مجله دانش گیاه‌پزشکی ایران
دوره ۴۲، شماره ۲، ۱۳۹۰ (۲۵۹-۲۵۱)

مطالعه تخصص‌یافتگی و دامنه میزبانی *Wilsonomyces carpophilus*، عامل لکه غربالی درختان میوه هسته‌دار و ارزیابی مقاومت نسبی برخی از ارقام هلو نسبت به آن

عبداله احمدپور[۱]، یوبرت قوستا[۲]، محمد جوان نیکخواه[۳]*، محمدرضا فتاحی مقدم[۴] و کیوان غضنفری[۵]
۱، ۳، ۴، ۵، دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، دانشیاران و کارشناس پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ۲، استادیار دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه
(تاریخ دریافت: ۸۸/۴/۲۳ - تاریخ تصویب: ۸۹/۱۰/۸)

چکیده

به منظور تعیین تخصص‌یافتگی و دامنه میزبانی جدایه‌های قارچ *Wilsonomyces carpophilus*، عامل لکه غربالی، تعدادی از نهال‌های بذری درختان میوه هسته‌دار شامل زردآلو، بادام، آلوچه، آلو، هلو، گیلاس و آلبالو، درختان میوه دانه‌دار (سیب، گلابی، زالزالک و ولیک) و گیاهان زینتی (رز، گل محمدی و نسترن) در شرایط گلخانه تحت آزمون‌های بیماری‌زایی قرار گرفتند. پنج جدایه از پنج میزبان مختلف (زردآلو، بادام، آلوچه، هلو و گیلاس) جهت بررسی تخصص‌یافتگی و دامنه میزبانی استفاده شد. آزمون بیماری‌زایی روی گیاهان مذکور در مرحله ۱۰ برگی و با استفاده از سوسپانسیون اسپور با غلظت 10^5 کنیدی در هر میلی‌لیتر آب مقطر سترون و تحت شرایط دمایی ۲۰±۲°C و رطوبت نسبی بیش از ۷۵ درصد انجام شد. نتایج نشان داد که تمامی نهال‌های بذری درختان میوه هسته‌دار در مقابل هر پنج جدایه حساس بودند و بین جدایه‌ها تخصص‌یافتگی میزبانی دیده نشد. به علاوه، روی برخی از برگ‌ها و سرشاخه‌های جوان گلابی و برگ‌های سیب و زالزالک بعد از چهار روز نشانه های بیماری به صورت لکه‌های قهوه‌ای کمرنگ تا تیره مشاهده گردید، اما لکه‌ها گسترش نیافته و ریزش نکردند و تا بعد از ۲۰ روز هیچ اسپورودوکیومی روی این لکه‌ها تشکیل نشد. همچنین، نشانه‌ای روی ولیک و گیاهان زینتی مشاهده نگردید. به نظر می‌رسد که قارچ عامل بیماری محدود به درختان میوه هسته‌دار باشد. ظهور نشانه‌های بیماری روی میوه‌های بادام، آلوچه، آلو، هلو، شلیل و سرشاخه‌های زردآلو در شرایط طبیعی و نیز آلودگی سرشاخه‌های آلو، آلوچه و زردآلو در شرایط گلخانه و جداسازی عامل بیماری از این اندام‌ها برای اولین بار از ایران گزارش می‌گردد. مقاومت نسبی نه رقم هلو نسبت به سه جدایه قارچ *W. carpophilus* در طرح کاملاً تصادفی در قالب فاکتوریل در سه تکرار و در شرایط گلخانه با دمای ۲۰ ± ۲°C و رطوبت نسبی بیش از ۷۵ درصد انجام شد. نتایج نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین مقاومت نسبی ارقام هلو و بیماری‌زایی جدایه‌ها وجود دارد. رقم دیکسی‌رد حساس‌ترین و ارقام ردتاپ، اسپرینگ کرست و آلبرتای پیش‌رس مقاوم‌ترین ارقام بودند. ارقام انجیری، جی اچ هیل، آلبرتای دیررس و سان کرست متحمل‌ترین ارقام شناخته شدند.

