

بررسی مقاومت گیاهچه‌های سه پایه پسته به *Rhizoctonia solani* AG4

لاله ایلخان^۱، رضا فرخی نژاد^۲، محمد مهدی امینایی^۳ و علی موسوی جرف^۴

۱- دانشجوی سابق بیماری شناسی گروه گیاهپزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید چمران اهواز
(dalehilkhan@yahoo.com)

۲-۴- بترتیب استاد و دانشیار گروه گیاهپزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید چمران اهواز

۳- مری، عضو هیئت علمی اداره کشاورزی کرمان

تاریخ پذیرش: ۸۸/۸/۲۰

تاریخ دریافت: ۸۷/۷/۱۴

چکیده

در این بررسی ۹۹ جدایه از قارچ ریزوکتونیا از نمونه‌های ریشه و طوقه نهال‌های پسته و نیز خاک جمع آوری شده از نهالستان‌های مهم پسته استان کرمان به دست آمد. نتایج نشان داد که ۹۶ جدایه چند هسته‌ای و سه جدایه دو هسته‌ای بود. گروه آناستوموزی جدایه‌های چند هسته‌ای AG-4 تعیین گردید. نتایج آزمایشات بیماری‌زایی در شرایط گلخانه نشان داد که جدایه‌های چند هسته‌ای به دست آمده در این بررسی همگی قادر به ایجاد بیماری روی پسته بودند. در بررسی مقاومت پایه‌های پسته، پایه‌های بادامی ریز (پایه غالب مناطق پسته کاری استان)، سرخس و بنه (پایه وحشی) انتخاب شدند. برای مایه زنی نهال‌ها از سه جدایه عامل بیماری که در آزمایشات بیماری‌زایی شدت‌های زیاد تا نسبتاً کم را نشان داده بودند، استفاده گردید. بذرهاى جو مایه زنی شده با عامل بیماری به عنوان مایه به کار برده شد. دو هفته پس از تلقیح نهال‌ها، با ظهور علائم بیماری، شدت بیماری در هر نهال تعیین گردید. نتایج نشان داد که از بین پایه‌های استفاده شده، بنه و بادامی ریز به ترتیب مقاوم‌ترین و حساس‌ترین پایه‌ها در مقابل بیماری بودند.

کلید واژه‌ها: پسته، گروه آناستوموزی، ریزوکتونیا، ریشه و طوقه، مقاومت

مقدمه

خسارت اقتصادی در این محصول ارزشمند می‌گردد. این قارچ موجب مرگ گیاهچه قبل و بعد از جوانه زدن و پوسیدگی ریشه در پسته می‌گردد. علائم این بیماری در دانه‌های پسته به صورت زردی برگ‌ها، زوال، بافت مردگی ریشه‌های فرعی و اصلی، پوسیدگی، سیاه‌شدگی و ایجاد شانکر در ناحیه طوقه و ریشه می‌باشد. بیش از ۱۱ گروه بین گونه‌ای (گروه‌های آناستوموزی و زیر گروه‌های آنها) در جدایه‌های *R. solani* شناخته شده‌اند. میزبان‌های AG4 را خانواده‌های Solanaceae و Leguminales و Chenopodiaceae تشکیل می‌دهند و اعضاء این گروه ایجاد پوسیدگی

گونه‌های *Rhizoctonia* از بیمارگرهای بسیار مهم خاکزاد می‌باشند که در تمام خاک‌های زراعی و غیر زراعی پراکنده‌اند (۱۸). سویه‌های *R. solani* و دیگر گونه‌های این قارچ توانایی حمله به دامنه وسیعی از میزبان‌ها را داشته و باعث از بین رفتن دانه، مرگ گیاهچه، شانکر ساقه و پوسیدگی‌های ریشه و نیز ریزش میوه و مرگ شاخ و برگ می‌شوند که مرگ گیاهچه از مخرب‌ترین آنها می‌باشد. پسته نیز مانند بسیاری دیگر از محصولات گیاهی به این قارچ در مراحل اولیه رشد حساس است و این قارچ یکی از مهم‌ترین عوامل بیماری‌زای خاکزی در نهالستان‌های پسته بوده و موجب

