های خیار منطقه جیرفت و کهنوج و بررسی تنوع ژنتیکی درون گونه ای *Meloidogyne cruciani* با استفاده از نشانگر RAPD-PCR

اینجانب حمیدرضا رفیعی دانشجوی دوره کارشناسی ارشد رشته گیاهپزشکی- گرایش بیماری شناسی گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد تحت راهنمایی دکتر عصمت مهدیخانی مقدم متعهد می شوم:

- **نتایج ارائه شده در این پایان نامه حاصل مطالعات علمی و عملی اینجانب بوده، مسئولیت صحت و اصالت مطالب مندرج را به طور کامل بر عهده می گیرم.**
- **در خصوص استفاده از نتایج پژوهشهای محققان دیگر به مرجع مورد نظر استناد شده است.**
- **مطالب مندرج در این پایان نامه را اینجانب یا فرد دیگری به منظور اخذ هیچ نوع مدرک یا امتیازی تاکنون به هیچ مرجعی تسلیم نکرده است.**
- **کلیه حقوق معنوی این اثر به دانشگاه فردوسی مشهد تعلق دارد. مقالات مستخرج از پایان نامه، ذیل نام دانشگاه فردوسی مشهد (Ferdowsi University of Mashhad) به چاپ خواهد رسید.**
- **حقوق معنوی تمام افرادی که در به دست آمدن نتایج اصلی پایان نامه تاثیر گذار بوده اند در مقالات مستخرج از رساله رعایت خواهد شد.**
- **در خصوص استفاده از موجودات زنده یا بافتهای آنها برای انجام پایان نامه، کلیه ضوابط و اصول اخلاقی مربوطه رعایت شده است.**

تاریخ

نام و امضاء دانشجو

مالکیت نتایج و حق نشر

کلیه حقوق معنوی این اثر و محصولات آن (مقالات مستخرج، برنامه های رایانه ای، نرم افزارها و تجهیزات ساخته شده) به دانشگاه فردوسی مشهد تعلق دارد و بدون اخذ اجازه کتبی از دانشگاه قابل واگذاری به شخص ثالث نیست.

استفاده از اطلاعات و نتایج این پایان نامه بدون ذکر مرجع مجاز نیست.

تصویب نامه

این پایان نامه با عنوان « **شناسایی نماتدهای انگل گیاهی مزارع و گلخانه هـای خیـار منطقـه جیرفـت و کهنوج و بررسی تنوع ژنتیکی درون گونه ای *Meloidogyne cruciani* با اسـتفاده از نشـانگر RAPD-PCR** » توسط « حمیدرضا رفیعی » در تاریخ با نمره و درجه ارزشیابی در حضور هیات داوران با موفقیت دفاع شد.

تاریخ دفاع نمره و درجه ارزشیابی

هیات داوران:

ردیف	**نام و نام خانوادگی**	**مرتبه علمی**	**سمت در هیات**	**امضاء**
۱-	**دکتر عصمت مهدیخانی مقدم**	**استادیار**	**استاد راهنما**	
۲-	**دکتر موسی نجفی نیا**	**استادیار**	**استاد مشاور**	
۳-	**دکتر بهروز جعفرپور**	**استاد**	**استاد داور**	
٤-	**دکتر حمید روحانی**	**دانشیار**	**استاد داور**	
٥-	**دکتر پریسا طاهری**	**استادیار**	**نماینده تحصیلات تکمیلی**	

سپاسگزاری

سپاس بیکران خالق هستی را که علم را مایه مباهات بشر قرار داد. اکنون که در سایه الطاف الهی این تحقیق پایان پذیرفت بر خود لازم می دانم که مراتب امتنان و سپاس فرآوان خویش را نثار عزیزان و سرورانی نمایم که انجام این پژوهش مرهون راهنماییها و مساعدت های ایشان می باشد:

پدر بزرگوار و مادر مهربانم، که فرسودن آنها آسودن من بود و در سایه این آسایش، آرامش امروز من حاصل گشت.

استاد فرزانه و بزرگوارم، سر کار خانم **دکتر عصمت مهدیخانی مقدم** که زحمت راهنمایی این پایان نامه را بر عهده داشتند و همواره اینجانب را از گنجینه علم و معرفت خویش و با نقطه نظرات ارزشمندشان بهره مند فرمودند.

استاد عالم و وارسته، جناب آقای **دکتر موسی نجفی نیا** که با دقت و سعه صدر زحمت مشاوره این پایان نامه را تقبل نموده و از هیچ نوع مساعدت و راهنمایی دریغ ننمودند.

استادان بزرگوار، جناب آقای **دکتر بهروز جعفرپور** و جناب آقای **دکتر حمید روحانی** که زحمت داوری این پایان نامه را بر عهده داشتند و همواره اینجانب را مورد لطف و نظرات خویش قرار دادند.

