بسم الله الرحمن الرحيم

دانشگاه زنجان

دانشکده کشاورزی

گروه گیاهپزشکی

پایان‌نامه جهت دریافت درجه کارشناسی‌ارشد (M.Sc.)

در رشته **بیماری شناسی گیاهی**

عنوان:

شناسایی جدایه‌های تریکودرما در مزارع لوبیای استان زنجان و بررسی امکان استفاده از آن‌ها در کنترل عوامل قارچی پوسیدگی ریشه لوبیا

تحقیق و نگارش

مریم خدایی

استاد راهنما

دکتر رقیه همتی

استاد مشاور

دکتر حمید روحانی

اسفند ۱۳۹۰

سپاسگذاری

آن بی همتای بزرگ را می ستایم که همواره الطاف بی پایانش را بر من ارزانی داشته است. اکنون که به فضل خداوند منان مراحل پژوهش و نگارش این پایان نامه به اتمام رسیده است برخود لازم می دانم ازتمام کسانی که با بذل عنایت خویش این جانب را یاری نموده اند، سپاسگذاری نمایم باشد که این خردترین، بخشی از زحمات آنان را سپاس گوید . نخست تقدیر و تشکر خود را نثار دو وجود مقدس می‌نمایم، پدر و مادر عزیزم آنان که فروغ نگاهشان، گرمی کلامشان سرمایه‌های جاودانی زندگانی من است. از استاد راهنمای محترم سرکارخانم دکتر همتی که در کمال سعه صدر، با حسن خلق و فروتنی، از هیچ کمکی در این عرصه بر من دریغ ننمودند و اجرای این پایان نامه بدون راهنمایی‌ها و مساعدت‌های بی دریغ ایشان میسرنبود بی نهایت سپاسگذاری می‌نمایم. ازاستاد مشاور گرامی، جناب آقای دکترحمید روحانی به پاس کمک‌های دلسوزانه شان درتمام مراحل انجام این پایان نامه بی‌نهایت سپاسگذارم .از اساتید محترم جناب آقای دکتر صارمی و سرکار خانم دکتر ناصری که زحمت داوری این رساله را متقبل شدند کمال تشکر و قدردانی را دارم.ازمدیریت محترم گروه گیاهپزشکی به پاس زحمات بی دریغ در طی این دوره تحصیلی سپاسگذارم، از مسئولین آزمایشگاه‌های بیماری شناسی جهت همکاری بی دریغ ایشان در پیشبرد این پایان نامه سپاسگذارم.

از تمامی دوستان عزیزم که به نوعی مرا در پیشبرد این پایان نامه یاری رساندند بی‌نهایت سپاسگذارم

