

تأثیر شرایط محیطی مختلف (دما و رطوبت) بر رفتار تخریبی قارچ عامل پوسیدگی سفید رنگین کمان روی چوب بلندمازو

چکیده

هدف از این پژوهش، تعیین شدت تخریب قارچ عامل پوسیدگی سفید رنگین کمان روی چوب بلندمازو در دما و رطوبت‌های مختلف بود. قارچ مورد نظر از جنگل جمع آوری و پس از خالص‌سازی با استفاده از تکنیک PCR خالص بودن آن در بانک جهانی NCBI تأیید گردید. سپس، نمونه‌هایی از چوب بلندمازو بریده شده و به مدت ۸ هفته برای تعیین کاهش وزن در شرایط دمایی ۱۰، ۲۰ و ۳۰ درجه‌ی سانتی‌گراد و رطوبت‌های ۴۵، ۶۵ و ۸۵ درصد در معرض قارچ مذکور قرار گرفتند. الگوی تخریب چوب نیز در هر حالت دمایی/رطوبتی به‌طور میکروسکوپی ارزیابی و کاهش جرم نمونه‌ها اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که تغییر رطوبت در مقایسه با دما تأثیر بیشتری بر شدت فعالیت تخریبی قارچ داشته است. بهینه‌ترین محیط برای فعالیت قارچ، دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۶۵٪ بود. از سوی دیگر بررسی‌های میکروسکوپی نشان داد که قارچ رنگین کمان در تمامی شرایط معرض‌گذاری، الگوی تخریب پوسیدگی هم‌زمان را تولید می‌نماید. از این رو، می‌توان نتیجه گرفت تغییر استراتژی تخریبی این قارچ از پوسیدگی هم‌زمان به انتخابی که پیش‌از این در برخی پژوهش‌ها گزارش شده بود به عواملی غیر از دما و رطوبت محیط وابسته است.

واژگان کلیدی: رفتار تخریبی قارچی، قارچ رنگین کمان، پوسیدگی هم‌زمان، بلوط.

مریم کریم^۱

مهرداد قدس خواه دریایی^{۲*}

جواد ترکمن^۳

رضا اولادی^۴

محمد علی تاجیک قنبری^۵

^۱ دانشجوی دکتری علوم جنگل - جنگلداری، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه سرا، ایران

^۲ دانشیار گروه علوم جنگل - جنگلداری، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه سرا، ایران

^۳ دانشیار گروه علوم جنگل - جنگلداری، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه سرا، ایران

^۴ دانشیار گروه علوم و صنایع چوب و کاغذ، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

^۵ دانشیار گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران

مسئول مکاتبات:

mdaryaei9@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۵/۲۰

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۷/۰۵

مقدمه

پوسیدگی سفید عامل اصلی تخریب چوب‌های پهن برگ در دنیاست. قارچ‌های عامل پوسیدگی سفید جزو دسته‌ای از قارچ‌های مخرب چوب هستند که با استفاده از فرآیند هیدرولیزی تقریباً از تمامی ترکیبات شیمیایی دیواره سلولی چوب تغذیه می‌نمایند [۱]. این گروه از قارچ‌ها به دو دسته قارچ‌های پوسیدگی سفید انتخابی و

هم‌زمان تقسیم می‌شوند [۲]. قارچ‌های عامل پوسیدگی سفید انتخابی مانند *Phellinus pini* قادرند لیگنین و همی سلولز را به نسبت بیشتری از سلولز مورد حمله قرار داده و لیگنین لایه میانی و گوشه سلول را تجزیه نمایند [۳]. قارچ‌های عامل پوسیدگی سفید هم‌زمان مانند قارچ رنگین کمان قادرند از تمامی ترکیبات ساختار شیمیایی چوب به یک نسبت تغذیه نمایند؛ با این حال مصرف

دمای بهینه رشد قارچ‌ها متفاوت است اما بیشتر قارچ‌ها در دمای ۴۲-۵ درجه‌ی سانتی‌گراد را ترجیح می‌دهند [۵]. با این حال، پیشرفت پوسیدگی در دمای زیر ۱۰ درجه‌ی و بالای ۳۲ درجه سانتی‌گراد نسبتاً کند یا ناچیز است [۷].

برای رفتارشناسی قارچ و بررسی شدت و الگوی پوسیدگی سفید، روش‌های متعددی مانند آنالیز شیمیایی، وزن سنجی، طیف‌سنجی مولکولی (FT-IR) وجود دارد که در این میان تحلیل تصاویر میکروسکوپی یکی از راه‌های ساده و خوب است. این شیوه، مبتنی بر مشاهده ویژگی‌های کلیدی پوسیدگی در مقاطع میکروسکوپی چوب (به‌خصوص مقطع عرضی) است. با این حال، لازم است مناطق مختلفی از چوب مورد بررسی قرار گرفته تا نتیجه درستی حاصل شود [۵].

مطالعات پیشین Bari و همکاران (۲۰۱۵، ۲۰۱۶، ۲۰۱۷) نشان دادند که تغییر در شرایط محیطی مختلف می‌تواند تأثیر فراوانی بر رفتار تخریبی قارچ پوسیدگی سفید رنگین کمان داشته باشد اما اینکه به‌طور مشخص تغییر هر کدام از عوامل محیطی چه تأثیری بر رفتار این قارچ دارد تاکنون مورد بررسی قرار نگرفته است [۸، ۹، ۱۰]. به‌طور کلی، در سال‌های اخیر مطالعات معدودی بر رفتارشناسی قارچ‌های عامل تخریب چوبی انجام گرفته است [۱۱]. از این‌رو هدف از این پژوهش، مطالعه‌ی ارزیابی توان تخریب و الگوی پوسیدگی قارچ عامل پوسیدگی سفید رنگین کمان در شرایط دمایی و رطوبتی متفاوت است. برای این کار گونه‌ای از جنس بلوط (بلندمازو) انتخاب شده چراکه بلندمازوها در رویشگاه طبیعی‌شان یکی از میزبان‌های اصلی قارچ رنگین کمان بوده و علاوه بر این، تنوع سلولی در این پهن‌برگ بخش‌روزنه‌ای امکان ردیابی تغییرات ساختاری در بافت چوبی را نسبت به پهن‌برگان پراکنده آوند- ساده‌تر می‌کند.

این پژوهش بر این فرض استوار است که تغییر در شرایط دما و رطوبت محیط منجر به تغییر استراتژی تخریب قارچ رنگین کمان از پوسیدگی هم‌زمان به انتخابی می‌شود. همچنین، این پژوهش می‌تواند ریزاقلیم بهینه از نظر دمایی و رطوبتی برای فعالیت تخریبی این قارچ را تعیین نماید.

