Biological control of *Fusarium nelsonii* causing Root Rot disease of pear using the bacteria *Pseudomonas fluorescens* and *Azotobacter chroococcum*

المكافحة الحيوية للفطر *Fusarium nelsonii* المسبب لمرض تعفن جذور الكمثرى باستخدام البكتريا *Pseudomonas fluorescens* و *Azotobacter chroococcum*

ابراهيم خليل حسون
الكلية التقنية- المسيب

المستخلص

اوضحت نتائج العزل من جذور اشجار الكمثرى والتشخيص وجود الفطر *Fusarium nelsonii* في عشرة بساتين في محافظة بابل ,و يعد هذا أول تسجيل للفطر *F. nelsonii* على أشجار الكمثرى في العراق . اظهر الكشف الاولي عن العزلات الممرضة للفطر *F.nelsonii* باستعمال بذور اللهانة ان جميع العزلات المختبرة كانت ممرضة وتراوحت نسبة الانبات في معاملاتها 2% - 30%. وبينت نتائج تأثير ثمانية عزلات ممرضة للفطر *F.nelsonii* (F.n2,F.n5,F.n6,F.n7,Fn3,F.n4,F.n1,F.n8) في شدة اصابة شتلات الكمثرى بعمر 90 يوما تحت ظروف الظلة الخشبية ان جميع العزلات احدثت ارتفاعا في شدة الاصابة تراوحت بين 40% - 86 % . وبينت نتائج تأثير ثلاث عزلات ممرضة للفطر *F.nelsonii* (F.n2, F.n5 , F.n6) في شدة اصابة شتلات الكمثرى عمر السنة تحت ظروف الظلة الخشبية ان جميع العزلات احدثت ارتفاع معنوي في شدة الاصابة تراوحت بين 80% و 78.5% و75 % على التوالي قياساً بمعاملة المقارنة التي كانت شدة الاصابة فيها صفراً% . وحققت معاملتي اضافة البكتريا *Azotobacter chroococcum* بتركيز 5 × 10^8 و *Pseudomonas fluorescen* بتركيز 5 × 10^6 (وحدة تكون مستعمرة/مل) حماية شتلات الكمثرى عمر 90 يوما وعمر السنة من الاصابة بعزلتي الفطر الممرض *F.nelsonii* (F.n2 , F.n5) تحت ظروف الظلة الخشبية. اذ ادت معاملتي البكتريا *A. chroococcum* و *P. fluorescens* الى خفض في شدة اصابة شتلات الكمثرى عمر 90 يوما اذ بلغت 15 % و14 % و 22.5% و 20 % وبعمر السنة اذ بلغت 16 % و 18 % و 18 % و 20 % قياساً بمعاملة (فطر ممرض بمفرده) والتي بلغت شدة الاصابة فيها .86.5% و80.75% و 82 % و 75.25 %. واحدثت معاملتي البكتريا *A. chroococcum* و*P. fluorescens* زيادة معنوية في اطوال المجموع الخضري والجذري والاوزان الطرية والجافة لهما قياساً بمعاملة المقارنة (فطر ممرض بمفردة).

Abstract

The presence isolation results resets of isolation from roots of pear trees and diagnosing indicated of the fungi *Fusarium nelsonii* from 10 orchard in the province of Babylon. This was considered as the first records of the Fungi *F.nelsonii* on pear trees in Iraq .The preliminary tests of pathogenicity for isolates were pathogenic showed as maintested by percentage of seed germination 2%-30%. Lathhouse conditions Pathogenicity test of 8 isloates of *F.nelsonii* (F.n8, F.n1, F.n4, F.n3, F.n7, F.n6, F.n5 and F.n2) . Using 90 days old pear seedling as host plant showed that all isolated significant increased increment in disease severity which ranged between 40% t0 86% . Under lathhouse conditions pathogenicity test of three isolates of *F.nelsonii* (F.n2 , F.n5 and F.n6) using one year old pear seedling showed that all isolated increased significantly in disease severity which ranged between 80% , 78.5% and 75% compared to control non-contaminated though the disease severity was zero% . Under the lathhouse condition the result of test for the effect of two biocontrol agent *Azotobacter chroococcum* 5×10^8 and *Pseudomonas fluorescens* 5×10^7 colonies forming unit/ml using pear seedling 90 days and one year old and presence of isolate pathogen (F.n2,F.n5) showed that all treatment caused significant reduction in percentage of infection severity on 90 days and one year old pear seedling . As it ranged 15%, 14%, 22.5% , 20% and 16%,18% , 18% , 20% respectively compared to the control treatment pathogen(fungus alone) which ranged in severity of disease86.5%, 80.75%, 82% and 75.25% . All elements caused significant increased in the criteria such as pear seedling height and fresh and dry weights of shoots and roots.

المقدمة

تتعرض أشجار الكمثرى و التفاح على المستوى العالمي و المحلي الى الاصابة بالعديد من المسببات المرضية التي تصيب المجموع الخضري و الجذري و تعد فطريات التربة الاكثر تأثيراً في النبات في مراحل نموه المختلفة اذ تسبب موت البادرات و تعفن الجذور (21, 3) . في العراق عرف الفطر *Fusarium solani* مسبباً مرضياً يؤدي الى تعفن جذور الكمثرى (1) استعملت المبيدات الكيميائية الفطرية في مكافحة العديد من فطريات التربة الممرضة للتفاح الا ان التأثيرات السلبية لها اصبحت واضحة لاسيما على البيئة و صحة الانسان فضلاً عن تطور سلالات من المسببات المرضية الفطرية مقاومة لفعل المبيدات (11 ,29). هذا الامر تطلب من العاملين في مجال امراض النبات ومنها امراض تعفن الجذور التفكير في ايجاد وسائل اخرى للمكافحة ومنها استعمال عوامل المكافحة الاحيائية من خلال استعمال الاحياء المجهرية غير الممرضة للنبات في تثبيط المسببات المرضية في التربة المزروعة من دون التاثير في بقية مجاميع الاحياء المجهرية (40) ومن بين الاحياء المجهرية المستعملة في المكافحة الاحيائية هي بكتريا *Pseudomonas fluorescens* وفضلت هذه البكتريا في المكافحة الاحيائية على العديد من العوامل الاحيائية الاخرى بسبب سرعة انقسامها العالية ومقاومتها للأشعة فوق البنفسجية (15) والبكتريا *Azotobacter chroococcum* والتي هي من البكتريا المشجعة لنمو النبات وقابليتها التضادية لمختلف المسببات المرضية خصوصا المستوطنة في التربة (16) . ولعدم وجود دراسات حول الفطر *F.nelsonii* المسبب لمرض تعفن جذور الكمثرى في العراق فقد هدفت الدراسة الى :

1. عزل وتشخيص الفطر *F.nelsonii* المسبب لمرض تعفن جذر الكمثرى .
2. تقييم كفاءة *Azotobacter chroococcum* و *Pseudomonas fluorescens* في خفض شدة الاصابة بالفطر *F.nelsonii* .

