پژوهش‌های کاربردی در گیاه‌پزشکی ۱۰ (۱): ۹۷-۱۰۳ (۱۴۰۰)

DOI: 10.22034/ARPP.2021.12467

مقاله کوتاه

شناسایی و بررسی بیماری‌زایی جدایه‌های *Cytospora* مرتبط با بیماری شانکر و سرخشکیدگی انار در استان‌های آذربایجان شرقی و گلستان

دریافت: ۹۹/۹/۱۴ بازنگری: ۹۹/۱۰/۵ پذیرش: ۹۹/۱۰/۳۰

هادی گل‌محمدی[۱]، مهدی ارزنلو[۱]✉، حجت اله ربانی نسب[۲]

[۱] گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران. [۲] بخش تحقیقات گیاهپزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی گلستان، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، گرگان، ایران. ✉arzanlou@tabrizu.ac.ir

چکیده

گونه‌های انار یکی از محصولات مهم اقتصادی در ایران می‌باشد. به منظور شناسایی عوامل قارچی دخیل در بیماری شانکر و سرخشکیدگی درختان انار، در طول فصول مختلف سال‌های ۱۳۹۶ و ۱۳۹۷ از انار کاری‌های دارای علایم از استان‌های آذربایجان شرقی و گلستان نمونه برداری صورت گرفت. در باغ‌های نمونه برداری شده عمده علایم بیماری به صورت زردی برگ‌ها، ریزش برگ‌های انتهایی تاج پوششی، سرخشکیدگی در شاخه‌ها، شانکرهای طولی در سطح شاخه‌ها و تنه، تغییر رنگ در بخش آوندها و پوست پوسته شدن شاخه‌ها و تنه اصلی مشاهده گردید. به طور تقریبی در هر باغ حدود ۸٪ از درختان علایم آلودگی را در خود نشان می‌دادند. در طول نمونه برداری‌ها، ۱۷۸ نمونه گیاهی از باغ‌های انار این دو استان جمع‌آوری گردید. در نهایت تعداد ۱۷۱ جدایه قارچی جداسازی شد که گونه *Cytospora punicae* با فراوانی نسبی ۷۵٪ بر اساس ترکیبی از ویژگی‌های ریخت شناختی و اطلاعات مولکولی حاصل از توالی ناحیه ITS به عنوان گونه غالب شناسایی گردید. آزمون بیماری‌زایی با استفاده از روش شاخه بریده صورت گرفت. نتایج تحقیق حاضر گونه *C. punicae* را به عنوان عامل بیماری شانکر و سرخشکیدگی درختان انار در استان‌های آذربایجان شرقی و گلستان تعیین کرد. با شناسایی و تعیین عامل بیماری امکان اتخاذ استراتژی‌های مناسب برای مدیریت این بیماری فراهم خواهد گردید.

کلمات کلیدی: روش شاخه بریده، ITS، *Punica granatum*

Identification and pathogenicity of *Cytospora* isolates associated with canker and dieback disease on pomegranate, in East Azarbaijan and Golestan Provinces

Received: 4 Dec 2020 Revised: 25 Dec 2020 Accepted: 19 Jan 2021

Hadi Golmohamadi[1], Mahdi Arzanlou[1]✉, Hojat allah Rabani Nasab[2]

[1]Department of Plant Protecion, Faclty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran. [2]Plant Protection Research Division, Golestan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Gorgan, Iran. ✉arzanlou@tabrizu.ac.ir

Abstract

Pomegranate is one of the economically important products in Iran. In order to identify the fungal agents involved in canker and dieback disease on pomegranate trees, during the different seasons of 2017-2018, samples were taken from pomegranate orchards with these disease symptoms in East Azarbaijan and Golestan provinces. Disease symptoms appeared as leaf chlorosis, dieback, leaf drop, particularly in the upper crown, vascular discoloration, longitudinal cankers on branches and trunk and bark cracking. Disease incidence was rated about 8 percent. A total number of 178 symptomatic wood samples were collected from pomegranate orchards in two provinces. Ultimately, 171 fungal isolates were recovered from symptomatic tissues. *Cytospora punicae* was determined as the dominant fungal agent with the isolation frequency of 75 percent, based on combination of morphological characteristics and sequence data of ITS region. Koch's postulates were fulfilled using the excised shoot method. The results of pathogenicity assay confirmed *C. punicae* being pathogenic of pomegranate. The results of present study determined *C. punicae* as the cause of canker and dieback of pomegranate trees in East Azarbaijan and Golestan Provinces. With the identification and determination of the cause of this disease, in future it will be possible to adopt proper disease management strategies.

