بيان التأثير السمي واختبار كفاءة المقاومة الكيميائية والاحيائية على عزلات من انواع الفطر *Alternaria* sp. المعزولة من اشجار الحمضيات(*)

نرجس قاسم يونس خالد أ.م.د. ورقاء سعيد قاسم الطائي

جامعة الموصل/ كلية العلوم/ قسم علوم الحياة

(قدم للنشر في ٢٠١٩/١٠/١٤ ، قبل للنشر في ٢٠٢٠/١/٨)

ملخص البحث:

تم الحصول على ٣٢٠ عزلة فطرية خلال العزل من اوراق اشجار الحمضيات المختلفة، ولبيان التأثير السمي للراشح الفطري لبعض الانواع المدروسة والتابعة لجنس Alternaria جرى تقدير محتوى الكلوروفيل للورقة النباتية لمعرفة تأثره بالراشح الفطري وقدرت نسبة الكلوروفيل a، b والكلوروفيل الكلي وتم حساب النسبة المئوية للفقد، إذ وصلت النسبة الى ٧٤.٣٢% عندما كان التركيز ١٠٠% وكمية الكلوروفيل ٥.٩ ملغم/غم وزن رطب، بينما وصلت نسبة الفقد الى ٤٠.٧٧% عند التركيز ٥٠% بمحتوى كلوروفيل ١٣.٦١ ملغم/غم وزن رطب مقارنة مع الكلوروفيل الكلي لمعاملة المقارنة والذي وصل الى ٢٢.٩٨ ملغم/غم وزن رطب، وبعدها اجري اختبار النخرة الموضعية على ثماني عزلات لقياس كفاءة الراشح الفطري لاحداث الاصابة على الاوراق السليمة واظهر راشح العزلات المقدرة على اصابة الاوراق السليمة اذ ظهرت الاعراض على شكل بقع بنية الى سوداء في مناطق الوخز والتخديش.

Indicating the Toxic Effect and Testing the Efficiency of Biological and Chemical Resistance on Fungus Isolations' Types of *Alternaria* sp. Isolated from Citrus Trees

Abstract:

320 fungus isolations were obtained by isolation from different citrus trees leaves, and to indicate the toxic effect of the fungal filtrate of some studied species which belong to Alternaria species, an estimation of the chlorophyll content in the plant leaf were done to recognize the effect of the fungal filtrate on it. The percentage of chlorophyll a, b and total chlorophyll were estimated, then the percentage of loss was calculated and it reached 74.32% when the concentration was 100% and the wet chlorophyll amount was 5.9 mg/g, whereas the percentage of loss reached 40.77% at concentration of 50% with a chlorophyll content of 13.61 mg/g wet weight, compared to the total chlorophyll of the comparison treatment which reached 22.98% mg/g wet weight. The local necrosis test was performed on 8 isolations to measure the efficiency of the fungal filtrate in inflicting infestation on the sound leaves. The filtrate of the isolations manifested capability of infecting sound leaves; symptoms appeared in the form of brown to black spots at the spots of scratches and twinges.

(*) مستل من رسالة الماجستير للباحث الاول.

المقدمة

ان الفطريات المسببة للأمراض النباتية هي مجموعة من الكائنات الحية الدقيقة التي تُظهر تنوعاً كبيرا جدا في اصابتها وهذا التباين سمح لها باصابة مدى واسع من المحاصيل (Fernandez-Acero وآخرون٢٠٠٧؛ Carrido وآخرون، ٢٠١٠)، وتقوم باستخدام استراتيجيات متنوعة لاصابة النباتات، وتشير الدراسات الى تأثير ما يقارب ٢٥% من المحاصيل بالعالم بالنمو الفطري والاعفان (Jimenez-Reyes وآخرون، ٢٠١٨) . وتتضمن هذه الفطريات الناقصة *Ascmycetes* والتي تتضمن جنس *Alternaria* والذي يشمل انواع رمية التغذية saprophytic وانواع متغذية داخلية على الكائنات الحية Endophytic ويعتمد هذا الجنس في امراضيته على مقاومة وحساسية المضيف وانتاجه للسموم المتخصصة وغير المتخصصة (Meena وآخرون، ٢٠١٧)، فالنوع *A.alternata* تعرف بقدرتها على اصابة اكثر من ١٠٠ نوع نباتي مسببة تبقع الاوراق وامراضا اخرى (Thomma، ٢٠٠٣)، وانتاجها لأكثر من ٦٠ نوع من المركبات الايضية الثانوية (Saha وآخرون، ٢٠١٢) . ان انتاج هذه الفطريات لمختلف السموم النباتية Phytotoxins والسموم الفطرية المتخصصة للعائل يمكن ان يعتبر كمفاتيح لنجاح هذه الممرضات (Nishimura وKohmoto، ١٩٨٣) .

ان الحمضيات تتأثر بالانواع المختلفة من جنس *Alternaria* اذ تسبب التبقع البني على المندرين، وتبقع الاوراق على الليمون الخشن، واللفحة المتأخرة والتعفن الاسود على الثمار (Timmer وآخرون، ٢٠٠٣)،ان أغلب أنواع جنس *Alternaria* تكون ممرضة نباتية Plant pathogenous وتسبب الامراض المهمة لعدد كبير من النباتات المهمة اقتصادياً (Akimitus وآخرون ,2003 وKosiak وآخرون,2004) . لذلك ونظراً لاهمية هذا الجنس وتعدد انواعه وانتشاره سعى الانسان الى القضاء عليه ومكافحته وتأتي المبيدات في صادرة طرق المكافحة الكيميائية للآفات لازراعية لكونها سريعة واقتصادية ولها دور في زيادة انتاج المحاصيل الزراعية وقد تكون هذه المبيدات ذات تأثير عام على الاحياء او قد تكون ذات تأثير متخصص ضد مجاميع معينة فقط، كأن تكون سامة للفطريات وعندها تسمى المبيدات الفطرية Fungi cides (شريف، ٢٠١٢؛ الخزرجي، ٢٠١٤) .

ونظراً لاهمية هذا الجنس وتعدد انواعه وانتشاره ولما يسببه استعمال المبيدات لفترات طويلة من تأثيرات قد تؤدي الى

ظهور سلالات مقاومة، سعى الانسان الى ابتكار وسائل اخرى للتقليل من خسائر الانتاج الزراعي وفي مقدمة هذه الطرق المكافحة الاحيائية (الطائي، ٢٠١٠) .

المواد وطرائق العمل

جمع العينات

تم جمع عينات اوراق لأربعة انواع من أشجار الحمضيات ظهرت عليها اعراض مرض تبقع الاوراق وهي اليوسفي، النارنج ، البرتقال والليمون الحامض من أربع مناطق من مدينة الموصل، شملت الجامعة والحدباء من الجانب الايسر والدندان والرفاعي من الجانب الايمن، ولمدة ١٢ شهراً ابتداءً من ايار ٢٠١٣ ولغاية نيسان ٢٠١٤ .

