

مقاله پژوهشی

مدل‌سازی روابط دما و رشد میسلومی و جوانه‌زنی ریزسختینه‌های قارچ
*Macrophomina phaseolina*اکرم منتظریان^۱، محمدعلی آقاجانی^{۲*} و علی اسکندری^۳

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۸/۳۰؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۲/۲۸)

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 میسلومی و جوانه‌زنی ریزسختینه‌ها، سه جدایه‌ی قارچ عامل بیماری از مزارع سویای سه منطقه‌ی علی‌آباد، گرگان و کلالة در استان گلستان در شرایط آزمایشگاهی مورد مطالعه قرار گرفتند. رشد میسلومی و تعداد ریزسختینه‌های جوانه‌زده در دماهای مختلف به‌طور روزانه ثبت شد و برآزش داده‌ها با سه مدل رشد بتا، دوتکه‌ای و دندان مانند مورد بررسی قرار گرفت. نتایج تجزیه‌های آماری (رگرسیون غیرخطی) نشان داد که مدل دوتکه‌ای و بتا، به ترتیب، مناسب‌ترین مدل برای توصیف روابط دما با رشد میسلومی و جوانه‌زنی ریزسختینه‌های این قارچ می‌باشد. دماهای کمینه، بهینه و بیشینه محاسبه‌شده برای رشد میسلومی به ترتیب ۸، ۳۴/۵ و ۴۴/۳ درجه سانتی‌گراد و برای جوانه‌زنی ریزسختینه به ترتیب ۸/۹، ۳۲/۳ و ۴۵/۵ درجه سانتی‌گراد بود.

کلیدواژه: سویا، پوسیدگی ذغالی، دماهای اصلی، رشد میسلومی، جوانه‌زنی ریزسختینه‌ها

* مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: maaghajana@yahoo.com

۱. دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه بیماری‌شناسی گیاهی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان.
۲. دانشیار پژوهشی، بخش تحقیقات گیاهپزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان گلستان، گرگان.
۳. دانشیار گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان.

Research Article

Effect of temperature on mycelial growth and microsclerotial germination of causal agent fungus of soybean charcoal rot

A. Montazerian¹, M.A. Aghajani^{2*}, and A. Eskandari³

(Received: 21.11.2021; Accepted: 18.5.2022)

Abstract

Macrophomina phaseolina is a soil born fungal pathogen causing charcoal rot of soybean and several other plants. Disease intensity in different hosts is related to hot and dry weather condition. In order to determination of cardinal (minimum, optimum and maximum) temperatures required for mycelial growth and microsclerotial germination, three fungal isolates from soybean fields of three regions Aliabad, Gorgan and Kalaleh in Golestan province were studied *in vitro*. Mycelial growth and germinated microsclerotia number were recorded daily in different temperatures and data were fitted with three growth models (Beta, segmented and dent-like). Results of statistical analyses (nonlinear regression) showed that the segmented and Beta were the most suitable model for describing the relationships between mycelial growth and microsclerotial germination of this fungus, respectively. Minimum, optimum and maximum temperatures estimated for mycelial growth were 8, 34.5 and 44.3 °C, respectively, and 8.9, 32.3 and 45.5 °C for microsclerotial germination.

Keywords: soybean, charcoal rot, cardinal temperatures, mycelial growth, microsclerotial germination

* Corresponding author's E-mail: maaghajana@yahoo.com

1. Graduate M.S. student, Department of Plant Pathology, Islamic Azad University, Damghan Branch, Damghan, Iran.
2. Associate Prof. of Plant Pathology, Department of Plant Protection Research, Agriculture and Natural Resources Research and Education Center of Golestan Province, Gorgan, Iran.
3. Associate Prof. of Plant Pathology, Department of Plant, University of Zanjan, Zanjan, Iran.

