------مجلة علوم الرافدين، المجلد 27، العدد 1، ص 193-213، 2018------

تأثير الاصابات الفطرية ومكافحتها في الهرمونات النباتية لصنفي الشليك هابل وفستفل (*Fragaria* x *ananassa* Duch.)

هديل احمد العامري*
قسم علوم الحياة/ كلية العلوم
جامعة الموصل

زهير عز الدين داؤد
قسم البستنة وهندسة الحدائق/ كلية الزراعة والغابات
جامعة الموصل

فاتن نوري ملا عبد
قسم علوم الحياة/ كلية العلوم
جامعة الموصل

***E. mail** : Biol.Hadeel.78@Yahoo.com

(أُستلم 26/ 11 /2013 ؛ قُبل 30 /12 /2013)

الملخص

أظهرت نتائج التقدير الكمي لمنظمات النمو Indol Acetic acid (IAA) و Gibberellic Acid (GA_3) بتقنية كروماتوكرافيا السائل عالي الأداء High Performance Liquid Chromatography (HPLC) في النباتات المعاملة بالفطريات الثلاثة *Fusarium culmorum*، *Cylindrocarpon* spp. و *Bipolaris* spp. ومقاوماتها الحيوية والكيماوية لصنفي الشليك هابل Hapil وفستفل Fastivil تباين النتائج تبعا لتباين المعاملات، اذ زاد مستوى منظمي النمو IAA و GA_3 في النباتات المصابة صناعياً بالفطريات الثلاثة المدروسة المعاملة بالمقاومين الحيويين الفطري *Trichoderma harzianum* والبكتيري *Pseudomonas aerogenosa* والمقاوم الكيمياوي Azadarachtin عن مستواه في النباتات غير المعاملة بها والمصابة صناعياً بالفطريات الثلاثة، اذ بلغ اعلى تركيز لمنظم النمو IAA 921.81 نانوغرام/غرام وزن رطب في النباتات المعاملة بالمقاوم الحيوي الفطري واقل تركيز في النباتات المعاملة بالفطر *F. culmorum* لوحده اذ بلغ التركيز 10.20 نانوغرام/غرام وزن رطب في صنف الشليك هابل اما الصنف فستفل فكان اعلى تركيز لمنظم النمو في النباتات المعاملة بالمقاوم الحيوي الفطري واقل تركيز كان في المعاملة بالفطر *Cylindrocarpon spp.* لوحده وتراوحت التراكيز في بقية المعاملات بين الاثنين في كلا الصنفين.

اما تركيز منظم النمو GA_3 فاختلف تركيزه عن تركيز منظم النمو IAA في صنفي الشليك هابل وفستفل وفي كافة المعاملات المدروسة، وكان اعلى تركيز له في صنف الشليك هابل في النباتات المعاملة بالمقاوم الحيوي البكتيري اذ بلغ التركيز 341.97 نانوغرام/غرام وزن رطب في حين بلغ التركيز في صنف الشليك فستفل 897.62 نانوغرام/غرام وزن رطب في النباتات المعاملة بالمقاوم الحيوي الفطري بينما اقل تركيز لمنظم النمو GA_3 في صنفي الشليك هابل وفستفل 30.29 نانوغرام/غرام وزن رطب و20.34 نانوغرام/غرام وزن رطب في المعاملة بالفطر *Cylindrocarpon spp.* لوحده وتراوحت التراكيز في بقية المعاملات بين الاثنين في كلا الصنفين.

الكلمات الدالة : شليك، *Fusarium culmorum*، *Cylindrocarpon* spp.، *Bipolaris* spp.، *Trichoderma harzianum*، *Pseudomonas aerogenosa*، Azadarachtin.

Effects of fungal infections and its resistance in plant hormones of Strawberry (*Fragaria* x *ananassa* Duch.) varieties Hapil and Festival

Hadeel A. AL-Ameri
College of Science
Department of Biology
University of Mosul

Zuhair A. Dawood
College of Agriculture And Forces
Department of Horticulture
University of Mosul

Fatin N. Mula Abed
College of Science
Department of Biology
University of Mosul

E. mail : Biol.Haeel.78@Yahoo.com

ABSTRACT

Quantitative estimation of growth regulators results Indol Acetic acid (IAA) and Gibberellic acid (GA_3) using technology high performance liquid chromatography (HPLC) in strawberry plants (variety Hapil and Festival) treated with three fungi *Fusarium culmorum, Cylindrocarpon* spp. and *Bipolaris* spp.The results varied depending on the variation of ments, as the level of the growth regulators IAA and GA_3 increased in fungal biocontrol *Trichoderma harzianum* and bacterial biocontrol *Pseudomonas aerogenosa* and chemocontrol Azadarachtin, compared with the non - treatment plants infected with three fungi above, the highest concentration of the growth regulator IAA was 921.81 ng/g wet weight in plants treatmed with fungal biocontrol and less concentration in the plants treated with fungus *F. culmorum* alone, the level was 10.20 ng/g wet weight in strawberry variety Hapil while Festival variety was the highest concentration of plant growth regulator in fungal biocontrol and less level was in the treatment with *Cylindrocarpon* spp. the concentrations in the rest of the transactions between the two in both varieties.

The concentration of the growth regulator GA_3 differed with the differentiation of the concentration of the growth regulator IAA in strawberry variety Hapil and Festival and all the transactions studied, the highest concentration of it in strawberry variety Hapil were treated bacterial biocontrol, the level was 341.97 ng / g wet weight while the level in strawberry variety Festival is 897.62 ng / g wet weight in plants treatmed with fungal biocontrol while the less level of the growth regulator GA_3 in strawberry variety Hapil and Festival was 30.29 ng / g wet weight and 20.34 ng / g wet weight in the treatment with the fungus *Cylindrocarpon* spp. alone, the concentrations in other treatments ranged between the two in both varieties.

Keywords: *Fragaria* x *ananassa* Duch, *Fusarium culmorum, Cylindrocarpon* spp, *Bipolaris* spp., *Trichoderma harzianum, Pseudomonas aerogenosa,* Azadarachtin.

المقدمة

الشليك (*Fragaria* x *ananassa* Duch) نبات عشبي معمر يمتاز بشكله الجميل وطعم ثماره اللذيذ وينتمي نبات الشليك إلى رتبة *Rosales* والعائلة الوردية *Rosaceae* وتحت العائلة *Rosaideae* والى الجنس *Fragaria* والى النوع *Fragaria* × *ananassa* Duch (السعيدي، 2000)، ويعد من الفواكه ذات الثمار الصغيرة وتنتشر زراعته في العديد من دول العالم في مساحات شاسعة لما يتمتع به من قيمة غذائية وعلاجية عالية، اشتق اسمه من الكلمة اللاتينية (Fragrance و Fragrant) واسمه الإنكليزي Strawberry وبالفرنسية (Fraise) وبالإيطالية (Fragola) والذي منها اشتقت تسميته في مصر بالفراولة ويسمى في تركيا Chilliak (الابراهيم، 2002) ومنه أتت تسميته في العراق بالشليك (السعيدي، 2000).

تعد ثمار الشليك ذات قيمة اقتصادية مهمة لتعدد استخداماتها فهي تستخدم طازجة وتدخل في العديد من الصناعات الغذائية والعصائر وتحتوي ثمار الشليك على العديد من المكونات الغذائية حيث يحتوي كل 100غم من الثمار الطازجة على 87 – 93% ماء و8.40 غم كربوهيدرات و7% مواد صلبة ذائبة و0.78% حوامض منها حامض الستريك و0.40– 0.80% بروتينات و1.30 غم الياف و0.50 غم دهون و21 ملغم كالسيوم و21 ملغم فسفور و1 ملغم حديد و1 ملغم صوديوم و164 ملغم بوتاسيوم وأيضا يحتوي على 30– 70 ملغم فيتامين C و60 وحدة دولية من فيتامين A وفيتامينB6 نياسين 0.6% و0.28 – 0.99 ملغم عناصر معدنية ويعطي حوالي 37 سعرة حرارية (حسن، 2004 ؛ Nonnecke، 2005). وإن عصير الشليك يستعمل لإزالة صفرة الأسنان والترسبات المتراكمة عليها (السعيدي، 2000). وتعد ثماره وأوراقه مصدراً جيداً للكثير من الأدوية للوقاية والعلاج من بعض الأمراض (خفاجي، 2000)، وبالرغم من ملائمة الظروف البيئية وانتشار زراعة الشليك في العديد من الدول العربية والمجاورة مثل سوريا ولبنان والأردن وفلسطين ومصر وتركيا ودول حوض البحر الأبيض المتوسط الا أنه لايزال هذا المحصول محدود الانتشار في العراق ومقتصر على المحطات البحثية وبعض المزارع الخاصة والحدائق المنزلية خاصة في المحافظات الشمالية من القطر (طه، 2004) .

