تعیین برخی ویژگی‌ها، ارزیابی بیماری‌زایی و تنوع در جدایه‌های *Gnomonia leptostyla*، عامل آنتراکنوز گردو در ایران*

رعنا دستجردی[1]**، داراب حسنی[1] و محمد جوان نیکخواه[2]

(تاریخ دریافت: ۱۳۸۷/۱۰/۱۰ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۸/۵/۲۶)

چکیده

آنتراکنوز، یکی از مهم‌ترین بیماری‌های برگی درختان گردو در مناطق مختلف کشور است. در این بیماری، ریزش شدید برگ درختان در اواسط تابستان و قبل از بلوغ کامل، از پر شدن مغز میوه جلوگیری نموده و خسارت زیادی را ایجاد می‌نماید. با توجه به اهمیت بیماری، نمونه‌برداری از بافت‌های آلوده درختان در اواسط تابستان و پاییز سال‌های ۸۶- ۸۴ از مناطق مختلف کشت گردو در استان‌های آذربایجان‌شرقی، آذربایجان‌غربی، اردبیل، زنجان، قزوین، مازندران، تهران و همدان به‌عمل آمد. در مجموع تعداد ۴۵ جدایه قارچ از بافت‌های آلوده گردو با استفاده از محیط‌کشت‌های Oat Meal Agar و Corn Meal Agar جداسازی و عامل بیماری به‌عنوان *Gnomonia leptostyla*(آنامورف: *Marssonina juglandis*) شناسایی گردید. دمای ۲۱ °C ، ۱۸ ساعت نور و ۶ ساعت تاریکی برای اسپورزایی غیرجنسی قارچ مطلوب شناخته شد. تشکیل پریتس بارور در شرایط آزمایشگاهی، ۹۰-۷۵ روز پس از نگه‌داری مخلوطی از جدایه‌های خالص شده در ۴ °C و تاریکی مطلق رخ داد. بررسی بیماری‌زایی ۱۵ جدایه منتخب، دانهال‌های یک ساله گردو، با استفاده از سوسپانسیون کنیدیوم قارچ با غلظت 10^5 اسپور در میلی‌لیتر و در گلخانه انجام شد. اولین علائم قابل تشخیص بیماری، ۱۶ روز پس از مایه‌زنی به‌صورت لکه‌های ریز قهوه‌ای رنگ در سطح زیرین برگ‌ها نمایان گردید. بیست و چهار روز پس از مایه‌زنی، اندام‌های تولید مثل غیرجنسی قارچ یا آسروول‌ها، در سطح لکه‌ها ظاهر شدند. جداسازی مجدد عامل بیماری و وجود کنیدیوم‌های داسی شکل، دوسلولی و شفاف، حضور قارچ را در بافت‌های آلوده تأیید نمود. بررسی‌های انجام شده در این تحقیق نشان داد که بین جدایه‌های قارچ از نظر توانایی در ایجاد آلودگی، اختلاف معنی‌داری وجود دارد. هم‌چنین بین تعداد لکه‌های تشکیل شده و درصد آب برگچه‌ها در سطح احتمال ۱% هم‌بستگی معنی‌داری مشاهده گردید. به این ترتیب برگچه‌های فوقانی در هر برگ با توجه به درصد آب بیشتر، به‌عنوان حساس‌ترین برگچه‌ها در برابر بیماری شناسایی شدند.

واژه‌های کلیدی: درختان گردو، آنتراکنوز، *Marssonina juglandis* ، تنوع بیماری‌زایی

* : این تحقیق بر اساس طرح تحقیقاتی شماره ۸۴۰۰۳-۸۴۰۱-۰۴-۱۲-۰۱۱-۲ سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی انجام گرفته است.

** : مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: rdastjerdi@yahoo.com

۱. به ترتیب مربی و استادیار پژوهشی مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج

۲. استادیار بیماری‌شناسی‌گیاهی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

Gnomonia Leptostyla (Fr.) Ces .& de Not. با آنامورف *Marssonina juglandis* (Lib.) Magn.، عامل بیماری لکه سیاه یا آنتراکنوز گردو می‌باشد. این بیماری تقریباً در تمام مناطق رشد و پرورش گردو گسترده شده ولی خسارت آن در نواحی حوزه مدیترانه بیشتر است(Maria *et al*. 1997).

این قارچ درسایر مناطق گردوکاری از جمله درکشورهای ترکیه و لهستان نیز به‌عنوان مهم‌ترین و عمومی‌ترین بیماری گردو شناخته و معرفی شده است(Werner 1994, Barut 1996). اهمیت و خسارت اقتصادی بیماری عمدتاً روی گردوی ایرانی(*Juglans regia*)، گردوی سیاه (*J. nigra*) و گردوی سیاه شمال کالیفرنیا (*J. hindsii*) می‌باشد. اما دیگر گونه‌های جنس*Juglans* از جمله *J. cinerea* نیز از حمله قارچ عامل بیماری در امان نمی‌مانند (Maria *et al*. 1997, Belisario *et al*. 2008). عامل بیماری آنتراکنوز برگ‌ها، سرشاخه‌ها، میوه‌ها و شاخه‌های جوان را مورد حمله قرار داده و لکه‌های قهوه‌ای تیره یا سیاه رنگ، روی بافت‌های آلوده ظاهر می‌شود. به‌تدریج لکه‌ها به هم پیوسته و نقاط نکروز بزرگی را به‌وجود می‌آورند. بیماری به سرعت در هوای مرطوب و بارانی شدت می‌یابد. نتیجه این عمل ریزش برگ و میوه‌های جوان است. همه‌گیری بیماری و ریزش شدید برگ برای چند سال متوالی، سبب ضعف درختان شده و خطر خشکیدگی و مرگ، آنها را تهدید خواهد نمود (Belisario *et al*. 2001, Berry 1961). عامل بیماری معمولا به‌صورت آسکوکارپ در داخل برگ‌های ریخته شده روی زمین زمستان گذرانی می‌کند. در بهار، آسکوسپورها منبع آلودگی اولیه محسوب می‌شوند (Berry 1961). حرارت کم (۱۵-۲۱ °C)، بارندگی زیاد و رطوبت نسبی بالای ۶۵% در مراحل اولیه آلودگی از عوامل عمده اشاعه بیماری محسوب می‌شوند (Black & Neely 1978a, Rosnev & Naidenov 1986). در بررسی اپیدمیولوژی قارچ در گردوی ایرانی، زخم‌های ایجاد شده در شاخه‌های آلوده و میوه‌های ریزش یافته روی زمین، از جمله دیگر منابع ذخیره زادمایه قارچ معرفی شده‌اند (Belisario *et al*. 2001)، تحقیقات انجام گرفته بر روی سبب‌شناسی(اتیولوژی) عامل بیماری اندک است (Black & Neely 1978a).

