

استحثاث المقاومة في نباتات الطماطة ضد فايروس موزايك الطماطة

Pseudomonas fluorescens بواسطة البكتريا *Tomato Mosaic Virus (ToMV)*

م.م. فرح عبد الستار عبد الجبار

كلية الزراعة / جامعة بغداد

تاريخ الاستلام: 2011/10/30

الخلاصة

اجريت هذه الدراسة لاختبار قابلية البكتريا *Pseudomonas fluorescens* على تحفيز مقاومة جهازية في نبات الطماطة ضد الاصابة بفايروس موزايك الطماطة (*Tomato mosaic virus (ToMV)*). عقت بذور الطماطة سطحيا بمحلول هايپوكلورات الصوديوم 1% كلور حر. غطست 20 بذرة في معلق البكتريا الحاوي على 5×10^9 وحدة تكوين مستعمرة/مل مدة 24 ساعة، وغطست 20 بذرة اخرى في الوسط الغذائي KB السائل مدة 24 ساعة و تركت بذور اخرى بدون تغطية لمعاملة الرش فيما بعد. زرعت البذور في اصص بلاستيكية 15×10 سم تحوي تربة مزيجية معقمة، بمعدل 2 بذرة/اصيص. وضعت الاصص في اقفاص خشبية مغلقة بقماش المللم لحمايتها من الحشرات في البيت الزجاجي. خفت البادرات بعد الانبات الى نبات واحد /اصيص واعدت النباتات بمستخلص الفايروس في مرحلة ورقتين اوليتين. جرت متابعة لتضاعف الفايروس في النباتات بواسطة الاختبار الحيوي على نبات الاختبار *Nicotiana glutinosa*. اظهرت النتائج ان معاملة بذور الطماطة بمعلق البكتريا 5×10^9 وحدة تكوين مستعمرة/مل ادت الى تثبيط تضاعف الفايروس بنسبة 90.30% اذ ظهرت بقعتين على نصف الورقة لنبات التبغ البري *Nicotiana glutinosa* المعدة بمستخلص اوراق من النباتات المعاملة بالبكتريا مقارنة بـ 26 بقعة على نصف الورقة الثاني الملقح بمستخلص نبات مصاب بفايروس موزايك الطماطة وغير معاملة بالبكتريا. وادى رش النباتات بمعلق البكتريا بالتركيز 5×10^8 وحدة تكوين مستعمرة/مل ثم العدوى بالفايروس في مرحلة ورقتين اوليتين الى تثبيط لتضاعف الفايروس 88.80%.

Induce resistance in tomato plants against *Tomato Mosaic Virus (ToMV)* by *Pseudomonas fluorescens*

Farah A. Abdul - Jabbar

Collage of Agriculture / University of Baghdad

Abstract

This study was conducted to evaluate the ability of *Pseudomonas fluorescens* to induce systemic resistance in tomato plants against *Tomato mosaic virus (ToMV)* infection. Tomato seeds were surface sterilized by sodium hypochlorite (1%). Twenty seeds were soaked in *Pseudomonas fluorescens* suspension at 5×10^9 CFU/ml for 24 hrs and 20 seeds were soaked in (KB) broth for 24 hrs. The treated seeds were sown in plastic pots with 15×10 cm dimension (sterilized with ethanol) containing steril mix soil (2 seeds / pot). Also non treated seeds were sown in the same soil for foliage spraying with bacterial suspension. The pots were maintained in muslin protected cages under green house condition. The plants were ToMV- inoculated at 2 primary leaves. The virus multiplication was followed by formation of local lesions on

Nicotiana glutinosa. Results showed that treated seeds with bacterial suspension at 5×10^9 CFU/ml inhibited ToMV multiplication by 90.30 % after 15 day of virus inoculation, 2 spots were appeared on half leaf *Nicotiana glutinosa* inoculated by extract from treated plants compared with 26 spots on the half leaf inoculated by extract from infected plants. Similar results were obtained when the plants foliage was sprayed by the bacterial suspension (88.8% inhibition) at 5×10^8 CFU/ml.