لیگنین اندکی بیشتر از کربوهیدرات‌ها است [۴]. برخی دیگر از قارچ‌ها مانند قارچ *Inonotus hispidus* علی‌رغم اینکه از شاخه بازیدیومیست‌ها بوده، قادرند علاوه بر پوسیدگی سفید، پوسیدگی نرم نیز تولید کنند [۳]. در طبیعت، گاهی ترکیبی از این دو نوع پوسیدگی دیده شده و یک قارچ پوسیدگی سفید بسته به شرایط- قابلیت ایجاد هر دو نوع الگوی پوسیدگی را دارد [۵]. با این حال چرایی تغییر استراتژی تخریب برخی قارچ‌های پوسیدگی سفید از انتخابی به هم‌زمان یا برعکس هنوز درک نشده است.

هر قارچ برای فعالیت تخریبی نیاز به ریزاقلیم مناسب خود دارد. این ریزاقلیم باید علاوه بر رشد قارچ، اجازه ترشح و انتشار متابولیت‌های قارچی برای حمله به دیواره‌های سلولی را بدهد [۵]. یک ریزاقلیم مناسب شامل متغیرهای متعددی مانند دما، رطوبت، اکسیژن، نور، مقدار pH، نیتروژن و ماده‌ی زمینه بوده که تغییر هر یک از آن‌ها ممکن است باعث تغییرات رفتاری قارچ‌ها شود [۲]. برای مثال، Messner و همکاران (۲۰۰۳) عنوان کردند که میزان نیتروژن عامل مهمی در تغییر پوسیدگی سفید انتخابی به هم‌زمان است [۴]. با این حال، تأثیر عوامل محیطی مانند دما و رطوبت بر شدت و الگوی تخریب، کمتر مورد توجه قرار گرفته است. از آنجاکه قارچ‌ها در محیط‌های مرطوب رشد می‌کنند نیاز قارچ به آب حتی بیش از غذا است، دیواره سلولی ضخیم اسپور و دیگر ساختار قارچ‌ها مانع از اتلاف رطوبت می‌شود. در عین حال قارچ‌هایی وجود دارند که قادرند در محیط‌های خشک، حاوی نمک یا قند زیاد رشد کنند. رطوبت بهینه برای فعالیت تخریبی قارچ‌ها از ۵۰٪ تا ۱۵۰٪- بسته به جرم ویژه چوب و گونه قارچی متغیر است [۵]. از سوی دیگر، دما نیز در تعیین میزان و سرعت رشد قارچ بسیار مهم است. اثر عمومی افزایش حرارت، افزایش فعالیت شیمیایی و فعالیت آنزیمی است. سرعت بسیاری از فعالیت‌های شیمیایی با هر ۱۰ درجه‌ی سانتی‌گراد افزایش، ده برابر و سرعت واکنش‌های آنزیمی برای هر ۱۰ درجه‌ی افزایش، دو برابر می‌شود. با این حال، در حرارت‌های بالا فعالیت آنزیمی متوقف می‌گردد [۶].

مواد و روش‌ها

استاندارد EN-113 (۱۹۹۷) محاسبه شدند [۱۳]:

$$ML(\%) = \frac{M_i - M_d}{M_i} \times 100 \quad (1)$$

در این معادله، ML، درصد کاهش جرم؛ M_i جرم خشک (اجاقی) چوب پیش از در معرض گیری و M_d ، جرم خشک (اجاقی) چوب پس از قرارگیری در معرض قارچ است.

پس از بررسی نرمال بودن توزیع داده‌ها، اثر مستقل دما و رطوبت و اثر متقابل این دو متغیر بر کاهش وزن نمونه‌های چوبی - از نظر آماری - توسط آزمون تجزیه واریانس مورد بررسی قرار گرفته و گروه‌بندی آن‌ها به کمک آزمون دانکن انجام گرفتند.

ارزیابی تخریب چوب مورد حمله قارچ با

میکروسکوپ نوری

جهت ارزیابی تخریب چوب مورد حمله قارچ از نمونه‌های چوبی تخریب شده، بلوک‌های کوچکی به ابعاد $8 \times 8 \times 8$ میلی‌متر تهیه شدند و برش‌هایی به ضخامت ۱۵-۱۰ میکرومتر توسط میکروتوم از آن‌ها برداشته شدند [۸]. برش‌های تهیه شده با مخلوط سافرانین ۰/۵٪ و استرابلو ۰/۳٪ رنگ آمیزی شدند و پس از قرارگیری لامل روی آن‌ها، با استفاده از چسب اتلان تثبیت شدند. آنگاه لام‌های تهیه شده به داخل دستگاه آون قرار داده شدند و برای جلوگیری از تولید حباب، روی هر یک از آن‌ها یک وزنه ۵۰ گرمی قرار داده شدند و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد خشک شدند. سپس الگوهای تخریب در زیر میکروسکوپ نوری BEL مورد بررسی، مشاهده و عکس‌برداری قرار داده شدند.

نتایج و بحث

کاهش وزن

بر اساس نتایج حاصله (شکل ۱)، اختلاف کاهش وزن بین نمونه‌های تیمار شده با قارچ رنگین کمان در شرایط معرض گذاری مختلف، قابل مشاهده است. نتایج حاصل از آزمون تجزیه واریانس نشان داد که اثر مستقل دما بر کاهش جرم نمونه‌های چوبی در سطح ۰/۵٪ معنی‌دار نبود

جمع‌آوری و خالص‌سازی قارچ

اندام بارده (کلاهک) قارچ رنگین کمان (*Trametes versicolor*) از جنگل رادار پشته واقع در سیاهکل از روی کنده‌های افتاده جمع‌آوری شد و سپس بر اساس دستورالعمل Bari و همکاران (۲۰۱۷) خالص‌سازی و ارزیابی مولکولی آن انجام شد [۱۰]. پس از آن پلیت‌های مادری تهیه و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

آماده‌سازی نمونه‌های چوبی و شرایط انکوباسیون

دیسک‌هایی برابر سینه از درختان بلندمازو (*Quercus castaneifolia*) تهیه و به مدت ۹۰ روز در زیر سایبان و در هوای آزاد خشک شدند. نمونه‌هایی به ابعاد $30 \times 10 \times 5$ میلی‌متر (طول، عرض، ضخامت) از برون چوب گونه بلوط بر اساس روش برآوری (۱۹۷۸) که روش اصلاح‌شده‌ی استاندارد (EN-113، ۱۹۹۷) است، برش داده شدند [۱۳، ۱۲] و پس از قرار گرفتن در آون به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۱۰۳ درجه سانتی‌گراد، توزین شدند.

