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

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

چکیده

هدف از این پژوهش، تعیین شدت تخریب قارچ عامل پوسیدگی سفید رنگین‌کمان روی چوب بلندمازو در دما و رطوبت‌های مختلف بود. قارچ موردنظر از جنگل جمع آوری و پس از خالص‌سازی با استفاده از تکنیک PCR خالص بودن آن در بانک جهانی NCBI تائید گردید. سپس، نمونه‌هایی از چوب بلندمازو بریده‌شده 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 برشدت 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 رنگین‌کمان در تمامی شرایط معرض‌گذاری، الگوی تخریب پوسیدگی هم‌زمان را تولید می‌نماید. ازاین‌رو، می‌توان نتیجه گرفت تغییر استراتژی تخریبی این قارچ از پوسیدگی هم‌زمان به انتخابی که پیش‌ازاین در برخی پژوهش‌ها گزارش شده بود به عواملی غیر از دما و رطوبت محیط وابسته است.

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

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 موردحمله قرار داده و لیگنین لایه میانی و گوشه سلول را تجزیه نمایند [۳]. قارچ‌های عامل پوسیدگی سفید هم‌زمان مانند قارچ رنگین‌کمان قادرند از تمامی ترکیبات ساختار شیمیایی چوب به یک نسبت تغذیه نمایند؛ بااین‌حال مصرف

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 دیده‌شده و یک قارچ پوسیدگی سفید بسته به شرایط- قابلیت ایجاد هر دو نوع الگوی پوسیدگی را دارد [۵]. بااین‌حال 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 ریز اقلیم مناسب شامل متغیرهای متعددی مانند دما، رطوبت، اکسیژن، نور، مقدار pH، نیتروژن و ماده‌ی زمینه بوده که تغییر هریک 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]. بااین‌حال، تأثیر عوامل محیطی مانند دما و رطوبت برشدت و الگوی تخریب، کمتر موردتوجه قرارگرفته است. ازآنجاکه 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. درعین‌حال 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 فعالیت های شیمیایی با هر ۱۰ درجه‌ی سانتی‌گراد افزایش، ده برابر و سرعت واکنش‌های آنزیمی برای هر ۱۰ درجه‌ی افزایش، دو برابر می‌شود. بااین‌حال، در حرارت‌های بالا فعالیت آنزیمی متوقف می‌گردد [۶].

دمای بهینه رشد قارچ‌ها متفاوت است اما بیشتر قارچ‌ها در دمای ۴۲-۵ درجه‌ی سانتی‌گراد را ترجیح می‌دهند [۵]. بااین‌حال، پیشرفت پوسیدگی در دما های 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 این‌حال، لازم است مناطق مختلفی از چوب موردبررسی قرار گفته 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 رنگین‌کمان داشته باشد اما اینکه به‌طور مشخص تغییر هرکدام از عوامل محیطی چه تأثیری بر رفتار این قارچ دارد تاکنون موردبررسی قرار نگرفته است [۸، ۹، ۱۰]. به‌طورکلی، در سال‌های اخیر مطالعات معدودی بر رفتارشناسی قارچ‌های عامل تخریب چوبی انجام گرفته است [۱۱]. ازاین‌رو هدف از این پژوهش، مطالعه‌ی ارزیابی توان تخریب و الگوی پوسیدگی قارچ عامل پوسیدگی سفید رنگین‌کمان 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 رنگین‌کمان بوده و علاوه بر این، تنوع سلولی در این پهن‌برگ بخش‌روزنه‌ای امکان ردیابی تغییرات ساختاری در بافت چوبی را نسبت به پهن‌برگان پرآکنده آوند- ساده‌تر می‌کند.

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

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری و خالص‌سازی قارچ

اندام بارده (کلاهک) قارچ رنگین‌کمان (*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]. پس‌ازآن پلیت‌های مادری تهیه و در دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شدند.

