تشخيص وتثبيط ضراوة السم Phaseolenone للفطر الممرض *Macrophomina phaseolina* باستخدام بعض الطرائق الكيميائية والأحيائية

عوف عبد الرحمن أحمد الجبوري* وعبد الله عبد الكريم حسن

قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة تكريت، العراق، *البريد الإلكتروني للباحث المراسل: Awfabd91@tu.edu.iq

الملخص

الجبوري، عوف عبد الرحمن أحمد وعبد الله عبد الكريم حسن. 2021. تشخيص وتثبيط ضراوة السم Phaseolenone للفطر الممرض *Macrophomina phaseolina* باستخدام بعض الطرائق الكيميائية والأحيائية. مجلة وقاية النبات العربية، 39(4): 252-256. <https://doi.org/10.22268/AJPP-39.4.252256>

أشارت نتائج هذه الدراسة إلى قدرة بعض المعاملات الكيميائية والحيوية على خفض تركيز سم الفاسيولينون Phaseolenone المنتج بوساطة الفطر *Macrophomina phaseolina* الذي تم عزله من نبات زهرة /عباد الشمس في الوسط السائل (Potato dextrose broth) وقيست تراكيز السم في المعاملات المختلفة بوساطة تقنية الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (High performance liquid chromatography (HPLC)) إذ تفوقت معاملة حامض الستريك عند التركيز 5% على بقية المعاملات مثل حامض اللاكتيك وحامض الخليك وأملاح SDS و EDTA ورواشح بكتيريا *Pseudomonas fluorescens* و *Bacillus subtilis*. فقد خفضت معاملة حامض الستريك 5% تركيز السم إلى 1.74 مايكروغرام/مل مقارنة بـ 6.94 مايكروغرام/مل في معاملة الشاهد وكان ذلك واضحاً في انخفاض المساحة تحت منحنى تغم المرض والتي بلغت 684.1% في معاملة حامض الستريك مقارنة بـ 6.814% وهي المساحة تحت المنحنى لمعاملة الشاهد. كلمات مفتاحية: Phaseolenone، *Macrophomina phaseolina*، التعفن الفحمي، السموم الفطرية.

المقدمة

هذا المرض من خلال الخسائر التي يحدثها على محاصيل مختلفة، إذ قدرت الخسائر التي يسببها على محصول زهرة عباد الشمس في الولايات المتحدة لوحدها عام 1994 بحوالي 28000 طن وبقيمة إجمالية تقدر 60.65 مليون دولار (Wrather et al., 1998). ويحتمل أن تعود هذه الخطورة إلى امتلاك المسبب المرضي *M. phaseolina* للعديد من الإنزيمات المحللة مثل السيليلاز (Cellulase) والبكتينيز (Pectinase) والإميليز (Amylase) وغيرها (Mahtab et al., 2013) والسموم الفطرية مثل الـ Phaseolenone والـ Botryodiplodin وغيرها التي تعمل على قتل خلايا الأوعية الناقلة وظهور أعراض التخر والتأثير على نفاذية أغشية الخلايا حيث يكون لتأثير هذه العوامل مجتمعة أو منفردة أهمية كبرى في إحداث الإصابة وتكشف أعراض المرض (Agrios, 2005)؛ (Gupta et al., 2012). أوضح Kumari & Sharma (2013) أن سم الفاسيولينون هو المسؤول عن أعراض التخر للأوراق وكذلك ظهور أعراض التعفن الفحمي على الجذور ويعد أكثر أهمية من السموم الأخرى التي ينتجها هذا الفطر وتتناسب إمراضية المسبب أعلاه تناسباً طردياً مع تركيز السم الذي ينتجه حيث وجد أن زيادة الأعراض المرضية تتناسب

