دانشگاه پیام نور

دانشکده کشاورزی

واحد تهران شرق

پایان نامه

برای دریافت مدرک کارشناسی ارشد

رشته بیو تکنولوژی کشاورزی

گروه کشاورزی

عنوان پایان نامه:

مطالعه تغییرات آنزیم های کیتیناز و گلوکاناز و پروفایل پروتئینی جدایه های جهش یافته قارچ *Trichoderma harzianum* با اشعه گاما در افزایش پتانسیل آنتاگونیستی علیه *Macrophomina phaseolina*

الهام محمدی

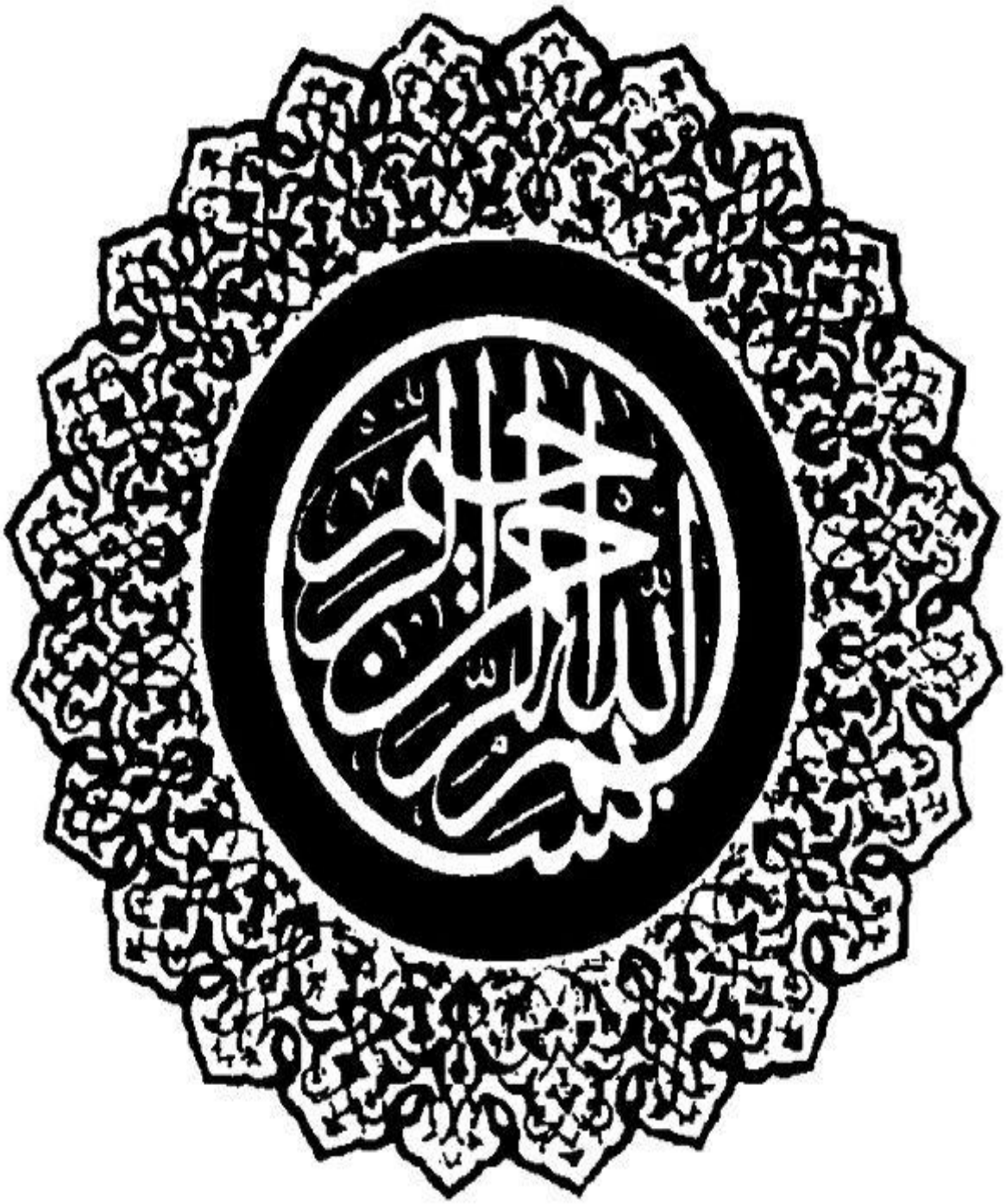
استاد راهنما:

دکتر سمیرا شهبازی **دکتر محمدعلی ابراهیمی**

استاد مشاور:

دکتر محمدطاهر حلاجیان

شهریور ۱۳۹۱


بسم الله الرحمن الرحيم

غیر مستقیم منبع یا مآخذ آن را نیز در جای مناسب ذکر کرده ام. بدیهی است مسئولیت تمام مطالبی که نقل قول دیگران نباشد بر عهده خویش می دانم و جوابگو آن خواهم بود.
دانشجو تایید می نماید که مطالب مندرج در این پایان نامه (رساله) نتیجه تحقیقات خودش می باشد و در صورت استفاده از نتایج دیگران مرجع آن را ذکر نموده است.