مطابق با استاندارد EN-113 محیط کشت مالت اکستراکت آگار (۴/۸ درصد) برای قارچ خالص‌شده‌ی مذکور تهیه شدند [۱۳]. پس از رشد ریشه‌ها، از فاصله دوسوم شعاع پلیت‌های تهیه شده، قطعات کوچکی به ابعاد 10×10 میلی‌متر برش داده شدند و به پتری دیش حاوی محیط کشت مالت اکستراکت آگار منتقل شدند. تعداد ۱۶ پتری دیش آماده‌سازی شد. پس از رشد ریشه‌های قارچ و پوشش آن در سطح محیط کشت مالت اکستراکت آگار پتری دیش، نمونه‌های چوب تهیه شده در معرض قارچ قرار داده شد. ارزیابی بعد از ۸ هفته (حدوداً ۶۰ روز) انکوباسیون صورت گرفت. انکوباسیون در ۹ حالت محیطی مختلف (دماهای ۱۰، ۲۰ و ۳۰ درجه سانتی‌گراد و با رطوبت‌های ۴۵، ۶۵، ۸۵ درصد) در اتاقک رشد انجام شدند. برای هر حالت، حداقل سه تکرار وجود داشت.

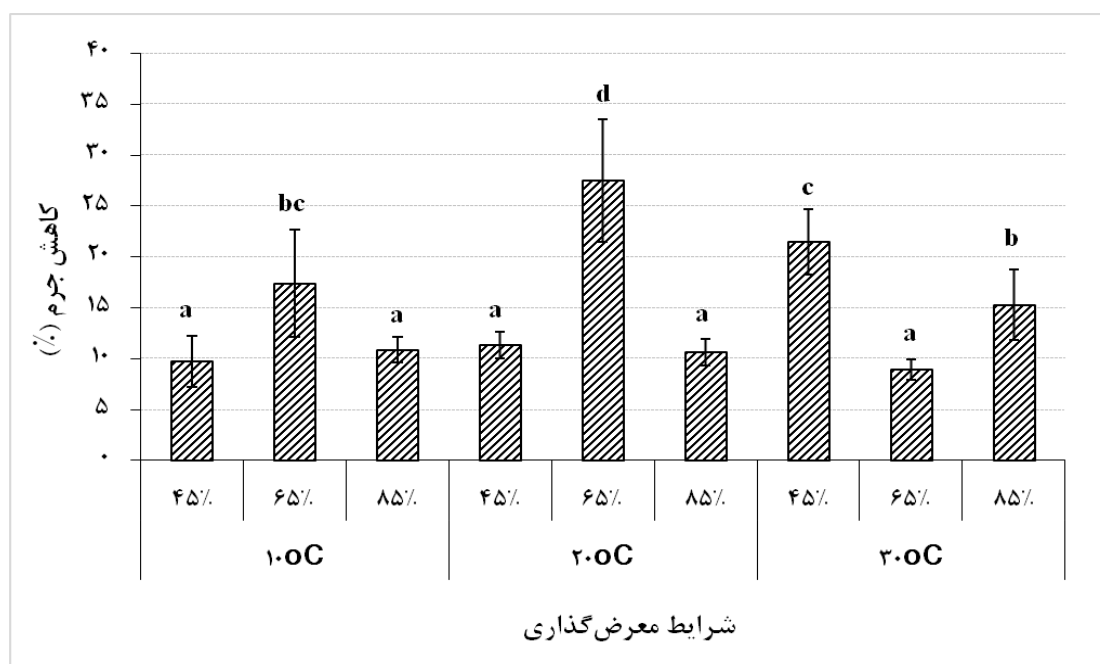
اندازه‌گیری کاهش جرم نمونه‌های چوبی پس از

مجاورت با قارچ

پس از پایان دوره انکوباسیون، کاهش وزن نمونه‌های چوبی در هر حالت براساس معادله (۱) برگرفته از

این در حالی است که کاهش وزن به دست آمده از نمونه‌های چوبی در رطوبت‌های ۴۵ و ۸۵ درصد تقریباً یکسان بود. باین حال، در شرایط دمایی بالا (۳۰ درجه سانتی‌گراد)، قارچ در رطوبت‌های ۴۵ و ۸۵ فعالیت بیشتری را نسبت به رطوبت ۶۵ درصد داشت.

ولی رطوبت تأثیر معنی‌داری بر کاهش جرم نمونه‌های چوبی در سطح ۱٪ داشت. در شرایط دمایی پایین (۱۰ درجه سانتی‌گراد) و متوسط (۲۰ درجه سانتی‌گراد)، میانگین کاهش وزن نمونه‌های بلوط تخریب شده در رطوبت ۶۵٪ بیشینه بود.



شکل ۱- کاهش وزن نمونه‌های چوب بلوط پس از ۸ هفته قرار گرفتن در معرض قارچ رنگین کمان در شرایط دمایی و رطوبتی مختلف. حروف انگلیسی گروه‌بندی دانکن را نشان می‌دهند.

دیواره‌ی الیاف و دیواره‌ی آوندی چوب بلوط را مورد حمله قرار دهد و سبب گسستن آن‌ها گردد (نوک فلش). هم‌چنین نازک شدن بیش از حد دیواره‌ی سلولی موجب گردید تا شکاف‌های عمیقی (ستاره) بین الیاف تشکیل گردد (شکل ۲ ج). هم‌چنین قارچ رنگین کمان موجب تخریب لیگنین بین دیواره‌ی آوندی و فیبرهای اطراف آن (نوک فلش) و نیز باز شدن منافذ دیواره‌ی در سلول‌های پارانشیمی در شرایط رطوبتی متوسط گردیده است (شکل ۲ د). قارچ مزبور در شرایط رطوبتی بالا تخریب متفاوت تری را در سلول‌های چوب بلوط ایجاد نمود. به طوری که نازک شدن دیواره‌ی سلولی (فلش‌ها)، پارگی متوالی دیواره‌ی فیبرها (نوک فلش‌ها) و در نهایت فضاهای توخالی (ستاره) را ایجاد نمود. نشانه‌های خوردگی شدید الیاف

