المكافحة الاحيائية لمرض تعفن جذور الباذنجان المتسبب عن الفطر *Fusarium solani*

كفاح هادي راضي
مديرية تربية بابل

كاظم زغير خضير
الكلية التقنية المسيب

يوسف دخيل راشد
الكلية التقنية المسيب

k.alkaraawi@yahoo.com

المستخلص

أوضحت نتائج العزل والتشخيص من جذور نباتات الباذنجان وجود الفطر *Fusarium solani* المسبب لمرض تعفن جذور الباذنجان في جميع المواقع التي تم مسحها في محافظة بابل.اظهرت نتائج تجربة الأصيص تحت ظروف الظلة الخشبية ان جميع المعاملات ادت الى خفض معنوي في شدة الاصابة بعزلة الفطر (*Fs*6) *F.solani* فقد أدت معاملات البكتريا *Bacillus subtilis* + *Pseudomonas fluorescens* وبكتريا *P.fluorescens* + *Bacillus cereus* وبكتريا *B.subtilis* + *B.cereus* بوجود الفطر الممرض والتي استخدمت بمقدار 15مل / أصيص خفضا معنويا في النسبة المئوية لشدة الإصابة لنباتات الباذنجان إذ بلغت 6.25% و6.25% و12.25% على التوالي قياسا بمعاملة المقارنة (الفطر الممرض بمفرده) والتي بلغت 81.25%. اما بالنسبة الى نتائج التجربة الحقلية تحت ظروف البيت البلاستيكي فقد حققت جميع المعاملات خفض معنوي في النسبة المئوية لشدة الإصابة بعزلة الفطر الممرض*F.solani* (*Fs*6) اذ حققت معاملات البكتريا *B.subtilis* + *P.fluorescens* و *B.cereus* + *P.fluorescens* و *B.subtilis* + *B.cereus* بوجود الفطر الممرض خفض معنوي في النسبة المئوية لشدة اصابة نباتات الباذنجان والتي بلغت 11.75 ، 13.00 و 14.25% على التوالي قياسا الى معاملة المقارنة للفطر الممرض بمفرده والتي كانت شدة الاصابة فيها 85.00%. وقد حققت معاملات البكتريا *B.subtilis* + *P.fluorescens* و*B.cereus* + *P.fluorescens* و*B.subtilis* +*B.cereus* كتسميد حيوي زيادة في انتاجية نباتات الباذنجان بوجود اوعدم وجود الفطر الممرض *F.solani* (*Fs*6) اذ بلغت 16.32 و14.69 و13.31 كغم / نبات و19.31 و18.34 و17.93 كغم / نبات على التوالي قياسا بمعاملة المقارنة بوجود وعدم وجود الفطر الممرض والتي كانت 2.04 و15.07 كغم / نبات على التوالي.

الكلمات المفتاحية : *Fusarium solani* ، *Pseudomonas fluorescens* ، *Bacillus subtilis* ، *B.cereus*

Biological control of root rot disease eggplant caused by fungus *Fusarium solani*

Abstract

The results of the isolates from the roots of, eggplant , diagnosis the presence of fungus *F. solani* that causes root rot of eggplant in six locations in the province of Babylon , Showed the results of an experiment pots under the conditions of the lathhous all treatments led to significant reduction in the severity of the injury for the isolated fungus *(Fs*6) *F.solani* All treatments *Bacillus subtilis* + *Peudomonas fluorescens* , and bacteria *B.cereus* + *P.fluorescens* and bacteria *B.subtilis* + *B.cereus* in the presence of pathogenic fungus that were used by 15 ml / potted a significant reduction in the percentage of the severity of the injury to the egg plants which was 6.25% , 6.25% and 12.5% , respectively, compared to the control treatment (pathogenic fungus alone), which was 81.25%. As for the results of the experiment under the plastic house conditions all treatments results a significant reduction in the percentage of the severity of the injury for fungus (*Fs*6) *F.solani* between the made bacteria *B.subtilis* + *P.fluorescens* , and bacteria *B.cereus* + *P.fluorescens* and bacteria *B.subtilis* + *B.cereus* the presence of pathogenic fungus significantly results in the percentage of the severity of injury to the egg plants which was 11.75 13.00 and 14.25 %, respectively, compared to the control treatment of pathogenic fungus alone and that the severity of the injury was 85.00% Bio-fertilization with bacteria *B.subtilis* +*P. fluorescens* and bacteria *B.cereus* + *P. fluorescens* and bacteria *B.subtilis* + *B.cereus* results, in the increase in the productivity of eggplant with and without the presence of pathogenic fungus (Fs6) *F.solani*, reaches to 16.32, 14.69 and 13.31 kg / plant and 19.31, 18.34 and 17.93 kg / plant, respectively compared to the control treatment with and without the existence of pathogenic fungus, which has 2.04 and 15.07 kg /plant, respectively .

المقدمة

يعد الفطر *F. solani* من المسببات الممرضة للنبات، إذ يهاجم البذور وجذور البادرات والنباتات مسببا تعفنها ويعد مرض تعفن جذور الباذنجان من اهم الامراض المنتشرة في مناطق زراعة الباذنجان ويسبب خسائر في المحصول تبلغ من 10– 80%.[23] . ونتيجة للأضرار التي أحدثتها المبيدات الفطرية في البيئة وظهور سلالات من الفطريات مقاومة لها ظهرت المكافحة الإحيائية كإحدى أهم البدائل المطروحة [10] وتعد المكافحة الإحيائية طريقة متخصصة في تأثيرها في مسببات أمراض النبات وطريقة أمنة ولاتسبب تلوث للبيئة ولا تحدث أي خلل بالموازنة الطبيعية للأحياء [24] معظم انواع هذه البكتريا تمتلك وسائل ميكانيكية للسيطرة على أمراض النبات ومنها المنافسة على الاوساط الغنية بالمواد الأولية واستحثاث المقاومة الجهازية في النبات ضد العديد من مسببات امراض النبات وإنتاج مضادات حيوية كما انها تشجع نمو النبات [15] لذلك هدفت هذه الدراسة الى :–

تقييم كفاءة البكتريا *P.fluorescens* ، *B.subtilis* و*B.cereus* في خفض شدة الإصابة بالفطر الممرض *F.solani* وكتسميد حيوي لنباتات الباذنجان تحت ظروف الظلة الخشبية والبيت البلاستيكي.

