

## TOPRAK KÖKENLİ FUNGAL PATOJENLERİN FLUORESAN PSEUDOMONADLARLA BİYOLOJİK MÜCADELESİ

Hasan Murat AKSOY

Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Samsun

Geliş Tarihi: 15.06.2006

**ÖZET:** Fideliklerde toprak kökenli fungal patojenler, oldukça tahripkardılar ve ekonomik derecede önemli ürün kayıplarına neden olurlar. Toprak kökenli fungal patojenlerin mücadelesinde fungusit uygulaması; patojenin fungusitlere dayanıklılık kazanması, bu fungusitlerin pahalı olması ve güvenilirlikleri konusunda insanların olumsuz yaklaşımı gibi faktörler nedeniyle giderek sınırlanmaktadır. Biyolojik mücadele yöntemleri, topraktaki patojenlerin populasyon varlıklarını azaltan en pratik yöntemdir. Floresan pseudomonadlar ise bitki köklerinde hızlı ve agresif koloni oluşturdıklarından toprak kökenli fungal patojenlere karşı etkili biyolojik mücadele etmenleri olarak düşünülmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Biyolojik mücadele, floresan pseudomonaslar, fungal patojenler, fungusitler

## BIOLOGICAL CONTROL OF SOIL-BORNE FUNGAL PATHOGENS BY FLUORESCENT PSEUDOMONADS

**ABSTRACT:** Soil-borne fungal pathogens are highly destructive and can cause a significant economic yield loss in seedlings. The application of fungicides to control soil-borne fungal pathogens has been increasingly limited by the development of pathogen resistance to many fungicides, expensive ve negative public perception regarding the safety of fungicides. Biological control methods, reducing the population of pathogens in the soil, appear to be most practical method. Fluorescent pseudomonads have frequently been considered as effective biological control agents against soil-borne fungal pathogens because of their rapid and aggressive colonization of plant root.

**Key Words:** Biological control, fluorescent pseudomonads, fungal pathogens, fungicides

### 1. GİRİŞ

Toprak kökenli patojenlerin mücadelesi oldukça zordur. Bu tip patojenlerin mücadelesinde ekim nöbeti, dayanıklı çeşit kullanımı ve kimyasal mücadele yetersiz kalmaktadır. Özellikle kimyasal madde uygulamalarında; ürünlerdeki ve topraktaki kalıntı problemi, ilaç kalıntılarının insanlara ve diğer canlılara olumsuz etkileri, patojenlerin kullanılan ilaçlara dayanıklılık kazanması, bazı fungusların klamidospore ve misellerinin ilaç kullanımına rağmen uzun yıllar toprakta canlı kalması gibi olumsuz faktörler bulunmaktadır. Bu nedenle gelişmiş ülkelerde hızla ilaç uygulaması yerine biyolojik kontrol etmenlerinin kullanımına yönelik çalışmalar ağırlık kazanmıştır (Mukerji and Garg, 1988a; Mukerji and Garg, 1988b; Cook, 1993). Biyolojik mücadelenin en önemli yararı, hastalıkları kontrol altına alırken çevreye herhangi bir olumsuz etkisinin olmamasıdır. Bu mücadele şeklinde yararlı mikroorganizmalar, bitkinin kök bölgesinde patojenlere karşı bir savunma hattı oluşturarak bitkinin hastalanmamasını sağlamaktadır (Chet and Inbar, 1994; Gamard and De Boer, 1995; McCullagh et al., 1996).

Biyolojik mücadele açısından sebze ve meyve hastalıklarına karşı *Agrobacterium radiobacter*, *Bacillus* spp., *Burkholderia cepacia*, *Pseudomonas* spp., *Serratia* spp. ve *Streptomyces* spp. gibi bakteri

türlerinin preparatları yapılmış durumdadır (Utkhede et al., 1992; Janisewicz and Korsten, 2002). Preparatı yapılan bu bakterilerden floresan pseudomonadlar (*P. aeruginosa*, *P. putida*, *P. fluorescent* ve *P. syringae*), toprakta yaygın olarak bulunurlar. Bu grupta yer alan ırklar, bitkilerin özellikle genç kökleri üzerinde koloni oluştururlar. Bu ırklardan bazıları ise toprak kökenli fungal patojenleri baskı altına alma özelliğine sahiptir. Floresan pseudomonadların toprak kökenli fungal patojenleri baskı altına almasının nedeni; hedef patojene karşı rekabet edebilme güçlerinin fazla olması; patojene karşı bitkiye sistemik dayanıklılık kazandırmaları; mikolitik enzime sahip olmaları ve antibiyotik veya siderefor gibi metabolitleri üretmelerindedir (Lim et al., 1991; Meyer et al., 1992; Natsch et al., 1994; De Weger et al., 1995; Buysens et al., 1996; Zhang et al., 1998; Walsh et al., 2001).

