

عزل وتشخيص بعض فطور مكافحة الأحيائية واختبار كفاءتها ضد مرض التعفن الفحمي في نبات الماش المتسبب عن الفطر *Macrophomina phaseolina*

عبد النبي عبد الأمير مطرود¹، هالة عبد الجبار عبد الحسن¹، محمد عماد محمد خريبه² ومنتصر آدم محمد الأمين³

(1) كلية الزراعة، جامعة البصرة، العراق، البريد الإلكتروني: Abdu1988875@yahoo.com

(2) الهيئة العامة للتقانة الحيوية، دمشق، سورية، البريد الإلكتروني: imadkhriebe@gmail.com

(3) كلية الزراعة، جامعة أم درمان الإسلامية، السودان، البريد الإلكتروني: muntasiradam@yahoo.com

الملخص

مطرود، عبد النبي عبد الأمير، هالة عبد الجبار عبد الحسن، محمد عماد محمد خريبه ومنتصر آدم محمد الأمين. 2021. عزل وتشخيص بعض فطور مكافحة الأحيائية واختبار كفاءتها ضد مرض التعفن الفحمي في نبات الماش المتسبب عن الفطر *Macrophomina phaseolina*. مجلة وقاية النبات العربية، 39(3): 197-203. <https://doi.org/10.22268/AJPP-39.3.197203>

هدفت هذه الدراسة إلى عزل الفطر المسبب لمرض التعفن الفحمي *Macrophomina phaseolina* على الماش من حقول منطقتين في محافظة القادسية (العراق) وتشخيصه واختبار قدرته الإمراضية وتقييم كفاءة تأثير فطور مكافحة الأحيائية *Trichoderma koningii*، *Cheatomum globosum* و *Aspergillus carbonarius* في نمو الفطر الممرض تحت الظروف المخبرية والأصص البلاستيكية. تم الحصول على عزلتين للفطر *M. phaseolina* من نبات الماش (عزلة 1 وعزلة 2) في معظم العينات المختبرة كما تم الحصول على مجموعة من فطور مكافحة الأحيائية من التربة. أظهرت نتائج اختبار القدرة الإمراضية للفطر *M. phaseolina* في الوسط الغذائي بطاطا-كستروز-أجار (PDA) أن *M. phaseolina* من الفطور الممرضة التي تهاجم البذور وتسبب تعفنًا لها. أما في الأصص، كانت العزلة 1 أكثر اختزالاً للنسبة المئوية لإنبات البذور حيث بلغت نسبة إنبات البذور 71.56 و 63.75% للعزلتين 1 و 2، على التوالي. ظهرت اختلافات معنوية بين العزلتين 1 و 2 في النسبة المئوية لموت البادرات بعد الإنبات إذ بلغت 40 و 30%، على التوالي، مقارنة مع معاملة الشاهد التي بلغت 0%. أما بالنسبة لشدة الإصابة، فقد تفوقت العزلة 1 بشدة إصابة بلغت 75.3%. تباينت القدرة التضادية لفطور مكافحة الأحيائية تجاه الفطر *M. phaseolina*، حيث كانت درجة تضاد 3 للفطر *A. carbonarius* وبلغت 2 للفطر *C. globosum*، بينما كانت درجة تضاد 1 للفطر *T. koningii*. بينت النتائج أيضاً أن *C. globosum* أدى إلى زيادة معنوية في طول النبات والوزن الطري والجاف للمجموع الجذري لنباتات الماش ونسبة الكلوروفيل حيث بلغ معدل طول النبات والوزن الطري والجاف للمجموعين الخضري والجذري ونسبة الكلوروفيل في معاملة *C. globosum* إلى 113.67 سم، 110.24 غ، و 25.32 غ و 31.67%، على التوالي، قياساً بمعاملة الشاهد الذي كان فيها معدل طول النبات والوزن الطري والجاف للمجموع الجذري لنباتات الماش ونسبة الكلوروفيل 67.99 سم، 98.38 غ، و 22.61 غ و 31.03%.

كلمات مفتاحية: مكافحة الأحيائية، *Macrophomina phaseolina*، *Aspergillus carbonarius*، *Cheatomum globosum*، *Trichoderma koningii*.