المواد وطرائق العمل

العزل والتشخيص

اخذت عينات من جذور نبات الباذنجان التي ظهرت عليها اعراض الاصابة بمرض تعفن الجذور من المناطق (المهناوية – ابو الجاسم – المشروع الكبير – الوطيفية – الوردية – البدعه) التابعة لمحافظة بابل غسلت بالماء الجاري لمدة 30دقيقة لإزالة الاتربة العالقة بها وقطعت الجذور إلى أجزاء صغيرة بطول 0.5 سم وعقمت سطحياً بغمرها بمحلول هايبوكلورات الصوديوم (0.02%) لمدة 2–3دقائق ، غسلت بعدها بماء مقطر معقم لمدة 2–3دقيقة ثم جففت بورق الترشيح المعقم ونقلت القطع بعدها بواسطة ملقط معقم الى أطباق بتري بقطر 9سم تحتوي على الوسط ألزرعي (Potato Dextros Agar). (200غم بطاطا و20غم سكر الدكستروز و20غم آكر في 1لتر ماء مقطر) والمضاف إليه المضاد الحيوي Tetracycline بتركيز 200ملغم/لتر وذلك بعد تعقيم الوسط بجهاز المؤصدة على درجة حرارة 121مْ وضغط 1.5 كغم / سم^2 لمدة 20دقيقة ، استخدمت 5قطع لكل طبق ، وضعت الأطباق في الحاضنة على درجة حرارة 25±2مْ لمدة 3أيام ، نقيت الفطريات المختلفة بنقل قطع صغيرة من أطراف الخيوط الفطرية ووضعها في مركز طبق بتري حاو على الوسط ألزرعي (P.D.A) وفحصت بالمجهر المركب تحت القوة الصغرى وشخصت الفطريات اعتماداً على الصفات الزرعية المظهرية بإتباع المفاتيح التصنيفية المعتمدة في [30 و 19].

الكشف عن العزلات الممرضة من الفطر *F. solani* باستخدام بذور اللهانة.

اختبرت المقدرة الامراضية لستة عزلات من الفطر *F.solani* (*Fs*1, *Fs*2, *Fs*3, *Fs*4, *Fs*5 , *Fs*6) وحسب طريقة [8] ، اذ تم تحضير أطباق بتري قطرها 9 سم تحتوي على 15–20مل من الوسط ألزرعي الاكر والماء Water Ager (20غم آكر ، 1لتر من الماء المقطر) والمعقم بجهاز المؤصدة لمدة 20 دقيقة والمضاف له المضاد الحيويTetracycline بتركيز 200ملغم/لتر وبعد تصلب الوسط تم تلقيح الأطباق في مركزها بقرص قطره 0.5سم أخذ من قرب حواف مستعمرة الفطر *F.solani* بعمر 7 أيام ، حضنت الأطباق في درجة حرارة 25±2مْ لمدة ثلاثة أيام ، بعدها زرعت بذور اللهانة (اختبرت نسبة إنباتها مسبقاً) معقمة سطحياً بمحلول هايبوكلورات الصوديوم (0.02%)وبصورة دائرية قرب حافة الطبق وبمعدل 25بذرة/طبق ، استعملت 4أطباق لكل عزلة كمكررات بالإضافة إلى معاملة المقارنة بدون فطر ممرض ، وضعت الأطباق في الحاضنة بدرجة حرارة 25± 2مْ ، أخذت النتائج بعد 7أيام وذلك بحساب النسبة المئوية للإنبات. البذور وفق المعادلة الآتية:

$$\% \text{ لإنبات البذور} = \frac{\text{عدد البذور النابتة}}{\text{العدد الكلي للبذور}} \times 100$$

ومنها استخرجت النسبة المئوية للتثبيط وفق المعادلة الآتية:-

$$\% \text{ التثبيط} = \frac{\text{معدل عدد البذور النابتة في المقارنة} - \text{معدل عدد البذور النابتة في المعاملة}}{\text{معدل عدد البذور النابتة في المقارنة}} \times 100$$

انتخبت العزلة واحده *F.solani* (*Fs*6) و التي أعطت أعلى نسبة قتل لبذور اللهانة لإجراء التجارب اللاحقة

تحضير لقاح عزلة الفطر *F. solani* (*F*.s6)

حضر لقاح عزلة الفطر *F.solani* (*Fs*6) باستعمال بذور الدخن المحلي *Panicum miliaceum* اذ اخذت البذور وغطست بالماء لمدة 6 ساعات بعدها تركت على ورق نشاف لمدة نصف ساعة لإزالة الماء الزائد منها و بدوارق سعة 250مل بمقدار 50غم/دورق ، عقمت البذور بجهاز المؤصدة تحت درجة حرارة 121م° وضغط 1.5 كغم\سم^2 ولمدة ساعة واحدة وبعد 24ساعة اعيد التعقيم ثم تركت الدوراق لتبرد. لقحت الدوارق التي وضعت فيها بذور الدخن 5 أقراص قطر 0.5سم من الوسط الزرعي PDA النامية علية العزلة ***F*.s6** بعمر 7 أيام. حضنت الدوارق في درجة حرارة 25±2م° لمدة 14 يوم مع رج الدوارق مرة كل 3 أيام لضمان التهوية وتوزيع الفطر على جميع البذور [12].

اختبار المقدرة التضادية لبكتريا *B.subtilis* ، *B.cereus* و *P.fluorescens* ضد الفطر *F.solani* (*F*.s6)

تحضير لقاح البكتريا *B.subtilis* ، *B.cereus* و *P.fluorescens* ضد الفطر *F.solani* (*F*.s6)

تم الحصول على عزلات البكتريا *B.subtilis* ، *B.cereus* و *P.fluorescens* من مختبر الدراسات العليا_ أمراض النبات / الكلية التقنية المسيب حيث جرى إكثارها على وسط .Nutrient broth في دوارق زجاجية سعة 250مل. عقمت الدوارق في جهاز الموصدة بدرجة حرارة 121مْ لمدة 15دقيقة ، بعد ذلك جرى تلقيح الوسط بكل من البكتريا المراد تحضيرها بأخذ مسحة بوساطة اللوب المعقم من النمو البكتيري النامي على وسط Nutrient agar وتم مزج مكونات الدوارق جيداً وحضنت بدرجة حرارة 37مْ لمدة 48ساعة [1] .

تحديد التركيز الفعال من العالق البكتيري المثبط لنمو الفطر الممرض *F. solani* (*F*.s6)

تم تحضير سلسلة من تخفيف عالق البكتريا *B.subtilis* بأخذ 1مل من الوسط السائل Nutrient broth النامية فيه البكتريا بواسطة محقنه طبية وأضيف إلى أنبوبة اختبار تحتوي على 9مل ماء مقطر معقم وتم تلقيح كل الأنابيب وذلك بأخذ 1مل من الأنبوبة الأولى بوساطة محقنه طبية معقمة كررت العملية على باقي الأنابيب للحصول على سلسلة من التخافيف 10^{-1} .... 10^{-10} بعدها جرى تلقيح الأطباق الحاوية على الوسط الزرعي P.D.A بأخذ (1مل/طبق) من كل تخفيف من العالق البكتيري على شكل بقع دائرية وضع في مركزها قرص بقطر 0.5سم أخذ من قرب حواف مستعمرة الفطر الممرض *F.solani* (*F.s6*) والمنماة على الوسط P.D.A بعمر 5 أيام كل على انفراد وبمعدل 4 اطباق لكل تخفيف وتركت أربعة أطباق لكل فطر للمقارنة من

دون تلقيح بالبكتريا أضيف لها 1مل ماء مقطر معقم وحضنت الأطباق بدرجة حرارة 25±2مْ مدة خمسة أيام بعد ذلك تم حساب مقدار التثبيط وذلك بحساب قطر مستعمرة الفطر النامي في معاملة البكتريا ومقارنتها بقطر مستعمرة الفطر النامي في معاملة المقارنة، وحسبت النسبة المئوية للتثبيط على وفق المعادلة الآتية:-

$$\% \text{ لتثبيط النمو الفطري} = [1- (\frac{\text{النمو الفطري في معاملة البكتريا}}{\text{النمو الفطري في معاملة المقارنة}})] \times 100$$

[25] واتعبت الطريقة نفسها لتحضير التركيز الفعال لبكتريا *B.cereus* و *P.fluorescens* المثبط لنمو الفطر *F.solani* (*F.*s6).