واژه‌های کلیدی: ارقام هلو، جدایه، حساسیت، گونه‌های هسته‌دار، مقاومت

* نویسنده مسئول: محمد جوان نیکخواه تلفن: ۰۹۱۲-۲۶۰۰۶۳۵ E-mail: jnikkhah@ut.ac.ir

مقدمه

لکه غربالی[1] یکی از مهمترین و خسارت‌زاترین بیماری‌های درختان میوه هسته‌دار در اغلب مناطق جهان می‌باشد. این بیماری نه تنها باعث تضعیف درختان، کاهش مقدار و ارزش محصول می‌شود، بلکه کیفیت آن را نیز به شدت کاهش می‌دهد. عامل بیماری قارچ *Wilsonomyces carpophilus* (Lev.) Adaskaveg, Ogawa & Butler (= *Stigmina carpophila* (Lev.) Ellis and *Coryneum beijerinckii* Oud.) می‌باشد و این قارچ در مرحله غیرجنسی تولید اسپورودوکیوم می‌کند (Adaskaveg *et al.*, 1990). اگرچه Vuillemin (1888) تشکیل مرحله جنسی قارچ *Ascospora beijerinckii* Vuill. را از بقایای برگی آلوده گزارش کرده است. اما کارهای بعدی در آلمان، کالیفرنیا و استرالیا تشکیل مرحله جنسی عامل بیماری لکه غربالی را تأیید نکردند و تنها مرحله غیرجنسی قارچ را به عنوان اینوکولوم یادآور شده‌اند (Highberg & Ogawa, 1986). عامل بیماری لکه غربالی به صورت میسلیوم در شانکر شاخه‌ها یا جوانه‌های سوخته و کنیدیوم‌ها در جوانه‌های غیرفعال بقا می‌یابد (Ashkan & Asadi, 1971; Highberg & Ogawa, 1986). این قارچ به اندام‌های مختلف، در گونه‌های مختلف درختان میوه هسته‌دار حمله می‌کند. میزان خسارت با نوع میزبان و شرایط محیطی تفاوت می‌کند، به طوری که بیشترین خسارت در زردآلو به میوه‌ها و جوانه‌ها، در هلو به سرشاخه‌ها و جوانه‌ها و در بادام به برگ‌ها وارد می‌شود (Ogawa *et al.*, 1995). تقریباً تمامی درختان میوه هسته‌دار مورد حمله این بیماری قرار می‌گیرند و گزارش‌هایی مبنی بر آلودگی احتمالی تعدادی از درختان میوه دانه‌دار از جمله سیب و گلابی به این بیماری وجود دارد (Ashkan & Asadi, 1971). در بررسی دامنه میزبانی عامل بیماری لکه غربالی مشخص شده است که عامل بیماری توانایی حمله به بیش از ۳۵ گونه از درختان میوه هسته‌دار را دارد (Smith & Smith, 1942). Ashkan & Asadi (1971) نشانه‌های بیماری مشابه لکه غربالی را روی درختان سیب و گلابی مشاهده نمودند، اما نتوانستند عامل بیماری را از این میزبان‌های احتمالی جداسازی نمایند.

علیرغم گزارش‌های آلودگی گونه‌های مختلف درختان میوه هسته‌دار و احتمالاً تعدادی از گونه‌های درختان میوه دانه‌دار در مناطق مختلف کشور (Ashkan & Asadi, 1971; Ershad, 1995)، مطالعه جامعی در مورد دامنه میزبانی عامل بیماری لکه غربالی و مقاومت نسبی میزبان‌ها در برابر قارچ عامل بیماری وجود ندارد. تحقیق حاضر با هدف بررسی امکان تخصص‌یافتگی میزبانی جدایه‌های عامل بیماری روی گونه‌های مختلف درختان میوه هسته‌دار، تعیین دامنه میزبانی آنها و ارزیابی مقاومت نسبی برخی از ارقام رایج هلو نسبت به آنها صورت گرفته است.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری و جداسازی عامل بیماری

طی بهار و تابستان سال ۱۳۸۶ از باغ‌های درختان میوه هسته‌دار (بادام، زردآلو، هلو، شلیل، گیلاس، آلبالو، آلو و آلوچه) و دانه‌دار (سیب و گلابی) در استان آذربایجان غربی بازدید به عمل آمد و از برگ‌ها، میوه‌ها و سرشاخه‌های گونه‌های مختلف درختان میوه هسته‌دار و دانه‌دار که نشانه‌های مشکوک به بیماری در آنها مشهود بود، نمونه‌برداری صورت گرفت. به منظور جداسازی عامل بیماری، اندام‌های مذکور پس از شستشوی سطحی با آب مقطر سترون، با استفاده از محلول هیپوکلریت سدیم ۱۰ درصد (حاوی ۰/۵ درصد کلر فعال) به مدت یک دقیقه ضد عفونی سطحی شده و سپس با آب مقطر سترون سه بار شستشو گردیدند. پس از رطوبت‌گیری نمونه‌ها، قطعاتی به اندازه تقریبی یک سانتی‌متر مربع از بخش آلوده به همراه بخش سالم به تشتک‌های پتری حاوی محیط‌های کشت آب- آگار (۲ درصد) (WA)، مالت- آگار (MA)، سیب‌زمینی- دکستروز- آگار (PDA) و سیب‌زمینی- دکستروز- آگار حاوی ۲/۵ میلی‌لیتر اسید لاکتیک ۲۵ درصد در هر لیتر از محیط کشت (APDA) منتقل گردید و در دمای ۲۰ ± ۲°C نگهداری شدند. قارچ‌های رشد کرده به روش تک اسپور کردن روی محیط کشت WA (۲ درصد) خالص‌سازی شدند. جدایه‌های خالص‌سازی شده در

1. Shot hole

لوله‌های آزمایش حاوی محیط کشت PDA و دمای ۴°C یا در کاغذهای صافی و دمای ۲۰°C- برای مطالعات بعدی نگهداری شدند.

بررسی تخصص‌یافتگی و دامنه میزبانی جدایه‌ها

در این قسمت مطالعه از نهال‌های بذری گونه‌های مختلف هسته‌دار (بادام اهلی و وحشی، زردآلو، هلو، گیلاس، آلبالو، آلو و آلوچه)، تعدادی از دانه‌داران (سیب، گلابی، زالزالک و ولیک) و گیاهان زینتی (رز، نسترن و گل محمدی) استفاده گردید. به این منظور، بذرهای گونه‌های مختلف هسته‌دار و دانه‌دار در محیط پرلیت مرطوب و در دمای ۴°C به مدت ۶-۲ ماه نگهداری شدند. بعد از سپری شدن دوره خواب، بذرهای جوانه‌زده به گلدان‌های حاوی خاک: ماسه: کود به نسبت ۲: ۱: ۱ و دمای ۲۰±۲°C منتقل شدند و مراقبت‌های لازم تا رسیدن آنها به مرحله ۱۰ برگی به عمل آمد. در ضمن به دلیل عدم جوانه‌زنی بذرهای ولیک و زالزالک در محیط پرلیت، تعدادی نهال ولیک و زالزالک از نهالستان نهال ایران ـ کرج تهیه شد.

