تقييم كفاءة عزلتين محليتين من بكتريا *Pseudomonas putida* كمخصب ومبيد حيوي

حسن علي عبدالرضا
كلية الطب البيطري- جامعة بغداد

المستخلص

نفذت هذه الدراسة لمحاولة انتاج مبيد ومخصب حيوى من عزلتين محليتين لبكتريا *Pseudomonas putida* تم عزلها وتشخيصها من تربة الرايزوسفير لمواقع زراعية فى مدينة الرمادى كما تضمنت الدراسة ايضا استخدام البنتونايت ونخالة الحنطة كمواد حاملة لهذه البكتريا لغرض انتاج المبيد والمخصب الحيوي.

اظهرت نتائج اختبار المبيد الحيوى المنتج من العزلتين قابليتهما على كبح اصابة الحنطة بفطر *Pythium* spp عند استخدام نخالة الحنطة والبنتونايت كمواد حاملة لها وبخاصة عند استخدام المبيد الحيوى بتركيز 50 و100غم/ كغم حبوب وقد انعكس ذلك على زيادة نسبة الانبات وعدد التفرعات واطوال النباتات واوزانها الجافة مما ادى الى زيادة حاصل النبات.

تفوقت احدى العزلتين فى كفاءتها مبيدا حيويا عند تحميلها بنخالة الحنطة بتركيز 100غم/كغم حبوب فى كافة الصفات المدروسة.

The Iraqi Journal of Agricultural Sciences, 36(4) : 25-32, 2005 Abdul Rath

EVALUTATION THE EFFICIENCY OF TWO LOCAL *Pseudomonas putida* ISOLATES AS BIOPESTICIDE-BIOFERTILIZER

H. A. Abdul-Rath
College of Veterinary Medicine/ University of Baghdad

ABSTRACT

This study was conducted as an attempt to produce a biopesticide- biofertilizer from two local *Pseudomonas putida* isolates . *P. putida* was isolated and identified from rhizosphere soil samples collected from different sites at Al-Ramadi city.

The study also included the use of bentonite and wheat bran as carriers for these isolates to produce a biopesticide-biofertilizer.

The results showed that the produced biopesticide-biofertilizer decreased wheat infection by *Pythium* spp when bentonite and wheat bran were used as carriers, specially when used at a rate of 50 or 100 g/ kg grains while increased seed germination , number of tillers, plant length, shoot dry weight and grain yield.

One of these two isolates was superior in its effects as biological agent when used with wheat bran as a carrier and used at a rate of 100 g/ kg of wheat grains .

المقدمة

يعد استخدام الاحياء المجهرية فى المجالات التطبيقية من المسارات المهمة التى توسع الاهتمام بها عالميا لما لها من مردود اقتصادى هام فضلا عن تقليلها لمصادر تلوث البيئة.

من بين الاحياء المجهرية التى نالت اهتماما واسعا فى مجال المقاومة الحيوية بكتريا الزوائف والتى تعد ايضا من البكتريا المحفزة لنمو النبات (plant growth promoting rhizobacteria) (3 ، 8) كما اظهرت قدرة مهمة فى كبح نشاط العديد من المسببات المرضية (9 ، 12) .

ان تحميل هذه البكتريا على مادة مناسبة يعد عامل نجاح اضافى لها عند استخدامها داخل التربة كعامل مقاومة احيائية (1) ، ونظرا لاهمية الحنطة كمحصول استراتيجى ولتعرضه للاصابة بفطر *Pythium* spp فى العراق ومن اجل البحث عن امكانية الحصول على بكتريا تستطيع ان تحمل صفتى المقاومة الاحيائية وتحفيز نمو النبات فقد استهدفت الدراسة الحالية محاولة عزل بكتريا *Pseudomonas putida* من بعض الترب الزراعية واختبار كفاءتها كمبيد ومخصب حيوى فى ان واحد بعد تحميلها على البنتونايت المستخدم فى دراسات سابقة كمادة حاملة وعلى نخالة الحنطة المتوفرة محليا والتى لم تستخدم سابقا فى مثل هذه الدراسات والوقوف على تأثير استخدام هذا المبيد والمخصب الحيوى فى نمو الحنطة وانتاجها.

