

جهت خرید فایل word به سایت [www.kandoo.cn.com](http://www.kandoo.cn.com) مراجعه کنید  
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۶۶۴۱۲۶۰-۰۵۱۱ تماس حاصل نمایید

موضوع:

کشت گردو و موانع پیش رو

گردوی معمولی (*Juglans regia* L.) متعلق به خانواده Juglandaceae و سطح زیر کشت آن در ایران حدود ۱۰۹۸۱۰/۶۲ هکتار بوده و سالیانه بطور متوسط ۱۶۸۰۷۲/۶۰ تن گردو از درختان بارور در ایران برداشت می‌گردد. گردو بخاطر نقشی که در تغذیه، درآمد ناشی از صادرات در اقتصاد و کشاورزی دارد در ایران و جهان از اهمیت ویژه ای برخوردار است.

تاکنون عوامل بیماری‌زای مختلفی از جمله قارچها، باکتری‌ها و بیماری‌های ناشی از عوامل محیطی (غیرزنده) از ایران گزارش شده است. بیماری شانکو سیتو سپورایی گردو از اولین بیماری‌هایی است که در گردو و مورد توجه قرار گرفته و در بعضی مناطق مهم کاشت گردو گزارش و مورد شناسایی قرار گرفته است. در گذشته کاشت گردو بطور وسیع در ایران محدود به چند استان غربی کشور بوده ولی در سالهای اخیر در اکثر مناطق ایران کاشت گردو بخصوص ارقام جدید توسعه زیادی پیدا نموده که پیرو آن مسائل مهمی از نظر بیماری‌شناسی گیاهی مشهور گردیده است. یکی از این بیماری‌ها شانکوسیتو سپورایی است که هم‌اکنون در اکثر مناطق کاشت گردو در ایران هم روی درختان بالغ و جوان و حتی در نهالستانها بطور گسترده شیوع پیدا کرده است. اگر چه در مناطق محدودی از کشور چندین گونه به عنوان عامل این بیماری شناسایی و گزارش گردیده ولی در مورد گونه‌های مهم روی گردو در سایر مناطق ایران گزارش دقیقی در دست نیست.

با توجه به اهمیت روزافزون گردو به عنوان یک محصول ارزشمند از نظر غذایی و اقتصادی و ضرورت شناسایی گونه‌های مهم از نظر بیماری‌شنای گیاهی این طرح تحقیقاتی با هدف شناسایی گونه‌های شبه جنس سیتوسپورا مولد بیماری شانکر سیتوسپورایی گردو در ایران پیشنهاد گردیده است.

## ۲- خصوصیات گیاه‌شناسی گردو

گردو با نام علمی *Juglans regia* از خانواده *Juglandaceae* می‌باشد که آنرا بومی نواحی آسیای غربی و هیمالیا نام بوده‌اند. در ایران در جنگل‌های شمال از آستارا تا گلی داغ، از جلگه و ساحل تا ارتفاع ۱۵۰۰ متر از سطح دریا انتشار داشته و بطور پراکنده یا کم و بیش انبوه در جنگلها دیده می‌شود. همچنین در جنگلهای غرب و در راه سنندج به مریوان بطور خودرو مشاهده می‌گردد. گردو از درختانی است که بواسطه چوب و دانه خود مورد توجه قدیمیان بوده و سالیان و قرون متمادی بدست بدست بشر و حتی پرندگان تکثیر و در نقاط مختلف دنیا انتشار یافته است. از این جهت اظهار نظر درباره بومی بودن آن در ایران ساده نیست.

گیاهی است یک پایه و خزان‌دار که ارتفاع آن از ۱۰ تا ۲۵ متر متغیر و دارای برگهای مرکب شانه‌ای است. ریشه گردو محوری و عمیق بوده و نیاز به خاکی با سنگینی متوسط دارد. تکثیر گردو از طریق کاشت بذر و پیوند زدن انجام می‌شود ولی در ایران اکثر درختان گردو و غیر پیوندی هستند.

در جنس Juglans حدود ۱۵ گونه مختلف وجود دارد. انواع این درخت در چین، ژاپن، فرانسه و آمریکا کشت می شود. مهمترین گردوهای موجود در دنیا معروف به گردوی ایرانی است زیرا ابتدا از ایران به سایر کشورهای خاورمیانه و از آنجا به یونان و روم و انگلستان و سپس به آمریکا انتقال یافته است.

هر چند گردوهایی که در مناطق مختلف ایران کاشته می شوند از گونه گردوی معمولی (J-refia) هستند ولی با توجه به اختلاف های باغبانی در نقاط مختلفی ایران به نامهای متفاوتی مانند گردوی کاغذی، سنگی، ماکویی، سوزنی، نوک کلاغی، ضیاء آبادی، خوشه ای، نبرداری و . . . شناخته می شوند.

