جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی
جلد چهاردهم، شماره ششم، بهمن ـ اسفند ۱۳۸۶
www.jasnr.info
www.sid.ir
www.magiran.com/jasnr

بررسی بیماری مرگ هلندی نارون در برخی از مناطق جنگلی استان گلستان

میرمعصوم عراقی[۱]، *کامران رهنما[۲]، سید اسماعیل رضوی[۳] و عبدالقیوم ابراهیمی[۴]
[۱]دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد گروه گیاهپزشکی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، [۲]دانشیار گروه گیاهپزشکی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، [۳]مربی گروه گیاهپزشکی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، [۴]استاد گروه گیاهپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان

تاریخ دریافت: ۸۵/۱۱/۱٤ ؛ تاریخ پذیرش: ۸٦/۳/۲۳

چکیده

درختان نارون مناطق جنگلی استان گلستان همچون سایر مناطق جنگلی کشور نظیر مازندران، گیلان و ارسباران در دو دهه اخیر در اثر بیماری مرگ هلندی دچار زوال شدیدی شده‌اند. به‌طوری‌که خطر انقراض دو گونه مهم نارون ملج (*Ulmus glabra* Huds.) و اوجا (*U. carpinifolia* Borkh) در این مناطق در سال‌های اخیر به شدت مطرح بوده است. به‌منظور بررسی بیماری مرگ نارون در طی سال‌های ۱۳۸۳ تا ۱۳۸۵ بازدیدهای مکرر از برخی مناطق جنگلی استان گلستان انجام گرفت. در این بازدیدها علائم مختلف اعم از زردی، پژمردگی، ریزش برگ‌ها، سرخشکیدگی، خشک شدن تمام یا بخشی از درختان تنومند و از همه مهمتر علائم تغذیه سوسک‌های پوستخوار (که عامل اصلی انتشار عامل بیماری هستند) به شکل خطوط برجسته یا تونل‌هایی باریک و کشیده داخل پوست تنه به وفور دیده شد. پس از نمونه‌برداری از این درختان، نمونه‌ها به آزمایشگاه منتقل گردیدند. نتایج بررسی‌ها حاکی از وجود عامل بیماری در اغلب مناطق یاد شده بود. بررسی‌ها نشان داد که اغلب جدایه‌های قارچ عامل بیماری متعلق به گونه جدید *Ophiostoma novo-ulmi* هستند. همچنین بررسی برخی ویژگی‌های مورفولوژیک و فیزیولوژیک جدایه‌های دو گونه *O. ulmi* و *O. novo-ulmi* نشان داد که به‌طورکلی جدایه‌های گونه جدید عامل بیماری مرگ نارون (*O. novo-ulmi*) با داشتن پرگنه‌هایی نواری، فیبری تا گلبرگ مانند و رشد روزانه بیشتر (متوسط ۳/٦ میلی‌متر در روز)، بهینه دمای رشدی (متوسط ۲۲-۲۰ درجه سانتی‌گراد) و وزن خشک توده زنده کمتر، از جدایه‌های گونه *O. ulmi* با متوسط رشد روزانه ۲/۵ میلی‌متر قابل تفکیک هستند. نتایج تعیین میزان درصد پژمردگی نهال‌های نارون چینی (*U. parvifolia* Jacq.) که برای اولین بار در کشور انجام گرفت نیز نشان داد که علیرغم مقاومت این گونه نسبت به برخی از جدایه‌های عامل بیماری، جدایه‌های گونه جدید *Ophiostoma novo-ulmi* عامل بیماری نیز به‌دلیل اختلاف معنی‌دار درصد پژمردگی و ریزش برگ‌ها از قدرت بیماری‌زایی بیشتری در مقایسه با جدایه‌های گونه *O. ulmi* برخوردار هستند.

واژه‌های کلیدی: انقراض، عامل اخیر بیماری مرگ هلندی نارون، استان گلستان، نارون، *Ophiostoma novo-ulmi*.

*- مسئول مکاتبه : kamran_ra@yahoo.com

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مقدمه

بیماری مرگ هلندی نارون در یک قرن گذشته یکی از مهمترین، زیانبارترین و مخربترین بیماری‌های آوندی این درختان در نیمکره شمالی بوده است (استیپز و کامپانا، ۱۹۸۱). این بیماری تاکنون با از بین بردن میلیون‌ها درخت نارون در اروپا و آمریکای شمالی موجب بیلیون‌ها دلار خسارت اقتصادی شده است (بریزیر، ۱۹۷۹؛ استیپز و کامپانا، ۱۹۸۱). امکان انتشار عامل بیماری به‌وسیله سوسک‌های پوستخوار خانواده *Scolytidae* این بیماری را از خیلی از بیماری‌های مشابه آوندی درختان متمایز کرده است. انتشار سریع عامل بیماری به مناطق دور دست از یک سو و حساسیت ارقام مختلف نارون از سوی دیگر، به‌ترتیب در دهه ۱۹۱۰ و ۱۹۴۰ باعث بروز دو اپیدمی با درجات شدت مختلف شده است (بریزیر، ۱۹۷۹، ۱۹۹۰، ۱۹۹۱ و ۲۰۰۱). اپیدمی اول مربوط به گونه غیرمهاجم *Ophiostoma ulmi* با شدت بیماری‌زایی کمتر و اپیدمی بعدی مربوط به گونه مهاجم با نام *O. novo-ulmi* با شدت بیماری‌زایی بیشتر می‌باشد (بریزیر، ۱۹۹۰).

بریزیر در سال ۱۹۹۱ با اشاره به چندین تفاوت مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و مولکولی بین این نژادها، آنها را دو گونه مجزا از هم توصیف کرد. گونه غیرمهاجم با نام *O. ulmi* (Buis.) Nannf. و گونه جدید و مهاجم با نام *O. novo-ulmi* Brasier sp. nov. گونه مهاجم عامل بیماری منشأ دو گانه‌ای دارد که باعث بروز دو نژاد جغرافیایی به نام‌های نژاد اروپایی ـ آسیایی (اوراسیایی) و آمریکای شمالی شده است (بریزیر، ۱۹۷۹ و ۲۰۰۱). مطالعات اپیدمیولوژیکی قارچ عامل بیماری مرگ نارون نشان می‌دهد که گونه مهاجم به تدریج در طبیعت جایگزین گونه غیر مهاجم می‌شود (بریزیر، ۲۰۰۱؛ داکازا و همکاران، ۲۰۰۳؛ کونراد و همکاران، ۲۰۰۳). بریزیر با ارائه شواهدی مبنی بر امکان جریان ژنی[1] بین گونه‌های *O. ulmi* و *O. novo-ulmi* وجود هیبریدهای بین گونه‌ای را در طبیعت و جایگزینی[2] تدریجی گونه *O. novo-ulmi* بجای *O. ulmi* را نشان داد. از طرفی وجود هیبریدهای درون گونه‌ای بین زیرگونه‌های *O. novo-ulmi* ssp. *novo-ulmi* و *O. novo-ulmi* ssp. *americana* از مناطق مختلف اروپا نظیر ایرلند، هلند، اسکاتلند، آلمان و ایتالیا گزارش شده است (بریزیر، ۲۰۰۱).

این بیماری نخستین بار در سال ۱۹۱۸ از شمال غرب اروپا و از کشورهای فرانسه، بلژیک و هلند گزارش شد (استیپز و کمپانا، ۱۹۸۱) ولی منشأ اولیه بیماری به‌طور دقیق مشخص نیست و این مسأله خود موضوع بحث و مطالعات و تحقیقات شماری از محققین می‌باشد. اعتقاد بر اینست که این بیماری از چین منشأ گرفته و سپس طی جنگ جهانی اول به اروپا و از طریق الوارهای آلوده صادراتی به آمریکای شمالی راه پیدا کرده است (بریزیر، ۱۹۹۰).