در ایران نیز این بیماری از مهم‌ترین بیماری‌های برگی گردو در اکثر مناطق گردو کاری کشور می‌باشد. اولین بار در سال ۱۳۳۱، خبیری و سپس در سال‌های ۱۳۴۲ و ۱۳۴٤ به‌ترتیب اسکندری، شریف و ارشاد بیماری را از مناطق مختلف ایران گزارش نمودند. جعفرپور نیز در سال ۱۳٦۷ بیماری را از مناطق گردو کاری خراسان گزارش نمود (Ershad 1995). طبق گزارش ربیعی‌فر، بیماری در استان‌های گلستان، گیلان، مازندران، اردبیل، آذربایجان‌شرقی، آذربایجان‌غربی، کردستان، لرستان، کرمانشاه، اصفهان، تهران، قزوین و خراسان در بیش از ۸۰ منطقه گردوکاری کشور وجود دارد (Rabieifar 1997). *صارمی و همکاران* (Saremi *et al*. 2003) خسارت بیماری را در برخی از باغات شمال غرب ایران تا ۷۰ درصد تخمین زده‌اند.

لوییس و کامپانیل (Luisi & Campanile 1993)، در بررسی عوامل قارچی مسئول خشکیدگی سرشاخه‌های گردوی جوان در مناطق جنوبی ایتالیا، بیماری‌زایی شدید *G. leptostyla* را روی نهال‌های ۳-۹ ساله گردو به اثبات رساندند.

تحقیقات انجام شده در خصوص بررسی تنوع در جمعیت *G. leptostyla* بسیار اندک است. اولین بار وجود تنوع ژنتیکی در جمعیت این قارچ، از طریق بررسی چند شکلی طول قطعات برش یافته به کمک روش PCR-RFLP مورد ارزیابی قرار گرفت. براساس این آزمایش، در میان ۱۷۶ جدایه قارچ *G. leptostyla*، هیچ تفاوتی در طول زیر واحدهای کوچک ریبوزومی (18s-srDNA) مشاهده نشده است. هضم قطعات توسط آنزیم‌های برشی نیز تنوعی را در آرایش و الگوی باندی جدایه‌ها به اثبات نرساند. این یافته‌ها احتمال وجود نژادهای مختلف قارچ را در مناطق گردوکاری

Archive of SID

www.SID.ir

ایتالیا رد کرد (Belisario & Hubbes 1997).

بلیساریو (Belisario *et al*. 2008) در تحقیقی دیگر، ضمن گزارش تنوع بیماری‌زایی جدایه‌های قارچ *G. leptostyla* در مناطق مختلف ایتالیا، نشان داد که بیماری‌زایی جدایه‌ها، با سرعت رشد کلنی قارچ در محیط‌های آزمایشگاهی مرتبط می‌باشد. براساس این تحقیق، جدایه‌های جمع‌آوری شده از مناطق کم ارتفاع که میانگین درجه حرارت بالاتری را در ماه آوریل داشتند، از قدرت بیماری‌زایی کمتری نیز برخوردار بودند. مطالعات آنها ارتباط و هم‌بستگی معنی‌داری را بین بیماری‌زایی جدایه‌ها و هموتال یا هتروتال بودن آنها به اثبات نرساند. این محققین در گزارش خود تأکید نمودند که برای درک بهتر اپیدمیولوژی قارچ، داشتن اطلاعات و دانش کافی در خصوص عوامل و فاکتورهای محیطی ضرورت دارد.

صلاحی (Salahi *et al*. 2007) در بررسی تنوع ژنتیکی ۴۰ جدایه *G. leptostyla* در استان آذربایجان شرقی با استفاده از روش PCR-RFLP ، ضمن اثبات وجود تنوع بیماری‌زایی جدایه‌های مختلف قارچ، نشان داد که الگوی پدید آمده برای کلیه جدایه‌های مورد بررسی یکسان بوده و لذا جدایه‌های مناطق مختلف در یک گروه جای گرفتند.

این تحقیق با هدف تعیین برخی خصوصیات و نیز بررسی بیماری‌زایی و تنوع جدایه‌های *Gnomonia leptostyla*، که از مناطق مختلف گردوکاری ایران جمع‌آوری شده‌اند، انجام شد.

روش بررسی

الف- جمع‌آوری، جداسازی و خالص‌سازی جدایه‌ها

جمع‌آوری نمونه‌های آلوده در اواسط تابستان و پاییز ۸۴، ۸۵ و ۸۶ از برخی مناطق مختلف کشت گردو در استان‌های آذربایجان شرقی، آذربایجان غربی، اردبیل، زنجان، قزوین، مازندران، تهران و همدان انجام گرفت. نمونه‌ها بر اساس وجود علائم ظاهری در برگ‌ها انتخاب شدند. نمونه‌های آلوده به‌طور جداگانه در پاکت‌های کاغذی قرار گرفته و پس از ثبت اطلاعات لازم به آزمایشگاه منتقل و تا زمان جداسازی در ۴ °C نگه‌داری شدند. درآزمایشگاه به‌منظور جداسازی جدایه‌های قارچی، از نمونه‌های مذکور قطعات کوچکی به ابعاد 0.5 cm تهیه و پس از ضد عفونی با هیپو کلریت سدیم ۱ درصد (به مدت یک دقیقه) و سه بار شستشو با آب مقطر سترون، نمونه‌ها بر روی کاغذ صافی سترون خشک شده و سپس روی محیط کشت های(OMA) Oat Meal Agar (شامل: عصاره۳۰ گرم آرد یولاف، ۵ گرم دکستروز و ۱۸ گرم آگار در یک لیتر آب) و Corn Meal Agar (CM) (شامل: عصاره ۴۰ گرم بذر ذرت و ۱۶ گرم آگار در یک لیتر آب) کشت شدند. تشتک‌های حاوی نمونه به انکوباتور با دمای ۱ ± ۲۵ °C و شرایط ۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی منتقل گردید. پس از جداسازی قارچ، به‌منظور تحریک آن به اسپورزایی غیرجنسی، زیرکشت‌ها در دمای ۱ ± ۲۱ °C و شرایط ۱۸ ساعت نور و ۶ ساعت تاریکی قرار گرفتند.

خالص‌سازی جدایه‌های قارچی با استفاده از محیط کشت آب–آگار ۲ درصد و مطابق روش هو و کو (Ho & Ko 1997) انجام شد. تک کنیدیوم‌های جوانه زده به محیط OMA منتقل شده و در ۱ ± ۲۱ °C قرار گرفتند.

به‌منظور نگه‌داری طولانی مدت قارچ، جدایه‌ها بر روی کاغذ صافی سترون در محیط OMA کشت شدند. ۳-۲ هفته بعد، کاغذ صافی حاوی آسروول‌های قارچ از سطح محیط برداشته شد و پس از خشک نمودن در محیط سترون، به قطعات کوچکی تقسیم گردید. این قطعات کاغذی واجد میسلیوم، به لوله‌های ۱/۵ میلی لیتری منتقل و درب آنها با پارافیلم کاملا مسدود شد. سپس لوله‌ها به فریزر ۲۰ °C- انتقال یافتند.