يعد مرض التعفن الفحمي أحد أهم الأمراض التي تسبب خسائر إقتصادية كبيرة والذي يتسبب عن الفطر *Macrophomina phaseolina* ويصيب مدى واسع من النباتات يصل لأكثر من 500 عائل نباتي، تشمل نباتات ذوات الفلقة والفلقتين مثل زهرة عباد الشمس والسمسم وفول الصويا والذرة البيضاء والصفراء والخيار والبطيخ وفستق الحقل (Islam et al., 2012)؛ (Villeneuve & Maignien, 2008). كان أول تسجيل لهذا المسبب المرضي على زهرة عباد الشمس في سريلانكا وذلك في عام 1927، بعد ذلك سجل في كل من الأوروغواي ويوغسلافيا وأستراليا في عام 1966 وسجل في السنغال والأرجنتين عام 1967 وفي الهند في عام 1973، أما في المنطقة العربية فقد سجل في مصر عام 1980 (Khan, 2007). أما في العراق، فقد سجل مرض التعفن الفحمي لأول مرة على نبات السمسم في منطقة أبو غريب ببغداد (Al-Ani et al., 1970)، وبعدها سجل على محاصيل أخرى مثل زهرة عباد الشمس وفول الصويا والماش والقطن والبقلاء/الفول (ديوان وآخرون، 1983). تتمثل خطورة

مع زيادة تركيز السم المنتج. وبالنظر لأهمية هذه السموم فقد كان الإتجاه الحديث للباحثين هو تقدير تلك السموم والبحث عن وسائل تحدد من إنتاجها وإزالة فعلها السام قدر الإمكان، لذلك هدفت هذه الدراسة إلى إمكانية تثبيط سم الفاسيولينون باستخدام بعض العوامل الكيميائية والحيوية.

مواد البحث وطرقه

عزل المسبب المرضي *M. phaseolina* وتشخيصه

تم إجراء العزل من حقول محافظة صلاح الدين، إذ أخذت أجزاء من الجذور وقواعد السوق لنباتات عباد الشمس التي ظهرت عليها أعراض الإصابة بمرض التعفن الفحمي، وغسلت بالماء الجاري لمدة 30 دقيقة، ثم قطعت إلى أجزاء صغيرة بطول 0.5 سم وطهرت سطحياً بمحلول هيبوكلوريت الصوديوم (1% كلور حر) لمدة 3 دقائق. بعدها غسلت بالماء المقطر المعقم وجففت على ورق ترشيح وزرعت بواقع 4 قطع لكل طبق بتري بقطر 9 سم حاوي على الوسط الغذائي آجار دكستروز البطاطا (PDA) والمضاف إليه المضاد الحيوي تتراسيكلين بمعدل 100 مغ/لتر للحد من نمو البكتيريا. تم تحضين الأطباق عند حرارة $25 \pm 2^\circ\text{C}$ لمدة 3 أيام، وبعد نمو المستعمرات الفطرية تمت عملية التنقية بنقل قطعة صغيرة من أطراف الخيوط الفطرية ووضعت في مركز طبق بتري حاوي على الوسط الغذائي PDA وتم التشخيص المظهري للفطر اعتماداً على صفات المستعمرة الفطرية مثل لون وشكل المستعمرة والتراكيب التي يكونها مثل الأجسام الحجرية الصغيرة (Microsclerotia) التي تمتاز بحجمها الصغير ولونها الأسود الفاحم وطبيعة الغزل الفطري وباستخدام المفتاح التصنيفي المعتمد (Lücking et al., 2009؛ Sutton, 1980).

تنمية الفطر *M. phaseolina* على الوسط السائل لإنتاج السم

تم تنمية الفطر *M. phaseolina* من خلال أخذ جزء من طرف مستعمرة حديثة للفطر بعمر 4 أيام وزرع في دوارق زجاجية سعة 500 مل تحوي على 150 مل من الوسط الزرعي السائل والمعقم مسبقاً. حضنت الدوارق في الحاضنة عند حرارة 25°C لمدة إسبوعين مع مراعاة رج الدوارق كل 3-4 أيام وبعدها تمت ملاحظة نمو المستعمرة الفطرية بشكل واضح على الوسط ثم رشح الوسط باستخدام ورق الترشيح Whatman no.1 (الجبوري وآخرون، 2019).

