

بررسی اثر دما بر رشد و تولید اندام مقاوم چند قارچ مهم بیماری زای گیاهی

میرمعصوم عراقی^{۱*} - کامران رهنما^۲ - جواد مومنی^۳

تاریخ دریافت: ۸۹/۱/۲۹

تاریخ پذیرش: ۸۹/۹/۲

چکیده

دما یکی از مهمترین عوامل محیطی موثر در خصوصیات فیزیولوژیکی قارچ ها می باشد. با توجه به اینکه قارچ های *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goidanich و *Verticillium dahliae* Kleb. (اسکلروت و میکرواسکلروت) جدایه های قارچ های *Macrophomina phaseolina* هدف بررسی تأثیر دما بر رشد رویشی و تولید اندام مقاوم (اسکلروت و میکرواسکلروت) جدایه های قارچ های *Macrophomina phaseolina* و *Verticillium dahliae* در شرایط آزمایشگاهی روی محیط کشت PDA در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. در این آزمون از تیمارهای دمایی مختلف شامل ۱۰±۱، ۱۵±۱، ۲۰±۱، ۲۲±۱، ۲۵±۱، ۲۷±۱، ۳۰±۱، ۳۵±۱ و ۴۰±۱ درجه سانتی گراد استفاده گردید. نتایج نشان داد که اثر دماها روی جدایه های قارچ های مزبور در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد با آزمون چند دامنه ای دانکن معنی دار بود. نتایج نشان داد که بیشترین رشد رویشی و تولید میکرواسکلروت برای *M. phaseolina* در دماهای ۳۰ و ۳۵ درجه سانتی گراد حاصل شد. بهترین دمای رشدی و تولید اسکلروت برای جدایه های *S. sclerotiorum* نیز به ترتیب ۲۵ و ۲۰ درجه سانتی گراد محاسبه شد. در مورد جدایه های *V. dahliae* نتایج کمی متفاوت بود به طوری که بهینه دمای رشدی و تولید میکرواسکلروت برای دو جدا شده از زیتون و بادام ۲۲ و برای جدا شده های از پنبه ۲۵ و ۲۷ درجه سانتی گراد محاسبه گردید. با توجه به نتایج به دست آمده، چنین به نظر می رسد که توانایی رشد، تولید اندام مقاوم و بقا در طیف وسیعی از دماها، یکی از مهمترین عوامل در گسترش اکولوژیکی، بیماری زایی و نهایتاً دامنه وسیع میزبانی گونه های قارچی مورد بررسی در این تحقیق باشد.

واژه های کلیدی: دما، رشد، اندام مقاوم، اسکلروتینا، ماکروفومینا، ورتیسیلیوم

مقدمه

باعث گردیده تا امروزه این قارچ در زمره یکی از مهمترین قارچ های بیمارگر گیاهی قرار گیرد، این در حالی است که اثبات برهمکنش این قارچ با برخی نماتدهای بیماری زای گیاهی اهمیت بیماری های ناشی از ورتیسیلیوم را دو چندان کرده است (۷ و ۸).

Macrophomina phaseolina (Tassi) Goidanich یکی از مهمترین قارچ های بیماری زای خاکزی است که باعث ایجاد پوسیدگی ذغالی در بیش از ۵۰۰ گونه گیاهی همچون آفتابگردان، سویا، سیب زمینی، ذرت، توت فرنگی، کنجد، پنبه، خربزه، گلرنگ، هندوانه، زیتون، سورگوم، کاج سیاه، لوبیا چشم بلبل، بادنجان و بادام زمینی می شود (۴، ۶، ۹، ۲۵ و ۲۶). علیرغم دامنه میزبانی وسیع، *M. phaseolina* تنها گونه شناسایی شده این قارچ محسوب می شود و عامل بیماری از این حیث یک استثنا محسوب می گردد. با توجه به اینکه شناسایی گونه، زیرگونه یا نژادهای موجود در جمعیت یک عامل بیماری بر اساس خصوصیات مورفولوژیک، فیزیولوژیک و مولکولی صورت می گیرد، بنابراین آگاهی از خصوصیات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و مولکولی و تأثیر عوامل محیطی بر آنها

قارچ *Verticillium dahliae* Kleb. یکی از مهمترین عوامل پژمردگی انواع گیاهان زراعی مانند پنبه، گوجه فرنگی، کنجد، سیب زمینی، زینتی، درختان شمر مانند زیتون و غیرمثمر و به ویژه درختان هسته دار همچون بادام در اغلب مناطق دنیا محسوب می شود و سالانه خسارت قابل توجهی را به محصولات زراعی و باغی وارد می نماید (۷، ۸ و ۱۰). توان تولید توکسین های با وزن مولکولی کم و زیاد، تولید آنزیم های پکتولیتیک، کمپلکس پروتئین - لیپو پلی ساکارید موسوم به PLP به عنوان عوامل احتمالی دخیل در بیماری زایی و پژمردگی در کنار توان تولید اندام مقاوم میکرواسکلروت در خاک که بقاء طولانی مدت قارچ را در محیط خاک تضمین می کند

۱، ۲، ۳- به ترتیب دانش آموخته کارشناسی ارشد، دانشیار و دانش آموخته کارشناسی گروه گیاهپزشکی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
(* نویسنده مسئول: Email: Iraqi602@yahoo.com)

در گونه *M. phaseolina* ضروری است. با این حال، وجود تفاوت های زیاد و تنوع در ویژگی های ریخت شناسی و فیزیولوژیک جدایه های مختلف از میزبان های متفاوت همچون ویژگی های پرگنه، ابعاد میکرواسکلروت، تولید رنگدانه، بیماری زایی، قدرت اسپورزایی، ابعاد پیکنیدیوم و تغییرات جمعیتی در خاک، باعث شده تا شناسایی گونه/ گونه ها و یا زیرگونه های این عامل بیماری تاکنون موفقیت آمیز نباشد (۴). ولی در چند سال اخیر تنها بر اساس ریخت شناسی و نوع الگوی رشدی (شکل پرگنه) روی محیط کشت های حاوی کلرات، جدایه های گونه *M. phaseolina* به دو دسته جدایه های مقاوم و حساس به کلرات طبقه بندی شده اند (۹).

