بررسی پراکنش، فراوانی و اهمیت نسبی قارچ های بیماریزای طوقه و ریشه ماش در استان خوزستان

وحید کشاورز توحید[۱]*، رضا فرخی نژاد[۲]، صدیقه عظیمی[۳] و ابراهیم اسداغی[۴]

۱*- **نویسنده مسوول:** مربی گروه گیاه پزشکی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان

۲، ۳ و ۴- به ترتیب استاد، مربی گروه گیاه پزشکی دانشگاه شهید چمران و مربی گروه گیاه پزشکی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان

تاریخ دریافت: ۹۱/۴/۵ تاریخ پذیرش: ۹۲/۸/۲۰

چکیده

گیاه ماش با نام علمی *Vigna radiata* (Wilczek) به دلیل دارا بودن پروتئین بالا، دوره کشت کوتاه و گرمادوست بودن از حبوبات مهم کشت شده در مناطق گرم و نیمه‌گرم جهان می‌باشد. در ایران این محصول در سطح وسیعی در خوزستان کشت شده و در مقایسه با سایر استان‌ها از اهمیت بیشتری برخوردار است. از بیماری-های مهم این گیاه بیماری‌های قارچی طوقه و ریشه است که در سراسر دنیا دارای اهمیت می‌باشد. در این تحقیق به بررسی و شناخت بیماری‌های طوقه و ریشه ماش در استان خوزستان پرداخته شد و اهمیت، فراوانی و پراکنش این عوامل مورد بررسی قرار گرفت. برای این منظور در تابستان و پائیز سال ۱۳۸۹ و ۱۳۹۰ از مناطق عمده ماش کاری استان خوزستان شامل ملاثانی، دزفول، شوشتر، آبید، گتوند، رامهرمز و سوسنگرد ۷۸ نمونه جمع‌آوری شد و از نمونه‌های جمع‌آوری شده قارچ‌های *Rhizoctonia solani*, *Fusariun solani* و *Macrophomina phaseolina* جداسازی گردید. قارچ‌های فوق در اکثر مناطق استان مشاهده شد. بررسی آماری داده‌ها حاکی از آن بود که قارچ *M. phaseolina* با ۷۰/۵۱ درصد مهمترین عامل پژمردگی و خشکیدگی این گیاه در استان خوزستان می‌باشد و قارچ‌های *R. solani* با ۱۷/۹۵ درصد و *F. solani* با ۱۱/۵٤ درصد در درجه بعدی اهمیت قرار دارند. همچنین مشخص گردید که جدایه‌های قارچ *M. phaseolina* جداسازی شده از ماش از نظر حساسیت به کلرات به دو گروه حساس با ۷۷/۳ درصد و مقاوم با ۲۲/۷ درصد تقسیم می‌شوند. جدایه‌های حساس به کلرات دارای فنوتیپ‌های محدود و پروش بوده و جدایه‌های مقاوم به کلرات دارای فنوتیپ متراکم بود. بررسی آماری بیماریزایی فنوتیپ‌های مختلف ماکروفومینا نشان داد که جدایه‌های مقاوم به کلرات با فنوتیپ متراکم شدیدا بیماریزا بوده و پس از آن جدایه‌های حساس به کلرات با فنوتیپ پروش قرار داشتند و جدایه‌های حساس با فنوتیپ محدود از دو گروه دیگر کم آزارتر بودند.

کلید واژه ها: بیماریزایی ، پوسیدگی، ماکروفومینا، فوزاریوم و ریزوکتونیا

مقدمه

گیاه ماش با نام علمی *Vigna radiata* (Wilczek) در انگلیسی به اسم Green gram یا Mung bean و یا Golden gram شناخته می شود. نام علمی قدیمی آن نیز *Phaseolus aureus* بوده است (کوچکی و بنایان اول، ۱۳۷۶؛ کوچکی، ۱۳۶۸؛ مجنون‌حسینی، ۱۳۸۳). این گیاه بطور وسیعی در هندوستان و برمه، پاکستان، بنگلادش و تایلند کشت می-شود. بومی هندوستان است اما در چین، ایران، ژاپن، آمریکا، سریلانکا، ویتنام و به میزان کمتر در بعضی از قسمت‌های آفریقا، در مناطق گرم جنوب اروپا ، شمال استرالیا و برزیل کشت می‌شود. سطح زیر کشت آن در دنیا در حدود ۲/۵ میلیون هکتار است و سالانه ۰/۸ میلیون تن دانه تولید می‌شود. دانه ماش از نظر پروتئینی

غنی است و دارای ۲۵٪ پروتئین می باشد. ماش همچنین علوفه‌ای خوش خوراک برای دامهاست و بخوبی سیلو می‌شود. بدلیل قابلیت تثبیت ازت اخیرا کشت آن بعنوان کود سبز جهت تقویت زمین معمول شده است. همچنین بعلت داشتن دوره رشد کوتاه، مناسب تناوب زراعی در زراعت‌های فشرده است (کوچکی و بنایان اول ،۱۳۷۶؛ مجنون‌حسینی،۱۳۸۳). طبق نتایج تفصیلی سرشماری عمومی کشاورزی انتشارات مرکز آمار ایران در سال ۱۳۸۲، سطح زیر کشت ماش در ایران ۱۶۱۶۷ هکتار بوده که ۶۴۰۱ هکتار آن در خوزستان می‌باشد، در نتیجه سطح زیر کشت این محصول در خوزستان به مراتب بیشتر از سایر استان‌ها می‌باشد (بی نام،۱۳۸۲؛ شیرین و همکاران،۱۳۸۷). ماش نباتی مخصوص آب و هوای گرم است و خشکی را تا حدود زیادی تحمل می‌نماید. این گیاه تابستانه بوده و نیاز حرارتی نسبتا زیادی دارد به همین دلیل این گیاه به آسانی در شرایط آب و هوایی خوزستان بعد از گندم و جو قابل کشت است و سطح زیر کشت بالایی را به خود اختصاص داده است. از میان بیماری‌های قارچی، ویروسی، باکتریایی و نماتدی، بیماری‌های قارچی خاکزاد از اهمیت ویژه‌ای برخوردارند (قادری و همکاران؛ ۱۳۸۹، کوچکی و بنایان اول،۱۳۷۶؛ مجنون‌حسینی،۱۳۸۳، فولبوم و همکاران[1]، ۱۹۹۶ ؛ گورروگونزالز و همکاران[2]، ۲۰۱۱). با این وجود و علی‌رغم کشت وسیع گیاه ماش در استان خوزستان تاکنون تحقیق جامع و کاملی در این خصوص انجام نگرفته است.

