

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

۲۷۴۱۴



دانشگاه شهید چمران اهواز
دانشکده کشاورزی
گروه گیاهپزشکی

۱۳۷۸ / ۹ / ۲۰

پایان نامه کارشناسی ارشد
در رشته بیماری شناسی گیاهی



جداسازی و تشخیص قارچهای مولد پوسیدگی ریشه و مرگ
گیاهچه و نهال در خزانه های درختان جنگلی در خوزستان

نگارش:

عباس کاویان پی

استاد راهنما:

دکتر واهه میناسیان

5013

استاد مشاور:

دکتر علی علیزاده علی آبادی

بهمن ماه ۱۳۷۷

۲۷۴۱۴



فرم ارزشیابی پایان نامه دوره کارشناسی ارشد

پایان نامه ~~موضوع~~ / آقای عباس کاویان بی شماره دانشجویی ۷۴۴۰۰۰۲

با عنوان " جدا سازی و شناسایی عوامل فارچی مولد مرگ گیاهچه و پوسیدگی ریشه نهال درختان جنگلی در خوزستان "

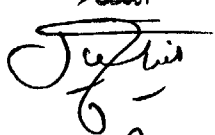


جهت دریافت درجه کارشناسی ارشد در رشته بیماری شناسی گیاهی

که در ساعت ۱۲-۱۰ روز سه شنبه مورخ ۲۷/۱۱/۶

در دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید چمران اهواز ارائه گردیده

و توسط هیات داوران مورد تصویب قرار گرفت .

اعضاء هیات داوران

نام و نام خانوادگی	عنوان	مرتبۀ دانشگاهی	امضاء
۱- دکتر میناسیان	استاد راهنما	استاد	
۲- " علیزاده علی آبادی	استاد مشاور	استاد	
۳- " فرخونزاد	داور	استادیار	

تشکر و قدردانی

پروردگار را سپاسگذار که به من توفیق فراگیری علم را عنایت فرمود و مرا در انجام موفقیت آمیز این تحقیق یاری نمود. موفقیت من مدیون زحمات و راهنماییهای اساتید محترم و زحمتکش گروه گیاهپزشکی بوده که در مراحل مختلف راهنما و مشوق من بوده‌اند.

واجب می‌دانم که زحمات استاد فرزانه جناب آقای دکتر واهه میناسیان که با صبر و شکیبایی راهنمایی این حقیر در مراحل مختلف تحقیق بودند سپاسگذاری نمایند. از جناب آقای دکتر علی علیزاده رئیس بخش آفات و بیماریهای گیاهی مؤسسه تحقیقات جنگل و مرتع که به عنوان استاد مشاور با ارائه پیشنهادات و راهنماییهای ارزشمند مرا یاری نمودند تشکر می‌نمایم.

از دکتر رضا فراخی نژاد استاد محترم گروه گیاهپزشکی و ریاست سابق دانشکده کشاورزی به خاطر راهنماییهای لازم خصوصاً در قسمت فواریموهای بیماریزا و همچنین فراهم آوردن تسهیلات و امکانات در اجرای این تحقیق تشکر می‌گردد و از مساعدت ریاست فعلی دانشکده جناب آقای دکتر محمد محمودی تشکر و قدردانی می‌نمایم همچنین از زحمات جناب آقای دکتر علی اصغر سراج مدیریت سابق گروه گیاهپزشکی و استاد گرامی جناب آقای دکتر حیاتی مدیریت فعلی در فراهم آوردن امکانات لازم در امر اجرا و ارائه این تحقیق قدردانی می‌نمایم. از دانشجویان کارشناسی ارشد بیماریها گروه گیاهپزشکی که با همفکری خود مشوق و راهنمای من در این تحقیق بودند تشکر می‌نمایم.

اجرای این تحقیق بدون مساعدت و همکاری مرکز تحقیقات منابع طبیعی و امور دام خوزستان و اداره کل منابع طبیعی استان میسر نبود لذا بدین وسیله مراتب تشکر خود را از مسئولین و همکاران محترم این ادارات اعلام می‌نمایم.