قارچ *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary یکی از انگل های گیاهی با دامنه وسیع میزبانی محسوب می شود، به طوری که می تواند بیش از ۴۰۰ گونه گیاهی متعلق به بیش از ۷۰ خانواده گیاهی را در مراحل مختلف آلوده کند (۱۲ و ۱۹). مهمترین محصولات زراعی مورد حمله این بیمارگر عبارت از کلزا، آفتابگردان، سویا، بادام زمینی، لوبیا، کاهو، سیب زمینی، گوجه فرنگی، یونجه، کلم و کرفس است (۱۹). این قارچ در ایران علاوه بر کلزا از روی برخی محصولات مهم نظیر آفتابگردان (آذربایجان، مازندران)، گوجه فرنگی و بادمجان (زنجان)، نخود و کاهو (خوزستان) نیز گزارش شده است (۱). میزان خسارت این بیماری در قریب ۷۰ هزار هکتار از مزارع زیرکشت کلزا در استان گلستان (به عنوان قطب تولید این محصول در کشور) در طی سال های زراعی ۱۳۸۵-۱۳۸۴ و ۱۳۸۶-۱۳۸۵ به ترتیب تا ۸۲ و ۷۸ درصد برآورد گردیده است که بیانگر شدت بیماری زایی و اهمیت بیماری می باشد (۲). دامنه میزبانی وسیع (۱۹)، توان تولید اندام مقاوم و بقاء طولانی مدت قارچ در خاک (۱۵ و ۱۷) و نیز تنوع ژنتیکی جدایه های مختلف عامل بیماری (۱۴) این قارچ را در زمره یکی از مهمترین بیمارگرهای گیاهی قرار داده است.

دما یکی از مهمترین عوامل محیطی موثر در خصوصیات فیزیولوژیکی قارچ ها می باشد (۱۱). تاکنون تاثیر دما در میزان رشد رویشی، توانایی اسپورزایی، توانایی بیماری زایی و تولید توکسین های بیماری زای گیاهی در برخی از عوامل بیماری زای گیاهی به اثبات رسیده است (۳، ۵، ۷، ۱۱، ۱۳، ۱۶، ۲۰، ۲۱، ۲۲، ۲۳ و ۲۷). در این بین توانایی رشد رویشی و تولید اندام مقاوم بیمارگرهای گیاهی همچون *Verticillium Macrophomina phaseolina* و *Sclerotinia sclerotiorum* در طیف وسیعی از دماها به اثبات رسیده است (۷، ۱۳، ۱۵ و ۲۱). بر اساس تحقیقات مختلف جدایه های مختلف قارچ *Sclerotinia sclerotiorum* در طیف وسیع دمایی ۵-۴۰ درجه سانتی گراد توانایی رشد و تولید اندام اسکلروت را دارند (۱۵). با این حال نتایج بررسی ها نشان می دهد که بهینه دمای رشد و تولید اسکلروت برای قارچ *S. sclerotiorum* ۲۰-۲۵ درجه سانتی گراد است (۱۵، ۱۶ و ۲۷). این در حالی است که

الگوی رشدی جدایه های قارچ *V. dahliae* تحت تاثیر نوع جدایه و توان بیماری زایی آن می تواند متفاوت باشد (۱۳)، به طوریکه بهینه دمای رشدی برای قارچ *V. dahliae* از ۲۰-۲۲ درجه سانتی گراد برای جدایه های غیربرگریز تا ۲۷-۲۸ درجه سانتی گراد برای جدایه های برگریز می تواند متفاوت باشد (۷، ۱۳ و ۲۳). از سوی دیگر دامنه دمایی ۱۰-۴۰ درجه سانتی گراد برای رشد رویشی و تولید میکرواسکلروت به ویژه در شرایط تنش رطوبتی و شوری از مهمترین دلایل گسترش اکولوژیکی و میزبانی قارچ ماکروفومینا می تواند باشد (۲۱). با توجه به اهمیت قارچ های یاد شده، آگاهی از توانایی رشد و الگوی رشدی این قارچ ها در دماهای مختلف ضروری به نظر می رسد. در این راستا، تحقیق حاضر با هدف بررسی تاثیر دما بر رشد رویشی و تولید اندام مقاوم (اسکلروت و میکرواسکلروت) جدایه های قارچ های *Verticillium Macrophomina phaseolina* و *Sclerotinia sclerotiorum* در شرایط آزمایشگاهی انجام شد.

مواد و روش ها

اندازه گیری میزان رشد پرگنه و تعداد اسکلروت جدایه های *Sclerotinia sclerotiorum*

برای انجام این آزمون از ۵ جدایه مربوط به گونه *Sclerotinia sclerotiorum* شامل ۴ جدایه Ss-I2، Ss-I5، Ss-I7، Ss-I10 جدا سازی شده از کلزا (۱۲) و یک جدایه استاندارد Ss20 جدا شده از کلزا (وکیلی، ۱۳۸۳- استان گلستان- علی آباد) (۱۵) استفاده شد. به منظور بررسی میزان رشد رویشی و توان تولید اندام مقاوم اسکلروت، جدایه های مزبور در داخل ظروف حاوی محیط کشت سیب زمینی- دکستروز- آگار (PDA)^۱ کشت داده شده و در ۴ تیمار دمایی ۱±۱۵، ۱±۲۰ و ۱±۲۵ و ۱±۳۰ درجه سانتی گراد در انکوباتور نگهداری شدند. قطر پرگنه در هر روز با خط کش اندازه گیری شده و نهایتاً میانگین رشد شعاعی روزانه گونه مزبور در دماهای مورد آزمایش محاسبه و جدایه ها از این نظر مورد مقایسه آماری قرار گرفتند. همچنین تعداد اسکلروت های جدایه ها در دماهای مختلف پس از گذشت ۶-۷ هفته شمارش شده و جدایه ها از این نظر مورد مقایسه آماری قرار گرفتند (۱۵). این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی و با ۴ تکرار انجام شد. برای تجزیه و تحلیل داده ها از نرم افزار آماری SAS و برای مقایسه میانگین بین داده ها نیز از آزمون چند دامنه ای دانکن استفاده گردید (۲۴). برای رسم نمودارها نیز از بسته نرم افزاری Excel 2003 استفاده شد.

1- Potato Dextrose Agar

SAS و برای مقایسه میانگین بین داده ها نیز از آزمون چند دامنه ای دانکن استفاده شد (۲۴). برای رسم نمودارها نیز از بسته نرم افزاری Excel 2003 استفاده گردید.