داده و صبر کرده (۳۰ ثانیه) تا ذرات خاک ته نشین شوند. سپس با الک ۰/۲۵ میلی متری مخلوط آب و خاک الک شد. دوباره خاک الک شده را در یک لیتر آب ریخته و آن قدر این عمل تکرار شد تا آبی شفاف بدست آمد. پس از آن قطعات باقیمانده روی الک را روی کاغذ صافی خشک کرده و بعد از آن ذرات باقیمانده روی محیط کشت آب آگار کشت داده شد. بعد از ۴۸ ساعت ریشه های تولید شده را به محیط کشت PDA منتقل و دوباره کشت خالص تهیه گردید (۱۰). پس از خالص سازی، شناسایی جدایه های به دست آمده انجام شد. بررسی ریشه ها با استفاده از روش کشت بر روی اسلاید پوشیده از آگار انجام شد (۱۴). به منظور تعیین تعداد هسته هیف های قارچ از روش رنگ آمیزی با معرف رنگی سافرانین O استفاده شد (۷). برای تعیین گروه های آناستوموزی جدایه ها نیز بر اساس روش کروئلند و استنگلینی^۱ (۱۵) عمل شد. جدایه های چند هسته ای رازوکتونیای مرجع شامل AG-1 تا AG-12 بودند که از بخش گیاه پزشکی دانشکده کشاورزی اهواز تامین شدند. آزمون اثبات بیماری زایی جدایه های بدست آمده از بافت های گیاهی و خاک روی پسته انجام شد. ابتدا مایه تلقیح با استفاده از بذر جو تهیه شد. به این ترتیب که یک قسمت از بذرها با قارچ آلوده شد و قسمت دیگر برای تیمارهای شاهد نگهداری شد. بذرها مورد نظر با قرص های پنج میلی متری میسلیوم قارچ از محیط کشتی که سه روز از رشد آن گذشته بود، آلوده گشته و به مدت سه هفته در دمای اتاق نگهداری شدند (۱۸).

بذرها پسته رقم بادامی ریز که پایه متداول منطقه نیز می باشد، برای این آزمون انتخاب شدند. پس از آماده نمودن بذرها جهت کشت در گلدان ها، در هر گلدان دو عدد به صورت خوابیده کشت داده شد. بذرها هر دو روز یک بار با آب مقطر سترون

بذر وهیپوکوتیل می نمایند (۱۸). همچنین جدایه های این قارچ از درختان میوه از جمله سیب، مرکبات، زیتون و قهوه نیز شناسایی و گزارش شده است (۱۶). تا کنون گروه آناستوموزی ۴ از پسته جداسازی و شناسایی شده است (۲ و ۱۹). در ایران گروه آناستوموزی ۴ روی محصولات دیگری مانند خیار، خربزه، گوجه فرنگی، یونجه و چغندر قند گزارش شده است (۴). کنترل این قارچ به علت سازگاری با شرایط مختلف و همچنین به دلیل وسعت دامنه میزبانی و بقای آن به صورت میسلیوم روی مواد آلی و یا سختینه در خاک برای سال های زیاد، مشکل می باشد (۱۷).

روش بررسی

از نهالستان های عمده استان کرمان که شامل شهرستان های رفسنجان، زرنند، سیرجان، شهربابک و مناطق اطراف آنها می شد، از ریشه و طوقه نهال - های خسارت دیده و همچنین خاک اطراف آنها نمونه برداری صورت گرفت. نهال های آلوده که نشانه های بیماری شامل زوال و زردی، سیاه شدگی طوقه و پوسیدگی و سیاه شدگی ریشه های اصلی و فرعی را دارا بودند، درون کیسه های پلاستیکی جمع آوری و به آزمایشگاه منتقل شدند. برای جداسازی قارچ از بافت های آلوده گیاهی یعنی طوقه و ریشه، بخش هایی از حد فاصل بافت بیمار و سالم جدا و بعد از ضد عفونی سطحی در تشتک های پتری حاوی محیط آب- آگار +۲۵ میلی گرم در لیتر کلرامفنیکل قرار گرفتند. تشتک های پتری پس از ۴۸ ساعت نگهداری در دمای ۲۷ درجه سانتی گراد مورد بررسی قرار گرفتند و ریشه های شبیه رازوکتونیا خالص سازی و به محیط PDA انتقال داده شدند.

