# مطالعه برخی خصوصیات مورفولوژیکی و بیولوژیکی *Wilsonomyces carpophilus* در استان آذربایجان غربی*

Study on some biological and morphological characteristics of *Wilsonomyces carpophilus* in West Azerbaijan

**عبداله احمدپور، محمد جوان نیکخواه** **، یوبرت قوستا و رضا فتاحی**

گروه گیاه پزشکی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران،
گروه گیاه پزشکی، دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه و
گروه علوم باغبانی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران

دریافت: ۱۳۸۷/۹/۱۷ پذیرش: ۱۳۸۸/۳/۲۰

**چکیده**

به منظور مطالعه ویژگی های مورفولوژیکی و بیولوژیکی جدایه های قارچ عامل بیماری غربالی درختان میوه هسته‌دار، از اندام های مختلف درختان میوه هسته‌دار مشکوک به آلودگی در استان آذربایجان غربی طی بهار و تابستان سال ۱۳۸۶ نمونه برداری شد. قطعات بافت های برگ، شاخه و میوه بعد از ضد عفونی سطحی روی محیط های کشت WA (۲ درصد)، MA، PDA و APDA کشت شدند. در مجموع ۶۰ جدایه از هفت گونه مختلف درختان میوه هسته‌دار به دست آمد. براساس مطالعات تاکسونومیکی، تمامی جدایه ها به عنوان گونه *Wilsonomyces carpophilus* شناسایی گردیدند. جدایه ها روی محیط کشت PDA، اسپورودوکیوم های واجد کنیدیوفور های سمپودیال، کنیدیوم های ۵-۳ یاخته ای (ندرتا ۹-۱ یاخته ای)، هولوبلاستیک، رکسولیتیک (Rhexolytic) و به ابعاد ۱۵-۷/۵ × ۶۷/۵-۲۰ میکرومتر

---

*بخشی از پایان نامه کارشناسی ارشد نگارنده اول به راهنمایی آقایان دکتر محمد جوان نیکخواه و دکتر یوبرت قوستا ارایه شده به دانشگاه تهران

** مسئول مکاتبه (E-mail: jnikkhah@ut.ac.ir)

Archive of SID

www.SID.ir

را تولید نمودند. بیشترین میزان رشد رویشی جدایه ها در دمای ۲۱ درجه سانتیگراد و pH ۶ مشاهده گردید و هیچ رشدی در دمای پایین تر از ۵ درجه سانتیگراد و بالاتر از ۳۰ درجه سانتیگراد مشاهده نشد. ضمن اینکه بین جدایه ها از نظر میانگین رشد رویشی و هاگ زایی تفاوت قابل ملاحظه ای وجود داشت. برای تمام جدایه ها، در محیط های کشت MA، PDA و APDA و شرایط تاریکی، کلامیدوسپور ها به وفور تشکیل شدند. کلامیدوسپور ها گرد تا تخم‌مرغی، با دیواره ضخیم، به رنگ قهوه ای روشن تا تیره و قطر ۳۰-۱۲ میکرومتر، به صورت انتهایی یا میانی، منفرد یا زنجیره ای ۳-۲ عددی و ندرتا درازتر تشکیل شدند. در بررسی نحوه جوانه زنی، نفوذ، آلودگی و گسترش بیماری روی نهال های بذری بادام مشخص شد که نفوذ قارچ از طریق روزنه ها و با تشکیل اپرسوریوم ها انجام می گیرد. سه تا چهار روز بعد از مایه‌زنی، حلقه‌ای بی رنگ در اطراف ناحیه آلوده تشکیل گردید و بعد از شش روز، بافت های آلوده دچار بافت مردگی شده و به تدریج از بافت های سالم جدا شدند و بعد از ۱۰ روز ریزش کردند. اسپورودوکیوم ها تحت شرایط رطوبت نسبی بالا (بیش از ۷۵ درصد) و دمای کمتر از ۲۵ درجه سانتیگراد روی بافت های ریزش یافته یا باقیمانده روی برگ ها و همیشه در سطوح بالایی آن ها و به صورت نقاط سیاه رنگ بعد از ۱۶ روز تشکیل شدند. در بررسی نحوه بقای قارچ، طی سه تاریخ نمونه برداری (۱۰ دی، ۲۰ بهمن و ۲۵ اسفند سال ۱۳۸۶) کنیدیوم ها از جوانه های سالم درختان زردآلو، گیلاس، هلو و بادام جدا سازی شدند. درصد جوانه زنی آن ها بین ۱۰۰-۶۲ درصد متغیر بود. تعداد کنیدیوم های جمع آوری شده از درختان زردآلو و بادام در سه تاریخ نمونه برداری متفاوت بود و نمونه برداری های دوم و سوم به ترتیب ۴-۳ و ۱/۵ برابر افزایش در تعداد کنیدیوم را نشان دادند، در حالی که در درختان گیلاس و هلو، کنیدیوم های به دست آمده از جوانه ها تفاوت چندانی در این سه تاریخ نمونه برداری نداشتند. این مطالعات نشان می دهد که کنیدیوم ها در طی فصول خواب در جوانه های سالم درختان بقا یافته و بدین طریق در زمستان‌گذرانی جمعیت قارچ روی گونه های مختلف هسته‌دار نقش دارند.

**واژه های کلیدی:** کلامیدوسپور، بقا، بیماری‌زایی، رکسولیتیک

**مقدمه**

*Wilsonomyces carpophilus* (Lév.) Adaskaveg, Ogawa & Butler (= *Stigmina carpophila* (Lév.) M.B. Ellis and *Coryneum beijerinckii* Oud.) عامل غربالی (shot hole) که یکی از مهمترین و خسارت‌زاترین بیماری های درختان میوه هسته‌دار در اغلب مناطق جهان است. این بیماری نه تنها باعث تضعیف درختان و کاهش مقدار و ارزش محصول

Archive of SID

www.SID.ir

می شود، بلکه کیفت محصولات را نیز به شدت کاهش می دهد و تنها مرحله غیرجنسی قارچ تولید اسپورودوکیوم می کند، برای آن گزارش شده است (Adaskaveg *et al.* 1990). با وجودی که *ولمین* (Vuillemin 1888) تشکیل مرحله جنسی قارچ با نام *Ascospora beijerinckii* Vuill. را از بقایای برگی های آلوده گزارش کرده است، اما کار های بعدی در آلمان، کالیفرنیا و استرالیا تشکیل مرحله جنسی عامل بیماری غربالی را تایید نکرده و تنها مرحله غیرجنسی قارچ را به عنوان تنها منبع اینوکولوم یادآور شده اند (Highberg & Ogawa 1986).

بیماری غربالی برای اولین بار در سال ۱۸۴۳ توسط *لویلی* (Léveillé) از فرانسه گزارش شد و در مطالعات بعدی اسامی مختلفی به قارچ عامل غربالی داده شده است. *الیس* (Ellis 1959) با مطالعه قارچ عامل بیماری غربالی و مقایسه آن با جنس ***Clasterosporium*** و بقیه جنس های دارای هاگ های رنگی و با چندین بند (phaeophragmospores)، آن را به جنس ***Stigmina*** منتقل کرد. *ساتن* و *پاسکو* (Sutton & Pascoe 1989) گونه ها مختلف جنس ***Stigmina*** را به سه گروه تقسیم کردند که این گروه‌بندی براساس ویژگی های مورفولوژی کنیدیوم ها، یاخته ها کنیدی‌زا و بیماری‌زایی آن ها استوار بود. قارچ عامل بیماری غربالی در گروه دوم قرار گرفته بود که براساس تشکیل اسپورودوکیوم های بالشتکی شکل (pulvinate)، کنیدیوم های قهوه ای روشن، هولوبلاستیک و با دیواره عرضی حقیقی که از کنیدیوفور های آنلیدی ایجاد می شوند و اصولا روی برگ ها، جوانه ها، میوه ها و شاخه های گونه های مختلف درختان میوه هسته‌دار یافت می شوند، متمایز می‌شد. نهایتا *آداسکاوج* و همکاران (Adaskaveg *et al.* 1990) به عنوان یک ترکیب جدید، نام قارچ عامل بیماری غربالی را به نام ***W. carpophilus*** تغییر دادند و امروزه به این نام خوانده می‌شود. این محققان نشان دادند که کنیدیوم های ***W. carpophilus*** در بافت های گیاهی و محیط های کشت از کنیدیوفور های سمپودیال تشکیل شده و جدا شدن آن ها از نوع رکسولیتیک (rhexolytic) می باشد، در حالی که در جنس ***Stigmina*** تشکیل کنیدیوم ها به صورت هولوبلاستیک و شیزولیتیک (schizolytic) بوده و از کنیدیوفور های آنلیدیک ایجاد می شود و این صفات به عنوان صفات اساسی برای تمایز این دو جنس تاکید شده اند. براساس مطالعات *آداسکاوج* (۱۹۹۵) مشخص گردید که کنیدیوم های چند یاخته ای ***W. carpophilus*** فاقد دیواره عرضی حقیقی بوده و نفوذ از بافت های گیاهی به صورت مستقیم با کمک اپرسوریوم ها و یا غیرمستقیم از طریق روزنه ها انجام می شود.