Günümüzde floresan pseudomonadlar, gerek biyolojik kontrol etmenleri olarak gerekse bitki gelişimini teşvik edici bakteriler olarak büyük ilgi görmekte ve bu konuda birçok çalışma yapılmaktadır (Sneh et al., 1984; Van Peer and Schippers, 1988; Sugimoto et al., 1990; De la Cruz et al., 1992; Gamard and De Boer, 1995; McCullagh et al., 1996; De Boer et al., 1999). Çizelge 1'de bazı ürünlerde fungal patojenlerin biyokontrolünde kullanılan bazı floresan *Pseudomonas* türleri verilmiştir.

Çizelge 1. Bazı fungal patojenlerin biyokontrolünde kullanılan fluoresan *Pseudomonas* türleri

Etki şekli	Fluoresan <i>Pseudomonas</i> ırkı	Patojen	Konukçu Bitki	Literatür
Pyoluteorin (Antibiyotik üretimi)	<i>P. fluorescens</i>	<i>P. ultimum</i>	Hıyar	Maurhofer et al., 1992 Girlanda et al., 2001
Pyrolmirin (Antibiyotik üretimi)	<i>P. chlororaphis</i> 1-112	<i>P. ultimum</i>	Çilek	Gulati et al., 1999
2,4-Diacetyl-phloroglucinol (Antibiyotik üretimi)	<i>P. fluorescens</i> CHAO <i>P. fluorescens</i> 113	<i>Pythium</i> spp. <i>P. ultimum</i>	Hıyar Bezelye	Girlands et al., 2001 Landa et al., 2002
Phenazin-1-carboxamide (Antibiyotik üretimi)	<i>P. chlororaphis</i> PCL1391	<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>radicis lycopersici</i>	Domates	Chin-A- Woeng et al. 2000, 2001
Pyoverdin (Siderophore)	<i>P. putida</i> <i>P. aeruginosa</i>	<i>Fusarium oxysporum</i> <i>Pythium splendens</i>	Hıyar Domates	Park et al., 1988 Buysens et al., 1996
Dayanıklılığı artırma	<i>P. fluorescens</i> WCS365	<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>radicis lycopersici</i>	Domates	Dekkers et al., 2000

## 2. FLUORESAN PSEUDOMONADLARIN METABOLİK ÜRÜNLERİ

### 2.1. Sidereforlar

Demir elementinin düşük çözünebilir özelliği nedeniyle anaerobik koşullar altında bitkiler tarafından kullanımı oldukça sınırlıdır. Bitkinin kök bölgesinde bulunan birçok mikroorganizmanın metabolik faaliyetleri sonucu ortaya çıkan ve *siderefor* adı verilen demir elementi içerikli birincil metabolik atıklar, bitkiler tarafından besin elementi olarak kullanılırlar. Bununla birlikte sidereforlar, birincil metabolizma ürünü olmalarına karşın antibiyotik özelliklerinden dolayı genellikle sekonder metabolitler olarak düşünülmektedirler (Buysens et al., 1996; De Meyer and Höfte, 1997).

Fluoresan pseudomonadlar, birbirlerine kovalent olarak peptid bağlarıyla bağlanmış *quinoline* gruplarından oluşan ve *pyoverdin* veya *pseudobactin* olarak isimlendirilen renk maddesine sahip sidereforlar üretirler. Bu renk maddeleri, suda çözünebilir, besi ortamına yeşilimsi sarı renkli görünümde yayılabilir ve ultraviyole ışık altında fluoresan parlama özelliğinde olan maddelerdir. Fluoresan pseudomonadlardaki pyoverdin,  $Fe^{+3}$  iyonuna yüksek derecede bağlanma eğilimindedir. Bu bağlanma bakteri hücrelerinin dış membranındaki spesifik reseptörler tarafından gerçekleştirilir. Daha sonra  $Fe^{+3}$  iyonu sitoplazma içerisine taşınarak bitkilerin kullanabileceği form olan  $Fe^{+2}$  iyonuna indirgenir. Pyoverdinler sayesinde demir elementinin bitki tarafından kullanılabilir hale gelmesi, içerisinde toprak kökenli patojenler de dahil olmak üzere diğer mikroorganizmalarda demir eksikliğinin ortaya çıkmasına yol açar. Bunun sonucunda mikroorganizmaların gelişimi engellenir ve sporları çimlenemez (Elad and Baker, 1985). Pyoverdinlerin mikroorganizmalara etkisi, topraktaki demir elementinin varlığı ile doğrudan ilişkilidir. Örneğin, *P. putida* strain B10 sera koşullarında *Fusarium solgunluğunu* ve *Gaeumannomyces graminis*'i baskı altına alırken, toprakta demir elementinin olmaması durumunda bu etki ortadan kalkmaktadır. Bu nedenle