در این تحقیق به بررسی قارچ‌های همراه طوقه و ریشه ماش پرداخته شده و پراکنش و فروانی این قارچ‌ها مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها

نمونه برداری

در تابستان و پائیز سال ۱۳۸۹ و ۱۳۹۰ از مناطق عمده ماش کاری استان خوزستان شامل ملاثانی، دزفول، شوشتر، آبید، گتوند، رامهرمز و سوسنگرد نمونه‌برداری انجام گرفت. برای این منظور طی پیمایش مزارع به صورت قطری از گیاهانی که دارای علائم پژمردگی، زردی و توقف رشد بوده و در طوقه و ریشه آنها علائم پوسیدگی و تغییر رنگ مانند سیاه شدگی و یا قهوه‌ای شدن مشاهده می‌شد نمونه برداری به عمل آمد. نمونه‌ها در کیسه‌های پلاستیکی گذاشته و جهت جداسازی عوامل قارچی به آزمایشگاه منتقل گردیدند.

جداسازی و خالص سازی قارچ‌های همراه طوقه و ریشه

در آزمایشگاه قسمت‌های آلوده بخوبی زیر شیر آب شسته شده و سپس از حاشیه قسمت‌های آلوده که در مجاورت بافت‌های سالم بودند قطعات یک تا ۲ سانتی-متری تهیه گردید. این قطعات پس از تبدیل به تکه‌های کوچکتر، در زیر هود بوسیله هیپوکلریت سدیم[3] یک درصد به مدت یک دقیقه ضد عفونی شده و پس از دوبار شستشو با آب مقطر سترون با استفاده از کاغذ صافی سترون خشک گردیدند. این قطعات در تشتک-های پتری حاوی آب آگار[4] قرار داده شدند. تشتک‌های پتری در انکوباتور با دمای ۱±۲۵ درجه سلسیوس نگهداری گردیدند. خالص سازی بیمارگرها با استفاده از روش نوک ریسه انجام شد. کشت‌های جدید در انکوباتور در دمای ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری شدند. به منظور نگهداری طولانی مدت جدایه‌های قارچ، آنها را به لوله‌های آزمایش حاوی سیب زمینی دکستروز آگار[5] منتقل کرده و پس از رشد قارچ درون آنها، در یخچال نگهداری گردید.

1- Fuhlbohm *et al.*
2-Guerrero-Gonza´lez *et al.*

3 - Sodium Hypochlorite
4 - Water Agar
5 - Potato Dextrose Agar

شناسایی قارچ‌های جداسازی شده

شناسایی بیمارگرها با استفاده از خصوصیات فیزیولوژیکی، ریخت شناسی میسلیوم و اسپور با استفاده از کلیدهای قارچ شناسی معتبر صورت گرفت.

شناسایی قارچ ریزوکتونیا:

برای شناسایی این قارچ از خصوصیات میکروسکوپی و ریخت‌شناسی به کمک روش اسنه و همکاران[1] (۱۹۹۱ و ۱۹۹۶) استفاده شد. به منظور بررسی خصوصیات از محیط سیب‌زمینی دکستروز آگار استفاده شد و جدایه‌ها در دمای ۲۵ درجه سلسیوس با ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند. خصوصیات مورد بررسی عبارت بودند از: خصوصیات ریسه و انشعابات آن، قطر ریسه، وجود یا عدم وجود اسکلروت، قطر اسکلروت و رنگ آن، تعداد هسته در هر سلول ریسه. همچنین به منظور تعیین گروه آناستوموزی با استفاده از جدایه‌های استاندارد از طرق کشت متقابل بر روی لام آغشته به آب آگار استفاده شد.

شناسایی قارچ فوزاریوم:

به منظور شناسایی گونه‌های فوزاریوم از روش نلسون و همکاران [2] (۱۹۸۳) استفاده شد. جدایه‌ها پس از تک اسپور کردن روی محیط کشت سیب‌زمینی دکستروز آگار و برگ میخک آگار[3] در دمای ۲۵ درجه سلسیوس با ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی کشت داده شدند. خصوصیات مورد استفاده در شناسایی گونه‌ها شامل: شکل ماکروکنیدیوم، وجود یا عدم وجود میکروکنیدیوم و شکل آن، شکل فیالید (منوفیالید و پلی-فیالید) وجود پاشنه یا عدم وجود آن در ماکروکنیدیوم‌ها، وجود و یا عدم وجود کلامیدوسپور، تشکیل اسپورودوکیوم در محیط برگ میخک آگار و رنگ آن، نرخ رشد پرگنه و رنگ آنها بخصوص از سطح زیری پتری سیب‌زمینی دکستروز آگار.

1 - Sneh *et al.*
2- Nelson *et al.*
3 - Carnation Leaf Agar

شناسایی قارچ ماکروفومینا:

برای شناسایی این قارچ از خصوصیات میکروسکوپی و ریخت‌شناسی مانند شکل میسلیوم، رنگ و شکل پرگنه، وجود میکرواسکلروت و میزان آن استفاده شد. همچنین بررسی سرعت رشد در دمای بالای ۳۰ درجه سیلسیوس که از خصوصیات فیزیولوژیک مناسب برای شناسایی این قارچ است نیز استفاده گردید (بیزفرناندز و همکاران[4]، ۲۰۰۶ و دهینگرا و سینکلیر[5]، ۱۹۷۸).

آزمون بیماریزایی

آزمون بیماریزایی قارچ ریزوکتونیا:

به منظور بررسی بیماریزایی قارچ ریزوکتونیا از روش اسنه و همکاران (۱۹۹۱ و ۱۹۹۶) استفاده شد. ابتدا دانه-های گندم به مدت ۲۴ ساعت در آب خیس شد. سپس دانه‌های خیس شده درون شیشه‌های درپیچ‌دار به مدت نیم ساعت در فشار ۱۵ پوند و دمای ۱۲۱ درجه سیلسیوس در دو روز متوالی سترون گردید. از حاشیه پرگنه‌های کشت سه روزه قارچ، سه قرص نه میلیمتری درون هر شیشه حاوی گندم سترون قرار گرفت و تا آلوده شدن کامل دانه‌های گندم، شیشه‌های درپیچ‌دار در دمای ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری شدند. هر سه روز یکبار شیشه‌های مایه زنی شده تکان داده شدند.

به منظور تهیه گیاهچه جهت مایه‌زنی، بذرهای ماش رقم محلی ابتدا با هیپوکلریت سدیم ۱ درصد به مدت ۵ دقیقه ضدعفونی شدند و سپس بذور با آب مقطر سترون شسته شدند. برای جوانه‌زنی، بذور درون تشتک پتری حاوی کاغذ صافی سترون و مرطوب قرار داده شدند. بذرها به مدت ۲۴ ساعت تحت این شرایط در دمای ۲۵ درجه سیلسیوس نگهداری شدند و در طی این مدت رطوبت کاغذ صافی حفظ شد. بذرهای جوانه زده و سالم به گلدان‌های حاوی خاک ماسه‌ای سترون منتقل و پس از یک هفته مایه‌زنی شدند. جهت انجام تست

4- Beas-Fernández *et al.*
5- Dhingra & Sinclair

بیماریزایی خاک اطراف گیاهچه به میزان یک الی دو سانتیمتر کنار زده شد و اطراف هر گیاه ۲ تا ۳ بذر گندم آلوده به قارچ ریزوکتونیا قرار داده شد و پس از آبیاری، سطح همه گلدان‌ها به منظور حفظ رطوبت به مدت ۷۲ ساعت با کیسه پلاستیک پوشانده شد. تیمار شاهد بوسیله گندم سترون مایه‌زنی شد. گلدانها در دمای ۲۵ درجه سیلسیوس با نور طبیعی روز و شبها در تاریکی نگهداری شدند.

