بلایت *Diplodia cupressi*؛ تهدیدی برای گونه بومی سرو زربین (*Cupressus sempervirens*) در ایران

سیده معصومه زمانی[1*]، منصوره میرابوالفتحی[2]، نرگس سپاسی[3]، یزدانفر آهنگران[4]، ریحانه غلامی[5] و محمدابراهیم فراشیانی[6]

۱، ۳، ۵، ٦- استادیار، محقق، محقق، استادیار، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران.

۲- استاد پژوهش، مؤسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران.

٤- کارشناس ارشد، دفتر حفاظت و حمایت سازمان منابع طبیعی و آبخیزداری کشور، تهران، ایران.

(تاریخ دریافت: ؛ تاریخ پذیرش:)

چکیده

درخت زربین (*Cupressus sempervirens* L. var. *horizontalis*)، از گونه‌های بازدانه بومی ایران بوده که رویشگاه‌های طبیعی آن از ذخیره‌گاه‌های مهم جنگلی ایران محسوب می‌شود. همچنین این سرو با توجه به ارزش‌های اکولوژیکی خود در حفاظت از جنگل‌ها در برابر بیابان‌زایی و حفاظت از خاک در جنگل‌کاری‌های کشور مورد استفاده قرار گرفته است. در طی دهه‌های گذشته، خشکی سرو در جنگل‌های طبیعی و دست کاشت استان‌های شمالی مشاهده شده است. این تحقیق به منظور بررسی عوامل قارچی تاثیرگذار بر خشکیدگی درختان زربین در ذخیره‌گاه آن در منطقه حسن‌آباد (استان مازندران) در تابستان ۱٤۰۲ صورت گرفت. طی بازدید از مناطق آلوده علائم خشکیدگی در شاخه‌های انتهایی درختان، سوختگی و نکروز سرشاخه و ایجاد شانکر روی تنه درختان سرو زربین مشاهده شد. با کشت قطعات بافت آلوده، جدایه‌هایی از قارچ *Diplodia cupressi* حاصل و شناسائی گردید. داده‌های توالی ITS1-5.8S-ITS2 از rDNA با استفاده از آغازگرهای ITS1 و ITS4 و جستجوی nBLAST نشان داد که این توالی با توالی ناحیه مربوطه ITS به دست آمده از گونه *D. cupressi* مطابقت دارد. بیماری‌زائی این قارچ روی نهال‌های گلدانی سرو بررسی و بیماریزا بودن آن به اثبات رسید. به نظر تغییرات آب و هوایی بویژه تنش خشکی در تابستان سبب شیوع وسیع و شدید بیماری در شمال کشور شده است.

واژه‌های کلیدی: بیماری بلایت، جنگل‌های هیرکانی، زربین، قارچ‌های نکروتروف، *Diplodia cupressi*.

Diplodia cupressi Blight; a threat to native species Cypress (*Cupressus sempervirens*) in Iran

Seyedeh Masoomeh Zamani[1*] , Mansoureh Mirabolfathy[2], Narges Sepasi[3], Yazdanfar Ahangaran[4], Reihaneh Gholami Ghavam Abad[5] and Mohammad Ebrahim Farashiani[6]

1, 3, 5, 6- Assistant Professor, Researcher, Researcher, Assistant Professor, Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran.

2- Professor, Iranian Research Institute of Plant Protection, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran.

4- MSc, Natural Resources and Watershed Management Organization.

Abstract

Cupressus sempervirens L. var. *horizontalis* is one of the indigenous species of Iran, the natural habitats of which are regarded as significant forest reserves within Iran. Owing to its ecological merits, this species has been employed in safeguarding forests against desertification and soil preservation in the forestry sector of the country. In the northern of Iran, cypress trees have commonly been observed in both natural and artificially planted forests. The purpose of this study was to investigate the fungal factors affecting the common cypress tree die back in Hassanabad (Mazandaran province) during the summer of 2023. During the examination of the affected trees, indications of drying in the terminal branches of the trees, scorching and necrosis of the upper branches, as well as canker formation on the trunks of common cypress trees observed. The infected tissues of common cypress trees were cultured on potato dextrose agar medium. Fungal isolates were obtained. Based on the macroscopic and microscopic characters of the isolates they were identified as *Diplodia cupressi* in the laboratory. To confirm the morphological identification the rDNA sequence data (ITS1-5.8S-ITS2) were obtained using primers ITS1 and ITS4, and nBLAST. The search revealed match between this sequence and the corresponding ITS region sequence derived from the holotype of *D. cupressi*. The pathogenicity of the fungus was examined on potted cypress seedlings and its pathogenicity was confirmed. This study represents the major role of D. *cupressi* as the causal agent of Common cypress canker in North of Iran.

Email: mzamani@rifr-ac.ir.

Key words: Blight, *Cupressus sempervirens*, *Diplodia cupressi*, Hyrcanian forests, Necrotrophic fungi.

مقدمه

زربین با نام علمی *Cupressus sempervirens* L. var. *horizontalis* از تیره سروها (*Cupressaceae*) یک عنصر گیاهی شاخص اقلیم مدیترانه‌ای است که بـه سرو مدیترانه نیز معروف اسـت. این درخت همیشه سبز در مناطق مدیترانه‌ای اروپا و شرایط اقلیمی مشابه آن در آسیای غربی از جمله ترکیه، ایران، سوریه، اردن و لبنان و نیز در شمال آفریقا رویش دارد (Zare, 2001). در ایران مناطق جنگلی شمال تا ارتفاع ۱۳۰۰ متری رویشگاه‌های اصلی زربین هستند؛ امـا در نواحی ارسباران و برخی مناطق جنوبی کشور از جمله بهبهان و باغملک (در استان خوزستان)، فیروزآباد (در استان فارس) و دامنه کوه تفتان در استان سیستان و بلوچستان نیز به صورت طبیعی رویش دارد (Frey & Probst 1986). زربین بعنوان تنها سرو بومی ایران که ایستگاه‌های محدودی نیز در کشور دارد؛ یک عنصر مدیترانه‌ای با ارزش و متاسفانه در حال انقراض محسوب می‌شود، از این رو جنگل‌های ذکر شده که از آخرین بقایای گونه زربین محسوب می‌شوند، ارزش فراوانی دارند.

شاخص‌ترین ذخیره‌گاه جنگلی زربین در شمال کشور در استان مازندران در منطقه حسن‌آباد در شهرستان نوشهر با توده‌هایی به نسبت پیوسته و خالص می‌باشد (Amini *et al.*, 2023). ذخیره‌گاه زربین حسن‌آباد در یال‌های طرفین رودخانه حسن آباد و جاده دوآب – گلندرود با مساحت ۷۳۹۷ هکتار پراکنش دارد و دارای حدود ۲۳۷۵ هکتار جنگل پهن برگ، ۲۲٦٦ هکتار زربین طبیعی، ۷۰۰ هکتار فضای باز، ٦۳۱ هکتار جنگل‌کاری کاج سیاه و کاج ِالدار وکاج بروسیا، ۸۷۷ هکتار جنگل‌کاری زربین، ٤۱۸ هکتار زمین‌های کشاورزی و باغی و آبادی‌ها، ۷۰ هکتار جنگل‌کاری آمیخته سرو نقره‌ای و زربین و ٦۰ هکتار حریم رودخانه چالوس می‌باشد.

