

## مطالعه بیماری لکه سیاه (آنتراکنوز) گردو در استان زنجان و ارزیابی مقاومت نسبی برخی ژنوتیپ‌های برتر داخلی و ارقام خارجی گردو نسبت به بیماری

شمس الله نجفی<sup>۱</sup>، حسین جعفری<sup>۲\*</sup>، حشمت الله امینیان<sup>۳</sup>، علیرضا معرفت<sup>۳</sup> و حسن رضا اعتباریان<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup> مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان زنجان.

<sup>۲</sup> گروه گیاه‌پزشکی پردیس ابوریحان دانشگاه تهران.

<sup>۳</sup> گروه گیاه‌پزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان.

\*مسئول مکاتبه: [hjafaryir@yahoo.com](mailto:hjafaryir@yahoo.com)

تاریخ پذیرش: ۹۳/۰۳/۲۵

تاریخ دریافت: ۹۲/۱۲/۲۷

### چکیده

بیماری آنتراکنوز مهمترین بیماری گردو و یکی از عوامل اصلی محدود کننده تولید آن در ایران محسوب می‌شود. در این مطالعه با مراجعه به مناطق اصلی گردوکاری استان زنجان، از اندام‌های آلوده (شاخه، برگ و میوه) نمونه برداری شد و با روش‌های معمول نسبت به جداسازی و شناسایی عوامل بیماریزا اقدام گردید. نتایج این تحقیق نشان داد که قارچ *Ophiognomonium juglandis* (Fr.) Sogonov عامل بیماری آنتراکنوز گردو، در تمامی باغات گردوی مورد مطالعه در استان زنجان وجود داشته و شدت آن بسته به منطقه نمونه برداری بین ۱۵ تا ۶۷ درصد متغیر است. مطالعه ویژگی‌های برگه قارچ و اندازه گیری اندام‌های تکثیری آن در مراحل تولید مثل جنسی و غیرجنسی نشان داد که تفاوت معنی‌داری میان جدایه‌های استان زنجان و جدایه‌های مطالعه شده در سایر استان‌های هم‌جوار وجود ندارد، ضمن اینکه، نتایج نشان دهنده هتروپال بودن اکثر جدایه‌های مطالعه شده بود. در ادامه، جهت معرفی ژنوتیپ‌ها و ارقام مختلف گردوی ایرانی مقاوم نسبت به آنتراکنوز، درجه مقاومت نسبی آنها در گلخانه مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج ارزیابی مقاومت نسبی برخی از ژنوتیپ‌های برتر داخلی (Z63، Z53، Z60) و برخی از ارقام خارجی (RDM، Pedro، Franket، Lara، Sere) و B21) نشان داد که کلیه ژنوتیپ‌های گردوی مورد مطالعه دارای درجاتی از حساسیت به بیماری بوده و هیچ کدام از ارقام و ژنوتیپ‌ها کاملاً مقاوم به بیماری نیستند. با این حال، ژنوتیپ‌های ایرانی حساسیت بیشتری را در مقایسه با ارقام خارجی نسبت به بیماری نشان دادند. با توجه به اهمیت اقتصادی این بیماری، حساسیت ژنوتیپ‌های داخلی و نیز محدودیت کنترل شیمیایی و سایر روش‌های مدیریت بیماری، غربالگری برای مقاومت به بیماری دارای اهمیت زیادی در فرآیند اصلاح و معرفی ارقام گردوی کشور می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: آنتراکنوز، گردوی ایرانی، مقاومت نسبی.

### مقدمه

دارای ارزش غذایی و پروتئین زیاد و یک فرآورده اقتصادی ارزشمند است، از قسمت‌های مختلف آن در صنعت و پزشکی نیز استفاده‌های فراوانی به عمل می‌آید (امیر قاسمی ۱۳۸۵). ایران طبق آمار سال ۲۰۱۰ فائو، از لحاظ سطح زیر کشت و تولید گردو، پس از چین،

درخت گردو یکی از درختان با ارزش باغی و جنگلی بومی ایران محسوب می‌شود که از زمان‌های قدیم کاشت و پرورش آن مورد توجه بوده است. درخت گردو از درختان چند منظوره بوده و علاوه بر میوه که

را از مناطق مختلف ایران گزارش نمودند (ارشاد ۱۳۷۴). ربیعی فر (۱۳۷۷) در مطالعات خود این بیماری را از هشتاد منطقه گردوکاری کشور ردیابی کرده است. هرچند کنترل بیماری آنتراکنوز گردو با استفاده از قارچکش‌های موجود امکان پذیر است با این حال سمپاشی درختان گردو که عموماً درختانی مرتفع و با تاجی بزرگ هستند بدور از مشکلات زیست محیطی و آلودگی ناشی از سموم نباتی، در عمل بسیار مشکل و در مناطق مرتفع و کوهپایه‌ای تقریباً غیرممکن است. بویژه اینکه گسترش بیماری در شرایط مناسب آب و هوایی مطلوب آن، در طول فصل رشد امکان پذیر بوده و برای کنترل خسارت بیماری به چندین مرحله سمپاشی نیاز است. این امر به مراتب هزینه کنترل این بیماری را افزایش می‌دهد. لذا امروزه بهترین استراتژی برای مبارزه با این بیماری در جهان، دستیابی به ارقام مقاوم و یا متحمل است (شاوون ۱۹۹۵). بر همین اساس بررسی میزان مقاومت برخی از ژنوتیپ‌های برتر موجود در کشور و مقایسه میزان مقاومت آنها با برخی ارقام خارجی موجود، جهت معرفی ارقام و ژنوتیپ‌هایی که خسارت کمتری در مقابل این بیماری مهم می‌بینند، مورد توجه قرار گرفت. بر اساس مطالعات انجام شده، وراثت پذیری صفت مقاومت به بیماری آنتراکنوز گردو در گردوی سیاه بسیار بالا برآورد شده است (بینیکه و مسترز ۱۹۷۳). این امر نشان می‌دهد که اصلاح ژنتیکی ارقام گردو از نظر مقاومت به این بیماری مخرب جدا از هم است (رید ۱۹۹۰). در این راستا تحقیقاتی برای تلاقی گونه‌ها و ارقام مختلف گردو با هم صورت گرفته و میزان مقاومت برخی از هیبریدهای بین گونه‌ای در مقابل بیماری آنتراکنوز گردو مورد بررسی قرار گرفته است. آنونزیاتی و همکاران (۲۰۰۷) نشان دادند که هیبریدهای بین گونه‌ای (*J. nigra* N23 × *J. regia*) و NG23 (*J. magor* × *J. regia*) MJ209 مقاومت حدواسطی را از خود نشان داده‌اند. برای مثال پاستور

