

اثر چند قارچکش بر شدت تنفسی میسلیم قارچ

Sclerotinia sclerotiorum (Lib.) de By.

عباس شریفی-تهرانی

دانشیار گروه گیاه پزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران-کرج

تا ریخ و صول، چهاردهم آبان ماه ۱۳۶۲

چکیده

در این بررسی اثر ۵ قارچکش آلی و سیستمیک (زینب^۱ - کاپتان^۲ - پی سی ان بی^۳ - پی سی ان بی^۴ + ترازول و بنومیل^۵) بر شدت تنفسی (اکسیژن جذب شده) میسلیم قارچ اسکروتینیا اسکروتیوروا^۶ مورد آزمایش قرار گرفت . میسلیم قارچ که از طوقه گیاه آفتابگردان آلوده جدا شده بود، روی محیط های جامد و مایع متحرک کشت داده شد . اثر غلظت یک در هزار قارچکشا بر شدت تنفسی میسلیم، در زمانهای ۴ ساعت و ۲۴ ساعت پس از آغشتگی میسلیم به سموم باروش مانومتری (با دستگاه واربرگ)^۶ اندازه گیری شد . نتایج بدست آمده نشان داد که قارچکشاها از نظر تاثیر بر شدت تنفسی میسلیم قارچ مزبور در دو گروه مختلف قرار دارند .

تعدادی از آنها شدت تنفسی را بشدت کاهش می دهند که در این گروه ، زینب ، کاپتان و پی سی - ان بی + ترازول قرار دارد . گروه دیگری بر شدت تنفسی میسلیم قارچ بی اثر بوده و یا در بعضی موارد باعث افزایش آن شده اند که شامل بنومیل و پی سی ان بی می شود .

مقدمه

آگاهی به واکنش این موجودات پیچیده ، یعنی قارچها در مقابل سموم باعث می شود که در مصرف این ترکیبات آگانه عمل شده و از آنها بطور صحیح استفاده شود . بنا به مطالب فوق در پی آزمایشها^۱ که در مورد اثر چند سم قارچکش روی رشد میسلیم و قدرت بیماریزائی قارچ اسکروتینیا اسکروتیوروا^۲

بررسی اثر سموم قارچکش روی پدیده های فیزیولوژیک قارچها از مدت ها قبل مورد توجه محققین و دانشمندان بیماریهای گیاهی قرار گرفته و نتایج جالبی در این زمینه بدست آمده است . انجام این بررسیها صرف نظر از توسعه دانش بشری و

1- Zineb

3- PCNB

5- Benomyl

2-Captan

4-PCNB+ Terrazole

6-Warburg

- ۱- زینب (پودروتابل ۸۰ درصد) بانام تجارتي دیتان زد^۴ ۰۷۸.
- ۲- کاپتان (پودروتابل ۵۰ درصد) بانام تجارتي ارتوساید^۵ ۰۵۰.
- ۳- پیسیان بی (پودروتابل ۷۵ درصد) بانام تجارتي تراکلر^۶.
- ۴- پیسیان بی + ترازول (امولسیون ۲/۲۳+^۷ ۵/۸ درصد) بانام تجارتي تراکلرسوپرایکس.
- ۵- بنومیل (پودروتابل ۶۵ درصد) بانام تجارتي بنلایت^۸.
- میسلم قارج که از طوقه گیاه آفتابگردان آلوده جدا شده بود، به دوروش زیرکشت داده شد:
- ۱- کشت قارج روی محیط کشت مایع متحرک: در این مورد از روش بورک هولدر و ادموند (۱) استفاده شد. بدین ترتیب که قطعات کوچکی از میسلم قارج در داخل محیط کشت مایع مالت ۴ درصد که قبلاً استریل شده بود، قرار داده شد. شیشه های ارلن مایر حاوی محیط کشت و میسلم روی بهم زن، در داخل حمام ماری با حرارت ۲۵ درجه سانتیگراد گذاشته شد، بعد از ۵ روز توده های کوچک میسلمی تشکیل شد که پس از جدا کردن آنها از محیط کشت و شستشو با آب مقطر استریل برای آزمایش آماده شد.