سرکار خانم **دکتر پریسا طاهری** نماینده تحصیلات تکمیلی که با نظرات ارزشمندشان اینجانب را راهنمایی فرمودند.

ریاست محترم پژوهشکده فناوری زیستی دانشگاه فردوسی مشهد، جناب آقای **دکتر بهرامی**

ریاست محترم مرکز تحقیقات کشاورزی جیرفت و کهنوج و کارکنان بخش آفات و بیماری های گیاهی آن مرکز

مسئول آزمایشگاه تحقیقات بیماری های گیاهی جناب آقای **مهندس محمد علی سبک خیز** که در طول این دوره از همکاریهای ارزنده این بزرگوار بهره مند بودم.

گروه بیوتکنولوژی گیاهی و جناب آقای دکتر کاووسی

تکنسین آزمایشگاه بیماریهای گیاهی جناب آقای جلالی

مسئولین محترم سمعی بصری، آقایان بینایی و دهقان

دوستان مهربان و بزرگوارم: سید جمال اشرفی ، عباس مکرم ، امید عمارلو ، سمیه باعدل ، الهه ربیعی ، فاطمه صفری ، سمیرا پاکباز ، زهرا صادقی ، بهاره عظیمیان ، سمیه مجد آبادی ، آتوسا نیکوکار، ناهید گرایلی و عطیه السادات ذبیح نیا

و تمامی عزیزانی که ذکر اسامی آنها در اینجا برایم مقدور نیست.

از درگاه ایزد تعالی برای تک تک این بزرگواران آرزوی سلامتی ، شادابی و توفیق روزافزون دارم.

حمیدرضا رفیعی بهمن ۱۳۸۷

تقدیم به :

پدر بزرگوارم ، استوره تلاش و استقامت

مادر عزیزم ، الهه عطوفت و بردباری

به پاس دست های خسته و مهربانشان

آنانکه با گرمی آفتاب وجودشان ، با دریای زلال محبتشان و با نور چراغ عمرشان موجب رشد و هدایت من شدند.

برادران و خواهران دلسوز و عزیزم

که با مهربانیها و عطوفت بیکرانشان گذران دوره تحصیل را برای من آسان نمودند. موفقیت و خوشبختی آنان آرزوی همیشگی من است.

فهرست اشکال ..... ت
فهرست جداول ..... س
چکیده ..... ش
فصل اول: مقدمه و اهمیت تحقیق ۱
۱-۱- گیاه شناسی خیار ۱
۱-۲- تاریخچه کشت در جهان و ایران ۲
۱-۳- بررسی وضعیت سطح زیر کشت، عملکرد و تولید ۲
۱-۳-۱- سطح زیر کشت، عملکرد و تولید در جهان ۲
۱-۳-۲- سطح زیر کشت، عملکرد و تولید در ایران ۳
۱-۳-۳- سطح زیرکشت،عملکرد و تولید در منطقه جیرفت و کهنوج ۳
۱-٤- اقلیم مورد نیاز خیار ۳
۱-۵- بیماریهای مهم خیار ٤
۱-٦- اهمیت و اهداف تحقیق ٤
فصل دوم: بررسی منابع ۷
۲-۱- اهمیت نماتدهای انگل گیاهی برروی خیار ۷
۲-۲- نماتدهای خسارت زای خیار ۸
۲-۲-۱- جنس *Meloidogyne* ۸
۲-۲-۲- جنس *Rotylenchulus* ۱۱
۲-۲-۳- جنس *Pratylenchus* ۱۱
۲-۳- اهمیت نماتدهای ریشه گرهی برروی خیار ۱۲
۲-٤- مهمترین روش مبارزه با نماتدهای ریشه گرهی ۱۳
۲-۵- مطالعات انجام شده در جهان و ایران ۱۳
۲-۵-۱- مطالعات در رابطه با شناسایی نماتدها برروی خیار ۱۳
۲-۵-۲- مطالعات در رابطه با حساسیت میزبانی خیار به نماتدها ۱۷
۲-۵-۳- مطالعات در رابطه با بحث ارقام مقاوم خیار ۲۰
۲-۵-٤- مطالعات در رابطه با بحث مبارزه با نماتدها ۲۱
۲-٦- نشانگرهای مولکولی و کاربردشان در شناسایی نماتدها ۲۳
۲-۷- واکنش زنجیره ای پلی مراز(PCR) و کاربرد آن در شناسایی نماتدهای مولد گره ریشه ۲۵
۲-۸- روش RAPD-PCR و کاربرد آن در شناسایی نماتدهای مولد گره ریشه ۲۵
فصل سوم: مواد و روش ها ۳۱
۳-۱- نمونه برداری ۳۱
۳-۲- استخراج نماتدها ۳٤
۳-۲-۱- استخراج نماتدهای کرمی شکل از خاک ۳٤
۳-۲-۲- استخراج ماده های متورم جنس *Meloidogyne* از ریشه ۳٦
۳-۳- کشتن، ثابت کردن و انتقال نماتدها به گلیسرین خالص ۳٦