به پاس تعبیر عظیم و انسانی شان از کلمه ایثار و از خودگذشتگی

به پاس عاطفه سرشار و گرمای امید بخش وجودشان

به پاس قلب های بزرگشان که فریادرس است

و به پاس محبت های بی دریغشان که هرگز فروکش نمی کند

تقدیم به

پدر و مادر مهربانم

و یگانه همراه زندگیم

عنوان صفحه

چکیده

فصل اول- مقدمه ۲

فصل دوم- بررسی منابع ٤

۲-۱- اهمیت حبوبات ٥

۲-۲- لوبیا ٥

۲-۳- اهمیت و تولید لوبیا ٥

۲-٤- مشخصات گیاه‌شناسی لوبیا ٦

۲-٥- مراحل رشد و نمو(فنولوژی) لوبیا ۷

۲-٦- بیماری‌های لوبیا ۸

۲-۷- مهم‌ترین عوامل پوسیدگی‌های ریشه لوبیا ۱۰

۲-۸- پوسیدگی فوزاریومی ریشه (Fusarium Root Rot) ۱۱

۲-۸-۱- علائم بیماری ۱۲

۲-۸-۲- بیمارگر ۱۲

۲-۸-۳- چرخه بیماری ۱۳

۲-۸-٤- کنترل بیماری ۱٤

۲-۹- پوسیدگی ریزوکتونیایی ریشه ۱٤

۲-۹-۱- علائم بیماری ۱٥

۲-۹-۲- بیمارگر ۱٦

۲-۹-۳- چرخه بیماری و همه‌گیرشناسی ۱٦

۲-۹-٤ -کنترل بیماری ۱۷

۲-۱۰- تعاریف و اصول کنترل بیولوژیک ۱۸

۲-۱۱- استفاده از قارچ‌ها در بیوکنترل بیماری‌های قارچی ۱۹

۲-۱۲- تاریخچه استفاده از تریکودرما ۲۰

۲-۱۳- جنس Trichoderma ۲۱

۲-۱٤- بررسی ریخت‌شناسی گونه‌های تریکودرما ۲۲

۲-۱٥- مکانیسم‌های بیوکنترلی گونه‌های تریکودرما ۲۳

۲-۱٥-۱- رقابت ۲٤

الف- فونجیستاسیز ۲٤

ب- رقابت برای مواد غذایی ۲٥

۲-۱٥-۲- تولید آنتی‌بیوتیک ۲٦

۲-۱۵-۳- میکوپارازیتیسم ۲۸
۲-۱۵-٤- تولید آنزیم‌های تخریب کننده دیواره سلولی ۲۹
الف- کیتینازها ۳۰
ب- گلوکانازها ۳۱
ج- پروتئازها ۳۱
۲-۱۵-۵- کلنیزاسیون ریشه گیاه ۳۳
۲-۱۵-٦- تحریک رشد وتوسعه گیاهان ۳٤
۲-۱۵-۷- تحریک مقاومت و مکانیسم‌های دفاعی گیاه ۳۵
۲-۱۵-۸- اصلاح و تغییر فرا ریشه ۳۸
۲-۱۵-۹- متابولیسم مواد محرک جوانه‌زنی ۳۹
۲-۱٦- مروری بر برخی تحقیقات در زمینه کنترل بیولوژیک با تریکودرما ۳۹
فصل سوم- مواد و روش‌ها ٤۲
۳-۱- جداسازی عوامل بیمارگر ٤۳
۳-۲- شناسایی عوامل پوسیدگی جداسازی شده از ریشه ٤۳
۳-۲-۱- Rhizoctonia ٤۳
۳-۲-۲- Fusarium ٤٤
۳-۳- اثبات بیماریزایی و مقایسه شدت تهاجم جدایه های قارچ *R.solani* روی لوبیا ٤٤
۳-٤- تهیه جدایه‌های تریکودرما ٤٦
۳-٤-۱- تهیه محیط کشت اختصاصی تریکودرما ٤٦
۳-٤-۲- روش دیسک آگار ٤۷
۳-۵- نگهداری عوامل بیمارگر و آنتاگونیست ۵۰
۳-٦- غربال جدایه‌های تریکودرما در شرایط آزمایشگاه ۵۰
۳-۷- بررسی درصد بازداری از رشد و قدرت رقابتی ساپروفیتی جدایه‌های تریکودرما به روش کشت متقابل ۵۱
۳-۷-۱- بررسی قدرت آنتاگونیستی جدایه‌های تریکودرما با عوامل بیمارگر در کشت همزمان ۵۱
۳-۷-۲- بررسی قدرت آنتاگونیستی جدایه‌های تریکودرما با کشت ٤۸ ساعته عوامل بیمارگر ۵۱
۳-۷-۳- بررسی قدرت آنتاگونیستی جدایه‌های تریکودرما باکشت ۹٦ ساعته عوامل بیمارگر ۵۲
۳-۸- بررسی اثر متابولیت‌های فرار جدایه‌های تریکودرما در جلوگیری از رشد میسلیوم *F.solani* و *R.solani* ۵۲
۳-۸-۱- کشت همزمان عامل بیمارگر و جدایه‌های آنتاگونیست ۵۳
۳-۸-۲- کشت ۷۲ ساعت زودتر جدایه‌های تریکودرما ۵۳

