بسم الله الرحمن الرحيم

دانشکده تولید گیاهی، گروه گیاه‌پزشکی

پایان‌نامه برای دریافت درجه کارشناسی‌ارشد (M.Sc)
در رشته بیماری‌شناسی گیاهی

شناسایی عوامل قارچی پوسیدگی ریشه و طوقه گیاهان جالیزی در منطقه شاهرود

پژوهش و نگارش
زهرا عراقی

استاد راهنما
دکتر کامران رهنما

اساتید مشاور
دکتر مجتبی ممرآبادی
مهندس فرخنده امتی

تابستان ۱۳۹۱

تعهدنامه پژوهشی

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان نامه (رساله)های تحصیلی دانشجویان دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان مبین برخی از فعالیت‌های علمی- پژوهشی بوده و همچنین با استفاده از اعتبارات دانشگاه انجام می‌شود، بنابراین به منظور آگاهی و رعایت حقوق دانشگاه، دانش‌آموختگان این دانشگاه نسبت به موارد ذیل متعهد می‌شوند:

۱) قبل از چاپ پایان نامه (رساله) خود، مراتب را به طور کتبی به مدیریت تحصیلات تکمیلی دانشگاه اطلاع داده و کسب اجازه نمایند.

۲) در انتشار نتایج پایان نامه (رساله) در قالب مقاله، همایش، اختراع و اکتشاف و سایر موارد ذکر نام دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان الزامی است.

۳) انتشار نتایج پایان نامه (رساله) باید با اطلاع و کسب اجازه از استاد راهنما صورت گیرد.

اینجانب **زهرا عراقی** دانشجوی رشته **بیماری‌شناسی گیاهی** مقطع **کارشناسی‌ارشد** تعهدات فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده و به آن ملتزم می‌شوم.

تقدیم به:

پدر و مادرم

به پاس زحمات و محبت بی دریغشان

همسرم

به پاس مهربانی و صبوریش

و دخترم

غزل زیبای زندگی ام

تقدیر و تشکر

اینک که به لطف حضرت حق انجام این تحقیق به پایان رسیده است بر خود لازم میدانم که مراتب سپاس و قدردانی صمیمانه خویش را تقدیم همه کسانی نمایم که طی این مدت مرا یاری نمودند:

از محبت های خالصانه و حمایت بی دریغ خانواده ام خصوصا همسر فهیم و دلسوزم، پدر و مادر گرامی و مهربان و خواهر عزیزم که در طول اجرای این تحقیق پشتیبان من بودند صمیمانه قدردانی می نمایم.

از اساتید راهنمای گرامی جناب آقای دکتر کامران رهنما که در طول اجرای این تحقیق بنده را از نظرات راهگشای خویش بهرمند نمودند تشکر و قدرانی می نمایم.

از استاد مشاور گرامی جناب آقای دکتر مجتبی عمرآبادی که در طول اجرای طرح بنده را از نظرات سازنده خویش مستفیض نموده تشکر و سپاسگزاری می نمایم.

از استاد مشاور عزیز سرکار خانم مهندس فرخنده امتی که در مراحل اجرایی پایان نامه نظارت داشته و این پروژه را به عنوان سرلوحه شروع فعالیت این پایان نامه معرفی نمودند و همواره با مرا راهنمایی نمودند تشکر و سپاسگزاری می نمایم.

از داوران محترم و گرانقدر جناب آقای دکتر نصرالله نژاد و جناب آقای دکتر سرایلو که زحمت باز خوانی این پایان نامه را متقبل شدند مراتب سپاس و قدردانی خود را به جای می آورم. همچنین از نماینده محترم تحصیلات تکمیلی دانشگاه جناب آقای دکتر اعلمی به دلیل مساعدت های بی دریغشان تشکر و قدردانی می نمایم.

