فصلنامه تخصصی تحقیقات حشره‌شناسی
جلد ۱، شماره ۲، سال ۱۳۸۸، (۱۳۵-۱۴۶)

دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اراک
شاپا ۴۶۶۸-۲۰۰۸
http://jer.entomology.ir

بررسی نقش سوسک پوست‌خوار اسکولیت مدیترانه‌ای در انتقال عامل بیماری سیتوسپوریوز درختان سیب و گیلاس

رئوف کلیائی[1*]*، حسین خباز جلفائی*[1]

۱- موسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور، تهران

چکیده

در سال‌های اخیر خشکیدگی سرشاخه‌های درختان سیب و گیلاس در استان تهران شدت یافته است. بررسی‌ها نشان داد در مناطق آلوده قارچ‌های جنس *Cytospora* Ehrenb و سوسک پوست‌خوار *Scolytus rugulosus* Muller عامل اصلی این خشکیدگی می‌باشند. بیشترین مناطق تغییر رنگ داده پوست در اثر فعالیت قارچ که اغلب با لکه‌های نکروتیک همراه بود، در نزدیک سوراخ‌های فعالیت حشره دیده شد. در کشت‌های متعدد در محیط MA قارچ *Cytospora leucostoma* (Pers.) جداسازی گردید. از کشت نمونه شاخه‌های آلوده جمع‌آوری شده در استان تهران در سال ۱۳۸۱، در محیط کشت PDA و MA در مجموع، ۱۰ جدایه قارچ از جنس *Cytospora* جداسازی شد که تعداد ۹ جدایه متعلق به گونه *C. leucostoma* بود. پس از اثبات بیماری‌زایی جدایه‌های مورد نظر، یکی از آن‌ها که مهاجم‌تر از سایر جدایه‌ها بود، جهت استفاده در تیمارهای آزمایشی به‌شرح زیر مورد استفاده قرار گرفت. تیمارهای آزمایشی عبارت بودند از: I- رهاسازی دو جفت سوسک *S. rugulosus* روی شاخه‌های هر نهال، II- پاشش سوسپانسیون *C. leucostoma* روی شاخه‌های هر نهال، III- رهاسازی دو جفت سوسک *S. rugulosus* آغشته به سوسپانسیون *C. leucostoma* روی شاخه‌های هر نهال و IV- شاهد. نتیجه به‌دست آمده نشان داد که سوسک‌های پوست‌خوار توانایی انتقال پروپاگول‌های *C. leucostoma* را به‌داخل گیاه دارند. به‌دنبال انتقال پروپاگول‌های قارچ مذکور، نکروز پوستی که ناشی از فعالیت قارچ می‌باشد در محل آلودگی ایجاد می‌شود. این پدیده اهمیت سوسک‌های پوست‌خوار در انتقال بیماری سیتوسپورا را بیش از پیش مورد تاکید قرار می‌دهد.

واژه‌های کلیدی: سیب، گیلاس، *Cytospora leucostoma, Scolytus rugulosus*

* نویسنده رابط، پست الکترونیکی: *kolyaee2000@yahoo.com*

تاریخ دریافت مقاله (۸۷/۱۲/۲۴) - تاریخ پذیرش مقاله (۸۸/۶/۳)

مقدمه

مجموع سطح زیرکشت درختان سیب و گیلاس در استان تهران بیش از۲۳۴۴۱ هکتار تخمین زده می‌شود. از نیمه دوم دهه هفتاد و پس از بروز چند خشک‌سالی پی‌درپی، خسارت آفت درجه دوم سوسک پوست‌خوار درختان میوه، *Scolytus rugulosus* Muller و همچنین بیماری سیتوسپوریوز، روی درختان سیب وگلابی در باغ‌های استان تهران شدت یافت. این تحقیق بر اساس بازدید نگارندگان از باغ‌ها، نمونه‌های ارسال شده از سازمان حفظ نباتات و مراجعه مستقیم باغداران و با توجه به مشاهده خسارت دو عامل مذکور به‌صورت توام، انجام پذیرفت.

