دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
مجله پژوهش‌های تولید گیاهی
جلد شانزدهم، شماره سوم، ۱۳۸۸
www.gau.ac.ir/journals

مقایسه ابعاد پریتسیوم دو گونه قارچ عامل بیماری مرگ نارون (*Ophiostoma ulmi* و *O. novo-ulmi*)

***میرمعصوم عراقی[۱] و کامران رهنما[۲]**
[۱]دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد گروه گیاهپزشکی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان،
[۲]دانشیار گروه گیاهپزشکی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
تاریخ دریافت: ۸۶/۸/۲۳ ؛ تاریخ پذیرش: ۸۷/۷/۱۶

چکیده

بیماری مرگ نارون یکی از مخرب‌ترین بیماری‌های پژمردگی آوندی در دنیا می‌باشد. دو قارچ *Ophiostoma ulmi* و *O. novo-ulmi* عوامل اصلی بیماری مرگ نارون در یک قرن گذشته بوده‌اند. این دو گونه امروزه براساس یک سری مشخصات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و مولکولی از هم قابل تفکیک هستند. در این میان ابعاد پریتسیوم جدایه‌های دو گونه مزبور برروی محیط کشت عصاره مالت- آگار از مهم‌ترین عوامل تفکیک این دو گونه محسوب می‌شود. در این راستا، طول گردن، عرض پایه پریتسیوم و نسبت این دو شاخص برای جدایه‌های مختلف قارچ عامل بیماری در شرایط آزمایشگاهی محاسبه گردید. برای این منظور ۸ جدایه به همراه دو جدایه استاندارد با تیپ جنسی A و B روی محیط کشت عصاره مالت آگار حاوی پودر چوب نارون کشت داده شده و در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. نتایج حاصل از مقایسه میانگین طول گردن، عرض پریتسیوم و نسبت این دو نشان داد که جدایه‌های مهاجم و غیرمهاجم در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری با هم دارند. به‌طوری‌که جدایه‌های مهاجم *O. novo-ulmi* با داشتن طول گردنی بلندتر (۶۴۰-۲۹۰ میکرومتر) و عرض پایه کوتاه‌تر (۱۰۰-۷۰ میکرومتر) از گونه غیرمهاجم متمایز

* مسئول مکاتبه: iraqi602@yahoo.com

شدند. همچنین نسبت طول گردن به عرض پایه پریتسیوم برای جدایه‌های دو گونه مهاجم و غیرمهاجم به‌طور متوسط به‌ترتیب ۵/۸۷ و ۲/۷٦ محاسبه گردید. امکان استفاده از ابعاد پریتسیوم به‌عنوان یکی از عوامل اصلی مورفولوژیکی تفکیک جدایه‌های مزبور مورد بحث قرار گرفته است.

واژه‌های کلیدی: بیماری مرگ هلندی نارون، ابعاد پریتسیوم، *Ophiostoma ulmi*، *O. novo-ulmi*

مقدمه

بیماری زوال درختان نارون یکی از مخرب‌ترین عوامل بیماری‌زا و پژمردگی آوندی در ایران و دنیا بوده است (بریزر، ۱۹۷۹؛ سینکلر و کامپانا، ۱۹۷۸؛ داکاسا، ۲۰۰۳؛ رهجو و همکاران، ۱۹۹۹). این بیماری تاکنون با از بین بردن هزاران درخت نارون در ایران و اروپا سبب خسارت اقتصادی شده است (افشارپور و عادلی، ۱۹۷٤؛ بریزر، ۱۹۹۱). عامل بیماری مرگ نارون قارچی است از شاخه آسکومیکوتا، راسته اُفیوستوماتال و جنس *Ophiostoma*، که توان تولید چهار نوع اسپور جنسی و غیرجنسی را دارد (استیپز و کامپانا، ۱۹۸۱). شکل جنسی قارچ عامل بیماری از نظر تاکسونومی و طبقه‌بندی گونه‌های مختلف این جنس حائز اهمیت زیادی است (بریزیر و کیرک، ۲۰۰۱؛ عراقی و همکاران، ۲۰۰۷). این قارچ هتروتال بوده و برای تشکیل فرم جنسی نیاز به دو تیپ جنسی A و B دارد (استیپز و کامپانا، ۱۹۸۱). امکان انتشار این قارچ‌ها به‌وسیله سوسک‌های پوست‌خوار از تیره Scolytidae، این عامل بیماری را از خیلی از بیماری‌های مشابه آوندی درختان متمایز کرده است (استیپز و کامپانا، ۱۹۸۱). این بیماری نخستین بار در سال ۱۹۱۸ توسط پیکاردی، از شمال غرب اروپا و از فرانسه گزارش شد (استروبل و لانیر، ۱۹۸۱)، سپس به مرحله تولیدمثل جنسی قارچ عامل بیماری در شرایط آزمایشگاه پی برده شد. در ایران اولین گزارش‌های رسمی در مورد عامل بیماری و جداسازی آن می‌توان به جداسازی آن در سال ۱۹۷۱ اشاره نمود که از روی درختان اوجا و ملج در جنگل‌های آستارا شناسایی گردید (ابراهیمی و مک‌ناب، ۱۹۷۲). اما تا این سال بررسی گزارشی از وضعیت تشکیل مرحله تولیدمثل جنسی در طبیعت موجود نیست.