از پنج جدایه KHJ1، ABZ، URH9، SNB و KHG2 که به ترتیب از میوه‌های آلوچه، زردآلو، هلو، بادام و برگ گیلاس جداسازی شده بودند، جهت بررسی امکان تخصص‌یافتگی میزبانی جدایه‌ها و دامنه میزبانی آنها استفاده گردید (جدول ۱). جهت تهیه اسپورها، جدایه‌ها به محیط کشت PDA و دمای ۲۰°C و شرایط نوری متناوب (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) به مدت دو هفته منتقل گردیدند. اسپورها با آب مقطر سترون از سطح محیط کشت شسته شده و غلظت آنها در 1×10^{5} کنیدیوم در هر میلی‌لیتر از آب مقطر سترون تنظیم شد. جهت عمل مایه‌زنی روی برگ‌ها و ساقه‌های نهال‌های بذری از روش Grove (2002) با کمی تغییرات استفاده گردید.

در ضمن قبل از مایه‌زنی، درصد جوانه‌زنی کنیدیوم‌ها محاسبه گردید. به این منظور ۱۵۰ میکرولیتر از سوسپانسیون کنیدیوم به محیط کشت WA (۲ درصد) منتقل و در دمای ۲۰±۲°C نگهداری شد. بعد از ۲۴ ساعت تشتک‌های پتری زیر میکروسکوپ نوری بررسی شدند و میزان جوانه‌زنی ۱۰۰ کنیدیوم به طور تصادفی ثبت گردید. کنیدیوم‌هایی که دارای لوله تندش معادل یک و نیم برابر عرض کنیدیوم و یا بیشتر از آن بودند به عنوان جوانه‌زده مدنظر قرار گرفتند (Shaw *et al*., 1990). در تمامی جدایه‌ها درصد جوانه‌زنی کنیدیوم‌ها بیش از ۹۵ درصد بود.

عمل مایه‌زنی نهال‌های بذری در مرحله ۱۰ برگی (حداقل ۵ برگ با پهنگ برگ کامل) انجام شد. به این منظور سوسپانسیون اسپورها به صورت یکنواخت توسط آب‌پاش دستی[1] روی برگ‌ها پاشیده شد. در حدامکان سعی گردید که سوسپانسیون اسپورها از روی برگ‌ها سرریز نشود. سپس نهال‌های بذری مایه‌زنی شده توسط کیسه‌های پلاستیکی پوشانده شد و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲۰±۲°C در گلخانه نگهداری شدند. کیسه‌های پلاستیکی بعد از ۴۸ ساعت از روی نهال‌های بذری برداشته شد و نهال‌های بذری در دمای ۲۰±۲°C و رطوبت نسبی بیش از ۷۵ درصد قرار گرفتند. در برخی موارد جهت آلودگی ساقه‌های جوان، زخم‌های ریزی با استفاده از سوزن سترون روی آنها ایجاد شد و اسپورها به این بخش‌ها تزریق گردید. ۱۰ روز بعد از مایه‌زنی، نشانه‌های بیماری روی برگ‌ها و ساقه‌های گیاهان مذکور ثبت گردید. جداسازی مجدد عامل بیماری طبق روش ذکر شده در بالا انجام شد.

ارزیابی مقاومت نسبی برخی از ارقام هلو نسبت به جدایه‌های *W. carpophilus*

از نه رقم هلو شامل سان‌کرست[2]، اسپرینگ کرست[3]، آلبرتای پیش‌رس[4] یا ولدآبادی، ردتاپ[5]، جی اچ هیل[6]، دیکسی‌رد[7]، ردهون[8]، آلبرتای دیررس[9] و انجیری[10] برای ارزیابی واکنش آنها نسبت به جدایه‌های عامل بیماری لکه غربالی استفاده گردید. در دی ماه ۱۳۸۶ ارقام مذکور از نهالستان نهال ایران ـ کرج تهیه و در داخل کیسه‌های پلاستیکی حاوی خاک: ماسه: کود به نسبت ۲: ۱: ۱ در گلخانه و دمای ۲۰±۲°C نگهداری شدند.

1. Sprayer
2. Suncrest
3. Springcrest
4. Early elberta
5. Redtop
6. J. H. Hale
7. Dixired
8. Redhoven
9. Elberta
10. Anjiri

قبل از بیدار شدن جوانه‌ها، تمامی ارقام به ارتفاع تقریبی ۵۰ سانتی‌متر سربرداری شده و مراقبت‌های لازم تا رسیدن آنها به ارتفاع ۱۰۰-۹۰ سانتی‌متری به عمل آمد.

از سه جدایه URH9، URH2 و KHG2 که دو جدایه اول از میوه‌های هلو و جدایه سوم از برگ‌های گیلاس جداسازی شده بودند، برای مایه‌زنی استفاده گردید (جدول ۱). جدایه‌های مذکور بیشترین تعداد لکه را روی برگ‌های گونه‌های مختلف درختان میوه هسته‌دار در بررسی دامنه میزبانی ایجاد کرده بودند. ارزیابی مقاومت نسبی ارقام با استفاده از روش Shaw *et al.* (1990) با کمی تغییرات انجام شد. سوسپانسیون اسپورها (1×10^5 کنیدیوم در هر میلی‌لیتر از آب مقطر سترون) به طور یکنواخت با استفاده از آب‌پاش دستی روی برگ‌های ارقام مذکور (ترجیحاً سه برگ انتهایی) پاشیده شد. ارقام شاهد نیز با آب مقطر سترون آب‌پاشی شدند. برگ‌های مایه‌زنی شده توسط کیسه‌های پلاستیکی به مدت ۴۸ ساعت پوشانده شدند. بعد از این مدت کیسه‌ها از روی ارقام برداشته شده و ارقام در دمای $20\pm2^{\circ}C$ و رطوبت نسبی بیش از ۷۵ درصد نگهداری شدند. هشت روز پس از مایه‌زنی، سه برگ (ترجیحاً برگ‌های انتهایی) از هر رقم جدا گردید و تعداد زخم‌ها در هر برگ و در هر ۱۰ سانتی‌مترمربع از سطح برگ با استفاده از دستگاه سنجش سطح برگ (leaf area meter) ثبت گردید. آزمایش در طرح کاملاً تصادفی در قالب فاکتوریل و در سه تکرار انجام شد. جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SAS، (SAS 9.1 Institute Inc., Cary, NC) و مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد استفاده گردید.