Keywords: Excised shoot method, ITS, *Punica granatum*

How to cite:

Golmohamadi H, Arzanlou M, Rabani Nasab H, 2021. Identification and pathogenicity of *Cytospora* isolates associated with canker and dieback disease on pomegranate, in East Azarbaijan and Golestan Provinces. *Journal of Applied Research in Plant Protection* 10 (1): 97–103.

مقدمه

انار با نام علمی *Punica granatum* L.، متعلق به خانواده *Punicaceae* می‌باشد. این خانواده گیاهی کوچکترین خانواده-ایست که دارای یک جنس و دو گونه می‌باشد. انار را بومی مناطق مختلفی از آسیای مرکزی خصوصا کشور ایران می‌دانند. متابولیت‌ها و ترکیبات متنوعی در قسمت‌های مختلف انار وجود دارد. ایران با دارا بودن شرایط اقلیمی مناسب، به عنوان یکی از قطب‌های مهم تولید میوه انار در سطح دنیا جایگاه ویژه‌ای را به خود اختصاص داده باغی محصول این و نقش مهمی در اقتصاد غیرنفتی کشور ایفا می‌کند. استان‌های آذربایجان شرقی و گلستان با داشتن ۱۴۸۱ هکتار اراضی تحت کشت انار و تولید سالیانه بیش از یک میلیون تن میوه انار از قطب‌های تولید کننده این محصول خوش بازار در کشور به شمار می‌روند (Ahmadi *et al.* 2020).

بیماری‌های مختلفی درختان انار را تحت تاثیر قرار می-دهند. سرخشکیدگی و شانکر از بیماری‌های شایع هستند که توسط عوامل مختلفی ایجاد می‌شوند. با این وجود، تنش‌های غیرزیستی نقش اساسی را در شیوع و پایداری این بیماری‌ها ایفا می‌کنند. مطالعات صورت گرفته در کشورهای مختلف دارای انارکاری های عمده، از جمله ایران نشان می‌دهد گونه-های قارچی متعددی در ایجاد این بیماری نقش دارند که از جمله می‌توان به چندین جنس از خانواده Botryosphaeriaceae، گونه‌هایی از جنس *Cytospora* Ehrenb.، Coniella Höhn. و *Phaeoacremonium* W. Gams, Crous & M.J. Wingf. (Golmohammadi 2019) اشاره کرد. از این میان، گونه‌هایی از جنس‌های *Cytospora*، *Coniella*، *Phaeoacremonium* و *Neofusicoccum* (Pennycook & Samuels) Crous, Slippers & A.J.L. Phillips به عنوان عوامل قارچی دخیل در شانکر و سرخشکیدگی درختان انار از ایران گزارش شده‌اند (Farr & Rossman 2020). در باغات انار، علایم ایجاد شده توسط خانواده Botryosphaeriaceae، غالبا به صورت تورم‌های پوستی، تغییر رنگ پوست شاخه‌ها، شانکر در شاخه‌های اصلی، بلایت شاخه‌های جوان، انواع اشکال انسداد آوندی و عدم رشد در فصل بهار می‌باشد (Golmohammadi 2019). از میان گروه‌های قارچی ذکر شده، گونه‌های جنس *Cytospora* به طور عمده شاخه‌ها را تحت تاثیر قرار می‌دهند اما می‌توانند باعث ایجاد آلودگی در بخش تنه نیز شوند که در این صورت از طول عمر و بهره‌وری میزبان خود می‌کاهند. علایم ایجاد شده توسط گونه‌های این جنس بسته به میزبان متفاوت بوده و عمدتا شامل زردی برگ‌ها، سرخشکیدگی شاخه‌ها، تولید ساختارهای قارچی فراوان در پوست میزبان و تولید و ترشح توده‌های کنیدیومی از محل ساختارهای غیرجنسی می‌باشد (Lawrence *et al.* 2018). این جنس از پراکنش بسیار بالایی از نظر میزبانی در سطح جهانی برخوردار بوده و از میزبان‌های اقتصادی مهم از قبیل درختان هسته‌دار، دانه‌دار و درختان غیر مثمر جداسازی گردیده است (Lawrence *et al.* 2018; Jiang *et al.* 2020). با وجود گزارش-های صورت گرفته در ارتباط با شناسایی عوامل این بیماری در ایران تا کنون تحقیق جامعی در رابطه با شناسایی عوامل این بیماری در استان‌های آذربایجان شرقی و گلستان صورت نگرفته است. از این رو، تحقیق حاضر با هدف شناسایی عامل دقیق این بیماری با استفاده از داده‌های ریخت‌شناختی و مولکولی در این دو استان انجام گرفت. شناسایی دقیق و صحیح عامل بیماری به عنوان گام نخست و اساسی در توصیه و به‌کارگیری روش‌های مدیریتی بیماری‌های گیاهی از اهمیت به‌سزایی برخوردار می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در طول این تحقیق، به‌منظور جداسازی و شناسایی گونه-های قارچی مرتبط با شانکر و سرخشکیدگی درختان انار در طی فصول تابستان، پاییز و بهار سال‌های ۱۳۹۶ و ۱۳۹۷ نمونه‌های گیاهی از شهرستان‌های مختلف این دو استان جمع-آوری گردید. نمونه‌ها با ثبت مشخصات به آزمایشگاه قارچ شناسی دانشگاه تبریز منتقل شدند. جداسازی و نگهداری عوامل قارچی با روش های رایج بیماری شناسی صورت گرفت. برای شناسایی ریخت شناختی در سطح گونه از کلیدهای معتبر قارچ شناسی استفاده گردید (Lawrence *et al.* 2018; Pan *et al.* 2020).