تاکنون از حشرات ناقل قارچ عامل بیماری سیتوسپوریوز سیب و گیلاس در ایران و دیگر مناطق دنیا گزارشی به‌دست نیامده است. تنش آبی و ضعف درختان مهم‌ترین عامل طغیان این آفت شناخته شده است (Shojaei, 1963; Radjabi, 1991). در همین رابطه محل ورود حشرات کامل آفت نیز یکی از راه‌های ورود عامل بیماری سیتوسپوریوز بیان شده است (Esamaeily, 1991). در خارج از کشور نقش حشرات کامل *S. rugulosus* در انتقال عامل بیماری به‌درون بافت گیاه بررسی و تایید شده است (White, 1987). تعامل بین قارچ‌های مولد لکه آبی[1] و حشرات ناقل روی مرگ و میر دو گونه کاج مورد بررسی قرار گرفت (Bennet & Tattar, 1988). محققین ۱۰۳ عدد سوسک *Dendroctonus tenebrans* Olivier را مورد آزمایش قرار دادند. از این تعداد، ۴۹ عدد حاوی قارچ *Leptographium terebrantis* Barras & Perry، ۸ عدد آلوده به قارچ است. *Ceratocystis ips* (Rumb) و ۴ عدد نیز آلوده به هر دو گونه قارچ بودند. بر همین اساس، اندازه‌گیری طول لکه‌های آبی ناشی از فعالیت قارچ‌های مذکور نشان داد که در کاج‌های *Pinus sylvestris* L.، *P. resinosa* Ait و *P. Rigida* Mill.، قارچ *L. terebrantis* حالت تهاجمی شدیدتری داشته و باعث ترشح رزین از درختان آلوده شده است. آن‌ها نتیجه گرفتند که درختان آلوده فوق، در نسل‌های بعدی حشره نیز بیشتر در معرض آلودگی مجدد قرار می‌گیرند (Bennet & Tattar, 1988).

بیماری هلندی نارون که به‌وسیله قارچ *Ceratocystis ulmi* Buisman ایجاد می‌شود، مورد گویای دیگری از این مسئله است. در این رابطه در یک بررسی نشان داده شد که ۵۸ درصد سوسک‌های *S. multistriatus* Marsham و *S. pygmamaeus* Fabricius جمع‌آوری شده از روی درختان آلوده که به‌عنوان ناقلین قارچ مذکور مطرح می‌باشند، به این قارچ آلوده بودند. در شرایط کنترل‌شده و رطوبت نسبی بالا (شرایط جنگلی) مشاهده شد که سوسک‌های آغشته به اسپور قارچ به‌میزان ۱۱٪ موفق به انتقال عامل بیماری به گیاه سالم گردیدند (Basset *et al*., 1992).

در بررسی تعامل بین قارچ *F. oxysporum* f. sp. *medicaginis* با فعالیت تغذیه‌ای لارو سرخرطومی ریشه شبدر در گیاه یونجه ۱۲ گونه قارچ از محل‌های تغذیه این سرخرطومی جدا گردید. که در آن *F. oxysporum* f.sp.*medicaginis* با فراوانی ۶۳٪، به‌عنوان نمونه غالب تعیین شد. در این میان ۸۶٪ ایزوله‌های مذکور موجب بروز پژمردگی و در نتیجه ایجاد بیماری در گیاه یونجه گردیدند. میانگین شعاع گسترش عامل بیماری از محل‌های تغذیه سرخرطومی ۲ میلی‌متر بود. در این بررسی، گونه غالب قارچ مولد بیماری و دیگر گونه‌های فوزاریوم، از برش کپسول سر حشرات بالغ و لاروهای جمع‌آوری‌شده از مزرعه، شناسایی گردیدند (Leath & Hawer, 1993). در یک آزمایش با افزودن ۵۰ عدد تخم این سرخرطومی به بستر رشد آغشته به اینوکولوم قارچ *F. oxysporum* f. sp. *medicaginis* باعث افزایش معنی‌دار شدت پژمردگی فوزاریومی در شرایط گلخانه‌ای گردیدند (Blackwell & Jones, 1997).

1- Blue stain fungi

اثرات متقابل بین پشه گال‌زای *Lasioptera ephedricola* Cockerell و مخمر *Aureobasidium pullulans* De Bary در تشکیل گال روی گیاه *Ephedra trifurca* Torr مورد بررسی قرار گرفت. در بررسی با میکروسکوپ الکترونی و کشت گال‌های حاصل شده که با حلقه سیاه احاطه شده بودند، نشان داده شد که در این گال‌ها مخمر *A. pullulans* (de Bary) G. Arnaud وجود دارد، حال آن‌که در گال‌های حاصل از فعالیت حشره مذکور که فاقد حلقه بودند، مخمری دیده نشد (Herman *et al*., 1993). در بررسی اثرات متقابل حشره *Pseudothraptus devastus* Dist و قارچ *Colletotrichum gloeosporioides* Penz، عامل بیماری آنتراکنوز روی کاساوا نتیجه گرفته شد که عامل بیماری از طریق زخم‌های ایجاد شده به‌وسیله سوسک مذکور انتقال می‌یابد (Makambila, 1994).

