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 شانزدهم، ویژه‌نامه ۱-الف، سال ۱۳۸۸
www.jasnr.info
www.sid.ir
www.magiran.com/jasnr

بررسی تأثیر دما بر رشد، اسپورزایی و تولید توکسین سراتوالمین دو گونه قارچ *Ophiostoma ulmi* و *O. novo-ulmi*

*میرمعصوم عراقی[۱]، کامران رهنما[۲] و معصومه مصطفی[۳]

[۱]دانش‌آموخته کارشناسی ارشد گروه گیاهپزشکی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، [۲]دانشیار گروه گیاهپزشکی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، [۳]دانشجوی کارشناسی ارشد گروه گیاهپزشکی، دانشگاه صنعتی اصفهان

تاریخ دریافت: ۸۷/۸/۱۸؛ تاریخ پذیرش: ۸۸/۱/۲۵

چکیده

دما یکی از مهم‌ترین عوامل محیطی مؤثر در خصوصیات فیزیولوژیکی قارچ‌ها می‌باشد. در این راستا اثر دما بر رشد، تولید اسپور و سراتوالمین ۴ جدایه *Ophiostoma ulmi* و ۶ جدایه *O. novo-ulmi* (عوامل بیماری مرگ نارون) در این پژوهش مورد بررسی قرار گرفت. برای اندازه‌گیری میزان رشد روزانه از محیط کشت عصاره مالت آگار ۲ درصد و برای تعیین میزان اسپورزایی و سراتوالمین از محیط کشت مایع زنتمایر استفاده شد. در تمامی آزمایش‌ها از ۳ تیمار دمایی ۱±۲۲، ۱±۲۷ و ۱±۳۳ درجه سانتی‌گراد استفاده گردید. نتایج نشان داد که تأثیر دما بر رشد رویشی و تولید سراتوالمین محسوس‌تر از اسپورزایی بود. جدایه‌های *O. novo-ulmi* در دمای ۱±۲۲ درجه سانتی‌گراد بیشترین رشد روزانه و تولید سراتوالمین را داشتند. بیشترین رشد روزانه و تولید سراتوالمین برای جدایه‌های *O. ulmi* نیز به‌ترتیب در دماهای ۱±۲۷ و ۱±۳۳ درجه سانتی‌گراد به‌دست آمد، اما بیشترین میزان اسپورزایی برای جدایه‌های هر گونه در دماهای مختلفی به وجود آمد. توانایی اسپورزایی عامل بیماری در دماهای مختلف با توجه به اهمیت انتشار آن به‌وسیله اسپور در داخل آوندهای چوبی درختان نارون می‌تواند قابل ملاحظه و بحث باشد.

واژه‌های کلیدی: بیماری مرگ نارون، دما، رشد، اسپورزایی، تولید سراتوالمین

مقدمه

از دهه ۱۹۲۰ تاکنون درختان نارون در سرتاسر جهان و به ویژه در کانادا، ایالات متحده و بخش‌های وسیعی از اروپا مورد هجوم عامل بیماری مرگ نارون واقع شده‌اند (ات- تویل و همکاران، ۱۹۹۹). شاید بتوان گفت بیماری مرگ نارون مهم‌ترین بیماری درختان جنگلی محسوب می‌شود که در یک قرن اخیر باعث اپیدمی‌هایی در نقاط مختلف دنیا شده است. دو اپیدمی ایجاد شده در دهه‌های ۱۹۳۰ و ۱۹۷۰ به‌ترتیب به‌وسیله دو گونه *Ophiostoma ulmi* و *O. novo-ulmi*، باعث از بین رفتن میلیون‌ها اصله درخت در مناطق جنگلی و شهری گردیده است (بریزیر، ۲۰۰۱؛ سینکلر و کامپانا، ۱۹۷۸). تفاوت‌های مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و مولکولی زیادی بین جدایه‌های دو گونه مهاجم (*O. novo-ulmi*) و غیرمهاجم (*O. ulmi*) وجود دارد (بریزیر، ۱۹۸۱؛ بریزیر،

*- مسئول مکاتبه: iraqi602@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

۱۹۹۱؛ بریزیر و کیرک، ۲۰۰۱؛ داکازا و همکاران، ۲۰۰۳؛ کنراد و همکاران، ۲۰۰۳) و از این‌رو نقش هر کدام از این عوامل در توان تهاجمی عامل بیماری همواره مورد توجه قرار گرفته و وجود همبستگی‌های مثبت و منفی بین توان بیماری‌زایی و برخی از این خصوصیات در تحقیق‌های مختلف به اثبات رسیده است (بریزیر، ۱۹۸۶؛ بریزیر و وبر، ۱۹۸۷؛ گیبس و بریزیر، ۱۹۷۳؛ عراقی و همکاران، ۲۰۰۹a؛ عراقی و همکاران، ۲۰۰۹b).

