المكافحة الحيوية للفطر *Rhizoctonia solani* بواسطة البكتيريا *Pseudomonas fluorescens* في ظروف البيت الزجاجي [+]

BIOLOGICAL CONTROL OF *RHIZOCTONIA SOLANI* BY *PSEUDOMONAS FLUORESCENS* IN GREENHOUSE CONDITIONS

احمد فاضل عبد [*]

المستخلص:

استخدمت البكتريا *Pseudomonas fluorescens* لمكافحة الفطر *Rhizoctonia solani* Kuhn المسبب لمرض سقوط البادرات على الطماطة . أظهرت النتائج وجود تضاد عال بين البكتريا تركيز ٢٠% والفطر الممرض على الوسط الغذائي Dual Culture يصل الى١٥ر٤٨ %، وظهر أيضا آن زيادة التركيز للبكتريا (داخل التربة أو عند تغطية البذور) كان له الأثر الكبير لخفض أعداد البذور الميتة والبادرات المصابة بالفطر الممرض .

كذلك بينت النتائج وجود فروق معنوية كبيرة عند استخدام البكتريا بتغطية البذور لحمايتها من الفطر(٤ بذور ميتة) وانخفاض بعدد البادرات المصابة (١٠ بادرات) مقارنة عند إضافة البكتريا إلى التربة مباشرةً (٢٢ للبذور) و (٢٩ للبادرات) . كما أشارت النتائج آن عملية المكافحة الناجحة تعتمد بصورة أكيدة على طريقة استخدام وإضافة المقاوم الحيوي حيث كان لتغطية البذور بالبكتريا أفضل من أضافتها الى التربة كما بينت النتائج أيضا أن البكتريا *Pseudomonas fluorescens* يمكن استخدامها كعامل للمقاومة ألإحيائية للفطر *Rhizoctonia solani* المسبب لمرض سقوط البادرات على الطماطة النامية في ظروف البيت الزجاجي .

Abstract:

The bacteria *Pseudomonas fluorescens* apply to control damping off disease , caused by *Rhizoctonia solani* Kuhn on tomato seedling. The result showed that *Pseudomonas fluorescens* had antagonistic activity during inhibition of *Rhizoctonia solani* were demonstrated by using the dual culture method (%48,15) , the increase in concentration of bacteria in soil or seed coating very effect to reduce death seeds or infected seedling by *Rhizoctonia solani.* The result showed also significantly effect when we used seed coating bacteria to protect from pathogen (4 seeds) death & reduce in infected seedling (10 seedlings) compared with addition the bacteria to soil (22 seeds) & (29 seedlings). The result demonstrate successed biocontrol depend on method & addition usage of

[+] تاريخ استلام البحث ٢٠٠٧/١٠/٢٢ ،تاريخ قبول النشر ٢٠٠٩/٢/٢٤

[*] مدرس / المعهد التقني / كوفة

biocontrol agent. These results suggest that the *P. fluorescens* have an excellent potential to be used as biocontrol agents of *R. solani* in tomato in greenhouse conditions.

المقدمـــة:

تُعتبر الطماطة(.Mill ***Lycopersicon esculentum***) من محاصيل الخضر المهمة فـــي العالم[1] ونظرا لأهميتها الاقتصادية توسعت زراعتها بشكل كبير في العراق [2] وأن هـــذا التوسع رافقه الكثيـــر مـــن المشاكل، أهمها الآفات الزراعية ، الآمر الذي استوجب استعمال المبيدات الكيمياوية للتقليل من أضرار الآفات وزيادة الإنتاج متناسين أضرار المبيدات على صحة الإنسان والبيئة[3] وهذا أدى إلى ظهور حمـــلات مناهضة من قبل الباحثين والمختصين بشؤون البيئة والصحة ، أتاحت الفرصة إلى طرح طرق مكافحة بديلة عـــــن المبيدات آلا وهـــــي المكافحة الإحيائية ، وخاصة استخدام الفطريات [4] آو البكتريا[5] .