المواد وطرائق العمل

عزل الفطر و تشخيصه

تميزت الاعراض المرضية على اشجار الكمثرى باصفرار الاوراق و تساقطها مما يؤدي الى تقليل عدد الاوراق في الاغصان مؤثرة سلباً على عدد الثمار في الشجرة المصابة . جرى العزل من كل عينة لعينات جذور اشجار الكمثرى و التي جمعت من عشرة مواقع من بساتين محافظة بابل وللفترة من 2012/2/2 لغاية 2012/8/4 .قطعت الجذور الى اجزاء صغيرة بطول 0.5 سم وعقمت سطحياً بغمرها بمحلول هايبوكلورات الصوديوم 1% كلور لمدة ثلاث دقائق ,غسلت بعدها بماء مقطر معقم لمدة دقيقتين ثم نقلت القطع الى اطباق بتري بقطر 9 سم تحتوي على الوسط الزرعي PDA اضيف اليه المضاد الحيوي Tetracycline بتركيز 250 ملغم/لتر بعد تعقيم الوسط بجهاز الموصدة عند درجة حرارة 121 م° وضغط 1 جو ولمدة 15 دقيقة .استخدمت 5 قطع لكل طبق , حضنت الاطباق في الحاضنة بدرجة حرارة 25 ± 2 م° لمدة ثلاثة ايام . وشخص الفطر *F.nelsonii* الى مستوى النوع اعتماداً على الصفات المزرعية على الوسط الزرعي PDA و الوسط أكار اوراق القرنفل Carnation Leaf Agar باستخدام المفتاح التصنيفي الذي وضعه (23) .

الكشف عن العزلات الممرضة للفطر *F.nelsonii* باستعمال بذور اللهانة.

تم اختبار المقدرة الامراضية لثمانية عزلات من الفطر *F.nelsonii* والتي تم الحصول عليها من خلال عمليات العزل وقد اتبعت الطريقة التي وضعها (10) اذ تم تحضير الوسط الاكار والماء المحضر من اضافة 20 غم اكر الى لتر ماء معقم والمضاف اليه المضاد الحيوي Tetracycline 250 ملغم/لتر وسط غذائي وصبت باطباق قطر 9 سم . وتم تلقيح الاطباق في مركزها بقرص قطر 5 ملم من مزرعة الفطر *F.nelsonii* المنماة على الوسط الغذائي وبعمر 7 ايام ومن حواف المزرعة ثم حضنت الاطباق على درجة حرارة 25 ± 2 ولمدة ثلاثة ايام وبعد ذلك تم زراعة بذور اللهانة المحلية والمعقمة سطحياً بمحلول هايبوكلورات الصوديوم بتركيز 1 % من المستحضر التجاري ذو التركيز 6 % وبصورة دائرية قرب حواف الطبق وبمعدل 25 بذرة لكل طبق واستعملت 4 اطباق لكل عزلة كمكررات بالإضافة الى معاملة المقارنة من دون فطر ممرض وحضنت الاطباق على نفس الدرجة الحرارية وأخذت النتائج بعد 7 ايام من الزراعة بحساب النسبة المئوية للإنبات البذور لكل معاملة.

تقييم تأثير المقدرة الامراضية لبعض العزلات الممرضة للفطر *F.nelsonii* في شدة الاصابة ومعايير النمو لشتلات الكمثرى بعمر 90 يوما وعمر السنة تحت ظروف الظلة الخشبية.

نفذت تجربتيين الاولى استعمل فيها 8 عزلات للفطر *F.nelsonii* لتقدير قدرتها الامراضية على شتلات الكمثرى بعمر 90 يوما والثانية استعمل فيها 3 عزلات للفطر *F.nelsonii* لتقدير قدرتها الامراضية ومعايير النمو وطول شتلات الكمثرى بعمر السنة . نمت العزلات على بذور الدخن المحلي *Panicum miliaceum* (14) . تم استخدام تربة مزيجية معقمة بغاز بروميد المثيل 500 غم/م^3 تركت قبل استعمال 15 يوما ,ثم وزعت على سنادين بلاستيكية قطر 20 سم و 30 سم سعة 1 كغم و 2.5 كغم تربة /سندانه , لوثت تربة السنادين بلقاح عزلات الفطر الممرض *F.nelsonii* (F.n1 ,F.n2 , F.n3 , F.n4 , F.n5 , F.n6 , F.n7 و F.n8) المحملة على بذور الدخن بنسبة 1 % وزن/وزن , سقيت السنادين باحتراس و غطيت باكياس البولي أثلين المثقب لمدة ثلاثة ايام بعدها نقلت شتلات الكمثرى بعمر 90 يوماً و التي سبق زراعتها من بذور الكمثرى الى سنادين سعة 1 كغم تربة/سندانه و شتلات الكمثرى بعمر السنه الى سنادين سعة 2.5 كغم تربة/سندانه و بواقع شتلة لكل سندانه . وضعت السنادين في الظلة الخشبية العائدة الى الكلية التقنية/ المسيب وفق التصميم العشوائي التام (CRD) بواقع اربع مكررات لكل معاملة و تركت اربعة سنادين سعة 1 كغم و 2.5 كغم تربة /سندانه وزعت فيها

تربة معقمة غير معاملة بعزلات الفطر الممرض , اضيفت اليها بذور الدخن المعقمة بنسبة 1% وزن/وزن كمعاملة مقارنة . وبعد 50يوماً من التلويث قلعت الشتلات و قدرت النسبة المئوية للإصابة وفق الدليل المرضي الاتي :

0= مجموع جذري ابيض اللون + مجموع خضري جيد النمو .
1 = تلون المجموع الجذري بلون بني بنسبة 1 - 25 % + عدم اصفرار قمم الاوراق
2 = تلون المجموع الجذري بلون بني غامق بنسبة اكثر من 25 - 50 % + اصفرار قمم الاوراق ليشمل 25 % من مساحتها .
3 = تلون المجموع الجذري بلون بني غامق بنسبة اكثر من 50-70 % + اصفرار قمم الاوراق ليشمل 50 % من مساحتها .
4 = تلون المجموع الجذري بلون بني غامق بنسبة اكثر من 75 - 100 % + اصفرار الاوراق ليشمل 100 % من مساحتها .
5 = موت النبات . وحسبت النسبة المئوية لشدة الاصابة, وفق المعادلة التالية (31) .

$$\% \text{ لشدة الاصابة} = \frac{\text{عدد النباتات من الفئة } 0\times 0 + \text{----} + \text{عدد النباتات من الفئة } 5\times 5}{\text{العدد الكلي للنباتات المفحوصة} \times \text{اعلى درجة}} \times 100$$

كما تم حساب الوزن الطري و الجاف لكل من المجموع الخضري و الجذري وكذلك تم قياس طول المجموع الخضري و البذري .

اختبار المقدرة التضادية للبكتريا *Pseudomonas fluorescens* و *Azotobacter chroococcum* ضد عزلتي الفطر *Fusarium nelsonii* (F.n2 , F.n5) الممرضة على الوسط الزرعي PDA .

