تایید اعضای هیأت داوران حاضر در جلسه دفاع از پایان نامه کارشناسی ارشد

اعضای هیأت داوران نسخه‌ی نهائی پایان نامه آقای **ولی اله مهدیزاده** تحت عنوان: **مطالعه‌ی بیماریزایی، خصوصیات مرفولوژیک و مولکولی *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid جدا شده از میزبان های مختلف در ایران** را از نظر فرم و محتوی بررسی نموده و پذیرش آن را برای تکمیل درجه کارشناسی ارشد پیشنهاد می کنند.

اعضای هیأت داوران	نام و نام خانوادگی	رتبه ی علمی	امضاء
۱- استاد راهنما	دکتر ناصر صفایی	دانشیار	
۲- استاد مشاور	دکتر ابراهیم محمدی گل‌تپه	استاد	
۳- نماینده شورای تحصیلات تکمیلی	دکتر مسعود شمس بخش	دانشیار	
۴- اساتید ناظر: ۱- داخلی	دکتر مسعود شمس بخش	دانشیار	
۲- خارجی	دکتر واهه میناسیان	استاد	

آیین‌نامه حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهشهای علمی دانشگاه تربیت مدرس

مقدمه: با عنایت به سیاست‌های پژوهشی و فناوری دانشگاه در راستای تحقق عدالت و کرامت انسانها که لازمه شکوفایی علمی و فنی است و رعایت حقوق مادی و معنوی دانشگاه و پژوهشگران، لازم است اعضای هیأت علمی، دانشجویان، دانش‌آموختگان و دیگر همکاران طرح، در مورد نتایج پژوهشهای علمی که تحت عناوین پایان‌نامه، رساله و طرحهای تحقیقاتی با هماهنگی دانشگاه انجام شده است، موارد زیر را رعایت نمایند:

ماده ۱- حق نشر و تکثیر پایان نامه/ رساله و درآمدهای حاصل از آنها متعلق به دانشگاه می باشد ولی حقوق معنوی پدید آورندگان محفوظ خواهد بود.

ماده ۲- انتشار مقاله یا مقالات مستخرج از پایان‌نامه/ رساله به صورت چاپ در نشریات علمی و یا ارائه در مجامع علمی باید به نام دانشگاه بوده و با تایید استاد راهنمای اصلی، یکی از اساتید راهنما، مشاور و یا دانشجو مسئول مکاتبات مقاله باشد. ولی مسئولیت علمی مقاله مستخرج از پایان نامه و رساله به عهده اساتید راهنما و دانشجو می باشد.

تبصره: در مقالاتی که پس از دانش‌آموختگی بصورت ترکیبی از اطلاعات جدید و نتایج حاصل از پایان‌نامه/ رساله نیز منتشر می‌شود نیز باید نام دانشگاه درج شود.

ماده ۳- انتشار کتاب، نرم افزار و یا آثار ویژه (اثری هنری مانند فیلم، عکس، نقاشی و نمایشنامه) حاصل از نتایج پایان‌نامه/ رساله و تمامی طرحهای تحقیقاتی کلیه واحدهای دانشگاه اعم از دانشکده ها، مراکز تحقیقاتی، پژوهشکده ها، پارک علم و فناوری و دیگر واحدها باید با مجوز کتبی صادره از معاونت پژوهشی دانشگاه و براساس آئین نامه های مصوب انجام شود.

ماده ٤- ثبت اختراع و تدوین دانش فنی و یا ارائه یافته ها در جشنواره‌های ملی، منطقه‌ای و بین‌المللی که حاصل نتایج مستخرج از پایان‌نامه/ رساله و تمامی طرح‌های تحقیقاتی دانشگاه باید با هماهنگی استاد راهنما یا مجری طرح از طریق معاونت پژوهشی دانشگاه انجام گیرد.

ماده ٥- این آیین‌نامه در ٥ ماده و یک تبصره در تاریخ۸۷/٤/۱ در شورای پژوهشی و در تاریخ ۸۷/٤/۲۳ در هیأت رئیسه دانشگاه به تایید رسید و در جلسه مورخ ۸۷/۷/۱۵ شورای دانشگاه به تصویب رسیده و از تاریخ تصویب در شورای دانشگاه لازم‌الاجرا است.