سقوط البادرات damping- off مرض يسببه الفطـــر ***Rhizoctonia solani*** **Kuhn** أحـــد أكثـــر الأمـــــــراضِ الواسعة الانتشار لنبات الطماطة وخاصة بالنسبة للمشاتل [6] والبيوت المحمية [7] ويسبب خسائر كبيرة للمحصولِ تحت الظروف البيئية المناسبة [8] ويعتبر من أهم مسببات أمراض تعفـــن البـــذور وموت البادرات في العراق[9].

للفطر مدى مضيّفِ واسع جداً [10] ولا توجد أصناف طماطة مقاومةِ ضدّ هذا المرضِ كُـــلّ أصـــناف الطماطة سريعة التأثر وحساسة لهذا المرض ، لكن درجةَ التأثّر تَتفاوتُ. يعيش الفطرِ في التربةِ بهيئة غزل فطري نشط ويمكن آن يبقى في التربة لمدة طويلة فضلا عـــــن تكوينه الأجسام الحجرية القادرة أيضا على البقاء فـــــي التربة لفترة طويلة [11],[12] وتعد هذه التراكيب مصدر للإصابة الأولية ثم ينتقل الفطر بعـــد ذلك عن طريق ماءِ الرَيِّ والأوراق.

معاملة البذور،التربة ورش الأوراق بمبيدات جهازيه فطرية آو مضادات حيوية أعطىَ فعّاليةَ وســـيطرة على المرضِ، لكن هذه المعالجةِ عالية التكاليف وتؤدي إلى تلوث البيئة [3] .

في السنوات الأخيرة ، شدت البكتريا ***Pseudomonas fluorescens*** انتباه الباحثين وذلـــك لإنتاجهـــا الأنزيمات، المضادات الحيوية والمواد الكيميائية (metabolites)، البكتريا تتواجد بكثرة في مـــاء الـــري، التربة ، وخاصة في محيط الجذور [13][14] وإنتاجها مدى واسع من مضادات الفطريات [15] [16]. وهي أحد علامات المقاومةِ الحيويةِ الوَاعِدة لامراض النباتِ الطُفيلية [17] ، استخدمت هـــذه البكتريـــا لمقاومـــة مسببات مرضية كثيرة منها الذبول البكتيري علـــــــى الطماطة [18] مـــرض take allعلـــى الحنطـــة [19],الفطر ***Macrophomina phaseolina*** [20] على زهرة الشمس اومرض اللفحة النارية علـــى التفاح [21] .

وتنتج هذه البكتريا أنواع مختلفة من المضادات الحيوي تلعب دورا رئيسيا في مقاومة أمراض كثيـــرة تصيب النباتات وتعد من محددات المسببات المرضية فـــي الحقل والبيوت الزجاجية [٢٢], كذلك آن هـــذه المواد تتأثر بالظروف البيئية وبكثافة البكتريا بالتربة [23] كما بينت الباحثة [24] آن هذه البكتريا لهـــا القابلية على تحسين نمو

الحنطة وزيادة عدد التفرعات. كما آن عملية المقاومة الناجحة تعتمد بصورة أكيدة علـــى طريقـــة اســـتخدام وإضافة المقاوم الحيوي.[25] ,[26]

أجريتْ هذه الدراسةِ لتَقييم تأثيرِ البكتريا ***Pseudomonas fluorescens*** في السيطرةِ الحيويةِ لمرض سقوط البادرات المتسبب عن الفطر ***Rhizoctonia solani*** على نبات الطماطة في البيت الزجاجي.

المـــواد والطرق العمل:

عزل الفطر *Rhizoctonia solani*

عزل الفطر ***Rhizoctonia solani*** مـــنْ حقول الطماطة المُصَابةِ (في قضاء الكوفة) بآخذ أجزاء من جذور النباتات المصابة بتاريخ (٢٠٠٦\١٠\١١٢) وتقطيعها إلى قطع صغيرة غسلت وعقمت سطحياً مَـع ٥ % هايبوكلوريد الصوديوم لمدة ٥ دقائق ، ثم غسلت بالماء المقطر المعقم لإزالـة اثـر المعقـمْ, الأنـسجةُ المصابة وضعت على الوسط الغذائي PDA الأطباق حظنت على درجة حرارة (٢٢ ±٢ °م) لمدّة ٤ أيـام . المستعمرات النامية للفطر نقلتَ إلى أطباق جديدةِ للتنقيةِ والتعريف. فقد تم التعرف إليه استنادا إلى الـصفات التي ذكرها .[27].