تم الحصول على البكتريا *P.fluorescens* و *A.chroococcu*m من مختبرالدراسات العليا امراض النبات / الكلية التقنية المسيب. وتضمنت التجربة بوضع قرص من عزلتي الفطر الممرض (F.n2 , F.n5) *F.nelsonii* اخذ من حواف مستعمرة الفطر بعمر سبعة ايام في مركز طبق بتري حاوية على PDA قطر 9 سم وتم عمل خط دائري بقطر 6 سم من التركيز 5×10^7 الفعال للبكتريا *P.fluorescens* وتركيز 5×10^8 (وحدة تكون مستعمرة / مل) لبكتريا *A.chroococcu*m حول قرص الفطر الممرض وبواقع اربعة مكررات مع معاملة المقارنة استخدم فيها ماء مقطر معقم بدل العالق البكتري وحضنت الاطباق في درجة حرارة 25±2 ولمدة سبعة ايام وتم حساب مقدار التثبيط وذلك بحساب قطر المستعمرة النامي في معاملة البكتريا ومقارنتها بقطر مستعمرة الفطر النامي في معاملة المقارنة وحسبت النسبة المئوية لتثبيط النمو الفطري على وفق معادلة (33)

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

تقييم كفاءة البكتريا *P.fluorescens* و *A.chroococcu*m في حماية شتلات الكمثرى بعمر 90 يومآ وعمر السنة من الاصابة بعزلتي الفطر *F.nelsonii* تحت ظروف الظلة الخشبية

استعمل في هذا الاختبار عزلتي للفطر *F.nelsonii* وهي F.n2 و F.n5 والتي اثبتت الاختبارات السابقة انها ذات مقدرة امراضية عالية . نميت العزلتين على بذور الدخن المحلي وتم استخدام تربة مزيجية معقمة بغاز بروميد المثيل 500 غم/م^3 تركت قبل الاستعمال لمدة 15 يومآ بعدها وزعت على سنادين بلاستيكية قطر 20 سم و 30 سم سعة 1 كغم و 2.5 كغم تربة /سندانه , لوثت تربة السنادين بلقاح عزلتي الفطر الممرض *F.nelsonii* (F.n2 و F.n5) المحملة على بذور الدخن بنسبة 1 % وزن/وزن للمعاملات 1 و 2 و 3 و 4 و 5 و6 و 9 و 10 .و سقيت السنادين باحتراس و غطيت باكياس البولي أثلين المثقب لمدة ثلاثة ايام بعدها نقلت شتلات الكمثرى بعمر 90 يوماً و التي سبق زراعتها من بذور الكمثرى الى سنادين سعة 1 كغم تربة/سندانه و شتلات الكمثرى بعمر السنه الى سنادين سعة 2.5 كغم تربة/سندانه و بواقع شتلة لكل سندانه . وضعت السنادين في الظلة الخشبية العائدة الى الكلية التقنية/ المسيب وفق التصميم العشوائي التام (CRD) بواقع اربع مكررات لكل معاملة و تركت اربعة سنادين سعة 1 كغم و 2.5 كغم تربة /سندانه وزعت فيها تربة معقمة غير معاملة بعزلتي الفطر الممرض , اضيفت اليها بذور الدخن المعقمة بنسبة 1% وزن/وزن كمعاملة مقارنة . وتضمنت التجربة المعاملات التالية:

1 = *F.nelsonii* (F.n2) بمفرده
2 = *F.nelsonii* (F.n5) بمفرده
3 = *F.nelsonii* (F.n2) + *P.fluorescens*
4 = *F.nelsonii* (F.n5) + *P.fluorescens*
5 = *F.nelsonii* (F.n2) + *A.chroococcu*m
6 = *F.nelsonii* (F.n5) + *A.chroococcum*
7 = *P.fluorescens* بمفردها
8 = *A.chroococcu*m بمفردها
9 = *F.nelsonii* (F.n2) + مبيد Beltanol
10 = *F.nelsonii* (F.n5) + مبيد Beltanol
11 = مقارنة (تربة غير ملوثة بعزلتي الفطر الممرض)

وتمت اضافة مبيد الـ Beltanol بواقع 100 سم^3 لكل سندانه بعد يوم واحد من اضافة الفطر الممرض واضيف عالق البكتريا *P.fluorescens* بتركيز 5×10^7 و *A.chroococcu*m بتركيز 5×10^8 وحدة تكوين مستعمرة/مل قبل اضافة الفطر الممرض بسبعة ايام مع ماء الري وبمعدل 10 مل/نبات سقيت نباتات الكمثرى واخضعت للمتابعة بعد مرور 120 يوماً من التلويث قدرت شدة الاصابة باستخدام الدليل المرضي المتبع في التجربة السابقة وحسبت النسبة المئوية لشدة الاصابة وفق المعادلة (31) وتم حساب الوزن الطري والجاف وطول المجموعين الخضري والجذري لنباتات الكمثرى .

النتائج والمناقشة

عزل الفطر و تشخيصه

أظهرت نتائج العزل من جذور اشجار الكمثرى و التي ظهرت عليها أعراض مرض تعفن الجذور وجود الجنس Fusarium وتم تشخيص الجنس الى مستوى النوع *F.nelsonii* ويعد هذا أول تسجيل لهذا الفطر على اشجار الكمثرى في العراق. وتمثلت صفات هذا الفطر في مستعمراته التي عزلت من جميع المناطق بتكوين غزل فطري ابيض اللون مع وجود صبغة قرمزية حمراء في الوسط PDA . و اظهر الفحص المجهري تكون الفطر ثلاثة انواع من الابواغ الكونيدية الصغيرة (Microconidia) و تكون مستقيمة ذات تقوس خفيف و تظهر عدم احتوائها على الحواجز او تحتوي 3حواجز في الخيط الفطري الهوائي في وسط CLA وهذه الابواغ مفردة او متعددة الفاليدات .و النوع الثاني هي الابواغ الكونيدية الكبيرة (Macroconidia) تكون مستقيمة وذات تقوس تحتوي 3-5 من الحواجز و الخلية القمية مقوسة بشكل منقار و الخلية القاعدية قدمية الشكل .والنوع الثالث من الابواغ هي الابواغ الكلاميدية (Clamydospore) التي تكون ملساء الجدار وتصبح بنية مع الوقت و تنتج بشكل ازواج او متعددة في سلاسل قصيرة . و اتبع المفتاح التصنيفي الوارد في (23).

الكشف عن العزلات الممرضة للفطر *F.nelsonii* باستعمال بذور اللهانة.

اظهرت نتائج هذه الدراسة (جدول1) ان جميع العزلات المختبرة كانت ممرضة اذاحدثت خفضاً معنوياً في النسبة المئوية للانبات في معادلاتها بين 2 – 30 % في حين كانت النسبة المئوية لانبات البذور في معاملة المقارنة (بدون الفطر) 90% وقد تفوقت F.n2 و F.n5 و F.n6 على باقي العزلات في خفض نسبة الانبات اذ تراوحت نسبة الانبات في معاملاتها 2 , 5 و 7% على التوالي بوجود فروق معنوية فيما بينها تلتها من ناحية التأثير العزلات في النسبة المئوية لأنبات بذور اللهانة F.n7 و F.n3 و F.n4 وF.n1 و F.n8 حيث كانت النسبة المئوية للانبات في معدلاتها بين 13-30%.

