

## مطالعه زادآوری جنسی و برخی ویژگی‌های مورفولوژیکی و بیماریزایی جدایه‌های ایرانی *Ophiognomonina leptostyla*\*

Study on sexual reproduction and some morphological and pathological traits of  
*Ophiognomonina leptostyla* in Iran

سلیمان جمشیدی\*\*، حمیدرضا زمانی‌زاده، رسول زارع و سعید رضائی  
دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران و موسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی ایران

پذیرش: ۱۳۸۸/۷/۲۹

دریافت: ۱۳۸۸/۶/۳۰

### چکیده

بیماری آنتراکنوز گردو ناشی از *Ophiognomonina leptostyla* مهمترین و شایع‌ترین بیماری قارچی گردو در اغلب گردوکاری‌های ایران می‌باشد. به منظور مطالعه نحوه زادآوری جنسی در این قارچ، تعداد ۷۵ جدایه از مناطق مختلف کشور از گردوی ایرانی جمع‌آوری و پریتسیوم‌ها در ۱۱ منطقه از برگ و در هشت جدایه از محیط کشت آرد یولاف-آگار به دست آمدند. این جدایه‌ها به همراه پنج جدایه فاقد پریتسیوم، به صورت تک آسکوسپور یا تک ماکروکنیدیوم خالص شدند. پروتوپریتسیوم‌ها به راحتی از نمونه‌های برگ با قدمت بیش از یک سال به دست آمدند. تعداد گردن آسکوکارپ در برگ یک و در محیط کشت تا چهار عدد متغیر بود. در این مطالعه ۹/۳٪ جدایه‌ها هموتال بودند. همچنین از کشت متقابل هفت جدایه دارای

**واژه‌های کلیدی:** آنتراکنوز گردو، هموتالیسم، *Gnomonia leptostyla*، *Marssoniella juglandis*

\* بخشی از رساله دکتری نگارنده اول به راهنمایی دکتر حمیدرضا زمانی‌زاده و دکتر رسول زارع ارائه شده  
به دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران  
\*\* مسئول مکاتبه (E-mail: s.jamshidi@m-iau.ac.ir)

پریتسیوم غیرهموتال همراه با پنج جدایه نابارور جنسی هیچ نوع پریتسیوم بالغی حاصل نشد. در جدایه‌های هموتال قطر پریتسیوم و طول گردن به طور معنی‌داری بیش از جدایه‌های غیرهموتال بود. جدایه‌های هموتال و غیرهموتال، اختلاف معنی‌داری از لحاظ طول آسک و آسکوسپور، سرعت رشد پرگنه، زمان تشکیل آسروول در محیط و شاخص بیماری‌زایی نداشتند.

#### مقدمه

بیماری آنتراکنوز یا لکه سیاه گردو از مهمترین بیماری‌های گردو در نواحی مختلف جهان از جمله آمریکای شمالی و جنوبی، نواحی گسترده‌ای از اروپا و نیز قسمت‌های وسیعی از آسیا می‌باشد (Belisario 2002). این بیماری برای اولین بار در ایران توسط خبیری در سال ۱۳۳۱ گزارش شد (Behdad 1998) و در حال حاضر در اغلب نواحی شمال، غرب، شمال‌غرب، برخی نواحی مرکزی و شمال‌شرق کشور انتشار داشته و بویژه در فصول پرباران و خنک، همه‌گیر شده و زیان‌های عمده‌ای را به گردوکاران تحمیل می‌کند (Salahi et al. 2007, Irani et al. 2007). نام فرم جنسی قارچ عامل بیماری اخیراً توسط سوگونوف و همکاران (Sogonov et al. 2008) به *Ophiognomonia leptostyla* (Fr.) Sogonov تغییر داده شده و نام آنامورف آن *Marssoniella juglandis* (Lib.) Höhn. می‌باشد (Roquebert & Fayret 1982). پیش از این نام تلومورف این قارچ *Gnomonia leptostyla* (Fr.) Ces. & De Not. (1863) و نام آنامورف آن *Marssonina juglandis* (Lib.) Magnus (1906) بود (Belisario 2002).

بررسی‌ها نشان می‌دهد که نور سبب افزایش رشد رویشی در قارچ *O. leptostyla* شده و تولید کنیدیوم و آسروول را نیز افزایش می‌دهد (Fayret 1977). این قارچ در دمای ۲۲ درجه سلسیوس و اسیدیتته ۵/۴ بهترین رشد را داشته و همچنین مناسب‌ترین دما برای هاگزایی غیرجنسی آن ۲۶ درجه سلسیوس و اسیدیتته ۶/۸ در محیط کشت آرد یولاف- آگار است (Matteoni & Neely 1979).

رفتار جنسی از سازوکارهایی است که از طریق آن تنوع ژنتیکی و بقای یک گونه تضمین می‌شود. اساساً، هموتالیسم و هتروتالیسم دو روش عمده باروری جنسی در قارچ‌ها به شمار می‌روند (Souza et al. 2003). قارچ‌های هموتال، قارچ‌های خودباروری می‌باشند که در آن‌ها، ژن‌های دو تیپ آمیزشی (A و a) در یک ریسسه قرار دارند. در مقابل، در قارچ‌های هتروتال هر ریسسه منفرد، به تنهایی نابارور است و ژن‌های مذکور در ریسسه‌های جداگانه‌ای قرار دارند (Mehrotra & Aneja 1990). بسیاری از گونه‌های رده آسکومیست هموتال می‌باشند ولی گونه‌های هتروتال نیز وجود دارد (El-Choll et al. 1986). تشکیل پریتسیوم در صورتی که

بخش رویشی قارچ *O. leptostyla* در زمان رشد فعال در معرض نور باشد، بازداشته می‌شود (Fayret 1974, 1977). همچنین پریتسیوم‌ها در دمای ۲۰ درجه سلسیوس نابالغ باقی مانده و طی شدن یک دوره نسبتاً طولانی سرما برای تکامل و بلوغ آن‌ها ضروری است (Fayret et al. 1976). بلوغ پریتسیوم در دمای ۱۰ درجه سلسیوس صورت می‌گیرد (Fayret 1977, Matteoni & Neely 1979). طبق گزارش فایرت (Fayret 1967) در فرانسه این قارچ هتروتال دوقطبی است. متیونی و نیلی (Matteoni & Neely 1979) نیز هتروتالیسم در این گونه را گزارش و مشاهده کردند که پریتسیوم‌های بالغ در جدایه‌های هتروتال بعد از تلاقی دو تیپ آمیزشی و سه ماه نگهداری آن‌ها در شرایط تاریکی و دمای ۱۰ درجه سلسیوس قابل حصول می‌باشد. از سوی دیگر، هیچ نوع پریتسیوم بالغی در کشت خالص جدایه‌های شمال آمریکا به دست نیامد، لذا این قارچ به عنوان هتروتال مطرح بود، تا این که بلیساریو (Belisario 2002) آن را دارای شکل‌های هموتال و هتروتال اعلام نمود. بلیساریو و همکاران (Belisario et al. 2008) با بررسی جدایه‌هایی از کشور ایتالیا گزارش کردند که پریتسیوم‌های اولیه در دمای ۲۰ درجه سلسیوس تولید می‌شود. همچنین ایشان هموتالیسم در این قارچ را با به دست آوردن پریتسیوم بالغ در کشت‌های خالص گزارش نمودند. نگهداری برخی جدایه‌های به دست آمده از گردوکاری‌های استان آذربایجان شرقی به مدت چهار ماه در شرایط چهار درجه سلسیوس سبب تولید و بلوغ پریتسیوم در محیط کشت آرد یولاف-آگار گردید (Salahi 2006). همچنین پریتسیوم‌های قارچ از برگ‌های ریخته شده در پای درختان در نواحی مختلف کشور از جمله مشهد (Jafarpour 2001)، زنجان (Saremi & Razzaz-Hashemi 2002)، آذربایجان شرقی (Salahi 2007) و همدان (Babalhavaeji & Minasian 2007) مشاهده و گزارش شده است.