تطبيق المعاملات المختبرية

استخدمت مجموعة من المركبات الكيميائية (جدول 1) والمتضمنة بعض الأملاح وبعض الأحماض العضوية بتركيزين هما 5% و2.5% لكل

مركب مع 10 مل من راشح الفطر الممرض، واستخدمت الرواشح الخاصة بالمعاملات الأحيائية لنوعي البكتيريا *Bacillus subtilis* و *Pseudomonas fluorescens* واللذان تم تثبيتهما مسبقاً على وسط الآجار المغذي (Nutrient Broth) ورشح الوسط الحاوي على المنتجات الأيضية باستخدام ورق الترشيح الدقيق المعروف بـ Millpore بقطر 0.22 ميكرومتر (Pfeiffer & Radler, 1982)، وبعد ذلك أصبح راشح المعاملات الحيوية جاهزاً لتقويم فعاليته في تثبيط السم إذ استخدم الراشح لهاتين المعاملتين بنسبة 1/1 مع راشح الفطر وكان حجم كل عينة 10 مل بينما تركت إحدى العينات بدون أي إضافة وعدت كمعاملة شاهد.

طريقة العمل

اتبعت طريقة Kumari & Sharma (2013) لتقدير تركيز سم الفاسيولينون، إذ تم مزج 10 مل من راشح الفطر في 50% من الميثانول المائي ونبذت/ثقلت بجهاز الطرد المركزي عند 10000 دورة/دقيقة لمدة 10 دقائق. بعدها تم تبخير المادة الطافية عند ضغط مخفض باستخدام جهاز المبخر الدوار عند حرارة 35°C لحين الجفاف، وأعيد إذابة المادة الجافة في 1 مل من الميثانول ورشح باستخدام المرشح الدقيق Millpore بقطر 0.22 ميكرومتر. تم التخلص من المتبقي، وتم تبخير 100 ميكروليتر من الراشح حتى الجفاف، وأضيف للمادة الناتجة 0.5 مل من الكلوروفورم وإيثير البترول بنسبة (1/1) وتم مزجه جيداً، ونبذ/ثقل عند 10000 دورة/دقيقة لمدة 10 دقائق، ثم نقل الراشح الرائق إلى أنبوب آخر. تم تبخير الراشح باستخدام جهاز المبخر الدوار عند حرارة 35°C حتى الجفاف ثم أذيبت في 500 ميكروليتر من الميثانول، ورشحت باستخدام المرشح الدقيق Millpore بقطر 0.22 ميكرومتر لتكون جاهزة لحقنها في جهاز الكروماتوغرافي السائل عالي الأداء.

استخدم جهاز HPLC من نوع Shimadzu LC-10 A مع عمود C-8 تحت الظروف التالية: أبعاد العمود هي 4.6×50 مم، الطور المتحرك هو ميثانول-ماء بنسبة 30:70 (حجم/حجم) وكان معدل التدفق 0.3 مل/دقيقة، كما كان الطول الموجي للكاشف 250 نانومتراً عند حرارة 35°C . وضعت العينات في الطور المتحرك وحقنت بعدها بمكان حقن العينة في الجهاز بواقع 10 ميكروليتر. استخدم سم Phaseolenone القياسي بتركيز 10 مايكروغرام/مل وتم حقنه بالجهاز بواقع 10 ميكروليترات لتقدير تركيز السم في العينات المختبرة وفق المعادلة التالية:

$$\text{تركيز السم في العينة (مايكروغرام/مل)} = \frac{\text{المساحة تحت المنحنى للعينة}}{\text{المساحة تحت المنحنى للسم القياسي} \times \text{تركيز السم القياسي} \times \text{عامل التخفيف}}$$