المقدمة

تعرض نباتات الطماطة للإصابة بالعديد من الفايروسات ويعد فايروس موزائيك الطماطة *Tomato Mosaic Virus (ToMV)* واحدا من بين أكثرها أهمية وأوسعها انتشارا. يمثل فايروس موزائيك الطماطة سلالة من فايروس موزائيك التبغ *Tobacco mosaic virus (TMV)* (18). يسبب هذا الفايروس أعراض موزائيك على الأوراق تتطور إلى تجعد والتفاف الأوراق الحديثة تتحول مع الوقت إلى ما يشبه الاشرطة (5).

يصيب فايروس موزائيك الطماطة ToMV مدى واسعا من العوائل النباتية تتجاوز 199 نوعا تعود لـ 30 عائلة نباتية (24). ينقل الفايروس من النباتات المصابة إلى السليمة بسهولة وبطريقة ميكانيكية أثناء تداول النباتات وعن طريق التلامس فيما بينها، وينقل بواسطة البذور.

أشير إلى أن النباتات تمتلك وسائل دفاعية مختلفة ضد مسببات المرضية وأن بعض هذه الوسائل قابلة للتعزيز كيميائيا أو أحيائيا، ومن الوسائل الأحيائية البكتريا التي تعيش على جذور النباتات وحولها *Rhizobacteria* حيث أن إفرازات جذور النباتات تكون وسطا ملائما لنموها وتكاثرها (14)، وأن بعض هذه البكتريا تحفز نمو النباتات لذلك أطلق عليها *Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR)* فضلا عن قابليتها على تحفيز مقاومة جهازية في النباتات ضد مسببات المرضية، وعليه فقد اتجهت البحوث الحديثة إلى استعمال هذه البكتريا في مكافحة الأحيائية للمسببات المرضية (17، 7).

وجد أن معاملة النباتات بالبكتريا (PGPR) أدت إلى زيادة نمو النباتات ومقاومتها للمسببات المرضية المختلفة (10، 8، 12).

ذكر (4، 23) أنه يمكن استحثاث المقاومة الجهازية ضد الإصابة بالفايروسات باستعمال البكتريا أو أحد نواتجها واستعمال المواد الكيميائية ولكن الأخيرة تعتبر مضرّة مقارنة مع البكتريا، وأكثر أنواع البكتريا شيوعا واستعمالا في هذا المجال هي *Pseudomonas spp* (26، 13، 28).

استعمل النوع *Pseudomonas fluorescens* في مقاومة الكثير من مسببات المرضية ومنها الفايروسات من خلال تحفيز المقاومة الجهازية في النبات (20، 22). درس (15) تأثير البكتريا *Pseudomonas fluorescens* على مقاومة نباتات التبغ لفايروس تنخر التبغ *Tobacco (TNV)* *necrosis virus*، واستعمل (1، 20) البكتريا *Pseudomonas fluorescens* ضد فايروس موزائيك الخيار *Cucumber Mosaic Virus (CMV)* وذلك بمعاملة البذور بها. ونظرا لصعوبة السيطرة على الأمراض التي تسببها الفايروسات ومنها فايروس موزائيك الطماطة ToMV، ولانتشار فايروس موزائيك الطماطة ToMV بشكل واسع في البيوت البلاستيكية، فقد هدفت هذه الدراسة إلى محاولة استحثاث مقاومة جهازية في نباتات الطماطة بواسطة البكتريا *Pseudomonas fluorescens* للحد من تضاعف الفايروس.

المواد وطرق العمل

تشخيص الفايروس

نباتات الاختبار

زرعت بذور النباتات الكاشفة في تربة مزيجية معقمة في اصص بلاستيكية ابعادها 15×10 سم في قفص حديدي محمي من الحشرات. فردت النباتات في مرحلة 3 اوراق وزرعت في اصص اخرى تحت ظروف البيت الزجاجي.

مصدر الفايروس

جمعت عينات من اوراق نباتات طماطة تظهر عليها اعراض موزائيك و تقزم وتشوة الاوراق من حقول كلية الزراعة ابو غريب . سحقت مجموعة من اوراق الطماطة المصابة في محلول دارئ فوسفاتي تركيزة 0.1 M و pH= 7 بنسبة 1:1 (وزن/حجم) بواسطة هاون خزفي معقم . رشح المستخلص من خلال قطعة من قماش الململ ،ومسحت بالراشح اوراق النباتات الكاشفة الاتية:

Nicotiana tabaccum cvs Xanthi, *Nicotiana tabaccum* cvs Turkish, *Nicotiana tabaccum* cvs Samsun, *Nicotiana glutinosa*, *Cucumis sativus*, *Solanum tuberosum*, *Lycopersicum esculentum* L.

