



مقاله پژوهشی

سطوح نسبی مقاومت به بلایت باکتریایی در تعدادی از ارقام و ژنوتیپ‌های انتخابی گردو

رقیه محمدی^۱ - منصوره کشاورزی^{۲*} - نادر حسن زاده^۳ - داراب حسنی^۴ - آفاق فرهادنژاد^۵

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۲/۱۶

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۳/۰۴

چکیده

کاشت ارقام مقاوم یکی از مهم‌ترین راهکارهای کنترل بیماری بلایت باکتریایی گردو با عامل *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis* است. در این تحقیق، سطوح نسبی مقاومت به بلایت باکتریایی در برگ و میوه نارس برخی ارقام تجاری و ژنوتیپ‌های انتخابی گردو در دو سال تکرار بررسی شد. ارقام و ژنوتیپ‌های مورد بررسی شامل KZ3، 88-2، 88-1، G3، SHK2، C25، H2-1، H1-7، H1-1 و رقم Shinova بوده و ارقام تجاری Serr، Hartley و Chandler به‌عنوان شاهد به کار برده شدند. برای ارزیابی مقاومت میوه نارس، علاوه بر مواد فوق، ارقام و ژنوتیپ‌های Vina، Round de montignac (RDM)، Lara، G4، G5، B10، K15، H1-8 و H2-12 نیز گنجانده شدند. از میان مواد گیاهی ارزیابی شده، چهار ژنوتیپ داخلی KZ3، 88-2، 88-1 و G3 در سال ۱۳۹۸ معرفی شدند. مخلوط جدایه‌های باکتری عامل با منشا قزوین، کرج، زنجان و ارومیه در تهیه مایه تلقیح به کار برده شد. ارزیابی مقاومت برگ در شرایط گلخانه و با اسپری نهال‌های پیوندی انجام شد و بررسی مقاومت میوه نارس در شرایط آزمایشگاهی و با مایه‌زنی میوه‌های ۴۵ روزه صورت گرفت. بر اساس نتایج، شدت بلایت برگ و میوه نارس در ارقام و ژنوتیپ‌های مختلف در هر دو سال ارزیابی متفاوت بود. نتایج تجزیه مرکب داده‌ها نشان داد که ژنوتیپ‌های G3 (الوند) و 88-2 (پرشین) حساس‌ترین و رقم Hartley مقاوم‌ترین برگ و ژنوتیپ‌های H1-1 و SHK2 به‌ترتیب حساس‌ترین و مقاوم‌ترین میوه نارس را داشتند. میانگین شدت بلایت برگ و میوه نارس در سال‌های اول و دوم تفاوت معنی‌داری نداشت. بر اساس مقایسه ارقام صورت گرفته در این تحقیق، ارقام داخلی تازه معرفی شده پرشین، کاسپین، الوند و چالدران از نظر مقاومت نسبی برگ به‌ترتیب حساس، نسبتاً مقاوم، حساس و نسبتاً حساس و از نظر مقاومت نسبی میوه نارس به‌ترتیب مقاوم، مقاوم، نسبتاً مقاوم و حساس بودند. ارتباط آماری بین شدت بلایت برگ و میوه نارس دیده نشد.

واژه‌های کلیدی: حساسیت، رقم، گردو، *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis*

مقدمه

و ایران به‌ترتیب با احراز ۶۱۳ هزار هکتار و ۴۱۰ هزار هکتار در مقام‌های دوم و سوم قرار دارند (۴). تولید جهانی گردو در سال ۲۰۱۸، ۴/۵ میلیون تن برآورد شده است و کشورهای چین، ایالات متحده و ایران به‌ترتیب با تولید ۲/۵ میلیون تن، ۵۹۲ هزار تن و ۳۲۱ هزار تن، در مقام‌های اول تا سوم جهانی قرار گرفته‌اند.

بیماری بلایت باکتریایی با عامل *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis* از مهم‌ترین بیماری‌های گردو در سراسر جهان است. تنها میزبان شناخته شده این بیماری جنس جوگلانس است و به کلیه

گردو، متعلق به خانواده Juglandaceae و جنس *Juglans* یکی از مهم‌ترین محصولات خشکباری در سراسر جهان است. این گیاه در ایران در ۲۶ استان کشت می‌شود و بیش‌ترین سطح زیر کشت آن متعلق به استان‌های کرمان، کرمانشاه، همدان، چهارمحال بختیاری، سیستان و بلوچستان و خوزستان بوده و به‌صورت خودرو در جنگل‌های شمال و غرب کشور نیز یافت می‌شود. از نظر سطح جهانی زیر کشت گردو، چین با دارا بودن ۳۹۰ هزار هکتار در مقام اول و ایالات متحده

*- نویسنده مسئول: (Email: kmansureh@gmail.com)
۵- کارشناس دفتر امور فناوری، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران

۱ و ۳- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و استاد، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی و صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران
۲ و ۴- دانشیاران، پژوهشکده میوه‌های معتدله و سردسیری، موسسه تحقیقات باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج

تراوشات هیداتودها و تریکوم‌های غده‌ای، محتوای پلی‌فنلی و انواع خاصی از فنل‌ها نیز در مقاومت نقش دارند. ارقام دیربرگه مقاومت بیشتری دارند. این نوع مقاومت ضرورتاً منشأ ژنتیک ندارد و بیشتر به دلیل فرار از اوج فعالیت‌های باکتریایی در ابتدای بهار است، به‌عنوان مثال، رقم Meylannaise دیربرگه اما بسیار حساس است (۴۶).