آماده‌سازی نمونه‌های چوبی و شرایط انکوباسیون

دیسک‌هایی برابرسینه از درختان بلندمازو (*Quercus castaneifolia*) تهیه و به مدت ۹۰ روز در زیر سایبان و در هوای آزاد خشک شدند. نمونه‌هایی به ابعاد ۳۰ ×۱۰ × ۵ میلی‌متر (طول، عرض، ضخامت) از برون‌چوب گونه بلوط بر اساس روش براوری (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 ریسه‌ها، از فاصله دوسوم شعاع پلیت های تهیه‌شده، قطعات کوچکی به ابعاد ۱۰×۱۰ 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 ریسه‌های قارچ و پوشش آن در سطح محیط کشت مالت اکستراکت آگار پتری دیش، نمونه‌های چوب تهیه‌شده 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 استاندارد EN-113, (۱۹۹۷) محاسبه شدند [۱۳]:

$$ML(\%) = \frac{M_i - M_d}{M_i} \times 100 \qquad (۱)$$

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 –ازنظر آماری- توسط آزمون تجزیه واریانس موردبررسی قرار گرفته و گروه‌بندی آن‌ها به کمک آزمون دانکن انجام گرفتند.

ارزیابی تخریب چوب موردحمله قارچ با میکروسکوپ نوری

جهت ارزیابی تخریب چوب موردحمله قارچ از نمونه‌های چوبی تخریب‌شده، بلوک‌های کوچکی به ابعاد ۸×۸×۸ میلی‌متر تهیه شدند و برش‌هایی به ضخامت ۱۵-۱۰ میکرومتر توسط میکروتوم از آن‌ها برداشته شدند [۸]. برش‌های تهیه‌شده با مخلوط سافرانین ۰/۵٪ و آسترابلو ۰/۳٪ رنگ‌آمیزی شدند و پس از قرارگیری لامل روی آن‌ها، با استفاده از چسب انتلان تثبیت شدند. آنگاه لام‌های تهیه‌شده به داخل دستگاه آون قرار داده شدند و برای جلوگیری از تولید حباب، روی هر یک از آن‌ها یک وزنه‌ی 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 موردبررسی، مشاهده و عکس‌برداری قرار داده شدند.