بوجود الكاربورندم. حفظت النباتات الملقحة في البيت الزجاجي لحين ظهور الاعراض.

الاختبار المصلي Immunostrip Elisa

استعمل الاختبار المصلي ال Immunostrip Elisa لتشخيص عزلة فايروس موزائيك التبغ TMV ، والمجهز بشكل اشربة من قبل شركة Agdia . اخذ 2غم من اوراق نبات طماطة تظهر عليها اعراض الاوراق الشريطية وسحقت ب 3مل من محلول الاستخلاص المجهز من شركة Agdia. وضع الشريط داخل المستخلص وتم قراءة النتيجة بعد مرور 30 دقيقة. كررت نفس العملية مع مستخلص نبات طماطة سليم للمقارنة.

الحصول على عزلة نقية من الفايروس

تم عزل فايروس موزائيك الطماطة باخذ بقعة موضعية ميتة من نبات التبغ البري *Nicotiana glutinosa* الملقح بفايروس موزائيك الطماطة ToMV. سحقت البقعة بالهاون الخزفي المعقم بوجود 0.5 مل من محلول دارئ فوسفاتي (0.1M و pH= 7). اعديت بالمستخلص الاوراق القمية لنباتات التبغ *Nicotiana tabaccum* cvs Turkish في مرحلة 3 اوراق اولية وا لذي يستجيب للاصابة بالفايروس باعطاء اعراض جهازية (25).

تحضير لقاح البكتريا *Pseudomonas fluorescens*

تم الحصول على عزلة نقية من البكتريا *Pseudomonas fluorescens* من قسم وقاية النبات كلية الزراعة جامعة بغداد نميت العزلة في دوارق زجاجية سعة 100مل حاوية على الوسط السائل Kings media (KB) الذي يتكون من (20غم Peptone ، 6غم $MgSO_4$ ، 2.5غم K_2HPO_4 ، 15 مل Glycerol في لتر ماء مقطر والمعقم بالمؤصدة بدرجة حرارة 121س وضغط 1.5كغ/سم²) . حضنت الدوارق على درجة حرارة 25 ± 2س لمدة 24 ساعة (2). حضرت التخافيف 10^{-1} - 10^{-9} ولقح

بالتخافيف الوسط الزراعي KB الصلب المعقم، والذي تم تحضيره بإضافة 17 غم من الاكر الى لتر من الوسط السائل KB. وضع 1مل من كل تخفيف في طبق بتري وصب فوقه الوسط الزراعي KB قبل تصلبه. وضعت الاطباق بالحاضنة على درجة حرارة 25 ± 2 س ولمدة 48 ساعة وقدر عدد الخلايا المكونة للمستعمرات بضرب عدد المستعمرات في مقلوب التخفيف (6).

معاملة بذور الطماطة بالبكتريا

أخذت 80 بذرة طماطة وعقمت سطحيا بمحلول هايپوكلورات الصوديوم وبنسبة (1% كلور حر) لمدة 3 دقائق، ثم غسلت بالماء المقطر المعقم وجففت بورق نشاف معقم. أخذت 20 بذرة وضعت في دورق سعة 100مل حاوي على لقاح البكتريا *Pseudomonas fluorescens* بتركيز مقداره 5×10^9 وحدة تكوين مستعمرة بكتيرية/مل لمدة 24 ساعة، وأخذت 20 بذرة أخرى وضعت في وسط ال (KB) لسائل لمدة 24 ساعة، وتركت 40 بذرة أخرى لمعاملة الرش. زرعت البذور في اصص بلاستيكية معقمة أبعادها 15 × 10 حاوية على تربة مزيجية معقمة، وبمعدل 2 بذرة لكل اصيص. وضعت الاصص داخل قفص جذرانة من قماش المللم لحمايتها من الحشرات. خفت البادرات بعد الانبات الى نبتة واحدة لكل اصيص. صممت التجربة بأربعة معاملات وخمس مكررات واتباع التصميم العشوائي الكامل.

