

المكافحة الاحيائية للفطر *F.oxysporum* المسبب لمرض تعفن جذور وذبول الرقي تحت ظروف الظلة الخشبية

اريج احمد خليف

ابراهيم خليل حسون

الكلية التقنية - المسيب

الكلية التقنية - المسيب

المستخلص

تضمنت هذه الدراسة تقييم كفاءة البكتريا *Bacillus* و *Azotobacter chroococcum* و *thuringiensis* المعزولة من التربة في مكافحة الفطر *Fusarium oxysporum* المسبب لمرض تعفن جذور وذبول الرقي. اظهرت نتائج تجربة الاصص ان جميع المعاملات ادت الى خفض معنوي في شدة الاصابة لعزلة الفطر الممرض *Fusarium oxysporum* فقد تفوقت معاملة التداخل ما بين البكتريا *Azotobacter chroococcum* و *Bacillus thuringiensis* في خفض معنوي في النسبة المئوية لشدة الاصابة بالفطر الممرض والتي بلغت 4.17% قياسا بمعاملة الفطر الممرض بمفرده والتي بلغت شدة الاصابة فيها 83.33%، وكذلك بينت نتائج التجربة ان اضافة معاملي البكتريا *Azotobacter chroococcum* و *Bacillus thuringiensis* كلا على انفراد وبوجود الفطر الممرض احدثتا خفضا معنويا في نسبة شدة الاصابة الى 16.67% و 25.00% على التوالي قياسا بمعاملة الفطر الممرض بمفرده . مما انعكست ايجابيا على معايير النمو لنبات الرقي كالتطول والوزن الطري والجاف للمجموعتين الخضري والجذري .

Abstract

Results of pot experiment revealed that all treatment caused a significant reduction in the infection intensity and *Fusarium oxysporum* isolate where the intraction treatment between *Azotobacter chroococcum* and *Bacillus thuringiensis* significantly reduced the infection intensity and pathogenic fungus giving 4.17% compared with the pathogenic fungus alone which gave 83.33%. Results also revealed that, the addition and *Azotobacter chroococcum* and *Bacillus thuringiensis* separately in the presence and the pathogenic fungus caused a significant reduction in the infection intensity waehing 16.67% and 25.00% respectively as compared with the pathogenic fungus alone .which positively refleclid on the watermelon growth parmeters represented by the length, dry and fresh weights and shoot and root systems .

المقدمة

يعود الرقي *Citrullus lanatus* (Thumb.) Matsum and Nakai الى العائلة القرعية *Cucurbitaceae* ويعتبر من اهم المنتجات الصيفية المرغوبة من قبل المستهلك العربي كونه مادة غذائية مرطبة ومنعشة وخاصة في المناطق الحارة [4]. وهو احد محاصيل الخضر الصيفية المهمة في العراق اذ يمثل المرتبة الاولى من حيث المساحة والانتاج اذ بلغت المساحة المزروعة بالرقي في العراق 152000 دونم لعام

2003 وبلغ اجمالي الانتاج 380000 طن [27]. يتعرض محصول الرقي للاصابة بالعديد من مسببات الامراض وتعد مسببات تعفن البذور وموت البادرات وتعفن الجذور والذبول من اهم العوامل المحددة لزراعة المحصول في معظم دول العالم [40] و[49] و[14] .

وللحد من تأثير هذه المسببات استخدمت المبيدات الكيميائية لمعاملة التربة اعطت فعالية عالية في الحد من تأثير المسببات المرضية في محاصيل مختلفة ، وعلى الرغم من فعالية المبيدات الا ان هذا الاتجاه لا ينسجم مع الاستراتيجيات الحديثة في العالم التي تعمل على تقليل استخدام المبيدات لما لها من اثار سلبية في البيئة والاحياء غير المستهدفة وصحة الانسان فضلا عن ظهور سلالات مقاومة من مسببات الأمراض . [41] و [1] و [19].

لهذا ركزت معظم الدراسات على الكشف عن أحياء مضادة للمسببات المرضية لمقاومة المسبب الممرض ، ومن هذه الاحياء البكتريا *Azotobacter chroococcum* التي هي من بكتريا الجذور المشجعة لنمو النبات PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) ومعروف عن هذه البكتريا كفاءتها العالية في تثبيت النتروجين وقابليتها التضادية لمختلف المسببات المرضية خصوصاً المستوطنة في التربة [26] . كما أظهرت البكتريا *Bacillus thuringiensis* وبكتريا *Bacillus cereus* كفاءة عالية ضد مختلف فطريات التربة كالفطرين *Rhizoctonia solani* و *Fusarium solani* [36].

لذا هدف البحث الى:-

1. عزل الفطر *F.oxysporum* المسبب لمرض تعفن جذور وذبول الرقي.

2. تقييم كفاءة البكتريا *Azotobacter chroococcum* والبكتريا *B.thuringiensis* في خفض شدة الاصابة بالفطر *F.oxysporum* المسبب لمرض تعفن جذور وذبول الرقي.

المواد وطرائق العمل:

العزل والتشخيص:-

تميزت الاعراض المرضية على نباتات الرقي بضعف النبات وتعفن وذبول النبات حيث جمعت النباتات المصابة من 6 مواقع في محافظة بابل (المسيب ، السدة ، المهناوية ، الوطيفية ، ابو الجاسم ، الجيلاوية) وقد جرى ذلك للمدة من 2013/4/1 ولغاية 2013/6/15. اخذت عينات من جذور الرقي وغسلت بالماء الجاري لازالة الاتربة العالقة بها. وقطعت الى اجزاء صغيرة بطول 0.5 سم وعقمت سطحياً بغمرها لمدة 3 دقائق في محلول هايبيوكلورات الصوديوم (1% كلور حر) ، وغسلت بماء معقم وجففت بورق نشاف معقم وزرعت بواقع 4 قطع في كل طبق بتري قطر 9 سم يحتوي على 15-20 سم³ من الوسط الزراعي المعقم Potato Dextrose Agar (PDA) (200غم بطاطا مقشرة ، 20 غم الدكستروز ، 20 غم اكر و 1 لتر ماء) حضنت الاطباق عند درجة حرارة 25±2س⁰ وبعد (3-5) ايام نقيت الفطريات النامية بنقل جزء قليل من الحافة الخارجية للنمو

الفطري للمستعمرات إلى أطباق مجهزة بالوسط PDA وشخص الفطر وفق المفتاح التصنيفي المعتمد [38] و [17]. وحفظت عند درجة حرارة 4 س لحين الاستعمال.