عزلات الفطر *Alternaria*

عزل الفطر من اوراق الحمضيات

اخذت الاوراق التي ظهرت عليها أعراض التبقع بمساحة ١سم٢ وتم غسلها بماء الحنفية، وذلك للتخلص من الشوائب والاتربة، وبعد ذلك قطعا إلى قطع صغيرة، وعقمت بغمرها بمحلول هايبو كلورات الصوديوم (NaOCl) Sodium hypochlorite solution بتركيز ١% لمدة دقيقتين، وغسلت بالماء المقطر وجففت على ورق الترشيح ثم وضعت داخل الاطباق الحاوية على وسط مستخلص البطاطا والسكروز والاكار (PSA) مضافاً اليه المضاد الحيوي Streptomycine بتركيز ١٠٠ ملغم/ لتر في ظروف التعقيم وبمعدل خمس قطع نباتية لكل طبق، حضنت الاطباق في الحاضنة عند درجة حرارية (٢٥±٢) م° ولمدة (٥–٧) ايام مع المتابعة اليومية ولوحظ نمو أنواع مختلفة من الفطريات وتم التحري الاولي مجهرياً لتحديد العزلات التابعة للجنس .*Alternaria* sp ثم لقحت على موائل Slants حاوية على وسط PSA وحضنت وحفظت في الثلاجة عند درجة ٤ م° لغرض اكمال التنقية وتأكيد التشخيص (Ellis، ١٩٧١، ١٩٧٦؛ Harish وآخرون، ٢٠٠٤؛ Naik وآخرون، ٢٠١٠) .

الوسط الزرعي: Culture Medium

وسط مستخلص البطاطا والسكروز والاكار Potato Surcrose Agar (PSA)

استخدم هذا الوسط لعزل الفطر وتشخيصه وحفظه وتنشيطه وحضر من مستخلص ٢٠٠ غم من البطاطا مضافاً اليه ٢٠ غم من السكروز و١٥ غم من الاكار ويكمل الحجم إلى اللتر من الماء المقطر وضبط الاس الهيدروجيني للوسط عند ٦.٥ وعقم وحفظ لحين الاستخدام (Pitt وHocking ١٩٩٧) .

وسط جابك دوكس Gzapek's Dox Medium

استخدم الوسط السائل له في اختبار سمية عزلات انواع *Alternaria*، ويتكون من السكروز ٣٠ غم، ونترات الصوديوم 3NaNo3 غم، وثنائي فوسفات البوتاسيوم $1K_2po_4$ غم، وسلفات المغنسيوم المائية $0.5\ MgSo_4.\ 7H_2O$ غم وكبريتات الحديد المائية $0.01\ Fe\ SO_4.\ 7H_2O$ غم ويكمل الحجم إلى اللتر بالماء المقطر المعقم وضبط الاس الهيدروجيني عند ٧ وحفظ لحين الاستخدام (Sohail وآخرون، ٢٠٠٧؛ Kadem وAlshamary، ٢٠١٢؛ Mahapatrakoley، ٢٠١٥).

دراسة سمية الفطر *Alternaria*

تحضير الراشح الفطري

اختيرت خمس عزلات فطرية للحصول على راشح السم الفطري من مستعمرات فطرية نقية وفتية معزولة من اوراق الحمضيات التي ظهرت عليها اعراض الاصابة وذلك بتنمية الفطر في وسط جابك دوكس السائل، بعد تحضير الوسط حسب ما ذكر سابقاً، قسم الوسط في عدد من الفلاسكات سعة ٢٥٠ مل، وضع في كل فلاسك ٢٠ مل من الوسط، أخذ قرصين من المستعمرة الفطرية بقطر ٥ ملم ولقحت جميع الفلاسكات، وحضنت بدرجة حرارة (٢٥±٢) م° ولمدة ٢١ يوماً مع مراعاة رج الفلاسكات كل يومين (Kohmoto وآخرون، ١٩٧٩). وبعد انتهاء فترة التحضين رشحت المزارع الفطرية باستخدم عدة طبقات من الشاش المعقم ثم باستخدام ورق ترشيح Filter paper من نوع whatman no.2 لازالة خيوط المايسليوم ثم تم أجراء الطرد المركزي باستخدام جهاز centerfuge وبسرعة ٢٥٠٠ دروة في الدقيقة ولمدة ١٠ دقائق وبذلك تم الحصول على الراشح الفطري لكل عزلة.

اختبار تحلل الكلوروفيل

استخدم المذيب العضوي الايثانول بتركيز ١٠٠% في هذا الاختبار (1989, Rowan). وذلك بوضع اقراص من اوراق الحمضيات المعقمة في داخل انابيب اختبار plan tube حاوي على (٢–٣) مل منه بالاضافة إلى انبوب المقارنة الحاوي على الماء المقطر وبواقع ثلاث مكررات وتركت لمدة ٧٢ ساعة تم قياس تحلل الكلوروفيل باستخدام جهاز Spectrophotometer عند الطولين الموجين (٦٤٩– ٦٦٥) نانوميتر، وحساب كمية الكلوروفيل أ وب والكلوروفيل الكلي بالاعتماد على المعادلة التالية حسب (1989, Rowan).

تركيز الكلوروفيل أ ملغم/ مل = (٦٦٥) نانوميتر × ١٣.٧ – أ (٦٤٩) نانوميتر × ٥.٧٦ بنسبة خطأ ٠.١٤٨٦

تركيز كلوروفيل ب ملغم/ مل = ب (٦٤٩) نانوميتر$^{-}$ ٢٥.٨ – ب (٦٦٥) ناميتر$^{-}$ ٧.٦

نسبة خطأ ٠.٢٦٩٠

ثم تم حساب الكلوروفيل الكلي = الكلوروفيل أ + كلوروفيل ب

ويتم القياس عند الطول الموجي ٦٦٥ أ والذي يعرف بأنه ذروة الكلوروفيل النقي الذي يظهر عند الطول الموجي ٦٦٥ نانوميتر، في حين ٢٥.٨ هو المعامل الخطي عند مدى التراكيز المتحققة للكلوروفيل حيث أن أ هو الامتصاصية عند الطول الموجي المشار اليه كما تجري القياسات عند منتصف النهار للتقليل من تأثير الكثافة الضوئية على حركة البلاستيدات (Darmawan, 2003, Hogan, Kitajima، وآخرون، ٢٠١٧).

اختبار النخرة الموضعية

اختبرت قدرة ثمان عزلات الـ *Alternaria* المعزولة من اوراق الحمضيات التي ظهرت عليها اعراض تبقع الاوراق على احداث الاصابة إذ أخذت اوراق حمضيات سليمة، وقطعت إلى ثلاث قطع ووضعت هذه القطع في حجرة رطبة معقمة منفصلة مؤلفة من طبق زجاجي يحتوي على قضيب زجاجي على شكل حرف (V) لتستقر الورقة عليها وفي اسفله ورق نشاف مرطب بالماء المقطر المعقم وبواقع مكررين وجرى ثقب الاوراق في طبق وتخديشها في الطبق الآخر بواسطة ابرة تلقيح معقمة Needle، ثم جرى تلقيح مكان الوخز والتخديش براشح الفطر، أما معاملة المقارنة فقد عومل بالماء المقطر المعقم فقط، ثم حضنت الاطباق في درجة حرارة (٢٥±٢) م° وأخذت النتائج بعد ٢٤، ٤٨، ٧٢ ساعة بملاحظة اعراض الاصفرار وموت الانسجة في مناطق الوخز والتخديش (الطائي، ٢٠١٠ وKakvan وآخرون، ٢٠١٢).

طرق المكافحة

اختبار المقاومة الكيماوية للفطر *Alternaria* sp.

