مقدمـــة

١- العلم فى خدمة الدين:

قبل أن أبدأ فى كتابة المقدمة العلمية لهذا الكتاب، أود أن اذكر بأننى توصلت لوضع توضيح علمى لحديث من أحاديث رسولنا صلى الله عليه وسلم، هذا الحديث شغل كثير من علماء الحديث وآخرين من علماء البيولوجيا، حيث إنه فى أوائل السبعينات من هذا القرن، أشعل المستشرقون نقاشاً كبيراً حول حديث رسول الله صلى الله عليه وسلم، اشتهر باسم حديث الذبابة، هذا الحديث يقول «إذا وقع الذباب فى شراب أحدكم فليغمسه فإن فى إحدى جناحيه داءً وفى الآخر شفاء» وفى قول آخر، قال رسول الله صلى الله عليه وسلم «إذا وقع الذباب فى شراب أحدكم فليغمسه ثم لينزعه فان فى احدى جناحيه داء، وفى الآخر شفاء» رواه البخارى. تضاربت الأقوال حول صحة هذا الحديث، حيث وقف المستشرقون ضد هذا الحديث، وانقسم المسلمون إلى قسمين، علماء الدين قالوا إن هذا الحديث صحيح لأنه صحيح الاسناد وصحيح الرواية وبالتالى يجب الأخذ به بغض النظر عن كونه يتفق مع مسببات الأمراض المنقولة على جناح الذبابة أم لايتفق، وكان رأس المدافعين عن هذا الرأى هو الأستاذ الدكتور/ أديب الصالح أستاذ الشريعة فى جامعة دمشق. أما علماء الأحياء فقالوا يمكن حمل صحة هذا الحديث على أساس البيئة الصحراوية التى عاش فيها رسول الله صلى الله عليه وسلم، وبالتالى حددوا فعالية الحديث فى المنطقة الصحراوية الجافة حيث يصعب نقل مسببات الأمراض بالذباب فى تلك المنطقة أو لأن الذباب لايكون ذا كفاءة فى نقل مسببات الأمراض فى البيئة الجافة، وكان رأس المدافعين عن هذا الرأى هو الأستاذ الدكتور/ سيد جلال أستاذ المحاصيل فى كلية الزراعة جامعة القاهرة، ولكن هذه الآراء لم يوافق عليها المستشرقون وأعوانهم وتوقف النقاش حول هذا الحديث ولم يفتح بعد ذلك.

ولكنى أقول بعد كتابة كتابى هذا واطلاعى على كثير من أبحاث المقاومة الحيوية، أن مغزى هذا الحديث ومدلوله قد وضح تماماً وذلك اعتماداً على نتائج كثير من الأبحاث العلمية التى أوضحت ما يلى:

١- إن كثيراً من المسببات المرضية تتواجد فى المكان نفسه الذى تتواجد معها فيه الكائنات المضادة لها، وهذا ثبات فعلاً فى أمراض البياض الدقيقى فى النبات؛ حيث إن الفطر المضاد يكون موجوداً فى أماكن تواجد الفطر الممرض نفسها، إلا أن اعداده تكون قليلة جداً بالمقارنة مع تجمعات الفطر الممرض. وبالتالى اذا سنحت الفرصة للفطر المضاد للتكاثر بسرعة فإن ذلك يقضى على الفطر الممرض.

٢- إن الكائنات المضادة لكثير من الأمراض الكامنة فى التربة، تعزل من التربة ومن مناطق تواجد المسببات المرضية نفسها، وعلى ذلك الأساس بنيت المقاومة الحيوية لهذه الأمراض، حيث تعزل هذه الكائنات المضادة ويحدث لها إكثار ثم تضاف إلى التربة ثانية فتقاوم الكائن الممرض تحت إجراءات علمية سليمة.

٣- إن مقاومة الكائنات المضادة للكائن الممرض تكون بعدة طرق منها أ- التطفل المباشر. ب- إفراز مضادات حيوية تؤثر على الكائن الممرض. جـ- التنافس على الغذاء والمكان.

إذا طبقت هذه الحقائق الثلاث على حديث الذبابة، فإنه يمكن تفسير ذلك، بأن غمس الذبابة يؤدى إلى واحدة أو أكثر من النتائج الآتية:

١- جعل الكائن المضاد متقارباً مع الكائن الممرض فى السائل (الطعام) وهذا يسهل فعل الكائن المضاد ضد الكائن الممرض.

٢- تواجد الكائن الممرض مع الكائن المضاد فى السائل (الطعام) يثبط شدة الكائن الممرض ويقوى الكائن المضاد حيث قد تتوفر بيئة مناسبة لأحدهما دون الآخر، وتقضى على الكائن الممرض.

٣- يمكن أن يؤدى السائل (الطعام) إلى تشجيع افراز المضادات الحيوية من الكائن المضاد ضد الكائن الممرض، وهذا يؤدى إلى تثبيطه ووقف مفعوله أو تقضى عليه.

هذا تفسير متواضع منى لحديث شغل الناس كثيراً، ولم يصلوا فيه إلى حل فى ذلك الوقت. وهذا تصديقاً لقوله تعالى ‹سنريهم آياتنا فى الآفاق وفى أنفسهم حتى يتبين لهم أنه

الحق، وأوكد أن الحقائق العلمية تخدم الدين وتؤكد صحة الأحاديث النبوية التى تبدو فى وقت من الأوقات ذات معنى لم يتوصل إليه العلم فى ذلك الزمن. ونظراً لأن الأمور الدينية صالحة لكل زمان ومكان؛ فيجب عدم التسرع فى الحكم على حديث معين، طالما أن الأبحاث العلمية لم تتوصل إلى تفسيره. وشعارنا دائماً أن القول طالما صدر عن رسول الله صلى الله عليه وسلم فإنه صحيح، وعلينا أن نثبت صحة ذلك، سواء طال الزمن أم قصر.

٢- المقدمة العلمية :

تعرف المقاومة الحيوية بأنها استعمال الكائن الحى الدقيق الطبيعى أو المحور (فى الجينات أو منتجان الجين) لخفض تأثير الكائنات الحية الدقيقة غير المرغوبة (الأفات)، بحيث تكون هذه الكائنات الحية الدقيقة المستعملة متوافقة مع الكائنات الدقيقة النافعة وغير ضارة بالمحاصيل الزراعية. أو يمكن القول بأن المقاومة الحيوية هى استعمال كائنات حية فى مقاومة كائنات حية أخرى ضارة، سواء فى مجال الحشرات أو الأمراض أو حتى فى الحيوانات الراقية.

بدأ الاتجاه إلى المقاومة الحيوية فى أوائل الثلاثينيات من هذا القرن، حيث كانت تجرى التجارب على أساس إحداث تغيير فى ظروف التربة، هذا التغير يؤدى إلى تشجيع نمو بعض مكونات ميكوفلورا التربة على حساب تثبيط نشاط البعض الآخر. تعتبر هذه الطريقة اللبنة الأولى التى وضعت أساساً لبناء صرح علم المقاومة الحيوية لأمراض النبات. ثم بعد ذلك تتابعت الأبحاث بنشاط وقوة حتى وصلت إلى ما هى عليه الآن. إن أحدث ما وصلت إليه المقاومة الحيوية هو إحداث تغييرات فى جينات بعض سلالات الكائنات الحية الدقيقة، بحيث تصبح مقاومة أو مضادة للسلالات الممرضة، أو مانعة لتكاثرها أو مثبطة لها، أو عند حدوث تهجين بين السلالات المضادة والسلالات الممرضة يؤدى ذلك إلى ظهور نسل جديد غير قادر على إحداث المرض. هذه الأبحاث تتم حالياً باستخدام الهندسة الوراثية والتداخل فى تركيب الـ DNA و RNA.

بدأت فى أوائل التسعينيات من هذا القرن أصوات كثيرة تنادى بالاهتمام بالبيئة والابتعاد عن تلويثها، وعقد مؤتمر قمة الأرض فى مدينة ريدوجانيرو، وذلك لوضع اتفاقيات للحد من تلوث البيئة، وكان الاهتمام الكبير فى هذه المؤتمرات يتجه إلى ثقب الأوزون وتلوث الهواء الجوى وقليل من الاهتمام بتلوث التربة.

اتجه الاهتمام إلى تلوث البيئة نتيجة انتشار كثير من الأمراض بين مستويات مختلفة من الناس، والتى لاتكون متسببة إلا عن تلوث الغذاء أو الهواء نتيجة استعمال المواد الكيماوية على المنتجات الغذائية، من أهم هذه الأمراض – الفشل الكلوى والأورام وحساسية الصدر. هناك آلاف من أطنان المبيدات الكيماوية تستعمل على المنتجات الزراعية فى فترات النمو المختلفة فى كثير من المناطق الزراعية فى العالم. بعض هذه المبيدات الكيماوية تبقى فى التربة لمدة تصل حوالى خمسين عاماً والبعض الآخر أقل. كذلك فإن الأثر المتبقى لهذه الكيماويات فى ثمار الفواكه والخضروات أو الأجزاء الورقية الأخرى عندما تدخل جسم الإنسان، تؤدى إلى إحداث الأمراض المختلفة. كذلك فإن نباتات العلف الحيوانى عندما تتغذى عليها الحيوانات، فإن الأثر المتبقى من الكيماويات ينتقل إلى حليب الحيوان ولحمه، ومن ثم إلى جسم الانسان.

هناك أسباب عديدة جعلت العلماء يتجهون بأبحاثهم إلى المقاومة الحيوية والابتعاد إلى حد ما عن استعمال المواد الكيماوية، فى مقاومة أمراض النبات، أهم هذه الأسباب هى:

١– تلوث البيئة. كما ذكرنا سابقاً، هناك آلاف الأطنان من المبيدات الكيماوية تستعمل سنوياً على المنتجات الزراعية، هذه المبيدات، بغض النظر عن التكاليف الاقتصادية، فإنها تقوم بتلويث البيئة من حيث الهواء والتربة والماء، وتحدث أثرها تدريجياً حيث إنها تتراكم فى جسم الانسان وتصل إلى الحد الفعال، فيبدأ ظهور الأعراض المرضية عليه.

٢– الأثر المتبقى على المنتجات الغذائية. إن استعمال المبيدات الكيماوية على المنتجات الزراعية، يؤدى إلى بقاء نسبة معينة تقدر بأجزاء فى المليون تبقى داخل الثمرة أو على الأجزاء الخضرية التى يتغذى عليها الانسان. هذه النسبة الضئيلة عندما تدخل جسم الانسان تحدث أثرها الضار بصحة المستهلك.

هناك بعض الدول تمنع استيراد المنتجات الزراعية، حتى لو كانت نسبة الأثر المتبقى من المبيدات عليها، منخفضة جداً، وكذلك بالنسبة للحيوانات، حيث إنه فى الحالة الأخيرة ينتقل تأثير المبيد إلى المنتجات الحيوانية التى يتغذى عليها الانسان.

٣- هناك كثير من الأمراض النباتية يصعب مقاومتها كيماوياً، إما لعدم فعالية المبيدات الكيماوية المكتشفة، أو لصعوبة تطبيق واستعمال هذه المبيدات من الناحية العملية أو الاقتصادية.

٤- فى كثير من مسببات الأمراض النباتية تظهر سلالات جديدة من الكائنات الممرضة، تكون مقاومة للمبيدات الكيماوية وبالتالى يلزم استعمال مبيدات كيماوية جديدة لمقاومة هذه السلالات الجديدة، وبعد فترة تظهر سلالات جديدة أخرى من المسبب المرضى تكون مقاومة لهذه الكيماويات وهكذا، إلا أن سرعة ظهور السلالات الجديدة المقاومة للمبيدات الفطرية أسرع بكثير من ظهور مبيدات كيماوية جديدة، وبالتالى تبقى الحالة راجحة باتجاه السلالات الممرضة الجديدة وانتشارها.

٥- أما فى الطريقة الكلاسيكية لتربية النباتات المقاومة للأمراض، فإن الأصناف الجديدة المقاومة سرعان ما تنكسر مقاومتها عند ظهور طفرة أو سلالة جديدة من الكائن الممرض، وبالتالى تعاد الكرة ثانية لإيجاد أصناف مقاومة، وهذا يحتاج لوقت طويل.

٦- هناك أنواع عديدة من النباتات لايتوفر فيها الأصناف المقاومة للأمراض، مما يضطر إلى استعمال المقاومة الحيوية.

هذه الأسباب السابقة جعلت العلماء يتجهون فى أبحاثهم إلى المقاومة الحيوية فى مقاومة أمراض النبات.

٣ - الأسس التى تعتمد عليها المقاومة الحيوية:

١- التضاد الحيوى Antibiosis. إن ظاهرة التضاد الحيوى، من أهم الظواهر التى تستعمل فى المقاومة الحيوية لأمراض النبات، فهى تسبب تثبيط نمو الكائن الممرض أو تقضى عليه كلية، أو أنها توقف إنبات الوحدات التكاثرية للكائن الممرض. تعتمد ظاهرة التضاد

الحيوى على مقدرة الكائن الممرض على إنتاج مضادات حيوية أو ترياقات بكتيرية. يمكن اعتبار التضاد الحيوى مثل التضاد Antagonism، عبارة عن نواتج تمثيلية تكون متخصصة أو غير متخصصة ناتجة عن الميكروب، مثل عوامل التحلل، الإنزيمات، المواد المتطايرة أو السايدروفورز أو مواد سامة أخرى.

٢- التطفل الفطرى Mycoparasitism. عندما يتطفل فطر على فطر آخر، هذه الظاهرة تسمى التطفل الفطرى Mycoparasite. هناك عدة طرق بواسطتها يهاجم المتطفل الفطرى تركيبات الفطر الممرض (المتطفل عليه)، منها: أ- اختراق الهيفا مباشرة. ب- التفاف المتطفل حول ميسيليوم الفطر المتطفل عليه وقد يخترقها أو لا يخترقها. جـ- يفرز الفطر المتطفل إنزيمات تهضم جدر الميسيليوم فى الفطر الممرض، أو أنه يفرز مواد مضادة تسبب تحللاً داخلياً فى الفطر المتطفل عليه.

٣- التحلل الفطرى Lysis. يعرف التحلل الفطرى بأنه تحطيم أو تحلل أو ذوبان أو تفكك المركبات الحيوية فى الكائن الحى بواسطة إنزيمات معينة. هناك نوعان من التحلل الفطرى: النوع الأول يسمى تحللاً فطرياً خارجياً وهو عبارة عن هضم جزئى إنزيمى لجدر الخلايا الحية بواسطة كائنات حية دقيقة خارجية. أما النوع الثانى، فهو تحلل فطرى داخلى، وهو عبارة عن ذوبان بروتوبلازم الخلية دون هضم سابق، أو مصاحب للجدار، سواء كان ذلك بعوامل منتجة ذاتياً أو مبتدأة بعوامل خارجية، وهذا يمكن أن ينتج عنه تغيرات ميتابولزمية داخلية، أو التعرض لمواد سامة مثل تلك الناتجة من كائنات أخرى.

٤- المنافسة Competition. يعرف التنافس بأنه محاولة كائنين أو أكثر فى الحصول على الحد الذى يتطلبه كل منهما من المواد المتوفرة أمامه، بشكل معين وتحت ظروف معينة، موجودة عليها تلك المادة، عندما لاتكون هذه المادة متوفرة بكمية تكفى المتنافسين. يكون التنافس على الغذاء وبعض عوامل النمو الخاصة وعلى الأكسجين، وعلى المكان وهذا ما يسمى استعمار المكان. لايحدث التنافس على أشياء تكون متوفرة بشكل كاف لجميع الكائنات.

٥- الكائنات الدقيقة التكافلية Symbiotic Microorganisms. هناك كثير من الأبحاث والتجارب أثبتت أن كثيراً من الكائنات الدقيقة التكافلية من البكتيريا والفطريات الشعاعية التى تتوطن أنسجة النبات وأسطح الجذور، لها دور كبير فى مقاومة النبات للأمراض، ويتم ذلك بسيطرة جينية من العائل. أهم أشكال الكائنات الدقيقة التكافلية هى البكتيريا العقدية (بكتيريا العقد الجذرية) والميكورهزا. هناك نوع من البكتيريا المشجعة لنمو النبات Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR)، تعزل من منطقة الجذور فى النبات، ويمكن حقنها فى البذور لتزيد فى نمو النبات وتؤدى إلى زيادة المحصول. وجد أن هذه المجموعة من PGPR تستعمر سطح الجذر وتقلل من تجمعات الميكروبات الضارة والممرضة للنبات. وبالتالى فإن التنافس والاستعمار هى القوى التى تستعملها PGPR. فى السنوات الأخيرة، استعملت هذه المجموعة على نطاق واسع فى المقاومة الحيوية لأمراض النبات.

بعد هذه المقدمة هل نستطيع القول بأن المقاومة الحيوية وصلت إلى المستوى المطلوب من حيث الاستعمال والتطبيق فى أمراض النبات؟؟. للإجابة عن هذا السؤال نقول إن المقاومة الحيوية نجحت إلى حد ما فى مقاومة كثير من الأمراض النباتية فى الحقل وفى المخزن، وإن هناك كبسولات أو حبيبات تباع فى الأسواق ومصرح باستعمالها فى المقاومة الحيوية للأمراض المخصصة لها وتسمى مبيدات حيوية Biocides. ومن ناحية أخرى هناك كثير من الأمراض نجحت المقاومة الحيوية فى مقاومتها معملياً أو تحت ظروف متحكم بها، ولكنها لغاية ١٩٩٧ لم تنجح فى الاستعمال الحقلى.

هناك صعوبات كبيرة تواجه الباحثين فى الحصول على النتيجة النهائية للمبيد الحيوى Biocide، وهو الكائن الدقيق الذى يستعمل فى المقاومة الحيوية. بعض هذه الصعوبات تتعلق بالإجراءات البحثية والبعض الآخر يتعلق بالتطبيق. حتى يتم نشر واستعمال المستحضر الحيوى على نطاق واسع، يجب أن يمر بعدة مراحل، هذه المراحل هى:

١- اكتشاف الكائن الدقيق واختباره على مسببات الأمراض التى سيقاومها فى المعمل وفى الحقل.

٢- الملاءمة التامة لهذا الكائن الدقيق من حيث قدرته فى المقاومة وعدم إحداث أضرار للكائنات المفيدة وتحمله للمبيدات الكيماوية، وأن يكون ذا سقف حياة طويل أثناء التخزين.

٣- التصريح من الجهات الحكومية الخاصة باستعمال هذا المركب.

٤- تحضير المركب فى تشكيلات أو تركيبات معينة لاستعماله فى الأوقات المناسبة.

أما من ناحية الصعوبات الأخرى، فإن هذا يتعلق بالبيئة المعقدة والمركبة التى تستعمل فيها الكائنات الدقيقة فى مقاومة المرض. معظم الأمراض التى تستعمل معها الكائنات الدقيقة المضادة هى أمراض كامنة فى التربة أو فى البذور، وإن معظم هذه المضادات تعزل من التربة، وهذا يعنى أن بيئة التربة هى الملائمة لهذه الكائنات.

إن بيئة التربة عبارة عن تركيب معقد من حيث الكائنات الحية الكثيرة التى تتواجد فيها، ومن حيث اختلاف التركيب الفيزيائى والكيميائى من منطقة لأخرى، ومن حيث الظروف البيئية التى تختلف من وقت لآخر. والأهم من كل ذلك هى عملية التوازن البيئى التى تحدث فى التربة طبيعياً والتى يصعب التحكم بها مدة طويلة. إذا ما تم وأضيفت بعض الكائنات المضادة إلى التربة لمقاومة مرض ما، فإن هذا الكائن المضاف يزداد فى العدد كثيراً لفترة معينة، بحيث لاتستمر هذه الزيادة طويلاً، بل قد تقوم بدورها فى المقاومة الحيوية لموسم واحد أو اثنين على الأكثر، ثم بعد ذلك تنخفض هذه الاعداد وتعود إلى وضعها الطبيعى في التربة بحالة توازن. هذه المشكلة (التوازن الطبيعى) من أهم المشاكل التى تقابل تطبيق المقاومة الحيوية فى الحقل. أما بالنسبة للتوازن البيئى على السطح الورقى أو فوق سطح التربة فيكون تأثيره أقل.

من الصعوبات الأخرى التى تواجه تطبيق المقاومة الحيوية هو اختلاف الظروف البيئة فى المناطق الزراعية المختلفة. يكون تأثير هذا الاختلاف أقل كثيراً بالنسبة للمبيدات الفطرية عنه فى المقاومة الحيوية. عدا عن ذلك هناك بعض العوامل المضادة، التى تحتاج إلى توفر رطوبة معينة فى ظروف، يكون من الصعب توفرها فى الحقل، مثل مقاومة بعض أمراض البياض الدقيقى حيوياً.

بشكل عام يمكن القول بأن المقاومة الحيوية قد خطت خطوات سريعة جداً فى الأبحاث المعملية، ولكنها أقل من ذلك فى التطبيقات الحقلية وسوف يأتى الزمن (إن شاء الله) الذى تستعمل فيه المقاومة الحيوية فى مقاومة معظم الأمراض النباتية، وبالتالى نضع حداً كبيراً للمحافظة على صحة بنى الإنسان من التلوث الغذائى، والمحافظة على البيئة من التلوث الضار والتلوث الهوائى.

يقع الكتاب فى جزءين: الجزء الأول يتكلم عن أساسيات المقاومة الحيوية، وهذا الجزء يشمل خمسة فصول: الفصل الأول يشمل دراسة وتطور المقاومة الحيوية لأمراض النبات من حيث تعريف المقاومة الحيوية المستعملة سابقاً، وكيف تطورت إلى ما وصلت عليه الآن. وكذلك يبين تفاعلات الكائنات الحية الدقيقة سواء التفاعل التطفلى أو الرمى والطرق التى يعتمد عليها فى المقاومة الحيوية، وهى التضاد وما يشمل ذلك من المضادات الحيوية والأنزيمات ومواد أخرى. كذلك يبحث فى التطفل الفطرى، وهى ظاهرة تطفل الفطر المضاد على الفطر الممرض وظاهرة المنافسة على المواد الغذائية والمكان (الاستعمار) والتحلل الفطرى. وذكرنا فى هذا الفصل الأجناس الفطرية التى تعتمد على كل صفة من هذه الصفحات فى المقاومة الحيوية.

أما الفصل الثانى فهو يشمل المقاومة الحيوية، التى تستعمل فى مقاومة الأمراض الكامنة فى التربة – وهذا يشمل تفاعلات عامل المقاومة الحيوية مع الكائن الممرض والتأثيرات البيئة على المقاومة الحيوية لمسببات الأمراض الكامنة فى التربة. كذلك فإن هذا الفصل يشمل المقاومة الحيوية للفطريات الممرضة للجذور، والمقاومة الحيوية لمسببات الأمراض الكامنة فى التربة بالبكتيريا، وتكلمنا عن المقاومة الحيوية لأمراض الجذور فى المزارع المائية أو بدون تربة، وتكلمنا عن المقاومة الحيوية للأمراض الكامنة فى التربة لكل من العنب والتفاح.

الفصل الثالث يتكلم عن المقاومة الحيوية لأمراض بعد الجمع ويشمل هذا الإجراءات ما قبل الجمع وأثرها فى المقاومة الحيوية لأمراض ما بعد الجمع. وكذلك بيئة ما بعد الجمع والمقاومة الحيوية لأمراض ما بعد الجمع. وتطرقنا بشكل واسع فى بحث طريقة فعل عوامل المقاومة الحيوية لأمراض ما بعد الجمع. كذلك تشجيع عوامل المقاومة الحيوية لأمراض بعد

الجمع ودمجها مع طريق المقاومة الأخرى. هناك اهتمام فى هذا الفصل بإنتاج عوامل المقاومة الحيوية بكميات كبيرة واختبارها فى مقاومة أمراض ما بعد الجمع. وفى هذا الفصل تكلمنا عن أمراض كثيرة، تحدث بعد الجمع وطرق مقاومتها حيوياً. وهناك جدول مطول مكتوب فيه كثير من أمراض مابعد الجمع وأسماء الكائنات المضادة التى تستعمل ضدها. كان هناك اهتمام كبير فى أمراض ما بعد الجمع بكل من الكمثرى، البرتقال، الأفوكادو، والبطاطس.

أما الفصل الرابع، فهو يتكلم عن المقاومة الحيوية لأمراض البياض الدقيقى كمجموعة متكاملة، بغض النظر عن المحصول الذى تظهر عليه، لأن أمراض المحاصيل مذكورة فى الجزء الثانى من الكتاب. ذكرت أهم الفطريات المستعملة فى مقاومة البياض الدقيقى وصفات كل منها.

فى الفصل الخامس من هذا الجزء ذكرنا الاستعمال التجارى للكائنات الحية الدقيقة فى المقاومة الحيوية، وهذا يشمل إدخال الكائنات الحية الدقيقة فى مجال المقاومة الحيوية ثم الكائنات الدقيقة المستعملة تجارياً فى المقاومة الحيوية، وهى تقسم إلى مجموعيتن. الأولى عوامل المقاومة الحيوية الفطرية، وقد تكلمنا عن ثمانية أجناس فطرية، تستعمل على نطاق تجارى، ويطلق عليها مبيدات حيوية Biocides ومصرح باستعمالها فى جميع أنحاء العالم. أما المجموعة الثانية فهى مجموعة الأجناس البكتيرية المستعملة تجارياً فى المقاومة الحيوية. تكلمنا عن أربعة أجناس بكتيرية تستعمل على نطاق تجارى واسع فى المقاومة الحيوية. بعض الأجناس درست دراسة مستفيضة وكتب عنها بالتفصيل، والبعض الآخر مكتوب عنه بإيجاز.

أما الجزء الثانى من الكتاب فهو يبحث فى المقاومة الحيوية لبعض أمراض النباتات الاقتصادية. ويقع هذا الجزء فى سبعة فصول، ففى الفصل السادس (الأول من هذا الجزء) تكلمنا عن الأجناس المستعملة فى المقاومة الحيوية، تكلمنا عن أربعة أجناس فطرية بالتفصيل، وثلاثة أجناس بكتيرية، بالتفصيل أيضاً.

أما الفصول الأخرى من السابع وحتى الثانى عشر.. فإنها تتكلم عن أهم الأمراض التى تصيب بعض النباتات الاقتصادية، مثل: نباتات العائلة النجيلية مثل القمح، الشعير، الذرة،

الأرز، قصب السكر. كذلك بعض نباتات العائلة الباذنجانية مثل البطاطس والطماطم – أما الفصل التاسع.. فإنه يشمل مقاومة أمراض بعض أشجار الفاكهة مثل التفاح والكمثرى والعنب واللوزيات والحمضيات. أما الفصل العاشر.. فإنه يبحث فى أمراض النباتات البقولية، مثل البسلة، والفاصلويا والحمص، فول الصويا، الفول السودانى. أما الفصل الحادى عشر فيتكلم عن المقاومة الحيوية لبعض أمراض الخيار. أما الفصل الثانى عشر فيتكلم عن المقاومة الحيوية لبعض أمراض نباتات اقتصادية من عوائل أخرى، مثل القطن، عباد الشمس، العصفر، بنجر السكر، الفجل، القرنفل، الكستناء.

أما بالنسبة للمراجع – وهى مهمة جداً – فإنى قد كتبت مراجع كل جزء من الكتاب فى نهاية الجزء، وذلك حتى يسهل للدارس أن يرجع إلى هذه المراجع بسهولة. تشمل هذه المراجع الأبحاث الخاصة بهذا الجزء. ففى الجزء الأول كتبت المراجع من حيث الكتب العربية والأجنبية والأبحاث. كذلك فى نهاية الجزء الثانى فإنى كتبت المراجع وهى الأبحاث فقط.

كما تعودت فى كتابة المراجع فى كل مؤلفاتى السابقة، فإنى أكتب المراجع الحديثة أولاً، وضمن هذه الفترة الزمنية، فإنى أرتب المراجع حسب الترتيب الهجائى، وذلك لأن الترتيب الزمنى فى الأبحاث والأكتشافات أهم من الترتيب الأبجدى. وأود أن أوضح نقطة مهمة فى هذا المؤلف، وهى أن معظم الأبحاث المستعملة من هذه المراجع قد نشرت بعد سنة ١٩٩٤ ولغاية أوائل ١٩٩٨. أما الأبحاث التى هى قبل سنة ١٩٩٤ فلم أخذ منها إلا القليل جداً والذى يدخل مباشرة فى صلب الموضوع دون تكرار. الأبحاث العلمية التى أجريت ضمن مجال المقاومة الحيوية عديدة جداً ونسبة عالية منها مكررة باختلاف شىء بسيط فى بعض المواصفات. وبهذا فإنى استبعدت الأبحاث المكررة والتى كانت تجرى فى البداية، وإنما أخذت الأبحاث الحديثة التى اعتمدت على الأبحاث السابقة. ونظراً لأن الأبحاث مستمرة ومتتالية ومتكررة، فيجب عند تقييم هذا الكتاب أو نقده أن يكون ذلك مبنياً على الأبحاث المنشورة لغاية أوائل ١٩٩٨.

وإنى إذ أقدم هذا الكتاب لطلاب كليات الزراعة والباحثين والدارسين فى الدراسات العليا لأرجو من الله أن يكون مصدراً جيداً لهم يستقون منه النافع المفيد. وأود أن أقول إن الكمال

كله لله سبحانه وتعالى وإنى أعتذر عن كل خطأ ورد دون قصد، أو سهو غير متعمد أو عن أى نقص فى أى موضوع لم يأخذ حظه فى التوسع، وذلك لأني بذلك الجهد الجهيد فى الحصول على أقصى ما يمكن حصوله من الأبحاث. وإنى أرحب بكل ملاحظة أو نقد بناء حول موضوع هذا الكتاب بحيث يرسل إلى عنوان الناشر، وأكون شاكراً لذلك.

والله من وراء القصد

« وآخر دعواهم أن الحمد لله رب العالمين »

المؤلف

الأستاذ الدكتور / محمود موسى أبوعرقوب

الأول من رمضان سنة ١٤١٩ هجرية

الموافق ٢٠ (كانون أول) ديسمبر سنة ١٩٩٨م

obeikandl.com

الفصل الأول

دراسة وتطور المقاومة الحيوية لأمراض النبات

تعريف المقاومة الحيوية:

يعرف العالم Garret (سنة ١٩٦٥) المقاومة الحيوية فى أمراض النبات بأنها الحالة التى تسبب، أو الطريقة التى بواسطتها يمكن التأثير على بقاء أو نشاط الكائن الممرض عن طريق كائن حى آخر غير الإنسان، مما ينتج عنه انخفاض الإصابة بالمرض.

أما كل من Baker & Cook سنة ١٩٧٤ فقد ذكرا تعريفاً آخر للمقاومة الحيوية مقارباً للتعريف السابق، وهو أن المقاومة الحيوية هى الطريقة التى بها يمكن خفض كثافة اللقاح أو كفاءة أجزاء الكائن الممرض أو الطفيل، سواء أكان فى الحالة النشيطة (الفعالة) أم فى حالة الكمون عن طريق واحد أو أكثر من الكائنات الحية الدقيقة، بمساعدة الظروف الطبيعية فى التربة، أو عن طريق ادخال هذه الكائنات صناعياً إلى البيئة الطبيعية للكائنات الممرضة. هذا التعريف أقره كل من Whipps و Baker سنة ١٩٨٧.

أما Cooks سنة ١٩٨٩ فقد ذكر تعريفاً أكثر شمولاً للمقاومة الحيوية وقال «إن المقاومة الحيوية هى استعمال الكائن الحى الدقيق الطبيعى أو المحور فى الجينات أو منتجات الجين لخفض تأثير الكائنات الحية الدقيقة غير المرغوبة (الآفات)، وبحيث تلائم هذه الكائنات الحية الدقيقة المرغوبة عند استعمالها على كل من المحاصيل الحقلية، الأشجار، الحيوانات والحشرات الكائنات الحية الدقيقة النافعة الأخرى، ولا تسبب لها أضراراً.

ويمكن القول بأن هناك طرقاً عديدة تستعمل لخفض كمية أو كفاءة الكائن الممرض، بالإضافة إلى المقاومة الحيوية، وهذه الطرق هى:

١- حرق أو إزالة المخلفات (البقايا) النباتية.

٢- استئصال العوائل المتبادلة للكائن الممرض أو ازالة العوائل الحولية التى يقضى الكائن الممرض الشتاء عليها.

٣- اتباع دورة زراعية مناسبة فى الحقول المختلفة.

٤- خلق ظروف غير مناسبة لنمو و/أو بقاء الكائن الممرض فى التربة عن طريق التشميس، تغير رقم الحموضة، زيادة الأسمدة العضوية، تحسين العمليات الزراعية، اتباع طرق رى معينة، حراثة التربة.

٥- تحسين المقاومة فى النبات عن طريق التربية أو التطعيم.

تشمل المقاومة الحيوية للممرضات النباتية ثلاث قوى، وهى:

١- خفض (إنقاص) كثافة لقاح الكائن الممرض بواسطة كائنات دقيقة مضادة له، تسمى مضادات الممرضات النباتية أو الكائنات الصديقة، هذه الكائنات قد تكون دخيله على الوسط أو مستوطنة فيه.

٢- حماية سطح النبات بواسطة لقاح مسبق preinoculum ضد عدو ممرض لهذا النبات.

٣- إحداث عدم توافق فسيولوجى بين العائل النباتى والكائن الممرض، عن طريق الهندسة الوراثية أو بالتطعيم بكائن دقيق ممرض أقل شدة أو غير ممرض للنبات العائل على الأطلاق.

وقد أقر معظم الباحثين أن العنصر الفعال فى المقاومة الحيوية لأمراض النبات يجب أن يقوم بواحد أو أكثر مما يلى:

١- أن ينتج مضادات حيوية ضد الكائنات الممرضة.

٢- ينتج مركبات تعمل كحاملات للحديد Siderphores لجعل هذا العنصر أقل إتاحة للكائنات الممرضة.

٣- أن تكون لديه قدرة عالية على التنافس على الغذاء و/أو المكان الضرورى لنمو الكائن الممرض وعلى احتلال الأماكن المفضلة من قبل الممرضات.

٤ - أن ينتج مركبات هرمونية تزيد فى نمو النبات، مثل: المواد الشبيهة بالجبرلينات أو تزيد مقاومة النبات للأمراض.

طرق المقاومة الحيوية المستعملة سابقاً:

لقد لخص العالم Garret سنة ١٩٦٥ الطرق المستعملة فى المقاومة الحيوية فى تلك الفترة إلى الآتى:

١- حقن التربة أو النسيج النباتي بكائنات حية دقيقة مضادة للكائن الممرض:

هذه الطريقة من أولى الوسائل التى اقترحت فى المقاومة الحيوية، إلا أن النتائج لاتكون دائماً مشجعة؛ لأن البيئة الطبيعية تحكمها ظروف بيئية محددة تسيطر على مكونات الميكوفلورا والفونا بحيث تصبح فى حالة اتزان يصعب التأثير عليها، حتى إذا أضيف الكائنات الجديدة فإن تأثير هذه الكائنات يكون مؤقتاً ، ثم تعود الحالة الجديدة مرة أخرى إلى حالة إتزان. علاوة على ذلك فإن الظروف البيئية التى تؤثر فى التربة متطابقة فى جميع أنحاء العالم، بشرط أن تكون الأرض زراعية، وبالتالى فإن التباين فى التربة يكون أقل بكثير من التباين فوق سطح التربة، وأغلب مكونات الميكوفلورا فى جميع أنحاء العالم تكون متشابهة، فإضافة كائن دقيق إلى أى نوع من أنواع التربة لايمثل فى الواقع إضافة جديدة لهذه التربة . أى إن الاختلافات الأيكولوجية فوق سطح التربة تكون اختلافات واضحة، إلا أن الاختلافات فى الكائنات الدقيقة تحت سطح التربة تكون قليلة.

عند مقاومة مرض عفن جذور بادرات الموالح المتسبب عن الفطر *R. solani* عن طريق حقن التربة بفطر *Trichoderma sp.*، فمن المعروف أن الفطر الثانى مضاد للأول، إلا أنه فى هذه الحالة لاتتم المقاومة بنجاح ، إلا اذا زيدت (ارتفعت) الحموضة فى التربة، ثم بعد ذلك يستعمل الفطر *Trichoderma*.

هناك مثال آخر هو الذى استعمله Rishberh سنة ١٩٦٢ فى مقاومة الفطر *Fomes annosus* ؛ حيث استعمل فطر آخر من المجموعة نفسها هو *Peniophora gigantae*. إن الفطر الأول من الفطريات البازيدية الراقية يصيب أشجار الغابات، ويؤدى إلى عفن الجذور والجذع فى هذه الأشجار. تبدأ الإصابة على جذع الشجرة المقطوعة فتنبت الجرثومة وتخترق الجذع وتنزل إلى التاج ثم الجذر حتى تقابل جذور الشجرة القائمة الحية، وعن هذا الطريق يصعد إلى الجذور ويسبب موت منطقة التاج فى الشجرة السليمة.

إن الفطر *P. gigantae* من عائلة الفطر *F. annosus* نفسها إلا أنه لا ينتقل إلى الأشجار السليمة، ولكن عندما ترش الأشجار المقطوعة بجراثيمه، فإن هذه الجراثيم تنبت وتنمو وتمنع الإصابة بالفطر *Fomes*. وبهذه الطريقة أمكن استعمال الفطر *P. gigantae* على نطاق واسع فى المقاومة الحيوية للفطر *Fomes*.

٢- تغيير ظروف التربة

يشمل تغيير ظروف التربة اتباع وسائل مختلفة، تؤدى إلى تشجيع نشاط بعض مكونات ميكوفلورا التربة، على حساب تثبيط نشاط البعض الآخر. تعتبر هذه الطريقة من أهم وسائل المقاومة الحيوية لأمراض النبات. أما عن أهم الطرق المستعملة فى تغيير ظروف التربة فهى إضافة مواد عضوية، وبصفة خاصة السماد الأخضر وبقايا المحاصيل الجافة إلى التربة أثناء الحراثة.

هناك طرق أخرى تؤدى إلي تغيير ظروف التربة، مثل تغيير ال pH أو معاملة التربة بالكيماويات أو التعقيم الجزئى لها. من أهم الأمراض التى أمكن مقاومتها حيوياً عن هذا الطريق هى الأمراض الناتجة عن كل من *Ophiobolus graminis*، *R. solani* و *F. solani*.

تؤثر إضافة المادة العضوية إلى التربة على المسبب المرضى بعدة طرق، منها:

١- تأثير مباشر على نشاط الفطر ونموه على جذور العائل.

٢- تأثير مباشر على بقاء الفطر فى التربة من محصول إلى آخر فى البقايا النباتية.

٣- تأثير غير مباشر على نشاط الطفيل عن طريق زيادة درجة مقاومة العائل.

بالنسبة للبند الأول، وجد أن إضافة المادة العضوية وبصفة خاصة الغنية بالكربون يؤدى إلى زيادة معدل إنتاج CO_2 فى التربة، ونظراً لأن الفطر الممرض حساس لهذا الغاز، فإن وجود هذا الغاز يحد من تقدم الفطر على سطح الجذر.

أما بالنسبة للبند الثانى، فإن بقاء الفطر فى التربة من موسم إلى آخر، يعتمد على وجود مصدر نيتروجين قابل للذوبان بحيث ينتشر فى الوسط ويكون صالحاً للفطر. إن إضافة السماد

العضوى الفقير بالنيتروجين يؤدى إلى استنفاذ النيتروجين المتوفر فى التربة أثناء عملية التحلل الكربونى، وهكذا يؤثر على فترة بقاء الفطر ويقللها نتيجة الجوع النيتروجينى. فمثلاً بالنسبة للفطر الممرض *Ophiobolus* فانه لايخرج خارج البقايا النباتية لنبات القمح، وبالتالى عندما تزيد نسبة الكربون، يحصل طلب شديد على النيتروجين، فتكون النتيجة أن تستنفذ المادة العضوية التى يرتكز عليها الفطر فى الحصول على النيتروجين عندئذٍ يموت الفطر.

أما بالنسبة للبند الثالث، فإن إضافة المادة العضوية الفقيرة بالنيتروجين والغنية بالكربون يؤدى إلى تثبيت النيتروجين الجوى، وأثناء نمو العائل (القمح) يتحلل النيتروجين المثبت ويصبح فى صورة صالحة للنبات، مما يدفع النبات إلى النمو ومقاومة الإصابة بالفطر.

منذ منتصف السبعينيات فإن Papavesa *et al* قاموا بأبحاث على تأثير التسميد العضوى على الاصابة بعفن جذور الفاصولياء، وقد استعملوا طريقة لتقدير وجود الفطر *R. solani* باستعمال قطع من سيقان القمح، وذلك بوضعها فى التربةكطعم ثم تحدد درجة تركيز الفطر فى التربة بعدد القطع، التى يستعمرها أو يستوطنها هذا الفطر فى التربة.

لقد وجد العلماء أن وجود الفطر يتناسب طردياً مع اصابة النباتات، إذ تنخفض نسبة الاستيطان مع انخفاض درجة الاصابة؛ أى إن قطع سيقان القمح Buck Wheat تستعمل ككاشف للفطر، ووجد أن بقاء الفطر فى التربة يتوقف على تركيز CO_2، وعند زيادة التركيز يقل البقاء، وكذلك عند انخفاض تركيز النيتروجين؛ حيث يؤدى إنخفاض تركيز النيتروجين إلى انخفاض مدة بقاء الفطر.

وجد Daey سنة ١٩٦٣ أنه باضافة مسحوق السليلوز مع نترات الأمونيا بحيث تتراوح نسبة C : N بين ٥ : ٤٠٠، فإن الاستيطان الرمى للفطر *R. solani* فى سيقان القمح Buck wheat ، يبلغ الذروة فيما بين ٤٠ – ١٠٠ C : N. يقل الاستيطان الرمى على مستويات بين ٢٠٠ – ٤٠٠ C : N، فهذا يدل على أن النيتروجين له تأثيران مختلفان ومتضادان، الأول يسود على نسبة C/N مرتفعة حتى تصل إلى ٤٠، والثانى على C/N من ٢٠ فأقل.

عند انخفاض نسبة C/N فان النيتروجين العالى يساعد على زيادة معدل تحلل المادة العضوية، وهكذا يزداد انطلاق CO_2، وهذا يؤثر تأثيراً سيئاً على الفطر *R. solani*. أما التأثير

الثانى للنيتروجين، حيث نسبة C/N مرتفعة فإن ازدياد مستوى النيتروجين ينشط الفطر *R. solani*، وذلك لأن النيتروجين يكون سهل المنال ويمتصه الفطر، وتختفى ظاهرة الجوع النيتروجينى للفطر التى تظهر عند ارتفاع نسبة C/N.

يعلق العالم Garret على هذه التجارب ويقول، بأن التحول فى تأثير النيتروجين على الفطر موضوع الدراسة عند نسبة C/N ٢٠ يقع فى نطاق ما يمكن أن يتوقعه، إذ إن C/N فى الأرض البور وفى المادة البروتوبلازمية بصفة عامة حوالى ١٠-١٢، فإذا أضيف إلى ذلك كربون الطاقة، فإن المواد ذات نسبة C/N فى حدود ٢٠ أو أقل، ينطلق منها نيتروجين فائض أثناء التحلل تستفيد منه الكائنات الأخرى.

هناك طريقة تستعمل فيها المواد المحتوية على الكايتين لمقاومة عفن الجذور، حيث يضاف الكايتين إلى التربة، وعندئذ فإنه يشجع نمو الكائنات الدقيقة المضادة لفطريات العفن؛ لأنه يدخل فى تركيب جدر خلاياها ، باستثناء الفطريات الطحلبية فلا يستعمل الكايتين فى مقاومتها.

٣- استعمال عوامل مساعدة في المقاومة الحيوية:

أوصى كثير من العلماء باستعمال عوامل مساعدة فى المقاومة الحيوية، وهذا ما طبق فى مقاومة مرض عفن جذور الموالح المتسبب عن الفطر *Armellaria mellae* باستعمال الفطر المضاد *Trichoderma*، وذلك بعد تدخين التربة بغاز ثانى كبريتور الكربون. وجد أن الفطر المسبب للمرض لايختفى من أنسجة العائل بعد المعاملة مباشرة، بل قد تصل مدة بقائه فيها حوالى ٢٤ يوما، ووجد أن هذه الأنسجة يدخلها الفطر المضاد بعد المعاملة بثانى كبريتور الكبريت. من هذا يمكن الاستنتاج بأن المقاومة لاتحدث نتيجة لعملية التدخين ولكن نتيجة عن فعل الفطر المضاد *Trichoderma* الذى ينشط ويتكاثر فى التربة المعاملة بسرعة، ويدخل الأنسجة المريضة ويقضى على الفطر المسبب للمرض.

كذلك وجد أن معاملة أسطح جذوع الأشجار المقطوعة، ببعض المواد الكيماوية مثل نترات الأمونيوم واليوريا، يؤدى إلى زيادة المقاومة، ولكن فى هذه الحالة فإن المقاومة تعتمد على زيادة النيتروجين، والتى تشجع نمو الكائنات الرمية على الأسطح المقطوعة، وبالتالى

فان هذه الفطريات الرمية تقوم بمقاومة، أو الحد من الإصابة بالفطر *Fomes* والفطر *Peni-cillium*.

٤- استعمال النباتات الخادعة Decoy Crops

يعرف النبات أو المحصول الخادع لمسبب مرضى، بأنه النبات الذى جذوره تنبه إنبات وحدات التكاثر الكامنة للكائن الممرض فى التربة، دون أن يكون هذا النبات قابلاً للاصابة بها، ولكن يجب عدم ترك هذه الوحدات النابتة حتى تكون محصول جراثيم جديداً، لذا يجب استعمال أية وسيلة للقضاء على هذه التركيبات النابتة.

استعملت هذه الطريقة بكثرة فى مقاومة الإصابة بالنيماتودا، ولكنها غير ناجحة تماماً فى مقاومة الأمراض الفطرية. أهم مثل على هذه الطريقة فى أمراض النبات، هو مقاومة الفطر *Spongospora subterranea* مسبب مرض الجرب المسحوقى فى البطاطس وذلك باستعمال نبات داتورا سترامونيا كنبات خادع، ولقد استعمل على نطاق واسع فى استراليا حيث كانت هذه الطريقة من أنجح الوسائل.

تشجع إفرازات جذور كثير من النباتات إنبات جراثيم واسكلوروشيات كل من الفطريات *S. rolfsii*، *F. solani*، *R. solani*، إلا أنها لاتمنعها من تكوين محصول جديد من الجراثيم، وبالتالى لايمكن اعتبار هذه النباتات خادعة بل من الممكن أن تزيد هذه النباتات من عدد وحدات التكاثر للفطر المسبب للمرض. إن أفضل النباتات الخادعة، عادة، هى الأصناف المنيعة أو المقاومة لأن مثل هذه الأصناف تشجع إنبات جراثيم الفطر دون أن تصاب به.

تفاعلات الكائنات الحية الدقيقة
Microorganisms Interactions

أولاً: التفاعل التطفلي Parasitic Interaction

يقصد بالتفاعل التطفلى تفاعل كائنين أو أكثر على سطح العائل، بحيث يؤثر إحداهما أو كليهما على الآخر، وتكون نتيجة ذلك تغيراً فى الصورة المرضية الناتجة عن إصابة كل

منهما منفرداً. إذا لم يكن هناك تغير فى الصورة المرضية، وكان كل طفيل يحدث الإصابة فى وجود الآخر بالدرجة نفسها، التى يحدثها عندما يكون منفرداً ، عندها لايكون هناك تفاعل بين المسببين.

يؤدى التفاعل التطفلى إلى:

١- زيادة فى شدة الاصابة.

٢- إنخفاض فى شدة الاصابة.

٣- حدوث إصابة بطفيل واحد وعجز الآخر عن إحداث الإصابة.

من أوائل من درس هذا الموضوع عالم هندى اسمه Vasudava ، وذلك أثناء دراسته على نبات القطن عند إصابته بالفطر *R. solani*. وجد أن النباتات التى تصاب بهذا الفطر يزداد عددها إذا أصيبت بالفطر *Fusarium solani*، وعلى العكس من ذلك فإن إصابة النباتات بالفطر *Macrophomenia phaseolia* تتأثر بمصاحبة بعض أنواع الفيوزاريوم.

وجد فى دراسة على أصناف القطن، أن زراعة نبات القطن فى تربة محقونة بالفطر *Macrophomenia* والفطر *F. oxysporum*، أن الاصابة بكل منهما تقل عن الإصابة فى القطن المزروع فى تربة محقونة بواحد فقط من الفطرين. كذلك وجد أن إصابة نباتات القطن بالفطرية *R. solani* و *F. oxysporum* معاً تزداد إذا سمدت التربة بالنترات، ولكن الإصابة بالفطر *R. solani* تنخفض إذا سمدت التربة بسماد أمونيا نشادرى أو بالسماد البلدى.

درس العالم إسلام خان تأثير التفاعل التطفلى لستة من فطريات التربة التى تصيب جذور نبات القطن، وهى: *Fusarium oxysporum, R. solani, Pythium* sp., *Macrophomenia phaseola, Sclerotium rolfsii, Phytophthora sp.* ، ووجد أن هناك شكلين من العلاقة عند تفاعل هذه الفطريات مع بعضها بالنسبة لنبات القطن.

الشكل الأول: تفاعل يؤدى إلى انخفاض فى شدة المرض، وهذا يبدو واضحاً عند وجود *F. oxysporum* مع الفطريات الأخرى على الصنف المقاوم للذبول، وعلى الرغم من أن هذا الصنف مقاوم للذبول، إلا أنه لايقاوم عفن الجذور، فالإصابة بكل من فطريات عفن الجذور منفردة تكون فى العادة أعلى منها إذا كانت مصاحبة للفطر فيوزاريوم.

الشكل الثانى : تفاعلات تؤدى إلى زيادة فى شدة الإصابة، ومن أمثلتها التفاعلات التى تشمل على الفطر فيوزاريوم أو رايزوكتونيا.

كذلك وجد عند دراسة التفاعل التطفلى على نبات الذرة عند حقنها بالفطريات *Sephalosporium madies* مسبب شلل الذرة و *S. acromonium* مسبب مرض أسوداد الحزم و *Macrophomenia phaseoliae*، *Fusarium moniliforum*، أنه عند حقن الأربعة فطريات مجتمعة، أو منفردة عن طريق التربة، أو عن طريق الساق، فإن الإصابة تشتد إذا حقن *S. madies* عن طريق التربة وحقنت بقية الفطريات عن طريق الساق. أما عند وجود الفطريات جميعها فى التربة أو حقنها فى الساق، فلم تتأثر شدة المرض. ولتعليل هذه الظاهرة فانه بالنسبة لشلل الذرة فإن فطر الذبول يجب أن تحدث الإصابة به عن طريق البادرة، فإذا حقن الفطر عن طريق الساق، لايحصل له ظروف ملائمة، وإذا هو لم يفتح الطريق لبقية الفطريات فإنها لاتظهر تأثيرها.

كذلك فى دراسة على إصابة البسلة بفطر الذبول *F. oxysporum pisi*، وجد أن الإصابة تنخفض إذا حقنت التربة بالفطر *F. solani pisi* مع الفطر الأول. تعلل هذه الظاهرة، بأن الفطر الثانى يصيب قشرة جذر البسلة، بحيث تصبح غير صالحة لتقدم الفطر الأول. كذلك وجد أن فطر فيوزاريوم الذبول نفسه يسبب انخفاضاً فى إصابة نباتات البسلة بالفطر *F. solani* ، وذلك عند حقنه قبل الفطر الأخير، ووجد أيضاً أنه إذا حقنت كميتان متساويتان من التربة بكل فطر منفرداً ، ثم خلطت الكميتان قبل الزراعة، فإن الإصابة بالفطر تزداد، وبالتالى يظهر فعل توافقى من ناحية المرضية ويغيب الفعل التضادى.

لوحظ أن عدداً من أنواع الفطر *Sephalosporium sp.* التى تنمو على سطح الجذور أو التى تسبب إصابات خفيفة لجذور نباتات مختلفة، هذه الأنواع تقلل أو تخفض من إصابة النباتات بفطريات الذبول. وجد Beddi سنة ١٩٦٦ نوعاً من الـ *Sephalosporium* يقلل إصابة البامية بفطر فيرتسليم البوأترم، ووجد كذلك أن هناك نوعين من الفطر نفسه يقللان إصابة القطن بفطرى فيرتسليم وفيوزاريوم، وفسرت هذه الظاهرة بأن التطفل الخارجى للفطر سيفالوسبوريوم على سطح الجذر يسبب تكوين مواد هلامية أو صمغية داخل الأوعية تعيق تقدم فطريات الذبول. كذلك لوحظت هذه الظاهرة مع الفطر نفسه عند وجوده مع فطر فيوزاريوم ذبول الطماطم والقطن.

وجد فى دراسة أخرى أن فطر الذبول المتأخر الذى يصيب الذرة *S. madies* يسبب إصابة سطحية على جذور نباتات القطن، وأن هذه الاصابة تسبب انخفاضاً كبيراً فى إصابة القطن بفيوزاريوم الذبول، ولقد تبين أن وجود الفطر الأول على جذور القطن ينبه أو يشجع تكوين جذور جانبية؛ مما يزيد من درجة تحمل النباتات للإصابة بالفيوزاريوم، ولم يمكن الكشف عن أى فعل تضادى بين الفطرين، كما أنه لم تكن هناك دلائل على وجود أو إفرازات مواد هرمونية تنبه تكوين الجذور الجانبية، إلا أنه يمكن تفسير هذه الظاهرة بإحدى التفسيرات الآتية:

١- تكون القشرة الخارجية للجذر غير صالحة لتقدم الفطر فيوزاريوم.

٢- أثناء وجود الفطر سيفالوسبوريوم على سطح الجذر، فإنه يفرز مواد تمنع تقدم فطر الذبول.

٣- ازدياد قوة النبات نتيجة تكوين الجذور الجانبية؛ مما يجعلها أكثر تحملاً للفطريات.

فى بعض الحالات النادرة، وجد فى التفاعل التطفلى، أن أحد الفطرين يمنع دخول طفيل آخر فى العائل النباتى الذى هو موجود فيه، كما هو الحال عند إصابة القمح بفطر التفحم النتن، فإن الإصابة بالفطر *T. foetidea* تمنع الإصابة بالفطر *T. carries*.

هناك نوع آخر من التفاعل، وهو انتقال فطر على فطر آخر من نبات إلى نبات آخر.

ثانياً: التفاعل الرمي Saprophytic Interaction

أ- البقاء في التربة:

يجب التفرقة بين شكلين من أشكال البقاء فى التربة، الأول البقاء فى صورة ساكنة والثانى البقاء فى صورة نشطة.

١- البقاء في صور ساكنة

قد يتأثر نشاط الفطر أو الطفيل بظروف حيوية أو فيزيائية معينة فى التربة، ولكن بقاءه فيها، لاينتهى نظراً لقدرته على تكوين أجسام ساكنة، تبقى حية فى التربة لحين تغير الظروف، ووجود أو توفر العائل المناسب. وبصفة عامة فان تركيبات الجراثيم الجنسية تكون

أكثر مقاومة للظروف غير المواتية، من الجراثيم اللاجنسية، كذلك فإن الجراثيم الكلاميدية أكثر مقاومة من الجراثيم الكونيدية، بل إنه فى فطر فيوزاريوم الذبول، بالذات، فإن بقاء الفطر يتوقف، فى غياب العائل، على كمية الجراثيم الكلاميدية الموجودة فى التربة. تكون الجراثيم البازيدية أقل تحملاً للظروف غير المناسبة، وهى سريعة الإنبات بمجرد سقوطها فى التربة. وبشكل عام فإن معظم الفطريات الرمية تستطيع أن تبقى لمدة طويلة على شكل سكلوروشيات أو رايزومورفات أو أحبال ميسيليومية.

٢- البقاء على حالة نشطة

يكون بقاء الفطر على حالة نشطة فى التربة على صور متعددة، منها:

أ- قد ينمو على سطح الجذر ويسمى Rhizoplane أو ينمو فى المجال الجذرى فى التربة، ويسمى رايزوسفير؛ خاصة فى المجال الجذرى للنباتات غير القابلة للإصابة، أو قد يسبب إصابات موضعية أو محدودة على جذور نباتات أخرى مثل الحشائش أو المحاصيل الأخرى.

ب- يمكن أن ينمو الفطر على البقايا النباتية، سواء سبق تطفله على هذه البقايا أم لم يسبق. فالفطريات التى لاتستطيع أن تعيش رمياً فى التربة إلا على بقايا نباتات العائل الذى سبق إصابته بها، هذه الفطريات تسمى، فطريات ساكنات جذور Root inhabiting fungi، مثل فطر سيفالوسبوريوم. أما الفطريات التى تنمو على البقايا النباتية الميته، والعضوية بصفة عامة تسمى فطريات ساكنات التربة Soil inhabiting fungi، مثل الفطر رايزوكتونيا وبثيم. يوصف هذا النوع من الفطريات بأنه ذو سلوك ترممى Saprophytic behaviour. هناك شكلان من أشكال السلوك الترممى فى التربة، الأول يسمى استيطان ترممى فى التربة، والثانى استيطان ترممى فى الأنسجة النباتية الميتة فى التربة.

ب- البقاء الترممي في أنسجة العائل الميتة في التربة:

لكى يكون الفطر الممرض قادراً على أن يعيش مترمماً فى التربة، يجب أن يتمتع بدرجة عالية من قدرة التنافس الرمى، حتى يستطيع أن ينافس الفطريات كاملة الترمم فى التربة. يقتصر التنافس الرمى للفطريات المسببة للأمراض عادة على الفطريات بدائية

التطفل Primary parasite بعكس الفطريات متخصصة التطفل Specific parasite، وهذه عادة لاتستطيع أن تعيش فى تنافس رمى، ولكن تبقى فى التربة على شكل تركيبات ساكنة.

يتوقف نجاح الطفيل فى الاستيطان الرمى للأنسجة النباتية على قدرته الذاتية فى تحليل الوسط الغذائى الذى ينمو عليه، فمثلاً الفطر الذى لايستطيع أن يفرز إنزيم السليوليز لايدخل فى منافسة رمية الاستيطان وسط يتكون من السليلوز. وكذلك تتوقف المنافسة الرمية بين الفطريات على الظروف البيئية وظروف التربة. وإذا كانت التربة غير مؤثرة على أحد المتنافسين، فإن هذا الأخير (الذى لايفرز أنزيم السليوليز) لايدخل فى تنافس رمى مع غيره.

جـ- البقاء الترممي في الأنسجة النباتية المصابة:

عندما يعيش فطر ممرض على أنسجة عائله بعد موته، فإنه فى الواقع يعيش على بقايا نباتية استنفذ جانب كبير من محتواها الغذائى، وعلى ذلك فإن فترة بقائه تتوقف على مقدار ما تحتويه هذه الأنسجة من مادة غذائية، ويتوقف طول هذه الفترة على سرعة استنفاذ المادة الغذائية.

إن العوامل التى تساعد على سرعة استنفاذ المادة الغذائية، تسبب قصراً فى مدة بقاء الفطر فى الأنسجة. وأهم هذه العوامل، التهوية الجيدة والحرارة الدافئة والرطوبة المناسبة وهناك عامل آخر أضافه العالم Garrt ، وهو مقدار كمية النيتروجين فى النسيج النباتى أو فى التربة. إذ إنه من المفروض أن النيتروجين الذائب فى التربة يشجع نمو الأنسجة النباتية ويدخل ضمن محتوياتها. كذلك وجد أن ارتفاع نسبة النيتروجين يطيل فترة بقاء الفطر، إلا أن هناك استثناءات لهذه القاعدة، منها:

١- بالنسبة للفطريات التى تقل فترة بقائها بزيادة النيتروجين، يمكن تفسير ذلك بأن احتياجات هذه الفطريات من النيتروجين تكون قليلة، نظراً لضعف قدرتها على تحليل السليلوز، أو أن هذه الفطريات تستعمل النيتروجين بطريقة اقتصادية، بحيث تكون عندها المقدرة على تحويل هذا النيتروجين من الهيفات كبيرة السن إلى الهيفات النامية صغيرة السن، وهذا يجعل هذه الفطريات أقل احتياجاً للنيتروجين الخارجى.

٢- هناك بعض الفطريات تقل فترة بقائها كثيراً بزيادة النيتروجين، وقد يكون ذلك إما لأن هذه الفطريات تحلل السيللوز بسرعة وبنسبة عالية بالنسبة لما يتطلبه من النيتروجين، مما يجعلها أقل اعتماداً على مصادر النيتروجين الخارجية، أو أن اضافة النيتروجين أو ارتفاع نسبة النيتروجين تشجع نمو الكائنات الرمية الأخرى المنافسة (أو المضادة)، مما يسبب القضاء على هذا النوع من الفطريات.

ثالثا: التضـــاد Antagonism

يقصد بالتضاد جميع أنواع العلاقات التى يكون فيها كائن حى يعانى من كائن حى آخر. ومن هذه العلاقات:

I: التضاد الحيوي Antibiosis

يمكن تعريف التضاد الحيوى، بأنه مقدرة كائن حى على إفراز مادة أو أكثر من المواد الأيضية تؤثر تأثيراً ضاراً على واحد أو أكثر من الكائنات الأخرى. لايقتصر التضاد الحيوى على الكائنات الدقيقة بل إن بعض النباتات تفرز جذورها مواد مضادة؛ بحيث تؤثر على طبيعة الكائنات الدقيقة التى تنمو فى المجال الجذرى.

هناك أصناف من النباتات تكون مقاومة للإصابة بالمرض، وذلك لأن جذورها تفرز مواد مضادة تؤثر على الكائنات الممرضه، ومن الأمثلة على ذلك، وجد أن نباتات الكتان تقاوم الإصابة بمرض الذبول نتيجة الاختلاف فى ميكوفلورا المجال الجذرى، وهذا الاختلاف ينشأ بالتالى نتيجة لإفراز الجذر لحمض الهيدروسيانيك.

من المعروف أن المضادت الحيوية المكتشفة حتى الآن (١٩٩٧)، منها ٩٥ ٪ ناتج عن كائنات دقيقة معزولة أصلاً من التربة. لقد درس تأثير هذه المضادات الحيوية فى المعمل على أطباق بترى أو فى تربة معقمة أو متعادلة بصورة أو أخرى. لقد اعترض كثير من الباحثين على أن المضادات الحيوية تفرز فى التربة غير المعقمة، أو أن يكون لها دور فى التفاعلات الميكروبية فى التربة غير المعقمة. تدل بعض الأبحاث على أن المضادات الحيوية لايظهر لها أثر فى التربة غير المعقمة، إما لتحللها بإنزيمات الكائنات الدقيقة كما فى حالة

مادة Penicillen، أو لادمصاصها على سطح حبيبات التربة كما فى حالة الستربتومايسين أو لتأثرها بالرقم الهيدروجينى pH فى التربة. فمن المعروف أن كلاً من الفردين، والكلورومايسين متعادل، والستربتومايسين قاعدى، وهذا يدل على أن التربة لاتكون دائماً مناسبة للمضادات الحيوية، أو يمكن أن يقف عمل المضادات الحيوية أو تأثيرها نتيجة لتفاعلات كيميائية غير معروفة.

يرى العالم Garret سنة ١٩٦٥ أن كل العوامل المذكورة سابقاً لاتعنى أن المضادات الحيوية ليس لها دور فى تفاعل الكائنات الدقيقة فى التربة، هذا التفاعل يجب أن لا نتخيله بالصورة التى يظهر بها على أطباق بترى أو فى التربة المعقمة، بل يجب أن يكون تصور تأثيره فى حدود ميكرونات قليلة، وأن يكون فعله إخلاء الوسط الغذائى الضيق المساحة من الكائنات الدقيقة المنافسة، ويجب أن ينظر إلى المضادات الحيوية بأنها مواد عضوية متحولة، وعلى هذا الأساس فإن ادمصاصها فى التربة يساعد على حفظها من التحول لفترة أطول، وبالتالى يكون ذلك لمصلحة الكائن الدقيق.

النتيجة مما سبق، أن بعض الكائنات الدقيقة فى التربة وجذور بعض النباتات تفرز مواد مضادة. وجد أن التربة غير المعقمة توقف إنبات جراثيم بعض الفطريات، ولكن وجد أن هذه الظاهره يمكن تخطيها أو التغلب عليها بإضافة مادة الغلوكوز بنسبة ٠,١ ٪، وكانت هذه أول إشارة إلى سمية التربة. ولقد أكدت تجارب كثيرة أن التربة تمنع إنبات جراثيم الفطر إلا فى وجود منبه، هذا المنبه إما أن يكون فى صورة مادة غذائية أو إفراز جذرى أو فى صورة بقايا نباتية، هذه المادة المنبهة لايقتصر دورها على كونها مادة غذائية إذ أنها تقوم بدورها حتى بتركيزات منخفضة جداً. من هنا نحصل على نتيجة أن التربة فيها سمية توقف إنبات الجراثيم الفطرية، ويمكن التغلب على هذه السمية بإضافة مادة غذائية أو مادة منبهة.

اعترض علماء كثيرون على هذا التعليل لتفسير عدم إنبات جراثيم الفطريات فى التربة، وقد ذهب بعض العلماء إلى القول بأن عدم إنبات الجراثيم لايعدو أن يكون نتيجة لنمو بعض الكائنات الدقيقة على المادة الغذائية الموجودة على سطح الجرثومة الحية، وشبه ذلك بالكائنات الدقيقة التى تنمو على سطح الجذر، هذه الكائنات الدقيقة تمنع إنبات الجرثومة إلا بعد إضافة مادة غذائية منبهة. وقد اعترض بعض العلماء على سمية التربة اعتماداً على الأسس الآتية:

١- لم يستطع أحد التأكد من وجود مادة سامة فى التربة عن طريق الفصل.

٢- طرق البحث المستعملة، منها وضع الجراثيم فى أكياس السلوفان أو على الآجار تشجع نمو الكائنات الدقيقة المضادة.

٣- المضادات الحيوية بصفة عامة مواد متحولة، وبالتالى لاتتجمع فى التربة ولا تسبب سمية فيها.

لقد وجد أن لسمية التربة أهمية كبيرة فى بقاء الفطريات فى التربة، فقد وجد أن جراثيم كثير من الفطريات تبقى ساكنة تحت سمية التربة ثم تنبت بالتأثير المنبه لإفرازات جذر العائل المناسب. كذلك فإن سمية التربة تؤثر على هيفات الإنبات، فقد وجد أنه عندما تنمو الجراثيم المكروكونيدية لفطر الفيوزاريوم، فإنها تكون جراثيم كلاميدية على قمة هيفا الإنبات بسرعة، وأحياناً تتحول الجرثومة الماكروكونيدية إلى جرثومة كلاميدية مباشرة فى التربة غير المعقمة.

إن لسمية التربة أهمية كبيرة فى بقاء الفطريات فى التربة، فقد وجد أن جراثيم بعض الفطريات تبقى ساكنة تحت تأثير سمية التربة، ثم تنبت بالتأثير المنبه لإفرازات جذور العائل المناسب. وجد أن بعض المواد العضوية تقلل من سمية التربة وتعمل على إنبات الجراثيم، فى حين أن بعض المواد تزيد من سمية التربة وتوقف إنبات الجراثيم.

لقد أمكن فى حالات كثيرة مقاومة الإصابة أو المرض بواسطة وقف (تخفيف) سمية التربة فى غياب العائل المناسب، ففى هذه الحالة تنمو الجراثيم ولاتجد العائل القابل للإصابة وتنتهى هيفا الإنبات بالتحلل. عند زيادة سمية التربة تبقى جراثيم الطفيل ساكنة ويستطيع النبات الهروب من الإصابة. يمكن القول بأن سمية التربة فى مصلحة الطفيل أحياناً، لأنها تجعل الجراثيم ساكنة إجبارياً حتى تأتى مادة منبهه، يفرزها عائل مناسب وتنبت الجراثيم بعد أن تنكسر سمية التربة ثم تحدث الإصابة.

أمكن مقاومة الإصابة، إما بكسر سمية التربة قبل ميعاد الزراعة بمدة معينة، وبذلك تنبت الجراثيم ولاتجد العائل المناسب فتموت، أو عن طريق إضافة مواد تسبب زيادة سمية التربة، وتبقى الجراثيم ساكنة، وتنبت بذور العائل وتكبر الجذور وتهرب من الإصابة.

لقد أمكن مقاومة عفن جذور الفاصوليا المتسبب عن الإصابة بالفطر *R. solani* بإضافة السليلوز قبل الزراعة بعدة أيام، حيث وجد أن جراثيم الفطر الكلاميدية تنبت عادة فى جوار بذور العائل، وأن هذه الجراثيم لاتنبت عند إضافة السليلوز وذلك بسبب ارتفاع سمية التربة. وكذلك فإن إضافة الجلوكوز إلى التربة المعاملة بالسليلوز تزيد من سميتها، فى حين أن إضافة الجلوكوز إلى التربة بمفرده يكسر سمية التربة. كذلك وجد أن إضافة المضاد الحيوى الأوروميسين أو الستربتوميسين إلى التربة تقلل بشكل واضح من سمية التربة بالنسبة للجراثيم الكلاميدية.

وجد بعض الباحثين سنة ١٩٦٩ أن إضافة مسحوق مخلفات صناعة القهوة إلى التربة بنسبة ١/٢-١ ٪ قبل زراعة الفاصوليا بفترة ٧-١٤ يوم، ينتج عنه مقاومة المرض، وأن الجراثيم الكلاميدية تنمو وتعطى هيفا إنبات، إلا أن هذه الهيفا تموت وتتحلل بعد ذلك، وقد وجد أن تنشيط إنبات الجراثيم يتم خلال ثمانية ساعات من إضافة المخلفات، ثم ترتفع سمية التربة بعد ذلك، وتبقى مرتفعة لفترة تصل إلى ٢٨ يوماً، فى أثنائها لاتنبت جراثيم الفطر المسبب للمرض، خلال هذه الفترة يستطيع النبات أن ينمو ويكبر ويقاوم المرض.

كذلك ثبت أن إضافة مسحوق تبن البرسيم الحجازى إلى التربة بنسبة ١ ٪ تؤدى إلى خفض سمية التربة بالنسبة للجراثيم الأندوكونيدية والكلاميدية للفطر *Thielaviopsis basicola* الذى يسبب عفن جذور كثير من النباتات.

التضاد الحيوي والمقاومة الحيوية Antibiosis and Biological Control

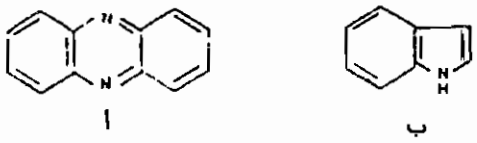
تعتبر ظاهرة التضاد الحيوى، من أهم الظواهر التى تستعمل فى المقاومة الحيوية لأمراض النبات، فهى تسبب تثبيط نمو الكائن الممرض أو تقضى عليه كلية أو أنها توقف إنبات الوحدات التكاثرية للكائن الممرض. تعتمد هذه الظاهرة فى المقاومة الحيوية على مقدرة إحدى الكائنات الدقيقة المضادة (الكائن الصديق) على إنتاج مضادات حيوية تتكون من مواد سامة وهى نواتج ثانوية Secondary products عن الأيض الغذائى. أو أنها تنتج توكسينات (مواد سامة) مثل تلك التى يطلق عليها ترياقات بكتيرية. هذه المواد السامة تسبب وقف النمو الخضرى وموت ميسيليوم الفطر الممرض بطريقة مباشرة.

لقد اعتبرت البكتيريا الوميضة من مجموعة Pseudomonales من العناصر المهمة فى المكافحة البيولوجية لممرضات النبات، عن طريق إنتاجها مواد سامة ناتجة عن الأيض الغذائى أو بقيامها بنشاط ميكروبى مضاد، إذ تنتج أنواعا من هذه البكتيريا مضادات حيوية مثل مادة التروبولون (شكل ١) التى تمنع وتقتل مدى كبيراً من البكتيريا الممرضة للنبات، كما لها القدرة على الهدم السريع للمستعمرات الفطرية الكامنة بالتربة. لقد ذكر أن البكتيريا *Pseudomonas capacia* تنتج نوعين من المضادات الحيوية الاستيلينية Capacins (A & P)، كما لوحظة فى نوع بكتيرى آخر قدرته على أكسدة الجليسين إلى سيانيد الهيدروجين.

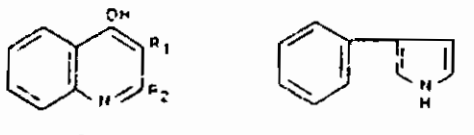
تؤثر الظروف الكيميائية والغذائية فى التربة على إنتاج المواد السامة الناتجة من التفاعلات الأيضية الغذائية للبكتيريا التى تصيب جذور النبات. تؤثر درجة الحموضة فى التربة، والأسمدة الكيماوية والمواد السليلوزية على نشاط البكتيريا الممرضة وعلى نوع المضاد الحيوى الناتج.

أما بالنسبة للفطريات، فقد لوحظ أن الفطر *Gliocladium virens* يقاوم الفطر *Pythium ultimum* عن طريق إنتاج مضادات حيوية. كما وجد أنه فى مجال جذور بادرات القطن فان السلالة البكتيرية *Pseudomonas fluorescens pf5* لها قدرة فى حماية النبات من الفطرين *P. ultimum* و *R. solani* من خلال مضادين حيويين، إحداهما البلتروين مضاد للفطر الأول، والمضاد الحيوى الثانى البيرونترين الذى يضاد الفطر الثانى. عند معاملة بذور القطن بمستحضر لهذه العزلة البكتيرية، لم تصاب البادرات بالذبول. كذلك وجد أن الفطر *G. virens* يقوم بدور المقاومة الحيوية ضد أمراض الذبول، عن طريق إنتاج المضاد الحيوى الجيلوفرين. عند استعمال بعض أنواع *Streptomyces* فى المقاومة الحيوية، وجد أنها تفرز المضاد الحيوى الجيلداناميسين.

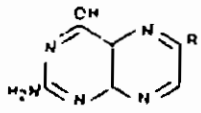
وجد أن بعض الأنواع البكتيرية تنتج ترياقات بكتيرية لاتؤثر إلا على الأنواع البكتيرية القريبة تقسيمياً. كان أول استعمال للبكتيريا فى المقاومة الحيوية هو استعمال البكتيريا *Agrobacterium radiobacter* لمقاومة مرض التدرن التاجى المتسبب عن البكتيريا *A. tumefaciens*. تنتج المقاومة هنا عن طريق إنتاج مضاد حيوى Agrocine 84 (شكل ٢)، إلا أنه ظهر آخيراً سلالات من الكائن الممرض مقاومة للمضاد الحيوى الناتج من البكتيريا المضادة.



أ ب



جـ د

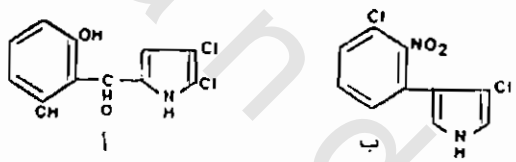


هـ

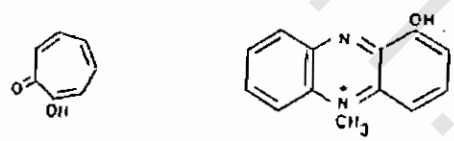
شكل (١ : أ) : بعض النماذج المهمة للمواد الثانوية الناجمة عن الأيض الغذائى للبكتيريا الوميضة من مجموعة Pseudomonals :

أ – Phenazines ، ب – Indoles ، جـ – Pyo Compounds ،

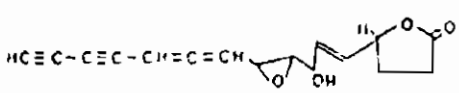
د – Phenylyrroles ، هـ – Pterines .



أ ب



جـ د

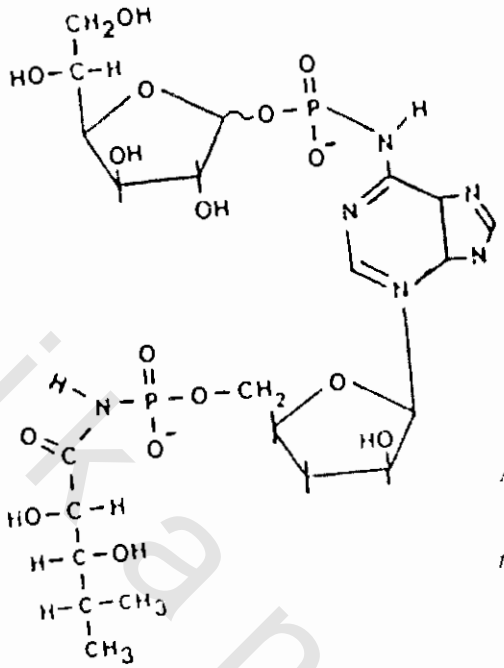


هـ

شكل (١ : ب) : نماذج لمضادات حيوية ناتجة من بكتيريا Pseudomonals :

أ – Pyoleutorin ، ب – Pyrrolnitrin ، جـ – Tropolone ،

د – Pyocyanin ، هـ – Capacin .



شكل (٢) :

تركيب الترياق البكتيرى

Agrocin 84

المنتج عن النوع *Agrobac-terium rabiobacter*

هناك فطريات كثيرة لها دور فى المقاومة الحيوية لأمراض النبات، حيث تفرز مضادات حيوية ذات تأثير على حياة الكائن الممرض، من هذه الفطريات.

١- *Athelia bombacina* يفرز مضاداً حيوياً ضد الفطر *Ventura inaequalis*

٢- *Chaetomium globosum* يفرز مضاداً حيوياً (الكيتونين) ضد فطر جرب التفاح السابق.

٣- *Scytalidium* sp. يفرز المضاد الحيوى اسكيتاليدين ضد الفطر *Lentinus lepideus*.

٤- *Penicillium chrysogenum* يفرز مضاداً حيوياً ضد الفطر - *Verticillium albo atrum*.

obeikandl.com

أ- دور المضادات الحيوية في المقاومة الحيوية لأمراض النبات:

مقـــدمة :

كانت أول ملاحظة للمضادات الحيوية بواسطة Roy سنة ١٩٥٠ حيث لاحظ انخفاض معدل ذبول مرض الفيوزاريوم المتسبب عن الفطر *Fusarium udum* بواسطة البكتيريا *Bacillus subtilis* ، والتى تطلق مضاداً حيوياً على سطح الجذر. لقد استطاع Vasudeva سنة ١٩٥٢ أن ينمى البكتيريا المذكورة والحصول على كمية كبيرة من هذا المضاد، ولقد أمكن عزلة وتنقيته سنة ١٩٥٨ وسمى Bulbiformin. ولقد تبين أن إنتاج هذا المضاد يزداد بشكل واضح فى التربة المعقمة الغنية بحمض الأسبارتك والدكستروز وبقايا بعض الجذور. لقد أمكن خفض ذبول البسلة الهندية بنسبة ٨٨٪ عند استعمال هذا المضاد الحيوى، وقد أصبحت هذه البسلة مقاومة للفطر *F. udum* عندما عوملت البذور بالبكتيريا المذكورة قبل الزراعة وذلك لأن المضاد الحيوى Bulbiformin يصبح جهازياً فى النبات، ويقى جذور النبات من الإصابة.

المضادات الحيوية والتريقات البكتيرية Antibiotics And Bacteriocins

تعرف المضادات الحيوية بشكل عام، بأنها مركبات عضوية ذات وزن جزيئى منخفض تنتج بواسطة الميكروبات. عندما تكون المضادات الحيوية متواجدة بتركيز منخفض، تكون ذات تأثير ضار على نمو أو النشاط التمثيلى للكائنات الدقيقة الأخرى. فى أوائل الثمانينيات كان هناك حوالى ٣٠٠٠ مضاد حيوى معروف، وبشكل عام هناك تقريباً ٥٠-١٠٠ مضاد حيوى جديد يكتشف كل سنة. معظم هذه المضادات الحيوية تنتج بواسطة كائنات حية دقيقة من ساكنات التربة. مع أن المضادات الحيوية النقية قد استعملت لمقاومة الآفات وخاصة مقاومة أمراض النبات لعدة سنوات، إلا أنه كان هناك تساؤل فيما إذا كانت المضادات الحيوية المنتجة فى التربة تكون بكميات كافية لتلعب أى دور فى التفاعل بين الكائنات الحية الدقيقة. هناك من الأدلة ما يكفى، حصل على معظمها بواسطة الطرق الوراثية، تدل على أن المضادات الحيوية تقوم بدورها فى المقاومة الحيوية فى الطبيعة.

١- الأدلة الوراثية لدور المضادات الحيوية في المقاومة الحيوية :

لقد درس دور المضادات الحيوية فى المقاومة الحيوية عن طريق توالد الطفرات، التى لاتنتج مضادات حيوية. فى سنة ١٩٥١ استعمل Siminoff أشعة إكس فى تخليق طفرات من *Streptomyces griseus* والتى لاتنتج ستربتومايسين. إن مقدرة هذه الطفرات لكبح تجمعات البكتيريا *Bacillus subtilis* فى التربة المعقمة بالأوتوغليف، قورنت مع مقدرة السلالات الأصلية. ونظراً لملاحظة درجات التضاد نفسها فقد إستنتج أن التضاد الحيوى ليس هو الميكانيكية الوحيدة الداخلة فى التضاد.

بينما الطفرات العشوائية بواسطة أشعة إكس، سمحت ببعض التفكيرعن دور المضادات الحيوية، فإن ظهور وتطور طرق الدراسة الوراثية الجديدة، سهلت الحصول على طفرات صحيحة تسمح بتصميم تجارب لاختبار مثل هذه الفرضيات بدقة أكثر. فمثلاً البكتيريا الوميضه *Pseudomonas fluorescens* هى كابحة ومانعة لنمو وتكاثر الفطر *Gaeuman-nomyces graminis* var. *tritici* مسبب المرض الماحق فى القمح (take all disease). إن إنتاج المضاد الحيوى الفينازين Phenazine بواسطة هذه البكتيريا كان داخلاً فى المقاومة الحيوية لهذا الفطر. استعملت طرق كثيرة للحصول على طفرات غير فعالة فى إنتاج المضاد الحيوى المذكور، كانت كل هذه الطفرات غير مثبطة لنمو الفطر فى المعمل، وكانت أقل تثبيطاً للمرض الماحق فى القمح فى اختبارات الصوبات الزجاجية. تبين أن المقدرة على المقاومة الحيوية، كانت موجودة فى السلالات الناتجة عن طفرات فيها إنتاج المضاد الحيوى موجوداً على الـ DNA. مع أن إنتاج المضاد الحيوى يلعب دوراً فعالاً فى كبح الكائن المسبب للمرض الماحق فى القمح، إلا أنه ليس العامل الوحيد، حيث إن بعض التثبيط يرجع لبعض الطفرات غير المنتجة للمضاد الحيوى.

هناك على الأقل خمسة جينات لها دور فى التضاد الحيوى عند تثبيط الفطر *Pythium ultimum* بواسطة البكتيريا الوميضة. يبدو أن هذا المضاد الحيوى الناتج من البكتيريا يؤثر على تنظيم التمثيل الحيوى فى الفطر. كذلك فإن الطفرات البكتيرية قد استعملت فى توضيح دور مادة الجليوفرين Gliovirin فى مقاومة الفطر السابق، ولقد ثبت بالدليل الواضح الدور الفعال لهذه المادة فى مقاومة الفطر.