### ۳- اهمیت و گسترش قارچهای شبه جنس Cytospora

قارچهای شبه جنس Cytospora پراکندگی جهانی داشته و بیشتر گونه های آن روی میزبانهای چوبی و درختی دیده می شوند که بیماری های ناشی از آنها بنام Cytospor conker معروفند که در ایران بخاطر رنگ فتیلۀ حاصل از فعالیت اسپورزایی این قارچها بنام بیماری فتيله نارنجی معروف گشته است گر چه الزاماً همه گونه ها فتيله تولید نمی کنند.

در گذشته تصور بیشتر کارشناسان بیماری های گیاهی بر این بود که قارچهای این شبه جنس گذر رو یا پارازیت های ضعیف و درجه دو بوده و اهمیت زیادی برای بیماری های ناشی از آنها قائل نبودند و باعث می شد که هنگام بازدیدها و مطالعات خود با وجودی که به تکرار به پیکنیدیومها و فتيله های تولید شده توسط قارچ روی

شاخه و تنه‌های خشکیده یا در حال خشک شدن برخورد می‌کردند به آنها توجهی نکرده و دنبال عامل دیگری بعنوان عامل اصلی بگردند و سعی می‌کردند که قارچ دیگری را جداسازی و به عنوان عامل اصلی معرفی کنند و در صورت عدم موفقیت عوامل دیگری مانند شرایط بد خاک، ناسازگاری بین پایه و پیوند یا عدم سازگاری ارقام با شرایط اقلیمی محل را به عنوان عامل احتمالی خشکیدگی درختان بیمار معرفی کرده‌اند. حال آنکه این گروه قارچها می‌توانند بسیار مهاجم بوده و به عنوان عامل اصلی به درختان قوی و سالم و شاداب حمله کرده و آنها را بخشکانند. گاهی در اثر حمله این قارچها روی شاخه‌ها و تنه درختان زخم‌های ویژه‌ای پیدا می‌شود که معمولاً توأم با ترشح صمغ است و به تدریج این شاخه‌ها خشک می‌شود (Cytospora Canker perennial canker) و زمانی هم حمله این قارچها موجب می‌گردد که تمامی درخت در مدت کوتاهی یکباره از پای دربار و خشک شود (Apoplexy). در این حالت سرتاسر تنه و شاخه پوشیده از استرمدای قارچ می‌گردد و فتیله‌های خارج شده از آنها منظره خاصی به درخت می‌دهد.

نکته مهم قابل ذکر این است که اگر چه این قارچها برای ایجاد آلودگی احتیاج به راه نفوذ داروند ولی بعضی از راههای نفوذ همیشه و در همه حال بطور طبیعی روی درخت وجود دارد و دیگر آنکه بین گونه‌های یک قارچ نژادهای متفاوتی هستند که از نظر قدرت مهاجم و بیماریزایی کاملاً با هم متفاوتند. برخی به زحمت از گندروها تمیز



داده می شود و بعضی آنچنان مهاجم هستند که موجبات مرگ آنی درخت را فراهم می سازند.

#### ۴- ویژگی های شبه جنس Cytospora

استرومای قارچهای این شبه جنس که قطر آن معمولاً بین ۲۵ تا ۴ میلی متر تغییر می کند در اپیدرم یا پریدرم اندامهای مورد حمله تشکیل می شود. قسمت بالای استروما که به تدریج رشد می کند ایجاد برجستگی های محدب، گنبدی و یا مخروطی شکلی در سطح میزبان می کند. در مرحله ای ممکن است پریدرم را پاره کند و در این حالت قسمتی از آن از خارج نمایان گردد که به اشکال مختلف قایقی، بیضی، دایره ای و گاهی بدون شکل مشخص بوده و به رنگ های معمولاً چند اتاقک (Chambers) بوجود می آید که به مجموعه این اتاقک ها پیکنیدیوم می گویند. این اتاقک ها بوسیله دیواره یا زوائدی به چند حفره (Loculi) تقسیم می شود. این حفره ها به اشکال مختلف بوده و به سمت بالا باریک می شود. اتاقک های پیکنیدیوم گاهی بطور نامنظم و زمانی منظم و دایره وار اطراف یک حفره مرکزی یا ستونک (Columellu) مستقر می گردند. اتاقک ها در انتها بهم وصل شده و یا بطور مجزا با یک یا چند مجرا به سطح ریسک منتهی می گردد و انتهای آنها به شکل نقطه یا نقاط تیره در متن دیسک دیده می شود که دهانه (Ostiole) نام دارد. در سطح داخلی اتاقک ها و حفره ها کنیدیوفورهای ساده معمولاً نخعی شکل و گاهی منشعب بوجود می آید که در انتهای کنیدیو فورها و یا انشعابات آنها نخعی شکل و گاهی منشعب بوجود می آید که در