جدول ۱- مشخصات جدایه‌های قارچ *Wilsonomyces carpophilus* استفاده شده در بررسی دامنه میزبانی و ارزیابی مقاومت نسبی برخی از ارقام هلو

ردیف	نام جدایه	نام میزبان/ اندام گیاهی جداسازی شده	محل جمع‌آوری	تاریخ جمع‌آوری
۱	KHG2	گیلاس - برگ	استان آذربایجان غربی، خوی	۱۳۸۶/۴/۲۸
۲	KHJ1	گوجه - میوه	استان آذربایجان غربی، خوی	۱۳۸۶/۴/۲۸
۳	SNB	بادام - میوه	استان آذربایجان غربی، شاهیندژ	۱۳۸۶/۴/۲۶
۴	URH9	هلو - میوه	استان آذربایجان غربی، ارومیه	۱۳۸۶/۵/۴
۵	URH2	هلو - میوه	استان آذربایجان غربی، ارومیه	۱۳۸۶/۵/۴
۶	ABZ	زردآلو - میوه	استان قزوین، آبیک	۱۳۸۶/۳/۲۷

نتایج

نشانه‌های بیماری لکه غربالی روی گونه‌های مختلف هسته‌دار در باغات و جداسازی

زخم‌های تشکیل شده روی برگ‌های گونه‌های مختلف هسته‌دار در ابتدا کوچک و به رنگ ارغوانی، به تدریج قهوه‌ای کمرنگ تا تیره به قطر mm ۱۰-۳ در می‌آیند. زخم‌های ایجاد شده روی برگ‌های گیلاس بزرگتر از بقیه گونه‌های هسته‌دار می‌باشد. به طوری که در آلودگی‌های شدید، زخم‌ها به هم متصل شده و بخش بزرگی از پهنک برگ را فرا می‌گیرد. آلودگی برگ‌ها در بادام به وفور مشاهده می‌شود و در دماهای بالاتر زخم‌ها ریزش کرده و حالت غربالی روی آنها مشاهده می‌شود.

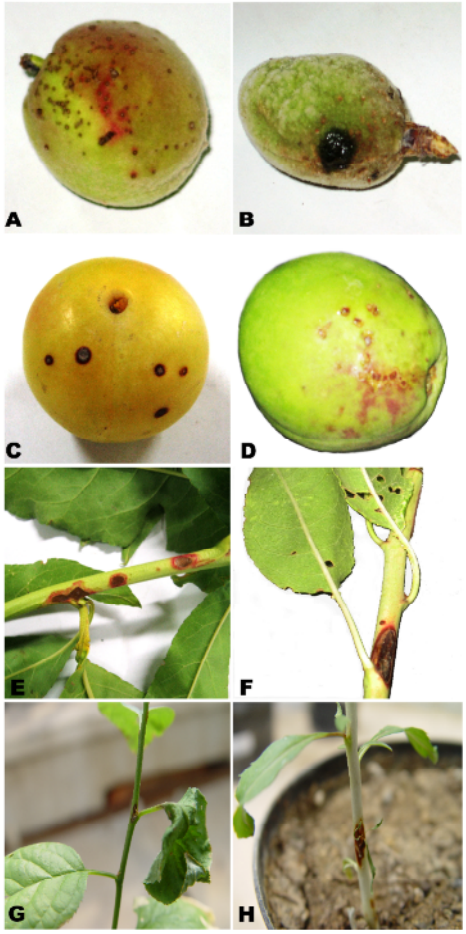
جداسازی عامل بیماری از روی برگ‌ها به مراتب مشکل‌تر از میوه‌ها و سرشاخه‌های آلوده است. عامل بیماری تنها از روی برگ‌های زردآلو، هلو، گیلاس و بادام جداسازی گردید و از روی برگ‌های آلبالو، آلو و آلوچه جداسازی امکان‌پذیر نشد. آلودگی سرشاخه‌ها در بادام، هلو و زردآلو مشاهده گردید (شکل‌های ۱F و ۱E) و عامل بیماری از آنها جداسازی شد. هیچ گونه نشانه‌ای روی سرشاخه‌های آلوچه، آلو، گیلاس و آلبالو مشاهده نشد. آلودگی جوانه‌ها نیز در هلو و گاهی در بادام مشاهده گردید (شکل‌های ۱F و ۱E). تقریباً میوه‌های تمام گونه‌های درختان میوه هسته‌دار (هلو، شلیل، زردآلو، بادام، آلوچه، گیلاس و آلبالو) توسط عامل بیماری آلوده شدند. در میوه‌های بادام زخم هایی به قطر mm ۲-۱ در سطح بالایی آنها تشکیل شد و در آلودگی‌های شدید همراه با ترشح صمغ مشاهده گردید (شکل ۱B). در هلو (شکل ۱A) و زردآلو زخم‌ها چوب

پنبه‌ای بوده و در آلوچه و شلیل زخم‌ها قهوه‌ای کمرنگ تا تیره با حاشیه ارغوانی و گاهی صمغ‌زده دیده شد (شکل‌های ۱C و ۱D). در آلو میوه‌ها ترک برداشته و از آنها صمغ ترشح می‌شود.