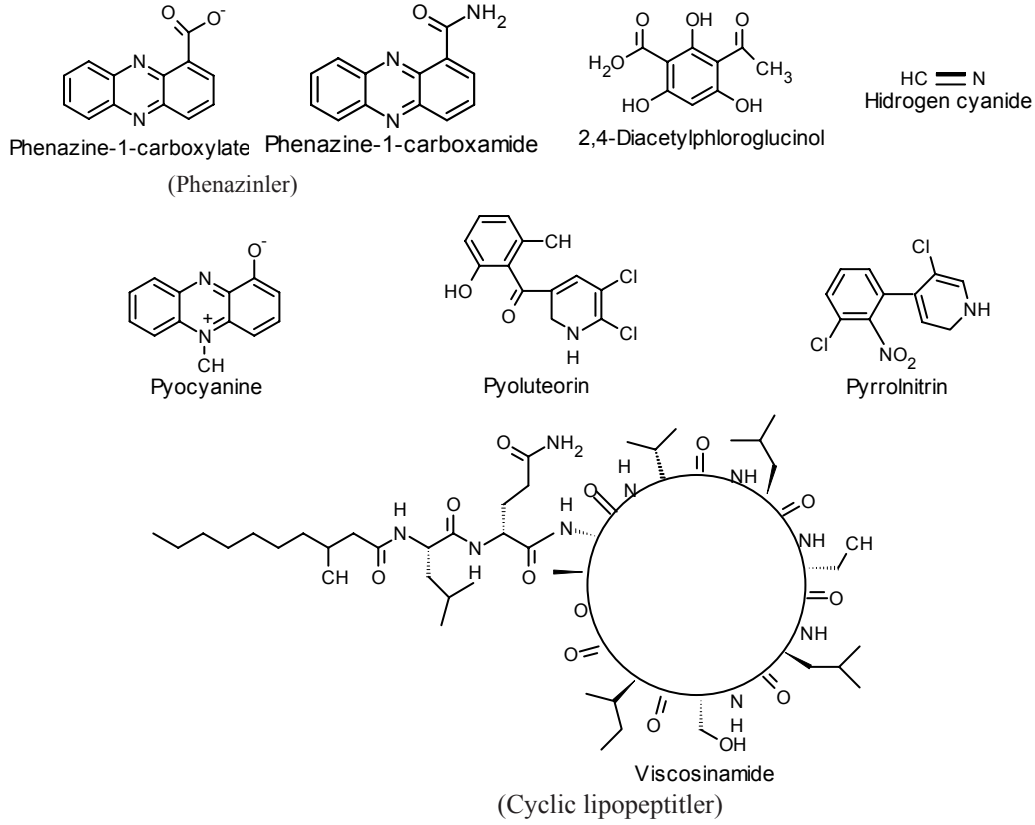
bitki - patojen ilişkisi çeşitli koşullarda denenmelidir (Sneh et al., 1984; Buyer and Leong, 1986).

Pyoverdin üretmeyen *Pseudomonas* ırkları, üreten ırklara göre bitkileri patojenlere karşı daha az korumaktadır. Pyoverdinin az bulunduğu ortamlarda *Pseudomonas* ırkları pH 8'de pH 6'ya göre daha fazla oranda bitkiyi korumaktadır. Çünkü pH 8 değerinde  $Fe^{+3}$  iyonunun çözünürlüğü artmaktadır. Ancak toprak pH'sına bağlı olarak biyosensörler yardımıyla demir elementinin alınımı ile hastalıkları baskı altına alma açıklaması tek başına yeterli bir açıklama değildir. Eğer bu açıklama tek başına yeterli olsaydı birçok *Pseudomonas* türünün neden biyolojik mücadelede kullanılmadığı (biyokontrol aktivitesine sahip olmadığı) sorusuna cevap vermek güç olurdu. Diğer siderefor maddesi olan *pyochelin* de antifungal olarak kullanılmaktadır. Ancak bu maddenin demir elementi ile ilişkisinin olup olmadığı henüz araştırılmamış olsa da  $Cu^{+2}$  ve  $Zn^{+2}$  elementlerini bitkiye temin etme özelliği tespit edilmiştir. Bu nedenle pyochelinin bazı fungusların  $Cu^{+2}$  ve  $Zn^{+2}$  alımlarını engelleyici özelliklerinin olduğu tahmin edilebilir (Loper and Buyer, 1991; Keel et al., 2004).

