Archive of SID

مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی
جلد شانزدهم، شماره سوم، ۱۳۸۸
www.jasnr.info
www.sid.ir
www.magiran.com/jasnr

# بررسی اثر چند قارچ‌کش روی جوانه‌زنی اسپورهای *Ophiostoma novo-ulmi* در شرایط آزمایشگاهی

***میرمعصوم عراقی[۱]، کامران رهنما[۲]، نسرین سلیمانی‌پور[۳] و فرهاد مشهوری[۳]**

[۱]دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد گروه گیاهپزشکی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، [۲]دانشیار گروه گیاهپزشکی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، [۳]دانش‌آموخته گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز

تاریخ دریافت: ۸۶/۶/۱۲ ؛ تاریخ پذیرش: ۸۷/۱۲/۱۴

## چکیده

در این تحقیق اثر ٤ قارچ‌کش کاربندازیم، تیوفانات متیل، تیابندازول و رورال تی‌اس روی جوانه‌زنی اسپورهای ٤ جدایه از گونه جدید و مهاجم عامل بیماری مرگ هلندی نارون، *Ophiostoma novo-ulmi* برروی محیط کشت عصاره مالت آگار ۲ درصد در شرایط آزمایشگاهی در ۷ سطح ۰/۱، ۰/۳۲، ۱، ۲/٦۲، ٦/۹۱، ۱۸/٤۲ و ۵۰ قسمت در میلیون در قالب طرح کاملاً تصادفی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج آزمایش نشان داد که هر ٤ قارچ‌کش از نظر میزان بازدارندگی در سطح احتمال ۵ و ۱درصد اختلاف معنی‌داری دارند. در این میان قارچ‌کش کاربندازیم با متوسط ٦۲/۵۷ درصد و قارچ‌کش رورال تی اس با متوسط ۳۷/۸۸ درصد به‌ترتیب بیشترین و کمترین اثر بازدارندگی از جوانه‌زنی اسپور عامل بیماری را داشتند. همچنین مقدار $EC_{۵۰}$ برای قارچ‌کش‌های کاربندازیم، تیوفانات متیل، تیابندازول و رورال تی اس به‌ترتیب ۰/۷۲۸، ۰/۷۸۵، ۲/۲۲۸ و ٤/۸۰۸ ppm محاسبه گردید. جدایه‌های عامل بیماری نیز از نظر میزان تحمل به سطوح مختلف سموم در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد تفاوت معنی‌داری داشتند، به‌طوری‌که جدایه Onu4 با ۵۵/۷٦ درصد بازدارندگی حساس‌ترین و جدایه Onu3 نیز با ۵۳/۰٤ درصد متحمل‌ترین جدایه در این آزمون بودند. امکان استفاده از این قارچ‌کش‌ها در رابطه با کنترل عامل بیماری مرگ هلندی نارون در این مقاله بحث شده است.

***واژه‌های کلیدی:*** قارچ‌کش، جوانه‌زنی اسپور، $EC_{۵۰}$، بیماری مرگ هلندی نارون، Ophiostoma novo-ulmi

## مقدمه

بیش از ۸۰ سال است که بیماری مرگ هلندی نارون به گونه‌های مختلف جنس نارون با نام علمی *Ulmus* spp. در اروپا، آمریکای شمالی و بخش‌هایی از آسیا آسیب می‌رساند (کنراد و همکاران، ۲۰۰۲). اگرچه اولین گزارش رسمی از ظهور بیماری در سال ۱۹۱۸ و از شمال غرب اروپا صورت گرفت ولی بیشتر محققان و در رأس آنها بریزیر معتقدند که بیماری از منطقه هیمالیا نشأت گرفته و در سال‌های قبل از ۱۹۰۰ نیز وجود داشته است (بریزیر، ۱۹۹۰؛ بریزیر و مهروترا، ۱۹۹۵). تاکنون دو اپیدمی بسیار مهم توسط دو گونه غیرمهاجم *Ophiostoma ulmi* و مهاجم *O. novo-ulmi* در نیم‌کره شمالی رخ داده (بریزیر، ۲۰۰۱؛ سوینتون و گلیگان، ۲۰۰۰؛ بریزیر و کیرک، ۲۰۰۱) و سبب گردیده

*- مسئول مکاتبه: iraqi602@yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID

تـا اهمیـت مـدیریت و کنتـرل بیمـاری بـیش از گذشـته احساس شود. روش‌هـای متعـددی تـاکنون بـرای کنتـرل بیماری به‌کار گرفته شده است که از آن جمله می‌توان بـه مبـارزه بـا نـاقلین بیمـاری (موسـر و همکـاران، ۲۰۰۳)، ریشه‌کنی درختان آلوده یا هرس اندام‌هـا و شـاخ و بـرگ آلوده درختان (برنیر و همکـاران، ۱۹۹٦)، ارقـام مقـاوم و دورگه (پینـون و همکـاران، ۱۹۹۹؛ سـانتینی و همکـاران، ۲۰۰۲؛ عراقـی و رهنمـا، ۲۰۰۷)، روش‌هـای بیولـوژیکی (سولا و جیل، ۲۰۰۳؛ عراقـی و همکـاران، ۲۰۰۷)، تیمـار خاک برای جلـوگیری از انتقـال عامـل بیمـاری از طریـق پیونـد ریـشه‌ای (نیلـی و هیملیـک، ۱۹٦۵)، اسـتفاده از ترکیبات (داروهای) شیمیایی (نادال و همکاران، ۲۰۰۳) و قارچ‌کش‌های سیـستمیک (اسـتنز و فـرنچ، ۱۹۸۷؛ پینـون، ۱۹۷۹؛ لانیر، ۱۹۸۷)، اشاره کرد. در ایـن میـان اسـتفاده از قارچ‌کش‌هـای بنزیمیـدازولی علیـه ایـن بیمـاری بـه‌رغـم گـزارش‌هـایی مبنـی بـر ظهـور مقاومـت، بیـشتر از بقیـه قارچ‌کش‌ها مورد نظر قرار گرفته‌اند (شـریبر و همکـاران، ۱۹۸٦؛ گیبز و دیکینسون، ۱۹۷۵؛ استیپز و کامپانـا، ۱۹۸۱؛ اسمالی، ۱۹۷۸).

گریج (۱۹۸۱) با انجام آزمون‌های زیست‌سنجی نـشان داد که اگر قارچ‌کش تیابندازول هیپو فسفیت با نام تجاری Ceratect در مراحل اولیه آلـودگی بـه‌کـار گرفتـه شـود می‌تواند موجب درمـان بیمـاری گـردد. لانیـر (۱۹۸۷) بـا تزریـق چنـد قـارچ‌کـش بـا فرمولاسـیون‌هـای تجـاری Arbotect-20S، Fungi-Sol، Phyton-27 و یـــک ترکیب بیولوژیک به‌نام Binab-T (محصول بیولوژیک از قارچ آنتاگونیست *Trichoderma* spp.) نتیجه گرفـت که کمترین میزان پژمردگی نهال‌هـای مایـه‌کـوبی شـده بـا عامل بیماری در طی دو فصل رشدی، مربوط به نهال‌های تیمار شده با قارچ‌کش Arbotect می‌باشد.