۳-۹- بررسی میکروسکوپی نحوه تأثیر جدایه‌های تریکودرما برروی *R.solani* و *F.solani* ٥٤
۳-۱۰- بررسی توانایی تثبیت جدایه‌های تریکودرما روی ریشه گیاه لوبیا ٥٥
۳-۱۱- بررسی اثر تریکودرما بر بیماری پوسیدگی فوزاریومی و رایزوکتونیایی لوبیا در شرایط گلخانه ٥٧
۳-۱۱-۱- تهیه مایه تلقیح *R.solani* ٥٧
۳-۱۱-۲- تهیه مایه تلقیح *F.solani* ٥٧
۳-۱۱-۳- تیمارها و روش کار در گلخانه ٥٨
۳-۱۱-٤- شرایط رشد گیاهی تیمارها ٦٠
۳-۱۱-٥ تعیین شدت بیماری و شاخص‌های رشد ٦٠
۳-۱۱-٥- آنالیز داده‌ها ٦٠
فصل چهارم- نتایج ٦٣
٤-۱- جداسازی عامل بیماری (*R.solani*) ٦٤
٤-۲- شناسایی *R.solani* ٦٤
٤-۲-۱- شناسایی جنس *Rhizoctonia* ٦٤
٤-۲-۲- شناسایی گونه *R. solani* ٦٥
٤-۳- اثبات بیماریزایی *R.solani* ٦٥
٤-٤- تعیین شدت بیماریزایی جدایه‌های *R.solani* روی گیاهچه‌های لوبیا ٦٧
٤-٥- غربال جدایه‌های تریکودرمای جداسازی شده در شرایط آزمایشگاه ٦٨
٤-٦- بررسی قدرت آنتاگونیستی جدایه‌های تریکودرما در برابر *R.solani* به روش کشت متقابل ٦٩
٤-٦-۱- بررسی قدرت آنتاگونیستی جدایه‌های تریکودرما در برابر *R.solani* در کشت همزمان ٦٩
٤-٦-۲- بررسی قدرت آنتاگونیستی جدایه‌های تریکودرما با کشت ٤٨ ساعته *R.solani* ٧٢
٤-٦-۳- بررسی قدرت آنتاگونیستی جدایه‌های تریکودرما باکشت ٩٦ ساعته عوامل *R.solani* ٧٤
٤-٧- بررسی قدرت آنتاگونیستی جدایه‌های تریکودرما در برابر *F.solani* به روش کشت متقابل ٧٥
٤-٧-۱- بررسی قدرت آنتاگونیستی جدایه‌های تریکودرما در برابر *F.solani* در کشت همزمان ٧٥
٤-٧-۲- بررسی قدرت آنتاگونیستی جدایه‌های تریکودرما با کشت ٤٨ ساعته *F.solani* ٧٧
٤-٧-۳- بررسی قدرت آنتاگونیستی جدایه‌های تریکودرما با کشت ٩٦ ساعته *F.solani* ٧٩
٤-٨- بررسی اثر متابولیت‌های فرار جدایه‌های تریکودرما در جلوگیری از رشد میسیلیوم *R.solani* ٨١
٤-٨-۱- کشت همزمان عامل بیمارگر و جدایه‌های تریکودرما ٨١
٤-٨-۲- کشت ٧٢ ساعت زودتر جدایه‌های تریکودرما ٨٢
٤-٩- بررسی اثر متابولیت‌های فرار جدایه‌های تریکودرما در جلوگیری از رشد میسلیوم *F.solani* ٨٤
٤-٩-۱- کشت همزمان عامل بیمارگر و جدایه‌های آنتاگونیست ٨٤
٤-٩-۲- کشت ٧٢ ساعت زودتر جدایه‌های تریکودرما ٨٥

٤-١٠- نتایج بررسی میکروسکوپی مکانیسم کنترل *R.solani* و *F.solani* توسط جدایه‌های مختلف تریکودرما ٨٦
٤-١١- نتایج بررسی توانایی تثبیت جدایه‌های تریکودرما روی ریشه گیاه لوبیا ٨٩
٤-١٢- اثربیوکنترلی گونه‌های تریکودرما در مقابل *R.solani* ٩٠
٤-١٢-١- شدت بیماری ٩٠
٤-١٢-٢- طول ریشه ٩٢
٤-١٢-٣- ارتفاع بوته ٩٢
٤-١٢-٤- وزن تر و خشک ریشه ٩٣
٤-١٢-٦- وزن خشک بوته ٩٣
٤-١٣- اثربیوکنترلی گونه‌های تریکودرما در مقابل *F.solani* ٩٦
٤-١٣-١- شدت بیماری ٩٦
٤-١٣-٢- طول ریشه ٩٧
٤-١٣-٣- ارتفاع بوته ٩٨
٤-١٣-٤- وزن تر بوته ٩٩
٤-١٣-٥- وزن خشک بوته ١٠٠
٤-١٣-٦- وزن تر ریشه ١٠١
٤-١٣-٧- وزن خشک ریشه ١٠٢
فصل پنجم- بحث ١٠٥
٥-١- بحث در خصوص جداسازی، اثبات بیماریزایی و تعیین شدت بیماریزایی *R.solani* ١٠٦
٥-٢- بررسی قدرت آنتاگونیستی و ساپروفیتی جدایه‌های تریکودرما در برابر*R.solani* ١٠٧
٥-٣- بررسی قدرت آنتاگونیستی و ساپروفیتی جدایه‌های تریکودرما در برابر *F.solani* ١٠٨
٥-٤- بررسی اثر متابولیت‌های فرار جدایه‌های تریکودرما در جلوگیری از رشد میسیلیوم *R.solani* ١١٠
٥-٥- بررسی اثر متابولیت‌های فرار جدایه‌های تریکودرما در جلوگیری از رشد میسلیوم *F.solani* ١١٢
٥-٦- بررسی میکروسکوپی جدایه‌های تریکودرما ١١٣
٥-٧- بررسی توانایی تثبیت جدایه‌های تریکودرما روی ریشه گیاه لوبیا ١١٤
٥-٨- بحث در خصوص آزمون گلخانه‌ای *R.solani* ١١٤
٥-٩- بحث در خصوص آزمون گلخانه‌ای *F.solani* ١١٧
٦- نتیجه گیری کلی ١١٩
٧- پیشنهادات ١٢١
٨- منابع ١٢٥