اختبار قدره الأمراض لعزلات الفطر *F.oxysporum* باستخدام بذور الفجل الأبيض على وسط W.A

تم اختبار القدرة المرضية للعزلات الفطرية المرافقة لجذور نبات الرقي باستعمال بذور الفجل الأبيض المحلية واختبرت المقدرة المرضية لخمس عشرة عزلة من الفطريات التي تم الحصول عليها من خلال عمليات العزل ، وقد أتبعنا الطريقة التي وضعها [15] إذ حضرت أطباق بتري حاوية على الوسط الزراعي الاكار والماء (Water Agar) (20غم اكار في لتر من الماء المقطر) ، والمعقم بجهاز الموصدة بدرجة حرارة 121م لمدة 15 دقيقة وضغط 1 جو والمضاف اليه المضاد الحيوي Tetracycline بتركيز 250 ملغم/ لتر بعد التعقيم، وبعد تصلب الوسط تم تلقيح الاطباق في مركزها بقرص قطره 5 ملم من مزارع الفطريات المنماة على الوسط الزراعي PDA وبعمر 7 أيام ومن حواف المزرعة ثم حضنت الاطباق على درجة حرارة 25 ± 2 ولمدة ثلاثة ايام وبعد ذلك تم زراعة بذور الفجل المحلية والمعقمة سطحياً بمحلول هايبوكلورات الصوديوم بتركيز 1% وبصورة دائرية قرب حواف الطبق وبمعدل 25 بذرة لكل طبق استعملت 4 أطباق لكل عزلة كمكررات بالإضافة إلى معاملة المقارنة من دون فطر ممرض وحضنت الإطباق على نفس الدرجة الحرارية وأخذت النتائج بعد 7 أيام من الزراعة بحساب نسبة الإنبات ،وبناء على نتائج هذه التجربة اختيرت العزلة F.03 لاستخدامها في التجارب اللاحقة .

تحضير لقاح عزلة الفطر (*Fusarium oxysporum* (F.03) بتحميله على بذور الدخن

تم تنمية العزلة F.03 على بذور الدخن المحلي *Panicum miliaceum* L. بعد ان تم غسله جيداً لازالة الاتربة والشوائب العالقة به ، نقعت البذور لمدة 6 ساعات بالماء ثم تركت على قطعة من الشاش لمدة نصف ساعة لازالة الماء الزائد منها ، وضع كل 50 غم من البذور في دورق زجاجي حجم 250 مل وعقمت بجهاز المؤصدة في درجة حرارة 121⁰م وضغط 1 جو ولمدة ساعة . لقحت الدوارق بوضع 5 اقراص قطر 0.5 سم من الوسط الزراعي PDA الحاوي على نمو الفطر *Fusarium oxysporum* (F.03) بعمر 7 ايام وحضنت الدوارق على درجة حرارة 25 ± 2 م لمدة 14 يوماً مع مراعاة رج الدوارق كل 2-3 ايام لضمان التهوية و توزيع اللقاح الفطري على جميع البذور بداخل الدورق [23].

إختبارات المقدرة التضادية للعوامل الاحيائية *A. chroococcum* و *B. thuringiensis* والفطر *F. oxysporum* :-

بعد الحصول على عزلات البكتريا المعزولة من التربة وتم تشخيصها واعتمد في تشخيص البكتريا *A.chroococcum* على دراسة الصفات المظهرية والمجهرية و الكيموحيوية وحسب ما جاء في [56] [18]. وفي البكتريا *B.thuringiensis* على دراسة الصفات المظهرية والمجهرية و الكيموحيوية وحسب ما جاء في [21] [39]. تم اكارها على وسط Nutrient broth في دورق زجاجية سعة 250 مل عقمت الدوارق في

المؤسدة تحت درجة 121 م و ضغط 1.5 باوند/ انج² لمدة 15 دقيقة ثم لقع كل دورق باخذ مسحة باستخدام loop من البكتريا المنماة على وسط Nutrient Agar لكل نوع من البكتريا المراد تحضيرها وتم مزج مكونات الدورق وحضنت في الحاضنة بدرجة حرارة 28±1 م .

تحديد التركيز الفعال من العالق البكتيري *A. chroococcum* و العالق البكتيري *B. thuringiensis* و المثبط لنمو الفطر الممرض *F.oxysporum*

تم تحضير سلسلة تخافيف من عالق كل عزلة من العزلات البكتيرية المنماة على وسط التنشيط السائل عمر 2 يوم باخذ 1 مل من الوسط السائل النامية فيه البكتريا بواسطة ماصة معقمة واضيف الى انبوية اختبار تحتوي على 9 مل ماء مقطر معقم وتم تلقيح كل الانابيب وذلك بأخذ 1 مل من الأنبوية الأولى واضافتها الى الانبوية الثانية بواسطة ماصة معقمة كررت العملية على باقي الأنابيب للحصول على سلسلة من التخافيف 10^{-1} 10^{-10} بعدها جرى تلقيح الأطباق الحاوية على الوسط الزرعي PDA (من دون إضافة مضاد حيوي) بأخذ 1 مل / طبق من كل تخفيف من العالق البكتيري على شكل بقع دائرية وضع في مركزها قرص بقطر 0.5 سم أخذ من قرب حواف مستعمرة الفطر *F. oxysporum* عزلة والمنماة على الوسط PDA بعمر 7 أيام وتركت أربعة أطباق لكل فطر للمقارنة من دون تلقيح بالبكتريا أضيف لها 1 مل ماء مقطر معقم [5] و [6] حضنت الأطباق بدرجة حرارة 25±2 م لحين وصول مستعمرة الفطر في معاملة المقارنة إلى حافة الطبق بعد ذلك تم حساب مقدار التنشيط وذلك بحساب قطر مستعمرة الفطر النامي في معاملة البكتريا ومقارنتها بقطر مستعمرة الفطر النامي في معاملة المقارنة ، حسب النسبة المئوية لتنشيط النمو الفطري وفق معادلة

$$\% \text{ لتنشيط النمو الفطري} = \left[\left(\frac{\text{النمو الفطري في معاملة البكتريا}}{\text{النمو الفطري في معاملة المقارنة}} \right) - 1 \right] \times 100 \quad \text{Montealegre [42].}$$

