الكشف المصلي وتحفيز المقاومة الجهازية في نبات الكرفس ضد فايروس موزائيك الكرفس (CeMV)

امنه محمد علي

قسم العلوم – كلية التربية الاساسية – الجامعة المستنصرية

amna_mo2@yahoo.com

الخلاصة

اجريت الدراسة بهدف الكشف عن فايروس موزائيك الكرفس مصليا واستحثاث مقاومة جهازية في نباتات الكرفس ضد الفايروس باستعمال خليط حيوي من احياء مجهرية غير ضاره للنبات. أمكن الحصول على عزله للفايروس من نباتات كرفس تظهر عليها اعراض موزائيك واصفرار وتشوه الاوراق وتقزم النباتات . نقيت العزله من بقعة موضعية على اوراق نباتات الزربيح المعداة مكيانيكيا بمستخلص الفايروس واظهر تفاعل الاليزا (فحص الامتصاص المناعي المرتبط بالانزيم) لعينة من هذه النباتات تفاعلا قويا بلغت قيمة امتصاصه للضوء على الطول الموجي 405 نانومتر 1.905 قياسا بـ 0.014 في المقارنة (مستخلص نبات سليم) . وجد ان تغطيس بذور الكرفس بمعلق من البكتريا *Rhizobium leguminosarum* و *Pseudomonas fluorescens* و *Bacillus subtilis* بشكل منفرد او خليط منها بتركيز (10^8) ادى الى التبكير في الانبات وتحسين معايير النمو . اذ بلغ الوزن الطري والجاف للنباتات المعاملة 10.82 ، 3.15 غم \ نبات ، 9.69 ، 2.82 غم \ نبات ، 8.43 ، 2.75 غم انبات ، 11.32 ، 4.05 غم \ نبات على الترتيب قياسا ب 5.62 ، 1.95 غم انبات في المقارنة . ان تحسين معايير النمو في النباتات رافقه اختزالا معنويا في تركيز الفايروس في النباتات المعاملة بالبكتريا ومعداة بالفايروس كما اوضحته قيم الامتصاص لوسط تفاعل الاليزا بين مستخلص من النباتات المعاملة والاجسام المضادة لفايروس موزائيك الكرفس. فقد بلغت قيم الامتصاص في النباتات الناتجة من بذور معاملة بالبكتريا *R. leguminosarum* ، *P.fluerescens* ، *B.subtilis* وخليط منها في تفاعل اليزا على الطول الموجي 405 نانو متر , 0.305 , 0.395 , 0.425 , 0.195 , على الترتيب قياسا بـ 1.905 في النباتات المعداة بالفايروس فقط و 0.014 في النباتات السليمة .

الكلمات المفتاحية: فايرس موائيك الكرفس، المقاومة الجهازية، فحص الامتصاص المناعي المرتبط بالانزيم، نبات الزريج.

Abstract

The study was conducted to detect celery mosaic virus (cemv) serologically and induce systemic resistance in celery plants against the virus using combination of non-pathogenic microorganisms . An isolate of cemv was obtained from infected celery plants showing mosaic and chlorosis associated with leaf deformation and plant stunting. The isolate was purified by single lesion on *Chenopodium amaranticolor* leaves mechanically inoculated with virus extract . ELISA reaction between an extract from infectied plant with cemv antibodies gava high absorbance value at 405 nm , 1.905 compared with 0.014 in control . The immersion of celery seeds in *Rhizobium leguminosarum Pseudomonas fluorescens* , *Bacillus subtilis* suspensions , singly or in combination , at 10^8cfu/ml enhanced seeds germination and improved plant growth parameters . The fresh and dry weights of plant were attained to 10.82 , 3.15 g/plant , 9.69 , 2.82 g /plant , 8.43 , 8.75 g/ plant , 11.32 , 4.05 , 4.05 g/ plant for the four treatments respectively compared to 5.62 , 1.95 g / plant in control . The improvement of plant growth was found associated with significant reduction in virus concentration as proved by absorbance values of ELISA reactions between extracts of plant emerged from seeds treated with *R. leguminosarum P. ftuorescens B. subtilis* and combination of them , at 405 nm , were found to be 0.305 , 0.395 , 0.425 , 0.195 respectively compared with 1.905 for celery plant inoculated with virus only and 0.014 in healthy plant.

Keywords: celery mosaic virus (cemv), systemic resistance chenopodium amaraticolar ELISA.

