

بِأَبِي أَنْشَرُوا نَجِي

صِيحِي لِلْبَيْتِ عَلَيْهِ السَّلَامُ

أَبِي طَالِبٍ مُحَمَّدٍ

أَيُّهَا الْأَمَامُ أَبُو عَبْدِ اللَّهِ

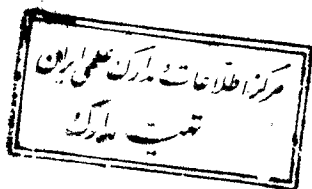
فَمَا أَهْلًا أَسْمَاءُكُمْ

۱۳۲۸ / ۲ / ۲۰



دانشکده کشاورزی

گروه گیاه پزشکی



پایان نامه

برای دریافت درجه کارشناسی ارشد (فوق لیسانس)

رشته بیماری شناسی گیاهی

موضوع:

بررسی تنوع ژنتیکی قارچ Ascochyta rabiei

عامل برق زدگی نخود

استاد راهنما:

دکتر ماهرخ فلاحتی رستگار

استاد مشاور:

دکتر بهروز جعفرپور

نگارش:

خشنود نوراللهی

مهرماه ۱۳۷۷

2603/2

به نام خدا

با تأییدات خداوند متعال و با استعانت از حضرت ولی عصر (عج)
جلسه دفاع از پایان نامه کارشناسی ارشد آقای خشنود نورا للهی
در رشته بیماری شناسی گیاهی تحت عنوان :

بررسی قنوع ژنتیکی قارچ Ascochyta rabiei عامل برق زدگی نخود

با حضور استاد راهنما و هیأت داوران در محل دانشکده کشاورزی دانشگاه
فردوسی مشهد در مورخ ۱۳۷۷/۷/۱۱ ساعت ۱۰ قبل از ظهر تشکیل و با
موفقیت با نمره ۱۹/۵ و امتیاز عالی دفاع گردید.

هیأت داوران :

استاد راهنما: دکتر ماهرخ فلاحتی رستگار

استاد مشاور: دکتر بهروز جعفر پور

استاد مدعو و مدیر گروه گیاه پزشکی : دکتر مهدی مدرس اول

تقدیم به :

بارگاہ ملکوتی امام ہشتم (ع) کہ توفیق یافتم
این مقطع از تحصیلات خود را در جوار حرم مقدسش به
پایان برسانم

شہیدان باشد کہ همچون آنان آزادہ باشم

مادر مہربان و فداکارم و همچنین روان پاک پدرم معلمان
واقعی تلاش کہ در سایہ زحمات بی دریغ محبتہای
فراوانشان رشد یافتم و زندگی آموختم

و

پردارنم رضا و سجاد و خواهران مہربانم کہ هموارہ و در
تمامی مراحل زندگی بہترین مشوقم بودند امید تا بتوانم
پاسخگوی محبتہایشان باشم

تشکر و قدردانی

سپاس بیکران ایزدمنان را که در پرتو لایزالش توفیق آموختن میسر گردید تا منت پذیر و رهین آستان کبریائیش گردیم، و رحمت و واسع‌اش فرصتی مغتنم داد تا در جوار بارگاه مقدس ثامن الائمه به اقتضای تولد و وسع خود از محضر اساتید گرانقدر بهره جویم و ره توشه‌ای از بار علمی ایشان برگیرم و با کمال خضوع و خشوع بر بارگاه ملکوتی حضرت علی بن موسی الرضا، بر خود لازم می‌دانم که از استاد راهنمای ارجمندم، سرکار خانم دکتر فلاحی رستگار بخاطر راهنماییها و مساعدتهای ایشان در امر اجرای تحقیق و همچنین جناب آقای دکتر بهروز جعفرپور بخاطر مشاوره و رهنمودهایش، صمیمانه تشکر نمایم

از آقایان دکتر باقری ریاست محترم دانشگاه فردوسی مشهد، مهندس پردوئی رئیس بخش حبوبات کرج و مهندس ملک زاده و مهندس غلامحسین احمدی و مهندس رستگار، و مهندس محمودی به جهت در اختیار قرار دادن ارقام استاندارد نخود کمال تشکر و قدردانی را دارم.

از آقایان مهندس سلطانی و مهندس دریائی به جهت مساعدتها و همکاریهای لازم در امر اجرای این تحقیق تشکر و قدردانی می‌شود.

