

پراکنش، سبب‌شناسی و بیماری‌زایی آنتراکنوز گردو در ناحیه شمال غرب ایران*

سلیمان جمشیدی^۱ و سیامک صلاحی^۱

چکیده

آنتراکنوز گردو شایع‌ترین بیماری قارچی گردو در ایران بوده و در سال‌های پرباران و خنک، خسارت زیادی به این محصول وارد می‌کند. این مطالعه به منظور سبب‌شناسی و تعیین پراکنندگی بیماری در ناحیه شمال غرب کشور به عنوان یکی از قطب‌های عمده تولید گردو انجام گردید. در این تحقیق تعداد ۷۵ جدایه از گردوکاری‌های ۱۱ استان ناحیه شمال غرب کشور جداسازی گردید. پریتسیوم‌ها از برگ‌های ریخته شده استحصال و یا تولید آن‌ها با نگهداری کشت‌های خالص به مدت سه ماه در دمای ۱۰ درجه سلسیوس القا شد. براساس مطالعات انجام شده همه جدایه‌ها *Ophiognomonina leptostyla* شناسایی شدند. نتایج نشان داد که اقلیم‌هایی که این بیماری در آن‌ها شایع بود، غالباً از نوع سرد و یا معتدل بودند. هیچ یک از جدایه‌ها به اقلیم‌های گرم و نیمه گرم تعلق نداشتند. این بیماری در طیف وسیعی از اقلیم‌ها از لحاظ میزان رطوبت مشاهده شد. هم‌چنین ۷۳ درصد جدایه‌ها از ارتفاع ۲۰۰۰-۱۰۰۰ متری از سطح دریا به دست آمدند. آزمون بیماری‌زایی روی نهال‌های گردو نیز حاکی از تنوع بین جدایه‌ها از لحاظ شاخص بیماری و زمان تشکیل آسروول در برگ بود و این دو ویژگی همبستگی منفی و معنی‌داری با هم داشتند. هم‌چنین گروه‌بندی جدایه‌ها براساس صفات بیماری‌زایی، آن‌ها را در پنج گروه با بیماری‌زایی بسیار کم، کم، متوسط، بالا و بسیار بالا قرار داد. شناخت از درجه بیماری‌زایی جمعیت قارچی موجود، پس از معرفی ارقام استاندارد گردو و آزمون بیماری‌زایی روی آن‌ها، به شناسایی پاتوتیپ‌ها خواهد انجامید.

واژه‌های کلیدی: لکه سیاه گردو، سبب‌شناسی، آنتراکنوز گردو، *Ophiognomonina leptostyla*.

تاریخ دریافت مقاله: ۹۰/۶/۷ تاریخ پذیرش: ۹۰/۱۲/۱۰

۱- اعضای هیأت علمی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد میانه، گروه گیاه‌پزشکی، میانه، ایران.

* مستخرج از طرح پژوهشی اجرا شده در دانشگاه آزاد اسلامی واحد میانه

مقدمه

گردوی ایرانی (*Juglans regia* L.) به عنوان یکی از کهن‌ترین درختان بومی کشور، علاوه بر ارزش غذایی بسیار بالا، دارای مصارف عمده صنعتی و طبی بوده و چوب آن از ارزش و اهمیت اقتصادی زیادی برخوردار می‌باشد (Radnia, 1997). براساس آمار فائو در سال ۲۰۰۹ ایران سومین کشور تولیدکننده گردو به شمار می‌رود (FAO, 2011). ناحیه شمال غرب کشور به عنوان یکی از قطب‌های عمده تولیدکننده گردو، بیش از نیمی از نیاز گردوی کشور را تأمین می‌کند (Anonymous, 2011). بیماری آنتراکنوز یا لکه سیاه گردو از مهم‌ترین بیماری‌های انواع گردو در نواحی مختلف دنیا از جمله آمریکای شمالی و جنوبی، نواحی گسترده‌ای از اروپا و آسیا و نیز شایع‌ترین بیماری قارچی گردو در اغلب نواحی مدیترانه‌ای می‌باشد (Belisario, 2002). فرم جنسی قارچ عامل این بیماری خسارت‌زا *Ophiognomonina leptostyla* (Fr.) Sogonov 2008 با فرم غیرجنسی *Marssoniella juglandis* (Lib.) Höhn. 1916 می‌باشد (Sogonov, 2008). این بیماری علاوه بر کاهش سطح فتوسنتز و در نتیجه افت کمیت و کیفیت میوه گردو، سبب ریزش پیش‌رس برگ و میوه‌ها، کاهش شاخه و میوه‌زایی، تضعیف، کاهش عمر، قدرت باروری و کیفیت چوب درختان گردو شده و در نهایت ممکن است به زوال آن‌ها منتهی شود (Al-Hassan, 1979; Belisario, 2002). علائم این بیماری عمدتاً روی پهنک برگ، دم‌برگ، شاخه یک‌ساله و پوسته سبز میوه به صورت بلاچ‌های قهوه‌ای مایل به سیاه می‌باشد که اغلب آسروول‌های تیره با الگوی دوایر متحدالمرکز و گاه پراکنده در آن‌ها قابل مشاهده است (Berry, 1981; Belisario, 2002). این قارچ با ماکروکنیدی‌های موجود در آسروول‌ها توسط باد و با قطرات باران منتشر شده و اغلب به صورت پرتیسپوم، در برگ‌های ریخته شده زمستان‌گذرانی می‌کند (Belisario, 2002).

بیماری آنتراکنوز گردو در ایران برای اولین بار توسط خبیری (۱۳۳۱) گزارش شد (Behdad, 1991; Ershad, 2010). سایر گزارش‌ها در سال‌های اولیه شیوع بیماری توسط اسکندری (۱۳۴۳)، شریف و ارشاد (۱۳۴۵) صورت گرفته است (Ershad, 2010). این بیماری در حال حاضر از اغلب

نواحی کشور از جمله شمال خراسان (Jafarpour, 1991)، آذربایجان شرقی و غربی، اردبیل و زنجان (Behdad, 1991; Saremi and Razzaz Hashemi, 2001; Irani et al., 2009; Salahi et al., 2006; Najafi et al., 2009) و ساری (Saremi and Razzaz Hashemi, 2001; Bakhtiari and Arjmandeyan, 2007)، گیلان، مازندران، گلستان و کرمانشاه (Irani et al., 2009)، قزوین (Irani et al., 2007; Saremi and Razzaz Hashemi, 2001, 2003) گزارش شده و به ویژه در فصل‌های پرباران و خنک خسارت عمده و قابل توجهی وارد می‌کند (Behdad, 1991; Irani et al., 2009; Saremi and Razzaz Hashemi, 2001, 2003; Salahi et al., 2006). خسارت این بیماری در سال‌های اخیر به ویژه در ناحیه شمال غرب نواحی کشور شدید گزارش شده است (Irani et al., 2007; Salahi et al., 2007). تاکنون، تنها یک گونه (*O.leptostyla*) از گردوی معمولی گزارش شده است (Belisario, 2002). این مطالعه با هدف سبب‌شناسی، تشخیص عامل(های) بیماری و تعیین پراکنندگی آن در ناحیه شمال غرب کشور و ارتباط آن با اقلیم و ویژگی‌های جغرافیایی و بررسی تنوع در بیماری‌زایی جدایه‌ها انجام گردید.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری طی بهار و تابستان سال‌های ۸۷-۱۳۸۵ از باغ‌های گردو، تک درخت‌های اطراف مزارع و باغ‌ها، درختان گردوی موجود در فضای سبز داخل شهرها، از مناطق مختلف ۱۱ استان شمالی، شمال غربی و غربی صورت گرفت. اطلاعات و جزئیات مناطق نمونه‌برداری شده که آلودگی در آن‌ها مشاهده شد، در جدول ۱ درج شده است. هم‌چنین ویژگی‌های جغرافیایی این مناطق نظیر ارتفاع از سطح دریا، طول و عرض جغرافیایی با استفاده از نرم‌افزار Google Earth Pro 4.1.7087 مشخص گردید. نوع اقلیم این مناطق با استفاده از نقشه بیوکلماتیک ایران و براساس تقسیم‌بندی ثابتی (Sabeti, 1965; Sabeti, 2009) با روش آمبرژه تعیین شد. از هر منطقه، پنج درخت انتخاب و حداکثر پنج برگ مبتلا از هر درخت نمونه‌برداری و در کل ۷۵ جدایه جداسازی گردید. هم‌چنین نمونه‌برداری‌هایی نیز از برخی نواحی استان‌های دیگر مهم تولیدکننده گردو کشور نظیر استان کرمان انجام شد (جدول ۲).