البكتريا *Pseudomonas fluorescens.*

تم الحصول على البكتريا ***Pseudomonas fluorescens.*** من مركـز الأبحـاث الزراعيـة والبايلوجيه–منظمه الطاقة الذرية العراقية و قد نميت على الوسط الغـذائي King's medium B broth **[28]** ، على درجة حرارة ٢٨°م في الحاضنة. تم إكثار البكتريا بتلقيح مجموعة من الدوارق سعة ١٠٠٠ مل تحوي الوسط الغذائي اعلاة ونميت على درجة حرارة ٢٨° م ولمدة أسبوعين ، خزنت البكتريا الذي تـم الحصول عليها فـــي الحاضنة لحين الاستخدام لأجراء الدراسات المختبريه والحقلية.حضرت مجموعة من التخافيف منها لغرض اختبار النشاط الإحيائي للبكتريا اذ حضرت التراكيز التالية :

٥% – ١٠%– ١٥% –٢٠% آما معامله المقارنة Control فكانت عباره عـــن الوسط الغذائي المعقـم فقط. تم التعرف على ***P . fluorescens*** بالشكل و تفرعات الخيوط وتركيب السبورات استنادا إلى [29] .

عقمت بذور الطماطة صنف سوبر مريموند(تم شراءها من الأسـواق المحليـة) سـطحيا بمحلـول ٥%هايبوكلوريد الصوديوم بعدها غسلت بالماء المقطر المعقم ثم تركت لتجف على ورق الترشيح .تـم نقـع بذور الطماطة لمدة ساعتين في التركيز المستخدم ثم جففت على ورق الترشيح لغرض تهيئتها للتجربة.

اختبار القدرة التضادية بين البكتريا والمسبب المرضي

أجريت التجربة لدراسة العلاقة التضادية بين الفطر الممرض ***R. solani*** والبكتريا ***Pseudomonas fluorescens*** باستخدام طريقة الزرع المزدوج (Dual Culture Technique) [3] وذلك بأخذ قـرص بقطر ١٠ مليمترِ مِنْ وسط مزرعة ***R. solani*** بعمر ٧ أيامٍ ووضع في مركز طبق(٩سم) يحـوي علـى الوسط الغذائي PDA ،عمل خط دائري حول القرص وعلى مسافة ٦ سم من القرص من معلـق البكتريـا

Pseudomonas fluorescens حضن الطبق على درجة حرارة ٢٢ ±٢ °م لمدّة ٣ أيام سجل قطر نمو الفطرِ وقورن مع فطر المقارنة (فطر تم أحاطته بماء مقطر معقم) .

تأثير تغطية البذور بالبكتريا في الفطر الممرض في التربة

وضعت تربه رمليه مزيجيه معقمه بالحرارة في صناديق بلاستيكية معقمة(٦٠ x ٤٠x ٢٠ سم) (٨كغم/ صندوق) أضيف لقاح الفطر إلى التربة بنسبه ٥ر٠% وزن/وزن من بذور الدخن المعقمة الحاملة للفطر [30] آما معامله المقارنة فقد أضيفت إلى تربتها بذور دخن معقمه خاليه من الفطر.خلط اللقاح الفطري بالتربة بشكل جيد بعدها رطبت التربة وتركت لعدة ساعات قبل الزراعة. بعد المعاملة اجري آلاتي:

أولا:زرعت ١٠٠ بذرة من بذور الطماطه في كل صندوق(بعد نقعها بالتركيز المطلوب كما سبق) (٣ مكررات لكل معامله). وزعت الصناديق عشوائيا في البيت البلاستيكي . قلعت النباتات بعد ٣٠ يوم من الزراعة. سجلت عدد البذور الميتة، وعدد البادرات المصابة .

