



تقييم كفاءة مسحوق قشور الرمان و البكتيريا *Pseudomonas fluorescens* ضد الفطر *Pythium aphanidermatum* المسبب لمرض موت البادرات في الخيار

ناهدة مهدي صالح* , صبا باقر الجبوري

قسم وقاية النبات, كلية الزراعة, جامعة بغداد, بغداد, العراق

*alnahida@yahoo.com

الخلاصة

اجريت هذه الدراسة لاختبار فاعلية مسحوق قشور الرمان (*Punica granatum*) والبكتيريا *Pseudomonas fluorescens* ضد الفطر *Pythium aphanidermatum* المسبب لمرض موت بادرات الخيار. أشارت النتائج أن إضافة مسحوق قشور الرمان بتركيز 2%, و عالق البكتيريا *P. fluorescens* بمعدل 4×10^7 وحدة تكوين مستعمرة/مل والمبيد الفطري برفيكور- ن بتركيز 0.5 مل /لتر الى الوسط الزراعي آكار مستخلص البطاطا و الدكستروز أدى الى تثبيط نمو الفطر بنسبة 100 و 100 و 72.1% بالتتابع. وفي ظروف البيت الزجاجي ابدت معاملة بذور الخيار بمسحوق قشور الرمان كفاءة عالية في خفض النسبة المئوية لموت البادرات قبل البزوغ إذ بلغت 3.3% مقارنةً ب 16.6% في معاملة البكتيريا و 96.6% في معاملة المقارنة (الفطر الممرض لوحده). ولم تكن الفروق معنوية ($p=0.05$) بين معاملي المبيد الفطري برفيكور- ن و مسحوق قشور الرمان في حين تفوق المبيد الفطري على البكتيريا في خفض النسبة المئوية لموت البادرات قبل البزوغ . كما أظهرت كل من معاملي مسحوق قشور الرمان و البكتيريا تفوقاً على معاملة المقارنة المشتملة على الفطر الممرض في خفض النسب المئوية لموت البادرات قبل و بعد البزوغ. ادت معاملة البكتيريا الى زيادة في الوزن الطري والجاف وارتفاع النباتات ولم تظهر معاملة مسحوق قشور الرمان تأثيراً في معايير النمو .

Evaluation of Pomegranate Peel Powder and *Pseudomonas Fluorescens* Against *Pythium Aphanidermatum* The Causal Agent of Cucumber Seedling Damping-Off

Nahida M.Saleh*, Saba Bakir Al-Juboory

Department of Plant Protection, College of Agriculture, University of Baghdad, Baghdad, Iraq

Abstract

This study was conducted to evaluate the activity of pomegranate (*Punica granatum* L.) peel powder and *Pseudomonas fluorescens* against *Pythium aphanidermatum* the causal agent of cucumber seedlings damping-off. Results showed that augmenting of pomegranate peel powder at 2%, *P. fluorescens* suspension contain 4×10^7 cfu/ml, and the fungicide Previcure N at 0.5 ml/L to culture media (PDA) were inhibited the pathogen growth by 100, 100 and 72.1% respectively. Results of greenhouse experiment indicated that treatment of cucumber seeds with pomegranate peel powder, reduced pre-emergence damping-off percentage to 3.3% compared with 16.6% disease with *P. fluorescens* and 96.6% in control treatment (pathogen only). No significant differences were observed between

fungicide and pomegranate peel powder ($p=0.05$), while the fungicide was more active than the bacteria in reducing pre-emergence damping-off percentage. Pre-emergence and post-emergence damping-off of seedlings reduced by both pomegranate peel powder and the bacteria compared with control (pathogen only). *P.fluorescens* increased fresh and dry weights and plant heights, while pomegranate peel powder didn't affect these growth parameters.