إن تعفن جذور الشليك مرض شائع في مزارع الشليك الدائمة وأظهر العزل من النباتات المريضة أن العديد من مسببات الأمراض مثل الفطريات *Cylindrocarpon* spp. و *Fusarium* spp. و*Phoma* و*Rhizoctonia solani* و *Gnomonia fragariae* قد أثبتت تسبب الفطر *G. fragariae* لتعفن الجذر ولفحة السويقات، وكان الفطر *G. fragariae* أيضا قادراً على إصابة الأنسجة الوعائية للأعناق في مراحل لاحقة من تطور المرض وتم العثور على الابواغ الكيسة مما يشير إلى أنها يمكن أن تكون واحدة من أهم وسائل انتشار المرض في الحقل في لاتفيا والسويد (Moročko، 2006) أن *G. fragariae* كان المسبب لمرض تعفن الجذور الاسود على الشليك في لاتفيا والسويد وقادرة على التسبب في تعفن جذور شديدة ومرض لفحة السويقات (Inga *et al.*, 2006). ارتبط وجود الفطر *Macrophomina phaseolina* مع خسائر تعفن التاج الخطيرة في نباتات الشليك في استراليا في السنوات الأخيرة اذ ينتج الفطر Microsclerotia (Mertely and Legard, 2004; Garrido *et al.*, 2009; Don 2013 *et al.*,). وفي ايطاليا أجريت عدة دراسات لمعرفة مكونات التربة الميكروبية التي تسبب تعفن الجذر الاسود في الشليك الذي يحدث في جميع أنحاء إيطاليا وهذه الفطريات هي *Cylindrocarpon destructans* و*Fusarium oxysporum* و *F. solani* و*Pestalotia longiseta* و*Pythium* (Manici *et al.*, 2005). وعزل الفطر *Cylindrocarpon* spp. و*R. solani* من تعفن جذور الشليك في ولاية كاليفورنيا بنسبة 88٪ و70٪ على التوالي ان اضافة البكتريا *Pseudomonas* خاصة *P. chlororaphis* الى التربة المزروعة بالشليك ادى الى خفض تأثير فطريات عفن الجذور والتاج بالإضافة إلى تبخير التربة ببروميد الميثيل/الكلوروبكرين. (Schroersa *et al.*, 2008). يعد انخفاض او موت نباتات الشليك تحديا خطيرا لإنتاج الشليك على الرغم من ان أمراض التاج والجذر من أهم العوامل المحددة خاصة في موسم الإنتاج، لا يعرف إلا القليل عن ما يرتبط بها من مسببات الأمراض الفطرية. ان مسببات الأمراض الرئيسية المرتبطة مع التاج والجذور من الشليك هي فطريات *Fusarium oxysporum* ، *Cylindrocarpon destructans*، *Pythium ultimum* و*Macrophomina phaseolina*. عزلت في معظم الأحيان من التيجان، والفطر *C. destructans* و*F. oxysporum* عزل في معظم الأحيان من الجذور بنسبة 11.8٪ و12.0٪، على التوالي (Fang *et al.*, 2011)، أجريت عدة دراسات لتحقيق في مكونات التربة الميكروبية التي تسبب تعفن جذور الشليك الاسود وهي *Cylindrocarpon destructans* والفطر *Fusarium oxysporum* و*F. solani* و*Pestalotia longiseta* وغيرها. زادت وتيرة الاستعمار الجذري لنباتات الشليك بقوة من الخريف إلى الربيع ومثل الفطر *Cylindrocarpon destructans* 60 ٪ من الفطريات الممرضة (Tewoldemedhin *et al.*, 2011).

تساهم منظمات النمو النباتية بشكل فعال ومؤثر في تنظيم النمو والتكشف في خلايا وأنسجة النباتات المختلفة وتساهم في بناء جسم النبات بشكل متكامل وأن انتاج تلك الهرمونات ليس مقتصراً على النباتات فحسب وإنما وجد بان للبكتريا المتعايشة في الجذر Rhizobacteria وبعض من المجاميع الميكروبية الأخرى في التربة دوراً في انتاج الهرمونات النباتية والمركبات الشبيهة بها وافرازها في المحيط الجذري وهذه الصفة وجدت في اجناس بكتيرية متعددة منها *Rhizobium*، *Azotobacter*، *Eudomonas*، *Bacillus* ومن الهرمونات المهمة المنتجة من تلك البكتريا هو Indol Acetic acid و Cytokinin و Gibberellin وهذه الهرمونات تساهم بدورها بشكل كبير في تطور نمو النبات والسيطرة على سائر الفعاليات الفسيولوجية المختلفة في خلايا النبات (Glick, 1995; Glick *et al*., 1998 and Vidyasekaran, 1998).

يهدف البحث الى التقدير الكمي لمستويات الهرمونات Indol Acetic acid (IAA) و Gebberellic acid (GA_3) في شتلات صنفي الشليك هابل وفستفل والمصابة تجريبياً بثلاثة الفطريات ودراسة تأثير المقاومات الحيوية على هذه المستويات بطريقة HPLC.

المواد وطرائق العمل

مصدر العزلات الفطرية

تم عزل الفطريات *F.culmorum*، *Cylindrocarpon* spp. و *Bipolaris* spp. من نباتات الشليك المصابة بالفطريات وهي الصنف هابل Hapil والصنف فستفلFistavil المزروعة في الظلة الخشبية التابعة لقسم البستنة وهندسة الحدائق/كلية الزراعة والغابات جامعة الموصل بواقع 14 شتلة من كل صنف مأخوذة بشكل عشوائي ومن ثلاث مناطق من الشتلة هي الجذور والمدادات والتاج وذلك بغسل المجموع الجذري والتاج بالماء الجاري لإزالة الأتربة العالقة به ثم قطعت الى اجزاء بطول 1 سم وغمرت بمحلول هايبوكلورايت الصوديوم (NaOCl) بتركز 1% لمدة ثلاث دقائق وزرعت بواقع خمسة اجزاء في كل طبق حاوي على وسط Potato Dextrose Agar (PDA) مضافاً اليه المضاد الحيوي Chloramphenicol بتركيز 0.05 وبخمسة مكررات، حضنت الاطباق بوضع مقلوب في حاضنة بدرجة حرارة 28^{0}م لمدة اسبوع فحصت بعدها المستعمرات الفطرية النامية مظهرياً من حيث اللون والشكل والقوام حسب المفاتيح التصنيفية المعتمدة (Agrios، 2005).

مصدر شتلات الشليك

تم الحصول على شتلات صنف الشليك هابل من نباتات الأمهات المزروعة في الظلة الخشبية في مشتل مركز الأبحاث الزراعية/ عينكاوة/ أربيل، أما الصنف فستفل تم الحصول على الشتلات من مشروع البطاطا والطماطة التابع لوزارة الزراعة/الموصل.

تجربة البيت البلاستيكي

تم اجراء العدوى الصناعية بالفطريات *F.culmorum*، *Cylindrocarpon* spp. و *Bipolaris* spp. لاختبار حساسية صنفي الشليك هابل وفستفل تجاهها في البيت البلاستيكي غير المدفأ وفق تصميم القطاعات العشوائية بثلاث مكررات كل مكرر ستة سنادين، وذلك بخلط تربة مزيجية غريبنية بالبتموس وبمعدل 1 : 4 (بتموس: تربة مزيجية غرينية) ثم تعقيمها بالفورمالين وغطيت لمدة خمسة ايام بعدها جرى تقليبها كل يوم لمدة عشرين يوماً للتخلص من بقايا الفورمالين والنواتج المتحللة من عملية التعقيم، تم تلويث التربة بالفطريات الثلاثة المدروسة تبعاً لطريقة Saydam واخرون (1973) وذلك بتقطيع النموات الفطرية المزروعة على وسط PDA والمحضنة بدرجة 28^o م لمدة اسبوع الى قطع صغيرة تصل الى 1 سم تقريباً وخلطها بالطبقة السطحية لتربة السنادين وتركت لمدة خمسة ايام بعدها زرعت الشتلات، تضمنت معاملة المقارنة زراعة الشتلات في تربة غير معقمة، وفي نهاية موسم النمو (نهاية شهر ايار) اختير من تجربة البيت البلاستيكي غير المدفأ المعاملات الاكثر تعبيراً لشدة الاصابة المرضية والمعاملات التي قللت من شدة

الاصابة متمثلة بالمقاومين الحيويين الفطري والبكتيري والمقاوم الكيمياوي بالإضافة إلى معاملة المقارنة لغرض التقدير الكمي لمنظمي النمو IAA و GA_3 وهي:

1- تربة ملوثة بالفطر *F.culmarum* لوحده.

2- تربة ملوثة بالفطر *F.culmarum* + المقاوم الحيوي الفطري *T. harzianum*.

3- تربة ملوثة بالفطر *Cylindrocarpon* spp. لوحده.

4- تربة ملوثة بالفطر *Cylindrocarpon* spp. + المقاوم الحيوي البكتيري *P. aerogenosa*.

5- تربة ملوثة بالفطر *Bipolaris* spp. لوحده.

6- تربة ملوثة بالفطر *Bipolaris* spp. + المقاوم الكيمياوي Azadarachtin.

7- تربة ملوثة بالمقاوم الحيوي الفطري *T. harzianum* لوحده.

8- تربة ملوثة بالمقاوم الحيوي البكتيري *P. aerogenosa* لوحده.

9- تربة مضاف اليها المقاوم الكيمياوي Azadarachtin لوحده.

10- تربة غير معقمة (المقارنة).

طريقة التقدير الكمي لمستوى منظمي النمو IAA و GA_3 في المعاملات المختلفة لصنف الشليك هابل وفستفل بتقنية (HPLC)

أخذت عينة من الأوراق الفتية بوزن رطب مقداره 10 غرام وأضيف إليها 10 سم^3 من الميثانول MeOH بتركيز 70% وتركت لمدة 24 ساعة في الظلام وفي درجة حرارة 4°م جرى بعد ذلك ترشيح العينات باستخدام ورق ترشيح نوع Whatman No.1، تم تبخير الميثانول MeOH بالمبخر الدوار ومن ثم جرى تعديل الأس الهيدروجيني للطور المائي إلى 8.5 باستخدام محلول الفوسفات الدارئ، وتمت إضافة خلات الاثيل Ethyl Acetate إلى المحلول وتم اجراء الفصل باستخدام قمع الفصل ولثلاث مرات وبعد التخلص من طور خلات الاثيل Ethyl Acetate عدل الأس الهيدروجيني للطور المائي إلى 2.5 باستخدام حامض الهيدروكلوريك HCL 1عياري وجرى الفصل لثلاثة مرات باستخدام داي إيثايل اثير Diethyl Ether باستخدام قمع الفصل، وبعد ذلك فصل طور داي ايثايل ايثر Diethyl Ether وجفف باستخدام كبريتات الصوديوم اللامائية Na_2SO_4 Anhydrous، ترك طور داي اثيايل اثير Diethyl Ether في جو المختبر وفي الظلام لحين تمام التبخر وأذيبت البقايا في 2 مل من الميثانول MeOH وحفظت في 4°م لحين التقدير (Kelen *et al.*, 2004).