امریکا و ترکیه، مقام چهارم جهان را دارد و استان زنجان نیز از جمله مهمترین مراکز گردوکاری کشور می‌باشد (بی نام ۱۳۸۶). با این وجود، سهم ایران از بازارهای جهانی صادرات این محصول خشکباری، حتی کمتر از ۰/۵ درصد است که بطور قطع مناسب شرایط چهارمین دارنده گردوی جهان نمی‌باشد. با توجه به اینکه یکی از مهمترین عوامل کاهش تولید و صادرات گردو در ایران خسارت عوامل بیماریزا و آفات می‌باشند و با توجه به گسترش میزان سطح زیر کشت گردو، و افزایش روزافزون میزان مصرف و قیمت آن، لزوم بررسی‌های بیشتر، روی آفات و بیماری‌های آن ضروری است. بدلیل کمبود سوابق تحقیقاتی در این خصوص در استان زنجان، مطالعه مهمترین عوامل بیماریزای گردو در این استان از ضرورت بیشتری برخوردار است. براساس گزارشات پراکنده از وقوع و شدت بیماری در استان زنجان بیماری لکه سیاه (آنتراکنوز) گردو به عنوان مخرب‌ترین بیماری قارچی گردو در مناطق مختلف جهان و ایران معرفی شده است. عامل بیماری آنتراکنوز گردو قارچ آسکوکارپ‌دار از راسته دیپورتالز (*Diaporthales*) و به نام *Ophiognomonina leptostyla* Sogonov 2008 (Fr.) می‌باشد که در فرم غیرجنسی *Marsoniella juglandis* (Lib.) Höhn. 1916 نامیده می‌شود (سوگونوف و همکاران ۲۰۰۸). این بیماری از مخرب‌ترین بیماری‌های برگی گردو بویژه گردوی سیاه امریکایی (*Juglans nigra*) است که همه ساله خسارت زیادی به کمیت و کیفیت محصول درختان گردو وارد می‌سازد (ماتئونی و نیلی ۱۹۷۷ و وقیلی و همکاران ۱۹۹۰). بیماری آنتراکنوز گردو روی گردوی ایرانی (*J. regia*) برای اولین بار از اروپا در سال ۱۸۱۵ گزارش شد (تویدول و همکاران ۲۰۰۲). بیماری آنتراکنوز از ایران نیز برای اولین بار توسط خبیری در سال ۱۳۳۱ گزارش شد و به دنبال آن در سال ۱۳۴۲ اسکندری و در سال ۱۳۴۴ شریف و ارشاد این بیماری

بیماری آنتراکنوز گردو، نمونه برداری از برگ‌ها، میوه‌ها و سرشاخه‌های آلوده صورت گرفت. استریل کردن بصورت ضدعفونی سطحی با الکل اتانول ۷۰٪ و هیپوکلریت سدیم ۰/۵٪ انجام شد. قطعات استریل شده به محیط کشت PDA منتقل شدند و سپس پرگنه‌های سفید انتخاب و برای خالص سازی و ادامه مطالعات به روی محیط کشت‌های PDA (سیب زمینی-دکستروز-آگار)، CMA (آرد نرت-آگار) و MA (مالت-آگار) منتقل شد تا ویژگیهای پرگنه یادداشت شود. خالص سازی قارچ با تکنیک کشت نوک ریسه و تک اسپور نمودن انجام شد. برای کشت نوک ریسه قطعاتی کوچک از پرگنه قارچ به محیط کشت WA (آب-آگار) انتقال یافته و سپس تشتک پتری در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. برای خالص‌سازی دقیق‌تر و کشت نوک ریسه، از محیط کشت WA استفاده شد. ویژگیهای اندام‌های زایشی و تکثیر قارچ، آسروول‌ها و پریتسیوم‌ها و اندام‌های تکثیری درون آنها، اشکال کنیدیوم‌ها، کنیدیوفورها، آسک‌ها، آسکوسپورها و ابعاد آنها ثبت و عکسبرداری شد. برای مطالعه مرحله جنسی و تعیین هموتال یا هتروتال بودن، جدایه‌های حاصله به مدت سه ماه در شرایط دمایی ۱۰ درجه سانتی‌گراد درون لوله‌های آزمایش نگهداری شدند تا آپوتسیوم‌ها تشکیل شوند. تولید آسک‌ها و آسکوسپورها، درون آپوتسیوم‌های بالغ، به منزله هموتال بودن و عدم تشکیل آپوتسیوم یا عدم تشکیل آسک‌ها و آسکوسپورها در درون آپوتسیوم‌های تشکیل شده (آپوتسیوم اولیه: Pre-Apothecium)، به منزله هتروتال بودن می‌باشد (صلاحی و جمشیدی ۱۳۸۸). برای شناسایی قارچ عامل از کلید شناسایی سوگونوف و همکاران (۲۰۰۸) استفاده شد. در مورد جدایه‌هایی که پریتسیوم آنها در دسترس نبود، شناسایی با کمک کلید قارچ شناسی ساکارโด (Sacchardo) و مقایسه ویژگی‌های فرم غیرجنسی صورت گرفت (روکوبرت و فیرت

و همکاران (۱۹۹۷) تعداد ۳۲ رقم گردوی ایرانی را از نظر میزان حساسیت به قارچ عامل آنتراکنوز در شرایط طبیعی و در یک کلکسیون گردوی عاری از ویروس مورد مطالعه قرار دادند. طبق این گزارش ارقام مورد آزمایش از نظر حساسیت به آنتراکنوز گردو در پنج گروه مختلف جای گرفتند. قارچ عامل بیماری، آلودگی بسیار کمی را در ارقام Hartley (از آمریکا) و Mayette (از فرانسه) ایجاد کرد، ولی ارقام Jefe و VZ5 حساسیت فوق‌العاده‌ای را در برابر بیماری نشان دادند. آنسلمی و همکاران (۲۰۰۶) تعداد ۲۲ رقم هالف-سیب (half-sib progenies (HS) - ارقام پایه مادری مشخص - از گردوی ایرانی را از هشت منطقه گردوکاری ایتالیا انتخاب کرده و میزان مقاومت آنها را در برابر این بیماری آنتراکنوز ارزیابی نمودند و براساس میزان مقاومت، مناطق مورد مطالعه را به قسمت مناطق با گردوهای با مقاومت بالاتر، با مقاومت پایین و حساس تقسیم بندی کردند. در ایران مطالعات در راستای بررسی میزان مقاومت ارقام و ژنوتیپ‌های گردو کمتر انجام شده است. ربیعی‌فر (۱۳۷۷) در یک تحقیق در کلکسیون گردوی کهریزک ارومیه نشان داد که ژنوتیپ B21 حساس‌ترین و ژنوتیپ‌های OR4 و T19 مقاوم‌ترین نسبت به بیماری آنتراکنوز گردو بودند. صارمی و هاشمی (۱۳۸۲) نیز در یک بررسی مقدماتی در سال‌های ۱۳۷۶ تا ۱۳۸۰، مقاومت نسبی توده‌های محلی گردو در قزوین را ارزیابی کردند که در این تحقیق توده الموتی بعنوان توده مقاوم گزارش شده است.

#### مواد و روش‌ها

میزان آلودگی نسبی در مراکز اصلی نمونه برداری شهرستان‌های زنجان، با جمع آوری تصادفی یک صد برگ از هر باغ و تعیین میزان آلودگی نسبی هر برگ (درصد سطح آلوده شده برگ) و محاسبه میانگین درصد آلودگی برگی انجام شد. جهت جداسازی عامل

حساسیت و یا مقاومت واریته‌های مزبور به آنتراکنوز جدایه زنجان به دست آید.

### نتایج

#### بیماری لکه سیاه (آنتراکنوز) گردو در زنجان

بر اساس نتایج این مطالعه، کلیه جدایه‌های جداسازی شده قارچ عامل بیماری آنتراکنوز در استان زنجان، قارچ *Ophiognomonina leptostyla* بوده که فرم غیرجنسی به نام قارچ *Marssoniella juglandis* معروف است. بیماری آنتراکنوز تقریباً در تمام باغات مورد بررسی مشاهده گردید. مهمترین مناطق آلودگی به بیماری در جدول ۱ آورده شده است.