انتهای کنیدیوفورها و یا انشعابات آنها کنیدی‌های قارچ به تعداد بی‌شمار تولید می‌شود و غالباً فضای بین حجره‌ها و اتاقها را پر کرده و در محیط مرطوب و شرایط مناسب ماده‌ای ژلاتینی به گونه رشته‌های مارپیچ از راه دهانه پیکنیدیوم در سطح دیسک خارج می‌شود. به این رشته مارپیچ (Tendrils) می‌گویند و رنگ آن سفید، زرد، قرمز یا قهوه‌ای است و این رنگ صفت مشخصه در تشخیص می‌باشد. کنیدیوم‌ها کوچک (۳ تا ۱۰ میکرومتر) کمی خمیده و در دو انتها گرد است (Allantoid) که اصطلاحاً سوسیسی شکل می‌نامند. در قاعدتاً استروما در بعضی گونه‌ها لایه‌ای قهوه‌ای یا تیره دیده می‌شود که سطح استروما را مانند بشقاب یا کوزه‌ای در برگرفته و آنرا از بافت میزبان جدا می‌سازد. این لایه که تا زیر اپیدرم و ندرتاً تا پیرامون دیسک کشیده می‌شود.

کنسپتاکل (Conceptacle) نام دارد.

Sutlon ویژگی‌های جنس Cytospora را این گونه شرح می‌دهد: میسلیوم دیواره‌دار، قهوه‌ای روش تا شفاف، کنیدیوما تا از نوع استروماتیک حقیقی، مجزا، زیراپیدرمی. مخروطی شکل، فرو رفته در بافت میزبان که فقط سر آن بیرون است. به رنگ قهوه‌ای تیره، چند حفره‌ای که حفره‌ها بصورت شعاعی قرار گرفته که به طرف مرکز باریک شده و بوسیله دیواره‌هایی به رنگ قهوه‌ای روشن تا تیره با بافت زاویه‌دار از هم مجزا می‌شوند ولی در منطقه دهانه یا Ostiole به همدیگر می‌پیوندند. سلولهای لایه‌های زیرین، میانی و فوقانی دارای دیواره ضخیم بوده و در منطقه کنیدی‌زایی به سلولهای

کوچک زاویه داری ختم می شوند. کنیدیوفورها شفاف و دیواره دار که در بالا و پایین بطور نامنظم چند شاخه می شود، صاف و اغلب با یک کنیدی انتهایی، سلول های کنیدی زا انتروبلاستیک، فیالیدیک، مجتمع، راست، شفاف، و صاف که گاهی از شاخه های کوچک جانبی بلافاصله زیر دیواره ها جداکننده بوجود می آیند. کنیدی ها در توده های رنگی متفاوتی، گاهی کروی، قطره ای یا فتیله ای تشکیل می شوند. کنیدی های شفاف، یک سلولی با دیواره نازک، صاف و سوسیسی شکل.

گونه های سیتوسپورا اشکال آنامورف جنس *Vulosa* می باشند که گاهی همراه با مرحله آسکومایی دیده می شوند اگر چه بیشتر بصورت جداگانه یافت می شوند. بیش از ۴۰۰ گونه در شبه جنس توصیف شده و تعدادی نیز اشتباهاً در جنس های دیگری مانند *Dendrophoma sau.* آورده شده اند.

۵- بررسی بیماری شانکرسیتو پسورایی یا فتیله نارنجی گردو در ایران:

بهداد عامل بیماری فتیله نارنجی گردو را گونه *Cytosporu Ceratophora* نام برده در کتاب بیماری های گیاهی درختان میوه در ایران گسترش آنرا در شهرهای اصفهان، شهریار و ورامین ذکر کرده است. بیماری های ناشی از گونه های شبه جنس *Cytosporu* از سال ۱۳۵۶ توسط اشکال مورد مطالعه قرار گرفته و در مطالعات خود بیمار شانکر سیتوسپورایی گردو را از استانهای آذربایجان شرقی در شهرستانهای آذرشهر و شبستر و استان آذربایجان غربی در شهرستان اشنوید گزارش و دو



گونه بنام‌های *C. Juglan dicola* و *C. Juglandina* را بعنوان عامل بیماری ذکر کرده

است که فرم جنسی گونه اول را بنام *Valsa iranica* نام‌گذاری نموده است.