*تاريخ استلام البحث 2005/3/29 ، تاريخ قبول البحث 2005/6/29

المواد وطرائق العمل

-العزل والتشخيص:

تم اجراء عملية العزل والتشخيص لعزلات البكتريا من 100 عينة تربة اخذت من مواقع مختلفة فى مدينة الرمادى وذلك باضافة 1غم من تربة كل عينة على حده الى 9مل من الماء المعقم ثم حضرت سلسلة تخافيف ولحد التخفيف الخامس بعدها زرع 1مل من التخفيفين الرابع والخامس على الوسط الزرعى KingsB في أطباق معقمة وحضنت فى درجة حرارة 28مْ لمدة 24-48 ساعة (7 ، 15) شخصت العزلات البكتيرية اعتمادا على الصفات الزرعية والمجهرية ونتائج بعض الاختبارات الكيموحيوية كما بينها Fingold و Martin (5) و Cowan (4).

- تحضير المبيد والمخصب الحيوي

استخدمت عزلتان محليتان من بكتريا *Pseudomonas putida* حصل عليها من نتائج الفقرة السابقة و اعطيتا الرقمان المحليان 45 و54 كاساس لتحضير مبيد ومخصب حيوى بعد ان ثبت من الاختبارات الاولية كفاءتهما فى تثبيط نمو الفطر المرضى *Pythium* spp ، حضر لقاح للعزلتين المذكورتين على وسطKB السائل واختبر استخدام البنتونايت ونخالة الحنطة كمواد حاملة(Carriers) لهذه البكتريا حيث اضيف 10مل من اللقاح السائل لكلا العزلتين الى 10غم من البنتونايت المعقم ونخالة الحنطة الناعمة الممررة عبر منخل قطره 15مليكرون والمعقمة بالموصدة اذ وضعت هذه الحوامل فى اطباق بترى معقمة قطرها 9 سم ثم حضنت هذه الاطباق تحت درجة حرارة 28 م^0 لمدة ثلاثة ايام.

- تنفيذ التجربة

-معاملة الحبوب بالمخصب الحيوي:

عوملت حبوب الحنطة بالمخصب الحيوى المحمل وبثلاثة تراكيز هى 25 ، 50 ، 100 غم/كغم حبوب ولضمان التصاق اللقاح المحمل فقد رطبت الحبوب مسبقابمحلول الصمغ العربى تركيزه10% .

-الزراعة:

استخدم التصميم العشوائي الكامل فى تجربة عاملية وبثلاث مكررات درس فيها تأثير عزلتين بكتيريتين من *P putida* ونوعين من الحوامل هما البنتونايت ونخالة الحنطة لاختبار ثلاثة تراكيز من المبيد والمخصب الحيوى هى 100 ، 50 ، 25غم/كغم حبوب.

زرعت البذور المعاملة باللقاح بمعدل 10بذور/اصيص حيث احتوى كل اصيص على15كغم من التربة وقد تمت الزراعة بعد ثلاثة ايام من تلويث التربة بفطر *Pythium* spp وبهذا فقد بلغ عدد الوحدات التجريبية 36 وحدة اضافة إلى معاملتين للمقارنة شملت الاولى تربة ملوثة بالفطر Pythium بدون لقاح بكتيرى اما المقارنة الثانية فهى عبارة عن تربة غير ملوثة بهذا الفطر وبدون لقاح بكتيري.

أضيفت دفعات متساوية لجميع الوحدات التجريبية من النتروجين والفوسفور والبوتاسيوم وحسب التوصيات السمادية مع إجراء كافة عمليات الخدمة للمحصول حتى الحصاد ، كررت التجربة فى تربتين احدهما معقمة والاخرى غير معقمة. شملت البيانات المأخوذة تسجيل معدلات كل من نسبة الانبات للبذور وطول النباتات بعد 6 و24 اسبوع وعدد التفرعات والوزن الجاف للنبات اضافة لتقدير وزن حاصل البذور وذلك باستخدام 5 نباتات من كل وحدة تجريبية حيث واخذ معدل حاصل الاصيص وقد سجلت غلة الدونم المتوقعة على اساس المساحة للدونم.