جهت جداسازی قارچ از خاک اطراف طوقه های آلوده نیز نمونه های خاک ۱۰۰ گرمی را در ۲/۵ لیتر آب به صورت سوسپانسیون در آورده و خوب تکان

1- Kronland & Stanghellini

۴ = نکروزه وسیاه شدن ریشه وطوقه در اندازه های بزرگ
 ۵ = نهال از بین رفته (۱۲).
 این آزمایش در قالب فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با نه تیمار و ۱۵ تکرار انجام شد. تیمارها شامل سه جدایه منتخب *R. solani* و پایه-های پسته بادامی ریز، سرخس و بنه بودند.

نتایج

ریسه های ۹۹ جدایه خالص سازی شده از نظر انشعابات ۹۰ درجه، فرو رفتگی در محل انشعاب، دیواره عرضی بشکه ای شکل، سلول های تسییحی و قطر این اندامها مورد بررسی قرار گرفتند و همه این موارد در مورد ریسه های جدایه های مشکوک به رایزوکتونیا صدق می کرد. با تقابل ریسه های هر جدایه با گروه های آناستوموزی مرجع، گروه آناستوموزی هر جدایه تعیین و نتایج این طور بدست آمد که ۹۶ جدایه چند هسته ای جداسازی شده از پسته متعلق به گروه آناستوموزی چهار بود. در آزمون اثبات بیماری زایی، همه جدایه های چند هسته ای رایزوکتونیا بر روی پسته ایجاد علائم بیماری نمودند. در بخش مقاومت همچنین که از نتایج تجزیه واریانس در جدول ۱ مشاهده می شود واکنش سه پایه پسته به سه جدایه رایزوکتونیا متفاوت و در سطح یک درصد معنی دار بود. در نمودار یک اثر متقابل شدت بیماری زایی سه جدایه رایزوکتونیا و مقاومت سه پایه پسته به آنها نشان داده شده است. طبق این نمودار پایه بنه نسبت به هر سه جدایه قارچی کمترین مقدار بیماری و در نتیجه بیشترین مقاومت را نشان داده و پایه بادامی ریز در تقابل با هر سه جدایه قارچی بیشترین مقدار بیماری و در نتیجه کمترین مقاومت را نشان داده است. پایه بنه با میانگین مقدار بیماری برابر ۱/۴۶ بیشترین مقاومت و پایه بادامی ریز با میانگین

آبیاری شدند. برای آلوده کردن گیاه چهار عدد بذر جو آلوده در کنار طوقه هر نهال ۱۴ روزه قرار داده شد. پس از چهار تا ۱۰ روز از نواحی خسارت دیده نمونه برداری صورت گرفت و قطعات آلوده ریشه و طوقه خسارت دیده برای جداسازی عامل بیماری به آزمایشگاه منتقل و بر روی محیط های کشت عمومی کشت داده شدند.