نام و نام خانوادگی دانشجو
تاریخ و امضا

اینجانب الهام محمدی دانشجوی ورودی سال ۱۳۸۸ مقطع کارشناسی ارشد رشته بیو تکنولوژی گواهی می نمایم چنانچه بر اساس مطالب پایان نامه خود اقدام به انتشار مقاله، کتاب، و. . . نمایم ضمن مطلع نمودن استاد راهنما، با نظر ایشان نسبت به نشر مقاله، کتاب، و. . . و به صورت مشترک و با ذکر نام استاد راهنما مبادرت نمایم.

نام و نام خانوادگی دانشجو
تاریخ و امضا

کلیه حقوق مادی مترتب از نتایج مطالعات، آزمایشات و نوآوری ناشی از تحقیق موضوع این پایان نامه متعلق به دانشگاه پیام نور می باشد.

شهریورماه ۱۳۹۱

تقدیم به :

خدایی که آفرید جهان را، انسان را، عقل را، علم را، معرفت را، عشق را و به کسانی که عشقشان را در وجودم دمید

پدرم که عالمانه به من آموخت تا چگونه در عرصه زندگی، ایستادگی را تجربه نمایم

مادرم، دریای بی کران فداکاری و عشق که وجودم برایش همه رنج بود و وجودش برایم همه مهر

و به همسرم، که تکیه گاه امنیست برایم

چیدم گلی ز باغ ادب تا بروز عید

در بارگاه میر ادب پرور آورم

حیف است با خسان گل دانش کنی نثار

من گل نثار مردم دانشور آورم

شهریار

سپاسگذاری

حمد و سپاس خدای یگانه

سپاس و ستایش مر خدای را جل و جلاله که آثار قدرت او بر چهره روز روشن، تابان است و انوار حکمت او در دل شب تار، درخشان. آفریدگاری که خویشتن را به ما شناساند و درهای علم را بر ما گشود و عمری و فرصتی عطا فرمود تا بدان، بنده ضعیف خویش را در طریق علم و معرفت بیازماید.

اکنون که با لطف خداوند بزرگ این مرحله از زندگی را به سرانجام رساندم مراتب قدردانی خود را نثار تمامی کسانی کنم که مرا در این راه یاری نمودند. از جمله جامعه علمی دانشگاه پیام نور تهران و سازمان انرژی اتمی ایران بالاخص اساتید بزرگوارم که نمی توانم معنایی بالاتر از تقدیر و تشکر بر زبانم جاری سازم و سپاس خود را در وصف استادان خویش آشکار نمایم، که هر چه گویم و سرایم، کم گفته ام:

خانواده عزیزم، به خصوص پدر و مادرم که در تمامی لحظات زندگی ام پشتوانه و یاورم بوده اند و بدون الطاف آنان هیچ بودم. همسر مهربانم که موجب دلگرمی و اعتماد به نفسم است و خواهرم که همیشه بهترین دوست و همراهم بوده.

سرکار خانم دکتر سمیرا شهبازی و جناب آقای دکتر محمدعلی ابراهیمی که راهنمایی بنده را در این تحقیق برعهده گرفتند بزرگوارانی که با تلاش وصف ناپذیر و راهنمایی های ارزنده علمی و کاربردی خود در کلیه مراحل تحقیق صبورانه مرا یاری نمودند و جناب آقای مهندس محمدطاهر حلاجیان که زحمت مشاوره این پایان نامه را برعهده داشته اند و از هرگونه مساعدت دریغ نداشتند.

ونیز برادر بزرگوار جناب آقای مهندس حامد عسکری که با کمک های بی حد و زحمات فراوان در لحظه لحظه های این پایان نامه با من دلسوزانه همکاری کرده و تمامی اطلاعات ارزنده علمی خویش را بی دریغ در اختیار بنده قرار دادند

و همچنین آقایان مهندس حسین اهری مصطفوی و مهندس مهیار میر مجلسی، که در انجام پایان نامه از همکاری های ایشان بهره مند بوده ام.

چکیده :