نتایج و بحث

تجزیه واریانس تأثیر دماها روی توان رشد رویشی و تولید اسکروت در قارچ اسکروتینیا نشان داد که جدایه ها از نظر میزان رشد رویشی و تولید اسکروت در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد معنی دار هستند (جدول ۱ و ۲). هر ۵ جدایه هم از نظر میزان رشد رویشی و هم به لحاظ توان تولید اسکروت در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد تفاوت معنی دار آماری را از خود نشان دادند (جدول ۳). جدایه Ss-I2 و Ss20 به ترتیب بیشترین سرعت رشد شعاعی و تولید اسکروت و جدایه Ss-I10 کمترین رشد و تعداد اسکروت را در دماهای مختلف از خود نشان دادند (جدول ۳). بهترین دما برای رشد میسلیمی ۲۵-۲۰ درجه سانتی گراد و برای تولید اسکروت ۲۰-۱۵ درجه سانتی گراد محاسبه شد. از نظر آماری نیز دمای ۲۰ درجه سانتی گراد از نظر تأثیر روی رشد و تولید اسکروت در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد تفاوت معنی داری را با دماهای دیگر داشتند (جدول ۴). به طوری که در این دما روزانه ۱۰/۵-۸/۷۵ میلی متر رشد شعاعی رویشی و ۳۸/۵-۲۱/۵ تعداد اسکروت به دست آمد (شکل ۱ و ۲). در ۳۰ درجه سانتی گراد سرعت رشد و توان تولید اسکروت به طور معنی داری کاهش یافت به طوری که کمترین میزان رشد (۶-۲ میلی متر در روز) و به ویژه تولید اسکروت (۱۴-۵) در این دما اتفاق افتاد (شکل ۱ و ۲). در تحقیقی اثر دماهای ۳۰-۵ درجه سانتی گراد روی رشد و تولید اسکروت ۱۹ جدایه *S. sclerotiorum* جمع آوری شده از مناطق مختلف استان گلستان بررسی شد. در این تحقیق جدایه ها در دماهای ۵ و ۱۰ درجه سانتی گراد کمترین رشد را داشتند. بیشترین رشد جدایه ها در دو دمای ۲۰ و ۲۵ درجه سانتی گراد حاصل شد به طوری که اغلب جدایه ها پس از گذشت ۴ روز تمام پتری را پر کردند (۱۰ میلی متر در روز). همچنین در دمای ۲۰ درجه سانتی گراد بیشترین میزان تولید اسکروت (۳۸/۵-۱۴/۷۵) دیده شد. با این وجود در دماهای پایین تر اگرچه تعداد اسکروت کمتری تولید شد ولی ابعاد اسکروت بزرگتر بودند (۱۵) که این موضوع با توجه به نقش اندازه اسکروت در نوع جوانه زنی (به صورت کارپوژنیک یا میسلوژنیک که نهایتاً در نوع آلودگی نقش دارد) می تواند حائز اهمیت باشد. نتایج بررسی تأثیر دما روی جدایه های به دست آمده از ایالات متحده نشان داد که بهترین دمای رشد و تولید اسکروت در دمای ۲۵-۲۰ درجه سانتی گراد است (۱۶). تانریکوت و وگهان (۲۷) نشان دادند که بهینه دمای رشدی برای جدایه های اسکروتینیا ۲۴-۲۰ درجه سانتی گراد است.

اندازه گیری میزان رشد پرگنه و تولید میکرواسکروت *Macrophomina phaseolina*

برای انجام این آزمون از ۷ جدایه مربوط به گونه *Macrophomina phaseolina* شامل ۲ جدا شده از سویا و ۵ جدا شده از آفتابگردان استفاده شد. به منظور بررسی میزان رشد رویشی و تولید میکرواسکروت، جدایه های مزبور در داخل ظروف حاوی محیط کشت سیب زمینی- دکستروز- آگار کشت داده شده و در ۷ تیمار دمایی ۱۰±۱، ۱۵±۱، ۲۰±۱، ۲۵±۱، ۳۰±۱، ۳۵±۱ و ۴۰±۱ درجه سانتی گراد و به مدت ۶ روز در انکوباتور نگهداری شدند. قطر پرگنه و قطر ناحیه میکرواسکروت تولید شده (به عنوان معیاری برای سنجش توانایی تولید میکرواسکروت) در هر تیمار دمایی، در هر روز با خط کش اندازه گیری شده و نهایتاً رشد پرگنه ها و تولید میکرواسکروت در هر تیمار دمایی برای همه جدایه ها به دست آمد. نهایتاً میانگین رشد شعاعی روزانه و تولید میکرواسکروت گونه مزبور در دماهای مورد آزمایش محاسبه و جدایه ها از این نظر مورد مقایسه آماری قرار گرفتند و بهینه دما برای رشد و تولید میکرواسکروت، تعیین شده و مورد بحث و بررسی قرار گرفت (۲۱). این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی و با ۴ تکرار انجام شد. برای تجزیه و تحلیل داده ها از نرم افزار آماری SAS و برای مقایسه میانگین بین داده ها نیز از آزمون چند دامنه ای دانکن استفاده شد (۲۴). برای رسم نمودارها نیز از بسته نرم افزاری Excel 2003 استفاده گردید.

اندازه گیری میزان رشد پرگنه و قطر ناحیه میکرواسکروت تولید شده جدایه های *Verticillium dahliae*

برای انجام این آزمون از ۵ جدایه مربوط به گونه *Verticillium dahliae* شامل جدایه Vd-Ir2 جدا شده از بادام (عراقی، ۱۳۸۱- آذربایجان شرقی) (۱۰)، جدایه استاندارد E4 جدا شده از زیتون (عطار، ۱۳۸۳- استان گلستان- علی آباد) (۱۳) و ۳ جدایه Vd-C- Ir2، Vd-C- Ir3 و Vd-C- Ir4 (جدا شده از پنبه) استفاده شد. به منظور بررسی میزان رشد رویشی و اندازه گیری قطر ناحیه میکرواسکروت جدایه های مزبور در داخل ظروف حاوی محیط کشت سیب زمینی- دکستروز- آگار کشت داده شده و در ۴ تیمار دمایی ۲۵±۱، ۲۷±۱ و ۳۰±۱ درجه سانتی گراد در انکوباتور نگهداری شدند. قطر پرگنه میسلیمی و میکرواسکروتی در هر روز با خط کش اندازه گیری شده و نهایتاً میانگین رشد شعاعی روزانه میسلیمی و ناحیه میکرواسکروت تولید شده گونه مزبور در دماهای مورد آزمایش محاسبه و جدایه ها از این نظر مورد مقایسه آماری قرار گرفتند (۷ و ۱۳). این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی و با ۴ تکرار انجام شد. برای تجزیه و تحلیل داده ها از نرم افزار آماری

جدول ۱- تجزیه واریانس تاثیر دماهای مختلف در رشد میسلیومی جدایه های قارچ *Sclerotinia sclerotiorum*

منبع تغییرات	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	ارزش F	Pr > F
جدایه	۴	۴۹/۸۰۹۱۲	۱۲/۴۵۲۲۸	۲۸/۲۵**	< ۰/۰۰۰۱
دما	۳	۴۸۵/۷۸۸۷۴۵	۱۶۱/۹۲۹۵۸۱۷	۳۶۷/۳۳**	< ۰/۰۰۰۱
جدایه × دما	۱۲	۲۸/۵۲۲۴۸	۲/۳۷۶۸۷۳۳	۵/۳۹**	< ۰/۰۰۰۱
خطا	۶۰	۲۶/۴۵	-/۴۴۰۸۳۳۳		
کل	۷۹	۵۹۰/۵۷۰۳۴۵			