عباس کاویان‌پی

تقدیم به:

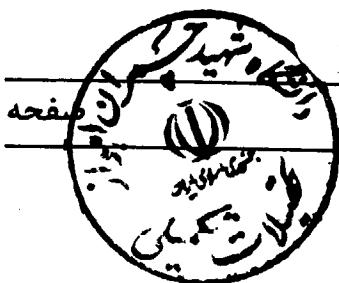
برادرم سعید که در اسفندماه ۶۵ به درجه

رفیع شهادت نائل آمد

و به

همسر و فرزندانم سعید و سحر

این پایان نامه با همکاری و مساعدت مالی دفتر طرح و
برنامه‌ریزی و هماهنگی امور پژوهشی وزارت جهاد سازندگی
و مرکز تحقیقات منابع طبیعی و امور دام استان خوزستان
اجرا گردیده است.



فصل اول کلیات

- الف - مقدمه ۲
- ب - بررسی منابع ۴

فصل دوم روش تحقیق

- الف) مناطق نمونه برداری: ۸
- ب) روش نمونه برداری: ۸
- ج) جداسازی و خالص سازی عوامل بیماریزا ۸
- د) تشخیص و اثبات بیماریزایی ریزوکتونیاها ۹
- (۱) اثبات بیماریزایی: ۹
- (۲) شناسایی ۹
- (۱-۲) رنگ آمیزی هسته ها با استفاده از سافرانین: ۹
- (۲-۲) خصوصیات مرفولوژیکی: ۱۰
- (۲-۳) تعیین گروه آناستوموزی: ۱۰
- (۲-۴) تلاش جهت ایجاد شکل جنسی: ۱۳
- ه) روشهای تشخیص و اثبات بیماریزایی فوزاریومها ۱۳
- (۱) محیطهای کشت: ۱۴
- (۱-۱) محیطهای کشت سیب زمینی دکستروز آگار ۱۴
- (۱-۲) محیط کشت آب آگار (Water Agar) ۱۴
- (۱-۳) محیط کشت SNA (Special Nutrient Agar) ۱۴
- (۱-۴) محیط کشت برگ میخک - آگار (CLA) ۱۵
- (۲) روشهای خالص سازی و نگهداری ۱۵
- (۲-۱) روش تک اسپور کردن ۱۵



۱۶ ۲-۲) روش نوک ریشه کردن.
۱۶ ۲-۳) روش نگهداری کشت خالص
۱۷ ۳) بررسی خصوصیات فوزاریومها
۱۷ ۳-۱) شرایط رشد و اسپورزایی
۱۷ ۳-۲) تولید کلامیدوسپور
۱۷ ۳-۳) تهیه اسلایدهای میکروسکوپی و تهیه عکس
۱۷ ۴) نحوه تشخیص فوزاریومها
۱۹ ۵) روشهای مورد استفاده در تعیین بیماریزایی فوزاریومها
۱۹ ۵-۱) روش استفاده از مایه تلقیح گندم
۱۹ ۵-۲) روش غوطه‌وری ریشه‌ها در سوسپانسیون اسپور
۲۰ ر) بیماریزایی و تشخیص سایر عوامل قارچی بیماریزا
۲۰ ۱) جداسازی پتیوم و فیتوفترا
۲۰ ۱-۱) اسپورزایی
۲۱ ۱-۲) روش‌های نگهداری کشت خالص پتیوم و فیتوفترا
۲۱ ۱-۲-۱) استفاده از آب مقطر استریل
۲۱ ۱-۲-۲) استفاده از آب مقطر استریل + بذر شاهدانه
۲۱ ۱-۳) اثبات بیماریزایی گونه‌های پتیوم و فیتوفترا
۲۱ ۲) جداسازی <i>Macrophomina phaseolina</i>
۲۱ ۲-۱) اسپورزایی <i>M. phaseolina</i>
۲۲ ۲-۲) اثبات بیماریزایی <i>M. phaseolina</i>

**□ فصل سوم نتایج**

۲۴	نتایج :
۲۶	الف - فوزاریومهای بیماریزا
۲۶	(۱) توصیف گونه <i>F. solani</i>
۳۱	(۲) توصیف گونه <i>F. oxysporum</i>
۳۴	(۳) توصیف گونه <i>F. equiseti</i>
۳۶	(۴) بیماریزایی جدائیه‌های فوزاریوم
۳۹	ب) ریزوکتونیا‌های بیماریزا
۳۹	(۱) مشخصات مرفولوژیکی:
۳۹	(۲) بیماریزایی و تعیین گروه‌های آناستوموزی جدائیه‌های ریزوکتونیا در خزانه‌های جنگلی خوزستان
۴۴	(۲-۱) مرگ گیاهچه و پوسیدگی ریشه ناترک
۴۸	(۲-۲) مرگ گیاهچه و پوسیدگی ریشه کنار
۵۰	(۲-۳) مرگ گیاهچه و پوسیدگی ریشه سوزنی برگان
۵۳	ج) سایر قارچهای بیماریزا در خزانه‌های درختان جنگلی در خوزستان
۵۵	(۱) توصیف جنس <i>pythium</i>
۶۰	(د) توصیف جنس <i>phytophthora SP.</i>
۶۱	ه) توصیف <i>Macrophomina phaseolina (Maubl.) Ash</i>