عامل بیماری از روی میوه‌های هلو، شلیل، زردآلو، بادام، آلوچه و آلو جداسازی گردید. در ضمن، عامل بیماری از درختان میوه دانه‌دار (سیب و گلابی) جداسازی نشد.

تخصص‌یافتگی و دامنه میزبانی جدایه‌ها در شرایط گلخانه

پنج جدایه از پنج گونه مختلف درختان میوه هسته‌دار روی نهال‌های بذری گونه‌های هسته‌دار (هشت گونه) بیماری‌زا بودند و هیچ نوع تخصص‌یافتگی میزبانی بین آنها دیده نشد. برگ‌ها و ساقه‌های جوان نهال‌های بذری گونه‌های مختلف هسته‌دار نشانه‌های بیماری را به وضوح نشان دادند. نشانه‌های بیماری روی برگ‌ها و ساقه‌های جوان چهار روز بعد از مایه‌زنی، به صورت لکه‌های ارغوانی که بعداً به قهوه‌ای کمرنگ تا تیره تبدیل شدند، مشاهده گردید. شش روز بعد از مایه‌زنی، زخم‌های تشکیل شده روی برگ‌ها در دمای ۲۰ ± ۲°C به تدریج از بافت‌های سالم جدا شدند و بعد از ۱۰ روز ریزش کردند. زخم‌های تشکیل شده روی ساقه‌ها ریز بودند و گاهی تا ۱۰-۴ mm رسیدند. زخم‌های بزرگتر بیضوی یا دوکی شکل در ساقه‌های هلو، زردآلو و بادام مشاهده شدند (شکل‌های ۱G و ۱H). در هلو و گاهی در بادام از زخم‌ها صمغ ترشح گردید. در هلو گاهی زخم‌ها گسترش یافته و دور تا دور ساقه را احاطه کرد. به طوری که قسمت بالایی گیاه پژمرده و خشک گردید. در همه گونه‌های هسته‌دار (هشت گونه مورد مطالعه) دمبرگ‌ها آلوده شدند و برگ‌ها خشک و آویزان روی نهال‌ها باقی ماندند و به ندرت ریزش کردند (شکل ۱G). آلودگی ساقه‌های آلو، آلبالو، گیلاس و آلوچه به ندرت دیده شد. اما آلودگی ساقه‌ها در زردآلو، هلو و بادام به فراوانی مشاهده گردید (جدول ۲). نشانه‌های بیماری روی برخی از برگ‌ها و ساقه‌های جوان گلابی و برگ‌های سیب و زالزالک به صورت لکه‌های قهوه‌ای کمرنگ تا تیره چهار روز بعد از مایه‌زنی در دمای ۲۰ ± ۲°C مشاهده شد. زخم‌های تشکیل شده روی برگ‌ها بعد از ۱۰ روز ریزش نکرد و هیچ گونه اسپورودوکیومی روی آنها بعد از ۲۰ روز مشاهده نگردید. همچنین نشانه‌ای روی ولیک و گیاهان زینتی (رز، گل محمدی و نسترن) تشکیل نشد (جدول ۲).



شکل ۱- نشانه‌های بیماری لکه غربالی روی میوه‌ها و سرشاخه‌های گونه‌های مختلف هسته‌دار در باغ و گلخانه؛ (A) میوه هلو، (B) میوه بادام، (C) میوه آلوچه، (D) میوه شلیل، (E) سرشاخه هلو، (F) سرشاخه بادام، (G) سرشاخه زردآلو، (H) جوانه بادام

مقاومت نسبی برخی از ارقام هلو نسبت به جدایه‌های عامل بیماری لکه غربالی

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نه رقم هلو از نظر تعداد لکه‌های تشکیل شده در هر ۱۰ cm^2 از سطح برگ نشان داد که ارقام مورد بررسی در سطح ۵ درصد با همدیگر تفاوت معنی‌داری دارند (جدول ۳). با مقایسه میانگین داده‌های مربوط به نه رقم هلو با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد، ارقام

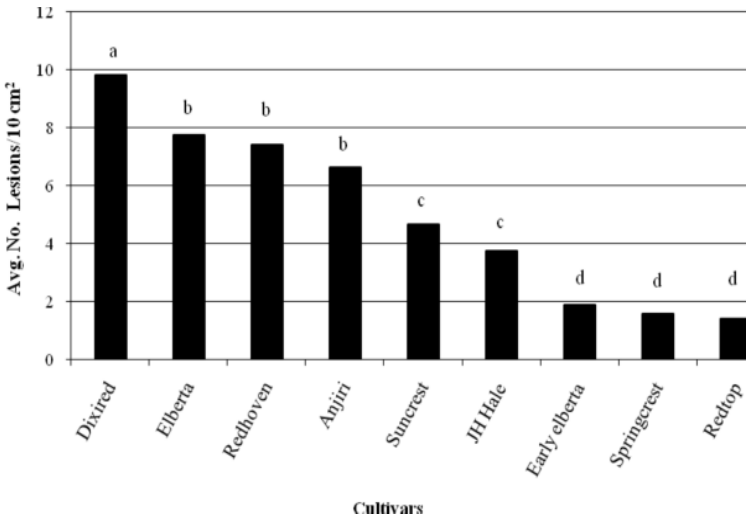
مورد بررسی در چهار گروه قرار گرفتند (شکل ۲). به طوری که بیشترین تعداد لکه‌ها در رقم دیکسی‌رد (با میانگین ۹/۷۸ لکه در هر cm^2 ۱۰ از سطح برگ) و کمترین تعداد لکه‌ها در ارقام ردتاپ (۱/۳۸)، اسپرینگ کرست (۱/۵۵) و آلبرتای پیش‌رس یا ولدآبادی (۱/۸۶) دیده شد (شکل ۲). همچنین تفاوت معنی‌داری بین بیماری‌زایی جدایه‌ها وجود داشت. به طوری که بیشترین بیماری‌زایی در جدایه URH9 (با میانگین ۱۲/۳۰ لکه در هر cm^2 ۱۰ از سطح برگ) روی رقم دیکسی‌رد (با میانگین ۳۲/۴۳ لکه در هر cm^2 ۱۰ از سطح برگ) و کمترین بیماری‌زایی در جدایه URH2 (۲/۶۷) روی رقم ردتاپ (با میانگین ۱/۳ لکه در هر cm^2 ۱۰ از سطح برگ) مشاهده گردید و جدایه KHG2 (۵/۱۵) بین دو جدایه URH9 و URH2 قرار گرفت (شکل ۳).

