عزل بكتريا من جذور بعض النباتات والأجسام الحجرية والتربة ذات تأثير مضاد في الفطر *Sclerotinia sclerotiorum* المسبب لمرض عفن سكليروتينيا

فراس عزام[1] و محمود أبو غرة[2] و عمر فاروق المملوك[3]

الملخص

جمعت عينات من جذور نبات الخس والجزر والأجسام الحجرية للفطر الممرض *Sclerotinia sclerotiorum* والتربة من المنطقة الجنوبية من دمشق (الطيبة، الدرخبية، زاكية، المقيلبة) خلال العام 2001، وعزلت 82 عزلة بكتيرية، منها 48 عزلة من الجذور، و27 من سطح الأجسام الحجرية، و7 من التربة المحيطة بالجذور. ثم اختبرت صفة التضاد لهذه العزلات البكتيرية اتجاه المسبب الممرض للعفن الأبيض في المختبر *In vitro*. حيث وجد أن 7 عزلات بكتيرية كان لها تأثير مضاد في نمو الفطر الممرض وتراوحت مسافة التضاد مابين1.3-11 ملم، وقد حققت العزلة K82.4 المعزولة من التربة المحيطة بالجذور أكبر مسافة تضاد بين نموها ونمو الفطر الممرض 11 ملم. وأمكن تعريف ثلاث عزلات بكتيرية منها وهي: K82.4 المعزولة من تربة الخس، وFN3 المعزولة من سطح الأجسام الحجرية من حقول الخس، وK4.4 المعزولة من جذور نبات الجزر، وهي تنتمي إلى جنس *Bacillus* spp.

واختبرت كذلك 20 عزلة بكتيرية إضافية مضادة لنمو فطر العفن الأبيض على الثوم *Sclerotium cepivorum* مصدرها مخبر أمراض النبات، كلية الزراعة، تجاه الفطر *S. sclerotiorum* أيضاً في المختبر، ووجد منها 11 عزلة بكتيرية استطاعت أن تمنع نمو الفطر الأخير بمسافات تضاد تراوحت مابين 2.3 – 12.3 ملم. ومن خلال التحليل الإحصائي لمقارنة مسافة التضاد بين العزلات البكتيرية المجموعة من المنطقة الجنوبية من دمشق خلال العام 2001 والعزلات المضادة للعفن الأبيض على الثوم من جهة والفطر الممرض *S. sclerotiorum* من جهة أخرى وجد أن العزلتين البكتيريتين T118 وD5 حققتا أكبر مسافة تضاد وهي 12 ملم للعزلة T118 و12.3 ملم للعزلة D5 وكانت الاختلافات معنوية مابين العزلتين السابقتين من جهة وباقي العزلات البكتيرية من جهة أخرى، باستثناء العزلتين B1 وK82.4 فكانت الاختلافات ظاهرية.

الكلمات المفتاحية: عزلة بكتيرية، *Sclerotinia sclerotiorum*، تضاد.

[1] طالب ماجستير [2] أستاذ مساعد، قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، ص.ب. 30621، جامعة دمشق، سورية.

[3] دكتور باحث في المركز الدولي لبحوث المناطق الجافة (إيكاردا) ص.ب. 5466، حلب، سورية.

Isolation of Antagonistic Bacteria against the Casual of White Rot *Sclerotinia sclerotiorum* from some Plant Roots, Sclerotia and Soil

Azzam Feras[(1)], Abo Goura Mahmoud[(2)], and Mamlouk Farok Omar[(3)]

ABSTRACT

Samples from carrot and lettuce roots, sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum*, and soil were collected from south of Damascus during 2001. 82 isolates were isolated, 48 of them were isolated from roots, 27 from sarfuce of sclerotia, and 7 from soil around roots. Antgonisim capacity of these isolates was tested against *S. Sclerotiorum in vitro*. 7 bacterial isolates showed antagonistic effect on the growth of *S. Sclerotiorum*, the antagonism distance ranged bettwen (1.3 – 11 mm). The Isolate (K82.4), which was isolated from soil, showed antagonistic distance (11mm), and was the best of bacterial isolates. Three isolates were iddentified (K82.4 isolated from lettuce soil, FN3 isolated from surface of sclerotia, K4.4 isolated from carrot roots), that belong to *Bacillus* spp. (20) bacterial isolates which have antagonistic effect against *Sclerotium cepivorum* were obtained from phytopathology laboratory in the Faculty of Agriculture, Damascus University, and tested against *Sclerotinia sclerotiorum in vitro*. (11) bacterial isolates of them could prevent the growth of the last fungi in different inhibition zones, which ranged bettwen (2.3 - 12.3 mm)

Statistical analyses to compare antagonisim distance bettwen all bacterial isoltes and *Sclerotinia sclerotiorum*, showed that bacterial isolates D5, T.118 had the highest antagonisim distance, which was 12.3 mm for D5 and 12 mm for T118. Significant differences occurred between the last isoltes and others, except for B1 and K82.4.

Key Words: Antagonisim, *Sclerotinia sclerotiorum, Bacterial Isolate.*

[(1)] Master student, [(2)] Prof., Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, P.O.Box 30621, Damascus, Syria.

[(3)]Dr. Research, ICARDA. P.O.Box 5466, Aleppo, Syria.

المقدمـــة

تعدُّ محاصيل الخضار من أهم المحاصيل التي تزرع في القطـــر العربـــي الـــسوري وهي تصاب بالعديد من الأمراض والحشرات والآفات الزراعيـــة الأخـــرى. إنَ الفطـــر المسبب لعفن سكليروتينيا *Sclerotinia sclerotiorum* هو عامل ممرض متعدد العوائل إذ له مدى عائلي واســـع جـــداً (Mueller *et al*, 1999)، متـــضمناً محاصـــيل الخـــضار، والمحاصيل الحقلية، والأعشاب، ومحاصيل العلف، والنباتات الطبية والعطرية، وبعـــض الأشجار المثمرة، حيث يتكون هذا المجال العائلي من 408 نوع نباتي تنتمـــي إلـــى 278 جنساً و75 فصيلة نباتية، منها عباد الشمس، الخـــس، الملفـــوف، الفاصـــولياء، الجـــزر، البازلاء، فول الصويا، العصفر، الخيار، الكوسا، البندورة، البطاطا، الكـــرفس، الباميـــاء، الفول السوداني، الشوندر السكري، اللفت، الكرنب، الحمص، العـــدس، القطـــن، التبـــغ، البغونيا، البطيخ الأصفر، الفصة، التفاح، الخوخ، الموز، السبانخ، وغيرها مـــن النباتـــات (Agrios, 1997).

