

"مجله نهال و بذر"
جلد ۳۶، شماره ۱، سال ۱۳۹۹

مقاله پژوهشی

ارزیابی باغی ژنوتیپ‌های امیدبخش سیب بومی ایران برای تحمل به شانکر قارچی

Field Evaluation of Promising Local Apple Genotypes for Tolerance to Fungal Canker

رعنا دستجردی^۱، سولماز نادى^۲ و سیما دامیار^۳

۱. استادیار، پژوهشکده میوه های معتدله و سردسیری، موسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران.
۲. کارشناس، پژوهشکده میوه های معتدله و سردسیری، موسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران.
۳. پژوهشگر، پژوهشکده میوه های معتدله و سردسیری، موسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۰/۱۶ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۲/۲۱

چکیده

دستجردی، ر.، نادى، س. و دامیار، س. ۱۳۹۹. ارزیابی باغی ژنوتیپ‌های امیدبخش سیب بومی ایران برای تحمل به شانکر قارچی. *مجله نهال و بذر* ۳۶: ۳۳-۵۰.

در این مطالعه ۱۸ ژنوتیپ امیدبخش سیب بومی ایران به همراه ارقام تجاری گالا، فوجی، رد دلشز و گلدن دلشز در ایستگاه تحقیقات باغبانی کمال شهر کرج از نظر آلودگی به شانکر قارچی برای دو سال باغی (۹۵-۱۳۹۴) مورد ارزیابی قرار گرفتند. مطالعات اولیه در شرایط باغ، حضور جنس‌های *Neofusicoccum* و *Cytospora* را بر روی درختان آلوده به اثبات رساند. نتایج نشان داد میزان حساسیت ژنوتیپ‌های امیدبخش سیب در برابر شانکر سیتوسپورانی متفاوت بود. بر این اساس ژنوتیپ‌های H1-SH و T51 با میانگین شاخص آلودگی سه در گروه حساس، ژنوتیپ B-K-KH به همراه رقم تجاری فوجی در گروه نیمه حساس، رقم گلدن دلشز و ژنوتیپ SBA به ترتیب با میانگین شاخص آلودگی ۱/۷ و یک در گروه حساسیت کم، جای گرفتند. مایه کوبی جدا به قارچ *Neofusicoccum* بر روی شاخه‌های بریده‌ی غیرفعال از ارقام امیدبخش سیب ضمن اثبات بیماری‌زائی قارچ، واکنش متفاوت آنها را در برابر بیمارگر نشان داد. در شرایط آلودگی طبیعی، شاخص آلودگی به شانکر دوده‌ای در دامنه‌ای از صفر تا سه (در ژنوتیپ MD-N2) متغیر بود. ژنوتیپ‌های SBA, B-K-KH, ME6, GO-N3 به همراه ارقام تجاری گلدن دلشز، رد دلشز و فوجی در گروه نیمه حساس قرار گرفتند. آلودگی همزمان به دو بیمارگر مولد شانکر در پنج ژنوتیپ SBA, T51, H1-SH, B-K-KH و دو رقم تجاری گلدن دلشز و فوجی مشاهده شد. نتایج این پژوهش نشان داد که در شرایط آلودگی طبیعی، می‌توان منابع مطلوبی از مقاومت به بیماری‌ها را در جمعیت‌های بومی سیب ردیابی و از آنها در برنامه‌های به نژادی سیب استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: سیب، ژرم پلاس، شانکر سیتوسپورا، شانکر دوده‌ای، نیمه حساس.

مقدمه

کنترل تلفیقی آفات و بیماری‌ها، و متعاقب آن در تولید میوه سالم و ارگانیک یاری نماید (Pereira-Lorenzo *et al.*, 2009).

تاکنون عوامل خسارت‌زای متعددی نظیر گونه‌های مختلف قارچ‌های جنس *Nectria*, *Neonecteria*, *Neofabraea*, *Neofusicoccum*, *Nattrassia*, *Phomopsis/Diaporthe*, *Diplodia*, *Valsa/Leucostoma/ Cytospora*, *Eutypa*, *Chondrostereum* و نیز کمپلکسی از قارچ‌های جنس *Botryosphaeria* (مولد پوسیدگی‌های سیاه و سفید میوه)، پوسیدگی تلخ (Bitter rot)، لکه دوده‌ای (Sooty blotch) و نیز پوسیدگی طوقه و مرگ ناشی از گونه‌های قارچ‌مانند جنس *Fitofthora* از نقاط مختلف دنیا بر روی سیب گزارش شده‌اند که همه ساله خسارات فراوانی را از نظر اقتصادی و محیط زیستی در باغات بر جای می‌گذارند (Glawe *et al.*, 1983; Kanematsu, 2002; Slippers *et al.*, 2007; Sutton *et al.*, 2014). اگرچه در اکثر موارد امکان کنترل نسبی عوامل خسارت‌زا از طریق کاربرد مواد شیمیایی وجود دارد، اما به منظور کاهش مصرف سموم، حفظ محیط زیست و تولید محصولی سالم و ارگانیک، شناسایی منابع مقاومت و استفاده از آن‌ها در برنامه‌های کنترل تلفیقی آفات و بیماری‌های گیاهی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است.

عوامل مولد شانکر، بیمارگرهای قارچی

ایران از جمله خاستگاه‌های سیب (*Malus pumila* Miller) در جهان است و گونه‌ها و ژنوتیپ‌های متنوعی از این گیاه در کشور وجود دارد. تلاش‌های متمرکزی که در طی سالیان متمادی در راستای حفظ و نگهداری این منابع باارزش ژنتیکی در کشور انجام شده، این گونه را از خطر انقراض نجات داده است. کلکسیون ژرم پلاسِم سیب بومی ایستگاه تحقیقات باغبانی کمال‌شهر کرج یکی از مهم‌ترین مجموعه‌های باغبانی کشور است که بالغ بر ۲۶۰ رقم و ژنوتیپ سیب را در خود جای داده است.

هر چند مطالعات متعدد بیانگر وجود تنوع بالا در اندازه میوه، شکل، طعم، رنگ، زمان رسیدگی و غیره در این کلکسیون می‌باشد، اما همچنان سطوح مقاومت یا تحمل این منابع غنی ژنتیکی در برابر برخی آفات و بیماری‌ها ناشناخته باقی مانده است. شناسایی منابع مقاومت و استفاده از آن‌ها در برنامه‌های به‌نژادی درختان میوه و در ترکیب با صفات مطلوب باغبانی از قبیل کیفیت میوه و عملکرد محصول، همواره مورد توجه به‌نژادگران بوده است.

ارقام بومی با پتانسیل مقاومتی مختلف می‌توانند در برنامه‌های دورگ‌گیری و اصلاح رقم با هدف انتقال مقاومت به بیماری‌ها مورد استفاده قرار گیرند. از سوی دیگر معرفی ارقام جدید سیب که حامل ژن‌های مقاومت پایدار باشند، می‌تواند باغداران و تولیدکنندگان را در

میزان اهمیت و گسترش گونه‌های سیتوسپورا در نقاط مختلف جهان متفاوت است. برای مثال در آلمان گونه *C. personii* در درختان آلبالو اهمیت ویژه‌ای دارد، در حالی که در ایالت‌های آنتاریو و نیز در غرب نیویورک *C. cincta* خسارت‌زا است. در باغ‌های میشیگان و شرق نیویورک، قارچ *Leucostoma personii* (Nits.) Höhn دارای اهمیت اقتصادی است (Pokharel, 2013). گونه‌ی اخیر در آفریقای جنوبی از درختان سیب با علائم سرخشکیدگی جداسازی و گزارش شده است (Crous et al., 2000). گسترش آلودگی توسط این بیمارگر در درختان سیب کندتر است، با این وجود آلودگی می‌تواند سبب مرگ درختان بالغ و بارده شود. شدت بیماری و نیز گونه‌ی غالب بیمارگر در یک منطقه بسته به شرایط آب و هوایی محل استقرار باغ، متفاوت است (Pokharel, 2013).