جدول ۲- گیاهان استفاده شده در آزمایش بررسی دامنه میزبانی عامل بیماری لکه غربالی درختان میوه هسته‌دار در شرایط گلخانه

نام گیاه	گونه گیاهی	آلودگی برگ‌ها	آلودگی شاخه‌ها
زردآلو	*Prunus armeniaca* L.	+	+
بادام اهلی	*Prunus dulcis* (Mill.) D. A. Webb.	+	+
بادام کوهی	*Prunus reuteri* Bois et. Bh.	+	+
هلو	*Prunus persica* (L.) Batsch.	+	+
گیلاس	*Prunus avium* L.	+	+[a]
آلبالو	*Prunus cerasus* L.	+	+[a]
آلو	*Prunus domestica* L.	+	+[a]
آلوچه	*Prunus divaricata* Boiss.	+	+[a]
سیب	*Malus domestica* Borkh.	+[b]	-
گلابی	*Pyrus communis* L.	+[b]	+[b]
زالزالک	*Crataegus azarollus* L.	+[b]	-
ولیک	*Crataegus monogyna* (Willd) Jacq.	-	-
رز	*Rosa persica* Michx.	-	-
نسترن	*Rosa* sp.	-	-
گل محمدی	*Rosa damascena* Mill.	-	-

+: آلودگی اندام مذکور -: عدم مشاهده آلودگی اندام مذکور [a]+: آلودگی اندام مذکور به ندرت دیده شد.

[b]+: عدم ریزش زخم‌ها یا عدم تشکیل اسپورودوکیوم روی آنها.

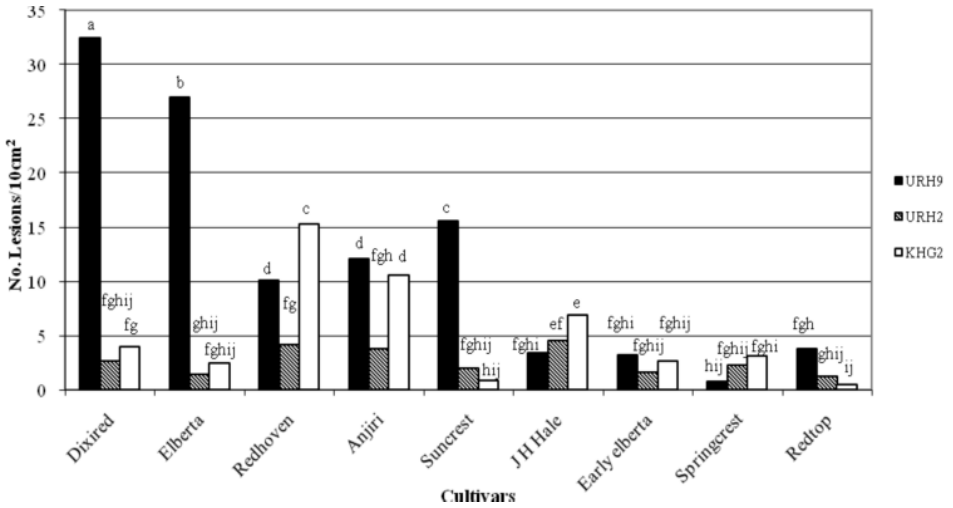


شکل ۲- مقایسه میانگین تعداد زخم‌های تشکیل شده در هر cm^2 ۱۰ از سطح برگ در ارقام مختلف هلو توسط سه جدایه URH9، URH2 و KHG2 قارچ *Wilsonomyces carpophilus*

جدول ۳- تجزیه واریانس تعداد زخم‌های تشکیل شده در هر ۱۰ سانتی‌متر مربع از سطح برگ در نه رقم هلو نسبت به جدایه‌های عامل بیماری لکه غربالی درختان هسته‌دار

منابع تغییرات (S.O.V)	درجه آزادی (D.F.)	میانگین مربعات تعداد زخم ها	F محاسبه شده (Fs)
جدایه	۳	۷۱۹.۶۵	۲۹۸.۳۳*
رقم	۸	۱۱۲.۹	۴۶.۸*
جدایه × رقم	۲۴	۱۱۳.۷۳	۴۷.۱۵*
خطای آزمایش	۷۲	۲.۴۹	-

* تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد.



