تقويم كفاءة البكتيريا Pseudomonas fluorescens والمستخلص المائي لأوراق الحسك Xanthium strumarium L. في حياتية الفطر Fusarium oxysporum في المختبر

علي عذافة المالكي غسان مهدي داغر طلال حسين صالح

قسم وقاية النبات- كلية الزراعة – جامعة ميسان – جمهورية العراق

albiocon_79@yahoo.com

المستخلص

أجريت هذه الدراسة لتقويم كفاءة البكتيريا Pseudomonas fluorescens والمستخلص المائي لأوراق نبات الحسك لمكافحة الفطر Fusarium oxysporum مختبريا وتم عزل وتشخيص عزلتين من البكتيريا من جذور بادرات الخيار أطلق على العزلة الأولى Pseudomonas fluorescens SH1 والعزلة الثانية Pseudomonas fluorescens SH2 ، أظهرت نتائج اختبار تثبيط عزلتي البكتيريا P.fluorescens للفطر F. oxysporum ان هناك نسبة تثبيط عالية بلغت 100 % مقارنة مع معاملة السيطرة البالغة 0%. وأظهرت نتائج ان المستخلص المائي لأوراق نبات ألحسك له تأثير تثبيطي على نمو الغزل الفطري للفطر الممرض F. oxysporum على الوسط ألزرعي PDA وحسب التراكيز المستعملة حيث وصلت نسبة التثبيط الى 56 و 66.67 و 69.50 و 100% على التوالي لكل من التراكيز المستعملة التي هي 10 و 20 و 30 و 40 % مقارنة مع معاملة السيطرة التي بلغت فيها نسبة التثبيط 0 % وأظهرت النتائج عدم كفاءة المستخلص المائي لأوراق الحسك في تثبيط عزلتي البكتيريا P.fluorescens SH1 و P.fluorescens SH2 بطريقة الاقراص حيث لم تظهر أي منطقة تثبيط حول الاقراص كما في الاقراص المنقوعة في الماء المقطر المعقم فقط.

كلمات مفتاحية: مستخلص، نبات الحسك Xanthium strumarium L.، بكتريا Pseudomonas fluorescens، فطر Fusarium oxysporum .

Evaluation the efficiency of Pseudomonas fluorescens and aqueous extract Cocklebur leaves in the biological Fusarium oxysporum in laboratory

Ali A. Al-malki Ghassan M. Daghir and Tala H. Saleh

Department of Plant Protection-Faculty of Agriculture-University of Misan-Republic of Iraq

Abstract

This study was aimed to evaluate the role of the Pseudomonas fluorescens and Aqueous extract of Cocklebur leaves in the control of the laboratory Fusarium oxysporum have been. Two isolates of P.fluorescens were isolated from Root of Cucumber Seedlings. The first one named Pseudomonas fluorescens (SH1) and the second named Pseudomonas fluorescens (SH2).

The Results showed that the higher Inhibition among isolates of P. fluorescens for F. oxysporum was (100%) compared with the control treatment (0%). Also the of the experiment showed that the aqueous extract of the Cocklebur leaves has an inhibition effect on the growth of mycelium pathogen F. oxysporum on the PDA media according to the concentrations used, where the percentage of inhibition reached to 56, 66.67, 69.50 and 100%, with the concentrations of 10, 20, 30 and 40% respectively, compared to the control treatment which has 0% inhibition. In addition results showed that the aqueous extract of the Cocklebur leaves does not have inhibition of on the P.fluorescens (SH1) and P.fluorescens (SH2) by discs method where does not show any inhibition zone around the discs also in tablets soaked in sterile distilled water only.

Keywords: extract, Cocklebur plant, Pseudomonas fluorescens, Fusarium oxysporum, Aqueous extract.