مقدمه

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 میسلومی آن در شرایط معین آزمایشگاهی است. تصویر کاملی از رشد میسلومی قارچ در رابطه با دما را می‌توان از طریق ترسیم منحنی سرعت رشد در برابر دما به دست 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. 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 میسلومی 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)،

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 (Anonymous, 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 کنجد، با افزایش دما و کاهش رطوبت نسبی بالا می‌رود. بیش‌ترین شدت بیماری

۲/۲ و ۱/۷ میلی متر 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 ریزسختینه‌های ۴۳ جدایه‌ی *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 با ۲۵ درجه سانتی‌گراد و برای ۱۰ جدایه‌ی دیگر برابر با 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 ریزسختینه‌ها در دمای بالاتر از ۳۰ درجه سانتی‌گراد اتفاق می‌افتد. آن‌ها از مدل‌های خطی و نمایی درجه‌ی دو برای پیش‌بینی روابط دما-سرعت رشد، به‌ترتیب برای جدایه‌های با دمای بهینه‌ی بالا و سایر جدایه‌ها استفاده کردند.

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

بعد از مطالعه‌ی نرخ رشد ۲۷ جدایه‌ی 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 (Csoñdes et al., 2012) از طریق مطالعه‌ی 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 جدایه‌ی *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 جدایه‌ی *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، به‌ترتیب برابر با

ریزسختینه 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 و ۴۵ درجه سانتی‌گراد و در شرایط تاریکی نگهداری شدند. تعداد ریزسختینه‌های جوانه‌زده در زیر استرئومیکروسکوپ (بزرگ‌نمایی ۷۵ برابر) و طی هر ۲۴ ساعت شمارش گردید. در صورت خروج لوله‌ی تندشی حداقل به‌طول قطر ریزسختینه، آن ریزسختینه به‌عنوان جوانه‌زده در نظر گرفته شد.

مدل‌سازی آماری روابط دما-سرعت رشد

به‌منظور مدل‌سازی و ارزیابی توابع ریاضی برای کمی‌کردن تاثیر دما بر سرعت رشد میسلومی و جوانه‌زنی ریزسختینه‌های جدایه‌های *M. phaseolina*، سه مدل رگرسیون غیرخطی با داده‌های سرعت رشد به‌عنوان متغیر وابسته و دما به‌عنوان متغیر مستقل، برازش داده شد (جدول ۱)، 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. لازم به ذکر است که مدل‌های بتا و دوتکه‌ای دارای یک دمای بهینه (T_o) و مدل دندان مانند دارای دو دمای بهینه (T_{o1} و T_{o2}) است. 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 (R^2 adjusted)، جذر میانگین مربعات خطا (RMSE) و ضرایب رگرسیون ساده‌ی خطی میان مقادیر واقعی و

مزارع آلوده به بیماری پوسیدگی ذغالی در سه منطقه‌ی علی‌آباد، گرگان و کلاله 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 میسلومی در دماهای مختلف

قرص‌های میسلومی 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 درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. پس از علامت‌گذاری حاشیه‌ی 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 ریزسختینه‌ها 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 نگهداری گردید. بعد از رشد کامل پرگنه و تشکیل ریزسختینه‌ها، تشتک‌ها به مدت دو روز در معرض هوا قرار گرفتند تا این‌که محیط کشت خشک شد و ریزسختینه‌ها به آسانی از تشتک‌ها جدا شدند. ریزسختینه‌های جداشده تا زمان آزمون در یخچال (دمای ۴ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شدند. به‌منظور مطالعه‌ی جوانه‌زنی ریزسختینه‌ها در دماهای مختلف، ۲۰

مدل‌ها با استفاده از شاخص اختلاف AIC (Δi) انجام شد که با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید:

$$\Delta i = AICc - \min AIC \quad (3)$$

اگر Δi کم‌تر از ۱۰ باشد، اختلاف معنی‌داری میان مدل‌ها وجود ندارد و همگی مدل‌ها به عنوان مدل‌های 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 داده‌ها ایجاد نخواهد کرد (Burnham and Anderson, 2002).

