

تأثير الراشح السمي للفطر *Macrophomina phaseolina* المعزول من بذور السمسم على احياء التربة المجهرية وانبات بذور بعض النباتات

نجوى بشير اللشي

قسم علوم الحياة/كلية العلوم/جامعة الموصل/العراق

الخلاصة

اختبر تأثير تراكيز مختلفة (0، 1، 5، 10، و 20 %) من الراشح السمي للفطر *Macrophomina phaseolina* المنمى على وسط سكروز البطاطا السائل في نمو اربعة انواع من البكتريا السالبة لصبغة كرام *Pseudomonas aeruginosa* و *Klebsiella pneumoniae* والموجبة لصبغة كرام *Streptococcus sp.* و *Staphylococcus aureus*. اظهرت النتائج عدم استجابة بكتريا *K. pneumoniae* لجميع تراكيز الراشح المختبرة في حين سبب تثبيط معنوي لبقية انواع البكتريا وقد ازداد التثبيط بزيادة التركيز الى 10 %، كما اظهر اختبار تأثير الراشح في نمو اربعة انواع من الفطريات الممرضة للنبات *Fusarium solani*، *Fusarium oxysporum*، *Rhizoctonia solani* و *Alternaria alternata* حدوث تثبيط معنوي وقد ازداد بزيادة تركيز الراشح السمي وكان *Alt.alternata* اكثرها استجابة (59.64 %) كما سببت التراكيز المختلفة من الراشح تثبيطاً في نسب انبات بذور نباتات العدس، عباد الشمس، اللوبيا والفاصوليا وحدث اعلی تثبيط لبذور اللوبيا (22.7 %) كما لوحظ اعلی تثبيط لطول الجذير وطول البادرات والوزن الطري في بادرات العدس بنسبة (51.5 و 24.23 و 34.7 %) على التوالي

الكلمات الدالة:
تأثير، راشح، بذور
سمسم

للمراسلة:

نجوى بشير اللشي

قسم علوم الحياة/كلية

العلوم/جامعة

الموصل/العراق

الاستلام :

القبول:

Effect of The Toxic Culture Filterate of The Fungus *Macrophomina phaseolina* Isolated From Sesame Seeds on Soil Microorganisms and Germination of Some Plant Seeds

Najwa B. Al - Lashi

Department of Biology / College of Science-University of Mosul /Iraq

Key Words:

Effect , toxic m seasm

Correspondence:

Najwa B. Al - Lashi

Department of
Biology / College of
Science-University of
Mosul /Iraq

Received:

Accepted:

ABSTRACT

Different concentrations (0, 1, 5, 10, and 20%) of the toxic culture filterate of the fungus *Macrophomina phaseolina* grown on Potato Sucrose Broth was tested against four species of gram negative bacteria *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, and gram positive bacteria *Streptococcus sp.* *Staphylococcus aureus*. Results showed that *K. pneumoniae* does not respond to all concentrations of the culture filterate while it caused significant inhibition to other bacterial species tested and the inhibition increased with the increase of concentration until 10%. Effect of different concentrations of the culture filterate on four species of fungal plant pathogens, *Fusarium solani*, *F. oxysporum*, *Rhizoctonia solani* and *Alternaria alternata* showed significant inhibition on the growth of fungi, and also the inhibition increased with increasing the concentration. Maximum inhibition was noticed with *A. alternata* (59.64%). When culture filterate was tested on seed germination, root elongation of four types of plants i.e. lentile, sunflower, cowpea and bean, maximum inhibition was recorded with cowpea (22.7%). Also, it caused inhibition to root elongation, seedling length and fresh weight of the four plants tested , lentile showed maximum inhibition (51.5 , 24.23 and 34.7% respectively) .