□ فصل چهارم بحث و نتیجه گیری

۶۳	بحث و نتیجه گیری
۷۱	الف) مبارزه زراعی:
۷۱	ب) مبارزه شیمیائی
۷۳	واژه‌نامه توصیفی
۷۵	منابع



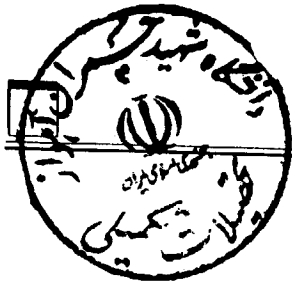
«چکیده پایان نامه»

نام خانوادگی دانشجو: کاویان پی	نام: عباس	
عنوان پایان نامه: جداسازی و تشخیص قارچهای مولد پوسیدگی ریشه و مرگ گیاهان خزانه‌های درختان جنگلی در خوزستان		
استاد راهنما: واهه میناسیان		
درجه تحصیلی: کارشناسی ارشد	رشته: گیاهپزشکی	گرایش: بیماری‌شناسی گیاهی
محل تحصیل (دانشگاه): دانشگاه شهید چمران اهواز	دانشکده: کشاورزی	
تاریخ فارغ التحصیلی: ۷۷/۱۱/۶	تعداد صفحات:	
کلید واژه‌ها: مرگ گیاهچه: <i>Damping off</i> ، پوسیدگی ریشه: <i>Root rot</i>		
خزانه‌های جنگلی: <i>Forest nurseries</i>		
چکیده:		
<p>در این پژوهش قارچهای همراه با پوسیدگی ریشه و مرگ گیاهچه در خزانه‌های درختان جنگلی استان خوزستان در طی سالهای ۱۳۷۵ لغایت ۱۳۷۷ جدا و خالص سازی شده و ویژگیهای شکل شناسی و بیماری‌زایی آنها مورد بررسی قرار گرفت.</p> <p>از مجموعه ۵۹ جدائی، ۲۸ جدائی از جنس فوزاریوم، ۱۹ جدائی از جنس ریزوکتونیا و ۱۲ جدائی از سایر قارچهای مهم عامل مرگ گیاهچه و پوسیدگی ریشه از خزانه‌های جنگل استان خوزستان جمع‌آوری گردید. جدائی‌های فوزاریوم شامل گونه‌های <i>F. solani</i>، <i>F. oxysporum</i>، <i>F. equiseti</i> بود <i>F. solani</i> متداولترین گونه با فراوانی ۸۹ درصد و با پراکنش زیاد در سطح خزانه‌های استان بود. گونه <i>F. oxysporum</i> برای اولین بار از ایران روی کنار و کهور گزارش می‌شود.</p> <p>جدائی‌های <i>F. solani</i> بر روی میزبانهای کهور، ناترک، کنار، زربین، کاج ایرانی و سرو نقره‌ای و <i>F. oxysporum</i> بر روی کنار و کهور بیماری‌زا بودند. هیچکدام از جدایه‌های <i>F. equiseti</i> بیماری‌زا نبودند.</p> <p>ریزوکتونیاهای چند هسته‌ای از ناترک، کنار، سرو نقره‌ای، کاج ایرانی و اکالیپتوس جداسازی شد که بر اساس ویژگیهای آناستوموزی آنها <i>Rhizoctonia Solani</i> تشخیص داده شدند.</p> <p>گروه آناستوموزی مربوط به ناترک و کنار <i>AG - 4</i> و <i>AG - 6</i> تعیین شدند. که گروه آناستوموزی <i>AG - 4</i> سراسر مناطق نمونه برداری شده و گروه <i>AG - 6</i> از مناطق سوسنگرد و اهواز جمع‌آوری شدند.</p> <p>گروه‌های آناستوموزی <i>AG - 6</i> و <i>AG - 4</i> بر روی ناترک و کنار برای اولین بار از ایران و همچنین گروه آناستوموزی <i>AG - 4</i> بعنوان عامل مرگ گیاهچه و پوسیدگی ریشه بر روی سرو نقره‌ای در شهرستانهای دزفول ایذه گزارش گردید.</p> <p>سایر عوامل قارچی همراه با پوسیدگی ریشه و مرگ گیاهچه شامل گونه‌های: <i>Macrophomina phaseolina</i> و <i>phytophthora SP.</i>، <i>P. ultimum</i>، <i>pythium aphanidermatum</i> بودند که در این میان بیشترین پراکندگی و تهاجم در گونه‌های قارچی پیتیوم مشاهده گردید.</p> <p>جداسازی و بیماری‌زایی <i>phytophthora SP.</i> از کنار برای اولین بار گزارش گردیده است.</p>		