در یک ارزیـابی آزمایـشگاهی جهـت بررسـی میـزان تحمـــل جدایـــه‌هـــای مهـــاجم و غیرمهـــاجم قـــارچ *Ophiostoma ulmi* نسبت به کاربندازیم مشاهده شـد که برخی از این جدایه‌ها به غلظت ۰/۵ پی‌پـی‌ام متحمـل بوده ولی رشد آنها در محیط کـشت عـصاره مالـت آگـار دارای ۵ پی‌پی‌ام کاربندازیم متوقـف مـی‌گـردد (بریزیـر و گیبـــز، ۱۹۷۵). نیـــشیجیما و اســـمالی (۱۹۷۹) طـــی آزمایش‌های مختلفی که با قارچ‌کـش‌هـایی نظیـر بنومیـل، لیگنازان، کاربندازیم، تیابندازول و تیوفانات متیـل بـرروی جدایه‌های مختلف عامل بیماری انجام دادند متوجه شدند کـه جدایـه‌هـای مهـاجم و غیرمهـاجم عامـل بیمـاری در مواردی سطوح تحمل متفاوتی را از خود نشان مـی‌دهنـد. پینون (۱۹۷۹) طی آزمـونی بـا اسپورپاشـی سوسپانـسیون قارچ عامل بیماری برروی محیط کشت‌های دارای قطعاتی از شاخه‌های تیمار شده بـا قـارچ‌کـش‌هـای تیابنـدازول و کاربندازیم، به‌ترتیب غلظت‌های ۲ و ۵ پی‌پی‌ام را به‌عنوان مؤثرترین غلظت‌های بازدارندگی از جوانه‌زنی اسپورها در محیط کـشت بـه‌دسـت آورد. بـا شـیوع نژادهـای جدیـد بیماری مرگ نارون در دهه ۷۰ میلادی و عملکـرد بـسیار خوب ترکیبات بنزیمیدازولی در کنترل بیماری‌های گیاهی مسئولان سازمان حفظ محیط زیست ایالات متحـده را بـر آن داشت تا اقدام به تشکیل گروه‌های ویـژه و متخـصص برای کنترل بیماری مرگ نارون با به‌کارگیری از این گروه ترکیبات شیمیایی در کنار سـایر روش‌هـای مـؤثر کنترلـی کنند (سازمان محیط زیست آمریکا، ۱۹۷۵).

به‌طورکلی به‌دلیل این‌کـه بیمـاری مـرگ نـارون یـک بیماری آوندی بـوده و عامـل بیمـاری بـه‌طـور عمـده در آوندهای چوبی گیاه فعالیت دارد برای کنترل بیماری بایـد از سموم سیستمیک اسـتفاده شـود. در ایـن راسـتا سـموم بنزیمیدازولی به‌دلیل خاصیت آپوپلاستی قـوی نـسبت بـه سایر قارچ‌کش‌های سیـستمیک از قابلیـت کنترلـی بـالایی برخوردار بوده و به‌طور عمده از این ترکیبات برای کنتـرل عامل بیماری استفاده می‌شود ولی بـه‌دلیـل وجـود مـسأله مقاومت عوامل بیماری‌زا بـه ایـن گـروه از قـارچ‌کـش‌هـا امروزه استفاده از این ترکیبات در تناوب یا ترکیب با سایر قارچ‌کش‌ها برای کنترل بیماری‌های گیاهی توصیه می‌شود (تواملین، ۱۹۹۷).

www.SID.ir

Archive of SID

بنابراین استفاده متناوب از سموم شیمیایی بنزیمیدازولی و غیربنزیمیدازولی مؤثر بر بیماری مرگ نارون در کنار سایر روش‌های بیوکنترلی (عراقی و همکاران، ۲۰۰۷b) و استفاده از ارقام مقاوم و یا واریته‌های دورگه به‌دست آمده در برنامه‌های اصلاح نارون (عراقی و رهنما، ۲۰۰۷) در قالب یک مدیریت تلفیقی می‌تواند مؤثر واقع شود. این آزمایش با هدف ارزیابی مقدماتی تأثیر چند قارچ‌کش بنزیمیدازولی و ترکیبی در جوانه‌زنی اسپورهای عامل بیماری و مقایسه این دو گروه قارچ‌کش و نیز بررسی امکان استفاده از قارچ‌کش‌های ترکیبی در تناوب یا جایگزین با توجه به امکان ظهور مقاومت به این دسته از قارچ‌کش‌ها انجام شد. بدیهی است که نتایج این تحقیق می‌تواند در امر مدیریت تلفیقی بیماری بسیار مؤثر بوده و در برنامه‌های مدیریت و کنترل تلفیقی بیماری مورد استفاده قرار گیرد.

## مواد و روش‌ها

**آماده‌سازی جدایه‌ها:** برای انجام این آزمایش از ٤ جدایه گونه *Ophiostoma novo-ulmi* استفاده شد (عراقی و همکاران، ۲۰۰۷). به‌منظور آماده‌سازی جدایه‌ها، از داخل لوله‌های حاوی پرگنه‌های قارچ، کشت‌هایی روی محیط کشت عصاره مالت آگار ۲ درصد انجام گرفت.

**تهیه سوسپانسیون اسپور جدایه‌ها:** برای تهیه سوسپانسیون اسپور قارچ از محیط کشت مایع سیب‌زمینی دکستروز استفاده شد. پس از تهیه محیط‌های کشت سترون، ۲ حلقه ۵ میلی‌متری از میسلیوم رشد یافته، از حاشیه پرگنه‌های ۵ روزه هر جدایه در شرایط سترون به داخل آنها انتقال یافت و سپس محیط‌های مزبور به‌منظور کنیدی‌زایی برروی دستگاه شیکر با سرعت ۷۰ دور در دقیقه قرار داده شدند. پس از گذشت ٤ روز محیط‌های کشت واجد کنیدی‌های قارچ از درون کاغذ صافی سترون برروی قیف خلأ عبور داده شدند تا کنیدی‌های قارچ از میسلیوم‌های آن جدا گشته و در ظروف سترون زیر قیف جمع‌آوری شوند. سپس به‌منظور جداسازی نهایی کنیدی‌ها، ۳ مرتبه و هر بار به‌مدت ۱۰ دقیقه در دور ۱۰۰۰۰ سانتریفیوژ صورت گرفت. در مرحله بعدی سوسپانسیون غلیظ حاصل به قصد رسیدن به رقت نهایی حدود $۲\times۱۰^{۲}$ کنیدی در هر میلی‌لیتر، توسط لام هموسیتومتر شمارش اسپور شده و بعد به دفعات لازم عمل رقیق‌سازی برروی آن انجام شد (عراقی و رهنما، ۲۰۰۷).

**قارچ‌کش‌های مورد استفاده:** برای انجام این آزمایش از ۳ قارچ‌کش بنزیمیدازولی به نام‌های کاربندازیم (پودر وتابل ٦۰ درصد)، تیابندازول (پودر وتابل ٦۰ درصد) و تیوفانات متیل (پودر وتابل ۷۰ درصد) و یک قارچ‌کش ترکیبی به نام رورال تی اس (پودر وتابل ۵۲/۵ درصد حاوی ۱۷/۵ درصد کاربندازیم و ۳۵ درصد آیپرودیون) استفاده شد.

