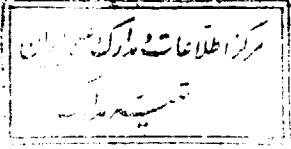


اشرف المصنفين

٣١١٦٤

۱۰ / ۵ / ۱۳۷۹



دانشگاه شهید چمران اهواز  
دانشکده کشاورزی  
گروه گیاهپزشکی

پایان نامه کارشناسی ارشد  
(معادل)  
عنوان:

مبارزه بیولوژیکی با *Macrophomina phaseolina* عامل بیماری  
ساق سیاه خربزه توسط قارچهای آنتاگونیست تریکودرما و گلیوکلادیوم

نگارش:

احمد رضا غفاریان

استاد راهنما:

واحه میناسیان

استاد مشاور:

داریوش شهریاری

آذر ۱۳۷۸

۳۱۱۶۴

۸۶۴۵



دانشگاه شهید چمران

اهواز

مدیریت تحصیلات تکمیلی

بسمه تعالی

(نتیجه ارزشیابی پایان نامه دوره کارشناسی ارشد)

بدین وسیله گواهی می‌گردد پایان نامه آقای احمد رضا غفاریان دانشجوی رشته

بیماری‌شناسی گیاهی از دانشکده کشاورزی به شماره دانشجویی ۷۶۲۱۸۰۷ تحت عنوان:

کنترل بیولوژیکی *Macrophomina phaseolina* عامل بیماری ساق سیاه خربزه

توسط فارجهای تریکودرما و گلیوکلا دیوم

جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد در تاریخ ۷۸/۹/۲۹ توسط هیئت داوران مورد ارزشیابی قرار

تصویب گردید.

گرفت و با درجه

امضاء

مرتبه علمی

۱- اعضاء هیئت داوران:

استاد

الف- استاد راهنما: واهه میناسیان

استاد یار

ب- استاد مشاور: داریوش شهریار

استاد یار

ج- داور ۱: رضا فرخی نژاد

استاد

د- داور ۲: جعفر ارشاد

استاد یار

ه- نماینده تحصیلات تکمیلی دانشگاه (استاد ناظر) محمد مهدی

استاد یار

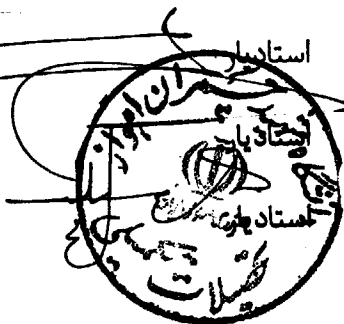
۲- مدیر گروه: جمشید حیاتی

استاد یار

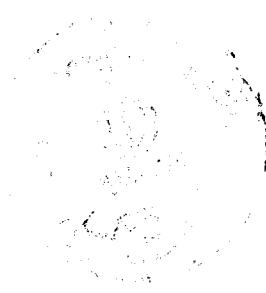
۳- معاون آموزشی دانشکده: پینا

استاد یار

۴- مدیر تحصیلات تکمیلی: فخارزاده



تقریم بہ مہر کمانہ و فرلا کامہ ہن  
کہ تجھ زجات و شکستہ فرلا  
ہولہ مشوق و شیبان فر  
دریں سیر خانہ و مولد ارادہ ایار  
و تقریم بہ نذر و لبندم علیض



## سپاسگزاری

اکنون که به یاری خداوند متعال و رحمت بیکرانش توفیق یافته‌ام که بار دیگر در جاده علم و دانش قدمی به پیش بردارم و مقطع تحصیلی دیگر از مراحل تحصیلی خود رابه پایان می‌برم برخود لازم می‌دانم از تلاش و مساعی صمیمانه اساتید بزرگواری که خالصانه و بدون هیچگونه چشمداشتی بنده را در مسیراین تحقیق ارشاد و راهنمایی نموده‌اند تشکر و قدردانی نمایم.

