شناسایی گونه‌های *Monilinia* همراه با پوسیدگی قهوه‌ای میوه‌های دانه‌دار و هسته‌دار در گیلان*

Identification of *Monilinia* species, associated with province brown rot of pome and stone fruits in Guilan

سید عبداله هاشمی‌باباحیدری، سیداکبر خداپرست ** **و ضیاءالدین بنی‌هاشمی**

گروه گیاهپزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه گیلان و بخش گیاهپزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز

دریافت ۸۶/۵/۱ پذیرش ۸۶/۱۲/۱

چکیده

در سال‌های ۱۳۸۴ و ۱۳۸۵ به منظور شناسایی عوامل پوسیدگی قهوه‌ای میوه در گیلان، از میوه‌های مومیایی‌شده، میوه‌های در حال پوسیدگی، شکوفه‌ها و سرشاخه‌های درختان میوه هسته و دانه‌دار مشکوک به آلودگی نمونه برداری شد. قارچ عامل بیماری روی محیط PDA کشت گردید و مشخصات آنامورف مانند رنگ و اندازه اسپورودوکیوم، رنگ و سرعت رشد پرگنه، نحوه اسپورزایی، لوب‌دار بودن یا نبودن حاشیه پرگنه، اندازه کنیدیوم‌های تشکیل شده روی میوه و محیط کشت، نحوه جوانه‌زنی کنیدیوم‌ها، تعداد لوله تندش و فاصله نخستین انشعاب از کنیدیوم‌ها برای هر جدایه برآورد گردید. بر اساس مقایسه نتایج بدست آمده با مشخصات گونه‌های معرفی شده در منابع معتبر، گونه‌های *Monilinia laxa* و *M. fructigena* از میوه‌های گیلاس، آلو و سرشاخه‌های هلو و گونه *M. fructigena* از میوه‌های به ، گلابی و گلابی محلی، ازگیل ژاپنی و ازگیل شناسایی شد. بر اساس این نتایج، گیلاس به عنوان میزبان جدید *M. laxa* و *M. fructigena* و آلو، گلابی محلی (خوج)، ازگیل ژاپنی و ازگیل به عنوان

* بخشی از پایان‌نامه کارشناسی ارشد نگارنده اول ارائه شده به دانشگاه گیلان

** مسئول مکاتبه

Archive of SID

www.SID.ir

میزبان‌های جدید *M. fructigena* در ایران معرفی می‌گردند. همچنین *M. laxa* گونه جدیدی برای میکوفلور استان گیلان معرفی می‌شود.

واژه‌های کلیدی: *M. fructigena*، *Monilinia laxa*، پوسیدگی قهوه‌ای، میوه‌های هسته‌دار و دانه‌دار

مقدمه

خسارت قابل توجهی به برخی از درختان میوه در مناطق معتدل جهان در اثر سه گونه *Monilinia fructicola* (Winter) Honey، *M. laxa* (Aderhold & Ruhland) Honey و *M. fructigena* (Aderhold & Ruhland) Honey که اغلب به عنوان قارچ‌های عامل پوسیدگی قهوه‌ای میوه شناخته می‌شوند (Byrde & Willetts 1977) وارد می‌شود. خسارت‌های ناشی از بیماری پوسیدگی قهوه‌ای به‌طور عمده مربوط به پوسیدگی میوه در باغ است، ولی هنگام انتقال به بازار هم خسارت‌های جدی به میوه وارد می‌شود. میزان محصول ممکن است در اثر سوختگی گل‌ها در مرحله بلایت شکوفه هم کاهش یابد. در آلودگی‌های شدید و در صورت نبودن اقدامات مبارزه‌ای مناسب، ۵۰ تا ۷۵٪ میوه‌ها ممکن است در باغ پوسیده شوند و بقیه هم قبل از رسیدن به بازار آلوده شوند (Byrde & Willetts 1977). تشخیص گونه‌های *Monilinia* ایجاد کننده پوسیدگی قهوه‌ای در درختان میوه، از هم مشکل است. به ویژه اینکه شکل جنسی برخی از گونه‌ها در طبیعت نادر و تشکیل آنها در شرایط آزمایشگاهی گزارش نشده است. از اینرو این گونه‌ها اغلب براساس مشخصات آنامورف تشخیص داده می‌شوند و برای تمایز دقیق این سه گونه از هم، تنها مشاهده مزرعه‌ای کافی نیست و بررسی‌های آزمایشگاهی ضروری است (van Leeuwen & van Kesteren 1998).