ضریب تغییرات واریانس = ۸/۹۲۴۳۹۷ درصد، ** - معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد

جدول ۲- تجزیه واریانس تاثیر دماهای مختلف در تولید اسکروتو جدایه های قارچ *Sclerotinia sclerotiorum*

منبع تغییرات	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	ارزش F	Pr > F
جدایه	۴	۷۵۰/۶۲۵	۱۸۷/۶۵۶۲۵	۱۱۷/۲۹**	< ۰/۰۰۰۱
دما	۳	۴۷۳۳/۸۵	۱۵۷۷/۹۵	۹۸۶/۲۲**	< ۰/۰۰۰۱
جدایه × دما	۱۲	۳۲۲/۷۷۵	۲۶/۸۹۷۹۱۷	۱۶/۸۱**	< ۰/۰۰۰۱
خطا	۶۰	۹۶	۱/۶		
کل	۷۹	۵۹۰۳/۲۵			

ضریب تغییرات واریانس = ۶/۳۶۴۳۳۲ درصد، ** - معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد

جدول ۳- مقایسه میانگین رشد شعاعی روزانه و تعداد اسکروتو جدایه های قارچ *Sclerotinia sclerotiorum* در دماهای مختلف

جدایه	گروه بندی ۵ درصد رشد شعاعی روزانه	گروه بندی ۱ درصد رشد شعاعی روزانه	گروه بندی ۵ درصد تعداد اسکروتو	گروه بندی ۱ درصد تعداد اسکروتو
Ss-I2	۸/۴۵ ^{a**}	۸/۴۵ ^a	۲۲/۲۵ ^a	۲۲/۲۵ ^{ab}
Ss-I5	۷/۶۲۵ ^b	۷/۶۲۵ ^b	۲۱/۲۵ ^b	۲۱/۲۵ ^b
Ss-I7	۶/۹۱۲۵ ^c	۶/۹۱۲۵ ^c	۱۸/۳۱۲۵ ^c	۱۸/۳۱۲۵ ^c
Ss-I10	۶/۲۲۵ ^d	۶/۲۲۵ ^d	۱۴/۶۲۵ ^d	۱۴/۶۲۵ ^d
Ss ₂₀ [*]	۷/۹۸ ^b	۷/۹۸ ^{ab}	۲۲/۹۳۷۵ ^a	۲۲/۹۳۷۵ ^a

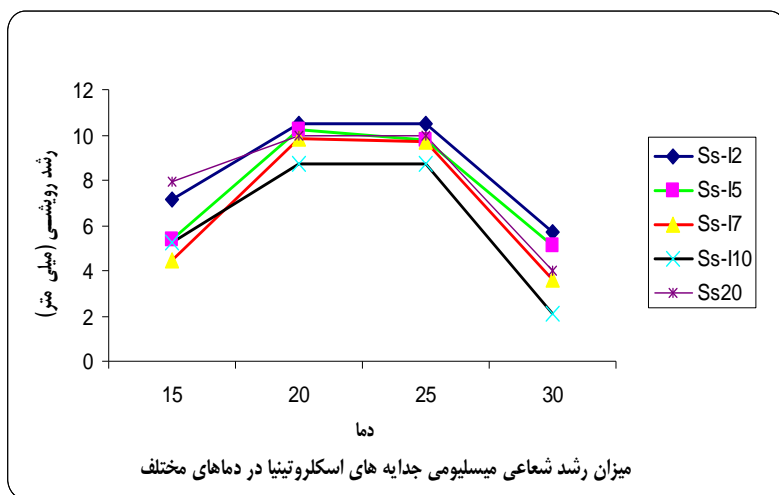
* - جدایه استاندارد جداسازی شده از علی آباد - استان گلستان (۱۵)

** - اعداد دارای حروف غیرمشابه دارای اختلاف معنی دار آماری در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد با آزمون چند دامنه ای دانکن می باشد

جدول ۴- گروه بندی آماری دماها از نظر تاثیر در رشد و تولید اسکروتو جدایه های *S. sclerotiorum*

دما (درجه سانتی گراد)	گروه بندی آماری در آزمون رشد رویشی	گروه بندی آماری در آزمون تولید اسکروتو
۱۵±۱	B	B
۲۰±۱	A	A
۲۵±۱	A	C
۳۰±۱	C	D

* - حروف غیرمشابه نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار آماری در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد با آزمون چند دامنه ای دانکن می باشد



شکل ۱- میزان رشد شعاعی میسلیمی جدایه های قارچ *S. sclerotiorum* در دماهای مختلف



شکل ۲- تعداد اسکروت جرایه های قارچ *S. sclerotiorum* در دماهای مختلف

بیشترین رشد رویشی و تولید میکرو اسکروت برای جدایه های ماکروفومینا، در دماهای ۳۰ و ۳۵ درجه سانتی گراد حاصل شد. به طوری که روزانه ۱۴-۱۲ میلی متر رشد شعاعی رویشی و ۹-۸ میلی متر تولید میکرو اسکروت دیده شد. از نظر آماری نیز دماهای ۳۰ و ۳۵ درجه سانتی گراد از نظر تأثیر روی رشد و تولید میکرو اسکروت در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد تفاوت معنی داری را با دماهای دیگر داشتند (جدول ۸). در تیمار ۲۵ درجه سانتی گراد نیز رشد شعاعی روزانه رویشی و تولید میکرو اسکروت به ترتیب ۹-۸ و ۸-۹ میلی متر به دست آمد. در دمای ۲۰ درجه سانتی گراد میزان رشد رویشی کاهش یافت و تولید میکرواسکروت پس از ۳ روز از کشت آغاز شد. در دماهای ۱۰ و ۱۵ درجه سانتی گراد رشد بسیار کم یا هیچ رشدی صورت نگرفت (شکل ۳ و ۴). در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد علیرغم رشد رویشی پس از ۶ روز هیچ میکرو اسکروتی تشکیل نشد (شکل

تجزیه واریانس تأثیر دماها روی توان رشد رویشی و تولید میکرو اسکروت در قارچ ماکروفومینا نشان داد که جدایه ها از نظر میزان رشد رویشی و تولید میکرو اسکروت در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد معنی دار هستند (جدول ۵ و ۶). هر ۷ جدایه هم از نظر میزان رشد رویشی و هم به لحاظ توان تولید میکرو اسکروت در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد تفاوت معنی دار آماری را از خود نشان دادند (جدول ۷). در بین جدایه ها، جدایه MP-Sy2 (جداشده از سویا) بیشترین و جدایه MP-Sy1 (جداشده از سویا) کمترین توان رشدی و تولید میکرو اسکروت را داشت (جدول ۷). البته وجود تفاوت های رشدی و به ویژه تفاوت در تولید میکرو اسکروت حتی در بین جدایه های به دست آمده از یک میزبان (آفتابگردان و سویا) به نظر می رسد، با وجود تفاوت های بسیار زیاد ریخت شناسی و فیزیولوژیکی عامل بیماری (۴ و ۹) تناقضی نداشته باشد. نتایج آزمون نشان داد که

۲۰ درجه سانتی گراد برای تولید میکرو اسکروت (بین ۲۰-۴۰ درجه سانتی گراد)، چنین به نظر می رسد که توانایی رشد، تولید اندام مقاوم و بقاء در طیف وسیعی از دماها، یکی از مهمترین عوامل در گسترش اکولوژیکی (پراکنش جغرافیایی)، بیماری زایی و نهایتاً دامنه وسیع میزبانی این گونه باشد.