حساب الكثافة العددية للبكتريا

اتبعت طريقة عد المستعمرات المباشر في الأطباق لحساب العدد الكلي للبكتريا *A.chroococcum* و *B. Thuringiensis* ، بعد الحصول على أقل تخفيف مثبط 10^{-7} و 10^{-6} على التوالي من اللقاح البكتيري للفطر الممرض *F.oxysporum* تم تحضير 4 أطباق بتري بقطر 9 سم حاوية على الوسط SMSA المعقم ، لقت الأطباق بعالق البكتريا تخفيف 10^{-7} بمعدل 1مل/ طبق لبكتريا *A.chroococcum* . واطباق حاوية على وسط N.A المعقم ، لقت الأطباق بعالق البكتريا تخفيف 10^{-6} بمعدل 1مل/ طبق بالنسبة لبكتريا *B. thuringiensis* ، حضنت الأطباق عند درجة حرارة 28±1 م لمدة 72 ساعة، ثم حسب عدد الخلايا البكتيرية كالاتي:

عدد البكتيريا/مل من العينة الأصلية=عدد المستعمرات في الطبق × مقلوب تخفيف العينة [2] ، وبناءً على ذلك يكون عدد المستعمرات لبكتريا *A.chroococcum* و 5×10^8 و 6×10^7 على التوالي.

المكافحة الإحيائية للفطر *F.oxysporum* المسبب لمرض تعفن جذور وذبول نباتات الرقي تحت ظروف الظلة الخشبية.

أجريت هذه التجربة في الكلية التقنية المسيب بتاريخ 6 / 8 / 2013 باستخدام أصص بقطر 25 سم وسعة 2 كغم تربة رملية مضاف اليها البيموس بنسبة 1:2 تم تعقيمها بجهاز الموصدة (Autoclave) في درجة حرارة 121م وضغط 1جو ولمدة ساعة واحدة وليومين متتالين [8] .

تضمنت التجربة المعاملات الآتية:-

1. معاملة البكتريا *A. chroococcum* بمفردها
2. معاملة البكتريا *B. thuringiensis* بمفردها
3. معاملة البكتريا *A. chroococcum + B. thuringiensis* بمفردهما
4. معاملة البكتريا *A. chroococcum* + الفطر الممرض
5. معاملة البكتريا *B. thuringiensis* + الفطر الممرض
6. معاملة البكتريا *A. chroococcum + B. thuringiensis* + الفطر الممرض
7. معاملة الفطر *F.oxysporum* بمفرده
8. معاملة الفطر *F.oxysporum* + البتموس
9. نبات الرقي + البتموس
10. معاملة المقارنة غير ملوثة بالفطر (إضافة بذور دخن معقمة).

نفذت التجربة باستخدام التصميم العشوائي الكامل C.R.D. وبثلاثة مكررات لكل معاملة. استخدم لقاح الفطر *F.oxysporum* المحضر حسب طريقة [23] فقد اضيف الفطر الممرض *F.oxysporum* المحمل على بذور الدخن بنسبة 1% (وزن/ وزن) بعد تحميله على بذور الدخن المحلي لجميع المعاملات التي تتطلب اضافته [6] . بالنسبة لعالق البكتريا *A. chroococcum* وعالق بكتريا *B.thuringiensis* فقد أضيف مع ماء الري بمعدل 100مل/ نبات [37] قبل 7 ايام من التلووث بالفطر الممرض ، بينما معاملة المقارنة (بكتريا بمفردها) لم يتم إضافة فطر ممرض لها [5] . تم اخذ النتائج بتاريخ 2013/10/25 بحساب النسبة المئوية لشدة الاصابة بالفطر الممرض *F.oxysporum* ومعايير النمو المتمثلة بالوزن الطري والجاف واطوال النباتات للمجموعين الجذري والخضري.

النتائج والمناقشة

العزل والتشخيص

أظهرت نتائج العزل من جذور نباتات الرقي التي ظهرت عليها اعراض المرض ومن جميع الحقول التي تم العزل منها وجود الفطر *Fusarium oxysporum* وتم تشخيص الفطر اعتمادا على الصفات المظهرية والمجهريّة ، اذ تميزت اعراض مرض تعفن جذور وذبول الرقي المتمثلة بذبول واصفرار النبات وظهور اعراض تعفن في الجذور متمثل بتلون الجذور الرئيسية والجذور المغذية بلون بني وضعف النمو في نباتات الرقي المصابة بالمسبب المرضي في الحقول التي تم اخذ العينات منها ، كما تمثلت صفات الفطر *F.oxysporum* في مستعمراتة التي عزلت من جميع العينات بانه يكون غزل فطري ابيض الى رمادي اللون ، كما اظهر الفحص المجهرى تكوين ثلاثة أنواع من الأبواغ اللاجنسية في التربة أو مزارعه هي : الكونيديات الصغيرة (Microconidia) أحادية الخلية أو ثنائيه، والكونيديات الكبيرة (Macroconidia) ، تتكون من (3-5) خلايا مدببة بصورة تدريجية ومقوسة باتجاه النهايتين ، والأبواغ الكلاميدية Chlamydospores ، وهي أبواغ أحادية إلى خماسية الخلية ذات جدار سميك كروية أو متطاولة تتكون طرفيا أو بينيا على الغزل الفطري أو على الابواغ الكونيدية الكبيرة [11] .

اختبار القدرة الامراضية لعزلات الفطر *F.oxysporum* باستعمال بذور الفجل على الوسط W.A .

أظهرت النتائج (الجدول 1) أن جميع العزلات الفطرية المختبرة أدت الى خفض معنوي في نسبة إنبات بذور الفجل إذ تراوحت النسبة ما بين 0 - 80 % قياساً بمعاملة المقارنة (بدون فطر) البالغة 100 % واثبت هذا الاختبار ان جميع العزلات كانت ممرضة إلا ان هنالك تبايناً بنسبة تأثيرها في الإنبات و قد يعزى السبب الى اختلاف العزلات في تأثيرها على انبات بذور الفجل و قد يعزى الى اختلاف مقدرتها على انتاج المواد الايضية كالسموم والانزيمات او اختلاف طرائق اختراقها للعائل او اختلاف في سرعة نموها. اما الاختلاف بين العزلات العائدة للنوع نفسه فربما يعزى سببه الى تغايرات وراثية بسبب اختلاف مناطق جمع العينات او اختلاف في كمية ما تفرزه هذه العزلات من مواد ايضية كالسموم مثل Fusaric Acid و Lycomarasmine والانزيمات ومنها Polygalacturonase (PG) و Pectinmethylestrase (PME)، اذ ان العزلات ذات الامراضية العالية تمتاز بافرازها كمية من هذه المواد الايضية اكبر من العزلات ضعيفة الامراضية [63]. او ربما يعزى الى اختلاف العزلات في مقدرتها على التطفل المباشر اذ ان العزلات شديدة الامراضية غطت البذور بالغزل الفطري ولم تسمح لها بالانبات.