با ترکیب ویژگی‌های مربوط به کشت از قبیل سرعت رشد، الگوی رشد و رنگ پرگنه، با اطلاعات مرفولوژیکی از قبیل اندازه کنیدیوم و طول لوله تندش، شناسایی گونه‌ها امکان پذیر است (van Leeuwen & van Kesteren 1998, De Cal & Melgarejo 1999). بسیاری از این ویژگی‌ها کیفی هستند و با هم همپوشانی دارند. بنابراین شناسایی باید در شرایط استاندارد شده و با استفاده از کشت‌های خالص صورت گیرد (van Leeuwen & van Kesteren 1998). در عین حال به دلیل اینکه خصوصیات ریخت‌شناسی تحت تاثیر شرایط نگهداری و نوع محیط

Archive of SID

www.SID.ir

کشت قرار می‌گیرند، شناسایی دقیق گونه‌های *Monilinia* بسیار مشکل و غیر قابل اطمینان است (Lane 2002). وان لیوون و کسترن (van Leeuwen & van Kesteren 1998) توانستند علاوه بر ویژگی‌های کیفی که در بالا نام برده شد، از ویژگی‌های کمی نیز در تشخیص گونه‌های *M. laxa, M. fructicola* و *M. fructigena* استفاده کنند. ویژگی‌های کمی استفاده شده شامل طول و تعداد لوله تندش، فاصله نخستین انشعاب از کنیدیوم، میزان افزایش قطر پرگنه از روز سوم تا پنجم و شدت اسپورزایی پس از ۱۴ روز بودند. *لان* (Lane 2002) با بررسی ویژگی‌های مربوط به کشت گونه‌های *M. fructigena, M. fructicola* و *M. laxa*، یک کلید کوتاه برای تمایز این سه گونه تهیه کرد. این کلید براساس ویژگی‌های ریخت‌شناسی است و در آن از ویژگی‌های رنگ پرگنه، سرعت رشد، اسپورزایی، وجود یا عدم وجود حلقه‌های هم مرکز ناشی از اسپورزایی، حاشیه پرگنه، روزت بودن یا نبودن و وجود یا عدم وجود قوس‌های سیاه استفاده شده است. از واکنش متقابل کشت‌های انجام شده در محیط آرد یولاف–آگار نیز برای تشخیص گونه *M. laxa* از *M. fructicola* استفاده شده است (Sonoda *et al.* 1982). همچنین در سال‌های اخیر از روش‌های مبتنی بر PCR برای تشخیص گونه‌های این قارچ استفاده شده است (Cote *et al.* 2004).

M. laxa عمومی‌ترین بیمارگر پوسیدگی قهوه‌ای است و در تمام مناطق اصلی تولید میوه‌های دانه‌دار و هسته‌دار یافت می‌شود (Lane 2002). *M. fructigena* به طور عمده از آسیا و اروپا گزارش شده است (Byrde & Willetts 1977) و یک بیمارگر قرنطینه‌ای در آمریکای شمالی به حساب می‌آید (Lane 2002). *M. fructicola* به طور عمده از آمریکای شمالی و جنوبی، آفریقای جنوبی، مصر و ژاپن گزارش شده است (Byrde & Willetts 1977) و یک بیمارگر قرنطینه‌ای برای اروپا و آسیا به حساب می‌آید (Lane 2002).

در ایران گونه *M. fructigena* از گیلان، نوشهر و بابل گزارش شده است (Ershad 1995). تنها گزارش از وجود گونه *M. laxa* در ایران مربوط به گزارش ایرانی و ارومچی از آذربایجان غربی است (Irani and Oroumchi 2004). با وجود اینکه از گزارش گونه *M. fructigena* از گیلان سال‌های زیادی گذشته است، اطلاع قابل توجهی در مورد گونه‌های موجود و میزبان‌های آنها در استان گیلان موجود نبود. بنابراین مطالعه حاضر با هدف شناسایی

Archive of SID

www.SID.ir

گونه‌های *Monilinia* بیماریزا روی درختان میوه دانه‌دار و هسته‌دار و نیز شناسایی میزبان‌های آنها در استان گیلان انجام شد.

روش بررسی

نمونه برداری

طی بازدیدهایی که در سال‌های ۱۳۸۴ و ۱۳۸۵ از شهرستان‌های مختلف استان گیلان در زمان‌های مختلف (قبل از شکوفه‌دهی، شکوفه‌دهی و مرحله رسیدن میوه) به عمل آمد، از گل‌ها و سرشاخه‌های دارای علائم مشکوک، میوه‌های مومیایی شده باقیمانده از سال قبل و میوه‌های دارای علائم پوسیدگی قهوه‌ای در درختان میوه هسته‌دار و دانه‌دار نمونه‌برداری به عمل آمد. نمونه‌ها داخل کیسه‌های پلاستیکی مجزا به آزمایشگاه منتقل شدند.