نظر به اهمیت نقش حشرات در انتقال عامل بیماری‌زای گیاهی این تحقیق با هدف بررسی نقش سوسک اسکولیت در انتقال عامل بیماری سیتوسپوریوز صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

۱- جمع‌آوری نمونه‌های آلوده به قارچ عامل بیماری و آفت

در سال اول، طی ماه‌های خرداد تا شهریور که مصادف با فعالیت نسل‌های جدید سوسک اسکولیت بود، از باغ‌های مناطق مختلف استان تهران در مناطق شمیرانات، کرج، شهرستانک، شهریار و دماوند بازدید به‌عمل آمد. در هر باغ از شاخه‌های آلوده به قارچ عامل بیماری یا آلوده به آفت و یا دارای هر دو نوع آلودگی، نمونه‌برداری انجام شد. نمونه‌ها درون کیسه فریزر قرار گرفته و در داخل یخدان حاوی یخ، جهت بررسی بیشتر و کشت در محیط پرورش به آزمایشگاه منتقل گردید.

۲- کشت نمونه‌های قارچ

به‌منظور پی بردن به ارتباط خسارت سوسک‌های پوست‌خوار و لکه‌های ایجاد شده زیرپوست در آزمایشگاه، نمونه‌های جمع‌آوری شده به‌صورت دقیق‌تر مورد بررسی قرار گرفتند و از بافت‌های آلوده نمونه‌هایی در محیط کشت‌های PDA[1] یا MA[2] کشت داده شد و پتری‌ها به‌مدت ۵-۴ روز در دمای ۱±۲۵ درجه سلسیوس انکوباتور قرار گرفت. نمونه‌های شاخه سیب و گیلاس که دارای علایم نکروز و یا شانکر توام با خسارت سوسک‌های پوست‌خوار بودند، به‌شرح زیر کشت شدند:

ابتدا حد فاصل محل سالم و آلوده (لکه‌دار) با پنبه آغشته به الکل ۷۰٪ ضد عفونی سطحی شده و سپس روی شعله گرفته شد. آن‌گاه با اسکالپل استریل از زیرپوست منطقه مذکور قطعات ۵ میلی‌متری بریده و در محیط کشت PDA یا MA به تعداد ۴ قطعه در هر تشتک پتری کشت شد. پس از اتمام کشت، تشتک‌ها درون کیسه فریزر گذاشته شده، در داخل انکوباتور با دمای ۱±۲۵ درجه سلسیوس نگهداری شدند.

1- Potato Dextrose Agar
2- Malt Agar

۳- خالص‌سازی و تک اسپور کردن جدایه‌ها

پس از گذشت ۴-۵ روز از انجام کشت، کلنی‌های سفید قارچ در سطح محیط کشت ظاهر شدند. از حاشیه کلونی‌های مذکور، قطعات ۱-۲ میلی‌متری برداشت و در محیط کشت PDA خالص شدند. پس از گذشت دو هفته از خالص‌سازی، قطعات مذکور ضمن رشد میسلیومی از مرکز به اطراف، روی میسلیوم‌ها تولید پیکنوستروماهای[1] نسبتا زیادی کردند. در زیر بینوکولر و به‌صورت استریل، از دهانه پیکنواستروماها، پیکنیوسپورهایی[2] را برداشته و به‌صورت زیکزاک روی محیط MA کشت شد. تشتک‌های مذکور در دمای اتاق و روی میز کار نگهداری شدند. پس از گذشت ۳-۴ روز تک کلونی‌هایی روی سطح محیط کشت مذکور پدیدار گردیدند. یکی از تک‌کلونی‌های مذکور جهت مطالعات بعدی به محیط کشت MA جدید منتقل و پس از اتمام رشد، در یخچال نگهداری شد.

۴- جمع‌آوری سوسک‌های پوست‌خوار و جداسازی قارچ از سوسک‌ها

به منظور جداسازی گونه‌های *Cytospora* از بدن سوسک‌های پوست‌خوار *S. rugulosus*، در طول فصل ضمن جمع‌آوری شاخه‌های آلوده، سوسک‌های مذکور نیز جمع‌آوری گردید. سوسک‌ها اکثرا در سوراخ‌هایی با قطر ۱-۱/۵ میلی‌متر که خود آن‌ها به‌عنوان ورودی کانال مادری ایجاد کرده بودند، قرار داشتند. سوسک‌ها درون سوراخ به نحوی قرار گرفته بودند که بخشی از سر و شاخک‌ها از سوراخ بیرون بود. در آزمایشگاه و با استفاده از وسایل استریل سوسک‌ها با ذکر نام میزبان (سیب یا گیلاس) و با احتیاط بیرون آورده و درون تشتک‌های پتری استریل قرار داده شدند. پس از گذشت ۴-۵ روز در شرایط آزمایشگاه، سوسک‌ها مردند و سوسک‌های مرده با سوزن استریل داخل چند عدد پتری دیش روی محیط کشت MA قرار داده شد و پتری دیش‌ها داخل کیسه فریزر در دمای اتاق نگهداری شدند. پس از گذشت حدود یک‌هفته کلنی‌های قارچ *Cytospora* از کشت سوسک‌های آلوده ظاهر شدند. سپس عملیات خالص‌سازی و تک اسپور کردن انجام شد.