جدول ۱- مشخصات جغرافیایی محل‌های نمونه‌برداری از درختان گردوی آلوده به بیماری آنتراکنوز

Table 1. Geographical features of collection sites infected to walnut anthracnose

جدایه Isolate	محل نمونه‌برداری Collection site	استان Province	نوع اقلیم Climate type	طول جغرافیایی Latitude	عرض جغرافیایی Longitude	ارتفاع از سطح دریا Altitude (m)
Abk	Abhar, Kahrizak	Zanjan	cold semi-arid	49° 04'	36° 21'	1673
Abs	Abhar, Shanat	Zanjan	cold semi-arid	49° 16'	36° 13'	1645
Ahr	Ahar	Azarbaijane Sharghi	cold semi-arid	47° 03'	38° 28'	1341
Ajb	Ajabshir, Bonalu	Azarbaijane Sharghi	cold arid	45° 53'	37° 28'	1423
Ajd	Ajabshir, Danalu	Azarbaijane Sharghi	cold arid	45° 50'	37° 29'	1375
Ajm	Ajabshir, Mehmandar	Azarbaijane Sharghi	cold arid	45° 51'	37° 25'	1333
Ard	Ardebil	Ardebil	cold semi-humid	48° 17'	38° 14'	1500
Arf	Ardebil, Fuladlu	Ardebil	cold semi-arid	47° 17'	38° 15'	1530
Aro	Ardebil, Oskanlu	Ardebil	cold semi-arid	47° 19'	38° 16'	1432
Asa	Abhar, Sharifabad	Zanjan	cold semi-arid	49° 12'	38° 08'	1713
Asl	Asalem	Gilan	very humid	48° 57'	37° 47'	43
Azr	Azar shahr	Azarbaijane Sharghi	cold arid	45° 58'	37° 45'	1390
Bnb	Bonab	Azarbaijane Sharghi	cold arid	46° 03'	37° 20'	1300
Did	Divan darreh	Kordestan	cold semi-arid	47° 02'	35° 54'	1821
Dlh	Dalahu	Kermanshahan	cold semi-arid	46° 07'	34° 17'	2058
Eag	Eslamabad'e gharb	Kermanshahan	cold semi-arid	46° 31'	34° 06'	1514
Fmn	Fuman	Gilan	moderate humid	49° 17'	37° 13'	50
Ggt	Gogan, Taimurlu	Azarbaijane Sharghi	cold arid	45° 54'	37° 46'	1961
Glv	Gilvan	Gilan	moderate humid	49° 25'	36° 44'	439
Gnj	Ganjeh	Gilan	moderate semi-humid	48° 28'	36° 51'	804
Grm	Germi	Ardebil	cold semi-arid	48° 05'	39° 00'	993
Hmd	Hamedan	Hamedan	cold arid	48° 21'	34° 11'	2150
Hsh	Hashtrud	Azarbaijane Sharghi	cold arid	47° 05'	37° 47'	1660
Ile	Ilam, Eywan	Ilam	semi-humid moderate	46° 19'	33° 48'	1645
Ilk	Ilkhchi	Azarbaijane Sharghi	cold arid	45° 58'	37° 57'	1352
Ilm	Ilam	Ilam	moderate semi-arid	46° 25'	33° 38'	1759
Jlz	Jolfa, Zaviye	Azarbaijane Sharghi	cold semi-arid	45° 40'	38° 53'	879
Jol	Jolfa	Azarbaijane Sharghi	cold semi-arid	45° 38'	38° 56'	720
Khd	Khorram darreh	Zanjan	cold semi-arid	49° 11'	36° 11'	1655
Khf	Khoy, Firuragh	Azarbaijane Gharbi	cold arid	44° 49'	38° 43'	1309
Khm	Khoy, Mortezaigholi	Azarbaijane Gharbi	cold arid	44° 57'	38° 32'	1136
Krk	Karaj, Kamalabad	Tehran	cold arid	51° 38'	35° 49'	1681
Krp	Paveh	Kermanshah	cold semi-arid	46° 21'	35° 02'	2210
Kss	Khosro shahr	Azarbaijane Sharghi	cold arid	46° 02'	37° 57'	1357
Lhj	Lahijan	Gilan	cold humid	50° 00'	37° 12'	29
Lhr	Taleghan, Lahran	Tehran	moderate humid	50° 37'	36° 11'	1893
Mdb	Miandoab	Azarbaijane Gharbi	cold semi-arid	48° 90'	36° 57'	1292
Mdd	Marand, Dizaj olya	Azarbaijane Sharghi	cold semi-arid	45° 37'	38° 27'	1442

Table 1. continued

ادامه جدول ۱

جدایه Isolate	محل نمونه‌برداری Collection site	استان Province	نوع اقلیم Climate type	طول جغرافیایی Latitude	عرض جغرافیایی Longitude	ارتفاع از سطح دریا Altitude (m)
Mdk	Marand, Kandloj	Azarbaijane Sharghi	cold semi-arid	45° 43'	37° 23'	1326
Mdo	Marand, Ordaklu	Azarbaijane Sharghi	cold semi-arid	45° 41'	37° 24'	1353
Mia	Miyaneh, Aghkand	Azarbaijane Sharghi	cold arid	48° 04'	37° 14'	1747
Mib	Miyaneh, Balesin	Azarbaijane Sharghi	cold arid	45° 35'	37° 38'	1237
Mij	Miyaneh, Balujeh	Azarbaijane Sharghi	cold arid	47° 46'	37° 36'	1503
Mir	Taleghan, Mir	Tehran	moderate humid	50° 33'	35° 15'	1753
Mlk	Malekan	Azarbaijane Sharghi	cold arid	45° 55'	36° 26'	1294
Mrd	Marand	Azarbaijane Sharghi	cold semi-arid	45° 46'	38° 25'	1334
Mrg	Maragheh	Azarbaijane Sharghi	cold semi-arid	46° 14'	37° 23'	1449
Mrs	Marivan, Seyf	Kordestan	cold semi-arid	46° 16'	35° 33'	1563
Mrv	Marivan	Kordestan	cold semi-arid	46° 09'	35° 31'	1543
Msh	Meshkin shahr	Ardebil	cold semi-arid	47° 40'	38° 23'	1452
Msl	Masuleh	Gilan	cold humid	48° 59'	37° 09'	1050
Myr	Mohammadyar	Azarbaijane Gharbi	cold arid	45° 31'	36° 57'	1360
Ngd	Naghadeh	Azarbaijane Gharbi	cold arid	45° 23'	36° 57'	1383
Nhv	Nahavand	Hamedan	cold arid	48° 30'	34° 35'	2916
Osk	Osku	Azarbaijane Sharghi	cold arid	46° 04'	37° 55'	1579
Pir	Piranshahr	Azarbaijane Gharbi	cold arid	45° 07'	36° 41'	2505
Prs	Pars abad	Ardebil	cold semi-arid	47° 55'	39° 38'	46
Qza	Qazvin, Abyek	Qazvin	cold semi-arid	50° 31'	36° 02'	1366
Qzm	Qazvin	Qazvin	cold arid	49° 59'	36° 16'	1390
Qzn	Qazvin, Nezamabad	Qazvin	cold arid	49° 50'	36° 16'	1369
Qzs	Qazvin, Sharifabad	Qazvin	cold arid	50° 07'	36° 11'	1264
Rst	Rasht	Gilan	moderate humid	49° 35'	37° 16'	2
Shd	Shahin dez	Azarbaijane Gharbi	cold semi-arid	46° 33'	36° 40'	1838
Shn	Taleghan, Sohan	Tehran	moderate humid	50° 38'	36° 12'	1895
Shs	Taleghan, Shahrazar	Tehran	moderate humid	50° 39'	36° 14'	2330
Sms	Somee sara	Gilan	moderate humid	48° 18'	37° 17'	13
Sof	Sofyan	Azarbaijane Sharghi	cold semi-arid	45° 58'	38° 16'	1505
Thl	Tehran, lavasanat	Terhan	moderate semi-humid	46° 27'	35° 25'	1781
Tls	Talesh	Gilan	very humid	48° 54'	37° 48'	72
Tof	Toyserkan, Falakeh	Hamedan	cold arid	48° 30'	34° 47'	1873
Toy	Toyserkan	Hamedan	cold arid	48° 26'	34° 50'	2060
Tst	Takestan	Qazvin	cold arid	49° 42'	36° 30'	1323
Zia	Zia abad	Qazvin	cold arid	49° 26'	35° 59'	1423
Znj	Zanjan	Zanjan	cold semi-arid	48° 29'	36° 39'	1959
Znk	Zanjan, Kushkan	Zanjan	cold semi-arid	48° 27'	36° 41'	1706