المقدمة

أدى استخدام المبيدات الكيمائية المصنعة بصورة عشوائية وغير مبرمجة للتقليل من مخاطر الآفات إلى تأثيرات سلبية على البيئة التي حفزت العديد من الجهات البحثية والعلمية على الاهتمام بطرق ومواد بديلة اقل ضرراً على البيئة وذات فاعلية جيدة في الحد من تأثير الآفات (19) . ولأجل أيجاد الوسائل البديلة ازداد الاهتمام في المكافحة الحيوية لمقاومة مسببات أمراض النبات في الوقت الحاضر وتعرف المكافحة الحيوية biological control على أنها تربية وحماية النباتات ذات الأهمية الاقتصادية من الكائنات الممرضة لها بوساطة كائنات حية دقيقة أخرى تفرز مواد مضادة للكائن الممرض او تتطفل عليه (10) . وقد احتلت انواع البكتيريا التابعة للجنس Pseudomonas وخاصة النوع P. fluorescens مركز الصدارة في هذا المجال لعدة أسباب منها سهولة العزل والتطبيق بالإضافة الى الصفات الفسلجية كإنتاجها العديد من المضادات الحياتية التي من شأنها ان تثبط نمو الفطريات الممرضة للنبات أو تواجدها على منطقة سطوح الجذور مباشرة مما يجعلها منافسا جيد على المكان والمواد المفروزة من الجذور بالإضافة الى قدرتها على تحفيز النبات على أنتاج منظمات النمو التي لها دور كبير في تسريع نمو النباتات المعاملة بها (1). ومن بين أهم الطرق الأخرى التي نالت اهتماماً في العقدين الاخيرين هي المواد المستخلصة من النباتات باعتبار المواد الداخلة في تركيب النباتات مصادر متوفرة غير سامة او ذات سمية منخفضة مقارنة بالمبيدات الكيمائية فضلا عن كونها مواد سهلة التحلل و يمكن التعامل معها (16). أما تداخل عوامل المكافحة الإحيائية مع المستخلص النباتي بطريقة التكامل في المكافحة للممرض فأنها تعود الى أمكانية اشتراك هذه العوامل في التأثير على الفطر الممرض دون التأثير على بعضهما البعض وبالتالي عدم تأثر البكتيريا بالمستخلص النباتي من جهة وإمكانية استعمال المستخلص بوصفة مادة قد تكون داعمة لنمو البكتيريا من جهة أخرى يعمل على زيادة كفاءة البكتيريا على النمو والانتشار في التربة بالإضافة الى القابلية التثبيطية للمستخلص النباتي على الفطر الممرض وعليه سيعملان سوية في التأثير على الفطر الممرض وخفض الإصابة .

مواد وطرائق العمل

عزل وتشخيص عزلات البكتيريا

جلبت عينات تربة من مناطق مختلفة من بساتين الطماطة في مزارع منطقة على الشرقي شمال محافظة ميسان في شهر تشرين الاول للعام 2013 - 2014 الى مختبر الأبحاث في قسم العلوم العامة في كلية التربية الأساسية جامعة ميسان ونظفت من الشوائب وبقايا جذور النباتات ثم خلطت ووزعت على ثلاث أصص سعة 500 غم تربة ثم زرعت ببذور خيار محلية بواقع خمس بذرات لكل أصيص ووضعت بالبيت البلاستيكي وسقيت باستمرار الى ظهور البادرات وخففت البادرات عند ظهور الأوراق الحقيقية الى بادرة واحدة وبعد ثلاثة أسابيع قلعت البادرات مع الجذور بعد ترطيب تربة الأصص بالماء ثم غسلت الجذور جيدا بالماء الجاري بعد فصلها عن الساق ، سحقت الجذور جيدا في هاون خزفي لحين خروج العصارة النباتية وبواسطة ماصة معقمة نقلت العصارة الى الوسط الغذائي King B Agar الذي تم تحضيره من

المركبات الكيمياوية حسب ما ذكره King واخرون (18) وحضنت الأطباق في الحاضنة على درجة حرارة 25±2 م° لمدة يومين ونقيت المستعمرات البكتيريا عند ظهورها على الوسط King B broth ، ثم شخصت عزلات البكتيريا بالاعتماد على الاختبارات البايوكيميائية والصفات الزرعية و المجهرية التي أجريت عليها حسب (15; 14 ; 21) .