Keywords: *Pythium Aphanidermatum*, *Pseudomonas Fluorescens*, Pomegranate

المقدمة

يعد مرض موت البادرات قبل و بعد البزوغ المتسبب عن أنواع الفطر *Pythium spp* من الأمراض المهمة التي تسبب خسائر اقتصادية في محاصيل الخضر في جميع أنحاء العالم [1]. وان سرعة إنبات الحواظ البوغية للفطر *Pythium* التي تتراوح بين 1.5-2.5 ساعة بعد تعرضها إلى الإفرازات أو المواد المتطايرة خلال عملية إنبات البذور [2] ومقدرة الفطر على إحداث الإصابة مباشرة بعد هذه المدة الزمنية جعل من السيطرة على هذا المرض صعبة جدا [1]. وعلى الرغم من نجاح استعمال المبيدات الكيميائية التي أعطت نتائج جيدة في السيطرة على هذه الامراض . إلا أن المخاطر الكبيرة التي تسببها هذه المبيدات على صحة الانسان وعلى النظام البيئي فضلا عن تطور سلالات مقاومة من الفطر بسبب تعرضه المستمر لها، الأمر الذي شجع على تفادي استخدام المبيدات [4،3،1] وعلى إيجاد طرق بديلة أكثر اماناً لادارة مثل هذه الامراض. ومن هذه الطرق المستخلصات النباتية حيث تمتلك فعالية ضد العديد من المسببات المرضية [5] أظهر مسحوق قشور الرمان فعالية في تثبيط الفطريات و بعض الاحياء المجهرية الأخرى [8،7،6]، واستخلصت مركبات فينولية من قشور الرمان والتي أثبتت كفاءة عالية في تثبيط الغزل الفطري لمسببات مرضية عديدة منها الفطر *sp. Pythium* [9] استعملت أيضا البكتيريا كعامل مكافحة أحيائية و منها *Pseudomonas fluorescens* التي أظهرت كفاءة عالية في مكافحة الفطر *Pythium spp* [12،11،10،1]، حيث ان هذه البكتيريا تنتج المركب 2,4-Diacetyl phloroglucinol الذي يمتلك فعالية تثبيطية لنمو العديد من الفطريات المسببة لأمراض تعفن البذور و الجذور و موت البادرات [14،13]. ونظراً لكون الفطر *Pythium aphanidermatum*(Edson)Fitz من الفطريات المهمة على محصول الخيار في العراق [16،15،11،10] والخسائر الكبيرة التي يسببها ولخطورة استعمال المبيدات الكيميائية. فقد هدفت الدراسة الى اختبار فاعلية مسحوق قشور الرمان و

البكتيريا *Pseudomonas fluorescens* و مقارنتها بالمبيد برفيكويرن في مكافحة مرض موت بادرات الخيار المتسبب عن الفطر *P.aphanidermatum* مختبرياً و تحت ظروف البيت الزجاجي.

مواد وطرائق العمل

تحضير مسحوق قشور الرمان

عقمت قشور الرمان بمحلول هايوكلورات الصوديوم بتركيز (1% كلور حر) ثم غسلت بالماء المقطر المعقم ونشفت بورق نشاف . جففت بفرن كهربائي على درجة حرارة 50 م° لمدة 48 ساعة و طحنت بمطحنة كهربائية [6] .

اختبار فاعلية مسحوق قشور الرمان و البكتيريا

Pseudomonas fluorescens ضد الفطر *Pythium*

aphanidermatum على الوسط الزراعي

أضيف مسحوق قشور الرمان بتركيز 2%، و عالق البكتيريا *P.fluorecsens* بتركيز 4×10^7 بواقع 1 مل/ طبق والمبيد برفيكويرن - ن (إنتاج شركة باير الألمانية) بتركيز 0.5 مل/لتر الى الوسط الزراعي مستخلص البطاطا و الدكستروز و الأكر(PDA) قبل تصلبه على انفراد، خلط الوسط جيداً و صب في أطباق بتري قطر 9 سم. لقحت الأطباق بعد تصلب الوسط في مراكزها بقرص قطره 5 ملم من مزرعة للفطر *P.aphanidermatum* نامية على الوسط الزراعي PDA بعمر 5 أيام، وواقع 4 مكررات لكل معاملة و للمقارنة لفتح الوسط الزراعي PDA بالفطر الممرض فقط. حضنت الأطباق بدرجة حرارة 25 ± 1 و جرى قياس التوسع القطري للفطر كل 24 ساعة. حسبت النسبة المئوية للتثبيط بعد 72 ساعة حسب المعادلة الآتية:-