تم التقدير الكمي لمنظمات النمو IAA و GA_3 في شركة الكندي العامة التابعة لوزارة الصناعة والمعادن باستخدام جهاز HPLC المجهز من شركة Shimadzu اليابانية نوع LC-20 AD باستخدام عمود فصل نوع SUPELCOSILMT COLUMN LC-8 بأبعاد 25 سم × 4.6 ملم. الطور المتحرك يتكون من Acetonitrile وماء مقطر بنسبة 30:70، وحجم العينة 10 مايكروليتر بمعدل جريان Flow rate 0.8 مل/دقيقة. استعملت محاليل قياسية لمنظمات النمو IAA وGA_3 بتركيز 1 ملغم/لتر، استخدمت الأطوال الموجية 280 نانوميتر لمنظم النمو IAA و 208 نانوميتر لمنظم النمو GA_3. تم حساب تركيز المركبات عن طريق مقارنة نتائج التقدير الكمي للمركبات الموجودة في نماذج العينات النباتية المدروسة لكل من زمن الاحتباس Retention Time ومساحة الحزم المجهولة للنماذج مع زمن الاحتباس ومساحة المنحنيات للنماذج القياسية المعروفة وفق المعادلة الآتية:

$$\text{تركيز المركب في العينة} = \frac{\text{مساحة حزمة المركب}}{\text{مساحة حزمة النموذج القياسي}} \times \text{تركيز النموذج القياسي}$$

النتائج والمناقشة

أظهرت نتائج التقدير الكمي لمنظمات النمو IAA و GA_3 في النباتات المعاملة لصنفي الشليك هابل وفستفل باستخدام تقنية (HPLC) تباين النتائج تبعا لتابين المعاملات، فيلاحظ من الجداول (1 و 2 و 3) والاشكال (1–10) زيادة مستوى منظمي النمو IAA و GA_3 في النباتات المصابة صناعياً بالفطريات الثلاثة المدروسة المعاملة بالمقاومين الحيويين الفطري والبكتيري والمقاوم الكيمياوي عن مستواه في النباتات غير المعاملة بها والمصابة صناعياً بالفطريات اعلاه، اذ بلغ تركيز منظم النمو IAA لصنف الشليك هابل في المعاملة *F. culmarum* 10.20 نانوغرام/غرام وزن رطب (الجدول 1 والشكل 2) اما المعاملة بالفطر *Cylindrocarpon* spp. بلغ التركيز 79.50 نانوغرام/غرام وزن رطب (الشكل 3– B) في حين بلغ تركيز منظم النمو IAA في المعاملة بالفطر *Bipolaris* spp. 77.76 نانوغرام/غرام وزن رطب (الشكل 4– A)، وزاد تركيز منظم النمو IAA في المعاملات المصابة صناعياً بالفطريات الثلاثة اذ بلغ التركيز في *F. culmarum* + المقاوم الحيوي الفطري 372.15 نانوغرام/غرام وزن رطب (الشكل 3– A)، في حين اختلفت هذه التراكيز مع تركيز IAA في معاملات المقاوم الحيوي الفطري والبكتيري والمقاوم الكيمياوي كلاً على حداً ولوحده دون الاصابة بالفطريات الثلاثة المدروسة وكانت معاملة المقاوم الحيوي الفطري افضل المعاملات اذ بلغ تركيز IAA 921.81 نانوغرام/غرام وزن رطب (الشكل 4– C) قياساً الى معاملة المقارنة التي تضمنت تربة غير معقمة اذ كان تركيز IAA فيها 62.92 نانوغرام/غرام وزن رطب (الشكل 5– C).

اختلفت تراكيز IAA في صنف الشليك فستفل عنها في الصنف هابل الا انها متماثلة من حيث زيادة التركيز في المعاملات المصابة صناعياً بالفطريات الثلاثة والتي تم معاملتها بالمقاومين الحيويين الفطري والبكتيري والمقاوم الكيمياوي عن المعاملات المصابة صناعاً بالفطريات الثلاثة المدروسة كلاً على حداً ولوحده. وكان اعلى تركيز لمنظم النمو IAA في المعاملة بالمقاوم الحيوي الفطري لوحده اذ بلغ التركيز 450 نانوغرام/ غرام وزن رطب (الشكل 4– C) يليه المقاوم الحيوي البكتيري بتركز 422.11 نانوغرام/ غرام وزن رطب (الشكل5– A) ثم معاملة المقاوم الكيمياوي بتركيز 359.26 نانوغرام/ غرام وزن رطب (الشكل 3– B) في حين بلغ تركيز IAA في المعاملة بالفطريات *Cylindrocarpon* spp. و *Bipolaris* spp. 78.86 نانوغرام/ غرام وزن رطب و178.69 نانوغرام/ غرام وزن رطب على التوالي (الشكل 4– A) ولم يتم قياس تركيز IAA في المعاملة بالفطر *F. culmarum* لوحده وذلك لموت جميع الشتلات في كل المكررات منذ الاسبوع الثاني لبدء التجربة الحقلية، في حين زادت تراكيز منظم النمو اعلاه في المعاملات *F. culmarum* + المقاوم الحيوي الفطري والمعاملة *Cylindrocarpon* spp. + المقاوم الحيوي البكتيري والمعاملة *Bipolaris* spp. + المقاوم الكيمياوي اذ بلغ تركيزه 280.99 نانوغرام/ غرام وزن رطب (الشكل 3– A) و 266.05 نانوغرام/ غرام وزن رطب (الشكل 3– C) و 241.61 نانوغرام/ غرام وزن رطب على التوالي (الشكل 4– B) بالمقارنة مع تركيز معاملة المقارنة تربة غير معقمة والتي بلغ تركز الـ IAA فيها 223.56 نانوغرام/ غرام وزن رطب (الشكل 5– C).

الجدول 1 : تراكيز منظمي النمو GA_3 و IAA نانوغرام/غرام وزن رطب في اوراق صنفي الشليك فستفل وهابل المعاملة بالفطريات الثلاثة ومقاوماتها الحيوية والكيمياوية والمقارنة

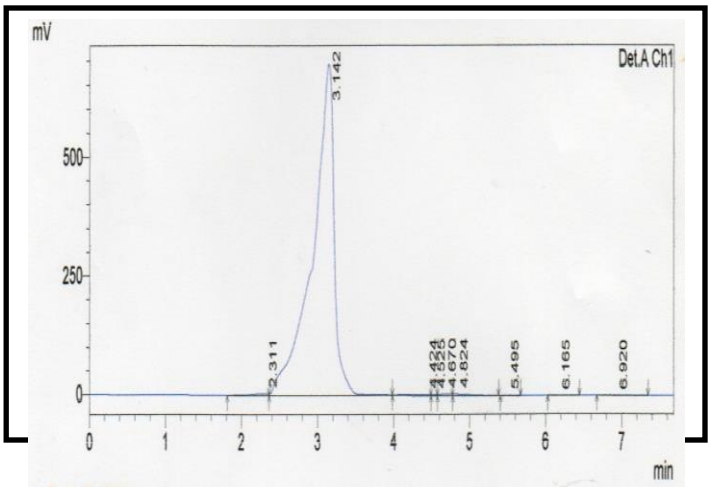
المعاملات	تركيز منظم النمو (نانوغرام /غرام وزن رطب)			
	صنف هابل		صنف فستفل	
	GA_3	IAA	GA_3	IAA
F. culmarum	140.92	10.20	*___	*___
F. culmarum+ مقاوم حيوي فطري	233.47	372.15	635.21	280.99
Cylindrocarpon spp.	30.29	79.50	202.34	78.86
Cylindrocarpon spp. + مقاوم حيوي بكتيري	147.12	157.41	329.25	266.05
Bipolaris spp.	79.55	77.76	261.33	178.69
Bipolaris spp.+ مقاوم كيمياوي	222.75	292.65	299.18	241.61
مقاوم حيوي فطري	298.73	921.81	897.62	450.72
مقاوم حيوي بكتيري	341.47	421.74	774.15	422.11
مقاوم كيمياوي	230.08	311.75	509.00	359.26
تربة غير معقمة (مقارنة)	229.24	62.92	473.31	223.56

* = لم يتم قياس تركيز IAA وGA_3 في المعاملة بالفطر *F. culmarum* لوحده وذلك لموت جميع الشتلات في كل المكررات منذ الاسبوع الثاني لبدء التجربة الحقلية.