جداسازی و خالص سازی

برای کشت قارچ‌ها، از محیط غذایی PDA استفاده گردید. برای این منظور کنیدیوم‌ها به طور مستقیم از روی اسپورودوکیوم‌های تشکیل شده روی سطح میوه‌ها و اندام‌های آلوده وسیله سوزن سترون برداشته و روی محیط، کشت گردیدند. همچنین در صورتیکه روی سطح بافت‌های آلوده، اسپورودوکیوم تشکیل نشده بود، از فاصله بین بافت سالم و آلوده قطعاتی بوسیله چاقوی سترون برداشته و پس از گندزدایی سطحی (به مدت ۱ دقیقه در الکل ۷۰٪ و سپس به مدت ۲ دقیقه در هیپوکلریت سدیم ۱٪ (مایع تجاری سفید کننده ۵٪) و سپس سه بار شستشو با آب مقطر سترون)، روی محیط PDA کشت گردیدند و در دمای $20 \pm 1^{o}C$ درون انکوباتور و شرایط تاریکی نگهداری شدند. پس از ۱۰-۷ روز، قارچ‌های رشد کرده با توجه به ویژگی‌های جنس *Monilinia* شامل مرفولوژی پرگنه و مشخصات کنیدیوم‌ها، شناسایی شدند (Harada *et al.* 2004). جدایه‌ها به یکی از روش‌های تک اسپور یا نوک ریسه خالص سازی و پس از کشت درون لوله آزمایش محتوی محیط PSA، در یخچال در دمای حدود $5^{o}C$ نگهداری گردیدند.

شناسایی جدایه‌ها

شناسایی جدایه‌ها با توجه به مشخصات مربوط به پرگنه، کنیدیوم و اسپورودوکیوم و براساس مقایسه آنها با مشخصات ثبت شده گونه‌های *Monilinia* در منابع مختلف (Lane ، van Leeuwen & van Kesteren 1998 van Leeuwen *et al.* 2002،Byrde & Willetts 1977

Archive of SID

www.SID.ir

2002 و Harada *et al.* 2004) صورت گرفت.

ویژگی‌های مربوط به پرگنه شامل سرعت رشد پرگنه روی محیط کشت، رنگ و حاشیه پرگنه، نحوه و میزان اسپورزایی مورد مطالعه قرار گرفت. جدایه‌های قارچ در تشتک‌های پتری محتوی PDA کشت داده شدند و در انکوباتور با دمای $15 \pm 1^{o}C$ و تاریکی به مدت ۷ روز نگهداری شدند. سپس یک قرص ٦ میلی‌متری از حاشیه پرگنه قارچ برداشته و در تشتک پتری روی محیط غذایی PDA تازه قرار داده شد و در دو شرایط تاریکی و دوره تاریکی/روشنایی با تناوب ۱۲ ساعت و دمای $15 \pm 1^{o}C$ و $22 \pm 1^{o}C$ قرار داده شدند. در هرکدام از شرایط نوری، برای هر جدایه ۳ تکرار در نظر گرفته شد. میزان رشد پرگنه پس از ۵ و ۱۳ روز با استفاده از خط‌کش و در دو جهت عمود برهم اندازه‌گیری شد و در نهایت میانگین رشد پرگنه در دو قطر، به عنوان میزان رشد پرگنه ثبت گردید (van Leeuwen & van Kesteren 1998 & Harada *et al.* 2004). به دلیل اینکه در منابع ذکر شده بود که محیط کشت‌های تجاری مختلف تأثیر متفاوتی بر میزان رشد پرگنه قارچ دارند (Harada *et al.* 2004)، به منظور کاهش خطای ناشی از این امر، محیط کشت PDA در آزمایشگاه تهیه گردید و تحت عنوان PDA تازه در آزمایش‌ها از آن استفاده شد. رنگ پرگنه و ناحیه اسپورزا روی پرگنه در شرایط تاریکی و تاریکی/روشنایی پس از ۱۳ روز براساس دفترچه رنگ خاک مانسل تعیین گردید (Harada *et al.* 2004 & Waller *et al.* 2002). شکل حاشیه پرگنه براساس لوب‌دار یا پیوسته (غیر لوب‌دار) بودن و نحوه اسپورزایی نیز براساس کنیدیوم‌زایی روی بالشک‌های مشخص به صورت پراکنده یا روی دایره‌های هم‌مرکز و پس از ۱۳ روز در شرایط تاریکی و تاریکی/روشنایی به صورت جداگانه تعیین گردید (van Leeuwen & van Kesteren 1998, Harada *et al.* 2004).

ویژگی‌های مربوط به کنیدیوم شامل اندازه کنیدیوم‌های تشکیل شده روی میوه و روی محیط، شکل کنیدیوم و ویژگی‌های لوله تندش است. اندازه ۵۰ کنیدیوم از هر جدایه به صورت تصادفی با استفاده از میکروسکوپ نوری مدل Olympus BH-2 مجهز به عدسی چشمی مدرج اندازه گیری شد (van Leeuwen & van Kesteren 1998 & Harada *et al.* 2004). جهت اندازه‌گیری ویژگی‌های لوله تندش (طول و تعداد لوله تندش و فاصله نخستین انشعاب