**تعیین غلظت‌های مورد استفاده:** غلظت‌های مورد استفاده در این آزمایش‌ها عبارتند از ۰/۱، ۰/۳۲، ۱، ۲/٦۲، ٦/۹۱، ۱۸/٤۲ و ۵۰ پی‌پی‌ام از ماده مؤثره سموم. انتخاب این دامنه غلظت (۵۰-۰/۱ پی‌پی‌ام) براساس غلظت‌های مورد استفاده در سایر تحقیقات مشابه و نیز $EC_{۵۰}$[1] به‌دست آمده برای این سموم بر علیه عامل بیماری مرگ نارون در شرایط آزمایشگاهی توسط سایر محققان، بوده است (بریزیر و گیبز، ۱۹۷۵؛ نیشیجیما و اسمالی، ۱۹۷۹؛ پینون، ۱۹۷۹؛ رهجو و همکاران، ۱۹۹۹) همچنین برای تعیین این غلظت‌ها از رابطه تعیین فواصل لگاریتمی مساوی بین غلظت‌ها استفاده شد (پیغامی، ۲۰۰۰).

**آماده‌کردن محیط کشت‌های حاوی سموم:** این آزمایش‌ها به روش اختلاط سموم با محیط کشت عصاره مالت آگار ۲ درصد انجام شد. برای این کار ابتدا غلظت‌های مورد نظر ۱۰ برابر مقدار واقعی تهیه شده و سپس ۲ میلی‌لیتر از هر غلظت به ۱۸ میلی‌لیتر از محیط‌های کشت که قبلاً درون ظروف ۹ سانتی‌متری ریخته شده بودند، اضافه گردیده و برای یکنواخت شدن به آرامی تکان داده شدند. به این ترتیب تمامی ظروف

1- Effective Concentration 50%

www.SID.ir

Archive of SID

دارای ۲۰ میلی‌لیتر محیط کشت عصاره مالت آگـار دارای غلظت‌های ۵۰-۰/۱ پی‌پی‌ام شدند. در تیمارهای شاهد نیز به‌جای محلول سم ۲ میلی‌لیتر آب مقطر دو بار سترون بـه ۱۸ میلی‌لیتر محیط کشت عصاره مالت آگار اضافه شد.

**انجام آزمایش:** به‌منظور بررسی تأثیر غلظت‌های مختلـف سموم یاد شده در میزان جوانه‌زنی اسپورهای جدایـه‌هـای مختلف، ۱ میلی‌لیتر از سوسپانسیون تهیه شده از هر جدایه برروی محیط کشت‌های واجد غلظت‌های مختلف سـموم ریخته شده و به‌وسیله یک میله شیـشه‌ای سـترون بـرروی محیط کشت به‌طور یکنواخت پخش شد. در نهایت تعیین درصد بازدارنـدگی از جوانـه‌زنـی اسـپورها بـا شـمارش اسپورهای کاملاً جوانه زده پس از ٦ روز برای هر جدایـه در غلظـت‌هـای مختلـف سـموم بـا اسـتفاده از معادلـه $X=[(A-B)/A]\times 100$ محاسبه گردید، که در این معادلـه X= درصد بازدارندگی از جوانـه‌زنـی اسـپور، A= تعـداد اسپور جوانه زده (شاهد) و B= تعـداد اسـپور جوانـه زده (تیمارهای واجد سـموم) مـی‌باشـد. همچنـین بـه‌منظـور مقایـسه قـارچ‌کـش‌هـا از نظـر تـوان بازدارنـدگی آنهـا از شاخص $EC_{50}$ استفاده شد.

به‌طورکلی برای نرمـال کـردن داده‌هـا (بـا اسـتفاده از رابطه $\text{Arc}\ \sin\sqrt{x}$) و تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار آماری SAS (۲۰۰۱) استفاده شد. برای مقایـسه میـانگین داده‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن و برای رسم نمودارها نیز از نرم‌افزار Excel 2003 استفاده گردید.

## نتایج و بحث

**نتایج کلی:** نتایج به‌دست آمده از تجزیه و تحلیل داده‌های آماری نشان داد که بین قارچ‌کش‌های مورد استفاده در این آزمایش، سطوح مختلف غلظت و جدایه‌ها از نظر درصـد بازدارندگی از جوانه‌زنی اسـپور در سـطح احتمـال ۱ و ۵ درصد اختلاف معنی‌داری وجود دارد. همچنین بین اثرات دو به دو جدایه، سم و سطوح غلظـت اخـتلاف معنـی‌دار آماری در سطح احتمال ۱ درصد مشاهده گردید ولـی اثـر متقابل هم‌زمان غلظت، قارچ‌کش و جدایه از نظـر آمـاری معنی‌دار نبود (جدول ۱).

**جدول ۱- تجزیه واریانس آزمایش مقایسه اثر غلظت‌های مختلف ٤ قارچ‌کش کاربندازیم، تیوفانات متیل، تیابندازول و رورال تی‌اس بـر میـزان جوانه‌زنی اسپور جدایه‌های قارچ عامل بیماری مرگ نارون.**

| منبع تغییرات | درجه آزادی | مجموع مربعات | میانگین مربعات | ارزش F | P>F |
|---|---|---|---|---|---|
| غلظت | ٦ | ۳۸۵۷۲۰/۷۷۲۳ | ٦٤۲۸٦/۷۹٥٤ | ۲۷۳۱٦/۳** | <۰/۰۰۰۱ |
| جدایه | ۳ | ٥۸٤/۹۷۱۰ | ۱۹٤/۹۹۰۳ | ۸۲/۸٥** | <۰/۰۰۰۱ |
| سم | ۳ | ٤۰۲۸۳/۰٦۰۳ | ۱۳٤۲۷/٦۸٦۸ | ٥۷۰٥/٦۰** | <۰/۰۰۰۱ |
| غلظت×جدایه | ۱۸ | ۱۰۷/۲٦۳٤ | ٥/۹٥۹۱ | ۲/٥۳** | ۰/۰۰۰٦ |
| غلظت×سم | ۱۸ | ۹۱۱۱/٤۲٤۱ | ٥۰٦/۱۹۰۲ | ۲۱٥/۰۹** | <۰/۰۰۰۱ |
| سم×جدایه | ۹ | ٤۱٤/٦۹۸۷ | ٤٦/۰۷۷٦ | ۱۹/٥۸** | <۰/۰۰۰۱ |
| غلظت×جدایه×سم | ٥٤ | ۱۰۸/۷٥٤٥ | ۲/۰۱٤۰ | ۰/۸٦ | ۰/۷٥۳٦ |
| خطا | ۳۳٦ | ۷۹۰/۷٥ | ۲/۳٥۳٤ | | |
| کل | ٤٤۷ | ٤۳۷۱۲۱/٦۹٤۲ | | | |

ضریب تغییرات= ۲/۸٥۱۸٦٥ درصد، **معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد.

www.SID.ir

Archive of SID

در یک نتیجه‌گیری کلی براساس مقدار ۵۰ درصد دوز مؤثر ($EC_{50}$)، قارچ‌کش کاربندازیم مؤثرترین قارچ‌کش بوده و قارچ کش‌های تیوفانات متیل، تیابندازول و رورال تی‌اس به‌ترتیب در ردیف بعدی قرار گرفتند. از نظر آماری نیز قارچ‌کش کاربندازیم به‌طور متوسط با ٦٢/٥٧ درصد بیشترین بازدارندگی از جوانه‌زنی اسپور جدایه‌های مورد استفاده در این آزمون را داشته و دارای اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد در مقایسه با قارچ‌کش‌های دیگر بود. همچنین در بین جدایه‌ها نیز جدایه Onu4 با ٥٥/٧٦ درصد بازدارندگی حساس‌ترین جدایه بوده و در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد در مقایسه با ۳ جدایه دیگر اختلاف آماری داشت. جدایه Onu3 نیز با ٥٣/٠٤ درصد متحمل‌ترین جدایه در این آزمون بود. بین سطوح مختلف غلظت قارچ‌کش‌ها نیز اختلاف معنی‌دار آماری در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد دیده شد (جدول ۲).