#### علائم بیماری

علائم اولیه بیماری به صورت لکه‌هایی به قطر یک میلی‌متر تا پنج سانتی‌متر، به رنگ قهوه‌ای متمایل به سیاه گرد یا نامنظم روی برگ‌ها مشاهده شد. در شروع علائم، اغلب این علائم با یک هاله زرد رنگ احاطه می‌شود. در این مرحله، لکه‌های ریزتر تا حدودی شبیه لکه‌های ناشی از بیماری بلایت باکتریایی گردو مشاهده شد با این تفاوت اساسی که لکه‌ها در آنتراکنوز سریع‌تر توسعه می‌یابند و اغلب گرد هستند تا مضرس. در عین حال، هاله زرد رنگ دور این لکه‌ها کمتر مشهود است. لکه‌ها بعداً روی برگچه‌ها توسعه یافته و بزرگ‌تر می‌شوند و در ادامه روی این لکه‌های سیاه، اندام‌های تولیدمثلی توپی‌شکل سیاه‌رنگی به نام آسروول<sup>۱</sup> تشکیل می‌شود که در روی لکه‌هایی با عمر بالاتر از سه هفته، به فراوانی با چشم غیرمسلح مشاهده می‌شود. در آلودگی‌های شدید، برگ‌های آلوده ممکن است قهوه‌ای رنگ شده و زودتر از موقع ریزش پیدا بکنند.

برای انجام آزمون بیماری‌زایی از غلظت  $1 \times 10^5$  کنیدیوم استفاده شد. غلظت اسپورها با کمک لام همی سایتومتر تعیین شد. اسپورپاشی بر روی نهال‌های دو ساله انجام گرفت و روی برگ‌های مایه زنی شده برای حفظ رطوبت نسبی در حد ۹۰ درصد، به مدت ۴۸ ساعت نایلون پلاستیکی کشیده شد و در شرایط دمایی حدود ۲۰ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت محیطی حدود ۷۰ درصد نگهداری گردید. بعد از یک هفته، تیمارها هر روز کنترل و یادداشت برداری شد.

#### ارزیابی میزان مقاومت نسبی گردوی ایرانی به بیماری آنتراکنوز

بدین منظور نهال‌های دو ساله سه ژنوتیپ برتر ایرانی (ژنوتیپ‌های Z53، Z63 و Z60) و شش رقم گردوی خارجی (ارقام Lara، Sere، Franket، Pedro، RDM و B21) انتخاب شدند. در این آزمایش بذور پایه مادری مشخص (Halfsib) از موسسه تحقیقات نهال و بذر کشور تهیه و درون گلدان‌های پلاستیکی کشت گردید و بعد از دو سال نهال‌های بذری موجود درون گلدان‌ها، در قالب طرح کاملاً تصادفی، با سه تکرار و حداقل سه برگ در هر گلدان در آزمایش مورد استفاده قرار گرفتند. پس از کامل شدن رشد نهال‌ها در گلدان، آنها به گلخانه انتقال داده شده و در قالب طرح کاملاً تصادفی در شرایط مطلوب بیماری (رطوبت بالای ۹۰٪ و دمای ۲۰-۲۵ درجه سانتی‌گراد) به آلوده‌سازی برگ-ها با  $10^4 \times 10^5$  عدد اسپور در میلی‌لیتر سوسپانسیون اسپور اقدام گردید (ربیعی‌فر ۱۳۷۷). سپس با حفظ شرایط مطلوب بیماری، ضمن کنترل روزانه، پس از دو تا سه هفته (حداکثر چهار هفته) تعداد لکه‌های روی برگ‌ها شمارش و اندازه لکه‌های سطح برگ بر حسب درصد (٪) آلودگی سطح هر برگ محاسبه گردید. میانگین نتایج حاصله با روش دانکن تجزیه شد تا میزان

<sup>۱</sup>acervuli

جدول ۱- مشخصات جدایه‌های قارچ عامل آنتراکنوز گردو در استان زنجان (تابستان ۱۳۸۷).

شماره جدایه	شهرستان جداسازی	منطقه جداسازی	اندام جداسازی شده	سطح آلودگی	سازگاری جنسی در جدایه جدا شده
۷		روستای کوشکن	برگ	۱۹	هموتال
۸	زنجان	روستای پایین کوه	برگ	۱۵	هتروتال
۹		روستای خانچایی	میوه	۶۵	هتروتال
۱۰		روستای سهرورد	برگ	۴۷	هتروتال
۱۱	خدابنده	شهر قیدار	برگ	۱۷	هتروتال
۱۲		روستای ده جلال	برگ	۲۳	هتروتال
۱		شهر آببر	برگ	۴۴	هتروتال
۲		شهر چورزق	برگ - میوه	۴۲	هتروتال
۳	طارم	روستای درام	برگ	۴۵	هموتال
۴		روستای دستجرده	برگ	۴۹	هتروتال
۵		روستای نوکیان	برگ - سرشاخه	۶۷	هتروتال
۶		روستای انزر	برگ	۴۲	هتروتال
۱۴	خرمدره	روستای سوکهریز	برگ	۳۸	هموتال
۱۵		کشت و صنعت خرمدره	برگ	۳۵	هتروتال
۱۳	ابهر	شهر ابهر	برگ	۳۳	هتروتال

خاکستری با حاشیه‌ای به رنگ قهوه‌ای متمایل به قرمز تیره است. زمانی که قارچ به محور اصلی<sup>۱</sup> برگ‌ها (رگبرگ اصلی) حمله می‌کند، به راحتی سبب سیاه شدن رگبرگ‌ها از منطقه آلوده به بعد می‌شود و حتی سبب از

میوه‌ها نیز ممکن است بسته به شدت آلودگی، ریزش قبل از موقع داشته باشند و یا اینکه در موارد معدودی روی درخت باقی مانده و چروکیده و سیاه رنگ شوند. روی شاخه‌های سال جدید، علائم بیماری نادر است و نمونه‌های آلوده با علائم تپیک کمتر دیده می‌شوند. آلودگی شاخه‌ها به صورت لکه‌های تخم مرغی تا گرد غیر منظم آبسوخته به رنگ قهوه‌ای متمایل به

<sup>۱</sup>rachis

آزمون بیماریزایی کافی است زیرا این گونه کاملاً به طور اختصاصی روی گردو بیماریزا است و میزبان دیگری ندارد. میانگین ابعاد کنیدیوم‌ها اندازه گیری شده و پس از شمارش بیش از ۱۰۰ اسپور از چند جدایه حدود  $۵ \times ۲۳/۵$  میکرومتر بود (شکل ۲).

از دیگر مشخصات ویژه قارچ عامل بیماری آنتراکنوز آن است که بر روی محیط کشت پس از حدود سه ماه، در شرایط تاریکی و دمای زیر ۱۰ درجه سانتی‌گراد تولید پریتسیوم می‌کند.