حساب الكثافة العددية للبكتريا *B.subtilis* ، *B.cereus* و *P .fluorescens*

بعد الحصول على اقل تخفيف مثبط من العالق البكتيري للفطر *F.solani* للأنواع البكتيرية الثلاثة والذي كان 10^{-6} لكل من *B.subtilis* و *B.cereus* و10^{-7} للبكتريا *P.fluorescens* ، حضرت أربعة أطباق بتري قطر9سم حاوية على الوسط ألزرعي N.A المعقم لكل نوع بكتيري ثم لقحت الأطباق بالعالق البكتيري من التخفيف المثبط للفطر وذلك بأخذ 1مل/طبق ثم حضنت الأطباق بالحاضنة في درجة حرارة 25±1 لمدة 48 ساعة بعد ذلك تم حساب عدد المستعمرات في كل طبق واستخرج عدد الخلايا البكتيرية في 1 مل [11] كما في المعادلة الاتية :-

عدد الخلايا البكتيرية /1 مل = معدل عدد المستعمرات النامية × مقلوب التخفيف.

تقييم_تأثير انواع البكتريا *B.subtilis* ، *B.cereus* و *P. fluorescens* في النسبة المئوية لشدة الإصابة بالفطر الممرض *F.solani* (*F.*s6)وبعض معايير النمو لنباتات الباذنجان تحت ظروف الظلة الخشبية .

نفذت التجربة في الظلة الخشبية في منطقة البدعة التابعة الى قضاء المحاويل بتاريخ 2012/3/7. اعتمد في هذه التجربة التصميم العشوائي التام (CRD) تم استخدام تربة مزيجية معقمة بغاز بروميد المثيل 500غم/م^3 تركت قبل الاستعمال لمدة 15يوم وزعت التربة في اصص بلاستيكية سعة 2كغم وزرع في كل اصيص شتلة من الباذنجان صنف برشلونة بعمر 28يوم وكررت كل معاملة أربع مكررات عوملت المعاملات كلا حسب طريقة أضافته ماعدا معاملة المقارنة بدون فطر ممرض وتضمنت المعاملات التالية:-

1-الفطر *F.solani* بمفرده 2- بكتريا *B.subtilis* بمفردها 3- بكتريا *B.cereus* بمفردها 4- بكتريا *P.fluorescens* بمفردها 5- بكتريا *B.subtilis* + بكتريا *P. fluorescens* 6- بكتريا *B.cereus* + بكتريا *P.fluorescens* 7- بكتريا *B.subtilis* + بكتريا *B.cereus* 8- مبيد Beltanol + الفطر *F. solani* 9- بكتريا *B.subtilis* + الفطر *F. solani* 10- بكتريا *B.cereus* + الفطر *F.solani* 11- بكتريا *P.fluorescens* + الفطر *F.solani* 12- بكتريا *B.subtilis* + بكتريا *P.fluorescens* +الفطر *F.solani* 13- بكتريا *B.cereus* + بكتريا *P.fluorescens* + الفطر *F.solani* 14- بكتريا *B.subtilis*

+ بكتريا *B.cereus* +الفطر *F. solani* 15– مقارنة غير ملوثة بالفطر *F. solani* (بذور دخن معقمة فقط).

أضيف لقاح البكتري *B. subtilis* و*B.cereus* و *P.fluorescens* قبل اسبوع من اضافة الفطر *F.solani* وبمعدل 15مل من عالق البكتريا لكل مكرر من التركيز 5×10^{7} ,5.5 × 10^{7} و4.5 × 10^{8} (وحدة تكوين مستعمرة/مل) على التوالي [18] وأضيف الفطر *F.solani* المحمل على بذور الدخن بنسبة 1% وزن/ وزن. للمعاملات التي تحتاج الى اضافة الفطر *F.solani* وأضيف المبيد الكيميائي Beltanol بتركيز 1مل\لتر وبمعدل 25مل\مكرر بعد يوم من اضافة لقاح الفطر الممرض [2]. سجلت النتائج بعد مرور 60 يوم من ألزراعة ي الأصص البلاستيكية .وتم حساب شدة اصابة تعفن الجذور حسب الدليل المرضي الاتي:-

0= جذر سليم

1 = تلون المجموع الجذري بلون بني بنسبة 1 –25% واصفرار 25% من عدد الأوراق

2= تلون المجموع الجذري بلون بني بنسبة أكثر 25–50% واصفرار 50% من عدد الأوراق

3= تلون المجموع الجذري بلون بني بنسبة أكثر 50–75% واصفرار 75% من عدد الأوراق

4= تلون المجموع الجذري بلون بني بنسبة 75– 100% وموت النبات

وحسبت النسبة المئوية لشدة الإصابة حسب معادلة [21]

$$\text{\% لشدة الإصابة} = \frac{(\text{عدد النباتات في الدرجة } 0\times0) + \ldots + (\text{عدد النباتات في الدرجة } 4\times4)}{\text{عدد النباتات المفحوصة} \times 4} \times 100$$

كما تم اخذ الوزن الطري والجاف للمجموع الخضري والجذري ، وقياس طول الساق و الجذر وحساب عدد الازهار لنباتات الباذنجان.

تقييم تاثير انواع البكتريا *B.subtilis* و*B.cereus* و, *P. fluorescens* في النسبة المئوية لشدة الإصابة بالفطر الممرض *F. solani* (*F.s6*)وكتسميد حيوي لنباتات الباذنجان تحت ظروف البيت البلاستيكي .

نفذت التجربة الحقلية في 2012/10/20 في منطقة البدعة باستخدام التصميم العشوائي الكامل C.R.D في البيت البلاستيكي حيث تم إعداد الأرض بحراثة التربة وتسويتها جيدا ثم قسمت إلى 3 قطاعات والى مروز بطول 1متر المسافة بين مرز وأخر 50سم وكل مرز يحتوي 6 شتلات باذنجان بعمر 30يوم وبواقع أربع مكررات لكل معاملة وتضمنت التجربة المعاملات المذكورة في تجربة الظلة الخشبية .

أجريت عملية إضافة اللقاح الفطري بعمل شق بعمق 15سم على امتداد المرز اسفل النبات ثم أضيف لقاح الفطر الممرض في الشق وعلى جوانبه محملا على بذور الدخن المحلي بنسبة 1% وزن/ وزن وبمعدل 100 غم لكل نبات [4] وتمت إضافة بكتريا المكافحة الاحيائية *B.cereus*،*B.subtilis* و*P.fluorescence* مع ماء الري بمعدل 100 مل/ نبات بتركيز 5×10^{7}، 5.5×10^{7} و 4.5×10^{8} (وحدة تكوين مستعمرة/مل) على التوالي. قبل اسبوع من التلويث بالفطر الممرض [2] وأضيف المبيد الكيميائي Beltanol بتركيز 1مل/لتر بعد يوم واحد من اضافة الفطر الممرض [2] اما معاملة المقارنة فقد اضيف اليها بذور دخن معقم فقط في حين ان المعاملات التي استعمل فيها البكتريا *B.subtilis*، *B.cereus* و*P.fluorescence* بمفردها فقد اتبعت فيها الخطوات السابقة نفسها عدا كونها غير ملقحة بلقاح الفطر وقد تم حساب النتائج بتاريخ 20 /2013/6 وتم حساب شدة الإصابة على الجذور حسب الدليل المرضي المذكور في تجربة الظلة الخشبية وحساب طول المجموع الخضري الجذري والوزن الرطب والوزن الجاف لهما ووزن الثمار.