ب- تهیه زاد مایه قارچ

زادمایه، کشت‌های خالص و حدودا ۳۰-۲۵ روزه قارچ، رشد یافته در روی محیط کشت OMA وCM بودند که اندام‌های باردهی(آسروول ها) به مقدار کافی بر روی آن تشکیل شده بود. پس از تهیه سوسپانسیون اسپور، غلظت سوسپانسیون با کمک

www.SID.ir

لام هموسایتومتر بر روی ۱۰^۵ اسپور در میلی لیتر تنظیم و زادمایه آماده مایه‌زنی گردید.

ج- آزمون بیماری‌زایی

در اواخر اردیبهشت ماه، بررسی بیماری‌زایی ۱۵ جدایه منتخب، بر روی دانهال‌های یک ساله گردو (ژنوتیپ Z63) که برگ‌های آنها به‌خوبی رشد کرده بود، انجام شد. سعی شد از هر محل جمع‌آوری، حداقل یک نمونه که کلنی آن از رشد و اسپورزایی بیشتری برخوردار بود در این آزمایش‌ها لحاظ گردد. برای هر جدایه ۴ گلدان مایه‌زنی گردید. نهال‌ها، ۲-۱ ساعت قبل از مایه‌زنی به‌طور کامل آبیاری شده و سه برگ بالایی هر گلدان برای مایه‌زنی علامت‌گذاری شدند. مایه‌زنی مطابق روش *بلک و نیلی* (Black & Neely 1978b) انجام شد. بدین منظور پس از تهیه سوسپانسیون اسپور از هر کدام از جدایه‌های قارچی، زادمایه به گلخانه منتقل و مایه زنی درساعات خنک (صبح زود) انجام گرفت. سوسپانسیون کنیدیوم قارچ روی برگ‌ها به نحوی پاشیده شد که از تماس مستقیم اسپور با برگ‌ها جلوگیری شده و فقط مه غلیظی از اسپور در فضای گلدان‌ها ایجاد گشت. گلدان‌های شاهد با آب مقطر سترون مایه‌زنی شدند. بلافاصله پس از مایه‌زنی، گلدان‌ها با کیسه‌های پلاستیکی شفاف پوشانده شدند. هم‌چنین با پهن کردن کیسه گونی‌های کنفی مرطوب در کف گلخانه و استفاده از دستگاه رطوبت ساز، رطوبت گلخانه تامین شد. سی و پنج ساعت پس از مایه‌زنی، پوشش‌های پلاستیکی حذف شدند و گلدان‌ها به‌طور طبیعی آبیاری و روزانه مورد بازدید قرار گرفتند. متوسط دما و رطوبت نسبی گلخانه تا زمان حذف پوشش پلاستیکی گلدان ها، به‌ترتیب ۲۳^۵C و ۶۹% اندازه‌گیری گردید، هر چند میزان رطوبت در زیر پوشش‌های پلاستیکی در حد اشباع بود. دو تا پنج روز پس از مایه‌زنی نهال‌ها، برگ تعدادی از گلدان‌ها به‌طورتصادفی جمع‌آوری و جهت ردیابی کنیدیوم‌های جوانه زده در بافت برگ، به آزمایشگاه منتقل گردید. درآزمایشگاه، برگ‌ها به‌مدت ۲۰-۱۶ ساعت در محلول اتانول- اسیداستیک (به نسبت حجمی۱:۱) قرار گرفته و سپس در لاکتوفنل کاملا شفاف شدند (Cline & Neely 1983). دیسک‌های بافتی از برگ تهیه و پس از رنگ آمیزی با محلول آبی پنبه (Cotton Blue)، ردیابی اسپورها غالبا در بافت رگبرگ اصلی گیاه، توسط میکروسکوپ نوری انجام شد. متوسط درجه حرارت و رطوبت گلخانه پس از حذف پوشش‌های پلاستیکی تا ظهور علائم به‌ترتیب ۲۲/۹^۵C و ۷۳% اندازه‌گیری و ثبت گردید.

د- روش ارزیابی آلودگی

بیست و هفت روز پس از مایه‌زنی، با پیشرفت علائم بیماری روی برگ‌ها، ثبت و یادداشت برداری علائم روی آنها انجام شد. جهت بررسی میزان آلودگی فاکتورهای مختلفی اندازه‌گیری شدند. این فاکتورها شامل: تعداد کل برگچه در هر گیاه، طول و عرض هر برگچه، تعداد لکه در برگچه‌های آلوده، متوسط قطر لکه و وجود یا عدم وجود آسرووول بر روی برگ‌ها بودند. هم‌چنین با برآورد مساحت برگ و مساحت آلودگی، درصد بافت آلوده در هر گیاه نیز تعیین گردید. در این آزمایش‌ها، برگچه‌ها از نظر موقعیت و محل قرار گیری آنها روی برگ (از برگچه انتهایی به‌سمت برگچه‌های تحتانی) علامت گذاری شدند تا وضعیت و روند آلودگی در آنها مورد مطالعه قرار گیرد.

نتایج و بحث

الف- جداسازی نمونه‌های قارچی

در این تحقیق از بافت‌های آلوده گردو، در مجموع تعداد ۴۵ جدایه قارچ *Gnomonia leptostyla* جداسازی و براساس خصوصیات ماکروسکوپی و ویژگی‌های میکروسکوپی شناسایی گردید (Alexopoulus *et al.* 1996) (جدول۱). توزیع جغرافیایی مکان‌های جمع‌آوری قارچ در اکثر نقاط گردوخیز کشور، بیانگر آن است که در اغلب مناطق گردو کاری ایران موقعیت مناسبی برای گسترش بیماری وجود دارد.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۱. مشخصات جدایه‌های قارچ *Gnomonia leptostyla* جمع‌آوری شده از مناطق مختلف گردوکاری ایران در سال‌های۸۶-۸۴

Table 1. Characteristics of collected isolates of *Gnomonia leptostyla* from different areas in Iran in 2005-2007