الفطر Fusarium oxysporum

تم الحصول على عزلة الفطر IBR1 Fusarium oxysporum من السيدة أيمان صباح عبد الأمير الجعفري المشخصة من قبلها بتقنية PCR اثناء دراستها للماجستير حاليا موظفة في قسم وقاية النبات - مديرية زراعة ميسان ، حيث زرعت في أطباق بتري حاوية على الوسط PDA المعقم وبعد نموها وضعت في الثلاجة لحين الاستعمال .

القدرة الامراضية على البادرات في الأطباق :

اجري اختبار القدرة الامراضية تبعا لطريقة (3) . حيث زرعت 10 بذور في اطباق بتري 9 سم معقمة تحتوي على وسط الاكار المائي Water Agar، بعد تعقيمها سطحيا بمحلول هايبوكلورات الصوديوم NaOCl تركيز 10% والمحضر من (المحلول التجاري 5.75 %) ولمدة دقيقتين ثم غسلت بالماء المقطر المعقم مرتين ولمدة 10 دقائق لكل مرة . وأجريت العدوى بالفطر بأخذ قرص قطرة 0.5 سم من الفطر النامي بعمر 7 ايام في 28 م° وذلك باستخدام ثاقبة فلين معقمة Cork borrer ، وزرع القرص الفطري بشكل مقلوب في مركز الطبق لكي يلامس الغزل الفطري سطح الوسط الغذائي ، رتبت البذور حول اللقاح بمسافة 1 سم عن حافة الطبق ، وحضنت الأطباق في الظلام لمدة 48 ساعة في 30 م° للسماح للبذور بالإنبات ثم أعيد تحضينها في 28م° وإضاءة لفترة 12ساعة بالتناوب مع الظلام يوميا الى حين ظهور أعراض الإصابة على الجذور بعد أسبوعين من العدوى المتمثلة بالتلون البني – الشوكولاتي في مواقع على طول الجذر وتلف إطرافه والموصوفة من قبل Apodaca-Sanchez واخرون (11) .

تحضير مستخلص المائي لأوراق النبات الحسك

تم جمع ألأوراق المتوسطة العمر لنبات الحسك X. strumarium L. الذي يعود الى العائلة Asteraceae من حديقة كلية التربية الأساسية جامعة ميسان عند بدء تفتح الازهار وسحقت بعد تجفيفها بدرجة حرارة المختبر بواسطة مطحنة كهربائية نوع National ثم غربلت العينة من خلال منخل قطر 50 Mesh ثم أخذ 20 غم من العينة النباتية وأضيف لها 200 مل ماء مقطر معقم ووضعت في خلاط كهربائي Blender من نوع El-ARABY MX - 5200 ومزج الخليط لمدة 10 دقائق ثم نقل المزيج الى بيكر نظيف وترك لمدة ساعة لكي يترسب ما فيه من عوالق ثم فصل الرائق من مستخلص النباتات عن المواد المترسبة التي تمثل بقايا أنسجة النبات بواسطة الشاش الطبي أو قطعة قماش ململ وقمع بخنر بعد ذلك رسب المزيج باستخدام جهاز الطرد المركزي (Centrifuges) من نوع Minor سرعة 300 دورة . دقيقة لمدة 15 دقيقة . وبعدها عد المستخلص الناتج محلول أساس Stock Solution حيث وضع في قناني زجاجية نظيفة

وحفظت في الثلاجة بدرجة 4م° لحين الاستعمال (2) .