نتایج و بحث

رشد میسلومی

نتایج نمودار توزیع داده‌ها نشان داد که هیچ‌کدام از جدایه‌ها نتوانستند در دمای ۷ درجه سانتی‌گراد رشد نمایند و رشد در دمای ۱۰ درجه آغاز شده است. در دمای ۳۳ درجه سانتی‌گراد، رشد پرگنه‌ی قارچ به حداکثر رسید و جدایه‌های علی‌آباد، گرگان و کلاله به ترتیب ۲۵، ۱۸ و ۲۳ میلی‌متر رشد در روز را نشان دادند. رشد میسلومی در دمای حدود ۴۳ درجه سانتی‌گراد متوقف شد، بنابراین دمای ۳۰ تا ۳۵ درجه سانتی‌گراد، به‌عنوان دمای بهینه برای رشد تعیین شد. این نتایج با یافته‌های دینگرا و سینکلر (Dhingra and Sinclair, 1978) و پلاتی (Plati, 1981) مطابقت دارد که دمای بهینه‌ی رشد میسلومی را ۳۰ تا ۳۷ درجه اعلام کرده بودند.

مدل‌های برازش داده شده برای توصیف روابط میان دما و رشد میسلومی جدایه‌های *M. phaseolina* در شکل ۱ نشان داده شده‌اند. پارامترهای محاسبه شده برای مدل‌های مختلف در جدول ۲ ارائه شده است. هیچ‌کدام از مدل‌ها نتوانستند عرض از مبدأ معنی‌دار آماری ایجاد نمایند، اما

جدول ۱. فرمول مدل‌های مورد استفاده برای تعیین روابط میان دما و سرعت رشد میسلومی و جوانه‌زنی ریزسختینه‌های گونه‌های قارچ ماکروفومینا (سلطانی، ۱۳۸۸).

Table 1. Formula of mathematical models for determining relationships between temperature with mycelial growth and microsclerotial germination rate of *Macrophomina phaseolina*.

Model	Formula ¹
Beta	$f(T) = \left[\left(\frac{(T - T_b)}{(T_p - T_b)} \right) \times \left(\frac{(T_c - T)}{(T_c - T_p)} \right) \right] \left(\frac{(T_c - T_p)}{(T_p - T_b)} \right)^a$
Dent-like	$f(T) = \frac{(T_c - T)}{(T_c - T_o2)}$ if $T_{o2} < T \leq T_c$ $f(T) = 1$ if $T_{o1} < T \leq T_{o2}$ $f(T) = 0$ if $T \geq T_c$ $f(T) = \frac{(T - T_b)}{(T_o - T_b)}$ if $T_b \leq T \leq T_o$
Segmented	$f(T) = \frac{(T - T_b)}{(T_o - T_b)}$ if $T_b < T < T_o$ $f(T) = 1$ if $T \geq T_o$

1. Parameters used in model equations, T: temperature (°C), T_b: base or minimum temperature (°C), T_o: optimum temperature (°C), T_c: ceiling or maximum temperature (°C), y_o: initial value of growth rate, a, b and c: model parameters.

پیش‌بینی شده (a و b) که به ترتیب بیانگر 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 آکایکه (AIC) و معیار اطلاعات آکایکه اصلاح شده (AICc) صورت پذیرفت که به‌وسیله‌ی فرمول‌های زیر محاسبه شدند (Burnham and Anderson, 2002):

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

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

که RSS، n و k به ترتیب معادل مجموع مربعات خطا، تعداد مشاهدات و تعداد پارامترهای مدل هستند.

مناسب‌ترین مدل دارای کمترین AICc است. رتبه‌بندی

جدول ۲. آماره‌های مدل‌های مختلف مورد استفاده برای توصیف روابط میان دما با رشد میسلومی و جوانه‌زنی ریزسختینه‌ها در جدایه‌های قارچ *Macrophomina phaseolina*.

Table 2. Statistics of different models used to describe relationship between temperature and mycelial growth and microsclerotial germination rate of *Macrophomina phaseolina*.