بنابراین در راستای تفکیک گونه‌های مهاجم و غیرمهاجم آگاهی از خصوصیات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و مولکولی و تأثیر عوامل محیطی بر آنها بسیار ضروری می‌باشد. از سوی دیگر میزان و شدت بیماری از تعاملات بسیار پیچیده بین میزبان- بیمارگر- ناقل- عوامل محیطی نتیجه می‌شود (ساترلند و همکاران، ۱۹۹۷) و در این بین دما، نور و رطوبت از مهم‌ترین عوامل محیطی محسوب می‌شوند (اسکالا و همکاران، ۱۹۹۴؛ بریزیر و همکاران، ۱۹۸۱؛ تگلی و همکاران، ۱۹۹۴؛ ساترلند و همکاران، ۱۹۹۷). به‌طور عمده بیماری در طبیعت به شکل اسپور و به‌وسیله سوسک‌های خانواده Scolytidae منتشر می‌شود (وبر، ۲۰۰۴). رشد میسلیومی، توان اسپورزایی (تولید بلاستوسپور[1]) و توان تولید متابولیت‌های بیوشیمیایی مانند گلیکوپپتیدها، پلی‌ساکاریدها، انواع آنزیم‌ها و توکسین سراتوالمین در داخل عناصر آوندی نیز (که مهم‌ترین عوامل مربوط به بیمارگر محسوب می‌شوند) نقش مهمی در بیماری‌زایی دارند (ائولت و ریوکس، ۱۹۹۲؛ تمپل و همکاران، ۱۹۹۷؛ عراقی و همکاران، ۲۰۰۸؛ عراقی و همکاران، ۲۰۰۹a).

بنابراین با توجه به خسارت بسیار شدید عامل بیماری در دهه‌های اخیر و نبود اطلاعات کافی در مورد مهم‌ترین خصوصیات عامل یا عاملان بیماری در داخل کشور (عراقی، ۲۰۰۷) این پژوهش با هدف بررسی توان رشد، اسپورزایی و تولید توکسین سراتوالمین در دماهای مختلف انجام گردید. بدیهی است که آگاهی از این ویژگی‌ها در کنار تعیین سایر خصوصیات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و مولکولی قارچ عامل بیماری در آگاهی بهتر از خصوصیات و تفاوت‌های بارز جدایه‌های مهاجم و غیرمهاجم ایرانی عامل بیماری و در نهایت در راستای اقدامات مدیریتی می‌تواند بسیار مفید واقع شود.

مواد و روش‌ها

جدایه‌های مورد استفاده: برای انجام این آزمون از ۵ جدایه مربوط به گونه *Ophiostoma novo-ulmi* شامل جدایه‌های Onu1 تا Onu5 و ۳ جدایه مربوط به گونه *O. ulmi* شامل جدایه‌های Ou1، Ou2 و Ou3 موجود در کلکسیون قارچ‌شناسی گروه گیاهپزشکی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان (جداسازی شده از مناطق مختلف استان گلستان) استفاده شد. همچنین در این آزمون از دو جدایه CKT-11 (جداسازی شده از چاچکام مازندران در سال ۱۹۷۷ توسط بریزیر) متعلق به گونه مهاجم *O. novo-ulmi* و جدایه W9 گونه *O. ulmi* (جداسازی شده از استان آکسفورد انگلستان در سال ۱۹۷۰ توسط گیبس) به‌عنوان جدایه‌های استاندارد استفاده شد.

کشت جدایه‌ها برروی محیط کشت مایع: برای انجام این کار و براساس منابع موجود (سوربو و همکاران، ۲۰۰۰؛ تگلی و همکاران، ۱۹۹۴) از سوسپانسیون اسپور هر کدام از جدایه‌ها که قبلاً برروی محیط مایع سیب‌زمینی- دکستروز[2] به‌دست آمده بود استفاده شد. سوسپانسیون اسپور هر جدایه به غلظت 5×10^5 (اسپور/ میلی‌لیتر) به داخل ارلن‌های حاوی ۲۰۰ میلی‌لیتر محیط مایع زنتمایر[3] (بریزیر، ۱۹۸۱) (با کمی تغییرات) شامل ۲۰ گرم گلوکز، ۲ گرم L- آسپاراژین، ۱ گرم KH_2PO_4، ۱ گرم $MgSO_4 7H_2O$، ۵ میلی‌گرم $FeCl_3$، ۱ میلی‌گرم ویتامین B_1 و ۱ میلی‌گرم ویتامین B_6، منتقل و به مدت ۶ روز روی شیکر با ۸۰ دور در دقیقه در سه تیمار دمایی ۱±۲۲، ۱±۲۷ و ۱±۳۳ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