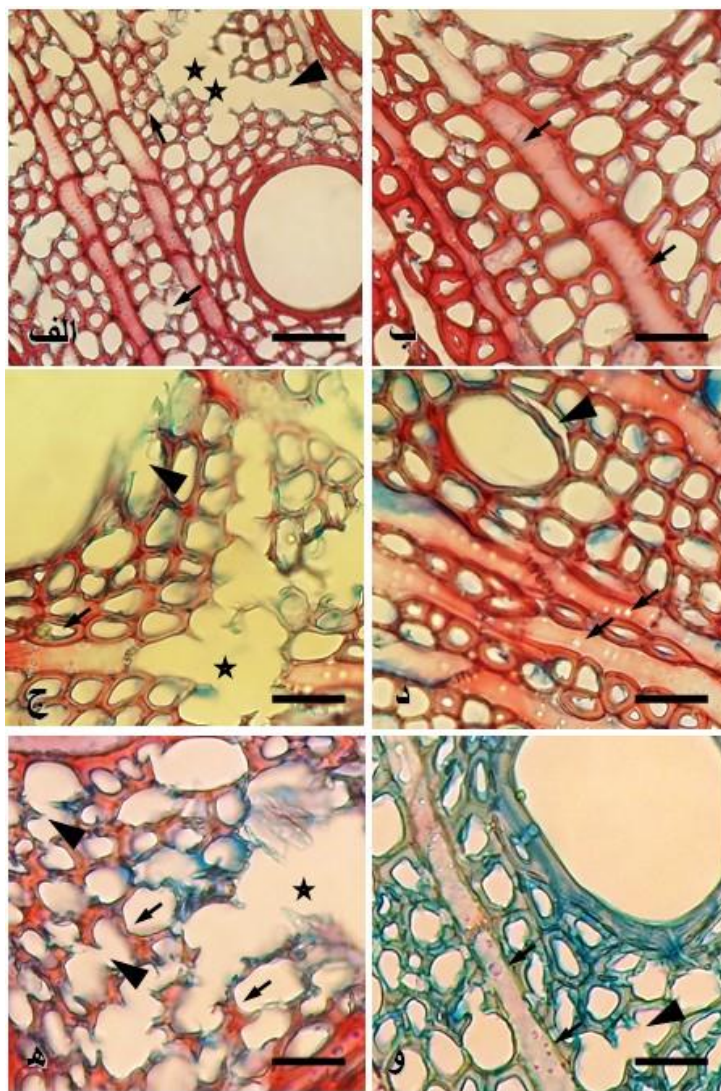
ارزیابی میکروسکوپی

شرایط دمایی پایین (۱۰ درجه سانتی‌گراد)

الگوهای تخریبی میکروسکوپی چوب تخریب شده‌ی بلوط در برابر قارچ رنگین کمان در شرایط دمایی ۱۰ درجه سانتی‌گراد و رطوبت‌های ۴۵، ۶۵ و ۸۵ درصد در شکل ۲ آمده است. قارچ رنگین کمان با تخریب تدریجی لایه‌های دیواره‌ی سلولی (فلش‌ها) سبب نازک شدن و پارگی دیواره‌ی بین الیاف شده است (نوک فلش) که این امر در نهایت موجب تولید تغارهایی (ستاره) در بین الیاف گردیده است (شکل ۲ الف). باین حال، سلول‌های پره‌ی چوبی در این حالت سالم مانده‌اند. به طوری که منافذ دیواره‌ی (فلش‌ها) آن آسیبی وارد نگردیده است (شکل ۲ ب). از سوی دیگر، قارچ رنگین کمان قادر بود مرز بین

متوسط (۶۵ درصد) نسبت به دیگر رطوبت‌ها داشته است. این در حالی است که میزان خسارت تولیدشده در شرایط رطوبتی پایین و بالا کمابیش یکسان بود.

گواه بر تخریب شدید پوسیدگی سفید هم‌زمان را به دنبال دارد (شکل ۲ ه و). به‌طور کلی قارچ مورد بررسی در شرایط دمایی پایین میزان کاهش وزن قابل‌توجهی در رطوبت



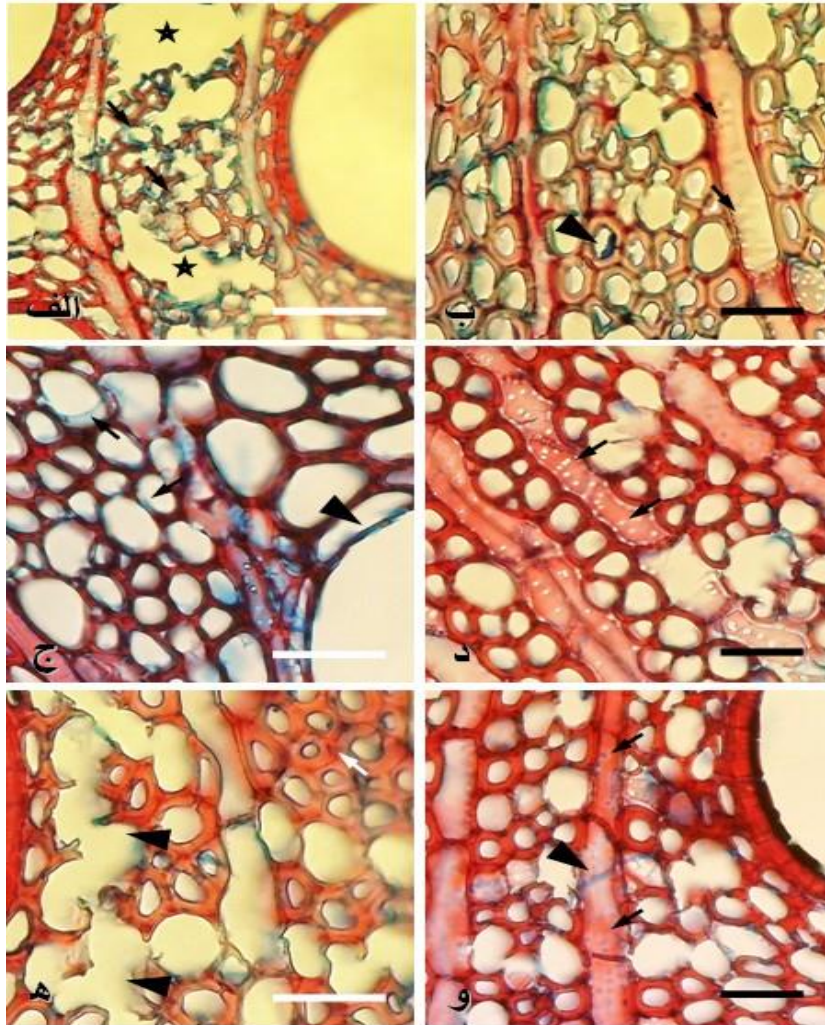
شکل ۲- تصاویر میکروسکوپی نمونه‌های چوبی بلوط تخریب‌شده در برابر قارچ عامل پوسیدگی سفید رنگین‌کمان در شرایط دمایی ۱۰ درجه‌ی سانتی‌گراد و رطوبت‌های ۴۵ (الف، ب)، ۶۵ (ج، د)، ۸۵ درصد (ه و) پس از ۸ هفته‌ی معرض‌گذاری.