النتائج والمناقشة

-تأثير المبيد والمخصب الحيوي فى نسبة الإنبات وعدد التفرعات

أظهرت النتائج حصول زيادة معنوية ($P<0.05$) فى نسبة انبات البذور وعدد التفرعات بين المعاملات التى استخدم فيها التركيز 25غم/كغم والتركيز 100غم/كغم حبوب اذ بلغت نسبة الانبات86.2% و91.2% ومتوسط عدد التفرعات4.05 و4.5 فرع/نبات على التوالى فى حين لم يكن هناك فرقا مؤكدا احصائيا بين التركيزين 50 و100غم/كغم حبوب (جدول1).

من جانب اخر كان لنوع الحامل المستخدم تاثيرا فى زيادة نسبة الانبات وعدد التفرعات اذ وجدت فروقات مؤكدة احصائيا ($P<0.05$) بين البنتونايت ونخالة الحنطة حيث تفوقت الاخيرة معنويا ولكلا الصفتين المدروستين(جدول 2).

بينت النتائج تفوق نسبة الانبات وعدد التفرعات/نبات معنويا($P<0.05$) فى التربة المعقمة عنه فى التربة غير المعقمة اذ بلغت 91.22% و 4.8 فرع/نبات فى التربة المعقمة و84% و3.5فرع/نبات فى التربة غير المعقمةعلى التوالي . (جدول 3).

وعند دراسة التداخل بين هذه العوامل(العزلات،التركيز،نوع الحامل) فقد تفوقت المعاملة التى استخدم فيها 10غم من حامل نخالة الحنطة الى كغم حبوب حنطة معنويا($P<0.05$) فى عدد التفرعات ونسبة الانبات (جدول4).

ان هذه النتائج تؤشر حصول انخفاض في نسبة موت البادرات قبل البزوغ وبعده و المتسببة عن الفطر *Pythium* spp وهذا قد يعزى الى التاثير الايجابي للبكتريا في خفض نسبة الاصابة بهذا الفطر بسبب ما ينتجهه من مواد مثبطة او مركبات خالبة للحديد وهذا يتفق مع ما اشار له Shah-Smith واخرون (18).

جدول 1. تأثير تركيز المبيد الحيوي في نسبة الإنبات وعدد التفرعات/نبات

التركيز غم/كغم حبوب	نسبة الانبات %	عدد التفرعات/ نبات
25	86.2	4.05
50	90.5	4.40
100	91.2	4.50
قيمة LSD	0.92	0.35

جدول 2. تأثير نوع الحامل للمبيد الحيوي في نسبة الإنبات وعدد التفرعات/نبات

رمز الحامل	نسبة الانبات %	عدد التفرعات/ نبات
B	87	4
W	91.3	4.5
قيمة LSD	0.92	0.28

جدول 3. تأثير تعقيم التربة في نسبة الإنبات وعدد التفرعات

حالة التربة	نسبة الانبات %	عدد التفرعات / نبات
معقمة	91.22	4.8
غير معقمة	84.00	3.5
قيمة LSD	0.35	1.3

-تأثير المبيد والمخصب الحيوي في طول النباتات

بينت النتائج ان عزلتي البكتريا المحلية *P. putida* قد سببت زيادة معنوية ($P<0.05$) في معدل اطوال النباتات وللتراكيز الثلاثة من المخصب الحيوي وفي كلا التربتين المعقمة وغير المعقمة وللمراحل الثلاث(3 و6 و24) أسبوع من القياس مقارنة بمعاملتي المقارنة الاولى والثانية وقد تفوقت معدلات اطوال النباتات المزروعة في التربة المعقمة على المزروعة في التربة غير المعقمة.لقد بلغ اعلى معدل لارتفاع نباتات الحنطة 74.7سم بعد مرور 24 أسبوع من الزراعة في التربة المعقمة المزروعة بالبنور الملقحة بالتركيز 100غم/كغم حبوب حنطة اظهر التحليل الإحصائي وجود فروق معنوية ($P<0.05$) بين عزلتي البكتريا لتاثيرها في صفة ارتفاع النباتات اذ تميزت العزلة المحلية 54 بانها محفزة لنمو نباتات الحنطة بدرجة اعلى من العزلة الثانية.

كان للتداخل بين عزلة البكتريا ونوع الحامل وتركيز اللقاح الحيوي دورا هاما في متوسط اطوال النباتات اذ بلغ 68.1سم في المعاملة 45B3 في التربة المعقمة في حين كان 70.8سم في المعاملة 54B3 لنفس التربة بينما تفوقت المعاملة 54W3 في اعطاء اعلى معدل لاطوال النباتات اذ بلغ 74.7سم و70.2سم في التربة المعقمة وغير المعقمة على التوالي وقد تفوقت معنويا على المعاملات الاخرى ومعاملة المقارنة(جدول5).