Trichoderma spp. به عنوان یکی از عوامل کنترل بیولوژیکی موثر بر علیه دامنه وسیعی از پاتوژنها مانند *Macrophomina phaseolina* (*Tassi*) Goid شناخته می شود که از طریق استراتژی های گوناگونی از جمله تولید آنزیمهای تجزیه کننده دیواره سلولی (کیتیناز و گلوکاناز) فعالیت می کند. یکی از عوامل محدود کننده کاربرد جدایه های تریکودرما به عنوان عامل کنترل بیولوژیکی، پایین بودن میزان تاثیر آن در سطح مزرعه است. بر این اساس، دست ورزی های ژنتیکی با استفاده از ایجاد جهش به دنبال ارتقای پتانسیل آنتاگونیستی این قارچ به منظور بهبود قدرت کنترلی آن هستند. لذا تأثیرات القای جهش با استفاده از اشعه گاما با دز ۲۵۰ Gry بر روی میزان تولید آنزیم های کیتیناز و گلوکاناز در کلنی های حاصل از کنیدیوم های دو گونه *Trichoderma harzianum* (Rifai) و *Trichoderma viride* (Pers) در پژوهشکده تحقیقات کشاورزی و پزشکی هسته ای کرج در این مطالعه مورد ارزیابی قرار گرفت. از بین ده جدایه جهش یافته منتخب *T. harzianum* تنها در یکی از آنها میزان تولید آنزیم کیتیناز در مقایسه با شاهد (وحشی) کاهش نشان داد (جهش منفی) و ۸۰٪ جهش ها تأثیر مثبت داشتند. در گونه *T. viride* جهش های مثبت بالاتر بوده و ۹۰/۹٪ جهش ها به افزایش تولید آنزیم کیتیناز منجر شدند. در ارزیابی از آنزیم گلوکاناز تنها ٦۰٪ از جدایه های جهش یافته گونه *T. harzianum* دارای جهش مثبت بوده و سه جدایه دارای جهش منفی در گونه *T. viride* مشاهده شد. آزمون های کشت متقابل نشان دادند که هشت جدایه از گونه *T. harzianum* و ده جدایه از گونه *T. viride* از نظر آماری توانایی کنترل بیشتری در مقابل *M. phaseolina* نسبت به جدایه وحشی داشتنه اند. مطالعه پروفایل پروتئینی این جدایه های جهش یافته این تئوری را تقویت نمود که افزایش تولید آنزیمهای تجزیه کننده دیواره سلولی از طریق القای موتاسیون با اشعه گاما می تواند منجر به افزایش پتانسیل آنتاگونیستی در اکثر جدایه ها شود. سایر جدایه های جهش یافته با افزایش قدرت آنتاگونیستی علیه *M. phaseolina* که میزان بالاتری از تولید آنزیم را نشان نداده اند احتمالاً واجد جهش هایی در سایر مکانیسم های بیوکنترلی می باشند.

کلمات کلیدی: *Trichoderma* spp.، اشعه گاما، کنترل بیولوژیک، *Macrophomina phaseolina*، کیتیناز، گلوکاناز.

فهرست مطالب

فصل اول

مقدمه ۱

فصل دوم

بررسی منابع..... ۷

۲-۱ : بیمارگر عامل بیماری پوسیدگی ذغالی..... ۸

۲-۱-۱ :چرخه بیماری و اپیدمیولوژی ۱۰

۲-۱-۲ : شناسایی..... ۱۱

۲-۱-۳ : علائم آلودگی در سویا ۱۳

۲-۲ :عوامل کنترل بیولوژیک(آنتاگونیستها)..... ۱٤

۲-۳ :قارچ تریکودرما..... ۱٦

۲-٤ :مکانیسم های بیوکنترل ۲۰

۲-٤-۱ :آنتی بیوزیس..... ۲۰

۲-٤-۲ :مایکوپارازیتیسم (آنزیمهای تجزیه کننده دیواره سلولی)..... ۲۳

الف)انواع آنزیم ها بر اساس عملکردشان ۲٤

ب)سدهای دفاعی گیاه در برابر بیمارگر..... ۲٤

۲-٤-۳: آنزیم گلوکاناز..... ۲۷

۲-٤-٤ : آنزیم کیتیناز..... ۲۹

۲-۵ : پرتوتابی..... ۳۱

۲-۵-۱ : ابزار پرتوتابی..... ۳۲

۲-۵-۲ : موتاسیون..... ۳۳

الف) جهش و تغییرات ژنتیک..... ۳۳

ب) جهش های محدود ۳٦

۲-۵-۳ : موتاژن ها ۳۷

الف) موتاژن های فیزیکی..... ۳۷

ب) نحوه دستیابی به اشعه های موتاژنیک..... ۳۸

ج) موتاژن های شیمیایی..... ۳۸
۲-٦ : کاربرد پرتوتابی به عنوان موتاژن..... ۳۹
۲-۷ : ضرورت انجام تحقیق..... ٤۱
۲-۸ :اندازه گیر پروتئین..... ٤٥
۲-۹ :سنجش آنزیمی کیتیناز و گلوکاناز ٤٥
۲-۱۰: دستگاه اسپکتوفتومتر ٤٦
۲-۱۰-۱ : اجزا اسپکتروفوتومتر..... ٤۷
۲-۱۰-۲ : مسیر نور..... ٤۷
۲-۱۰-۳ : آشکار ساز..... ٤۸
۲-۱۰-٤ : دستگاه بار دار(CCD) ٤۸
۲-۱۰-٥ : مفسر ٤۸
۲-۱۰-٦ : انواع دیگر اسپکتروفوتومتر..... ٤۹
الف)تک پرتو و دو پرتو..... ٤۹
ب)نور مرئی..... ٤۹
ج) نور ماوراء بنفش..... ٤۹
۲-۱۰-۷ : استفاده از اسپکتوفتومتر ٥۰
۲-۱۱ : الکتروفورز پروتئین ها..... ٥۱
۲-۱۱-۱ : محیط های الکتروفورز پروتئین..... ٥۲
۲-۱۱-۲ : SDS PAGE ٥۳
۲-۱۲ : اهداف تحقیق..... ٥۳

فصل سوم

مواد و روش ها ٥٤
۳-۱ : جمع آوری قارچ تریکودرما..... ٥٥
۳-۲ : جداسازی و خالص سازی جدایه تریکودرما..... ٥٥
۳-۳ : شناسایی جدایه های قارچ تریکودرما..... ٥٥
۳-٤ : نمونه برداری بیمارگر..... ٥٥