مایه زنی قارچ فوزاریوم:

به منظور بررسی بیماریزایی قارچ فوزاریوم از روش مشابه قارچ ریزوکتونیا استفاده شد.

مایه زنی قارچ ماکروفومینا:

به منظور بررسی بیماریزایی قارچ ماکروفومینا از روش ابوی و پاستور[1] (۱۹۹۰) با کمی تغییرات استفاده شد. برای این منظور ابتدا ۲۵۰ گرم بذر برنج به مدت یک ساعت در آب خیسانده شد، سپس به مقدار ۵۰ گرم بذر داخل شیشه‌های سرپیچ‌دار ریخته شد. بذور مورد نظر دو بار به فاصله ۴۸ ساعت اتوکلاو شدند سپس شیشه‌ها بوسیله قرص‌های یک سانتیمتری از حاشیه‌ی کشت فعال پنج روزه‌ی قارچ ماکروفومینا تلقیح و در دمای ۳۲ درجه‌ی سلسیوس به مدت دو هفته تا سیاه شدن کامل بذور نگهداری شدند. پس از آن نمونه‌ها درآون با دمای ۴۰ درجه سلسیوس به مدت یک هفته خشک شدند. آنگاه با استفاده از هاون، بذور خرد شده و به ازای هر گلدان ۶ گرم از این پودر با خاک اطراف گیاه ماش مخلوط گردید. شاهد با پودر برنج سترون مایه‌زنی شد.

گیاهانی که دچار تنش خشکی می‌شوند، نسبت به قارچ ماکروفومینا حساسترند. لذا در این آزمایش گیاهان مایه‌زنی شده با این قارچ، چهار تا شش مرتبه طی دوره رشد تحت تنش خشکی قرار گرفتند. برای این منظور بعد از ظاهر شدن علایم تشنگی در گیاه، اقدام به آبیاری گردید . گلدان‌ها در دمای ۲۵ درجه سیلسیوس با نور طبیعی روز و شبها در تاریکی نگهداری شدند.

1 - Abawi & Pastor

بررسی فنوتیپ‌های قارچ ماکروفومینا در محیط کلرات

به منظور بررسی حساسیت جدایه‌های قارچ ماکروفومینای جدا شده از گیاه ماش در استان خوزستان و شناسایی فنوتیپ کلرات آنها، ۲۲ جدایه از میان جدایه-های ماکروفومینا انتخاب شدند. از پرگنه‌های پنج روزه این جدایه‌ها در محیط سیب‌زمینی دکستروز آگار قطعه-ای به قطر نیم سانتیمتر برداشته شد و در محیط کشت کمینه[2] حاوی ۱۲۰ میلی مولار کلرات پتاسیم قرار داده شد. برای هر جدایه از محیط کشت کمینه فاقد کلرات پتاسیم به عنوان شاهد استفاده گردید (پیرسون و همکاران[3]، ۱۹۸۶). نمونه‌ها در دمای ۳۰ درجه سیلسیوس به مدت یک هفته در تاریکی نگهداری شدند.

بررسی شدت بیماریزایی فنوتیپ‌های قارچ ماکروفومینا

به منظور بررسی شدت بیماریزایی فنوتیپ‌های حساس و غیرحساس به کلرات سه جدایه غیر حساس و سه جدایه حساس با تیپ رویشی پروش و سه جدایه حساس با تیپ رویشی محدود مورد استفاده قرار گرفتند. آزمون بیماریزایی در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار در شرایط درون شیشه انجام گرفت. برای این منظور از روش منیسی و همکاران[4] (۱۹۹۵) استفاده شد.جدایه‌های قارچ ماکروفومینا در تشتک‌های پتری نه سانتیمتری حاوی سیب‌زمینی دکستروز آگار در دمای ۳۰ درجه سلسیوس و در تاریکی کشت داده شدند. سپس هنگامی که رشد قارچ تمام سطح محیط کشت را فرا گرفت در هر ظرف ۱۰ عدد بذر ماش رقم محلی که بوسیله هیپوکلریت سدیم نیم درصد ضد عفونی شده بودند درون پتری قرار گرفتند. در تیمار شاهد بذور درون پتری حاوی سیب زمینی دکستروز آگار قرار گرفتند. تشتک‌های پتری به مدت ۵ روز در دمای ۲۸ درجه سلسیوس در تاریکی نگه‌داری گردیدند. به منظور

2_Minimal
3 - Pearson *et al.*
4 - Manici *et al.*

بررسی شدت بیماریزایی از مقیاس شش‌گانه منیسی و همکاران استفاده شد: ۰ = بذر سالم، ۱ = تغییر رنگ قسمتی از گیاهچه که در تماس با میسلیوم است، ۲ = پوسته بذر مورد حمله میسلیوم و اسکلروت قرار گرفته اما گیاهچه سالم است، ۳ = بذر سالم اما گیاهچه آلوده است، ۴ = پوسته بذر و گیاهچه هر دو آلوده و عدم ادامه رشد گیاهچه، ۵ = بذر آلوده و جوانه‌زنی ندارد.

پس از نمره‌دهی بذرها مطابق مقیاس فوق، شاخص شدت بیماریزایی با ضرب تعداد بذور در درجه شدت بیماریزایی محاسبه گردید (مثلا ۶ بذر با شدت بیماریزایی ۳ و ۴ بذر با شدت شدت بیماریزایی ۵ برابر است با (۳/۸ = ۲۰/۱۰ + ۱۸)).

بررسی آماری

آزمون بیماریزایی در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار و در هر تکرار با ۱۰ بذر انجام گرفت. داده‌های حاصل با استفاده از برنامه SAS مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. گروه‌بندی تیمارها با استفاده از آزمون غیر پارامتریک Kruskal-Wallis در سطح پنج درصد انجام شد. در صورت معنی دار بودن تفاوتها رتبه‌بندی گروه‌ها با آزمون Mann-Whitiny انجام شد.