1- Blastospore

2- Potato Dextrose Broth

3- Zentmyer 's Medium

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

جداسازی اسپورها و مایع حاوی توکسین: پس از گذشت ۶ روز، محیط کشت‌های دارای کنیدی‌های قارچ از کاغذ صافی سترون برروی قیف خلأ عبور داده شدند تا کنیدی‌های قارچ از میسلیوم‌های آن جدا گشته، در ظرف سترون زیر قیف جمع‌آوری شوند. سپس به‌منظور جداسازی نهایی کنیدی‌ها از سایر اجزای محلول، ۳ مرتبه و هر بار به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور سانتریفیوژ صورت گرفت. بخشی از این سوسپانسیون برای شمارش اسپور (با استفاده از هموسیتومتر) و بقیه سوسپانسیون برای تعیین میزان توکسین سراتوالمین تولید شده توسط جدایه‌های مختلف عامل بیماری مورد استفاده قرار گرفت. برای این منظور محلول حاضر (به‌منظور جداسازی اسپور از فاز مایع) با استفاده از کاغذ صافی میکروبیولوژیکی با قطر روزنه ۰/۲۲ میکرومتر به داخل ظروف سترون فیلتر شد. برای این کار از روش تعیین شاخص تولید سراتوالمین[1] با استفاده از معادله $CPI= y_{400}\times 100\times DF$ و با به کارگیری از دستگاه اسپکترفوتومتر استفاده شد که در این رابطه y_{400}= مقدار جذب نوری (OD)[2] در رقت‌های به کار گرفته شده، در طول موج ۴۰۰ نانومتر و DF= عامل یا فاکتور رقت[3] است. به‌منظور مقایسه دقیق‌تر جدایه‌ها از نظر شاخص CPI به‌ازای مقدار ثابت y=۱، مقدار دقیق عامل رقت برای هر یک از جدایه‌ها با استفاده از رابطه خطی بین y و لگاریتم پایه ده عامل رقت (x) به‌صورت $y= a+bx$ محاسبه گردید. به این ترتیب مقدار شاخص CPI در این آزمون از معادله $CPI= 100\times 10^{(1-a)/b}$ محاسبه شد که در این معادله $10^{(1-a)/b}$= عامل رقت به‌دست آمده در جذب نوری ۱ برای هر یک از جدایه‌ها می‌باشد (اسکالا و همکاران، ۱۹۹۴؛ سوربو و همکاران، ۲۰۰۰).

اندازه‌گیری میزان رشد روزانه جدایه‌ها: به‌منظور اندازه‌گیری سرعت رشد شعاعی، جدایه‌های یاد شده در داخل ظروف حاوی محیط کشت عصاره مالت آگار[4] ۲ درصد کشت داده شده، در سه تیمار دمایی ۱±۲۲، ۱±۲۷ و ۱±۳۳ درجه سانتی‌گراد و به‌مدت ۳ هفته در انکوباتور نگهداری شدند. قطر پرگنه در هر تیمار دمایی، در هر روز با خط‌کش اندازه‌گیری و در نهایت میزان رشد روزانه پرگنه‌ها در هر تیمار دمایی برای همه جدایه‌ها به‌دست آمد (بریزیر، ۱۹۸۱).

این آزمایش‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی و با ۴ تکرار انجام شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار آماری SAS (۲۰۰۱) و برای مقایسه میانگین بین داده‌ها نیز از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد استفاده شد.

نتایج

نتایج آزمون نشان داد که تأثیر دما بر رشد رویشی و تولید سراتوالمین محسوس‌تر از اسپورزایی بود. جدایه‌های گونه *O. novo-ulmi* در دمای ۱±۲۲ درجه سانتی‌گراد بیشترین رشد روزانه و تولید سراتوالمین را داشتند. جدایه Onu3 با ۴/۱ میلی‌متر در روز بیشترین رشد و جدایه Onu4 با ۳/۶ میلی‌متر در روز کمترین رشد روزانه را در بین جدایه‌های این گونه در این دما داشتند. همچنین دو جدایه Onu2 و Onu3 به‌ترتیب با ۶۰۲ و ۳۰۵ بیشترین و کمترین شاخص تولید سراتوالمین را در این دما دارا بودند. بیشترین رشد روزانه و تولید سراتوالمین برای جدایه‌های گونه *O. ulmi* نیز به‌ترتیب در دماهای ۱±۲۷ و ۱±۳۳ درجه سانتی‌گراد به‌دست آمد. در بین جدایه‌های این گونه، جدایه Ou1 و Ou2 به‌ترتیب بیشترین مقدار سراتوالمین و رشد روزانه را داشتند، اما بیشترین میزان اسپورزایی برای هر کدام از جدایه‌های هر گونه در دماهای مختلفی اتفاق افتاد. از سوی دیگر اغلب جدایه‌ها در تمام تیمارهای دمایی توان اسپورزایی به نسبت قابل‌توجهی داشتند. بیشترین میزان اسپورزایی در بین جدایه‌های دو گونه *O. ulmi* و *O. novo-ulmi* به‌ترتیب متعلق به دو جدایه Ou1 و Onu3 بود. در یک نتیجه‌گیری کلی اثر دما بر رشد، اسپورزایی و تولید سراتوالمین در جدایه‌های دو گونه از نظر آماری در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول‌های ۱ تا ۶).