ردیف Serial	نام جدایه Isolate	محل نمونه برداری Place of collection	تاریخ نمونه برداری Date of collection
1	LA	تهران- لواسان (Tehran, Lavasan)	84/4/20
2	F1	تاکستان- فارسجین (Takestan, Farsijin)	85/4/14
3	F2	تاکستان- فارسجین (Takestan, Farsijin)	85/4/14
4	F3	تاکستان- فارسجین (Takestan, Farsijin)	85/4/14
5	Z1	تاکستان- ضیاآباد (Takestan, Ziaabad)	85/4/14
6	Z2	تاکستان- ضیاآباد (Takestan, Ziaabad)	85/4/14
7	Z4	تاکستان- ضیاآباد (Takestan, Ziaabad)	85/4/14
8	Z5	تاکستان- ضیاآباد (Takestan, Ziaabad)	85/4/14
9	Z6	تاکستان- ضیاآباد (Takestan, Ziaabad)	85/4/14
10	Z60	زنجان-خرمدره (Zanjan-Khoramdare)	1386
11	TK20	طالقان- کش (Taleghan, Kash)	85/5/4
12	TK 21	طالقان- کش (Taleghan, Kash)	85/5/4
13	TK22	طالقان-کلارود (Taleghan, Kelarood)	85/5/4
14	TS23	طالقان- سوهان (Taleghan, Sohan)	85/5/4
15	TO25	طالقان- اوچان (Taleghan, Oochan)	85/5/4
16	TH26	طالقان- شهراسر (Taleghan, Shahrasar)	85/5/4
17	Lo1	طالقان- لهران (Taleghan, Lohran)	85/5/4
18	Lo2	طالقان- لهران (Taleghan, Lohran)	85/5/4
19	Ar	جاده چالوس- ارنگه (Chaloos, Arangeh)	85/5/8
20	V2*	میانه- ورزقان(Miane, Varzaghan)	85/3/20
21	Kh4*	میانه – کلیبر(Miane, Kalibar)	84/8/2
22	No1*	میانه- کارخانه نوشابه سازی (Miane)	84/7/7
23	M54	میانه- بخش مرکزی (Miane,Markazi)	1386
24	Ar2*	اهر- ارسباران (Ahar, Arasbaran)	84/8/2
25	Mr1*	مراغه- داخل شهر (Maraghe)	84/8/2
26	T63	تاکستان (Takestan)	1386
27	Q40	قزوین(Qazvin)	86/4/2
28	Q57	قزوین(Qazvin)	1386
29	QA41	قزوین- قدیم آباد (Qazvin, Qadimabad)	86/4/2
30	QA42	قزوین- قدیم آباد (Qazvin, Qadimabad)	86/4/2
31	QA43	قزوین- قدیم آباد (Qazvin, Qadimabad)	86/4/2

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۱. (ادامه)

Table 1. (continued)

ردیف Serial	نام جدایه Isolate	محل نمونه برداری Place of collection	تاریخ نمونه برداری Date of collection
32	QA44	قزوین - جمال آباد (Qazvin, Jamalabad)	86/4/2
33	T56	تویسرکان (Touyserkan)	1386
34	K 01	کرج - ایستگاه کمالشهر (Karaj, Kamalshahr)	86/5/3
35	K 02	کرج - ایستگاه کمالشهر (Karaj, Kamalshahr)	86/5/3
36	T50	تبریز - خسرو شهر (Tabriz, Khosroshahr)	1386
37	MA51	مرند - روستای اردکلو (Marand, Ordaklo)	1386
38	MA52	مرند - دیرج علیا (Marand, Diraj e olya)	1386
39	MA58	مرند - بخش مرکزی (Marand, Markazi)	1386
40	SH53*	شبستر، صوفیان (Shabestar,Sofian)	86/3/7
41	J55	جلفا (Jolfa)	1386
42	P59	پارس آباد مغان (Parsabad e Moghan)	1386
43	A61	اردبیل - گرمی (Ardebil, Garmi)	86/4/20
44	B62	بوکان - شاهین دژ (Bokan, Shahindej)	1386
45	SA64	ساری - پهنه کلا (Sari, Pahnekola)	86/5/20

* این جدایه‌ها توسط آقای سیامک صلاحی جمع آوری شده‌اند.

*These isolates have been collected by Mr Siamak Salahi.

ب - مشخصات *G. leptostyla*

سه روز پس از کشت نمو نه‌ها در محیط CM و ۵ روز پس از کشت در محیط OMA، پرگنه قارچ عامل بیماری بر روی محیط ظاهر گردید. درجه حرارت مناسب برای تولید آسروول و اسپورهای غیرجنسی قارچ ۲۶ °C - ۲۱ گزارش شده است (Matteoni & Neely 1979). *بلیساریو* (Belisario *et al.* 2008) امکان تشکیل کنیدیوم در داخل آسروول را ۲۱ روز پس از کشت در تاریکی و دمای ۲۲°C بیان نموده است. بر طبق گزارش او تشکیل کنیدیوم در حرارت‌های ۱۰، ۱۵ و ۳۰ °C امکان‌پذیر نمی‌باشد. براساس تحقیقات انجام گرفته دوره‌های نوری طولانی‌تر، اسپورزایی قارچ را تسریع می‌کند. اما رشد رویشی مطلوب این قارچ در تاریکی و دامنه حرارتی ۲۶ °C - ۱۸ رخ می‌دهد (Matteoni & Neely 1979).

در این مطالعه نیز دمای ۱ ± ۲۱ °C، ۱۸ ساعت نور و ۶ ساعت تاریکی برای اسپوزایی غیرجنسی قارچ، مطلوب شناخته شد. هم‌چنین جدایه‌های قارچ، در تاریکی و دمای ۱ ± ۲۴ °C از رشد رویشی مناسبی برخوردار بودند. اما به‌طور کلی میزان رشد رویشی قارچ در محیط OMA بسیار کند بود، به گونه‌ای که ۸ روز پس از کشت نمونه‌های برگی آلوده در تاریکی و دمای ۱ ± ۲۴ °C، متوسط قطر پرگنه قارچ (در۳ تکرار) در محیط CM، ۴/۷ سانتیمتر و در محیط OMA، ۱/۵ سانتی‌متر اندازه گیری شد. پرگنه قارچ در محیط OMA پس از تولید میسلیوم هوایی سفید رنگ، رنگدانه‌های کرم متمایل به قهوه‌ای تیره در داخل آگار ایجاد نمود. سطح زیرین پرگنه به‌تدریج قهوه‌ای تیره

Archive of SID

www.SID.ir

و ۲۱-۱۸ روز پس از کشت، به‌تدریج آسروول‌ها در داخل آگار تشکیل شدند. در محیط CM، قارچ از رشد ظریف، گسترده و بدون میسلیوم هوایی برخوردار بود. در این محیط اندام‌های باردهی غیرجنسی (آسروول‌ها)، ۹ روز پس از کشت در سطح زیرین پرگنه قابل رویت بودند(شکل ۱).