از مسئولین محترم دانشگاه صنعتی شاهرود جناب آقای دکتر دهشان و سرکار خانم مهندس محبوبه عبداللهی که همواره امکانات و شرایط بهینه برای انجام این تحقیق را فراهم نمودند تشکر و قدردانی می نمایم.

از خانم مهندس سمانه تیموری و خانم مهندس راحتی به پاس همکاری و مساعدتشان تشکر و سپاسگزاری می نمایم.

در پایان فرصتی است مغتنم تا از محبت های تمام دوستان و همکلاسی های عزیزم به خصوص خانم ها فاطمه سلطانی نژاد، فروه سادات مصطفوی، عاطفه ذاکری، فاطمه زینتی، زهرا ساداتی، حمیده احسنی، معصومه ممشلی و سمیه دهقانیان تشکر نموده و روزهای سرشار از سربلندی و موفقیت را برایشان آرزو می نمایم.

زهرا عراقی

شهریور ۱۳۹۱

چکیده

پوسیدگی طوقه و ریشه از مهم‌ترین و مخرب‌ترین بیماری‌های کدوییان در جهان است. به‌منظور شناسایی عوامل قارچی مولد این بیماری در سال زراعی ۹۰-۱۳۸۹ از مزارع محصولات جالیزی (هندوانه، خربزه و طالبی) در منطقه شاهرود، میامی و بیارجمند بازدید به‌عمل آمد. نمونه‌های دارای علائم مشکوک به بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه و مرگ بوته‌ها جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل شدند. ریشه و طوقه گیاهان بیمار پس از شستشو در زیر جریان ملایم آب به قطعات حدود یک سانتی‌متری تقسیم شده و پس از ضدعفونی سطحی با هیپوکلرید سدیم ۱ درصد به‌مدت ۵ تا ۳ دقیقه روی محیط کشت PDA و یا بدون ضدعفونی سطحی و پس از دو بار شستشو با آب مقطر استریل روی محیط کشت نیمه‌انتخابی CMA-PARPH، CMA-PARP و CMA کشت شدند. خالص‌سازی جدایه‌ها به روش تک‌اسپور و نوک ریسه انجام شد و بیماری‌زایی جدایه‌ها مورد بررسی قرار گرفت. سپس با استفاده از ویژگی‌های مورفولوژیکی شامل خصوصیات ماکروسکوپی و میکروسکوپی و یا خصوصیات فیزیولوژیکی شناسایی جدایه‌ها انجام شد. در مجموع ۷۸ جدایه از قسمت‌های ریشه، طوقه و خاک به‌دست آمد که از این تعداد، ۳۵ جدایه *Fusarium solani*، ۱۵ جدایه *F. oxysporum* f. sp. *melonis*، ۱۰ جدایه *F. oxysporum* f. sp. *niveum*، ۳ جدایه *F. equiseti*، ۱۰ جدایه *Phytophthora nicotianae* و ۵ جدایه *Rhizoctonia solani* شناسایی گردیدند. با توجه به نتایج به‌دست آمده از این تحقیق گونه *F. solani* از تمامی نقاط نمونه‌برداری شده جدا گردید و همچنین درصد جداسازی این گونه بیش از سایرین بود و به نظر می‌رسد که این گونه نقش مهمی در کاهش محصول در این منطقه داشته باشد. دمای کمینه، بهینه و بیشینه برای قارچ *P. nicotianae* به‌ترتیب ۱۰، ۳۰-۲۵ و ۳۶ درجه سانتی‌گراد تعیین گردید. این گونه‌ها برای اولین بار از مزارع جالیز شهرستان شاهرود گزارش می‌شوند.

واژه‌های کلیدی: بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه، گیاهان جالیزی، شاهرود

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فصل اول: مقدمه

۱-۱- اهمیت گیاهان جالیزی و سطح زیر کشت آن در منطقه شاهرود .....

۱-۲- تاریخچه گیاهان جالیزی .....