ثانيا: تمت إضافة اللقاح البكتيري إلى التربة مباشرة وحسب التركيز(٥% - ١٠%- ١٥% -٢٠%) كلا على انفراد في الصناديق وغطي بطبقة خفيفة من التربة ثم زرعت ١٠٠ بذرة من بذور الطماطه في كل صندوق (٣ مكررات لكل معامله)، وزعت الصناديق عشوائيا في البيت البلاستيكي آما معامله المقارنة فقد وضع الوسط الغذائي دون بكتريا إلى التربة . التربة في كل الصناديق احتفظت بالرطوبة (السعه الحقلية ٥٠%) ، اضيف لتربة الصناديق السماد المركب NPK وحسب النسبة الموصى بها لهذا المحصول، قلعت النباتات بعد ٣٠ يوم . سجلت عدد البذور الميتة، وعدد البادرات المصابة .

صممت التجربة بطريقه التصميم العشوائي الكامل بـ ٣مكررات في كل معاملات التجربة ولمقارنة النتائج استخدم اقل فرق معنوي (L.S.D.) عند مستوى معنوية ٥% [31].

<u>النتائج والمناقشة</u>:

اختبار القدرة التضادية بين البكتريا والمسبب المرضي

من الجدول (١) لوحظ آن البكتريا ***Pseudomonas fluorescens*** لها قدرة تضاد عالية مع الفطر ***R.solani*** وعدم وجود اتصال طبيعي بين البكتريا والفطر ووجود هالة في منطقة الالتقاء بينهما التي تعني وجود إفرازات سامة للبكتريا تطرحها في الوسط الغذائي لقتل الفطر [32] وذلك لان البكتريا تقوم بإفراز مجموعة من المواد antifungal metabolites مثل(pyoverdin) او(pseudobactin) التي لها القابلية على التأثير في أيون الحديد Fe^{+3} و(Ferripyoverdin) الذي له القابلية على تكوين مركب معقد مع أيون الحديد Fe^{+3} الذي يتفاعل مع الغلاف الخارجي للفطر ويمنع انتقال ايون الحديد عن طريق siderophore [33] ومن ناحية أخرى لوحظ تغير في لون Mycelia عند منطقة الالتقاء بالبكتريا بلون برتقالي الذي هو عبارة عن تسرب السايتوبلازم للغزل الفطري وتشوهة عند الأطراف ويمكن آن يحاط هذا اللون

بالأخضر الغامق وهذا يتفق مع ما توصل إلية الباحث(4).او افرزاها لبعض المكونات المتطـــايرة(HCN) . [34]

جدول(١) القدرة التضادية للبكتريا ***P . fluorescens*** ضد الفطر ***R. solani***

المعاملات	**تضاد البكتريا *P . fluorescens***	
	نمو الفطر *R.solani* **قطر النمو(ملم)**	نسبة التثبيط (%)
P. fluorescens* + *R.solani	**15.45ملم ***	**48.15**
R.solani Control لوحده	**60.00 ملم**	**صفر**
LSD(0,05)	**٢٢**	-------

*** كل رقم بالجدول يمثل معدل ثلاث مكررات**

تأثير طرق إضافة مختلفة من لقاح البكتريا *P . fluorescens* في الفطر *R.solani*

من الجدول(٢) لوحظ آن لزيادة التركيز بالبكتريا ***P . fluorescens*** لمكافحة الفطر***R. solani*** كـــان واضحا بشكل كبير حيث كانت البذور الميتة عند تركيز ٥% (٢٣) والبادرات المـــصابة (٦٨) أمـــا عنـــد التركيز ٢٠% فكان للبذور(٤) والبادرات(١٠) عند تغطية البذور بالبكتريا ، و عند أضافه البكتريا للتربـــة كانت البذور الميتة عند تركيز ٥%(٧٥) و البادرات المصابة (١٠) . وهذا يعني آن زيادة تركيز البكتريا المستخدمة بالمقاومة تعطي نتائج اكبر فقد بينت النتائج آن هناك تدرج بالأعراض عند زيادة التركيز بالبكتريا نحو الانخفاض كلما زاد التركيز وهذا يتفق مـــــع ما توصل أليه [35] و[36] اللذان أكدا على آن وجـــود تركيز عالي من المسبب المرضي يؤدي إلى زيادة بنسبة الإصابة والباحث [37]و [23] اللذان أشارا إلـــى أن البكتريا يمكن آن يظهر تأثيرها بشكل اكبر كلما ازدادت نسبة تواجدها في التربة .