### 2.2. Antibiyotikler

Biyokontrol özelliği olan fluoresan *Pseudomonas* türlerinin çoğu bitki denemelerinde kullanılabilir, tipik siderefor özelliğinde olmayan bir veya birkaç antibiyotik bileşik üretir. Bu antibiyotikler, fungal ve bakteriyel patojenlerin gelişimini engeller. Buna göre toprak kökenli patojenlere karşı kullanılan antibiyotikler 6 sınıfta toplanabilir. Bunlardan; *phenazinler*, *phloroglucinoller*, *pyoluteorin*, *pyrolnitrin* ve *cyclic lipopeptidler* diffuze özellikte, *hidrojen cyanide* ise uçucu özelliktedir (Raaijmakers et al., 2002) (Şekil 1).

*Phenazinler* flavin koenzimlerin analogu olup, elektron taşınmasını engelleyen ve hayvan hücrelerinde çeşitli farmakolojik etkilerinin olduğu bilinen antibiyotik grubudur (Keel et al., 2004). Phenazinler, *ferripyochelinin* varlığında lipidlere ve diğer makro moleküllere zarar veren hidroksil radikallerinin oluşumunu katalize ederek mikroorganizmalara etkide bulunur. Örneğin,



Şekil 1. Biyolojik mücadelede kullanılan ve floresan pseudomonadlar tarafından üretilen bileşikler.

*phenazine* içerikli antibiyotik üreten *P. fluorescens* strain 2-79 ve *P. aureofaciens* strain 30-84 ırklarının toprak kökenli patojenleri baskı altına aldığı tespit edilmiştir (Weller and Cook, 1983).

*2,4-diacetylphloroglucinol*'ler, en iyi bilinen phloroglucinol bileşiklerindedir. Örneğin, *Pseudomonas* strain F113 ırkı tarafından üretilen *2,4-diacetylphloroglyconol* *Pythium* türlerine etkili olmakta, özellikle de zoosporların membranlarına zarar vermektedir. (Fenton et al, 1992; De Souza et al., 2003). Ancak bu tip bileşiklerin yüksek konsantrasyonları fitotoksik özellik göstermektedirler (Keel et al., 1992).

*Pyoluteorin*, *Pythium ultimum*'un gelişimi büyük ölçüde engellerken *Alerinaria* sp., *Fusarium* sp., *Rhizoctonia solani*, *Thielaviopsis basicola* ve *Verticillium dahlia*'ya karşı etkisizdir. Bu antibiyotik *P. fluorescens* strain Pf-5 ırkı tarafından üretilir (Kraus and Loper, 1992).

*Pyrrolnitrin*, fungusların solunum mekanizmasını engelleyici özelliğindedir. Bu antibiyotik, insalarda antimikotik ilaç olarak kullanılırken, sentetik analogu bitkilerde fungusit olarak kullanılmaktadır. Örneğin, *P. fluorescens* strain BL915 ırkının pyrrolnitrin üreterek *Rhizoctonia solani*'ye etkili olduğu saptanmıştır (Hill et al., 1994).

*Cyclic lipopeptitler*, surfactant özellikli olup, membranların içerisine girerek, geniş spektrumlu antibakteriyel ve antifungal etki göstermektedirler.

*Bacillus* türlerinin ürettiği bazı lipopeptidler aynı zamanda bitkilere  $Ca^{+2}$  iyonu sağlarlar. Ancak *Pseudomonas* türlerindeki lipopeptidlerin bu özelliği henüz araştırılmamıştır.

*Hidrojen cyanid* (HCN), metal içerikli enzimlerin, özellikle de bakır içeren cytochrome oxidase enzimlerinin aktivitelerini engelleme kabiliyetindedir (Vincent et al., 1991).

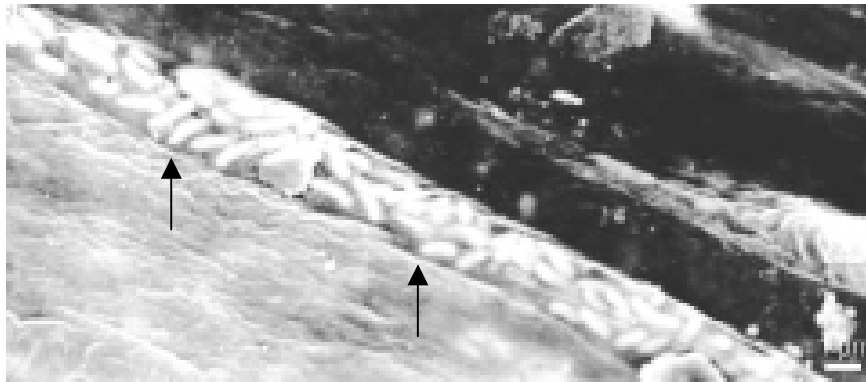
Bazı pseudomonas ırkları birden fazla antibiyotik üretme özelliğindedir. Örneğin, *P. fluorescens* CHAO ırkı *2,4-diacetylphloroglyconol* ve *pyoluteorin* üretilirken (Maurhofer et al., 1995; Natsch et al., 1998), *P. fluorescens* Q2-87 ırkı *2,4-diacetylphloroglyconol* ve HCN üretmektedir (Vincent et al., 1991).