فهرست جداول و نمودارها

عنوان **صفحه**

جدول ۲-۱- برخی بیماری های مهم لوبیا در جهان ۹

جدول ۳-۱- جدایه‌های تریکودرمای جداسازی شده و جدایه‌های در یافتی، مناطق نمونه برداری ٤۹

جدول ٤-۱- نام جدایه‌های *Rhizoctonia solani* بدست آمده در نمونه برداری‌ها، مناطق نمونه‌برداری، بافت گیاهی کشت شده ٦٤

جدول ٤-۲- تجزیه واریانس آزمون شدت بیماریزایی جدایه‌های *Rhizoctonia solani* جداسازی شده روی گیاه لوبیا ٦۷

جدول ٤-۳- نام جدایه‌های تریکودرمای بدست آمده در نمونه برداری‌ها، گونه و محل بافت جداسازی ٦۸

جدول ٤-٤- تجزیه واریانس اثر بازداری جدایه‌های تریکودرما بر رشد هیف *Rhizoctonia solani* در آزمون متقابل(کشت همزمان) ٦۹

جدول ٤-۵- تجزیه واریانس اثر بازداری جدایه‌های تریکودرما بر رشد هیف *Rhizoctonia solani* در آزمون متقابل(کشت ٤۸ ساعته *R.solani*) ۷۳

جدول ٤-٦- تجزیه واریانس اثر بازداری جدایه‌های تریکودرما بر رشد هیف *Fusarium solani* در آزمون متقابل(کشت همزمان) ۷٦

جدول٤-۷- تجزیه واریانس اثر بازداری جدایه‌های تریکودرما بر رشد هیف *Fusarium solani* در آزمون متقابل(کشت ٤۸ ساعته *F.solani*) ۷۸

جدول٤-۸- تجزیه واریانس اثر بازداری جدایه‌های تریکودرما بر رشد هیف *Fusarium solani* در آزمون متقابل(کشت ۹٦ ساعته *F.solani*) ۸۰

جدول ٤-۹- تجزیه واریانس اثر بازداری جدایه‌های تریکودرما بر رشد هیف *Rhizoctonia solani* درآزمون ترکیبات فرار(کشت همزمان) ۸۲

جدول ٤-۱۰- تجزیه واریانس اثر بازداری جدایه‌های تریکودرما بر رشد هیف *Rhizoctonia solani* در آزمون ترکیبات فرار(کشت ۷۲ ساعته تریکودرما) ۸۳

جدول ٤-۱۱- تجزیه واریانس اثر بازداری جدایه‌های تریکودرما بر رشد هیف *Fusarium solani* در آزمون ترکیبات فرار(کشت همزمان تریکودما) ۸۵

جدول ٤-۱۲-تجزیه واریانس اثر بازداری جدایه‌های تریکودرما بر رشد هیف *Fusarium solani* در آزمون ترکیبات فرار(کشت ۷۲ ساعته تریکودما) ۸٦

جدول ٤-۱۳- تجزیه واریانس مربوط به اثر جدایه‌های تریکودرما روی شاخص شدت بیماری *Rhizoctonia solani* در شرایط گلخانه‌ای ۹۱

جدول ٤-۱٤- تجزیه واریانس شاخص‌های رویشی اندام‌های هوایی ۹۵

جدول ٤-۱۵- تجزیه واریانس مربوط به اثر جدایه‌های تریکودرما بر شاخص‌های رویشی ریشه ۹۵