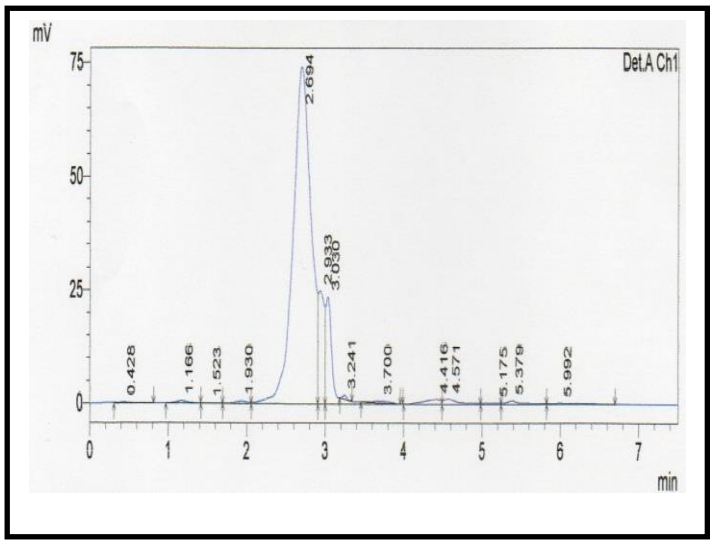
الجدول 2 : زمن الاحتباس ومساحة المنحنيات الخاصة بتقدير منظم النمو IAA في اوراق صنفي الشليك هابل وفستفل

رقم الشكل	الوصف	صنف هابل			صنف فستفل		
		الارتفاع	المساحة	زمن الاحتباس	الارتفاع	المساحة	زمن الاحتباس
1	المنحني القياسي	696164	13639093	3.142	696164	13639093	3.142
2	*F. culmarum* وحده	23626	139119	3.030	------*	------*	------*
3A	*F. culmarum*+ مقاوم حيوي فطري	197567	5075854	3.239	219543	3832574	3.133
3B	*Cylindrocarpon* spp. وحده	107934	1084435	3.242	106365	1075579	3.251
3C	*Cylindrocarpon* spp. + مقاوم حيوي بكتيري	198261	2147005	3.143	216875	3628738	3.147
4A	*Bipolaris* spp. وحده	756046	10606704	3.214	212438	2437209	3.173
4B	*Bipolaris* spp.+ مقاوم كيمياوي	391467	3991534	3.659	206963	3295373	3.145
4C	مقاوم حيوي فطري	621146	12572686	3.255	199472	6147480	3.675
5A	مقاوم حيوي بكتيري	186805	5752282	3.364	352448	5757213	3.162
5B	مقاوم كيمياوي	168159	4251990	3.161	366277	4900025	3.164
5C	تربة غير معقمة	98290	858238	3.123	168011	3049220	3.148

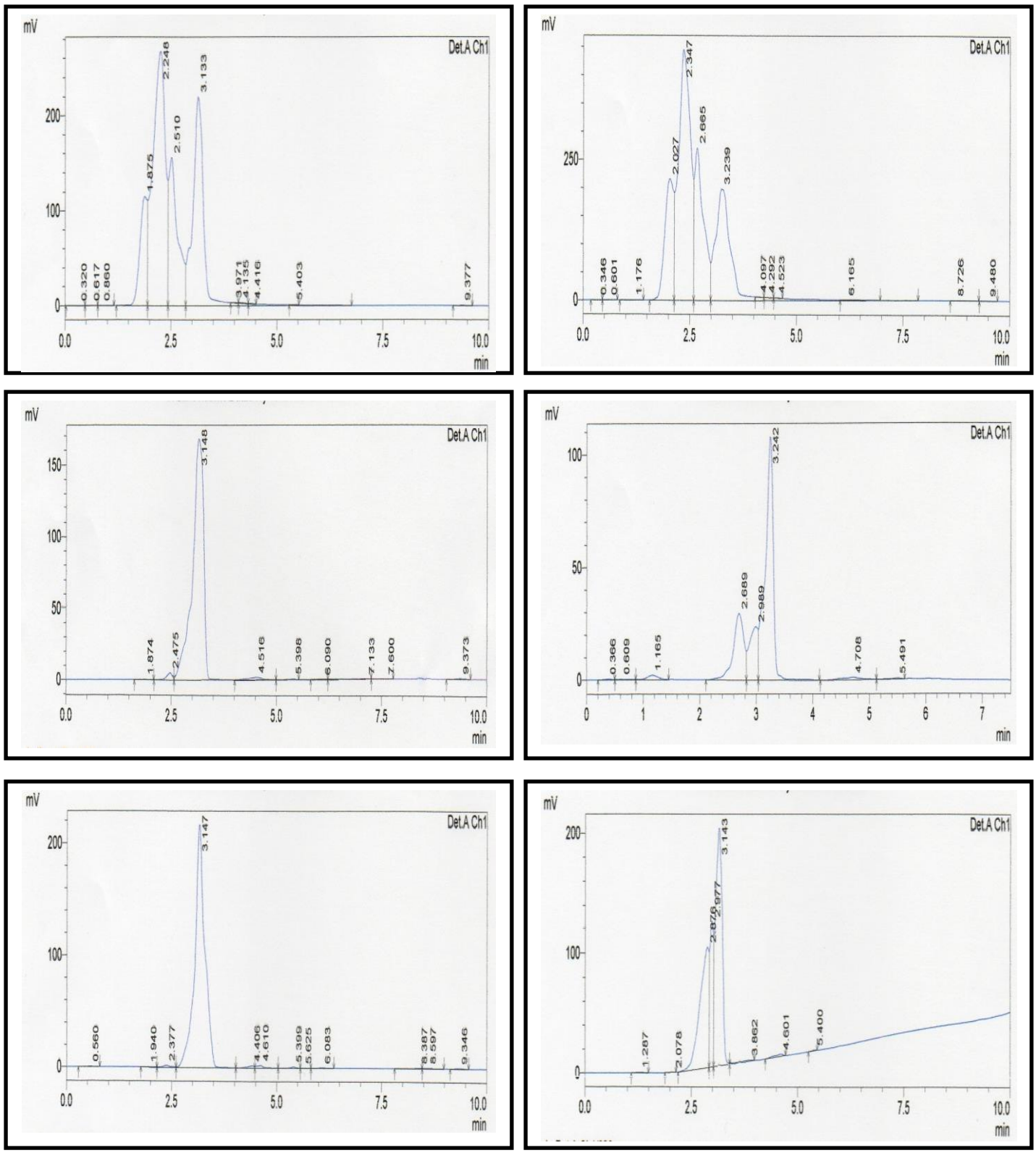
* = لم يتم قياس تركيز IAA في المعاملة بالفطر *F. culmarum* لوحده وذلك لموت جميع الشتلات في كل المكررات منذ الاسبوع الثاني لبدء التجربة الحقلية.



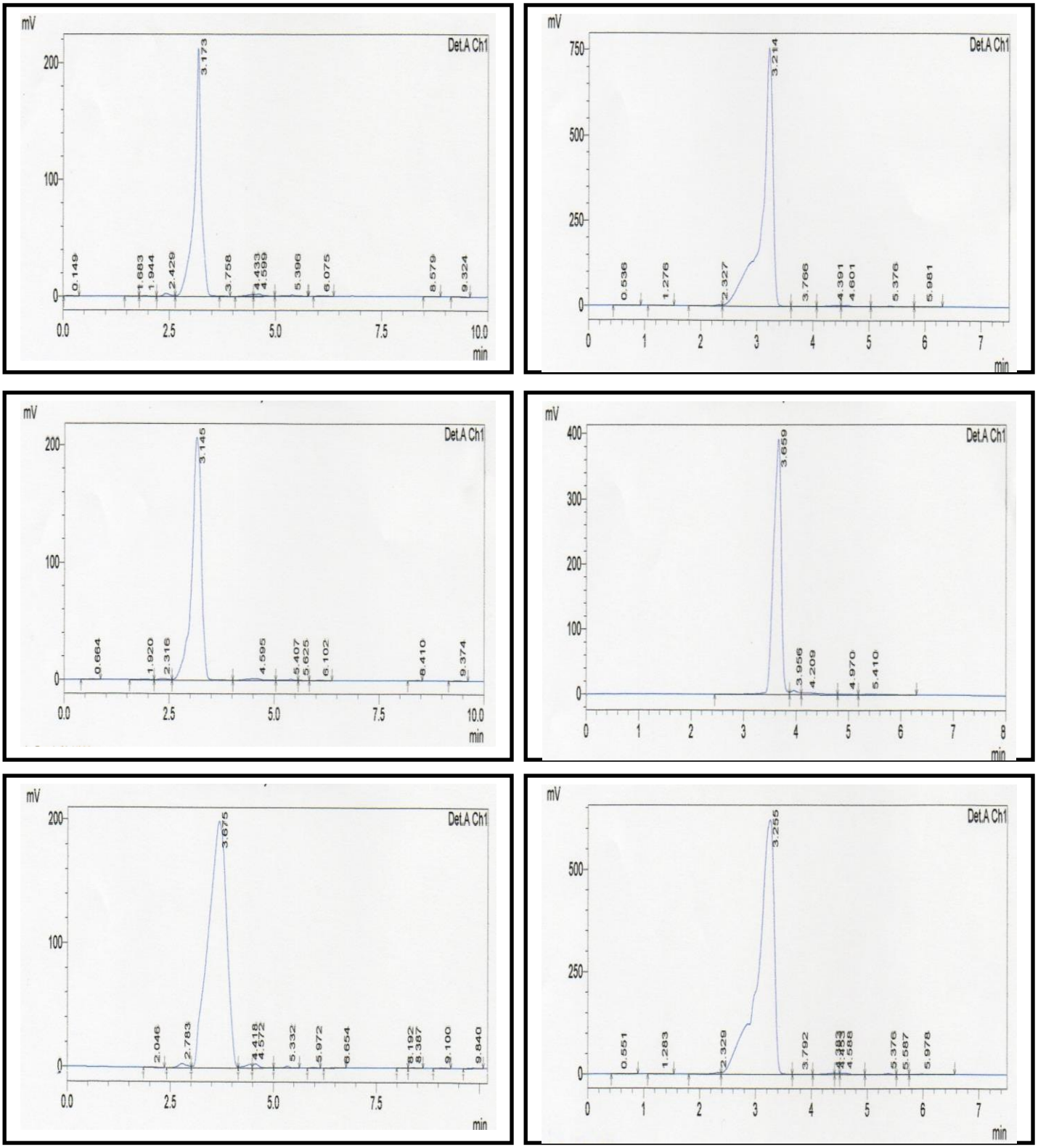
الشكل 1: المنحنى القياسي لمنظم النمو IAA بتقنية (HPLC)