۳-۵ : جداسازی و خالص سازی بیمارگر..... ٥٦
۳-٦ : نگهداری قارچ بیمارگر..... ٥٦
۳-۷ : بررسی بیماری زایی جدایه های قارچ بیمارگر..... ٥٦
۳-۸ : بررسی دز ممانعت کننده از رشد ریسه..... ٥٨
۳-۹ : آزمون دزیابی به منظور ایجاد جهش در قارچ تریکودرما..... ٥٩
۳-۱۰ : پرتوتابی جدایه های قارچ تریکودرما با دز مناسب (۲۵۰ گری)..... ٥٩
۳-۱۱ : مقایسه مورفولوژیک جدایه های جهش یافته قارچ تریکودرما..... ٥٩
۳-۱۱-۱ : اندازه گیری رشد ریسه قارچ تریکودرما..... ٥٩
۳-۱۲ : بررسی قدرت آنتاگونیستی قارچ تریکودرما علیه بیمارگر ٦٠
۳-۱۳ : محیط های کشت..... ٦١
۳-۱۳-۱ : محیط کشت SDA..... ٦١
۳-۱۳-۲ : محیط کشت جامد slant (myga)..... ٦١
۳-۱۳-۳ : محیط TCM (*terichoderma* complete medium)..... ٦٢
۳-۱٤ : تهیه کیتین کلوئیدی..... ٦٣
۳-۱۵ : محیط TFM ٦٣
۳-۱٦ : تهیه کشت ذخیره ٦٤
۳-۱۷ : شمارش اسپور ٦٥

۳-۱۸ : القا و سنجش آنزیم کیتیناز ٦٥
۳-۱۸-۱ : تلقیح به منظور رشد میسلیوم..... ٦٥
۳-۱۸-۲ : القای تولید آنزیم کیتیناز..... ٦٦
۳-۱۸-۳ : نمودار استاندارد پروتئین..... ٦٦
۳-۱۸-٤ : اندازه گیری میزان پروتئین به روش بردفورد..... ٦٦
۳-۱۸-۵ : نمودار استاندارد قند N-استیل گلوکزآمین..... ٦٧
۳-۱۸-٦ :سنجش آنزیمی ٦٧
۳-۱۹ : القا و سنجش آنزیم بتا ۱و۳ گلوکاناز..... ٦٨
۳-۱۹-۱ : استفاده از میکروارگانیسم به منظور تولید صمغ

سوکسینوگلوکان..... ٦٨
٣-١٩-٢ : القای آنزیم گلوکاناز..... ٧٠
٣-١٩-٣ : اندازه گیری میزان پروتئین به روش بردفورد..... ٧٠
٣-١٩-٤ : معرف DNS ٧٠
٣-١٩-٥ : سنجش آنزیمی ٧١
٣-٢٠ : پروفایل پروتئینی..... ٧١
٣-٢٠-١ : آماده سازی پروتئین محلول کیتینازی برای PAGE-SDS.... ٧١
٣-٢٠-٢ :آماده سازی پروتئین محلول بتاگلوکانازی برای PAGE-SDS ٧٢
٣-٢٠-٣ : آماده سازی نمونه..... ٧٢
٣-٢٠-٤ : تهیه ژل SDS-PAGE ٧٢
٣-٢٠-٥ : رنگ آمیزی ٧٣

فصل چهارم

نتایج و بحث ٧٦
٤-١ : جمع آوری، جداسازی قارچ تریکودرما..... ٧٧
٤-٢ : خالص سازی و شناسایی جدایه ها..... ٧٧
٤-٣ : نمونه برداری و خالص سازی بیمارگر..... ٧٧
٤-٤ : بررسی بیماری زایی جدایه های قارچ بیمارگر..... ٧٧
٤-٥: آزمون دزیابی به منظور ایجاد جهش در قارچ تریکودرما..... ٧٨
٤-٦ : مقایسه مورفولوژیک جدایه های جهش یافته قارچ تریکودرما..... ٧٨
٤- ٧ : بررسی قدرت آنتاگونیستی قارچ تریکودرما علیه بیمارگر بیماریزا..... ٨٦
٤-٨ : اندازه گیری غلظت پروتئین در محیط القا شده کیتیناز ٩١
٤-٨-١ : نمودار استاندارد پروتئین ٩١
٤-٨-٢ : اندازه گیری میزان پروتئین به روش برادفورد ٩١
٤-٩ : سنجش آنزیمی کیتیناز..... ٩٤
٤-٩-٣ : نمودار استاندارد قند N-استیل گلوکزآمین..... ٩٤
٤-١٠ : اندازه گیری غلظت پروتئین در محیط القا شده گلوکاناز ١٠٠
٤-١٠-١ : نمودار استاندارد پروتئین ١٠٠