۱-۳- خصوصیات گیاهشناسی تیره Cucurbitaceae .....

۱-٤- ویژگی‌های زراعی تیره کدوییان .....

۱-۵- ارزش غذایی و اهمیت اقتصادی تیره کدوییان .....

۱-٦- بیماری‌های قارچی مربوط به طوقه و ریشه گیاهان جالیزی .....

۱-۷- فرضیه‌ها .....

۱-۸- اهداف تحقیق .....

فصل دوم: بررسی منابع

۲-۱- عوامل قارچی مولد پژمردگی، بوته‌میری و مرگ گیاهچه در کدوییان .....

۲-۱-۱- پژمردگی فوزاریومی هندوانه، خربزه و طالبی .....

۲-۱-۲- تاریخچه بیماری پژمردگی فوزاریومی هندوانه، خربزه و طالبی در جهان و ایران .....

۲-۲- علائم بیماری پژمردگی فوزاریومی در گیاهان جالیزی .....

۲-۳-۱- *F.oxysporum* f.sp.*niveum* عامل پژمردگی هندوانه .....

۲-۳-۲- *F. oxysporum f.sp.melonis* عامل پژمردگی خربزه و طالبی .....

۲-٤- پوسیدگی طوقه و ریشه در اثر *F. solani* .....

۲-۵- رده‌بندی جنس فوزاریوم در گذشته و حال .....

۲-٦- کنترل بیماری فوزاریومی در کدوییان .....

۲-۷- مرگ گیاهچه و بوته‌میری کدوییان .....

۲-۸- تاریخچه مهمترین عوامل مرگ گیاهچه کدوییان در ایران و جهان .....

۲-۸-۱- جنس *Phytophthora* .....

۲-۸-۲- جنس *Pythium* .....

۲-۸-۳- جنس *Rhizoctonia* .....

۲-۹- علائم بیماری پوسیدگی ریشه و مرگ گیاهچه .....

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فصل سوم: مواد و روش‌ها

۳-۱- نمونه‌برداری .....

۳-۲- جداسازی عوامل بیماری‌زا از بافت‌های آلوده .....

۳-۲-۱- جداسازی قارچ فوزاریوم .....

۳-۲-۲- جداسازی قارچ فیتوفتورا .....

۳-۲-۲-۱- جداسازی از گیاه .....

۳-۲-۲-۲- جداسازی از خاک .....

۳-۳- جداسازی قارچ ریزوکتونیا .....

۳-٤- خالص‌سازی جدایه‌ها .....

۳-٤-۱- روش تک‌اسپور single spore .....

۳-٤-۲- روش نوک ریسه hyphal tip .....

۳-۵ نگهداری کشت خالص جدایه‌ها .....

۳-٦- شناسایی .....

۳-٦-۱- گونه‌های شبه جنس فوزاریوم .....

۳-٦-۲- گونه‌های شبه جنس ریزوکتونیا .....

۳-٦-۳- گونه‌های شبه قارچ فیتوفتورا .....

۳-٦-۲-۱- ریسه .....

۳-٦-۲-۲- اسپورانژیوم .....

۳-٦-۲-۳- ااسپور .....

۳-٦-۲-٤- کلامیدوسپور و آماس ریسه .....

۳-٦-۲-۵- ویژگی‌های پرگنه .....

۳-٦-۲-٦- تعیین دماهای ویژه رویشی رشد قارچ .....

۳-٦-۲-۷- اندازه‌گیری ابعاد ساختارهای رویشی و زایشی قارچ .....

۳-۷- آزمون بیماری‌زایی .....

۳-۷-۱- تهیه مایه تلقیح گونه‌های فوزاریوم .....