يهاجم هذا الفطر النبات بأطواره جميعها فهو يـــصيب البـــادرات والنباتـــات البالغـــة (الأوراق، الساق، الجذور، الأزهار، الثمار، البذور) في الحقـــل وفـــي أثنـــاء التخـــزين، ويسبب العديد من الأمراض المهلكة للنبات. تظهر الأعراض المبكرة والشائعة على شكل نمو عفن مشيجي أبيض زغبي على الأجزاء النباتية المصابة وسرعان ما تتطـــور إلـــى أجسام حجرية متماسكة بيضاء اللون في البداية ثم تـــصبح ســـوداء صـــلبة ذات أشـــكال وأحجام مختلفة ومعظمها ذو شكل مـــسطح أو متطـــاول ونـــادراً مـــا تكـــون كرويـــة (Agrios,1997). يتراوح حجـــم الأجـــسام الحجريـــة مـــابين (2- 20 × 3- 7 ملـــم) (Subbarao,1998). تنبت الأجسام الحجرية في الربيع أو بداية الصيف وتعطي واحداً أو أكثر من السويقات الضعيفة أو النحيلة التي تنتهي بثمرة زقية فنجانيـــة (Apothecium)، وهي ثمرة مفتوحة يتراوح قطرها بين 5-15 ملم، تتكون داخلها أكياس زقية داخل كـــل منها 8 أبواغ زقية، ينطلق من الثمار السابقة أعداد غزيرة جداً من الأبواغ الزقية بعد 2-3 أسابيع وتحمل مع الهواء، عندما تسقط على أجزاء نباتية مثل الأزهار القديمـــة التـــي تزودها بمصدر غذائي جاهز فإنها تنبت وتعطي مشيجة مسببة الإصـــابة. وفـــي بعـــض الحالات تنبت الأجسام الحجرية مكونةً ميسيليوماً يهاجم ويصيب الأنسجة النباتية للنباتـــات القريبة منها مباشرةً (Agrios, 1997; Subbarao, 1998) لذلك فهذا الفطـــر الممـــرض يسبب العديد من الخسائر على كثير من المحاصيل كونه يصيب العائل بواسطة المـــشيجة أو الأبواغ الزقية ويعدُّ الأخير ذا أهمية كبيرة لوجود مادة عدوى كبيرة وإمكانية انتشارها لمسافات بعيدة.

تعدُّ مكافحة الفطر الممرض صعبة جداً ويمكن أن يسبب خسارات فادحة بالإنتاج (Dillard *et al*, 1995; Subbarao,1998)، وذلك لأن الفطر الممرض يكون أجساماً حجرية بأعداد كبيرة تبقى في المخلفات النباتية والتربة لفترة زمنية طويلة قد تصل لعشر سنوات (بياعة، 1986 ;Subbarao, 1998; Agrios, 1997)، تنتقل هذه الأجسام الحجرية مع التربة ومياه الري والبذور وأدوات الزراعة والأسمدة العضوية والمواد النباتية المخزونة، ولأن الفطر يشكل أبواغاً زقية كثيرة تنتشر لمسافات بعيدة، فضلاً عن عدم جدوى الدورة الزراعية القصيرة في المكافحة وقلة عدد المبيدات الكيميائية الفعالة ضد الفطر الساكن في التربة، والمكافحة الكيميائية قد تكون غير اقتصادية في المساحات الواسعة، فضلاً عن أن استخدامها يحدث خللاً في التوازن الحيوي في التربة وسيؤدي إلى تلوث التربة والمياه الجوفية بالمبيدات المستخدمة؛ لذلك تعتمد مكافحة هذا الفطر حالياً على أسلوب المكافحة المتكاملة، على سبيل المثال الجمع بين المبيدات الكيميائية الوقائية والعمليات الزراعية يقلل من تطور الفطر الممرض وانتشاره على بعض المحاصيل (Dillard *et al*, 1995). وقد وجد حديثاً وفي كثير من الدول أن الأحياء الدقيقة يمكن أن تؤثر في نمو وانتشار الكثير من الأمراض لذلك فإن التضاد الحيوي البكتيري والفطري يمكن أن يكون بديلاً لكثير من المبيدات الكيميائية المستخدمة في مكافحة الأمراض، فضلاً عن أن هذا التضاد الحيوي لا يؤثر في البيئة وليس له نتائج ثانوية سلبية ونستخدم فيه كائنات طبيعية تنتخب من البيئة المحلية. ويعدُّ استعمال الأحياء الدقيقة البكتيرية والفطرية من أهم وسائل المكافحة الحيوية الحديثة لمرض عفن سكليروتينيا (Cassiolato, 1998; Expert and Digat, 1995; Mclaren *et al*, 1996; Tu, 1998).

وقد بينت بعض الدراسات المرجعية أنه توجد عدة عزلات بكتيرية من البكتيريا *Pseudomonas putida* و *P. fluorescens* كانت قد منعت نمو مشيجة الفطر الممرض *Sclerotinia sclerotiorum* ضمن أطباق بتري على وسط مغذ حتى مدة شهر من التحضين، كما ذكر الباحث Expert وDigat (1995) عن ZARRERINI (1987) في بحث أجراه أن الأجسام الحجرية للفطر *S. sclerotiorum* المعزولة من الجزر قد أعاق أو خفّض إنباتها سلالات من بكتريا *Bacillus subtilis*. لذا يهدف هذا البحث إلى:

1 – عزل بكتريا من جذور بعض النباتات المضيفة ومن سطح الأجسام الحجرية للفطر الممرض *S. sclerotiorum* ، ومن التربة المحيطة بالجذور في البيئة المحلية.

2 - اختبار تأثيرها في الفطر الممرض *S. sclerotiorum* مخبرياً، وانتخاب العزلات البكتيرية التي لها تأثير مضاد في هذا الفطر.

مواد البحث وطرائقه

أولاً: جمع العينات:

أخذت عينات من جذور نباتات الخس والجزر السليمة وأخرى مصابة بفطر عفن سكليروتينيا *Sclerotinia sclerotiorum* وعينات ترابية من محيط الجذور، وجمعت الأجسام الحجرية للفطر الممرض من حقول الخس والجزر المصابة والسليمة في المنطقة الجنوبية من دمشق (الطيبة، الدرخبية، زاكية، المقيلبة) خلال العام 2001 م. إذ قلعت نباتات الخس والجزر مع المجموع الجذري، ووضعت في أكياس نايلون ووضعت بطاقة على كل كيس تحمل رمزاً معيناً ومعلومات خاصة عن الموقع، وتاريخ الزراعة، وطريقة الري الخ...