عامل بیماری تا مدت‌ها به‌نام *Ceratocystis ulmi* نامیده می‌شد اما در سال ۱۹۷٤ به جنس *Ophiostoma* تغییر نام داد (دی‌هوگ، ۱۹۷٤). قارچ عامل بیماری مرگ نارون به‌ترتیب بین

سال‌های ۱۹۴۰-۱۹۱۰ و ۱۹۶۰ به بعد باعث بروز دو اپیدمی با شدت‌های متفاوت شده است. اپیدمی اول مربوط به قارچ *O. ulmi* با شدت بیماری‌زایی کمتر و اپیدمی دوم مربوط به قارچ مهاجم جدید *O. novo-ulmi*، با شدت بیماری‌زایی بیشتر روی درختان جوان و تنومند می‌باشد (بریزیر، ۱۹۷۹). این دو قارچ مهاجم و غیرمهاجم تا مدت‌ها جزء یک گونه *O. ulmi* محسوب می‌شدند (بریزیر، ۱۹۸۱) تا این‌که بریزیر در سال ۱۹۹۱ با اشاره به چندین تفاوت مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و مولکولی، آنها را دو گونه مجزا، گونه غیرمهاجم با نام *O. ulmi* (Buis.) Nannf. و گونه جدید و مهاجم با نام *O. novo-ulmi* Brasier sp.nov. از هم تفکیک کرد (بریزیر، ۱۹۹۱). بررسی‌های بیشتر گونه اخیر را در مقایسه با گونه *O. ulmi* گونه‌ای خواهری تعیین نمود (پیپ و همکاران، ۱۹۹۵؛ پیپ و همکاران، ۲۰۰۰). بریزیر در سال ۲۰۰۱ فرضیه خود مبنی بر جایگزینی گونه‌های مهاجم به‌جای گونه‌های غیرمهاجم عامل بیماری مرگ نارون در طبیعت را مورد تأیید قرار داد (بریزیر، ۲۰۰۱). گونه مهاجم عامل بیماری منشأ دوگانه‌ای دارد که باعث بروز دو نژاد جغرافیایی به نام‌های نژاد اروپایی- آسیایی (اوراسیایی) و آمریکای شمالی شده است (بریزیر، ۱۹۷۹). امروزه این دو نژاد با وجود برخی تفاوت‌های مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و مولکولی در حد دو زیرگونه به نام‌های *O. novo-ulmi* ssp. *novo-ulmi* و *O. novo-ulmi* ssp. *americana* از هم تفکیک می‌شوند (بریزیر و کیرک، ۲۰۰۱). گونه‌های ایرانی جداسازی شده متعلق به نژاد اوراسیایی (زیرگونه *O. novo-ulmi* ssp. *novo-ulmi* هستند.

با توجه به اهمیت و خسارت این بیماری در سالیان اخیر و نبود اطلاعات مختلف از چرخه بیماری به‌ویژه نحوه تشکیل پریتسیوم و تفاوت جدایه‌های مختلف عامل بیماری در کشور، در این تحقیق برای اولین بار سعی شده است تا ابعاد پریتسیوم جدایه‌های عامل بیماری تعیین گردد. بنابراین آگاهی از این ویژگی در کنار تعیین سایر خصوصیات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و مولکولی قارچ عامل بیماری در راستای شناسایی دقیق‌تر عامل بیماری مرگ نارون در کشور و شناخت تولیدمثلی قارچ می‌تواند در تنوع ژنتیکی چرخه بیماری بسیار مهم واقع شود.

