

تأثیر دما بر رشد میسلیومی و جوانه‌زنی میکرواسکلرت‌های قارچ عامل بیماری پوسیدگی ذغالی سویا

اکرم منتظریان^۱، محمدعلی آفاجانی^{۲*}، علی اسکندری^۳

^۱دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد، گروه بیماری‌شناسی گیاهی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان.
^۲استادیار بخش گیاهپزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی گلستان،
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، گرگان، ایران.
^۳استادیار گروه گیاهپزشکی دانشگاه زنجان.

چکیده

قارچ *Macrophomina phaseolina* یک بیمارگر خاک‌زی است که باعث ایجاد بیماری پوسیدگی ذغالی در سویا و بسیاری از گیاهان می‌شود. شدت بیماری در میزبان‌های مختلف با شرایط آب و هوای گرم و خشک در ارتباط است. به‌منظور تعیین دماهای اصلی (کمینه، بهینه و بیشینه) مورد نیاز برای رشد میسلیومی و جوانه‌زنی میکرواسکلرت‌ها، سه جدایه قارچ عامل بیماری از مزارع سویای سه منطقه‌ی علی‌آباد، گرگان و کلاله در استان گلستان در شرایط آزمایشگاهی مورد مطالعه قرار گرفتند. رشد میسلیومی و تعداد میکرواسکلرت‌های جوانه‌زده در دماهای مختلف به‌طور روزانه ثبت شد و برازش داده‌ها با سه مدل رشد بتا، دوتکه‌ای و دندان مانند مورد بررسی قرار گرفت. نتایج تجزیه‌های آماری (رگرسیون غیرخطی) نشان داد که مدل دوتکه‌ای، مناسب‌ترین مدل برای توصیف روابط دما با رشد میسلیومی و جوانه‌زنی میکرواسکلرت‌های این قارچ می‌باشد. دماهای کمینه، بهینه و بیشینه‌ی محاسبه‌شده به‌وسیله مدل دوتکه‌ای برای رشد میسلیومی به ترتیب ۸، ۳۴/۵ و ۴۴/۳ درجه سانتی‌گراد و برای جوانه‌زنی میکرواسکلرت به ترتیب ۸/۹، ۳۲/۳ و ۴۵/۵ درجه سانتی‌گراد بود.

واژه‌های کلیدی: سویا، پوسیدگی ذغالی، دماهای اصلی، رشد میسلیومی، جوانه‌زنی میکرواسکلرت‌ها.

*مسئول مکاتبه: maaghajanina@yahoo.com

مقدمه

قارچ *Macrophomina phaseolina* یک بیمارگر خاکزی است که باعث ایجاد بیماری پوسیدگی ذغالی در بسیاری از گیاهان می‌باشد. این قارچ تاکنون به‌عنوان بیمارگر ریشه و طوقه در بیش از ۵۰۰ گونه‌ی گیاهی گزارش شده و پراکنش وسیعی در دنیا دارد. پوسیدگی ذغالی، یک بیماری مهم گیاهی در شرایط گرم (دمای بیش از ۳۲ درجه سانتی‌گراد) و خشک و زمانی که تنش‌های محیطی (نظیر تنش رطوبتی) به گیاه وارد می‌شود، می‌باشد. این قارچ بیمارگر می‌تواند سویا، آفتابگردان، بادام زمینی و ذرت را آلوده سازد. در بادام زمینی، پوسیدگی گیاهچه، پوسیدگی ساقه، سوختگی برگ و پوسیدگی غلاف دانه اتفاق می‌افتد. پوسیدگی ذغالی در سویا به رسیدن پیش از موقع، کلروز و نواقصی در پرشدن غلاف دانه منجر می‌شود (Crop protection compendium, 2012).

شدت بیماری ناشی از *M. phaseolina* در میزبان‌های مختلف با شرایط گرم و خشک در ارتباط است. در هندوستان، بیماری در مناطقی با دمای ۳۵ تا ۴۰ درجه سانتی‌گراد دیده شده و آزمایش‌های محیط کنترل‌شده نشان داد که بیش‌ترین آلودگی در گیاهچه‌های مایه‌زنی شده در دمای ۳۰ تا ۴۰ درجه سانتی‌گراد اتفاق می‌افتد (Agarwal et al., 1973; Meyer et al., 1974).

آرورا و پاریک (Arora and Pareek, 2013) تاثیر دمای خاک بر شدت پوسیدگی ذغالی سورگوم را مورد مطالعه قرار دادند و نتیجه گرفتند که بیماری در دماهای ۲۵ تا ۴۰ درجه سانتی‌گراد توسعه می‌یابد، اما حداکثر توسعه‌ی بیماری در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد اتفاق می‌افتد. در شرایط مزرعه، شدت بیماری در کنگد، با افزایش دما و کاهش رطوبت نسبی بالا می‌رود. بیش‌ترین شدت بیماری در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۷۶ درصد ثبت گردید (Patel and Patel, 1990).

سویه‌های مختلف یک قارچ، از جنبه‌های زیادی با هم تفاوت دارند. یکی از ویژگی‌های فیزیولوژیکی یک قارچ، رشد میسلیمی آن در شرایط معین آزمایشگاهی است. تصویر کاملی از رشد میسلیمی قارچ در رابطه با دما را می‌توان از طریق ترسیم منحنی سرعت رشد در برابر دما به‌دست آورد. این منحنی معمولاً یک‌طرفه و نامتقارن است و با استفاده از پارامترهایی نظیر دماهای اصلی (کمینه، بهینه و بیشینه) رشد و شکل منحنی قابل توصیف می‌باشد (Keen and Smits, 1989).

برخی از محققان، منحنی رشد را از طریق برازش یک مدل خطی ساده، نمایی درجه دو یا سه مورد مطالعه قرار داده‌اند (Harikrishnan et al., 2004; Pfister et al., 2004). علیزاده و آقاجانی (Alizadeh and Aghajani, 2016) از مدل‌های نمو فنولوژیکی گیاهان در ارتباط با دمای هوا (نظیر بتا، دوتکه‌ای و دندان مانند) برای مطالعه و پیش‌بینی پارامترهای این روابط در گروه‌های آناستوموزی قارچ *Rhizoctonia solani* استفاده کردند و نشان دادند که مدل دوتکه‌ای، بهترین برازش را با داده‌ها داشت. در تحقیق اخیر مشخص شد که مدل‌های نمایی که توسط بسیاری از افراد مورد استفاده قرار گرفته

(Harikrishnan and Yang, 2004; Pfister, et al., 2004; Trapero-Casas and Kaiser, 1992) نه تنها برازش خوبی با داده‌ها ایجاد نکرد، بلکه نتوانست پارامترهایی بامعنی از لحاظ زیستی تولید نماید. مدل‌های نمایی در این زمینه از زیست‌شناسی، از کارایی مناسبی برخوردار نیستند. دوتیه (Duthie, 1997) نیز این مدل‌ها را رد کرده است، زیرا پاسخ حاصل به آسانی قابل ارزیابی نبود. در نتیجه، مدل‌های رگرسیونی غیرخطی و مفاهیم ضرایب آنها را می‌توان به‌طور موفقیت آمیزی برای تخمین دماهای اصلی رشد مورد نیاز برای رشد میسلیمی مورد استفاده قرار داد که این امر در مطالعات فیزیولوژیکی و اپیدمیولوژیکی از اهمیت به‌سزایی برخوردار است (Alizadeh and Aghajani, 2016).