فصل اول

کلیات



فصل اول: کلیات

الف - مقدمه

با توجه به شرایط اقلیمی خاص که در استان خوزستان وجود دارد. گونه‌های درختان ناترک، اکالیپتوس، کنار و کهور با سازگاری بالا در اکثر نقاط استان و گونه‌های سوزنی برگ کاج ایرانی، سرونقره‌ای و زرین نیز به منظور توسعه فضای سبز بویژه در مناطقی نظیر ایذه، باغملک، دزفول، شوشتر مورد استفاده قرار می‌گیرد و این گونه‌ها بطور وسیع در سطح خزانه‌ها و نهالستانهای واقع در شهرستانهای مختلف کشت می‌گردد. خزانه‌های کشت سوزنی برگ منحصر به شهرستانهای دزفول و ایذه است. و در این میان عمدتاً کاج ایرانی سرونقره‌ای و زرین تولید می‌گردد. (جدول شماره ۱-۲) به لحاظ شرایط اقلیمی خاص استان و وجود شنزارهای روان و بیابانهای وسیع ضرورت کاشت درختان جنگلی مقاوم به خشکی اجتناب ناپذیر است.

هم اکنون استراتژی تولید، تکثیر و توزیع این نوع درختان در قالب طرحهای ملی و استانی سازمان جهادسازندگی خوزستان و اداره کل منابع طبیعی استان در درجه اول بمنظور تثبیت شن‌های روان و بیابان زدایی و در کنار آن احیاء مراتع، ایجاد جنگلهای مصنوعی و کمک به زیبایی شهرها بوده است.

نگاهی به آمار مربوط به عملکرد پروژه تولید نهال اداره کل منابع طبیعی استان خوزستان در برنامه اول و دوم توسعه اقتصادی اجتماعی تا پایان سال ۱۳۷۶ اهمیت موضوع و سرمایه گذاریهای بعمل آمده را در این بخش به اثبات می‌رساند (جدول شماره ۱-۱)

عملکرد برنامه اول	سال اجراء	۱۳۶۹	۱۳۷۰	۱۳۷۱	۱۳۷۲	۱۳۷۳	جمع کل
	تولید نهال (هزار اصله)	۳۷۴۶	۷۲۲۵	۸۱۱۰	۷۱۹۸	۴۴۵۶	۳۰۷۵۳
عملکرد برنامه دوم	سال اجراء	۱۳۷۴	۱۳۷۵	۱۳۷۶			جمع کل
	تولید نهال (هزار اصله)	۳۳۹۷	۵۴۳۳	۴۶۱۲			۱۳۴۴۲

جدول شماره ۱-۱ عملکرد طرح تولید نهال در طی برنامه‌های اول و دوم توسعه توسط اداره کل

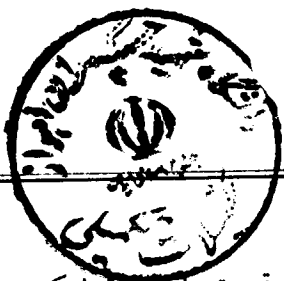
منابع طبیعی استان خوزستان تا پایان سال ۱۳۷۶

محل اصلی تولید و تکثیر درختان جنگلی غیرمثمر در خزانه‌های تولید نهال ادارات منابع طبیعی واقع در شهرستانهای اهواز، دزفول، بهبهان، رامهرمز، سوسنگرد، ایذه و باغملک بوده که مشخصات مهمترین گونه‌های تولیدی در خزانه‌ها استان در جدول شماره ۱-۲ آمده است.