مواد و روش‌ها

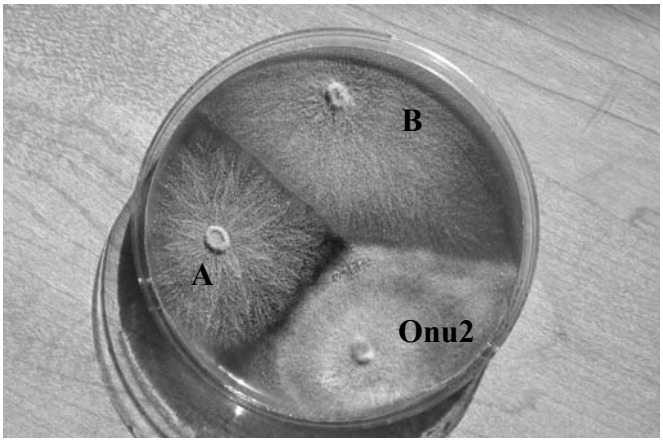
آماده‌سازی جدایه‌ها: برای انجام این آزمایش از ٨ جدایه قارچ عامل مرگ نارون جداسازی شده از مناطق مختلف استان گلستان استفاده شد (عراقی و همکاران، ٢٠٠٧). برای آماده نمودن قارچ‌ها از کلکسیون موجود، قرص ٥ میلی‌متری از هر جدایه که در داخل لوله‌های آزمایش و در شرایط دمایی ٥ درجه سانتی‌گراد نگهداری می‌شدند به داخل ظروف حاوی محیط کشت سیب‌زمینی دکستروز آگار[1] منتقل و در دمای ٢٢-٢٠ درجه سانتی‌گراد به‌منظور رشد نگهداری شدند. پس از گذشت ٧ تا ١٠ روز از حاشیه پرگنه‌های رشد کرده دوباره قرص‌هایی برداشته و به داخل ظروف حاوی محیط کشت عصاره مالت آگار[2]، ٢ درصد منتقل شدند و در شرایط دمایی فوق در انکوباتور نگهداری گردیدند. جدایه‌های استاندارد (A و B) در این آزمایش نیز از کلکسیون قارچ آزمایشگاه بیماری‌شناسی، گروه گیاهپزشکی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان تهیه و برای انجام آزمایش‌های مربوطه به طریقه بالا آماده شدند. این جدایه‌ها عبارت بودند از جدایه AST_{20} به‌عنوان تیپ A (جداسازی شده از اسالم گیلان) و جدایه CKT_{11} به‌عنوان تیپ B (جداسازی شده از مناطق جنگلی چاچکام مازندران) که قبلاً تمام خصوصیات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و مولکولی آنها توصیف شده بود (بریزیر و کیرک، ٢٠٠١).

بررسی مشخصات اندام جنسی (پریتسیوم): برای انجام این آزمایش از محیط کشت مالت اکستراکت آگار (Oxid, u.k., MEA) به همراه ٢٠٠-١٠٠ گرم پودر چوب نارون (به‌ازای هر لیتر محیط کشت) استفاده شد. در این آزمایش مشخصات اندام جنسی از قبیل طول گردن و عرض پایه پریتسیوم و نسبت این دو شاخص برای جدایه‌های عامل بیماری تعیین گردید. برای انجام این آزمایش در هر ظرف دو جدایه استاندارد (با تیپ آمیزشی مشخص) A و B و یک جدایه نامشخص به‌صورت یک قرص کوچک ٥ میلی‌متری در مقابل هم کشت گردیدند (شکل ١) و سپس در دمای ١±٢٠ درجه سانتی‌گراد در داخل انکوباتور به‌مدت ٤-٣ هفته نگهداری شدند (بریزیر، ١٩٨١). در تیپ‌های سازگار، در محل تلاقی قارچ پریتسیوم تشکیل شد. به‌منظور بررسی مشخصات ریختی از قبیل اندازه طول گردن و عرض پایه پریتسیوم‌ها، از هر ظرف ده عدد پریتسیوم بالغ به‌طور تصادفی انتخاب و پس از

1- Potato Dextrose Agar (PDA)
2- Malt Extract Agar (MEA)

رنگ‌آمیزی با لاکتوفنول، طول گردن و عرض پایه پریتسیوم هر جدایه در زیر میکروسکوپ نوری محاسبه شد (بریزیر، ۱۹۹۱؛ بریزیر و کیرک، ۲۰۰۱). اندازه‌های به‌دست آمده برای جدایه‌ها مورد مقایسه آماری قرار گرفتند.

تجزیه و تحلیل نتایج آزمون: آزمون مربوطه در قالب طرح کاملاً تصادفی با ٤ تکرار برای هر جدایه قارچ انجام شد. برای تجزیه و تحلیل نتایج آزمون از نرم‌افزار آماری SAS (۲۰۰۱) استفاده شد. برای مقایسه میانگین داده‌ها از آزمون چنددامنه‌ای دانکن استفاده گردید.



شکل ۱- نحوه کشت جدایه ناشناخته (*Ophiostoma novo-ulmi* 2) و تعیین تیپ جنسی آن به همراه دو جدایه تیپ استاندارد A و B برروی محیط کشت عصاره مالت آگار.