الجدول 1: اختبار القدرة الامراضية لعزلات الفطر *F.oxysporum* باستعمال بذور الفجل على الوسط W.A.

عزلة الفطر	% انبات بذور الفجل
F.o1	3.00
F.o2	18.00
F.o3	0.00
F.o4	0.00
F.o5	11.00
F.o6	6.00
F.o7	75.00
F.o8	9.00
F.o9	0.00
F.o10	80.00
F.o11	10.00
F.o 12	0.00
F.o13	7.00
F.o14	76.00
F.o15	30.00
المقارنة	100.00
L.S.D عند مستوى احتمال = 0.05	
3.92	

Fusarium oxysporum= F.o *

1,2,3,4,5,.... رمز لكل عزلة فطرية

** كل رقم في الجدول يمثل معدلا لاربعة مكررات

حساب الكثافة العددية للبكتريا *A. chroococcum* و *B.thuringiensis*

اشارت النتائج ان الكثافة العددية للبكتريا *A. chroococcum* و *B.thuringiensis* هي:-

5×10^8 و 6×10^7 (وحدة تكوين مستعمرة / مل) على التوالي [2] .

اختبار المقدرة التضادية لبكتريا *A. chroococcum* و *B.thuringiensis* ضد عزلة الفطر

F.oxysporum(F.o3) على الوسط P.D.A :-

اظهرت نتائج هذه الدراسة الجدول 2 ان عزلة البكتريا *A. chroococcum* ذات كفاءة تثبيطية عالية ضد

عزلة الفطر الممرض *F.oxysporum* اذ بلغت نسبة التثبيط 74.13 قياسا بمعاملة المقارنة التي كانت نسبة

التثبيط فيها صفرا. قد يعود ذلك الى المواد الايضية المضادة التي تفرزها هذه البكتريا او الانشطة المتنوعة التي تمارسها ،وقد يعود الى تباين المضادات الفطرية الايضية المنتجة من قبل العزلات البكتيرية [12]، وكذلك انتاج عدد من الانزيمات التي لها القدرة على تحليل جدران خلايا الفطر الممرض ومن هذه الانزيمات انزيم chitinase و laminarinase و glucanase وانتاج مضادات حيوية مثل pyoluteorin ، phenazin ، herbicolin فضلا عن انتاجها مركبات ذات أوزان جزيئية منخفضة تعمل على مقاومة الفطريات الممرضة ومن بينها مركب سيانيد الهيدروجين (HCN) حيث إن وجود هذا المركب بتركيز عالية يعمل على تثبيط نمو الفطريات الممرضة [55] و [20] و [29] و [32]. وفي مجال مكافحة الحبيوة فان لبكتريا الاوزوتوبكتتر الدور المهم في انتاج المضادات الفطرية مثل المضادات الحيوية Antibiotics ومن أهمها Azotobacterin و Conactine ومركب سيانيد الهيدروجين (HCN) إذ إن وجود هذه المركبات و بتركيز عالية يثبط الفطريات الممرضة ومنها الفطر *Fusarium oxysporum* [10]. كما وجد مطلوب [9] ان العزلات البكتيرية للبكتريا *A.chroococcum* اوقفت تقدم الفطريات الممرضة لملء الطبق حتى بعد مرور اكثر من شهر على تسجيل النتائج بعد حفظ الاطباق بجو الغرفة مما يعكس الفعل المستمر لهذه البكتريا اتجاه الفطريات المستهدفة. كما ان استخدام البكتريا *B.thuringiensis* و بتركيز 6×10^7 (وحدة تكوين مستعمرة /مل) ادى الى تثبيط عزلة الفطر الممرض *F.oxysporum* على الوسط الزراعي P.D.A ،اذ بلغت نسبة التثبيط 67.45 قياسا بمعاملة المقارنة التي كانت نسبة التثبيط فيها صفرا. يعزى التأثير الذي يسببه استعمال هذه البكتيريا في تثبيط نمو الفطريات الممرضة الى افراز إنزيم الكايتينيز من قبل هذه البكتريا مما يؤدي الى تحليل خلايا جدران الفطر الممرض وربما يؤدي إنزيم البروتيز نفس الدور الذي يؤديه انزيم الكايتينيز واتفقت هذه النتيجة مع ما وجدته [52] و [50] و [60] في تثبيط نمو الفطر *Fusarium*.

الجدول 2: اختبار المقدرة التضادية لبكتريا *A. chroococcum* و *B.thuringiensis* ضد عزلة الفطر *F.oxysporum* على الوسط P.D.A :-

المعاملات	معدل النمو القطري (سم) للفطر <i>F.oxysporum</i>	نسبة التثبيط %
الفطر <i>F.03</i> + بكتريا <i>A.ch</i>	2.33	74.13
الفطر <i>F.03</i> + بكتريا <i>B.th</i>	2.93	67.45
فطر <i>F. 03</i> بمفرده (مقارنة)	9.00	0.00

*كل رقم في الجدول يمثل معدلا لاربعة مكررات

تقييم تأثير بعض العوامل الاحيائية في شدة اصابة نباتات الرقي بالفطر *F.oxysporum* وبعض معايير النمو تحت ظروف الظلة الخشبية .

بينت نتائج تجربة الظلة الخشبية (جدول 3) ان جميع المعاملات المستخدمة والتي تشمل عوامل المقاومة الحيوية *A. chroococcum* و *B.thuringiensis* ادت الى خفض معنوي في النسبة المئوية لشدة الاصابة

لنبات الرقي بالفطر الممرض *F.oxysporum* . فيما يخص شدة الإصابة تفوقت معاملة التداخل ما بين الأنواع البكتيرية في خفض النسبة المئوية لشدة الإصابة بالفطر الممرض, واعطى التداخل بين البكتريا *A. chroococcum* وبكتريا *B.thuringiensis* اعلى تثبيط للفطر *F.oxysporum* ، بشدة اصابة بلغت 4.17% قياسا بمعاملة المقارنة للفطر الممرض التي بلغت شدة الإصابة 83.33% ويعود سبب تفوق معاملات التداخل في خفض النسبة المئوية لشدة الإصابة بالفطر الممرض إلى أن استعمال التداخل ما بين عوامل المقاومة الأحيائية يحقق نتائج أفضل وذلك لأن كل مقاوم إحيائي ربما سيستعمل مختلف الميكانيكيات لمكافحة المسبب المرضي وباجتماع هذه الميكانيكيات من كلا عاملي المقاومة الأحيائية سيكون هناك كبح اكبر للمسبب المرضي وستكون النتائج أفضل فيما لو استخدم المقاوم الأحيائي بصورة منفردة [24] و [25]. وان تفوق معاملات التداخل ما بين الأنواع البكتيرية في خفض النسبة المئوية لشدة الإصابة ربما يعود إلى التأثير التعاوني Synergistic effect فيما بينها في تحفيز المقاومة الجهازية للنبات [57] .