كذلك فإن العالم Wright سنة ١٩٥٦ قد أثبت أن سلالات الفطر *Trichoderma viride* التى تفرز مادة جلايوتوكسن Gliotoxin أعطت مقاومة أفضل للفطر *Pythium* عن تلك العزلات غير المنتجة لهذا المضاد الحيوى.

هناك تقارير متعارضة عن دور الـ Gliovirin فى المقاومة الحيوية للفطر *R. solani* بواسطة الفطر *Gliocladium virens*، فى دراسة أجريت سنة ١٩٨٤ بواسطة Jones *et al* ذكروا بأن العزلات غير المنتجة لمادة Gliovirin ليس لها تأثير على إصابة الفول السودانى بالفطر *R. solani*. وعلى العكس من ذكر Howell سنة ١٩٨٧ أن هناك طفرات من الفطر *G. virens* لاتتطفل على الفطر *R. solani* ولكنها قادرة على كبح جماحه، وتمنعه من إحداث تساقط بادرات القطن فى الحقل، مما يدل على أن التطفل الفطرى ليس هو العامل الأساسى لفعل الفطر *G. virens* ضد الفطر *R. solani*. عندما فحصت الهيفات الميته ميكروسكوبياً، تبين خلوها من المحتويات، وأنها تعطى مظهر التأثر بفعل المضادات الحيوية. وقد تبين من الدراسات المستفيضة أن إحدى العزلات غير المتطفلة من هذا الفطر تنتج مادة Gliovirin ، وعزلة أخرى تنتج مادة Viridin . ولقد ذكر Howi سنة ١٩٨٦ أن هناك تعاوناً بين المنافسة والتطفل بالإضافة إلى دور المضادات الحيوية فى المقاومة الحيوية التى يقوم بها الفطر *G. virens*.

تبين من الدراسات الوراثية أن الطفرات الناتجة من البكتيريا *Pseudomonas putida* باستعمال مادة nitrosoguanidine والتى لاتنتج مضادات حيوية ليس لها دور فعال فى مقاومة البكتيريا *Erwinia carotovora* على درنات البطاطس، كذلك فإن الدراسة الوراثية أثبتت أن المضادات الحيوية تدخل فى تثبيط الكائنات الحية الدقيقة فى المجال الجذرى للنباتات عن طريق مشجعات النمو النباتية التى تفرزها البكتيريا الوميضة *Pseudomonas* sp.، حيث إن هذه البكتيريا تعطى مضادات حيوية فى المعمل، ضد عديد من كائنات المجال الجذرى، وأن البكتيريا التى لاتحدث ذلك معملياً لا تحدثه فى الطبيعة.

لقد وجد أن إنتاج المضادات الحيوية يمكن أن يعطى الكائنات الحية الدقيقة قدرة على التنافس للحصول على الغذاء والمكان ضمن مسافات ضيقة جداً. إن العزلات العديدة جداً من الفطر *Cephalosporium gramineum* المتحصل عليها من الطبيعة، تعطى مضادات حيوية، بينما العزلات المتحصل عليها فى المعمل لاتعطى، أو تعطى كميات قليلة من المضادات الحيوية. وقد أعطى Bruehl *et al* سنة ١٩٦٩ تفسيراً لذلك، بأن نمو العزلات فى

الطبيعة متنافسة مع الكائنات الأخرى يجعلها تفرز هذه المواد المضادة، وقد تبين أن إفراز هذه المضادات الحيوية ليس له دور فى التطفل وإصابة النبات، حيث إن السلالات التى تفرز والتى لاتفرز مضادات حيوية عندها القدرة على إصابة النبات.

الأدلة الوراثية لدور الترياقات البكتيرية في المقاومة الحيوية:

الترياقات البكتيرية Bacteriocins عبارة عن مركبات تشبه المضادات الحيوية، ذات تخصص فى إبادة البكتيريا، ذات العلاقة المتقاربة جداً من السلالات التى تفرز هذه الترياقات، وبالتالى يمكن القول بأن الترياقات عبارة عن Subclass من المضادات الحيوية. لقد وجد أن مقاومة مرض التدرن التاجى المتسبب عن البكتيريا *Agrobacterium tumefa-ciens* بواسطة البكتيريا ذات القرابة الكبيرة لها، وهى *A. radiobacter* هو مثال للترياقات البكتيرية المألوفة بالنسبة لمعظم الممرضات النباتية البكتيرية. إن إنتاج الترياق Agrocin 84 بواسطة البكتيريا *A. radiobacter* هو المسئول المباشر بشكل عام عن مقاومة مرض التدرن التاجى. ووجد أن إنتاج هذا الترياق يتحكم به وراثياً بواسطة بلازمد، وأن الحساسية لهذا الترياق تتحدد وراثياً على بلازمد (Ti) فى البكتيريا المستهدفة. ولقد تبين أن عمل هذا الترياق يكون فى تثبيط بناء الـ DNA. إن الطفرة من *A. radiobacter* والتى لاتنتج الترياق أمكن الحصول عليها عن طريق إزالة البلازمد المسئول عن إنتاج الترياق، وإن هذه العزلة لاتستطيع مقاومة مرض التدرن التاجى عند حقنها مع الكائن الممرض، ومع ذلك فإنها تثبط حدوث الإصابة عندما توضع على العائل النباتى قبل الكائن الممرض بمدة ٢٤ ساعة، زيادة على ذلك فإن التدرنات التى تتكشف على النباتات المحقونة بالكائن الممرض بعد ٢٤ ساعة من حقنها بالكائن المضادة تكون أصغر بشكل معنوى عنه فى النباتات غير المعاملة. هذا يعنى أنه على الرغم من أن الترياق البكتيرى هو الأساس فى المقاومة الحيوية، إلا أن هناك عوامل أخرى لها تأثير فى ذلك، مثل التمكن المباشر مبكراً فى العائل النباتى من قبل البكتيريا المضادة، وهو ماذكرناه سابقاً باسم الاستعمار الأولى للنسيج النباتى.

وجد أن السلالات الضعيفة وغير المنتجة للترياق النباتى من البكتيريا *Pseudomonas solanacearum* تكون غير قادرة على وقاية نباتات الطماطم من الإصابة بالسلالات الشديدة من البكتيريا نفسها فى اختبارات الصوبات الزجاجية، بينما السلالات الضعيفة

والمنتجة للترياق البكتيرى أعطت وقاية ضد السلالات شديدة الإصابة. لقد وجدت نتائج بعض التجارب على النقيض من ذلك، حيث إن السلالات غير المنتجة للترياق البكتيرى من البكتيريا *Erwinia herbicola* أعطت مقاومة لمرض اللفحة النارية مشابهة تماماً لما أعطته البكتيريا المنتجة للترياق البكتيرى.

العلاقة بين التضاد الحيوي في المعمل والمقاومة الحيوية:

١- عدم وجود ارتباط بين التضاد الحيوي في المعمل والمقاومة الحيوية:

هناك عدة أبحاث بينت أن ليس هناك ثمة علاقة بين التضاد الحيوى فى المعمل والمقاومة الحيوية، فمثلاً لاتوجد علاقة معنوية ملاحظة بين نمو الفطر *Phytophthora cactorum* فى المعمل عند وجود البكتيريا الممرضة ووقاية بادرات التفاح من الإصابة بهذه البكتيريا فى الصوبا الزجاجية. ولقد أثبت Papavizas & Lewis سنة ١٩٨٣ أنه لايوجد هناك علاقة بين التضاد فى المعمل والمقاومة الحيوية فى الصوبات الزجاجية. كذلك ذكر كل من Kommedahl & Windels سنة ١٩٧٦ أن التضاد الحيوى لبعض فطريات البسلة فى المعمل ليس له تأثير على وقاية البسلة فى الصوبا الزجاجية من هذه الفطريات. لقد ذكر Lang *et al* سنة ١٩٧٦ أن التضاد فى البيئة الغذائية فى المعمل لايعطى دائماً دليل فعالية للمقاومة الحيوية خاصة عند معاملة البذور. كذلك وجد بأنه نظراً لأن إنتاج المضادات الحيوية فى المعمل هى صفة عامة لكثير من بكتيريا منطقة الجذور، بالإضافة لكثير من بكتيريا العقد الجذرية مشجعة النمو النباتى، فإن التضاد فى المعمل لايمكن أن يستعمل كمقياس وحيد لاختيار مشجعات النمو النباتية.

فى دراسات مخبرية أجريت على ٢٣٨ عزلة من البكتيريا والخميرة فى المعمل، لم تظهر أية علاقة بين التثبيط فى المعمل والمقاومة الحيوية للفطر *Bipolaris maydis* على أوراق الذرة. فى دراسات أخرى على عزلة بكتيرية، وجد أن هذه العزلة تثبط إنبات كونيديات الفطر المذكور فى كل من المعمل وأوراق الذرة؛ نظراً لأنه لم يكن هناك تغير واضح فى الـ pH أو حدوث حرمان من التغذية. يمكن القول بأن المقاومة الحيوية الملاحظة باستعمال هذه البكتيريا يكون بسبب إنتاج مضادات حيوية أو مركبات شبيهة بالمضادات الحيوية.

فى دراسات معملية أجريت على ٤٣٣ عزلة من الأكتينومايستس لمعرفة مقدرتها على مقاومة الفطر *Ceratocystis ulmi*، ثبت أنه ليس هناك علاقة بين التضاد الحيوى فى المعمل ومقاومة المرض فى نبات الدردار Elm. إن ظاهرة فوق التطفل Hyperparasitism (من المحتمل أن يتدخل التضاد الحيوى فيها) من المعتقد أن تكون هى المسئولة عن تضاد للفطر *G. roseum* لعديد من الفطريات الأخرى، مع أن *G. roseum* ينتج مضادات حيوية فى المعمل. كذلك فإن تثبيط نمو *Dreschlera sorokiniana* على المجال الورقى، يبدو أنه ليس بسبب التضاد الحيوى، مع أن التضاد يثبط نمو هذا الكائن الممرض على الآجار.

٢- وجود ارتباط بين التضاد الحيوي في المعمل والمقاومة الحيوية:

هناك تقارير عديدة تبين أن هناك علاقة بين نتائج الإختبارات المعملية (في المعمل) والمقاومة الحيوية فى الطبيعة. إن إنتاج المضاد الحيوية Chetomin بواسطة الفطر *Chaetomium globosum* فى المعمل كان ذا علاقة إيجابية ضد الفطر *Venturia inequalis* على بادرات التفاح فى المشتل. وكذلك فإن وجود منطقة تثبيط Inhibition zone فى طبق بترى كانت دليلاً جيداً على إنجاز المقاومة الحيوية للبكتيريا *A. radiobacter* ضد البكتيريا *A. tumefaciens* على شتلات البرقوق. كذلك فقد تبين من الاختبارات المعملية والحقلية أن المقاومة الحيوية ضد *Drechslera dictyoides* بواسطة عزلات من البكتيريا مأخوذة من المجال الورقى كانت متعلقة بمواد ناتجة عن هذه البكتيريامثبطة للميتابولزم .

تكون نتائج الإختبارات المعملية متفقة مع المقاومة الحيوية، فى حالات خاصة، وليس فى كل الحالات، فمثلاً فإن مقدرة الأنواع الحيوية biotypes من الفطر *Trichoderma harzianum* على تثبيط *S. cepivorum* لاتكون مرتبطة مع مقدرة هذه الأنواع الحيوية على تثبيط الفطر *R. solani*. فى مثال آخر وجد أنه فى تقدير مقدرة البكتيريا الوميضة فى التضاد، أن هناك علاقة عكسية مع شدة المرض الماحق فى القمح، وأن أعلى مقدرة للبكتيريا للتضاد تحدث فى التربة الكابحة.

٣- ملاحظات علي الاختبارات المعملية:

لقد لخص Broadbent *et al* سنة ١٩٧١ فوائد الاختبارات المعملية، بعد أن قام بدراسة الأبحاث الخاصة بالتضاد الحيوى لـ ٣٥٠٠ كائن دقيق فى المعمل. وجد أن ٤٠ ٪ تقريباً من هذه الكائنات الحية تثبط من ١-٩ كائنات ممرضة نباتية على الآجار، وإن حوالى ٤ ٪ من هذه الكائنات كانت عوامل مقاومة حيوية فعالة فى التربة. ولقد ذكر أن بعض الكائنات الحية الدقيقة تثبط الكائنات الممرضة على الآجار، وأيضاً تفعل ذلك فى التربة، وإن هناك بعض الكائنات تكون غير فعالة على الاجار وغير فعالة فى التربة.

إن التطابق فى إنتاج المضادات الحيوية فى المعمل مع المقدرة على المقاومة الحيوية فى الطبيعة ليس بالضرورة علاقة سببية. ووجد أن عزلات من البكتيريا *Bacillus subtilis* تثبط الفطر *S. cepivorum* فى المعمل وتثبط حدوث مرض العفن الأبيض فى البصل فى الحقل وتزيد من نسبة إنبات وإنتاج البصل. ولقد ذكر الباحث أنه بينما من الممكن أن المضادات الحيوية المنتجة بواسطة العزلات المثبطة للكائن الممرض فى الحقل لها الدور الأساسى فى المقاومة، إلا أنه من الممكن أيضا أن تلك البكتيريا تستعمر منطقة الجذر وتقوم بتمثيل بعض مواد البصل التي تشجع إنبات سكلوروشيات الفطر *S. cepivorum*، وبالتالى تكون المقاومة الحيوية نتيجة المضادات الحيوية ونتيجة المنافسة على استعمار مناطق الجذر.

يمكن أيضاً أن تؤثر إختلافات الحساسية بين عزلات الكائن الممرض، على نتيجة أى اختيار فى المعمل. لقد ذكر كل من Jones & Pettit سنة ١٩٨٧ أن هناك اختلافات كبيرة فى الحساسية لمادة Gliotoxin بين مجموعات الـ Anastomosis من الفطر *R. solani*. كذلك فإن المواد المؤثرة على إنتاج نواتج التمثيل الثانوية تؤدى إلى إحداث تحورات فى المضادات الحيوية فى المعمل من حيث المقاومة الحيوية. ونظراً لأن إنتاج المضادات الحيوية يتأثر كثيراً بالعوامل البيئية وبشكل خاص التغذية، فليس من الغريب أن ظروف الاختبار تؤثر على نتائج التضاد الحيوى فى المعمل. وجد Vidaver *et al* سنة ١٩٧٢ أن اكتشاف إنتاج الترياق البكتيرى يعتمد على عمق الآجار، عمر المزرعة، كمية اللقاح، الحرارة وعوامل أخرى. إن مقدرة التضاد بين بعض الفطريات ـ *Streptomyces* sp., *R. solani* تختلف باختلاف وسط الاختبار المستعمل. كماوأن إنتاج المضادات الحيوية بواسطة أنواع أخرى من *Streptomyces sp.* يتأثر بكفاءة التربة الأسموزية. وجد Weinhold & Bowman سنة

١٩٦٨ أن البكتيريا المضادة تنتج باستمرار ٢-٣ أضعاف مادة المضاد الحيوى الشبيه بالترياق البكتيرى، عندما تنمو على مستخلص أنسجة فول الصويا عنه على مستخلص أنسجة الشعير. من المحتمل أن تؤثر التغذية بشكل أساسي على المقاومة الحيوية. لقد ذكر Howie & Sus-low سنة ١٩٨٧ أن كثيراً من السكريات البسيطة والأحماض الأمينية والأحماض ثنائية الكاربوكسيل يزيد بشكل واضح ١ - ٩ أضعاف فى مقدرة البكتيريا (المضادة للفطريات) *P. fluorescens*. زيادة على ذلك فإن المواد التى تزيد فى اظهار صفة الجين أيضاً تزيد فى كبح الفطر *Pythium ultimum* بواسطة البكتيريا نفسها فى التربة الطبيعية.

هناك عوامل أخرى تتدخل فى الاختبارات المعملية، فمثلاً عند تدخل بعض الإنزيمات فى إنتاج المضادات الحيوية، عندها لايمكن ملاحظة هذه المضادات فى المعمل عند غياب مواد الأنزيم فمثلاً *Talaromyces flavus* يقتل الأجسام الحجرية الدقيقة للفطر *Verticilli-um dahliae* فى المعمل وفى التربة، عن طريق إنتاج إنزيم مؤكسد الجلوكوز. إن تفاعل هذا الإنزيم مع الجلوكوز ينتج فوق أكسيد الهيدروجين، وبشكل واضح فإن هذا الناتج هو المسئول عن التضاد الحيوى، وبالتالى فإن التضاد الحيوى بواسطة هذا العامل ذى الكفاءة العالية سوف لايلاحظ فى البيئة التى تفتقر إلى الجلوكوز. كذلك فإن الجلوكوز مطلوب للبناء الحيوى للمضادات الحيوية فى البكتيرية الوميضة. كذلك فقد ذكر *Brown et al* سنة ١٩٨٧ أن الأحماض الأمينية مطلوبة كبوادئ لإنتاج مادة Epicorazines بواسطة *Epicoccum pur-purascens* وأن هذه المتطلبات يمكن أن تشارك فى الاختلافات الكبيرة، التى تلاحظ فى إنتاج مركبات المضادات الفطرية فى البيئات المختلفة.

٤- استعمال راشح المزرعة في إثبات التضاد الحيوي

إن راشح المزرعة أحادية الخلية، أو مستخلص هذه الراشحات قد استعمل فى إثبات الدور الذى يمكن أن يقوم به التضاد الحيوى فى المقاومة الحيوية. وجد أن الراشح المأخوذ من مزرعة أحادية الخلية للفطر *T. flavus* يقتل الأجسام الحجرية الدقيقة للفطر *V. dahliae* فى التربة المعقمة. كذلك فإن راشحات طفرات مختلفة من الفطر *T. harzianum* كانت كابحة لمسبب مرض العفن الأبيض فى البصل، بينما راشحات المزارع المعقمة بالاوتوغليف للبكتيريا *B. subtilis* المستعملة ثلاثة مرات أسبوعياً، تقاوم مرض صدأ الفول فى الحقل بشكل معنوى أفضل من المبيد الفطرى مانكوزب المستعمل مرة واحد فى الأسبوع. أما

راشحات المزرعة المعقمة بالاوتوغليف للبكتيريا المذكورة، أيضاً يثبط إصابة ساق فول الصويا بالفطر *Phomopsis sp.* فى الحقل، ولكن ليس فى الصوبا الزجاجية أو فى المشتل. كذلك فإن راشح مزرعة وحيدة الخلية من مخلوط *B. cereus* و *B. mycoides* أدى إلى خفض قليل، ولكن مستمر فى تكشف الصدأ على أشجار الدوغلاس. إن المركبات الشبيهة بالمضادات الحيوية الناتجة من *B. subtilis*، أيضاً فإنها تعوق نمو الفطر *R. solani* على قطع أوراق الرز وتكبح تكشف لفحة الغمد. ينتج الفطر *Scytalidium sp.* مواد شبيهة بالمضادات الحيوية والتى تثبط *Poria carbonica* على الآجار بالإضافة لتثبيطه على رقائق خشب السرو. يحتوى راشح مزرعة البكتيريا *B.* subtilis على مركبات مقاومة للحرارة والتى تحفظ البرقوق من الإصابة بالفطر *Monilinia fructicola*.

٥- الكشف عن المضادات الحيوية في التربة

أعطت المحاولات الأولية لدراسة فعل المضادات الحيوية فى التربة دليلاً على أن هذه المواد (نواتج تمثيل) غالباً ما تكون مرتبطة مع الطين والمادة العضوية فى التربة، أو أنها تتحلل بسرعة بواسطة المكروفلورا، إلا أنه من الممكن الكشف عن كميات صغيرة من بعض المضادات الحيوية بعد ٣٠ يوم تقريباً من إضافتها إلى تربة غير معقمة. فمثلاً أقل كمية ممكن الكشف عنها من مادة Chlorotetracycline (عندما تدمص على الطين)، بواسطة استعمال طرق كيماوية قياسية، هى حوالى ٠,٠٢ ميكوغرام/غرام تربة. يمكن للاختبارات الميكروبية أن تكتشف المادة المذكورة سابقاً ومضادات حيوية أخرى شائعة فى حدود ١ ميكوغرام/غرام تربة. وبشكل عام فإن المضادات الحيوية ذات القاعدة القوية لاتنطلق من الطين، بينما المضادات الحيوية المسماه amphiteric فإنها تنطلق بدرجات مختلفة بواسطة الفوسفات أو منظمات Citrate.

ب- مركبات غير المضادات الحيوية ودورها في المقاومة الحيوية

١- السايدروفورز Siderophores

هناك مركبات غير المضادات الحيوية تدخل أيضاً فى المقاومة الحيوية للكائنات الممرضة النباتية، تفرز أيضاً بواسطة الكائنات الحية الدقيقة. أكثر هذه المواد دراسة هى مادة

السايدروفورز. يمكن القول بان هذه المادة عبارة عن مركبات خارجة من الخلايا ذات وزن جزيئى منخفض لها جاذبية عالية للحديد المخلبى فى تكافؤه الثلاثى (حديديك) الذى ينقل الحديد إلى الخلايا البكتيرية. إن المقدرة على فصل الحديد من مركباته تعطى فائدة كبيرة للكائن الدقيق فى النافسة. هناك ما يثبت بأن مركبات السايدروفورز يمكن أن تلعب دوراً نشيطاً فى تثبيط بعض الكائنات الدقيقة الممرضة بواسطة كائنات دقيقة أخرى تفرزها، بحيث تجعل عنصر الحديد أقل إتاحة للممرضات.

عندما تنمو البكتيريا الوميضة فى ظروف ذات نسبة منخفضة من الحديد، فإنها تنتج صبغة صفراء. السايدروفورز الناتجة من البكتيريا الوميضة هى من نوع Pyoverdine ، عندما ترتبط مع البروتينات ذات الغشاء المستقبل تأخذ التركيب المعقد لـ siderophore-iron.

أول من أجرى أبحاثاً على هذه المركبات هو Kloepper *et al* سنة ١٩٨٠، وذكر أهمية إنتاجها كميكانزم فى المقاومة الحيوية، ثم بعد ذلك ذكر أن السايدروفورز تدخل فى تثبيط أنواع وأشكال أنواع .*f* sp لكل من الفطريات *Fusarium oxysporum* ، *Gaeumanno-myces* var. *tritici* ، *Pythium sp.*، *DRMO*. ونظراً لأن السايدروفورز تفصل كمية الحديد الثلاثى المتوافرة فى الرايزوسفير وترتبط بها، وبالتالى فإنها تحدد توافرها للكائنات الممرضة وتثبط نموها.

إن توفر كمية الحديد الثلاثى فى التربة تنخفض لوغاريتيمياً مع زيادة *pH* التربة، وبالتالى فإن فعل السايدروفورز يكون أكثر شدة وفعالية فى الأراضى القلوية والمتعادلة أكثر منه فى الأراضى الحامضية. يعتقد بان الكائنات الممرضة حساسة للتثبيط الناتج بواسطة السايدروفورز لعدة أسباب، منها :

١- لاتنتج الكائنات الممرضة سايدروفورز بنفسها.

٢- الكائنات الممرضة غير قادرة على استعمال السايدروفورز، المنتجة من قبل الكائنات المضادة أو بواسطة الأحياء الدقيقة الأخرى فى ظروفها البيئية.

٣- تنتج الكائنات الممرضة مركبات تشبه السايدروفورز ذات قوة جذب ضعيفة جداً للحديد أقل من تلك المنتجة بواسطة الكائنات المضادة.

٤- تنتج بعض الكائنات الممرضة مركبات تشبه السايدروفورز، يمكن أن تستعملها الكائنات المضادة، فى حين أن هذه الكائنات الممرضة لاتستطيع استعمال السايدروفورز المنتج بواسطة الكائنات المضادة.

التطبيقات العملية على السايدروفورز :

١- وجد أن سلالات البكتيريا الوميضة المضادة المنتجة للسايدروفورز تزيد فى ظهور بادرات القطن فوق سطح التربة فى التربة المعاملة بالفطر *Pythium ultimum* بالمقارنة مع سلالات البكتيريا الوميضة *P. fluorescens* غير المنتجة للسايدروفورز.

٢- وجد العالم Loper سنة ١٩٨٨ أن تجمعات البكتيريا الوميضة المنتجة للسايدروفورز تلعب دوراً مهماً فى وقاية بذور القطن أثناء الإنبات.

٣- تقوم البكتيريا المنتجة للسايدروفورز بتثبيط الفطر *Pythium* خلال ظهور بادرات معظم البقوليات فوق سطح التربة. كذلك يمكن للسايدروفورز أن تدخل فى المقاومة الحيوية لكائنات ممرضة أخرى.

٤- إن التضاد الذى تظهره سلالات *Pseudomonas* تجاه البكتيريا *Erwinia caratovo-ra* يعزى إلى السايدروفور المسمى Pseudobactin الذى تفرزه سلالات البكتريا *Pseu-domonas*.

٥- الطفرات البكتيرية من البكتيريا بسيدوموناس غير المنتجة لمادة Pseudobactin مثل *Pseudomonas* Putida ليس لها تأثير على إنبات الجراثيم الكلاميدية للفطر *Fusari-um oxysporum* f. sp. *cucumerinum*، بينما السلالات الأصلية تمنع إنبات هذه الجراثيم.

٦- إن إنتاج السايدروفورز يمكن أن يؤثر فى الاتحاد مع أو الإحلال محل المضادات الحيوية المنتجة لتثبيط الفطر *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*.

٢- المركبات المتطايرة Volatile Substances

لم تدرس المركبات المتطايرة وأثرها فى المقاومة الحيوية كثيراً. ذكر أن *Entrobacter cloacae* عامل مهم فى المقاومة الحيوية لأمراض البادرات اعتماداً على خاصية المركبات

المتطايرة. وجد فى المعمل أن هذا الكائن، يثبط تثبيطاً متناسقاً النمو الإشعاعى للفطريات الممرضة النباتية، مثل *Pythium ultimum*، *R. solani*، *V. dahliae*.

وجد أن التقطير الجزئى والحرارة المنخفضة يمكن أن تلتقط المواد المتطايرة من مزرعة *E. cloacae* مؤدية إلى احتجاز (مسك) أجزاء من المركبات المتطاير التى تثبط النمو الفطرى، عندما تضاف إلى المزرعة الحديثة. إن طرق التحليل المستعملة مثل Gas chromatography تثبت وجود نسبة من هذه المواد والتى عرفت على أنها أمونيا.

ذكر أن هناك مواد متطايرة مثل Alkyl pyrones والتى تنتج من الفطر *T. harzianum* عند إضافته لمخلوط التربة مع البيت peat soil mixture، هذه المركبات تثبط الفطر *R. solani* وتمنعه من احداث سقوط بادرات مفاجىء فى نبات الخس.

لقد ذكر Claydon *et al* سنة ١٩٨٧ أن المركبات المتطايرة عبارة عن مواد أيضية ذات قوة عالية فى تثبيط عديد من الفطريات فى المعمل. ولقد وصفها بأنها عبارة عن Fungistatic لمعظم الفطريات، ولكنها تعمل Paramorphogens (هذا يعنى أنها تحول التوزيع الطبيعى لكتلة الفطر) لبعض الفطريات خاصة *R. solani* و *R. cerealis*. كذلك فإن المواد المتطايرة يمكن أيضا أن تدخل فى وقاية النباتات من الكائنات الممرضة، عن طريق افرازها من قبل فطريات الميكورهزا الخارجية.

أهم المركبات المتطايرة :

١- إيثانول ٢- أيزوبيوثانول ٣- أيزوأمايل الكحول ٤- أيزوبيوترك أسد

أهم الفطريات التي تنتج مركبات متطايرة :

Boletus varigatus، T. harzianum، Entrobacter cloacae

وجد أن الإيثانول بشكل عام يسبب، تشجيع الفطر *Phytophthora cinnamomi* والفطر *Fomes annosus* فى المعمل، بينما المركبات الأخرى تثبط هذه الكائنات الممرضة بتركيزات معينة.

٣- الإنزيمـات Enzymes

إن مساهمة الإنزيمات فى المقاومة الحيوية، تجعل هناك صعوبة فى التمييز بين التطفل الفطرى المسمى Parasitism والتضاد الحيوى المسمى Antibiosis. فمثلاً إنتاج الإنزيم المحطم لجدار خلية الكائن الممرض بواسطة الكائن المضاد، يمكن أن يدخل باستمرار فى عمليتى التطفل الفطرى والتضاد الحيوى. هناك بعض الإنزيمات الأخرى، يمكن أن تدخل فى عملية التضاد الحيوى فقط. مثلا العزلة Tf1 من الفطر *Talaromyces flavus* (الاسم الجديد *Penicillium dangeardii* وغالباً ما يسمى *P. vermiculatum*) يقاوم ذبول الفيرتسليم فى الباذنجان، وعنده الكفاءة لوقف ذبول الفيرتسليم فى البطاطس فى ظروف الحق،ل وذلك اعتماداً على إفراز الإنزيمات. هذه العزلة من *T. flavus* لم يلاحظ أنها تتطفل على *V. dahliae*، مع أن الفطر الأصلى يتطفل على كائنات ممرضة أخرى مثل *Rhizoc-tonia* و *Sclerotinia*. يعتبر الفطر *T. flavus* منافس جيد فى التربة. بالإضافة إلى ذلك فإن هذا الفطر المضاد ينتج مركب يقتل الأجسام الحجرية الصغيرة للفطر *V. dahliae* فى كل من المعمل والتربة. لم تفلح المحاولات الأولية فى تنقية هذا المركب، الذى يقتل الأجسام الحجرية نظراً لسرعة فقده لنشاطه الحيوى خلال الإجراءات الكيماوية والفيزيائية، التى تؤدى إلى فصل أجزائه.

من المحتمل أن يكون النشاط الحيوى للفطر *T. flavus* ناتجاً عن منتجات التفاعل الإنزيمى مع مادة التفاعل، ولقد ذكر هذا الاقتراح عندما اكتشف أن هذا النشاط يمكن أن يعاد فقده، عن طريق إعادة الاتحاد بين مواد التفاعل. إن الاكتشاف الذى أدى إلى القول بأن أجزاء الأسيتون القابلة للترسيب تتفاعل بتخصص عال مع الجلوكوز، سهلت تعريف هذا المركب على أنه إنزيم Glucose oxidase ، وأن ناتج هذا التفاعل هو فوق أكسيد الهيدروجين، والذى يقتل الأجسام الحجرية للكائن الممرض المذكور سابقاً. إن الجلوكوز أو إنزيم أكسدة الجلوكوز كلاً بمفرده، لايقتل الأجسام الحجرية الصغيرة فى التربة، بينما الإضافة المتزامنة من الجلوكوز واكسيديز الجلوكوز، تخفض اعداد الاجسام الحجزية الصغيرة للفطر القابلة للحياة والمدفونة فى التربة. بالإضافة لذلك فانه ما لم يضاف فوق أكسيد الهيدروجين لوحده بتركيزات عالية نسبياً، فانه لايقتل الأجسام الحجرية فى التربة. وبالتالى فان التضاد الحيوى يعتقد بأنه داخلاً فى هذه المقاومة الحيوية، ولكن دور اكسيديز الجلوكوز لم يحدد فى التجارب.

من الممكن أن التطفل الفطرى على الفطر *R. solani* بواسطة الفطر *T. flavus* يحدث كثيراً فى وجود الجلوكوز، بسبب تكوين فوق أكسيد الهيدروجين. إن المضاد الحيوى lactob-acillin قد تم تعريفه بواسطة فوق أكسيد الهيدروجين.

٤- مواد سامة Poison Substances

إن مادة الـ Viridiol المنتجة بواسطة الفطر *G. virens* هى مادة سامة للنبات وخاصة نباتات المحاصيل، وتعتبر مبيد حشائش لبعض الأعشاب. ولقد وجد أن مادة الـ Viridin المنتجة بواسطة الفطر السابق، والتى هى مثبطة فطرية وبكتيرية، من السهل تحولها إلى Viridiol السامة نباتياً. هناك تقارير متضاربة تتعلق بسمية النواتج الأيضية للبكتيريا *Bacil-lus sp.* . ذكر Baker *et al* سنة ١٩٨٥ أن راشحات المزارع المعقمة بالأوتوغليف المأخوذة من عزلات من البكتيريا *B. subtilis* تحد من شدة صدأ الفول فى الحقل، ولكن الراشح المأخوذ من عزلة واحدة، يكون أيضاً ضاراً على نمو النبات ويؤدى إلى خفض الإنتاج. وبالمثل فإن هناك ٥-٦ نواتج أيضية للبكتيريا *Bacillus* سامة لبادرات الرز بتركيزات معينة. على النقيض من ذلك ذكر Gregory *et al* سنة ١٩٥٢ أن المضادات الحيوية المأخوذة من *Bacillus sp.* , *Streptomyces* لاتسبب أية أضرار لبادرات البرسيم الحجازى.

هناك بعض التقارير التى تفيد بأن بعض نواتج الأيض الفطرى ذات تأثير مضاد لإنبات البذور. إن أجزاء الأيثر الذائبة فى راشحات مزرعة الفطر للفطر *Chaetomium cupreum* تثبط نمو عديد من الفطريات الممرضة، وأيضاً تؤخر إنبات بذور فول الصويا. إن نواتج الأيض فى كل من *T. viride* ، *Aspergillus* ، *Fusarium* و *Penicillium* وجد أنها تخفض من كفاءة إنبات بذور اللفت، الخس، البسلة وحبوب القمح تحت ظروف الاختبار.

٥- مطهرات سطحية حيوية Biosurfactants

مقدمة:

هناك مطهرات سطحية حيوية، عرفت بأنها تسبب انفجار الغشاء البلازمى فى الكائن الحى، وهذا نوع من ميكانيكية التضاد بين الكائنات الحية الدقيقة. هذا النوع من المطهرات متخصص بالجراثيم الهدبية، وتفرزه البكتيريا التى تعيش على الطبقة السطحية من النباتات

فى الطبيعة. هذه المطهرات تستعمل بكفاءة عالية ضد الكائنات الممرضة النباتية، التى تسبب إصابات شديدة فى المجموع الخضرى.

إن وجود الماء الحر والذى هو ضرورى لانطلاق وانتشار وحركة الجراثيم الهدبية، يكون ظروفاً مثلى جيدة لذوبان وانتشار المطهر السطحى الحيوى المسمى Rhamnolipids، وهذا المطهر يسبب سرعة انفجار وتحلل الجراثيم الهدبية، الذى يحدث فى وجود كمية قليلة ولكن كافية من تركيز الـ Rhamnolipids، وهذا يؤدى إلى موت وتحلل الجراثيم، قبل أن تحتل أنسجة النبات العائل. إن استعمال هذا المطهر السطحى الحيوى المفرز من قبل البكتيريا عامل مهم فى المقاومة الحيوية ويمكن أن يقلل استعمال المبيدات الكيماوية.

أ- دور الجراثيم الهدبية في الإصابة المرضية:

هناك حوالى ١٤٣ نوعاً من الجراثيم الهدبية لفطريات ممرضة للنبات، مع أن هذا العدد يتبع عائلات ورتب مختلفة، إلا أنها تشترك فى طور عام لها، فى دورة حياتها، فهى أحادية الخلية متحركة ذات سوط واحد أو سوطين، وهذا الطور اللاجنسى يسمى جرثومة هدبية Zoospore، تتكون الجراثيم الهدبية إما فى حوصلة (أو مثانة) Vesicle أو فى كيس اسبورانجى Sporangium. وتختلف طريقة انطلاقها من هذه الأوعية فى وجود رطوبة حرة من ماء (مطر، ندي ، ماء رى) فهى تسبح لفترة من الزمن تختلف من عدة دقائق إلى عدة ساعات، ثم تتجمع وتتحوصل فى العائل المناسب.

تعتبر الجراثيم الهدبية الأساس إن لم تكن الوحيدة فى دورة حياة الفطر المسئولة عن إنتشار وإصابة أماكن معينة من العائل. من الأهمية بمكان، لمقاومة المرض، معرفة حقيقة أن الجرثومة الهدبية تتغلف بمفردها بغشاء بلازمى، وهذا الطور يختلف عن بقية أطوار الحياه للكائن الدقيق حيث يكون لكل منها جدار خلوى.

من أهم الأمراض المدمرة التى تنشأ عن الجراثيم الهدبية، هى:

١- أمراض البياض الزغبى فى العنب المتسبب عن *Plasmopara viticola*

٢- أمراض سقوط البثيم المتسببة عن *Pythium* sp.

٣- أمراض اللفحة المتسببة عن *Phytophthora* sp.

تطورت واكتشفت خطط عديدة لمقاومة هذه الأمراض، مثل زراعة الأصناف المقاومة إن وجدت، استعمال طرق مقاومة مختلفة فيزيائية أو كيماوية وأخيراً حيوية. وعلى أية حال فإن استعمال المبيدات الفطرية أكثر الطرق فعالية، حيث بدأ استعمال المبيدات الكيماوية النحاسية سنة ١٨٨٥ لمقاومة مرض البياض الزغبى على العنب، وفى سنة ١٩٨٠ كان هناك ١٥ ٪ من المبيدات الفطرية يدخل فى تركيبها النحاس. فى سنة ١٩٩٤ كان هناك حوالى ٤ بلايين دولار أمريكى تصرف تكاليف مبيدات فطرية لمقاومة الأمراض الناتجة عن الجراثيم الهدبية.

مع استمرار استعمال المبيدات الفطرية ظهرت سلالات مقاومة أو متحملة لهذه المبيدات، هذا أدى إلى استعمال مطهرات السطح الصناعية Synthetic surfactants، هذه المطهرات السطحية هى جزيئات Amphiphatic ، والتى يمكن أن تحول صفات البيئة السائلة فى السطح أو تحت السطح عن طريق خفض التوتر السطحى.

ب- مقاومة الجراثيم الهدبية بالمطهرات السطحية الصناعية

أول من بدأ استعمال هذه الطريقة هما Tomlinson & Faithful سنة ١٩٨٠، وذلك عند دراستهما مرض الخس الفيروسى Big vein، حيث ينتقل الفيرس بواسطة الجراثيم الهدبية للفطر *Olpidium brassica* حيث لاحظا حصول مقاومة للمرض بعد استعمال المبيد الفطرى Benzimidazole (Bavistin BASF) على المحلول الغذائى ورشه على النباتات. وقد تبين بعد ذلك أن الجزء الخامل فى تركيب المبيد الفطرى له نشاط محلل ضد الجراثيم الهدبية للفطر *Olpidium* وهذا التركيب يحوى مطهرات سطحية.

بعد ذلك ظهرت دراسات أخرى أثبتت التأثير المحلل لمطهرات سطحية مختلفة كلها تعمل ضد الفطر الناقل للفيرس، مثل:

١- Anionik = Manoxol O/T ، Marasperse CB ، Sodium lauryl sulfate

٢- Nonionik = Ethylan CPX ، Spreadite, Triton x100

٣- Cationic = Cetrimide ، Deciquam 222 ، Hyamine 1622

بعد نجاح هذه المطهرات فى مقاومة الفطر ناقل الفيرس، استعملت ضد أمراض فيروسية أخرى مثل فيرس بقع البطيخ المتحللة فى الخيار الذى ينقل بواسطة الفطر *Olpidium radicale*.

فى سنة ١٩٨٧ امتد استعمال المطهرات السطحية ضد كثير من الجراثيم الهدبية، التى تهاجم جذور النبات. وقد تبين من الدراسة أن الجراثيم الهدبية لأربعة أنواع من الفطر *Pythium* وأخرى من الفطر *Pytophthora* تتحلل بسرعة عند تعرضها للمطهر الفطرى الصناعى، حيث إن هذا المطهر يحطم النفاذية فى الغشاء البلازمى، وهذا يؤدى إلى فقد الحركة وسرعة التحلل (موت) للجراثيم الهدبية للأنواع المختبرة. وهذا المطهر السطحى ليس له تأثير أو له تأثير قليل جداً على الأطوار الأخرى فى دورة حياة الكائن الممرض. بعد ذلك امتد استعمال المطهرا ت السطحية الصناعية فى مقاومة أمراض عفن الجذور فى الخيار والفلفل، المتسببة عن الفطريات *Pythium aphanidermatum* ، *Phytophthora capsici*.

هناك دراسات أخرى مماثلة أعطت نتائج جيدة فى مقاومة عفن الجذر فى الخس المتسبب عن الفطر *Plasmopara lactucaeradicis*، وفى أثناء هذه الدراسة وجد أن هناك بكتيريا تفرز نواتج أيضية (ميتابولزم) خارج الخلية تسبب تحلل وموت الجراثيم الهدبية، وإن تأثير هذه المواد يشبه تأثير المواد المطهرة السطحية الصناعية (تسبب انفجار الغشاء البلازمى، وقد سميت هذه المواد باسم المطهرات السطحية الحيوية Biosurfactants)، وهى مذكورة فيما يلى:

جـ- مطهرات السطح الحيوية Biosurfactants

يتكون مطهر السطح الحيوى من تركيب كيماوى متنوع، وينتج بواسطة أنواع من الكائنات الحية الدقيقة. من أهم الأجناس البكتيرية التى ثبت أنها تنتج مطهرات سطحية هى:
Arthrobacter , Bacillus , Pseudomonas , Corynebacterium , Rhodococcus Acinetobacter

أما الأجناس الفطرية فهى *Torulopsis , Candida*

إن إنتاج المطهر السطحى الحيوى المتخصص يكون بشكل عام، مترافقاً مع جين ميكروبى متخصص. مع أن الكثير من هذه المطهرات السطحية الحيوية موصوف جيداً من حيث التركيب الكيماوى مثل الـ Rhamnolipid والـ Surfactin والـ Trehaloselipid، إلا أن التأثير الفسيولوجى لها غير واضح حتى الآن (١٩٩٧)، إلا أن هناك عديداً من الفرضيات المحتملة قد وضعت لتفسير فعل المطهرات السطحية الحيوية، منها:

١- زيادة تحضير الطاقة الحيوية ثم التحطيم الحيوى لهذه الطاقة بواسطة مصادر كربون عضوية ذائبة قليلاً مثل هيدروكربونات البترولية Petroleum hydrocarbons.

٢- تقوم هذه المواد كمساعد فى ربط أو فصل البكتيريا مع السطوح.

٣- تستعمل فى ميكانيكيات الدفاع ضد البكتيريا.

٤- تعمل كعامل قوى فى تخفيف شدة المرضية الناتجة عن الكائنات الحية الدقيقة المتخصصة فى النباتات والحيوانات.

٥- تستعمل كمساعدات فى استعمار سطوح الأوراق.

٦- بعد أن اكتشف بأن لهذه المواد دوراً فعالاً فى ربط المعادن، لذلك يمكن أن تلعب دوراً فى امتصاص المعادن أو فى خفض سمية المعادن.

من أفضل الدراسات التى أجريت على المطهرات السطحية الحيوية هى التى اهتمت بكل من Rhamnolipids و Glycolipids، التى تنتج وتفرز بواسطة البكتيريا *Pseudomonas sp.*. وهناك عديد من أشكال الـ Rhamnolipid قد عرفت، وهذه المطهرات، هى عادة Anionic فى الطبيعة. تفرز هذه المواد من الخلية خلال طور الثبات المتأخر من النمو والمسمى Late log and stationary phases، ويمكن أن تعزل وتنقى بطرق عديدة أهمها، الكروماتوغرافى. ولقد ثبت أن هذه المادة تفرز بكمية كبيرة من سلالات *Pseudomonas aeruginosa* ويتحكم فى ذلك زوج من الجينات rhlB ، rhlA وهناك جين rhlI له دور فى ربط وتنشيط بروتينات RhlR.

ذ- الراهمنولبدز كمبيدات حيوية Rhamnolipids as Biocides

بالفحص والتحليل الكروماتوغرافى لمادة الراهمنولبدز، تبين أنه خليط من إحادى الأنيونيك لبدز وثنائى الرهمنولبدز anionic mono and dirhamnolipids. عند دراسة تأثير هذه المواد على الجراثيم الهدبية لكل من الفطريات الممرضة النباتية الآتية:

Plasmopara lactucae ، *Phytophthora capsici* ، *Pythium aphanidermatum* ، *radicis* ، فقد تبين أنه عند تعرض الجراثيم الهدبية من هذه الأجناس الثلاثة للمطهر السطحى الحيوى العضوى بتركيزات تتراوح من ٥-٣٠ ميكوغرام/مل، أدى إلى توقف حركة وتحلل تجمعات الجراثيم الكلية فى أقل من دقيقة واحدة. إن التركيز الضرورى لهذا المطهر ليسبب التحلل، يعتمد على حساسية الجراثيم الهدبية ونوع مركب الراهمنولبد المستعمل، وفى جميع الحالات تبين أن ثنائى الراهمنولبد يساوى أو أفضل فى تأثيره إحادى الراهمنولبد. إن الميكانيكية المتوقعة فى تأثير هذه المركبات يتعتمد على تعرض الجراثيم الهدبية للمادة ودخولها فى الجرثومة ثم تفجيرها للغشاء البلازمى.

بالإضافة إلى المواد السابق ذكرها إحادى وثنائى الراهمنولبدز، اختبرت مطهرات سطحية حيوية أخرى ضد الجراثيم الهدبية، مثل مركبات الجلايكولبدز منها Trehalose lipid ، Sophorose lipid و Lipopetide ووجد أن هذه المواد ليس لها تأثير على الجراثيم الهدبية، إذا قل تركيزها عن ١٠٠٠ ميكوغرام/مل.

هـ- كفاءة الراهمنولبد فى المقاومة الحيوية:

عند استعمال المطهر السطحى الحيوى راهمنولبدز فى الحقل، لم يحدث مقاومة حيوية كاملة فى جميع الحالات، بعد إضافة البكتيريا المنتجة لهذه المادة فى المحلول الغذائى. ولقد اكشتف فيما بعد أن التوتر السطحى يزداد فى وحدات الهيدرويونك، مما يؤدى إلى خفض الكفاءة فى مقاومة الأمراض. وهذا أدى إلى الإقتراح بأن هذه المادة تتحطم، وقد ثبت أن هناك طريقتين لتحطيم هذه المادة:

١- تستطيع البكتيريا المنتجة للراهمنولبدز أن تحطم هذا المركب نتيجة تحطيم المواد الغذائية فى البيئة (زيت زيتون) المستعملة كلية.

٢- يمكن أن يتحطم الراهمنولبد ببكتيريا أخرى موجودة فى المحلول الغذائى المستعمل لغير البكتيريا المنتجة له. حتى سنة ١٩٩٧ لم يتأكد أى من الطريقتين هى السائدة، ولكن يجب الاحتياط فى ذلك ومعرفة أى الأسباب التى تؤدى إلى هذا التحليل وتلافيها لكى نحصل على مقاومة حيوية كاملة للمرض. كذلك لم يثبت بأن جميع سلالات البكتيريا المنتجة للرهمانولبد تعطى مقاومة للجراثيم الهدبية لكل الكائنات الممرضة للنبات تحت جميع الظروف البيئية. أحياناً فإن السلالات المتأقلمة مع ظروف معينة هى القادرة على إفراز الراهمنولبد المقاوم للجراثيم الممرضة للنبات فى هذه الظروف. فمثلاً بعض سلالات البكتيريا المنتجة للراهمنولبد المتحصل عليها من حقول البطيخ خلال شهور الصيف الحارة التى تزيد فيها الحرارة عن ٤٠°م، هذه البكتيريا موجودة على سطح الورقة، هذه البكتيريا تستطيع أن تقاوم الجراثيم الهدبية للفطر *Pseudoperonospora cubensis* المسبب المرضى للبياض الدقيقى فى القرعيات، ولكن هذه البكتيريا لاتستطيع أن تقاوم المسببات المرضية التى يلائمها الجوار البارد مثل الفطر *Phytophthora infestans* مسبب اللفحة المتأخرة فى البطاطس، والذى تكون فيه الجراثيم الهدبية على أفضل نمو على درجة أقل من ١٦°م.

يمكن القول بأنه حتى ١٩٩٧ لم يحدث أن حصلت مقاومة من قبل الجراثيم الهدبية ضد الراهمنولبد وليس من المتوقع حدوثها فى فترة قصيرة، وذلك لأن ظهور هذه المقاومة يتطلب حدوث تغير فى تركيب الغشاء البلازمى للجرثومة، زيادة على ذلك. ومما يؤكد صحة هذا الاقتراح أن المطهرات السطحية الصناعية تستعمل منذ ١٦ سنة، ولم يظهر أية سلالة مقاومة لها خاصة فى الفطر *Olpidium brassicae*.

طرق تغلب الكائن الممرض على ظاهرة التضاد

هناك ثلاث طرق يستطيع الكائن الممرض بواسطتها أن يتغلب على ظاهرة التضاد، وبالتالى يحبط كفاءة نظم المقاومة الحيوية. وهذه الطرق هى:

١- الهـــروب Escape

إن الطبقة العلوية من سطح التربة بسمك ١٥-٢٥سم فى الحقل، تحتوى معظم المادة العضوية، وتكون عادة غنية بالأكسجين وتحتوى نسبة قليلة من ثانى أكسيد الكربون، وهى

بالتالى تكون المسرح الكبير الذى تتنافس فيه الكائنات الحية الدقيقة سواء كانت رملية أو طفيلية ممرضة. تعتمد مقدرة الكائن الممرض على النمو، سواء فوق أو تحت هذه المنطقة، على امتلاكه نظماً معينة للهروب من التضاد مع الكائنات الأخرى، وكذلك مقدرته على البقاء مترافقاً دائماً أو قريباً من منطقة جذور العائل الذى يهاجمه، سواء كانت الجذور سطحية أو عميقة. مثلاً فإن الفطر *Phymatotrichum omnivorum* الذى يستعمر جذور النبات ويكون أجزاءه التكاثرية سواء الأجسام الحجرية، أو الحبال الهيفية أو الميسيليوم موجودة على عمق ٣,٥م فى التربة، ولكن إذا بقى الفطر فى الحقول حيث تكون هذه التركيبات التكاثرية موجودة فى بقايا المحصول بالقرب من سطح التربة، فإنه يكون أكثر قابلية لأن يتحطم بواسطة الكائنات الأخرى المضادة. إن مقدرة هذا الفطر لأن يبقى حيوياً فى أعماق التربة، دون شك، تحبط طريقة المقاومة الحيوية لهذا الفطر عن طريق الدورة الزراعية أو إضافة المواد العضوية للتربة. وقد ذكر بعض الباحثين أنه أمكن ملاحظة انتقال جراثيم هذا الفطر عميقاً فى التربة لإصابة جذور الأشجار ويسبب موتها بسرعة. أثبت كل من Lyda & Bur-nett سنة ١٩٧١ أن الفطر يكون فى التربة السوداء الناعمة، ليس فقط متحملاً لارتفاع نسبة ثانى أكسيد الكربون، ولكنه يستفيد من هذا الغاز ويشجعه على تكوين الأجسام الحجرية، وهذا ما يساعد الفطر على البقاء حياً فى التربة على أعماق بعيدة هارباً من التضاد الحيوى.

على العكس مما سبق، فإن الفطر *Sclerotium rolfsii*، يميل إلى العيش فى المنطقة السطحية من التربة ويحتاج إلى التهوية المستمرة، وبالتالى فإنه يهاجم النباتات بالقرب من سطح التربة أو أعلى قليلاً. ولقد ذكر Nair سنة ١٩٦٨ أن معدل نمو ميسيليوم هذا الفطر لم يثبط عند وصول نسبة تركيز الأكسجين إلى ٣٪، وكذلك عند وصول نسبة ثانى أكسيد الكربون إلى ٠,٠٣٪. وبالتالى يمكن القول بإن عدم إصابة النباتات بهذا الفطر فى المناطق تحت سطح التربة يعود ليس لقلة الأكسجين، وإنما لحساسية الفطر تجاه ثانى أكسيد الكربون الذى هو ناتج من الكائنات الحية الدقيقة كميكانيكية من أسلوب التضاد بين الكائنات الدقيقة. ويبقى هذا الفطر فى حالة كمون عندما يشعر أن هناك تضاداً بسيطاً له فى التربة، وينعكس بزيادة تركيز ثانى أكسيد الكربون. كذلك فإن هذا الفطر، يتأثر إنبات أجسامه الحجرية بالرطوبة والجفاف. وجد أن الأجسام الحجرية التى تتواجد فى تربة رطبة باستمرار لاتنبت، بينما تلك التى تتواجد فى تربة جافة نسبياً تنبت، وبالتالى فإن الجفاف يشجع نبات الجراثيم.

إذن فإن هذا الفطر يهرب من التضاد مع الفطريات الأخرى بنموه فى طبقة التربة الجافة فى السطح.

كذلك فإن جراثيم الفطر *Helminthosporium sativum* تفشل فى الإنبات فى التربة حتى يستبعد الاثيلين منها عن طريق تمرير تيار هوائى. يصل تركيز الاثيلين فى تربة الحقل إلى واحد جزء فى المليون، وبالتالى فإن الأراضى الغنية بالمواد العضوية والنيتروجين والتى تكون مناسبة لنمو الكائنات الحية الدقيقة يتكون فيها الاثيلين بكمية أكثر من الأراضى غير المضاف إليها المادة العضوية. وبالتالى فإن الأراضى التى يتكون فيها نسبة عالية من الاثيلين تثبط نمو هذا الفطر، وتسمى Fungistasis، ويمكن القول بأن هذا الفطر يهرب من التضاد الحيوى بزيادة الاثيلين فى التربة.

ومن الأمثلة الأخرى للهروب من التضاد، وجد أن الفطريات *Fusarium nivale , T. incarnate, Typhula idahoensis* والفطر *Sclerotinia borealis* تستطيع أن تنمو على درجة حرارة ٠,٥°م وحتى أقل من ذلك، وتسبب تحللاً كبيراً لأوراق القمح على درجة حرارة منخفضة تحت الثلج، وبالتالى فهى تستطيع أن تهرب من التضاد مع الكائنات المضادة الأخرى التى لاتستطيع أن تعيش تحت هذه الظروف.

وجد أن بعض الفطريات تتأثر بمستوى الماء فى التربة، ففى التربة التى يقل فيها الماء عن ١٠–١٥ *Bars*، فإن الجراثيم تنمو ولا تتأثر بالتضاد، لأن الكائنات المضادة لا تتحمل هذه الظروف. ووجد أيضاً أن الفطر *Streptomyces scabies* يستطيع أن ينمو فى التربة الجافة جداً، وهذه طريقة للهروب من التضاد، حيث أن هذا الفطر يعيش فى الطبقة السطحية والرقيقة جداً والتى تجف أولاً بحيث لا ينافسه فيها أى كائن نظراً لصعوبة الظروف بالنسبة للكائنات الأخرى.

أما بالنسبة للفطريات الطحلبية المائية، فهى غالباً ما تهرب من التضاد، وذلك عن طريق مقدرتها تحمل انخفاض نسبة الأكسجين، وأن تبقى وتتحرك خلال الراشح المائى فى التربة المسامية، وبالتالى فإن تضاد هذه الفطريا ت فى هذه الظروف يكون صعباً جداً، عدا عن أن هذه الفطريات يمكن أن تصيب وتنمو فى الأجزاء الهوائية النباتية للبادرات، بالإضافة للأجزاء العميقة، وبالتالى فهى تهرب من التضاد.

إن طور الكمون الذى تمر به الأجزاء التكاثرية الفطرية للممرضات النباتية فى التربة له دور كبير فى الهرب من التضاد. وبالتالى فإن دخول الفطر فى تركيبات ساكنة مثل الجراثيم ذات الجدار السميك المغلف تماماً، يحميه من المنافسة أو التضاد من قبل كائنات التربة الأخرى. هناك كثير من الفطريات xerosporae تنتج ما يسمى الجراثيم الجافة Dry spores، مثل الفطريات: *Penicillium* ، *Aspergillus* ، *Alternaria*، *Helminthospori-um* ، *Stemphylium* والتى تتحرك خلال التيارات الهوائية فى التربة، هذه الصفات تجعلها تهرب من المنافسة أو التضاد مع الكائنات الأخرى فى التربة. على العكس من ذلك، هناك فطريات تنتج جراثيم لزجة Gloiosporae مثل الفطريات: *Fusarium* و *Verticillium* وأفراداً أخرى من عائلة Tuberculariaceae والتى تغسل جراثيمها مع التربة، وهى أيضاً بهذه الصفات تهرب من التضاد أو المنافسة مع الكائنات الأخرى فى التربة.

إن سرعة الإنبات والنمو فى الفطريات، طريقة معروفة جيداً فى فطريات التربة للهروب من التضاد. فمثلاً الجراثيم الكلاميدية للفطر *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli*، تبدأ فى التبرعم فى التربة خلال ٤-٥ ساعات بعد توفر المادة الغذائية، بعد ذلك، فإن ٢٠-٣٠ ساعة تكون كافية لنمو الخيوط الفطرية اللازمة لاختراق قلفة الفاصولياء. كذلك فإن الجراثيم الكلاميدية والكونيديات الداخلية فى الفطر *Thielaviopsis basicola* تنبت قرب جذور العائل خلال ٢٠ ساعة وتخترق الشعيرات الجذرية مباشرة خلال ٢٤ ساعة. أما الأسبورانجيا فى الفطر *Pythium ultimum*، فإنها تنبت خلال ١-٢ ساعة، وتصيب البذور خلال ٢٤ ساعة بعد الإنبات، وبالتالى تكون متكيفة للهروب من التضاد عن طريق سرعة النمو والإنبات، وما لم تكن المضادات الأخرى بيدها المفاجأة السريعة فى الإنبات والنمو، كما يحدث فى بعض الكائنات الأخرى، فإن الكائنات الممرضة يمكن أن تهرب وتنجو من الساحة بسرعة.

هناك كثير من الممرضات النباتية تكون موجودة على سطح العائل وتسبب المرض فقط تحت ظروف معينة، مثل الفطر *Taphrina deformans* على الخوخ، والبكتيريا *Pseudo-monas syringae* على كثير من النباتات، مثل *P. mors-prunorum* على الكرز و *P. glycinea* على فول الصويا وأحيانا البكتيريا *Erwinia amylovora* على الكمثرى والبكتيريا *A. tumefaciens* فى المحيط الجذرى لكثير من النباتات، فإن هذا الوجود يجعل كمية

المطلوب من اللقاح لحدوث المرض أقل مما لو كان اللقاح بعيداً، وبالتالى هنا يصعب حدوث التضاد.

كذلك فإن وجود الكائن الممرض داخل الأنسجة النباتية يحميه من التضاد. وبالتالى يمكن القول بأن الكائن الممرض الذى يستطيع أن يبقى ضمن الكائن الحى، يمكن أن يهرب من التضاد حتى يخرج منه.

٢- المقاومـــة Resistance

من الأمثلة الواضحة على هذه الظاهرة، هو الطفيل الممرض النباتى *Cephalospori-um gramineum*، حيث ان هذا الكائن يقاوم التضاد عن طريق إنتاج مواد مضادة (مضادات حيوية). سنة ١٩٦٨ تبين أن هذا الفطر الوعائى الذى يتطفل على القمح، لايشكل جراثيم كلاميدية حقيقية ولا أجساماً حجرية دقيقة، ولا أية وسائل تكاثر متخصصة سميكة الجدر ضمن سيقان القمح المتطفل عليها، وبالتالى يعتمد فى بقائه حياً فى التربة على احتلال واستعمار قش القمح. أما الفطريات الآتية:

1- *Fusarium roseum* f. sp. *cerealis*

2- *Cercosporella herpotrichoides*

3- *Ophiobolus graminis*

4- *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*

فهى تستعمر معظم إن لم يكن جميع الأنسجة التي تتطفل عليها وتحللها وتحتفظ باحتلال أنسجة القشرة عن طريق الاحتلال المسبق لها. أما الفطر *C. gramineum* فإنه يحتل خشب الحزم الوعائية فقط، ولا يحتل البرانشيما المرافقة فى الساق والبشرة الخارجية، هذه الأنسجة عادة ما تكون متوفرة لفطريات التربة المترممة. إن هذا الفطر ينتج مضادات حيوية واسعة المدى والتى تخفض استعمار القش عن طريق تنافسه فى استعمار القش. هذه المضادات الحيوية المنتجة تكون حيوية وفعاله وتساعد الفطر فى احتلاله للقش، بالمقارنة مع الطفرات التى لاتنتج مثل هذه المضادات الحيوية، حيث أمكن التغلب عليها بواسطة الفطريات المترممة فى التربة خلال ٥-٦ شهور بعد دفن القش فى التربة، فى حين أن السلالات المنتجة للمضادات الحيوية تبقى فى التربة مقاومة للفطريات المترممة مدة ٢-٣ سنوات. إن

كلاً من السلالات المنتجة وغير المنتجة للمضادات الحيوية تكون ممرضة للقمح، ولكن إنتاج المضادات الحيوية ضرورى للبقاء فى التربة وليس للمرضية. هذا يبين أن الفطر *C. gra-mineum* يستطيع أن يقاوم الفطريات الأخرى عن طريق المضادات الحيوية.

كذلك فإن الفطر *Ascochyta chrysanthemi* الذى يصيب بتلات أزهار الأقحوان والفطر *Sclerotinia camelliae* الذى يهاجم بتلات أزهار الكاميلا، تنتج مضادات حيوية ضد الفطريات الرمية الأخرى، التى ترغب فى استعمار واحتلال البتلات الميتة، وبهذه الطريقة فإن المقاومة الفعالة عن طريق المضادات الحيوية تكتسح الكائنات المنافسة الأخرى.

وجد أن رايزومورفات الفطر *Armillariella elegans* الفطر النموذجى *(A. mellea)* تستمر فى الاستطالة عندما تكون مغطاة بغشاء رقيق من الماء، ولكن عندما يجف هذا الغشاء، فإن نسبة أعلى من الأكسجين تصل هذا التركيب فيحدث فيه تلون ويبطىء فى النمو. وبالتالى فإن معاملة التربة لإبقائها جيدة التهوية وجافة يساعد فى خفض انتشار الكائن الممرض عن طريق الرايزومورفات. هذا يعنى أن وجود الغشاء المائى هو نوع من المقاومة الموجودة فى هذا الفطر.

كذلك تعتبر الصبغات الموجود فى جراثيم وجدر هيفات أنواع من الفطريات، نوعاً آخر من الميكانيكية التى بواسطتها تقوم الكائنات الممرضة فى مقاومة التضاد. تكون الجراثيم والهيفات فى التربة أو على أسطح الجذور، غالباً ملونة، بينما تكون هذه التركيبات فى الحالة النموذجية لها، فى أنسجة العائل أو فى المزارع النقية غالباً شفافة. إن الجراثيم الكلاميدية للفطر فيوزاريوم، مثلاً، تكون شفافة عندما تتكون فى مزرعة نقية، ولكنها تكون بنية فى التربة، من المحتمل أن يكون ذلك بسبب مادة الميلانين المتكونة فى الجدر السميكة، أما بالنسبة للأجسام الحجرية، فإنها تكون غالباً بلون بنى غامق إلى الأسود. إن الهيفات المتكيفة لأن تبقي رمية فى التربة، خارج بقايا العائل تكون غالباً ملونة. من أشهر الأمثلة على ذلك الهيفات الجارية البنية للفطر مسبب المرض الماحق فى القمح والخيوط الهيفية للفطر *Phymatotrichum omnivorum* ، وكلا الفطرين يجب أن يبقى على سطح جذر العائل وبالتالى تكون ذات كفاءة عالية فى التضاد. ولقد وجد أن كونيديات بعض الفطريات مثل:

1- *Stemphylium* 2- *Alternaria* 3- *Helminthosporium*

غالباً ما تتكون فى التربة وتكون مقاومة للتحلل *lysis* أكثر من تلك الكونيديات الشفافة للفطريات *Glomerella* و *Fusarium*. لقد وجد أن كونيديات الفطر *H. sativum* تقاوم التحلل لمدة أكثر من أسبوعين فى التربة العادية. وعلى النقيض من ذلك فإن الكونيديات الشفافة للفطريات السابقة تقاوم التحلل لعدة أيام فى التربة العادية. لقد وجد أن هذا التحلل يكون معتمداً على طبقة Electron - dense أكثر منه على المحتوى من الصبغات. أما بالنسبة للمقاومة الموجودة فى جدر خلايا بعض الفطريات البازيدية للتحلل الميكروبى، يمكن أن تكون بسبب توفر السكريات المختلفة العديدة Heteropolysaccharides فى جدرها أكثر منه لوجود مادة الميلانين.

يمكن القول بأن الكائنات الدقيقة تختلف فى حساسيتها للمضادات الحيوية، بسبب تركيب جدار الخلية ونفاذيته، أو بسبب ربط المضاد الحيوى مع مكونات الجدار الخلوى. ولقد ذكر Alexander & Kuo سنة ١٩٦٧ بأن أي مادة لكى تكون مثبطة للطفيليات، من النظام الخارجى نفسه، يجب أن تعيش طويلاً أو يجب أن يعاد تخليقها بسرعة كلما تحطمت.

يستطيع الفطر *R. solani* أن يراوغ ويهرب من التضاد بالكائنات الأخرى، عن طريق مقدرته على النمو خلال التربة غير المعقمة عدة سنتيمترات، بعيداً عن العناصر الغذائية الأساسية من العائل، ويعيش على المواد الغذائية الموجود فى التربة، ولا تلبث أن تصبح هيفات هذا الفطر فى التربة سميكة الجدر وملونة، هذا الذى يمكن أن يعطيه مقاومة ضد الكائنات المضادة الأخرى. كذلك يمكن القول بأن هذا الفطر يمتلك مقاومة فسيولوجية ضد الكائنات المضادة الأخرى (ضد ما تفرزه من مضادات حيوية)، وهذ لايعتمد على لون أو سمك جدار الخلية.

٣- التحـــمل Tolerance

يعتبر التحمل بين الكائنات المتضادة، مثل التحمل بين الكائن الممرض والعائل النباتى، وهذا يعنى أن الكائن الدقيق يكون كامل القابلية للإصابة، ولكنه يتحمل هذه الإصابة وينجح فى البقاء حياً، على الرغم من الضرر الذى يلحق به. إن إنتاج اللقاح بكميات هائلة وكذلك زيادة عدد مرات إختراق العائل، هما الطريقتان اللتان بواسطتهما يتحمل الكائن الممرض تضاد الكائنات الأخرى.

إن الكائن الممرض النباتى الكامن فى التربة (الفيوزاريوم مثلاً) ينجح فى إنتاج كميات كبيرة من اللقاح ، على الرغم من تضاد الكائنات الأخرى، وجد أن بعض أنواع الفيوزاريوم تنتج ١٠٠٠-٢٠٠٠ وحدة تكاثر/غرام تربة فى الطبقة السطحية ذات سمك ١٥-٢٠سم، أو أنها تكون ٦٥٠ وحدة تكاثرية فى التربة ذات سمك ١ملم لكل ١سم من سويقة النبات ذات قطر ٧ملم. هذا اللقاح بالإضافة إلى الكميات الكبيرة من أجزاء النبات الملوثة المهملة يؤدى إلى تواجد الكائن الممرض بكميات هائلة. إن المثبطات الفطرية الموجودة فى التربة Fungis-tasis تجعل جزءاً من هذا اللقاح فى حالة كمون، ولكن ٣٠-٦٠٪ منه ينبت إستجابة لافرازات جذور العائل. بعض من هذه النسبة النابتة يحدث لها تحلل lyse وبعض آخر يتحول إلى جراثيم كلاميدية، والبقية الباقية (حوالى ٥٠ وحدة تكاثر) تنجح فى تحمل كل ما تلاقيه من تضاد.

أما بالنسبة للأمراض الكامنة فى الهواء (المحمولة جراثيم مسبباتها فى الهواء)، فالأمر يختلف هنا، فإن عدد الجراثيم اللازمة لإحداث الإصابة فى المجموع الخضرى تكون أقل كثيراً إذا ماقورنت بالأمراض الكامنة فى التربة، وكذلك اللازمة لإحداث الإصابة فى الأوراق، تكون أقل من تلك اللازمة لإحداث الإصابة فى الأجزاء الخشبية. مثلاً جرثومة واحدة من فطريات الصدأ يكون عندها فرصة ١٠-٥٠٪ لإحداث الإصابة فى الأوراق.

كلما كبرت الفرصة المتاحة أمام الكائن الممرض لكى يحدث إصابات وإختراقات متكررة فى العائل النباتى، كلما استطاع هذا الكائن الممرض أن يتحمل ويقاوم الكائنات المضادة الأخرى، وهذا لايكون إلا إذا كانت وحدات اللقاح متوفرة بكثرة وتكون قادرة على تكوين عضو التصاق وهيفات عدوى.

II: التطفل الفطري Hyperparasitism = Mycoparasitism

مقدمة:

عندما يتطفل فطر على فطر آخر فإن هذه الظاهرة تسمى التطفل الفطرى Mycopara-site. أول من اكتشف هذه الظاهرة هو العالم Weindling سنة ١٩٣٢ عندما لاحظ أن الفطر *Trichoderma lignorum*، يمكن أن يتطفل على عدد من الفطريات الكامنة فى التربة فى

المعمل، وأقترح أنه من الممكن مقاومة بعض الفطريات الممرضة فى التربة، عن طريق تزويد التربة بمقدار كبير من هذا المتطفل. وبالتالى فإن فكرة المقاومة الحيوية لمسببات الأمراض النباتية بواسطة التطفل الفطرى ولدت فى تلك الفترة. فى السنوات اللاحقة لهذا التاريخ حوالى ٦٦ سنة، حدثت فيها دراسة وأبحاث كثيرة على هذا الموضوع، ولكن التطبيق العملى فى الحقل لهذه الظاهرة لايزال بأعداد قليلة وليس بالكثرة الملاحظة فى التجارب المعملية.

هناك عدة طرق بواسطتها يهاجم المتطفل الفطرى تركيبات الفطر الآخر منها:

١- اختراق الهيفا مباشرة :

يمكن للفطر المتطفل أن يخترق هيفا الفطر العائل وينمو داخل هذه الهيفا، كما يحدث للفطر *R. solani* مع كثير من الفطريات الطحلبية Phycomycete والفطر *Didymella exi-tialis* فى الفطر مسبب المرض الماحق فى القمح *G. graminis tritici* و *Mycena citri-color* فى الفطر *Mucor*، وبالتالى يتغذى الفطر المتطفل على محتويات عائله (الفطر المتطفل عليه) ويقضى عليه.

٢- التفاف هيفا المتطفل حول ميسيليوم الفطر العائل :

يمكن أن تلتف هيفات الفطر المتطفل حول ميسيلوم الفطر العائل، فى بعض الحالات يحدث اختراق لهيفات الفطر المتطفل عليه وأحياناً لايحدث اختراق. هذا يحدث مع الفطر *Trichoderma viride*، فى هذه الحالة فإن الفطر المتطفل يفرز إنزيمات تهضم جدر الميسيليوم فى الفطر المتطفل عليه، أو أن الفطر المتطفل يمكن أن يفرز مواد مضادة يمكن أن تثبط نمو الفطر المتطفل عليه أو تسبب له تحللاً داخلياً. أو أن الفطر المتطفل يطلق أحماضاً أمينية تثبط نمو الفطر المتطفل عليه كما فى *Didymella exitialis*. أحياناً يكون الفطر المتطفل عضو التصاق، ثم يكون ممصاً haustoria فى هيفا الفطر المتطفل عليه.

هناك أمثلة كثيرة من الفطريات التى تتطفل على الكائنات الممرضة النباتية، قليل من هذه الأجناس درس دراسة وافية بهدف استعماله فى المقاومة الحيوية، إلا أن استعمال هذه المتطفلات فى المقاومة الحيوية العملية قليل نسبياً وذلك للأسباب الآتية:

١- هناك صعوبة اقتصادية فى استعمال المتطفلات الفطرية فى المقاومة الحيوية، وذلك بسبب ارتفاع تكاليف تحضير اللقاح وتكاليف إضافته إلى تربة الحقل.

٢- انخفاض نسبة نجاح المقاومة الحيوية للمرض فى حالة ملاءمة الظروف البيئية للكائن الممرض وعدم مناسبتها للطفيل.

٣- قلة معرفة الظروف البيئية اللازمة حين استعمال المتطفل الفطرى وصعوبة تحديد الهدف من استعمال هذا المتطفل.

٤- قلة المعرفة العملية بظروف مسبب المرض ومدى ملاءمتها للفطر الذى يتطفل عليه.

٥- استمرار التغيرات الحيوية فى التربة وكثرة العوامل التى تتحكم بها.

الأجناس الفطرية المستعملة في التطفل الفطري:

١- Trichoderma Species

كما ذكرنا سابقاً فإن أنواع الفطر تريكوديرما قد درست دراسة وافية من حيث علاقتها بالمقاومة الحيوية. تستعمل هذه الأنواع بكفاءة عالية جداً فى المقاومة الحيوية عند إضافتها إلى تربة معقمة، أو عند الزراعة بدون تربة فى الصوبات الزجاجية، ولكن تنخفض هذه الكفاءة عند استعمالها فى التربة الطبيعية. ولقد وجد أنه عند تبخير تربة الحقل بمادة ميثايل بروماید، بنسبة ٢٠٠كغم/ هكتار، ثم معاملتها بعد ذلك بتركيبات من الفطر *T. harzianum* بنسبة ١٥٠٠كغم/ هكتار، تكون هناك كفاءة عالية ومعنوية فى كبح جماح مرض سقوط البادرات المفاجيء فى الجذر المتسبب عن الفطر *R. solani*. ونظراً لأن هذا الفطر ضعيف المنافسة فى التربة، فقد أمكن التغلب على هذه الصفة بتنميته على خليط من المولاس وحبيبات من تربة ذات بقايات الدياتومات المتحجرة، وهذه البيئات عند إضافتها فى الحقل بعد زراعته بالفول السودانى بمدة ٧٠-١٠٠ يوم، بنسبة ١٤٠كغم/هكتار، هذه المعاملة أعطت نتائج جيدة ومعنوية فى مقاومة المرض المتسبب عن الفطر *Sclerotium rolfsii*، وقد تبين أن هناك علاقة عكسية بين كمية اللقاح من *T. harzianum* المضاف إلى التربة وحدوث المرض النباتى فى التربة الطبيعية المضاف إليها *R. solani* بمعدل ٢ غرام/١-١٠ كغم تربة، أو بنسبة (٤,٥-٢٢) x ٦٠ غرام/هكتار بعمق ١٥سم) فى الصوبا الزجاجية.

هناك دراسة أخرى تبين فيها أن إضافة الفطر على قطع من الحقل بمعدل ١٦٣ كغم حبيبات نامى عليها الفطر/هكتار على عمق ١٠سم، أعطت نتائج جيدة ومعنوية فى وقف إصابة بنجر السكر بمرض عفن الجذور المتسبب عن الفطر *R. solani*. وقد تبين أنه للحصول على مقاومة جيدة باستعمال أنواع من الفطر *Trichoderma* تحتاج التربة حبيبات من الفطر على الأقل 10^5 وحدة تكوين مستعمرات/غرم تربة. يبدو أن هذا الرقم مرتفع وذلك لأن قوة المنافسة لهذا الفطر ضعيفة.

يستعمل الفطر *T. harzianum* ضد فطريات ممرضة كثيرة لجذور النبات، حيث يلتف الفطر المتطفل حول عائله مخترقاً هيفاته وتراكيبه الساكنة من خلال ثقوب بالعائل نتجت عن إفراز الطفيل لإنزيمات B- (1,3)- glucanase. هناك سلالات لهذا الفطر لاتسلك سلوكاً طفيلياً ، بل ينتج عند تفاعلها مع الكائن الممرض مضادات حيوية.

يستعمل هذا الجنس فى مقاومة الأمراض الآتية:

١- العفن الأبيض فى البصل المتسبب عن *Sclerotium cepivorum*

٢- ذبول القطن والخيار المتسبب عن *Verticillium dahliae*

٣- لفحة البادرات فى معظم النباتات المتسببة عن *S. rolfsii*

٤- سقوط البادرات المفاجىء فى كثير من النباتات المتسبب عن *R. solani*

٥- عفن ثمار الخيار المتسبب عن *R. solani*

من أهم أنواع الجنس *Trichoderma* المتطفلة على فطريات أخرى، هى:

1- *T. harzianum.* 2- *T. hamatum.* 3- *T. koningii.* 4- *T. polysporum.* 5- *T. longibrachiata.* 6- *T. viride*

٢- Pythium nunn

لهذا الفطر دور مهم جداً فى التطفل الفطرى على مسببات الأمراض الكامنة فى التربة. عندما يهاجم هذا الفطر كل من *Pythium ultimum* و *P. vexans*، فإن هيفا الفطر المتطفل تلتف حول هيفات الفطر، العائل، ثم تحللها وتميتها بعد ذلك. أما عند مهاجمة هذا الفطر لكل من الفطريات:

1- *Pythium aphanidermatum* 3- *Phytophthora parasitica*
2- *R. solani* 4- *Phytophthora cinnamomi*

فإن الفطر المتطفل يكون تركيباً يشبه عضو الالتصاق ويتطفل على هيفا الفطر العائل.

عند إستعمال الفطر المتطفل فى تربة معقمة بالبخار ومهواة، فإنه يسبب وقف إصابة بادرات الخيار بالسقوط المفاجىء المتسبب عن الفطر *P. ultimum*. إن مقاومة المرض تعتمد على نقطتين، الأولى مدى تجمع الكائن الممرض والثانية مدى توفر الفطر المتطفل، عندما ينجح الفطر المتطفل فى خفض كمية اللقاح للفطر الممرض تنجح المقاومة الحيوية. على كل حال، فإن توفر المواد العضوية فى التربة كمصدر للطاقة، فان هذا يزيد فى كفاءته فى المقاومة الحيوية، حيث إن الفطر *P. nunn* يعتمد على المواد العضوية وليس على أجزاء الفطر العائل فى زيادة كثافة اللقاح الخاص به.

فى حالة التفاعل بين الفطر *P. nunn* وعوائله الفطرية، يحدث كما فى حالة التفاعل بين الفطرين *Trichoderma* و *Rhizoctonia*، فإن عامل المقاومة الحيوية لاينتج تركيبات ساكنة جديدة كنتيجة لتطفله، إلا أنه يتكون تركيبات جديدة كنتيجة للنمو الترممى على المواد العضوية الطازجة. يبدو أنه من الضرورة بمكان إضافة *P. nunn* إلى بقايا المحصول بعد الجمع وقبل دفن هذه البقايا فى التربة، هذه العملية سوف تسمح للفطر المتطفل بزيادة تجمعاته على المادة العضوية الطازجة، فى الوقت نفسه فإنه يكون فى الوضع المثالى ليتطفل على أية وسائل تكاثرية أو تركيبية للكائن الممرض المتكونة على أنسجة المحصول.

هناك نوع آخر يسمى *P. oligandarum* وهو متطفل حيوى مهم، يتطفل على الفطر المسبب المرض الماحق فى القمح *G. graminis tritici* وأنواع من الفطر *Fusarium*، *R. solani* و *P. ultimum*.

٣- Talaromyces flavus

يعتبر هذا الفطر من المتطفلات الفطرية التى تتطفل على كل من *R. solani*، *Sclero-tinia sclerotiorum*، أمكن الحصول على مقاومة بنسبة ٦٨-٩٢٪ لذبول سكلوروتينا فى نبات عباد الشمس عندما دفنت الأجسام الحجرية للفطر المسبب للمرض *S. sclerotiorum*

مع الفطر المتطفل *T. flavus* فى تربة الحقل. كذلك فقد تبين أن الفطر المتطفل يوقف ذبول الفيرتسليم فى البطاطس، عندما يضاف إلى التربة على شكل تركيبات محببة بمعدل لايقل عن ٣٦,٢كغم/هكتار. أما النتائج فى الحقل نفسه فى السنة التالية، فكانت تدل على أن هذا الفطر المتطفل عنده كفاءة عالية كعامل من عوامل المقاومة الحيوية ويوصى باستعماله كثيراً.

٤- Coniothyrium minitans

هذا الفطر من الفطريات المتطفلة ويظهر كفاءة عالية فى المقاومة الحيوية لعدد من الأمراض المتسببة عن *Sclerotinia* sp. و *Sclerotium cepivorum*. لقد أجريت على هذا الفطر دراسات عديدة فى كل من بريطانيا، كندا واستراليا لاستعماله على نطاق واسع فى المقاومة الحيوية. فقد ثبت فى بريطانيا أن هذا الفطر واسع الانتشار فى الأراضى الخشنة والناعمة. عند تجهيز مزرعة (من الرمل – الذرة) لهذا الفطر وخلطه جيداً مع التربة، فان حوالى ٨٥–٩٩٪ من الأجسام الحجرية للفطر *S. trifoliorum* قتلت خلال (١١) أسبوع. أما الأبحاث التى أجريت باستعمال الغبار البكنيدى لهذا الفطر وإضافته إلى الحقل بعد إضافة الأجسام الحجرية للفطريات الأخرى على سطح التربة، تبين أن الإصابة بهذه الأجسام الحجرية تكون متناقصة باستمرار.

أما فى كندا فقد وجد أن الأجسام الحجرية للفطر *Sclerotinia sclerotiorum* المتكونة على جذور وسيقان عباد الشمس تصبح مهاجمة من قبل الفطر *C. minitans* فى نهاية موسم النمو. وبالتالى فإن المقاومة الحيوية الطبيعية بواسطة هذا الفطر تبدأ بعد تكوين الأجسام الحجرية على النبات بفترة قصيرة. أما فى الاختبارات الحقلية، فإن الحقول المصابة طبيعياً أو المحقونة صناعياً بالفطر الممرض، يحدث مقاومة للمرض بنسبة ٤٢–٧٨٪ عند إستعمال الفطر المتطفل فى حفر البذور أو فى خطوطها بمعدل ١كغم من تحضيرات الفطر المتطفل لكل ٦م من طول الخط، وقد أثبتت هذه التجارب كفاءة هذا الفطر فى المقاومة الحيوية، ولكن استعماله غير اقتصادى؛ حيث يتطلب الهكتار حوالى ٦ أطنان من تحضيرات الفطر، وهنا تكمن المشكلة.

٥- Laetisaria arvalis

هذا الفطر من الفطريات المتطفلة على الفطريات الممرضة، وقد جذب الانتباه لاستعماله فى المقاومة الحيوية للأمراض المتسببة عن *Pythium* و *Rhizoctonia*. هذا الفطر عنده كفاءة عالية فى خفض إصابة بادرات بنجر المائدة بمرض السقوط المفاجيء المتسبب عن الفطر *P. ultimum* عند إضافته للتربة بمعدل ٧٥-١٥٠م^{٣}/هكتار، وقد أثبتت بعض التجارب أنه كلما زادت كمية الفطر المتطفل، انخفضت نسبة الإصابة بالمرض. عند إضافة الفطر *L. arvalis* إلى التربة بمعدل ١٠٠ جسم حجرى/غرام تربة (٢,٢٤ x ١٠^{١١} جسم حجرى/ هكتار بسمك ١٥سم) يكون أفضل مقاومة للمرض خاصة فى التربة المعقمة بالبخار عنه فى التربة العادية. هذا يدل على أن المكروفلورا الطبيعية فى التربة لها تأثير معاكس فى تفاعل الكائن الممرض مع الفطر المتطفل، أى انها تؤثر على فعالية وكفاءة الفطر المتطفل.