اختبر تأثير المبيدات كاربيتانول ١٤% سكور Ec250 مل والتوباز 100Ec لدراسة قدرة الفطر *Alternaria* على المقاومة الكيميائية، إذ حضر وسط PSA وعُثم لمدة ٢٠ دقيقة بدرجة حرارة ١٢١ °م وضغط ١٥ باوند/انج^{٢} وترك ليبرد، ثم اضيف المعلق المائي للمبيدات اعلاه بتركيز (٢٥، ٥٠، ٧٥، ١٠٠)% الى ١٠٠ مل من الوسط وصبت في اطباق بتري وتركت لتتصلب ثم لقح كل طبق بقرص قطره ٥ملم من مستعمرة فطرية فتية بعمر اسبوع وبواقع ثلاث مكررات لكل تركيز فضلا عن طبق المقارنة الخالي من المبيدات، حضنت الاطباق بدرجة حرارة (٢٥±٢)°م ولمدة ٧ ايام بعد انتهاء فترة التحضين حسب النمو

القطري للفطر باخذ المعدل لكل قطرين متعامدين ثم حسبت النسبة المئوية للتثبيط تبعا لـ (Vancent، ١٩٤٧).

$$\% \text{ للتثبيط} = \frac{\text{متوسط قطر المقارنة} - \text{متوسط قطر المعاملة}}{\text{متوسط قطر المقارنة}} \times ١٠٠$$

اختبار درجة التضاد بين المقاوم الحيوي *T. harzianum* والفطر *Alternaria* مختبرياً

جرى هذا الاختبار بالزراعة المزدوجة للفطر *Alternaria* مع المكافح الحيوي*T. harzianum* على الوسط الغذائي PSA في اطباق بتري معقمة ٩ سم، بوضع قرص من النمو الفطري الـ *Alternaria* بقطر ٥ ملم بشكل مقلوب، مع قرص مماثل من المقاوم الحيوي، وكانت المسافة بين القرصين تقريباً ٥ سم، نفذت التجربة بواقع ثلاث مكررات، وحضنت الاطباق بالحاضنة بدرجة حرارة (٢٥±٢) م°، وأخذت النتائج بعد ثلاثة ايام وقدرت درجة التضاد حسب سلم التقدير الخماسي الذي أعده (Bell وآخرون، ١٩٨٢).

الجدول (١): درجة التطفل للفطر *T. harzianum*

الدرجة	الوصف
١	الفطر المقاوم يغطي كامل الطبق
٢	الفطر المقاوم يغطي ٣/٢ الطبق
٣	الفطر المقاوم والممرض كل منها يغطي ٤/١ الطبق
٤	الفطر الممرض يغيط ٣/٢ الطبق
٥	الفطر الممرض يغطي كامل الطبق

ويعد المقاوم الذي يقع ضمن الدرجتين ١ و٢ ذو قدرة تطفلية عالية.

النتائج والمناقشة

اختبارات السمية

اختبار فقد الكلوروفيل

بما أن صبغات البناء الضوئي مسؤولة عن امتصاص الطاقة الشمسية للقيام بعملية البناء الضوئي في النباتات المضيفة وأن أي تغير في محتوى هذه الصبغات سوف ينعكس بصورة مباشرة على كفاءة البناء الضوئي وبالتالي نمو النبات وحاصله، وتم من خلال التجربة استخدام تراكيز مختلفة من الراشح الفطري (٥٠، ١٠٠) % وكما موضح في الجدول (٤-٢١) وقياس نسبة الكلوروفيل الكلي للورقة النباتية، أن تركيز الكلوروفيل يزداد تدريجياً مع زيادة الوقت حيث وصلت نسبة الكلوروفيل الكلي في معاملة المقارنة المعاملة بالماء المقطر المعقم فقط إلى (٢٢.٩٨) ملغم/ غرام وزن رطب بعد ٧٢ ساعة، أما بالنسبة لاوراق الحمضيات المعاملة بالراشح الفطري تراوحت نسبة الكلوروفيل الكلي عند تركيز الراشح ٥٠% بين ١٣.٦١ ملغم/ غرام وزن رطب للعزلة AA_{37} إلى ١٨.١ ملغم/ غرام وزن رطب للعزلة AC_{110}، بينما كانت عند تركيز ١٠٠% بين ٥.٩ ملغم/ غرام وزن رطب للعزلة AC_{111} و١٠.٠٢ ملغم/ غرام وزن رطب للعزلة AA_{27} حيث كانت اعلى نسبة فقد للكلوروفيل عند تركيز ١٠٠% حوالي ٧٤.٣٢% للعزلة AC_{111} وبذلك تبين دور السم الفطري في احداث نقص في نسبة الكلوروفيل الكلي وزيادة نسبة فقدانه مع زيادة تركيز الراشح، حيث كانت النسبة المئوية اعلى فقد عند تركيز ١٠٠ هو ٧٤.٣٢% ومحتوى للكلوروفيل الكلي ٥.٩ أما عند تركيز ٥٠% فكانت النسبة المئوية للفقد ٤٠.٧٧% ومحتوى كلوروفيل كلي ١٣.٦١.

إن صبغات البناء الضوئي المتمثلة بالكلوروفيل أ والكلوروفيل ب والكاروتينات تقل عند الاصابة بالفطريات النباتية وإن تركيز هذه الصبغات تتأثر بشكل سلبي اعتمادا على درجة المرض (Darmawan وآخرون، ٢٠١٧) حيث ان السموم الفطرية تعمل على تحطيم البلاستيدات وانخفاض نسبة الكلوروفيل مؤدية الى شحوب واصفرارها وتفلق الثمار وتساقط الازهار والثمار(Abbas وآخرون، ١٩٩٥)، كما بينت الدراسات ان الكلوروفيل تتناقص نسبته خلال شيخوخة الورقة (Castro وSanchez- Azofeifa، ٢٠٠٨).

واكدت العديد من الدراسات ان سم AAl المفرز من قبل الفطر *A.alternata* يتسبب في خفض نسب الكلوروفيل إلى ٣% بعد ٤٨ ساعة من المعاملة (Abbas, 1995) وكذلك Ten Toxin الذي يفرزه الفطر على نبات التبغ (وصفي،

١٩٩٣) . ان دور السموم في خفض الكلوروفيل يأتي نتيجة تراكم بعض المركبات الوسطية ضمن مسار تخليق الكلوروفيل ومنها تراكم مادة Protoprophyin فضلا عن دور السموم في تنشيط انزيم Chlorophylase المحطم للبلاستيدات وخفض انتاجية وحدة الكلوروفيل من على النباتات المصابة (1995, Abbas) .

كما وأن انتقال الضوء خلال الورقة النباتية يتأثر بالتوزيع المكاني وتركيز الصبغات في الاوراق حيث أن التوزيع الغير الموحد يؤدي إلى تكتل أو ثقل جزئية الكلوروفيل مسبباً زيادة النقل للضوء عند التراكيز العالية للكلوروفيل وتقليل من انتقال الضوء عند التراكيز الواطئة. كما ويتأثر توزيع الكلوروفيل ضمن الورقة بالتنظيم البنوي للكرانا ضمن البلاستيدات الخضراء والبلاستيدات ضمن الخلية وللخلية ضمن طبقات النسيج (Fukshansky وآخرون، ١٩٩٣) .