در ایران نیز شش گونه‌ی سیتوسپورا متعلق به سه جنس شامل *C. cincta*, *C. schulzeri*, *C. leucostoma*, *C. chrysosperma*, *Valsa malicola*, *Leucostoma cinctum* سیب مبتلا به شانکر در منطقه سمیرم-اصفهان جداسازی و معرفی شده‌اند (Mehrabi et al., 2015; Mehrabi et al., 2011). گونه *C. schulzeri* به عنوان گونه‌ی غالب از سیب‌کاری‌های سمیرم گزارش شده است. یافته‌های تحقیقاتی درجات متفاوتی

نسبتاً ضعیفی هستند که اغلب به درختانی که تحت تنش‌های مختلف از قبیل خشکی، سرما، زخم، عملیات باغی نامناسب و یا در معرض هجوم آفات و بیمارگرهای مختلف قرار گرفته‌اند، حمله می‌کنند. شانکر سیتوسپورائی یا بیماری فتیله نارنجی ناشی از گونه‌های مختلف جنس *Cytospora* و تلومورف‌های مرتبط با آنها و نیز سرخشکیدگی و پژمردگی شاخه ناشی از قارچ *Neofusicoccum mangiferae* (Syd. & P. Syd.)، دوده‌ای، به عنوان برخی عوامل مهم سرخشکیدگی، شانکر و مرگ ناگهانی روی دامنه وسیعی از درختان و درختچه‌ها شناسائی و معرفی شده‌اند (Spielman, 1985; Bessho et al., 1994; Adams et al., 2005; Hassan et al., 2009).

سیتوسپورا یکی از مخرب‌ترین بیماری‌های سیب در آسیای شرقی است (Uhm and Sohn, 1995; Wang et al., 2005; Lee et al., 2006; Abe et al., 2007). فرم جنسی سیتوسپورا در جنس‌های *Valsa* Fr., *Leucostoma* Höhn، *Valsella* Fuckel, *Valseutypella* Höhn قرار دارد (Adams et al., 2005). بیشتر ارقام گونه‌های مختلف درختان هسته‌دار و دانه‌دار حساس به این بیمارگر می‌باشند، لیکن بیشترین حساسیت درختان به بیماری در دوره خواب آنها گزارش شده است (Pokharel, 2013).

به عنوان یک بیمارگر فرصت طلب و مهاجم ثانویه شناخته شده است (English *et al.*, 1974; Sadowsky *et al.*, 2007; Jamali and Banihashemi, 2010). عدم مدیریت صحیح باغ و بروز تنش های مختلف نظیر گرما و خشکی که سبب ضعف عمومی درختان می شود، حمله ی قارچ های پارازیت اختیاری را در باغ تشدید می نماید. در دهه ۱۹۹۰ میلادی بیماری زوال درختان زردآلواناشی از قارچ عامل شانکر دوده ای، سبب نابودی بیش از ۱۲۰۰۰ درخت در تونس شد. در سال های اخیر اهمیت بیماری در این کشور افزایش یافته است (Namsi *et al.*, 2010). در ایران نیز *N. mangiferae* به عنوان یک عامل مخرب و ویرانگر باغات مرکبات در منطقه صفی آباد دزفول (Alizadeh *et al.*, 2000)، یک تهدید بالقوه برای صنعت مرکبات و گاوآوا در مناطق گرم جنوب کشور (Najafiniya, 2016; Mirzaee *et al.* 2002;) و یکی از عوامل عمده ی زوال درختان میوه هسته دار شناسایی و معرفی شده است (Irani *et al.*, 2003).

اگرچه علائم مختلف ناشی از بیماری های قارچی مولد شانکر در شاخه و تنه درختان میوه به ویژه در باغات قدیمی سیب در ایران قابل مشاهده است، اما اطلاعات زیادی از مقاومت ارقام و پایه های بومی سیب در برابر هر یک از این عوامل وجود ندارد. در این پژوهش ضمن بررسی برخی از عوامل قارچی مولد شانکر در

از حساسیت را در ژنوتیپ های بومی و ارقام هلو در برابر گونه های *Leucostoma L. persoonii* و *cincta* (Pers. & Fr.) Höhn نشان داده است. ژنوتیپ هلو V681101 به عنوان مقاوم ترین ژنوتیپ در برنامه های به نژادی هلو از اهمیت فوق العاده ای برخوردار است (Dhanvantari and Dirks, 1983; Miles *et al.*, 1989).

بشو و همکاران (Bessho *et al.*, 1994)، ارقام و پایه های سیب Fuji, Starking Delicious, M26 EMLA, MM106 را حساس به سیتوسپورا معرفی نمودند، در حالی که گونه *Malus sieboldii* در برابر بیماری نیمه مقاوم نشان داده است. گونه ی اخیر در تحقیقات انجام شده توسط آبه و همکاران (Abe *et al.*, 2007) نیز بالاترین سطح مقاومت به شانکر *Valsa ceratosperma* (Tode ex Fr.) Maire را دارا بود. نتاج ۲۳ خانواده Full-sib مشتق شده از هیبریداسیون بین و درون گونه ای ۱۶ ژنوتیپ مالوس به عنوان والد از نظر مقاومت به *V. ceratosperma* مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج، ماهیت کمی مقاومت را در سه جدایه ی مورد آزمایش به اثبات رساند. بعلاوه نتاج حاصل از *M. sieboldii* × *M. domestica* و تلاقی های متقابل آنها از مقاومت بالاتری در برابر قارچ برخوردار بودند (Abe *et al.*, 2011).

گونه *Neofusicoccum mangiferae*

با شروع فصل رشد در سال‌های ۹۵-۱۳۹۴ ارزیابی ۱۴ ژنوتیپ امیدبخش و ۴ ژنوتیپ برتر موجود در کلکسیون از نظر آلودگی به عوامل قارچی مختلف مولد شانکر آغاز شد. به این منظور، کلیه علائم ظاهری آلودگی بر روی برگ، سرشاخه‌ها، شاخه‌های جانبی، تنه و طوقه درختان تا پایان مرحله برداشت و پس از آن در پائیز و زمستان در جداولی ثبت شدند.

آلودگی‌ها در مرحله اول براساس علائم ظاهری دسته‌بندی و شناسائی شدند. برای تشخیص عامل بیماری، نمونه برداری از بافت آلوده (شاخه‌ها و پوست تنه) انجام شد. برای جداسازی عوامل قارچی، نمونه‌هایی از حاشیه‌ی زخم‌های فعال تهیه و بر روی محیط کشت‌های عمومی سیب‌زمینی - دکستروز آگار (PDA) و عصاره مالت آگار (MEA) کشت شدند. پس از تک‌اسپور کردن جدایه‌های قارچی، شناسائی جدایه‌های خالص‌سازی شده براساس ویژگی‌های میکروسکوپی (مثل مورفولوژی اندام‌های غیرجنسی) و نیز خصوصیات ماکروسکوپی (نظیر شکل، رنگ و میزان رشد کلنی و خصوصیات ظاهری قارچ در محیط کشت) تا سطح جنس، انجام گرفت (Crous *et al.*, 2006; Mehrabi *et al.*, 2011).