% للتثبيط = ((متوسط قطر النمو في المقارنة - متوسط قطر النمو في المعاملة)/متوسط قطر المقارنة) 100

حسبت النسبة المئوية للبادرات الميتة قبل البزوغ بعد عشرة أيام من الزراعة، و النسبة المئوية للبادرات الميتة بعد البزوغ بعد خمسة عشر يوماً من الزراعة، كما جرى حساب ارتفاع النباتات والوزن الطري والجاف للنباتات الباقية بعد 32 يوم من إجراء التجربة. حللت النتائج إحصائياً بحساب اقل فرق معنوي [17].

النتائج والمناقشة

أختبار فاعلية مسحوق قشور الرمان والبكتيريا *Pseudomonas fluorescens* في مكافحة الفطر

Pythium aphanidermatum على الوسط الزرعي

أظهرت النتائج جدول 1 أن كلاً من مسحوق قشور الرمان و البكتيريا *P. fluorescens* قد أظهرت كفاءة عالية في تثبيط نمو الفطر *P. aphanidermatum* على الوسط الزرعي PDA و بنسبة 100% متفوقة بذلك على المبيد برفيكور-ن الذي احدث تثبيطاً للفطر بنسبة 72.1% . و قد أشارت دراسات سابقة الى فاعلية مسحوق قشور الرمان في تثبيط نمو عدد من الفطريات على الأوساط الزرعية [6،9]. وقد تعود فاعلية مسحوق قشور الرمان الى احتوائه على القلويدات التي من أهمها Pellctierime و حامض Galutannic و Grantin و مادة Punicin و مواد دباغية أخرى و التي أثبتت فاعليتها ضد مختلف الأحياء المجهرية [18،19،20،21] فضلاً عن احتوائه على الفينولات التي أظهرت فاعلية عالية في تثبيط نمو عدد من الفطريات الممرضة للنبات من ضمنها الفطر *Pythium sp.* [9] وتوصل باحثون آخرون الى أن البكتيريا *P. fluorescens* ذات مقدرة عالية على تثبيط نمو الفطر *P. aphanidermatum* على الأوساط الغذائية في المختبر [10،11،22]. وقد فسرت آلية التثبيط أما بقابلية البكتيريا على إنتاج المضادات الحياتية مثل Pyoluteorin و Oomycin A و المركبات الايضية السامة [23] أو بالتطفل المباشر على الغزل الفطري و تحليله و استخدامه كمصدر من مصادر الطاقة أو بالمنافسة على المواد الغذائية. كما ان لهذه البكتيريا القدرة على إنتاج مجموعة من المركبات الفعالة حيويًا ضد الفطريات كـ Siderophores والتي هي مركبات مخيلية ذات جذب عال للحديد الثلاثي مما يجعله غير جاهز للأحياء الدقيقة الأخرى كالفطريات [10،24،25].

اختبار فاعلية مسحوق قشور الرمان والبكتيريا *Pseudomonas fluorescens* في مكافحة مرض موت البادات تحت ظروف البيت الزجاجي.

تحضير اللقاح الفطري

غسلت ثمار خيار وعقمت سطحياً بالكحول الايثيلي 70% مدة دقيقة. جرحت الثمار ولقحت بالفطر *P. aphanidermatum* النامي على الوسط الغذائي PDA بعمر أربعة أيام . ثم وضعت في أكياس البولي اثلين وحضنت لمدة خمسة أيام عند درجة حرارة 25 ± 1 . هرس الثمار بالخلط الكهربائي مع الماء المعقم بمعدل 250غم/لتر و اضيف 100 مل من هذا المستخلص لكل أصيص في المعاملات التي تتطلب إضافة لقاح الفطر الممرض. رطبت الأصص وغلقت بأكياس البولي اثلين المثقب لمدة يومين قبل الزراعة [11].