رعیت‌پناه و همکاران (Rayatpanah et al., 2009)، بعد از مطالعه‌ی نرخ رشد ۲۷ جدایه قارچ *M. phaseolina* در استان مازندران در دماهای ۳۰، ۳۵ و ۴۰ درجه سانتی‌گراد روی محیط کشت سیب زمینی، دکستروز آگار (PDA)، نتیجه گرفتند که دمای بهینه‌ی رشد تمام جدایه‌ها ۳۵ درجه سانتی‌گراد است و هیچ‌کدام از آن‌ها در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد رشد نکردند.

ساندس و همکاران (Cso'ndes et al., 2012) از طریق مطالعه تاثیر دما بر رشد جدایه‌های *M. phaseolina* از آفتابگردان در مجارستان دریافتند که بهترین محدوده‌ی دمایی برای نمو جدایه‌ها، ۲۵ تا ۳۵ درجه سانتی‌گراد است، اگرچه جدایه‌ها در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد نیز قادر به رشد بودند. مانیسی و همکاران (Manici et al., 1995) ۴۶ جدایه *M. phaseolina* را از چهار اقلیم مختلف ایتالیا (شمال، شرق، جنوب و غرب) جمع‌آوری کردند و آن‌ها را در معرض آزمون‌های سرعت رشد در دماهای ۱۵، ۲۵، ۳۰، ۳۵ و ۴۰ درجه سانتی‌گراد قرار دادند. آن‌ها دریافتند که دمای بهینه برای رشد ۶۲ جدایه، ۳۰ درجه سانتی‌گراد و برای دو جدایه، ۳۵ درجه سانتی‌گراد بود. جدایه‌های اقلیم شمال (مناطق سردتر) در دماهای پایین‌تر، رشد بهتری نسبت به سایر جدایه‌ها داشتند، اما جدایه‌های اقلیم غرب (با آب و هوای مدیترانه‌ای)، سریع‌ترین رشد را در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد نشان دادند.

صانعی و رضوی (Sanei and Razavi, 2011) ۵۶ جدایه *M. phaseolina* را از ۲۰ نهالستان زیتون استان گلستان جدا کردند و رشد پرگنه‌ی آن‌ها را در دماهای مختلف (۱۵ تا ۴۰ درجه سانتی‌گراد) مورد مطالعه قرار دادند. آن‌ها نتیجه گرفتند که دمای بهینه‌ی رشد جدایه‌ها ۳۰ درجه سانتی‌گراد است. میانگین قطر پرگنه در دمای ۱۵ و ۴۰ درجه سانتی‌گراد بعد از ۵ روز رشد، به ترتیب برابر با ۲/۲ و ۱/۷ میلی‌متر بود. آن‌ها برای پیش‌بینی سرعت رشد جدایه‌ها از مدل نمایی درجه‌ی دو استفاده کردند. لطفی‌زاده و همکاران (Lotfalinezhad et al., 2013) روابط بین دما (۵ تا ۴۰ درجه سانتی‌گراد) و سرعت رشد میسلیمی و ملانیزه شدن میکرواسکلرتهای ۴۳ جدایه *M. phaseolina* از استان‌های مختلف شامل گلستان (اقلیم خشک با زمستان ملایم)، خوزستان (اقلیم مرطوب با زمستان گرم) و زنجان (اقلیم خشک با زمستان سرد) مورد مطالعه قرار دادند. آن‌ها دریافتند دمای بهینه برای رشد ۳۳

جدایه برابر یا ۲۵ درجه سانتی‌گراد و برای ۱۰ جدایه‌ی دیگر برابر یا ۳۳ درجه سانتی‌گراد بود. جدایه‌های شمال (مناطق سردتر) در دماهای پایین، رشد بهتری نسبت به سایر جدایه‌ها داشتند. جدایه‌های جنوب دارای سرعت رشد بهتری در دمای ۳۳ درجه سانتی‌گراد بودند. نتایج این تحقیق نشان داد که ملانیزه شدن کامل میکرواسکلرت‌ها در دمای بالاتر از ۳۰ درجه سانتی‌گراد اتفاق می‌افتد. آن‌ها از مدل‌های خطی و نمایی درجه دو برای پیش‌بینی روابط دما-سرعت رشد، به‌ترتیب برای جدایه‌های با دمای بهینه بالا و سایر جدایه‌ها استفاده کردند.

هدف از اجرای این تحقیق، مدل‌سازی و تعیین برازش سه مدل غیرخطی رگرسیونی برای توضیح پاسخ جدایه‌های *M. phaseolina* به دما، از نظر رشد میسلیمی و جوانه‌زنی میکرواسکلرت‌ها بوده است.

مواد و روش‌ها

جدایه‌های قارچ عامل بیماری: به‌منظور مقایسه‌ی تغییرات رشد جدایه‌های *M. phaseolina* عامل بیماری پوسیدگی ذغالی سویا، در دماهای مختلف، در فصل زراعی ۱۳۸۸، ساقه‌های سویا از مزارع آلوده به بیماری پوسیدگی ذغالی در سه منطقه علی‌آباد، گرگان و کلالة در استان گلستان جمع‌آوری و در آزمایشگاه بخش تحقیقات گیاهپزشکی مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان گلستان، قارچ عامل بیماری از آن‌ها جداسازی و خالص‌سازی گردید.