ان هذه النتائج تتفق لحد ما مع ما توصل اليه Liang واخرون(10) لتاثير عزلات من هذه البكتريا في زيادة نسبة الانبات وارتفاع نبات العصفر فضلا عما وجده Benani واخرون(2) من تاثير اهذه البكتريا في زيادة اطوال نباتات الطماطة.

-تاثير المبيد والمخصب الحيوى فى وزن النبات الجاف :

ادت اضافة لقاح بكتريا *P. putida* لحبوب الحنطة الى زيادة معدلات الاوزان الجافة للنبات (الجزء الخضرى) كما يبين ذلك جدول (6).وقد ارتفعت هذه الزيادة مع زيادة تركيز المبيد الحيوى وقد تفوق التركيز 100غم/كغم حبوب فى اعطاء اعلى معدل لانتاج الاصيص وقد تفوقت نخالة الحنطة عند تحميلها بالبكتريا فى اعطاء معدلات اعلى للانتاج على البنتونايت على البنتونايت جدول (8).

بينت نتائج التداخل بين عزلات البكتريا ونوع الحامل وتركيز المبيد الحيوي وجود فروق معنوية ($P<0.05$) لصفة اوزان النباتات الجافة اذ اعطت العزلة المحلية لبكتريا 54 *Pputida* عند استخدام نخالة الحنطة والتركيز 100 غم/كغم حبوب وزنا جافا للنبات قدره 15.3غم مقارنة بمعاملة المقارنة الاولى الملوثة بالفطر بدون مبيد حيوى والتى بلغت 10.4غم .

اظهر التحليل الاحصائى لبيانات التربة المعقمة وغير المعقمة وجود فروق معنوية بين التربتين اذ بلغ معدل وزن النبات الجاف 15.3غم في المعاملة 54W3 في التربة المعقمة و13.8غم لنفس المعاملة في التربة غير المعقمة(جدول 9).

جدول 4. تاثير تداخل عزلة البكتريا ونوع الحامل وتركيز المبيد الحيوي في نسبة انبات الحنطة بعد 14 يوم من الزراعة ومتوسط عدد التفرعات/ نبات بعد مرحلة الحصاد.

رقم العزلة البكتيرية	رمز الحامل	تركيز المبيد الحيوى غم/كغم	تربة معقمة		تربة غير معقمة	
			نسبة الانبات%	عدد التفرعات/نبات	نسبة الانبات%	عدد التفرعات/نبات
45	B	25	86.7	4.3	80.0	3.1
		50	90.0	4.5	83.3	3.5
		100	90.0	4.7	86.7	3.6
	W	25	90.0	5.0	83.3	3.9
		50	93.3	4.6	86.7	3.6
		100	93.3	4.9	86.7	4.0
54	B	25	90	4.3	80.0	3.3
		50	93.3	4.6	86.7	3.6
		100	93.3	4.9	86.7	3.7
	W	25	93.3	4.9	86.7	4.0
		50	100	5.6	90	4.3
		100	100	5.9	90	4.5
Control 1			76.7	3.5	73.3	3.1
Control 2			83.3	4.6	76.7	3.6
اقل فرق معنوى P>0.05			S=0.35 T=0.926 T*S=1.309	A=n.s P=0.277 C=0.339 AP=n.s AC=n.s PC=n.s APC=n.s	S=0.35 T=0.925 T*S=1.309	A=n.s P=0.296 C=0.36 AP=n.s AC=n.s PC=n.s APC=n.s

B=بنتونايت ، W=نخالة الحنطة ، T= المعاملات التجميعية

A=عزلات بكتريا *P. putida* ، P= الحوامل المستخدمة

C= تركيز المبيد الحيوى(100،50،25) غم/كغم حبوب حنطة

Control 1= ملوثة بالفطر Pythium بدون مبيد البكتريا

Control 2= غير ملوثة بالفطر Pythium بدون مبيد البكتريا

جدول 5. تأثير تداخل عزلة البكتريا ونوع الحامل في متوسط اطوال نباتات الحنطة بعد 3 و6 و 24 أسبوع من الزراعة