میزان حساسیت ارقام و ژنوتیپ‌های سیب در برابر هر یک از عوامل قارچی مولد شانکر، در شرایط باغ تعیین و طبقه‌بندی ژنوتیپ‌ها در گروه‌های مختلف حساسیت براساس میزان

کلکسیون سیب بومی ایران، واکنش ژنوتیپ‌های امیدبخش سیب به عوامل مذکور در شرایط باغی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

ردیابی و بررسی علائم و نشانه‌های شانکر قارچی تنه و شاخه در ۱۴ ژنوتیپ امیدبخش و چهار ژنوتیپ برتر سیب طی سال‌های ۹۵-۱۳۹۴ و در شرایط آلودگی طبیعی باغ انجام شد. این ژنوتیپ‌ها بخش‌گزینه شده‌ای از ژرم پلاسما ارزشمند سیب هستند که در فاصله سال‌های ۸۳-۱۳۸۱ از ۱۶ استان مختلف کشور جمع‌آوری و پس از تکثیر روی پایه بذری، در قالب طرح آگمنتد با سه تکرار با فواصل ۴×۳ متر کشت شده‌اند. میانگین سن درختان در زمان شروع یادداشت‌برداری ۸-۱۰ سال بود. ارقام رد دلشیز، گلدن دلشیز، گالا و فوجی به عنوان ارقام تجاری استاندارد در کلکسیون موجود می‌باشند. به منظور حفظ فرم رویشی درختان مطابق با پتانسیل ژنتیکی آنها، حداقل تربیت و هرس در این باغ انجام شده است. تغییر روش آبیاری از سنتی به قطره‌ای در تابستان ۱۳۹۰ در این باغ صورت گرفت. ارقام و ژنوتیپ‌های موجود در این مجموعه تاکنون از نظر حداقل ۶۰ صفت مختلف اعم از رویشی و زایشی، مقاومت به شرایط مختلف آب و هوایی و نیز برخی از آفات و بیماری‌های کلیدی مورد ارزیابی قرار گرفته‌اند (Damyar *et al.*, 2007; Damyar *et al.*, 2018).

ساقه حذف (به گونه‌ای که بافت کامبیوم آشکار شد) و سپس از حاشیه‌ی کشت در حال رشد جدایه قارچ بر روی محیط PDA دیسکی میسیلیومی در محل قرار گرفت. محل مایه‌زنی با پارافیلیم مسدود و شاخه بریده‌ها در دیسکاتور با حرارت ۲۸-۲۵ درجه سانتیگراد و رطوبت نسبی ۸۵-۹۰٪ قرار گرفتند. برای هر ژنوتیپ پنج شاخه مایه‌زنی شد. شاخه‌های شاهد نیز با دیسک‌های PDA عاری از قارچ مایه‌زنی شدند. هفت تا ده روز پس از مایه‌زنی، طول و عرض زخم ناشی از آلودگی توسط کولیس دیجیتال ۱۵۰-۰ میلی‌متر (مدل Shoka Gulf) اندازه‌گیری و مساحت شانکر محاسبه شد.

به منظور فراهم نمودن شرایط برای بروز و توسعه آلودگی طبیعی در باغ، در سال‌های انجام این مطالعه هیچ گونه حشره کش یا قارچ‌کشی مورد استفاده قرار نگرفت. آبیاری قطعات آزمایشی با روش آبیاری قطره‌ای انجام شد.

پژمردگی، تغییر رنگ برگ‌ها، سرخشیدگی و در نهایت گسترش آلودگی در اندام‌های مختلف درختان و در یک مقیاس پنج امتیازی (جدول ۱) انجام شد (Dastjerdi et al., 2018). در خصوص جدایه‌های جنس *Neofusicoccum* که امکان ساپروفیت بودن آنها قوی‌تر است، ارزیابی بیماری‌زایی بر روی شاخه‌های بریده و غیرفعال ۱۴ ژنوتیپ امیدبخش سیب انجام شد (Mirzaee et al., 2002; Jamali and Banihashemi, 2010). در این آزمایش، ارقام گلدن دلشز و فوجی به عنوان ارقام تجاری استاندارد در کنار سایر ارقام مایه‌زنی شدند.

برای این کار، در اوائل دی قطعات ۲۵-۳۰ سانتیمتری از بخش مرکزی ساقه‌های در حال خواب تهیه و به آزمایشگاه منتقل شد. پس از ضدعفونی سطحی نمونه‌ها با الکل ۷۰٪، به کمک اسکالپل قطعه‌ای پنج میلی‌متری از پوست

جدول ۱- مقیاس ارزیابی شانکر قارچی در باغ

Table 1. Scale for field evaluation of fungal canker

امتیاز آلودگی Infection score	توصیف Description
0 < 1	No infection or less than 5% (wilting and leaf discoloration)- Tolerant آلودگی صفر (بدون علائم قابل رویت) یا کمتر از ۵ درصد (پژمردگی و تغییر رنگ برگ‌ها) - متحمل
1 < 2	5-15% infection (dieback and branch infection)- Low susceptible آلودگی بین ۵-۱۵ درصد (سرخسیدگی و آلودگی شاخه) - حساسیت کم
2 < 3	15-35% infection (main limb infection)- Moderately susceptible آلودگی بین ۱۵-۳۵ درصد (آلودگی شاخه‌های اصلی) - نیمه‌حساس
3 < 4	35-75% infection (trunk infection)- Susceptible آلودگی بین ۳۵-۷۵ درصد (آلودگی تنه) - حساس
≥ 4	>75% infection (girdling)- Very susceptible آلودگی بیش از ۷۵ درصد (حلقه‌برداری کامل) - خیلی حساس

نشد. پوست درختان در نقاط آلوده، تیره‌تر از نقاط اطراف بوده و ظاهری آب‌سوخته (Water-soaked) داشت. حضور شانکرهای طولی نسبتاً فرورفته و مناطق آب‌گزیده در محل آلودگی از دیگر نشانه‌های تشخیص بیماری بود. حذف پوست سطحی در محل شانکرها و مشاهده تغییر رنگ کامبیوم و پوست داخلی به قرمز-قهوه‌ای حضور قارچ را در بافت تأیید نمود.

رشد بیمارگر در پوست زنده‌ی درختان و نیز در بافت‌های چوبی، پیشرفت بیماری و مرگ درخت در محل آلودگی را به دنبال داشت. در برخی موارد در اثر وقوع آلودگی در شاخه‌های کوچکتر و یا حمله بیمارگر به تنه اصلی، شانکر دور تا دور محل آلوده را فراگرفته و سبب حلقه‌برداری بافت شده بود. جداشدن پوست مرده درختان به صورت تکه‌های بزرگ، اغلب در محل شانکرهای قدیمی مشاهده شد (شکل ۱). براساس مطالعات تشخیصی در آزمایشگاه، کلنی قارچ روی محیط PDA به رنگ زرد مایل به سبز، دارای میسیلیوم هوایی گسترده (کمی برآمده از سطح محیط کشت)، کنیدی‌های تک‌سلولی بدون دیواره عرضی، و رنگ توده کنیدی قرمز بود.