جدول ٤-١٦- تجزیه واریانس مربوط به اثر جدایه‌های تریکودرما روی شاخص شدت بیماری *Fusarium solani* در شرایط گلخانه‌ای ٩٦
جدول ٤-١٧- تجزیه واریانس مربوط به اثر جدایه‌های تریکودرما بر شاخص‌های اندام هوایی ١٠٤
جدول ٤-١٨- تجزیه واریانس مربوط به اثر جدایه‌های تریکودرما بر شاخص‌های رویشی ریشه ١٠٤
نمودار ٤-١- شدت بیماریزایی جدایه‌های *Rhizoctonia solani* جداسازی شده از ریشه لوبیا ٦٧
نمودار٤-٢- گروهبندی ١١ جدایه تریکودرما بر اساس درصد بازداری از رشد هیف *Rhizoctonia solani* در آزمون متقابل(کشت همزمان) ٦٧
نمودار ٤-٣- گروهبندی ١١ جدایه تریکودرما بر اساس درصد بازداری از رشد هیف *Rhizoctonia solani* در آزمون متقابل (کشت ٤٨ ساعته *Rhizoctonia solani*) ٧٠
نمودار ٤-٤- گروهبندی ١١ جدایه تریکودرما بر اساس درصد بازداری از رشد هیف *Fusarium solani* در آزمون متقابل (کشت همزمان *Fusarium solani*) ٧٣
نمودار ٤-٥- گروهبندی ١١ جدایه تریکودرما بر اساس درصد بازداری از رشد هیف *Fusarium solani* در آزمون متقابل (کشت ٤٨ ساعته *Fusarium solani*) ٧٦
نمودار ٤-٦- گروهبندی ١١ جدایه تریکودرما بر اساس درصد بازداری از رشد هیف *Fusarium solani* در آزمون متقابل (کشت ٩٦ ساعته *Fusarium solani* ٧٨
نمودار٤-٧- گروهبندی ١١ جدایه تریکودرما بر اساس درصد بازداری از رشد هیف *Rhizoctonia solani* در آزمون ترکیبات فرار (کشت همزمان رایزوکتونیا و تریکودرما) ٨٠
نمودار ٤-٨- گروهبندی ١١ جدایه تریکودرما بر اساس درصد بازداری از رشد هیف *Rhizoctonia solani* در آزمون ترکیبات فرار (کشت ٧٢ ساعته تریکودرما) ٨٢
نمودار٤-٩- گروهبندی ١١ جدایه تریکودرما بر اساس درصد بازداری از رشد هیف *Fusarium solani* در آزمون ترکیبات فرار (کشت همزمان فوزاریوم و تریکودرما ٨٣
نمودار٤-١٠- گروهبندی ١١ جدایه تریکودرما بر اساس درصد بازداری از رشد هیف *Fusarium solani* در آزمون ترکیبات فرار (کشت ٧٢ ساعته تریکودرما) ٨٥
نمودار ٤-١١- اثر جدایه‌های تریکودرما بر روی شاخص شدت بیماری *Rhizoctonia solani* در شرایط گلخانه‌ای . ٨٦
نمودار٤-١٢- اثر جدایه‌های تریکودرما روی شاخص طول ریشه *Rhizoctonia solani* در شرایط گلخانه‌ای ٩٠
نمودار ٤-١٣- اثر جدایه‌های تریکودرما روی شاخص ارتفاع بوته *Rhizoctonia solani* در شرایط گلخانه‌ای ٩٢
نمودار ٤-١٤- اثر جدایه‌های تریکودرما روی شاخص وزن تر اندام هوایی *Rhizoctonia solani* در شرایط گلخانه‌ای ٩٣
نمودار٤-١٥- اثر جدایه‌های تریکودرما روی شاخص وزن خشک بوته *Rhizoctonia solani* در شرایط ٩٤

گلخانه‌ای
نمودار٤-١٦-اثر جدایه‌های تریکودرما روی شاخص شدت بیماری *Fusarium solani* در شرایط گلخانه‌ای ۹۵
نمودار ٤-١٧- اثر جدایه‌های تریکودرما روی شاخص طول ریشه *Fusarium solani* در شرایط گلخانه‌ای ۹۷
نمودار ٤-١٨- اثر جدایه‌های تریکودرما روی شاخص ارتفاع اندام هوایی *Fusarium solani* در شرایط گلخانه‌ای ۹۸
نمودار ٤-١٩- اثر جدایه‌های تریکودرما روی شاخص وزن تر بوته *Fusarium solani* در شرایط گلخانه‌ای ۹۹
نمودار ٤-٢٠- اثر جدایه‌های تریکودرما روی شاخص وزن خشک بوته *Fusarium solani* در شرایط گلخانه‌ای ۱۰۰
نمودار ٤-٢١- اثر جدایه‌های تریکودرما روی شاخص وزن تر ریشه *Fusarium solani* در شرایط گلخانه‌ای ۱۰۱
نمودار ٤-٢٢- اثر جدایه‌های تریکودرما روی شاخص وزن خشک ریشه *Fusarium solani* در شرایط گلخانه‌ای ۱۰۲

فهرست شکل‌ها

عنوان **صفحه**

شکل ۲-۱- چهار مرحله اساسی رشد و توسعه رویشی و زایشی در لوبیاهای با تیپ رویشی معیین و غیر معیین ۸

شکل ۳-۱- تعیین تعداد هسته در هر سلول هیف رایزوکتونیا به منظور تشخیص گونه با استفاده از رنگ آمیزی هسته با سافرانین ٤٤

شکل ۳-۲- اثبات بیماریزایی قارچ *Rhizoctonia solani* روی گیاهچه‌های لوبیا قرمز رقم ناز ٤٦

شکل ۳-۳- روش دیسک آگار ٤٨

شکل ۳-٤- بررسی اثر متابولیت‌های فرار جدایه‌های تریکودرما در جلوگیری از رشد میسلیوم *Rhizoctonia.solani* ٥٤

شکل ۳-٥- بررسی میکروسکوپی نحوه تأثیر جدایه‌های تریکودرما بر دو قارچ عامل پوسیدگی ریشه لوبیا، *Fusarium. solani* و *Rhizoctonia. Solani* ٥٥