نخستین بار سولل و همکاران (Solel *et al.*, ۱۹۸۷) قارچ *Diplodia pinea* f. sp. *cupressi* (Syn. *Sphaeropsis sapinea* f. sp.*cupressi*) را به عنوان عامل بیماری شانکر دیپلودیایی در تنه و شاخه‌های *C. sempervirens* در اسرائیل گزارش نموده‌اند. سوارت و گرنت (Swart and Grant, 1993) نزدیکی بین دو گونه *D. pinea* و *D. pinea* f. sp. *cupressi* را به چالش کشیده و گزارش نمودند که این دو قارچ از نظر برخی خصوصیات مورفولوژیکی مانند اندازه و شکل کنیدیوم، سرعت رشد در محیط‌های کشت مختلف و پروفایل ایزوآنزیمی، به طور قابل توجهی از یکدیگر متفاوت هستند. آنها پیشنهاد نمودند که قارچ جدا شده از سرو باید به سادگی با نام *Sphaeropsis* sp. شناخته شود تا زمانی‌که طبقه‌بندی آن بطور دقیق و از طریق مطالعات فیلوژنتیکی مشخص گردد. در نهایت Alvez و همکاران (۲۰۰٦) نام *D. cupressi* را به عنوان قارچ بیمارگر سرو معرفی نمودند. این گونه از نظر مورفولوژیکی به گونه *D. mutila* شباهت دارد اما عرض کنیدی‌ها در گونه *D. cupressi* بیشتر بوده و بر اساس این ویژگی از یکدیگر متمایز می‌شوند (Alvez *et al.* 2006).

در طول سال‌های گذشته، تعداد قابل توجهی از قارچ‌های بیماری‌زا از روی گونه‌های سرو در کشور ایران گزارش شده‌است که از میان آن‌ها می‌توان به *Pestolotiopsis funereal* بعنوان عامل بلایت خاکستری نهال‌های سرو، اشاره نمود (Borhani *et al.*, 2004). در مطالعه‌ای در استان گیلان، علل مرگ نهال‌های سوزنی برگ و از جمله گیاهان سرو زربین در نهالستان‌های لاکان بررسی شد (Herfehdoust *et al.*, 2009). بر اساس نتایج آزمایش‌های بیماری‌زایی، از میان قارچ‌های جداسازی شده، قارچ *Rhizoctonia solani* بعنوان عوامل بیماری‌زا روی زربین گزارش شد.

همچنین قارچ *Rosellinia necatrix* بعنوان عامل پوسیدگی تار عنکبوتی ریشه در درختان سرو، قارچ *Tramates radiciperda* بعنوان عامل پوسیدگی سفید چوب‌های سرو، *Collybia xylophila* بعنوان عامل خسارت روی چوب‌های سرو، شبه قارچ *Phytophthora cryptogea* بعنوان عامل بوته‌میری نهال‌های سرو معرفی شده‌اند (Niloufari, 1984).

در سال‌های اخیر نیز گزارش‌های متعددی از خشکیدگی درختان زربین در سطح جنگل‌کاری‌ها و رویشگاه‌های طبیعی این عرصه وجود دارد. در این تحقیق بازدیدهای میدانی و مطالعات آزمایشگاهی برای شناسایی عامل بیمارگر موجود در ذخیره‌گاه جنگلی زربین حسن آباد چالوس، که از بزرگترین ذخیره‌گاه‌های جنگلی کشور است به عمل آمد. پس از شناسایی عامل بیماری، بر اساس مطالعات تطبیقی در سایر کشورها تحلیلی بر عوامل محیطی تاثیرگذار بر شیوع بیماری شانکر درختان زربین و نیز دستورالعمل مناسب برای مدیریت بیماری ارائه شد.

مواد و روش‌ها

- عرصه مورد بازدید

از منطقه‌ی ذخیرگاه طبیعی زربین حسن آباد با دو سایت واقع در ابتدای جاده ساروس (UTM: 535 150 4037 344 با ارتفاع ٦٣٠ متر از سطح دریا) و جنب نهالستان کانی (UTM: 530 263 4041 597 با ارتفاع ٤٠٠ متر از سطح دریا) بازدید شد.

- نمونه‌برداری، جداسازی و شناسایی عامل بیماری

طی جنگل‌گردشی در مناطق ذکر شده، از پایه‌های دارای علائم بیماری نمونه‌برداری و نمونه‌ها به آزمایشگاه منتقل شد. قطعاتی از چوب زیر پوست شامل ناحیه حدفاصل بافت خشکیده و سالم پس از ضدعفونی سطحی در محیط کشت سیب زمینی دکستروز آگار (PDA) کشت و در انکوباتور با دمای ٢٥ درجه سلسیوس تا ایجاد کلنی قارچی نگهداری گردید. مورفولوژی اندامهای رویشی و زایشی قارچ وخصوصیات رشدی کلنی بررسی شد (Palmer *et al.*, 1987; Milijašević, 2006) و تایید گونه‌ی شناسایی شده با استفاده از آنالیزهای مولکولی، صورت پذیرفت.

بمنظور شناسایی مولکولی جدایه قارچی، تهیه توده ریسه‌ای از طریق انتقال چند قرص از کشت جوان جدایه به ارلن حاوی ٧٥ میلی‌لیتر محیط کشت مایع PDB انجام شد. ارلن به مدت ١٠ روز در دمای ٢٥ درجه سلسیوس روی دستگاه شیکر (١٢٥ دور در دقیقه) قرار داده شد، سپس محتوی آن به کمک پمپ خلاء و روی قیف بوخنر از کاغذ صافی واتمن عبور داده شد تا ریسه قارچی از محیط مایع جدا شود و پس از شستشو با آب مقطر و آبگیری به درون ویال منتقل شد. برای استخراج DNA ژنومی جدایه مطابق روش صفایی و همکاران (١٣٨٤) حدود ٤٠ تا ٥٠ میلی گرم از توده میسلیومی فریز شده جدایه درون هاون چینی قرار داده شد و پس از افزودن ازت مایع، کاملا سابیده شده تا به شکل پودر شود، مقداری از ریسه پودر شده قارچ به یک ویال ١/٥ میلی لیتری انتقال داده شد و ٥٠٠ میکرولیتر بافر استخراج (١٠٠ میلی مولار تریس، ٥ میلی مولار EDTA و١/٤مولار کلرید سدیم با ph=٥-٧/٨) به ویال اضافه شد. سپس ویال به حمام آب گرم در دمای ٦٥ درجه سلسیوس منتقل شد. بعد از سانتریفیوژ، محلول رویی به کمک میکروپایپت به ویال تمیز و سترون دیگری منتقل شد و به اندازه ٠/٧ حجم آن، ایزوپروپانول اضافه شد و بعد از مخلوط کردن محتویات با ایزپروپانول در دستگاه سانتریفیوژ شد و رسوب حاصل پس از حذف ایزوپروپانول در دمای اتاق قرار گرفت. برای بررسی کیفیت از نظر کمی و کیفی ٥ میکرولیتر از محلول در ژل آگاروز ٠/٨ درصد الکتوفورز شد. همچنین غلظت DNA توسط دستگاه بیوفتومتر مورد سنجش قرار گرفت و مقداری از آن برای تهیه ٥٠ میکرولیتر نمونه دارای غلظت ٢٠ نانوگرم در میکرولیتر DNA استفاده و رقیق‌سازی شد. پس از استخراج DNA از پرگنه جدایه قارچی، تکثیر باند اختصاصی ٥٠٠

