



دانشگاه گیلان

مجله پژوهش‌های تولید گیاهی  
جلد شانزدهم، شماره دوم، ۱۳۸۸  
www.gau.ac.ir/journals

گزارش کوتاه علمی

## وقوع بیماری شانکر پوستی گردو و تعیین پراکنش آن در استان‌های شمالی ایران (حاشیه دریای خزر)

آزاده جمالزاده<sup>۱</sup>، \*مسعود شمس‌بخش<sup>۲</sup> و حشمت‌اله رحیمیان<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup> دانش‌آموخته کارشناسی ارشد گروه بیماری‌شناسی گیاهی، دانشگاه تربیت مدرس، <sup>۲</sup> دانشیار گروه بیماری‌شناسی گیاهی،

دانشگاه تربیت مدرس، <sup>۳</sup> استاد گروه گیاهپزشکی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

تاریخ دریافت: ۸۷/۵/۱۳؛ تاریخ پذیرش: ۸۷/۱۲/۱۴

### چکیده

در سال‌های اخیر بیماری شانکر پوستی گردو در ایران شیوع پیدا کرده است. به‌منظور بررسی پراکنش این بیماری در استان‌های گلستان، مازندران و گیلان، از اوایل تابستان تا اواسط پاییز سال ۱۳۸۳ بیش از ۱۰۰ نمونه گیاهی مشکوک از تنه و شاخه‌های درختان گردوی دارای علائم شانکر پوستی جمع‌آوری شدند. در مجموع ۶۰ جدایه باکتری از بافت‌های آلوده جدا گردید. باکتری‌های جدا شده کم و بیش خصوصیات فنوتیپی مشابهی داشتند و به‌رغم تفاوت در پروفیل پروتئینی سلول‌های تعدادی از جدایه‌ها، براساس مشخصات مورفولوژیک، بیوشیمیایی و فیزیولوژیک باکتری‌های جدا شده از بافت‌های بیمار، *Brenneria nigrifluens* تشخیص داده شدند. این اولین گزارش از وقوع این بیماری در استان‌های گلستان و گیلان می‌باشد.

**واژه‌های کلیدی:** گیلان، مازندران، گلستان، *Brenneria nigrifluens*

\* مسئول مکاتبه: shamsbakhsh@modares.ac.ir

## مقدمه

بیماری شانکر پوستی گردو اولین بار از کالیفرنیا (ویلسون و همکاران، ۱۹۵۷) سپس از منطقه ساری و نکاء (رحیمیان، ۱۹۸۹) گزارش گردید. پس از آن بیماری از سایر نقاط جهان از جمله اسپانیا (لوپز و همکاران، ۱۹۹۴)، ایتالیا (ساکاردی و همکاران، ۱۹۹۸) و فرانسه (منارد و همکاران، ۲۰۰۴) گزارش گردید. این باکتری همراه با باکتری *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* عامل غربالی هلو و آلو در کره شناسایی شده است (سوتو، ۱۹۹۷). همچنین در سال‌های اخیر این بیماری از استان‌های کرمان (برادران و قاسمی، ۲۰۰۴)، کردستان (حریق، ۲۰۰۶) و فارس و کهگیلویه و بویراحمد (یوسفی‌کوپائی و همکاران، ۲۰۰۷) نیز گزارش شده است.