به نقل از *اشکان* و *اسدی* (۱۹۷۱)، این بیماری در ایران برای اولین بار توسط *اسفندیاری* در سال ۱۹۴۶ از درختان میوه هسته‌دار از مازندران، گیلان، گرگان و آذربایجان گزارش شده است. علیرغم گزارش هایی مبنی بر آلودگی گونه های مختلف درختان میوه

Archive of SID

www.SID.ir

هسته‌دار به ایـن قـارچ در منـاطق مختلـف کـشور (Ashkan & Asadi 1971, Ershad 1995)، مطالعات جامعی در مورد خصوصیات مورفولوژیکی و بیولوژیکی قارچ عامل غربالی وجود نـدارد. با توجه به اهمیت بیماری، تحقیق حاضـر بـا هـدف بررسـی برخـی خـصوصیات مورفولـوژیکی جدایه های عامل بیماری، نحوه آلوده سازی میزبان ها و نحوه بقای قـارچ روی آن هـا صـورت گرفته است.

**روش بررسی**

۱- نمونه برداری و جدا سازی عامل بیماری

طی بهار و تابستان سال ۱۳۸۶، باغ های درختان میوه هسته‌دار در استان آذربایجـان غربی مورد بررسی قرار گرفتند و از برگ ها، میوه ها و شاخه های گونه هـای مختلـف درختـان میوه هسته‌دار (زردآلو، بادام، گوجه، آلو، هلو، شـلیل و گـیلاس) کـه نـشانه هـای مـشکوک بـه بیماری را داشتند، نمونه هایی برداشته شد. به منظور جـدا سـازی عامـل بیمـاری، انـدام هـای مذکور پس از شستشوی سطحی با آب مقطر سترون، با استفاده از محلـول هیپوکلریـت سـدیم ۱۰ درصد (حاوی ۰/۵ درصد کلر فعال) به مدت یک دقیقه ضد عفونی سطحی شدند و سپس با آب مقطر سترون سه بار شستشو گردیدند. پس از رطوبت‌گیری نمونـه هـا، قطعـاتی بـه انـدازه تقریبی یک سانتی متر مربع از قسمت های آلوده به همراه نواحی سالم به تـشتک هـای پتـری حاوی محیط های کـشت WA (۲ درصـد)، MA، PDA یـا APDA (محـیط غـذایی PDA کـه به آن ۲/۵ میلی لیتـر در لیتـر اسـید لاکتیـک ۲۵ درصـد اضـافه شـد) و دمـای ۲±۲۰ درجـه سانتیگراد منتقل شدند. قارچ های رشد کرده به روش تک کنیدیوم (single spore) روی محیط کشت WA (۲ درصد) خالص سازی شدند. جدایه های خالص سازی شده در لوله های آزمـایش حاوی محیط کشت PDA و در دمای ۴ درجه سانتیگراد و یا در کاغذ صافی سترون و خـشک و دمای ۲۰- درجه سانتیگراد برای مطالعات بعدی نگهداری شدند. در مجموع ۶۰ جدایه از هفـت گونه مختلف هسته‌دار (زردآلو، بادام، هلو، شلیل، آلو، گوجه و گیلاس) جدا سازی گردید. بیشتر جدایه ها از میوه های آلوده و تعدادی کمتر از برگ ها و سرشاخه ها به دست آمدند.

۲- بررسی خصوصیات مورفولوژیکی و میکروسکوپی جدایه ها

بیست جدایه از میان ۶۰ جدایـه از هفـت میزبـان مختلـف درختـان میـوه هـسته‌دار (جدول ۱) به محیط های کشت MA، PDA، APDA منتقل شدند. تشتک های پتری طی یک دوره ۲۱ روزی در انکوباتور با دمای۲۰ درجه سانتیگراد و تحت شرایط تاریکی و نوری متنـاوب (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) جهت بررسی خـصوصیات مورفولـوژیکی جدایـه هـا نگهداری شدند. صفات مورد مطالعه شامل: سرعت رشد، رنگ پرگنه، مشخصات کنیدیوم،

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۱- محل جمع آوری جدایه های قارچ *Wilsonomyces carpophilus* بـه دسـت آمـده از گونه های مختلف درختان میوه هسته‌دار در استان آذربایجان غربی در سال ۱۳۸۶

Table 1. Localities of *Wilsonomyces carpophilus* isolates obtained from *Prunus* species in West Azerbaijan in 2007

| ردیف | نام جدایه Name of Isolate | نام میزبان /اندام گیاهی Name of Host/Plant Organ | | محل جمع آوری Location | |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | KHJI | گوجه/میوه | Black cherry/Fruit | خوی | Khoy |
| 2 | URZI | زردآلو/میوه | Apricot/Fruit | ارومیه | Urumieh |
| 3 | MHZ | زردآلو/میوه | Apricot/Fruit | مهاباد | Mahabad |
| 4 | SNB | بادام/میوه | Almond/Fruit | شاهین‌دژ | Shahindej |
| 5 | URH9 | هلو/میوه | Peach/Fruit | ارومیه | Urumieh |
| 6 | KHG2 | گیلاس/برگ | Sweet cherry/leaf | خوی | Khoy |
| 7 | URG | گیلاس/برگ | Sweet cherry/leaf | ارومیه | Urumieh |
| 8 | KHZ12 | زردآلو/میوه | Apricot/Fruit | خوی | Khoy |
| 9 | KHG1 | گیلاس/برگ | Sweet cherry/leaf | خوی | Khoy |
| 10 | KHS | شلیل/میوه | Nectarine/Fruit | خوی | Khoy |
| 11 | SLZ1 | زردآلو/شاخه | Apricot/Twig | سلماس | Salmas |
| 12 | MYZ | زردآلو/میوه | Apricot/Fruit | میاندوآب | Miyandoab |
| 13 | MYB | بادام/میوه | Almond/Fruit | میاندوآب | Miyandoab |
| 14 | NAZ | زردآلو/میوه | Apricot/Fruit | نقده | Naghadeh |
| 15 | URA | آلو/میوه | Plum/Fruit | ارومیه | Urumieh |
| 16 | URJ | گوجه/میوه | Black cherry/Fruit | ارومیه | Urumieh |
| 17 | URH2 | هلو/میوه | Peach/Fruit | ارومیه | Urumieh |
| 18 | KHB | بادام/میوه | Almond/Fruit | خوی | Khoy |
| 19 | URB1 | بادام/شاخه | Almond/twig | ارومیه | Urumieh |
| 20 | KHJ2 | گوجه/میوه | Black cherry/Fruit | خوی | Khoy |

Archive of SID

www.SID.ir

کیندیوفور، اسپورودوکیوم و میزان هاگ زایی بود. عکس ها از صفات مذکور با استفاده از میکروسکوپ نوری الیمپوس (Olympus) مدل BX41 تهیه گردیدند.