«اینجانب ..... دانشجوی رشته ..... ورودی سال تحصیلی ..... مقطع ..... دانشکده ..... متعهد می شوم کلیه نکات مندرج در آئین نامه حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهش های علمی دانشگاه تربیت مدرس را در انتشار یافته های علمی مستخرج از پایان نامه / رساله تحصیلی خود رعایت نمایم. در صورت تخلف از مفاد آئین نامه فوق الاشعار به دانشگاه وکالت و نمایندگی می دهم که از طرف اینجانب نسبت به لغو امتیاز اختراع بنام بنده و یا هر گونه امتیاز دیگر و تغییر آن به نام دانشگاه اقدام نماید. ضمناً نسبت به جبران فوری ضرر و زیان حاصله بر اساس برآورد دانشگاه اقدام خواهم نمود و بدینوسیله حق هر گونه اعتراض را از خود سلب نمودم»

امضا: .....

تاریخ: ۱۹/۳/۳

آیین نامه چاپ پایان‌نامه (رساله)های دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان نامه (رساله)های تحصیلی دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس، مبین بخشی از فعالیتهای علمی - پژوهشی دانشگاه است بنابراین به منظور آگاهی و رعایت حقوق دانشگاه،دانش آموختگان این دانشگاه نسبت به رعایت موارد ذیل متعهد می‌شوند:

ماده ۱: در صورت اقدام به چاپ پایان نامه (رساله)ی خود، مراتب را قبلاً به طور کتبی به «دفتر نشر آثارعلمی» دانشگاه اطلاع دهد.

ماده ۲: در صفحه سوم کتاب (پس از برگ شناسنامه) عبارت ذیل را چاپ کند:

«کتاب حاضر، حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد نگارنده در رشته **بیماری شناسی گیاهی** است که در سال **۱۳۸۹** در **دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس** به راهنمایی جناب آقای **دکتر ناصر صفایی**، مشاوره جناب آقای **دکتر ابراهیم محمدی گل‌تپه** از آن دفاع شده است.»

ماده ۳: به منظور جبران بخشی از هزینه‌های انتشارات دانشگاه، تعداد یک درصد شمارگان کتاب (در هر نوبت‌چاپ) را به «دفتر نشر آثارعلمی» دانشگاه اهدا کند. دانشگاه می‌تواند مازاد نیاز خود را به نفع مرکز نشر درمعرض فروش قرار دهد.

ماده ۴: در صورت عدم رعایت ماده ۳، ۵۰٪ بهای شمارگان چاپ شده را به عنوان خسارت به دانشگاه تربیت مدرس، تأدیه کند.

ماده ۵: دانشجو تعهد و قبول می کند در صورت خودداری از پرداخت بهای خسارت، دانشگاه می‌تواند خسارت مذکور را از طریق مراجع قضایی مطالبه و وصول کند؛ به علاوه به دانشگاه حق می‌دهد به منظور استیفای حقوق خود، از طریق دادگاه، معادل وجه مذکور در ماده ۴ را از محل توقیف کتابهای عرضه شده نگارنده برای فروش، تامین نماید.

ماده ۶: اینجانب **ولی اله مهدیزاده** دانشجوی رشته **بیماری شناسی گیاهی** مقطع **کارشناسی ارشد** تعهد فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده، به آن ملتزم می شوم.

نام و نام خانوادگی: **ولی اله مهدیزاده**

تاریخ و امضا: ۸۹/۳/۴

دانشگاه تربیت مدرس
دانشکده کشاورزی

پایان نامه برای دریافت درجه کارشناسی ارشد

رشته بیماری شناسی گیاهی

مطالعه‌ی بیماریزایی، خصوصیات مورفولوژیک و مولکولی *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid جدا شده از میزبان های مختلف در ایران

نگارنده

ولی اله مهدیزاده

استاد راهنما

دکتر ناصر صفایی

استاد مشاور

دکتر ابراهیم محمدی گل تپه

خرداد ۱۳۸۹

تقدیم به

پدر و مادر مهربانم

که زبانم از وصف صفاتشان ناتوان است

و

خواهران و برادر عزیزم که موفقیت و خوشبختی شان آرزویم است

سپاسگزاری

پروردگار یگانه را شاکرم که مرا نعمت حیات بخشید و شوق دانستن را در وجودم نهاد و همواره توجه و محبت او را به خود باور داشته ام. او را سپاسگذارم که توفیق شاگردی در محضر اساتید دانشمند و وارسته را به من عطاء فرمود.

اکنون که با توجه و عنایات ویژه پروردگار توفیق اتمام یکی دیگر از مقاطع تحصیلی را یافته ام بر خود لازم می دانم از اساتید معظم، کارشناسان و دوستان عزیزم که در انجام این تحقیق مرا یاری کردند تشکر و قدردانی کنم.

از استاد بزرگوارم جناب آقای دکتر ناصر صفایی که در تمام مراحل این پایان نامه راهنمای علمی و پشتوانه این تحقیق بودند صمیمانه سپاسگزارم و از خداوند منان تمنای سلامتی و طول عمر با عزت برای ایشان دارم.