المقدمة

(2007). تنتشر زراعته في مناطق كثيرة في العراق ويستهلك كغذاء للإنسان ويحتوي على نسبة عالية من البروتين (26-31%)، غني بالأحماض الأمينية، ويستعمل أيضاً لإنتاج العلف الأخضر ولعمل الدريس كما يستخدم كمحصول تغطية لسرعة نموه (سعد وحسن، 2001). يصاب محصول الماش بكثير من الآفات الحشرية والمسببات المرضية ويعتبر مرض التعفن الفحمي المتسبب عن الفطر *Macrophomina phaseolina* من أهم الأمراض التي تؤدي إلى التقليل من إنتاجية المحصول ونوعيته (Su et al., 2001). يتبع الفطر إلى شعبة الفطور الزقية/الأسكية/الكيسية Ascomycetes عائلة

الماش *Vigna radiata* (L.) Wilczek أو بقلة الماش، أو الكشري الأخضر، أو المج، أو كما يُسمى أحياناً اللوبياء الشعاعية، هو أحد الأنواع التي تتبع جنس اللوبياء، وهو من فصيلة البقوليات. إنَّ الموطن الأصلي له هو شبه القارة الهندية، ومن ثمَّ انتشر إلى باكستان، تايلاند، الصين، بنغلاديش، فيتنام، كمبوديا، وإلى العديد من الدول الأخرى، ومن ضمنها الدول الأوروبية، وأمريكا. يعد الماش من المحاصيل التي تتحمل الجفاف والحرارة، وله موسم نمو قصير 90 إلى 120 يوماً (الزهاوي،

Chloramphenicol بتركيز 250 مغ/ليتر ثم وضعت الأطباق في الحاضنة عند حرارة 28 ± 2 °س لمدة خمسة أيام. بعد ذلك تم تنقية عزلات الفطر وذلك بنقل أجزاء من طرف الخيط الفطري لمستعمرة الفطر الممرض بوساطة إبرة معقمة إلى أطباق بتري حاوية على الوسط الغذائي MEA المعقم وحضنت الأطباق في الحاضنة عند حرارة 28 ± 2 °س لمدة أربعة أيام. حفظت عزلات الفطر على وسط غذائي صلب مائل (Slant) في الثلجة عند حرارة 4°س لحين الاستعمال، وجددت كلما دعت الحاجة إلى ذلك.

عزل وتشخيص بعض الفطور الأحيائية

أخذت عينات عشوائية من تربة مختلفة من الأراضي الزراعية المزروعة بنبات الماش من منطقة الجذور Rhizosphere في محافظة ميسان، تُركت التربة في المختبر لتجف هوائياً لمدة 24 ساعة ونخلت بمنخل سعة فتحاته 1 مم وحضرت سلسلة تخفيفات من عينات التربة. نقل 1 مل من كل تخفيف إلى أطباق بتري معقمة قطر 9 سم وأضيف لها الوسط الغذائي PDA المعقم والمضاف إليه المضاد الحيوي Chloramphenicol بتركيز 250 مغ/ليتر وبتلاتة مكررات لكل تخفيف ولكل عينة تربة. حركت الأطباق حركة رحوية لضمان توزيع العينة وتجانسها مع الوسط الغذائي وحضنت الأطباق في الحاضنة عند درجة حرارة 28 ± 2 °س لمدة 4 أيام، بعد ذلك تم تنقية عزلات الفطر وذلك بنقل أجزاء من حواف المستعمرة الفطرية بوساطة إبرة معقمة إلى أطباق بتري حاوية على الوسط الغذائي PDA المعقم وحضنت الأطباق في الحاضنة عند درجة حرارة 28 ± 2 °س لمدة خمسة أيام ثم شخصت عزلات الفطريات باتباع المفاتيح التصنيفية المعتمدة (Eriksson & Winka, 1997). وحفظت العزلات على وسط غذائي مائل في الثلجة عند درجة حرارة 4°س للدراسات والتجارب اللاحقة.

اختبار إمرضيه الفطر *M. phaseolina* في بذور الماش

زُرعت بذور نبات الماش المطهرة بمحلول هايبيوكلورات الصوديوم (NaOCl) بتركيز 3% بشكل دائري حول مستعمرات الفطر *M. phaseolina* بواقع 6 بذور في كل طبق، وبتلاتة مكررات. أُجريت معاملة الشاهد وذلك بزراعة البذور على الوسط نفسه ولكن من دون فطر. بعد ذلك وضعت الأطباق في الحاضنة عند حرارة 28 ± 2 °س في ظروف مظلمة. بعد مرور 7 أيام، حسبت القدرة الإراضية للفطر *M. phaseolina* حسب سلم مرضي مكون من 6 درجات: 0= بذور سليمة، 1= تلون جزء من البادرات باللون البني مع اتصالها بالفطر، 2= الفطر يغزو غلاف البذرة لكن البادرات سليمة، 3= غلاف البذرة خالٍ من الفطر لكن البادرات مصابة، 4= غلاف البذرة والبادرات مصابة، 5= البذور مصابة وغير نابته (Manici et al., 1995).

Botryosphaeriaceae (Lücking et al., 2009)، وتبقى الأجسام الحجرية للفطر في التربة 15 سنة اعتماداً على الظروف البيئية (Baird et al., 2003؛ Shaner et al., 1999)، ويعد من الفطور الموجودة في التربة وعلى البذور مما يؤدي إلى إصابة تعفن البذور (Jyotsna et al., 2008)، كما تزداد الإصابة بارتفاع درجات الحرارة وقلة الرطوبة (Almeida et al., 2003).