وجود چنین تفاوت‌های آماری به‌ویژه در بین جدایه‌های عامل بیماری در کار سایر محققان در این زمینه نیز به اثبات رسیده است (پینون، ۱۹۷۹؛ شریبر و همکاران، ١٩٨٦؛ استنز و فرنچ، ۱۹۸۷). به‌طوری‌که حتی به عقیده برخی محققان آسکوسپورها و کلونی‌های به‌دست آمده از آن در یک جدایه نسبت به اسپورهای غیرجنسی همان جدایه تحمل بیشتری نسبت به مواد ضدقارچی نظیر قارچ‌کش‌ها نشان می‌دهند (نیشیجیما و اسمالی، ۱۹۷۹). با این حال در یک نتیجه‌گیری کلی می‌توان گفت که میزان تأثیر هر ٤ قارچ‌کش و به‌ویژه ۲ قارچ‌کش کاربندازیم و تیابندازول در مقایسه با تحقیقات مشابه کمتر می‌باشد. نتایج برخی آزمایش‌ها نشان داده است که میزان تحمل جدایه‌ها، با توان و شدت بیماری‌زایی آنها رابطه مستقیم دارد (نیشیجیما و اسمالی، ۱۹۷۹) و با توجه به این‌که شدت بیماری‌زایی جدایه‌های مورد استفاده در این تحقیق قبلاً به اثبات رسیده است (عراقی و رهنما، ۲۰۰۷) بنابراین این موضوع می‌تواند در راستای تأیید نتایج این آزمون باشد.

**نتایج بررسی اثر قارچ‌کش کاربندازیم:** نتایج به‌دست آمده از تأثیر غلظت‌های مختلف قارچ‌کش کاربندازیم برروی جدایه‌های عامل بیماری نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین دو جدایه Onu1 و Onu4 با دو جدایه Onu2 و Onu3 در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد وجود دارد، به‌طوری‌که دو جدایه اول به‌ترتیب حساس‌ترین و دو جدایه بعدی به‌ترتیب متحمل‌ترین جدایه‌ها به قارچ‌کش بودند (جدول ۵). میزان $LC_{50}$[1] برای کاربندازیم براساس لگاریتم غلظت و پروبیت بازدارندگی ۰/۷۲۸ پی‌پی‌ام محاسبه شد (شکل ۱). همچنین تمامی سطوح غلظت قارچ‌کش کاربندازیم از نظر درصد بازدارندگی در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد اختلاف معنی‌دار داشتند (جدول ٤). ولی بین اثرات متقابل جدایه و غلظت اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده نشد (جدول ۳). گیبز و دیکینسون (۱۹۷۵) طی آزمایش‌هایی دریافتند که قارچ‌کش کاربندازیم در کنترل عامل بیماری مرگ نارون در مقایسه با سایر قارچ‌کش‌های گروه بنزیمیدازول بهتر و مؤثرتر عمل می‌کند. پینون (۱۹۷۹) میزان $LC_{50}$ قارچ‌کش کاربندازیم را در بازداری از رشد پرگنه جدایه‌های قارچ *O. ulmi* تنها ۰/۱ پی‌پی‌ام به‌دست آورد. با در نظر گرفتن این موضوع که ماده مؤثره سایر قارچ‌کش‌ها نیز در مواقع استفاده باید به کاربندازیم تبدیل شوند می‌توان چنین استنباط کرد که قارچ‌کش کاربندازیم سریع‌تر و مؤثرتر از سایر قارچ‌کش‌های گروه بنزیمیدازول عمل کند (اسمالی، ۱۹۷۸). نتایج به‌دست آمده در این آزمون نیز با نتایج تحقیقات گیبز و دیکینسون (۱۹۷۵) و پینون (۱۹۷۹) مطابقت دارد.

1- Lethal Concentration 50%

www.SID.ir

Archive of SID

**جدول ۲- گروه‌بندی آماری جدایه‌ها، سموم و سطوح مختلف آنها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد.**

| سموم | گروه‌بندی سموم | جدایه | گروه‌بندی جدایه‌ها | غلظت (پی‌پی‌ام) | گروه‌بندی غلظت‌ها |
|---|---|---|---|---|---|
| کاربندازیم | ٦٢/٥٧١٤$^{a*}$ | Onu4 | ٥٥/٧٦٧٩$^{a**}$ | ٥٠ | ٩٩/٠٣١٣$^{a***}$ |
| | | | | ١٨/٤٢ | ٩٠/٥$^{b}$ |
| تیوفانات متیل | ٥٨/٧٣٢١$^{b}$ | Onu2 | ٥٣/٢٤١١$^{b}$ | ٦/٩١ | ٦٠$^{c}$ |
| | | | | ٢/٦٢ | ٤٧/٧٥$^{d}$ |
| تیابندازول | ٥٥/٩٩١١$^{c}$ | Onu1 | ٥٣/١١٦١$^{b}$ | ١ | ٣٨/٠١٥٦$^{e}$ |
| | | | | ٠/٣٢ | ٢٨$^{f}$ |
| رورال تی اس | ٣٧/٨٧٥٠$^{d}$ | Onu3 | ٥٣/٠٤٤٦$^{b}$ | ٠/١ | ١٣/٢٥$^{g}$ |

$^{*}$هر عدد میانگین ۱۱۲ مشاهده می‌باشد، $^{**}$هر عدد میانگین ۱۱۲ مشاهده می‌باشد، $^{***}$هر عدد میانگین ٦٤ مشاهده می‌باشد.

**جدول ۳- تجزیه واریانس آزمایش مقایسه اثر غلظت‌های مختلف قارچ‌کش کاربندازیم بر میزان جوانه‌زنی اسپور جدایه‌های عامل بیماری.**

| منبع تغییرات | درجه آزادی | مجموع مربعات | میانگین مربعات | ارزش F | P>F |
|---|---|---|---|---|---|
| غلظت | ٦ | ٨٠١٨٧/٤٢٨٥٧ | ١٣٣٦٤/٥٧١٤٣ | ٦١٠١/٢٢$^{**}$ | <٠/٠٠٠١ |
| جدایه | ٣ | ٩٦/٧١٤٢٩ | ٣٢/٢٣٨١٠ | ١٤/٧٢$^{**}$ | <٠/٠٠٠١ |
| غلظت×جدایه | ١٨ | ١٩/٢٨٥٧١ | ١/٠٧١٤٣ | ٠/٤٩ | ٠/٩٥٦٢ |
| خطا | ٨٤ | ١٨٤/٠٠ | ٢/١٩٠٤٨ | | |
| کل | ١١١ | ٨٠٤٨٧/٤٢٨٥٧ | | | |

ضریب تغییرات= ٢/٣٦٥٣٣٨ درصد، $^{**}$معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد.

**جدول ٤- گروه‌بندی آماری غلظت‌های مختلف قارچ‌کش کاربندازیم براساس میانگین درصد بازدارندگی برروی جدایه‌های عامل بیماری با آزمون چند دامنه‌ای دانکن.**

| $^{*}$تیمار | ٥٠ | ١٨/٤٢ | ٦/٩١ | ٢/٦٢ | ١ | ٠/٣٢ | ٠/١ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| میانگین | ١٠٠$^{**}$ | ٩٧/٠٠ | ٧٠/٠٠ | ٥٨/٠٠ | ٥٢/٠٠ | ٤٠/٠٠ | ٢١/٠٠ |
| گروه‌بندی در سطح احتمال ۱ درصد | a | b | c | d | e | f | g |
| گروه‌بندی در سطح احتمال ۵ درصد | a | b | c | d | e | f | g |

$^{*}$اعداد برحسب پی‌پی‌ام می‌باشند، $^{**}$هر عدد میانگین ١٦ مشاهده می‌باشد.