موردحمله‌ی قارچ رنگین‌کمان که در نتیجه مصرف لیگنین و سلولز است حاکی از رفتار هم‌زمان قارچ مذکور است. این شیوه‌ی رفتاری سبب حذف دیواره‌های الیاف‌های مجاور هم و نیز سلول‌های پارانشیمی شده است که منجر به تولید حفراتی با وسعت زیاد (ستاره‌ها) در بین سلول‌ها گردیده است (شکل ۳ الف). تخریب بسیار اندک در سلول

شرایط دمایی متوسط (۲۰ درجه سانتی‌گراد) تصاویر میکروسکوپی (۳ الف-و) از سلول‌های نمونه‌ی چوب بلوط موردحمله‌ی قارچ عامل پوسیدگی سفید در شرایط دمایی ۲۰ درجه‌ی سانتی‌گراد (دمای متوسط) و رطوبت‌های ۴۵، ۶۵ و ۸۵ درصد را نشان می‌دهد. تخریب شدید لایه‌ی سوم و دوم دیواره‌ی سلولی (فلش‌ها) چوب

است. به طوری که لایه‌های دیواره‌ی سلولی در اکثر سلول‌ها تقریباً دست‌نخورده باقی‌مانده‌اند (فلش‌ها). با این حال عبور هیف‌های قارچ رنگین کمان و به دنبال آن ترشح آنزیم‌های آن‌ها سبب پارگی برخی از دیواره‌ی ییاف و نیز عمدتاً سلول‌های پارانشیمی محوری شده است (نوک فلش‌ها). در حالی که سلول‌های پارانشیمی خوابیده دست‌نخورده باقی‌مانده‌اند (فلش‌ها) (شکل ۳ ه، و). این حالت نشان می‌دهد که قارچ رنگین کمان الگوهای تخریبی هم‌زمان را در شرایط رطوبتی بالا روی نمونه‌های چوب بلوط به وجود آورده است.

های پارانشیمی (فلش‌ها) و نیز تجمع هیف‌های در حفره‌ی فیبرها (نوک فلش) در عملکرد تخریبی قارچ مورد آزمونی دیده می‌شود (شکل ۳ ب). قرار گرفتن نمونه‌های چوب بلوط در شرایط رطوبتی متوسط سبب تولید تخریباتی در عناصر سلولی آن شده است که نشان‌دهنده‌ی رفتار نرمال قارچ عامل پوسیدگی سفید است. از این‌رو قارچ رنگین کمان با تخریب لایه‌های اول، دوم و سوم (فلش‌ها)، نازک کردن دیواره‌ی آوندی (نوک فلش) و نیز حملات شدید به سلول‌های پارانشیمی (فلش‌ها) سبب تولید پوسیدگی هم‌زمان شده است (شکل ۳ ج، د). الگوهای تخریبی عناصر سلولی چوب بلوط قرار گرفته در شرایط رطوبتی بالا نشان می‌دهد که تخریب اندکی صورت گرفته



شکل ۳- تصاویر میکروسکوپی نمونه‌های چوبی بلوط تخریب‌شده در برابر قارچ عامل پوسیدگی سفید رنگین کمان در شرایط دمایی ۲۰ درجه‌ی سانتی‌گراد و رطوبت‌های ۴۵ (الف، ب)، ۶۵ (ج، د)، ۸۵ درصد (ه، و) پس از ۸ هفته‌ی معرض‌گذاری.

شرایط دمایی بالا (۳۰ درجه سانتی‌گراد)

نتایج حاصل از الگوهای میکروسکوپی تخریب عناصر سلولی ناشی از حمله‌ی قارچ عامل پوسیدگی سفید رنگین کمان در نمونه‌های چوب بلوط قرار گرفته در شرایط دمایی ۳۰ درجه‌ی سانتی‌گراد (دمای بالا) و رطوبت‌های ۴۵، ۶۵ و ۸۵ درصد در شکل ۴ آمده است. عبور هیف‌های قارچ رنگین کمان از بین دیواره‌ی سلولی و اشعه‌ی چوبی باعث پارگی و ایجاد فضاهای توخالی (نوک فلش‌ها) شده است. درحالی‌که دیواره‌ی سلولی اندکی باریک گردید و حتی مواد بین سلولی (فلش) دست‌نخورده باقی مانده است (شکل ۴ الف). با توجه به حمله‌ی ناچیز قارچ، سلول‌های پارانشیمی خوابیده آسیب اندکی دیده‌اند، اما پارگی بین سلول‌های پارانشیمی محوری و الیاف موجب تولید تغارهایی در بین آن‌ها شده است (ستاره) (شکل ۴ ب). تخریب بسیار ناچیز در عناصر سلولی نمونه‌های موردحمله‌ی قارچ رنگین کمان باعث گردید که دیواره‌ی سلولی فیبرها دست‌نخورده باقی بمانند (فلش‌ها) و تنها پارگی در سلول‌های پارانشیمی محوری و نیز تجمع هیف‌ها در حفره‌ی فیبرها (نوک فلش‌ها) مشاهده گردید. این درحالی‌که منافذ دیواره‌ی سلول پارانشیمی خوابیده (فلش‌ها) سالم باقی ماندند (شکل ۴ ج، د). قارچ رنگین کمان با مصرف زیاد ترکیبات پلیمری سه‌گانه (لیگنین، سلولز و همی سلولز) سبب نازک شدن بیش از حد الیاف (فلش‌ها) در شرایط رطوبتی بالا شد. این امر سبب مصرف مواد پلیمری در لایه‌های اکثر فیبرها باعث نازک‌تر شدن الیاف شد. هم‌چنین وجود تغارهایی در نتیجه پارگی عناصر سلولی در اثر حمله‌ی قارچ بسیار مشهود است (ستاره‌ها). سلول‌های پارانشیمی محوری (نوک فلش) و خوابیده (فلش‌ها) نیز موردحمله قارچ مذکور قرار گرفتند. نتایج حاصل از این شرایط رطوبتی نشان می‌دهد که قارچ رنگین کمان سبب تخریب عظیمی در سلول‌های فیبری شد که این موضوع در ارتباط تغییرات رطوبت بسیار محسوس بود (شکل ۴ هـ و).