کنترل بیماری بلایت باکتریایی گردو مبتنی بر عملیات تلفیقی شامل سم‌پاشی، اقدامات زراعی-په‌داستی و کاشت ارقام مقاوم است. نتایج تحقیقات صورت گرفته به‌خصوص در کشورهای اروپایی نشان دهنده وجود تفاوت در سطوح مقاومت به این بیماری در بین گونه‌های مختلف جنس جوگلانس و ارقام مختلف گردوی خوراکی (ایرانی، *J. regia*) است (۲، ۷ و ۸). بررسی‌ها نشان می‌دهند که مقاومت نسبی ارقام گردوی فرانسه، ایتالیا، یونان، ایالات متحده، ژاپن، اروگوئه و چین متفاوت است و ارقام در گروه‌های مختلف مقاومتی رده‌بندی می‌شوند (۴۳، ۲۳ و ۲۲). این مطالعات در طول زمان ادامه داشته و آخرین ارزیابی‌ها اخیراً در رومانی و قزاقستان انجام شده است (۱ و ۱۳). بر اساس نتایج غربالگری چندین ساله بر روی ژرم پلاسما محلی گردوی قدیمی در استوریای (Austria) اسپانیا که شرایط آن برای ظهور بلایت بسیار مساعد است، ۲۵ رقم در دراز مدت همواره عاری از علائم بیماری مانده بودند و لذا احتمالاً مقاوم بودند (۱۹). در ایران، اولین ارزیابی مقاومت گردو به بیماری بلایت باکتریایی بر روی برگ ژنوتیپ‌های بومی همدان انجام شد (۴۱). سپس سیل‌سپور و همکاران (۳۸ و ۳۹) مقاومت برگ، میوه نارس، میوه بالغ و شاخه برخی ژنوتیپ‌های برتر ایرانی و ارقام تجاری فرانسوی و آمریکایی را بررسی و تنوع قابل ملاحظه‌ای مشاهده کردند. موسوی و همکاران (۲۹) نیز با بررسی مقاومت میوه نارس ژنوتیپ‌های بومی شاهرود، چندین ژنوتیپ مقاوم و ژنوتیپ‌های به‌شدت حساس را شناسایی کردند. اسکندری و همکاران نیز مقاومت چهار رقم گردو و پکان را در شرایط گلخانه‌ای بررسی و پکان را حساس‌ترین ارزیابی کردند (۹). در ادامه مطالعات فوق، با توجه به لزوم تهیه شناسنامه از لحاظ خصوصیات باغی و مقاومتی ارقام در دست معرفی، سطوح مقاومت به بلایت باکتریایی در برگ و میوه نارس مجموعه‌ای از ژنوتیپ‌های امیدبخش داخلی در شرایط آزمایشگاه و گلخانه بررسی شد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

ارزیابی مقاومت نسبی به بلایت باکتریایی در اندام‌های برگ و میوه نارس در دو سال تکرار (۱۳۹۴ و ۱۳۹۵) انجام شد. مقاومت نسبی برگ در نه ژنوتیپ امیدبخش داخلی KZ3، 88-2، 88-1، G3، SHK2، C25، H1-1، H2-1، H1-7 و رقم Shinova بررسی شد. مقاومت نسبی میوه نارس در ژنوتیپ‌های فوق به علاوه

گونه‌های این جنس شامل گردوی ایرانی (*J. regia*)، گردوی سیاه (*J. nigra*)، گردوی آمریکایی (*J. californica*)، گردوی ژاپنی (*J. ailantifolia*)، گردوی سیاه کالیفرنیا (*J. hindsii*) و گردوی روغنی (*J. cinerea*) حمله می‌کند (۳۶). در ایران، اولین گزارش بیماری بلایت باکتریایی گردو مربوط به سال ۱۳۲۶ توسط اسفندیاری از مناطق آمل، بابل و رشت است. در سال ۱۳۵۶، باکتری عامل آن از باغات قزوین جداسازی و شناسایی شد (۳). پس از آن شیوع بیماری بلایت باکتریایی گردو در استان‌های همدان، تهران، مرکزی، آذربایجان شرقی، اردبیل، گیلان، مازندران، گلستان، لرستان، زنجان و ایلام گزارش شد (۵، ۳۰، ۱۴، ۲۷ و ۲۱) و در استان‌های آذربایجان غربی، کرمانشاه و کردستان نیز شایع است (۱۷). از منظر خسارت اقتصادی، محققین معتقدند که میزان خسارت بیماری بلایت باکتریایی بیش از مجموع خسارات سایر بیماری‌های گردو است (۲۹). این بیماری خسارت‌زاترین بیماری گردو در ایالات متحده است که قادر است ۱۰۰ درصد محصول را نابود کند (۳۶) خسارت میوه در نیوزیلند تا ۶۰ درصد است و گاهی حتی یک میوه سالم باقی نمی‌گذارد (۲۲). کلیه بافت‌های سبز و تازه اعم از شاخه، برگ و میوه به این بیماری حساس هستند. در برگ، لکه‌های آسوخته قهوه‌ای-سیاه محاط با هاله زردرنگ، بدشکلی و ریزش ایجاد می‌شود. شدت خسارت به گل ماده و میوه، به زمان آلودگی بستگی دارد، آلودگی زودهنگام در ابتدای بهار، موجب ریزش گل ماده و میوه نارس و آلودگی‌های دیرتر، موجب ایجاد لکه‌های سیاه در پوست سبز میوه و چروکیدگی، سیاهی، پوکی، لزجی و غیر قابل مصرف شدن مغز می‌شود. این بیماری در شاخه‌های سبز یک‌ساله زخم‌های نکروزه سیاه ایجاد می‌کند اما چوب سال قبل مقاوم است. مقاومت گردو به بیماری بلایت به عوامل متعددی از جمله عوامل ژنتیکی، محیطی (مانند باد، شدت اشعه ماورا بنفش، شدت نور، دما، رطوبت و عملیات زراعی) و باکتریایی (مکانیسم‌های تهاجمی و درجه سازگاری به زندگی اپی‌فیتی/اندوفیتی) مرتبط است. از جمله عوامل ژنتیکی دخیل در مقاومت می‌توان به خصوصیات آناتومیکی و فیزیولوژیکی برگ و شاخه مانند آناتومی برگ، فراوانی و تراوشات منافذ سطحی و محتوای پلی‌فنلی بافت سبز اشاره نمود (۲۴، ۱۰ و ۴۹). منافذ سطحی گیاه (استوماتا، هیداتود، تریکوم‌های غده‌ای، نکتریا، عدسک‌های ریشه و تنه) و اسکارهای برگ، مجاری نفوذی این باکتری در مرحله تبدیل فاز اپی‌فیتی به اندوفیتی (و شروع بیماری) هستند (۲۲). در برخی باکتری‌های بیماریز، سلول‌های محافظ استوماتا باکتری را تشخیص داده و بسته می‌شوند. در مقابل، باکتری نیز موادی ترشح می‌کند تا مانع بسته شدن استوماتا و یا موجب باز شدن آن شود. مثلاً باکتری *Pseudomonas syringae* با ترشح سم coronatine، استوماتا را باز کرده و نفوذ می‌کند (۳۵). لذا احتمال دارد مشابه این سم توسط *X. a. juglandis* نیز تولید می‌شود که نیازمند بررسی است. همچنین نوع و میزان