استخدمت وسائل متعددة لمكافحة مرض التعفن الفحمي وإدارته كالدورة الزراعية، المبيدات الكيميائية، الأصناف المقاومة وغيرها ولم تكن فعالة في بعض الأحيان وذلك لقدرة الفطر البقاء في التربة لمدة طويلة (Baird et al., 2003)، كما وبين الرفاعي وآخرون (2004) أن البكتريا *Pseudomonas fluorescens* لها القابلية على تحسين نمو القمح/الحنطة وزيادة عدد التفرعات. تعتمد عملية مكافحة الناجحة بصورة أكيدة على طريقة استخدام وإضافة المقاوم الحيوي (Lurnsden et al., 1995)، وتعد طريقة آمنة لا تسبب تلوثاً للبيئة ولا تخل بالموازنة الطبيعية للأحياء كما تفعل المبيدات، وتعد طريقة متخصصة في تأثيرها على مسببات أمراض النبات كما تعتبر مكافحة الأحيائية آمنة وصديقة للبيئة في مكافحة أمراض النبات المستوطنة في التربة.

تعد الأنواع التالية *Trichoderma koningii*، *Cheatomum globosum* و *Aspergillus carbonarius* من فطور مكافحة الأحيائية لما تملكه من خواص كالتنافس والتضاد والتطفل وتحفيز المقاومة الجهازية في النبات (Kredics et al., 2003). كان الهدف من الدراسة هو مكافحة الحيوية للفطر الممرض *Macrophomina phaseolin* لصعوبة مكافحة هذا الفطر بالمبيدات الكيميائية وعزل الفطر من النباتات المصابة، وتشخيصها، واختبار قدرته الإراضية وتقويم مكافحة المرض باستعمال الفطور المعزولة من التربة.

مواد البحث وطرائقه

جمعت عينة من نباتات الماش المصابة بمرض التعفن الفحمي من منطقتين مختلفتين من محافظة القادسية، العراق، والتي ظهرت عليها أعراض الإصابة بشكل واضح مثل تقشر قاعدة الساق ووجود الأجسام الحجرية السوداء منتشرة وتلون منطقة التاج بلون بني داكن. جلبت إلى المختبر مجموعة من النباتات المصابة (النبات بالكامل)، ثم غسلت قواعد سوق النباتات والمجموع الجذري بماء الحنفية لغرض التخلص من الأتربة والموالغ الأخرى وقطعت إلى قطع صغيرة بطول 0.5-1 سم ثم ظهرت بمحلول هايبيوكلورايت الصوديوم (NaOCl) بتركيز 3% لمدة 3-5 دقائق ثم غسلت بماء مقطر معقم. جففت القطع على ورق ترشيح ثم زرعت بواقع خمس قطع نباتية في كل طبق بتري حاوٍ على وسط غذائي Malt Extract Agar (MEA) معقم مضاف له مضاد حيوي

ثم حسب شدة الإصابة وفق المعادلة التالية (Jiménez-Díaz & Trapero-Casas, 1985):

$$\text{شدة الإصابة \%} = \frac{\text{مجموع عدد النباتات من الدرجة } 0 \times 0 + \dots + \text{مجموع عدد النباتات من الدرجة } 4 \times 4}{\text{العدد الكلي للنباتات المفحوصة} \times \text{أعلى درجة}} \times 100$$

اختبار القدرة الإراضية للفطر *M. phaseolina* في الأوص

حضرت أصص بلاستيكية حجم 5 كغ حاوية على مزيج من التربة والبيتموس المعقم بالفورمالين التجاري. أضيف لقاح الفطر *M. phaseolina* (نموات فطرية على أطباق بتري) عزلة 1 و 2 إلى الأوص البلاستيكية بمعدل 1% ثم رويت وبعد ثلاثة أيام زرعت بذور الماش بواقع 7 بذور لكل أصيص. أما معاملة الشاهد فتضمنت زراعة البذور في تربة خالية من لقاح الفطر *M. phaseolina*، وبعد اسبوعين من الزراعة حسبت النسبة المئوية لسقوط البادرات.

اختبار التضاد بين الفطر الممرض وفطور الكفاحية بطريقة الزرع المزدوج

استعملت تقنية الزرع المزدوج (Daul Culture Technique) إذ قسم طبق بتري حاو على الوسط الغذائي PDA المعقم إلى نصفين متساويين لفتح مركز النصف الأول بقرص قطره 0.5 سم من مستعمرة الفطر *M. phaseolina* المزروعة على وسط غذائي PDA بعمر 4 أيام ولقح مركز النصف الآخر من الطبق بقرص قطره 0.5 سم لأنواع فطر الكفاحية الأحيائية *T. koningii* والفطر *C. globosum* والفطر *A. carbonarius* النامية على الوسط الغذائي PDA. وبعمر 5 أيام كل على حدة، كررت كل معاملة ثلاث مرات بالإضافة إلى معاملة الشاهد وذلك بتلقيح مركز القسم الأول من الطبق بفطور الكفاحية فقط وكل على انفراد.