جدول 1. الكشف عن العزلات الممرضة للفطر *F.nelsonii* باستعمال بذور اللهانة

ت	رقم العينة التي عزل منها الفطر	رمز العزلة	%للإنبات
1	المقارنة	Control	90
2	1	F.n.8	30
3	2	F.n.1	25
4	3	F.n.4	23.8
5	4	F.n.3	18.7
6	5	F.n.7	13
7	6	F.n.6	7
8	7	F.n.5	5
9	8	F.n.2	2
	L.S.D. =0.05		1.73

وقد يعزى اختلاف العزلات المختبرة في نسبة تأثيرها في الانبات الى كمية المواد السامة المفرزة ونوعيتها واختلافها في مقدرتها على افراز الانزيمات المحللة للبكتين لاسيما الانزيم Polygalacturonase اذ ان العزلات غير الممرضة تكون ذات قابلية واطئة في انتاج هذا الانزيم (25 , 28) واستناداً الى نتائج هذه التجربة تم التركيز على العزلات ذات المقدرة الامراضية العالية في التجارب اللاحقة وهي F.n2 و F.n5 و F.n6 .

المقدرة الامراضية لعزلات الفطر *F. nelsonii* في شدة اصابة شتلات الكمثرى بعمر 90 يوما تحت ظروف الظلة الخشبية .

اظهرت نتائج هذه التجربة (جدول 2) ان جميع العزلات المختبرة كانت ممرضة وبفروقات معنوية عن معاملة المقارنة (من دون الفطر) والتي كانت شدة الاصابة فيها صفر في تأثيرها في شتلات الكمثرى بعمر 90 يوما وكانت شدة الاصابة في شتلات الكمثرى قد تراوحت 40 %- 86 % وتباينت العزلات فيما بينها في تأثيرها في شدة اصابة شتلات الكمثرى اذ تفوقت العزلة F.n2 على جميع العزلات المختبرة واحدثت شدة اصابة بلغت 86 % ثم العزلتان F.n5 و F.n6 فقد احدثت شدة اصابة بلغت 80.5 %، 72 % على التوالي .

جدول 2 . المقدرة الامراضية لعزلات الفطر *F. nelsonii* في شدة الاصابة لشتلات الكمثرى عمر 90 يوما تحت ظروف الظلة الخشبية .

ت	المعادلة	% شدة الاصابة
1	F.n.8	40
2	F.n.1	45
3	F.n.4	50
4	F.n.3	52
5	F.n.7	70
6	F.n.6	72
7	F.n.5	80.5
8	F.n.2	86
9	المقارنة	0
L.S.D.=0.05		4.15

وجاءت هذه النتائج مطابقة لنتائج الاختبار السابق اذ ان العزلات F.n2 و F.n5 و F.n6 والتي كانت ذات مقدرة امراضية عالية على بذور اللهانة. قد يعود السبب في اختلاف شدة الاصابة لعزلات الفطر *F.nelsonii* الى انتاجه للعديد من السموم والتي لها دور مهم واساسي في احداث المرض والتي تؤثر في نفاذية اغشية خلايا النبات المصاب (6) وقد يعود سبب اختلاف شدة الاصابة ببعض عزلات الفطر الممرض الى الاختلاف الوراثي بين العزلات اوقد يعود الى اختلاف العزلات في مقدرتها على افراز الانزيمات المحللة للبكتين والسيليلوز والتي يمكن ان تؤدي دور ا هاماً في زيادة مقدرتها الامراضية .(8 , 25) .

المقدرة الامراضية لعزلات الفطر *F.nelsonii* في شدة الاصابة ومعايير النمو لشتلات الكمثرى بعمر السنة تحت ظروف الظلة الخشبية .

اظهرت نتائج هذه التجربة (جدول3) ان جميع العزلات المختبرة كانت ممرضة وبفروقات معنوية عن معاملة المقارنة من دون فطر والتي كانت شدة الاصابة فيها صفراً في شتلات الكمثرى بعمر السنة وكانت شدة الاصابة قد تراوحت 75 % - 80 % وتباينت العزلات فيما بينها في تأثيرها على شتلات الكمثرى اذ تفوقت العزلة F.n2 على جميع العزلات المختبرة واحدثت شدة اصابة بلغت 80 % تلتها F.n5 و F.n6 احدثت شدة اصابة 78.5 % و 75 % على التوالي وجاءت هذه النتائج مطابقة لاختبار العزلات المرضية على بذور اللهانة وشتلات الكمثرى بعمر 90 يوماً اذ ان العزلات F.n2, F.n5 و Fn6 والتي كانت ذات مقدرة امراضية عالية على بذور اللهانة وذات شدة اصابة عالية على شتلات الكمثرى بعمر 90 يوماً .

جدول 3 . المقدرة الامراضية لعزلات الفطر *F. nelsonii* في شدة الاصابة ومعايير النمو لشتلات الكمثرى بعمر السنة تحت ظروف الظلة الخشبية.

ت	العزلات	%شدة الاصابة	الوزن الطري للمجموع غم		الوزن الجاف للمجموع غم		طول النبات سم	
			الخضري	الجذري	الخضري	الجذري	الخضري	الجذري
1	F.n2	80	101.5	71.5	36.5	26.5	56.3	20.5
2	F.n5	78.5	113.0	83.0	47.0	27.0	62.5	23.3
3	F.n6	75	122.75	92.75	55.5	37.5	67.7	24.3
4	المقارنة	0	172.0	142.0	77.6	54.0	90.0	32.3
L.S.D.=0.05		4.85	3.77	3.55	4.68	6.32	2.46	0.99

واثرت عزلتي الفطر الممرض *F.nelsonii* F.n2 و F.n5 سلبيا في معدل الوزن الطري والجاف للمجموعين الخضري والجذري لشتلات الكمثرى اذ بلغ الوزن الطري للمجموع الخضري لشتلات الكمثرى 101.5 و 113.0 غم وللمجموع الجذري 71.5 و83.0 غم على التوالي قياساً بمعاملة المقارنة التي بلغ الوزن الطري للمجموعين الخضري والجذري فيها 172 و 142 غم على التوالي واثرت عزلتي الفطر F.n2 و F.n5 سلباً في الوزن الجاف للمجموع الخضري لشتلات الكمثرى 36.5 و 47 غم على التوالي وللمجموع الجذري 26.5 و 27 غم على التوالي قياساً 77.6 غم و 54.0 غم لمعاملة المقارنة وتفوقت العزلتين F.n2 و F.n5 في تقليل معدل طول النبات للمجموع الخضري و الجذري حيث بلغت 56.3 و 62.5 سم و 20.5 و 23.3 سم على التوالي قياساً لمعاملة المقارنة التي بلغت90سم و 32.3 سم وقد يعزى السبب الى قدرة عزلات الفطر الممرض على افراز الانزيمات المحللة للسيليوز والبكتين او افرازها للمواد الايضية ذات التأثير السام في النبات (20 , 26).

