

## شناسایی و بررسی بیماریزائی قارچهای عامل پوسیدگی ریشه وطوقه گندم در استان خراسان شمالی

امید علی عمارلو<sup>۱\*</sup> - حمید روحانی<sup>۲</sup> - عصمت مهدیخانی مقدم<sup>۳</sup>

تاریخ دریافت: ۸۸/۲/۲۲

تاریخ پذیرش: ۸۸/۸/۱۹

### چکیده

در طی دو فصل زراعی سالهای ۸۶-۸۷ و ۸۷-۸۸ در بازدیدهایی که از مزارع گندم در استان خراسان شمالی (شمال شرقی ایران) مشاهده شد که تعداد قابل توجهی از بوته ها دچار پوسیدگی ریشه و طوقه می‌باشند. بمنظور مطالعه علت این بیماری از ۱۰۰ مزرعه، با توجه به سطح زیر کشت، تعدادی نمونه که دارای علائم بیماری بودند در سه مرحله گیاهچه، پنجه زنی و ظهور سنبله تا سفت شدن دانه برداشت شد. از بافتهای آلوده قارچ های *Phoma* sp، *Coniothyrium cerealis*، *Periconia circinata*، *Bipolaris sorokiniana*، *F. solani*، *Fusarium oxysporum* جدا، خالص سازی و شناسایی گردید. در اکثر موارد مجموعه ای از قارچهای ذکر شده از یک مزرعه و حتی از یک بوته جدا سازی شد، در حالیکه از هیچیک از نمونه ها *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* که بعنوان عامل اصلی پوسیدگی ریشه و طوقه گندم (پاخوره گندم) در ایران شناخته می‌شود جدا سازی نشد. آزمایش بیماریزایی قارچهای بدست آمده در قالب طرح کاملاً تصادفی در شرایط گلخانه بروش اضافه کردن ۵ درصد وزنی از گندمهای مایه‌زنی شده با قارچهای مذکور به خاک گلدانها روی گندم رقم چمران انجام شد. نتایج حاصله نشان داد که قارچهای *B. sorokiniana*، *Phoma* sp و *C. cerealis*، *P. circinata* قادر به ایجاد پوسیدگی در قسمت های طوقه و ریشه گندم با شدت های مختلف هستند. مقایسه میانگین اوزان تر و خشک ریشه و طوقه بوته‌های تلقیح شده بوسیله قارچهای ذکر شده به روش آزمون دانکن<sup>۴</sup> نیز نشان داد که تفاوت معنی داری در سطح ۵ درصد بین آنها وجود دارد. بیشترین و کمترین کاهش وزن ریشه و طوقه ۸۵/۰۶ و ۲۰/۵۸ درصد نسبت به تیمار شاهد تعیین گردید، که به ترتیب مربوط به بوته‌های تلقیح شده بوسیله قارچهای *B. Sorokiniana* و *C. cerealis* بودند. دوقارچ *Phoma* sp و *P. circinata* به ترتیب با ۸۴/۵۹ و ۵۷/۰۳ درصد کاهش نسبت به شاهد حالت حد واسطی را نشان دادند. نظر به پراکندگی نمونه برداریها، بیماری پوسیدگی ریشه و طوقه گندم در اکثر مناطق استان خراسان شمالی پراکنده است. بنظر می‌رسد که مجموعه ای از قارچهای ذکر شده در ایجاد این بیماری دخالت داشته باشند، در بین آنها *B. sorokiniana* نقش اصلی را به عهده دارد. این قارچ برای اولین بار از استان خراسان شمالی (و حتی خراسان بزرگ) بعنوان عامل پوسیدگی ریشه و طوقه گندم گزارش می‌شود. سه قارچ *P. circinata*، *C. cerealis* و *Phoma* sp نیز برای اولین بار بعنوان عامل بیماری ذکر شده از ایران گزارش می‌شوند.

**واژه های کلیدی:** خراسان شمالی، پوسیدگی ریشه و طوقه، گندم *Bipolaris sorokiniana*، *Phoma* sp، *Coniothyrium cerealis*، *Periconia circinata*

### مقدمه

دیم و آبی کشت می‌گردد و در ردیف مهمترین محصولات استراتژیک کشور قرار دارد. در سال ۱۳۸۴ سطح زیر کشت گندم در ایران ۶/۳ میلیون هکتار شامل ۳۵ درصد آبی و ۶۵ درصد دیم با راندمانی حدود ۱۰/۵ میلیون تن بود، که به ترتیب معادل ۲/۸ و ۱/۷ درصد سطح زیر کشت جهانی بشمار می‌رود (۱). حدود ۴۰ درصد گندم تولیدی در کشور مربوط به اراضی دیم و ۶۰ درصد مربوط به اراضی آبی می‌باشد. در استان خراسان ۵۰۶۳۰۴ هکتار گندم کاشته می‌شود که بطور متوسط ۱۱۰۵۰۲۶ تن محصول برداشت می‌شود که سهم خراسان شمالی از

گندم بانام علمی *Triticum aestivum* L. از محصولات مهم غذایی ایران در مناطق مختلف کشور است که در سطح وسیعی بصورت

۱ و ۲- به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، دانشیار و استادیار گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد  
\* - نویسنده مسئول: (Email: oamarloo@yahoo.com)

گرگان انجام شد، ایشان ضمن شناسایی ۶ گونه متعلق به جنس فوزاریوم، بیماریزایی گونه های *F. semitectum* Berk et Rav. و *F. equistei* بر روی گندم را نیز به اثبات رساندند. در سال ۱۳۸۳ ایرانی و همکاران (۴) ضمن تحقیق روی پراکنش عوامل قارچی پوسیدگی طوقه و ریشه گندم آبی و دیم در استان آذربایجان غربی قارچهای *F. culmorum*، *B. sorokiniana*، *B. spicifera*، *F. acuminatum* و *F. avenaceum* را شناسایی و معرفی کردند. جعفری و همکاران (۵) در سال ۱۳۸۵ در بررسی قارچهای خاکزاد عامل پوسیدگی ریشه و طوقه گندم قارچهای *R. cerealis*، *R. solani*، *Sclerotinia rolfssi*، *Drechslera sp.*، *F. culmorum* و *B. sorokiniana* Sacc. را از خاکهای مزارع استان زنجان معرفی نمودند که بیماریزایی گونه های *Rhizoctonia spp*، *Fusarium culmorum* و *Drechslera* را ثابت کردند.

گونه *B. sorokiniana* اولین بار در سال ۱۸۹۰ از روسیه تحت عنوان *Helminthosporium sorokiniana* Sacc. گزارش گردید (۴۰) و پس از آن در سال ۱۹۱۰ از آمریکای شمالی با نام *H. sativum* Pamm., Kim & Bakkee. گزارش شد. بین سالهای ۱۹۳۰-۱۹۵۹ این قارچ تحت نام *Drechslera sorokiniana* (Sacc.) Subram & Jain. اولین بار در سال ۱۹۵۹، شماکر (۳۷) نام *Bipolaris* را برای گونه های *Helminthosporium* باکنیدیومهای دوکی شکل، راست یا کمی خمیده که با یک لوله تندشی از هر انتها جوانه می زنند، بکار برد. مرحله غیرجنسی یا مرحله کنیدیومی قارچ، یعنی *Bipolaris* مرحله ای است که معمولاً با آن روبرو هستیم. فرم جنسی این قارچ *Cochliobolus* (Ito & Kurib.) Drechs ex Dastur. *sorokiniana* است که متعلق به رده *Loculoascomycetes* از شاخه *Ascomycota* است (۱۴).

گونه *Periconia circinata* (Mangin) Sacc. اولین بار در سال ۱۸۹۹ توسط مانجین از فرانسه روی کاه بن های گیاه گندم که مبتلا به پوسیدگی بودند، شناسایی گردید. بعداً از ریشه های گندم در انگلستان جداسازی شد. در اوایل این قارچ بعنوان *Mangin in Aspergillus circinata* Bull. شناخته می شد. در سال ۱۹۰۶ توسط مانجین به *P. circinata* اصلاح شد. مرحله جنسی *P. circinata* متعلق به شاخه *Ascomycota* و رده *Ascomycetes* است (۲۵). این بیمارگر تولید دو زهرابه بنام *peritoxin A, B* می کند که بعنوان *Pc-toxin* شناخته می شوند. این زهرابه به تنهایی برای تولید علائم بیماری در زئونوتیپهای حساس میزبان کافی است. تغییر رنگ قرمز متمایل به سیاه در طوقه و ریشه بصورت تیبیک در اثر آلودگی بوسیله سویه های تولید کننده *Pc-toxin*، *P. circinata* بوجود می آید. از نشانه های اولیه این بیماری کاهش توسعه ریشه در مرحله گیاهچه ای می باشد. در مراحل بعد

این مقدار ۱۱۹۴۷۰ هکتار سطح زیر کشت است که بطور متوسط ۶۰۰۰۰ هکتار از آن سطح زیر کشت گندم آبی است که از این سطح زیر کشت بطور متوسط ۱۰۵۷۰۰ تن گندم برداشت می شود (آمار غیر رسمی مدیریت جهاد کشاورزی خراسان شمالی). بیماری پوسیدگی ریشه و طوقه از کلبه مناطق تولید غلات گزارش شده است (۳۵). این بیماری می تواند بوسیله تعداد زیادی از قارچهای بیمارگر به تنهایی یا به همراه یکدیگر ایجاد شود. استرز و برنیر (۴۳) در سال ۱۹۸۷ نشان دادند که ۸ گونه قارچ در مجموعه های متفاوت، درجات مختلفی از پوسیدگی طوقه و ریشه را در گندمهای زمستانه باعث می شود. وقوع نسبی بیماری و اهمیت قارچهایی که در آن دخالت دارند در مزارع مختلف گندم بطور قابل توجهی متغیر است، این تغییر در ارتباط با نوع تناوب، رقم مورد استفاده و شرایط خاک در مناطق و مزارع گوناگون می باشد. در سال ۲۰۰۷ ریچارد و همکاران (۳۳) *Shoem. Fusarium* و *Bipolaris sorokiniana* (Sacc in Sorok) sp. را بعنوان عوامل پوسیدگی ریشه و طوقه گندم در اکامبا گزارش کردند. در استرالایای جنوبی علت این بیماری را به قارچهای *F. acuminatum* Ell. & *F. equistei* (Corda) Sacc. Schiecht, emend. ( و *B. sorokiniana*, Kellerm. ) *F. oxysporum* Snyd & Hans نسبت داده اند (۳۵). در آمریکای شمالی و کانادا نیز عامل این بیماری را مجموعه ای از قارچها میدانند که خسارت سالانه آن به ترتیب ۳-۴ و ۵/۷ درصد در سال بر آورد شده است (۱۳ و ۴۷). در سال های اخیر وقوع پوسیدگی طوقه و ریشه گندم در بعضی از مناطق کشور توجه محققان را به خود جلب کرده است. تاکنون قارچهای زیادی بر روی گندم گزارش شده است (۲). فروتن و همکاران (۸) تعدادی از عوامل قارچی از جمله *Rhizoctonia cerealis* Van der Hoven. *Gaeumannomyces F. graminearum* Schwabe. *R. solani* و *graminis* (Sacc) Arx. & Oliver Von KÜhn را از ریشه و طوقه گندم در استان مازندران جداسازی و گزارش نمودند. منصوری (۹) تعدادی از قارچ های بیماریزا از جمله گونه هایی از *Drechslera*، *Fusarium*، *Pythium* و *Sclerotium* را از ریشه گندم در استان فارس جداسازی و بیماریزایی آنها را به اثبات رساندند. تحقیقات مشابهی توسط ارجمندیان و روحانی (۳) در خصوص جداسازی قارچ های همراه ریشه و طوقه گندم در همدان انجام گردیده است. روانلو و بنی هاشمی (۶) ضمن مطالعه تاکسونومی و بیماریزایی فوزاریوم های همراه با ریشه و طوقه گندم در استان فارس، تعداد ۱۲ گونه و زیرگونه متعلق به جنس فوزاریوم را شناسایی نموده و بیماریزایی گونه های *F. avenaceum* (Fr) Sacc., *F. culmorum* (Smith) Sacc. و *F. acuminatum* را روی ریشه گندم به اثبات رساندند. مطالعه مشابهی در سال ۱۳۸۳ توسط مقصدلو و همکاران (۱۰) در منطقه