حضنت الأطباق جميعها في الحاضنة عند $28 \pm 2^\circ\text{C}$ لمدة 10 أيام، ثم جرى حساب قوة التضاد لكل من الفطر الممرض وفطر الكفاحية الحيوية باستعمال السلم التالي: 1 = الفطر المضاد يغطي 90-100% من مساحة الطبق، 2 = الفطر المضاد يغطي 70% من مساحة الطبق، 3 = الفطر المضاد والفطر الممرض كل منهما يغطي 50% من مساحة الطبق، 4 = الفطر الكفاحية الحيوي يغطي 70% من مساحة الطبق.

تأثير فطور الكفاحية الأحيائية في نمو نبات الماش

أضيفت الفطور الأحيائية *T. koningii*، *C. globosum* و *A. carbonarius* المحملة على بذور الحنطة/القمح بواقع 1 غ

وزن/وزن إلى الأوص البلاستيكية حجم 5 كغ حاوية على مزيج من التربة والبيتموس المعقم بالفورمالين التجاري ثم سقيت بالماء إلى حد الاشباع. بعد ثلاثة أيام زرعت الأوص الحاوية على الفطور الأحيائية ببذور الماش صنف محلي ثم سقيت بالماء وكلما دعت الحاجة. أما معاملة الشاهد فزرعت ببذور الماش فقط، وبعد أسبوعين من الزراعة حسبت النسبة المئوية للإنبات وبعد ثلاثة أسابيع أضيف السماد المركب NPK بمقدار 2 غ لكل أصيص ولجميع المعاملات. بعد 8 أسابيع من الإنبات حسبت أطوال النبات والوزن الطري والجاف للجذور ونسبة الكلوروفيل في الأوراق بجهاز قياس الكلوروفيل نوع Opti-sciences صنع كوريا.

تأثير فطور الكفاحية الأحيائية في إصابة نبات الماش بالفطر الممرض

M. phaseolin

عقمت تربة الأوص كما في الفقرات السابقة وأضيف لقاح فطور الكفاحية الأحيائية *T. Koningii*، *C. globosum* و *A. carbonarius* كلا على حدة، ثم أضيف بعد ثلاثة أيام الفطر الممرض *M. phaseolina* المحمل على بذور الدخن بنسبة 0.1% وزن/وزن. وكانت معاملات التجربة على الشكل التالي: 1 = تربة معاملة بالدخن المعقم فقط؛ 2 = تربة معاملة بالفطر *M. phaseolina*؛ 3 = تربة معاملة بالفطر *T. Koningii + M. phaseolina*؛ 4 = تربة معاملة بالفطر *C. globosum + M. phaseolina*؛ 5 = تربة معاملة بالفطر *A. carbonarius + M. phaseolina*؛ 6 = تربة معاملة بالفطر *C. globosum + T. Koningii + M. phaseolina*؛ 7 = تربة معاملة بالفطر *A. carbonarius + C. globosum + M. phaseolina*؛ 8 = تربة معاملة بالفطر *T. Koningii + M. phaseolina + A. carbonarius + C. globosum*. حسبت النسبة المئوية للإنبات بعد اسبوعين من الزراعة، وحسبت شدة الإصابة بعد 8 أسابيع.

النتائج والمناقشة

تم الحصول على عزلتين من الفطر الممرض *M. phaseolina* من نباتات الماش المصابة بمرض التعفن الفحمي، عزلة 1 وعزلة 2، اللتان شخصتا من خلال الصفات المورفولوجية من خلال تنميتها على الوسط الغذائي MEA، حيث بدأ النمو بشكل ميسليوم أبيض ثم تحول إلى اللون الرمادي ثم إلى اللون الأسود، وعند فحصها بالمجهر الضوئي شوهد تكون الأجسام الحجرية بوضوح.

الفحمي، وقد عُزي ذلك إلى الاختلاف الجيني أو إلى حدوث الطفرات الوراثية. كما أوضح Fernández *et al.* (2006) أن عزلات الفطر *M. phaseolina* اختلفت في قابليتها الإراضية على نبات اللوبياء. وفي ضوء النتائج المبينة أعلاه تم اختيار العزلة 1 لإجراء الدراسات اللاحقة. يظهر شكل 1 أعراض الإصابة على شتول نبات الماش.



