

وجود بكتريا الـ *Pseudomonas spp.* في التربة المروية بمياه الصرف الصحي

هتاف عبد الملك احمد السالم و رند مناف عبد الرحمن

قسم التقنيات الاحيائية- كلية العلوم/ جامعة بغداد

الخلاصة

لمعرفة تأثير استعمال مياه الصرف الصحي المعالجة والخام في بكتريا *Pseudomonas spp.* الموجودة في التربة ، وبصورة خاصة بكتريا *Pseudomonas fluorescens* ذات التأثيرات المفيدة للنبات ، اخذت عينات التربة من حقل مقسم الى خمسة الواح ومزروع بنبات القطن وتم ريه بمياه ري مختلفة شملت مياه ري اعتيادية (W0) ومياه بئر (W1) ومياه صرف صحي خام أي غير معالجة (W2) ومياه صرف صحي معالجة بطريقتين (W3 و W4) . وجد ان اعداد بكتريا الـ *Pseudomonas spp.* كانت مرتفعة وبصورة معنوية عالية في التربة المروية بمياه الصرف الصحي عموماً (W3 و W2 و W4 على التوالي) ، وكانت الفروقات بين هذه المعاملات عالية المعنوية مقارنة بالتربة المروية بمياه البئر (W1) والتربة المروية بمياه الري الاعتيادية (W0) ، اذ لم تختلف هاتان المعاملتان (W0 و W1) عن بعضهما معنوياً . كما بينت الدراسة وجود بكتريا *Pseudomonas fluorescens* في التريتين المروية بمياه البئر والمياه الاعتيادية (W0 و W1) وعدم وجودها في الترب المروية بمياه الصرف الصحي ، في حين وجدت بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* في التربة المروية بمياه الصرف الصحي المعالجة وغير المعالجة (W2 و W3 و W4) وبأعداد كبيرة فضلاً عن وجودها (بأعداد قليلة) في التربة المروية بمياه الري الاعتيادية ومياه البئر (W0 و W1) . ومن ذلك يتضح تأثير استعمال مياه الصرف الصحي في احداث تغيير في بيئة التربة والاحياء المجهرية الموجودة فيها طبيعياً، اذ أثر سلباً في وجود *Pseudomonas fluorescens*.

The presence of *Pseudomonas spp.* bacteria in soil irrigated with wastewater

Hutaf A. Alsalam and Rand M. Abdalrahman

Biotechnology Dep.- College of Science/ University of Baghdad

Abstract

The effect of treated and untreated wastewater on *Pseudomonas spp.* bacteria was detected. Soil samples were collected from a cotton cultivated field that divided into five plots which irrigated with different irrigation water : regular irrigation water (W0), well water (W1), untreated wastewater (W2), and two ways treated wastewater (W3, W4). The numbers of *Pseudomonas spp.* bacteria were significantly high in soil irrigated with wastewater in general (W3, W2, W4 respectively). The differences between these treatments (W3, W2, W4) were highly significant compared to the soil irrigated with well water (W1) and the soil irrigate with regular irrigation water (W0), as the last two treatments (W0, W1) did not differ significantly from each other. The study showed the

presence of *Pseudomonas fluorescens* bacteria in the soil irrigated with regular water and well water (W0, W1) and the absence of these bacteria in soil irrigated with waste water. The study also indicates the present of *Pseudomonas aeruginosa* bacteria in the soil irrigated with treated and untreated wastewater (W2,W3,W4) and in large numbers, in addition to their presence (in low numbers) in soil irrigated with regular water and well water (W0,W1). This clarifies the role of using wastewater in changing soil environment and its natural flora.

المقدمة

ان اعادة استعمال مياه الصرف الصحي المعالجة يمكن ان يسهم في المحافظة على موارد المياه والطاقة ويؤدي الى زيادة انتاج المحاصيل (لوفرة وجود المواد العضوية الذي يسهم في تحسين ظروف وخصوبة التربة) وتحسين البيئة من خلال منع أو تقليل التصريف الى المياه السطحية ويمكن ان يكون له اثار سيئة في بيئة التربة والصحة العامة وذلك لما تحويه من الكائنات الممرضة ، مثل البكتريا والفايروسات والطفيليات ، ويمكن للعديد من هذه الاحياء ان تعيش وتقاوم عمليات المعالجة ، وان لهذه الكائنات الممرضة القدرة على البقاء أو الصمود في التربة لمدة زمنية تختلف باختلاف الكائن المجهرى.