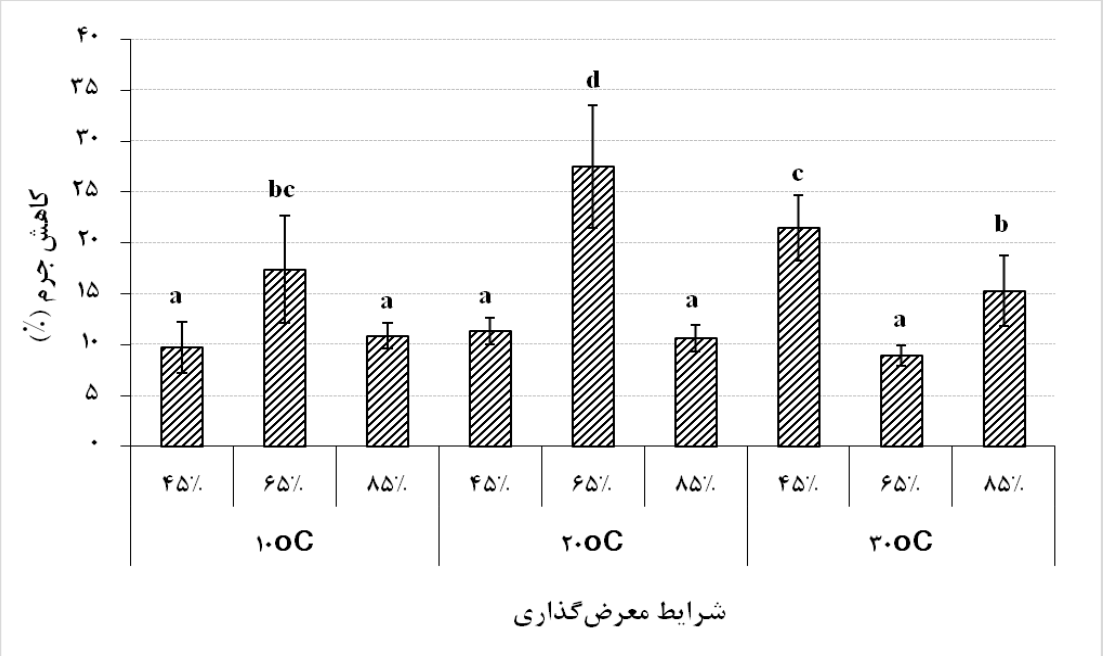
نتایج و بحث

کاهش وزن

بر اساس نتایج حاصله (شکل ۱)، اختلاف کاهش وزن بین نمونه‌های تیمار شده با قارچ رنگین‌کمان در شرایط معرض‌گذاری مختلف، قابل‌مشاهده است. نتایج حاصل از آزمون تجزیه واریانس نشان داد که اثر مستقل دما بر کاهش جرم نمونه‌های چوبی در سطح ۵٪ معنی‌دار نبود

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



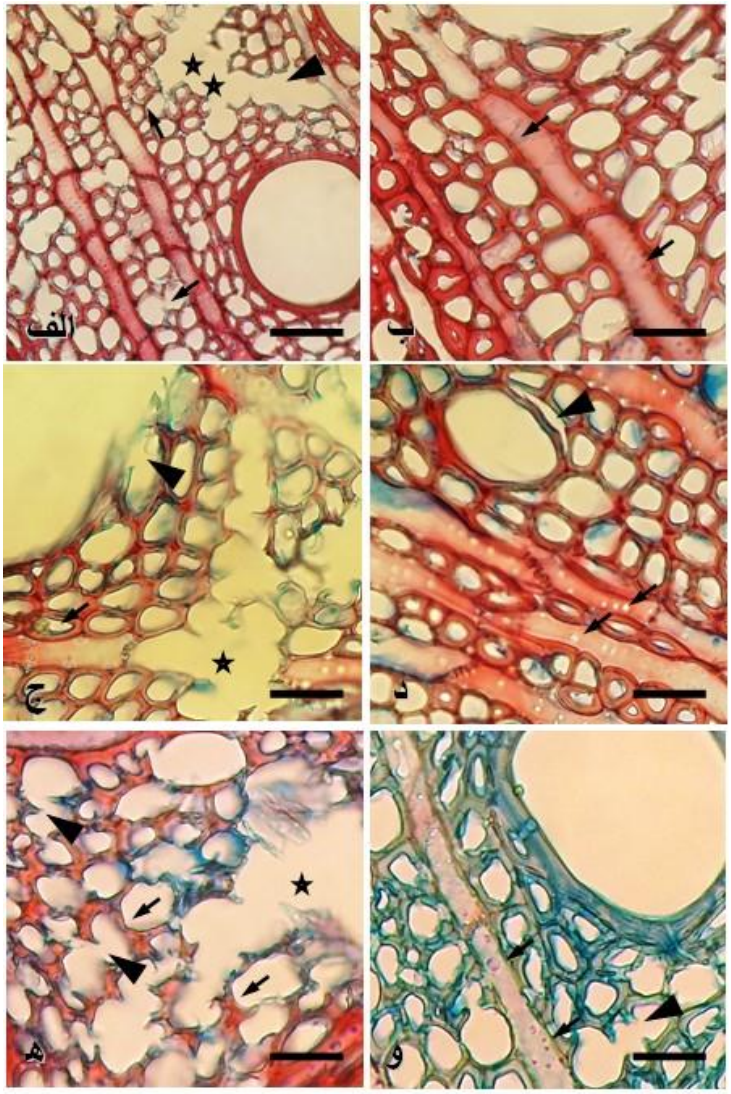
شکل ۱- کاهش وزن نمونه‌های چوب بلوط پس از ۸ هفته قرار گرفتن در معرض قارچ رنگین‌کمان در شرایط دمایی و رطوبتی مختلف. حروف انگلیسی گروه‌بندی دانکن را نشان می‌دهند.