اختبار تثبيط عزلات البكتيريا P.fluorescens للفطر F. oxysporum

حضر الوسط PDA وبعد التعقيم صب في أطباق بتري معقمة قطر 9 سم ثم لقحت الإطباق بلقاح البكتيريا النامي على وسط KB بعمر 48 ساعة بمقدار 0.1 مل . قطرة على أطراف قطرين متعامدين وعلى بعد 1سم من حافة الطبق لكل عزلة بكتيريا ثم حضنت الإطباق في 25 م° لمدة 48 ساعة (22) ثم لقح مركز كل طبق بقرص قطر 0.5 سم من مستعمرة الفطر F. oxysporum النامي على وسط PDA وبعمر أربعة أيام بواقع ثلاثة مكررات مع ترك معاملة سيطرة بدون بكتيريا ثم حضنت الإطباق في 25م° لمدة 4-7 أيام ثم حسبت النسبة المئوية للتثبيط وفق معادلة (9) الواردة في شعبان والملاح (6) التالية : تأثير المستخلص المائي في نمو الفطر F.oxysporum

حضر الوسط الغذائي PDA وعقم بجهاز الموصدة تحت درجة حرارة 121 م° وضغط 15 باوند.انج^2 لمدة 20 دقيقة وبعد انخفاض درجة حرارة الوسط الى ما قبل التصلب أضيف المستخلص المائي الى الدوارق الزجاجية الحاوية على الوسط الغذائي بالتراكيز 0 ، 10، 20 ، 30 ، 40% بعد ذلك رجت الدوارق الزجاجية بصورة جيدة لضمان تجانس المستخلص مع الوسط الغذائي ثم صبت الأوساط الغذائية في أطباق بتري معقمة قطر 9 سم وبواقع ثلاث مكررات لكل تركيز ثم لقحت الأطباق بعد تصلبها بأقراص قطرها 0.5 سم أخذت من حافة مستعمرة الفطر F. oxysporum بعمر 48 ساعة وحضنت الأطباق على درجة حرارة 28±2 وعند وصول نمو الفطر في معاملة تركيز 0% الى حافة الطبق تم قياس معدل النمو بأخذ معدل قطرين متعامدين لنمو المستعمرة يمران بمركز الطبق . ثم حسبت النسبة المئوية للتثبيط حسب المعادلة الآتية:-

اختبار الفعالية التثبيطية للمستخلص النباتي ضد عزلات البكتيريا

أجري الاختبار بالاعتماد على طريقة Bauer وآخرون (12) حيث تم تحضير أقراص من ورق الترشح نوع Whatman No.1 بواسطة ثاقبة يدوية بقطر 6 ملم ثم عقمت هذه الاقراص بالموصدة ثم نقعت الاقراص في نفس التراكيز المحضرة والمستعملة سابقا وذلك بإضافة 1 سم^3 من كل تركيز للمستخلص في قنينة حاوية على عدد من الاقراص الورقية المعقمة بعدها تم تثبيت الاقراص الورقية بواسطة ملقط معقم على ثلاث أطباق بتري حاوية على الوسط King B Agar الملقحة بعزلات البكتيريا بواقع عزلة لكل طبق بطريقة النشر 1 مل لكل عزلة ثم حضنت الأطباق في الحاضنة على درجة حرارة 37م لمدة 24 ساعة بعدها تم قياس مناطق التثبيط ان وجدت ومقارنتها مع الاقراص الورقية المنقوعة في الماء المقطر المعقم فقط .

النتائج والمناقشة

عزل وتشخيص عزلات البكتيريا Pseudomonas fluorescens

تم تشخيص العزلات بالاعتماد على الصفات الزرعية والاختبارات البايوكيميائية التي

أجريت عليها حيث كانت العزلات سالبة لصبغة كرام وأدت الى اسالة الجيلاتين وتحلل الارجنين وتغير اللون عند اضافة انزيم الاوكسيديز والتألق تحت الاشعة فوق البنفسجية وعدم النمو في درجة حرارة 40 م° والنمو في درجة حرارة 4 م° وتم الحصول على عزلتين من البكتيريا أثناء العزل أطلق على العزلة الأولى تسمية Pseudomonas fluorescens SH1 والعزلة الثانية Pseudomonas fluorescens SH2 نسبة الى المنطقة التي عزلت منها (علي الشرقي) في شمال محافظة ميسان .