شکل۳-٦- مراحل بررسی توانایی تثبیت جدایه‌های تریکودرما روی ریشه گیاه لوبیا ٥٦

شکل ۳-۷- تهیه مایه تلقیح *Rhizoctonia solani* ٥٧

شکل ۳-۸- تهیه مایه تلقیح *Fusarium solani* ٥٨

شکل ۳-۹- تلقیح بیمارگرها به خاک یک هفته قبل از کاشت لوبیا ٦٠

شکل ۳-۱۰- کشت گیاهان در گلدان های تیمار شده با انواع اینوکلوم و جدایه های تریکودرما و چینش تصادفی تکرار ها و تیمارهای مختلف بر روی سکوی گلخانه ٦٠

شکل ۳-۱۱- اندازه‌گیری شاخص‌های رویشی رشد گیاه در گلخانه ٦١

شکل ٤-۱- مشاهده مشخصات جنس رایزوکتونیا با استفاده از بزرگنمایی ٤٠ میکروسکوپ ٦٥

شکل ٤-۲- رنگ آمیزی قارچ با محلول سافرانین و مشاهده بیش از سه هسته در هر سلول *Rhizoctonia.solani* در تمامی جدایه‌ها ٦٥

شکل٤-۳- a وb- پوسیدگی ریشه و طوقه، شانکر در قاعده ساقه و زردی در ریشه‌های بیمار. c- شاهد سالم ٦٦

شکل-٤-٤- عدم تشکیل دیواره اسکلرتی و یا تشکیل دیواره اسکلروتی ضعیف توسط جدایه های *Rhizoctonia solani* در برخورد با جدایه‌های T_{12-0}، T_{93} و T_{25} ٧١

شکل ٤-٥- کلنیزاسیون و اسپورزایی جدایه‌های تریکودرما۱۰ روز بعد از کشت متقابل (همزمان) Rhizoctonia-Trichoderma ٧٢

شکل ٤-٦- کلنیزاسیون و اسپورزایی جدایه‌های تریکودرما۱۰ روز بعد از کشت متقابل (کشت ٤٨ ساعته رایزوکتونیا) Rhizoctonia-Trichoderma ٧٤
شکل ٤-٧- کلنیزاسیون و اسپورزایی جدایه‌ها ی تریکودرما نه روز بعد از کشت متقابل(٩٦ ساعته رایزوکتونیا) Rhizoctonia-Trichoderma ٧٥
شکل ٤-٨- کلنیزاسیون و اسپورزایی جدایه‌های تریکودرما پنج روز بعد از کشت متقابل (همزمان) Fusarium-Trichoderma ٧٧
شکل ٤-٩- کلنیزاسیون و اسپورزایی جدایه‌های تریکودرما پنج روز بعد از کشت متقابل (٤٨ ساعته فوزاریوم) Fusarium-Trichoderma ٧٩
شکل ٤-١٠- کلنیزاسیون و اسپورزایی جدایه‌های تریکودرما پنج روز بعد از کشت متقابل (٩٦ ساعته فوزاریوم) Fusarium-Trichoderma ٨١
شکل ٤-١١- بررسی اثر متابولیت‌های فرار جدایه‌های تریکودرما در بازدارندگی از رشد میسلیوم ٨٤
شکل ٤-١٢- بررسی میکروسکوپی مکانیسم کنترل *Rhizoctonia.solani* و *Fusarium.solani* توسط جدایه‌های مختلف تریکودرما ٨٨
شکل ٤-١٣- a- کنترل *Rhizoctonia solani* توسط جدایه T_{12-0} و عدم مشاهده علائم پوسیدگی و زخم روی طوقه ٩١
شکل ٤-١٤- a- کنترل *Fusarium solani* توسط جدایه T_{36}و عدم مشاهده علائم پوسیدگی و زخم روی طوقه ٩٧