پس از استخراج DNA ژنومی به روش CTAB، واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز برای ناحیه ITS در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر مطابق شرایط ذکر شده توسط Golmohammadi (2019) صورت گرفت. محصول PCR برای توالی‌یابی به شرکت پیشگام بیوتک ایران ارسال گردید. توالی نوکلئوتیدی حاصل با نرم‌افزار Mega v.7 مورد بررسی و ویرایش قرار گرفت و سپس با استفاده از نرم افزار برخط بلاست

(http://www.ncbi.nlm.nih.gov) با توالی‌های موجود در بانک ژن مورد مقایسه قرار گرفت. زیر هم چینی توالی‌های نوکلئوتیدی با استفاده از نرم افزار Mega v.7 انجام شد. یافتن بهترین مدل برای رسم درختچه تبارزایی با نرم افزار MrModeltest v.2.3 و تبارنمای اجمالی با استفاده از روش بیژین بر مبنای داده‌های توالی ناحیه ITS1-5.8S-ITS2 برای جدایه‌ی مورد مطالعه در این تحقیق و جدایه‌های معتبر دریافت شده از بانک ژن با استفاده از نرم افزار MrBayes v.3.2.2 (Ronquist & Huelsenbeck 2003) ترسیم گردید. آزمون اعتبار سنجی به روش احتمال پسین انجام گردید. بیماریزایی جدایه منتخب با روش شاخه بریده مطابق شرایط ذکر شده توسط Golmohammadi (2019) مورد بررسی قرار گرفت.