همانطور که ذکر گردیده تاکنون سه گونه روی گردو در ایران شناسایی گردیده است

اشکال عقیده دارد که مشخصات قارچ *C. ceratophora* ذکر شده در ایران با قارچ

*C. Juglan dicola* مطابقت داشته و فقط دو گونه *C. Juglan dicola* و *C.*

*Juglandina* را بعنوان عوامل شانکر سیتوسپورایی گردو نام برده که در زیر به شرح

این دو گونه می‌پردازیم.

#### الف: *C. Juglan dicola*

(۱) استروما: استرومای این گونه منفرد، پراکنده و بسیار سطحی است و درست در زیر

اپیدرم مستقر می‌باشد. در سطح شاخه برجستگی ایجاد نمی‌کند و به ندرت روی.

شاخه‌های باریک برآمدگی‌های کوچکی بوجود می‌آورد استروما پس از تشکیل تدریج

بزرگ شده و می‌رسد و در مراحل آخر رسیدگی لایه خارجی پوست به شکل شکاف

یا ترک کوچک پاره می‌شود و گاهی در این محل ریسک خیلی کوچک ظاهر می‌شود

که به رنگ سفید می‌باشد و زمانی بدون تشکیل دیسک کنیدیوم‌های قارچ به شکل

معمولاً قطره و به ندرت فتیله کلانت و کوتاه از یک سوراخ خارج می‌گردد. رنگ

قطره‌های خارج شده از این منافذ نارنجی یا پرتغالی براق و خوش‌رنگ می‌باشد. در

سطح شاخه‌های قطورتر در مراحل آخر خشکیدگی فقط تعداد زیادی از این قطره‌های

خشکیده در برش عرضی از استرومایی که کاملاً نرسیده است چند حفره دیده می‌شود

که با چند جدار نازک و خاکستری کم رنگ از هم جدا شده است. در برش از استروهای کاملاً رسیده این جدارها نیز از بین رفته و فقط یک یا دو اتاقک بزرگ مشهود است که مملو از توده غلیظ کنیدیوم به رنگ زرد عسلی می باشد. در برش عمقی از استروما مقطع آن به شکل مخروط بسیار پخ و یا عدسی شکلی و گاهی بی شکل است و در استرومای کاملاً رسیده تمامی استروما به رنگ زرد عسلی یک پارچه دیده می شود که فقط چند مقطع اتاقک در آن مشهود است. استروما در قسمت تحتانی که با بافتهای پوست می چسبند سطح مشخصی را تشکیل نداده و فاقد کنسپتاکل می باشد.

۲- کنیدیوفور و کنیدیوم: کنیدیوفورها بیشتر ساده و نفی شکل است. انتهای آنها کمی باریک شده و کنیدیها در جهت طول در انتهای آنها مستقر می شود به ندرت کنیدیوفور منشعب نیز در بین آنها دیده می شود. طول آنها از ۲۰-۱۲ میکرومتر تغییر می کند. ولی طول بیشتر آنها ۲۰-۱۸ میکرومتر می باشد.

کنیدیومها کوچک، قطره ای شکل و بی رنگ است. کنیدیهای این گونه کوتاه، کلفت و انحناهای آنها خیلی کم است به طوری که از نیم رخ پهلویی تقریباً شبیه به دانه برنج به نظر می رسد. اندازه آنها بین  $5/8 - 4$  \*  $1/5$  \*  $1/3$  میکرومتر متغیر بوده و متوسط آنها  $4/7 \times 1/3$  میکرون می باشد.

۳- ویژگی های قارچ در محیط کشت کلنی این قارچ در محیط کشت مالت آگار حاشیه منظمی ندارد، هیفهای هوایی زیاد است و این هیفها به کلی حالت مخملی

می دهد و رنگش سفید است. کلنی های مسن پرپشت و حالت پنبه ای دارد. استرومای این قارچ در این محیط کشت یا تشکیل نمی شود و یا به ندرت تعداد کمی بوجود می آید. استرومای این قارچ در این محیط کشت یا تشکیل نمی شود و یا به ندرت تعداد کمی بوجود می آید. استرومای متشکله شکل معینی ندارد و بسیار کم ارتفاع می باشد، کلنی این قارچ در حالت آگار مخلوط با خرده های چوب گردو بسیار پرپشت بوده و حالت پنبه ای و نمدی دارد.

این قارچ روی شاخه های استریل تشکیل پوششی از میسلیم های سفید قارچ که حالت نمدی دارد می دهد و از روز بیستم به بعد استروما هلی آن تشکیل می شود که بعد از رسیدن از هر کدام از آنها یک و گاهی چند فتیله کلفت و به رنگ زرد عسلی براق خارج می شود. ساختمان استروما عیناً شبیه استروماهای تشکیل شده روی نمونه های طبیعی می باشد.