در آزمایشات بعدی از بذرهای پسته سه پایه بنه، بادامی ریز و سرخس جهت ارزیابی مقاومت به رایزوکتونیا استفاده شد. گلدان های پلاستیکی به ابعاد ۱۲ × ۱۰ سانتی متر که حاوی یک واحد خاک زراعی، یک واحد کود حیوانی پوسیده و یک واحد ماسه بود مورد استفاده قرار گرفت. خاک گلدانها در کیسه های پلاستیکی به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۱۲۰ درجه اتوکلاو شد. آماده نمودن بذرهای جهت کشت در گلدانها، به روش ذکر شده در آزمون اثبات بیماری زایی جدایه های رایزوکتونیا بر روی نهال های پسته، انجام شد. سه جدایه ۱۹ CPR، R ۱۷ و CPR ۸۷ که بیشترین بیماری زایی را در آزمایشات قبلی نشان داده بودند، برای این آزمون انتخاب شدند. از این جدایه ها طبق روش سنه و همکاران^۱ (۱۸) مایه تلقیح تهیه و برای آلوده کردن گیاهان چهار عدد بذر جو آلوده با پنس سترون در کنار طوقه هر نهال قرار داده شد. بعد از تلقیح، نهالها در دمای ۲۳ درجه سانتی گراد به مدت دو هفته نگهداری شدند. سپس نهالها با آب لوله به آرامی شسته شده و مورد بررسی قرار گرفتند و درجه بندی زیر برای برآورد مقدار بیماری ایجاد شده به کار گرفته شد و بر اساس این درجه بندی به نهالها امتیاز داده شد:

۱ = فاقد علائم

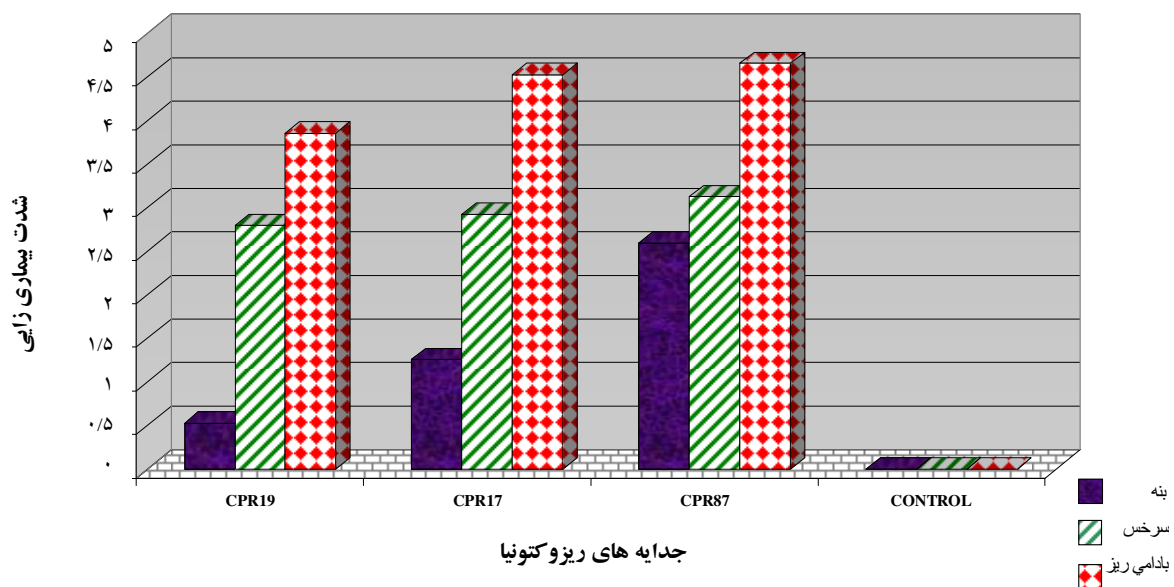
۲ = تغییر رنگ ریشه و طوقه به کمرنگی

۳ = نکروزه شدن ریشه و طوقه

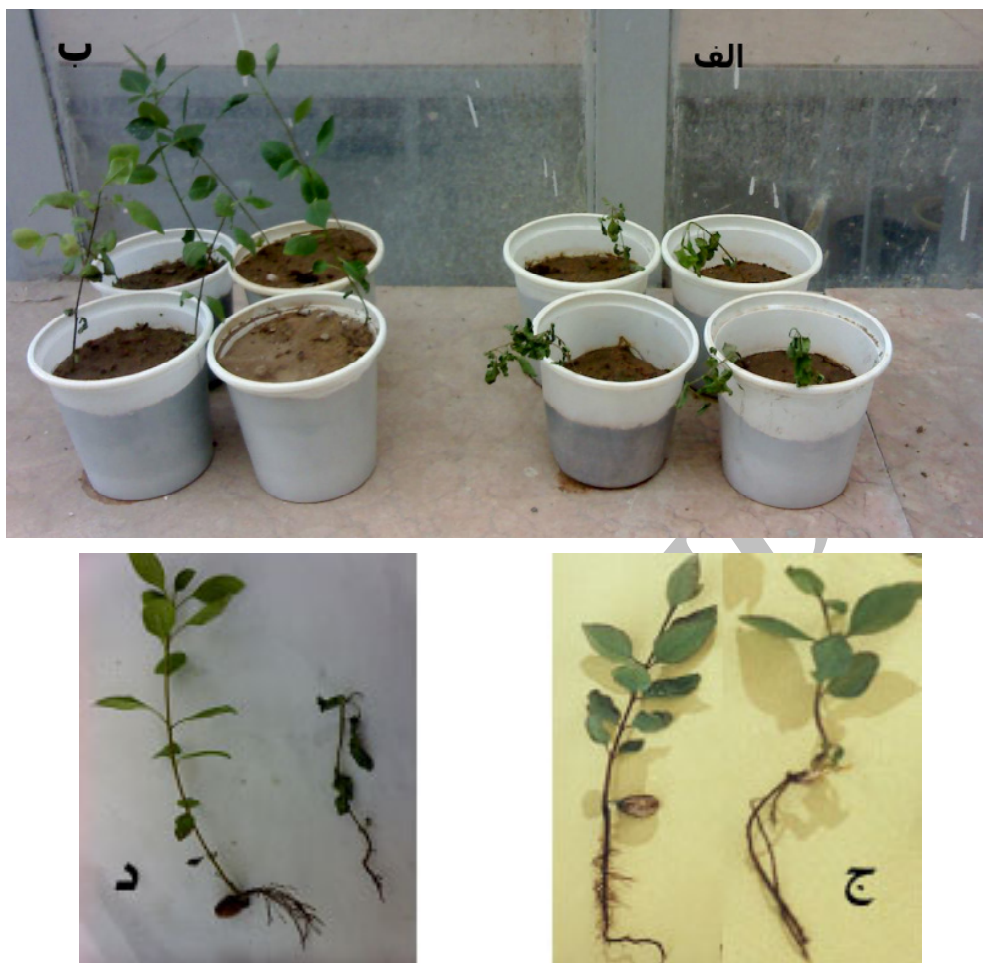
عددی مقدار بیماری برابر ۴/۳۵ کمترین مقاومت را به بیماری از خود نشان دادند (شکل ۱).

جدول ۱- تجزیه واریانس داده‌های مربوط به مقاومت پایه‌های مختلف پسته به جدایه‌های بیماریزای *R. solani*

منابع تغییر	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	ارزش F	سطح احتمال
تیمار	۸	۲۲۷/۱۲	۲۸/۳۹	۴۸/۲۵	۰/۰۰۰۱**
رقم پایه	۲	۱۸۷/۸۳	۹۳/۹۱	۱۵۹/۶۳	۰/۰۰۰۱**
جدایه‌های بیماریزا	۲	۲۵/۶۱	۱۲/۸۰	۲۱/۷۷	۰/۰۰۰۱**
رقم * نوع جدایه	۴	۱۳/۶۷	۳/۴۱	۵/۸۱	۰/۰۰۰۳**
اشتباه آزمایشی	۱۲۶	۷۴/۱۳۳	۰/۵۸		
جمع	۱۳۴	۳۰۱/۲۵۹			
				CV= ۲۱/۶	



نمودار ۱- مقایسه میانگین شدت بیماریزایی سه جدایه منتخب *R. solani* روی پایه های پسته



شکل ۱- مقاومت سه پایه مختلف پسته را نسبت به جدایه CPR87 نشان می دهد.