چکیده

در شهریور ۱۳۸۹ از طوقه و ریشه گیاهان لوبیای سالم و بیمار (دارای علائم پوسیدگی ریشه و طوقه) در مزارع لوبیای مناطق مهم لوبیاکاری استان زنجان و خاک ریزوسفر آن‌ها نمونه برداری انجام و اقدام به جداسازی و شناسایی عامل بیماری از ریشه و نیز جداسازی تریکودرماها از ریزوسفر این گیاهان گردید. در نتیجه مهم‌ترین عوامل بیماری *Fusarium solani* و *Rhizoctonia solani* شناسایی گردیدند و ۱۳۲جدایه خالص تریکودرما نیز حاصل شد. توانایی آنتاگونیستی جدایه‌های بومی و نیز ۱۲ جدایه تریکودرمای دریافتی از دانشگاه فردوسی مشهد (گروه گیاهپزشکی، روحانی) علیه دو بیمارگر مذکور در آزمایشگاه و گلخانه مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور اقدام به غربال جدایه‌ها از طریق بررسی قدرت کلنیزاسیون در محیط کشت حاوی بیمارگر گردید و ۱۱ جدایه با قدرت رقابتی ساپروفیتی بالا انتخاب شد که از آن میان پنج جدایه بومی و شش جدایه از جدایه های دریافتی بودند. سپس جدایه‌ها از نظر قدرت پارازیتیسم، قدرت رقابتی ساپروفیتی، قدرت آنتاگونیستی جدایه‌ها در کشت متقابل و تأثیر متابولیت‌های فرار مورد بررسی قرار گرفتند. در بررسی قدرت رقابتی ساپروفیتی علیه *R. solani* و *F. solani* بر روی محیط کشت سیب زمینی- دکستروز- آگار (PDA) به ترتیب جدایه‌های T_{25}(*T.harzianum*) و T_{36}(*T.viride*) مؤثرتر از بقیه بودند. در بررسی بازداری از رشد هیف *R. solani* و *F. solani* جدایه T_{36}(*T.viride*) بیشترین درصد ممانعت از رشد را نشان داد. متابولیت‌های فرار جدایه‌های تریکودرما، اثر بازدارندگی قابل توجهی روی رشد میسلیومی هر دو قارچ بیمارگر داشته و بیشترین کاهش رشد(بیشترین اثر بازداری) در مورد *F. solani* و *R. solani* به ترتیب مربوط به جدایه های T_6 (*T.* sp.) وT_{12-N} (*T.harzianum*) بود. بررسی‌های میکروسکوپی نیز نشان داد که جدایه‌های تریکودرما با تماس، نفوذ ، پیچش هیفی و متلاشی کردن هیف، رشد آن‌ها را متوقف کرده و در نهایت باعث از بین رفتن آن‌ها می‌شوند. جهت بررسی اثر جدایه‌های تریکودرما بر شدت بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه لوبیا در شرایط گلخانه‌ای، آزمونی در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۱۳ تیمار شامل شاهد سالم، شاهد آلوده و هر کدام از جدایه‌های تریکودرما به همراه عامل بیماری در سه تکرار انجام گرفت. در این بررسی موفق‌ترین جدایه در کنترل بیماری و کاهش شدت بیماری در گلخانه در مورد *R. solani* و *F. solani* جدایهT_{12-0}(*T.virens*) بود. در بین جدایه‌های بومی نیز جدایه‌های T_{95}(*T.harzianum* Bi) و T_{36}(*T.viride*) به ترتیب در مقابله با *F.solani* و *R. solani* به عنوان بهترین جدایه‌ها معرفی شدند.

واژگان کلیدی: بیوکنترل، گونه‌های تریکودرما، پوسیدگی فوزاریومی و رایزوکتونیایی ریشه، حبوبات.

فصل اول

مقدمه

فصل اول- مقدمه

مقدمه

حبوبات پس از غلات مهم ترین منبع غذایی بشر و لوبیا از مهم‌ترین حبوبات جهان محسوب می شود. از عواملی که عملکرد لوبیا را تحت تاثیر قرار می دهند عوامل بیماریزای گیاهی می‌باشند (سعیدی زاده، ۱۳۸۵). بیماری‌های قارچی خاکزاد زیادی در بیشتر مناطق زیر کشت لوبیا گسترش یافته اند. از جمله می‌توان به بیماری‌های پوسیدگی فوزاریومی ریشه، پوسیدگی رایزوکتونیایی ریشه و پوسیدگی زغالی ریشه اشاره کرد(پارسا و باقری، ۱۳۸۷). طبق بررسی‌های انجام شده در سال ۱۳۸٦ در استان زنجان *Fusarium solani* و *Rhizoctonia solani* به ترتیب عوامل عمده پوسیدگی ریشه لوبیا محسوب می-شوند(ناصری و مرادی، ۱۳۸٦). در مناطق دیگر کشور نیز این بیماری همه ساله خسارت قابل ملاحظه‌ای را به کشاورزان تحمیل می نماید، به طوری که در مناطق کاملا آلوده، تا ۸۵ درصد محصول را از بین می‌برد. هنگامی که قارچ بیمارگر در زمین مستقر شود، ریشه‌کنی عملی آن غیرممکن خواهد بود. روش‌های مبارزه زراعی شامل تناوب بلند مدت، تنظیم تاریخ کاشت، کوددهی و زهکشی مناسب زمین، تنها می‌توانند درصد خسارت را تا حدودی کاهش دهند. برای کنترل بیماری روش شیمیایی خیلی مؤثری وجود ندارد و اکثر ارقام مقاوم نیز دارای صفات منفی مانند دوره رشد طولانی و بذرهای ریز می‌باشند (Jurrian *et al*., 1981).