۲- کشت قارج روی محیط کشت جامد:

در این مورد از محیط کشت مالت آگار

انجام گرفت (۲)، برای اینکه چگونگی تاثیر این سموم روشن تر شود لازم بنظر می رسید که آزمایشهای دقیقتری بعمل آید، بدینجهت آزمایش مشروحه زیر که بررسی اثر ۵ سم قارجکش بر شدت تنفسی میسلم قارج مزبور است انجام شد. در مورد اثر قارجکشها بر شدت تنفسی قارچهای مختلف بررسیهای زیادی صورت گرفته که به برخی از آنها که مربوط به دسته قارجکشهای مورد آزمایش می باشد اشاره می شود:

کلوپینک و وان در کرک (۷) در بررسیهای خود نشان دادند که دی تیوکا ربا ماتها باعث کاهش مقدار اکسیژن جذب شده توسط قارج پنسیلیم ایتالیکوم^۲ می شوند. دمو (۵) اثر تعدادی از قارجکشها را روی مقدار اکسیژن جذب شده توسط مخمرها مورد مطالعه قرار داده و به این نتیجه رسیده است که دی تیوکا ربا ماتها باعث کاهش جذب اکسیژن می شوند.

شریفی تهرانی و شانکویین (۳) در بررسیهای خود به این نتیجه رسیده اند که کاپتان باعث کاهش جذب اکسیژن در میسلم قارج بوتری تیس سینه رآ^۳ می شود، در صورتیکه پیسیان بی آنرا افزایش می دهد.

مواد و روشها

در این آزمایش از قارجکشهای مشروحه زیر

استفاده شد:

1- Dithiocarbamates

3- Botrytis cinerea

5- Orthocide 50

7- Terrachlor super X

2- Penicillium italicum

4- Dithan Z 78

6- Terrachlor

3- Benlate

ی
هر دو فرم میسلیمی با سم انجام شد. در مورد توده‌ها میسلیمی، اندازه‌گیری دیگری نیز ۲۴ ساعت بعد از آغشته شدن به سم صورت گرفت، ولی این آزمایش بعلت وجود محیط کشت و امکان رشد قارچ در مدت ۲۴ ساعت روی حلقه‌های میسلیمی انجام نگرفت. کلیه آزمایش‌ها سه بار و هر بار در سه تکرار انجام شد.

نتایج

نتایج این آزمایش در جدول ۱، ۲، ۳ و ۴ خلاصه شده است. جدول ۱ تا ۳ شدت تنفسی میسلیم شاهد و تیمار شده را در دو فرم مختلف میسلیمی و در زمان‌های ۴ و ۲۴ ساعت بعد از آغشته‌گی نشان می‌دهند. برای اینکه میزان کاهش و یا افزایش شدت تنفسی در میسلیم‌های تیمار شده نسبت به میسلیم شاهد معلوم شود، حاصل تقسیم شدت تنفسی میسلیم‌های تیمار شده به میسلیم شاهد محاسبه شد که در جدول شماره ۴ آمده است.

نتایج حاصل شامل مطالب زیر است:

- ۱- سه قارچکش کاپتان، پی‌سی‌ان بی‌ترازول و زینب، شدت تنفسی میسلیم آغشته به این سموم را در هر دو فرم میسلیمی به شدت کاهش می‌دهند، این کاهش در فرم توده میسلیمی کمی شدیدتر بوده و سم پی‌سی‌ان بی + ترازول شدت تنفسی را در توده میسلیمی به صفر تقلیل می‌دهد.
- ۲- دو قارچکش بنومیل و پی‌سی‌ان بی در فرم حلقه میسلیمی تاثیر بر شدت تنفسی نداشته ولی در فرم توده میسلیمی بعد از ۴ ساعت آغشته‌گی باعث افزایش آن شده‌اند.