آزادسازی کامل کنیدیومها از تکه‌های آگار، مخلوط به دست آمده به مدت ۲۰ ثانیه در دستگاه سانتریفوژ با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه قرار داده شده و بخش بالایی آن مورد استفاده قرار گرفت. غلظت کنیدی توسط لام هموسایتومتر به میزان $10^6 \times 2$ کنیدی در میلی لیتر تنظیم و سپس مقدار 0.2 میلی لیتر به ازای هر لیتر ماده کاهنده کشش سطحی توپین ۲۰ به آن اضافه شد. سوسپانسیون حاصل به صورت یکنواخت توسط افشانه سترون روی برگ‌ها پاشیده شد، به طوری که هر دو سطح برگ‌ها به طور همگن با سوسپانسیون اسپوری آغشته شد. نهال‌های مایه‌زنی شده بلافاصله با کیسه‌های پلاستیکی شفاف پوشانده شده و به مدت ۴۸ ساعت در شرایط دمایی 2 ± 22 درجه سلسیوس در گلخانه نگهداری شدند. پس از گذشت ۴۸ ساعت از زمان مایه‌زنی، پوشش‌ها برداشته شده و نهال‌ها در همان شرایط گلخانه نگهداری شدند. گیاهان شاهد نیز با آب مقطر سترون تیمار و با کیسه‌های پلاستیکی پوشانده شدند (Black and Neely, 1978). برای هر جدایه سه برگ مرکب بالایی مایه‌زنی شده و به عنوان سه تکرار در نظر گرفته شد. یک ماه بعد از مایه‌زنی، شاخص بیماری به صورت نسبت تعداد لکه‌های ایجاد شده به تعداد برگ‌چه‌های مایه‌زنی شده (Belisario *et al.*, 2008) محاسبه و نیز روز تشکیل آسروول روی برگ ثبت شد. تجزیه واریانس و مقایسه میانگین با آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد با نرم‌افزار MSTATC انجام شد. جدایه‌ها براساس این دو ویژگی بیماری‌زایی خوشه‌بندی شدند. برای ساختن ماتریس تشابه از ضریب تشابهی اقلیدسی و برای کلاستر بندی از روش UPGMA از نرم‌افزار NTSYSpc ver. 2.02e استفاده شد. خط برش کلاستر با میانگین ماتریس تشابه تعیین و اعتبار دندروگرام با ضریب همبستگی مانتل سنجیده شد.

نتایج و بحث

بیماری آنتراکنوز گردو در گردوکاری‌های ناحیه شمال غرب کشور شیوع گسترده دارد (شکل ۱). بین مناطق آلوده این ناحیه نیز برخی محل‌ها عاری از بیماری بودند و علی‌رغم جستجوی دقیق بیماری در آن‌ها اثری از بیماری یافت نشد. این مناطق شامل بخش مرکزی شهرستان میانه و شبستر بود (جدول ۲) که با وجود وقوع گسترده بیماری در مناطق پیرامونی، طی زمان نمونه‌برداری، نشانه‌ای دال بر وقوع این بیماری در

جهت جداسازی و خالص‌سازی جدایه‌ها، قطعات برگ‌ی ضدعفونی شده به ابعاد 5×5 میلی‌متر حاوی آسروول با استفاده از اسکالپل روی یک لام سترون له شده و به یک میلی‌لیتر آب مقطر سترون در لوله‌های اپندورف $1/5$ میلی‌لیتری انتقال داده شد. برای آزاد شدن هر چه بیشتر ماکروکنیدی‌ها از آسروول‌ها، لوله‌ها به مدت ۲۰ ثانیه ورتکس گردید. سپس ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون کنیدی‌ها روی محیط کشت آب-آگار ۲٪ پخش شده و در دمای اتاق به مدت ۴۸ ساعت نگهداری گردید. تک ماکروکنیدی‌های جوانه زده در زیر میکروسکوپ نوری انتخاب و به محیط کشت جداگانه‌ای از آرد یولاف-آگار ۳۹٪ در دمای ۲۱ درجه سلسیوس و دوره نوری متناوب ۱۲:۱۲ انتقال داده شدند. یک هفته بعد، سه قطعه از ناحیه فعال پرگنه قارچ با قطر ۵ میلی‌متر از یکی از ماکروکنیدی‌های خوب رشد کرده برداشته شده و به محیط کشت آرد یولاف-آگار منتقل و در همان شرایط دمای و نوری مذکور نگهداری شدند (Belisario, 2008).

جهت تحریک بلوغ پریتسیوم بالغ، جدایه‌هایی که در پرگنه آن‌ها پریتسیوم اولیه مشاهده شد، در سه تکرار به مدت سه ماه دیگر در دمای ۱۰ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۵۰ درصد شرایط تاریکی مطلق نگهداری شدند (Belisario, 2008). در مورد جدایه‌هایی که پریتسیوم‌های آن‌ها از برگ‌های ریخته شده پای درخت و یا از کشت خالص به دست آمدند، از کلید شناسایی سوگونوف و همکاران (Sogonov *et al.*, 2008) استفاده شد. در مورد جدایه‌هایی که پریتسیوم آن‌ها در دسترس نبود، شناسایی با مقایسه ویژگی‌های فرم غیرجنسی صورت گرفت (Roquebert and Fayret, 1982).

جهت انجام آزمون بیماری‌زایی و بررسی تنوع بیماری‌زایی بین جدایه‌ها، نهال‌های گردوی رقم محلی نجفیه توپسرکان تهیه و به گلخانه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی واحد میانه انتقال و مراقبت‌های لازم از آن‌ها به عمل آمد. جهت تهیه مایه تلقیح، جدایه‌های خالص شده قارچ عامل بیماری به مدت یک ماه در محیط کشت آرد یولاف-آگار در دمای ۲۱ درجه سلسیوس و تناوب نوری ۱۲:۱۲ نگهداری شدند. بعد از تشکیل اندام‌های باردهی غیرجنسی و تولید ماکروکنیدی‌ها، ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر سترون به هر یک از محیط‌های کشت اضافه شده و شکستن دیواره‌ی آسروول و رهاسازی کنیدیوم‌ها با همزن شیشه‌ای صورت گرفت. جهت

فعالیت می‌باشد. منطقه نهاوند با اختلاف ارتفاع ۲۹۱۶ متر از سطح دریا، مرتفع‌ترین نقطه نمونه‌برداری شده و رشت با ۲ متر کم‌ارتفاع‌ترین منطقه بود که بیماری در آن‌ها مشاهده شد. با این وجود، ۷/۷٪ نمونه‌ها از ارتفاعات ۲۰۰۰-۱۰۰۰ متری از سطح دریا جمع‌آوری شد که با سطح پراکنندگی درختان گردو در این نواحی ارتباط دارد. بدین ترتیب به‌نظر می‌رسد، دست کم شیوع بیماری بستگی چندانی به عامل ارتفاع از سطح دریا نداشته باشد.