اختبار تقييم كفاءة بكتريا *Pseudomonas fluorescens* و *Azotobacter chroococcum* في تثبيط نموعزلتي الفطر *Fusarium nelsonii* (F.n5, F.n2) الممرضة على الوسط الزرعي PDA بدرجة حرارة 25 ± 2 م°.

اظهرت نتائج هذه التجربة (جدول 4) قابلية البكتريا *P.fluorescens* بتركيز 5×10^7 وحدة تكوين مستعمرة/مل في تثبيط نمو عزلتي F.n2 و F.n5 للفطر *F.nelsonii* على الوسط الزرعي PDA فقد بلغ معدل النمو القطري لعزلتي الفطر الممرض 2.38 و 2.26 سم على التوالي قياساً الى معاملة المقارنة التي بلغ معدل النمو فيها 7 و 8 سم على التوالي وبلغ معدل نسبة التثبيط 66.75 % و 71.5 % على التوالي وقد يرجع الفعل التثبيطي لبكتريا *P.fluorescens* الى انتاجها لأنـــزيم β1-3-glucanase المثبط للعديد من الفطريات الممرضة (4)

جدول 4 . تقييم كفاءة بكتريا *Pseudomonas fluorescen* و *Azotobacter chroococcum* في تثبيط نمو عزلتي الفطر *Fusarium nelsonii* (F.n5, F.n2) على الوسط الزرعي PDA بدرجة حرارة 25 ± 2 م° .

ت	المعاملة	معدل النمو القطري (سم) للفطر *F. nelsonii*	% نسبة التثبيط
1	عزلة الفطر *F.nelsonii* F.n2	7	0
2	عزلة الفطر *F.nelsonii* F.n5	8	0
3	*P.fluorescens*+F.n2	2.38	66.75
4	*P.fluorescens*+F.n5	2.26	71.5
5	*A.chroococcu*m+F.n2	2.37	66.0
6	*A.chroococcu*m+F.n5	2.15	73.75
	L.S.D.=0.05	0.06	1.24

واشارت النتائج لتجربة استخدام البكتريا *A.chroococcu*m بتركيز 5×10^8 وحدة تكوين مستعمرة/ مل ادى الى تثبيط نمو عزلتي الفطر الممرض F.n2 و F.n5 على الوسط الزرعي PDA (جدول 4) فقد اظهرت البكتريا *A.chroococcu*m كفاءة عالية في تثبيط النمو القطري لعزلتي الفطر الممرض F.n2 و F.n5 اذ بلغت نسبة التثبيط 66 % و 73.75 % على التوالي قياساً بمعاملة المقارنة التي بلغت نسبة التثبيط فيها صفر . قد يعزى التأثير لبكتريا *A.chroococcu*m في تثبيط نمو عزلتي الفطر الممرض F.n2 و F.n5 الى قابلية البكتريا على انتاج انزيم Chitinase الذي يعمل على تحليل الكايتين الموجود في خلايا جدران الفطر *F.nelsonii* (5, 18 , 34).

تقييم كفاءة البكتريا *Pseudomonas fluorescens* و *Azotobacter chroococcum* في حماية شتلات الكمثرى بعمر 90 يوما من الاصابة بعزلتي الفطر *Fusarium nelsonii* (F.n5, F.n2) تحت ظروف الظلة خشبية.

اظهرت نتائج هذه التجربة (جدول 5) كفاءة جميع المعاملات المستعملة في خفض شدة الاصابة بعزلتي الفطر الممرض *F.nelsonii* (F.n5, F.n2) و بفروق احصائية معنوية عند (P=0.05) بقيم مختلفة مقارنة مع معاملة المقارنة (عزلتي الفطر الممرض *F.nelsonii* بمفرده F.n2 و F.n5) اذ اظهرت النتائج كفاءة المبيد الكيميائي Beltanol بوجود الفطر الممرض وجاءت معاملته بالمرتبة الاولى في خفض شدة الاصابة بالفطر الممرض اذ حققت شدة اصابة مقدارها صفراً قياساً الى معاملة المقارنة (عزلتي الفطر الممرض بمفرده) والتي كانت شدة الاصابة فيها 86.5% و 80.75 % وتتفق هذه النتيجة مع ماتوصلت اليه (3) في فعالية هذا المبيد في مكافحة الفطر *F.solani* المسبب لمرض تعفن جذور التفاح. وقد يعزى التأثير الفعال لهذا المبيد الكيميائي الى تكوين مركبات مخلبية مع النحاس في انسجة العائل وهذا يسهل مروره الى داخل خلايا الممرض وبعدها يتحرر ويؤدي الى قتل المسبب المرضي(32) . وبينت نتائج التجربة ان المعاملة ببكتريا المكافحة الحيوية *A.chroococcu*m تركيز 5 × 10^8 والبكتريا *P.fluorescens* تركيز 5×10^7 وحدة تكوين مستعمرة/مل كل على انفراد وبوجود عزلتي الفطر الممرض F.n2 وF.n5 جاءت بالمرتبة الثانية والثالثة على التوالي في خفض شدة اصابة شتلات الكمثرى اذ حققت المعاملتان خفضاً في شدة اصابة نباتات الكمثرى فقد بلغ مقدار شدة الاصابة فيها 15 %و14 %و 22.5 %و 20.00 %على التوالي قياساً بمعاملة المقارنة (فطر ممرض بمفرده) وتعزى فعالية بكتريا المكافحة الحيوية *A.chroococcu*m هي امتلاكها خاصية النمو السريع في الوسط الذي تعيش فيه ومقدرتها التنافسية العالية التي تمكنها من الاستيطان في منطقة Rhizosphere واستغلال المصادر الغذائية المتوفرة وقابليتها على انتاج Sidrophores كذلك افرازها بعض الانزيمات التي لها القدرة على تحليل جدران خلايا الفطر الممرض ومن هذه الانزيمات انزيم Chitinase و Laminarinase (18, 27, 38 , 41, 45).

وتقود فعالية البكتريا *P.fluorescens* في خفض شدة الاصابة بعزلتي الفطر *F.nelsonii* الى ان للبكتريا المقدرة العالية على انتاج العديد من المركبات الايضية السامة والمضادات الحيوية التي تعمل على كبح نشاط العديد من المسببات المرضية ومنها Phenazine و 2,4-diacetylphloroglucinol و Pyoluteorin (19) اذ يعمل المضاد Pyoluteorin على تثبيط السلسلة التنفسية للفطريات المرضية (24), فضلا عن قدرة البكتريا على انتاج المركبات الخالبة للحديد مثل مركب siderophores والذي يعمل على التنافس على عنصر الحديد وجعله غير جاهز للاحياء الدقيقة الممرضة الاخرى ومنها ممرضات النبات والذي اثبت فاعليتها في تثبيط العديد من المسببات المرضية وعلى عوائل نباتية مختلفة .(22 , 30) كذلك تعمل البكتريا *P.fluorescens* على استعمار جذور النباتات المعاملة بها فتنافس الفطر الممرض على المكان والمواد الغذائية مما يؤدي الى تكوين مجموع جذري كبير وقوي يتحمل عوامل الاجهاد التي يتعرض لها النبات وتحفيز المقاومة الجهازية في النباتات (37) .