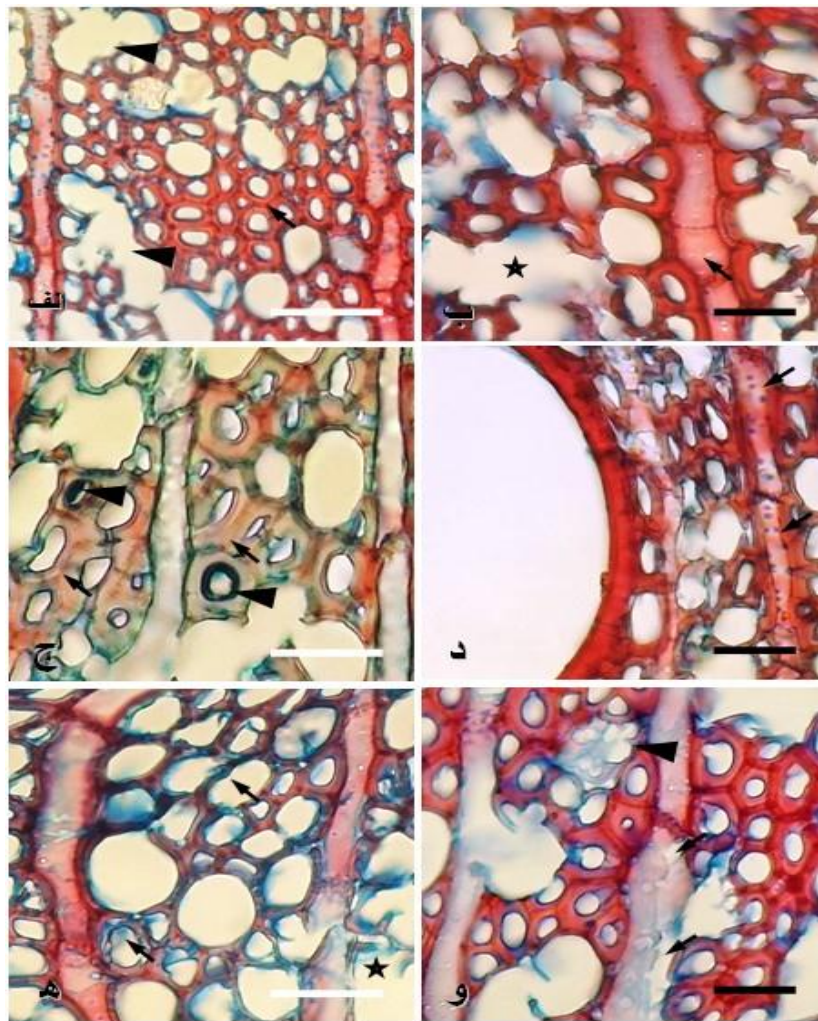
ارزیابی فعالیت قارچ رنگین کمان در شرایط مختلف دمایی و رطوبتی نشان داد که این قارچ از توان تخریبی فراوانی روی چوب بلوط برخوردار بود. رفتار قارچ در شرایط دمایی پایین (۱۰ درجه سانتی‌گراد) و متوسط (۲۰

درجه سانتی‌گراد) مشابه بوده و بهینه‌ترین شرایط رطوبتی برای فعالیت قارچ، رطوبت متوسط (۶۵ درصد) برآورد شد. با این حال، در دمای بالا (۳۰ درجه سانتی‌گراد) واکنش قارچ به تغییر رطوبت متفاوت شد. گزارش شده است که دمای بهینه برای رشد مسیلیوم‌های قارچ رنگین کمان (در محیط کشت)، ۲۴ درجه سانتی‌گراد است [۱۴]. با این حال، نقش رطوبت برای قارچ‌های پوسیدگی سفید مانند رنگین کمان در مقایسه با قارچ‌های مولد پوسیدگی قهوه‌ای مهم‌تر است [۱۵]. عوامل متعددی مانند دما، رطوبت، مقدار pH، نور و نوع بستره بر فعالیت‌های قارچ‌ها تأثیر دارند [۷، ۳، ۲]. از میان این عوامل، آب (رطوبت) عامل بسیار مهم و ابتدایی برای شروع پوسیدگی است [۱۶]. هنگامی که پوسیدگی اولیه در چوب آغاز گردید، دما نقش ثانویه در فعالیت‌های آنزیمی این گروه از قارچ‌ها بازی خواهد کرد [۱۷]. به‌طور کلی قارچ‌های پوسیدگی سفید از سیستم هیدرولیزی برای تخریب پیوندهای شیمیایی دیواره‌ی سلولی مواد لیگنوسلولزی استفاده می‌کنند؛ بنابراین آب نقش بسیار مهمی در سنتز آنزیم‌های اختصاص‌یافته‌ی قارچ‌ها دارد [۱۸]. علاوه بر این، بیش از ۹۰٪ از اندام قارچ از آب تشکیل شده و این ماده بستری برای پخش آنزیم‌ها نیز محسوب می‌شود. در پژوهش انجام‌شده توسط Bari و همکاران (۲۰۱۶) مشخص شد که رطوبت نقش مهمی در فعالیت‌های تخریبی قارچ رنگین کمان بازی می‌کند؛ به‌طوری‌که با کاهش میزان رطوبت از ۶۵ درصد به ۴۵ درصد رسید، فعالیت‌های تخریبی قارچ رنگین کمان کاهش پیدا کرد [۹]. پیش‌از این نیز نشان داده شده بود که رابطه‌ی قوی بین میزان کاهش وزن چوب‌ها و میزان رطوبت جذب‌شده در بلوک‌های چوبی قرارگرفته در برابر قارچ‌های مختلف وجود دارد [۳]. به‌طور خاص برای قارچ رنگین کمان، Cowling (۱۹۵۶) اعلام کرد هنگامی که مقدار رطوبت موجود در محیط کشت کاهش پیدا می‌کند، شدت تخریب نیز کم می‌شود [۱۹].