است. چون شدت آلودگی در بخش مانه زیاد می باشد و ریشه، طوقه و حتی بند اول ساقه تغییر رنگ داده و سیاه شده اند این بیماری در بین کشاورزان به پاخوره معروف شده است ولی بررسی های ما در طی فصل زراعی ۱۳۸۶-۱۳۸۵ نشان داد که این بیماری فعلاً در استان وجود ندارد. چون اطلاعات دقیق در مورد عوامل بیماریزای مزارع گندم در استان وجود نداشت، ضرورت تحقیق و مطالعه در مورد آلودگی مزارع گندم به بیماری های قارچی طوقه و ریشه احساس گردید، لذا در این مطالعه سعی در شناسایی مجموعه عوامل قارچی مؤثر در پوسیدگی قسمت طوقه و ریشه گندم است.

## مواد و روش ها

### نمونه برداری از مزارع گندم آلوده

در طی فصلهای زراعی ۸۶-۱۳۸۵ و ۸۷-۱۳۸۶ ضمن بازدید از مزارع گندم واقع در حومه شهرهای بجنورد، شیروان، اسفراین، فاروج و آشخانه بطور تصادفی از ۱۰۰ مزرعه که دارای علائم مشکوک به بیماری از قبیل زردی، خشکیدگی، تنک شدن موضعی، کاهش رشد، کوتولگی بوته، کوتاه ماندن و سفید شدن سنبله های گندم بودند نمونه برداری بعمل آمد. نمونه ها که شامل ریشه و قسمت های هوایی گیاه بودند در سه مرحله گیاهچه‌ای، پنجه زنی و ظهور سنبله تا سفت شدن دانه برداشت شدند. برای این کار از هر منطقه با توجه به سطح زیر کشت، ۱۰-۵ مزرعه با فواصل مناسب و با توجه به علائم بیماری انتخاب و از هر مزرعه ۱۰۰ نمونه با توجه به علائم مشاهده شده جمع‌آوری و پس از درج نام محل جمع‌آوری در داخل کیسه های پلاستیکی یکبار مصرف به آزمایشگاه منتقل گردید. گیاهان جمع‌آوری شده به روش پائول لافلام<sup>۱</sup> (۲۴) به صورت تصادفی به گروههای ۱۰ عددی تقسیم‌بندی و شدت بیماری بر روی طوقه، ریشه و گره ساقه ریزوم مانند<sup>۲</sup> (۷) بر اساس معیارهای زیر تعیین شد (لئون، ۲۰۰۶).

تمیز<sup>۳</sup> (0) = لکه قهوه‌ای (زخم) وجود ندارد.

مختصر<sup>۴</sup> (a) = تا ۲۵ درصد از سطح طوقه و ریشه دارای زخم است.

متوسط<sup>۵</sup> (b) = ۲۵ تا ۵۰ درصد از سطح طوقه و ریشه دارای زخم است.

شدید<sup>۶</sup> (c) = بیش از ۵۰ درصد از سطح طوقه و ریشه دارای زخم

باعث پوک شدن دانه ها و کاهش تعداد آنها می‌گردد. آلودگی زمانی اتفاق می‌افتد که شرایط برای توسعه گیاه بهینه نیست مثلاً در خاک های مرطوب و سرد که با زهکشی ضعیف و یا در خاکهای بسیار سخت و سرد باشد (۴۸).

گونه *Coniothyrium cerealis* E.Müll. اولین بار در سال ۱۹۵۱ توسط مولر شناسایی شد، مرحله جنسی آن بنام *Leptosphaeria* sp متعلق به رده *Dothideomycetes* از شاخه *Ascomycota* است (۴۶). این گونه از روی ساقه های مرده گندم، چاودار و خاک فراریشه گندم در آلمان و همچنین از خاکهای کشاورزی در هلند و گراس های زیادی در نروژ جدا و شناسایی شده است. دمای بهینه، بیشینه و کمینه رشد آن به ترتیب  $21^{\circ}\text{C}$ ،  $28^{\circ}\text{C}$  و  $6^{\circ}\text{C}$  گزارش شده است. این قارچ یکی از تجزیه کنندگان مؤثر چوب بشمار می‌رود، به همین جهت بعنوان عامل پوسیدگی و کاهش دهنده وزن و قدرت کشتی چوب از جمله الوار افرا شناخته می‌شود، در بعضی منابع از آن بعنوان یک قارچ بیماریزای قوی بر روی ریشه گندم نام برده شده است (۱۷).

جنس *Phoma* دارای گونه های متعددی است متعلق به شاخه *Ascomycota* و رده *Loculoascomycetes* و راسته *Pleosporales* می‌باشد (۴۶). که بعضی از آنها مثل *P. Leveilli* و *P. exigua* Desm., *eupyrena* Sacc. از فراریشه گندم در مناطق مختلف جهان جدا سازی شده اند (۱۲). بیماریزایی گونه *P. americana* Morgan-Jones & White. بر روی برگهای گندم در آمریکا گزارش شده است (۱۵). گونه *P. sclerotoides* Preuss ex Sacc. در یونجه و گراسهای زمستانی شامل گندم ایجاد پوسیدگی قهوه‌ای ریشه می‌کند. این قارچ می‌تواند به عنوان یک پوده زی روی بقایای محصول زنده بماند. مهمترین علائم ناشی از این قارچ، صورتی شدن متمایل به قرمز بافت ریشه و بن ساقه گندم می‌باشد که ممکن است با علائم ناشی از پوسیدگی فوزاریومی ریشه و ساقه اشتباه شود. در واقع در بیشتر موارد تصور بر این است که بیماری مذکور در اثر ترکیبی از قارچهای متعلق به جنس *Phoma* و *Pythium*، *Fusarium* بوجود می‌آید. غالب علائم ظاهر شده در قسمت بالای خاک در طی آخرین مراحل پر شدن دانه دیده می‌شوند و به همین علت باعث مرگ زودرس گیاه میزبان می‌شود. برای مدیریت این بیماری معمولاً استفاده از تناوب توصیه می‌شود (۱۲ و ۱۶).

در استان خراسان شمالی اولین گزارشهای مبنی بر مشاهده خسارتهای مشابه با علائم پوسیدگی عمومی ریشه به صورت پراکنده از سالهای ۷۷-۱۳۷۶ وجود دارد. کانون این بیماری روستای کیکانلو واقع در بخش مانه از توابع شهرستان مانه و سملقان می‌باشد، شدیدترین علائم در این منطقه دیده می‌شود در حالیکه در سایر نقاط استان نیز علائم به صورت پراکنده با شدت کمتری مشاهده شده

1- Paul Laflamme

2- Subcrown internode

3- Clean

4- Slight

5- Moderate

6- Sever

است.

با استفاده از رابطه 
$$\frac{0 + a + 2b + 4c}{10}$$
 میزان کاهش محصول به صورت درصد در مناطق مختلف برآورد شد. گیاهان جمع‌آوری شده پس از دسته بندی تا زمان انجام مراحل جداسازی در شرایط یخچال نگهداری گردیدند.

### جدا و خالص سازی قارچها

قسمت های طوقه و ریشه که دارای علائم مشکوک به بیماری بودند جدا و در داخل یک بشر که درب آن با توری نازکی بسته شده بود به مدت یک ساعت زیر جریان ملایم آب شیر شستشو داده شدند، سپس از حد فاصل بین بافت سالم و آلوده قطعاتی به اندازه ۵-۳ میلی متر تهیه و بوسیله محلول ۲ درصد هیپوکلریت سدیم (۵۰-۳۰٪) ۲ ثانیه برای ریشه ها و ۲-۱ دقیقه برای طوقه) سترون گردیدند. پس از چندین بار شستشو با آب مقطر سترون و خشک کردن آنها در بین دو لایه کاغذ صافی استریل نسبت به کشت آنها در تشتکهای پتری حاوی محیط کشت در زیر هود میکروبیولوژی اقدام گردید. برای جداسازی قارچهای *P. circinata*، *B. sorokiniana* و *Phoma sp* از محیط کشت سیب زمینی- دکستروز- آگار استفاده شد. جهت ایجاد شرایط برای اسپوردهی سریعتر و بیشتر، پس از دو هفته رشد قارچها در دمای ۲۵°C، دو گرده از حاشیه پرگنه این قارچها به لوله های آزمایش حاوی قطعات ۱۰ سانتیمتری ساقه های گندم که قبلاً سترون شده بودند، منتقل گردیدند (۳۰). در ته هر لوله یک میلی لیتر آب مقطر جهت تامین رطوبت ساقه های گندم ریخته شده بود. بمنظور اسپور دهی قارچها، پس از کشت آنها روی قطعات کاه، لوله های آزمایش بمدت ۲۰ روز در دمای آزمایشگاه و در مقابل نور غیر مستقیم طبیعی قرار داده شدند. قارچ *Phoma sp* هم روی محیط سیب زمینی- دکستروز- آگار و هم روی ساقه های گندم پیکنیدیوم<sup>۱</sup> تشکیل می دهد با این تفاوت که تشکیل پیکنید ها روی محیط کشت نسبت به ساقه گندم پراکنده تر هستند. محیط کشت سیب زمینی- دکستروز- آگار (۳۰) و محیط چاودار- آگار<sup>۲</sup> (۱۷) برای جداسازی گونه *C. cerealis* مناسب هستند. البته اسپوردهی این قارچ نیز روی ساقه های سترون شده میزبان بهتر و سریعتر انجام شد. علاوه بر این اسپورهای دو سلولی خاردار این قارچ فقط روی کشتهای انجام شده روی ساقه های میزبان تشکیل شدند. برای جداسازی عامل پاخوره<sup>۳</sup>، در اغلب موارد از محیط کشت نیمه انتخابی و تشخیصی