در آزمون بیماری‌زایی، اولین علائم ماکروسکوپی حدود ۱۰ روز پس از تلقیح ابتدا به صورت نقاط ریز به رنگ تیره مایل به خاکستری در سطح پستی برگ‌ها نمایان شد که با ادامه گسترش آلودگی، لکه‌های آب‌سوخته و سپس نکروزه در سطح رویی برگ ظاهر شده، تعداد و ابعاد آن‌ها با گذشت زمان افزایش یافت و برخی به مرور به هم متصل شدند. آسروول‌ها از روز سیزدهم به بعد و حداکثر ۲۲ روز بعد از مایه‌زنی بسته به جدایه در سطح رویی و پستی برگ‌ها و روی لکه‌های آب سوخته ظاهر شدند. جداسازی مجدد قارچ عامل بیماری و مشاهده ماکروکنیدی‌ها انجام گردید. شاخص بیماری‌زایی در همه جدایه‌ها با شاهد تلقیح نشده اختلاف معنی‌داری داشت. که به با پرورش آن‌ها مربوط می‌شود. این امر به دلیل شیوع بالای بیماری در منطقه میانه و تویسرکان، غیرقابل اجتناب بود. این پدیده در آزمایش بلیساریو و همکاران (Belisario et al., 2008) نیز مشاهده گردید.

تجزیه واریانس داده‌های مربوط به شاخص بیماری و روز تشکیل آسروول روی برگ نشان داد که بین جدایه‌ها اختلاف بسیار معنی‌داری وجود دارد (جدول ۳). مقایسه اورتوگونال یا گروهی بین دو گروه (تیمارهای مایه‌زنی شده با تیمار شاهد) نشان داد که این دو گروه از لحاظ شاخص بیماری اختلاف معنی‌داری با هم دارند. این مقایسه‌ها در مورد روز تشکیل آسروول هم معنی‌دار بود ($F=4.206, p \leq 0.042$). بنابراین گیاهان شاهد از لحاظ هر دو ویژگی بیماری‌زایی با تیمارهای مایه‌زنی شده از لحاظ آماری اختلاف داشتند. شاخص بیماری‌زایی بین جدایه‌ها از ۰/۲۵ تا ۳/۵۸ متغیر بود. جدایه Toy جدا شده از منطقه تویسرکان و Ile از ایلام به ترتیب از بیشترین و کمترین شاخص بیماری‌زایی بین جدایه‌ها برخوردار بودند (جدول ۴). تجزیه رگرسیونی شاخص بیماری‌زایی و

گردوکاری‌های آن‌ها مشاهده نشد که می‌توان دلیل آن را به عدم وجود مایه آلودگی اولیه برای شیوع بیماری و یا احتمالاً به وجود مقاومت نسبی در بین ژنوتیپ‌های گردوی غالب در این مناطق نسبت داد. در جدول ۲، فهرست مناطق نمونه‌برداری شده‌ای که بیماری در آن‌ها مشاهده نشد، آورده شده است. خوشبختانه، این بیماری مهم و خسارت‌زا، با وجود نمونه‌برداری‌های متعدد، در استان کرمان به عنوان مهم‌ترین استان کشور از لحاظ سطح زیر کشت و تولید گردو مشاهده نشد. ظاهراً گزارشی نیز از این بیماری در استان فارس به عنوان دومین تولیدکننده گردو در کشور وجود ندارد. استان فارس با وجودی که از لحاظ سطح زیر کشت گردو در مقام پنجم را در اختیار دارد، تولید گردوی قابل توجهی دارد که یکی از دلایل آن را می‌توان عدم شیوع این بیماری در این مناطق ذکر نمود. همچنین در بسیاری از مناطق مرکزی کشور به ویژه گردوکاری‌های وسیع شهرستان تفرش شواهدی از وقوع این بیماری به دست نیامد، ولی استان‌های کرمانشاه، آذربایجان شرقی و همدان که در رتبه‌های بعدی از لحاظ سطح زیر کشت گردو در کشور قرار دارند، این بیماری به شدت شایع است. براساس کلید ذکر شده، تنها یک گونه (*O. leptostyla*) شناسایی گردید. اقلیم‌هایی که این بیماری در آن‌ها شایع بود، غالباً از نوع سرد و یا معتدل بودند. احتمالاً سرما، به عنوان یک عامل تعیین‌کننده و مهم در زادآوری جنسی قارچ، بر وقوع بیماری نیز نقش اساسی دارد. در کل ۸۲/۷ درصد نمونه‌ها از مناطق سرد و بقیه از مناطق معتدل جمع‌آوری شدند. هیچ‌کدام از جدایه‌ها به اقلیم‌های گرم و نیمه گرم تعلق نداشتند. در این زمینه امکان کنترل اقلیمی بیماری توسط عوامل آب و هوایی را نمی‌توان از نظر دور داشت. با این وجود، این بیماری از اغلب اقلیم‌های خشک، نیمه‌خشک، مرطوب و نیمه‌مرطوب نمونه‌برداری شد. بنابراین این بیماری با وجود وابستگی کنیدی‌های موجود در آسروول‌ها به پراکنده شدن توسط باران، به عنوان یکی از شرایط اساسی وقوع همه‌گیری، از لحاظ استقرار و شیوع در یک منطقه نیاز چندانی به رطوبت بالا ندارد. در مجموع، ۴۰ درصد جدایه‌ها از اقلیم‌های خشک و ۲۲/۷ درصد آن‌ها از اقلیم‌های نیمه‌خشک به دست آمدند. بنابراین تنها ۳۷/۵۳ درصد جدایه‌ها متعلق به اقلیم‌های نیمه مرطوب، مرطوب و یا بسیار مرطوب بودند. همچنین ظاهراً قارچ عامل بیماری در ارتفاعات مختلف قادر به استقرار و

احتمال را تقویت می‌کند که نهال‌های گردوی تهیه شده از منطقه تویسرکان، قبل از انتقال به گلخانه جهت مایه‌زنی به جمعیتی از قارچ مستقر در منطقه آلوده بوده‌اند و از این رو است که با جدایه‌های مناطق نزدیک‌تر، مشابهت دارد. جدایه‌های مربوط به استان ایلام دیرتر از همه جدایه‌های دیگر روی برگ آسروول تشکیل دادند که این امر ممکن است به دلیل عدم سازگاری این جدایه‌ها با ژنوتیپ گردوی مورد بررسی باشد. با این حال، اختلاف این جدایه‌ها از لحاظ روز تشکیل آسروول با جدایه‌های مربوط به استان‌های کردستان و گیلان معنی‌دار نبود.

تجزیه خوشه‌ای جدایه‌ها براساس دو ویژگی بیماری‌زایی مذکور نشان داد که جدایه‌ها از این نظر، در پنج گروه قرار می‌گیرند (شکل ۷). در خوشه بندی کلی، دو گروه کم‌آزار (۸۷٪) و پرآزار (۱۳٪) تشخیص داده شدند. گروه پرآزار به دو گروه کلی با بیماری‌زایی بالا (۴۰٪) و بیماری‌زایی متوسط (۴۷٪) تقسیم شد. در گروه مربوط به جدایه‌های با بیماری‌زایی بالا دو گروه مجزا با بیماری‌زایی شدید (۲۳٪) و بیماری‌زایی نسبتاً شدید (۱۷٪) وجود داشت. در گروه کم‌آزار نیز دو گروه تشخیص داده شد. گروه اول که تنها یک جدایه را تشکیل داد و جدایه‌ای بود که از بیماری‌زایی ضعیفی برخوردار بوده و دیرتر از همه آسروول تشکیل داد. این جدایه از مناطق جنگلی جداسازی شده بود و احتمالاً عدم سازگاری آن با نهال گردوی مورد مطالعه یکی از دلایل بیماری‌زایی ضعیف آن می‌تواند عنوان شود. در گروه دوم که ۱۲ درصد جدایه‌ها را شامل می‌شدند، جدایه‌هایی با بیماری‌زایی کم قرار داشتند.

تنها در ۱۴ جدایه، پریسیوم‌ها در طبیعت یافت و یا در محیط کشت تولید شدند. به نظر می‌رسد قارچ عامل بیماری علاوه بر زمستان‌گذرانی به صورت پریسیوم در صورت موفقیت به تشکیل آن، در میوه‌ها و برگ‌های فروریخته در پای درخت به صورت میسلیم و یا آسروول نیز قادر به بقا باشد.