۳-٤- تهیه اسلایدهای میکروسکوپی ۳۷
۳-٤-۱- تهیه اسلایدهای دایم از نماتدهای کرمی شکل ۳۷
۳-٤-۲- برش از انتهای بدن مادهای بالغ جنس *Meloidogyne* و تهیه اسلاید میکروسکوپی از آنها ۳۸
۳-۵- اساس طبقه بندی و شناسایی نماتدها ۳۹
۳-۵-۱- مشخصات مورفولوژیک و مورفومتریک مورد استفاده درتشخیص گونه های نماتدهای کرمی شکل ۳۹
۳-۵-۲- خصوصیات مورفولوژیک و مورفومتریک شبکه کوتیکولی انتهای بدن ماده های بالغ جنس *Meloidogyne* ٤۰
۳-۵-۳- مورفومتری و رسم تصاویر ٤۱
۳- ٦- خالص سازی و تکثیر نماتدها ٤٤
۳-۷- آماده سازی نمونه ها جهت استخراج DNA ژنومی ٤۵
۳-۷-۱- استخراج DNA به روش سیلوا و همکاران ٤۵
۳-۸- بررسی کمی و کیفی DNA استخراج شده ٤٦
۳-۸-۱- روش الکتروفورز ژل آگارز ٤٦
۳-۸-۲- روش اسپکتروفوتومتری ٤٦
۳-۹- مراحل انجام تکنیک RAPD ٤۷
۳-۹-۱- آغازگرهای مورد استفاده در تکنیک RAPD ٤۷
۳-۹-۲- انجام PCR با استفاده از کیت ٤۷
۳-۹-۳- برنامه حرارتی در تکنیک RAPD ٤۹
۳-۹-٤- الکتروفورز فرآورده های تکثیر شده در آزمون RAPD ٤۹
۳-۱۰- تجزیه و تحلیل داده های حاصل از RAPD ۵۰
فصل چهارم: نتایج و بحث ۵۱
٤-۱- نتایج بدست آمده ۵۱
٤-۲- مشخصات راسته Tylenchida Thorne,1949 ..... ۵٤
٤-۳- طبقه بندی راسته Tylenchida Thorne,1949 ..... ۵٤
٤-٤- شرح جنس ها و گونه های شناسایی شده ۵۷
٤-٤-۱- جنس *Aphelenchus* Bastian,1865 ..... ۵۷
٤-٤-۱-۱- گونه *Aphelenchus avenae* Bastian,1865 ..... ۵۷
٤-٤-۱-۲- گونه *Aphelenchus isomerus* Anderson&Hooper,1980 ..... ٦۱
٤-٤-۲- جنس *Aphelenchoides* Fischer,1894 ..... ٦٦
٤-٤-۲-۱- گونه *Aphelenchoides bicaudatus* (Imamura,1931) ٦۷
٤-٤-۳- جنس *Basiria* Siddiqi,1959 ..... ٦۹
٤-٤-۳-۱- گونه *Basiria graminophila* Siddiqi,1959 ..... ۷۰
٤-٤-٤- جنس *Boleodorus* Thorne,1941 ..... ۷۳
٤-٤-٤-۱- گونه *Boleodorus thylactus* Thorne,1941 ..... ۷٤
٤-٤-۵- جنس *Ditylenchus* Filipjev,1936 ..... ۷۷
٤-٤-۵-۱- گونه *Ditylenchus longimatricalis*(Kazachenko,1975) Brzeski,1984 ..... ۷۸