کولیس دیجیتال اندازه‌گیری و شدت بلایت بر اساس میانگین مساحت لکه‌های ایجاد شده در برگچه‌های سه برگ علامت زده شده، تعریف شد. مساحت‌گیری بر مبنای طول و عرض در لکه‌های چهارگوش و میانگین بزرگ‌ترین و کوچک‌ترین قطر در لکه‌های گردابی شکل انجام شد. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با توزیع نامتقارن در سه الی پنج تکرار (نهال) انجام شد. ارزیابی مقاومت میوه نارس ۴۵ روزه در شرایط آزمایشگاهی انجام شد. بدین منظور، به سه نقطه از هر میوه، ۰/۵ میلی‌لیتر مایه تلقیح به زیر پوست تزریق شد. سپس میوه‌ها درون ظروف شفاف چیده شده و رطوبت مورد نیاز با اسپری روزانه آب بر سطح داخلی درب ظروف تامین شد. پس از دو هفته نگهداری در شرایط آزمایشگاه، قطر نکروز توسط کولیس دیجیتال اندازه‌گیری و بر آن اساس شدت بلایت میوه نارس تعریف شد. آزمایش بر اساس طرح کاملاً تصادفی با توزیع نامتقارن در ۱۵ تکرار (میوه نارس) انجام شد. تجزیه و تحلیل آماری و مقایسه میانگین داده‌ها به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن و با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.1 انجام شد.

نتایج و بحث

علائم بیماری در گیاهان مایه‌زنی شده

مشاهدات دو ساله بر روی علائم بلایت نشان داد که طی هفته اول پس از مایه‌زنی، لکه‌های زاویه‌ای محاط با هاله زردرنگ در برگ ایجاد شده و به تدریج بدشکلی‌هایی در برگ مشاهده گردید (شکل ۱). در میوه نارس نیز لکه‌های سیاه فرورفته در پوست سبز میوه که گاهاً تا مغز میوه گسترش یافته بود، ایجاد شد. چنین علائمی در نمونه‌های شاهد که با آب مقطر استریل مایه‌زنی شده بودند، مشاهده نشد (شکل ۲).

سطوح نسبی مقاومت برگ

مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که در هر دو سال ارزیابی، شدت بلایت برگ در ارقام و ژنوتیپ‌های مختلف متفاوت بود (جدول ۱). در سال اول، 88-2 حساس‌ترین و H1-1 مقاوم‌ترین و در سال دوم، 88-2 و G3 حساس‌ترین و Hartley مقاوم‌ترین بودند (جدول ۲). بر اساس نتایج تجزیه مرکب داده‌های دو ساله، ژنوتیپ‌های G3 و 88-2 حساس‌ترین و رقم Hartley مقاوم‌ترین برگ را داشتند (جدول ۳). میانگین شدت بلایت برگ در سال‌های اول و دوم به ترتیب معادل ۱۱۰/۶۸ میلی‌متر مربع و ۹۶/۰۹ میلی‌متر مربع بود و تفاوت معنی‌داری نداشت. تنوع در سطوح مقاومت برگ ارقام گردو به بلایت باکتریایی توسط تحقیقات متعددی تأیید شده است (۳۶، ۳۷، ۲۹، ۷، ۴۶، ۴۵، ۴۱ و ۱).

B10، G5، G4، Lara، Round de montignac (RDM)، Vina، K15، H1-8 و H2-12 بررسی شد. از میان ژنوتیپ‌های امیدبخش داخلی، چهار ژنوتیپ KZ3، 88-2، 88-1 و G3 تحت نام‌های به ترتیب چالدران، پرشین، کاسپین و الوند در سال ۱۳۹۸ معرفی شدند. ارقام Serr، Chandler و Hartley به عنوان شاهد به کار برده شدند، رقم Serr از نظر برگ حساس و از نظر میوه حد وسط است و ارقام Hartley و Chandler از نظر برگ مقاوم و میوه حساس تا حد وسط هستند (۳۹). مواد گیاهی در سال ۱۳۹۳ در نهالستان پژوهشکده میوه‌های معتدله و سردسیری کرج روی پایه بذری (گردوی ایرانی) پیوند شدند و در خرداد ماه سال‌های ۱۳۹۴ و ۱۳۹۵، برای سنجش مقاومت برگ، در شرایط گلخانه مایه‌زنی شدند. میوه‌های نارس ۴۵ روزه از درختان مادری در کلکسیون ارقام گردو واقع در ایستگاه تحقیقات باغبانی پژوهشکده میوه‌های معتدله و سردسیری در کرج برداشت شد.

تهیه مایه تلقیح

برای تهیه مایه تلقیح از چهار جدایه بومی باکتری *X. a. pv. juglandis* با منشأ کرج، قزوین، ارومیه و زنجان استفاده شد (۳۸). این جدایه‌ها در محیط مایع غذایی (Nutrient broth) حاوی ۳۰ درصد گلیسرول در ۸۰- درجه سلسیوس در آزمایشگاه بیماری‌شناسی پژوهشکده میوه‌های معتدله و سردسیری کرج نگهداری می‌شوند. برای تهیه مایه تلقیح، ابتدا سوسپانسیون آبی از کشت سه روزه جدایه‌ها روی محیط آگار غذایی (Nuterient agar) تهیه و میزان جذب نوری هر یک در طول موج ۶۰۰ نانومتر، بر روی یک (معادل ۱۰^۸ واحد سازنده سلول در میلی‌لیتر) تنظیم شد. سپس حجم مساوی از سوسپانسیون‌ها با هم مخلوط و به عنوان مایه تلقیح به کار برده شد.

ارزیابی مقاومت برگ و میوه نارس

سطوح نسبی مقاومت برگ و میوه نارس در دو سال تکرار (۱۳۹۴ و ۱۳۹۵) بر اساس روش سیلسپور و همکاران (۳۸) ارزیابی شد. در کلیه آزمایشات، آب مقطر سترون به جای مایه تلقیح به عنوان شاهد منفی به کار برده شد. ارزیابی مقاومت برگ در بهار و در شرایط گلخانه با دمای ۲۸ درجه سلسیوس و رطوبت نزدیک به اشباع، بر روی نهال‌های پیوندی یک ساله (۱۳۹۴) و دو ساله (۱۳۹۵) انجام شد. بدین منظور، ابتدا در هر نهال، سه عدد از جوان‌ترین برگ‌ها (هر یک حاوی تعدادی برگچه) علامت‌گذاری شدند. نهال‌ها به مدت دو روز زیر پوشش پلاستیکی قرار داده شده و رطوبت در حد اشباع با آب‌پاشی بستر تامین شد. سپس به طور کامل با مایه تلقیح اسپری شده و سه روز در زیر پوشش پلاستیکی ایفا شدند و پس از آن، در فضای گلخانه نگهداری و رطوبت مورد نیاز با دوبار آب‌پاشی روزانه بستر تامین گردید. ۲۱ روز پس از مایه‌زنی، مساحت لکه‌ها در برگچه‌ها توسط