رشد میسلیمی در دماهای مختلف: قرص‌های میسلیمی پنج میلی‌متری از حاشیه‌ی کشت‌های دو روزه‌ی قارچ عامل بیماری روی محیط کشت سیب زمینی، دکستروز، آگار (PDA) به مرکز تشتک‌های پتری نه سانتی‌متری حاوی ۲۰ میلی‌لیتر PDA مرک (در چهار تکرار) منتقل گردید و تشتک‌ها در چهار تکرار و شرایط تاریکی، در دماهای ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵، ۳۰، ۳۵، ۴۰، ۴۵ درجه سانتی‌گراد نگاه‌داری شدند. پس از علامت‌گذاری حاشیه پرگنه‌ها بعد از ۱۲ ساعت به‌عنوان دوره‌ی سازگاری با محیط کشت، میزان افزایش طولی پرگنه‌ها در دو جهت عمود بر هم، بعد از دوره‌های ۲۴ ساعته تا رسیدن اولین پرگنه به کناره‌ی تشتک اندازه‌گیری شد (Sneh et al., 1991).

جوانه‌زنی میکرواسکلرت‌ها در دماهای مختلف: کشت‌های خالص سه جدایه قارچ عامل بیماری روی محیط کشت PDA تهیه شد و به‌مدت سه هفته و در شرایط تاریکی در دمای ۳۰ درجه نگاه‌داری گردید. بعد از رشد کامل پرگنه و تشکیل میکرواسکلرت‌ها، تشتک‌ها به مدت دو روز در معرض هوا قرار گرفتند تا این‌که محیط کشت خشک شد و میکرواسکلرت‌ها به آسانی از تشتک‌ها جدا شدند. میکرواسکلرت‌های جداشده تا زمان آزمون در یخچال (دمای ۴ درجه سانتی‌گراد) نگاه‌داری شدند. به‌منظور مطالعه‌ی جوانه‌زنی میکرواسکلرت‌ها در دماهای مختلف، ۲۰ میکرواسکلرت به‌طور پراکنده در داخل تشتک‌های پتری نه سانتی‌متری حاوی ۲۰ میلی‌لیتر محیط کشت آب آگار (WA) ۱/۵ درصد

قرار گرفتند. تشتک‌ها در چهار تکرار در دماهای ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵، ۳۰، ۳۵، ۴۰، ۴۵ درجه سانتی‌گراد و در شرایط تاریکی نگه‌داری شدند. تعداد میکرواسکلرت‌های جوانه‌زده در زیر استرئومیکروسکوپ (بزرگ‌نمایی ۷۵ برابر) و طی هر ۲۴ ساعت شمارش گردید. در صورت خروج لوله‌ی تندشی حداقل به طول قطر میکرواسکلرت، آن میکرواسکلرت به‌عنوان جوانه‌زده در نظر گرفته شد.

مدل‌سازی آماری روابط دما-سرعت رشد: به‌منظور مدل‌سازی و ارزیابی توابع ریاضی برای کمی کردن تاثیر دما بر سرعت رشد میسلومی و جوانه‌زنی میکرواسکلرت‌های جدایه‌های *M. phaseolina* سه مدل رگرسیونی غیرخطی با داده‌های سرعت رشد به‌عنوان متغیر وابسته و دما به‌عنوان متغیر مستقل، برازش داده شد (جدول ۲)، که T ، T_b ، T_o ، T_{o1} ، T_{o2} و T_c برای مدل‌های بتا، دندان مانند و دوتکه‌ای به‌ترتیب به‌معنی دمای متوسط، دمای کمینه، دمای بهینه، دمای بهینه اول، دمای بهینه دوم و دمای بیشینه بودند. کلیه‌ی تجزیه و تحلیل‌های آماری و ترسیم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار SigmaPlot 12.5.0.38 (محصول ۲۰۱۱ شرکت نرم‌افزاری Systat) صورت گرفت. مقایسه و انتخاب مناسب‌ترین مدل برای برازش داده‌ها بر اساس انحراف معیار خطا (SE)، ضریب تبیین تعدیل شده ($adjusted R^2$)، جذر میانگین مربعات خطا (RMSE) و ضرایب رگرسیون ساده خطی میان مقادیر واقعی و پیش‌بینی شده (a و b) که به‌ترتیب بیا نگر مقدار انحراف خط رگرسیون از مبدا مختصات و شیب خط رگرسیون از خط ۱:۱ می‌باشند، انجام گردید.

انتخاب مناسب‌ترین مدل با استفاده از معیار اطلاعات آیکایک (AIC) و معیار اطلاعات آیکایک اصلاح‌شده (AICc) صورت پذیرفت که به‌وسیله‌ی فرمول‌های زیر محاسبه شدند (Burnham and Anderson, 2002):

$$AIC = n \ln \left(\frac{RSS}{n} \right) + 2k \quad \text{معادله ۱}$$

$$AIC = n \ln \left(\frac{RSS}{n} \right) + 2k + \left(\frac{2k(k+1)}{n-k-1} \right) \quad \text{معادله ۲}$$

که RSS ، n و k به‌ترتیب معادل مجموع مربعات خطا، تعداد مشاهدات و تعداد پارامترهای مدل هستند. مناسب‌ترین مدل دارای کمترین AICc است. رتبه‌بندی مدل‌های با استفاده از شاخص اختلاف AIC (Δi) انجام شد که با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید:

$$\Delta i = AICc - \min AIC \quad \text{معادله ۳}$$

اگر Δi کم تر از ۱۰ باشد، اختلاف معنی داری میان مدل ها وجود ندارد و همه ی مدل ها به عنوان مدل های مناسب در نظر گرفته خواهد شد. در صورتی که Δi بیش از ۱۰ باشد، مدل دارای Δi بالا مناسب نخواهد بود و برازش خوبی با داده ها ایجاد نخواهد کرد (Burnham and Anderson, 2002).

جدول ۱- فرمول مدل های مورد استفاده برای تعیین روابط میان دما و سرعت رشد میسلیمی و جوانه زنی میکرواسکلرت های گونه های قارچ ماکروفومینا (سلطانی، ۱۳۸۸).