در مورد جدایه های *V. dahliae* نتایج کمی متفاوت بود به طوری که بهینه دمای رشد میسلیمی و تولید میکرواسکروت برای دو جدا شده از زیتون و بادام ۲۲ و برای جدا شده های از پنبه ۲۵ و ۲۷ درجه سانتی گراد محاسبه گردید، با این حال تمامی جدایه ها در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد کاهش رشد و تولید میکرواسکروت را داشتند (شکل ۵ و ۶).

۴). نکته قابل توجه در این درجه حرارت، رشد بیشتر جدایه هایی بود که در دماهای پایین تر رشد کمتری را داشتند. دو جدایه MP-Sy1 و MP-S5 که در دمای ۲۰ درجه کمترین رشد را داشتند در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد به ترتیب با رشد شعاعی روزانه ۲/۲ و ۲/۰ میلی متر بیشترین رشد را در بین جدایه ها داشتند (شکل ۳). اخیراً ایزابلا و همکاران (۲۱) در تحقیقی توانایی رشد و تولید میکرو اسکروت را در بیش از ۳۰ جدایه جمع آوری شده از مناطق مختلف مجارستان مورد بررسی قرار دادند و نشان دادند که جدایه های مختلف عموماً بیشترین رشد و تولید میکرو اسکروت را در دمای ۳۵-۳۰ درجه سانتی گراد دارند. نتایج مشابهی بر روی جدایه های به دست آمده از هند دیده شد (۲۰). با در نظر گرفتن دامنه دمایی ۲۵ درجه سانتی گراد برای رشد قارچ (بین ۲۰-۴۵ درجه سانتی گراد) و دامنه دمایی

جدول ۵- تجزیه واریانس تاثیر دماهای مختلف در رشد میسلیمی جدایه های قارچ *Macrophomina phaseolina*

منبع تغییرات	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	ارزش F	Pr > F
جدایه	۶	۱۷/۷۶	۲/۹۶	۳۱۹/۹۴**	< ۰/۰۰۰۱
دما	۶	۵۹۵۳/۰۰۵۷۱۴	۹۹۲/۱۶۷۶۱۹	۱۰۷۲۴۲**	< ۰/۰۰۰۱
جدایه × دما	۳۶	۳۱/۵۵۴۲۸۶	۰/۸۷۶۵۰۸	۹۴/۷۴**	< ۰/۰۰۰۱
خطا	۱۴۷	۱/۳۶	۰/۰۰۹۲۵۲		
کل	۱۹۵	۶۰۰۳/۶۸			

ضریب تغییرات واریانس = ۱/۵۰۶۲۶۵ درصد، ** - معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد

جدول ۶- تجزیه واریانس تاثیر دماهای مختلف در تولید میکرواسکروت جدایه های قارچ *Macrophomina phaseolina*

منبع تغییرات	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	ارزش F	Pr > F
جدایه	۶	۹/۸۳۸۳۶۷	۲/۹۶	۲۱۹/۱۳**	< ۰/۰۰۰۱
دما	۶	۳۴۴۷/۶۲۱۲۲۴	۵۷۴/۶۰۳۵۳۷	۷۶۷۸۷/۹**	< ۰/۰۰۰۱
جدایه × دما	۳۶	۷/۴۵۳۰۶۱	۰/۲۰۷۰۲۹	۲۷/۶۷**	< ۰/۰۰۰۱
خطا	۱۴۷	۱/۱	۰/۰۰۷۴۸۳		
کل	۱۹۵	۳۴۶۶/۰۱۲۶۵۳			

ضریب تغییرات واریانس = ۱/۸۴۲۹۱۸ درصد، ** - معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد

جدول ۷- مقایسه میانگین رشد شعاعی روزانه و تولید میکرو اسکروت جدایه های قارچ *Macrophomina phaseolina* در دماهای مختلف

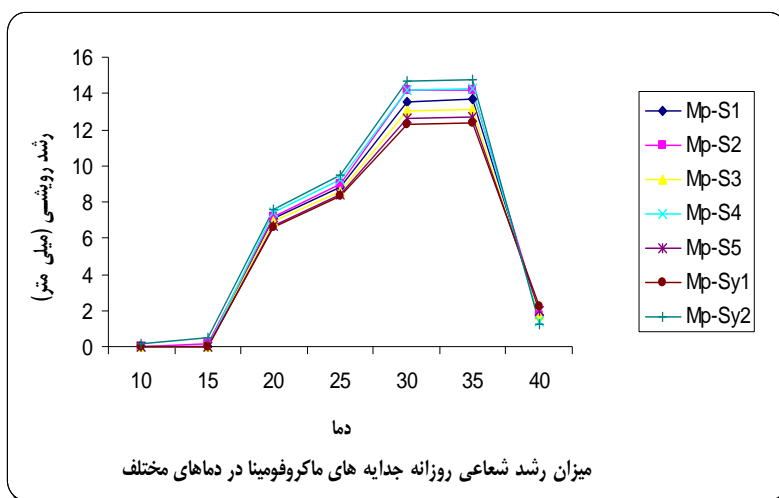
جدایه	گروه بندی ۵ درصد رشد شعاعی روزانه	گروه بندی ۱ درصد رشد شعاعی روزانه	گروه بندی ۵ درصد میکرواسکروت	گروه بندی ۱ درصد میکرواسکروت
MP-S1	۶/۴۰۰۰ ^{c*}	۶/۴۰۰۰ ^c	۴/۶۳۸۵۷ ^d	۴/۶۳۸۵۷ ^d
MP-S2	۶/۶۱۴۲۹ ^b	۶/۶۱۴۲۹ ^b	۴/۷۸۵۷۱ ^c	۴/۷۸۵۷۱ ^c
MP-S3	۶/۱۸۵۷۱ ^d	۶/۱۸۵۷۱ ^d	۴/۵۷۱۴۳ ^e	۴/۵۷۱۴۳ ^d
MP-S4	۶/۶۴۲۸۶ ^b	۶/۶۴۲۸۶ ^b	۴/۹۱۴۲۹ ^b	۴/۹۱۴۲۹ ^b
MP-S5	۶/۰۵۷۱۴ ^e	۶/۰۵۷۱۴ ^e	۴/۵۰۰۰ ^f	۴/۵۰۰۰ ^e
MP-Sy1	۵/۹۷۱۴۳ ^f	۵/۹۷۱۴۳ ^f	۴/۳۸۵۷۱ ^f	۴/۳۸۵۷۱ ^f
MP-Sy2	۶/۸۲۸۵۷ ^a	۶/۸۲۸۵۷ ^a	۵/۰۷۱۴۳ ^a	۵/۰۷۱۴۳ ^a