از ریاست محترم گروه گیاهپزشکی آقای دکتر مدرس و از کادر محترم کتابخانه، چاپ و تکثیر، اتاق کامپیوتر، سمعی و بصری، آموزش، حسابداری، آزمایشگاه گیاهپزشکی و بیماریهای گیاهی بخصوص آقای مهندس جهان آرا و آقای قدیمی که در اجرای این پژوهش مرا یاری کردند، سپاسگزارم، هزینه اجرائی این تحقیق از محل اعتبارات دانشگاه فردوسی تأمین شده است. بدینوسیله مراتب تشکر و قدردانی خود را از معاونت پژوهشی دانشکده کشاورزی و دانشگاه فردوسی اعلام می‌دارم. در خاتمه از سرکار خانم روح‌افزا که زحمت تایپ و صفحه‌آرایی این مجموعه را متقبل شدند سپاسگزاری می‌نمایم.

خشنود نوراللهی

مهر ماه ۱۳۷۷

بررسی تنوع ژنتیکی قارچ *Ascochyta rabiei* عامل برق زدگی نخود

چکیده:

تعداد ۴۰۰ جدایه قارچ *Ascochyta rabiei* (Pass) Lab. از مزارع آلوده نخود در قسمتهای مختلف کشور از قبیل، منطقه دریاچه زریوار مریوان در استان کردستان، شبستر و خسروشهر در استان آذربایجان شرقی و سرو، بوکان و شاهین دژ در استان آذربایجان غربی، مشهد و ایلام جمع آوری شد.

این جدایه ها از نظر خصوصیات محیط کشتی، مورفولوژی و قدرت بیماریزایی تفاوت کمی را نشان دادند، این جدایه ها بر اساس منطقه جمع آوری و خصوصیات مورفولوژیکی به ۱۷ گروه طبقه بندی شدند و سپس بر اساس خصوصیات مورفولوژی و محیط کشتی به ۱۱ گروه کاهش پیدا کردند. جدایه شماره ۱۶ از مشهد بیشترین نسبت رشد را نشان داد و جدایه شماره ۱ از استان کردستان کمترین نسبت رشدی را داشت.

یک جدایه از هر گروه به عنوان نماینده انتخاب شد و بیماریزایی آنها مورد آزمایش قرار گرفت. در این طرح نوع واکنش ۱۱ جدایه بر روی ۱۱ رقم استاندارد و یک رقم محلی (جم) مورد بررسی قرار گرفت و بر اساس عکس العمل ۱۱ رقم استاندارد مطابق روش ایکاردا (ICARDA) دو نژاد فیزیولوژیکی، (۴) و (۶) تشخیص داده شد.

فهرست مطالب

صفحه	عنوان
۱	فصل اول - مقدمه و اهمیت
۵	فصل دوم - بررسی منابع
۶	۲-۱ عامل بیماری
۶	۲-۲ مرحله آنامورف قارچ
۱۵	۲-۳ مرحله تلومورف قارچ
۱۸	۲-۴ اپیدمیولوژی
۱۸	۲-۴-۱ بقاء قارچ
۱۸	۲-۴-۱-۱ بقایای محصول
۱۸	۲-۴-۱-۲ بذر
۱۹	۲-۴-۲ گسترش
۱۹	۲-۴-۳ دامنه میزبانی
۱۹	۲-۵ مختصری درباره تحقیقات انجام گرفته در مورد تعیین نژاد <i>Ascochyta rabiei</i>
۲۱	فصل سوم - مواد و روشها
۲۲	۳-۱ نمونه برداری