ارزیابی میکروسکوپی

شرایط دمایی پایین (۱۰ درجه سانتی‌گراد)

الگوهای تخریبی میکروسکوپی چوب تخریب‌شده‌ی بلوط در برابر قارچ رنگین‌کمان در شرایط دمایی ۱۰ درجه‌ی سانتی‌گراد و رطوبت‌های ۴۵، ۶۵ و ۸۵ درصد در شکل ۲ آمده است. قارچ رنگین‌کمان با تخریب تدریجی لایه‌های دیواره‌ی سلولی (فلش‌ها) سبب نازک شدن و پارگی دیواره‌ی بین الیاف شده است (نوک فلش) که این امر درنهایت موجب تولید تغارهایی (ستاره) در بین الیاف گردیده است (شکل ۲ الف). بااین‌حال، سلول‌های پره‌ی چوبی در این حالت سالم مانده‌اند. به‌طوری‌که منافذ دیواره‌ای (فلش‌ها) آن آسیبی وارد نگردیده است (شکل ۲ ب). از سوی دیگر، قارچ رنگین‌کمان قادر بود مرز بین دیواره‌ی الیاف و دیواره‌ی آوندی چوب بلوط را موردحمله قرار دهد و سبب گسستن آن‌ها گردد (نوک فلش). هم‌چنین نازک شدن بیش‌ازحد دیواره‌ی سلولی موجب گردید تا شکاف‌های عمیقی (ستاره) بین الیاف تشکیل گردد (شکل ۲ ج). هم‌چنین قارچ رنگین‌کمان 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. به‌طوری‌که نازک شدن دیواره‌ی سلولی (فلش‌ها)، پارگی متوالی دیواره‌ی فیبرها (نوک فلش‌ها) و درنهایت فضاهای توخالی (ستاره) را ایجاد نمود. نشانه‌های خوردگی شدید الیاف

گواه بر تخریب شدید پوسیدگی سفید هم‌زمان را به دنبال دارد (شکل ۲ هـ و). به‌طورکلی قارچ موردبررسی در شرایط دمایی پایین میزان کاهش وزن قابل‌توجهی در رطوبت 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.