رقم العزلة البكتيرية	رمز الحامل	تركيز المبيد الحيوى غم/كغم	تربة معقمة			تربة غير معقمة		
			بعد ثلاثة اسابيع	بعد ستة اسابيع	بعد 24 اسبوع	بعد ثلاثة اسابيع	بعد ستة اسابيع	بعد 24 اسبوع
45	B	25	9.8	18.9	65.1	8.9	17.1	60.3
		50	10.1	18.7	67.2	9.2	17.6	62.8
		100	10.2	20.2	68.1	9.7	17.7	63.6
	W	25	9.9	18.4	67.4	9.5	16.8	64.5
		50	10.3	19.5	69.2	9.3	17.5	66.4
		100	10.6	20.1	68.9	9.7	17.7	67.7
54	B	25	10.5	19.5	65.4	9.9	18	63.6
		50	10.9	19.8	69.8	9.9	17.8	66.1
		100	10.8	20.2	70.8	10.3	18.4	68.0
	W	25	10.7	18.9	70.5	10.2	18.1	68.2
		50	11.2	20.3	73.6	10.1	18.7	68.8
		100	11.3	20.6	74.7	10.1	19	70.2
Control 1			8.7	17.9	62.8	8.1	16.1	59.5
Control 2			9.6	19.0	65.5	9.2	18.2	60.6
اقل فرق معنوي P> 0.05			A=0.381 P=n.s C=n.s AP=n.s AC=n.s PC=n.s APC=n.s	A=0.707 P=n.s C=n.s AP=n.s AC=n.s PC=n.s APC=n.s	A=0.488 P=0.488 C=0.598 AP=0.691 AC=0.846 PC=n.s APC=n.s	A=0.394 P=n.s C=n.s AP=n.s AC=n.s PC=n.s APC=n.s	A=n.s P=n.s C=0.842 AP=n.s AC=n.s PC=n.s APC=n.s	A=0.604 P=0.604 C=0.739 AP=n.s AC=n.s PC=n.s APC=n.s

الأحرف الواردة في هذا الجدول ورد معناها في الجدول (4).

جدول 6. تأثير العزلة البكتيرية في وزن حاصل البذور/ اصيص

رقم العزلة البكتيرية	وزن حاصل الاصيص/ غم
45	40.66
54	42.22
قيمة LSD	1.16

جدول 7. تاثير تركيز المبيد الحيوي في وزن حاصل البذور/اصيص

التركيز غم/ كغم حبوب	وزن حاصل الاصيص /غم
25	40
50	41.7
100	42.1
قيمة LSD	1.2

جدول 8. تأثير نوع الحامل للمبيد الحيوي في وزن حاصل البذور/اصيص

نوع الحامل	وزن حاصل الاصيص /غم
B	40.0
W	42.8
قيمة LSD	1.1

-تأثير المبيد والمخصب الحيوي في الحاصل

اثر استخدام المبيد الحيوي لعزلتي بكتريا *P. putida* في زيادة حاصل نباتات الحنطة وقد اعطت العزلتين 45 و 54 حاصلا قدره 40.66 و42.22 غم وزن حاصل الاصيص.

من جانب اخر اثر تركيز المبيد والمخصب الحيوي في زيادة وزن الحاصل حيث بلغ اقصاه عند التركيز 100غم/كغم حبوب (جدول 7).

وعند مقارنة البنتونايت مع نخالة الحنطة فقد تفوقت الاخيرة في زيادة الحاصل اذ بلغ 42.8 غم وزن حاصل البذور/اصيص مقارنة بما سجل مع البنتونايت والذي بلغ 40غم /اصيص.

وعند حساب معدل غلة الدونم المتوقعة على اساس مساحة الاصيص ومساحة الدونم فقد وصلت انتاجية الدونم المتوقعة في التربة المعقمة الى1877كغم/دونم عند استخدام المخصب الحيوي للعزلة 54 والتركيز 100غم/كغم حبوب مقارنة بمعاملة السيطرة الثانية والذى بلغ 1588كغم/دونم و1722كغم/دونم لنفس المعاملة مقارنة بمعاملة السيطرة الثانية 1454كغم/دونم فى التربة غير المعقمة (جدول 7).