وأخذت عينات ترابية من التربة المحيطة بالمجموع الجذري للنباتات التي أخذت سابقاً، وتم جمع والتقاط الأجسام الحجرية للفطر الممرض السابق من النباتات المصابة إذ التُقطت يدوياً بواسطة الملقط من الأجزاء النباتية المصابة بالفطر الممرض، ومن التربة المحيطة بجذور هذا النبات، ووضعت في أكياس ورقية، وكتب عليها تاريخ الجمع، والمنطقة والموقع.

ثانياً: العزل البكتيري:

1- عزل البكتريا من جذور النباتات:

عزلت البكتريا من كل عينة حيث قطعت الجذور ووضعت في طبق بتري معقم يحوي ماءً مقطراً معقماً مدة 10 دقائق للتخلص من حبيبات التربة العالقة عليها، ثم وضعت في أنبوب اختبار يحوي 4.5 مل ماءً مقطراً معقماً ورُجَّ جيداً مدة 1 دقيقة وسط رجاج كهربائي لفصل البكتريا العالقة على الجذور، ومدد المعلق البكتيري ثلاثة تمديدات بمعدل 1/10، 1/100، 1/1000، ثم زرعت البكتريا في أطباق بتري تحوي وسطاً مغذياً YPGA (Y مستخلص الخميرة 7 غ/ل، P بيبتون7 غ/ل، G غلوكوز 7 غ/ل، A آغار 15 غ/ل، ويضاف إليها 3 مل NaOH واحداً نظامياً، عقمت هذه البيئة في أوتوغلاف رطب في درجة حرارة 121م° وضغط جوي 1.5 جو مدة 20 دقيقة). حيث أخذ 50 ميكروليتراً من التمديد الثاني (الأنبوب رقم 2) من كل عينة ونشرت في طبق بتري يحوي الوسط المغذي السابق المقسم إلى ثلاثة قطاعات، حيث وضعت قطرة المعلق البكتيري في القطاع الأول ثم نشر بأنبوبة باستور ذات الطرف المكور بشكل خطوط متقاربة على كامل سطح القطاع، ثم نشرت في القطاع الثاني بحيث تتعامد خطوط النشر في القطاع الأول مع الخطوط في القطاع الثاني، ثم نشرت في القطاع الثالث بالطريقة نفسها حتى منتصفه، ونشرت في النصف الآخر على شكل خطوط لا تتقاطع مع خطوط

القطاع الثاني. وفي بعض الأحيان تم نشر المعلق البكتيري بوضع قطرة منه في وسط الطبق البتري ثم نشرها على كامل سطح الوسط المغذي باستخدام ماسحة زجاجية مثلثية الشكل. أُجريت ثلاثة مكررات (أطباق) لكل عينة. حضنت الأطباق على درجة حرارة 25م°. بعد مرور 48 ساعة من التحضين أخذت القراءات على كل طبق، حيث تم انتخاب المستعمرات البكتيرية في كل طبق بحسب شكلها ولونها وحجمها منتظمة أو غير منتظمة، محدبة أو مسطحة، ولون المستعمرة.

أعطيت كل مستعمرة رمزاً محدداً، ثم نقلت كل مستعمرة إلى أنبوب اختبار يحوي وسطاً مغذياً YPGA لإكثارها، ثم حفظت على وسط مغذ PYDAC (P بيبتون 3 غ/ل، Y مستخلص الخميرة 3 غ/ل، D ديكستروز 5 غ/ل، A أغار 15 غ/ل، C كربونات الكالسيوم 40 غ/ل) تحت زيت البارافين. وأجري العزل من الجذور في 2001/2/3 م وفي 2001/4/30 م .

2- عزل البكتريا من سطح الأجسام الحجرية للفطر الممرض *S. sclerotiorum*:

عزلت البكتريا من الأجسام الحجرية السابقة بطريقتين، وضعت في الطريقة الأولى عدة أجسام حجرية من الفطر من كل عينة على حدة في أنبوب اختبار يحوي 4.5 مل ماءً مقطراً معقماً ورج يدوياً مدة دقيقة واحدة للتخلص من بقايا التربة، ثم نقلت إلى أنبوب اختبار يحوي 4.5 مل ماءً مقطراً معقماً ورج جيداً مدة دقيقة واحدة على رجاج كهربائي، مدد المعلق البكتيري ثلاثة تمديدات متتالية بنسبة 1/10، 1/100، 1/1000، ثم أخذت قطرة من المعلق البكتيري (50 ميكروليتراً) من التمديد الثاني (1/100) ونشرت في أطباق بتري على الوسط المغذي YPGA في ثلاثة قطاعات. أصبح لكل عينة 3 أطباق تمثل3 مكررات، وحضنت على درجة حرارة 25م° مدة 72 ساعة. وأجري العزل في 2001/2/3م . وفي الطريقة الثانية لعزل البكتيريا من سطح الأجسام الحجرية، قسمت الأجسام الحجرية للفطر إلى قسمين، القسم الأول عقم سطحياً بالكحول تركيز 95% مدة 2 دقيقة، القسم الثاني لم يعقم، بعدها زرعت هذه الأجسام الحجرية في أطباق بتري تحوي الوسط المغذي PDA (P بطاطا 200 غ/ل، D ديكستروز 18 غ/ل، A آغار 18 غ/ل) وحضنت الأطباق على درجة حرارة 25م° مدة 72 ساعة. ثم أخذت خزعة من النمو البكتيري حول الأجسام الحجرية المعقمة وغير المعقمة ووضعت في أنبوب اختبار يحوي ماءً مقطراً معقماً ورج الأنبوب جيداً، وأُخذت قطرة منه ونشرت على الوسط المغذي YPGA في أطباق بتري على ثلاثة قطاعات، ثم حضنت الأطباق مدة 48 ساعة على درجة حرارة 25م°. حيث أجري العزل في2003/3/3 م. تم انتقاء وانتخاب المستعمرات الناتجة من الطريقتين كما ذكر سابقاً وزرعت في أنابيب اختبار تحوي YPGA للتأكد من نقاوتها ثم حفظت على وسط PYDAC تحت زيت البارافين في البراد.