المقدمة

نظراً لامتلاك النباتات وسائل دفاعية ميكانيكية أو كيميائية فلا بد للكائنات المجهرية من انتاج مركبات ايضية تستطيع بواسطتها شل او ارباك هذه الوسائل الدفاعية وبالتالي احداث الاصابة للنبات وتدعى هذه المركبات بالسموم (Garniti ، 1972) وتتميز السموم الفطرية بانها مركبات ذات اوزان جزيئية صغيرة وتراكيب كيميائية متنوعة ولها القابلية على الانتشار من منطقة الاصابة الى الانسجة المجاورة (MUKerji ، Upadhyay ، 1997) ويعد الفطر *Macrophomina phaseolina* من الفطريات الممرضة لعدد كبير من النباتات حيث يصيب حوالي 500 نوع من

النباتات بضمنها محاصيل الحقل والخضر واشجار الغابات ونباتات الزينة وغيرها ، كماتتعرض النباتات الاستوائية ايضاً للاصابة به (Sinclair ، 1982 ؛ Malaguti ، 1990).

مواد وطرق العمل

عزل الفطر *Macrophomina phaseolina* من بذور السمسم

تم الحصول على بذور السمسم (صنف محلي) من الاسواق المحلية لمدينة الموصل .استخدمت طريقة اطباق الاكار Agar plate method المعتمدة من قبل المنظمة الدولية المتخصصة باختبارات البذور International Seed Testing Association (I.S.T.A. 1976) ، اذا عمت 100 بذرة تعقيماً سطحياً بمحلول هابيو -كلورات الصوديوم 1% لمدة ثلاث دقائق وغسلت بالماء المقطر المعقم لمدة دقيقتين لازالة التأثير السمي ثم جففت بعد ذلك باوراق ترشيح معقمة ، نقلت بعدها البذور الى اطباق زجاجية بقطر 9 سم حاوية على الوسط الغذائي (PSA) Potato Sucrose Agar المضاف اليه المضاد الحيوي كلورامفينيكول بمعدل 10 ملغم / لتر لمنع نمو البكتيريا وبمعدل خمسة بذور لكل طبق . حضنت الاطباق على درجة 25 ± 2 م° لمدة سبعة ايام وشخص الفطر *Macrophomina phaseolina* بالاعتماد على المفتاح التصنيفي المعد من قبل Thirumalachar (1953) .

تحضير الراشح السمي

نمي الفطر *M.phaseolina* المعزول من بذور السمسم على وسط سكروز البطاطا السائل (PSB) Potato Sucrose Broth وزرع الوسط في دوائر مخروطية

واشار العديد من الباحثين الى ان امراضية عزلات الفطر *M. phaseolina* تعود الى قدرتها على انتاج السموم حيث يفرز الفطر العديد من المركبات السامة للنبات وهي *Asperlin* ، *Isoasperlin* ، *Phomalactone* ، *Phaseolinic acid* ، *Phomenon* ، *Phaseolinone* (Dhar وآخرون 1982 ؛ Bhattacharya وآخرون 1992a) . وقد توصل الباحثين الى الدور المباشر لسموم هذا الفطر في احداث المرض للنبات ويعد المركب *Phaseolinone* من اهم السموم التي ينتجها هذا الفطر (Mathur ، 1968 ؛ Rai ، Singh ، 1973 ؛ Dhingra ، Sinclair ، 1974 ؛ Bhattachareya وآخرون 1992b) ونظراً لان الفطر *M. phaseolina* يصيب نباتات ذات اهمية اقتصادية كبيرة للانسان ويؤثر عليها كماً ونوعاً فقد ارتأينا دراسة تأثير السموم التي يفرزها الفطر ضمن الراشح السمي وتأثيره على احياء التربة المجهرية وعلى انبات بذور النباتات الاقتصادية .

حجم 250 مل حاوية على 100 مل من الوسط الغذائي المعقم ولقح الوسط في كل دورق بقرص قطره 6 ملم من النمو الفطري المأخوذ من حافة مزرعة فطرية بعمر 7 ايام ومنمأة على وسط (PSA) حضنت الدوائر على درجة 25 ± 2 م° لمدة 15 يوماً ثم رشح الوسط باستخدام قماش المولين واجري له طرد مركزي باستخدام الطرد المركزي المبرد نوع (MSE) High speed 18 على سرعة 10000 دورة/دقيقة لمدة 10 دقائق وبدرجة حرارة 4 درجة مئوية لتسهيل انسياب الراشح السمي خلال المرشح البكتيري Millipore بقطر 0.45 مايكروميتر لتعقيمه واستخدم الراشح المعقم للاختبارات التالية :