تصاویر میکروسکوپی یک راه ساده و مناسب برای تعیین میزان و نوع الگوهای تخریب چوب توسط عوامل مخرب‌اند [۲۰] چراکه در برخی از آزمایش‌ها مانند آنالیز شیمیایی و تعیین کاهش وزن، رفتار تخریبی عوامل مخرب قابل‌ردیابی نیستند و در مواردی نیز مشاهده گردید

که نسبت تغییرات شیمیایی صورت گرفته در ترکیبات دیواره‌های سلولی چوب راش به کاهش وزن بالای به دست آمده از سوی قارچ‌ها چندان زیاد نیست [۲۱]. این بدان معنی است که همواره تغییرات کاهش وزن در راستای مستقیم تخریب در میزان ترکیبات شیمیایی و نیز میکروسکوپی نیست. این موضوع به مصرف ترکیبات مواد استخراجی موجود در سلول‌های پارانشیمی برمی‌گردد که از نظر ترکیبات ساختاری چوب به شمار نمی‌آیند [۲۲]

که علی‌رغم کاهش وزن زیاد در نمونه‌های چوبی مورد حمله‌ی قارچ‌ها، تغییرات ترکیبات پلیمری آن‌طور که باید محسوس نیست. برای مثال، Faix و همکارانش (۱۹۹۱) نمونه‌های چوب راش را در معرض قارچ‌های رنگین‌کمان و صدفی قرار دادند و به ترتیب کاهش وزن‌هایی معادل ۵۱ و ۲۷ درصد برای هر دو قارچ به دست آوردند. در آنالیز شیمیایی صورت گرفته با استفاده از تکنیک طیف‌سنجی و کروماتوگرافی گازی مشخص گردید



شکل ۴- تصاویر میکروسکوپی نمونه‌های چوبی بلوط تخریب‌شده در برابر قارچ عامل پوسیدگی سفید رنگین‌کمان در شرایط دمایی ۳۰ درجه‌ی سانتی‌گراد و رطوبت‌های ۴۵ (الف، ب)، ۶۵ (ج، د)، ۸۵ درصد (و) پس از ۸ هفته‌ی معرض‌گذاری.

توسط قارچ‌های عامل پوسیدگی سفید تعریف گردیده است [۲۳]. قارچ رنگین‌کمان در تمامی شرایط آزمون (دما و رطوبتی) الگوی تخریب هم‌زمان را تولید نموده

دسته‌بندی‌های مختلفی مانند پوسیدگی سفید خورنده، پوسیدگی حفره‌ای، پوسیدگی سفید هم‌زمان و پوسیدگی یکنواخت برای الگوهای تخریبی برجای مانده

رطوبت‌های مختلف نداشته و همان‌طور که در دیگر پژوهش‌ها گزارش شده، رفتار تخریبی هم‌زمان را از خود بر جای گذاشته است.

نتیجه‌گیری

رفتار تخریبی قارچ رنگین‌کمان روی چوب بلوط در شرایط محیطی مختلف (دما و رطوبت) به مدت ۶۰ روز مورد ارزیابی قرار گرفت. از منظر شدت تخریب، رطوبت برای قارچ عامل مهم‌تری از دما بود. با آنکه میزان تخریب سلول‌های چوبی در شرایط مختلف معرض‌گذاری متفاوت بود اما نتایج میکروسکوپی نشان داد که این قارچ از استراتژی پوسیدگی سفید هم‌زمان در تمامی شرایط انکوباسیون پیروی می‌نماید. عوامل متعددی در تغییر رفتار تخریبی قارچ‌ها نقش دارند. درصد رطوبت، دما، اکسیژن و دی‌اکسید کربن از مهم‌ترین این عوامل اند [۲۶]. در این پژوهش، تغییر دما و رطوبت باعث تغییر استراتژی تخریب قارچ نشد ولی تأثیر دیگر عوامل بر این مسئله نیاز به پژوهش‌های مستقل دیگری دارد.

است. بر اساس گزارش‌ها [۲، ۱۵، ۱۷، ۲۰، ۲۴] قارچ رنگین‌کمان از تمامی مواد ساختمانی (لیگنین، سلولز و همی سلولز) به نسبت مساوی استفاده می‌کند. این نوع رفتار تخریبی قارچ سبب می‌گردد که لایه‌های دیواره‌ی فیبرها در اثر مصرف مواد پلیمری در آن‌ها نازک شوند [۱۵، ۲]. قارچ‌های عامل پوسیدگی سفید پیش از حمله به دیواره‌ی الیاف، از طریق سلول‌های پارانشیمی که به اصطلاح «ایستگاه سوخت» Bari و همکاران (۲۰۱۵) اطلاق می‌گردد، وارد چوب می‌شوند و پس از آن با توجه به نوع قارچ راه خود را به درون دیواره‌ی سلولی باز می‌کنند [۸، ۲۵]؛ بنابراین وجود حفرات و سوراخ‌ها روی دیواره‌ی سلول‌های پارانشیمی پدیده‌ای طبیعی برای خروج هیف‌های قارچ است [۳]. با ارزیابی نحوه تخریب عناصر سلولی در کلیه‌ی مراحل و شرایط، مشخص گردید هنگامی که پوسیدگی سفید هم‌زمان به وجود می‌آید، دیواره‌ی آوندی مورد حمله قرار گرفته و لایه‌های آن لاغر گردیده و رفته‌رفته تجزیه (ازهم‌پاشیده) می‌شوند. روی هم‌رفته، از تصاویر میکروسکوپی دیواره‌ی سلولی چوب بلوط مورد حمله نتیجه می‌شود که قارچ رنگین‌کمان هیچ‌گونه تغییر استراتژی قابل محسوسی را در دما و

منابع

- [1] Baldrian, P., 2008. Enzymes of saprotrophic basidiomycetes. In: Boddy, L., Frankland, J. C., Van West, P (Eds). Ecology of saprotrophic basidiomycetes. London: Academic Press/Elsevier. pp. 19–41.
- [2] Eaton, R. A and Hale, M. D., 1993. Wood: Decay, Pests and Protection. Chapman & Hall, New York, 546p.
- [3] Schwarze, F. W. M. R., Engels, J. and Mattheck, C., 2004. Fungal strategies of wood decay in trees, 2nd edn., Springer, Berlin Heidelberg New York, 196p.
- [4] Messner, K., Fackler, K., Lamaipis, P., Gindl, W., Srebotnik, E. and Watanabe, T., 2003. Overview of white-rot research: where we are Today. In: Goodell, B., Nicholas, D. D., Schulz, T. P (Eds). Wood deterioration and preservation. Advances in our changing world. ACS Symp Series 845. Am ChemSoc, Washington, DC pp, 73–96.
- [5] Goodell, B., Qian, Y. and Jellison, J., 2008. Fungal decay of wood: soft rot-brown rot-white-rot. In: Schultz, T., Nicholas, D., Miltz, H., Freeman, M. H., Goodell, B (eds) Development of commercial wood preservatives: efficacy, environmental, and health issues. ACS Symposium Series, c. 982, Washington, pp 9–31.
- [6] Landecker, E. M., 1996. Fundamentals of the Fungi. (translated by Hamid Mehravaran). Oromiye University Press, Iran, 522p. (In Persian).
- [7] Nicolas, D. D., 1973. Wood deterioration and its prevention by preservative treatments, Syracuse University, 379p.

