Egyptian Journal of Biological Pest Control, 18(1), 2008, 257-263
Proceeding of 2nd Arab Conference of Applied Biological Pest Control, Cairo, Egypt, 7-10 April 2008

إختبار بكتيريا للتضاد من ريزوسفير نبات القمح للمكافحة البيولوجية لمرض التبقع العيني الحاد على القمح *Rhizoctonia cerealis*

أنس كاخيا*، ** & المنتصر بالله الحاج كوكو*، ** & وانغ تشي*

* قسم أمراض النبات، جامعة الصين الزراعية، بكين، الصين
** الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية ،سوريا، akasamalil@gmail.com

الملخص العربى

تم عزل ٢٥٧ عزلة بكتيرية من ريزوسفير نبات القمح وخضعت العزلات لاختبار التضاد مع الفطر الممرض ***Rhizoctoni cerealis*** في أطباق بتري حاوية على بيئة بطاطا ديكستروز (البطاطس). تباينت نسب تثبيط الممرض بين ٣٠- ٩٥ %. وعلى أساس نسبة التثبيط تم اختيار ست عزلات بكتيرية لإجراء التجربة على نباتات قمح مزروعة في تربة ملوثة اصطناعيا بالممرض وبنسبة ١ و ٣ و ٦ % من اللقاح المعدي تحت ظروف البيت الزجاجي ودراسة تأثيرها على مكافحة الممرض من خلال دراسة عوامل نمو نباتات القمح. أوضحت البيانات أن مستويات المكافحة كانت متفاوتة ما بين العزلات .حيث تفوقت ست عزلات بكتيرية على الشاهد المريض .فيما أظهرت العزلة رقم C003 أكبر نسبة في تخفيف شدة المرض وفي تحفيز نمو النبات عند نسبة الممرض ١% .جاء بعدها العزلات C130 و C015 و C036 و C112. أثبتت اختبارات تعريف العزلات انها جميعا تتبع النوع ***Bacillus subtilis*** أما العزلة C240 فتتبع النوع ***Pantoea agglomerans***. ولقد وجد أن العزلات C003 و C130 و C036 تفوقت على الشاهد المصاب عند نسبة الممرض ٣ و ٦%.

كلمات مفتاحية: تضاد، عزل بكتيريا، *Rhizoctonia cerelalis, Bacillus subtilis, Pantoea agglomerans*.

المقـــــدمة

يعد *Rhizoctonia cerealis* من فطريات التربة التي تنتشر بشكل واسع في المناطق الحارة لزراعة النجيليات (Wiese, 1987) حيث أنه سجل لأول مرة في جنوب أمريكا عام ١٩٣٤ (Blair, 1942)، النجيليات في مختلف أطوار النمو مسبباً مرض التبقع العيني الحاد، تؤدي الاصابة المبكرة لأضرار كبيرة للبادرات (Caveleir *et al.*, 1985). ففي السنوات الأخيرة سببت خسائر اقتصادية كبيرة في العالم. وقد سجل المرض لأول مرة في مصر عام ١٩٩٨ (Hammouda, 2003). يمكن للمكافحة الكيميائية أن تخفف شدة الإصابة بالفطر *R.cerealis* (Davies, 1983, Barnes *et al.*,1983 & Kataria *et al.*, 1991). إلا أن التأثيرات الضارة الناجمة عن استخدام هذه المبيدات على البيئة تجعل من الضروري البحث عن بدائل أخرى للمكافحة أكثر أمانا . لقد أثبتت العديد من بكتيريا الريزوسفير قدرتها على مكافحة فطريات التربة (Thomshaw, 1996) ، ويمثل الريزوسفير الطبقة الرقيقة من التربة التي تحيط بالجذور والتي يعيش وينشط فيها مجموعات كبيرة من البكتيريا (Villacieros *et al.*, 2003) المعروفة باسم البكتيريا المحفزة لنمو النبات (PGPR) (Kloepper *et al.*, 1980)، تتميز هذه البكتيريا بسرعة استعمارها للريزوسفير وقدرتها على تثبيط الكائنات الحية الدقيقة الضارة، إضافة لممرضات التربة على سطح الجذور (Lynch *et al.*, 2003). وهي أيضا نافعة للنبات من خلال تحفيزها على النمو(Lugtenberg, 2001). وتعتبر الأبحاث المنشورة لدراسة فعالية الكائنات الحية الدقيقة على مكافحة *R.cerealis* قليلة نسبيا (Lynch *et al.*,1987, Innocenti ,1989).