پایه سرخس (الف: تیمار شده، ب: شاهد)

ج: پایه بنه (سمت راست: تیمار، سمت چپ: شاهد)

د: پایه بادامی ریز (سمت راست: تیمار، سمت چپ: شاهد)

بحث

در مورد مقاومت گیاهان مختلف به *R. solani* می توان به موارد متعددی اشاره نمود. در گیاه برنج بلوغ دیررس گیاه باعث مقاومت می شود (۸). در نخود مقاومت گیاه به ضخامت اپی کوتیل بستگی دارد. در سیب زمینی بعضی از ارقام حساسیت کمتری به آلودگی از خود نشان می دهند ولی هیچ رقمی به این قارچ مقاوم نیست (۱۱). چون *R. solani* یک قارچ اختصاصی نیست نمی توان تفاوت های حساسیت ارقام مختلف را به آن مشخص کرد. تعیین فاکتورهایی که روی مقاومت

گیاهان علیه ریزوکتونیا تاثیر می گذارد، مهم است. گروهی از دانشمندان تجمع لیگنین و مواد فنولی را در قسمت های آسیب دیده دلیل مقاومت به این قارچ می دانند (۷). فرانک و همکاران^۱ (۱۱) نیز با بررسی مقاومت چند رقم تجاری و محلی بادام زمینی و کلزا به *R. solani* این طور نتیجه گیری کردند که مقاومت در ارقام مقاوم به دو عامل فرار از بیماری و ژنتیک ارقام بستگی دارد. آنزیم های *R. solani* قادر به تجزیه دیواره سلولی سلول های هیپوکوتیل گیاهان که شامل زایلان، گالاکتان،

1- Frank et al.

برای ظهور علائم (دوره انکوباسیون) و میزان توسعه خسارت از آن جمله اند. تفاوت‌های این فاکتورها بین ارقام مختلف گیاهی موجب بروز مکانیزم‌های مختلفی جهت ایجاد مقاومت می‌شود (۱۲ و ۱۳).

در مورد مقاومت گیاه پسته با مقایسه عکس العمل پایه های مختلف این گیاه به سایر عوامل بیماری زا مشاهده می‌شود که پسته اهلی حساس ترین و بنه مقاوم ترین پایه به نماتد ریشه گریه پسته در بین پایه های مورد آزمایش بوده و پایه کسور نیز نسبت به خسارت این انگل متحمل می‌باشد (۳ و ۵). همچنین بررسی های به عمل آمده در ایران در مورد واکنش پایه های بنه و کسور به پژمردگی ورتیسلیومی پسته نشان داده که هر دو پایه بنه و کسور به *Verticillium dahlia* آلوده می‌شوند، ولی به طور کلی شدت بیماری در پایه کسور بیشتر است. در مورد واکنش پایه های پسته به بیماری انگومک، مطالعات انجام شده در ایران نشان می‌دهند که بنه و کسور به انواع فیتوفتورا حساسند و پسته معمولی (*P. vera*) در مقایسه با دو پایه اخیر متحمل است، ولی این پایه نیز در برابر بیماری مقاوم نبوده است (۶). بنابراین به طور کلی با توجه به مقایسه های انجام شده بین پایه های مختلف پسته در مورد مقاومت این پایه ها به عوامل مختلف بیماری زا این طور بر می‌آید، پایه بادامی ریز که در اکثر باغ های پسته استان از آن استفاده می‌شود، به نماتد مولد ریشه و ورتیسلیوم حساس و به گموز نسبتاً حساس می‌باشد (۳، ۵ و ۶). در این بررسی نیز مشخص شد که پایه بادامی ریز در مقایسه با دو پایه وحشی نسبت به بیماری رایزوتونیایی پسته حساس تر می‌باشد.