استاد راهنمای محترم و والامقام جناب آقای دکتر واهه میناسیان که در تمام مراحل تحقیق، تدوین و تالیف پایان نامه هدایت و راهنمایی اینجانب را به عهده داشتند و در این راستا از هیچگونه کمکی دریغ نفرمودند.

استاد مشاور محترم جناب آقای مهندس داریوش شهریاری که در تمام مراحل اجرایی پایان نامه نظارت دقیق داشتند و صمیمانه همه گونه امکانات مورد لزوم را در اختیار بنده قرار دادند

استاد محترم جناب آقای دکتر حمید روحانی که در تائید و تشخیص قارچهای آنتاگونیست همکاری صمیمانه‌ای با اینجانب داشتند.

استاد محترم جناب آقای دکتر جعفر ارشاد که در تائید و تشخیص قارچ بیمارگر و منابع مورد استفاده و مساعدت فراوانی نمودند

استاد محترم جناب آقای دکتر اصغری مسئول آزمایشگاه قرنطینه سازمان حفظ نباتات که در تحقیقات آزمایشگاهی و تهیه منابع با اینجانب همکاری صمیمانه‌ای داشتند

آقای مهندس قاسمی کارشناس آزمایشگاه تحقیقات ورامین به خاطر همکاری صمیمانه در طول اجرای آزمایشات پایان نامه و نیز سایر اساتید و مسئولان محترم بخش گیاهپزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید چمران اهواز قدردانی و تشکر می‌نمایم و از زحمات آنها سپاسگزارم.

احمد رضا غفاریان

## فهرست مطالب

صفحه	عنوان
	چکیده
۱	۱- مقدمه.....
۹	۲- بررسی نوشته‌ها.....
۱۰	۲-۱- معرفی گیاه خربزه و بیماری ساق سیاه.....
۱۲	۲-۲- شکل شناسی قارچ <i>Macrophomina phaseolina</i> .....
۱۹	۲-۳- بیولوژی و اکولوژی قارچ ماکروفومینا.....
۲۰	۲-۴- هیستوپاتولوژی قارچ ماکروفومینا.....
۲۳	۲-۵- مفهوم مبارزه بیولوژیکی.....
	۲-۶- معرفی قارچهای آنتاگونیست <i>Trichoderma</i> و <i>Gliocladium</i> از نظر تاکسونومی.....
۲۴	۲-۷- معرفی قارچهای آنتاگونیست <i>Trichoderma</i> , <i>Gliocladium</i> به عنوان عوامل کنترل بیولوژیکی.....
۲۶	۳- مواد و روشها.....
۲۰	۳-۱- جداسازی <i>Macrophomina phaseolina</i> از گیاه بیمار خربزه.....
۳۰	۳-۲- تولید سختینه قارچ ماکروفومینا در آزمایشگاه.....
۳۱	۳-۳- بررسی بیماریزایی ماکروفومینا روی خربزه.....
۳۱	۳-۳-۱- اثبات بیماریزایی در گلخانه.....
۳۱	۳-۳-۱-۱- تهیه اینوکولوم ماکروفومینا.....
۳۲	۳-۳-۱-۲- روش افزودن اینوکولوم به خاک گلدان.....
۳۲	۳-۳-۱-۳- اثبات بیماریزایی ماکروفومینا روی خربزه.....