R-dPDA<sup>۴</sup> یا ۱/۴ قدرت سیب زمینی- دکستروز- آگار- ریفامپین<sup>۵</sup> (۱۸) و چند مورد محدود از محیط کشت عمومی سیب زمینی- دکستروز- آگار حاوی ۰/۰۳ گرم سولفات استرپتومایسین<sup>۶</sup> استفاده شد. برای تهیه محیط کشت نیمه انتخابی R-dPDA ابتدا ۵۰ گرم سیب زمینی پوست کنده در پارچه ململ گذاشته شده و در یک بشر نیم لیتری حاوی ۳۰۰ میلی لیتر آب مقطر قرار داده شد. سپس به مدت ۲۰ دقیقه جوشانده شد. عصاره موجود در بشر، ۵ گرم دکستروز و ۲۰-۱۶ گرم آگار بسته به نوع فرمول تجاری، را در یک ارلن یک لیتری ریخته و با اضافه کردن آب مقطر حجم ارلن به یک لیتر رسانده شد. محیط کشت R-dPDA در اکثر موارد، در این تحقیق، با اضافه کردن ۱۰ گرم سیب زمینی- دکستروز- آگار تجاری و ۱۵-۱۲ گرم آگار در یک لیتر آب مقطر تهیه شده و در اتوکلاو در دمای ۱۲۰ درجه به مدت ۲۰ دقیقه سترون گردید. پس از سرد شدن و رسیدن به دمای تقریبی ۵۰-۴۵°C، ۱۰۰ میکرو گرم آنتی بیوتیک ضد قارچی و باکتریایی ریفامپین در شرایط استریل هود به آن اضافه شد. در نهایت ۲۰ میلی لیتر از محیط کشت در هر تشتک پتری ریخته شد. تشتک های پتری حاوی محیط کشت فوق (که رنگ نارنجی دارد) را می توان در شرایط تاریکی و یخچال تا چند روز نگهداری کرد ولی در شرایطی که از این محیط کشت به عنوان یک محیط تشخیصی استفاده شود، با گذشت عمر محیط کشت، وضوح هاله در واکنش ریفامپین کمتری شود. چون در صورت رشد قارچ در این محیط در اثر واکنش مواد ترشح شده از قارچ در محیط کشت با ریفامپین در اطراف پرگنه قارچ هاله شفاف در متن نارنجی رنگ محیط کشت بوجود می آید (۲۲).

### شناسایی قارچها

برای شناسایی قارچ های فوزاریوم از کلید نلسون و همکاران (۲۹) و برای شناسایی گونه های *Bipolaris* از خصوصیات مرفولوژیک کنیدیوفور، شکل و اندازه و تعداد دیواره های عرضی کنیدیوم، سلول های کنیدیوم زا و نحوه کنیدیوم زایی آنها، اندام باردهی روی بافت میزبان و رشد قارچ روی محیط کشت استفاده شد (۲۱ و ۳۹).

برای شناسایی گونه *P. circinata* از نحوه میزان رشد و رنگ پرگنه قارچ در روی محیط کشت، خصوصیات مرفولوژیک کنیدیوفور، شکل و اندازه کنیدیوم، سلول های کنیدیوم زا و نحوه کنیدیوم زایی آنها و اندام باردهی روی ساقه گندم استفاده شد (۲۵ و ۳۲).

نحوه و میزان رشد و رنگ پرگنه قارچ در روی محیط کشت،

4- Rifampin-diluted PDA  
5- 1/4 -strength potato dextrose agar  
6- Streptomycine sulphate

1- Pycnidium  
2- Oat meal agar  
3- Take-all

سرمادهی بمدت ۳۰ روز در یخچال با دمای ۵°C نگهداری گردیدند. بذور گندم پس از ریشه دار شدن، به گلدانها منتقل و در دمای ۲۵-۲۰°C قرار داده شدند (۷). از آنجائیکه بنظرمی رسد تنش رطوبتی خاک در دوران رشد گیاه باعث شدت بیماری می شود، براساس روش رایس و جرال (۳۴)، گیاهچه ها دوبار در دوران رشدشان تحت تاثیر تنش قرار داده شدند. بار اول ۵ روز بعد از کشت و اطمینان از استقرار گیاهان و باردوم ۱۰ روز بعد از تنش اول رطوبت گلدان ها به حداقل رسانده شد. بعد از ۱۳ هفته بوته ها از خاک خارج و پس از شستن ملایم با آب جاری ریشه و طوقه آنها برای بررسی توانایی نفوذ قارچهای مورد آزمایش در ریشه و ایجاد زخم مورد بازدید قرار گرفت. در مرحله بعد اقدام به جداسازی قارچها از قسمتهای تغییر رنگ داده ریشه و طوقه نمونه های آزمایشی گردید. تمام جدایه های هر قارچ که از نمونه های مناطق مختلف جداسازی شدند مشابه بوده لذا از جدایه حاصل از منطقه کیکانلو و حصار گرمخان در آزمایش بیماریزایی استفاده شد و بعد از رشد پرگنه این نمونه های کشت شده، آنها با نمونه قارچهای مایه زنی شده مقایسه گردیدند. در بررسی بیماریزایی قارچها از دو شاخص استفاده شد. شاخص اول شامل شروع زخم و تغییر رنگ حاصل از این زخم در روی ریشه بود که برای این منظور از کشت بذور گندم در محیط پرلیت آلوده شده با ساقه های گندم تلقیح شده با قارچ مورد نظر استفاده شد. برای کشت بذور در بستری پرلیت از زادمایه تهیه شده روی قطعات ساقه گندم به روشی که قبلا توضیح داده شد، استفاده شد. پس از رشد قارچ روی قطعات ساقه به اندازه های حدود دوسانتیمتر بریده و به صورت لایه ای (حدود ۱۰ قطعه) در سطح پرلیت که دو سوم لیوان شفاف بستنی را پر کرده بود پخش گردید روی این لایه تا ارتفاع ۲ سانتیمتر پرلیت ریخته شد. در هر لیوان ۵ گیاهچه گندم روی این لایه نشاء گردید و بوسیله یک لایه پرلیت به قطر یک سانتیمتر پوشانده شد و سپس به گلخانه با دمای ۲۵-۲۰°C انتقال داده شدند. آبیاری با محلول ۳ گرم در لیتر ماده غذایی هوگلند<sup>۱</sup> حاوی دکستروز، ال - آسپاراژین<sup>۲</sup>، فسفات پتاسیم<sup>۳</sup>، منیزیم<sup>۴</sup>، روی<sup>۵</sup>، آهن<sup>۶</sup>، آهن<sup>۶</sup>، کلرید منگنز<sup>۷</sup>، ال - متیونین<sup>۸</sup> و آب (۳۰) به صورت هر سه روز روز یکبار و هر بار ۵۰ میلی لیتر محلول غذایی برای هر لیوان، انجام شد. به این ترتیب ریشه گیاهچه ها پس از عبور از لایه حاوی زاد مایه به آن آغشته شده و در صورت حساس بودن آلوده می شوند. ایجاد

خصوصیات و اندازه پیکنید، شکل و اندازه کنیدیوم و شکل و اندازه اسپورهای خارداری که روی ساقه گندم تشکیل شده بودند، معیارهایی بودند که برای شناسایی گونه *C. cerealis* استفاده شدند (۱۷ و ۴۶). برای شناسایی گونه *Phoma sp* از نحوه، میزان رشد و رنگ پرگنه قارچ در روی محیط کشت، خصوصیات و اندازه پیکنید، شکل و اندازه کنیدیوم استفاده شد. چون مشخصات آن با هیچیک از گونه های فوما که در C.M.I شماره ۱۶۷ و راهنمای قارچهای خاکزی توصیف شده تطابق نداشت، تنهادر حد جنس شناسائی شد. این قارچ متعلق به شاخه *Ascomycota*، رده *Loculoascomycetes* و *Pleosporales* است (۱۷ و ۴۶).

### بررسی بیماریزایی قارچها

این آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی با ۷ تیمار شامل قارچهای *C. cerealis*، *P. circinata*، *B. sorokiniana*، *Phoma sp*، *F. solani*، *Fusarium oxysporum* و شاهد ۳ تکرار در گلخانه انجام شد. برای این منظور گلدانهائی به ارتفاع ۱۴ سانتیمتر و قطر دهانه ۱۸ سانتیمتر تهیه و در هر گلدان یک کیلوگرم خاک مزرعه با بافت رسی لومی که دو بار بفاصله ۲۴ ساعت اتوکلاو شده بود ریخته شد. برای تهیه زادمایه قارچها از روش رایس و جرال (۳۴) با کمی تغییرات استفاده شد. به این ترتیب که به ازای هر گلدان ۲۰۰ گرم گندم رقم چمران بمدت ۱۵ دقیقه در ۲۵۰ میلی لیتر آب جوشانده شد. پس از حذف آب اضافی آن بوسیله آبکش بمدت ۳۰ دقیقه روی یک پارچه تمیز پهن شد تا ضمن سرد شدن رطوبت اضافی سطح دانه ها از بین برود. از این گندم بمیزان ۲۰۰ گرم در ارلن مایر یک لیتری ریخته شد و دوبار بفاصله ۲۴ ساعت اتوکلاو گردید. پس از سرد شدن، هر ارلن بوسیله دو گرده یک سانتیمتری از کشت تازه قارچهای جداساده، مایه زنی گردید و بمدت سه هفته در دمای ۲۲°C درجه سانتیگراد نگهداری شد. از این زادمایه به نسبت ۵ درصد وزنی با خاک گلدانهائی آزمایشی مخلوط شد و در هر گلدان ۵ گیاهچه گندم ۳۰ روزه نشاء گردید. برای هر قارچ سه عدد گلدان با زادمایه قارچ مایه زنی و یک گلدان نیز بعنوان شاهد در نظر گرفته شد. در روشی دیگر (۳۰) برای تهیه زادمایه، ساقه گندم تهیه شده از مزرعه به قطعات ۲ سانتیمتری تقسیم شده و سپس ساقه ها دوبار بفاصله ۲۴ ساعت و هر بار بمدت ۱۵ دقیقه اتوکلاو گردید و سپس تشتکهای پتری حاوی قطعات ساقه گندم سترون شده بوسیله یک گرده یک سانتیمتری از کشت تازه قارچهای جداساده مایه زنی گردید و بمدت سه هفته در دمای ۲۲°C درجه سانتیگراد نگهداری شد. برای تهیه نشاء گندم ابتدا بذور با محلول هیپوکلریت سدیم ۲ درصد از محلول تجاری بمدت ۵ دقیقه ضد عفونی شده و در تشتکهای پتری حاوی دو لایه کاغذ صافی مرطوب و سترون شده قرار داده شدند و برای

1- Hoagland  
2- L-asparagine  
3- K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>  
4- Mn  
5- Zn  
6- Fe  
7- MgCl<sub>2</sub>  
8- L-methionine

زخم و تغییر رنگ ریشه ها در صورت آلوده شدن از بیرون لیوان قابل مشاهده می باشد. شاخص دوم شامل تاثیر قارچ بر وزن تر خشک ریشه و طوقه گندم بود که برای این منظور از آزمایش در گلدانها و محیط خاک در قالب طرح کاملاً استفاده شد.