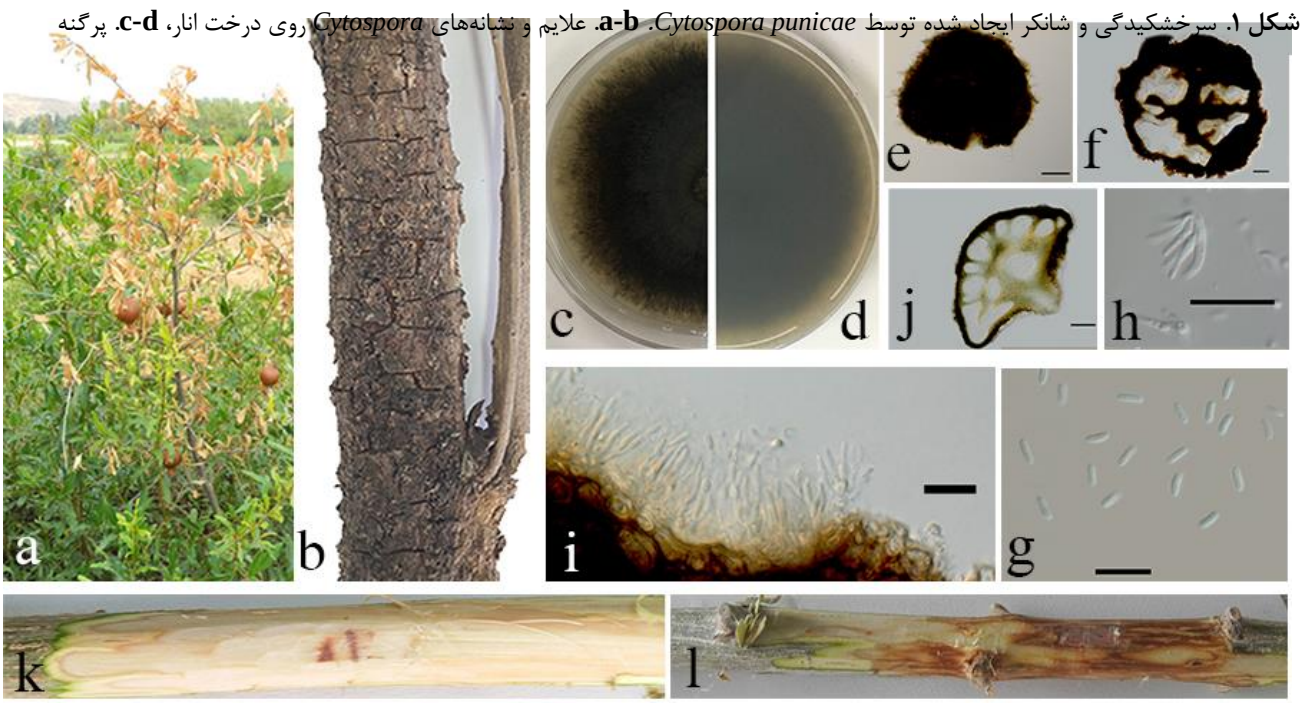
نتایج و بحث

در باغ‌های نمونه برداری شده، عمده علائم بیماری به صورت زردی برگ‌های سرشاخه‌ها و شاخه‌ها (تا حدودی مشابه علایم کمبود آهن در اوایل آلودگی)، ریزش برگ‌های انتهایی تاج پوششی، سرخشکیدگی در شاخه‌ها، شانکرهای طولی در سطح شاخه‌ها و تنه، تغییر رنگ در بخش آوندها و پوست پوسته شدن شاخه‌ها و تنه اصلی مشاهده گردید. به طور تقریبی در هر باغ حدود ۸٪ از درختان علایم آلودگی را در خود نشان می‌دادند. در طول نمونه برداری‌ها، ۱۷۸ نمونه گیاهی از باغ‌های انار این دو استان جمع‌آوری گردید. در نهایت، تعداد ۱۷۱ جدایه قارچ جداسازی گردید. در طول این تحقیق قارچ‌های *Neofusicoccum parvum* (Pennycook & Samuels) Crous, Slippers, & Phillips، *Biscogniauxia sp.* و *Asordaria sibutii* (Cailleux) von Arx & Guarro نیز به عنوان عوامل همراه با بیماری شانکر و سرخشکیدگی درختان انار جداسازی گردیدند. در این تحقیق صرفا شرح و توصیف گونه غالب به دلیل اهمیت بیماریزایی آن ارایه گردیده است.۱۷۱ جدایه قارچی جداسازی شد. گونه *C. punicae* Sacc., Michelia با فراوانی نسبی ۷۵٪ (۱۲۹ جدایه) که از این تعداد ۱۹ جدایه متعلق به استان گلستان و ۱۱۰ جدایه متعلق به استان آذربایجان شرقی بودند، به عنوان گونه غالب مشخص شد.