يمثل جنس بكتريا *Pseudomonas spp.* مجموعة كبيرة ومهمة من البكتريا السالبة لصبغة كرام والتي توجد بأعداد كبيرة حرة المعيشة في التربة والمياه العذبة والبيئات المالحة والعديد من البيئات الطبيعية الاخرى فضلاً عن كونها موجودة مع النباتات والحيوانات كمسببات مرضية . وهذه البكتريا عصيات مستقيمة أو منحنية قليلاً ومتحركة بسوط قطبي غير مكونة للابواغ وهوائية مجبرة وتنمو بمدى حراري يتراوح بين 4 - 42°م ورقم هيدروجيني مثالي بين 7- 9 ، وتملك القدرة على استغلال العديد من المصادر الكربونية مصدراً للطاقة العضوية كما انها موجبة لفحصى الاوكسيديز والكاتليز وغير مخمرة للكربوهيدرات الا انها مستهلكة لها بواسطة عمليات الاكسدة (1). يضم جنس *Pseudomonas spp.* أنواع كثيرة منها المتألق ومنها غير المتألق وتمتاز المتألقة بقابليتها على انتاج صبغة البايوفردين (Pyoverdine) وهي صبغة خضراء مصفرة متألقة عن تعريضها للاشعة فوق البنفسجية وتمتلك الخواص المثالية للمركبات الخالبة للحديد (Chelating agent) ، وتعد هذه الصبغة في مقدمة المركبات العديدة ذات الفعالية المضادة للميكروبات التي تنتجها بكتريا الـ *Pseudomonas* (2).

توجد بكتريا *Pseudomonas fluorescens* في التربة والماء ولا توجد في جسم الانسان بصفقتها نبت طبيعي ونادراً ما توجد في العينات السريرية (Clinical samples) (3) على خلاف بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* التي وجدت بكثرة في العينات السريرية ، وتعد *P. fluorescens* ذات أهمية لنمو النبات اذ حفزت نمو نبات الرز عند اضافتها كلقاح بكتيري وتمثل ذلك في زيادة طول النبات وعدد التفرعات وعدد الحبوب والوزن الجاف والحاصل النهائي زيادة معنوية (4) ، وان اضافة *P. fluorescens* مع البذور ادى الى زيادة محتوى النبات من الفوسفات والنتروجين والبوتاسيوم (5) ، وان بقاء لقاحات هذه البكتريا قد تتأثر بمحتوى هذه التربة من المادة العضوية (6) ، وذكر (7) ان لهذه البكتريا أهمية كبيرة بوصفها مبيداً حيوياً لقدرتها على استيطان جذور النباتات. كما نالت هذه البكتريا اهتماماً واسعاً بين انواع الاحياء المجهرية المستعملة في السيطرة البايولوجية بوصفها أكبر وأقوى

مجاميع البكتريا المحفزة لنمو النبات الموجودة في المناطق المحيطة بالجذر (Rhizosphere) والتي تشارك في السيطرة البايولوجية (8). فقد أستعملت ضد فايروس موزائيك الخيار (5) ولعلاج مرض الذبول الفيوزارمي المتسبب عن فطر *Fusarium oxysporum* (9) والتعفن الطري المتسبب من بكتريا *Erwinia carotovora* والتعفن الجاف المتسبب من الفطر *Fusarium solani* في البطاطا (10) ولقتل ديدان *Meloidogyne javanica* (11).