شكل 1. شدة إصابة عزلتي الفطر *M. phaseolina* في شتول نبات الماش. نباتات سليمة (فوق)، نباتات مصابة (تحت).
Figure 2. Severity of infection of *M. phaseolina* isolates on mung bean plant seedlings. Healthy plants (up) and infected plants (down).

اختبار التضاد بين الفطر الممرض وفطريات المكافحة الأحيائية بطريقة الزرع المزدوج

تباينت فطور المكافحة الأحيائية في قدرتها التضادية تجاه الفطر الممرض *M. phaseolina*، حيث وصلت قدرة تضاد الفطر *A. carbonarius* إلى درجة 3 و الفطر *C. globosum* إلى درجة 2، بينما وصلت قدرة تضاد الفطر *T. koningii* إلى درجة واحد فقط.

تأثير فطور المكافحة الأحيائية في نمو نبات الماش

بينت النتائج (جدول 2) قدرة فطور المكافحة الأحيائية *T. koningii*، *C. globosum* و *A. carbonarius* في زيادة معايير نمو نبات الماش. أدى عامل المكافحة الأحيائية *C. globosum* إلى زيادة معنوية في طول النبات والوزن الطري الجاف للمجموع الجذري لنباتات الماش ونسبة الكلوروفيل حين بلغ معدل طول النبات والوزن الطري والجاف للمجموعين الخضري والجذري ونسبة الكلوروفيل في معاملة *C. globosum* إلى 113.67 سم، 110.24 غ، 25.32 غ، 31.67%، على التوالي قياساً

عزل وتشخيص بعض فطريات المكافحة الأحيائية

تم عزل مجموعة من فطور التربة المحيطة بالجذور التالية: *A. carbonarius*، *Aspergillus niger*، *Aspergillus* sp.، *Penicillium* sp.، *Rhizopus* sp.، *Fusarium* sp.، *Stemphylium* sp. و *Ulocladium* sp. اختبرت المقدر الإراضية للفطور المعزولة على بذور الفجل في أطباق بتري حاوية على الوسط الغذائي PDA، وبناء للنتائج التي تم الحصول عليها اختير الفطر *A. carbonarius* للإختبارات اللاحقة. أما الفطرين *T. koningii* و *C. globosum* فقد تم الحصول عليهما من مختبرات قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة البصرة.

إختبار القدرة الإراضية للفطر *M. phaseolina* في بذور الماش

أظهرت نتائج اختبار القدرة الإراضية للفطر *M. phaseolina* في الوسط الغذائي PDA أن الفطر *M. phaseolina* من الفطور الممرضة التي تهاجم البذور وتسبب تعفنًا لها (جدول 1). تتفق هذه النتائج مع نتائج دراسات سابقة أشير فيها إلى اختلاف في القدرة الإراضية لعزلات الفطر، حيث أشار مطرود (2015) أن عزلات الفطر الممرض *M. phaseolina* المعزولة من نبات زهرة عباد الشمس مختلفة في شدة اصابتها للنبات نفسه.

جدول 1. شدة إصابة عزلتي الفطر *M. phaseolina* على بذور نبات الماش في الوسط الغذائي PDA.

Table 1. Severity of infection of *M. phaseolina* isolates on mung bean seeds on PDA medium.

عزلات الفطر Fungal isolates	شدة الإصابة (%) Disease severity (%)
عزلة 1 Isolate 1	78.330
عزلة 2 Isolate 2	67.850
LSD _{0.05}	9.503

اختبار القدرة الإراضية للفطر *M. phaseolina* في الأصص

أظهرت النتائج (جدول 1) أن العزلة 1 كانت أكثر اختزالاً لنسبة إنبات البذور حيث بلغت نسبة إنبات البذور 71.56 و 63.56% للعزلتين 1 و 2، على التوالي، مقارنة مع معاملة الشاهد التي بلغت 86.66%. كذلك بينت النتائج وجود اختلافات معنوية احصائياً بين العزلتين 1 و 2 في النسبة المئوية لموت البادرات بعد الإنبات إذ بلغت 40 و 30%، على التوالي، مقارنة مع معاملة الشاهد التي بلغت 0%. أما فيما يخص شدة الإصابة فقد تفوقت العزلة 1 معنوياً على العزلة 2 حيث بلغت شدة الإصابة 75.3% للعزلة 1 وبلغت 63.6% للعزلة 2. ذكر Purkayastha *et al.* (2006) وجود اختلاف في القدرة الإراضية للفطر *M. phaseolina* في إصابة نبات زهرة عباد الشمس بمرض التعفن

وزيادة المحتوى النيتروجيني والبوتاسي والفوسفوري في النبات وجاهزية العناصر المعدنية فضلاً عن دورها المباشر في تثبيط نمو الفطور الممرضة.