Cytospora punicae Sacc., Michelia 1: 367 (1878)

قطر پرگنه قارچ بر روی محیط کشت PDA و در دمای ۲۵ درجه سلسیوس، پس از گذشت هفت روز به ۶۰/۵ میلی‌متر رسید. پرگنه قارچ ابتدا در اوایل رشد به رنگ قرمز تا قهوه‌ای روشن و با گذشت چند روز به رنگ سبز زیتونی دیده می‌شود. کنیدیومای قارچ از نوع پیکنیدیوم می‌باشد که به حالت سطحی تا کمی فرورفته در محیط کشت به رنگ قهوه‌ای تیره تا سیاه رنگ به صورت منفرد و پراکنده در کل محیط تولید می‌گردد. در برش عرضی و طولی، پیکنیدیوم‌ها چند حجره‌ای و متغیر بوده که دارای دیواره‌های جداکننده مشخص از همدیگر می‌باشد، قاعده تقریبا کروی، گردن کوتاه، حفره مرکزی در روی بافت میزبان و محیط کشت مشاهده می‌شود. دهانه استیول روی بافت میزبان دارای شکل دایره‌ای کامل تا نامتقارن می‌باشد. قطر پیکنیدیوم‌ها ۲۵۴-۲۳۵ میکرومتر اندازه‌گیری شد. کنیدیوم‌برها بی‌رنگ و شفاف، منفرد، مستقیم، بدون انشعاب تا گاها منشعب بر روی بافت میزبان، دارای سلول‌های کنیدیوم‌زا، در اندازه‌های ۲ -۰/۸۲ × ۱۹-۱/۹۳ میکرومتر بود. سلول‌های کنیدیوم‌زایی بی‌رنگ، باریک استوانه‌ای سیلندری شکل با گسترش سیمپودیال و در اندازه ۱/۷۵-۰/۸ × ۷/۵-۳/۵ میکرومتر اندازه‌گیری شدند. کنیدیوم‌ها بی‌رنگ، تک سلولی و خمیده. (الانتوئید) بوده و ابعاد آنها ۱ × (۵-) ۴-۳/۴ (-۲/۳) میکرومتر است (شکل ۱). مرحله جنسی قارچ مشاهده نگردید.

شکل ۱. سرخشکیدگی و شانکر ایجاد شده توسط *Cytospora punicae*. **a-b.** علایم و نشانه‌های *Cytospora* روی درخت انار، **c-d.** پرگنه



قارچی هفت روزه، **e.** پیکنیدیوم، **f.** برش عرضی پیکنیدیوم، **j.** برش طولی پیکنیدیوم، **h.** کنیدیوم‌برها، **i.** سلول‌های کنیدیوم‌زایی، **g.** کنیدیوم‌ها، **k.** شاخه شاهد، **l.** شاخه تیمار شده با بلوک میسلیومی بیمارگر در تست بیماریزایی. مقیاس: **e-f-j** = ۵۰ میکرومتر **h-i-g** = ۱۰۰ میکرومتر.

Figure 1. Dieback and canker caused by *Cytospora punicae*. **a-b.** Symptoms and signs of *Cytospora* on pomegranate tree, **c-d.** Seven-day old colony, **e.** Pycnidium, **f.** Longitudinal section of pycnidium, **j.**Cross-section of pycnidium, **h.** Conidiophores, **i.** Conidiogenous cells, **g**. Conidia, **k.** Control twig **l**. Inoculated twig with mycelial plug of pathogen in pathogenicity assay. Bar: **e-f-j** = 50 µm; **h-i-g** = 100 µm.

توالی به‌دست آمده با توالی‌های موجود در بانک ژن برای گونه *C. punicae*، بیش از ۹۹٪ مشابهت نشان داد (سه نوکلئوتید تفاوت (۵۱۸/۵۲۱) با ایجاد سه گپ (۳/۵۲۱)). تبارنما با استفاده از روش نرم‌افزار بیژین و برای ناحیه ژنی مورد نظر حاصل از این تحقیق و دیگر توالی‌های موجود برای گونه‌های مختلف جنس Cytospora ترسیم گردید. فایل رجبندی شده نهایی شامل ۸۰ آرایه، ۶۲۸ کاراکتر و ۲۷۵ الگوی منحصر به‌فرد بود. مدل GTR+I+G بهترین مدل جایگزینی توسط نرم افزار مدل تست انتخاب گردید. گونه *Diaporthe vaccinii* Shear (با کد دسترسی بانک ژنی KC343228) به عنوان آرایه خارجی به کار گرفته شد. تجزیه و تحلیل بیژین منتهی به ۷۷۲ تبارنما گردید که بعد از حذف ۲۵ درصد از تبارنماهای جمع‌آوری شده برای مرحله burn-in تبارنمای اجمالی و توزیع احتمال پسین خوشه‌ها از ۵۸۰ تبارنمای باقی مانده محاسبه گردید. بر اساس نتایج به‌دست آمده، جدایه جداسازی شده از میزبان انار در تحقیق حاضر (با کد دسترسی MW180937) با اعتبار سنجی بالایی (۱) به همراه سایر جدایه‌های اخذ شده از بانک ژن گروه بندی گردید (شکل ۲).