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

۳-۷-۲- مایه‌زنی گیاهان با استفاده از سوسپانسیون اسپور .....
۳-۷-۳- مایه‌زنی گیاهان به روش Root Dip .....
۳-۸- آزمون تعیین فرم اختصاصی جدایه‌های *Fusarium oxysporum* .....
۳-۹- آزمون بیماری‌زایی گونه‌های جنس فیتوفتورا در گلخانه .....
۳-۱۰- آزمون بیماری‌زایی گونه‌های جنس ریزوکتونیا در گلخانه .....
۳-۱۱- محیط‌های کشت استفاده شده .....
۳-۱۱-۱- محیط‌های کشت مورد استفاده برای جداسازی و خالص‌سازی قارچ فوزایوم .....
۳-۱۱-۱-۱- محیط کشت سیب‌زمینی دکستروز آگار .....
۳-۱۱-۱-۲-محیط کشت آب آگار .....
۳-۱۱-۱-۳- محیط کشت برگ میخک آگار .....
۳-۱۱-۲- محیط‌های کشت مورد استفاده برای جداسازی و خالص‌سازی قارچ فیتوفتورا .....
۳-۱۱-۲-۱-محیط کشت آرد ذرت آگار .....
۳-۱۱-۲-۲- محیط‌های کشت انتخابی .....
۳-۱۱-۲-۲-۱- محیط کشت انتخابی CMA-PARP .....
۳-۱۱-۲-۲-۲- محیط کشت انتخابی CMA-PARPH .....
۳-۱۱-۲-۲-۳- محیط کشت بذر شاهدانه آگار .....
۳-۱۲-۳- روش‌های استفاده شده برای تولید اسپورانژیوم در گونه فیتوفتورا .....
۳-۱۲-۳-۱- تهیه بذر شاهدانه .....
۳-۱۰-۳-۲- روش تکه هویج (Carrot piece) .....
۳-۱۰-٤- روش‌های تولید ااسپور .....
۳-۱۰-٤-۱- محیط کشت لوبیا آگار .....
۳-۱۰-٤-۲- محیط کشت تکه هویج (Carrot piece medium) .....

فصل چهارم: نتایج و بحث

٤-۱- قارچ‌های جدا شده از بافت‌های آلوده .....
٤-۲- گونه *Fusarium oxysporum* f.sp.*melonis* .....

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

٤-٢-١- شناسایی *Fusarium oxysporum*.....
٤-٢-٢- آزمون بیماری‌زایی *F. oxysporum*f.sp.*melonis* در شرایط گلخانه .....
٤-٢-٣- اثبات فرم اختصاصی *F. oxysporum* f.sp.*melonis*.....
٤-٣- گونه *F. oxysporum* f.s.p .*niveum*.....
٤-٣-١- شناسایی.....
٤-٣-٢- آزمون بیماری‌زایی *F. oxysporum* f.s.p .*niveum* در شرایط گلخانه.....
٤-٣-٣- تعیین فرم اختصاصی .....
٤-٤- گونه *Fusarium solani*.....
٤-٤-١- شناسایی.....
٤-٤-٢- آزمون بیماری‌زایی *F. solani* در شرایط گلخانه.....
٤-٥- گونه *Fusarium equiseti*.....
٤-٥-١- شناسایی.....
٤-٥-٢- آزمون بیماری‌زایی گونه *F. equiseti* در شرایط گلخانه.....
٤-٦- گونه *Phytophthora nicotianae* .....
٤-٦-١- شناسایی.....
٤-٦-١-١- کلنی.....
٤-٦-١-٢- ریسه .....
٤-٦-١-٤- آماس ریسه .....
٤-٦-١-٥- کلامیدوسپور .....
٤-٦-١-٦-اسپورانژیوم.....
٤-٦-١-٧-اندام های جنسی .....
٤-٦-١-٨- دماهای ویژه رشد .....
٤-٦-٢- آزمون بیماری‌زایی گونه *P. nicotianae* در گلخانه .....
٤-٦-٣- مقایسه رشد *P. nicotianae* روی محیط‌های کشت مختلف .....
٤-٧- گونه *Rhizoctonia solani* .....