علائم بیماری شامل نواحی نکروزه به رنگ قهوه‌ای روشن تا تیره در لایه‌های بیرونی پوست تنه و انشعابات اصلی درخت بوده که در مراحل اولیه به صورت نقاط تاول مانند کروی به قطر حدود یک سانتی‌متر و بلندی تقریبی یک میلی‌متر در ناحیه کورتکس و در زیر خارجی‌ترین لایه پوست تشکیل می‌شد. در فصل تابستان این جوش‌ها با یک روزنه یا شکاف پاره شده و شیرابه قهوه‌ای رنگی از آن خارج می‌شود. با توسعه آلودگی و ازدیاد تعداد جوش‌ها سطح وسیعی از پوست تحت تأثیر قرار گرفته و ترشح شیرابه قهوه‌ای به صورت گسترده‌ای نمایان می‌شود. علائم بیماری روی سایر اندام‌ها (برگ، جوانه‌ها و میوه) گزارش نشده و حتی با تزریق نیز علائم روی برگ ایجاد نشده است (ویلسون و همکاران، ۱۹۵۷). با عنایت به این که کنترل بیماری بدون شناخت دقیق عامل و مناطق آلوده میسر نیست، این تحقیق به منظور تعیین پراکنش و شناسایی دقیق عامل بیماری شانکر پوستی درختان گردو در استان‌های گلستان، مازندران و گیلان انجام گرفت.

## مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری و جداسازی عامل بیماری: از ابتدای تابستان تا اواسط پاییز سال ۱۳۸۳، بیش از ۱۰۰ نمونه گیاهی مشکوک از تنه و شاخه‌های درختان گردوی دارای علائم شانکر پوستی مناطق مختلف استان‌های گلستان، مازندران و گیلان جمع‌آوری شد. نمونه‌ها با آب معمولی و سپس دو بار با آب مقطر سترون شسته شدند. قطعاتی از پوست تنه و شاخه از حد فاصل بافت بیمار و سالم در داخل یک تشتک پتری حاوی چند قطره آب مقطر استریل خرد شد. پس از ۲۰ تا ۳۰ دقیقه یک لوپ از سوسپانسیون حاصله روی محیط تغییر یافته "ای ام بی آگار" (۱۰ میلی‌لیتر گلیسرول و ۵ گرم عصاره

مخمر در هر لیتر محیط "ای ام بی" کشت گردید. تشتک‌ها در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲-۳ روز نگهداری شدند. تک کلنی‌های سبز متالیک جدا و به‌منظور خالص‌سازی روی محیط آگار غذایی (۵ گرم سوکروز، ۲۳ گرم آگار غذایی در لیتر) کشت داده شدند. از کشت خالص باکتری که به مدت ۲۴-۴۸ ساعت روی محیط آگار غذایی رشد کرده بودند، سوسپانسیون غلیظی در آب مقطر استریل تهیه و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد برای استفاده‌های بعدی نگهداری شد.

**آزمون‌های فنوتیپی:** از پرگنه‌های ۲۴-۴۸ ساعت رشد یافته هر جدایه باکتری برای رنگ‌آمیزی گرم (شاد و همکاران، ۲۰۰۱) و واکنش در مقابل محلول ۳ درصد هیدروکسید پتاسیم استفاده شد (ساسلو و همکاران، ۱۹۸۲). آزمون تولید رنگ‌دانه صورتی روی محیط "وای دی سی" به روش شاد و همکاران (۲۰۰۱) انجام شد. برای انجام آزمون تحریک فوق حساسیت، یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون باکتری حاوی  $10^8-10^9$  cfu/ml در پارانشیم تحتانی برگ‌های توتون و شمعدانی تزریق شد (کلمنت و همکاران، ۱۹۶۴). فعالیت پکتولیتیک جدایه‌های باکتریایی، حداکثر دمای رشد و درصد تحمل نمک طعام به روش‌های متداول تعیین گردید (شاد و همکاران، ۲۰۰۱).