* - اعداد دارای حروف غیرمشابه دارای اختلاف معنی دار آماری در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد با آزمون چند دامنه ای دانکن می باشد

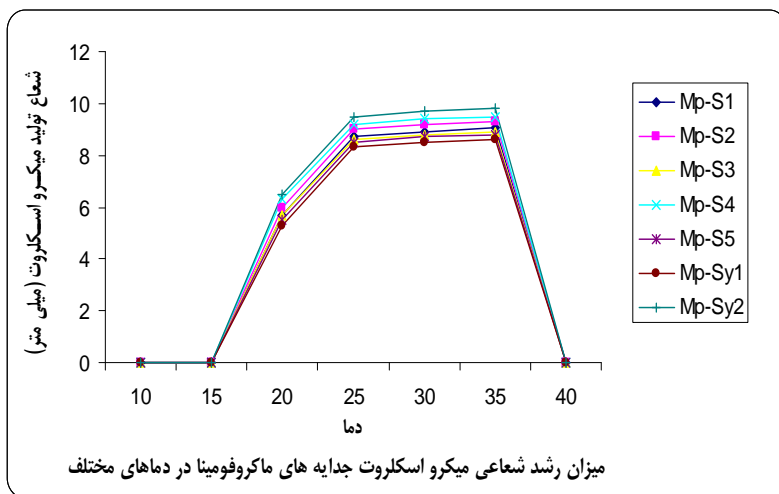
جدول ۸- گروه بندی آماری دماها از نظر تاثیر در رشد و تولید میکرواسکلروت جدایه های *M. phaseolina* دما (درجه سانتی گراد) *گروه بندی آماری در آزمون رشد رویشی *گروه بندی آماری در آزمون تولید میکرواسکلروت

E	F	۱۰±۱
E	F	۱۵±۱
D	D	۲۰±۱
C	C	۲۵±۱
B	B	۳۰±۱
A	A	۳۵±۱
E	E	۴۰±۱

*- حروف غیرمشابه نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار آماری در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد با آزمون چند دامنه ای دانکن می باشد



شکل ۳- میزان رشد شعاعی میسلیومی جدایه های قارچ *M. phaseolina* در دماهای مختلف



شکل ۴- میزان شعاع تولید میکرو اسکلروت جدایه های قارچ *M. phaseolina* در دماهای مختلف

(جدول ۹). تجزیه واریانس تأثیر دماها روی توان رشد رویشی و تولید میکرواسکلروت قارچ ورتیسیلیوم نشان داد که جدایه ها در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار هستند (جدول ۱۰ و ۱۱). هر ۵ جدایه از

به طوری که دمای ۳۰ درجه سانتی گراد از نظر تأثیر روی رشد میسلیومی و تولید میکرواسکلروت جدایه ها از نظر آماری تفاوت معنی داری را در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد نسبت به دماهای دیگر داشت

زیتون و ۶ جدا شده از پنبه از باغات و مزارع مختلف استان گلستان مورد بررسی قرار گرفت و نشان داده شد که الگوی رشدی تحت تأثیر دما و نوع جدایه متفاوت است. بهینه دمای رشدی برای جدایه های B₁، B₄، D₃، D₇، E₃، E₄ و F₄ جدا شده از زیتون و جدایه های G₁، G₂ و G₆ جدا شده از پنبه ۲۳ درجه سانتی گراد، برای جدایه D₅ جدا شده از زیتون و جدایه G₄ جدا شده از پنبه ۲۵ درجه سانتی گراد و برای جدایه های G₃ و G₅ جدا شده از پنبه ۲۷ درجه سانتی گراد محاسبه شد. مقایسه توان رشدی و بیماری زایی جدایه ها نشان داد که جدایه های مهاجم تر بیشترین رشد را در ۲۷ درجه سانتی گراد داشتند (۱۳). با توجه به نتایج به دست آمده، چنین به نظر می رسد که توانایی رشد و تولید میکرواسکلروت توسط جدایه های ورتیسلیوم در طیف وسیعی از دماها، یکی از مهمترین عوامل در گسترش اکولوژیکی و بیماری زایی این قارچ باشد.

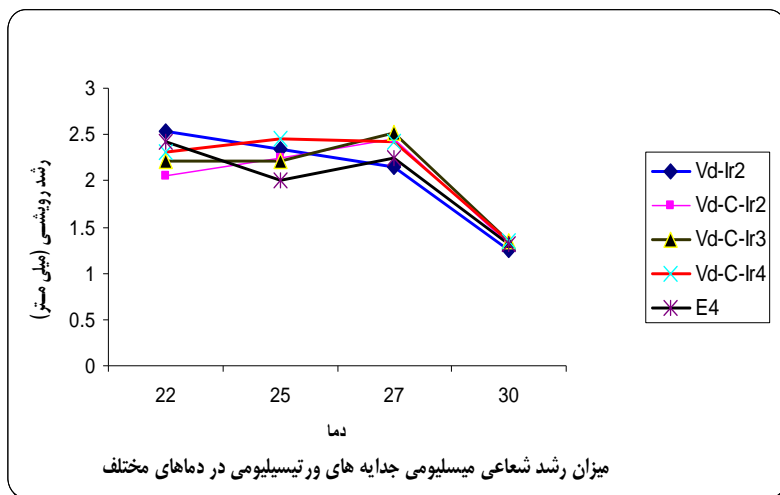
نظر میزان رشد رویشی در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد تفاوت معنی دار آماری را از خود نشان دادند (جدول ۱۲). جدایه Vd-C-Ir4 با ۲/۱۳ میلی متر بیشترین و جدایه E₄ با ۲/۰ میلی متر کمترین رشد رویشی روزانه را داشتند (جدول ۱۲). همچنین جدایه Vd-Ir2 (جداشده از بادام) کمترین و جدایه Vd-C-Ir4 (جداشده از پنبه) بیشترین تولید میکرواسکلروت را نشان دادند (جدول ۱۲).