## نتایج

### جداسازی و بیماریزائی قارچها

در بررسی های آزمایشگاهی از ۱۰۰ مزرعه از مزارع مشکوک به بیماری پوسیدگی ریشه و طوقه گندم در استان خراسان شمالی در سال اول و دوم مطالعه در مجموع ۹۶ جدایه قارچی در سال اول (۱۳۸۶) و ۹۴ جدایه قارچی در سال دوم (۱۳۸۷) شناسایی گردید که متعلق به ۴ جنس مهم بودند. قارچ های جداسازی شده، فراوانی و نتیجه اثبات بیماریزایی آنها در جدول (۱) آورده شده است. با وجود تلاش زیاد برای جداسازی قارچ *Gaeumannomyces graminis var. tritici* بعنوان عامل اصلی پاخوره در ایران، در طی دو فصل زراعی ۱۳۸۶ و ۱۳۸۷ و استفاده از محیط های کشت عمومی و نیمه انتخابی این قارچ از نمونه های جمع آوری شده از مزارع استان خراسان شمالی جداسازی نشد. تعدادی از جدایه های قارچی نیز بدلیل عدم تولید اسپور در محیط شناسایی نشدند. با وجود ایجاد زخم و آلوده شدن گیاهچه ها در مراحل اولیه رشد، علائم مزرعه ای بیماری پوسیدگی ریشه و طوقه بعد از مرحله پنجه زنی در مزرعه بصورت لکه هایی که در آنها بوته های گندم با رشد ضعیف، برنگ زرد و کوتاه قد بودند، مشخص شد. ویژگی اصلی این بیماری از نظر علائم مزرعه ای، خوشه های سفید است که در مرحله سنبله ظاهر می شود. نتایج حاصل از جداسازی قارچها در دو مرحله پنجه زنی و ظهور سنبله تا سفت شدن دانه نیز مشابه نتایج مرحله گیاهچه ای بود یعنی قارچهایی که در مرحله پنجه زنی و سنبله جداسازی شدند همان قارچهای مرحله گیاهچه ای بودند. لذا بخاطر جلوگیری از تکرار مطالب، آورده نشده است.

نتایج آزمایشهای بیماریزایی قارچهای جدا شده از نمونه های مزرعه روی گندم رقم چمران در شرایط آزمایشگاه و گلخانه نشان داد که همه قارچها بجز گونه های فوزاریوم قادرند روی ریشه گندم ایجاد علائم بیماری شامل پوسیدگی ریشه و طوقه کنند، شدت این علائم در چهار قارچ بیماریزای متفاوت بود. پوسیدگی ریشه در گونه *B. sorokiniana* با ظهور نقاط یا لکه های قهوه ای روی اولین گره زیر طوقه و همچنین روی ریشه و طوقه گیاهچه ظاهر گردید، این علائم بعد از ۷۲ ساعت در بستریلیت قابل مشاهده بود. با گذشت زمان، زخم های قهوه ای ایجاد شده روی این قسمتها کامل تر شده و به رنگ سیاه در آمدند. در اکثر موارد زخمها به همدیگر پیوسته و منطقه وسیعی از ریشه، طوقه و حتی میان گره اول بالای طوقه را نیز

دربرگرفته و باعث پوسیدگی این قسمتها گردیدند (شکل ۱). پوسیدگی ریشه در اثر *P. circinata* در محیط پرلیت ۴ هفته پس از کشت مشاهده شد (۳۱). علائم بیماری بصورت زخمهایی بیضی شکل تا کشیده به رنگ قهوه ای روشن در روی ریشه گیاهچه های آلوده قابل مشاهده بود. این زخمها در روی ریشه گیاهان بالغ توسعه یافته و تعداد و اندازه آنها بیشتر شد و رنگ آنها بتدریج تبدیل به قهوه ای تیره تا سیاه گردید (شکل ۲).

علائم مشابهی نیز در اثر آلوده سازی گیاهچه ها بوسیله دو گونه *Phoma sp.* و *Coniothyrium cerealis* مشاهده شد. در سه گونه اخیر پوسته ریشه بعد از پیشرفت بیماری و پوسیده شدن براحتی از قسمت چوبی جدا شد. این علائم شبیه علائمی بود که در بوته های بیمار جمع آوری شده از مزرعه مشاهده شده بود. کشت بافت های دارای علائم بیماری روی محیط کشت PDA منجر به جدا شدن قارچهای تلقیح شده گردید.

### مشخصات ریخت شناسی قارچهای بیماریزای

#### *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.in Sorok) Shoem

رنگ پرگنه قارچ در محیط کشت محیط سیب زمینی - دکستروز - آگار، زیتونی تا قهوه ای تیره بود. هیف ها با دیواره عرضی مشخص، سطح صاف، به قطر ۷/۵-۵ میکرومتر (شکل ۳: A و B) هستند. کنیدیوفور هم رنگ ریشه و قهوه ای، به صورت منفرد و معمولاً ماریپیچ و زانویی شکل، و دیواره دار، به ابعاد ۹-۶ × ۱۰۰-۷۰ میکرومتر (شکل ۳: D) می باشد. کنیدیوم قهوه ای تیره تا سیاه، بیضی شکل و تا حدودی دوکی شکل، به ابعاد ۲۳-۱۸ × ۱۰۰-۶۰ میکرومتر، دارای ۸-۳ دیوار عرضی و بصورت جانبی یا انتهایی روی کنیدیوفور قرار می گیرند (شکل ۱: C). این کنیدیوم ها شباهت زیادی به کنیدیوم های *Pyrenophora sp* (شکل ۳: E) دارند با این تفاوت که کنیدیومهای *C. sativus* دارای دیواره ضخیم تر از کنیدیوم های قارچ *Pyrenophora sp* می باشند (۲۱ و ۲۸).

#### *Periconia circinata* (Mangin) Sacc

رنگ پرگنه قارچ در محیط کشت محیط سیب زمینی - دکستروز - آگار خاکستری بود که با تولید اسپور به رنگ تیره تر در می آمد (شکل ۴: D). میزان رشد خطی در دما ۲۵ °C نسبتاً کم است (۷ تا ۱۰ میلیمتر برای ۲۴ ساعت). دمای بهینه برای رشد قارچ ۲۵ °C می باشد. میسیلیوم شامل هیف های شفاف و هیف هایی به رنگ قهوه ای روشن بزرگ تر با دیواره کلفت تر می باشد که تولید کلامیدوسپور یا کنیدیوفور می کند. کلامیدوسپور ها کروی با ۹ تا ۱۸ میکرومتر قطر، نرم (هموار) و دیواره های کلفت هستند و در زنجیره های انتهایی یا بین سلولی تشکیل می شوند (شکل ۴: A). وظیفه کلامیدوسپورها

**Coniothyrium cerealis E.Müll.**

رشد پرگنه این گونه نسبت به دیگر گونه های قبلی کندتر بود بطوریکه قطر آن در روی محیط کشت سیب زمینی- دکستروز- آگار در دمای ۲۰°C بعد از ۱۰ روز به ۳ سانتیمتر رسید. رنگ پرگنه آن به خاطر وجود میسلیم های هوایی به رنگ زیتونی مایل به قهوه ای تیره با ظاهری پشمنی دیده شد (شکل ۵: E).

پیکنیدهای پراکنده در کشت های کهنه و ساقه های میزبان بوجود آمدند البته تراکم تشکیل پیکنید بر روی ساقه گندم بیشتر از محیط کشت بود (شکل ۵: A و B). کنیدیومها میله ای شکل با ابعاد ۲/۵-۱/۵ × (۱۱-) ۸-۵ میکرومتر، تقریباً شفاف که با افزایش سن به رنگ قهوه ای صورتی در می آمدند در داخل پیکنیدها تولید می شوند (پیکان سیاه). کنیدیوم های دو سلولی خاردار منحصر در روی ساقه های گندم مایه زنی شده باقارچ فوق، تشکیل شدند (شکل ۵: D) (۱۷ و ۴۶).

مشخص نیست اما ممکن است آنها برای بقا مهم باشند. کنیدیوفورها بصورت انفرادی یا در دسته های ۲ تا ۳ تایی به رنگ قهوه ای تیره تا سیاه با ۲۰۰ میکرومتر طول و ۶ تا ۹ میکرومتر قطر هستند (شکل ۴: B و C). این کنیدیوفورها دارای ۳ تا ۱۰ دیواره عرضی بوده که در انتها کمی خم می شوند. سلول انتهائی هرکنیدیوفور کمی متورم شده و ایجاد زنجیره های کوتاه از سلول های اسپورزا می کنند، این سلولها کروی، صاف و به رنگ قهوه ای روشن با ۷ میکرومتر قطر هستند. کنیدیوم ها بصورت متوالی روی سلول اسپورزای پایه تشکیل می شوند وغالباً بصورت زنجیره های کوتاه به یکدیگر می چسبند. گهگاهی در روی محیط کشت کنیدیوم ها مستقیماً روی ریشه یا از سلول های اسپورزا در اولین یا دومین دیواره زیر رأس کنیدیوفور تشکیل می شوند. کنیدیوم ها به رنگ قهوه ای تیره تا سیاه کروی و دارای ۱۵ تا ۲۵ میکرومتر قطر هستند و هنگامی که بالغ می شوند مجهز به خارهای کوتاهی به طول ۰/۵ میکرومتر می گردند که ممکن است خم شده و به اسپور ظاهری زگیل مانند بدهند (۲۷ و ۳۲).

جدول ۱- مشخصات و فراوانی نمونه های گندم جمع آوری شده از مزارع آبی استان خراسان شمالی و قارچ های جدا شده از ریشه و ساقه های دارای علائم پوسیدگی و اثبات بیماریزایی آنها

مرحله رشدی	گونه جدا شده	محل جمع آوری	نوع کشت	سال زراعی	فراوانی در سال ۱۳۸۷	فراوانی در سال ۱۳۸۶	اثبات بیماریزایی
گیاچه	<i>F. oxysporum</i>	پیش قلعه	آبی	۸۶-۸۷	۷	۵	-
گیاچه	<i>F. solani</i>	پیش قلعه	آبی	۸۷-۸۶	۲	۳	-
گیاچه	<i>B. sorokiniana</i>	پیش قلعه	آبی	۸۶-۸۷	۱۷	۱۶	+
گیاچه	<i>C. cerealis</i>	پیش قلعه	آبی	۸۶-۸۷	۷	۵	+
گیاچه	<i>Phoma sp</i>	پیش قلعه	آبی	۸۶-۸۷	۴	۳	+
گیاچه	<i>F. oxysporum</i>	اطراف آشخانه	آبی	۸۶-۸۷	۶	۷	-
گیاچه	<i>F. solani</i>	اطراف آشخانه	آبی	۸۶-۸۷	۲	۳	-
گیاچه	<i>B. sorokiniana</i>	اطراف آشخانه	آبی	۸۶-۸۷	۱۳	۱۲	+
گیاچه	<i>C. cerealis</i>	اطراف آشخانه	آبی	۸۶-۸۷	۵	۶	+
گیاچه	<i>Phoma sp</i>	اطراف آشخانه	آبی	۸۶-۸۷	۲	۳	+
گیاچه	<i>F. oxysporum</i>	اسفراین	آبی	۸۶-۸۷	۶	۵	-
گیاچه	<i>F. oxysporum</i>	فاروج	آبی	۸۶-۸۷	۴	۳	-
گیاچه	<i>F. oxysporum</i>	شیروان	آبی	۸۶-۸۷	۵	۳	-
گیاچه	<i>B. sorokiniana</i>	شیروان <sup>۱</sup>	آبی	۸۶	-	۵	+
گیاچه	<i>C. cerealis</i>	شیروان <sup>۲</sup>	آبی	۸۶	-	۲	+
گیاچه	<i>Phoma sp</i>	شیروان	آبی	۸۶-۸۷	۳	۳	+
گیاچه	<i>F. oxysporum</i>	حصار گرمخان	آبی	۸۶-۸۷	۵	۶	-
گیاچه	<i>P. circinata</i>	حصار گرمخان	آبی	۸۶-۸۷	۷	۶	+
گیاچه	<i>C. cerealis</i>	حصار گرمخان	آبی	۸۶-۸۷	۲	۱	+