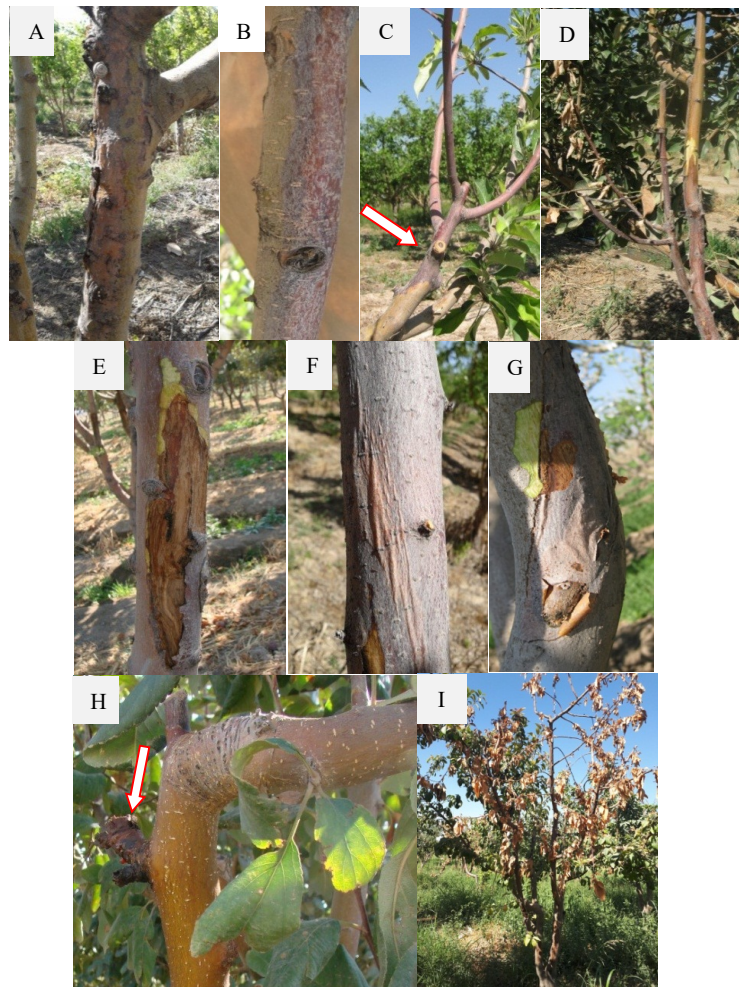
گونه‌های مختلف جنس *Cytospora* از جمله عوامل خسارت‌زای اقتصادی و محیط زیستی باغات سیب و گلابی در بسیاری از مناطق کشت این محصولات در

سایر عملیات مدیریت باغی مثل کنترل علف‌های هرز، تغذیه و هرس نیز مطابق عرف معمول صورت گرفت. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.1 و مقایسه میانگین‌ها با کمک آزمون چنددامنه‌ای دانکن انجام شد.

نتایج و بحث

کلکسیون ژرم پلاسما سیب بومی ایستگاه تحقیقات باغبانی کمال‌شهر - کرج با دارا بودن ۲۵۸ ژنوتیپ بومی سیب در سال‌های ۹۳-۱۳۹۱ مورد هجوم قارچ‌های بیماری‌زا و در رأس آن‌ها عوامل مولد شانکر تنه و شاخه قرار گرفت. با توجه به اهمیت این مجموعه ژنتیکی در برنامه‌های به نژادی سیب کشور، مطالعات برای حفظ این ذخائر ارزشمند آغاز شد. آزمایشات تشخیصی اولیه مشتمل بر ردیابی و بررسی نشانه‌های بیماری در باغ، و سپس بررسی ویژگی‌های میکروسکوپی و نیز خصوصیات ماکروسکوپی جدایه‌های خالص‌سازی‌شده، حضور جنس‌های *Neofusicoccum* و *Cytospora* را در درختان آلوده به اثبات رساند.

شانکر سیتوسپورائی: درختان بیمار به راحتی و از طریق مشاهده تغییر رنگ تنه به نارنجی-قرمز در فصول بهار و اوائل تابستان، و نیز پژمردگی و سرخشکیدگی شاخه‌ها قابل شناسایی بودند. در اغلب موارد در درختان آلوده برخلاف هسته‌داران، خروج صمغ مشاهده



شکل ۱- شانکر سیتوسپورا در کلکسیون سیب بومی کمالشهر، کرج. (A) تغییر رنگ نارنجی تنه در درختان سیب آلوده به سیتوسپورا- ژنوتیپ SH-CH، (B و C) تغییر رنگ پوست بیرونی و ایجاد شانکرهای طولی- ژنوتیپ H1-SH، (D) سرخشیدگی شاخه‌های جوان- ژنوتیپ T51، (E) تغییر رنگ پوست داخلی به قرمز-قهوه‌ای و تمایز بافت آلوده و سالم- ژنوتیپ H1-SH، (F و G) ترک خوردن پوست درخت در محل آلودگی و جدا شدن تکه‌های پوست- ژنوتیپ B-K-KH، (H) حلقه برداری شاخه جوان و خروج صمغ-ژنوتیپ SHA-M، (I) مرگ درخت مبتلا به شانکر- ژنوتیپ H-GH.

Fig. 1. Cytospora canker in local apple collection of Kamalshar-Karaj. (A) orange discoloration on trunk of apple trees infected by *Cytospora*- SH-CH genotype, (B and C) outer bark discoloration and producing of elongated cankers- H1-SH genotype, (D) young shoots dieback- T51 genotype, (E) reddish-brown discoloration of inner bark and differentiation of infected and healthy tissues- H1-SH genotype, (F and G) cracking of dead bark and fall off bark pieces- B-K-KH genotype, (H) girdling of young shoots and diffusion of orange resin- SHA-M cultivar, (I) death of infected tree- H-GH genotype.

محصول در ایران، بارها گزارش شده است (Heidarian and Tadayon-Nejad, 2018; Mehrabi *et al.*, 2011). براساس مشاهدات ما در شرایط باغ کلکسیون کمال شهر کرج، میزان بیماری در ارقام تجاری گالا و رد دلشز بسیار اندک، با امتیاز آلودگی صفر یا کمتر از پنج درصد (مقیاس آلودگی با کد صفر) تعیین شد.

براساس بررسی‌های انجام شده در بزرگترین کلکسیون سیب بومی ایران در بین ۲۵۸ ژنوتیپ موجود، ۳۴ ژنوتیپ سطوح مختلفی از آلودگی به شانکر سیتوسپورائی را در شرایط طبیعی باغ نشان دادند (داده‌ها ارائه نشده است). این موضوع بیانگر آن است که در شرایط آلودگی طبیعی، می‌توان منابع مطلوبی از مقاومت را در جمعیت‌های بومی سیب ردیابی نمود. این منابع ارزشمند می‌توانند در پروژه‌های به‌نژادی سیب مورد استفاده به‌نژادگران قرار گیرند. با توجه به استقرار ژنوتیپ‌های سیب مورد استفاده در این پژوهش بر روی پایه بذری و احتمال تاثیر نوع پایه بر سطح مقاومت گیاه، ارزیابی واکنش ژنوتیپ‌ها در برابر بیمارگر و در ترکیب با پایه‌های رویشی استاندارد ضرورت دارد.