۵- آزمون بیماری‌زایی جدایه‌ها

جدایه‌های به‌دست آمده از سیب و گیلاس با توجه به نوع میزبان روی شاخه‌های بریده این گیاهان مورد آزمون بیماری‌زایی قرار گرفتند. برای هر جدایه ۳ شاخه همسان دو ساله به‌طول ۲۰ سانتی‌متر و قطر متوسط ۱/۵ سانتی متر در نظر گرفته شد. دو طرف شاخه‌ها با پارافین مذاب پوشانده و مسدود شد. روی هر شاخه یک قسمت که دارای پوست صاف بود، انتخاب و سپس با الکل ۷۰٪ ضد عفونی و سپس شعله‌دهی شد. پس از آن بخشی از پوست محل مذکور را با استفاده از اسکالپل استریل کنار زده و قطعه‌هایی از کلنی ۷ روزه حاصل از محیط کشت MA هر جدایه روی میزبان مورد نظر به‌صورت وارونه قرار داده و سپس پوست را به‌جای خود برگردانده و با استفاده از پارافیلم محل مذکور پوشانده شد. هر سه شاخه تیمار شده به‌وسیله یک جدایه را درون یک کیسه فریزر قرار داده و کیسه‌های مذکور درون انکوباتور با دمای ۱± ۲۵ درجه سلسیوس قرار داده شدند. برای شاخه‌های شاهد مراحل مذکور به‌ترتیب انجام ولی در محل تلقیح، فقط محیط کشت MA بدون قارچ گذاشته شد. پس از گذشت ۱۰ روز از تلقیح، شاخه‌ها مورد بررسی قرار گرفته و شاخه‌هایی که در محل تلقیح آن‌ها علایم نکروز ناشی از فعالیت قارچ ایجاد شده بود، انتخاب و مجدداً از حد فاصل قسمت سالم و آلوده آن‌ها به شرحی که گذشت، نمونه‌برداری انجام گردید و روی محیط کشت MA کشت شدند.

1- Pycnostroma
2- Pycniospore

۶- شناسایی جدایه‌ها

کلنی‌های انتخاب شده بر اساس نحوه رشد، رنگ کلنی، تولید فتیله، پیکنیواستروما و ریخت‌شناسی آن و اندازه پیکنیوسپورها مورد شناسایی قرار گرفتند.

۷- کشت نهال

تعداد ۳۲ اصله نهال دو ساله سیب (رقم زرد لبنانی) و ۳۲ اصله نهال گیلاس (رقم تکدانه مشهد) از موسسه تحقیقات نهال و بذر تهیه و در سطل‌های پلاستیکی به‌عمق ۵۰ و قطر دهانه ۴۲ سانتی‌متر، به تعداد یک‌عدد در هر گلدان کاشته شد. نهال‌ها در محوطه باز پنج هکتاری موسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور نگهداری و با توجه به فصل به‌فواصل زمانی ۴- ۶ روز آبیاری شدند.

۸- جمع‌آوری سوسک‌های پوست‌خوار *S. rugulosus* عاری از قارچ سیتوسپورا

برای این منظور تعداد زیادی سوسک‌های جوان از درختان آلوده به سوسک ولی فاقد آلودگی به سیتوسپورا، از طبیعت جمع‌آوری و به تفکیک نر و ماده جداسازی شدند. علایم مهم در تعیین جنسیت، ویژگی پیژیدیوم است که در نرها دارای یک فرورفتگی مشخص و در ماده‌ها اندکی برآمدگی دارد. همچنین وجود فرورفتگی در سطح شکمی و در محل اتصال بند سوم سینه به شکم که در حشرات ماده برآمده و حجیم می‌باشد در شناسایی جنس‌ها مهم است. به‌منظور اطمینان از عدم آلودگی به قارچ سیتوسپورا، به‌طور تصادفی و با توجه به میزبان، ۳ عدد سوسک از هر میزبان انتخاب و بدون ضد عفونی سطحی روی محیط کشت MA به‌روشی که گفته شد، کشت و به‌مدت ۱۰ روز در شرایط دمای اتاق نگهداری شدند.

۹- رهاسازی سوسک‌ها

برای این کار ابتدا نهال‌های سیب و گیلاس هر کدام به دو گروه تقسیم شدند.

گروه اول: نهال‌هایی که روی شاخه‌های آن‌ها زخم ایجاد نشد.