المقدمة

الكرفس *Apiumgravcolens* L من عائلة Apiacea احد محاصيل الخضر الورقية المهمة , يزرع على نطاق واسع في العراق وفي العديد من دول العالم . يصاب نبات الكرفس بالعديد من المسببات المرضية من بين اكثرها اهمية فايروس موزائيك الكرفس Celery mosaic virus (CeMV) ويطلق علية ايضا Western mosaic virus و Crinkle leaf virus . يعود فايروس موزائيك الكرفس للجنس potyvirus , عائلة potyviridae , ويتكون من جسيمات خيطية مرنه طولها 780 نانومتر وقطرها 15 نانومتر وينتشر حيث يزرع الكرفس في العالم (Chad ، 1984 و Frust ، 1986) . يتميز الفايروس بمدى عائلي ضيق ويقتصر بشكل رئيس على العائلة Apiaceae و بعض العوائل الاخرى Shukla(وجماعته , 1994) . سجل فايروس موزائيك الكرفس لاول مرة في جنوب استراليا ثم سجل فيما بعد في الكثير من دول العالم (Albert واخرون , 1989) .

يسبب الفايروس على نبات الكرفس اعراض موزائيك على الاوراق يتخللها احيانا خطوط صفراء , توضح العروق , تشوه والتفاف الاوراق , وتحولها الى شكل كاسي , يرافق هذه الاعراض تقزم النباتات و تسطح القمة النامية (Flattened appearance) ويؤدي الى خسائر كبيره في المحصول قد تصل الى 75% (Prembertopn , frost , 1986 , Bos وجماعته , 1989) .

ينقل فايروس موزائيك الكرفس من النباتات المصابة الى السليمة ميكانيكيا , وبواسطة عدة انواع من حشره المن بطريقة غير باقية , اذ تستغرق الحشرة على النبات المصاب ثواني او دقائق لاكتساب الفايروس ومثلها على النبات السليم للعدوى ثم تفقد الحشرة الفايروس (Latham وجماعته , 2003 ,Amal وجماعته,2012).

اعتمدت استراتيجيات متعددة لمقاومة الفايروس من بينها زراعة نباتات خالية من الفايروس لكسر دورة نقل الفايروس بين المحاصيل المتعاقبة (D.Antonio وجماعته , 2010) . واشير الى ان النباتات تمتلك اليات متعدده لمقاومة المسببات المرضية وان بعض هذه الاليات قابلة للاستحثاث بمعاملة النباتات بمركبات كيميائية مصنعة , مستخلصات نباتية , وعوامل احيائية تتضمن بكتريا وخمائر وفطريات غير مرضية تجعل النباتات مقاومة لطيف واسع من المسببات المرضية قياسا بنباتات المقارنه وان هذه المقاومة المستحثة تؤدي الى اختزال تضاعف المسبب المرضي و وقف تطور الاعراض (Walters وجماعته , 2005) .

لوحظت على نباتات الكرفس في مناطق عدة في بغداد وابو غريب اعراض موزائيك وتشوه والتفاف الاوراق وتقزم النباتات يشك في انها متسببه عن فايروس موزائيك الكرفس , لذلك هدفت الدراسة الى الكشف عن الفايروس مصليا واستحثاث مقاومة في نباتات الكرفس ضد الفايروس باستعمال خليط من احياء مجهرية غير ضاره للنباتات .

المواد و طرائق العمل

اولا: الكشف عن الفايروس

اعتمد في الكشف عن الفايروس في النباتات المصابه اختبار اليزا المصلي

Double antibody sandwich – Enzyme linked immunosorbent assay(Das – ELISA)

1- مصدر الفايرس

جمعت نباتات كرفس تظهر عليها اعراض موزئيك وتشوه الاوراق واصفرار وتقزم , من مناطق مختلفة من بغداد. سحقت اوراق من هذه النباتات في محلول دارئ فوسفاتي 0.03 مولاري يحوي 0.1% كبريتيد الصويوم (Soudium sulfite) , PH 7.0 (1غم : 1مل) في هاون خزفي . اضيف للمستخلص مادة الكاربورندم بنسبة 1% ومسحت بالمستخلص اوراق كرفس وحفظت في البيت الزجاجي . اخضعت النباتات التي ظهرت عليها اعراض اصابة لاختبار الاليزا المصلي ونقيت عزلة الفايروس .