از آنجا که نحوه تولید مثل جنسی و توانایی و سهولت انجام آن از سوی قارچ‌ها با تنوع ژنتیکی و در نتیجه میزان انعطاف‌شان در برابر شرایط نامساعد محیطی و قدرت سازگاری آن‌ها با ژنوتیپ‌های مختلف میزبان در ارتباط است، لذا این مطالعه با هدف بررسی پدیده هموتالیسم و هتروتالیسم در بین جدایه‌های قارچ *O. leptostyla* جمع‌آوری شده از نقاط مختلف کشور و یافتن ارتباط آن با برخی ویژگی‌های مورفولوژیکی و بیماری‌زایی طراحی و اجرا شد.

## روش بررسی

جمع‌آوری نمونه، جداسازی و شناسایی قارچ

طی بهار و تابستان سال‌های ۸۷-۱۳۸۵، تعداد ۱۳۰ نمونه برگی از گردوی ایرانی (*Juglans regia* L.) مشکوک به ابتلا به بیماری آنتراکنوز گردو از استان‌های مختلف شمال،

شمال غرب، غرب و نیز برخی استان‌های مرکزی و جنوب شرق کشور جمع‌آوری شد. از هر نمونه پنج دیسک برگی به قطر شش میلی‌متر تهیه و با اتانول ۷۵٪ (۳۰ ثانیه) و هیپوکلریت سدیم ۱٪ (۶۰ ثانیه) ضدعفونی سطحی گردید. دیسک‌های برگی به محیط کشت آرد یولاف-آگار ۳۸٪ (OA: Oatmeal Agar, Sigma-Aldrich, USA) انتقال یافته و به مدت دو هفته در دمای ۲۱ درجه سلسیوس و دوره نوری متناوب قرار داده شدند (Lappalainen & Yeli-Matilla 1999). شناسایی جدایه‌های واجد پریتسیوم با استفاده از کلید ارایه شده توسط سوگونوف و همکاران (Sogonov et al. 2008) انجام شد. در مورد سایر جدایه‌هایی که پریتسیوم آن‌ها در دسترس نبود شناسایی با استفاده از مقایسه آنامورف صورت گرفت (Roquebert & Fayret 1982) و در کل ۷۵ جدایه از قارچ *O. leptostyla* شناسایی گردید.

#### خالص‌سازی و نگهداری جدایه‌ها

جهت خالص‌سازی جدایه‌ها، قطعات کوچک برگی حاوی آسروول به اندازه تقریبی ۵ × ۵ میلی‌متر روی لام سترون و با استفاده از اسکالپل سترون له شده و به یک میلی‌لیتر آب مقطر سترون در لوله‌های اپندورف ۱/۵ میلی‌لیتری انتقال داده شد. لوله‌ها ۲۰ ثانیه ورتکس شده و ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون کینیدیوم روی آب-آگار ۲٪ (Agar-Agar, Merck, Germany) پخش و در دمای معمول آزمایشگاه به مدت ۴۸ ساعت نگهداری شدند. تک‌کنیدی‌های جوانه زده در زیر میکروسکوپ نوری انتخاب و به محیط کشت جداگانه‌ای از آرد یولاف-آگار منتقل و در دمای ۲۱ درجه سلسیوس و دوره متناوب نوری نگهداری شدند.

برای نگهداری طولانی مدت جدایه‌ها روی محیط OA کاغذ صافی سترون مربعی شکل به ابعاد ۴ × ۴ سانتی‌متر قرار داده شده و یک دیسک میسلیمیوم به ابعاد هفت میلی‌متر از محیط کشت خالص هر یک از جدایه‌ها روی آن قرار داده شد. پس از نگهداری جدایه‌ها به مدت ۱۵ روز در دمای ۲۱ درجه سلسیوس، کاغذ صافی که میسلیموم قارچ در آن نفوذ کرده بود، از محیط‌های کشت برداشته شده و بین دو کاغذ صافی سترون دیگر با ابعاد ۶ × ۶ سانتی‌متر قرار داده شد. این مجموعه به پاکت‌های سترون منتقل و سپس جهت خشک شدن میسلیموم قارچ به مدت ۴۸ ساعت در شرایط آزمایشگاه نگهداری شد. کاغذ صافی آغشته به قارچ با قیچی سترون به قطعات کوچک با ابعاد ۰/۵ × ۰/۵ بریده شده و در داخل میکروتیوب ۱/۵ میلی‌لیتری قرار داده شده و در شرایط دمایی ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شد. همچنین از هر جدایه دو دیسک هفت میلی‌متری به محیط کشت مورب سیب زمینی-

دکستروز- آگار (PDA: Potato Dextrose Agar, Merck, Germany) منتقل و در دمای چهار درجه سلسیوس و شرایط تاریکی نگهداری شد.

#### مطالعه هموتالیسم

هشت جدایه که در محیط کشت پریتسیوم بالغ تولید نمودند، انتخاب و همراه با شش جدایه دیگر که پریتسیوم آن‌ها از برگ به دست آمد و نیز پنج جدایه نابارور که هیچ نوع پریتسیومی در طبیعت و محیط کشت تولید نکردند، در این آزمایش گنجانده شدند (جدول ۱). پریتسیوم‌های بالغ با استفاده از سوزن مخصوص اتاله حشرات زیر استریومیکروسکوپ از بافت گیاه یا از محیط کشت جدا و با له کردن پریتسیوم‌ها، محتوای آن‌ها آزاد شده و آسکوسپورها با استفاده از لوله موین شیشه‌ای نوک تیز به آب مقطر سترون منتقل شدند. همچنین در پنج جدایه فاقد پریتسیوم نیز ماکروکنیدیوم‌های دویاخته‌ای به روش مذکور در بخش خالص‌سازی جدایه‌ها از آسروول به دست آمدند. آسکوکارپ‌ها و آسروول‌های خرد شده به ۵۰ میکرولیتر آب مقطر سترون در میکروتیوب ۰/۵ میلی‌لیتری انتقال داده شده و به مدت ۱۰ ثانیه ورتکس شد. سپس با استفاده از لام هموسایتومتر غلظت سوسپانسیون ماکروکنیدیوم‌ها و آسکوسپورها به مقدار  $10^4$  هاگ در هر میلی‌لیتر تنظیم گردید. تعداد ۲۰ دایره کوچک با قطر تقریبی سه میلی‌متر با استفاده از ماژیک نوک تیز در پشت تشتک پتری پلاستیکی نه میلی‌متری ترسیم و سپس یک میکرولیتر از سوسپانسیون اسپوری در وسط دایره‌های ترسیم شده روی لایه نازکی از آب- آگار ۲٪ قرار داده شد. پس از ۲۴ ساعت، دایره‌ها زیر میکروسکوپ نوری بررسی گردید و تک‌اسپور رشد یافته در آن‌ها برداشته و سپس به محیط آرد یولاف- آگار ۳۸٪ منتقل شد. پس از گذشت پنج روز از رشد تک اسپورها، از هر جدایه چهار نوک ریشه مجدداً به محیط کشت دیگری از آرد یولاف- آگار ۳۸٪ منتقل شد. جدایه‌ها پس از دو هفته نگهداری در دمای ۲۱ درجه سلسیوس، دوره متناوب نوری و رطوبت نسبی ۷۰٪، به شرایط دمایی ۱۰ درجه سلسیوس، تاریکی مطلق و رطوبت نسبی ۵۰٪ انتقال یافته و به مدت سه ماه نگهداری شدند. شرایط تاریکی با پیچیدن پوشش آلومینیومی دور تشتک‌های پتری حاصل شد.