گروه دوم: نهال‌هایی که روی شاخه‌های آن‌ها با اسکالپل استریل زخم‌هایی به‌طول ۱ سانتی‌متر ایجاد شد.

در هر کدام از دو گروه مذکور ۴ تیمار به‌شرح زیر منظور گردید. هر تیمار آزمایشی دارای سه تکرار و هر تکرار شامل یک اصله نهال بود.

تیمارI – رهاسازی دو جفت سوسک روی شاخه‌های هر نهال

تیمارII- پاشش سوسپانسیون با غلظت $۵*۱۰^{۵}$ (پروپاگول/میلی‌لیتر آب) قارچ *C. leucostoma* روی شاخه‌های هر نهال

تیمارIII- رهاسازی دو جفت سوسک آغشته به سوسپانسیون با غلظت $۵*۱۰^{۵}$ (پروپاگول/میلی‌لیتر آب) *C. leucostoma* روی شاخه‌های هر نهال

تیمارIV- شاهد (شاخه‌های سالم هر نهال)

۱۰- ارزیابی خسارت

ارزیابی خسارت بر اساس تعداد سوراخ‌های ایجاد شده توسط ۲ جفت سوسک در هر نهال (تکرار)، تعداد محل نکروز ایجاد شده در هر نهال (تکرار) و نیز میزان گسترش طولی نکروز یا شانکرهای حاصله صورت گرفت.

۱۱- تجزیه و تحلیل داده‌ها

آزمایش از نوع فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی به روش ANOVA تجزیه و تحلیل گردید. مقایسه میانگین شاخص‌های مورد نظر در تیمارها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن و در سطح ۵٪ انجام و برای تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها از نرم‌افزار SAS استفاده شد (Soltani, 1998).

نتایج

نتایج حاصل از بررسی ۲۰ باغ سیب و گیلاس در استان تهران در طول فصل رویش نشان داد که هر دو عامل سوسک اسکولیت و قارچ سیتوسپورا به تنهایی یا با هم در خشکیدگی درختان میزبان نقش دارند (شکل ۱). در صورت خسارت سوسک به تنهایی (شکل‌های ۲ و ۳)، فقط سوراخ ورودی دالان مادری و کانال‌های لاروی عمود بر آن قابل رویت بودند. در حالی که در حالت بروز خسارت توسط قارچ، با کنار زدن لایه رویی پوست، زیر پوستک‌های مذکور پیکنوستروماهای قارچ به‌وفور دیده می‌شد (شکل ۴).

شکل ۱- آثار خسارت سوسک *S. rugulosus* و قارچ *C. leucostoma*، شکل ۲- سوراخ ورودی و حشره کامل، شکل ۳- دالان مادری و دالان‌های لاروی عمود بر آن، شکل ۴- پیکنوستروماهای قارچ *C. leucostoma* در زیرپوستک شاخه گیلاس

Fig. 1- Damage caused by *Scolytus rugulosus* and *Cytospora leucostoma*, Fig. 2- Entering hole of adult insects, Fig. 3- Maternal gallery and larval galleries of the beetle under tree bark, Fig. 4- Pycnostroma of *C. leucostoma* under bark of cherry tree branch

از مجموع ۴۰ شاخه آلوده انتقال یافته از باغ‌های مورد بررسی، ۹ جدایه قارچ از جنس *Cytospora* به‌دست آمد. از این تعداد ۶ جدایه از روی گیلاس و ۳ جدایه از روی سیب دارای مشخصات زیر بودند:

استروماهای زیرپوستی به‌صورت منفرد یا مجتمع بوده، برخی از آن‌ها با یک شکاف به بیرون باز می‌شدند و بعضی نیز زیر اپیدرم قرار داشتند. با برداشت پریدرم، دیسک‌های سفید متمایل به خاکستری، به‌شکل دایره تا بیضی همراه با کنسپتاکل[1] با یک سوراخ در مرکز دیده می‌شد. برش عرضی و عمقی استروماها بیانگر غیرهمسانی حجره‌های آن‌ها بود. درون حجره‌های مذکور پیکنیوسپورهای شفاف قلوه‌ای‌شکل، با متوسط ابعاد ۵/۷ × ۱/۳ میکرون دیده می‌شد. در محیط