1- Cerato-Ulmin Production Index
2- Optical Density
3- Dilution Factor
4- Malt Extract Agar

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس تأثیر دمای ۱±۲۲ درجه سانتی‌گراد در رشد، اسپورزایی و تولید سراتوالمین جدایه‌های دو گونه *Ophiostoma ulmi* و *Ophiostoma novo-ulmi*.

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات رشد میسلیومی	میانگین مربعات اسپورزایی	میانگین مربعات تولید سراتوالمین
جدایه	۹	۲/۲۷۹۵۵۵۶**	۵۹۸۸۰۶/۴**	۲۲۷۸۰/۱۷۷۸**
خطا	۳۰	۰/۰۱۳۴۱۷	۱۳۲۰/۸	۲۹۲/۴
ضریب تغییرات	-	Cv=۳/۴۹۵ درصد	Cv=۵/۶۶۴ درصد	Cv=۶/۴۶۳ درصد

**معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد.

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس تأثیر دمای ۱±۲۷ درجه سانتی‌گراد در رشد، اسپورزایی و تولید سراتوالمین جدایه‌های دو گونه *Ophiostoma ulmi* و *Ophiostoma novo-ulmi*.

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات رشد میسلیومی	میانگین مربعات اسپورزایی	میانگین مربعات تولید سراتوالمین
جدایه	۹	۰/۲۶۷۷۱۱۱۱**	۱۰۵۴۷۸۷/۶**	۴۴۱۴۵/۲۸۴**
خطا	۳۰	۰/۰۱۲	۱۴۷۹/۲	۲۷۹/۴
ضریب تغییرات	-	Cv=۳/۵۱۴ درصد	Cv=۵/۱۹۸ درصد	Cv=۱۴/۷۷۵ درصد

**معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد.

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس تأثیر دمای ۱±۳۳ درجه سانتی‌گراد در رشد، اسپورزایی و تولید سراتوالمین جدایه‌های دو گونه *Ophiostoma ulmi* و *Ophiostoma novo-ulmi*.

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات رشد میسلیومی	میانگین مربعات اسپورزایی	میانگین مربعات تولید سراتوالمین
جدایه	۹	۳/۸۲۹۳۳۳**	۱۹۵۰۶۳۸/۰۴۴**	۶۵۷۵/۷۱۵**
خطا	۳۰	۰/۰۰۸۷۵	۱۲۸۲/۴۶۶	۲۴۴/۸۶۶
ضریب تغییرات	-	Cv=۱۱/۴۰۲ درصد	Cv=۷/۱۵۷ درصد	Cv=۳۱/۹۶۷ درصد

**معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد.

جدول ۴- مقایسه آماری میزان رشد روزانه جدایه‌های دو گونه *Ophiostoma ulmi* و *Ophiostoma novo-ulmi* در دماهای مختلف.

جدایه[۲]	رشد در دمای ۱±۲۲ درجه سانتی‌گراد	رشد در دمای ۱±۲۷ درجه سانتی‌گراد	رشد در دمای ۱±۳۳ درجه سانتی‌گراد
Ou1	۲/۴[e]	۳/۴[h]	۲/۱[cd]
Ou2	۲/۸[f]	۳/۶[hi]	۲/۳[de]
Ou3	۲/۱[cd]	۳/۱[g]	۱/۴[b]
[۳]W9	۲/۵[e]	۳/۴[h]	۱/۹[c]
Onu1	۳/۸[ij]	۲/۸[f]	۰/۱[a]
Onu2	۳/۷[ij]	۲/۹[fg]	۰/۱[a]
Onu3	۴/۱[k]	۳/۰[fg]	۰/۲[a]
Onu4	۳/۶[hi]	۲/۹[fg]	۰/۰[a]
Onu5	۴/۰[jk]	۳/۱[g]	۰/۰[a]
[۴]CKT-11	۳/۹[jk]	۳/۱[g]	۰/۱[a]

[۱]اعداد (بر حسب میلی‌متر در روز) دارای حروف غیرمشابه دارای اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند.

[۲]جدایه‌های Ou1 تا Ou3 متعلق به گونه *Ophiostoma ulmi* و جدایه‌های Onu1 تا Onu5 متعلق به گونه *O. novo-ulmi* می‌باشند.

[۳]جدایه استاندارد *Ophiostoma ulmi* جداسازی شده از Oxford shire انگلستان در سال ۱۹۷۰ توسط J.N. Gibbs (بریزیر و همکاران، ۱۹۹۰).