اسلاید میکروسکوپی تهیه شده از این اندامها، ماکروکنیدیوم‌های شفاف، بی‌رنگ، داسی شکل، کمی خمیده، دوسلولی (با سلول انتها یی کمی بزرگ‌تر از سلول پایه) به ابعاد ۷-۳ × ۲۳-۱۹ میکرومتر را نشان داد. آسروول علاوه بر ماکروکنیدیوم، حاوی میکروکنیدیوم‌های تک خانه‌ای نیز بود. اندازه این کنیدی‌ها ۱/۷-۱/۵× ۱۱-۴ میکرومتر بود. در برخی موارد نگه‌داری جدایه‌ها در دماهای پایین تر و در یخچال (۴ °C)، به‌تدریج سبب تشکیل ساختارهای استرومایی متراکم، قهوه‌ای تیره تا سیاه رنگ و شبه آسروول در داخل آگار شد. این اندام‌ها مملو از میکروکنیدیوم‌های تک سلولی، شفاف، میله‌ای شکل با دیواره نازک بودند که قدرت جوانه‌زنی نداشته و قادر به ایجاد آلودگی روی دانهال‌های گردو نبودند (شکل ۲). با توجه به تشکیل این نوع از کنیدیوم‌های قارچ در دماهای پایین، به‌نظر می‌رسد در شرایط طبیعی نیز تولید این نوع از اسپورها در برگ‌های زمستان‌گذران گردو انجام گرفته و لذا ممکن است میکروکنیدیوم‌ها نقش گامت نر (Spermatia) را در پدیده تولید مثل جنسی قارچ بر عهده داشته باشند (Matteoni & Neely 1979, Belisario *et al*. 2008).

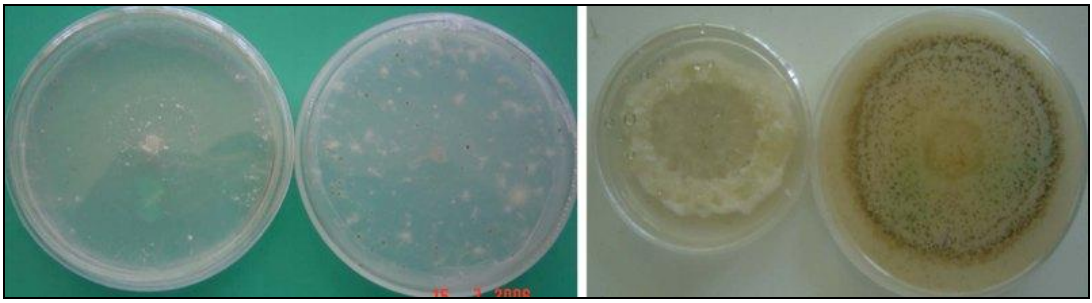
ج- تشکیل فرم جنسی قارچ در آزمایشگاه

هر چند محققین وجود برخی جدایه‌های هموتال *G. leptostyla* را از برخی مناطق گردوکاری گزارش نموده‌اند (Belisario *et al*. 2008)، اما گزارش‌های مختلف بیانگر آن است که این قارچ هتروتال دو قطبی می‌باشد (Fayret 1970, Matteoni & Neely 1979). در این تحقیق نیز کلیه جدایه‌های تک اسپور شده، خود عقیم (Self sterile) بوده و پس از گذشت زمان طولانی، نگه‌داری در ۴°C و تاریکی مطلق، اندام‌های تولید مثل جنسی بارور در آنها مشاهده نشد. این نتیجه با نتایج *متئونی و نیلی*(Matteoni & Neely 1979) تطابق کامل دارد. این محققین در مطالعات خود دریافتند که برخی عوامل از جمله دمای کم (۱۰°C) و تاریکی بر تشکیل پریتس در *G. leptostyla* تأثیر بسزایی دارد. به‌علاوه تمام کشت‌های خالص عقیم بوده و تلاقی داخل پرگنه‌های قارچ قادر به تولید اندام جنسی بارور نبودند. آنها از تلاقی تیپ‌های سازگار قارچ(Mating types) در شرایط آزمایشگاهی، به پریتس بارور حاوی آسک و آسکوسپور، دسترسی پیدا نمودند. در مطالعه حاضر نیز حدود ۹۰-۷۵ روز پس از نگه‌داری مخلوطی از جدایه‌های خالص شده در یخچال (دمای ۶ °C-۴) و در تاریکی مطلق، به‌تدریج اندام‌های تولید مثل جنسی قارچ (پریتسیوم) روی سطح محیط کشت ظاهر شدند (شکل ۳). این موضوع ضمن تأیید هتروتالیسم در جدایه‌های قارچی جمع‌آوری شده، اثر بازدارندگی نور را در تشکیل پریتس به اثبات رساند. در طبیعت نیز تشکیل اندام‌های جنسی در طول فصل سرما و بر روی برگ‌های ریزش یافته در پای درختان مؤید همین نکته است. از سوی دیگر وجود همزمان هتروتالیسم و هموتالیسم در برخی گونه‌های قارچ از جمله در گونه *Glomerella cingulata* و نیز در جمعیت ایتالیایی *G. leptostyla* به اثبات رسیده است (Belisario *et al*. 2008). از این رو احتمال وجود جمعیت هموتال در بین جدایه‌های *G. leptostyla* در مناطق گردوکاری ایران نیز وجود دارد.

در این مطالعه نیز، پریتسیوم‌ها به رنگ تیره، اغلب به‌صورت انفرادی (و گاه دسته ای) و نیمه افراشته روی سطح آگار مشخص بودند (شکل ۱-۳). میانگین قطر پریتس بالغ ۴۸۰ میکرومتر تعیین گردید. تهیه اسلاید میکروسکوپی از این اندام‌ها، حضور آسک‌های بیضوی به ابعاد ۱۶-۸ × ۶۵-۴۷ میکرومتر، حاوی ۸ عدد آسکوسپور شفاف، دوکی شکل و دوسلولی (با ابعاد ۵-۲/۵ × ۱۹-۱۵ میکرومتر) را در آنها به اثبات رساند (شکل ۲-۳ و ۳-۳). آسکوسپورها ۲۴-۱۸ ساعت پس از قرار گیری در محیط WA

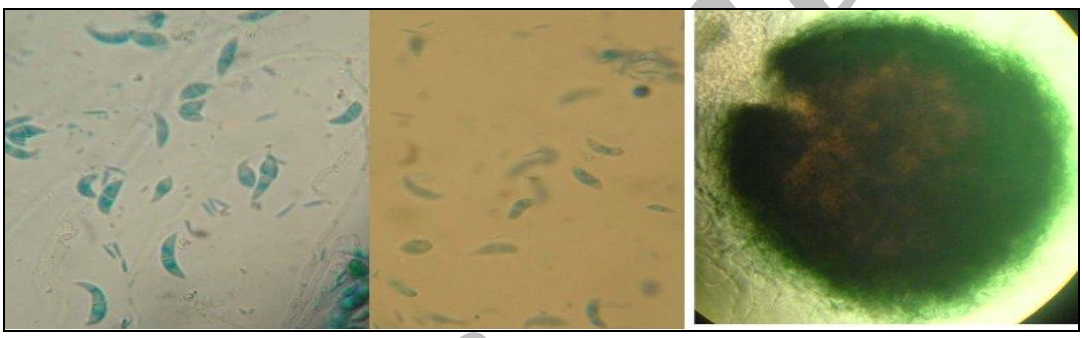
Archive of SID

www.SID.ir



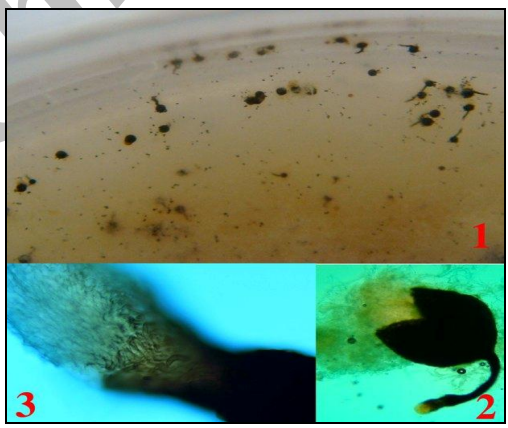
شکل۱. سطح زیرین و رویی کشت یک ماهه قارچ *Gnomonia leptostyla* روی محیط‌های غذایی OMA (راست) و CM (چپ).