- [8] Bari, E.; Nazarnezhad, N., Kazemi, S. M., Tajick Ghanbary, M. A., Mohebby, B., Schmidt, O. and Clausen, C. A., 2015. Comparison of degradation capabilities of the white rot fungi *Pleurotus ostreatus* and *Trametes versicolor*. *Int. Biodeterior. Biodegr.*, 104: 231–237.
- [9] Bari, E., Taghiyari, H. R., Naji, H. R., Schmidt, O., Ohno, M.K., Clausen, C. A. and Bakar, E.S., 2016., Assessing the Destructive Behavior of two White-rot Fungi on Beech Wood. *Int. Biodeterior and Biodegrad.* 114: 129-140.
- [10] Bari, E., Karim. M., Oladi, R., Tajick Ghanbary, M. A., Ghodskhah Daryaei, M., Schmidt, O., Benz, J. P. and Emaminasab, M., 2017. A comparison between decay patterns of the white- rot fungus *Pleurotus ostreatus* in chestnut-leaved oak (*Quercus castaneifolia*) shows predominantly simultaneous attack both in vivo and in vitro. *Forest pathology*. DOI: 10.1111/efp.1233.
- [11] Stienen, T.; Schmidt, O. and Huckfeldt, T., 2014: Wood decay by indoor basidiomycetes at different moisture and temperature. *Holzforschung*, 68: 9-15.
- [12] Bravery, A. F., 1978. A miniaturized wood-block test for the rapid evaluation of wood preservative Fungicides, International Research Group on Wood Protection.
- [13] EN 113. Wood Preservatives-determination of the Toxic Values against Wood Destroying Basidiomycetes Cultured on Agar Medium, 1997.
- [14] Chauhan, R., 2016. Optimization of physical parameters for the growth of a white rot fungus *Trametes versicolor*. *International Journal of Information Research and Review*, 3: 3125-3128.
- [15] Schmidt, O., 2006. *Wood and Tree Fungi-Biology, Damage, Protection and Use*. Springer, Berlin Heidelberg. 336 p.
- [16] Milton F. T., 1995: *The preservation of wood*. Minnesota Extension Service, 110p.
- [17] Zabel, R. A and Morrell, J. J., 1992. *Wood microbiology, Decay and its prevention*. Academic Press, London .476p.
- [18] Baldrian, P., 2008: Enzymes of saprotrophic basidiomycetes. In: *Ecology of saprotrophic basidiomycetes*. Ed. by Boddy, L., Frankland, J. C., Van West. and P. London: Academic Press/Elsevier, pp. 19–41.
- [19] Cowling, E. B., 1961. Comparative biochemistry of the decay of sweetgum sapwood by white-rot and brown-rot fungi. *Technical Bulletin*, Washington, 79p.
- [20] Schwarze, F. W. M. R., 2007. Wood decay under the microscope. *Fungal Biology Reviews*, 21: 133–170.
- [21] Faix, O., Bremer, J., Schmidt, O. and Stevanoviic J., 1991. Monitoring of chemical changes in white-rot degraded beechwood by pyrolysis-gas chromatography and Fourier-transform infrared spectroscopy. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 21:147–162.
- [22] Sjostrom, O., 1981. *Wood Chemistry: Fundamentals and Applications*. 2n ed. Academic Press, New York, 293p.
- [23] Otjen, L. and Blanchette, R. A., 1986. A discussion of microstructural changes in wood during decomposition by white rot basidiomycetes. *Canadian Journal of Botany*, 64:905-11.
- [24] Eriksson, K. E. L., Blanchette, R. A and Ander, P., 1990. *Microbial and enzymatic degradation of wood and wood components*. Springer, Berlin Heidelberg, New York, 407p.
- [25] Bari, E., Schmidt, O. and Oladi, R., 2015. A histological investigation of Oriental beech wood decayed by *Pleurotus ostreatus* and *Trametes versicolor*. *Forest Pathology*, 45: 349–357.
- [26] Schwarze, F.M.W.R and Fink, S., 1998. Host and cell type affects the mode of degradation by *Meripilus giganteus*. *New Phytol*, 139: 721–731.

Effect of environmental changes (temperature and moisture) on destructive behavior of the white rot fungus *Trametes versicolor* on chestnut-leaved oak

Abstract

The aim of this study was to determinate the destructive behaviors of the white rot fungus *Trametes versicolor* on oak at different ambient temperatures and moistures. Hence, test fungus was collected from Radar Poshte forest and after purification; it was verified in the NCBI by molecular method. Thereafter, the wood samples were cut and exposed to fungus for mass loss determination at three temperature (10, 20, 30°C) and three relative humidity levels (45, 65, 85%) for 8 weeks. Destructive patterns of decayed wood sample was also examined by microscopic method. The results indicated that a change in moisture content was more influential on destructive behavior of fungus than temperature. Moreover, 20°C of temperature and 65% of relative humidity was the optimal environment for fungal activations. On the other hand, the microscopic investigations showed that *Trametes versicolor* produce simultaneous whit rot at all exposing conditions. Hence, it can be concluded that a shift in destructive behavior of this fungus which has already been reported is influenced by environmental factors other than temperature and moisture content.

Key words: fungal destructive behavior, *Trametes versicolor*, simultaneous decay, oak.

M. karim¹
M. Ghodskhah Daryaei^{2*}
J. Torkaman³
R. Oladi⁴
M. A. Tjick Ghanbary⁵

¹ Ph.D. student, Department of forestry, Faculty of natural resources, University of Guilan, Guilan, Iran

² Associate prof., Department of forestry, Faculty of natural resources, University of Guilan, Guilan, Iran

³ Associate prof., Department of forestry, Faculty of natural resources, University of Guilan, Guilan, Iran

⁴ Associate prof., Department of wood science and technology, Faculty of natural resources, University of Tehran, Karaj, Iran

⁵ Associate prof., Department of mycology and plant pathology college of agronomic sciences, agriculture and natural resources university, Sari, Iran

Corresponding author:
mdaryaei9@gmail.com

Received: 2017/08/11
Accepted: 2017/09/27