3- عزل البكتريا من التربة المحيطة بالجذور:

وضعت 10 غرامات من التربة المحيطة بالجذور من كل عينة (والتي كان عددها خمس عينات ترابية من التربة المحيطة بجذور نباتات الخس) في دورق زجاجي يحوي 100 مل ماءً مقطراً معقماً، ورُجَّ الدورق مدة 5 دقيقة على رجاج كهربائي، ثم أخذ 10 مل من المعلق الأخير ووضع في دورق يحوي 90 مل ماءً مقطراً معقماً، ومددت كل عينة 3 مرات (1/10، 1/100، 1/1000) حيث أضيف كل مرة 1 مل من المعلق البكتيري إلى أنبوب اختبار فيه 9 مل ماءً مقطراً معقماً ورُجَّ جيداً، ثم نشر 1 مل من التمديد الثالث (1/1000) على طبق بتري يحوي الوسط المغذي YPGA بثلاثة قطاعات وكررت العملية لكل عينة ثلاث مرات وحضنت على درجة حرارة 25 درجة مئوية مدة 48 ساعة. ثم انتخبت المستعمرات البكتيرية كما ذكرنا سابقاً وزرعت في أنابيب اختبار تحوي YPGA للتأكد من نقاوتها ثم حفظت على وسط PYDAC تحت زيت البارافين في البراد. وكان قد أجري العزل في2001/4/30.

ثالثاً: اختبار مقدرة العزلات البكتيرية على نمو الفطر الممرض *Sclerotinia sclerotiorum* في المختبر:

استخدم وسط مغذ مناسب لنمو الفطر المدروس *S. sclerotiorum* والبكتريا المعزولة معاً وهو مزيج من وسطKingB و PDA (P بيبتون 20 غ/ل، G غليسيرول 10 مل/ل، $MgSo_4 7H_2O$ سلفات المغنزيوم 1.5 ملغ، (PDA) بيئة البطاطا الجاهزة 42 غ/ل)، وعقمت في الأوتوكلاف الرطب في درجة حرارة 121م° وضغط جوي 1.5 جو مدة 20 دقيقة. ثم وزعت على أطباق بتري 9 سم. اختُبرت الـ 82 عزلة بكتيرية التي عُزلت من الجذور وسطح الأجسام الحجرية والتربة المَحيطة بالجذور المجموعة من عدة مواقع في المنطقة الجنوبية من دمشق، بالإضافة إلى اختبار 20 عزلة بكتيرية أظهرت في دراسات سابقة (الحمدية وآخرون، 2002)، بأنها تمتلك صفة التضاد ضد فطر العفن الأبيض على الثوم *Sclerotium cepivourm* مصدرها مخبر أمراض النبات في كلية الزراعة- جامعة دمشق، معزولة من قبل الحمدية (2002)، وهي موضحة في الجدول (1) مع مصدر العزلات ومسافة التثبيط لكل عزلة ضد فطر العفن الأبيض على الثوم *S. cepivourm* . نُشطت جميع العزلات البكتيرية عن طريق زرع هذه العزلات المحفوظة في وسط مغذ PYDAC تحت زيت البارافين بزرعها على سطح الوسط المغذي YPGA في أنابيبَ اختبار، ثم حضنت هذه الأنابيب على درجة حرارة 25 م° مدة 48 ساعة للحصول على مزارع بكتيرية جديدة نشطة. كذلك زرعت الأجسام الحجرية الفطر الممرض *S. sclerotiorum* على وسط مغذ PDA بعد أن تم تعقيمها سطحياً باستخدام هيبوكلوريت الصوديوم 1% مدة 3 دقائق، وغسلت بالماء المقطر المعقم، ثم حضنت الأطباق على

درجة حرارة 22-23م° مدة خمسة أيام لتصبح جاهزة لأخذ خزعة منها تحتوي على مشيجة الفطر. وضع في كل طبق بتري يحوي البيئة السابقة 4 عزلات بكتيرية وزعت على محيط الطبق، ووضع في مركز الطبق خزعة 5 ملم من المشيجة الفطرية النامية على الوسط المغذي PDA، واستخدمت ثلاثة مكررات لكل عزلة، ثم حضنت الأطباق في درجة حرارة 23م°مدة خمسة أيام في الحاضنة، بعد ذلك أخذت القراءة بقياس المسافة الفاصلة بين نهاية النمو الفطري والنهاية المقابلة لها من النمو البكتيري (Expert and Digat, 1995)، ثم حسب متوسط المكررات الثلاثة لكل عزلة وسجلت النتائج، وتم تحليل التباين ومقارنة متوسطات مسافة التضاد بين العزلات البكتيرية والفطر الممرض وفق اختبار دانكن متعدد الحدود Duncan Multiple Range Test (DMRT) تبعاً لبرنامج MSTAT C.

رابعاً: تعريف وتصنيف بعض العزلات البكتيرية التي أبدت تأثيراً مضاداً في نمو الفطر الممرض *Sclerotinia sclerotiorum*:

تمَ اختيار ثلاث عزلات بكتيرية من أجل تعريفها وتحديد هويتها وذلك باستخدام عدة اختبارات بيوكيميائية في مختبر الأمراض في كلية الزراعة بدمشق وهي:

1- اختبار صبغة غرام حسب طريقة RYV (Suslow *et al*, 1982).

2- اختبار متطلبات البكتيريا من الأوكسجين الحر (Hugh and Leifson, 1953).

3- اختبار مقدرة البكتيريا على إفراز أنزيم سيتوكروم أوكسيداز Cytochrome oxydase (Kovacs, 1956)

4- اختبار مقدرة البكتيريا على إنتاج الصبغات الوميضية Fluorescent Pigment (King *et al*, 1954)

5- اختبار مقدرة البكتيريا على تشكيل الجراثيم الداخلية Endospores (Philipp *et al*, 1981)

الجدول (1) العزلات البكتيرية التي لها صفة تضاد ضد فطر العفن الأبيض على الثوم *Sclerotium cepivorum*

م	العزلة البكتيرية	مصدر العزل	متوسط أقرب مسافة نمو بين الفطر والبكتيريا/ملم *Sclerotium cepivourm*
1	D5	جذور الثوم	7
2	T.118	التربة	5
3	B1	التربة	4.4
4	G30.2	الأجسام الحجرية للفطر *Sclerotium cepivorum*	5.1
5	T.95	التربة	7
6	T.6	التربة	10
7	BL	التربة	6.4
8	A	التربة	6.4
9	M4.1	الأجسام الحجرية للفطر *Sclerotium cepivorum*	9.4
10	G30.5	الأجسام الحجرية للفطر *Sclerotium cepivorum*	6.5
11	G20.4	جذور نبات الثوم	0.5
12	B	التربة	10.5
13	D	التربة	7
14	M4.2	الأجسام الحجرية للفطر *Sclerotium cepivorum*	7
15	J	التربة	6
16	H3	جذور نبات القمح	3
17	G30.1	الأجسام الحجرية للفطر *Sclerotium cepivorum*	12.5
18	A3.1	جذور نبات البصل	0.5
19	A22.1	جذور نبات البصل	4
20	M12.2	جذور نبات البصل	0.5

المصدر: كلية زراعة، جامعة دمشق، مخبر الأمراض، الحمدية،2002م ، بحث أعد لنيل درجة الماجستير

النتـــائـــج والمناقشـــة

أولاً- نتائج العزل البكتيري:

أدت عمليات العزل البكتيري المختلفة إلى عزل 82 عزلة بكتيرية منها 48 عزلـــت من الجذور، و7 من التربة المحيطة بالجذور، و27 من سطح الأجسام الحجرية الفطريـــة وهي موضحة بالجدول (2).