٤-٤-٦- جنس *Ektaphelenchoides* Baujard,1984 ..... ٨١
٤-٤-٦-١- گونه *Ektaphelenchoides compsi* Baujard,1984 ..... ٨٢
٤-٤-٧- جنس *Filenchus* Andrassy,1954(Mey,1961) ٨٧
٤-٤-٧-١- گونه *Filenchus vulgaris* (Brzeski,1963)Lownsbery&Lownsbery,1985 ..... ٨٨
٤-٤-٨- جنس *Geocenamus* Thorne&Malek,1968 ..... ٩١
٤-٤-٨-١- گونه *Geocenamus*(=*Merlinius*) *nanus*(Allen,1955) Siddiqi,1970 ..... ٩٥
٤-٤-٩- جنس *Irantylenchus* Kheiri,1972 ..... ٩٩
٤-٤-٩-١- گونه *Irantylenchus clavidorus* Kheiri,1972 ..... ١٠٠
٤-٤-١٠- جنس *Meloidogyne* Goeldi,1892 ..... ١٠٣
٤-٤-١٠-١- گونه *Meloidogyne javanica* (Treub,1885)Chitwood,1949 ..... ١٠٥
٤-٤-١٠-٢- گونه *Meloidogyne cruciani* Garcia-Martinez,1982 ..... ١١١
٤-٤-١١- جنس *Pratylenchus* Filipjev,1936 ..... ١١٦
٤-٤-١١-١- گونه *Pratylenchus neglectus* (Rensch,1924)Filipjev&Stekhoven,1941 ..... ١١٧
٤-٤-١١-٢- گونه *Pratylenchus thornei* Sher&Allen,1953 ..... ١٢١
٤-٤-١٢- جنس *Psilenchus* de Man,1921 ..... ١٢٥
٤-٤-١٢-١- گونه *Psilenchus hilarulus* de Man,1921 ..... ١٢٥
٤-٤-١٣- جنس *Tylenchorhynchus* Cobb,1913 ..... ١٢٩
٤-٤-١٣-١- گونه *Tylenchorhynchus goffarti* Sturhan,1966 ..... ١٣٠
٤-٥- استخراج DNA ١٣٤
٤-٦- انجام واکنش PCR با استفاده از آغازگرهای تصادفی ١٣٤
٤-٧- انجام واکنش RAPD ١٣٥
فصل پنجم: نتیجه گیری کلی و پیشنهادات ١٣٩
٥-١- نتیجه گیری کلی ١٣٩
٥-٢- پیشنهادات ١٤٠
پیوست ١: لیست اسامی فارسی اشخاص لاتین ١٤١
منابع ١٤٤
چکیده انگلیسی ١٥٥

فهرست اشکال

شکل ٤-١: پژمردگی و شل شدن بوته خیار در طول روز ناشی از نماتدهای انگل گیاهی ٥٣

شکل ٤-٢: کوتولگی و کم رشدی ناشی از نماتدهای انگل گیاهی برروی خیار ٥٣

شکل ٤-٣: وجود گال های درشت برروی ریشه ناشی از نماتدهای ریشه گرهی ٥٣

شکل ٤-٤: تنک بودن سیستم ریشه ای و وجود گال های ریز برروی آن ناشی از نماتدهای ریشه گرهی **٥٣**

شکل ٤-٥: *Aphelenchus avenae* (♀) ٥٩

شکل ٤-٦: *Aphlenchus avenae* (♂) ٦٠

شکل ٤-٧: *Aphelenchus isomerus* (♀) ٦٣

شکل ٤-٨: *Aphelenchus isomerus* (♀) ٦٤

شکل ٤-٩: *Aphelenchoides bicaudatus* (♀) ٦٨

شکل ٤-١٠: *Basiria graminophila* (♀,♂) ٧٢

شکل -١١: *Boleodorus thylactus* (♀) ٧٦

شکل ٤-١٢: *Ditylenchus longimatricalis* (♀) ٧٩

شکل ٤-١٣: *Ektaphelenchoides compsi* (♀) ٨٤

شکل ٤-١٤: *Ektaphelenchoides compsi* (♂) ٨٥

شکل ٤-١٥: *Filenchus vulgaris* (♀) ٩٠

شکل ٤-١٦: *Geocenamus nanus* (♀,♂) ٩٨

شکل ٤-١٧: *Irantylenchus clavidorus* (♀,♂) ١٠

شکل ٤-١٨: *Meloidogyne javanica* (♀,♂,Juvenile) ١٠٧

شکل ٤-١٩: *Meloidogyne javanica* (♂) ١٠٨

شکل ٤-٢٠: *Meloidogyne cruciani* (♀,♂,Juvenile) ١١٤

شکل ٤-٢١: *Pratylenchus neglectus* (♀) ١١٩

شکل ٤-٢٢: *Pratylenchus thornei* (♀) ١٢٤

شکل ٤-٢٣: *Psilenchus hilarulus* (♀,♂) ١٢٩

شکل ٤-٢٤: *Tylenchorhynchus goffarti* (♀,♂) ١٣٣

شکل ٤-٢٥: الگوی DNA تکثیر شده با نشانگر RAPD-PCR با استفاده از آغازگرهای OPA-08 و OPA-13 ..... ١٣٧

شکل ٤-٢٦: دندروگرام نتایج حاصل از واکنش RAPD ١٣٧

فهرست جداول

جدول۳-۱: مکان نمونه برداری، تاریخ و نوع خاک جمع آوری شده.....۳۲
جدول ۳-۲: توالی و اسامی آغازگرهای مورد استفاده در آزمون RAPD.....٤٨
جدول ۳-۳: اجزاء و میزان مواد موجود در کیت.....٤٨
جدول ۳-۵: برنامه حرارتی مورد استفاده در تکنیک RAPD.....٤٩
جدول ۳-٦: مشخصات جمعیت های *Meloidogyne cruciani* ازنظر محل جمع آوری و کد مولکولی.....۵۰