جفت بازی با آغازگرهای ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') و ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') (Gardes and Bruns, 1993) بهینه‌سازی شد. برنامه تکثیری برای آغازگرهای ITS1 و ITS4 شامل واسرشت اولیه در دمای ۹۵ درجه به مدت ۷ دقیقه، سپس ۳۰ تا ۳۵ سیکل به صورت ۹٤ درجه سلسیوس به مدت ۱ دقیقه، ۵۸ درجه سلسیوس به مدت ۱ دقیقه، ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۲ دقیقه و بسط نهایی در ٦٨ درجه به مدت ۷ دقیقه انجام شد. بعد از تعیین توالی، قطعه مورد نظر به طول ۵۰۸ جفت باز، ابتدا توالی با استفاده از برنامه Chromas مورد بررسی قرار گرفته و اصلاح توالی صورت گرفت. سپس توالی بدست آمده با انجام آزمون جستجوی بلست (BLAST search) با توالی‌های نوکلئوتیدی سایر گونه‌های موجود در پایگاه NCBI (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast) مورد مقایسه قرار گرفت. به منظور یافتن جایگاه تاکسونومیکی توالی بدست آمده، درخت تشابه ترسیم شد. توالی نوکلئوتیدی نمونه به همراه مشابه‌ترین توالی‌های پایگاه داده با برنامه ClustalX همردیف و تنظیم شد. مدل تکاملی مربوط با استفاده از نرم‌افزارهای PAUP و MrModeltes2 انتخاب شد. آنالیز فیلوژنی و ترسیم درخت تبارشناسی مربوط با روش بیزی (Bayes) توسط نرم‌افزار MrBayes v. 3.12 انجام گرفت.

- آزمون بیماری‌زایی

به این منظور جدایه ای از قارچ مورد نظر انتخاب و روی نهال‌های ۲ ساله سرو زربین (۵ تکرار برای هر تیمار) مورد آزمون قرار گرفت، ابتدا زخمی به ابعاد ۵ میلی‌متر در زیر پوست ساقه ایجاد و قطعه ای به قطر ۳ میلیمتر از حاشیه کلنی هفت روزه قارچ روی محیط PDA برداشته و در محل زخم قرار داده شد و در محل زخم با پارافیلم پوشانده شد. در تیمارهای کنترل مشابه سایر تیمارها زخم ایجاد شد و پلاگ PDA سترون فاقد قارچ روی محل زخم قرار داده شد. پس از گذشت سه هفته، علائم بیماری در تیمارهای مختلف ارزیابی شد (Intini *et al*. 2005, Kaya *et al*. 2014).

نتایج و بحث

مشاهدات میدانی نشان داد که علایم بیماری بصورت خشکیدگی از نوک درختان ظاهر شده و به تدریج به سمت پائین ادامه یافته تا در نهایت خشکیدگی کامل درخت رخ می‌دهد (شکل ۱). روی تنه درختان آلوده، ایجاد شکاف‌هایی طولی در پوست که با ترشح صمغ همراه بود، مشاهده شد (شکل ۲). بخش چوبی تنه در ناحیه آلوده به رنگ قهوه‌ای و در بخش‌های غیر آلوده، به رنگ کاملا سفید دیده شد (شکل ۳).

شکل ۱. علائم سوختگی دیپلودیایی (*Diplodia cupressi*) روی شاخ و برگ سرو زربین (*Cupressus sempervirens*).

Fig 1. Symptoms of *Diplodia* shoot blight on *Cupressus sempervirens*.

شکل ۲. شانکرهای ایجاد شده توسط *Diplodia cupressi* روی تنه *Cupressus sempervirens*.

Fig 2. Cypress cankers on trunk of Cypresses *sempervirens* caused by *Diplodia cupressi*.

شکل ۳. تغییر رنگ تیره نسوج زیر پوست در ناحیه شانکر به سبب *Diplodia cupressi* روی سرو زربین (*Cupressus sempervirens*).

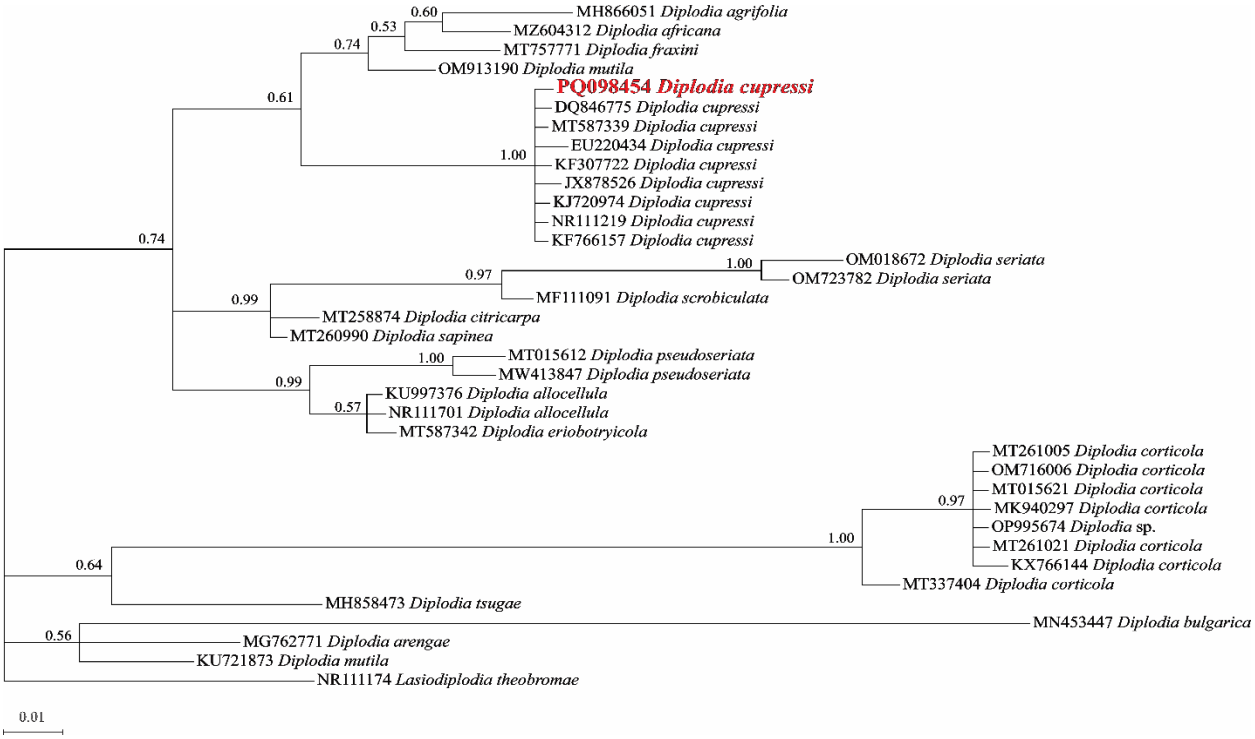
Fig 3. Discoloration of the tissues under the bark of canker caused by *Diplodia cupressi* on *Cupressus sempervirens.*