ان التاثير الايجابى للبكتريا على صفات النبات والانتاج قد يعزى الى تشجيع نمو النبات نتيجة لقدرة هذه البكتريا على استيطان الجذور وكبح نمو الفطر Pythium عن طريق انتاج مركبات Siderophores التى تمتلك خاصية ارتباط عالية مع الحديد بشكل معقد فى منطقة الرايزوسفير مما يقلل من جاهزيته لنمو المسبب المرضى (16) او عن طريق الية استحثاث المقاومة في النباتات ضد الاصابة بالفطر(14) حيث اشار هؤلاء الباحثين الى ان كلا الاليتين تتوقف على مستوى حدوث المرض كما ينتج التاثير عن طريق انتاج المضادات الفطرية (الفينولات) التى تعمل على حماية النباتات من عفن الجذر المتسبب عن فطر Pythium (13).

يظهر من مجمل نتائج هذه الدراسة ان بكتريا *P. putida* قد ساهمت في تحسين نمو النبات اما بصورة مباشرة بتحفيز النمو(6) او بصورة غير مباشرة بكبح نمو الفطر الملوث للتربة (1) او احداث ميكانيكيات دفاعية لدى العائل لمقاومة الفطر عن طريق استحثاث مقاومة في النباتات (11).

ان من مقومات نجاح استخدام البكتريا سواء كمبيد او مخصب حيوي بالاضافة الى كفاءتها وكونها غير مرضية هو مدة بقائها في الحامل او التربة وقد بينت نتائج هذه الدراسة ان نخالة الحنطة تعد عاملا مشجعا لبقاء هذه البكتريا وهذا قد يعود الى ان نخالة الحنطة قد جهزت البكتريا بمصدر غذائي (17).

ان نتائج هذه الدراسة تؤكد الدور الكبير لهذه البكتريا فى زيادة نسبة الانبات وتشجيع نمو النبات وزيادة عدد تفرعاته مما انعكس على زيادة الحاصل فضلا عن التاثير المهم لهذه البكتريا فى حماية النبات من التاثير الضار لفطر Pythium ولفطريات مرضية اخرى ربما تكون موجودة اصلا فى التربة غير المعقمة.

جدول 7. تاثير تداخل عزلة البكتريا ونوع الحامل وتركيز المبيد الحيوي في معدل وزن النبات الجاف ووزن حاصل البذور/اصيص ومعدل الغلة المتوقعة للدونم/كغم

رقم العزلة البكتيرية	رمز الحامل	تركيز المبيد الحيوى (غم/كغم بذور)	تربة معقمة			تربة غير معقمة		
			وزن النبات(غم)	وزن حاصل البذور(غم/نبات)	معدل غلة الدونم/كغم	وزن النبات/غم	وزن حاصل الاصيص(كغم)	معدل غلة الدونم/كغم
45	B	25	11.8	39.6	1609	10.6	37.2	1511
		50	12.3	40.8	1657	11.3	38.3	1556
		100	12.5	41.2	1674	11.9	38.9	1580
	W	25	12.3	42.1	1710	11.2	39.6	1609
		50	13.1	43.8	1779	11.9	40.8	1657
		100	13.5	44.4	1804	12.4	41.3	1678
54	B	25	11.6	41.1	1670	11.1	38.7	1572
		50	12.5	42.2	1714	11.5	39.8	1617
		100	12.8	42.5	1726	11.8	40.6	1649
	W	25	13.9	44.1	1791	12.3	41.2	1674
		50	14.4	45.8	1860	13.6	42.1	1710
		100	15.3	46.2	1877	13.8	42.4	1722
Control 1			10.4	36.8	1495	9.4	33.3	1353
Control 2			11.2	39.1	1588	10.3	35.8	1454
اقل فرق معنوى P<0.05			A=0.496 P=0.496 C=0.607 AP=0.701 AC=n.s PC=n.s APC=n.s	A=0.991 P=0.991 C=1.214 AP=n.s AC=n.s PC=n.s APC=n.s		A=0.380 P=0.380 C=0.466 AP=0.538 AC=n.s PC=n.s APC=n.s		A=1.348 P=1.348 C=n.s AP=n.s AC=n.s PC=n.s APC=n.s

B= بنتونايت ، W= نخالة الحنطة

A=عزلات البكتريا *P. putida* ، P=الحوامل المستخدمة

C= تراكيز المبيد الحيوي (25,50,100غم/كغم حبوب حنطة)

Cont. 1=ملوثة بالفطر Pythium بدون مبيد البكتريا.