Fig. 1. Under view and upper view of one month culture *Gnomonia leptostyla* on OMA(right) and CM(left) media.



شکل۲. ساختارهای زیر سطحی و تیره رنگ شبه آسروول(راست)، کنیدیوم‌ها و میکرو کنیدیوم های(چپ) *Gnomonia leptostyla* (٤٠X).

Fig. 2. Carbonaceous, subsuperfacial structures resembling acervuli(right); Conidia and microconidia(left) in *Gnomonia leptostyla* (40x).



شکل۳. پریتسیوم‌های نیمه افراشته در سطح آگار(۱)، پریتسیوم باز شده با گردن بلند (۲) و خروج آسک و آسکوسپورها از گردن پریتسیوم (۳) در *Gnomonia leptostyla*.

Fig. 3. Semi-ariisen perithecia on the agar surface(1), perithecia with long neck(2) and discharge of asci and ascospores from perithecia neck(3) in *Gnomonia leptostyla*

Archive of SID

www.SID.ir

دو درصد و در ۱°C ±۲۱ قادر به جوانه‌زنی بودند. طول گردن پریتس، گاه تا ۳۰۰ میکرومتر نیز اندازه‌گیری شد. بلیساریو(Belisario *et al.* 2008) در مطالعات خود نشان داده است که قطر آسکوکارپ تشکیل شده در محیط‌های آزمایشگاهی (In vitro) و نیز قطر کلیه اندام‌های داخل پریتس بارور (به جز گردن آسکوکارپ) به مراتب بزرگ‌تر از اندام‌های مشابه به‌وجود آمده در شرایط طبیعی است. بلندتر بودن طول گردن آسکوکارپ در شرایط طبیعی، یکی از راه‌هایی است که سبب سهولت آزادی آسکوسپورها در اوائل بهار می‌شود.

د- بررسی قدرت بیماری‌زایی جدایه‌ها و تعیین ارتباط موقعیت برگ با بیماری‌زایی

اولین علائم ماکروسکوپی ۱۶ روز پس از مایه‌زنی به‌صورت نقاط ریز قهوه‌ای رنگ با حاشیه سفید- خاکستری و در سطح زیرین برگ‌ها نمایان شد (شکل۴). لکه‌ها به‌تدریج گسترش یافته، گاهی به همدیگر متصل و به‌تدریج به‌صورت نقاط نکروز بزرگی در آمدند. بیست و چهار روز پس از مایه‌زنی، اندام‌های تولید مثل غیرجنسی قارچ در سطح لکه‌ها ظاهر شدند. جداسازی مجدد عامل بیماری و وجود کنیدیوم‌های داسی شکل، دوسلولی و شفاف، حضور قارچ را در بافت‌های آلوده تأیید نمود. در گلدان‌های شاهد علائمی از بیماری مشاهده نگردید. قارچ‌های مولد آنتراکنوز عمدتاً در پاسخ به توکسین‌های سلولی یا ترکیبات دیواره سلولی گیاه، هیف‌های زیر کوتیکولی ایجاد می‌کنند. این هیف‌ها در ارتباط با سلول‌های اپیدرمی رگبرگ گیاه بوده و حضور آنها در سلول‌های اپیدرمی بین رگبرگی هرگز دیده نشده است. تشکیل این نوع از هیف‌ها همواره با مرحله کمون بیماری (latent) همراه است. به‌عبارت دیگر ساخت هیف‌های زیر کوتیکولی توسط قارچ‌های مولد آنتراکنوز، از نفوذ سریع این قارچ‌ها به سلول‌های اپیدرمی گیاه ممانعت می‌نماید (Cline & Neely 1983). این موضوع یکی از دلائل عمده برای طولانی بودن دوره کمون و ظهور اولین علائم بیماری روی گیاه است.

کلیه جدایه‌های مورد استفاده در آزمایش‌های بیماری‌زایی قادر به ایجاد لکه و تولید آسروول روی برگ‌های گردو بودند. همان گونه که در جدول شماره ۲ مشخص شده است اثر جدایه‌های مختلف قارچ بر صفات مورد اندازه‌گیری معنی‌دار است. به‌عبارت دیگر بین جدایه‌های قارچ از نظر میزان آلودگی (تعداد لکه و توسعه لکه‌ها) تفاوت وجود دارد. آزمون دانکن، جدایه‌های قارچی را از نظر صفات مختلف در گروه‌های متفاوتی طبقه بندی نمود (جدول ۳). جدایه‌های Kh4 و No1 (جمع‌آوری شده از مناطق مختلف میانه) بیشترین تعداد لکه را روی برگ‌ها ایجاد نمودند. سایر جدایه‌ها از نظر توانایی در ایجاد لکه روی برگ تفاوت معنی‌داری نداشتند. از نظر توسعه لکه روی برگ‌ها، جدایه‌های M54, F3، V2 و QA41 بالاترین بیماری‌زایی را نشان دادند. جدایه‌های Kh4 و No1 اگر چه تعداد لکه زیادی را بر روی برگ‌ها ایجاد نمودند، اما رشد و توسعه لکه‌های به‌وجود آمده در اثر این جدایه‌ها ناچیز بود. به‌نظر می‌رسد اندازه لکه‌های ایجاد شده توسط قارچ، معیاری برای قدرت تهاجم آنها باشد. بر این اساس جدایه‌های Kh4 و No1 که سبب تشکیل لکه‌های کوچک تری بر روی برگ شدند، از قدرت تهاجم کمتری نیز برخوردار بودند.