الجدول (2) عدد العزلات البكتيرية المعزولة من الجذور وسطح الأجسام الحجرية الفطرية ومن التربة المحيطة بالجذور.

تاريخ العزل	الجذور	سطح الأجسام الحجرية الفطرية	التربة المحيطة بالجذور
2001/2/3	27	17	-
2001/4/30	21	-	7
2003/3/3	-	10	-
المجموع	48	27	7

(-) لم يتم العزل منها في هذا التاريخ.

ثانياً: اختبار مقدرة العزلات البكتيرية على نمو الفطر الممرض *Sclerotinia sclerotiorum* مخبرياً في الزجاج:

بينت نتائج اختبار صفة التضاد في الزجاج *In vitro* للعزلات البكتيرية المعزولة من جذور نباتات الخس والجزر، وسطح الأجسام الحجرية الفطرية، والتربة المحيطة بالجذور، من المنطقة الجنوبية من دمشق (الطيبة، الدرخبية، زاكية، المقيلبة) عام 2001 اتجاه الفطر الممرض *S.sclerotiorum* على الوسط المغذي (King B + PDA) أنه لدينا 7 عزلات بكتيرية أبدت تأثيراً مضاداً في نمو الفطر الممرض بمسافات تضاد مختلفة بين العزلة والأخرى، وذلك من أصل 82 عزلة بكتيرية معزولة من الجذور وسطح الأجسام الحجرية الفطرية والتربة المحيطة بالجذور، (الجدول 3)، حيث أبدت عزلتان من جذور الخس وهي (K76.4 وK16.2)، وعزلة واحدة من جذور الجزر هي (K4.4)، وثلاث عزلات من سطح الأجسام الحجرية للفطر الممرض وهي (FN1, FN2, FN3)، وعزلة واحدة من التربة المحيطة بالجذور هي (K82.4) قدرة على منع نمو الفطر الممرض وانتشاره (جدول 4).

الجدول (3) عدد العزلات البكتيرية المعزولة من الجذور و سطح الأجسام الحجرية الفطرية ومن التربة المحيطة بالجذور والمضادة لفطر عفن سكليروتينيا *Sclerotinia sclerotiorum*

تاريخ العزل	الجذور		التربة المحيطة بالجذور		سطح الأجسام الحجرية	
	عدد العزلات البكتيرية	عدد العزلات البكتيرية المضادة للفطر *S. sclerotiorum*	عدد العزلات البكتيرية	عدد العزلات البكتيرية المضادة للفطر *S. sclerotiorum*	عدد العزلات البكتيرية	عدد العزلات البكتيرية المضادة للفطر *S. sclerotiorum*
2001/2/3	27	2	-	-	17	0
/4/30 2001	21	1	7	1	-	-
2003/3/3	-	-	-	-	10	3
المجموع	48	3	7	1	27	3

(-) لا توجد عزلات بكتيرية معزولة في هذا التاريخ.

أما باقي العزلات والتي بلغ عددها 75 عزلة بكتيرية فلم تؤثر في نمو الفطر الممرض على الوسط المغذي السابق ذكره، حيث غطى النمو الفطري كامل النمو البكتيري ولم يكن هناك أي فاصل أو مسافة تضاد بين نهاية النمو البكتيري ونهاية النمو الفطري.

ويبين الجدول (4) مسافة التضاد الفاصلة بين نهاية نمو الفطر الممرض ونهاية النمو البكتيري لكل عزلة بكتيرية مضادة لنمو الفطر السابق. ومن خلال التحليل الإحصائي لمقارنة متوسطات مسافة التضاد بين العزلات البكتيرية والفطر الممرض حسب اختبار دانكن على مستوى 1 %، وجد أن العزلتين البكتيريتين (K82.4) المعزولة من التربة و(K4.4) المعزولة من جذور الجزر قد تفوقتا على باقي العزلات البكتيرية بمسافة تضاد 11 ملم و9.6 ملم على التتالي، حيث كانت الاختلافات معنوية ما بين العزلتين السابقتين وباقي العزلات البكتيرية وكانت العزلة البكتيرية (FN2) المعزولة من سطح الأجسام الحجرية للفطر الممرض قد حققت أقل مسافة تضاد وهي 1.3 ملم (الجدول 4).

الجدول (4) مسافة التضاد بين الفطر الممرض *Sclerotinia sclerotiorum* والعزلات البكتيرية المعزولة من الجذور، وسطح المتحجرات الفطرية، والتربة المحيطة بالجذور من المنطقة الجنوبية من دمشق.

رمز العزلة البكتيرية	مصدر العزل	أقرب مسافة نمو فاصلة بين الفطر والبكتيريا/ملم			المتوسط	
		المكرر 1	المكرر 2	المكرر 3		
K82.4	التربة	15	8	10	A	11
K4.4	جذور نبات الجزر	8	11	10	AB	9.6
K76.4	جذور نبات الخس	5	5	8	BC	6
FN3	الأجسام الحجرية للفطر الممرض *S. sclerotiorum*	7	5	5	BC	5.6
K16.2	جذور نبات الخس	3	5	3	C	3.6
FN1	الأجسام الحجرية للفطر الممرض *S. sclerotiorum*	3	1	2	C	2
FN2	الأجسام الحجرية للفطر الممرض *S. sclerotiorum*	2	1	1	C	1.3

المتوسطات التي تشترك برموز متشابهة لا تختلف معنوياً فيما بينها عند مستوى 1%

ثالثاً: نتائج التضاد البكتيري لفطر *Sclerotinia sclerotiorum* مع عزلات بكتيرية مضادة لفطر العفن الأبيض على الثوم *Sclerotium cepivorum*:

تبين عند اختبار 20 عزلة بكتيرية مضادة لفطر العفن الأبيض على الثوم *S. cepivorum* اتجاه فطر العفن الأبيض *S. sclerotiorum* وجود 11 عزلة بكتيرية استطاعت أن تمنع نمو الفطر الأخير بمسافات تضاد مختلفة من عزلة إلى أخرى، وقد تراوحت متوسطات مسافة التضاد مابين 2.3-12.3 ملم وهذه هي G20.4، G30.5، D،

A، BL، T.6، B، G30.2، B1، T.118، D5، (جدول 5). أما باقي العزلات والتي بلغ عددها (9) فلم تؤثر في نمو الفطر الممرض.