در استان کرمان اکثر باغداران پسته برای احداث باغ های جدید خود ویا برای واکاری درختان از بین رفته در اثر عوامل گوناگون از این پایه استفاده می‌کنند، با توجه به حساس بودن پایه بادامی ریز بایستی در نهالستان هایی که این پایه جهت عرضه

گالاکتومانان، آرابان، اسید پلی گالاکتورونیک و کربوکسیل متیل سلولزند، بوده و این آنزیم‌ها در ترشحات گیاهی خارج شده از زخم‌های ایجاد شده توسط *R. solani* وجود داشته اند. طبق مطالعات بتن و اتن^۴ (۹)، تجزیه دیواره سلولی گیاهان آلوده نشان داده است که تغییرات در ترکیب دیواره سلولی موجب محدود شدن گسترش قارچ در گیاه شده و این اتفاق در مراحل اولیه بیماری زایی رخ می‌دهد. همین طور در این بررسی مشخص شده است که دیواره سلولی گیاهان جوان به این آنزیم‌های تخریب کننده دیواره سلولی حساسیت بیشتری داشته و با افزایش سن گیاه مقاومت علیه قارچ به وجود می‌آید. نتایج آزمایشات بعدی این دانشمندان نشان می‌دهد که تجمع پکتات کلسیم در میزبان موجب افزایش مقاومت به آنزیم‌های پکتیک *R. solani* می‌گردد و تولید دو فیتوالکسین توسط میزبان از رشد قارچ و حمله آن جلوگیری می‌کند. دیواره سلولی سلول های هیپوکوتیل گیاه تغییراتی در طول رشد خود کرده که این تغییرات در طول دو تا سه هفته اول رخ داده و موجب می‌شود که از نظر تغذیه ای، این سلول‌ها به حمله *R. solani* مقاوم شوند. بنابراین نتیجه گیری کلی این محققین این بود که مقاومت گیاهان به آنزیم‌های تولیدی تخریب کننده دیواره سلولی توسط *R. solani* باعث مقاومت به این پاتوژن می‌شود. گرین و همکاران^۵ (۱۲) پس از بررسی ارقام متحمل و حساس چند علف هرز چند ساله به *R. solani*، وجود برگ-های پهن تر و گسترش کندتر زخم‌ها در روی گیاه را دو عامل مقاومت به *R. solani* معرفی نمودند. ارزیابی مقاومت میزبانی بر پایه میزان علائم بیماری یا رشد و گسترش پاتوژن در میزبان می‌باشد. وقوع و شدت علائم به چند فاکتور مربوط است. فاکتورهایی مانند دامنه آلودگی، مدت زمان لازم

1- Bateman & Etten
2- Green et al.

سپاسگزاری

از گروه گیاهپزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید چمران که از نظر مالی و معنوی در انجام این پژوهش به بنده یاری رساندند، کمال تشکر را دارم. از پرسنل محترم مرکز تحقیقات کشاورزی کرمان نیز که امکانات اجرای این تحقیق را برای بنده فراهم نمودند، بسیار سپاسگزارم.

به باغداران کشت می‌شود، رعایت نکات بهداشت زراعی مانند استفاده از زمین‌های عاری از عوامل بیماری‌زا برای خزانه کاری، عدم اختصاص زمین‌هایی که قبلاً در آنها میزبان‌های حساس به قارچ ریزوکتونیا کشت شده به خزانه و ضدعفونی خاک جهت آلوده نشدن گیاهچه‌های پسته قبل از کاشت بذر با سموم مناسب به عمل آید (۱ و ۲).