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

٤-٧-١- شناسایی .....
٤-٧-٢- آزمون بیماری‌زایی گونه *Rhizoctonia solani* در گلخانه .....
٤-٨- فراوانی قارچ‌های جداسازی شده از شاهرود .....
٤-٩- مدیریت بیماری پوسیدگی ریشه و مرگ گیاهچه .....
٤-١٠- نتیجه‌گیری کلی .....
٤-١١- پیشنهادات .....
منابع و مآخذ .....

فهرست جداول

عنوان **صفحه**

جدول ۱-۱- برآورد سطح، تولید و عملکرد در هکتار محصولات جالیزی در استان سمنان.....

جدول ٤-۱- شهرستان‌ها و مناطق نمونه‌برداری.....

جدول ٤-۲- نتایج آزمون بیماری‌زایی جدایه‌های *F. oxysporum* f.sp.*melonis*.....

جدول ٤-۳- تعیین فرم اختصاصی *F. oxysporum* f.sp.*melonis*.....

جدول ٤-٤- نتایج آزمون بیماری‌زایی جدایه‌های *F. oxysporum* f.s.p .*niveum*.....

جدول ٤-٥- تعیین فرم اختصاصی *F. oxysporum* f.sp.*melonis*.....

جدول ٤-٦- نتایج آزمون اثبات بیماری‌زایی جدایه‌های *F.solani*.....

جدول ٤-۷- مناطق جداسازی جدایه‌های *F. equiseti*.....

جدول ٤-۸- ابعاد اندام‌های مختلف رویشی و زایشی *P. nicotianae* بر حسب میکرومتر.....

جدول ٤-۹- مناطق جداسازی جدایه‌های قارچ *P. nicotianae*.....

جدول ٤-۱۰- مناطق جداسازی جدایه‌های *R. solani*.....

فهرست اشکال

عنوان **صفحه**

شکل ۳-۱- رشد قارچ فوزاریوم روی محیط کشت برگ میخک آگار.....
شکل ۳-۲- تکه‌های هویج و بذور شاهدانه کلنیزه شده با قارچ فیتوفتورا.....
شکل۳-۳- محیط کشت تکه هویج کلنیزه شده با قارچ فیتوفتورا .....
شکل ۳-٤- محیط کشت تکه هویج برای تولید ااسپور در جنس فیتوفتورا.....
شکل ٤-۱- مزرعه جالیزی آلوده به پژمردگی، شاهرود و رشد قارچ از حاشیه بافت آلوده.....
شکل ٤-۲- مشخصات مرفولوژیکی *F. oxysporum*.....
شکل ٤-۳- علائم پژمردگی فوزاریومی روی گیاهچه طالبی.....
شکل ٤-٤- بررسی دامنه میزبانی جدایه‌های *F. oxysporum* f.sp.*melonis*.....
شکل ٤-٥- بررسی دامنه میزبانی جدایه‌های *F. oxysporum*f.s.*niveum*.....
شکل ٤-٦- مشخصات مرفولوژی *F. Solani*.....
شکل ٤-۷- علائم پژمردگی و پوسیدگی طوقه ناشی از *F.solani*.....
شکل ٤-۸- مشخصات مرفولوژی *F. equiseti*.....
شکل ٤-۹- علائم زردی، پژمردگی روی گیاهچه طالبی تلقیح شده با قارچ *F. Equiseti*.....
شکل ٤-۱۰- اسپورانژیوم و آماس ریسه قارچ *P. nicotianae*.....
شکل ٤-۱۱- ااگون قارچ *Phytophthora nicotianae*.....
شکل ٤-۱۲- میزان رشد شعاعی روزانه گونه *P. nicotianae* در دماهای مختلف.....
شکل ٤-۱۳- علائم مرگ گیاهچه روی گیاهچه‌های مایه‌زنی شده با *P. nicotianae*.....
شکل ٤-۱٤- پرگنه ٥ روزه قارچ *P. nicotianae*.....
شکل ٤-۱٥- کلنی، ریسه، سلول‌های تسبیحی و سختینه‌های قارچ *R.solani*.....
شکل ٤-۱٦- علایم پژمردگی و مرگ گیاهچه و شانکر ساقه ناشی از ریزوکتونیا روی گیاهچه‌های هندوانه....
شکل ٤-۱۷- گونه‌های قارچی جدا شده طی مراحل رویشی طالبی در شاهرود.....
شکل ٤-۱۸- گونه‌های قارچی جدا شده طی مراحل رویشی هندوانه در شاهرود.....
شکل ٤-۱۹- گونه‌های قارچی جدا شده طی مراحل رویشی خربزه در شاهرود .....