ان اثر البكتريا *P.fluorescens* المستعملة في مجال المكافحة الحيوية يتعدى التأثير المباشر في المسبب المرضي ليشمل تحسين حالة النبات الصحية ومن ثم السيطرة على المسببات المرضية في ضوء الاليتين معاً (7 , 42).

(جدول 5) تقييم كفاءة البكتريا *Pseudomonas fluorescens* و *Azotobacter chroococcum* في حماية شتلات الكمثرى بعمر 90 يوم من الاصابة بعزلتي الفطر *Fusarium nelsonii* (F.n2 و F.n5) تحت ظروف الظلة الخشبية .

ت	المعاملات	%شدة الاصابة	الوزن الطري للمجموع غم		الوزن الجاف غم		طول النبات سم	
			خضري	جذري	خضري	جذري	خضري	جذري
1	الفطر *F. nelsonii* العزلة F.n2	86.5	11	6	6.12	4	11	9
2	الفطر *F. nelsonii* العزلة F.n5	80.75	15.25	8	10.25	5	13	9
3	*P.fluorescens*+F.n2	22.5	40	9	20	10	18	12
4	*P.fluorescens*+F.n5	20.00	42	20	22.25	10	16	13
5	*A.chroococcu*m+F.n2	15	44	22	23	12	18	13
6	*A.chroococcu*m+F.n5	14	45	22.75	23	13	17	13
7	*P.fluorescens* بمفردها	0	51	27	26	15	24	18
8	*A.chroococcu* بمفردها	0	55	30	28	15	25	20
9	F.n2+ المبيد Beltanol	0	45	21	26	11	22	14
10	F.n5+ المبيد Beltanol	0	45	20	23	19	22	14
11	مقارنة غير ملوثة بالفطر *F. nelsonii*	0	50	22	24	11	22	14
	L.S.D.=0.05	0.89	1.41	1.54	1.63	2.07	1.50	1.80

بينت النتائج (جدول 5) ان جميع المعاملات قد حققت زيادة معنوية في معايير نمو نباتات الكمثرى المتمثلة بالوزن الطري والجاف وطول النباتات للمجموعين الخضري والجذري قياساً بمعاملة المقارنة الفطر الممرض *F.nelsonii* بمفردها . قد حققت معاملة اضافة البكتريا *A.chroococcum* بوجود عزلتي الفطر (F.n2 وF.n5) زيادة معنوية في معايير النمو كالوزن الطري والجاف للمجموعين الخضري والجذري اذ بلغت 44 و 45 و 22و 22.75 غم و 23 و 23 و 12 و 13 غم على التوالي وطول النبات 18 و17 و 13 و13 سم على التوالي وتعد البكتريا *A.chroococcum* من اهم الاجناس المحفزة لنمو النبات PGPR من خلال تثبيتها لنتروجين الجوي (9, 16 , 36) . ان معاملة اضافة البكتريا الحيوية *P.fluorescens* الى تربة لوثت بلقاح الفطر *F.nelsonii* (F.n2 و F.n5) قد حققت زيادة معنوية في جميع معايير النمو لنباتات الكمثرى فقد بلغ معدل الوزن الطري والجاف للمجموعين الخضري والجذري 40 و 42 و 9 و 20 غم على التوالي و 20و 22.25 و10و10 غم على التوالي وطول النبات 18 و 16 و 12 و 13 و سم على التوالي تؤدي البكتريا *P.fluorescens* دور مهما في توفير كميات اضافية من عنصر N عن طريق اليات متعددة منها تثبيت N الجوي او تحليل الصخور المعدنية وتحرير العناصر التي تساعد على نمو الجذور وتعميقها في التربة ومن ثم زيادة قابليتها على امتصاص الماء والعناصر الغذائية (13) ان الزيادة الحاصلة في طول النباتات ناتج من تأثير الهرمونات المنتجة من قبل البكتريا *P.fluorescens* والتي تشمل Auxins و Gibberelins و Cytokinens التي لها دور مهم في عملية استطالة الخلايا النباتية وعمليات الانقسام والتوسع في النباتات (35 , 43).

تقييم كفاءة *Pseudomonas fluorescens* و *Azotobacter chroococcum* في حماية شتلات الكمثرى بعمر السنة من الاصابة بعزلتي الفطر *Fusarium nelsonii* (F.n2 و F.n5) تحت ظروف الظلة الخشبية

اوضحت النتائج (جدول 6) أن معاملة المبيد Beltanol كانت من اكفأ المعاملات في خفض شدة الاصابة بعزلتي الفطر الممرض *F.nelsonii* (F.n2 و F.n5) لشتلات الكمثرى بعمر السنة فقد بلغ معدل شدة الاصابة فيها صفر قياسا الى معاملة المقارنة(الفطر الممرض بمفردها) والتي كانت شدة الاصابة فيها 82 % و 75.25 % . وتعود قدرة المبيد في التأثير في فعالية الفطر الممرض ونشاطه من خلال تكوين مركبات مخلبية مع النحاس في انسجة العائل النباتي وسهولة دحوله الى خلايا الفطر مما يؤدي الى قتله (32). اما معاملات اضافة البكتريا *A.chroococcum* تركيز 5×10^8 و *P.fluorescens* تركيز 5×10^6 وحدة تكوين مستعمرة/مل بوجود عزلتي الفطر الممرض *F.nelsonii* (F.n2 و F.n5) قد اختزلت النسبة المئوية لشدة الاصابة اذ بلغت 16 % و 18 % و 18 % و 20 % على التوالي قياسا بمعاملة مقارنة عزلتي الفطر الممرض بمفردها والتي كانت شدة الاصابة فيها 82 %و 75.25 % وتعزى فعالية البكتريا *A.chroococcum* الى قدرتها التنافسية العالية مع الاحياء الاخرى في منطقة الـ Rhizosphere وافرازها بعض الانزيمات التي لها القدرة على تحلل جدران خلايا الفطر الممرض *F.nelsonii* ومن هذه الانزيمات انزيم Chitinase , Iaminarinase (27 , 45)وتعود فعالية البكتريا *P.fluorescens* في خفض شدة الاصابة بالعزلتين الفطر *F.nelsonii* الى ان للبكتريا المقدرة العالية على انتاج انواع مختلفة من المضادات الحيوية مثل Oomycin و Pyrolnitrin و Phloroglucinal و Pyrroles ضد الفطريات الممرضة للنبات (39 , 44) .

(جدول 6) تقييم كفاءة *Pseudomonas fluorescens* و *Azotobacter chroococcum* في حماية شتلات الكمثرى بعمر السنة من الاصابة بعزلتي الفطر *Fusarum nelsonii* (F.n2 و F.n5) تحت ظروف الظلة الخشبية .