٦- Sporidesmium sclerotivorum

درس هذا الفطر دراسة واسعة فى مقاومة إصابة نبات الخس بالفطر *Sclerotinia minor*. ينتج هذا الفطر كونيديات صغيرة وكبيرة وجراثيم كلاميدية، أجسام حجرية صغيرة وميسيليوم. يعتمد فى نموه على عدة مصادر من الكربون، مثل الجلوكوز، المنوز والمالتوز، وهذه تعطى أعلى نسبة إنبات من بين جميع مصادر الكربون. أعلى نسبة إنبات يتحصل عليها عندما تكون نسبة تخفيف جراثيمه ١ : ١٠ جسم حجرى. يستطيع الفطر أن يستعمل المواد العضوية وغير العضوية فى حصوله على النيتروجين، ولكنه يفضل مصدر الجلوتامين ويحتاج إلى الثيامين والبايوتين. أفضل pH لنمو هى ٤,٥-٥,٥. أما بالنسبة لدرجات الحرارة، فإن الفطر ينمو ببطء شديد جداً ويعطى حوالى ١٠٠ ملغ وزن جاف خلال فترة ٤-٥ أسابيع على درجة حرارة ٢٥°م.

يبدو أن هذا الفطر ذو كفاءة عالية جداً فى المقاومة الحيوية، يعيش إجبارى التطفل على الأجسام الحجرية لكثير من الفطريات، منها:

1- *Botrytis cinerea* 2- *Sclerotium cepivorum* 3- S. *trifoliorum*
4- *S. minor* 5- *S. sclerotiorum*

تنبت جراثيم الفطر المتطفل كاستجابة للمواد الكيماوية المنطلقة من الأجسام الحجرية المجاورة ثم تخترق أنبوبة العدوى الجسم الحجرى، بعد الاختراق تدخل الهيفا النسيج الداخلى للجسم الحجرى والذى يتكون أساساً من بتاجلوكانز، يشجع الفطر المتطفل الأجسام الحجرية لتزيد من كفاءة إنزيم الجلوكانيز، وهذا يؤدى إلى تحطيم الجلوكان ويحوله إلى جلوكوز والذى يستطيع إن يستعمله الفطر المتطفل. إن الزيادة فى نشاط إنزيم الجلوكانيز وبعض الإنزيمات الأخرى، يمكن أن يتشجع عن طريق إنتاج أعضاء امتصاص للفطر المتطفل فى داخل خلايا الأجسام الحجرية. بعد أن تتم عدوى الأجسام الحجرية، ينمو الميسيليوم خارج الجسم الحجرى فى التربة المجاورة لمسافة ٣سم حيث يهاجم أجساماً حجرية أخرى سليمة. خلال فترة إصابة الجسم الحجرى الأول وامتداده إلى جسم حجرى ثانٍ، فإنه ينتج حوالى ١٥ ألف ماكروكونيديا.

إصابة وتحطيم الأجسام الحجرية للفطر *S. minor* فى التربة يلائمه درجة حرارة ٢٠–٢٥°م، ومجال حموضة حوالى pH ٥,٥–٧,٥، والمحتوى المائى للتربة حوالى ٨ *Bars* أو أكثر. تحت الظروف المثلى لنمو الفطر المتطفل فى الحقل، فإنه يمكن أن يصيب ويحطم جميع الأجسام الحجرية الموجودة فى سمك ١٤سم فى التربة السطحية؛ نظراً لأن سطح التربة يكون أكثر جفافاً من العمق، فإن هذا الفطر المتطفل يكون أكثر نشاطاً على أعماق أكثر من ٢سم من سطح التربة.

٧- Gliocladium sp.

يعيش هذا الفطر فى التربة الحمضية وينمو بسرعة كمترمم، ولذا تسهل تنميته مخبرياً حيث ينتج جراثيم كلاميدية. كونيديات هذا الجنس تتولد على حامل للجراثيم ذى كرات لزجة. تطلق أنواع هذا الجنس مركبات بعضها سام للنبات وناتجة عن الأيض الغذائى، والبعض الآخر يعمل كمضادات حيوية ضد الفطريات والبكتيريا.

من أشهر أنواع هذا الفطر فى المقاومة الحيوية هو *G. roseum*، يعيش فى الأراضى المتعادلة والقلوية ويتطفل على الجراثيم البيضية للفطر الممرض *Phytophthora erythro-septica* ، يخترق مباشرة الجراثيم الكلاميدية أو إسبورانجيات الفطر *P. palmivora* دون أن يتطفل على هيفاته، كما يفرز الإنزيمات المحللة للكيتين B (1,3) glucanase والكيتينيز عند

تطفله على الفطر *Botrytis allii*. التوكسينات التى يفرزها هذا الفطر ذات وزن جزيئى منخفض وتعمل على مسافات قريبة من العائل.

من الأنواع المهمة الأخرى، *G. virnes* المعروف بتطفله على الفطرين *R. solani* ، *S. sclerotiorum* وله القدرة على إنتاج عدة مضادات حيوية مثل الجليوتوسين والفيريدين، التى تزيد من مدى عوائله فى مجال المقاومة الحيوية.

أما النوع *G. catenulatum*، فإنه يهاجم الهيفات والأجسام الحجرية لعديد من أنواع الجنس فيوزاريوم قاتلاً إياها بالملامسة فقط، حيث إن هذه الملامسة تسبب تحبب سيتوبلازم خلايا العائل وتحلل هيفاته، بالإضافة لذلك فانه يطلق مضاداً حيوياً يسمى الجيليوفيرين.

٨- Penicillium vermiculatum

يعمل هذا الفطر كطفيل فطرى وينتج مضادات حيوية مثل الفيرميسيلين والفيرماستاتين والفيميكيولين، وقد سجل هذا الفطر تحت اسم الجنس رقم ٣ السابق ذكره *T. flavus*. هذا الفطر فعال فى المقاومة الحيوية لأمراض البياض الدقيقى على نبات الباذنجان، كما يتطفل على الفطر *S. sclerotiorum* وذلك بغزوه مباشرة للهيفات مسبباً تحبباً فى سيتوبلازم العائل وتهدم جدر خلاياه. أما *P. frequetans* فانه يتطفل على الأجسام الحجرية لعديد من الفطريات وخاصة الفطر *P. ultimum*.

٩- Tetrasperma oligocladum

هذا الفطر من مجموعة الفطريات Hyphomycetes، وهو نموذج ممتاز فى المقاومة الحيوية، من خلال تطفله الفطرى الذى يؤدى إلى خفض لقاح الكائن الممرض فى التربة.

١٠- فطريات ثنائية المفعول

هناك فطريات يتداخل فعلها ما بين التطفل الفطرى والتضاد الحيوى، وهى:

١- *Scytalidium uredicinicola*، يتطفل على الأطوار الأسيدية لأنواع من الصدأ التابعة للجنسين *Cronartium* و *Endocronartium*.

٢- *Ampelomyces quisqualis*. نجح هذا الفطر كعنصر مهم فى المقاومة الحيوية للبياض الدقيقى داخل الصوبات الزراعية الناتج عن *Sphaerotheca fuliginea* و *Erysiphe cichoracearum*، وثبت أن هذا الجنس يتحمل المبيدات الفطرية الترايفولين والكينوميثيونيث.

٣- *Dicyma pulvinate*. يقاوم فطريات تبقع الأوراق مثل *Cercosporidium persona-tum* على الفول السودانى، حيث يهدم هذا الفطر حاملات كونيديات الفطريات الممرضة المذكورة. كما ينتج سماً فطرياً هو Sesquiterpene 1,3 deoxyphomenone، يعمل هذا السم ضد أنواع من الفطريات تتبع جنس *Cladosporium*.

III: التحلل الفطري Lysis

يعرف التحلل الفطرى Lysis، بأنه تحطيم أو تحلل أو ذوبان أو تفكك المركبات الحيوية فى الكائن الحى بواسطة إنزيمات معينة. هناك نوعان من التحلل الفطرى: النوع الأول يسمى تحلل فطرى خارجى Exolysis، وهو عبارة عن هضم جزئى إنزيمى لجدر الخلايا الحية بواسطة كائنات دقيقة خارجية. هذا النوع من التحلل يدخل فى مجال التطفل الفطرى الذى ذكرناه سابقاً. أما النوع الثانى من التحلل الفطرى، فهو تحلل فطرى داخلى En-dolysis وهو عبارة عن ذوبان بروتوبلازم الخلية بدون هضم سابق للجدار أو مصاحب لهذا الهضم، سواء كان ذلك بعوامل منتجة ذاتياً أو مبتدأة بعوامل خارجية، وهذا يمكن أن ينتج من أحد الأسباب الآتية:

١- تغيرات ميتابولزمية داخلية ناتجة عن التقدم بالسن أو الشيخوخة أو نقص التغذية أو عدم المقدرة على استعمال المواد الغذائية بسبب بعض الظروف البيئية غير الملائمة، مثل نقص الأكسجين، أو بسبب تجمع نواتج ميتابولزمية من التكاثر الذاتى تكون سامة. هذه التغيرات يشار إليها بالتحلل الذاتى Autolysis. كذلك يمكن أن يكون التحلل الفطرى الداخلى ناتجاً عن كائنات حية دقيقة خاصة البكتيريا، والتى بشكل عام تنشأ أو تتكاثر حول الميسيليوم خاصة عند زيادة تسرب محتويات الخلية وهذا ما يشار إليه باسم التحلل المختلف heterolysis. إن بعض الكائنات الحية الدقيقة قد تكون مجرد رميات على

سطح الميسيليوم الميت، أو قد تكون ضارة للميسيليوم الحى عن طريق إنتاج توكسينات أو عن طريق زيادة الأسموزية الخارجية أو عن طريق الإضافة الكبيرة من الأكسجين الخارجى أو المواد الغذائية أو كليهما.

٢- التعرض لمواد سامة مثل تلك الناتجة عن كائنات أخرى أو نتيجة تفسخ مواد عضوية أو بواسطة مبيدات فطرية مستعملة من قبل الإنسان. إن التعرض لجرعة بسيطة من ثانى كبريتيد الكربون أو التعرض لحرارة معتدلة تجعل بعض الكائنات الممرضة ضعيفة ويسهل مهاجمتها بواسطة الفطريات الأخرى، كما يحدث مع الفطر *Armillaria mel-lea* ومهاجمته من قبل الفطر *Trichoderma viride*. يكون تأثير المضادات الحيوية مثالاً لهذه الحالة، حيث إن هذه المضادات الحيوية تخترق الهيفا وتسبب ذوبان البروتوبلازم، انهيار وبلزمة أو انفجار الخلية. لقد ذكر Huber *et al* سنة ١٩٦٦ أن هذا النوع من التحلل الناتج عن البكتيريا يسمى Bacterial necrosis . يمكن أن تتثبط البكتيريا بواسطة مضادات حيوية ناتجة عن بكتيريا أخرى (ترياقات بكتيرية) أو اكتينومايستس (ستربتومايسين) أو فطريات (بنسلين).

٣- تفاعلات المناعة. إن البكتيريات التى تتحد مع الأجسام المضادة الناتجة بواسطة الحيوانات الثديية، تتفاعل معها كتفاعل دفاعى لها، يمكن لهذه الأجسام المضادة أن تسبب نفاذية على سطوح الأغشية، هذه النفاذية يمكن أن تتغير وتتسع إلى درجة أنها تسبب رشح محتويات الخلية. هذا يحدث مع الكائنات الممرضة للحيوانات، ويمكن أن يحدث فى حالة عدم التوافق السيتوبلازمى المميت بين سلالات مختلفة من الفطريات فى المزرعة.

ملاحظات عامة:

عندما لاتكون هناك مقدرة لظاهرة التضاد الحيوى على إحداث نقص فى كثافة لقاح الكائن الممرض إلى الحد الذى لايحدث فيه إصابة للنبات فيمكن أن تعتمد المقاومة الحيوية على ظاهرة التحلل، وهنا تعتمد قدرة عنصر المقاومة الحيوية على إنتاج إنزيمات خارجية تهدم جدر خلايا الفطر الممرض.

هناك بعض أنواع من البكتيريا تفرز إنزيم الكيتينيز لكى تحلل هيفات فطر الفيوزاريوم. لاتكون هذه الظاهرة دائماً ناجحة، حيث إن هناك بعض الفطريات الممرضة للنبات مثل الفطر *Pythium debarynum*، وعلى الرغم من أن جذورها ضعيفة التكوين، فإنها تقاوم البكتيريا المحللة للكيتين. فى بعض التجارب ثبت أن البكتيريا المسماة *Servatia maresc-cens* تستطيع أن تحطم هيفات الفطر *Sclerotium rolfsii* ، وبمستخلص منها أمكن هدم مادة الكيتين.

لقد وجد أن هناك زيادة واضحة فى أعداد البكتيريا والفطريات الشعاعية Actinomycetes عند خلطها بمادة الكيتين، غير أن خليطاً من هذه المواد مع لقاح من البكتيريا الهلامية Myxobacteria، فإنها تسبب فى زيادة أعداد البكتيريا فقط. عند إضافة كمية صغيرة من الكيتين مع لقاح من عنصر بيولوجى محلل لها، تتمكن أفراد عديدة من هذا العنصر أن تقوم ذاتياً بالدور المحلل للفطر. لقد أمكن عزل سلالات بكتيرية مهاجمة للخلايا (Cytophaga) لها القدرة على توطن جذور أربعة أنواع من الصنوبريات وحمايتها من بعض الممرضات الفطرية، وذلك من خلال الإفراز البكتيرى المحلل للكيتين والبروتين. كما وجد أن هناك عزلة من هذه البكتيريا تنتج مضاداً حيوياً فعالاً Phenzine type قد يكون له دور فى مكافحة المرض.

IV: المنافسة Competition

يعرف التنافس بأنه محاولة كائنين أو أكثر فى الحصول على الحد الذى يتطلبه من المواد المتوفرة أمامه بشكل معين، وتحت ظروف معينة، موجودة عليها تلك المادة، عندما لاتكون هذه المادة متوفرة بكمية تكفى المتنافسين. يكون التنافس على الغذاء وبعض عوامل النمو الخاصة وعلى الأكسجين وعلى المكان. لايحدث التنافس على أشياء تكون متوفرة بشكل كاف لجميع الكائنات.

أ- التنافس بين الفطريات في التربة

يعتمد التنافس بين الفطريات فى التربة على عدة أمور منها:

١- قدرة التنافس الرمي للفطر Competitive of Saprophytic ability

استعمل العالم Garret هذا الاصطلاح لأول مرة سنة ١٩٥٠، ويقصد به قدرة الفطر على استطيان واستنفاذ وسط مغذى فى منافسة كائنات دقيقة أخرى. كما هو معروف فإن التنافس الرمى لايحدث إلا بين كائنين يمكنهما تمثيل الوسط الغذائى، وتكون الظروف البيئية تسمح بنمو الكائنين. تتوقف قدرة التنافس الرمى على الصفات الآتية:

١- سرعة إنبات الجراثيم أو الأجزاء التكاثرية الأخرى وسرعة النمو الخضرى للفطر.

٢- وجود جهاز إنزيمى جيد عند الفطر.

٣- قدرة الفطر على إفراز مضادات حيوية.

٤- تحمل الفطر للمضادات الحيوية التى تفرزها الكائنات المضادة الأخرى.

يمكن القول بأن مجموعة الفطريات الرمية السكرية الأولية، تعتمد فى تنافسها على ارتفاع وسرعة النمو، أما الفطريات الرمية السكرية الثانوية فتعتمد فى تنافسها على إفراز مضادات حيوية وتحملها لمضادات الغير. أما فطريات تحلل السليلوز واللجنين فتعتمد فى تنافسها على كفاءة الجهاز الإنزيمى الموجود فيها.

إن المقاومة الحيوية للفطر *Fomes annosus* عن طريق حقن قطع الخشب الحديثة بالفطر *Peniophora gigantea*، يعتقد بأنها معتمدة على التنافس بين الفطرين. كذلك فإن مقاومة البكتيريا *Pseudomonas tolaasii* على فطر عيش الغراب باستعمال بكتيريا أخرى يعتمد على خاصية التنافس.

تكون المنافسة بين الكائنات الحية الدقيقة طبيعية فى أنواع تتميز بسلالات من النوع نفسه، يكون بعضها ممرضاً للنبات والبعض الآخر غير ممرض.

تبدو ظاهرة المنافسة واضحة فى النوع *Fusarium oxysporum* من خلال سلالته المسماه *F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum*، وقد ثبط نمو النوع الذى تنتمى إليه من خلال منافسة بينهما للبقاء فى الموقع نفسه فى التربة. كذلك أمكن الوصول إلى نتائج مماثلة تشير إلى مقاومة نباتات القطن لمرض الذبول بواسطة العزلات غير الممرضة من الفطريات الممرضة. تعتمد هذه المقاومة على استعمال كائنات دقيقة غير ممرضة ذات قرابة تقسيمية

شديدة للكائنات الممرضة، ويتم ذلك من خلال الإحلال التنافسى للكائنات غير الممرضة؛ حيث تتوطن مادة عضوية فى التربة، يعتمد عليها الكائن الممرض كمصدر للطاقة اللازمة لنموه وتكاثره.

٢- الطاقـــة اللقاحيـــة Inoculum potention

تعرف الطاقة اللقاحية بأنها الطاقة المتوفرة للكائن الدقيق لاستطيان واستنفاذ الوسط الغذائى النامى عليه. وهناك تعريف آخر للطاقة اللقاحية، وهو كمية الوحدات التكاثرية من الكائن الحى اللازمة لإحداث المرض. يتوقف نجاح الوحدة اللقاحية Propagule (فى الفطر) على التنافس الرمى لاستنفاذ وسط غذائى على عدة عوامل، منها:

١- قدرة التنافس الرمى للنوع (الوراثة الذاتية) بالنسبة لوسط غذائى معين، وهذا يعتمد على الصفات الوراثية.

٢- العوامل البيئية. يكون التنافس الرمى عادة فى التربة وحيث الكائنات الدقيقة فى خليط من افراد متباينة فى الصفات والامكانيات. إن نجاح نوع من الفطريات فى الاستيطان الرمى يتأثر تأثراً كبيراً بمدى حجم العشيرة من النوع بالنسبة لغيره من الأنواع. فلو قارنا بين عشيرتين (أ ، ب) يتنافسان على وسط غذائى فإنه يمكن القول بأن:

$$\frac{\text{حجم الوسط الغذائى الذى تشغله العشيرة أ}}{\text{حجم الوسط الغذائى الذى تشغله العشيرة ب}} \quad \& \quad \frac{\text{حجم العشيرة أ}}{\text{حجم العشيرة ب}}$$

ولكن هذه العلاقة لاتتأثر فقط بكمية أعداد العشيرة، بل إنها تتأثر كذلك بنوعيتها، فمثلاً إذا فرض أن العشيرة أ تتكون من خلايا أو جراثيم نشيطة من ناحية النمو أو من ناحية العمر المثالى للإنبات، والعشيرة ب تتكون من خلايا فى طور الشيخوخة أو من جراثيم تجاوزت العمر المثالى للإنبات، فإن هذه العلاقة يجب أن تصحح بعامل يسمى قوة النمو Growth vigor، وقد أدخل العالم Garret هذا العامل فى اعتباره عندما عرف الطاقة اللقاحية للفطر. وقد وضع Garret تعريفاً بدل التعريف الذى وضعه Host سنة ١٩٣٦، عندما اعتمد على عدد الأجزاء التكاثرية القادرة على إنتاج وحدات جديدة من الفطر، حيث أن العالم Host

إعتمد فى تعريفه على العدد أما Garret فقد اعتمد على قوة النمو، يمكن ضم التعريفين فى تعريف واحد بحيث تعتمد الطاقة اللقاحية على عمر اللقاح وكمية اللقاح وقوة اللقاح فى النمو.

٣- الظـــروف البيئـــية Environmental Conditions

من الطبيعى أن تؤثر الظروف البيئية مع ظروف التربة على قدرة التنافس الرمى للفطريات الكامنة فيها، فتشجع نمو بعض الكائنات على حساب البعض الآخر. تلعب ظروف التربة دوراً أساسياً فى ترمم الفطريات، التى تصيب الجذور وفى قدرة بقائها.

إن توفر المادة الغذائية وهوائية التربة ودرجة حموضتها والمعاملات المختلفة للتربة، كلها عوامل تؤثر على نمو وبقاء الفطريات الممرضة فى التربة، وبالتالى تؤثر على قدرة تنافسها الرمى، فمثلاً فى التربة الثقيلة تقل قدرة التنافس الرمى للفطريات فيوزاريوم، رايزوكتونيا وسكلوروشيوم، وترتفع قدرة التنافس الرمى للفطريات بثيم وفاتيوفثورا.

V: الكائنات الدقيقة التكافلية Symbiotic Microorganisms

هناك كثير من الأبحاث والتجارب أثبتت أن كثيراً من الكائنات الدقيقة التكافلية من البكتيريا والفطريات الشعاعية التى تتوطن أنسجة النبات وأسطح الجذور، لها دور كبير فى مقاومة النبات للفطريات أو الممرضات التى تهاجمه، ويتم ذلك بسيطرة جينية من العائل. إن مكونات إفرازات البذور والجذور فى بعض سلالات القطن، تؤثر فى مستويات تعداد البكتيريا والفطريات الشعاعية المتواجدة على أسطح الجذور وفى مجال الانتشار الجذرى. لقد وجد أن تركيزات الكائنات المصاحبة لأجزاء النبات الهوائية فى السلالات من النباتات المقاومة للممرضات أعلى من نظيرتها فى سلالات لاتملك هذه القدرة، وأن المعاشرات الغالبة تكون قد تشكلت من أنواع من البكتيريا تابعة لجنس *Bacillus* مثل *B. megaferium* و *B. cere-us*، وعلى العكس من ذلك فقد تبين أن هناك بعض المعاشرات ظهرت فى بعض الميكروبات التى لم تكن ممرضة للنبات، قد أصبحت قادرة على إيقاف نموه.

لقد عزل من المجال الجذرى لنباتات بنجر السكر عديد من أنواع البكتيريا المانعة لنمو بادرات هذه النباتات، وتشجع فى توطين الفطريات الممرضة للجذور. وقد أمكن من خلال تلقيح التربة بأنواع من البكتيريا المشجعة لنمو النباتات إبعاد للبكتيرية الممرضة لها. وجد عند

تلقيح بعض النباتات مثل السورجوم والكرنب بسلالة البكتيريا *B. subtilis* A13، فإن ذلك يؤدى إلى إبعاد البكتيريا الضارة من المجال الجذرى لهذه النباتات، مما أدى إلى زيادة المحصول. أهم أشكال الكائنات الدقيقة التكافلية هى:

١- بكتيريا العقد الجذرية

لقد ذكر Chakraborty سنة ١٩٨٨ أن *Rhizobium sp.*، يقاوم مرض عفن الجذر فى البسلة *Pisum sativum* وفول الصويا، حيث إن *Rhizobium japonicum* مضادة للفطر مسبب المرض *Macrophomina phaseolina* ويخفض بشكل عام حدوث المرض. ولقد سميت المادة التى يفرزها الرايزوبيوم باسم Rhizobitoxine . كذلك وجد أن *R. legumi-nosarum* يثبط نمو الفطر الممرض *R. solani*.

٢- الميكورهزا Mycorrhizae

لقد استعملت الميكورهزا الفطرية فى المقاومة الحيوية ضد كثير من الكائنات الممرضة خاصة الفطريات الكامنة فى التربة. إن الميكورهزا الخارجية Ectomycorrhizae تعمل كعازل ميكانيكى لإختراق خلايا القشرة، وهذا يعطيها بعض المقاومة. بعض أنواع الميكورهزا الداخلية Endomycorrhizae تحث على إنتاج مركبات طيارة وغير طيارة بواسطة خلايا القشرة، التى تثبط الكائن الممرض و/أو تدعم نمو الكائنات المضادة فى منطقة الجذر. أما الميكورهزا الوعائية Vesicular arbuscular mycorrhizae (VAM)، فهى أكثر ما يبشر بالنجاح فى المقاومة الحيوية وعليها تجارب كثيرة ناجحة، سنذكرها فى الجزء الثانى من الكتاب. لقد حصل Jalali سنة ١٩٩٠ على خفض معنوى وعال لذبول الحمص وعفن جذور Mung bean باستعمال الميكورهزا (VAM).

٣- البكتيريا PGPR

هناك نوع من البكتيريا المشجعة لنمو النبات تسمى Plant Growth Promoting Rhizobacteria ويطلق عليها (PGPR)، تعزل من منطقة الجذور فى النبات، ويمكن حقنها مع البذور لتزيد نمو النبات، تؤدى وبالتالى إلى زيادة المحصول.

تستعمر البكتيريا PGPR سطح الجذر وتقلل من تجمعات الميكروبات الضارة على نمو النبات، وبالتالى فإن التنافس الغذائى والتنافس المكانى (الاستعمار) هما القوتين اللتين تعتمد عليها البكتيريا PGPR.

ثبت فى السنوات الأخيرة أن البكتيريا PGPR تستعمل فى المقاومة الحيوية بنجاح، حيث إنه عند استعمال البكتيريا *B. subtilis* سلالة AF1 كمعاملة بذور، وهذا يؤدى إلى زيادة مقاومة النبات لأمراض الجذور، وكذلك أدى أيضاً إلى زيادة النمو والإنتاج النباتى.

obeikandl.com

الفصل الثانى

المقاومة الحيوية لمسببات الأمراض الكامنة فى التربة

Biocontrol of Soilborne Plant Pathogens

أولاً: المقاومة الحيوية للأمراض الكامنة في التربة بالفطريات

مقـــدمة:

تشمل المقاومة الحيوية استعمال ميكروبات كابحة لمسببات الأمراض، وذلك للحفاظ على الحالة الصحية للنبات. إن تثبيط المرض بواسطة عوامل المقاومة الحيوية يكون نتيجة التفاعلات بين النبات) والكائن الممرض وعامل المقاومة الحيوية (المجموعة الميكروبية على وحول النبات والبيئة الطبيعية. حتى فى الدراسات المعملية، فإن المقاومة الحيوية تعتمد على ثلاثة كائنات على الأقل، هى، النبات، الكائن الممرض والكائن المضاد. وبالتالى فإنه على الرغم من كفاءة المقاومة الحيوية فى التطبيقات المعملية، إلا أنه لايزال هناك كثير من الغموض يحتاج إلى تفسير من حيث علاقة الكائن الممرض مع الكائن المضاد.

إن التعقيدات الموجودة بين هذه النظم الثلاثة، يؤثر على قبول المقاومة الحيوية كوسيلة عامة فى مقاومة أمراض النبات، وذلك لسببين:

الأول: النتائج العملية المتحصل عليها من المقاومة الحيوية ليست متطابقة تماماً فى جميع الحالات، وبالتالى .. فإنه على الرغم من بعض النجاحات الفائقة بإستعمال عوامل المقاومة الحيوية فى الزراعة، إلا أنه لاتزال هناك بقايا من الشكوك العامة المتولدة عن الفشل القديم فى المقاومة الحيوية.

الثاني: لايزال التقدم فى فهم النظام العام للمقاومة الحيوية، ليس بالسرعة المطلوب وإنما بطىء إلى حد ما، وحديثاً حدث تقدم وزيادة فى أعداد عوامل المقاومة الحيوية وفى نظم عملها، عن طريق تطبيق الهندسة الوراثية والعمليات الحسابية التى تلائم هذا التعقيد..

المقاومة الحيوية للأمراض الكامنة فى التربة ذات صفة وتركيب معقدين، وذلك بسبب أن هذه الأمراض تحدث نتيجة تفاعلات معينة بين الكائن الممرض والبيئة والظروف

المحيطة بالعائل النباتى فى منطقة الرايزوسفير. ومما يميز منطقة الرايزوسفير بأنها سريعة التغير من حيث كفاءة وعدد الميكروبات الموجودة فيها، وارتفاع تجمعات البكتيريا بالمقارنة مع المنطقة البعيدة عن الرايزوسفير.

تحرر النباتات خلايا نشيطة التمثيل الغذائى من جذورها، وتتراكم بحيث تشكل ٢٠ ٪ من مكونات الكربون، متوزعة على الجذور فى منطقة الرايزوسفير، هذا يؤدى إلى القول، بأن هناك علاقة كبيرة موجودة ومتداخلة بين النبات وكائنات الرايزوسفير الدقيقة. يتعرض الرايزوسفير إلى تغيرات مفاجئة فى فترة قياسية قصيرة، مثل سقوط الأمطار، أوقات الجفاف، حيث أنهما يؤديان إلى تغيرات كبيرة فى تركيز الأملاح ورقم الحموضة، الكفاءة الأسموزية، كفاءة الماء وتركيب جزيئات التربة. أما فى الفترات الزمنية الطويلة، فإن الرايزوسفير يمكن أن يتغير بسبب نمو الجذر، التفاعلات مع البيئة الحيوية الأخرى فى التربة، والتغيرات الجوية (الطقس). هذه الديناميكية الطبيعية فى منطقة الرايزوسفير والتى تجعله مركزاً مهماً (مهتماً به) لمعرفة التفاعلات التى تؤدي إلى الأمراض والمقاومة الحيوية لهذه الأمراض.

يجب أن تؤخذ التعقيدات الموجودة فى منطقة الحدود المشتركة بين الجذور والتربة، بعين الاعتبار فى دراسة المقاومة الحيوية، والتى يجب أن تشمل جميع الكائنات الدقيقة وكل الصفات المشتركة بينها، وذلك إذا أردنا أن نفهم التفاعلات الأساسية التى تجرى فى تربة الحقل. كما أن دراسة الهندسة الوراثية من الأمور المهمة التى يمكن أن تتدخل فى الحصول على عوامل مقاومة حيوية فعالة.

يمكن أن نقسم دراسة المقاومة الحيوية للأمراض الكامنة فى التربة إلى عدة مواضيع، هى:

١- تفاعلات عامل المقاومة الحيوية مع الكائن الممرض.

٢- تفاعلات عامل المقاومة الحيوية مع النباتات العائل.

٣- تفاعلات عامل المقاومة الحيوية مع مجموعة الكائنات الحية الدقيقة فى التربة.

I : تفاعلات عامل المقاومة الحيوية مع الكائن الممرض

Interaction of Biocontrol Agent with the Pathogen

يشمل هذا الموضوع عدة أمور، منها:

١- **التضاد الحيوي:** هذا الجزء مشروح فى الفصل الأول من الكتاب.

٢- **المضادات الحيوية:** هذا الجزء مشروح فى الفصل الأول من الكتاب.

٣- **المقاومة للمضادات الحيوية Antibiotic Resistance**

من أهم الأهداف التى تستعمل لأجلها المقاومة الحيوية فى الزراعة، هو استبعاد الخطر الكامن المرافق لاستعمال مبيدات الآفات الكيماوية، واستبعاد تكشف المقاومة فى تجمعات الآفة. ومن الأهداف الاستراتيجية للمقاومة الحيوية هو تجمعات الكائن الممرض التى أصبحت مقاومة للمضادات الحيوية الناتجة من عوامل المقاومة الحيوية، هذه التجمعات من المحتمل أن تتكشف ببطء. هناك سببان لحدوث هذا التكشف، الأول: معظم عوامل المقاومة الحيوية التى تنتج أكثر من مضاد حيوى واحد وتقاوم مضادات حيوية متعددة، يكون تواجدها بنسبة بسيطة جداً. الثانى: تكون تجمعات الكائن الممرض المعرضة للمضادات الحيوية بنسبة منخفضة، وذلك لأن معظمها يكون فى التربة، فى حين أن معظم تجمعات عوامل المقاومة الحيوية تكون متمركزة فى الجذر، وبالتالى يكون تأثيرها على الكائن الممرض فى أقل حد ممكن. مع ذلك إذ كان هناك تأثير كاف على الكائن الممرض، فإن ظهور السلالات غير الممكن مقاومتها بواسطة عوامل المقاومة الحيوية لازمة الوجود، فمثلاً إن استعمال أدوية الإنسان باستمرار، تؤدى إلى تطور المقاومة فى الكائن الممرض، أما عن تكشف المقاومة المضاعفة للأدوية الناتجة من الطفرات الذاتية لم يتنبأ بحدوثها قديماً، ولكنها الآن ميكانيكية شائعة فى مقاومة المضادات الحيوية فى البكتيريا.

وبالتالى فإن الدراسات المكثفة مطلوبة لفهم القواعد الجزيئية لمقاومة الكائن الممرض للمضادات الحيوية، المنتجة بواسطة عوامل المقاومة الحيوية، ويجب أن تدرس ميكانيكية المقاومة قبل تطبيقها فى الحقل، وذلك لأن نتائج هذه الدراسة يمكن أن تستعمل مسبقاً لمنع تحطم المقاومة الحيوية. من الأمثلة التى تشمل مثل هذه الاجراءات هى تثبيط مقاومة

البروتينات، ترابط المضادات الحيوية التى تختار لجينات مقاومة مختلفة ومنع استعمال عوامل المقاومة ضد تجمعات الكائن الممرض، التى يتنبأ فيها بوجود نسبة عالية من المقاومة.

تنشأ عادة المقاومة للمضادات الحيوية فى التجمعات الحساسة عن طريق الطفرة الذاتية أو عن طريق نقل الجين أفقياً. الطفرات المانحة للمقاومة يمكن أن تؤثر على امتصاص المضادات الحيوية، أو على حساسية الهدف التى تؤثر عليه المضادات الحيوية. جينات المقاومة التى يمكن أن تنقل شيفرة الإنزيمات المحورة للمضادات الحيوية، أو تؤثر على كل من الجزيئات المقاومة فى المنطقة المستهدفة أو أماكن تدفق المعلومات الوراثية الخاصة، مثل هذه الجينات عندما تحمل بواسطة البكتيريا المنتجة للمضادات الحيوية تمنعها من الانتحار ذاتيا عندما تنتج المضادات الحيوية، هذه الجينات تعرف باسم جينات المقاومة الذاتية - Self resistance genes. هذه الجينات يمكن أن تنقل إلى الكائن الممرض المستهدف فى التربة نتيجة الطفرات، وبالتالى فإنه من الضرورى فهم الطفرات المانحة للمقاومة فى الكائنات الممرضة المستهدفة، بالإضافة إلى جينات المقاومة الذاتية عند تحضير الكائنات الدقيقة المضادة.

تظهر أهمية المقاومة الذاتية واضحة فى نظام المقاومة الحيوية لمرض التدرن التاجى. إن البكتيريا *A. radiobacter* تقاوم بكفاءة التدرن التاجى الذى يتسبب عن *A. tumefaci-ens* بشكل كبير عن طريق فعل المضاد الحيوية (Agrocin 84)، إلا أن هذه الفعالية تهددت بالفشل عند عزل سلالات من الكائن الممرض مقاومة لهذا المضاد الحيوى، معزولة من التدرنات الموجودة على النباتات المعاملة بالبكتيريا *A. radiobacter*. هذه العزلات من المحتمل أن تكون نتيجة انتقال بلازمد (PAgk 84) الذي يحمل كلاً من جينات إنتاج الأجروسان ٨٤، وجينات المقاومة من السلالة المستعملة فى المقاومة الحيوية إلى الكائن الممرض (هذا ما وجده Stockwell *et al* سنة ١٩٩٦). إن شطب أو إلغاء الوظائف فى شيفرة البلازمد للانتقال الزوجى، يخلق مشتقات غير متحركة من الـ (PA gk 84) والتى يمكن أن تزود بقوة كبح أكثر ثباتاً للمرض. هذا المثل يعطى دلالة على إمكانية مقاومة المضادات الحيوية فى الكائنات الممرضة المستهدفة، وأهمية فهم القواعد الوراثية لمقاومة المضادات الحيوية. وعلى الرغم من التحذير الواضح الذى تبين عن طريق نقل مقاومة أجرو

سايد ٨٤، إلا أن هناك قليلاً من الدراسات الأخرى قد ركزت على المقاومة للمضادات الحيوية الداخلة فى المقاومة الحيوية. الجين المشفرة لمادة Zwittermicin A *(zmaR)* كان قد نسخ، أو أجرى له كلونة من عامل المقاومة الحيوية المنتج Zwittermicin A من البكتيريا *B. cereus* سلالة UW85 (هذه الدراسة وجدها Milner *et al* سنة ١٩٩٦).

إن موقع zmaR قد وجد وتحدد فى سلالات مختلفة من *B. cereus*، متضمنة بعض تلك التى لاتنتج Zwittermicin A، هذا يؤدى إلى القول بامكانية النقل الأفقى لمقاومة Zwitter-micin *A* ضمن هذه الأنواع (هذا ما وجده Raffel *et al* سنة ١٩٩٦). مع أن zmaR يمكن أن تمنح مقاومة Zwittermicin A على البكتيريا *E. coli*، إلا أنه لايعرف فيما إذا كان zmaR قد يحصل له انتقال إلى أو يمكن أن يمنح مقاومة Zwittermicin A على الكائنات الحية الدقيقة فى التربة أو منطقة الرايزوسفير.

هناك قليل من المعلومات متوفرة فيما يتعلق بالطفرات الذاتية التى تعطى مقاومة للمضادات الحيوية على الكائنات الممرضة التى تكون هدفاً لخطط المقاومة الحيوية. وعلى أية حال، فإنه يمكن أن تبنى تنوءات عن أنواع ميكانيكيات المقاومة والتى يمكن أن تنتشر. فمثلاً الكائن الممرض للقمح *Septoria tritici* يتأقلم مع مادة 1-hydrox-yphenazine عن طريق الجينات الحائة على الكاتليز Superoxide dismutase، وإنتاج الميلانين، وبالتالى فإن طفرات الكائن الممرض التى تنتج بشكل أساسى مستويات عالية من هذه الواقيات Pro-tectants، من المحتمل ألا تكون مكبوحة بواسطة الكائن الدقيق المستعمل فى المقاومة الحيوية والمنتج لمادة الـ Phenazine. إن التغير الواسع الانتشار فى ممر التنفس للسيانيد المقاوم فى الكائنات الحية الدقيقة، يؤدى إلى القول بان الأستعمال الطويل لعوامل المقاومة الحيوية المنتجة هيدروجين السيانيد، يمكن أن تختار الكائنات الممرضة المحتوية مؤكسدات السيانيد المقاوم.

الدراسات الحديثة تظهر الاختلافات بين سلالات الكائن الممرض *G. graminis tritici* لحساسيته للمضادات الحيوية المنتجة بواسطة عوامل المقاومة الحيوية من البكتيريا الوميضة، وإحداث الأمراض بواسطة هذه السلالات المقاومة لاتثبط بفعالية، بواسطة عوامل المقاومة الحيوية. ولايبدو واضحاً فيما إذا كانت هذه السلالات المقاومة ناشئة من تجمعات حساسة عن

طريق الطفرة الذاتية أو نقل الجين، أو فيما إذا كانت بسيطة (ضعيفة) المناعة للمضادات الحيوية، بسبب افتقارها إلى جهاز الامتصاص المناسب أو هدف حساس فى الخلية. إن المقاومة بسبب الطفرات، انتقال الجين أو المناعة سوف تمثل تحدياً لاستعمال المقاومة الحيوية فى الحقل.

٤- المنافسة على الحديد Iron Competition

ملاحظة (ذكر هذا الموضوع فى الفصل الأول من الكتاب تحت عنوان السايدوفورز).

تؤثر المقاومة الحيوية عن طريق كبح نمو الكائن الممرض وذلك بحرمانه من المغذيات. أفضل مثل لفهم هذه الميكانيكية هو المنافسة على الحديد. كما هو معروف فإن الحديد شائع الوجود فى القشرة الأرضية، ولكن يكون معظمه موجوداً فى حالة غير قابلة للذوبان، على شكل هيدروكسايد الحديديك Ferric hydroxide، وبالتالى فإن الحديد يكون متاحاً للكائنات الحية الدقيقة على تركيزات 10^{-18} مول أو أقل فى محاليل التربة على درجة حموضة متعادلة. هذا يشكل تحدياً للبكتيريا والتى تتطلب الحديد بتركيز مكرومول للنمو. لقد حدث تطور فى نظم جذب الحديد فى البكتيريا بكفاءة عالية، وذلك لدخوله فى الخلية. النظام النموذجى فى ذلك هو السايدروفور Siderophore ، والتى هى رابطة حديد إشارية Iron binding ligand، وامتصاص بروتين والتى تنقل السايدروفور إلى الخلية.

المظهر المثير للانتباه فى حيوية السايدرفور هو أن الكائنات الحية الدقيقة المختلفة يمكن أن تستعمل نوع السايدرفور نفسه. كذلك يمكن للكائنات الحية الدقيقة أن تستعمل السايدرفوراتها لبعضها البعض إذا كانت تحتوى البروتين المناسب للامتصاص، والنباتات تستطيع أيضاً أن تكتسب الحديد من الـ Pseudobactins معينة. يلزم أبحاث أخرى مستفيضة لتصف مقدرة الكائنات الحية الدقيقة الكامنة فى التربة لاستعمال السايدروفورز المنتجة بواسطة عوامل المقاومة الحيوية. كما أن الانهيار السريع للمقاومة الحيوية يمكن أن يكون متوقعاً إذا كانت الكائنات الممرضة المستهدفة باستطاعتها أن تتغلب على طريقة تثبيط المرض المعتمدة على حرمانها من الحديد، عن طريق اكتساب المقدرة على استعمال السايدروفورز من جيرانها فى التربة.

٥- التطفـل الفطـري Parasitism

ملاحظة (ذكر هذا الموضوع فى الفصل الأول من الكتاب).

بالإضافة إلى التضاد الحيوى وحرمان الحديد، فإن بعض عوامل المقاومة الحيوية تخفض أيضاً أمراض النبات عن طريق التطفل على الكائنات الممرضة. فمثلاً الفطر *Tri-choderma* sp. يتطفل على الفطريات الممرضة النباتية. يمد الطفيل فروع هيفاته جهة العائل المستهدف، وتلتف حولها وتمسك بها بواسطة أجسام تشبه أعضاء الامتصاص وتخترق ميسيليومه. هذه الحوادث تتطلب تفاعلات خاصة بين الطفيل والفطر العائل، شاملة اكتشاف التركيب الكيماوى وصفات سطح الميسيليوم. يمكن توضيح التخصصية عن طريق ملاحظة أن الفطر *Trichoderma* يلتف حول هيفات الفطر *Pythium ultimum* ولا يلتف حول خيوط بلاستيكية ذات قطر مشابه لقطر الفطر *P. ultimum*. إن هضم جدر خلية العائل يكون منجزاً بواسطة إنزيمات مفرزة شاملة أنزيمات الـ Proteases، Chitinases و Glucanases. هذه الإنزيمات غالباً ما تكون ذات تأثير فعال ضد الفطريات بمفردها، وذات تأثير تعاونى فى مخاليط أو بالمضادات الحيوية.

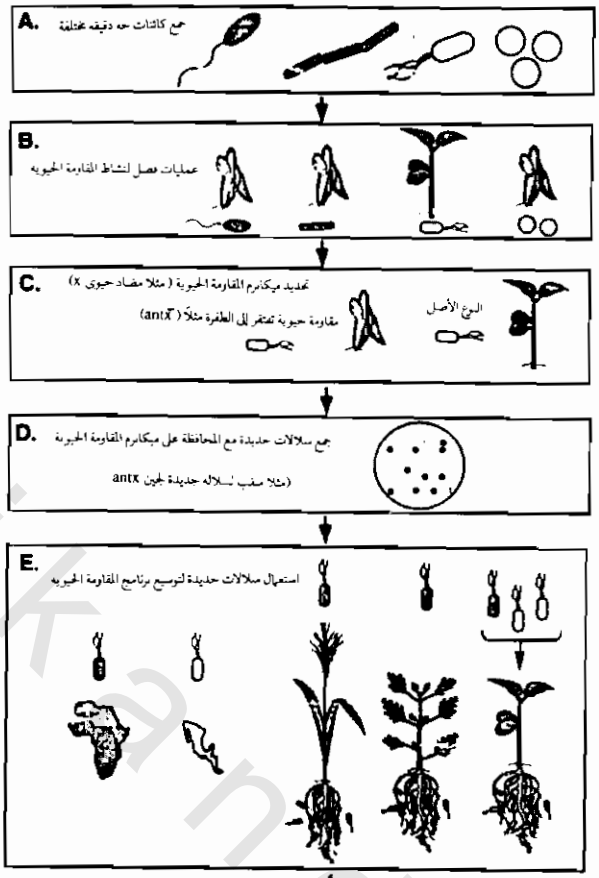
٦- التنوعات الوراثية بين عوامل المقاومة الحيوية:

Genetic Diversity Among Biocontrol Agents:

إن تعقيدات التفاعلات الداخلة بين عوامل المقاومة الحيوية والمدى الواسع من الظروف البيئية المختلفة، موجودة بشكل عالمى فى جميع المناطق الزراعية، هذا يجعل من غير المحتمل أن تكون السلالة الواحدة ذات التأثير فى مكان معين، لها التأثير نفسه فى جميع أنحاء العالم. إن التنوعات الوراثية للكائنات الحية الدقيقة ذات الكفاءة فى تثبيط المرض تبقى ذات قوة، على الرغم من اتساع المصادر غير المطروقة للمقاومة الحيوية لأمراض النبات. هناك حاجة للبحث عن سلالات جديدة للمقاومة الحيوية وبشكل خاص سلالات متكيفة مع تلك المواقع، التى ستستعمل فيها، وذلك اعتماداً على التفاعلات الوراثية، ولكن فيما إذا أخذت عزلات عشوائية بكتيرية من كل موقع قد أختير لتثبيط المرض فيه، (كما قد حصل بالنسبة للخمائر) فإن الجهود سوف تستمر وتكون مهمة عسيرة، وسوف لايكون هناك استعمال للتنوعات الوراثية التى يستفاد منها فى المقاومة الحيوية.

فى السنوات الأخيرة (١٩٩٤) حصل بعض النجاح فى بعض الأبحاث فى تعريف وتحديد سلالات المقاومة الحيوية المختلفة، والتى تثبط الكائنات الممرضة النباتية عن طريق ميكانيكيات عامة. استخدمت هذه الأبحاث بنجاح فى برامج المقاومة الحيوية للحشرات، والأكثر أهمية، والجدير بالذكر هو تطور *B. thuringiensis* والذى بنيت عليه استراتيجيات مقاومة الحشرات. هناك اقتراح مشابه لتلك الاستراتيجيات قد استعمل للمقاومة الحيوية لأمراض النبات، وهناك بعض النجاحات الجديرة بالاهتمام فى إيجاد سلالات متنوعة، والتى تثبط المرض، مبنية على ميكانزم شامل مبنى على أساس وراثى وكيمياء البروتينات.

الجينات المسئولة عن إنتاج المضادات الحيوية أو المقاومة الذاتية للمضادات الحيوية تكون محفوظة بين مُنْتجات المضاد الحيوى، وبالتالى تشكل قواعد جزيئات المنقبات Molecular probes للبحث عن سلالات جديدة منتجة للمضادات الحيوية. سلالات *B. cereus* المنتجة Zwittermicin A وسلالات البكتيريا الوميضة *P. fluorescens* المنتجة لمادة 2,4-diacetyl phloroglucinol، قد تم تعريفها وتحديدها فى أراضٍ من مناطق مختلفة جغرافياً وكيميائياً (هذا ما وجده Raffel *et al* سنة ١٩٩٦ وكذلك Keel *et al* سنة ١٩٩٦). السلالات التى تنتج المضادات الحيوية نفسها يمكن أن تختلف من ناحية الفينوتايب، ويمكن أن تظهر أثراً مفيداً تحت ظروف خاصة كما فى شكل ٣. بعض هذه السلالات يمكن أن تعطى مقاومة فعالة فى بعض الأراضى فى مناطق جغرافية معينة أو فى محاصيل أخرى (شكل ٣ ، ٤). بالإضافة لذلك فإن التنوعات الوراثية لهذه السلالات يمكن أن ترتبط عن طريق إنمائها فى لقاحات مختلطة. بعض المخلوطات من البكتيريا الوميضة، أو هذه البكتيريا مع الفطريات تثبط المرض بكفادة أكبر، مما لو كان الحقن بواحدة مفردة منها (هذا ما وجده Duffy *et al* سنة ١٩٩٦).



شكل رقم (٣) : نموذج مقترح لأبحاث المقاومة الحيوية وتطور برنامجها.

A و B = المرحلة الأولى

A . جمع كثير من الكائنات الحية الدقيقة المختلفة B . فصلها لنشاط المقاومة الحيوية

عزلات كثيرة يمكن أن تفصل لتعريفها كعزلات مثبطة للمرض. من غير المحتمل أن تلك السلالة ستكون فعالة تحت ظروف مختلفة.

C و D = اقتراح لتعريف السلالات الجديدة تلك (جملة) ستكون فعالة تحت ظروف مختلفة لتشرح ميكانزم المقاومة الحيوية (C) ولتعرف عوامل مقاومة حيوية جديدة التى تشارك فى الميكانزم D نفسه.

التحليل الوراثى يمكن أن يشرح ميكانزم المقاومة الحيوية مثل المشاركة بالمضادات الحيوية (X) للمقاومة الحيوية لـ (C). إن معرفة ميكانيكية المقاومة الحيوية والجينات المسئولة يمكن أن تؤدى الى تطور منقبات حمض نووى مصمم لتعريف سلالات جديدة بالميكانزم نفسه لنشاط المقاومة الحيوية، فى هذا المثل وصف على شكل منقب للجين ant X (D).

E : مع أن هناك تشابهاً فى ميكانزم المقاومة الحيوية، فإن السلالات المحتوية ant X يمكن أن تختلف وراثيا فى طرق مهمة، مشكلة بعض السلالات الجديدة مفيدة على المحاصيل المختلفة فى المناطق المختلفة جغرافياً، أو كجزء من المخلوط الوراثى المتنوع. هذا الاقتراح يؤدى بسهولة لتعريف مجموعات كثيرة من الخلايا المثبطة للمرض، وتمنع الاحتياج الى التكرار اللسنوى من البحث فى (A) الى C.

II: تفاعلات عامل المقاومة الحيوية مع النبات
Interactions of Biocontrol Agent With Plant

١- الاســـتعمار Colonization

يبدو منطقياً أن عامل المقاومة الحيوية، ينمو ويستمر أو يستعمر سطح النبات الذى يحفظه، وإن هذا الاستعمار من المعتمد أنه أساسى للمقاومة الحيوية. وعلى أية حال فإن الاستعمار أو حتى حجم التجمعات الأولية لعامل المقاومة الحيوية، قد تبين أنه ذو علاقة معنوية بتثبيط المرض فى قليل من الحالات. فمثلاً فى تثبيط مرض سقوط البادرات المفاجئ فى البسلة بواسطة الفطر *P. cepacia* (أعيد تسميته حديثاً باسم *Burkholderia cepacia*) هناك علاقة معنوية بين حجم التجمعات فى عامل المقاومة الحيوية ودرجة تثبيط المرض. كذلك فإن تثبيط المرض الماحق فى القمح يكون له علاقة بكثافة استعمار الجذور بواسطة البكتيريا الوميضة *P. fluorescens* سلالة 79-2. وعلى أية حال فإنه حتى فى التفاعلات التى تتطلب التواجد على شكل استعمال لتثبيط المرض، فإن عامل المقاومة الحيوية قد لايتطلب التواجد على كثافة عالية من التجمعات. هناك فى بعض الأحيان أنواع معينة من عوامل المقاومة الحيوية ذات الكفاءة العالية مثل *P. cepacia* و *B. cereus* تحرز تجمعاً معتدلاً فقط على جذور النباتات النامية فى الحقل، ويبدو أنها تحل محل (ليس زيادة) التجمعات للأفراد الطبيعية من أنواعها (هذا ما وجده King & Barke سنة ١٩٩٦)، هذه النتائج تؤدى إلى القول بأن الجذور لها كفاءة تحمل، أو أنها تستطيع أن تغذى وتدعم حجماً محدوداً من التجمعات لبعض أنواع البكتيريا.

إن معرفة وفهم التفاعل بين حجوم التجمعات لعامل المقاومة الحيوية والكائن الممرض قد تقدم بشكل واسع، بسبب الاقتراحات النظرية المعتدلة المقدمة بواسطة Johnson سنة ١٩٩٤ والزيادة التى حصلت عن طريق الإثبات التجريبى بواسطة Bonaterra سنة ١٩٩٦. إن استعمال النماذج الرياضية تزود الباحث بعمق فى تحليل النتائج، والتى يمكن التحصل عليها بصعوبة فى الأبحاث الماضية على المقاومة الحيوية. من هذا العمل يبدو واضحاً أن الاهتمام والانتباه يجب أن ينصبا على الجرعة المسئولة عن العلاقة بين كل من الميكروبات المشاركة، بسبب أن نتائج المقاومة الحيوية تكون مختلفة بشكل عام (عندما تسجل النتائج

عندما يكون المرض عالى الشدة أو منخفض الشدة جداً) . التوسع فى هذه الموديلات الرياضية، سوف يزيد فى موضوع الاستعمار اختلاف الزمن، وصف العلاقة، يبين شدة المرض أو مدى حدوثه، وتجمعات عامل المقاومة الحيوية والكائن الممرض أثناء تكشف النبات.

الصفات البكتيرية التى تشارك فى الانتشار الفعال أو غير الفعال على الجذور لاتزال غير واضحة جداً. على أية حال، تحت ظروف الحقل، الماء الراشح، من الممكن أن يلعب دوراً أساسياً فى الانتشار الفعال للبكتيريا على الجذور، مع ذلك فإن الحركة مهمة فى المقاومة الحيوية وفى العلاقة بين البكتيريا والنبات تحت بعض الظروف وليس كل الظروف، وتحمل الضغط الأسموزى يكون متعلقاً مع المقدرة على الاستعمار. تؤثر صفات سطح الخلية على الالتصاق بالجذور، والذى يمكن أن يكون ضرورياً للاستعمار.

بعض الطفرات التى توثر على تجمعات الميتابولزم الثانوى، هى أيضاً تؤثر على استعمار أجزاء النبات فى تربة الحقل. هناك اقتراح يبشر بالنجاح، من المحتمل أنه سيوسع نظام المميزات التى تعتبر مهمة للاستعمار، وهو تصفية الطفرات مباشرة لزيادة أو نقصان مقدرة استعمار الجذور. طفرات سلالات *Pseudomonas* لكلا الفينوتابيس، قد تم تعريفها، وإن تحليل هذه الطفرات يدل على أن التغذية البروتينية والأحماض الأمينية وفيتامين B_1، معدل نمو سريع، استعمال الأحماض العضوية، السكريات العديدة الدهنية، هذه الصفات تشارك فى المقدرة على الاستعمار.

إن دراسة استعمار الجذر بواسطة عوامل المقاومة الحيوية الفطرية أكثر تعقيداً منه فى حالة البكتيريا. إن تعريف الوحدة الفطرية للقياس وصعوبة توصيل التحليلات الوراثية تكون متحديات فى دراسة البيئة الفطرية. إحدى الدراسات ركزت إهتمامها على طفرات *Tricho-derma* ، والتى تكون مقاومة للمبيد الفطرى بينومايل. هذه الفطريات تزداد بصورة مذهلة فى استعمار الجذر والمقدرة على المقاومة الحيوية، حتى فى غياب البينومايل. ترتبط مقاومة البينومايل مع عديد من الفينوتايب، شاملة زيادة إنتاج السليوليز وتعدل الشكل الخارجى جاعلاً ذلك صعباً فى تحديد أساسيات زيادة الاستعمار. من الممكن أن زيادة إنتاج السليوليز تزيد استعمار الجذر عن طريق تأهيل الفطر *Trichoderma* فى استعمال بقايا خلية النبات، وإن هذه الزيادة فى الاستعمار تشجع المقاومة الحيوية.

٢- المقاومة المستحثة Induced Resistance

بعض عوامل المقاومة الحيوية تعمل على إحداث تغيير مؤكد فى بعض صفات النبات، مثل زيادة تحمله للإصابة بالكائن الممرض، هذه الظاهرة تعرف باسم المقاومة المستحثة. فى بعض الحالات يبدو واضحاً أن المقاومة المستحثة بواسطة عوامل المقاومة الحيوية تكون داخلة فى مجموعة الجينات ناتجات الجين نفسها، تكون داخلة فى استجابة النبات الموثوقة جيداً والمعروفة باسم المقاومة الجهازية المكتسبة Systemic acquired resistance (SAR)، ولكن هذا ليس دائماً هو الحال. إن SAR هى استجابة نموذجية لإصابة موضعية أو الإصابة بكائن ممرض موهن أو مثبط والتى تظهر بوضوح فى المقاومة التالية، بمدى كبير بالنسبة للكائنات الممرضة الأخرى. إن أفضل مثل لفهم المقاومة المستحثة، يحدث فى المقاومة الحيوية للأمراض التى تصيب أجزاء النبات فوق سطح التربة.

كان أول اقتراح بأن عوامل المقاومة الحيوية، من الممكن أن تحث على المقاومة فى العائل، مبنياً على أساس التجارب التى أظهرت أن المعاملة البكتيرية تحفظ درنات البطاطس من الإصابة التالية بالكتيريا *Pseudomonas solanacearum* والأبحاث الأكثر حداثة أظهرت أن عامل المقاومة الحيوية *P. fluorescens* سلالة CHAO يحث على تكوين بروتينات مرافقة لـ SAR تمنح مقاومة جهازية للكائن الممرض الفيروسى، وتحث على تجمع حمض السلسليك، والذى يلعب دوراً فى التحويل الاشارى Signal transduction فى الـ SAR . إن طفرات CHAO التى لاتنتج السايدروفور المسمى Pyoverdin لاتحث على SAR، هذا أدي إلى القول بأن هناك دوراً تركيبياً لعمليات الميتابولزم البكتيرية فى تثبيط المرض. هناك بكتيريا وميضة أخرى هى *P. putide* تحث على إحداث تعبيرات للجين المشفر PR1a الذى يكون مترافقاً مع الاستجابة الكلاسيكية لـ SAR. هناك سلالات أخرى من البكتيريا *P. fluorescens* لاتحث على إحداث تعبيرات لمنتجات الجين المترافقة مع الاستجابة الكلاسيكية لـ SAR، ولكن يبدو أنها بدلاً من ذلك تحث على استجابة وظيفية مناظرة.

هناك إتجاه آخر لإثبات المقاومة المستحثة والذى يمكن أو لايمكن أن يتضمن SAR، وهو أن بعض عوامل المقاومة الحيوية تثبط المرض عندما تستعمل بعيداً عن موقع الاصابة بالكائن الممرض، ولايمكن أن تتواجد فى موقع الاصابة. زيادة على ذلك، فى حالة تثبيط

ذبول الفيوزاريوم بالبكتيريا الوميضة *P. fluorescens*، فإن تحضيرات من السكريات العديدة الدهنية المأخوذة من سطح الخلية البكتيرية، تحث على إحداث مقاومة مشابهة تماماً لما تحدثه البكتيريا الحية، هذا أدى إلى القول بإن المقاومة الحيوية ليست بالضرورة بسبب نقل البكتيريا أو المضادات الحيوية خلال النبات. سواء كانت أم لم تكن عوامل المقاومة تثبط المرض عن طريق المقاومة المستحثة، فمن الأساسى أن SAR واستراتيجيات المقاومة الحيوية يجب أن تكون متوافقة وذلك لأن العمليات الزراعية المستقبلية من المحتمل أن تتطلب دمج استراتيجيات مقاومة الآفات الكثيرة.

٣- التغيرات الوراثية فى العائل Genetic Variation In The Host

مع أن كثيراً من الأبحاث قد ركزت على جينات النبات المؤثرة على التفاعل مع الكائنات الدقيقة النافعة ذات الصلة بالعلاقة التكافلية فى تثبيت النيتروجين، إلا أن هناك أدلة كثيرة تدل على أن النباتات تختلف فى قابليتها لدعم والاستجابة للميكروفلورا النافعة الأخرى. المقدرة على دعم كائنات دقيقة معينة داخلة فى المقاومة الحيوية تختلف بين أنواع النباتات وأصناف الأنواع المزروعة. يبدو أن بعض النباتات لها قدرة على جذب ودعم مجموعات من الكائنات الحية الدقيقة، والتى تكون مضادة لبعض الكائنات الممرضة.

تختلف أنواع البقوليات فى مدى استجابتها للكبتيريا المشجعة لنمو النبات *B. polymxa* وسلالات *Bacillus* المعزولة من جذور القمح، تشجع نمو القمح فى بعض أنواع الصنف المزروع. تختلف أنواع النباتات فى مقدرتها على حث الجينات للبناء الحيوى لمادة الـ Pyo-luteorin فى البكتيريا الوميضة *P. fluorescens*، من المحتمل بسبب الاختلافات فى تركيب إفراز الجذر بين الأنواع. سلالات هذه البكتيريا التى تنتج كمية كبيرة من Pyolute-orin ومن مادة 2,4-diacetyl phloroglucinol، تحدث زيادة كبيرة فى تثبيط المرض بالمقارنة مع السلالات، التى لاتفرز كميات كبيرة من تلك المواد فى بعض الاتحادات (العائل – الكائن الممرض) وليس مع الأخرى، وأن هذه التأثيرات تتعلق مع العائل وليست مع الكائن الممرض، ومع الحساسية للمضادات الحيوية. هناك دراسات عديدة بينت أن الأصناف المختلفة تختلف فى بقاءها، أو حدوث المرض فى وجود الكائن الممرض وعامل المقاومة الحيوية. الاعتراضان الرئيسيان فى تقييم تغيرات النبات لهذه الميزة أو الصفة هما:

الأول، فصل التأثيرات التى على الكائن الممرض عن تلك التى على العائل. الثانى، تقسيم أو تجزئة مقاومة العائل وتأييد أو دعم المقاومة الحيوية.

التطبيق العملى لاكتشاف أن النباتات تختلف فى مقدرتها لدعم المقاومة الحيوية، يكون بتشجيع هذه الصفة عن طريق التربية، هذه العملية قد تمت الإشارة إليها على أساس أنها التربية لحسن الضيافة، والتى تسمى (Hospitality) فى النبات العائل، ومن المحتمل أن يكون لها تأثير أساسى على فعالية المقاومة الحيوية لأمراض النبات التى حصل فيها حسن الضيافة لعامل المقاومة الحيوية، يمكن أن تنتج إفرازات جذرية، والتى تدعم نمو أو تحدث تغييرات فى الجينات فى الكائنات الحية الدقيقة شاملة تثبيط المرض وجذب عامل المقاومة الحيوية لمكان الإصابة، أو تستجيب لعامل المقاومة الحيوية عن طريق الاعتماد على إستجابة المقاومة. يمكن أن تستعمل التربية أيضاً لإنتاج طرز أيزوجنك Isogenic ، التى تستطيع أن تزود الأساسيات اللازمة لتعريف الصفات فى النباتات التى تؤثر فى علاقتها مع الكائنات الحية الدقيقة. سوف تكون التربية لحسن الضيافة فى عوامل المقاومة الحيوية سهلة وذلك عن طريق تحديد توارث هذه الصفة أو رسم الخريطة الجينية المرافقة لحسن الضيافة. هذا الاجراء قد تم بشكل أولى فى الطماطم التى فيها Inbred lines قد إشتقت من التلقيح الواسع والذى تم تقييمه لمقدرتها لدعم المقاومة الحيوية بواسطة *B. cereus*. التغيرات الأساسية فى هذه الصفة لوحظت بين هذه الطرز. وهكذا يتم التزويد بالأساسيات اللازمة لخرائط الجينات التى تشارك فى ظاهرة حسن الضيافة للبكتيريا *B. cereus*.

III: تفاعلات عوامل المقاومة الحيوية مع المجموعة الميكروبية المحيطة بالنبات

Interactions of Biocontrol Agents With Microbial Group Surrounded The plant.

إن تفاعل عامل المقاومة الحيوية مع المجموعة الميكروبية المحيطة بالنبات، يمكن أن يزودنا بمفاتيح لحل التساؤل الذى يقول لماذا يكون هناك كثير من الكائنات الدقيقة تثبط الكائن الممرض بكفاءة فى المعمل، ولكنها تفشل فى أن تعمل ذلك فى الحقل؟؟

الكائنات الدقيقة المستعملة فى المقاومة الحيوية، يمكن أن تتأثر بواسطة المجموعات الميكروبية المحيطة بها، وهى أيضاً يمكن أن تؤثر فيها. فى بعض الحالات يمكن لعوامل

المقاومة الحيوية أن تزيد أعداد المجموعة الميكروبية التى تكون على اتصال بها أثناء تثبيط المرض. تقترح الدراسات الحديثة أن المعالجة المدروسة للمجموعات الميكروبية يمكن أن تكون ذات تأثير قوى وشكل فعال من المقاومة الحيوية.

يبدو أن مقدرة البكتيريا *P. fluorescens* لتثبيط الذبول الفيوزاريومى فى الفجل، تكون جزئياً بسبب تأثيراتها على المجموعة الفطرية وبشكل خاص على السلالات غير الممرضة من *Fusarium oxysporum*. بعض أنواع البكتيريا الوميضة، تبين بأنها تحل محل الفطريات والبكتيريا المستوطنة، فى بعض الحالات فإنها تخفض تجمعات الكائنات الدقيقة الضارة. كذلك فإن المعاملات التى تزيد صحة النباتات، تستطيع أيضا أن تزيد فى أعداد البكتيريا المختزلة للمنغنيز فى مجموعة الرايزوسفير، بذلك تكون هناك زيادة فى كمية المنغنيز المتوفر للنبات، والذى يمكن بدوره أن يزيد المقاومة للمرض.

إن إدخال عامل المقاومة الحيوية *B. cereus* سلالة UW85 يستطيع أن يحث على إحداث تغيرات كبيرة فى تركيب مجموعات المزارع البكتيرية على جذور فول الصويا فى الحقل (هذا ما وجده Gilbert *et al* سنة ١٩٩٣). هذا التغيير يؤدى إلى تشكيل مجموعة تكون أكثر قرباً ومشابهة إلى المجموعات البكتيرية التى تكون موجودة فى تربة غير منطقة الرايزوسفر، منها فى مجموعة الجذر غير المعاملة. هذه النتائج ترتبط وتدعم أساساً من البحث السابق على تأثيرات مقاومة العائل وتحسينات التربة على مجموعات الرايزوسفير، هذا أدى إلى الاقتراح بنظريات التمويه Camouflage، والتى تفترض أن هناك ميكانزم لحفظ جذور النبات من المهاجمة بواسطة الكائنات الممرضة يكون بعمل الجذور Look أكثر منه شبيهاً للتربة، عن طريق زيادة تجمعات ساكنات التربة النموذجية وتقليل تجمعات الكائنات الدقيقة المرافقة للجذر النموذجية. إن فرضيات التمويه لم تختبر بعد مباشرة، ولكن يمكن أن تزودنا بأساسيات مفيدة لدراسة مجموعة العمليات، التى تؤثر فى المقاومة الحيوية للكائنات الممرضة االمرافقة للجذر.

هناك ثلاثة اعتراضات على التغيرات الميكروبية الناتجة من إدخال عامل المقاومة الحيوية:

أولاً: من الصعوبة تحديد فيما إذا كان تغير المجموعة يلعب دوراً فى تثبيط المرض، أو فيما إذا كان عبارة عن نتيجة بسيطة ليس لها علاقة فى تغيير مكروفلورا الرايزوسفير.

ثانياً : تتطلب عمليات تحليل نتائج أبحاث التكاثر فى المجموعة، أدوات حسابية دقيقة لتحليل المجموعات المعقدة ومستوياتها المتضاعفة فى التفاعل. يجب أن يكون هناك حذر وحيطة فى تفسير النتائج من الدراسات الأولية، ويجب الاعتماد على الطرق الإحصائية المتضاعفة فى الكومبيوتر.

ثالثاً : جميع الأبحاث التى أجريت لمعرفة تأثير كائنات المقاومة الحيوية على المجموعات الميكروبية قد تم الحصول عليها من المعمل وذلك لوصف المجموعات، ونظراً لأن أقل من ١ ٪ من البكتيريا فى التربة قابلة للزراعة فى المعمل، فإن الدراسات المبنية على النتائج المعملية، فإنها دون شك تتجاهل أهمية بعض الكائنات الدقيقة الأخرى فى التفاعلات. إن الإستعمال الحديث للتحليل الجزيئى لوصف المجموعات غير القابلة للزراعة فى كل من البيئة العادية والمتحورة، يزودنا بمجموعة من العوامل أو الأدوات لدراسة التفاعلات الميكروبية التى تؤثر على المقاومة الحيوية. (هذا ما وجده Oconnell *et al* سنة ١٩٩٦).

التأثيرات البيئية على المقاومة الحيوية لمسببات الأمراض الكامنة فى التربة
Ecological Effects on Biological Control of Soilborne Pathogens

مقدمة:

تعتبر التربة محيطاً معقداً يأوى أعداداً كبيرة من تجمعات الميكروبات، النباتات والحيوانات. هذه المخلوقات الحية تتفاعل باستمرار تحت تقلبات الظروف البيئية، تحافظ على بقائها أو تزداد أعدادها وفقاً للنظام الخارجى المؤثر عليها. بعض من هذه التفاعلات يمكن أن يكون نافعاً لتجمعات ميكروبية معينة، والبعض الآخر يمكن أن يكون ضاراً بها. التفاعلات الميكروبية الضارة أو السلبية هى التى تشكل أساساً للمقاومة الحيوية للكائنات الممرضة النباتية. يمكن الوصول إلى المقاومة الحيوية الناجحة لأمراض النبات الكامنة فى التربة، عن طريق المعرفة الأساسية للعلاقات البيئية للتجمعات الميكروبية المختلفة، شاملة الكائنات الممرضة النباتية وعوامل المقاومة الحيوية فى التربة. تعتبر المقاومة الحيوية للفطر *Sclero-tinia* spp. عن طريق التطفل الفطرى والتضاد الحيوى، مثالاً لتوضيح الإجابة عن السؤال الذى يقول لماذا تنجح عوامل المقاومة الحيوية فى محيط تربة معينة، وتفشل فى أخرى؟؟

المقاومة الحيوية للكائنات الممرضة المنتجة أجسام حجرية (سكلوروشيم)

هناك عديد من الفطريات عالية التطفل (ذات تطفل علوى) Hyperparasite معروفة جيداً لمقاومة الكائنات الممرضة المكونة أجسام حجرية. تشمل هذه الفطريات كل من:

١- *Sporidesmium sclerotivorum* يقاوم مرض سقوط البادرات المتسبب عن *Scleroti-nia minor*

٢- *Coniothyrium minitans* يقاوم مرض ذبول سكلوروتينا *S. sclerotiorum* الذى يصيب الخس وعباد الشمس وكذلك مرض العفن الأبيض فى البصل المتسبب عن *Scle-rotium cepivorum*.

٣- *Trichoderma harzianum* لمقاومة مرض اللفحة الجنوبية فى الطماطم والفول السودانى المتسبب عن *S. rolfsii*.

٤- *Talaromyces flavus* لمقاومة مرض ذبول الفيرتسليم فى الباذنجان المتسبب عن الفطر *Verticillium dahliae*.

٥- البكتيريا *Bacillus subtilis* لمقاومة العفن الأبيض فى البصل *S. cepivorum*

أظهرت الدراسات فى الولايات المتحدة أن معاملة واحدة بالفطر *Sporidesmium sclerotivorum* بمعدل ١٠٠-١٠٠٠ ماكروكونيدية لكل غرام من التربة يكون فعالاً فى خفض حدوث مرض سقوط بادرات الخس بنسبة ٤٠-٨٣٪ لأربعة سنوات متتالية. هناك دراسة أخرى أظهرت أن استعمال نفس الفطر السابق بمعدل ٢٠كغم/هكتار يخفض بشكل معنوى مرض سقوط بادرات الخس لثلاثة سنوات متتالية، أما فى السنة الرابعة والخامسة لم يظهر تأثير معنوى للفطر وذلك لزيادة التجمعات الداخلية للفطريات المتطفلة فى الأراضى المعاملة، مما جعل تأثيرها يشبه تأثير الأراضى غير المعاملة. إن المقاومة الحيوية لمرض سقوط بادرات الخس بالطرقة السابقة يمكن أن تكون ملائمة إقتصادياً وذلك بسبب استمرار بقاء فعل الكائن المضاد، مما يؤدى إلى خفض تكاليف المحصول وزيادة الدخل بالإضافة إلى قلة تكاليف تحضير اللقاح.

وجد كذلك أيضاً أن معاملة التربة مرة واحدة بالفطر *C. minitans* تكون فعالة فى مقاومة مرض ذبول سكلوروتينا فى عباد الشمس ومرض العفن الأبيض فى البصل. لقد قام

Huang سنة ١٩٨٤ بالدراسة المتواصلة لمدة ثلاثة سنوات للحقول الملوثة طبيعياً بالفطر *S. sclerotiorum* ووجد أن استعمال *C. minitans* على شكل معاملة أثلام البذور، خفض حدوث مرض ذبول السكلوروتينا فى عباد الشمس بنسبة ٤٢-٥٦٪ بالمقارنة مع التربة غير المعاملة. هذه النتائج قد تم تأكيدها فى دراسات أخرى فى كندا وروسيا. ولقد وجد Bogda-nova *et al* سنة ١٩٨٦ أن الفطر *C. minitans* كان أكثر فعالية عند استعماله بتركيز ١٥٠كغم/هكتار عنه عند استعمال بتركيز ٥٠كغم/هكتار. هذه الدراسات أدت إلى القول بأن إضافة هذا الفطر إلى التربة يوقف نمو الفطر الممرض، وبذلك يخفض حدوث مرض ذبول السكلوروتينا فى عباد الشمس.

فى دراسة مستمرة لمدة سبعة سنوات على حقلين من حقول عباد الشمس ملوثين طبيعياً بالفطر الممرض *S. sclerotiorum* وجد أن هناك انخفاضاً كبيراً فى حدوث مرض الذبول السكلوروتونى بعد سبع سنوات من الزراعة المتكررة بمحصول عباد الشمس نفسه. ولقد أظهر تحليل التربة أن الانخفاض فى الذبول يمكن أن يعزى للزيادة فى تجمعات الفطر *C. mini-tans* الموجود طبيعياً فى التربة (استمر تأثير خفض المرض سنتين على الأقل)، وهذا يؤدى إلى القول بأن الفطر المضاد يمكن أن يستمر مفعوله وفائدته فى كبح تجمعات الكائن الممرض لمدة طويلة.

المقاومة الحيوية الناجحة للكائنات الممرضة الأخرى المكونة أجسام حجرية عن طريق التطفل الفطرى hyperparasites فى الحقل قد ذكرت بالنسبة لذبول الفيرتسليم فى الباذنجان. لقد قام Marois *et al* سنة ١٩٨٢ بمعاملة حقلين ملوثين بالفطر *Verticillium dahliae* باستعمال الفطر *T. flavus* وحصل على ٧٦٪ خفضاً فى شدة المرض وزيادة الإنتاج بنسبة ٦٧٪.

الأشكال البينية فى التربة وعلاقتها بالمقاومة الحيوية:

تحت أى ظروف بيئية، فإن كل التجمعات الميكروبية شاملة الكائنات الممرضة، الرميات، الكائنات المضادة والفطريات عالية التطفل، يجب أن تتنافس على المواد اللازمة للنمو وبقاء الحياة. إن نجاح التجمعات الميكروبية فى نظام خارجى معين يتطلب أقصى درجات النمو خلال فترات النمو النشيطة، بالإضافة إلى المقدرة على التحمل والبقاء فى

الظروف الصعبة. يجب أن تبنى استراتيجيات المقاومة الحيوية الفعالة للمرضات الكامنة فى التربة على بيئة الكائن الممرض، عوامل المقاومة الحيوية، نباتات العائل والمواد غير الحية المحيطة الأخرى.

الكائنات الممرضة متعددة أشكال الأجسام التكاثرية الساكنة:

خلال الانتخاب الطبيعى الذى يحدث بين الكائنات الحية الدقيقة، هناك كثير من الكائنات الممرضة الكامنة فى التربة قد حدث تطور فى صفاتها بحيث أصبحت أكثر قدرة على المنافسة والبقاء فى النظام الخارجى المعين. فمثلاً *S. sclerotiorum* فهو سريع التقلب فى سلوكه فى النمو، وفى استجابته للظروف المعاكسة. ينتج هذا الفطر أجسام حجرية كامنة سوداء، والتى هى متحملة للضغوط البيئية المختلفة وتكون مقاومة للاختراق بواسطة الفطريات المتطفلة Hyperparasites. هذه الأجسام الحجرية هى الأشكال التكاثرية التى يقضى عليها الفطر الشتاء، وهى تسلك سلوك اللقاح الأولى للأمراض لبعض النباتات الزيتية. يتكون الميسيليوم فى أنسجة النبات المصابة، وتكون لقاحاً فعالاً فى الانتشار الثانوى للمرض خلال موسم المحصول، ولكنها ضعيفة فى تحملها لبرودة الشتاء وفى المروج الجرداء.

إن المفتاح الأساسى لتطور درجات من المقاومة الحيوية الفعالة لأمراض السكليروتينا، يكون بتفهم الميكانيكيات الداخله فى كمون وإنبات الأجسام الحجرية. إن الأجسام الحجرية للفطر *S. sclerotiorum* فى التربة يمكن أن تنبت وتعطى نموات للميسيليوم الأولى لتنتج هيفات خضرية أو مكونات الأجسام الثمرية لتكوين Apothecia وجراثيم اسكية. إن سلوك كل نوع من هذا الإنبات له تأثير وبائى مختلف. تستطيع الميسيليومات الناتجة من إنبات الجسم الحجرى أن تصيب الجذر وتسبب ذبول عباد الشمس بنوعيه *H. annuus, H. tube-rosus* ونبات *Physostigia virginiana*. أما الجراثيم الاسكية الناتجة من الجسم الحجرى النابت Carpogenically فهى تهاجم الأنسجة الموجودة فوق سطح التربة، مسببة عفن الرأس فى عباد الشمس والقرطم، وتسبب عفن الساق وعفن القرن فى نباتات اللفت والفاصوليا والبسلة. إن كلاً من ذبول السكلوروتينا الناتج من التركيب المسمى myceliogen-esis وعفن الرأس الناتج من Carpogenesis يمكن أن تحدث على عباد الشمس.

تكون فترة السكون للأجسام الحجرية للفطر *S. sclerotiorum* مترافقة مع بداية تلون قشرة الأجسام الحجرية باللون الأسود. يكون التلون الأسود الكلى لقشرة الجسم الحجرى ضرورياً لمنع الإنبات الفورى بـ Myceliogenic ولتشجع كمونة (الجسم الحجرى). يمكن أن يستحث إنبات الـ Myceliogenic بواسطة المواد الغذائية المتوفرة، إما بواسطة إضافة خارجية أو تؤخذ من راشح الأجسام الحجرية المجروحة. تحدث الأضرار للأجسام الحجرية، بحيث تكون ناتجة لتغيرات الرطوبة والجفاف والشيخوخة أو التعرض لدرجات الحرارة تحت التجميد. إن تكشف ذبول السكليروتينا فى عباد الشمس يكون معتمداً على مقدرة الجسم الحجرى لينبت فى التربة Myceliogenically. لقد وجد Huang & Kozub سنة ١٩٩٠ أن أعلى حدوث للمرض فى عباد الشمس يكون عن طريق هذه الأجسام الحجرية ذات اللون الأسود غير المكتمل فى القشرة أو تلك التى اكتمل تلوينها ولكنها مجروحة.

هناك عوامل أخرى تؤثر على تكشف مرض الذبول فى عباد الشمس، وهى توزيع الأجسام الحجرية فى التربة. لقد وجد أن أعلى حدوث للمرض يكون عندما تدفن الأجسام الحجرية على عمق ٥ سم بالقرب من البذره، وتقل نسبة حدوث المرض كثيراً إذا كانت الأجسام الحجرية مدفونة على عمق ١سم من سطح التربة أو على عمق ١٥سم تحت البذرة وبالمثل فإن حدوث المرض يقل عندما يكون عمق البذرة والجسم الحجرى متساوياً ، ولكن هذه الأجسام الحجرية تكون بعيدة أفقياً عن البذره مسافة ١٠سم أو أكثر. هذه الدراسات تقترح بأن الأجسام الحجرية التى تكون ملتصقة بالجذر الرئيسى والجذور الجانبية هى المصدر الرئيسى للقاح حدوث المرض.

يتطلب إنبات الـ Carpogenic للجسم الحجرى للفطر *S. sclerotiorum* ظروف بيئية مناسبة، مثل ارتفاع الرطوبة، وأن تكون الحرارة من ١٠-٢٠°م أو درجة تبريد من ٣-٤م وكمية كافية من الأكسجين والإضاءة. هناك تقارير تدل على أن درجة الحرارة خلال تكوين الأجسام الحجرية وعمر الجسم الحجرى، كلها عوامل مهمة مؤثرة على إنبات الـ Carpogenic للجسم الحجرى للفطر.

فعالية عوامل المقاومة الحيوية Efficacy of Biological Control Agents

إن نجاح المقاومة الحيوية لمرض سقوط الخس السكلوروشى بالفطر *Sporidesmium sclerotivorum* وذبول السكلوروشيم فى عباد الشمس بواسطة *C. minitans*، قد تم نتيجة التفهم العميق للعلاقات البيئية بين كائنات التطفل الفطرى وعوائلها. إن كلا المتطفلين السابقين عندهما القدرة على تحطيم الأجسام الحجرية فى أماكنها الطبيعية. لقد لاحظ كل من Ayers & Adams سنة ١٩٧٩ أن الفطر الأول ينمو جيداً على الأجسام الحجرية الحية للكائن الممرض، وينمو ببطء على الأجسام الحجرية الميتة بالحرارة، ولاينمو على أى من البيئات الشائعة من الـ Mycological . أما المكروكونيديا للفطر نفسه فإنها تنبت وتهاجم الأجسام الحجرية للفطر *S. minor* فى التربة مؤدية إلى إنتاج حوالى ١٥٠٠٠ مكروكونيديا جديدة على كل جسم حجرى مصاب. والأكثر أهمية أن ميسيليوم الفطر *S. sclerotivorum* ينمو خلال التربة ويهاجم الأجسام الحجرية السليمة الأخرى من الفطر *S. minor*. بالإضافة للخفض فى كثافة اللقاح الأولى للفطر *S. minor* وزيادته فى الفطر *S. sclerotivorum*، تزداد المقاومة لمرض سقوط الخس فى السنوات المتتابعة، بسبب مقدرة الفطر على التطفل على الأجسام الحجرية الحديثة، على نباتات الخس المريضة فى الحقل.

مع أن الفطر *C. minitans* يهاجم كلاً من الهيفات والأجسام الحجرية النامية للفطر *S. sclerotiorum* فإن مقاومة مرض الذبول السكلوروشى فى عباد الشمس، يكون الحصول عليها، فقط عن طريق الخفض فى أعداد الأجسام الحجرية التى تقوم بدور اللقاح الأولى. أما التطفل الفطرى فيكون غير فعال فى منع الانتشار الثانوى للمرض، عن طريق تلامس جذور لجذر، وبالتالى فإن نجاح مقاومة الذبول السكلوروشى فى عباد الشمس، سقوط بادرات الخس والعفن الأبيض فى البصل يكون ناتجاً عن استبعاد أو التخلص من الأجسام الحجرية فى منطقة الجذر، بواسطة لقاح من *C. minitans* عند إضافته لخطوط البذور.

تحورات البيئة والمقاومة الحيوية:

تؤثر البيئة الطبيعية (الفيزيائية) والكيماوية على ثبات التجمعات الميكروبية فى التربة، فمثلاً تعرض الفطر *S. sclerotiorum* لظروف متبادلة من الرطوبة والجفاف أو التجمد أو

الجفاف، يسبب أضراراً للأجسام الحجرية، هذه الأجسام الحجرية المتضررة تنبت Myceli-ogenically مسببة إصابة وذبول عباد الشمس، وبعكس الأجسام الحجرية الكامنة والتى تكون مقاومة للتطفل الفطرى، حيث إن الأجسام الحجرية النابتة بالطريقة المذكورة تكون أكثر حساسية وقابلية للاختراق والاستعمار بالفطريات المتطفلة الآتية:

1- Trichoderma harzianum. *2- T. virens.* *3- Coniothyrium* minitans.