فصل اول

مقدمه

۱-۱- اهمیت گیاهان جالیزی و سطح زیر کشت آن در منطقه شاهرود

گیاهان تیره کدوییان[1] گروهی پرتنوع از گونه‌های زراعی را تشکیل می‌دهند. گونه‌های این تیره از قرن‌ها پیش در رژیم غذایی انسان غنا و تنوع ایجاد نموده و به‌عنوان سبزی مصرف شده‌اند و در سراسر جهان در شرایط مختلف آب و هوایی و با هدف‌های گوناگون پرورش داده می شوند (شکاری و همکاران، ۱۳۸۵). این تیره شامل ۱۰۰ جنس و حدود ۱۰۰ گونه است و مهم‌ترین جنس‌های آن *Cucumis* spp. خیار، خربزه و طالبی، *Citrulus* spp. هندوانه، هندوانه ابوجهل و جنس *Cucurbit* spp. کدو خورشتی بوده که در ایران دارای اهمیت اقتصادی زیادی می‌باشند (محمدی، ۱۳۸۷). در بین گیاهان جالیزی، طالبی و خربزه (*Cucumis melo*) نقش مهمی در زراعت صیفی کشور و درآمد ملی دارند (بنی‌هاشمی، ۱۳۸۸). با توجه به این مسأله که تعداد زیادی از مردم کشور ما به‌کار کاشت، داشت و برداشت، حمل و نقل و فروش و تبدیل این محصولات مشغول هستند ملاحظه می‌شود که چه نقش مهمی را در کشاورزی ما ایفا می‌کنند (نجفی‌نیا، ۱۳۷۷). دانه‌های بسیاری از گیاهان صیفی در آفریقا، آسیا و آمریکای لاتین منابع مهم روغن و پروتئین به‌شمار می‌روند (امیر اصلانی، ۱۳۸٤).

سطح زیر کشت محصولات جالیزی در سال زراعی ۸۹-۸۸ در کل کشور ۳۳۲۲۵۳ هکتار و میزان تولید این محصولات جمعاً ۸۲۳٤۷٦۹ تن می‌باشد (جدول ۱-۱). سطح زیر کشت این محصولات در استان سمنان ۷٥٤٤ هکتار و میزان تولید آن ۱٦۹٥۳۰ تن می‌باشد.

سطح زیر کشت هندوانه و خربزه در منطقه شاهرود جمعاً ۳٥۰۰ هکتار است که از این میزان به‌طور متغیر بین ۱۰۰ تا ۲۰۰ هکتار مربوط به طالبی می‌باشد (آمارنامه کشاورزی، ۱۳۸۹).

شهرستان‌های میامی و بیارجمند از مناطق عمده کشت این محصولات می‌باشند. با وجود اهمیت اقتصادی کشت این محصولات در منطقه و همچنین گزارشات غیرمکتوب وجود بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه و بوته‌میری در اغلب آن‌ها، شناسایی گونه‌های قارچی عامل بیماری در محصولات جالیزی این منطقه مورد بررسی قرار گرفت.

1- Cucurbitaceae