معاملة البذور

عقمت بذور خيار بهايوكلورات الصوديوم بتركيز (1% كلور حر) لمدة دقيقتين ثم غسلت مرتين بالماء المقطر المعقم ، واضيف لها مسحوق قشور الرمان بنسبة 1:1 (وزن: وزن). نعتت بذور خيار في عالق البكتيريا *P. fluorescens* بحجم لقاح 4×10^7 وحدة تكوين مستعمرة /مل لمدة 12 ساعة قبل الزراعة.

زرعت البذور في تربة مزيجية معقمة في أصص بلاستيكية (15x15سم) ، و اجريت المعاملات الآتية: زراعة بذور غير معاملة في تربة ملقحة بالفطر *P. aphanidermatum* (مقارنة) ؛ زراعة بذور غير معاملة في تربة معقمة (مقارنة) ؛ زراعة بذور معاملة بمسحوق قشور الرمان في تربة معقمة ؛ زراعة بذور معاملة البكتيريا *P. fluorescens* في تربة غير ملقحة بالفطر الممرض ؛ زراعة بذور غير معاملة في تربة ملقحة بالفطر *P. aphanidermatum* والمبيد برفيكور-ن بتركيز 0.5 مل/ لتر بمعدل 100 مل لكل أصيص؛ زراعة بذور معاملة بمسحوق قشور الرمان في تربة ملقحة بالفطر *P. aphanidermatum* ؛ زراعة بذور معاملة بالبكتيريا *P. fluorescens* في تربة ملقحة بالفطر *P. aphanidermatum*. نفذت هذه التجربة وفق التصميم التام التعشبية CRD بثلاثة مكررات وعشر بذور في كل مكرر.

جدول 1- فاعلية قشور الرمان و البكتيريا *Pseudomonas fluorescens* و المبيد الفطري Previcure N في نمو الفطر على الوسط الزراعي *Pythium aphanidermatum*

المعاملات	معدل قطر المستعمرة (سم)	نسبة التثبيط %
مسحوق قشور الرمان	0.0	100
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	0.0	100
المبيد الفطري Previcure N	2.2	72.1
المقارنة	7.9	0.0
LSD*0.05	0.5	

بوجود الفطر الممرض *P. aphanidermatum* على معاملة المقارنة (الفطر الممرض فقط) . حيث بلغت النسبة المئوية لموت البادرات قبل البزوغ و بعده باستخدام مسحوق قشور الرمان (3.3% و 0.0%) و البكتيريا *P. fluorescens* (16.6% و 4.1%) على الترتيب . في حين بلغت النسبة المئوية لموت البادرات في معاملة المقارنة (الفطر الممرض فقط) قبل و بعد البزوغ (96.6% و 100%) على الترتيب. و لم تكن الفروق معنوية بين معاملي المبيد الفطري و مسحوق قشور الرمان في خفض النسبة المئوية لموت البادرات قبل البزوغ و بعده.

اختبار فاعلية مسحوق قشور الرمان والبكتيريا *Pseudomonas fluorescens* في مكافحة مرض موت البادرات تحت ظروف البيت الزجاجي أظهرت النتائج جدول 1 تفوق مسحوق قشور الرمان على البكتيريا *P. fluorescens* في خفض النسبة المئوية لموت البادرات قبل البزوغ و بفرق معنوي إحصائياً (p=0.05) كما تفوق أيضا بعد البزوغ ولكن بفارق غير معنوي و هذا يؤكد ما وجدته باحثون آخرون من أن قشور الرمان ذات فاعلية عالية ضد مدى واسع من الفطريات المسببة لأمراض النبات ومنها الفطر *Pythium sp.* [9]. كما أظهرت النتائج تفوق كل من معاملي مسحوق قشور الرمان و البكتيريا *P. fluorescens*

جدول 2- أثير مسحوق قشور الرمان و البكتيريا *Pseudomonas fluorescens* في النسبة المئوية لموت البادرات المصابة بالفطر *Pythium aphanidermatum* و بعض معايير نمو نبات الخيار