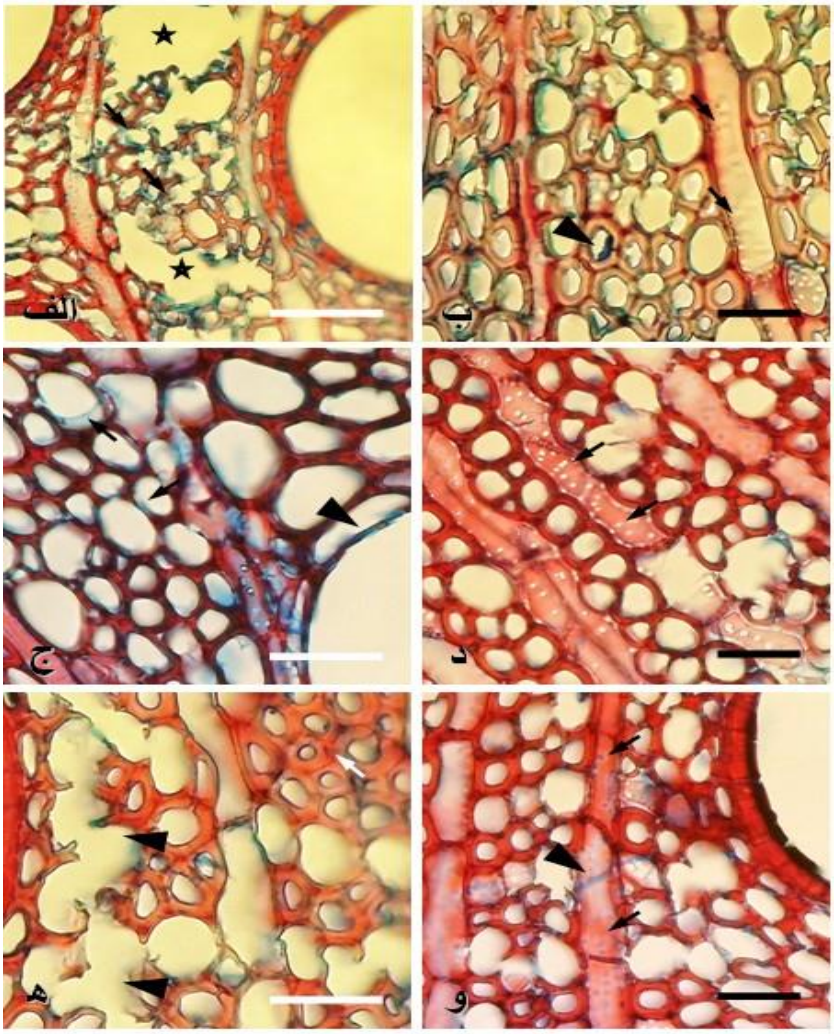


شکل ۲- تصاویر میکروسکوپی نمونه‌های چوبی بلوط تخریب‌شده در برابر قارچ عامل پوسیدگی سفید رنگین‌کمان در شرایط دمایی ۱۰ درجه‌ی سانتی‌گراد و رطوبت‌های ۴۵ (الف، ب)، ۶۵ (ج، د) ۸۵ درصد (هـ و) پس از ۸ هفته معرض‌گذاری.

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 موردحمله‌ی قارچ رنگین‌کمان که درنتیجه 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

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. ازاین‌رو قارچ رنگین‌کمان 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 هم‌زمان‌شده است (شکل ۳ ج، د). الگوهای تخریبی عناصر سلولی چوب بلوط قرار گرفته در شرایط رطوبتی بالا نشان می‌دهد که تخریب اندکی صورت گرفته است. به‌طوری‌که لایه‌های دیواره‌ی سلولی در اکثر سلول‌ها تقریباً دست‌نخورده باقی‌مانده‌اند (فلش‌ها). بااین‌حال عبور هیف‌های قارچ رنگین‌کمان و به دنبال آن ترشح آنزیم‌های آن‌ها سبب پارگی برخی از دیواره‌ی الیاف و نیز عمدتاً سلول‌های پارانشیمی محوری شده است (نوک فلش‌ها). درحالی‌که سلول‌های پارانشیمی خوابیده دست‌نخورده باقی‌مانده‌اند (فلش‌ها) (شکل ۳ هـ و). این حالت نشان می‌دهد که قارچ رنگین‌کمان الگوهای تخریبی هم‌زمان را در شرایط رطوبتی بالا روی نمونه‌های چوب بلوط به وجود آورده است.