الجدول (٢): تأثير الراشح الفطري على كمية الكلوروفيل أ وب والكلوروفيل الكلي (ملغم/غرام وزن رطب) والنسبة المئوية لفقد الاوراق المعاملة بالراشح الفطري عن التركيزين (٥٠،١٠٠)%

العزلات	تركيز الراشح الفطري ٥٠%				تركيز الراشح الفطري ١٠٠%			
	كمية الكلوروفيل أ	كمية الكلوروفيل ب	كمية الكلوروفيل الكلي	النسبة المئوية للفقدان	كمية الكلوروفيل أ	كمية الكلوروفيل ب	الكلوروفيل الكلي	النسبة المئوية للفقدان
المقارنة	16.5	6.48	22.98	0				
AC_{110}	10.9	7.2	18.1	22.23	5.5	3.45	8.5	63
AC_{13}	10.39	6.9	17.28	24.8	5.6	3.60	9.2	59.96
AC_{22}	10.21	6.5	16.71	27.28	4.013	2.45	6.463	71.81
AC_{310}	9.95	6.14	16.09	29.98	4.4	2.6	7.5	67.36
AC_{111}	9.66	6.0	15.66	31.85	3.9	2	5.9	74.32
AA_{49}	9.40	5.90	15.3	33.42	3.99	2.2	6.19	73
AA_{27}	8.7	6.72	15.7	31.29	6.12	3.9	10.02	54.8
AA_{37}	7.61	6	13.61	40.77	6.5	3	9.5	58.65

اختبار النخرة الموضعية

اختبرت قدرة ثمان عزلات من رواشح مستعمرات الفطر *Alternaria* على كفاءتها في احداث نخرة موضعية في محل وخز وتخديش اوراق الحمضيات قيد الدراسة البرتقال، اليوسفي، نوم الحامض، النارنج، ولم تلاحظ تلك الاعراض في الاوراق الموخوزة والمعاملة بالماء المقطر فقط وكانت النخرة بشكل بقعة مركزها داكن اللون والتي هي عبارة عن موت الانسجة واحاطتها بهالة صفراء وكانت هذه البقع البنية مشابهة للبقع التي يكونها الفطر عند

الاصابة الطبيعية للاوراق ومن نتائج الجدول (٤-٢٢) يتضح أن العزلات AC_{110}، AC_{111}، AC_{410}، AC_{26}، AA_{39} قد تفوقت على بقية العزلات في درجة سميتها واحداثها للاصابة حيث أعطت (++) بعد ٤٨ ساعة تحضين وأعطت (+++) بعد ٧٢ ساعة مقارنة مع معاملة المقارنة التي أعطت (-) بعد (٤٨، ٧٢) ساعة أعطت العزلة AA_{11}، نتائج قريبة من معاملة المقارنة (-) بعد مرور (٤٨، ٧٢) ساعة أما العزلة AA_{48} لم تظهر أي تأثير وأعطت (-) وبصورة عامة كانت لجميع العزلات تأثيرات سمية على الاوراق وبنسب متفاوتة، وأدت إلى ظهور البقع البنية وهذه البقع البنية هي نتيجة لتحلل أو موت الكلوروفيل في منطقة الوخز والتخديش وذلك نتيجة لتأثير الراشح السمي للفطر الممرض على الاوراق والمناطق الصفراء هي عبارة عن جريان راشح السم الفطري نتيجة للتحلل الجزئي للكلوروفيل في نسيج الورقة (Lou وآخرون، ٢٠١٣ وSicilane وآخرون، ٢٠١٥). ومما يؤكد ذلك تجربة تحلل الكلوروفيل التي اثبتت نتائجها بأن لراشح مزرعة الفطر قدرة عالية على تحلل الكلوروفيل في الانسجة النباتية (ابراهيم، ١٩٩٦).

الشكل (١): اختبار النخرة الموضعية لراشح الفطر *Alternaria* sp. على اوراق الحمضيات

(١) برتقال (٢) اليوسفي (٣) النوم الحامض (٤) النارنج

الجدول (٣): اختبار النخرة الموضعية لراشح مزرعة الفطر *Alternaria sp.* على اوراق الحمضيات

التسلسل	عزلة الفطر	بعد ٢٤ ساعة		بعد ٤٨ ساعة		بعد ٧٢ ساعة	
		غرز	تخديش	غزر	تخديش	غزر	تخديش
١	المقارنة	–	–	–	–	–	–
٢	AC_{110}	+	+	+	++	+++	+++
٣	AC_{31}	–	–	+	+	++	++
٤	AC_{42}	+	+	+	+	++	+++
٥	AC_{111}	+	+	++	++	+++	+++
٦	AC_{410}	+	+	++	++	+++	+++
٧	AA_{22}	+	+	++	++	+++	+++
٨	AA_{31}	–	–	–	–	+	+
٩	AC_{36}	+	+	++	++	+++	+++
١٠	AA_{39}	+	+	++	++	+++	+++
١١	AC_{11}	–	–	+	+	+	+
١٢	AC_{46}	+	+	++	++	++	++
١٣	AC_{26}	+	+	++	++	++	+++
١٤	AA_{48}	–	–	–	–	–	–
١٥	AC_{411}	+	+	++	++	++	++
١٦	AA_{13}	–	–	+	+	++	++

١٧	AA_{27}	+	+	++	++	++	++

- الورقة سليمة ولا يوجد اصابة

+ البقع تغطي ٢٥% من الورقة

++ البقع تغطي ٥٠% من الورقة

+++ البقع تغطي ٧٥% من الورقة

طرق المكافحة

المقاومة لبعض المبيدات

اختبر كفاءة ١٦ عزلة من فطر *Alternaria* المعزولة من اوراق الحمضيات التي ظهرت عليها اعراض التبقع على مقاومة ٣ مبيدات وهي كاربيتانول ١٤% وسكور EC250 وتوباز EC100 وبأربع تراكيز (٢٥، ٥٠، ٧٥، ١٠٠)%. ظهر من نتائج الاختبار الموضحة في الجداول (٤-١٧) (٤-١٨) (٤-١٩) أن جميع المبيدات المستخدمة أدت إلى تثبيط النمو لمستعمرات الفطر *Alternaria* وبنسبة ١٠٠% عن التركيز ١٠٠ ملغم مادة فعالة/ لتر أما بالنسبة للتراكيز (٢٥، ٥٠، ٧٥)% اظهر المبيد سكور أعلى نسبة تثبيط للعزلة AC_{46} بنسبة تثبيط (٢٥.٣، ٨٢، ٩٣.٣) % وعلى التوالي أما أقل نسبة تثبيط فكانت على العزلة AA_{110} التي كانت أقل تأثراً وبجميع التراكيز إذ أعطت (٤٦.٦، ٥٣.٣، ٦٢.٦)% على التوالي، أما بالنسبة للمبيد توباز فأن نسب التثبيط لم تختلف معنوياً عن النسب التي تم الحصول عليها من مبيد السكور فأعطى أقل نسبة (٣٧.٧، ٥٠، ٥٦.٥) % وعلى التوالي للعزلة AC_{410} أما أعلى نسبة تثبيط كانت للعزلة AC_{48} فكانت ٦٦.٦، ٨١.٣، ٩٣.١ % على التوالي، أما مبيد الكاربتيول فقد اعطى اعلى نسبة تثبيط ضد العزلة AC_{212} وبلغت (٦١.٣، ٨٠، ٨٩) % على التوالي وأقل العزلات تأثراً كانت العزلة AA_{311} فكانت (٣٣.٣، ٤٦.٣٣، ٥٢) % على التوالي.