بیماری مرگ نارون در ایران برای اولین بار در سال ۱۳۳۸ در جنگل‌های گلستان و در ارتفاعات پایینی کرنفکتر و کندسکوی برروی درختان اوجا و ملج مشاهده شد. از اولین گزارش‌های رسمی در مورد عامل بیماری و جداسازی آن می‌توان به جداسازی آن در سال ۱۳۵۰ توسط ابراهیمی و مک ناب از روی درختان اوجا و ملج در جنگل‌های آستارا (ابراهیمی و مک ناب، ۱۹۷۲)، در سال ۱۳۵۳ توسط عادلی و افشارپور و در سال ۱۳۵۸ توسّط افشارپور و بریزیر (۱۹۷۹) از جنگل‌های اسالم گیلان و چاچکام مازندران اشاره کرد (بریزیر، ۱۹۹۰). که البته عامل بیماری در آن زمان به گونه غیرمهاجم *O. ulmi* نسبت داده شد. رهنما و همکاران (۲۰۰۰a) از مناطق جنگلی ارسباران در آذربایجان شرقی و اردبیل گستردگی بیماری را با عامل جدید *O. novo-ulmi* برای اولین بار گزارش نمودند. این گونه جدید عامل

1-Gene flow

2-Replacement

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

بیماری نه تنها باعث زوال شدید درختان نارون شده است بلکه به گونه دیگری از درختان جنگلی تیره نارون در شمال کشور به نام آزاد با نام علمی *Zelkova carpinifolia* نیز حمله کرده است (رهنما و طاهری، ۲۰۰٤). با توجه به اهمیت و شدت بیماری به‌ویژه در سالیان اخیر و عدم وجود منابع علمی کافی در کشور در مورد ویژگی‌های جدایه‌های مختلف عامل بیماری مرگ نارون، در این تحقیق سعی شده است تا علاوه بر بررسی پراکندگی عامل بیماری در برخی از مناطق جنگلی استان گلستان، برخی از ویژگی‌ها و تفاوت‌های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی جدایه‌های مختلف این عامل بیماری نیز تعیین شود. بدیهی است که نتایج این تحقیق و آگاهی بیشتر از خصوصیات قارچ عامل بیماری، می‌تواند در مراحل مدیریتی بیماری در آینده مثمر ثمر واقع گردد.

مواد و روش‌ها

بازدید از مناطق جنگلی استان گلستان: طی بازدیدهای مختلف از مناطق مختلف جنگلی استان گلستان نظیر پارک جنگلی دلند، توسکاستان، سوسرا و لوه‌گالیکش در بهار، تابستان و اوایل پاییز سال‌های ۱۳۸۳– ۱۳۸۵ موارد بسیاری از درختان مشاهده شد که در بخشی از شاخ و برگ خود یا در تمام قسمت‌های آن نشانه‌های بیماری اعم از زردی و پژمردگی را نشان می‌دادند. پس از بررسی‌های دقیق‌تر و با مشاهده علائم داخلی که شامل خطوط قهوه‌ای حاصل از نکروز آوندی در زیر پوست بود (که معمولاً با آثار تونل تغذیه و فعالیت سوسک‌های پوستخوار ناقل بیماری همراه بود)، نمونه‌برداری از درختان انجام شد.

نمونه‌برداری از درختان مشکوک و بیمار: نمونه‌برداری از شاخه‌های بیمار در ناحیه مابین بخش خشک شده و بخش سالم که معمولاً علائم داخلی را به همراه داشت، صورت گرفت. شاخه‌ها به‌صورت قطعاتی به طول ۱۵–۱۰ سانتی‌متر برش داده شده و به داخل پاکت‌های نمونه‌برداری منتقل شدند. در درختان بزرگتری که نکروز آوندی در تنه آنها ایجاد شده بود، پس از کنار زدن پوست درخت به کمک یک چاقوی جراحی، بخشی از قسمت‌های پوست که دارای علائم نکروزه بودند و نیز قسمت‌هایی از مجاور بخش‌های نکروزه شده جدا و به پاکت‌ها منتقل گردید. همچنین از درختان تنومند اعم از ملج و اوجا خشک شده‌ای که پوست آنها دارای دالان‌های سوسک‌های پوستخوار بوده نیز قطعاتی تهیه شد. نمونه‌ها پس از ثبت مشخصات نمونه‌برداری از قبیل اطلاعات مربوط به محل نمونه‌برداری، گونه میزبان، تاریخ نمونه‌برداری و سایر مشخصات لازم جهت انجام آزمون‌های جداسازی و شناسایی به آزمایشگاه منتقل و در محل خنک (یخچال) نگهداری شدند.

جداسازی عامل بیماری: برای جداسازی قارچ عامل بیماری از چوب شاخه‌های بیمار نارون ابتدا شاخه‌های جوان آلوده به بیماری به قطر حدود ۲/۵– ۰/۵ سانتی‌متر و طول ۱۵–۱۰ سانتی‌متر که هنوز بافت آن خشک نشده و دارای علائم نکروز آوندی در زیر پوست هستند انتخاب شدند و پس از تقسیم به قطعات ٤–۳ سانتی‌متری به‌منظور ضدعفونی سطحی در محلول الکل اتیلیک ۷۰ درصد فرو برده شده و بلافاصله از روی شعله عبورداده شدند (بریزیر، ۱۹۸۱). سپس به کمک یک چاقوی استریل پوست آنها از چوب جدا شده و به‌صورت حلقه‌هایی به قطر ۳–۲ میلی‌متری برش داده شدند و سپس به کمک یک پنس سترون برش‌های چوب برروی محیط آب ـ آگار ۱/۷ درصد منتقل و در انکوباتور در دمای ۲۵–۲۰ درجه سانتی‌گراد و در تاریکی نگهداری شدند. به محض مشاهده رشد ریسه‌ها، بخشی از ریسه‌ها به ظروف حاوی محیط کشت مالت اکسترکت آگار[1] ۲ درصد منتقل گردیدند (بریزیر، ۱۹۹۱).

خالص سازی: از آنجا که برای بررسی‌های مختلف چه از نظر قارچ‌شناسی و چه از نظر بیماری‌زایی، خلوص جدایه‌ها مورد نیاز بود، از همه جدایه‌های به‌دست آمده تک اسپور تهیه گردید. برای این کار از روش مخطط

1- Malt Extract Agar (MEA)

کردن روی محیط کشت آب ـ آگار استفاده شد. ابتدا سوسپانسیون اسپور قارچ با استفاده از کشت جدایه‌ها در محیط مایع سیب‌زمینی دکستروز[1] تهیّه گردید. سپس یک حلقه کامل از سوسپانسیون رقیق اسپور توسّط یک لوپ سیمی به‌صورت خطوط تقریباً موازی روی سطح محیط کشت آب ـ آگار کشیده شد. پس از ۲۴-۲۰ ساعت نگهداری ظروف پتری در دمای ۲۵-۲۰ درجه سانتی‌گراد، به کمک یک سوزن سترون در زیر بینوکولر (استریومیکروسکوپ) اسپورهای جوانه‌زده منفرد به ظروف حاوی محیط کشت PDA منتقل شدند. سپس ظروف به‌منظور رشد قارچ در دمای ۲۵-۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. پس از آنکه از خلوص جدایه‌ها اطمینان حاصل شد، جدایه‌های خالص برروی محیط کشت‌های MEA (ظروف پتری) و PDA (لوله آزمایشگاهی) منتقل شدند. بدین ترتیب از هر جدایه دو سری کلکسیون تهیه گردید که به‌ترتیب یکی در دمای آزمایشگاه و دیگری در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد در یخچال به‌منظور کشت پایه نگهداری شدند.

شناسایی: پس از خالص‌سازی جدایه‌ها، مشخصات ظاهری قارچ، حالت پرگنه و نیز مشخصات میکروسکوپی مراحل مختلف اسپورزایی اعم از مرحله اسپوروتریکس[2] و پسوتوم قارچ مورد بررسی قرار گرفته و با منابع قارچ‌شناسی موجود و نیز جدایه‌های استاندارد موجود (Ou3 ، Onu3 و Onu6) تطبیق داده شدند (بریزیر، ۱۹۸۱). برای اطمینان نهایی جدایه‌ها برروی محیط کشت MEA ۲ درصد حاوی ۲۰۰ میلی‌گرم آنتی‌بیوتیک سیکلوهگزامید کشت داده شدند. در مرحله بعدی با در دست داشتن جدایه‌های تیپیک و بررسی یکسری مشخصات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی، گونه جدایه‌های مزبور تعیین گردید (بریزیر، ۱۹۹۱؛ بریزیر و کیرک، ۲۰۰۱).

شکل پرگنه جدایه‌ها: به‌منظور مقایسه شکل پرگنه جدایه‌های مختلف از محیط‌کشت مالت اکسترکت آگار استفاده شد. جدایه‌ها در ٤ تکرار و در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور نگهداری شدند. به محض ظهور پرگنه هر جدایه، شکل پرگنه آن به‌صورت کیفی توصیف گردید. پس از توصیف شکل پرگنه برای هر جدایه، جدایه‌ها از این لحاظ مورد مقایسه قرار گرفتند (بریزیر، ۱۹۸۱).

اندازه‌گیری سرعت رشد شعاعی: به‌منظور اندازه‌گیری سرعت رشد شعاعی، جدایه‌های مزبور در داخل ظروف پتری حاوی محیط‌کشت MEA کشت داده شدند و در دماهای ۲۰، ۲۸ و ۳۵ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور نگهداری شدند. قطر پرگنه در هر سه تیمار دمایی، در هر روز با خط‌کش اندازه‌گیری شد و در نهایت سرعت رشد شعاعی روزانه پرگنه‌ها در هر تیمار دمایی برای همه جدایه‌ها به‌دست آمد. آزمایش از نوع فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و با ٦ تکرار انجام شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم افزار آماری SAS و برای مقایسه میانگین بین داده‌ها نیز از آزمون چند دامنه‌ای دانکن استفاده شد (بریزیر و همکاران، ۱۹۸۱).