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

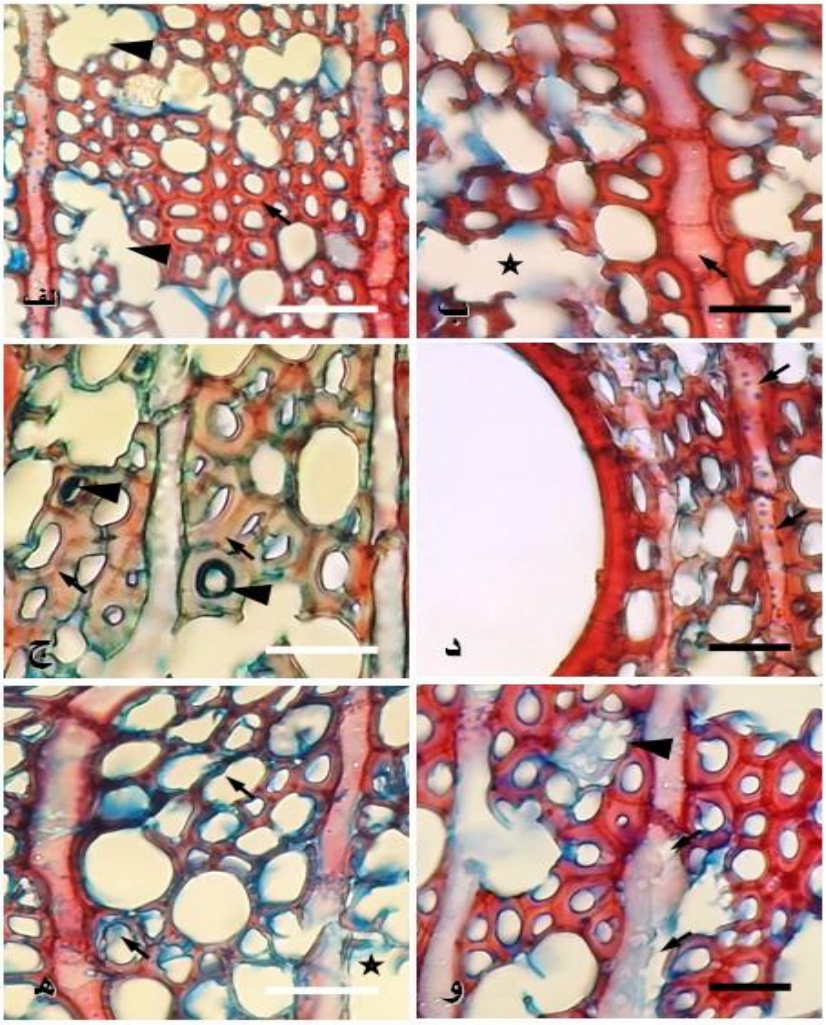
شرایط دمایی بالا (۳۰ درجه سانتی‌گراد)

نتایج حاصل از الگوهای میکروسکوپی تخریب عناصر سلولی ناشی از حمله‌ی قارچ عامل پوسیدگی سفید رنگین‌کمان 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 رنگین‌کمان 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 رنگین‌کمان 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 دیواره‌ای سلول پارانشیمی خوابیده (فلش‌ها) سالم باقی ماندند (شکل ۴ ج، د). قارچ رنگین‌کمان با مصرف زیاد ترکیبات پلیمری سه‌گانه (لیگنین، سلولز و همی‌سلولز) سبب نازک شدن بیش‌ازحد 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 درنتیجه 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 رنگین‌کمان سبب تخریب عظیمی در سلول‌های فیبری شد که این موضوع در ارتباط تغییرات رطوبت بسیار محسوس بود (شکل ۴ هـ و).

ارزیابی فعالیت قارچ رنگین‌کمان 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. بااین‌حال، در دمای بالا (۳۰ درجه سانتی‌گراد) واکنش قارچ به تغییر رطوبت متفاوت شد. گزارش شده است که دمای بهینه برای رشد مسیلیوم‌های قارچ رنگین‌کمان (در محیط کشت)، ۲۴ درجه سانتی‌گراد است [۱۴]. با این‌حال، نقش رطوبت برای قارچ‌های پوسیدگی سفید مانند رنگین‌کمان 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]. هنگامی‌که پوسیدگی اولیه در چوب آغاز گردید، دما نقش ثانویه در فعالیت‌های آنزیمی این گروه از قارچ‌ها بازی خواهد کرد [۱۷]. به‌طورکلی 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 براین، 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 رنگین‌کمان بازی می‌کند؛ به‌طوری‌که با کاهش میزان رطوبت از ۶۵ درصد به ۴۵ درصد رسید، فعالیت‌های تخریبی قارچ رنگین‌کمان کاهش پیدا کرد [۹]. پیش‌ازاین نیز نشان داده شده بود که رابطه‌ای 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 رنگین‌کمان، Cowling (۱۹۵۶) اعلام کرد هنگامی‌که 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