از استاد وارسته جناب آقای دکتر محمدی گل تپه که مشاورت این پایان نامه را قبول نمودند، سپاسگزارم و از خداوند متعال طول عمر با عزت برای خدمت به جامعه علمی کشور را برای ایشان خواستارم.

از اساتید محترم جناب آقای دکتر واهه میناسیان و دکتر مسعود شمس بخش که سعادت شاگردی این دو بزرگوار را داشته ام به خاطر پذیرش داوری پایان نامه اینجانب کمال تشکر را دارم.

همچنین از محضر اساتید فرزانه‌ای چون جناب آقای دکتر پورجم، دکتر رحیمیان که شاگردی این بزرگواران افتخاری برای من بود سپاس و قدردانی می کنم.

از جناب آقای دکتر مایک-پرز (Dr. Mayek-Perez) (مرکز ملی بیوتکنولوژی مکزیک) و خانم دکتر گالاپس (Dr. Galaps) (دانشجوی دکترای بیماری شناسی گیاهی دانشگاه کالیفرنیا، آمریکا) که مشاورت افتخاری این پایان نامه را قبول نمودند و همواره از راهنمایی های ایشان استفاده نمودم، سپاسگزارم.

از کارشناسان محترم آزمایشگاه بیماری شناسی آقایان مهندس وامقی، ساداتی و موسوی کمال تشکر را دارم.

از آقایان علی مختصی، حمید حاتمی و فرهاد صابر علی به خاطر آموزه ها و راهنمایی های آنها جهت تجزیه های آماری پایانامه سپاسگزارم

در پایان از تمامی دوستان و عزیزان که در تمام این مدت صمیمانه مرا یاری کردند با نهایت احترام سپاسگزاری کرده و از درگاه ایزد منان برایشان آرزوی صحت، سلامت و موفقیت روز افزون دارم.

در پایان از اسوه های گذشت و فداکاری، پدر و مادر، خواهران و برادر عزیزم که همواره مشوق و پشتوانه من در زندگی بوده اند صمیمانه تشکر و قدردانی می کنم و از درگاه خداوند تمنای سلامتی و طول عمر با عزت برای این بزرگواران دارم.

چکیده

قارچ *Macrophomina phaseolina*، عامل پوسیدگی ذغالی، یک پاتوژن خاکزاد، با پراکنش جهانی و دامنه میزبانی بیش از ۵۰۰ گونه گیاهی می باشد. جهت بررسی تنوع مورفولوژیکی، بیماریزایی و ژنتیکی این قارچ در ایران، ۱۴۴ جدایه‌ی این قارچ از ۲۴ میزبان گیاهی و ۱۴ استان کشور شامل تهران، قزوین، قم، گلستان، سمنان، خراسان، همدان، خوزستان، مرکزی، فارس، اصفهان، یزد، کرمان و هرمزگان جداسازی و۵۲ جدایه قارچ عامل بیماری با توجه به نوع میزبان و پراکنش جغرافیایی انتخاب و مورد مطالعه قرار گرفت. این قارچ از میزبان‌های شاهدانه، شلغم، ماش، بامیه، گل جعفری و شیر تیغک برای اولین بار از ایران جداسازی شد. همه‌ی جدایه ها با استفاده از آغازگر اختصاصی مورد تایید قرار گرفتند. خصوصیات مورفولوژیکی هر جدایه شامل فنوتیپ کلرات، سرعت رشد نسبی، اندازه متوسط اسکلروت ثبت شد. مورفولوژی پرگنه پرمانند، فنوتیپ غالب در میان جدایه‌ها بود (۶۳/۷ درصد). شدت بیماری‌زایی جدایه‌ها روی لوبیای معمولی طی دو آزمایش جدا ارزیابی شد. بر اساس آزمون بیماری‌زایی جدایه‌های میزبان‌های مختلف دارای سطوح متفاوتی از بیماریزایی روی لوبیا بودند، به طوری که بیماریزاترین جدایه ها از بامیه و گوجه فرنگی بودند و جدایه هایی دارای کمترین بیماری‌زایی و یا غیر بیماری‌زا از کدوییان بودند. اغلب جدایه‌های بیماری‌زا حساس به کلرات بودند. تنوع ژنتیکی جدایه‌ها با استفاده از نشانگر ISSR بررسی شد. از میان ۹ آغازگر مورد استفاده، ۶ آغازگر داری وضوح، تکرار پذیری و تعداد باند های چندشکل بودند و در تجزیه‌های بعدی مورد استفاده قرار گرفتند. تجزیه و تحلیل خوشه‌ای داده های حاصل از الگوی باندی مربوط به آغازگرها با استفاده از ضریب تشابه جاکارد و روش UPGMA انجام گرفت. تعداد باند از ۱۶ تا ۲۶ بود که ۸۴ تا ۹۰ درصد چندشکل بودند. بهترین گروه بندی بر اساس میزبان با استفاده از آغازگرهای ISSR10 و PcMs بدست آمد. بر اساس تجزیه خوشه‌ای حاصل از ترکیب داده های حاصل از همه‌ی آغازگرها همه‌ی جدایه های آفتابگردان و همچنین کیوی، گوجه فرنگی، کدو، سویا و زیتون در کنار هم قرار گرفتند. این مطالعه همچنین نشان داد که همانند دیگر جمعیت‌های این قارچ