شکل ۱- نشانه‌های بلایت باکتریایی در برگ‌های مایه‌زنی شده گردو: لکه برگی محاط با هاله زردرنگ (راست)، بدشکلی برگ (وسط) و واژگونی برگ (چپ) طی ۲۱ روز پس از مایه‌زنی

Figure 1- Bacterial blight signs in inoculated walnut leaves: leaf spots surrounded with yellow halo (right), leaf malformation (middle) and leaf collapse (left), during 21 days after inoculation



شکل ۲- نشانه‌های بلایت باکتریایی در میوه‌های نارس در مقایسه با شاهد منفی (ردیف دوم، چپ) دو هفته پس از مایه‌زنی

Figure 2- Bacterial blight signs in unripe fruits in comparison with negative control fruit (second row, left) two weeks after inoculation

وجود، گاهی تفاوت‌هایی نیز دیده می‌شود چنانچه برگ رقم Hartley در اسلونی نسبتاً حساس برآورد شد (۴۰).
با توجه به تعدد عوامل موثر بر شدت بلایت باکتریایی، تشخیص مقاومت ژنتیک ارقام گردو فرایندی پیچیده خواهد بود. بررسی تاریخچه ارزیابی‌های مقاومت گردو نیز مبین وجود این پیچیدگی

تیز و همکاران (۴۵) ارقام محلی رومانی را مقاوم و زانی و همکاران (۴۲) ارقام محلی مجارستان را حساس تا متوسط ارزیابی کردند و برخی (۴۸ و ۱۱) هیچ رقمی را مقاوم نیافتند. مقاومت برگ در رقم شاهد Serr به‌طور نسبی پائین و در Chandler و Hartley بالا بود که مشابه برخی دیگر گزارشات است (۷، ۸، ۴۴ و ۳۸)، با این

هیچیک به مایه‌زنی مصنوعی در گلخانه مقاومت کامل نشان ندادند (۱۹). مترویک و همکاران (۲۶) معتقدند که مطمئن‌ترین روش برای شناسایی ارقام مقاوم، غربالگری باغات قدیمی گردوی واقع در مناطق مستعد بلایت (دارای شرایط اب و هوایی گرم، مرطوب و پربارش در مرحله شکوفه مانند شرایط استریای اسپانیا) می‌باشد.

سطوح نسبی مقاومت میوه نارس

در میوه نارس، میانگین قطر نکرور در ارقام و ژنوتیپ‌های مختلف در هر دو سال ارزیابی متفاوت بود (جدول ۴). در سال اول، ژنوتیپ H2-12 حساس‌ترین و VINA، SHK2، Chandler، H1-7، 88-1، Hartley و RDM مقاوم‌ترین بودند. در سال دوم، ژنوتیپ‌های H1-1 و K15 به ترتیب حساس‌ترین و مقاوم‌ترین بودند (جدول ۵).

است. این ارزیابی‌ها که ابتدا تنها بر پایه آلودگی طبیعی در شرایط باغی بودند، به تدریج به سمت شرایط کنترل شده سوق پیدا کردند تا بتوانند تاثیر عواملی به جز ژنتیک، در بروز مقاومت را بکهند و لذا امروزه ترکیبی از شرایط مختلف برای ارزیابی مقاومت به کار برده می‌شود (۴۳، ۱۲، ۳۴ و ۴۷). به‌عنوان مثال، گزارش شده که مایه‌زنی مصنوعی برگ و نهال با غربالگری طبیعی باغی توام شود (۳۴). ژانگ و همکاران (۱۶)، ۱۸ رقم گردوی چین را با سه روش مایه‌زنی مصنوعی با اسپری نهال، مایه‌زنی برگ بریده و غربالگری باغی مقایسه کرده و نتایج هر سه روش بیانگر مقاومت بالای ۵ رقم بود. بر اساس یافته‌های محققین فوق، روش‌های مایه‌زنی مصنوعی برای اطمینان از نتایج غربالگری‌های مورد نیاز هستند. در استریای اسپانیا، از ۲۵ رقم که سال‌ها در شرایط طبیعی باغ بی‌نشانه بودند،

جدول ۱- آنالیز واریانس شدت بلایت برگ در سال‌های اول و دوم ارزیابی

Table 1- Analysis of variance of leaf blight severity in the first and second years of evaluation

| منابع تغییرات Source of variance | درجه آزادی D.f. | | میانگین مربعات Mean squares | |
|-------------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| | سال اول (۱۳۹۴) Year 1 (2015) | سال دوم (۱۳۹۵) Year 2 (2016) | سال اول (۱۳۹۴) Year 1 (2015) | سال دوم (۱۳۹۵) Year 2 (2016) |
| | Cul/genotype رقم/ژنوتیپ | 10 | 8 | 95570.18** |
| Error خطا | 37 | 17 | 196.00 | 121.91 |
| Total کل | 47 | 25 | | |
| % CV | | | 28.14 | 22.31 |

*وجود تفاوت معنی‌دار ($P \leq 0.05$)، **وجود تفاوت معنی‌دار ($P \leq 0.01$)

*Significant difference ($P \leq 0.05$), **Significant difference ($P \leq 0.01$)

جدول ۲- میانگین شدت بلایت برگ در برگچه‌های ارقام و ژنوتیپ‌های گردو در سال‌های اول و دوم و میانگین دو ساله

Table 2- Mean leaf blight severity in leaflets of different walnut cultivars and genotypes in the first and second years and the combined analysis

| رقم/ژنوتیپ Cul/genotype | میانگین شدت بلایت برگ Mean leaf blight severity (mm ²) | | |
|----------------------------|---|---------------------------------|---------------------------|
| | سال اول (۱۳۹۴) Year 1 (2015) | سال دوم (۱۳۹۵) Year 2 (2016) | میانگین دوساله Average |
| | 88-2 (Persian) | 203.87a | 136.00a |
| Serr | 137.47b | 45.00cd | 91.23bc |
| G3 (Alvand) | 124.67b | 136.00a | 130.33a |
| KZ3 (Chaldoran) | 124.20b | 112.5bc | 105.06b |
| H1-7 | 122.80b | - | - |
| 88-1 (Caspian) | 95.13bc | 89.50c | 103.77b |
| H2-1 | 66.78cd | - | - |
| C25 | 56.17cd | 124a | 90.08bc |
| Chandler | 49.87d | - | - |
| Hartley | 34.63de | 21.67e | 27.40d |
| H1-1 | 30.89e | - | - |
| SHK2 | - | 126ab | - |
| Shinova | - | 36.33de | - |

اعدادی با حروف متفاوت اختلاف معنی‌دار دارند ($P \leq 0.05$).