أما الأجسام الحجرية للفطر *S. sclerotionum* المنبتة Carpogenically، تكون أيضاً أكثر قابلية للاستعمار بالفطريات الثلاثة المذكورة سابقاً، عنه فى الأجسام الحجرية التى فى مرحلة السكون. وبالتالى فإنه فى غياب العائل فان الأجسام الحجرية غير الكامنه غالباً ما تفقد مقدرتها على التنافس وتفقد مقدرتها على الهروب من ضغط الطفيل.

إن تغيير الوسط الكيميائى للكائنات الحية، عن طريق إضافة مغذيات عضوية أو غير عضوية إلى التربة أو منطقة الرايزوسفير، غالباً ما يكون فعالاً فى مقاومة مسببات الأمراض الكامنة فى التربة. هناك تقارير عديدة تدل على أن معاملة التربة بمادة سينامايد الكالسيوم أو مخلوط S-H تثبط تكوين الـ Apothecial بواسطة الأجسام الحجرية للفطر *S. sclerotior-um*. حتى المواد المتطايرة الناتجة من معاملة التربة باليوريا، سينامايد الكالسيوم أو مخلوط *S-H* تكون ضارة لإنبات Carpogenic الأجسام الحجرية للفطر نفسه. إن إضافة الفطريات المتطفلة *C. minitans* أو *T. flavus* إلى حقل ملوث بالفطر الممرض المذكور سابقاً *S. scle-rotiorum*، أيضاً تكون فعالة فى خفض إنتاج الابوثيسيا. لكن الأبحاث الحديثة لمحاولة زيادة مقاومة الابوثيسيا للفطر المذكور عن طريق إضافة *C. minitans* إلى التربة المعاملة بمخلوط S-H أو سينامايد الكالسيوم، كانت غير ناجحة، بسبب أن التربة المعاملة تكون شاملة لكل من الكائن الممرض والفطر المتطفل. هناك دراسة مشابهة لمقاومةمرض سقوط البادرات المفاجىء فى عباد الشمس المتسبب عن الفطر بثيم، أوضحت أن اتحاد عوامل المقاومة الحيوية مع تحسين التربة يكون أكثر فعالية من عوامل المقاومة الحيوية لوحدها أو تحسين التربة لوحده. أمكن تخفيض المرض عن طريق معاملة البذور بالبكتيريا الوميضة *Pseudo-monas fluorescens* أو *Bacillus polymixa*، أو عن طريق معاملة التربة بحوالى ٠,٣ ٪ يوريا أو ٢ ٪ مخلوط S-H. وعلى أية حال فإن خفض المرض يكون أكثر عند استعمال البكتيريا الوميضة كمعاملة بذور ثم زرعتها فى تربة معاملة باليوريا أو مخلوط S-H. هذه الدراسة أدت إلى القول بأن بعض معاملات التربة بأى من الأوضاع المذكورة يمكن أن يكون

تأثيرها ضاراً على الكائن الممرض، ويبقى غير ضار على عوامل المقاومة الحيوية. وباستعمال هذه المواد، يمكن زيادة كفاءة عوامل المقاومة الحيوية المدخلة إلى التربة.

المقاومة الحيوية للفطريات الممرضة للجذور
Biological Control of Root Pathogenic Fungi

المقاومة الحيوية للفطريات الممرضة للجذور، يمكن أن تتواجد طبيعياً، حيث إن الكائنات المضادة تكون موجودة طبيعياً فى التربة، أو يمكن أن تتم هذه المقاومة عن طريق إدخال الكائنات المضادة صناعياً إلى التربة.

المقاومة الحيوية الطبيعية:

من المعروف جيداً أن بعض الأراضى عندها المقدرة على تثبيط حدوث المرض فى النبات، رغم أن العائل النباتى يكون قابلاً للإصابة والكائن الممرض موجود. هذا النوع من الأراضى يسمى الأراضى الكابحة Suppressive soils هذا الكبح الموجود فى التربة، إما أن يكون حيوياً أو غير حيوى. الكبح الحيوى يعزى إلى وجود بكتيريا غير ممرضة أو Actinomycetes أو فطريات. ولقد ذكر أن تبخير التربة ببخار الماء الساخن أو المعاملة بالمواد الكيماوية المتطايرة والتى تؤدى إلى تعقيم التربة وقتل الكائنات الحية الموجودة فيها، فإن هذه المعاملة تجعل التربة غير كابحة، نظراً لأن الكائنات الطبيعية المضادة الموجودة فى التربة تقتل بتلك المعاملة. هناك ظاهرة أخرى طبيعية، والتى هى تشبه تماماً عملية الكبح، تسمى التطهير الفطرى Mycostatic أو Mycostasis، وهى عبارة عن تثبيط النمو الفطرى وإعاقة إنبات الجراثيم دون تدخل الإنسان، وهذه الظاهرة إما أن تكون حيوية أو غير حيوية أيضاً.

إن مقدرة التربة على تثبيط أو كبح أشكال الممرضات النباتية، يكون بشكل متخصص نسبياً، هذا يعنى أن التربة يمكن أن تكون فعالة ونشيطة ضد أنواع معينة متواجدة دائماً فى التربة، ولكنها تفشل فى كبح أو تثبيط الأنواع الأخرى الداخلة إلى التربة، والتى ليست مستوطنة فيها. كذلك فإنها تعنى أن الكبح يمكن أن يكون ضد شكل معين من الكائن

الممرض، وليس للنوع الرمي أو غير الممرض. لقد ذكر Toussoun سنة ١٩٧٥ أن بعض الأراضي يمكن أن تكون مثبطة لبعض أنواع الفيوزاريوم الممرضة، بينما بعض الأراضي الأخرى تكون مثبطة لجميع أنواع الفيوزاريوم.

المقاومة الحيوية المعتمدة على الإدخال الصناعي في التربة:

تعتمد هذه الطريقة على إحداث تغيير أو تكيف في الظروف البيئية المتعلقة مع العائل، سواء من حيث تغير الميكوفلورا أو الظروف البيئية الأخرى، مثل الحرارة، والرطوبة ودرجة الـ pH. إن نتيجة العلاقة التطفلية في مثل هذه الطريقة تشبه تماماً العلاقة التطفلية التي تحدث في الحالة الطبيعية.

هناك اصطلاح يسمى Allelopathy، هذا يعني استعمال كائنات حية دقيقة في المقاومة الحيوية للكائنات الممرضة النباتية، هذه الظاهرة جذبت اهتمام كثير من علماء أمراض النبات. تعتمد هذه الفكرة على نقطتين أساسيتين هما، أولاً: الوقاية بالتضاد Cross protection. ثانياً: الاستعمال المباشر للمكروفلورا المضادة.

الوقاية بالتضاد، تعني استعمال سلالات من الكائن الممرض وتكون غير ممرضة Non pathogenic، أو غير شديدة المرضية avirulent أو ضعيفة المرضية hypovirulent أو سلالات مضعفة attenuated بالإضافة إلى استعمال كائن ممرض مخالف Alien. التضاد بين مكروفلورا التربة الرمية والكائنات الممرضة الكامنة في التربة، قد وجد بأنه ذو تأثير موجب وفعال في كثير من الحالات. إن المكروفلورا المضادة يمكن أن تكون مستوطنة التربة أو مدخلة إليها.

هناك مدى واسع من الكائنات الحية الدقيقة، تشمل البكتيريا، أكتينومايستس، الفطريات والفيروسات قد استعملت في وقاية النباتات ضد عديد من الكائنات الممرضة الكامنة في التربة. البكتيريا الحقيقة والأكتينومايستس استعملت في مقاومة بعض الأمراض الكامنة في التربة، مثل أمراض الفيوزاريوم. كذلك فإن البكتيريا *Bacillus subtilis* تستعمل حالياً وعلى نطاق واسع في مقاومة ذبول الفيوزاريوم في الطماطم. وبالمثل فإن هناك أنواعاً عديدة من الجنس *streptomyces* قد استعملت في المقاومة الحيوية لكثير من الأمراض الكامنة في التربة؛ خاصة تلك التي تتسبب عن أنواع الجنس فيوزاريوم.

وعلى أية حال فإنه من الجدير بالاهتمام، أنه على الرغم من أن البكتيريا والأكتينومايستس شائعة الوجود، بالإضافة إلى استجابتها السريعة إلى معاملات التربة، إلا أنها كائنات مضادة ضعيفة نوعا ما، وأن استعمالاتها التطبيقية محدودة نسبياً فى مقاومة الكائنات الممرضة للجذور. ومن الجدير بالذكر أيضاً أن طرق استعمال الكائنات المضادة فى المقاومة الحيوية للكائنات الممرضة للجذور الكامنة فى التربة تختلف كثيراً من مرض لآخر. إن التكنيك الذى يمكن أن يثبت نجاحاً فى مقاومة بعض الأمراض يمكن أن لايكون ناجحاً مع أمراض أخرى وبشكل عام فإن الكائن الدقيق الذى يختار للمقاومة الحيوية يمكن أن يستعمل بالأشكال الآتية:

١- على شكل مسحوق، بحيث يضاف مباشرة على شكل كوميات صغيرة broad casted على سطح التربة.

٢- على شكل معلق بحيث تغمر فيه جذور البادرات.

٣- أن يخلط مباشرة مع التربة.

٤- أن يستعمل على شكل تغليف للبذور أو التقاوى وهى أهم الطرق المذكورة.

ثانياً: المقاومة الحيوية لمسببات الأمراض الكامنة فى التربة بالبكتيريا
Biological Control of Soilborne Pathogens With Bacteria

مقدمة:

تعتبر الكائنات الدقيقة التى تنمو فى منطقة الرايزوسفير، نموذجية من حيث استعمالها كعوامل مقاومة حيوية، وذلك لأن منطقة الرايزوسفير تمثل خط الدفاع الأمامى ضد الكائنات الممرضة التى تهاجم الجذور. الكائنات الممرضة تواجه (تتصادم مع) الكائنات الحية الدقيقة المضادة والموجودة فى منطقة الرايزوسفير، قبل وأثناء الإصابة الأولية وأيضاً خلال الانتشار الثانوى على الجذر.

فى بعض الأراضى التى وصفت بأنها مثبطة للكائنات الممرضة بيولوجياً، فإن الكائنات الميكروبية المضادة فيها للكائنات الممرضة تكون موجودة بكميات كبيرة جداً، وهذا يؤدى

إلى مقاومة المرض. مع أن الاراضى المثبطة للمرض (الأمراض) تعتبر نادرة، إلا أنها تمثل نموذجاً ممتازاً للمقاومة الحيوية كاملة الكفاءة فى مقاومة مسببات الأمراض الكامنة فى التربة.

من بداية الثمانينيات فى هذا القرن، ذكرت أمثلة كثيرة عن البكتيريا التى يمكنها أن تقاوم بعض الأمراض الكامنة فى التربة وخاصة المعزولة من منطقة الرايزوسفير. هناك أبحاثاً أكثر حداثة تثبت نجاح محاولات المقاومة الحيوية باستعمال البكتيريا وتتعارض مع بعض النتائج السابقة.

كذلك فإن المقاومة الحيوية بالبكتيريا تحسن نمو النبات عن طريق تثبيط، أما الكائنات الممرضة المتخصصة أو الكائنات الثانوية. تنتج الكائنات الممرضة المتخصصة ما هو معروف جيداً باسم أمراض الجذر الوعائية ذات الأعراض الواضحة. أما الكائنات الممرضة الثانوية، فهى تكون طفيليات أو رميات والتى تسبب تحطيماً بشكل أساسى للأنسجة النباتية الحيوية النشيطة مثل الشعيرات الجذرية وقمم الجذور وخلايا القشرة، أما أعراض المرض فتكون غير واضحة.

لقد ميز العالم Schippers *et al* سنة ١٩٨٧ الكائنات الممرضة ثانوية التطفل عن الكائنات الحية الدقيقة غير المتطفلة، ولكنها ضارة فى منطقة الرايزوسفير، هذه الكائنات الأخيرة يطلق عليها DRMO وتشمل الرايزوبكتيريا الضارة (DRB) والفطريات الضارة.

عوامل المقاومة الحيوية البكتيرية:

أظهرت أجناس عديدة من البكتيريا كفاءة فى المقاومة الحيوية لكثير من الأمراض، هذه الأجناس تشمل:

1- Actinoplanes *6- Azotobacter* *11- Flavobacterium* *16- Pasteuria*
2- Agrobacterium *7- Bacillus* *12- Hafinia* *17- Rhizobium*
3- Alcaligenes *8- Cellulomonas* *13- Micromonospora* *18- Bradyrhizobium*
4- Amorphosporangium *9- Enterobacter* *14- Pseudomonas* *19- Streptomyces*
5- Arthrobacter *10- Erwinia* *15- Serratia* *20- Xanthomona*

من الواضح أن عوامل المقاومة الحيوية ليست محدودة فى مجموعة بكتيرية معينة، وهذا ما يعطى التنوع فى مكروفلورا الرايزوسفير، ومن المحتمل أن السلالات ذات الكفاءة الفعالة، ذات التأثير الواسع، قد تم اكتشافها واستعمالها، وهناك كثير منها تكون فعالة تحت ظروف الحقل.

المثال الرئيسى المشهور لاستعمال البكتيريا فى المقاومة الحيوية، هى البكتيريا *Agrobacterium radiobacter* السلالة ٨٤ والتى تقاوم مرض التدرن التاجى المتسبب عن البكتيريا *A. tumefaciens*. إن السلالة ٨٤ هى أول بكتيريا تستعمل تجارياً فى المقاومة الحيوية ونجح استعمالها عالمياً، ولقد ذكرنا عن هذا الموضوع فى الفصل الأول من الكتاب.

أما الجنس *Bacillus* sp.، فقد تم اختباره على أنواع عديدة من النباتات لمعرفة مقدرته فى المقاومة الحيوية للأمراض. أفراد هذا الجنس يلجأ إليها للحصول على أنواع مفضلة للاستعمال فى المقاومة الحيوية، وذلك لأنها تنتج جراثيم داخلية Endospores ، والتى تتحمل الحرارة والجفاف. من أكثر الأنواع أهمية هو *B. subtilis* سلالة A13 ، والذى عزل بواسطة Broadbent سنة ١٩٧١ من ميسيليوم متحلل لفطر *Sclerotium rolfsii*. إن السلالة A13 تثبط فى المعمل عديداً من الكائنات الممرضة النباتية، وهى تحسن نمواً كثيراً من الأنواع النباتية فى الأراضى الطبيعية والمبخرة. عند استعمال هذه السلالة كمعاملة بذور، تزيد فى إنتاج الجزر بحوالى ٤٨ ٪، والشوفان ٣٣ ٪، الفول السودانى ٣٧ ٪. يبدو أن هذه السلالة تحسن نمو النباتات عن طريق تثبيط الكائنات الممرضة المتخصصة والثانوية وأيضاً عن طريق الحث المباشر لنمو النبات. منذ سنة ١٩٨٣ وهذه السلالة تباع فى الأسواق لمعاملة بذور الفول السودانى تحت اسم QUANTUM-4000.

أما الجنس *Pseudomonas sp.*، فقد حصل على دراسة كبيرة جداً واهتمام واسع كعامل مقاومة حيوية. الاهتمام العالمى بهذا الجنس من البكتيريا، قد نشأ عن طريق الدراسات الأولية فى كاليفورنيا فى أوائل السبعينيات. فى سنة ١٩٧٨ ذكر Burr *et al* أن سلالات البكتيريا الوميضة *P. fluorescens* و *P. putida* تستعمل مع بعض أنواع التقاوى، وجد أنها تحسن نمو البطاطس، هذه النتائج قد تأكدت سنة ١٩٨٠، واستعملت على بنجر السكر سنة ١٩٨٢ وعلى الفجل سنة ١٩٨٧ . ولقد وجد أن البكتيريا الوميضة تزيد إنتاج البطاطس من ٥–٣٣ ٪، وتزيد إنتاج بنجر السكر ٤–٨ أطنان للهكتار، وتسبب زيادة فى وزن جذور الفجل

٦٠-١٤٤٪. هذه السلالات والسلالات المشابهة لها أعطيت اسم مشجعات النمو النباتى الرايزوبكتيرية PGPR (ذكرت فى الفصل الأول من الكتاب). إن إصطلاح Rhizobacteria ابتكر للبكتيريا ذات المقدرة على استعمار الجذور بشكل كبير.

لقد اعتقد بأن PGPR تحسن نمو النبات، عن طريق استعمارها للجهاز الجذرى، واحتلال وإستيطان الجذور، أو تثبيط DRMO (الكائنات الدقيقة غير المتطفلة ولكنها ضارة فى منطقة الرايزوسفير) على الجذور. ولقد أثبتت بعض الدراسات أن PGPR تشجع نمو البطاطس بشكل أساسى عن طريق تثبيط DRMO المنتجة للسيانيد. ولقد ذكر فى هولندا أن زيادة إنتاجية البطاطس فى الحقل تكون ناتجة عن قابلية الـ PGPR فى تحسين نمو النبات. عند زراعة البطاطس فى الحقل مرة كل ثلاث سنوات، كان الإنتاج أقل بنسبة ١٠-١٥٪ عنه عند زراعتها مرة واحدة كل ستة سنوات، ويقل الإنتاج بنسبة ٣٠٪ عند زراعتها باستمرار فى الحقل. نفسه ولقد فسرت هذه الظاهرة بأن DRMO تحقق تجمعات مطلوبة للمرض فى وقت قصير وليس فى دورة زراعية طويلة. وهذا راجع لتأثير الدورة الزراعية.

كذلك فإن هناك سلالات من البكتيريا الوميضة *Pseudomonas* تثبط الكائنات الممرضة المتخصصة فى النبات. أهم الأمثلة على ذلك هو المقاومة الحيوية للمرض الماحق فى القمح Take-all disease. هذا المرض يصيب جذور القمح ويتسبب عن الفطر *Gaeu-mannomyces graminis* var. *tritici*. إن هذا المرض من أكثر الأمراض التى تصيب جذور القمح أهمية. بسبب عدم وجود مقاومة فى النبات العائل وأن المقاومة الكيماوية مكلفة إقتصادياً فقد اتجهت الدراسات المكثفة إلى المقاومة الحيوية باستعمال البكتيريا. فى سنة ١٩٨٣ عزل Weller & Cook البكتيريا الوميضة من جذور القمح النامية فى تربة مأخوذة من حقل حدث فيه انخفاض فى شدة المرض. يحدث انخفاض لهذا المرض (شكل من أشكال المقاومة الحيوية الطبيعية)، ويمكن توضيحه كنقص ذاتى فى شدة المرض وزيادة ملازمة فى الإنتاج بالزراعة الأحادية للقمح. لقد اختبرت البكتيريا الوميضة لمقاومة المرض الماحق، بسبب أن هذه البكتيريا يمكن أن يكون لها دور فى تخفيض المرض كنتيجة للدراسات الأولية. ولقد وجد أن البكتيريا *P. fluorescens* سلالة 2-79 (NRRLB-15132) بمفردها أو متحدة مع السلالة 13-79(NRRV B-15134) تثبط المرض على كل من القمح الربيعى والشتوى عند استعمالها كمعاملة بذور. كانت زيادة إنتاج القمح ١٧٪ فى التجار

و١١ ٪ فى الحقول التجارية. تكون نتيجة استعمال سلالتين أفضل من استعمال سلالة بمفردها بحوالى ٥٠ ٪. كما أن استعمال السلالة الثالثة 80-$R4_a$ (NRRL B-15133) تزيد فعالية المعاملة أكثر. إن اتحاد السلالات يمكن أن يحسن نشاط المكروفلورا الطبيعية فى تخفيض المرض. من سلالات البكتيريا PGPR، السلالة 79-2 فهى تستعمر الجذور بشدة، ويمكن أن تعزل من القمح المعامل خلال موسم النمو. عندما تضاف على شكل معاملة بذور فإن هذه السلالة تشكل ٥٠ ٪ من مجموع تجمعات البكتيريا الوميضة على الجذور الأولية لمدة شهرين بعد الإنبات. إن البكتيريا الوميضة التى تدخل فى PGPR وتلك التى تثبط الكائنات الممرضة المتخصصة لايمكن اعتبارها مجموعة منفصلة وظيفياً من البكتيريا. كثير من سلالات البكتيريا الوميضة تثبط كلاً من الكائنات الممرضة المتخصصة والثانوية.

اختيار البكتيريا المرشحة للمقاومة Selection of Candidate Bacteria

بسبب الوقت والتكاليف المطلوبة للتجارب الحقلية، فإن أفضل الطرق تكون مطلوبة لاختيار السلالات ذات الكفاءة والفعالية فى المقاومة الحيوية فى الحقل. إن بكتيريا الرايزوسفير مع مقدرتها على إحداث مقاومة حيوية، إلا أنه يبدو بأنها تشكل أقل من ١٠ ٪ من التجمعات الكلية للبكتيريا فى الرايزوسفير. إن فرصة اختيار سلالات فعالة يمكن أن تتحسن بداية عن طريق البكتيريا المعزولة، أولاً من البيئة نفسها التى سوف تستعمل فيها، فمثلاً، يمكن اختيار بكتيريا من رايزوسفير البسلة إذا كان الكائن الممرض المستهدف يسبب مرض الجذور فى البسلة. البكتيريا المعزولة من الأراضى ذات التأثير المثبط للكائنات الممرضة يمكن أن يزيد فى فرصة إيجاد سلالات فعالة، كذلك. هناك دليل واضح بأن البكتيريا الوميضة لها دور فى عملية كبح فى بعض الأراضى، لذبول الفيوزاريوم فى الكتان، الفجل والخيار، المرض الماحق فى القمح وعفن الجذر الأسود فى الدخان. تكون النسبة المئوية للبكتيريا الوميضة المثبطة للمرض الماحق، فى الاختبارات الحيوية فى الصوبا الزجاجية، أكثر، عندما تكون معزولة من جذور القمح النامية فى تربة كابحة أكثر منه فى الأراضى غير الكابحة.

نظراً لعدم وجود علاقة عامة بين مقدرة البكتيريا فى تثبيط الكائن الممرض فى المعمل وتثبيط المرض المتسبب عنه فى الحقل، فمن الممكن أن السلالات المنتجة لأكبر مساحة

تثبيط Inhibition zone على بيئة الآجار دائماً لاتكون هى الأفضل فى المقاومة الحيوية، وبالتالى عندما يكون هناك محاولات لتطوير نظام مقاومة حيوية، فإن التنقية الأولية للسلالات على بيئة الآجار قد لاتكون مفيدة.

يمكن أن يكون اختيار السلالات ذات التأثير الفعال فى الحقل، أكثر سهولة عن طريق استعمال اختبارات الصوبا الزجاجية. لقد تطورت طرق استعمال الصوبا الزجاجية لاختيار كائنات مضادة للفطر مسبب المرض الماحق فى القمح والفطر بثيم على القمح والبكتيريا *Er-winia Carotovora* على البطاطس و *Phytophthora megasperma* على فول الصويا. هناك قياسات مهمة فى الاختيار يعتمد عليها، مثل الطاقة اللقاحية للكائن الممرض، الظروف البيئة (الحرارة، ومحتوى التربة من الرطوبة) والجرعة من البكتيريا الخاضعة للاختبار. هناك طرق أخرى تستعمل فى اختيار السلالات تعتمد على مقدرة هذه السلالات فى استعمال الجذور، وكذلك على إدخال البكتيريا فى Spermosphere فول الصويا، بعد أن تكون قد أدخلت على البذرة أو فى التربة.

تشكيل عوامل المقاومة الحيوية البكتيرية Formulation of Bacterial Agents

تعتمد المقاومة الحيوية كما ذكرنا سابقاً، على التمكن والبقاء لتجمعات البكتيريا الأولية على المادة البذاتية أو فى التربة وعدم انخفاض حيويتها عن المستوى الذى يمكن أن تفقد عنده مقدرتها على المقاومة الحيوية. هناك كثير من عوامل التربة البيئية، تشمل الحرارة ورطوبة التربة، محتوى التربة من الطين clay، تؤثر على بقاء وتمكن البكتيريا وتفاعلها مع الكائن الممرض. إن الطريقة التى بها تزرع البكتيريا ثم بعد ذلك تعالج أثناء التصنيع، تؤثر على حيوية المنتج وتؤثر على تحمله للظروف المعاكسة عند تطبيقها عملياً. يكون تأثير العوامل التى تتعلق بحيوية اللقاح، أقل مع الجنس *Bacillus* منه مع البكتيريا سالبة لصبغة غرام، نظراً لأن Bacillus يكون جراثيم داخلية Endospores، وهذا ما يجعل هذا الجنس أكثر سهولة فى التشكيل. تعتبر طرق تشكيل عوامل المقاومة الحيوية البكتيرية سالبة غرام مشابهة لتلك التى تواجه تكشف الـ Rhizobia ، والتى تكون حساسة للجفاف والحرارة. إن كل من الـ *peat* والحاملات الأخرى التى تطورت للـ Rhizobia يمكن أن تكون مفيدة فى هذا المجال. إن تشكيلات الـ *peat* المحببة من البكتيريا الوميضة المعروفه تجاريا باسم

(Dagger TMG, Ecogen INC, Langhorne Pennsylvania) تظهر دليلاً لمقاومة الكائنات الممرضة للبادرات فى القطن. إن ربط البكتيريا فى Polymer gels مثل صمغ الـ xanthan أو alginate تكون ذات كفاءة أيضاً. لقد قام كل من Kloepper & Schroth سنة ١٩٨١ بتصنيع تشكيل جاف من سلالات PGPR للبطاطس عن طريق مزج البكتيريا مع صمغ الـ Xanthan ، ثم بعد ذلك يضاف التلك.

أسباب تعارض كفاءة عوامل المقاومة الحيوية البكتيرية:

إنه من المشجع حقاً أن هناك الآن عديداً من الأمثلة على المقاومة الحيوية بالبكتيريا فى الحقل، ولكن لسوء الحظ فإن هناك نتائج متضاربة عند استعمال نظم المقاومة الحيوية البكتيرية، عند مقاومة أمراض النبات، وهذا واضح فى جدول رقم١ . فمثلاً عند الاعتماد على إنتاج النبات كعامل قياسى لكفاءة عامل المقاومة الحيوية، فإنه يكون غير دقيق فى كثير من الحالات، حيث يبدو أن نمو النبات لايتحسن دائماً، وبالتالى فان مستوى كفاءة البكتيريا المستعملة يختلف كثيراً من تجربة لأخرى. كذلك فإن هناك عوامل كثيرة تؤدى إلى تضارب النتائج أهمها:

١ – فقد الكفاءة البيئية فى المناطقة المختلفة من التجارب.

٢ – غياب الكائن الممرض المستهدف.

٣ – تنوع استعمار الجذر بالبكتيريا.

١- فقد الكفاءة البيئية Loss of Ecological Competence

تعرف الكفاءة البيئة بأنها مقدرة البكتيريا على المنافسة والبقاء حية فى الطبيعة. إن كثيراً من الصفات البكتيرية تشارك فى الكفاءة البيئية فى الرايزوسفير، وفقد أية صفة يمكن أن يخفض مقدرة البكتيريا لتصبح متوطدة أو تعمل على/بالقرب من الجذر. بعض الصفات المهمة فى هذا الموضوع، يمكن أن تفقد عندما ينمى الميكروب البكتيرى فى المعمل. فمثلاً البكتيريا فى الطبيعة عند عزلها أول مرة تحاط بكبسولة من مادة Exopolysacc ha- (ESP) ride. هذه الكبسولة تزيد فى الكفاءة البيئية للبكتيريا، ولكن يظهر فى المعمل طفرات من هذه

جدول رقم ١ : عوامل المقاومة الحيوية البكتيرية الفعالة فى الحقل واختلاف تأثيرها.

عامل المقاومة الحيوية (البكتيريا)	المحصول	الكائن الممرض	عدد التجارب ذات النتائج المعنوية على مجموع التجارب	٪ متوسط زيادة الإنتاج	٪ مدى الزيادة
Bacillus pumilus	قمح	*G. graminis tritic*	١/٤	٣٥	صفر–١١٤
Pseudomonas sp. TL3	بطاطس	DRMO	٦/١١	١٠	–٧ إلى ٢٤
Pseudomonas sp. SH-5	بنجر سكر	DRMO	٥/٩	١٢	–٣ إلى ٣٢
Pseudomonas putide W4p63	بطاطس	*Erwinia carotovora*	١/٣	٧	صفر إلى ١٢
Pseudomonas fluorescens E6	زينيا	DRMO	١٩/٢٣	٣٦	–٣ إلى ٣٦
Pseudomonas *fluorescens* 2-74	قمح	*G. graminis* tritici	٢/٣	١٧	٦ إلى ٢٧
Pseudomonas fluorescens 13-79	قمح	*G. graminis* tritici	٦/١٠	١١	–١ إلى ٢٥

obeikandl.com

البكتيريا تفتقد إلى هذه الكبسولة، هذه الطفرات التى تفتقد إلى الـ EPS تسود أخيراً فى المزرعة، وذلك لأنها تتكاثر بسرعة. مثل هذه الطفرات يمكن أن تكون أقل مقدرة على البقاء حية عندما تستعمل كعوامل مقاومة حيوية. كذلك فإن تكرار زراعة بعض أنواع البكتيريا الوميضة فى العمل، يمكن أن يؤدى إلى فقد الكفاءة البيئية، من المحتمل أن يكون ذلك متعلقاً بتغيرات فى الخلية والصفات المورفولوجية للمستعمرة أو فقد تركيبات معينة على سطح الخلية أو خفض فى مقدرة إنتاج الأجسام المضادة والسايدروفورز. وبالتالى يجب مراعاة هذه الحالات عند اختيار جنس من البكتيريا للمقاومة الحيوية، والبعد عن الوسائل التى تؤدى إلى خفض الكفاءة البيئية عند إجراءات الدراسات المعملية أو التطبيق الحقلى.

٢- غياب الكائن الممرض المستهدف Target Pathogen Absent

نظراً لأن عوامل المقاومة الحيوية البكتيرية تحدث تحسناً فى نمو النبات، عن طريق خفض الاضرار المتسببة عن الكائن الممرض، وإن الاستجابة الموجبة لدخولها لاتحدث عندما يكون الكائن (الكائنات) الممرض المستهدف غير موجود، أو عندما تكون الظروف البيئة غير ملائمة لتكشف المرض. لقد تم توضيح هذه الأمور عن طريق الدراسات على PGPR على البطاطس فى هولندا، وقد سبق ذكر ذلك فى الصفحات السابقة. عند دراسة PGPR خاصة سلالات البكتيريا الوميضة *P. fluorescens* المسماة WCS 374 و *P. putida* سلالة WCS 358 وسلالات أخرى تحسن نمو البطاطس وإنتاجها فى الدورة الزراعية القصيرة وليست الطويلة، كذلك وجد أن كفاءة سلالات *PGPR* يمكن أن تظهر متعارضة جداً إذا لم يوضع تاريخ حياة المحصول فى عين الاعتبار. وبالمثل فإن متوسط زيادة الإنتاج فى الفول السودانى المعامل بالبكتيريا *B. subtilis* سلالة A13 يكون ١٢ ٪ فى الحقول ذات الدورة الزراعية القصيرة (زرعت البقوليات مرة أو مرتين فى السنوات السابقة). أما فى الحقول التى لم تزرع بقوليات فى السنتين السابقتين، كانت نسبة الزيادة ٣,٤ ٪ أما عن تأثير الكائنات الممرضة الأخرى غير الكائن الممرض المستهدف فهذه لها تفسير آخر، وهو إذا كانت البكتيريا تثبط كائن ممرض واحد ويصبح الآخر سائداً، فإن هذه العاملة تبدو وكأنها غير فعالة. ولقد تبين أن الفشل فى الحصول على استجابة معنوية لنمو القمح باستعمال البكتيريا الوميضة سلالة Q72a-80 لمقاومة عفن الجذور المتسبب عن الفطر بثيم، قد حصلت

بسبب أن الفطر *R. solani* سلالة AG-8 قد وجدت أيضاً ، وأن البكتيريا الوميضة غير فعالة ضد عفن الجذر الرايزوكتونى، وبالتالى فإن تفهم دور الكائنات الممرضة فى النظام الزراعى الخارجى والظروف التى تناسب كل منها ضرورى جداً.

٣- تنوع استعمار الجذر بالبكتيريا

Variable Root Colonization By Bacteria

بشكل عام، فمن المفروض أن استعمار الجذور بواسطة البكتيريا المدخلة، يكون أساسياً للمقاومة الحيوية للكائنات الممرضة للجذر، وتزيد تجمعات البكتيريات المدخلة على الجذر، هذه التجمعات الجديدة والتى ازدادت أعدادها، هى التى تزيد مقاومة المرض. ولسوء الحظ هناك دراسات قليلة أجريت لمحاولة تقدير حجم التجمع البكتيرى على تجمع الكائن الممرض وعلى شدة المرض فى الجذور. لقد قام كل من Xu & Gross سنة ١٩٨٦ بإضافة *P. putida* سلالة W4P63 على أجزاء تقاوى البطاطس ومراقبة تجمعاتها، وتلك التى للبكتيريا *Erwinia Carotovora* على الجذور فى الحقل. تبين أن تجمعات السلالة W4P63 تتراوح ما بين $١٠^{٤}$ و $١٠^{٥}$ وحدة تكوين مستعمرات (Cfu) لكل غرام جذر، بينما تجمعات البكتيريات *E. carotovora* على هذه الجذور نفسها، يكون ١٠ ٪ فقط من تلك التى على الجذور ذات السلالة W4P63. عند معاملة حبوب القمح بجرعات عالية من البكتيريا الوميضة *P. fluorescens* سلالة 2-79 بتركيزات ($١٠^{٢}$ ، $١٠^{٤}$ ، $١٠^{٦}$ ، $١٠^{٨}$) وحدة تكوين مستعمرات/حبة ثم زرعت هذه الحبوب فى تربة طبيعية ملوثة بالكائن الممرض المسبب للمرض الماحق فى القمح، يكون هناك علاقة خطية مباشرة بين الجرعة من السلالة 2-79 على الحبة والتجمعات للسلالة 2-79 التى تكشفت على الجذر. زيادة على ذلك كانت هناك علاقة عكسية بين تجمعات 2-79 على الجذر وعدد بقع المرض. إن الدراسة التى أجريت بواسطة Bull سنة ١٩٨٧ أعطت نتائج مقنعة بأن مدى المقاومة الحيوية للمرض الماحق يتعلق مباشرة باستعمار الجذر.

إن نماذج الاستعمار المكانى المؤقت للبكتيريا المدخلة على الجذور المفردة، تعطى أفضل تحليل لمقدرة استعمار السلالة، ثبات المجموعة على الجذر ومدى الاستعمار. مثل هذه النماذج نادرة التحديد، بسبب الدراسات المعملية الكثيفة والبعد عن الدراسات الحقلية، بدلاً من التجمعات البكتيرية على الجذور، عادة ما تحدد عينات مأخوذة من مركز تجمع الجذور.

هذا النوع من تحديد العينات يؤدى إلى تقدير مغالٍ فيه لمتوسط التجمع للبكتيريا المدخلة، نظراً لأن تجمعات البكتيريا تكون أطول من الحجم الطبيعى، مفضلاً ذلك على التوزيع الطبيعى بين أجهزة الجذر فى النباتات المختلفة وبين الجذور المفردة فى النبات الواحد. تجمعات سلالات PGPR المدخلة *A1* أو SH5 على أجهزة الجذور أو على بادرات البطاطس أو بنجر السكر المفردة تختلف فى مقدار لايتجاوز ١٠-١٠٠. أما تجمعات البكتيريا الوميضة سلالة 79-2 على الجذور المفردة لنبات القمح تختلف أيضاً بحدود ١٠٠٠ ضعف، وإن ٢٠-٤٠٪ من هذه الجذور لم تكن مستعمرة لمدة أربعة أسابيع بعد الزراعة. حتى على الجذر المفرد فإن تجمعات البكتيريا المدخلة يمكن أن تختلف لعدة أضعاف على طول محور الجذر مع وجود أكبر تركيز بالقرب من مصدر اللقاح ويقل باتجاه قمة الجذر. عندما تجمع العينات، فإن النظام الجذرى أو الجذر ذا التجمع الأكبر يعطى عدداً غير متجانس من البكتيريا فى المتوسط ويعطى إدراكاً بأن استعمار الجذر يكون أفضل مما حدث.

إن اختلاف مقدرة البكتيريا المدخلة على استعمار الجذر، سواء كان بالنسبة للنبات الواحد (إذا قيس بنبات آخر) أو بالنسبة لجذر دون الآخر على النبات نفسه، ومن المحتمل أن يكون السبب الرئيسى فى تعارض نتائج المقاومة متعلقا بعوامل المقاومة الحيوية.

استعمار الجذر Root Colonization

مقدمة:

لكى تكون البكتيرية الواحدة المدخلة إلى الجذر مستعمرة له، كم يجب أن يكون من الجذر مستعمرة ولكم من الزمن؟؟ ماحجم التجمع الذى يجب أن تصل إليه؟؟. إن الأدلة المؤكدة لاستعمار الجذر غير متوفرة، وإن الدليل المؤكد على استعمار أحد الكائنات للجذر وظروف هذا الاستعمار، لايناسب جميع نظم المقاومة الحيوية، وهذا يجعل صعوبة تعميم أساليب استعمار الجذر بين كل الكائنات الدقيقة. لقد قام Scher *et al* سنة ١٩٨٤ بتعريف مستعمرات جذور الذرة على أنها البكتيريا التى تبلغ أكثر من ٥ x $١٠^{٣}$ غرام/جذر.

وهناك تعريف آخر يقول بأن مستعمرة الجذر هى البكتيريا الواحدة التى عند إدخالها فى الجذر تصبح على طول الجذر فى التربة الطبيعية، تتكاثر، تبقى حية لعدة أسابيع فى وجود

تنافس من مكروفلورا الرايزوسفير الطبيعية. هذا التعريف يستبعد البكتيريا التى تكون قد انتقلت من الرايزوسفير، أو تلك التى تستطيع أن توطد نفسها على الجذور فى غياب التنافس فقط.

لقد اتفق العلماء على استعمال اصطلاح استعمار الجذر Root colonization، بأن يشمل استعمار الجذر داخلى وعلى السطح بالإضافة إلى تربة الرايزوسفير بواسطة البكتيريا المدخلة، وبحيث لاتكون البكتيريا مقتصرة على مكان محدد.

لقد استعمل كل من Ahmed & Baker سنة ١٩٨٧ إصطلاح الكفاءة الرايزوسفيرية Rhizosphere Competense لوصف مقدرة عوامل المقاومة الحيوية على أن تنمو وتعمل فى الرايزوسفير. كذلك فإن الكفاءة الرايزوسفيرية من الممكن أن تعرف بأنها المقدرة النسبية على استعمار الجذر. وبالتالى فإن الكفاءة الرايزوسفيرية تختلف بين سلالات البكتيريا، فإن السلالة غير القادرة على استعمار الجذر، تسمى غير ذات كفاءة رايزوسفيرية، أو ذات كفاءة رايزوسفيرية منخفضة. يمكن تحديد الكفاءة الرازيوسفيرية رقمياً عن طريق قياس التجمعات التى تصل إليها على الجذر و/أو بواسطة تحديد الطول أو عدد الجذور المستعمرة، وبالتالى يمكن مقارنة السلالات على هذا الأساس. تكون السلالة ذات الكفاءة الرايزوسفيرية العالية أكثر تواجداً على الجذور وفى منطقة الرايزوسفير، وهذا يزيد من فعاليتها فى المقاومة الحيوية أكثر من تلك البكتيريا ذات الكفاءة الرايزوسفيرية المنخفضة.

عملية استعمار الجذر The Process of Root Colonization

لقد افترض Howie *et al* سنة ١٩٨٧ أن استعمار جذور القمح بواسطة البكتيريا *P. flu-orescens* يحدث فى طورين: فى الطور الأول تلتصق البكتيريا مع الجذر، وبعدئذ تنتقل على طول قمة الجذر، وفى الطور الثانى تنتشر البكتيريا موضعياً وتتكاثر إلى حدود تجعلها ملائمة وقادرة على المنافسة مع الكائنات الدقيقة الطبيعية الأخرى وتبقى حية معها، هذه العملية يمكن أن تطبق على نظم المقاومة الحيوية الأخرى.

يبدأ الطور الأول عندما تصبح البكتيريا المدخلة على البذور أو أجزاء التقاوى مرتبطة مع الجذور المنبتة. بعض أنواع الالتصاق مع خلايا سطح الجذر يكون أساسياً لابتداء الطور الأول ويمكن أيضاً أن يؤمن زيادة إفرازات الجذر الأولية. كلما استطال الجذر، تحمل بعض البكتيريا

على طول هذا الجذر مع امتداد القمة، بينما البعض الآخر يبقى فى الخلف وتكون كمصدر للقاح على الأجزاء القديمة من الجذر. يكون التكاثر البكتيرى على قمة الجذر مثالياً ويسمح بانتقال البكتيريا على طول الجذر، كلما نمت الجذور ولكن دون تكاثر لهذه البكتيريا، يمكن أن يستمر الانتقال حتى يصل اللقاح الأول الموجود على قمة الجذر إلى تركيز منخفض جداً. هناك أدلة على حدوث هذا الطور، تشمل الملاحظات التى ذكرها Bull سنة ١٩٨٧، بأن البكتيريا المأخوذة من البيئات الملائمة المختلفة مثل البكتيريا *P. fluorescens* سلالة 2-79 و$Q72_a$-80 (وهما عوامل مقاومة حيوية معزولة من جذور القمح) أما *E. coli*، *P. syringae*، *X. campestris*، *E. Carotovora* و *E. herbicola* (وهى ليست عوامل مقاومة حيوية) تلتصق بالتساوى مع جذور القمح. زيادة على ذلك، بعد أن يكون قد تم إضافتها إلى حبوب القمح وبعد أن تكون البذرة قد زرعت فى تربة طبيعية، فإن هذه البكتيريا قد اكتشفت على طول الجذر (فى غياب الماء الراشح) بأعداد متساوية تقريباً بعد أربعة أيام من الزراعة. أخيراً فإن تجمعات جميع السلالات على طول الجذور المفردة تنخفض بانتظام من البذرة إلى القمة.

يكون انتقال البكتيريا عن طريق قمة الجذر، أحياناً، غير فعال، وأن القمم لاتصبح دائماً (أو تبقى) مستعمرة. لقد قام العالم Bull سنة ١٩٨٩ بتقسيم الجذور الرشيمية الخارجة من حبوب القمح المعاملة بالبكتيريا الوميضة سلالة 2-79 فوراً بعد إنباتها ولم يستطع أن يكتشف هذه البكتيريا على ٢٠-٤٠ ٪ من الجذور الرشيمية المفردة. إن فقد البكتيريا المدخلة من القمة يمكن أن يحدث نتيجة إزالة فيزيائية مثل:

١- تحرك قمة الجذر أو احتكاكها مع حبيبات التربة.

٢- إدمصاصها على حبيبات التربة.

٣- المنافسة مع البكتيريا الطبيعية فى التربة.

يمكن أن يكون النقص الأولى فى اعداد البكتيريا، نتيجة لعدم مقدرة البكتيريا فى الوقت نفسه الذى تنتشر فيه على قمة الجذر، على التكاثر بسرعة كافية لتحافظ على نسبة التقدم مع قمة الجذر والتى تمتد بسرعة خلال التربة ٢-٩ ملم/يوم ، عن طريق استطالة الخلايا فى منطقة الاستطالة (١٠-٢٠ مرة من طولها الأصلى).

يكون المصير النهائى للبكتيريا المدخلة، بأن تسيطر إلى حد كبير على طول الجذر عن طريق مقدرتها على المنافسة مع المكروفلورا الطبيعية خلال الطور الثانى. البكتيريا المؤهلة للرايزوسفير سوف تتكاثر وتبقى حية على الجذر، حيث إن البكتيريا غير المؤهلة للرايزوسفير تختفى بسرعة. باستعمال البكتيريا نفسها الموصوفة سابقاً لمعاملة حبوب القمح، فإن العالم Bull أظهر أنه بعد ١٤ يوماً، فإن تجمعات عوامل المقاومة الحيوية (سلالات البكتيريا الوميضة) تكون أكثر من هذه البكتيريات التى هى ليست عوامل مقاومة حيوية على الجذور فى التربة الطبيعية، ولكن تجمعات جميع السلالات تكون تقريباً بالمستوى نفسه على الجذور فى التربة المعقمة. لقد ذكر كل من Dupler & Baker سنة ١٩٨٥ أن *P. putida* سلالة N-IR تستعمر رايزوسفير جذور الفجل بأقل فعالية عندما تضاف البكتيريا إلى تربة نشيطة حيوياً منه عندما تكون التربة نفسها مجففة هوائياً قبل الاختبار لتخفيض كفاءة الكائنات الحية الدقيقة، قد يكون التنافس أكبر فى التربة السابقة.

من المحتمل أن يكون للمغذيات، تأثير أكبر من المكان فى العوامل المحددة للتنافس بين البكتيريا أثناء استعمار الرايزوسفير. تظهر الملاحظات المباشرة المأخوذة عن الجذور من التربة، أن معظم سطح الجذر يكون مكاناً مفتوحاً ويبقى غير مستعمر. تميل البكتيريا لأن تتجمع فى الأثلام بين الخلايا حيث من المحتمل أن تكون المغذيات أكثر توافراً. ونظراً لأن مقدرة الاحتمال للجذر تكون محدودة، فإن أية سلالة مدخلة يجب أن تحتل أماكن البكتيريا الطبيعية المتوطدة على الجذر، إذا أرادت أن تصبح متمكنة فى الجذر، وبالتالى كاستجابة للسلالة المدخلة فى التجمعات الكلية للكائنات الدقيقة فى الرايزوسفير يمكن أن لاتتغير، ولكن إلى حد ما فإن تركيب المجموعة يتغير.

العوامل المؤثرة على استعمار الجذر:

يكون توزيع البكتيريا المدخلة، على طول الجذر خلال الطور الأول، أما تكاثرها وبقاؤها حية فيكون خلال الطور الثانى وكلاهما يتأثر كثيراً بالعوامل الحيوية وغير الحيوية. لقد درس Howie *et al* سنة ١٩٨٧ كفاءة استيعاب الرايزوسفير على الطورين الأول والثانى لاستعمار جذور القمح عن طريق البذور المعاملة بالبكتيريا الوميضة سلالة 79-2. تتكشف أكبر

تجمعات على الجذور على (-٠,٣) Bars (البار هو وحدة لقياس الضغط يساوى مليون داين/سم٢) فى تربة، وعلى (-٠,٧) بار فى تربتين آخرتين. لقد اقترح بان (-٠,٣ إلى -٠,٧) هو المدى الذى يتوفر فيه الأكسجين وتكون كفاءة انتفاخ الخلايا و/أو توفر المغذيات فى الوضع النموذجى لنمو خلية البكتيريا. تنتشر السلالة 2-79 من البذور إلى الجذور حتى فى التربة على كفاءة استيعاب (-٠,٤) بار وأن الاتجاه إلى أسفل يمكن أن يحدث فى الاتجاه تحت التربة إلى (-٠,٧) بار. يمكن أن تتكشف على (-٠,٤) بار وأقل حيث يعتقد بأنه يظهر أساسيات الطور الأول؛ نظراً لأنه من المحتمل بأن الخلايا ستكون غير قادرة بأن تبقى كفاءة الانتفاخ للنمو على مثل كفاءة القبول. من وجهة نظر عملية، إنه لمن المشجع أن البكتيريا المدخلة يمكن أن تنتشر من الأجزاء الثابتة الصغيرة (البذور) الحبوب، أجزاء التقاوى) إلى الجذور زيادة عن مثل هذا المدى الواسع من كفاءة القبول.

إن انتقال البكتيريا على طول الجذير المستطيل (الطور الأول) لايتطلب ماءً راشحاً، مع ذلك، مثل هذا الماء يزيد الحركة البكتيرية. فى التجارب الحقلية الممتازة، راقب كل من Schroth & Bahme سنة ١٩٨٧ البكتيريا الوميضة المضافة إلى أجزاء التقاوى خاصة السلالة A1-B على جذور البطاطس قبل وبعد الرى. يحرك الماء خلايا A1-B من أجزاء التقاوى إلى التربة ويعيد انتشار هذه التجمعات من A1-B التى تكون قد توطدت على الجذور قبل الرى، والذى يؤدى إلى زيادة التجمعات قرب قمم الجذور. هذه الأبحاث تؤكد بأن الماء الراشح يمكن أن يقوم بتجديد تجمعات الخلايا المدخلة على قمة الجذر.

إن فضل درجة حرارة لنمو البكتيريا الوميضة *P. putida, P. fluorescens* هى ٢٥-٣٠°م ولكن استعمار الجذور بهذه البكتيريا يكون عادة أكبر على درجة حرارة ٢٠°م. يزداد النشاط الميكروبى فى التربة كلما إنخفضت حرارة التربة، وبالتالى فإن أفضل استعمار يكون عادة على درجات حرارة منخفضة، هذا من المحتمل أن يعكس انخفاض التنافس من قبل المكروفلورا الطبيعية.

أما بالنسبة لرقم الـ pH، فإن نمو البكتيريا السابق ذكرها يظهر سلوكاً متشابهاً على درجات حموضة مختلفة، بينما نجدها تميل لأن تنمو أفضل فى المعمل على رقم pH متعادل أو أعلى قليلاً. يكون استعمار جذور القمح بالبكتيريا الوميضة سلالة 2-79 أكثر شدة فى

الرايزوسفير على رقم pH (٦–٦,٥) أكثر منه على رقم ٧ أو أعلى، من المحتمل أن يكون ذلك لانخفاض المنافسة من قبل بكتيريا الرايزوسفير الطبيعية على حموضة عالية.

كذلك فإن جينوتايب النبات يؤثر على نوعية وتركيب مكروفلورا الرايزوسفير، من الممكن أن يكون ذلك عن طريق الإفرازات المختلفة فى الجذر والتداخل فى جينوتايب العائل يمكن أن يعطى بعض الصلاحية لتحسين فعالية أو ثبات استعمار الجذر عن طريق البكتيريا المدخلة. مثلاً القمح طراز S-615 وطراز Rescue، كلاهما قابل للإصابة بمرض عفن الجذر العادى، حديث تختفى أعداد كبيرة من بكتيريا الرايزوسفير أكثر منه فى الطراز Apex المقاوم للمرض، يمكن أن يكون للجينات تدخل كبير فى هذا الموضوع. زيادة على ذلك فإن تجمعات بكتيريا الرايزوسفير الطبيعية على الطراز S-A5B تكون أيضاً مشابهة لما فى الطراز Apex. الطرز المقاومة تحتوى نسبة مئوية أعلى من البكتيريا التى تضاد *Cochliobolus sativus* منه فى الطرز القابلة للإصابة. من هذا يتبين أن استعمار الجذر يتأثر بجينوتايب العائل.

يمكن للكائنات الدقيقة الطبيعية أيضاً ، أن تزيد استعمار الجذر بالبكتيريا المدخلة. إن تجمعات البكتيريا سالبة غرام الطبيعية *Pseudomonas* sp. ومنها *P. fluorescens* المعاملة بها حبوب القمح تكون أكثر على الجذور المصابة بالفطر مسبب المرض الماحق فى القمح منه على الجذور السليمة. أظهرت الدراسات بالميكروسكوب الالكترونى أن البكتيريا تتكاثر فى بقع الإصابة، من المحتمل أن يكون ذلك بسبب التوفر الكبير للغذاء فى هذه الأماكن الدقيقة الحجم. يمكن للبكتيريا الوميضة المدخلة أن تشجع الى مدى كبير أكثر منه فى حالة البكتيريا الطبيعية حتى فى البقعة الواحدة من المرض الماحق، يمكن أن تشجع تجمعات البكتيريا الوميضة سلالة *2-79* عشرة أضعاف فى كل ١ سم من الجذر. هذا له دلالة عملية، نظراً لأن الأنسجة المصابة تكون حيث يحتاج إلى البكتيريا المثبطة أكبر. استعمار البقع يزيد الوقاية ضد الانتشار الثانوى للفطر مسبب المرض الماحق فى القمح على الجذور.

العوامل المؤثرة على الكفاءة الرايزوسفيرية:

بجانب البيئة المناسبة للرايزوسفير، فان الاستعمار الناجح للجذر يتطلب أن تكون للبكتيريا المدخلة كفاءة رايزوسفيرية، ذات صفات تتدخل فى الإلتصاق، التوزيع، النمو

والبقاء حية. الصفات البكتيرية التى تشارك فى الكفاءة الرايزوسفيرية عديدة، ولكن أهمها يذكر فيمايلى:

١- السكريات العديدة لسطح الخلية

السكريات العديدة الموجودة على سطح الخلية البكتيرية، تكون مطلوبة لبعض أنواع البكتيريا المرافقة للنبات، لتقوم بتوطيد نفسها بها. هناك كثير من عديدات التسكر المختلفة الموجودة على سطح الخلية، تكون مهمة فى التصاق البكتيريا *A. tumefaciens* على خلية النبات (تعتبر الخطوة الأولى فى المرضية)، وفى عقد البقوليات المتسببة عن رايزوبيوم Rhizobium. كذلك يمكن أن تكون الليبفات السليلوزية هى المثبتة للبكتيريا (التدرن التاجى) على سطح الخلية النباتية، ويمكن أن تكون وسيطة لالتصاق *Rhizobium leguminosarum* على الشعيرات الجذرية فى البسلة. هناك بكتيريا أخرى مثل *Pseudomonas* sp. تنتج ليبفات سليلوزية مشابهة لتلك الليبفات. هناك سلالات من بكتيريا التدرن التاجى الحاملة طفرات فى أى من tow chromosomal فى مركز الشدة، ويشار إليها chvA و chvB ضعيفة الالتصاق وغير شديدة. إن تواجد chvB مطلوب لبناء السكريات العديدة خارج الخلية، وحلقة 1,2-B-glucan. التواجد المتماثل بين جينات chvA للبكتيريات *A. tumefaciens* والـ DNA من *Azospirillum brasilense* و *A. lipoferum*، الحرة الحياة، البكتيريا المثبتة للنيتروجين هى التى أيضاً تلتصق مع سطح الجذر. إن الـ Cosmid library للبكتيريا *A. brasilense* يكون مكملاً لطفرات *R. meliloti* التى تفتقر إلى إنتاج ESP سسنوجلايكان، وهو من السكريات العديدة الخارجية المطلوبة لتعقد *Rhizobium*. هذه الدراسات أدت إلى القول بأن الأطوار المبكرة فى التفاعل بين *Azospirillum* وجذور النبات، يمكن أن تحمل التشابه نفسه لتلك التى تحدث مع *Rhizobium, Agrobacterium*. هذه المتشابهات من الممكن أن تمتد إلى تلك البكتيريا القادرة على المقاومة الحيوية.

إن البكتيريا الموجودة فى البيئات الملائمة المختلفة، تشمل الرايزوسفير، لاتكون عادة محاطة بواسطة EPS الذى يربط الخلايا مع بعضها البعض، وبالتالى يتوسط فى تكوين المستعمرات الصغيرة. إن الـ EPS يحفظ الخلية من الجفاف ومن العوامل المضادة للبكتيريا ومن المفترسات، ويسعف الخلايا عن طريق تركيز المغذيات والأيونات. مثل هذا التركيب من المحتمل أن يكون مساعداً للبكتيريا المدخلة فى منع استبدالها بالكائنات الحية الدقيقة المطلوبة.

٢- الأهـــداب Fimbriae

هذه التركيبات البروتينية أو الزوائد الخيطية تعمل فى الربط البكتيرى مع الخلايا الحيوانية والسطوح الجامدة. كذلك فإن الأهداب تتوسط فى التصاق السلالات المثبتة للنيتروجين فى *Enterobacter, Klebsiella* لجذور الأعشاب والنجيليات، هذا يساعد فى توطيد هذه البكتيريا المرافقة للنبات. لقد لاحظ كل من Vesper & Bauer سنة ١٩٨٦ على كل من *Rhizobium trifolii* و *Bradyrhizobium japonicum*، أن هذه الأهداب هى التى تلعب دوراً فى الالتصاق، وقد قرر العالمان أن هناكعلاقة بين عدد الخلايا المهدبة فى المجموعات البكتيرية وعدد الخلايا التى يلتصق بها فى جذور فول الصويا. إن حدوث أى طفرة فى البكتيريا *B.Japonicum* والتى تؤدى إلى زيادة النسبة المئوية للخلايا المهدبة فى تجمعاتها، يظهر فيها نسبة عالية من الخلايا الملتصقة بالجذور وتتحسن صفة استعمار الجذر. إن السلالة البكتيرية (المثبطة لمسبب المرض الماحق فى القمح) *P.fluorescens* سلالة 2-79 تنتج أهداب تقوم بدور هام فى التصاق البكتيريا مع جذور الذرة، ويمكن أيضا أن تتدخل فى نقل الطور الأول على جذور القمح.

٣- الأســـواط Flagella

تظهر وظيفة الأسواط فى حركة البكتيريا فى التربة وعلى طول الجذر. بغض النظر عن وظيفتها، فمن غير المحتمل أن هذه الحركة التى تتم بواسطة الأسواط، يمكن أن تحدث فى التربة التى تكون أجف من (-٠,٥) بار، بسبب أن الغشاء المائى يصبح رقيقاً جداً وأن الماء المالىء للمسامات يكون صغيراً جداً وغير مستمر. لقد وجد Howie *et al* سنة ١٩٨٧ أن الطفرات الناتجة من البكتيريا الوميضة، غير ذات الأسواط مثل السلالات 80R- $R7_z$ و $R1_a$ 80R- و $R4_a$ -80R تستعمر جذور القمح فى نوعين مختلفين من الأراضى إلى الدرجة نفسها كما فى الأنواع الأصلية على مدى ٠,٢ بار (مناسب للحركة) و (-٢,٠) غير مناسب للحركة. هذه النتائج تدل بوضوح على أن الأسواط غير أساسية للحركة البكتيرية على طول جذور القمح. وبطريقة مماثلة فإن *P.putida* سلالة RW3 والطفرة غير ذات الأسواط Tns المستعملة كمعاملة بذور تكشف إلى تجمعات مماثلة على جذور فول الصويا. وعلى النقيض من ذلك فلقد ذكر De Weger *et al* سنة ١٩٨٧ أن هناك أربع طفرات من السلالة Tns غير متحركة من البكتيريا الوميضة WCS374 المضافة إلى جذور ذات طول ١ سم الناتجة من

أجزاء تقاوى البطاطس، أعطت تجمعات منخفضة بشكل واضح عن السلالات الأصلية على الجذور على عمق ٨ سم. ولقد لخصوا أبحاثهم بأن الحركة مطلوبة لاسعمار جذور البطاطس النامية. يبدو من تناقض هذه النتائج أن هناك احتياطات يجب أخذها بعين الاعتبار عند إجراء هذه التجارب.

٤- الانجـــذاب الكيمـــاوي Chemotaxis

فى الأراضى ذات الكفاءة المناسبة للحركة، فان الانجذاب الكيماوى نحو البذور أو إفرازات الجذر، يمكن أن يساهم فى مقدرة البكتيريا على استعمار الجذور. قد يكون الانجذاب الكيماوى مهماً بشكل خاص عندما تكون البكتيريا مضافة إلى التربة أو فى حفر البذور (الأخاديد)، وبالتالى لاتكون فى البداية على اتصال مع النبات. ذكر Scher *et al* سنة ١٩٨٥ أن هناك انجذاب كيماوياً للبكتيريا الوميضة لإفرازات بذور فول الصويا فى التربة المشبعة بالماء. لقد وجدوا أن البكتيريا *P. putida* سلالة RW1 تتحرك مسافة ١سم باتجاه بذور فول الصويا فى ١٢ ساعة. كما تبين فى الدراسة المعملية أن *Azospirillum lipofer-um*، تظهر الانجذاب الكيماوى لإفرازات جذور القمح وإلى السكروز فى طبق بترى. أما فى التربة المعقمة والتى هى بالقرب من كفاءة السعة الحقلية، فإن البكتيريا *A. brasilense* سلالة Cd والبكتيريا الوميضة سلالة 82011، كل منها يهاجر عدة سنتيمترات باتجاه جذور القمح، ولكن حركتها تكون أقل، فى التربة، عندما لايكون هناك جذور للقمح. كذلك وجد أن الرايزوبيا تنجذب إلى بعض المواد الموجودة فى إفرازات جذور النبات.

بالتالى يمكن القول بأن الانجذاب الكيماوى يساعد فى توجيه البكتيريا إلى موطن الإصابة. لقد ذكر كل من Solby & Bergman سنة ١٩٨٣ أن الطفرات المتحركة وليست المنجذبة كيماوياً من *R. meliloti* فى التربة المعقمة تنتشر أكثر، بنسبة بسيطة، عن الطفرة غير المتحركة وأكثر ضعفاً من السلالة الأصلية. إن البكتيريا الوميضة و *P. putida* تنجذب إلى بعض المواد المفرزه من كونيديات *Cochliobolus victoriae* والأجسام الحجرية للفطر *Macrophomina phaseolina*.

٥- تحمل الضغط الأسموزي Osmotolerance

إن صفة تحمل ظروف التربة الجافة والكفاءة الأسموزية المنخفضة، يمكن أن تساعد فى بقاء البكتيريا حية فى منطقة الرايزوسفير. مع الثبات النشيط فى المناطق ذات الرشح المائى

العالى، فإن كفاءة النبات على تحمل الانحرافات فى التربة المغطية للجذر، يمكن أن تصبح منخفضة جداً خلال فترات النتح العالية. فى بعض الدراسات على البكتيريا المقاومة للجفاف (هذه البكتيريا تبقى حية لمدة ١٥ يوماً على الأقل فى الجفاف) والبكتيريا الحساسة للجفاف (هذه البكتيريا تموت خلال ١-٤ أيام تحت الظروف الجافة)، ظهرت السلالات المقاومة بشكل عام لتحمل ضغط اسموزى أكبر من تلك السلالات الحساسة. لقد ذكر Loper *et al* سنة ١٩٨٥ أن هناك علاقة بين التحمل الأسموزى وحجم التجمع لثمانية سلالات من البكتيريا الوميضة على جذور البطاطس. وعلى النقيض من ذلك، فقد وجد بعض الباحثين أن البكتيريا *P. putida* سلالة MK280 والطفرة الحساسة للأسموزية تستعمر جذور القطن النامية فى تربة على (-١,٨) بار بالتساوى تماماً. إذا كانت السلالات المتحملة للأسموزية تساعد فى البقاء على قيد الحياة لبعض البكتيريا المدخلة على الجذور، فمن المحتمل أن تزيد فى البقاء على قيد الحياة عن طريق تكشف سلالات منتجة لكميات كبيرة من الـ proline. إن هذه المادة الواقية للأسموزية Osmoproectant فى البكتيريا *Salmonella typhimuri-um* وكائنات حية دقيقة أخرى. بعض الطفرات المنتجة لكميات كبيرة من الـ proline من البكتيريا السابقة و *E. coli* و *K. pneumoniae* تكتسب زيادة التحمل للأسموزية.

٦- إستعمال الكربوهيدرات المعقدة Complex Carbohydrate Utilization

مع أن معظم إفرازات الجذر يمكن تمثيلها فوراً بواسطة البكتيريا المدخلة إلى التربة طبيعياً، إلا أن قليلاً من الكائنات الحية الدقيقة يمكن أن تحلل المادة الهلامية المغطية لقمة الجذر والتى تتكون (بشكل جزئى) من كربوهيدرات معقدة مثل السليلوز، الهميسليلوز والبكتين. إن المقدرة على استعمال هذه الكربوهيدرات يمكن أن يزيد الكفاءة التنافسية فى البكتيريا المدخلة، نظراً لأنها تسمح بفعالية أكثر فى استعمار قمة الجذر خلال الطور الأول. الطفرات الناتجة من الفطر *T. harzianum* ذات القدرة الكبيرة على إفراز إنزيم السليوليز، لها قدرة كبيرة فى منافسة الرميات والكائنات ذات الكفاءة الرايزوسفيرية العالية، بمقارنتها مع الأنواع الأصلية. مثل هذه الطفرات يمكن أن تكون أكثر منافسة بسبب زيادة استعمال السليلوز الموجود على الجذر.

ميكانيكية تثبيط الكائن الممرض

ذكر هذا الموضوع فى الفصل الأول من الكتاب.

ثالثاً: المقاومة الحيوية لأمراض الجذور في المزارع المائية أو بدون تربة

Biological Control of Root Pathogens In Soilless and Hydroponic Systems

مقـــدمة:

إن نظم المزارع المائية أو دون تربة تستعمل على نطاق واسع فى جميع أنحاء العالم، لإنتاج الزهور، أوراق الزينة Foliage وكذلك نباتات الـ Bedding ومحاصيل الخضار. تنمو النباتات فى محاليل غذائية مع، أو دون وجودة مادة صلبة فى المزرعة لتلتصق بها الجذور. النظم المائية للزراعة Hydroponic Systems دون مواد صلبة، تعتمد على تكنيك الغشاء الغذائى Nutrient Film Technique ويرمز له (NFT). كذلك يمكن أن تزرع النباتات فى مزرعة رملية، صخور صوفية، أو فى أكياس تحتوى *peat* أو نشارة خشب.

المحلول الغذائى المستعمل، إما أن يكون متكرر الدورة Recirculated (يسمى نظاماً مغلقاً) أو أنه يجفف (يفرغ) بعد الاستعمال ويسمى نظاماًمفتوحاً Open System. هذه الأنظمة أصبحت شائعة الاستعمال فى العقدين الأخيرين من هذا القرن، فى أمريكا وشمال أوروبا وكندا، خاصة لتنمية المحاصيل ذات القيمة الاقتصادية العالية فى الصوبا الزجاجية، مثل الطماطم، الخيار، الخس، الفلفل والسبانخ. مع أن هذه الطريقة تحتاج إلى رأس مال كبير، إلا أن المردود يكون مناسباً، حيث يكون هناك تقنينا للمواد الغذائية وكمية المياه بحيث تناسب الناحية الفسيولوجية والظروف البيئية للحصول. كذلك يمكن التحكم بتغذية النبات والظروف الفسيولوجية بواسطة المزارع، مما يؤدى إلى زيادة الإنتاج، وجودة المنتج والتحكم فى مواد الإنتاج. تكون جميع العناصر الغذائية فى المحلول جاهزة للنبات (متوفرة بصورة قابلة للإمتصاص)، وبالتالى لايكون هناك تنافس بين العناصر الغذائية، ويمكن استعمال كثافة عالية من النباتات. هناك فائدة أخرى لهذا النوع من الزراعة هو منع حدوث أمراض الجذور.

إن الكائنات الممرضة الكامنة فى التربة، خاصة الفطريات، هى التى تنتج لقاحاً فى التربة، والذى يمكن أن يبدأ فى إظهار أمراض الجذور فى مزارع الصوبا الزجاجية. لكى

نمنع هذا التلوث، فان معظم مزارعى الصوبات الزراعية يستعملون تربة معقمة أو مبسترة وذلك لإستبعاد اللقاح قبل البدء فى الزراعة. هناك طرق أخرى تستعمل لاستبعاد اللقاح، منها التبخير، البخار المخلوط بالهواء، تدخين التربة، استعمال المبيدات الفطرية. ولكى نرتاح من كل هذه الطرق يلجأ إلى نظام المزارع المائية لاستبعاد الكائنات الممرضة الكامنة فى التربة.

وعلى أية حال، فإن نظم الزراعة بدون تربة أو المزارع المائية، لاتكون دائماً خالية من مشاكل الأمراض، حيث إن بعض أنواع الأمراض تكون منتشرة ومدمرة. هناك عدة عوامل تزيد خطورة وضع المرض فى المزارع بدون تربة. وأهم هذه العوامل:

١- فى نظام الزراعة بدون تربة فى الصوبا الزجاجية، تكون النباتات متماثلة وراثياً تماماً، وبالتالى تكون متماثلة فى القابلية للإصابة، بالإضافة لذلك فان كثافة النباتات يمكن أن تناسب حركة الكائنات الممرضة من النباتات المصابة إلى النباتات السليمة.

٢- تكون الظروف البيئية (الطبيعية) خاصة الحرارة والرطوبة، فى بعض الأحيان ملائمة تماماً للكائن الممرض.

٣- فى النظام المفتوح، عند إعادة دورة الماء، فإن الكائنات الممرضة يمكن أن تنتشر بسهولة من نبات إلى آخر خاصة الفطريات الهدبية التى تنتج جراثيم ساكنة، وبالتالى فإن كمية قليلة ملوثة من الماء (المحلول الغذائى) يمكن أن تؤدى إلى إصابة شاملة وخسارة كبيرة. فى بعض التجارب وجد أن ٢٠ جرثومة هدبية من الفطر *Pythium aphaniderma-tum*، إذا أدخلت فى ١٠٠ لتر محلول غذائى فى نظام NFT، تؤدى إلى خسائر كبيرة فى إنتاج محصول الخيار (هذا ما وجده Menzies *et al* سنة ١٩٩٦). لذلك أصبح النظام المقفول أكثر انتشاراً بسبب مشاكل تلوث الماء الأرضى، الذى يكون مرافقاً للنظام المفتوح.

٤- إن المواد المستعملة فى نظام الزراعة بدون تربة تفتقر إلى التنوع الميكروبى والتوازن الحيوى Biological Buffering الموجود فى التربة الطبيعية. حيث إنه فى التربة الطبيعية كثيراً من الكائنات الممرضة الكامنة فى التربة تكون محدودة النشاط نتيجة وجود تضاد من كائنات دقيقة أخرى، كذلك تعرضها إلى المنافسة على الغذاء وإلى المواد المضادة للفطريات. وبالتالى إذا أدخل كائن ممرض إلى التربة العادية، فإنه ينتشر فيها

ببطء شديد جداً إذا قيس بسرعته لو أدخل فى تربة معقمة أو فى مزارع بدون تربة لأنه سوف لايلاقي منافسة ولاتضاد من كائنات حية أخرى، وبالتالى يمكن لهذا الكائن الممرض أن يوطد نفسه ويسبب مرضاً شديداً.

دخول الكائنات الممرضة إلى نظم الزراعة المائية:

مع أن نظم الزراعة بدون تربة، أو الزراعة المائية، تبدأ نقية بدون كائنات ممرضة، إلا أنه يمكن أن تحدث فيها أمراض شديدة. السؤال هو كيف وصلت هذه المسببات المرضية؟؟. لقد حاول Jarvis سنة ١٩٩٢ الإجابة عن هذا السؤال وقام بدراسة هذا الموضوع جيداً، ووجد أن اللقاح يمكن أن يأتى من خارج الصوبا الزجاجية على التربة الداخلة عن طريق أحذية العمال، الأدوات الزراعية، الأجهزة أو عن طريق الغبار، أو عن طريق الرمال المأخوذة من جوانب الأنهار أو الحصمة (الزلط) المستعمل فى تغطية الطرقات فى الصوبا الزجاجية، يمكن أيضاً أن يحمل الكائنات الممرضة النباتية. بعض الكائنات الممرضة الكامنة فى التربة مثل *Fusarium Oxysporum* f. sp. *radicislycopersici*، يمكن أن يكون جراثيم محمولة فى الهواء تسمى كونيديات Conidia، والتى يمكن أن تنتقل إلى الصوبا الزجاجية، كذلك فإن اللقاح يمكن أن يدخل عن طريق البذور الملوثة (المصابة) أو وسائل التكاثر الأخرى. لقد تبين أن الـ *peat* يمكن أن يحتوى كائنات ممرضة. الماء، وخاصة ماء الخزانات أو الماء السطحى يمكن أن يحمل الكائنات الممرضة ذات الجراثيم الهدبية المتحركة مثل *Pythium*. حتى الحشرات مثل البعوضة الفطرية Fungus gnats (*Bradysia* sp.) وذباب الشاطىء *Scatella stagnalis*، يمكن أن تكون عاملاً ناقلاً للكائنات الممرضة فى الصوبا الزجاجية. إن هذه الحشرات يمكن أن تكتسب الكائنات الممرضة عن طريق التلوث الخارجى لجسمها أو أنها تتغذى على الأجزاء الفطرية مثل الجراثيم البيضية وتخرجها فى أماكن أخرى وهى لاتزال حية.

أمراض نظم الزراعة المائية:

رغم الانتشار الكبير وحدوث الأمراض الكامنة فى التربة فى الأراضى الزراعية، إلا أن هناك نسبة قليلة قد ذكر حدوثها فى نظم الزراعة المائية. إن أكثر الكائنات الممرضة الفطرية

أهمية، هى التى تنتج الجراثيم الهدبية والتى تنتج جراثيم سابحة لها أسواط وغير جنسية، والتى يمكن أن تتحرك بسهولة فى الماء وتهاجم الجذور. هذه الجراثيم الهدبية، تتكون وتنطلق من تركيب يسمى حافظة جرثومية Sporangium على سطح الجذر. تسبح الجراثيم المنطلقة فى المحلول المائى أو فى الغشاء المائى المحيط بالمواد الصلبة فى البيئة الغذائية، وتعتمد فى الإصابة على خاصية الجذب الكيماوى، أو أنها تتحرك مباشرة باتجاه إفرازات الجذر. إذا ما حدث وأن قابلت هذه الجراثيم، الجذر، فإن تلتصق به وتفقد أسواطها وتتحوصل عن طريق تكوين جدار خلوى، ثم تخترق الجذر عن طريق أنبوبة إنبات. معظم هذه المسببات المرضية تتبع الأجناس *Pythium*، *Phytophthora*، *Olpidium*. كما أن الفطر الأخير، يمكن أن يكون ناقلاً للأمراض الفيروسية، مثل مرض العرق الكبير فى الخس. ولقد وجد حديثاً أن أنواعاً من الجنس *Plasmopara* (مسبب مرض البياض الزغبى) الذى عادة ما يصيب المجموع الخضرى، قد ذكر العلماء Stanghellini *et al* سنة ١٩٩٠ بأن هذا الفطر يصيب جذور بعض نباتات الزراعات المائية.

الكائنات الممرضة المنتجة جراثيم هدبية، يمكن أن تسبب أعفان الجذر وأعفان البادرات، التقزم، خفض الإنتاج وانهيار النبات إذا ما اخترق الكائن الممرض النبات وتجاوز منطقة التاج. أهم الكائنات الممرضة الفطرية غير التابعة للفطريات الهدبية والتى تسبب أمراض الذبول فى المزارع المائية، هى:

1- *Fusarium oxysporium* 2- *Verticillium dahliae*

3- *Fusarium oxysporium* f.sp. *radicis - lycopersici*

4- *Thielaviopsis basicola* 5- *Colletotrichum coccod*

كان أول ذكر للفطر رقم ٣ فى كندا سنة ١٩٧٥ وهو يسبب مرض عفن الجذر والتاج. (كان أول ذكر لهذا الفطر رقم خمسة سنة ١٩٨٣)، هذه الكائنات الممرضة تكون جراثيم محمولة فى الهواء تسمى كونيديا *conidia*، ويبدو أنها تنتقل وتتحرك بواسطة الهواء أكثر من حركتها بواسطة المحلول الغذائى الملوث.

هناك على الأقل ثلاثة أنواع من البكتيريا ذكرت بأنها تصيب النباتات فى المزارع المائية، اثنان منها من الكامنات فى التربة وهما *Pseudomonas solanacearum, Clavi-bacter michiganense* sub., sp. *michiganensis*، تسبب التقرح البكتيرى والذبول فى

الطماطم. كذلك عزلت *Erwinia sp.* من نباتات طماطم مريضة فى المزارع المائية فى الصوبا الزجاجية.

المقاومة الحيوية في الزراعة بدون تربة:

يبدو أن المقاومة الحيوية تكون مثالية وملائمة لنظم الزراعة دون تربة فى النظام المغلق. حتى تكون المقاومة الحيوية ناجحة فى أى مكان يجب أن تكون فى أوضاع مغلقة. من أهم أسباب فشل المقاومة الحيوية فى الحقول الزراعية، هو قلة الثبات فى تركيبات عوامل المقاومة الحيوية، غالباً ما يكون ذلك بسبب عدم ملاءمة الظروف البيئية. كما هو معروف، فإن عوامل المقاومة الحيوية، هى كائنات حية دقيقة وتكون حساسة لدرجة الحرارة، الرطوبة، الـ pH وغيرها، وذلك على عكس المبيدات الفطرية. وعلى أية حال فإن الظروف البيئية فى الصوبا الزجاجية تكون أكثر تماثلاً ويمكن ضبطها لتكون ملائمة لنمو عامل المقاومةالحيوية وغير ملائمة للكائن الممرض. هناك سبب آخر لعدم ثبات نشاط عوامل المقاومة الحيوية فى الحقل، هو فشل هذه العوامل فى توطيد نفسها فى التربة التى تكون محتوية بشكل مسبق على ميكروبات منافسة أخرى. وعلى أية حال، فإن معظم نظم الزراعة بدون تربة تكون معقمة أساساً فى البداية، ومن السهولة أن يتوطد فيها تجمعات عالية من عوامل المقاومة الحيوية قبل ابتداء الزيادة فى تجمعات الكائنات المنافسة.

يمكن إضافة عوامل المقاومة الحيوية بسهولة إلى المحلول المغذى فى نظام المزارع المائية والذى يقوم بدوره بنشر وتوزيع هذه العوامل. إن معظم المحاصيل التى تستعمل فى المزارع المائية، تكون لها قيمة اقتصادية عالية بحيث أنها يمكن أن تعوض تكاليف الزراعة والوقاية (المقاومة الحيوية). بالإضافة لذلك فإن إستعمال المقاومة الحيوية يمكن أن يعطى قيمة تسويقية، وذلك لأن المستهلكين يفضلون المحاصيل النامية بدون مبيدات فطرية.

على الرغم من فوائد المقاومة الحيوية فى نظم المزارع المائية، إلا أن هناك أبحاثاً قليلة جداً منذ سنة ١٩٨٥ أجريت فى هذا الموضوع بالمقارنة مع نظم الزراعة الأخرى، فإن معظم هذه الدراسات تشمل استعمال Rhizobacteria مثل أنواع *Bacillus, Pseudomonas*. فمثلاً إستعملت البكتيريا الوميضة ضد ذبول الفيوزاريوم فى مزارع القرنفل (مزارع الصوف الصخرى)، ويعود فعل هذه البكتيريا إلى تأثير السايدروفورز. كذلك وجد حديثاً أن أنواعاً من البكتيريا *Pseudomonas* spp. تحث أيضاً على المقاومة الجهازية فى النباتات لكثير من

الكائنات الممرضة من ضمنها ذبول الفيوزاريوم (هذا ما وجده Duijff *et al* سنة ١٩٩٣)، وأمراض الجهاز الخضرى (Wei *et al* سنة ١٩٩١) كذلك وجد أن بعض أنواع هذه البكتيريا تقلل إستعمار جذور الخيار من قبل الفطر *Pythium aphanidermatum*. من أهم أنواع هذه البكتيريا التى تثبط إنبات الجراثيم الهدبية والانجذاب الكيماوى والتى تستعمل بنجاح فى المحلول الغذائى لنبات الخيار حيث تخفض الإصابة بعفن الجذر وسقوط البادرات وتزيد الإنبات بنسبة ١٢-١٨٪ هى *P. corrugata Pseudomonas fluorescens* (هذا ما وجده *Moulin et al* سنة ١٩٩٥). ووجد أيضاً أن أمراض البثيم على الخيار مرتبطة مع نظام مزارع الصوف الصخرى (Postma *et al* سنة ١٩٩٥).

أما البكتيريا *Bacillus subtilis* فهى تقاوم جزئيا الفطر *F. oxysporum f.sp. radi-cis - lycopersici* وأمراض الفاتيوفثورا على الطماطم فى المزارع المائية. كذلك استعملت الاكتينومايستس فى المقاومة الحيوية، فوجد أن *streptomyces* sp. ذو تأثير عال وفعال ويباع فى الأسواق تحت اسم Mycostop (هذا الاسم شائع فى فنلندا)، وهذا المنتج له فعالية عالية ضد *F. oxysporum* على نبات الجربارة (نبات زهرى من الفصيلة المركبة اسمه العلمى *Gerbera jamesonii*) وضد أمراض بثيم على الخيار فى مزارع الصوف الصخرى.

أما أنواع الفطر *Trichoderma sp.* فهى واسعة الانتشار فى المقاومة الحيوية فى الصوبا الزجاجية وتستعمل بنجاح ضد الفطر *F. oxysporum* f.sp. radicis - *lycopersici* على الطماطم وضد *Pythium ultimum* على الخيار.

كذلك فإن الفطر *Gliocladium virens* يستعمل على نطاق واسع فى الولايات المتحدة الأمريكية ويباع تجارياً ويقاوم أمراض سقوط البادرات المفاجىء المتسبب عن *Pythium, R. solani* فى مزراع الـ *peta*. كذلك تستعمل الأشكال غير الممرضة من أنواع *F. oxyspor-um* لوقاية النباتات ضد الكائنات الممرضة المسببة للذبول من Forma specialis لنفس النوع الممرض على الطماطم والقرنفل وللكائنات الممرضة والمسببة لعفن الجذر والتاج فى الطماطم.

كذلك فإن الأنواع المتطفلة الفطرية (فوق التطفل) أو Mycoparasitica من الفطر *Pythium periplocum* تستعمل ضد الأنواع الممرضة من الفطر بثيم على الخيار.

رابعاً: معاملة البذور حيوياً لمقاومة مسببات الأمراض الكامنة في التربة

Biological Seed Treatment For Control of Soil-born Pathogens

مقـــدمة:

تعتبر المقاومة الحيوية للآفات جزءاً متمماً ومساعداً للعمليات الزراعية الأخري التى تؤثر فى الإنتاج الزراعى. إن معاملة البذور حيوياً لمقاومة أمراض البذور والبادرات، توفر للمزارع بديلاً عن المبيدات الفطرية الكيماوية. على الرغم من أن معاملة البذور حيوياً يمكن أن تكون ذات تأثير فعال، إلا أنه يجب الأخذ بعين الاعتبار بأنها تختلف عن معاملة البذور كيماوياً ، وذلك لأنها عبارة عن استعمال كائنات حية دقيقة لمقاومة كائنات حية دقيقة أخرى.

إن شروط التخزين والاستعمال لعوامل المقاومة الحيوية يجب أن تكون أكثر دقة من تلك المطلوبة للكيماويات المستعملة مع البذور، كذلك فإن تفاعلاتها المختلفة مع العائل ومع الظروف البيئية، يمكن أن تجعل معاملة البذور حيوياً ذات مجال ضيق الاستعمال عنه فى بعض المبيدات الكيماوية. على العكس من ذلك، فإن بعض عوامل المقاومة الحيوية المستعملة كمعاملة بذور، تكون أكثر مقدرة على استعمار الرايزوسفير وتزيد كفاءة النبات الإنتاجية.