ارزیابی آزمون بیماری‌زایی در شاخه‌ها پس از گذشت ۳۰ روز به صورت سیاه شدگی بافت پوست در دو سمت محل مایه‌زنی مشاهده گردید. نکروز در محل بافت چوب نیز به رنگ قهوه‌ای روشن تا سوخته در دو سمت به طول میانگین ۲۰ سانتی‌متر پیشروی کرده و در برش عرضی بخش آوندی نیز به رنگ جگری تا سیاه تغییر رنگ داده بود. در شاخه شاهد هیچگونه علایمی در بافت‌ها مشاهده نگردید (شکل ۱- k). به منظور تکمیل اصول کخ، همانند روش اولیه، کشت و جداسازی از بافت میزبان صورت گرفت و قارچ مایه‌زنی شده نیز از بافت‌های گیاهی بازجداسازی شدند.

جنس *Cytospora* متعلق به خانواده Cytosporaceae از راسته Diaporthales می‌باشد. گونه‌های این جنس به عنوان رایج‌ترین و شایع‌ترین عوامل قارچی در میزبان‌های مختلف می‌باشند که باعث خسارت‌های سنگین اقتصادی در میزبان‌های خود می‌شوند. گونه‌های متعلق به این جنس به صورت

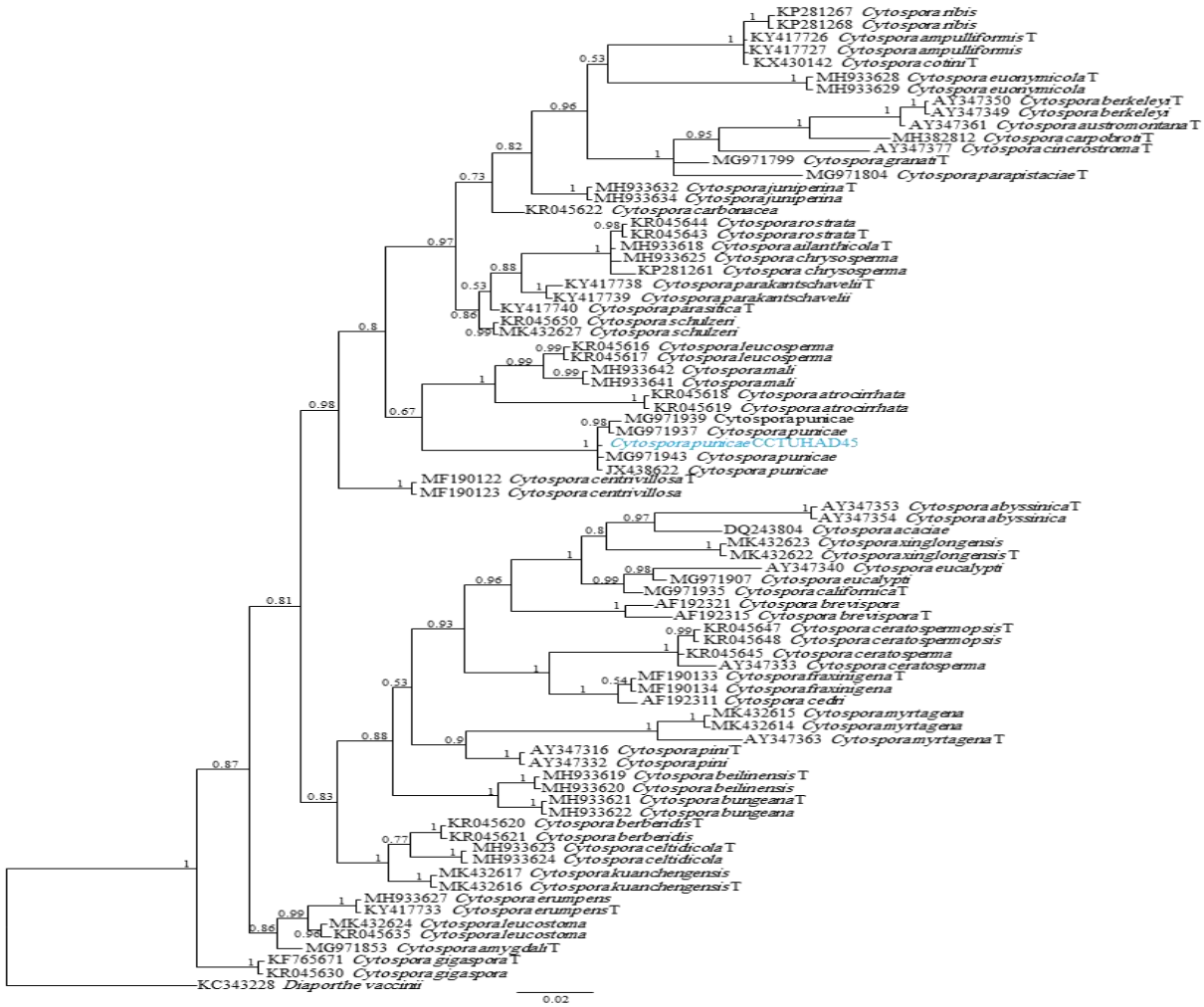
اندوفیت‌های به ظاهر بی‌خطر، ساپروفیت و گونه‌های بیمارگر مهم که عامل بیماری در بیش از ۱۰۰ گونه‌ی گیاهی خشبی می‌باشند، جداسازی شده‌اند. این گروه از قارچ‌ها بیشتر بیمارگر میزبان‌هایی هستند که تحت شرایط تنش قرار گرفته‌اند و هر چقدر میزبان ضعیف‌تر باشد حساسیت به آن بیشتر خواهد شد (Fotouhifar *et al.* 2010; Baradaran Baghery *et al.* 2015; Dudley *et al.