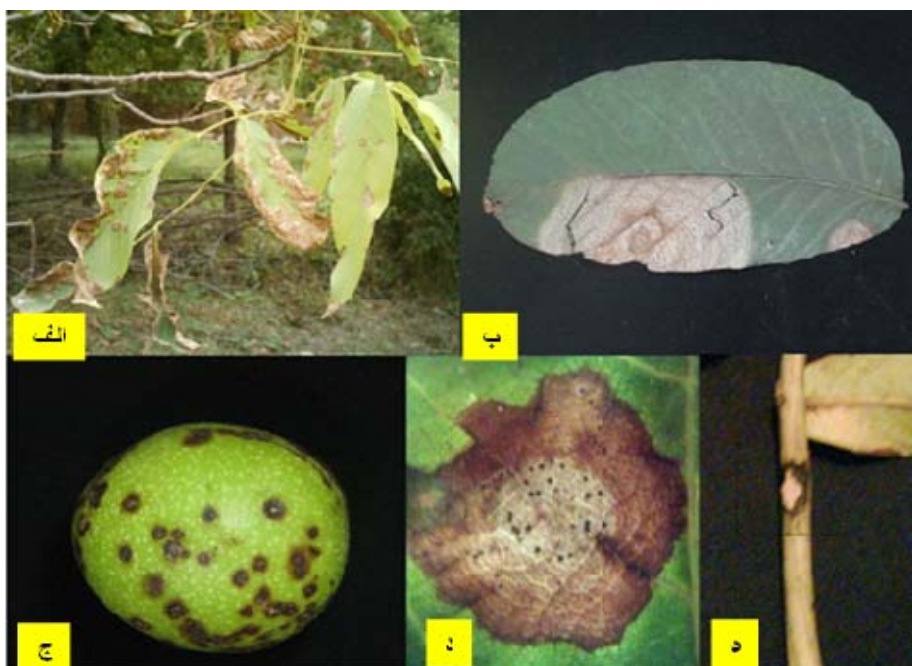
در بررسی‌ها و نمونه برداری‌هایی که از مناطق آلوده صورت گرفت، پریتسیومی روی برگ‌های ریخته شده در پای درختان پیدا نشد و تنها در شرایط مصنوعی، آنهم در ۱۳٪ جدایه‌ها (دو جدایه از ۱۵ جدایه بررسی شده) پریتسیوم بالغ تشکیل شد. بر اساس منابع مختلف، تکثیر جنسی همواره در طبیعت بر روی برگ‌های ریخته شده در پای درختان صورت می‌گیرد ولی در آزمایشگاه نیز تشکیل پریتسیوم‌ها ممکن و قابل بررسی است. نکته اساسی این است که این پریتسیوم‌ها در حقیقت، پریتسیوم‌های اولیه (*Prothothecium*) به حساب می‌آیند و تنها در شرایطی به پریتسیوم‌های بالغ تبدیل خواهند شد که آن جدایه هموتال بوده باشد. به بیان بهتر تنها تلاقی‌های بین دو تیپ آمیزشی مختلف سازگار است که به تولید پریتسیوم بالغ منجر می‌شود. تفاوت پریتسیوم اولیه با پریتسیوم‌های بالغ در این است که پریتسیوم‌های اولیه فاقد آسک و آسکوسپور هستند. در تحقیق اخیر، تنها پریتسیوم‌های به دست آمده از محیط کشت مورد اندازه‌گیری قرار گرفت که نتایج اندازه‌گیری ابعاد ۵۰ پریتسیوم، آسک و آسکوسپور، به ترتیب زیر بر حسب میکرومتر بدست آمده است: پریتسیوم با احتساب گردن  $۲۸۴ \times ۵۵۴$ ، آسک‌ها:  $۱۱/۸ \times ۴۹/۳$ ، آسکوسپورها:  $۱۹/۸ \times ۳/۸$  میکرومتر (شکل ۳).

بین رفتن برگ از ناحیه رگبرگ آلوده سیاه شده می‌گردد (شکل ۱).

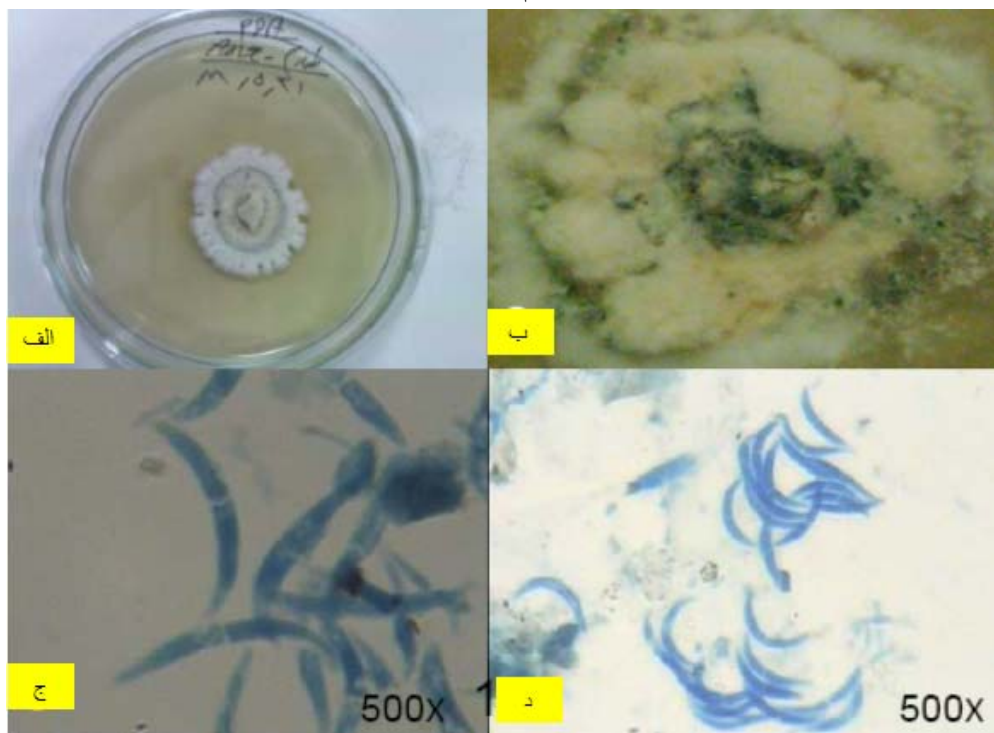
### ویژگی پرگنه قارچ عامل بیماری

عامل بیماری آنتراکنوز در محیط کشت عمومی عصاره سیب زمینی- دکستروز- آگار، با بیشترین رشد، تشکیل پرگنه سفید رنگ شعاعی را می‌دهد که به صورت دواير متحدالمركزی به پیش می‌رود. پرگنه قارچ در محیط کشت آرد ذرت- آگار نیز سفید رنگ، شعاعی، گاهی به صورت دواير متحدالمركز و در محیط کشت مالت- آگار قهوه‌ای تیره تا روشن و برجسته بود. کمترین میزان رشد قارچ در محیط کشت MA در مقایسه با محیط‌های کشت PDA و CMA دیده شد. میزان رشد پرگنه قارچ در سه دمای ۱۰، ۳۰ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد اندازه‌گیری شد: کمینه دما ۱۰ درجه، بیشینه ۳۰ درجه و بهینه ۲۵ درجه سانتی‌گراد بر آورد گردید. در حقیقت در دمای ۱۰ و بالای ۳۰ درجه سانتی‌گراد این قارچ به سختی رشد می‌کند. در منابع، به طور عموم دمای آسروول‌زایی کمتر از دمای رشد ذکر شده است ولی در دمای معمولی رشد (۲۵ درجه سانتی‌گراد) نیز آسروول‌زایی با تاخیر زمانی ۵ تا ۷ روزه نسبت به دمای بهینه آسروول‌زایی ذکر شده در منابع (۲۱ درجه سانتی‌گراد) اتفاق افتاد.

قارچ عامل بیماری آنتراکنوز گردو در فرم غیرجنسی، تولید کنیدیوم‌های دو سلولی می‌کند که وجه تمایز ویژه‌ای جز اندازه ندارد. چرا که بر اساس کلیدهای قارچ شناسی موجود، قارچ *Marssonella juglandis* جزو قارچ‌های آسروول‌دار بوده و کنیدیوفور مشخصی ندارد و تنها وجه مشخص آن، وجود اسپورهای دو سلولی خمیده نوک تیز در هر دو انتهای اسپور است که این ویژگی به راحتی با کمک کلیدهای قارچ شناسی قابل تشخیص است. برای شناسایی گونه تنها انجام



شکل ۱- برگ آلوده به آنتراکنوز در باغ (الف) برگ آلوده به آنتراکنوز (ب) علائم روی میوه گردو (ج) آسروول های سیاه رنگ قارچ *M. juglandis* (د) علائم آنتراکنوز روی ساقه گردو (ه).