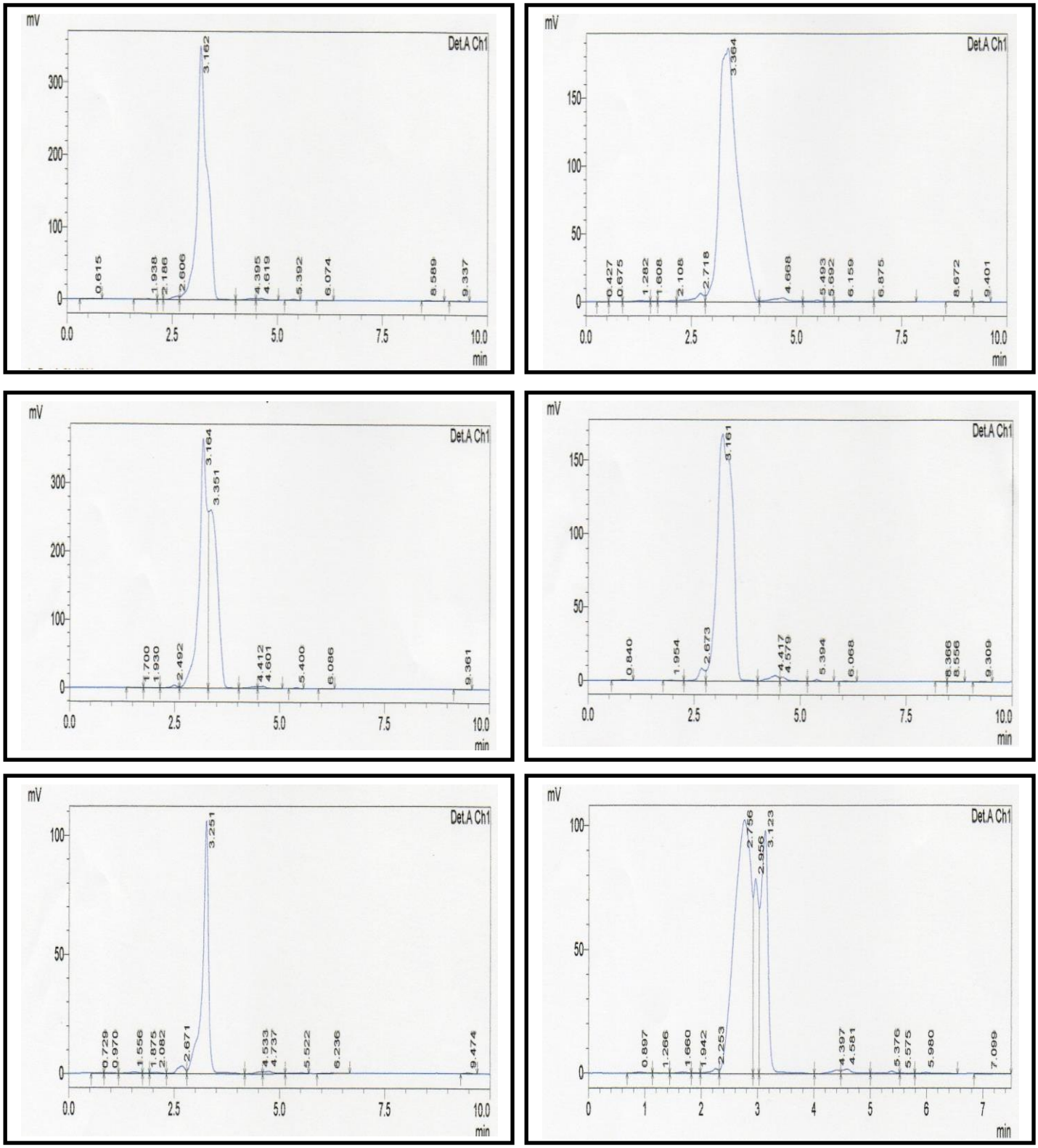
الشكل 2: التقدير الكمي لمنظم النمو IAA (نانوغرام/غرام وزن رطب) بتقنية (HPLC) في اوراق صنف الشليك هابل المعاملة بالفطر *F. culmarum* وحده.



الشكل 3 : التقدير الكمي لمنظم النمو IAA (نانوغرام/غرام وزن رطب) بتقنية (HPLC) في اوراق صنفي الشليك (يمين) هابل و (يسار) فستفل (A) : المعاملة *F. culmarum* + المقاوم الحيوي الفطري، (B) : المعاملة بالفطر *Cylindrocarpon* spp. وحده، (C) : المعاملة *Cylindrocarpon* spp. + المقاوم الحيوي البكتيري.



الشكل 4 : التقدير الكمي لمنظم النمو IAA (نانوغرام/غرام وزن رطب) بتقنية (HPLC) في اوراق صنفي الشليك (يمين) هابل و (يسار) فستفل (A) : المعاملة *Bipolaris* spp. وحده، (B) : المعاملة *Bipolaris* spp. + المقاوم الكيمياوي، (C) : معاملة المقاوم الحيوي الفطري وحده.



الشكل 5 : التقدير الكمي لمنظم النمو IAA (نانوغرام/غرام وزن رطب) بتقنية (HPLC) في اوراق صنفي الشليك (يمين) هابل و (يسار) فستفل (A) : معاملة المقاوم الحيوي البكتيري وحده، (B) : معاملة المقاوم الكيمياوي وحده، (C) : معاملة المقارنة تربة غير معقمة.

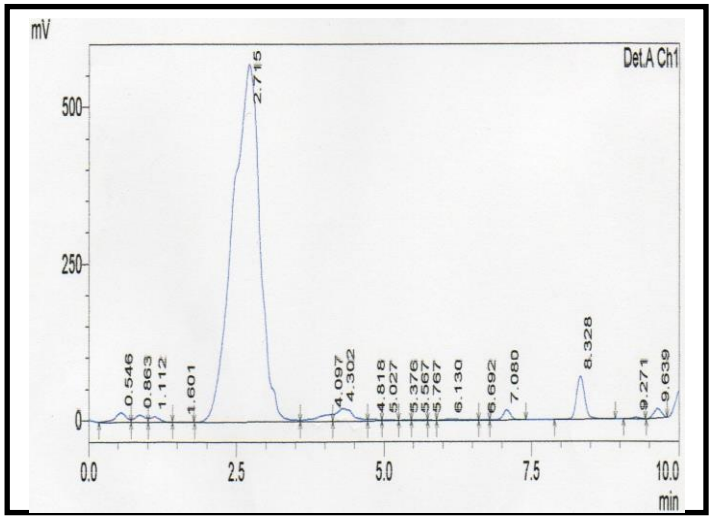
اختلف تركيز منظم النمو GA_3 عن تركيز IAA في صنفي الشليك هابل وفستقل وفي كافة المعاملات المدروسة، اذ زاد تركيز GA_3 في صنف الشليك فستقل عن تركيز GA_3 في الصنف هابل وبلغ التركز 140.92 نانوغرام/غرام وزن رطب (الجدول 1 والشكل 7) في صنف الشليك هابل ولم يتم قياس التركيز في الصنف فستقل في المعاملة بالفطر *F. culmarum* لوحده وذلك لموت جميع الشتلات في كل المكررات منذ الاسبوع الثاني لبدء التجربة الحقلية، اما المعاملة بالفطر *Cylindrocarpon* spp. لوحده فقد زاد تركيز GA_3 في الصنف فستقل عنه في الصنف هابل اذ بلغ التركيز 202.34 نانوغرام/غرام وزن رطب (الشكل 8– B) و30.29 نانوغرام/غرام وزن رطب (الشكل 8–B) على التوالي لكلا الصنفين وكان التركيز في المعاملة بالفطر *Bipolaris* spp. لوحده 79.55 نانوغرام/غرام وزن رطب (الشكل 9–A) و 261.33 نانوغرام/غرام وزن رطب (الشكل 9–A) على التوالي لصنف الشليك هابل وفستقل.

ادت اضافة المقاومين الحيويين الفطري والبكتيري والمقاوم الكيمياوي الى المعاملات المصابة صناعياً بالفطريات *F. culmarum* و *Cylindrocarpon* spp. و *Bipolaris* spp. الى زيادة تراكيز GA_3 في الصنفين هابل وفستقل اذ بلغ التركيز 298.73 نانوغرام/غرام وزن رطب و897.62 نانوغرام/غرام وزن رطب للمعاملة *F. culmarum* + المقاوم الحيوي الفطري على التوالي في الصنف هابل وفستقل (الشكل 8–A) في حين بلغ التركز 341.47 نانوغرام/غرام وزن رطب و 774.15 نانوغرام/غرام وزن رطب في المعاملة *Cylindrocarpon* spp. + المقاوم الحيوي البكتيري على التوالي للصنفين اعلاه (الشكل 8–C) وبلغ تركيز GA3 في المعاملة *Bipolaris* spp. + المقاوم الكيمياوي في صنفيي الشليك هابل وفستقل 230.08 نانوغرام/غرام وزن رطب و 509.00 نانوغرام/غرام وزن رطب على التوالي قياساً (الشكل 9–B) الى معاملة المقارنة (تربة غير معقمة) والتي بلغ التركيز فيها 229.24 نانوغرام/غرام وزن رطب و463.31 نانوغرام/غرام وزن رطب على التوالي لصنفي الشليك أعلاه (الشكل 10–B).