يهدف البحث عزل بكتيريا من ريزوسفير نباتات القمح لمكافحة فطر *R.cerealis* وذلك تحت ظروف البيت الزجاجي وبنسب متفاوتة من تركيز اللقاح الممرض.

المواد والطرائق

جمع العينات:

أخذت تسع عينات من جذور نباتات القمح مع التربة المحيطة بها ، وبمعدل ١٠ نباتات لكل عينة من حقل جامعة الصين الزراعية في كانون الأول عام ٢٠٠٦، وضعت العينات في أكياس بلاستيكية معقمة، ثم نقلت الى مختبر المكافحة الحيوية في جامعة الصين الزراعية، بكين، لعزل البكتيريا.

عزل البكتيريا

هزت نباتات كل عينة بشدة للتخلص من التربة الزائدة العالقة في الجذور، ثم وزن جرام واحد جذور مع التربة الملتصقة بشدة بها ووضعت في أنابيب اختبار تحوي ١٠ مل من محلول الفوسفات المنظم (PBS) (8 g/l NaCl, 0.2 g/l KCl, 1.43 g/l Na2HPO4, 0.24 g/l KH2PO4) ورجت الأنابيب جيدا مدة خمس دقائق في رجاج كهربائي، ثم خفف المعلق خمس تخفيفات، حيث تم أخذ

٢٠٠ ميكروليتر من كل من التخفيفات الثالثة والرابعة والخامسة ونشرت على سطح بيئة الاغار المغذي NA ضمن أطباق بتري .بمعدل ٣ مكررات لكل تخفيف. حضنت العينات على درجة حرارة ٢٥° م، وبعد مرور ٤٨ ساعة انتخبت المستعمرات البكتيرية حسب شكلها المورفولوجي المختلف وأعيد زراعتها في أطباق بتري حاوية على بيئة الاغار المغذي لتنقيتها .حيث تم الحصول على ٢٥٧ عزلة بكتيرية حفظت تحت البارفين في بيئة الاغار المغذي على حرارة – ٢٠° م.

اختبار التضاد في المختبر:

أجري اختبار التضاد على أطباق بتري (قطر ٩٠ مم)تحوي بيئة ديكستروز البطاطا (البطاطس) PDA. حيث زرع في مركز الطبق قرص بقطر ٥ مم يحمل نمو الفطر ***R. cerealis*** مأخوذة من مخبر أمراض النبات في جامعة الصين الزراعية .وزرعت العزلات البكتيرية بشكل متصالب وعلى بعد ١٥ مم من حواف الطبق وبثلاث مكررات عدا الشاهد حيث ترك بدون بكتيريا وحضنت على حرارة ٢٥° م في الظلام .وبعد ٥ أيام أخذت القراءات.

نسبة التثبيط = (نمو الفطر في الشاهد السليم – نمو الفطر في المعاملة / نمو الفطر في الشاهد) x ١٠٠

في البيت الزجاجي:

تم تحضير اللقاح الفطري بتقطيع ٥ أقراص تحمل نمو الفطر ***R.cerealis*** (قطر٥ ملم) من حواف المستعمرة وإضافتها في دورق (٥٠٠ مل) حاوية على ٢٠٠ غ من نخالة القمح المعقمة لثلاث مرات متتالية وبفاصل ١٢ ساعة بعد تعديل رطوبتها الى ٦٠%، عدا دوارق الشاهد فقد تركت بدون إضافة الفطر. حضنت الدوارق على حرارة ٢٥م° مدة ٣ أسابيع .ثم جففت النخالة المستعمرة من قبل الفطر هوائيا في ظروف معقمة وهرست بهاون معقم وحفظت على حرارة ٤°م لحين الاستخدام .