أما بقية العزلات فقد تباينت في درجة تأثرها المبيدات الثلاثة بين أقل واعلى نسبة لكل مبيد. وبعد اجراء التحليل الاحصائي وكما مبين في الجدول (٤-٢٠) لم تظهر هناك علاقة بين تأثير المبيد والصنف حيث أن جميع المبيدات ثبطت نمو المستعمرات الفطرية التي تم الحصول عليها في اصناف الحمضيات الاربعة وهذه النتائج تتفق مع ما جاء به (الاسدي وآخرون2006 وHege وآخرون، ٢٠١٥) في دراستهم التي تضمنت تأثير مبيد

السكور وغيره من المبيدات الأخرى التي سببت تثبيطاً كلياً لنمو الفطر *A. alternate*، إذ اشار إلى أن السبب يعود إلى نفاذ المبيد إلى داخل الخلية الفطرية وبالتالي وصوله إلى المواقع الحساسة نتيجة التماس المباشر بين المبيد والفطر، كما تبين أن بعض المبيدات الفطرية كانت مهمة في تثبيط النوع *A. alternate*.

أو قد يعود التأثير التثبيطي للمبيدات إلى التأثير السام لهذه المبيدات على الفطريات والناتج من كفاءتها في التأثير على ايض الدهون الضروري في بناء الاغشية الخلوية فضلاً عن تأثيرها في بناء البروتينات (Fshel، ٢٠٠٠) أو قد يعود كفاءة المبيد في تثبيط نمو الفطريات لمنعه تكوين الجدر الخلوية الحديثة مما يسبب انتفاخ نهايات الهايفات التطفيلية وانفجارها (جلال الدين، ٢٠٠٩) .

الجدول (٤): تأثير المعاملة بمبيد سكور على أنواع *Alternania* sp. المعزولة من اوراق الحمضيات المختلفة

رمز العزلة	تركيز المادة الفعالة ملغم/ لتر							
	تركيز ٢٥		تركيز ٥٠		تركيز ٧٥		تركيز ١٠٠	
	قطر المستعمرة/ ملم	النسبة المئوية للتثبيط%	قطر المستعمرة/ ملم	النسبة المئوية للتثبيط%	قطر المستعمرة/ ملم	النسبة المئوية للتثبيط%	قطر المستعمرة/ ملم	النسبة المئوية للتثبيط%
AC_{211}	45.5	39.3	24.5	67.3	١٦.٥	٧٨	–	١٠٠
AC_{310}	٤٥	٤٠	٤٠	46.6	٢٥	٦٦.٦	–	١٠٠
AA_{110}	٤٠	٤٦.٦	٣٥	53.3	٢٨	٦٢.٦	–	١٠٠
AC_{25}	٣٥	٥٣.٣	٢٧	64	٢٢	٧٠.٦	–	١٠٠
AA_{15}	٣٠	٦٠	٢٠	73.3	١٤	٨١.٣	–	١٠٠
AC_{28}	٤٢	٤٤	٣٥	53.3	١٨	٧٦.٦	–	١٠٠

AC_{17}	٢٧.٥	٦٣.٣	٢١	72	١٢	٨٤	–	١٠٠
AC_{46}	١٨.٥	٧٥.٣	١٣.٥	82	٥	٩٣.٣	–	١٠٠
AA_{35}	٢٥	٦٦.٦	٢٠	73.3	١٣.٥	٨٢	–	١٠٠
AA_{29}	٢٥	٦٦.٦	١٨	76	١١	٨٥	–	١٠٠
AC_{111}	٢٦	٦٥.٣	١٩	74.6	١٣	٨٢.٦	–	١٠٠
AA_{26}	٢١	٧٢	١٥	80	٨	٨٩.٣	–	١٠٠
AA_{36}	٢٤	٦٨	١٧	77.3	١٠	٨٦.٦	–	١٠٠
AC_{48}	٣٥	٥٣.٣	٣٠.٥	59.3	١٩	٧٤.٦	–	١٠٠
AA_{39}	٤٥	٤٠	٣٢.٥	56.6	١٤	٨١.٣٣	–	١٠٠
AC_{44}	٣٧.٥	٥٠	٢٥.٥	66	٧	٩٠.٦	–	١٠٠
المقارنة	٧٥	–	٧٥	–	٧٥	–	٧٥	–

الجدول (٥): تأثير المعاملة بمبيد توباز على أنواع *Alternania* sp. المعزولة من اوراق الحمضيات المختلفة

تركيز المادة الفعالة ملغم/ لتر								
تركيز ٢٥		تركيز ٥٠		تركيز ٧٥		تركيز ١٠٠		
رمز العزلة	قطر المستعمرة/ ملم	النسبة المئوية للتثبيط%	قطر المستعمرة/ ملم	النسبة المئوية للتثبيط%	قطر المستعمرة/ ملم	النسبة المئوية للتثبيط%	قطر المستعمرة/ ملم	النسبة المئوية للتثبيط%
AA_{29}	30	66	17.5	76.6	٧	٩٠.٦	–	١٠٠

AC_{48}	٢٥	٦٦.٦	١٤	81.3	٥	٩٣.١	–	١٠٠
AC_{211}	٤١	٤٥.٣	٣٣	56	٣٠	٦٠	–	١٠٠
AA_{27}	٣٥.٥	٥٢.٦	٢٣.٥	68.6	١٨.٥	٧٥.٣	–	١٠٠
AA_{310}	٤٥.٥	٣٩.٣	٣٥.٥	52.6	٢٤.٥	٦٧.٣	–	١٠٠
AC_{110}	٤٠.٥	٤٦	٣٥	53.3	١٣.٥	٥٨	–	١٠٠
AC_{411}	٣٨.٥	٤٨.٦	٣٢	57.3	٢٢.٦	٦٩.٧	–	١٠٠
AC_{311}	٣٧	٥٠.٦	٢١.٥	71.3	١٥.٥	٧٩.٣	–	١٠٠
AC_{25}	٢٥	٦٦.٦	١٤	81.3	١٠	٨٦.٦	–	١٠٠
AC_{17}	٣٢	٥٧.٣	١٨.٥	75.3	١٢.٥	٨٣.٣	–	١٠٠
AC_{38}	٣٩	٤٨	١٧.٥	76.6	١١	٨٥	–	١٠٠
AC_{410}	٤٦.٧	٣٧.٧	٣٧.٥	50	٣٢.٥	٥٦.٥	–	١٠٠
AC_{212}	٣٠.٥	٥٩.٣	٢٠.٥	72.6	١٤.٥	٨٠.٦	–	١٠٠
AC_{36}	٣٢	٥٧.٣	١٨.٥	75.3	٩	٨٨	–	١٠٠
AC_{45}	٢٢	٧٠.٦	١٢	84	٧	٩٠.٦	–	١٠٠
AA_{412}	٣٥	٥٣.٣	٢٩	61.3	٢٦	٦٥.٣	–	١٠٠
المقارنة	٧٥	–	٧٥	–	٧٥	–	٧٥	–

جدول (٦) تأثير المعاملة بمبيد كاربيتانول على أنواع *Alternania* sp. المعزولة من اوراق الحمضيات المختلفة