۲۳ ۳-۲ جداسازی عامل بیماری
۲۳ ۳-۳ محیط کشت‌های مورد استفاده
۲۳ ۳-۳-۱ محیط کشت (<i>Chickpea seed meal dextrose, agar (CSMDA)</i>)
۲۳ ۳-۳-۲ محیط کشت (<i>Potato dextrose agar (PDA)</i>)
۲۴ ۳-۳-۳ محیط کشت <i>Richard's agar</i>
۲۴ ۳-۳-۴ محیط کشت آب آگار <i>Water agar</i>
۲۵ ۳-۳-۵ محیط کشت (<i>Potato dextrose Broth (PDB)</i>)
۲۵ ۳-۴ تهیه کشت خالص
۲۶ ۳-۴-۱ روش تک اسپور کردن
۲۶ ۳-۵ محلول‌های رنگی مورد استفاده برای رنگ آمیزی و مشاهده قارچها
۲۶ ۳-۵-۱ اریتروزین
۲۶ ۳-۵-۲ آبی پنبه در آب
۲۶ ۳-۶ اثبات بیماریزائی
۲۶ ۳-۷ تهیه سوسپانسیون اسپور
۲۷ ۳-۸ تعیین مشخصات مرفولوژیکی قارچ
۲۷ ۳-۸-۱ اندازه‌گیری میزان رشد کلنی قارچ
۲۷ ۳-۸-۲ اندازه‌گیری ابعاد پیکنید و پیکنید یواسپورها
۲۷ ۳-۹ ارقام استاندارد مورد استفاده
۳-۱۰	گروه بندی کردن جدا شده‌ها براساس خصوصیات مرفولوژی برای تعیین نژاد
۲۸ (تشکیل گروه‌های مرفولوژی)
۳۲ ۳-۱۱ روش مایه زنی (تلقیح)

۳۴ ۳-۱۲ تعیین شدت بیماری
۳۶ ۳-۱۳ الکتروفورز پروتئین
۳۶ ۳-۱۳-۱ تهیه عصاره پروتئینی قارچ
۳۷ ۳-۱۳-۲ الکتروفورز پروتئین
۳۷ ۳-۱۳-۱۳ محلولهای لازم و روش تهیه آنها
۳۹ ۳-۱۳-۴ مراحل الکتروفورز
۳۹ ۳-۱۳-۵ طرز تهیه ژلها
۴۱ ۳-۱۳-۶ قراردادن قالب ژل داخل تانک
۴۱ ۳-۱۳-۷ آماده سازی نمونه‌ها و نمونه گذاری
۴۱ ۳-۱۳-۸ انجام الکتروفورز
۴۲ ۳-۱۳-۹ رنگ آمیزی و رنگ زدائی ژل
۴۲ ۳-۱۳-۱۰ تخمین و زن مولکولی باندهای پروتئینی ظاهر شده در ژل

۴۳ فصل چهارم - نتایج و بحث

۴۴ ۴-۱ علائم و نشانه‌های بیماری
۴۹ ۴-۲ جداسازی عامل بیماری
۴۹ ۴-۳ تشکیل گروههای فرمولوژی قارچ عامل بیماری
۵۴ ۴-۴ اثبات بیماریزائی
۶۲ ۴-۵ الکتروفورز پروتئین
۶۲ ۴-۶ کنترل
۶۴ ۴-۷ پیشنهادات

فصل اول

مقدمه و اهمیت

نخود Chickpea گیاهی خودگشن و دیپلوئید (کروموزوم $2n=16$) بانام علمی (*Cicer arietinum* L.) است که به خانواده بقولات تعلق دارد (۶۰) که در زمانهای خیلی قدیم اهلی شده و مبدأ آن را غرب آسیا و جنوب اروپا می دانند، و در ناحیه های خشک در آسیا، آفریقا، آمریکای جنوبی و مرکزی کشت می شود.

بذور رسیده و خشک نخود دارای ارزش غذایی زیاد و قابلیت نگهداری خوبی است و در مقایسه با غلات از تولید پروتئین قابل توجهی در واحد سطح برخوردار است. و عمدتاً در جیره غذایی انسان به خصوص در برنامه غذایی طبقات کم درآمد جامعه که همواره از تهیه پروتئین های حیوانی محروم هستند نقش اساسی دارد (۴)

مصرف سرانه نخود در جهان در کشورهای تولید کننده آن حدود ۳/۴ گرم در روز می باشد که این مقدار در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری حدود ۱۷ گرم در روز می باشد این گیاه از نظر مواد غذایی حدود ۱۲ کالری و ۰/۶ گرم پروتئین را تأمین می کند که در مناطق گرمسیری و نیمه خشک برابر با ۶۰ کالری و ۳ گرم پروتئین می باشد (۴)

همچنین این گیاه قادر است با استفاده از باکتریهای همزیست، ازت را در خاک تثبیت کرده و در نتیجه میزان استفاده از کود شیمیائی را کاهش دهد و موجب بهبود خاک و افزایش عملکرد محصولات بعدی شود.