المواد وطرائق العمل

نفذت تجربة حقلية في حقل مزروع بمحصول القطن تحت نظام الري بالتنقيط ويبين الجدول (1) بعض صفات تربة الحقل المقدره بحسب الطرق الواردة في (12). استعملت خمسة معاملات من مياه الري هي :1. مياه الري الاعتيادية (W0). 2. مياه البئر (W1). 3. مياه صرف صحي خام أي غير معالجة (W2). 4. مياه صرف صحي معالجة بالطريقة الاولى¹ (W3). 5. مياه صرف صحي معالجة بالطريقة الثانية² (W4). ان بعض صفات مياه الري المستعملة موضحة في الجدول (2). أخذت نماذج التربة من الالواح المروية بالمياه أعلاه في نهاية التجربة (6 شهور) من العمق 10-20 سم وتم التحري فيها عن وجود بكتريا الـ *Pseudomonas spp.* و تم تقدير أعدادها باستعمال طريقة التخفيف والعد بالأطباق كما قيست بعض صفات التربة الكيمائية .

التحري عن *Pseudomonas spp.* وتشخيصها: لقع وسط King B (13) ب 1مل من تخافيف التربة وحضنت الاطباق في درجات حرارة 28 و 37°م لمدة 48 ساعة (14) . حفظت المستعمرات البكتيرية على مزارع مائلة من وسط الاكار المغذي بدرجة 4°م لغرض تشخيصها اعتماداً على أجريت عليها الصفات المجهرية والزربية و الاختبارات الكيموحيوية الواردة في (15).

الفحص المجهرى والاختبارات الزربية (اجريت كما ورد في(14)):

لوحظت بالمجهر الضوئي أشكال وتجمعات البكتريا وأستجابتها لصبغة كرام .
اختبار النمو في وسط السترامايد (Cetrimide agar) : لقتت الاطباق الحاوية على وسط السترامايد بالعزلات البكتيرية وحضنت بدرجة 28°م لمدة 24-36 ساعة.
اختبار النمو بدرجة 4 و 42°م وانتاج البايوفردين : لقتت الاطباق الحاوية على وسط King B بالعزلات البكتيرية وحضنت بدرجة 4°م ثم كررت العملية نفسها ولكن باستعمال درجة حضانة 42°م .
اختبار انتاج صبغة البايوسين : لقتت الاطباق الحاوية على وسط King A (13) بالعزلات البكتيرية وبعد ظهور مستعمرات متألفة نتيجة موجبة.

اختبار الحركة : لقتت الانابيب الحاوية على وسط أختبار الحركة شبه الصلب (Nutrient broth) ثم حضنت بدرجات 28-37°م لمدة 24 ساعة ، وبعد ظهور منطقة ضبابية حول خط الطعنة دليلاً على ايجابية الاختبار(16).

1. استعملت أحواض معالجة بعمق 1.5م (لاهوائية) ومن ثم أحواض ضحلة (هوائية).

2. استعملت أحواض معالجة بعمق 2م (لاهوائية) ومن ثم أحواض ضحلة (هوائية).

جدول (1) الخصائص الفيزيائية والكيميائية لتربة الحقل

ترية الحقل	الصفة المقاسة	
Sandy loam	النسجة	
7.7	الرقم الهيدروجيني	
3.61	التوصيل الكهربائي (ديسيمتر .م ⁻¹)	
21.4	السعة التبادلية الكاتيونية (سنتمول . كغم ⁻¹)	
287.5	كربونات الكالسيوم CaCO ₃	غم . كغم ⁻¹
17.0	الجبس CaSO ₄	
4.8	المادة العضوية	
0.43	البوتاسيوم	
27.5	الكالسيوم	الايونات الذائبة (مليمول.لتر ⁻¹)
8.0	المغنيسيوم	
11.3	الصوديوم	
0.0	الكاربونات	
4.0	البيكاربونات	
17.5	الكلور	
26.0	الكبريتات	

جدول (2) بعض صفات المياه المستعملة في الري

W4	W3	W2	W1	W0	المعاملات الصفة
8.2	8.5	8.8	7.6	8	الرقم الهيدروجيني
6.4	6.6	7.2	3.2	2.4	التوصيل الكهربائي (ديسيمتر .م ⁻¹)
1.1×10 ²	2.2×10 ²	5.3×10 ⁵	-	-	عدد بكتريا القولون (<i>E.coli</i>) (CFU/ml)
6.6×10 ⁶	6.3×10 ³	4.4×10 ⁴	2.1×10	8.1×10	عدد <i>Pseudomonas spp.</i> (CFU/ml)
+	+	+	-	-	وجود الفطريات

الاختبارات الكيموحيوية :

اختبار أنزيم الاوكسيداز : وضعت قطرة من المحلول الكاشف Cytochrome oxidase على ورقة ترشيح ثم نقلت إليها المستعمرة البكتيرية النقية. ان ظهور اللون البنفسجي خلال 10-15 ثانية دليل على ايجابية الاختبار(16).