نتایج به دست آمده در کار برخی محققین نیز دیده می شود. به طوری که تفاوت معنی داری در بهینه دمای رشدی جدایه های مختلف ورتیسلیوم دیده می شود. حمداله زاده (۵) نشان داد که جدایه های مختلف قارچ *V. dahliae* بهینه دمای رشدی متفاوتی دارند. نتایج بسیاری از تحقیقات نشان داده است که جدایه های با بیماری زایی بیشتر (مهاجم و برگریز) در دماهای بالاتر رشد بهتری را از خود نشان می دهند (۷ و ۲۳). در تحقیقی اثر دما روی ۸ جدا شده از

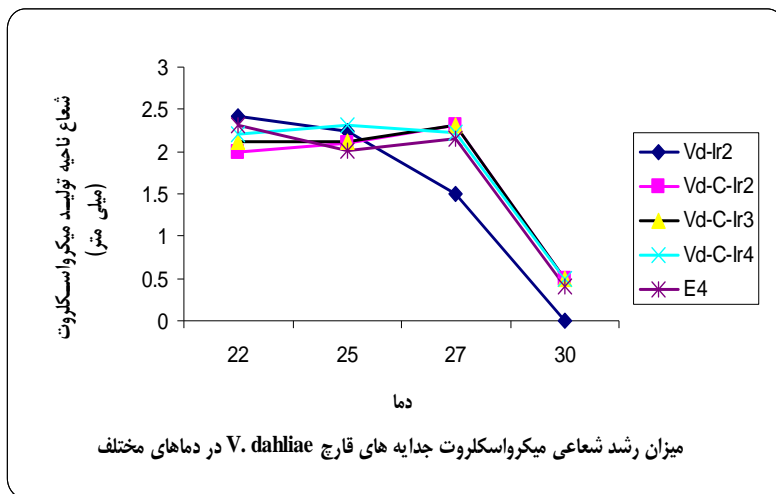
جدول ۹- گروه بندی آماری دماها از نظر تاثیر در رشد و تولید میکرواسکلروت جدایه های *Verticillium dahliae*

دما (درجه سانتی گراد)	گروه بندی آماری در آزمون رشد رویشی در ۱ و ۵ درصد	گروه بندی آماری در آزمون تولید میکرواسکلروت در ۱ درصد	گروه بندی آماری در آزمون تولید میکرواسکلروت در ۵ درصد
۲۲±۱	AB	A	A
۲۵±۱	B	AB	B
۲۷±۱	A	B	C
۳۰±۱	C	C	D

*- حروف غیرمشابه نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار آماری در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد با آزمون چند دامنه ای دانکن می باشد



شکل ۵- میزان رشد شعاعی میسلیومی جدایه های قارچ *V. dahliae* در دماهای مختلف



شکل ۶- میزان رشد شعاع تولید میکرواسکلروت جدایه های قارچ *V. dahliae* در دماهای مختلف

جدول ۱۰- تجزیه واریانس تاثیر دماهای مختلف در رشد میسلیمی جدایه های قارچ *Verticillium dahliae*

منبع تغییرات	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	ارزش F	Pr > F
جدایه	۴	۰/۱۶۸۶۸	۰/۰۴۲۱۷	۴/۳۳**	< ۰/۰۰۰۱
دما	۳	۱۴/۷۸۹۹۲	۴/۹۲۹۹۷۳۳۳	۵۰۵/۶۴**	< ۰/۰۰۰۱
جدایه × دما	۱۲	۱/۲۱۷۸۸	۰/۱۰۱۴۹	۱۰/۴۱**	< ۰/۰۰۰۱
خطا	۶۰	۰/۵۸۵	۰/۰۰۹۷۵		
کل	۷۹	۱۶/۷۶۱۴۸			

ضریب تغییرات واریانس = ۴/۷۹۷۹۶۳ درصد، ** - معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد

جدول ۱۱- تجزیه واریانس تاثیر دماهای مختلف در تولید میکرواسکلروت جدایه های قارچ *Verticillium dahliae*

منبع تغییرات	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	ارزش F	Pr > F
جدایه	۴	۰/۶۷۶۶۸	۰/۱۶۹۱۷	۲۶/۰۳**	< ۰/۰۰۰۱
دما	۳	۴۷/۴۳۳۷۶	۱۵/۸۱۱۲۵۳۳۳	۲۴۳۲/۵۰**	< ۰/۰۰۰۱
جدایه × دما	۱۲	۲/۶۲۶۸۴	۰/۲۱۸۹۰۳۳۳	۳۳/۶۸**	< ۰/۰۰۰۱
خطا	۶۰	۰/۳۹	۰/۰۰۶۵		
کل	۷۹	۵۱/۱۲۷۲۸			

ضریب تغییرات واریانس = ۴/۷۰۹۲۶۳ درصد، ** - معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد

جدول ۱۲- مقایسه میانگین رشد شعاعی روزانه جدایه های قارچ *Verticillium dahliae* در دماهای مختلف

جدایه	گروه بندی ۵ درصد رشد شعاعی روزانه	گروه بندی ۱ درصد رشد شعاعی روزانه	گروه بندی ۵ درصد	گروه بندی ۱ درصد
Vd- Ir2*	۲/۰۷ ^{ab} ***	۲/۰۷ ^{ab}	۱/۵۴ ^c	۱/۵۴ ^c
Vd-C- Ir2	۲/۰۱۷۵ ^b	۲/۰۱۷۵ ^b	۱/۷۳ ^b	۱/۷۳ ^b
Vd-C- Ir3	۲/۰۷۲۵ ^{ab}	۲/۰۷۲۵ ^{ab}	۱/۷۶ ^{ab}	۱/۷۶ ^{ab}
Vd-C- Ir4	۲/۱۳ ^a	۲/۱۳ ^a	۱/۸۱ ^a	۱/۸۱ ^a
E4**	۲/۰۰ ^b	۲/۰۰ ^b	۱/۷۳ ^b	۱/۷۳ ^b

* - جدایه جداسازی شده از بادام - استان آذربایجان شرقی (۱۰)، ** - جدایه جداسازی شده از زیتون - استان گلستان (۱۳)

*** - اعداد دارای حروف غیرمشابه دارای اختلاف معنی دار آماری در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد با آزمون چند دامنه ای دانکن می باشد