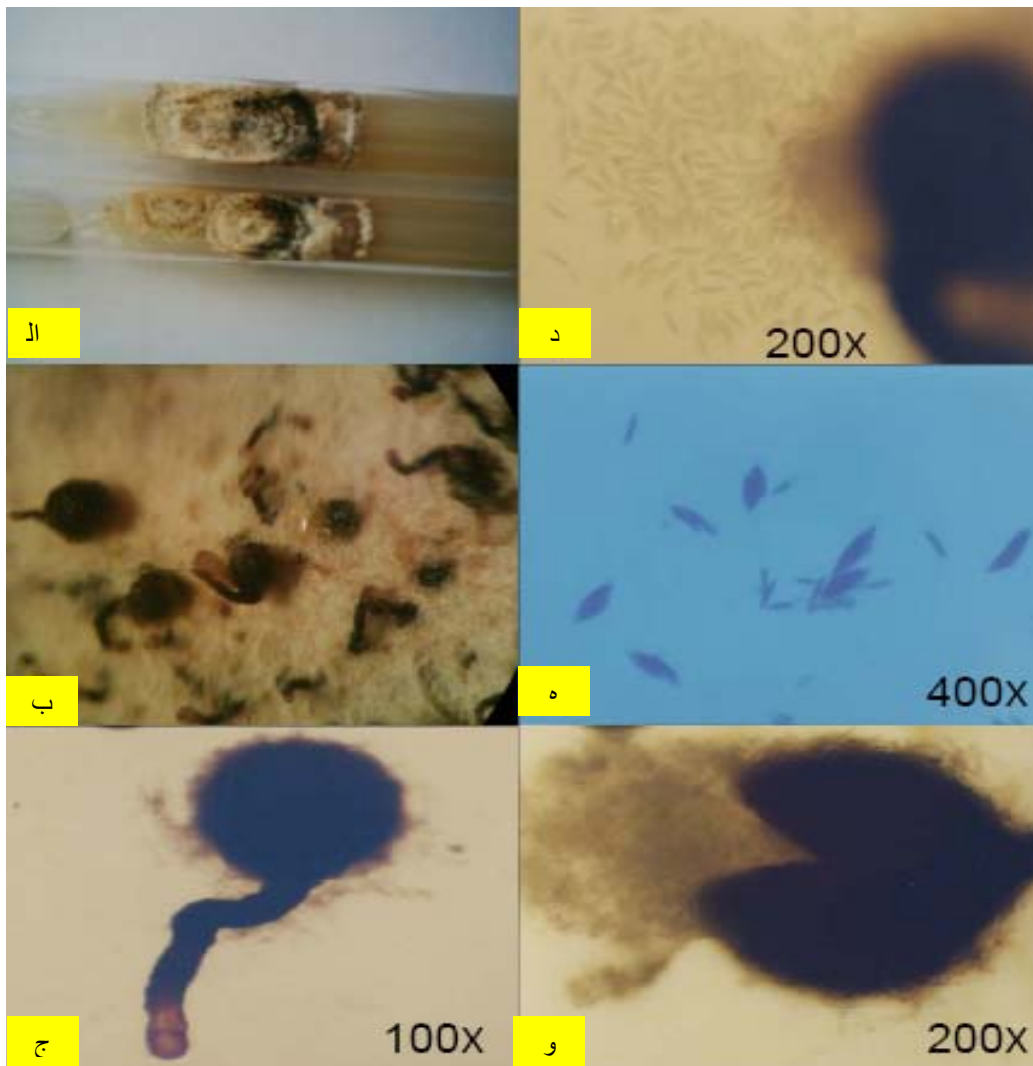


شکل ۲- پرگنه فرم غیر جنسی قارچ عامل بیماری آنتراکنوز گردو روی محیط کشت PDA (الف) ۲- آسروولهای سیاه رنگ قارچ عامل بیماری آنتراکنوز گردو در محیط کشت (ب). کنیدی های دو سلولی قارچ *M. juglandis* فرم غیر جنسی قارچ عامل بیماری آنتراکنوز گردو (ج و د).

## آزمون بیماری‌زایی

آسروول نیز دوباره قارچ *Marssoniella juglandis* جداسازی شد و بر اساس اصول کخ (Kokh) عامل بیماری آنتراکنوز گردو در برگ‌های آلوده نمونه‌برداری شده، قارچ *Ophiognomonium leptostyla* با فرم غیرجنسی *Marssoniella juglandis* تایید گردید.

اولین علائم روی نهال‌های دو ساله تهیه شده از موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، ده روز پس از اولین اسپورپاشی مشاهده شد. روی تیمارهای شاهد که با آب مقطر استریل مخلوط پاشی شده بودند علائمی مشاهده نشد. از کشت مجدد لکه‌های دارای



شکل ۳- قارچ *Ophiognomonium leptostyla*: تشکیل پریتسیوم‌های قارچ در یخچال و روی محیط کشت PDA که در سطح و داخل محیط کشت تشکیل می‌شوند (الف و ب) تصویر یک پریتسیوم کامل با گردن دراز کامل و دهانه نسبتاً گشاد (ج) تصویر آسک‌های خوشه‌ای شکل قارچ که در اثر ترکیدن پریتسیوم بیرون ریخته شده است (د) ۵- تصویر آسک‌های خوشه‌ای دارای ۸ آسکوسپور و آسکوسپورهای دو سلولی (ه) تصویر پریتسیوم اولیه در یک جدایه هتروتال که در اثر فشار دادن پریتسیوم، محتویات آن بیرون ریخته ولی آسک و آسکوسپوری تشکیل نشده است (و).





شکل ۴ - نتایج آزمایش ارزیابی مقاومت نسبی ارقام خارجی و ژنوتیپ‌های برتر ایرانی به آنتراکنوز جدایه زنجان.

درجه آزادی ۱ و CV (ضریب تغییرات) معادل ۳۴ برآورد شد که عددی قابل قبول برای نتایج آزمایشات طرح‌های بیماری‌شناسی گیاهی و آزمایشات مربوط به تست‌های بیماری‌زایی و موارد مشابه است. بر اساس نتایج حاصله، واریته‌های خارجی Sere و Lara مقاوم‌ترین و ژنوتیپ ایرانی Z60 حساس‌ترین، نسبت به بیماری قارچی آنتراکنوز گردو ارزیابی شدند (جدول‌های ۲ و ۳).

#### ارزیابی مقاومت نسبی ژنوتیپ‌های ایرانی و ارقام خارجی

بر اساس نتایج و بررسی‌ها، مشخص شد که هیچ یک از ارقام و ژنوتیپ‌ها کاملاً مقاوم به بیماری نیستند. ژنوتیپ‌های ایرانی حساسیت بیشتری را در مقایسه با ارقام خارجی نسبت به آنتراکنوز نشان دادند (شکل ۴). مقایسه میانگین داده‌های به دست آمده با کمک نرم‌افزار MSTAT انجام شد که نتایج این تجزیه و تحلیل آماری با

جدول ۲- جدول تجزیه واریانس داده‌های ارزیابی مقاومت نسبی گروه‌ها به آنتراکنوز.

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات
تیمار	۹	۷۹۸/۴۹
اشتباه آزمایشی	۲۰	۱۳۶/۰۲
جمع	۲۹	

\*\* معنی دار در سطح ۱٪ ( $P \leq 0.01$ ). ضریب تغییرات (CV) برابر با ۳۴/۴۳ می باشد.