1- تأثير الراشح السمي للفطر *M. phaseolina* في نمو البكتريا

تم تنمية اربعة انواع من البكتريا نوعان موجبان لصبغة كرام وهي *Staphylococcus aureus* و *Streptococcus* Sp. ونوعان اخران سالبان لصبغة كرام وهي *Pseudomonas aeruginosa* و *Klebsilla pneumonia* وتم الحصول على البكتريا من كلية العلوم /قسم علوم الحياة/جامعة الموصل على المرق المغذي Nutrient broth بعمر 24 ساعة وعلى درجة حرارة 37 م° ثم زرعت في اطباق بتري حاوية على وسط Nutrient agar بفرشها باستخدام طريقة المسح بواسطة Swap ثم عولمت باقراص من ورق ترشيح معقم نوع

متعامدين لكل مستعمرة ومنها تم حساب نسبة تثبيط نمو الفطريات الممرضة بتطبيق المعادلة التالية

$$\% \text{ للتثبيط} = \frac{\text{متوسط قطر المقارنة} - \text{متوسط قطر المعاملة}}{\text{متوسط قطر المقارنة}} \times 100$$

حللت النتائج احصائياً واختبر بطريقة دنكن.

3- تأثير الراشح السمي للفطر *M. phaseolina* في انبات البذور

تم تعقيم بذور اربعة انواع من النباتات وهي العدس وعباد الشمس واللوبياء والفاصولياء تعقيماً سطحياً بواسطة هايپوكلورات الصوديوم 1% لمدة ثلاث دقائق وغسلت بماء مقطر معقم ثم عوملت براشح الفطر *M. phaseolina* لمدة 40-45 دقيقة وزرعت في اطباق بتري قطرها 9 سم تحتوي على اوراق ترشيع معقمة وبواقع 25 بذرة / طبق وباربعة مكررات . اما المقارنة فقد استخدم الماء المعقم بدلاً من الراشح السمي . حضنت البذور على درجة حرارة 26 ± 1م لمدة خمسة ايام مع ترطيب ورقة الترشيح بكمية محددة من الماء اثناء الحاجة . تم اخذ النتائج بحساب نسبة البذور النابتة فضلاً عن حساب طول الجذير وارتفاع البادرة والوزن الطري حللت النتائج احصائياً واختبرت بطريقة دنكن.

النتائج والمناقشة

لم تختلفا عن بعضهما معنوياً في درجة التثبيط اذ بلغت 1.00 و 1.33 ملم على التوالي ولكنهما اختلفتا معنوياً عن البكتريا *S. aureus* . اما تأثير التركيز 5 % فيلاحظ ان النوعين *S. aureus* و *Streptococcus sp* لم تختلفا معنوياً عن بعضهما في درجة التثبيط حيث بلغت 2.67 و 3.33 ملم على التوالي في حين اختلفت الاخيرة عن بكتريا *P. aeruginosa* معنوياً في درجة التثبيط، ولم تختلف الانواع البكتيرية الثلاثة عن بعضها معنوياً في درجة التثبيط عند التركيز 10 % وأشارت نتائج التحليل الاحصائي الاجمالي للمتوسطات ان اعلى استجابة للراشح السمي كان لنوعي البكتريا *S. aureus* و *Streptococcus sp*.

whatman No.1 قطر 0.5 سم سبق معاملتها برواشح الفطر المعقمة بتركيز 1 ، 5 ، 10 و 20% اما معاملة المقارنة فقد عوملت بماء مقطر معقم فقط . حضنت الاطباق على درجة حرارة 37 م لمدة 24 ساعة وحسبت منطقة التثبيط بقياس قطر منطقة التثبيط مطروحا منه قطر الورقة المستخدمة (John وآخرون، 1974) ، حللت النتائج احصائياً واختبرت بطريقة دنكن (الراوي وعبد العزيز، 1980) .