استفاده شد. محیط کشت پس از استریل شدن به مقدار ۹ سانتی‌متر مکعب در داخل طشتک پتری استریل ریخته شد و پس از انعقاد بوسیله قطعه‌ای از میسلیم قارچ که در مرکز آن قرار گرفت، مایه زنی شد. طشتکها را در حرارت ۲۵ درجه سانتیگراد قرار داده و پس از ۵ روز، از آخرین حلقه رشدی میسلیم، قطعات دائره‌ای شکل بقطر ۱ سانتی‌متر که شامل میسلیم و محیط کشت بود، جدا شد.

ی
اندازه‌گیری شدت تنفسی بوسیله روش مانومتر (بادستگاه واربورگ) و در حرارت ۲۵ درجه سانتیگراد بعمل آمد.

آغشته‌گی میسلیم با قارچکشان نیز بنا به فرم میسلیمی به دو روش مختلف صورت گرفت. در مورد توده‌های میسلیمی بدست آمده از محیط کشت مایع آنها را به تعداد ۵ عدد داخل ظرف واربورگ قرار داده و ۱/۵ سانتی‌متر مکعب از غلظت یک در هزار قارچکش (۱×۱۰^{-۳} از ماده موثره سم) به آن اضافه شد، ولی در مورد دایره‌های میسلیمی امکان اضافه کردن سم روی آنها در داخل ظرف واربورگ موجود نبود و در نتیجه آغشته‌گی در خارج از ظرف و بشرح زیر انجام گرفت:

پانزده حلقه میسلیمی را که برای ۳ تکرار در نظر گرفته شده بود در داخل طشتک پتری قرار داده و روی آنها ۲۰ سانتی‌متر مکعب از غلظت یک در هزار قارچکش اضافه شد. بعد از ۱۵ دقیقه حلقه بصورت ۵ عددی در داخل ظرف واربورگ گذاشته شد.

اندازه‌گیری شدت تنفس (مقدار اکسیژن جذب شده) بعد از گذشت ۴ ساعت از آغشته شدن

جدول ۱- شدت تنفسی (اکسیژن جذب شده به میکرولیتر بر حسب سانتیمتر مربع دایره های میسلیمی در ساعت) پس از ۴ ساعت آغستگی، میانگین ۳ تکرار

دفعات آزمایش	شاهد	زینب	کاپتان	پیسیان بی+ ترازول	بنومیل	پیسیان بی
آزمایش اول	۱۹/۳	۷/۱	۳/۱	۵/۷	۲۲/۹	۱۸/۱
آزمایش دوم	۲۲/۱	۷/۳	۲/۷	۴/۹	۲۳/۴	۱۹/۴
آزمایش سوم	۱۸/۴	۷/۸	۲/۶	۵/۵	۲۱/۸	۱۸/۷
میانگین	۱۹/۹۳	۷/۴	۲/۸	۵/۳۷	۲۲/۷	۱۸/۷۳

جدول ۲- شدت تنفسی (اکسیژن جذب شده به میکرولیتر بر حسب میلی گرم ماده خشک توده میسلیمی در ساعت) پس از ۴ ساعت آغستگی، میانگین ۳ تکرار

دفعات آزمایش	شاهد	زینب	کاپتان	پیسیان بی+ ترازول	بنومیل	پیسیان بی
آزمایش اول	۳/۱	۰/۷۴	۰/۲۷	۰	۳/۹	۳/۶
آزمایش دوم	۲/۹	۰/۸۲	۰/۲۵	۰	۴/۷	۳/۹
آزمایش سوم	۳/۴	۰/۷۷	۰/۳۲	۰	۴/۳	۳/۸
میانگین	۳/۱۳	۰/۷۸	۰/۲۸	۰	۴/۳	۳/۷۷

جدول ۳- شدت تنفسی (اکسیژن جذب شده به میکرولیتر بر حسب میلی گرم ماده خشک توده میسلیمی در ساعت ۱ پس از ۲۴ ساعت آغشتگی - میانگین ۳ تکرار