براساس مطالعات مختلف عدم توازن عناصر غذائی در باغ، تنش خشکی، زخم‌های مکانیکی ناشی از هرس و سرما، یخبندان‌های دیررس بهاره و آفتاب‌سوختگی از جمله عواملی هستند که درختان را مستعد حمله‌ی قارچ سیتوسپورا می‌کنند (Pokharel, 2013). در مطالعه حاضر، خسارت آفتاب‌سوختگی به خصوص در ضلع

جهان می‌باشند (Sutton *et al.*, 2014; Adams *et al.*, 2005). در ایران نیز این قارچ مولد شانکر بوده و خسارت آن از مناطق مختلف سیب کاری گزارش شده است (Ershad, 1995). مشاهدات ما نشان داد که میزان حساسیت ژنوتیپ‌ها به شانکر سیتوسپورائی در شرایط طبیعی باغ متفاوت بود و امتیاز آلودگی در دامنه‌ای از صفر تا سه متغیر بود (جدول ۲).

در بین ۱۸ ژنوتیپ مورد مطالعه، پنج ژنوتیپ سطوح مختلفی از آلودگی را نشان دادند، در حالی که ۱۳ ژنوتیپ علائمی از بیماری نداشتند و یا میزان آلودگی در آنها کمتر از پنج درصد بود. ژنوتیپ‌های H1-SH و T51 با میانگین امتیاز آلودگی سه در گروه حساس قرار گرفتند. در این گروه، زخم‌های ناشی از بیماری بخش عمده‌ای از تنه درختان را فرا گرفته و خطر حلقه‌برداری و مرگ، درختان جوان را تهدید می‌کرد. ژنوتیپ امیدبخش B-K-KH به همراه فوجی در گروه نیمه‌حساس، رقم تجاری گلدن دلشز و ژنوتیپ SBA به ترتیب با میانگین امتیاز آلودگی ۱/۷ و یک در گروه حساسیت کم، قرار گرفتند.

بشو و همکاران (Besshoet *al.*, 1994) در بررسی مقاومت ارقام و پایه‌های سیب به شانکر سیتوسپورائی در شرایط گلخانه، رقم فوجی را نسبتاً حساس گزارش کردند. همچنین آلودگی باغات سیب رقم گلدن دلشز به عنوان یکی از ارقام غالب در مناطق کشت این

جدول ۲- لیست ژنوتیپ‌های امیدبخش و برتر سیب بومی مورد مطالعه و میانگین آلودگی به شانکر قارچی در شرایط باغ

Table 2. List of studied promising and superior local apple genotypes and mean of infection scores for fungal canker under field conditions

ژنوتیپ Genotype	محل جمع‌آوری Location	زمان رسیدن ^۱ Ripening time ¹	میانگین امتیاز آلودگی ^۲ Mean of infection score ²	
			سیتوسپورا Cytospora canker	شانکر دوده‌ای Sooty canker
SBA	Esfehan	LR	1.0	2.0
SSB	Esfehan	MR	0.0	0.0
MN10	Hamedan	MR	0.0	0.0
MN8	Hamedan	MR	0.0	0.3
B-K-KH	Alborz	LR	2.7	2.0
T51 ^۳	Alborz	MR	3.0	1.7
T5	Alborz	LR	0.0	0.0
T-R1	Markazi	LR	0.0	1.3
KH2	Markazi	ER	0.0	0.0
S-O-G	Mazandaran	ER	0.7	1.3
DO-P-SH	Chaharmahal and Bakhtiari	MR	0.0	2.7
ME6	Ardebil	MR	0.0	2.3
ZN9	Zanjan	ER	0.0	0.0
SH12	Semnan	ER	0.0	0.0
MD-N2	Tehran	MR	0.0	3.0
GO-N3	Tehran	ER	0.0	2.0
H1-SH	Tehran	ER	3.0	1.7
DI-M	West Azarbayjan	LR	0.0	0.0
Golden Delicious	West Azarbayjan	LR	1.7	2.7
Red Delicious	West Azarbayjan	LR	0.0	2.3
Gala	Tehran	MR	0.0	1.7
Fuji	Tehran	LR	2.3	2.0

۱- دیررس (LR)، زودرس (ER)، میان‌رس (MR).

۲- امتیاز آلودگی: آلودگی صفر یا کمتر از پنج درصد، پژمردگی یا تغییر رنگ برگ‌ها (<1-0)؛ آلودگی بین ۱۵-۵ درصد، سرخشکیدگی و آلودگی شاخه (<2-1)؛ آلودگی بین ۳۵-۱۵ درصد، حمله به شاخه اصلی (<3-2)؛ آلودگی بین ۷۵-۳۵ درصد، آلودگی تنه (<4-3)؛ آلودگی بیش از ۷۵ درصد، حلقه‌برداری (>4).

۳- ژنوتیپ‌های برتر بصورت بولد نمایش داده شده‌اند.

3- Superior genotypes are in bold.

۳- ژنوتیپ‌های برتر بصورت بولد نمایش داده شده‌اند.

دیگر از ویژگی‌های بارز بیماری است. تغییر رنگ خاکستری تیره یا قهوه‌ای در چوب و گسترش علائم به سمت مرکز، حاکی از حمله‌ی عامل بیماری به ناحیه کامبیوم آوندی می‌باشد.

با حذف پوست سطحی (اپیدرم) در ناحیه آسیب‌دیده، توده‌ای از اسپوره‌های سیاه و دوده‌ای قارچ (آرتروکنیدی‌ها) قابل مشاهده بود. وجود این هاگ‌های سیاه‌رنگ، از نشانه‌های متمایزکننده بیماری محسوب می‌شود. ضعف شدید، شکستگی شاخه‌ها، کاهش عملکرد، زوال و از بین رفتن تمام یا بخشی از درخت از پیامدهای حضور این بیمارگر در باغ است. اگرچه ممکن است از زمان آلودگی تا مرگ درختان چندین سال طول بکشد، اما در صورت آلودگی شدید درخت طی ۲-۳ فصل باغی از بین می‌رود. در مطالعات تشخیصی آزمایشگاهی، کلنی قارچ روی محیط PDA به رنگ زیتونی تیره، میسلیوم هوایی سطحی دارای دیواره عرضی که به تدریج به رنگ تیره تغییر رنگ می‌یابد، و زنجیره‌ای از اسپوره‌های ۱-۲ سلولی قابل مشاهده بود.

براساس داده‌های جمع‌آوری‌شده، در میان ۱۸ ژنوتیپ مورد مطالعه هشت ژنوتیپ نشانه‌ای از آلودگی به قارچ عامل شانکر دوده‌ای را نشان ندادند و یا میزان گسترش آلودگی در آنها کمتر از پنج درصد بود (جدول ۲). آلودگی ۳۵-۷۵ درصد تنه اصلی درختان در هر سه تکرار مربوط

جنوب‌غربی درختان آلوده کاملاً محرز و در برخی موارد شدید بود.

به نظر می‌رسد تغییر روش آبیاری از سنتی به قطره‌ای در سال‌های ۹۱-۱۳۹۰ و بالا بودن pH خاک نیز سبب ضعف عمومی درختان شده و شانس آنها را برای احتمال حمله‌ی بیمارگرهای قارچی مولد شانکر افزایش داده است. حیدریان و تدین‌نژاد (Heidarian and Tadayon-Nejad, 2018) در تحقیقات خود نشان دادند که ۶۲ درصد باغات سیب آلوده به شانکر سیتوسپورایی در منطقه سمیرم به شدت دچار کمبود کلسیم و پتاسیم بودند. آنها زیادی نیتروژن را در خاک درختان آلوده، دلیلی بر افزایش حمله‌ی قارچ بیمارگر ذکر کردند.