الفطر***R. solani*** بالإضافة إلى أنة يسبب مرض سقوط البادرات لكنة يؤدي أيضا إلى ظهور تغير في لون الجذور واسودادها وفي وجود البكتريا وحتى عند التراكيز المنخفضة يلاحظ اختفاء الأعراض على الجذور.

لوحظ أيضا آن هناك فروق معنوية كبيرة جدا بين طرق الإضافة المختلفة حيث آن تغطية البذور بالبكتريا لحمايتها من الفطر ***R.solani*** كان اكثر تأثيرا عما لو أضيفت البكتريا إلى التربة مباشـــرةً لحمايتهـــا مـــن الفطر،حيث كانت عند التركيز ٢٠% للبذور الميتة (٤) والبادرات المصابة(١٠)، آما عند تلويث التربـــة بالبكتريا لحمايتها من الفطر عند تركيز ٢٠% للبذور الميتة (٢٢) والبادرات المصابة (٢٩)، ويعـــود ذلـــك لكون البكتريا تحمي البذور من الإصابة الأولية بالفطر لحين وصول النبات إلى مرحلة متقدمـــة مـــن النمـــو يستطيع فيها آن يقاوم المرض .

تعتبر الظروف البيئية الملائمة لانبات البذور هي نفسها ملائمة لتطور المسبب المرضي ***R.solani*** وعلية تكون بادرات الطماطة حساسة جدا للمسبب المرضي وخاصة في المرحلة الأولى لنموها [37] لذا فالانتشار السريع للمرض تحت ظروف البرد والرطوبة وغياب التنافس يمكن أن يسبب إصابة كبيرة وظهور الأعراض في عدة أيام على البادرات وقبل ترسيخ المقاوم في التربة لذلك يمكن مقاومة المرض بصورة كبيرة عند تغطية البذور بالبكتريا. فتغطية البذور يعطي حماية اكبر للبذور أثناء تطورها إلى بادرات وهذا يتفق مع ما توصل أليه [38] عند تغطية البذور لمكافحة المسبب المرضي ***Pythium*** المتسبب لمرض سقوط بادرات القطن. وأيضا يتفق مع ما توصل أليه الباحثان[39] اللذان أكدا بان أعلى نسبة وشدة إصابة يسببها الفطر على المحاصيل الزراعية تكون في الأسبوع الأول والثاني من الزراعة وتزداد قدرة النبات على المقاومة بتقدم العمر.إذاً المطلوب هو حماية النبات بالأسبوعين الأوليين من عمره وبعدها يستطيع النبات آن يقام الفطر بنسب مختلفة.

لوحظ أيضا عدم إصابة الجذور المتكونة الجديدة للبادرات وهذا يعني آن البكتريا تستطيع آن تنتشر مع الجذور النامية عند نمو النبات وحتى عند معاملتها كتغطية للبذور وهذا يتفق مع ما توصل أليه الباحث [40] كما لوحظ أيضا ظهور أعراض في جذور البادرات النامية بوجود المسبب المرضي وهي تلون الجذور بلون بني وتحللها، آما في التربة النامية مع الممرض والبكتريا فقد ظهرت جذور البادرات خالية من الإصابة آو ألاعراض .

مقاومة المسببات المرضية الفطرية من قبل البكتريا تعود إلى أسباب مختلفة منها: المنافسة على الغذاء مع المسبب المرضي،إفراز مواد ضارة للمسبب المرضي ، وحث النبات على مقاومة المسبب [41]سلالات متعددة من البكتريا تنتج مركب معقد من الحديد complex iron binding يسمى siderophores يتكون من مادة (pyroverdines) التي تساعد في مقاومة المرض بواسطة حرمان المسبب المرضي من الاستفادة من أيون الحديد بالبيئة [42] ,[43].