2- تنقية عزلة الفايروس

اعتمدت طريقة البقعة الموضعية المفردة على نبات الزربيح *Chenopodium amaranticolor* في تنقية عزلة الفايرس . تن اصابة اوراق زربيح بمستخلص الفايروس بالطريقة السابقة نفسها وبعد ظهور البقع ، اخذت بقعة مفردة وسحقت مع عدة قطرات من محلول الدارئ الفوسفاتي واعديت بالمستخلص اوراق نبات كرفس ، وبعد ظهور الاعراض على النباتات اخضع مستخلص من اوراقها لاختبار اليزا المصلي . كررت عملية النقل عدة مرات واعتمدت العزلة المنقاة للدراسات اللاحقة

3- اختبار الاليزا

اعتمد الاختبار المصلي Das–ELISA في الكشف عن الفايرس Cemv باستعمال العدة الخاصة بالاختبار من شركة Loewe Biochemical GmbH الالمانية حسب طريقة Clack و Adams (1977) . سحقت اوراق من نباتات كرفس مصابة بالفايروس واخرى سليمة في محلول دارئ كاربوني (0.3 مولاري $NaHCo_3$ ، 0.01 مولاري Na_2Co_3 يحوي 0.2%bovin serum albumin (BSA) ، PH 9.6) بنسبة 1 غم : 10 مل ، واجريت على المستخلص عملية انتباذ بسرعة 5000 دوره / دقيقة مدة 10 دقائق . وضع 200 مايكرولترمن الطافي في حفره من حفر طبق الاليزا المغلفه باحسام مضادة لفايروس CeMV تركيز 1.5 مايكروغرام / مل وحضن الطبق بدرجة حرارة 37 م مدة ساعتين . غسلت حفر الطبق ثلاث مرات بمحلول دارئ فوسفاتي ملحي (10 ملي مولاري Na2Hp04 ، 0.14 مولاري Nacl ، PH 7.0) يحوي 0.05 % Tween – 20 (PBST) اضيف لكل حفره في الطبق 200 مايكرولتر من معقد الاجسام المضاده للفايروس مرتبطه بانزيم الفوسفاتيز القاعدي (alkaline phosphatase) المخفف بنسبة 1000:1 في محلول الربط (PBST الحاوي على 0.2 % BSA) وحضن الطبق بدرجة 37 م مدة ساعتين . غسلت حفر الطبق واضيف لكل حفره 200 مايكرولتر من (substrate) P– nitrophenyl phosphate (PNP) تركيز 1 ملغم / مل في 10% ايثانول امين 9.8 pH وتم تقدير الامتصاص على الطول الموجي 405 نانومتر في جهاز المطياف الضوئي . عدت قيم الامتصاص المساوية لضعف قيمة الامتصاص في المقارنة (مستخلص نبات سليم) موجبة .

ثانيا: فعالية الخليط الحيوي في الحد من تضاعف الفايروس CeMV

استعمل خليط من بكتريا *Rhizobium leguminosrarum* , *Pseduomonas fluorescens* , *Bacillus subtilij* .

-البكتريا: تم الحصول على البكتريا *P.fluorescens* , *B.subtilis* من مختبر فايروسات النبات/ قسم وقاية النبات – كلية الزراعة – جامعة بغداد . عزلت من تربة زراعية واثبتت كفاءة في مقاومة العديد من المسببات المرضية . نميت البكتريا وكثرت على الوسط الزرعي السائل Nutreint broth وقدر عدد الخلايا فيها بطريقة عد المستعمرات على الوسط الزراعي الصلب Nuterint agar. تم الحصول على عزلة من البكتريا R.leguminosrarum من قسم التربة والموارد المائية/ كلية الزراعة– جامعة بغداد , عزلت من عقد بكتيرية على جذور نباتات الباقلاء . نميت البكتريا وكثرت على الوسط الزرعي السائل yeast mannitol broth (YMB) وقدر عدد الخلايا في المزرعة بطريقة عد المستعمرات على الوسط الزراعي الصلب (YMA).