جدول شماره ۱-۲ مشخصات مهمترین گونه‌های جنگلی مورد مطالعه در بوستان تولید نهال در استان خوزستان

نام فارسی <i>Name</i>	گونه <i>Species</i>	خانواده <i>Family</i>
اکالیپتوس	<i>Eucalyptus Cameldulensis</i>	<i>Myrtaceae</i>
ناترک	<i>Dodonaea viscosa</i>	<i>Sapindacea</i>
کنار	<i>Ziziphus spina - christi</i>	<i>Rhamnaceae</i>
کهور	<i>Prosopis spicigera</i>	<i>Legouminoseae</i>
کاج ایرانی	<i>Pinus eldarica</i>	<i>Pinaceae</i>
سرو نقره‌ای	<i>Cupressus arizonica</i>	<i>Cupressaceae</i>
زرین	<i>C. sempervirens</i> <i>Var. horizontalis</i>	<i>Cupressaceae</i>

آفات، بیماریها، علفهای هرز سه عامل عمده محدودیت تولیدات زراعی و باغی منجمله تولید نهال می‌باشد. که همواره هزینه‌های زیادی را به خود اختصاص داده است. در این میان بیماری مرگ گیاهچه و پوسیدگی ریشه بسیار مهم و خسارتزا در خزانه کاریها می‌باشد. مرگ گیاهچه به مرگ سریع گیاهچه‌های شاداب و پوسیدگی ریشه به تخریب ریشه‌های فرعی و اصلی که عمدتاً بر اثر قارچهای خاکزی ایجاد می‌شود اطلاق می‌گردد. از طرفی چنانچه نهال‌های آلوده در عرصه کاشته شود. در صورت وجود شرایط مناسب محیطی امکان توسعه این عوامل بیماریزا در محل جدید وجود خواهد داشت. هدف از این تحقیق جداسازی، شناسایی عوامل قارچی مولد مرگ گیاهچه و پوسیدگی ریشه در خزانه‌های کشت گونه‌های درختان ناترک، اکالیپتوس، کنار، کهور، کاج ایرانی، سرو نقره‌ای و زرین در نقاط مختلف استان خوزستان می‌باشد. مطالعه حاضر در طی سالهای ۷۵-۷۷ در استان خوزستان انجام پذیرفته است. در این تحقیق علاوه بر جداسازی و تشخیص گونه‌های مختلف قارچی همراه با نهال در خزانه‌های جنگلی بیماریزایی این عوامل نیز مورد بررسی قرار گرفت.



ب- بررسی منابع

استان خوزستان از نظر جغرافیائی، وضعیت خاک و آب و هوا از موقعیت‌های اکولوژیکی متنوعی برخوردار است. و با توجه به جمیع شرایط جهت توسعه فضای سبز در استان سیاست توسعه و تولید نهال عمدتاً بر روی گونه‌های از درختان جنگلی از قبیل اکالیپتوس *Eucalyptus camaldulensis*، کهور *Prosopis spicigera*، ناترک *Dodonaea viscosa*، کنار *Ziziphus spina-Christi* و در مناطق خنک‌تر نظیر ایذه، باغملک و دزفول علاوه بر گونه‌های مذکور انواع سوزنی‌برگانی نظیر کاج ایرانی *Pinus eldarica*، زربین *Cupressus semperivriens var horizontalis* و سرو نقره‌ای *Cupressus arizonica* بوده است.

بر اساس منابع موجود یکی از اولین گزارشات مربوط به عوامل پوسیدگی ریشه اکالیپتوس گزارش رالد (Raald 1966) در هاوایی بوده است. او قارچ‌های *Phytophthora sp.*، *Pythium sp.* و همچنین *Cylindrocladium scoparium* را بعنوان عامل پوسیدگی ریشه و همچنین *Fusarium oxysporum* را عامل بلایت گیاهچه و پوسیدگی ساقه و ریشه شناخته و *Rhizoctonia solani* را مولد مرگ گیاهچه و پوسیدگی طوقه اکالیپتوس معرفی نموده است.

وی در سال ۱۹۸۱ (Raald et al 1981)، *Phytophthora cinnamomi* را بعنوان مهمترین عامل پوسیدگی ریشه در مناطق کشت اکالیپتوس در هاوایی ذکر کرده است. کارهای دیگری که در سالهای بعد یعنی سالهای ۱۹۸۴ توسط آلفیری و همکاران (Alifieri et al 1984) انجام شد، جنس *Pythium* را بعنوان عامل مرگ گیاهچه و نهال اکالیپتوس معرفی کرده است.