۳- بررسی اثر دما و اسیدیته (pH) بر میزان رشد رویشی جدایه ها در شرایط آزمایشگاه

به منظور تعیین دما های کمینه، بهینه و بیشینه رشدی، رشد شعاعی شش جدایه URZ1، MHZ، KHJ1، SNB، URH9 و KHG2 (جدول ۱) در محیط کشت PDA و در دما های ۴، ۸، ۱۲، ۱۶، ۲۰، ۲۴، ۲۸ و ۳۲ درجه سانتیگراد مورد مطالعه قرار گرفت. حلقه هایی به قطر ۶ میلی متر از حاشیه پرگنه های در حال رشد فعال (۱۰ روزه) جدایه ها برداشته و به محیط کشت PDA منتقل و در دما های مذکور نگهداری شدند. میزان رشد شعاعی جدایه ها در روز های ۷ و ۱۴ بعد از کشت برای هر یک از دما ها ثبت گردید. علاوه بر آن، میزان رشد شعاعی چهار جدایه URZ1، KHJ1، URH9 و KHG2 (جدول ۱) در pH های ۱۰-۴ و به فاصله نیم از یکدیگر مشابه اثر دما ها ثبت شد. هر جدایه در سه تکرار عمل گردید. pH محیط های کشت PDA با اضافه کردن HCl شش نرمال و یا NaOH دو نرمال و توسط دستگاه pH متر مدل Sartorius PB-11 اندازه گیری و تنظیم شد.

۴- بررسی اثر دما بر درصد جوانه زنی کنیدیوم ها

درصد جوانه زنی پنج جدایه SNB، URH9، KHJ1، URG و KHZ12 (جدول ۱) در دما های ۱-۰، ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵، ۳۰ و ۳۵ درجه سانتیگراد بررسی گردید. برای این منظور از روش *شاو* و همکاران (Shaw *et al.* 1990) با کمی تغییرات استفاده شد. سوسپانسیون کنیدیوم های هر جدایه از سطح محیط کشت PDA ۱۰ روزی قارچ در آب مقطر سترون تهیه شد و غلظت آن ها در $۱\times۱۰^{۵}$ کنیدیوم در هر میلی لیتر تنظیم شد. ۱۵۰ میکرولیتر از سوسپانسیون به محیط کشت WA (۲ درصد) منتقل و در دما های فوق‌الذکر نگهداری شد. بعد از ۲۴ ساعت تشتک های پتری زیر میکروسکوپ نوری بررسی شدند و میزان جوانه زنی ۱۰۰ کنیدیوم به طور تصادفی ثبت گردید. کنیدیوم هایی که دارای لوله تندش معادل یک و نیم برابر عرض کنیدیوم و یا بیشتر از آن بودند به عنوان جوانه زده مدنظر قرار گرفتند. محاسبه میزان جوانه زنی کنیدیوم ها برای هر جدایه در سه تکرار انجام گرفت.

۵- مطالعه مراحل گسترش بیماری غربالی

در این قسمت از مطالعه از نهال های بذری بادام استفاده گردید. بذر های بادام اهلی (*Prunus dulcis* (Mill.) D.A. Webb) در محیط پرلیت مرطوب و دمای ۴ درجه سانتیگراد به مدت دو ماه نگهداری شدند. بعد از سپری شدن دوره خواب بذر ها، بذر های جوانه زده به

Archive of SID

www.SID.ir

گلدان های حاوی خاک، ماسه و کود به نسبت ۱:۱:۲ منتقل و در دمای ۲±۲۰ درجه سانتیگراد نگهداری شدند و مراقبت های لازم تا رسیدن آن ها به مرحله ۱۰ برگی به عمل آمد. به منظور عمل مایه‌زنی نهال های بذری و مطالعه نحوه نفوذ، آلودگی و گسترش بیماری از روش *آداسکاوج* (Adaskaveg 1995) با کمی تغییرات استفاده گردید. عمل مایه‌زنی روی نهال های بذری در مرحله ۱۰ برگی (حداقل ۵ برگ با پهنک کامل) و با غلظت هاگ معادل $۱\times۱۰^{۵}$ کنیدیوم در هر میلی‌لیتر انجام شد. سوسپانسیون هاگ به صورت یکنواخت توسط آب‌فشان دستی (sprayer) روی برگ ها پاشیده شد و تا حد امکان سعی گردید که سوسپانسیون از روی برگ ها سرریز نشود. سپس نهال های بذری مایه‌زنی شده توسط کیسه های پلاستیکی پوشانده شدند و به مدت ۴۸ ساعت در گلخانه در دمای ۲±۲۰ درجه سانتیگراد نگهداری شدند. کیسه های پلاستیکی بعد از ۴۸ ساعت از روی آن ها برداشته شدند و نهال ها در دمای ۲±۲۰ درجه سانتیگراد و رطوبت نسبی بیش از ۷۵ درصد نگهداری شدند. مراحل مختلف ایجاد بیماری در فواصل زمانی ۱۲ ساعت پس از مایه زنی تا ۱۰ روز مورد مطالعه قرار گرفت. دیسک های برگی به قطر ۵-۳ میلی متری از بخش های مایه‌زنی شده برگ ها تهیه شد و توسط میکروسکوپ نوری مورد مطالعه قرار گرفتند. همچنین بافت های برگی سالم و آلوده در داخل محلول اتانول در اسید استیک (به نسبت ۱:۱ حجمی) به مدت ۲۴ ساعت نگهداری شدند و سپس با محلول های کاتن بلو و یا سافرانین صفر (Safranin 0) رنگ آمیزی گردیدند. نمونه های رنگ آمیزی شده توسط میکروسکوپ نوری بررسی شدند و نفوذ قارچ و گسترش آلودگی بررسی گردید (Adaskaveg 1995).

۶- بررسی نحوه بقای *W. carpophilus*

در طول تابستان سال ۱۳۸۶ تعدادی از درختان بادام و زردآلو به ترتیب با آلودگی شدید لکه برگی و میوه (بیش از ۷۰ درصد آلودگی)، گیلاس و هلو با آلودگی پایین لکه برگی (کمتر از ۱۰ درصد) در باغ ها شهرستان ارومیه علامت‌گذاری شدند. در طول زمستان، بافت‌های آلوده (جوانه ها، شاخه ها، برگ ها و ندرتا میوه های خشک شده متصل به درختان) هر ماه به آزمایشگاه منتقل و برای وجود اندام های عامل بیماری مانند کنیدیوم، ریسه یا اندام های دیگر با استریومیکروسکوپ مدل زایس مورد بررسی قرار گرفتند. علاوه بر آن، پس از ضد عفونی سطحی، اندام های جمع آوری شده (مطابق بند ۱)، قطعاتی جدا شدند و به محیط های کشت MA، PDA یا APDA منتقل و در دمای ۲۰ درجه سانتیگراد نگهداری شدند. جهت بررسی دقیق تر نقش احتمالی کنیدیوم در بقای قارچ از روش *هایبرگ و اُگاوا* (Highberg & Ogawa 1986) با کمی تغییرات استفاده گردید. بدین منظور، ۱۰ شاخه به صورت تصادفی (ترجیحا از قسمت های پایین تر درختان) از درختان زردآلو، بادام، هلو و

Archive of SID

www.SID.ir

گیلاس در تاریخ های ۱۰ دی (ریزش کامل برگ ها)، ۲۰ بهمن (تورم جوانه ها) و ۲۵ اسفند (اوایل باز شدن جوانه ها) در سال ۱۳۸۶ جمع آوری شدند. تعداد ۶۰ جوانه سالم از شاخه های جمع‌آوری شده انتخاب و بعد از جدا سازی لایه های فلس های جوانه ها از یکدیگر، فلس ها به لوله های سانتریفوژ حاوی پنج میلی لیتر آب مقطر سترون منتقل شدند. نمونه ها بعد از سه دقیقه ورتکس، به مدت پنج دقیقه و با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شدند. مایع رویی حاوی سوسپانسیون هاگ ها با استفاده از پی‌پت پاستور سترون برداشته و به لوله های سانتریفوژ جدید منتقل گردید. مایع مورد نظر دوباره تحت همان شرایط سانتریفوژ گردید. بعد از دور ریختن مایع رویی، رسوب حاصل در نیم میلی لیتر آب مقطر سترون حل شده و به محیط کشت WA (۲ درصد) منتقل و در دمای ۲۰ درجه سانتیگراد نگهداری شد. بعد از گذشت ۲۴ ساعت تعداد کنیدیوم ها و درصد جوانه زنی آن ها ثبت گردید.