۱ و ۲: درسال زراعی ۸۶ از شیروان واقع در منطقه زیارت جداسازی شدند ولی درسال ۸۷ این منطقه آیش بوده است



شکل ۱- شروع ایجاد علائم تاپوسیدگی کامل ریشه در آزمایشگاه توسط قارچ *B.sorokiniana*

شماره A-I نشان دهنده شروع زخم و تغییر رنگ بافت ریشه های اولیه تا پوسیدگی کامل ریشه های اولیه و میان گره زیر طوقه می باشد

#### *Phoma* sp

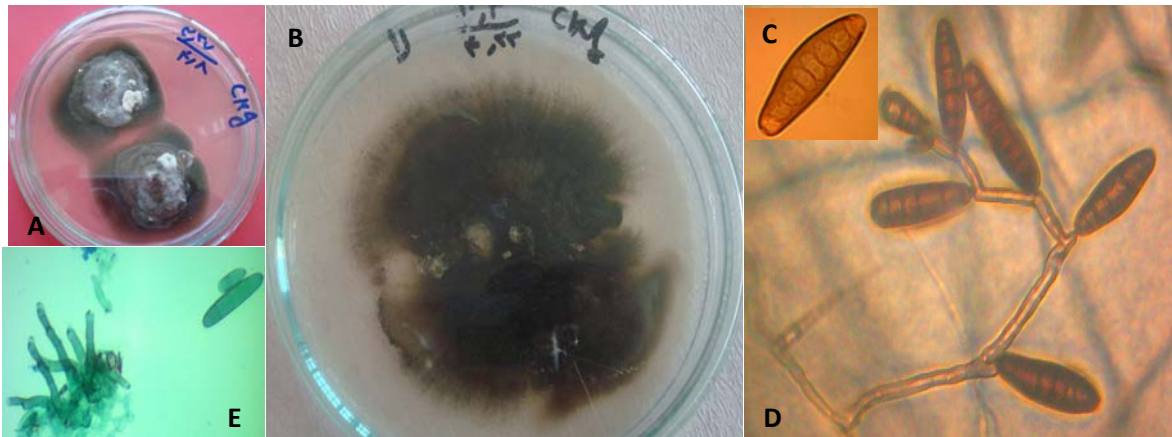
رنگ پرگنه قارچ در محیط کشت محیط سیب زمینی- دکستروز- آگار قهوه ای متمایل به تیره بود و هرچه سن پرگنه بیشتر می شد رنگ آن نیز تیره تر می شد (شکل E:۶). میسلیمها شامل ریشه هایی است به رنگ قهوه ای روشن با دیواره ضخیم که تولید کلامیدوسپور

می کنند (شکل E:۶). کلامیدوسپورها کروی تا تخم مرغی شکل با قطر ۱۵-۵ × ۶/۲۵-۳/۷۵ میکرومتر و دیواره ضخیم می باشند که معمولا به صورت انفرادی و یا گاهی در زنجیره های دوتایی در انتها یا بین سلولهای ریشه تشکیل شدند (شکل C:۶).

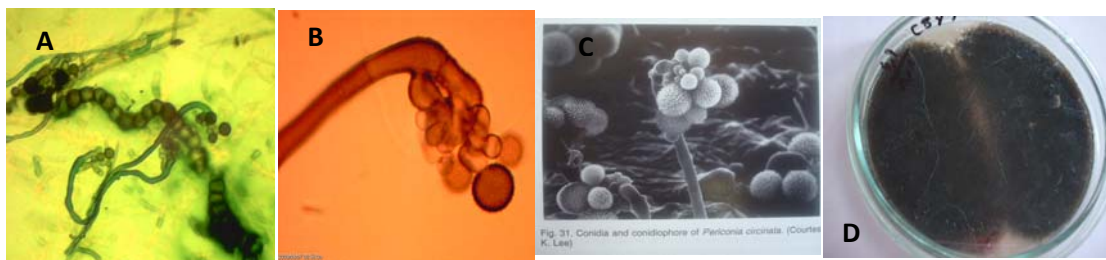




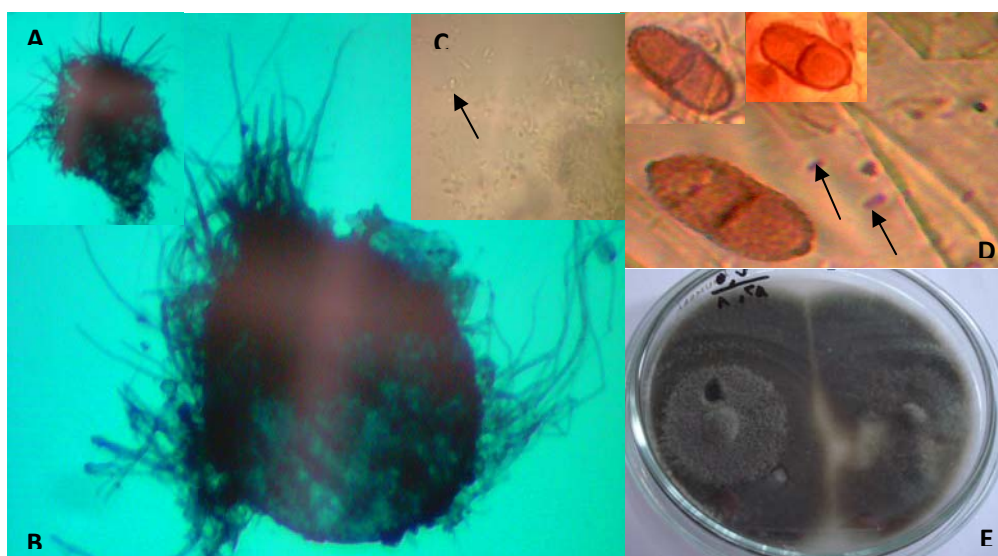
شکل ۲- شروع ایجاد علائم تا پوسیدگی کامل ریشه در آزمایشگاه توسط قارچ *P. circinata* شماره A-D نشان دهنده شروع ایجاد زخم روی ریشه تا پوسیدگی کامل می باشد



شکل ۳- الف: *B. Sorokinium* (A) مراحل اولیه رشد پرگنه، (B) پرگنه قارچ، (C) کنیدیوم قارچ، (D) کنیدیوم و کنیدیوفور قارچ  
ب: (E) کنیدیوم و کنیدیوفور *Pyrenophora* sp

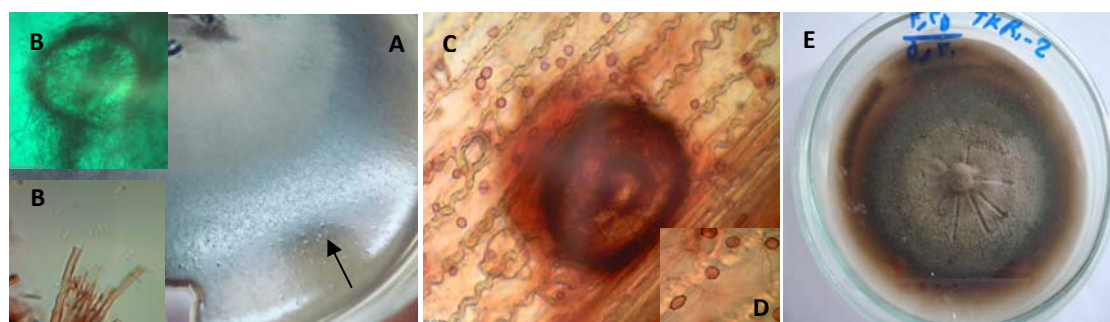


شکل ۴- *P. Circinata* (A) کلامیدوسپورها، کنیدیوفورها و کنیدیوم، (B و C) کنیدیوم و کنیدیوفور، (D) پرگنه قارچ



شکل ۵: *C. Cercealis*

A و B) پیکنیدیوم ، C) کنیدیوم آزاد شده از داخل پیکنیدیوم (پیکان سیاه در شکل C و D)، D) کنیدیوم دو سلولی



شکل ۶- *Phoma sp*

A) پیکنید تشکیل شده روی محیط کشت، B) کنیدیومهای آزاد شده از پیکنید، C) پیکنید و کلامیدوسپور تشکیل شده روی ساقه گندم، D) کلامیدوسپور، E) برگه قارچ

آنها در بین قارچها متفاوت بود. تجزیه واریانس (جدول ۲) اثر قارچهای *Phoma sp* و *C. cerealis*، *P. circinata*، *B. sorokiniana* بر روی وزن تر و خشک گندم نشان داد که این اثر در سطح احتمال ۵ درصد معنی دار می باشد. مقایسه میانگین وزن تر و خشک گیاهچه گندم تلقیح شده بوسیله ۴ قارچ فوق نشان داد که هر چهار قارچ در ایجاد علائم بیماری بر روی ریشه با یکدیگر در سطح ۵ درصد دارای اختلاف معنی دار هستند (جدول ۳). این امر بیانگر تاثیر این قارچها بر روی کاهش وزن طوقه و ریشه گیاه می باشد. این کاهش وزن در اثر نکروزه شدن و در نهایت پوسیده شدن بافت های آوندی ریشه و طوقه است که مانع جذب آب و مواد معدنی می شود و با نتایج مطالعات انجام شده در نقاط مختلف جهان که مبنی بر خسارت قارچهای خاکزی بیماریزا بر روی ریشه و طوقه گندم مطابقت دارد (۱۷، ۲۵ و ۳۷).

پیکنیدیوم ها در روی ساقه گندم به فراوانی ولی در روی محیط کشت بطور پراکنده به ابعاد ۲۱۶-۲۰۶ × ۱۶۳-۱۵۴ میکرومتر تشکیل شدند (شکل ۶A). چون مشخصات جدایه مورد بررسی با هیچیک از گونه های توصیف شده (لثوکل، ۱۹۸۴) تطابق نداشت قارچ مزبور بعنوان *Phoma sp* تشخیص داده شد (۱۷ و ۴۶).