القدرة الامراضية على البادرات في الإطباق :

ظهرت نتائج تجربة الامراضية على جذور بادرات الطماطا على الوسط الزرعي WA بعد تلقيحه بالفطر الممرض صورة (1) حيث ظهرت الأعراض على الجذور والشعيرات الجذرية بشكل تعفن وتلون هذه المناطق باللون البني الفاتح والغامق وحسب شدة الإصابة وكثافة المستعمرة الفطرية للفطر الممرض كما يلاحظ أيضا عدم تفتح بعض البذور وخروج الجذير او الرويشة وبالتالي فشل الإنبات فيها . هذه النتائج اتت متوافقة مع الباحث حسن(3) عندما لاحظ نتائج العدوى الصناعية للبذور بلقاح الفطر F. oxysporum بهيئة تلون بني لمعظم أنسجة الجذور بعد 12 يوما يصحبه تنخر موضعي وقرح موضعية داكنة اللون تتلف الجذور وتفرعاته ابتداءً من الطرف . سبب تلون الأوعية باللون البني هو نتيجة لانطلاق الفينولات حيث تتحلل بسرعة بواسطة إنزيم Phenol – Oxidase الموجود في العائل إلى ميلانينات بنية اللون تمتصه جدارن الأوعية الخشبية معطية اللون البني المميز للمرض كما وجد Apodaca Sanches – وآخرون (11) ان البادرات يظهر عليها اعراض الموت الموضعي الشديد في الجذور بعد 5-7 ايام من العدوى في 25 م°

اختبار تثبيط عزلات البكتيريا P.fluorescens للفطر F. oxysporum

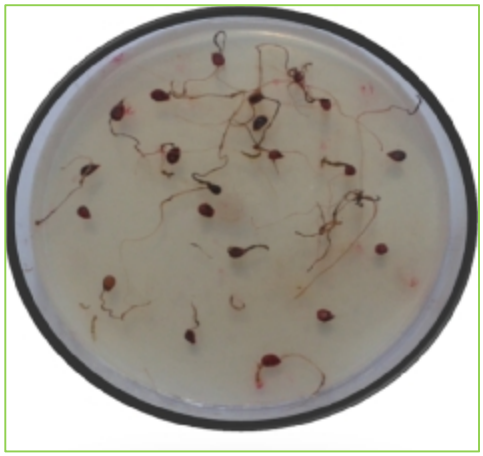
أظهرت نتائج تجربة التثبيط بين عزلات البكتيريا والفطر F. oxysporum تأثيرا عالية جدا حيث ظهرت نسبة التثبيط للعزلتين SH1 و SH2 ضد الفطر 100% مقارنة مع معاملة السيطرة البالغة 0 %. جدول (1) ومن خلال النتائج التي حصلنا نلاحظ تأثير عزلات البكتيريا في النمو الفطري داخل الوسط الزرعي حيث توافقت النتائج مع الوائلي (8) حيث عزل عدد من البكتيريا P.fluorescens ومن بينها البكتيريا P.fluorescens DS وتم اختبار تضادها ضد الفطر F. oxysporum وأعطت نسبة تثبيط عالية وصلت الى 97.7% . كما اتفقت مع عبد الرضا وآخرون(7) حول كفاءة عزلة البكتيريا NT1 P.fluorescensفي تثبيط نمو الفطر F. oxysporum بنسبة 100 في الوسط الزرعي PDA . كما اكد Mwangi وآخرون (20) الى دور البكتيريا P.fluorescens في كبح الفطر F. oxysporum عن طريق منع انبات الابواغ ومنع نمو الغزل الفطري وإنتاجها لأنزيم Chitinase وتأثيرها في عملية تكوين البروتين

Inhibition = [(R1-R2)/R1]×100

R1 : معدل النمو القطري في معاملة السيطرة

R2 : معدل النمو القطري في الإطباق الحاوية على البكتيريا

$$\text{النسبة المئوية للتثبيط} = \frac{\text{معدل النمو في المستخلص – معدل النمو في المقارنة}}{\text{معدل النمو في المقارنة}} \times 100$$