المعاملات	% للإصابة بمرض موت البادرات		معدل طول النبات / سم	معدل وزن النبات /غم	
	قبل البزوغ	بعد البزوغ		طري	جاف
تربة معقمة فقط	0.0	0.0	16.6	2.3	0.16
Pa	96.6	100	0.0	0.0	0.0
مسحوق قشور الرمان	0.0	0.0	14.75	2.2	0.16
Pf	0.0	0.0	17.83	3.5	0.20
Pa+Pre N	0.0	0.0	16.35	2.17	0.16
مسحوق قشور الرمان Pa+	3.3	0.0	16.5	2.0	0.16
Pa+Pf	16.6	4.1	17.5	3.0	0.16
LSD*0.05	6.4	53.8	1.18	1.02	0.04

Pa=*Pythium aphanidermatum*, Pf=*Pseudomonas fluorescens*, PreN=Previcure N

في حين تفوق المبيد الفطري على البكتيريا *P. fluorescens* في مكافحة المرض قبل البزوغ و لم تختلف عنه بعد البزوغ. و قد يعود السبب في فاعلية قشور الرمان إلى احتوائها على القلويدات والفلافونويدات والفينولات والستيرويدات والتريتريينات والبونيكالاجين التي أثبتت فاعليتها ضد العديد من الأحياء [7،8،9،26،27]. وهي تحتوي أيضاً على مواد فعالة ضد البكتيريا و الفطريات مثل punicalagin و kaempferol و galocatechen و catechin و granatin و castalagin و quercetin [28]. كما وجد أن قشور الرمان تؤثر في جدران خلايا الكائنات الدقيقة [29]. أما فاعلية البكتيريا *P. fluorescens* فقد فسرت بقدرتها على إفراز المضادات الحياتية مثل Pyrrolnitrin و 2,4-Diacetylphloroglucinol فضلاً عن ال Siderophores [13،14،22،24]. كما أنها تعمل على استحثاث المقاومة الجهازية في النبات [30،7]. وفيما يخص تأثير المعاملات في معايير النمو فقد أظهرت النتائج جدول 2 وجود تفوق معنوي ($p=0.05$) للبكتيريا *P. fluorescens* حيث حققت زيادة في الوزن الطري و الجاف سواء بوجود الفطر الممرض أو بدونه حيث بلغت 3.0 غم و 0.19 غم و 3.5 غم و 0.20 غم على الترتيب في حين كانت في معاملة المقارنة (بدون الفطر الممرض) 2.3 غم و 0.16 غم على الترتيب. كما أظهرت هذه البكتيريا تفوقاً في معدل ارتفاع النبات عند استخدامها بدون الفطر الممرض قياساً بمعاملة المقارنة التي تمثلت بالتربة المعقمة فقط و هذا ما يؤكد نتائج توصل إليها باحثون آخرون [10،11]. إن السبب في زيادة نمو النباتات بفعل المعاملة بالبكتيريا *P. fluorescens* قد يعود إلى دورها في زيادة جاهزية العناصر الغذائية [30] فضلاً عن إنتاجها لحمض السالسلك الذي له القدرة على تحفيز إنتاج منظمات النمو كالأكسينات و الجبرلينات فضلاً عن زيادة الكلوروفيل في الأوراق [31،32]. و لم يكن لقشور الرمان تأثير في معايير النمو إذ لا يوجد في المصادر ما يشير إلى احتوائها على عناصر أو مواد تتعلق بتغذية النبات.