تجزیه و تحلیل نتایج مربوط به درصد آلودگی برگ‌ها ۲۷ روز پس از مایه‌زنی، مشخص نمود که جدایه V2 با بیشترین درصد آلودگی (۲۶/۸%) حداکثر بیماری‌زایی را در میان جدایه‌های مختلف داشته است (جداول ۳ و ۴). جدایه‌های No1 و Kh4 نیز به‌ترتیب ۱۵ و ۱۰/۷ درصد آلودگی را ایجاد نمودند. به این ترتیب جدایه‌های V2، F3 ، QA41 و M54 در مجموع صفات اندازه‌گیری شده به‌عنوان بیماری‌زاترین جدایه‌ها انتخاب گردیدند. جدایه Ar با ۰/۲۴ درصد آلودگی، کمترین بیماری‌زایی را بر روی گیاهان ایجاد نمود. شدت آلودگی در تعدادی از نهال‌ها بسیار زیاد بود. به گونه‌ای که حدود دوماه پس از مایه‌زنی، آسروول‌ها تمام سطح برگ‌ها را فرا گرفته و وقوع آلودگی شدید، باعث ریزش برگ‌ها گردید. گلدان‌های شاهد علائمی از آلودگی را نشان ندادند (شکل ۴-۳ و ۴-۴).

Archive of SID

www.SID.ir

شکل٤، ظهور لکه‌های مرده در سطح برگ ها(۱)، گسترش لکه‌ها و ظهور آسروول ها(۲)، توسعه آلودگی ناشی از جدایه مهاجم Gnomonia leptostyla (V2) یک ماه و نیم پس از مایه زنی (۳) در مقایسه با شاهد (٤).

Fig. 4. Necrosis spots on leaves(1), Expasion of spots and appearance of acervuli(2), Further expansion of infection by aggressive isolate(V2) of *Gnomonia leptostyla* 1.5 months after inoculation(3) in comparison with control (4).

جدول۲. نتایج تجزیه واریانس تعداد لکه، قطر لکه، شاخص آلودگی، مساحت برگ و درصد آلودگی در جدایه‌های مختلف *Gnomonia leptostyla*

Table 2. Variance analysis of number of spots, diameter of spots, index of infection and infection percent of different isolates of *Gnomonia leptostyla*

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات MS			
S.O.V	df	تعداد لکه Number of Leaf Spots	قطر لکه Diameter of Spot	شاخص آلودگی Infection Index	درصد آلودگی Infection Percent
جدایه قارچ Isolate	14	47.9**	0.13**	0.29*	3.7*
خطا Error	29	11.4	0.04	0.12	1.38
کل Total	43				

در این مطالعه کلیه جدایه‌های مورد بررسی هتروتال بوده و جدایه‌های مناطق مختلف از قدرت بیماری‌زایی متفاوتی برخوردار بودند. صلاحی (Salahi *et al*. 2007) در بررسی تنوع ژنتیکی جدایه‌های *G. leptostyla* در استان آذربایجان شرقی نیز اختلاف معنی‌دار جدایه‌های قارچ را از نظر بیماری‌زایی نشان داد. وجود تنوع بیماری‌زایی در جمعیت *G. leptostyla* احتمالا متاثر از شرایط و ویژگی‌های اقلیمی محل جمع‌آوری جدایه‌ها نظیر ارتفاع، دما، رطوبت و تعداد روزهای بارانی می‌باشد (Belisario *et al*. 2008). هم‌چنین ضرورت وجود دو جفت سازگار در تولید مثل جنسی قارچ‌های هتروتال، پتانسیل تغییر پذیری را در این قارچ‌ها افزایش داده است (Glass & Kuldau 1992). تنوع ژنتیکی بالا در جمعیت قارچ‌ها

Archive of SID

www.SID.ir

جدول۳. مقایسه میانگین تعداد لکه، قطر لکه، شاخص آلودگی و درصد آلودگی در جدایه‌های مختلف *Gnomonia leptostyla*

Table 3. Mean comparison of number of spots, diameter of spots, indices of infection and infection percent in different isolates of *Gnomonia leptostyla*

جدایه قارچ Isolate	تعداد لکه Number of Spots	قطر لکه Diameter of Spots	شاخص آلودگی Indices of Infection	درصد آلودگی Infection Percent
Kh4	13.8a	0.15c	0.25a	10.7abcde
No1	13.2a	0.44abc	2.32a	15.1abcde
V2	5.1b	0.6ab	2.9a	26.8a
LA	4.9b	0.36abc	1.65a	5.2bcde
Lo1	3.8b	0.38abc	1.32a	14.8abcde
SH53	2.9b	0.2c	0.21a	4.1cde
J55	2.6b	0.39abc	1.82a	16.9bcde
K 01	2.5b	0.12c	0.21a	1.42e
M54	2.4b	0.74a	2.5a	19.6abcd
MA 58	2.3b	0.17c	0.11a	2.1de
F3	2b	0.67ab	1.37a	22ab
QA41	1.6b	0.59ab	0.58a	20.7abc
Ar	1.59b	0.04c	0.01a	0.24e
SA64	1.33b	0.28bc	0.32a	4.1cde
Z60	1.23b	0.37abc	0.8a	5.56bcde

- میانگین‌ها در هر ستون با حروف مختلف، در سطح احتمال آماری ۱% دارای اختلاف معنی دار می‌باشند.

The means with different letters in each column are significantly different at %1 statistical level(DMRT).

جدول٤. میانگین، حداقل، حداکثر و اشتباه استاندارد میانگین صفات مختلف در دانهال‌های گردو

Table 4. Mean, Minimum, Maximum and Standard error of mean of different traits in walnut seedlings

اشتباه استاندارد میانگین Standard Error of Mean	حداکثر Max	حداقل Min	میانگین Mean	
0.1	24.4	0.2	4.08	تعداد لکه No spot
0.005	1.16	0.02	0.36	قطر لکه Diameter of spot(cm)
0.03	7.85	2.22	4.42	طول برگچه Leaflet length (cm)
0.015	4.1	0.86	2.13	عرض برگچه Leaflet width (cm)
0.034	6.59	0.001	1.05	شاخص آلودگی infection Index
0.135	29.18	2.11	9.12	سطح برگ Leaf area
0.24	34.15	0.06	10.26	درصد آلودگی Infection percent

ارتباط بیمارگر با میزبان را تا حد زیادی تحت تأثیر قرار می‌دهد. تنوع پذیری ژنتیکی برای قارچ‌ها این امکان را فراهم می‌سازد که به‌راحتی با تغییر شرایط محیطی و یا معرفی ژنوتیپ‌های جدید با میزبان خود سازگار شوند. *بلیساریو* و هوبز (Belisario & Hubbes 1997) در بررسی تنوع ژنتیکی جدایه‌های مختلف *G. leptostyla* با کمک روش PCR-RFLP، الگوی باندی یکسانی را برای کلیه جدایه‌ها به‌دست آوردند. تجزیه و تحلیل ساختار جمعیتی *G. leptostyla*

www.SID.ir

جدول۵. درصد آب، وزن مخصوص تر، وزن مخصوص خشک و درصد آلودگی در برگچه‌های انتهایی، فوقانی، میانی و تحتانی