جدول ۳- مقایسه میانگین داده‌های ارزیابی مقاومت نسبی گردوها (ارقام خارجی و ژنوتیپ‌های داخلی) به آنتراکنوز جدایه زنجان با آزمون دانکن.

ژنوتیپ	میانگین آلودگی سطح برگ‌ها (%)	همبستگی
Sere	۱۰/۲۴	C
Lara	۱۵/۰۴	C
B21	۲۳/۳۵	Bc
RDM	۲۷/۶۹	Bc
Pedro	۳۱/۷	Abc
Franket	۳۲/۲۹	Abc
Vina	۳۴/۶۹	Abc
Z63	۵۰/۹	Ab
Z53	۵۳/۱۱	Ab
Z60	۵۹/۶۶	A

#### بحث

سال‌های را مشاهده نمود و در برخی درختان در شهرستان طارم، درختانی با درصد آلودگی ۹۰ درصد مشاهده شد. خسارت تنها به ریزش و آلودگی برگ‌ها در تابستان محدود نمی‌شود. چرا که با لخت شدن درختان جوان از برگ، توان زمستان‌گذرانی و تحمل در مقابل سرما در آنها بسیار کاهش می‌یابد و در نتیجه درختان جوانی که در اثر خسارت بالای ۵۰ درصدی آنتراکنوز برگ‌های خود را از دست داده‌اند، در زمستان شاخه‌های جوان خود را نیز از دست می‌دهند و فقط شاخه‌های پایینی و جوانه‌های نابجای ساقه‌ای برای سال بعد زنده می‌مانند و بر این اساس بیماری آنتراکنوز ضمن ایجاد خسارت اولیه زیاد، می‌تواند سبب نابودی کامل درخت بیمار نیز شود. نمونه‌های مشابه این حالت در باغات مناطقی که زمستان‌های سردی دارند بوضوح قابل مشاهده است. به نظر می‌رسد مهمترین دلیل افزایش میزان خسارت این بیماری در استان زنجان و البته در سایر مناطق کشور، رایج نبودن مبارزه با عوامل بیماری‌زای گردو، و سخت بودن انجام عملیات سمپاشی بخاطر ارتفاع زیاد درختان گردو باشد. لذا بیماری قارچی آنتراکنوز در ایران به

در این تحقیق قارچ *Ophiognomonia juglandis* به عنوان یکی از مهمترین عوامل بیماری‌زای گردو در زنجان شناخته شد که در اغلب باغات گردوی مورد بررسی قابل مشاهده بود. این قارچ، یکی از مهمترین عوامل بیماری‌زای گردو در جهان است که بر اساس نتایج تحقیقات سال ۲۰۰۶ موسسه درختان و جنگل‌های غیرمثمر و تزئینی آمریکا (USDA)، پس از باکتری عامل بیماری بلایت باکتریایی گردو (*Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis*) به عنوان دومین عامل خسارت‌زای گردوی ایرانی و اولین عامل خسارت‌زای گردوی امریکایی در جهان می‌باشد (آنسلمی و همکاران ۲۰۰۶). نتایج حاصل از مطالعه قارچ عامل بیماری آنتراکنوز گردو در زنجان نشان داد که یکی از مهمترین عوامل بیماری‌زای گردو در استان زنجان، بیماری آنتراکنوز گردو است که در تمام مناطق گردوکاری استان به طور مستمر و خسارت‌زا حضور دارد. به طوری که در مواردی، در اواخر تابستان فقط در قسمت‌های انتهایی شاخه‌های گردو می‌توان برگ‌های

در میان جدایه‌های هتروتال شاهد بود، هرچند شاید این تغییرات کمتر از تغییرات جدایه‌های هموتال باشد. چرا که مکانیسم هتروتالیسم<sup>۲</sup>، با ایجاد محدودیت‌های خود خواسته، سبب جلوگیری از انتقال وراثت تک والدی شده و افزایش شانس تغییرات ژنومی را فراهم می‌آورد. به بیان دیگر هر کدام از مکانیسم‌های هموتالیسم و هتروتالیسم مزایا و هزینه‌های خودشان را دارند که برخی از این مزایا شناخته شده و برخی همچنان ناشناخته است (بیلیارد و همکاران ۲۰۱۲). جمشیدی و صلاحی (۱۳۸۹) ضمن بررسی و مطالعه ۷۵ جدایه قارچ عامل آنتراکنوز از ۱۱ استان کشور نشان دادند که کمتر از ۱۰٪ جدایه‌ها هموتال هستند و نتایج بررسی‌های آنها هم‌چنین نشان داد که از بین این ۷۵ جدایه، تنها پریتسیوم تعداد ۱۴ جدایه در طبیعت پیدا شده است. نامبرندگان معتقدند که احتمالاً قارچ عامل بیماری علاوه بر زمستان‌گذرانی به صورت پریتسیوم، البته در صورت موفقیت به تشکیل آن، در میوه‌ها و برگ‌های فروریخته در پای درختان به صورت میسیلیوم و یا آسروول نیز قادر به بقا باشد. به نظر نگارندگان، رمز موفقیت آنتراکنوز در زمستان‌گذرانی به فرم‌های مختلف نیست، چرا که تاکنون مطالعه‌ای در این خصوص صورت نگرفته ضمن این که نتایج مشاهدات و بررسی‌های چندساله نشان می‌دهد که همواره آلودگی اولیه در گردوها کم و جزیی است و تنها با گذشت زمان از دور اول بیماریزایی و بهبود شرایط برای پخش آسروول-های تولید شده در سال جدید است که بیماری گسترش می‌یابد. به بیان دیگر اینوکوم اولیه بیماری به دلایلی از جمله هتروتال بودن اکثر جدایه‌ها و تشکیل محدود پریتسیوم‌ها، کم و محدود است و گسترش بیماری در طول فصل کاملاً وابسته به اینوکوم ثانویه (آسروول‌ها) هستند.

عنوان مهمترین بیماری گردو شناخته می‌شود در حالی که در سایر نقاط جهان، بیماری بلایت باکتریایی گردو است که از اهمیت بیشتری برخوردار است. نتایج این تحقیق نشان داد که فرم جنسی و غیرجنسی این قارچ، یعنی *Marssonella* و *Ophiognomonina leptostyla juglandis* در استان زنجان، با نتایج منتشر شده در سایر نقاط کشور و حتی جهان اختلاف مشخص و معنی‌داری ندارد. چرا که ویژگی‌های ثبت شده پرگنه قارچ روی محیط‌های کشت رایج همچون رنگ پرگنه قارچ، دماهای رشد کمینه، بهینه و بیشینه و طول و عرض کنیدیوفور و کنیدیوم‌ها و آسروول‌های اندازه-گیری شده در فرم غیرجنسی و طول و عرض آسک‌ها و آسکوسپورها و پریتسیوم‌های اندازه‌گیری شده در فرم جنسی در استان زنجان و نیز وجود پدیده هموتالیسم در جدایه‌های جداسازی شده از نقاط مختلف استان، با مشخصات جدایه‌های توصیف شده در سایر نقاط کشور (ریبئی فر ۱۳۷۷، صلاحی و جمشیدی ۱۳۸۸، بختیاری و ارجمندیان ۱۳۸۵ و باب الحوائجی و میناسیان ۱۳۸۵) بویژه همدان همخوانی زیادی دارد. این تشابه با آزمایشات مولکولی توسط صلاحی در سال ۱۳۸۵ مطابقت دارد. وی نشان داد که جدایه‌های مختلف آنتراکنوز گردوی جدا شده از مناطق مختلف شمالغرب کشور از همگنی زیادی برخوردار هستند. از طرف دیگر وجود همزمان جدایه‌های هموتال و هتروتال آنتراکنوز گردو و بیشتر بودن تعداد جدایه‌های هتروتال، شاید بتواند دلیلی بر وجود پتانسیل سازگاری و تغییر پذیری عامل بیماری آنتراکنوز گردو باشد. بیشتر بودن تعداد جدایه‌های هتروتال سبب می‌شود تا تعداد پریتسیوم‌های کمتری نیز تشکیل شود بر اساس تحقیقات انجام گرفته، هرچند هموتالیسم<sup>۱</sup> بطور سنتی به عنوان ویژگی تغییرپذیری راحت‌تر در میان ژنوم قارچ‌ها پذیرفته شده است ولی تغییرپذیری‌های بزرگتری را معمولاً می‌توان