### 3. FLUORESAN PSEUDOMONADLARLA BİTKİLERİN ETKİLEŞİMİ

Bitkilerin floresan pseudomonadlara etkisi, köklerden salgılanan salgıların içeriğindeki farklılıklara göre belirlenir. Kök salgıları, kök bölgesindeki mikroorganizmalara karbonca zengin organik asitler (citrate, malate, succinate, pyruvate, fumarate, oxalate ve acetate)'i ve şekerler (glucose, xylose, fructose, maltose, sucrose, galactose ve ribose)'i başlıca besin maddesi olarak sağlarken,  $\alpha$ -aminoasitleri, nükleobazlar (tiyamin ve biotin)'i ve vitaminleri farklı oranlarda ek besin olarak temin eder. Bu durumda floresan pseudomonadların karbon

kaynaklarını kullanma kabiliyetleri kök bölgesindeki diğer mikroorganizmalarla rekabet açısından oldukça önemlidir. Bu ilişkide kemotaksis, kamçısal hareket şekli, lipopolisakkaritlerin yapısı, dış membran proteini olan OprF ve az oranda da pili'lerin varlığı önemli rol oynar.

Fluoresan pseudomonadların bitkilere olan etkisi ise ya bitkilerin gelişimini teşvik etme ya da topraktaki patojenlerle rekabet ederek bitkilerin hastalanma oranlarını azaltma veya her iki özelliği birlikte bitkiye sağlama şeklinde özetlenebilir. Bu gruptaki bakterilerin bazı ırkları, havanın serbest azotunu toprağa bağlarken, bazıları fosfat tuzunu çözünabilir hale getirir. Bazıları ise *auxin* ve *cytokinin* gibi bitki hormonlarını, *etilen* ve *2,3-butandiol* gibi molekülleri üreterek bitki gelişimini teşvik ederler. Bazı ırkları ise hastalık gelişimini engelleyerek, bitkilerin sistemik dayanıklılığını teşvik ederler. Bununla birlikte hem bitki gelişimini teşvik eden hem de hastalık gelişimini engelleyen ırklar da bulunmaktadır. Bu nedenle sahip oldukları özelliklere göre fluoresan pseudomonadlar *biyogübreler* veya *biyopestisitler* olarak isimlendirilebilir (Kleopfer et al., 1980; Weller et al., 2002; Vessey, 2003; Lucy et al., 2004). Biyopestisit olarak kullanılan ırkların toprak kökenli patojenlere karşı etkili olması için; bitkinin kök bölgesinde baskın durumda olması, bitki köklerine tutunmuş durumda iyi bir kök kolonizasyonu sağlaması ve kök içerisine girerek epidermis ve korteks arasındaki hücreler arası boşluklara yerleşmesi istenir. Bu özelliğe sahip pseudomonadlar, kök bölgesine tutunduğunda birkaç gün içerisinde mikro koloni oluştururlar (Şekil 2). Bu koloniler epidermal hücreler arasında çizgiler halinde görülebilir. Diğer bakteriler ise aynı bölgeye daha sonra yerleşebilirler. Hücrelerdeki tipik bakteriyel yoğunluk mikro koloni oluşturma zamanına bağlı olarak  $10^3$  -  $10^7$  hücre / cm'dir. Kolonileşme, kök uçlarına göre kökün gövdeye bağlandığı kısımlarda daha fazladır. Eğer bakteri, köklerde açılan yaralardan girerek korteks ve epidermis arasındaki hücreler arası boşluğa yerleşirse, bakteri ile bitki arasında bitki gelişimini teşvik etme ve hastalığa dayanıklılık kazanma açısından daha yakın bir ilişki meydana gelir (Chin et al., 1997).



Şekil 2. Kök üzerinde bir fluoresan *Pseudomonas* türüne ait mikro koloni oluşumu.