شكل (1) أمراضية الفطر على البادرات في الأطباق

جدول (1) اختبار تثبيط عزلات البكتيريا P.fluorescens للفطر F. oxysporum

ت	المعاملات	نمو الفطر / سم	نسبة التثبيط %
1	P.fluorescens SH1 +F.oxysporum	0	100
2	P.fluorescens SH2 +F.oxysporum	0	100
3	معاملة السيطرة	9	0

تـــأثير المســـتخلص النبـــاتي فـــي نمـــو الفطر F.oxysporum

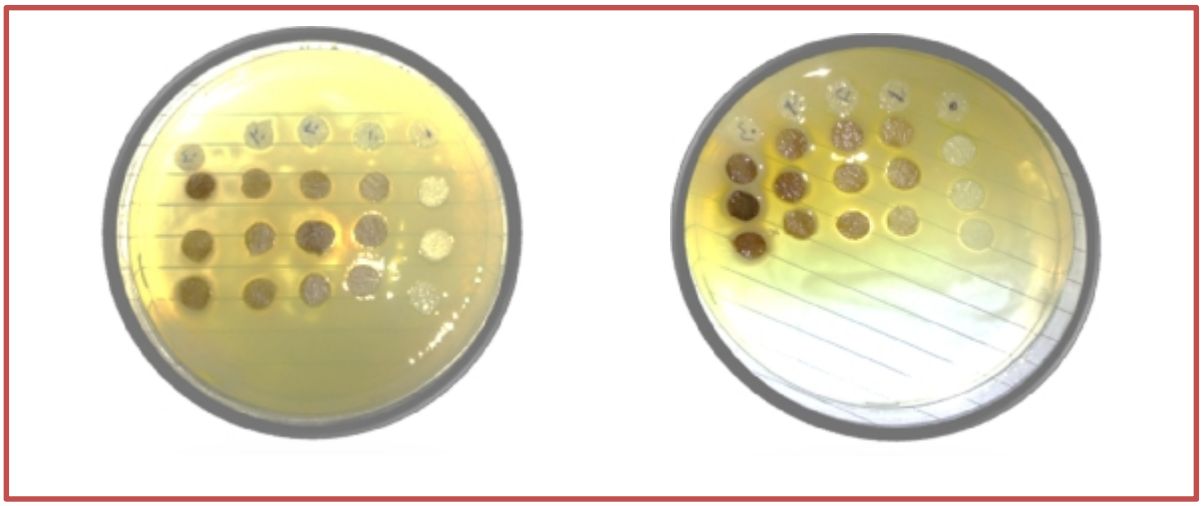
أظهـرت نتـائج تجربـة جـدول (2) ان المستخلص المائي لأوراق نبات ألحسك لـه تـأثير تثبيطـي علـى نمـو الغـزل الفطـري للفطـر F. oxysporum فـــي الوســـط PDA وحســـب التراكيز المستعملة حيث وصلت نسبة التثبيط الى 56 و 66.67 و 69.50 و 100% علـى التـوالي لكل من التراكيز المستعملة التي هـي 10 و 20 و 30 و 40 % مقارنـة مـع معاملـة السـيطرة التـي يكـون فيهـا تركيـز المستخلص المـائي 0% التـي بلغت فيها نسبة التثبيط 0% . ويعود ذلك لامتلاك المستخلصـات النباتيـة علـى بعـض المركبـات الثانويـة الفعالـة مثـل الصـابونيات و الفينـولات. وهـذا يتفـق مـع Roldan-Arjona وآخـرون (24) حـول قـدرة الصـابونيات الموجـودة فـي المستخلصات النباتية على تثبيط نمو الفطر F. oxysporum. كمـا ذكـر البـاحثون Pelczer وآخرون (23) بان المركبات الفينولية لها القدرة علـى تغييـر طبيعـة البروتينـات والأضـرار بالأغشـية الخلويـة للخلايـا الفطريـة مـن خـلال ارتباطها بالمواقع الفعالة للأنزيمات وتثبيط عملها . كمـا وجـد الركـابي ومجيـد (4) ان سـبب فعاليـة المستخلصات يعود الى احتواء هذه النباتـات علـى مركبات كيميائية ذات تأثير سلبي في نمو الفطر التي تحـررت عند إضـافتها للوسط ألزرعـي ممـا أدى الى تغيير خواص الوسط وجعله اقل ملائمـة لنمو الفطر .