معاملة البذور بالبكتريا : عقمت بذور كرفس بغمرها في محلول هايبوكلوريت الصوديوم 2% مدة دقيقيتين ثم غسلت بماء مقطر معقم وغمرت في معلقات البكتريا الثلاث بشكل منفرد وفي خليط منها بتركيز (10^8) وحدة تكوين مستعمرة (Colony forming unit) (CFU)/ مل مدة ساعة . زرعت البذور المعاملة في خليط من تربة مزيجية وبتموس (1:3) في اصص بلاستكية , 15×20سم , ورطبت التربة حول النباتات بعد الانبات بمعلق من المزارع البكتيرية (50مل / اصيص) . وزعت المعاملات حسب التصميم العشوائي الكامل (CRD) وعلى النحو الاتي :

CeMV + P.fluorescens = T2, CeMV + R.leguminosarum = T1

CeMV + خليط من البكتريا = T4, CeMV + B.Subtilij = T3

T5= فايروس فقط (مقارنة) , T6= نباتات سليمة غير معاملة (مقارنة)

تم اصابة النباتات بعد الاسبوع الرابع من الانبات وجرت متابعة تضاعف الفايروس في النباتات بواسطة اختبار اليزا المصلي بعد 4 اسابيع من العدوى بالفايروس .

النتائج والمناقشة

الكشف عن الفايروس

أمكن الحصول على عزلة نقية للفايروس من بقعة مفردة على اوراق نباتات الزربيح Ch.amaranticolor الذي استجاب للعدوى بمستخلص من اوراق نبات كرفس مصابة بتكوين بقع صفراء على الاوراق المعداة . واستجابت نباتات كرفس للعدوى الميكانيكية بهذه العزلة بظهور اعراض توضح العروق وتبرقش على الوريقات بعد 10 ايام من العدوى تلتها اعراض موزائيك شديد تخللته مناطق صفراء طويلة على امتداد النصل ثم تشوه شديد للاوراق انتهت بتقزم النباتات (شكل 1) . واظهر تفاعل (ELISA) لعينة من نبات كرفس مصاب تفاعلا قويا وبغلت قيمة الامتصاص لوسط التفاعل على الطول الموجي 405 نانومتر 1.905 قياسا بـ 0.014 في المقارنة (نبات سليم) . وقد اشارت دراسات سابقة عديدة الى اعراض مماثلة

للفايروس على نبات الكرفس (D.Antonio واخرون . 2001 ,Poduch-Cichal و Sola-Rejezak . Amal, 2010 واخرون . 2012) .

ان ظهور تفاعل بين مستخلص من نباتات كرفس مصابة مع الاجسام المضادة للفايروس CeMV يشير الى ان الفايروس المرافق لاعراض الموزائيك والتشوه والتقزم على نباتات الكرفس هو فايروس موزائيك الكرفس (CeMV) .

(أ) (ب)

شكل (1) إعراض الإصابة على أوراق نبات الكرفس المعداة بمستخلص من فايروس موزائيك الكرفس (Cemv) تظهر عليها اعراض موزائيك ومناطق صفراء على النصل .

أ – ورقة مصابة . ب- ورقة سليمة.

فعالية الخليط الحيوي في الحد من تضاعف الفايروس

تشير النتائج جدول (1) الى ان تغطيس بذور الكرفس بمعلق من البكتريا منفردة او خليط منها ادى الى التبكير في الانبات وتاخر ظهور الاعراض على النباتات المعداة فضلا عن تحسين معاير النمو في النباتات الناتجه من بذور معاملة انعكس ذلك على الوزن الطري والجاف للنباتات قياسا بمعاملة المقارنة (معداة بالفايروس فقط) بلغ الوزن الطري والجاف للنباتات المعاملة بالبكتريا *R.leguminosarum* , *P.fluoresens* , *B.Subtilij* وخليط منها , 10.82 , 3.15 غم/نبات , 9.69 , 2.82 غم/نبات , 8.43 , 2.75 غم/نبات , 11.32 , 4.05 غم/نبات على الترتيب قياسا بـ 5.62 , 1.95 غم/ نبات في المقارنة.

ان تحسين معايير النمو في النباتات الناتجة من بذور معاملة بالبكتريا رافقها اختزالا معنويا في تثبيط تضاعف الفايروس كما اوضحته نتائج تقدير امتصاص وسط تفاعل اليزا بين مستخلص من النباتات المعاملة بالبكتريا و معداة بالفايروس مع المصل المضاد للفايروس CeMV على الطول الموجي 405 نانومتر .

بلغت قيمة الامتصاص للمعاملات *R.leguminosarum* , *P.fluoresens* , *B.subilis* وخليط منها 0.305 , 0.395 , 0.425 , 0.195 على الترتيب قياساً بـ 1.905 في النباتات المعداة بالفايروس فقط و 0.014 في النباتات السليمة .