* 2020). دامنه میزبانی برخی گونه‌ها بسیار وسیع بوده و برخی گونه‌های دیگر فقط بر روی یک جنس و یا یک خانواده‌ی گیاهی ایجاد بیماری می‌کنند. شناسایی گونه‌های جنس *Cytospora* بر اساس تلفیق ویژگی‌های ریخت‌شناختی و فیلوژنی اطلاعات مولکولی گاها تا شش جایگاه ژنی صورت می‌گیرد (Dudley *et al.* 2020). بر اساس منابع موجود تا به امروز در سطح دنیا، از جنس *Cytospora* دو گونه *C. punicae* و DP *C. granati* Lawr., LA Holland & Trouillas از روی درختان انار گزارش شده‌اند (Lawrence *et al.* 2018) که می‌توان وجود یک رابطه اختصاصی میزبانی بین این دو گونه‌ی قارچی و درخت انار را در نظر گرفت. همچنین گونه *C. punicae* به عنوان عامل پوسیدگی میوه‌ی انار از ایتالیا، عامل پوسیدگی پس از برداشت از آفریقای جنوبی و عامل پوسیدگی طوقه درخت انار از یونان نیز گزارش شده است (Farr & Rossman 2020).

وجه تمایز این دو گونه بر اساس ویژگی‌های ریخت‌شناختی در اندازه پیکنیدیوم‌ها، نرخ سرعت رشد و رنگ پرگنه می‌باشد (Lawrence *et al.* 2018). در این تحقیق ویژگی‌های ریخت‌شناختی جدایه حاضر با ویژگی‌های ذکر شده برای گونه *C. punicae* مطابقت داشته و نتایج حاصل از فیلوژنی مبتنی بر ناحیه ITS نیز هویت گونه را تایید می‌کند. مطالعات متعدد نشان می‌دهد که گونه *C. punicae* از انارکاری‌های مختلف در سراسر دنیا از جمله ایالات متحده آمریکا، یونان، تونس، قبرس و ایران به عنوان عامل شانکر تنه، سرخشکیدگی شاخه گزارش گردیده است (Farr & Rossman 2020). در ایران *C. punicae* برای اولین بار توسط Mahdikhani & Davoodi (2017) از درختان انار شهرستان طارم جداسازی و شناسایی گردیده است.