هارش و همکاران در ۱۹۹۲ (Harsh et al 1992) در خزانه‌های اکالیپتوس در هندوستان مرگ گیاهچه قبل^(۱) و بعد از سبز شدن^(۲) بذور به میزان ۸۰٪ را مربوط به خسارت *Verticillium sp.* دانسته و ضد عفونی بذور به مدت ۵ دقیقه در توپسین ۲ درصد را پیشنهاد می‌دهد.

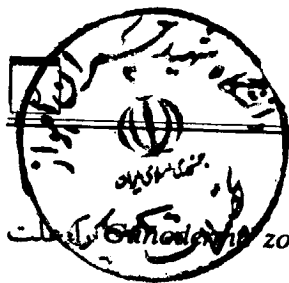
تنها گزارش مربوط به خسارت عوامل قارچی پوسیدگی ریشه در جنس کنار *Ziziphus jujuba* توسط رالد و همکاران (Raald et al 1918) بوده است که در آن گونه‌ای از *Rhizoctonia ap* را عامل بیماری می‌داند.

همچنین در کتاب قارچ‌های امریکا گونه‌ای از جنس *Pythium sp.* عامل پوسیدگی ریشه ناترک

1) pre emergence Damping-off

2) post emergence Damping-off

گزارش شده است.



در سال ۱۹۵۶ نورتون و همکاران (Norton et al 1956) قارچ *Goniodia zonatum* را علت

پوسیدگی ریشه درکهور *Prosopis julifera* معرفی نموده‌اند.

در ارتباط با علل مرگ و میر گیاهچه و پوسیدگی ریشه گونه‌های مورد بررسی در خزانه‌های جنگلی و عرصه‌های طبیعی در ایران می‌توان به گزارش علیزاده (Alizadeh 1988) که *Phytophthora cinnamomi* را عامل پوسیدگی ریشه درختان اکالیپتوس معرفی می‌نماید اشاره نمود.

همچنین قارچ *Fusarium solani* طی دو گزارش جداگانه (Gerlach & Ershad 1970) و

ابراهیمی و میناسیان (Ebrahimi & Minassian 1973) از ناترک گزارش شده است.

در گزارشات وزیری (Vaziri 1973) از دزفول یک گونه نامشخص از جنس *Pythium sp.* را عامل

مرگ گیاهچه ناترک و ابراهیمی و میناسیان (Ebrahimi & Minassian 1973) عامل بیماری مشابهی

را در رامین (ملائانی) *P. aphanidermatum* گزارش نموده‌اند.

مرگ گیاهچه و پوسیدگی ریشه سوزنی برگان ابتداء توسط هارتلی و همکاران

(Hartley et al 1918) و هارتلی (Hartley 1921) مورد بررسی قرار گرفت که حاصل این مطالعات

معرفی ۶۳ گونه سوزنی برگ بعنوان میزبان عوامل مولد مرگ گیاهچه بوده است.

بویس (Boyce 1984) مهمترین عوامل قارچی بیماریزا در سوزن برگان را گونه‌هائی از قارچهای

جنس *Pythium*، *Rhizoctonia*، *Fusarium* و *Cylindrocladium* ذکر می‌نماید.

در انگلستان پیس (Peace 1962) عامل بیماری مرگ گیاهچه سوزنی برگان را گونه‌هایی

Pythium sp.، *Rhizoctonia solani* معرفی کرده و تنوع بیماریزائی گونه‌های پیتیوم در آن کشور را با

تغییرات آب و هوائی مرتبط دانسته است. او همچنین از گونه *Macrophomina phaseolina* نیز

بعنوان عامل مرگ گیاهچه سوزنی برگ نام می‌برد.

رات بان (Rathbun 1922) مشاهده کرده است که جدائی‌های فوزاریوم اثر متفاوتی در مرگ

گیاهچه سوزنی برگان داشته‌اند ولی بطور کلی خطرناکتر از سایر عوامل بیماریزا بوده و گونه‌های

F. sporotrichioides و *F. sulphureum* و *F. discolor* تقریباً همه گیاهچه‌ها را از بین برده‌اند. او

همچنین با مایه کوبی مستقیم ریشه گیاهچه‌های خیلی جوان کاج نتیجه گرفت که

F. arthrosporoi و *F. sporotrichioides* بیماریزای زیادی دارند و جدایه‌ای از گونه *F. moniliforme*