اختبار أنزيم الكاتليز : وضع جزء من المستعمرة البكتيرية النقية على شريحة زجاجية نظيفة ثم أضيفت إليها قطرة من محلول بيروكسيد الهيدروجين (H₂O₂) 3%. ان ظهور الفقاعات دليل على ايجابية الاختبار (16).

اختبار أحمر المثيل : لقم وسط المثيل- فوكس بروسكاور (MR-VP medium) بالعزلات البكتيرية وحضنت الانابيب بدرجات حرارة 28 و 37°م لمدة 24 ساعة ، ان انتشار اللون الاحمر دليل على ايجابية الاختبار (17).

اختبار اسالة الجلاتين (Gelatin liquefaction) : لقم وسط الجيلاتين المغذي بالعزلات البكتيرية وحضنت بدرجة 28°م لمدة 5 أيام ، ثم حفظ في الثلاجة (بدرجة 4°م) لمدة نصف ساعة قبل تسجيل النتيجة وان عدم تصلب الوسط دليل على قدرة البكتريا على تحليل الجيلاتين (14).

اختبار انتاج الاندول (Indole test) :لقتح الانابيب الحاوية على وسط اختبار الاندول بالعزلات البكتيرية وحضنت بدرجة 28°م لمدة 48 ساعة ثم اضيف اليها 0.5 مل من كاشف كوفاكس (kovacs reagent) (17).

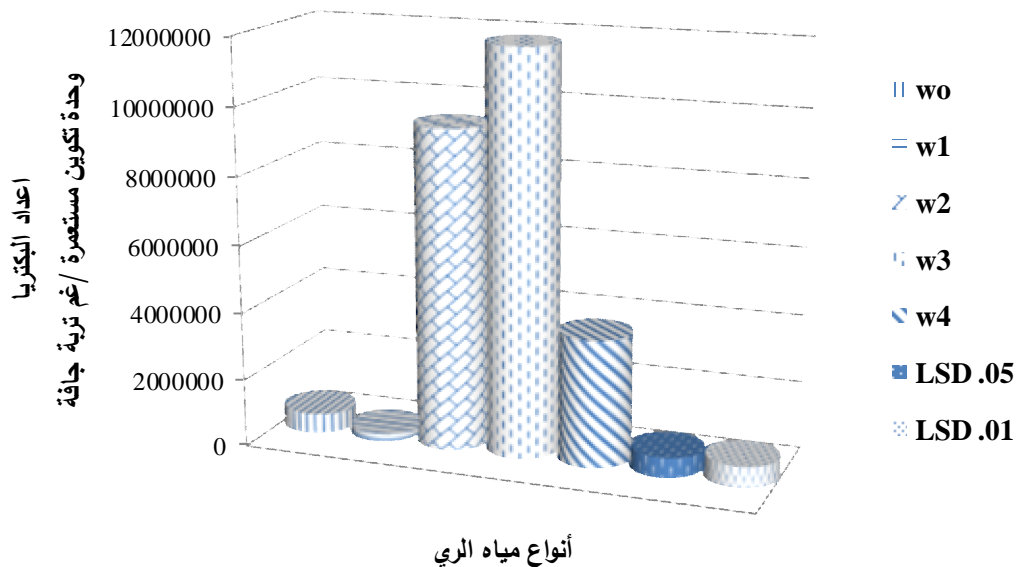
اختبار استهلاك السترات (Citrate utilization): لقم وسط السيمون ستريت (Simmon citrate agar) بالعزلات البكتيرية وحضنت بدرجة 28°م لمدة 24 ساعة ، ان تغير لون الوسط الى الازرق دليل على ايجابية الاختبار (17).