الجدول (5) مسافة التضاد الفاصلة بين نمــو الفطــر الممــرض *Sclerotinia sclerotiorum* والعزلات البكتيرية التي لها تأثير مضاد في نمو الفطر *Sclerotium cepivorum*.

رمز العزلة البكتيرية	أقرب مسافة نمو فاصلة بين الفطر والبكتيريا/ملم			متوسط أقرب مسافة نمو فاصلة بين الفطر والبكتيريا/ملم
	المكرر 1	المكرر 2	المكرر 3	
M4.2	0	0	0	0
T.118	12	10	14	12
J	0	0	0	0
M4.1	5	5	5	5
A	5	5	5	5
D	0	0	0	0
D5	12	13	12	12.3
H3	0	0	0	0
B1	10	13	11	11.3
G30.5	2	6	5	4.3
A22.1	0	0	0	0
G30.2	8	9	10	9
G20.4	2	3	2	2.3
T.95	9	8	7	8
B	0	0	0	0
G30.1	0	0	0	0
BL	5	7	6	6
T.6	6	7	10	7.6
M12.2	0	0	0	0
A3.1	0	0	0	0

وإذا ما قورنت متوسطات مسافة التضاد لهذه العزلات اتجاه الفطر *S. sclerotiorum*، والفطر *S. cepivorum* (الجدول 6)، نلاحظ أن مسافة التضاد قد اختلفت، لأن بعــض العزلات التي كان لها تأثير مضاد في الفطر *S.cepivorum* لم تبد أي تأثير مضاد تجــاه الفطر الممرض *S.sclerotiorum*، وذلك مثل العزلات (M4.2، J، D، H3، A22.1، B، G30.1، M12.2، A3.1) فعلى سبيل الذكر نلاحظ أن العزلة البكتيرية G30.1 المعزولــة من الأجسام الحجرية للفطر *S. cepivorum* أعطت مسافة تضاد بين نموها ونمو الفطــر الأخير قدرها 12.5 ملم. في حين لم تعطِ أي تأثير مضاد تجاه الفطر *S. sclerotiorum*. وكذلك نستنتج أن بعض العزلات البكتيرية أعطت مسافة تضاد اتجاه الفطــر الممــرض *S. sclerotiorum* أكبر من مسافة التضاد بينهــا وبــين الفطــر *S. cepivorum*، مثــل العزلة البكتيرية T118 إذ حققت مسافة تضاد 12 ملم تجاه الفطر *S. sclerotiorum*، في حين كانت 5 ملم تجاه الفطر *S. cepivorum* وكذلك العزلات البكتيرية D5–B1–J30.5.

الجدول (6) مقارنة متوسطات مسافة التضاد البكتيري بين العزلات البكتيرية الإضافية 20 عزلة وبين الفطرين *Sclerotinia sclerotiorum* و *Sclerotium cepivorum* :

رمز العزلة البكتيرية	متوسط أقرب مسافة نمو فاصلة بين الفطر *Sclerotinia sclerotiorum* والبكتيريا/ملم	متوسط أقرب مسافة نمو فاصلة بين الفطر *Sclerotium cepivorum* والبكتيريا/ملم
M4.2	0	7
T.118	12	5
J	0	6
M4.1	5	9.4
A	5	6.4
D	0	7
D5	12.3	7
H3	0	3
B1	11.3	4.4
G30.5	4.3	6.5
A22.1	0	4
G30.2	9	5.1
G20.4	2.3	0.5
T.95	8	7
B	0	10.5
G30.1	0	12.5
BL	6	6.4
T.6	7.6	10
M12.2	0	0.5
A3.1	0	0.5

يبين الجدول (7) نتائج التحليل الإحصائي لمقارنة متوسطات مسافة التضاد بين الفطر الممرض *Sclerotinia sclerotiorum* وجميع العزلات البكتيرية المدروسة المعزولة من المنطقة الجنوبية من دمشق والتي أبدت تأثيراً مضاداً في نمو الفطر الممرض *Sclerotinia sclerotiorum* والبالغ عددها 7، والعزلات البكتيرية الإضافية والبالغ عددها 20، وذلك على الوسط المغذي (King B+PDA) حسب اختبار دانكن على مستوى1% ونستنتج من هذا الجدول أن العزلات البكتيرية (D5، T.118، B1، K82.4) قد حققت أكبر مسافة تضاد وهي (12.3، 12، 11.3، 11 ملم). وكانت الاختلافات معنوية ما بين هذه العزلات الأربع وباقي العزلات البكتيرية. وكانت العزلات البكتيرية (FN1, FN2) قد أعطت أقل العزلات فاعلية وكانت الاختلافات ظاهرية فيما بينها. لذلك توضح هذه التجربة اختلاف قدرة العزلات البكتيرية على إفراز مواد مضادة للفطر الممرض، وعبر عنها بمسافة التضاد التي حققتها تلك العزلات اتجاه الفطر الممرض *Sclerotinia sclerotiorum*.