بیماری آنتراکنوز گردو ناشی از *O. leptostyla* با تنوع زیاد در بیماری‌زایی به شدت در ناحیه شمال‌غرب کشور شایع است و با توجه اهمیت بیماری در کشور و به ویژه ناحیه شمال‌غرب و نظر به این که تحقیقات بسیار اندکی روی این بیماری شایع و خسارت‌زا صورت گرفته است، لازم است تحقیقات بیشتری به سمت این بیماری بااهمیت سوق داده شده و جنبه‌های مختلف این بیماری مورد بررسی قرار گیرد. با وجودی که به

روز تشکیل آسروول نشان داد که بین این دو ویژگی، یک رابطه توانی معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد با ضریب تبیین $r^2 = 0.7576$ به صورت $y = 16.055x^{-0.126}$ برقرار است. همچنین این دو صفت در سطح احتمال یک درصد همبستگی منفی ($r = -0.622$) با هم داشتند. به این معنی که هر چه در جدایه‌های آسروول‌ها دیرتر تشکیل شوند، شاخص بیماری‌زایی نیز کمتر خواهد بود و جدایه‌ای که سریع‌تر آسروول تشکیل دهند، از بیماری‌زایی بیشتری برخوردار خواهد بود.

بین جدایه‌های به دست آمده از استان‌های مختلف از لحاظ شاخص بیماری‌زایی و روز تشکیل آسروول اختلاف بسیار معنی‌داری مشاهده شد (جدول ۵). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بین شاهد و تک تک تیمارهای مایه‌زنی شده با جدایه‌های مربوط به کلیه استان‌ها از لحاظ شاخص بیماری‌زایی، اختلاف معنی‌داری وجود دارد. ضعیف‌ترین جدایه‌ها از لحاظ بیماری‌زایی روی نهال‌های گردوی مورد بررسی به استان ایلام تعلق داشتند. به علاوه بیشترین بیماری‌زایی در جدایه‌های استان همدان مشاهده شد که اختلاف آن‌ها با جدایه‌های استان قزوین معنی‌دار نبود ولی با سایر استان‌ها اختلاف معنی‌داری از لحاظ بیماری‌زایی داشت. احتمالاً بالاتر بودن توان بیماری‌زایی در این جدایه‌ها را می‌توان در سازگاری جدایه‌های مربوط به این استان‌ها با ژنوتیپ گردوی مایه‌زنی شده که بومی استان همدان است، جستجو نمود. در گروه دوم، جدایه‌های مربوط به استان‌های زنجان، کرمانشاه، آذربایجان شرقی، غربی، اردبیل و تهران از لحاظ آماری با هم اختلافی نشان ندادند. جدایه‌های جدا شده از گیلان و کردستان نیز از شاخص بیماری‌زایی کمتری برخوردار بوده و با جدایه‌های استان ایلام اختلاف معنی‌داری نداشتند.

همچنین مقایسه داده‌های مربوط به روز تشکیل آسروول روی برگ براساس استان نشان داد که بین جدایه‌های مورد بررسی از لحاظ این ویژگی در استان‌های مختلف اختلاف بسیار معنی‌داری وجود دارد (جدول ۵). مقایسه میانگین این داده‌ها نشان داد که بین شاهد و برخی جدایه‌ها از جمله جدایه‌های جمع‌آوری شده از استان‌های همدان، قزوین، کرمانشاه، زنجان، تهران، اردبیل، آذربایجان شرقی و غربی، از لحاظ روز تشکیل آسروول، اختلاف معنی‌دار وجود ندارد. البته جدایه‌های مربوط به استان‌های همدان، قزوین و زنجان از لحاظ عددی با شاهد نزدیکی بیشتری داشتند. این داده‌ها این

هر چه بیشتر جمعیت قارچی حاکم در کشور کمک خواهد نمود. شناخت از درجات مختلف بیماری‌زایی در جمعیت قارچی حاکم در منطقه شمال‌غرب کشور، با تعیین ارقام استاندارد گردو و انجام آزمون بیماری‌زایی روی آن‌ها به شناسایی پاتوتیپ‌های قارچ عامل بیماری‌زا خواهد انجامید که گامی ارزشمند در جهت شناسایی ارقام مقاوم به قارچ عامل بیماری را فراهم خواهد آورد. در نهایت، با توجه به این که اطلاعات زیادی از این بیماری در دسترس باغداران، مروجین و کارشناسان کشاورزی در دست نمی‌باشد، ضروری است نسبت به این بیماری با در اختیار قرار دادن اطلاعات دقیق به افراد ذیربط و مسؤول نسبت به آگاهی رسانی در راستای کنترل بیماری از طرق ممکن اقدام شود. با توجه به این که یکی از مهم‌ترین راه‌های مقابله با این بیماری جمع‌آوری برگ‌های آلوده به این بیماری و سوزاندن آن‌ها در محلی امن می‌باشد، لازم است در این زمینه به باغداران توصیه‌های لازم انجام گردد.

نظر می‌رسد اقلیم کنترل‌کننده این بیماری در نواحی گرم باشند، با این حال بایستی اقدامات پیشگیری‌کننده جهت جلوگیری از انتشار این بیماری به مناطق سالم عمده گردوکاری کشور از جمله استان کرمان و فارس به ویژه از طریق نهال آلوده هشداری لازم داده شده و برنامه‌ریزی در خصوص قرنطینه منطقه‌ای این نواحی به عمل آید. علی‌رغم این که بذر گردو در انتقال بیماری نقش چندانی ندارد، با این حال در انتقال بذری که ممکن است حاوی قطعاتی از پوسته میوه باشد جلوگیری نمود. چرا که قارچ عامل بیماری می‌تواند در پوسته میوه (برون‌بر و درون‌بر میوه شفت گردو) به سر برده و سبب انتقال بیماری گردد که بایستی در این زمینه هم دقت عمل صورت گیرد. هم‌چنین با توجه این که این بیماری در اقلیم‌های گرم و نیمه‌گرم کشور شایع نیست، ترویج گسترش کاشت گردو در این نواحی می‌تواند یکی از راهکارهای مقابله با افت محصول گردوی کشور در اثر خسارت این بیماری باشد. با توجه به گزارش‌های موجود این بیماری در شمال شرق کشور نیز شایع است. لذا مطالعه جدایه‌های این ناحیه نیز به شناخت

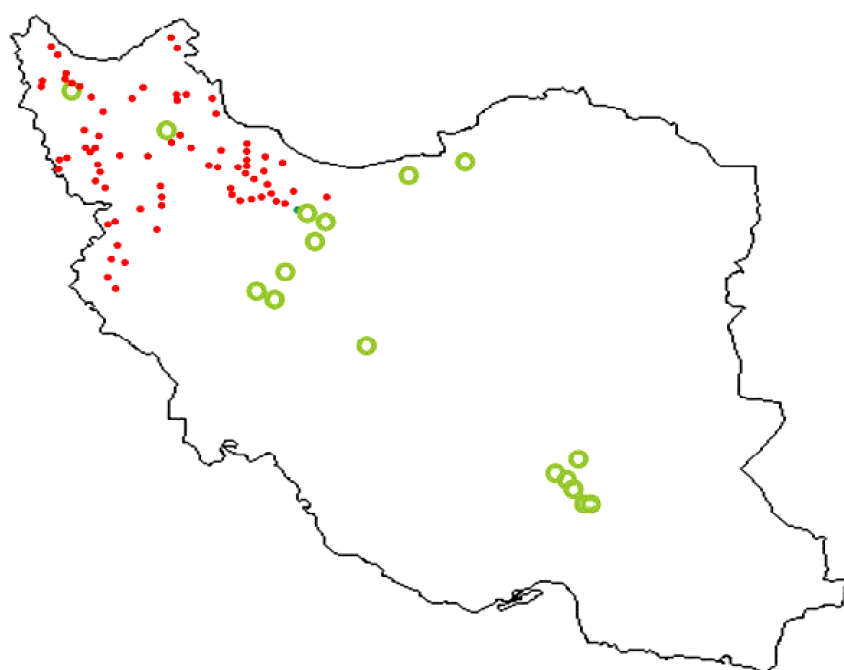
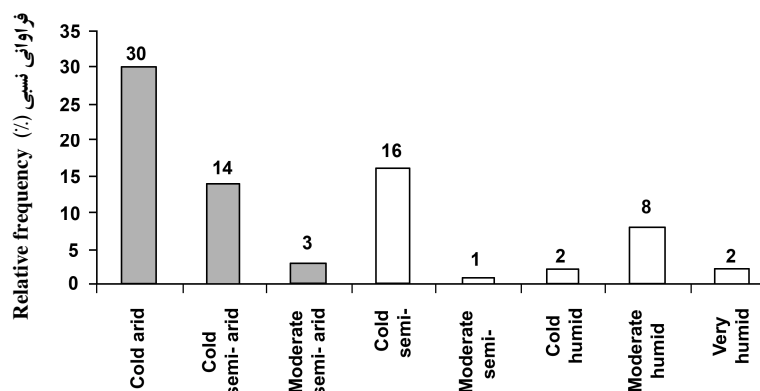