مدل	فرمول
بتا	$f(T) = \left[\left(\left(\frac{(T - T_b)}{(T_p - T_b)} \right) \times \left(\frac{(T_c - T)}{(T_c - T_p)} \right) \right)^a \left(\frac{(T_c - T_p)}{(T_p - T_b)} \right)^a \right]$
	$f(T) = \frac{(T_c - T)}{(T_c - T_{o2})} \quad \text{if} \quad T_{o2} < T \leq T_c$
دندان مانند	$f(T) = 1 \quad \text{if} \quad T_{o1} < T \leq T_{o2}$
	$f(T) = 0 \quad \text{if} \quad T \geq T_c$
	$f(T) = \frac{(T - T_b)}{(T_o - T_b)} \quad \text{if} \quad T_b \leq T \leq T_o$
دوتکه ای	$f(T) = \frac{(T - T_b)}{(T_o - T_b)} \quad \text{if} \quad T_b < T < T_o$
	$f(T) = 1 \quad \text{if} \quad T \geq T_o$

نتایج و بحث

رشد میسلیمی: نتایج نمودار توزیع داده ها نشان داد که هیچ کدام از جدایه ها نتوانستند در دمای ۷ درجه سانتی گراد رشد نمایند و رشد در دمای ۱۰ درجه آغاز شده است. در دمای ۳۳ درجه سانتی گراد، رشد پرگنه ی قارچ به حداکثر رسید و جدایه های علی آباد، گرگان و کلاله به ترتیب ۲۵، ۱۸ و ۲۳ میلی متر رشد در روز را نشان دادند. رشد میسلیمی در دمای حدود ۴۳ درجه سانتی گراد متوقف شد، بنابراین دمای ۳۰ تا ۳۵ درجه سانتی گراد، به عنوان دمای بهینه برای رشد تعیین شد. این نتایج با یافته های دینگرا و سینکلر (Dhingra and Sinclair, 1978) و پلاتی (Plati, 1981) مطابقت دارد که دمای بهینه ی رشد میسلیمی را ۳۰ تا ۳۷ درجه اعلام کرده بودند.

مدل‌های برآزش داده شده برای توصیف روابط میان دما و رشد میسلیمی جدایه‌های *M. phaseolina* در شکل ۱ نشان داده شده‌اند. پارامترهای محاسبه شده برای مدل‌های مختلف در جدول ۳ ارائه شده است. هیچ‌کدام از مدل‌ها نتوانستند عرض از مبدأ معنی‌دار آماری ایجاد نمایند، اما همه‌ی آن‌ها شیب معنی‌داری ایجاد کردند (جدول ۳).

نتایج نشان داد که مدل دوتکه‌ای، بهترین برآزش را برای توضیح روابط دما-رشد میسلیمی در مورد جدایه‌های گرگان و کلالة ایجاد نمود، براساس SE و RMSE پایین و R^2 بالا؛ اما در مورد جدایه علی‌آباد، مدل دندان مانند مناسب‌ترین مدل بود (جدول ۳). انتخاب مدل براساس AICc و Δi ، مدل دوتکه‌ای را به‌عنوان مناسب‌ترین مدل به‌دنبال داشت (جدول ۴).

به‌علاوه، مقدار a (شیب خط رگرسیون خطی بین مقادیر واقعی و پیش‌بینی شده)، نتایج به‌دست آمده در مرحله‌ی قبل را تایید نمود که در مورد مدل‌های دوتکه‌ای و دندان مانند بیش از ۰/۹۰ بود، بنابراین این دو مدل دارای قابلیت پیش‌بینی بالاتری نسبت به مدل بتا بودند (جدول ۳). معیار دیگری که بر انتخاب مدل مناسب تاثیر گذاشت، پارامترهای محاسبه‌شده توسط مدل از لحاظ معنی‌دار بودن آماری و منطقی بود. بر این اساس، مدل دوتکه‌ای به‌عنوان مدل مناسب برای پیش‌بینی روابط دما-رشد میسلیمی در جدایه‌های *M. phaseolina* انتخاب گردید (جدول ۵).

مقادیر محاسبه شده دماهای اصلی رشد برای سرعت رشد میسلیمی سه جدایه *M. phaseolina* در جدول ۵ ارائه شده است. مقدار دماهای کمینه و بیشینه برای جدایه‌های علی‌آباد، گرگان و کلالة به‌وسیله مدل دوتکه‌ای (مدل برتر)، به‌ترتیب ۷/۷ و ۴۴/۳ و ۷/۸ و ۴۳/۹ و ۸/۶ و ۴۴/۷ درجه سانتی‌گراد بود. مقدار دمای بهینه برای جدایه‌های علی‌آباد، گرگان و کلالة نیز به‌ترتیب برابر با ۳۵، ۳۳/۵ و ۳۵ درجه سانتی‌گراد محاسبه گردید (جدول ۵).

دمای بهینه محاسبه‌شده با نتایج سایر محققان مطابق دارد (Cso'ndes *et al.*, 2012; Lotfalinezhad *et al.*, 2013; Manici *et al.*, 1995; Rayatpanah *et al.*, 2009) و در همان حدود ۳۵ درجه سانتی‌گراد بوده است. دمای بیشینه رشد جدایه‌ها بیش از ۴۰ درجه بوده که از این نظر با نتایج رعیت‌پناه و همکاران (Rayatpanah *et al.*, 2009) مبنی بر عدم رشد قارچ در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد، مغایرت دارد. رشد و بیماری‌زایی قارچ در دمای ۴۰ درجه در برخی منابع مورد تایید قرار گرفته است (Agarwal *et al.*, 1973; Arora and Pareek, 2013; Meyer *et al.*, 1974).

جوانه‌زنی میکرواسکلرت‌ها: نتایج نمودار توزیع داده‌ها نشان داد که میکرواسکلرت‌های هیچ‌کدام از جدایه‌ها نتوانستند در دمای ۷ درجه سانتی‌گراد جوانه بزنند، اما جوانه‌زنی میکرواسکلرت‌های جدایه علی‌آباد در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد آغاز گردید. جوانه‌زنی میکرواسکلرت‌های جدایه‌های گرگان و کلالة نیز به‌ترتیب در دمای ۱۵ و ۲۰ درجه سانتی‌گراد آغاز شد. بالاترین درصد جوانه‌زنی

میکرواسکلرت‌ها در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد مشاهده شد (۹۸، ۹۰ و ۹۰ درصد به‌ترتیب برای جدایه‌های علی‌آباد، گرگان و کلاله). جوانه‌زنی میکرواسکلرت‌ها در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد متوقف شد، بنابراین دمای ۳۰ تا ۳۵ درجه سانتی‌گراد به‌عنوان دمای بهینه برای جوانه‌زنی میکرواسکلرت‌ها تعیین شد. این نتایج با یافته‌های ویانا و سوزا (Viana and Souza, 2002) مطابقت دارد که بیان کرده بودند بالاترین درصد جوانه‌زنی میکرواسکلرت‌ها در دمای ۳۰ تا ۳۳ درجه سانتی‌گراد اتفاق می‌افتد.

مدل‌های برازش‌داده شده برای توصیف روابط میان دما و جوانه‌زنی میکرواسکلرت‌های جدایه‌های *M. phaseolina* در شکل ۱ نشان داده شده‌اند. پارامترهای محاسبه‌شده برای مدل‌های مختلف در جدول ۳ ارائه شده است. هیچ‌کدام از مدل‌ها نتوانستند عرض از مبدأ معنی‌دار آماری ایجاد نمایند، اما همه‌ی آن‌ها شیب معنی‌داری ایجاد کردند (جدول ۳).