- شناسایی قارچ عامل بیماری

نتایج کشت نمونه‌ها در آزمایشگاه، بررسی خصوصیات مورفولوژیکی و میکروسکوپی کلنی‌هایِ جداسازی شده و بررسی مولکولی، نشان داد که قارچ عامل بیماری، گونه *Diplpdia cupressi* A.J.L. Phillips & A. Alves (نام سابق: *Diplodia pinea* f. sp. *Cupressi* با همنام: *Sphaeropsis sapinea* f. sp. *cupressi*) شناسائی شد.

پس از گذشت چهار روز، جدایه‌های قارچ *D. cupressi* روی محیط کشت PDA رشد شعاعی داشت، میزان رشد ۳/٦ سانتی‌متر بود و پس از گذشت هفت روز میزان رشد به ۷/۵ سانتی‌متر رسید. دمای بهینه رشد ۲۵ درجه سلسیوس اندازه‌گیری شد. پرگنه قارچ در ابتدا روشن و سپس به رنگ تیره در آمد و با گذشت زمان برخی قسمت‌های آن به رنگ خاکستری تیره مشاهده شد. سلول‌های کنیدی‌زا شفاف، صاف و هلوبلاستیک و در نوک آن‌ها کنیدیوم تشکیل شد. کنیدیوم‌ها (۲۱/۵–) ۲۳/۵ – ۲۸/۵ (–۳۰/۵) * (۱۲/۰–) ۱۳/۵– ۱۵/۰ (–۱٦/۰) میکرومتر، دارای دیواره ضخیم، تخم‌مرغی شکل با دو سر گرد، فاقد جداره عرضی، در ابتدا شفاف و پس از خروج از پیکنیدیوم به رنگ قهوه‌ای تیره دیده شد. ویژگی‌های مرفولوژی قارچ با ویژگی‌های توصیف شده توسط (Phillips *et al*. 2013) کاملاً مطابقت داشت.

توالی نوکلئوتیدی ناحیه ITS از DNA ریبوزومی جدایه ای از قارچ در پایگاه داده NCBI با کد PQ098454 ثبت شد. پس از همردیف‌سازی این توالی با نرم افزارهای Clustal X و تجزیه و تحلیل به روش بیزی، جدایه قارچی مورد بررسی رابطه نزدیکی با گونه *D. cupressi* دارد و نتیجتاً تشخیص گونه *D. cupressi* تایید شد (شکل ٤).



شکل ٤. درخت فیلوژنی بیزی (Bayesian) بازسازی شده با استفاده از توالی ITS. جدایه ایرانی، PQ098454، *Diplodia cupressi* تحت مدل GTR + G + I (مقادیر احتمال پسین بیزی بیش از ۰.۵۰ برای کلادهای مناسب ارائه شده است).

Figure 4. Bayesian 50% majority rule consensus tree inferred using ITS sequence of Iranian isolate of *Diplodia cupressi* PQ098454, under the GTR + G + I model. (Bayesian posterior probability values more than 0.50 given for appropriate clades).

- بیماری‌زایی

پس از سه هفته تمام نهال‌های زربین مایه‌زنی شده شده با قارچ *Diplodia cupressi* علائم بیماری را نشان دادند. قهوه‌ای شدن شاخه‌ها، مرگ سوزن‌ها، تغییر رنگ و نکروز در محل ایجاد زخم در تیمارهای دارای قارچ بیماری‌زا مشاهده شد ودر تیمار شاهد، نهال‌های زربین سالم و بدون علامت باقی ماندند (شکل ۵).

شکل ۵. سمت راست، نهال زربین (*Cupressus sempervirens*) مایه زنی شده شده با قارچ *Diplodia cupressi*. سمت چپ، شاهد.

Fig 5. Right, *Cupressus sempervirens* seedlings inoculated with *Diplodia cupressi*, left control.

قارچ عامل بیماری از تیمارهای مایه زنی شده با قارچ، مجددا جداسازی شد و از تیمار شاهد هیچ‌گونه عامل قارچی روی جداسازی نشد.

مطالعات بسیاری بیماری‌زایی گونه‌های دیپلودیا را به صورت ایجاد شانکر و زوال در درختان زربین اثبات کرده‌است (Hlaiem and Jamaa, 2023). بر اساس مرور منابع، بنظر می‌رسد تغییرات شدید آب و هوایی اخیر در کشور (بویژه خشکسالی‌ها) سبب ضعف و پیش آموده شدن درخت برای شیوع و افزایش شدت بیماری شده است.

گونه‌های *Diplodia* متعلق به خانواده *Botryosphaeriaceae* که به عنوان بیمارگرهای همه‌جا زی، ساپروفیت و اندوفیت شناخته می‌شوند، در طیف وسیعی از میزبان‌ها وجود دارند (Slippers and Wingfield, 2007). گونه‌های *Diplodia* در بسیاری از کشورهای دنیا از گونه‌های سرو (*Cupressus* spp.) و سایر گونه‌های مخروطی بعنوان عامل بیماری بلایت دیپلودیایی (*Diplodia* Tip Blight) گزارش شده‌اند. بیماری بلایت یا سوختگی دیپلودیایی به دلیل ماهیت اندوفیتی نهفته عامل بیماری آن، به عنوان یک تهدید نوظهور برای مخروطیان در سراسر دنیا محسوب می‌شود که با توجه به ایجاد شرایط تنش در میزبان، بویژه خشکسالی، بیولوژی آنها تغییر می‌یابد (Bußkamp 2018, Blumenstein *et al*. 2021, Terhonen *et al*. 2021). با توجه به اینکه قارچ عامل بیماری به هوای گرم تمایل بیشتری داشته، در نتیجه با تغییرات آب و هوایی که به سمت گرم شدن کره زمین ادامه می‌یابد، به مناطق جدید گسترش پیدا می‌کند و علائم بیماری در درختانی که تحت تغییرات آب و هوایی (بویژه خشکسالی) ضعیف شده باشند با شدت مضاعف نمایان می‌شود (Brodde *et al*. 2019, Adamson *et al*. 2021, Terhonen *et al*. 2021).