Figure 1. Geographical distribution of sampled areas

- Infected areas
- Non-infected areas

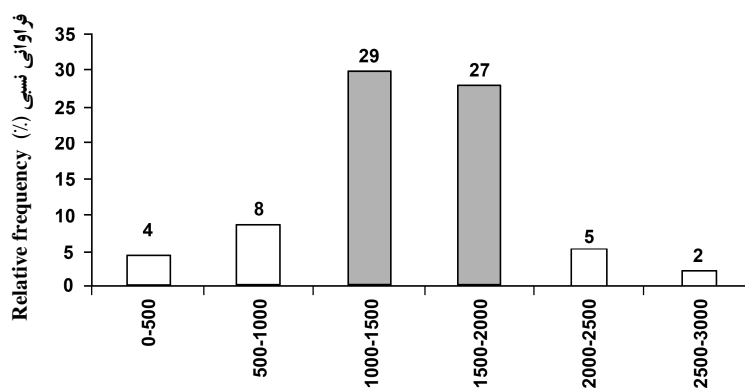
شکل ۱- توزیع جغرافیایی مناطق نمونه‌برداری شده

- نواحی آلوده
- نواحی سالم



شکل ۲- فراوانی جدایه‌ها بر حسب ارتفاع از سطح دریا

Figure 2. Isolates frequency based on altitude



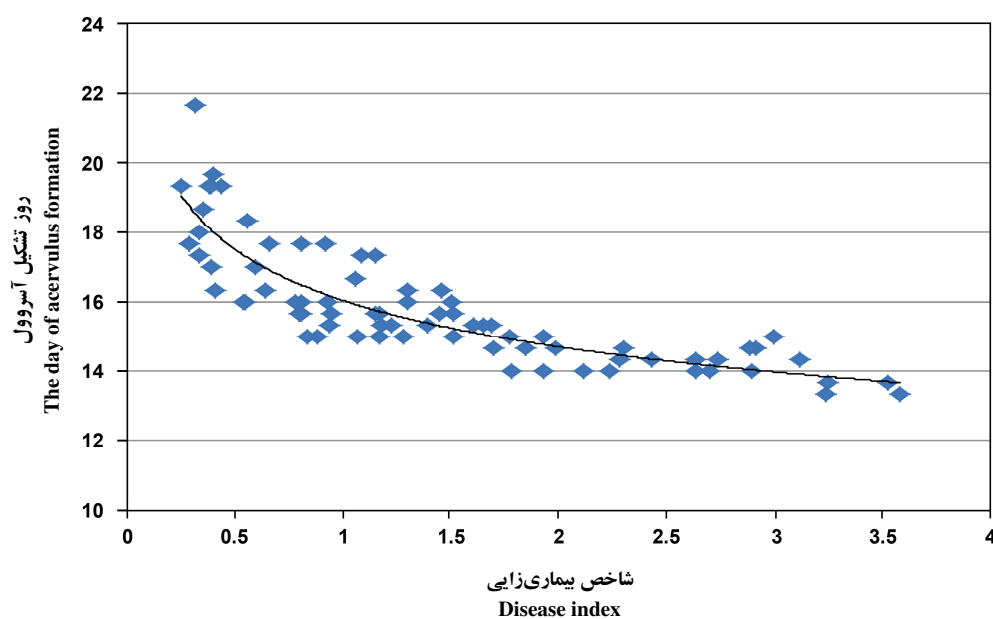
شکل ۳- فراوانی جدایه‌ها بر حسب اقلیم‌های مختلف

Figure 3. Isolates frequency based on climates

جدول ۲- فهرست مناطق نمونه‌برداری شده عاری از بیماری آنتراکنوز گردو

Table 2. The list of sampled sites free of walnut anthracnose

منطقه	استان	سال	منطقه	استان	سال
Collection site	Province	Year	Collection site	Province	Year
Dehnazar	Kerman	2008	Arak	Markazi	2008
Dehsardo	Kerman	2008	Khomain	Markazi	2008
Bozjan	Kerman	2008	Tafresh	Markazi	2008
Fathabad	Kerman	2008	Esfahan	Esfahan	2008
Khabar	Kerman	2008	Shahr-e Rey	Terhan	2008
Jalilabad	Kerman	2008	Tehran, Hesarak	Tehran	2007-09
Qom	Qom	2008	Sari, Pahneye Kala	Mazandaran	2008
Gorgan	Golestan	2008	Shabestar	Azarbajjane Sharghi	2007-08
Mahallat	Markazi	2008	Karaj, Gohardasht	Tehran	2008
Miyaneh, downtown	Azarbajjane Sharghi	2005-10	Karaj, Rahahan	Tehran	2008



شکل ۴- رگرسیون شاخص بیماری و روز تشکیل آسروول

Figure 4. Regression of disease index and the day of acervulus formation

جدول ۳- تجزیه واریانس شاخص بیماری‌زایی و روز تشکیل آسروول در جدایه‌های مورد مطالعه

Table 3. ANOVA table of disease index and the day of acervulus formation in studied isolates

منبع تغییرات S.O.V.	درجه آزادی D.F.	میانگین مربعات M.S.	
		شاخص بیماری Disease index	روز تشکیل آسروول The day of acervulus formation
جدایه Isolate	75	2.51**	8.50**
خطا Error	152	0.14	1.63
کل Total	227		

ضریب تغییرات شاخص بیماری و روز تشکیل آسروول به ترتیب ۱۷/۵۲٪ و ۱۲/۳۴٪

** : معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪

C.V. = 17.52 and 12.34% for disease index and the day of acervulus formation, respectively

** : Significant at 0.01 of probability level

جدول ۴ - ویژگی‌های بیماری‌زایی جدایه‌های مورد مطالعه
Table 4. Pathological characteristics of studied isolates

جدایه Isolate	شاخص بیماری‌زایی Disease index	روز آسروول‌زایی Day of acervulus formation	جدایه Isolate	شاخص بیماری‌زایی Disease index	روز آسروول‌زایی Day of acervulus formation	جدایه Isolate	شاخص بیماری‌زایی Disease index	روز آسروول‌زایی Day of acervulus formation	جدایه Isolate	شاخص بیماری‌زایی Disease index	روز آسروول‌زایی Day of acervulus formation
Abk	1.28	15.00	Gnj	1.51	16.00	Mdk	1.93	15.00	Qza	1.61	15.30
Abs	1.30	16.00	Grm	0.38	19.30	Mdo	1.17	15.00	Qzm	2.28	14.30
Ahr	1.15	17.30	Hmd	3.11	14.30	Mia	1.22	15.30	Qzn	2.89	14.70
Ajb	0.66	17.70	Hsh	2.11	14.00	Mib	1.09	17.30	Qzs	2.89	14.00
Ajd	0.81	17.70	Ile	0.26	19.30	Mij	0.95	15.70	Rst	1.06	16.70
Ajm	0.34	17.30	Ilk	0.41	16.30	Mir	1.18	15.30	Shd	0.81	16.00
Ard	1.85	14.70	Ilm	0.39	17.00	MLk	1.69	15.30	Shn	0.35	18.70
Arf	2.64	14.00	Jlz	0.54	16.00	Mrd	2.74	14.30	Shs	0.83	15.00
Aro	2.91	14.70	Jol	0.65	16.30	Mrg	1.39	15.30	Sms	1.45	15.70
Asa	2.30	14.70	Khd	1.99	14.70	Mrs	1.51	15.70	Sof	1.78	14.00
Asl	1.77	15.00	Khf	0.93	16.00	Mrv	2.70	14.00	Thl	3.52	13.70
Azr	0.92	17.70	Khm	2.43	14.30	Msh	0.41	19.70	Tls	0.94	15.30
Bnb	0.56	18.30	Krk	0.29	17.70	Msl	0.32	21.70	Tof	1.17	15.70
Did	1.30	16.30	Krp	1.46	16.30	Myr	0.78	16.00	Toy	3.58	13.30
Dlh	0.39	19.30	Kss	2.63	14.30	Ngd	0.55	16.00	Tst	3.52	13.70
Eag	0.60	17.00	Lhj	0.88	15.00	Nhv	3	15.00	Zia	1.66	15.30
Fmn	0.44	19.30	Lhr	1.07	15.00	Osk	1.67	14.70	Znj	2.24	14.00
Ggt	1.15	15.70	Mdb	1.52	15.00	Pir	0.81	15.70	Znk	1.93	14.00
Glv	0.33	18.00	Mdd	3.32	13.30	Prs	0.80	15.70	Control	0.09	15.30