[۴]جدایه استاندارد *Ophiostoma novo-ulmi* جداسازی شده از چاچکام استان مازندران ایران در سال ۱۹۷۷ توسط C.M. Brasier (بریزیر و همکاران، ۱۹۹۰).

جدول ۵- مقایسه توان اسپورزایی جدایه‌های دو گونه *Ophiostoma ulmi* و *Ophiostoma novo-ulmi* در دماهای مختلف.

جدایه[۲]	اسپورزایی در دمای ۱±۲۲ درجه سانتی‌گراد	اسپورزایی در دمای ۱±۲۷ درجه سانتی‌گراد	اسپورزایی در دمای ۱±۳۳ درجه سانتی‌گراد
Ou1	۱۲۲۴±۶۱[cd]	۱۸۲۲±۴۵[e]	۱۸۱۱±۴۱[e]
Ou2	۱۵±۷[a]	۳۱۵±۲۴[ab]	۳۲۵±۸[ab]
Ou3	۴۷±۵[a]	۱۸۳±۲۶[a]	۸۰±۱۲[a]
[۳]W9	۹۸۵±۴۸[c]	۱۴۰۱±۳۸[cd]	۱۸۲۰±۱۰۱[e]
Onu1	۶۲۲±۳۰[b]	۳۲۲±۱۹[ab]	۵۶±۱۸[a]
Onu2	۷۴۲±۲۸[bc]	۶۲۱±۲۷[b]	۲۲۱±۲۰[a]
Onu3	۹۱۲±۷۱[c]	۸۱۵±۳۷[c]	۲۳۲±۳۱[a]
Onu4	۵۲۵±۴۲[b]	۵۲۸±۱۴[b]	۱۸۰±۲۲[a]
Onu5	۵۲۲±۷۰[b]	۵۷۰±۱۸[b]	۶۷±۲۴[a]
[۴]CKT-11	۸۲۲±۱۸[c]	۸۲۰±۸۲[c]	۲۱۰±۲۷[a]

[۱]اعداد (بر حسب تعداد اسپور در ۱ میلی‌لیتر×$۱۰^{۶}$) دارای حروف غیرمشابه دارای اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند.

[۲]جدایه‌های Ou1 تا Ou3 متعلق به گونه *Ophiostoma ulmi* و جدایه‌های Onu1 تا Onu5 متعلق به گونه *O. novo-ulmi* می‌باشند.

[۳]جدایه استاندارد *Ophiostoma ulmi* جداسازی شده از Oxford shire انگلستان در سال ۱۹۷۰ توسط J.N. Gibbs (بریزیر و همکاران، ۱۹۹۰).

[۴]جدایه استاندارد *Ophiostoma novo-ulmi* جداسازی شده از چاچکام استان مازندران ایران در سال ۱۹۷۷ توسط C.M. Brasier (بریزیر و همکاران، ۱۹۹۰).

جدول ۶- مقایسه توانایی تولید سراتوالمین جدایه های دو گونه *Ophiostoma ulmi* و *Ophiostoma novo-ulmi* در دماهای مختلف.

جدایه[۲]	تولید توکسین در دمای ۱±۲۲ درجه سانتی‌گراد	تولید توکسین در دمای ۱±۲۷ درجه سانتی‌گراد	تولید توکسین در دمای ۱±۳۳ درجه سانتی‌گراد
Ou1	۰/۰[a]	۱۶±۵[ab]	۵۲±۱۰[ab]
Ou2	۰/۰[a]	۰/۰[a]	۶±۱[ab]
Ou3	۰/۰[a]	۵±۱[a]	۳۱±۱۴[ab]
[۳]W9	۰/۰[a]	۸±۲[ab]	۱۰±۲[ab]
Onu1	۴۶۲±۲۱[f]	۲۰۲±۱۰[d]	۳۲±۴[ab]
Onu2	۶۰۲±۲۵[g]	۳۰۱±۱۲[e]	۴۰±۱۲[ab]
Onu3	۴۲۰±۱۷[f]	۸۵±۲۱[b]	۱۹±۱۸[ab]
Onu4	۳۰۵±۶[e]	۱۶۲±۸[bcd]	۱۱۵±۱۵[bc]
Onu5	۴۱۵±۱۹[f]	۱۷۰±۱۹[cd]	۱۱۲±۲۶[bc]
[۴]CKT-11	۴۴۲±۲۱[f]	۱۸۲±۲۴[cd]	۷۱±۲۵[ab]

[۱]اعداد (بر حسب شاخص CPI) دارای حروف غیرمشابه دارای اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند.

[۲]جدایه‌های Ou1 تا Ou3 متعلق به گونه *Ophiostoma ulmi* و جدایه‌های Onu1 تا Onu5 متعلق به گونه *O. novo-ulmi* می‌باشند.

[۳]جدایه استاندارد *Ophiostoma ulmi* جداسازی شده از Oxford shire انگلستان در سال ۱۹۷۰ توسط J.N. Gibbs (بریزیر و همکاران، ۱۹۹۰).