اما معاملة البكتريا *A.chroococcum* + الفطر الممرض *F.oxysporum* فقد حققت خفضاً معنوياً في النسبة المئوية لشدة الإصابة والتي بلغت 16.67% مقارنة مع معاملة الفطر الممرض بمفرده *F.oxysporum* ، قد يعود السبب الى قدرة البكتريا على انتاج Siderephore التي تستخدم في مكافحة الامراض الفطرية ومنه فطريات الجنس *Fusarium* [44]. وتتفق هذه النتائج مع العديد من الدراسات التي اثبتت الفعالية التسميدية للبكتريا *A.chroococcum* وايضا مقدرتها التضادية المثبطة لفطريات الجنس *Fusarium* [3][7][33].

وتأتي بعدها البكتريا *F.oxysporum* + *B.thuringiensis* من حيث الفعل التثبيطي للفطر الممرض *F.oxysporum* فقد حققت خفضاً معنوياً في النسبة المئوية لشدة الإصابة والتي بلغت 25.00% مقارنة مع معاملة الفطر الممرض بمفرده *F.oxysporum*، تعزى فعالية بكتريا مكافحة الحيوية *B. thuringiensis* الى الياتها المختلفة ، فقد اثبتت العديد من الدراسات قدرتها في السيطرة على الفطريات الممرضة وخفض شدة اصابة الفطر الممرض للنبات ومن الاليات التي تمتلكها هذه البكتريا انتاجها للإنزيمات كإنزيم الكايتينيز والبروتينيز وانتاجها للسموم و من هذه السموم delta-endotoxin التي ثبت ان لها دوراً في تثبيط انبات الابواغ ونمو الغزل الفطري مما يؤدي الى منع حدوث الإصابة لعوائل نباتية مختلفة [52] و [22] و [30] و [35] .

أما بالنسبة إلى معاملات التداخل ما بين الأنواع البكتيرية ومعاملات الأنواع البكتيرية بصورة منفردة من غير إضافة الفطر الممرض فلم تظهر أي إصابة بالفطر الممرض *F.oxysporum* وكانت هذه النتيجة متطابقة مع معاملة المقارنة غير الملوثة بالفطر الممرض والتي استخدمت فيها بذور دخن معقمة فقط، إذ بلغت النسبة المئوية لشدة الإصابة في جميع هذه المعاملات صفراً %.

اما بالنسبة لمعايير النمو المدروسة لنباتات الرقي فقد أشارت النتائج الجدول 3، إلى أن جميع المعاملات حققت زيادة معنوية في معايير النمو لنباتات الرقي مثل الطول والوزن الطري والجاف للمجموعين الخضري والجذري مقارنة بمعاملة الفطر الممرض *F.oxysporum* بمفرده، فقد أظهرت معاملة التداخل ما بين بكتريا

A.chroococcum وبكتريا *B.thuringiensis* بوجود الفطر الممرض أعلى قيمة في الطول و الوزن الطري والجاف للمجموعين الخضري والجزري فقد بلغت 58.13 و 13.13 سم و 7.07 و 2.33 و 0.98 و 0.47 غم على التوالي مقارنة مع معاملة الفطر الممرض بمفرده فقد بلغ معدل الطول و الوزن الطري والجاف للمجموعين الخضري والجزري فيها 24.80 و 4.80 سم و 0.88 و 0.96 و 0.00 و 0.00 غم على التوالي.

وحققت معاملة البكتريا *A.chroocuccum* + الفطر الممرض *F.oxysporum* زيادة معنوية في معايير النمو مثل الطول والوزن الطري والوزن الجاف وللمجموعين الجزري والخضري اذ بلغت 50.53 و 12.00 سم و 5.81 و 2.27 و 0.28 و 0.00 غم على التوالي مقارنة مع معاملة الفطر الممرض بمفرده، ويعزى سبب ذلك حيث ان بكتريا *A. chroococcum* تأتي في مقدمة الأنواع البكتيرية المحفزة لنمو النبات PGPR إذ تقوم بتثبيت النتروجين الجوي بصورة غير تكافلية وتزيد من جاهزية العناصر الغذائية وفي مقدمتها عنصر الحديد من خلال انتاجها Siderophore الخالبة للحديد الثلاثي ومن ثم جعله غير جاهز للفطر مما يؤدي الى موته وتحلله [48] و [46] و [47] و [45] كما ان لها القدرة على إنتاج الهرمونات النباتية ومنها IAA والجبرلينات والسايتوكاينينات والاكسينات التي لها أهمية كبيرة في تنظيم نمو وتطور النبات [43] و [61] والفيتامينات [51] و [58]. كما تنتج العديد من الانزيمات المحللة للمواد العضوية في التربة وإعادة دور العناصر وتجهيزها للنبات [16] [34] و [62]. اضافة الى افرازها للمضادات الحيوية وانتاجها للانزيمات التي تعمل على تحلل الغزل الفطري وتشوه قمع الخيوط الفطرية [55] و [54] و [20] و [29] و [64].

اما معاملة البكتريا *B.thuringiensis* + الفطر الممرض *F.oxysporum* حققت زياده معنوية في معايير النمو مثل الطول والوزن الطري والوزن الجاف وللمجموعين الجزري والخضري اذ بلغت 49.35 و 11.75 سم و 5.40 و 1.60 و 0.14 و 0.00 غم/نبات قياساً بمعاملة الفطر بمفرده على التوالي ويعود السبب الى ماتملكه هذه البكتريا من اليات مختلفة للتأثير في المسبب المرضي منها انتاج الأنزيمات كانزيم الكايتينيز والبروتينيز والمضادات الحيوية مثل Bacteriocin و Thuricin والسموم منها delta-endotoxin التي تعمل على تحلل سايتوبلازم الخيوط الفطرية [59] و [31] و [30] وقد يعود سبب زيادة نمو النبات بوساطة البكتريا *B.thuringiensis* سواء في التربة الملوثة بالفطر الممرض و حتى غير الملوثة الى مقدرة هذه البكتريا على انتاج مواد أيضا محفزة للنمو، إذ تعد احد أفراد مجموعة البكتريا الملازمة للجذور والمحفزة لنمو النبات (PGPR) [31] و [53].