نتایج و بحث

اندازه‌گیری‌های مربوط به مشخصات اندام جنسی (پریتسیوم) از قبیل طول گردن و عرض پایه پریتسیوم و بررسی نسبت این دو شاخص برای جدایه‌های مهاجم و غیرمهاجم نشان داد که طول گردن جدایه‌های مهاجم *O. novo-ulmi* (٦٤٠-۲۹۰ میکرومتر) به مراتب بیشتر از جدایه‌های گونه *O. ulmi* (٤١٠-۲۸۰ میکرومتر) می‌باشد. با این‌حال اندازه عرض پایه پریتسیوم برای جدایه گونه *O. novo-ulmi* به‌میزان ۱۰۰-۷۰ میکرومتر کمتر از جدایه‌های *O. ulmi* (۱۵۵-۱۰۰ میکرومتر) به‌دست آمد. مقایسه داده‌ها برای تمامی جدایه‌ها نشان‌دهنده معنی‌دار بودن اختلاف در سطح احتمال ۵ درصد بین این دو شاخص در جدایه‌های این دو گونه بود (جدول ۱). به‌رغم وجود دامنه تغییرات در

اندازه‌های مربوط به هر جدایه، نتایج مزبور در تحقیق دیگر نیز مشاهده شده است (بریزیر و کیرک، ٢٠٠١؛ بریزیر، ١٩٩١)، به‌طوری‌که حتی نوع محیط کشت مورد استفاده بر طول و عرض ابعاد پریتسیوم یک جدایه تأثیر می‌گذارد (بریزیر، ١٩٩١). به‌عنوان مثال بررسی ابعاد پریتسیوم تولید شده برروی سرشاخه‌های نارون و محیط کشت "عصاره چوب نارون"[1] برای دو گونه مهاجم و غیرمهاجم نشان داد که جدایه‌های گونه مهاجم به‌طور عمده پریتسیوم‌هایی با گردن بلندتر و عرض پایه کوچک‌تری نسبت به گونه غیرمهاجم تولید می‌کنند. از سوی دیگر ابعاد پریتسیوم جدایه‌های هر دو گونه برروی دو محیط کشت متفاوت بود. دامنه میانگین طول گردن و عرض پایه برای گونه مهاجم برروی سرشاخه‌های نارون به‌ترتیب ٦٤٠-٢٣٠ و ١٤٠- ٧٥ میکرومتر و برای گونه غیرمهاجم٤٢٠-٢٨٠ و ١٥٠-١٠٠ میکرومتر اندازه‌گیری شد. همچنین دامنه میانگین طول گردن و عرض پایه برروی محیط کشت چوب نارون (ESA) به‌ترتیب ٦٠٠-٢٥٠ و ١٨٠-١٣٠ میکرومتر (برای گونه مهاجم) ٣٥٠-١٩٠ و ١٨٠-١٢٠ میکرومتر (برای گونه غیرمهاجم) محاسبه گردید (بریزیر، ١٩٩١). در بسیاری از منابع برای مقایسه آماری از تعیین نسبت این دو شاخص استفاده شده است (بریزیر، ١٩٩١؛ بریزیر و مهروترا، ١٩٩٥؛ بریزیر و کیرک، ٢٠٠١). در این آزمون نسبت طول گردن پریتسیوم به عرض پایه آن برای جدایه‌های *O. novo-ulmi* به‌میزان ٨/٥٣-٣ و برای جدایه‌های گونه *O. ulmi*، ٤/١-١/٩٣ به‌دست آمد. نتایج آزمون مقایسه‌ای نشان داد که این شاخص در مقایسه با دو شاخص قبلی برای مقایسه و در عین‌حال تشخیص جدایه‌های این دو قارچ مناسب‌تر است. این نتایج با کار سایر محققان نیز مورد تأیید است (بریزیر و کیرک، ٢٠٠١). از طرفی مقایسه نسبت طول گردن پریتسیوم به عرض پایه آن برای این جدایه‌ها و به‌ویژه جدایه‌های مهاجم *O. novo-ulmi* با نتایج حاصل از سایر نقاط جهان نشان می‌دهد که جدایه‌های ایرانی دارای طول گردن پریتسیوم بلندتر و عرض پایه کوچک‌تری هستند. در یک تحقیقی که در آن بیش از ٢٠٠ تلاقی بین جدایه‌های به‌دست آمده از بیش از ٥٠ کشور جهان (اروپا، آمریکای شمالی و آسیا) صورت گرفت، متوسط نسبت طول گردن پریتسیوم به عرض پایهٔ آن برای جدایه‌های *O. novo-ulmi* به‌میزان ٦/٢-١/٥ و برای جدایه‌های *O. ulmi*، ٣/٥-٢/٤ به‌دست آمد (بریزیر، ١٩٩١). در تحقیقی دامنه میانگین طول گردن و عرض پایه پریتسیوم‌های دو زیرگونه *O. novo-ulmi* ssp. *americana* و *O. novo-ulmi* ssp. *novo-ulmi* مشخص شد