<sup>۲</sup>Yuglone<sup>۱</sup>homothallism

خارجی، در موقعیت پایین‌تری قرار دارند. به بیان دیگر در معرفی ژنوتیپ‌های داخلی در کنار توجه به بحث کیفیت محصول، بایستی میزان مقاومت ارقام مختلف به بیماری نیز مورد توجه قرار گیرد. از روش‌های بررسی شده، برای پیش‌بینی میزان مقاومت ارقام گردو نسبت به بیماری آنتراکنوز گردو، روش کلاین و نیلی (۱۹۸۴) می‌باشد. ایشان مقاومت نسبی نهال‌های جوان گردوی سیاه امریکایی را به بیماری آنتراکنوز بررسی کردند و نشان دادند که در ارقام و ژنوتیپ‌های مقاوم، مقدار بیشتری از ترکیب جوگلون<sup>۱</sup> و هیدروجوگلون گلوکوزید<sup>۲</sup> وجود دارد. نتایج این تحقیق مشخص نمود که با اندازه‌گیری میزان ترکیبات فوق‌الذکر در برگ و پوست میوه گردو، می‌توان به میزان مقاومت نسبی ارقام و ژنوتیپ‌های گردوی سیاه به آنتراکنوز پی برد. همچنین آنها نشان دادند که میزان ترکیبات جوگلون و جوگلاندین در اول فصل رشد اغلب بیشتر از سایر زمان‌ها در طول فصل است. با توجه به زمان‌بر بودن و هزینه‌بر بودن ارزیابی مقاومت نسبی گردو در مقابل بیماری آنتراکنوز، شاید بتوان با اندازه‌گیری این ترکیبات گلوکوزیدی در ژنوتیپ‌های برتر کشور روش ساده‌تر و ارزان‌تری را برای انتخاب اولیه ژنوتیپ‌های برتر بومی با قابلیت مقاومت نسبی در مقابل بیماری آنتراکنوز پیدا کرد و تحقیقات جامع‌تر را بر روی این ژنوتیپ‌ها ادامه داد.

نتایج این تحقیق همچنین نشان داد که برگ‌های آلوده ژنوتیپ‌های معرفی شده داخلی علایمی مانند زردی اطراف لکه‌های آلوده و همچنین ریزش پیش از موعد برگ‌ها را نشان می‌دهند که در حقیقت میزان خسارت واقعی بیماری را از میزان اندازه‌گیری شده آن، فراتر می‌برد. البته برگ‌ریزی نهال‌ها و درختان آلوده در تحقیقات خارجی و داخلی مورد اشاره قرار گرفته است ولی اندازه‌گیری دقیق آماری خسارت حاصل از این

نتایج آزمون ارزیابی مقاومت نسبی گردوهای خارجی (ارقام) و ایرانی (ژنوتیپ‌ها) به آنتراکنوز جدایه زنجان نشان داد که اختلاف بسیار مشخصی میان ژنوتیپ‌های ایرانی برگزیده و ارقام خارجی شناخته شده موجود در این آزمایش وجود دارد. این نتیجه از آن نظر بیشتر حائز اهمیت است که با نتایج منتشر شده توسط دستجردی و همکاران (۱۳۸۶) در بخش تحقیقات باغبانی موسسه تحقیقات و تهیه نهال و بذر کشور و نتایج حاصل از تحقیقات صلاحی و جمشیدی (۱۳۸۸)، نیز همخوانی داشت. دستجردی و حسنی (۱۳۸۸) واکنش یازده ژنوتیپ گردو به بیماری آنتراکنوز گردو را در شرایط گلخانه بررسی نمودند. بر اساس نتایج این تحقیق بیشترین سطح آلودگی برگ در ژنوتیپ‌های K72, Z60 و رقم Hartley مشاهده شد و در مقابل ارقام Vina و Ronde de montignac (RDM) کمترین درصد سطح آلوده برگ را نشان دادند. صلاحی و جمشیدی (۱۳۸۸) واکنش ۱۱ رقم مختلف گردو شامل Franquet, Hartly, Lara, Pedro, RDM, Serr, Vina, K73, Z60, Z67 و Z63 را در برابر سه جدایه از قارچ عامل بیماری آنتراکنوز گردو مورد ارزیابی قرار دادند که بر اساس نتایج منتشر شده ایشان، ارقام یا به بیان بهتر، ژنوتیپ‌های برتر ایرانی Z67 و K73 از مقاومت بالاتری نسبت به سایر ارقام برخوردار بودند و در مقابل ارقام Franquet و Serr, Vina, Hartly, RDM, Lara از مقاومت نسبی برخوردار بودند و ژنوتیپ‌های Z63 و Z60 نیز بیشترین حساسیت را نشان دادند. در همه این مطالعات، بر اساس درصد سطح آلوده برگ ژنوتیپ ایرانی Z60 بیشترین حساسیت را در مقابل بیماری لکه سیاه گردو داشت. نتایج مطالعات اخیر انجام شده در کشور اثبات می‌کند که در انتخاب ژنوتیپ‌های برگزیده به بحث مقاومت در مقابل بیماری‌ها توجه کافی ضرورت دارد. علیرغم برتری ژنوتیپ‌های برتر معرفی شده داخلی از نظر درستی میوه، از نظر ویژگی مقاومت در مقابل بیماری آنتراکنوز، این ژنوتیپ‌ها در مقایسه با ارقام

<sup>1</sup> Hydrojuglone glucoside

<sup>2</sup> Premature phylloptosis

برگریزی تاکنون انجام نشده است. توده‌انتر و بنیکه (۱۹۸۴) سال‌ها پیش ثابت کرده بودند که ریزش پیش از موعد برگ‌های آلوده به آنتراکنوز، سبب کاهش قطر تنه گردوهای سیاه پیوندی می‌شود. ولی مطالعه و اندازه‌گیری آماری این مساله سخت و دشوار است و در مورد گردوی ایرانی نیز این نوع خسارت تاکنون بررسی نشده است.