النتائج والمناقشة

العزل التشخيص

أظهرت نتائج العزل والتشخيص وجود الفطر *F.solani* في جميع العينات المصابة التي جمعت من المناطق المدروسة ، وتمثلت الصفات المظهرية لهذا الفطر في مستعمراته التي عزلت من جميع المناطق بتكوين غزل فطري ابيض كريمي واظهر الفحص المجهري تكوين الفطر ثلاثة انواع من الابواغ ، ابواغ صغيرة (Microconidia) بيضوية أو اهليليجية الشكل معقوفة او نحيفة تحوي 1 أو 2 حاجز وقد لاتحتوي على حواجز وهذه الابواغ مفردة الفاليدات و أبواغ كبيرة (Macroconidia)عريضة ومستقيمة ومنتفخة ذات تقوس مستدير تحوي 5–7 من الحواجز الخلية القمية رمحية او دائرية والخلية القاعدية قدمية الشكل والنوع الثالث من الابواغ هو الابواغ الكلاميدية (Chlamydospore) التي تنتج مفردة أو بشكل أزواج وأحياناً تكون على شكل سلاسل قصيرة كروية او بيضوية في فروع جانبية صغيرة او وسط الغزل الفطري وتكون اما ملساء او خشنة وباتباع المفاتيح التصنيفية الواردة في [30 و 25].

اختبارالمقدرة الامراضية لعزلات الفطر *F.solani* باستعمال بذوراللهانة على الوسط W.A

بينت نتائج اختبار تاثير العزلات على بذور اللهانة (جدول1) إن عزلات الفطر *F.solani* المختبرة أحدثت خفضاً معنوياً في إنبات بذور اللهانة قياساً إلى معاملة المقارنة التي بلغت نسبة الانبات فيها 99.00% وتباينت العزلات فيما بينها في خفض نسبة الانبات فقد إحتلت العزلة *F.solani* (*F.*s6) (عزلة البدعة) المرتبة الاولى في خفض النسبة المئوية للانبات إذ بلغت 0.00% تلتها العزلة (*Fs*1) (عزلة المهناوية) التي بلغ معدل نسبة انبات البذور فيها 4.00% في حين تراوحت النسب المئوية للانبات في باقي العزلات ما بين 9.00 – 26.00% وقد يعود سبب إختلاف العزلات في مقدرتها الامراضية وتأثيرها في النسبة المئوية لانبات بذور اللهانة الى تباين العزلات في مقدرتها على انتاج السموم فقد أشارت العديد من الدراسات إلى أن الفطر *F.solani* له القابلية على إفراز العديد من السموم منها Fusarubin و Javanicin و Anhydrofusarubin

و Protenoneons و Polypetide التي تكون ذات تاثير سام مما يودي الى قتل الجنين تؤدي دورا مهما في امراضية الفطر [20]. ومن نتائج هذا الاختبار تم إختيار العزلة الاكثر خفضاً لانبات بذور اللهانة وهي *F.solani* (*F.*s6) لإجراء اختبار المقدرة الإمراضية على نباتات الباذنجان.

جدول (1) اختبار القدرة الامراضية لعزلات للفطر *F.solani* باستعمال بذور اللهانة على الوسط W.A.

العزلات	% للإنبات	% للتثبيط
Fs6	00.00	100
Fs1	4.00	95.95
Fs4	9.00	90.90
Fs3	15.00	84.84
Fs2	23.00	76.76
Fs5	26.00	73.73
المقارنة	99.00	00
L.S.D	2.64	1.819

* كل رقم يمثل معدل اربع مكررات.

حساب الكثافة العددية واختبار المقدرة التضادية لبكتريا *B.subtilis* و *B.cereus* و *P. fluorescens* ضد عزلة الفطر *F. solani* (*F.*s6)على وسط PDA:-

اظهرت نتائج الكثافة العددية للبكتريا *P.fluorescens* ، *B.subtilis* و *B.cereus* 4.5×10^8 ، 5×10^7 و 5.5×10^7 (وحدة تكوين مستعمرة/مل) على التوالي. وبينت نتائج المقدرة التضادية (جدول 2) ان البكتريا *P.fluorescence* ذات كفاءة تثبيطية عالية ضد عزلة الفطر الممرض *F. solani* (*F.*62) بتركيز 4.5×10^8 وحدة تكوين مستعمرة/ مل اذ بلغت نسبة التثبيط 94.5% قياسا لمعاملة المقارنة التي كانت نسبة التثبيط فيها صفرا. قد يرجع الفعل التثبيطي للبكتريا *P.fluorescens* الى انتاجها لانزيم B-1,3-glucanase المثبط للعديد من الفطريات وانتاجها مركبات خالبة للحديدIron-chealating siderophores ومن ثم التنافس مع الفطريات على عنصر الحديد[5] او التنافس على المغذيات الاخرى خاصة الكربون إذ تمتلك قدرة تنافسية عالية ضد اجناسspp *Pythium* وspp *Fusarium* [14]. كما وبينت النتائج قدرة بكتريا *B.subtilis* على تثبيط عزلة الفطر الممرض(F.s6) *F. solani* بتركيز 5×7 10 (وحدة تكوين مستعمرة /مل)على الوسط الزرعي PDA ، فقد أظهرت العزلة البكتيرية كفاءة عالية في تثبيط النمو الفطري إذ بلغت نسبة التثبيط 86.2% ويعزى سبب ذلك إلى قدرة البكتريا على النمو بصورة سريعة ومن ثم انتشارها على الوسط الزرعي PDA و تثبيط الفطر الممرض وكذلك يعود السبب إلى قدرة هذه البكتريا على إنتاج العديد من المضادات الحيوية مثل Subtiline و Bacitracin و Bacillomycin و Bacillin والتي تقوم بتثبيط نمو الفطر الممرض [32].

جدول (2) اختبار المقدرة التضادية للبكتريا ، *B. subtilis* و *B.cereus* *P. fluorescens* ضد عزلة الفطر *F. solani* (*F.*s6)على الوسط PDA

المعاملة	معدل نمو الفطر *F.solani* في الطبق (سم)	النسبة المئوية للتثبيط %
F .solani (*F.* s6) + *P.fluorescens*	0.5	94.5
F .solani (*F.* s6) + *B. subtilis*	1.25	86.2
F .solani (*F.* s6) + *B. cereus*	2.56	71.6
عزلة الفطر *F . solani* (*F.*s6) بمفرده	9.00	0.0
L.S.D	0.32	2.47

* كل رقم في الجدول يمثل معدلاً لأربعة مكررات

كما ان استخدام البكتريا *B.cereus* وبتركيز 5.5, × 10^{7} وحدة تكوين مستعمرة / مل أدى الى تثبيط نمو عزلة الفطر الممرض(*F.s*6) *F.solani* على الوسط الزرعي PDA ، إذ بلغت نسبة التثبيط 71.6%. ويعود سبب قدرة هذه البكتريا على تثبيط الفطر الممرض(*F.s*6) *F.solani* إلى إنتاجها المضادين الحيويين Zwittermicin A و Kanosamicin إضافة إلى إنتاجها عدداً من الأنزيمات مثل إنزيم Endogluconase وإنزيم Chitinase الذي يقوم بتحطيم مادة الكايتين الموجودة في جدران الخلايا الفطرية وإنزيم Gluconase و Protease التي تقوم بتحطيم مكونات الخلية الفطرية[6 31].