#### 4. SONUÇ

Kök bölgesinde bulunan patojenler, bakteriler ve diğer mikroorganizmalar fluoresan pseudomonadlarla karmaşık bir etkileşim içerisinde. Bu etkileşim nedeniyle fluoresan pseudomonadların bitkiye olan olumlu etkisi azalabilmektedir (Pillay and Novak, 1997). Ayrıca köklerden salgılanan salgının miktarı ve içeriği de fluoresan pseudomonadları etkisini olumsuz yönde azaltmaktadır (Mahaffee and Kleopfer, 1997). Bunun yanında birçok fluoresan *Pseudomonas* ırkı laboratuvar koşullarında hastalıklara karşı etkili bulunurken, tarla koşullarında bu etki sağlanamamaktadır. Bu nedenle biyolojik mücadelede etkili bulunan ırkların preparatları yapılırken genetik yapılarında etkiyi artırıcı değişiklikler yapılmalı ve diğer mikroorganizmalarla karışımları sağlanmalı ve alternatif yöntemlerle kombineli olarak uygulanmalıdır. Tüm bu olumsuz faktörlere rağmen fluoresan pseudomonadların kullanımı sonucu düşük maliyet, daha yüksek verim elde etme, fungusit ve gübre kullanımında azalma gibi olumlu avantajlar bulunmaktadır. Bu avantajlar göz önüne alındığında toprak kökenli fungal patojenlerin mücadelesinde fluoresan pseudomonadların kullanımı gelecek için umut vericidir.

#### 5. KAYNAKLAR

- Buyer and Leong, 1986. Iron transport-mediated antagonism between plant growth promoting and plant-deleterious *Pseudomonas* strains. *Journal of Biological Chemistry*, (261), 791-794.
- Buysens, S., Heungens, K., Poppe, J. And Höfte, M., 1996. Involment of pyochelin and pyoverdinin in suppression of Pythium-induced damping-off of tomato by *Pseudomonas aeruginosa* 7NSK2. *Applied and Environmental Microbiology*, (62), 865-871.
- Chet and Inbar, 1994. Biological control of fungal pathogens. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, (48), 37-43.
- Chin, A.W., de Priester, T.F.C., van der Bij, A. and Lugtenberg, B.J.J., 1997. Description of the colonization of agnotobiotic tomato rhizosphere by *Pseudomonas fluorescens* biocontrol strain WCS365, using scanning electron microscopy. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, (10), 79-86.