#### مطالعه هتروتالیسم

جهت بررسی پدیده هتروتالیسم از روش کشت متقابل استفاده شد. در این آزمایش هفت جدایه شامل Ahr, Krp, Mdd, Mdo, Znk و Tof که سه ماه نگهداری کشت خالص آسکوسپور آن‌ها در دمای ۱۰ درجه سلسیوس به تولید پریتسیوم بالغ منجر نشد، به همراه پنج جدایه از منطقه میانه شامل Mi5, Mib, Mie, Mik و Mit که در همان شرایط، نگهداری کشت خالص حاصل از تک‌ماکروکنیدیوم آن‌ها به تولید پریتسیوم بالغ منجر نشد و همچنین در

جدول ۱- جدایه‌های *Ophiognomonina leptostyla* مورد استفاده در این مطالعهTable 1. *Ophiognomonina leptostyla* isolates used in this study

Isolate No.	Sampling Site	Geographic Location	Altitude	Climate*	Perithecium Substrate**
Ahr	Ahar	E 38.28°N°48.03	1341	2	1
Arf	Ardebil	E 38.15°N°48.17	1530	3	1, 2
Hmd	Hamedan	E 34.11°N°48.21	2150	1	2
Khm	Khoy	E 38.32°N°44.57	1136	1	1
Krp	Pavch	E 34.02°N°46.21	2210	2	1
Mdd	Dizaj Olia	E 37.13°N°45.37	1442	3	1
Mdo	Marand	E 37.24°N°45.41	1353	3	1
Mi5	Miyaneh	E 37.26°N°47.37	1019	1	-
Mia	Aghkand	E 37.14°N°48.04	1747	1	1, 2
Mib	Balesin	E 37.38°N°47.35	1237	1	-
Mie	Ishlagh	E 37.37°N°47.29	1230	1	-
Mij	Balujeh	E 37.46°N°47.36	1503	1	1, 2
Mik	Tark	E 37.41°N°47.37	1276	1	-
Mir	Taleghan	E 36.09°N°50.31	1753	4	2
Mit	Tushmanlu	E 37.47°N°47.33	1315	1	-
Mrs	Marivan	E 35.41°N°46.16	1563	3	2
Shs	Shahrasar	E 36.14°N°50.39	2230	4	1, 2
Tof	Touyserkan	E 37.47°N°48.40	1873	1	1, 2
Znk	Zanjan	E 36.41°N°48.27	1706	2	1

\* According to Embreger's Climatogram (SABETI 2009), 1 = cold semiarid, 2 = cold semihumid, 3 = arid cold, 4 = moderate humid

\*\* 1 = leaf, 2 = culture medium.

طبیعت نیز پریتسیوم بالغی تولید نکردند گنجانده شد. مختصات جغرافیایی جدایه‌های مورد مطالعه در جدول ۱ ارایه شده است. این دو گروه از جدایه‌ها به طور جداگانه در دو گروه هفت و پنج‌تایی بررسی شدند. از کشت خالص جدایه‌ها، دیسک‌های میسلیومی از ناحیه فعال رشدی قارچ برداشته شده و به مرکز تشتک پتری ۹ میلی‌متری حاوی محیط کشت آرد یولاف- آگار ۳۸٪ منتقل و دیسک‌های مشابهی از جدایه‌های دیگر به فاصله سه سانتی‌متر از دیسک مرکزی در اطراف آن قرار داده شد. پس از هفت روز نگهداری در دمای ۲۱ درجه سلسیوس و شرایط تاریکی، تشتک‌های پتری به دمای ۱۰ درجه سلسیوس منتقل و پس از سه ماه نگهداری جهت

بررسی تشکیل پریتسیوم بالغ با شکافتن آسکوکارپ و مشاهده محتویات آن با میکروسکوپ نوری مورد بازبینی قرار گرفتند.

#### مطالعه سایر ویژگی‌های مورفولوژیکی

قطر بزرگ و طول گردن ۳۰ پروتوپریتسیوم و پریتسیوم بالغ، تعداد گردن و نیز طول ۳۰ آسک و ۳۰ آسکوسپور روی برگ و محیط کشت آرد یولاف-آگار اندازه‌گیری شده و وجود یا عدم وجود میکروکنیدیوم نیز در آن‌ها ثبت گردید. همچنین، میانگین قطر کوچک و بزرگ پرگنه روی محیط کشت آرد یولاف-آگار پس از ۲۰ روز نگهداری در دمای ۲۱ درجه سلسیوس و دوره نوری متناوب در چهار تکرار اندازه‌گیری و نخستین روز تشکیل آسروول در این محیط ثبت شد.

#### تهیه برش‌های میکروتومی

برگ‌های دارای آسکوکارپ و آسروول، با استات سدیم ۷٪ آب‌دهی، با سدیم-کاکودیلات ۲٪ و گلوئتارآلدهید ۴٪ (Na-cacodylate 2% + Glutaraldehyde 4%) تثبیت و با سری الکل اتیلیک و الکل بوتیلیک آگیری شده و در بستر پارافینی قرار داده شدند. برش‌هایی به ضخامت شش میکرومتر با استفاده از میکروتوم دستی انجام و پارافین‌زدایی با گزیلول و آبدی مجدد با سری الکل اتیلیک و رنگ‌آمیزی با لاکتوفنل بلو و فوشین ۱٪ در الکل صورت گرفت.

#### آزمون بیماریزایی جدایه‌ها

نهال‌های گردوی یک‌ساله رقم محلی نجفیه تویسرکان به شرایط گلخانه با دمای  $22 \pm 2$  درجه سلسیوس منتقل و با سوسپانسیون هاگی به غلظت  $2 \times 10^5$  ماکروکنیدیوم در میلی‌لیتر از هر کدام از ۱۹ جدایه مورد مطالعه به طور جداگانه و با سه تکرار مایه‌زنی شدند. سه نهال گردو با آب سترون مایه‌زنی شده و به عنوان شاهد در نظر گرفته شدند. نهال‌ها با کیسه‌های پلاستیکی شفاف پوشانده شده و پس از ۴۸ ساعت قرار گرفتن زیر این پوشش، در شرایط معمول گلخانه نگهداری شدند. برای مایه‌زنی نهال‌ها از دو مرکب برگ بالایی استفاده شده و دو هفته بعد از مایه‌زنی اولین علائم ماکروسکوپی مشاهده و یک ماه بعد شاخص بیماری به صورت نسبت تعداد لکه‌های ایجاد شده به تعداد برگچه‌های مایه‌زنی شده (Belisario et al. 2008)

محاسبه گردید. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵٪ انجام شد. برای انجام محاسبات از نرم افزار آماری SPSS 16 استفاده گردید.