اندازه‌گیری وزن خشک توده قارچ در شرایط محیط مایع: برای انجام این آزمایش ابتدا دو حلقه ۵ میلی‌متری از هر جدایه در داخل ارلن‌های ۲۵۰ سی‌سی حاوی ۱۰۰ سی‌سی محیط مایع PDB کشت گردید (تینتر، ۱۹۹۰). سپس جدایه‌های کشت داده شده در داخل ارلن‌ها برروی شیکر با سرعت ۷۰ دور در دقیقه و به مدت یک هفته قرار داده شد. پس از گذشت یک هفته و با استفاده از روش عصاره‌گیری با پمپ خلأ کل توده زنده تشکیل شده در داخل ارلن‌ها برروی فیلتر چینی منتقل گردید. محصول به‌دست آمده جهت خشک کردن به‌ترتیب به مدت ٤ ساعت در داخل آون با دمای ٤٥-٤٠ درجه سانتی‌گراد و ۲٤ ساعت در داخل دسیکاتور قرار داده شد (بریزیر و همکاران، ۱۹۹۰). نهایتاً توده خشک به‌دست آمده از هر

1- Potato Dextrose Broth (PDB)
2- Sporothrix
3- Pesotum

جدایه با ترازوی حساس وزن شده و داده‌های به‌دست آمده با آزمون دانکن مورد مقایسه آماری قرار گرفتند.

اثبات بیماریزایی و تعیین درصد پژمردگی: آزمون اثبات بیماری‌زایی و تعیین درصد پژمردگی قارچ مزبور نیز با استفاده از دو گونه قارچ *O. ulmi* و *O. novo-ulmi* برروی نهال‌های دو ساله نارون چینی انجام شد. در این آزمایش برای هر گونه قارچ ۳ جدایه و برای هر جدایه و نمونه شاهد نیز ٤ تکرار در نظر گرفته شد. درصد پژمردگی نهال‌ها پس از ۱۰ هفته با شمارش برگ‌های پژمرده و ریزش کرده (اسمولی و گوریس، ۱۹۹۳؛ سانتینی و همکاران، ۲۰۰۲) در مقایسه با نهال‌های شاهد تعیین و داده‌های نهایی با آزمون دانکن مورد مقایسه آماری قرار گرفتند. آزمون مربوطه از نوع فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد.

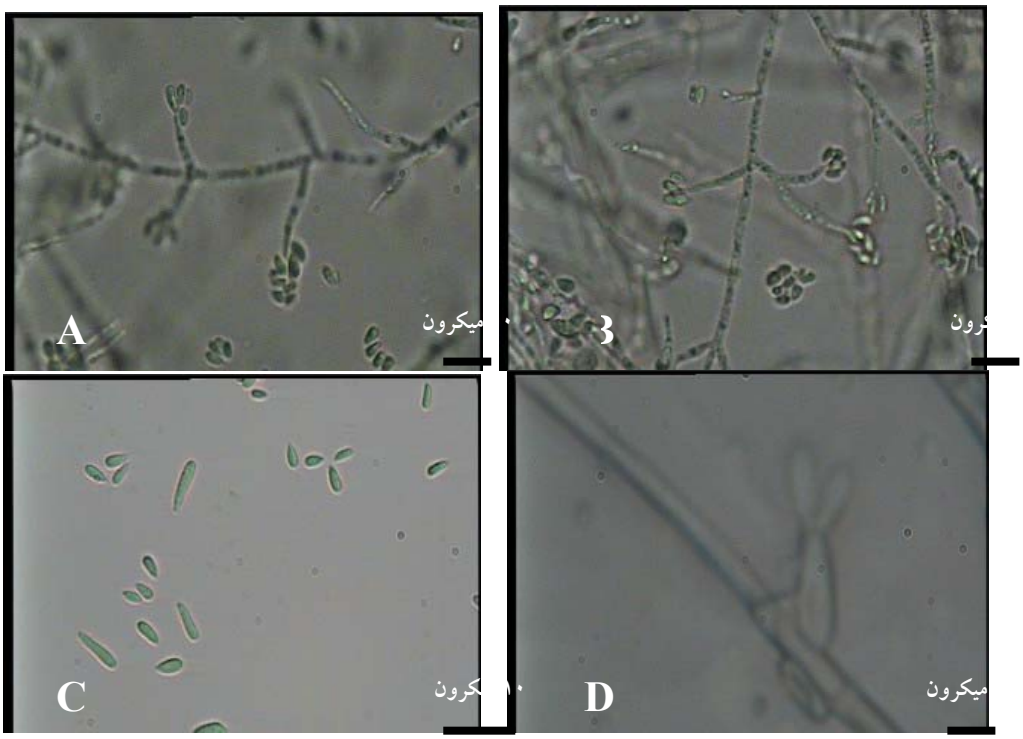
تهیه سوسپانسیون اسپور قارچ: برای تهیه سوسپانسیون اسپور قارچ از محیط‌کشت مایع PDB استفاده شد. پس از تهیه محیط کشت‌های سترون، دو حلقه ۵ میلی‌متری از میسلیوم رشد یافته به همراه بلوک آگار، از حاشیه پرگنه‌های ۷ روزه هر جدایه از محیط‌کشت MEA در شرایط سترون به داخل آنها انتقال یافت و سپس محیط‌های مزبور برروی یک دستگاه شیکری که با سرعت ۷۰ دور در دقیقه در حال چرخش بود قرار داده شدند تا کنیدی‌زایی صورت گیرد. پس از گذشت ٦ روز محیط‌کشت‌های واجد کنیدی‌های قارچ از درون کاغذ صافی سترون برروی قیف خلأ عبور داده شدند تا کنیدی‌های قارچ از میسلیوم‌های آن جدا گشته و در ظرف سترون زیر قیف جمع‌آوری شوند. سپس به‌منظور جداسازی نهایی کنیدی‌ها از سایر اجزاء محلول، ۳ مرتبه و هر بار به‌مدت ۱۰ دقیقه در دور ۱۰۰۰۰ سانتریفیوژ صورت گرفت. سپس سوسپانسیون غلیظ حاصل جهت رسیدن به رقت نهایی حدود ۵×۱۰^{٦} کنیدی در هر میلی‌لیتر، توسط لام هموسیتومتر شمارش اسپور شد و بعد به دفعات لازم عمل رقیق‌سازی انجام گردید. در نهایت سوسپانسیون اسپور حاصل جهت انتقال به گلخانه و عمل مایه‌کوبی برروی نهال‌های نارون، داخل ارلن‌های سترون در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد در یخچال نگهداری شدند.

مایه‌زنی نهال‌های نارون چینی در گلخانه: پس از تهیه سوسپانسیون جدایه‌های قارچ عامل بیماری در آزمایشگاه، سوسپانسیون حامل اسپور جهت انجام مایه‌زنی به گلخانه منتقل شد. مایه‌کوبی نهال‌ها با استفاده از یک چاقوی جراحی استریل و با ایجاد یک شکاف کوچک عرضی مماس با مقطع آوندی در پوست نهال‌ها صورت گرفت و در هر بار مایه‌کوبی مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر از سوسپانسیون اسپور با استفاده از یک سرنگ ۵ سی‌سی روی لبه چاقو قرار داده شد تا جذب بافت آوندی شود (سوترلند و همکاران، ۱۹۹۵). مایه‌کوبی نهال‌ها از دو ناحیه صورت گرفت. مایه‌کوبی اول از ناحیه انشعاب اولین شاخه از پایین ساقه و مایه‌کوبی دوم به فاصله ۲۰ سانتی‌متری از آن انجام شد. محل زخمی شده پس از مایه‌کوبی با نوار پارافیلم بسته شد. نهال‌ها در خاک کمپوست داخل گلدان‌های پلاستیک در شرایط گلخانه در دمای ۲ ± ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. آبیاری گلدان‌ها نیز هر دو روز یکبار (با کاهش رطوبت خاک گلدان‌ها) تا پایان دوره آزمایش انجام گرفت.