شکل ۳- مقایسه میانگین اثرات متقابل تعداد زخم‌های تشکیل شده در هر $10\ cm^2$ از سطح برگ توسط جدایه‌های URH9، URH2 و KHG2 قارچ *Wilsonomyces carpophilus* روی ارقام مختلف هلو

بحث

با توجه به تحقیق حاضر، قارچ *W. carpophilus* دامنه میزبان وسیعی دارد و به گونه‌های مختلف درختان میوه هسته‌دار حمله می‌نماید. همه اندام‌های هوایی (برگ‌ها، شاخه‌ها، دمبرگ‌ها و گاهی جوانه‌ها) نهال‌های بذری گونه‌های مختلف هسته‌دار (هشت گونه مورد مطالعه) توسط عامل بیماری آلوده شدند. اگر چه میزان آلودگی اندام‌ها در بین گونه‌ها متفاوت بود. بر اساس مطالعه انجام یافته توسط Smith & Smith (1942) قارچ عامل بیماری توانایی حمله به بیش از ۳۵ گونه از درختان میوه هسته‌دار را دارد و گونه‌های مختلف هسته‌دار حساسیت یکسانی ندارند، به طوری که گونه‌های *Prunus hortulana*، *P. reverchonii* و *P. umbellata* حساسیت شدیدی به قارچ عامل لکه غربالی دارند. در این مطالعه هیچ نوع تخصص‌یافتگی میزبانی بین جدایه‌ها (پنج جدایه مورد استفاده) روی گونه‌های مختلف هسته‌دار مشاهده نشد و همه جدایه‌ها قادر به آلوده کردن برگ‌ها و شاخه‌های میزبان‌های مختلف بودند. زخم‌های تشکیل شده روی برگ‌ها و ساقه‌های جوان گلابی و برگ‌های سیب و زالزالک چهار روز بعد از مایه‌زنی در دمای $۲۰ \pm ۲^{\circ}C$ مشاهده شد، اما گسترش نیافته و ریزش نکردند و بعد از ۲۰ روز هیچ اسپورودوکیومی روی آنها تشکیل نشد. بنابراین درختان سیب، گلابی و زالزالک نمی‌توانند میزبان‌های مهمی برای قارچ عامل بیماری لکه غربالی محسوب شوند و انتظار می رود که قارچ عامل بیماری محدود به درختان میوه هسته‌دار باشد. هر چند که Ashkan & Asadi (1971) نشانه‌هایی مشابه لکه غربالی روی برگ‌های سیب و گلابی مشاهده نمودند، اما نتوانستند عامل بیماری را از آنها جداسازی نمایند. در تحقیق حاضر، با توجه به عدم ریزش زخم‌ها و تشکیل اسپورودوکیوم‌ها روی آنها در سیب، گلابی و زالزالک، احتمال می‌رود که

نشانه‌های مشاهده شده توسط محققین مذکور با عوامل دیگر ایجاد شده باشد.

Highberg & Ogawa (1986) بیان می‌کنند که علیرغم حضور کنیدی‌های زنده در جوانه‌های غیرفعال درختان بادام، کمتر از یک درصد آنها از بین می‌روند و در صورت مایه‌زنی مصنوعی جوانه‌ها با کنیدی‌ها تا زمان شکوفه‌دهی نشانه‌های بیماری روی آنها دیده نمی‌شود. که نشان دهنده آلودگی و از بین رفتن جوانه‌ها بعد از تورم آنها می‌باشد. هرچند که مکانیسم جلوگیری از جوانه‌زنی کنیدی‌ها یا آلودگی جوانه‌ها به وسیله کنیدی‌ها شناخته نشده است (Highberg & Ogawa, 1986). این وضعیت تنها منحصر به درختان بادام نمی‌شود. در درختان هلو سوخته شدن جوانه‌ها به خاطر آلودگی شاخه‌ها در بخش پایینی جوانه‌ها (به جای آلودگی مستقیم جوانه‌ها) و گسترش بیماری به جوانه‌ها در اوایل زمستان می‌باشد (Wilson, 1937). در این مطالعه نیز آلودگی شاخه‌ها در درختان هلو و به میزان نسبتاً کمتر در درختان بادام مشاهده گردید (شکل‌های ۱E و ۱ F). ظهور نشانه‌های بیماری روی میوه‌های بادام، آلوچه، آلو، هلو، شلیل و سرشاخه‌های زردآلو در باغ و نیز آلودگی سرشاخه‌های آلو، آلوچه و زردآلو در شرایط گلخانه و جداسازی عامل بیماری از این اندام‌ها برای اولین بار از ایران گزارش می‌گردد.

همچنین در این تحقیق تفاوت معنی‌داری بین مقاومت نسبی ارقام هلو نسبت به سه جدایه قارچ دیده شد. رقم دیکسی‌رد حساس‌ترین و ارقام ردتاپ، اسپرینگ کرست و آلبرتای پیش‌رس مقاوم‌ترین ارقام بودند. ارقام انجیری، جی اچ هیل، آلبرتای دیررس و سان کرست متحمل‌ترین ارقام شناخته شدند. به عبارتی می‌توان گفت که واکنش جدایه‌ها به ارقام بستگی داشته و در برخی ارقام یک جدایه و در برخی دیگر، جدایه دیگر بیشتر اثرگذار بوده است (شکل ۳). هر چند که Shaw *et al.* (1990) تفاوت معنی‌داری بین مقاومت نسبی چهار رقم بادام و سه جدایه قارچ مشاهده نکردند. Romanazzi *et al.* (2005) نشان دادند که بین مقاومت ۱۵ رقم گیلاس به عامل بیماری لکه غربالی تفاوت معنی‌داری وجود دارد. ارقام Starking Hardy Giant، Bigarreau، Moreau و Giorgia حساس‌ترین و ارقام Lapins، Sunburst، Celeste و Ferrovia مقاوم‌ترین ارقام بودند.