قبل الزراعة تم وضع حبوب القمح المنتقاة بشكل جيد (وهي جينغ دون ١٣ من مخبر تربية النبات في جامعة الصين الزراعية) على حرارة ٢٨°م مدة ١٢ ساعة وذلك بعد تعقيمها سطحيا بمادة هيبوكلوريد الصوديوم ١ % مدة ٦ دقائق وغسلها بعناية ثلاث مرات بالماء المعقم.

تحضير المعلق البكتيري:

زرعت البكتيريا في أنابيب اختبار تحوي بيئة الآجار المغذي NA وحضنت على حرارة ٢٥°م لمدة ٣ أيام ثم عدل تركيز البكتريا بواسطة شريحة العد الى 10^8 CFU/ml وحدة تشكيل خلوية. تتقع حبوب القمح ضمن محلول المعلق البكتيري ذي التركيز 10^8 CFU/ml مدة ثلاث ساعات قبل الزراعة وتتقع حبوب الشاهد في ماء معقم. تمت الزراعة في أصص بلاستيكية بقطر ٩×٩ سم تحوي على ٢٠٠ جرام من المادة الزراعية (تربة وفيرموكيولايت وبيتموس بنسبة ١:١:٣ حجم/حجم/حجم) المعقمة على حرارة ١٢٠°م مدة ساعة وليومين متتالين وبعد تبريدها خلطت مع اللقاح المعدي للفطر ***R.cerealis*** بنسبة ١ و٣ و ٦% وزن/ وزن عدا الشاهد السليم فقد خلط فقط مع النخالة غير المعدية. زرعت ١٠ حبوب قمح في كل أصيص وبواقع ٨ أصص موضوعة ضمن طبق بلاستيكي لكل مكرر وأربع مكررات لكل عينة عزلة بكتيرية إضافة للشاهد المصاب والشاهد السليم. وبعد يومين من الإنبات اقتلعت ٣ نباتات وتم الاحتفاظ بسبع نباتات في كل أصيص. وزعت المكررات بشكل عشوائي في البيت الزجاجي وعلى حرارة ٢٥°م نهارا و ١٥°م ليلا ورطوبة ٧٠–٨٠ % وإضاءة ١٢ ساعة يوميا والري مرتين أسبوعيا . بعد ثلاثة أسابيع من الزراعة تم غسل الجذور بعناية وأخذت القراءات المختلفة.

مقدرة العزلات البكتيرية على استعمار ريزوسفير جذور القمح

تم حساب مقدرة العزلات البكتيرية على استعمار الجذور والاستمرار في محيطها. باستخدام طريقة (Idris *et al.*, 2007) اقتلعت الجذور برفق منعا لتقطعها ثم هزت بشدة للتخلص من التربة الزائدة، وضع ١ غ من الجذور مع التربة الملتصقة بها في ٩ ملم من محلول Phosphate Buffer (PBS) ورجت ٥ دقائق ثم خفف المعلق خمس تخفيفات، حيث أخذ ٢٠٠ ميكروليتر من كل من التخفيفات الثالثة والرابعة والخامسة ونشرت على سطح بيئة الاغار المغذي NA ضمن أطباق بتري .بمعدل ٣ مكررات لكل تخفيف وأربع أطباق لكل مكرر مع الشاهد. حضنت العينات على درجة حرارة ٢٥م° مدة ٢٤ ساعة ثم تم عد المستعمرات البكتيرية وتم احتسابها على اساس وحدة تكاثرية بكتيرية CFU في ١غ جذور.

تعريف البكتيريا

تم تعريف البكتريا عن طريق تحديد التسلسل النووي للـمورثة 16S rDNA حيث تم استخلاص DNA للعزلات البكتيرية ومن ثم نسخ المورثة حسب طريقة Sambrook *et. al.*, (2000) وأرسلت نتائج النسخ لشركة بكين لونغ بو لتعريف البكتيريا.