#### تعیین عامل اصلی پوسیدگی ریشه و طوقه

نتایج بررسی آزمایشهای بیماریزایی قارچهای *B. sorokiniana*، *P. circinata*، *C. cerealis* و *Phoma sp* که از نمونه های مزرعه جداسازی شده بودند در گلدانهای حاوی خاک در قالب طرح کاملاً تصادفی در گلخانه نشان داد که همه قارچها توانایی ایجاد علائم بیماری را دارند، با این تفاوت که زمان ایجاد علائم و شدت

نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که عوامل قارچی مختلفی در پوسیدگی ریشه و طوقه گندم در استان خراسان شمالی دخالت دارند. این موضوع بوسیله محققین دیگر نیز بیان شده است (۱۱، ۱۷، ۱۹، ۳۳ و ۴۳). بوته های بیمار جمع آوری شده از مناطق مختلف استان خراسان شمالی حداقل به یکی از قارچ‌های بیماریزای *B. sorokiniana*، *P. circinata sorokiniana*، *C. cerealis* و *Phoma sp.* آلوده بودند. سه قارچ اخیر در اکثر موارد همراه با قارچ *B. sorokiniana* جدا سازی گردیدند. ترکیب و فراوانی گونه‌های مختلف از منطقه ای به منطقه دیگر و یا از مزرعه ای به مزرعه دیگر متفاوت بود، عمده ترین آلودگی‌ها مربوط به گونه *B. sorokiniana* بود، ولی در مزارع بعضی مناطق مثل حصارگرمخان بجنورد خسارت قارچ *P. circinata* نسبت به بقیه قارچ‌ها از نظر مشاهدات مزرعه‌ای بیشتر بود. هر چند این قارچ‌ها می‌توانند به تنهایی، بخصوص در شرایط تنش، بیماریزا باشند، ولی جدا شدن مجموعه ای از آنها از یک مزرعه وحتىی از یک بوته نظریه کمپلکس بودن پوسیدگی ریشه و طوقه گندم را تقویت می‌کند (۱۹ و ۳۳). رابطه این قارچ‌ها با یکدیگر، با میزبان و با شرایط محیطی به درستی روشن نیست. زیرا در نمونه های بررسی شده مواردی مثل نمونه های منطقه کیکانلو دیده شد که فقط یک قارچ از آنها جدا سازی گردید، در حالیکه در بیشتر موارد بیش از یک قارچ شناسائی گردید. با توجه به اینکه در اکثر جداسازیها *B. sorokiniana* به تنهایی ویا همراه سایر قارچهای بیماریزا شناسائی گردید می‌توان پذیرفت که این قارچ از اهمیت بیشتری برخوردار است و احتمالاً نقش اصلی را در مجموعه قارچ‌های جدا شده ایفا می‌نماید. این موضوع طی آزمایشی که در قالب طرح کاملاً تصادفی در گلخانه انجام شد به اثبات رسید و مشخص شد که در بین قارچ‌های جدا شده از نمونه های جمع‌آوری شده از مزارع استان قارچ *B. sorokiniana* قادر است زودتر از همه قارچ‌ها به ریشه و طوقه میزبان حمله کند (آزمایش انجام شده در لیوان یکبار مصرف در بستر پرلیت) و نیز شدت علائم ایجاد شده توسط این قارچ از بقیه بیشتر بود (آزمایش انجام در قالب طرح کاملاً تصادفی در بستر خاک). در بین این قارچ‌ها واضح‌ترین و شدیدترین علائم بوجود آمده مربوط به قارچ *B. sorokiniana* بود این موضوع با مطالعات (۲۶ و ۴۴) مطابقت دارد. مقایسه میانگین تاثیر این قارچ‌ها بر روی ریشه گندم که با استفاده از روش دانکن محاسبه شده است (جدول ۳) نیز بیانگر این موضوع است.

جدول ۲- تجزیه واریانس وزن تر و خشک ریشه گندم

منابع تنوع	درجه آزادی	میانگین مجذورات (MS)	
		وزن خشک گیاه	وزن تر گیاه
تیمار	۴	۰/۰۵۸۶**	۰/۸۵۷**
خطا	۱۰	۰/۰۰۲۵	۰/۰۱۱۱
کل	۱۴	۲۷ = ۲۶/۶٪	۲۷ = ۱۲/۳٪

\*\* معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد

پوسیدگی ریشه در گونه *B. sorokiniana* با ظهور نقاط یا لکه‌هایی قهوه‌ای در روی اولین گره زیر طوقه و ریشه و طوقه ظاهر می‌شود این علائم بعد از ۷۲ ساعت در بسترپرلیت قابل مشاهده بود. با گذشت زمان، زخم‌های قهوه‌ای ایجاد شده روی این قسمت کامل تر شده و سیاه رنگ شدند. زخم‌ها در اکثر موارد به همدیگر پیوسته و منطقه وسیعی از ریشه‌ها و گره ساقه ریزوم مانند و طوقه و حتی میان گره اول بالای طوقه را نیز دربر گرفته و باعث پوسیدگی این قسمت‌ها شدند این موضوع با مطالعات لی دانگ و گیانگ (۲۶) مطابقت دارد. در آزمایشهای بیماریزایی جنس *P. circinata* پوسیدگی ریشه در محیط پرلیت ۴ هفته پس از کشت مشاهده شد (۳۱). علائم بیماری بصورت زخم‌هایی به شکل بیضی کشیده و به رنگ قهوه‌ای روشن در روی ریشه گیاهچه‌های آلوده وجود داشت اما در روی ریشه گیاهان بالغ این زخم‌ها توسعه یافته و تعداد و اندازه آنها بیشتر شد و رنگ آنها بتدریج به قهوه‌ای تیره تا سیاه تغییر رنگ داد. علائم مشابهی نیز بوسیله گونه‌های *Phoma sp.* و *C. cerealis* مشاهده شد. در سه گونه اخیر پوسته ریشه بعد از پیشرفت بیماری و پوسیده شدن براحتی از قسمت چوبی جدا می‌شد که این موضوع با مشاهدات مزرعه‌ای همخوانی دارد. جداسدن این قارچ‌ها از نمونه هائی که در شرایط گلخانه تلقیح شده بودند مؤید بیماریزا بودن قارچ‌های مذکور بود. بر اساس فرمول پائول لافلام (۲۴) کاهش محصول در اثر این بیماری در روستای کیکانلو (کانون آلودگی) بیشترین مقدار آلودگی به مقدار ۱۸/۶ درصد در سطح استان و در مناطق اطراف شهرستان آشنانه به میزان ۱۱/۱ درصد برآورد، گردید. با این توضیح که بیماری پوسیدگی ریشه در دو یا سه سال اخیر در این منطقه گسترش یافته است (اطلاعات کشاورزان منطقه). هرچند به صورت موردی در بعضی از مزارع خسارت خیلی شدیدتر بود.

## بحث

جدول ۳- مقایسه میانگین وزن تر و خشک (گرم) گیاهچه گندم تلقیح شده بوسیله ۴ قارچی عامل پوسیدگی ریشه و طوقه

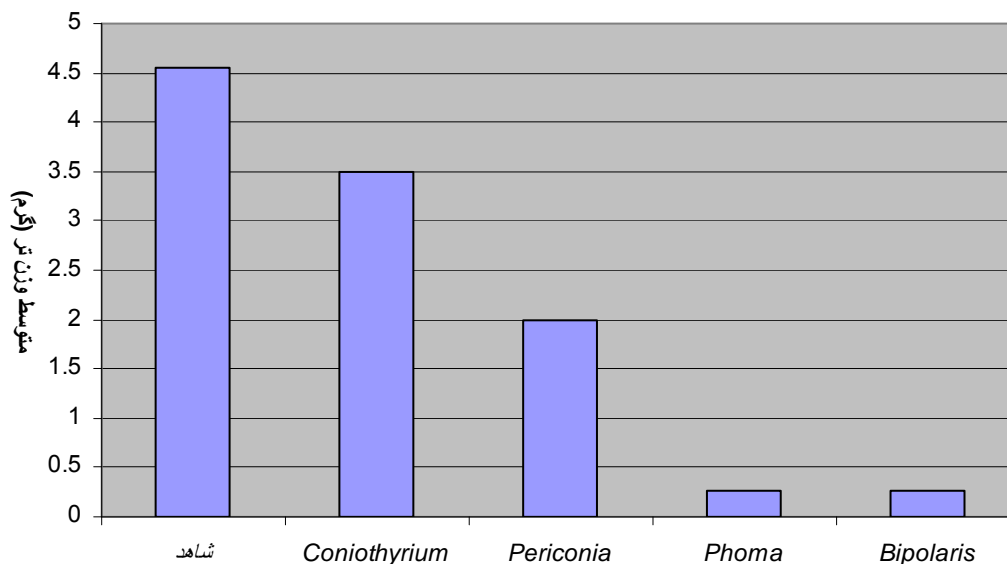
قارچ	<i>B. sorokiniana</i>	<i>C. cerealis</i>	<i>P. circinata</i>	<i>Phoma sp.</i>	شاهد
وزن تر	۰/۰۸۸۳ c	۰/۹۴۸۵ a	۰/۶۶۶۷ b	۰/۲۶۷۷ c	۰/۹۶۳۳ ab
وزن خشک	۰/۰۵۳۳ c	۰/۲۸۳۳ a	۰/۱۵۳۳ b	۰/۰۵۵۰ c	۰/۳۵۶۷ a

\*\* میانگین‌هایی که دارای حرف غیر مشابه هستند در سطح احتمال ۵ درصد معنی دار می‌باشند.

جدول ۴- مقایسه میانگین وزن تر و خشک گیاهچه گندم (گرم) تلقیح شده بوسیله ۴ قارچی عامل پوسیدگی ریشه و طوقه

شا هد	<i>Phoma sp.</i>	<i>P.circinata</i>	<i>C. cerealis</i>	<i>B.sorokiniana</i>	قارچ
۰/۹۶۳۳ ab	۰/۲۶۷۷ c	۰/۶۶۶۷ b	۰/۹۴۸۵ a	۰/۰۸۸۳ c	وزن تر
۰/۳۵۶۷ a	۰/۰۵۵۰ c	۰/۱۵۳۳ b	۰/۲۸۳۳ a	۰/۰۵۳۳ c	وزن خشک

\*\*میانگین هایی که دارای حرف غیر مشابه هستند در سطح احتمال ۵ درصد معنی دار می باشند.



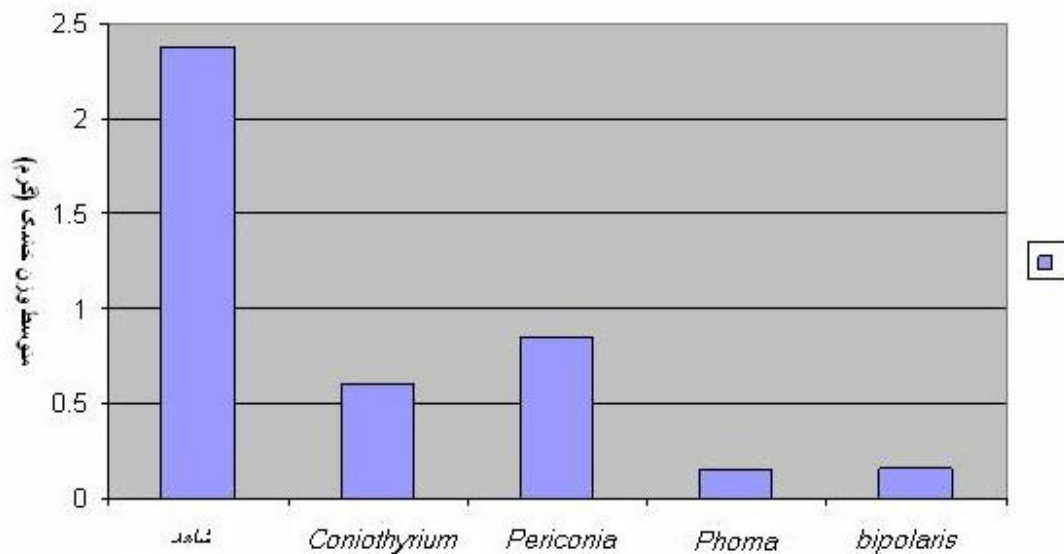
#### نمودار ۱- اثر قارچ‌های بیماری‌زا را بر وزن تر ریشه نشان می‌دهد

*B.sorokiniana* اختلاف معنی داری وجود ندارد ولی با سایر قارچ‌ها و شاهد دارای اختلاف معنی دار است. این موضوع نشان دهنده این است که قارچ بیشترین تاثیر بیماری‌زایی خود را پس از ظهور سنبله بر ریشه و طوقه گندم دارد.