وأشارت دراسة سابقة (Mendez-Albores et al., 2008) إلى

أهمية حامض الستريك وحامض اللاكتيك في خفض تركيز سموم بيتا أفلاتوكسين المنتجة بواسطة الفطر *Aspergillus flavus* على نبات الدخن إذ انخفض تركيز تلك السموم بنسبة 92% في معاملة حامض الستريك بينما انخفض تركيز السم في معاملة حامض اللاكتيك بنسبة 67 % عند استخدام كلا الحامضين. أما عن تأثير الأملاح في سم الفاسيولينيون فقد وجد أن هذا السم من المركبات القطبية ويعود ذلك إلى وجود جزيئات الماء H_2O المرتبطة بإحدى ذرات الكربون التي تعطي لهذا المركب قابلية الارتباط بالمركبات القطبية الأخرى مما يقيد عمل تلك السموم ويفقدها فعلها السام (Durbin, 1981). ولعل تلك الخاصية لهذا النوع من السموم تجعله يرتبط بالمركبات القطبية الأخرى التي لها القابلية على الذوبان في الماء مثل أملاح SDS و EDTA وغيرها حيث ترتبط أيونات تلك الأملاح مع جزيء السم وتغير تركيبه إلى مركب آخر أو تقيد فعله السام. ولعل صفة القطبية لسم الفاسيولينيون نفسها هي التي تزيد من قابلية ارتباط المركبات الأيضية الموجودة في رواشح البكتيريا مع السم وبالتالي تغير صيغته الكيميائية فضلاً عن الأحماض العضوية التي تغير الرقم الهيدروجيني للوسط مثل Lactic acid و Succinic acid ومنظمات النمو مثل Indol-3-acetic acid التي تنتجها بكتيريا *P. fluorescens* و *B. subtilis* التي لها القدرة على تغيير الرقم الهيدروجيني للوسط وبالتالي خفض تركيز السم (Anitha & Kumudini, 2014؛ Dahal et al., 2016؛ Durbin, 1981).

تأثير المعاملات الكيميائية والحيوية في تركيز سم الفاسيولينيون المنتج

بواسطة الفطر *M. phaseolina*

بينت النتائج (جدول 1) تفوق معاملة حامض الستريك عند التركيز 5% على بقية المعاملات حيث انخفض تركيز السم فيها إلى 1.72 ميكروغرام/مل مقارنة بمعاملة الشاهد التي بلغ فيها تركيز السم 6.94 ميكروغرام/مل فضلاً عن معاملة حامض الستريك عند التركيز 2.5 % التي أعطت خفضاً في تركيز سم الفاسيولينيون مشابه لما أعطاه حامض الخليك عند التركيز 5% وهو 2.14 ميكروغرام/مل. أما تأثير الأملاح، فقد تفوق ملح الـ SDS على ملح EDTA في خفض تركيز سم الفاسيولينيون إذ بلغ تركيز السم لهذا الملح 3.18 و 3.68 ميكروغرام/مل للتركيزين 5 و 2.5%، على التوالي. وأعطت المعاملات الحيوية برواشح البكتيريا *P. fluorescens* و *B. subtilis* خفضاً واضحاً في تركيز السم بلغ 3.27 و 4.87 ميكروغرام/مل، على التوالي. وجد بأن هناك ارجحية في كفاءة حامض الستريك في خفض تركيز السم مقارنة بالأحماض الأخرى مثل حامض الخليك ويعود سبب كفاءة الأحماض العضوية في خفض تركيز السموم إلى دور مهم لتلك الأحماض في تغيير الرقم الهيدروجيني للوسط الحاوي على السم وبالتالي التأثير في تغيير التركيب الكيميائي له وتحويله إلى مركبات أخرى قد تكون أقل سمية حيث وجد أن الرقم الهيدروجيني 4 قد خفض 50% من تركيز سموم الاوكرا توكسين (Dahal et al., 2016).