معاملة رش نباتات الطماطة

زرعت 40 بذرة معقمة في اصص بلاستيكية معقمة أبعادها 15 × 10 حاوية على تربة مزيجية معقمة، وبمعدل 2 بذرة لكل اصيص. وضعت الاصص داخل قفص جذرانه من قماش المللم لحمايتها من الحشرات. خفت البادرات بعد الانبات الى نبتة واحدة لكل اصيص. رشت النباتات بالبكتريا بتركيز 5×10^8 وحدة تكوين مستعمرة بكتيرية/مل، وبمقدار 100مل لكل نبات، وكان النبات في مرحلة 2 أوراق أولية. صممت تجربة بخمس مكررات وأربعة معاملات واتباع التصميم العشوائي الكامل.

المعاملات

بذور طماطة معاملة بالبكتريا فقط.

بذور طماطة معاملة بالبكتريا وعدوى نباتات الطماطة بالفايروس في مرحلة 2 أوراق أولية.

بذور طماطة معاملة بوسط KB السائل الخالي من البكتريا كمقارنة

بذور طماطة معاملة بوسط KB السائل الخالي من البكتريا وعدوى نباتات الطماطة بالفايروس في مرحلة 2 أوراق أولية كمقارنة.

رش أوراق نباتات الطماطة بالبكتريا في مرحلة 2 أوراق أولية كمقارنة.

رش أوراق نباتات الطماطة بالبكتريا في مرحلة 2 أوراق أولية وعدوى نباتات الطماطة بالفايروس بعد مرور 24 ساعة.

رش أوراق نباتات الطماطة بوسط KB السائل الخالي من البكتريا في مرحلة 2 أوراق أولية

رش أوراق نباتات الطماطة بوسط KB السائل الخالي من البكتريا في مرحلة 2 أوراق أولية وعدوى نباتات الطماطة بالفايروس بعد مرور 24 ساعة كمقارنة.

حفظت النباتات بالبيت الزجاجي على درجة حرارة 25-30 مئوية ولمدة 30 يوم.

متابعة تضاعف الفايروس

اخذت نماذج من النباتات من كل معاملة بعد مرور 15 يوم من التلقيح، واجري الكشف عن الفايروس على النبات الكاشف *Nicotiana glutinosa*. لقم نصف الورقة بنموذج والنصف الاخر بعصير النبات المصاب للمقارنة. سجلت النتائج بعد مرور 3 ايام.

النتائج والمناقشة

الاعراض

ظهرت على اوراق نباتات الطماطة *Lycopersicum esculentum* L المعداة ميكانيكيا بمستخلص اوراق نباتات طماطة مصابة بفايروس موزائيك الطماطة ToMV اعراض موزائيك بعد اربعة اسابيع من العدوى. اعقبها تشوة الاوراق (شكل 1).

استجاب نبات التبغ *Nicotiana tabacum* cvs Turkish للعدوى الميكانيكية بمستخلص فايروس موزائيك الطماطة ToMV بظهور موزائيك بعد ثلاثة اسابيع من العدوى. كما استجاب نبات التبغ *Nicotiana tabacum* cvs Xanthi للاصابة بالفايروس بظهور بقع موضعية متخثرة صغيرة. واستجابت نباتات التبغ البري *Nicotiana glutinosa* للعدوى بالفايروس بظهور بقع موضعية ميتة بعد 3 ايام من العدوى (شكل 2). وظهر على اوراق نباتات التبغ *Nicotiana tabacum* cvs Samsun اعراض موزائيك بعد ثلاثة اسابيع من العدوى (شكل 3). ولم تستجب نباتات الخيار *Cucumis sativas* للاصابة. اما نبات البطاطا *Solanum tuberosum* فقد استجاب للعدوى بفايروس موزائيك الطماطة بظهور موزائيك اصفر بعد شهر من العدوى.



شكل 1. (اليمين) اعراض موزائيك على اوراق نبات الطماطة *Lycopersicum esculentum* L (الوسط) نبات طماطة سليم (اليسار) اعراض تشوة الاوراق.



شكل 2. نبات التبغ البري *Nicotiana glutinosa* تظهر على اوراقه البقع الموضعية الميتة بعد 3 ايام من العدوى.



شكل 3. (اليمين) اعراض الموزائيك على نبات التبغ *Nicotiana tabacum* cvs Samsun بعد ثلاثة اسابيع من العدوى بفايروس موزائيك الطماطة (اليسار) ورقة سليمة.