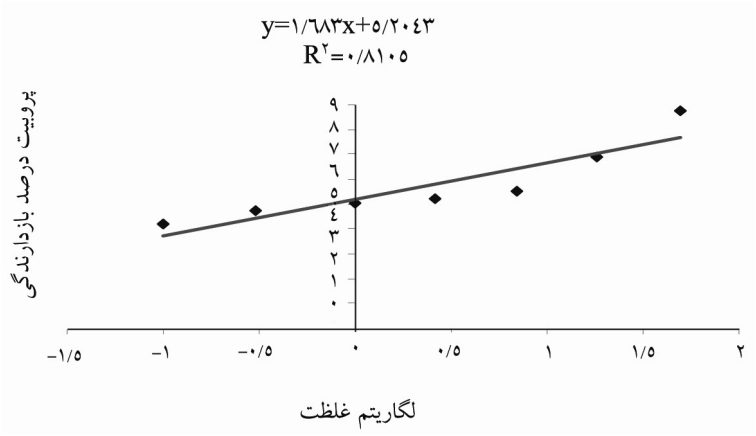
**جدول ۵- گروه‌بندی آماری جدایه‌های مختلف عامل بیماری مرگ نارون براساس میانگین درصد بازدارندگی از جوانه‌زنی اسپور آنها در اثر استفاده از قارچ‌کش کاربندازیم با آزمون چند دامنه‌ای دانکن.**

| تیمار | گروه‌بندی در سطح احتمال ۵ درصد | گروه‌بندی در سطح احتمال ۱ درصد |
|---|---|---|
| Onu1 | ٦٣/٥٣٥٧$^{a*}$ | ٦٣/٥٣٥٧$^{a*}$ |
| Onu2 | ٦٢/٠٣٥٧$^{b}$ | ٦٢/٠٣٥٧$^{b}$ |
| Onu3 | ٦١/٣٢١٤$^{b}$ | ٦١/٣٢١٤$^{b}$ |
| Onu4 | ٦٣/٣٩٢٩$^{a}$ | ٦٣/٣٩٢٩$^{a}$ |

$^{*}$هر عدد میانگین ۲۸ مشاهده می‌باشد.

www.SID.ir

Archive of SID




**شکل ۱- رابطه بین لگاریتم غلظت قارچ‌کش کاربندازیم و پروبیت درصد بازدارندگی جوانه‌زنی اسپور جدایه‌های قارچ عامل بیماری.**

**نتایج بررسی اثر قارچ‌کش تیوفانات متیل:** مقایسه میانگین نتایج به‌دست آمده از تأثیر غلظت‌های مختلف قارچ‌کش تیوفانات متیل برروی جدایه‌های عامل بیماری و مقایسه آن با اثر قارچ‌کش کاربندازیم نشان داد که بین جدایه‌ها تفاوت معنی‌داری وجود دارد. جدایه Onu1 که حساس‌ترین جدایه به قارچ‌کش کاربندازیم بوده ولی نسبت به قارچ‌کش تیوفانات متیل کمترین درصد بازدارندگی را نشان داد به‌طوری‌که در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد دارای اختلاف معنی‌دار آماری بود. جدایه Onu4 نیز کمترین میزان جوانه‌زنی اسپور را در حضور قارچ‌کش تیوفانات متیل داشته و در بین جدایه‌ها حساس‌ترین جدایه بود (جدول ۸). گروه‌بندی آماری اثر غلظت‌های مختلف این قارچ‌کش نیز نشان داد که به استثناء دو غلظت ۱۸/٤۲ و ۵۰ پی‌پی‌ام که ۱۰۰ درصد بازدارندگی را داشتند بقیه غلظت‌ها دارای اختلاف معنی‌دار آماری در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد بودند (جدول ۷). همچنین برخلاف قارچ‌کش کاربندازیم بین اثرات متقابل جدایه و غلظت قارچ‌کش تیوفانات متیل اختلاف معنی‌دار آماری در سطح احتمال ۱ درصد مشاهده شد و این نشان می‌دهد که بین میزان جوانه‌زنی اسپور جدایه‌های مختلف و غلظت‌های مختلف این قارچ‌کش تفاوت‌هایی وجود دارد (جدول ٦). همچنین میزان $LC_{٥٠}$ برای این قارچ‌کش براساس لگاریتم غلظت و پروبیت بازدارندگی ۰/۷۸۵ پی‌پی‌ام محاسبه شد (شکل ۲).

**جدول ٦- تجزیه واریانس آزمایش مقایسه اثر غلظت‌های مختلف قارچ‌کش تیوفانات متیل بر میزان جوانه‌زنی اسپور جدایه‌های عامل بیماری.**

| منبع تغییرات | درجه آزادی | مجموع مربعات | میانگین مربعات | ارزش F | P>F |
|---|---|---|---|---|---|
| غلظت | ٦ | ۱۰۰٤۸۰/۲۱٤۳ | ۱٦۷٤٦/۷۰۲٤ | ۱۲٥٦۰/۰** | <۰/۰۰۰۱ |
| جدایه | ۳ | ٦۲/۹٦٤۳ | ۲۰/۹۸۸۱ | ۱٥/۷٤** | <۰/۰۰۰۱ |
| غلظت×جدایه | ۱۸ | ٥۰/۷۸٥۷ | ۲/۸۲۱٤ | ۲/۱۲** | ۰/۰۱۱۷ |
| خطا | ۸٤ | ۱۱۲/۰۰ | ۱/۳۳۳۳ | | |
| کل | ۱۱۱ | ۱۰۰۷۰٥/۹٦٤۳ | | | |

ضریب تغییرات= ۱/۹٦٦۰٤٥ درصد، **معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد.

www.SID.ir

Archive of SID

**جدول ۷- گروه‌بندی آماری غلظت‌های مختلف قارچ‌کش تیوفانات متیل براساس میانگین درصد بازدارندگی برروی جدایه‌های عامل بیماری با آزمون چند دامنه‌ای دانکن.**

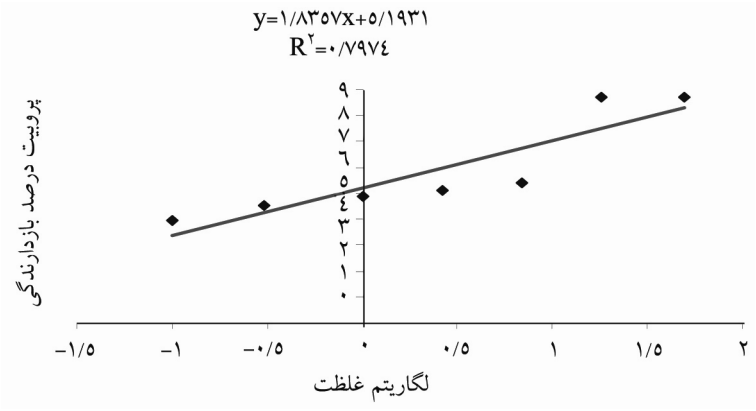
| *تیمار | ۵۰ | ۱۸/۴۲ | ٦/۹۱ | ۲/٦۲ | ۱ | ۰/۳۲ | ۰/۱ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| میانگین | ۱۰۰** | ۱۰۰ | ٦۵/۰۰ | ۵٤/۰۰ | ٤۵/۰۰ | ۳۲/۰۰ | ۱۵ |
| گروه بندی در سطح احتمال ۱ درصد | a | a | b | c | d | e | f |
| گروه بندی در سطح احتمال ۵ درصد | a | a | b | c | d | e | f |

*اعداد برحسب پی‌پی‌ام می‌باشند، **هر عدد میانگین ۱٦ مشاهده می‌باشد.