شانکر دوده‌ای: اگرچه قارچ *Neofusicoccum* به‌ندرت در باغات سیب سبب ایجاد خسارت اقتصادی می‌شود، اما مشاهدات و داده‌های ما در کلکسیون سیب بومی ایران، حضور قارچ را بر روی ۹۷ ژنوتیپ از مجموع ۲۵۸ ژنوتیپ با سن ۸-۹ سال نشان داده است (Dastjerdi et al., 2018). نشانه‌های اولیه‌ی آلودگی عموماً با پژمردگی برگ‌ها، ظهور مناطق خیس‌خورده و تغییر رنگ قرمز-قهوه‌ای بر روی شاخه قابل شناسایی بود. با گسترش بیماری، پوست ناحیه آلوده ترک‌خورده و ضمن ایجاد شانکر، علائم سرخشکیدگی در شاخه‌ها نمایان شد. ورقه‌ورقه شدن لایه بیرونی پوست در درختان آلوده، یکی

بیشترین مساحت آلودگی مربوط به ژنوتیپ‌های ME6 و GO-N3 و کمترین مساحت زخم در ژنوتیپ‌های MN8, SSB, SBA و DO-P-SH ثبت شد (جدول ۳). رقم گلدن دلشز با مساحت زخم ۱۴۷/۷۳ میلی‌متر مربع نیمه‌حساس و رقم فوجی با میانگین مساحت آلودگی ۷۷/۲ میلی‌متر مربع از حساسیت کم برخوردار بودند. ژنوتیپ‌های T5, MN10, KH2 و SSB که در شرایط طبیعی باغ نشانه‌ای از آلودگی به این قارچ را نداشتند، و در مایه‌زنی مصنوعی در آزمایشگاه نیز مساحت زخم کمی در مقایسه با سایر ژنوتیپ‌ها داشتند. جداسازی بیمارگر از برخی شاخه‌های مایه‌زنی شده نشان داد که قارچ *Neofusicoccum* عامل کلونیزاسیون، ایجاد شانکر و بروز علائم در آنها بود.

آلودگی ۳۷/۶ درصد از ژرم پلاسما موجود در کلکسیون سیب بومی ایستگاه تحقیقات باغبانی کمال شهر - کرج با قارچ عامل شانکر دوده‌ای (Dastjerdi et al., 2018)، خطر احتمال سازگاری تدریجی آن به‌عنوان یک بیمارگر مولد شانکر که تاکنون برای سیب در منطقه کرج مشکل مهمی نبوده است را تقویت می‌کند. گزارشات نشان می‌دهد این قارچ به‌عنوان پارازیت زخم، می‌تواند سبب پژمردگی و شانکر در میزبان‌های مختلف شود (Natour and El-Haideri, 1967; Mirzaee et al., 2002). آب و هوای گرم و

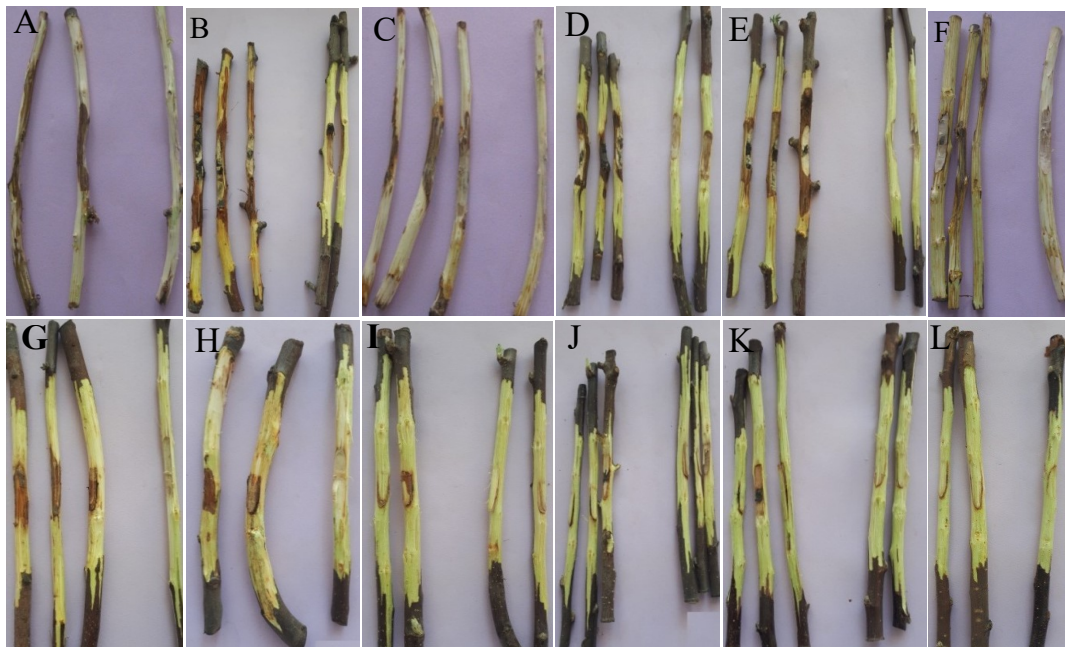
به ژنوتیپ MD-N2، و در دو درخت از ژنوتیپ DO-P-SH بیانگر حساسیت بالای این ژنوتیپ‌ها به قارچ عامل بیماری در شرایط محیطی کرج می‌باشد.

میانگین شاخص آلودگی در ارقام تجاری گلدن دلشز، رد دلشز و فوجی به ترتیب ۲/۷، ۲/۳ و ۲/۰ بود و بنابراین ارقام مذکور به همراه ژنوتیپ‌های SBA, B-K-KH, ME6, GO-N3 در گروه نیمه‌حساس طبقه‌بندی شدند. ژنوتیپ‌های T51, T-R1, S-O-G, H1-SH به همراه رقم گالا با دارا بودن امتیاز آلودگی در دامنه‌ی ۲-۳، در گروه حساسیت کم قرار گرفتند. آلودگی همزمان به دو بیمارگر مولد شانکر (*Cytospora* و *Neofusicoccum*) در پنج ژنوتیپ B-K-KH, H1-SH, S-O-G, SBA, T51 و دو رقم تجاری گلدن دلشز و فوجی نیز ردیابی شد (جدول ۲).

مایه‌زنی جداییه K11 قارچ *Neofusicoccum* (جداسازی شده از ژنوتیپ امیدبخش H1-SH) در شرایط آزمایشگاهی بر روی شاخه‌های بریده ۱۴ ژنوتیپ امیدبخش سیب ضمن اثبات بیماری‌زائی آن، واکنش‌های متفاوت ژنوتیپ‌ها را در برابر این بیمارگر نشان داد (شکل ۲). علائم اولیه در بافت آلوده به صورت تغییر رنگ قرمز - قهوه‌ای و ایجاد شانکر مشاهده شد. با گذشت زمان، پودر سیاه رنگ آرتروکنیدیومی قارچ بر روی زخم‌ها تشکیل شد. شاخه‌بریده‌های شاهد، علائمی از آلودگی را نشان ندادند.