٤-١١ : سنجش آنزیمی گلوکاناز..... ١٠٣
٤-١١-١ : نمودار استاندارد گلوکز ١٠٣
٤-١١-٢ : نتایج کلی ١٢٥
٤-١٢ : مقایسه پروفایل پروتئینی جدایه های جهش یافته با استفاده از SDS-PAGE ١٢٧
٤-١٢-١ :پروفایل پروتئینی آنزیم گلوکاناز مشاهده شده در گونه *T.viride* ١٢٧
٤-١٢-٢ :پروفایل پروتئینی آنزیم گلوکاناز مشاهده شده در گونه*T.harzianum* ١٢٨
٤-١٢-٣ :پروفایل پروتئینی آنزیم کیتیناز مشاهده شده در گونه *T.viride* ١٣٢
٤-١٢-٤ : پروفایل پروتئینی آنزیم کیتیناز مشاهده شده در گونه*T.harzianum* ١٣٢
٤-١٣ : پیشنهادات ١٣٧
فصل پنجم
منابع ١٣٨

فهرست اشکال

شکل شماره ۲-۱) قارچ *M. phaseolina* ۹

شکل شماره ۲-۲)ریشه و طوقه آلوده به قارچ *M. phaseolina* ۱۱

شکل شماره ۲-۳) پیکنیدی *M. phaseolina* ۱۲

شکل شماره۲-٤) پیکنیدی باز شده*M. phaseolina* ۱۲

شکل شماره۲-۵) تکثیر از طریق تک هیف ۱۲

شکل شماره۲-٦) قارچ *M. phaseolina* تمامی بافتهای گیاه سویا را درگیر کرده ... ۱۳

شکل شماره ۲-۷) *Terichoderma viride* ۱٦

شکل شماره ۲-۸) ساختار دیواره سلولی قارچی ۲۹

شکل شماره ۲-۹) قدرت نفوذ اشعه گاما ۳۱

شکل شماره ۲-۱۰) دستگاه اسپکتوفتومتر ٤٦

شکل شماره ۳-۱) انجام تلقیح توسط پلاک قارچ *M. phaseolina* ۵۷

شکل شماره ۳-۲) علائم بیماری در گیاه ۵۷

شکل شماره ۳-۳) علائم بیماری در بافت های گیاه تلقیح شده ۵۸

شکل شماره ۳-٤) دستگاه گاماسل ۵۸

شکل شماره ۳-۵) محیط کشت SDA ٦۱

شکل شماره ۳-٦) دستگاه لیوفلیز و پوست میگو خشک شده با دستگاه لیوفلیز ٦۳

شکل شماره ۳-۷) تقسم محیط کشت ٦٤

شکل شماره ۳-۸) جمع آوری اسپور ٦۵

شکل شماره ۳-۹) تلقیح میسلیوم به محیط کشت TCM ٦۵

شکل شماره ۳-۱۰) الف: شستشوی میسلیوم ب: شیک نمونه ها ٦٦

شکل شماره ۳-۱۱) حرارت دادن نمونه پس از افزودن معرف DMAB ٦۸

شکل شماره ۳-۱۲) کشت *R. radiobacter* بر روی **PDA** ٦۹

شکل شماره ۳-۱۳) تغییر رنگ نمونه ها پس از افزودن واکنشکر و حرارت دیدن .. ۷۱

شکل شماره ۳-۱٤) الکتروفورز پزوتئین ۷۵

شکل شماره ٤-۱) مقایسه تغییرات پتانسیل آنتاگونیستی جدایه های موتانت گونه *T. viride* در مقابل قارچ بیمارگر ۸۸

شکل شماره ٤-٢) مقایسه تغییرات پتانسیل آنتاگونیستی جدایه های موتانت گونه *T. harzianum* در مقابل قارچ بیمارگر ٩٠
شکل شماره ٤-٣) پروفایل پروتئینی چهار جدایه گونه *T.viride* استخراج شده از محیط القای آنزیم گلوکاناز (سوبسترای سوکسینوگلوکان)..... ١٢٩
شکل شماره ٤-٤) پروفایل پروتئینی ٧ جدایه گونه *T.viride* اسخراج شده از محیط القای آنزیم گلوکاناز ١٢٩
شکل شماره ٤-٥) پروفایل پروتئینی جدایه *Tv 18* استخراج شده از محیط القای آنزیم گلوکاناز (سوبسترای سوکسینوگلوکان) ١٣٠
شکل شماره ٤-٦) پروفایل پروتئینی چهار جدایه گونه *T.harzianum* اسخراج شده از محیط القای آنزیم گلوکاناز ١٣٠
شکل شماره ٤-٧) پروفایل پروتئینی شش جدایه *T.harzianum* اسخراج شده از محیط القای آنزیم گلوکاناز ١٣١
شکل شماره ٤-٨) پروفایل پروتئینی شش جدایه گونه *T.viride* استخراج شده از محیط القای آنزیم کیتیناز..... ١٣٣
شکل شماره ٤-٩) پروفایل پروتئینی شش جدایه گونه *T.viride* استخراج شده از محیط القای آنزیم کیتیناز ١٣٣
شکل شماره ٤-١٠) پروفایل پروتئینی سه جدایه گونه *T.harzianum* استخراج شده از محیط القای آنزیم کیتیناز ١٣٤
شکل شماره ٤-١١) پروفایل پروتئینی چهار جدایه گونه *T.harzianum* استخراج شده از محیط القای آنزیم کیتیناز ١٣٤
شکل شماره ٤-١٢) پروفایل پروتئینی سه جدایه گونه *T.harzianum* استخراج شده از محیط القای آنزیم کیتیناز ١٣٥