2- تأثير الراشح السمي للفطر *M. phaseolina* في نمو بعض الفطريات الممرضة

أجري اختبار تأثير راشح الفطر *M. phaseolina* على نمو الفطريات *Fusarium solani* و *Fusarium oxysporum* و *Rhizoctonia Solani* و *Alternaria alternata* والتي تم الحصول عليها من كلية العلوم / قسم علوم الحياة/جامعة الموصل . نميت هذه الفطريات على وسط اجار سكرور البطاطا المضاف اليه الراشح السمي للفطر بتركيز 1 ، 10، 5 و 20 % قبل تصلبه لمدة 5-7 ايام ، بعدها تم اخذ قرص من النمو الفطري بقطر 6 ملم من الفطريات التي نميت مسبقاً ووضع في وسط طبق بتري قطر 9 ملم الحاوي على الوسط الغذائي . اما معاملة المقارنة فقد تضمنت الوسط الغذائي فقط. حضنت الاطباق على درجة حرارة 25 ± 2 م واخذت النتائج بعد 5-7 ايام حسب نمو الفطريات الممرضة بحساب متوسط قطرين

تأثير الراشح السمي للفطر *M. phaseolina* في نمو البكتريا

يشير جدول (1) الى تأثير الراشح السمي للفطر *M. Phaseolina* في نمو اربعة انواع من البكتريا حيث توضح النتائج عدم استجابة البكتريا *K. penunoniae* لكافة تراكيز الراشح السمي في حين احدث تثبيطاً معنوياً لبقية انواع البكتريا . اما تأثير مستويات الراشح السمي على نمو البكتريا فيظهر من نتائج الجدول ان التأثير التثبيطي ازداد بزيادة التركيز من 1 الى 10% لكل الانواع البكتيرية ثم انخفض عند المستوى 20 % . اما تأثير كل تركيز على الانواع البكتيرية فهناك فروق معنوية عند تركيز 1% الا ان نوعي البكتريا *P. aeruginosa* و *Streptococcus sp*.

جدول (1) تأثير الراشح السمي للفطر *M. phaseolina* في نمو اربعة انواع من البكتريا

تراكيز الراشح السمي						البكتريا
المتوسطات	%20	%10	%5	%1	المقارنة	
0.0.0 C	0.0.0 I	0.0.0 I	0.0.0 I	0.0.0 I	*0.0.0 I	<i>Klebsilla penumoniae</i>
1.8 B	1.67 FGH	4.00 AB	2.33 DEF	1.00 H	0.0.0 I	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
2.5 A	3.00 CD	4.67 A	2.67 CDE	2.33 DEF	0.0.0 I	<i>Staphylococcus aureus</i>
2.27 A	2.00 EFG	4.67 A	3.33 BC	1.33 GH	0.0.0 I	<i>Streptococcus sp.</i>
	1.67 C	3.33 A	2.08 B	1.17 D	00 E	المتوسطات

*الحروف المختلفة تدل على وجود فروقات معنوية بين المعاملات عند مستوى احتمال 0.05 حسب اختبار دنكن متعدد الحدود. وتراوحت بين 2.5 و 2.27 ملم على التوالي، اما افضل تركيز فكان 10% حيث اعطى اعلى تثبيط للانواع الثلاثة منى البكتريا وتتفق نتائجنا مع ما توصل اليه الباحث قاسم (1999) من ان الراشح السمي للفطر *Fusarium solani* ادى الى تثبيط نوعي البكتريا الموحية لصبغة كرام *S. aureus* و *Bacillus subtilis* وكذلك بين العنزي (2004) عدم استجابة نوع البكتريا *Klebsiella* لراشح الفطر *A. alternata*. بينما لم تتفق هذه النتائج مع ما حصل عليه الراوحي (2005) من عدم وجود تأثير واضح للتراكيز المختبرة من سم الفطر *A. alternata* في نمو انواع البكتريا السالبة والموجبة لصبغة كرام.