نتایج

در این تحقیق ۷۸ نمونه قارچی از ریشه و طوقه گیاهان آلوده ماش جداسازی گردید. قارچ‌های جداسازی شده متعلق به گونه‌های *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid, *Fusarium solani* (Mart.) Sacc., *Rhizoctonia solani*(Kuhn) بودند. ۵۵ جدایه متعلق به قارچ *M. phaseolina* بوده و این قارچ بیشترین فراوانی را در میان گونه‌های جداسازی شده داشته است. تعداد جدایه قارچ‌های *R. solani* و *F.solani* به ترتیب ۱۴ و ۹ جدایه بوده است (جدول ۱).

شناسایی قارچ *R. solani*

این گونه از قارچ‌های مهم بر روی حبوبات می‌باشد. فرم جنسی آن *Thanatephorus cucumeris* می‌باشد که از گروه بازیدیومیست‌هاست. قارچ ریزوکتونیا ابتدا در محیط کشت کرم رنگ می‌باشد. با مسن شدن رنگ محیط کشت متمایل به قهوه‌ای می شود و روی آنها دانه‌های اسکلروت تیره مایل به سیاه تشکیل می گردد. قطر اسکلروت‌ها بین ۰/۵ تا ۳ میلیمتر متغییر بود. از خصوصیات میکروسکوپی این قارچ می توان به ایجاد ریسه‌ها با انشعابات حاده تا عمود بر هم اشاره کرد

جدول ۱- پراکنش و فراوانی قارچ‌های بیماریزای جداسازی شده از طوقه و ریشه ماش از مناطق مختلف استان

شماره	محل جمع آوری	تعداد جدایه آلوده به قارچ		
		Macrophomina phaseolina	*Rhizoctonia solani*	*Fusarium solani*
۱	ملاثانی	۷	۳	۲
۲	گتوند	۱۳	۲	۱
۳	شوشتر	۶	۳	۲
۴	آبید	۷	۰	۱
۵	دزفول	۶	۳	۳
۶	رامهرمز	۲	۱	۰
۷	سوسنگرد	۱۴	۲	۰
	جمع نمونه ها	۵۵	۱۴	۹

که در محل انشعاب کمی فرورفتگی وجود دارد. معمولا پس از انشعاب نیز یک دیواره عرضی تشکیل می‌شود.

تعداد هسته‌ها در سلول‌های هیف قارچ مورد بررسی ۴ تا ۱۲ عدد بوده و قطر هیف‌ها بین ۵/۲ تا ۸/۴ میکرومتر متغیر بود. تمام خصوصیات فوق کاملا شبیه به گونه *R. solani* است. بررسی گروه آناستوموزی این قارچ نشان داد که تمام جدایه‌های مورد بررسی در این تحقیق به گروه آناستوموزی ۴ تعلق دارند.

شناسایی قارچ *F. solani*

فوزاریوم‌های جداسازی شده از ریشه ماش روی محیط سیب زمینی دکستروز آگار رشد سریع داشتند و میسلیوم‌های هوایی کرم رنگ در آنها مشاهده گردید. رنگ زیرین پرگنه‌ها سفید تا کرم رنگ بود و همه دارای منوفیالیدهای بلند همراه با سرهای دروغین[1] بودند. میکروکنیدی‌ها تک و یا دوسلولی و ماکروکنیدیوم‌ها غالبا دارای ۳ دیواره عرضی، دارای پاشنه مشخص و دوکی شکل تا خمیده بودند. کلامیدوسپورها به صورت منفرد، جفتی و یا زنجیری تشکیل شدند. اسپورودوکیوم کرم رنگ روی محیط برگ میخک آگار تشکیل شد. تمام خصوصیات جدایه‌های فوزاریوم کاملا شبیه به مشخصات قارچ *F. solani* در کلید بورگز و همکاران[2] (۱۹۹۴) بود.

شناسایی *M. phaseolina*

خصوصیات مورفولوژیکی مناسب برای شناسایی این قارچ شامل تشکیل پرگنه به رنگ سفید و کرک مانند قارچ در محیط آب سیب‌زمینی دکستروز آگار بوده که با گذشت زمان قهوه‌ای تا خاکستری شده و در نهایت با پیر شدن قارچ سیاه رنگ می‌شود. همچنین میسلیوم قارچ دیواره‌دار بوده و معمولا با هیف اصلی انشعابات قائمه دارند. اسکلروت‌ها از تجمع سلول‌های هیفی یا تقسیم یک سلول منفرد به وجود می‌آیند که توسط ماده‌ی ملانین به هم می‌چسبند. وفور تشکیل میکرو اسکلروت نیز از خصوصیات مناسب دیگر جهت تشخیص می‌باشند. از خصوصیات فیزیولوژیکی این قارچ رشد سریع در دمای ۳۰ درجه سلسیوس است. از قارچ‌های خالص سازی شده از طوقه و ریشه ماش نیز پرگنه‌هایی مشاهده گردید که به سرعت در دمای بالای ۳۰ درجه سلیسیوس رشد کرده و ایجاد تعداد زیادی میکرواسکلروت در محیط کشت می‌کردند. این قارچها خصوصیات مورفولوژیکی قارچ ماکروفومینا مانند رنگ تیره پرگنه از زیر تشتک پتری، میسلیوم دیواره‌دار، انشعابات قائم را نیز دارا بودند. تمام خصوصیات جدایه‌های مورد بررسی کاملا شبیه به مشخصات قارچ *M. phaseolina* بود.

نتایج بیماریزایی

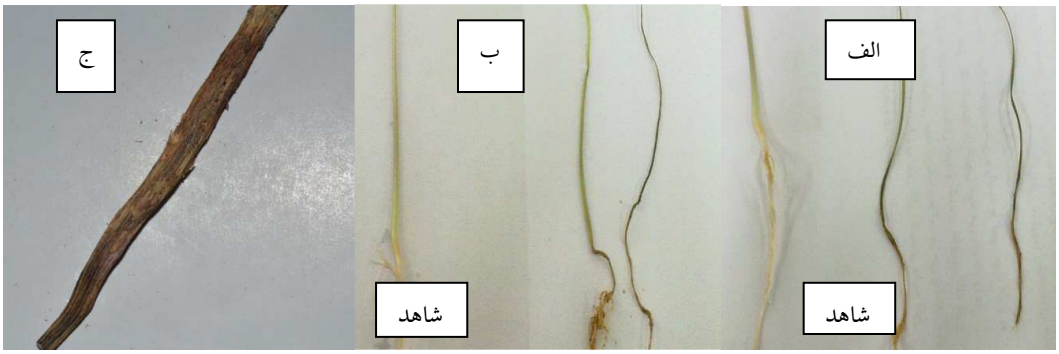
بیماریزایی قارچ *R. solani*

در آزمون بیماریزایی جدایه‌های ریزوکتونیا علائم متداول بیماری بصورت مرگ گیاهچه، پوسیدگی ریشه و طوقه، شانکر در قاعده ساقه و پژمردگی عمومی بود و علائم دو تا سه هفته پس از مایه‌زنی ظاهر شد. پوسیدگی ریشه معمولا به رنگ قهوه‌ای تیره تا سیاه بود که اغلب ریشه‌های فرعی را فراگرفته بود. در ناحیه طوقه و قاعده ساقه، بافت‌های پوسیده به رنگ قرمز مایل به قهوه‌ای تیره بود و گاهی در وسط شانکر فرورفتگی مشخص نیز به وجود می‌آمد. جداسازی مجدد جدایه‌ها از مناطق آلوده ریشه، طوقه و ساقه گیاهان مایه‌زنی شده انجام گرفت که نتایج بیانگر بیماریزا بودن همه جدایه‌ها بود (شکل۱).