جدول ۳- آماره‌های مدل‌های مختلف مورد استفاده برای توصیف روابط میان دما با رشد میسلیمی و جوانه‌زنی

میکرواسکلرت‌ها در جدایه‌های قارچ *Macrophomina phaseolina*

مدل	آماره ^۱	رشد میسلیمی			جوانه‌زنی میکرواسکلرت‌ها		
		علی‌آباد	گرگان	کلاله	علی‌آباد	گرگان	کلاله
بتا	SE	۰/۱۵	۰/۲۰	۰/۱۴	۰/۰۸	۰/۰۵	۰/۱۲
	RMSE	۰/۱۲	۰/۱۵	۰/۱۱	۰/۰۶	۰/۰۴	۰/۰۹
	R ²	۰/۷۶	۰/۷۱	۰/۸۱	۰/۹۵	۰/۹۸	۰/۹۰
	a	۰/۸۵ **	۰/۸۰ **	۰/۸۹ **	۰/۹۷ **	۰/۹۹ **	۰/۹۲ **
	b	۰/۰۶ ns	۰/۱۰ ns	۰/۰۴ ns	۰/۰۲ ns	۰/۰۱ ns	۰/۰۵ ns
دندان مانند	SE	۰/۰۹	۰/۱۸	۰/۱۲	۰/۲۰	۰/۲۲	۰/۱۹
	RMSE	۰/۰۶	۰/۱۲	۰/۰۸	۰/۱۳	۰/۱۴	۰/۱۳
	R ²	۰/۹۲	۰/۸۰	۰/۸۹	۰/۸۱	۰/۷۸	۰/۸۰
	a	۰/۹۶ **	۰/۹۰ **	۰/۹۴ **	۰/۹۰ **	۰/۹۰ **	۰/۹۰ **
	b	۰/۰۱ ns	۰/۰۴ ns	۰/۰۲ ns	۰/۰۵ ns	۰/۰۵ ns	۰/۰۴ ns
دوتکه‌ای	SE	۰/۱۰	۰/۱۶	۰/۱۱	۰/۲۳	۰/۲۰	۰/۱۷
	RMSE	۰/۰۷	۰/۱۲	۰/۰۸	۰/۱۷	۰/۱۵	۰/۱۳
	R ²	۰/۹۲	۰/۸۴	۰/۹۰	۰/۷۵	۰/۸۲	۰/۸۴
	a	۰/۹۳ **	۰/۹۰ **	۰/۹۳ **	۰/۸۵ **	۰/۸۹ **	۰/۹۰ **
	b	۰/۰۲ ns	۰/۰۴ ns	۰/۰۲ ns	۰/۰۷ ns	۰/۰۵ ns	۰/۰۴ ns

۱- انحراف معیار (SE)، ریشه میانگین مربعات خطا (RMSE)، ضریب تبیین تعدیل‌شده (R²)، شیب (a) و عرض از مبدأ (b) مدل رگرسیون خطی میان داده‌های پیش‌بینی‌شده و واقعی. ۲- غیرمعنی‌دار (ns)، معنی‌دار در سطح اطمینان ۹۵ درصد (*) و ۹۹ درصد (**).

براساس SE و RMSE پایین و R^2 بالا، نتایج نشان داد که مدل بتا، بهترین برازش را برای توضیح روابط دما- جوانه‌زنی میکرواسکلرت‌ها در مورد هر سه جدایه ایجاد نمود (جدول ۳). انتخاب مدل براساس AICc و Δi ، مدل بتا را به‌عنوان مناسب‌ترین مدل برای جدایه‌های علی‌آباد و گرگان و مدل دوتکه‌ای را برای جدایه‌ی کلالة به‌دنبال داشت (جدول ۴).

جدول ۴- معیار اطلاعات آیکایک اصلاح شده (AICc) و اختلاف آیکایک (Δi) مدل‌های مختلف مورد استفاده برای توصیف روابط میان دما با رشد میسلیمی و جوانه‌زنی میکرواسکلرت‌ها در جدایه‌های قارچ *Macrophomina phaseolina*

مدل	آماره	رشد میسلیمی			جوانه‌زنی میکرواسکلرت‌ها		
		علی‌آباد	گرگان	کلالة	علی‌آباد	گرگان	کلالة
بتا	AICc	-۲۹/۵۱	-۲۵/۷۶	-۲۳/۰۹	-۳۹/۳۰	-۴۸/۴۶	-۲۶/۹۲
	Δi	۷/۶۳	۲/۲۲	۱۱/۹۶	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰
دندان مانند	AICc	-۳۲/۱۴	-۲۰/۷۸	-۱۶/۱۸	-۱۸/۹۸	-۱۷/۸۴	-۷/۸۰
	Δi	۵/۰۰	۷/۲۰	۱۸/۸۶	۲۰/۳۲	۳۰/۶۲	۱۹/۲۰
دوتکه‌ای	AICc	-۳۷/۱۵	-۲۷/۹۸	-۳۵/۰۴	-۲۲/۵۸	۲۴/۹۷	-۲۷/۰۰
	Δi	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۱۶/۷۲	۲۳/۴۹	۰/۰۰

به‌علاوه، مقدار a (شیب خط رگرسیون خطی بین مقادیر واقعی و پیش‌بینی شده)، نتایج به‌دست آمده در مرحله‌ی قبل را تایید نمود که در مورد مدل بتا بیش از ۰/۹۲ بود؛ لذا این مدل دارای قابلیت پیش‌بینی بالایی نسبت به دو مدل دیگر بود (جدول ۳). بر اساس پارامترهای محاسبه‌شده، مدل دوتکه‌ای به‌عنوان مدل مناسب برای پیش‌بینی روابط دما- رشد میسلیمی در جدایه‌های *M. phaseolina* انتخاب گردید (جدول ۵).

مقادیر محاسبه شده دماهای اصلی رشد برای جوانه‌زنی میکرواسکلرت‌های سه جدایه *M. phaseolina* در جدول ۵ ارائه شده است. مقدار دماهای کمینه و بیشینه برای جدایه‌های علی‌آباد، گرگان و کلالة به‌وسیله‌ی مدل دوتکه‌ای (مدل برتر)، به‌ترتیب ۸/۱ و ۴۷، ۹/۲ و ۴۵/۲، ۹/۴ و ۴۴/۴ درجه سانتی‌گراد بود. مقدار دمای بهینه برای جدایه‌های علی‌آباد، گرگان و کلالة نیز به‌ترتیب برابر با ۲۹/۵، ۳۳/۶ و ۳۳/۷ درجه سانتی‌گراد محاسبه گردید (جدول ۵).