از دیگر کشورها، تنوع فیزیولوژیکی، فنوتیپی و ژنتیکی این قارچ در بین میزبان‌ها و مکان‌های مختلف جغرافیایی تا حدی زیاد است که در برخی میزبان‌ها این اختلاف یا تنوع منجر به ایجاد الگوهای یکسان مولکولی در این میزبان‌ها شده، که نشان دهنده ظهور روابط اختصاصی میزبانی در این قارچ می‌باشد.

کلمات کلیدی: پوسیدگی زغالی، فنوتیپ کلرات، لوبیای معمولی

مطالب فهرست

عنوان **صفحه**

فهرست جداول ..... و

فهرست اشکال ..... ح

فصل ۱ مقدمه ۱

۱-۱ مقدمه ۱

۱-۲ اهمیت بیماری ۲

۱-۳ اهداف مطالعه ۴

فصل ۲ بررسی منابع ۵

۲-۱علائم بیماری ۵

۲-۲ طبقه بندی و نامگذاری ۷

۲-۳ چرخه ی بیماری ۸

۲-۴ عوامل تاثیر گذار روی آلودگی و شدت پوسیدگی زغالی ۹

۲-۵ استراتژی های مدیریت ۱۱

۲-۶ دامنه ی میزبانی ۱۶

۲-۷ میزبان های مورد بررسی در تحقیق ۱۸

۲-۸ شناسایی *M. phaseolina* با استفاده از آغازگرهای اختصاصی گونه ۱۹

۲-۹ تنوع ریخت شناسی و بیماریزایی ۲۰

۲-۹-۱ مقدمه ۲۰

۲-۹-۲ مطالعات انجام شده در مورد تنوع ریخت شناسی و بیماریزایی ۲۱

۲-۱۰تنوع فنوتیپ های کلرات ۲۳
۲-۱۰- مقدمه ۲۳
۲-۱۰-۲مطالعات انجام شده در مورد تنوع فنوتیپ های کلرات ۲۴
۲-۱۱ تنوع ژنتیکی ۲۷
۲-۱۱-۱ مقدمه ۲۷
۲-۱۱- مطالعات انجام شده در مورد تنوع ژنتیکی *Macrophomina phaseolina* ۲۹
۲-۱۱-۲-۱ نشانگر ISSR ۲۹
۲-۱۱-۲-۲ نشانگر پلی‌مورفیسم قطعات تکثیر یافته DNA با آغازگرهای تصادفی ۳۳
۲-۱۱-۲ نشانگر REP- PCR ۳۶
۲-۱۱-۲-۴ نشانگر URP-PCR ۳۸
۲-۱۱-۲-۵ چند شکلی قطعات برشی با طول محدود (RFLP) مبتنی برPCR ۳۹
۲-۱۱-۲-۶ پلی مورفیسم طول باند تکثیر شده (AFLP) ۴۰
۲-۱۱- سابقه بررسی تنوع ژنتیکی جدایه‌های ایرانی *M. phaseolina* در ایران ۴۱

فصل ۳ مواد و روش ها ۴۳

۳-۱ نمونه برداری ۴۳
۳-۲ جداسازی، خالص سازی و شناسایی اولیهی جدایه‌های بیمارگر ۴۳
۳-۳ شناسایی *M. phaseolina* با استفاده از آغازگرهای اختصاصی گونه ۴۵
۳-۴ انتخاب جدایه های مورد مطالعه ۴۶
۳-۵ بررسی خصوصیات ریخت شناسی ۴۶
۳-۶ مقایسه ی سرعت رشد جدایهها ۴۶
۳-۷ آزمون حساسیت به کلرات ۴۷
۳-۸ آزمون بیماریزایی ۴۷