- Chin, A.W., Bloemberg, G.V., Mulders, I.H.M., Dekkers, L.C. and Lugtenberg, B.J.J., 2000. Root colonization by phenazine-1-carboximide-producing bacterium *Pseudomonas chlororaphis* PCL1391 is essential for biocontrol of tomato foot and root rot. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, (13), 1340-1345.
- Chin, A.W., Thomas-Oates, J.E., Lugtenberg, B.J.J. and Bloemberg, G.V., 2001. Introduction of the *phzH* Gene of *Pseudomonas chlororaphis* PCL1391 extends the range of phenazine-1-carboximide acid-producing *Pseudomonas* spp. strains. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, (14), 1006-1015.
- Cook, R.J., 1993. Make greater use of introduced microorganisms for biological control of plant pathogens. *Annual Review of Phytopathology*, (31), 53-80.
- De Boer, M., Van der Sluis, I., Van Loon, L.C. and Bakker, P.A.H.M., 1999. Combining fluorescent *Pseudomonas* spp. strains to enhance suppression of fusarium wilt of radish. *European Journal of Plant Pathology*, (105), 201-210.
- Dekkers, L.C., Mulders, I.H.M., Phoelich, C.C., Chin, A.W., Wijffes, A.H.M., Lugtenberg, B.J.J., 2000. The *sss* colonization gene of the tomato – *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* biocontrol strain *Pseudomonas fluorescens* WCS365 can improve root colonization of other wild – type *Pseudomonas* spp. bacteria. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, (13), 1177-1183.
- De la Cruz, A.R., Poplawsky, A.R. and Wiese, M.V., 1992. Biological suppression of potato ring rot by Fluorescent Pseudomonads. *Applied and Environmental Microbiology*, (58), 1986-1991.
- De Meyer, G. and Höfte, M., 1997. Salicylic acid produced by the rhizobacterium *Pseudomonas aeruginosa* 7NSK2 induces resistance to leaf infection by *Botrytis cinerea* on bean. *Phytopathology*, (87), 588-593.
- De Souza J.T., Weller, D.M. and Raaijmakers, J.M., 2003. Effect of 2,4-diacetylphloroglucinol on *Pythium*: cellular responses and variation in sensitivity among propagules and species. *Phytopathology*, (93), 966-975.
- De Weger, L.A., Van der Bij, Dekkers, A.J., Simons, L.C., Wijffelman, C.A. and Lugtenberg, B.J.J., 1995. Colonization of the rhizosphere of crop plants by plant beneficial pseudomonads. *FEMS Microbiology Letters*, (17), 221-228.
- Elad, Y. and Baker, R., 1985. Influence of trace amounts of cations and siderophore-producing pseudomonads on chlamyospore germination of *Fusarium oxysporum*. *Phytopathology* 75, 1047-1052 (1985).
- Fenton, A.M., Stephen, P.M., Crowley, J., O'Callaghan, M. And O'Gara, F., 1992. Exploitation of gene(s) involved in 2,4 diacetylphloroglucinol biosynthesis to confer a new biocontrol capability to a *Pseudomonas* strain. *Applied and Environmental Microbiology*, 58: 3873-3878.
- Gamard, P. and De Boer, S.H., 1995. Evaluation of antagonistic bacteria for suppression of bacterial ring rot of potato. *European Journal of Plant Pathology*, (101), 519-525.
- Girlanda, M., Perotto, S., Moenne-Loccoz, Y., Borgero, R., Lazzari, A., Defago, G., Bonfante, P. and Luppi, A.M., 2001. Impact of biocontrol *Pseudomonas fluorescens* CHA0 and genetically modified derivative on the diversity of culturable fungi in the cucumber rhizosphere. *Applied and Environmental Microbiology*, (67), 1851-1864.
- Gulati, M.K., Koch, E., Zeller, W. and Sister, H.D., 1999. Isolation and identification of antifungal metabolites produced by fluorescent *Pseudomonas*, antagonist of red core disease of strawberry. 12th International Reinhardtsbrunn Symposium, Friedrichroda, Thuringia, Germany, 437-444.
- Hill, D.S., Stein, J.I., Torkewitz, N.R., Morse, A.M., Howell, C.R., Pachlatko, J.P., Becker, J.O. and Ligon, J.M., 1994. Cloning of genes involved in the synthesis of pyrrolnitrin from *Pseudomonas fluorescens* and role of pyrrolnitrin synthesis in biological control of plant disease. *Applied and Environmental Microbiology*, (60), 78-85.
- Janisiewicz, W.I. and Korsten, I., 2002. Biological control of postharvest disease of fruits. *Annual Review of Phytopathology*, (40), 411-441.
- Landa, B.B., Mavrodi, O.V., Raaijmakers, J.M., McSpadden Gardener, B.B., Thomashow, L.S. and Weller, D.M., 2002. Differential agabeylity of genotypes of 2,4-diacetylphloroglucinol-producing *Pseudomonas fluorescens* strains to colonize the roots of pea plants. *Applied and Environmental Microbiology*, (68), 3226-3227.
- Lim, H.S., Kim, Y.S., and Kim, S.D., 1991. *Pseudomonas stutzeri* YPL-1 genetic transformation and antifungal mechanism against *Fusarium solani*, an agent of plant root rot. *Applied and Environmental Microbiology*, (57), 510-516.
- Keel, C., Wirthner, P., Oberhansli, T., Voisard, C., Burger, U., 1992. Suppression of root diseases by *Pseudomonas fluorescens* CHA0: Importance of the bacterial secondary metabolite 2,4-diacetylphloroglucinol. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, (5), 4-13.
- Keel, C., Voisard, C., Berling, C.H., Kahr, G. And Défago, G., 2004. Iron sufficiency, a prerequisite for suppression of tobacco black root rot by *Pseudomonas fluorescens* strain CHA0, Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, 147-172.
- Klopper, J.W., Leong, J., Teintze, M. and Schroth, M.N., 1980. *Pseudomonas* siderophores: a mechanism explaining disease-suppressive soils. *Curr. Microbiol.* (4), 317-320.
- Kraus, J. and Loper, J.E., 1992. Lack of evidence for role of antifungal metabolite production by *Pseudomonas fluorescens* Pf-5 in biological control of *Pythium* damping-off cucumber. *Phytopathology*, (82), 264-271.
- Lucy, M., Reed, E. and Glick, B.R., 2004. Applications of free living plant growth-promoting rhizobacteria. *Antonie van Leeuwenhoek* (86), 1-25.
- Loper, J.E. and Buyer, J.S., 1991. Siderophores in microbial interactions on plant surfaces. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, (4), 5-13.
- Mahaffee, W.F. and Klopper, J.W., 1997. Bacterial communities of the rhizosphere and endorhiza associated with field-grown cucumber plants inoculated with a plant growth-promoting rhizobacterium or its genetically modified derivative. *Canadian Journal of Microbiology*, (43), 344-353.
- Maurhofer, M., Keel, C., Schnider, U., Voisard, C., Haas, D. and Defago, G., 1992. Influence of enhanced antibiotic production in *Pseudomonas fluorescens* strain CHA0 on its disease suppressive capacity. *Phytopathology*, 82:190-195.