التحليل الإحصائى:

خضعت النتائج لتحليل التباين ANOVA ومقارنة المتوسطات باستخدام أقل فرق معنوي L.S.D عند درجة معنوية ٠,٠٥ (SAS Institute, 2003).

النتائج والمناقشة

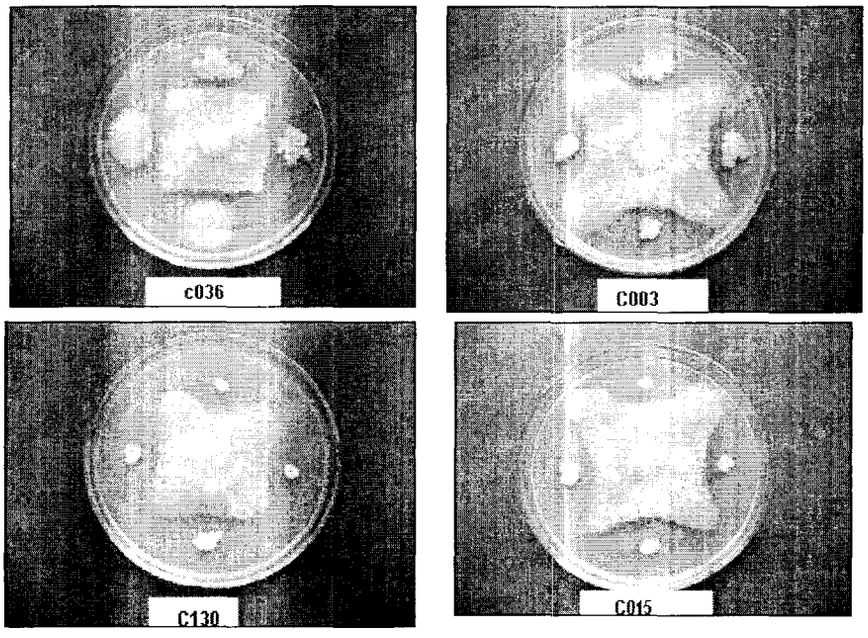
يتضح من بيانات الجدول (١) انه من بين إجمالي ٢٥٧ عزلة بكتيرية أظهرت ١٤ عزلة نتائج تثبيط تتراوح بين ٣٠-٩٥%. ومن خلال مقارنة نسب التثبيط نجد أن العزلات C130 و C015و C036 و C003 و C112 و C240 قد حققت أعلى نسب تثبيط وكان C130 أفضلها كما في الصورة (١).

تجربة البيت الزجاجي:

تحت ظروف البيت الزجاجي أثبتت ٦ عزلات تفوقها على الشاهد المريض من حيث طول النبات ووزن الاوراق ووزن الجذور الرطبة وذلك عند نسبة اللقاح المعدي ١ % كما في الجدول (٢). كانت العزلات C003 و036 وC130 أكثر فعالية في تحسين نمو البادرات و في القدرة على الاستمرارية في محيط الجذور. أما عند زيادة نسبة اللقاح المعدي للمرض الى ٣ و ٦ % فان ٣ عزلات فقط وهي C003 و C036 و C130 تفوقت على الشاهد المريض كما في الجدول (٣).

الجدول رقم (١): نسبة تثبيط العزلات البكتيرية لميسيليوم الفطر ***R.cerealis*** على بيئة بطاطا ديكستروز (البطاطس).

رمز العزلة البكتيرية	نسبة التثبيط %	رمز العزلة البكتيرية	نسبة التثبيط%
C001	45.7	C043	26.5
C002	31.7	C067	49.9
C003	17.9	C068	69.1
C007	37.3	C093	26.9
C130	95.4	C098	13.6
C112	78.2	C102	75.5
C015	87.6	C119	50.5
C033	33.2	C139	54.7
C036	93.8	C240	83.6
C003	84.1		



الصورة رقم (١): تثبيط العزلات البكتيرية لميسيليوم الممرض ***R.cerealis*** على بيئة بطاطا ديكستروز

الجدول رقم (٢): تأثير العزلات البكتيرية على نمو بادرات القمح النامية في وسط ملوث بلقاح الفطر *R. cerealis* بنسبة ١% من ودراسة مدى استدامتها على الجذور.