LSD 5% برای شاخص بیماری‌زایی ۰/۶۰۵۷ و روز تشکیل آسروول ۲/۰۶ می‌باشد

LSD 5% for disease index and the day of acervulus formation is 0.6057 and 2.06, respectively

جدول ۵ - تجزیه واریانس شاخص بیماری‌زایی و روز تشکیل آسروول در جدایه‌های مختلف در استان‌های مورد مطالعه

Table 5. ANOVA table of disease index and the day of acervulus formation in studied isolates in studied provinces

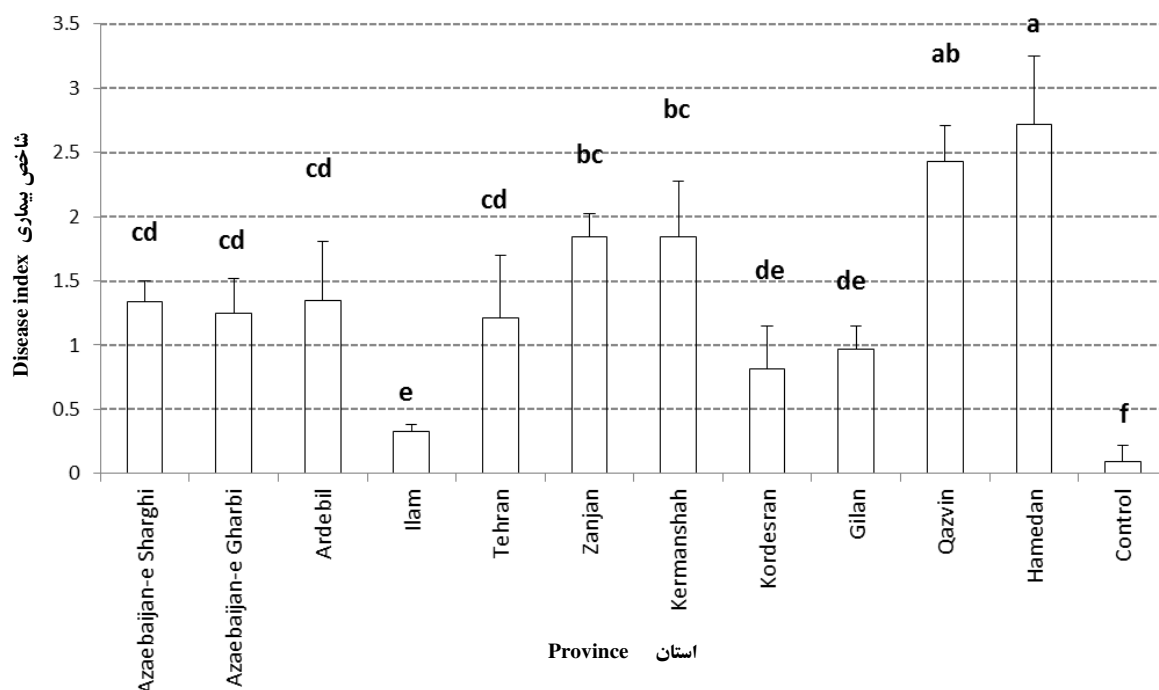
منبع تغییرات S.O.V.	درجه آزادی D.F.	میانگین مربعات M.S.	
		شاخص بیماری Disease index	روز تشکیل آسروول The day of acervulus formation
جدایه Isolate	11	6.13**	15.76**
خطا Error	216	0.66	3.37
کل Total	227		

ضریب تغییرات شاخص بیماری و روز تشکیل آسروول به ترتیب ۱۰/۷۱٪ و ۹/۰۳٪

*: معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪

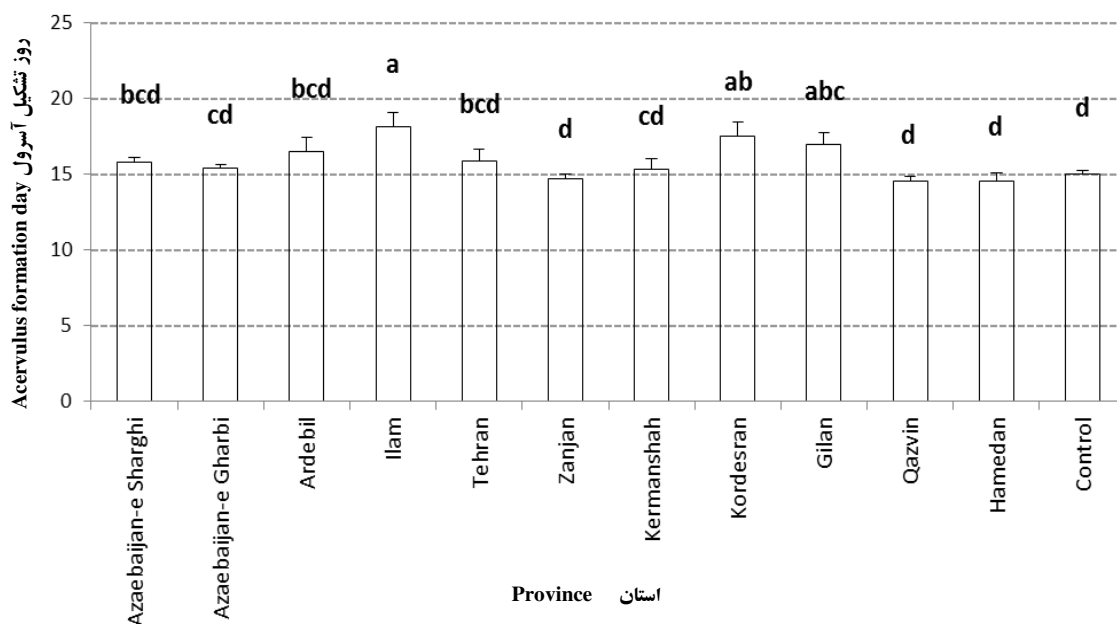
C.V. = 10.71 and 9.03% for disease index and the day of acervulus formation, respectively