اختبار الفعالية التثبيطية للمستخلص النباتي ضد عزلتي البكتيريا

أظهرت النتـائج صـورة (2) عدم تثبيط المســـتخلص المـــائي لعزلتـــي البكتيريـــا P.fluorescens SH1 و P.fluorescens SH2 بطريقة الاقراص حيث لم تظهر أي منطقة تثبيط حول الاقراص كما في الاقراص المنقوعـة في الماء المقطر المعقم فقط وهذه النتـائج توافقت مـع الباحـث السـاعدي (5) الـذي لـم يسـجل أي فعاليـة تثبيطيـة للمسـتخلص المـائي لأوراق خنـاق الـدجاج وعنيـب الـذيب ضـد البكتيريـا السـالبة لصـبغة كـرام . كمـا اتفقـت النتـائج مـع الباحـث Bonjar (13) عندما لاحظ ان مستخلص أوراق الشفلح ليس لها أي تأثير تثبيطي على البكتيريا السالبة والموجبة لصبغة كرام . وقد يعود تحمل البكتيريا للتراكيز العالية من المستخلصات المائية الى طبيعـة تركيـب جدار الخليـة البكتيريـا السـالبة لصبغة كرام الذي يحتوي على طبقات عديدة من متعدد السكريات ألدهني (17) .

جدول(2) تأثير المستخلص النباتي في نمو الفطر *F. oxysporum*

التركيز %	نمو الفطر / سم	التثبيط %
0	9	0
10	3.60	56
20	3	66.67
30	2.05	69.50
40	0	100



(أ) *P fluorescens* SH1 (ب) *P fluorescens* SH2

شكل (2) اختبار الفعالية التثبيطية للمستخلص النباتي ضد عزلتي البكتيريا

(أ) الأقراص الورقية في مستعمرة البكتيريا SH1 (ب)الأقراص الورقية في مستعمرة البكتيريا SH2

المصادر

1. جاسم، ناجي سالم .1999. المقاومة الحيوية والكيمائية للفطر Fusarium graminearum (Schwab) المسببة لمرض لفحة الفيوزاريوم في الحنطة. رسالة ماجستير-كلية الزراعة . جامعة البصرة.العراق .

2. الجبوري ، باقر عبد خلف و حامد جعفر ابو بكر الحيدر .2001. تأثير تراكيز مختلفة من المستخلصات الحارة والباردة لبعض الأدغال الشتوية في انبات ونمو الحنطة Triticum aestivum .مجلة جامعة بابل 6 :26- 32 .

3. حسن، وزير علي .2007. دراسة وبائية تعفن تاج وجذور الطماطة المتسبب عن Fusarium oxysporum (Schlecht.) f.sp. radicis-lycopersici Jarvis and Shoemaker في منطقة ربيعة. أطروحة دكتوراة ، كلية الزراعة ، جامعة الموصل ، العراق .

4. الركابي، علي فراس و مجيد متعب ديوان .2009. تأثير المستخلص المائي لبعض الادغال على الفطريات الممرضة لجذور الطماطة وعلى فطر المقاومة الاحيائي Trichoderma harzianum .مجلة الكوفة للعلوم الزراعية. 1: 41- 50.

5. الساعدي،محمد عباس عبد علي .2011. عزل وتشخيص اربعة مركبات قلوانية من بعض النباتات الطبية وبيان تاثيراتها التثبيطية على بعض العزلات الجرثومية مع اجراء دراسة كروموسومية على هذه النباتات . رسالة ماجستير .جامعة البصرة . كلية الزراعة . العراق .

6. شعبان ، عواد ونزار مصطفى الملاح .1993. ألمبيدات دار الكتب للطباعة والنشر. جامعة الموصل .العراق .