(Jayasinghe and Silva., مستعد می‌سازد
1994; Mirzaee et al., 2002)

آفتابی و نیز خسارت ناشی از آفتاب‌سوختگی
در تنه درختان، آنها را در برابر حمله قارچ



شکل ۲- ارزیابی بیماری‌زایی *Neofusicoccum* روی شاخه‌های غیرفعال و دو ساله‌ی تعدادی از ژنوتیپ‌های امیدبخش سیب و بررسی واکنش آنها هفت روز پس از مایه‌زنی در شرایط آزمایشگاه. A: رقم گلدن دلشیز، B: ژنوتیپ ME6، C: ژنوتیپ H1-SH، D: ژنوتیپ T-R1، E: ژنوتیپ MD-N2، F: ژنوتیپ MN10، G: ژنوتیپ T5، H: ژنوتیپ B-K-KH، I: ژنوتیپ DO-P-SH، J: ژنوتیپ SBA، K: ژنوتیپ MN8، L: ژنوتیپ SSB. شاخه سمت راست در هر تصویر، شاهد می‌باشد.

Fig. 2. Pathogenicity test of *Neofusicoccum* on two year-old inactive twigs of some promising apple genotypes and their reaction seven days after inoculation under laboratory conditions. A: cv.Golden Delicious, B: ME6, C: H1-SH, D: T-R1, E: MD-N2, F: MN10, G: T5, H: B-K-KH, I: DO-P-SH, J: SBA, K: MN8, L: SSB, genotypes. Right twig in each photo is control.

تغییر در عملیات باغی کلکسیون سیب
بومی کشور، همچنین تغییر روش آبیاری
در مجموعه فوق‌الذکر (از غرقابی به قطره‌ای)،

در سال‌های اخیر خشکسالی، افزایش
میانگین درجه حرارت و گرمای تابستان، و
در نتیجه آن افزایش خسارت آفتاب‌سوختگی،

جدول ۳- مقایسه میانگین مساحت آلودگی ناشی از قارچ *Neofusicoccum* در ژنوتیپ‌های امیدبخش سیب (آزمایشگاه)

Table 3. Mean comparison of infection area caused by *Neofusicoccum* in promising apple genotypes (Laboratory)

ژنوتیپ Genotype	مساحت آلودگی (میلی متر مربع) Infected area (mm ²)
ME6	425.57a
GO-N3	302.83b
H1-SH	248.00bc
T-R1	209.33bcd
MD-N2	205.07bcd
S-O-G	167.73cde
Golden Delicious	147.73cdef
KH2	116.00defg
Fuji	77.20efg
MN10	66.33efg
T5	49.53efg
B-K-KH	43.50gf
DO-P-SH	23.17g
SBA	10.67g
SSB	10.20g
MN8	6.33g

میانگین هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک می باشند بر اساس آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی دار ندارند.

Means followed by at least one letter in common are not significantly different at the 5% probability level- using Duncan's Multiple Range Test.

در برابر تنش‌های زنده و غیرزنده و استفاده از این منابع مقاومت در برنامه‌های مدیریت تلفیقی آفات و بیماری‌ها، امروزه روشی امیدبخش برای دستیابی به تولید محصول با حداقل کاربرد آفت کش‌ها است. به کارگیری منابع مقاومت به خصوص برای مدیریت آندسته از آفات و بیماری‌هایی که امکان کنترل شیمیائی آنها محدود و یا با اعمال روش‌های به باغی دشوار است، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. در همین راستا، استفاده از ذخایر ژنتیکی موجود و نگهداری و پایداری استفاده از

خسارت آفات و احتمالاً زخم‌های ناشی از هرس، سبب ضعف، دگرگون شدن میکروکلیمای داخل تاج درختان و به دنبال آن افزایش فعالیت قارچ و ایجاد خسارت در درختان در کلکسیون سیب بومی کشور شده است. کنترل موفق شانکر قارچی درختان سیب به ویژه سیتوسپورا به دلیل نفوذ بیمارگر در بافت چوبی و آبکش (Abe *et al.*, 2007)، با تیمارهای شیمیائی و عملیات باغی امکان پذیر نمی باشد (Chang *et al.*, 1991). ایجاد مقاومت میزبان

تنش‌های زنده و غیرزنده و نهایتاً تولید محصولی اقتصادی، سالم و باکیفیت مطلوب خواهد شد. نتایج این پژوهش نیز موید آنست که منبع مهمی از ژن‌های مقاومت به بیماری شانکر قارچی در ارقام و ژنوتیپ‌های بومی سیب وجود دارد که می‌تواند در برنامه‌های به نژادی آینده مورد استفاده قرار گیرد.

سپاسگزاری

نگارندگان از مدیریت پژوهشکده میوه‌های معتدله و سردسیری و مسئولین و کارکنان ایستگاه تحقیقات باغبانی کمال شهر کرج که اجرای این پژوهش را پشتیبانی کردند سپاسگزاری می‌کنند.

این منابع ارزشمند برای تولید بیشتر غذا با تاکید بر افزایش کیفیت محصول، امری اجتناب‌ناپذیر است. این موضوع به عنوان یکی از فعالیت‌های بین‌المللی معاهده تنوع زیستی (Convention on Biological Diversity) همواره مورد توجه قرار گرفته است (Kellerhals *et al.*, 2012).

سیب از جمله محصولات است که خوشبختانه گونه‌ها و ژنوتیپ‌های بومی متعددی از آن در ایران وجود دارد. جمع‌آوری اطلاعاتی در خصوص میزان تحمل این ژنوتیپ‌های بومی در برابر آفات و بیماری‌های مهم، ضمن تکمیل شناسنامه این ارقام، منجر به استفاده از این ذخایر ژنتیکی ارزشمند برای تولید ارقام متحمل به

References

- Abe, K., Kotoda, N., Kato, H., and Soejima, J. 2007.** Resistance sources to *Valsa* canker (*Valsa ceratosperma*) in a germplasm collection of diverse *Malus* species. *Plant Breeding* 126: 449-453.
- Abe, K., Kotoda, N., Kato, H., and Soejima, J. 2011.** Genetic studies on resistance to *Valsa* canker in apple: genetic variance and breeding values estimated from intra- and inter-specific hybrid progeny populations. *Tree Genetics and Genomes* 7: 363-372.
- Adams, G. C., Wingfield, M. J., Common, R., and Roux, J. 2005.** Phylogenetic relationships and morphology of *Cytospora* species and related teleomorphs (Ascomycota, Diaporthales, Valsaceae) from Eucalyptus. *Studies in Mycology* 52: 1-149.
- Alizadeh, A., Heidarian, A., and Farrokhi-Nejad, R. 2000.** Citrus branch wilt, decline and death caused by *Nattrassia mangiferae* and its other hosts in Khuzestan province. *Iranian Journal of Plant Pathology* 36: 77-98 (in Persian).
- Bessho, H., Tsuchiya, S., and Soejima, J. 1994.** Screening methods of apple trees for