### نتیجه

بیماری آنتراکنوز گردو به جز در نواحی مرکزی و جنوب شرق ایران، در اغلب نقاط کشور بویژه ناحیه شمال، غرب و شمال غرب مشاهده شد. پریتسیوم‌ها از جدایه‌هایی به دست آمدند که ارتفاع محل جمع‌آوری آن‌ها از سطح دریا بالاتر از ۱۰۰۰ متر بود. با این حال، همه جدایه‌های جمع‌آوری شده از مناطق مرتفع نیز لزوماً پریتسیوم تولید نکردند. پریتسیوم‌ها تنها از جدایه‌های مربوط به چهار اقلیم از اقلیم‌های ۱۴ گانه کلیماتوگرام آمبرژه (Embregger's Climatogram, see Sabeti 2009) به دست آمدند. در حدود ۸۵٪ جدایه‌های تولید کننده پریتسیوم از اقلیم‌های سرد بودند، لذا به نظر می‌رسد که سرما نقش عمده‌ای در بلوغ جنسی قارچ در طبیعت عهده‌دار باشد. با این حال، ارتباطی بین هموتال بودن جدایه‌ها با طول و عرض جغرافیایی، ارتفاع از سطح دریا، نوع اقلیم و نیز سن نمونه‌ها مشاهده نشد. خشک یا مرطوب بودن اقلیم نیز در وجود پریتسیوم و هموتالیسم تاثیری نداشت (جدول ۱).

جدایه‌ها روی محیط کشت پرگنه‌هایی تولید نمودند که الگوی دواير متحدالمرکز داشتند (شکل ۱-k). تمامی جدایه‌های مورد مطالعه حداقل پس از هفت و حداکثر ۲۰ روز آسروول‌هایی را ایجاد نمودند که داخل آن‌ها در همه جدایه‌ها، ماکروکنیدیوم (شکل ۱-d) و در برخی از جدایه‌ها میکروکنیدیوم (شکل ۱-h) مشاهده شد (جدول‌های ۲ و ۳). اغلب جدایه‌ها نیز در محیط کشت، کم و بیش پیکنیدیوم‌های بسته‌ای ایجاد نمودند که میانگین قطر آن‌ها ۱۲۲ میکرومتر بود (شکل ۱-z). تعداد ۶۳ جدایه از مجموع ۷۵ جدایه مورد مطالعه، پروتوپریتسیوم‌هایی تولید نمودند که هنوز بلوغ در آن‌ها اتفاق نیفتاده بود و داخل آن‌ها تنها یک توده پروتوپلاسمی قابل مشاهده بود (شکل ۱-z). پروتوپریتسیوم‌ها در شرایط تاریکی به سرعت و طی یک هفته در نمونه‌های برگ‌گی که از نگهداری آن‌ها بیش از یک سال گذشته بود، تشکیل شدند (شکل ۲-a). این امر به طور یکسان در نمونه‌های برگ‌گی دیده شد که در دمای چهار درجه سلسیوس و یا در دمای معمول آزمایشگاه به صورت خشک شده نگهداری شده بودند. در حالی که نمونه‌های تازه جمع‌آوری شده فرم غیرجنسی را با سرعت بیشتری تولید نمودند و غالباً پروتوپریتسیوم در آن‌ها حتی در طولانی مدت تولید نشد.



جدول ۲- مشخصات مورفولوژیکی پریتسیوم جدایه‌های *Ophiognomonia leptostyla* روی برگ

Table 2. Morphological characteristics of *Ophiognomonia leptostyla* isolates on leaf

Isolate No.	Perithecium Diameter	Beak Length	No. of Beaks	Ascus Length	Ascospore Length	Microconidium	Homothallism
Ahr	33 <sup>abc</sup> ± 336	23 <sup>bc</sup> ± 389	1	1.5 <sup>abc</sup> ± 48.8	1.2 <sup>a</sup> ± 20.4	+	-
Arf	21 <sup>ab</sup> ± 344	19 <sup>ab</sup> ± 403	1	2.2 <sup>abc</sup> ± 47.7	0.9 <sup>a</sup> ± 18.8	+	+
Khm	27 <sup>ab</sup> ± 345	10 <sup>ab</sup> ± 410	1	1.8 <sup>abc</sup> ± 50.1	1.9 <sup>a</sup> ± 21	+	+
Krp	21 <sup>c</sup> ± 308	12 <sup>dc</sup> ± 372	1	1.7 <sup>abc</sup> ± 50	0.9 <sup>a</sup> ± 19.7	+	-
Mdd	22 <sup>bc</sup> ± 321	13 <sup>bc</sup> ± 389	1	2.6 <sup>ab</sup> ± 51.6	1.4 <sup>a</sup> ± 19.9	+	-
Mdo	25 <sup>bc</sup> ± 327	25 <sup>bc</sup> ± 398	1	3 <sup>bc</sup> ± 48.4	0.9 <sup>a</sup> ± 18.8	+	-
Mia	22 <sup>bc</sup> ± 323	27 <sup>c</sup> ± 346	1	3 <sup>c</sup> ± 47.6	1.1 <sup>a</sup> ± 20.5	+	+
Mij	14 <sup>a</sup> ± 362	20 <sup>a</sup> ± 420	1	3.9 <sup>a</sup> ± 52.2	1.6 <sup>a</sup> ± 20.7	+	+
Shs	29 <sup>abc</sup> ± 336	22 <sup>ab</sup> ± 409	1	2.9 <sup>bc</sup> ± 48.6	1 <sup>a</sup> ± 20.2	+	+
Znk	17 <sup>bc</sup> ± 329	19 <sup>ed</sup> ± 353	1	1.6 <sup>ab</sup> ± 51.8	1.4 <sup>a</sup> ± 20	+	-

\* All measurements are in micrometer as mean ± standard deviation.

Values in the same column followed by similar letters are significantly different at p < 0.05 (Duncan's test).

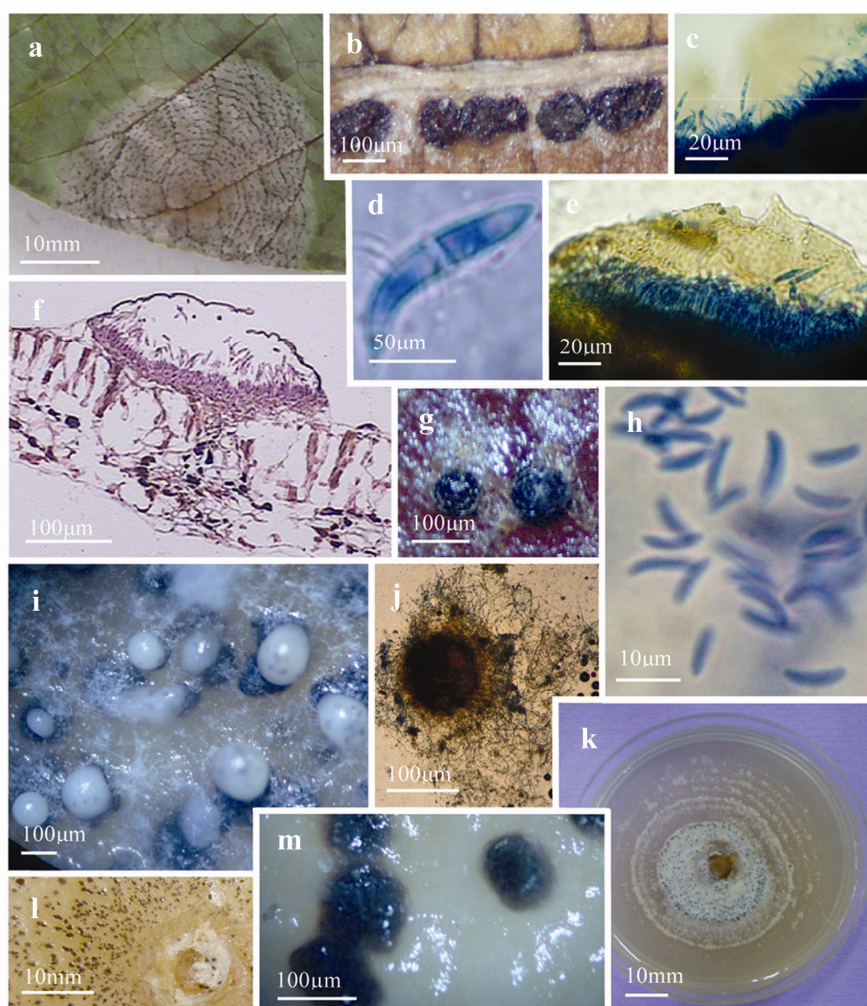
جدول ۳- مشخصات مورفولوژیکی پریتسیوم جدایه‌های *Ophiognomonia leptostyla* روی محیط کشت آرد یولاف- آگار