**جدول ۸- گروه‌بندی آماری جدایه‌های مختلف عامل بیماری مرگ نارون براساس میانگین درصد بازدارندگی از جوانه‌زنی اسپور آنها در اثر استفاده از قارچ‌کش تیوفانات متیل با آزمون چند دامنه‌ای دانکن.**

| تیمار | گروه‌بندی در سطح احتمال ۵ درصد | گروه‌بندی در سطح احتمال ۱ درصد |
|---|---|---|
| Onu1 | ۵۸/۰۳۵۷$^{c*}$ | ۵۸/۰۳۵۷$^{c*}$ |
| Onu2 | ۵۸/۸۹۲۹$^{b}$ | ۵۸/۸۹۲۹$^{b}$ |
| Onu3 | ۵۸/۱۰۷۱$^{c}$ | ۵۸/۱۰۷۱$^{bc}$ |
| Onu4 | ۵۹/۸۹۲۹$^{a}$ | ۵۹/۸۹۲۹$^{a}$ |

*هر عدد میانگین ۲۸ مشاهده می‌باشد.




**شکل ۲- رابطه بین لگاریتم غلظت قارچ‌کش تیوفانات متیل و پروبیت درصد بازدارندگی از جوانه‌زنی اسپور جدایه‌های قارچ عامل بیماری.**

**نتایج بررسی اثر قارچ‌کش تیابندازول:** تجزیه واریانس این آزمون (جدول ۹) نشان داد که بین جدایه‌های مختلف از نظر میزان بازدارندگی از جوانه‌زنی اسپور آنها در سطح احتمال ۱ درصد اختلاف آماری وجود دارد. گروه‌بندی آماری بین جدایه‌ها نیز نشان داد که جدایه Onu4 حساس‌ترین جدایه بوده و در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد دارای تفاوت معنی‌دار می‌باشد. ۳ جدایه دیگر هیچ تفاوت معنی‌داری را در مقایسه با هم نشان ندادند (جدول ۱۱). از طرفی اثر متقابل جدایه و غلظت نیز در این آزمون معنی‌دار نبود (جدول ۹). چنین به نظر می‌رسد که اختلاف میزان حساسیت جدایه‌ها نسبت به قارچ‌کش تیابندازول در مقایسه با دو قارچ‌کش دیگر کمتر باشد (جدول ۱۱). گروه‌بندی آماری بین غلظت‌های مختلف این قارچ‌کش نشان داد که تمامی غلظت‌ها از نظر میزان درصد بازدارندگی دارای تفاوت معنی‌دار آماری در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد هستند (جدول ۱۰). مقدار $LC_{۹۰}$ برای این قارچ‌کش براساس لگاریتم غلظت و پروبیت بازدارندگی ۲/۲۲۸ پی‌پی‌ام محاسبه شد (شکل ۳). به‌طورکلی نتایج به‌دست آمده برای قارچ‌کش تیابندازول با تحقیقات برخی محققان نظیر پینون (۱۹۷۹) و استیپز (۱۹۷۳) تا حدودی مطابقت داشت.

www.SID.ir

Archive of SID

**جدول ۹- تجزیه واریانس آزمایش مقایسه اثر غلظت‌های مختلف قارچ‌کش تیابندازول بر میزان جوانه‌زنی اسپور جدایه‌های قارچ عامل بیماری.**

| منبع تغییرات | درجه آزادی | مجموع مربعات | میانگین مربعات | ارزش F | P>F |
|---|---|---|---|---|---|
| غلظت | ٦ | ١٠١٠٥٤/٠٥٣٦ | ١٦٨٤٢/٣٤٢٣ | ٦٥٢٧/١٤** | <٠/٠٠٠١ |
| جدایه | ٣ | ٩٥/٦٦٩٦ | ٣١/٨٨٩٩ | ١٢/٣٦** | <٠/٠٠٠١ |
| غلظت×جدایه | ١٨ | ٤٤/٥١٧٩ | ٢/٤٧٣٢ | ٠/٩٦ | ٠/٥١٣٨ |
| خطا | ٨٤ | ٢١٦/٧٥ | ٢/٥٨٠٤ | | |
| کل | ١١١ | ١٠١٤١٠/٩٩١١ | | | |

ضریب تغییرات= ٢/٨٦٨٩٣٨ درصد، **معنی‌دار در سطح احتمال ١ درصد.

**جدول ١٠- گروه‌بندی آماری غلظت‌های مختلف قارچ‌کش تیابندازول براساس میانگین درصد بازدارندگی برروی جدایه‌های عامل بیماری با آزمون چند دامنه‌ای دانکن.**

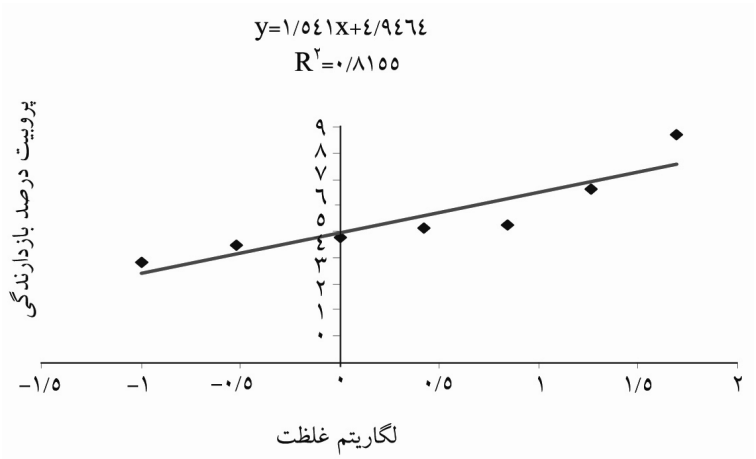
| *تیمار | ٥٠ | ١٨/٤٢ | ٦/٩١ | ٢/٦٢ | ١ | ٠/٣٢ | ٠/١ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| میانگین | ١٠٠** | ٩٥/٠٠ | ٦٠/٠٠ | ٥٤/٠٠ | ٤١/٠٠ | ٣٠/٠٠ | ١٢/٠٠ |
| گروه‌بندی در سطح احتمال ١ درصد | a | b | c | d | e | f | g |
| گروه‌بندی در سطح احتمال ٥ درصد | a | b | c | d | e | f | g |

*اعداد برحسب پی‌پی‌ام می‌باشند، **هر عدد میانگین ١٦ مشاهده می‌باشد.

**جدول ١١- گروه‌بندی آماری جدایه‌های مختلف عامل بیماری مرگ نارون براساس میانگین درصد بازدارندگی از جوانه‌زنی اسپور آنها در اثر استفاده از قارچ‌کش تیابندازول با آزمون چند دامنه‌ای دانکن.**

| تیمار | گروه‌بندی در سطح احتمال ٥ درصد | گروه‌بندی در سطح احتمال ١ درصد |
|---|---|---|
| Onu1 | ٥٥/١٠٧١$^{b*}$ | ٥٥/١٠٧١$^{b*}$ |
| Onu2 | ٥٥/٧٨٥٧$^{b}$ | ٥٥/٧٨٥٧$^{b}$ |
| Onu3 | ٥٥/٥٣٥٧$^{b}$ | ٥٥/٥٣٥٧$^{b}$ |
| Onu4 | ٥٧/٥٣٥٧$^{a}$ | ٥٧/٥٣٥٧$^{a}$ |

*هر عدد میانگین ٢٨ مشاهده می‌باشد.