أما بالنسبة إلى معاملات التداخل ما بين الأنواع البكتيرية ومعاملات الأنواع البكتيرية بصورة منفردة وبدون إضافة لقاح الفطر الممرض إلى هذه المعاملات وكذلك معاملة المقارنة التي استخدمت فيها بذور دخن معقمه وبدون إضافة الفطر الممرض كلها قد حققت زيادة معنوية ملحوظة في الطول والوزن الطري والجاف للمجموعين الخضري والجزري.

وقد حققت معاملة الفطر الممرض بمفرده اختزالاً معنوياً في الطول و الوزن الطري والجاف وللمجموعين الجذري والخضري والتي أظهرت أقل القيم لتلك المعايير اذ بلغت 24.80 و 4.80 سم و 0.88 و 0.96 و 0.00 و 0.00 غم/نبات على التوالي ، ويؤدي الفطر *F.oxysporum* إلى تعفن البذور قبل الإنبات كما يسبب موت البادرات قبل وبعد البزوغ لمحصول الرقي . [65] ويعتبر الفطرين *F.oxysporum* و *F. moniliforme* هما المسؤولان عن تعففات البذور [28] ، ففي دراسة قام بها Anam [13] حول انتشار مرض تعفن الجذور والقدم في الباميا اثبتوا ان الفطر *F.oxysporum* سجل نسبة اصابة 35% بالمرض في بذور باميا غير معاملة بالمبيدات الكيميائية .

جدول(3) تقييم تاثير بعض العوامل الاحيائية في شدة اصابة نباتات الرقي بالفطر *F.oxysporium* وبعض معايير النمو تحت ظروف الظلة الخشبية .

الوزن الجاف الجذري	الوزن الجاف الخضري	الوزن الطري الجذري	الوزن الطري الخضري	طول المجموع الجذري	طول المجموع الخضري	% شدة الاصابة	المعاملات
غم /	غم /	غم /	غم /	سم /	سم /		
0.00	0.00	0.96	0.88	4.80	24.80	83.33	الفطر <i>F.03</i> بمفرده
0.00	0.00	0.99	0.90	5.01	25.13	79.17	الفطر <i>F.03</i> + بتموس
0.69	1.88	4.06	8.21	14.36	60.77	0.00	بكتريا <i>A.ch</i> +بتموس
0.50	1.43	3.33	7.79	13.53	58.87	0.00	بكتريا <i>B.th</i> +بتموس
0.00	0.28	2.27	5.81	12.00	50.53	16.67	الفطر (<i>F.03</i>) + بكتريا <i>A.chr</i> +بتموس
0.00	0.14	1.60	5.40	11.75	49.35	25.00	الفطر (<i>F.03</i>) + بكتريا <i>B.th</i> +بتموس
0.98	2.80	5.46	9.13	16.02	66.33	0.00	بكتريا <i>A.ch</i> + بكتريا <i>B.th</i> +بتموس
0.47	0.98	2.33	7.07	13.13	58.13	4.17	الفطر (<i>F.03</i>) + بكتريا <i>A.ch</i> + بكتريا <i>B.th</i> +بتموس
0.00	0.11	1.23	5.01	10.99	49.21	0.00	نبات رقي +بتموس
0.00	0.10	1.10	5.00	10.95	48.73	0.00	مقارنة بدون فطر ممرض

*كل رقم بالجدول يمثل معدلا لثلاثة مكررات

- 1- البيهادلي ، علي حسين، هناء حمد الزهرون، ناهدة مهدي صالح . 1987 . مقاومة الفطر *R.solani* باستخدام المبيد Monceren . مجلة البحوث الزراعية والموارد المائية .
- 2- الحديثي ، هديل توفيق . 1983 . الكتاب العملي في اساسيات علم البكتريا . مطبعة جامعة البصرة.112 صفحة .
- 3- الكعبي ،حوراء نعمة حسين.(2013).فعالية عوامل احيائية وكيميائية ضد الفطر *Fusarium solani* المسبب لمرض تعفن جذور الشليك. رسالة ماجستير .الكلية التقنية المسيب.
- 4- الموسوعة العربية العالمية، 1999 :مؤسسة اعمال الموسوعة للنشر والتوزيع .المملكة العربية السعودية.
- 5- حسون ، ابراهيم خليل . 2005 . المكافحة البايولوجية والكيميائية لمسبب تفرح ساق البطاطا *Rhizoctonia solani kuhn* . اطروحة دكتوراه . كلية الزراعة . جامعة بغداد .
- 6- خضير، وديجة محسن . 2007 . المكافحة المتكاملة لمرض تعفن جذور الحمضيات المتسبب عن الفطر *Fusarium solani* . اطروحة دكتوراه . كلية الزراعة . جامعة بغداد .
- 7- داخ ،عتاب خير الله .(2013) تاثير بعض المستخلصات النباتية والمكافحة الاحيائية للفطريات المرافقة لتدهور النخيل في محافظة ذي قار .رسالة ماجستير .الكلية التقنية المسيب.
- 8- زغير ، فاضل سامي . 2008 . المكافحة المتكاملة لفطريات تعفن بذور الطماطة وموت بادراتها في المناطق الصحراوية . رسالة ماجستير . الكلية التقنية - المسيب .
- 9- مطلوب ، عهد عبد علي هادي . 2012 . تحديد مسببات تعفن جذور وقواعد سيقان الفاصوليا وتقويم فعاليتها بعض عوامل المكافحة الأحيائية في مقاومتها . اطروحة دكتوراه . كلية الزراعة . جامعة بغداد .
- 10- Abd EL-Gawad,A.M.,M.H. Hendawey and H.I.A. Farag.(2009). Intraction between biofertilization and Canola genotypes in relation to some biochemical constituent under Siwy Oasis condition . Res.J.Of Agric .and Biol .Sci.5(1) :82-96.
- 11- Agrios, G.N. 2005. Plant Pathology. 5th Ed. Elsevier Inc. USA.998 pp.
- 12- AL-Azawy ,A.Q.W.(2010).Efficiency of interaction between *Azotobacter* sp and arbuscular mycorrhizal fungi for their potential to slimulatw tomato (*Lycopersicon escolentum* Milk .)plant resistance to root rot disease. Diss College of Science –Baghdad Univ.112 pp.