۳-۸-۱ تهیه ی مایه تلقیح ۴۸
۳-۸-۲ بیماریزایی روی لوبیا ۵۰
۳-۸-۳ تجزیه و تحلیل داده‌های گلخانه ۵۳
۳-۹ بررسی خصوصیات مولکولی ۵۳
۳-۹-۱ تهیه توده میسلیومی ۵۳
۳-۹-۲ استخراج DNA ۵۴
۳-۹-۳ تعیین تنوع ژنتیکی با استفاده از نشانگر ISSR ۵۶
۳-۹-۴ تجزیه و تحلیل داده‌ها ۵۷
فصل ۴ نتایج ۵۸
۴-۱جداسازی بیمارگر ۵۸
۴-۲شناسایی بیمارگر ۶۵
۴-۲-۱ شناسایی *M. phaseolina* با استفاده از خصوصیات ریخت شناسی ۶۵
۴-۲-۲ شناسایی *M. phaseolina* با استفاده از آغازگرهای اختصاصی گونه ۶۵
۴-۳صفات مرفولوژیک ۶۸
۴-۳-۱ میسلیوم هوایی ۶۸
۴-۳-۲ رنگ محیط کشت ۶۸
۴-۳-۳ ظهور اسکلروت ۶۹
۴-۳-۴ اندازه اسکلروت ۷۲
۴-۳-۴-۱ طول اسکلروت ۷۴
۴-۳-۴-۲ عرض اسکلروت ۷۵
۴-۳-۴-۳ شاخص طول و عرض ۷۵
۴-۳-۴-۴ شاخص مجموع طول و عرض ۷۷

۴-۳-۴-۵ رابطه بین بیماریزایی و اسکلروت ۸۰
۴-۴ سرعت رشد ۸۰
۴-۴-۱ دمای ۳۰ درجه سلسیوس ۸۲
۴-۴-۲ دمای ۳۷ درجه سلسیوس ۸۲
۴-۴-۳ دمای ۳۰ و۳۷ درجه سلسیوس ۸۳
۴-۵ فنوتیپ کلرات ۸۶
۴-۶ بیماریزایی روی لوبیای معمولی ۹۵
۴-۶-۱ شاخص وزن تر اندام های هوایی ۹۵
۴-۶-۲ شاخص وزن خشک اندام های هوایی ۹۶
۴-۶-۳ وزن خشک ریشه ۹۸
۴-۶-۴ شاخص ارتفاع ۹۹
۴-۶-۵ شاخص حجم ریشه ۱۰۰
۴-۶-۶ شاخص برگ زرد ۱۰۲
۴-۶-۷ شاخص برگ ریخته ۱۰۳
۴-۶-۸ شاخص خسارت برگی ۱۰۵
۴-۶-۹ اسکلروت ساقه ۱۰۶
۴-۶-۱۰شاخص های اصلی ۱۱۲
۴-۷بررسی تنوع ژنتیکی با نشانگر ISSR ۱۱۴
۴-۷-۱ آغازگر PCMS ۱۱۵
۴-۷-۲ آغازگر CCA ۱۱۷
۴-۷-۳ آغازگر ISSR2 ..... ۱۱۸
۴-۷-۴ آغازگر ISSR5 ..... ۱۲۰

۴-۷-۵ آغازگر ISSR10.....۱۲۲

۴-۷-۶ آغازگر P4.....۱۲۴

۴-۸ جمع بندی.....۱۳۴

۴-۹پیشنهادات.....۱۳۵

فصل ۵ منابع..... ۱۳۶

فهرست جداول

جدول ۱-۱ کاهش عملکرد سویا بر حسب تن به دلیل بیماری ها در سال های مختلف در ایالات متحده امریکا ۳

جدول ۲-۲ نام جنس برخی از میزبان های *Macrophomina phaseolina* ۱۷

جدول ۲-۳ جدیدترین گزارشات میزبانی *Macrophomina phaseolina* ۱۷

جدول ۲-۴ اسامی مترادف استفاده شده برای نشانگر ISSR (Reddy *et al.*, 2002) ۳۰

جدول۳-۱ مراحل انجام واکنش PCR ۴۵

جدول ۳-۲ برنامه PCR مورد استفاده ۵۶

جدول ۳-۳ فهرست آغازگرهای به کار رفته و توالی‌های آن‌ها ۵۷

جدول ۴-۱ فهرست جدایه های *M. phaseolina* جمع آوری شده از میزبان ها و مناطق مختلف کشور ۵۸

جدول ۴-۲ مشخصات فنوتیپی جدایه های منتخب ۶۹

جدول ۴-۳ تجزیه واریانس مربوط به داده های حاصل از اندازه گیری طول و عرض ۵۰ اسکلروت هر جدایه ۷۲