1- ESA (Elm Sapwood Agar)

که دامنه میانگین طول گردن و عرض پایه برای زیرگونه اولی به‌ترتیب ٤٨٥-١٦٨ (با میانگین ٢٩٥/٥) میکرومتر و ١٥٠-٨٤ (با میانگین ١١٦/٣) میکرومتر و برای زیرگونه دوم به‌ترتیب ٧١٨-١٧٧ (با میانگین ٤٥٠) میکرومتر و ١٥٩-٧٩ (با میانگین ١٠٣/٥) میکرومتر محاسبه گردید (بریزیر و کیرک، ٢٠٠١). بنابراین مشخص شد که طول گردن جدایه‌های مهاجم زیرگونه *O. novo-ulmi* ssp. *novo-ulmi* به‌طور معنی‌داری بلندتر از جدایه‌های مهاجم زیرگونه *O. novo-ulmi* ssp. *americana* و نیز جدایه‌های قارچ *O. ulmi* می‌باشد. از بین جدایه‌های *O. novo-ulmi* ssp. *novo-ulmi* نیز بلندترین طول گردن مربوط به تلاقی جدایه CKT11 (از ایران) با جدایه YU16 (جداسازی شده از کرواسی در سال ١٩٨٠) و به‌میزان ٧٣١/٨ میکرومتر می‌باشد که این موضوع خود تأییدکننده نتایج این آزمایش است. از طرفی کم‌ترین میزان طول گردن در بین تلاقی‌های گونه *Ophiostoma ulmi* نیز مربوط به تلاقی جدایه Gol4 (تیپ آمیزشی A جداسازی شده در سال ١٩٧٤ از جنگل‌های استان گلستان) با جدایه P98 (جداسازی شده از لهستان در سال ١٩٨٠) و به‌میزان ٣٣٠-٢١٣ میکرومتر تعیین شد و این نشان‌دهنده دامنه وسیع تغییرات و به‌عبارتی تنوع مورفولوژیکی زیاد در بین جدایه‌های ایرانی در مقایسه با سایر نقاط جهان می‌باشد (بریزر، ١٩٩١). این مسأله با توجه به تنوع فرم پرگنه (به‌عنوان یک صفت مهم مورفولوژیکی) در جدایه‌های ایرانی نیز به اثبات رسیده است (عراقی و همکاران، ٢٠٠٧).

در تحقیق مشابهی که به‌منظور تعیین ویژگی‌های اندام تولیدمثلی *O. himal-ulmi* (گونه جدید که بومی مناطق آسیای مرکزی و چین می‌باشد) انجام شد، نتایج ١٦ تلاقی بین جدایه‌ها نشان داد که اندازه طول گردن پریتسیوم‌ها در این گونه از ٢٤٠ تا ١٠٠٠ میکرومتر متغیر بوده و به‌طور میانگین ٨٥٠-٢٧٠ میکرومتر می‌باشد، که از این نظر اگرچه از دو گونه *O. ulmi* و *O. novo-ulmi* کاملاً بیشتر می‌باشد (بریزیر و مهروترا، ١٩٩٥)، ولی با توجه به ویژگی‌های جدایه‌های مهاجم ایران از نظر تولید پریتسیوم‌هایی با طول نسبتاً بسیار زیاد نسبت به جدایه‌های سایر کشورها از یک طرف و نزدیک بودن فاصله جغرافیایی مناطق جنگلی شمال کشور با آسیای مرکزی و چین از سوی دیگر احتمال حضور نژادهایی از چنین گونه‌ای (یا گونه‌های نزدیک خواهری) در ایران یا ورود آن در سال‌های نه چندان دور بیش از پیش وجود دارد، چه‌بسا که با وجود از بین رفتن درختان بسیار تنومند در جنگل‌های شمال از سال‌ها قبل به‌دلیل شیوع اپیدمی و یا اپیدمی‌هایی توسط گونه *O. novo-ulmi*،