نتیجه‌گیری

مطالعه‌ی روابط دما-رشد میسلیمی قارچ بیماری‌زای گیاهی *M. phaseolina* با استفاده از مدل‌های به‌کار رفته در مطالعات فنولوژیکی گیاهان انجام شد. همانند یافته‌های علیزاده و آقاجانی

(Alizadeh and Aghajani, 2016)، در این مطالعه نیز مدل دوتکه‌ای به‌عنوان مدل برتر انتخاب شد. این مدل، عملکرد قابل قبولی در مدل‌سازی روابط میان دما و مراحل فنولوژیکی در گیاهان نشان داده است. به‌عنوان مثال، در مطالعات انجام‌شده بر روی گیاه خشخاش (Kamkar et al., 2012)، واریته‌های ارزن (Kamkar et al., 2008) و سه گیاه دارویی از خانواده‌ی کدویان (Ghaderifar et al., 2009)، مدل دوتکه‌ای بالاترین برازش را با داده‌های آزمایش نشان داده است. صبوری و همکاران (Sabouri et al., 2012) نیز کارایی بالای این مدل در تعیین واکنش ژنوتیپ‌های مختلف برنج به دما را اثبات نموده‌اند.

جدول ۵- پارامترهای محاسبه‌شده به‌وسیله‌ی مدل‌های مختلف مورد استفاده برای توصیف روابط میان = دما با رشد میسلیمی و جوانه‌زنی میکرواسکلرت‌ها در جدایه‌های قارچ *Macrophomina phaseolina*

مدل	پارامتر ^۱	رشد میسلیمی			جوانه‌زنی میکرواسکلرت‌ها		
		علی‌آباد	گرگان	کلاله	علی‌آباد	گرگان	کلاله
بتا	T _b	۶/۵ ns	۱۲/۶ ns	۹/۱ ns	۱۴/۷ **	۱۹/۰ **	۱۸/۲ **
	T _p	۳۳/۰ **	۳۰/۱ **	۳۳/۵ **	۲۸/۲ **	۲۹/۶ **	۳۰/۱ **
	T _c	۴۴/۷ **	۴۴/۳ **	۴۴/۷ **	۴۵/۳ **	۴۵/۰ **	۴۴/۵ **
دندان مانند	T _b	۸/۲ **	۷/۸ **	۸/۸ ns	۸/۱ **	۹/۲ ns	۹/۴ ns
	T _{o1}	۴۰/۰ **	۳۳/۰ **	۳۹/۵ ns	۲۶/۱ **	۳۰/۴ ns	۳۰/۷ ns
	T _{o2}	۲۸/۵ **	۳۳/۷ **	۳۰/۹ ns	۳۶/۴ ns	۳۵/۹ ns	۳۵/۰ ns
	T _c	۴۵/۰ **	۴۳/۹ **	۴۵/۰ ns	۴۵/۰ **	۴۵/۰ ns	۴۴/۴ ns
دوتکه‌ای	T _b	۷/۷ **	۷/۸ **	۸/۶ **	۸/۱ **	۹/۲ **	۹/۴ **
	T _o	۳۵/۰ **	۳۳/۵ **	۳۵/۰ **	۲۹/۵ **	۳۳/۶ **	۳۳/۷ **
	T _c	۴۴/۳ **	۴۳/۹ **	۴۴/۷ **	۴۷/۰ **	۴۵/۲ **	۴۴/۴ **

۱- دمای کمینه (T_b)، دمای بهینه (T_p و T_o)، دمای بیشینه (T_c)، دمای بهینه پایین (T_{o1}) و دمای بهینه بالا (T_{o2}).

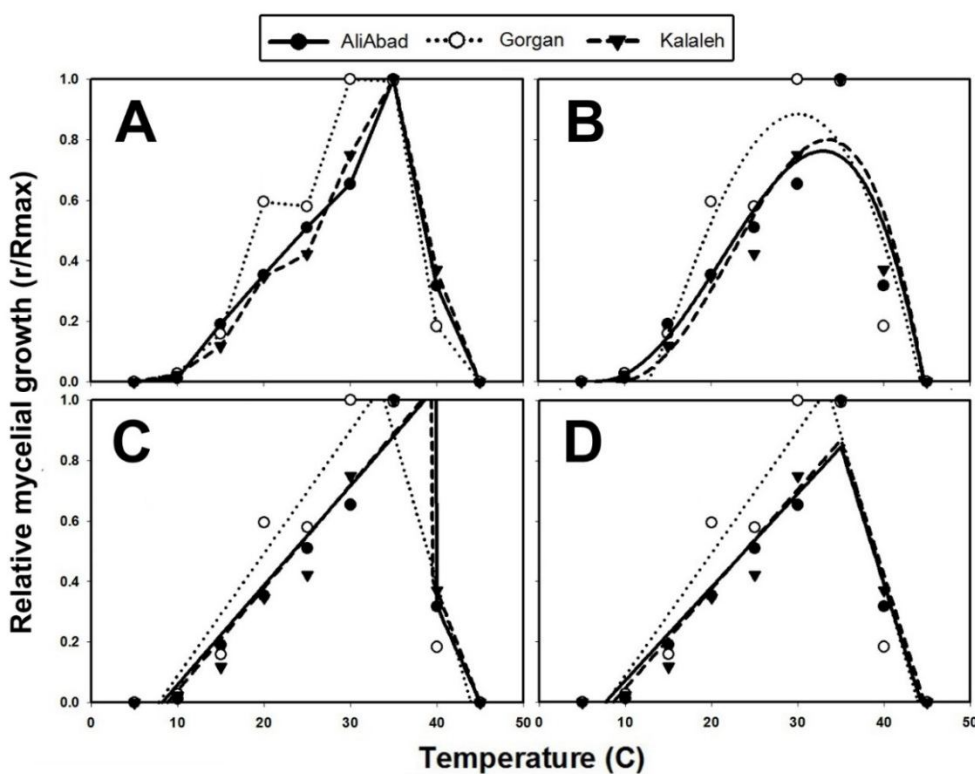
۲- غیرمعنی‌دار (ns)، معنی‌دار در سطح اطمینان ۹۵ درصد (*) و ۹۹ درصد (**).

جدول ۶- معنی‌دار بودن آماری اختلاف میان دماهای اصلی رشد برای رشد میسلیمی و جوانه‌زنی میکرواسکلرت‌های قارچ *Macrophomina phaseolina* که به‌وسیله مدل دوتکه‌ای محاسبه شده‌اند.