7. عبدالرضا ، أمل صالح وكاظم جاسم حمادي و ميثم ايوب الحمداني .2010 . تقييم كفاءة بعض عزلات جراثيم Pseudomonas fluorescens في حماية نبات الطماطة من الاصابة بالفطر Fusarium oxysporum f.sp lycopersici مع دراسة نسيجية لجذر العائل. مجلة ابحاث البصرة (36). 6: 59 – 81.

8. الوائلي ، ضياء سالم علي .2004. دراسة مرض موت بادرات الطماطا ومكافحتها المتكاملة في مزارع الزبير و سفوان في البصرة . أطروحة دكتوراه . كلية العلوم . جامعة البصرة . العراق.

9. Abbott, W. S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. J. Econ. Entomol. 18: 265-267.

10. Agrios, G.N. 1997. Plant Pathology .5th ed .Academic Press. New York, 922 pp.

11. Apodaca – Sanchez, M.A.; E. Zavaleta – Mejia; S. Osada– Kawasoe;
R. Carcia – Espinosa and Valenzuela – Ureta, J.G .2001. Comparison of techniques to evaluate in vitro the pathogen city of Fusarium oxysporum f.sp. radicis – lycopersici and the effect of

temperature. Revista Mexicana de Fitopatologia, 19: 197-202.

12. Baure, A.W.; Kirbay, W.A.M.; Sherris, J.S. and Turk, M .1966. Antibiotic susceptibility testing by a st and ardized single disc method. American Journal Clinical Pathology, 45:493- 496.

13. Bonjar, S. 2004. Evaluations of antibacterial properties of some medicinal plant used in Iran. Journal **Ethno. Pharmacology**, 94: 301-305.

14. Bossis, E.; Lemanceau, P.; Latour, X. and Gardan, L .2000. The Taxonomy of Pseudomonas fluorescens and Pseudomonas putida current status and need for revision. Agronomies, 20: 51-63.

15. Harley, J.P. and Prescott, L.M. 1996. Laboratory exercises in microbiology 3rd. The Mc Grow-Hill Companies. USA. pp. 484.

16. Harish, S.; Saravanan, T. and Radjacommare, R. 2004. Mycotoxic effect of seed Extracts against Helminthosporium oryzae the incident of rice Brown spot. J. Boil. Sci., 4: 366 -369.

17. Ian, W.D and Ian, W.S .1976. Microbial Physiology. Black Well Scientific Publications, London .England.

18. King, E.; Ward, M.K. and Raney, D.E .1954. Tow simple media for the demonstration of polyamine of fluorescein. J. Lab. Clin. Med. 44:301-307.

19. Milner, R.J. 1997. Prospects for biopesticides for aphid control. Entomophaga, 42(1-2): 277-24.

20. Mwangi, F.M.; Hauschild, R.; Sikora, R.A. and Mutitu, E .2002. Dose HCN from Pseudomonas fluorescens isolate T58 contribute in biocontrol of Fusarium oxysporum f.sp lycopersici. Plant Disease, 46: 119-121.

21. Ni1sen, T.M.; Sørensen, J.; Tobiasen, C.; Andersen, J.B.; Christophersen, C.; Givskov, M. and Søresen, J. 2002. Antibiotic and biourfactant properties of cyclic lipopeptides produced by fluorescent Pseudomonas Spp. From Sugar beet rhizosphere. Appl. Environ. Microbio, 68:3416-3423.

22. Paulitz, T.C.; Zhou, T. and Rankin, L. 1992. Selection of rhizosphere bacteria for biological control of Pythium aphanidermatum on

hydroponically – grown Cucumber. Biological Control, 2: 226-237.

23. Pelczar, M.J.; Chan, E.C. and Krieg, N.R. 1986. Microbiology (5th ed.) McGraw-Hill book Co. New York .USA.

24. Roldán-Arjona, T.; Pérez-Espinosa, A., and Ruiz-Rubio, M .1999. Tomatinase from Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici defines a new class of sponginess. Mol. Plant Microbe Interact, 12: 852-861.