[۴]جدایه استاندارد *Ophiostoma novo-ulmi* جداسازی شده از چاچکام استان مازندران ایران در سال ۱۹۷۷ توسط C.M. Brasier (بریزیر و همکاران، ۱۹۹۰).

بحث

میزان رشد روزانه از مهم‌ترین عوامل فیزیولوژیکی جهت تفکیک گونه‌های مختلف عامل بیماری مرگ هلندی نارون به ویژه دو گونه *O. ulmi* و *O. novo-ulmi* می‌باشد. بسیاری از محققان در تفکیک گونه‌های عامل مرگ نارون از دو دمای ۲۰ و ۳۳ درجه سانتی‌گراد استفاده کرده‌اند (بریزیر، ۱۹۸۱؛ بریزیر، ۱۹۹۱؛ بریزیر و کیرک، ۲۰۰۱؛ عراقی، ۲۰۰۷). بررسی توانایی رشد جدایه‌های مهاجم و غیرمهاجم در دو دمای ۲۰ و ۳۳ درجه سانتی‌گراد نشان داد که میانگین رشد روزانه پرگنه جدایه‌های غیرمهاجم در دمای۲۰ درجه سانتی‌گراد در مقایسه با جدایه‌های مهاجم دو نژاد 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) ۴/۴-۳/۱ و حداکثر ۴/۸ میلی‌متر و برای زیرگونه *O. novo-ulmi* ssp. *americana* ۴/۸-۳/۲ و حداکثر ۵/۵ میلی‌متر اندازه‌گیری شد، در حالی‌که میانگین رشد روزانه برای گونه *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، ۱۹۸۱). در آزمایشی بهینه دمای رشد برای جدایه‌های غیرمهاجم ۳۰ و برای جدایه‌های مهاجم ۲۲-۲۰ درجه سانتی‌گراد محاسبه شد. همچنین بیشترین دمای رشد برای جدایه‌های غیرمهاجم ۳۵ و برای جدایه‌های مهاجم ۳۳-۳۲ درجه سانتی‌گراد به‌دست آمد (بریزیر و همکاران، ۱۹۸۱). در آزمایشی مشابه دمای بهینه رشد برای دو گونه *O. novo-ulmi* و *O. ulmi* به‌ترتیب ۲۲ و ۲۸ درجه سانتی‌گراد محاسبه شد (بریزیر، ۲۰۰۱). همچنین در تحقیق‌های مختلف، همبستگی مثبت معنی‌داری بین توانایی رشد و میزان بیماری‌زایی جدایه‌های مختلف عامل بیماری مشاهده شده است (بریزیر، ۱۹۸۶؛ بریزیر و وبر، ۱۹۸۷؛ گیبس و بریزیر، ۱۹۷۳). بریزیر (۲۰۰۱) پیشنهاد کرد که احتمالاً گونه جدید *O. novo-ulmi* در مقایسه با گونه *O. ulmi* بیشتر به شرایط معتدل و نیمه سردسیری تا سرد اروپا و آمریکای شمالی سازگاری داشته باشد. این مسأله با توجه به موقعیت جغرافیایی نواحی جنگلی شمال کشور که دارای آب وهوای معتدله و مرطوب هستند، می‌تواند دارای اهمیت باشد. به‌عبارت بهتر وجود یک چنین شرایط آب و هوایی در جنگل‌های شمال ایران می‌تواند باعث تسریع گسترش گونه جدید و مهاجم (*O. novo-ulmi*) شود. چه بسا که این موضوع با وجود درختان تنومند و کهنسال خشکیده و یا در حال زوال در جنگل‌های آستارا تا پارک ملی گلستان در شمال کشور به چشم می‌خورد.

یکی از مهم‌ترین عوامل تفکیک دو گونه *O. ulmi* و *O. novo-ulmi* تفاوت در میزان تولید سراتوالمین می‌باشد. در این تحقیق جدایه‌های *O. novo-ulmi* در مقایسه با جدایه‌های *O. ulmi* مقادیر بسیار بیشتری سراتوالمین تولید کردند و این با نتایج سایرتحقیقات انجام گرفته مطابقت دارد (ات- تویل و همکاران، ۱۹۹۹؛ بریزیر و همکاران، ۱۹۹۰؛ تگلی و همکاران، ۱۹۹۴؛ عراقی و همکاران، ۲۰۰۹a؛ سوربو و همکاران، ۲۰۰۰). اگرچه نقش توکسین سراتوالمین در ایجاد و شدت علایم بیماری مرگ نارون غیرقابل انکار است (ائولت و ریوکس، ۱۹۹۲) ولی مطالعات چند سال اخیر نشان داده است که توکسین یاد شده علاوه‌بر این که در پژمردگی درختان میزبان نقش دارد، می‌تواند در انتشار سالم اسپورهای عامل بیماری توسط سوسک‌های پوست‌خوار نیز مؤثر باشد (تمپل و همکاران، ۱۹۹۷).