فهرست جداول

جدول شماره۲-۱) رده بندی علمی قارچ *M. phaseolina (Tassi) Goid* ۹

جدول شماره۲-۲) دامنه میزبانی قارچ M. *phaseolina* ۱۰

جدول شماره ۲-۳) رده بندی علمی قارچ تریکودرما ۱۷

جدول شماره۲-٤) نمونه ای از پراکنش جغرافیایی تریکودرما ۲۰

جدول شماره ۳-۱) محیط کشت کیتین کلوئیدیCCA ٦۰

جدول شماره ۳-۲) محیط کشت (*Trichoderma* compleat medium) TCM ٦۲

جدول شماره ۳-۳) محیط کشت (*Trichoderma* Fermentation medium) TFM ٦٤

جدول شماره ٤۳) محیط مایه تلقیح ٦۸

جدول شماره ۳-۵) محیط تخمیر ٦۹

جدول شماره ۳-٦) عناصر کمیاب محیط تخمیر ٦۹

جدول شماره ۳-۷) ترکیبات معرف DNS ۷۰

جدول شماره ۳-۸) طرز تهیه ژل پائین ۱۰ درصد ۷۳

جدول شماره ۳-۹) طرز تهیه ژل پائین ۱۷/۵درصد ۷٤

جدول شماره ٤-۱) مقایسه خصوصیات مورفولوژیکی قارچ *T. harzianum* جهش یافته ۷۸

جدول شماره ٤-۲) مقایسه خصوصیات مورفولوژیکی قارچ *T. viride* جهش یافته ۷۹

جدول شماره ٤-۳) مقایسه خصوصیات مورفولوژیکی قارچ *T. viride* و *T. harzianum* جهش یافته ۷۹

جدول شماره ٤-٤) سرعت رشد ریسه یر روی محیط ها PDA و SDA در قارچ *T.harzianum* ۸۰

جدول شماره ٤-۵) مقایسه سرعت رشد ریسه در طول ۲٤ ساعت یر روی محیط CCA در قارچ *T.harzianum* ۸۰

جدول شماره ٤-٦) مقایسه سرعت رشد ریسه در طول ٤۸ ساعت یر روی محیط CCA در قارچ *T.harzianum* ۸۱

جدول شماره ٤-۷) مقایسه سرعت رشد ریسه در طول ۲٤ ساعت یر روی محیط PDA در قارچ *T.harzianum* ۸۱

جدول شماره ٤-٨) مقایسه سرعت رشد ریسه در طول ٤٨ ساعت بر روی محیط PDA در قارچ *T.harzianum* ٨٢
جدول شماره ٤-٩) مقایسه سرعت رشد ریسه در طول ٧٢ ساعت بر روی محیط PDA در قارچ *T.harzianum* ٨٢
جدول شماره ٤-١٠) سرعت رشد ریسه بر روی محیط ها PDA و SDA در قارچ *T.viride* ٨٣
جدول شماره ٤-١١) مقایسه سرعت رشد ریسه در طول ٢٤ ساعت بر روی محیط CCA در قارچ *T.viride* ٨٤
جدول شماره ٤-١٢) مقایسه سرعت رشد ریسه در طول ٤٨ ساعت بر روی محیط CCA در قارچ *T.viride* ٨٤
جدول شماره ٤-١٣) مقایسه سرعت رشد ریسه در طول ٢٤ ساعت بر روی محیط PDA در قارچ *T.viride* ٨٥
جدول شماره ٤-١٤) مقایسه سرعت رشد ریسه در طول ٤٨ ساعت بر روی محیط PDA در قارچ *T.viride* ٨٥
جدول شماره ٤-١٥) مقایسه سرعت رشد ریسه در طول ٧٢ ساعت بر روی محیط PDA در قارچ *T.viride* ٨٦
جدول شماره ٤-١٦) میانگین درصد ممانعت از رشد بیمارگر *M.phaseolina* توسط جدایه های موتانت *T. viride* ٨٧
جدول شماره ٤-١٧) مقایسه میانگین درصد ممانعت از رشد مقابل قارچ بیمارگر *M.phaseolina* در گونه *T. viride* ٨٧
جدول شماره ٤-١٨) میانگین درصد ممانعت از رشد بیمارگر *M.phaseolina* توسط جدایه های موتانت *T. harzianum* ٨٩
جدول شماره ٤-١٩) مقایسه میانگین درصد ممانعت از رشد مقابل قارچ بیمارگر *M.phaseolina* در گونه *T. harzianum* ٨٩