أظهرت النتائج (جدول 3) أن المكافحة باستخدام الفطور الأحيائية أدت إلى خفض النسبة المئوية للإصابة بمرض تعفن الساق الفحامي على الماش وشدها. عند استخدام المعاملة *T. koningii* بلغت نسبة الإنبات 100% وأحدثت خفضاً معنوياً في شدة الإصابة إلى 45.87% مقارنة بمعاملة الشاهد (الفطر الممرض بمفرده) التي بلغت نسبة الإنبات فيها 89.86% وبشدة إصابة 77.30%. كما أدت فطور المكافحة الأحيائية الأخرى *A. carbonarius* و *C. globosum* إلى نسبة إنبات 89.86% و 95.77%، وشدة إصابة 41.98% و 33.33%، على التوالي. قد يعود الفعل المضاد لفطر *T. koningii* تجاه الفطر الممرض إلى نشاطه التطفلي على الفطر *M. phaseolina* وهذا يتفق مع أكده *Ajit et al.* (2006)، على أن للفطر *T. harzianum* نشاطاً تطفلياً (Mycoparasitism) ضد الفطر الممرض فضلاً عن الأنزيمات المحللة التي ينتجها الفطر الأحيائي التي تساعده في التطفل، مثل أنزيمات *glucanase* و *Chitinase*.

بمعاملة الشاهد والتي كانت قيمها 67.99 سم، 98.38 غ، 22.61 غ و 31.03%. على التوالي. أما بقية فطور المكافحة الأحيائية فقد بلغ معدل طول النبات 73.87 و 85.1 سم بالمعاملة بالفطرين *A. carbonarius* و *T. koningii*، والوزن الطري الجاف (112.89 و 19.19 غ) للمجموع الجذري (24.88 و 19.19 غ)، وبلغت نسبة الكلوروفيل 38.06 و 44.66%، على التوالي. أشارت النتائج (جدول 3) أن معاملة الفطور الأحيائية مع المسبب المرضي أدت إلى خفض النسبة المئوية للإنبات وشدة الإصابة بمرض تعفن الساق الفحامي على الماش. باستخدام المعاملة *T. koningii* بلغت نسبة الإنبات 100% وأحدثت خفضاً معنوياً في شدة الإصابة إلى 45.87% مقارنة بمعاملة الشاهد (*M. phaseolina*) التي كانت نسبة الإنبات فيها منخفضة (89.86%) وبشدة إصابة 77.30%.

يتضح من خلال النتائج أن استخدام عوامل المكافحة الأحيائية في مكافحة مرض التعفن الفحامي أدى إلى زيادة في طول النبات والوزن الطري الجاف للمجموع الجذري لنباتات الماش ونسبة الكلوروفيل وهذا يتفق مع *Morsy et al.* (2009) عند معاملة بذور البندورة/الطمطمم بخليط من *T. virida* و *B. subtilis* أدت إلى زيادة في الوزن الجاف، وقد يعزى السبب إلى قابلية العوامل الأحيائية في إنتاج الفيتامينات والهرمونات.

جدول 2. تأثير فطور المكافحة الأحيائية في نمو نبات الماش.

Table 2. Effect of bio-control fungi on growth of the mung bean plant.

المعاملة	طول النباتات (سم)	الوزن الرطب للجذور (غ)	الوزن الجاف للجذور (غ)	نسبة الكلوروفيل ميكروغرام/لتر
Treatment	Plant height (cm)	Roots fresh weight (g)	Roots dry weight (g)	Chlorophyll content (mg/l)
الشاهد Control	67.99	98.38	22.61	31.03
<i>A. carbonarius</i>	73.87	112.89	24.88	38.06
<i>C. globosum</i>	113.67	110.24	25.32	31.67
<i>T. koningii</i>	85.00	97.55	19.19	44.66
LSD _{0.05}	7.11	6.77	0.50	5.67

جدول 3. تأثير فطور المكافحة الأحيائية في إصابة نبات الماش بالفطر الممرض *M. phaseolina*.

Table 3. Effect of bio-control fungi on infection with *M. phaseolina* fungal pathogen.

المعاملة	نسبة الإنبات (%)	شدة الإصابة (%)
Treatment	Germination rate (%)	Disease severity (%)
<i>M. phaseolina</i>	89.86	77.30
<i>M. phaseolina</i> + <i>A. carbonarius</i>	89.86	41.98
<i>M. phaseolina</i> + <i>C. globosum</i>	95.77	33.33
<i>M. phaseolina</i> + <i>T. koningii</i>	100	45.87
<i>M. phaseolina</i> + <i>T. Koningii</i> + <i>C. globosum</i>	95.77	33.33
<i>M. phaseolina</i> + <i>C. globosum</i> + <i>A. carbonarius</i>	95.77	52.76
<i>M. phaseolina</i> + <i>T. Koningii</i> + <i>C. globosum</i> + <i>A. carbonarius</i>	91.07	64.82
LSD _{0.05}	9.08	13.56