آزمون رشد هوازی و بی‌هوازی به روش هیو و لایفسن (۱۹۵۳)، آزمون اکسیداز با قرار دادن گستره‌ای از باکتری روی کاغذ آغشته به محلول ۰/۱ درصد تترا متیل پارافنیل دی‌آمین دی‌هیدروکلراید (کواکس، ۱۹۵۶) و آزمون آرژنین دی‌هیدرولاز با استفاده از روش تورنلی (۱۹۶۰) انجام گرفت. برای آزمون‌های متیل رد و تولید استوئین محیط کشت آماده به مقدار ۲ درصد در آب مقطر تهیه و سه روز پس از مایه‌زنی جدایه‌ها به محیط کشت، با افزودن معرف‌های مربوطه واکنش‌ها بررسی گردید (کوان، ۱۹۷۴). با افزودن ۰/۲ درصد نشاسته به محیط آگار غذایی هیدرولیز نشاسته توسط جدایه‌های باکتری بررسی شد (کوان، ۱۹۷۴). سایر آزمون‌ها به روش شاد و همکاران (۲۰۰۱) انجام شد.

الکتروفورز پروتئین با استفاده از سیستم نا پیوسته لملی (۱۹۷۰) در ژل متراکم‌کننده ۵ درصد و ژل متمایزکننده ۱۰ درصد پلی‌اکریل آمید با شدت جریان ۲۵ میلی‌آمپر انجام شد. رنگ‌آمیزی با محلول یک درصد کوماسی بلو در مخلوط ۴۵ درصد متانول، ۴۵ درصد آب و ۱۰ درصد اسید استیک به مدت یک شب انجام شد. رنگ‌بری به‌وسیله مخلوط فوق (فاقد رنگ) انجام و عکس‌برداری از ژل صورت گرفت (آسوبل و همکاران، ۱۹۸۷).

## نتایج

جداسازی عامل بیماری: در مجموع ۷۴ نمونه مشکوک از استان مازندران، ۱۵ نمونه مشکوک از استان گلستان و ۱۴ نمونه مشکوک از استان گیلان به ترتیب تعداد ۳۹، ۱۲ و ۹ نمونه آلوده به شانکر پوستی گردو بوده و همین تعداد جدایه باکتری از هر استان (در مجموع ۶۰ جدایه از سه استان) به دست آمد. مناطق انتشار استرین‌های *B. nigrifluens* جدا شده در این بررسی در جدول ۱ آمده است.

جدول ۱- مناطق آلوده و شماره داده شده به جدایه‌های *Brenneria nigrifluens* به دست آمده از درختان گردوی استان‌های مازندران، گیلان و گلستان.

شماره جدایه	محل جمع‌آوری	شماره جدایه	محل جمع‌آوری	شماره جدایه	محل جمع‌آوری
*Bn41	بادله (ساری)	*Bn21	حاجی‌آباد (املش)	*Bn1	اشکاردشت (چالوس)
Bn42	بادله (ساری)	Bn22	لایم (ساری)	*Bn2	بادله (ساری)
Bn43	علی‌آباد	Bn23	دو سیدان (آستانه)	*Bn3	آستانه- رشت
Bn44	علی‌آباد کنول	Bn24	رستم‌کلا (بهشهر)	*Bn4	املش
Bn45	کردکو	*Bn25	چابکسر	Bn5	آستانه- رشت
*Bn46	کردکوی	*Bn26	رودسر	*Bn6	پاسند (بهشهر)
Bn47	فاضل‌آباد (گرگان)	Bn27	قائم‌شهر	Bn7	پاسند (بهشهر)
*Bn48	بندرگز	*Bn28	جویبار	Bn8	رستم‌کلا (بهشهر)
Bn49	علی‌آباد کنول	*Bn29	زاغمر (ساری)	*Bn9	بادله (ساری)
*Bn50	بندرگز غربی	Bn30	بابل	Bn10	اشکاردشت (چالوس)
Bn51	جلین (علی‌آبادکنول)	Bn31	بایع‌محله (جویبار)	*Bn11	شهیدآباد (بهشهر)
Bn52	بندرگز	Bn32	قائم‌شهر	*Bn12	داراب‌کلا (ساری)
Bn53	بندرگز	Bn33	جویبار	*Bn13	شهیدآباد (تنکابن)
Bn54	بندرگز	Bn34	قائم‌شهر	*Bn14	داراب‌کلا (ساری)
*Bn55	بادله (ساری)	*Bn35	قائم‌شهر	*Bn15	چالوس- نوشهر
*Bn56	بادله (ساری)	*Bn36	جویبار	Bn16	بایع‌محله (جویبار)
Bn57	بادله (ساری)	*Bn37	جویبار	*Bn17	بایع‌محله (جویبار)
Bn58	رامسر	*Bn38	قائم‌شهر	Bn18	چالوس- نوشهر
Bn59	بهنمیر (بابلسر)	*Bn39	هریس (تنکابن)	Bn19	حاجی‌آباد (املش)
Bn60	لاهیجان	*Bn40	معلم‌کوه (تنکابن)	*Bn20	چالوس- نوشهر