متغیر ^۱	نسبت F	سطح احتمال	مقدار میانگین
			جوانه‌زنی میکرواسکلرت‌ها
T _b	۳/۰۷	۰/۱۵	۸/۰
T _o	۲/۳۰	۰/۲۰	۳۴/۵
T _c	۲/۳۶	۰/۱۲	۴۴/۳

۱- دمای کمینه (T_b)، دمای بهینه (T_o) و دمای بیشینه (T_c).

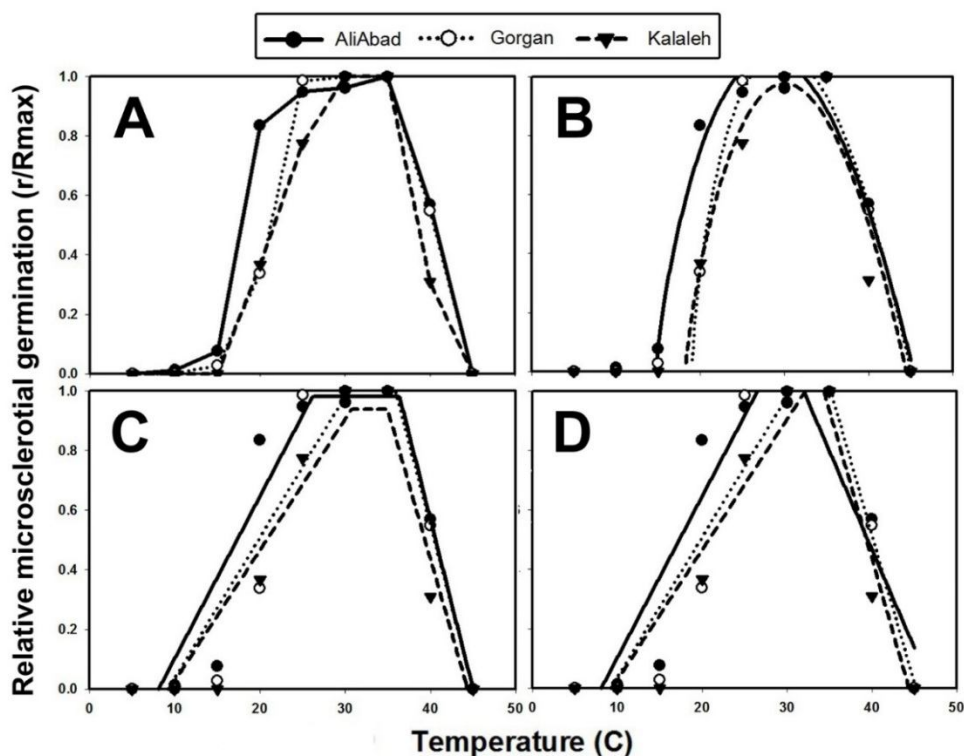
عدم کارایی مدل‌هایی نظیر نمایی درجه دو و سه در مطالعات قبلی به اثبات رسیده است و بنابراین در این تحقیق از آن‌ها استفاده نشده است. البته در صورت انجام عملیات ریاضی روی نتایج این مدل‌ها، نتایج آن‌ها تا حدودی قابل استفاده خواهد بود (Alizadeh and Aghajani, 2016). به‌نظر می‌رسد تحقیقاتی که در آن‌ها از مدل‌های یادشده استفاده شده، هیچ هدف کاربردی را به‌دنبال نداشتند و تنها برای نشان دادن روند کلی تغییرات داده‌ها مورد استفاده قرار گرفته‌اند (Lotfalinezhad *et al.*, 2013; Sanei and Razavi, 2011).



شکل ۱- روابط میان دما و رشد میسلیومی جدایه‌های قارچ *Macrophomina phaseolina* (A) داده‌های واقعی، و داده‌های محاسبه‌شده به‌وسیله‌ی مدل‌های بتا (B)، دندان مانند (C) و دوتکه‌ای (D).

نتیجه‌گیری درباره مدل برتر برای داده‌های جوانه‌زنی میکرواسکلرت‌ها، بر خلاف آماره‌های به‌دست آمده انجام شد و به داشتن مفهوم زیستی و منطقی بر اساس نمودارهای داده‌های واقعی دقت بیشتری

شده است (Campbell and Madden, 1990)، زیرا نمودارهای شبیه‌سازی شده توسط مدل‌های مختلف، تفاوت بسیار فاحشی را با نمودار داده‌های مشاهده‌شده نشان دادند (شکل ۲).



شکل ۲- روابط میان دما و جوانه‌زنی میکرواسکلرت‌های جدایه‌های قارچ *Macrophomina phaseolina*: (A) داده‌های واقعی و داده‌های محاسبه‌شده به وسیله مدل‌های بتا (B)، دندان مانند (C) و دوتکه‌ای (D).

در مورد جوانه‌زنی میکرواسکلرت‌های جدایه‌ی کلاله، بر خلاف دو جدایه‌ی دیگر، مدل دوتکه‌ای بهتر از دندان‌ی شد، زیرا در شکل ۲، نمودار دندان‌ی به دوتکه‌ای نزدیک شده و دمای بهینه به صورت نقطه‌ای است نه دامنه‌ای. در مورد جدایه‌های گرگان و علی‌آباد، مدل دندان‌ی نتوانست دمای کمینه را به طور معنی‌دار پیش‌بینی نماید و در مورد جدایه علی‌آباد نیز، دمای بهینه دوم پیش‌بینی شده توسط این مدل، معنی‌دار نبود. مدل بتا در برآورد رشد میسلیمی جدایه‌ها نتوانست دمای کمینه را به طور معنی‌داری پیش‌بینی نماید. در جوانه‌زنی میکرواسکلرت‌ها نیز این مدل، دمای کمینه را بالاتر از مقدار واقعی تخمین زد.

دماهای بهینه و بیشینه‌ی محاسبه‌شده توسط مدل دو تکه‌ای برای رشد میسلیمی *M. phaseolina* به‌طور معنی‌داری بالاتر از دماهای مورد نیاز برای جوانه‌زنی میکرواسکلرت‌ها بود. به‌صورت دقیق‌تر، دماهای بهینه رشد میسلیمی و جوانه‌زنی میکرواسکلرت‌ها برای جدایه‌ی گرگان، تقریباً نزدیک به هم بود، اما در مورد دو جدایه دیگر، دمای بهینه رشد میسلیمی بالاتر از دمای بهینه‌ی جوانه‌زنی میکرواسکلرت‌ها بود. دمای کمینه‌ی رشد میسلیمی برای هر سه جدایه، پایین‌تر از دمای کمینه‌ی جوانه‌زنی میکرواسکلرت‌ها بود. دمای بیشینه‌ی رشد میسلیمی و جوانه‌زنی میکرواسکلرت‌ها برای جدایه‌ی کلاله، تقریباً نزدیک به هم بود، اما در مورد دو جدایه دیگر، دمای بیشینه‌ی رشد میسلیمی پایین‌تر از دمای بهینه جوانه‌زنی میکرواسکلرت‌ها بود (جدول ۶). در مجموع، می‌توان اظهار داشت که اختلاف معنی‌داری میان دماهای اصلی مورد نیاز برای رشد میسلیمی و جوانه‌زنی میکرواسکلرت‌ها وجود ندارد.