جدول 1. تأثير المعاملات الكيميائية والحيوية في تركيز سم Phaseolenone المنتج بواسطة الفطر *Macrophomina phaseolina* بعد القياس بجهاز الكروماتوغرافي السائل عالي الأداء HPLC.

Table 1. Effect of chemical and biological treatments on the concentration of the toxin Phaseolenone produced by the pathogen *Macrophomina phaseolina* as measured by HPLC.

المعاملات	Treatments	زمن الاحتجاز (دقيقة)	المساحة تحت المحنى	تركيز سم الفاسيولينيون (ميكروغرام/مل)
التركيز القياسي		Retention time (Min.)	Area under the curve (%)	Toxin concentration (Microgram/ml)
	Standard concentration	2.53	9.819	10
	Sodium dodecyl sulfate (SDS) 5%	2.49	3.177	3.18
	Sodium dodecyl sulfate (SDS), 2.5%	2.51	3.610	3.68
	Ethylene diamine tetra acetic acid (EDTA), 5%	2.49	6.089	6.20
	Ethylene diamine tetra acetic acid (EDTA), 2.5%	2.51	6.153	6.27
حامض الستريك 5%	Citric acid 5%	2.52	1.684	1.72
حامض الستريك 2.5%	Citric acid 2.5%	2.53	2.106	2.14
حامض الخليك 5%	Acetic acid 5%	2.49	2.101	2.14
حامض الخليك 2.5%	Acetic acid 2.5%	2.51	5.648	5.75
حامض اللاكتيك 5%	Lactic acid 5%	2.54	2.351	2.39
حامض اللاكتيك 2.5%	Lactic acid 2.5%	2.53	5.377	5.48
	<i>Pseudomonas fluorescens</i> 1/1	2.49	3.212	3.27
	<i>Bacillus subtilis</i> 1/1	2.51	4.778	4.87
الشاهد	Control	2.52	6.814	6.94

تأثير المعاملات الكيميائية والحيوية في تركيز سم الفاسيولينيون وعلى المساحة تحت المنحنى وزمن الاحتجاز

تبين النتائج المأخوذة من جهاز الـ HPLC (جدول 1) أن أعلى تركيز لسم الفاسيولينيون كان في معاملة الشاهد والتي كان فيها راسح الفطر خالياً من أي إضافة حيث بلغ التركيز 6.94 ميكروغرام/مل وكان زمن الاحتجاز 2.52 دقيقة بينما بلغت المساحة تحت المنحنى أقصاها 6.814، وكان أقل تركيز في معاملة حامض الستريك عند التركيز 5% حيث بلغ التركيز 1.72 ميكروغرام/مل وكان زمن الاحتجاز 2.52 دقيقة، المساحة تحت المنحنى أقل ما يمكن 1.684 مقارنة بـ 6.814 لمعاملة الشاهد. وتتفق هذه النتائج مع نتائج دراسة Bhattacharya *et al.* (1992) التي أوضحت أن الفطر *M. phaseolina* قادر على إنتاج سم

الفاسيولينيون بتركيز 168 ميكروغرام/غرام وزن رطب عند تنمية الفطر الممرض على بذور العدس الأسود وبعد مدة تحضين 24 ساعة عند قياس تركيز السم بوساطة تقنية الـ HPLC، وأن هذا التركيز من السم أدى إلى إحداث فشل إنبات 50% من البذور.