## فهرست مطالب

عنوان	صفحه
۴-۱-۳-۲- روش بازیافت و ردیابی قارچ ماکروفومینا از بافت‌های گیاهیچه	
خربزه در گلدانهای آلوده.....	۲۵
۵-۱-۳-۲- آزمایش تعیین حداقل میزان اینوکولوم برای ایجاد بیماریزیایی	
روی خربزه.....	۲۵
۲-۳-۲- اثبات بیماری‌زایی ماکروفومینا روی میوه خربزه.....	۲۶
۴-۳- روش تعیین هویت عامل بیماری ساق سیاه خربزه (Charcoal rot)	۲۶
۵-۳- جداسازی و تهیه قارچهای آنتاگونیست.....	۲۶
۱-۵-۲- جداسازی قارچهای آنتاگونیست از خاک.....	۲۷
۲-۵-۲- تهیه جدایه‌های آنتاگونیست از منابع دیگر.....	۲۹
۳-۵-۲- روشهای بکار برده شده جهت تعیین هویت جدایه‌های	
آنتاگونیست.....	۳۹
۶-۳- بررسیهای آزمایشگاهی تاثیر آنتاگونیست‌ها روی قارچ	
ماکروفومینا.....	۳۹
۱-۶-۲- بررسی تاثیرات مستقیم.....	۴۰
۱-۱-۶-۲- بررسی تماس مستقیم و میزان رقابت غذایی آنتاگونیست‌ها با قارچ	
ماکروفومینا.....	۴۰
۲-۱-۶-۲- بررسی قدرت کلنیزه و لیزکردن سختینه ماکروفومینا توسط	
قارچهای آنتاگونیست.....	۴۱
۱-۲-۱-۶-۲- بررسی قدرت جوانه‌زنی سختینه‌های لیز شده در	
آزمایشگاه.....	۴۲

## فهرست مطالب

عنوان	صفحه
۱-۲-۱-۱-۲-۳- بررسی قدرت بیماریزایی سبزه‌های لجر شده در گلخانه	۴۲
۲-۲-۳-۲- بررسی تاثیرات غیر مستقیم	۴۴
۱-۲-۳-۲-۱- اثر ترکیبات گازی فرار کشت ۴۸ ساعته آنتاگونیست‌ها روی رشد میسلیمی قارچ ماکروفومینا	۴۴
۲-۲-۳-۲-۲- اثر ترکیبات گازی فرار کشت ۹۶ ساعته آنتاگونیست‌ها روی رشد میسلیمی قارچ ماکروفومینا	۴۶
۳-۷- بررسی تاثیر قارچکش‌ها روی رشد میسلیمی قارچ ماکروفومینا ...	۴۷
۳-۸- بررسی اثر قارچکش کار بندازیم روی رشد میسلیمی قارچ‌های آنتاگونیست	۵۰
۳-۹- بررسی اثر کنترل‌کنندگی قارچ‌های آنتاگونیست روی بیماری ساق سیاه خربزه و مقایسه آن با سم کار بندازیم و مواد بیولوژیک تریکودرمن B و پروموت در گلخانه	۵۱
۱-۲-۳-۹-۱- اجرای آزمایشات گلخانه‌ای (نوبت اول)	۵۲
۱-۲-۳-۹-۱-۱- تکثیر آنتاگونیست‌ها روی سبوس	۵۳
۲-۲-۳-۹-۱-۲- اضافه کردن سبوس به خاک	۵۴
۲-۲-۳-۹-۲- اجرای آزمایشات گلخانه‌ای نوبت دوم	۵۷
۴- نتایج	
۴-۱- تعیین هویت قارچ <i>Macrophomina phaseolina</i>	۶۱
۴-۲- تعیین هویت قارچ‌های آنتاگونیست	۶۲
۴-۳- نتایج بررسی‌های آزمایشگاهی	۶۵