إن عوامل المقاومة الحيوية الفعالة، قد تطورت مع الكائنات الممرضة للبذور وللبادرات مثل بثيم، رايزوكتونيا وفيوزاريوم. هناك تنوع كبير موجود الآن فى مراحل مختلفة من التطور لمعاملة البذور. أكثر الدراسات أجريت على البكتيريا التابعة للأجناس: *Pseudomo-nas*، *Enterobacter* ، *Erwinia, Bacillus* وأهم الفطريات هى *Trichoderma*، *Glio-cladium*. أما الأكتينوماسبس فأهمها *Streptomyces*. وعلى أية حال إذا لم يمكن تحديد أو تعريف عامل المقاومة الحيوية الفعال للإستعمال كمعاملة بذور، فلا يكون هناك ضمان بأن تبقى مقاومة المرض المتحصل عليها من هذه المعاملة ثابتة. إن فعالية معاملة البذور حيوياً، يمكن أن تتأثر بواسطة حموضة التربة وتركيز الحديد، الرطوبة، الحرارة وكثافة لقاح الكائن الممرض. كذلك فإن هذه الفعالية، يمكن أن تتأثر بواسطة بعض الصفات الخاصة بعامل المقاومة الحيوية ومعاملة البذور نفسها. هذه تشمل كثافة لقاح عامل المقاومة الحيوية على

الحبوب، مثل تطعيم البذرة Priming، التشكيلات والإضافات التى تزيد فعالية وبقاء عامل المقاومة حياً فى المنتجات التشكيلة، المحصول وعامل المقاومة المتخصص ضد كائن ممرض معين، والتوافق مع لقاح الميكروبات الأخرى أو المبيدات الفطرية الكيماوية.

من أهم الدراسات التى أجريت فى هذا الموضوع هو مقاومة عفن بذور الذرة السكرية *sh2* المتسبب عن الفطر *Pythium* باستعمال البكتيريا *Pseudomonas aureofaciens* السلالة AB254.

أكثر الأجناس الفطرية أهمية فى المقاومة الحيوية هما الفطرين *Gliocladium, Tri-choderma*. لقد ثبت أن لهذين الفطرين كفاءة عالية فى المقاومة الحيوية لكثير من الفطريات الممرضة للنبات خاصة الكامنة فى التربة. هناك عديد من الأمراض قد ثبت مقاومتها بنجاح باستعمال هذه الفطريات المضادة فى التربة. إن معاملة البذور بمعلق جرثومى من هذه الفطريات المضادة، هى معاملة حديثة نسبياً وأكثر ملاءمة لتوصيل هذه الفطريات للبذور ولمقاومة الأمراض الكامنة فى التربة.

إن دمج المقاومة الحيوية والمعاملة بالمبيدات الفطرية فى معاملة البذور، تعطى نتائج جيدة فى مقاومة الأمراض. إن هذه الفكرة مبنية على معاملة البذور أولاً بالكائن المضاد *Gliocladium virens* بتركيز 10^{7} كونيدية/مل ثم بعد ذلك بالمبيد الفطرى كربوكسين ٠,١ ٪ . هذه الطريقة ذات تأثير فعال ضد عديد من الممرضات النباتية الكامنة فى التربة، من أهمها *Sclerotium rolfsii* ، *R. solani* ، *Fusarium oxysporum* فى الحمص والعدس والفول السودانى.

معاملة البذور حيوياً:

إن كيفية استعمال الكائنات المضادة، تبقى العائق الكبير فى استعمال المقاومة الحيوية على نطاق تجارى وعملى، على الرغم من ذلك، هناك حقيقة تؤكد أن السنوات الأخيرة قد شهدت تقدماً ملحوظاً فى استعمال هذه التكنولوجيا لمقاومة الأمراض الكامنة فى التربة. فى كثير من الحالات قد تم بنجاح استعمال الكائنات المضادة على التربة، ولكن الكميات الكبيرة اللازمة من الكائنات المضادة تحد من استعمال هذه الطريقة على نطاق واسع.

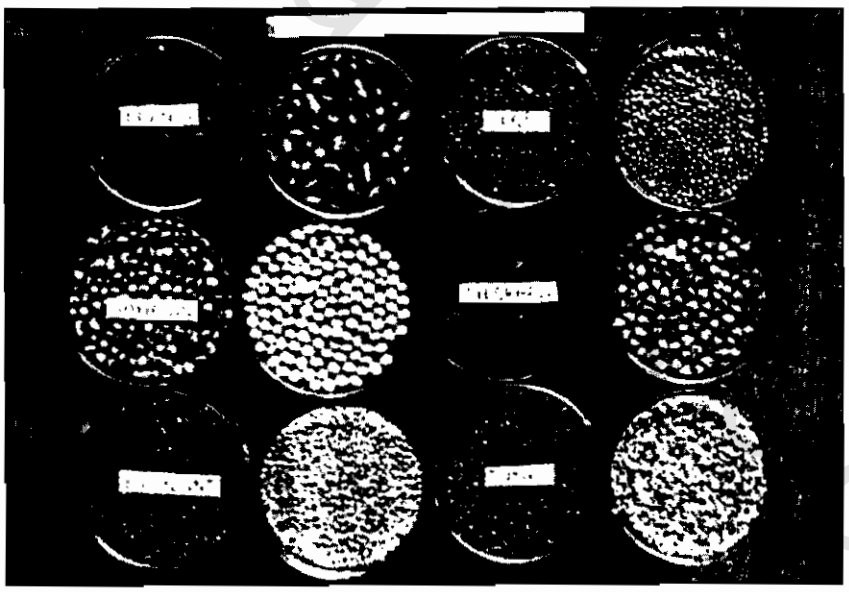
الطريقة الأكثر إقتصادية والتى، غالباً، أكثر كفاءة فى المقاومة الحيوية، تكون عبارة عن ادخال الكائن المضاد مع المادة النباتية. هذا الاقتراح قد تم إثباته بأنه أفضل طريقة ناجحة فى المقاومة الحيوية لمسببات الأمراض الكامنة فى التربة وعلى سطح البذور. عند معاملة البذور حيوياً، وذلك عن طريق حقنها بالكائنات الفطرية المضادة سريعة النمو، هذا يمنع تحلل البذور ولفحة البادرات وذلك بواسطة التفريغ المبكر للمغذيات الذائبة، وبالتالى تقلل من إمكانية اختراق الكتلة الحيوية من قبل الكائن الممرض، عن طريق تزويدها بغطاء واق وعن طريق إنتاج مضادات حيوية وإنزيمات مثبطة وأحياناً بالتطفل.

طرق معاملة البذور حيوياً:

يستعمل المعلق الجرثومى بالإضافة إلى المسحوق الجاف من الفطريات المضادة على شكل غلاف للبذور. يكون الإجراء العام فى معاملة البذور حيوياً عن طريق جمع الجراثيم الكونيدية من مزارع الفطر النامية جيداً فى بيئة PDA، ويعمل من هذه الجراثيم معلق بالتركيز المطلوب، (يمكن استعمال مواد لاصقة أو الاستغناء عنها). تعوم البذور فى المعلق المحضر لمدة عشر دقائق ثم تجفف هوائياً ثم بعد ذلك تزرع. شكل رقم ٤، يبين بذوراً مختلفة مغلفة بمعلق من الجراثيم الكونيدية من الفطر المضاد *Gliocladium virens*. عندما تنبت البذور المعاملة، تتكاثر الكائنات المضادة على الغلاف دون أى تأثيرات على الإنبات، وبالتالى فإنها تخلق حاجزاً فيزيائياً ضد الاختراق بأي من الكائنات الممرضة (شكل ٥).

يمكن استعمال مواد لاصقة فى المعلق الجرثومى مثل ميثوسيل ٢٪ وزن/حجم، كاربوكسى ميثايل سليلوز (CMC) ١٪، بولى ميثايل الكحول ٢٠٪ وزن/حجم، بولى سلفيت ٠,٨٪ وزن/حجم، لابونايت 508 بنسبة ١,٥٪ وزن/حجم، بولى تران *N* بنسبة ٠,٦٪ وزن/حجم وبلى جيل. وعلى أية حال إذا كان سطح البذور خشناً، كما فى حالة بذور الحمص، فليس من الضرورى إستعمال المواد اللاصقة. إن عملية ربط Solid Matrix priming (SMP) مع معاملة البذور حيوياً يحسن درجة المقاومة عن طريق التثبيت المبكر للكائن المضاد على غلاق البذرة. إن الطريقة العامة العملية لاستعمال مكونات SMP وتعويم البذور بالمعلق الجرثومى لعامل المقاومة الحيوية (٤ غرام مع ١مل معلق جراثيم) ثم يمزج مع ٦ غرام حامل عضوى Bituminous coal أو Sphagnum moos أو leonardite

shale. تخلط البذور مع الحامل العضوى مع الماء حتى يصبح مستوى الرطوبة النهائى فى المخلوط ٦٠٪، بالنسبة لبذور الخيار و ٩٠٪ للطماطم، ثم بعد ذلك يحضن المخلوط لمدة أربعة أيام على حرارة ٢٠°م قبل الزراعة. إن تكنيك استعمال الفطر *Trichoderma* مع SMP مسجل تجارياً فى الولايات المتحدة للمقاومة الحيوية ضد عفن البذور وتحلل البادرات.



شكل رقم (٤): يبين بذور مختلفة مغلفة بمعلق من الجراثيم الكويندية للفطر *Gliocladium virens*.

شكل رقم (٥) : بادرات الحمص، فول الصويا والخروع معاملة بالكائن الفطرى المضاد *Gliocladium virens*. لم يؤثر هذا الفطر على نسبة وكيفية الإنبات. البذور المعاملة على اليمين وغير المعاملة على اليسار.

كثافة لقاح عامل المقاومة الحيوية:

هناك عدد محدود، يجب أن لا تقل عنه الخلايا أو وسائل التكاثير لعامل المقاومة الحيوية حتى يمكن الحصول على مستوى ملائم من وقاية البذور. لقد وجد أن وقاية سلالة معينة من الذرة السكرية *sh2* من الإصابة بالفطر بثيم باستعمال البكتيريا *Pseudomonas aureofoci-ens* سلالة AB254 تزيد بزيادة تركيز اللقاح المستعمل فى الصوبا الزجاجية وفى الحقل. وجد (مثلاً) فى الحقل أن تركيز $^{٧}١٠$ وحدة تكوين مستعمرات من السلالة AB254 سببت زيادة ٩٠٪ من ظهور البادرات وهذا ما يساوى تأثير المبيد الفطرى *Metalaxyl* الذى يستعمل ضد الفطريات البيضية ومنها الفطر *Pythium*. تحت ظروف المرض الشديدة فى الصوبا الزجاجية، فإن تركيز $^{٧,٥}١٠$ وحدة تكوين مستعمرات، يعطى أعلى نسبة ظهور للبادرات. ووجد أن $^{٧}١٠-^{٧,٥}١٠$ وحدة تكوين مستعمرات من البكتيريا لكل حبة ذرة

ضرورياً لوقاية الذرة السكرية من عفن بثيم فى البذور. كذلك وجد أن ^{٧,٥١٠} وحدة تكوين مستعمرات من البكتيريا *P. putida* سلالة R20 تعطى أعلى وقاية لبذور بنجر السكر من الإصابة بالفطر *Pythium ultimum*.

عوامل المقاومة الحيوية وتطعيم (تغليف) البذرة:

إن عملية تطعيم البذرة (تغليف) تقوم بعمليات فسيولوجية مختلفة، والتى تؤدى إلى زيادة إنبات البذور وقوتها، من خلال زيادة الرطوبة. إن عمليات إصلاح الغشاء المغلف للبذرة، من المفترض أن تحدث خلال التطعيم وغالباً ما تزيد نسبة إنبات البذور وقوة البادرات. إن إضافة عوامل المقاومة الحيوية الميكروبية أثناء عملية التطعيم (التغليف) وهذا ما يسمى BioPriming، يسمح باستعمار البذرة قبل إنباتها ويضيف اتجاهاً جديداً لعملية تطعيم البذرة. إن الاستعمار المبكر للبذرة، يزود عامل المقاومة الحيوية بفائدة تنافسية تساعد فى زيادة التغلب على الكائن الممرض، مثل *P. ultiumum* وغالباً ما يؤدى إلى مقاومة جيدة تحفظ البذرة عند مقارنتها مع طريقة التغليف البسيطة للبذرة.

عملية الحقن (التغليف) الحيوى Biopriming، تعنى تغليف البذرة بعامل المقاومة الحيوية، مثل البكتيريا *P. aureofaciens* سلالة AB254 ثم التميه Hydrating لمدة ٢٠ ساعة تحت ظروف جو دافى (٢٣°م) فى Moist Vermiculite أو على ورق نشاف Blot-ters للإنبات فى قفص بلاستيكى مانع لتسرب الماء ذاتياً. تؤخذ البذور قبل أن يبدأ الجذر فى الإنبات. أما عن عامل المقاومة الحيوية فانه يبدأ فى التكاثر على البذور أثناء عملية التغليف هذه Biopriming.

حقن البذور بكثافة منخفضة قبل عملية الـ Bio-priming يؤدى إلى زيادة التجمعات البكتيرية. تبين أن نتيجة المقاومة الحيوية لعفن بثيم فى البذور عند استعمال البكتيريا بتركيز ^{٦١٠} أو ^{٨١٠} وحدة تكوين مستعمرات تشابه تماماً معاملة البذور بالمبيد الفطرى Metalaxyl، حيث تبلغ نسبة الإنبات ٩١ ٪ ويكون طول النبات فى الحالة الأولى ١٦,٧سم أما فى حالة المبيد، فكان طول النبات ١٥,٩سم.

تشكيل عوامل المقاومة الحيوية ومدة بقاء هذا التشكيل:

البذور المعاملة حيوياً تكون أكثر تأثراً بالظروف البيئية غير الملائمة، أثناء النقل والتخزين من تلك البذور المعاملة بالمبيدات الكيماوية. معظم تشكيلات الكائنات الحية الدقيقة لاتستطيع أن تتحمل الجفاف أو الحرارة العالية. وأن فقد الحيوية يجعل هذه التشكيلات غير فعالة. إن تشكيلات المقاومة الحيوية الناجحة، يجب أن تحتفظ بحيويتها حتى تستعمل من قبل المزارع، وأن الكمية غير المستعملة يجب أن تكون صالحة للتخزين للاستعمال فى السنة القادمة. زيادة على ذلك فإن تركيبات المقاومة الحيوية، يكون طول مدة بقائها ذات فعالية محدوداً حتى تحت ظروف التخزين المثالية. إن اللقاح المستعمل فى المقاومة الحيوية والمأخوذ من ميكروبات تكون جراثيم داخلية مثل البكتيريا Bacillus أو الجراثيم الفطرية، يكون لها سقف حياة، أطول من تلك الكائنات التى لاتكون جراثيم داخلية مثل البكتيريا *Pseudomonas* والتحضريات الفطرية الميسيليومية.

تكنولوجيا تشكيلات عوامل المقاومة الحيوية لديها كفاءة فى زيادة فعالية معاملة البذور الحيوية. معظم أبحاث التشكيلات تتجه مباشرة لإنتاج لقاح يتميز بأنه ذو كثافة عالية من الأجزاء التكاثيرة الحية، وذو سقف حياة طويل، والثبات تحت الظروف البيئية غير الملائمة ويجب أن يكون المنتج سهل الاستعمال وأن ينتج تجارياً. ذكر كثير من الباحثين أنه يمكن تحسين فاعلية أو إطالة سقف الحياة عن طريق إحداث تحويرات فى التشكيلات الميكروبية. لقد أمكن زيادة فعالية المقاومة الحيوية لنوعين من جنس *Trichoderma* المستعملة ضد عفن البذور المتسبب عن الفطر بثيم وذلك عن طريق إضافة سكريات عديدة Polysaccharides أو أحماض الكربوكسلك إلى معاملة البذور. ولقد وجد كل من Burr و Caesar سنة ١٩٩١ أن إضافة السكروز إلى تحضيرات من Talc-MC إلى عديد من البكتيريا يحسن بقاء التشكيلات حية فى المخزن. كذلك وجد Harman & Taylor سنة ١٩٨٨ أنه يمكن تحسين فعالية البذور المعاملة بالفطر *Trichoderma* عن طريق تحوير فى الـ *pH* ليلائم عامل المقاومة الحيوية

إن المواد التى تعامل بها البذور حيوياً يمكن أن تُشَكل (تأخذ تشكيلات) كمنتج لاستعماله على البذور وقت الزراعة أو تعامل به البذور وتكون جاهزة للزراعة. لقد أمكن حفظ حبوب

الذرة السكرية العاملة بالبكتيريا *P. aureofaciens* سلالة AB254 المجففة حتى ٩-١٠٪ رطوبة قبل تخزينها على حرارة ٨°م، أو على حرارة الغرفة العادية ٢٤°م لمدة ٧,٥ شهر.

درجة حرارة المخزن هى العامل الأساسى فى إطالة مدة التخزين للبكتيريا السابق ذكرها على حبوب الذرة السكرية جدول رقم ٢. وجد أن حيوية اللقاح على البذور المعاملة والمخزون على درجة حرارة ٨°م أو ٢٤°م تنخفض بسرعة خلال الشهر الأول. وبعد ٧,٥ شهر من التخزين تفقد البذور حوالى ^{1,410} وحدة تكوين مستعمرات عندما تخزن على ٨°م، وتفقد حوالى ^{310} وحدة عند التخزين على حرارة ٢٤°م.

إن شروط التخزين تؤثر على بقاء البكتيريا المذكورة سابقاً، حية على البذور، ولكن عملية Bio-priming للبذور بعد التخزين تؤدى إلى بقاء تجمعات البكتيريا على البذور حية وبالتالى تحافظ على مقدرتها فى حفظ البذور. ظهور البادرات فوق سطح التربة، فى التربة الملوثة بالفطر الممرض *P. ultimum* ينخفض بسرعة أكثر عندما تكون البذور قد خزنت على حرارة ٢٤°م منه على حرارة ٨°م. ظهور البادرات من البذور المغلفة بالسلالة AB254 المخزنة على حرارة ٢٤°م تنخفض إلى مستوى البذور غير المعاملة بعد ٣,٥ شهر فى المخزن، بينما البذور التى تخزن على حرارة ٨°م تبقى محتفظة بحيويتها ومقدرتها على مقاومة الفطر لمدة ٧,٥ شهر. ظهور البادرات من البذور المخزنة لمدة ٣,٥ شهر على حرارة ٨°م أو ٢٤°م تنخفض إلى مستوى المعاملة بالمادة الكيماوية الـ Metalaxyl عندما تحقن البذور Bio-prime قبل الزراعة. بعد ٧,٥ شهر من التخزين، فقط، البذور المحفوظة على حرارة ٨°م ثم حصل لها Bio-prime جعلت نسبة الإنبات، كما هى فى البذور المعاملة بالمبيد الفطرى ميثالكسيايل.

إن عملية الـ Bio-priming تحسن طول سقف الحياة فى البذور المعاملة. كثير من البكتيريا قادرة على أن تنتج مواد حافظة مثل Exopolysaccharides فى المكان الموجودة فيه ويمكن أن تفعل الشئ نفسه أثناء عملية الـ Bio-briming. وجد أن عملية الـ Bio-priming بالبكتيريا P. aureofaciens سلالة AB254 تؤدى إلى زيادة وقاية البذور من عفن بثيم بعد ٦ شهور من التخزين أفضل منه فى حالة تغليف البذور. جدول ٣. كذلك وجد بأن مدة بقاء البكتيريا *Enterobacter cloacae* سلالة EC102 على البذور أمكن تحسينها عندما سمح للبكتيريا أن تزداد على البذرة Solid matrix priming.

جدول رقم ٢ : تأثير حرارة المخزن على حيوية البكتيريا *P. aureofaciens* سلالة AB254 المستعملة على حبوب الذرة السكرية sh2 وعلى المقاومة الحيوية لعفن بثيم فى البذور.

معاملـــة البـــذور	٪ نسبة ظهور البادرات فوق سطح التربة			
	مدة التخزين بالأشهر			
	صفر	١	٣,٥	٧,٥
كنترول (بدون معاملة)	٢٥	٤٣	١٨	٣٨
ميثايلكسايل ٠,٣ غم/كيلو بذور	٤٦	٩١	٧٢	٨٢
بذور مغلفة بسلالة البكتيريا (غير مخزنة)	٤٣			
بذور معاملة Bio- prime بسلالة بكتيريا غير مخزنة	٥٦	٨٧	٧٥	٨٨
بذور مغلفة بسلالة البكتيريا ومخزنة على ٨°م	–	٧٨	٦٤	٧٠
بذور مغلفة بسلالة البكتيريا ومخزنة على ٢٤°م	–	٧٦	٣٤	٤٨
بذور معاملة Bio-prime بعد التخزين على ٨°م	–	٨٩	٧٤	٨٥
بذور معاملة Bio-prime بعد التخزين على ٢٤°م	–	٨٢	٦٧	٦٤

جدول رقم ٣ : ظهور بادرات الذرة السكرية بعد المعاملة Bio-priming أو تغليف البذور بالبكتيريا P. aureofaciens سلالة AB 254 على ١٥°م لمدة ٦ شهور.

معاملـــة البـــذور	٪ ظهور البادرات فوق سطح التربة	
	فى الصوبا بعد المعاملة مباشرة	فى الحقل بعد ٦ شهور
السلالة معاملة Bio-prime ومخزنه	٧٩	٦٨
السلالة معاملة تغليف ومخزنة	٦٦	٤٨
السلالة مغلفة وقت الزراعة	–	٦٦
ميثايلكسايل ٠,٣غم/كيلو بذور	٢٤	٥٠

كان يستعمل فى التجربة الفطر *P. ultimum* بمقدار ٩١٠ وحدة تكاثرية/غرام تربة (في الصوبا الزجاجية) وكان يستعمل بمقدار ٦٥٠ وحدة تكاثرية/غرام تربة فى الحقل.

التوافق مع لقاحات الميكروبات الأخرى:

حسب أبحاث Waller سنة ١٩٨٨، فإن الاتحادات المتوافقة من سلالات عوامل المقاومة الحيوية البكتيرية، يمكن أن تعطى نتائج فى مقاومة الأمراض، أفضل من استعمال كل سلالة لوحدها. هذه الميزة يمكن أن تكون بسبب المدى الواسع من التلاؤم بين البكتيريا والظروف الفيزيائية والحيوية والكيماوية. السلالات المتحدة يمكن أن لاتعطى النتائج المرغوبة إذا حصل تنافس بين عوامل المقاومة الحيوية. إن عملية التنافس بين السلالات البكتيرية المحقونة على البذور، يمكن أن تعتمد على كثافة لقاحها الأولى. وجد Fukui *et al* سنة ١٩٩٤ أن التنافس بين سلالتين من بسيدوموناس على بذور بنجر السكر، يكون أقل ما يمكن عند حقن السلالتين بأقل تركيز ممكن. إذا حقنت إحدى السلالتين بكثافة أكبر من السلالة الثانية، يبدو واضحاً أن هناك تضاداً حيوياً بين السلالتين.

إن المقاومة الحيوية المثالية التى تطبق على البذور، لحمايتها من الأعفان فى التربة، يجب أن يستعمل فيها سلالات متوافقة أثناء الحقن، وأن يكون تركيز السلالتين متقارباً جداً، خاصة السلالات المثبتة للنيتروجين التى تستعمل فى محاصيل البقوليات. مثلاً بعض سلالات بسيدوموناس وسلالات *Bacillus cereus* تزيد تكوين العقد الجذرية نتيجة الحقن بكل من *Bradyrhizobium, Rhizobium*.

التوافق مع الكيماويات المعاملة بها البذور:

إن اتحاد المقاومة الحيوية مع المقاومة الكيماوية، ينظر إليه كوسيلة لزيادة الحصول على وقاية للمحصول تحت ظروف تكون غير ملائمة لقيام عامل المقاومة الحيوية بمفرده بهذه المهمة. إن كلاً من المقاومة الحيوية والكيماوية، يمكن أن توجه إلى الكائن الممرض نفسه أو إلى كائنات ممرضة أخرى. فمثلا المبيد الفطرى Imazalil فعال فى مقاومة أعفان بثيم وفيوزاريوم فى حبوب الذرة. ولقد وجد Mathre *et al* سنة ١٩٩٥ أن المبيد الفطرى Meta-laxyl ملائم للمقاومة مع *P. aureofaciens* سلالة AB 254 لمقاومة الفطر *P. ultimum* كما أن Imazelil ملائم للمقاومة مع استعمال بكتيريا بسيدوموناس السابقة الذكر لمقاومة الفطر *P. oxalicum*. لقد وجد فى هذه التجارب أن كلا من المقاومة الحيوية والكيماوية تكون ذات فعالية عالية لوحدها، ولكن تلاحظ التأثيرات الإضافية عند استعمال البكتيريا *P.*

aureofaciens سلالة AB254 مع المبيد الفطرى Imazalil فى معاملة البذور، وهذا يؤدى إلى مقاومة عفن البذرة المتسبب عن بثيم ويؤدى إلى زيادة النمو وقوة البادرات.

كذلك فى مقاومة الفطر *R. solani* على بذور البسلة، تحصل زيادة فى المقاومة عند استعمال البكتيريا *B. subtilis* مع أى من المبيدات الفطرية ثيرام، كاربوكسين وكذلك مقاومة أعفان بذور *Brassica napus* بالمبيد الفطرى كابتان وكل من البكتيريا الوميضة *Serratia* sp.

سقف الحياة لعوامل المقاومة الحيوية على البذور المغلفة:

إن معاملة البذور حيوياً ، يجب أن تستغرق مدة من الزمن تصل إلى بضع شهور، ابتداءً من أول العملية حتى الاستعمال العملى للبذور فى الزراعة. من إحدى العوائق الهامة للاستعمالات التجارية لتحضيرات الكائنات فى المقاومة الحيوية (الكائنات المضادة) للممرضات النباتية، هو فقد الكائن المضاد لحيويته بعد مدة معينة. هناك محاولات عديدة أجريت لتحديد حيوية التحضيرات الفطرية لكل من *Gliocladium* , *Trichoderma* عند تخزينها على درجة حرارة الغرفة العادية أو فى الثلاجة. وعلى أية حال هناك محاولات قليلة أجريت لتحديد حيوية الكائن المضاد على البذور المغلفة. عند تخزين بذور الفجل المغلفة بالفطر *Trichoderma*، على درجة حرارة الغرفة العادية (٢٠-٢٥°م) يبقى الكائن المضاد حياً لمدة تتراوح من ٢-١٤ شهراً ، وهذا يعتمد على نوع العزلة. كذلك حددت حيوية الفطر *G. virens* على بذور الحمص المغلفة فوجد أن ٨٨٪ من الكائن المضاد يبقى حياً على درجة حرارة الغرفة العادية لمدة أربعة شهور، وأن ١٠٠٪ من الكائن المضاد يبقي حياً لمدة خمسة شهور إذا حفظ فى الثلاجة. هذه النتائج تعطى دفعة قوية للصناعات الزراعية التى تتدخل لاستخدام الكائنات المضادة فى المقاومة الحيوية لاستخدامها على مستوى تجارى.

دور المقاومة الحيوية في المقاومة المستنيرة للآفات:

تستلزم الإدارة المتكاملة للافات (IPM) استراتيجيات متزامنة أو متتالية لاستعمال عديد من طريق المقاومة. تعتبر المقاومة الحيوية طريقة خاصة وذات قيمة فى مكونات IPM، أو

هى مكون أساسى في الاطار العالم لـ IPM ويمكن استغلالها أفضل استغلال. كما هو معروف فإن المقاومة الحيوية عند تطبيقها على البذور، فإنها تزود المحصول بوقاية أطول منه فى حالة معاملة البذور بالمطهرات الفطرية. بالإضافة لذلك فإنها تعطى فوائد لايمكن الحصول عليها باستعمال واقيات البذور الفطرية الكيماوية خاصة المقدرة على استعمار ووقاية البذور والبادرات.

تعطي المبيدات الفطرية وقاية أولية ولكنها تتحطم بعد ٢-٣ أسابيع. إن دمج عملية معاملة البذور حيوياً مع استعمال أقل جرعة ممكنة من المبيدات الفطرية تحسن درجة مقاومة المرض. إن استعمال هاتين الطريقتين يكمل كل منهما الآخر وتزيد من حفظ ووقاية المحصول. زيادة على ذلك فإن المبيدات الفطرية عند استعمالها بجرعة أقل من الجرعة المميتة تضعف الكائنات الممرضة وتجعلها أكثر عرضة وتأثراً بالمهاجمة بكائنات المقاومة الحيوية.

إن أنواع كل من *Trichoderma , Gliocladium*، لها فوائد متميزة كعوامل مقاومة حيوية، وهى أنها متوافقة مع معظم الكيماويات التى تستعمل فى الزراعة، والتى تستعمل بكثل خاص فى معاملة البذور، وهى غير حساسة لعديد من المبيدات الفطرية مثل الكاربوكسين، ميثايلكسايل، كابتان، أوكسى كلوريد النحاس، كوانتوزين، أوكزادكسايل، وكبريتات النحاس، وبالتالى فهى تسمح بإمكانية دمج واستعمال هذه المبيدات الفطرية ومعاملة البذور حيوياً بالفطرين المذكورين. لقد تم تطوير طريقة فى الهند سنة ١٩٩٠ تعتمد على تغليف البذور أولاً بالفطر *G. virens* ثم بعد ذلك استعمال ٠,١-٠,٢ ٪ كاربوكسين (فيتافاكس ٧٥ مسحوق قابل للبلل) وإن هذه العملية تكلف ٢,٥ دولار للهكتار الواحدة. ولقد تبين أن هذا التكنيك ذو فعالية عالية فى خفض شدة كثير من الأمراض المتسببة عن كائنات ممرضة كامنة فى التربة مثل *Sclerotium rolfsii*، *R. solani*، *Fusarium oxysporum* وإن فعالية هذه الطريقة ظاهرة فى جدول رقم ٤، حيث إن هذه المعاملة أدت إلى زيادة فى إنتاج الحمص بنسبة ٢١١ ٪ وزيادة إنتاج العدس ٧٥,٠٨ ٪ وإن هذه الطريقة تستعمل على نطاق تجارى فى الهند.

معاملة البذور حيوياً لمقاومة بعض الأمراض:

يبين جدول رقم ٤ بعض المحاصيل التى يمكن أن تعامل بذورها حيوياً لمقاومة بعض الأمراض. ومن الجدير بالذكر أن أول الأبحاث التي بدأت فى هذا الموضوع كانت سنة ١٩٥٦ وذلك من قبل العالم Wright عندما إستعمل الفطر *Trichoderma viride* لمقاومة فطر بثيم على نباتات المستردة البيضاء.

جدول رقم ٤ : يبين بعض الكائنات المضادة التى تستعمل فى المقاومة الحيوية لبعض أمراض النبات وذلك عند استعمالها كمعاملة بذور.

اسم المحصول	اسم الكائن الممرض	اسم الكائن المضاد	تاريخ أول استعمال
المستردة البيضاء	*Pythium* sp.	*Trichoderma viride*	١٩٥٦
		Penicillium sp.	١٩٥٦
الخيار	*Sclerotinia sclerotiorum*	*Trichoderma* harzianum	١٩٧٢
البسلة والفجل	*Pythium sp., R. solani*	Trichoderma hamatum	١٩٨٠
الايرس (سوسن)	*Sclerotium rolfsii, R.solani*	Trichoderma harzianum	١٩٨٢
القطن	*R. solani*	T. harzianum, T. hamatum	١٩٨٢
Snap - bean	*R. solani*	T. harzianum	١٩٨٢
البسلة	*Pythium ultimum*	T. hamatum	١٩٨٣
الفاصوليا ، البسلة والخيار	*Pythium* spp.	Trichoderma spp.	١٩٨٤
البسلة والخيار والطماطم	*Pythium* spp.	*T. harzianum, T. koningii*	١٩٨٦
البطاطس	*R. solani*	*Gliocladium virens,*	
		T. harzianum, T. viride	١٩٨٨
القطن ، القمح، الشمام	*Fusarium oxysporum*	*T. harzianum*	١٩٨٦
بنجر السكر	*S. rolfsii*	*T. harzianum*	١٩٨٦
	P. aphanidermatum	*T. harzianum*	١٩٨٦ ، ١٩٩٠
الطماطم	*F. oxysporum*	*T. harzianum*	١٩٨٧
	P. aphanidermatum	*G. virens*	١٩٩٠
القطن ، البطيخ	*F. oxysporum*	*T. harzianum*	١٩٨٩
القرنبيط	*P. aphanidermatum*	*T. harzianum*	١٩٨٩
الفول السودانى	*S. rolfsii*	*T. harzianum, G. virens*	١٩٨٩ ، ١٩٩٠
الحمص	*S. rolfsii*	*T. harzianum*	١٩٩٠
	R. solani, F. oxysporum	*G. virens*	١٩٩١

جدول رقم ٥ : تأثير استعمال المقاومة المتكاملة، الحيوية مع المبيد الفطرى. حيث يستعمل *G. virens* بتركيز 10^{7} كونيديا/مل + كربوكسين ٠,١ ٪.

المعاملة	عدد النبات فى الهكتار	٪ زيادة فى عدد النبات	الإنتاج قنطار/هكتار	٪ زيادة الإنتاج
الحمص				
مقاومة متكاملة	١٦٩٧٩٢	٢٩٠	١٤,٣٢	٢١١
كنترول	٤٣٥٠٠	–	٤,٦	–
العدس				
مقاومة متكاملة	٣٠٣٥٠٠	١٠٣,٦٩	١١,٦٦	٧٥,٠٨
كنترول	١٤٩٠٠٠	–	٦,٦٦	–

obeikandl.com

خامساً: المقاومة الحيوية للأمراض الكامنة في التربة لكل من التفاح والعنب
Biological Control of Soilborne Diseases of Apple And Grapevines

مقـــدمة:

تسبب الكائنات الممرضة النباتية الكامنة فى التربة، خسائر اقتصادية كبيرة فى المحاصيل الزراعية فى معظم أنحاء العالم. هذه الكائنات الممرضة، تسبب أمراض عفن الجذور، عفن التاج أو الرقبة، سقوط البادرات المفاجىء، اللفحات، تحلل الثمار والذبول، فى بساتين الفاكهه والمحاصيل الحقلية والخضار. الخسائر المالية غير مقدرة فى العالم كله ولكنها تبلغ ٤ ملايين دولار سنوياً فى الولايات المتحدة الأمريكية. هذه الخسائر لاتشمل تكاليف إضافة وإستعمال المبيدات الفطرية.

بسبب تلك الخسائر الكبيرة، فمن الضرورى تطوير وتحسين طرق حديثة لمقاومة الأمراض الكامنة فى التربة. كذلك هناك حاجة ماسة لتطوير طرق مقاومة بديلة لهذه الأمراض لتحل محل أو لتساعد المبيدات الكيماوية المستعملة. أهم المشاكل المختلفة التى تتسبب عن المقاومة الكيماوية، هى حدوث وتكشف ظاهرة المقاومة عند الكائنات الحية ضد هذه الكيماويات، كذلك التكاليف العالية والتأثير السلبى على الكائنات الدقيقة النافعة وظهور آفات ثانوية وتلوث البيئة. ومن الأمثلة عن تلوث البيئة، هو بقاء الكيماويات غير المرغوبة فى ماء التربة والتسمم المباشر بالعناصر الثقيلة والحظر من إحداث السرطان. ولقد أثبتت الإحصاءات أن حوالى ٨٠٪ من المبيدات الفطرية المستعملة هذه الأيام، يمكن أن يكون لها صفة الحث على تكوين الأورام.

كما سبق وأن عرفنا المقاومة الحيوية فى الفصل الأول من الكتاب بأنها خفض كثافة اللقاح أو النشاطات التى يحدثها الكائن الممرض سواء فى حالته النشيطة أو الكامنة، بواحد أو أكثر من الكائنات الدقيقة. هذا يمكن أن يحدث طبيعياً عن طريق التداخل فى كل من البيئة، العائل أو الكائن المضاد أو بواسطة الإنتاج الكبير لواحد أو أكثر من الكائنات المضادة. إن ميكانيكية المقاومة الحيوية لأمراض النبات ميكانيكية معقدة جداً.

إن الأمراض الكامنة فى التربة لأشجار الفاكهة المهمة اقتصادياً والعنب هى:

١- أمراض عفن الجذر والتاج المتسببة عن أنواع من الفطرين *Phytophthora* ، *Pythium*

٢- مرض التدرن التاجى المتسبب عن البكتيريا *Agrobacterium tumefaciens*

٣- مرض تدهور العنب المتسبب عن الفطر *Pythium ultimum*

٤- مرض إعادة استنبات التفاح المتسبب عن تفاعل الفطريات والبكتيريا والنيماتودا.

١- المقاومة الحيوية لأمراض عفن الجذر والتاج في التفاح:

يتسبب مرض عفن الجذر والتاج فى أشجار (غراس) التفاح *Malus demestica* أساساً عن الفطر *Phytophthora cactorum* وهناك أنواعاً أخرى وجدت مرافقة لهذا المرض فى مناطق أخرى من العالم. وجد فى بولندا أن المرض يتسبب أساساً عن الفطر *P. syringae* ثم بعد ذلك تصاب الأشجار بالفطر *P. cactorum*، وأحياناً يكون مصاحب لهما الفطر *Pythi-um ultimum*. أما فى كاليفورنيا يتسبب المرض عن عشرة أنواع من الجنس *Phytophtho-ra*، أهما *P. cambivora*، و *P. cryptogea*. أما فى ولاية نيويورك، فإن المرض يكون مترافقاً مع الفطر *Pythium irregulare*.

لقد تم الحصول على مقاومة مرض عفن التاج فى التفاح، عن طريق استعمال انواعاً من البكتيريا المنتجة لمادة السايدروفور، وذلك بإضافتها مباشرة على البقع المتسببة عن الفطر *P. cactorum*. ولقد استعملت مادة Binab T والتى هى عبارة عن الفطر *T.viride* بتركيز ٥ x ١٠^{٦} جرثومة لكل مل للمقاومة الحيوية للفطر *P. cactorum* على التفاح. هذه المعاملة تؤدى إلى خفض مساحة بقع النكروزز بنسبة تتراوح من ٥٣-٧٥٪ بعد سبعة أيام من الاستعمال.

هناك عدة عزلات من الفطر *Gliocladium* sp. و *Trichoderma* sp. ذات كفاءة عالية فى المقاومة الحيوية للفطر *P. cactorum* وذلك عن استعمالها على شتلات التفاح نوع ماكنتوش ذات عمر ١٤ يوماً، وذلك بغمرها فى المعلقات الجرثومية لهذه الفطريات لمدة ٢٥ ساعة ثلاثة مرات، مرة كل أسبوع. هذا الإجراء يخفض الإصابة المرضية كثيراً ويزيد من الوزن الجاف للنبات بالمقارنة مع الكنترول. ولقد وجد أن كلا من Hy- ، Oomycetes

Chytridiomycetes ، phomycetes تستطيع أن تستعمر الجراثيم البيضية للفطر *Phytoph-thora megasperma* نوع Soja وكذلك الفطر *P. cactorum*.

كذلك وجد أن البكتيريا *Enterobacter aerogenes* التى تباع تحت اسم (B8) مضادة للفطر الممرض *P. cactorum* فى المعمل وكذلك فى الصوبا الزجاجية وتخفض إصابة الغراس بالفطر المذكور. كذلك هناك ستة عزلات من البكتيريا *Bacillus subtilis*، عند إستعمالها على غراس التفاح تخفض كثيراً الإصابة بالمرض. ولقد وجد أن دور كل من *Enterobacter aerogenes* وعزلات البكتيريا الستة فى المقاومة الحيوية هو إفراز مضادات حيوية متعادلة ذات وزن جزيئى منخفض. إن هذه العوامل سواء الفطرية أو البكتيرية، حتى تقوم بعملها جيداً تحتاج إضافة الأسمدة النيتروجينية والفسفورية إلى التربة وذلك لإحداث أقصى إفراز من المضادات الحيوية وأية افرازات مضادة فطرية أخرى، وذلك لتخفيض نمو الفطر الممرض *P. cactorum*. كذلك يكون أفضل استعمال لعوامل المقاومة الحيوية هذه فى التربة، عندما تكون حرارة التربة ١٨°م بالنسبة للفطر و ٢٥°م بالنسبة للبكتيريا.

وجد فى تجارب الحقل أنه عند استعمال *E. aerogenes* لوحده فى التربة على شكل إشباع بالمحلول للتربة وقاعدة ساق النبات، أنه يخفض بشكل معنوى إصابة أشجار التفاح المحقونة صناعياً بالفطر الممرض، وأن أفضل الأصول التى تستجيب لهذه المعاملة هى MM106 (Malling - Merton). ووجد أيضاً أن هذه الأشجار تبقى حية وتعطى ثماراً بعد ثلاثة سنوات ويزيد إنتاجها، أما الأشجار التى حقنت بالفطر الممرض ولم تعامل بعامل المقاومة الحيوية (B8)، فإنها تموت فوراً.

٢- المقاومة الحيوية لمرض إعادة استنبات التفاح

Biological Control of Apple Replant Disease

يعتبر مرض إعادة استنبات التفاح (ARD) واحداً من أهم مشاكل إعادة استنبات التفاح، ويساهم فى إحداث النمو الضعيف لأشجار التفاح النامية فى أماكن التفاح القديم أو بساتين الكمثرى. يثبط هذا المرض النمو الأولى للأشجار الحديثة ويخفض إنتاج الثمار فى التفاح واللوزيات فى جميع مناطق زراعة أشجار الفاكهة فى العالم. مع أن ARD قد تم تحديده بواسطة كثير من الباحثين لعدة سنوات، إلا أن المسبب الرئيسى له لم يحدد جيداً بعد.

نظراً لأن المقاومة المتحصل عليها عن طريق تبخر التربة أو تعقيمها أو بكليهما معاً، لاتكون ذات كفاءة عالية، إلا أن مسبب ARD يعتقد بأنه حيوى Biotic. فى الولايات الشرقية لأمريكا، يعتقد بأن العامل المسبب للمرض هو نيماتودا متطفلة (هذا ما ذكره Mai *et al* سنة ١٩٨١). إما Sewell سنة ١٩٨٢ فقد ذكر بأن هناك فطريات *Pythiaceous* مترافقة مع ARD فى بريطانيا. كذلك تبين أن بكتيريا التربة والاكتينومايستس لها دور أيضاً فى المرض ARD. وبعض التقارير تشير إلى أن المرض من الأمراض الفسيولوجية ونقص التغذية.

أما عن المقاومة الحيوية لهذا المرض فقد تبين أن هناك سلالتين من *Penicillium janthinellum* وسلالة واحدة *Constantinella terrestris* ومن *Trichoderma* sp. وسلالتين من البكتيريا *Bacillus subtilis* لها دور فى المرض ARD، فوجد أنها أحياناً تثبط بشكل معنوى نمو شتلات التفاح المزروعة فى أوعية وأحياناً يكون لها تأثير إيجابى فى خفض المرض، هذا تبين فى مناطق مختلفة من بريطانيا وكولمبيا. وعلى العكس من ذلك هناك أبحاث أخرى تدل على أن الفطريات والبكتيريا والنيماتودا لوحدها أو تفاعلاتها جميعاً يمكن أن تشارك فى حدوث ARD فى أراضي بساتين التفاح.

لقد تبين أن العزلة البكتيرية BACT-1 من البكتيريا *B. subtilis* لها تأثير فعال ومعنوى مضاد فى المعمل ضد ١٧ عزلة فطرية معزولة من تربة ARD، وتسبب زيادة طول غراس التفاح، إذا ما زرع التفاح فى تربة معقمة ومسمدة فى الصوبا الزجاجية. كذلك فإن ارتفاع النبات يزداد أيضاً فى وجود عزلة EBW4 من البكتيريا *B. subtilis* فى تربة معقمة ومسمدة فى الصوبا الزجاجية. ولكن هذه العزلة لاتظهر تضاداً حيوياً ضد معظم فطريات ARD فى المعمل.

أما تحت ظروف الحقل، فإن استعمال العزلة البكتيرية المذكورة سابقاً، لوحدها، تكون فعالة فى تشجيع نمو أشجار التفاح فى تربة ARD وإن هذه العزلة تزيد بشكل معنوى نمو الشجرة عندما تستعمل متحدة مع Metham صوديوم و peat وسماد أزوت وفسفور وبوتاس. كذلك فى الصوبا الزجاجية تكون هناك زيادة معنوية فى نمو الشتلات عند مزج تربة ARD مع *Glomus mosseae*. هذه النتائج تؤدى إلى القول بأن *G. mosseae* والعزلة البكتيرية EBW4 لهما كفاءة عالية فى تحسين نمو أشجار التفاح فى تربة ARD.

٣- المقاومة الحيوية لمرض التدرن التاجي:

يتسبب مرض التدرن التاجى عن البكتيريا *Agrobacterium tumefaciens* ويسبب خسائر إقتصادية كبيرة فى مشاتل نباتات العائل الوردية واللوزيات وأنواع *Rubus*، العنب ومعظم أنواع الأشجار التى تحمل ثماراً جوزية. ينتشر المرض كثيراً فى مشاتل التفاح وتصل نسبة الإصابة أحياناً ٣٥٪ فى بعض المشاتل الموبوءة.

هناك عدة محاولات غير ناجحة لمقاومة مرض التدرن التاجى فى التفاح باستعمال مبيدات الآفات. حدث هناك نجاح فقط باستعمال المقاومة الحيوية وذلك باستعمال السلالة K-84 من البكتيريا *Agrobacterium radiobacter*. مع أن هذه السلالة تعطى نتائج جيدة فى مقاومة مرض التدرن التاجى فى أشجار اللوزيات، إلا أن تأثيرها قليل جداً فى مقاومة المرض على التفاح. ولقد وجد فى بعض الأبحاث أن هذه البكتيريا تزيد أحياناً من شدة المرض فى التفاحيات. وعلى أية حال وجد أن غمر الجذر فى معلق السلالة AB8 من البكتيريا *B. Subtilis* يقاوم مرض التدرن التاجى على شتلات التفاح الصغيرة تحت ظروف الحقل.

٤- المقاومة الحيوية لمرض تدهور العنب

Biological Control of Decline of Grapevines

يصاب العنب *Vitis vinifera* بمرض التدهور، حيث أصبح هذا المرض من المشاكل الخطيرة فى مناطق زراعة العنب. تكون الأعراض النموذجية لهذا المرض، عبارة عن تأخير وبطء وضعف نمو الشجيرات، تصبح الفروع الجانبية مصفرة ويزداد هذا الاصفرار حتى يشمل المجموع الخضرى، ينخفض الإنتاج كثيراً وتكون ثمرات (حبات) العنب المتكون صغيرة. يبدأ أول ظهور للمرض على شجيرات العنب ذات عمر ٤-٥ سنوات، حيث هذه الشجيرات تكون حساسة لإظهار الإغراض. يظهر على جذور وجذوع الأشجار المصابة تعفن تحت مستوى سطح التربة وانخفاض فى عدد الجذور المغذية. يحدث موت للشجيرات بعد ظهور أولى الأعراض بسنتين. الفطر المسبب للمرض هو *Pythium ultimum* فى كل من بريطانيا وكولومبيا وإستراليا وجنوب أفريقيا.

يقاوم هذ المرض حيوياً باستعمال البكتيريا *Enterobacter aerogenes* بمعدل ١,٤ x $^{١٠}١٠$ وحدة تكوين مستعمرات/ شجرة توضع حول القاعدة. هذا الإجراء يمنع موت الشجيرات المصابة وتعود الشجرة إلى حالتها السليمة.

obeikandl.com

الفصل الثالث

المقاومة الحيوية لأمراض بعد الجمع

Biological Control of Postharvest Diseases

أولاً: أساسيات المقاومة الحيوية لأمراض بعد الجمع

مقـــدمة:

مع أنه من الصعوبة تقدير الخسائر الكلية لأمراض ما بعد الجمع، إلا أن بعض التقديرات التى تذكرها وزارة الزراعة الأمريكية، تقول إن حوالى ٢٤ ٪ من المحاصيل تتعرض للفساد بعد الجمع فى أمريكا، وحوالى ٥٠ ٪ تتعرض للفساد فى الدول النامية والمناطق الاستوائية.

من المعروف أن المبيدات الفطرية هى الوسائل الأساسية فى مقاومة أمراض ما بعد الجمع، ولها استعمال عالمى واسع، وهذه المبيدات تقدر بحوالى ٢٦ ٪ من مبيدات الآفات فى أسواق أوروبا وآسيا، وحوالى ٦ ٪ فى الولايات المتحدة (Jutsum 1988). وعلى أية حال ونظراً لأن الفواكه والخضروات المجموعة عادة ما تعامل بالمبيدات الفطرية لوقف أو تقليل حدوث أمراض ما بعد الجمع، إلا أن هناك احتمالاً قوياً لتعرض الإنسان المباشر لهذه المبيدات أكثر من مبيدات الآفات الأخرى التى تستعمل لوقاية المجموع الخضرى فقط.

فى السنوات الأخيرة حدث هناك قلق عام حكومى وشعبى تجاه استعمال المبيدات الكيماوية على الثمار، وذلك لتأثيرها على صحة المستهلك، بالإضافة إلى تلوث البيئة. هناك تقرير من الأكاديمية العلمية الوطنية (NAS) ذكر فى سنة ١٩٨٩، يبين الأضرار التى تلحق بالصحة العامة الناتجة عن استعمال المبيدات الفطرية. وكنتيجة مباشرة لهذه الهموم الكبيرة التى تحملها العلماء تجاه المواطنين من الناحية الصحية، فان الوعى الحقيقى يدل على أن عديداً من المبيدات الفطرية (كابتان، بينومايل) تسبب الهلاك لكثير من المستهلكين، فقد صدر قرار بعدم استعمال هذه المبيدات على الثمار التى تتداول فى الأسواق لكثير من أنواع الثمار بعد الجمع. هذه الإجراءات أعطت دفعة كبيرة للتفكير فى مقاومة أمراض بعد الجمع بطرق أكثر سلامة. لقد أصدرت (NAS) تقريراً يوضح إمكانية مقاومة أمراض ما بعد الجمع بالطرق الحيوية (لبعض المحاصيل فى بعض المناطق) وذكر التقرير أيضاً أن بعض

المبيدات، وخاصة المبيدات الفطرية، عند الاستغناء عنها، سوف تسبب نقصاً كبيراً فى مقاومة الآفات وخاصة عند عدم توفير البديل الاقتصادى لهذه المبيدات.

على الرغم من هذه التقارير والاتجاه للحد من، أو حظر استعمال المبيدات الفطرية الصناعية، إلا أنه لايزال هناك استعمال لكثير من هذه المبيدات لمقاومة أمراض ما بعد الجمع. لقد صدر تقرير سنة ١٩٩١ عن المجلة Postharvest News and Information، يقول إن البرلمانات الأوربية قد أصدرت قراراً بمنع استعمال المبيدات الفطرية فى معاملة الفواكه والخضار بعد الجمع عندما تتوفر طرق المقاومة الحيوية البديلة. هناك جمعيات صحية تنادى بأن صناعة الكيماويات الزراعية، يجب أن تبدأ فى الاختفاء تدريجيا، وأن المنتجات الحيوية، سوف تصبح منافسة لهذه الكيماويات بسبب الإجراءات الوقائية لحماية البيئة.

من هذا يبدو واضحاً أن هناك حاجة ملحة، لتطوير طرق فعالة جديدة لمقاومة أمراض ما بعد الجمع والتى تحقق الهدف من ناحية الصحة العامة واستبعاد أخطار تلوث البيئة، وهذا المطلب سوف يتحقق بالتدريج فى المستقبل.

إن خفض كمية اللقاح المتبقى فى التربة أو على النبات، عن طريق الاستبعاد أو الإجراءات الصحية واستعمال المبيدات الفطرية غير الاختيارية مثل كربونات الصوديوم، صوديوم باى كربونات، الكلوراين النشيط وحمض السوربيك، والمعاملة بالحرارة يمكن أن تخفض بشكل واضح من شدة المرض على المنتجات بعد الجمع. إن تكنيك الجمع والتعامل وكل الطرق التي تقلل من حدوث الأضرار، على المنتجات أثناء الجمع وتحت ظروف المخزن، والتى تكون أفضل الظروف لبقاء مقاومة العائل، سوف تساعد فى وقف تكشف المرض بعد الجمع. بالإضافة إلى الطرق المذكورة سابقاً، على أية حال، هناك جهود كبيرة قد اتجهت لتحديد كفاءة المقاومة الحيوية لأمراض الفواكه والخضروات بعد الجمع كبديل حيوى للمبيدات الفطرية الصناعية المستعملة حالياً.

المقاومة الحيوية كمجال جديد:

تواجه عوامل المقاومة الحيوية صعوبات كثيرة فى انتقالها للتطبيق من المجال النظرى إلى المجال العملى (من المعمل إلى الحقل) ثم إلى الاستعمال التجارى فى السوق. هذه الصعوبات، جزء كبير منها، بسبب المشاكل التى تنتج عن عدم كفاءة عوامل المقاومة

الحيوية عند استعمالها فى الحقل تحت ظروف غير متحكم بها، وكذلك لقلة الحافز الاقتصادى لتطوير التكنولوجيا الضرورية لاستعمالها بكفاءة عالية. إن زيادة الدعم اللازم لانتشار، وتأييد الأبحاث فى هذا المجال، يعود بشكل كبير إلى كفاءة المقاومة الحيوية، والوعى الحقيقى بعدم سلامة استعمال المبيدات الفطرية الكيماوية. وعلى أية حال بسبب تغيير مجال الاقتصاد الاجتماعى، والتقدم المستمر فى الهندسة الوراثية، كل ذلك أدى إلى الثقة والتمسك بالمقاومة الحيوية كمجال ذو معنى لمقاومة الامراض والآفات بعد الجمع. كذلك فان التغيرات الحديثة فى قوانين بعض الدول، ساعدت فى إيجاد جو أكثر اهتماماً لاكتشاف وتطوير وسائل مقاومة حيوية تطرح فى الأسواق. كذلك فإن هناك عديداً من الشركات التى تتعامل مع الكيماويات الزراعية، قد اتجهت إلى تصنيع بعض عوامل المبيدات الحيوية وطرحها فى الأسواق لمقاومة أمراض ما بعد الجمع.

طرق المقاومة الحيوية لأمراض بعد الجمع

هناك طريقتان يمكن فيهما استعمال الكائنات الحية الدقيقة فى مقاومة أمراض ما بعد الجمع، الأولى: استعمال وتحوير الميكوفلورا المفيدة والتى تكون موجودة مسبقاً على سطوح الثمار والخضروات، الثانية: استعمال كائنات مضادة طبيعياً للكائنات الممرضة وإدخالها (وضعها) صناعياً على سطوح الثمار والخضروات لتضاد الكائنات المسببة لأمراض بعد الجمع. إن معرفتنا بالطرق التى بها يمكن التأثير على التجمعات التى تحدث طبيعياً من أنواع الكائنات الحية الدقيقة المختلفة، تكون ذات فائدة كبيرة ومهمة، وتؤدى إلى استعمال واسع فى المقاومة الحيوية لأمراض قبل وبعد الجمع. يمكن الحصول على هذه المعرفة خلال الإدخال الصناعى لأعداد كبير من الكائنات المضادة المعروفة ومن الدراسات المعملية الواسعة التى تطبق تدريجياً فى الحقل والمخزن.

هناك عدة عوامل تؤثر على كفاءة المقاومة الحيوية لأمراض ما بعد الجمع عند استعمال كائنات حية مدخلة صناعياً ذات كفاءة عالية فى التضاد ضد الكائنات الممرضة، هذه العوامل هى:

أولاً: بيئة المخزن لمنتجات بعد الجمع، هذه البيئة غالباً ما يمكن التحكم بها ويحافظ عليها. هذا التحكم يمكن أن يقلل من مشاكل عوامل المقاومة الحيوية المدخلة فى بيئة مختلفة

وغير خاضعة للتنبوء لما يحدث فيها، والتى كانت فيما سبق العامل المحدد لنجاح إجراءات المقاومة الحيوية فى الحقل.

ثانياً: تحديد عامل المقاومة المطلوب. إن المقدرة على تحديد عامل المقاومة الحيوية فى المكان المطلوب، إظهار نشاطه فيه يؤدى إلى زيادة نجاح المقاومة الحيوية لأمراض ما بعد الجمع.

ثالثاً: القيمة العالية لمنتجات بعد الجمع. إن القيمة الاقتصادية للمنتجات التى تعامل حيوياً، يمكن أن تجعل إجراءات المقاومة الحيوية مدروسة أكثر للحصول على فعالية أكثر من تلك الاجراءات التى تكون فى الحقل.

رابعاً: قصر الفترة المطلوب لظهور فعالية المقاومة الحيوية. بالنسبة لبعض المنتجات التى ترسل بعد الجمع مباشر طازجة إلى المستهلك، فإن الوقاية من أمراض ما بعد الجمع يحتاج إليها فى فترة قصيرة فقط، وبالتالى يجب استعمال الكائنات الحية الدقيقة سريعة التكاثر والمفعول.

مع أنه يبدو أن بيئة ما بعد الجمع، يمكن أن تناسب بشكل خاص تكشف عوامل المقاومة الحيوية، إلا أن هناك حاجة ماسة لزيادة الوقت والمال لدراسة هذه العوامل قبل إدخالها فى الاستعمال التجارى. وبالتالى فإن عزل، وتصفية، واختيار الكائنات المضادة عالية الكفاءة، من المستحسن أن تحصل على اهتمام وتفكير كافيين. إن الصفات المثالية للكائنات المضادة كما ذكرها Roberts سنة ١٩٩١ تبين أن أى كائن مضاد يستعمل فى المقاومة الحيوية لأمراض ما بعد الجمع، يجب أن تكون لديه المقدرة على الإستعمار والبقاء على المنتج النباتى بمستويات فعالة، وأن تكون متوافقة مع عمليات ما بعد الجمع الأخرى الطبيعية والكيميائية، وأن تكون فعالة تحت الظروف الباردة، وفى بعض الأحيان تحت ظروف جوية متحكم بها. بالإضافة لذلك يجب أن يكون الكائن الحى سهل الاستعمال فى الحصول على إنتاج كميات كبيرة منه باستعمال مواد أولية رخيصة الثمن.

ولقد ذكر Wilson سنة ١٩٨٩ صفات الكائن المضاد المثالى الذى يستعمل فى المقاومة الحيوية لأمراض بعد الجمع وهذه الصفات هى:

١- أن يكون ثابتاً وراثياً.

٢- أن يكون فعالاً على تركيزات منخفضة.

٣- ألا يكون شديد الحساسية فى متطلباته الغذائية.

٤- أن يكون ذا مقدرة على البقاء حياً فى الظروف البيئة المعاكسة (تشمل الحرارة المنخفضة وجو مخزن متحكم به).

٥- أن يكون فعالاً ضد مدى واسع من الكائنات الممرضة على ثمار وخضروات مختلفة.

٦- أن يكون سهل الانقياد لإنتاج كميات كبيرة على بيئة غذائية غير غالية الثمن.

٧- أن تكون لديه القدرة، وبسهولة لتكوين مكونات ذات سقف حياة مرتفع.

٨- أن يكون سهل الانتشار أثناء الاستعمال.

٩- ألايكون منتجات أيضية تكون ضارة بصحة الإنسان.

١٠- أن يكون مقاوماً لمبيدات الآفات ومتوافق مع الإجراءات التجارية وألا يكون ممرضاً للمنتجات الزراعية التى يستعمل عليها.

الكائنات الحية المستعملة في مقاومة أمراض بعد الجمع

لقد ذكر Cook & Baker سنة ١٩٨٣ فى كتابهما «المقاومة الحيوية»، مثالاً واحداً على المقاومة الحيوية لأمراض بعد الجمع فى الفواكه والخضروات. هذا المثال كان عن المقاومة الحيوية لعفن البوترايتس على الفراولة باستعمال الفطر *Trichoderma* sp.. ومنذ ذلك الوقت، حصلت هناك أبحاث كثيرة تخص أمراض الثمار ومقاومتها بعد الجمع، ولقد تم تعريف عديد من هذه الكائنات المضادة.

لقد ذكرت الكائنات الميكروبية المضادة، والتى تقاوم عديداً من الكائنات المسببة لأمراض العفن على منتجات نباتية مختلفة فى جدول رقم (٦). من بين هذه الكائنات المهمة المضادة، الخمائر والكائنات الشبيهة بالخمائر مثل *Pichia guilliermondii*، حيث تم

عزله ودراسته من قبل Wilson & Chalutz سنة ١٩٨٩ . ثم تلى ذلك كثير من الباحثين درسوا مقاومة أعفان ما بعد الجمع على ثمار الحمضيات وفواكه أخرى باستعمال كائنات مضادة مثل *Acremonium breve* وعديد من أنواع *Cryptococcus*، عزلت بواسطة العالم Roberts سنة ١٩٩٠ لمقاومة أعفان ما بعد الجمع فى ثمار التفاح *Malus domestica* والكمثرى *Pyrus communis*. كذلك ذكر Janisiewicz سنة ١٩٨٨ أن بعض الخمائر تستطيع أن تستعمر سطح الثمرة لمدة طويلة تحت الظروف الجافة وتفرز مواد عديدة التسكر والتى تشجع بقاءها، وتحد وتثبط كلاً من المستعمرات الفطرية والإنبات السريع لتركيبات التكاثر الفطرية، وتستعمل المواد الغذائية المتوفرة بسرعة وتتبرعم بسرعة وتتأثر أقل ما يمكن بالمبيدات الفطرية والمبيدات الكيماوية الأخرى.

إن فعالية الخميرة *Pichia guilliermondii* والتى كانت تسمى سابقاً *Debaryomyces hansenii* ذات قوة عالية فى مقاومة عفن البوتراتيس فى التفاح وعفن البنسيليوم فى البرتقال *Citrus sinensis* عندما تضاف إلى الثمار المجروحة والمحقونة بالكائن الممرض.

بالإضافة إلى الخمائر المذكورة سابقاً، فان البكتيريا *Bacillus subtilis* و *Pseudomonas cepacia* قد أظهرتا كفاءة عالية فى مقاومة مدى واسع من كائنات العفن على العديد من المنتجات الزراعية. على أية حال فان كفاءتهما تظهر فى اعتمادهما على إنتاج مضادات حيوية فعالة فى التضاد، هذه الصفة يعتمد عليها بشكل خاص عند إعتمادها للاستعمال التجارى فى السوق. على الرغم من أن التضاد هو الصفة الأساسية التى يعتمد عليها فى مقاومة أمراض ما بعد الجمع، إلا أنه ليس الصفة الوحيدة، حيث يتداخل معه عوامل وصفات أخرى قد تكون محددة أو غير مفهومة نسبياً، من ضمن هذه العوامل، المنافسة على الغذاء وعلى المكان بحيث يتم استبعاد الكائن الممرض من المكان، والحث الذاتى على المقاومة وأحياناً التطفل المباشر. بالإضافة لذلك فقد ذكر Baker سنة ١٩٨٧، أن هناك ميكانيكيات أخرى غير واضحة تتدخل وتعمل فى الحياة الطبيعية بين الكائنات. كلما استمرت الأبحاث فى المقاومة الحيوية لأمراض ما بعد الجمع، فإن المعرفة بحقائق ودقائق هذه الأمور تزداد وضوحاً وبسرعة، ويمكن أن تبنى عليها استنتاجات كثيرة يمكن استعمالها فى أبحاث المقاومة الحيوية لأمراض السطح الورقى وهكذا. هناك بعض المعلومات مذكورة فى جدول رقم ٥ تتعلق بالمقاومة الحيوية لأمراض ما بعد الجمع.

جدول رقم ٥ : بعض المعلومات عن المقاومة الحيوية لأمراض ما بعد الجمع.

اسم النبات	اسم المرض	عامل المقاومة الحيوية المستعمل ضد المرض	أول سنة استعمل فيها
التفاح	العفن الأزرق	*Pseudomonas syringae*	١٩٨٧
التفاح	العفن الأزرق	*P. cepacia*	١٩٨٨
التفاح	العفن الأزرق	*Cryptococcus spp.*	١٩٩١
التفاح	العفن الأزرق	*Pichia guilliermondii*	١٩٩٠
التفاح	العفن الرمادى	*Pichia guilliermondii*	١٩٨٨ ، ١٩٩٠
التفاح	العفن الرمادى	*Pseudomonas cepacia*	١٩٨٨
التفاح	العفن الرمادى	*Cryptococcus laurentii*	١٩٩٠
التفاح	العفن الرمادى	*C. flavus, C. albidus*	١٩٩١
التفاح	العفن الرمادى	*Acremonium breve*	١٩٨٨
التفاح	عفن ميوكار	*Pseudomonas cepacia*	١٩٨٧
الكمثرى	العفن الأزرق	*P. cepacia*	١٩٨٨
الكمثرى	العفن الرمادى	*P. cepacia*	١٩٨٨
الكمثرى	العفن الرمادى	*P gladioli*	١٩٨٩
الكمثرى	عفن ميوكار	*C. laurentii*	١٩٩٠
الكمثرى	عفن ميوكار	*C. flavus, C. alibdus*	١٩٩٠
الحمضيات	العفن الأخضر	*Pichia guilliermondii*	١٩٨٩ + ١٩٩٠
الحمضيات	العفن الأخضر	*Bacillus subtilis*	١٩٨٤
الحمضيات	العفن الأزرق	*P. guilliermondii*	١٩٩٠
الحمضيات	العفن الحامض	*P. guilliermondii*	١٩٩٠
الحمضيات	العفن الحامض	*B. subtilis*	١٩٨٤
الحمضيات	العفن الحامض	*Trichoderma sp.*	١٩٨٣
الحمضيات	عفن قاعدة الساق	*B. subtilis*	١٩٨٤

(يتبع) :

اسم النبات	اسم المرض	عامل المقاومة الحيوية المستعمل ضد المرض	أول سنة استعمل فيها
النكترين	العفن البنى	*B. subtilis*	١٩٨٤
الخوخ	العفن البنى	*B. subtilis*	١٩٨٤
الخوخ	عفن رايزوبص	*Enterobacter cloacae*	١٩٨٧
المشمش	العفن البنى	*B. subtilis*	١٩٨٤
البرقوق	العفن البنى	*B. subtilis*	١٩٨٤
الكرز	عفن الترتاريا	*E. aerogenes*	١٩٨٦
الكرز	العفن البنى	*B. subtilis*	١٩٨٦
العنب	العفن الرمادى	*Trichoderma harzianum*	١٩٨٤
العنب	العفن الرمادى	*P. guilliermondii*	١٩٨٨
العنب	اعفن رايزوبس	*P. guilliermondii*	١٩٨٨
الطماطم	العفن الرمادى	*P. guillermondii*	١٩٨٨
الطماطم	عفن الترناريا	*P. guilliermondii*	١٩٨٨
الفراولة	العفن الرمادى	*Trichoderma sp.*	١٩٧٧
الأناناس	عفن بنسيليوم	*Attenuated strains of Penicill*	
البطاطس	العفن الطرى	*Pseudomonas putidae*	

أ: إجراءات ما قبل الجمع وأثرها في المقاومة الحيوية لأمراض ما بعد الجمع

مقـــدمة:

هناك قليل من الشك فى أن المقاومة الحيوية لأمراض ما بعد الجمع، لها كفاءة عالية فى تحسين صفات الثمار الطازجة وتصنيع الخضروات. كذلك فإن المقاومة الحيوية لأمراض ما بعد الجمع تحقق رغبات المستهلكين فى الحصول على الثمار والفواكة الطازجة غير معاملة بمواد ضارة على صحة الإنسان مثل المبيدات الكيماوية، وبالتالى يزداد الطلب على استعمال المقاومة الحيوية، حتى لو كانت تكاليفها أعلى من تكاليف المواد الكيماوية. هناك

تجارب عديدة ذكرت أن كثيراً من الكائنات الحية الدقيقة غير الممرضة سواء بكتيرية أو فطرية تكون مضادة وتستعمل فى حفظ ووقاية منتجات ما بعد الجمع.

هناك بعض الملاحظات التى يجب الانتباه إليها فى دراسة المقاومة الحيوية لأمراض ما بعد الجمع هذه الملاحظات هى:

١- متى يجب استعمال عامل المقاومة الحيوية بحيث يعطى أعلى فائدة ويستمر بقاؤه؟

٢- بعض المنتجات النباتية التى تبدو سليمة عند جمعها يمكن أن تحتفظ بإصابات كامنة قادرة على إحداث خسائر واضحة خلال فترة التخزين، إذا لم تؤخذ الإجراءات الصحية اللازمة.

٣- عملية حفظ الفواكه الطازجة والخضروات خلال فترة نموها، عن طريق استعمال الكائنات المضادة الطبيعية يمكن أن تكون مكلفة وصعبة التطبيق.

٤- هناك عوامل كثيرة يجب الاهتمام بها قبل الجمع، وكذلك طرق الجمع، كلها تؤثر على نوعية المنتجات الطازجة أثناء فترة التخزين والتسويق.

فى الصفحات القادمة نحاول تفسير هذه النقاط المذكورة أعلاه.

١- البلازما الجرثومية النباتية Plant Germ Plasm

هناك قليل من التجارب أثبتت أنه يمكن مقاومة بعض أمراض ما بعد الجمع (أمراض معينة) عن طريق إدخال جينات فى النبات، هذه الجينات تكسب المنتج النباتى صفة المقاومة للمرض. وعلى أية حال فإن هذه الطريقة لاتقلل من فوائد التربية الكلاسيكية للنبات لمقاومة الأمراض فى الحقل والتى بدورها، يمكن أن تؤثر أيضاً على نوعية المنتجات بعد الجمع. إن جهود مربى النبات، قد سببت زيادة فى إنتاج المحصول، وفى كثير من الحالات يكون ذلك مصحوباً بزيادة فى نوعية الثمار بعد الجمع وخفض الفاقد فى المخزن نتيجة التعفن. ولسوء الحظ فإن هذه الزيادة فى الإنتاج، فى بعض الحالات، تكون مترافقة بمشاكل ما بعد الجمع، وذلك بسبب أن المنتجين قد ركزوا اهتمامهم على تطوير وسائل النقل والمخزن وذلك لمقابلة زيادة الإنتاج وزيادة طلب السوق وليس لخفض شدة أمراض ما بعد الجمع. وإن

أفضل الطرق التى اتبعوها أثناء النقل هى استعمال طرق المقاومة الكيماوية، عندما تكون أمراض ما بعد الجمع مؤثرة كثيراً على نوعية المنتج الطازج.

هناك كثير من الكائنات الممرضة لما بعد الجمع، عبارة عن ممرضات جرحية، ومثل هذه الممرضات ليست سهلة الإذعان للمقاومة، عن طريق اتباع طرق تربية النبات لمقاومة الأمراض، إلا أنه هناك استثناءات جديرة بالذكر هى *Monilinia fructicola* (مسبب العفن البنى فى اللوزيات) والفطر *Phytophthora infestans* مسبب مرض اللفحة المتأخرة فى البطاطس. هذه الكائنات الممرضة تسبب خسائر كبيرة بعد الجمع نتيجة الإصابة التى تحدث خلال موسم النمو فى الحقل ثم تنتشر وتزداد أثناء التخزين. إن البلازما الجرثومية فى الخوخ ذات الكفاءة العالية فى المقاومة لمرض العفن البنى، قد عرفت فى شمال أمريكا، وإن نتائج دراسة مقاومة الأمراض التى أجريت تحت ظروف النمو فى كاليفورنيا لم تتأكد بعد.

من بين أصناف البطاطس النامية فى الولايات المتحدة، هناك جينات للمقاومة لمرض اللفحة المتأخرة، مثل صنف كينك وسيباجو، ولكن هذه المقاومة لاتصل إلى حد يحمى هذه النباتات فى جميع الأماكن، وبالتالى كان يعتمد على المبيدات الفطرية فى حماية نباتات البطاطس من الإصابة باللفحة المتأخرة خاصة فى زراعات المناطق المرتفعة، وبالتالى فإن إنتاج المناطق المرتفعة يكون ملوثاً ببقايا المبيدات الكيميائية، وهذا يؤدى إلى البحث للحصول على بلازما جرثومية أكثر مقاومة. هناك مصادر أكثر وأفضل للمقاومة فى البلازما الجرثومية فى كثير من الأصناف العالمية، عنها فى الأصناف التى تزرع تجارياً فى الولايات المتحدة، مما يجعل هذا الموضوع يأخذ الأسبقية الأولى فى الدراسات فى الولايات المتحدة.

٢- الطقس Weather

إن الأضرار المتسببة عن التجمد والصقيع، هى عامل أساسى محدد لإنتاج ثمار طازجة وخضروات فى كثير من المناطق الزراعية فى المناطق الدافئة. إن نبات الخرشوف صنف (GIOB) هو مثال على المحصول الذى يحتاج إلى موسم نمو طويل، والذى غالباً ما يرتبط إنتاجه بظروف الصقيع والتجمد فى الحقل. تتجمد البراعم على درجة ٢٩°ف، وبالتالى فإن

البكتيريا المشجعة لنواة الجليد Ice nucleating يمكن أن تعلب دوراً كبيراً فى حدوث أضرار الصقيع على هذا المحصول.

كذلك فإن أشجار الفاكهة بالإضافة لكثير من أنواع الخضار، يمكن أن يتحدد إنتاجها بشدة بصقيع الربيع المتأخر، والذى يمكن أن يحطم البراعم والثمار المتكشفة. إن البكتيريا المشجعة لتكوين نواة الجليد والتى تتبع الجنس *Pseudomonas*، قد تبين أنها العامل الأكبر المسبب لكثير من هذا التحطيم. لقد استعملت البكتيريا المضادة لتحل محل البكتيريا المشجعة لنواة الجليد فى البراعم وأعطت نتائج ممتازة. هناك تقارير أخرى فى برامج كثيرة، تبين أن البكتيريا غير المشجعة لنواة الجليد يمكن أن تكون أيضاً مضادة لبعض الكائنات الممرضة المسئولة عن أمراض ما بعد الجمع. من الممكن أن يكون هذا النشاط الثنائى (عدم تشجيع تكوين بللورات جليد بالإضافة إلى تضاد الكائنات الممرضة النباتية) يمكن أن يستخدم ليعطى قاعدة كبيرة لنشاط المقاومة الحيوية ضد الكائنات الممرضة التى تسبب أمراض ما بعد الجمع. وعلى أية حال فإن العقبة الكبيرة التى تواجه هذه الاستراتيجية هى بقاء البكتيريا المضادة على سطح النبات خلال موسم النمو (الفترة الدافئة والباردة).

بالإضافة لما سبق ذكره، فإن هناك تفاؤلاً يدل على استطاعة الباحثين اكتشاف ميكروبات مضادة جديدة باستمرار، متعددة الاستعمالات فى الطبيعة، والتى يمكن أن تستخدم بكفاءة وعلى نطاق واسع كعوامل مقاومة حيوية. هناك عدة أسباب لهذا التفاؤل ظهرت بعد اكتشاف كل من:

١- البكتيريا المضادة للبكتيريا، مسببة مرض اللفحة النارية فى التفاح والكمثرى *Erwinia amylovora*.

٢- البكتيريا غير المشجعة لتكوين بللورات الجليد.

٣- سلالات من البكتيريا *E. herbicola* التى اكتشفت لتعمل على خفض أضرار الصقيع واللفحة النارية.

إن مرض جرب التفاح المتسبب عن الفطر *Venturia inaequalis* هو واحد من أكثر الأمراض تحطيماً لثمار التفاح، هذا المرض يقاوم حالياً عن طريق استعمال مبيدات فطرية كيماوية خلال موسم النمو. هذا المرض يمثل تحدياً للمقاومة الحيوية للأسباب الآتية:

١- إن الثمرة يمكن أن تصاب خلال موسم النمو بواسطة جراثيم منتجة على الأوراق التى كانت مصابة مبكراً فى موسم النمو.

٢- إن العامل المحدد للإصابة، هو طول الوقت الذى يكون فيه سطح الورقة رطباً بكمية كافية، تسمح بإنبات الجرثومة. وإن اضافة عامل المقاومة الحيوية (الكائن المضاد) إلى سطح الورقة، حيث سيبقى حياً خلال موسم النمو الذى يمكن أن لايكون ملائماً له نظراً لقلة المواد الغذائية المتوفرة على معظم سطح الورقة والثمرة، لتطيل فترة بقاء معظم الكائنات المضادة، مما يسبب خفض كبير فى تكاثرها خلال الفترات الطويلة لتساقط الأوراق وجفافها.

٣- الفترات المتبادلة من ارتفاع وانخفاض الرطوبة، من الممكن أن تؤدى إلى بقاء معظم الكائنات المضادة البكتيرية والفطرية غير المرغوب وجودها على سطح المنتج النباتى. وعلى أية حال هناك بعض الخمائر تبدو وأنها قادرة على احتمال هذه التغيرات البيئية الحادة.

هناك إستراتيجية أكثر عملية، للمقاومة الحيوية للفطر *V. inaequalis* تعتمد على مهاجمة الكائن الممرض فى الورقة وبقايا الثمرة على الأرض تحت الشجرة فى نهاية موسم النمو. إن الكائن المضاد الذى يمكن أن يبقى حياً فى البيئة، من الممكن أن تكون لديه فرصة أكبر للحد من مرض جرب التفاح، أكثر من الذى يجبر على البقاء على سطوح الأوراق والثمار خلال موسم النمو. من الأمثلة الممتازة على هذا النوع من الإجراء هو مقاومة *Scler-otinia* sp. على الخس عن طريق الرش بجراثيم *Sporidesmium* على نبات الخس فى نهاية موسم النمو وما يتبع ذلك من إزالة بقايا النبات.

مع أن هناك أصنافاً من التفاح والكمثرى عندها مستويات عالية من المقاومة لمرض جرب التفاح (جرب الثمار) إلا أن دمج هذه المقاومة فى الأصناف التجارية لم يحظ بالأولوية فى الدراسة. إن رغبة المستهلك هى التى يمكن أن تغير هذا الاتجاه، وذلك عن طريق المستهلكين الذين يطالبون بخفض أو استبعاد المبيدات الفطرية عن الثمار.

إن مرض العفن البنى فى اللوزيات المتسبب عن *Monilinia fructicola* من أخطر الأمراض على أسواق اللوزيات، حيث أنه يحطم الثمار بعد الجمع، مع أن الإصابة الأولية

تكون على الثمار فى الحقل. هناك علاقة وطيدة بين كمية سقوط الأمطار قبل الجمع وشدة المرض. قد تم الحصول على بعض طرق المقاومة الحيوية، باستعمال البكتيريا المضادة *Ba-cillus subtilis*. إن الحصول على كميات كبيرة من هذه البكتيريا لكى تستعمر سطح الثمرة هى مشكلة كبيرة تقف فى طريق مقاومة مرض العفن البنى بواسطة هذه البكتيريا، والمشكلة نفسها تصادف كثير من عوامل المقاومة الحيوية.

٣- تغـذية النـبات Plant Nutrition

معظم الدراسات التى أجريت حتى سنة ١٩٩٤، على تأثير التغذية فى فترة قبل الجمع، على أمراض واضطرابات ما بعد الجمع، كلها تتعلق بالنواحى الفسيولوجية، وليست على الكائنات الممرضة النباتية. إن الإدراك الواضح للمقاومة الحيوية له أهمية كبيرة فى دراسة تغذية النبات، لذا يجب البحث عن طرق طبيعية لتخفف اضطرابات ما بعد الجمع وتخفيف قابلية الثمار للتحلل فى المخزن. من النتائج المبشرة بالنجاح هى التى حصل عليها من الأبحاث، التى أجريت على تأثيرات الكالسيوم فى زيادة المقاومة لأمراض واضطرابات ما بعد الجمع.

إن إضافة الكالسيوم إلى الثمار لايؤخر الشيخوخة فقط، ولكن أيضاً يقلل القابلية لأمراض واضطرابات بعد الجمع. فمثلاً نظراً لأن ثمار التفاح تعامل بالكالسيوم، فانها تبقى أكثر صلابة وتماسكاً من الثمار غير المعاملة، ويتوقف تقدم الشيخوخة عليها وتكون أقل قابلية للتحلل. ولسوء الحظ فإن المحتوى من الكالسيوم لايمكن زيادته ولكن يكون فعالاً فى ثمار التفاح عن طريق عملية الرش قبل الجمع، وذلك بسبب أن الحركة تكون أولاً فى الخشب ويفضل الاتجاه إلى الأنسجة المرستيمية ثم أنسجة النتح. أما البطاطس فإنها تستجيب لزيادة مستويات الكالسيوم فى التربة عن طريق تجمعها فى الدرنات. لقد وجد أن هناك علاقة معنوية بين زيادة الكالسيوم فى نسيج الدرنة وخفض قابليتها للإصابة بمرض العفن البكتيرى الطرى. يكون فعل الكالسيوم عن طريق خفض قابلية الدرنة للتحلل، عن طريق ارتباطه مع البكتين فى جدار الخلية مكوناً جسراً من الكاتيونات بين حمض البكتك او بين أحماض البكتك والسكريات العديدة الحمضية الأخرى. هذا يعوق إنتاج إنزيمات العائل التى تسبب الطراوة، بالإضافة إلى الإنزيمات المنتجة بواسطة الكائن الممرض الذى يسبب التحلل.

إن إضافة الكالسيوم بالإضافة إلى عوامل المقاومة الحيوية، يسبب زيادة فى كفاءة المقاومة الحيوية لبعض الكائنات الممرضة فى المخزن. فمثلاً مقاومة عفن البوترايتس والبنيسيليوم، قد تمت بنجاح عند خفض تركيز الكائنات المضادة المستعملة فى المقاومة الحيوية المستعملة فى وجود كلوريد الكالسيوم، وذلك لأن الكالسيوم يسبب خفضاً فى نسبة إنبات جراثيم الكائن الممرض وكذلك فى استطالة أنبوبة الإنبات، كما أن إضافة الكالسيوم يمكن أن تطيل فترة تأثير الكائن المضاد على الكائن الممرض الموجود على سطح الثمرة بعد الجمع.

تحت الظروف العادية، عندما تنضج الثمرة فإن التأثير المضاد للفطريات يمكن التغلب عليه عن طريق زيادة توفير المواد الغذائية. وجد أن إضافة الكالسيوم بالإضافة إلى أنها تؤخر الشيخوخة فى الثمار عن طريق تقليل المواد الغذائية المتوفرة، ولكن أيضاً يمكن أن يحدث تغييراً فى التركيب أو البيئة الأيونية على سطح الثمرة بشكل كاف لتنخفض قابلية استعمال المواد الغذائية المتوفرة. كذلك يمكن للكالسيوم أن يشجع نشاط ميكانيكية دفاع العائل، مثل إفراز الفايتوالكسن والمركبات المضادة للميكروبات الطبيعية الأخرى. ولسوء الحظ فإن المقاومة المستحثة Induced resistance، ليست هى العامل الأكبر والأهم فى معظم أمراض مع بعد الجمع بسبب طبيعة الشيخوخة فى أعضاء التخزين فى المخزن.

لقد تبين أن الأراضى الكابحة Suppressive soils تلعب دوراً مهماً فى مقاومة أمراض النبات الكامنة فى التربة، وفيما إذا كانت هذه الظاهرة لها تأثير على أمراض ما بعد الجمع، هذا يحتاج إلى دراسة كبيرة!!

ب: بيئة ما بعد الجمع والمقاومة الحيوية لأمراض ما بعد الجمع

مقـــدمة:

هناك كثير من التحديات يجب أن نواجهها قبل أن نستعمل المقاومة الحيوية استعمالاً ناجحاً على أساس تجارى لمقاومة أمراض تحلل الفاكهة والخضروات بعد الجمع فى المخزن. إن التنوع الهائل فى الاتحادات المختلفة بين كل من المحصول والكائن الممرض، البيئة الموجودة فى مجال ما بعد الجمع، يمثل تحدياً لاستعمال المقاومة الحيوية على نطاق تجارى

واسع. يجب أن تكون عوامل المقاومة الحيوية، مقاومة للكيماويات المستعملة لمقاومة الأمراض الفطرية والبكتيرية بالإضافة إلى الاضطرابات الفسيولوجية. كذلك يجب أن تكون عوامل المقاومة الحيوية متلائمة مع نظم التعامل الصناعى، مثل تنكات التخزين، والقنوات الصناعية، ووسائل التبليل، خطط الرش والأقماع الحرارية. بالإضافة لذلك فإن المقاومة الحيوية يجب أن تكون فعالة على مدى واسع من درجات الحرارة وجو المخزن.