Archive of SID

www.SID.ir

از کنیدیوم)، از کنیدیوم‌های تشکیل شده روی سطح میوه یا محیط، سوسپانسیون اسپور تهیه شد. به منظور جداسازی میسلیوم‌های موجود در سوسپانسیون اسپور تهیه شده، سوسپانسیون اسپور از پارچه ململ دولایه عبور داده شد. سپس با استفاده از سمپلر سترون، مقدار ۱۰۰–۵۰ میکرولیتر از سوسپانسیون در تشتک پتری محتوی محیط آب–آگار ریخته شد. پس از ۱۸ ساعت نگهداری در دمای ۱°C ± ۲۲ و شرایط تاریکی، با استفاده از میکروسکوپ نوری دارای عدسی چشمی مدرج، طول و تعداد لوله تندش و فاصله نخستین انشعاب از کنیدیوم برای پنجاه کنیدیوم از هر جدایه برآورد گردید (van Leeuwen & van Kesteren 1998 & Harada *et al.* 2004). برای تعیین فاصله اولین انشعاب لوله تندش از کنیدیوم، انشعاب‌هایی که بیش از ۲۰ میکرومتر درازا داشتند، به عنوان انشعاب در نظر گرفته شدند (van Leeuwen & van Kesteren 1998).

نتیجه

پس از بررسی‌های آزمایشگاهی جدایه‌های جمع‌آوری شده از شهرستان‌های مختلف استان گیلان شامل آستانه اشرفیه، املش، انزلی، رشت، رضوانشهر، رودبار، سیاهکل، شفت، صومعه‌سرا، فومن، لاهیجان، ماسال و هشتپر، دو گونه *Monilinia fructigena* و *M. laxa* به عنوان عامل بیماری پوسیدگی قهوه‌ای میوه‌های دانه‌دار و هسته‌دار در استان گیلان شناسایی شدند. مشخصات این گونه‌ها به شرح زیر می‌باشد.

(Aderhold & Ruhland) Honey *Monilinia fructigena*

میزان رشد پرگنه روی محیط PDA پس از ۵ روز در دمای ۱°C±۱۵ و شرایط تاریکی و تاریکی/روشنایی به ترتیب (۱۱/۷) ۱۶/۸–۸/۲ و (۱۰/۳) ۱۲/۸–۸ گاهی تا ۱۵/۳ میلی‌متر و در دمای ۱°C±۲۲ به ترتیب (۱۹/۹) ۲۶/۵–۱۳/۷ و (۱۷/۹) ۲۰/۲–۱۵/۲ میلی‌متر و پس از ۱۳ روز در دمای ۱°C±۱۵ و شرایط تاریکی و تاریکی/روشنایی به ترتیب (۴۲/۷) ۶۷/۷–۲۶ گاهی ۷۹/۸ و (۲۳/۴) ۳۳/۲–۱۵/۳ گاهی تا ۴۲/۸ میلی‌متر و در دمای ۱°C±۲۲ به ترتیب (۴۹/۲) ۵۳/۵–۴۴/۳ و (۴۴/۰) ۴۵/۸–۳۹/۸ میلی‌متر برآورد گردید. پرگنه در دمای ۱°C±۱۵ و شرایط تاریکی، به رنگ خاکستری روشن (کد 5Y 7/1 بر اساس دفترچه رنگ خاک مانسل) گاهی خاکستری روشن تا خاکستری (5Y 6/1) و در دوره تاریکی/روشنایی، سفید (2.5 Y 8/2 تا 5Y