۴- رشد میسلیم در درجه حرارت های مختلف: این قارچ در ۵ درجه سانتی گراد حتی بعد از ۲۱ روز نیز رشد نمی کند، بعد از ۶ روز در ۱۰ درجه سانتی گراد رشد شروع می شود. درجه حرارت مناسب برای رشد آن ۲۵-۳۱ درجه و بیشینه آن ۴۰ درجه سانتی گراد است.

#### ب: *Juglandina*: C

۱- استروما: استروما منفرد و نیمه انبوه بوده بطوری که بیشتر سطح شاخه را می پوشاند. جوشاهای استروما در سطح شاخه برجسته و به اشکال مختلف ولی معمولاً

قایقی شکل است و طول آنها در جهت طول شاخه می باشد. دیسک کوچک و معمولاً قایقی شکل است و طول آنها در جهت طول شاخه می باشد. دیسک کوچک و معمولاً قایقی شکل است و طول آنها در جهت طول شاخه می باشد. دیسک کوچک و معمولاً بیضوی و گاهی دایره ای شکل بوده و رنگ آن تیره می باشد.

روی شاخه های باریک تر به قطر ۷/ تا ۸/ سانتی متر برجستگی های روی شاخه گاهی گنبدی شکل بوده و قطر آنها به حدود ۵/ میلی متر می رسد. بعضی مواقع هم قسمت انتهایی استروما با یک شکاف در جهت عرضی شاخه و به ندرت با چند شکاف کوچک در سطح شاخه نمایان می گردد.

در این گونه در هیچ مورد روی نمونه های طبیعی خروج کنید یوم های قارچ از پیکنیدیوم چه به شکل قطره و چه به شکل فتیله دیده نشده است. در برش عرضی و سطحی از استروما، دایره ای خاکستری دیده می شود که در وسط آن یک سوراخ وجود دارد. در برش کمی عمیق تر مقطع انتهایی اتاقک ها و کانال اصلی خروج اسپورها به شکل سوراخ در وسط و قسمت هایی از اکتواستروما که خاکستری بوده و اطراف سوراخ قرار گرفته مشهود است. در برش عرضی در بخش انتواستروما، مقطع اتاقک های پیکنیدیوم به تعداد ۱۲-۸ عدد دیده می شود که وسیع بوده و تقریباً بیشتر آنها مثلثی شکل است و رأس آنها به سوی داخل قرار گرفته و اتاقک ها دایره وار اطراف مجرای خروجی مستقر می باشد.



شکل استروما مخروطی پخ و به ندرت تقریباً شبیه به نیم کره است و در برش عمقی آن ملاحظه می شود که به دو قسمت تقسیم شده است. اکتواستروما که خاکستری متمایل به تیره است و انتواستروما که اتاقک های پیکنیدیوم در آن مستقر شده و رنگ آن تیره می باشد. اتاقک های پیکنیدیوم در قسمت پایین در یک سطح قرار گرفته اند و همه آنها با یک کانال مشترک به خارج راه پیدا می کند.

۲- کنیدیوفور و کنیدیوم: کنیدیوفورها سطح داخلی اتاقک ها را پوشانده و انبوه و در پایین کاملاً تنگ هم قرار گرفته اند، ساده و نخی شکل بوده ولی در انتها به تدریج باریک می گردند کمی خمیده هستند و طول بیشتر آنها ۲۰-۱۸ میکرومتر می باشد ولی گاهی طول بعضی از آنها به ۳۵-۲۰ میکرومتر نیز می رسد. کنیدیومها قلوهای شکل و بی رنگ هستند. طول آنها از ۶/۵-۴ میکرون تغییر می کند. طول بیشتر آنها بین ۵/۸-۴/۵ میکرون و ابعاد آنها بطور متوسط  $1/3 * 5$  میکرون می باشد.

۳- ویژگی های قارچ در محیط کشت: کلنی این قارچ روی مالت آگار در آغاز کم پشت است ولی بعداً میسلیوم های هوایی زیاد شده و حالت پنبه ای پیدا می کند. رنگ کلنی در تمامی مدت سفید باقی می ماند. استروماهای قارچ به تعداد زیاد در این محیط کشت تشکیل می شود و محتویات آنها شفاف است. استروماهای تشکیل شده در محیط کشت مالت آگار مخلوط با خرده های چوب بزرگ بوده و قطرش به ۵-۴ میلی متر نیز می رسد. در مقطع این استرومای قارچ زیرپوست تشکیل می شود که ساختمان تنها شبیه به استرومای تشکیل شده روی شاخه های درختان در نمونه های

طبیعی است و در هیچ مورد از استروماهای تشکیل شده روی شاخه‌های استریل خروج کنیدیوم‌ها دیده شده است.