من أهم الأسس التى يبنى عليها نجاح المقاومة الحيوية تجارياً لأمراض ما بعد الجمع، هو الفهم والتحكم فى بيئة ما بعد الجمع، وهذا يشمل دراسة تأثير وعلاقة البيئة مع تكشف المرض من حيث الظروف الطبيعية، مثل الحرارة، الرطوبة الحرة والرطوبة النسبية وتأثير ذلك على مقاومة المرض، وكذلك الظروف الحيوية، مثل البيئة الحيوية التى تشمل الكائن الممرض والكائن المضاد. إن بيئة ما بعد الجمع يمكن أن تكون واحدة من أفضل الفرص الموجودة لتكشف المقاومة الحيوية الناجحة، وذلك نظراً لإمكانية التحكم فى كثير من هذه العوامل البيئية.

لكى يتكشف المرض يجب أن تنشأ علاقة وثيقة بين كائن ممرض شديد وعائل قابل للإصابة وبيئة مناسبة لحدوث هذه العلاقة، يجب أن تتوفر فى المكان والزمان نفسه. هناك عديد من الكائنات الممرضة لما بعد الجمع، مثل تلك التى تسبب العفن الرمادى والعفن الأزرق تكون موجودة فى البيئة وتكون جاهزة للإصابة. إذا فرض وأن كلا من الكائن الممرض والعائل القابل للإصابة موجود فى بيئة ما بعد الجمع، فيجب أن يحدث تفهم سريع لإستراتيجية المقاومة الحيوية لهذه الأمراض الناتجة. إن الإجراء العادى هو معاملة المنتج النباتى بمواد كيماوية (مبيدات) أو مطهرات فطرية. هناك استراتيجيات أخرى يمكن أن تستعمل، تشمل التأثير فى البيئة الطبيعية لجعلها غير قابلة لتكشف المرض أو إدخال عوامل مقاومة حيوية والتى تنافس أو تتطفل على الكائن الممرض. ومن طرق المقاومة الأخرى، بالإضافة للتأثير المباشر على العلاقة بين الكائن الممرض والعائل، هو إحداث تحوير فى البيئة الطبيعية يمكن أن يزيد من فعالية التضاد بين الكائن الصديق والكائن الممرض المستهدف.

البيئـــة الطبيعيـــة Physical Environmental

استخدمت طرق تحور البيئة الطبيعية فى تحسين مقاومة التحلل فى الثمار والخضروات. لقد قام المنتجون والمتعاملون مع هذه المنتجات بإجراء تحويرات فى درجات الحرارة، الرطوبة النسبية وتركيب جو المخزن خلال فترة ما قبل التخزين، والمخزن وطرق النقل لمقاومة أمراض التحلل. وللحصول على أفضل مقاومة لهذه الأمراض، فإن اثنين أو أكثر من العوامل البيئية، غالباً ما يجب أن يجرى فيها تحور فى وقت متزامن. مع أن الحرارة غالباً ما تكون هى الأكثر سهولة في التحكم بها لمنع حدوث أمراض التحلل بعد الجمع، إلا أن هناك عوامل أخرى تتدخل بشكل ملائم لمقاومة التحلل. بالإضافة لذلك فإن كثيراً من الأبحاث، قد أثبتت أن هناك عوامل أخرى غير المقاومة الحيوية، يمكن بها منع حدوث أمراض التحلل بعد الجمع، مثل التخزين فى مخازن ذات ضغط جوى منخفض أو استعمال أشعة جاما والفوق بنفسجية.

أ: الحـــرارة Temperature

هناك عوامل كثيرة تؤثر على معدل وسرعة تبريد المنتج النباتى، هذه العوامل تشمل نوع وحجم الحاويات فى المخزن، نظام التخزين، اندفاع الهواء، الرطوبة النسبية، الحرارة الفعلية داخل الصندوق وفى الثمار ومعدلات التنفس وحركة الهواء. إن تأخير وصول المجموع الخضرى إلى المخزن المبرد، بالإضافة إلى سرعة خفض الحرارة يمكن أن تؤثر على مقاومة التحلل. مثلاً، كلما طال الوقت بين الجمع والتخزين، يزداد تحلل التفاح المتسبب عن الفطر *Penicillium*. أما تحلل العنب فلا يتأثر بإطالة أو تقصير الفترة ما بين الجمع والتخزين، إذا ما خزن بعد ذلك على حرارة (-٠,٥°م). ومن الأهمية بمكان أن نحافظ على درجة حرارة المخزن فى أقل درجة ممكنة من التغير، لأن التغيرات الكبيرة فى الحرارة، يمكن أن تؤثر سلبياً فى طول فترة التخزين، فمثلاً يزداد طول حياة ثمار التفاح والكمثرى فى المخزن كثيراً عندما تكون درجة حرارة المخزن (-١م°) عنه عندما تكون صفر مئوية ورطوبة نسبية ٢٥، ٤٠٪ بالترتيب.

وبشكل عام يمكن القول بأن تخزين الفواكه والخضروات على أقل درجة حرارة ممكنة، بحيث لايحدث فيها أضرار التجمد، يقلل كثيراً من أمراض التحلل. إن أفضل درجة حرارة

تخزين يمكن أن تتراوح ما بين (-١,٧°م) للكمثرى و (٢١,١°م) للطماطم. إن كلاً من التبريد والتجميد يوقف أو غالباً ما يغير فى الميتابولزم مؤدياً إلى إضعاف أو إلحاق أضرار بالنسيج النباتى، ويجعل الثمار والفواكه قابلة للمهاجمة بالكائنات الدقيقة الممرضة. مثلاً إن نباتات الباذنجان تتضرر على حرارة ٥°م وتصبح عالية القابلية للإصابة بعفن الترناريا. أما الفلفل الحلو فإنه يتضرر على حرارة أقل من ٧°م ويصبح أكثر قابلية للإصابة بعفن الترناريا، وبوترايتس. أما الطماطم عند تخزينها على درجة حرارة أقل من ١٠°م فإنها تكون قابلة للإصابة بعفن الترناريا، وتزيد القابلية للإصابة مع إطالة فترة تعرضها للبرودة. أما البطاطا الحلوة على درجة حرارة أقل من ١٠°م فإنها تكون معرضة للإصابة بفطريات التحلل والترناريا وبوترايتس، وميوكار وبنيسيليوم. كذلك الجزر عندما يبقى فى الحقل ويتعرض لأضرار التجمد فإنه يصبح قابلاً للإصابة بالعفن.

هناك كثير من فطريات التحلل يمكن أن تنمو على حرارة أقل من ٥°م، ولايمكن مقاومتها عن طريق تخفيض درجة حرارة المخزن فقط، هناك بعض الفطريات مثل *Copri-nus psychromorbidus* وهو من الفطريات البازيدية محبة لدرجات الحرارة المنخفضة، يسبب تحلل الكمثرى، وأفضل درجة حرارة لنموه هى ١٠°م ومن الصعب عزله على درجة حرارة الغرفة العادية. هناك عديد من فطريات التحلل، تسبب مشاكل فى الطعام المجمد. كذلك فإن الاختلافات فى درجات الحرارة والرطوبة النسبية خلال فترة إزالة الجليد، عادة لها تأثير فى إحداث أضرار للثمار والخضروات.

كذلك فإن الحرارة المرتفعة، يمكن أيضاً أن تستعمل فى مقاومة التحلل وهى مفيدة بشكل خاص لبعض المحاصيل، مثل المانجو، الباباظ، الفلفل والطماطم والتى تتضرر بالحرارة المنخفضة. عند المعاملة بالماء الساخن، فإن الحدود بين الحرارة اللازمة لمقاومة التحلل والحرارة التى تحدث أضراراً للمحصول غالباً ما تكون ضيقة جداً. إن الأصناف النباتية ومناخ منطقة النمو والوقت بين الإصابة والمعاملة، كل ذلك يمكن أن يؤثر فى نجاح مقاومة التحلل بالماء الساخن. كلما ازدادت درجة الحرارة المستعملة فى معاملة المنتج الزراعى قصر الوقت الضرورى للحصول على مُقاومة. أحياناً لاتظهر الأضرار مباشرة، ولكن يمكن أن تتكشف بعد عدة أسابيع فى المخزن، وبالتالى على الرغم من إن الماء الساخن يمكن أن يستعمل فى مقاومة التحللات الناتجة عن رايزوبس ومونيلينيا فى الخوخ الطازج ثم

إرساله إلى السوق فوراً، إلا أنه لايمكن أن يستعمل على الثمار ثم تخزن بعد ذلك. يمكن أن تكون مقاومة التحلل فعالة على درجات حرارة منخفضة إذا لزم إضافة المبيدات الفطرية الكيماوية أو الحيوية إلى الماء الساخن.

مع أن الماء الساخن عادة أكثر فعالية، إلا أن الهواء الساخن يستعمل لمقاومة التحلل فى المحاصيل التى تتضرر من الماء الساخن. فمثلاً تحلل بوترايتس ورايزوبس فى الفراولة وعنب الثعلب، تقاوم عن طريق تعرض الثمار لهواء رطب حرارته ٤٤°م لمدة ٣٠-٦٠ دقيقة، كذلك فانه فى أثناء فترة الشفاء (٣-١٠ أيام) حيث يتكون بيريديرم على الجروح فى البطاطا الحلوة. تزداد سرعة الشفاء إذا ارتفعت الحرارة من ١٢ إلى ٣٢°م وكانت الرطوبة النسبية فوق ٩٠٪. إن بيريديرم الجروح يعمل على حفظ الجذر الدرنى من الانهيار والإصابة الفطرية. كذلك فان شفاء الجروح فى درنات البطاطس يمكن تشجيعه عن طريق تعريض الدرنات لمدة ١٤ يوماً إلى رطوبة نسبية عالية وحرارة ١٣°م وتهوية جيدة. كذلك فإن تحلل ثمار التفاح واليقطين يمكن أن تقاوم عن طريق وضع الثمار قبل تخزينها على حرارة ٣٨°م و٢٦°م بالترتيب لمدة أسبوع واحد تقريباً.

٢- الرطوبة النسبية Relative Humidity

إن كلاً من الرطوبة النسبية العالية والمنخفضة، قد ثبت بأن لها علاقة بمقاومة أمراض ما بعد الجمع. تختلف الرطوبة النسبية فى الغرفة الباردة من المحيط إلى داخل الغرفة حيث توضع الأوعية التى تحتوى الفواكه والخضار السليمة أو التى بها جروح غير واضحة. أكياس البولى إثيلين المثقبة التى توضع فيها الثمار والخضروات المخزنة، تخلق رطوبة نسبية حوالى ٥-١٠٪ زيادة عن تلك السائدة فى جو المخزن، إلا أن ظاهرة التجعد وفقد الوزن، تقل باستعمال أكياس البولى إثيلين وبالمقابل تزداد نسبة التحلل المرضى.

المحاصيل مثل الخضار الورقية، يكون تخزينها أفضل على رطوبة نسبة ٩٨-١٠٠٪، لأن هذا يقلل من نسبة التحلل، وذلك لانخفاض نسبة الأنسجة التى تظهر بلون أصفر أو ميتة، حيث إن هذه الأنسجة هى مصدر التغذية للكائنات الدقيقة المحللة. بالإضافة لذلك فإن الإنزيمات الفطرية المنتجة من قبل الكائنات الممرضة أو الرمية، يمكن أن تنشط فى الرطوبة النسبية العالية أو يحدث انخفاض كبير فى نشاطها.

وبالمقابل فإن بعض الفواكه مثل التفاح، الكمثرى والخوخ ذات طبقة الكيوتكل المتكشفة جيداً وطبقة البشرة الخارجية، تتحمل ظروف ذات مستوى منخفض نسبياً من الرطوبة النسبية. هذا يساعد فى منع التحلل فى المخزن. كذلك فإن الرطوبة النسبية المنخفضة غالباً ما تثبط إنبات الجراثيم الفطرية، وإن الاختلاف البسيط فى الرطوبة النسبية يكون له تأثير كبير فى حدوث أمراض التحلل، فمثلاً على حرارة (-١١°م) فإن الفطريات *Mucor piri-formis*، *Botrytis cinerea*، *Pezicula malicorticis*، *Penicillium expansum* و *Phialophora malorum*، تنبت على درجة رطوبة ١٠٠ ٪ فى غياب الماء الحر، ولكن أياً من هذه الفطريات لاينبت على ٩٧ ٪ رطوبة. وعلى أية حال فإنه عندما تحقن جروح بعض أنواع الكمثرى بكونيديات من هذه الفطريات الخمسة وتوضع على رطوبة نسبية ٩٧ ، ٩٩ أو ١٠٠ ٪ وحرارة (-١,١°م) فإن الفطريات الثانى والثالث والرابع تسبب تحلل الثمار على جميع مستويات الرطوبة النسبية، بينما الفطر الأول والأخير تسبب التحلل فقط على رطوبة نسبية ١٠٠ ٪.

٣- الجو المتحكم به Controlled Atmosphere

يمكن أن تؤثر التغيرات فى تركيز كل من الأكسجين، ثانى أكسيد الكربون، النيتروجين، أول أكسيد الكربون والإيثيلين فى جو المخزن، بشكل واضح على كل من العوائل النباتية والكائنات الممرضة وعوامل المقاومة الحيوية. إن الأجواء المتحكم بها تكون ذات فوائد فى مقاومة التحلل فى بعض الثمار والخضروات، ولكنها أحياناً تعطى نتائج سلبية لثمار وخضروات أخرى. إن تركيز الغاز ونسبته يجب أن يتحكم بها بكل عناية ودقة حتى لايحدث آثار جانبية غير مرغوبة. إن التغيرات فى تركيز كل من الأكسجين وثانى أكسيد الكربون، هى الأكثر حدوثاً فى جو المخزن. إن انخفاض الأكسجين عادة ما يرافقه زيادة مماثلة فى النيتروجين. الأمثلة الآتية توضح أهمية التحكم فى جو المخزن.

١- برتقال Cox's وتفاح Pippin تخزن جيداً فى جو ٣ ٪ أكسجين + ٥ ٪ ثانى أكسيد الكربون وتحفظ من الإصابة بالفطر *Gleosporium album* وينخفض إنتاج إنزيمات البكتولايتك ويقام التحلل.

٢- أضرار التبريد والأنثراكنوز فى الأفوكادرو تنخفض فى جو به ٢ ٪ أكسجين + ١٠ ٪ ثانى أكسيد الكربون.

٣- إصابة الكرات بالفطر *Botrytis porri* تنخفض فى جو به ١ ٪ أكسجين + ١٠ ٪ ثانى أكسيد الكربون.

٤- تحلل نهاية الساق فى كمثرى Anjou، ينخفض عند تخزين الثمار فى جو به ١ ٪ أكسجين + ٩٩ ٪ نيتروجين.

٥- تخزين الطماطم فى جو به ٣ ٪ أكسجين + ٣ ٪ ثانى ثانى أكسيد الكربون، يقلل ظهور الانثراكنوز، بنيسيليوم، بوترايتس، والعفن البكتير الطرى، بينما يزداد عفن الفيوزاريوم على رطوبة نسبية ٩٥-١٠٠ ٪.

٦- يمكن مقاومة التحلل فى فلفل الشطه، الشمام والبرقوق فى جو مخزن به ١٠-٣٠ ٪ ثانى أكسيد الكربون.

وبشكل عام يكمن القول بأن ارتفاع مستويات ثانى أكسيد الكربون تكون أكثر فعالية فى مقاومة الأمراض الفطرية عنه فى الأمراض البكتيرية، كذلك فإن أكسيد الكربون، يكون أقل فعالية عندما تزود الكائنات الممرضة بمواد غذائية ناتجة عن جروح الثمار.

هناك تأثير واضح للتفاعل بين جو المخزن ودرجة الحرارة، فمثلاً فى الحمضيات، فإن حدوث التحلل ينخفض كلما انخفض مستوى الأكسجين من ٢١-١٠ ٪ ولكن هذا يتم فقط على حرارة ١°م. العفن الطرى فى الطماطم ينخفض فى ٣ ٪ أكسجين + ٥ ٪ ثانى أكسيد الكربون على حرارة ١٣°م وليس على حرارة ٧°م أو ١٨°م.

غالباً ما يتجمع الإيثيلين فى جو المخزن وهذا يؤثر على تحلل الفواكه والخضروات. لقد وجد أن الإزالة المستمرة للإيثيلين من جو المخزن، يؤدى إلى خفض الانثراكنوز فى الأفوكادو ويقلل تحلل الليمون بفطريات *Diaporthe* و *Penicillium*، وبالمقابل فإن تحلل التفاح المتسبب عن *Gleosporium album* ينخفض على مستويات عالية من الإيثيلين.

جـ: طريقة فعل عوامل المقاومة الحيوية لأمراض ما بعد الجمع

Mode of Action of Biocontrol Agents of Postharvest Diseases

مقـــدمة:

إن معرفتنا لطرق فعل معظم عوامل المقاومة الحيوية، معروفة بنسبة بسيطة جداً ومعظمها ينصب على التضاد الحيوى. إن قلة معرفتنا لهذه الطرق، يعزى إلى المعرفة المحدودة عن التفاعل الذى يأخذ مجراه بين كل من العائل، الكائن الممرض وتأثير الظروف البيئة والحيوية المحيطة بساحة التفاعل، وكيفية حدوث التضاد فى موقع الإصابة. وبالتالى فإن المعلومات عن ميكانيكية التضاد حاسمة وضرورية لوضع استراتيجية ناجحة للمقاوية الحيوية لأمراض ما بعد الجمع هذه المعلومات تعتمد على الآتى:

١- اختيار أفضل الطرق وأفضل الأوقات لاستعمال الكائنات المضادة.

٢- تطوير والحصول على تركيبات مناسبة من عوامل المقاومة الحيوية تشجع على التضاد.

٣- تطوير واعتماد الأساس المنطقى لاختيار الكائنات المضادة الأكثر فعالية.

٤- تسجيل عوامل المقاومة الحيوية المستعملة تجارياً.

وبشكل عام فإن طريقة عمل كثير من الكائنات المضادة لأمراض ما بعد الجمع (بشكل خاص) غير واضحة تماماً. فى حالة عدم إنتاج مضادات حيوية، يبدو أن طريقة العمل تشكل ميكانيكية معقدة، والتى يمكن أن تشمل واحداً أو أكثر من العمليات الآتية: المنافسة على الغذاء، الاستبعاد من المكان، المقاومة المستحثة فى العائل والتفاعل المباشر بين الكائن المضاد والكائن الممرض.

١- التضـــاد الحيـــوي:

إن إفراز المضادات الحيوية ظاهرة عامة فى الطبيعة. هناك عدد كبير من البكتيريا تفرز مضادات حيوية فى المعمل، ويمكن أن يكون لها دور مهم فى وقاية المنتجات الزراعية ضد الأمراض قبل وبعد الجمع. فى تجارب التصفية للكائنات المضادة التى تتواجد طبيعياً وتكون مضادة لأمراض ما بعد الجمع، فى الحمضيات وفى ثمار الأشجار المتساقطة الأوراق، وجد

أن هناك تجمعات ميكروبية سطحية، مأخوذة من سطوح الأوراق والثمار، ذات تأثير مثبط ضد عديد من الكائنات الممرضة لما بعد الجمع فى المعمل. وعلى أية حال فإن إنتاج المضادات الحيوية فى البيئة الغذائية، قد لايكون ضرورياً لإثبات إنتاجها فى موقع عملها على سطح الثمرة، فى الحقيقة هناك بعض المضادات الحيوية ثبت إفرازها فى المعمل فقط.

كان كل من Gutter & Littauer سنة ١٩٥٣ من بين أول من ذكروا أن البكتيريا *Bacillus subtilis* تمتلك فى المعمل نشاطاً مثبطاً ضد مدى واسع من الكائنات الممرضة للثمار. فى الأبحاث الحديثة بعد سنة ١٩٨٤ درس كثير من العلماء إمكانية استعمال هذه البكتيريا لمقاومة أمراض ما بعد الجمع المهمة فى الثمار والخضروات. فقد ذكر كل من Pu-sey & Wilson سنة ١٩٨٤، أن سلالة B-3 من البكتيريا المذكورة، فعالة فى مقاومة عفن ما بعد الجمع فى اللوزيات فى المعمل وتجارياً على مدى واسع. لقد ثبت أن هذه البكتيريا تثبط الكائن الممرض *Monilinia fructicola* فى المعمل ولكن لها تأثيراً بسيطاً أو ليس لها تأثير عند استعمالها على الفطر فى ثمار اللوزيات. ولقد وجد أن راشح الخلايا الحرة من السلالة B-3 من البتكتيريا *B. subtilis* فعالة فى مقاومة الكائن الممرض للوزيات بعد الجمع. عند عزل وتعريف المادة الفعالة التى تفرزها هذه السلالة وجد أنها Iturin peptides، هذه المضادات الحيوية لها دور كبير ضد الفطريات ولها دور قليل ضد البكتيريا وليس لها سمية أو إثارة حساسية عند الإنسان.

هناك أبحاث عديدة ذكرت أن بعض الفطريات والبكتيريا تفرز مضادات حيوية مثل *Bacillus pumilus* و *Myrothecium roridum* و *M. verrucaria* لديها مقدرة على تثبيط الفطر *Penicillium digitatum* على جروح ثمار الليمون.

ولقد ذكر Colyer & Mount سنة ١٩٨٤ أن سلالة من *Pseudomonas putida* المنتجة مضادات حيوية تحفظ درنات البطاطس من الإصابة بأمراض العفن الطرى لما بعد الجمع المتسبب عن البكتيريا *Erwinia sp.* عندما تستعمل هذه البكتيريا بعد جمع الدرنات. أما السلالات غير المنتجة للمضادات الحيوية، فهى تسبب خفضاً متوسطاً للعفن الطرى. اعتماداً على هذه النتائج يمكن القول بأن التضاد الحيوى هو المسئول عن هذا التثبيط فى مرض العفن الطرى الذى تظهره السلالة غير المنتجة للمضادات الحيوية.

كذلك ذكر Janisiewicz & Roitman سنة ١٩٨٨ أن البكتيريا *P. cepacia* فعالة فى مقاومة أمراض ما بعد الجمع فى كل من التفاح والكمثرى. تفرز هذه البكتيريا مادة Pyrrol-nitrin وهى مركب فعال ضد الفطريات، *Botrytis cinerea* و *P. expansum* فى البيئة بتركيز يقل عن ١ ملغ/مل. ولقد وجد أن ثمار التفاح والكمثرى المعاملة بمادة Pyrrolnitrin، بشكل عام، ينخفض عليها تكشف التحلل من مرض العفن الأزرق والعفن الرمادى الفطرى. بالإضافة لذلك هناك أربعة مشتقات كلورية من مادة الـ Phenylpyroole قد عزلت من إفرازات البكتيريا *P. cepacia* والتى تحوى مضادات فطرية فعالة ضد العفن الأزرق والرمادى على التفاح والكمثرى. كذلك فان الدور الذى تقوم به مادة Pyrrolnitrin هو مقاومة مرض العفن الأخضر فى الحمضيات. كما وجد أن العزلة من الفطر الممرض *P. digitatum* المقاومة لمادة Pyrrolnitrin، يمكن مقاومتها بواسطة البكتيريا *P. cepacia* عند إضافتها إلى جروح ثمرة الليمون المحتلة بواسطة جراثيم الكائن الممرض. هذه النتائج تؤدى إلى القول بأن هناك عوامل أخرى، مثل نضوب المواد الغذائية، الاستيلاء على المكان، يمكن أن تدخل فى ميكانيكية عمل البكتيريا *P. cepacia*.

إن إدخال عوامل مقاومة حيوية منتجة مضادات حيوية إلى طعام الإنسان (الفواكه والخضروات) يمكن أن يكون لها تأثير سيىء بالنسبة لمقاومة الإنسان للمضادات الحيوية، وبالتالى فإن مثل هذه العوامل يمكن ألا تكون مرغوبة أو لايسمح لها بالاستعمال. بالإضافة لذلك فان مثل هذه الكائنات المضادة، لاتكون مفضلة فى الاستعمال، نظراً لأن الكائنات الممرضة يمكن أن تتكشف فيها المقاومة لتلك المواد السامة الناتجة من الأيض الغذائى بسرعة أكثر منه فى الكائنات المضادة التى تعمل بطرق أخرى، والمحتمل أن فعاليتها يمكن أن تفقد بسرعة أكثر منه فى بعض المبيدات الفطرية الصناعية.

ولقد ثبت بكل تأكيد أن الكائنات الحية الدقيقة المستعملة فى المقاومة الحيوية لأمراض النبات والمنتجة مضادات حيوية ليست ضارة بالإنسان، وعلى أية حال فإن مادة الـ Mata-niycin هو مثال على المضادات الفطرية التى تستعمل بشكل واسع لحفظ الأغذية، والتى عرف بأن هناك مقاومة بسيطة قد تكشفت لها، ويبدو من المحتمل أن المضادات الحيوية الأخرى تسلك المجال نفسه.

ولكى نحدد أياً من الكائنات الحية الدقيقة المضادة والمنتجة للمضادات الحيوية مفضلة فى الاستعمال فى المقاومة الحيوية لأمراض بعد الجمع، هناك عدة عوامل يجب أن ينظر إليها.

١- معرفة الطريقة التى تعمل بها المضادات الحيوية المفرزة من الكائن الدقيق.

٢- تقدير إمكانية تداخل العوامل الأخرى مع الكائن الحى الدقيق المفرز للمضاد الحيوى ومدى فعالية هذا التداخل.

٣- الاهتمام بصحة الإنسان والبيئة المحيطة به، ومدى الأضرار التى تلحق بها جراء استعمال هذه الكائنات الحية الدقيقة.

٢- المنافسة على الغذاء والمكان

لقد سبق وأن قدمنا تعريفاً واضحاً عن مصطلح المنافسة. يمكن القول بأن البكتيريا والخمائر إلى حد ما، تتميز بارتفاع نسبة السطح إلى الحجم surface to volum ratio، فيكون عندها المقدرة على إمتصاص الغذاء من المحاليل المائية أو المخففة بسرعة وبكمية أكبر من أنابيب العدوى ومن الخيوط الفطرية فى الفطريات الممرضة. لقد ثبت فعلاً أن المنافسة على الغذاء على السطح الورقى، منتشرة كثيراً وظاهرة معروفة جيداً، فمثلاً إن البكتيريا السطحية (التى تعيش على سطوح النباتات)، ثبت بأنها تخفض إنبات كونيديات الفطر *B. cinerea*، من المحتمل أن يكون ذلك عن طريق نزع الأحماض الأمينية من مخلوط الجلوكوز والأحماض الأمينية، بسرعة أكثر مما تعمله كونيديات الفطر.

تحدث معظم إصابات الفواكه والخضار بعد الجمع، عن طريق الجروح السطحية التى تحدث خلال الجمع، وما يتبع ذلك من تعامل. لكى نقاوم الكائنات الممرضة الجرحية مقاومة حيوية، يجب أن يكون الكائن المضاد موجوداً طبيعياً فى موقع الجرح حيث يحدث التفاعل بين الكائن الممرض والكائن المضاد. وبالتالى فإن عامل المقاومة الحيوية الفعال، يجب أن تكون لديه صفات خاصة حتى يكون منافساً ناجحاً فى موقع الجرح، أهم هذه الصفات هى:

١- يجب أن يكون أفضل مضاد للكائن الممرض عند الانحرافات الكبيرة فى الظروف البيئية والغذائية.

٢- يجب أن ينمو بسرعة ويحتل مساحة كبيرة فى موقع الجرح.

٣- يجب أن يكون نشيطاً وفعالاً فى استغلاله للتركيزات المنخفضة من المواد الغذائية المتوفرة.

٤- يجب أن يبقى حياً ويتكشف أفضل من الكائن الممرض على سطوح المنتجات الزراعية وفى موقع الإصابة، تحت انحرافات الحرارة والحموضة والأسموزية.

لقد ذكرت الأبحاث الحديثة أن المقاومة الحيوية لأمراض ما بعد الجمع، للفواكه والخضروات، تكون باستعمال الكائنات الحية الدقيقة التى تتكاثر بسرعة وتستعمر الجرح وتنجح فى المنافسة على المواد الغذائية، وعلى المكان. فمثلاً الخمائر *Pichia guilliermon-dii* (كانت تسمى سابقاً *Debaryomyces hansenii*) و *Cryptococcus laurentii* و *Aureobasidium pullulans* و *Candida* sp والبكتيريا *Enterobacter cloacae* و *Pseudomonas cepacia* ، ذكرت بأنها تمتلك جميع الصفات السابقة، وبالتالى فهى عوامل مقاومة حيوية ممتازة.

إن المنافسة على احتلال الجرح تحت الظروف البيئية المختلفة، يمكن أن يكون العامل والدليل المؤدى إلى تقييم كفاءة عوامل المقاومة الحيوية. فمثلاً البكتيريا *P. cepacia* وجد بأنها تبقى حية وتزداد بسرعة فى العدد فى جروح ثمار الليمون والتفاح والكمثرى، أما على سطوح الثمار غير المجروحة فإن البكتيريا السابقة نفسها تبقى حية بنسبة بسيطة جداً. ومن ناحية أخرى ذكر Droby *et al* سنة ١٩٩٠ أن العزلة US-7 من الخميرة *P. guilliermon-dii* تبقى حية لمدة طويلة سواء فى موقع الجرح أو على سطح الثمرة غير المجروحة. كذلك يكون هناك سرعة استعمار لجروح ثمرة التفاح بالخميرة *C. laurentii* على حرارة تتراوح من صفر إلى ٢٠°م. ووجد أيضاً أن هذه الخميرة نفسها والفطر *C. flavus* يستعمران بسرعة جروح ثمار التفاح والكمثرى تحت ظروف جوية محيطية محكمة ومتحكم بها، فإن نسبة ١,٥ ٪ أكسجين أو ٢ ٪ ثانى أكسيد الكربون تكون غير ملائمة لتكشف الكائن الممرض.

وجد أن العزلة US-7 من الخميرة *P. guilliermondii* تتكاثر بسرعة كبيرة فى موقع الجرح تحت مجال واسع من الحرارة والرطوبة والظروف البيئية، وبهذا يمكن أن تزداد بالعدد بحوالى ١-٢ ضعف خلال ٢٤ ساعة، بينما فى نهاية فترة الحضانة، فإن جراثيم الكائن الممرض تبدأ فقط فى الإنبات والنمو. يكون معدل سرعة النمو فى الخميرة فى موقع الجرح على حرارة مختلفة، ومدة بقائه فى الأنسجة واضحة فى جدول رقم ٧.

جدول رقم ٧: معدل نمو الخميرة *P. guilliermondii* على سطح الجروح فى الجريب فروت، وكفاءتها فى المقاومة الحيوية للفطر *Penicillium digitatum*.

فترة الحضانة بالأيام	عدد وحدات تكوين مستعمرات لكل جرح على حرارة			الإصابة ٪ من الكنترول		
	٦°م	١١°م	٢٥°م	٦°م	١١°م	٢٥°م
صفر	3×10	$3,5 \times 10$	5×10	٤	٧	١٠
٣	$2,5 \times 10$	5×10	$5,5 \times 10$	٧	٢٥	٤٠
٩	4×10	6×10	$5,7 \times 10$	١٢	٣٠	٧٠
١٥	$3,8 \times 10$	$5,5 \times 10$	6×10	٢٠	٦٨	٨٠
٢٧	4×10	5×10	4×10	٤٥	٧٠	٨٥

يلاحظ أن مقدرة خلايا الكائن المضاد تزداد بسرعة فى العدد على حرارة منخفضة نسبياً بالمقارنة مع الكائن الممرض.

يمكن تفسير ما يلاحظ من زيادة الفعالية ضد العفن الأخضر على الجريب فروت، وذلك كالآتى: عند درجة حرارة مرتفة نسبياً (٢٥°م) فان فعالية الخميرة فى تخفيض الإصابة تتراوح من ١٠-٧٠٪ من الكنترول، أما على درجة حرارة منخفضة فتتراوح الإصابة من ٤٪ إلى ٤٥٪ من الكنترول.

هناك دلائل عديدة تدعم الافتراض القائل بأن تثبيط تكشف الكائن الممرض، عن طريق التضاد يعتمد إلى حد ما على المنافسة على الغذاء. مثل هذا التنافس لوحظ فى المعمل

عند دراسة الخميرة المذكورة سابقاً، عندما زرع كل من الكائن الممرض والكائن المضاد على البيئة الصناعية أو على محلول مغسول الجروح. يمكن خفض كفاءة الخيمرة بشكل واضح عن طريق إضافة مغذيات إلى معلق الجراثيم المستعمل فى الحقن. وبالمثل فإن البكتيريا *Enterobacter cloacae* وهى بكتيريا مضادة، تثبط إنبات الجراثيم فى الفطر *Rhizopus stolonifer* خلال التنافس على الغذاء.

إن دور التنافس على المواد الغذائية فى التضاد يمكن أن يكون كالآتى:

١- تثبيط إنبات الجراثيم أو نمو الكائن الممرض خلال فترة النمو المشترك لكلا الكائنين.

٢- تعتمد شدة تثبيط الكائن الممرض على تركيز التركيبات التكاثرية للكائن المضاد.

٣- يكون هناك خفض جزئى أو كلى لقوة التثبيط عند إضافة مواد غذائية من الخارج. هذا يدل على أن زيادة المواد الغذائية المتوفرة للكائن المضاد تقلل من كفاءته على التضاد.

فى معظم الأبحاث التى أجريت على المقاومة الحيوية لأمراض ما بعد الجمع فى الفواكه والخضروات، كانت هناك علاقة كمية بين تركيز الكائن المضاد وكفاءته فى المقاومة الحيوية. وبالتالى يبدو بوضوح أن هناك توازناً دقيقا موجود فى منطقة الجرح بين أعداد الكائن المضاد وتركيبات الكائن الممرض والتى تؤثر على نتائج التفاعل وتحديد فيما اذا كان الجرح سيصبح مركزاً للإصابة. إن التداخل فى التركيز الأولى لخلايا الكائن المضاد و/أو الجراثيم الفطرية يؤثر بوضوح على الإصابة. ومن ناحية أخرى فقد ثبت أن عدد خلايا الكائن المضاد فى موقع الجرح، لاتحدد دائماً كفاءة الكائن المضاد. ولقد ثبت أيضاً أن التكاثر والنمو الفعال لخلايا الخميرة US-7 يكون ضرورياً لهذه الخميرة ليكون سلوكها فعالاً فى المقاومة الحيوية. ولقد ثبت ذلك عند استعمال طفرة من الخميرة *P. guilliermondii* والتى فقدت نشاطها فى المقاومة الحيوية ضد الفطر *Penicillium digitatum* على ثمار الجريب فروت، وضد الفطر *B. cinerea* على التفاح، حتى عندما تضاف على الجروح بتركيزات عالية، بمقدار 10^{10} جرثومة/مل. تبقى أعداد التجمعات الخلوية لهذه الطفرة فى مواقع الجروح ثابتة خلال فترة الحضانة، بينما فى الطراز الأصلى، فإن عدد الخلايا يزداد من ٦٠-١٠٠ ضعف خلال ٢٤ ساعة. إن فشل الطفرة فى تثبيط إنبات جراثيم الكائن الممرض

فى البيئة الغذائية ذات الحد الأدنى من الأملاح، يؤدى إلى القول بأن هذه الطفرة تفقد مقدرتها على استعمال بعض المغذيات لتنمو فى البيئة جيداً وقد يكون هذا السبب فى فقد الكفاءة.

بينما تكون ظاهرة التنافس على الغذاء هى الأكثر انتشاراً فى التفاعل بين الكائنات الحية الدقيقة على المسطح الورقى، فإن القول بأن التنافس على الغذاء كميكانيكية فى التضاد، يفترض بأن الفطر الممرض يعتمد على مصدر خارجى للغذاء ليحدث الإنبات والاختراق داخل نسيج العائل. إلا أن هناك بعض العلماء يدعى بأن التنافس الغذائى ليس هو القوة الرئيسية على المسطح الورقى. إلا أنه يمكن القول بأن هذه الأدلة برهان مقنع على دور التنافس تحت الظروف الطبيعية فى المخزن وأهميته فى إحداث مقاومة حيوية للكائنات الممرضة على سطح الثمرة والورقة.

يمكن اختصار كل ما ذكر تحت النقاط الآتية:

١ – إن سرعة النمو والاستعمار الكبير لموقع الجرح عن طريق الكائن المضاد هما صفتان مهمتان لكثير من عوامل المقاومة الحيوية لأمراض ما بعد الجمع.

٢ – إن سرعة استنزاف المغذيات أو السيطرة على الأماكن المتاحة للكائن الممرض يؤدى إلى خفض معدل نموه وخفض حدوث الإصابة.

٣ – للحصول على مستويات عالية من الكفاءة فى المقاومة الحيوية، يجب أن يصل عدد خلايا الكائن المضاد إلى الحد المطلوب لمنع الكائن الممرض من توطيد نفسه فى نسيج الثمار والخضروات.

٤ – عند استعمال عامل المقاومة الحيوية، بعد أن يكون الكائن الممرض قد وطد نفسه فى النسيج، هذا يؤدى إلى إنخفاض كبير فى كفاءة عامل المقاومة الحيوية.

٣- استحداث مقاومة في العائل Induction Resistance In The Host

تعتبر المقاومة المستحثة شكل من أشكال المقاومة المهمة فى الأنسجة الخضرية للنبات. الميكانيكية نفسها من المقاومة يمكن إحداثها فى الثمار المجموعة والأنسجة الخضرية. ذكرت

بعض الأبحاث أن بعض عوامل المقاومة الحيوية يمكن أن تتفاعل مع نسيج العائل، وبشكل خاص مع السطوح المجروحة بحيث تؤدى إلى تشجيع عمليات شفاء الجروح.

كما ذكر سابقاً فإن هناك عديداً من الخمائر المضادة، غير المنتجة للمضادات الحيوية للكائنات الممرضة الجرحية، تكون أكثر فعالية عند استعمالها قبل الحقن بالكائن الممرض. إن إضافة خلايا الكائن المضاد بعد الحقن بالكائن الممرض يؤدى إلى خفض الكفاءة. لقد ذكر كل من Chalutz & Wilson سنة ١٩٩٠ أنه كلما طال الوقت المنقضى بين وقت الإصابة واستعمال الكائن المضاد، قلت كفاءة الكائن المضادة. فمثلاً على درجة حرارة ٢٥°م يحدث انخفاض بمقدار ٣٠٪ فقط من حدوث المرض عندما يضاف الكائن المضاد بعد الحقن بالكائن الممرض بفترة ٧ ساعات، ولايحدث خفض واضح عندما يضاف الكائن المضاد بعد ٢٤ ساعة من الحقن بالكائن الممرض، مع المقارنة بأن أكثر من ٩٠٪ خفض فى المرض، يحدث عندما يضاف الكائنان مع بعض فى الوقت نفسه. هذه النتائج حصل عليها فى التجارب المعملية، أما عند تطبيقها بصورة تجارية فكانت النتائج أقل من الأرقام المذكورة. هذه النتائج تؤدى إلى القول بأنه عند استعمال خلايا الخميرة، فإنه تحدث تغيرات فسيولوجية تؤدى إلى ظهور مقاومة مستحثة فى قشرة النسيج. وللتأكد من صحة هذه الفرضية يجرى تقدير لإنتاج الإثيلين من الأنسجة المعاملة بالخميرة. عندما كانت ترش المعلقات الخلوية من الخميرة المضادة US-7 وتوضع على سطح الجروح فى الجروب فروت وبوملى Pomelo وعنب المائدة أو أنسجة جذر الجزر، كان يلاحظ زيادة انطلاق الإيثيلين فى كل الأنسجة. فى أقراص جذر الجزر والتى استعملت model system، فان استعمال الخميرة المضادة لم يؤد إلى زيادة إنتاج الإيثيلين فقط، ولكن أيضاً إلى تجمع الفينولات أو المواد الشبيهة بالفينولات والتى لها صفات امتصاص ضوئى على ٢٨٠ نانوميتر.

عندما تزرع الخميرة على بيئة فى المعمل، فإن خلايا الخميرة لاتنتج الإيثيلين. إن دخول الإيثيلين فى عمليات الحث على المقاومة فى الجريب فروت وجذور الجزر، قد يكون عن طريق الحث على تنشيط إنزيم Phenylalanh ammonialyase والذى يسمى (PAL) وهذا الإنزيم هو الذى يحفز التفاعل فى نقطة التفرع فى خطوات ممر حمض الشكميك، وهذا يؤدى إلى بناء فينولات، فايتوالكسن ولجنين، كل هذه المنتجات مترافقة مع عمليات المقاومة المستحثة. فى ثمار الحمضيات فإن إنتاج الإيثيلين ونشاط الـ (PAL)، يمكن أن يستحثا بعد

إضافة الخميرة المضادة الفعالة إلى أقراص القشرة، بينما الإضافة الخارجية للإيثيلين إلى الأقراص أو إلى ثمرة الجريب فروت بكاملها تؤدى إلى حدوث مقاومة مستحثة للإصابة بالفطر *P. digitatum* (جدول رقم ٨). وبالتالى فإن إدخال منتجات الإيثيلين خلال التفاعل ما بين الكائن المضاد والنسيج النباتى، يؤدى إلى القول بأن هناك ميكانيكية مقاومة تحدث فى العائل فى مكان التفاعل مع الخميرة، ولكن لغاية سنة ١٩٩٤ لم تكتمل هذه النظرية، إلا أنه يمكن الاستفادة من هذه الظاهرة وذلك بالحصول على الكائنات الدقيقة التى تؤدى إلى حدوث مقاومة مستحثة فى منطقة الجروح فى الفواكه والخضروات بعد الجمع واستعمالها كعامل من عوامل المقاومة الحيوية لأمراض بعد الجمع.

جدول رقم ٨: نسبة الإصابة بالفطر *P. digitatum* بعد تعرض ثمار الجريب فروت إلى ٢٠ جزء فى المليون إيثيلين لمدة ٤٨ ساعة. ثم تحدد نسبة الإصابة بعد خمسة أيام على حرارة ٢٠°م.

عدد جراثيم الفطر الممرض	٪ نسبة إصابة
مع إيثيلين 10^4	صفر
مع إيثيلين 10^5	٨
بدون إيثيلين + 10^4	٢٠
بدون إيثيلين + 10^5	٣٩

ملاحظات على الجدول: كانت ثمار الجريب فروت المجموعة الطازجة تعرض إلى ٢٠ جزءاً فى المليون إيثيلين لمدة ٤٨ ساعة ثم تحقن بمعلق جراثيم الفطر الممرض عن طريق إحداث جروح صناعية فى القشرة وكانت تحدد نسبة الإصابة المئوية بعد خمسة أيام من التحضين على حرارة ٢٠°م.

٤- التفاعل المباشر مع الكائن الممرض:

لقد ثبت أن التطفل المباشر من قبل الكائن المضاد على تركيبات الكائن الممرض، يلعب دوراً مهماً فى المقاومة الحيوية ضد الأمراض الكامنة فى التربة وأمراض المجموع الخضرى.

لقد درس هذا الموضوع دراسة وافية (ذكر هذا الموضوع بالتفصيل فى الفصل الأول من الكتاب) بما يتعلق بالفطر *Trichoderma* والذى ذكر بأنه يضاد الكائنات الممرضة عن طريق التطفل المباشر. أما فى مجال أمراض ما بعد الجمع، هناك معلومات قليلة متوفرة عن هذا الموضوع. لقد ذكر Wisniewski *et al* سنة ١٩٩٢ أن الخميرة المضادة *Pichia guilliermondii* عندما تزرع مشتركة مع الفطر *Botrytis cinerea*، تظهر وكأنها مرتبطة بشدة مع هيفات الفطر الممرض *B. cinerea* (شكل رقم ٦) . هذا الالتصاق يمكن إعاقته عندما تعرض خلايا الخميرة أو هيفات الكائن الممرض إلى مركبات تؤثر على سلامة البروتين، أو عند تثبيط التنفس، ولقد اقترح الربط بنظام لايسيتين lectin-type فى هذا الاتصال. بالإضافة لذلك وجد أن الخميرة، تظهر مستويات عالية من B-1,3-glucanase النشيط، عند تنميتها على مصادر مختلفة من الكربون، أو على جدر خلوية لكثير من الكائنات الممرضة الفطرية، حيث يؤدى هذا إلى حدوث التصاق شديد بين الخميرة وسطح الكائن الممرض (بين الخميرة المضادة وجدار خلية الفطر الممرض) ويمكن أن يشجع كفاءة إنزيم الهيدرولسز لجدار الخلية، المفرز بواسطة الخميرة على النسيج خارج الخلية. عندما تزال خلايا الخميرة عن هيفات الكائن الممرض، يأخذ سطح الهيفا شكلاً مقعراً، ويحدث تحلل جزئى لجدار خلية الفطر *B. cinerea*. هذا يلاحظ عند موقع التلامس (شكل ٦) . وبالتالى فإن التماسك المتين لخلية الخميرة برفقة إنزيمات الهيدرولوسز، يمكن أن تكون مسئولة عن التحلل الذى يلاحظ فى جدار الخلية الفطرية، إن إنتاج إنزيم الـ Glucanase، يمكن أيضاً أن يشجع مقدرة البكتيريا على الالتصاق بالهيفا الفطرية وهذا يحدث بوضوح مع *Candida albicans*.

لقد لوحظ حديثاً أن السكريات العديدة المفرزة خارج الخلية من سطح خلايا الخميرة *P. guilliermondii* تسلك سلوك المضاد الفطرى Antifungal النشيط ضد الكائنات الممرضة لما بعد الجمع، وهذا يدل على أنها تتدخل فى طريقة فعل الخميرة. وبالتالى فإن النشاط الذى تقوم به هذه الخميرة فى المقاومة الحيوية (ومن المحتمل خمائر أخرى كعوامل فى المقاومة الحيوية) لايعتمد فقط على مقدرتها فى سرعة استعمار موقع الجروح والمنافسة على المغذيات ولكن أيضاً، يمكن أن تعتمد على مقدرتها على الالتصاق المتين بهيفات الكائن الممرض وإفرازها إنزيمات تحلل جدار الخلية.

شكل رقم (٦) : يبين التصاق خلايا الخميرة *Pichia guilliermondii* على ميسيليوم الفطر *Botrytis cinerea* ، وتظهر عملية التحطيم.

د : تشجيع عوامل المقاومة الحيوية لأمراض بعد الجمع ودمجها مع طرق المقاومة الأخرى

مقـــدمة:

تكمن الفائدة الأولية للمقاومة الحيوية لأمراض ما بعد الجمع فى المقدرة على التحكم بالظروف البيئية التى تحددها البيئة القريبة من سطوح المنتجات النباتية. بعد التأكد من هذه الخطوة، هناك عمليات أكبر تتبع بعد الجمع لتشجيع نشاط عوامل المقاومة الحيوية.

الأبحاث التى أجريت على المقاومة الحيوية فى المجال الورقى Phyllosphere قد وصلت إلى نتيجة بحيث يمكن للباحثين الحصول على فوائدة كثيرة عند تمام فهم بيئة الورقة والميكروبات السطحية على المنتجات النباتية. نظراً لأن البيئة الصغيرة المحيطة بالمنتجات النباتية المخزونة أقل تعقيداً من تلك المحيطة بالأوراق فى ظروف الحقل، وبالتالى فإن التحسن فى مقاومة أمراض ما بعد الجمع أكثر احتمالاً لأن يتم عند تمام معرفة كيفية تفاعل

الكائنات المضادة مع النبات العائل، البيئة والكائنات الحية الدقيقة الأخرى. كذلك فان إدراك الميكانيكيات المسئولة عن المقاومة الحيوية من الأمور الأساسية للتفسير الصحيح لأسباب النجاح أو الفشل وتكون أساسية لما قبل الاستعمال.

على الرغم من النجاح المذكور فى كثير من الأبحاث عند استعمال الكائنات الحية الدقيقة فى المقاومة الحيوية لكثير من أمراض ما بعد الجمع فى كثير من المحاصيل، إلا أنه حتى فى النجاح الكبير لهذه الطريقة إذا ما قورن باستعمال المبيدات الكيماوية، فتبقى نتيجة استعمال المبيدات الكيماوية أفضل، ولكن ما يعيب استعمال المبيدات الكيماوية هو الأثر المتبقى السام الذى يؤثر على الصناعات الغذائية. وكما هو معروف فإن عوامل المقاومة الحيوية تعمل على وقاية السطح أو الجروح الحديثة فى المنتجات الزراعية، ولكنها غير قادرة على التأثير على الإصابة الكامنة أو المتمكنة من الثمرة. وسواء إستعملت المقاومة الحيوية أو الكيماوية، يجب أن تكون مترافقة بعمليات أخرى لتزداد كفاءتها، هذه العمليات هى: الإجراءات الصحية، العمليات اليدوية المنظمة، وذلك لتقليل إحداث الجروح فى المنتج النباتى وكذلك التجميد. أحياناً يفضل الجمع بين المقاومة الحيوية والكيماوية، ولكن هذا يتم بعد دراسة مستفيضة.

I : زيادة فعالية الكائنات الميكروبية المضادة

أ : الكائنات المضادة طبيعياً

يمكن تلخيص استعمال الميكروبات المضادة فى مقاومة أمراض ما بعد الجمع فى نقطتين أساسيتين: الأولى ، الاستفادة من الميكوفلورا الطبيعية الموجودة على سطوح المنتجات الزراعية. الثانية: ادخال واستعمال كائنات مضادة من الخارج بعد تجهيزها فى المعمل أو المصنع. إن البيئة الضيقة أو المحلية لسطوح الفواكه والخضروات لم تدرس بشكل واسع، وبالتالى فان التعامل الممكن مع الكائنات الحية الدقيقة النافعة الموجودة ضمن الميكوفلورا الطبيعية على سطوح المحاصيل النباتية المجموعة يكون فعلياً له فوائد فى المقاومة الحيوية.

إن الافتراض المنطقى فى كون المقاومة الحيوية، تحدث طبيعياً على سطوح الأجزاء الهوائية للنبات، قد دعم بالأبحاث التى أجريت على تجمعات الطبقة الخارجية على سطوح

الأوراق. من الدلائل التى تثبت ذلك، هو عند استعمال المبيدات الفطرية لمقاومة مسبب مرضى معين، تظهر هناك كائنات حية دقيقة أخرى ممرضة غير تلك التى كانت الهدف فى المقاومة، وذلك لعدم وجود تنافس قوى ضد هذه الكائنات، ولعدم تأثرها بالأثر المتبقى للمبيد. من أمثلة هذه الأمراض، أعفان ما بعد الجمع المتسببة عن الزيادة فى أعداد هذه المسببات مثل الفطر الذى يصيب الفراولة ويسمى *Rhizopus*، بعد استعمال المبيد الفطر بنليت لمقاومة الفطر *Botrytis cinerea* وكذلك الفطر *Alternaria citri*، على الحمضيات بعد استعمال المبيد الفطر بنليت لمقاومة *Penicillium* sp وكذلك *Colletotrichum gloeosporioides* و *Phytophthora syringae* و *Alternaria tenuis* على ثمار التفاحيات بعد استعمال مادة Benzimidazols لمقاومة *Gloeosporium* spp. و *Penicillium expansum* .

هناك دليل آخر على حدوث المقاومة الحيوية الطبيعية على سطوح ثمار المحاصيل المجموعة، حيث يتبين أنه عند غسيل المنتجات الزراعية كثيراً قبل تخزينها، فإنه يظهر عليها أمراض عفن أكثر من تلك التى لم تغسل. ولقد وجد أن غسل وتجفيف ثمار الحمضيات يجعلها تتعفن بسرعة أكثر فى المخزن من تلك التى لم تغسل. ولقد وجد أيضاً أن البكتيريا والخمائر تكون سائدة فى ماء غسيل الثمار والخضروات، وهذا أدى إلى الاقتراح بأن التجمعات الميكروبية على سطوح الحمضيات تثبط طبيعياً مسببات العفن.

إن التداخل فى المتغيرات الكيماوية أو الغذائية على المسطح الورقى، يمكن أن يؤدى إلى تغيير فى تجمعات الكائنات الدقيقة الباقية على السطح. لقد أثبت كل من Morries & Rouse سنة ١٩٩٢ أن هناك اختلافاً فى مقدرة البكتيريا السطحية المأخوذة من سطوح أوراق الفاصوليا، فى استعمال مصدر وحيد الكربون والنيتروجين. عند إضافة مواد غذائية معينة على المجموع الخضرى للنبات فى الحقل، فإن هذا يؤدى إلى إحداث تحورات فى تركيب التجمعات البكتيرية ويغير فى حجم تجمعات البكتيريا الوميضة وفى بعض الأحيان يخفض الإصابة بالمرض المتسبب عن البكتيريا *Pseudomonas syringae*. وبالتالى فإنه فى بيئة بعد الجمع، من الممكن إحداث بعض التغيرات بحيث تلائم بعض الكائنات المضادة، وذلك عن طريق التحكم فى درجات الحرارة، الرطوبة والضغط الجوى.

كذلك يمكن زيادة الاستفادة من التجمعات النافعة من الكائنات الدقيقة السطحية عن طريق التداخل الوراثى فيها أو فى النبات، ومما يدعم هذا القول فان النبات الـ genotype له دور فى بقاء وتكاثر الكائنات الممرضة. فمثلاً تكون هناك اختلافات كبيرة فى تجمعات البكتيريا الشديدة المرضية *Pseudomonas syringae campestris* pv. *phaseoli* على طرز الفاصوليا القابلة والمقاومة للإصابة فى الحقل، وكذلك أن الـ genotype من الشوفان له دور مهم فى تدعيم تجمعات البكتيريا النشيطة المكونة لنواة الجليد. لقد عزى Bird سنة ١٩٨٩ النجاح الذى حصل عليه فى أصناف القطن Multiple adversity resistance (MAR) إلى الاتحادات بين كل من التلائم الكبير، المقاومة الوراثية وإلى الكائنات الدقيقة المرافقة للنبات والتى تعطيه وقاية ضد الأمرض والآفات الحشرية. إن التجمعات الميكروبية المعزولة من سطوح MAR تحتوى على أعداد من الكائنات المضادة أكثر من تلك المأخوذة من الأصناف القابلة للإصابة. أما صفات الـ Phenotype والتى من الممكن أن تؤثر على الميكوفلورا، تشمل طبوغرافية السطح الورقى والمواد الكيماوية المفرزة. والذى يمكن تصوره هو أن النباتات يمكن التداخل فيها عن طريق القواعد الوراثية أو إعادة الاتحادات فى أجزاء الـ DNA لتحسين المقاومة الحيوية الطبيعية لمنتجات بعد الجمع.

ب: ادخال الكائنات الدقيقة المضادة في الاستعمال

١- إنتاج ، تكوين ، اطلاق وتوزيع

من أهم الأمور المتعلقة بإنتاج الكائنات المضادة، سواء كان الناتج على شكل سائل أو صلب أو نصف صلب أو Surface fermentation هو أن يكون اللقاح متواجداً بشكل واضح على شكل مستعمرات قادرة على التضاد على سطوح النبات. هناك طرق غير دقيقة تستعمل فى المعامل أو فى الإنتاج التجارى، تؤدى إلى فقد الصفات المهمة والضرورية لإنجاح المقاومة الحيوية. فمثلاً الصفات التركيبية (المورفولوجى) للبكتيريا والتى تكون وظيفتها فى الطبيعة كوسيلة التصاق أو حواجز نفاذية أو Resins تبادل أيونى أو الحفظ من الضغط الأسموزى، يمكن أن تفقد تحت ظروف تكون سائدة فى المزارع المعملية. كذلك وجد أن Glycocalyx البكتيرى يفقد عندما تنمو البكتيريا فى كثير من البيئات المعملية، ولكن هذا

يمكن أن يوقف أحياناً بتغير ظروف المزرعة. إن مقدرة الميكروبات على إنتاج بعض مركبات الميتابولزم الداخلة فى التضاد الحيوى، يمكن أيضاً أن تتأثر خلال عمليات التهيج (التخمير). لقد ذكر Lindow سنة ١٩٩٢ أن السلالات من البكتيريا المضادة لـ *Pseudomonas syringae* النامية على بيئة غنية، لاتنتج مركبات مثبطة عند تنميتها على بيئة مصممة بحيث تشبه الظروف الغذائية على سطوح الأوراق. إن طرق الإنتاج التى تحافظ أو تزيد فى حيوية الكائنات المضادة يمكن أن تؤدى إلى زيادة فعالية المقاومة الحيوية.

إن إنتاج كميات كبيرة من الكائنات الحية الدقيقة، قد وصفت بأنها تشبه طرق إنتاج المنتجات الصيدلانية أكثر منها لإنتاج عوامل ميكروبية بحتة، تستعمل ثانية على سطوح النباتات. وبالتالى فإن الكائنات الدقيقة المستعملة فى المقاومة الحيوية، تمثل تحدياً فريداً فى الصناعة، بسبب احتياجها لكميات كبيرة كافية من اللقاح تكون متوافقة مع تكنولوجيا الاستعمال وما هو موجود من ظروف بيئية فى المخزن. يجب أن توضع كفاءة الإنتاج وتكاليفه فى عين الاعتبار قبل أن تدخل فى الاستعمال على نطاق تجارى واسع.

إن المحافظة على حيوية الكائنات الحية الدقيقة، هى أيضاً نقطة أساسية فى تشكيل الكائنات المضادة المستعملة على نطاق تجارى، فيجب أن يكون لعوامل المقاومة الحيوية حياة طويلة فى المخزن لاتقل عن ستة شهور، ومن المفضل أن تصل من ١-٢ سنة. إن التقدم العلمى فى استعمال الكبسولات سوف يطيل سقف الحياة لهذه المنتجات. بعض أنواع هذه المواد المضافة كمغلفات والتى تقوم بدور مهم فى ظروف الحقل القاسية (لتحفظ عوامل المقاومة من الجفاف والأشعة فوق البنفسجية)، يمكن ألا تكون ضرورية فى بيئة ما بعد الجمع. وعلى أية حال فان إمكانية إضافة مواد تجعل هذه الكائنات أكثر فاعلية، مثل المغذيات، منظم الحموضة أو مواد أخرى تشجع أو تزيد النشاط الميكروبى على المنتجات الزراعية المخزونة، يبدو أنه مبشراً بالنجاح. بالإضافة لذلك فان تكنولوجيا التشكيل تطورت بحيث تحسن انتشار والتصاق هذه العوامل على سطوح النبات فى الحقل، ويمكن أن تكون لها تطبيقات فى نظم ما بعد الجمع.

إن التشكيل والتوزيع يجب أن ينظر إليهما من وجهة نظر مشتركة. لكى نقرر أى طرق الاستعمال يجب أن تتبع، فمن المنطقى أن تحدد فى الوقت نفسه طرق التوزيع. يمكن لعوامل

المقاومة الحيوية أن تستعمل مترافقة مع الشمع (كما فى المبيدات الكيميائية) إما قبل أو بعد تسليمها لرجال الرش والتوزيع. يفضل أن تكون الكائنات الحية الدقيقة المضادة محفوظة فى شموع ذات قاعدة زيتية، وذلك لأن الزيوت المعدنية قد استعملت بنجاح لمدة طويلة فى تخزين مزارع البكتيريا والفطريات.

تغليف الثمرة بالشمع أو أى مادة أخرى، يمكن أن يؤثر سلبياً أو إيجابياً على فعالية عامل المقاومة الحيوية. لقد وجد أن بعض أنواع البكتيريا المضادة، تكون ذات نتيجة أفضل عند استعمالها بعد تغليف الثمرة بالشمع، ولقد وجد أن الشمع ليس له تأثير على كفاءة مقاومة البكتيريا *Bacillus subtilis* ضد العفن البنى فى الخوخ، سواء استعمل الشمع مع البكتيريا مختلطين أو كل منهما بمفرده.

لقد ذكر McLaughlin *et al* سنة ١٩٩٠ أن إضافة ٢ ٪ كلوريد الكالسيوم إلى معلق الخميرة، يزيد بشكل كبير مقدرة الخميرة *P. guilliermondii* لمقاومة أمراض بعد الجمع فى التفاح، وهذا يسبب انخفاض كمية الخميرة اللازمة للحصول على مثل هذه النتيجة فى المقاومة. كذلك فى تجارب أخرى، وجد أن استعمال الخميرة المذكورة نفسها، على الحمضيات أظهر زيادة كبيرة فى نشاط المقاومة الحيوية عند إضافة ١٠ ٪ من المبيد الفطرى Thiabendazole. هذه التجارب أثبتت كفاءة المقاومة الحيوية عند استعمال الخميرة على نطاق تجارى كبير لمقاومة أمراض ما بعد الجمع.

٢ : التداخل في البيئة المحيطة (الضيقة) Manipulation of Microenvironment

إن الجهود التى تبذل لتشجيع وزيادة كفاءة عوامل المقاومة الحيوية، عن طريق التداخل فى البيئة المحيطة، هى جهود ممتازة. ومما يسهل هذه المهمة أن كلاً من الحرارة، الرطوبة والتركيب الغازى، يمكن التحكم بها بسهولة فى عنابر المخزن. وبالطبع فإن الظروف السائدة والمستغلة بعد الجمع تكون مرتبة على الأوضاع المثلى لرفع مستوى سقف الحياة Shelf life لأقصى مدة ممكنة للمنتجات الزراعية وكبح العوامل المرضية. أحياناً فإن أفضل الفرص لتشجيع عوامل المقاومة الحيوية، يكون عن طريق التداخل فى البيئة المحيطية، والتى تشمل التغذية أو الوسط الكيماوى، الذى يمكن أن يتغير ليعطى الكائنات المضادة فائدة اختيارية أو زيادة كفاءتها على سطوح المنتجات الزراعية.

كما ذكر سابقاً، فإن إضافة المغذيات إلى المجموع الخضرى، أو سطوح النبات الأخرى، يمكن أن يغير كثيراً فى التجمعات السطحية للكائنات الدقيقة. كذلك فان التحسينات الغذائية قد ثبت بأنها تشجع الكائنات المضادة المدخلة على سطوح الأوراق. فمثلاً وجد Fokkema *et al* سنة ١٩٩٢ أن الخمائر *Sporobolomyces* ، *Cryptococcus* عندما ترش على أوراق القمح مترافقة مع ٢ ٪ سكروز و ٠,١ ٪ مستخلص خميرة، يزيد فى أعداد الخميرة المستعملة بالمقارنة مع الكنترول الذى استعمل فيه الخمائر مع الماء فقط. أما تجمعات الكائنات الممرضة مثل *Cochliobolus* و *Septoria* انخفضت فى البداية، وكان تكشف المرض بطيئاً فى المراحل الأولى. كذلك وجد أن تثبيط الفطر *Botrytis cinerea* بواسطة *Tricho-derma spp.*، على عناقيد العنب المنفصلة، كان أكبر عندما أضيف مستخلص المولت إلى لقاح الكائن المضاد. هناك أبحاث كثيرة أجريت على ٢٣ مصدراً نيتروجينياً و٣٦ مصدراً كربونياً، فوجد أن المركبات التى تشجع نمو الكائن المضاد كثيراً هى L-Asparagine و L-proline وتشجع المقاومة الحيوية للعفن الأزرق.

التركيب الغذائى لايؤثر فقط على كثافة تجمعات الكائن المضاد ومقدرته على المنافسة، وإنما يمكن أن يؤثر أيضاً على نواتج الميتابولزم التى تكون ذات تأثير مهم فى نظم المقاومة الحيوية لما بعد الجمع. هذه الأنظمة تشمل المضادات الحيوية أو إنزيمات تحطيم جدار الخلية. إن بناء المضادات الحيوية بواسطة الكائنات الحية الدقيقة، يتحكم فيه نظام نيتروجينى ثم يعرض لكبح أيضى. إن شكل وتركيز النيتروجين والكربون يمكن أن يكون مهماً فى بناء وإفراز المركبات التى هى أساسية لنجاح المقامة الحيوية.

كذلك وجد أن بعض الأملاح تشجع نشاط الخميرة المضادة لكل من *Botrytis cinerea* و *Penicillium* expansum ثمار التفاح المجموعة، ووجد أن كلوريد الكالسيوم بتركيز ٢ ٪ هو أفضل الأملاح المؤثرة وقد انتشر استعماله فى المقاومة الحيوية على نطاق واسع ضد كثير من الكائنات الممرضة.

وجد أيضاً أن بعض المواد العضوية، يمكن أن تحسن المقاومة الحيوية على السطوح الهوائية النباتية. وجد أن إضافة الـ Chitin على أوراق الفول السودانى، يساعد فى زيادة التجمعات البكتيرية المحللة للشيتين من البكتيريا *Bacillus cereus*، وإن هذه العملية أدت

إلى خفض كبير فى الإصابة المبكرة لتبقع الأوراق السيركوسبورى *Cercospora arachidicola*، كذلك إستعملت مادة hydrolyzed ctellulose وبعض أنواع Vegetable oils لتحسين التصاق ونشاط *Chaetomium globosum* لمقاومة أمراض المجموع الخضرى فى التفاح. كذلك يمكن تحسين المقاومة الحيوية لأمراض التفاح بإضافة Carboxy methyl cellulose مع الكائن المضاد *Trichoderma harzianum*.

٣- مخلوط الكائنات المضادة

ذكر Baker & Cook سنة ١٩٨٤ أن أفضل طريقة لتحقيق مقاومة حيوية ناجحة، هو استعمال مخلوط من عديد من الكائنات المضادة وليس واحداً فقط. يمكن القول كقاعدة عامة أن التركيبات من المخاليط المترافقة فى الطبيعة، تكون أكثر ثباتاً. إن مثل هذا المخلوط يجب أن يكون محتوياً كائنات متكاملة وليست متنافسة.

إن استعمال أكثر من كائن مضاد واحد، يمكن أن يحقق فوائد عديدة، عندما يمثل يكون مخلوط الكائنات الدقيقة تنوعاً فى ميكانيكية المقاومة الحيوية. هذا الإجراء يمكن أن يقلل فرصة الكائن الممرض فى التغلب على التثبيط الواقع عليه من قبل عامل المقاومة الحيوية المفرد، إذا كانت هناك فرصة للكائن الممرض أن يقوم بذلك.

يجب أن يؤخذ بعين الاعتبار، أن كائن مضاد واحداً قد لايكون فعالاً فى مقاومة جميع الكائنات الممرضة المهمة على محصول واحد. حتى عند استعمال المبيدات الفطرية الكيماوية، غالباً، فإن المبيد الواحد قد لايكون كافياً، على الأقل يجب استعمال اثنين من المبيدات الفطرية متحدين ومتوافقين لمقاومة أمراض ما بعد الجمع فى ثمار اللوزيات. هذا بسبب أن المبيدات الفطرية الفعالة ضد العفن البنى فى اللوزيات لاتعطى مقاومة ضد عفن رايزوبس، وهو مرض خطير جداً على اللوزيات بعد الجمع. إن المبيد الفطرى الذى يقاوم عفن رايزوبس، ليس له تأثير على العفن البنى. الفكرة نفسها تطبق على الكائنات المضادة الداخلة فى المقاومة الحيوية. لقد وجد أن المخلوط من الكائنين المضادين *Acremonium breve* و *Pseudomonas* spp. تعطى مقاومة شاملة وفعالة ضد أمراض ما بعد الجمع فى التفاح المتسببة عن *Penicillium expansum* و *Botrytis cinerea* وتكون النتيجة أفضل من استعمال كل منهما بمفرده.

هناك عدة نقاط يجب مراعاتها عند خلط عوامل المقاومة الحيوية:

١- أن يكون كل منهما فعالاً ضد الكائن الممرض المستعمل ضده.

٢- ألا يكون بينهما تنافس سواء على الغذاء أو المكان ولايكون بينهما تضاد.

٣- أن يكون المخلوط الناتج ثابتاً تحت الظروف البيئية المختلفة ومقاوم للمبيدات الكيماوية.

٤- التداخـــلات الوراثيـــة Genetic Manipulation

مع أنه من الممكن تصور أن التداخلات الوراثية فى النبات العائل، يمكن أن تحسن المقاومة الحيوية، إلا أن التداخلات فى الكائن المضاد، يمكن أن تكون أكثر ملاءمة وإجراءً واقعياً لتحسين قدرته على المقاومة الحيوية. من المعروف جيداً أن الاختلافات الوراثية، تكون كثيرة بين سلالات الكائنات الدقيقة المضادة. الجينات التى تمنح قدرة عالية من التنافس أو الفعالية، للكائنات الدقيقة المضادة، يمكن أن تستعمل عن طريق اختيار أو تكنولوجيا إعادة الاتحاد فى الـ DNA. الجين المرغوب الذى يحدث أو يحقق صفات جيدة فى الكائنات المضادة يجب أن يدخل أو يوفر فى الكائن الدقيق الصفات الآتية:

١- المقدرة على استعمال مركبات العائل الأساسى.

٢- المقدرة على استعمال المركبات المضافة التى تلائم الكائن المضاد.

٣- تحمل مبيدات الآفات.

٤- استعمار سطوح العائل تحت ظروف المخزن.

٥- بناء المركبات التى تشارك فى التضاد، مثل المضادات الحيوية، الإنزيمات، السايدوفورز أو بروتينات مستقبله للسايدوفورز.

لقد إستعمل كثير من العلماء منهم Papavizas & Lewis الأشعة فوق البنفسجية ثم أتبعوا ذلك عمليات اختيار وذلك للحصول على عزلات من أنواع *Trichoderma* متحملة للمبيدات الفطرية، وزيادة إمكانية المقاومة الحيوية، ضد الأمراض الكامنة فى التربة. كذلك فإن العالم Tronsmo قام بتحسين المقاومة الحيوية للفطر *Botrytis cinerea* على التفاح عن طريق اختيار عزلات من الفطر *Trichoderma*، قادرة على النمو على حرارة منخفضة

نسبياً تعادل تلك الحرارة الجوية التى تكون سائدة وقت التزهير، عندما تحدث الإصابة الأولية. مثل تلك الاجراءات يمكن تطبيقها على الكائنات الدقيقة المضادة، التى تستعمل فى المقاومة الحيوية لأمراض ما بعد الجمع.

إن طرق إعادة الاتحاد بين أجزاء الـ DNA هى التى تؤهل الجينات لكى تدخل بدقة بالغة من خارج التجمعات الجينية لكى تقوم بعملها فى الكائنات الحية الدقيقة. كذلك يمكن التحكم فى الجينات التى تؤثر فى ميتابولزم الكائن الدقيق، بحيث يؤدى ذلك إلى زيادة إفراز المضادات الحيوية أو الإنزيمات. إن التداخلات الوراثية قد أجريت كثيراً فى التجارب على البكتيريا وأثبتت نجاحها، وهى لاتزال فى البداية بالنسبة للفطريات.

II: دمج المقاومة الحيوية بطرق مقاومة أخرى

Integrating Biocontrol With Other Control Strategies

مقـــدمة:

إن إنتاج الفواكه والخضروات الطازجة وانتقالها من المنتج (المزرعة) إلى المستهلك، تمر فى سلسلة من الحوادث، وبالتالى فإن المقاومة الملائمة للمرض، تعتمد على عدد من الإجراءات المستخدمة خلال هذه السلسلة من الأحداث. فى حالة غياب المبيدات الفطرية الصناعية، يكون من الأهمية بمكان إحداث دمج فى طرق المقاومة المختلفة بالإضافة إلى المقاومة الحيوية.

أ: التوافق مع الإجراءات العادية

يمكن أن يكون لتوافق الكائنات المضادة مع الاجراءات الزراعية والشروط الصحية والقوانين التجارية، أهمية فى تشجيع وتكشف عوامل المقاومة الحيوية لاستعمالها بعد الجمع. من المفضل أن تكون الكائنات المضادة المستعملة فى المقاومة الحيوية غير متأثرة بالمبيدات الكيماوية (سواء قبل أو بعد الجمع)، وأن تستعمل بعد تغليفها بالشمع، وأن تبقى حية مدة طويلة (سقف حياة مرتفع) وتقاوم الحرارة، الرطوبة وظروف المخزن خلال التخزين. كما ذكر سابقاً فإن أى تغيير فى البيئة لتلائم الكائن المضاد، يجب أن ينظر إليها بعين الاعتبار

من حيث التأثيرات التى تحدثها فى العائل والكائن الممرض. السلالة *B-3* من البكتيريا *Ba-cillus subtilis* ذات تأثير مضاد ضد العفن البنى فى اللوزيات، وجد أنها متوافقة مع الشمع التجارى، ومبيد الراى كلوران (المستعمل لمقاومة عفن الرايزوبس) وحرارة المخزن الباردة. إن التوافق بين الميكروبات المضادة والمبيدات الفطرية الصناعية يسمح بحرية الاختيار لاستعمال الكائن المضاد بالتوافق مع المستويات المنخفضة من المبيدات الفطرية. فى التجارب الرائدة التى استعمل فيها الخميرة المضادة *Pichia guilliermondii* سلالة US-7 على ثمار الحمضيات، فإن الخميرة كانت متحدة مع المبيد الفطرى ثيابندازول (TBZ) بنسبة ٠,١ الكمية الموصى بها لخفض تحلل الثمار إلى المستوى المساوى لتلك المستعملة فى المعاملة التجارية من TBZ فى المعدل الكامل.

ب: طرق مكملة للمقاومة الحيوية

هناك عدد من الإجراءات الوقائية تستعمل لخفض الفاقد نتيجة أمراض ما بعد الجمع. هذه الاجراءات استعملت كبديل للمبيدات الفطرية العادية، بعض هذه الإجراءات حديث نسبياً والبعض الآخر معروف منذ مدة، ولكن أعيد إليه الاهتمام بسبب الظروف الحياتية التى تطلب تقليل الضرر أو الأضرار المحتملة من المبيدات الفطرية المستعملة لما بعد الجمع. الطرق التى يمكن أن تستعمل لوحدها أو كجزء من اتحادات، تشمل، المعاملة بالحرارة، المقاومة المستحثة بالأشعة فوق البنفسجية، الراشح الكالسيومى، المعاملة بمركبات General Regarded as safe (GRAS) التى تستعمل بشكل عالم كمنكهات للطعام، والمنتجات الطبيعية المشتقة من النباتات. هذه الطرق يمكن استعمالها مع عوامل المقاومة الحيوية لتنتج تأثيرات مكملة أو متعاونة ضد الأمراض.

مع أن الميكروبات المضادة يمكن أن تكون فعالة عندما تتواجد، قبل أو فوراً بعد وصول الكائنات الممرضة على سطوح المنتجات الزراعية، إلا أنه من غير المحتمل أن تقاوم الإصابات الكامنة أو الابتدائية. هذا الضعف فى المقاومة الحيوية يمكن أن يعوض بواسطة طرق مقاومة أخرى ضمن نظام سلامة المنتجات. إن المعاملة بالحرارة ليس لها أثر متبقٍ كما هو متوقع بالنسبة للكائنات المضادة، وعلى كل حال فإن استعمال الحرارة على بعض المنتجات الزراعية، يمكن أن تكمل المقاومة الحيوية عن طريق قتل الكائنات الدقيقة التى تكون قد دخلت البشرة الخارجية أو طبقة الخلايا الخارجية. كذلك فإن تعقيم سطوح المنتجات

الزراعية قبل استعمال عامل المقاومة الحيوية، من المحتمل أيضاً أن يعطى الكائن المضاد فائدة فى عمله نظراً لاختفاء المنافسة المتوقعة بين الكائنات الأخرى وعامل المقاومة الحيوية. هذا الإجراء مماثل لما يحدث عند تعقيم التربة قبل إضافة الكائن المضاد إليها.

- كذلك فإن معدل نجاح المقاومة الحيوية يمكن أن يحسن أيضاً، عن طريق دمجها مع الطرق التى تزيد مقاومة العائل (مثل: التربية الكلاسيكية للنبات، الانتقاء، المقاومة المستحثة، الهندسة الوراثية) مثل هذه المقاومة يمكن أن تخفض حدوث ونشاط الإصابات الكامنة فى الأنسجة الداخلية والتى تكون بعيد عن الاتصال عن الكائن المضاد.

المواد المضادة للفطريات (مركبات GRAS أو المنتجات النباتية الطبيعية) والتى تثبط اختيارياً الكائنات الممرضة، يمكن أيضاً أن تستعمل متحدة مع عوامل المقاومة الحيوية، حيث أنها تجعل الكائنات الممرضة ضعيفة وتصبح معرضة للهجوم من قبل الكائنات المضادة.

كذلك فإن الأغلفة الطبيعية التى يمكن استعمالها فى المستقبل على المنتجات الزراعية، يجب أن تصمم بحيث تعيق الكائن الممرض من خلال تثبيط فعل و/أو تشجيع عوامل المقاومة الحيوية عن طريق تزويدها بالمغذيات وتوفر الظروف الطبيعية لنشاطها وأن تكون غير ضارة بالمستهلك الآدمى.

هـ: إنتاج عوامل المقاومة الحيوية بكميات كبيرة واختبارها فى مقاومة أمراض ما بعد الجمع

Large - Scale Production and Testing of Biological Control Agents For Postharvest Diseases

مقـــدمة:

هناك جسر (كوبرى) بين النظرية والتطبيق، يمكن أن يبنى عندما تؤدى المبيدات الميكروبية للآفات عملها بالتمام فى الأوضاع التجارية. إن أدوات النقل التى دائماً تستعمل فى التعامل ابتداءً من أطباق بترى إلى عمليات الإنتاج الضخمة، تشمل جميع عمليات التقييم المحتملة. إن إجرءات التقييم لعملية إنتاج المبيدات الحيوية للآفات، تنشأ من الأصل العام من

علم الحياة. جميعها تبدأ على قاعدة أبحاث متوجهة إلى أساسيات الحياة وخاصة الكائنات الدقيقة ومدى العمل الذى تقوم به.

إن موضوع المقاومة الحيوية لأمراض بعد الجمع، لايزال فى المراحل الأولى من النشأة، هناك معلومات قليلة جداً التى يمكن أن يؤسس عليها فكرة ودليل هادٍ لمستقبل التصنيع. الخطوة الأولية للتكشف التجارى لأى عامل من عوامل المقاومة الحيوية يمكن أن تحقق بواسطة الكائن المضاد الكفء حسب معايير معينة مبنية على الدراسات المعملية.

إن ظهور المبيدات الفطرية الحيوية لمقاومة أمراض ما بعد الجمع، يكون فى البداية ناتجاً عن بعض الاقتراحات التى تحث على تحليل وضبط فعالية الكائنات المضادة فى البيئة المعزولة، فى البحث العلمى. بعد التأكد من فعالية هذه الكائنات المضادة فى المقاومة الحيوية، فإنها تخضع لعمليات إنتاج ويطلق على أماكن إنتاجها مصانع التعليب، وهذا الإنتاج يتطلب كثيراً من الجهد والمال. إن استغلال الجهد والمال فى مثل هذا الاكتشاف يكون مشجعاً اعتماداً على نقطتين مهمتين: الأولى والأهم هو أن معظم المبيدات الفطرية الكيماوية سوف تسقط وتسحب من السوق، لأسباب طبية وبيئية، أما الثانية: فهى استمرارية ظهور سلالات من الكائنات الممرضة مقاومة أو متكيفة مع هذه المبيدات، وبالتالى تقل كفاءة هذه الكيماويات فى المقاومة، مما يؤدى إلى رفع معدل الاستعمال، وهذا يؤدى إلى زيادة تلوث البيئة وزيادة التكاليف وهنا نعود إلى النقطة الأولى.

زيادة على ذلك فإن بيئة ما بعد الجمع، يبدو أنها تمثل أفضل محيط أو بيئة للمناوة الحيوية، أفضل من تلك البيئة التى تكون سائدة تحت الظروف الحقلية. فى بيئة ما بعد الجمع، غالباً ما يكون من الممكن التحكم فى الحرارة والرطوبة. بالإضافة لذلك فان بيئة ما بعد الجمع هى صناعية Ecological island منفصلة عن التأثير المنظم للأنظمة الخارجية الميكروبية الطبيعية. مثل هذه الظروف تناسب استعمال الكائنات المضادة المدخلة فى البيئة للمقاومة الحيوية.

١- الميكروبات المضادة:

الخطوة الأولى فى تكشف عامل من عوامل المقاومة الحيوية تجارياً، تتحقق عن طريق كفاءة الكائن المضاد طبقاً لمعايير معينة على أساس الدراسات المعملية. لقد درس كل من

Wilson & Wisniewski سنة ١٩٩٢، اقتراحين أساسيين متوفرين لاستعمال الكائنات الحية الدقيقة المضادة، أحدهما هو كبح المرض عن طريق زيادة التجمعات السطحية من الكائنات الحية الدقيقة المضادة والتى من الممكن أن تزيد فى مقاومة ومنع انتشار المرض خلال التخزين. الاقتراح الثانى هو أن الكائنات المضادة يمكن أن تدخل صناعياً فى مواقع الجروح للمنتجات الزراعية المخزنة، عن طريق بعض التداخلات المعينة والتى يمكنها أن تزيد وتسبب مقاومة المرض. هذا الاقتراح مهم فى عالم الصناعة.

مع أن المعايير للكائن المضاد المثالى كثيرة، إلا أن المعايير المرغوب فيها لمتطلبات السوق الصناعية هى:

١- الثبات الوراثى.

٢- فعالية عالية وثابتة.

٣- المقدرة على البقاء حية تحت الظروف البيئية المعاكسة (سقف حياة طويل).

٤- أن يكون فعالاً ضد مدى واسع من الكائنات الممرضة على أصناف مختلفة من الفواكه والخضار.

٥- أن يكون ذا متطلبات سهلة للنمو، على بيئة رخصية الثمن من المهيجات (المواد المتخمرة).

٦- أن يكون ثابتاً ومستمر الفعالية لغاية آخر مدة التخزين.

٧- لا يُكوِّن منتجات ثانوية للميتابولزم تسبب أضراراً للإنسان.

٨- أن تكون سلالاته مقاومة للمبيدات الفطرية القياسية.

٩- أن يكون متوافقاً مع المعاملات الكيميائية والفيزيائية الأخرى التى تعامل بها المنتجات الزراعية مثل المعاملة بالحرارة والشمع.

يمكن الحصول على الكائنات الدقيقة المضادة من عدة مصادر، وعلى أية حال فإن أكثر المصادر التى يمكن وضعها فى عين الاعتبار، هى ميكوفلورا سطح الورقة أو سطوح الثمار أو المنتجات الزراعية الأخرى التى يراد حفظها. لكى يكون هناك اختيار فنى ودقيق للكائن المضاد يجب إتباع ما يسمى (Silver bullet) الكرة الفضية، وهذا ما اقترحه Spurr & Knudsen . من أكثر العوامل المبشرة بالنجاح فى الأغراض التجارية، هى عمليات الإنتاج

الكبير المبنى على القدرة الفعلية للتكاثر للكائن المضاد. لقد ذكر Jutsum سنة ١٩٩٢ أن للصناعة دوراً قوياً فى ادخال عوامل المقاومة الحيوية فى برامجها لمقاومة الآفات. إن الاهتمام الكبير للباحثين ينصب على البكتيريا، ثم يلى ذلك الفطريات، وذلك لأنها أسهل فى الاستخدام لإنتاج كميات، كبيرة فى المشروعات الصناعية التى هى متوفرة الآن. زيادة على ذلك فإنه على الرغم من التقدم الواضح الذى قد وصل إليه فى السنوات الأخيرة لتأسيس المفهوم الأساسى للمقاومة الحيوية لأمراض ما بعد الجمع، إلا أنه لاتزال هناك فجوة بين المعلومات الحالية التى نحصل عليها من مراكز الأبحاث، وفعالية الكائنات الدقيقة المختلفة كنظام لمقاومة الآفات فى البيئة الطبيعية.