Table 3. Morphological characteristics of *Ophiognomonia leptostyla* isolates on oatmeal agar (OA)

Isolate No.	Properithecium Diameter	Beak Length of Properithecium	Perithecium Diameter	Beak Length of Perithecium	No. of Beaks	Ascus Length	Ascospore Length	Microconidium
Ahr	27 <sup>abc</sup> ± 352	11 <sup>a</sup> ± 195	28 <sup>abc</sup> ± 379	12 <sup>bc</sup> ± 216	2.5 <sup>b</sup>	1.1 <sup>a</sup> ± 49.3	1.1 <sup>a</sup> ± 20.7	+
Hmd	19 <sup>ab</sup> ± 362	13 <sup>a</sup> ± 196	18 <sup>ab</sup> ± 386	14 <sup>ab</sup> ± 220	2 <sup>bc</sup>	2.2 <sup>a</sup> ± 48.9	1.8 <sup>a</sup> ± 19.7	+
Khm	26 <sup>ab</sup> ± 362	13 <sup>a</sup> ± 203	26 <sup>abc</sup> ± 382	14 <sup>ab</sup> ± 228	1.6 <sup>c</sup>	1.5 <sup>a</sup> ± 50.4	2.4 <sup>a</sup> ± 20.6	+
Mia	16 <sup>bc</sup> ± 333	11 <sup>a</sup> ± 190	17 <sup>c</sup> ± 353	12 <sup>bc</sup> ± 215	3.6 <sup>a</sup>	1.8 <sup>a</sup> ± 50.4	1.4 <sup>a</sup> ± 20.5	+
Mij	36 <sup>c</sup> ± 324	10 <sup>a</sup> ± 198	18 <sup>c</sup> ± 350	9 <sup>ab</sup> ± 225	2 <sup>bc</sup>	1.5 <sup>a</sup> ± 51.9	1.3 <sup>a</sup> ± 19.8	+
Mir	25 <sup>abc</sup> ± 344	11 <sup>a</sup> ± 195	22 <sup>bc</sup> ± 356	8 <sup>ab</sup> ± 218	2.5 <sup>b</sup>	1.3 <sup>a</sup> ± 50.3	2 <sup>a</sup> ± 19.7	+
Mrs	31 <sup>abc</sup> ± 352	11 <sup>a</sup> ± 198	23 <sup>abc</sup> ± 379	18 <sup>ab</sup> ± 224	2 <sup>bc</sup>	3.5 <sup>a</sup> ± 48.3	0.9 <sup>a</sup> ± 21	+
Shs	14 <sup>a</sup> ± 374	10 <sup>a</sup> ± 205	20 <sup>a</sup> ± 405	6 <sup>a</sup> ± 234	3.8 <sup>a</sup>	1.8 <sup>a</sup> ± 51.1	2.1 <sup>a</sup> ± 21.3	+
Tof	17 <sup>abc</sup> ± 343	13 <sup>b</sup> ± 175	43 <sup>a</sup> ± 392	14 <sup>c</sup> ± 202	2.5 <sup>b</sup>	3.2 <sup>a</sup> ± 49.5	1.2 <sup>a</sup> ± 21	+

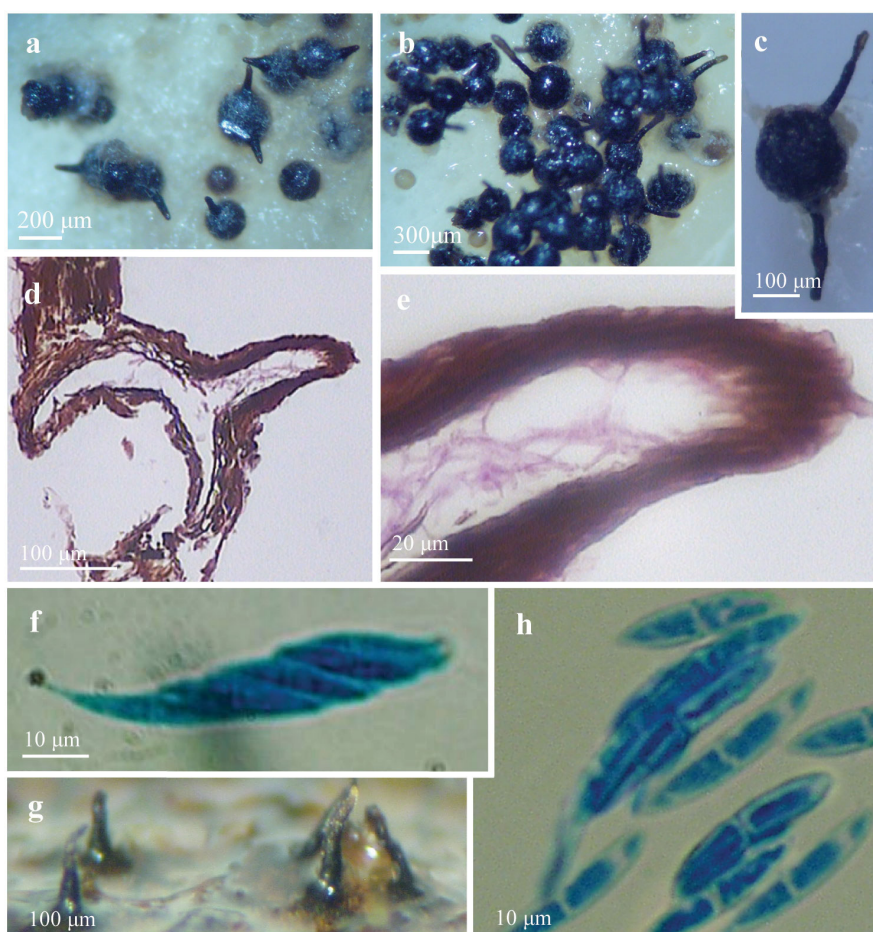
\* All measurements are in micrometer as mean ± standard deviation.

Values in the same column followed by similar letters are significantly different at p < 0.05 (Duncan's test).



شکل ۱- کنیدیوماتای *Ophiognomonium leptostyla* و مشخصات آن روی برگ و در محیط کشت آرد یولاف-آگار. a و b. آسروول روی برگ، c و e. برش معمولی از آسروول روی برگ، d. ماکروکنیدیوم، f. برش میکروتومی آسروول، i. اندام‌های پیکنید مانند در محیط کشت، g و z. توده ماکروکنیدیومی خارج شده از دهانه آسروول، h. میکروکنیدیوم، k، l و m. تشکیل آسروول در محیط کشت.

Fig. 1. Conidiomata of *Ophiognomonium leptostyla* and their characteristics on leaf and oatmeal agar (OA). a, b. Acervuli on leaf, c, e. Cross section of acervulus on leaf, d. Macroconidium, f. Microtomic cross section of acervulus, g, j. Microconidial mass secreted from acervulus slit, i. Pycnidium-like bodies on OA, k, l, m. Acervuli formation on culture medium.