## فهرست مطالب



عنوان

- ۱-۳-۴- نحوه تاثیرات مستقیم آنتاگونیست‌ها روی ماکروفومینا بصورت  
مشاهده میکروسکوپی ..... ۶۵
- ۱-۱-۳-۴- تماس مستقیم، رقابت غذایی و کلنی زاسیون قارچهای  
آنتاگونیست با قارچ ماکروفومینا..... ۶۶
- ۲-۳-۴- نحوه تاثیرات غیر مستقیم آنتاگونیست‌ها روی رشد میسلومی  
ماکروفومینا..... ۷۱
- ۱-۲-۳-۴- توضیح در مورد تجزیه و تحلیل داده‌ها..... ۷۱
- ۲-۲-۳-۴- تاثیر ترکیبات گازی فرار کشت ۴۸ ساعته آنتاگونیست‌ها روی  
رشد میسلومی ماکروفومینا..... ۷۲
- ۲-۲-۳-۴- تاثیر ترکیبات گازی فرار کشت ۹۶ ساعته آنتاگونیست‌ها روی رشد  
میسلومی ماکروفومینا..... ۷۵
- ۴-۴- اثر قارچکشها روی رشد میسلومی قارچ ماکروفومینا..... ۸۰
- ۵-۴- اثر قارچکش کار بندازیم روی رشد میسلومی آنتاگونیست‌ها..... ۸۰
- ۶-۴- نتایج بررسیهای گلخانه‌ای..... ۸۶
- ۱-۶-۴- آزمایش اثر کنترل کنندگی آنتاگونیست‌ها روی بیماری ساق سیاه  
خربزه و مقایسه آن با اثر سم کار بندازیم و مواد بیولوژیک تریکودرمین B و  
پروموت در گلخانه..... ۸۶
- ۱-۱-۶-۴- نتایج آزمایشات نوبت اول در گلخانه..... ۸۶
- ۲-۱-۶-۴- نتایج آزمایشات نوبت دوم در گلخانه..... ۸۸
- بحث..... ۹۵
- خلاصه پایان نامه به زبان فارسی..... ۱۰۷

## فهرست مطالب

صفحه

عنوان

- ۱۰۹..... خلاصه پایان نامه به زبان انگلیسی
- ۱۱۲..... واژه نامه
- ۱۱۶..... منابع مورد استفاده فارسی
- ۱۲۰..... منابع مورد استفاده انگلیسی
- ۱۳۰..... چکیده به زبان انگلیسی

## فهرست شکلها و نمودارها

### شرح شکلها

- ۱- علائم پوسیدگی طوقه و دستک‌های بوته خربزه مبتلا به بیماری ساق سیاه در مرحله بعد از تشکیل میوه - منطقه ایوانکی ..... ۱۴
- ۲- پژمردگی کامل بوته خربزه در اثر گسترش میسلومی قارچ ..... ۱۴
- M. phaseolina* در مرحله قبل از برداشت میوه - منطقه ایوانکی ..... ۱۴
- ۳- تشکیل سختینه ماکروفومینا ..... ۱۸
- (a) مرحله ابتدایی تشکیل سختینه از یک هیف منفرد قارچ *M. phaseolina* ... ۱۸
- (b) سختینه‌های بالغ دو هفته‌ای قارچ *M. phaseolina* ..... ۱۸
- ۴- کشت قارچ ماکروفومینا در محیط پ - د - آ. بعد از دو هفته انکوباسیون ۳۱
- ۵- تکثیر قارچ *M. phaseolina* در محیط غذایی ماسه و آرد ذرت ..... ۳۳
- ۶- اثبات بیماریزایی قارچ *M. phaseolina* بر روی گیاه خربزه ..... ۳۳
- ۷- علائم بیماریزایی قارچ ماکروفومینا روی گیاهچه خربزه
- (a) علائم خشکیدگی برگها و جدایه انتهایی گیاهچه خربزه در اثر قارچ ماکروفومینا ..... ۳۴
- (b) علائم خشکیدگی دمبرگ و قسمتی از برگ گیاهچه خربزه در اثر قارچ ماکروفومینا ..... ۳۴
- ۸- اثبات بیماریزایی قارچ ماکروفومینا بر روی خربزه ..... ۳۷
- ۹- سختینه‌های سالم قارچ *M. phaseolina* مربوط به محیط کشت دو هفته‌ای (a) در مقایسه با سختینه‌های (چهار هفته‌ای) کلونیزه و لیز شده توسط آنتاگونیست *T. viride* جدایه کرج (b) ..... ۴۳
- ۱۰ مقایسه قدرت بیماریزایی سختینه‌های سالم و سختینه‌های لیز شده ماکروفومینا توسط آنتاگونیست *T. viride* با یکدیگر ..... ۴۴