جدول (2) تأثير الراشح السمي للفطر *M. phaseolina* على نمو الفطريات الممرضة

الفطريات	Cont	%1	%5	%10	%20	المتوسطات
<i>F.solani</i>	*8.5 A	8 BC	7.17 D	6.47 FG	6.10 H	7.25 A
<i>F.oxysporum</i>	8.5 A	7.8 C	7.07 D	6.63 EF	5.63 I	7.15 B
<i>R.solani</i>	8.5 A	7.17 D	6.77 E	6.23 GH	6.10 H	6.93 C
<i>A. alternata</i>	8.5 A	8.13 B	6.33 GH	5.50 I	3.34 J	6.38 D
المتوسطات	8.5 A	7.75 B	6.86 C	6.21 D	5.32 *E	

*الحروف المختلفة تدل على وجود فروقات معنوية بين المعاملات عند مستوى احتمال 0.05 حسب اختبار دنكن متعدد الحدود

المرضة للنبات، وكذلك اشار عدد من الباحثين الى عدم استجابة الفطريات الممرضة للنبات لرواشح الفطر *A. alternata* (العنزي، 2004، والراوحي، 2005). وتشير النتائج في جدول (3) الى تاثير الراشح السمي للفطر *M. phaseolina* في النسبة المئوية لتثبيط الفطريات، فمن الواضح ان اعلى نسبة من التثبيط كانت للفطر *A. alternata* (59.64%) عند تركيز 20 %، ولبقية الفطريات حدثت اعلى استجابة للفطر *F. oxysporum* (تركيز 20%) اذ بلغت نسبة التثبيط 33.76 %.

منطقة التثبيط 3.34 ملم . ولم تختلف منطقة تثبيط الفطر *R. solani* معنوياً عند التركيزين 10 % و 20 % (6.23 و 6.10 ملم على التوالي). وقد لوحظت اقل منطقة تثبيط مع الفطرين *F. solani* و *A. alternata* عند تركيز 1%، ومن نتائج التحليل الاحصائي الاجمالي للمتوسطات يتبين ان اقل تثبيط كان للفطر *F. solani* يليه *F. oxysporum* وقد اعطى تركيز 20 % اعلى تثبيط لنمو الفطريات (5.32 ملم). ومن الجدير بالذكر ان النتائج التي حصلنا عليها لم تتفق مع ماتوصل اليه قاسم (1999) الذي لاحظ عدم وجود أي تثبيط لراشح الفطر *F. solani* على نمو الفطريات

جدول (3) تأثير الراشح السمي للفطر *M. phaseolina* على النسبة المئوية لتثبيط الفطريات الممرضة.

الفطريات	1%	5%	10%	20%	المتوسطات
<i>F. solani</i> I	5.88*	15.76	24.0	28.23	18.47 D
<i>F. oxysporum</i>	8.23	16.47	22.0	33.76	20.12 C
<i>R. solani</i>	16.47	21.52	26.70	28.23	23.23 B
<i>Alt. alternata</i>	4.35	25.52	35.52	59.64	31.26 A
المتوسطات	8.73	19.82	27.06	37.47	

*الحروف المختلفة تدل على وجود فروقات معنوية بين المعاملات عند مستوى احتمال 0.05 حسب اختبار دنكن متعدد الحدود.

تثبيط معنوي في طول الجذير وكان اعلى تثبيط لبذور العدس (51.5 %) في حين كان عباد الشمس اقلهم تأثراً بالراشح السمي. اما بالنسبة لارتفاع البادرة كان العدس اكثرهم تأثراً اذ بلغت نسبة التثبيط 24.23 % ولم تختلف اللوبيا عن الفاصوليا معنوياً في نسب التثبيط اذ بلغت 11.10 و 11.33 % على التوالي. أظهرت النتائج ايضاً تثبيطاً بالوزن الطري لاناوع النباتات المختبرة وكان اكثرهم تثبيطاً العدس (34.7 %) في حين كانت الفاصوليا

تأثير الراشح السمي للفطر *M. phaseolina* في انبات البذور

ادى غمر البذور في الراشح السمي للفطر *M. phaseolina* الى تثبيط انبات جميع الانواع المختبرة من بذور النباتات وكان اكثرها تأثراً بذور اللوبيا (22.7 %) واقلها الفاصوليا (15%) (جدول 4) ولم تختلف نسب انبات بذور العدس وعباد الشمس معنوياً عن بعضهما اذ بلغت 18 و 20 % على التوالي. وأشارت النتائج ايضاً الى حدوث

جدول (4) تأثير الراشح السمي للفطر *M. phaseolina* في انبات البذور وطول الجذير وارتفاع البادرة لـ 4 انواع من البذور.