لذا مبارزه بیولوژیک بیماری‌های گیاهی با استفاده از میکروارگانیسم‌های غیر بیماریزا توجه بسیاری از محققین را به خود جلب نموده است. تحقیقات نشان داده که معرفی آنتاگونیست‌های مختلف از جمله آنتاگونیست‌های قارچی جنس تریکودرما به محیط خاک و ریزوسفر می‌تواند از خسارت بیماری تا زیر آستانه زیان اقتصادی بکاهد. این موفقیت همراه با سلامت محیط زیست توانسته این روش را یکی از مقبول ترین روش‌های کنترل بیماری‌ها در مبارزه تلفیقی بیماری‌های گیاهی نماید. پدیده بیوکنترل از راهکارهای مختلف اعمال می‌شود که این راهکارها به‌عنوان مکانیزم‌های بیوکنترل به طور مفصل مورد بررسی قرار داده شده‌اند(Harman, 2004). گونه‌های تریکودرما قارچ‌های جهانی و بسیار فراوانی در دامنه پهناوری از اکوسیستم‌ها و مناطق آب و هوایی هستند. این قارچ‌ها توسط رشد سریع، توانایی استفاده از سوبستراهای مختلف و مقاومت به مواد شیمیایی مضر شناخته می‌شوند. گونه‌های تریکودرما از مکانیسم‌های مختلفی برای مقابله با بیمارگرهای گیاهی استفاده می کنند مانند کاهش مقاومت و واکنش‌های دفاعی گیاه، مقابله مستقیم از طریق مایکوپارازیتیسم، آنتی بیوز، رقابت و تحریک رشد گیاه (Klein and Eveleigh, 1998) همچنین گزارشات زیادی از جدایه‌هایی که سبب ارتقای فاکتورهای رشدی گیاه می-شوند وجود دارد، این فاکتورهای رشد شامل اکسین‌ها، سیتوکینین‌ها و اتیلن‌ها هستند که در تحریک رشد گیاه نقش دارند(Chet *et al.*, 1997).

لذا در این بررسی با توجه به جداسازی تعداد زیادی ازجدایه‌های بومی تریکودرما و با استفاده از تعدادی جدایه غیربومی، هدف این تحقیق آن شد تا تأثیر آن‌ها بر روی مهم‌ترین عوامل پوسیدگی ریشه لوبیا در شرایط آزمایشگاه وگلخانه مورد ارزیابی قرار گیرد و بدین ترتیب اهداف این پژوهش با طرح سوالات زیر مشخص گردید:

۱- آیا در خاک مناطق مورد کشت لوبیا در استان زنجان جدایه‌های تریکودرما با توانایی آنتاگونیستی علیه مهم‌ترین عوامل پوسیدگی ریشه *F. solani* و *R. solani* (در شرایط آزمایشگاه و گلخانه) وجود دارند؟

۲- در شرایط آزمایشگاه، این جدایه‌ها از کدام مکانیزم‌ها علیه بیمارگرهای مذکور استفاده می‌نمایند؟

فصل دوم

بررسی منابع

فصل دوم- بررسی منابع

۲-۱- اهمیت حبوبات

حبوبات جزء اصلی رژیم غذایی بسیاری از مردم فقیر جهان را تشکیل می‌دهد چرا که مقادیر قابل توجه پروتئین مرغوب موجود در دانه این محصولات در ترکیب با غلات می‌تواند یک ترکیب زیستی ارزشمند غذایی فراهم نماید. در کشور ما نیز حبوبات با مصرف سرانه ٤/٨ کیلوگرم، اگرچه مصرف آن از متوسط جهانی(٦/١ کیلوگرم) پایین‌تر است، ولی در عین حال نقش مهمی در تغذیه مردم کم درآمد ایفا می‌نماید. حبوبات منبع عمده پروتئین و مکمل بسیار غنی غلات در رژیم غذایی گیاهی جهت تعدیل ترکیب اسیدهای آمینه در تغذیه محسوب می‌شوند(پارسا و باقری، ۱۳۸۷).

۲-۲- لوبیا

لوبیا معمولی bean یا common bean با نام علمی *Phaseolus vulgaris* L یک محصول غذایی قدیمی در بین اقوام بشر بوده است(سعیدی‌زاده، ۱۳۸۵). از نظر تاکسونومیکی، لوبیای معمولی به خانواده Fabaceae تعلق دارد که خود شامل زیر خانواده، طایفه، زیر طایفه و جنس می‌باشد. جنس Phaseolus عضو زیر خانواده Papilionoideae، طایفه Phaseoleae و زیر طایفه Phaseolinae است (خانیزاد و محمدی، ۱۳۸۹).

۲-۳- اهمیت و تولید لوبیا