تقييم تأثير البكتريا *B.subtilis* و *B.cereus* و *P. fluorescens* في النسبة المئوية لشدة الإصابة بالفطر الممرض *F.solani* (*F.*s6)وبعض معايير النمو لنباتات الباذنجان تحت ظروف الظلة الخشبية

بينت نتائج هذه الدراسة (جدول3) أن جميع معاملات عوامل المقاومة الاحيائية المستخدمة أدت إلى خفض معنوي في النسبة المئوية لشدة إصابة نباتات الباذنجان بعزلة الفطر الممرض *F.solani* مقارنة بمعاملة الفطر الممرض بمفرده. فقد حققت البكتريا *B.subtilis* +*P.fluorescens* وبكتريا *B.cereus* + *P.fluorescens* وبكتريا *B.subtilis* + *B.cereus* بوجود الفطر الممرض أعلى نسبة خفض في النسبة المئوية لشدة الإصابة لنباتات الباذنجان إذ بلغت 6.25% و6.25% و12.5% على التوالي قياسا بمعاملة المقارنة الفطر الممرض بمفرده والتي بلغت 81.25% وان تفوق عوامل المقاومة الاحيائية في خفض النسبة المئوية لشدة الإصابة ربما يعود إلى التأثير التازري فيما بينها في تحفيز المقاومة الجهازية للنبات وتحفيز نمو النبات والسيطرة على مسببات امراض النبات [36]. أما بالنسبة لمعاملات البكتريا *P.fluorescens* ، *B.subtilis* و *B.cereus* مع الفطر الممرض *F.solani* (*Fs*6) فقد حققت خفضاً معنوياً في النسبة المئوية لشدة الإصابة والتي بلغت 12.5% ، 12.5% و 25.0% مقارنة مع معاملة الفطر الممرض *F.solani*

(*Fs*6) بمفرده ، ويعود سبب ذلك نتيجة لقدرة بكتريا *P.flourescens* على إنتاج أنواع مختلفة من المضادات الحيوية مثل Oomycin و Pyrolnitrin و Phloroglucinal و Pyrroles ضد الفطريات الممرضة [32] . كذلك تقوم البكتريا بتحفيز المقاومة الجهازية في النباتات مما يؤدي ذلك الى إنتاج مركبات مثبطة للفطر الممرض مثل Phytoalexin [7]. اما سبب قدرة البكتريا *B.subtilis* في تخفيض النسبة المئوية لشدة الإصابة بالفطر الممرض يعود الى المنافسة على المواد المهمة للنمو مثل إفرازات الجذور والمواد الغذائية إضافة إلى قدرة البكتريا على إنتاج مضادات حيوية تعمل على تحليل سايتوبلازم الخيوط الفطرية للفطر *F.solani* [32] كما ويعزى قدرة البكتريا *B.cereus* على توفير حماية للنبات من الإصابة بالفطر الممرض لما تمتلكه من قدرة على إنتاج المضاد الحيوي Zwittermicine A والذي يمتاز بفاعلية تضادية للعديد من الفطريات وكذلك تستطيع بكتريا *B.cereus* إنتاج العديد من الأنزيمات المحللة Enzyme hydrolytic مثل إنزيم Cellulase الذي يكون فعالاً في تحطيم مادة السيليلوز وإنزيم Chitinase و Chitosanase اللذين يعملان على تحطيم مادة الكايتين الموجودة في جدران خلايا الفطريات وخاصة الفطريات الراقية [34] . وأشارت النتائج (جدول3) إلى أن جميع معاملات اضافة اكثر من نوع بكتيري قد حقق زيادة معنوية في الوزن الطري والجاف و طول المجموع الخضري والجذري مقارنة بمعاملة الفطر الممرض *F.solani* (*Fs*6) بمفرده، فقد أظهرت المعاملة مابين بكتريا *B.subtilis* وبكتريا *P.fluorescens* بوجود الفطر الممرض أعلى قيمة في الوزن الطري والجاف و طول المجموع الخضري والجذري وعدد الازهار فقد بلغت 547.50 و 44.00 و 105.25 و 8.55 غم و 28.00و 15.00سم و12 على التوالي. كذلك حققت المعاملة مابين بكتريا *P.fluorescens* وبكتريا *B.cereus* بوجود الفطر الممرض زيادة معنوية في الوزن الطري والجاف و طول المجموع الخضري والجذري وعدد الازهار إذ بلغت 507.25 و 43.00 و 102.75و 8.32غم و 27.00 و14.00 سم و12 على التوالي مقارنة بمعاملة الفطر الممرض بمفرده. كذلك المعاملة ما بين بكتريا *B.subtilis* وبكتريا *B.cereus* بوجود الفطر الممرض حققت زيادة معنوية في الوزن الطري والجاف و طول المجموع الخضري والجذري إذ بلغت 470.25 و 41.00 و 90.00 و 8.00 غم و25.00 و12.00سم على التوالي وعدد الأزهار بلغ 18.00 قياسا مع معاملة الفطر الممرض بمفرده فقد بلغت 45.00 و4.32 و8.49 و 1.11غم و15.00 و7.00سم و 0.00 على التوالي. مقارنة بمعاملة الفطر الممرض بمفرده. وقد يعزى ذلك إلى قدرة بكتريا *B.subtilis* على استعمار منطقة الجذور ومنافستها مع الفطر الممرض على المواد الغذائية والمكان وإفرازات الجذور التي تعتبر عوامل أساسية لنمو البكتريا في الجذور وبالتالي إبعاد المسبب المرضي عن منطقة الجذور[16]. كما ويعود سبب ذلك إلى قدرة البكتريا على إفراز المواد المضادة المثبطة لنمو المسببات المرضية وكذلك تحفيزها للمقاومة الجهازية في النباتات كما تقوم بكتريا *B.subtilis* باستعمار جذور النباتات فتصبح قوية وسليمة وتتحمل عوامل الإجهاد التي يتعرض لها النبات [29] ولبكتريا *B.subtilis* القدرة على إنتاج العديد من المضادات الحيوية مثل Subtenolin و Bacillin و Bacillomycin و Bactracin والتي تعمل على تحلل سايتوبلازم الخيوط الفطرية وتشوه قمم الخيوط الفطرية [33 و32]. ولبكتريا *B.cereus* القدرة

على استعمار منطقة الجذور والعيش في جميع الأنظمة الزراعية المختلفة بصورة طبيعية [22]. كذلك تمتلك بكتريا *B.cereus* القدرة على تثبيط العديد من الممرضات النباتية نتيجة لقدرتها على تحطيم المادة ما بين الخلايا وجدران خلايا هذه الممرضات[6].