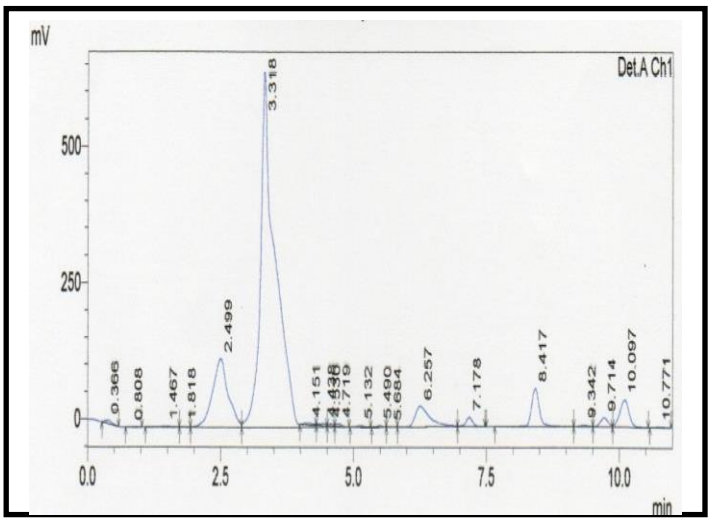
الجدول 3 : زمن الاحتباس ومساحة المنحنيات الخاصة بتقدير منظم النمو GA_3 في اوراق صنفي الشليك هابل وفستفل

رقم الشكل	الوصف	صنف هابل			صنف فستفل		
		الارتفاع	المساحة	زمن الاحتباس	الارتفاع	المساحة	زمن الاحتباس
6	المنحني القياسي	570323	18257032	2.715	570323	18257032	2.715
7	*F. culmarum* وحده	125610	2572790	2.499	*___	*___	*___
8A	*F. culmarum*+ مقاوم حيوي فطري	282421	4262475	2.578	450399	11597210	2.670
8B	*Cylindrocarpon* spp. وحده	63048	553070	2.546	259776	3694136	2.490
8C	*Cylindrocarpon* spp. + مقاوم حيوي بكتيري	128523	2686106	2.403	375769	6011142	2.694
9A	*Bipolaris* spp. وحده	77235	1452488	2.418	230912	4771243	2.602
9B	*Bipolaris* spp.+ مقاوم كيمياوي	267597	4066850	2.474	228462	5462293	2.514
9C	مقاوم حيوي فطري	198844	5454097	2.484	578351	16388003	2.760
10A	مقاوم حيوي بكتيري	238081	6234295	2.556	499351	14133812	2.730
10B	مقاوم كيمياوي	304836	4200582	2.372	457964	9292835	2.545
10C	تربة غير معقمة	198398	4185270	2.700	303688	8641243	2.596

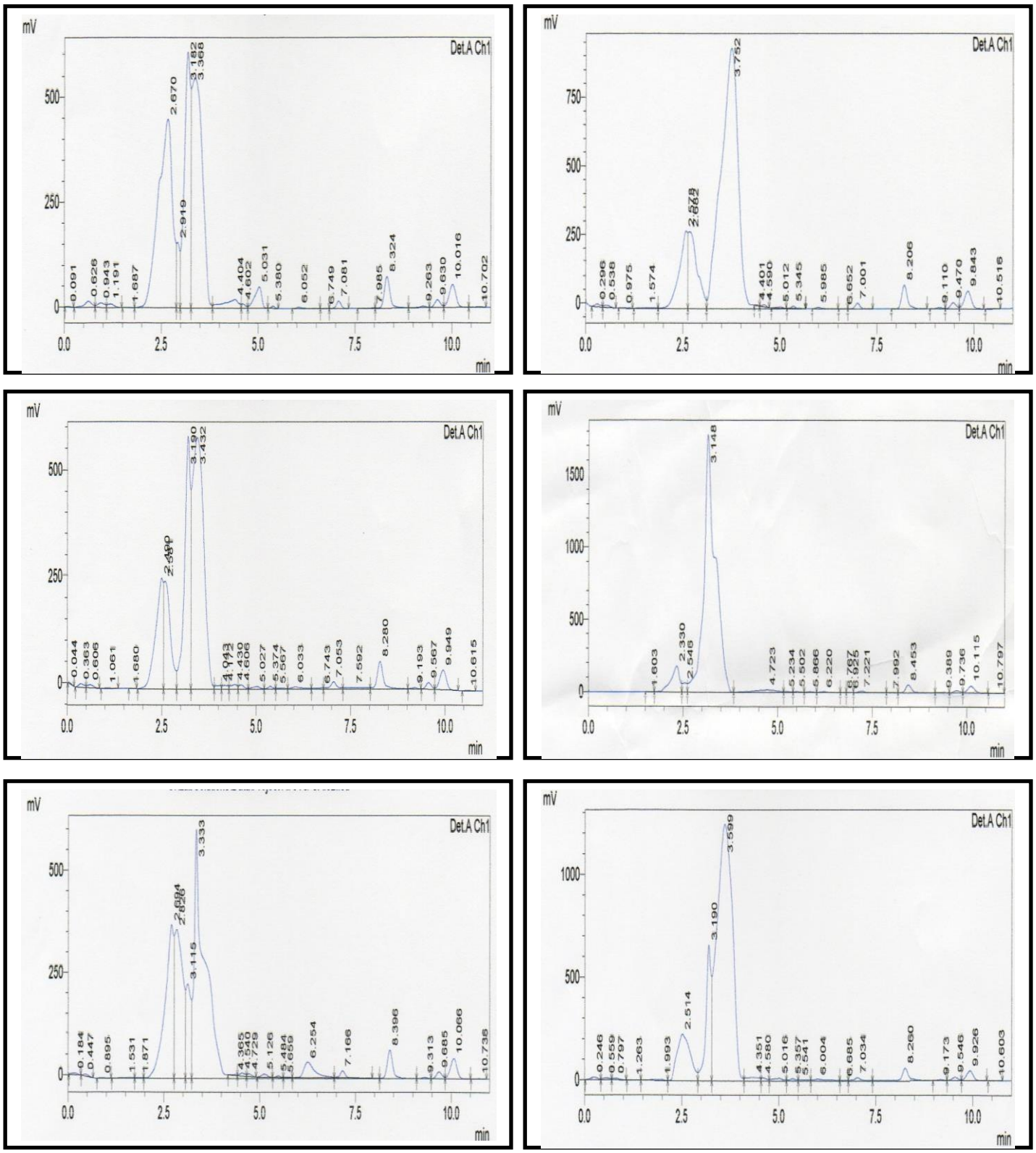
* = لم يتم قياس تركيز GA_3 في المعاملة بالفطر *F. culmarum* لوحده وذلك لموت جميع الشتلات في كل المكررات منذ الاسبوع الثاني لبدء التجربة الحقلية.



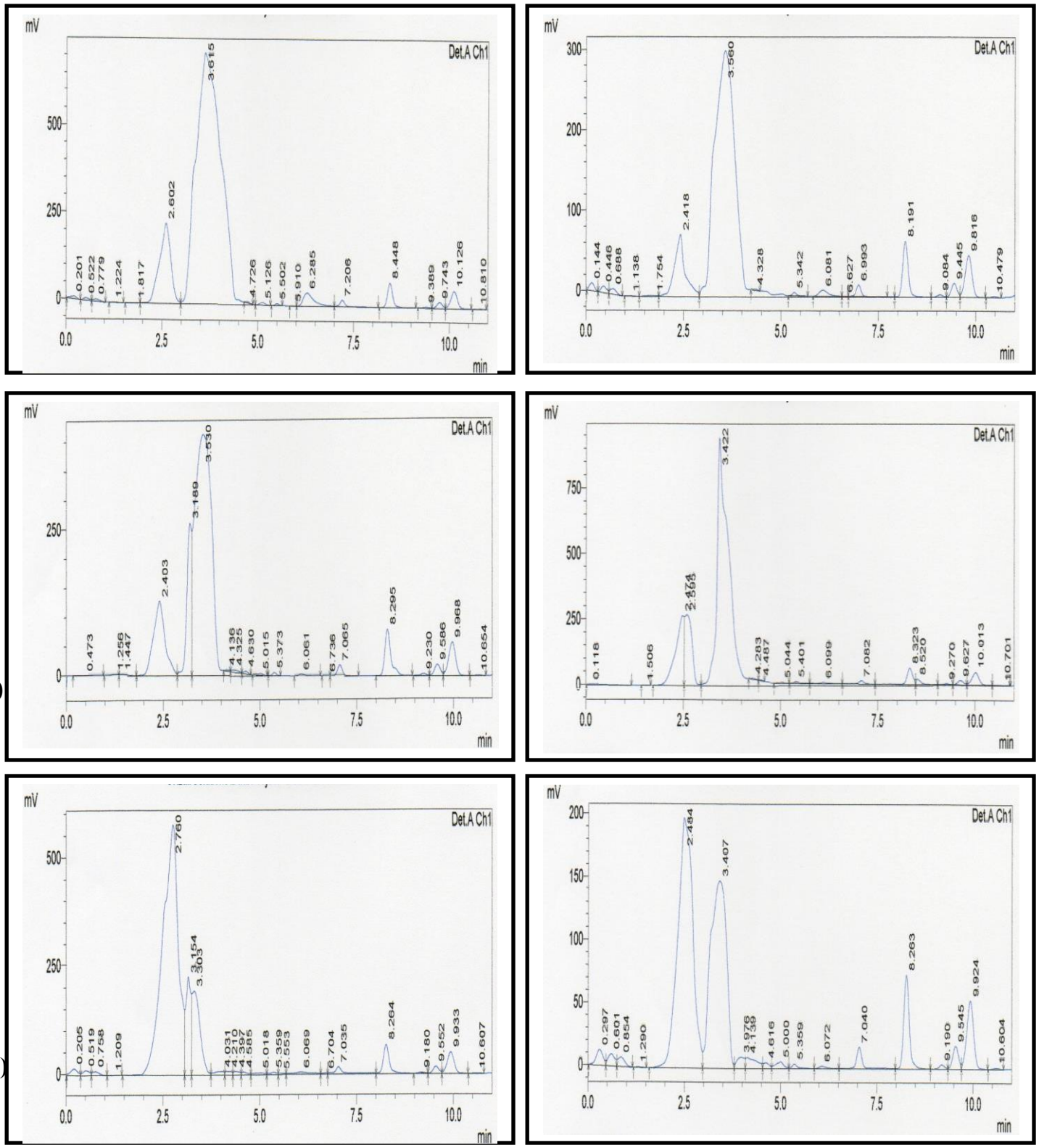
الشكل 6 : المنحنى القياسي لمنظم النمو GA_3 بتقنية (HPLC)