امروزه بخوبی مشخص شده است که با افزایش دما و خشکسالی، رویدادهای ضعف، زوال و مرگ و میر گیاهی در مقیاس منطقه‌ای در انواع مختلفی از گیاهان در سراسر دنیا در حال افزایش است که اغلب (نه همیشه) با شیوع عوامل زنده مانند حشرات و پاتوژن‌ها همراه است (Madmony *et al.*, 2018). در مناطق معتدل، خشکسالی اغلب با افزایش توسعه بیماری ناشی از پاتوژن‌ها در چندین گونه درختی همراه بوده که روی تاج درخت و یا سیستم ریشه آن تأثیرگذار بوده‌اند (Madar *et al.*, 1989). موج گرما و خشکسالی شدیدی که اروپای غربی در سال ۲۰۰۳ تجربه کرد، پیامدهای جدی بر شیوع بیماری‌های شانکر و خشکیدگی ناشی از پاتوژن‌هایی مانند *Biscognauxia*، *Cytospora* و *Diplodia* داشت و موجب به مخاطره افتادن سلامت جنگل گردید (Desprez-Loustau *et al.*, 2006).

در مورد شدت بیماری‌زایی متفاوت جدایه‌های مختلف قارچ *D. sapinea* ، علی‌رغم اینکه شدت نکروز ایجاد شده در تیمارهای مختلف تحت تاثیر بیماری‌زایی سویه‌های مختلف قارچ عامل بیماری متفاوت بوده است، اما کاهش دسترسی به آب، باعث توسعه نسوج بافت مرده در نهال‌های مایه‌زنی شده با قارچ می‌شود (Blumenstein *et al*. 2021)، این مساله با توجه به تغییرات اقلیمی پیش رو بسیار نگران کننده است.

همچنین در مطالعه‌ای دیگر هنگامی که نهال‌های سرو (*C. sempervirens*) در گلخانه در معرض کمبود شدید آب قبل یا بعد از تلقیح بودند، گسترش شانکرهای دیپلودیایی روی ساقه‌های آنها افزایش یافت و در تابستان در شرایط عرصه، توسعه شانکر روی شاخه‌ها در گیاهان بدون آبیاری در مقایسه با گیاهان آبیاری شده افزایش یافت و این نتایج خشکسالی را به عنوان عاملی مهم در شیوع شانکر دیپلودیایی در طول سال‌های خشک ۱۹۸٤–۱۹۸٦ در اسرائیل توجیه نمود (Madar *et al.*, 1989). ترپنوئیدهای ضدقارچی با نام کوپرسوتروپولون (cupressotropolone) که در هنگام آلوده شدن توسط *D. cupressi* در گیاهان سرو تولید و رشد قارچ را مهار می‌کنند، در گیاهان تحت تنش آبی در مقایسه با شاهد، آهسته‌تر و در غلظت‌های پایین‌تری تجمع می‌یابند

(Madar *et al.*, 1995). البته مکانیسم‌های دیگری نیز برای افزایش حساسیت گیاهان در برابر پاتوژن‌ها در شرایط خشکسالی مطرح شده است (Vose *et al.*, 2016).

طبق مدل بک (Beck's model)، وقوع گونه‌ها یا جدایه‌هایی با شدت بیماری‌زایی زیاد را که تحت شرایط تنش از میان جمعیت کلی عوامل بیماری‌زا انتخاب می‌شوند را نمی‌توان نادیده گرفت.

نتایج تحقیقات نشان داده است سویه‌های بیماری‌زای *D. sapinea* از میزبان‌های غیر کاج، به وضوح فعالیت تهاجمی‌تر نسبت به سویه‌های جداسازی شده از روی کاج، روی مخروطیان داشته‌اند (Blumenstein *et al*. 2021). مطالعات Ma و همکاران (۲۰۱۰) نشان داده است که انتقال افقی ژن بین سویه‌های مختلف، می‌تواند سویه‌های غیربیماری‌زا را به بیماری‌زا تبدیل کند. همچنین مطالعات ژنتیکی در روشن شدن طبقه‌بندی تاکسون‌های کمپلکس نقش بسزایی دارند. تجدید نظر در طبقه‌بندی *Botryosphaeria* (آنامورف‌های *Diplodia*، *Fusicoccum*، *Lasiodiplodia*، *Botryodiplodia*، *Sphaeropsis*) در سال‌های اخیر با استفاده از ابزارهای مولکولی پیشرفت قابل توجهی داشته است (Phillips *et al.*, 2013; Liang *et al.*, 2024). حل پیچیدگی‌های طبقه‌بندی گونه‌ای می‌تواند به حل سؤالات مربوط به اپیدمیولوژی این گونه‌ها، از جمله دامنه میزبانی و تعامل با خشکسالی کمک شایان نماید. جدایی گونه جدید *D. cupressi* بعنوان عامل بلایت دیپلودیایی درختان سرو از *D. sapinea*، عامل همراه خشکی و شانکر درختان کاج مثال گویایی در این مورد است.

تغییرات آب و هوایی در مناطق معتدل ممکن است بویژه به نفع قارچ‌های گرمادوستی باشد که می‌توانند در درختان تا زمانی که با خشکسالی و کمبود آب مواجه نشده‌اند باقی بمانند، *Cryptostroma corticale*، Biscognauxia mediterranea و *D. cupressi* نمونه‌ای از آن‌ها هستند. بنابراین ظهور گونه‌های جدید و ناشناخته به دلیل تغییرات آب و هوایی به تنهایی تهدیدی برای سلامت جنگل‌ها نبوده (Prospero *et al*. 2021)، بلکه قارچ‌های اندوفیت با منشاء مدیترانه‌ای یا گرمسیری که به دلیل نامساعد شدن آب و هوا (بویژه با بروز خشکسالی‌ها) تبدیل به بیمارگرهای فرصت طلب می‌شوند و دامنه جغرافیایی خود را در پاسخ به تغییرات آب و هوایی گسترش می‌دهند، تهدیدی جدی دیگر در جنگل‌ها هستند (Szczepaniec & Finke 2019).