پی‌سی‌ان بی + بنومیل	پی‌سی‌ان بی	کاپتان	زینب	شاهد	دفعات آزمایش
ترازول					
۲/۵	۲/۲	۰	۰/۲۸	۰/۳۸	آزمایش اول ۲/۷
۲/۶	۲/۸	۰	۰/۲۶	۰/۴۵	آزمایش دوم ۲/۴
۲/۳	۲/۵	۰	۰/۳۳	۰/۴۲	آزمایش سوم ۲/۹
۲/۴۶	۲/۵	۰	۰/۲۹	۰/۴۵	میانگین ۲/۶۷

جدول ۴- نسبت میانگین کل شدت تنفسی میسلیمهای تیمار شده به شاهد

پی‌سی‌ان بی	بنومیل	پی‌سی‌ان بی +	کاپتان	زینب	نوع تیمار
ترازول					
۰/۹۴	۱/۱۴	۰/۲۲	۰/۱۴	۰/۳۲	دایره‌های میسلیمی بعد از ۴ ساعت آغشتگی
۱/۲	۱/۳۷	۰	۰/۰۹	۰/۲۵	توده‌های میسلیمی بعد از ۴ ساعت آغشتگی
۰/۹۲	۰/۹۳	۰	۰/۱۱	۰/۱۷	توده‌های میسلیمی بعد از ۲۴ ساعت آغشتگی

دارای بنیان اس-^۳ هاش هستند، بیشتر است و در نتیجه باعث جمع شدن پیروویت می‌شوند.^۴ همچنین اوزن و نووتنی (۸) چنین نتیجه گرفته اند که کاپتان باعث ممانعت از فعالیت کوآنزیم آ^۵ می‌شود.

دسته دوم (پیسیان بی و بنومیل) تاثیر دیگری دارند. این سموم بر شدت تنفسی میسلیم قارچ یا بی تاثیر بوده و یا باعث افزایش آن می‌شوند و در نتیجه این دو از جمله سمومی می‌باشند که باعث جدا شدن یا دکوپلاژ^۶ عمل تنفس از پدیده فسفوریلاسیون اکسیداتیو می‌شوند (۶)، یعنی جلوگیری از تشکیل اتی پی^۸ باعث عدم رشد قارچ شده، ولی تاثیر بر شدت تنفسی ندارند و حتی باعث بالا رفتن آنهم می‌شوند. این نوع قارچکشا معمولا " دارای اثر فونژی سید^۹ نبوده، بلکه فونژیستاتیک^{۱۰} می‌باشند، یعنی باعث مرگ قارچ نمی‌شوند بلکه از رشد و نمو آن جلوگیری می‌کنند. از نظر کاربرد باید دقت داشت که این چنین سموم زمانیکه تماس با قارچ دارند موثر می‌باشند و موقعیکه این تماس قطع شود قارچ قادر خواهد بود بفعالیت خود ادامه دهد.

۳- در مورد سه قارچکش کاپتان، پیسیان بی + ترازول وزینب بین شدت های تنفسی در دو زمان آغشتگی مختلف (۴ ساعت و ۲۴ ساعت) تفاوت های چندانی نیست، و فقط شدت تنفسی آغشته به زینب بعد از ۲۴ ساعت کاهش بیشتری نشان می‌دهد. میسلیم آغشته به سموم بنومیل و پیسیان بی بعد از ۲۴ ساعت افزایش نشان نداده و تقریبا " مشابه شاهد بوده است.