جدول (3) تأثير البكتريا *B.subtilis* و*B.cereus* و*P. fluorescens* في النسبة المئوية لشدة الإصابة بالفطر الممرض *F.solani* (*F.*s6)وبعض معايير النمو لنباتات الباذنجان تحت ظروف الظلة الخشبية

ت	المعاملة	شدة الاصابة للجذر	وزن المجموع الخضري (غم)		وزن المجموع الجذري (غم)		الطول (سم)		عدد الازهار
			الطري	الجاف	الطري	الجاف	الساق	الجذر	
1	*F. solani*	81.25	45.00	8.49	4.32	1.11	15.00	7.00	0.00
2	*B.s* بمفردها	0.00	470.25	90.00	56.00	11.21	38.00	22.00	18.00
3	*B.c* بمفردها	0.00	436.25	89.00	55.00	10.91	37.00	21.00	16.00
4	*P.f* بمفردها	0.00	481.75	94.00	58.00	11.90	40.00	24.00	20.00
5	*P.f* + *B.s*	0.00	570.75	114.50	65.00	13.52	50.00	29.00	26.00
6	*P.f* + *B.c*	0.00	543.25	107.67	63.00	12.92	48.00	27.25	24.00
7	*B.c* +*B.s*	0.00	501.50	100.72	61.00	12.20	45.00	26.25	22.00
8	*F.s* + Beltanol	6.25	372.00	78.00	46.00	8.80	30.00	16.00	13.00
9	*F.s* + *B.s*	12.5	432.75	81.00	36.00	7.15	21.00	10.25	14.00
10	*F.s* + *B.c*	25.00	400.75	77.00	33.00	6.80	20.00	9.00	13.00
11	*F.s* + *P.f*	12.5	450.50	90.00	38.00	7.51	23.00	11.00	14.00
12	*F.s*+ *P.f* +*B.s*	6.25	547.50	105.25	44.00	8.55	28.00	15.00	12.00
13	*F.s*+ *P.f* +*B.c*	6.25	507.25	102.75	43.00	8.32	27.00	14.00	12.00
14	*F.s*+*B.c*+*B.s*	12.5	470.25	90.00	41.00	8.00	25.00	12.00	18.00
15	المقارنة	0.00	392.00	80.75	48.00	9.20	32.00	18.00	14.00
	L.S.D	1.06	4.08	4.32	1.95	0.23	2.03	1.50	1.85

* كل رقم في الجدول يمثل معدلاً لأربعة مكررات *F.s* = *F.solani* ، *B.s* = *B.subtilis* ، *B.c* = *B.cereus* *P.f* = *P. fluorescens*

تقييم تأثير البكتريا *B.subtilis* و *B.cereus* و *P. fluorescens* في النسبة المئوية لشدة الإصابة بالفطر الممرض *F. solani* (*F*.s6)وكتسميد حيوي لنباتات الباذنجان تحت الظروف البيت البلاستيكي

بينت نتائج الدراسة الحقلية (جدول4) أن جميع معاملات عوامل المقاومة الاحيائية *B.subtilis* + *P.fluorescens*وبكتريا *B.cereus* + *P.fluorescens* وبكتريا *B.subtilis* + *B.cereus* بوجود الفطر الممرض قد حققت اقل شدة اصابة والتي بلغت 11.75 13.00 و 14.25% على التوالي قياسا الى معاملة المقارنة الفطر الممرض بمفرده والتي كانت شدة الاصابة فيها 85.00 %..وقد يعزى سبب تفوق معاملات اضافة اكثر من عامل في خفض النسبة المئوية لشدة الإصابة بوجود الفطر الممرض إلى التأثير التازري مابين عوامل المقاومة الإحيائية المستخدمة في التجربة كونها تعمل معاً وبصورة متعاونة في تحفيز المقاومة الجهازية للنبات ضد المسببات المرضية [17] .أما بالنسبة إلى معاملة البكتريا *P.fluorescens* مع عزلة الفطر الممرض *F.solani* (*F*s6) فقد حققت خفضاً معنوياً في النسبة المئوية لشدة الإصابة إذ بلغت 16.75% مقارنة مع معاملة الفطر الممرض بمفرده. ويعود سبب ذلك لما تمتلكه بكتريا *P.fluorescens* من آليات فعالة في كبح الممرض النباتي فهي تجعل المجموع الجذري أكثر مقاومة للإصابة بممرضات الجذور من خلال تحفيز جينات المقاومة [9] وكذلك إنتاج البكتريا للعديد من المركبات المضادة في كبح العديد من المسببات المرضية والتي تسمى Antifungal compound ومنها المضاد الحيوي Pyrrolinitrin والمضاد الحيوي Pyoluteorin وكذلك إنتاج مركبات Siderophore والتي تعمل على خلب الحديد وبذلك يمنع الفطر الممرض من عنصر الحديد الضروري لنمو الأحياء الدقيقة [37]. كما ان السلالات التابعة للبكتريا *P.fluorescens* تعمل على احداث تغيرات تركيبية في الجدار الخلوي وتجمع للجراثيم في الأماكن التي يحاول الفطر الدخول فيها إلى النبات ولاسيما الشعيرات الجذرية وبذلك تمنع الاختراق الفطري لهذه الخلايا وتقلل نسبة الإصابة بالمرض [3].

كذلك حققت معاملتي البكتريا *B.subtilis* و*B.cereus* مع الفطر الممرض خفضاً معنوياً في النسبة المئوية لشدة الإصابة بالفطر الممرض *F.solani* (*F*s6) فقد بلغت 18.25% و 20.25% على التوالي مقارنة مع معاملة الفطر الممرض بمفرده. ولبكتريا *B.subtilis* القدرة في السيطرة على العديد من المسببات المرضية الفطرية نتيجة لقدرتها على تحفيز المقاومة الجهازية في النباتات وإنتاج الفايتوالكسين كذلك قدرتها على إنتاج العديد من المضادات الحيوية التي تعمل على تحلل سايتوبلازم الخيوط الفطر وتشوه قمم الخيوط الفطرية [25 و39]. وقدرة بكتريا *B.cereus* على تثبيط الفطر الممرض *F.solani* إلى اذ تنتج بكتريا *B.cereus* أنواع مختلفة من المركبات التي لها القدرة على كبح الممرضات النباتية وهذه المركبات تشمل مضادات حيوية ببتيدية وأنزيمات محللة مثل Protease و Chitinase و Gluconase [36].