بينت نتائج هذه الدراسة أن لحامض الستريك تأثيراً فعالاً في خفض تركيز سم الفاسيولينيون من خلال قدرة هذا الحامض على تغيير تركيب السم وتحويله إلى مركب آخر قد يكون أقل سمية من المركب الاصلي وبذلك لا يظهر سم الفاسيولينيون بتركيز عال عند المعاملة بهذا الحامض، كما توصي هذه الدراسة بتتبع وقياس تأثير المركب الناتج بعد معاملة السم بحامض الستريك لمعرفة فيما إذا كان لهذا المركب أي تأثيرات جانبية في الإنسان والحيوان والنبات فضلاً عن دراسة مركبات أخرى قد تكون أكثر قابلية على خفض تركيز السم.

Abstract

Al-Jbory, A.A.A. and A.A Hasan. 2021. Diagnosis and Inhibition of the Virulence Factor Phaseolenone of the Pathogenic Fungus *Macrophomina phaseolina* Using Some Chemical and Biological Methods. Arab Journal of Plant Protection, 39(4): 252-256. <https://doi.org/10.22268/AJPP-039.4.252256>

Results obtained in this study confirmed the efficacy of some chemical and biological factors in reducing the concentration of Phaseolenone toxin produced by the fungal pathogen *Macrophomina phaseolina* grown on potato dextrose broth medium. The toxin concentrations were measured in different treatments using high performance liquid chromatography (HPLC). The citric acid treatment at 5% concentration surpassed the other treatments (lactic acid, acetic acid, SDS salts, EDTA, bacterial filtrates of *Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis*). Citric acid treatment reduced by 5% the toxin concentration to 1.74 microgram/ml compared to 6.94 microgram/ml for the control treatment. This reduction in Phaseolenone concentration was also noticed through the reduction of the area under the curve which amounted to 1.684% for the citric acid treatment compared with 6.814% for the control treatment.

Keywords: Phaseolenone, *Macrophomina phaseolina*, charcoal rot, mycotoxin.

Affiliation of authors: A.A.A. Al-Jbory* and A.A. Hasan, Plant Protection Department, College of Agriculture, Tikrit University, Iraq. *Email of corresponding author: Awfabd91@tu.edu.iq

References

- Agrios, G.N. 2005. Plant Pathology. 5th Edition. Elsevier Inc. USA. 998 pp.
- Al-Ani, H.Y., M.N. Rashad and A. El-Behadli. 1970. Charcoal rot of sesame in Iraq. Phytopathologia Mediterranea, 9: 50-53.
- Anitha, G. and B.S. Kumudini. 2014. Isolation and characterization of fluorescent pseudomonads and their effect on plant growth promotion. Journal of Environmental Biology, 35(4): 627-634.
- Bhattacharya, D., T.K. Dhar and E. Ali. 1992. An enzyme immunoassay of phaseolinone and its application in estimation of the amount of toxin in *Macrophomina phaseolina*-infected seeds. Applied and Environmental Microbiology, 58(6): 1970-1974. <https://doi.org/10.1128/aem.58.6.1970-1974.1992>
- Dahal, S., H.J. Lee, K. Gu and D. Ryu. 2016. Heat stability of ochratoxin A in an aqueous buffered model system. Journal of Food Protection, 79(1): 1748-1752.
- Durbin, R.D. 1981. Toxins in Plant Disease. 1st Edition. Academic Press, Inc., New York. 528 pp.

المراجع

- ديوان، مجيد متعب، علي حسين البهادلي وعبدول مصطفى حمه رش. 1983. دراسة المدى العائلي للفطر *Macrophomina phaseolina* مجلة وقاية النبات العربية، 1(1): 2-10.
- [Diwan, M.M., A.H. El-Behadli and A.M.H. Rush. 1983. A study on the host range of the fungal pathogen *Macrophomina phaseolina*. Arab Journal of Plant Protection, 1(1): 2-10. (In Arabic).]
- الجبوري، عوف عبد الرحمن أحمد، خلف عطية محمد وزيد شهاب أحمد. 2019. تأثير بعض عوامل مكافحة الأحيائية وتكاملها مع المبيد الفطري تشيجارين في مكافحة مرض التعفن الرايزوكتوني على نباتات الخيار. مجلة وقاية النبات العربية، 37(3): 259-265. <https://doi.org/10.22268/AJPP-037.3.259265>
- [Al-Jbory, A.A.A., K.A.Mohamad and Z.Sh. Ahmed. 2019. Effect of some biological control agents and their integration with Tachigaren fungicide for the control of Rhizoctonia rot on cucumber plants. Arab Journal of plant protection, 37(3): 259-265. (In Arabic). <https://doi.org/10.22268/AJPP-037.3.259265>]