- Maurhofer, M., Keel, C., Haas, D. and Defago, G., 1995. Influence of plant species on disease suppression by *Pseudomonas fluorescens* strain CHA0 with enhanced antibiotic production. *Plant Pathology*, 44: 40-50.
- McCullagh, M., Utkhede, R., Menzies, J.G., Punja, J.K. and Paultiz, T.C., 1996. Evaluation of plant growth-promoting rhizobacteria for biological control of *Pythium* root rot of cucumbers grown in rock wool and effects on yield. *European Journal of Plant Pathology*, (102), 747-755.
- Meyer, J.M., Azelvandre, P. and Georges, C., 1992. Iron metabolism in *Pseudomonas*: salicylic acid, a siderophore of *Pseudomonas fluorescens* strain CHA0. *Biofactors*, (4), 23-27.
- Mukerji, K.G. and Garg, K.L., 1988a. *Biocontrol of Plant Diseases*. Vol. I CRC Pres, Florida, USA, pp. 211.
- Mukerji, K.G. and Garg, K.L., 1988b. *Biocontrol of Plant Diseases*. Vol. II CRC Pres, Florida, USA, pp. 198.
- Natsch, A., Keel, C., Pflirter, H.A., Haas, D. and Defago, G., 1994. Contribution of the global regulator gene *gacA* to persistence and dissemination of *Pseudomonas fluorescens* biocontrol strain CHA0 introduced into soil microcosms. *Applied and Environmental Microbiology*, (60), 2553-2560.
- Natsch, A., Keel, C., and Hebecker, N., 1998. Impact of *Pseudomonas fluorescens* strain CHA0 and derivative with improved biocontrol activity on the culturable resident bacterial community on cucumber roots. *FEMS Microbiology and Ecology*, (27), 365-380.
- Park, C.S., Paulitz, T.C. and Baker, R., 1988. Biocontrol of *Fusarium* wilt of cucumber resulting from interactions between *Pseudomonas putida* and non-pathogenic isolates of *Fusarium oxysporum*. *Phytopathology*, (78), 190-194.
- Pillay, V.K. and Nowak, J., 1997. Inoculum density, temperature and genotype effects on in vitro growth promotion and epiphytic and endophytic colonization of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) seedlings inoculated with a *Pseudomonas* bacterium. *Canadian Journal of Microbiology*, (43), 354-361.
- Raaijmakers, J.M., Vlami, M. and De Souza, J.T., 2002. Antibiotic production by bacterial biocontrol agents. *Antonie van Leeuwenhoek*, (81), 537-547.
- Sneh, B. Dupler, M., Elad, Y. And Baker, R., 1984. Chlamyospore germination of *Fusarium oxysporum* f.sp. *cucumerinum* as effected by fluorescent and lytic bacteria from *Fusarium* suppressive soils. *Phytopathology*, (74), 1115-1124.
- Sugimoto, E.E., Hoitink, H.A.J. and Tuovinen, O.H., 1990. Oligotrophic pseudomonads in the rhizosphere: Suppressiveness to *Pythium* damping off cucumber seedlings (*Cucumis sativus* L.) *Biology Fertility of Soils*, (9), 231-234.
- Utkhede, R.S., Koch, C.A., and Menzies, J.G., 1992. Promotion of apple tree growth and fruit production by the EBW-4 strain of *Bacillus subtilis* in apple replant disease soil. *Canadian Journal of Microbiology*, (38), 1270-1273.
- Van Peer, R. And Schippers, B., 1988. Plant growth responses to bacterization with selected *Pseudomonas* spp. strains and rhizosphere microbial development in hydroponic culture, *Canadian Journal of Microbiology*, (35), 456-463.
- Vessey, K.J., 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant Soil*, (255), 571-586.
- Vincent, M.N., Harrison, L.A., Brakin, J.M., Kovacevich, P.A., Mukerji, P., Weller, D.M. and Pierson, E.A., 1991. Genetics analysis of antifungal activity of soilborne *Pseudomonas aerofaciens* strain. *Applied and Environmental Microbiology*, (57), 2928-2934.
- Walsh, U.F., Morrissey, J.P. and O'Gara, F., 2001. *Pseudomonas* for biocontrol phytopathogens: from functional genomics to commercial exploitation. *Current Opinion in Biotechnology*, (12), 289-295.
- Weller, D.M. and Cook, R.J., 1983. Suppression of take-all of wheat by seed treatments with fluorescent pseudomonads. *Phytopathology*, (73), 463-469.
- Weller, D.M., Raaijmakers, J.M., Gardener, B.B.M. and Thomashow, L.S., 2002. Microbial populations responsible for specific soil suppressiveness to plant pathogens. *Annual Review of Phytopathology*, (40), 309-348.
- Zhang, W., Han, D.Y., Dick, W.A., Davis, K.R., and Hoitink, H.A.J., 1998. Compost and compost water extract-induced systemic acquired resistance in cucumber and *Arabidopsis*. *Phytopathology*, (88), 450-455.