Archive of SID

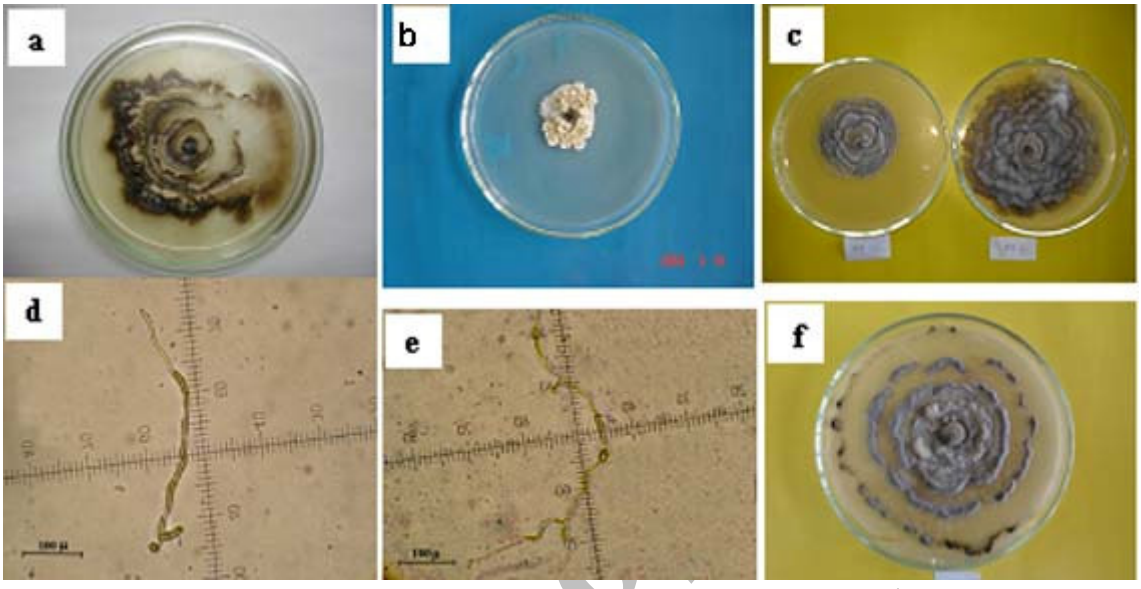
www.SID.ir

8/0) گاهی خاکستری روشن (5Y 7/1) بود. حاشیه پرگنه در شرایط تاریکی و دوره تاریکی/روشنایی به صورت یکنواخت تا نسبتاً یکنواخت بود. بیشتر جدایه‌ها پس از ۱۳ روز، در هیچ یک از شرایط تاریکی و تاریکی/روشنایی و دمای $15 \pm 1^{o}C$، در سطح محیط کشت تولید استروما نکردند. تنها دو جدایه از روی گلابی به میزان بسیار کم (۳ و ۲ عدد به ترتیب در شرایط تاریکی و تاریکی/روشنایی)، یک جدایه از روی هلو به تعداد ۵ عدد و یک جدایه از روی ازگیل به میزان فراوان (۱۳–۱۱ عدد) در شرایط تاریکی، استروما تولید کردند (شکل ۱، F). همچنین جدایه‌های دیگری نیز از روی گیلاس، ازگیل ژاپنی و هلو پس از سه هفته نگهداری در دمای $15\pm1^{o}C$ و تاریکی، در محیط کشت تولید استروما نمودند. بیشتر جدایه‌ها در دمای $15\pm1^{o}C$ و شرایط تاریکی، روی محیط کشت ماکروکنیدیوم تولید نکردند یا گاهی به میزان کم تا متوسط و به صورت پراکنده تولید کردند. برخی از جدایه‌ها نیز در دوره تاریکی روی محیط کشت به میزان کم تا گاهی زیاد تولید میکروکنیدیوم کردند. در دوره تاریکی/روشنایی و دمای $15\pm1^{o}C$ بیشتر جدایه‌ها به میزان متوسط تا فراوان روی بالشک‌های متراکم و با آرایش دایره ای، تولید ماکروکنیدیوم نمودند. برخی از جدایه‌ها نیز تولید کنیدیوم ننمودند. رنگ بافت تولید کننده ماکروکنیدیوم در شرایط تاریکی، زرد نخودی تا سفید (2.5Y8/3-8/4 تا 5Y8/1) و رنگ بافت تولید کننده میکروکنیدیوم در شرایط تاریکی، خاکستری روشن تا خاکستری زیتونی (5Y 7/1-6/1 تا 5Y 5/2) و رنگ بافت تولید کننده ماکروکنیدیوم در دوره تاریکی/روشنایی، زرد نخودی گاهی سفید (2.5Y 8/4-7/4 گاهی 2.5Y 8/2) برآورد گردید. کنیدیوم‌های تولید شده روی میوه، دوکی شکل کشیده، زنجیری و متصل به هم (بدون سلول جداکننده) و به ابعاد (۲۰/٤×۱۰/۷) ۱۱/۸–۲۲×۹/۷–۱۸/۵ میکرومتر بودند. طول لوله تندش در آنها (٦٦۹/۵) ۹۰۵–٤۵۰، فاصله نخستین انشعاب تا کنیدیوم (۲۲۷/٤) ۳۹۳–۱۰۲ میکرومتر و تعداد لوله تندش در هر کنیدیوم ۲–۱ و به ندرت ۳ با میانگین ۱/٦٦ لوله تندش در هر کنیدیوم بود (شکل ۱). جدایه پوسیدگی میوه ازگیل (*Mespilus germanica* L.) ۳–۲ و به ندرت ۱ با میانگین ۱/۹۲ لوله تندش در هر کنیدیوم تولید کرد. کنیدیوم‌های تشکیل شده روی محیط به ابعاد (۱۸/۱×۹/۲) ۱۰/٤–۱۷/۳–۱۹/۳×۸/۷ میکرومتر بودند. اسپورودوکیوم‌های تشکیل شده روی میوه‌های آلوده، به رنگ کرمی تا زرد نخودی و قطر ۲–۱ گاهی تا ۳ با میانگین ۱/۵

Archive of SID

www.SID.ir

میلی‌متر بودند.