البذور	% للإنبات	% للتثبيط	طول الجذير	% للتثبيط	ارتفاع البادرة	% للتثبيط	الوزن الطري غم	% للتثبيط
العدس	*82 AB	18 B	2.3 C	51.5 A	3.87 B	24.23 A	0.15 B	34.7 A
عباد الشمس	84 A	20 B	2.3 C	25.8 D	2.90 C	19.6 B	0.19 B	20.80 B
اللوبيا	80 B	22.7 A	3.5 B	44.4 B	5.0 A	11.10 C	1.41 A	17.6 C
الفاصوليا	85 A	15 C	3.7 A	37.5 C	5.8 A	11.33 C	1.31 A	15.6 D

*الحروف المختلفة تدل على وجود فروقات معنوية بين المعاملات عند مستوى احتمال 0.05 حسب اختبار دنكن متعدد الحدود.

في طول الجذير والرويشة في بادرات الفاصوليا الطويلة عند استخدام راشح المزرعة الفطرية للفطر *A. alternata* بتركيز 10% . وذكرت العنزي (2004) ان رواشح المزارع الفطرية للعزلات الاربعة من الفطر *A. alternata* كانت متباينة في تأثيرها على انبات بذور الرشاد وطول الجذير والرويشة. وتمكن Siddiqui وآخرون (2005) من عزل سم خارجي يفرزه الفطر *M. phaseolina* المعزول من نبات *Phaseolus mango* وحدث السم تثبيطاً لانبات البذور وذبول العقل كما ادى الى تقزم البادرات الحديثة النمو وفقدان نفاذية الاغشية الخلوية. وأشار الراوجي (2005) الى ان جميع التراكيز المختبرة من السم الفطري للفطر *A. alternata* كانت مثبطة لانبات البذور وطول الجذير والرويشة والبادرة لنباتات الطماطة والرشاد كما احدث ذبولاً للعقل الطرفية بعد 24 ساعة من المعاملة بالسم الفطري.

نبات الباقلاء ، رسالة ماجستير ، جامعة الموصل 63 صفحة.

قاسم ، اكرم حمدي (1999). دراسات على الفطر *Fusarium solani* المسبب لمرض تعفن جذور العدس في محافظة نينوى ، اطروحة دكتوراه -جامعة الموصل 86 صفحة.

Bhattacharya, D. Siddiqui KAI and Ali, E.(1992a). Phytotoxic metabolites of *Macrophominia phaseolina*, Indian J. Mycol. Plant Pathol. 22:54-57.

Bhattacharya,D.,Dhar,T.K. and Ali, E. (1992b). An enzyme immunoassay

اقلهم تثبيطاً (15.6 %). وقد تمت الاشارة الى الدور المباشر لسموم الفطر *M. phaseolina* في احداث المرض وتدعيم ذلك بواسطة الدور الهام الذي تلعبه الانزيمات المذيبة للجدار الخلوي في احداث المرض وتطوره (Sackston Chan ، 1973 ; Sett وآخرون 2000) وتتفق نتائجنا مع ماتوصل اليه Haider وآخرون (1986) من ان معاملة بذور ونباتات العصفور برواشح الفطريات ادى الى تثبيط انبات البذور بنسبة 100 - 26.17 % وكذلك ادى الى قصر في طول المجموع الجذري الخضري للنباتات بنسبة 100 - 80.5 % . واثبت قاسم (1999) ان تأثير الراشح السمي للفطر *F. solani* كان واضحاً واثراً بصورة معنوية على نسب انبات البذور وطول الجذير والرويشة لاربعة انواع من النباتات المختبرة وهي (كاكوز ، بيقيا ، رشاد وفجل). هذه النتائج تتفق ايضاً مع ماأشار اليه Maheshwari وآخرون (2000) بوجود تثبيط

المصادر

الراوجي ، عصام داود سليمان (2005). انتاج وفعالية السكر المتعدد والسم لفطر *Alternaria.alternata* المعزول محلياً ، اطروحة دكتوراه - جامعة الموصل 151 صفحة.
الراوي ، خاشع محمود وعبد العزيز خلف الله(1980) تصميم وتحليل التجارب الزراعية مطبعة دار الكتب للطباعة والنشر -جامعة الموصل 488 ص
العنزي ، غيداء صلاح حسين (2004). دراسة مرضية وسمية الفطر *Alternaria.alternata* على