Means with different letters are significantly different ($P \leq 0.01$).

جدول ۳- تجزیه مرکب شدت بلایت برگ در برگچه‌های گردو

Table 3- Combined analysis of leaf blight severity in awlnut leaflets

| منابع تغییرات | میانگین مربعات | درجه آزادی |
|-------------------------|------------------------|------------|
| Source of variance | Mean squares | D.f. |
| سال Year | 102.36 ^{ns} | 1 |
| خطای سال Year*rep | 73543.76 ^{ns} | 7 |
| رقم/ژنوتیپ Cul/genotype | 5558.30* | 6 |
| رقم در سال Cul*year | 10340.79 ^{ns} | 6 |
| خطا Error | 1902.68 | 30 |
| کل Total | | 50 |
| %CV | | 27.78 |

*وجود تفاوت معنی‌دار ($P \leq 0.05$)، ^{ns} عدم وجود تفاوت معنی‌دار*Significant difference ($P \leq 0.05$), ^{ns}: no significant difference

بهارهای مرطوب، پرباران و گرم بوده و اولویت اصلی در انتخاب ارقام مقاوم در شرایط آب و هوایی اروپا و ایالات متحده است (۱۸ و ۲۵). مقاومت میوه نارس نیز از اهمیت بالایی برخوردار است و خسارت اصلی ناشی از بلایت میوه است که عمدتاً در زمان ناری میوه ایجاد می‌شود. رادیکس و همکاران (۳۳) با بررسی آلودگی طبیعی باغات گردوی فرانسه مشاهده کردند که شدت خسارت عمدتاً با مرتبط درصد میوه‌های آلوده نارس است. آنها در میوه نارس، ارتباطی بین جمعیت باکتری عامل و شدت نکروز مشاهده نکردند چون باکتری سرباً خود را به بالاترین سطح جمعیتی رسانده و موجب نکروز و ریزش میوه نارس می‌شود. در شرایط خشک‌تر مانند ایران که دوره‌های بارندگی و رطوبت بهاره پائین است، آلودگی برگ اهمیت اقتصادی کم‌تری دارد و خسارت اصلی ناشی از بلایت میوه است و لذا سطوح مقاومت میوه نارس از اولویت برخوردار است.

ژنوتیپ‌های امیدبخش بررسی شده در این تحقیق از مناطق مختلف کشور جمع‌آوری شده بودند که برای وارد شدن به فرایند معرفی، باید مورد ارزیابی‌های متعدد از جمله مقاومت به بیماری‌های بلایت باکتریایی، آنتراکنوز و شانکر پوستی سطحی قرار می‌گرفتند. از این میان، چهار ژنوتیپ KZ3، 88-2، 88-1 و G3 تحت نام‌های به‌ترتیب چالدران، پرشین، کاسپین و الوند در سال ۱۳۹۸ معرفی شدند. الوند رقمی پاکوتاه، پر بار با عادت باردهی جانبی و زودرس، پرشیا و کاسپین دیربرگ با عادت باردهی جانبی و کیفیت بالای مغز و چالدران پربار با عادت باردهی جانبی و زودرس است. از نظر مقاومت به بلایت، نتایج این تحقیق نشان داد که ارقام پرشین، کاسپین، الوند و چالدران از نظر مقاومت نسبی برگ به‌ترتیب حساس، نسبتاً مقاوم، حساس و نسبتاً حساس و از نظر میوه نارس به‌ترتیب مقاوم، مقاوم، نسبتاً مقاوم و حساس بودند. این رده‌بندی نتیجه مایه‌زنی مصنوعی در شرایط گلخانه‌ای و آزمایشگاهی است و نتیجه‌گیری قطعی منوط به مشاهدات تکمیلی با غربالگری شدت آلودگی طبیعی در شرایط مساعد باغی خواهد بود.

بر اساس نتایج تجزیه مرکب داده‌های دو ساله، ژنوتیپ‌های H1-1 و SHK2 به‌ترتیب حساس‌ترین و مقاوم‌ترین بودند (جدول ۴). میانگین شدت بلایت میوه نارس در سال‌های اول و دوم به‌ترتیب ۴/۶۹ میلی‌متر و ۳/۹۷ میلی‌متر بوده و اختلاف معنی‌داری نداشت. تفاوت در سطوح مقاومت میوه نارس ارقام و ژنوتیپ‌های مختلف در برخی منابع خارجی (۸، ۴۶، ۳۹، ۴۵، ۱ و ۳۰) و داخلی (۲۶ و ۳۷) نیز آمده است. باندی و همکاران (۶) مقاومت میوه نارس ۲۱ ژنوتیپ برتر رومانی و مجارستان را بررسی کرده و هیچیک را کاملاً مقاوم نیافتند در حالی که ۴۸ رقم و هیبرید یونان و ۱۵ رقم محلی ترکیه در گروه‌های مختلف مقاومتی رده‌بندی شدند (۴۶ و ۳۲). بین ارقام و ژنوتیپ‌های بررسی شده، مقاومت میوه نارس ارقام شاهد Chandler و Hartley حدوسط ارزیابی شد. میوه نارس رقم Chandler توسط سیلسپور و همکاران (۳۸ و ۳۹) و سایرین (۲) حساس گزارش شده است. میوه نارس رقم Hartley توسط لوورا و همکاران (۲۰)، Hartley را حساس تشخیص داده شد، هر چند ۹۰ درصد میوه‌های آلوده در نهایت مغز سالمی داشتند. در بررسی مقاومت میوه نارس در یونان، ۴۸ رقم و هیبرید در چهار گروه از مقاوم تا بسیار حساس رده‌بندی شدند، رقم Hartley مقاوم، ارقام Chandler، Vina، Payne و Ferner نیمه مقاوم و Serr نیمه حساس بود (۴۶). مقاومت میوه نارس رقم Serr در این آزمایش و گزارش سیلسپور و همکاران (۳۸) حدوسط بوده است.