1- Conceptacle

کشت MA، جدایه‌ها درمدت ۱۰– ۱۴ روز، کلنی‌های گسترده سفیدرنگ تولید کردند. پس از این مدت رنگ کلنی‌های مذکور به سبز زیتونی تغییر یافت. از میان این کلنی‌ها، استروماهای پیکنیدزای سیاه‌رنگ در دوایر متحدالمرکز فاقد پیکنیوسپور پدیدار شد. تلقیح جدایه‌ها در شاخه‌های ضدعفونی شده گیلاس با قطر ۱–۱/۵ سانتی‌متر و طول ۲۰ سانتی‌متر در لوله آزمایش نشانگر رشد مناسب جدایه‌ها در شاخه‌ها بود. بعد از مدت ۲۰ روز رنگ آن‌ها به سبززیتونی تغییر یافت و استروما در قسمت‌های مختلف پوست تولید شد. استروماهای مذکور اغلب از اپیدرم بیرون زده و فاقد فتیله بودند. ابعاد پیکنیوسپورهای تولیدی نیز ۱/۳ تا ۵/۷ میکرون اندازه‌گیری شد. از محیط کشت محتوی سوسک‌های پوست‌خوار *S. rugulosus* قارچی جدا نشد.

بیماری‌زایی

در ۹ عدد شاخه بریده سیب و ۱۸ عدد شاخه گیلاس که با قارچ *C. leucostoma* تلقیح شده بودند، پس از گذشت دو هفته علایم نکروز پوستی از محل تلقیح به اطراف گسترش یافته بود. طول لکه‌های مذکور به ۳۲ تا ۴۰ میلی‌متر می‌رسید. در شاخه‌های سیب و گیلاس تیمار شاهد علامتی دیده نشد. به‌منظور جداسازی مجدد عامل بیماری، از شاخه‌های بریده سیب و گیلاس، یک عدد شاخه از هر کدام انتخاب و از حدفاصل قسمت‌های سالم و نکروز شاخه پس از ضد عفونی سطحی با الکل ۷۰٪ و شعله‌دهی، اقدام به نمونه‌برداری و کشت گردید. پس از گذشت ۱۲ روز، سطح تشتک‌های پتری ۹ سانتی‌متری توسط کلنی‌های *C. leucostoma* به‌رنگ سبز زیتونی با پیکنیوسپورهای فراوان پوشیده شد.

نقش سوسک پوست‌خوار درختان میوه در انتقال قارچ *C. leucostoma*

نتایج به‌دست آمده نشان داد که در هر دو گیاه سیب و گیلاس ضمن ایجاد سوراخ، سوسک‌ها پروپاگول‌های قارچ *C. leucostoma* چسبیده به بدن خود را وارد گیاه کرده و پروپاگول‌های مذکور ضمن رشد و توسعه علایم نکروز را ایجاد کردند (شکل ۱). نتایج به‌دست آمده همچنین نشان داد وقتی قارچ به تنهایی روی نهال‌های سالم پاشیده شد، علایمی ایجاد نمی‌کند، در حالی که وقتی قارچ به تنهایی روی نهال‌های زخمی پاشیده شد، علایم نکروز ایجاد گردید. در همین رابطه در گروه نهال‌های بدون ایجاد زخم روی یکی از نهال‌های سیب (در تیمارIII، رهاسازی ۲ جفت سوسک آغشته به پروپاگول *Cytospora*) به‌جای لکه نکروز، شانکر ایجاد شد. این شانکر به‌طول ۱۳ میلی‌متر و در کنار سوراخ ورودی حشره دیده می‌شد. نتیجه نمونه‌برداری و کشت از بخش کناری شانکر روی محیط کشت MA، پدیدار شدن قارچ *C. leucostoma* بود. بر اساس مشاهدات روی بقیه گروه نهال‌هایی که به‌طور مصنوعی روی شاخه‌های آن‌ها زخمی ایجاد نشده بود، موردی از آلودگی مشاهده نگردید (جدول های ۱ و ۲).

جدول ۱- مقایسه میانگین تیمارهای آزمایشی اثر سوسک پوست‌خوار و قارچ عامل بیماری سیتوسپوریوز روی نهال‌های گیلاس

Table 1- Comparison of damages caused by different treatments of the shot-hole borer and *C. leucostoma* in cherry nurseries

Treatme	*	Mean Number of Necrosis	Mean Length of Necrosis ± SE	Mean Number of Holes
damaged	I	0.71±0.012b	0.71±0.012b	1.557±0.188a
	II	0.880±0.170b	1.257±0.547b	0.710±0.012c
	III	1.34±0.120a	2.878±0.350a	1.34±0.120ab
	IV	0. 071±0.012b	0. 071±0.012b	0.71±0.012c
undamaged	I	0.071±0.012b	0.0 71±0.012b	1.17±0.252ab
	II	1.653±0.217a	3.427±0.212a	0.71±0.012c
	III	1.460±0.120a	3.183±0.139a	1.05±0.170bc
	IV	0.0 71±0.012b	0.071±0.012b	0.071±0.012c
	CV	19.39	25.13	23.22