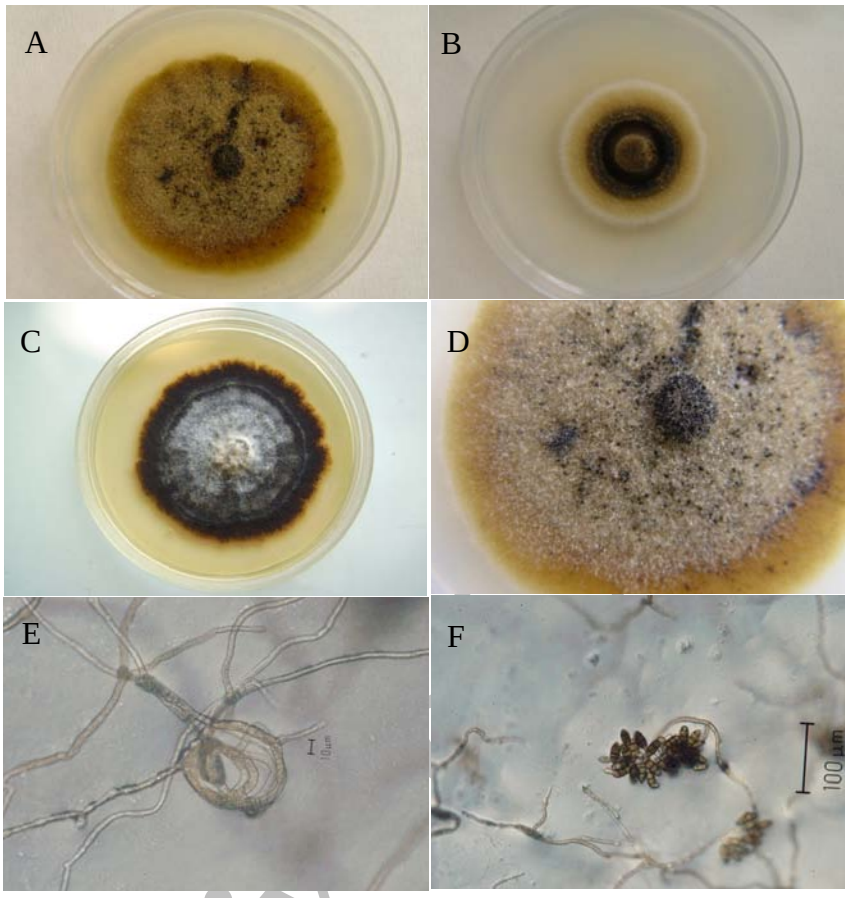
## نتیجه

خصوصیات مورفولوژیکی و میکروسکوپی جدایه ها

پرگنه ها در محیط های کشت MA و PDA و تحت شرایط متناوب نوری و تاریکی و دمای ۲۰ درجه سانتیگراد به رنگ زیتونی تیره بوده (شکل ۱C) و اغلب فاقد ریسه های هوایی می باشند. اگر چه در کشت های مسن تر (۳-۲ هفته‌ای) ریسه های هوایی به میزان کمتر در وسط پرگنه ها و به رنگ سفید تشکیل می شوند. با گذشت زمان، به رنگ خاکستری روشن تا قهوه ای تغییر می یابند. کنیدیوم ها قهوه‌ای روشن تا تیره بوده و در محیط های کشت فوق به فراوانی تشکیل می شوند. رنگ پرگنه ها در محیط کشت PDA و شرایط تاریکی در جدایه های مورد بررسی متغیر می باشد (شکل های ۱A و ۱B). در اغلب موارد رنگ پرگنه ها در بخش مرکزی زیتونی روشن تا تیره و در حاشیه سفید تا سفید متمایل به کرم دیده می شود (شکل ۱B) و ریسه های هوایی به میزان زیاد و به رنگ خاکستری روشن تا قهوه ای تشکیل می شوند. در مراحل اولیه رشد، رنگ پرگنه ها در پشت تشتک های پتری نخودی کمرنگ تا تیره، که بعد از گذشت یک هفته به رنگ زیتونی یا قهوه ای تیره تغییر می یابند. ریسه ها بنددار، منشعب و کمرنگ تا قهوه ای روشن و به قطر ۷/۵-۲/۵ میکرومتر می باشند. در اوایل تشکیل اسپورودوکیوم ها، ریسه ها دور هم جمع شده و بافت استرومایی را تولید می نمایند (شکل ۱E) که روی آن ها کنیدیوفور ها و کنیدیوم ها تشکیل می‌شوند (شکل ۱F). اسپورودوکیوم ها به صورت نقاط قهوه ای کمرنگ تا تیره، منفرد یا مجتمع و به ابعاد ۸۲-۳۷ میکرومتر و ندرتا بزرگتر در محیط کشت PDA، دمای ۲۰ درجه سانتیگراد و شرایط تاریکی به فراوانی تشکیل می شوند ( شکل ۱D). اسپورودوکیوم ها حاوی کنیدیوفور های سمپودیال، کمرنگ تا قهوه ای کمرنگ و به ابعاد ۱۰-۵ × ۵۰-۱۲/۵ میکرومتر و ندرتا با طول بیشتر از ۵۰

Archive of SID

www.SID.ir

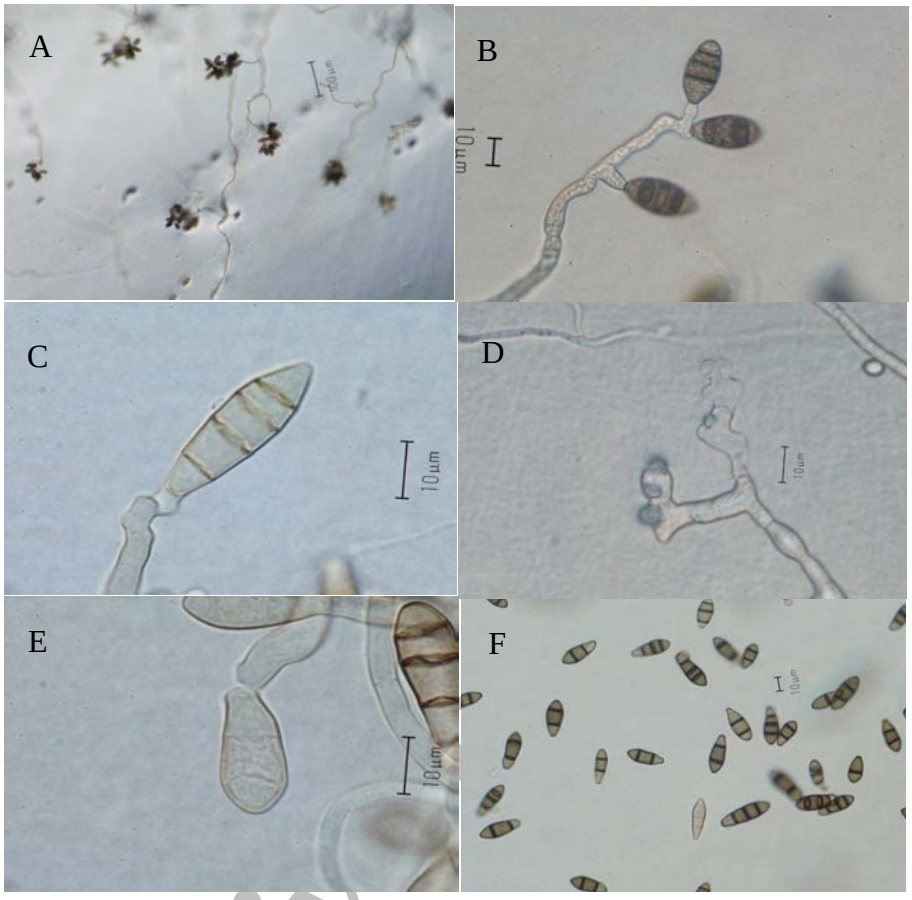



شکل ۱- پرگنه جدایه های قارچ *Wilsonomyces carpophilus* روی محیط کشت PDA و تشکیل اسپورودوکیوم: (A) و (B) PDA و شرایط تاریکی، (C) PDA و شرایط نوری متناوب (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) (D) اسپورودوکیوم های تشکیل شده روی محیط کشت PDA و شرایط تاریکی، (E) تجمع ریسه ها جهت تشکیل اسپورودوکیوم ها در محیط کشت WA (مقیاس اندازه = ۱۰ میکرومتر)، (F) تشکیل اسپورودوکیوم ها روی محیط کشت WA (مقیاس اندازه = ۱۰۰ میکرومتر).