جدول(٢) تأثير طرق الإضافة المختلفة للبكتريا *P . fluorescens* على الفطر *R.solani*

التركيز %	**طرق التلويث**			
	تلويث البذور		**تلويث التربة**	
	البادرات المصابة**	**البذور الميتة*****	**البادرات المصابة****	**البذور الميتة*****
%٥	٦٨ *	**٢٣**	**١٠**	**٧٥**
%١٠	**٣٠**	**١٥**	**٣٥**	**٤٠**
%١٥	**٢٠**	**٩**	**٣٠**	**٣٥**
%٢٠	**١٠**	**٤**	**٢٩**	**٢٢**
Control(بدون بكتريا وفطر)	**صفر**	**صفر**	**صفر**	**صفر**
Control(مع الفطر فقط)	**٧٦**	**٧٠**	**٧٥**	**٨٠**

LSD(0,05)	**7.5**	**4.4**	**12.3**	**11.2**

* كل رقم بالجدول يمثل معدل ثلاث مكررات

** (بادرة) *** (بذرة) **** (بادرة) ***** (بذرة)

المصادر:

١-أسطيفان،زهير عزيز،محمد،حازم عبد العزيز. *آفات الطماطة*،الطبعة الأولى،جامعة بغداد.١٩٩٨.

٢-*الكتاب السنوي للإحصاءات الزراعية العربية* .المنظمة العربية للتنميةالزراعية،جامعة الدول العربية. ٢٠٠٠.

3- Montealegre, J. R., Reyes, R. Pérez, L. M., Herrera, R., Silva, P., Besoain, X. "Selection of bioantagonistic bacteria to be used in biological control of *Rhizoctonia solani* in tomato " *Electronic Journal of Biotechnology*, vol:6, No:2 , 115-127, 2003.

4 -Harman, G.E. "*Trichoderma* spp., including *T.harzianum, T.viride, T. koningii, T. hamatum* & other spp." 1999.(from internet) http://www.nysaes.cornell.edu/ent/biocontrol/pathogens/trichoderma.html

5-Diby, P., Sarma, Y.R., Srinivasan, V., Anandaraj, M. "*Pseudomonas fluorescens* mediated vigour in black pepper (*Piper nigrum* L.) under green house cultivation". *Annals of Microbiology*, 55(3)171-174. 2005.

6-Papadopoulos, A. P. "Growing greenhouse tomatoes in soi1 and soilless media". *Agriculture Canada Publication* 1855/E. 1991.

7-Howard, R. J., Garland, J. A., and Seaman, W. L., eds. "Diseases and pests of greenhouse crops. In Diseases and pests of vegetable crops in Canada". *The Canadian Phytopathological Society and Entomological Society of Canada*. 303-359 pp. 1994.

8-Sneh, B.; Lee, B. and Akira, O. *Identification of Rhizoctonia Species*. The American Phytophatological Society, St. Paul, Minnesota, USA. 129 p. ISBN 089054123X. , 1991.

٩-البهادلي،علي حسين , هناء محمد الزهرون وناهده مهدي صالح.١٩٨٨." مقاومة الفطر *Rhizoctonia solani* المسبب لمرض سقوط البادرات باستخدام المبيد Monceren" .*مجلة البحوث الزراعية والموارد المائية*،المجلد (٧)العدد (١) ١٩٨٨.

10- Anne, E.D., Pattrick, E.L., & Dennis.R.M. *Rhizoctonia* Damping-off & stem rot of soybean.Ohio State University extension fact plant pathology. 2002.

11-Blancard, D. *A color atlas tomato disease observation, identification control*.John Wiley & Sons.New York, Toronto. 1997.

12.Bird,R.E.,Bell,D.K.,Sumner,D.R.,Mullimix,B.G.&Cullbreath,A.K."Survival of *Rhizoctonia solani* AG-4 in residual peant shells in soil." *Plant Disease* 77:973-975. 1993.