همبستگی صفات

بررسی همبستگی صفات نشان داد که بین شدت بلایت برگ و میوه نارس همبستگی معکوس ضعیفی وجود داشت ($R^2 = -0.46$ ، $P = 0.076$). وجود ارتباط معکوس مشابهی قبلاً نیز توسط سیلسپور و همکاران (۳۸) گزارش شده و نشان می‌دهد که نمی‌توان بر اساس میزان مقاومت برگ، مقاومت میوه نارس را پیش‌بینی کرد و برعکس. مقاومت برگ یکی از شاخص‌های مهم در به‌گزینی رقم به‌خصوص در

جدول ۴- آنالیز واریانس شدت بلایت میوه نارس در سال‌های اول و دوم ارزیابی

Table 4- Analysis of variance of blight severity in unripe fruit in the first and second years of evaluation

| منابع تغییرات Source of variance | درجه آزادی D.f. | | میانگین مربعات Mean squares | |
|-------------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| | سال اول (۱۳۹۴) Year 1 (2015) | سال دوم (۱۳۹۵) Year 2 (2016) | سال اول (۱۳۹۴) Year 1 (2015) | سال دوم (۱۳۹۵) Year 2 (2016) |
| | Cul/genotype رقم/ژنوتیپ | 15 | 18 | 12.08** |
| Error خطا | 66 | 416 | 1.29 | 2.81 |
| Total کل | 81 | 434 | | |
| %CV | | | 29.85 | 22.76 |

**وجود تفاوت معنی‌دار ($P \leq 0.01$), ($P \leq 0.01$)

جدول ۵- میانگین شدت بلایت در میوه نارس ارقام و ژنوتیپ‌های گردو در سال‌های اول، دوم و تجزیه مرکب

Table 5- Mean blight severity in unripe fruits of walnut cultivars and genotypes in the first and second years of evaluation and combined analysis

| ژنوتیپ Genotype | شدت بلایت Blight severity (mm) | | |
|--------------------|-----------------------------------|---------------------------------|----------------------------|
| | سال اول (۱۳۹۴) Year 1 (2015) | سال دوم (۱۳۹۵) Year 2 (2016) | میانگین دو ساله Average |
| | H2-12 | 10.03a | - |
| H1-1 | 8.49ab | 7.29a | 7.99a |
| G3 (Alvand) | 6.14b | 7.14a | 6.67ab |
| B10 | 6.12b | 5.98ab | 6.18ab |
| KZ3 (Chaldoran) | 5.78bc | 4.07cdef | 4.34c |
| K15 | 5.49bc | 2.04f | 2.83d |
| C25 | 5.23cd | 4.25cd | 4.97c |
| 88-2 (Persian) | 3.68de | 2.85ef | 2.87d |
| Lara | 3.36e | 2.58ef | 3.31cd |
| RDM | 3.28e | 2.44ef | 2.69c |
| Hartley | 3.16e | 4.12cde | 3.65c |
| 88-1 (Caspian) | 3.14e | 2.55ef | 2.68d |
| H1-7 | 3.07e | - | - |
| Chandler | 3.06e | 3.57def | 3.46c |
| SHK2 | 2.63e | 2.56ef | 2.36d |
| Vina | 2.52e | - | - |
| Serr | - | 4.76bc | - |
| H1-8 | - | 4.17cde | - |
| H2-1 | - | 3.15def | - |

اعدادی با حرف متفاوت اختلاف معنی‌دار دارند ($P \leq 0.01$)

Data with different letters are significantly different ($P \leq 0.01$)

جدول ۶- تجزیه مرکب شدت بلایت میوه نارس

Table 6- Combined analysis of blight severity in unripe fruit

| منابع تغییرات Source of variance | درجه آزادی D.f. | میانگین مربعات Mean squares |
|-------------------------------------|--------------------|--------------------------------|
| سال Year | 1 | 1.47 ^{ns} |
| خطای سال Year*rep | 42 | 3.15 ^{ns} |
| رقم/ژنوتیپ Cul/genotype | 12 | 79.82* |
| رقم در سال Cul*year | 11 | 14.31* |
| خطا Error | 361 | 2.34 |
| کل Total | 427 | |
| %CV | 30.86 | |