تركيز المادة الفعالة ملغم/ لتر								
تركيز ٢٥		تركيز ٥٠		تركيز ٧٥		تركيز ١٠٠		
رمز العزلة	قطر المستعمرة/ ملم	النسبة المئوية للتثبيط	قطر المستعمرة/ ملم	النسبة المئوية للتثبيط	قطر المستعمرة/ ملم	النسبة المئوية للتثبيط	قطر المستعمرة/ ملم	النسبة المئوية للتثبيط
AC_{110}	39	48	29	61.3	٢٠	٧٣.٣	–	١٠٠
AC_{46}	٣٥	٥٣.٣	٢٧	64	١٨	٧٦	–	١٠٠
AC_{410}	٢٤	٦٨	١٩	74.6	١٢	٨٤	–	١٠٠
AC_{29}	٣٠	٦٠	٢٤	68	٢٠	٧٣.٣	–	١٠٠
AC_{48}	٣٢	٥٧.٣	٢٥	66.6	١٦	٧٨.٦	–	١٠٠
AA_{27}	٣٥.٥	٥٢.٦٦	٢٧.٥	63.3	٢٢.٥	٧٠	–	١٠٠
AC_{18}	٢١	٧٢	١٧	77.3	١٣	٨٢.٦	–	١٠٠
AC_{26}	٢٧	٦٤	٢٢	70.6	١٤	٨١.٣	–	١٠٠
AC_{21}	٢٥	٦٦	٢٠	73.3	١٧	٧٧.٣	–	١٠٠
AC_{36}	٣١	٥٨.٦	٢٩	61.3	٢٤	٦٨	–	١٠٠
AA_1 6	٧٥	٦٦	١٧	77.3	١٠	٨٦.٦	–	١٠٠
AA_{13}	٣٨.٥	٤٢.٦	٣٥.٥	52.6	٣٠	٦٠	–	١٠٠
AA_{311}	٥٠	٣٣.٣	٤٠	46.33	٣٦	٥٢	–	١٠٠

AC_{17}	٣٥	٥٣.٣	٢١	72	١٤	٨١.٣	–	١٠٠
AA_{211}	٤٠	٤٦.٦	٢٧	64	١٨	٧٦	–	١٠٠
AC_{212}	٢٩	٦١.٣	١٥	80	٨	٨٩.٣	–	١٠٠
المقارنة	٧٥	–	٧٥	–	٧٥	–	٧٥	–

جدول (٧): التداخل بين تأثير المبيدات المختلفة وصنف الحمضيات المختلفة الانواع المعزولة من جنس ال *Alternaria*

الاصناف	المبيدات	اسم المبيد	التداخل ab	تأثير الصنف a
البرتقال	1	كاربيتانول	0.76	a 0.81
	2	توباز	0.83	
	3	سكور	0.84	
اليوسفي	1	كاربيتانول	0.83	a 0.82
	2	توباز	0.82	
	3	سكور	0.85	
نوم الحامض	1	كاربيتانول	0.80	a 0.81
	2	توباز	0.82	
	3	سكور	0.84	
النارنج	1	كاربيتانول	0.77	a 0.85
	2	توباز	0.84	

	3	سكور	0.86	
تأثير المبيد b	1	كاربيتانول	b 0.78	
	2	توباز	b 0.83	
	3	سكور	b 0.84	

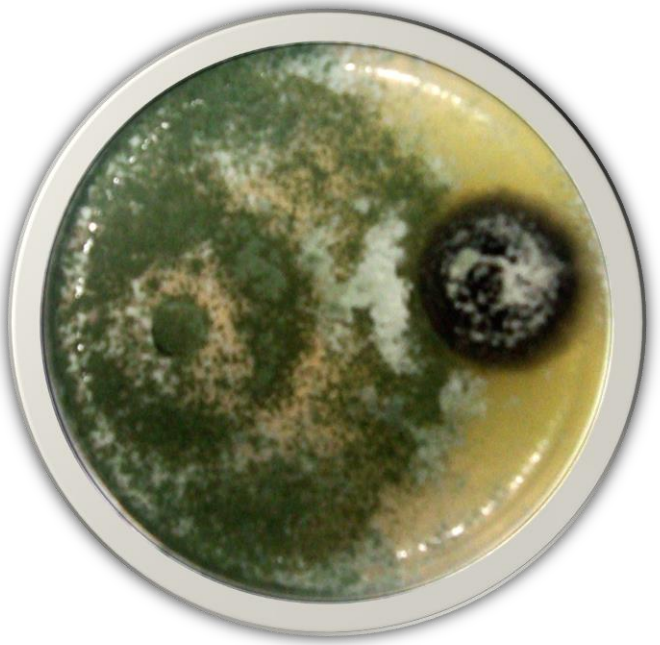
اختبار القدرة التضادية بين المقاوم الحيوي *T.harzianum* والفطر الممرض *Alternaria sp*.

اظهرت النتائج التي تم الحصول عليها وكما هو مبين في الشكل (٤-٧) ان المقاوم الحيوي *T.harzianum* قد حقق قدرة تطفلية عالية ضد عزلات الفطر *Alternaria* وتراوحت درجة التضاد بين (١-٣) درجات وفقا لسلم Bell (Bell وآخرون، ١٩٨٢)

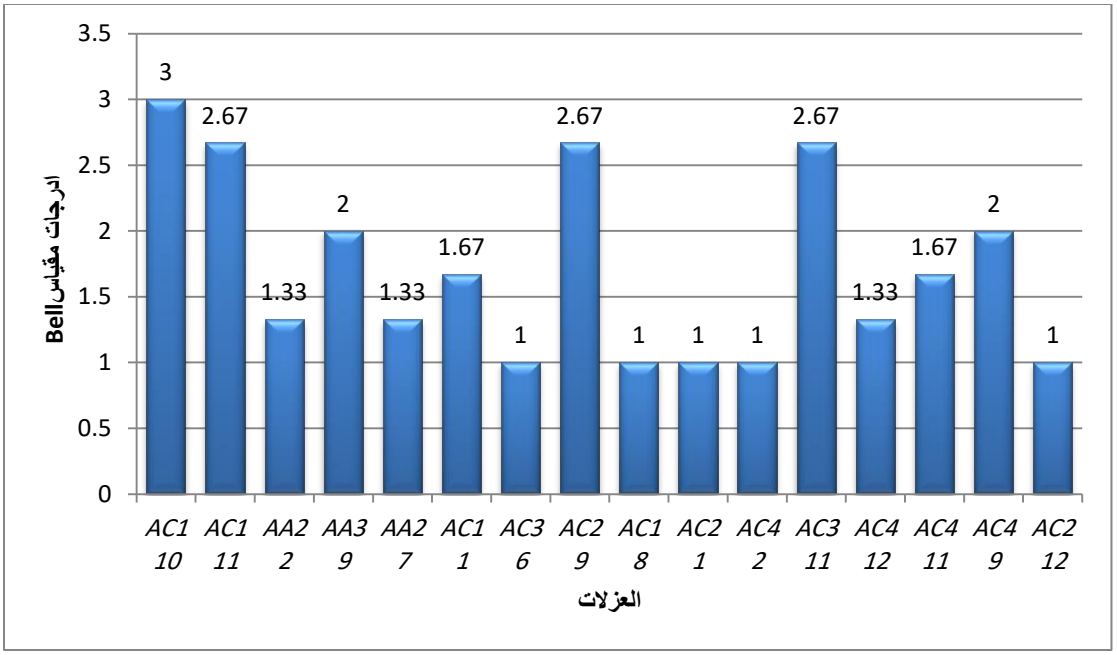
كما مبين في الشكل اظهر المقاوم الحيوي اعلى درجات التضاد والتي بلغت (١) ضد العزلات AC_{36}, AC_{18} , AC_{21} , , , AC_{42} AC_{212} ويليها العزلات AA_{27}, AA_{22} , AC_{45} وبلغت درجة التضاد (١.٣٣) اما العزلات AC_{49}، AC_{39}فبلغت (٢) وAC_{111}، AC_{311}، AC_{11} بلغت (١.٦٧) والعزلات AC_{29}, AC_{311} , AC_{111} بلغت درجة التضاد (٢.٦٧) اما أقل العزلات تأثراً بالمقاوم الحيوي كانت العزلة AC_{410} وبلغت (٣) درجات وفقا لسلم Bell. ومن النتائج التي ظهرت نستنتج ان قدرة الفطر *T. harzianum* التطفلية ضد الفطر الممرض تعود إلى واحدة أو اكثر من الاليات المتعددة التي يمتلكها ومنها تطفله المباشر على الغزل الفطري، وذلك نتيجة تجمع والتصاق ابواغ عامل المكافحة الاحيائية وتكوين عقد هايفية وخطاطيف أو اعضاء التصاق على الغزل الفطري للفطر الممرض، فضلا عن سرعة نموه مقارنة مع نمو الفطر الممرض (El-katanty وآخرون 2000 و Harman وآخرون ٢٠٠٤). اضافة إلى انتاج عزلات عامل لمكافحة الاحيائية انزيمات محللة للجدر الخلوية والتي تعمل ضمن اليات التطفل والتضاد لتحطيم الجدار الخلوي مثل انزيمات B-1,3- Chitinase, Glycanase, Protease, Cellulase , والتي لاتعد فقط ضرورة في التطفل للحد من نمو مستعمرة الفطر الممرض ولكنها تعمل على زيادة الفعالية التي يملكها المقاوم الحيوي (الخفاجي