بحث

از نتایج حاصل چنین نتیجه می‌شود که چگونگی تاثیر این سموم با یکدیگر متفاوت است. دسته اول (کاپتان، پیسیان بی + ترازول وزینب) از جمله سمومی هستند که روی آنزیمهای تنفسی موثر بوده و با ممانعت از فعالیت آنها باعث توقف شدت تنفسی در قارچ می‌شوند. دیوید (۴) در آزمایش خود به این نتیجه رسید که جذب اکسیژن و فعالیت آنزیم تریوز فسفات دهیدروژناز^۱ در مخمرها در اثر یکی از ترکیبات دی تیوکاربامات (تتراتیل تیورام دی سولفاید)^۲ کاهش می‌یابد. سیچپس تی جن و وان در کرک (۹) نشان داده اند که دی تیو- کارباماتها روی آنزیمهای تنفسی قارچها اثر می‌کنند و مخصوصا " این اثر روی آنزیمهای که

1- Triosphosphate dehydrogenase

3- SH

5- Coenzym A

7- Phosphorylation oxydative

9- Fongicide

2- Tetraethylthiuram disulfide

4- Pyruvate

6- Découplage

8- ATP

10- Fongistatique

REFERENCES

مراجع مورد استفاده

- 1- Burkholder P.R. & W.S. Edmond. 1945. Morphogenesis of fungus colonies in submerged cultures. *Am. J. Bot.* Vol. 32: 424-431.
- 2- Sharifi Tehrani, A. 1974. Influence de quelques fongicides sur la croissance du mycellium et le pouvoir Pathogène de Sclerotinia sclerotiorum (Lib.) de By. *Phytiatrie Phytopharmacie*, Vol. 23: 189-192.
- 3- Sharifi Tehrani, A. & M. Chancogne. 1970. Influence de substitutions nitrées et aminées dans le noyau benzénique sur le développement de Botrytis cinerea Pers. *Phytiatrie Phytopharmacie*, Vol. 19: 27-32.
- 4- David, I. 1951. Action of tetraethylthiuram disulfid T.T.D upon the oxygen consumption, the anaerobic glycolysis and the dehydrogenase activity of bread yeast. *Acta Vitaminal*, Vol. 4: 23.
- 5- Demeaux, M. 1968. Influence de quelques pesticides sur diverses souches de levures du vin. Thèse, Univ. de Paris.
- 6- Deysson, G. 1966. *Physiologie et biologie des plantes vasculaires*. Tome III, Iere partie. Sades Paris, Paris: 289 PP.
- 7- Klopping, H.L. & G.J.M. Van Der Kerk. 1951. Investigations on organic fungicides. IV. Chemical constitution and fungistatic activity of dithiocarbamates, thiuram, disulfides, and structurally related compounds. *Rec. Trav. Chim.*, Vol. 70: 917-939.
- 8- Owens, R.G. & H.M. Novotny. 1960. Mechanism of action of the fungicide Captan. *Contr. Boyce Thomps Inst.* Vol. 20: 171-190.

9- Sijpesteijn, A.K. & G.Y.M. Van der Kerk. 1956. Investigation on organic fungicides.

Pyruvic acid accumulation and its relation to the phenomenon of inversion growth as affected by sodium dimethyldithiocarbamate. Bioche. Biophys. Acta, Vol. 19: 280.

Effect of Different Fungicides on Respiration Rate of the Mycelium
of Sclerotinia sclerotiorum(Lib.)de By.

A.SHARIFI TEHRANI

Associate Professor,Department of Plant Protection,College of
Agriculture,University of Tehran , Karaj , Iran .

Received for publication,November 5, 1983

ABSTRACT

The effect of five different organic and systemic fungicides (Zineb,Captan, PCNB, PCNB+ Terrazol, Benomyl)on respiration rate of the mycelium of Sclerotinia sclerotiorum was studied.

This research was performed on the myceliums isolated from the collar of sunflower plant,then cultivated on solid and shaking liquid media.The effect of $\frac{1}{1000}$ dose of each fungicide on the respiration rate of myceliums after 24 hours exposure was measured using the Warburg-Barcroft apparatus (Manometric technique).

The results showed that the fungicides can be catagorized in two different groups concerning their effects on the respiration rate of myceliums.Some of them such as Zineb,Captan and PCNB+ Terrezol decreased the respiration rate,whereas,the others such as PCNB and Benomyl had either no effect or in some cases caused an increase of the respiration rate.