دو قارچ *P. circinata* و *C. cerealis* با وجود ایجاد علائم روی ریشه و طوقه (جدول ۳) از نظر تاثیر بر وزن تر ریشه و طوقه ضمن داشتن اختلاف معنی دار با همدیگر و با قارچ‌های *B.sorokiniana* و *Phoma sp.*، با شاهد اختلاف معنی داری ندارند. از نظر تاثیر بر وزن خشک ریشه و طوقه قارچ *circinata* *P.* دارای اختلاف معنی دار با همه تیمارهای دیگر می‌باشد ولی قارچ *C. cerealis* ضمن داشتن اختلاف معنی دار با سایر قارچ‌ها، با شاهد اختلاف معنی داری ندارد. این کاهش در وزن خشک ریشه و طوقه گندم به دلیل کاهش در وزن تر قابل پیش‌بینی بود. نتایج حاصل از آزمایش‌های گلخانه‌ای که در دسترپرلیت انجام شد، نشان داد اولین قارچی که به ریشه حمله کرده و علائم ایجاد می‌کند جنس *B.sorokiniana* می‌باشد سرعت کلونیزه کردن بافت ریشه و طوقه در این قارچ بسیار بالاست و بعلاوه تخریب سریع بافت ریشه و طوقه باعث کوتاهی قد بوته‌ها به میزان ۷۵-۵۰ درصد بوته‌های سالم می‌شود (مشاهدات مزرعه‌ای).

مقایسه میانگین‌ها نشان می‌دهد (نمودار ۱) که قارچ *B.sorokiniana* بیشترین اثر را در ایجاد علائم پوسیدگی و در نهایت کاهش وزن ریشه داشته است اثر این قارچ از نظر تاثیر بر وزن تر و خشک ریشه و طوقه فقط با قارچ *Phoma sp.* مشابه و با سایر قارچ‌ها و شاهد دارای اختلاف معنی دار است. این نتیجه با مطالعات انجام شده توسط لی‌دانگ و گیانگ (۲۶) در سال ۲۰۰۲ مطابقت دارد. بررسی آنها نشان داد که از بین دوازده قارچ شناسایی شده، گونه *B.sorokiniana* دارای اهمیت فراوانی از نظر پراکندگی و شدت بیماری‌زایی بوده است که این گونه را بعنوان گونه غالب معرفی نموده و اعتقاد دارند این قارچ در بین نمونه‌های مورد مطالعه از جنبه اقتصادی دارای اهمیت زیادی است. تکاز و همکاران (۴۴) ضمن بررسی مزارع گندم در دو ایالت مانی‌تبا و ساسکتچون در آمریکا، پوسیدگی عمومی ریشه را دومین مشکل تولید گندم معرفی کردند. رتبه دوم بیشترین تاثیر مربوط به قارچ *Phoma sp.* می‌باشد، نتیجه بدست آمده در مورد این قارچ قابل توجه است. چون علائم مربوط به این قارچ در نمونه گیری از مزارع زیاد جلب توجه نمی‌کرد اما در آزمایش‌های گلخانه‌ای تاثیر این قارچ دارای اهمیت بوده و رتبه دوم بیشترین تاثیر را در بین چهار قارچ به خود اختصاص داد. با این توضیح که از نظر تاثیر بر وزن تر و خشک ریشه بین این قارچ و





نمودار ۲- اثر قارچ‌های بیماریزا را بر وزن خشک ریشه نشان می‌دهد

این بوته هادر منطقه پیش قلعه به چهار دسته ۱۵، ۳۰، ۳۲ و ۲۳ عددی و در مزارع اطراف آشنخانه به چهار دسته ۱۷، ۴۵، ۲۵ و ۸ عددی تقسیم شدند که این چهار عدد بدست آمده بترتیب مربوط به صفر، a، b و c فرمول  $\frac{0 + a + 2b + 4c}{10}$  می‌باشند که بعد از عددگذاری در این فرمول کاهش محصول برای دو منطقه پیش قلعه و آشنخانه بترتیب برابر ۱۸/۶ و ۱۱/۱ درصد بدست آمد این موضوع با مشاهدات مزرعه‌ای مطابقت دارد. چون مرکز این بیماری منطقه پیش قلعه (روستای کیکانلو) می‌باشد. در حالیکه در بررسی که در سال زراعی ۸۸-۱۳۸۷ از مزارع منطقه پیش قلعه برای برآورد بیماری انجام شد در بین ۱۴ مزرعه بررسی شده، بیشترین آلودگی مربوط به مزرعه شماره ۱۴ با ۳۷ درصد و کمترین آلودگی مربوط به مزرعه شماره ۱۰ با ۸٪ درصد آلودگی بود. میانگین آلودگی این مزارع ۲۲ درصد می‌باشد که نشان دهنده افزایش میزان آلودگی در منطقه نسبت به سال گذشته است و این تاییدی بر گزارشات کشاورزان منطقه مبنی بر افزایش مرتب این بیماری از بدو و پیدایش بیماری در منطقه است. تغییراتی که در ترکیب قارچ‌ها در مناطق و یا در مزارع مختلف مشاهده می‌شود را می‌توان در ارتباط با اثر عملیات زراعی اعمال شده مثل تناوب (۴۳)، آیش، نوع یا میزان کود دهی، بجای گذاشتن و یا جمع آوری بقایای محصول در مزرعه، رقم مورد استفاده و احتمالاً بعضی شرایط میکروکلیمایی مثل شیب مزرعه، پست و بلندیهای آن دانست (۳۶). باتوجه به چرخه زندگی و روش زمستانگذرانی این قارچ‌ها در خاک (۲۱ و ۴۱)، عدم رعایت تناوب در برنامه زراعی کشاورزان منطقه می‌تواند شدت بیماری را افزایش دهد تناوب دو یا بیشتر از دو

به نظر می‌رسد چون از ابتدا ریشه آلوده شده و سرعت کلونیزه شدن ریشه نیز بالا بوده میزان جذب آب ریشه کم بوده لذا میزان آب از دست رفته بعد از خشک کردن در آن تحت دمای ۷۵ درجه به مدت ۴۸ ساعت نیز کم بوده است و از این نظر قارچ *Phoma* sp نیز تقریباً مشابه *B. sorokiniana* است با این تفاوت که اثر کمتری نسبت به این قارچ بروز ریشه دارد ولی در دو قارچ دیگر یعنی *P. cerealis* و *circinata* بر اساس آزمایشات آزمایشگاهی اولاً علائم خیلی دیر روی ریشه و طوقه ایجاد می‌شود (مشاهده در محیط پرلیت) ثانیاً سرعت کلونیزه کردن بافت‌های ریشه و طوقه در این قارچ کند است به طوری که بر اساس مشاهدات مزرعه‌ای این دو قارچ با وجود ایجاد علائم بیماری روی ریشه، تا قبل از مرحله سنبله تاثیر زیادی روی گندم ندارد و بعد از به گل رفتن سنبله و شروع دانه بندی اثر این قارچ‌ها در مزرعه مشخص می‌شود. در این مرحله است که چون گیاه گندم تمام توان خود را برای پرکردن دانه استفاده می‌کند و بعلت تخریب بافت ریشه و طوقه قادر به جذب آب و مواد معدنی به اندازه کافی نیست، علائم زود رسی به صورت خوشه سفیدی را نشان می‌دهد که این خوشه سفیدی در بعضی از پنجه‌های گیاه بیمار گندم قابل مشاهده است. بر اساس مشاهدات گلخانه‌ای چون شدت آلودگی ریشه و طوقه به حدی نبوده که بر جذب آب در مراحل قبل از سنبله تاثیر زیادی بگذارد لذا بعد از خشک شدن در آن نیز میزان آب از دست رفته زیاد می‌باشد در مقابل اثر بر وزن ریشه کمتر می‌باشد. برای برآورد میزان بیماری تعداد ۱۰۰ عدد بوته گندم از هر مزرعه آلوده در دو منطقه به نام‌های پیش قلعه (روستای کیکانلو) و آشنخانه جمع‌آوری شد و بر اساس روش پائول لافلام (لئون، ۲۰۰۶)

شدت بیماری مثل سرد یا گرم بودن بیش از حد خاک، خشکی، غرق آبی، شوری بالا و عمق زیاد کشت اشاره شده است. نقش نماتدهای تغذیه کننده از ریشه بوپژه از جنس *Pratylenchus* در ایجاد زخم روی ریشه قابل توجه است (۲۰) و نیاز به بررسی بیشتری دارد. زیرا این جنس در اکثر نمونه های جمع آوری شده از استان مشاهده شد. علائم بلایت زود رس ممکن است به طور منظم در اکثر مزارع و نیز بیشتر فصل ها دیده نشود این به معنی عدم وجود پوسیدگی ریشه نیست بلکه بخاطر اینست که ترکیب شرایط آب وهوایی و خاک به اندازه ای مناسب بوده که بروز علائم را به تاخیر انداخته است (۳۶). شناخت بیشتر میکروفلور خاک منطقه و اثر سیستم های کشت رایج منطقه و اثر آنها بر شرایط خاک نیازمند بررسی های بیشتری می باشد. ضمناً ممکن است ارقام جدید گندم که ظرف چند سال اخیر معرفی و در سطح وسیعی کشت شده اند، نسبت به این بیماری حساسیت زیادی داشته و این امر نیز در افزایش بیماری نقش مهمی داشته باشد. بنابراین ضرورت دارد ابتدا حساسیت ارقام مذکور نسبت به قارچ ها بررسی شود و در صورت حساس بودن آنها برای دست یابی به ارقام نسبتاً مقاوم و یا در صورت امکان مقاوم علیه قارچ های عامل پوسیدگی ریشه بخصوص *B.sorokiniana* تحقیقات لازم به عمل آید. از سوی دیگر مدیریت صحیح مزرعه شامل به کارگیری روش های نوین آبیاری که با افزایش راندمان آبیاری موجب کاهش تنش خشکی خواهند شد و نیز تناوب زراعی مناسب می توان خسارت بیماری را کاهش داد.