Abstract

Matrood, A.A.A., H.A. Abdulhassan, M.I.M. Khriebe and M.M.A. El-Amin. 2021. Isolation and Identification of Some Biocontrol Fungi and Evaluation of Their Efficacy Against Charcol Rot Disease Caused by *Macrophomina phaseolina* on Mung Bean. *Arab Journal of Plant Protection*, 39(3): 197-203. <https://doi.org/10.22268/AJPP-39.3.197203>

This study aimed to isolate and identify *Macrophomina phaseolina* fungus which was the causal agent of Charcol rot disease on mung bean (*Vigna radiata* Wilczek L) from Elgadisya Governorate in order to isolate, diagnose, and evaluate efficacy of biological control fungal agents isolated from the rhizosphere of the host plant. The biocontrol agents *T. koningii*, *C. globosum* and *A. carbonarius* were effective in inhibiting the pathogenic fungus under laboratory and greenhouse conditions. Two isolates of *M. phaseolina* fungal pathogen were identified in most samples of infected mung bean. Pathogenicity tests showed the ability of *M. phaseolina* to attack the seeds and cause seed rot. Isolates 1 and 2 of the fungal pathogen reduced the seed germination rate to 71.56 and 63.75%, respectively, compared with 86.66% for the control. The results obtained indicated the presence of a significant difference between the two isolates in inducing seedlings damping-off which reached 40% and 30%, respectively, compared with 0% for the control. The disease severity of isolate 1 reached 75.3% and that of isolate 2 reached 63.6%. The inhibitory effect of the fungal antagonists *T. koningii* and *C. globosum* varied. *A. carbonarius* demonstrated level 3 of inhibition to the pathogenic fungus *M. phaseolina*, whereas *C. globosum* and *T. koningii* demonstrated inhibitory levels of 2 and 1, respectively. Results obtained also indicated that treatments with antagonistic fungi *T. koningii*, *C. globosum* and *A. carbonarius* increased the growth parameters of the mung bean plant. The antagonistic fungus *C. globosum* increased the plant height, root fresh and dry weight and chlorophyll content compared with the control. Furthermore, the results showed that treatment with *T. koningii* increased the mung bean seed germination rate to 100% and decreased disease severity of mung bean charcoal rot disease to 45.88% as compared to 89.86% severity for the control. Likewise, the other antagonistic fungi *A. carbonarius* and *C. globosum* also increased the mung bean seed germination, and decreased mung bean charcoal rot disease severity.

Keywords : Charcoal rot disease, mung bean, *Macrophomina phaseolina*, *T. koningii*, *C. globosum*, *A. carbonarius*.

Affiliation of authors: A.N.A.A. Matrood¹, H.A. Abdulhassan¹, M.I.M. Khriebe² and M.M.A. El-Amin³. (1) Faculty of Agriculture, Basra University, Iraq; (2) General Authority of Biotechnology, Damascus, Syria, Email: imadkhriebe@gmail.com; (3) Faculty of Agriculture, Um Durman Islamic University, Sudan.

References

- [Matrood, A.N.A.A. 2015. Integrated management of charcoal rot disease of sunflower caused by *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. PhD thesis, Kufa University, Iraq. 129 pp. (In Arabic).]
- Ajit, N.S., R. Varma and V. Shanmugan. 2006. Extracellular chitinases of fluorescent *Pseudomonas* antifungal to *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* causing carnation wilt. *Current Microbiology*, 52(4): 310-316. <https://doi.org/10.1007/s00284-005-4589-3>
- Almeida, A.M.R., L. Amorim, A.B. Filho, E. Jorres, J.R. Farias, L. Benato, C. Pinto, M.C. Pinto and N. Valentin. 2003. Progress of soybean charcoal rot under tillage and no tillage system in Brazil. *Fitopatologia Brasileira*, 28(2): 115-122. <https://doi.org/10.1590/S0100-41582003000200002>
- Baird, R.E., C.E. Watson and M. Scruggs. 2003. Relative Longevity of *Macrophomina Phaseolina* and associated Mycobiota on residual soybean roots in soil. *Plant Disease*, 87(5): 563-566. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2003.87.5.563>
- Eriksson, O.E. and K. Winka. 1997. Supraordinal taxa of Ascomycota. *Myconet*, 1(1): 1-16.
- Fernández, C., A. Ferrández, B. Miñambres, E. Díaz and J.L. García. 2006. Genetic characterization of the phenylacetyl-coenzyme A oxygenase from the aerobic phenylacetic acid degradation pathway of *Escherichia coli*. *Applied and Environmental Microbiology*, 72(11): 7422-7426. <https://doi.org/10.1128/AEM.01550-06>
- Jiménez-Díaz, R.M. and A. Trapero-Casas. 1985. Use of fungicide treatment and host resistance to control the wilt and root rot complex of chickpea. *Plant Disease*. 69(7): 591-595. <https://doi.org/10.1094/PD-69-591>