شکل ۲- آسکوماتای *Ophiognomonium leptostyla* و اجزای آن. a. پروتوپریتسیوم‌ها روی محیط کشت، b و c. پریتسیوم‌های بالغ، d. برش میکروتومی پریتسیوم، e. برش میکروتومی گردن پریتسیوم، f. آسک، g. پریتسیوم روی برگ، h. آسکوسپور.

Fig. 2. Ascomata in *Ophiognomonium leptostyla*. a. Protoperithecia on culture media, b, c. Fertile perithecia, d. Cross section of perithecium, e. Cross section of beak, f. Ascus, g. Perithecia on leaf, h. Ascospores.

در حدود ۱۰/۶٪ از جدایه‌ها پس از سه ماه نگهداری در دمای ۱۰ درجه سلسیوس توانستند پریتسیوم‌های بالغ حاوی آسک و آسکوسپور تولید نمایند. با این حال به دلیل خالص نبودن جدایه‌ها در مرحله جداسازی، هموتال بودن همه آن‌ها مسلم نبود. در کشت خالص، ۸۷/۵٪ از این جدایه‌ها، پریتسیوم بالغ تولید نمودند و تنها در کشت خالص جدایه ToF پریتسیوم بالغی مشاهده نشد (جدول ۳). به نظر می‌رسد که جدایه ToF در مرحله جداسازی

قارچ، خالص نبوده و با وقوع هتروتالیسم و یا هموتالیسم ثانوی موفق به تولید پریتسیوم بالغ شده است. پنج جدایه شامل Ahr، Khm، Krp، Mdd، Mdo و Znk با وجود تولید آسکوکارپ در طبیعت، در محیط کشت هیچ نوع پریتسیوم بالغی تولید نکردند. لذا احتمالاً این جدایه‌ها هموتال نیستند. چهار جدایه شامل Arf، Mia، Mib و Shs هم در محیط کشت و هم در طبیعت پریتسیوم تولید نمودند. با توجه به تک آسکوسپور بودن پرگنه‌هایی که در آن‌ها پریتسیوم بالغ تولید شد می‌توان نتیجه گرفت که این نمونه‌ها به طور مشخص هموتال می‌باشند.

اندازه پروتوپریتسیوم‌ها در محیط کشت به طور معنی‌دار بزرگتر از پریتسیوم‌های بالغ روی برگ و کوچکتر از پریتسیوم‌های روی محیط کشت بود. طول گردن در پروتوپریتسیوم‌ها از طول گردن پریتسیوم‌های بالغ به طور معنی‌داری کمتر بود. در حالی که طول گردن در پریتسیوم‌های برگی از طول گردن پریتسیوم‌های بالغ روی محیط کشت به طور معنی‌داری بیشتر بود (جدول ۵). با این حال، پریتسیوم‌های روی محیط کشت مثل پریتسیوم‌های برگی به طور منفرد و پراکنده در محیط تشکیل شدند ولی تعداد گردن آسکوکارپ در محیط کشت یک تا چهار عدد بود، در حالی که تعداد گردن در پریتسیوم‌های روی برگ‌ها همواره یک عدد بود. تعداد گردن در پریتسیوم‌های بالغ در محیط و پروتوپریتسیوم‌های بالغ یکسان بود. اختلاف معنی‌داری بین طول آسک و آسکوسپور روی برگ و محیط کشت وجود نداشت، با این حال از لحاظ عددی اندازه هر دو در پریتسیوم‌های موجود در محیط کشت بیشتر بود (جدول ۵).

جدول ۵- مقایسه مورفولوژیکی اندام‌های جنسی جدایه‌های *Ophiognomonium leptostyla* روی برگ و محیط آرد یولاف- آگار

Table 5. Morphological comparison of sexual bodies of *Ophiognomonium leptostyla* on leaf and oatmeal agar (OA)

Type of Sexual Body	Perithecium Diameter	No. of Beaks	Beak Length	Ascus Length	Ascospore Length
Protoperithecia	353 ± 41 <sup>a</sup>	2.7 <sup>a</sup>	198 ± 11 <sup>a</sup>	-	-
Perithecia on leaf	333 ± 26 <sup>b</sup>	1 <sup>b</sup>	389 ± 30 <sup>b</sup>	49.7 ± 2.8 <sup>a</sup>	20 ± 1.4 <sup>a</sup>
Perithecia on culture	376 ± 30 <sup>a</sup>	2.7 <sup>a</sup>	220 ± 14 <sup>ab</sup>	50 ± 2.3 <sup>a</sup>	20.48 ± 1.6 <sup>a</sup>

\* All measurements are in micrometer as mean ± standard deviation.

Values in the same column followed by similar letters are significantly different at  $p < 0.05$  (Duncan's test).

در آزمایش هتروتالیسم و کشت متقابل هیچ نوع پریتسیوم بالغی ایجاد نشد. لذا دقیقاً نمی‌توان در مورد هتروتالیسم و جفت‌های سازگار قضاوت روشنی نمود. با این حال به احتمال زیاد این جدایه‌ها را نمی‌توان هموتال فرض نمود. قطر پریتسیوم بالغ در جدایه‌های هموتال در برگ به طور معنی‌داری بیشتر از جدایه‌های غیرهموتال بود ولی در محیط کشت این اختلاف معنی‌دار نبود. همچنین اختلاف معنی‌داری بین پروتوپریتسیوم‌ها از لحاظ طول آسک و آسکوسپور در پریتسیوم برگی و روی محیط کشت در جدایه‌های هموتال و غیرهموتال وجود نداشت. در حالی که طول گردن هم در پریتسیوم‌های برگی و هم در محیط کشت در جدایه‌های هموتال به طور معنی‌داری بیشتر از جدایه‌های غیرهموتال بود (جدول‌های ۶ و ۷). با این حال قطر پرگنه، اولین روز تشکیل آسروول در محیط کشت و شاخص بیماری در جدایه‌های هموتال و غیرهموتال معنی‌دار نبود (جدول ۸).

جدول ۶- مقایسه مورفولوژیکی اندام‌های جنسی جدایه‌های هموتال و غیرهموتال  
*Ophiognomonium leptostyla* روی برگ

Table 6. Morphological comparison of sexual bodies of *Ophiognomonium leptostyla* homothallic and non-homothallic isolates on leaf

Sexual Behaviour	Perithecium Diameter	No. of Beaks	Beak Length	Ascus Length	Ascospore Length
Homothallic	342 ± 25 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>	397 ± 33 <sup>a</sup>	49.41 ± 3.2 <sup>b</sup>	20.24 ± 1.49 <sup>a</sup>
Non-homothallic	324 ± 25 <sup>b</sup>	1 <sup>a</sup>	380 ± 24 <sup>b</sup>	50.131 ± 2.5 <sup>a</sup>	19.82 ± 1.25 <sup>a</sup>

\* All measurements are in micrometer as mean ± standard deviation.

Values in the same column followed by similar letters are significantly different at  $p < 0.05$  (Duncan's test).

جدول ۷- مقایسه مورفولوژیکی اندام‌های جنسی جدایه‌های هموتال و غیرهموتال  
*Ophiognomonium leptostyla* در محیط کشت آرد یولاف- آگار

Table 7. Morphological comparison of sexual bodies in homothallic and non-homothallic *Ophiognomonium leptostyla* isolates on oatmeal agar (OA)

Sexual Behaviour	Protoperithecium Diameter	Beak Length	Perithecium Diameter	No. of Beaks	Beak Length	Ascus Length	Ascospore Length
Homothallic	350 ± 28 <sup>a</sup>	198 ± 11 <sup>a</sup>	392 ± 27 <sup>a</sup>	2.75 <sup>a</sup>	233 ± 13 <sup>a</sup>	50.06 ± 2.2 <sup>a</sup>	20.42 ± 1.7 <sup>a</sup>
Non-Homothallic	343 ± 17 <sup>a</sup>	176 ± 13 <sup>a</sup>	392 ± 43 <sup>a</sup>	3 <sup>a</sup>	202 ± 14 <sup>b</sup>	49.5 ± 3 <sup>a</sup>	21 ± 1.2 <sup>a</sup>

\* All measurements are in micrometer as mean ± standard deviation.