در این تحقیق در کار برخی محققان توانایی اسپورزایی زیاد جدایه‌های عامل بیماری در دماهای مختلف دیده می‌شود (ات- تویل و همکاران، ۱۹۹۹؛ تگلی و همکاران، ۱۹۹۴). نکته قابل توجه و بحث، توان اسپورزایی بالای برخی از جدایه‌های *O. ulmi* نسبت به جدایه‌های مهاجم *O. novo-ulmi* می‌باشد و این موضوع با در نظر گرفتن نقش اسپورهای عامل بیماری در چرخه و توان بیماری‌زایی جدایه‌ها در طبیعت می‌تواند

دارای اهمیت باشد. ولی نتایج تحقیق‌های اخیر نشان داده است که اگرچه توانایی رشد (میسلیومی) و تکثیر (بلاستوسپور) جدایه‌ها در داخل سیستم آوندی مهم‌ترین عامل ایجاد بیماری محسوب می‌شود (ائولت و ریوکس، ۱۹۹۲؛ عراقی و همکاران، ۲۰۰۸) ولی حفظ قدرت جوانه‌زنی اسپورها در طبیعت و توان مقابله با تنش‌های محیطی به ویژه تنش رطوبتی از مهم‌ترین عوامل حفظ توان و پتانسیل تهاجمی جدایه‌ها محسوب می‌شود (تمپل و همکاران، ۱۹۹۷). با در نظر گرفتن نقش سراتوالمین به‌عنوان یک پروتئین پوششی می‌توان گفت که جدایه‌هایی که از توان تولید سراتوالمین بیشتری برخوردار هستند از توان بیماری‌زایی و نیز قدرت تهاجمی بیشتری می‌توانند برخوردار باشند.

همچنین وجود یک چنین تنوعی در بین جدایه‌های ایرانی از نظر توانایی تولید سراتوالمین، رشد و به ویژه اسپورزایی با توجه به توان عامل بیماری در ایجاد اپیدمی‌های متعدد در نواحی شهری و جنگلی در داخل کشور، می‌تواند بسیار دارای اهمیت باشد.

منابع

1. Brasier, C.M. 1981. Laboratory investigation of *Ceratocystis ulmi*. In: Stipes, R.J., and Campana, R.J. (Eds.). Compendium of Elm Disease. APS Press, Pp: 76-79.
2. Brasier, C.M. 1986. Comparison of pathogenicity and cultural characteristics in the EAN and NAN aggressive subgroups of *Ophiostoma ulmi*. Trans. of the British Mycol. Soc., 87: 1-13.
3. Brasier, C.M. 1991. *Ophiostoma novo-ulmi* sp. nov. causative agent of current Dutch elm disease pandemics. Mycopathologia, 115: 151-161.
4. Brasier, C.M. 2001. Rapid evolution of introduced plant pathogens via inter-specific hybridization. Bioscience, 51: 123-133.
5. Brasier, C.M., and Webber, J.F. 1987. Positive correlations between *in vitro* growth rate and pathogenesis in *Ophiostoma ulmi*. Plant Pathol., 36: 462-466.
6. Brasier, C.M., and Kirk, S.A. 2001. Designation of the EAN and NAN races of *Ophiostoma novo-ulmi* as subspecies. Mycol. Res., 105: 547-554.
7. 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. Trans. of British Mycol. Soc., 76: 213-218.
8. Brasier, C.M., Takai, S., Nordin, J.H., and Richards, W.C. 1990. Differences in Cerato-ulmin production between the EAN and NAN and non-aggressive subgroups of *Ophiostoma ulmi*. Plant Pathol., 39: 231-236.
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 Proceedings of the Second International Elm Conference. Valsain, Segovia, Spain, 44p.
10. Et-Touil, A., Brasier, C.M., and Bernier, L. 1999. Localization of a pathogenicity gene in *Ophiostoma novo-ulmi* and evidence that it may be introgressed from *O. ulmi*. Mol. Plant Microbe Interact, 12: 6-15.
11. Gibbs, J.N., and Brasier, C.M. 1973. Correlation between cultural characters and pathogenicity in *Ceratocystis ulmi* from Britain, Europe and America. Nature, 241: 381-383.
12. Iraqi, M.M. 2007. Investigation on isolates of fungus causal agent Dutch elm disease in some areas of Golestan province and their pathogenesis effect on *Ulmus* species. M.Sc. thesis. Gorgan University of Agricultural Science and Natural Resources, 108p. (In Persian With English Summary).
13. 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. J. of Agri. Sci. and Natur. Resour., 14: 124-138.
14. Iraqi, M.M., Rahnama, K., Mostafa, M., and Marandi, M. 2008. A survey on histopathology of *Ulmus glabra* and *U. carpinifolia* inoculated by *Ophiostoma novo-ulmi* fungus. J. of Agri. Sci. and Natur. Resour., In Press, 15p.