*I– Releasing two mated females on each young trees, II– Spraying *Cytospora leucostoma* suspension on young trees, III– Releasing two mated females covered with the *Cytospora leucostoma* suspension, IV– Control

* Means with same letter(s) in each column are not significantly different at P>0.05

جدول ۲- مقایسه میانگین تیمارهای آزمایشی اثر سوسک پوست‌خوار و قارچ عامل بیماری سیتوسپوریوز روی نهال‌های سیب

Table 2- Comparison of damages caused by different treatments of the shot-hole borer and *C. leucostoma* in apple nurseries

Treatment	*	Mean Number of Necrosis	Mean Length of necrosis ± SE	Mean Number of Holes
damaged	I	0.71±0.012c	0.71±0.012b	1.17±0.252a
	II	0.71±0.012c	0.71±0.012b	1.05±0.019ab
	III	1.050±0.170b	2.290±0.795a	1.34±0.120a
	IV	0.71±0.012c	0.71±0.012b	0.71±0.012b
undamaged	I	0.71±0.012c	0.71±0.012b	0.71±0.012b
	II	1.677±0.097a	3.277±0.197a	0.71±0.012b
	III	1.050±0.170b	2.230±0.774a	1.22±0.021a
	IV	0.71±0.012c	0.71±0.012b	0.71±0.012b
	CV.	17.33	48.65	21.03

*I– Releasing two mated females on each young trees, II– Spraying *Cytospora leucostoma* suspension on young trees, III– Releasing two mated females covered with the *Cytospora leucostoma* suspension, IV– Control

* Means with same letter(s) in each column are not significantly different at P>0.05

بحث

سال‌ها باور محققین در مورد سوسک‌های پوست‌خوار و قارچ جنس *Cytospora* بر این امر استوار بود که این عوامل زمانی به درختان میزبان حمله می‌کنند که درخت بر اثر دیگر عوامل از جمله خسارت دیگر آفات، ضعف غذایی و یا تشنگی، ضعیف شده و مستعد پذیرش عوامل خسارت‌زای درجه دوم (از جمله این عوامل) شده باشد (Khabiri, 1965; Rajabi, 1991). در حالی‌که اسماعیلی در سال ۱۹۹۱ ضمن تایید نظرات دیگر محققین در رابطه با پذیرش آفت توسط درختان ضعیف، سوراخ محل ورود آفت را یکی از راه‌های ورود عامل بیماری سیتوسپورا دانسته، اما انتقال عامل بیماری

توسط حشرات کامل آفت را تایید ننموده است (Esmaeily, 1991). تنها در کشور کانادا از نقش گونه مورد نظر در انتقال قارچ عامل بیماری سیتوسپوریوز صحبت شده است (White, 1987).

نتایج حاصل از انجام این تحقیق نشان می‌دهد که بخشی از خشکیدگی درختان سیب و گیلاس مربوط به فعالیت جداگانه یا هم‌زمان قارچ *C. leucostoma* و سوسک پوست‌خوار *S. rugulosus* است. بر این اساس در مواردی حتی درختان به ظاهر شاداب و سالم نیز مورد حمله این عوامل قرار می‌گیرند (Proffer & Jones, 1989). سوسک‌های پوست‌خوار علاوه بر خسارت مستقیم از نظر تغذیه و هدر دادن شیره پرورده نباتی و همچنین قطع سیستم آوندی (آوند آبکش)، راه ورود و فعالیت قارچ عامل بیماری سیتوسپوریوز را فراهم می‌سازند و خود نیز با توجه به چسبیدن پروپاگول‌های عامل بیماری به بدن‌شان، انتقال آن‌را به داخل بافت گیاه میزبان تسهیل می‌کنند. این دستاورد در شاخه‌هایی که حشرات کامل آغشته به عامل بیماری روی آن‌ها رهاسازی شده‌اند نیز کاملا مشهود است. در این حالت سوسک‌های ماده با ایجاد سوراخ ورودی و در پی آن ایجاد دالان مادری جهت تخم‌گذاری، پروپاگول‌های قارچ را نیز با خود وارد گیاه میزبان کرده و با این ترتیب خسارت تشدید می‌گردد.

بر این اساس و با توجه به شرایط کلیمایی خشک کشور ما، دیگر نمی‌توان سوسک *S. rugulosus* را یک آفت درجه دوم نامید زیرا حشرات کامل آن به‌عنوان ناقل قارچ *C. leucostoma* نیز مطرح بوده و به‌خصوص در مناطق مستعد توسعه این بیماری لازم است به‌عنوان یک آفت درجه اول مورد توجه قرار گیرد.