أولى التجارب الناجحة والرائد، هى التى وضعت بواسطة Pusey *et al* سنة ١٩٨٤لمقاومة مرض العفن البنى المتسبب عن *Monilinia* على الخوخ. هناك أبحاث أخرى عديدة أجريت على أساس افتراض أن الخمائر الناتجة من الميكوفلورا لسطح الأوراق، عندها كفاءة لتصبح منتجاً تجارياً يحقق المعايير المذكورة سابقاً للمبيد الفطرى الحيوى المثالى. ولقد ثبت أن السلالة US-7 من الخميرة *Pichia guilliermondii* تستعمل على نطاق تجارى واسع فى المقاومة الحيوية لأمراض بعد الجمع تحت مسمى ARO، فى اسرائيل و ARS فى الولايات المتحدة، والشركة المنتجة تسمى *Ecogen*. كذلك فان السلالة I-182 من *Candida* sp تستعمل أيضا فى المجال نفسه. ولقد أجريت تجارب السمية ونهاية الصلاحية End use product فثبت عدم تأثيرها السام على الإنسان أو الحيوان.

٢- الإنتاج الكمي للكائن الدقيق

تقوم صناعة المبيدات الحيوية، أولاً وأخيراً على القدرة لاختيار ميكروبات متوقع أن تكون فعلاً قادرة على إنتاج كمى كبير بالرغم من نموها تحت ظروف غير طبيعية نوعاً ما، وعلى الرغم من أن العمليات تكون ذات تكلفة عالية. إن أساس التجارب العملية مبنى على ما يسمى Fermentation (هذا يعنى إنتاج كميات كبيرة من الميكروبات عن طريق الـ Fer-mentation). وهذا يتضمن اختيار ظروف فسيوكيماوية مناسبة وبيئات مناسبة للنمو وتكاثر خلوى غزير فعال. إن النقطة المهمة بين أخصائيى الـ Fermentation هى التكلفة الفعلية، وأن تكون العملية متصلة بنظام الـ Fermentation المغمور. يجب أن تنتهى العملية ضمن ٢٤–٣٠ ساعة ويجب أن تعتمد بيئة النمو على مخلفات صناعية. جميع هذه المتطلبات

المذكورة سابقاً يجب أن تتحقق لحدوث عمليات الإنتاج الكمى في الخميرة المضادة. عند تعرض تجارب التكاثر لأفضل وسائل نمو (Fermetation) ، تصبح الخلية قادرة على التكاثر بأعداد كبيرة فتصل إلى ١٠٠٠ ضعف خلال ٢٠ ساعة فى عمليات التخمر المغمورة. هناك بعض أنواع المواد المختارة التى تستعمل فى البيئات الغذائية جدول رقم ٩. كذلك وجد أن البيئة المكونة من مخلوط محلول منقوع الذرة (بقايا مواد مستخلصة من صناعة النشا) والسكروز، يمكن أن تستبدل بمصادر طاقة أخرى مثل المالتوز، من البيئات المفضلة.

إن عملية التكلفة الفعلية هى شرط أساسى لعمليات الإنتاج الكمى، بسبب أن هذا المنتج يجب أن يثبت وجوده فى السوق ويدر أرباحاً على محترفى صناعة الكائنات المستعملة فى المقاومة الحيوية لأمراض بعد الجمع، والتى تكون منافسة لعمليات إنتاج المبيدات الفطرية، وبالتالى فإن خفض تكاليف الإنتاج تجعل سعر هذه المواد فى مقدرة على منافسة أسعار المبيدات الكيماوية.

جدول رقم ٩ : تأثير مواد المخلفات الصناعية على نمو الخميرة *Candida* Sp. سلالة I-182 وكفاءتها فى تثبيط نمو الفطر *Penicillium digitatum* فى المعمل.

بيئة النمو	عدد الخلايا بعد		٪ تثبيط نمو الفطر بنيسيليوم
	٢٤ ساعة	٤٨ ساعة	
NYDB	٥×١٠^{٨}	٧×١٠^{٨}	٩٤
CSM	٩×١٠^{٧}	٦×١٠^{٧}	–
CSL	٥×١٠^{٨}	٢×١٠^{٨}	٨١
Soybean meal	١×١٠^{٤}	٢×١٠^{٣}	–
Bone meal	٢×١٠^{٨}	٣×١٠^{٨}	–
Tomato juice	٣×١٠^{٨}	٣×١٠^{٨}	–
CSL + glucose	$٣,٥ \times ١٠^{٨}$	$٢,٨ \times ١٠^{٨}$	–
CSL + Sucrose	$٦,٥ \times ١٠^{٨}$	$١,١ \times ١٠^{٩}$	٩٤
CSL + Sucrose + NaCl	١٩×١٠^{٨}	١×١٠^{٩}	–
CSL + Soymeal	$٢,٣ \times ١٠^{٨}$	$٢,٣ \times ١٠^{٨}$	٩٢
CSL + CSM	١×١٠^{٨}	$١,٣ \times ١٠^{٨}$	٨٠
Orang peel extract	$٢,٧ \times ١٠^{٧}$	٣×١٠^{٧}	٨٩

NYDB = مغذيات ، أجزاء من الخميرة ، مرق الدكستروز . CSM = مجروش بذور القطن. CSL = محلول منقوع الذرة

٣- التحكم في نوعية المنتج:

المقدرة على التكاثر، هو السلوك أو الصفة المطلوبة غالباً للمنتج الحقيقى. وهذا يمكن أن يتحقق عن طريق توفير أدلة قوية تتفق مع الكفاءة النوعية (Quality Assurance (QA، والتى هى المقياس المحدد لقبول أى منتج فى السوق. بالنسبة لـ QA فى مبيدات الآفات، تعتمد على تنظيم فعالية الاختبارات فى المعمل وفى الحقل، والتى تكون غالباً الطرق السائدة فى التقييم. أما اختبارات الفعالية فهى فى أبسط أمورها، تلك الاختبارات التى تقيس استجابة المنتج لأى تأثير من عائق خارجى. الطرق نفسها تستعمل لتوضيح طريقة عمل أى كائن دقيق معين للمقاومة الحيوية، ويصبح مفتاح الأدوات فى أيدى الصناعيين لتحديد نوعية المنتة فى كل دورة تخمير. فى نهاية العملية وخلال تخزين المنتج، يجب أن تؤهل كل دفعة وتأخذ شهادة حسب سلوكها فى إختبار QA وبالتالى فإن اختبار الفعالية الحقيقية مهم كأهمية الإنتاج الكمى للنجاح فى تطوير المنتج للسوق.

الاختبارات المعملية والتى عادة ما تصمم للاختيار السريع والتنقية للكائنات المضادة الجديدة، تستعمل بطريقة معينة بحيث يمكن تقييم دفعات التخمير فى نهاية كل دورة. الاختبارات المعملية مبنية على كفاءة خلايا الخميرة لتثبيط إنبات الجراثيم الفطرية على بيئة صناعية تحتوى الحد الأدنى من المغذيات. هذا التكنيك بسيط ويمكن تكراره، ولكن ينقصه العلاقة المطلوبة مع النتائج المرغوبة لمقاومة المرض كما يظهر من التجارب الرائدة. وبالتالى فإن الاختبار فى الحقل على الجروح الصناعية المحدثة فى المنتجات الزراعية قد تم إضافته إلى إجراء الـ QA. فى هذا الاختبار فإن معلق الخلايا بتخفيفات متتابعة يضاف إلى الجروح مع كمية معروفة من الجراثيم الفطرية (الممرضة)، والنتيجة التى يتحصل عليها تعتمد على عدد الأيام اللازمة لتثبيط المرض، تؤكد النتائج المتحصل عليها ما هو متحصل عليه فى الاختبارات المعملية.

يجب أن تكون اختبارات الفعالية متناولة لعدة نقاط أثناء عملية الإنتاج وهى:

١- تستمر عملية التخمير لمدة ٢٠ ساعة فقط.

٢- تجمع الخلايا المتكونة فى المدة السابقة.

٣- تحديد نهاية تخمير المنتج.

إختبارات التحكم بالنوعية للكائنات المضادة والتى تعمل عن طريق فعالية مكونات المطهرات الفطرية، تكون سهلة نسبياً لتراقب بالتحليل الكيماوى، نفسها تصبح معقدة حيث وظائف الكائن المضادة عن طريق الأماكن المشغولة و/أو المنافسة على أماكن الغذاء بالإضافة إلى الاتصال المباشر. هذا الإجراء طبق فى حالة المقاومة الحيوية لأعفان الحمضيات ومقاومة *B. cinerea* على التفاح، وهذا يختلف عن نظام QA الذى يستعمل التحليل الكيماوى هنا، الإشارات المقاسة تكون موضوعية نسبياً ومملة. وكجزء من تطور المخطط يصبح أكبر أهمية لتأسيس أسرع وأبسط تقنيات QA بسبب الروتين العام المتبع فى الصناعة، حيث أن كل دفعة من الإنتاج يجب أن تخضع لإختبارات QA قبل استعمالها فى النباتات أو أماكن التخزين.

٤- تشكيل المنتجات Product Formulation

الأساس أو القلب أو الحامل لأى مبيد ميكروبى، يكون عبارة عن عجينة بها تركيز عال من الخلايا التى تكون قد جمعت بعد عملية التخمير، لكى يمكن تحضير هذا المركب طازجاً ويصبح منتج تجارى يجب أن يكون متوافقا مع معيارين أساسيين، هما:

١- أن يكون قادراً على حمل وحفظ أكبر كمية من الكائنات المضادة للمرض فى ظروف بيئية مختلفة.

٢- أن يكون ثابتاً أثناء التخزين لفترة طويلة، وهذا ما يطلق عليه، أن يكون ذا سقف حياة مرتفع لعدة شهور.

كل عامل ميكروبى يختار لأن يعرض فى السوق، يكون ذلك فقط عندما يمر بنجاح فى جميع الخطوات المتتابعة فى الاختبارات الحيوية فى المعمل وفى الحقل. وعلى أية حال فإن دخول عامل المقاومة الحيوية إلى الموقع الحقيقى فى الحقل أو فى مصانع التعليب يجعله تحت ظروف طبيعية أكثر قساوة، وبالتالى فإن عامل المقاومة الحيوية يجب أن يزود بمركبات مختلفة يشار إليها باسم المحملات أو المضافات Additives. من بين هذه الإضافات المطهرات السطحية، مواد متميهة humectants وغيرها حيث تكون مقوية ومشجعة لنشاط عامل المقاومة الحيوية.

تضاف الحافظات إلى التشكيل قبل تخزينه، لكى تقلل من فقد كفاءة المطهر الفطرى، بعد ووصول التشكيل إلى سقف الحياة Shelf-life. أما بالنسبة للخمائر فيكون الهدف منه حفظ المنتج من أن تفقد خلاياه حيويتها نظراً لأن الخلايا من المتوقع أن تتكاثر فى مواقع الجروح عند الاستعمال، وبالتالى تتنافس مع الجراثيم النابتة للكائن الممرض. فى السنوات الأخيرة هناك عديد من منتجات المقاومة الحيوية قد شكلت، ولكنها قد صممت أساساً لمقاومة الحشرات.

مبيدات الآفات الحيوية، قبل أن توزع تجارياً يجب أن تمر خلال سلسلة من الاجراءات العامة المستعملة للكيماويات القياسية. وبناء على ذلك ليس من المفروض أن تكون هذه المنتجات نافعة فقط، بل يجب أن تخضع لتوصيات مماثلة لتلك المفروضة على المبيدات الكيماوية عند التعامل بها سواء فى الحقل أو مع العمال. ومن الصفات الأساسية لهذا المنتج أن يكون مسحوقاً قابلاً للبلل أو تشكيل يدخل فى أساسه الزيت. كذلك فإن اختيار المادة الحاملة للمسحوق أو الزيت يجب أن تأخذ بعين الاعتبار ضرورة أن تبقى ضمن إطار محدد من المتطلبات البيئية بحيث لا يتخطاها (كما فى حالة المادة الفعالة أيضاً يجب أن يكون الحامل مستوفياً لمتطلبات سلامة البيئة). من المتوقع أن الحامل يخلق بيئة مثالية للخلايا وبالتالى فإنها يمكن أن تبقى ثابتة فى المخزن وتقوم بدورها أثناء الاستعمال.

يحدث الحامل الوقاية للمادة الفعالة من خلال طرق مختلفة أهم هذه الطرق هى المحافظة على ثبات الرطوبة ودرجة الحموضة فى المناطق المجاورة للخلايا. المساحيق القابلة للبلل والتشكيلات ذات القاعدة الزيتية قد صممت لمنتجات الخميرة، ويكون الناتج سهل الإستعمال مثل المبيدات الفطرية الكيماوية ويباع فى عبوات يكتب عليها مدة صلاحيته وكفاءته. إن حيوية الخميرة ذات سقف الحياة الطويل، يمكن أن تتدخل فى إطالة مدة مقاومة الآفة.

حين استعمال المبيد الحيوى على المنتجات الزراعية، يجب على عامل المقاومة الحيوية أن يتغلب على بعض الصعوبات أو العقبات البيئية، مثل درجات الحرارة المرتفعة، انخفاض أو فقد الرطوبة وإشارات التحطم البيولوجى. وعلى أية حال فإن الظروف البيئية فى المخزن بعد الجمع تكون أكثر ملاءمة للكائن المضاد منها فى الحقل. وللحصول على أفضل إنجاز فيجب المحافظة على عامل المقاومة الحيوية باستمرار، وذلك بتزويده بالإضافات المناسبة المذكورة سابقاً. ثبت فى جميع التجارب أن هناك علاقة بين سرعة وصول خلية عامل

المقاومة الحيوية فى موقع الجرح ومعدل مقاومة المرض. وكذلك أثبتت التجارب المعملية أن هناك انخفاضاً فى نسبة التصاق تشكيل عامل المقاومة الحيوية مع سطوح الثمار الخارجية، وبالتالى فإن زيادة الالتصاق على سطح الثمار يكون باستعمال بعض اللاصقات حيث يزيد من كفاءة المقاومة الحيوية.

٥- الوقاية المستنيرة لأمراض ما بعد الجمع:

يكون المنتج المثالى لعامل المقاومة الحيوية عبارة عن تركيب، يشمل جراثيم أو الأجزاء التكاثرية للكائن المضاد محمولة فى عامل معين كما سبق وذكرنا. هذا التركيب يعمل بمفرده ويستطيع أن يثبط الأعراض المرضيه دون الاعتماد على شدة المرض. وعلى أية حال، أحياناً ولأسباب مختلفة يكون عامل المقاومة الحيوية غير قادر على الإيفاء بهذه المتطلبات بنفسه. فى الأماكن ذات شدة المرض العالية، فإن الأقتراح فى هذه الحالة يكون عبارة عن استعمال اتحاد بين عامل المقاومة الحيوية ذى التأثير الوقائى وعامل المقاومة العلاجي، حيث إن المعاملة العلاجية تعتمد على استعمال المبيدات الكيماوية فقط. هذا الإجراء المستنير قد تقدم به Eckert سنة ١٩٨٩، الذى ذكر أن مقاومة الكائنات الممرضة الجرحية يجب أن تمر فى سلسلة من الإجراءات هى:

١- تطهير سطح الثمرة والبيئة المحيطة به.

٢- استئصال أو كبح الجراثيم النابتة فى موقع الجرح ، عن طريق اتحادات من المبيدات الفطرية.

٣- خفض قابلية الجرح للإصابة باستعمال مبيد فطرى وقائى مثل عوامل المقاومة الحيوية.

إن اقتراح الوقاية المستنيرة للآفات IPM يعتمد على مزج (خلط) المبيدات الفطرية الحيوية بكميات ذات تأثير قوى من المبيدات الفطرية المختلفة مثل Thiabendazole (TBS) للحمضيات أو Mertec و Captan لمنتجات الأشجار متساقطة الأوراق. تضاف المبيدات الفطرية الكيماوية دائماً بمعدل ١/١٠ أو أقل من الجرعة الموصى باستعمالها.

عند تطبيق الوقاية المستنيرة للآفات نحصل على فائدتين: الأولى وقاية فعالية للآفة والثانية، جعل الأثر المتبقى للكيماويات فى أقل مستوى. ولقد ظهرت فائدة هذه الطريقة عند مزج منتجات الخميرة مع ١/١٠ المعدل الموصى باستعماله من TBZ فى مقاومة *P. digita-*

tum و *P. expansum* على الحمضيات، والمبيد Mertec على التفاح. تدل النتائج فى جدول (١٠ ، ١١) على أن منتج الخميرة لوحده يمكن أن يثبط أعفان البنيسيلوم بنسبة ٥٠-٧٠٪ ولكن عند استعمال TBZ تصل نسبة الخفض إلى ٩٠٪. لذلك يوصى باستعمال هذه التركيبة المختلطة من عوامل المقاومة الحيوية مع المبيدات الكيماوية لمقاومة الأمراض شديدة الوطأة، ولكن الملاحظة المهمة هى أن عامل المقاومة الحيوية يجب أن يكون منخفض الحساسية بالنسبة للمبيد الفطرى.

جدول رقم ١٠ : النسبة المئوية لإصابة ثمار الجريب فروت بالعفن ومقاومتها بالخميرة *Candida* عزلة I-182.

تركيز عامل المقاومة الحيوية	٪ إصابة بالعفن
صفر	٩٥
٦١٠	٧٨
٧١٠	٦٢
٨١٠	١٠
٩١٠	٢

جدول رقم ١١ : النسبة المئوية لإصابة الجريب فروت بالعفن عند معاملتها بتركيز ٧١٠ وحدة تكوين مستعمرات لكل مل من الخميرة *P. guilliermondii* السلالة US-182 واستعمال المبيد الفطرى TBZ.

المعاملة	٪ إصابة بالعفن
كنترول مع المبيد لوحده	٨٠
كنترول مع الخميرة لوحدها	٤٠
مبيد لوحدة ٢٠ جزء فى المليون	٤٢
مبيد ٢٠ جزء فى المليون + خميرة	٣٨
مبيد ٥٠ جزء فى المليون	٥٠
مبيد ٥٠ جزء فى المليون + خميرة	٢٥
مبيد ١٠٠ جزء فى المليون	٣٨
مبيد ١٠٠ جزء فى المليون	٢٥

ثانياً: المقاومة الحيوية لأمراض بعد الجمع في التفاح
Biocontrol of Postharvest Diseases of Apples

I: مقاومة العفن الأزرق والرمادي وعين الثور

مقـــدمة:

تسبب أمراض ما بعد الجمع خسائر كبيرة فى إنتاج التفاح. هناك أكثر من ٩٠ نوعاً من الفطريات ذكرت ووصفت بأنها تسبب تحلل ثمار التفاح أثناء التخزين. تعتمد أهمية كل كائن ممرض على المناخ وظروف التخزين. هناك مرض حديث اكتشف فى ألمانيا سنة ١٩٨٨ بواسطة العالم Kennel يسبب عفن ثمار التفاح، ويسمى مرض عفن عين الثور فى التفاح Bull's Eye Rot ويتسبب عن *Pezicula malicorticis* وهو أهم أمراض التفاح فى المخزن. يهاجم الكائن الممرض ثمار التفاح عن طريق الجروح وعن طريق العديسات فى أواخر موسم النمو أو بعد الجمع. هناك كائنان مهمان أيضاً يهاجمان التفاح بعد الجمع الكائن الأول يسبب مرض العفن الأزرق، وهو الفطر *Penicillium expansum*، والثانى يسبب مرض العفن الرمادى وهو الفطر *Botrytis cinerea* وكلا الكائنين ممرضات جرحية، وتسبب خسائر كبيرة فى التفاح المخزن فى جميع مناطق زراعة التفاح.

إن مقاومة الكائنات الممرضة لما بعد الجمع، لاتزال تستعمل بشكل أساسى المبيدات الفطرية الصناعية، ولكن تكشف كائنات ممرضة مقاومة للمبيدات الفطرية، والصيحات العالمية لتخفيض استعمال مبيدات الآفات، كل ذلك شجع زيادة الأبحاث لوضع إستراتيجية بديلة لمقاومة أمراض ما بعد الجمع. إن استعمال الخميرة أو السلالات البكتيرية لمقاومة أمراض التحلل بعد الجمع فى عديد من الفواكه المتسببة عن الفطريات الممرضة، قد درس دراسة مستفيضة، وهناك أمثلة عديدة ناجحة موجود فى المقاومة الحيوية لأمراض بعد الجمع فى التفاح. فمثلاً فى الولايات المتحدة فإن سلالة *182* للخميرة *Candida deophila* تباع تجارياً تحت اسم (Aspire Ecogen Inc., Langhorne PA). والبكتيريا المسماة *Pseu-domonas syringae strain* ESC10 , ESC-11 وتباع تجارياً تحت اسم Bio-Save 11; و Eco Science, Worcester, Bio- Save 10 MA تستعمل على نطاق تجارى كمبيدات فطرية حيوية لأمراض بعد الجمع.

لقد درست المقاومة الحيوية لأمراض تحلل الثمار فى المخزن، بالكائنات الدقيقة المضادة بشكل أساسى تحت ظروف بيئة متحكم بها. ونظراً لأن أعراض إصابة الثمار بعد الجمع بالكائنات الممرضة غالباً ما تكون نتيجة الإصابة المسبقة فى الحقل قبل الجمع، فانه من المفضل والمفيد استعمال هذه الكائنات قبل الجمع. ولكي ينجح هذا الإجراء، فإنه السلالات المفترض أن لها دوراً فى المقاومة الحيوية، يجب أن تتوفر فيها بعض الصفات، مثل تحملها لقلة توفر المغذيات، استعمال الأشعة فوق البنفسجية، الحرارة المنخفضة وتغير المناخ.

لقد وجد أن الخميرة الحمراء *Aureobasidium pullulans, Rhodotorula glutinis* والبكتيريا *Bacillus subtilis*، كائنات دقيقة شائعة الوجود (مستوطنات) سطوح الثمار والأوراق وذات درجة تحمل عالية من الجفاف والأشعة. كذلك فان استعمالها قبل الجمع له فوائد كثيرة يحقق الشروط التى وضعتها اللجنة المنظمة لإدارة المقاومة المستنيرة للافات فى أوروبا، بعدم استعمال الكائنات الدقيقة بعد الجمع فى الثمار والخضروات.

مقاومة أمراض العفن في التفاح:

عند إجراء التجارب على عوامل المقاومة الحيوية، استعملت السلالتان CF10 و CF40 من *Aureobasidium pullulans*. والسلالة CF35 من الخميرة الحمراء *Rho- glutinis dotorula* والسلالتين AG704 و HG77 من البكتيريا *B. subtilis*. تبين من التجارب أن الكائنات المضادة تختلف فى مقدرتها على كبح جماح أمراض العفن فى التفاح (الأزرق والرمادى وعين الثور) كما فى جدول رقم ١٢. حيث تبين أن السلالات المتحدة لها تأثير فى فاعلية المقاومة الحيوية بالمقارنة مع استعمال كل سلالة بمفردها. كما أن استعمال خليط من سلالات CF10 + AG704 +HG77 كان أكثر كفاءة فى مقاومة الأمراض من خليط السلالات CF35 + CF10 + CF40. كذلك وجد أن كل سلالة بمفردها والسلالات مجتمعة كانت أكثر كفاءة ضد العفن المتسبب عن *Botrytis cinerea* و *Penicillium* أكثر منها ضد العفن الناتج عن *Pezicula malicorticis*.

جدول رقم ١٢ : تأثير فعل السلالات منفردة ومخلوطة مع بعض على عفن الثمار فى التفاح.

عوامل المقاومة الحيوية المستعملة	معاملة A			معاملة B		
	ملم قطر البقعة المرضية المتسببة عن			ملم قطر البقعة المرضية المتسببة عن		
	الفطر الأول	الفطر الثانى	الفطر الثالث	الفطر الأول	الفطر الثانى	الفطر الثالث
كنترول	٢٩	٢٨	١٣	٣١	٣١	١٣
CF35 + CF10 + CF40	٠٧	١٨	٠٩	صفر	صفر	٠٢
CF10 + AG704 + HG 77	٠٣	٨	٠٨	صفر	صفر	٠١
CF10	١٥	٢٠	١٢	٣	٣	٠٤
Cf40	١٧	٢٢	١٠	٢	٤	٣,٩
CF35	١٦	٢١	١٢	٧	٥	٣,٩٥
HG77	١٣	١٧	٩,٥	٨	٦	٤,١
AG704	١٨	١٨	٨,١	٨	١٠	٠٥,٠

ملاحظات على الجدول:

الفطر الأول = *B. cinerea* ، الفطر الثانى *Penicillium expansum* الفطر الثالث = *Pezicula malicorticis*

كانت تحقن جروح الثمار بمقدار (20ul) من الكائن المضاد. بمفرده أو من المخلوط.

معاملة A التركيز الفطرى فيها $^{٦}١٠$ خلية/مل وتركيز البكتيريا $^{٧}١٠$ خلية/ملم كائنات مضادة.

معاملة B التركيز الفطرى فيها $^{٧}١٠$ خلية/مل وتركيز البكتيريا $^{٨}١٠$ خلية/ملم كائنات مضادة.

كانت تعامل الجروح بمقدار (20ul) من الكائن الممرض تركيز $^{٥}١٠$ جرثومة/مل.

كانت تقاس أقطار البقع المرضية بعد ٤ أسابيع من الحقن على درجة حرارة ٤°م.

أما عندما كانت ترش الأشجار فى الحقل، فإنه بعد الرش بمخلوط (CF35 + CF10 + CF40) M1 ، فان تجمعات الخميرة الحمراء *A. pullulants* زادت إلى حجم أكبر منه فى الكنترول. فى الفترة ما بين شهر أغسطس حتى الجمع فى أكتوبر فإن عدد CFU (وحدة تكوين مستعمرات) ازداد من $^{٢}١٠$ وحدة تكوين مستعمرات/سم^{٢} إلى ٨ x $^{٣}١٠$ وحدة/سم^{٢}

من سطح الثمرة. أما حجم تجمعات هذه الخميرة عن الرش بمخلوط (CF10 + AG704 + HG77) M2 كانت أقل منها في المخلوط الأول. أما في الكنترول (عند الرش بالماء)، فان حجم التجمعات بقى ما بين ٢١٠ CFU /سم٢ و ٦ x ٢١٠ CFU /سم٢ من الثمرة. أما التجمعات الطبيعية للفطر نفسه على ثمار التفاح المعاملة بالمبيدات الفطرية كانت أقل من تلك التجمعات الموجودة في الكنترول.

تكون تجمعات الخميرة الحمراء *R. glutinis* أكثر على الثمار المرشوشة بالمخلوط الأول M1 منها على الثمار المرشوشة بالماء، وتصل إلى تجمع ٢ x ٤١٠ CFU/سم٢، أما تجمعاتها على الثمار المعاملة بالمبيدات الفطرية تكون أقل بالمقارنة مع الكنترول. أما حجم تجمعات البكتيريا *B. subtilis*، يختلف حسب المعاملة، فالتجمعات بعد الرش بمخلوط M2 تكون أكثر من الكنترول وتصل إلى أقصى حد لها حوالى ٨ x ٣١٠ CFU/سم٢ من سطح الثمرة.

في المخزن المبرد فان حجم تجمعات *A. pullulans* على التفاح المعامل بالماء يبقى أقل من ٢ x ٢١٠ CFU /سم٢ من سطح الثمرة. أما التجمعات على التفاح المعامل بمخلوط M1، فإنها تنخفض من ٨,٨ x ٢١٠ CFU / سم٢ من سطح الثمرة في الموسم الأول (أكتوبر) إلى ٤ x ٢١٠ CFU / سم٢ من سطح الثمرة في آخر مارس من الموسم الثاني. أما على التفاح المعامل بمخلوط M2 فينخفض التركيز من ٤,٨ x ٢١٠ CFU / سم٢ إلى ٣ x ٢١٠ CFU / سم٢. كذلك في المخزن نفسه المبرد، فإن حجم تجمعات الخميرة الحمراء في الكنترول تبقى أقل من ٢,٢ x ٢١٠ CFU / سم٢. أما على التفاح المعامل بمخلوط M1 فإنها تصل ٨ x ٢١٠ CFU / سم٢ في الموسم الأول (أكتوبر) وبعد ذلك فإن حجم التجمعات ينخفض إلى ٢ x ٢١٠ CFU / سم٢ في الموسم الثاني (مارس).

نتيجة استعمال عوامل المقاومة الحيوية في الحقل، فإن هذه الكائنات المضادة تثبط الكائنات الممرضة في المخزن جدول رقم ١٣، بالمقارنة مع الكنترول (المعامل بالماء) والمعامل بالمخلوط M1 سواء في الموسم الأول أو الثاني وكذلك مخلوط M2 في الموسم الأولى والثاني خفضت بشكل معنوى نسبة الإصابة بكل ثمار تفاح. المخلوط الأول M1 خفض عدد الثمرات المصابة في الموسمين، بينما المخلوط الثاني M2 كان فعالاً في الموسم الأول فقط. لم يظهر أي فرق معنوى بين كفاءة المقاومة الحيوية وبين المقاومة بالمبيدات الفطرية الكيماوية.

جدول رقم ١٣ : ثمار التفاح المريضة ونسبة الإصابة على كل ثمرة بعد ٦ شهور من التخزين المبرد.

المعاملـــة	الموســـم الأول		الموســـم الثـــانـــى	
	٪ ثمار مصابة	نسبة الإصابة فى الثمرة الواحدة	٪ ثمار مصابة	نسبة الإصابة فى الثمرة الواحدة
كنترول	٥,٦	٠,١٤٢	٩,٩	٠,١٧٦
دي كلوفليونيد	٢,٦	٠,٠٣٤	٦,١	٠,٠٨١
مخلوط M1	٣,١	٠,٠٤١	٦,٢	٠,١٠١
مخلوط M2	٣,٥	٠,٥١	٧,٤	٠,١٠٦

ملاحظات على الجدول:

كانت الإصابة تتسبب عن *Pezicula* sp.، *Penicillium* sp.، *Monilinia fructigena*. كانت تقرر الإصابة فى كل ثمرة على أساس متوسط عدد الإصابات فى كل تفاحة، فى كل معاملة.

II : استعمال الخميرة الأرجوانية في مقاومة العفن الأزرق والرمادي في التفاح

مقـــدمة:

أصبحت المقاومة الحيوية لأمراض ما بعد الجمع فى التفاح، طريقة مبشرة بالنجاح وجذابة لأن تكون بديلة لاستعمال المبيدات الفطرية الكيماوية، خلال العقدين الأخيرين من هذا القرن. بدأت هذه الطريقة فى الظهور عند ابتداء ظهور مشاكل استعمال المبيدات الفطرية الكيماوية، مثل انخفاض كفاءتها مع الوقت (نتيجة ظهور سلالات مقاومة) ومخاطرها الصحية على الإنسان والبيئة.

الأبحاث التى أجريت على المقاومة الحيوية لأمراض ما بعد الجمع فى الثمار، كانت قد نشطت بعد النتائج التى أثبتت أن البكتيريا *Bacillus subtilis* المعزولة من التربة، تثبط بقوة

حدوث العفن البنى المتسبب عن الفطر *Monilina fructicola* على ثمار اللوزيات. حدث تقدم كبير فى هذه الأبحاث عندما تبين أن بعض البكتيريا والخمائر كانت مضادة ومتوفرة فى المكروفلورا الطبيعية فى التفاح، ولديها المقدرة فى مقاومة مرض العفن الأزرق المتسبب عن الفطر *Penicillium expansum* والعفن الرمادى المتسبب عن *Botrytis cinerea* التى تصيب التفاح والكمثرى.

نتيجة الأبحاث المستمرة على أمراض ما بعد الجمع فى التفاح، تبين أن الخميرة الأرجوانية *Sporobolomyces roseus* المعزولة من ثمار الكمثرى، وجد أنها ذات تأثير قوى فى تثبط العفن الأزرق والعفن الرمادى على ثمار التفاح والكمثرى. تبين أن هذه الخميرة تتواجد بشكل طبيعى وشائع فى المناطق المعتدلة وتعزل بكثرة من سطوح النبات ومن الجو المحيط بالنبات ومن ماء البحر.

تواجد الخميرة:

لقد تبين أن الخميرة الأرجوانية *S. roseus*، مستوطنة مع المكروفلورا على كثير من النباتات وأجزاء النبات، شاملة أزهار ثمار التفاح الناضجة، والمتقدمة فى النضج وفوق النضج وكذلك على ثمار العنب الناضجة والطرية فى كل من Raspberries ، Black berries. يزداد تواجد هذه الخميرة كثيراً كلما تقدم موسم النمو، وغالباً ما تكون مترافقة مع تقدم أنسجة النبات فى العمر، والزيادة الطارئة للمغذيات على سطوح النبات. كذلك وجد أن هذه الخميرة تكون ذات كفاءة عالية فى استعمار سطوح أوراق القمح. كذلك فإن الخميرة تزيل بكفاءة الندوة العسلية للمن من على الأوراق، وبالتالى تقلل الأساس الغذائى للكائن الممرض *Cochliobolus sativus* وتقلل المرض. ولقد تبين أن التضاد بين الخميرة *S. roseus* والكائنات الممرضة الأخرى يكون مبنياً على المنافسة الغذائية.

تكون كفاءة هذه الخميرة فى المقاومة الحيوية جيدة ضد *Septoria nodorum* على أوراق القمح وضد *Cladosporium herbarum* على بعض أنواع الصنوبريات وضد الفطر *C. cladosporioides* على أورق نبات الزينة، فم السمكة وضد الفطر *Alternaria porri* على أوراق البصل.

مقاومة العفن الأزرق والرمادي في التفاح:

لقد وجد أن الخميرة *S. roseus*، تخفض أو تقاوم كلية تكشف العفن على الجروح فى ثمار التفاح جولدن دلشص، عند حقن الثمار بقطرات محتوية الفطر الممرض *Penicillium expansum* (العفن الأزرق) أو الفطر *Botrytis cinerea* مسبب العفن الرمادى.

لم يكتشف أية بقع على ثمار التفاح التى عوملت بالخميرة *S. roseus* عن طريق الغمر بتركيز ٧,٩ x ١٠^{٦} CFU لكل مل، ثم حقنت بالفطر الممرض *P. expansum* على تركيز ١٠^{٣} أو ١٠^{٤} كونيديا/مل جدول رقم (١٤)، أو بالفطر *B. cinerea* بتركيز ١٠^{٣}، ١٠^{٤}، أو ١٠^{٥} كونيديا/ مل جدول رقم (١٤). كانت هناك مقاومة تامة للفطرة *B. cinerea* تم الحصول عليها على الثمار المعاملة بالكائن المضادة بتركيز ٦,٣ x ١٠^{٥} CFU /مل.

يكون أكثر خفض فى النسبة المئوية للجروح المصابة عند استعمال أعلى تركيزات من الكائنات المضادة ضد الفطرين الممرضين. عند استعمال مستحضرات الخميرة رشاً فان الخميرة خفضت النسبة المئوية للجروح المصابة على الثمرة بعد استبعادها من المخزن بمدة ٣ وستة شهور جدول رقم ١٥ . لم يكن هناك فرق فى النتائج عند استعمال الكائنات المضادة والمعاملة بالمبيدات الفطرية الكيماوية على الثمار المستبعدة من المخزن بعد ٣ شهور، وعلى أية حال فإن الثمار المعاملة بالمبيدات الفطرية حدث لها أعلى نسبة تعفن فى المخزن بعد ستة شهور.

لقد زادت تجمعات الخميرة *S. roseus* فى جروح ثمار التفاح المعاملة بالتنقيط من ٢,٣ x ١٠^{٤} إلى ١,٩ x ١٠^{٦} CFU / جرح خلال الـ ٤٨ ساعة الأولى بعد معاملة الثمار فى المخزن وتخزينها على ١٨ْم. ثم انخفضت التجمعات ولكنها بقيت على أعلى ارتفاع بعد ١٩ يوماً. أما على الثمار المخزنه على ١ْم، فان تجمعات الخميرة تزداد وتتضاعف بعد ١٣ يوماً فى المخزن وتقف على هذا المستوى لمدة ٢٢ يوماً. أما تجمعات الخميرة فى جروح الثمار التى تعامل رشاً ازدادت من ١,٣ x ١٠^{٤} CFU / جرح إلى ٢,٣ x ١٠^{٦} CFU / جرح بعد ٣ شهور فى المخزن على حرارة ١ْم.

جدول رقم ١٤ : تأثير استعمال الخميرة الأرجوانية فى مقاومة العفن الأزرق والعفن الرمادى فى ثمار التفاح عند حقنها فى الثمار بتركيزات مختلفة وحقن الفطريات الممرضة بتركيزات مختلفة كونيديا/ مل.

تركيز الخميرة مضروباً فى CFU ٥١٠ / مل	٪ جروح مصابة عند المعاملة بالفطر *P. expansum* بتركيز			٪ جروح مصابة عند المعاملة بالفطر *B. cinerea* بتركيز		
	٣١٠	٤١٠	٥١٠	٣١٠	٤١٠	٥١٠
صفر	٣٨	٥٩	١٠٠	٢٨	٧٨	٦٥
٠,٨	٢٠	٣٥	٩٠	صفر	٢٨	٣٩
١,٧	١٠	٠٤	٦١	صفر	٠٢	١٢
٢,٨	صفر	٠٨	١٧	صفر	١٢	٠٤
٦,٣	صفر	٠٥	٢٥	صفر	صفر	صفر
٧,٩	صفر	صفر	٠٦	صفر	صفر	صفر

إن الميكانيكية التى تعتمد عليها الخميرة الأرجوانية *S. roseus* فى مقاومة فطريات العفن الأزرق والرمادى، تعتمد على قوة التنافس على الغذاء وعلى أمور، منها: (١) مقدرة الخميرة على النمو فى رطوبة نسبية عالية دون الحاجة إلى ماء حر (٢) مقاومة الخميرة للتأثر بقوة ضخ المعلق أو فتحة الخرطوم أثناء الرش (٣) توافق الخميرة مع المبيدات الفطرية diphenylamine والمواد المضادة للأكسدة المستعملة لمقاومة الضربة السطحية (اضطرابات فسيولوجية).

ونظراً لأن الخميرة لاتنمو على حرارة ٣٦°م والتى هى أقل من حرارة جسم الإنسان، ونظراً لأنها دائمة الوجود فى الطبيعة ومكون رئيسى فى المجال الورقى وميكوفلورا الثمرة، وبالتالى .. فإنها لاتسبب أية أضرار للإنسان ويمكن استعمالها فى المقاومة بأمان.

جدول رقم ١٥ : تأثير الخميرة الأرجوانية العزلة FS-43-238 والمبيد الفطرى Thiabendazole على النسبة المئوية للجروح المصابة على لقاح جولدن دلشص.

المعاملـــة	٪ جروح مصابة بعد		ملاحظـــات
	٣ شهور	٦ شهور	
Diphenylamine	١٥	١٥	كانت الثمار تجرح ثم تحقن عن طريق الرش بمعلق يحتوى
الخميرة الأرجوانية	٠,٥	صفر	أما مخلوط من *P. expansum* ، *B. cinerea* أو كل منها ١
المبيد TBZ	١,٥	٨,٥	x ١٠^٤ كونيديا/مل. والمبيد diphenylamine ٠,٢٪
LSD 0.05	٥,٩	٧,٤	(كنترول) أو الاتحاد بين الخميرة و TBZ بنسبة ٠,٠٣٪
			وتخزن على ١°م وأخذت الثمار وفحصت بعد ٣ ، ٦ شهور.

III : استعمال الخميرة الأرجوانية مع البكتيريا الوميضة في مقاومة العفن الأزرق في التفاح

لقد وجد أن استعمال الكائنين المضادين، البكتيريا الوميضة *Pseudomonas syingae* والخميرة الأرجوانية *S. roseus* ضد العفن الأزرق المتسبب عن الطفر *P. expansum* على التفاح يكون أكثر كفاءة عند خلط هذين المضادين بنسب متساوية ٥٠ : ٥٠ عن استعمال كل منهما بمفرده. إن تركيز الكائنين المضادين يؤثر فى شدة حدوث العفن الأزرق. كلما زاد تركيز المضادين، انخفضت شدة وحدوث المرض. كذلك فإن نسبة كل منهما إلى الآخر وتركيز كل منهما، يؤثر على تكشف البقع وعلى النسبة المئوية للجروح المصابة.

عند استعمال الحمض الأمينى L-asparagine، فإنه يزيد من كفاءة المقاومة الحيوية فى كل من *P. syringae* وبالتالى يزيد فى خفض شدة العفن على الثمار المصابة ولكنه لايزيد من كفاءة *S. roseus* وليس له تأثير معنوى عند اتحاد الكائنين مع بعضهما. ولقد وجد أن هذا التشجيع لنشاط *P. syringae* يكون بسبب زيادة مقدرة البكتيريا على التنافس ضد الكائن الممرض الفطرى، على مصدر النيتروجين، وهذا يؤدى إلى تشجيع النمو البكتيرى فى موقع الجرح جدول رقم ١٦.

تزداد تجمعات *P. syringae* و *S. roseus* عندما يستعمل كل منهما لوحده بمقدار عشرة أضعاف بعد ٧٢ ساعة من الاستعمال، ثم تبدأ بعد ذلك فى الانخفاض. كذلك فإن تجمعات *P. syringae* فى المخلوط (٥٠ : ٥٠)، تزداد أيضاً أكثر من عشرة أضعاف بعد ٩٦ سعاة، وتكون هذه الزيادة مشابهة لتجمعاتها عند استعمالها بمفردها. أما الخميرة *S. roseus* ، فان تجمعاتها عندما تكون فى المخلوط، تزداد خمسة أضعاف، إلا أنها تكون أقل عند استعمالها لوحدها.

ولقد تبين من الدراسة أن المواد الكربوهيدراتية ليست هى العامل المحدد لاستعمار الجروح بواسطة الكائن المضادة *P. syringae*، ولكن إضافة المركبات النيتروجينية، تزيد تجمعات الكائن المضاد غالباً بأكثر من الضعف، وهذا يبين أن للنتروجين دوراً إيجابياً فى المقاومة الحيوية بواسطة الكائن المضاد المذكور؛ لأنه يشجع تكاثر وزيادة أعداد هذا الكائن، وبالتالى فإن زيادة الكائنات المضادة يزيد من كفاءة المقاومة الحيوية.

جدول رقم ١٦ : تأثير استعمال L- asparagine ومعدل خلط الكائنين المضادين *P. syringae* سلالة L-59-66 والخميرة الأرجوانية سلالة FS-43-238 فى مخلوط، على شدة وحدوث العفن الأزرق على تفاح جولدن دلشص.

نسبة خلط السلالتين	قطر البقعة المرضية		٪ إصابة جروح	
	مع أسبرجين	بدون أسبرجين	مع أسبرجين	بدون أسبرجين
١٠٠ / صفر	٧,٥	١٢,٥	٣٠	٧٠
٥٠ / ٥٠	٠,٢	٠,٤	٥	١٢
صفر / ١٠٠	١٢,٠	٤,١	٦٠	٢٨
كنترول	٢٣,٠	٢٥,٠	٨٥	٩٥

ملاحظات على الجدول:

كانت الثمار تجرح وتحقن بالكائن المضاد لوحدة أو بنسبة ٥٠: ٥٠ وكانت توضع ٢,٥ X 10^{4} كونيديا/ملم من الفطر الممرض *P. expansum* / ملم وتحقن بعد سبعة أيام على حرارة ٢٢°م. كانت السلالتان تستعمل بتركيز ٦,٣ X ١٠° جرثومة / مل.

IV : استعمال الخميرة Candida oleophila في مقاومة العفن الأزرق والرمادي في التفاح

مقدمة:

تستعمل الخميرة *Candida oleophila* خاصة السلالتين 182 و ATCC 20372 المعزولة من سطوح ثمار الطماطم فى المقاومة الحيوية لأمراض العفن الأزرق والرمادى فى التفاح. ولقد وجد أن كفاءة هذه الخميرة تزداد عند استعمال أيونات الكالسيوم والمغنيسيوم. وعلى أية حال فإن طريقة عمل الكالسيوم فى تثبيط تكشف المرض ليست واضحة تماماً، إلا أنه قد اقترح فى تفسير ذلك، بأن المعاملة بالكالسيوم تزيد من صلابة جدر الخلايا عن طريق دخول الكالسيوم فى البكتات، حيث إن بكتات الكالسيوم مقاومة للإنزيم المفكك لخلايا النبات.

أثبتت الأبحاث الأولية أن إضافة ٢ ٪ كلوريد كالسيوم إلى تشكيلات الخميرة المذكورة، تشجع مقدرة هذه الخميرة لحفظ التفاح ضد أمراض التعفن بعد الجمع.

تأثير كلوريد الكالسيوم وكلوريد المغنيسيوم على إنبات ونمو الجراثيم:

إن تأثير ٢٥-١٧٥ ملى مول من كلوريد الكالسيوم أو كلوريد المغنيسيوم مع أو دون إضافة ٠,١ - ٠,٥ ملى مول غلوكوز على إنبات جراثيم كل من *B. cinerea* و *P. expansum* هو كالآتى:

١- إن زيادة تركيز كلوريد الكالسيوم تؤثر بشكل معنوى على إنبات الجراثيم فى كل من الكائنين الممرضين فى جميع تركيزات الجلوكوز المستعملة.

٢- تنخفض كفاءة التثبيط لكلوريد الكالسيوم فى وجود مستويات عالية من الجلوكوز.

هذا كان واضحاً بشكل خاص فى إنبات جراثيم الفطر *B. cinerea* فى وجود ٥ ملى مول غلوكوز.

أما إنبات جراثيم *P. expansum* فلم تتأثر كثيراً بإضافة كلوريد الكالسيوم، كما يتأثر *B. cinerea*. تنخفض النسبة المئوية لإنبات الجراثيم من حوالى ٥٠ ٪ فى الكنترول (فى وجود

٢٥ ملى مول كلوريد كالسيوم) إلى ١٠-٣٠٪ عند وجود تركيز كالسيوم، أكثر من ٥٠ ملى مول. مع أنه يبدو أن الجلوكوز ينبه إنبات الجراثيم فى غياب كلوريد الكالسيوم، إلا إنه يلاحظ تغير بسيط فقط فى مقدرة التركيزات العالية من الجلوكوز فى تقليل التأثير المثبط لكلوريد الكالسيوم. وعلى العكس، فليس هناك تأثير ثابت على إنبات الجراثيم الفطرية الممرضة عند إضافة ٢٥-١٧٥ ملى مول كلوريد مغنيسيوم.

أما عن استطالة أنبوبة الإنبات للفطريات الممرضة، فهى تتثبط أيضاً بزيادة تركيز كلوريد الكالسيوم (٢٠-١٧٥) ملى مول كما فى حالة إنبات الجراثيم، فإن التأثير المثبط لكلوريد الكالسيوم يكون أكثر وضوحاً مع الفطر *B. cinerea* منه مع الفطر *P. expansum*. زيادة مستويات الجلوكوز أيضاً تخفض التأثير المثبط لكلوريد الكالسيوم. وعلى أية حال، فإن تركيز الجلوكوز المطلوب لخفض التأثير التثبيطى لكلوريد الكالسيوم، يكون أكثر بالنسبة لاستطالة أنبوبة الإنبات (٥ - ٦٠ ملى مول غلوكوز) أكثر منه بالنسبة لإنبات الجراثيم (٠,٥-٥ ملى مول غلوكوز). لايوجد تأثير تثبيطى على استطالة أنبوبة الإنبات عند استعمال كلوريد المغنيسيوم.

نمو الخميرة في جروح ثمار التفاح:

تجمعات العزلات ١٨٢، ٢٤٧ من الخميرة *C. oleophila* حددت فى جروح التفاح فى وجود ١٨٠ ملى مول كلوريد كالسيوم أو ٢٠١ ملى مول كلوريد مغنسيوم. تعد خلايا الخميرة للعزلة ١٨٢ على أساس عدد الوحدات المشكلة للمستعمرات لكل جرح، وهذه لم تتأثر بإضافة أى من كلوريد الكالسيوم أو كلوريد المغنيسيوم، إلا أن الزيادة فى التجمعات فى الجروح كانت حوالى الضعف بعد تحضين الثمار لمدة ٢٤ و ٤٨ ساعة بغض النظر عن الملح المضاف. يزداد عدد الخلايا بسرعة من ٥×١٠^{٥} إلى حوالى ١٠×١٠^{٨} خلال ٢٤ ساعة، بالمقابل فإن تجمعات العزلة ٢٤٧ لاتزيد إلى المستوى نفسه، كما فى العزلة ١٨٢ . إن تجمعات العزلة ٢٤٧ لاتزيد عن ٧×١٠^{٦} CFU / جرح مع أنه ليس هناك تأثير مميز على النمو بعد إضافة كلوريد الكالسيوم أو المغنيسيوم.

كفاءة المقاومة الحيوية بوجود كلوريد الكالسيوم:

عند دراسة تأثير إضافة ٩٠ و ١٨٠ ملى مول كلوريد الكالسيوم إلى جروح التفاح مع أو دون عزلات الخميرة *C. oleophila* رقم ١٨٢ و ٢٤٧ على تكشف الإصابة بالفطرين *B. cinerea* و *P. expansum*. وجد أن معاملة التفاح بكلوريد الكالسيوم لوحده، تؤدى إلى خفض قليل فى قطر البقعة على ثمرة التفاح عند قياسها بعد عشرة أيام من التحضين على حرارة ٢٠-٢٢°م. وعلى أية حال فإن إضافة كلوريد الكالسيوم، متحداً مع المعلق الخلوى للعزلة ١٨٢، يشجع بشكل واضح كفاءة هذه العزلة ضد تكشف العفن والتحلل بأى من الكائنين المذكورين سابقاً. عندما تستعمل خلايا بتركيز ٧١٠ أو ٨١٠ خلية/مل من العزلة ١٨٢ وتضاف إلى الجروح المحقونة مباشرة مع أو دون كلوريد الكالسيوم، يكون تكشف البقع محدوداً بقطر يتراوح من ٢-٥ ملم فى التفاح المحقون بأى من الكائنين الممرضين. وبالمقابل فإن قطر البقع فى الكنترول فى ثمار التفاح المحقونة بأى من الفطرين السابقين *B. cinerea* أو *P. expansum* يكون ٤٨ و ٣٣ملم بالترتيب. إن استعمال العزلة ١٨٢ لوحدها بتركيز $^{٦}١٠$ خلية/مل، يؤدى إلى خفض بسيط جداً فى القطر. وعلى أية حال فإن قطر البقعة ينخفض من ٤٥-٥ملم عند استعمال العزلة نفسها وبنفس التركيز ولكن مضافاً إليها ٩٠ أو ١٨٠ ملى مول كلوريد كالسيوم، يضاف إلى الجروح قبل الحقن بأى من الكائنين الممرضين.

أما العزلة ٢٤٧ من الخميرة السابقة لاتكون فعالة كما فى العزلة ١٨٢ فى منع إصابة جروح التفاح بالفطرين الممرضين، عدا عن ذلك، فإن تفاعل هذه العزلة مع كلوريد الكالسيوم لايكون مماثلاً لما هو فى العزلة ١٨٢. إن إضافة كلوريد الكالسيوم إلى المعلق الخلوى للعزلة ٢٤٧ يفشل فى تثبيط تكشف البقع بأى من الكائنين الممرضين بالمقارنة مع جروح الكنترول المعاملة بخلايا الخميرة فقط. أن تأثير كلوريد الكالسيوم على كفاءة المقاومة الحيوية للعزلة ٢٤٧ يكون فقط ضد الفطر *B. cinerea* عندما يضاف بمقدار ٩٠ أو ١٨٠ ملى مول كلوريد كالسيوم إلى المعلق الخلوى بتركيز $^{٦}١٠$ خلية/مل. ينخفض قطر البقعة من ٤٤ ملم فى جروح الكنترول إلى ٣٠ و ١٥ ملم فى وجود ٩٠ و ١٨٠ ملى مول كلوريد كالسيوم على الترتيب.

تأثير كلوريد الكالسيوم على نشاط البكتولايتك في المعمل:

يقاس تأثير كلوريد الكالسيوم على نشاط البكتولايتك، على أساس كمية السكريات المختزلة المنطلقة من المواد البكتينية بواسطة تحضيرات الإنزيم الخام المتحصل عليه من الكائنين الممرضين المذكورين سابقاً. إن مقدرة الإنزيم الخام للفطر *B. cinerea* لإجراء هيدرولايزز فى مادة البكتين، لايتأثر عن طريق إضافة تركيزات عالية من كلوريد الكالسيوم إلى الدرجة نفسها، كما فى الإنزيم الخام المحضر والمتحصل عليه من الفطر *P. expansum*. مع أن جميع تركيزات كلوريد الكالسيوم من ٢٥-١٧٥ ملى مول تثبط انطلاق السكريات المختزلة من مواد البكتين، إلا أن أكبر تأثير يكون لتحضيرات الإنزيم المأخوذة من الفطر السابق. يمكن الحصول على تأثير متوسط لإنزيم البكتينيز المتحصل عليه من الفطر المذكور، عند إضافة كلوريد الكالسيوم إلى مزيج التفاعل على تركيزات ٢٥، ٥٠ أو ٧٥ ملى مول. يحدث تثبيط قوى لنشاط إنزيم البكتينيز، عندما يزداد تركيز كلوريد الكالسيوم من ١٢٥ إلى ١٥٠ أو ١٨٠ ملى مول.

obeikandl.com

ثالثاً: المقاومة الحيوية لأمرض ما بعد الجمع في الكمثرى

مرض عفن الجانب Side Rot

مقـــدمة:

يتسبب مرض عفن الجانب أو مرض التحلل فى الكمثرى عن الفطر *Phialophora malorum* ، وهو يصيب الكمثرى نوع *Pyrus communis*، وهو من أهم الأمراض التى تسبب خسارة اقتصادية كبيرة فى مجال الصناعات الغذائية التى يدخل فيها ثمار الكمثرى. مع أن المبيدات الفطرية المستعملة بعد الجمع، يمكن أن تسبب خفضاً فى مرض التحلل، إلا أن المبيدات المسجلة حالياً فى الولايات المتحدة بالنسبة للكمثرى، ليست فعالة ضد الفطر المسبب لهذا المرض. بالإضافة لذلك فإن المقاومة للمبيدات الفطرية لما بعد الجمع، قد ظهرت فى كثير من الكائنات الممرضة، وفى بعض الأسواق فإن بيع الثمار التى يثبت أن بها بقايا مبيدات فطرية لما بعد الجمع يكون ممنوعاً بالقانون. وبناء على ذلك فإن هناك حاجة ملحة إلى طرق أخرى لمقاومة مرض التحلل، والتى تكون إما مكملة أو تحل محل المبيدات الفطرية.

إن المعاملات التى تغير الصفة التركيبية فى الثمرة، يمكن أن تؤثر على قابلية ثمار الكمثرى لمرض التحلل بعد الجمع. فمثلاً الرش بمادة كلوريد الكالسيوم خلال موسم النمو، يزيد نسبة الكالسيوم فى الثمرة ويقلل من شدة مرض عفن الجانب فى الثمرة. كذلك فإن خفض نسبة النيتروجين فى الثمرة يكون مترافقاً مع خفض شدة العفن الأزرق فى الكمثرى. وبالتالى فإن الإهتمام بأشجار الكمثرى، بخفض نسبة النيتروجين فى الثمار مترافقاً مع الرش الصيفى بكلوريد الكالسيوم يؤدى إلى الخفض فى شدة المرض. إن محتوى الثمرة من النيتروجين (الكمثرى) يتأثر بتوقيت استعمال الأسمدة وإضافتها للتربة. الأسمدة التى تضاف، قبل جمع الثمار بمدة شهر، تؤدى إلى خفض نسبة النيتروجين فى الثمرة، فى حين أن الإضافات قبل أو بعد فترة التزهير تؤدى إلى ارتفاع نسبى فى كمية النيتروجين الداخلة فى الثمرة.

إن درجة نضج الثمار تؤثر فى قابليتها للتحلل بعد الجمع. يكون الكاشف الأول لنضج ثمار الكمثرى عبارة عن قياس درجة التصلب والتى تقاس بالـ Penetrometer والذى يطلق على الوحدة منه نيوتين Newton (وهو يساوى ٠,٢٢٤٨ ليبرة) وإن معدل هذا التصلب الملائم لجمع الثمار تجارياً يكون فى مجال محدد فى جميع مناطق زراعة الكمثرى فى البلاد المتقدمة زراعياً. تكون بداية نضج الثمار على حوالى ٧١ نيوتين وتستمر إلى ٥٣ نيوتين؛ حيث يجب عدم قطف الكمثرى إذا تجاوزت الثمار هذين الرقمين صعوداً عن ٧١ أو هبوطاً عن ٥٣. إن الشدة المرضية لكثير من أمراض بعد الجمع فى الكمثرى تزداد كلما تقدمت الثمرة فى النضج وكلما تأخر قطف الثمار. كذلك فإن جو المخزن ذا التركيز المنخفض من الأكسجين والمرتفع من ثانى أكسيد الكربون، يؤخر ظهور طور الشيخوخة أثناء التخزين، كذلك يمكن أن يقلل من شدة أمراض التحلل الفطرية فى المخزن، على أية حال فإن مستويات ثانى أكسيد الكربون التى تقلل فعلياً من النشاط الفطرى، ويمكن أن تسبب اضطرابات فسيولوجية فى الثمرة.

المقاومة الحيوية لأمراض التحلل الفطرى فى ثمار الكمثرى بعد الجمع، قد ثبت نجاحها باستعمال البكتيريا وأنواع من الخميرة. فمثلاً الخميرة *Cryptococcus laurentii*، قادرة على استعمار الجروح فى ثمار الكمثرى تحت ظروف درجات حرارة منخفضة (صفر مئوى) وجو منخفضه فيه نسبة الأكسجين ومرتفعة فيه نسبة ثانى أكسيد الكربون.

مقاومة أمراض التحلل بعد الجمع:

فى الدراسات المستفيضة على هذا الموضوع، تبين أن هناك عدة عوامل تؤدى إلى خفض شدة الإصابة بالعفن الأزرق وكذلك العفن الجانبى فى ثمار الكمثرى، هذه العوامل هى:

١- الجمع المبكر للثمار.

٢- النسبة المنخفضة من النيتروجين والمرتفعة من الكالسيوم فى الثمار.

٣- جو المخزن المتحكم به بحيث يحوى ٢ ٪ أكسجين و ٠,٦ ٪ ثانى أكسيد الكربون على درجة حرارة صفرْم.

٤- استعمال الخميرة *Cryptococcus flavus* و *C. lauventii* بتركيز ١ x ٨١٠ خلية/مل.

لقد تبين أن استعمال الخمائر المذكورة سابقا، كلها مجتمعة مع بعض أو منفردة تخفض نسبة الإصابة بالعفن الأزرق ٩٥ ٪ وبنسبة ١٠٠ ٪ من العفن الجانبى، هذه النتيجة يتحصل عليها عند توافر الاتحادات الآتية: الجمع المبكر، انخفاض نسبة النيتروجين وارتفاع نسبة الكالسيوم فى الثمار واستعمال الخميرة بتركيز ١ x ٨١٠ خلية/مل مضافاً إليها ٠,١ الجرعة الموصى بها من المبيد الفطرى Thiabendazole. أما دون استعمال الخميرة المضادة فإن الإجراءات الأخرى تثبط نسبة العفن الأزرق بنسبة ٣٣-٦٤ ٪ والعفن الجانبى بنسبة ٦٧ ٪ الجدولان ١٧ ، ١٨ يبينان نتائج بعض المعاملات المذكورة سابقاً.

جدول رقم ١٧ : شدة التحلل بالفعن الأزرق المتسبب عن *P. expansum* فى ثمار الكمثرى نوع Bosc فى معاملات مختلفة.

نوع المخزن	وقت القطف	قطر البقعة المرضية على ثمار التفاح ملم											
		بدون خميرة				مع خميرة بدون مبيد				مع خميرة + مبيد			
		نيتروجين عال		نيتروجين منخفض		نيتروجين عال		نيتروجين منخفض		نيتروجين عال		نيتروجين منخفض	
		Ca^-	Ca^+	Ca^-	Ca^+	Ca^-	Ca^+	Ca^-	Ca^+	Ca^-	Ca^+	Ca^-	Ca^+
مخزن عادى أ	متأخر	٤٢	٣٥	٣٧	٣٠	١٨	٧	١٩	٦	–	–	–	–
مخزن عادى أ	مبكر	٣٠	٢٢	٢٨	١٨	١٢	٥	١٠	٢	–	–	–	–
مخزن عادى ب	متأخر	٣٠	٢٩	٢٨	٢٤	١٨	٧	١٢	٧	٤	٢	٢	١
مخزن عادب ب	مبكر	٢٢	٢٠	٢٠	١٢	١٨	٧	١٢	٧	٥	٢	٢	١
مخزن متحكم به	متأخر	٢٩	٢٧	٢٨	٥٦	١٣	٥	١٢	٤	–	–	–	–
مخزن متحكم به	مبكر	٢٠	١٨	١٩	١٠	١٠	٣	٩	٢	–	–	–	–

ملاحظات على الجدول:

المخزن العادى = يكون ذو هواء عادى. المخزن المتحكم به = جو به ٢ ٪ أكسجين + ٠,٦ ثانى أكسيد الكربون.
الخميرة خلطت مع المبيد Thiabendazole بنسبة ٥٦,٩ غم/لتر
الثمار المقطوفة تعامل بعد الجمع بالماء أو بالخمير *Cryptococcus laurentii* والثمار المحفونة تخزن لمدة ٢-٣ شهور على درجة صفر مئوية Ca^- = بدون إضافة كالسيوم Ca^+ = إضافة كالسيوم.

جدول رقم ١٨ : متانة ثمرة الكمثرى وقت الجمع من أشجار معاملة بنسب مختلفة من النيتروجين والكالسيوم، بعضها مقطوف مبكراً والآخر متأخراً. المتانة تقاس بالبنيوتين.

وقت الجمع	الموسم الثاني				الموسم الأول			
	نيتروجين منخفض		نيتروجين مرتفع		نيتروجين منخفض		نيتروجين مرتفع	
	دون كالسيوم	مع كالسيوم	دون كالسيوم	مع كالسيوم	دون كالسيوم	مع كالسيوم	دون كالسيوم	مع كالسيوم
مبكر	٦٩,٢	٧١,٨	٦٩,٢	٧٤,٥	٦٨,٧	٧٠,١	٦٦,٩	٦٩,٢
متأخر	٦٢,٤	٦٥,٦	٥٦,٢	٥٩,٤	٥٤,٠	٥٨,٥	٥٣,١	٥٥,٨

رابعاً: المقاومة الحيوية لأمراض ما بعد الجمع في البرتقال

مقـــدمة:

إن كلاً من مرض العفن الأخضر والعفن الأزرق المتسببان عن *Penicillium digitatum* ، *P. italicum* والعفن الحامض المتسبب عن *Geotrichum candidum*، تعتبر من أكثر الأمراض التى تسبب خسائر كبيرة بعد الجمع فى ثمار الحمضيات فى معظم أنحاء العالم. تقاوم هذه الأمراض تجارياً، غالباً، باستعمال المبيدات الفطرية التى توضع مع الغلاف الذى تغلف به الثمرة أو فى الشمع الذى تغطى به الثمرة. ويتبع ذلك بعض الإجراءات الاخرى، مثل استعمال المخزن المبرد. وعلى أية حال، فإن فعالية المبيدات الفطرية، غالباً، ما تقل بالتدريج عن طريق تكشف سلالات مقاومة من الكائن الممرض. زيادة على ذلك فإن مؤسسة الصحة العالمية أصبحت تهتم كثيراً بالمبيدات المتبقية على الثمار، وتصدر نشرات كثيرة تحذر منها، أو تحدد أقصى كمية يجب أن تبقى على الثمرة حتى يسمح بتداولها فى السوق. هناك دول تمنع إدخال المنتجات الزراعية، إذا ثبت فيها أثر متبقٍ للمبيدات الفطرية. كل هذا أدى إلى الاهتمام والتأكيد على الحاجة الملحة لإيجاد بديل لهذه المبيدات الكيماوية وهى المقاومة الحيوية.

لقد ذكر Waks *et al* سنة ١٩٨٥ أن تشميع الثمار (دون أية إضافات) يقلل من أمراض العفن. أما فى السنوات الأخيرة، حدث تقدم كبير فى أبحاث المقاومة الحيوية واستعمالها بدلاً من المبيدات الكيماوية. كان أول ذكر للكائنات المضادة التى يمكن أن تؤثر على الكائنات الممرضة لثمار الحمضيات بواسطة Deverall سنة ١٩٨٤، ثم بعد ذلك توالت الاكتشافات، ففى سنة ١٩٩٢ ذكر Smilanick أن الخميرة *Candida guillermondii* ذات الاسم المرادف *Pichia guilliermondii* سلالة US7 والتى عرفت سابقاً على أنها *Debaryomyces hansenii*، لها صفات تجعلها مرشحة لأن تكون من أهم عوامل المقاومة الحيوية لأمراض ما بعد الجمع فى الحمضيات. هذه الخميرة تعزل أصلاً من سطح ثمرة الليمون *Citrus limon* وتظهر كفاءة عالية فى المعمل كمضادة لعديد من الممرضات الجرحية وهى لاتنتج مضادات حيوية فى المزرعة، وهى تتواجد أيضاً على سطوح جروح الثمرة، وهى مقاومة نسبياً للمبيدات الفطرية، التى تستعمل بعد الجمع وشائعة الوجود على المنتجات الغذائية. تنافس الخميرة على المغذيات فى مواقع الجروح، يؤدى إلى تثبيط إنبات الجراثيم أو

استطالة أنبوبة الإنبات للكائن الممرض، وهى الطريقة الأساسية التى تبنى عليها فعلها فى التضاد ضد الكائنات الممرضة. هناك أيضاً جنس آخر من الخمائر وهو *Debaryomyces* sp. سلالة ٢٣٠ تعزل من سطوح ثمار التفاح *Malus domestica* ولها دور فعال فى التضاد الفطرى.

لكى يكون عامل المقاومة الحيوية متداولاً تجارياً، يجب أن يكون استعماله متوافقاً مع شروط عملية التعليب التى تطبق على ثمار الحمضيات. عادة فإن ثمار الحمضيات تمر خلال خطوات أهمها عملية التشميع Waxing حيث غالباً ما تضاف فيها المبيدات الفطرية، كذلك فإن هذه الخطوة يمكن أن تكون المرحلة النموذجية لاستعمال الكائنات المضادة (المقاومة الحيوية). إن عملية التغليف المفيدة والمبينة على مشتقات السليلوز قد تطورت حديثاً بواسطة قسم الزراعة المريكى USDA سنة ١٩٩٤. حيث أنه فى الدراسات الأولية لهذه العملية، وجد أن السلالة U57 من *P. guilliermondii* المختلطة مع Soidum carboxymethyl cellulose واستعمالها على ثمار البرتقال أدت إلى عدم ظهور أية أمراض تحلل. كما أن McGuire سنة ١٩٩٤ اختبرت مدى توافق السلالة US7 فى ستة أنواع من الأغلفة الداخل فى تركيبها Methyl cellulose والمضافة إلى الجريب فروت *Citrus paradisi* المعامل حرارياً. فوجد أن FMC705 فقط هو المتوافق مع هذه الخميرة، حيث إن هذا الغلاف لايحوى راتنج ولا مواد ضارة ذائبة. إن عملية التشميع أو تغليف الثمار التى تستعمل كحامل لعوامل المقاومة الحيوية، يمكن أن تساعد فى التصاق أو ربط عامل المقاومة الحيوية مع الثمرة، كذلك فإن عملية التغليف هذه تساعد فى نمو الكائن المضاد (عامل المقاومة الحيوية).

مقاومة أعفان ثمار البرتقال بعد الجمع

بعد تخزين ثمار البرتقال لمدة أسبوع على درجة حرار ١٦°م ورطوبة نسبية ٩٠٪ فإن *Pichia guilliermondii* سلالة US7 الموضوعة على غلاف Methyl cellulose (MC)، تكون فعالة فى تخفيض العفن فى البرتقال Pineapple كما هو واضح فى جدول (رقم ١٩). أما بعد أسبوعين فإن الثمار المغلفة بمادة Imazalil والمخلوط معها السلالة US7، تكون أكثر فاعلية من المعاملة الأولى، أما بعد ثلاثة أسابيع، فإن الخميرة المختلطة مع الـ Imazalil تكون أكثر فعالية من أى غلاف آخر. كذلك فإن ثمار البرتقال المعاملة بالسلالة نفسها من الخميرة، يكون تكشف العفن فيها، بشكل عام، أقل من الثمار المغلفة بمادة Methyl cellu-

lose لوحدها، وأن هذا النوع من الأغلفة ليس له دور فى منع التحلل. مع أن الغلاف *SH* والذى تركيبه Shellac - based coating (FMC 360 HS) وهو (FMC corp) والمعتمد على أساس راتنجيات قلوية ذائبة، يقلل من حدوث التحلل إلى حد ما. إن السلالة المضادة US7 الموجودة فى غلاف Methyl cellulose، تكون أكثر فعالية فى خفض التحلل خلال الأسبوعين الأوليين من المعاملة، وكذلك فإن السلالة ٢٣٠ من الخميرة نفسها عند وضعها فى الغلاف نفسه يكون تأثيرها أكثر فى الأسبوع الثانى من المعاملة.

يحدث خفض فى كفاءة الكائنات المضادة خلال التخزين، وهذا يمكن أن يعزى إلى التغيرات فى الاستجابة المرضية للتحلل. فى الأسبوع الأول فإن الفطر *Penicillium* sp. يكون مسئولاً عن جميع التعفنات. بعد أربعة أسابيع من التخزين، فإن ٦١٪ من التعفن الحاصل يمكن أن يعزى إلى عفن طرف الساق المتسبب عن *Phomopsis citri* وعلى العكس من الفطر *Penicillium*، فإن هذا الفطر لايتكشف فى الجروح ولكنه يؤثر على قاعدة الثمرة (بقايا الكأس/الساق) قبل الجمع، ويتكشف كلما تقدمت قاعدة الثمرة فى السن بعد الجمع. كما أن بقايا SOPP (Sodium ortho phenyl phenate) الناتج من اجراءات عمليات غسل غرف التعليب، إذا وجد فى أماكن الجروح يمكن أن يكون له تأثير على الخميرة، بالإضافة إلى تجمعات الكائن الممرض.

إن فعالية السلالة US7 فى التغليف مع مادة (MC) على ثمار برتقال فالنسيا مذكورة فى جدول (رقم ١٩). لكن فى هذه التجارب فإن هذه السلالة كانت تضاف كمعلق مائى لتقدير فوائد وعدم فوائد اتحاد الكائن المضاد مع الغلاف. مع أن السلالة US7 فى الغلاف MC مع إضافة بعض المغذيات، تؤدى إلى انخفاض واضح فى مستويات التحلل بالمقارنة مع استعمالها بمعاملات أخرى.

كذلك فإن استعمال الغلاف MC لوحده لايساعد ولايخفى فعالية السلالة المضادة من الخميرة. وهذا يختلف عنه فى حالة استعمال المبيدات الفطرية الكيماوية اللازمة لكى تتحد مع شمع الثمرة لتساوى كمية المقاومة فى التحلل الناتجة من استعمال المبيد الفطرى لوحده. ذكر McLaughlin سنة ١٩٩٠ أن كلوريد الكالسيوم يمكن أن يزيد بشكل معنوى كمية المقاومة للعفن المتحصل عليها باستعمال السلالة US7 عن طريق إحداث تخفيض فى إنبات كل من الجراثيم الكونيرية واستطالة أنبوبة الإنبات الجرثومية للكائن الممرض. فى حين أن استعمال كلوريد الكالسيوم فى غياب الكائن المضاد لايؤدى إلى خفض معنوى فى المرض.

يجب الأخذ بعين الاعتبار أن برتقال فالنسيا Valencia يظهر فيه التحلل بنسبة أقل منه فى البرتقال Pineapple، حيث ان هذا الأخير من المعروف بأنه أكثر قابلية للتحمل خاصة بالإصابة بالفطر بنيسيليوم ، وذلك إما لزيادة القابلية للتجريح فى القشرة، أو بسبب الجمع المبكر فى الصباح عندما يكون لقاح الفطر فى أعلى نسبة تواجد له. إن هذا الفطر هو المسئول عن جميع التحلل فى برتقال فالنسيا خلال الأسبوعين الأوليين من التخزين. أما تعفن نهاية الساق، فيظهر فقط فى الأسبوع الثالث والرابع بعد أربعة أسابيع من التخزين فإن ١٣,٩ ٪ من جميع التحلل فى برتقال فالنسيا يعزى إلى عفن نهاية الساق.

جدول رقم ١٩ : النسبة المئوية لحدوث التحلل فى البرتقال نوع Pineapple ، Valencia المخزن على حرارة ١٦م ورطوبة نسبية ٩٠ ٪.

المعاملة	تخزين أسبوع واحد		تخزين أسبوعين		تخزين ٣ أسابيع		تخزين ٤ أسابيع	
	صنف P	صنف V	صنف P	صنف V	صنف P	صنف V	صنف P	صنف V
NS/MC 2%	٥,٥	٣,٦	٢٧,٠	١٣,٦	٤٧,٥	٢٢,٨	٦٦,٠	٢٦,٤
NS/MC + US7	٠,٥	٢,٨	١٢,٠	٧,٦	٣٤,٠	١٤,٠	٥٩,٠	١٧,٦
NS/MC + 230	٦,٥	–	١٩,٥	–	٣٩,٥	–	٥٣,٠	–
NS/MC + US7 + N	–	٠,٤	–	٤,٠	–	١١,٢	–	١٦,٨
NS/MC + I	٤,٠	١,٢	٩,٢	٣,٦	٢١,٦	٥,٠	٣٢,٤	٧,٢
SH	٥,٦	–	١٦,٠	–	٣١,٢	–	٤٧.٦	–
US7	٠	٢,٨	–	٧,٦	–	١٣,٦	–	١٨,٠
SH + I	٣,٢	١,٢	٩,٢	٣,٦	٢٥,٦	٧,٦	٤٣,٢	١١,٢
UC	١٠,٠	٦,٨	٣٠,٤	١٦,٨	٤٧,٢	٢٣,٢	٦٠,٨	٢٦,٨

ملاحظات على الجدول:

NS = شمعى طبيعى . MC = تشكيل بمادة ميثايل سليلوز .US7 + NS/MC = الغلاف الأول مع الخميرة *Candida guilliermondii* سلالة US7 .NS/MC230 = التركيب السابق مع الخمير *De-baryomyces* sp. سلالة ٢٣٠ . I = المبيد الفطرى Imazalil بتركيز ٢٠ غرم/لتر. SH = الشيلاك التجارى محملاً على شمع الحمضيات .FMC 360 HS SH-I= شمع الشيلاك مع المبيد الفطرى Imaz-alil بنسبة ٢٠ غرام/لتر. UC = الثمار غير مغلفة. N = مغذيات مكونة من ٠,٢ ٪ جلوكوز، ٠,٢٢ ٪ كلوريد كالسيوم. US7 = معلق مائى من السلالة للخميرة US7 . Valencia= V. Pinapple .

خامساً: المقاومة الحيوية لأمراض ما بعد الجمع فى ثمار الأفوكادو

مقـــدمة:

نبات الأفوكادو *Persea americana* Mill الواسع الانتشار فى جنوب أفريقيا، قابل للإصابة بأمراض قبل الجمع، مثل مرض البقعة السوداء Black spot (BS) الذى يتسبب عن *Pseudocercospora purpurea* ، وكذلك مرض البطش الهبابية Sooty (SB) Blotch الذى يتسبب عن *Akaropeltopsis* sp.، وهما أكثر الأمراض أهمية بالإضافة إلى مرض العفن الهبابى قبل الجمع. تقدر الخسائر من BS بحوالى ٦٩ ٪ فى ثمار الأشجار غير المطلق عليها طرق المقاومة. فهو يؤدى إلى خفض القيمة التسويقية للثمار بسبب المنظر القبيح الناتج عن سوء التلون فى القشرة. غالباً يستعمل فى جنوب أفريقيا، المبيد الفطرى الكلوراين بعد الجمع لإزالة اللون الأسود النامى على السطح من الفطر *Akaropeltopsis*. هناك أضراراً كثيرة تكون مرافقة لاستعمال المبيدات الفطرية، منها صعوبة إزالة الآثار المتبقية من مركبات النحاس فى مصانع التعليب، ومقدرة الكائن الممرض على تكوين سلالات مقاومة للمبيدات الفطرية المستعملة، كذلك الأضرار على صحة الإنسان وتلوث البيئة.

أما أمراض بعد الجمع، فهى:

١ – الأنثراكنوز. ٢ – عفن طرف الساق (SE)

٣ – عفن الثمار المركب الذى يتسبب عن *Dothiorella / Colletotrichum* ويكتب (DCC)

أهم الفطريات التى تسبب أمراض بعد الجمع، فهى:

١ – *Colletotrichium gloeosporioides* يكون مترافقاً مع الأنثراكنوز

٢ – *Dothiorella aromatrca* يسبب كلاً من مرض SE و DCC

٣ – *Phomopsis perseae* ، *Fusarium solani* ، *Pestalotiopsis versicolor* ، *Lasio-diplodia theobromae* ، *Fusarium decemcellulare* ، *F. sambucinum* ، *Drechslera setariae* ، *Rhizopus stolonifer*. هذه المجموعة من الفطريات تسبب أمراضاً متشابهة ومتداخلة مع بعضها البعض، وكلها تشبه مرض عفن طرف الساق (SE).

نظراً لأن معظم الثمار تصدر عن طريق البحر، وتحتاج إلى فترة طويلة من التخزين، فان الفقد الذى يحدث للثمار بعد الجمع يؤثر كثيراً على صناعة الأفوكادو. هناك مقاومة محدودة يمكن أن يتحصل عليها عن طريق الرش قبل الجمع بالمبيدات الفطرية مثل البنليت وأكسى كلوريد النحاس، أو بعد الجمع عن طريق استعمال الـ Prochloraze. وعلى أية حال ونظراً لأن هذا المركب الأخير غير معتمد ولا مسجل للاستعمال على الثمار المصدرة إلى أوروبا، فإن طرق المقاومة تعتمد على إجراءات زراعية روتينية، بالإضافة لمساوئ إستعمال المبيدات الفطرية المذكورة سابقاً، كل ذلك أدى إلى جعل معظم الباحثين يفضلون الاتجاه إلى المقاومة الحيوية.

كان أول الأبحاث على المقاومة الحيوية لأمراض الأفوكادو بواسطة Korsten *et al* سنة ١٩٨٨، حيث ذكر فعالية المقاومة الحيوية لأمراض بعد الجمع مثل الانثراكنوز SE ، DCC عند استعمال البكتيريا *Bacillus subtilis* رشاً على الأشجار قبل الجمع. لقد نجحت المقاومة باستعمال هذه البكتيريا فى مقاومة أمراض قبل الجمع مثل BS ، SB ، كما نجحت فى مقاومة أمراض الثمار بعد الجمع.

مقاومة أمراض بعد الجمع

من الدراسات العملية السابقة ثبت أن البكتيريا *B. subtilis* المعزولة من المجال الورقى للأفوكادو لها دور فعال فى تثبيط نمو بعض الفطريات فى المعمل وفى ثمار الأفوكادو بعد الجمع، أهم هذه الفطريات بالإضافة للفطريات المذكورة سابقاً هو فطر *Thyronectria pseudotrichta*. ولقد ثبت علمياً أن هذه البكتيريا ذات كفاءة عالية فى مقاومة أمراض الانثراكنوز وSE و DCC، عندما ترش على أشجار الأفوكادو فى الحقل، أو عندما تستعمل مع الشمع المغلف للثمار أو عند غمر الثمار فى معلقها.

البكتيريا *B. subtilis* سلالة B246 تحضر بكميات كبيرة للاستعمال الحقلى، تخلط التشكيلات البكتيرية فى ٥٠٠ لتر ماء وتوضع فى تنكات للحصول على تركيز ٨١٠ خلية/مل ماء. ترش الأشجار بهذا المعلق بحيث تغسل الشجرة كلها. لمقارنة كفاءة المقاومة الحيوية، مع المقاومة الكيماوية استعملت المبيدات الكيماوية مثل البنليت بتركيز ٢٥ غرام/لتر ماء وكذلك المركب أوكسى كلوريد النحاس، فكانت النتائج، كما فى جدول رقم ٢٠ . يلاحظ

أن الرش بالمعلق البكتيرى المتحد مع أوكسى كلوريد النحاس أو البنليت يخفض شدة كل من الأمراض BS ، SB بشكل معنوى. أما جدول رقم ٢١ فيبين تأثير استعمال البكتيريا فى مادة الشمع وتغليف الثمار بها.

جدول رقم ٢٠ : تأثير رش الأشجار فى الحقل قبل الجمع بكل من المبيدات الفطرية، البكتيريا *B. subtilis* سلالة B246 لوحدها أو متحدة مع المبيدات الفطرية على شدة إصابة ثمار الأفوكادو بالمرضين البقعة السوداء والبطش الهبابية.

المعاملة	التركيز	شدة المرض فى		وقت الرش
		البقعة السوداء	البطش الهبابية	
كنترول	–	١,٨٩	١,٢٧	فى أى وقت فى السنة
أوكسى كلوريد النحاس	٢٥ غم/لتر	٠,٣٦	٠,٤٢	أكتوبر + نوفمبر + يناير
أوكسى كلوريد النحاس + بكتيريا	٢٥ غم/لتر + $^{8}10$ خلية/مل	٠,٧٧	٠,٨٠	نوفمبر
أوكسى كلوريد النحاس + بنليت	٢٥ + ٤ غرام/لتر	٠,٤٤	٠,٥٨	أكتوبر
بكتيريا	$^{8}10$ خلية / مل	٠,٩٣	٠,٦٧	نوفمبر + ديسمبر + يناير
بكتيريا + بنليت	$^{8}10$ خلية/ مل + ٤ غرام/لتر	٠,٧٢	١,٢٥	أكتوبر

ملاحظات على الجدول:

كانت شدة المرض تقدر على أساس ثلاث درجات من صفر إلى ٣ فى مرض البقعة السوداء: إذا لم يوجد فى الثمرة أية بقع تعطى صفراً، إذا وجد ثلاث بقع تعطى رقم١ . إذا وجد سبع بقع تعطى رقم٢ ، إذا وجد ١١ بقعة تعطى رقم٣. أما بالنسبة لمرض البطش الهبابية فكانت تقسم من صفر – ٤ . إذا كانت الثمرة خالية تعطى صفراً. إذا كان فيها خطان صغيران عند القمة تعطى رقم١ . إذا كان فيها ثلاثة خطوط متوسطة الطول تخرج من القمة تعطى رقم ٢ . وإذا كان فيها أربعة خطوط طويلة ناتجة من القمة تعطى رقم ٣ . إذا كان هناك ستة خطوط ناتجة من القمة تعطى رقم ٤ .

جدول رقم ٢١ : تأثير تركيزات مختلفة من البكتيريا *B. subtilis* المستعملة فى الشمع المغلف للثمار على شدة الأمراض التى تصيب ثمار الأفوكادو بعد الجمع.