Values in the same column followed by similar letters are significantly different at  $p < 0.05$  (Duncan's test).

جدول ۸- مقایسه مورفولوژیکی و بیماریزایی جدایه‌های هموتال و غیرهموتال  
*Ophiognomonium leptostyla*

Table 8. Morphological and pathogenicity comparison of homothallic and non-homothallic isolates of *Ophiognomonium leptostyla*

Sexual Behaviour	Colony Diameter*	The First Day of Acervuli Formation**	Disease Index
Homothallic	1 <sup>a</sup> ± 7.13	2 <sup>a</sup> ± 12.22	0.97 <sup>a</sup> ± 1.77
Non-Homothallic	0.95 <sup>a</sup> ± 6.84	3 <sup>a</sup> ± 12.42	0.85 <sup>a</sup> ± 1.5

\* All measurements are in micrometer as mean ± standard deviation.

Values in the same column followed by similar letters are significantly different at  $p < 0.05$  (Duncan's test).

بین تولید پریتسیوم‌های بالغ و تولید میکروکنیدیوم در محیط کشت همبستگی مثبت و معنی‌داری وجود داشت (جدول‌های ۲ و ۳). به این معنی که جدایه‌هایی که پریتسیوم در آن‌ها مشاهده شد، در آسروول آن‌ها میکروکنیدیوم قابل مشاهده بود. این یافته، چنین نظریه‌ای را تقویت می‌کند که میکروکنیدیوم‌ها در زادآوری جنسی نقش اسپرماتیوم را بازی می‌کنند (Fayret, 1977, Matteoni & Neely 1979)، لذا در بلوغ پریتسیوم‌ها ممکن است به عنوان یکی از اجزای اصلی مطرح باشند. به علاوه، از کشت مکرر میکروکنیدیوم‌ها هیچ نوع پرگنه مشخصی حاصل نشد و در آن‌ها جوانه‌زنی قابل مشاهده نبود. همچنین هیچ نوع ارتباط معنی‌داری بین محل جمع‌آوری نمونه، طول و عرض جغرافیایی و ارتفاع از سطح دریا با هموتالیسم و ویژگی‌های پرگنه دیده نشد.

در آزمون بیماریزایی، شاخص بیماری در همه جدایه‌ها با شاهد مایه‌زنی نشده اختلاف معنی‌داری داشت. وجود بیماری در گیاهان شاهد نشانه وجود مایه آزاد در هوای گلخانه و یا آلودگی اولیه برگ‌ها به مایه تلقیح قارچ در محل تولید و پرورش آن‌ها بود و این امر به دلیل آلودگی شدید درختان گردو در هر دو منطقه میانه و تویسرکان، طبیعی و غیرقابل اجتناب می‌باشد (جدول ۴). بین قطر پرگنه و اولین روز تشکیل آسروول همبستگی معنی‌دار و منفی وجود داشت. به این معنی که در پرگنه‌های سریع‌الرشد، آسروول‌ها زودتر و در زمان کوتاه‌تری تشکیل شدند. همچنین شاخص بیماری در جدایه‌هایی با سرعت رشد بالا نیز به طور معنی‌داری بالاتر بود و همبستگی مثبت و معنی‌داری بین سرعت رشد پرگنه و شاخص بیماری مشاهده گردید.

با این حال، بین سرعت رشد پرگنه و شاخص بیماریزایی و هموتال و غیرهموتال بودن جدایه همبستگی معنی‌داری وجود نداشت. هر چند از لحاظ این دو مشخصه، جدایه‌های هموتال نسبت به جدایه‌های غیرهموتال از برتری عددی برخوردار بودند (جدول ۸).

جدول ۴- قطر پرگنه و شاخص بیماری در جدایه‌های *Ophiognomonina leptostyla*  
 Table 4. Colony diameter and disease index of *Ophiognomonina leptostyla* isolates

Isolate No.	Colony Diameter *	First Day of Acervuli Formation **	Disease Index
Ahr	5.43 ± 0.4 <sup>g</sup>	12.83 ± 0.75 <sup>b</sup>	1.15 ± 0.59 <sup>de</sup>
Arf	6.31 ± 0.53 <sup>def</sup>	13.33 ± 1.21 <sup>b</sup>	2.64 ± 0.5 <sup>ab</sup>
Hmd	7.8 ± 0.55 <sup>a</sup>	10 ± 1.41 <sup>bc</sup>	3.11 ± 0.9 <sup>a</sup>
Khm	6.5 ± 0.26 <sup>defg</sup>	14.5 ± 1.52 <sup>d</sup>	2.4 ± 0.76 <sup>abc</sup>
Krp	5.45 ± 0.37 <sup>g</sup>	17.33 ± 2.16 <sup>a</sup>	1.46 ± 0.66 <sup>bde</sup>
Mdd	7.55 ± 0.26 <sup>ab</sup>	9.17 ± 1.47 <sup>bc</sup>	3.23 ± 0.55 <sup>a</sup>
Mdo	7.33 ± 0.66 <sup>abc</sup>	8.33 ± 1.61 <sup>d</sup>	1.17 ± 0.68 <sup>de</sup>
Mi5	7.82 ± 0.49 <sup>a</sup>	10.17 ± 1.17 <sup>bc</sup>	2.42 ± 0.56 <sup>abc</sup>
Mia	6.05 ± 1.12 <sup>fg</sup>	12.83 ± 0.75 <sup>b</sup>	1.22 ± 0.76 <sup>de</sup>
Mib	6.9 ± 0.54 <sup>bcde</sup>	13.5 ± 1.05 <sup>b</sup>	1.09 ± 0.46 <sup>de</sup>
Mie	6.83 ± 0.65 <sup>bcdef</sup>	13.33 ± 1.03 <sup>b</sup>	0.64 ± 0.7 <sup>e</sup>
Mij	7.58 ± 0.2b <sup>ab</sup>	13.66 ± 1.63 <sup>b</sup>	0.95 ± 0.66 <sup>de</sup>
Mik	6.63 ± 0.5 <sup>defg</sup>	14.16 ± 1.33 <sup>b</sup>	1.61 ± 0.53 <sup>de</sup>
Mir	7.13 ± 1.6 <sup>abcd</sup>	11 ± 1.79 <sup>c</sup>	1.18 ± 0.64 <sup>de</sup>
Mit	7.52 ± 0.45 <sup>ab</sup>	13.83 ± 0.41 <sup>b</sup>	0.96 ± 0.19 <sup>de</sup>
Mrs	7.78 ± 0.42 <sup>a</sup>	10.66 ± 0.82 <sup>bde</sup>	1.51 ± 0.83 <sup>bde</sup>
Shs	7.83 ± 0.37 <sup>a</sup>	11 ± 0.89 <sup>c</sup>	0.83 ± 0.22 <sup>de</sup>
Tof	7.65 ± 0.59 <sup>ab</sup>	9.67 ± 0.82 <sup>bc</sup>	1.17 ± 0.4 <sup>de</sup>
Znk	6.11 ± 0.64 <sup>efg</sup>	14.33 ± 0.82 <sup>b</sup>	1.93 ± 0.25 <sup>cde</sup>
Control	-	-	0.09 ± 0.08 <sup>f</sup>

\* Mean of colony diameter ± standard deviation.