13- Bossis, E., Lemanceau, P., Latour, X., Gardan, L"The taxonomy of *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas putida*: current status and need for revision" .*Agronomie* .20 (2000) 51–63.2000.

14- Lugtenberg, B.J.J. and Dekkers, L.C. "What makes *Pseudomonas* bacteria rhizosphere competent?" *Environmental Microbiology* 1:9-13. 1999.

15- Haas, D., and Keel, C. "Regulation of antibiotic production in root-colonizing *Pseudomonas* spp. and relevance for biological control of plant disease." *Annul. Rev. Phytopathol*. 41:117-153. 2003.

16- Keel, C., and Défago, G. *Interactions between beneficial soil bacteria and root pathogens: mechanisms and ecological impact*. Pages 27-46 in: *Multitrophic Interactions in Terrestrial Systems*. A. C. Gange and V .K. Brown, eds. Blackwell Science, London. 1997.

17- Thomashow, L. S., and Weller, D. M.*Current concepts in the use of introduced bacteria for biological disease control: Mechanisms and antifungal metabolites*. Pages 187-235 in: *Plant-Microbe Interactions*,Vol. 1. G. Stacey and N. Keen eds. Chapman and Hall, New York. . 1995.

18-Khalequzzaman, K.M., Jinnah, M.A.., Rashid, M.A.A.M.., Chowdhury, M.N.A., and. Masud Alam. Md. "Effect of *Pseudomonas fluorescens* in Controlling Bacterial Wilt of Tomato." *Pakistan Journal of Plant Pathology*, Volume 1 Number 71-73, 2002.

19- Hamdan. H., Weller, D. M., and Thomashow, L .S. "Relative importance of fluorescent siderophores and other factors in biological control of *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* by *Pseudomonas fluorescens* 2-79 and M4-80R." *Appl Environ Microbiol*. 57(11): 3270–3277. 1991 November.

٢٠-فياض، محمد عامر.(المقاومة الإحيائية للفطر *Macrophomina phaseolina* باستخدام البكتريا *Pseudomonas fluorescens* مجلة التقني . البحوث التقنية. ١١٠:٦٦-١١٦. ٢٠٠٠ .

21-Anderson, L.M., Stockwell, V.O., Loper, J.E. "An Extracellular Protease of *Pseudomonas fluorescens* A506 Inactivates Antibiotics of *Pantoea agglomerans" Phytopathology*. 94:1228-1234 .2000.

٢٢-Ellis, R.J., Timms-Wilson, T.M., Bailey, M.J. "Identification of conserved traits in *fluorescent pseudomonads* with antifungal activity." *Environ Microbiology*. 2(3):274-84. 2000.

٢٣- Siddiqui, I.A., Haas, D., and Heeb, S. " Extracellular Protease of *Pseudomonas fluorescens* CHA0, a Biocontrol Factor with Activity against the Root-Knot Nematode *Meloidogyne incognita* ".*Applied and Environmental Microbiology*, 71(9) 5646-5649.2005.

٢٤–الرفاعي، شيماء إبراهيم محمود،فيصل محبس مدلول الطاهر،محمد جبر حناوي المياحي ." تأثير اللقاح البكتيري *Pseudomonas fluorescens* وموعدي زراعة في نمو وحاصل صنفين من الحنطة في منطقة البصرة"،*مجلة القادسية للعلوم الصرفة*– ٩(١) :٣٨–٤٩، ٢٠٠٤.

٢٥- Lurnsden ،R. D., Lewis, J. A., and FraveI, D. R. *Formulation and delivery of biocontrol agents for use against soilborne plant pathogens* .In F. R. Hall, and J .W. Barry, eds., *Biorational pest control agents*. American Chemical Society ،Washington ،D.C. 166-1 82 pp. 1995.

٢٦- Green, S., Srewart-Wade, S. M., Boland, G. J., Teshler, M. P., Liu, S. H . *Formulating microorganisms for biological control of weeds*. In: G. J. Boland, and L. D. Kuykendall, eds., *Plant-microbe interactions and biological control*. Marcel Dekker, Inc. New York ،Basel, Hong Kong. 249-28 1 pp. 1998.