برای جلوگیری از شیوع وسیع بیماری در جنگل‌های دست کاشت لازم است، پایش عرصه‌های آلوده به طور منظم صوررت گیرد و شاخه‌هایی که علائم خشکیدگی نشان می‌دهند مرتباً هرس و حذف شوند. حذف و از بین بردن شاخه‌های خشکیده می‌تواند از توسعه بیشتر عامل جلوگیری کرده و نیز موجب کاهش مایه آلوده کننده در توده‌های آلوده شود. مشروط بر اینکه تمام مواد آلوده سوزانده شوند، انجام هرس و برش در هوای خشک و پرهیز از هرس شدید مانع از انتشار مایه آلوده کننده می‌شود.

بررسی اثر هرس بر توسعه شانکرهای سرو توسط (Hood *et al.*, 2009) مطالعه شده است. در مطالعه Madar و همکاران (۱۹۹۱) گزارش شده است که هرس شاخه‌های جانبی درختان سرو ممکن است به دلیل ایجاد زخم راه نفوذ قارچ را هموار کرده و بروز و شدت شانکرهای ناشی از قارچ سیریدیوم (*Seiridium cardinale*) و دیپلودیا (*D. cupressi*) را به طور قابل‌توجهی افزایش دهد. این یافته‌ها با گزارش‌های قبلی که زخم‌ها بعنوان محل‌های تهاجم پاتوژن‌ها عمل می‌کنند را تایید کرده است (Solel *et al.*, 1987). در همین تحقیق مشخص شد استفاده از خمیر پانسمان زخم روی زخم‌ها در هرس زمستانه و بهاره در برابر شانکرهای ناشی از *D. cupressi* موثر بوده است، اما در هرس تابستانی یا پاییزی خیر. احتمالا، به این دلیل که درختان سرو در ماه‌های سرد و مرطوب فعال هستند و در ماه‌های گرم و خشک غیر فعال هستند، و در این فصول ترمیم زخم رخ نمی‌دهد. از اینرو با گذشت زمان، خمیر از بین می‌رود و عامل بیماری زا ممکن است از طریق زخم التیام نیافته نفوذ کند (Madar *et al.* 1991). با این توضیح که در تحقیق ایشان، خمیر پانسمان زخم فاقد هر نوع قارچکش بود. اما درتحقیقی در نیوزیلند هرس شدت آسیب را افزایش داده

است، لیکن شانکر جدید بروز نکرده است، به این معنی که قارچ ممکن است به آسانی از طریق زخم‌های هرس قادر به آلوده‌سازی گیاه نباشند (Self, 2000). سلف و کوهن (Self and Chou,1994) بین پلات‌های هرس شده و هرس نشده سرو *C. lusitanica* تفاوت معنی‌داری در بروز شانکر مشاهده ننمودند و در نهایت استدلال نمودند که تعداد بیشتر درختان با علائم ناهنجار و شانکر شدید، ناشی از استرس هرس است. نتیجه مشابهی با همان گونه میزبان توسط Millner and Murti (2006) یافت شد. اما باید توجه داشت که گونه *C. lusitanica* کمتر از دیگر گونه‌های سرو تحت تأثیر شانکر سرو قرار می‌گیرد؛ بطوریکه در آزمایش Self and Chou (۱۹۹٤) حدود ۸۰ درصد درختان فقط شانکرهای خفیف داشتند یا اصلاً شانکری نداشتند. بنابراین ممکن است هرس نادرست در جنگل‌کاری‌هایِ به شدت بیمار و روی گونه‌هایِ حساسِ سرو فراوانی و همچنین شدت شانکر را افزایش دهد.

هرس اصولی که برای مهار عامل بیمارگر توصیه شده است شامل هرس در زمستان است، زیرا بر اساس گزارش‌ها، دماهای پایین زمستانه پراکندگی مایه آلوده‌کننده و نفوذ دیپلودیا را به حداقل می‌رساند (Swart and Wingfield, 1991). همچنین هرس باید به گونه‌ای انجام شود که فقط مقدار کمی (۲۵٪) از شاخ و برگ برداشته شود. هرس متوسط (۳۹٪) یا سنگین (٤۹٪) می‌تواند تنش فیزیولوژیکی ایجاد کند و منجر به بروز بیماری توسط دیپلودیا شود (Chou and MacKenzie, 1988). زخم‌های هرس راهی مضاعف برای ایجاد آلودگی توسط این قارچ را فراهم می‌کند، بنابراین پوشش زخم‌ها با پانسمان دارای قارچ‌کش می‌تواند این راه را سد نماید (Epstein *et al.*, 2008). در عرصه‌های طبیعی استراتژی‌های هرس، هم از نظر اقتصادی و هم از نظر نیروی کار غیرعملی هستند.

در ذخیرگاه‌های طبیعی استراتژی کنترل بیماری باید محتاطانه‌تر و بر اساس ادغام روش‌های مختلف اتخاذ شوند؛ این راهکارها شامل حذف درختان کاملا خشکیده، اتخاذ رویکردهایی برای بهداشت گسترده در سراسر عرصه؛ درمان‌های شیمیایی پیشگیرانه در نهالستان‌های هم جوار و استفاده از لاین‌های منتخب سرو با اجرای برنامه اصلاحی برای مقاومت به شانکر می‌باشند.

حذف منبع آلودگی اصلی‌ترین روش مستقیم برای کنترل شانکر سرو است (Danti *et al.*, 2013). در توده‌های آلوده پایه‌هایی که شدت آلودگی بالایی دارند (بنحوی که میزان خشکیدگی آنها بیش از ۷۰ درصد توده سوزنی است) برای جلوگیری از تکثیر انبوه مایه آلوده کننده قارچی حذف شوند.

رعایت بهداشت در نهالستان‌های زربین ضروری است زیرا می‌تواند به عنوان یک مخزن قارچ عمل کنند و بر فشار تکثیر و فراوانی مایه آلوده کننده در رویشگاه‌های طبیعی تأثیر بگذارند. جابجایی نهال‌ها در نهالستان‌ها از عوامل جابجایی بیمارگر گیاهی است. به اضافه اینکه نهالستان‌ها می‌توانند مکانی ایده‌آل برای ایجاد جدایه های جدیدی از پاتوژن‌ها باشند؛ بطوریکه جدایه های جدیدی از پاتوژن‌ها می‌توانند در نتیجه هیبریداسیون بین گونه‌ای در نهالستان‌ها ایجاد و به رویشگاه‌های طبیعی منتقل شوند (Danti *et al.*, 2013; Danti and Della Rocca, 2017).

از آنجا که در حال حاضر سرو زربین در نهالستان‌های متعددی در استان‌های شمالی کشور وجود دارد باید این موضوع نیز مد نظر برنامه‌های مدیریت بیماری قرار گیرد. به همین لحاظ تمام نهالستان‌ها ملزم به حذف پایه‌های آلوده بعنوان یک اقدام پیشگیرانه جهت به حداقل رساندن ایجاد مایه آلوده کننده شوند. اثرات مفید این استراتژی منجر به نتایج پایداری بویژه در آمریکا شده است و هنوز قابل مشاهده است؛ بدین ترتیب که شانکر سرو در حال حاضر به عنوان یک بیماری اندمیک در آنجا وجود دارد و عدم وجود تراکم کافی از مایه آلوده کننده و نیز عدم تداوم داد و ستد و کاشت میزبان‌های حساس مانع از بروز همه گیری‌های جدید در این مناطق شده است (Danti *et al.*, 2013; Danti and Della Rocca, 2017).