مدل‌سازی روابط آماری میان دما و جوانه‌زنی میکرواسکلرت‌های این قارچ تاکنون در هیچ تحقیق علمی منتشرشده مورد مطالعه قرار نگرفته، بنابراین نتایج این تحقیق برای نخستین بار به این موضوع پرداخته است. تنها تحقیق قابل ذکر در این باره، لطفی‌زاده و همکاران (Lotfalinezhad et al., 2013) است که به ملانیزه شدن میکرواسکلرت‌ها در دماهای مختلف پرداخته و نتیجه‌گیری کرده که این فرآیند در دمای بالاتر از ۳۰ درجه سانتی‌گراد اتفاق می‌افتد.

منابع

- Agarwal, D.K., Gangopadhyay, S., and Sarbhoy, A.K. 1973. Effect of temperature on the charcoal rot disease of soybean. *Indian Phytopathology* 26: 587-589.
- Alizadeh, M., and Aghajani, M.A. 2016. Modelling the temperature-mycelial growth rate relationships in fungi *Rhizoctonia* spp. *Journal of Plant Pathology* (in press).
- Arora, M., and Pareek, S. 2013. Effect of soil moisture and temperature on the severity of *Macrophomina* charcoal rot of sorghum. *Indian Journal of Scientific Research* 4: 155-158.
- Burnham, K.P., and Anderson, D.R. 2002. Model selection and inference: A practical information theoretical approach. Second ed. . New York: Springer-Verlag.
- Campbell, C.L., and Madden, L.V. 1990. Introduction of plant disease epidemiology. John Wiley, New York, 532 pp.
- Crop protection compendium. 2012. *Macrophomina phaseolina*. Kew, UK.: CAB International.
- Csoñdes, I., Cseh, A., Taller, J., and Poczai, P. 2012. Genetic diversity and effect of temperature and pH on the growth of *Macrophomina phaseolina* isolates from sunflower fields in Hungary. *Molecular Biology Report*, 39: 3259–3269.
- Dhingra, O.D., and Sinclair, J.B. 1978. Biology and Pathology of *Macrophomina phaseolina*. Universidade Federal de Vicosa, Vicosa, Brazil.
- Duthie, J. 1997. Models of the response of foliar parasites to the combined effects of temperature and duration of wetness. *Phytopathology* 87: 1088-1095.

- Ghaderifar, F., Soltani, A., and Sadeghipour, H.R. 2009. Evaluation of nonlinear regression models in quantifying germination rate of medicinal pumpkin (*Cucurbita pepo* L. subsp. *Pepo*. Convar. *Pepo* var. *styriaca* Greb), borago (*Borago officinalis* L.) and black cumin (*Nigella sativa* L.) to temperature. *International Journal of Plant Production* 16: 1-19.
- Harikrishnan, R., and Yang, X.B. 2004. Recovery of anastomosis groups of *Rhizoctonia solani* from different latitudinal positions and influence of temperatures on their growth and survival. *Plant Disease* 88: 817-823.
- Kamkar, B., Ahmadi, M., Soltani, A., and Zeinali, E. 2008. Evaluating non-linear regression models to describe response of wheat emergence rate to temperature. *Seed Science and Technology*, 2: 53-57.
- Kamkar, B., Jami Al-Ahmadi, M., Mahdavi Damghani, A., and Villalobos, F.J. 2012. Quantification of the cardinal temperatures and thermal time requirement of opium poppy (*Papaver somniferum* L.) seeds to germinate using non-linear regression models. *Industrial Crop Production* 35: 192-198.
- Keen, A., and Smits, T. 1989. Application of a mathematical function for a temperature optimum curve to establish differences in growth between isolates of a fungus. *Netherland Journal of Plant Pathology* 95: 37-49.
- Lotfalinezhad, E., Mehri, Z., and Sanei, S.J. 2013. Temperature response of *Macrophomina phaseolina* isolates from different climatic in Iran. *Annual Review and Research in Biology* 3: 724-734.
- Manici, L.M., Caputo, F., and Cerato, C. 1995. Temperature responses of isolates of *Macrophomina phaseolina* from different climatic regions of sunflower production in Italy. *Plant Disease* 79: 834-838.
- Meyer, W.A., Sinclair, J.B., and Khare, M.N. 1974. Factors affecting charcoal rot of soybean seedlings. *Phytopathology* 64: 845-849.
- Patel, K.K., and Patel, A.J. 1990. Control of charcoal-rot of Sesamum. *Indian Journal of Mycology and Plant Pathology* 20: 62-63.
- Pfister, S.E., Halik, S., and Bergdahl, D.R. 2004. Effect of temperature on *Thekopsora minima* urediniospores and uredinia. *Plant Disease* 88: 359-362.
- Plati, J. 1981. *Cultural Practices and Infection Crop Disease*. Spring-Verlag, Berlin.
- Rayatpanah, S., Nanagulyan, S.G., and Alavi, S.V. 2009. Chlorate sensitivity, temperature responses and pathogenicity of some Iranian isolates of *Macrophomina phaseolina* from oilseed plants. *Biological Journal of Armenia*, 61: 23-26.
- Sabouri, H., Sabouri, A., and Dadras, A.R. 2012. Modeling the response of germination rate of different rice genotypes to temperature. *Cereal Research*, 2: 123-135.
- Sanei, S.J., and Razavi, S.E. 2011. Charcoal rot in nursery of olive in Golestan province of Iran. *International Research Journal of Agricultural Science and Soil Science* 1: 211-217.
- Sneh, B., Burpee, L., and Ogoshi, A. 1991. *Identification of Rhizoctonia Species*. USA: American phytopathological society (APS) Press.
- Trapero-Casas, A., and Kaiser, W.J. 1992. Influence of temperature, wetness period, plant age, and inoculum concentration on infection and development of *Ascochyta* blight of chickpea. *Phytopathology* 82: 589-596.
- Viana, F.M.P., and Souza, N.L. 2002. Effect of temperature-water tension interaction on germination of *Macrophomina phaseolina* microsclerotia. *Phytopatologia Brazilia* 27: 268-272.