Model	Statistics ¹	Mycelial growth			Microsclerotial germination		
		Aliabad	Gorgan	Kalaleh	Aliabad	Gorgan	Kalaleh
Beta	SE	0.15	0.20	0.14	0.08	0.05	0.12
	RMSE	0.12	0.15	0.11	0.06	0.04	0.09
	R ²	0.76	0.71	0.81	0.95	0.98	0.90
	a	0.85 **	0.80 **	0.89 **	0.97 **	0.99 **	0.92 **
	b	0.06 ns	0.10 ns	0.04 ns	0.02 ns	0.01 ns	0.05 ns
Dent-like	SE	0.09	0.18	0.12	0.20	0.22	0.19
	RMSE	0.06	0.12	0.08	0.13	0.14	0.13
	R ²	0.92	0.80	0.89	0.81	0.78	0.80
	a	0.96 **	0.90 **	0.94 **	0.90 **	0.90 **	0.90 **
	b	0.01 ns	0.04 ns	0.02 ns	0.05 ns	0.05 ns	0.04 ns
Segmented	SE	0.10	0.16	0.11	0.23	0.20	0.17
	RMSE	0.07	0.12	0.08	0.17	0.15	0.13
	R ²	0.92	0.84	0.90	0.75	0.82	0.84
	a	0.93 **	0.90 **	0.93 **	0.85 **	0.89 **	0.90 **
	b	0.02 ns	0.04 ns	0.02 ns	0.07 ns	0.05 ns	0.04 ns

1. Standard error (SE), adjusted R-squared (R²), root mean square of error (RMSE), a and b (intercept and slope values of linear regression between observed versus predicted values of growth rate).

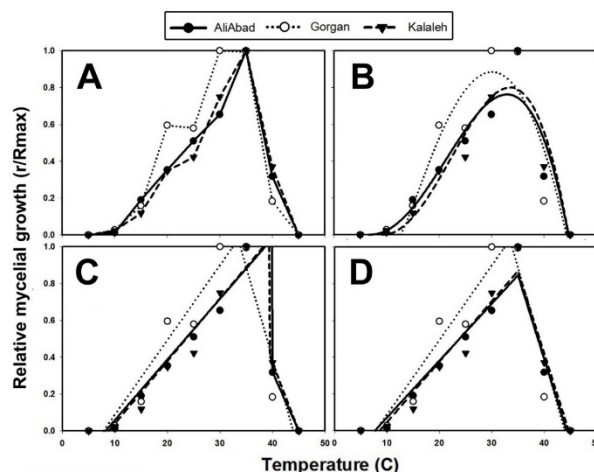
2. "ns": non-significant, "**": significant at P<0.05, "***": significant at P<0.01.

همه‌ی آن‌ها شیب معنی‌داری ایجاد کردند (جدول ۲).

نتایج نشان داد که مدل دوتکه‌ای، بهترین برازش را برای توضیح روابط دما-رشد میسلومی در مورد جدایه‌های گرگان و کلاله ایجاد نمود، بر اساس SE و RMSE پایین و R² بالا؛ اما در مورد جدایه‌ی علی‌آباد، مدل دندان مانند مناسب‌ترین مدل بود (جدول ۲). انتخاب مدل بر اساس AICc و Δi ، مدل دوتکه‌ای را به‌عنوان مناسب‌ترین مدل به‌دنبال داشت (جدول ۳).

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 ۲).

معیار دیگری که بر انتخاب مدل مناسب تاثیر گذاشت،



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

Figure 1. Temperature and mycelial growth rate relationships of *Macrophomina phaseolina* graphed by observed data and estimated by actual data (A), Beta (B), Segmented (C) and Dent-like (D) models.

جدول ۳. معیار اطلاعات آکایکه اصلاح شده (AICc) و اختلاف آکایکه (Δi) مدل‌های مختلف مورد استفاده برای توصیف روابط میان دما با رشد میسلیمی و جوانه‌زنی ریزسختینه‌ها در جدایه‌های قارچ *Macrophomina phaseolina*.