٢٠١٩؛ الطائي، ٢٠١٠) وبالتالي زيادة تأثيره على الممرض (Demarco وFelix ٢٠٠٢) .

وهذا ما اشار اليه (Harman وآخرون ٢٠٠٤) بأن انتاج *T.harzianum* لأنزيمات كاتينيز كانت مسؤولة عن زيادة فعالية المقاوم الحيوي *T.harzianum* على افراز انزيمات محللة ومضادات حيوية مثل Emodine, Trichoderman, Clgatoxins وافراز مواد ايضية غازية مثل Acetal aldhyde (جلال الدين، ٢٠٠٩) . أو قد يقوم عامل المكافحة الاحيائي باستحثاث المقاومة لدى العائل ضد الممرض (٢٠٠٥ وHaggag وآخرون، ٢٠٠٧، العامري وآخرون، ٢٠١٨) .



الشكل (٢) تضادية عزلة المقاوم الحيوي *T. harzianum* ضد عزلات الفطر *Alternaria*



الشكل رقم (٣): تضادية المقاوم الحيوي *T.harzianum* ضد عزلات الفطر *Alternaria* sp.

المصادر:

ابراهيم، بسام يحيى (١٩٩٦). دراسة مرضية وسمية الفطر *Alternaria$citri* على الحمضيات، رسالة ماجستير، كلية الزراعة، جامعة الموصل، ٥٨ صفحة.

الاسدي، رامز مهدي صالح والنجم، ايهاب عبد الكريم، والدوسري، ناصر حميد (٢٠٠٦). دراسة مرض تعفن الثمار المتسبب عن الفطر *Alternaria alternate* ومكافحته كيميائيا، مجلة البصرة لأبحاث نخلة التمر. ٥ (١-٢): ١٦-٢١.

جلال الدين، انفال مؤيد (٢٠٠٩). تأثير المكافح الحيوي *T.herzianum* والمبيدات والمستخلصات النباتات على الفطر *A.alternaria* المسبب لمرض تبقع اوراق الباقلاء في البيت الزجاجي. مجلة علوم الرافدين، ٢٠ (٢):٣٣-٤٥.

الخزرجي، نجوى فواز عائد (٢٠١٤). التباين الوراثي في مظاهر الأمراضية لدى الفطر *A. alternaria* رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة الموصل.

الخفاجي، علاء حميد محمد، (٢٠١٩) . مرض اللفحة المبكرة على الطماطة المتسبب عن الفطر *Alternaria solani* وطرائق مكافحته، اطروحة دكتوراه، كلية الزراعة والغابات، جامعة الموصل.

شريف، فياض محمد (٢٠١٢) . علم امراض النبات والاسس الجزيئية للاصابة والمقاومة. الطبعة الاولى. الذاكرة للنشر والتوزيع، بغداد . ٦٨٥ صفحة.

الطائي، ورقاء سعيد، (٢٠١٠)،اختبار كفاءة عزلات في الفطر *Trichoderma* في استحثاث بعض الانزيمات الدفاعية ضد *Fusarium oxysporium* f.sp . lycopersici في نبات الطماطة، مجلة زراعة الرافدين ٣٨(٢):٨٩–١٠٠ .

العامري، هديل أحمد وداؤود، وزهير عز الدين وملا عبد، فاتن نوري (٢٠١٨) . تأثير بعض العوامل البايولوجية في امراضية بعض فطريات الجذور لصفني الشليك (الفراولة) . Fragaria X ananassa Duch. هابل Hapil وفستقل Festival. مجلة علوم الرافدين ٢٧ (٥): ١–٦ .

وصفي، عماد الدين (١٩٩٣) . اساسيات امراض النبات والتقنية الحيوية، المكتبة الاكاديمية، القاهرة، مصر،٥٢١ صفحة.

Abbas, H. K.; S. O. Duke and R.N. Paul.(1995). AAL-toxin A potent natural herbicide which disrupts sphingolipid Metabalism of plant pest. Sci. 43, 181-187.

Akimitus, K,; Peever,T.L. and Timmer L.W. (2003). Molecular, ecological and evolutionary approaches to understanding *Alternaria* diseases of citrus, Molec. Plant pathol.4:435-446.

Al-Shamary E.E., and Kadem.B.H.,(2012). PRODUCTION OF PECTINASE FROM ASPERGILLUS NIGER BY USING SOME FRUIT PEELS. **Dept. of Food Sci. & Biotech* - Coll. Of Agri. Coll. Of Agri- Baghdad University.267-257 : (1)4.

Bell,D.K.;H.D Wells and C.R. Markhom (1982). Invitro antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plants pathogen phytopath. (72):379-382.

Caster, K.L. and sanchez – Azofeifa G.A, (2008). Changes in spectral properties, chlorophyll content and internal mesophyll structure of senescing population balsamifera and populous tremaloides leaves sensors. J. Biot. Sci.; 8, 51 – 69.

Darmawan.A., Putra.M.D., Wahdini.I., and Ahmed E.(2017).Extraction of chlorophyll from pandan leaves using ethanol and mass transfer. Riyadh 11421, Saudi Arabia (Received 3 December 2016, revised 20 March, accepted 22 March 2017).