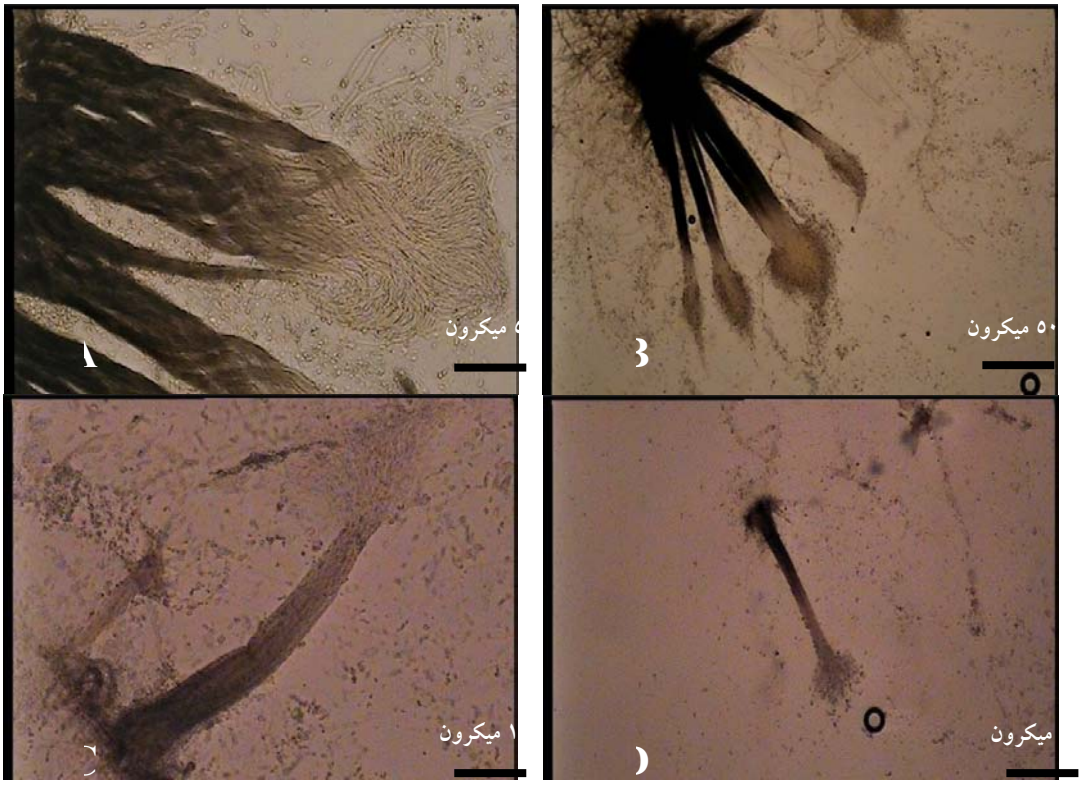
نتایج

به‌طور کلی از مجموع بیش از ۳۰ مورد نمونه‌برداری شده ٦ جدایه از قارچ عامل بیماری مرگ نارون جداسازی گردید. تمامی جدایه‌ها توان تولید فرم اسپوروتریکس را برروی محیط های کشت دارا بودند. همچنین برخی جدایه ها توان تولید سینما[1] را در روی محیط‌کشت‌های بکار رفته نشان دادند (شکل‌های ۱ و ۲). همچنین تمامی جدایه برروی محیط کشت حاوی ۲۰۰ میلی‌گرم سیکلوهگزامید رشد کردند.

1- Synnemata

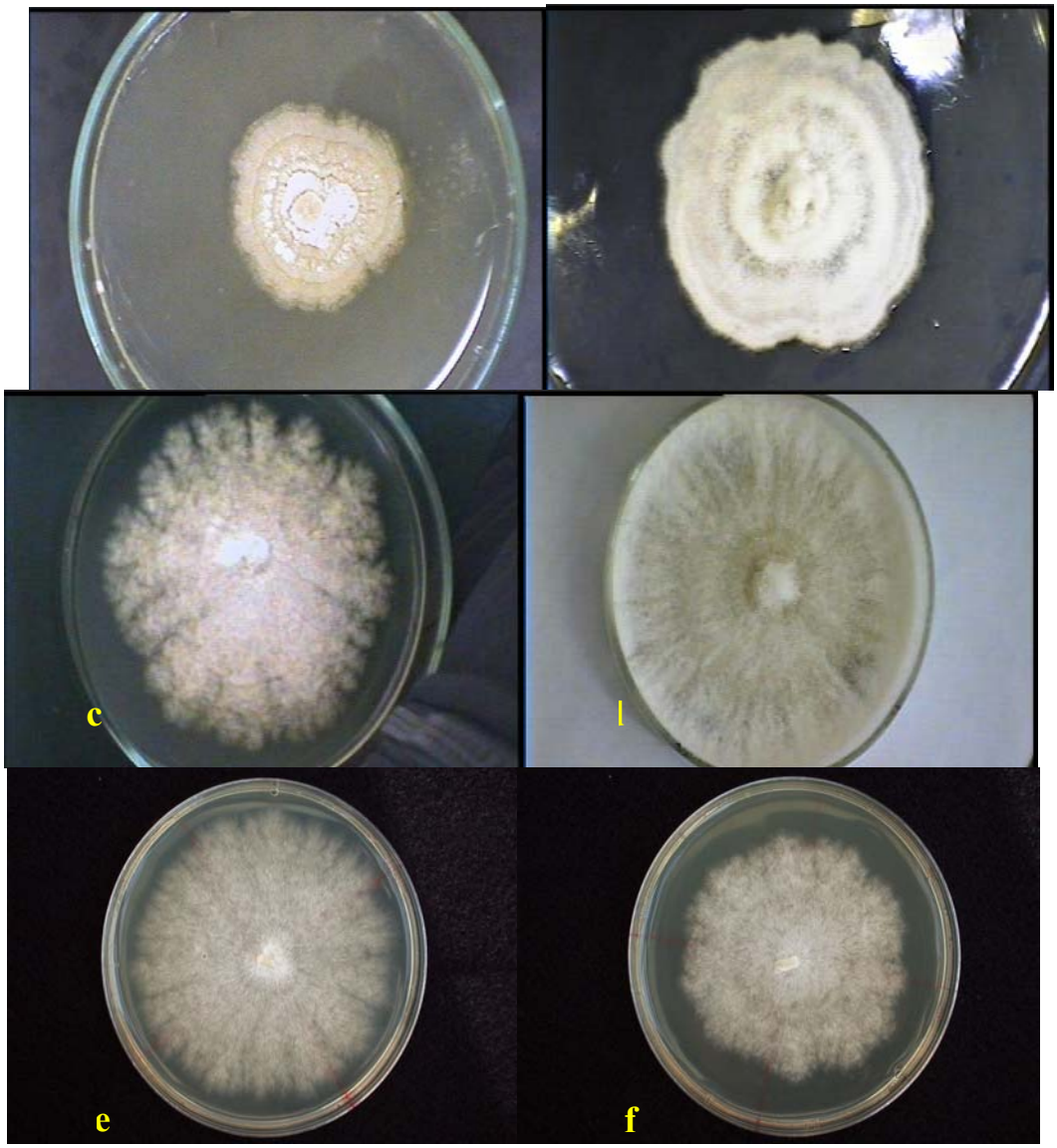


شکل ۱- فرم "Sporothrix" جدایه‌های مختلف عامل بیماری مرگ هلندی نارون برروی محیط‌کشت PDA : A : میسلیوم و انشعابات ساده و کوتاه (کنیدیوفور) حاوی اسپورهای فرم "Sporothrix" جدایه B.Onu1 : میسلیوم و انشعابات ساده و کوتاه (کنیدیوفور) حاوی اسپورهای فرم "Sporothrix" جدایه C. Onu4: ابعاد مختلف کنیدی‌های فرم "Sporothrix" جدایه D. Ou2: دو اسپور فرم "Sporothrix" برروی کنیدیوفور کوتاه جدایه Ou2.



شکل ۲- اندام کورمیوم (سینما) جدایه‌های عامل بیماری مرگ هلندی نارون در محیط‌کشت PDA پس از ۲۵ روز . A – B مربوط به جدایه Onu3 و D-C مربوط به جدایه Onu2.

مطالعه شکل پرگنه جدایه‌های مهاجم و غیرمهاجم عامل بیماری برروی محیط‌کشت MEA ۲ درصد در ۲۰ درجه سانتی‌گراد نشان داد که جدایه‌های گونه *O. ulmi* دارای پرگنه‌های نسبتاً صاف و نرم تا چمنی با میسلیوم‌های نسبتاً یکنواخت و با رشد روزانه ضعیف (متوسط ۲/۵ میلی‌متر در روز) و کم می‌باشند در حالی که جدایه‌های مهاجم با داشتن رشد روزانه زیاد (متوسط ۳/۶ میلی‌متر در روز)، پرگنه‌های گلبرگ مانند، نواری و فیبری، از جدایه‌های غیرمهاجم قابل تفکیک می‌باشند. شکل ۳ تنوع فرم پرگنه را در جدایه‌های عامل بیماری نشان می‌دهد.



شکل ۳- تنوع فرم پرگنه در جدایه‌های عامل بیماری مرگ نارون: a و b به‌ترتیب جدایه‌های Ou1 و Ou2 مربوط به گونه *Ophiostoma ulmi* c – f به‌ترتیب جدایه‌های Onu1 ، Onu2 ، Onu4 و Onu5 گونه *Ophiostoma novo-ulmi* برروی محیط کشت مالت اکسترکت آگار ۲ درصد.