## منابع

- ارشاد ج، ۱۳۷۴. قارچهای ایران. انتشارات وزارت کشاورزی و منابع طبیعی ایران. صفحات ۲۴۰-۲۳۹.
- امیر قاسمی الف، ۱۳۸۵. گردو. انتشارات سازمان نظام مهندسی کشاورزی و منابع طبیعی کشور
- باب الحوائجی ف و میناسیان م، ۱۳۸۵. بررسی بیولوژی *Gnomonia leptostyla*. عامل آنتراکنوز گردو در همدان. خلاصه مقالات هفدهمین کنگره گیاهپزشکی ایران، تهران. صفحه ۳۱۴.
- بختیاری م و ارجمندیان ح ا، ۱۳۸۵. وقوع گسترده و مطالعه بیماری آنتراکنوز(لکه سیاه) گردو در استان همدان. خلاصه مقالات هفدهمین کنگره گیاهپزشکی ایران، تهران. صفحه ۳۱۵.
- بی نام، ۱۳۸۶. آمارنامه کشاورزی، سازمان برنامه و بودجه کشور.
- جمشیدی س و صلاحی س، ۱۳۸۹. پراکنش، سبب شناسی و بیماریزایی آنتراکنوز گردو در ناحیه شمال غرب ایران. فصل نامه دانش نوین کشاورزی پایدار، سال ششم، شماره ۲۱.
- دستجردی ر، حسنی د، نیکخواه، م ج، فرهاد نژاد الف و صلاحی س، ۱۳۸۶. ارزیابی میزان مقاومت نسبی ارقام ژنوتیپ-های گردو به بیماری آنتراکنوز. خلاصه مقالات هجدهمین کنگره گیاهپزشکی کشور، همدان. صفحه ۷۲.
- دستجردی ر و حسنی د، ۱۳۸۸. واکنش ژنوتیپ‌های گردو به بیماری آنتراکنوز *Ophiognomonia leptostyla* (Fr.) Ces. & De Not در گلخانه. مجله به‌نژادی نهال و بذر. جلد اول، شماره ۳، صفحات ۲۵-۱.
- ربیعی فر ع، ۱۳۷۷. بررسی مقدماتی بیماری آنتراکنوز گردو در ایران. خلاصه مقالات سیزدهمین کنگره گیاهپزشکی ایران، کرج. صفحه ۲۲۳.
- صلاحی س و جمشیدی س، ۱۳۸۸. ارزیابی ارقام مختلف گردو به قارچ *Ophiognomonia leptostyla* عامل بیماری آنتراکنوز گردو. مجله دانش نوین کشاورزی، سال پنجم، شماره ۱۶. صفحه های ۵۵ تا ۶۱.
- صارمی ح و هاشمی ر، ۱۳۸۲. آزمایش مقدماتی بررسی مقاومت نسبی برخی از ارقام محلی گردو نسبت به بیماری آنتراکنوز گردو در استان قزوین. خلاصه مقالات اولین همایش تخصصی گردو در همدان. صفحه ۲۸.
- Anselmi N, Mazzaglia A, Scaramuccia L and DePace C, 2006. Resistance attitude of *Juglans regia* L. provenances towards Anthracnose (*Gnomonia leptostyla* (FR.) Ceset De Not.) ActaHort.705, ISHS.
- Annunziati M, Gras M, Pollegioni P, Mughini G, Molvolti ME and Anselmi N, 2007. Resistance behavior to Anthracnose diseases by *Ophiognomonia leptostyla* in *Juglans* spp. Proceeding of the 51st Italian Society of Agriculture Genetics, Annual Congress. Rival del Garda, Italy.

- Beineke WF and Master CJ, 1973. Black walnut progeny and clonal tests at Urdue University. Proceeding of the 12<sup>th</sup> South Forest Tree Improvement Conference., Baton Rouge LA. Pp. 233-242.
- Billirad S, Lopez-Villavencio M, Hood ME and Giraud T, 2012. Sex, outcrossing and mating types: unsolved questions in fungi and beyond. *Journal of Evolutionary Biology*. Review. 25(6):1020-38
- Cline S and Neely D, 1984. Relationship between juvenile-leaf resistance to Anthracnose and the presence of Juglone and Hydrojuglone Glucoside in Black Walnut. *The American Phytopathological Society*. Vol. 74, No. 2. Pp. 185-188
- Matteoni JA and Neely D, 1977. Infection frequency and severity of walnut Anthracnose with artificial inoculation. *Proceedings of the American Phytopathological Society*. USA.
- Pastore M, Consoli, D and Cristinzio G. 1997. Susceptibility of 32 walnut varieties to *Gnomonia leptostyla* and *Xanthomonas compestris* pv. *Juglandis*. *Acta Horticulturae* 442: 379-385.
- Reid, W. 1990. Eastern black walnut: Potential for commercial nut producing cultivars. pp:327- 331. In: Janick, J., and Simon, J. E.(eds.) *Advances in New Crops*. Timber Press Portland, Oregon, USA.
- Roquebert MF and Fayret J, 1982. *Marssoniella juglandis*: anamorph of *Gnomonia leptostyla*. *Canadian Journal of Botany* 60: 1320-1329.
- Shawn AM, 1995. Classical and molecular approaches to breeding fruit and nut crops for disease resistance. *HortScience* 30: 466- 477.
- Sogonov MV, Castelbury LA, Rossman AY, Mejia LC and White JF, 2008. Leaf-inhabiting genera of the Gnomoniaceae, Diaporthales, *Studies in Mycology* 62, CBS, Fungal Biodiversity Centre, Utrecht, Netherland. P: 1-79.
- Teviotdale BL, Michailides TJ and Pscheidt JW, 2002. *Compendium of nut crop diseases in temperate zones*. St. Paul, Minnesota, USA. APS Press 368pp.
- Todhunter MN and Beineke WF, 1984. Effect of Anthracnose on growth of Grafted Black Walnut. *Plant Diseases*, 65: 203-204
- Veghelyi K and Penzes-Toth T, 1990. Life cycle, forcast and control of *Gnomonia leptostyla* (Fr.) Ces. Et De Not. *Acta Horticulturae*, 284.

## Study of Walnut Black Spot (Anthracnose) Disease in Zanjan Province and Evaluation of Partial Resistance of Some Local and Exotic Walnut Genotypes Against the Disease

Sh Najafi<sup>1</sup>, H Jafary\*<sup>1</sup>, H Aminian<sup>2</sup>, A marefat<sup>3</sup> and HR Etebarian<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Agricultural and Natural Resources Research Center of Zanjan province, Zanjan, Iran.

<sup>2</sup>Dept. of Plant Protection, Aboreihan Pardis of Tehran University, Tehran, Iran.

<sup>3</sup>Dept. of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Zanjan University, Zanjan, Iran.

\*Corresponding author: [hjafaryir@yahoo.com](mailto:hjafaryir@yahoo.com)

Received: 18 Mar 2014

Accepted: 15 June 2014

### Abstract

Walnut tree is one of the most important orchard and jungle trees in Iran. It's world cultivation is growing up due to its plentiful uses. Meanwhile, some pests and diseases are known as the major reasons of restriction in walnut cultivation. Among walnut diseases, anthracnose is the most destructive in Iran. In this study, the main area of walnut cultivation in Zanjan were surveyed, walnut's infected organs (sprouts, leaves and fruits) were sampled and the disease agent was isolated and identified using ordinary plant pathological methods. The results showed that *Ophiognomonia leptostyla* (Fr.) Sogonov contribute to the walnut anthracnose disease, and it is permanently scattered in all Zanjan walnut orchards. It's damage varies between 15% to 67% in different regions. Our study on Telemorph and Anamorph phases of the fungus showed that there are no significant differences between isolates collected from Zanjan and those from other provinces in vicinity. Meantime, the results showed that the majority of the collected isolates were Heterothal. Study on partial resistance of three Iranian local genotypes (Z53, Z63 and Z60) and six exotic cultivars (Sere, Lara, Franket, Pedro, RDM and B21) showed that local genotypes were more susceptible to walnut anthracnose in comparison to exotic varieties. Although none of the varieties and genotypes was totally resistant, in comparison to introduced interior superior genotypes, exotic varieties of Persian walnut were by far in better condition against anthracnose.

**Key words:** Anthracnose, Persian Walnut, Partial Resistance.