۴- رشد میسلیموم در درجه حرارت‌های مختلف: این قارچ در ۵ درجه سانتی‌گراد بعد از ۶ روز کمی رشد می‌کند. درجه حرارت مناسب آن ۲۵-۲۰ درجه سانتی‌گراد و در ۳۴ درجه سانتی‌گراد رشد میسلیموم متوقف می‌گردد.

اختلافات فاحش این دو گونه را به شرح زیر می‌توان خلاصه کرد.

استرومای *C. Juglandina* در سطح شاخه ایجاد برجستگی کرده و محتویات اتاقک‌ها سفید و یا حداکثر سفید متمایل به نارنجی کم رنگ است و در هیچ مورد دیده نشد که چه در نمونه های طبیعی و چه در استروماهای متشکله روی شاخه‌های استریل مایه زنی شده کنیدیوم‌های قارچ از دهانه پیکنیدیوم خارج و تشکیل فتیله یا قطره دهد در صورتی که محتویات استروماهای گونه *C. Juglandina* زرد عسلی و متمایل طلایی بوده و در تمام موارد چه روی شاخه‌های آلوده طبیعی و چه روی شاخه‌های مایه زنی شده کنیدیوم‌ها به شکل قطره عسلی و یا نارنجی طلایی براق از دهانه استروما خارج می‌شود. همچنین استرومای آن روی شاخه‌های آلوده طبیعی معمولاً برجستگی در سطح شاخه ایجاد نمی‌کند.

۲- استرومای گونه *C. Juglandina* در مراحل رسیدگی دیواره اتاقک‌های آن از بین نمی‌رود در صورتی که در گونه *C. Juglandina* دیواره استروما در مراحل رسیدگی

کامل از بین رفته و پیکنیدیوم دارای یک حفره بزرگ کم عمق و مملو از توده غلیظ  
کنیدیوم به رنگ زرد عسلی می باشد.

۳- کنیدیوم های گونه C. Juglandina از کنیدیوم های گونه C. Juglandina بزرگتر  
ولی قطر آنها کمتر و انحنای آنها نیز بیشتر است.

۴- قارچ C. Juglandina در محیط کشت مالت آگار استروماهایی زیاد و تقریباً کروی  
یا مخروطی تشکیل می دهد در حالی که گونه C. Juglandina به ندرت در این محیط  
کشت تشکیل استروما می دهد. همچنین کلنی گونه اول کپه ای بوده و در مراحل آخر  
رنگش متمایل به زیتونی می شود در حالی که گونه دوم کلنی آن پنبه ای پرپشت و  
تقریباً نمدی شکل است و همواره سفید می باشد.

۶- اهمیت و اهداف این تحقیق:

همانطور که در قبل نیز ذکر گردید تاکنون بیماری شانکر سیتوسپورایی که دو فقط از  
مناطق محدودی از کشور شامل استانهای اصفهان، آذربایجان شرقی، آذربایجان غربی  
و مرکزی گزارش و شناسایی گردیده است. با توجه به اهمیت گردو از نظر ارزش  
غذایی، صادراتی و صنعتی آن و افزایش سطح زیر کشت گردو که در سالهای اخیر در  
اکثر استانهای کشوری کاشت گردو بخصوص ارقام جدید توسعه زیادی پیدا کرده و  
مشکلات عدیده ای نیز در این استانها روی گرد و مشاهده می شود، این ضرورت  
احساس می گردد که تمام نشاط کاشت گردو در ایران مورد بازدید قرار گرفته و در

نقاطی که شانکرسیتوسپورایی مشاهده می شود اقدام به جداسازی و شناسایی گونه ها گردد.

اگر چه اسمیت خسارات ناشی از شانکرسیتوسپورایی در نقاط مختلف کشور متفاوت ذکر گردید ولی باید نکات مهمی در این رابطه مد نظر قرار گیرند که عبارتند از:  
گونه های مختلف سیتوسپورا بیماری زایی متفاوتی داشته و اهمیت همه گونه ها از نظر بیماری زایی یکسان نیست و بنابراین شناسایی گونه ها در تشخیص میزان و نوع خسارت روی گرد و مهم است بخصوص که ذکر گردیده است در شرایط آزمایشگاهی گونه های متعددی از اعضاء این شبکه جنس روی گردو بیماریزا هستند

مانند C. ambiens

۲- در داخل هر گونه نیز نژادهای مختلفی وجود دارد که از نظر بیماری زایی متفاوت هستند و ممکن است یک گونه در یک منطقه خسارت زیادی وارد کند و در منطقه دیگر کمتر که این می تواند بعلت وجود نژادهای مختلف قارچ باشد.