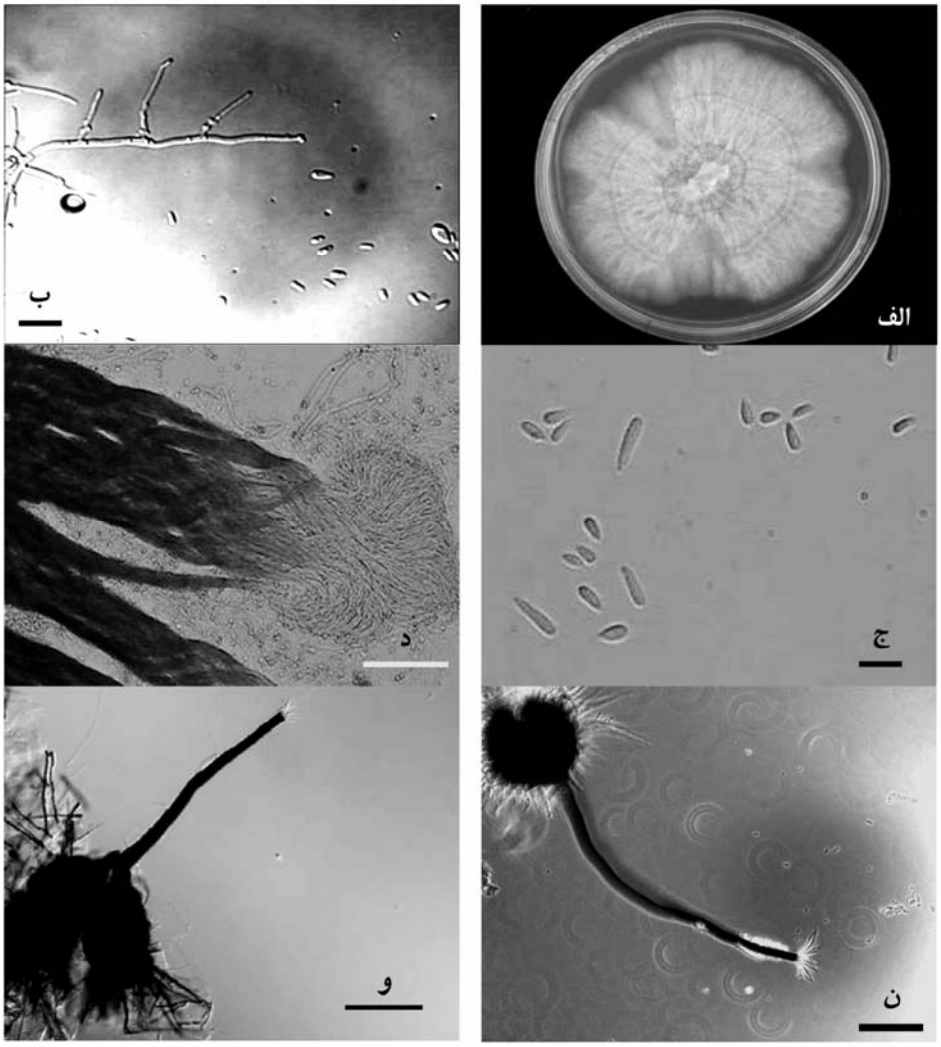
حتی تا چند سال پیش شناسایی این گونه با مشکلات و ابهامات زیادی مواجه بوده است. چنان‌چه رهجو و همکاران (۱۹۹۹) پس از جداسازی قارچ عامل بیماری از درختان نارون فضای سبز شهر در تهران آن را *O. ulmi* نامیدند ولی با انجام کارهای مولکولی، غالب این جدایه‌ها جزء گونه مهاجم *O. novo-ulmi* شناخته شده‌اند. از طرفی اگرچه تعیین ابعاد پریتسیوم به‌عنوان یک عامل مورفولوژیکی مناسب همیشه در راستای تفکیک جدایه‌های مهاجم و غیرمهاجم عامل بیماری مد نظر قرار گرفته است، اما با توجه به امکان دورگ‌گیری بین جدایه‌های عامل بیماری در طبیعت که منجر به تنوع ژنتیکی در بین جدایه‌ها می‌شود و چه‌بسا روی خواص مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی نیز تأثیرگذار باشد، لزوم انجام آزمایش‌ها با تأکید بر عوامل مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و مولکولی ضروری است (داکازا و همکاران، ۲۰۰۳؛ کنراد و همکاران، ۲۰۰۳).

جدول ۱- بررسی مقایسه‌ای مشخصات اندام پریتسیوم در بین جدایه‌های قارچ عامل بیماری مرگ نارون از مناطق جنگلی استان گلستان.