جدول ۴-۴ میانگین طول و عرض ۵۰ اسکلروت از هر جدایه ۷۳

جدول ۴-۵ میانگین میزان سرعت رشد جدایه های *M. phaseolina* بر حسب میلیمتر در ساعت در دمایهای ۳۰ و ۳۶ درجه سلسیوس ۸۱

جدول ۴-۶ واکنش جدایه های *M. phaseolina* روی محیط کشت حاوی کلرات ۸۷

جدول ۴-۷ خصوصیات مرفولوژیک ۵۲ جدایه ایرانی قارچ *Macrophomina phaseolina*، A: جدایه هایی که قبل از ۴۸ ساعت اسکلروت تشکیل دادند، B: جدایه هایی که بعد از ۶۰ ساعت اسکلروت تشکیل دادند، C: سرعت رشد در دمای ۳۰ درجه سلسیوس (میلی متر بر ساعت)، D: سرعت رشد در دمای ۳۷ درجه سلسیوس (میلی متر بر ساعت) ۹۱

جدول ۴-۸ جدول تجزیه واریانس مربوط به آزمون بیماری زایی ۵۲ جدایه ی ماکروفومینا روی لوبیا در شرایط گلخانه بر اساس شاخص وزن تر اندام های هوایی ۹۶

جدول۴-۹ جدول تجزیه واریانس مربوط به آزمون بیماریزایی ۵۲ جدایه ی ماکروفومینا روی لوبیا در شرایط گلخانه بر اساس شاخص وزن خشک اندام های هوایی ۹۷

جدول۴-۱۰ جدول تجزیه واریانس مربوط به آزمون بیماری زایی ۵۲ جدایه ی ماکروفومینا روی لوبیا در شرایط گلخانه بر اساس شاخص وزن خشک ریشه..... ۹۸

جدول ۴-۱۱ جدول تجزیه واریانس مربوط به آزمون بیماری زایی ۵۲ جدایه ی ماکروفومینا روی لوبیا در شرایط گلخانه بر اساس شاخص ارتفاع بوته..... ۱۰۰

جدول۴-۱۲ جدول تجزیه واریانس مربوط به آزمون بیماری زایی ۵۲ جدایه ی ماکروفومینا روی لوبیا در شرایط گلخانه بر اساس شاخص حجم ریشه..... ۱۰۱

جدول۴-۱۳ جدول تجزیه واریانس مربوط به آزمون بیماری زایی ۵۲ جدایه ی ماکروفومینا روی لوبیا در شرایط گلخانه بر اساس شاخص درصد زردی برگ..... ۱۰۲

جدول۴-۱۴ جدول تجزیه واریانس مربوط به آزمون بیماری زایی ۵۲ جدایه ی ماکروفومینا روی لوبیا در شرایط گلخانه بر اساس شاخص درصد ریزش برگ..... ۱۰۴

جدول۴-۱۵ جدول تجزیه واریانس مربوط به آزمون بیماری زایی ۵۲ جدایه ی ماکروفومینا روی لوبیا در شرایط گلخانه بر اساس شاخص درصد آسیب برگی..... ۱۰۵

جدول۴-۱۶ جدول تجزیه واریانس مربوط به آزمون بیماری زایی ۵۲ جدایه ی ماکروفومینا روی لوبیا در شرایط گلخانه بر اساس شاخص میزان پیشروی اسکلروت روی ساقه ۱۰۷

جدول ۴-۱۷ مقایسه میانگین تیمارها بر اساس شاخص های مورد مطالعه..... ۱۰۸

جدول ۴-۱۸ نتایج حاصل از آغازگرهای ISSR استفاده شده در بررسی تنوع ژنتیکی ۱۱۴

فهرست اشکال

شکل ۳-۱ جداسازی و شناسایی اولیه ی جدایه‌های بیمارگر ۴۴

شکل ۳-۲ خلال دندانهای خرد شده برای نگهداری قارچ..... ۴۴

شکل۳-۳ ترسیم اسکلروت ها با استفاده از لوله ی ترسیم میکروسکوپ چشمی.....۴۶

شکل ۳-۴ اندازه گیری سرعت رشد قارچ..... ۴۷

شکل ۳-۵ خیساندن برنج (۱)، تلقیح (۲و۳)، نگهداری در انکوباتور (۴و۵)، خشک کردن در آون(۶)، انتقال به گلدان(۷)، پودر کردن ایناکولوم (۸) ۴۹

شکل ۳-۶ آماده سازی گلخانه (۱)، کشت بذر (۲)، مراحل رشدی لوبیا در گلخانه (۳، ۴ و ۵)، اعمال تنش خشکی طی دوره ی رشد (۶)..... ۵۱