۳- با افزایش سطح زیر کشت گردو در مناطق مختلف نیز شیوع بیماری بخاطر افزایش در جمعیت میزبان توسعه پیدا کرده و گاهاً در مناطقی که این بیماری مشاهده شده یا بصورت اندمیک مشاهده می گردید امروزه خود را کاملاً نمایان سازد.

۴- ارقام مختلف گردو که در مناطق مختلف کاشته می شود و نیز حساسیت های متفاوتی را در مقابل گونه ها و نژادهای بیماریزا از خود نشان می دهند.



۵- شرایط محیطی و اقلیمی محل می تواند تأثیر مهمی روی بیماری داشته و باعث می شود که اهمیت بیماری از منطقه ای به منطقه دیگر فرق کند. علاوه بر این گونه های متفاوت قارچ عامل بیماری نیز تحت تأثیر شرایط محیطی و اقلیمی قرار می گیرند که در هر منطقه با توجه به نوع شرایط محیطی و اقلیمی گونه خاصی نسبت به بقیه گونه ها اهمیت بیشتری از نظر ایجاد بیماری پیدا می کند.

با توجه به نکات بالا ضرورت بررسی وجود بیماری شانکرسیورایی گردو و شناسایی گونه های مهم از نظر بیماری زایی در تمام نقاط گردو کاری کشور مشخص می گردد که بطور خلاصه اهداف این طرح به شرح زیر است:

الف: بازدید از مناطق کاشت گردو در استانهای مختلف کشور و بررسی وجود بیماری در این مناطق.

ب: جداسازی عامل بیماری از مناطق آلوده و شناسایی گونه ها در هر منطقه به تفکیک اهمیت و پراکنش.

۷- مواد و روش های تحقیق:

۱) بازدید و نمونه برداری: در این تحقیق از مناطق عمده کاشت گردو و در استان های مختلف کشور بازدید و در صورت مشاهده علائم بیماری از مناطق آلوده چندین شاخه همراه با استروما و فتیله های تشکیل شده توسط قارچ جمع آوری و با ذکر محل نمونه برداری، تاریخ جمع آوری و دیگر مشخصات جست جداسازی قارچ و انجام مراحل بعدی به آزمایشگاه منتقل می گردد. بعلت نبود اطلاعات کافی در مورد زمان

آلودگی و بهترین زمان جست نمونه برداری و جداسازی قارچ بیشتر نمونه برداری‌ها در فصل بهار و تابستان صورت خواهد گرفت و در صورت نیاز به مجدد در فصول دیگر اقدام خواهد شد.

۲) جداسازی عامل بیماری: جداسازی عامل بیماری به دو صورت عمده صورت خواهد گرفت.

الف: کشت قطعات گیاهی آلوده: در این روش شاخه های آلوده را به بخش های کوچکی تقسیم و قطعاتی از پوست درخت در مرز بین نواحی آلوده و سالم را جدا کرده و پس از ضدعفونی سطحی توسط هپوکلریت سدیم ۱۰٪ یا الکل اتیلیک ۷۰٪ به مدت یک دقیقه قطعات حاصله را خشک کرده و روی محیط کشت PDA کشت داده می شوند.

ب: کشت سوسپانسیون اسپورهای حاصل از فتیله ها یا استرومای قارچ: در این روش در صورتی که قارچ فتیله یا استرومای تازه تولید کرده باشد مقداری از فتیله را در آب مقطر استریل حل کرده تا سوسپانسیون نسبتاً غلیظی از اسپور قارچ بدست آید. سپس چند قطره از سوسپانسیون حاصله توسط نوک سوزن یا اسکالیل سترون روی محیط کشت PDA پخش کرده و در انکوباتور نگهداری تا کلنی قارچ ظاهر گردد. در روش دیگر می توان چند میلی لیتر از سوسپانسیون حاصله را به محیط کشت آب آگار WA منتقل و پس از انکوباسیون به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت چندین اسپور جوانه زده را با سوزن سترون جدا و هم محیط کشت PDA منتقل می گردند.