جدول شماره ٤-٢٠) مقایسه میانگین غلظت پروتئین خارج سلولی (mg/ml) تولید شده در مایع محیط تخمیر TFM حاوی کیتین کلوئیدی در قارچ *T. harzianum* ۹۲
جدول شماره ٤-٢١) مقایسه میانگین غلظت پروتئین خارج سلولی (mg/ml) تولید شده در مایع فوقانی محیط تخمیر TFM حاوی کیتین کلوئیدی در قارچ *T. viride* ۹۳
جدول شماره ٤-٢٢) مقایسه میانگین فعالیت آنزیمی تولید شده در مایع فوقانی محیط تخمیر TFM حاوی کیتین کلوئیدی در قارچ *T. viride* ۹۵
جدول شماره ٤-٢٣) مقایسه میانگین فعالیت ویژه آنزیمی تولید شده در مایع فوقانی محیط تخمیر TFM حاوی کیتین کلوئیدی در قارچ *T. viride* ۹٦
جدول شماره ٤-٢٤) مقایسه میانگین فعالیت آنزیمی در مایع فوقانی محیط تخمیر TFM حاوی کیتین کلوئیدی در قارچ *T.harzianum* ۹۸
جدول شماره ٤-٢٥) مقایسه میانگین فعالیت ویژه آنزیمی در مایع فوقانی محیط تخمیر TFM حاوی کیتین کلوئیدی کیتین کلوئیدی در قارچ *T.harzianum* ۹۹
جدول شماره ٤-٢٦) مقایسه میانگین غلظت پروتئین خارج سلولی تولید شده در مایع فوقانی محیط تخمیر TFM حاوی سوکسینوگلوکان در قارچ *T. harzianum* ۱۰۱
جدول شماره ٤-٢٧) مقایسه میانگین غلظت پروتئین خارج سلولی تولید شده در مایع فوقانی محیط تخمیر TFM حاوی سوکسینوگلوکان در قارچ *T. viride* ۱۰۲
جدول شماره ٤-٢٨) مقایسه میانگین فعالیت آنزیمی در مایع فوقانی محیط تخمیر TFM حاوی سوکسینوگلوکان در در قارچ *T. harzianum* ۱۰٤
جدول شماره ٤-٢٩) مقایسه میانگین فعالیت ویژه آنزیمی در مایع فوقانی محیط تخمیر TFM حاوی سوکسینوگلوکان در قارچ *T. harzianum* ۱۰٥
جدول شماره ٤-٣٠) مقایسه میانگین فعالیت آنزیمی در مایع فوقانی محیط تخمیر TFM حاوی سلولز کلوئیدی در قارچ *T. harzianum* ۱۰٦

جدول شماره ٤-٣١) مقایسه میانگین فعالیت ویژه آنزیمی در مایع فوقانی محیط تخمیر TFM حاوی سلولز کلوئیدی در قارچ *T. harzianum* ١٠٨
جدول شماره ٤-٣٢) مقایسه میانگین فعالیت آنزیمی در مایع فوقانی محیط تخمیر TFM حاوی سلولز باکتریایی در قارچ *T. harzianum* ١٠٩
جدول شماره ٤-٣٣) مقایسه میانگین فعالیت ویژه آنزیمی در مایع فوقانی محیط تخمیر TFM حاوی سلولز باکتریایی در قارچ *T. harzianum* ١١٠
جدول شماره ٤-٣٤) مقایسه میانگین فعالیت آنزیمی در مایع فوقانی محیط تخمیر TFM حاوی کربوکسی متیل سلولز در قارچ *T. harzianum* ١١٢
جدول شماره ٤-٣٥) مقایسه میانگین فعالیت ویژه آنزیمی در مایع فوقانی محیط تخمیر TFM حاوی کربوکسی متیل سلولز در قارچ *T. harzianum* ١١٣
جدول شماره ٤-٣٦) مقایسه میانگین فعالیت آنزیمی تولید شده در مایع فوقانی محیط تخمیر TFM حاوی سوکسینوگلوکان در قارچ *T. viride* ١١٤
جدول شماره ٤-٣٧) مقایسه میانگین فعالیت ویژه آنزیمی تولید شده در مایع فوقانی محیط تخمیر TFM حاوی سوکسینوگلوکان در قارچ *T. viride* ١١٦
جدول شماره ٤-٣٨) مقایسه میانگین فعالیت ویژه آنزیمی تولید شده در مایع فوقانی محیط تخمیر TFM حاوی سلولز باکتریایی در قارچ *T. viride* ١١٧
جدول شماره ٤-٣٩) مقایسه میانگین فعالیت ویژه آنزیمی تولید شده در مایع فوقانی محیط تخمیر TFM حاوی سلولز باکتریایی در قارچ *T. viride* ١١٨
جدول شماره ٤-٤٠) مقایسه میانگین فعالیت آنزیمی تولید شده در مایع فوقانی محیط تخمیر TFM حاوی سلولز کلوئیدی در قارچ *T. viride* ١٢٠
جدول شماره ٤-٤١) مقایسه میانگین فعالیت ویژه آنزیمی تولید شده در مایع فوقانی محیط تخمیر TFM حاوی سلولز کلوئیدی در قارچ *T. viride* ١٢١
جدول شماره ٤-٤٢) مقایسه میانگین فعالیت آنزیمی تولید شده در مایع فوقانی محیط تخمیر TFM حاوی کربوکسی متیل سلولز در قارچ *T. viride* ١٢٢
جدول شماره ٤-٤٣) مقایسه میانگین فعالیت ویژه آنزیمی تولید شده در مایع فوقانی محیط تخمیر TFM حاوی کربوکسی متیل سلولز در قارچ *T. viride* ١٢٤
جدول شماره ٤-٤٤) پروفایل پروتئینی آنزیم گلوکاناز در گونه *T.viride* ١٢٧
جدول شماره ٤-٤٥) پروفایل پروتئینی آنزیم گلوکاناز در گونه *T.harzianum* ١٢٨