Table 3. Corrected Akaike Information Criterion (AICc), and AIC differences (Δi) of different models used to describe relationship between temperature and mycelial growth and microsclerotial germination rate of *Macrophomina phaseolina*.

Model	Statistics	Mycelial growth			Microsclerotial germination		
		Aliabad	Gorgan	Kalaleh	Aliabad	Gorgan	Kalaleh
Beta	AICc	-29.51	-25.76	-23.09	-39.30	-48.46	-28.92
	Δi	7.63	2.22	11.96	0.00	0.00	0.00
Dent-like	AICc	-32.14	-20.78	-16.18	-18.98	-17.84	-7.80
	Δi	5.00	7.20	18.86	20.32	30.62	19.20
Segmented	AICc	-37.15	-27.98	-35.04	-22.58	-24.98	-27.00
	Δi	0.00	0.00	0.00	16.72	23.49	0.00

جدایه‌های علی‌آباد، گرگان و کلاله به‌وسیله‌ی مدل دوتکه‌ای (مدل برتر)، به‌ترتیب ۷/۷ و ۴۴/۳، ۷/۸ و ۴۳/۹، و ۸/۶ و ۴۴/۷ درجه سانتی‌گراد بود. مقدار دمای بهینه برای جدایه‌های علی‌آباد، گرگان و کلاله نیز به‌ترتیب برابر با ۳۵، ۳۳/۵ و ۳۵ درجه سانتی‌گراد محاسبه گردید (جدول ۴).

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 ۴).
مقادیر محاسبه‌شده‌ی دماهای اصلی رشد برای سرعت رشد میسلیمی سه جدایه‌ی *M. phaseolina* در جدول ۵ ارائه شده است. مقدار دماهای کمینه و بیشینه برای

جدول ۴. پارامترهای محاسبه‌شده به‌وسیله‌ی مدل‌های مختلف مورد استفاده برای توصیف روابط میان دما با رشد میسلیمی و جوانه‌زنی ریزسختینه‌ها در جدایه‌های قارچ *Macrophomina phaseolina*.

Table 4. Estimated values of parameters for relationship between temperature and mycelial growth and microsclerotial germination rate of *Macrophomina phaseolina* by different selected models by common statistics and Akaike Information Criterion (AICc).

Model	Statistics ¹	Mycelial growth			Microsclerotial germination		
		Aliabad	Gorgan	Kalaleh	Aliabad	Gorgan	Kalaleh
Beta	T _b	6.5 ns	12.6 ns	9.1 ns	14.7 **	19.0 **	18.2 **
	T _p	33.0 **	30.1 **	33.5 **	28.2 **	29.6 **	30.1 **
	T _c	44.7 **	44.3 **	44.7 **	45.3 **	45.0 **	44.5 **
Dent-like	T _b	8.2 **	7.8 **	8.8 ns	8.1 **	9.2 ns	9.4 ns
	T _{o1}	40.0 **	33.0 **	39.5 ns	26.1 **	30.4 ns	30.7 ns
	T _{o2}	28.5 **	33.7 **	30.9 ns	36.4 ns	35.9 ns	35.0 ns
	T _c	45.0 **	43.9 **	45.0 ns	45.0 **	45.0 ns	44.4 ns
Segmented	T _b	7.7 **	7.8 **	8.6 **	8.1 **	9.2 **	9.4 **
	T _o	35.0 **	33.5 **	35.0 **	29.5 **	33.6 **	33.7 **
	T _c	44.3 **	43.9 **	44.7 **	47.0 **	45.2 **	44.4 **

1. Base temperature (T_b), optimum temperature (T_p and T_o), ceiling or maximum temperature (T_c), lower optimum temperature (T_{o1}), upper optimum temperature (T_{o2}), minimum hours starting the growth under optimum temperature (fo).

2. "ns": non-significant, "**": significant at P<0.05, "***": significant at P<0.01.

جدول ۵. معنی‌دار بودن آماری اختلاف میان دماهای اصلی رشد برای رشد میسلومی و جوانه‌زنی ریزسختینه‌های قارچ *Macrophomina phaseolina* که به‌وسیله‌ی مدل دوتکه‌ای محاسبه شده‌اند.