جدایه قارچ بیمارگر	مشخصات پریتسیوم*		
	طول گردن (NL) (میکرومتر)	عرض پریتس (BW) (میکرومتر)	نسبت طول گردن به عرض پریتس NL : BW
*Ophiostoma ulmi*1	(۳۰۵-)۳۵۵/۲۸(-٤۰۰)^{d**}	(۱۰۸-)۱۳۰/۲۸(-۱٤۸)^{a}	(۲-)۲/۷٦(-۳/۵)^{f}
*O. ulmi*2	(۲۸۰-)۳۵٦/۲۳(-٤۱۰)^{d}	(۱۰۰-)۱۲۷/٤۸(-۱۵۰)^{b}	(۱/۹-)۲/۸٦(-۳/۷)^{f}
*O. ulmi*3	(۲۸۲-)۳۵۲/٦۳(-٤۱۰)^{d}	(۱۰۰-)۱۳۲/۲۵(-۱۵۵)^{a}	(۱/۸۲-)۲/٦٦(-۳/۷۳)^{f}
*O. novo-ulmi*2	(۳۱۰-)٤۹۷/۵۵(-٦۲۵)^{b}	(۷۵-)۸۵/۰۳(-۹۵)^{de}	(۳/۲٦-)۵/۹۷(-۸/۳۳)^{bc}
*O. novo-ulmi*3	(۲۹۰-)٤۸۱/۹۳(-٦٤۰)^{c}	(۷۸-)۸۸/۰۵(-۱۰۰)^{c}	(۳/۱۲-)۵/۵۸(-۸/۲۱)^{e}
*O. novo-ulmi*4	(۲۹۵-)٤۸۰/۸۸(-٦۳۵)^{c}	(۷۵-)۸٦/۹۵(-۱۰۰)^{cd}	(۳/۲۹-)۵/٦۷(-۸/۱٤)^{de}
*O. novo-ulmi*5	(۳۲۰-)٤۹۵/۰۵(-٦۲۵)^{bc}	(۷۵-)۸۵/۰۵(-۹٦)^{de}	(۳/۳۷-)۵/۸٦(-۷/۸۲)^{cd}
*O. novo-ulmi*6	(۳۲۵-)۵۱۲/۸۸(-٦٤۰)^{a}	(۷۰-)۸۳/۳۵(-۹۷)^{e}	(۳/۳۵-)٦/۲۷(-۸/۵۳)^{a}

* هر عدد میانگین چهار تکرار و ده مشاهده برای هر تکرار می‌باشد.

** حروف غیرمشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد با آزمون چند دامنه‌ای دانکن می‌باشد.



شکل ۲- مراحل مختلف رویشی و زایشی قارچ عامل بیماری مرگ نارون: الف- پرگنه قارچ ***Ophiostoma novo-ulmi*** پس از گذشت ۲۰ روز برروی محیط **MEA**، ب- میسلیوم و انشعابات ساده و کوتاه (کنیدیوفور) حاوی اسپورهای فرم**"Sporothrix"** (مقیاس ۱۰ میکرون) ج- اسپورهای مخمرمانند در مرحله**"Yeast-Like"** در محیط کشت مایع **PDB** (مقیاس ۵ میکرون) د- اندام سینما در فرم**"Pesotum"** (مقیاس ۵۰ میکرون)، هـ- پریتسیوم گونه مهاجم ***Ophiostoma novo-ulmi***، و- گونه غیرمهاجم ***O. ulmi*** برروی محیط کشت مالت اکسترکت آگار ۲ درصد در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد پس از گذشت ۳۰ روز (مقیاس ۵۰ میکرون).

منابع

1.Afsharpour, F., and Adeli, E. 1974. Dutch elm disease *Ceratocystis ulmi* (Buisman) Moreau in Iran. Res. Inst. For. Rangelands (Tehran). Tech. Pub. 16: 27.

2.Brasier, C.M. 1979. Dual origin of recent Dutch elm disease outbreaks in Europe. Nature. 281: 78-79.

3.Brasier, C.M. 1981. Laboratory investigation of *Ceratocystis ulmi*. In: Stipes, R.J., and Campana, R.J. (eds.). Compendium of Elm Diseases. APS. Press, Pp: 76-79.

4.Brasier, C.M. 1990. China and the origin of Dutch elm disease an appraisal. Plant Pathology, 39: 5-16.

5.Brasier, C.M. 1991. *Ophiostoma novo-ulmi* sp. nov., causative agent of current Dutch elm disease pandemics. Mycopathologia, 115: 151-161.

6.Brasier, C.M. 2001. Rapid evolution of introduced plant pathogens via interspecific hybridization. Bioscience, 51: 2. 123-133.

7.Brasier, C.M., and Kirk, S.A. 2001. Designation of the EAN and NAN races of *Ophiostoma novo-ulmi* as subspecies. Mycol. Res. 105: 5. 547-554.

8.Brasier, C.M., and Mehrotra, M.D. 1995. *Ophiostoma himal-ulmi* sp. nov., a new species of Dutch elm disease fungus endemic to the Himalayas. Mycol. Res. 99: 205-215.