- ۱۱ - تکثیر آنتاگونیست‌ها در محیط غذایی مخلوط سبوس برنج و گندم در شیشه‌های یک لیتری ..... ۵۶
- ۱۲ - انشعابات فیالیدها و تجمع کنیدی‌ها در *G. virens* جدایه کریمخانی ..... ۶۴
- ۱۳ - انشعابات کنیدیوفور و فیالیدها در *T. viride* جدایه کرج ..... ۶۴
- ۱۴ - برخورد هیفی *T. viride* جدایه کرج با هیف *M. phaseolina* (a) و تماس و نفوذ هیفی *T. viride* جدایه کرج بداخل هیف *M. phaseolina* (b) ..... ۶۸
- ۱۵ - نحوه رقابت غذایی و بازدارندگی از رشد میسلیمی *M. phaseolina* توسط *T. viride* جدایه کرج ..... ۶۹
- ۱۶ - نحوه کلونیزاسیون قارچ *M. phaseolina* توسط *T. viride* جدایه کرج و *T. koningii* جدایه ورامین ..... ۶۹
- ۱۷ - اثر ترکیبات گازی کشت ۹۶ ساعته آنتاگونیست‌ها روی رشد میسلیومی قارچ *M. phaseolina* بعد از چهار روز انکوباسیون ..... ۷۷
- ۱۸ - اثر ترکیبات گازی کشت ۹۶ ساعته *T. viride* جدایه کرج (a) و *T. harzianum* جدایه اهواز (b) روی رشد میسلیومی قارچ *M. phaseolina* ..... ۷۸
- ۱۹ - اثر قارچکش کار بندازیم روی رشد میسلیومی *M. phaseolina* در سه غلظت ۰/۱ و ۱ و ۱۰ پی پی ام ..... ۸۲
- ۲۰ - اثر قارچکش کار بندازیم روی رشد میسلیومی آنتاگونیست *T. viride* جدایه کرج در سه غلظت ۰/۱ و ۱ و ۱۰ پی پی ام ..... ۸۲
- ۲۱ - کنترل بیولوژیکی ماکروفومینا توسط قارچهای آنتاگونیست در مقایسه با مواد بیولوژیک و سم کار بندازیم در گلخانه نوبت اول ..... ۹۱
- ۲۲ - کنترل بیولوژیکی ماکروفومینا توسط قارچهای آنتاگونیست در مقایسه با مواد بیولوژیک و سم کار بندازیم در آزمایشگاه گلخانه (نوبت دوم) ..... ۹۴

## شرح نمودارها



- ۱- نمودار رقابت غذایی قارچهای آنتاگونیست با قارچ *M. phaseolana* بعد از ۷۰ روز انکوباسیون.....
- ۲- نمودار تاثیر گازهای فرار کشت ۴۸ ساعته آنتاگونیستها بر روی درصد رشد میسلیمیومی قارچ ماکروفومینا ..... ۷۴
- ۳- نمودار تاثیر گازهای فرار کشت ۹۶ ساعته آنتاگونیستها روی درصد رشد میسلیمیومی قارچ ماکروفومینا ..... ۷۹
- ۴- نمودار منحنی درصد بازدارندگی قارچکشاها روی رشد میسلیمیومی قارچ ماکروفومینا در چهار غلظت ۱/۰ و ۱ و ۱۰ و ۱۰۰ پی پی ام..... ۸۳
- ۵- نمودار درصد بازدارندگی قارچکشاها روی رشد میسلیمیومی قارچ ماکروفومینا در چهار غلظت ۱/۰ و ۱ و ۱۰ و ۱۰۰ پی پی ام..... ۸۴
- ۶- نمودار درصد بازدارندگی قارچکش کاربندازیم روی رشد میسلیمیومی آنتاگونیستها در سه غلظت ۱/۰ و ۱ و ۱۰ پی پی ام..... ۸۵
- ۷- نمودار نتایج، تاثیر آنتاگونیستها در مقایسه با مواد بیولوژیک و سم کاربندازیم در بازدارندگی از قارچ ماکروفومینا در آزمایشات گلخانه (نوبت اول)..... ۹۳
- ۸- نمودار نتایج تاثیر آنتاگونیستها در مقایسه با مواد بیولوژیک و سم کاربندازیم در بازدارندگی از قارچ ماکروفومینا در آزمایشات گلخانه (نوبت دوم)..... ۹۴