شکل ۳-۷ استخراج ریشهها و شستشوی آنها (۱و۲)، خشک کردن ریشه ها و اندام های هوایی (۳و۴)، دسته بندی جدایه ها بر اساس شاخص ۱-۴ حجم ریشه ها (۵)..... ۵۲

شکل ۳-۸ مراحل تهیه ی تودهی میسلیومی..... ۵۴

شکل ۴-۱ پراکنش جغرافیایی جدایه های جمع آوری شده ی *Macrophomina phaseolina* .۶۳

شکل۴-۲ علایم و نشانه های بیماری روی ساقه و طوقه ی ذرت (۱) و خیار (۲)، ماش (۳ و۴)، گوجه فرنگی (۵)، کدو (۶)، شلغم (۷).....۶۴

شکل۴-۳ شناسایی *Macrophomina phaseolina* با استفاده از آغازگرهای اختصاصی(MpKFI/MpKRI). الف: تکثیر یک باند ۳۵۰ جفت بازی در هر ۵۲ جدایه *M. phaseolina* (m1، m2، m3) ب: عدم تکثیر این باند اختصاصی در سایر جدایه های قارچی مورد آزمایش (T) *Trichoderma harzianum*، (C) *Cytospora schusleri* و (S) *Sclerotinia sclerotiorum*. PC : کنترل مثبت (جدایه ماکروفومینا تایید شده) NC : کنترل منفی (مواد PCR بدون DNA) ، M: نشانگر مولکولی 1Kb.....۶۶

شکل۴-۴ دسته بندی جدایه ها بر اساس سه صفت میسلیوم هوایی، رنگ محیط کشت و زمان تشکیل اسکلروت جدایه ها..... ۷۰

شکل ۴-۵ دندروگرام مربوط به داده های حاصل از اندازه گیری طول ۵۰ اسکلروت هر جدایه... ۷۴

شکل ۴-۶ دندروگرام مربوط به داده های حاصل از اندازه گیری عرض ۵۰ اسکلروت..... ۷۵

شکل ۴-۷ دندروگرام مربوط به دادههای حاصل از اندازه گیری طول و عرض ۵۰ اسکلروت هر جدایه.....۷۶

شکل ۴-۸ دندروگرام مربوط به داده های حاصل از اندازه گیری مجموع طول و عرض ۵۰ اسکلروت هر جدایه..... ۷۸

شکل ۴-۹ هیستوگرام مربوط شاخص های طول و عرض اسکلروت..... ۷۹

شکل ۴-۱۰ دندروگرام مربوط به داده های حاصل از اندازه گیری سرعت رشد در دمای ۳۰ درجه سلسیوس ۸۲

شکل ۴-۱۱ دندروگرام مربوط به داده های حاصل از اندازه گیری سرعت رشد در دمای ۳۷ درجه سلسیوس ۸۳

شکل ۴-۱۲ مقایسه سرعت رشد جدایه ها در دو دمای ۳۰ و ۳۷ درجه سلسیوس ۸۴

شکل ۴-۱۳ مقایسه سه نوع فنوتیپ رشدی جدایه ها روی محیط کشت حاوی کلرات.....۸۶

شکل ۴-۱۴ دندروگرام مربوط به همه خصوصیات مرفولوژیک ۹۴

شکل۴-۱۵ دندروگرام مربوط به آزمون بیماری زایی ۵۲ جدایه ی ماکروفومینا روی لوبیا در شرایط گلخانه بر اساس شاخص وزن تر اندام های هوایی.....۹۶

شکل۴-۱۶ دندروگرام مربوط به آزمون بیماریزایی ۵۲ جدایه ی ماکروفومینا روی لوبیا در شرایط گلخانه بر اساس شاخص وزن خشک اندام های هوایی ۹۷

شکل ۴-۱۷ دندروگرام مربوط به آزمون بیماریزایی ۵۲ جدایه ی ماکروفومینا روی لوبیا در شرایط گلخانه بر اساس شاخص وزن خشک ریشه..... ۹۹

شکل ۴-۱۸ دندروگرام مربوط به آزمون بیماری زایی ۵۲ جدایه ی ماکروفومینا روی لوبیا در شرایط گلخانه بر اساس شاخص ارتفاع بوته.....۱۰۰

شکل ۴-۱۹ دندروگرام مربوط به آزمون بیماریزایی ۵۲ جدایه ی ماکروفومینا روی لوبیا در شرایط گلخانه بر اساس شاخص حجم ریشه.....۱۰۱

شکل ۴-۲۰ دندروگرام مربوط به آزمون بیماری زایی ۵۲ جدایه ی ماکروفومینا روی لوبیا در شرایط گلخانه بر اساس شاخص درصد زردی برگ.....۱۰۳