المعاملة	طول النبات سم	وزن الجذور الرطبة جم/نبات	وزن الجذور الرطبة جم/نبات	Cfu / g root
C130	ab* 39.725	cd 0.849	bcd 0.138	$35.66x10^7$ ab
C015	cb 38.298	cb 0.905	bcd 0.143	$19.83 x10^7$ c
C036	a 41.486	ab 0.937	ab 0.167	$33.35 x10^7$ b
C003	a 41.754	ab 0.953	a 0.192	a $42.66 x 10^7$
C112	cb 38.578	cd 0.855	ed 0.108	لم يدرس
C240	c 37.124	de 0.788	ecd 0.123	$22.52 x 10^7$ c
الشاهد المريض	d 33.966	e 0.767	e 0.099	$23.75 x 10^7$ c
الشاهد السليم	41.053 a	a 0.984	bc 0.151	لم يدرس

*الأرقام التي لها نفس الحرف في العمود الواحد لا يوجد بينها فرق معنوي عند المستوى ٥%

الجدول رقم (٣): تأثير العزلات البكتيرية على نمو بادرات القمح النامية في وسط ملوث بلقاح الفطر ***R. cerealis*** بنسبة ٣ و٦%.

المعاملة	نسبة اللقاح 3 %		نسبة اللقاح 6 %	
	طول النبات سم	وزن الاوراق الرطبة غ/ نبات	طول النبات سم	وزن الاوراق الرطبة جم/ نبات
C130	35.363a*	0.673a	35.625a	0.473a
C015	32.873b	0.448b	26.981b	0.411b
C036	36.625a	0.689a	32.5a	0.491a
C003	37.325a	0.728a	35.711a	0.487a
C112	30.786b	0.473b	30.654b	0.433b
C240	30.541b	0.436b	25.541b	0.419 b
الشاهد المريض	31.125b	0.5.1b	28.325b	0.435b

*الأرقام التي لها نفس الحرف في العمود الواحد لا يوجد بينها فرق معنوي عند المستوى ٥%.

الجدول رقم (٤): نتائج الاختبارات البيوكيميائية للعزلات البكتيرية المختبرة الأكثر فاعلية.

Bacterial Isolates	Gram reaction	Endospore[a]	Catalase test	Cytochrome oxidase	Motility[b]
C130	+	+	+	+	–
C015	+	+	+	+	–
C036	+	+	+	+	–
C003	+	+	+	+	–
C112	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd
C240	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd

a +, endospore present; –, endospore absent.

b +, motile; –, non motile; Nd, not done.

تعريف البكتريا:

بناء على نتائج تحديد التسلسل النووي ومقارنتها بـ BLAST فان C003 وC036 وC015 و C130 وC112 جميعها تنتمي للنوع ***Bacillus subtilis*** بنسبة تشابه ٩٩ و٩٨ و٩٧ و٩٩% أما C240 فهي تنتمي للنوع ***Pantoea agglomerans*** بنسبة تشابه ٩٨%، وللتأكد من نتائج التعريف أجريت بعض الاختبارات البيوكيميائية كما في الجدول(٤) والتي أثبتت صحتها.