در مناطق خشک نخود از نظر تناوب کشت دارای اهمیت ویژه ای است و می تواند با غلات زمستانه برای افزایش محصول در واحد سطح و کاهش سطح آیش در تناوب قرار گیرد. و در میان حبوبات مقاومترین محصول نسبت به خشکی و گرماست و در اراضی فقیر قادر به رشد می باشد (۴)

طبق آمار منتشر شده از سازمان خواربار جهانی (FAO) سطح زیر کشت نخود در جهان در سال ۱۹۹۵ معادل ۱۰۲۴۵ هزار هکتار و میزان تولید آن در همین سال ۷۶۴۵ هزار تن بوده و متوسط عملکرد آن ۷۴۶ کیلوگرم در هکتار می باشد (۱۸)

گزارشات نشان می دهد که نخود در ۳۳ کشور از ۲۰۷ کشور موجود در جهان کشت می شود و قسمت

اعظم تولید نخود در جهان کشور هندوستان می باشد که تولیدی معادل ۴۹۰۴ هزار تن دارد (۱۸-۴).
 با توجه به اهمیتی که این گیاه دارد این محصول در کشور ما نیز مصرف زیادی دارد که در ایران بیشتر در
 نقاط سردسیر اواخر اسفند و نقاط گرمسیر در اواسط پائیز می کارند و طبق آمار نامه کشاورزی سال
 ۷۰-۷۱، استانهای آذربایجان شرقی آذربایجان غربی، اصفهان، ایلام، بوشهر، تهران، چهارمحال
 بختیاری - خراسان، خوزستان، زنجان، سمنان، سیستان و بلوچستان، فارس، کردستان، کرمان،
 کرمانشاه، کهگیلویه و بویراحمد، گرگان و گنبد، گیلان، لرستان، مازندران: مرکزی، هرمزگان، همدان و
 یزد، تولید کنندگان عمده نخود کشور هستند (۴)

طبق آمار سازمان خواربار کشاورزی (FAO) میزان تولید آن در ایران در سال ۱۹۹۵ حدود ۳۰۴ هزار تن
 بوده و سطح زیر کشت آن معادل ۶۵۰ هزار هکتار می باشد. (۱۸-۴)

متأسفانه عملکرد این محصول در اثر ابتلاء به بیماریهای قارچی و ویروسی به میزان قابل توجهی کاهش
 می یابد که برای نخود حدود ۱۱۵ بیماری مختلف گزارش کرده اند که در بین اینها بیماری برق زدگی
 نخود (*Ascochyta blight*) را مخربترین و اقتصادی ترین بیماری گزارش کرده اند (۴۲) که اپیدمیهای
 شدیدی در خیلی از نواحی کشورها بوجود می آورد بطوریکه لابروس (Labrousse 1930) گزارش کرد
 که بیماری در سال ۱۹۲۹ در مراکش خیلی شدید و زیان آور بوده است (۴۳) و در پاکستان طبق گزارش
 ساتر (Satter, 1933) سالیانه حدود ۵۰-۲۵٪ محصول سالیانه را از زمین می برد. بطوریکه در بعضی
 از مناطق در اثر اپیدمی شدن این بیماری خسارت آن به ۱۰۰٪ می رسد (۴۳)

در ایران، شریف و همکارانش (۱۳۴۵) گزارش کرده اند که خسارت این بیماری در ایران بالا بوده و بطور
 متوسط ۶۰۰۰ تن در سال می باشد (۵)

با توجه به اهمیت زراعت نخود و غیر مؤثر بودن تکنیکهای مبارزه معمول که شامل مبارزه شیمیائی و
 روشهای مبارزه فیزیکی - زراعی از جمله تناوب و از بین بردن بقایای گیاهی است، سنتز ارقام مقاوم
 پلی ژن مؤثرترین و اقتصادی ترین روش مبارزه با این بیماری می باشد که اولین قدم در این مورد بررسی
 تنوع ژنتیکی و شناخت نژادهای فیزیولوژیک در جمعیت پاتوژن عامل بیماری برق زدگی نخود

Ascochyta rabiei می باشد. پس لازم است که مطالعاتی روی گسترش و توزیع این تغییر پذیری و تعیین نژادهای غالب منطقه انجام گیرد تا بدین طریق برنامه های اصلاح و معرفی ارقام بعدی با سهولت و اطمینان بیشتری صورت گیرد.

فصل دوم

بررسی منابع