ت	المعاملات	%شدة الاصابة	الوزن الطري غم		الوزن الجاف غم		طول النبات سم	
			خضري	جذري	خضري	جذري	خضري	جذري
1	الفطر *F. nelsonii* العزلة F.n2	82	101	73.75	38	27	58.25	16
2	الفطر *F. nelsonii* العزلة F.n5	75.25	114	83	50.25	30.5	64.25	18
3	*P.fluorescens*+F.n2	18	155	129	70	49.75	78	21
4	*P.fluorescens*+F.n5	20	159	130	73.25	50.25	81	24
5	*A.chroococcu*m+F.n2	16	160	136	74.25	53	80	25
6	*A.chroococcu*m+F.n5	18	166.75	140	76.75	54.25	82	27
7	*P.fluorescens* بمفردها	0	180	150	82.5	58.25	95	30
8	*A.chroococcum* بمفردها	0	181	155	82.75	60.25	100	32.25
9	F.n2+ المبيد Beltanol	0	175	146	81.25	57.5	92	30
10	F.n5+المبيد Beltanol	0	175	146	80.75	57	92	30
11	مقارنة غير ملوثة بعزلتي *F. nelsonii*	0	175	143	80.5	58.75	94	32.25
	L.S.D.=0.05	2.47	3.13	4.73	3.92	5.35	3.81	2.21

كما اظهرت النتائج ان معاملة البكتريا *A.chroococcum* قد اثرت ايجابيا في معايير نمو شتلات الكمثرى عند اضافتها الى التربة الملوثة بعزلتي الفطر الممرض *F.nelsonii* (F.n2 وF.n5) قياسا الى معاملة عزلتي الفطر الممرض بمفردها . اذ حققت اعلى القيم لمعايير النمو كالوزن الطري للمجموعين الخضري والجذري 160 و166.75 و 136 و 140 غم على التوالي والوزن الجاف للمجموعين الخضري والجذري 74.25 و 76.75 و 53 و 54.25 غم على التوالي وطول المجموع الخضري والجذري لشتلات الكمثرى 80 و 82 و 25 و 27 سم على التوالي قياسا بمعاملة المقارنة عزلتي الفطر الممرض *F.nelsonii* بمفرده والتي كان الوزن الطري و الجاف للمجموعين الخضري و الجذري 83و73.75و114و101 غم و 30.5و27و50.25و38 غم على التوالي وطول المجموع الخضري والجذري لشتلات الكمثرى 58.25 و 64.25 و 16 و 18 سم على التوالي ويعود السبب الى اليات هذه البكتريا في تثبيط نمو الفطر الممرض ومنها القدرة التنافسية العالية بينها وبين المسبب المرضي على المواد الغذائية وكذلك ابعاد الممرض عن البيئة الاستيطانية الملائمة كما ان لهذه البكتريا القدرة على تكوين مركبات Sidrophores الخالبة للحديد الثلاثي ومن ثم جعله غير جاهز للفطر الممرض مما يؤدي الى موته وتحلله وافرازها للإنزيمات التي تعمل على تحلل الغزل الفطري وتشوه قمم الخيوط الفطرية . (12,27, 38 , 45). اما معاملة اضافة بكتريا المكافحة الحيوية *P.fluorescens* الى تربة لوثت بلقاح الفطر *F.nelsonii* (F.n2 و F.n5) قد حققت زيادة معنوية في معايير نمو شتلات الكمثرى فقد بلغ معدل الوزن الطري و الجاف للمجموعين الخضري والجذري 155 و 159 و 129 و 130 غم و 70 و 73.25 و 49.75 و 50.25 غم على التوالي .وطول المجموع الخضري الجذري لشتلات الكمثرى 78 و 81 و 21 و 24 سم على التوالي قياسا بمعاملة المقارنة عزلتي الفطر الممرض *F.nelsonii* بمفرده. ان تفوق معاملة بكتريا المكافحة الحيوية *P.fluorescens* والتي تعمل على زيادة جاهزية الفسفور والحديد الذي يوفر البيئة الملائمة لنمو البكتريا وتكاثرها مما يؤدي الى زيادة كفاءة البكتريا في السيطرة على بعض المسببات المرضية ويتناسب طردياً مع كثافة البكتريا اذ كلما زادت الكثافة قلت الاصابة المرضية (2) .

نوصي بالاستفادة من عوامل المكافحة الاحيائية *A.chroococcum* و *P.fluorescens* *في مكافحة الفطر* *F.nelsonii* المسبب لمرض تعفن جذور الكمثرى كبدائل للمبيدات الكيميائية للحد منها أو التقليل من استخدامها و الاضرار الناتجة عنها .

المصادر

1-البياتي,اسراء موفق عبيد.2010.المكافحه الاحيائيه والكيميائيه للفطر *Fusarium solani* المرافق لجذور الكمثرى في محافظه بابل. رساله ماجستير. كليه العلوم. الجامعه المستنصريه.

2-العنسي,كامل عبد الغني .1999.المقاومه المتكامله لمرض الذبول الفيوزارمي في الطماطه المتسبب عن الفطر . *Fusarium oxysporum f.sp.Lycopersic*i رساله ماجستير .كليه الزراعه.جامعه البصره

3-الونداوي ,درين صفوت جميل . 2006.الكشف عن مسببات امراض جذور التفاح الفطريه ومقاومتها ,رساله ماجستير,كليه الزراعه,جامعه بغداد.

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

5-Andersen, J.B.; B. Koch; T.H. Nielsen; D. Sorensen; M. Hansen; O. Nybroe; C. Christopheren; J. Soren; S. Molin; and M. Gvskove. 2003. Surface motility in pseudomonas sp. Dss73 required for sfficient biological containment of root – pathogenic microfungi *Rhizoctonia solani* and *Pythium ultimum*. Microbiology. 149: 37 – 46. (Abstract).

6-Baker,R.A.,J.H.Tatum and S.Nemec.1981.Toxin production by *Fusarium solani* from fibrous roots of diseases citrus.Phytopathology.71(9):951-954.

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-Barreto, D.,babbitt,S, Gally,M. and perez, B.A., 2003.Nectria haematococa causing root rot in Olive greenhouse plants Revista de Lesociedad Argentina de horticultura,32(1):49-55.

9-Barriuso, J.; M.T. Pereyra; J.A.L. Garcia; M. Megias ; F.J.G. Manero and B. Ramos. 2005. Screening for putative PGPR to improve establishment of the symbiosis Lactarius deliciosus-Pinus sp. Microbial Ecolo. 50(1):82-89.

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

11-Carling, D.F., D.T. Hetan and R.H. Leiner.1990. In vitro sensitivity of *Rhizoctonia solani* and other multinucleate and binucleated Rhizoctonia in selected fungicide. Plat Dis. 74:860-863.

12-Chet, I.; A. Ordentlich; R. Shapra and A. Oppenheim. 1990. Mechanism of biocontrol of soil borne plant pathogen by razobactera . Plant and Soil ,129:85-92.