*وجود تفاوت معنی‌دار ($P \leq 0.05$), ^{ns}عدم وجود تفاوت معنی‌دار

*Significant difference ($P \leq 0.05$), ^{ns}no significant difference

- 1- Akça Y., Yuldaşulu Y.B., Murad E., and Vahdati K. 2020. Exploring of Walnut Genetic Resources in Kazakhstan and Evaluation of Promising Selections. *International Journal of Horticultural Science and Technology* 7: 93-102.
- 2- Aleta N., Ninot A., Moragrega C., Liorente I., and Montesinos E. 2001. Blight sensitivity of Spanish selections of *Juglans regia*. *Acta Horticulturae* 544: 353-362.
- 3- Amani B. 1987. Walnut rot. *Iranian Journal of Plant Pathology* 13: 14-23. (In Persian with English abstract).
- 4- Anonymous. 2018. *FAO Statistics, FAOSTAT*.
- 5- Ashrafi G., Keshavarzi M., and Hasanzadeh N. 2010. Identification of agent and distribution of walnut bacterial blight in Ilam province. *Proceedings of the 19th Iranian Plant Protection Congress, Tehran*, p. 404. (In Persian with English abstract)
- 6- Bandi A., Heves M., Szani Z., and Toth M. 2010. Assessment of bacterial blight tolerance of Persian walnut based on immature fruit test. Available in: www.notulaeobiologicae.ro
- 7- Belisario A., Are M., Palangio C.S., and Zonia A. 1997. Walnut blight in the genus *Juglans*. *Acta Horticulturae* 442: 357-359.
- 8- Belisario A., Zoina A., Pezza L., and Luongo L. 1999. Susceptibility of species of *Juglans* to pathovars of *Xanthomonas campestris*. *European Journal of Plant Pathology* 29: 75-80.
- 9- Eskandari S., Khakvar R., and Torchi M. 2018. Detection of bacterial blight of walnut in northwest of Iran and investigation of its pathogenicity on different native walnut cultivars. *Biochemistry and Cell Archives* 18: 1785-1788.
- 10- Frutos D., Ruiz L., and López G. 2010. Finding sources of Persian walnut (*Juglans regia*) resistant to *X. arboricola* pv. *juglandis*. Available in: [http://www.cost873.ch/_uploads/_files/DFrutos_Walnut Germplasm Resources.pdf](http://www.cost873.ch/_uploads/_files/DFrutos_Walnut_Germplasm_Resources.pdf).
- 11- Germain E. 1997. Genetic improvement of the Persian walnut (*Juglans regia* L.). *Acta Horticulturae* 442: 21-31.
- 12- Gibson M.P. 1967. The mandarin walnut. *Annual Report of North Nut Growers Association* 58: 105-109.
- 13- Giura S., Valeriu G.M., and Mitrea R. 2016. Reaction of walnut native genotypes to key attack of *Xanthomonas campestris* pv. *juglandis* under climatic condition of Valcea area. *Annals of the University of Craiova-Agriculture, Montanology, Cadastre Series: XLVI*: 131.
- 14- Golmohammadi M., Alizade A., and Rahimian H. 2002. Homogeneity of walnut blight isolates from central and north provinces of Iran. *Iranian Journal of Plant Pathology* 38: 11-20. (In Persian with English abstract)
- 15- Jiang S., Han S., Cao G., Zhang F., and Wan X. 2019b. Evaluating walnut for resistance to walnut blight and comparisons between artificial assays and field studies. *Australian Plant Pathology* 48: 221-231.
- 16- Jiang S., Han S., He D., Cao G., Xiao K., Yi J., and Wan X. 2019a. The accumulation of phenolic compounds and increased activities of related enzymes contribute to early defence against walnut blight. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 108: 101433.
- 17- Keshavarzi M. 2008. Fungal and bacterial diseases of walnut trees in Tehran, Zanjan, Kordesta, West Azarbijan and Damghan provinces. *Proceedings of the First National Walnut Symposium, Hamedan*, p. 49. (In Persian with English abstract)
- 18- Lang MD., Hills JL., and Evans KE. 2006. Preliminary studies toward managing walnut blight in Tasmania. *Acta Horticulturae* 705: 451-456.
- 19- López MM., Frutos D., Moragrega C., Arrieta A., Cambronero D., Carrillo A., López G., Lacasa C., and Frutos C. 2007. Evaluation of selections of native walnuts from Asturias for susceptibility to *X. a.* pv. *juglandis* in controlled environment. Available in: http://www.cost873.ch/_uploads/_files/m_lopezXaj_Murcia.pdf
- 20- Lovera M., Arquero O., Serrano N., and Trapero A. 2008. Walnut blight (*Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis*): Factors that influence the disease. Available in: http://www.cost873.ch/_uploads/_files/m_Athens_Abstracts_FinalBook.pdf
- 21- Mahsul F., Rahimian H., Magidee E., and Gafaree H. 1989. Investigation on walnut bacterial blight in Mazandaran province. *Proceedings of 9th Iranian Plant Protection Congress, Karaj*, p. 148. (In Persian with English abstract)
- 22- Marias P., Donatella C., and Cennaro C. 1997. Susceptibility of walnut varieties to *Gnomonia leptostyla* and *Xanthomonas campestris* pv. *juglandis*. *Acta Horticulturae* 442: 379-382.
- 23- McNeil D.L., Romero S., Kandula J., Stark C., Stewart A., and Larsen S. 2001. Bacteriophages, a potential biocontrol agent against walnut blight. *New Zealand Plant Protection* 54: 220-224.
- 24- Melotto M., Underwood W., and He S.Y. 2008. Role of stomata in plant innate immunity and foliar bacterial diseases. *Annual Review of Phytopathology* 46: 101-122.
- 25- Miller P.W., and Bollen W.B. 1946. *Walnut Bacteriosis and Its Control*. US Department of Agriculture and Plant Industry, Soils and Agricultural Engineering, Oregon.
- 26- Mitrovic M., Miletic R., Lukic M., Rakicevic M., and Blagojevic M. 2009. Pomological /phenological properties of walnut selections. *Acta Horticulturae* 825: 187-190.
- 27- Mohammadipur M. 2004. Walnut bacterial blight in East-Azarbijan province. *Proceedings of the 16th Iranian Plant Protection Congress, Tabriz*, p. 386. (In Persian with English abstract)

- 28- Murlean E.N., and Chorth M.N. 1977. Understanding the disease cycle of walnut blight. *Diamond Walnut News*, Oct, Pp. 12-14.
- 29- Musavi F., Keshavarzi M., Haghjouyan R., and Sobhani A. 2015. Repeatability of laboratory and inoculation on accessing susceptibility of walnut unripe fruits to bacterial blight and relationship between resistance and total phenols. *Seed and Plant Improvement Journal* 31: 581-594. (In Persian with English abstract)
- 30- Najafi S.H., Aminian H., Marefat A., Etebarian H.R., and Gafaree H. 2008. A survey on bacterial and fungal diseases in Zanjan province. *Proceedings of 18th Iranian Plant Protection Congress*, Hamedan, p. 41. (In Persian with English abstract)
- 31- Ninot A., Aleta N., Moragrega C., and Montesinos E. 2002. Evaluation of a reduced copper spraying program to control bacterial blight of walnut. *Plant Disease* 86: 583-587.
- 32- Özaktan H., Erdal M., Akkopru A., Aslan E. 2008. Evaluation of susceptibility of some walnut cultivars to *X. arboricola* pv. *juglandis* by immature nut test. Available in: http://www.cost873.ch/_uploads/_files/Ozaktan_WalnutSusceptibility.pdf
- 33- Radix P., Siegel-Murandi F., and Charlot G. 1994. Walnut blight: development of fruit infection in two orchards. *Crop Protection* 13: 629-631.
- 34- Ramsey H.J. 1908. The possibilities of walnut blight control by the use of immune varieties. *Pacific Rural Press* 75: 212-213.
- 35- Rico A., and Preston G. 2011. The metabolic interface between *Pseudomonas syringae* and plant cells. *Current Opinion in Microbiology* 14: 31-38.
- 36- Rudolph B.A. 1933. Bacteriosis of English walnut in California and its control. *California Agricultural Experiment Station Bulletin* 564: 3-88.
- 37- Shijiao Jiang S., Han S., He D., Cao G. and Wan X. 2019. Evaluating walnut (*Juglans* spp.) for resistance to walnut blight and comparisons between artificial inoculation assays and field studies. *Australian Journal of Plant Pathology* 48: 221-231.
- 38- Silsepur L., Keshavarzi M., Hassani D., and Hashemi M. 2010. Necessity of different walnut organs evaluation for selection of blight resistant cultivars. *Iranian Journal of Plant Pathology* 46: 325-329. (In Persian with English abstract)
- 39- Silsepur L., Keshavarzi M., Hassani D., and Hashemi M. 2012. Reaction of a number of walnut genotypes/cultivars to bacterial blight disease caused by *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis*. *Seed and Plant Improvement Journal* 28: 395-405. (In Persian with English abstract)
- 40- Solar A., Jakopic J., Veberic R., and Stampar F. 2007. Phenolic compounds as a potential marker of walnut resistance against *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis*. Available in: [http:// www.cost873.ch/_up_loads/_files/m_Solar_murcia.pdf](http://www.cost873.ch/_up_loads/_files/m_Solar_murcia.pdf)
- 41- Soltani G., and Aliabadi A. 1992. Genetic diversity of walnuts in response to bacterial blight. *Proceedings of 15th Iranian Plant Protection Congress*, Kermanshah, p. 243. (In Persian with English abstract)
- 42- Szani Z. 2009. Biotic and abiotic stress factors influence on walnut varieties bred in Central Europe. *Cereal Research Communications Supplement* 37: 329-332.
- 43- Tamponi G., and Donati G. 1990. Walnut cultivars susceptibility to *Xanthomonas juglandis*. *Acta Horticulturae* 284: 301-302.
- 44- Teviotdale B.L., Schroth M.N., and Mulrean E.M. 1985. Bark, fruit and foliage diseases. In: *Walnut Orchard Management*. Ramos D.E. Ed., The Regents of The University of California, Division of Agriculture and Natural Resources, Oakland, Publication 21410, pp. 153-157.
- 45- Thiesz R., Bandi A., Tóth M and, Balog A. 2007. Epidemiological survey of *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis* and *Gnomonia leptostyla* on natural population of walnut (*Juglans regia*) in Eastern Transylvania. *International Journal of Horticultural Science* 13: 7-11.
- 46- Tsiantos J., Vagelas I.K., Rumbos C.I., Chatzaki A., Rouskas D., and Gravanis F.T. 2008. Evaluation of resistance of cultivated walnut varieties and selections to *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis* in Greece. Available in: http://www.cost873.ch/_uploads/_files/Tsiantos_WalnutResistanceInGreek_Varieties.pdf
- 47- Vagelas I.K., Rumbos C.I., and Tsiantos J. 2012. Variation in disease development among Persian walnut cultivars, selections and crosses when inoculated with *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis*. *Plant Pathology* 94: 57-61.
- 48- Woeste K.E., McGranahan G.H., and Schroth M.N. 1992. Variation in Persian walnuts in response to inoculation with *Xanthomonas campestris* pv. *juglandis*. *Journal of American Society for Horticultural Sciences* 117: 527-531.
- 49- Yang H., Han S., Jiang S., Cao G., Wan X., Chen L., Xiao J., and Zhu P. 2021. Resistance evaluation of walnut against *Xanthomonas arboricola* and the correlation between leaf structure and resistance. *Forest Pathology* online: 1-12.