Fig. 1. Growth pattern of *Wilsonomyces carpophilus* isolates on PDA medium and formation of sporodochia: (A) and (B) PDA and dark conditions, (C) PDA and alternative light conditions, (D) Formation of chlamydospores on PDA and under dark conditions, (E) Aggregation of hypha on WA (Scale bar = 10 m), (F) Formation of sporodochia on WA medium (Scale bar = 100 m).

Archive

www.SID.ir




شکل ۲- اسپورودوکیوم، کنیدیوفور و کنیدیوم ها در *Wilsonomyces carpophilus*: (A) اسپورودوکیوم های تشکیل شده در محیط کشت WA (مقیاس اندازه = ۱۰۰ میکرومتر). (B) و (C) کنیدیوفور سمپودیال (مقیاس اندازه = ۱۰ میکرومتر)، (D) زخم های روی کنیدیوفور (مقیاس اندازه = ۱۰ میکرومتر)، (E) نحوه جدا شدن کنیدیوم از کنیدیوفور (مقیاس اندازه = ۱۰ میکرومتر)، (F) کنیدیوم های ۵-۳ یاخته ای (مقیاس اندازه = ۱۰ میکرومتر).

Fig. 2. Sporodochia, conodiophores and conidia in *Wilsonomyces carpophilus*: (A) Sporodochia formed on WA medium (Scale bar= 100 m), (B) and (C) Sympodial conidophore (Scale bar = 10 m), (D) Scars on conidiophores (Scale bar = 10 m), (E) Separation of conidium from conidiophore (Scale bar = 10 m), (F) Conidia 3-5 cells (Scale bar = 10 m).

Archive

www.SID.ir

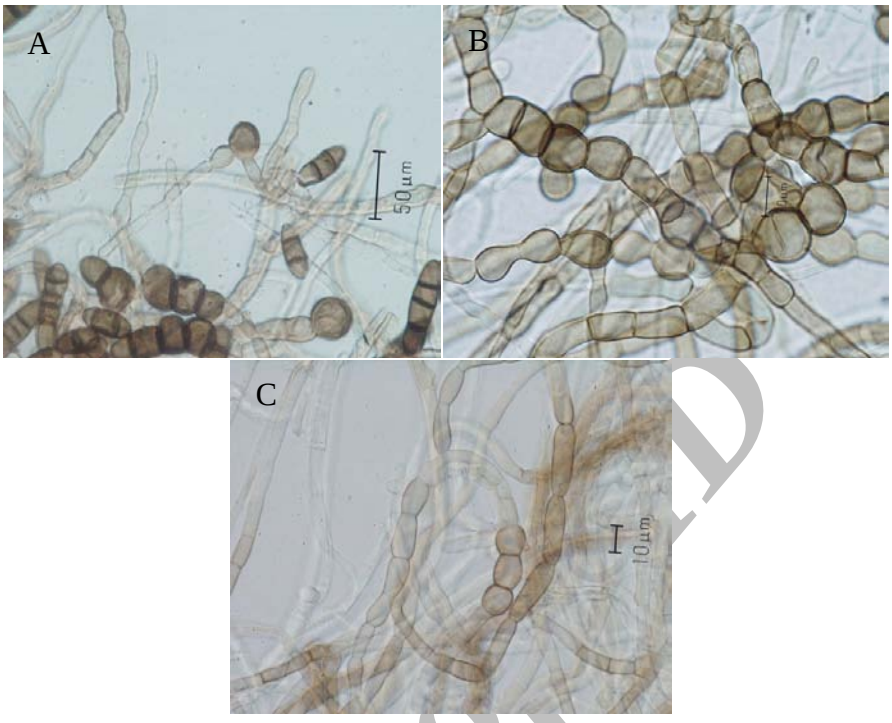
میکرومتر می باشند (شکل 2A). کنیدیوفور ها با ۳-۱ خمیدگی زانویی (geniculation) که زخم ها (scars) روی آن ها واضح تا ناواضح می باشند (شکل های 2B، 2C و 2D). کنیدیوم ها دارای دیواره ضخیم، با سطح صاف و دوکی شکل (fusoid)، به صورت منفرد در بخش انتهایی کنیدیوفور ها تشکیل می شوند. در مواردی کنیدیوم ها به شکل های بیضوی یا گرزی هم دیده می شوند (شکل 2F). یاخته های انتهایی کنیدیوم ها دارای نوک گرد یا تیز و یاخته های پایینی تخت (truncate) می باشند. کنیدیوم ها ۵-۳ یاخته ای (گاهی ۹-۱ یاخته های) به ابعاد ۱۵-۷/۵ × ۶۷/۵-۲۰ میکرومتر و در پایه ۵-۲/۵ میکرومتر، کمرنگ تا قهوه ای کمرنگ یا تیره و ندرتا دارای ۲-۱ دیواره مورب (oblique) هستند. تشکیل کنیدیوم ها به صورت هولوبلاستیک و جدا شدن آن ها رکسولیتیک (rhexolytic) است (شکل 2E). در تمام جدایه های مورد بررسی، کلامیدوسپور ها به وفور در محیط های کشت MA، PDA، APDA و تحت شرایط تاریکی تشکیل می شوند (شکل های 3A، 3B و 3C). کلامیدوسپور ها گرد تا تخم‌مرغی، با دیواره صاف و ضخیم، قهوه ای کمرنگ تا تیره، به ابعاد ۳۰-۱۲ میکرومتر و به صورت انتهایی (terminal) یا میانی (intercalary)، منفرد یا در زنجیر های ۳-۲ عددی و ندرتا طویل‌تر تشکیل می شوند. زنجیر های کلامیدوسپور با طول های زیاد در محیط های کشت قدیمی (۴-۳ هفته‌ای)، دما های پایین‌تر از ۱۵ درجه سانتیگراد و pH بالاتر از ۸ به وفور تشکیل می شوند. کلامیدوسپور ها در صورت انتقال به محیط های کشت مذکور، قادر به جوانه زنی هستند.

اثر دما و pH بر میزان رشد رویشی جدایه ها

در مجموع بیشترین میزان رشد رویشی جدایه های مورد مطالعه در دامنه دمایی ۲۲-۱۵ درجه سانتیگراد مشاهده گردید. هر چند که بهینه رشد جدایه ها در دمای ۲۱ درجه سانتیگراد دیده شد. هیچ گونه رشدی در دمای پایین‌تر از پنج درجه سانتیگراد و بالاتر از ۳۰ درجه سانتیگراد مشاهده نگردید. به علاوه، تفاوت قابل ملاحظه ای در میزان رشد رویشی بین جدایه ها دیده شد. به طور متوسط جدایه ها در محیط کشت PDA و دمای ۲۱ درجه سانتیگراد بعد از ۱۸ روز به انتهای تشتک های پتری ۸ سانتی متری رسیدند. همچنین بیشترین میزان رشد رویشی جدایه ها (چهار جدایه مورد بررسی) در دامنه pH معادل ۷/۵-۴ و بهینه رشدی آن ها در pH ۶ مشاهده گردید. در pH اسیدی (۵/۵-۴) رنگ پرگنه ها زیتونی تیره و به ندرت دارای ریسه های هوایی و در pH خنثی و نزدیک به آن به رنگ زیتونی کمرنگ و با ریسه های هوایی فراوان به رنگ خاکستری دیده شد.