سرعت رشد شعاعی روزانه جدایه‌های عامل بیماری برروی محیط‌کشت MEA در ۳ دمای ۲۰، ۲۸ و ۳۵ درجه سانتی‌گراد، به‌منظور تفکیک جدایه‌های مهاجم و غیرمهاجم، در آزمایشگاه محاسبه شد. مقایسه آماری داده‌ها نشان داد که جدایه‌های مهاجم گونه *O. novo-ulmi* در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد و جدایه‌های غیرمهاجم گونه *O. ulmi* در دمای ۲۸ و ۳۵ درجه سانتی‌گراد در مقایسه با همدیگر سرعت رشد روزانه بیشتری دارند. در ۲۰ درجه سانتی‌گراد جدایه‌های مهاجم با متوسط سرعت رشد روزانه ۳/٦ میلی‌متر در مقایسه با جدایه‌های غیرمهاجم با سرعت رشد روزانه ۲/۵ میلی‌متر، اختلاف معنی‌داری دارند. از طرفی جدایه‌های غیرمهاجم نیز در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد به‌طور معنی‌داری سرعت رشد روزانه بیشتری را در مقایسه با جدایه‌های مهاجم از خود نشان دادند. در ۲۸ درجه سانتی‌گراد نیز علیرغم وجود سرعت رشد روزانه نسبتاً زیاد جدایه‌های غیرمهاجم در مقایسه با جدایه‌های مهاجم، اختلاف چندان معنی‌داری در بین اغلب جدایه‌ها مشاهده نشد (جدول ۱).

اندازه‌گیری وزن خشک جدایه‌های دو گونه مهاجم و غیرمهاجم نشان داد که جدایه‌های غیرمهاجم نسبت به جدایه‌های مهاجم میزان توده زنده کمتری تحت شرایط یکسان در محیط مایع تولید می‌کنند. به‌طورکلی نتایج آزمایش نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین وزن خشک جدایه‌های مهاجم و غیرمهاجم وجود دارد. در این میان جدایه Ou1 مربوط به گونه غیرمهاجم *O. ulmi* با ۲۷٤/۲۵ و جدایه Onu3 مربوط به گونه مهاجم *O. novo-ulmi* با ۲٤٤ میلی‌گرم به‌ترتیب بیشترین و کمترین میزان وزن خشک را در میان جدایه‌ها داشتند (جدول ۲).

نتایج تعیین درصد پژمردگی نشان داد که بین جدایه‌های مختلف از دو گونه قارچ عامل بیماری مرگ نارون مورد استفاده در این آزمایش اختلاف معنی‌دار وجود دارد، به‌طوری که جدایه Ou1 مربوط به گونه غیرمهاجم *O. ulmi* با ۱ درصد و جدایه Onu3 مربوط به گونه مهاجم *O. novo-ulmi* با ۲۵ درصد به‌ترتیب کمترین و بیشترین پژمردگی را برروی نهال‌ها باعث شدند. نتایج نشان داد که جدایه‌های مربوط به گونه جدید *O. novo-ulmi* به مراتب شدت پژمردگی و برگریزی بیشتری را در مقایسه با جدایه‌های گونه *O. ulmi* ایجاد می‌کنند (جدول ۳).

جدول ۱- بررسی مقایسه سرعت رشد شعاعی پرگنه جدایه‌های قارچ عامل بیماری مرگ هلندی نارون در ۳ تیمار دمایی ۲۰ ، ۲۸ و ۳۵ درجه سانتی‌گراد برروی محیط‌کشت MEA ۲ درصد.

جدایه***	اندازه‌گیری (میلی‌متر بر روز) * دما (سانتی‌گراد)		
	۲۰	۲۸	۳۵
Ou1****	۲/٤۹^{c}	۳/۰۹^{b}	۰/٦۲^{a}
Ou2	۲/۲۵^{d}	۳/۳^{a}	۰/٤۹^{b}
Ou3	۲/٦۲^{c}	۳/۰۵^{b}	۰/٤۹^{b}
Onu1	۳/۷^{ab}	۲/۹۳^{b}	۰/۰۵^{c}
Onu2	۳/٦^{ab}	۲/۹^{b}	۰/۰^{c}
Onu3	۳/٤۳^{b}	۲/۹^{b}	۰/۰^{c}
Onu4	۳/٦۳^{ab}	۳/۰^{b}	۰/۰۷^{c}
Onu5	۳/۷^{a}	۲/٦۷^{c}	۰/۰^{c}
Onu6	۳/۸^{a}	۲/٦۷^{c}	۰/۰^{c}
دانکن (۵ درصد)			

* هر عدد میانگین٦ تکرار می باشد.

**حروف غیر مشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد.

*** جدایه‌های Ou1-3 مربوط به گونه غیرمهاجم *Ophiostoma ulmi* و جدایه‌های Onu1-6 مربوط به گونه مهاجم *O. novo-ulmi* می‌باشند.

**** جدایه‌های Ou3، Onu3 و Onu6 جزء جدایه‌های استاندارد می‌باشند.

جدول ۲- بررسی میزان وزن خشک توده قارچی جدایه‌های عامل بیماری مرگ نارون یک هفته پس از کشت در محیط مایع PDB .

جدایه****	میانگین وزن خشک (میلی‌گرم) * ± خطای استاندارد
Ou1	۲۷٤/۲۵ ± ۱۹[a]***
Ou2	۲۷۰/۲۵ ± ۲٦[ab]
Ou3	۲٦٦ ± ۲۷[abc]
میانگین کل	۲۷۰/۱۷A*
Onu1	۲۵۲ ± ۲۱[abc]
Onu2	۲۵٤/۵ ± ۲۳[abc]
Onu3	۲٤٤ ± ۱٤[c]
Onu4	۲٤۷ ± ۱٤[bc]
Onu5	۲۵۱ ± ۱۲[abc]
Onu6	۲۵۳/۵ ± ۲[abc]
میانگین کل	۲۵۰/۳٤B
دانکن (۵ درصد)	

* هر عدد میانگین٤ تکرار می باشد، **حروف غیر مشابه بزرگ نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار دو گروه *Ophiostoma ulmi* و *O. novo-ulmi* در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد، *** حروف غیر مشابه کوچک نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار همه جدایه‌ها در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد.

**** جدایه‌های Ou1-3 مربوط به گونه غیرمهاجم *Ophiostoma ulmi* و جدایه‌های Onu1-6 مربوط به گونه مهاجم *O. novo-ulmi* می‌باشند.

جدول ۳- بررسی میزان پژمردگی نهال‌های نارون چینی در برابر عامل بیماری مرگ نارون پس از گذشت ۱۰ هفته از مایه‌زنی.

جدایه	پژمردگی (درصد)*
Ou1***	۱**[e]
Ou2	٦[cd]
Ou3	۲[de]
Onu1	۱۱[b]
Onu2	۱۰[bc]
Onu3	۲۵[a]
دانکن (۵درصد)	

* هر عدد میانگین٤ تکرار می‌باشد، **حروف غیر مشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد.

*** جدایه‌های Ou1-3 مربوط به گونه غیرمهاجم *Ophiostoma ulmi* و جدایه‌های Onu1-3 مربوط به گونه مهاجم *O. novo-ulmi* می‌باشند.

جدول ٤- مقایسه کلی برخی از ویژگی‌های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی مورد استفاده برای تفکیک جدایه‌های دو گونه *Ophiostoma ulmi* و *Ophiostoma novo-ulmi*.

مشخصات	*Ophiostoma ulmi*	*Ophiostoma novo-ulmi*
مورفولوژیکی		
شکل پرگنه جدایه‌ها برروی محیط MEA*	صاف ، نرم تا چمنی و با رشد روزانه ضعیف	نواری و فیبری تا گلبرگ مانند و ناصاف و با رشد روزانه زیاد
فیزیولوژیکی		
نرخ رشد شعاعی برروی محیط کشت MEA (میلی‌متر در روز) در:		
۲۰ درجه سانتی‌گراد	۲/٤-۲/٦	۳/٤-۳/۸
۲۸ درجه سانتی‌گراد	۲/۹-۳/۲٦	۲/۷-۲,۹٦
۳۵ درجه سانتی‌گراد	۰/٤۹-۰/۷	۰/۰-۰/۰۷
وزن خشک توده قارچ در محیط مایع PDB** (میلی‌گرم)	بیشتر (۲٦٦-۲۷٤/۲۵)	کمتر (۲٤٤-۲۵٤/۵)
میزان بیماری‌زایی روی نارون چینی (درصد پژمردگی و ریزش برگ):	با شدّت کمتر	با شدّت بیشتر
نهال‌های ۲ ساله	٦-۱ درصد	۲۵-۱۰ درصد