9.Dacasa, M.C., Solla, A., Lopez, D., Buron, M., Sanchez, G., and Gill, L. 2003. Identification of *Ophiostoma* sp. isolates sampled in Spain between 1986 and 2002. In Proceeding: The Second International Elm Conference. Valsain, Segovia, Spain, 44p.

10.De Hoog, G.S. 1974. The genera *Blastobotrys*, *Sporothrix*, *Calcarisporium* and *Calcarisporiella* gen. nov. stud., Mycol. 7: 84.

11.Ebrahimi, A.Gh., and Mc Nabb, H. 1972. Coremia production of *Ceratocystis ulmi* growing on fresh plant material. Iranian J. Entomologie and Phytopathology, 32: 26-30.

12.Iraqi, M.M., Rahnama, K., Razavi, S.I., and Ebrahimi, A. 2007. Investigation on isolates of fungus causal agent Dutch elm disease in some areas of Golestan province. Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources. (Gorgan University), 14: 6.

13.Konrad, H., Halmschlager, E., Stauffer, C.H., and Kiristts, T. 2003. Studies on the Dutch elm disease pathogens in Austria. In Proceedings: The Second International Elm Conference. Valsain, Segovia, Spain, 42p.

14.Pipe, N.D., Buck, K.W., and Brasier, C.M. 1995. Molecular relationships between *Ophiostoma ulmi* and the EAN and NAN races of *O. novo-ulmi* determined by RAPD markers. Mycological Research, 99: 653-658.

15.Pipe, N., Brasier, C.M., and Buck, K.W. 2000. Evolutionary relationships of the Dutch elm disease fungus *Ophiostoma novo-ulmi* to the *Ophiostoma* species investigated by RFLP analysis of the rDNA region. Journal of Phytopathology, 148: 533-539.

16.Rahjo, V., Mojdehi, H., Zamanizadeh, H., and Mosahebi, Gh. 1999. Investigation of distribution of Dutch elm disease, in Tehran and Karaj cities, and initial evaluation effect of some fungicides against *Ophiostoma ulmi*. Scientific Research Journal of Agric. Sci. 5: 15-36.
17.SAS Institute. 2001. SAS system. Inc, Cary, NC, USA.
18.Sincliar, A., and Campana, R.J. 1978. Dutch Elm Disease: Perspectives after 60 years. Agri. Plant Pathology, 8: 55p.
19.Solla, A., and Gil, L. 2003. Evaluating *Verticillium dahliae* for biological control of *Ophiostoma novo-ulmi* in *Ulmus minor*. Plant Pathology, 52: 579-585.
20.Stipes, R.J., and Campana, R.J. 1981. Compendium of Elm Diseases. APS Press, 96p.
21.Strobel, G., and Lanier, G. 1981. Dutch Elm Disease. Sci. Am. 245: 56-66.

Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

J. of Plant Production, Vol. 16(3), 2009
www.gau.ac.ir/journals

Comparison of perithecium dimensions of *Ophiostoma ulmi* and *O. novo-ulmi*, the causal agents of Dutch elm disease

***M.M. Iraqi[1] and K. Rahnama[2]**

[1]Former M.Sc. Student, Dept. of Plant Protection, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, [2]Associate Prof., Dept. of Plant Protection, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

Abstract

Dutch elm disease is one of the most destructive vascular wilt diseases in the world. *Ophiosatoma ulmi* and *O. novo-ulmi* had been the most important causal agents of the Dutch elm disease in the last century. So, in order to manage of disease, their identification and distinction is necessary. These fungal species were distinguished based on morphological, physiological and molecular characters. Perithecium dimensions of fungal isolates such as: neck length, bowl width and their ratio, on the MEA, are the most important primer factors for their distinction. In this study, neck length, bowl width and their ratio for isolates of fungal causal were estimated in vitro. In this research, every isolate with two standard isolates of A and B type was cultured on MEA supplemented by powder of elm wood and was inoculated in temperature 20°C. The results of estimating perithecium dimensions were showed, the isolates had significant difference, so that isolates of *O. novo-ulmi* to have higher neck length (290-640 micrometer) and shorter bowl width (70-100 micrometer) than *O. ulmi* were distinguished. Neck length to bowl width ratio for the isolates of *O. ulmi* and *O. novo-ulmi* was also calculated 2.76 and 5.87, respectively. The potential using of Perithecium dimensions of fungal isolates as one of primer morphological factors to distinguish isolates of the causal agent or agents Dutch elm disease in Iran was discussed in this paper.

Keywords: Dutch elm disease, Perithecium dimensions, *Ophiostoma ulmi*, *O. novo-ulmi*

* Corresponding Author; Email: iraqi602@yahoo.com