اختبار القابلية على انتاج انزيم الليسيثينيز (Lecithinase test) : لقم وسط مح البيض (18) بالعزلات البكتيرية وحضنت بدرجة 28°م لمدة 48 ساعة . ظهور منطقة ذات لون بني حول المستعمرة دليل على ايجابية الاختبار وقدرة البكتريا على انتاج انزيم الليسيثينيز.

النتائج والمناقشة

أعداد بكتريا *Pseudomonas spp.*

تباينت معدلات أعداد هذه البكتريا في الترب بصورة معنوية عالية نتيجة اختلاف انواع المياه المستعملة في الري ، و كانت الفروقات أكثر في التربة المروية بمياه الصرف الصحي المعالجة بالطريقة الاولى (W3) (شكل 1) تلتها التربة المروية بمياه الصرف الصحي الخام أي غير المعالجة (W2) اذ بلغت 10×11.9 و 10×9.5 CFU⁶ (وحدة تكوين مستعمرة) / غم تربة جافة على التوالي، اما في التربة المروية بالمياه المعالجة بالطريقة الثانية (W4) فقد انخفضت معدلات أعداد هذه البكتريا اذ بلغت 10×3.8 CFU⁶ / غم تربة جافة. ان زيادة معدلات اعداد هذه البكتريا في الترب المروية بمياه الصرف الصحي عموماً وبصورة معنوية عالية قد يكون بسبب المواد العضوية المضافة للتربة مع هذه المياه . كما يلاحظ من الشكل (1) ان معدلات اعداد بكتريا *Pseudomonas spp.* في التربة المروية بمياه البئر (W1) كانت منخفضة (اذ بلغت 10×0.27 CFU⁶ / غم تربة جافة) الا انها لم تختلف معنوياً عن الاعداد في التربة المروية بمياه الري الاعتيادية (W0) (التي بلغت 0.62 $\times 10^6$ CFU / غم تربة جافة).



شكل (1) معدلات اعداد بكتريا *Pseudomonas spp.* في الترب المروية بمياه الري المختلفة.

ان اضافة مياه الفضلات الخام سبب زيادة في معدلات اعداد البكتريا (وخاصة الممرضة) المضافة للتربة وهذه قد تشمل على انواع تتبع جنس الـ *Pseudomonas* ، كذلك فان العديد من هذه الاحياء لها القدرة على ان تقاوم اثناء عمليات المعالجة ، وقد تكون طريقة المعالجة الثانية (W4) أكثر كفاءة في التقليل من الاحياء الهوائية مما يؤدي الى زيادة نسبية في الاحياء اللاهوائية والتي بدورها قد تشكل منافساً مباشراً لبكتريا *Pseudomonas spp.*

التحري عن بكتريا *Pseudomonas spp.*

بين الفحص المظهري للمستعمرات النامية على وسط King B الملح بتخفيف التربة المروية بمياه ري مختلفة انها مستعمرات ملساء و صغيرة في الغالب مع وجود بعض المستعمرات الكبيرة و بلونين ابيض واصفر، كما ظهرت متألفة تحت الاشعة فوق البنفسجية لقدرتها على انتاج البايوفردين و تمكنت من النمو في وسط السترامايد الانتقائي لهذه البكتريا (16) ، و أعطت نتيجة موجبة لفحص انزيم الاوكسيديز وانزيم الكاتليز وكانت سالبة لصبغة كرام . ومن هذه الصفات المذكورة سابقاً والمبينة في الجدول (3) فان هذه المستعمرات البكتيرية تعود لجنس الـ *Pseudomonas spp.* (15 و 18).