* محیط‌کشت مالت اکسترکت آگار، ** محیط‌کشت مایع سیب‌زمینی دکستروز

بحث

طی بازدیدهایی که به‌منظور بررسی پراکندگی بیماری مرگ نارون در مناطق مختلف جنگلی استان گلستان نظیر جنگل لوه، توسکاستان، دلند و سوسرا، از درختان خشکیده، آلوده و مشکوک به آلودگی به‌عمل آمده و نمونه‌برداری گردید، ٦ جدایه مختلف قارچ عامل بیماری مرگ نارون مربوط به دو گونه قارچی *Ophiostoma ulmi* و *Ophiostoma novo-ulmi* جداسازی و خالص‌سازی گردید. با توجه به نتایج به‌دست آمده از جداسازی جدایه‌های عامل بیماری از این مناطق (علیرغم جداسازی کم عامل بیماری از تمام مناطق مورد بازدید به واسطه شرایط آب و هوایی گرم در زمان‌های نمونه‌برداری) و با توجه به بازدیدها از این مناطق و مشاهده نهال‌های بسیار تنومند که سال‌ها پیش خشکیده و به‌عنوان منبع اولیه و اصلی پراکندگی عامل بیماری در این مناطق به شمار می‌روند و مهمتر از همه وجود گونه جدید *O. novo-ulmi* نتیجه گرفته شد که بیماری در اغلب مناطق استان وجود دارد. اگرچه یکی از دلایل اپیدمی شدن، وجود سوسک پوستخوار کوچک نارون به نام *Scolytus multistriatus* می‌باشد که آثار آن در اکثر نمونه‌برداری‌ها مشهود بوده است که با توجه به دامنه قدرت پروازی آنها می‌توان وضعیت گسترده عامل بیماری و خشکیدگی درختان را به گونه جدید فوق نسبت داد. ضمن اینکه درختان جنگلی تنومند به این گونه جدید قارچ *O. novo-ulmi* حساسیت بیشتری دارند (بریزیر، ۱۹۹۱؛ بریزیر و کیرک، ۲۰۰۱). این نتایج اگرچه به‌علت عدم وجود اطلاعات کافی در منابع کشور مبنی بر چگونگی تغییرات جمعیتی این دو گونه در طول سالیان گذشته قابل ارجاع به اطلاعات و منابع گذشته نیست ولی نتایج محققین اخیر در این زمینه تا حدی این مسأله را تأیید می‌کند (رهنما و همکاران، ۲۰۰۰b؛ رهنما و طاهری، ۲۰۰٤). مطالعات اپیدمیولوژیکی قارچ عامل بیماری مرگ نارون نشان می‌دهد که گونه مهاجم به تدریج در طبیعت جایگزین گونه غیرمهاجم می‌شود (بریزیر، ۲۰۰۱). رهنما و طاهری اعلام کردند که از میان جدایه‌های به‌دست آمده، براساس آزمایش‌های دمایی و شکل پرگنه، تنها ۳۰ درصد مربوط به گونه غیرمهاجم می‌باشد و این نشان از جایگزینی تدریجی عامل بیماری با گونه و نژاد مهاجم‌تر در کشور دارد. این مسأله با توجه به نتایج این پژوهش و مقایسه با نتایج گذشته که همواره از این قارچ با عنوان *O. ulmi* یاد شده است (بریزیر و افشارپور، ۱۹۷۹) می‌تواند اثبات شود. جایگزینی گونه غیرمهاجم با گونه مهاجم تنها به ایران محدود نمی‌شود و در سایر نقاط دنیا نیز به اثبات رسیده است. در تحقیقی که اخیراً در اسپانیا انجام شد، مقایسه‌ای بین میزان پراکندگی و نوع عامل بیمارگر روی نارون در بین سال‌های ۱۹۸٦ و ۲۰۰۲ به عمل آمد. ۱۱۰ جدایه از ۱۵ ناحیه در سال ۲۰۰۲ جداسازی شد. براساس اندازه‌گیری سرعت رشد در دو دمای ۲۰ و ۳۳ درجه سانتی‌گراد و مورفولوژی پرگنه، ٤ جدایه مربوط به *O. ulmi*، ۱۰٤ جدایه مربوط به گونه *O. novo-ulmi* و دو جدایه ناشناخته تشخیص داده شدند. بدین ترتیب نتایج نشان داد که تنها ۳/۷ درصد از جدایه‌ها مربوط به گونه قدیمی یعنی *O. ulmi* است در حالی که در سال‌های ۱۹۸۷-۱۹۸٦ این گونه حدود ٤۳/۷ درصد از جدایه‌ها را تشکیل می‌داد و این نشان از جایگزینی تدریجی گونه مهاجم‌تر به جای گونه غیرمهاجم می‌باشد (داکازا و همکاران، ۲۰۰۳). در آزمایش مشابهی که جهت بررسی میزان پراکندگی و نوع عامل بیمارگر در اتریش (مرکز اروپا: منطقه‌ای که احتمال وقوع هیبریدهای طبیعی زیاد است) انجام شد، جمعاً ۱۵۱ جدایه از مناطق مختلف این کشور جداسازی شد. بررسی سرعت رشد جدایه‌ها در دو دمای ۲۰ و ۳۳ درجه سانتی‌گراد و نیز شکل پرگنه جدایه‌ها نشان داد که به استثناء یک جدایه بقیه جدایه‌ها مربوط به گونه *O. novo-ulmi* می‌باشند. از بین ۹۹ جدایه مزبور نیز ٦٦ جدایه مربوط به زیرگونه *O. novo-ulmi* ssp. *novo-ulmi* و۳۳ جدایه مربوط به زیر گونه *O. novo-ulmi* ssp. *americana* هستند. مقایسه این جدایه‌ها با جدایه‌های قدیمی‌تر از

همان مناطق نشان از جایگزینی گونه مهاجم به جای گونه قدیمی و غیرمهاجم داشت (کونراد و همکاران، ۲۰۰۳). در این بررسی مطالعه شکل پرگنه جدایه‌های مهاجم و غیرمهاجم عامل بیماری برروی محیط‌کشت MEA ۲درصد نشان داد که جدایه‌های گونه غیرمهاجم *O. ulmi* عمدتاً دارای پرگنه‌های نسبتاً صاف و نرم تا چمنی با میسلیوم‌های نسبتاً یکنواخت و پر پشت با رشد روزانه ضعیف و کم می‌باشند در حالی که جدایه‌های مهاجم *O. novo-ulmi* با داشتن رشد روزانه زیاد، پرگنه‌های گلبرگ مانند، نواری و فیبری، از جدایه‌های غیرمهاجم قابل تفکیک هستند (شکل ۳). نتایج این تحقیق در کار بسیاری از محققین دیگر نیز به اثبات رسیده است (استیپز وکامپانا، ۱۹۸۱؛ بریزیر، ۱۹۸۱؛ بریزیر و همکاران، ۱۹۸۱؛ رهنما و طاهری، ۲۰۰٤). مطالعه شکل پرگنه جدایه‌های مهاجم و غیرمهاجم عامل بیماری برروی محیط‌کشت MEA ۲ درصد نشان داد که گونه غیرمهاجم دارای پرگنه‌های نسبتاً صاف و نرم تا چمنی یکنواخت و با رشد روزانه ضعیف و کم می‌باشند در حالی که جدایه‌های مهاجم با داشتن رشد روزانه زیاد، پرگنه‌های گلبرگ مانند، نواری و فیبری (نژاد آمریکای شمالی) و یا کمتر نواری و گلبرگ مانند، اغلب چندجزئی (لخته لخته) و ناهموار (نژاد اوراسیایی) از جدایه‌های *O. ulmi* قابل تفکیک می‌باشند (بریزیر، ۱۹۸۱) در تحقیق دیگری جدایه‌های زیرگونه *O. novo-ulmi* ssp. *americana* دارای شکل پرگنه فیبری و نواری منظم و مشخص بوده در حالی که در جدایه‌های زیرگونه *O. novo-ulmi* ssp. *novo-ulmi* حالت نواری و فیبری به خوبی واضح و مشخص نبوده و پرگنه حالت ناصاف و غیرمنظمی داشت (بریزیر و همکاران، ۱۹۸۱). اما نتایج بررسی‌های پرگنه‌های جدایه‌های ایرانی در طول سالیان مختلف و از مناطق مختلف نشان‌دهنده تنوع بسیار زیادی است که در جدایه‌های ایرانی نمایان است (رهنما و طاهری، ۲۰۰٤) که مورد تأیید نتایج این تحقیق نیز می‌باشد.