Reference

- Whipps, J. M. and D.R., Lumsden. 1991. Biological control of *Pythium species*. Biocontrol Science and Technology. **1**:75-90.
- Osburn, R. M., M.V., Schroth, J. G. Hancock and M. Hendson. 1989. Dynamics of sugar beet colonization by *Pythium ultimum* and *Pseudomonas* species: Effects on seed rot and damping-off. *Phytopathology*. **79**:709-716.
- Barra, G. and J. B. Ristaino. 2001. Resistance to mefenoxam and metalaxyl among field isolates of *Phytophthora capsici* causing Phytophthora blight of bell pepper. *Plant Disease*. **85**:1069-1075.
- Taylor, R.J., B. Salas, G. A. Secor, V. Rivera and N.C. Gudmestad. 2002. Sensitivity of North American isolates of *Phytophthora erythroseptica* and *Pythium ultimum* to mefenoxam (metalaxyl). *Plant Disease*. **86**:797-802.
- Bergonzelli, G.E., D. Donnicola, N. Porta and L. G. Corthesy. 2003. Essential oils as components of diet based approach to management of milicobacter infection. *Antimicrobial Agent and Chemotherapy*. **47(10)**: 3240-3246.
- الجبوري، صبا باقر عبد. 2004. المكافحة المتكاملة لبعض المسببات الفطرية المرافقة لثمار العنب في المخزن. اطروحة دكتوراه. كلية الزراعة، جامعة بغداد. صفحة 92.
- Holetz, F.B., G.L. Pessini, N.R. Sanches, D.G. Cortez, C.V. Nskamura and B.D. Filho. 2002. Screening of some plants used in the Brazilian Folk Medicine for treatment of infectious diseases. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*. **97**:1027-1031.
- Voravuthikunch, S.P., T. Sririrak, S. Limsuwan, T. Supawita, T. Lida and T. Honda. 2005. Inhibitory effects of active compounds from *Punica granatum* pericarp on verocytotoxin production by Enterohemorrhagic *Escherichia coli* 0157:H7. *Journal of Health Science*. **51**:590-596.
- Osorio, E., M. Flores, D. Hernandez, J. Ventura, R. Rodriguez and C. Aguilar. 2010. Biological efficiency of polyphenolic extracts from pecannuts shell (*Carya illinoensis*), pomegranate husk (*Punica granatum*) and creosote bush leaves (*Larrea tridentate* cov.) against plant pathogenic fungi. *Industrial Crops and Products*. **31**:153-157.