Archive of SID

www.SID.ir




شکل ۳- تشکیل کلامیدوسپور در محیط کشت PDA و شرایط تاریکی: (A) کلامیدوسپور های منفرد، انتهایی و میان ریسه ای (مقیاس اندازه = ۵۰ میکرومتر)، (B) و (C) کلامیدوسپور های زنجیری (مقیاس اندازه = ۱۰ میکرومتر).

Fig. 3. Formation of chlamydospores on PDA in the dark: (A) Single chlamydospores, terminal and intercalary (Scale bar = 50 m), (B) and (C) Chained chlamydospores (Scale bar = 10 m).

اثر دما بر میزان درصد جوانه زنی کنیدیوم ها

درصد جوانه زنی کنیدیوم ها در پنج جدایه مورد بررسی تفاوت معنی داری نشان داد. بیشترین درصد جوانه زنی کنیدیوم ها (بالاتر از ۹۰ درصد) در دامنه دمایی ۳۰-۱۵ درجه سانتیگراد و بهینه جوانه زنی آن ها در دمای ۲۵-۲۰ درجه سانتیگراد مشاهده شد. در دامنه دمایی ۱۰-۵ درجه سانتیگراد بیش از ۸۰ درصد کنیدیوم ها قادر به جوانه زنی بودند. به علاوه، بیش از ۵۰ درصد کنیدیوم ها در همه جدایه ها در دمای ۱-۰ درجه سانتیگراد جوانه زدند. در دمای ۳۵ درجه سانتیگراد کمتر از ۱۰ درصد کنیدیوم ها قادر به جوانه زنی بودند. کنیدیوم ها در دمای ۲۵-۲۰ درجه سانتیگراد بعد از چهار ساعت در محیط کشت WA (۲ درصد) از یک یا هر دو یاخته انتهایی و ندرتا از یاخته های میانی قادر به جوانه زنی بودند.

Archive of SID

www.SID.ir

مراحل گسترش بیماری غربالی روی نهال های بذری بادام

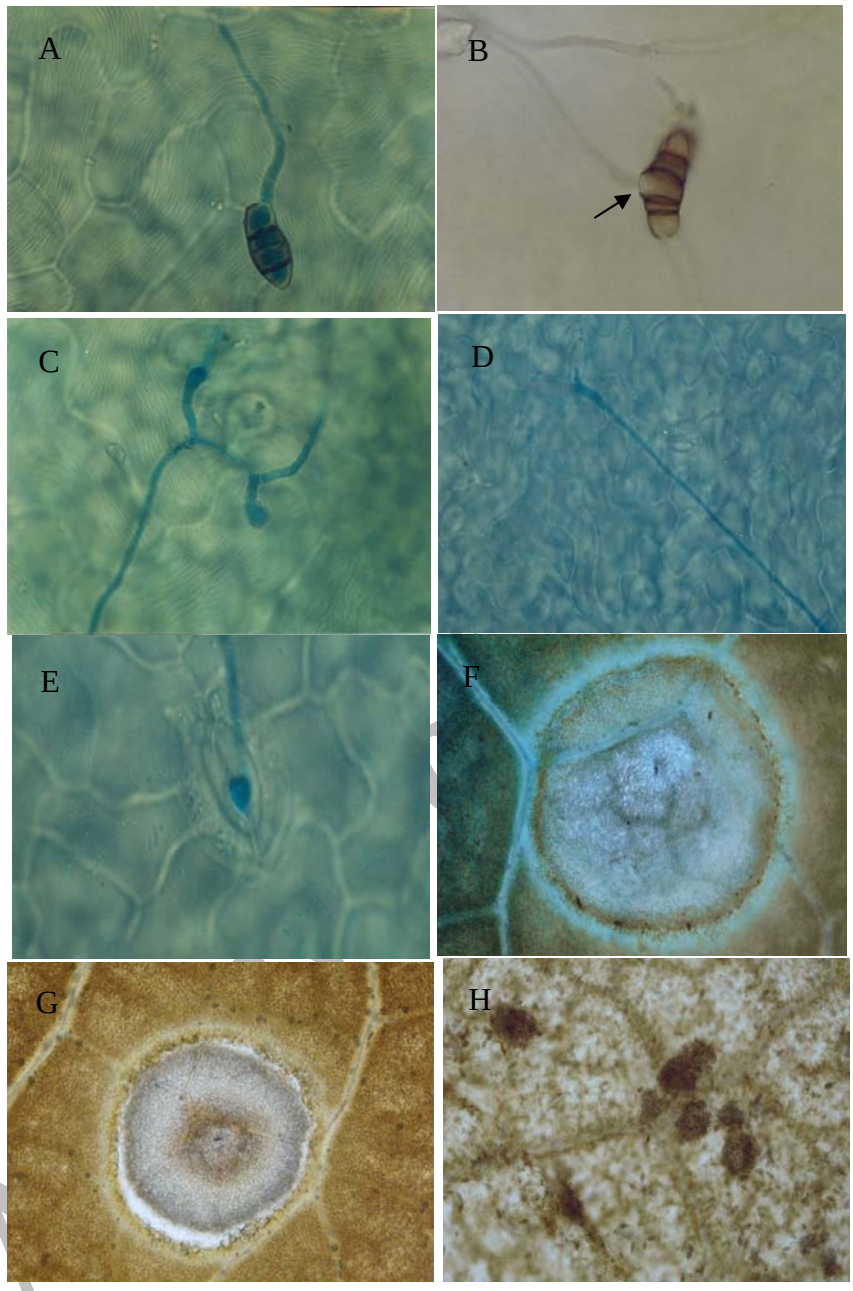
در مدت ۲۴-۱۲ ساعت بعد از مایه زنی، جوانه زنی کنیدیوم ها شروع شد و غالبا از یک یا هر دو یاخته انتهایی و به میزان کمتر از یاخته های میانی انجام گردید (شکل های 4A و 4B). لوله های تندشی، دیواره خارجی کنیدیوم را پاره کرده و در مدت ۴۸-۲۴ ساعت طویل گردید (شکل 4B) و انتهای آن ها متورم شده و اپرسوریوم تولید کردند. اپرسوریوم ها از لوله های تندش کوتاه یا بلند و گاهی منشعب به وجود آمدند (شکل 4C). نفوذ به طور غیر مستقیم از طریق روزنه ها نیز به میزان کمتری انجام گردید (شکل های 4D و 4E). در مدت ۷۲-۴۸ ساعت، بافت های اطراف منطقه نفوذ به رنگ قهوه ای کمرنگ تغییر یافت و به تدریج بافت ها تجزیه شدند. در مدت ۹۶-۷۲ ساعت (۴-۳ روز بعد از مایه‌زنی) حلقه‌ای بی رنگ اطراف بافت های آلوده تشکیل شد (شکل 2F) که در اثر رنگ‌آمیزی با کاتن‌بلو و سافرانین صفر به ترتیب به رنگ آبی کمرنگ تا بنفش و قرمز دیده شد. از روز چهارم بعد از مایه‌زنی، زخم های ریز و ارغوانی کمرنگ تا قهوه ای مشاهده شدند. زخم ها در مدت ۶-۵ روز به ابعاد ۵-۲ میلی متر رسیدند. از روز ششم به بعد و در دمای ۲±۲۰ درجه سانتیگراد، بافت های آلوده به تدریج از بافت های سالم جدا شدند و بعد از ۱۰ روز ریزش کردند (شکل 4G). در این حالت برگ ها ظاهری غربال مانند پیدا می کردند (شکل 4J). در دما های بالاتر میزان ریزش زخم ها بیشتر مشاهده گردید. اسپورودوکیوم ها در رطوبت نسبی بالا (بیش از ۷۵ درصد) و دمای کمتر از ۲۵ درجه سانتیگراد روی بافت های ریزش یافته یا باقیمانده در برگ ها، بعد از ۱۶ روز تشکیل شدند (شکل های 4H و 4I). این ساختار های غیرجنسی همیشه در سطح بالایی برگ ها و به صورت نقاط سیاهرنگ روی آن ها دیده شدند. اسپورودوکیوم ها در اوایل مرحله تشکیل، کوتیکول میزبان را پاره کرده و به صورت دسته های پراکنده یا مجتمع، در ابعاد ۲۲۰-۴۰ میکرومتر، حاوی کنیدیوفور های سمپودیال و کنیدیوم های ۵-۳ یاخته ای (گاهی ۷-۲ یاخته ای) در سطح رویی برگ ها دیده شدند.