بیماریزایی قارچ *F. solani*

در آزمون بیماریزایی قارچ *F. solani* علائم پوسیدگی قهوه‌ای متمایل به سیاه‌رنگ در قسمت ریشه-های فرعی و طوقه مشاهده شد. در گیاهان پژمردگی قابل رویت بود. علائم دو تا سه هفته پس از مایه‌زنی ظاهر شد. جدا سازی قارچ مزبور از بافت‌های آلوده بیانگر بیماریزا بودن این قارچ بر روی گیاه ماش می‌باشد (شکل۱).

1- False Head
2- Burgess *et al.*



شکل ۱- الف) طوقه و ریشه گیاه مایه زنی شده با قارچ *Rhizoctonia solani* در مقایسه با گیاه شاهد، ب) طوقه و ریشه گیاه مایه‌زنی شده با قارچ *Fusarium solani* در مقایسه با گیاه شاهد، ج) طوقه و ریشه گیاه مایه زنی شده با قارچ *Macrophomina phaseolina*

بیماریزایی قارچ *M. phaseolina*

تست بیماریزایی قارچ ماکروفومینا مشکل بوده و نیازمند ایجاد چندین نوبت تنش خشکی می‌باشد. در گیاهچه‌های آلوده لکه‌ای به رنگ قهوه‌ای خاکستری تا قرمز نزدیک به سطح خاک ایجاد شده که به تدریج به قسمت‌های بالایی ساقه گسترش یافته و سپس قهوه‌ای تیره تا سیاه می‌شود. علائم ۴۰ روز پس از مایه‌زنی ظاهر شد. میکرواسکلروت‌های کوچک و متعدد در زیر اپیدرم و بافت چوبی ریشه‌ها و بخش‌های پائین ساقه دیده شد. پس از مرگ گیاه این خال‌های ریز سیاه‌رنگ کل ساقه را می‌پوشاند. جداسازی این قارچ از بافت‌های آلوده بیانگر بیماریزا بودن این قارچ می‌باشد (شکل۱).

تعیین فنوتیپ و مقاومت قارچ ماکروفومینا در محیط کلرات

۲۲ جدایه بررسی شده از نظر آزمون مقاومت به کلرات به دو گروه حساس (۷۷/۲۷ درصد) و مقاوم (۲۲/۷۲ درصد) تقسیم شدند (جدول۲). گروه حساس بعد از گذشت یک هفته رشد محدودی داشته اما رشد پرگنه‌های گروه مقاوم به مراتب بیش از گروه حساس بود. از نظر فنوتیپی قارچ ماکروفومینا در محیط حاوی کلرات به ۳ دسته تقسیم شدند. جدایه‌های حساس دارای دو نوع فنوتیپ پروش[1] و محدود[2] بوده و جدایه‌های مقاوم دارای فنوتیپ متراکم[3] بودند (شکل۲).

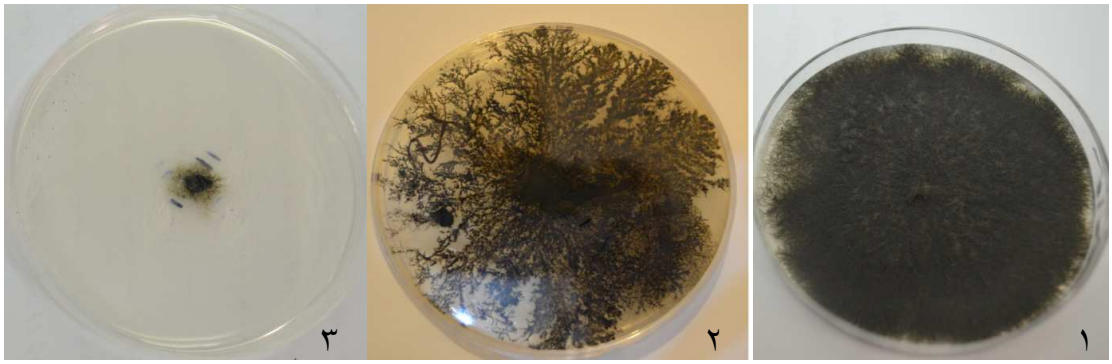
حساس دارای دو نوع فنوتیپ پروش[4] و محدود[5] بوده و جدایه‌های مقاوم دارای فنوتیپ متراکم[6] بودند (شکل۲).

مقایسه آماری درصد آلودگی به قارچهای مختلف با استفاده از آزمون تحلیل واریانس نشان داد که درصد نمونه های آلوده به قارچ *M. phaseolina* با ۷۰/۵۱ فراوانی به صورت معنی داری، بیشتر از دو قارچ *F. solani* و *R. solani* می‌باشد و دو قارچ *F. solani* و *R. solani* با ۱۱/۵۴ و ۱۷/۹۵ درصد در یک گروه آماری قرار گرفتند (شکل۳).

بررسی شدت بیماریزایی فنوتیپ‌های قارچ ماکروفومینا

در آزمون بیماریزایی که در شرایط درون شیشه انجام گرفت شدت بیماریزایی از پوشیده شدن کامل بذر توسط میسلیوم و اسکلروت‌های قارچ مهاجم تا عاری ماندن کامل بذر از آلودگی متغییر بود. تیمارهای شاهد (بذور قرار داده شده درون تشتک‌های PDA سترون) علایمی نشان نداده و سالم باقی ماندند (شکل ۳).