چکیده:

به منظور شناسایی نماتدهای انگل گیاهی مزارع و گلخانه های خیار منطقه جیرفت و کهنوج، طی سال های ۱۳۸٦ و ۱۳۸۷، تعداد ٤٥ نمونه خاک و ریشه از مزارع و گلخانه های خیار جمع آوری گردید. پس از انتقال نمونه ها به آزمایشگاه، شتستشوی خاک و ریشه ها و استخراج نماتدها با استفاده از روش الک و سانتریفیوژ، تثبیت و انتقال آنها به گلیسرین با استفاده از روش دگریس و جن کینز(۱۹٦۹) انجام گرفت. سپس از نماتدهای جدا شده به تفکیک جنس، لام های میکروسکوپی تهیه شد. پس از بررسی های میکروسکوپی، اندازه گیری های لازم و رسم تصاویر مورد نیاز، شناسایی گونه ها با استفاده از منابع و کلیدهای معتبر موجود انجام گرفت و تعداد ١٦ گونه نماتد متعلق به ۱۳ جنس شناسایی گردید که عبارت اند از:

Aphelenchus avenae, Aphelenchus isomerus, Aphelenchoides bicaudatus, Basiria graminophila, Boleodorus thylactus, Ditylenchus longimatricalis, Ektaphelenchoides compsi, Filenchus vulgaris, Geocenamus nanus, Irantylenchus clavidorus, Meloidogyne javanica, Meloidogyne cruciani, Pratylenchus neglectus, Pratylenchus thornei, Psilenchushilarulus, Tylenchorhynchus goffarti

از بین جنس ها و گونه های شناسایی شده دو گونه *Aphelenchus isomerus* و *Ditylenchus longimatricalis* و جنس *Ektaphelenchoides* و یک گونه از آن *Ektaphelenchoides compsi* برای اولین بار از ایران گزارش می شوند. در ادامه تحقیق، به منظور شناسایی نماتدهای ریشه گرهی گلخانه های خیار منطقه جیرفت، تعداد ۳۵ نمونه خاک و ریشه آلوده به نماتد از ده گلخانه خیار مربوط به سه ناحیه عمده خیارکاری جمع آوری گردید. در این نمونه ها علاوه بر گونه *Meloidogyne javanica* که گونه غالب منطقه بود، گونه *Meloidogyne cruciani* نیز جداسازی، شناسایی و پس از خالص سازی در گلخانه بر روی رقم حساس گوجه فرنگی تکثیر گردید. جهت بررسی تنوع ژنتیکی درون گونه ای آن استخراج DNA هر جمعیت انجام و تکنیک RAPD-PCR با ده آغازگر تصادفی و با استفاده از کیت انجام شد. پس از تجزیه و تحلیل داده ها در نرم افزار NTSYS و با توجه به نتایج کلی، نشانگر RAPD-PCR توانست ۷۱ تا ۹۲ درصد تشابه بین ده جمعیت گونه مورد مطالعه را نشان دهد.

کلید واژه ها: تنوع ژنتیکی، جیرفت، خیار، نماتدهای انگل گیاهی، RAPD-PCR

فصل اول: مقدمه و اهمیت تحقیق

۱-۱- گیاه شناسی خیار

گیاهان سر منشأ زنجیره غذایی و حیات در کره زمین بوده و به عنوان ثروت ملی هر کشور به شمار می روند. هر قدر مساحت اختصاص یافته برای گیاهان مربوط به یک گونه و یا یک جنس بیشتر باشد، اهمیت آن گیاه نیز به طور طبیعی افزایش خواهد یافت. خیار با نام علمی *Cucumis sativus* L. گیاهی دولپه متعلق به خانواده کدوئیان[۱] می‌باشد که این خانواده یکی از مهمترین خانواده‌های گیاهی است که شامل ۹۰ جنس و ۷۵۰ گونه است. خیار جزء گیاهان نیمه گرمسیری، علفی و یکساله و دارای هفت جفت کروموزوم است که در شرایط دمای بالا، رطوبت و نور کافی و تغذیه مناسب همیشه از رشد مطلوب برخوردار است و چنانچه آفات و بیماری های آن به خوبی کنترل شوند، این گیاه قادر است؛ محصول زیادی تولید کند. رشد سریع، وجود ساقه‌های محکم و ضخیم، برگ های بزرگ و شاخ و برگ کاملاً سبز، فراوانی میوه، گلهای بزرگ و زرد رنگ نشان دهنده رشد مطلوب این گیاه می‌باشد. معمولاً گونه‌های مختلف خیار یک پایه[۲] هستند ؛ هر دو گل نر و ماده را در روی یک پایه ولی جدا از هم تولید می‌کنند. رنگ گلهای نر و ماده در خیار زرد پر رنگ است و هر گل دارای پنج گلبرگ می‌باشد. از نظر گیاه شناسی میوه خیار یک سته از نوع پپو[۳] است که از نظر شکل گرد و بلند است (شکوهیان، ۱۳۸۰).