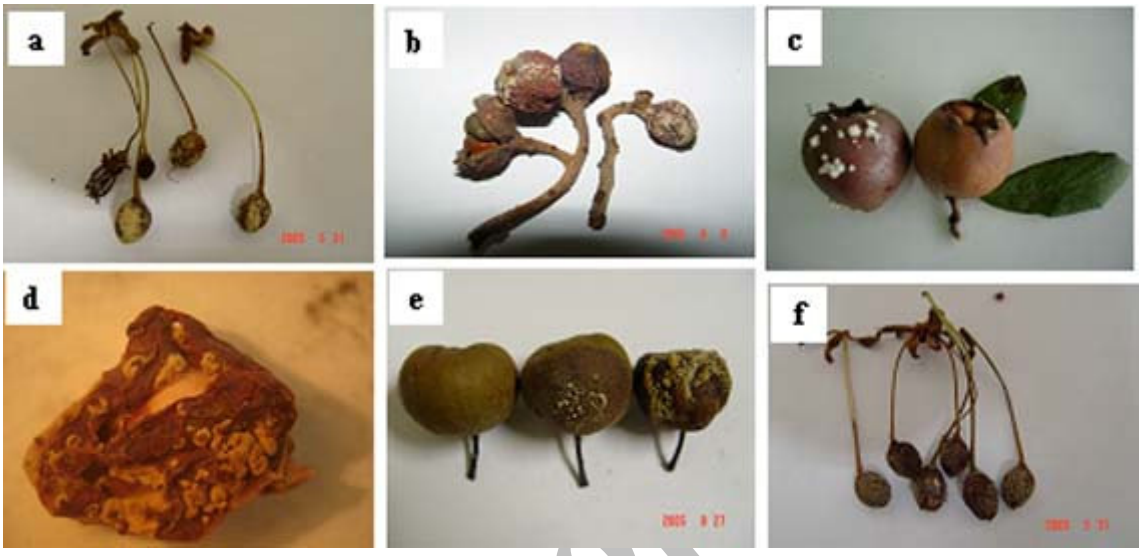
شکل ۱- پرگنه‌های *Monilinia fructigena* (a و b) و *M. laxa* (c) روی PDA، ۱۳ روز پس از کشت در دمای ۱۵°C. نحوه جوانه‌زنی کنیدیوم *M. laxa* (d) و *M. fructigena* (e) پس از ۱۸ ساعت در دمای ۲۲°C. استروماهای تولید شده توسط *M. fructigena* در سطح محیط کشت PDA (f).

Fig 1. Colony of *M. fructigena* (a and b) and *M. laxa* (c) on PDA after 13 days at 15°C. Conidial germination of *M. laxa* (d) and *M. fructigena* (e) after 18 hours at 22°C. Stromata produced by *M. fructigena* on PDA (f).

گونه *M. fructigena* از روی پوسیدگی میوه‌های گیلاس (در شهرستان‌های هشتپر و رودبار)، آلو (فومن، صومعه‌سرا و رشت)، هلو (شفت، فومن و صومعه‌سرا)، گلابی محلی یا خوج (لاهیجان، رضوانشهر، سیاهکل و املش)، گلابی (لاهیجان، رضوانشهر، سیاهکل، ماسال، هشتپر و رشت)، به (رضوانشهر، سیاهکل، فومن و هشتپر)، ازگیل (لاهیجان) و ازگیل ژاپنی (رشت، صومعه‌سرا، رضوانشهر و سیاهکل) شناسایی گردید (شکل ۲). گیلاس، آلو، گلابی محلی (خوج)، ازگیل ژاپنی و ازگیل به عنوان میزبان‌های جدید *M. fructigena* در استان گیلان و ایران معرفی می‌گردند.

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۲- میوه‌های گیلاس (a)، ازگیل ژاپنی (b)، ازگیل (c)، آلو (d) و گلابی محلی (e) آلوده به *Monilinia fructigena* و گیلاس (f) آلوده به *M. laxa* اسپورودوکیوم‌های نخودی رنگ روی میوه‌های آلوده به *Monilinia fructigena* (a, b, c, d و e) و خاکستری رنگ روی میوه آلوده به *M. laxa* (f) به روشنی نشان داده شده است. کلیه عکس‌ها از روی میوه‌های با آلودگی طبیعی در باغ تهیه شده است.

Fig. 2. *Monilinia fructigena* infected fruits of cherry (a), loquat (b), medlar (c), Prune (d), and local pear (e) and *M. laxa* infected fruits of cherry (f). The buff color sporodochia on *M. fructigena* infected fruits (a, b, c, d, and e) and gray color sporodochia on *M. laxa* infected fruit are clearly shown. All photos are from naturally infected fruit in orchards.

***Monilinia laxa* (Aderhold & Ruhland) Honey**

میزان رشد پرگنه روی محیط PDA پس از ۵ روز در دمای ۱۵±۱°C و شرایط تاریکی و تاریکی/روشنایی به ترتیب (۲۹/۹) ۳۸/۳-۲۱/٤ و (۲۰/٦) ۲۷/۳-۱۸/۷ میلی‌متر و در دمای ۲۲±۱°C به ترتیب (۲۵/۸) ۲٦/۳-۲۵/۳ و (۱۸/۹) ۲۰/۲-۱۷/۵ میلی‌متر و پس از ۱۳ روز در دمای ۱۵±۱°C و شرایط تاریکی و تاریکی/روشنایی به ترتیب (٦۱/۲) ٦۹/۵-۵۰/۷