نتایج به‌دست آمده از آزمایش‌های دمایی جدایه‌های مربوط به دو گونه *O. ulmi* و *O. novo-ulmi* در سه دمای ۲۰، ۲۸ و ۳۵ درجه سانتی‌گراد نشان داد که جدایه‌های گونه *O. novo-ulmi* در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد بیشترین و در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد کمترین میزان سرعت رشدی را به‌ترتیب با ۳/۸-۳/٤ و ۰/۰-۰/۰۷ میلی‌متر در روز دارا بوده و از این نظر به‌طور معنی‌داری با جدایه های گونه غیرمهاجم *O. ulmi* که در دمای ۲۰ و ۳۵ درجه سانتی‌گراد به‌ترتیب سرعت رشد روزانه معادل ۲/۷-۲/۲۵ و ۰/٦۲-۰/٤۸۳ میلی‌متر دارند، اختلاف دارند. به‌عبارت دیگر جدایه‌های مهاجم *O. novo-ulmi* خنک پسندتر از جدایه‌های *O. ulmi* بوده و در دماهای پایین‌تر سرعت رشد بیشتری دارند. این نتایج در کار بسیاری از محققین نیز به چشم می‌خورد (بریزیر، ۱۹۸۱؛ بریزیر و همکاران، ۱۹۹۰). اما در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد اگرچه سرعت رشد روزانه جدایه‌های *O. ulmi* نسبت به جدایه‌های *O. novo-ulmi* بیشتر است ولی به‌طورکلی از نظر آماری اختلاف معنی داری بین جدایه‌های این دو گونه وجود ندارد. بسیاری از محققین در تفکیک جدایه‌های مهاجم و غیرمهاجم نیز از دو دمای ۲۰ و ۳۳ درجه سانتی‌گراد استفاده کرده‌اند (استیپز و کامپانا، ۱۹۸۱؛ بریزیر و همکاران، ۱۹۸۱ و تگلی، ۱۹۹٤). نتایج این تحقیق نیز نشان می‌دهد که دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد اگرچه به احتمال زیاد می‌تواند بهینه دما برای رشد جدایه‌های غیرمهاجم باشد ولی دمای مناسبی برای تفکیک جدایه‌های دو گونه *O. ulmi* و *O. novo-ulmi* نمی‌باشد، هرچند که در ترکیب با نتایج سایر گروه‌های دمایی می‌تواند مفید باشد. در تحقیقی توانایی رشد جدایه‌های مهاجم و غیرمهاجم در دو دمای ۲۰ و ۳۳ درجه سانتی‌گراد نشان داد که میانگین رشد شعاعی روزانه پرگنه جدایه‌های غیرمهاجم در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد در مقایسه با جدایه‌های مهاجم دو نژاد (زیرگونه) اوراسیایی و آمریکای شمالی کمتر است. میانگین رشد شعاعی روزانه برای

گونه *O. ulmi* (غیرمهاجم) در این دما ۳/۱-۲، حداقل ۱/۵ و حداکثر ۳/۵ میلی‌متر، برای زیرگونه *O. novo-ulmi* ssp. *novo-ulmi* (نژاد اوراسیایی) ٤/٤-۳/۱ و حداکثر ٤/۸ میلی‌متر و برای زیرگونه *O. novo-ulmi* ssp. *americana* ٤/۸-۳/۲ و حداکثر ۵/۵ میلی‌متر اندازه‌گیری شد، در حالی که میانگین رشد روزانه برای قارچ *O. ulmi* در دمای ۳۳ درجه سانتی‌گراد ۲/۸-۱/۱ میلی‌متر و برای دو نژاد اوراسیایی و آمریکای شمالی گونه *O. novo-ulmi* به‌ترتیب ۰/۱- ۰ و ۰/۵-۰/۱ میلی‌متر محاسبه گردید (بریزیر و همکاران، ۱۹۸۱) که به‌طورکلی نتایج حاصل از این آزمایش نیز با نتایج حاصل از این تحقیق همخوانی دارد. در آزمایشی مشابه بهینه دمای رشدی برای دو گونه *O. novo-ulmi* و *O. ulmi* به‌ترتیب ۲۲ و ۲۸ درجه سانتی‌گراد محاسبه شد. بریزیر و همکاران پیشنهاد کردند که احتمالاً گونه جدید *O. novo-ulmi* در مقایسه با گونه *O. ulmi* بیشتر به شرایط معتدل و نیمه سردسیری اروپا و آمریکای شمالی سازگاری داشته باشد (بریزیر، ۲۰۰۱). به‌طورکلی مقایسه نتایج این آزمایش با سایر محققیق نشان می‌دهد که جدایه‌های مهاجم جداسازی شده نسبت به جدایه‌های مشابه اروپایی یا آمریکای شمالی گرما پسندتر می‌باشند و این مسأله با توجه به موقعیت جغرافیایی ایران در مقایسه با کشورهای اروپایی و آمریکای شمالی و اقلیم گرم و مرطوب تا خشک استان گلستان در مقایسه با اروپا و آمریکا می‌تواند مورد تأیید قرار بگیرد.

نتایج آزمایش اندازه‌گیری توده زنده جدایه‌های دو گونه *O. ulmi* و *O. novo-ulmi* نشان داد که به‌طورکلی جدایه‌های *O. novo-ulmi* نسبت به جدایه‌های *O. ulmi* مقادیر بیشتری توده زنده در داخل محیط مایع PDB تولید می‌کنند. این نتایج در کار بسیاری از محققین دیگر نظیر بریزیر و همکاران (۱۹۸۱)، جنگ و همکاران (۱۹۸۸) به اثبات رسیده است. مطالعات بریزیر و همکاران (۱۹۹۰) برروی ۳۰ جدایه مهاجم و غیرمهاجم نشان داد که، متوسط میزان توده زنده برای جدایه‌های *O. ulmi*، *O. novo-ulmi* ssp. *novo-ulmi* و *O. novo-ulmi* ssp. *americana* به‌ترتیب ۲٦۵، ۲۵۰ و ۲۲٤ میلی‌گرم وزن خشک در هر فلاسک می‌باشد. مطالعات جنگ و همکاران (۱۹۸۸) نیز نشان داد که جدایه‌های غیرمهاجم در مقایسه با جدایه‌های مهاجم میزان بیشتری توده زنده تولید می‌کنند ولیکن میزان تولید سراتوالمین کمتری در مقایسه با گونه مهاجم دارند (تگلی و همکاران، ۱۹۹٤). نتایج برخی از تحقیقات نشان داده است که میزان تولید توکسین با تغییرات دمایی رابطه دارد به‌طوری‌که قارچ عامل بیماری در دماهای بالاتر توکسین کمتری تولید می‌کند (بریزیر و همکاران، ۱۹۹۰).

نتایج حاصل از تعیین میزان درصد پژمردگی و برگریزی نهال‌های نارون چینی مایه‌کوبی شده با جدایه‌های دو گونه قارچ مهاجم و غیرمهاجم عامل بیماری مرگ نارون در شرایط گلخانه‌ای نشان داد که جدایه‌های مهاجم شدت بیماری‌زایی بیشتری نسبت به جدایه‌های غیرمهاجم دارند و وجود اختلاف معنی‌دار در میزان بیماری‌زایی بین جدایه‌های گونه مهاجم *O. novo-ulmi* و *O. ulmi* برروی نهال‌های ۲ ساله نارون چینی بیانگر این مسأله می‌باشد. نتایج حاصله در کار اغلب محققین به اثبات رسیده است. در تحقیقی میزان بیماری‌زایی جدایه‌های مهاجم و غیرمهاجم عامل بیماری مرگ نارون مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که جدایه‌های مهاجم زیرگونه *O. novo-ulmi* ssp. *americana* با ۱۰۰-۸۰ درصد برگریزی روی نهال‌های ٤ ساله نارون انگلیسی (*U. procera*) بیشترین و جدایه‌های غیرمهاجم گونه *O. ulmi* با ۳۵-۱۰ درصد کمترین میزان برگریزی را از خود نشان دادند (بریزیر و کیرک، ۲۰۰۱). اما نکته قابل توجه در این تحقیق امکان پژمردگی نهال‌های نارون چینی می‌باشد که در تمام منابع خارجی از این نهال در زمره نادر درختان با مقاومت بسیار بالا یاد شده است (اسمولی و گوریس، ۱۹۹۳). اگرچه نتایج حاصل با در نظر گرفتن مقدار و غلظت مایه تلقیح اولیه بکار رفته و سن نهال‌های استفاده شده، در مقایسه با تحقیقات و نتایج مشابه در دیگر گونه‌های مقاوم و

به‌ویژه هیبرید بکار گرفته شده در برنامه‌های اصلاح نارون در سایر نقاط دنیا مغایرتی نمی‌تواند داشته باشد، اما این تحقیق برای اولین بار در کشور نشان داد که گونه نارون چینی نیز همانند بسیاری از نارون‌های دیگر امکان آلودگی و حتی پژمردگی را در اثر هجوم نژادهای با توان بیماری‌زایی بیشتر عامل بیماری مرگ نارون دارد، چنانچه این موضوع در مورد نارون‌های سیبریایی (*U. pumila* L.) که در دهه ۱۹۳۰ و با شیوع فرم مهاجم‌تر بیماری در اروپا به جای گونه‌های حساس موجود آن زمان کاشته و در سال‌های بعد نسبت به نژادهای جدید بیماری حساسیت نشان دادند، نیز مشاهده شد (استیپز و کامپانا، ۱۹۸۱). بنابراین با در نظر گرفتن وجود نژادهای مختلفی از این عامل بیماری در کشور و احتمال وجود نژادهای دیگر با توجه به شرایط اپیدمیولوژیکی و جغرافیایی ایران و با توجه به شناسایی شدت بالای بیماری‌زایی جدایه‌های مهاجم عامل بیماری مرگ نارون که در موارد بسیاری از مناطق شهری و جنگلی ایران و به‌ویژه در این تحقیق به اثبات رسیده است، بنابراین لزوم انجام اقدامات اساسی در جهت مبارزه با عاملین و ناقلین بیماری مرگ نارون در کشور بیش از گذشته توصیه می‌شود. در این میان استفاده از این گونه نارون چینی، به‌عنوان گونه‌ای مقاوم نسبت به بیماری مرگ نارون در سطح فضای سبز در کشور و جایگزینی به جای گونه‌های حساس مانند نارون چتری در شهرهایی همچون تهران و اصفهان و در حال انقراض نظیر اوجا و ملج و به‌ویژه بکارگیری آن در برنامه‌های اصلاح نارون، به‌منظور دستیابی به نهال‌های هیبرید با مقاومت بسیار مطلوب، می‌تواند مؤثر واقع شود.