جدول (3) الصفات التشخيصية لعزلات الجنس *Pseudomonas spp.*

الملاحظات	الاختبارات
+	النمو في وسط Cetrimid agar
-	التفاعل مع صبغة كرام
+	انتاج البايوفردين
+	انتاج انزيم الاوكسيداز
+	انتاج انزيم الكاتلاز
عصوية الشكل	شكل الخلايا

تشخيص بكتريا *Pseudomonas spp.*

عند اجراء الاختبارات التفريقية بين الانواع التابعة لهذا الجنس والمبينة نتائجها في الجدول (4) وجد ان هذه العزلات كانت تعود للوعين *Pseudomonas fluorescens* و *Pseudomonas aeruginosa*. اذ امتازت العزلات التابعة للنوع *P. fluorescens* بانها استطاعت النمو في درجة حرارة 4م° ولم تتمكن من النمو في درجة 42م°، وكانت غير متألفة في وسط King A (اي سالبة لاختبار انتاج البايوسين) وسالبة لاختبار أحمر المثل و انتاج الاندول، ولها القابلية على الحركة و انتاج انزيم الجيلاتينيز والليسيثينيز واستهلاك السترات. كما بينت نتائج الاختبارات التشخيصية والكيموحيوية ان عزلات النوع *P. aeruginosa* امتازت بقدرتها على النمو في درجة حرارة 42م° وعدم قدرتها على النمو في درجة حرارة 4م°، ونمت بمستعمرات متألفة في وسط King A (اي موجبة لاختبار و انتاج البايوسين) وأعطت نتيجة موجبة لفحص انزيم الجيلاتينيز والحركة واستهلاك السترات ونتيجة سالبة لفحص انزيم الليسيثينيز وأختبار أحمر المثل و انتاج الاندول.

جدول (4) الصفات التشخيصية لعزلات بكتريا *P.aeruginosa* و *P.fluorescens*

<i>P.aeruginosa</i>	<i>P.fluorescens</i>	انواع العزلات الاختبارات
-	+	النمو في درجة 4م°
-	+	انتاج انزيم الليسيثينيز
-	-	اختبار أحمر المثل
-	-	انتاج الاندول
+	-	النمو في درجة 42م°
+	-	انتاج البايوسين

+	+	انتاج انزيم الجيلاتينيز
+	+	اختبار الحركة
+	+	استهلاك السترات

وجد ان بعض العزلات المستحصلة من التربة المروية بمياه الري الاعتيادية (W0) والتربة المروية بمياه البئر (W1) تعود للنوع *P. fluorescens* ، ولم يتم ايجاد هذا النوع في عزلات الترب المعاملة بمياه الري الاخرى (جدول5) وذلك قد يعود الى المنافسة التي تعرض لها هذا النوع من البكتريا من قبل الاحياء الملوثة الكثيرة المضافة مع مياه الصرف الصحي وحتى المعالجة منها ، كما ان عملية عزل *P. fluorescens* من التربة تتأثر بعدة عوامل مثل نوع التربة ونسجتها ووجود الممرضات النباتية والظروف البيئية مثل درجة الحرارة اذ تعد هذه البكتريا محبة للبرودة (19) ، في حين تعد بكتريا *P. aeruginosa* محبة للحرارة وقد وجدت في جميع الترب على اختلاف معاملات مياه الري (W0,W1,W2,W3,W4) المستعملة فيها (جدول 5).

جدول (5) وجود أنواع بكتريا *Pseudomonas spp.* في الترب المروية بمياه ري مختلفة.

<i>P.aeruginosa</i>	<i>P.fluorescens</i>	انواع العزلات
		المعاملات
+	+	W0
+	+	W1
+	-	W2
+	-	W3
+	-	W4

المصادر

- 1.Virella, G. Gram-negative rods III opportunistic and zoonotic bacteria *In* Microbiology and Infectious diseases by Virella, G 3rd^{ed}. Williams and Wikins, U.S.A. (1997).p:160.
- 2.Gaballa, A. ;Baysse, C; Koedom, N.; Muyldermans, S. and Cornelis, P. Different residues in periplasmic domains of the CcmC inner membrane protein of *Pseudomonas fluorescens* ATCC 17400 are critical for Cytochrome C biogenesis and pyoverdine mediated iron uptake. *Mol. Microbiol.* (1998). 30:547-555.
- 3.Sadanandane, C.; Reddy, C.M.R.; Parbakaran, G. and Balarman, K. Field evaluation of formation of *Pseudomonas fluorescens* against *Culex quanaquefasciantus* larvae and pupae. *Acta Trap.* (2003). 87:341-343.
4. عبد الواحد ، أياد ؛ فياض، محمد عامر والغالي ،علي سالم حسين. تطبيق تقنية التلقيح البكتيري بالـ *Pseudomonas fluorescens* على نبات الرز وتأثيرها على القدرة الانتاجية . مجلة اباء للابحاث الزراعية. (1996). 6: 71-82.