Cont.2=غير ملوثة بالفطر Pythium بدون مبيد البكتريا

المصادر

1-Amer, G. A. and R.S. Utkhede. 2000. Development of formulation of biological agents for management of root rot of lettuce and cucumber. Can. J. Microbiol. 46:809-816

2-Benani, F., E. Bossis, M. Benohaabane and B. Digat. 1994. Growth promotion and biocontrol of *Verticillium dahliae* of tomato with Pseudomonas. fifth Arab congress of plant protection. 27th Nov.2nd Des.

3-Burr, T. J., M. N. Schroth and T. Andsuslow. 1978. Increased potato yields by treatment of seedpieces with specific strains of *pseudomonas fluorescens*. Phytopathology 70:1078-1082.

4-Cowan, S. T. 1977. Cowan and Steels Manual for the identification of medical bacteria. 2nd.ed.Cambridge University Press, Cambridge. U. K.

5-Fingold, S. M. and W. J. Martin. 1982. Baily and Scotts diagnostic microbiology .6th.ed. The C. V. Mosby Co., St. Louis Toronto, London.

6-Glick, B. R. 1995. The enhancement of plant growth by free living bacteria. Can.J. Microbiol.41:109-117

7-King, E.O., W. K. Ward and D. E. Raney. 1954. Two simple media for the demonstration pyocyanin and fluorescin. Journal of Laboratory and Clinical Medicine 44:301-307

8-Kloepper, J. W., M. N. Schroth and T. D. Miller. 1980. Effects of rhizosphere

colonization by plant growth promoting rhizobacteria on potato plant development and yield. Phytopathology. 70:1078-1082.

9-Leeman, M., F. M. Denouden, S. A. Van pelt, F. P. M. Dirkx, H. Steijl, P. A. H. M. Bakkor and B . Schipper . 1996 . Availability affects induction of systemic resistance to Fusarium wilt of radish by *Pseudomonas fluorescence*. Phytopathology 86:149-155 .

10-Liang, X. Y., H. C. Huang, L. J. Yanke and G. C. Kozubm. 1996. Control of damping-off of software by bacterial seed treatment . Candian Journal of Plant Pathology. Revue Canadieune.de, Phytopathology 18(1)43-49.

11-Liu, L, J. W. Kloepper, and S. Tuzun. 1995. Induction of systemic resistance in cucumber against *Fusarium wilt* by plant growth promoting rhizobacteria. Phytopathology 25(6):695-698.

12-Lottmann, J., H. Hener, J. Devries, A. Mahn, K. During, W. Wackernagel, K. Smalla and G. Berg . 2000. Establishment of introduced antagonistic bacteria in the rhizosphere of transgenic potatoes and their effect on the bacterial community. FEMS Microbio. Ecol.33(1):41-49.

13-Ongena, M., F. Daayf, P. Jacques, P. Thonart, N. Benhamon, T. C. Paulitz. and R. R. Belanger. 2000. Systemic induction of phytoalexin in cucumber in response to treatment with fluorescent pseudomonads. Plant Pathology 49(4):523-530

14-Raaijmakers, J. M., M. Leeman, M. P. Vanoorschot, L. Vandersoluis, B. Schippers and P.Bakker. 1995. Dose-Response relationships in biological control of *Fusarium wilt* of radish by *Pseudomonas* spp. Phytopathology. 72:1567-1573.

15-Schaad, N.W. 1980. Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria. American Phytopathological Society. St. Paul .MN.P.33

16-Scher, F. M. and R. Baker. 1982. Effect of *Pseudomonas putida* and asynthetic iron chelator on induction of suppressiveness to *Fusarium wilt* of radish by *Pseudomonas* spp. Phytopathology 85(10):1075-1081.

17-Seth, P. K. 1976. Supplementatation of organic substrates to synthetic composts for increased mushroom yield. Indian.J. Mushrom 2:11

18-Shah-Simth, D. A. and R. G. Burns. 1996. Biological control of damping-off of sugarbeet by *Pseudomonas putida* applied to seed pellets . Plant Pathology 45:572-582 .