Table. 5. Water percent, leaf specific fresh weight, leaf specific dry weight and infection percent of terminal, upper, middle and bottom leaflets

موقعیت برگچه روی برگ leaflet Position on leaf	درصد آب Water percent	SD	وزن مخصوص تر برگ Leaf specific fresh weight	SD	وزن مخصوص خشک برگ leaf specific dry weight	SD	درصد آلودگی Infection percent
برگچه انتهایی Terminal Leaflet	77.82	± 0.44	95.29	± 2.26	21.28	±0.83	18.26
برگچه‌های فوقانی Upper Leaflets	78.48	± 0.28	87.15	± 1.15	18.86	±0.46	8.51
برگچه‌های میانی Middle Leaflets	76.82	± 0.23	82.63	± 1	19.38	±0.41	4.81
برگچه‌های تحتانی Bottom Leaflets	75.15	± 0.54	77.7	± 1.2	19.7	±0.66	5.4

براساس انگشت نگاری DNA و با استفاده از روش PCR-RFLP در استان آذربایجان شرقی نیز نشان داد که هیچ اختلافی در الگوی باندی جدایه‌ها وجود نداشته و آرایش باندی برای جدایه‌های مناطق مختلف این استان یکسان می‌باشد (Salahi *et al*. 2007). هر چند مطالعات اندکی در خصوص تنوع بیماری‌زایی *G. leptostyla* در دنیا انجام شده است، اما پایداری زیاد و یک‌نواختی سطح DNA ریبوزومی (rDNA) در این قارچ(Belisario & Hubbes 1997)، بیانگر این حقیقت است که احتمال رشد و توسعه نژادهای گوناگون در مناطق مختلف گردوکاری ایران بسیار ضعیف است. با این وجود ضرورت انجام مطالعات بیشتر در خصوص اپیدمیولوژی و دینامیک جمعیت قارچ در سایر مناطق توسعه بیماری آنتراکنوز در کشور وجود دارد.

به‌منظور بررسی تأثیر موقعیت برگچه بر بیماری‌زایی، اقدام به اندازه گیری درصد آب، مساحت برگچه و وزن تر و خشک برگچه‌ها گردید. با استفاده از مساحت برگچه‌ها و وزن تر و خشک آنها، وزن مخصوص تر و خشک (به ترتیب از تقسیم وزن تر و خشک برگچه‌ها به مساحت آنها) محاسبه شد. اطلاعات مربوط به درصد آب، وزن مخصوص تر و خشک برگچه انتهایی، برگچه‌های فوقانی، میانی و تحتانی و هم‌چنین درصد آلودگی برگچه‌ها در جدول ۵ نشان داده شده است. همان گونه که در این جدول مشاهده می‌شود وزن مخصوص تر و خشک برگچه‌های انتهایی و فوقانی بیشتر از برگچه‌های میانی و تحتانی بوده است. هم‌چنین میانگین تعداد لکه و توسعه آنها و به دنبال آن درصد آلودگی در برگچه‌های انتهایی و فوقانی بیشتر از برگچه‌های میانی و تحتانی می‌باشد. محاسبه ضرایب هم‌بستگی ساده بین خصوصیات برگ و صفات مربوط به بیماری‌زایی جدایه‌ها (تعداد لکه، عرض لکه، شاخص و درصد آلودگی) نیز نشان داد که بین وزن مخصوص تر برگ و تعداد لکه ایجاد شده و نیز قطر لکه‌های تشکیل شده در اثر مایه زنی قارچ، هم‌بستگی مثبت و معنی داری وجود دارد(به ترتیب r^2= 0.94, 0.8)(جدول ۶). بنابراین وجود بالاترین ضریب هم‌بستگی تعداد لکه با شاخص وزن مخصوص تر برگ، نمایانگر آن است که احتمالا اختلاف در میزان آلودگی برگچه‌ها تا حد زیادی مربوط به درصد آب متفاوت آنها از برگچه انتهایی به برگچه‌های زیرین باشد. براساس بررسی‌های انجام شده به‌نظرمی‌رسد وجود بیشترین درصد آب در برگچه‌های انتهایی هر برگ، سبب افزایش میزان تردی بافت برگچه شده و این امر نفوذ و جوانه زنی اسپور قارچ را با سهولت بیشتری امکان پذیر می‌سازد. به این ترتیب برگچه‌های انتهایی، به‌خصوص برگچه فوقانی در هر برگ، به‌عنوان حساس‌ترین برگچه‌ها در برابر قارچ عامل بیماری لکه سیاه گردو شناسایی شدند. سهولت استقرار و جوانه‌زنی اسپور قارچ در برگچه انتهایی، می‌تواند در آزمون‌های گلخانه‌ای و برای ارزیابی

Archive of SID

www.SID.ir

جدول٦. هم‌بستگی بین تعداد لکه، قطر لکه، شاخص آلودگی و درصد آلودگی به *Gnomonia leptostyla* با خصوصیات برگ (درصد آب، وزن مخصوص تر و وزن مخصوص خشک)

Table .6. Correlation between number of spots, diameter of spots, indices of infection and percent of infection to *Gnomonia leptostyla* with leaf characteristics(Water percent, leaf specific fresh weights and leaf specific dry weights)

	تعداد لکه No. of spot	قطر لکه Diameter of spot	شاخص آلودگی Index of infection	درصد آلودگی Infection percent	درصد آب Water percent	وزن مخصوص تر برگ Leaf specific fresh weights	وزن مخصوص خشک برگ leaf specific dry weights
تعداد لکه No spots							
قطر لکه Diameter of spots	0.86*	-					
شاخص آلودگی Index of infection	0.95**	0.44*	-				
درصد آلودگی Infection percent	0.86*	0.91**	0.91**	-			
درصد آب Water percent	0.48	0.22	0.35	0.15	-		
وزن مخصوص تر برگ Leaf specific fresh weights	0.94**	0.8*	0.86*	0.72	0.63	-	
وزن مخصوص خشک برگ leaf specific dry weights	0.48	0.61	0.55	0.62	-0.5	0.35	-

رفتار کلی گیاه در برابر بیماری آنتراکنوز مورد استفاده محققین قرار گیرد. *کلاین* و *نیلی*(Cline & Neely, 1983) معتقدند اطلاعات مرتبط با استقرار و توسعه قارچ در برگ‌های گردو می‌تواند راهنمای خوبی برای بیماری شناسان در برنامه‌های مقاومت به بیماری بوده و بعلاوه آنان را در تفسیر موفقیت و یا عدم موفقیت روش‌های کنترل یاری رساند.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله نگارندگان از سرکار خانم آفاق فرهادنژاد به جهت همکاری صمیمانه در مراحل مختلف اجرای آزمایشات تشکر و قدردانی به‌عمل می‌آورند.

منابع

جهت ملاحظه به صفحات (10-9) متن انگلیسی مراجع شود.

Archive of SID

www.SID.ir