DeMarco, J.L. and C.R. Felix (2002). Characteri zation of aprotease produced by a *Trichoderma harzianum* isolate which controls coca plant witche's broom disease. BMC Biochemistry. 3; 1-7.

El-katanty, M.H;W. Somitsch; H. Robra; M.S. El-katanty and G.M. Gübitz (2000). Production of chitinase and β- 1-3- glycanase by *Trichoderma harzianum* for control of the phytogens. Fungus *Sclerotium* food Technol. Bootechnol. 38: 173-180.

Ellis MB.(1976). More Dematiaceous Hyphomycetes, Commonwealth Mycological Institute(C.M.I). Publication, Kew, Survey,UK.507 pp.England.

Ellis, M.B.(1971). Dematiaceous hyphomycetes. Common wealth Mycological Institute. Kew, Surrey, England.UK.608pp.

Fernandez-Acero FJ, Carbu M, Garrido C, Vallejo I, Cantoral JM (2007) Proteomic advances in phytopathogenic fungi. Curr Proteomics 4: 79-88.

Fishel,F.M.(2006). Fungicide Resistance Committce's (FRAC) Classification of Fungicide According to Mode of Actionl-University of Florida: fa extension. 94Pp.

Fukshansky L. Vonrwmisowsky A.M., Mc clendon J. Ritterbsch A., Richter T. and Mohr H. (1993). Absorptionspectra of leaves Corrected for scattering and distributional error a radiativetransfer and absorption statistics treatment Photo chemistry and Photo biology, 57: 538 – 555.

Garrido C, Cantoral JM, Carbu M, Gonzalez-Rodriguez EV, FernandezAcero FJ (2010) New

Jiménez-Reyes.M.F., Carrasco.H., Olea.A.,VSilva-Moreno.E., Corresp.(2018). Natural compounds: A sustainable alternative for controlling phytopathogens. *Peer J.Preprints* 6:e26664v1. https://doi.org/10.7287/peerj.preprints.26664v1.

Kakvan, N.; Zamanizaden, H.; Mrid, B.; Taher:, H. and Hamausov, S.(2012). Study on pathogenic and genetic diversity citrus hybride of Iran, based on PARDPCR technique. Eur.J. of Expe. Biol., 2(3):576-577.

Kitajima K. and Hogan K.P. (2003) Increases of chlorophyll a/b ratios during acclimation of tropical woody seedlings to nitrogen limitation and high light. *Plant, Cell and Environment* 26, 857–865.

Kohmoto, K; R.P. sheffer and J.O. whiteside.(1979). Host selective toxins from *Alternaria Citri* phytopathol. 69:661 – 671.

Koley S., and Mahapatra, S.S.,(2015).Evaluation of Culture Media for Growth Characteristics of *Alternaria solani* ,Causing Early proteomic approaches to plant pathogenic fungi. Curr Proteomics 7: 306-315.

Haggag, W. M; H. Abedel – Latef and A. Mohamed, (2007). Biotechnological aspects of micro organisms used in plant biological control. American – Eurasian J. of sustain, Agri., 1:7 – 12.

Harish, S.; Saravanan, T. and Radjacommare, R. (2004). Mycotoxic effect of seed extracts against *Helminothosporium* oryzae breada de Hann, the incitant of rise brown spot. J. Biot. Sci.; 4(3):366-369.

Harman G.E; CH.R. Howell; A. viterbo; I. Chet and M. lorito (2004). *Trichoderma* species opportunistic, avirulent plant symbionts. Natur. Rev. Microbiol.2: 43-85.

Harman, G.E. (2000). Myths and Dogmas fo biocontrol change in pereptions derived from searchan *Trichoderma harzianum*, Plant. Dis. Rep. 84(4):377-393.

Hege, Y.R., Keshgond, chavan, T. (2015). Efficacy of fungicides against *Alternaria alternate* infecting Jaltropha Curcas. J. Res. Anal., 4 (7): 398-99.

molecular variability among isolates of *Alternaria solani* from tomato. *Indian Phytopathology*. 63(2):168 -173.

Nishimura, S., and Kohmoto, K. (1983). Host-specific toxins and chemical structures from Alternaria species. Annu. *Rev. Phytopathol*. 21, 87–116.

Pitt,J.I and Hoking A.D.(1997). Fungi and spoilage, 2nd ed. Gaithers burg Maryland. Pp.593.

Rowan KS (1989).Photosynthetic pigments of algae. Cambridge University Press, Cambridge.

Saha, D., Fetzner, R., Burkhardt, B., Podlech, J., Metzler, M., Dang, H., Lawrence, C. and Fischer, R. (2012). Identification of a polyketide synthase required for alternariol (AOH) and alternariol-9-methyl ether (AME) formation in *Alternaria alternata*. *PLoS One* 7:e40564.

Shibghatallah. M.A.H ,Suhandono.S, Kesuma.T, Measuring Leaf Chlorophyll Concentration from Its Color: A Way in Monitoring Environment Change to Plantations.(2013).School of Life Sciences and Technology, Institut Blight of Tomato.*J Plant Pathol*. *Microbiol*.S1:005. Orissa University of Agriculture and Technology,Bhubaneswar-751003(Orissa), India.(Received April 29,2015;Accepted Jun 15,2015).

Kosiak, Bi; Torp,M.; Skjeve, E and Andersen, B(2004). *Alternaria* and *Fusarium* in New egian of Reduced Quality Amatched Pain Sample Study Int. J. Food Microbial. 15:51-62.

Kurup, V.P. Shen, H.-D. Banerjee, B.(2000). Respiratory fungal allergy Microbes and Infection, pp.(2); 1101-1110.

Lou.; Fu,K.; Peng, Y. and Zhou, L. (2013). Metabolitos From *Alternaria* Fungi and their Bio activeties. J. Lmolecules. 18:5891-5935.

Meena, M., Prasad, V., and Upadhyay, R. S. (2017). Evaluation of biochemical changes in leaves of tomato infected with *Alternaria alternata* and its metabolites. *Vegetos* 30:2.

Naik MK, Prasad Y, Bhat KV, Rani DGS.(2010).Morphological, physiological, pathoganic and

anew medium for the growth of fungi. Institute of Botany, University of Sindh Jamshoro, Pakistan. *Pak. J. Bot.*, 39(5).

Thomma, B. P. (2003). Alternaria spp.: from general saprophyte to specific parasite. *Mol. Plant Pathol*. 4, 225–236.

Timmer, L.W.; Solel, Z. and Akimitsu, K. (2003). *Aternaria* diseases of citrus – novel patho systems. Phytophathol. Mediterranea. 42 (2): 3-8.

Vancent JH.(1947). Distortion of fungal hyphae in the presence of certain inhibitors. N a t u re 15: 850.

Teknologi Bandung, Jalan Ganesha 10, Bandung 40132, Indonesia 3 i-Sprint Innovations, Blk 750A Chai Chee Road, #01-01 Technopark @ Chai Chee, Singapore 469001, Singapore *viridi@cphys.fi.itb.ac.id.2013.

Siciliano, L;G, Ortu.; G, Gilardi.; M.L, Gullino and A, Garibald, (2015). Mycotoxin Production in Liquid Culture and on Plants Infected with *Alternaria* spp. Isolated from Rocket and Cabbage,J. Toxins, 7:143-154.

Sohail .M, Ishrat Rani, Shaista Akhund and Hidayatullah Abro.(1883-1885, 2007).Abrus sucrose agar