\*جدایه‌های به کار برده شده در بررسی الگوی‌های پروتئین‌های سلولی.

## آزاده جمالزاده و همکاران

ویژگی‌های فنوتیپی: تمام جدایه‌ها میله‌ای شکل، گرم منفی و غیرفلورسانت بودند. هیچ‌یک از جدایه‌ها لوآن روی محیط حاوی ساکارز یا رنگ‌دانه روی محیط وای دی سی تولید نکردند. اکثر جدایه‌ها قادر به هیدرولیز آرژنین و اسکولین بوده ولی قادر به احیای نیترات و تولید اندول نبودند. واکنش فوق حساسیت در توتون منفی ولی در شمعدانی مثبت بود. سایر ویژگی‌های جدایه‌ها در جدول ۲ خلاصه شده است.

جدول ۲- خصوصیات مرفولوژیکی، بیوشیمیایی و تغذیه‌ای جدایه‌های *Brenneria nigrifluens* جدا شده از درختان گردوی استان‌های مازندران، گیلان و گلستان.

واکنش جدایه استاندارد	واکنش	خصوصیات	واکنش جدایه استاندارد	واکنش	خصوصیات
		تولید اسید از:	-	-	واکنش گرم
+	+	آرابینوز و رامنوز	-	-	اکسیداز
+	+	رافینوز و سلوبیوز	+	+	کاتالاز
+	+	رایبوز، زایلوز و سوکروز	+	-	تولید لوآن
-	-	لاکتوز و آدونیتول	-	-	تولید رنگدانه فلورسانت
		استفاده از:	+	+	تحمل نمک ۵ درصد
-	-	دی ال-آلآنین و ال-تارتارات	-	-	هیدرولیز ژلاتین
-	-	پروپیونات و گالاکتورونات	+	+۹۱ درصد	هیدرولیز اسکولین
-	-	فورمات	-	-۹۵ درصد	آرجی نین دی هیدرولاز
-	-	بنزوات	-	-	هیدرولیز نشاسته
-	-	پروپانول	-	-	هیدرولیز توئین ۲۰
+	+	سوکسینات و لاکتات	+	+	رشد در ۳۶ درجه سانتی‌گراد
-	-	ال-سرین	-	-	رشد در ۳۹ درجه سانتی‌گراد
-	-	سوربوز	+	+۹۵ درصد	تولید H <sub>2</sub> S از پپتون
+	+	مانیتول	+	+	اوره آز
-	-	دولسیتول	-	-	لهانیدن ورقه‌های سیب‌زمینی
-	-	اریتریتول	-	-۸۵ درصد	احیاء نیترات
+	+	گلیسرول	-	-۸۵ درصد	تولید اندول
-	-	ال-لوسین	-	-	تولید رنگ‌دانه صورتی
-	-	سیترات	-	+۹۵ درصد	واکنش متیل رد (MR)
-	-	دی-تارتارات	-	-	مواد احیاء‌کننده از سوکروز
-	-	اگزالات	+	+	واکنش فوق حساسیت روی شمعدانی
-	-	اتانول	-	-	واکنش فوق حساسیت روی توتون

درصد استرین‌هایی که واکنش مثبت یا منفی نشان داده یا قادر به استفاده از ترکیبی بودند.