منابع

۱. ابوسعیدی، د.، بنی هاشمی، ض.، اشکان، م. و علوی، ح. ۱۳۷۴. بررسی مرگ گیاهچه‌های پسته در خزانه کاری‌های استان کرمان. خلاصه مقالات اولین کارگاه تحقیقی آموزشی ترویجی پسته، رفسنجان. ۲۰ ص.
۲. اشکان، س. م.، ابوسعیدی، د. و حمدالله زاده، ا. ۱۳۷۴. بررسی مرگ گیاهچه پسته در اثر *Rhizoctonia solani* در رفسنجان. دوازدهمین کنگره گیاهپزشکی ایران. کرج. ص ۲۱۹.
۳. پناهی، ب.، اسماعیل پور، علی.، فریود، ف. و موزن پور کرمانی، م. ۱۳۸۱. راهنمای پسته (کاشت، داشت، برداشت). نشر آموزش کشاورزی. ۱۴۹ ص.
۴. صفائی، ن.، میناسیان، و.، رحیمیان، ح. و بنی هاشمی، ض. ۱۳۷۸. جداسازی، تشخیص و بررسی بیماری‌زایی گونه‌های ریزوکتونیا از گیاهان مختلف در استان خوزستان. بیماری‌های گیاهی. جلد ۳۵: ۸-۱.
۵. فریور مهین، ح. ۱۳۸۰. آفات و بیماری‌های مهم درختان پسته در استان کرمان. انتشارات سازمان ترویج کشاورزی. ۵۱ ص.
۶. مرادی قهدریجانی، م. ۱۳۷۷. بررسی بیولوژی گونه‌های فیتوفترا و مقاومت ارقام مختلف پسته به آنها. پایان نامه کارشناسی ارشد بیماری‌شناسی گیاهی. دانشگاه شیراز. ۱۴۰ ص.
7. Bandoni, R.J. 1979. Safranin as a rapid nuclear stain for fungi. *Mycologia*, 71: 837-847.
8. Banniza, S., Bridge, P., Simons, S., and Holderness, M. 1999. Characterization of population of *Rhizoctonia solani* in paddy rice fields in côte d'Ivoire. *Phytopathology*, 89: 414 - 420.
9. Bateman, D.F., and Etten, V. 1969. Susceptibility to enzymatic degradation of cell walls from bean plants resistant and susceptible to *Rhizoctonia solani* Kuhn. *Plant Physiology*, 44: 641-648.

10. Boosalis, M.G., and Scharen, A.L. 1959. Methods for microscopic detection of *Aphanomyces euteiches* and *Rhizoctonia solani* and for isolation of *Rhizoctonia solani* associated with plant debris. *Phytopathology*, 49: 192-198.
11. Frank, M.D., Brenneman, T.B., and Holbrook, C.C. 1999. Identification of resistance of *Rhizoctonia* limb rot in a core collection of peanut germ plasm. *Plant Disease*, 83:944-948.
12. Green, D.E., Burpee, L., and Stevenson, K. 1999. Componentes of resistance of *Rhizoctonia solani* associated with two tall fescue cultivars. *Plant Disease*, 83: 834-838.
13. Grisham, M., and Anderson, N. 1983. Pathogenicity and host specificity of *Rhizoctonia solani* isolated from Carrots. *Phytopathology*, 73: 1564 - 1569.
14. Herr, L.J., and Robberts, D.L. 1980. Characterization of *Rhizoctonia* population obtained from sugar beet fields with different soil textures. *Phytopathology*, 70: 476-480.
15. Kronland, W., and Stanghellini, M. 1988. Clean slide technique for the observation of anastomosis and nuclear condition of *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology*, 78:820-822.
16. Mazzola, M. 1997. Identification and pathogenicity of *Rhizoctonia* spp. isolated from apple roots and orchard soils. *Phytopathology*, 87: 582-587.
17. Ross, R.E., Keinath, A.P., and Cubeta, M. A. 1998. Biological control of wirestem on cabbage using binucleate *Rhizoctonia* spp. *Crop Protection*, 11: 99-104.
18. Sneh, B., Burpee, L., and Ogoshi, A. 1991. Identification of *Rhizoctonia* species. APS press, pp: 135.
19. Stapleton, G., Summers, C., Teviotdale, B., Goodell, P., and Prather, T. 1996. First report of *Rhizoctonia solani* (AG-4) on pistachio root stock seedling. *Plant Protection Quarterly*, 6: 102-110.