Table 5. Comparison of F-Ratio and P-Value of linear simple regression between the observed and predicted mycelial growth and microsclerotial germination rate of *Macrophomina phaseolina* by different selected models.

Variable ¹	F ratio	P-value	Average	
			Mycelial growth	Microsclerotial germination
Tb	3.07	0.15	8.0	8.9
To	2.30	0.20	34.5	32.3
Tc	2.36	0.12	44.3	45.5

1. Base temperature (Tb), optimum temperature (To) and ceiling or maximum temperature (Tc).

بنابراین دمای ۳۰ تا ۳۵ درجه سانتی‌گراد به‌عنوان دمای بهینه برای جوانه‌زنی ریزسختینه‌ها تعیین شد. این نتایج با یافته‌های ویانا و سوزا (Viana and Souza, 2002) مطابقت دارد که بیان کرده بودند بالاترین درصد جوانه‌زنی ریزسختینه‌ها در دمای ۳۰ تا ۳۳ درجه سانتی‌گراد اتفاق می‌افتد.

مدل‌های برازش داده شده برای توصیف روابط میان دما و جوانه‌زنی ریزسختینه‌های 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 ۲).

بر اساس SE و RMSE پایین و R^2 بالا، نتایج نشان داد که مدل بتا، بهترین برازش را برای توضیح روابط دما-جوانه‌زنی ریزسختینه‌ها در مورد هر سه جدایه ایجاد نمود (جدول ۲). انتخاب مدل بر اساس AICc و Δi ، مدل بتا را به‌عنوان مناسب‌ترین مدل برای جدایه‌های علی‌آباد و گرگان و مدل دوتکه‌ای را برای جدایه‌ی کلالة به‌دنبال داشت (جدول ۳).

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

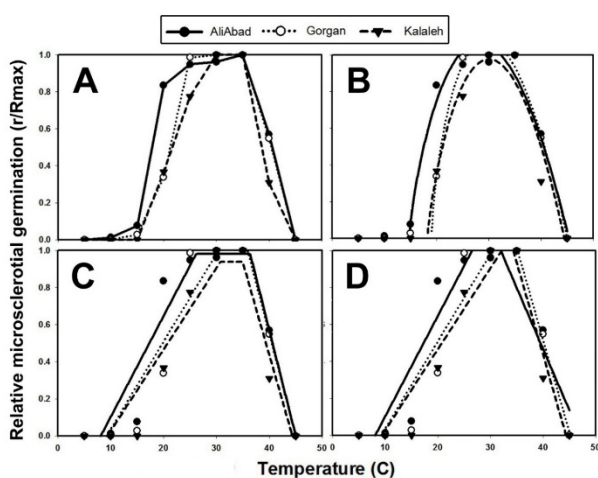
دمای بهینه‌ی محاسبه‌شده با نتایج سایر محققان مطابقت دارد (Csoñdes et al., 2012; Lotfalinezhad et al., 2013; Manici et al., 1995; Rayatpanah et al., 2009) و در همان حدود ۳۵ درجه سانتی‌گراد بوده است. دمای بیشینه‌ی رشد جدایه‌ها بیش از ۴۰ درجه بوده که از این نظر با نتایج رعیت‌پناه و همکاران (Rayatpanah et 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 ریزسختینه‌ها

نتایج نمودار توزیع داده‌ها نشان داد که ریزسختینه‌های هیچ‌کدام از جدایه‌ها نتوانستند در دمای ۷ درجه سانتی‌گراد جوانه بزنند، اما جوانه‌زنی ریزسختینه‌های جدایه‌ی علی‌آباد در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد آغاز گردید. جوانه‌زنی ریزسختینه‌های جدایه‌های گرگان و کلالة نیز به‌ترتیب در دمای ۱۵ و ۲۰ درجه سانتی‌گراد آغاز شد. بالاترین درصد جوانه‌زنی ریزسختینه‌ها در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد مشاهده شد (۹۸، ۹۰ و ۹۰ درصد به‌ترتیب برای جدایه‌های علی‌آباد، گرگان و کلالة). جوانه‌زنی ریزسختینه‌ها در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد متوقف شد،