- 13- Anam, M.K.; Fakir, G.A.; Khalequzzaman, K.M.; Hoque, M.M. and Rahim, A. 2002. Effect of seed treatment on the incidence of seed-borne diseases of Okra. Pakistan Journal of Plant Pathology. Vol.1(1):1-3.
- 14- Aegerter , B.J., Gordon , T.R., and Davis , R.M. (2000). Occurrence and pathogenicity of fungi associated with melon root rot and vine decline in California . Plant Dis. 84 : 224-230.
- 15- Bolkan, H. H. and E. E. Butler .1974. Studies on Heterokaryosis virulence of *Rhizoctonia solani* . Phytopathology . 64: 513-522.
- 16- Bonazzi, A. 1920. Study on *Azotobacter chroococcum* BEIJ. Ohu Agric. Exper. Station, Wooster, Ohio. 39pp.
- 17- Barnett , H . L . and Hunter , B. B . (1972) . Illustrated Genera of Imperfect Fungi . 3 rd . edition .Burgess Publishing Company . Minneapolis , Minnesota.
- 18- Brenner, D.J., N.R.Krieg and J.T. Staley. (2009). Bergey's manual of systematic bacteriology.Second Edition.Volume two.Part B.1106pp.
- 19- Carling , D. F.; D. J. Hetan and R. H. Leiner . 1990 . In vitro sensitivity of *Rhizoctonia solani* and other multinucleate and binucleated *Rhizoctonia* in selected fungicide. Plant Dis. 74: 860 – 863.
- 20- Chet, I. ; A. Ordentlich ; R. Shapira and A. Oppenheim. 1990. Mechanism of biocontrol of soilborne plant pathogen by rhizobacteria . Plant and Soil 129 : 85 - 92.
- 21- Collee, J.G. and P.S. Miles .1989. Tests for identification of bacteria.In: Practical medical microbiology, Eds. NY,USA.141-160 pp.
- 22- De la vega, L.M. ; J.E. Barboza-corona; M.G. Aguilar- uscanga and M. Ramirez-lepe .2006 . Purification and characterization of an exochitinase from *Bacillus thuringiensis* sub sp. aizawai and its action against phytopathogenic fungi . Canadian Journal of Microbiology. vol. 52(7) : 651-657.
- 23- Dewan, M.M.1989. Identify and frequency of occurrence of fungi in root of Wheat and ryegrass and their effect on take – all and hostgrowth Ph.D. thesis. Univ. west australia.210 pp.
- 24- de Boer, M.; I. Sluis Van der; L.C. Loon Van; and P.A.H.M. Bakker. 1999. Combining *Pseudomonas* fluorescent. Strains to enhance suppression of *Fusarium* wilt of radish. Eur. Plant pathology. 105: 201-210.
- 25- Domenech, J.; M.S. Reddy; J.W. Klopper; B. Ramos; and J. Gutierrez-Manero. 2006. Combined application of the biological product LS213 with *Bacillus*, *Pseudomonas* or *Chryseobacterium* for growth promotion and

biological control of soil-borne disease in pepper and tomato. *Biocontrol*. 51:245-258.

- 26- EL- Komy, M. H. A. 2001. Biocontrol of soil- borne fungi and increasing production using growth promoting Rhizobacteria. Master Thesis. Faculty of Agriculture- Alexandri Univ.
- 27- FAO , (2003). Food and Agriculture Organization of the United Nations Book. Rome Italy . Vol. 57 .
- 28- Fakir, G.A. 2000. An annotated list of seed borne diseases in Bangladesh. Seed Pathology Laboratory. Dept. Pl. Pathol. Bangladesh Agriculture University. Mymensingh, Bangladesh
- 29- Glick, B. R. and Y. Bashan .1997. Genetic manipulation of plant growth-promoting bacteria to enhance biocontrol of Phytopathogens. *Biotechnol. Advances*. 15:353-378.
- 30- Gomaa, E.Z. 2012. Chitinase production by *Bacillus thuringiensis* and *Bacillus licheniformis*: Their potential in antifungal biocontrol. *Journal of Microbiology*. vol. 50(1): 103-111.
- 31- Gray, E.J.; K.D. Lee ; A.M. Souleimanov ; M.R. Di-Falco ; X. Zhou ; A. Ly ; T.C. Charles ; B.T. Driscoll and D.L. Smith .2006. A novel bacteriocin, thuricin 17, produced by plant growth promoting rhizobacteria strain *Bacillus thuringiensis* NEB17: isolation and classification. *Journal of Applied Microbiology* . 545-554.
- 32- Hillel, D. 2005. *Plant Growth Promoting Bacteria*. Elsevier, Oxford, U. K.,:103-115
- 33- Jadhav ,p ;I. V.Gangavane. (2012). Interaction between *Azotobacter chroococcum* and Rhizospher micro flora of tomato . *Life science bulletin* ,vol .9 (1)2012 :133- 134
- 34- Juarez, B, M. V. Martinez- Toledo and J. Gonzalez- Lopez. 2005. Growth of *Azotobacter chroococcum* in chemically defined media containing p-hydroxybenzoic acid and protocatechuic acid. *Chemosphere* 59:1361-1365.
- 35- Kamenek, L.K. ; D.V. Kamenek ; M.A. Terpilowski and V.V. Gouli. 2012. Antifungal action of *Bacillus thuringiensis* delta-endotoxin against pathogenic fungi related to *Phytophthora* and *Fusarium*. *Journal of Agricultural Technology* . vol. 8(1): 191-203.
- 36- Knaak , N.; A. A. Rohr and L. M. Fiuza . 2007 . In vitro effect of *Bacillus thuringiensis* strain and cry proteins in phytopathogenic fungi of paddy rice-field . *Brazilian Journal of Microbiology* . 38:526-530.