سال می تواند نتیجه خوبی داشته باشد (۲۳ و ۴۲). بهترین تناوب در یک برنامه چهار ساله عبارت است از: گیاهان ردیفی - چاودار - آیش تابستانه - گندم یا جو، شاید بتوان علت نهائی آنرا را به ترکیب میکروفلور خاک نسبت داد (۳۶). مطالعات مختلفی که در این زمینه در نقاط مختلف دنیا از جمله در ایالات متحده (۴۵) انجام گرفته، مؤید این مطلب است. زمستانگذرانی این قارچ ها بصورت بقا در بقایای میزبان و یا به شکل اسپور در خاک می باشد. البته در مورد قارچ هایی مثل *P.circinata* که دارای کلامیدوسپور هستند دانشمندان احتمال می دهند که این اندام نیز برای زمستانگذرانی قارچ استفاده شود. همکنش های پوسیدگی ریشه با سایر فاکتورها نقش مهمی در میزان وقوع و شدت بیماری دارد (۳۶). این موضوع نیز در استان خراسان شمالی صحت دارد، در تحقیقاتی که از کشاورزان منطقه به عمل آمد، اذعان داشتند که در بعضی سال ها مثل سال زراعی ۸۷ خسارت ناشی از پوسیدگی ریشه و طوقه گندم بسیار بالا بوده است، چون هم بارندگی در پاییز کم و نامنظم (۲۱/۷ میلی متر در پاییز سال ۱۳۸۶ و ۲۴/۱ میلی متر در پاییز سال ۱۳۸۵) و هم سرما در طول فصل زمستان بسیار شدید بوده که باعث ضعف و صدمه دیدن ریشه شده و این تنش مقدمه هجوم قارچ ها شده بود. چون میانگین دمای سه ماهه زمستان ۱۳۸۶ برابر با ۳/۷ درجه سانتی گراد بود که در مقایسه با سه ماهه زمستان سال ۱۳۸۵ که برابر با ۵/۳ درجه سانتی گراد بوده است، بسیار پایین می باشد (اطلاعات اداره هواشناسی بجنورد). در تحقیقات دیگران نیز به عوامل تنش زا و اثر آنها روی

## منابع

- ۱- اربط ح ک. ۱۳۸۴. مرفولوژی و آناتومی غلات. دانشگاه تبریز. ۵۸۸ صفحه.
- ۲- ارشاد ج. ۱۳۷۴. قارچ های ایران. سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی. ۸۶۸ صفحه.
- ۳- ارجمندیان ا، و روحانی ح. ۱۳۷۷. جداسازی قارچ های همراه ریشه و طوقه گندم در همدان. خلاصه مقالات سیزدهمین کنگره گیاهپزشکی ایران. آموزشکده کشاورزی کرج. صفحه ۴۴.
- ۴- ایرانی ح، روانلو ع. ۱۳۸۵. سبب شناسی و پراکنش عوامل قارچی پوسیدگی طوقه و ریشه گندم آبی و دیم در استان آذربایجان غربی. مجله دانش کشاورزی. جلد ۱۶ شماره ۲. صفحه ۴۷-۵۰.
- ۵- جعفری ح، صارمی ح. ۱۳۸۳. بررسی قارچ های خاکزاد عوامل پوسیدگی ریشه و طوقه گندم و تعیین میزان خسارت اقتصادی آنها. مجله دانش کشاورزی. جلد ۱۴ شماره ۱. صفحه ۱۵-۱۴.
- ۶- روانلو ع، بنی هاشمی ض. ۱۳۷۸. تاکسونومی و بیماریزایی فوزاریوم های همراه با ریشه و طوقه در استان فارس. فصلنامه بیماری های گیاهی. شماره ۴-۱. جلد ۳۵. صفحه ۳۷-۴۵.
- ۷- کریمی ح. ۱۳۷۱، گندم. مرکز نشر دانشگاهی، تهران. ۵۹۹ صفحه.
- ۸- فروتن ع، بامدادیان ط، ولیپور م، کیانوش ح. ۱۳۷۴. عوامل قارچی همراه ریشه و طوقه بیمار گندم در مازندران. خلاصه مقالات دوازدهمین کنگره گیاهپزشکی ایران. آموزشکده کشاورزی کرج. صفحه ۴۶.
- ۹- منصوری ب. ۱۳۷۴. بیماری های خاکزاد گندم در استان فارس. خلاصه مقالات دوازدهمین کنگره گیاهپزشکی ایران. آموزشکده کشاورزی کرج. صفحه ۵۸.
- ۱۰- مقصدولو ر، طاهری ع، رهنما ک. ۱۳۸۶. شناسایی گونه های فوزاریوم جدا شده از ریشه و طوقه گندم در منطقه گرگان و بررسی بیماریزایی

آن‌ها. مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان. جلد چهاردهم. شماره دوم. صفحه ۱۷۶-۱۸۷.

- 11- Bateman G.L., Kwasna H. 2000. Effect of number of winter wheat crops grown successively on fungal communities on wheat roots. Agric, gov, ab, ca/\$ departemant /deptdocs.nsf /all/ prm 2394, Visited: 2008/07/20.
- 12- Colorado State University. 1999. Red root rot more common on corn this fall. Pest Alert, vol.16. no.22.
- 13- Cook R.J., Veseth R.J. 1991. Wheat Health Management. APS Press, St. Paul, MN, p. 46.
- 14- Dastur J.F. 1942. Notes on some fungi isolated from 'black point' Agric. Res., 77:201-222.
- 15- David F. Farr., Gerald F. Chamuris., Amy Y. Rossman. 1989. On plants and plant products in the United States, no 426/Poaceae-Triticum .
- 16- Deborah A. Samac., Carly Miyamoto., Jennifer E. Larsen., Lorlie atkinson., Charla R. Hollingsworth., Christopher D. Motteberg .2007 . affect of crop residue on colonization and survival. phoma sclerotoides, the causal agent of brown root rot of alfalfa. North Central U.S. Plant Dis. 91:551-558.
- 17- Domsch K.H., Gams W. 1980. Academic press. Compendium of soil fungi, vol.2 . p: 229.
- 18- Duffy B.K., and Weller D.M. 1994. A semiselective and diagnostic medium for *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*. Phytopathology. 84:1407-1415.
- 19- Harris J.K., Stratifid. 1987. distribution of Fusarium and Bipolaris on wheat and barley with dryland root rot in South Austria. plant pathol. 36:447-454.
- 20- Illinois University. 1991. Root and Crown Rot of Small Grain ., Report on Plant Dis, RPD NO.113.
- 21- Jagdish kumar., Patrick Schafer., Ralph Huckelhoven., Gregor Langen., helmut Baltruschat., Elke Stein., Subramanian Nagarajan., Karl-Heinz kogel. 2002. *Bipolaris sorokiniana*, a cereal pathogen of global concern: cytological and molecular approaches towards better control. Molecular plant Pathol. 3(4):185-195.
- 22- Juhnkel M.E., Mather D.E., and Sands D.C. 1984. A selective medium for *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*. Plant. Dis. 68:233-236.
- 23- Lamey H.A., and McMullen M.P. 1993. " Crop rotations for managing plant diseases " North Dakota Extension Service. Bulletin PP-705.
- 24- Leuan R, Evans. 2006. Common Root Rot, Seedling Blight, Damping-off . www. agric. gav. ab. Ca /\$department /deptdocs. nsf/ all/ prm 2394, Visited : 2009/02/25.
- 25- Leukel, R.W. 1948. *Periconia Circinata* and its relation to milo disease. Jurnal of Agricultural Research 77:201-222
- 26- Lidong M., and Qiang C. 2002. Study in distribution, pathogen spp and controlling of wheat root bdisease in *Helbei proviance*. College of Plant protection, Agricultural University of Herbei, Baoding.
- 27- Mayers P.E. 1976. The First Recordings of Milo Disease and *Periconia circinata* on Sorghums in Australia. Australian Plant Pathology Society Newsleter. VOL5, 59-60.
- 28- Mather D.E., Johnston, and Grey. 2003. Diagnosis of common root rot of wheat and barley. Montana state university, Plant Pathology, Bozeman 59717.
- 29- Nelson P.E., Tuoussoun T.A., and Marasas W.F.O. 1983. *Fusarium* species, an illustrated manual for identification. The Pennsylvanis State University press, Press Park and Landund Forstwirtschaft. Berlin-Dahlem 169.
- 30- Onkar D. Dhingra., James B. Sinclair. 1995. Basic plant Pathology method , CRC Press, Second Edition, 434p.
- 31- Pringle R.B., and Scheffer R.P. 1967. Multiple hosts specific toxins from *periconia circinata*. Phytopathology. 57 : 530-532.
- 32- Richard A. Frederiksen., Gary N.O dvody., 1986, 2000. Compendium of Sorghum Disease. second edition. APS press .USA:33-34.
- 33- Richard S., and Cynthia M. Ocamb .2007. Wheat – common Root Rot. Plant Disease Control. OSU. Agric. gov. ab. ca/\$ departemant/deptdocs.nsf/all/prm2394.
- 34- Rice A.J.R., Gerld, LLO. Map. 1981. Occurrence of *Bipolaris cynodontis* on *Cynodontis dactylon* Summa. Phytopathol , 7: 44-48.
- 35- Rita Fedel-Moen & HARRIS, J. R. 2010 Stratified distribution of *Fusarium* and *Bipolaris* on wheat and barley with dryland root rot in South Australia. Plant Pathol. 36: 447-454.
- 36- Robert W. Stak., McMullen M. 1999. Root and Crown Rot of Small Grain. NDSU. PP-785.
- 37- Shoemaker R.A. 1959. Nomenclature of *Drechslera* and *Bipolaris*, grass parasites segregated from

- Helminthosporium*. Can. J. Bot. 37, 879–887.
- 38- Shefelbine P.A., Mathre D.E., and Carlson G. 1986. Effects of chloride fertilizers and systemic fungicide seed treatment on common root rot on barley. Plant Disease, v.70 (7), 639-642.
- 39- Sivanesan A. 1987. Graminicolous species of *Bipolaris*, *Curvularia*, *Drechslera*, *Exeohilium* and their telemorph. Mycological paper, No.158, CAB. International, Mycological Institute.
- 40- Stack R.W. 1992. *Bipolaris* spp. in: D.Singlton, L.L.Mihaib, J.D.Rush, c.M. Mebs (eds.). Methods for Research on Soilborn Patogenic Fungi. American Phytopathology Society. 94-99.
- 41- Stack R.W. 1994. Susceptibility of hard red spring wheats to common Root Rot. Crop Sci, v. 34 ( 1):276-278.
- 42- Stack R.W., and McMullen M. 1988. Root and crown rots of small grains. NDSU Extension Service, Bulletin PP-785 ( Rev.).
- 43- Sturz A.V., Bernier C.C. 1987. Incidence of pathogen fungal complexes in the crown and roots of winter and spring wheat relative to cropping practice, Can,J. Plant Pathol. 9:256-271.
- 44- Tekauz A., Gilbert J., Mueller E., Kaethler R., Kromer U., and Stulzer M. 1996. Foliar Disease of Barley in Manitoba. Agriculture and Agri-Food Canada, Cereal Research Centre, 195 Dafoe Rd., Winnipeg , MB R3T 2M9.
- 45- Van Bruggen A.H.C. 1995. Plant disease severity in high-input compared to reduced input and organic farming system. Plant Disease, 79(10).976-984
- 46- Webster J., Weber R.W.S. 2007. Introduction to fungi. Cambridge University Press, third edition, ISBN: 9780511276026.846p.
- 47- Wiese M.V. 1977. "Common(dry land)root and foot rot and associated leaf and seedling disease" Compendium of Wheat Diseases. APS Press, St. Paul, MN.52-53.
- 48- Wolpert T.J., Dunkle L.D. 1983. Alterations in gene expression in *sorghum* induced by the host-specific toxin from *Periconia circinata*. Proc Natl Acad Sci USA 80:6576–6580.