هناك العديد من الابحاث التي تناولت دراسة اعراض فايروس موزائيك الطماطة ToMV على النباتات الكاشفة. اذ ذكر (5) ان نبات الطماطة *Lycopersicum esculentum* L. يستجيب للاصابة بفايروس موزائيك الطماطة بظهور اعراض موزائيك و تشوة الاوراق والتفاف نصلها نحو الاسفل و ان نبات التبغ *Nicotiana tabaccum* cvs Turkish يستجيب للاصابة بفايروس موزائيك الطماطة بظهور اعراض موزائيك جهازي ، ووجد (3) ان الفايروس يكون بقع موضعية متخرة على نبات التبغ *Nicotiana tabaccum* cvs Xanthi NN ، وذكر (29) ان فايروس موزائيك الطماطة يسبب ظهور بقع موضعية ميتة على نباتات التبغ البري *Nicotiana glutinosa* ، وأشار (11) ان الفايروس لا يصيب نبات الخيار *Cucumis sativus* كما وجد ان جميع سلالات فايروس موزائيك التبغ تسبب اعراض موزائيك اصفر على نبات البطاطا *Solanum tuberosum* .

الاختبار المصلي Immunostrip Elisa

اظهر الاختبار المصلي ال Immunostrip Elisa تفاعل موجب مع مستخلص اوراق نباتات طماطة تظهر عليها اعراض الاوراق الشريطية وذلك بظهور خط ترسيب على الشريط دلالة على وجود فايروس موزائيك التبغ في هذه العينات في حين لم يظهر هذا الخط مع عينات مستخلص نباتات طماطة سليمة.

تأثير البكتريا *Pseudomonas fluorescens* في تضاعف الفايروس

تشير النتائج التي تم الحصول عليها من هذه الدراسة ان معاملة بذور الطماطة بالبكتريا *Pseudomonas fluorescens* بتركيز 5×10^9 وحدة تكوين مستعمرة /مل مدة 24 ساعة ثم عدوى النباتات في مرحلة ورقتين اولية ادت الى تثبيط تضاعف الفايروس بنسبة 90.30% بعد 15 يوم من العدوى. اذ ظهرت بقعتين على نصف الورقة لنبات التبغ البري *Nicotiana glutinosa* المعدة بمستخلص اوراق من النباتات المعاملة بالبكتريا ومعدة بفايروس موزائيك الطماطة ToMV مقارنة بـ 26 بقعة على نصف الورقة الثاني المعدة بمستخلص نبات مصاب بفايروس موزائيك الطماطة وغير معاملة بالبكتريا.

ادى رش النباتات بمعلق البكتريا وبتراكيز مقدار 5×10^8 وحدة تكوين مستعمرة /مل ثم عدوى النباتات في مرحلة ورقتين اولية وبعد 24 ساعة من الرش الى تثبيط مماثل لتضاعف الفايروس بنسبة 88.8% ، اذ ظهرت اربعة بقع على نصف ورقة نبات *Nicotiana glutinosa* المعدة بمستخلص من اوراق نبات طماطة معاملة بالبكتريا مقارنة بـ 36 بقعة على نصف الورقة الثاني المعدة بمستخلص نبات طماطة مصاب بفايروس موزائيك الطماطة ToMV وغير معاملة بالبكتريا .

تبين النتائج ايضا ان كلا من معاملة بذور الطماطة بالبكتريا ورش معلق البكتريا على النباتات قد احدثت خفضا معنويا في تركيز الفايروس ولم تظهر فروق معنوية بين المعاملتين. جدول (1)، وقد اشارت دراسات سابقة الى كفاءة البكتريا *Pseudomonas fluorescens* في مقاومة المسببات المرضية (9،16،21،19).

ان ميكانيكية مقاومة النباتات المعاملة بالبكتريا *Pseudomonas fluorescens* للفايروس ربما يعود الى ان البكتريا حفزت مقاومة جهازية من خلال تحفيزها لجينات موجوده في النبات ادت الى تصنيع مواد مضادة للفايروس. هذه المواد قد تكون بروتينات ومنها انزيمات هذه البروتينات ترتبط بالفايروس وتمنع تحرر الحامض النووي وبالتالي لا يحصل التضاعف. وقد اشارت العديد من الدراسات الى مقدرة هذه البكتريا على تحفيز مقاومه

جهازية في العديد من العوامل النباتية منها الطماطة، الفجل، اللوبيا، التبغ، الخيار، ضد طيف واسع من مسببات المرضية منها الفطريات، البكتريا، والفايروسات (27).