- Mycopathological Research . 38 : 55-56 (Abst).
- Malaguti, G. (1990). Half- a century of a plant pathologist in a tropical country – Venezuela; Annu. Rev. Phytopathol. 28.
- Mathur, S.B. (1968). Production of toxins and pectolytic enzymes by two isolates of *Sclerotium bataticola* Taub and their role in pathogenesis , Phytopathology 762 : 327 – 333.
- Rai, J.N. and Singh, R.P. (1973). Production of toxic metabolites by *Macrophomina phaseolina* causing root rot of crucifers ; Indian J. Micol. Plant Pathol. 3:21 – 25.
- Sett, S., Santosh K. Mishra, and Siddiqui, K. A. (2000). A virulent mutants of *Macrophomina phaseolina* and *Aspergillus fumigatus* initiate infection in *Phaseolus mungo* in the presence of phaseolinone ; levamisole gives protection J. Biosci. 25 : 73-80.
- Siddiqui, K. A., A. K.Gupta. A. K. Paul and Banerjee, A. K.(2005). Puriification and properties of a heat-resistant exotoxin produced by *Microphomina phaseolina* (Tassi) Goid in culture. Biomedical and Life Sciences. 35:1222-1223.
- Sinclair, J.(1982). Compendium of soyabean disease (St. Paul . The American Phythological Society). Turriziani, M. Giuliani, A, Bulgarini, B. and De Vecchis, L. (ed.).(1991) Role of levamisole as immunomodulant in mouse lymphoma model; immunopharmacol. Immunotoxicol. 33 425 – 445.
- Thirumalachar, M. J.(1953).Pycnidial state of charcoal rot inciting fungus with discussion of its nomenclature. Phytopathology.43: 608-610.
- Upadhyay, R.K. and Mukerji, K.G. (1997) . Host – Specific Toxin : Status and perspectives. 209 – 230. In : Toxin in Plant Disease Development and Evolving Biotechnology.(Ed. Upadhyay, R.K. and Mukerji, K.G.) Science Publishers, Inc. USA. 235 PP.
- of physeolinone and its application in estimation of the amount of toxin in *Macrophomina phaseolina* – infected seeds ; Appl. Environ. Micribiol. 58: 1970 – 1974.
- Chan, Y. H. and Sackston, W.E.(1973). Non-specificity of the necrosis inducing toxin of *Sclerotium bataticola*; Can. J. Bot. 51 690-692.
- Dhar, T.K., Siddiqui, K. and Ali, E. (1982). Structure of phaseolinone a novel phytotoxin from *Macrophomina phaseolina* ; Tet Lett. : 23 5459 – 5462.
- Dhingra, D.D. and Sinclair, J.B. (1974). Isolation and partial purification of a phytotoxin produced by *Macrophomina phaseolina*; Phytopathol. Z. 80 : 33 – 40.
- Graniti, A .(1972).The evolution of toxin concept in plant pathology pp. 1-18. In : Phytotoxin in plant disease (Ed.Wood, R. K. S. ; Ballio, A. and Granit,A.). Academic Press Inc. 530 PP.
- Haider, N. M. ; Sulaiman, E.D. and Dawood R.K.(1986). Effect of culture filtrate of five species of fungi and their mixture on seed germination and seedling development of Safflower.J. Biol. Sci. Res.17:141-150.
- International Rules for Seed Testing Annexes .(1976). Germination Methods . Vol 4. No.1.
- John, D.B.; Philip,G.A. and Grelson, T.(1974). Clinical Methods of The Division of Laboratories and Research. The Williams and Wilkins Company. 8th. Ed.
- Mahato S. B, Siddiqui, K., Bhattacharya G, Ghosal, T. Miyahara, K. Sholichin, M. and Kawasaki, T. (1987). Structure and stereochemistry of phaseolinic acid : A new acid from *Macrophomina phaseolina* J. Nat. Prod. 50: 245-247.
- Maheshwari , S.K.; Singh, D.V. and Sahu, A.K. (2000). Effect of culture filtrate of *Alternaria alternata* on leaf, seed germination and seedling vigour of dolichos bean. J.