Relative Resistance Level to Bacterial Blight in a Number of Walnut Cultivars and Selected Genotypes

R. Mohammadi¹- M. Keshavarzi^{2*}- N. Hassanzadeh³- D. Hassani⁴- A. Farhadnejad⁵

Received: 06-03-2021

Accepted: 25-05-2021

Introduction: The major disease of Persian walnut is walnut blight caused by the bacterium *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis*. This disease limits walnut production in many regions of the world in particular those with warm and humid springs. All succulent tissues including recent shoots, fruits and catkins may be attacked but their sensitivity decreases over time. Symptoms on leaves begin as small, water-soaked spot that can expand to form angular necrotic lesions surrounded by a yellow halo. Infection on the hull of the unripe fruits is initiated as a dark spot, which rapidly creates dark sunken lesions. If fruit infection occurs before shell hardening, the kernels are usually destroyed, infection after shell hardening results in dark kernels and poor-quality nuts, while the kernel is until consumable. The main current strategy for walnut blight control is to protect succulent tissues by copper-based sprays from bud-burst. However, multiple copper sprays do not always control the disease and there is the risk of development of copper resistant bacterial strains. Cultivation of resistant cultivars is the most practical, environmental friendly and economical approach for controlling of this disease. So far, there have not been any cultivar completely resistant or immune to this disease. However, variation in susceptibility level has been shown to occur, worldwide. The objective of this study was to determine leaf and unripe fruit resistance of Iranian promising walnut genotypes in response to controlled inoculation with *X. arboricola* pv. *juglandis* in orchard and laboratory conditions.

Material and Methods: In this research, the relative resistance of leaf and unripe fruits to bacterial blight were studied in a number of *promising walnut* genotypes replicated during two years of 2015 and 2016. The local genotypes have been selected through massive surveys of native orchards in different provinces of the country. The main selective criterion for walnut selection was late leafing trait. In addition, correlation between leaf blight and unripe fruit blight severities were studied. The material included H1-7, H2-1, SHK2, Vina, Round de montignac (RDM), Lara, G4, G5, B10 and K15 genotypes and cultivars. From this material, KZ3, 88-2, 88-1 and G3 were registered and released in year 2019. Also, Serr, Chandler and Hartley cvs. were used as controls. A mixture of four local bacterial isolates originated from Qazvin, Karaj, Zanzan and Urmie was used as inoculum. The bacterial strains have already been characterized using different phenotypical and molecular tests. They were cultured on Nutrient Agar (NA) plates at 28 °C. After 72 hours of cultivation, the colonies were suspended in distilled water; the concentration of the suspensions was read by spectrophotometer and after equalization, mixed and used as inoculum. Assessing leaf resistance was performed by spraying one year old grafted seedlings in glasshouse condition and lesion area was recorded 21 days after inoculation. Three leaves (contacting leaflets) of three seedlings were used per genotype. Assessing unripe fruit resistance was achieved by inoculating 45 days old fruits in laboratory condition and lesion diameter data was read 15 days after inoculation. 15 fruits per genotype were used and three lesions were created in each fruit. Statistical analysis of data was performed by Duncan Multiple test range using SAS software.

Result and Discussion: Based on the results, leaf and unripe fruit blight severities were different among different cultivars and genotypes in both years of evaluation. Combined analysis of blight severity data indicated that G3 (Alvand) and 88-2 (Persian) genotypes had the most leaf blight severity and thus, rated as the most susceptible, while Hartley cultivar had the least leaf blight severity and thus, as the most resistant. Based on combined analysis of data, H1-1 and SHK2 genotypes had the most blight diameters of unripe fruits and thus rated as the most susceptible and resistant genotypes, respectively. Leaves of newly released cultivars of Persian, Caspian, Alvand and Chaldoran were rated as susceptible, relatively resistant, susceptible and relatively susceptible, respectively. On the other hand, unripe fruits of Persian, Caspian, Alvand and Chaldoran were classified as resistant, resistant, relatively resistant and susceptible, respectively. Mean leaf blight severities were not different between the two years of study and also there was no difference between unripe fruit severities

1 and 3- Graduated of Plant Pathology and Professor, Plant Pathology Department, Agriculture and Food Sciences College, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran, respectively.

2 and 4- Associate Professors, Cold and Temperate Fruit Center, Horticultural Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Karaj, Iran

(*- Corresponding Author Email: kmansureh@gmail.com)

5- Technology Office, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Tehran, Iran

DOI: 10.22067/jpp.2021.68825.1012

between two years of the experiment. No significant correlation was found between leaf blight and unripe fruit blight severities.

Keywords: Cultivar, Susceptibility, Walnut, *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis*