ว. วิชาการเกษตร กษ. 10 : 85-89 (2535) THAI AGRICULTURAL RESEARCH JOURNAL VOL.10, MAY - AUGUST 1992

การควบคุมโรคข้าวโดยวิธีคลุกเมล็ดด้วยเชื้อ *Bacillus subtilis*

นลินี จาริกภากร พาณี หนูนิ่ม บุญมี วารินสอาด
และมนูญ เอนกชัย*

บทคัดย่อ

ทำการคลุกเมล็ดพันธุ์ข้าว กข 1 ด้วยเชื้อบักเตรี *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ NSRS 89-24 และ NSRS 89-26 เพื่อทดสอบความสามารถของเชื้อบักเตรีในการควบคุมเชื้อสาเหตุของโรคข้าวที่ติดมากับเมล็ด และผลกระทบของเชื้อบักเตรีที่มีต่อเปอร์เซ็นต์การงอกและความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ข้าว พบว่าเชื้อบักเตรี *B. subtilis* สายพันธุ์ NSRS 89-26 เป็นจุลินทรีย์ต่อต้านที่มีความสามารถในการช่วยลดอัตราการเกิดโรคของเมล็ดพันธุ์ข้าวและต้นกล้า โดยไม่มีผลกระทบต่อเปอร์เซ็นต์การงอกและความแข็งแรงของเมล็ด การเจริญเติบโตของต้นกล้าได้ดีกว่าเมล็ดที่ไม่มีการคลุกเชื้อบักเตรี ส่วนเมล็ดพันธุ์ข้าวที่คลุกเมล็ดด้วย *B. subtilis* สายพันธุ์ NSRS 89-24 พบว่า มีความสามารถควบคุมโรคได้ดีในสภาพที่เมล็ดพันธุ์ข้าวมีเชื้อโรคติดมากับเมล็ดพันธุ์ข้าวเท่านั้น

คำหลัก : ข้าว จุลินทรีย์ต่อต้าน *Bacillus subtilis*

Control of Rice Pathogens by Seed-Coating with *Bacillus subtilis*

Nalinee Charigkapakorn, Panee Noonim, Bunmee Warinsahd and Manoon Aneckachai*

Abstract

Rice seed (RD 1) were treated with two isolates of *Bacillus subtilis,* NSRS 89-24 and NSRS 89-26, before planting. The objective of this study was to test the antagonistic activitives of the bacteria on the rice seed-borne pahtogens and the effect on rice seed germination and vigor. *B. subtilis* NSRS 89-26 resulted in the effective biological control of seed-borne pathogens of rice. The enhance growth of rice from bacteria treated seed was attributed to suppress of seed-borne pathogens and also exhibited some incident in stimulation of the growth of the plants. Bacterization with *B. subtilis* NSRS 89-24 had resulted a better consistent in the suppresion of rice seed-borne pathogens.

Keywords : rice, antagonist, *Bacillus subtilis*

* ศูนย์วิจัยข้าวพัทลุง อ.เมือง จ.พัทลุง 93000

* Phatthalung Rice Research Centre, Muang, Phatthalung 93000

โรคที่ติดมากับเมล็ดเป็นปัจจัยอย่างหนึ่งที่ควบคุมคุณภาพของการผลิตข้าวและเมล็ดพันธุ์ข้าวซึ่งมีความจำเป็นต้องศึกษาหากรรมวิธีป้องกันกำจัดอย่างมีประสิทธิภาพและถูกต้อง และยังเป็นแหล่งระบาดและแพร่กระจายของโรคข้าวสำคัญที่ระบาดตลอดเวลาหรือครั้งคราว เชื้อโรคที่ติดมากับเมล็ดข้าว มีมากกว่า 20 ชนิด และบางชนิดก่อให้เกิดความเสียหายอย่างรุนแรง บางชนิดก่อให้เกิดความเสียหายเฉพาะแหล่งที่ปลูกหรือสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมกับการเกิดโรค (Agarwal, 1989) เชื้อราที่ติดมากับเมล็ดที่พบโดยทั่วไป ได้แก่ *Acrocylindrium oryzae, Cercospora oryzae, Curvularia lunata, Fusarium semitectum, Helminthosporium oryzae, Pyricularia oryzae* และ *Trichoconis padwickii* (สมคิด, 2532) เชื้อบักเตรีที่ติดมากับเมล็ดข้าว ได้แก่ *Pseudomonas glumae, P. oryzicola, Xanthomonas itoana, X. cinnamona, X. atroveridigenum* และ *Bacillus* spp. (Agarwal, 1989)

การคลุกหรือแช่เมล็ดพันธุ์ด้วยสารเคมีเป็นกรรมวิธีหนึ่งที่ใช้กันแพร่หลาย สารเคมีที่ใช้มีความเฉพาะเจาะจงและมีความเป็นพิษแตกต่างกันไป สารเคมีที่นิยมใช้ในประเทศไทยและสามารถป้องกันกำจัดโรคติดมากับเมล็ดบางชนิดได้ผลดี เช่น โรคต้นกล้าแห้งและโรคถอดฝักดาบ ส่วนโรคข้าวสำคัญอื่น ๆ ยังได้ผลน้อยมาก เช่น โรคไหม้ (สมคิด, 2532) การนำวิธีการป้องกันกำจัดเชื้อสาเหตุโรคข้าวที่ติดมากับเมล็ดโดยการคลุกเมล็ดด้วยจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ประสบผลสำเร็จในการลดอัตราการเกิดโรคที่เกิดกับเมล็ดและต้นกล้า ได้แก่ *Pseudomonas fluorescens* คลุกเมล็ดข้าวเพื่อควบคุมเชื้อรา *Sarocladium oryzae* เชื้อสาเหตุโรคกาบใบเน่าของข้าว (Sakthivel and Gnanamanickam, 1987) และ เชื้อรา *Rhizoctonia solani* สาเหตุโรคกาบใบแห้งของข้าว (Mew and Rosales, 1986)

เชื้อบักเตรี *Bacillus subtilis* 2 สายพันธุ์ (NSRS 89-24) และ NSRS 89-26) มีรายงานว่ามีความสามารถควบคุมการเจริญเติบโตของเชื้อบักเตรีและเชื้อราสาเหตุโรคข้าว รวม 8 ชนิด (Charigkapakorn, *et al.*, 1991) ในครั้งนี้จึงได้นำบักเตรีทั้ง 2 สายพันธุ์มาทำการศึกษาโดยทำการคลุกเมล็ดเพื่อทดสอบความสามารถในการควบคุมโรคที่ติดมากับเมล็ดและต้นกล้า ตลอดจนผลกระทบของเชื้อต่อการงอกและความแข็งแรงของเมล็ด

อุปกรณ์และวิธีการ

การทดสอบความงอกและความแข็งแรงของเมล็ดคลุกเชื้อบักเตรีต่อต้าน

สายพันธุ์เชื้อบักเตรีต่อต้านที่ใช้ในการทดลอง คือ *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ NSRS 89-24 กับ NSRS 89-26 การเตรียมเมล็ดพันธุ์ทดสอบและคลุกเชื้อบักเตรี โดยแบ่งเมล็ดทดสอบออก 2 ชุด ชุดแรกไม่ฆ่าเชื้อบนผิวเมล็ด ชุดที่สองฆ่าเชื้อบนผิวเมล็ดโดยการแช่ในสารละลาย 2.5% โซเดียมไฮโปคลอไรท์ เป็นเวลา 3 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ ผึ่งให้แห้งโดยใช้กระแสลมที่ผ่านชั้นกรองจุลินทรีย์ เชื้อบักเตรีต่อต้านที่ใช้ทดลองเลี้ยงบนอาหาร PPA ในจานเลี้ยงเชื้อ ขนาด 9 ซม. วางไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 25 ± 1°ซ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำบักเตรีลงผสมกับ 1.0% เมททิลเซลลูโลส (น้ำหนัก/ปริมาณ) (บักเตรี 4 จานเลี้ยงเชื้อ/สารละลายเมททิลเซลลูโลส 25 มล.) ผสมเมล็ดข้าวพันธุ์ กข 1 น้ำหนัก 50 กรัม/สารละลายเชื้อบักเตรีในเมททิลเซลลูโลส ให้สารละลายเคลือบผิวเมล็ดเป็นเยื่อบาง ๆ ให้ทั่วถึง นำเมล็ดคลุกเชื้อบักเตรีวางลงในจานเลี้ยงเชื้อที่อบฆ่าเชื้อแล้ว ผึ่งให้แห้งภายในกระแสลมที่ปราศจากการแปลกปลอมของจุลินทรีย์ เป็นเวลา 12-16 ชั่วโมง เก็บเมล็ดที่แห้งไว้ในขวดสูญญากาศ อุณหภูมิ 4 ± 1°ซ นำมาใช้ภายใน 2 วัน

การบันทึกข้อมูลการคลุกเมล็ดโดยเชื้อบักเตรีต่อต้าน

ตรวจผลดัชนีการงอกของเมล็ดพันธุ์ที่คลุกเชื้อบักเตรีต่อต้าน เพื่อประเมินความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์โดยอาศัยความเร็วในการงอกของต้นกล้าว่าจะถูกเชื้อบักเตรีที่คลุกไว้ทำลายความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์หรือไม่ การทดลองได้ทำควบคู่กับการทดสอบความงอกมาตรฐาน โดยมีการตรวจนับทุกวันจนกว่าเสร็จสิ้นการทดสอบความงอก

การปฏิบัติการโดยการเพาะเมล็ดคลุกเชื้อในจาน (petri dish) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9.00 ซม. โดยใช้กระดาษกรอง 3 ชั้น ดูดซับน้ำไว้ในปริมาณที่พอเพียงตลอดระยะเวลาของการทดสอบ เมล็ดพันธุ์ตัวอย่างละ 500 เมล็ด แบ่งออกเป็น 10 ซ้ำ ๆ ละ 50 เมล็ด จานเพาะเมล็ดวางไว้ในอุณหภูมิห้อง

นับทุกวันจนครบ 14 วัน การบันทึกข้อมูลและการประเมินผลการทดลอง โดยการประเมินผลดัชนีการงอกของเมล็ด ใช้วิธีตรวจนับเมล็ดที่มีการงอกตามปกติทุกวันจนครบ 14 วัน นำผลการตรวจนับมาคำนวณหาค่าดัชนีการงอกของเมล็ดพันธุ์ดังนี้

$$\text{ดัชนีการงอกของเมล็ดพันธุ์} = \text{ผลบวกของ } \frac{\text{จำนวนต้นกล้าที่งอก}}{\text{จำนวนวันหลังเพาะ}}$$

การทดสอบความงอกมาตรฐาน ทำการตรวจนับครั้งแรกวันที่ 5 หลังเพาะเมล็ดและตรวจนับครั้งที่ 2 วันที่ 14 หลังเพาะ บันทึกลักษณะต่าง ๆ ของเมล็ดพันธุ์ ได้แก่ ต้นกล้าปกติ ต้นกล้าผิดปกติ เมล็ดตาย (จวงจันทร์, 2529)

ผลการทดลอง

ผลการทดสอบการคลุกเมล็ดพันธุ์ข้าวโดยเชื้อบักเตรีต่อต้าน

เมล็ดที่คลุกด้วยเชื้อ *B. subtilis* NSRS 89–26 มีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อจุลินทรีย์ที่ติดมากับเมล็ดได้ดีกว่าเมล็ดที่คลุกด้วยเชื้อบักเตรี *B. subtilis* NSRS 89–24 เมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดที่ไม่ได้คลุกเชื้อ เมล็ดพันธุ์ข้าว กข 1 ที่ได้รับการคลุกเชื้อ *B. subtilis* การเข้าทำลายจากเชื้อจุลินทรีย์ที่ติดมากับเมล็ดน้อยกว่า และมีเปอร์เซ็นต์การงอกและเมล็ดปกติสูงกว่าเมล็ดข้าวที่ไม่คลุกเชื้อ (Table 1) ต้นกล้าที่ได้จากเมล็ดที่ไม่ได้ผ่านการคลุกเมล็ดด้วยเชื้อบักเตรี จะเกิดโรคโดยมีจำนวนแผลโรคมากและขนาดของแผลกว้างกว่า และจำนวนของต้นกล้าเป็นโรคสูง ส่วนเมล็ดที่ผ่านการคลุกเชื้อบักเตรี เมื่อนำเมล็ดที่ได้ทดสอบเพาะในจานเลี้ยงเชื้อไปปลูกทดสอบต่อในกระถางที่ดินไม่ได้ผ่านการฆ่าเชื้อจะมีต้นกล้าที่แข็งแรงกว่าต้นกล้าที่ไม่คลุกเมล็ด

การทดสอบอิทธิพลของเชื้อบักเตรี *B. subtilis* NSRS 89–24 และ NSRS 89–26 ต่อเมล็ดพันธุ์ข้าว เชื้อบักเตรี *B. subtilis* NSRS 89–26 ไม่แสดงอาการยับยั้งการงอกหรือการเจริญเติบโตของต้นกล้า เมื่อเปรียบเทียบผลการทดลองกับต้นกล้าที่ได้จากเมล็ดที่ไม่ได้ผ่านการคลุกเชื้อบักเตรี (Table 2) นอกจากนั้นยังพบว่าต้นกล้ามีสีเขียวเข้มกว่า และเจริญเติบโตแข็งแรงมากกว่าเมล็ดที่คลุกด้วย *B. subtilis* NSRS 89–24 และเมล็ดที่ไม่คลุกเชื้อ

Table 1. Determination of the seed–borne diseases of rice by seed–coating with *Bacillus subtilis* NSRS 89–24 and NSRS 89–26.

Seed coating	Seed surface sterilization	Seed infection△ (%)		Seedling infection△ (%)
		On filter papers	On Potato Peptone Agar	
Bacillus subtilis NSRS 89–24	with	0	0	0
	without	0	1	0
Bacillus subtilis NSRS 89–26	with	0	0	0
	without	2	5	0
Non–coated	with	1	17	88
	without	100	100	72

△ Follow the standardized testing methods by using the rules of the International Seed Testing Association (ISTA).

Table 2. Determination of seed germination index and germination percentage of rice seeds (RD 1) by seed–coating with *Bacillus subtilis* NSRS 89–24 and NSRS 89–26.

Seed coating	Seed surface sterilization	Germination Index⊙		Survival seedling in pot test (%)	
		On filter papers	On Potato Peptone Agar	From filter papers	From Potato Peptone Agar
Bacilus subtilis NSRS 89–24	with	8.40	7.09	76.4	82.0
	without	9.57	7.04	98.4	96.8
Bacillus subtilis NSRs 89–26	with	8.77	7.71	93.6	82.4
	without	10.81	7.42	98.4	93.2
Non–coated	with	9.44	6.47	86.0	66.0
	without	9.97	7.25	93.2	90.8

⊙ Germination count of 500 seeds was upto 14 days after seeded and calculated seed germination index (GI) by :

$$GI = \text{Sum of } \frac{\text{Number of the germinate seedlings}}{\text{Number of days after seeding}}$$

การทดสอบเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดข้าวคลุกด้วยเชื้อ *B. subtilis* NSRS 89–24 และ NSRS 89–26 ในดินที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ ผลการทดสอบได้เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดข้าวที่คลุกเชื้อ *B. subtilis* NSRS 89–24 สูงกว่าเมล็ด

ปกติที่ไม่ทำการคลุกเชื้อ 15% ส่วนเมล็ดข้าวที่คลุกเชื้อ *B. subtilis* NSRS 89-26 มีเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดสูงกว่าเมล็ดปกติที่ไม่ทำการคลุกเชื้อ 4% (Table 3)

Table 3. Seedling vigor test of rice seeds coated by *Bacillus subtilis* NSRS 89-24 และ NSRS 89-26 under the non-steriled soil condition.

Seed coating	Seed germination⊙ (%)	Abnormal seedling* (%)	Dead seed (%)	Normal seedling (%)		
				Strong	Moderate	Weak
Bacillus subtilis NSRS 89-24	99	5	1	96	4	–
Bacillus subtilis NSRS 89-26	95	1	5	85	7	8
Non-coated	84	9	16	76	4	20

△ Coating 100 rice seeds with the tested bacteria without surface sterilization on seeds.

⊙ The first count started since the cotyledon emerged from soil and the final count was 14 days after seeded.

* Recorded the seedling symptoms i.e. stunt, twist, colour and lesions on the leaves up to one month ofter seeded.

สรุปผลการทดลองและวิจารณ์

เชื้อบักเตรี *B. subtilis* สายพันธุ์ NSRS 89-24 และ NSRS 89-26 มีความสามารถควบคุมเชื้อจุลินทรีย์สาเหตุโรคข้าวทั้งที่ติดมาบนและภายในเปลือกของเมล็ด โดยสามารถลดอัตราเปอร์เซ็นต์เมล็ดเป็นโรคจาก 100% ให้เหลือน้อยกว่า 10% ทั้งในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของเชื้อราและบักเตรีนอกจากนี้ยังได้พบว่าเมล็ดที่ทำการฆ่าเชื้อบนผิวแต่ไม่คลุกเชื้อบักเตรี มีเปอร์เซ็นต์ต้นกล้าเป็นโรคใบจุดสีน้ำตาลและปลายใบแห้งมากกว่าเมล็ดปกติ ซึ่งปรากฏการณ์เช่นนี้อาจจะเกิดจากเชื้อจุลินทรีย์ที่ต้านทานต่อโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (Table 1)

สายพันธุ์ NSRS 89-26 มีผลช่วยให้เมล็ดแข็งแรงและเจริญเติบโตได้เร็วกว่าสายพันธุ์ NSRS 89-24 และเมล็ดปกติ การศึกษาค่าดัชนีการงอกซึ่งชี้บ่งถึงความแข็งแรงของเมล็ด เมล็ดข้าวที่คลุกด้วยสายพันธุ์ NSRS 89-26 มีค่าดัชนีการงอกสูงกว่าเมล็ดข้าวที่คลุกด้วยสายพันธุ์ NSRS 89-24 และเมล็ดปกติ (Table 2) ตลอดจนเปรียบเทียบความอยู่รอดในสภาพมีเชื้อและไม่มีเชื้อสาเหตุของโรคจากเมล็ด ซึ่งอาจมีสาเหตุจากสายพันธุ์ NSRS 89-24 ผลิตสารบางชนิดเพื่อใช้ต่อต้านเชื้อราหรือบักเตรีที่ติดมากับเมล็ด สารที่ผลิตออกมานั้นอาจมีผลต่อการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตของต้นกล้า นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าเชื้อสายพันธุ์ NSRS 89-24 มีความสามารถผลิตปริมาณสารต่อต้านเชื้อราและบักเตรีออกมาภายนอกได้สูงกว่าสายพันธุ์ NSRS 89-26 (Charigkapakorn *et al.*, 1991) ดังนั้นการนำเชื้อบักเตรี *B. subtilis* สายพันธุ์ NSRS 89-26 มาทดสอบคลุกเมล็ดจะมีความปลอดภัยและผลกระทบต่อความแข็งแรงของเมล็ดน้อยกว่าสายพันธุ์ NSRS 89-24 อย่างไรก็ตามถึงแม้สายพันธุ์ NSRS 89-26 จะมีแนวโน้มที่จะเป็นจุลินทรีย์ต่อต้านที่ดีในสภาพคลุกเมล็ดโดยทั่วไป แต่ถ้าแหล่งที่มีเชื้อสาเหตุของโรคปริมาณสูงและรุนแรงจากสภาพแวดล้อมที่ปลูกเข้ามาเกี่ยวข้อง เชื้อสายพันธุ์ NSRS 89-24 จะมีประสิทธิภาพสูงกว่า โดยการทดลองยืนยันความแข็งแรงของต้นกล้าที่ได้มาจากการคลุกเมล็ดด้วยเชื้อบักเตรีทั้งสองสายพันธุ์ในสภาพที่ไม่มีการควบคุมเชื้อสาเหตุของโรคทั้งจากเมล็ดและดินที่ใช้ปลูกสายพันธุ์ NSRS 89-24 ให้อัตราการงอกสูงกว่าสายพันธุ์ NSRS 89-26 และเมล็ดปกติ (Table 3)

ดังนั้นการศึกษาเชื้อ *B. subtilis* NSRS 89-24 ในแง่ของความสามารถในการผลิตสารปฏิชีวนะที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์สาเหตุของโรคพืชและสาร toxic metabolite ที่สร้างโดยเชื้อเพื่อนำมาสกัดและใช้ให้เป็นประโยชน์เป็นสิ่งที่น่าสนใจ เพราะการยับยั้งโดยการสกัดจะมีผลต่อการควบคุมเชื้อโรคพืชได้รวดเร็ว และมีประสิทธิภาพ (Cook and Baker, 1983; De, 1982; Dunleavy 1955; Landy *et al.*, 1968; Vasudeva and Chkravarthi, 1954) นอกจากนี้สารพวก toxic metabolite ที่ผลิตโดยเชื้อ *B. subtilis* ได้รับความสนใจที่จะนำมาใช้กระตุ้นความต้านทานของพืชต่อเชื้อโรคพืชที่เข้าทำลาย (Stenzel *et al.*, 1985; Von-Alten and Schoenbeck, 1985; Steiner *et al.*, 1988)

เอกสารอ้างอิง

จวงจันทร์ ดวงพัตรา, 2529. การตรวจสอบและวิเคราะห์คุณภาพเมล็ดพันธุ์. ภาควิชาพืชไร่นา, คณะเกษตร, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 194 น.

สมคิด ดิสถาพร, 2532. ชาวนาปราบโรคข้าว. กลุ่มงานวิจัยโรคข้าวและธัญพืชเมืองหนาว, กองโรคพืชและจุลชีววิทยา, กรมวิชาการ

เกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ 116 น.

Agarwal, P.C., G.N. Mortensen, and S.B. Marhur. 1989. Seedborne diseases and seed health testing of rice. Phytopathological papers No. 3. 106 p.

Charigkapakorn, N., P. Noonim, M. Aneckachai and B. Warinsahd. 1991. Biological control of bacterial leaf blight and some fungal pathogens of rice in Thailand by *Bacillus subtilis*. Thai J. of Agric. Sci., 24 : 283 – 299.

Cook, R.J., and K.F. Baker. 1983. Developmental history of biological control of plant pathogens, pp. 30 – 54 *In* The Nature and Practice of Biological Control of Plant Pathogens. American Phytopathological Society. St. Paul. MN.

De, A.B. 1982. Antagonistic effect of *Bacillus subtilis* on *Fomes durrissimus*. Curr. Sci., 7 : 376.

Dunleavy, J. 1955. Control of damping – off of sugar beet by *Bacillus subtilis*. Phytopathology, 45 : 252 – 258.

Landy, N., G.H. Warren, S.S. Mosenman, and L.G. Colio. 1968. Bacillomycin : An antibiotic from *Bacillus subtilis* active against pathogenic fungi. Prcc. Soc. Exp. Biol. Med., 67 : 539 – 541.

Mew, T.W. and A.M. Rosales. 1986. Bacterization of rice plants for control of sheath blight caused by *Rhizoctonia solani*. Phytopathology 76 (11) : 1260 – 1264.

Sakthivel, N. and S.S. Gnanamanickam. 1987. Evaluation Pseudomonas fluorescens for suppression of sheath rot disease and for enhancement of grain yield in rice *(Oryza sativa* L.*)*. Applied Environmental Microbiology 53 (9) : 2056 – 2059.

Stenzel, K., U. Steiner, and F. Schoenbeck. 1985. Effect of induced resistance on the efficiency of powdery mildew haustoria in wheat and barley, Physiol. Plant Pathol., 27 (3) : 357-367

Steiner, U., E.C. Oerke, and F. Schoenbeck. 1988. The efficiency of induced resistance under practical culture conditions. IV. Powdery mildew and grain yield of winter barley cultivars with induced resistance and fungicide treatment. Z. PFLANZENKP. PFLANZENSCHUTZ., 506 – 517.

Vasudeva, R.S., and B.P. Chkravarthi. 1954. The antibiotic action of *Bacillus subtilis* in relation to certain parasitic fungi with special reference to *Alternaria solani*. Ann. Appl. Biol. 41 : 612 – 618.

Von – Alten, H, and F. Schoenbeck. 1985. The infectivity of *Uromyces phaseoli* uredospores from induced resistant host plants. Z. PFLANZENKR. PFLANZENSCHUTX., 94 : 376 – 391.