۱- Cucurbitaceae
۲- Monoecious
۳- Pepo

۱-۲- تاریخچه کشت درجهان و ایران

به احتمال قوی خیار بومی آسیا و آفریقاست و هزاران سال کاشت می شده است. شواهد موجود نشان می دهد که کاشت خیار در قسمت جنوب آسیا در سه هزار سال پیش انجام می گرفته است. دکاندول عقیده دارد که خیار بومی آسیاست و شاید هندوستان مرکز اولی آن باشد ولی بطور کلی عقیده بر این است که مرکز آن جنوب آسیا است. بنابر نظر دکاندول منشأ پیدایش خیار دامنه های سلسه جبال هیمالیا در هندوستان است، دلیل این موضوع کشف گیاهی خیار مانند به اسم *Cucumis hardwickii* Royle در دامنه های کوههای هیمالیاست. دکاندول معتقد است که خیار حداقل به مدت سه هزار سال در هندوستان کشت می شده است و سپس از هندوستان به چین برده شد و شاید هم زودتر از رفتن به چین وارد روم و یونان قدیم گردیده است. بنابر اظهارات شارپ، در زبان پهلوی کلمه خیار وجود دارد. در کتیبه های میخی ذکری ازخیار نیست ولی بطور مسلم خیار در ایران حداقل ۱۰۰۰ سال پیش از میلاد وجود داشته است (شکوهیان،۱۳۸۰.، معاونت امور تولیدات گیاهی، ۱۳۸۷).

۱-۳- بررسی وضعیت سطح زیر کشت، عملکرد و تولید

۱-۳-۱- سطح زیر کشت، عملکرد و تولید در جهان

طبق آمار فائو[1]سطح زیر کشت جهانی این محصول در سال ۲۰۰۵، ۲٤۸۸٦۰۰ هکتار با عملکرد متوسط ۱٦/۷ تن در هکتار و تولید ٤۱۷٤۳۸٤۰ تن می باشد که بالاترین تولید متعلق به کشور چین با ۲٦٥٥۹٦۰۰ تن (٦۳/٥٪) بوده که از سطحی معادل ۱٥٥۳۱۰۰ هکتار بدست می آید. متوسط عملکرد این کشور ۱۷/۱ تن می باشد. ایران باتولید ۱٤۰۰۰۰۰ تن حدود ۳/۳٪ از تولید جهانی را در اختیار داشته که از سطحی معادل ۸۰۰۰۰ هکتار بدست می آید (معاونت امور تولیدات گیاهی، ۱۳۸۷).

[1]- F.A.O: Food and Agriculture Organization

۱-۳-۲- سطح زیر کشت، عملکرد و تولید در ایران

طبق آخرین آمارنامه منتشر شده در سال ۱۳۸۵، سطح زیر کشت خیار در ایران ۸۲۳۵۰ هکتار و بیشترین سطح زیر کشت متعلق به منطقه جیرفت و کهنوج بوده که در سطحی حدود۲۱۰۰۰ هکتار کشت می شود که حدود ۲۷٪ از سطح کل کشور را شامل می شود. ایران حدود ۳/۳ از سطح زیر کشت جهان را بخود اختصاص داده است. متوسط عملکرد خیار در ایران دو تن درهکتار و بیشترین عملکرد مربوط به استان کهکیلویه و بویر احمد به میران ۳/۳ تن در هکتار می باشد. کل تولید خیار در کشور ۱۹۳۸٤۹۱ تن و تولید سالانه خیار در منطقه جیرفت و کهنوج ٦۰۸۹۳۹ تن می باشد. استانهای مهم تولیدکننده به ترتیب، منطقه جیرفت و کهنوج، لرستان، خوزستان و ایلام می باشند. منطقه جیرفت و کهنوج ۳۱٪ از کل تولید کشور را در اختیار دارد (آمارنامه کشاورزی، ۱۳۸۵).

۱-۳-۳- سطح زیرکشت،عملکرد و تولید در منطقه جیرفت و کهنوج

سطح زیرکشت در منطقه جیرفت وکهنوج ۲۰۳۷۳ هکتار و کل تولید خیار این منطقه ٦۰۸۹۳۹ تن در سال و عملکرد آن سه تن در هکتار می باشد که به ترتیب ۲۷ و ۳۱ درصد از کل سطح و تولید کشور را در اختیار دارد (آمارنامه کشاورزی، ۱۳۸۵).