1 -Feathery
2 -Restricted
3 -Dense
4 -Feathery
5 -Restricted
6 -Dense



شکل۲- نمای فنوتیپ‌های رشد یافته در محیط کلرات ۱- فنوتیپ متراکم ۲- فنوتیپ پروش ۳- فنوتیپ محدود

جدول ۲- مشخصات فنوتیپی جدایه‌های *M. phaseolina* در آزمون مقاومت به کلرات

ردیف	محل جمع آوری	عکس‌العمل به کلرات	فنوتیپ
۱	گتوند	حساس	پروش
۲	گتوند	حساس	پروش
۳	گتوند	حساس	محدود
۴	گتوند	حساس	محدود
۵	گتوند	حساس	محدود
۶	گتوند	حساس	محدود
۷	گتوند	حساس	محدود
۸	گتوند	حساس	محدود
۹	گتوند	مقاوم	متراکم
۱۰	ملاثانی	مقاوم	متراکم
۱۱	ملاثانی	مقاوم	متراکم
۱۲	ملاثانی	حساس	محدود
۱۳	ملاثانی	حساس	پروش
۱۴	ملاثانی	حساس	پروش
۱۵	ملاثانی	حساس	پروش
۱۶	آبید	مقاوم	متراکم
۱۷	آبید	حساس	پروش
۱۸	آبید	حساس	محدود
۱۹	شوشتر	مقاوم	متراکم
۲۰	شوشتر	حساس	محدود
۲۱	شوشتر	حساس	محدود
۲۲	شوشتر	حساس	محدود

شکل ۳- الف) بذرهای کاملا آلوده با جدایه‌های *M. phaseolina* در مقایسه با ب) شدت‌های متفاوت بیماریزایی و ج) بذرهای شاهد در آزمون درون شیشه‌ای

جدول ۳- مقایسه میانگین داده‌های حاصل از آزمون بیماریزایی ۹ جدایه *M. phaseolina* روی رقم محلی ماش به روش شرایط درون شیشه‌ای

شماره	نام جدایه	حساسیت به کلرات	شاخص شدت بیماریزایی	گروه بندی حاصل از مایه‌زنی بذر در محیط شیشه
۱	گتوند ۱	حساس (پروش)	۳/۲	ab
۲	ملاثانی ۱۳	حساس (پروش)	۳/۹	ab
۳	ملاثانی ۱۵	حساس (پروش)	۴/۴	ab
۴	گتوند ۴	حساس (محدود)	۳/۲	b
۵	گتوند ۸	حساس (محدود)	۳/۳	b
۶	شوشتر ۲۰	حساس (محدود)	۳/۸	b
۷	ملاثانی ۱۰	مقاوم	۴/۷	a
۸	آبید ۱۶	مقاوم	۴/۳	a
۹	شوشتر ۱۹	مقاوم	۳/۶	a

*میانگین‌ها با حروف مشابه در سطح P=۰/۰۵ اختلاف معنی‌داری ندارند.

تمامی جدایه‌های مورد بررسی روی ماش بیماریزا بودند. نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که در سطح ۵ درصد اختلاف معنی داری در شدت بیماریزایی جدایه‌ها وجود دارد. جدایه‌های مقاوم به کلرات از بیماریزایی بیشتری برخوردار بوده و پس از آن جدایه-های حساس با فنوتیپ پروش قرار داشتند. جدایه‌های حساس با فنوتیپ محدود از نظر شدت بیماریزایی از دو گروه دیگر کم آزارتر بوند (جدول ۳)(df =۲ و P=۰/۰۵ ، K^2=۶/۵۱۴).

بحث

در عمده تحقیقات سه قارچ , *Fusarium sp.* *M.phaseolina, R. solani* عامل اصلی پوسیدگی طوقه و ریشه ماش معرفی شده‌اند و روشهای کنترل مختلفی مانند آبیاری منظم، کاهش میزان استفاده کود ازته و همچنین استفاده از موادی مانند خوراک ماهی، استفاده از پودر بذور گیاهان محلی مانند چریش و حتی استفاده از اشعه گاما متشعشع شده از کبالت رایواکتیو جهت معالجه این بیماری‌ها معرفی گردیده است

(آسادوزامان و همکاران[1]، ۲۰۰۸،حسین خان و شعیب[2]، ۲۰۰۷، ایکرم و همکاران[3]، ۲۰۱۰، ارشاد و همکاران[4]، ۲۰۰۶، کارتاریا و گروور، ۱۹۸۷، کاسیامداری[5]، ۲۰۰۲، مشتاق احمد و همکاران[6]، ۲۰۰۹، رحمان و همکاران[7]، ۲۰۰۲ و صدیقی و همکاران[8]، ۲۰۰۰) که تمام این تحقیقات حاکی از اهمیت بیماریزایی سه قارچ فوق درگیاه ماش می‌باشد.

در سال ۲۰۰۸ ، قارچ *R. solani* برای اولین بار از ریشه ماش در ایالت کالیفرنیای آمریکا جداسازی شد و گروه آناستاموزی آن را AG4 تعیین کردند (برین و همکاران[9]، ۲۰۰۸) در این تحقیق نیز این قارچ از طوقه و ریشه گیاه ماش در استان خوزستان جداسازی گردید و معلوم گردید دومین عامل بیماریزای ماش در استان خوزستان بوده است همچنین این جدایه‌ها از نظر گروه آناستاموزی متعلق به AG4 بودند که با تحقیقات برین و همکاران مطابقت دارد. مطالعه بر روی علل پوسیدگی ریشه ماش در کانادا در سال ۱۹۷۹ و ۱۹۸۰ نشان داد قارچ‌های *Thialaviopsis basicola, F. oxysporum , F. solani , R. solani* عامل اصلی پوسیدگی طوقه و ریشه ماش در این کشور می‌باشند (آندرسون[10]، ۱۹۸۵). در تحقیق حاضر دو قارچ *F. solani , R. solani* از ریشه ماش از استان خوزستان جداسازی شدند اما دو قارچ دیگر مشاهده نشد اما در مقابل قارچ ماکروفومینا به میزان زیادی از طوقه و ریشه ماش در استان خوزستان جدا گردید. عامل این اختلاف را می‌توان تفاوت در شرایط آب هوایی این دو منطقه دانست. در خوزستان با توجه به آب و هوای بسیار گرم، قارچ ماکروفومینا که قارچی بسیار گرمادوست است به وفور یافت می‌شود اما در کانادا با توجه به شرایط آب و هوای سرد و مرطوب این قارچ از طوقه و ریشه ماش جدا سازی نگردیده است. در مقابل در استرالیا با شرایط آب و هوایی گرم و خشک قارچ *M. phaseolina* نه تنها عامل پوسیدگی طوقه و ریشه ماش می‌باشد بلکه باعث ایجاد لکه برگی‌هایی روی این گیاه می‌گردد(فولبوم، ۱۹۹۶).

در ایران مطالعه جامعی بر روی بیمارهای طوقه و ریشه ماش انجام نگرفته و تنها به چند گزارش بسنده شده است. ابراهیمی و میناسیان[11] (۱۹۷۵) قارچ‌های *Fusarium sp. , M. phaseolina, R. solani* و *Pythium aphanidermatun* را از طوقه و ریشه ماش از دزفول جدا کردند. وزیری قارچ *Pythium ultimum* و کایزر قارچ *R. solani* را در دزفول از ماش جداسازی نمود (شریف نبی، ۱۳۸۹). همچنین در سال ۱۳۸۴ عظیمی و همکاران (۱۳۸۴،الف و ب) قارچ *R. solani* و *F. Solani* را از روی طوقه و ریشه باقلا که یکی از حبوبات زمستانه در استان خوزستان می‌باشد گزارش نمودند. در هیچ یک از این تحقیقات به اهمیت و پراکندگی عوامل بیماریزای ذکر شده اشاره‌ای نشده است.