عملیات ریاضی روی نتایج این مدل‌ها، نتایج آن‌ها تا حدودی قابل استفاده خواهد بود (Alizadeh and Aghajani, 2016). به نظر می‌رسد تحقیقاتی که در آن‌ها از مدل‌های یادشده استفاده شده، هیچ هدف کاربردی را به دنبال نداشتند و تنها برای نشان دادن روند کلی تغییرات داده‌ها مورد استفاده قرار گرفته‌اند (Lotfalinezhad et al., 2011; Sanei and Razavi, 2013).

نتیجه‌گیری درباره‌ی مدل برتر برای داده‌های جوانه‌زنی ریزسختینه‌ها، 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 ریزسختینه‌های جدایه‌های قارچ *Macrophomina phaseolina*: (A) داده‌های واقعی، و داده‌های محاسبه‌شده به وسیله‌ی مدل‌های بتا (B)، دندان مانند (C) و دوتکه‌ای (D).

Figure 2. Temperature and microsclerotial germination rate relationships of *Macrophomina phaseolina* graphed by observed data (A), Beta (B), Segmented (C) and Dent-like (D) models.

۰/۹۲ بود؛ لذا این مدل دارای قابلیت پیش‌بینی بالایی نسبت به دو مدل دیگر بود (جدول ۲).

مقادیر محاسبه‌شده‌ی دماهای اصلی رشد برای جوانه‌زنی ریزسختینه‌های سه جدایه‌ی *M. phaseolina* در جدول ۴ ارائه شده است. مقدار دمای بهینه برای جدایه‌های علی‌آباد، گرگان و کلاله به ترتیب برابر با ۲۹/۵، ۳۳/۶ و ۳۳/۷ درجه سانتی‌گراد محاسبه گردید (جدول ۴).

مطالعه‌ی روابط دما-رشد میسلیمومی 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.

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 برآزش خوبی با داده‌ها ایجاد نکرد، بلکه نتوانست پارامترهایی بامعنی از لحاظ زیستی تولید نماید. 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 برآزش 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.

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

ریزسختینه‌ها بود (جدول ۵). در مجموع، می‌توان اظهار داشت که اختلاف معنی‌داری میان دماهای اصلی مورد نیاز برای رشد میسلومی و جوانه‌زنی ریزسختینه‌ها وجود ندارد.

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

دماهای بهینه و بیشینه‌ی محاسبه‌شده توسط مدل دوتکه‌ای برای رشد میسلومی *M. phaseolina*، به‌طور معنی‌داری بالاتر از دماهای مورد نیاز برای جوانه‌زنی ریزسختینه‌ها بود. به‌صورت دقیق‌تر، دماهای بهینه‌ی رشد میسلومی و جوانه‌زنی ریزسختینه‌ها برای جدایه‌ی گرگان، تقریباً نزدیک به هم بود، اما در مورد دو جدایه‌ی دیگر، دمای بهینه‌ی رشد میسلومی بالاتر از دمای بهینه‌ی جوانه‌زنی ریزسختینه‌ها بود. دمای کمینه‌ی رشد میسلومی برای هر سه جدایه، پایین‌تر از دمای کمینه‌ی جوانه‌زنی ریزسختینه‌ها بود. دمای بیشینه‌ی رشد میسلومی و جوانه‌زنی ریزسختینه‌ها برای جدایه‌ی کلاله، تقریباً نزدیک به هم بود، اما در مورد دو جدایه‌ی دیگر، دمای بیشینه‌ی رشد میسلومی پایین‌تر از دمای بهینه‌ی جوانه‌زنی

منابع

- Anonymous. 2012. Crop protection compendium. *Macrophomina phaseolina*. Kew, UK.: CAB International.
- 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.
- 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*. Springer-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.