۱-٤- اقلیم مورد نیاز خیار

گیاه خیار بسیار حساس به شرایط نامساعد محیطی می‌باشد و حتی تنش جزئی هم اثر سوء قابل ملاحظه ای بر رشد و عملکرد گیاه دارد. به طورکلی خیار در مقابل سرما حساس و طالب گرماست و حداقل دما برای رشد ریشه‌ها ۱۹ درجه سانتی گراد ولی دمای مطلوب آن ۲۲ تا ۲۳ درجه می‌باشد. تحت شرایط تهویه در گلخانه دمای مطلوب ۲٦ درجه سانتی گراد توصیه می‌شود. نور مطلوب برای رشد گیاه ۱٤ ساعت روشنایی و۱۰ ساعت تاریکی می باشد (شکوهیان، ۱۳۸۰). از آنجائیکه خاک سبک با جریان هوای کافی برای توسعه ریشه خیار ضروری است، بهترین خاک برای کشت خیار، خاک سبک

و عمیق است که به طور مرتب با مواد آلـی تقویـت شـده باشـد. حـداکثر هـدایت الکتریکـی[1] مجـاز در محیط های کشت خیار ۱/۲ میلی موس بر سانتی متر می‌باشد. همچنین بیشـتر مـواد غـذایی در محـدوده PH بین شش تا هفت بیشترین قابلیت جذب را دارند و در چنین شرایطی گیاه بهتـرین رشـد را خواهـد داشت(پاپادوفولوس، ۲۰۰۰).

۱-۵- بیماریهای مهم خیار

بیماری های مهمی ممکن است گیاه خیار را مورد حمله قرار دهند. از جمله مـی تـوان قـارچ هـا، باکتریها، ویروس ها و نماتدها را ذکر نمـود کـه مهمتـرین آنهـا عبـارت انـد از: سـفیدک دروغـی، لکـه زاویه ای، بوته میری و مرگ گیاهچه و بیماری ریشه گرهی ناشی از نماتـدهای مولـد گـره (عبـدالکریم زاده، ۱۳۸۳).

۱-٦- اهمیت و اهداف تحقیق

منطقه جیرفت و کهنوج معروف به هند ایران همواره به عنوان یک قطـب بسـیار مهـم کشـاورزی کشور مطرح بوده است، به گونه‌ای که در این منطقـه در سـطحی بـیش از ۲۳۰ هـزار هکتـار، سـالانه در حدود ۸۵ گونه محصول زراعی به وزن چهار میلیون تن تولید می‌شود که چهار درصد از کل تولید کشور است. این منطقه از نظر تولید خیار گلخانه‌ای، سیب‌زمینی و پیاز طرح استمرار در رتبـه اول، هندوانـه در رتبه دوم، گوجه‌فرنگی در رتبه سوم، مرکبات در رتبه چهارم، خرما در رتبه پنجم و ذرت دانه‌ای در رتبـه ششم قرار دارد (آمارنامه کشاورزی، ۱۳۸۵). با توجه به اهمیت بالای منطقه جیرفت وکهنوج از نظر تولید خیار و خسارت زا بودن نماتدهای انگل گیاهی بر روی این محصول و نیز باتوجه به اینکـه در رابطـه بـا نماتدهای انگل گیاهی خیار هیچ گونه تحقیق جامع و کاملی در منطقه صورت نگرفته است، لذا به عنوان اولین و مهمترین قدم، شناسایی نماتدهای انگل گیاهی این محصول در منطقه ضروری به نظر مـی رسـد.