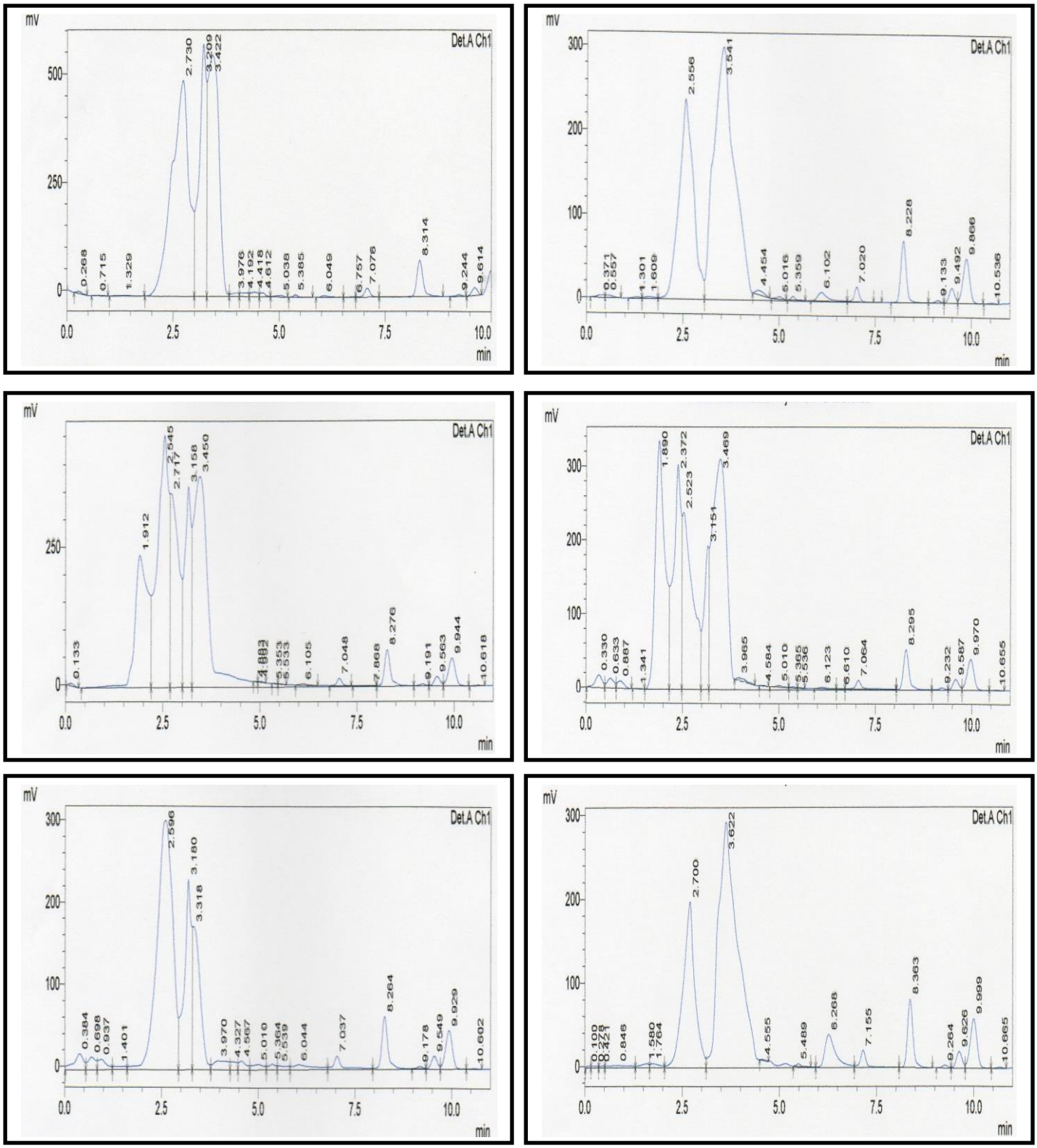
الشكل 7 : التقدير الكمي لمنظم النمو GA_3 (نانوغرام/غرام وزن رطب) بتقنية (HPLC) في اوراق صنف الشليك هابل المعاملة بالفطر *F. culmarum* وحده.



الشكل 8 : التقدير الكمي لمنظم النمو IAA (نانوغرام/غرام وزن رطب) بتقنية (HPLC) في اوراق صنفي الشليك (يمين) هابل و (يسار) فستفل (A) : المعاملة *F. culmarum* + المقاوم الحيوي الفطري، (B) : المعاملة بالفطر *Cylindrocarpon* spp. وحده، (C) : المعاملة *Cylindrocarpon* spp. + المقاوم الحيوى البكتيرى.



الشكل 9 : التقدير الكمي لمنظم النمو GA_3 (نانوغرام/غرام وزن رطب) بتقنية (HPLC) في اوراق صنفي الشليك (يمين) هابل و (يسار) فستفل (A) : المعاملة *Bipolaris* spp. وحده، (B) : المعاملة *Bipolaris* spp. + المقاوم الكيمياوي، (C) : معاملة المقاوم الحيوي الفطري وحده.



الشكل 10 : التقدير الكمي لمنظم النمو GA_3 (نانوغرام/غرام وزن رطب) بتقنية (HPLC) في اوراق صنفي الشليك (يمين) هابل و (يسار) فستفل (A): معاملة المقاوم الحيوي البكتيري وحده، (B) : معاملة المقاوم الكيمياوي وحده، (C) : معاملة المقارنة تربة غير معقمة.

أشار Thomas (2004) و Valerie وآخرون (2004) إلى أن للفطر *Trichoderma* spp. دورا في مستوى منظمات النمو في النبات ومنها الاوكسينات من خلال إنتاج هذه المنظمات أو تنظيم مستوياتها، وأشارت الدراسات إلى قدرة الفطر *Trichoderma* spp. في إنتاج منظمات النمو ومنها الاوكسين IAA، وقد بلغ هذا الإنتاج 200 مايكرو غرام/مل من الوسط الغذائي فضلا عن قدرة عزلات الفطر على إنتاج الجبرلينات.

كما بين عبود و وآخرون (2008) قدرة الفطر *Trichoderma* spp. في إنتاج منظمات النمو ومنها الجبرلينات والاوكسينات وتعد الجبرلينات نموذجاً لمواد الايض الثانوي في الإحياء المجهرية. وهناك 126 نوعاً من الجبرلينات تم تميزها في النباتات والفطريات والبكتريا (Taiz and Zeiger, 2002). ويخلق الجبرلين في الفطريات عبر مسار التربينات أحد المسارات المهمة والشائعة في الايض الثانوي للفطريات بدءاً من ارتباط وحدة من Acetyl CoA الناتجة من هدم الكلوكوز في دورة الكلايكوليسيز مع وحدة أخرى من Acetyl CoA ثم وحدة ثالثة لينتج في النهاية المركب المعروف باسم حامض Acetoacetyl CoA لينتج حامض الميفالونيك Mevalonic Acid والذي يحول إلى الايزوبرين النشط وهو عبارة عن Isopentenyl Pyrophosphate (IPP) والذي يتكون من الحامض السابق بعد نزع جزئي لـ CO_2 وجزيء ماء وكذلك عملية فسفرة في وجود مجموعة ATP ثم يتحول جزيء من IPP إلى شبيهة الايزوميري المعروف Dimethyle Ally lPP والذي يندمج مع هيكل السلسلة المفتوحة للتربين الأحادي (Geranyl- Monoterpene Pyrophosphate) ومنه تتكون التربينات الأخرى الأحادية سواء ذات السلسلة المفتوحة أو الحلقية و التي تختلف فيما بينها في تأكسد أو اختزال ذرات الكربون داخل الهيكل الكربونى للتربين، ويمكن الحصول على Granylgerany و Farnesy بإضافة وحدات أخرى من IPP (Dyakov *et al*., 2007). ومن التربينات المهمة في هذا الجانب من الدراسة التربينات الثنائية وهي التربينات التي يحتوى هيكلها على أربع وحدات من الأيزوبين ومن المركبات التابعة لهذه المجموعة الجبرلينات، وقد اتفق على أن المادة تعتبر جبرلينا متى ما احتوت على الهيكل الكربوني العام المعروف Gibbene (Taiz and Zeiger, 2002).

تعمل البكتريا المحفزة للنمو Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) بآليات عدة منها إنتاج مواد أيضية ومركبات عضوية وكذلك إنتاج IAA والإنزيمات المحللة لجدران خلايا الممرض والمضادات الحيوية والهرمونات التي يعتقد أنها تعمل على كبح الممرض (Glick and Bashan, 1997; Slininger *et al*., 2003 and Ahmad *et al*., 2005). كما ان للمجاميع الميكروبية في التربة دوراً في انتاج الهرمونات النباتية والمركبات الشبيهة بها وافرازها في المحيط الجذري وهذه الصفة وجدت في اجناس بكتيرية متعددة منها *Rhizobium* و *Azotobacter* و *Pseudomonas* و *Bacillus* ومن الهرمونات المهمة المنتجة من تلك البكتريا هو IAA و Cytokinin و Gibberellin وهذه الهرمونات تساهم بدورها بشكل كبير في تطور نمو النبات والسيطرة على سائر الفعاليات الفسيولوجية المختلفة في خلايا النبات (Glick, 1995; Vidyasekaran, 1998 and Glick *et al*., 1998)، تمكن Taller و Tit-yee (1988) من خلال تحليل الوسط الذي تنمو فيه البكتريا *A.vinelandii* وخلاياها بأستخدام صفائح TLC للكشف عن السايتوكاينينيات من الحصول على ثلاثة انواع وهي Trans- zeati و Isopentenyladenosine و Isopentenyladenine التي لها دور كبير في تحفيز نمو العديد من النباتات.