تعد مكافحة الفطر *R.cerealis* – المسبب للتبقع العينى فى القمح – في المراحل المبكرة من الإصابة هامة جدا. وبالرغم من إمكانية إصابة النجيليات بالمرض في مراحل النمو المختلفة إلا أن الإصابة المبكرة تكون أكثر خطورة من الإصابة المتاخرة (Jones & Clifford 1983). بعض العزلات في اختبار التضاد ثبطت الممرض بدون حدوث تماس فيزيائي معها وهذا يرجح إفرازها لمواد مضادة لنمو الفطريات (مضادات حيوية) (Montealegre *et. al.*, 2003)، ولقد ذكر أيضا *Bacillus subtilis* تنتج مضادات فطرية مثل السبتيلين والباسيتريسين والباسيلين والباسيلوميسين التي تنتمي لعائلة الايتورين (Alippi and Mónaco, 1994). ومن جهة أخرى، لوحظ تغير لون الهيفا في حواف المستعمرة المقابلة للمستعمرة البكتيرية حيث أظهرت لوناً أغمق من لون الهيفا في المركز وهذا يرجح ،أن التثبيط لم يحصل فقط بفعل التضاد الحيوي وإنما أيضا بفعل بعض المضادات الفطرية مثل السيدروفور وأيونات الهيدروجين وبعض المشتقات الغازية مثل الايثيلين وسيانيد الهيدروجين والامونيا (Williams and Asher, 1996, Kumar *et al.*,2002 and Saravanan *et al.*, 2004) وبأن ميكانيكية المقاومة لم تنتج عن آلية واحدة وإنما نجمت على الأغلب من تراكب عدة آليات مع بعض (Alabouvette *et al.*, 1993) .و لوحظ خلال الفحص ألمجهري ظهور تشوهات في هيفا الفطر المأخوذة من حواف المستعمرة كالانتفاخات في نهاية خيط الميسيليوم (صورة ٣) وهي مشابهة للنتائج التي توصل إليها (Alippi and Monaco ,1994) عندما عامل الفطر *R. solani* بالميكروب *B. subtilis* المنتجة للمواد الاستقلابية الطيارة ذات الخصائص المضادة للفطريات.

لقد تم استخدام الميكروب *Pantoea agglomerans* في المكافحة الحيوية للعديد من الممرضات الفطرية (Yan *et. al.*, 2003 and Tanii *et al.*, 1990)، وقد وجد Barnett *et al.*, (2006) بأن الميكروب *P. agglomerans* له فعالية في مكافحة عفن جذورالقمح المتسببة عن *R. solani*. ولقد أثبتت نتائج هذه الدراسة أنها ايضا فعالة فى مكافحة مرض التبقع العيني الحاد فى القمح الذي يسببه الفطر *R. cerealis* وان كانت أقل فعالية من *B. subtilis* وذلك تحت ظروف البيت الزجاجي.

وجد كل من Ferreira *et al.*, (1991) و Zaspel (1992) و Grosh & Grote (1998) أن *B. subtilis* له فعالية في مكافحة العديد من الممرضات الفطرية ومن بينها عفن جذور القمح الذى يسببه *R. solani*. وكذلك وجد Innocenti *et. al.* (2003) أنها فعالة في مكافحة مرض التبقع العيني الحاد *R.cerealis* وهي متطابقة مع النتائج التي حصلنا عليها خلال هذا البحث. ويلاحظ من نتائج هذا البحث أن البكتيريا التي استطاعت ان تحافظ بثبات على تعدادها ضمن محيط الجذور استطاعت مكافحة المرض عند كثافات عالية للمرض ٣ و ٦ % وهذا يرجح أن التنافس على المكان والغذاء له دور في تثبيط الممرض. إضافة للدور الذي تلعبه كمحفز لنمو النبات وللمقاومة الذاتية (Compant *et al.*, 2005). ولاستخدام هذه العزلات كعناصر مكافحة حيوية يجب إجراء اختبارات عليها تحت الظروف الحقلية ودراسة مدى قدرتها على الاستمرار في ويزوسفير الجذور تحت الظروف الطبيعية.

المراجع

Alabouvette, C. Lemanceau P.and Steinberg, C. 1993. Recent advances in the biological control of *Fusarium* wilts, Pest. Sci. 37, pp. 365–373.

Alippi, A. and M onaco, C. 1994. Antagonismo in vitro de especies de *Bacillus* contra *Sclerotium rolfsii* y *Fusarium solani*. Revista de la Facultad de Agronomía, La Plata, vol. 70, p. 91-95.