المراجع

- الرفاعي، شيماء ابراهيم محمود، فيصل محبس مدلول الطاهر ومحمد جبر حناوي المياحي. 2004. تأثير اللقاح البكتيري *Pseudomonas fluorescense* وموعد زراعتها في نمو وحاصل صنفين من الحنطة في منطقة البصرة. مجلة القادسية للعلوم الصرفة، 9(1): 38-49.
- [El-Rifae, Sh.I.M., F.M.M. El-Taher and M.J.H. El-Miyahi. 2004. Effect of the bacterial inoculum *Pseudomonas fluorescense* and planting dates on wheat growth and yield in the Basra region. *Kadisiya Journal of theoretical sciences*, 9(1):38-49 (In Arabic).]
- الزهاوي، سمير محمد أحمد. 2007. تأثير الأسمدة العضوية المختلفة وتغطية التربة في نمو وانتاج ونوعية البطاطا (*Solanum tuberosum* L.) رسالة ماجستير، كلية الزراعة، جامعة بغداد. جمهورية العراق.
- [El-Zahawi, S.M.A. 2007. Effect of different organic fertilizers and soil cover on growth, yield and quality of potato (*Solanum tuberosum* L.). M.Sc. thesis, Faculty of Agriculture, University of Baghdad. Iraq. (In Arabic).]
- سعد، تركي مفتن وسعد فليح حسن. 2001. استجابة الحاصل ومكوناته وصفات اخرى لمعدلات البذار للماش. مجلة العلوم الزراعية، 23(2): 107-109.
- [Saad, T.M. and S.F. Hasan. 2001. Yield response and its components and other parameters of mung bean seeds. *Agricultural Sciences Journal*, 32(2): 107-109. (In Arabic).]
- مطروود، عبد النبي عبد الامير. 2015. التكامل في مكافحة مرض التعفن الفحفي في نبات زهرة عباد الشمس المتسبب عن الفطر *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid اطروحة دكتوراه، جامعة الكوفة، العراق. 129 صفحة.

- Manici, L.M., F. Caputo and C. Cerato.** 1995. Temperature responses of isolates of *Macrophomina phaseolina* from different climatic regions of sunflower production in Italy. *Plant Disease*, 79(8): 834-838. <https://doi.org/10.1094/PD-79-0834>
- Morsy, E.M., K.A. Abdel-Kawi and M.N.A. Khalil.** 2009. Efficiency of *Trichoderma viride* and *Bacillus subtilis* as biocontrol agents against *Fusarium solani* on tomato plants. *Egyptian Journal of Phytopathology*, 37(1): 47-57.
- Purkayastha, S., B. Kaur, N. Dilbaghi and A. Chaudhury.** 2006. Characterization of *Macrophomina phaseolina*, the charcoal rot pathogen of cluster bean, using conventional techniques and PCR-based molecular markers. *Plant Pathology*, 55(1): 106-116. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2005.01317.x>
- Shaner, G., S. Abney and D. Scott.** 1999. Charcoal rot of soybean. Department of Botany and Plant Pathology, Purdue University, USA. 3 pp.
- Su, G., S.O. Suh, R.W. Schnieder and J.S. Russin.** 2001. Host Specialization in the charcoal rot fungus, *Macrophomina phaseolina*. *Phytopathology*, 91(2): 120-126. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.2001.91.2.120>
- Jyotsna, A.S., R.P. Singh, A.K. Srivastava, A.K. Saxena and D.K. Arora.** 2008. Growth promotion and charcoal rot management in chickpea by *Trichoderma harzianum*. *Journal of Plant Protection Research*, 48(1): 81-92. <https://doi.org/10.2478/v10045-008-0009-6>
- Kredics, L., Z. Antal, L. Manczinger, A. Szekeres, F. Kevei and E. Nagy.** 2003. Influence of environmental parameter on *Trichoderma* strain with Biocontrol potential. *Food Technology and Biotechnology*, 41(1): 37-42.
- Lücking, R., S. Huhndorf, D.H. Pfister, E.R. Plata and H.T. Lumbsch.** 2009. Fungi evolved right on track. *Mycologia*, 101: 810-822. <https://doi.org/10.3852/09-016>
- Lurnsden, R.D., J.A. Lewis and D.R. Fravel.** 1995. Formulation and delivery of biocontrol agents for use against soilborne plant pathogens. Pages 166-182. In: *Biorational Pest Control Agents*. F.R. Hall and J.W. Barry (eds.). American Chemical Society, Washington D.C. <https://doi.org/10.1021/bk-1995-0595.ch011>

Received: September 23, 2020; Accepted: August 23, 2021

تاريخ الاستلام: 2020/9/23؛ تاريخ الموافقة على النشر: 2021/8/23