تحقیق حاضر، گزارشی از جداسازی و شناسایی عامل بیماری سرخشکیدگی و شانکر درختان انار بر اساس مطالعات ریخت‌شناختی و مولکولی در سطح استان‌های آذربایجان شرقی و گلستان می‌باشد. با توجه به مشاهدات میدانی صورت گرفته در صورت عدم توجه به تامین نیازهای غذایی درختان و تضعیف آنها، قارچ مذکور به شدت درختان را آلوده کرده و می‌تواند به عامل محدود کننده و کاهش دهنده عملکرد تبدیل گردد.

سپاسگزاری

نویسندگان مقاله مراتب قدردانی و سپاس خود را از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه تبریز به‌خاطر تامین بودجه لازم و جهاد کشاورزی استان آذربایجان شرقی و آقای مهندس حسین هاتف به خاطر همکاری‌های بی‌دریغ در راستای انجام این پژوهش ابراز می‌نمایند.



شکل ۲. تبارنمای ترسیم شده بر اساس توالی‌های نوکلئوتیدی ناحیه ITS به روش بیژن. گونه *Diaporthe vaccinii* به عنوان آرایه خارجی در نظر گرفته شده است. مقیاس، ۰/۰۲ تغییر مورد انتظار در هر مکان را مشخص می‌کند.

Figure 2. Phylogenetic tree based on nucleotide sequences of ITS region by Bayesian method. *Diaporthe vaccinii* is used as out-group taxon. The scale bar shows 0.02 expected changes per site.

References

Ahmadi K, Ebadzadeh H, Hatami F, Hosseinpour R, Abdshah H, 2020. Agricultural Statistics of 2019 Volume 3: Horticultural Products, Ministry of Jihad Agriculture, Deputy of Planning and Economy, Information and Communication Technology Center, Iran. 163 pp.

Baradaran Baghery M, Arzanlou M, Babai-Ahari A, 2015. Identification of the fungal agents associated with almond trunk diseases in East Azerbeijan Province. *Journal of Applied Research in Plant Protection* 4 (1): 13–27.

Dudley MM, Tisserat NA, Jacobi WR, Negrón J, Stewart JE, 2020. Pathogenicity and distribution of two species of *Cytospora* on *Populus tremuloides* in portions of the Rocky Mountains and midwest in the United States. *Forest Ecology and Management* 468:118–168.

Farr DF, Rossman AY, 2020. Fungal databases, U.S. National fungus collections, ARS, USDA. Retrieved from https ://nt.ars-grin.gov/funga ldata bases/. [Accessed on 20 October 2020].

Fotouhifar KB, Hedjaroude GA, Leuchtmann A, 2010. ITS rDNA phylogeny of Iranian strains of *Cytospora* and associated teleomorphs. *Mycologia* 102 (6): 1369–82.

Golmohammadi H, 2019. Identification of the fungal species associated with dieback and canker disease of pomegranate trees in the East Azarbaijan Province. MSc thesis, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran.

Jiang N, Yang Q, Fan X-L, Tian C-M, 2020. Identification of six *Cytospora* species on Chinese chestnut in China. *MycoKeys* 62: 1–25.

Lawrence DP, Holland LA, Nouri MT, Travadon R, Abramians A, *et al.*, 2018. Molecular phylogeny of *Cytospora* species associated with canker diseases of fruit and nut crops in California, with the descriptions of ten new species and one new combination. *IMA Fungus* 9 (2): 333–370.

Mahdikhani M, Davoodi A. 2017. First report of wood canker of pomegranate caused by *Cytospora punicae* in western Iran. *New Disease Reports* 35.

Ronquist F, Huelsenbeck JP, 2003. MRBAYES 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* 19: 1572-1574.

This is an open access article under the CC BY NC license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/2.0/)