27-Parmeter, J.R. & Whiteny, H.S. *Taxonomy & nomenclature of the imperfect state in: Rhizoctonia solani biology & pathology* (J.R. Parmeter eds).P7-19.University of California Press Berkeley, Los Angeles. 1970.

28-King, E. O., M. Warth, and D. E. Raney. "Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescin." *Journal of Laboratory and Clinical Medicine,* 44: 301–307. 1954.

29- Holt, J. G, Krieg, N. R., Sneath, P. H. A., Staley, J. T., and Williams, S. T., eds. . *Bergey's manual of dedicative bacteriology, 9"* Ed. Williams & Wilkins Maryland, ،USA. 605-623 pp .1994.

30--Dewan,M.M. *Identity &frequency of occurrence of fungi in root of wheat &ryegrass& their affection take-all& host growth*. Ph.D.Thesis. Univ.Wes. Australin.1989.

٣١–الراوي، خاشع محمود وعبد العزيز محمـــــد خلف الله. *تصيم وتحليل التجارب الزراعية*. مؤسسه دار الكتب للطباعه والنشر. جامعه الموصل. ٤٨٨ ص. ١٩٨٠.

32- Loper, J.E."Genomic Sequence of the Biological Control Agent *Pseudomonas Fluorescens* Pf-5." *Methyl Bromide Alternatives and Emissions Research Conference Proceedings*. 113-122. 2005.

33-Haas,D.,& Défago, G."Biological control of soil-borne pathogens by *Fluorescents Pseudomonads*. *"Nature Reviews Microbiology*, online published.2005.

34-Kraus, J., and Loper, J. E." Lack of evidence for a role of antifungal metabolite production by *Pseudomonas fluorescens* Pf-5 in biological control of Pythium damping-off of cucumber." *Phytopathology* 82:264-271. 1992.

35- Sabaratnam, S. *Biological control of of Rhizoctonia damping-off of tomato with a rhizosphere actinomycete*، Ph.D.thesis, University of Western Ontario London, Ontario، 1999.

36-Yitbarek ،S, M., Verma, P. R., Gugel, R. K., and Morrall, R. A. A. "Effect of temperature and inoculum density on pre-emergence damping-off of canola caused by *Rhizoctonia solani "C. J. Plant Pathol.* 10:93-98 .1988.

37-Sneh, B., Jabaji-Hare, S., Neate, S., and Dijst. G., eds. *Rhizoctonia Species: Taxonomy, Molecular Biology, Ecology, Pathology and Disease Control*. Kluwer Academic Publishers. Kluwer, Boston, London. 578 p.1996.

38-Howell, C. R., and Stipanovic. R. D. "Suppression of *Pythium ultimum* induced damping-off of cotton seedlings by *Pseudomonas fluorescens* and its antibiotic pyoluteorin ." *Phytopathology* 70:712-715. 1980.

39-Jhooty, J.S. & Grover, R.K. "Rhizoctonia root of cucurbits & its control in Indian". *Indian Phytopathology*.24:571-574.1971.

40- Beauchamp ،C. J., Kloepper, J. W., and Lemke, P. A. "Luminometric analyses of plant root colonization by bioluminescent pseudomonads" .*Can. J. Microbiol* .39:434-441.1993.

41- Cook ،R J., and Baker, K. F. "The name and practice of biological control of plant pathogens." *American Phytopathological Society*, S t .Minn. 53 9 pp. 1983.

42-Heungens, S., Poppe, K., J., and Hofte, M. "Involvement of pyochelin aBuysen of tomato by pyoverdin in suppression of Pythium-induced damping-off *Pseudomonas aeruginosa* 7NSK.2." *AppI. Environ. Microbiol*, 62:865-871. 1996.

43- Duijff, B. J., de Kogel, W. J., Bakker, P. A. H. M., and Schippers, B. "Suppression of Fusarium wilt of carnation by *Psezidornonas putida* WCS358

at différent leveis of disease incidence and iron availability." *Biocontrol. Sci. Technol*. 4:279-288. 1994.