مهمترین قارچ‌کش‌هایی که تاکنون در دنیا برای استفاده در نهالستان‌ها، درختان با ارزش بالا و نیز مواردی برای چشم‌اندازها علیه دیپلودیا برچسب‌گذاری شده‌اند عبارتند از: آزوکسی استروبین، پروپیکونازول و تیوفانات متیل. قارچ‌کش‌ها اگر در بازه زمانی قبل از جوانه زدن و نهایتا ۷ تا ۱۰ روز پس از آن استفاده شوند بیشترین تأثیر را دارند (Danti *et al.*, 2013).

در برنامه‌های بلندمدت، لحاظ نمودن پایه‌های با حساسیت پایین‌تر (از طریق انتخاب کلونال در توده‌های طبیعی که در آن بیماری وجود داشته یا با اصلاح نژادی بین درختان منتخب در پلات‌های آزمایشی) بعنوان جایگزین و یا استفاده از گیاهان غیرمیزبان بعنوان جایگزین درختان حذف شده در سایت‌هایی با سابقه بیماری راهکاری برای مقابله با اپیدمی بیماری است. سیاست عدم کاشت گونه‌های سروِ مستعدِ ابتلا به شانکر در سطوح وسیع، تجمع مایه آلوده کننده را به حداقل می‌رساند. در بلندمدت، عدم تداوم پایه‌های میزبان حساس گسترش بیماری را در سال‌های بعد محدود می‌نماید(Danti *et al.*, 2013; Danti and Della Rocca, 2017).

سپاسگزاری

بدینوسیله از موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور برای پیشیبانی مالی و از سازمان منابع طبیعی و آبخیزداری کشور برای پشتیبانی تدارکاتی انجام شده در اجرای تحقیق سپاسگزاری می‌شود.

References

ADAMSON, K., M. LAAS, K. BLUMENSTEIN, J. BUSSKAMP, G.J. LANGER, D. Klavina, et al., 2021. Highly clonal structure and abundance of one haplotype characterise the *Diplodia sapinea* populations in Europe and Western Asia. Journal of Fungi 7(8): 634. doi: 10.3390/jof7080634.

ALVES, A., A. CORREIA, A.J.L. PHILLIPS, 2006. Multi-gene genealogies and morphological data support *Diplodia cupressi* sp. nov., previously recognized as *D. pinea* f. sp. *cupressi*, as a distinct species. Fungal Diversity 23: 1-15. doi.org/10.3390/jof9070742.

AMINI, T., H. EJTEHADI, M. JAMALI, F. GUIBAL, H. ZARE, 2023. Floristic studies and ecology of cypress communities (*Cupressus sempervirens* L.) in Hyrcanian chorion, north of Iran. The Iranian Journal of Botany 29(1): 29-39. (in Persian with English summary). doi: 10.22092/ijb.2023.129427.

BLUMENSTEIN K., J. BUßKAMP, G.J. LANGER, R. SCHLÖßER, N.M. PARRA ROJAS, E. TERHONEN, 2021. *Sphaeropsis sapinea* and associated endophytes in scots pine: interactions and effect on the host under variable water content. Frontiers in Forests and Global Change volume 4. doi: 10.3389/ffgc.2021.655769.

BORHANI, A., H. BARIMANI, S. Mohammadnejad Kiasari, 2004. Assimilation on cypress (*Cupressus semperuirens* var. *horizentalis*) death in the forestation of Behshar area. Pajouhesh & Sazandegi Journal 63: 16-22. (in Persian with English summary).

BRODDE, L., K. ADAMSON, J. JULIO CAMARERO, C. CASTAÑO, R. DRENKHAN, A. LEHTIJARVI, N. LUCHI, D. MIGLIORINI, Á. SANCHEZ-MIRANDA, J. STENLID, Ş. ÖZDAG, J. OLIVA, 2019. *Diplodia* Tip Blight on Its Way to the North: Drivers of Disease Emergence in Northern Europe. Frontiers in Plant Science 9:1818. doi: 10.3389/fpls.2018.01818.

BUßKAMP, J., 2018. Schadenserhebung, Kartierung und Charakterisierung des" *Diplodia-Triebsterbens*" der Kiefer, insbesondere des endophytischen Vorkommens inden klimasensiblen Räumen und Identifikation von den in Kiefer (*Pinus sylvestris*)vorkommenden Endophyten (Kassel: Universität Kassel).

CHOU, C.K.S., M. MACKENZIE, 1988. Effect of pruning intensity and season on *Diplodia pinea* infection of *Pinus radiata* stem through pruning wounds. European Journal of Forest Pathology 18: 437–444. doi.org/10.1111/j.1439-0329.1988.tb00233.x.

DANTI, R., G. DELLA ROCCA, 2017. Epidemiological History of Cypress Canker Disease in Source and Invasion Sites. Forests 8(4):121. doi.org/10.3390/f8040121.

DANTI, R., G. DELLA ROCCA, A. PANCONESI, 2013. Cypress Canker. In Infectious Forest Diseases; GONTHIER, P., G. NICOLOTTI, Eds.; CABI: Wallingford, CT, USA; Oxfordshire, UK; Boston, MA, USA, pp. 359–375.

EPSTEIN, L., K. SUKHWINDER, J.S. VANDER GHEYNST, 2008. *Botryosphaeria*-related dieback and control investigated in noncoastal California grapevines. California Agriculture 62: 161–166. doi:10.3733/ca.v062n04p161.

FREY, W., W. PROBST, 1986. A synopsis of the vegetation of Iran. In: Contribution to the vegetation of Southwest Asia (Ed. KURSCHNER, H.) 1-43. Dr. Ludwig, Reichert. Verlag, Wiesbaden.

GARDES, M., T.D. BRUNS, 1993. ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes—application to the identification of mycorrhizae and rusts. Molecular Ecology 2: 113–118. doi.org/10.1111/j.1365-294X.1993.tb00005.x.

HERFEHDOUST, F., T. ROSTAMI SHAHRAJI, M. QHODSKHAH, A. KHODAPARAST., 2009. Investigation on agent conifer damping off in the forest nursery of Lakan. Iranian Quarterly of Forest and Spruce Research 17 (2): 263-271.

HLAIEM, S., M.L. BEN JAMAA, 2023. Biological characteristics of *Diplodia sapinea* f. sp. *cupressi* infecting *Cupressus sempervirens* L. in Tunisia. Plant Pathology and Quarantine 13: 55–62. 10.5943/ppq/13/1/5. doi:10.5943/ppq/13/1/5.