در این تحقیق برای اولین بار گونه قارچ فوزاریوم و همچنین گروه آناستوموزی قارچ ریزوکتونیای بیماری-زای طوقه و ریشه ماش در استان خوزستان شناسایی شد. همچنین برای اولین بار حساسیت ماکروفومیناهای جداسازی شده از ماش در استان خوزستان در محیط حاوی کلرات پتاسیم بررسی شد و شدت بیماریزایی فنوتیپ‌های مختلف بررسی گردید. در این تحقیق مشخص گردید ۷۷/۳ درصد ماکروفومیناهای بررسی شده حساس به کلرات بوده که از این میان ۲۷/۳ درصد پروش و ۵۰ درصد دارای رشد محدود بوده و سایر ماکروفومیناها (۲۲/۷) مقاوم به کلرات بوده و دارای

1- Asaduzzaman *et al.*
2- Hussain Khan & Shuaib
3 -Ikram *et al.*
4- Irshad *et al.*
5- Kasiamdari *et al.*
6- Mushtaq Ahmad *et al.*
7- Rahman *et al.*
8- Siddiqui *et al.*
9- Brien *et al.*
10- Anderson
11- Ebrahimi & Minassian

رشدی متراکم بودند و نشان دهنده عدم اختصاصیت میزبانی فنوتیپ‌های مختلف این قارچ روی گیاه ماش می‌باشد. پیش از این سو و همکاران[1](۲۰۰۱) نیز هر ۳ فنوتیپ قارچ ماکروفومینا را از روی پنبه و سورگوم جدا نمودند که نتایج آنها موید عدم اختصاصیت میزبانی فنوتیپ‌های مختلف این قارچ روی دو محصول اخیر می‌باشد. از طرف دیگر پیرسون و همکاران [2](۱۹۸۶) تنها تنها فنوتیپ‌های متراکم و پروش را از ذرت و فنوتیپ-های پروش و محدود را از سویا جداسازی نمودند. همچنین در ایران جلالی و همکاران (۱۳۹۰) تنها فنوتیپ‌های متراکم و محدود ماکروفومینا را از سویا جدا سازی نمودند. مهدی‌زاده و همکاران [3] (۲۰۱۱) فنوتیپ-های مختلف ماکروفومینا را از میزبان‌های مختلف جدا سازی نمودند اما در تحقیقات آنها هر ۳ فنوتیپ این قارچ را از یک میزبان جدا سازی نشد. همچنین در تحقیقات مهدی‌زاده تنها فنوتیپ پروش از ماش‌های استان کرمان جداسازی گردید. همچنین در این تحقیق مشخص شد که تمام جدایه‌های حساس و مقاوم به کلرات قادر به ایجاد بیماری روی ماش بودند. اما جدایه-های مقاوم به کلرات مهاجمتر بوده و بیشترین بیماریزایی روی ماش در شرایط درون شیشه‌ای ایجاد نمودند و پس از آن جدایه‌های حساس به کلرات با فنوتیپ پروش و کمترین بیماریزایی متعلق به فنوتیپ حساس به کلرات با فنوتیپ محدود می‌باشد. نتایج حاصل از بیماریزایی درون شیشه در این تحقیق با تحقیقات جلالی و همکاران که به بررسی واکنش قارچ ماکروفومینا به کلرات پتاسیم و ارتباط آن با بیماریزایی در گیاه سویا پرداخته بودند (۱۳۹۰) و تحقیقات پورکایاستا روی لوبیا (۲۰۰۶) مطابقت دارد.

نتایج این تحقیق موید این نظر است که علی‌رغم اینکه قارچ‌های *F. solani* و *R. solani* در ایجاد پوسیدگی ریشه و طوقه گیاه ماش در خوزستان نقش دارند ولی بنظر می‌رسد که *M. phaseolina* از این نظر دارای اهمیت بیشتری می‌باشد. زیرا نه تنها جمعیت بیشتری از عامل بیماری را تشکیل می‌دهد بلکه پراکندگی بیشتری از این قارچ در مناطق مختلف استان خوزستان نسبت به دو گونه دیگر دیده می‌شود.

به نظر می‌رسد به دلیل کشت ماش در فصل تابستان در استان خوزستان و همچنین ایجاد تنش‌های محیطی به گیاه ماش، قارچ ماکروفومینا به عنوان یک قارچ گرما دوست، عامل اصلی پوسیدگی طوقه و ریشه ماش در این استان می‌باشد.

سپاس‌گزاری

از جناب آقای دکتر علی رجب پور و جناب آقای دکتر مجتبی حسینی به خاطر همکاریشان صمیمانه - قدردانی می‌شود.

1- Su *et al.*
2- Pearson *et al.*
3- Mehdizadeh *et al.*

منابع

۱. بی نام.۱۳۸۲. نتایج تفصیلی سرشماری عمومی کشاورزی. انتشارات مرکز آمار ایران.۳۰۲ ص.

۲. جلالی، ف.، صفایی، ن. و عباسی، س.۱۳۹۰. ارتباط واکنش به کلرات پتاسیم در چند جدایه ایرانی قارچ *Macrophomina phaseolina*، عامل پوسیدگی ذغالی سویا با بیماریزایی. مجله دانش گیاه‌پزشکی ایران. ۴۲ (۱): ۱۰۳-۱۱۲.

۳. شریف نبی، ب. ۱۳۸۹. بیماریهای گیاهان زراعی ایران. انتشارات دانشگاه صنعتی اصفهان. ۴۲۲ ص.

۴. شیرین، م.، قرینه، م.ح. و فتحی، ق.، ۱۳۸۷. تاثیر پیش کاشت کود سبز (ماش) در بقایای گندم بر پویایی جوامع علفهای هرز و عملکرد ذرت دانه ای در شرایط آب و هوایی اهواز. پایان نامه کارشناسی ارشد دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین.

۵. عظیمی، ص.، فرخی نژاد، ر. و موسوی جرف، س.ع. ۱۳۸۴الف. جدا سازی و بررسی بیماریزایی چند گروه آناستوموزی قارچ ریزوکتونیا از ریشه و طوقه باقلا در استان خوزستان. مجله بیماری های گیاهی. ۴۱ (۳): ۳۲۹-۳۴۲.

۶. عظیمی، ص.، فرخی نژاد، ر. و موسوی جرف، س.ع. ۱۳۸۴ب. شناسایی و بررسی بیماریزایی فوزاریوم های همراه با طوقه و ریشه باقلا در استان خوزستان. مجله علمی کشاورزی. ۲۸ (۱): ۱۴۹-۱۶۳.