+ : واکنش مثبت، - : واکنش منفی

الگوی پروتئین‌های جدایه‌ها: الگوی پروتئین‌های سلولی ۳۰ جدایه از *B. nigrifluens* که براساس مناطق جمع‌آوری و اختلاف در برخی خصوصیات فنوتیپی انتخاب شده بودند با جدایه استاندارد مقایسه شد. جدایه‌ها براساس شباهت نقش‌های پروتئینی در ۶ گروه، براساس هم‌ردیفی باندها، به شرح زیر؛

گروه اول: جدایه‌های Bn20, Bn21, Bn55

گروه دوم: جدایه‌های Bn2, Bn3, Bn4

گروه سوم: جدایه‌های Bn1, Bn12

گروه چهارم: جدایه‌های Bn6, Bn17, Bn28, Bn29, Bn40, Bn46, Bn56 و جدایه استاندارد

گروه پنجم: Bn25 جدایه‌های Bn26, Bn35, Bn36, Bn37, Bn38

گروه ششم: جدایه‌های Bn9, Bn11, Bn13, Bn14, Bn15, Bn39, Bn48, Bn50, Bn41 تفکیک شدند.

## بحث

خصوصیات بیوشیمیایی، فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی جدایه‌های به‌دست آمده از درختان گردوی دارای علائم شانکر پوستی شامل منفی بودن واکنش گرم و اکسیداز، بی‌هوازی اختیاری بودن، مثبت بودن کاتالاز، عدم تولید رنگ‌دانه فلورسنت روی محیط کینگ-ب و مثبت بودن واکنش اوره آز با خصوصیات گونه *Brenneria nigrifluens* مطابق داشتند (شاد و همکاران، ۲۰۰۱). جدایه‌هایی که در کشت‌های اولیه رنگ ارغوانی و سرعت رشد بیشتری داشتند، در آزمون‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی اختلافی با سایر جدایه‌ها نداشتند.

خصوصیت‌های جدایه‌ها از جمله عدم هیدرولیز ژلاتین، نشاسته و توئین ۲۰، عدم تولید مواد احیاءکننده از سوکروز، عدم توانایی لهانیدن ورقه‌های سیب‌زمینی، رشد در نمک طعام ۵ درصد، رشد در دمای ۳۶ درجه سانتی‌گراد و عدم تولید رنگ‌دانه صورتی در محیط وای دی سی نیز با دیگر ویژگی‌های یاد شده برای گونه *B. nigrifluens* مطابقت داشت (شاد و همکاران، ۲۰۰۱). کمتر از ۱۵ درصد جدایه‌ها در خصوصیت‌هایی از قبیل عدم تولید لوان، هیدرولیز اسکولین، تولید H<sub>2</sub>S از پپتون، هیدرولیز آرژنین، احیاء نترات، تولید اندول و متیل رد متفاوت بودند. این تفاوت‌ها فاقد توزیع خاص بوده و لذا طبقه‌بندی آنها به گروه‌ها یا مجموعه‌های متمایز امکان‌پذیر نبود.