## چکیده پایان نامه

نام خانوادگی دانشجو: غفاریان	نام: احمد رضا
عنوان پایان نامه: مبارزه بیولوژیکی با <i>Macrophomina phaseolina</i> عامل بیماری ساق سیاه خربزه توسط قارچهای آنتاگونیست تریکودرما و گلیوکلادیوم	
استاد راهنما: دکتر واهه میناسیان	استاد مشاور: مهندس داریوش غفاریان
درجه تحصیلی: کارشناسی ارشد رشته: گیاهپزشکی گرایش: بیماری‌شناسی گیاهی	
محل تحصیل: دانشگاه شهید چمران اهواز دانشکده: کشاورزی	
تاریخ فارغ التحصیلی: تعداد صفحه:	
واژه‌های کلیدی: مبارزه بیولوژیک - خربزه - <i>Macrophomina phaseolina</i> - آنتاگونیست - تریکودرما - گلیوکلادیوم	
<p>بیماری ساق سیاه خربزه (charcoal rot) ناشی از <i>Macrophomina phaseolina</i> (Tassi) Goid. یکی از عوامل مهم خسارتزا در گیاه خربزه می‌باشد. قارچ عامل بیماری از مزارع آلوده مناطق ورامین و ایوانکی جداسازی و بیماری‌زایی آن روی خربزه به اثبات رسید. در بررسیهای آزمایشگاهی جدایه‌های <i>Trichodeama harzianum</i> و <i>T.viride</i> با قدرت رقابت غذایی و هیپرپارازیتسم قوی از رشد کلنی ماکروفومینا در محیط کشت متقابل (Dual culture) جلوگیری نمودند. در آزمایشات کلنی زاسیون جدایه‌های <i>T.viride</i> و <i>T.koningii</i>، <i>T.harzianum</i> به ترتیب بالاترین تاثیر را در کلونیزه و لیز کردن سختینه‌های ماکروفومینا داشته و از جوانه زنی سختینه در محیط کشت جلوگیری نمودند. در بررسیهای میکروسکوپی نفوذ و تخریب هیفی ماکروفومینا بوسیله جدایه‌های فوق مشاهده گردید. در بررسی اثر ترکیبات گازی، در بین کشتهای ۴۸ ساعته آنتاگونیستها، جدایه <i>T.harzianum</i> و در بین کشتهای ۹۶ ساعته، <i>T.viride</i> بالاترین بازدارندگی را بر روی رشد میسلیمی ماکروفومینا نشان دادند. بررسی قارچکشتها در آزمایشگاه نشان داد که سم کاربندازیم دارای بیشترین بازدارندگی بر روی رشد میسلیمی ماکروفومینا در مقایسه با سایر قارچکشتها می‌باشد در حالی که جدایه‌های <i>T.viride</i> و <i>T.harzianum</i> مقاومت بالایی را در برابر این سم از خود نشان دادند. در آزمایشات گلخانه جدایه <i>T.viride</i> به تنهایی و یا در تلفیق با سم کاربندازیم بطور موثری بیماری را کنترل نمود. تاثیر بازدارندگی مواد بیولوژیک تریکودرمن B و پروموت بر روی قارچ ماکروفومینا در مقایسه با قارچهای آنتاگونیست مورد آزمایش ضعیف بود.</p>	

**فصل اول**

**مقدمه**