**شکل ٣- رابطه بین لگاریتم غلظت قارچ‌کش تیابندازول و پروبیت درصد بازدارندگی از جوانه‌زنی اسپور جدایه‌های قارچ عامل بیماری.**

www.SID.ir

Archive of SID

**نتایج بررسی اثر قارچ‌کش رورال تی‌اس:** نتایج این آزمون نشان داد که بین میزان درصد جوانه‌زنی اسپورهای جدایه‌ها و سطوح مختلف قارچ‌کش از نظر درصد بازدارندگی اختلاف معنی‌دار آماری در سطح احتمال ۱ درصد وجود دارد ولی تفاوت معنی‌داری بین اثرات متقابل غلظت- جدایه مشاهده نشد (جدول‌های ۱۲ و ۱۳). گروه‌بندی آماری جدایه‌ها نیز نشان داد که جدایه Onu4 با متوسط ٤٢/٢٥ درصد بازدارندگی حساس‌ترین و جدایه Onu1 با متوسط ٣٦/٧٨٧٥ درصد متحمل‌ترین جدایه بود (جدول ١٤). نتایج این آزمون نشان داد که به‌طورکلی این قارچ‌کش نسبت به ۳ قارچ‌کش دیگر از توان بازدارندگی کمتری برخوردار است. همچنین مقدار $LC_{٥٠}$ برای این قارچ‌کش براساس لگاریتم غلظت و پروبیت بازدارندگی ٤/٨٠٨ پی‌پی‌ام محاسبه شد (شکل ٤). ولی با در نظر گرفتن میزان ماده مؤثره تیابندازولی این قارچ‌کش (۱۷/۵درصد کاربندازیم) در مقایسه با سایر قارچ‌کش‌ها، این تفاوت آماری به‌ویژه در مقایسه با قارچ‌کش کاربندازیم قابل چشم‌پوشی بوده و حتی در مقایسه با قارچ کش تیابندازول نیز بهتر عمل کرده است.

بنابراین در یک نتیجه‌گیری کلی می‌توان گفت که از آن‌جایی‌که این قارچ‌کش ترکیبی از دو قارچ‌کش سیستمیک (کاربندازیم) و آیپرودیون (قارچ‌کش تماسی- محافظتی از گروه دی‌کربوکسامید) می‌باشد می‌تواند از بروز مقاومت در برابر قارچ عامل بیماری در مقایسه با ۳ قارچ‌کش دیگر به‌مقدار بیشتری جلوگیری کند. بنابراین این قارچ‌کش را به همراه کاربندازیم و تا حدودی تیوفانات متیل می‌توان در آزمایش‌های گلخانه‌ای و در نهایت در صورت موفقیت‌آمیز بودن در شرایط طبیعی برروی درختان بیمار و به‌ویژه در جهت حفاظت از تک درختان مادری کهنسال در مناطق جنگلی و یا شهری مورد استفاده قرار داد.

## سپاسگزاری

بدین‌وسیله از آقای مهندس فرهاد مشهوری به‌خاطر تهیه سموم قارچ کش مورد استفاده در این آزمون و همکاری ایشان در انجام این تحقیق سپاسگزاری می‌نمائیم.

**جدول ۱۲- تجزیه واریانس آزمایش مقایسه اثر غلظت‌های مختلف قارچ‌کش رورال تی‌اس بر میزان جوانه‌زنی اسپور جدایه‌های عامل بیماری.**

| منبع تغییرات | درجه آزادی | مجموع مربعات | میانگین مربعات | ارزش F | P>F |
|---|---|---|---|---|---|
| غلظت | ٦ | ١١٣١١٠/٥٠ | ١٨٨٥١/٧٥ | ٥٦٩٦/٢١** | <٠/٠٠٠١ |
| جدایه | ٣ | ٧٤٤/٣٢١٤ | ٢٤٨/١٠٧١ | ٧٤/٩٧** | <٠/٠٠٠١ |
| غلظت×جدایه | ١٨ | ١٠١/٤٢٨٦ | ٥/٦٣٤٩ | ١/٧٠ | ٠/٠٥٤٨ |
| خطا | ٨٤ | ٢٧٨/٠٠ | ٣/٣٠٩٥ | | |
| کل | ١١١ | ١١٤٢٣٤/٢٥ | | | |

ضریب تغییرات= ٤/٨٠٣١٩٤ درصد، **معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد.

**جدول ۱۳- گروه‌بندی آماری غلظت‌های مختلف قارچ‌کش رورال تی‌اس براساس میانگین درصد بازدارندگی برروی جدایه‌های عامل بیماری با آزمون چند دامنه‌ای دانکن.**

| *تیمار | ٥٠ | ١٨/٤٢ | ٦/٩١ | ٢/٦٢ | ١ | ٠/٣٢ | ٠/١ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| میانگین | ٩٦/٠٠** | ٧٠/٠٠ | ٤٥/٠٠ | ٢٥/٠٠ | ١٤/٠٠ | ١٠/٠٠ | ٥/٠٠ |
| گروه‌بندی در سطح احتمال ۱ درصد | a | b | c | d | e | f | g |
| گروه‌بندی در سطح احتمال ۵ درصد | a | b | c | d | e | f | g |

*اعداد برحسب پی‌پی‌ام می‌باشند، **هر عدد میانگین ١٦ مشاهده می‌باشد.

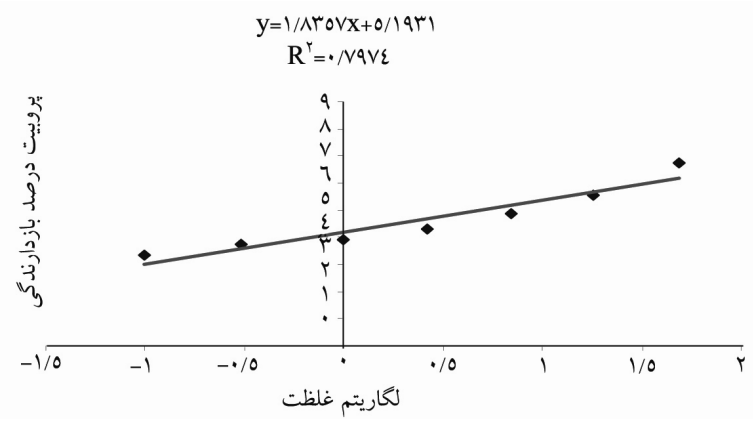
www.SID.ir

Archive of SID

**جدول ١٤- گروه‌بندی آماری جدایه‌های مختلف عامل بیماری مرگ نارون براساس میانگین درصد بازدارندگی از جوانه‌زنی اسپور آنها در اثر استفاده از قارچ‌کش رورال تی‌اس با آزمون چند دامنه‌ای دانکن.**

| تیمار | گروه‌بندی در سطح احتمال ٥ درصد | گروه‌بندی در سطح احتمال ١ درصد |
|---|---|---|
| Onu1 | ٣٥/٧٨٧٥$^{c*}$ | ٣٥/٧٨٧٥$^{c*}$ |
| Onu2 | ٣٦/٢٥$^{cb}$ | ٣٦/٢٥$^{cb}$ |
| Onu3 | ٣٧/٢١٤٣$^{b}$ | ٣٧/٢١٤٣$^{b}$ |
| Onu4 | ٤٢/٢٥$^{a}$ | ٤٢/٢٥$^{a}$ |

*هر عدد میانگین ٢٨ مشاهده می‌باشد.