الجدول (7) التحليل الإحصائي لاختلاف صفة التضاد عند العزلات البكتيرية باستخدام اختبار دانكن متعدد الحدود على مستوى 1%

م	العزلة البكتيرية	مصدر العزل	متوسط مسافة التضاد/ ملم	
1	D5	جذور الثوم	A	12.3
2	T.118	التربة	A	12
3	B1	التربة	AB	11.3
4	K82.4	التربة	ABC	11
5	K4.4	جذور نبات الجزر	BCD	9.6
6	G30.2	الأجسام الحجرية للفطر *Sclerotium cepivorum*	CD	9
7	T.95	التربة	DE	8
8	T.6	التربة	EEF	7.6
9	BL	التربة	EFG	6
10	K76.4	جذور نبات الخس	EFG	6
11	FN3	الأجسام الحجرية للفطر *Sclerotinia sclerotiorum*	FG	5.6
12	A	التربة	G	5
13	M4.1	الأجسام الحجرية للفطر *Sclerotium cepivorum*	G	5
14	G30.5	الأجسام الحجرية للفطر *Sclerotium cepivorum*	GH	4.3
15	K16.2	جذور نبات الخس	GHI	3.6
16	G20.4	جذور نبات الثوم	HIJ	2.3
17	FN1	الأجسام الحجرية للفطر *Sclerotinia sclerotiorum*	IJK	2
18	FN2	الأجسام الحجرية للفطر *Sclerotinia sclerotiorum*	JK	1.3
19	B	التربة	K	0
20	D	التربة	K	0
21	M4.2	الأجسام الحجرية للفطر *Sclerotium cepivorum*	K	0
22	J	التربة	K	0
23	H3	جذور نبات القمح	K	0
24	G30.1	الأجسام الحجرية للفطر *Sclerotium cepivorum*	K	0
25	A3.1	جذور نبات البصل	K	0
26	A22.1	جذور نبات البصل	K	0
27	M12.2	جذور نبات البصل	K	0

المتوسطات التي تشترك برموز متشابهة لا تختلف معنوياً فيما بينها عند مستوى 1%.

رابعاً: نتائج تعريف وتصنيف بعض العزلات البكتيرية التي أبدت تأثيراً مضاداً تجاه نمو الفطر الممرض *Sclerotinia sclerotiorum*:

بينت نتائج الاختبارات البيوكيميائية الخمسة (جدول 8) التي أجريت على العزلات البكتيرية المختبرة مايأتي:

1- تفاعل البكتيريا مع صبغة غرام: تبين أن العزلات البكتيرية الثلاث المختبرة K82.4, FN3, K4.4 هي موجبة لصبغة غرام.

2- اختبار متطلبات البكتيريا من الأوكسجين الحر: بيَّن هذا الاختبار أن العزلات البكتيرية الثلاث السابقة هوائية لاهوائية اختيارية.

3- اختبار أوكسيداز: كان تفاعل العزلات البكتيرية الثلاث سالباً تجاه مقدرتها على إفراز أنزيم سيتوكروم أوكسيداز.

4- اختبار مقدرة البكتيريا على إنتاج الصبغات الوميضية Fluorescent Pigment: أظهر هذا الاختبار أن العزلات البكتيرية الثلاث K82.4,FN3, K4.4 ليس لها المقدرة على إفراز صبغات وميضية على الوسط المغذي KingB، ولم تعط لوناً أخضرَ عندما عرضت إلى الأشعة فوق البنفسجية UV.

5- اختبار مقدرة البكتيريا على تشكيل الجراثيم الداخلية (Endospores): استطاعت العزلات البكتيرية K82.4, FN3, K4.4 أن تكون جراثيمَ داخلية (Endospores).

وأخيراً بمقارنة نتائج الاختبارات البيوكيميائية الخمسة السابقة للعزلات البكتيرية الثلاث K82.4 المعزولة من التربة، وFN3 المعزولة من الأجسام الحجرية، وK4.4 المعزولة من جذور الجزر، مع دليل تصنيف البكتيريا BERGEY'S (Volume 2, 1986) MANUAL® OF SYSTEMATIC BACTERIOLOGY نستنتج أن العزلات البكتيرية الثلاث السابقة تنتمي إلى جنس *Bacillus* spp.

الجدول (8) نتائج الاختبارات البيوكيميائية للعزلات البكتيرية المختبرة

رمز العزلة البكتيرية	مصدر العزل	الاختبارات البيوكيميائية				
		صبغة غرام	اختبار متطلبات البكتيريا من الأوكسجين	اختبار أوكسيداز	اختبار إنتاج صبغة وميضية على وسط King B	تكوين جراثيم داخلية
K82.4	التربة	+	هوائية لا هوائية اختيارية	-	-	+
FN3	الأجسام الحجرية للفطر *Sclerotinia sclerotiorum*	+	هوائية لا هوائية اختيارية	-	-	+
K4.4	جذور نبات الجزر	+	هوائية لا هوائية اختيارية	-	-	+
***مواصفات جنس *Bacillus* spp.**		+	D	D	-	+

* مواصفات جنس *Bacillus* spp. حسب دليل تصنيف البكتيريا

D = substantial BERGEY'S MANUAL® OF SYSTEMATIC BACTERIOLOGY (Volume 2, 1986) proportion of species differ.

المنـــاقشـــة

أكدت الحمدية وآخرون (2002) أنَ كل العزلات البكتيرية المعزولـــة مـــن الأجـــسام الحجرية للفطر *Sclerotium cepivorum*، ومعظم العزلات المعزولة من التربـــة والتـــي أثبتت مقدرتها التضادية تجاه الفطر المسبب للعفن الأبيض علـــى الثـــوم *S.cepivorum* تنتمي إلى جنس *Bacillus* spp. نذكر منها مثلاً T118, B1, G30.5, T.95، وهذا يتوافق مع نتائج هذا البحث، حيث نتج لدينا ثلاث عزلات بكتيرية هي: K82.4 المعزولـــة مـــن التربة، وFN3 المعزولـــة مـــن الأجـــسام الحجريـــة للفطـــر الممـــرض *Sclerotinia sclerotiorum*، وK4.4 المعزولة من جذور الجزر، وجميع هذه العزلات تنتمـــي إلـــى الجنس *Bacillus* spp. ونلاحظ أنَ العزلات البكتيرية التي أعطت أكثر مسافة تضاد تجاه الفطر *Sclerotium cepivorum* . تنتمي إلى الجنس *Bacillus* spp. وهـــي G30.1, M1 وغيرها، وهذا يتوافق مع نتائج هذا البحث لأن العزلات البكتيرية التي حققت أكبر مسافة تضاد بينها وبين الفطر *Sclerotinia sclerotiorum* تنتمي إلى الجـــنس *Bacillus* spp. نذكر منها B1 ,T.118. وبمقارنة تأثير العزلات البكتيرية المضادة تجـــاه فطـــر العفـــن الأبيض في الثوم *Sclerotium cepivorum* مع تأثيرها في الفطر الممرض *Sclerotinia sclerotiorum* نتج أن هناك 11 عزلة بكتيرية من أصل 20 عزلة أبدت تأثيراً مـــضاداً تجاه الفطر *Sclerotinia sclerotiorum* و9 عزلات لم تؤثر في نمو الفطر الأخير، وهذا يشير إلى التباين في قدرة العزلات البكتيرية التضادية على منع نمو أنواع فطرية مختلفة، وكذلك يدل هذا على القدرة التضادية العالية التي تتمتع بها هذه العزلات.