اثبت ابراهيم (2009) ان معاملة نباتات الفاصوليا بالعزلة Thk 20 ادت الى رفع مستوى GA_3 في النبات إذ بلغ مقداره 905 نانوغرام /غرام وزن رطب، تلى ذلك النباتات المعاملة بالعزلة Th1 إذ بلغ مقدار منظم النمو GA_3 664 نانوغرام/غرام وزن رطب. وتميزت العزلة ThK20 عن بقية العزلات في إنتاج IAA بفارق معنوي تلتها العزلتان Thk80 و *T.viride* ثم العزلتان Th1 و Th4 وأدناها إنتاجا العزلة Th3 وتقارب إنتاج العزلتين Th1 و *T.viride* من منظم النمو GA3 مع العزلة Thk20 إذ لم يوجد بينهما فروقات معنوية تلتها العزلتان Th4 و Th5 ثم للعزلات ,Thk80 و Th2 و Th3.

وبين ابراهيم (2012) ان أعلى مساحة للمنحنى الخاص بمنظم النمو GA_3 بلغت 13840439 و 12881681 لكلا الموسمين الاول والثاني على التوالي في نباتات البطاطا المعاملة بمستخلص عرق السوس بطريقة الرش الورقي + الإضافة إلى التربة في ظروف الري الاعتيادي، أما أعلى مساحة للمنحنى الخاص بمنظم النمو IAA وجد في النباتات المعاملة بمستخلص السوليامين بطريقة الرش الورقي + الإضافة إلى التربة في ظروف الري الاعتيادي بلغ 535321 في الموسم الأول، في حين بلغت أعلى مساحة له في الموسم الثاني 381034 نتيجة للمعاملة بمستخلص السوليامين بطريقة الرش الورقي تحت ظروف الشد المائي.

المصادر العربية

الابراهيم، أنور (2002). الفريز. نشرة إرشادية 451، وزارة الزراعة والإصلاح الزراعي الهيئة العامة للبحوث الزراعية، إدارة بحوث البساتين، سوريا

إبراهيم، بسام يحيى (2009). استحداث طرز إحيائية من أنواع الفطر *Trichoderma* لتحسين كفاءتها كعوامل للمكافحة الإحيائية وتحفيز صفات نمو النبات. أطروحة دكتوراه، قسم وقاية النبات، كلية الزراعة والغابات، جامعة الموصل، الموصل، العراق.

إبراهيم، فاضل فتحي رجب (2012). الدور الفسلجي للكالسيوم ومستخلصي جذور عرق السوس والسوليامين وطرائق الإضافة في تقليل ضرر الشد المائي وتحسين صفات النمو وحاصل ونوعية البطاطا *.Solanum tuberosum L*. أطروحة دكتوراه، كلية الزراعة، جامعة الموصل، الموصل، العراق.

حسن، طه الشيخ (2004). زراعة الكيوي والافوكادو والفريز. دار علاء الدين للنشر والطباعة والتوزيع، الطبعة الأولى، دمشق، سوريا.

خفاجي، يحيى (2000). الفراولة الذهب الأحمر في القرن الجديد. أيراك للنشر والتوزيع، الطبعة الأولى، القاهرة، جمهورية مصر العربية.

السعيدي، إبراهيم حسن محمد (2000). إنتاج الثمار الصغيرة، الجزء الثاني، دار الكتب للطباعة والنشر، جامعة الموصل، العراق.

طه، شلير محمود؛ خورشيد، بهرام (2004). استجابة أربعة أصناف من الشليك للضروف البيئة في حقل كرده ره شه/أربيل. مجلة زانكو، **16** (5)، العراق.

عبود، هادي مهدي؛ عبود، مؤيد رجب؛ سعيد، فلح حسن(2008). الكشف عن المواد الشبيهة بالجبرلينات والاكسينات وهرمون الاثلين في راشح نمو ثلاثة عزلات محلية من الفطر *Trichoderma harzianum*. مجلة العلوم الزراعية العراقية، **39**، 12-18.

المصادر الأجنبية

Agrios, G.N.(2005). Plant Pathology, 5th ed. Elsevier Academic Press, Burlington, U.S.A.

Ahmed, F.; Ahmed, I.; Saghir, K.M. (2005). Indol acetic acid production by the indigenous isolates of *Azotobacter* and fluorescent *Pseudomonas* in the presence and absence of tryptophan.*Turk. J. Biol*. **29**,29-34.

Don, G.H.; Apollo, O.G.; Scott, W.M. (2013). *Macrophomina phaseolina* and its association with strawberry crown rot in Australia, Intern. *J. Fruit S.*, **13** (1-2), 149-155.

Dyakov, Yu.T.; Dzhavakhiya, V.G.; Korpele, T. (2007). "Comprehensive and Molecular Phytopathology". Elsevier Publications. 483 p.

Fang, X.L.; Phillips, D.Li.H.; Sivasithamparam, K.; Barbetti, M.J. (2011). Severity of crown and root diseases of strawberry and associated fungal and oomycete pathogens in Western Australia. *J. Aus. Plant Path.* **40**, 109-119.

Garrido, C.; Carbú, M.; Fernández-Acero, F.J.; Boonham, N.; Colyer, A.; Cantoral, J.M.; Budge, G. (2009). Development of protocols for detection of *Colletotrichum acutatum* and monitoring of strawberry anthracnose using real-time PCR. *J. Plant Pathology*, **58**(1), 43–51.

Glick, B.R. (1995). The enhancement of plant growth by free living bacteria. *Can. J. Micro*., **41**,109–114.

Glick, B.R.; Bashan, Y. (1997). Genetic manipulation of plant growth promoting bacteria to enhance biocontrol of phytophogens. *J. Biotechn. Adv*., **15**, 353-378.

Glick, B.R.; Penrose, J.J.; Cantoral, J.Li. (1998). A model for the lowering of plant ethylene concentrations by plant growth-promoting bacteria. *J. Theor. Biol.*, **190**, 63-68.

Inga, M.; Jamshid, F.; Berndt, G. (2006). *Gnomonia fragariae*, a cause of strawberry root rot and petiole blight, *J. Plant Pathology*, **114**, 235-244.

Kelen, M.; Demiraloy, E.C.; Sen, S.; Ozkan, G. (2004). Separation of abscisic acid indole acetic acid and gibberellic acid in 99 Rcvitis *Berlandievix vitis rupestvis* and rose oil (*Rose domascena* Mill) by reversed phase liquid chromatography. *Turk.J.Chem.***28**, 603-610.

Manici, L.M.; Caputo, F.; Baruzzi, G. (2005). Additional experiences to elucidate the microbial component of soil suppressiveness towards strawberry black root rot complex, *J. Ann. App. Biol.* **146** (1), 421-431

Mertely, J.C.; Legard, D.E. (2004). Detection, Isolation, and Pathogenicity of *Colletotrichum* spp. from strawberry petioles. *J. Plant Disease*, **88** (4), 407-412.

Moročko, I. (2006). Characterization of the strawberry pathogen *Gnomonia fragariae*, and biocontrol possibilities. *J. Doctoral dissertation*, ISSN 1652-6880, ISBN 91-576-7120-6.

Nonnecke, G.R. (2005). Strawberry culture performance in 2005. Iowa State University, Horticulture Research station, *J.ISRFO*: 5-36.

Saydam, C.; Copeu, M.; Sezgin, E. (1973). Studies on the inoculation techniques of cotton wilt caused by *Verticillium dehliae* Kleb. Investigation on the laboratory inoculation techniques. J. Turk. Phytopatho., **2**, 69 – 75.

Schroersa, H.J.; Alenka, M.; Francois, H.; Pedro, W.C. (2008).*Cylindrocarpon pauciseptatum* sp. nov., with notes on *Cylindrocarpon* species with wide, predominantly 3-septate macroconidia, *J. Mycol. Res*., **112**(5), 82 – 92.

Slininger, P.J.; Behle, R.W.; Jackson, M.A.; Schisler, D.A. (2003). Discovery and development of biological agents to control crop pests. *Neotropical Entomol.* **32**, 183–195.

Taiz, L.; Zeiger, E. (2002). "Plant Physiology". 3rd ed. , Publisher Sinauer Associates 690 p.

Taller, B.J.; Tit-Yee.Wong. (1988). Cytokinins in *Azotobacter vinelandii* Culture Medium. *J. Amer. Soci. for Micro*., **32**, 266.

Tewoldemedhin, Y.; Mazzola, M.; Mostert, L.; Mcleod, A. (2011). *Cylindrocarpon* species associated with apple tree roots in South Africa and their quantification using real-time PCR. Europ. *J. Plant Pathol*., **129**(12), 637-651.

Thomas, B. (2004). Effect of *Trichoderma* colonization on auxin-mediated regulation of root elongation. *J. Plant Growth Regulation.* **43**(23), 89-92.

Valerie, G.; Antoun, H.; Tweddell, R. (2004). "Growth Stimulation of Greenhouse Tomato Plants by *Pseudomonas putid* and *Trichoderma atroviride*. Proceedings", 33rd. PGRSA Annual Meeting.

Vidhyasekaran, P. (1998). "Biological Suppression of Major Diseases of Field Crops Using Bacterial Antagonists". In: Biological Suppression of Plant Disease, Phytoparasitic Nematodes and Weeds (Eds.) Singh, S.P. and Hussaini, S.S., National seminar on Biological suppression of plant disease, phytoparasitic nematodes and weeds– present scenario and future thrust. Project Directorate of Biological Control, Bangalore, India, pp.8-95.