10. الدليمي، إسماعيل عباس جديع. 2000. تقويم كفاءة البكتيريا *Pseudomonas fluorescens* في استحثاث مقاومة جهازية في نبات الخيار ضد الفطرين *Pythium aphanidermatum* (Edson) Fitz و *Pseudoperonospora cubensis* (Berk and Curt) Rostow . اطروحة دكتوراه. كلية الزراعة. جامعة بغداد. صفحة 120.
11. حسان، الآء خضير. 2005. تقويم فاعلية بعض عوامل الاستحثاث و المبيدات في حماية نبات الخيار من الاصابة بالفطر الممرض *Pythium aphanidermatum*. رسالة ماجستير. كلية الزراعة. جامعة بغداد. صفحة 109.
12. Dieudonne, N., F. Henri, E. O. Germain, N.N. Laurette and R. J. Stephan. 2007. *Pseudomonas* and symbiotic microorganisms as biocontrol agents against fungal disease caused by *Pythium aphanidermatum*. African Journal of Biotechnology. 6:190-197.
13. Landa, B.B., H.A.E. Dewerd, B. B. Mespadden- Gardener and D. M. Weller. 2002. Comparison of three methods for monitoring populations of different genotypes of 2,4-diacetyl Phloroglucinol fluorescent *Pseudomonas fluorescens* in the Rhizosphere. Phytopathology. 92:29-37.
14. Mavrodi, O.V., B. B. Mespadden-Gardener, L. S. Thomashow, D. V. Marrodi , R. F. Bonsall and D. M. Weller. 2001. Genetic diversity of PhLD from 2,4-diacetyl Phloroglucinol producing fluorescent *seudomonas spp.* Phytopathology. 91:35-41.
15. المالكي، بشرى صبير عبد السادة. 2002. تأثير المخلفات الحيوانية و المقاومة الاحيائية في الفطر *Pythium aphanidermatum* المسبب لمرض تعفن بذور و موت بادرات الخيار . رسالة ماجستير. كلية الزراعة. جامعة بغداد. صفحة 87.
16. حسن، هزاع محسن. 1979. دراسات تشخيصية و بايولوجية للأمراض التي تسببها الفطريات البيضية من عائلة Pythiaceae على القرعيات . رسالة ماجستير. كلية الزراعة . جامعة بغداد. 150 صفحة.
17. الراوي، خاشع محمود و عبد العزيز خلف الله. 1980. تصميم و تحليل التجارب الزراعية. دار الكتب للطباعة و النشر. جامعة الموصل صفحة 488.
18. خلف الله، عبد العزيز محمد. 1988. النباتات الطبية والعطرية و السامة في الوطن العربي. جامعة الدول العربية. المنظمة العربية للتنمية الزراعية. الخرطوم. دار مصر للطباعة.
19. مجيد، سامي هاشم و مهند جميل محمود. 1988. النباتات و الأعشاب العراقية بين الطب الشعبي و البحث العلمي. الطبعة الاولى. دارالثورة للطباعة والنشر. بغداد. صفحة 274.
20. achado, T. B., I. C.R. Lead, A.C.F. Amaral , K.R.N. Santos, M.G. Silva, and R. M. Kuster. 2002. Antimicrobial Ellagitannin of *Ponica granatum* fruits. J. Braz. Chem. Soc. 13:606-610.
21. قدامة، أحمد. 1985. قاموسالغذاء و لتداوي بالنباتات. الطبعة الخامسة. منشورات دار النفائس. بيروت. ص. 731-733.
22. Rahmamoorthy, V., T. Raguchander and R. Samiyappan. 2002. Enhancing resistance of tomato and hot pepper to *Pythium* diseases by seed treatment with fluorescent *Pseudomonas*. European J. of Pl. Pathol. 108:429-441.
23. Rosales, L. Thomashow, R.J. Cook, and T.W. New. 1995. Isolation and identification of antifungal metabolites produced by rice. Associated antagonistic *Pseudomonas spp.* Phytopathology. 85:1028-1032.
24. عبد الواحد، أياد و محمد عامر فياض و علي سالم حسين الغالبي . 1996. تطبيق تقنية التلقيح البكتيري بالبكتيريا *Pseudomonas fluorescens* على نبات الرز و تأثيرها على القدرة الانتاجية. مجلة إباء للأبحاث الزراعية. 6(1):71-83.
25. Ongena, M., F. Daayf, P. Jacques, P. Thonat, N. Benhamou, T. C. Paulitz, P. Cornelis, N. Koedam and R. R. Belanger. 1999. Protection of cucumber against *Pythium* root rot by fluorescent *Pseudomonads*: Predominant role of induced resistance over siderophores and antibiosis. Plant Pathology. 48:66-76.
26. Djipa, D. C., M. Delmee and J. Quetin-Leclercq . 2000. Antimicrobial activity of bark extracts of *Syzygium jambos* (L.) Alston (Myrtaceae). J. Ethnopharmacol. 71:307-313.

27. Hussein, S.A.M. **1997**. Tannins from the leaves of *P. granatum*. *Phytochemistry*. **45**:819-823.
28. Jayaprakasha, G. K., P.S. Negi, B.S. Jena, **2006**. Antimicrobial activities of pomegranate. In: Tayel, A. A., A. F. El-Baz, M. F. Salen and M. H. El-Hadary. 2009. Potential applications of pomegranate peel extract for the control of citrus green mould. *Journal of Plant Diseases and Protection*. **116**:252-256.
29. Voravuthikunchai, S.P., S. Limsuwan and H. Mitechell. **2006**. Effects of *Punica granatum* pericarps and *Quercus infectoria* Nutgalls on cell surface hydrophobicity and cell survival of *Helicobacter pylori*. *Journal of Health Science*. **52**:154-159.
30. Bakker, P. A. H. M., C. M. J. Pieterse, and L. C. Van Loon. **2007**. Induced systemic resistance by fluorescent *Pseudomonas spp.* *Phytopathology*. **97**:239-243.
31. Leeman, M., F. M. Denouden, J. A. Vanpelt, F. P. M. Dirkx and H. Steijl. **1996**. Iron availability affects induction of systemic resistance to fusarium wilt of radish by *Pseudomonas fluorescens*. *Phytopathology*. **86**:149-155.
32. Shehata, S.A.M., M. A. Saeed and Abo El-Nour. **2000**. Physiological response of cotton plant to the foliar spray with salicylic acid. *Annals. Agric. Sci, Ain Shams Univ. Cairo*. **45**:1-18.