سپاسگزاری

بدین وسیله از آقایان دکتر غلامرضا رجبی به خاطر راهنمایی‌های ارزنده در طول انجام آزمایشات، از آقای مهندس هوشنگ برومند به خاطر کمک در تشخیص و جداسازی حشرات نر و ماده سوسک‌های اسکولیت و آقای دکتر عزیز شیخی گرجان به خاطر کمک در انجام کارهای آماری، صمیمانه تشکر و قدردانی می گردد.

References

Basset, Y., Favaro, A., Springate, N. D. and Battisti, A. 1992. Observation on the relative effectiveness of *Scolytus multistriatus* (Marsham) and *Scolytus pygmaeus* (Fabricius) (Coleoptera: Scolytidae) as vectors of the Dutch elm disease. Mitteilungen der Schweizerischen Entomologischen Gesellschaft, 65(1,2): 61-67.

Bennet, E. M. and Tattar, T. A. 1988. Blue-stain fungi and insect vector interaction in Japanese black and scots pine mortality. Arboricultural Journal, 12(3): 237-247.

Blackwell, M. and Jones, K. 1997. Taxonomic diversity and interactions of insect-associated ascomycetes. Biodiversity and conservation, 6(5): 659-699.

Esmaeily, M. 1991. Important Pests of Orchards. Second edition, Sepehr Publication, 582 pp. [In Persian]

Herman, R. P., Bynum, H. G. and Alexander, A. B. 1993. Interaction between the black yeast *Aureubasidium pullulans* and the gall midge *Lasioptera ephedricola* in gall formation on the desert shurb *Ephedra trifurca*. Ecography . 16 : 3, 261-268.

Khabiri, E. 1965. Plant Diseases, Parasite Fungi, Tehran University Press, Tehran, 913 pp. [In Persian]

Leath, K. and Hower, A. A. 1993. Interaction of *Fusarium oxysporum* f. sp. *medicaginis* with feeding activity of clover root curculio larvae in alfalfa. Plant Diseases. 77(8): 799-802.

Makambila, C. 1994. Interaction between an insect *Pseudotheraptus devastans* Dist. and a fungus *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. on development of anthracnose on Cassava cuttings. Tropicultura, 12(3): 104-108.

Proffer, T. J. and Jones, A. L. 1989. A new canker disease of apple caused by *Leucostoma cincta* and other fungi associated with cankers on apple in Michigan. Plant Diseases, 73: 508–514.

Radjabi, G. 1991. Insects attacking rosaceous fruit trees in Iran, Vol. 1. Coleoptera, (second edition). Plant Pests and Diseases Research Institute Publication, Tehran, 221 pp. [In Persian]

Soltani, A. 1998. Application of SAS in Statistical Analysis (for Field in Agriculture). Publication. Mashhad jehad- daneshgahi: pp.166.

Shojaei, M. 1963. Shot-hole borer (*Rugoloscolytus mediterraneus* Eggert) and their biology. Entomology and Zoology Laboratory. of agricultural faculty of Tehran University Publication, P. 73. [In Persian]

White, K. J. 1987. Scolytid pests in fruit tree orchards, B. Sc. (Biology), University of Victoria, British Columbia, Canada. pp. 45.

Journal of Entomological Research
Volume 1, Issue 2, pages: 135-146

Islamic Azad University, Arak Branch
ISSN 2008-4668
http://jer.entomology.ir

Study on the effect of shot-hole borer in transmission of Cytosporiose disease on apple and cherry trees

R. Kolyaee[1]*, H. Khabbaz Jolfaee[1]

1- Iranian Research Institute of Plant Protection, Tehran. Iran

Abstract

In recent years, there have been considerable damages of shot-hole borer, *Scolytus rugulosus* Muller, and cytosporiose disease by *Cytospora* species on twigs, branches and trunks of apple and sweet cherry trees in orchards of Tehran province, Iran. The fungi causes necrotic blotches around internal or external holes of the bark beetle. In the year 2002, samples of infected branches of apple and cherry trees were collected from different parts of Tehran province. The samples were cultured in PDA and MA media, an ten isolates of *Cytospora* were isolated in which 9 isolates belonged to *C. leucostoma*. One of the most aggressive isolate was selected to conduct the test of transmission by the beetle. This experiment was carried out based on the following treatments: with three replicates, 1–releasing two mated females on each young trees, 2–Spraying *Cytospora leucostoma* suspension on young trees, 3–Releasing two mated females covered with the *Cytospora leucostoma* suspension, 4–Control. This study confirmed that cytosporiosis of apple and cherry trees is transmitted by the shot-hole borer in the region.

Key words: Apple, Cherry, *Cytospora leucostoma, Scolytus rugulosus*

* Corresponding Author, E-mail*: kolyaee2000@yahoo.com*
Received: 15 March 2009 – Accepted: 25 August 2009