جدول 1. تأثير معاملة نباتات الطماطة بالبكتريا *Pseudomonas fluorescens* على معدل عدد البقع الموضوعية المتكونه على اوراق نبات التبغ البري *Nicotiana glutinosa* والمتسببه من جراء العدوى بفايروس موزايك الطماطة ToMV.

المعاملات	معدل عدد البقع الموضوعية المتكونه على ورقه نبات التبغ البري <i>Nicotiana glutinosa</i>
بذور معاملة بالبكتريا وعدوى نباتات الطماطة بالفايروس في مرحله 2 اوراق اوليه	2
بذور معاملة بوسط KB السائل الخالي من البكتريا وعدوى النباتات بالفايروس في مرحله 2 اوراق اوليه كمقارنه	26
رش اوراق نباتات الطماطة بالبكتريا في مرحله 2 اوراق اوليه وعدوى نباتات بالفايروس بعد مرور 24 ساعه	4
رش اوراق نباتات الطماطة بوسط KB السائل الخالي من البكتريا في مرحله 2 اوراق اوليه وعدوى النباتات بالفايروس بعد مرور 24 ساعه كمقارنه	36

LSD= 9.30

كل رقم في الجدول يمثل معدل 5 مكررات

المصادر

- 1- العاني ، ليث خليل توفيق. 2005. استحثاث المقاومة ضد فايروس موزايك الخيار باستخدام البكتريا *Pseudomonas fluorescens* Migula . رسالة ماجستير .كلية الزراعة.جامعة بغداد.
- 2- حسان، الاء خضير . 2005. تقويم فعالية بعض عوامل الاستحثاث والمبيدات في حماية نباتات الخيار من الاصابه بالفطر *Pythium aphanidermatum*. رسالة ماجستير . كلية الزراعة.جامعة بغداد.
- 3- عذاب، مصطفى علي. 2009. دراسة بروتينات الغلاف لثلاثة فايروسات نباتية وامكانية استخدامها كادلة في الكشف عنها. رسالة ماجستير.كلية الزراعة.جامعة بغداد.
- 4-Bakker, P. A. H. M., L. X. Ran, C.M.G. pieterse and L. C. VanLoon, 2003 Understanding the involvement of rhizosphere bacteria mediated induction of Systemic resistance in biocontrol of plant diseases. Can. J. Plant Pathol ., 25 :5-9.
- 5-Brunt , A.; Carbtree , K. ; Dallwitz , M. ; Gibbs , A. and Watson , L. 1996. Viruses of plant Description and Lists from the ViDE database CAB International 1483pp.
- 6-Clark,F.E .1965 . Agar-plate method for total microbial count.c.f.black, methode of soil analysis part 2.publisher Madison,Wisconsin,u.s.a.pp:1572.
- 7-Fletcher,J.,C.Bender,B.Budowle,W.T.Cobb, S.E. Gold, C.A. Ishimaru, D. Luster, U. Melcher, R. Murch, H. Scherm, R.C. Seem, J. L. Sherwood, B. W. Sobral and Tolin, 2006. Plant pathogen forensics: Capabilities, Needs, and Recommen- dations. Microbial mol.bio.rev.,70:450-471.