منابع

- ۱- ارشاد ج. ۱۳۷۴. قارچ های ایران. انتشارات سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی. ۸۷۴ صفحه.
- ۲- آقاجانی م.ع، صفایی ن.، و علیزاده ع. ۱۳۸۷. وضعیت بیماری پوسیدگی اسکروتینیایی ساقه کلزا در استان گلستان. خلاصه مقالات هجدهمین کنگره گیاهپزشکی ایران، دانشگاه بو علی سینای همدان. صفحه ۵۲.
- ۳- باغبانی مهماندار ف.، بابای اهری ا.، افشاری آزاد ه.، و ولیزاده م. ۱۳۸۳. روش های تولید اسکروت و آپوتسیوم از قارچ *Sclerotinia sclerotiorum* در شرایط آزمایشگاهی. مجله دانش کشاورزی. جلد ۱۴، شماره ۲، صفحات ۹۴-۸۵.
- ۴- پهلوانی م.ه.، و رضوی س.ا. ۱۳۸۶. تعیین نحوه واکنش سه ژنوتیپ گلرنگ در مقابل عامل بیماری پوسیدگی ذغالی. مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی. جلد ۱۴، شماره ۲، صفحات ۱۵۷-۱۶۴.
- ۵- حمداله زاده ا. ۱۳۷۲. ویژگی های نژادهای برگریز و غیر برگریز قارچ *Verticillium dahliae* عامل پژمردگی پنبه در شمال ایران. مجله بیماری های گیاهی. جلد ۲۹، صفحات ۱۲۵-۱۲۱.
- ۶- رعیت پناه س.، و علوی س.و. ۱۳۸۵. بررسی بیماری پوسیدگی ذغالی سویا در مازندران. مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی. جلد ۱۳، شماره ۳، صفحات ۱۰۷-۱۱۴.
- ۷- صانعی س.ج.، اخوت س.م.، و رضوی س.ا. ۱۳۸۳ الف. بازنگری مقالات *Verticillium Ness* - جلد اول: *Verticillium dahliae* و *Verticillium albo-atrum*. انتشارات پیک ریحان، گرگان. ۲۵۴ صفحه.
- ۸- صانعی س.ج.، طاهری ع.، و رضوی س.ا. ۱۳۸۳ ب. بازنگری مقالات *Verticillium Ness* - جلد دوم: پژمردگی درختان میوه و سایه دار. انتشارات پیک ریحان، گرگان. ۸۴ صفحه.
- ۹- طلیعی ف.، صانعی س.ج.، و رضوی س.ا. ۱۳۸۶. بررسی تنوع جدایه های مختلف قارچ *Macrophomina phaseolina* در واکنش به کلرات. مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی. جلد ۱۴، شماره ۳، صفحات ۱۴۰-۱۴۷.
- ۱۰- عراقی م.م. ۱۳۸۲. بررسی علل خشکیدگی و زوال درختان میوه هسته دار آذربایجان شرقی (عوامل قارچی). جلسه بحث در رشته بیماری شناسی گیاهی ارائه شده به گروه گیاهپزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز.
- ۱۱- عراقی م.م.، رهنما ک.، و مصطفی م. ۱۳۸۸. بررسی اثر دما روی رشد، اسپورزایی و تولید سراتوالمین دو گونه *Ophiostoma ulmi* و *O. novo-ulmi* مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی (ویژه نامه الف). جلد ۱۶، شماره ۳، صفحات ۲۱۷-۲۲۴.
- ۱۲- عراقی م.م.، مصطفی م.، و رهنما ک. ۱۳۸۹. بررسی کنترل بیولوژیکی عامل بیماری پوسیدگی اسکروتینیایی کلزا (*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary) توسط *Trichoderma harzianum* Rifai و *T. virens* (Miller, Giddens & Foster) در شرایط آزمایشگاهی. مجله علمی- پژوهشی علوم پایه- جلد بیولوژی. جلد ۲۰، زمستان ۸۹، در دست چاپ.
- ۱۳- عطار ل. ۱۳۸۵. مطالعه تأثیر جدایه های برگریز و غیربرگریز قارچ ورتیسلیوم عامل پژمردگی درختان زیتون روی ارقام مختلف در منطقه گرگان. پایان نامه کارشناسی ارشد در رشته بیماری شناسی گیاهی ارائه شده به دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان. ۸۰ صفحه.
- ۱۴- مبشراقدم آ.، بابای اهری ا.، سخندان ن. و ترابی ا. ۱۳۸۵. بررسی ژنتیکی جدایه های قارچ *Sclerotinia sclerotiorum* جمع آوری شده از میزبان ها و مناطق مختلف. هفدهمین کنگره گیاهپزشکی ایران، کرج.
- ۱۵- وکیلی ز. ۱۳۸۵. بررسی جدایه های قارچ *Sclerotinia sclerotiorum* و تأثیر بیماری زایی آنها روی ارقام کلزا در استان گلستان. پایان نامه کارشناسی ارشد ارائه شده به دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان. ۱۱۳ صفحه.
- 16- Abawi G.S., and Grogan R. 1975. Source of primary inoculum and effects of temperature and moisture on infection of beans by *Whetzelinia [Sclerotinia] sclerotiorum*. *Phytopathology* 65: 300-309.
- 17- Bardin S.D., and Huang H.C. 2001. Research on biology and control of *Sclerotinia* disease in Canada. *Canadian Journal of Plant Pathology* 23: 88-98.
- 18- Blanco-Lopez M.A., Jimenez-Diaz R.M., and Cabaleroy M. 1984. Symptomatology, incidence and distribution of *Verticillium* wilt of olive trees in Andulucia *Phytopathologia Mediteranea* 23: 1-8.
- 19- Boland, G. J., and Hall, R. 1994. Index of plant hosts of *Sclerotinia sclerotiorum*. *Canadian Journal of Plant Pathology* 16: 93-108.
- 20- Das N.D. 1988. Effect of different sources of carbon, nitrogen and temperature on the growth and sclerotial production of *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid., causing root rot/charcoal rot disease of castor. *Indian Journal of Plant Pathology* 6(2): 97-98.
- 21- Izabella C., Sandor K., and Richard G. 2007. Growth of *Macrophomina phaseolina* isolates depend on

- different temperature. *Protectia Mediului* 7: 31-34.
- 22- Price K., and Colhoum J. 1975. A study of variability of isolates of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary from different hosts. *Phytopathology* 83: 159-166.
- 23- Sanei S.J., Okhovat S.M., Hadjaroud Gh., Saremi H., and Javan-Nikkhah M. 2004. Olive Verticillium wilt or dieback of olive in Iran. *Agric. Appl. Biol. Sci.* 69(4): 433-442.
- 24- SAS Institute. 2001. SAS system. Inc, Cary, NC, USA.
- 25- Srivastava A.K., Singh T., Jana T.K., and Arora D.K. 2001. Induced resistance and control of charcoal rot in *Cicer arietinus* (Chickpea) by *Pseudomonas fluorescens*. *Canadian Journal of Botany.* 79: 787-795.
- 26- Su G., Suh S.O., Schneider R.W., and Russin J.S. 2001. Host specialization in the charcoal rot fungus, *Macrophomina phaseolina*. *Phytopathology* 91: 120-126.
- 27- Tanrikut S., and Vaughan E.K. 1951. Studies on the physiology of *Sclerotinia sclerotiorum*. *Phytopathology* 41: 1099-1103.