نحوه بقای *W. carpophilus*

طی سه تاریخ نمونه برداری (۱۰ دی، ۲۰ بهمن و ۲۵ اسفند سال ۱۳۸۶)، قارچ مورد نظر از روی سرشاخه ها، برگ ها یا میوه های خشک شده باقیمانده روی درختان یا ریخته شده در پای آن ها در محیط های کشت MA، PDA یا APDA جدا سازی نشد. همچنین در بررسی های انجام شده با استریومیکروسکوپ هیچ اندام قارچی در اندام های مذکور که در بقای آن نقش داشته باشند (اسپورودوکیوم، کنیدیوم، ریسه یا کلامیدوسپور)، مشاهده نگردید. باوجود این، کنیدیوم ها با استفاده از سانتریفوژ از جوانه های سالم درختان زردآلو، گیلاس، هلو و بادام جدا سازی شدند. کنیدیوم های به دست آمده ۶-۲ یاخته ای بودند و درصد جوانه زنی

Archive of SID

www.SID.ir




(شکل ۴- شرح و ادامه در صفحه بعد) (Fig. 4. Legend in the next page)

www.SID.ir

شکل ۴- نحوه جوانه زنی، نفوذ، آلودگی و گسترش بیماری لکه غربالی روی برگ های نهال های بذری بادام: (A) و (B) نحوه جوانه زنی کنیدیوم و پاره شدن دیواره خارجی آن بعد از ۱۲ ساعت (با بزرگنمایی تقریبی ۴۰۰ برابر)، (C) نفوذ از طریق اپرسوریوم ها بعد از ۲۴ ساعت (با بزرگنمایی تقریبی ۴۰۰ برابر)، (D) و (E) نفوذ از طریق روزنه بعد از ۲۴ ساعت (به ترتیب با بزرگنمایی تقریبی۴۰۰ و ۱۰۰۰ برابر)، (F) تجزیه بافت اطراف کنیدیوم و تشکیل هاله بی رنگ اطراف بافت آلوده در عرض ۴-۳ روز (با بزرگنمایی تقریبی ۱۰۰ برابر)، (G) جدا شدن بافت آلوده از سالم بعد از شش روز (با بزرگنمایی تقریبی ۱۰۰ برابر)، (H) و (I) تشکیل اسپورودوکیوم ها در سطح رویی برگ ها بعد از ۱۶ روز (به ترتیب با بزرگنمایی تقریبی ۱۰۰ و ۴۰۰ برابر)، (J) نشانه های لکه غربالی روی برگ های بادام بعد از ۱۰ روز.

Fig. 4. Germination, penetration, infection and colonization of shot hole disease on almond seedling leaves: (A) and (B) Germination of conidium and rupture of outer cell wall after 12 hr (400x), C) Penetration through appressoria after 24 hr (400x), (D) and (E) Penetration through stomata after 24 hr (100x and1000x respectively). (F) Degradation of tissue around conidium and formation of colorless halo around infected tissue within 3-4 days (100x), (G) Abscission of infected tissue from healthy tissue after six days, (H) and (I) Formation of sporodochia on the upper leaf surface after 16 days (100x and 400x, respectively), (J) Symptoms of shot hole disease on almond leaves after ten days.

آن ها بین ۱۰۰-۶۲ درصد محاسبه گردید (جدول ۲). تعداد کنیدیوم های جمع آوری شده از درختان هلو و گیلاس در سه تاریخ نمونه برداری تفاوت قابل ملاحظه ای نشان نداد. در بادام تعداد کنیدیوم ها در ماه های بهمن (۳۵ عدد) و اسفند (۳۷ عدد) نسبت به ماه دی (۲۳ عدد) تقریبا ۱/۵ برابر افزایش نشان داد. همچنین در زردآلو تعداد کنیدیوم های به دست آمده در ماه های دی (۵۴ عدد) و اسفند (۳۳ عدد) نسبت به ماه بهمن (۱۲ عدد) تقریبا سه تا چهار برابر بیشتر بود (جدول ۲).

Archive of SID

www.SID.ir

**بحث**

خصوصیات مورفولوژیکی ماکروسکوپی و میکروسکوپی جدایه های *W. carpophilus* مطالعه شده که از گونه های مختلف درختان میوه هسته‌دار به دست آمده‌اند با توصیف ارایه شده توسط *آداسکاوج* و همکاران (۱۹۹۰) مطابقت کامل دارد. تمامی جدایه ها، اسپورودوکیوم ها حاوی کنیدیوفور های سمپودیال، کنیدیوم های منفرد و ۵-۳ یاخته ای (گاهی ۹-۱ یاخته ای) می باشند. از طرفی، براساس مطالعات انجام یافته توسط *آداسکاوج* (۱۹۹۵) کنیدیوم ها فاقد بند حقیقی و دارای بند کاذب (distoseptate) می باشند. همچنین کنیدیوم های چند یاخته ای از دو لایه دیواره مجزا شامل دیواره خارجی ضخیم و غنی از الکترون (electron-dense) و دیواره داخلی ضخیم و نیمه شفاف الکترونی (electron-translucent) تشکیل شده اند. بند های کنیدیوم ها نیز حداقل از سه لایه دیواره مجزا که لایه میانی نازک و غنی از الکترون بین دو لایه ضخیم خارجی و داخلی قرار دارد، تشکیل شده است. هر کدام از یاخته های کنیدیوم ها مستقل از دیگری جوانه زده و بنابراین،

جدول ۲- تعداد و درصد جوانه زنی کنیدیوم های به دست آمده از جوانه های سالم درختان زردآلو، بادام، هلو و گیلاس در طول زمستان سال ۱۳۸۶

Table 2. Number and viability of conidia collected from apricot, almond, peach and sweet cherry buds in winter 2007

| میزبان Host | ۱۰ دی 31 Dec. | | ۲۰ بهمن 9 Feb. | | ۲۵ اسفند 10 Mar. | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | تعداد کنیدیوم‌ها[a] No. of Conidia | درصد جوانه‌زنی[b] (%) Viabilit (%) | تعداد کنیدیوم‌ها No. of Conidia | درصد جوانه‌زنی (%) Viability (%) | تعداد کنیدیوم‌ها No. of Conidia | درصد جوانه‌زنی (%) Viability (%) |
| زردآلو (Apricot) | 54 | 94 | 12 | 83 | 33 | 93 |
| بادام (Almond) | 23 | 86 | 35 | 82 | 37 | 62 |
| هلو (Peach) | 11 | 71 | 8 | 100 | 7 | 100 |
| گیلاس (Sweet cherry) | 5 | 80 | 4 | 75 | 4 | 75 |

a: تعداد کنیدیوم های جمع آوری شده از ۶۰ جوانه سالم میزبان a: Number of collected conidia from 60 health bud

b: درصد کنیدیوم های جوانه زده در محیط کشت آب- آگار بعد از ۲۴ ساعت

b: Percentage of germinated conidia on WA after 24 hr.