- Mahtab, R., D.S. Alireza, A. Abasali and S.N.A. Masoud.** 2013. Study on reaction of sunflower lines and hybrids to *Macrophomina phaseolina* causal agent of charcoal rot disease. World Applied Sciences Journal, 21(1): 129-133.
<https://doi.org/10.5829/idosi.wasj.2013.21.1.2452>
- Mendez-Albores, A., F. Martinez-Bustos, M. Gaytan-Martinez and E. Moreno-Martinez.** 2008. Effect of lactic and citric acid on the stability of B-aflatoxins in extrusion-cooked sorghum. Letters in Applied Microbiology, 47(1): 1-7.
- Pfeiffer, P. and F. Radler.** 1982. Purification and characterization of extracellular and intracellular killers of *Saccharomyces cerevisiae* strain 28. Journal of General Microbiology, 128(1): 2699-2706.
<https://doi.org/10.1099/00221287-128-11-2699>
- Sutton, B.C.** 1980. The coelomycetes. Fungi Imperfecti with Pycnidia, Acervuli and Stromata. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England. 696 pp.
- Villeneuve, F. and G. Maignien.** 2008. Status of soil-borne phytosanitary problems encountered in melon (*Cucumis melo*) in the main producing regions of France. Pages 407-418. In: Proceedings of the IXth EUCARPIA meeting on Genetics and Breeding of Cucurbitaceae. M. Pitrat (ed). INRA Avignon, France, May 21-24, 2008.
- Wrather, J.A., S.R. Kendig and D.D. Tyler.** 1998. Tillage effects on *Macrophomina phaseolina* density and soybean yield. Plant Disease, 82(2): 247-250.
<https://doi.org/10.1094/PDIS.1998.82.2.247>
- Gupta, G.K., S.K. Sharma and R. Ramteke.** 2012. Biology epidemiology and management of the pathogenic fungus *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid with special reference to charcoal rot of soybean (*Glycin max* (L.) Merrill). Journal of Phytopathology, 160(4): 167-180.
<https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.2012.01884.x>
- Islam, M.S., M.S. Haque, M.M. Islam, E.M. Emdad, A. Halim, Q.M.M. Hossen, M.Z. Hossain, B. Ahmed, S. Rahim, M.S. Rahman, M.M. Alam, S. Hon, X. Wan, J.A. Saito and M. Alam.** 2012. Tools to kill: Genome of one of the most destructive plant pathogenic fungi *Macrophomina phaseolina*. BMC Genomics, 13: 493.
<https://doi.org/10.1186/1471-2164-13-493>
- Khan, S.N.** 2007. *Macrophomina phaseolina* as causal agent for charcoal rot of sunflower. Mycopathology, 5(2): 111-118.
- Kumari, P.N. and V. Sharma.** 2013. Detached leaf assay for resistance to *Macrophomina phaseolina* and isolation of toxin from infected leaves and its analysis by TLC. Journal of Biological and Chemical Research, 30(1): 254-263.
- Lücking, R., S. Huhndorf, D.H. Pfister, E.R. Plant and H.T. Lumbsch.** 2009. Fungi evolved right on track. Mycologia, 101(6): 810-822.
<https://doi.org/10.3852/09-016>

Received: March 4, 2021; Accepted: September 29, 2021

تاريخ الاستلام: 2021/3/4؛ تاريخ الموافقة على النشر: 2021/9/29