Archive of SID

www.SID.ir

گاهی ۷۳/۳ و (٤۲) ٤٦/۷–۳۳ گاهی ۵۷/۳ میلی‌متر و در دمای ۲۲±۱°C به ترتیب (۷۵/٦) ۷۳/۸–۷۷/۳ و (٤۷/۷) ٤۹/۸–٤۵/۵ میلی‌متر برآورد گردید. پرگنه در دمای ۱۵°C و تاریکی، به رنگ خاکستری روشن (2.5Y 6/1-7/1) تا سفید (5Y 8/2) گاهی خاکستری مایل به قهوه‌ای روشن (2.5Y6/2) و در شرایط تاریکی/روشنایی، خاکستری روشن (2.5Y 7/1-7/2, 10YR 7/1) تا سفید (5Y 8/1) بود. در شرایط تاریکی، حاشیه پرگنه به صورت لوب‌دار و پرگنه به حالت روزت (طبقه طبقه) و گاهی دارای قوس‌های قهوه‌ای بریده بریده که از پشت پتری به خوبی قابل مشاهده بودند. در شرایط تاریکی/روشنایی، حاشیه پرگنه نسبتاً لوب‌دار تا لوب‌دار و دارای قوس‌های قهوه‌ای یا سیاه کم رنگ و بریده بریده بود که از پشت تشتک پتری به خوبی قابل مشاهده بود. این جدایه‌ها در هیچ‌کدام از شرایط نوری، استروما تولید نکردند. اسپورزایی به میزان بسیار کم تا متوسط در شرایط تاریکی و کم تا متوسط گاهی فراوان و به صورت پراکنده در شرایط تاریکی/روشنایی بود. بافت تولیدکننده اسپور در شرایط تاریکی به رنگ خاکستری روشن (2.5Y 7/2)، قهوه‌ای مایل به زرد روشن (10YR 6/4) و یا زیتونی کم‌رنگ (5Y 6/4) و در شرایط تاریکی/روشنایی به رنگ خاکستری مایل به قهوه‌ای روشن (2.5Y 6/2) ، قهوه‌ای مایل به زرد روشن (2.5Y 6/4) و یا قهوه‌ای زیتونی روشن (2.5Y 5/4) بود. کنیدیوم‌های تولید شده روی میوه، دوکی گاهی مستطیلی شکل، زنجیری و متصل به هم (بدون سلول جداکننده)، به ابعاد (۱۳/۸×۸/۲) ۹/۸–۱٦/٦×۷/٤–۱۲/٤ و کنیدیوم‌های تشکیل شده روی محیط‌کشت (۱۱/۸۵×۷/۹) ۸/٦–۱۳/۳×۷/۱–۱۱/۱ میکرومتر، طول لوله تندش در آنها (۲٤۳/٤) ۳۹٦–۱۹۱، فاصله اولین انشعاب تا کنیدیوم (۵۹/۹) ۸۵/٤–٤٤/۱ میکرومتر و تعداد لوله تندش در هر کنیدیوم ۱ به ندرت ۲، با میانگین ۱/۰٤ بود (شکل ۱). بالشک‌های تشکیل شده روی میوه‌های آلوده به رنگ خاکستری و قطر (۰/۸۹) ۱–۰/۵ میلی‌متر بودند. اندازه این بالشک‌ها بسیار کمتر از بالشک‌های کرمی رنگ *M. fructigena* بود.

گونه *M. laxa* از روی میوه‌های آلوده گیلاس (در شهرستان هشتپر) و آلو (رشت) و شانکر و سرخشکیدگی هلو (صومعه‌سرا) شناسایی گردید. براساس نتایج این تحقیق، گیلاس به عنوان میزبان جدید *M. laxa* در استان گیلان و ایران معرفی می‌شود. همچنین *M. laxa* به عنوان گونه جدید این قارچ در استان گیلان معرفی می‌گردد (شکل ۲).