ذكر (Expert and Digat, 1995) عن (Zarrerini, 1987) أنَ هناك ســـلالات مـــن بكتيريـــا *Bacillus subtilis* أعاقـــت إنبـــات الأجـــسام الحجريـــة للفطـــر الممـــرض *S. sclerotiorum* المعزولة من الجزر وهذا يتوافق مع ما نتج أنه هناك عزلـــة بكتيريـــة عزلت من جذور الجزر وهي K4.4 قد أوقفت نمو الفطـــر الممـــرض *S. sclerotiorum* مخبرياً ضمن الأطباق على الوسط المغذي King B+PDA وهي تنتمـــي إلـــى الجـــنس *Bacillus* spp.

الاســـتنتاجـــات

1- أثبتت 7 عزلات بكتيرية وهـــي (K82.4, K4.4, K76.4, K16.2, FN1, FN2, FN3) تأثيراً مضاداً في نمو الفطر الممرض *Sclerotinia sclerotiorum* مـــن أصل 82 عزلة بكتيرية عزلت من الجذور، وسطح الأجـــسام الحجريـــة، ومـــن التربة.

2- تراوحت مسافة التضاد بين نهاية نمو العزلات البكتيرية المضادة لنمـــو الفطـــر *S. sclerotiorum* وبين نهاية نمو الفطر *S. sclerotiorum* ما بين 1.3-11 ملم وحققت العزلة K82.4 أكبر مسافة وهي 11 ملم.

3- بينت نتائج تعريف بعض العزلات البكتيرية التي أثبتت تأثيراً مضاداً تجاه الفطر الممرض *S. sclerotiorum* باستخدام بعض الاختبارات البيوكيميائية أن هنـــاك ثلاث عزلات بكتيرية تنتمي إلى الجنس *Bacillus* spp. .

التوصيات والمقترحات

1- استخدام العزلات البكتيرية السبع المنتخبة من البيئة السورية المحلية التي أثبتـــت مخبرياً تأثيراً مضاداً في الفطر *Sclerotinia sclerotiorum* في تجارب أصص، وتجارب حقلية لإثبات فعاليتها في منع نمو الفطـــر الأخيـــر ضـــمن الظـــروف الحقلية.

2- استخدام هذه العزلات البكتيرية المضادة في برامج المكافحة المتكاملـــة الحديثـــة للفطر الممـــرض بعـــد التحقـــق مـــن فعاليتهـــا تجـــاه الفطـــر *Sclerotinia sclerotiorum*. في تجارب حقلية.

3- استخدام هذه العزلات في تجارب اختبار تأثيرها في مسببات ممرضة أخرى.

المـــراجـــع REFERENCES

1- الحمدية، مجد، محمود أبو غرة، ومحمد فواز العظمة. 2002. مكافحة مرض العفن الأبـــيض علـــى الثوم بالطرق الحيوية بالمقارنة مع المكافحة الكيميائية للمرض، رسالة ماجستير، كليـــة الزراعـــة، جامعة دمشق.

2- بياعة، بسام. 1986. أمراض البساتين والغابات. كلية الزراعة، جامعة حلب، ســـورية. الـــصفحات 322-325.

3- Agrios, G. N. 1997. Sclerotinia Diseases of Vegetables and Flowers. Pages 355-358. In Plant Pathology. 4th. Edition. Academic Press. San Diego, London, Boston, New York, Sydney, Tokyo, Tornto.

4- Cassiolato, A. M. R. 1998. Effects of *Coniothyrium minitans* on carpogenic germination and viability of *Sclerotinia sclerotiorum* sclerotia. Fitopatologia Brasileira 23: 474-476.

5- Dillard, H. R, Ludwing, G. W. and Hunter, J. E. 1995. Conditioning sclerotria of *Sclerotinia sclerotiorum* for carpogenic germination. Plant Dis. 79: 411 – 415.

6- Expert, J. M. and Digat, B. 1995. Biocontrol of sclerotinia wilt of sunflower by *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas putida* strains. Can. J. Microbiol. 41: 685-691.

7- Hugh, R and Leifson, H. 1953. The taxonomic signicance of fermenative versus oxidative metabolism of carbohydrates by various Gram-negative bacteria. Journal of Bacteriology 66:24-26 .

8- King, E. O, M. K. Ward and Raney, D. E. 1954. Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescein. Journal of Laboratory and Clinical Medicine 44:301-307.

9- Kovacs, N. 1956. Identification of *Pseudomonas* pyocyanea by the oxidase reaction. Nature, London 178,703.

10- McLaren, D. L., Huang, H. C. and Rimmer, S. R. 1996. Control of apothecial production of *Sclerotinia sclerotiorum* by *Coniothyrium minitans* and *Talarmyces flavus.* Plant Dis. 80: 1373-1378.

11- Mueller, D. S., Hartman, G. L. and Pedersen, W. L. 1999. Development of sclerotia and apothecia of *Sclerotinia sclerotiorum* from infected soybean seed and its control by fungicide seed treatment. Plant Dis. 83:1113-1115.

12- Peter H. A. Sneath, Nicholas. mair, M. Eliasabeth Sharpe, John G. holt. 1986. Bergys Manual® of Systematic Bacteriology volume 2. p1104.

13- Philipp gerhardt, R. G. E. Murray, Ralphn. Costilow, Eugenew. Nester, Willisa. Wood, Noel R. Krieg, G. Briggs Phillips. 1981. Manual of Methods for General Bacteriology. P 422.

14- Subbarao, K. V. 1998. Progress Toward Integrated Management of Lettuce Drop. Plant Dis. 82: 1068-1078.

15- Suslow, T .V., Schrot, H. M. N. and Isaka, M. 1982. Application of a rapid method for Gram differentiation of plant pathogenic and saprophytic bacteria without staining. Phytopathology 72(7): 917-918.

16- Tu, J. C. 1998. Biological control of white mold in white bean using *Trichoderma viride*, *Gliocladium roseum* and *Bacillus subtilis* as protective foliar spray. Med. Fac. Landbouww. Univ. Gent, 62/3b: 979 - 986.

17- Zazzerini, A., Tosi, L. and Rossi, J. 1987. Antagonistic effects of *Bacillus* spp. On *Sclerotinia sclerotiorum sclerotia.* Phytopathology. Mediterr. 26: 785-787.

Received	2005/06/22	إيداع البحث
Accepted for Publ.	2005/08/31	قبول البحث للنشر