جدول شماره ٤-٤٦) پروفایل پروتئینی آنزیم کیتیناز در گونه *T.viride* ١٣٢
جدول شماره ٤-٤٧) پروفایل پروتئینی آنزیم کیتیناز در گونه*T.harzianum* ١٣٢
جدول شماره ٤-٤٨) دسته بندی جدایه های موتانت گونه *T.harzianum* بر اساس فاکتورهای بررسی شده ١٣٥
جدول شماره ٤-٤٩) دسته بندی جدایه های موتانت گونه *T.viride* بر اساس فاکتورهای بررسی شده ١٣٦

عنوان نمودارها

نمودار شماره ٤-١) نمودار استاندارد پروتئین برای آنزیم کیتیناز ٩١

نمودار شماره ٤-٢) غلظت پروتئین در قارچ *T.harzianum* در محیط کشت حاوی کیتین ٩٣

نمودار شماره ٤-٣) غلظت پروتئین در قارچ *T.viride* در محیط کشت حاوی کیتین ٩٤

نمودار٤-٤) استاندارد قند N-استیل گلوکزآمین ٩٤

نمودار شماره ٤-٥) فعالیت آنزیم گلوکاناز قارچ *T. viride* در محیط تخمیری حاوی کیتین ٩٦

نمودار شماره ٤-٦) فعالیت ویژه آنزیم کیتیناز قارچ *T. viride* در محیط تخمیری حاوی کیتین ٩٧

نمودار شماره ٤-٧) فعالیت آنزیم کیتیناز قارچ *T. harzianum* در محیط تخمیری حاوی کیتین ٩٩

نمودار شماره ٤-٨) فعالیت ویژه آنزیم کیتیناز قارچ *T. harzianum* در محیط تخمیری حاوی کیتین ١٠٠

نمودارشماره ٤-٩) نمودار استاندارد پروتئین ١٠٠

نمودار شماره ٤-١٠) غلظت پروتئین در قارچ *T.harzianum* در محیط حاوی سوکسینوگلوکان ١٠١

نمودار شماره ٤-١١) غلظت پروتئین در قارچ *T. viride* در محیط حاوی سوکسینوگلوکان ١٠٣

نمودار شماره ٤-١٢) نمودار استاندارد قند گلوکز ١٠٣

نمودار شماره ٤-١٣) فعالیت آنزیم گلوکاناز قارچ *T. harzianum* در محیط تخمیری حاوی سوکسینوگلوکان ١٠٤

نمودار شماره ٤-١٤) فعالیت ویژه آنزیم گلوکاناز قارچ *T. harzianum* در محیط تخمیری حاوی سوکسینوگلوکان ١٠٦

نمودار شماره ٤-١٥) فعالیت آنزیم گلوکاناز قارچ*T. harzianum* در محیط تخمیری حاوی سلولز کلوئیدی ١٠٧

نمودار شماره ٤-١٦) فعالیت ویژه آنزیم گلوکاناز قارچ *T. harzianum* در محیط تخمیری حاوی سلولز کلوئیدی ١٠٨
نمودار شماره ٤-١٧) فعالیت آنزیم گلوکاناز قارچ *T. harzianum* در محیط تخمیری حاوی سلولز باکتریایی ١١٠
نمودار شماره ٤-١٨) فعالیت ویژه آنزیم گلوکاناز قارچ *T. harzianum* در محیط تخمیری حاوی سلولز باکتریایی ١١١
نمودار شماره ٤-١٩) فعالیت آنزیم گلوکاناز قارچ *T. harzianum* در محیط تخمیری حاوی کربوکسی متیل سلولز ١١٢
نمودار شماره ٤-٢٠) فعالیت ویژه آنزیم گلوکاناز قارچ *T. harzianum* در محیط تخمیر حاوی کربوکسی متیل سلولز ١١٤
نمودار شماره ٤-٢١) فعالیت آنزیم گلوکاناز قارچ *T. viride* در محیط تخمیری حاوی سوکسینوگلوکان ١١٥
نمودار شماره ٤-٢٢) فعالیت ویژه آنزیم گلوکاناز قارچ *T. viride* در محیط تخمیری حاوی سوکسینوگلوکان ١١٦
نمودار شماره ٤-٢٣) فعالیت آنزیم گلوکاناز قارچ *T. viride* در محیط تخمیری حاوی سلولز باکتریایی ١١٨
نمودار شماره ٤-٢٤) فعالیت ویژه آنزیم گلوکاناز قارچ *T. viride* در محیط تخمیری حاوی سلولز باکتریایی ١١٩
نمودار شماره ٤-٢٥) فعالیت آنزیم گلوکاناز قارچ *T. viride* در محیط تخمیری حاوی سلولز کلوئیدی ١٢٠
نمودار شماره ٤-٢٦) فعالیت ویژه آنزیم گلوکاناز قارچ *T. viride* در محیط تخمیری حاوی سلولز کلوئیدی ١٢٢
نمودار شماره ٤-٢٧) فعالیت آنزیم گلوکاناز قارچ *T. viride* در محیط تخمیری حاوی کربوکسی متیل سلولز ١٢٣
نمودار شماره ٤-٢٨) فعالیت ویژه آنزیم گلوکاناز قارچ *T. viride* در محیط تخمیری حاوی کربوکسی متیل سلولز ١٢٤