**شکل ٤- رابطه بین لگاریتم غلظت قارچ‌کش رورال تی‌اس و پروبیت درصد بازدارندگی از جوانه‌زنی اسپور جدایه‌های قارچ عامل بیماری.**

## منابع


1. Bernier, L., Yang, D., Ouellette, G.B., and Dessureault, M. 1996. Assessment of *Phaeotheca dimorphospora* for biological control of Dutch elm disease pathogens, *Ophiostoma ulmi* and *Ophiostoma novo-ulmi*. Journal of Pl. Pathol., 45: 609-617.
2. Brasier, C.M. 1990. China and the origin of Dutch elm disease an appraisal. Journal of Pl. Pathol., 39: 5-16.
3. Brasier, C.M. 2001. Rapid evolution of introduced plant pathogens via interspecific hybridization. Bioscience, 51: 2. 123-133.
4. Brasier, C.M., and Gibbs, J.N. 1975. MBC tolerance in aggressive and non-aggressive isolates of *Ceratocystis ulmi*. Ann. Appl. Biol., 80: 231-235.
5. 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. Journal of Mycol. Res., 99: 205-215.
6. Brasier, C.M., and Kirk, S.A. 2001. Designation of the EAN and NAN races of *Ophiostoma novo-ulmi* as subspecies. Journal of Mycol. Res., 105: 5. 547-554.
7. Gibbs, J.N., and Dickinson, J. 1975. Fungicide injection for the control of Dutch elm disease. Journal of Forestry, 48: 165-176.
8. Greig, B.W. 1981. Ceratotect, a fungicide treatment for Dutch elm disease. Arboriculture Res. Note Dep. of the Envir. 32: 3.
9. Iraqi, M.M., and Rahnama, K. 2007. Investigating the disease severity of *Ophiostoma ulmi* and *O. novo-ulmi* isolates of the causal disease of Dutch elm disease on *Ulmus parvifolia* Jacq. J. of Agric. Sci. and Natur. Resour., 14: 3. 164-173. (In Persian).
10. Iraqi, M.M., Rahnama, K., Razavi, S.I., and Ebrahimi, A. 2007a. Investigation on isolates of fungus causal agent Dutch elm disease in some areas of Golestan province. J. of Agric. Sci. and Natur. Resour., 14: 6. 124-138. (In Persian).


www.SID.ir

Archive of SID

11. Iraqi, M.M., Rahnama, K., Zafari, D., and Taghinasab, M. 2007b. Investigating biological control of *Ophiostoma novo-ulmi*, causal agent of Dutch elm disease by *Trichoderma harzianum* and *T. virens in vitro*. J. of Agric. Sci. and Natur. Resour., 14: 5. 178-191. (In Persian).
12. Konrad, H., Kiristts, T., Riegler, M., Halmschlager, E., and Stauffer, CH. 2002. Genetic evidence for natural hybridization between the Dutch elm disease pathogens *Ophiostoma novo-ulmi* ssp. *novo-ulmi* and *O. novo-ulmi* ssp. *americana*. Journal of Pl. Pathol., 51: 78-84.
13. Lanier, G.N. 1987. Fungicides for Dutch elm disease: Comparative evaluation of commercial products. Journal of Arboriculture, 13: 8. 189-195.
14. Moser, J.C., Konrad, H., and Kirisits, T. 2003. Phoretic mites from *Scolytus multistriatus* and *S. pygmaeus* in Austria and their possible role in transmission of Dutch elm disease. In Proceeding: The Second International Elm Conference. Valsain, Segovia, Spain, 43p.
15. Nadal, M., Moret, A., and Munoz, Z. 2003. Effect of acetylsalicylic acid on the control of *Ophiostoma novo-ulmi*. In Proceeding: The Second International Elm Conference. Valsain, Segovia, Spain, 47p.
16. Neely, D., and Himelick, E.B. 1965. Effectiveness of Vapan in preventing root graft transmission of the Dutch elm disease fungus. Pl. Dis. Rep., 49: 106-108.
17. Nishijhma, W.T., and Smally, E.B. 1979. *Ceratocystis ulmi* tolerance to methyl-2 benzimidazole carbamate and other related fungicides. Phytopathol., 69: 69-73.
18. Peyghami, E. 2000. Principles of Plant Control Disease. Mashhad Univ. Holy war Press. 92p. (In Persian).
19. Pinon, J. 1979. Study of the action *in vitr*o of carbendazim hydrochlorate on aggressive and nonaggressive strains of *Graphium ulmi* Schw. Phytiatrie Phytopharmacie, 28: 4. 237-242.
20. Pinon, J., Lohou, C., and Cadic, A. 1999. Hybrid Elms *Ulmus* spp.): Adaptability in Paris and behaviour towards Dutch elm disease (*Ophiostoma novo-ulmi*). In: Lemattre, M., Lemattre, P., and Lemaire, F. (eds.). Proc. Int. Symp. On Urban Trees Health. Acta Hort, Pp: 107-114.
21. 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*. Sci. Res. J. of Agri. Sci. Islamic Azad Univ. Press, 5: 20. 15-36. (In Persian).
22. Santini, A., Fagnani, A., Ferrini, F., and Mittempergher, L. 2002. San Zanobi and Plinio Elm Trees. Hortscience, 37: 70. 1139-1141.
23. S.A.S. 2001. SAS/STAT user's Guide, version th edition, SAS Inst. Carry, NC.
24. Scherieber, L.R., Conaway, E.E., and Peacock, J.W. 1986. Aggresiveness, competitiveness and stability of tolerance of benzimidazole-tolerant strain of *Ceratocystis ulmi*. Journal of Pl. Dis., 70: 154-158.
25. Smalley, E.B. 1978. Systemic chemical treatments of trees for protection and therapy. Pp: 34-39. In: Sincliar, W.A., and Campana, R.J. Dutch elm disease; Perspectives after 60 years. Search Agri. Pl. Pathol., 8: 5. 52.
26. Solla, A., and Gil, L. 2003. Evaluating *Verticillium dahliae* for biological control of *Ophiostoma novo-ulmi* in *Ulmus minor*. Pl. Path., 52: 579-585.
27. Stenns, M., and French, D. 1987. Distribution and retention of thiabendazole hypophosphite and carbendazim phosphate injected in to mature American elms. Phytopathol., 77: 5. 707-712.
28. Stipes, R.J. 1973. Control of Dutch elm disease in artificially inoculated American elms with soil-injected Benomyl, Captan and Thiabendazole. Phytopathol., 63: 735-738.
29. Stipes, R.J., and Campana, R.J. 1981. Compendium of elm diseases. APS Press, 96p.
30. Swinton, J., and Gilligan, C.A. 2000. A modeling approach to the epidemiology of Dutch elm disease, chapter. In: Dunn, C.P. (ed.). The elm, breeding, conservation and disease management, K.A.P. Boston, USA. 5: 73-101.
31. Tomlin, C. 1997. A world compendium, the pesticide manual, 11th edition, Brit. Crop Protection Council. 1500p.
32. U.S. Environmental Protection Agency. 1975. Benomyl. In EPA compendium of registered pesticides, Fungicides and Nematicides, 2: 1. 10-11.

www.SID.ir