15. Iraqi, M.M., Rahnama, K., and Soleimanipoor, N. 2009a. The involvement of Cerato-ulmin toxin on pathogenicity and survive of *Ophiostoma ulmi* and *O. novo-ulmi* fungi, Causal agents of Dutch elm disease. J. of Agri. Sci. and Natur. Resour., In Press, 16p.
16. Iraqi, M.M., Rahnama, K., and Soleimanipoor, N. 2009b. Comparison of perithecium dimensions of *Ophiostoma ulmi* and *O. novo-ulmi*. J. of Pajouhesh and Sazandegi, Iran, In Press, 83p.
17. Konrad, H., Halmschlager, E., Stauffer, C.H., and Kiristts, T. 2003. Studies on the Dutch disease pathogens in Austria. In Proceedings of the Second International Elm Conference. Valsain, Segovia, Spain, 42p.
18. Ouellette, G.B., and Rioux, D. 1992. Anatomical and Physiological Aspects of Resistance to Dutch Elm Disease. In: Blanchette, A., and Biggs, R. (eds.). Defense Mechanisms of Woody Plant against Fungi. Berlin, Germany. Springer-Verlag, Pp: 256-305.
19. SAS Institute. 2001. SAS System. Inc, Cary, NC, USA.
20. Scala, A., Tegli, S., Comparini, C., Mittempergher, L., Scala, F., and Sorbo, G. 1994. Influence of fungal inoculum on cerato-ulmin production: Purification of cerato-ulmin and detection in elm sucker cuttings. Petria., 4: 53-63.
21. Sincliar, A., and Campana, R.J. 1978. Dutch elm disease; Perspectives after 60 years. Agr. Plant Pathol., 8: 55.
22. Sorbo, G., Scala, F., Parrella, G., Lorito, M., Comparini, C., Ruocco, M., and Scala, A. 2000. Functional expression of the gen *cu*, encoding the phytotoxic hydrophobin cerato-ulmin, enables *Ophiostoma quercus*, a nonpathogen on elm, to cause symptoms of Dutch elm disease. Mol. Plant Microbe Interact, 13: 43-53.
23. Sutherland, M.L., Pearson, S., and Brasier, C.M. 1997. The influence of temperature and light on defoliation levels of elm by Dutch elm disease. Phytopathol., 87: 576-581.
24. Tegli, S., Comparin, C., Glannetti, C., and Scala, A. 1994. Effect of temperature on growth and cerato-ulmin production of *Ophiostoma novo-ulmi* and *O. ulmi*. Mycol. Res., 98: 408-412.
25. Temple, B., Horgen, P.A., Bernier, L., and Hintz, W.E. 1997. Cerato-ulmin, a hydrophobin secreted by the causal agents of Dutch elm disease, is a parasitic fitness factor. Fungal Gen. and Biol., 22: 39-53.
26. Webber, J.F. 2004. Experimental studies on factors influencing the transmission of Dutch elm disease. Investigación Agraria: Proceeedings Recur. Forest, 13: 197-205.

J. Agric. Sci. Natur. Resour., Vol. 16 (Special issue 1-a), 2009
www.jasnr.info
www.sid.ir
www.magiran.com/jasnr

Study on effect of temperature on growth, spore and Cerato-ulmin production of *Ophiostoma ulmi* and *O. novo-ulmi*

***M.M. Iraqi[1], K. Rahnama[2] and M. Mostafa[3]**
[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, [3]M.Sc. Student, Dept. of Plant Pathology, Technology University of Isfahan

Abstract

Temperature is one of the most important environmental factors affecting physiological characteristics of fungi. Effect of temperature on growth, spore and Cerato-ulmin production of *Ophiostoma ulmi* (4 isolates) and *O. novo-ulmi* (6 isolates), causal agents of Dutch elm disease, was studied. MEA 2% was used to estimate rate of daily growth and Zentmyer`s liquid medium was used to estimate spore and Cerato-ulmin production rates. Each experiment was carried out in 3 treatments of temperature including 22±1, 27±1 and 33±1 °C. The results showed that effect of temperature on growth and Cerato-ulmin production was more perceptible than spore production. The *O. novo-ulmi* isolates had the most daily growth and Cerato-ulmin production in 22±1 °C. For the *O. ulmi* isolates, the most daily growth and Cerato-ulmin production were recorded in 27±1 and 33±1 °C, respectively. However, the most spore production for each of the isolates of two species occurred in different temperatures. Spore-production ability of causal agent, with regard to importance of its spread by spore within xylem vessels of elm trees, could be considerable and discussable.

Keywords: Dutch elm disease; Temperature; Growth; Spore production; Cerato-ulmin production

*- Corresponding Author; Email: iraqi602@yahoo.com