[1]- E.C: Electrical conductivity

نماتدهای انگل گیاهی در تمام قسمت های گیاه از جمله جوانه گل، بذر، برگ، ساقه و ریشه یافت می شوند و می توانند از تمام این قسمت ها تغذیه کنند. این موجودات می توانند محصولات مختلف زراعی، باغی، زینتی و گیاهان سبزی و جالیزی را مورد حمله قرار دهند و با تغذیه از قسمت های مختلف میزبان (به خصوص ریشه) و با تغییراتی که در جذب آب، مواد معدنی و ترکیبات آلی و به خصوص تغییراتی که در فیزیولوژی گیاه ایجاد می کنند، باعث کوتولگی(کم رشدی)، ضعف، پژمردگی و کاهش تولید محصول می شوند و سالانه خسارتی بالغ بر۱۰ درصد ایجاد می کنند. این موجودات رفتار تغذیه ای متنوعی دارند. برخی از گونه ها فقط از خارجی ترین بافت های گیاه تغذیه می کنند، تعدادی دیگر به بافت های عمقی تر نفوذ می کنند و همچنین بعضی نماتدها میزبان خود را وادار به تولید منابع غذایی مخصوص می نمایند که خودشان بتوانند روی آنها زندگی کنند. خسارت ناشی از تعداد کم نماتد معمولاً ناچیزاست ولی در جمعیت های بالا خسارت شدیدی را وارد نموده و یا موجب از بین رفتن گیاه می شوند. به علاوه برخی نماتدها مقاومت گیاه را در برابر بیماریهای قارچی و باکتریایی کاهش می دهند. بنابراین، خسارت ترکیبی یا مضاعف ایجاد می کنند. تعدادی از نماتدها نیز ویروسهای بیماری زا را در بین گیاهان انتقال می دهند (دراپ کین، ۱۹۸۹). خیار نیز به عنوان یک محصول جالیزی مورد حمله بسیاری از نماتدها قرار می گیرد. تعدادی از این نماتدها به صورت انگل خارجی از ریشه تغذیه می کنند و تعدادی نیز انگل داخلی بوده و وارد ریشه خیار شده و با ایجاد گال و یا زخم در ریشه موجب خسارت زیادی به خیار می شوند که می توان جنس های *Meloidogyne* Goeldi, 1892 و *Pratylenchus* Filipjev, 1936 را نام برد. به دلیل اهمیت و ارزش اقتصادی خیار و سطح بالای زیر کشت آن در کشور و منطقه جیرفت و کهنوج و همچنین تلاش برای افزایش تولید از طریق کاهش عوامل بیماری زا، در درجه اول شناسایی عوامل بیماری زای خاکزی ضروری به نظر می رسد. با توجه با این مهم که نماتدها جزء عوامل بیماری زای خاکزی بوده و در جمعیت های بالا خسارت قابل توجهی

وارد می کننـد، لـذا در درجـه اول هـدف از ایـن تحقیـق، شناسـایی نماتـدهای انگـل گیـاهی مـزارع و گلخانه های خیار در منطقه در نظر گرفته شد. مهمترین و خسارت زاترین نماتد بر روی خیار گونه های نماتد مولد گره ریشه (*Meloidogyne* spp.) می باشد. شناسایی گونه ها و نـژاد هـای نماتـد مولـد گـره ریشه از طریق مورفولوژیکی و آیزوزایمی وقت گیر و به شرایط محیطی وابسته است، در دهه های اخیـر استفاده ازمشخصات مولکولی و تجزیه و تحلیل DNA در تشخیص گونـه و نـژاد هـای نماتـد در حـال افزایش است. در پیشرفت هایی که در این زمینه صورت گرفته است، باعث شـده کـه ایـن روش هـا بـه عنوان روشهای اختصاصی، سریع و مناسبی در تشخیص نماتدهای انگل گیاهی مورد استفاده قرار گیرند. آن روشهای مولکولی که قادر به شناسایی نماتد و تعیین مقدار و تفکیک مراحل مختلف بوده مـی تواننـد در برنامه های اصلاح نباتات و آزمایش نماتدکش هـا بـه کـار رونـد. احتمـال ظهـور تنـوع ژنتیکـی بـه خصوص در میان گونه های نزدیک به هم و نژادهای درون گونه ای زمانی که تمام ژنوم نماتد تجزیـه و تحلیل می شود بیشتر است. تاکنون تحقیقات متعددی در رابطه با تنـوع ژنتیکـی نماتـدهای بیمـاری زای گیاهی به ویژه جنس *Meloidogyne* با استفاده از نشانگر های مولکولی مختلف صورت گرفته اسـت. در بررسی گونه های نماتد ریشه گرهی در گلخانه های منطقه، عـلاوه بـر گونـه *Meloidogyne javanica* (Treub,1885)Chitwood,1949 که گونه غالب منطقه بود، گونه *M. cruciani* Garcia-Martinez,1982 نیز مشاهده گردید. با توجه به مطالب بالا و مهم بودن گونه اخیـر، تعیـین تنـوع ژنتیکـی جمعیـت هـای مختلـف گونـه مـذکور بـا اسـتفاده از نشـانگر RAPD-PCR هـدف بعـدی ایـن تحقیـق قـرار گرفـت. انتظارمی رود با استفاده از نتایج این مطالعه، علاوه بر بررسی وضعیت و اهمیت نماتـدهای انگـل گیـاهی مزارع مختلف منطقه (به خصوص نماتد ریشه گرهی)، بتوان تنوع ژنتیکی نماتد ریشه گرهی را مشخص کرد تا نتایج حاصل در برنامه های اصلاحی برای شناسایی منابع مقاومت و اصلاح و ایجاد ارقـام مقـاوم مورد استفاده قرار گیرد.