Archive of SID

www.SID.ir

از هر کنیدیوم چندین لوله تندش تشکیل می شود (Adaskaveg 1995). اگر چه هیچ گونه گزارشی از تشکیل کلامیدوسپور ها در جدایه های بررسی شده توسط *آداسکاوج* و همکاران (۱۹۹۰) ذکر نشده است. اما تمامی جدایه های مورد بررسی در این تحقیق، قادر به تشکیل کلامیدوسپور ها به صورت زنجیر های ۳-۲ عددی و گاهی بیشتر بودند. به نظر می رسد تشکیل کلامیدوسپور ها در این قارچ نقش مهمی در بقای آن داشته باشند. *کول* و *نارایین* (Koul & Narain 1983) گزارش کرده اند که فقط در یکی از جدایه های *Stigmina carpophila* (نام مترادف عامل بیماری غربالی) کلامیدوسپور ها به وفور در محیط کشت PDA و به صورت میانی یا انتهایی تشکیل می شوند.

بهینه رشد جدایه ها در دمای ۲۱ درجه سانتیگراد و pH ۶ مشاهده گردید. همچنین تفاوت قابل ملاحظه ای بین میزان رشد رویشی جدایه ها در دما ها و pH های مورد مطالعه دیده شد. براساس مطالعات انجام یافته توسط *اسمیت* و *اسمیت* (Smith & Smith 1942) بیشترین میزان رشد رویشی جدایه ها در دمای ۱۹ درجه سانتیگراد مشاهده شد و براساس گزارش *ویلیماز* و *هلتون* (Williams & Helton 1971) رشد سریع جدایه ها موقعی که از بتا- مالتوز و ال- آسپاراژین به ترتیب به عنوان منابع کربن و نیتروژن و در pH ۵/۸-۵/۴ استفاده گردد، حاصل می شود. براساس مطالعات *آداسکاوج* و همکاران (Adaskaveg *et al*. 1990)، بیشترین میزان رشد رویشی جدایه ها در دامنه دمایی ۲۲-۱۵ درجه سانتیگراد رخ داد و هیچ رشدی در دمای پایین تر از ۵ درجه سانتیگراد و بالاتر از ۳۰ درجه سانتیگراد مشاهده نشد. در این تحقیق، کنیدیوم ها در دما های پایین‌تر (۱-۰ درجه سانتیگراد) قادر به جوانه زنی بودند. براساس مطالعات صورت گرفته توسط *شاو* و همکاران (۱۹۹۰)، بیش از ۴۰ درصد کنیدیوم ها در محیط کشت PDA و دمای ۱-۰ درجه سانتیگراد جوانه زدند و بین درصد جوانه زنی چهار جدایه مورد بررسی اختلاف معنی داری دیده نشد. بر این اساس کنیدیوم ها در دما های پایین‌تر از قدرت جوانه زنی بالایی برخوردار بوده و می توانند نقش مهمی در آلودگی گیاهان میزبان و بقای قارچ در شرایط نامساعد جوی داشته باشند. در این مطالعه، مشخص گردید که نفوذ قارچ به طور مستقیم از طریق اپرسوریوم ها و یا غیرمستقیم از طریق روزنه ها انجام می گیرد. براساس مطالعات انجام یافته توسط *آداسکاوج* و همکاران (۱۹۹۵)، اطراف لوله های تندش و اپرسوریوم ها مواد موسیلاژی (mucilaginous materials) تشکیل می شود که احتمالا در چسبیدن آن ها به سطوح گیاهی نقش دارند. همچنین در زیر اپرسوریوم ها سوراخی (pore) مشاهده می‌گردد که احتمالا در اثر ترشح آنزیم های تجزیه‌کننده دیواره یاخته های اپیدرمی و کوتیکولی ایجاد شده است و از این طریق، میخ رخنه (penetration peg) وارد بافت های داخلی میزبان می شود. همان طور که در این تحقیق مشاهده شد، اسپورودوکیوم ها همیشه در سطح بالایی برگ ها تشکیل می شوند

Archive of SID

www.SID.ir

که صفت مذکور می تواند در افزایش پخش کنیدیوم ها توسط باران به قسمت های پایین‌تر اندام های گیاهی (شاخه ها، برگ ها، جوانه ها و میوه ها) حایز اهمیت باشد.

چنانکه قبلا ذکر شد، کنیدیوم ها از جوانه های سالم درختان زردآلو، بادام، هلو و گیلاس طی سه تاریخ نمونه برداری (۱۰ دی، ۲۰ بهمن و ۲۵ اسفند سال ۱۳۸۶) جمع آوری شدند و درصد جوانه زنی آن ها بین ۱۰۰–۶۲ درصد ثبت گردید که حاکی از قدرت جوانه زنی بالای کنیدیوم ها تحت شرایط دمای پایین می باشد. این مشاهدات نشان می دهد که کنیدیوم ها در طی فصول خواب در جوانه های سالم درختان بقا یافته و بدین طریق به زمستان‌گذرانی جمعیت قارچ روی گونه های مختلف هسته‌دار کمک می نمایند. افزایش تعداد کنیدیوم ها در جوانه ها می تواند براساس شرایط آب و هوایی و شرایط بیماری موجود در باغ ها قابل توجیه باشد. مطالعات *هایبرگ* و *اُگاوا* (۱۹۸۶) نشان می دهد که میزان کل بارندگی در طول نمونه برداری چهار برابر افزایش داشت. به طوری که، طی دوره های نمونه برداری، در مواردی که بارندگی کم بوده تعداد کنیدیوم ها نیز کم بودند، در حالی که بعد از بارندگی تعداد کنیدیوم ها حدود ۱۵-۱۰ برابر افزایش نشان دادند. همچنین تعداد کنیدیوم های جمع آوری شده از درختان بادام با آلودگی شدید (۱۰۰ درصد آلودگی) نسبت به درختانی با آلودگی پایین (کمتر از ۱۱ درصد) تفاوت قابل ملاحظه ای نشان دادند که حالت اخیر می تواند به علت بالاتر بودن سطوح شدت بیماری اولیه در درختان با آلودگی شدید باشد. در این تحقیق هم تعداد کنیدیوم های جمع آوری شده از درختان هلو و گیلاس با آلودگی پایین به مراتب کمتر از درختان بادام و زردآلو با آلودگی شدید بود. در تعدادی از منابع به نقش ریسه ها در بقای قارچ در جوانه ها و سرشاخه های آلوده در زردآلو، بادام و هلو اشاره شده است (Ashkan & Asadi 1971, Highberg & Ogawa 1986). اگرچه کلامیدوسپور ها در تمامی جدایه های مورد بررسی در این مطالعه در محیط های کشت به وفور تشکیل شدند و قادر به جوانه زنی در محیط های کشت می باشند، با این حال هیچ گونه شواهدی از نقش آن ها در بقای قارچ در جوانه ها و سرشاخه ها به دست نیامد و تشکیل و نقش کلامیدوسپور ها در بقایای بیولوژی قارچ نیازمند مطالعه بیشتر است.

به نظر می رسد که درک صحیح از نحوه نفوذ، آلودگی، گسترش بیماری و نحوه بقای عامل بیماری لکه غربالی درختان میوه هسته‌دار می تواند در اتخاذ تصمیمات مناسب جهت کاهش بیماری و کنترل آن مفید واقع شود.

Archive of SID

www.SID.ir

**سپاسگزاری**

نگارندگان از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه تهران به خاطر فراهم کردن اعتبارات مالی این تحقیق کمال تشکر را دارند. همچنین از زحمات خانم دکتر مینا راستگو به خاطر کمک در جمع آوری نمونه های گیاهی و از همکاری های صمیمانه آقایان مهندس کیوان غضنفری، مهندس کامیار حسن‌زاده و هوشنگ قلیزاده قدردانی به عمل می‌آید.

**منابع**

جهت ملاحظه منابع به متن انگلیسی مراجعه شود.

**نشانی نگارندگان:** عبداله احمدپور، دکتر محمد جوان نیکخواه و دکتر محمد رضا فتاحی مقدم، گروه های گیاه پزشکی و علوم باغبانی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران و دکتر یوبرت قوستا، گروه گیاه پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه.

Archive of SID

www.SID.ir