كما وحققت معاملات البكتريا *B.subtilis* + *P.fluorescens* و *P.fluorescens* + *B.cereus* و*B.subtilis* + *B.cereus* بوجود الفطر الممرض زيادة معنوية في جميع مؤشرات النمو المدروسة لنباتات الباذنجان ، فقد بلغ الوزن الطري والجاف و طول المجموع الخضري والجذري ووزن الثمار لكل منها

1244.06 غم ، 135.30غم ، 209.12غم ، 27.90غم ،103.00سم ، 24.37سم و 16.32 كغم و1030.17غـم، 122.29غـم ، 193.56غـم ، 23.45غـم ، 95.00سـم،24.62 سـم و 14.69كغـم و960.68غم و 109.46غم و 166.73غم و 21.50 غم و 85.11سم و 21.00سم و 13.31 كغم على التوالي مقارنة مع معاملة الفطر الممرض بمفرده والتي بلغت 60.55 غم و 4.00 غم و 12.25غم و1.16غم و21.37 سم و 12.25 سم و 2.04 كغم على التوالي. ويعزى سبب زيادة مؤشرات النمو في معاملات الجمع بين عوامل المقاومة الاحيائية نتيجة لاستخدام مختلف الميكانيكيات التي تمتلكها هذه الكائنات ضد الممرضات النباتية، وكذلك قد يعود السبب إلى التعاون ما بين آليات عوامل المقاومة الإحيائية المستخدمة بالتجربة ومن هذه الآليات التحفيز على إنتاج منظمات النمو والتي تلعب دور مهم في عملية نمو النبات [13]. إذ تمتلك بكتريا *P.fluorescens* العديد من الآليات المختلفة التي تعمل على كبح مختلف الممرضات النباتية وأهمها إنتاج العديد من المضادات الحيوية وتحفيز المقاومة الجهازية والتنافس على ايون الحديد [21] . ولبكتريا *P.fluorescens* القدرة على إنتاج مركبات Siderophore التي تعمل على جذب ايونات الحديد الموجودة في التربة وبذلك تعمل على حرمان المسببات المرضية من ايون الحديد [28] . كذلك تنتج البكتريا العديد من الأنزيمات المهمة مثل إنزيم Chitinase وإنزيم glucanase 3 , 1- β [26] . كذلك تمتلك هذه البكتريا القدرة على إنتاج هرمونات نباتية تعمل على تنظيم نمو النبات مثل هرمون auxin و gibblerellin و cytokinin [38 و 28]. كذلك للبكتريا *B.subtilis* القدرة على إنتاج منظمات النمو مثل Indol Acetic Acid (IAA) و GA3 وهذه بدورها تعمل على زيادة معدل انقسام الخلايا وارتفاع مستوى الأيض داخل الخلايا [35].

جدول (4) تاثير البكتريا *B.subtilis* ،*B.cereus* و*P. fluorescens* في النسبة المئوية لشدة الإصابة بالفطر الممرض *F. solani* (*F.*s6) وكتسميد حيوي لنباتات الباذنجان تحت الظروف البيت البلاستيكي.

ت	المعاملة	شدة الاصابة للجذر	وزن المجموع الخضري (غم)		وزن المجموع الجذري (غم)		الطول (سم)		وزن الثمار (كغم)
			الطري	الجاف	الطري	الجاف	الساق	الجذر	
1	*F. solani*	85.00	60.55	12.52	4.00	1.16	21.37	12.25	2.04
2	*B.s* بمفردها	0.00	870.36	167.35	101.30	22.15	90.00	29.56	15.57
3	*B.c* بمفردها	0.00	803.31	159.43	96.28	20.29	88.00	28.75	14.82
4	*P.f* بمفردها	0.00	970.35	183.95	115.52	24.25	96.50	30.25	17.31
5	*P.f* + *B.s*	0.00	1352.88	253.56	156.46	37.16	127.00	36.00	19.31
6	*P.f* + *B.c*	0.00	1170.42	215.26	154.57	35.75	112.00	33.00	18.34
7	*B.c* +*B.s*	0.00	1012.50	191.01	149.56	34.27	100.75	32.00	17.93
8	+Beltanol *F.s*	10.50	610.20	119.27	63.50	14.23	67.00	26.08	12.14
9	*F.s* + *B.s*	18.25	772.95	149.22	92.28	18.19	78.00	23.00	12.86
10	*F.s* + *B.c*	20.25	720.47	125.20	78.37	16.16	73.00	23.55	11.18
11	*F.s.* + *P.f*	16.75	821.42	181.32	102.07	20.38	82.75	26.00	14.09
12	*F.s*+*P.f* +*B.s*	11.75	1244.06	209.12	135.30	27.90	103.00	24.37	16.32
13	+*P.f* +*B.c* *F.s*	13.00	1030.17	193.56	122.29	23.45	95.00	24.62	14.69
14	+ *B.s* *F.s*+*B.c*	14.25	960.68	166.73	109.46	21.50	85.11	21.00	13.31
15	المقارنة	0.00	880.38	172.48	107.12	21.14	85.50	26.00	15.07
	L.S.D	1.48	1.30	2.74	1.86	1.13	2.41	1.81	9.19

* كل رقم في الجدول يمثل معدلاً لأربعة مكررات *F.solani* = *F.s* ، *B.subtilis* = *B.s* ، *B.cereus* = *B.c* و *P. fluorescens* = *P.f*

اما البكتريا *B.cereus* فلها القدرة على تثبيط الفطر الممرض *F.solani* إلى إنتاجها المضادين الحيويين Zwittermicin A و Kanosamicin إضافة إلى إنتاجها عدداً من الأنزيمات مثل إنزيم Endogluconase وإنزيم Chitinase الذي يقوم بتحطيم مادة الكايتين الموجودة في جدران الخلايا الفطرية وإنزيم Gluconase و Protease التي تقوم بتحطيم مكونات الخلية الفطرية [31].

المصادر

1-العيساوي، ذياب عبد الواحد فرحان.2006. عزل وتشخيص بعض الفطريات المرافقة لمرض موت بادرات وتعفن جذور الرقي ومقاومتها بالطرق الإحيائية والكيماوية. رسالة ماجستير. الكلية التقنية- المسيب .

2- حسون، إبراهيم خليل. 2005. المكافحة البايلوجية والكيمائية لمسبب مرض تقرح ساق البطاطا *Rhizoctonia solani* أطروحة دكتوراه. كلية الزراعة. جامعة بغداد.

3- عبد الرضا، امل صالح وكاظم جاسم حمادي وميثم ايوب الحمداني. 2010. تقييم كفاءة بعض عزلات جراثيم *Pseudomonas fluorescens* في حماية نباتات الطماطة من الاصابة بالفطر *Fusarium oxysporum* f.sp *lycopersici* مع دراسة نسيجية لجذر العائل.مجلة ابحاث البصره.العدد(36) الجزء (6).

4- فياض، محمد عامر. 1997. استجابة تراكيب وراثية مختلفة من زهرة الشمس *Helianthus annus* L. للإصابة بالفطر *Macrophomina phaseolina* ودور بعض الطرق الاحيائية في المقاومة. اطروحة دكتوراه، كلية الزراعة – جامعة بغداد .

5- Al-Whaibi, M. H. 2006. Role of diazotrophic bacteria in some non – leguminous plant J Saudi Soc. For Agric. Sci. 5 (2).

6- Bacon, C.W.; and D.M. Hinton. 2005. Tentative identification of *Bacillus mojavensis* antifungal inhibitor. Phytopathology. (Abstract). 95 : 55.

7- Bakker, P. A. H. M., L. X. Ran, C. M. J. Pieterse and L. C. Vanloon. 2003. Understanding the involvement of rhizobacteria-mediated induction of systemic resistance in biocontrol of plant disease Can. J. Plant Pathol., 25: 5-9 .

8 - Bolkan, H.H.; and E.E. Butler. 1974. Studies on Heterokaryosis virulence of *Rhizoctonia solani*. Phytopathology 64: 513–522.