- 37- Larkin, R. P. 2004. Development of integrated biological and cultural approaches for control of powdery scab and other borne disease. USDA, ARS, New England Plant , Soil, and water lab University of Maine.
- 38- Leslie, J.F. and B.A. Summerell .(2006). The Fusarium Laboratory Manual, First edition. Blackwell Publishing Professional.USA.388 pp.
- 39- Lacey, L.A. 1997. Manual of techniques in Insect pathology. Academic Press, NY, USA.409 pp.
- 40- Martyn , R.D. (1987). Fusarium oxysporum F. sp. niveum race 2 : A highly aggressive race to the United States. Plant Dis. 71 : 233-236.
- 41- 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.
- 42- Montealegre, J. R. ; R. Rodrigo ; P.M. Luz ; H. Rodrigo ; S. Polyana and B. Ximena.2003. Selection of bioantagonstic bacteria to be used in biological control of Rhizoctonia solani in tomato.J Biotec.6:115- 127.
- 43- Mrkovacki, N. and V. Milic. 2001. Use of Azotobacter chroococcum as potentially useful in agricultural application. Annals of Microbiol.51: 145-158. -Mali, G. V. and M. G. Bodhankar. 2009. Antifungal and phytohormone production potential of Azotobacter chroococcum isolates from groundnut (Arachis hypogea L.). Asian J. Exp. Sci. 23: 293-297.
- 44- Muthuselvan ,I,and R.Balagurunathan .(2013). Siderophore production from Azotobacter sp . and its application as biocontrol agent . Int j cur res rev ,vol 05 (11).23 -35 .
- 45- Murcia, R. B., V. Salmeron Rodelas, M. V. T. Martinez and J. L. Gonzalez. 1997. Effect of the herbicide simazine on vitamin production by Azotobacter chroococcum and Azotobacter vinelandii. App. Soil Ecol. 6:187-193.
- 46- Neilands, J. B. 1993. Prespectives in biochemistry & biophysics siderophores. Archives of Biochem. Biophys. 302:1-3.
- 47- Neilands, J. B. 1994. Identification & isolation of mutants defective in iron acquisition. Methods in Enzymology. 235:356-365.
- 48- Page, W. J. 1986. Sodium- dependent growth of Azotobacter chroococcum. App. Environ. Microbiol. 51: 510-514.
- 49- Pivonia , S., Cohen , R., Kafkafi , U., Benze'ev , I.S., and Katan , J. (1997). Sudden wilt of melons in southern Israel : Fungal agents and relationship with plant development. Plant Dis. 81 : 1264-1268.

- 50- Reyes- Ramírez, A. ; B. I. E. Abarca ; G. A. Uscanga ; P. M. H. Jones and J. E. B. Corona . 2004 . Antifungal activity of *Bacillus thuringiensis* chitinase and its potential for the biocontrol of phytopathogenic fungi in soybean seeds . Journal of food science . Vol. 69 . Published on Web www.ift.org.
- 51- Revillas, J. J., B. Rodelas, C. Pozo, M. V. Martinez- Toledo and J. Gonzalez- Lopez. 2000. Production of B- group vitamins by two *Azotobacter* Strains with phenolic compounds as sole carbon source under diazotrophic and adiazotrophic conditions. J. of App. Microbiol. 89:486-493.
- 52- Sadfi, N. ; M. Cherif ; I. Fliss ; A. Boudabbous and H. Antoun .2001. Evaluation of bacterial isolates from salty soils and *Bacillus thuringiensis* strains for the biocontrol of *Fusarium* dry rot of potato tubers . Journal of plant pathology. 83(2): 101- 118 .
- 53- Sheikh, L.I. ; S. Dawar ; M.J. Zaki ; and A. Ghaffar. 2006. Efficacy of *Bacillus thuringiensis* and *Rhizobium meliloti* with nursery fertilizers in the control of root infecting fungi on mung bean and okra plants . Journal of Botany.38(2):465-473.
- 54- 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.
- 55- Singh, T. 1977. Studies on interaction between *Azotobacter chroococcum* and some plant pathogens. IAP, Ph. D. Thesis . Cited from Can. J. Microb. , New Delhi).
- 56- Shankarappa, T. H. and A. R. Madhav Rao .(2007) .Characterization and Identification of *Azotobacter* strains Isolated. from Mulberryrhizosphere soil. In : Handbook of Biofertilizers and Biopesticides. Deshmukh ,A.M,R.M. Khobragade,P.P. Dixit.Oxford Book Company.Jaipur, India. 140-146pp.
- 57- Thilagavathi, R.; D. Saravanakumer; N. Ragupathi; and R. Samiyappan. 2007. A combination of biocontrol agents improves the management of dry root rot (*Macrophomina phaseolina*) in greengram. Phytopathology Mediterraneana. 46 (2). 157-167.
- 58- Torres-Rubio, M. G., S. A. Valencia-Plata, J. Bernal-Castillo and P. Martinaz-Nieto. 2007. Isolation of entrobacteria, *Azotobacter* sp. and *Pseudomonas* sp, producers of indole -3-Acetic Acid and siderophores, from Colombian rice rhizosphere. Revista Latinoamericana de Microbiol. 42:171-176.
- 59- Tran, L.B. ; V. Vachon ; J.L. Schwartz and A. Laprade .2001. Differential effects of pH on the pore-forming properties of *Bacillus thuringiensis*

insecticidal crystal toxins . Appl. and Environment . Microbiol . 67(10):4488-4494.

- 60- Usharani, T.R. and T.K. Gowda .2011. Cloning of chitinase gene from *Bacillus thuringiensis* . Ind. J. Biotechnology 10:264-269.
- 61- Vaddar, U. B. 2007. Studies on grape rhizosphere microorganisms. Master Thesis. Univ. of Agric. Sci. Dharwad. 91 pp.
- 62 - Verma, J. P., J. Yadav, K. N. Tiwari, Lavakush and V. singh. 2010 a. Impact of plant growth promoting rhizobacteria on crop production. Int. J. of Agric. Res. 5: 954-983.
- 63- Wyllie , T.D. (1962). Effect of metabolic by products of *Rhizoctonia solani* on the roots of Chickpea and soybean seedlings . Phytopathology . 52 : 202-206.
- 64- Zarrin, F., M. Saleemi, M. Zia , T . Sultan, M. Aslam, R. Rehman and M.F. Chandhary . 2009 . Antifungal activity of plant growth promoting Rhizobacteria isolates against *Rhizoctonia solani* in wheat. Africa J.of Biotechnol. 8(2) : 219-225.
- 65- Zhou, X.G. and Everts, K.L. 2004 . Suppression of fusarium wilt of watermelon by soil amendment with hairy vetch . Plant Dis. 88 : 1357-1365 .