۷. قادری، ر.، صادقی، ا. و قاسمی، م. ۱۳۸۹. اطلس رنگی آفات، بیماری ها و علف های هرز حبوبات. انتشارات آموزش و ترویج کشاورزی. ۲۰۲ ص.

۸. کوچکی، ع. و بنایان اول، م. ۱۳۷۶. زراعت حبوبات. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد. ۱۳۶ ص.

۹. کوچکی، ع. ۱۳۶۸. زراعت در مناطق خشک. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد.۲۰۲ ص.

۱۰. مجنون حسینی، ن.۱۳۸۳. حبوبات در ایران. انتشارات جهاد دانشگاهی تهران. ۲۳۸ ص.

11. Abawi, G.S., and Pastor-Corrales, M.A. 1990. Root rots of beans in Latin America and Africa: diagnosis, research methodologies and management strategies,CIAT, Cali, Colombia, 114 p.

12. Anderson, T.R. 1985. Root rot and wilt of mung bean in Ontario. Canadian Plant Disease Survey, 65 (1): 3-5.

13. Asaduzzaman, M., Karim, F., Ullah, J., and Hasanuzzaman, M. 2008. Response of mungbean (*Vigna radiata* L.) to nitrogen and irrigation management. American-Eurasian Journal of Scientific Research, 3 (1): 40-43.

14. Beas-Fernández, R., De Santiago-De Santiago, A., Hernández-Delgado, S., and Mayek-Pérez, N. 2006. Characterization of Mexican and non-Mexican isolates of

Macrophomina phaseolina based on morophological charateristics, pathogenicity on bean seeds and endoglucanase genes. Journal of Plant Pathology, 88 (1), 53-60.

15. Burgess, L.W., Summerell, B.A. Bullock, S., Gott, K.D., and Ackhous, D. 1994. Laboratory manual for Fusarium research. Fusarium research laboratory department of crop science university of Sydny and Royal Botanic Gardens, 133p.

16. Brien, C.A.O., Perez, K., and Davis, R.M. 2008. First report of *Rhizoctonia solani* on mungbean (*Vigna radiata*) sprouts in California. Plant Disease, 92: 831.

17. Dhingra, O.D., and Sinclair, J.B. 1978. Biology and pathology of *Macrophomina phaseolina.* Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, Brasil, 166 p.

18. Ebrahimi, A.GH., and Minassian, V. 1975. Disease of cultivated and wild plants in Khuzestan Jundi shapur university, Pub. 76/19. 35 pages.

19. Fuhlbohm, M.J., Ryleyan, M.J., and Aitken, E.A.B. 1996. *Macrophomina phaseolina* causing leaf spot of mungbean. Australasian Plant Pathology, 25: 247–248.

20. Guerrero-Gonza´lez, M.L., Rodrı´guez-Kessler, M., Rodrı´guez-Guerra, R., Gonza´lez-Chavira, M., Simpson, J., Sanchez, F.J., and Jime´nez-Bremont, F. 2011. Differential expression of Phaseolus vulgaris genes induced during the interaction with *Rhizoctonia solani*. Plant Cell Report, 30:1465–1473.

21. Hussain Khan, S., and Shuaib, M., 2007. Identification of sources of resistance in Mungbean (*Vigna radiata* L.) against Charcoal Rot *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. African Crop Science Conference Proceedings, 8: 2101-2102

22. Ikram, N., Dawar, S., Abbas, Z., and Javed Zaki, M. 2010. Effect of (Cobalt) gamma rays on growth and root rot diseases in mungbean (*Vigna radiata*). Pakistan Journal of Botany, 42(3): 2165-2170

23. Irshad, L., Dawar, S., and Javad Zaki, M. 2006. Effect of different dosage of nursery fertilizers in the control of root rot of okra and mung bean. Pakistan Journal of Botany, 38(1): 217-223.

24. Kartaria, H.R., and Grover, R.K. 1987. Influence of soil factors, fertilizers and manures on pathogenicity of *Rhizoctonia solani* on vigna species. Plant and Soil, 103: 57-66.

25. Kasiamdari, R.S., Smith, S.E., Smith, F.A., and Scott, E.S. 2002. Influence of the mycorrhizal fungus, *Glomus coronatum*, and soil phosphorus on infection and disease caused by binucleate *Rhizoctonia* and *Rhizoctonia solani* on mungbean (*Vigna radiata*). Plant and Soil, 238: 235–244.

26. Manici, L.M., Caputo, F., and Cerato, C. 1995. Temperture responses of isolate of *Macrophomina phaseolina* from different climate region of sunflower production in Italy. Plant Disease, 79: 834-838.

27. Mahdizadeh, V., Safaie, N., and Mohammadi Goltapeh, E. 2011. Diversity of *Macrophomina phaseolina* Based on Morphological and Genotypic Characteristics in Iran. Plant Pathology Journal, 27(2): 128-137.

28. Mushtaq Ahmad, Z., Dawar, S., and Tariq, M., 2009. Fungicidal potential of some local tree seeds for controlling root rot disease. Pakistan Journal of Botany, 41(3): 1439-1444.

29. Nelson, P.E., Toussaun, T.A., Marasas, W.F.O. 1983. *Fusarium* species: An illustration manual for identification. Pennsylvania state University. Press, University Park, 193 p.

30. Pearson, C.A.S., Leslie, J.F., and Schwenk, W. 1986. Variable chlorate resistance to *Macrophomina phaseolina* from corn, soybean, and soil. Phytopathology, 76: 646-649.

31. Rahman, S., Vearasilp, S., and Srichuwong, S. 2002. Control of seed-borne *Machrophomina phaseolina* in mungbean through biological seed treatment. Journal of Agriculture, 18(1): 33-39.

32. Purkayastha, S., Kaur, B., Dilbaghi, N., and Chaudhury, A. 2006. Characterization of *Machrophomina phaseolina*, the charcoal rot pathogen of cluster bean, using conventional techniques and PCR-based molecular markers. Plant Pathology, 55(1): 106-116.

33. Siddiqui, I.A., Ehteshamal-Haque, S., Zaki, J., and Ghaffar, A. 2000. Use of *Pseudomonas aerufonosa* with Memnoniella echinata is soil amended with neem cake and chemical fertilizers for the management of root-rot and root-knot disease in mungbean. Pakistan Journal of Biology and Science, 3 (4): 627- 629.

34. Sneh, B., Jabaji-Hare, S., Neate, S., and Dijst, G. 1996. *Rhizoctonia* species, taxonomy, molecular biology, ecology, pathology and disease control. Kluwer academic publishers, London, 578p.

35. Sneh, B., Burpee, L.L., and Ogoshi, A. 1991. Identification of Rhizoctonia species. APS Press. Saint Paul, 133p.

36. Su, G., Suh, S.O., Schneider, R.W., and Russin, J.S. 2001. Host specialization in charcoal rot fungus, *Macrophomina phaseolina.* Phytopathology, 91(2): 120-126.