9 - Carvajal, M.M.C.; A.H.M.Wijfjes; I.H.M. Mulders; B. J.J. Lugtenberg; and G.V. Bloemberg. 2002. Characterization of NADH dehydrogenases of *Pseudomonas fluorescens* WCS365 and their role in competitive Root colonization . Molecular Plant-Microbe Interactions(MPMI). 15(7) : 662–671

10- Compant, S.; B. Duffy; J. Nowak; C. Clement; and E. Actbarka . 2005. Use of plant growth promoting bacteria for bio control of plant diseases: principles, mechabism of action and future prospects. Applied and Environmental Microbiol. 71(9): 4951 – 4959.

11-Clark, F.E. 1965. Agar-plats method for total microbial count. C. F: Black,1965. method of soil analysis part. 2. Publisher Madison Wisconson U.S.A. pp. 1572.

12- Dewan, M.M. 1989. Identify and frequency of occurrence of fungi in root of Wheat and ryegrass and their effect on take – all and host growth. Ph.D. thesis. Univ. west australia.210 pp.

13- Domenech, J.; M.S. Reddy; J.W. Klopper; B. Ramos; and J. Gutierrez-Manero. 2006. Combined application of the biological product LS213 with *Bacillus, Pseudomonas* or *Chrysebacterium* for growth promotion and biological control of soil-borne disease in pepper and tomato. Biocontrol. 51:245-258.

14- Elad, Y. and I. Chat. 1987. Possible rote of competition for nutrient in biocontrol of *Pythium* damping off by bacteria. Phytopathology, 77: 190-195 .

15- Haas, D.; and G. Défago. 2005. Biological control of soil-borne pathogens by fluorescent Pseudomonads . Nature ,Reviews Microbiology, 3 (4) : 30-319.

16 - Handelsman, J.; and E.V. stabb.1996. Biocontrol of soil borne plant pathogen. Plant cel, 8:1855-1859.

17- Latha, P.; T. Anand; N. Ragupathi; V. Prakasam; and R. Samiyappan. 2009. Antimicrobial mactivity of plant extracts and induction of systemic resistance in tomato plants by mixtures of PGPR strains and zimmu leaf extract against *Alternaria solani*. Biological Control. 50: 85–93.

18 - Larkin, R.P. 2004. Development of integrated biological and cultural approaches for control of powdery scab and other soil borne disease . USDA , ARS , New England plant , soil , and Water lab Univer. of Maine , Orone , MEO 44469 WWW- Maine potatoes. com / pdf/potresgrant-04.

19 - Leslie, J.F.; and B.A. Summerell. 2006 . The *Fusarium* Laboratory manual . 388 PP.

20 - Lozovaya, V. V. A. V. Lygin, O. V. Zernova , S. Li , J. M. Windholm , and G. L.Hartman. 2006. Lignin degradation by *Fusarium solani*. plant Dis. 9: 77 – 82.

21 - Mckinney, H.H. 1923. Influence of soil temperature and moisture on infection of wheat seedling by *Helminthosporum sativum*. J. Agric. Research 26: 195 – 217

22- Mcspadden-Gardener, B.B. 2004. Ecology of *Bacillus* and *Panenibacillus* spp. In agricultural sgstems. The American Phytopathological Society, 94: 1252-1258.

23 -Miller, S.A.; R. M. Riedel; and R.C. Row .1995. Damping – off and root rot of Beans , department of plant pathology. The Ohio State University Extension Fact Sheet.

24- Montealegre, J.R.; R. Herrera; J.C. Velasquez; P. Silva; X. Besoain; and L. M. Perez. 2005. Environ. Biotechnol., 8(3): 15-24.

25- Montealegre, J. R.; R.Rodrigo; P.M. Luz.; H. Rodrigo; S.polyana; and B. Ximena. 2003. Selection of bioantagonstic bacteria to be used in biological contro of *Rhizoctonia solani* in tomato.J. Biotec. 6:115 –127.

26-Nielson, M.N.; J.Soreensen; J.Fels; and H.C.Pdersen. 1998. Secondary metabolite and endochitinase dependent antagonism toward plant pathogenic microfungi of *Pseudomonas fluorescens* isolates from sugar beet rhizosphere . Applied and Environmental Microbiology 64: 3563-3569.

27- Ryu, C.M.; M. A. Farag; C.H. Hu; M. S. Reddy; H.X. Wei; P.W. Pare; and J.W. Kloepper. 2003. Bacterial volatiles promote growth in Arabidopsis. Proc. Natl. Acad. Sci.,100 :4927-4932 USA .

28- Scher, F.M.; and R. Baker. 1982. Effect of *Pseudomonas putida* and synthetic iron chelator on induction of soil suppresiveness to Fusarium wilt pathogens. Phytopathology. 72: 1567-1573.

29-Schisler, D. A.; N.I. Khan; and P.J. Slinger. 2002. Green house and field evaluation of biological control of Fusarium head blight on durum wheat. Plant Dis. 86: 1350 – 1356.

30 -Seifert, K. 1996. Fuskey, *Fusarium* interactive key Agriculture and Agri- food Canada.

31-Shang, H.; J. Chen; J. Handelsman; and R.M. Goodman.1999. Behavior of *Pythium torulosum* zoospores during their interactionwith tobacco roots and *Bacillus cereus*. Current Microbiology. International Journal 38: 199-204 . Springer-Verlag. New York .,

32-Sharma, R. C.; S.K. Vasal; B.K. Fernarido Gan zalez; and N.N. Singh. 2002. Redress al of Banded Leef and Sheath blight of Maize through breeding chemical and biocontrol agent. Proceeding of the 8th Asia Regional Maize Workshop , Bankok, Thailand. August 5-8,2002.

33- Shoda, M.; and O. Asaka. 1996. Biocontrol of *Rhizoctonia solani* Damping off of Tomato with *Bacillus subtilis* RB 14. APPI. Environ. microbiol. 62: 4081 - 4085.

34- Shojii, J.H.; Y. Wakisaka; and M. Mayama. 1975. 1solation of a new antibiotic TL- 1lg. 126-128(Studies on antibiotic from the *Bacillus*). Journal of Antibiotic. 28: 60-63.

35-Swain, M.R.; K.S. Nasker; and C.R. Ramesh. 2007. Indole – 3- acetic acid production and effect on sprouting of Yam (Dioscorea rotundata L.) minisetts by *Bacillus subtilis* isolated from Culturable Cow dung microflora. Polish Journal of microbiology .. 56(2) : 103-110.

36-Thilagavathi, R.; D.Saravanakumer; N.Ragupathi; and R. Samiyappan. 2007. A combination of biocontrol agents improves the management of dry root rot (*Macrophomina phaseolina*) in greengram. Phytopathology Mediterranea. 46 (2). 157-167.

37-Velazhahan, R.; R. Samiyappan; and P.Vidhyasekarm.1999. Relationship between antagonistic activities of *Pseudomonas fluorescens* isolate against *Rhizioctonia solani* & their production of lyric enzymes , J. of plant diseases & protection . 106 (3): 244-250.

38- Vessey, K.J. 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizer . Plant and Soil, 255 : 571-586.

39- Yao , A.V.; S. Karimov; H. Bochow; U. Boturov; S. Sanginboy; and A. Sharipov. 2006. Effect of FZB24 *Bacillus subtilis* as biofertilizer on cotton yields in field test. Archives of Phytopathology and Plant Protection. 39(4): 323-328.