ان تحسين معايير النمو في النباتات بواسطة البكتريا ربما يأتي من خلال انتاجها الهورمونات النباتية (phytohormenes) ومنظمات نمو تعمل على تحفيز وتحسين نمو النباتات , ومن بين الهورمونات التي تنتجها البكتريا , indoleacetic acid (IRA) , اوكسينات , سابتوكاينينات وجبرلينات . وتساعد هذه الهورمونات على تكوين مجموعة جذرية جيدة وتزيد من المساحة السطحية للجذور وتزيد بالتالي من قابليتها على امتصاص الماء والعناصر الغذائية فضلاً عن أنها تزيد من انقسام الخلايا وحجمها وتؤثر في التوازن الهورموني في النبات (Salisbury ، 1994 , BLoemberg وآخرون , 2001). وان بعض أنواع البكتريا تمتلك المقدرة على تحليل بقايا المواد العضوية في التربة وبذلك تجهز النباتات بما يحتاجه من عناصر غذائية , وبعضها الآخر يجعل بعض العناصر الغذائية أكثر جاهزية للنباتات فضلاً عن إن قسماً منها يزود النبات بالنتروجين . وقد أشارت الدراسات السابقة إلى كفاءة العديد من أنواع البكتريا المعزولة من الترب الزراعية ومن بينها *R.leguminosarum* , *P.fluarescrni* , *B.subtilis* في تحسين معايير النمو في النبات لذلك أطلق عليها plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) .البكتريا المحسنة لنمو النبات , من خلال انتاجها الهورمونات النباتية (Welbaum وجماعته .2004) ,والى دورها في تحليل المواد العضوية في التربة الى مركبات جاهزة للامتصاص من قبل جذور النباتات (Brimecambe وآخرون .2007) . كما ان تحسين نمو النباتات الناتجه من بذور معاملة بالبكتريا يمكن ان يكون غير مباشر من خلال تثبيطها نمو المسببات ألمرضيه في التربة لذلك اطلق عليها عوامل المقاومة الاحيائية (biological agents) .ان تثبيط نمو المسببات المرضية بواسطة البكتريا قد يكون مباشراً عن طريق التنافس على المواد الغذائية وانتاجها مضادات احيائية ضد المسببات المرضية او افرازها انزيمات محللة للجدر الخلوية للمسبب المرضي (Bakker وجماعته 1991 , pieterte و Vanlaon , 2007) وينتج عن ذلك تثبيط نمو المسبب المرضي والحد من تطور الاعراض التي يسببها على النباتات , وقد يكون تثبيط السبب المرضي غير مباشر من خلال تحفير وسائل الدفاع الذاتية في النبات ينتج عنه تحفير بعض الجينات التي تؤدي الى انتاج مركبات مضادة للمسبب المرضي من ضمنها انزيمات chitinase , glucanase , .1.3B , ومثبطات للبروتينات (Protein inhibiters) (VanLoon , 2000)

وحيث انه لايوجد تلامس مباشر بين البكتريا في التربه والفايروس في النبات فان الية تثبيط تضاعف الفايروس في النبات يكون من خلال استحثاث مقاومة حهازية ينتج عنها تصنيع مركبات مضاده للفايروس تعمل على منع تضاعفه . وقد اشارت دراسة سابقة الى امكانية استحثاث مقاومة جهازية في نباتات الخيار والطماطة ضد فايروس موزائيك الخيار (Raupach وجماعته ، 1996) .

ومن المعروف صعوبة السيطرة على الفايروسات التي تنقل بواسطة المن بطريقة غير باقية باستعمال المبيدات الحشرية بسبب سرعة اكتساب الفايروس ونقله قبل ان يؤثر المبيد في الحشرة الناقلة فضلا عن ماتسببه المبيدات الكيميائية من مشاكل كبيرة للنظام البيئي وصحة الانسان فربما يكون للمخاليط الحيوية لاحياء مجهرية مفيدة للنبات دور اساسي في ادارة الامراض التي تسببها الفايروسات كونها امينة للنظام البيئي وصحة الانسان قضلاعن كفاءتها في جعل النباتات مقاومة لطيف واسع من المسببات المرضية ولمده طويلة.

جدول (1) فعالية الخليط البكتيري في الحد من تضاعق فايروس موزائيك الكرفس (Cemv) في نباتات الكرفس وتحسين معايير النمو .