Barnes, G., Blanquat, A. and Harris, R. G. 1983. Control of eyespot with co-formulations of prochloraz and carbendazim. Medelingen van de Faculteit Landbouwwetenschappen Rijskuniversiteit Gent 3: 559–564.

Barnett, SJ; Roget, DK; Ryder, MH 2006., Suppression of *Rhizoctonia solani* AG-8 induced disease on wheat by the interaction between *Pantoea*, *Exiguobacterium*, and *Microbacteria*. (Special issue: Soil biology in Australian farming systems.) Australian Journal of Soil Research. CSIRO Publishing, Collingwood, Australia: 44: 4, 331-342

Blair J D. 1942., Studies on the growth in soil and the parasitic action of certain *Rhizoctonia solani* isolates from wheat. Can J Res, 20:174-185.

Bloemberg, G. V. and Lugtenberg, B. J. J. 2001. Molecular basis of plant growth promotion and biocontrol by rhizobacteria, Curr. Opin. Plant Biol.4 (2001), pp. 343–350.

Cavelier, N., Lucas, P. and Boulch, G. 1985. Evolution du complexe parasitaire constitue` par *Rhizoctonia cerealis* Van Der Hoeven et *Pseudocercosporella herpotrichoides* (Fron). Deighton, champignons parasites de la base des tiges de cereales. Agronomie 8: 693–700.

Compant, S.B. Duffy, J. Nowak, Climent C. and Barka, E.A. (2005)Use of plant growth promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: principles,mechanisms of action, and future prospects, *Appl. Environ. Microbiol.* **71**, pp. 4951–4959.

Davies, W. P. and Price, K. R. 1983. Sensitivity of sharp eyespot of wheat and *Rhizoctonia cerealis* to fungicides. Annals of Applied Biology 102: 54–55.

Ferreira, J. H. S., Matthee, F. N. and Thomas, A. C. 1991. Biological control of Eutypalata on grapevine by an antagonistic strain of *Bacillus subtilis.* Phytopathology 81: 283–287.

Grosch, R. & Grote, D. (1998) Unterdruckung von *Phytophthora nicotianae* durch Anwendung von *Bacillus subtilis* in geschlossener erdeloser Tomatenkultur. Gartenbauwissenschaft 63: 103–109

Hammouda, AM. (2003)First report of sharp eyespot of wheat in Egypt. *Plant Disease.* 87: 5, 598

Idris, A., Labuschagne, N. & Korsten, L. 2007 Screening rhizobacteria for biological control of *Fusarium* root and crown rot of sorghum in Ethiopia. Biological Control 40: 97-106.

Innocenti, G. 1989. Antagonismo in vitro di *Trichoderma* and *Gliocladium* spp. nei confronti di *Rhizoctonia cere*alis. Informatore Fitopatologico11: 4 –48.

Innocenti, G., Roberti, R., Montanari, M., and Zakrisson, E. 2003. Efficacy of microorganisms antagonistic to *Rhizoctonia cerealis* and their cell wall degrading enzymatic activities activities. Mycol Res 107:421–427

Jones, D. G. and Clifford, B. C. 1983. Cereal diseases: their pathology and control. John Wiley, Chichester.

Kataria, H. R., Hugelshofer, U. & Gisi, U. (1991) Sensitivity of *Rhizoctonia* species to different fungicides. Plant Pathology 2: 203–211.

Kloepper, J.W Leong, J. Teintze M.and Schroth, M.N. 1980. Enhanced plant growth by siderophores produced by plant growth promoting rhizobacteria, Nature 268:885–886.

Kumar, N.R. Thirumalai Arasu V. and Gunasekaran, P. (2002) Genotyping of antifungal compounds producing plant growth promoting rhizobacteria, *Pseudomonas fluorescense*, Curr. Sci. 82: 1463–1468.

Lynch, J. M., Ebben, M. H., Whipps, J. M., Claydon, N., Magan, N., *Rangajaran*, S. Saleena, L.M. Vasudevan P.and Nair, S. 2003. Biological suppression of rice diseases by *Pseudomonas* spp. under saline soil conditions, Plant Soil 251: 73–82.