**: Significant at 0.01 probability level



شکل ۵- مقایسه شاخص بیماری در جدایه‌ها در استان‌های مختلف

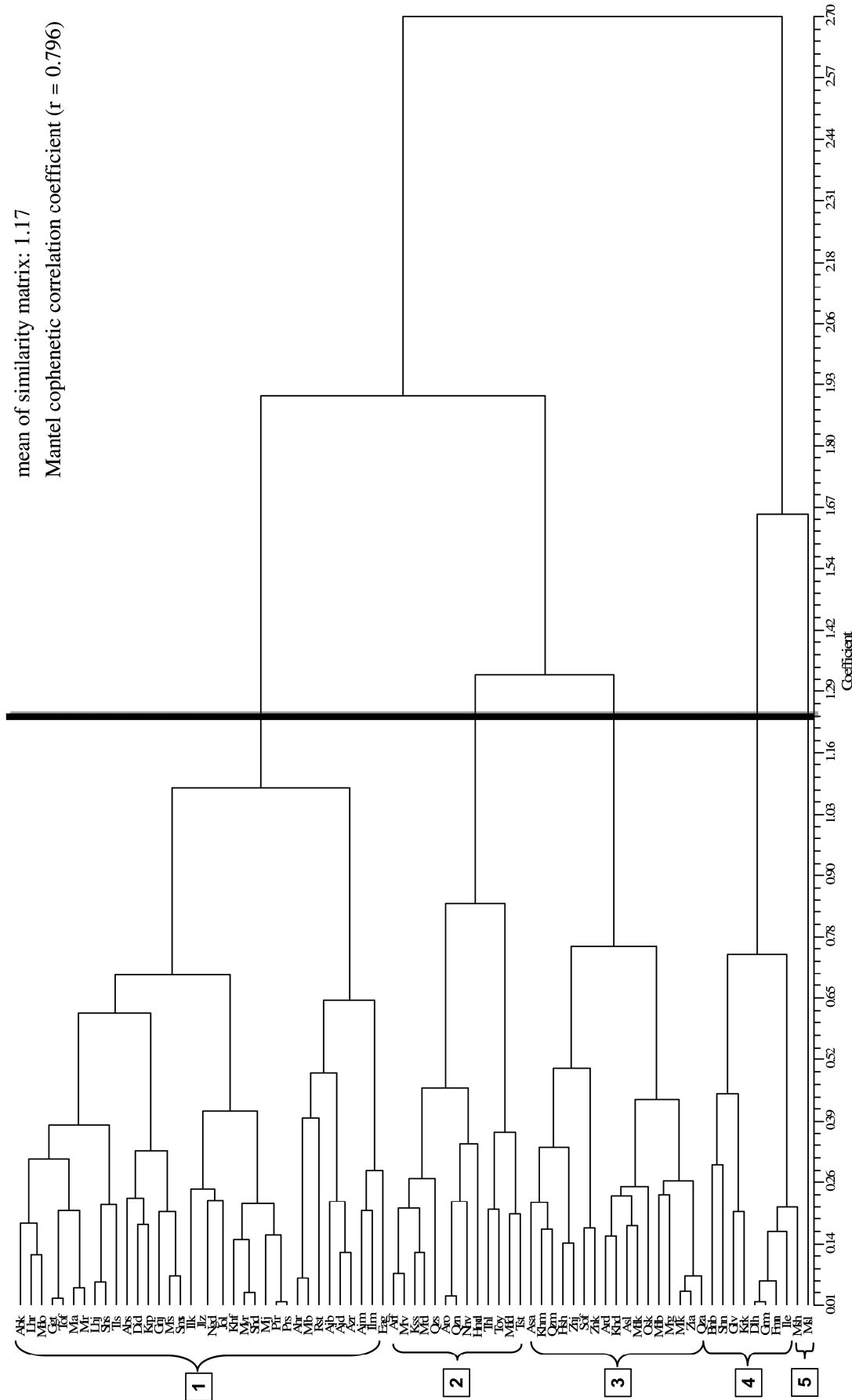
Figure 5. Comparison of isolates disease index derived from difference provinces



شکل ۶- مقایسه روز تشکیل آسروول در جدایه‌ها در استان‌های مختلف

Figure 6. Comparison of the day of acervulus formation in isolates derived from difference provinces

mean of similarity matrix: 1.17
 Mantel cophenetic correlation coefficient (r = 0.796)



شکل ۷- دندروگرام جدا به های مورد مطالعه *O. leptostyla* بر اساس ویژگی های بیماری زایی

Figure 7. Dendrogram of studied isolates of *O. leptostyla* based on pathological characteristics

References

منابع

- Al-Hassan KK (1979) *Marssonina juglandis* on walnut. FAO Plant Protection Bulletin 27(3): 96.
- Babalhavaeji E, Minasian V (2007) Study on biology of *Gnomonia leptostyla*, the causal agent of walnut anthracnose in Hamedan. Proceedings of 17th Iranian Plant Protection Congress, Bu-Ali Sina University, Hamedan 2: 314 (Abstract).
- Anonymous (2011) Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). FAOSTAT. Retrieved on January 22 from <http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor>.
- Anonymous (2011) Crops and animals statistics. Provinces statistics in 2008-9 crop season. Jahad Keshavarzi Ministry of Iran. Retrieved on January 2011 January 22 from <http://www.maj.ir/portal/home>. [In Persian with English Abstract].
- Bakhtiari MH, Arjmandian A (2007) Anthracnose (black spot) of walnut occurrence in Hamedan. Proceedings of 17th Iranian Plant Protection Congress, Tehran University, Karaj, 2: 315 [In Persian with English Abstract].
- Behdad E (1991) Iranian plant protection encyclopedia. Yadboud Publication, pp 1604-1605. [In Persian with English Abstract].
- Belisario A (2002) Anthracnose. in: Teviordale BL, Michaliides TJ and Pscheidt JW (eds.), Compendium of nut crop diseases in temperate zones. APS press, USA 77-78.
- Belisario A, Scotton M, Santori A, Onofri S (2008) Variability in the Italian population of *Gnomonia leptostyla*, homothallism and resistance of *Juglans* species to anthracnose. Forest Pathology 38: 129-145.
- Berry FH (1981) Walnut Anthracnose. Forest Insect and Disease Leaflet 85. United States, Department of Agriculture, Forest Service, Northern Area State and Private Forestry.
- Black WM, Neely D (1978) Relative resistance of *Juglans* species and hybrids to walnut anthracnose. Plant diseases of shade tree. University of Nebraska Publication. Lincoln. Pp. 5.
- Ershad J (2010) Fungi of Iran. 3rd edition. Iranian Plant Protection Institute Publication. 528 pp. [In Persian with English Abstract].
- Irani H, Asadi P, Karimi, MR, Boland Andam J, Khosro F, Rabieifar AR, Khabbaz H (2009) Study of walnut anthracnose in Iran. Proceedings of 17th Iranian Plant Protection Congress, Bu-Ali Sina University, Hamedan. p. 362 (Abstract).
- Jafarpour B (1991) Survey on walnut anthracnose in Mashhad. Agricultural Sciences and Industries 4(2): 31-40.
- Najafi SA, Imanian HA, Marefat AR, Etebarian HR and Jafari H (2009) Preliminary study on fungal and bacterial diseases of walnut foliage in Zanjan province. Proceedings of 17th Iranian Plant Protection Congress, Bu-Ali Sina University, Hamedan 2: 41 [In Persian with English Abstract].
- Radnia H (1997) Fruit stocks. Agriculture Education Publication, 637 pp.
- Roquebert MF, Fayret J (1982) *Marssoniella juglandis*: anamorph of *Gnomonia leptostyla*. Canadian Journal of Botany, 60(8): 1320-1329.
- Sabeti HA (1965) Survey on life climates of Iran. Tehran University Publication, 124 pp. [In Persian with English Abstract].
- Sabeti HA (2009) Forests, trees and shrubs of Iran. 3rd edition. Industry and Science University Publication, 886 pp.
- Salahi S, Javan-Nikkhah M, Zad J, Hasani, D, Dastjerdi R, Jamhishi S (2007) Distribution and some characteristics of *Gnomonia leptostyla* isolates on Persian walnut in east Azarbaijan province. Bu-Ali Sina University, Hamedan, 25-28 Aug. 2007. Proceedings of 17th Iranian Plant Protection Congress, p. 361 [In Persian with English Abstract].
- Salahi S (2006) Genetic diversity of *Gnomonia leptostyla*, causal agent of walnut anthracnose using RFLP-PCR and its distribution and overwintering in east Azarbaijan, Iran. M.Sc. Thesis, University of Tehran, Faculty of Agriculture, 71 pp.
- Saremi H and Razzaz Hashemi R (2001) Distribution and epidemics of walnut black spot in west of Iran. Proceedings of 14th Iranian Plant Protection Congress, Industrial Isfahan University, Isfahan p. 332. [In Persian with English Abstract].
- Saremi H, Razzaz Hashemi R. (2003) Survey on walnut anthracnose in northwest of Iran. Agriculture and Natural Science Journal 9(4):141-152.
- Sogonov MV, Castelbury LA, Rossman, AY, Mejia, LC, White JF (2008) Leaf-inhabiting genera of the *Gnomoniaceae*, *Diaporthales*. Studies in Mycology 62: 1-79.