5. العاني ، ليث خليل توفيق محمد امين. أستحداث المقاومة ضد فايروس موزائيك الخيار باستخدام البكتريا *Pseudomonas fluorescens* . رسالة ماجستير - كلية الزراعة / جامعة بغداد. (2005).
6. Perotti, E.B.; Menendez, L.T.; Gaia, O.E. and Pidello, A. *Pseudomonas fluorescens* survival in soils with different contents of organic matter. Rev.Argent.Microbial. (2005). 37(2):102-5
7. Caressa, H. Root colonization and environment fate of the bioherbicide *Pseudomonas fluorescens*. (2008). Master thesis. Applied microbiology and food science. Agriculture College. University of Saskatchewan.
8. Lucy, M.; Reed, E. and Glick, B.R. Application of free living plant growth-promoting rhizobacteria. Antonie van Leeuwenhoek Inter.J.Gen. Mol. Microbiol.(2004). 86:1-25.
9. أحمد، سميرة كاظم . استخدام طريقة جديدة في انتاج المبيد الحيوي من بكتريا *Pseudomonas fluorescens* CHAO . (2001) . رسالة ماجستير - علوم الحياة / كلية العلوم / جامعة الكوفة.
10. القره غولي، جابر محسن جابر حسين. تأثير بكتريا *Pseudomonas fluorescens* والمعاملة بكبريتات الكالسيوم على مسبب مرض التعفن الطري ومرض التعفن الجاف على درنات البطاطا في الحقل واثناء الخزن. (1999). اطروحة دكتوراه فلسفة - كلية الزراعة / جامعة بغداد.
11. Siddiqui, I.A. and Shaukat, S.S. Zince and glycerol enhance the production of nematicidal compound in vitro and improve the biocontrol of *Meloidogyne javanica* in tomato by *Pseudomonas fluorescens* . Lett.Appl. Microbiol. (2002). 35:212-217.
12. Page, A.L. ;R.H. Miller and D.R. Kenney. Method of soil analysis. Part 2. (Chemical and Microbiological properties). 2nd. ed. Am. Soc. Agron. Inc. Publisher Madison, Wisconsin, USA. (1982).
13. Cruickshank, R.; Duguid, J.P.; Marmion, B.P. and Swain, R.H.A.(1975).Medical Microbiology. 12th ed. (Vol.2) Churchill Livingstone, Great Britain.
14. خزعل ، علي قاسم . استخلاص وتنقية صبغة البايوفردين من بكتريا المعزولة محلياً وامكانية استخدامها كعامل سيطرة بايولوجية . (2007). رسالة ماجستير - كلية العلوم / جامعة بغداد.
15. Palleroni, N.J. Bergey's manual determinative bacteriology. 9th, ed. USA. (1994). Vol.1. p: 141-168.
16. Atlas, R.M.; Parks, L.C. and Brown, A.E. Laboratory manual of experimental microbiology. Mosby-Year Book, USA. (1995).
17. MacFaddin, F.J. Biochemical tests for Identification of Medical Bacteria. 3rd ed. Printed in The United State of America. (2000).
18. Collee, J.G.; Miles, R.S. and Watt, B. Tests for the identification of bacteria In Mackie and McCartney practical medical Microbiology by Collee, J.G. ; Fraser, A.G.; Marmion, B.P. and Simmons, A. 14th ed. Churchill Livingstone, Singapore. (1996). p: 131-149.
19. Johanson, P.M. and Wirght, A.I. Low temperature isolation of disease-Suppressive bacteria and characterization of a distinctive group of *Pseudomonas*. Appl. Environ. Microbio. (2003). 69:6464-6474.