Montealegre, J.R. Reyes, Perez, Herrera, R. Silva P. and Besoain, X. 2003. Selection of bio-antagonistic bacteria to L.M. be used in biological control of *Rhizoctonia solani* in tomato, Electron J. Biotechnol. 6:115–127.

Sambrook, J.,. E. F. Fritsch, T. Maniatis. 2000. Molecular Cloning: A Laboratory Manual (Third Edition).

Saravanan, T. Muthusami M. and Marimuthu, T. (2004) Effect of *Pseudomonas fluorescense* on *Fusarium* wilt pathogen in banana rhizosphere, J. Biol. Sci. 4: 192–198.

SAS Institute. 2003. 'SAS/STAT Guide for Personal Computers' SAS Institute, Cary, NC.

Tanii, A.; Takeuchi, T. and Horita, H. 1990. Biological control of scab, black scurf and soft rot of potato by seed tuber bacterization. Biological control of soil-borne plant pathogens.. CAB International, Wallingford, Oxon, UK: 143-164

Thomshaw, L.S. 1996. Biological control of plant pathogens, Curr. Opin. Biotech. 77: 343–347.

Villacieros, M. Power, B. Sanchez-Contreras, M. Loret, J. Oruzebal, R.I.. Martin, M Franandez-Pinas, F. Bouile, I. Whelan, C. Dowling D.N. and Rivilla, R. 2003. Colonization behaviour of *Pseudomonas fluorescens* and *Sinorhizobium mel*oti in the alfalfa (*Medicago sativa*) rhizosphere, Plant Soil 251: 47–54.

Wiese, M. V. 1987. Compendium of Wheat Diseases. American Phytopathological Society Press, St Paul, MN.

Williams G.E.and. Asher M.J.C. 1996. Selection of rhizobacteria for the control of *Pythium ultimum* and *Aphanomyces cochlioides* on sugar-beet seedlings, Crop Prot. 15, pp. 479–486.

Yan LiYing; Zhou LeCong; Tan YuJun; Shan ZhiHui; Chernin, LS; and Shen MingZhen. 2003. Bacterial strains isolated from the rhizosphere of Chinese cabbage and their antagonistic activity towards fungal phytopathogens., Chinese Journal of Oil Crop Sciences. 25: 2, 61-68

Zaspel, I. 1992. Studies on the influence of antagonistic rhizosphere bacteria on winter wheat attacked by *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici.* Bulletin-OILB-SROP 15: 142–144.

ABSTRACT

Screening Antagonistic Bacteria from the Rhizosphere for the Biological Control of Wheat Sharp Eyespot Caused by *Rhizoctonia cerealis*

Anas Kahia[*,]; Almontaser B. Alhaj Koko[*,**] and Qi Wang[*]**
[*]Department of Plant Pathology, China Agriculture University, Beijing 100094, China
[**]General Commission for Scientific Agricultural Research, Syria

ABSTRACT

Two hundred and fifty seven bacterial isolates were obtained from wheat rhizosphere and tested against *Rhizoctonia cerealis in vitro*. Of the 257 isolates tested, 14 displayed between 30 and 95% inhibition of *in vitro* mycelial growth of *R. cerealis*. Depending on the inhibition levels, six bacterial isolates were selected to be experimented on wheat plants grown in a soil artificially contaminated with the pathogen at 1, 3, and 6% (w/w) under greenhouse conditions. Their effect on suppression of the pathogen was studied by examining the factors associated with wheat plants growth. Suppression levels of the isolates varied significantly. All six bacterial isolates C003, C036, C015, C112, C130 and C240 showed significant differences compared to the infested control at pathogen inoculum level 1%, where only isolates C003, C036 and C130 showed significant difference compared to the infested control at pathogen inoculum level 3 and 6%. The isolates C003, C036, C015, C112 and C130 were identified as *Bacillus subtilis*, and C240 as *Pantoea agglomerans*.