کـه علـی‌رغـم کـاهش وزن زیـاد در نمونـه‌هـای چـوبی موردحمله‌ی قارچ‌ها، تغییرات ترکیبات پلیمری آن‌طور که بایـد محسـوس نیسـت. بـرای مثـال، Faix و همکـارانش (۱۹۹۱) نمونـه‌هـای چـوب راش را در معـرض قـارچ‌هـای رنگـین‌کمـان و صـدفی قـرار دادنـد و بـه ترتیـب کـاهش وزن‌هایی معـادل ۵۱ و ۲۷ درصـد بـرای هـر دو قـارچ بـه دست آوردند. در آنالیز شیمیایی صورت گرفته با استفاده از تکنیک طیف‌سنجی و کروموتوگرافی گازی مشخص گردید که نسبت تغییـرات شـیمیایی صـورت گرفتـه در ترکیبـات دیـواره‌ای سـلولی چـوب راش بـه کـاهش وزن بـالای به‌دست‌آمده از سوی قارچ‌ها چندان زیاد نیست [۲۱]. ایـن بـدان معنـی اسـت کـه همـواره تغییـرات کـاهش وزن در راستای مستقیم تخریب در میزان ترکیبات شیمیایی و نیز میکروسکوپی نیست. این موضوع به مصرف ترکیبات مـواد استخراجی موجود در سلول‌های پارانشیمی برمی‌گردد کـه ازنظر ترکیبات ساختاری چوب به شمار نمی‌آیند [۲۲]



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 (هـ و) پس از ۸ هفته معرض‌گذاری.

دسـته‌بنـدی‌هـای مختلفـی ماننـد پوسـیدگی سـفید خورنده، پوسیدگی حفره‌ای، پوسیدگی سـفید هـم‌زمـان و پوسیدگی یکنواخت برای الگوهای تخریبـی برجـای‌مانـده توسط قارچ‌های عامـل پوسـیدگی سـفید تعریـف گردیـده است [۲۳]. قارچ رنگین‌کمـان در تمـامی شـرایط آزمـونی (دما و رطوبتی) الگوی تخریـب هـم‌زمـان را تولیـد نمـوده

است. بر اساس گزارش‌ها [۲, ۱۵, ۲۴,۲۰,۱۷] قارچ رنگین‌کمان از تمامی مواد ساختمانی (لیگنین، سلولز و همی‌سلولز) 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 به‌اصطلاح «ایستگاه سوخت» Bari و همکاران (۲۰۱۵) اطلاق می‌گردد، وارد چوب می‌شوند و پس‌ازآن با توجه به نوع قارچ راه خود را به درون دیواره‌ی سلولی باز می‌کنند [۲۵,۸]؛ 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 هنگامی‌که پوسیدگی سفید هم‌زمان به وجود می‌آید، دیواره‌ی آوندی موردحمله قرارگرفته و لایه‌های آن لاغر گردیده و رفته‌رفته تجزیه (ازهم‌پاشیده) می‌شوند. روی‌هم‌رفته، از تصاویر میکروسکوپی دیواره‌ی سلولی چوب بلوط موردحمله نتیجه می‌شود که قارچ رنگین‌کمان هیچ‌گونه تغییر استراتژی قابل محسوسی را در دما و 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. باآنکه 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 متعدی در تغییر رفتار تخریبی قارچ‌ها نقش دارند. درصد رطوبت، دما، اکسیژن و دی‌اکسید کربن از مهم‌ترین این عوامل‌اند [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.

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., Militz, 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 decomposion 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. karim[1]
M. Ghodskhah Daryaei[2]*
J. Torkaman[3]
R. Oladi[4]
M. A. Tjick Ghanbary[5]

[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