\*\* Mean of four replications of the first day of acervuli formation in colony.

Values in the same column followed by similar letters are significantly different at  $p < 0.05$  (Duncan's test).

## بحث

آسکوکارپ ساختار پریاخته‌ای است که در ابتدای چرخه جنسی قارچ‌های آسکومیست تولید می‌شود. در حالی که آسکوسپورها در طول چرخه میوزی از ریشه‌ها منشأ می‌گیرند (Moore 1998). مراحل اولیه توسعه آسکوکارپ ممکن است به صورت مستقل از وقایع چرخه جنسی اتفاق افتد و این پدیده در پیوند با ریشه‌های آسکزیایی است که وجود و وارد عمل شدن آن‌ها منجر به تشکیل پریتسیوم‌های بالغ خواهد شد (Dyer *et al.* 1992). بنابراین، تولید پریتسیوم‌های اولیه در این مطالعه به منزله هموتالیسم و تولید پریتسیوم نیست، بلکه تبدیل پروتوپریتسیوم‌ها به پریتسیوم بالغ و تولید آسک و آسکوسپورهاست که وقوع پدیده هموتالیسم و یا هتروتالیسم را به اثبات می‌رساند. با این حال، ۸۴٪ از جدایه‌ها توان تولید پریتسیوم‌های اولیه را در محیط کشت دارا بودند. نکته قابل توجه این که، سپری شدن زمان لازم برای فرا رسیدن زمان ورود به فرآیند جنسی در چرخه زندگی قارچ در تولید این پریتسیوم‌های اولیه و نابالغ ضروری است. به این دلیل در نمونه‌های برگ‌گی تازه، این اندام‌ها

با شرایط ذکر شده قابل تولید و مشاهده نبودند. تولید این اندام‌ها ارتباطی با سرما نداشت ولی تاریکی جهت تولید فراوان آن‌ها در محیط کشت از ضروریات بود. تولید آسکوکارپ بالغ با شماری از عوامل متعدد غذایی و محیطی در ارتباط است و عمدتاً در این قارچ، دمای ۱۰ درجه سلسیوس و تاریکی این پدیده را به حد مطلوب خود می‌رساند (Fayret & Parguey-Leduc 1976, Fayret 1977, Matteoni & Neely 1979). لذا نگهداری جدایه‌های خالص در این شرایط در صورت هموتال بودن جدایه‌ها لزوماً به بلوغ پروتوپریتسیوم‌ها خواهد انجامید. نمونه‌های برگ‌ی جمع‌آوری شده از هشت اقلیم از ۱۴ اقلیم کلیماتوگرام آمبرژه به دست آمدند و پیدایش پریتسیوم در چهار اقلیم سرد نشان می‌دهد که طی روند تکاملی احتمالاً سرما نقش اساسی در تمایل قارچ به تشکیل فرم جنسی و باروری آن ایفا نموده است. چنین نقشی در مورد رطوبت قابل تصور نبود. در این مطالعه با توجه به خالص بودن جدایه‌های مورد بررسی می‌توان اذعان نمود که تنها ۱۰٪ از کل جدایه‌ها به طور مشخص هموتال بودند. قبلاً تصور می‌شد که این قارچ صرفاً هتروتال است. فایرت و پارگو-لدوس (Fayret & Parguey-Leduc 1976) اعلام کردند که این قارچ یک هتروتال دوقطبی است. همچنین در سالهای آتی نیز ثابت شد که این قارچ به کلی هتروتال می‌باشد، چرا که در بین جدایه‌های مورد مطالعه از آمریکا از کشت‌های تک اسپور شده هیچ نوع پریتسیوم بالغی مشاهده نشد (Matteoni & Neely 1979). اغلب آسکومیست‌ها هموتال می‌باشند. با این حال، در چندین گونه از آسکومیست‌ها مثل *Glomerella cingulata* (Stonem.) Spauld. et H. Schrenck اشکال هموتال و هتروتال شناخته شده است. برای چنین گونه‌هایی هموتال بودن احتمالاً از نوعی برتری نسبت به هتروتالیسم برخوردار است، چرا که موجودات هموتال می‌توانند به تنهایی و به راحتی تولید مثل جنسی نموده و تحت شرایط نامساعد نیز به سهولت به این عمل مبادرت ورزند (Wheeler 1954). همچنین برخی آسکومیست‌ها مثل *Nectria galligena* کاملاً هموتال گزارش شده‌اند (El-Choll 1986).

جدایه‌هایی که در کشت‌های خالص پریتسیوم بالغی تولید نکردند، احتمالاً هتروتال می‌باشند. اگرچه به دلیل عدم موفقیت در تولید پریتسیوم بالغ در کشت متقابل نمی‌توان به روشنی در این زمینه قضاوت نمود. با توجه به این که برخی از نمونه‌های برگ‌ی تازه جمع‌آوری شده وارد مرحله جنسی نشدند، لذا نمی‌توان در مورد هموتال نبودن آن‌ها دقیقاً اظهار نظر کرد. در صورتی که در مورد نمونه‌هایی که پریتسیوم آن‌ها در طبیعت یافت شده است به طور مشخص مرحله جنسی را تشکیل داده و با توجه به عدم تشکیل پریتسیوم بالغ در محیط کشت می‌توان در مورد هتروتال بودن آن‌ها با اطمینان بیشتری اظهار نظر نمود. با این حال، تلاش برای یافتن جفت سازگار جنسی با انتخاب جدایه‌هایی با فاصله جغرافیایی کمتر نیز کمکی در یافتن پدیده هتروتالیسم نکرد. به نظر می‌رسد تعداد بیشتری از جدایه‌ها



بایستی گنجانده شده و به طور فراگیر در این زمینه مطالعه صورت گیرد. احتمالاً آزمودن جدایه‌های روی یک درخت و یک برگ و یا تلاقی دادن میسلیم‌های حاصل از آسکوسپوره‌های مختلف یک آسک نیز مفید خواهد بود. متیونی و نیلی (Matteoni & Neely 1979) جفت‌های سازگار رویشی را در شمال آمریکا یافته و هیچ نوع تفاوت مورفولوژیکی در آن‌ها را مشاهده نمودند. در نهایت این که، تشکیل سریع پروتوپریتسیوم‌ها در این جدایه‌ها، تمایل زیاد قارچ برای ورود به مرحله جنسی، جدا از موفقیت آن در تولید پریتسیوم بالغ را تداعی می‌کند. احتمالاً علاوه بر عوامل ژنتیکی و محیطی، فاکتورهای شیمیایی قارچی نیز در بلوغ پریتسیوم‌های اولیه نقش دارند. در این زمینه نقش تعیین کننده تنش‌های محیطی در کنترل اندام‌زایی جنسی و ارتباط آن‌ها با بیان ژن‌های مرتبط با جفت‌های سازگار جنسی در جدایه‌های غیرهموتال قابل بررسی خواهد بود.

### منابع

جهت ملاحظه منابع به متن انگلیسی مراجعه شود.

**نشانی نگارندگان:** سلیمان جمشیدی، دکتر حمیدرضا زمانی‌زاده و دکتر سعید رضائی، گروه بیماری‌شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، صندوق پستی ۷۷۵-۱۴۱۵۵ و دکتر رسول زارع، بخش تحقیقات رستنی‌ها، موسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور، صندوق پستی ۱۴۵۴، تهران ۱۹۳۹۵.