- resistance to *Valsa* canker. *Euphytica* 77: 15-18.
- Chang, L. S., Iezzoni, A., Adams, G. C., and Ewers, F. 1991.** Hydraulic conductivity in susceptible versus tolerant peach seedlings infected with *Leucostoma personii*. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 116: 831-834.
- Crous, P. W., Phillips, A. J. L., and Baxter, A. P. 2000.** Phytopathogenic fungi from South Africa. University of Stellenbosch Press. 546 pp.
- Crous, P. W., Slippers, B., Wingfield, M. J., Rheeder, J., Marasas, W. F.O., Philips, A. J. L., Burgess, T., Barber, P., and Groenewald, J. Z. 2006.** Phylogenetic lineages in the Botryosphaeriaceae. *Studies in Mycology* 55: 235-253.
- Damyar, S., Hassani, D., and Dastjerdi, R. 2018.** Thirteen years collection and evaluation of local apple germplasm in Iran. *Acta Horticulturae* 1190: 35-40.
- Damyar, S., Hassani, D., Dastjerdi, R., Hajnajari, H., Zeinanloo, A. A., and Fallahi, E. 2007.** Evaluation of Iranian native apple cultivars and genotypes. *Journal of Food, Agriculture and Environment* 5: 207-211.
- Dastjerdi, R., Nadi, S., and Damyar, S. 2018.** Sooty canker of fruit trees in Iran. *Plant Pathology Science* 7: 15-27 (in Persian).
- Dhanvantari, B. N., and Dirks, V. A. 1983.** An evaluation of peach cultivars and selections for resistance to *Leucostoma cincta*. *Canadian Journal of Plant Science* 63: 307-310.
- English, H., Davis, J. R., and DeVay, J. E. 1974.** Relationship of *Botryosphaeria dothidea* and *Hendersonula toruloidea* to a canker disease of almond. *Phytopathology* 65: 114-122.
- Ershad, J. 1995.** Fungi of Iran. 2nd edition. Agricultural Research, Education and Extension Organization Publication. Tehran, Iran. 874 pp.
- Glawe, D. A., Dille, M. A., and Moller, W. J. 1983.** Isolation and identification of *Eutypa armeniacae* from *Malus domestica* in Washington State. *Mycotaxon* 18: 315-318.
- Hassan, W. A., Pasha, A. A., and Mohammad, M. B. 2009.** Sooty canker on some thin bark trees caused by *Natrassia mangiferae*. *Egyptian Journal of Agricultural Research* 87: 443-456.
- Heidarian, A., and Tadayon-Nejad, M. 2018.** Nutritional effects of apple trees on *Cytospora* canker severity (*Cytospora cincta*) in Semirrom orchards. *Entomology and*

- Phytopathology 86: 13-28 (in Persian).
- Irani, H., Kumarse, S.H., Ommati, F., and Ershad, D. 2003.** Etiological study of stone fruit dieback and decline in west Azarbaijan, Semnan and Kerman provinces. Iranian Journal of Plant Pathology 39: 57-72 (in Persian).
- Jamali, S., and Banhashemi, Z. 2010.** The pathological and physiological study of *Natrassia mangiferae* the cause of shade trees decline in Shiraz city. Iranian Journal of Plant Pathology 46: 105-109 (in Persian).
- Jayasinghe, C. K., and Silva, W. P. K. 1994.** Foot canker and sudden wilt of *Hevea brassiliensis* associated with *Natrassia mangiferae*. Plant Pathology 43: 938-940.
- Kanematsu, S. 2002.** Variation in Japanese isolates of *Phomopsis* from fruit trees and their phylogenetic and taxonomic studies. Journal of General Plant Pathology 68: 263-263.
- Kellerhals, M., Szalatnay, D., Hunziker, K., Duffy, B., Nybom, H., Ahmadi-Afzadi, M., Hoefler, M., Richter, K., and Lateur, M. 2012.** European pome fruit genetic resources evaluated for disease resistance. Trees 26: 179-189.
- Lee, D. H., Lee, S. W., Chi, K. H., Kim, D. A., and Uhm, J. Y. 2006.** Survey on the occurrence of apple disease in Korea from 1992 to 2000. Journal of Plant Pathology 22: 375-380.
- Mehrabi, M., Mohammadi Goltapeh, E., and Fotouhifar, K. B. 2011.** Studies on *Cytospora* canker disease of apple trees in Semrom region of Iran. Agricultural Technology 7: 967-982.
- Mehrabi, M., Mohammadi Goltapeh, E., and Fotouhifar, K. B. 2015.** Genetic diversity of *Cytospora schulzeri* isolates using RAPD-PCR and MP-PCR markers on apple of Semrom region of Iran. Journal of Crop Protection 4: 441-452.
- Miles, N. W., Svircev, A. M., Chong, C., and Biggs, A. R. 1989.** Cytospora canker resistance in peach: germplasm evaluation and genetic improvement. Acta Horticulturae 1: 85-90.
- Mirzaee, M. R., Mohammadi, M., and Rahimian, H. 2002.** *Natrassia mangiferae*, the cause of die-back and trunk cankers of *Ficus religiosa* and branch wilt of *Psidium guajava* in Iran. Journal of Phytopathology 150: 244-247.
- Najafiniya, M. 2016.** Management of citrus die-back disease. Plant Pathology Science

- 5: 26-36 (in Persian).
- Namsi, A., Zouba, A., Triki, M. A., Mahmoud, M. O., and Takrouni, M. L. 2010.** Study on *Natrassia mangiferae*, the causal agent of apricot tree decline disease in the Oases of South Tunisia: biology and in vitro evaluation of some fungicides. The African Journal of Plant Science and Biotechnology 4: 88-90.
- Natour, R. M., and El-Haideri, H. 1967.** Occurrence of branch wilt disease caused by *Henderson ulatoruloidea* in Iraq. Plant Disease Reporter 51: 371-373.
- Pereira-Lorenzo, S., Ramos-Cabrera, A. M., and Fischer, M. 2009.** Breeding apple (*Malus × Domestica* Borkh). pp. 33-81. In: Jain, S. M., and Priyadarshan, P. M. (eds.) breeding plantation tree crops: temperate species. New York, USA. Springer.
- Pokharel, R. 2013.** Cytospora canker in tree fruit crops. Western Colorado Research Center. Fact Sheet No. 2.953. 6 pp.
- Sadowsky, A., Solel, Z., and Sztejnberg, A. 2007.** Effect of heat-stress predisposition on the development of *Scytalidium* wilt of "Star Ruby" grapefruit, caused by *Scytalidium lignicola*. European Journal of Plant Pathology 117: 123-127.
- Slippers, B., Smit, W. A., Crous, P. W., Coutinho, T. A., Wingfield, B. D., and Wingfield, M. J. 2007.** Taxonomy, phylogeny and identification of Botryosphaeriaceae associated with pome and stone fruit trees in South Africa and other regions of the world. Plant Pathology 56: 128-139.
- Spielman, L. J. 1985.** A monograph of *Valsa* on hardwoods in North America. Canadian Journal of Botany 63: 1355-1387.
- Sutton, T. B., Aldwinckle, H. S., Agnello, A. M., and Walgenbach, J. F. 2014.** Compendium of apple and pear diseases and pests. 2nd edition. APS Press. St. Paul, Minnesota, USA. 218 pp.
- Uhm, J. Y., and Sohn, H. R. 1995.** Control of apple *Valsa* canker by localized spraying with neoasozin solution, an arsenic fungicide. Korean Journal of Plant Resources 11: 9-16.
- Wang, L., Zang, R., Huang, L. L., Xie, F. Q., and Gao, X. N. 2005.** The investigation of apple tree *Valsa* canker in Guanzhong region of Shaanxi province. Journal of Northwest Science and Tech University of Agriculture and Forestry 33: 98-100.