سپاسگزاری

بدینوسیله از کلیه همکاران گروه گیاهپزشکی و تحصیلات تکمیلی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان که امکانات لازم جهت این تحقیق را فراهم نمودند، صمیمانه تشکر می‌شود. همچنین از اداره کل منابع طبیعی شهرستان گرگان، بخش حمایت و حفاظت جنگل داری و به‌ویژه جناب آقای مهندس خلیلی که در تهیه وسیله نقلیه و شناسایی عرصه درختان جنگلی جهت نمونه‌برداری کمک قابل توجه‌ای نمودند تشکر می‌شود. از آقای رحیمی کارشناس محترم دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان که در تهیه نهال‌های نارون چینی از گلخانه دانشگاه همکاری صمیمانه‌ای داشته‌اند نویسندگان مقاله تشکر شایسته‌ای دارند.

منابع

1.Brasier, C.M. 1979. Dual origin of recent Dutch elm disease outbreaks in Europe. Nature. 281: 78-79.
2.Brasier, C.M. 1981. Laboratory investigation of *Ceratocystis ulmi* . In: R. J. Stipes and R.J. Compana (eds.).Compendium of Elm Disease . APS. Press., 76-79.
3.Brasier, C.M. 1990. China and the origin of Dutch elm disease an appraisal. Plant Pathology. 39:5-16.
4.Brasier, C.M. 1991. *Ophiostoma novo-ulmi* sp. Nov., Causative agent of current Dutch elm disease pandemics. Mycopathologia. 115:151-161.
5.Brasier, C.M. 2001. Rapid evolution of introduced plant pathogens via interspecific hybridization. Bioscince., 51(2): 123-133.
6.Brasier, C.A., and Afsharpour, F. 1979. The aggressive and non-aggressive strains of *Ceratocystis ulmi* (Buisman) C.Moreau in Iran.Res. Eur. J. of For. Pathol. 99, 113-122.
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., Lea, J., and Rawlings, M.K. 1981. The aggressive and non-aggressive strains of *Ceratocystis ulmi* have different temperature optima for growth. Transactions of British Mycological Society., 76 : 213-18.
9.Brasier, C.M., Takai, S., Nordin, J.H., and Richards, W.C. 1990. Differences in Cerato-ulmin production between the EAN and NAN and nonaggressive subgroups of *Ophiostom ulm*. Pl. Pathol., 39: 231-236.

10. 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.p.44.
11. Ebrahimi, A., and McNab, H. 1972. Growth of fungus *Ceratocystis ulmi* causal agent of decline "Dutch Elm Disease" in forest areas of Austria on stem of various plants. Iranian J. of Pests and Plant Disease , 32; 26-30.
12. Jeng, R.S., Brenier, L., and Brasier, C.M. 1988. A comparative study of cultural and electrophoretic characteristics of the Eurasian and North American races of *Ophiostoma ulmi*. Can. J. Bot., 66:1325-1333.
13. Konrad, H., Halmschlager, E., Stauffer, CH., and Kiristts, T. 2003. Studies on the Dutch disease pathogens in Austria. In Proceedings: The Second International Elm Conference. Valsain, Segovia, Spain. p 42.
14. Rahnama, K. 2003. Incidence of Dutch elm disease in new area of natural forest and urban trees of Iran. In: Proceeding of the Second International Elm Conference. Valsain, Segovia, Spain.34pp.
15. Rahnama, K., and Taheri, A.H. 2004. Distribution of Dutch elm disease pathogens, aggressive and non- aggressive isolates in Iran. Canadian Journal of Plant Pathology, Symposium supplement. 26:121-126.
16. Rahnama, K., Asadeh, Gh., and Salahshour, M. 2000. Study in occurrence of "Dutch Elm Disease " current status and the future of disease in IRAN. In Proceeding: The first Asian Conference on Plant Pathology. China Agricultural Scientech Press. 49p.
17. Rahnama, K., Asadeh, Gh., Salahshour, M., Arab Nejhad, A., and Ebrahimi, A. 2000. Importance and distribution of Dutch elm disease, strategies for protecting and prevention of elm trees decline in Golestan Forest National Park. In: Proceeding of the Second Conference on the Potentials of Golestan Province progress, Gorgan University. of Agricultural Sciences and Natural Resources, (In Persian Language).5: 2-12.
18. Santini, A., Fagnani, A., Ferrini, F., and Mittempergher, L. 2002. "San Zanobi" and "Plinio" Elm Trees. Hortscience. 37(7): 1139-1141.
19. Smalley, E.B., and Guries, R.P. 1993. Breeding elms for resistance to Dutch elm disease. Ann. Rev. Phytopathol., 31; 325- 352.
20. Stipes, R.J., and Compana, R.J. 1981. Compendium of elm disease. APS. Press. Pp 96.
21. Sutherland, M.L., Mittempergher, L., and Brasier, C.M. 1995. Control Dutch E; lm disease by nduced host resistance. Eur. J. For. Path. 25, 307-318.
22. Tainter, F.H. 1990. *Ceratocystis*. In: L.L. Singleton, J., Mihail and C.M. Rush (eds.),. Methods for research on soilborn phytopathogenic fungi. APS Press. Minnesota., 55-59.
23. Tegli, S., Comparini, C., Giannetti, C., and Scala, A. 1994. Effect of temperature on growth and cerato-ulmin production of Ophiostoma novo-ulmi and O. ulmi. Mycol. Res. 98(4): 408-412.

J. Agric. Sci. Natur. Resour., Vol. 14(6), Feb-March 2008
www.jasnr.info
www.sid.ir
www.magiran.com/jasnr

Investigation on "Dutch Elm Disease" in some forest areas of Golestan province.

M.M. Iraqi[1], *K. Rahnama[2] , S.I. Razavi[3] and A. Ebrahimi[4]
[1]Former M.Sc. student, Dept. of Plant Protection, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran, [2]Associate Prof, Dept. of Plant Protection,Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran, [3]Instructor, Dept. of Plant Protection,Gorgan University, of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran, [4]Prof., Dept. of Plant Protection, Islamic Azad University of Gorgan, Iran

Abstract

Forest elm trees of Golestan province such as; Mazandaran, Guilan and Arasbaran forests, have been declined by causal agent "Dutch Elm Disease" during the last two decade. Since the decline damage of *Ulmus glabra* Huds. and *U. carpinifolia* Borkh., the two important elms, had been reported during the recent years, in order to investigate "Dutch Elm Disease", some of Golestan forest areas were continuously inspected during the years 2004-2006. In this inspections, different symptoms such as; yellows, wilt, defoliation, dieback, complete or partial decline and, more important than all, feeding symptoms of bark beetles, the only source of pathogen transmission, on trees'bark were observed, frequently. Samples were transferred to laboratory. The results indicated, that the causal fungus exists in predominance of areas. In this study, *Ophiostoma novo-ulmi* isolates showed the highest frequency. Investigating some of morphological and physiological characteristics, between *O. ulmi* and *O. novo-ulmi* also proved, that most isolates of *O. novo-ulmi* have; striate, fibrous to petaloid colony with more daily growth rate (3.6 mm/day), fewer optimal growth temperature (20-22º C) and dry weight of biomass distinguished from *O. ulmi* with mean daily growth rate (2.5 mm/day). The results of estimating seedlings wilt percent of Chinese elm, *U. parvifolia* Jasq., first times carried out in Iran , indicated, *O. novo-ulmi* isolates are more pathogenic than *O. ulmi* in spite of fact that this tree showed significantly higher relative resistance against the fungal pathogenic isolates.

Keywords: Decline; Current Dutch Elm Disease; Golestan province; Elm; *Ophiostoma novo-ulmi*.

*- Corresponding Author; Email: Kamran_ra@yahoo.com