۳) خالص سازی خالص سازی به روش تک اسپور کردن صورت می گیرد. بدین منظور جدایه های بدست آمده توسط کشت مستقیم اندامهای آلوده گیاهی را برای مدت کافی در انکوباتور نگهداری تا قارچ تولید استروما و کنیدی نماید. سپس از کنیدهای حاصله سوسپانسیون رقیقی در آب مقطر سترون تهیه و به محیط کشت آب آگار WA منتقل و پس از انکوباسیون به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت یک اسپورجوانه زده را توسط سوزن به محیط کشت جدید منتقل و پس از انکولاسیون به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت یک اسپور جوانه زده را توسط سوزن به محیط کشت جدید منتقل نموده تا کلنی های حاصل از رشد تک اسپور بدست آید. در مورد نمونه های تازه ای که درصد جوانه زنی اسپورها خیلی زیاد باشد جداسازی و خالص سازی مستقیماً به همین روش صورت خواهد گرفت.

۴) محیط کشت های مورد استفاده:

الف: محیط کشت سیب زمینی - دکستروز - آگار PDA: بصورت آماده ساخت شرکت MERCK تهیه و استفاده می گردد.

ب: محیط کشت عصاره مالت به آگار MA: بصورت آماده ساخت شرکت DIFCO تهیه و استفاده می گردد.

ج: محیط کشت عسل - پیتون - آگار HPA: مقدار ۲۰ گرم آگار را به همراه ۱۰ گ رم پیتون و ۶۰ گرم عسل به یک لیتر آب اضافه و سپس سترون می گردد.

در صورتی که جدایه های بدست آمده روی این محیط کشت ها اسپورزایی ننمایند ممکن است مقداری از چوب میزبان یا چوب یا ساقه های گیاهان علفی دیگر بصورت خاک اره به محیط کشت های فوق الذکر اضافه گردند تا قارچ در این محیطها تولید اسپور نماید.

۵) بررسی های آزمایشگاهی و میکروسکوپی:

الف: بررسی های ماکروسکوپی: در این مرحله رنگ، شکل و نحوه رشد کلنی جدایه های مختلف در محیط کشت های متفاوت در آزمایشگاه مورد مطالعه قرار می گیرد. همچنین دمای بهینه و دامنه دمایی از نظر رشد کلنی جدایه های متفاوت نیز تعیین تا در صورت لزوم در تشخیص گونه ها مورد استفاده قرار گیرد.

شکل C اندازه و رنگ فتیله ها و استروما در طبیعت نیز یادداشت برداری و بعلاوه در صورت لزوم در آزمایشگاه شاخه های گردو به قطر ۱/۵ تا ۲ سانتی متر و طول حدود ۱۵ سانتی متر تهیه و جدایه های مختلف را طبق منبع شماره ... به این شاخه ها مایه زنی کرده تا قارچ تولید استروما و فتیله نموده و با نمونه های طبیعی مورد مقایسه و جهت تشخیص گونه استفاده می گردد.

ب: بررسی های میکروسکوپی:

ب-۱): مطالعه اسپورها و سلولهای زاینده کنیدی: در این مرحله شکل، رنگ و اندازه کنیدیومها و سلولهای زاینده کنیدیوم زیر میکروسکوپ نوری تعیین می گردد که بین منظور مقداری از استرومای قارچ روی شاخه ها را برداشته و پس از خرد کردن روی



لام و میکروسکوپی کردن آنها مشاهدات صورت می گیرد. همچنین تمامی موارد بالا برای استروماهای تولید شده توسط هر قارچ روی محیط کشت نیز یادداشت برداری و جهت مقایسه بکار خواهد رفت.

ب-۲): مطالعه استروما: از استروماهای تولید شده روی چوب میزبان بر شمایی عرضی و طولی تهیه و جهت تعیین تعداد حفره‌ها، تعداد امتیول و تعداد لایه های تشکیل دهنده حفره‌ها و شکل و اندازه و رنگ این سلولها مورد بررسی قرار می گیرد. این برشها ممکن است مستقیماً توسط تیغ اسکالیل و دست تهیه گردند یا در صورت لزوم از دستگاه میکروتوم انمادی استفاده گردد که باید مراحل و مواد مورد استفاده بطور تجربی بهینه گردد که بدین علت از ذکر جزئیات بیشتر اجتناب می گردد.

۶) شناسایی و تشخیص گونه: پس از بدست آوردن کلیه خصوصیات مورد استفاده در تشخیص گونه ها شامل رنگ فتیله‌ها، شکل استروما، رنگ استروما، شکل و اندازه کنیدی‌ها و سلولهای زاینده کنیدی، تعداد حفرات استروما، تعداد امتیول، اندازه استروما و غیره در آزمایشگاه جدایه‌های بدست آمده طبق کلید منبع شماره مورد بررسی و شناسایی قرار خواهند گرفت. در صورت دستیابی به کلیدهای شناسایی جدیدتر نیز مقایسه‌ای بین کلیدهای متفاوت انجام داده و بهترین گزینه و یا تلفیقی از چند کلید جست شناسایی استفاده خواهد شد.