Archive of SID

www.SID.ir

بحث

داشتن اسپورودوکیوم‌های نخودی رنگ، پرگنه زرد تا کرمی با حاشیه یکنواخت، تولید بیش از یک لوله تندش در هر کنیدیوم، تولید لوله تندش دراز که اغلب فاصله نخستین انشعاب آن از کنیدیوم بیش از ۱۰۰ میکرومتر است و عدم تولید حلقه‌های هم‌مرکز اسپورزایی در محیط کشت، از ویژگی‌های بارز *M. fructigena* است. از ویژگی‌های بارز *M. laxa* می‌توان به تولید پرگنه خاکستری رنگ با حاشیه لوب‌دار و ویژگی‌های مربوط به کنیدیوم آن اشاره کرد که در تشخیص این گونه بسیار مهم هستند و این گونه را از *M. fructicola* متمایز می‌سازند (Byrde & Willetts 1977, van Leeuwen & van Kesteren 1998, Lane 2002, Harada *et al.* 2004). در این مطالعه، جدایه *Monilinia* از روی ازگیل از نظر میزان تولید استروما در محیط‌کشت و تعداد لوله تندش در هر کنیدیوم با سایر جدایه‌ها تفاوت داشت ولی سایر خصوصیات آن مشابه جدایه‌های *M. fructigena* بود. همچنین این جدایه از نظر داشتن میزبان مشترک (*Mespilus jermanica*) با گونه *M. mespili* مشابه بود. مقایسه ویژگی‌های این جدایه با گونه‌های *M. mespili* و *M. fructigena* نشان داد که بین کنیدیوم‌های قرار گرفته در زنجیره کنیدیوم‌های این جدایه و *M. fructigena* بر خلاف *M. mespili*، سلول جدا کننده وجود ندارد. بنابراین احتمال اینکه جدایه نامبرده به گونه *M. mespili* تعلق داشته باشد، مردود است (Batra 1991). از طرف دیگر فان *لیوون* و همکاران (van Leeuwen *et al.* 2002) بر پایه وجود تفاوت‌های ریخت شناسی و توالی‌یابی rDNA بین جدایه‌های اروپایی و ژاپنی *M. fructigena*، گونه جدید و آنامورفیک *Monilia polystroma* را معرفی کردند. *Monilia polystroma* از نظر تولید استرومای بیشتر در محیط کشت، بیشتر بودن سرعت رشد پرگنه و کوچکتر بودن اندازه کنیدیوم‌های تشکیل شده روی میوه از *M. fructigena* متمایز می‌شود (van Leeuwen *et al.* 2002). جدایه *Monilinia* جدا شده از ازگیل از نظر میزان تولید استروما تا اندازه‌ای مشابه *Monilia polystroma* است، ولی از نظر اندازه کنیدیوم‌های تولید شده روی میوه گلابی، مشابه *M. fructigena* است. فان لیوون و همکاران (van Leeuwen *et al.* 2002) در پژوهش خود از نور نزدیک به فرابنفش و دستگاه اندازه‌گیری کننده مساحت استرومای تشکیل شده در سطح تشتک پتری استفاده کردند که به دلیل فراهم نبودن این امکانات در مطالعه ما، نمی‌توانیم میزان

Archive of SID

www.SID.ir

تولید استروما و سرعت رشد پرگنه این جدایه را به درستی با یافته‌های آنها مقایسه کنیم و شناسایی دقیق این جدایه نیازمند استفاده از امکانات گفته شده و توالی یابی rDNA است. با این وجود، جدایه نامبرده فعلا به عنوان *M. fructigena* معرفی گردید.

پیش از این، گونه *M. laxa* بوسیله ایرانی و ارومچی (Irani and Oroumchi 2004) از آذربایجان غربی گزارش شده است. ایرانی و ارومچی در گزارش خود پرگنه سفید پنبه‌ای، تولید سختینه‌های سیاه با مغز سفید، اندازه کنیدیوم‌های تشکیل شده روی میوه مومیایی شده به ابعاد ۶/۷– ۵/۴ × ۲۱/۹– ۱۴ ، اندازه آسک ۱۱۳– ۵۳ و اندازه آسکوسپور ۱۰– ۷ میکرومتر را به عنوان ویژگی‌های این گونه معرفی کردند. گونه گزارش شده توسط ایرانی و ارومچی از نظر رنگ پرگنه و تولید سختینه در محیط کشت با ویژگی‌های معرفی شده برای *M. laxa* در سایر منابع (Byrde & Willetts 1977, Lane 2002, EPPO 2003 و Harada *et al.* 2004) سازگاری ندارد. همچنین در گزارش ایرانی و ارومچی به لوب‌دار بودن پرگنه و مشخصات لوله تندش کنیدیوم که از ویژگی‌های مهم این گونه است، اشاره نشده است. اگرچه محققین فوق به مرحله جنسی قارچ اشاره داشته‌اند اما تفاوت قابل توجهی بین ابعاد ذکر شده برای آسک و اسکوسپور با آنچه که در منابع در ارتباط با این گونه آمده است دیده می‌شود(Byrde & Willetts 1977).

علی‌رغم اینکه ویژگی‌های ریخت‌شناسی ذکر شده برای تمایز گونه‌های این قارچ بسیار مفید هستند اما به دلیل همپوشانی این صفات در برخی جدایه‌ها و با توجه به اینکه تاکنون گونه مهم *M. fructicola* از ایران گزارش نشده است، پیشنهاد می‌شود امکان بررسی گونه‌ها به وسیله روش‌های مبتنی بر DNA فراهم آید. در سالهای اخیر امکان تشخیص گونه‌های این قارچ به کمک آغازگرهای اختصاصی فراهم شده است (Cote *et al.* 2004). از این رو استفاده از آنها برای شناسایی سریع و دقیق گونه *M. fructicola* و جلوگیری از ورود آن به داخل کشور در پست‌های قرنطینه گیاهی توصیه می‌شود.

منابع

جهت ملاحظه به صفحات (94-92) متن انگلیسی مراجعه شود.

Archive of SID

www.SID.ir

نشانی نگارندگان: سید عبداله هاشمی‌باباحیدری، سیداکبر خداپرست و ضیاءالدین بنی‌هاشمی،
گروه گیاهپزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه گیلان و بخش گیاهپزشکی
دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز

Archive of SID

www.SID.ir