نتایج این تحقیق نشان داد که بیماری شانکر پوستی درختان گردو علاوه بر مناطق تنکابن، نوشهر، چالوس، سیاوش کلا، بابلسر، ساری، جویبار، زاغمرز، نوکنده، عباس آباد و نشتارود استان مازندران که در مطالعات قبلی توسط حریقی و رحیمیان (۱۳۷۶) گزارش شده بود، در مناطق قائم شهر، رامسر، بهشهر و بابل نیز شیوع دارد. به علاوه وقوع این بیماری در استان های گلستان و گیلان نیز محرز شد. همچنین نتایج تحقیق های انجام شده در استان های دیگر نشان داده است که این بیماری در استان های کرمان (برادران و قاسمی، ۲۰۰۴)، کردستان (حریقی، ۲۰۰۶) و فارس و کهگیلویه و بویراحمد (یوسفی کوپائی و همکاران، ۲۰۰۷) نیز گسترش دارد. این نتایج نشان دهنده روند افزایشی وقوع بیماری در مناطق مختلف تولید گردو در ایران می باشد، از این رو بررسی جامع به منظور تعیین مناطق انتشار بیماری در کشور، یافتن روش های محدود کردن گسترش آن و همچنین بررسی وجود منابع مقاومت در میان توده های بومی ضروری می باشد.

الگوی الکتروفورزی پروتئین های سلولی استرین های جدا شده از مناطق مختلف استان های شمالی دارای تفاوت هایی بوده و براساس نتایج این تحقیق از این نظر به شش گروه متمایز قابل تفکیک بودند. تفاوت در نقش های پروتئینی سویه های استان مازندران قبلاً توسط حریقی و رحیمیان (۱۹۹۷) نیز گزارش شده است. از سوی دیگر، تحقیقات انجام شده روی جدایه های استان های فارس و کهگیلویه و بویراحمد نشان داد که نقش های الکتروفورزی پروتئین های سلولی آنها مشابه است (یوسفی کوپائی و همکاران، ۲۰۰۷). تفاوت در نقش های الکتروفورزی جدایه ها می تواند به دلیل تنوع این گونه در ایران باشد. برای روشن شدن دقیق تر این موضوع، مطالعه تنوع ژنتیکی باکتری در سطح دی ان ای با استفاده از روش های مناسب و در سطح نمونه های جمع آوری شده از مناطق مختلف کشور ضروری به نظر می رسد.

## منابع

1. Ausubel, F.M.O., Brent, R., Kingston, R.E., Moore, D.D., Seidman, J.G., Smith, J.A., and Struhl, K. 1987. Current Protocols in Molecular Biology. Green publishing Associates, Wiley Interscience, New York.
2. Baradaran, GH., and Ghasemi, A. 2004. Etiology of walnut canker disease in Kerman province. Proc. 16<sup>th</sup> Plant Protect. Congr. Iran. University of Tabriz, 358p.

3. Cowan, S.T. 1974. Cowan and Steel, manual for the identification of medical bacteria, 2<sup>nd</sup>. Cambridge University Press, Cambridge.
4. Harighi, B. 2006. Bacterial canker of walnut trees in Kourdestan province. Proc. 17<sup>th</sup> Plant Protect. Congr. Iran. University of Tehran.
5. Harighi, B., and Rahimian, H. 1997. Widespread occurrence of the bark canker of walnut in Mazandaran province. Iran. J. Plant Path. 33: 144-145.
6. Hauben, L., Moore, E.R.B., Vauterin, L., Steenackers, M., Mergaert, J., Verdonck, L., and Swings, J. 1998. Phytopathogens within the Enterobacteriaceae. Syst. Applied Microbiol. 21: 384-397.
7. Hugh, R., and Leifson, E. 1953. The taxonomic significance of fermentative versus oxidative metabolism of carbohydrates by various gram negative bacteria. J. Bacteriol. 66: 24-26.
8. Klement, Z., Farkas, G.L., and Lovrekovich, L. 1964. Hypersensitivity reaction induced by phytopathogenic bacteria in the tobacco leaf. Phytopathology, 54: 474-477.
9. Kovacs, N. 1956. Identification of *Pseudomonas pyrocyanea* by the oxidase reaction. Nature (London), 178: 703.
10. Laemmli, U.K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature, 227: 680-685.
11. Lopez, M.M., Marti, R., Morente, C., Orelana, N., Ninot, T., and Aleta, N. 1994. Pythopathogenic bacteria identified in walnut in Spain. Investigation Agraria, Production y Protection Vegetale Fuera de Seria, 2: 307-314.
12. Menard, M., Delort, F., Baudery, A., and Le Saux, M. 2004. First report of bacterial canker of walnut caused by *Brenneria nigrifluens* in France. Plant Dis. 88: 220.
13. Rahimian, H. 1989. Bacterial canker of walnut trees in Sari. Proc. 9<sup>th</sup> Plant Protect. Congr. Iran. University of Ferdowsi, Mashhad, 150p.
14. Saccardi, A., Bonnetti, V., Melegatti, A., and Cristini, M. 1998. Occurrence of *Erwinia nigrifluens* on English walnut (*Juglans regia*) in the Veneto region (Northern Italy). J. Plant Path. 80: 63-65.
15. Schaad, N.W., Jones, J.B., and Chun, W. 2001. Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria. 3<sup>rd</sup> ed. Amer. Phytopathol., Soc. St. Paul, Minnesota. USA. 373p.
16. Soto, J.A. 1997. Artichoke violet necrosis caused by *Erwinia nigrifluens*. Revista de La Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cuyo, 29: 43-55.
17. Suslow, T.V., Schroth, M.N., and Isaka, M. 1982. Application of a rapid method for gram differentiation of plant pathogenic and saprophytic bacteria without staining. Phytopathology, 72: 917-918.