با توجه به اینکه عامل بیماری لکه غربالی به صورت میسلیوم در شانکر شاخه‌ها یا جوانه‌های سوخته و کنیدیوم در جوانه‌های خواب[1] بقا می‌یابد (Ashkan & Asadi, 1971; Highberg & Ogawa, 1986)، و از طرف دیگر عامل بیماری از دامنه میزبانی وسیع برخوردار است و قادر به آلوده کردن اندام‌های مختلف (برگ‌ها، شاخه‌ها، میوه‌ها، جوانه‌ها و ندرتاً گل‌ها) گونه‌های مختلف درختان میوه هسته‌دار می‌باشد (Ogawa *et al.*, 1995). از طرفی، گونه‌های مختلف هسته‌دار اهلی و وحشی زیادی در ایران وجود دارند (Ghahreman, 1993) که احتمال آلودگی و بقا قارچ روی آنها را ممکن می‌سازد. بنابراین، به نظر می‌رسد که استفاده از ارقام مقاوم و عدم کاشت گونه‌های مختلف هسته‌دار در مجاورت یکدیگر، تأثیر بسزایی در کاهش آلودگی اندام‌های مختلف آنها و کنترل بیماری داشته باشد. اگر چه مطالعه جامعی در مورد بررسی مقاومت ارقام گونه‌های مختلف هسته‌دار به بیماری لکه غربالی در دنیا و ایران دیده نمی‌شود که نیازمند مطالعه بیشتری است. از طرفی، مطالعه ساختار ژنتیکی جمعیت قارچ *W. carpophilus* با استفاده از روش مولکولی RAPD-PCR توسط نویسندگان این تحقیق نشان داد که جمعیت قارچ از تنوع ژنتیکی بالایی برخوردار بوده و در مناطق مختلف استان آذربایجان غربی پراکنش دارد (داده‌ها چاپ نشده است). اگر چه تولید مثل جنسی در قارچ *W. carpophilus* مشاهده یا گزارش نشده است (Adaskaveg *et al.*, 1990). با توجه به تنوع ژنتیکی بالای مشاهده شده در جمعیت قارچ *W. carpophilus*، اهتمام به کشت ارقامی با مقاومت نسبی زیاد و ژن‌های مقاومت متفاوت می‌تواند از شیوع و شدت بیمارگر تا حد زیادی جلوگیری کند. لذا تحقیقات بیشتر در این زمینه می‌تواند در برنامه‌های اصلاح نژاد و تولید و تکثیر ارقامی با مقاومت نسبی بیشتر در برابر بیماری لکه غربالی مدنظر قرار گیرد.

نتیجه‌گیری کلی

با توجه به تحقیق حاضر قارچ عامل بیماری محدود به درختان میوه هسته‌دار می‌باشد و تفاوت معنی‌داری

1. Dormant

بین مقاومت نسبی ارقام هلو به جدایه‌های قارچ وجود دارد. لذا پیشنهاد می‌شود جهت کاهش شیوع و شدت بیماری، بررسی‌های بیشتر در ارتباط با مقاومت نسبی گونه‌های مختلف درختان میوه هسته‌دار و مطالعه تنوع ژنتیکی جمعیت قارچ لکه غربالی در سطح کشور صورت گیرد.

سپاسگزاری

نگارندگان از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه تهران به خاطر فراهم کردن اعتبارات مالی این تحقیق کمال تشکر را دارند. همچنین از زحمات آقای مهندس سپهوند کارشناس گروه علوم باغبانی به خاطر کمک در تهیه ارقام هلو تشکر و قدردانی می‌گردد.

REFERENCES

1. Adaskaveg, J. E., Ogawa, J. M. & Butler, E. E. (1990). Morphology and ontogeny of conidia in *Wilsonomyces carpophilus*, gen. nov. and comb. nov., causal pathogen of shot hole disease of *Prunus* species. *Mycotaxon*, 37, 275-290.
2. Ashkan, M. & Asadi, P. (1971). Shot hole disease of fruit trees. *Iranian Journal of Plant Pathology*, 7, 39-63. (In Farsi)
3. Ershad, D. (1995). *Fungi of Iran*. (2nd ed.). Agricultural Research Education and Extension Organization Publication, No. 10, Tehran, 868 pp.
4. Grove, G. G. (2002). Influence of temperature and wetness period on infection of cherry and peach foliage by *Wilsonomyces carpophilus*. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 24, 40-45.
5. Ghahreman, A. (1993). *Plant systematics: Cormophytes of Iran*. Vol II. Iranian University Press, 842 pp. (In Farsi).
6. Highberg, L. M. & Ogawa, J. M. (1986). Survival of shot hole inoculum in association with dormant almond buds. *Plant Disease*, 70, 828-831.
7. Ogawa, J. M., Zehre, E. I., Bird, G. W., Ritchie, D. F., Uriu, K. & Uyemoto, J. K. (1995). *Compendium of stone fruit diseases*. APS Press, Minnesota, USA, 98 pp.
8. Romanazzi, G., Murolo, S. & Branzanti, B. (2005). Resistance of sweet cherry to *Coryneum* and cherry leaf spot. *Phytopathology*, 95, S 90. (Abstract)
9. Shaw, D. A., Adaskaveg, J. E. & Ogawa, J. M. (1990). Influence of wetness period and temperature on infection and development of shot hole disease of almond caused by *Wilsonomyces carpophilus*. *Phytopathology*, 80, 749-756.
10. Smith, C. O. & Smith, D. J. (1942). Host range and growth temperature relations of *Coryneum beijerinckii*. *Phytopathology*, 32, 221-225.
11. Vuillemin, P. (1888). L' *Ascospora beijerinckii* et la maladie des cerisiers. *Journal of Botany*, 2, 255-259.
12. Wilson, E. E. (1937). The shot hole disease of stone fruit trees. *California University Experiment Station Bulletin*, 608, 3-40.