المعاملة	الوزن الطري غم/ نبات	الوزن الجاف غم/ نبات	معدل قيم امتصاص اليزا
T1	10.82	3.15	0.305
T2	9.69	2.82	0.395
T3	8.43	2.75	0.425
T4	11.32	4.05	0.195
T5	5.62	1.95	1.905
T6	8.40	2.25	0.014
LSD P=0.05	2.31	1.05	0.824

Cemv + R.leguminosarum= T1

Cemv + P.fluorescens = T2

T3=Cemv +B.subtilis

T4 = الخليط البكتيري + Cemv

T5 = فايروس فقط / مقارنة

T6 = نباتات سليمة / مقارنة

References

Alberts , E., R. I. B. , Francki and R. G. Dietzgen .1989. An epidemic of celery mosaic virus in south Australian celery . Australian Journal of Agricultural Research .40 : 1027 – 1036 .

Amal. R. R. , N. Z. Salwa and R. H. K. Eman. 2012. Characterization of celery mosaic virus .isolated from some Apiaceae plant. International Journal of virology , 8(2):214 – 223 .

Bakker, P. A. H. M. , R. Van Peer and B. Schippors.1991. Suppression of soil – borne plant pathogens by fluorescent Pseudomonads : Mechanisms and prospects In : Beemster A. B. R. et al. (eds), Biotic Interaction and soil – borne disease (pp.217 – 230) . Elsever Scientific Publishers , Amsterdam .

Bos, L., H. J. Mandersloot, F. Vader , B. Steeobergen .1989 . An epidemic of celery mosaic potyvirus in celery (Apium graveolens var. rapaceum) in the Netherlands. Neth . J. Plant Pathol. 95:225 – 240.

Brimecombe, M. J. , F. A. A. M. De Leij and J. M. Lynch .2007. Rhizodeposition and microbial population in: pinton, R., Veranini , Z. and Nannipieri , p. eds. The rhizosphere biochemistery and organic substances at the soil- plant interface . New york, USA : Taylor & Francis Group .

Chod, J. 1984. Detection of celery mosaic virus in carrot variety nantes .Sbbornik. Uvitz Ochrana rostlin 20:91 – 96.

Clark, M. F. , A. N. Adaml . 1977. Characteristics of the microplate method of enzyme linked immnosorbent assay for the detection of plant viruses. Journal General Virology. 34:475 – 483 .

Latham, L. J. and R. A. C. Jones . 2003. Incidence of celery mosaic virus in celery crops in South-West Australia and its management using a celery .Free Period. Aust. Plant Pathol. 32 :527 – 531 .

O'Antonio , V. , B. Falk and C. F. Quiros. 2001. International of resistance to celery mosaic virus in celery . Plant .85: 1276 – 1277 .

Paduch-Cichal, E. and K. Sala. Rejczak.2010. Celery mosaic virus occurring in Poland .Phtopathologia. 57:45-48.

Pemberton, R. W. and R. R. Frost .1986. Virus diseaces of celery in England . Annals of Applied Biology .108 : 39 -43.

Pemberton, R. W. and R. R. Frost .1986. Virus diseaces of celery in England . Annals of Applied Biology .108 : 319 -331.

Pieterse, C. M. J., L. C. Van Loon .2007. Signalling cascades involved in induced resistance .In D. Walters, A. Newton and G. Lyon (Eds.), Induced resistance for plant disease control : A Sustainable approach to crop protection (pp.65 – 88), Oxford, UK : Blockwell.

Raupach, G. S., L. Liw, J. F. Murphy, S. Tuzun , T. W. Kloepper. 1996. Induced systemic resistance in cucumber and tomato against cucumber mosaic cucumovirus using plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) . Plant disease. 80:891 – 894.

Salisbury, F. B. 1994. The role of plant hormones. In : Wilkinson, R. E., ed. Plant environment interaction .New York. USA : Dekker, 39-81.

Shukla, D. D., C. W. Ward and A. A. Brunt.1994. The potyriridae . Cambridge University press. Cambridge UK .

Van Loon, J. C. 2000. Induced resistance . In : Shusarenko, A. J. , Fraser, R. S. S. and Van Loon, J. C., eds. Mechanisms of resistance to plant diseases . Dordrecht. The Netherlands : Kluwer Academic Puplishers. 521 – 574.

Welbaum, G., A. V. Sturz, Z. Dong and J.Nowak .2004. Fertilizing soil microorganisms to improve productivity of agroecosystems . Crit. Rev. Plant . Sci. 23:175 – 193 .

Wlaters, O. R. , O. Walsh , A. C. Newten and G. D. Lyon .2005. Induced resistance for plant disease control : maximizing the efficacy of resistance elicitors. Phytopathology .95: 1368 – 1373.