18. Thornely, M.J. 1960. The differentiation of *Pseudomonas* from other gram negative bacteria on the basis of arginine metabolism. J. Applied Bacteriology, 23: 37-52.
19. Wilson, E.E., Starr, M.P., and Berger, J.A. 1957. Bark canker, a bacterial disease of Persian walnut tree. Phytopathology, 47: 669-673.
20. Wilson, E.E., Zeitoun, F.M., and Fredrickson, D.L. 1967. Bacterial phloem canker, a new disease on Persian walnut trees. Phytopathology, 56: 618-621.
21. Yousefi Kopaei, F., Taghavi, M., and Banihashemi, Z. 2007. Occurrence of shallow bark canker of walnut (*Juglans regia*) in southern provinces of Iran. Pakistan Journal of Biological Sciences, 10: 1507-1512.



Gorgan University of Agricultural  
Sciences and Natural Resources

*J. of Plant Production*, Vol. 16(2), 2009  
[www.gau.ac.ir/journals](http://www.gau.ac.ir/journals)

## Occurrence and Distribution of Shallow Bark Canker of Walnut Trees in Northern Provinces of Iran

**A. Jamalzade<sup>1</sup>, \*M. Shams-Bakhsh<sup>2</sup> and H. Rahimian<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Former M.Sc. student, Dept. of Plant Pathology, Tarbiat Modares University, <sup>2</sup>Associate Prof., Dept. of Plant Pathology, Tarbiat Modares University, <sup>3</sup>Prof., Dept. of Plant Protection, Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources

### Abstract

In recent years, shallow bark canker of walnut (*Juglandis regia* L.) trees has become fairly widespread in Iran. To determine the distribution of the disease in Golestan, Mazandaran and Gilan provinces, from early summer to mid-fall seasons of 2004, more than one hundred bark samples were collected from walnut trees showing symptoms of shallow bark canker. Sixty strains of bacteria were isolated from the infected tissues. Strains appeared to be more or less similar in phenotypic characteristics. In spite of some differences in their electrophoretic profiles of whole-cell proteins, on the basis of the results of morphological, biochemical and physiological tests the bacterium was identified as *Brenneria nigrifluens* (Wilson) Hauben *et al.*, 1998. This is the first report of shallow bark canker of walnut trees in Golestan and Gilan provinces.

**Keywords:** Gilan, Mazandaran, Golestan, *Brenneria nigrifluens*

---

\* Corresponding Author; Email: [shamsbakhsh@modares.ac.ir](mailto:shamsbakhsh@modares.ac.ir)