شکل ۴-۲۱ دندروگرام مربوط به آزمون بیماری زایی ۵۲ جدایه ی ماکروفومینا روی لوبیا در شرایط گلخانه بر اساس شاخص درصد ریزش برگ.....۱۰۴

شکل ۴-۲۲ دندروگرام مربوط به آزمون بیماری زایی ۵۲ جدایه ی ماکروفومینا روی لوبیا در شرایط گلخانه بر اساس شاخص آسیب برگی.....۱۰۶

شکل۴-۲۳ دندروگرام مربوط به آزمون بیماری زایی ۵۲ جدایه ی ماکروفومینا روی لوبیا در شرایط گلخانه بر اساس شاخص میزان پیشروی اسکلروت روی ساقه.....۱۰۷

شکل۴-۲۴ دندروگرام مربوط به آزمون بیماری زایی ۵۲ جدایه ی ماکروفومینا روی لوبیا در شرایط گلخانه بر اساس شاخص های اصلی (وزن خشک اندام های هوایی، وزن خشک ریشه، خسارت برگی و اسکلروت).....۱۱۳

شکل ۴-۲۵ الگوی باندی نماینده حاصل از جدایه ی *Macrophomina phaseolina* با استفاده از آغازگر PCMS، NC: کنترل منفی، M: نشانگر مولکولی 1Kb.....۱۱۶

شکل ۴-۲۶ دندروگرام ترسیم شده بر اساس روش UPGMA و ضریب تشابه جاکارد برای ۵۲ جدایه *Macrophomina phaseolina* حاصل از الگوی باندی آغازگر PCMS.....۱۱۶

شکل ۴-۲۷ الگوی باندی نماینده حاصل از جدایه ی *Macrophomina phaseolina* با استفاده از آغازگر CCA، NC: کنترل منفی، M: نشانگر مولکولی 1Kb.....۱۱۷

شکل ۴-۲۸ دندروگرام ترسیم شده بر اساس روش UPGMA و ضریب تشابه جاکارد برای ۵۲ جدایه *Macrophomina phaseolina* حاصل از الگوی باندی CCA.....۱۱۸

شکل ۴-۲۹ الگوی باندی نماینده حاصل از جدایه ی *Macrophomina phaseolina* با استفاده از آغازگرISSR2، NC: کنترل منفی، M: نشانگر مولکولی 1Kb.....۱۱۹

شکل ۴-۳۰ دندروگرام ترسیم شده بر اساس روش UPGMA و ضریب تشابه جاکارد برای ۵۲ جدایه *Macrophomina phaseolina* حاصل از الگوی باندی ISSR2.....۱۲۰

شکل ۴-۳۱ الگوی باندی نماینده حاصل از جدایه ی *Macrophomina phaseolina* با استفاده از آغازگ ISSR5، NC: کنترل منفی، M: نشانگر مولکولی 1Kb.....۱۲۱

شکل۴-۳۲ دندروگرام ترسیم شده بر اساس روش UPGMA و ضریب تشابه جاکارد برای ۵۲ جدایه *Macrophomina phaseolina* حاصل از الگوی باندی ISSR5.....۱۲۲

شکل ۴-۳۳ الگوی باندی نماینده حاصل از جدایه ی *Macrophomina phaseolina* با استفاده از آغازگر ISSR10، NC: کنترل منفی، M: نشانگر مولکولی 1Kb.....۱۲۳

شکل ۴-۳۴ دندروگرام ترسیم شده بر اساس روش UPGMA و ضریب تشابه جاکارد برای ۵۲ جدایه *Macrophomina phaseolina* حاصل از الگوی باندی ISSR10.....۱۲۴

شکل ۴-۳۵ الگوی باندی نماینده حاصل از جدایه ی *Macrophomina phaseolina* با استفاده از آغازگر P4، NC: کنترل منفی، M: نشانگر مولکولی 1Kb.....۱۲۵

شکل ۴-۳۶ دندروگرام ترسیم شده بر اساس روش UPGMA و ضریب تشابه جاکارد برای ۵۲ جدایه *Macrophomina phaseolina* حاصل از الگوی باندی P4.....۱۲۶

شکل ۴-۳۷ دندروگرام ترسیم شده بر اساس روش UPGMA و ضریب تشابه جاکارد برای ۵۲ جدایه *Macrophomina phaseolina* حاصل از الگوی باندی مجموع آغازگرها.....۱۲۷

شکل ۴-۳۸ دندروگرام حاصل از ترکیب داده های حاصل از دو آغازگر (ISSR10 و PCMS) ۱۲۹