HOOD, I.A., J.F. GARDNER, R.J. HOOD, B. SMITH, G. PHILLIPS, 2009. Pruning and cypress canker in New Zealand. Australasian Plant Pathology, 38: 472–477. doi:10.1071/AP09029.

INTINI, M., A. PANCONESI, M.L. BEN JAMAA, G. STANOSZ, D. Smith, 2005. First Report of *Diplodia* Canker of Cypress Caused by *Diplodia pinea* f. sp. *cupressi* on Mediterranean Cypress in Tunisia. Plant Disease 89 (11): 1246. doi: 10.1094/PD-89-1246A.

KAYA, A.G.A., A. LEHTIJARVI, O. KAYA, T. DOGMUS- LEHTIJARVI, 2014. First Report of *Diplodia pinea* on *Pseudotsuga menziesii* in Turkey. Plant Disease 98(5): 689. doi: 10.1094/PDIS-07-13-0765-PDN.

LIANG, D., J. YIRU, ZH. YU, M. CHENGXING, M. TIANLIN, ZH. CHUANQING, 2024. The Comparative Genomics of *Botryosphaeriaceae* Suggests Gene Families of *Botryosphaeria dothidea* Related to Pathogenicity on Chinese Hickory Tree. Journal of Fungi 10(4): 299. doi: 10.3390/jof10040299.

MA, L.J., H.C. VAN DER DOES, K.A. BORKOVICH, J.J. COLEMAN, M.J. DABOUSSI, A. DI PIETRO, et al. 2010. Comparative genomics reveals mobile pathogenicity chromosomes in *Fusarium*. Nature 464: 367–373. doi: 10.1038/nature08850.

MADAR, Z., Z. SOLEL, A. SZTEJNBERG, M. KIMCHI, 1991. Effect of pruning of trunk side-branches of cypress on infection by Seiridium cardinal and *Diplodia pinea* f. sp. *cupressi*. Forest Ecology and Management 44: 255–260. doi: 10.1016/0378-1127(91)90012-K.

MADAR, Z., Z. SOLEL, J. RIOV, A. SZTEJNBERG, 1995. Phytoalexin production by cypress in response to infection by *Diplodia pinea* f. sp. *cupressi* and its relation to water stress. Physiological and Molecular Plant Pathology 47: 29–38. doi.org/10.1006/pmpp.1995.1040.

MADAR, Z., Z. SOLEL, M. KIMCHI, 1989. Effect of water stress in cypress on the development of cankers caused by *Diplodia pinea* f.sp. *cupressi* and *Seiridium cardinale*. Plant Disease 73: 484–486.

MADMONY, A., R. TOGNETTI, L. ZAMPONI, P. CAPRETTI, M. MICHELOZZI, 2018. Monoterpene responses to interacting effects of drought stress and infection by the fungus *Heterobasidion parviporum* in two clones of Norway spruce (*Picea abies*). Environmental and Experimental Botany, 152: 137-148. doi.org/10.1016/j.envexpbot.2018.03.007.

MILIJAŠEVIĆ, T., 2006. Effect of temperature on the mycelial growth of the fungus *Sphaeropsis sapinea*. Glasnik Šumarskog Fakulteta 94: 211-222. doi:10.2298/GSF0694211M.

MILLNER, J., Y. MURTI, 2006. Pruning of the cypress lusitanica. New Zealand Tree Grower 27(1): 34.

NILOUFARI, P. 1984. Fungi flora of Iranian forests. Jahad Daneshgahi Publication, (in Persian). 142 p.

PALMER, M.A., E.L. STEWART, M.J. WINGFIELD, 1987. Variation among isolates of *Sphaeropsis sapinea* in the north central United States. Phytopathology 77: 944–948. doi: 10.1094/Phyto-77-944.

PHILLIPS, A.J.L., A. ALVES, J. ABDOLLAHZADEH, B. SLIPPERS, M.J. WINGFIELD, J.Z. GROENWALD, P.W. CROUS, 2013. The *Botryosphaeriaceae*: genera and species known from culture. Studies in Mycology 76: 51–167. doi.org/10.3114/sim0021.

PROSPERO, S., L. BOTELLA, A. Santini, C. Robin, 2021. Biological control of emerging forest diseases: How can we move from dreams to reality? Forest Ecology and Management 119377. doi: 10.1016/j.foreco.2021.119377.

SELF, N.M. 2000. Cypress canker. New Zealand Tree Grower 21(2): 31–32.

SELF, N.M., C.K.S. CHOU, 1994. Pruning effect on incidence and severity of *Seiridium* cypress canker in a stand of *Cupressus lusitanica*. New Zealand Journal of Forestry Science 24: 75–77.

SLIPPERS, B., M.J. WINGFIELD, 2007. *Botryosphaeriaceae* as endophytes and latent pathogens of woody plants. Diversity, ecology and impact. Fungal Biology Reviews 21: 90-106. doi:10.1016/j.fbr.2007.06.002.

SOLEL, Z., Z. MADAR, M. KIMCHI, Y. GOLAN, 1987. *Diplodia* canker of cypress. Canadian Journal of Plant Pathology 9(2): 115–118. doi.org/10.1080/07060668709501890

SWART, W.J., M.J. WINGFIELD, 1991. Biology and control of *Sphaeropsis sapinea* on Pinus species in South Africa. Plant Disease 75: 761-766. doi: 10.1094/PD-75-0761.

SWART, W.J., M.J. WINGFIELD, P.S. KNOX-DAVIES, 1987. Conidial dispersal of *Sphaeropsis sapinea* in three climatic regions of South Africa. Plant Disease 71: 1038–1040. doi: 10.1094/PD-71-1038.

SWART, W.J.; W.S. GRANT, 1993. Comparison of *Sphaeropsis sapinea* and *Sphaeropsis sapinea* f. sp. *cupressi*. Mycological Research 97(10): 1253–1260. doi.org/10.1016/S0953-7562(09)81294-X.

SZCZEPANIEC, A. D. FINKE, 2019. Plant-vector-pathogen interactions in the context of drought stress. Frontiers in Ecology and Evolution 7. doi: 10.3389/fevo.2019.00262.

TERHONEN, E., J. BABALOLA, R. KASANEN, R. JALKANEN, K. BLUMENSTEIN, 2021. *Sphaeropsis sapinea* found as symptomless endophyte in Finland. Silva Fennica 55: 13. doi: 10.14214/sf.10420.

VOSE, J.M., C.F. MINIAT, C.H. LUCE, et al., 2016. Ecohydrological implications of drought for forests in the United States. Forest Ecology and Management 380: 335–345. doi.org/10.1016/j.foreco.2016.03.025.

ZARE, H., 2001. Introduced and Native Conifers in Iran. Research Institute of Forest and Rangelands Press, Tehran. 498 P.