13-Cleyet-Marcel,J.C.,M.Larcher,H.Bertrand,S.Rapior,and X.pinochet .2001.Plant growth enhancement by *rhizobacteria* in JF Morot –Gaudry ,ed ,Nitrogen Assimilation by Plants Physiological Biochemical and Molecular Aspects .science publishers, inc., Enfeld, NH .185-197.

14-Dewan ,M.M. 1989. identify and frequency of fungi in root of wheat and Ryegrass and their effect on take all and host growth. Ph.D. Thesis, Univ. Wes. Australian 210pp.

15-Ding ,Z.,J. Zhang, z. Chen, D. hang,and J. Li 2001. Some biological characteristical genetically engineered insecticidal *Pseudomonas fluorescens*. Wei. Sheng. Wu. Xue. Bao.41;3-8.

16-El-komy,M.H.A.2001.Biocontrol of soil-borne fungi and increasing production using growth promoting *Rhizobacteria*.Master Thesis.Facuality of Agriculture-Alexandri Univ.(Abstract).

17-Glick,B.R.and Y.Bashan.1997. Genetic manipulation of plant growth – promoting bacteria to enhance biocontrol of Phytopathogens. Biocontrol. Advances. 15:353-378.

18- Hillel,D.2005.Plant Growth Promoting Bacteria . Elsevier ,oxford, U.K.,:103-115.

19- Howell, C.R. and R.D. Stipanovic.1980. Suppression of pythium ultimum induced damping-off of cotton seedling by *Pseudomonas fluorescence* and its antibiotic pyoleorin. Phytopathology. 70:286-292.

20-Inoue,I.Namiki,F.and Tsuge,T,2002.Plant colonization by vascular wilt fungus *Fusarium Oxysporum* requires fowl,agen coding amitochondrial protein.The plant cell,American society of plant Biologists 14:1864-1883.

21-Jones, A.L.1990. Compendium of apple and pear disease. APS Press, First printing, loop.

22-Landa, B.B., H.A.Dewerd, B.B.Mespadden and D.M.Weller .2002. Comparsion of three methods for monitoring population of different genotypes of 2,4- diacytlphloroglucinol producing *Pseudomonas fluorescens* in the rhizosphere. Phytphopathology ,92:129-137.

23- Leslie,J.F., and B.A.Summerll.2006. The Fusarium Laboratory manual 388.pp.

24-Ligon,J.M., D.Shill, P.E.Hammer, N.R.Torkewitz, and K.H.VanPee. 2000. Natural products with antifungal activity from *Psudomonas* biocontrol bacteria . Pest Manag.Sci.,56:688- 695.

25-Losovaya,V. V., Lygin, O. V Zenrova ,S., Li.,J. M. wind Holm .and G.L. Hartman. 2006. Liginin degredation by *Fusarium solani* plant Dis. 9 77-82.

26-Macnish,G.C.carling, D,E., Sweeting haw, M.W., Ogoshi, A. and Brain a rd, K.A. 1995.Characterization of ano stomosis group (CAG10)of *Rhizoctonia solani*. Australian Plant Pathol.14:252-260.

27-Mali ,G.V.and M.G.Bodhankar.2009. Antifungal and phytohormone production potential of *Azotobactor chroococcum* isolates from groundnut (Arachis hypogea L.).Asian J.EXP.Sci.23:293-297.

28-Manici ,L. M., M. Kelderer ,G. Eschbaume ,F. Capato, V. babini and C.Casera. 2000. Replant problems in south Tyrol:role of fungal pathogensvand microbial population in conventional and organic apple orchards.Reserch institute before industrial crops,Viad corticella 133:218-223.

29-Martin, S.B., C.T. Compbell, and L.T. Lucas.1984. Response of Rhizoctonia blights of tall fescue to selected fungicides in greenhouse. Phytopathology. 74:782-785.

30-Mavrodi, O.V., B.B. Mespadden, L.S. Thomasshow, D.V. Mavrodi, R.F. Bonsall and D.M. Weller. 2001. Diacetyl phloroglucinol producing florescent pseudomonas spp. Phytopathology,91:35-43.

31-Mckinney,H.H.1923.Influence of soil temperature and moisture on infection of wheat seedling by Helminthosporium J.Agric.Res.195-217.

32-Meister,R.T.2000. Farm chemical handbook.Listing for Beltanol willough by OH.vol.86.p.45.

33-Montealerge, J.R., R.Rodrigo, P.Luz Maria, H. Rodrigo, S. polyana and B. Ximena. 2003.Selaction of bioantagonis-tic bacteria to be used in biological control of *Rhizoctonia solani* in tomato .J.Biotec.6:115-127.

34-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.

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

36-Saribay,G.F.2003. Growth and nitrogen fixation dynamics of *Azobactor chroococcum* in nitrogen free and OMW containing medium. Master. The Graduate School of Natural and Applied Sciences. the Middle East Tech. Univ.82 pp.

37-Schiler,D.A.,N.I.Khan and P.J.Slininger.2002.Greenhouse and field evaluation of biological control of *Fusarium* head blight on durum wheat.Plant Dis.86;1350-1356.

38-Sharma, P.K., S.K., Dey and V.P.S. Chahal. 1986. In vitro interaction between phytopathogens and *Azotobacter* species. Indian Phytopathol. 39: 117-119.

39-Sharma, R.C.; S.K. Vasal; B.K. Fernarido Gan Zalez; and N.N. Singh. 2002. Redress of Banded leaf and sheath blight of Maize through breeding chemical and biocontrol agent. Proceeding of the 8th Asia Regional Maize Workshop, Bankok. Thailand.

40-Shaukat, S.S.; and I.A. Siddiqui.2003. The influence of mineral and carbon sources on biological control of charcoal rot fungus ,*Macrophomina phaseolina* by fluorescent pseudomonas in tomato. Applied Microbil. 36(6): 392-398.

41-Singh, T. 1977. Studies on interaction between *Azotobacter chroococcm* and some plant pathogens. IAP, Ph.D. Thesis. Cited from Can. J. Microb., New Delhi.

42-VanLoon,L.C. ; and P.A.H.M. Bakker.2003. Signaling in Rhizobacteria plant interaction. Ecological studies. 168:297-330.

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

44-Voisard, C.; C.T. Bull; C. Keel; J. Laville; M. Maurhofer; U. Schnider; G. Defago; and D. Haas.1994. Biocontrol of root diseases by *Pseudomonas fluorescens* CHAO: Current cocepts and experimental approaches. Pages 67-89 in: Molecular Ecology of Rhizosphere Microorganisms. F. O' Gara , D.N. Dowling, and B. Boesten, eds, VCH, Weinheim, Germany.

45-Zarrin, F.,M. Saleemi, M. Zia, T. Sultan, M. Aslam, R. Rehman and M.F. Chandahary.2009. Antifungal activity of plant growth promoting Rhizobacteria isolates against *Rhizoctonia solani* in wheat. Africa J. of Biotechnol. 8(2) :219-225.