- 8-Han,J.L.Sun,X.Dong,Z.Cai,X.Sun,H.Yang,Y.Wang and W.Song,2005 . Characteri-
zation of a novel plant growth- promoting bacteria strain *Delfia*
tsuruhatensis HR4 both as adiazotroph and a potential biocontrol agent
against various plant pathogens.Syst .Appl.Microbial.,28:66-76.
- 9-Heil,M.and Bostock,R.M.2002.Induce systemic resistance (ISR) against pathogens
in the context of induced plant defence.Annals of Botany ,89:503-512.
- 10-Jing,Y.,Z.,He and X.Yang,2007. Role of soil rhizobacteria in phytore mediation of
heavy metal contaminaited soils. J. zhejiang Univ. Sci. B.,8:192-207.
- 11-Jung,H.W.Yun,W.S.Haham,Y.I.,andKim,K.H.2002.Characterization of *Tobacco*
mosaic virus isolated from potato showing yellow leaf mosaic and
stunting symptoms in Korea.plant Dis.86:112-117.
- 12-Katan,J ., 1993 .Replacing pesticides with nonchemical tools for the control of
soilborne pathogens –A realistic goal .phytoparasitica ,21:95-99.
- 13-Leeman,M.,J.A.Vanpler, F.M. Den Ouden, M. Heinsbroek, and PAHM ,Baker
tal.1995.Induction of systemic resistance by *Pseudomonas fluorescens* in
radish cultivars differing in susceptibility to fusarium wilt, using a novel
bioassay. Eur. J. Plant Pathol.101:655-664.
- 14-Lynch,J.M.,and J.M.whipps.1991.Substrate flow in the rhizosphere in:Keiser, D.L
and Cregan, P.B. (eds). The rhizosphere and plant growth (pp15-
24).Kluwer Dordrecht.
- 15-Maurhofer, M. C. Hase, P. Meuwly,J.P.Metraux and Defago,1994.Inducation of
systemic resistance of tobacco to tobacco necrosis virus by root –colonizi-
- ng *pseudomonas fluorescens* strain chao: influence of gas a gene and of
pyoverdine production. Phytopathology,84:139-146.
- 16-Metraux, J. P., Nawrath, C. and Genoud, T. 2002. Systemic aquired resistance
Euphytica ,124:237- 243.
- 17-Murphy,J.F.,M.S.Reddy,C.M. Ryu, J. W. Kleopper and R. Li, 2003.Rhizobacteria-
mediated growth promotion of tomato leads to protection against
cucumber mosaic virus. Phytopathology, 93:1301-1307.
- 18-Pfleger, J.I. 1991. Tomato (tobacco) Mosaic Virus. AVRDC international
cooperators.
- 19-Pieterse, C.M.J., J.A..Vanpelt, S.C. M.Van wees, J. Ton, K.M. Leon- Kloosterziel
,J.J.B. Keurentjes ,B. H. M. Bakker and L.C.Vanloon.2001.Rhizobacteria-
mediated induced systemic resistance: triggering,signaling and expression.
European Journal of Plant Pathology. 107:51-61.
- 20-Raupach, G.S.L.Liu, J.F.Murphy,S.tuzun and J.W.Kloepper,1996. Induce systemic
resistance in cucumber and tomato against cucumber mosaic
cucumovirus using plant growth–promoting rhizobacreia (PGPR).Plant
Dis.,80:891- 894.
- 21-Ryu,C.M.,Farag,M.A.,Hu,C.H.,Reddy,M.S.,Kloepper,J.W.and Pare,P.W.2004.
Bacterial volatiles induce systemic resistance in arabidopsis. Plant
Physiology ,134:1017-1026.
- 22-Shehata,Sawsan F.and A.M. El borollosy 2008.Induction resistant against
zucchini yellow mosaic potyvirus and growth enhancement of squash
plants using some plant growth promoting rhizobacteria. Australian
journal of Basic and Appllied Sience.2(2):174-182.

- 23-Shoman,Sahar A.,Nagwa .Abd-Allah and A.F.El-Baz, 2003. Induction of resistance to tobacco necrosis virus in bean plants by certain microbial isolates. Egyptian J.of Bio.,5:10-18.
- 24- Shew and Lucas, Compendium of Tobacco Diseases .American phytopathological Society press,St.Paul,MN.1991.
- 25-Stange,C., Matus, J.A., Elorza, A. and Arce - Johnson, P.2004. Identification and characterization of novel Tobacco mosaic virus resistance Ngene homologue in *Nicotiana tabaccum* plants . Functional plant Biology 31:149-158.
- 26-Tuzan,S.andJ.Kloepper.1995.Practical application and implmentation of induced resistance .In :Hammerschmidt ,R., Kuc, J.(eds) induced resistance to disease in plant Kluwer. Academic Press,Dorarecht.pp152-168.
- 27-Vanloon, L.C., PAHM, Bakker, and C.M.J.Pieterse.1998.Systemic resistance by rhizosphere bacteria .Annu.Rev.phytopathol.36:453-483.
- 28-Wei,G.,Kloepper,J.W.,Tuzen,S.1996. Induce sytemic resistance to cucumber diseases and increased plant growth by plant growth-promoting rhizobacteria under field conditions. Phytopathology86:221-224.
- 29-Younes,H.A.1995.Studies on certain virus diseases affecting some vegetabale crops under green house conditions. Ph. D. Thesis, faculty of agriculture, Alexandria University , Egypt .210 pp.