البكتيريا بتركيز خلية فى ml^{-1}	شـــدة المـــرض					متوسط تأثير المعاملة
	تقديرات خارجية		تقديرات داخلية			
	الانثراكنوز	SE	الانثراكنوز	SE	DCC	
صفر	١,٠٢	٠,١٠	٢,٠٩	١,٤٣	٠,٣٦	١,٠٠
10^{8}	٠,٣٤	٠,٠١	١,٥١	١,٣٩	٠,١٧	٠,٦٩
10^{7}	٠,٤٠	٠,٠١	١,٤٠	٠,٩٣	٠,٢٥	٠,٦٠
10^{6}	٠,٢١	٠,٠١	١,٦٢	١,١٧	٠,٠٤	٠,٦١
10^{5}	٠,٦١	٠,٠٣	١,٨٥	١,١٠	٠,١٠	٠,٧٤

كانت تقدر شدة المرض على قياس من صفر إلى عشر؛ حيث إن صفر = الثمرة سليمة. وعشرة الثمرة متعفنة كلية.

سادساً: المقاومة الحيوية لأمراض ما بعد الجمع فى البطاطس

١- المقاومة الحيوية لمرض القشرة الفضية في درنات البطاطس

Biological control of Silver Scurf of Potato Tubers

مقـــدمة:

يتسبب مرض القشرة الفضية فى البطاطس عن الفطر *Helminthosporium solani*، وهو من أهم أمراض التخزين بالنسبة للبطاطس *Solanum tuberosum*. وقد سبب هذا المرض خسائر فى مصانع رقائق البطاطس فى ولاياته Idaho خلال موسم ٩٢-١٩٩٣ بما يعادل ٨,٥ مليون دولار. تكون أعراض المرض مقتصرة على منطقة البشرة الخارجية Peri-derm، وبالتالى فإن خسائر المرض تكون ناتجة عن خفض نوعية الدرنة وعن تلون وتقشر جلد الدرنة، وكذلك فقد الرطوبة الناتج عن تمزق طبقة البريديرم. وعلى أية حال فإن تمزق طبقة البريديرم يجعل الدرنة أكثر قابلية للتعرض والإصابة بمسببات أمراض المخازن الأخرى، والتى تتطلب وجود جروح لكى تحدث إصابتها.

لقد ازدادت أهمية هذا المرض فى السنوات الأخيرة بسبب تكشف كثير من سلالات الفطر *H. solani* المقاومة للمبيد الفطرى المستعمل ضدها Thiabendazole (TBZ)، حيث إن هذا المبيد هو المستعمل تجارياً لمقاومة مرض العفن الجاف الفيوزاريومى على درنات البطاطس. هناك عدة عوامل تشجع استعمال المقاومة الحيوية لمرض القشرة الفضية فى البطاطس، منها:

١- ثبت أن الأراضى ذات المحتوى العالى من البكتيريا تخفض حدوث هذا المرض (Admas سنة ١٩٧٠).

٢- ظروف تخزين البطاطس تلائم المقاومة الحيوية لمرض القشرة الفضية بسبب أن الفطر *H. solani* يتكاثر خلال فترة قصيرة عند توفر الرطوبة الحرة فى مخازن البطاطس.

٣- يمكن لعوامل المقاومة الحيوية المستعملة أن تستفيد من الفترة نفسها، التى يتوفر فيها رطوبة حرة بحيث تتكاثر وتنافس الكائن الممرض.

٤- لقد ذكر Chun & Shetty سنة ١٩٩٤ أن سلالة البكتيريا *Pseudomonas corrugata* يمكن أن تناسبها ظروف المخزن وتخفض حدوث المرض بنسبة عالية جداً.

مقاومة المرض حيوياً:

لقد ثبت بالبحث العلمى أن هناك بعض السلالات تثبط مسبب المرض *H. solani*، هى:

١- *Pseudomonas putida* (PM1)
٢- *Nocardia globerula* (S244)
٣- *Xanthomonas campestris* (P76)

تقوم هذه السلالات بدورها فى المقاومة الحيوية عند غمر درنات البطاطس فى معلقاتها الجرثومية بتركيزات تتراوح من 10^{5}-10^{8} وحدة تكوين مستعمرات/مل محلول ،كما هو فى جدولى ٢٢ ، ٢٣.

جدول رقم ٢٢ : تأثير الكائنات المضادة على تكشف الحامل الكونيدى للفطر *H. solani* السلالة الأولى والثالثة حساسة للمبيد TBZ أما السلالة الثانية فهى مقاومة لهذا المبيد.

سلالة الكائن المضاد	٪ إصابة سطح الدرنات عند إستعمال السلالات الممرضة فى التجربة		
	SS 2-2	HSND 07	HSND 25
Aureobacterium barkeri	٢١,٢	١٨,١	٤١,٥
Xanthomonas campestris	١٨,٣	٥٥,١	٣١,٨
Nocardia globerula	٢٨,٢	١١,٥	٣٥,٢
Pseudomonas putida	١١,٥	٢٦,٥	٣٠,٢
Bacillus sphaericus	٣٢,٥	١٧,٥	٢٠,٧
كنترول	٢٢,٥	٣٨,٢	٢٧,٥

جدول رقم ٢٣ : تأثير استعمال سلالات ميكروبية على تكشف الحوامل الكونيدية للفطر *H. solani* السلالة SS 2-2 ، وتأثير ذلك على مساحة السطح المصابة فى درنات البطاطس.

سلالة الكائن المضاد	٪ تثبيط للحوامل الكونيدية	
	سلالة SS2-2 عادية	سلالة SS 2-2 مقاومة لمضاد رافمبسين
A. barkeri	٣٥	٢٧
X. campestris	٤٢	٣٠
P. putida	٣٣	٤٩
كنترول	٢٩	٢٩

٢- المقاومة الحيوية لمرض العفن الجاف في البطاطس

Biological Control of Dry Rot of Potatoes

أ- المقاومة باستعمال الخمائر

مقـــدمة:

يعتبر مرض العفن الجاف فى البطاطس، من الأمراض المهمة والمنتشرة فى معظم أماكن تخزين البطاطس. يتسبب هذا المرض عن كل من الفطر *Gibberella pulicaris* المرادفالأسم *Fusarium sambucinum* Fuckel والفطر-*Nectria haemat ococca* Berk المرادف للاسم *Fusarium solani* var. *coeruleum* . يسبب هذا المرض خسائر كبيرة فى معظم مخازن الباطس فى العالم. تقدر الخسائر فى المحصول التى يسببها العفن الجاف الفيوزاريومى بحوالى ٦ ٪ وقد تصل أحياناً إلى ٢٥ ٪ من الانتاج. قدرت الخسائر فى درنات البطاطس فى أسواق نيويورك بين سنتى ١٩٧٢ و ١٩٨٠ بحوالى ١٨ ٪.

بالإضافة إلى أن الفطر يحطم أنسجة الدرنة، فإن *G. pulicaris* يستطيع أن ينتج توكسينات ذات تأثير ضار على الأجهزة الداخلية فى الإنسان Trichothecene toxins وقد يمتد تأثيرها إلى الحيوان.

معظم أصناف البطاطس المزروعة قابلة للإصابة بالمرض. كذلك إن الفطر *F. sambucinum* له سلالات لديها مقاومة مكتسبة للمبيد الفطرى (TBZ) ثيوبندازول، وهو المادة الكيماوية الوحيدة المسجلة والفعالة ضد مرض العفن الجاف، يبدو أن هذه المقاومة المكتسبة، قابلة للإنتشار، ومن المحتمل أن تستمر وتسود فى الحقل نظراً لاحتمال وجود توافق وراثى بين سلالات الفطر. ولقد ذكر Langerfeld سنة ١٩٩٠ أن الفطر *F. solani* var. *coeruleum* عنده مقاومة ضد TBZ.

إن الظروف التى تؤدى إلى حدوث مرض العفن الجاف فى البطاطس تكون ملائمة للمقاومة الحيوية لهذا لامرض. يتطلب الفطر المسبب للمرض وجود جرح لكى يدخل منه إلى الدرنة. ونظراً لأن جروح البطاطس تشفى بعد مدة تتراوح من خمسة أيام إلى عدة أسابيع فى المخزن عن طريق تكوين بيريديرم الجروح، فإن عامل المقاومة الحيوية يحتاج لمثل هذه الفترة؛ كى يبقى حياً ويمنع دخول الكائن الممرض خلال هذه الفترة القصيرة نسبياً والتى عندها تكون درنات البطاطس المجروحة قابلة للإصابة. بالإضافة لذلك فإن ظروف مخزن البطاطس (رطوبة نسبية مرتفعة ٨٠٪ ودرجة حرارة بين ٥-١٥°م) تكون مناسبة لنمو كثير من العوامل الميكروبية. مع أن قليلاً من سلالات الخميرة فعالة فى مقاومة هذا المرض إلا أن هناك سلالات بكتيرية تثبط وأحياناً تستبعد تكشف العفن الجاف المتسبب عن الفطر *G. pulicaris*. لقد حددت وعرفت عوامل مقاومة حيوية بكتيرية، تقوم فعلياً بتخفيض حدوث العفن الجاف المتسبب عن الفطر السابق، إلى مستويات قليلة، كذلك فإن بعض أنواع الخميرة قد ثبت فعاليتها وكفاءتها فى مقاومة هذا المرض.

مقاومة المرض:

نتيجة التجارب العديدة التى أجريت على استعمال المقاومة الحيوية ضد مرض العفن الجاف باستعمال الخمائر، وجد أن أهم أنواع الخمائر التى تعطى مقاومة فعالة ومعنوية لهذا المرض هى:

تعزل من قشرة درنة البطاطس أو من التربة المحيطة بها

1- Cryptococcus laurentii NRRL Y-2536

وهى فعالة بتركيز يتراوح ما بين ٢ x ١٠^٦ إلى ٣ x ١٠^٧ خلية/ مل، وهى تقاوم الفطرين اللذين يسببان المرض. جدولا ٢٤ و ٢٥ كذلك فإن الخميرة

2- Debaryomyces robertsiae NRRL Y-6670

وهى فعالة بالتركيز نفسه ولكنها أقل كفاءة من الخميرة الأولى

أما الخميرة *3- Candida guilliermondii* NRRL Y-12723 فإنها تسبب خفضاً فى إنبات الجراثيم الكونيدية للفطريات الممرضة والمسببة لمرضة العفن الجاف فى البطاطس.

جدول رقم ٢٤ : تأثير سلالات الخميرة على إنبات كونيديات الفطر *F. sambucinum* سلالة 6380.

رقم السلالة	مساحة البقة المستعمرة بالفطر الممرض ملم عند إستعمال تركيز		٪ إنبات الجراثيم الكونيدية للفطر الممرض	إسم السلالة المستعملة فى المقاومة الحيوية
	٣ x ١٠^٦ خلية/ مل	٢ x ١٠^٧ خلية/ مل		
Y - 12723	٦	٤	٥٧	*Candida guilliermondii*
Y - 2536	٩	٥	٩١	*Cryptococcus laurentii*
Y - 6670	٨	٧	٨٧	*Debaryomyces robertsiae*
Y - 1842	٩	٨	٧٦	*Pichia capsulata*
Y - 12632	٧	٩	٧٩	*Saccharomyces cerevisiae*

obeikandl.com

جدول رقم ٢٥ : فعالية سلالات الخميرة فى تقليل الأنسجة المستعمرة بالفطر *F. solani* var. *coeruleum* سلالة رقم ١٢٥٧ .

إسم السلالة	رقم السلالة	ملم أنسجة مستعمرة
C. guilliermondii	Y - 12723	١٣
Cryptococcus laurentii	Y - 2536	١١
C. laurentii	Y - 7139	١٠
D. robertsiae	Y - 6670	١٣
Pichia capsulata	Y - 1842	١٣
S. cerevisiae	Y - 12632	١٤

ب- مقاومة مرض العفن الجاف بالبكتيريا

تستعمل بعض سلالات البكتيريا فى المقاومة الحيوية لمرض العفن الجاف فى درنات البطاطس المتسبب عن *F. sambucinum* الاسم المرادف *Gibberella pulicaris*. جميع لتركيزات التى تستعمل سواء كانت 10^{6} أو 10^{7} أو 10^{8} وحدة تكوين مستعمرات/ مل تخفض حدوث المرض بنسبة تتراوح ما بين ٣٨-٧٦٪ . عند استعمال سلالات البكتيريا المضادة مختلطة مع بعضها يكون تأثيرها فى مقاومة المرض أفضل من استعمال كل نوع لوحدة، حيث انه عند استعمال أزواج مختلفة من البكتيريا المضادة ينخفض حدوث المرض بنسبة ٧٪ أو أكثر. أهم أنواع البكتيريا المستعملة فى المقاومة الحيوية لهذا المرض، هى:

1- *Pseudomonas* fluorescens strain P22 : Y. 05 . B - 21053
2- *P. corrugata* strain S09. P. 06 . B - 21049
3- *P. corrugata* strain S09. T. 14 . B - 21051
4- *P. fluorescens* strain S09. Y. 08 . B - 21128
5- *Enterobacter cloacae* strain S11. P. 07 . B - 21050

وجد أنه عند استعمال البكتيريا الأولى بتركيز 10^{6} وحدة تكوين مستعمرات/مل تنخفض مساحة الأنسجة المستعمرة من قبل الفطر الممرض من ٢٠,٣ ملم فى الكنترول إلى ١٠,٣٥ ملم فى المعاملة، وتنخفض إلى ٦,٤٥ و ٤,٤ عند زيادة تركيز البكتيريا إلى 10^{7} و10^{8} وحدة تكوين مستعمرات/مل بالترتيب جدول ٢٦ ، ٢٧ يبين تأثير استعمال البكتيريا المضادة مفردة، أو فى تجمعات فى تضاد الفطر الممرض.

جدول رقم ٢٦ : تأثير استعمال البكتيريا المضادة على تكشف أعراض مرض العفن الجاف على درنات البطاطس المصابة بالفطر *G. pulicaris* R-6380 .

سلالة البكتيريا المستعملة في المقاومة الحيوية	مساحة المستعمرة الفطرية على سطح درنة البطاطس ملم^2
Pseudomonas fluorescens B-21053	٦,٧
P. corrugata B-21049	٦,٥
P. corrugata B- 21050	٧,٦
P. fluorescens B-21128	٥,٣
Enterobacter cloacae B-21050	٨,٢
Contol	٢٠,٣

جدول رقم ٢٧ : تأثير استعمال أزواج من البكتيريا فى المقاومة الحيوية لمرض العفن الجاف فى البطاطس المتسبب عن *G. pulicaris* السلالة R-6380 .

أزواج البكتيريا المضادة	مساحة البقعة المرضية ملم	٪ خفض فى مساحة البقعة بالنسبة للكنترول
Enterobacter sp. B-21101 + *Pseudomonas fluorescens*. B-21053	١٣,٦	٥٥
Enterobacter sp. B-21101 + *P. corrugata*. B-21049	١٣,٧	٥٤
Enterobacter sp. B-21101 + *Enterobacter* sp. B-21103	١١,٢	٦٣
Enterobacter sp. B-21101 + *Pantoea agglomerans* . B-21048	١٠,٧	٦٤
Enterobacter sp. B-21101 + *P. fluorescens*. B-21102	١٢,١	٦٠
Enterobacter sp. B-21101 + *P. corrugata*. B-21105	٩,٣	٦٩
P. fluorescens B-21053 + *P. fluorescens*. B-21102	٨,٧	٧١
P. corrugata. B- 21049 + *Pantoea* sp. B-21104	٧,٧	٧٤
Pantoea sp. B- 21104 + *P. corrugata*. B-21105	١٠,٧	٦٤
Pantoea sp. B- 21104 + *Pantoea agglomerans*. B-21048	١٢,٦	٥٨

obeikandl.com

٣- المقاومة الحيوية لمرض العفن الطري البكتيرى في درنات البطاطس

Biological Control of Bacterial Soft Rot In Potato Tubers

مقـــدمة:

يتسبب مرض العفن الطرى البكتيرى فى البطاطس عن البكتيريا *Erwinia carotovo-ra* pv. *atroseptica* ويرمز لها بالحروف (ECA) تظهر أعراض الإصابة أحياناً فى الحقل ولكنها فى الغالب تظهر فى المخزن. يظهر فى البداية على النسيج المصاب بقع مائية صغيرة، والتى تتسع بسرعة ولا يلبث أن يزداد عمقها وقطرها، تصبح المناطق المصابة طرية ورقيقة، يمكن أن يصبح سطحها متلوناً ومنخفضاً إلى حد ما، أو يمكن أن تظهر مجعدة أو ذات سطح متقرح ذى بثرات، تكون حواف البقع فى كثير من الحالات محددة تماماً فى البداية ولكن بعد ذلك تصبح غير واضحة. تصبح الأنسجة الموجودة فى المنطقة المصابة معتمة غير شفافة فى وقت قصير، أو تظهر بلون كريمى لزج، تتحلل إلى كتلة طرية من الخلايا غير المتعضية. فى بعض الدرنات يمكن أن يبقى السطح الخارجى سليماً، بينما كل المحتويات تكون قد تحولت إلى سائل كثيف عكر، ويمكن أن تنقلب الدرنة إلى كتلة متحللة طرية مائية شفافة خلال ٣-٥ أيام. يسبب هذا المرض خسائر كبيرة فى البطاطس.

كانت مقاومة الأعفان الطرية مبنية على وجه الحصر، فى العمليات الصحية والعمليات الزراعية حيث تزال جميع البقايا من المستودعات، وتطهر الجدران بمحاليل محتوية على الفورمالدهيد أو كبريتات النحاس، وتجنب جرح الدرنة قدر الإمكان، وأن تبقى الدرنة جافة والمخزن ذا حرارة ٤-٦°م. لم يوص باستعمال المقاومة الكيماوية بشكل عام. فى السنوات الأخير حصل على مقاومة جيدة لهذا المرض عن طريق المقاومة الحيوية.

المقاومة الحيوية للمرض:

لقد وجد أن استعمال سلالات من البكتيريا *Pseudomonas* وإضافتها إلى أجزاء تقاوى البطاطس، يخفض تجمعات البكتيريا المسببة للمرض، على الجذور والدرنات المتكونة حديثاً، وبالتالى عند انتقال هذه الدرنات إلى المخزن تكون حاملة نسبة بسيطة جداً من الكائن الممرض. كذلك وجد أن معاملة التقاوى قبل زرعها، بالبكتيريا *Pseudomonas putida*

يؤدى إلى مقاومة جيدة للمرض بعد الجمع. إن كلاً من Xu & Gross سنة ١٩٨٦ أجريا تحديثاً فى طرق انتقاء وتعريف عدد من سلالات البكتيريا الوميضة Fluorescent من أنواع *Pseudomonas* مضادة للبكتيريا الممرضة *E. carotovara* ، والتى لديها أيضاً القدرة على أن تنمو وتزدهر فى منطقة جذور البطاطس.

لقد نشأت فكرة المقاومة الحيوية لمرض العفن الطرى فى البطاطس عن طريق إضافة عوامل المقاومة الحيوية إلى تقاوى البطاطس (التقاوى المكونة من درنات صغيرة أو أجزاء من الدرنات الكبيرة) قبل الزراعة كمعاملة بذور. وفقاً لذلك فإنه يمكن الحصول على المقاومة الحيوية عن طريق كبح جماح نمو ونشاط البكتيريا الممرضة فى التربة أو على سطح الدرنة. كذلك فإن وجود ظاهرة التنافس فى المجال الجذرى بين البكتيريا الوميضة (سلالات بسيدوموناس) ومقدرتها على إنتاج نواتج تمثيل ثانوية قادرة على إحداث تغيير فى التجمعات الميكروبية فى منطقة الجذر. وبالتالى فإن عوامل المقاومة الحيوية الفعالة ضد هذا المرض، مأخوذة من أفراد البكتيريا الوميضة.

فى سنة ١٩٩٣ وجد Van Buren *et al* أن ٣٢٪ من ١٩٢ سلالة من الأندوفاتيك بكتيريا والمعزولة من ساق وأنسجة درنات البطاطس، هى عوامل مقاومة حيوية فعالة ضد أنواع البكتيريا *Clavibacter michiganensis* sub sp. *sepedonicus* ، ووجد أن السلالة CICA90 من البكتيريا الوميضة قادرة على استعمار الجذر والساق خارجياً وداخلياً وأن لها دوراً كبيراً فى المقاومة الحيوية عند إجراء التجارب على أصناف مختلفة من البطاطس فى المعمل، وجد أن الصنف Sebago يعزل منه أكبر نسبة من البكتيريا المضادة والمثبطة لنمو الجنس *Erwinia*، ووجد أن الغرام الواحد من الدرنة يحوى ٢,٧٨ x ١٠^{٦} وحدة تكوين مستعمرات. من أهم أنواع البكتيريا المعزولة من هذا الصنف، والتى لها تأثير مثبط على البكتيريا الممرضة (Eca) هى بالترتيب حسب عدد تواجدها وكفاءتها فى تثبيط النكائن الممرض.

1- *Curtobacterium luteum* 2- *Bacillus amyloliquefaciens*

3- *Pantoea agglomerans* 4- *Pseudomonas tolaasii*

5- *Bacillus alcalophilus* sub sp. *halodurans* 6- *serratia liquefaciens / grimessi*

ولقد وجد أن تكشف مرض العفن الطرى فى البطاطس يتناسب عكسياً مع تجمعات البكتيريا الاندوفانيك، والتى لها القدرة على تثبيط نمو Eca (جدول رقم ٢٨).

مما سبق يتبين أن زيادة وجود تجمعات البكتيريا السابق ذكرها على الدرنة منذ فترة وجودها فى الحقل، تخفض من حدوث مرض العفن الطرى فى البطاطس فى المخزن، لذلك يجب أن تبنى المقاومة الحيوية على هذا الأساس.

يتبين من جدول رقم ٢٨ أنه كلما زاد تركيز البكتيريا المضادة الموجودة على سطح الدرنة انخفضت شدة المرض فى جميع أصناف التجربة، وهذا له علاقة بمدى مقاومة الصنف لمرض الساق الأسود.

جدول رقم ٢٨ : تكشف مرض العفن الطرى على خمسة أصناف من البطاطس.

الصنف	سم قطر بقعة العفن الطرى	عدد البكتيريا x ١٠^{٦} على الدرنة والمثبطة للكائن الممرض	عدد البكتيريا x ١٠^{٦} الكلية مثبطة وغير مثبطة على الدرنة	مقاومة الصنف لمرض الساق الأسود
كينبك	٠,٩٥	١,٨٩	٦,٧٢	متوسط المقاومة
سيباجو	١,٢٥	١,٣٨	٢,٧٨	عال المقاومة
جرين موانتن	١,١٢	١,٣١	٣,٩٤	متوسط المقاومة
روست باربانك	١,٦٨	٠,٢٣	١,٧٨	عال المقاومة
بيوت	٢,٨١	٠,٠١	٠,٥٠	قابل للإصابة

الفصل الرابع

المقاومة الحيوية لأمراض البياض الدقيقى

Biological Control For Powdery Mildews

مقـــدمة:

تبقى أمراض البياض الدقيقى من أهم الأمراض التى تعانى منها محاصيل الصوبات الزجاجية، عدا عن انتشارها الواسع فى كثير من الزراعات الحقلية فى كثير من البلدان. فى الحقيقة فإن هذه المشكلة تمنع كثيراً من الزراعات الاقتصادية من أن تتم فى الصوبات الزجاجية، خاصة محصول الخيار والطماطم. ونظراً لأن المقاومة الكيماوية عليها انتقادات كثيرة من قبل منظمة الصحة العالمية، اتجهت معظم الدول إلى تركها والاتجاه للمقاومة الحيوية.

لقد ذكر Jarvis & Belanger سنة ١٩٩٤ أن هناك مشاكل كبيرة تتسبب عن أمراض البياض الدقيقى، بدأت تظهر على الطماطم لأول مرة فى شمال أمريكا والتى أرعبت كثيراً من مزارعى الصوبات الزجاجية فى كندا. هناك قليل جداً من المبيدات الفطرية مسجلة رسمياً لمقاومة هذا المرض فى محاصيل الصوبات الزجاجية، كذلك فإن كثيراً من المبيدات الفطرية تفقد كفاءتها بسرعة بسبب ظهور سلالات من الكائن الممرض مقاومة لهذه المركبات الكيماوية. هذه الأوضاع أدت إلى تكثيف الدراسات لاكتشاف طرق مقاومة حيوية ضد أمراض البياض الدقيقى.

عوامل المقاومة الحيوية لأمراض البياض الدقيقي

تذكر المراجع العلمية أن هناك كثيراً من عوامل المقاومة الحيوية، ذات كفاءة فى مقاومة أمراض البياض الدقيقى، والأكثر اهتماماً فى هذا الموضوع هم العلماء الكنديون حيث ساهم الكثير منهم فى تطوير أو اكتشاف هذه العوامل. هناك قوائم طويلة تذكرها التجارب المعملية العلمية التى تبحث فى مقاومة أمراض البياض الدقيقى، إلا أن أهم عوامل المقاومة الحيوية التى تستعمل على نطاق تجارى ضد أمراض البياض الدقيقى، هى:

١- الفطـــر Ampelomyces quisqualis Ces : Schlecht

مقـــدمة:

كـان أول ذكـر لهـذا الفطر على أساس أنه علوى التطفل hyperparasite (يتطفل على فطريات ممرضة) على فطـريات البياض الدقيق التى تصيب البرسـيم (هذا مـا ذكـره Varwood سنة ١٩٣٢)، ومنذ ذلك الوقت أجريت على هذا الفطر عديد من التجارب وثبت أنه يضاد حـيوياً عديداً من أفراد عـائلة البياض الدقيقى Erysiphaceae ، وفى التـجـارب المعملية ثبت بأنه يقاوم البياض الدقيقى على كثير من العوائل النباتية. وعلى أية حال فإنه تحت ظروف الصوب الزجاجية أو الظروف الحقلية فإن معظم التجارب قد أفادت بأن هذا الفطر فعال فقط تحت الظروف البيئية عالية الرطوبة. لقد ذكر Jarvis & Slingby سنة ١٩٧٧ أنه يجب إستـعمـال الماء رشاً مع أو أثناء رش المعلق الجرثومى للفطر على النبـات، وذلك لتلبيـة احتـيـاجاته من الرطوبة. هذا الإجـراء أعطى نتـائج مـرضيـة، ولكن الأبحـاث استمرت على هذا الفطر لتحسين طرق استعماله.

في أوائل الثمانينات ذكر كل من Kreking & Sundheim، بأن أهم صفات الفطر *A. quisqualis* بأنه يتحمل عديداً من المبيدات الفطرية، ويمكن استعماله مع هذه المبيدات فى الأبحـاث التى كـانت تجرى ضد الفطر مسبب البياض الدقيق على الخيـار فى الصـوبات الزجاجية *Sphaerotheca fuligenea*. بالإضافة لذلك فإن Philipp *et al* سنة ١٩٩٠ ذكر بأن الفطر *A. quisqualis* يعطى مقاومة جيدة لمرض البياض الدقيقى فى الخيار اذا استعمل المعلق الجرثومى مع ٢ ٪ زيت البارافين.

إن النجاح المتواصل لهذا الفطر فى مقاومة أمراض البياض الدقيقى، أدى إلى الاهتمام به تجارياً ، وصرح باستعماله فى أواخر الثمانينيات فى أستراليا، إلا أن متطلباته من الرطوبة تعيق استعماله على نطاق واسع فى الحقول الواسعة. حديثاً فإن شركة Ecogen قد طورت تشكيلات (تركيبات) أساسها سلالة AQ10 والتى تتحمل الرطوبة المنخفضة. ولقد ذكر أن هناك مقاومة جيدة ضد مرض البياض الدقيقى على الخيار، يمكن الحصول عليها من هذه التشكيلات، عندما يكون المرض غير شديد الوطأة. هذا الفطر مسجل حالياً ويباع تجارياً.

الدراسة التفصيلية للفطر

يتواجد الفطر بشكل طبيعى متطفلاً على الأوعية البكنيدية فى فطريات البياض الدقيقى. إن هذا الفطر المتطفل على الفطريات الممرضة، يكون متطفلاً وداخلاً كلية ضمن الميسيليوم، الحوامل الكونيدية، الجراثيم الكونيدية والثمار الاسكية لعديد من الأجناس المهمة من العائلة *Erysiphaceae*، من ضمنها البياض الدقيقى فى العنب المتسبب عن الفطر *Uncinula necator* والبياض الدقيق فى القرعيات المتسبب عن *Erysiphe cichoracearum* والبياض الدقيقى فى الخيار المتسبب عن الفطر *Sphaerotheca fuliginea* والبياض الدقيق على التفاح المتسبب عن الفطر *Podosphaera leucotricha* والبياض الدقيق فى الورد المتسبب عن *Sphaerotheca pannosa*.

يتطلب الفطر المضاد *A. quisqualis* ماءً حراً ليهاجم مستعمرات البياض الدقيقى. يمكن أن تحدث الإصابة خلال ٢٤ ساعة على حرارة ٢٠°م. بعد حدوث الإصابة يتشعب الفطر خلال هيفات الفطر المتطفل عليه (العائل) مؤديا إلى خفض النمو وأخيراً موت الميسيليوم، وتتدهور المستعمرات الفطرية خلال ٧-١٠ أيام. تتكون الأوعية البكنيدية للفطر *A. quisqualis* بعد ٧-١٠ أيام داخل الحوامل الكونيدية لفطر البياض الدقيقى. عندما تكون الأوعية البكنيدية رطبة عن طريق المطر، فإن الجراثيم الكونيدية للفطر *A. quisqualis* تندفع فى معلاق جلاتينى، والذى لايلبث أن يذوب وتظهر الكونيديات بواسطة رذاذ المطر.

يكون ظهور تجمعات الفطر *A. quisqualis* فى الطبيعة متأخراً عدة أسابيع بعد ظهور وتكشف فطريات البياض الدقيقى. من الصعب ملاحظة هذا الفطر قبل نهاية موسم النمو أو بعد فترة طويلة تكون خلالها فطريات البياض الدقيقى قد كونت تركيبات الـ Cleistothecia (الثمار السكية المقفلة) التى تقضى عليها فترة الشتاء والتى تحقق استمرارية المرض، إلا أن هناك استثنادات لذلك، حيث إن الفطر المتطفل المضاد لايسمح للفطر الممرض بالتكاثر قبل أن يقتله، هذا يؤدى فى النهاية إلى أن أوبئة البياض الدقيقى، ومستوى أضرارها على العوائل القابلة للإصابة تكبح قبل أن تبدأ فى التأثير، وذلك عند استعمال الفطر المضاد.

فى حالة أمراض البياض الدقيقى فى العنب فإن إصابة المجموع الخضرى بالفطر المسبب للمرض *U. necator* تبدأ بعد أسبوعين من تفتح البراعيم (فى أمريكا فى منتصف

مايو)، فى حين أن إصابة تجمعات الفطر الممرض بالفطر المضاد، لاتحدث قبل ثلاثة شهور من بداية إصابة البراعم (فى شهر أغسطس فى أمريكا).

أجريت أبحاث كثيرة ومحاولات عديدة لمقاومة البياض الدقيقى عن طريق معاملة بذور النباتات التى تهاجمها فطريات البياض الدقيقى بالفطر، المضاد *A. quisqualis*، إلا أن النتائج غير قاطعة والأبحاث مستمرة. عادة ما يستعمل الفطر المضاد بتركيز ^{٦١٠} جرثومة كونيدية/مل. وعلى أية حال فإن توفر الماء الحر ضرورياً لحدوث الإصابة بالكونيديات، عند توفر ذلك، فإنه يؤدى إلى درجة عالية من تثبيط المرض والتحكم فى بيئة الصوبا الزجاجية. إن الخفض فى حدوث البياض الدقيقى عل الجذر من ٤٣-١٣ ٪، قد تم الحصول عليه، عن طريق رش النباتات فى الحقل بمعلق جراثيم كونيدية تركيز ^{٦١٠} مل سبعة مرات، كل أسبوع مرة.

إن نجاح إصابة مستعمرات البياض الدقيق بالفطر *A. quisqualis* تحت ظروف الحقل يمكن أن تتم وتصل نسبة المقاومة إلى قيمة عالية، وذلك عن طريق استعمال اللقاح رشاً على شكل محلول، فوراً أو خلال سقوط الأمطار، وعلى أية حال فإن المشاكل العملية المنطقية التى تصاحب هذا الإجراء تجعله غير عملى للاستعمالات التجارية على نطاق واسع فى الحقل.

إن عدم إمكانية التنبوء الصحيح لحدوث الأمطار فى الصيف، يجعل رش المعلق الكونيدى قبل سقوط الأمطار فى درجة المخاطرة. أما رش المعلق الجرثومى أثناء سقوط الأمطار، يتطلب استجابة سريعة وإجراءات فنية جيدة، وذلك حتى تتم العملية بنجاح، بغض النظر عن صعوبة التنقل واستعمال أجهزة الرش. وبالتالى فإنه بعد عدة أبحاث وتجارب على الفطر *A. quisqualis* كعامل مقاومة حيوية للبياض الدقيقى، ثبت بأنه لايزال يتطلب سقوط أمطار أو رطوبة عالية، وهو تحت هذه المتطلبات يصعب تطبيقه تجارياً لغاية ١٩٩٤.

فى سنة ١٩٩٥ اكتشف Falk *et al* طريقة جديدة لاستعمالها مع فطر المقاومة الحيوية المذكور سابقاً أثناء تطبيق المقاومة فى الحقل، حيث يمكن للقاح أن ينتشر طبيعياً على النبات العائل بواسطة المطر تحت الظروف المثلى للإصابة بهذا الفطر المضاد. ذكر الباحث أنه اكتشف طريقة لتنمية *A quisqualis* على فتائل (جمع فتيلة) من القطن، حيث ينمو الفطر وتتشكل الأوعية البكنيدية على سطوح هذه الفتائل، ثم بعد ذلك توزع هذه الفتائل على

عروش أشجار العنب، حيث يأخذ الانتشار الطبيعى مجراه للفطر قبل سقوط المطر. وهذه الطريقة تقلل من صعوبة رش الفطر أثناء حدوث المطر، لأن سقوط المطر هو الذى يوزع الجراثيم دون تدخل الإنسان.

عـزلات الفطـر A. quisqualis

للفطر عزلتين هامتين هما G5 و G-273، كل منهما تكون قادرة على الاصابة والتكاثر على جميع عزلات فطريات البياض الدقيقى التابعة لكل من الفطريات:

1- *Uncinula necator* 2- *Sphaerotheca fuliginea* 3- *S. macularis*

على كل من العنب، الخيار والفروالة بالترتيب. يحدث انهيار كامل تقريباً لمستعمرات البياض الدقيقى فى منطقة الحقن بكل من السلالاتين. تتراوح نسبة انهيار الحوامل الكونيدية من ٧٩–١٠٠ ٪ على المستعمرات المحقونة بالسلالة G-5، أما السلالة G-273 فهى تسبب تحطيماً للحوامل الكونيدية بنسبة تتراوح ما بين ٦٦,٤–٩٩,٨ ٪.

فى جميع الحالات فإن الفطر *A. quisqualis* ينتج أوعية بكنيدية على مستعمرات البياض الدقيقى المتطفل عليها خلال عشرة أيام بعد الحقن. وعلى أية حال فإن هذا التجرثم للفطر، لايكون دائماً متكافئاً مع تحطم الحوامل الكونيدى للفطر الممرض. فمثلاً عندما تستعمل عزلة البياض الدقيقى Elvira-F-1 (البياض الدقيق على العنب) وحقنها بالسلالة G-273، فإن النسبة المئوية لمستعمرات البياض الدقيقى التى تحمل عشرة أو أكثر من الأوعية البكنيدية للفطر *A. quisqualis* كانت أقل من ٢٢ ٪، مع أن جميع الهيفات والحوامل الكونيدية تكون قد تحطمت.

تأثير الرطوبة علي كفاءة الفطر A. quisqualis

عندما تكون النباتات جافة فإن السلالة *G-5* والسلالة *G-273* لا تكون فعالة أو عالية التطفل عندما تضاف على النبات كواقيات Protectants، قبل حقن نبات العنب بفطر البياض الدقيقى بمدة ٢٤ ساعة. مع أن جميع النباتات المحقونة بهذه الطريقة تكون مصابة بالفطر *U. necator*، إلا أنه لايحدث أى انهيار ملاحظ على مستعمرات البياض الدقيقى،

ولا يلاحظ أى تجرثم للفطر *A. quisqualis*، وعلى أية حال فإنه عند حفظ النباتات رطبة (عليها قطرات ماء أو مطر) لمدة ٢٤ ساعة بعد استعمال لقاح الفطر *U. necator* فإنه يحدث نشاط واضح للفطر *A. quisqualis* ويظهر تطفله، ويحدث خفض أكبر من ٥٠٪ فى نسبة النباتات المصابة بواسطة ١٧ عزلة من ١٨ عزلة من عزلات الفطر *U. necator*. إن النسبة المئوية للنباتات المصابة بالعزلة Chardonnay LI-3 لم يخفض، ولكن ١٠٠٪ من مستعمرات البياض الدقيقى التى تكونت قد أصيبت بالعزلة G-5 و G-273 من الفطر *A. quisqualis* عندما حفظت النباتات رطبة بعد الحقن بالفطر الممرض *U. necator*. من بين العزلات الأخرى للفطر *U. necator* فإن النسبة المئوية لمستعمرات البياض الدقيقى المصابة تتراوح من ٦٧–١٠٠٪ بالنسبة للعزلة G-5 ، وتتراوح من ٧٥--١٠٠٪ لجميع العزلات بواسطة العزلات المضادة G-273.

تأثير الفطر *A. quisqualis* على فطريات البياض الدقيقي الأخرى

إن تحطيم وانهيار مستعمرات فطريات البياض الدقيقى بواسطة الفطر *A. quisqualis* تكون كاملة بالنسبة للفطر *U. necactor* على شتلات العنب (٩٥,٨ – ٩٩,٨٪)، وكذلك بالنسبة للفطر *S. macularis* على أوراق الفراولة (٩٣,٧٪ – ٩٨٪) وذلك باستعمال السلالات G-273، SF-419 ، SF-423 من الفطر *A. quisqualis* (جدول رقم ٢٩). الانهيار الذى يحدث بواسطة هذه العزلات الثلاثة على الفطر *S. fuliginea* على نبات *Sen-eca zucchini* ، ٢٨,٤ – ٤٤,٦٪.

تتكون أوعية بكنيدية كثيرة للفطر *A. quisqualis* على الفطر *U. necator* على غراس العنب تقدر بحوالى (١٢٧٠ – ١٧٩٠) وعاء بكنيدى/سم٢ ، أكثر منه فى بقية أنواع البياض الدقيقى الأخرى. يكون عدد الأوعية البكنيدية المتكونة للفطر *A. quisqualis* على مستعمرات فطر البياض الدقيقى *S. macularis* على أوراق الفراولة والفطر *S. fuliginea* على نبات *S. zucchini* أقل نسبياً.

جدول رقم (٢٩) : النسبة المئوية لانهيار الحوامل الكونيدية لثلاثة أنواع من البياض الدقيقى. إنتاج الأوعية البكنيدية للفطر *A. quisqualis* فى مستعمرات البياض الدقيقى.

نوع البياض الدقيقي	٪ إنهيار الحوامل الكونيدية بالسلالات			عدد الأوعية البكنيدية/سم٢ من سطح الورقة		
	G-273	SF-419	SF-423	G-273	SF-419	SF-423
U. necator	٩٩,٧	٩٥,٨	٩٩,٨	١٢٧٠	١٧٩٠	١٦٤٠
S. macularis	٩٣,٧	٩٧,٧	٩٨,٠	٥٦	٢٦	٥٣
S. fuliginea	٣٩,٤	٢٨,٤	٤٤,٦	٤٢٠	١٨٠	٤٩٠

ملاحظات على الجدول:

كونيديات الفطر *A. quisqualis* (٢ x ١٠^{٦}/مل فى ٠,٠٢٪ Tween 20) كانت ترش حتى يسيل المحلول من على سطح الجزء النباتى. مستعمرات الفطر *U. necator* ذات عمر سبعة أيام وكذلك فطريات البياض الدقيقى الأخرى على الأوراق. كانت تحفظ الأوراق فى الظلام لمدة ٢٤ ساعة ثم يجرى عليها الاختبار بعد ٩ أيام.

نمو الفطر *A. quisqualis* على فتائل القطن:

عند تنمية الفطر *A. quisqualis* على فتائل القطن، يعطى نمواً جيداً وتتكون أوعية بكنيدية وتنطلق جراثيم كونيدية فى العزلات الثلاثة G-273 ، SF-419 ، SF-423، فى حين أن نمو الفطر على الجوت Jute يكون ضعيفاً بالنسبة لجميع العزلات (جدول رقم ٣٠). أما بالنسبة لمادة السيزال Sisal، فإن النمو يكون متوسطاً لجميع العزلات باستثناء العزلة SF-419 التى تنمو بضعف شديد على هذه المادة.

إن خلط مستخلص نخالة القمح مع البيئة التى ينمو عليها الفطر *A. quisqualis* يحسن نمو السلالة G-273. يكون عدد الجراثيم الكونيدية المنطلقة من فتائل القطن زائداً بنسبة ٠,٤٥ x ١٠^{٦}/سم٢ فى بيئة MEA (مولت اكستراكت آجار) ويكون على بيئة WBMA (نخالة قمح + مولت + آجار) بنسبة ٦,١٥ x ١٠^{٦}/سم٢.

جـدول رقم ٣٠ : نمو الفطر *A. quisqualis* على بيئة MEA تم نقله على ثلاث مـزارع فتيلية منقوعة فى بيئة MEA بعد ١٨ يوماً على حرارة ٢٤°م.

العزلة	المادة الأساسية التى ينمو عليها الفطر	النمـــــــو	
		عدد الأوعية البكنيدية/سم٢	عدد الجراثيم الكونيدية X ٦١٠/سم
G-273	قطن	٩٥	٠,٥٢
	سيسل	٣٣	٠,٢٦
	جوت	١٠	٠,٠٣
SF-419	قطن	١٤٠	٠,٦
	سيسل	٠٠٣	٠,٠٢
	جوت	صفر	٠,٠٣
SF-423	قطن	١٩٩	٠,٣٨
	سيسل	٦٣	٠,١٩
	جوت	٠٦	٠,١٦

ملاحظات على الجدول:

بيئة MEA تتكون من ٦٠ غرام مستخلص مولت + ٢ غرام إسبراجين DL + ١ غرام اجار + ١٠٠٠ مل مـاء، pH 6.5. كانت الجراثيم الكونيدية ١٠^{٦}/مل تعـوم فى ٨ مل من ٤٪ MEA مع ٠,٢٪ اسبرجين DL.

طول الفتيلة ١م وكانت تغسل لمدة ساعتين فى ماء معقم، وتوضع فى دوارق ثم تعقم. كانت تعد الأوعية البكنيدية على طول ١٠سم من الفرع. الكونيديات المنطلقة كانت توضع فى ٢٠ مل ماء معقم وتضاف إلى الدوارق المحتوية مزرعة الفتيلة ثم تعد بجهاز عد كرات الدم.

استعمال فتائل القطن في الحقل

فى التجارب التى أجريت سنة ١٩٩٥ من قبل Falk *et al* تبين أنه فى جميع التجارب خفضت عدد الأوراق المصابة بالمرض فى كل فرع (جدول ٣١). تكون شدة الإصابة على الأوراق التى عليها فطر البياض الدقيقى قد انخفضت تحت مستوى الكنترول باستعمال فتيلة واحدة على الفروع ذات طول ١٥سم عند وضعها فى قاعدة الفرع، ولكن أفضل نتائج يمكن الحصول عليها عند وضع الفتيلة فى فترة أولى مراحل نمو الفرع ذى الطول ١٥سم، وتوضع فتيلة أخرى عند ابتداء مرحلة التزهير. كذلك فإن إصابة الثمار تنخفض عند وضع الفتيلة

على الفرع طول ١٥سم. يجب ألا يتأخر وضع أول فتيلة حتى بداية التزهير، لأن ذلك يؤدى إلى تقليل كفاءة الفطر المضاد فى المقاومة الحيوية.

أما عن انتشار وحيوية الجراثيم الكونيدية المنطلقة من الفتيلة القطنية، فقد أمكن اكتشاف وجود جراثيم كونيدية للفطر *A. quisqualis* خلال فترة سقوط الأمطار بعد ثلاثة شهور من وضع هذه الفتائل فى الحقل واستمر تواجدها لغاية آخر موسم الشتاء. يبدأ انطلاق الجراثيم الكونيدية من الفتائل بعد وصل الفتائل بيومين. تكون حيوية الجراثيم الكونيدية المنطلقة من الفتائل كاملة ولا تنخفض بتقاوم زمن الانطلاق. يمكن أن تبقى الجراثيم حيوية فى الفتيلة لمد ١-٢ شهر.

جدول رقم (٣١): تثبيط مرض البياض الدقيقى فى العنب باستعمال العزلة G-273 من الفطر *A. quisqualis* النامية على مزرعة فتائل من القطن والمعلقة مع عروش العنب

المعاملـــة	عدد الأوراق المصابة فى كل فرع	٪ سطح الورقة المصابة بالمرض	٪ سطح عنقود العنب المصاب بالمرض
كنترول	١٠,٢	١٩,١	٣٨,٢
أفرع طول ١٥سم	٧,٥	١٤,٤	١٢,٤
أفرع طول ١٥سم + تزهير	٥,٢	٦,٦	١٥,٧
أزهار	٤,٤	١٢,٧	٣٤,٩

ملاحظات على الجدول:

سلالة G-273 من الفطر A. quisqualis كانت تنمى على فتائل القطن المنقوعة فى بيئة نصف صلبة من MEA، والتى بعد ذلك تجفف ثم تعلق على أفرع العنب، عندما تكون النموات الحديثة بطول ١٥سم. ومرة ثانية توضع هذه الفتائل عند التزهير، أو أن توضع هذه الفتائل عند فترة التزهير فقط.

كانت تقدر نسبة الإصابة فى الأوراق فى أول شهر يوليو.

كانت تقدر نسبة الإصابة على العنقود فى أواخر شهر أغسطس، وتحدد الإصابة على عشرة ثمرات من كل عنقود.

٢- الفطـــر *Tilletiopsis* spp.

هناك عديد من الأنواع تتبع هذا الجنس، قد ذكر بأن لديها صفات التضاد ضد أمراض البياض الدقيقى على عديد من النباتات. كان كل من Hock & Providenti سنة ١٩٧٩ أول من ذكـرا بأن هناك حـالة تضـاد بين *Tilletiopsis* sp والبياض الدقيقى على الخيار المتسبب عن *S. fuliginea* ثم بعد ذلك وفى سنة ١٩٨٤ أكد كل من Buchenauer & Hij-wegen أن أنواع *Tilletiopsis* تتواجد دائماً على النباتات المصابة بأمراض البياض الدقيقى ولها علاقة مع جميع أفراد العائلة Erysiphaceae.

أجريت تجارب معملية كثيرة على هذا الفطر، وكانت نتائجها ممتازة فى مقاومة أمراض البياض الدقيقى، إلا أن ما يؤخذ على هذا الفطر هو انخفاض كفاءته بشدة تحت الظروف ذات الرطوبة المنخـفـضـة. فى السنوات الأخـيـرة فـإن Urquhart *et al* سنة ١٩٩٤استطاع أن يعزل عديداً من سلالات *Tilletiopsis* spp. من أوراق النباتات المصابة بالبياض الدقيقى، ولقد أثبت هؤلاء العلماء أن هناك نوعين، هما:

1- Tilletiopsis washingtonensis Nyland, *2- T. pallescens Gokhale* عند استعمالها بمعدل ١ x ١٠^٨ جرثومة كونيدية/مل يمكن أن يخفضا بشكل معنوى حدوث مرض البياض الدقيـقى فى الخيار تحت ظروف الصوبا الزجاجية. كـذلك فإن Knudsen & Skou سنة ١٩٩٣ ذكرا بأن هناك مقاومة جيدة لبعض أمراض البياض الدقيقى باستعمال *T. albes-cens*، ولكن يجب توفر الرطوبة بنسبة عالية للحصول على كفاءة عالية فى مقاومة المرض.

يعتبر *Tilletiopsis pallescens* خميرة شبيهة بالفطر، تتواجد طبيعياً على أوراق بعض النباتات المصابة بالبياض الدقيقى، وقد تبين أن هذه الخـميرة ذات كفاءة عالية جداً فى مقاومة البياض الدقيقى على نباتات الخيار تحت الظروف التجارية فى الصوبات الزجاجية. إن هذه الخميرة (تطلق جراثيمها باندفاع) تخفض نمو الهيفات وتخفض تجرثم الفطر *S. fu-liginea*.

وجد أن النباتات التى تعامل بمعلق جراثيم *T. pallescens* لها تأثير معنوى فى خفض تكشف البياض الدقيقى على النباتات المعاملة عند مقارنتها بالكنترول. فى إحدى التجارب (التى بدأت فى ٢٧ يونيو إلى ١١ يوليو) وجد أن كثافة الجراثيم الكونيدية للفطر الممرض قد

إنخفضت بحوالى ٥٧٪، من ٢٩,٧ x ١٠^٣ إلى ٠,٨ x ١٠^٣ خلية/سم^٢ من أسطح أوراق النباتات التى عوملت ثلاث مرات بمعلق جراثيم الفطر المضاد، عند ما أخذت العينات بعد أسبوعين من الرش الأول، كان الخفض ٥٧,٣٪ فى نباتات الكنترول. خلال هذه التجربة كانت الحرار ٢٤,٥°م والرطوبة النسبية ٦٠٪. أما فى تجربة أخرى (من ١٢ سبتمبر إلى ٢٦ سبتمبر) كانت الكثافة الأولية للجراثيم الكونيدية للفطر الممرض قد إنخفضت حوالى ٩٩٪ (من ١٨,٨ x ١٠^٣ إلى ٠,٢٤ x ١٠^٣ خلية/سم ٢من سطح الورقة) على النباتات المعاملة ثلاثة مرات بمعلق جراثيم الفطر المضاد، عندما أخذت العينات بعد أسبوعين من الرشة الأولى.

لقد اختبر فطر *T. pallescens* كعامل مقاومة حيوية ضد مرض البياض الدقيقى فى الورد المتسبب عن الفطر *Sphaerotheca pannosa* var. *rosae*. أجريت التجربة على نوع الورد المبقع *Rosa* sp. على شتلات ذات عمر سنة واحدة تحت الظروف التجارية فى الصوبا الزجاجية خلال فصل الصيف عندما يكون مرض البياض الدقيقى على أشده. خضعت النباتات المصابة بالمرض لواحدة من المعاملات الآتية: يستعمل فيها معلق جراثيم *T. pallescens* رشاً ثلاثة مرات بين الرشة والأخرى ٣-٤ أيام. استعمل الماء المعقم ثلاث مرات فى الكنترول.

الثانية : كان يستعمل معلق جراثيم الفطر مرة واحدة.

الثالثة : كان يستعمل راشح المزرعة دون جراثيم.

بعد أسبوعين من المعاملة يبدأ تكشف المرض، ثم تقدر كفاءة الفطر المضاد، عن طريق كثافة الجراثيم الكونيدية على عينات من الوريقات. كانت النتائج كالآتى:

تنخفض جراثيم (ينخفض التجرثم) البياض الدقيقى على النباتات المعاملة ثلاثة مرات بمعلق جراثيم الفطر المضاد من ٤٧٪ فى الكنترول إلى ٩٧٪ فى المعاملة. لايوجد هناك فرق معنوى فى كثافة الجراثيم الكونيدية بين النباتات المعاملة مرة واحدة بمعلق جراثيم الفطر المضاد والنباتات المعاملة مرة واحدة من راشح مزرعة الفطر. كان الخفض من ٧٨-٩٤٪ فى عدد الجراثيم الكونيدية.

فى هذه الدراسة تبين أن المعلق الجرثومى للفطر *T. pallescens* أو راشح المزرعة كلاهما يقوم بمقاومة حيوية ممتازة ضد فطر البياض الدقيقى فى الورد ولديه كفاءة فى المقاومة الحيوية للبياض الدقيقى تجارياً فى الصوبات الزجاجية.

إن كفاءة المقاومة الحيوية لهذا الفطر، يمكن أن تكون بسبب الإنزيمات أو مواد ناتجة من الميتابولزم أو عن فعل الاتحاد بين العاملين. إن نتائج استعمال راشح المزرعة يدل على وجود نشاط لإنزيم B-1,3 glucanase فى راشح المزرعة، وهذا يؤدى إلى القول بأن هذا الإنزيم له دور فى مقاومة البياض الدقيقى. أما عن دور المضادات الحيوية فى هذه المقاومة، فقد ذكر أنها تأتى فى المرحلة الثانية لتأثير *S. flocculosa* ودوره فى مقاومة أمراض البياض الدقيقى. كذلك فإن تأثير راشح المزرعة لوحده (دون وجود جراثيم) على نسبة تجرثم فطر البياض الدقيقى، يؤدى إلى القول بأن هناك مركبات تفرز فى هذا الراشح تكون مضادة للفطر الممرض. ولقد عزل Choudhury *et al* سنة ١٩٩٤ مادتين فعالتين ضد الفطريات وضد البكتيريا من راشح مزرعة الفطر *S. rugulosa* و *S. flocculosa*.

لاتظهر على النباتات أية أضرار عند استعمال معلق الجراثيم أو راشح مزرعة جراثيم الفطر المضاد المستعمل فى المقاومة الحيوية. يوصى دائماً باستعمال معلق الجراثيم ثلاثة مرات وذلك لوقاية النباتات طيلة موسم النمو من الإصابة بفطريات البياض الدقيقى، لأن الرشة الواحدة تقى النبات فترة قصيرة ويعود المرض للظهور.

٣- *Sporothrix* sp.

من أهم الأنواع التابعة لهذا الجنس هى:

1- *Sporothrix flocculosa* Traquair Show & Jarris

2- *Sporothrix rugulosa*

وهما من الخمائر التى تشبه الفطريات السطحية وقد أمكن عزلهما وتعريفهما سنة ١٩٨٨، وقد ثبت بأن لديهما قدرة كبيرة وفعالة ضد أمراض البياض الدقيقى خاصة فى الخيار. عند إختبار هذين الفطرين على أمراض البياض الدقيقى الأخرى، تبين أن لهما الكفاءة نفسها والتضاد نفسه ضد كثير من أمراض البياض الدقيقى خاصة على الورد، القمح،

البيجونيا. ولقد ذكر Hajlaaui & Belanger سنة ١٩٩٣ أن النوع *S. flocculosa* أقل فى متطلباته من الرطوبة من النوع *S. rugulosa* أو نوع الجنس *T. washingtoensis*. هذه النتيجة أدت إلى استعمال *S. flocculosa* بشكل واسع ضد أمراض البياض الدقيقى على معظم محاصيل الصوبات الزجاجية، حيث استعمل (هذا الفطر) تجارياً وأعطى نتائج جيدة على الورد، حيث أعطى نتائج تشابه بل وأفضل من نتائج استعمال المبيد الفطرى Dodemorph acetate (Meltatox) والكبريت الميكرونى المسمى Micro-Niasul. بالإضافة لذلك فإن بعض التجارب أثبتت أن هذا الفطر يحسن من نوعية ازهار الورد، وذلك نتيجة تجنب الآثار الجانبية الضارة والسامة للنبات من قبل المبيدات الفطرية.

إن هذا الجنس فى طريقه للتسجيل عالمياً والتصريح باستعماله تجارياً، والذى يبذل الجهد فى ذلك هم العلماء الكنديون كما ذكرنا سابقاً ، فإن هذه الخميرة الشبيهة بالفطر مضادة لكثير من أفراد فطريات البياض الدقيقى وخاصة البياض الدقيقى فى الورد المتسبب عن الفطر *Sphaerotheca pannosa* Var. *rosae* والبياض الدقيقى فى النجيليات المتسبب عن الفطر *Erysiphe graminis* f. sp. *tritici* والبياض الدقيقى فى الخيار المتسبب عن *Sphaerothe-ca fuliginea*.

تعتمد كفاءة هذا الفطر فى المقاومة الحيوية على الرطوبة النسبية السائدة فى الصوبا الزجاجية أو فى الحقل أثناء الاستعمال، وبالتالى فإن الصوبا الزجاجية التى يتوفر فيها رطوبة متحكم بها، تكون فيها فعالية الفطر المضاد عالية ومفيدة على مستوى تجارى. ولقد تبين فى إحدى التجارب على البياض الدقيقى فى الورد فى الصوبا الزجاجية أن كفاءة *S. flocculo-sa* فى المقاومة الحيوية لهذا المرض تتفوق على كفاءة بعض المبيدات الفطرية الكيماوية. وعلى أية حال فمن المهم أن نذكر أنه فى حالة الظروف البيئية التى تكون فيها الرطوبة النسبية أقل من ٦٠ ٪، فإن حدوث البياض الدقيقى يزداد بسرعة وذلك لقلة كفاءة الكائن المضاد الذى يحتاج رطوبة نسبية عالية جداً.

إن معاملة المعلق الجرثومى للفطر بـ ١ ٪ بارافين تكون فعالة فى تخفيض حدوث مرض البياض الدقيقى. هذا التكنيك قد ذكر بواسطة Philipp *et al* سنة ١٩٩٠ وذلك ليخفف من متطلبات الرطوبة العالية خاصة فى مقاومة البياض الدقيقى فى الخيار فى الحقل، وتظهر هذه المعاملة بكفاءة ١٠٠ ٪ مع الفطر *A. quisqualis*، كذلك فإن هؤلاء الباحثين لم يجدوا

أية آثار جانبية أو سامة لاستعمال البارافين، فى حين أن Jarvis سنة ١٩٩٢ ذكر أن هناك بعض أعراض التسمم تظهر فى نباتات الخيار فى الصوبا الزجاجية، وأن Pelanger سنة ١٩٩٤ لاحظ تسمماً بسيطاً على نباتات الورد المعاملة بالبرافين. هناك بعض الباحثين ذكروا استعمال بعض الزيوت وبعض المواد المخفضة لعملية النتح يمكن استعمالها لتخفيض حدوث أمراض البياض الدقيقى بالمقاومة الحيوية.

لقد استطاع Belanger & Benyagoub سنة ١٩٩٥ اكتشاف سلالات جديدة من الفطر المضاد *S. flocculosa* مقاومة للمبيدات الفطرية التى تستعمل على نباتات الورد لمقاومة البياض الدقيقى وخاصة المبيد الفطرى الجهازى Meltatox (Dodemorph - acetate). إن هذه السلالة قادرة على النمو وتكوين مستعمرات على بيئة صلبة معاملة بمقدار ٣٠٠ ميكوغرام/مل من المبيد الفطرى، هذا التركيز يزيد عن الجرعة الموصى بها بحوالى ٥٠٪، وهذه الكمية تثبط نمو السلالة الأصلية تثبيطاً تاماً. هذه الميزة فى المقاومة قد حصل عليها بعد اجراءات معملية عديدة. عند إختبار هذه السلالة لمقدرتها على المقاومة الحيوية، فوجد أنها قادرة على أن تستعمر ميسيليوم الفطر *S. fuliginea* مسبب البياض الدقيقى على الخيار بكفاءة تشبه كفاءة السلالة الأصلية الأم، بالإضافة إلى أن السلالة الجديدة لم تكن مقيدة فى مقدرتها على مقاومة البياض الدقيقى عندما تستعمل ممزوجة مع المبيد الفطر Meltatox، بينما السلالة الأصلية لاتكون قادرة على التطفل أو استعمار الكائن الممرض مع وجود المبيد الفطرى السابق. هذه السلالة الجديدة سوف يكون لها تطبيقات عملية واسعة فى المقاومة الحيوية لأمراض البياض الدقيقى فى المستقبل، يطلق على هذه السلالة اسم SF-RM.

الفصل الخامس

الاستعمال التجارى للكائنات الحية الدقيقة في المقاومة الحيوية

أولاً: إدخال الكائنات الحية الدقيقة في مجال المقاومة الحيوية
Introduce Microorganisms For Biological Control

مقـــدمة:

بدأت فكرة المقاومة الحيوية فى العشرينات من هذا القرن، حيث كانت تهتم بخفض الإصابة المرضية نتيجة إضافة المواد العضوية إلى التربة. إلا أن الاهتمام الكبير باستعمال الكائنات الحية الدقيقة فى المقاومة الحيوية لأمراض النبات بدأ منذ أوائل الستينيات من هذا القرن، حيث كانت تضاف الكائنات الحية الدقيقة إلى التربة المعقمة أو غير المعقمة فى التجارب المعملية، وفى السنوات الأخيرة ظهرت مبيدات حيوية Biocide تستعمل على نطاق تجارى فى المقاومة الحيوية.

مما يعمق اهتمام العلماء فى المقاومة الحيوية لمسببات أمراض النبات، النداءات التى تدعو لتقليل الاعتماد على المبيدات الكيماوية فى الزراعة، كما أن هناك ضرورة كبيرة للمقاومة الحيوية، خاصة فى الأمراض التى يصعب مقاومتها بالمبيدات الكيماوية من ناحية عملية أو اقتصادية. مثلاً لم تكن هناك مقاومة عملية أو كيميائية اقتصادية لمقاومة مرض التدرن التاجى المتسبب عن البكتيريا *Agrobacterium tumefaciens*، حتى أمكن إستعمال البكتيريا *A. radiobacter* K-84 للمقاومة الحيوية لهذا المرض كذلك لم تكن هناك طرق مقاومة كيميائية لمقاومة البكتيريا مكونة نواة الجليد Icu-nucleation إلا باستعمال البكتيريا المضادة لتكوين الجليد Ice-minus، وذلك لتخفيف أضرار الثلج على البطاطس. أحياناً يمكن تبرير إستعمال المقاومة الحيوية على أساس كفاءتها فى تخفيف الأضرار دون النظر إلى التكاليف الاقتصادية.

إن تعمق الاهتمام بالمقاومة الحيوية باستعمال الكائنات الحية الدقيقة، هو أيضا استجابة لتوفر وسائل وأدوات تكنولوجية حديثة ملائمة خاصة للكائنات الحية الدقيقة. فيما عدا

النباتات المقاومة للأمراض، فإن عوامل المقاومة الحيوية المتاحة للاستعمال ضد أمراض النبات ومعظم النيماتودا هى كائنات حية دقيقة. زيادة على ذلك فإن النباتات والكائنات الحية الدقيقة يمكن الآن أن تعامل معاملة خاصة لتعطى الميكانزم نفسه فى المقاومة الحيوية، كما هو الحال بإستعمال جين Bt لإنتاج Delta endotoxin المنقول من البكتيريا *Bacillus thuringiensis* إلى النباتات المقاومة لبعض الحشرات. يمكن الآن التفكير فى الكائنات الحية الدقيقة ذات الكفاءة فى تثبيط الكائنات الممرضة كمصدر عال للجينات؛ لادخالها فى مقاومة الأمراض.

يوافق معظم الباحثين على أن مقاومة الكائنات الممرضة بواسطة الأراضى الكابحة، الدورة الزراعية، وتحسين تأثير المادة العضوية، كلها مبنية على استغلال أو ادارة التجمعات الطبيعية للكائنات الحية الدقيقة لمقاومة الأمراض والنيماتودا ، وهى بالتالى أحسن الأمثلة فى المقاومة الحيوية لأمراض النباتات بالكائنات الحية الدقيقة. إن الاصطلاحات مثل General suppression، و Antagonistic potential للتربة، تستعمل لوصف المقاومة الحيوية للكائنات الممرضة بواسطة التجمعات الطبيعية للكائنات الحية الدقيقة فى التربة. زيادة على ذلك، فإن المقاومة الحيوية بواسطة الكائنات المضادة المستوطنة التربة، عادة لاتحتاج زيادة فى التكاليف، عدا عن تكاليف إجراءات الإدارة المطلوبة لابتداء أو الاستفادة من المقاومة .لغاية سنة ١٩٩٧ فإن الكائنات المضادة المستوطنة التربة لم يطرأ عليها أو تضخع لإشراف منظم. كذلك أيضاً ، فإن هناك حدوداً لمعرفتنا فى كيفية استعمال هذه التجمعات الطبيعية للكائنات الحية الدقيقة، لذلك فان المقاومة الحيوية للكائنات الممرضة النباتية سوف تعتمد أكثر فأكثر على ادخال واستعمال الكائنات الحية الدقيقة. وعلى العكس مما هو شائع، فإن عوامل المقاومة الحيوية الميكروبية المدخلة إلى التربة، لاتميل إلى البقاء الدائم حيث لاتتوطد طبيعياً ولاتبقى فى تجمعات أكبر مما يحدث لها طبيعياً ، لذلك يجب إضافتها باستمرار إلى التربة لكى نضمن مقاومة حيوية ناجحة. إن معظم هذه الكائنات الحية يجب أن تضاف مرة بعد أخرى حيث ومتى يحتاج إليها. يمكن القول بأن هذه الكائنات الحية الدقيقة المستعملة فى المقاومة الحيوية، عبارة عن مبيدات آفات حيوية، فيجب أن تطبق عليها شروط السلامة والأمان التى تطبق على المبيدات الكيماوية.

المقاومة الحيوية بإدخال الكائنات الحية الدقيقة مرة واحدة أو على فترات

هناك بعض الأمثلة على المقاومة الحيوية لأمراض النبات التى تظهر نتائجها بعد انطلاق لقاح عامل المقاومة الحيوية المدخل إلى التربة مرة واحدة. من هذه الأمثلة مرض القشرة السوداء على المجموع الخضرى لنبات المطاط المتسبب عن *Phyllachora huberi*، والذى ذكر على أنه يصبح فى حالة توقف وتثبيط بعد إضافة المتطلفات الفطرية *Cylindos-porum concentricum* و *Dicyma pulvinata*. كذلك المقاومة الحيوية للفطر *Sclerotina minor* بالمتطفل *Sporidesmium sclerotivorum*، على زراعات الخس فى أمريكا، هو مثال آخر لتثبيط تجمعات الكائن الممرض النباتى لأكثر من موسم نمو واحد، وذلك بعد إدخال الفطر المضاد مرة واحدة إلى التربة الطبيعية. وعلى أية حال فإن أفضل مقاومة حيوية للفطرية المذكورين سابقاً فى حقول الخس، وقد تم الحصول عليها باستعمال الفطر المضاد على فترات منتظمة، عنه فى حالة استعماله مرة واحدة. إن كلا المثالين يتلائم جيداً مع الاعتبار الذى يسمى Augmentation (الزيادة التراكمية) والذى يفضل انطلاق الأعداء الطبيعيين للآفة من الخارج على فترات منتظمة.

هناك أمثلة أخرى كثيرة للمقاومة الحيوية باستعمال المتطفلات الفطرية Mycopara-sites، قد درست، ولكن قليلاً منها يمتلك خاصية البقاء الذاتى بعد انطلاقة فى الحقنة الأولى. حتى فى الفطرين اللذين درس تطفلهما دراسة وافية، فإن *Conithyrium minitans* الذى يستعمل لاستبعاد سكلوروشيات الفطر الممرض *S. sclerotiorum*، والفطر *Ampelomyces quisqualis* الذى يستعمل لكبح جماح فطريات البياض الدقيقى (من حيث إنتاج اللقاح أو بقاءه حياً)، فإن هذين المتطفلين يجب أن يستعملا مرة بعد أخرى لكى يبقى تأثيرهما فعالاً. أما المتطفلات الفطرية مثل *Sphaerellopsis filum* و *Scytalidiun uredinicola*، فإنها تتواجد طبيعياً وبشكل دائم على البثرات التيليتية للفطر *Cronartium strobilinum* على نبات البلوط وعلى التدرنات الاسيدية للفطر *C. quercuum* f.sp. *fusiforme* على الصنوبر، بالترتيب. أما الفطر *Tuberculin maxima*، فإنه يتواجد على شقوق بثرات الصدأ *Cronar-tium ribicola* على الصنوبر الأبيض ولايوجد أى دليل يؤدى إلى القول بأن مستويات تواجد هذه الفطريات طبيعياً يكون مرتفعاً بشكل معنوى دون إعادة تكرار استعمال هذه المتطفلات الفطرية.

التدرن التاجى المتسبب عن البكتيريا *Agrobacterium tumefaciens*، يقاوم بإضافة البكتيريا المتطفلة *A. radiobacter* strain k-84 مرة واحدة على الجذور العارية للغراس المنقولة، مثل، الخوخ، اللوز، الورد والتفاح، وبعض النباتات الأخرى القابلة للإصابة سواء نباتات زينة أو أشجار فاكهة، قبل زراعتها. وبالمثل فإن عفن جذر الصنوبر يقاوم بإضافة جراثيم *Phlebia gigantea* مرة واحدة إلى سطوح القارومات المقطوعة حديثاً من الصنوبريات. فى كلتا الحالتين فإن المقاومة الحيوية هى السائدة فى النباتات المعاملة ولكن لايوجد دليل على أن عوامل المقاومة الحيوية الداخلة تنتشر إلى الأشجار غير المعاملة أو القارومات المقطوعة، مع أن الأشجار غير المعاملة أو القارومات يمكن أن تستعمر بواسطة اللقاح أو السلالات التى تحدث طبيعياً من هذه الأنواع المستعملة نفسها فى المقاومة الحيوية.

هل معاملة النباتات مرة واحدة بالكائنات الحية الدقيقة المضادة لمقاومة أمراض النبات متشابهة مع استعمال الأعداء الطبيعين مرة واحدة لمقاومة الحشرات أو الأعشاب؟؟. الإختلاف يكون هنا بعد حقن النبات، فإن الكائنات الحية الدقيقة تنتشر فوق و/أو فى النبات أو فى أجزاء النبات المحقونة، بينما الأعداء الطبيعين للحشرة أو للحشائش، فإنها تنتشر فوق مساحة كبيرة من الحقل. والإجابة العملية لهذا السؤال تظهر من سلوك وزارة الزراعة الأمريكية، حيث إن وكالة الوقاية الحكومية (EPA) تعامل الكائنات الحية الدقيقة التى تستعمر النبات أو أجزاء النبات على أنها مبيدات آفات ميكروبية Microbial Pesticides وتنظمها وتشرف عليها وكالة معينة. وكما سيأتى ذكره، فإن هذه الوكالة تنظر إلى الكائنات الحية الدقيقة المضادة كمبيدات آفات، هذه الوكالة تضع تقييداً كبيراً للاستعمالات الواسعة للكائنات الحية الدقيقة فى المقاومة الحيوية. إن الأمثلة على المقاومة الحيوية للآفات الحشرية والأعشاب بالكائنات الحية الدقيقة قليلة الاستعمال. ابتداءً من سنة ١٩٨٧ كانت هناك أربعة أمثلة ناجحة ضد الآفات الحشرية واثنان ضد الأعشاب الضارة، بالمقارنة مع استعمال ٤٢١ حشرة لمقاومة الحشرات و ١١٣ حشرة لمقاومة الحشائش.

المقاومة الحيوية بإدخال الكائنات المضادة بصفة متكررة

يبدو واضحاً أن المقاومة الحيوية الفعالة للكائنات الممرضة النباتية، بإدخال الكائنات الحية الدقيقة، سوف تعتمد على إضافة عوامل المقاومة الحيوية، حيث ومتى يحتاج إليها فى

مقاومة الكائن الممرض المستهدف. إن الوقت المناسب لانطلاق الأعداد الهائلة من الكائن المستعمل فى المقاومة ومقدرته على الزيادة، هى خطوات ضرورية بشكل أساسى كوسيلة لتأسيس وبقاء هذه الكائنات المضادة التى أختيرت بدقة أو تكشفت خلال التحورات الجينية لتتكيف مع المكان والظروف المناسبة. ليس هناك شك فى أن ازدياد كفاءة هذه الطريقة قد ولدت نتيجة الانطلاقة الجديدة فى الأبحاث فى جميع أنحاء العالم على مئات الأفراد والأنواع وتحت الأنواع والسلالات، التى أظهرت تضاداً فى التجارب المعملية والحقلية ضد كائنات ممرضة نباتية، والتى إتخذت كوسيلة فى المقاومة الحيوية سواء ضد النيماتودا أو الفطريات.

هناك سؤال مهم، وهو على الرغم من التجارب العلمية العديدة المذكورة فى المراجع العلمية على المقاومة الحيوية لأمراض النبات بالفطريات المضادة التى تضاف باستمرار كلما لزم الأمر، إلا أنه فى الحقيقة، هناك أعداد قليلة من الكائنات الحية الدقيقة التى تستعمل فعلاً فى المقاومة الحيوية لأمراض النبات؟؟

للإجابة عن هذا السؤال ذكر Baker سنة ١٩٨٦ أنه لكى يكون هناك استعمال واسع للكائن الحى فى المقاومة الحيوية، يجب أن يكون هناك إلمام شامل عن ميكانيكية المقاومة الحيوية التى يعتمد عليها الكائن المضاد وكفاءتها ومردودها الاقتصادى بالنسبة لطرق المقاومة الأخرى. هناك سبب آخر هو عدم الإلمام التام بالظروف البيئية المناسبة لجميع الكائنات، التى تعطى نجاحاً فى المقاومة الحيوية فى المعمل، ولم تستعمل على نطاق واسع فى الطبيعة. كذلك فإن الباحث يستطيع الحصول على نتائج معملية ناجحة فى المقاومة الحيوية لبعض الممرضات النباتية، إلا أن هذا النجاح يتأخر تطبيقه أو يمنع استعماله سواء لأسباب تنظيمية حكومية أو تطبيقية فى الحقل، أو للنظر إلى أو اعتبار الكائنات التى تستعمل فى المقاومة كأنها مواد كيماوية، يجب تطبيق الشروط نفسها التى تطبق على المواد الكيماوية قبل استعمالها.

هل الكائنات الدقيقة المضادة نماذج كيماوية أو حيوية ؟

إن معاملة الكائنات الدقيقة التى تستعمل فى مقاومة الآفات أو الأمراض كمعاملة المبيدات الكيماوية وتفضيل ذلك على إعتبارها نماذج كائنات حية، يبعدها عن الوضع

المناسب لها. إن هذا الاعتبار كان له أساس إنطلق منه وبنى عليه، هذا الأساس هو منتجات البكتيريا *Bacillus thuringiensis* والذى يسمى (Bt). إن مادة الـ Bt أعطت نجاحاً رائعاً فى مقاومة الحشرات، الا أن هذه المادة عليها بعض المآخذ من ناحية صحية مما سبب النظرة اليها كأنها مواد كيماوية، ولكن من المحتمل أن هذا سوف لايظل قياساً فى المستقبل بالنسبة للمقاومة بالكائنات الدقيقة كذلك فان ال Bt تعمل كمادة حية أو ميتة.

إن النظر إلى الكائنات الحية الدقيقة وكأنها كيماويات له ما يدعمه إلى حد ما، وذلك للأسباب الآتية:

١- عند إضافة هذه الكائنات باستمرار، عادة ما تستعمل فى تركيبات ومعها مواد مساعدة.

٢- تضاف هذه المواد أثناء الإستعمال بأجهزة مشابهة، إن لم تكن مطابقة لتلك التى تستعمل مع الكيماويات.

٣- هناك عامل آخر يدعم هذه النظرية هو الاهتمام والتأكيد على فعل المضادات الحيوية المنتجة بواسطة الكائنات الحية الدقيقة، والتى تعتمد عليها ميكانيكية المقاومة الحيوية.

هناك كثير من طرق المقاومة الحيوية لاتعتمد على هذه النقاط الثلاثة المذكورة سابقاً، مثل المقاومة الطبيعية فى العائل أو المقاومة المكتسبة، والتى يمكن أن تفسر على أساس أنها ميكانيكية كيماوية، وعلى الرغم من ذلك فإن الكائنات المضادة هى فقط التى تسمى مبيدات آفات حيوية Biopesticides.

هناك اختلاف كبير بين المنتج الطبيعى المستخلص من الكائن الدقيق (أو النبات) والمضاف مباشرة كمادة مبيدة للآفات، والمنتج الفعال حيوياً المتكون سواء عن طريق الجينات أو المصنع بطريق حيوى فى الخلايا أو أنسجة الكائن المستعمل فى المقاومة الحيوية، والذى يتفاعل مع الكائن الممرض النباتى. إن البكتيريا *Pseudomonas fluorescens* سلالة *2-79* مثبطة للمرض الماحق فى القمح المستبب عن الفطر *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* فى منطقة جذر القمح؛ وذلك لقدرتها على إنتاج مضاد حيوى Phenazine-1-Carboxylate. ولقد ثبت فى كثير من التجارب أن هذه السلالة تثبت نفسها فى التربة كأنها كائن دقيق داخل فى منطقة الرايزوسفير للقمح فى طور الثلاثة أوراق، وتنتج حوالى ٥٥-٨٠ ملغ من المضاد الحيوى Phenazine فى كل هكتار. حتى إذا كان إنتاج

المضاد الحيوى زيادة على ذلك عدة أضعاف، والذى دائماً يؤكد زيادة فعالية المقاومة الحيوية. إن كمية المضاد الحيوى المفرز، مهما ازدادت فإنها ستبقى أقل من نصف أو ربع المادة الكيماوية Triadimefon (Baytan) المستعملة كمعاملة بذور لمقاومة المرض. الكائنات الدقيقة التى تعطى كيماويات، أكثر وفراً من الناحية الاقتصادية بالمقارنة مع ما يدفعه المزارع عند استعمال مبيدات الآفات سواء بالنسبة للتغطية الجزئية أو الشاملة للنبات.

إن إحدى الاعتقادات الخاطئة والتى تنظر إلى الكائنات الحية المستعملة فى المقاومة الحيوية وكأنها كيماويات وليست مواد حية، خاصة إذا كانت السلالة المستعملة تعمل ضد مرض نباتى واحد أو عدة أمراض على المحصول نفسه أو محاصيل أخرى أو إذا دخلت فى المقاومة الشاملة مثل الكيماويات. إن كثيراً مما يسمى تقلب عوامل المقاومة الحيوية الميكروبية مبنى على أساس أن السلالة لاتعمل فى أى مكان تخضع فيه للتجربة. هناك بعض الأمور الغريبة التى تحدث فى المقاومة الحيوية للفطر *Pythium* مسبب مرض السقوط المفاجىء لنبات الحمص؛ حيث تستعمل البكتيريا الوميضة المتحصل عليها من منطقة الجذر فى القمح وليس من جذور البقوليات. فى حين أنه فى معظم الحالات تكون السلالات أكثر تخصصاً بنبات معين أو تربة معينة.

بالنسبة لأصناف المحصول المقاومة والتى تعامل كلية ببرامج المقاومة الحيوية، فإن جينات المقاومة للمرض، يمكن أن يكون عملها أكثر شمولاً وفى مدى متسع من الظروف البيئية والتى تكون مناسبة للنبات القابل للإصابة والكائن الممرض المستهدف. ولكن إلى حد نموذجى فإن هذه الجينات تنتشر فى أصناف كثيرة مختلفة من المحصول (كما هو ضرورى) لتناسب الظروف البيئية المختلفة.

إن الكفاءة الحقيقية للمقاومة الحيوية للميكروبات الممرضة النباتية، سوف تكون ذات فائدة فى الاستعمال، وذلك عند استعمال عدة سلالات متلائمة محلياً لكل مرض أو لكل محصول، ومن المحتمل لكل نوع تربة حيث تكون ممرضات الجذور مستهدفة، أو لكل مناخ حيث تكون ممرضات المجموع الخضرى مستهدفة. إن المقاومة الحيوية لمرض التدرن التاجى تعتبر استثناءً واضحاً، حيث يمكن الحصول على هذه المقاومة باستعمال سلالة K-84 من *A. radiobacter* فى ظروف بيئية مختلفة. وعلى العكس من ذلك فإن المقاومة الحيوية للمرض الماحق فى القمح Take-all ، باستعمال أنواع من البكتيريا الوميضة *Pseudomo-*

nas، يتطلب استعمال سلالات مختلفة من البكتيريا لأنواع الأراضى المختلفة. ولقد تبين فى التجارب أنه عند استعمال سلالات من طفرات Isogeneic بعضها قادر على إنتاج مادة الـ Phenazine (Phz^+) وبعضها غير قادر على إفراز هذه المادة (Phz^-)، فتبين أن نشاط السلالات الموجبة فى المقاومة الحيوية، يتناسب عكسياً مع النسبة المئوية لكل من الطمى، السلت، الحموضة القابلة للتعادل، المحتوى من الحديد والمنجنيز، المادة العضوية، الكربون الكلى والنيتروجين الكلى، وتتناسب إيجابياً مع النسبة المئوية للرمل، pH التربة، كبريت الكبريتات، نيتروجين الأمونيا، الصوديوم والزنك فى التربة. أما البكتيريا *A. radiobacter* K-84 ذات العلاقة القريبة جداً من المسبب المرضى *A. tumefaciens*، فإنها تضاف إلى الجروح مباشرة على أطراف الجذور العارية فى ساحة العدوى، وهذه من المتوقع أنها تعمل مثل أى مواد كيماوية أخرى تضاف للتربة لكى تزيد من نمو النبات العائل، بينما البكتيريا الوميضة *P. fluorescens* سلالة 79-2، عند مقارنتها مع البكتيريا الأولى نجد أن البكتيريا الأخيرة يجب أن تثبت نفسها فى منطقة الجذر (الرايزوسفير) منذ حقن البذور ونموها فى التربة بالإضافة إلى وجودها حول الجذر، فمن المتوقع أنها تكون أكثر حساسية للبيئة ولظروف التربة. إن اكتشاف الميكانيكية المتحكم بها وراثياً فى الكائنات الحية المستعملة فى المقاومة الحيوية سوف يحدث علاقة وإتصالاً قوياً بين الجذر وعامل المقاومة الحيوية (الكائن الحى الدقيق) وهذه العلاقة يمكن أن تنعكس إما فى الجذر أو فى عامل المقاومة الحيوية أو فى كليهما، وهذا سوف يفتح الطرق لكثير من التحسن فى المقاومة الحيوية للممرضات الجذرية، وهذا يعنى تقليل تأثير عوامل التربة التى تحد من كفاءة المقاومة الحيوية.

متطلبات تسجيل عوامل المقاومة الحيوية

تعتبر الولايات المتحدة الأمريكية، هى أولى بلاد العالم التى بدأت فى تسجيل عوامل المقاومة الحيوية، وفرض شروط خاصة فى هذه المواد، قبل طرحها فى الأسواق وتداولها، وتقارنها مع المبيدات الكيماوية، وذلك تجنباً لأية أضرار تلحق بالبيئة أو الإنسان. فى الولايات المتحدة وحسب القانون الذى وضعته (FIFRA) كل حرف اختصار للكلمات الآتية: Federal Insecticide, Fungicide and Rodenticide Act التى تدار بواسطة EPA والتى تعنى Environmental Protection Agency، فإن الكائنات الحية الدقيقة التى تدخل فى

مقاومة الآفات، إذا كانت سوف تدخل لمسافة أكبر من ١٠ أكار (٣,٩ هكتار) يجب أن تحصل على تصريح استعمال يسمى Experimental Use Permit (EUP) والمسجل فى القانون الفيدرالى رقم ٣٩ الفقرة ١١٣٠٦ . ويجب أن يتم تسجيل هذه الكائنات الحية الدقيقة كأنها مبيدات آفات ميكروبية Microbial Pesticide وذلك قبل عرضها للبيع. مثل هذه المتطلبات موجودة في أوروبا. هناك حوالى أربعة وعشرون عامل مقاومة حيوية ميكروبية شائعة الاستعمال ومسجلة فى الولايات المتحدة وتستعمل ضد أمراض. النبات وسوف نتكلم عن هذا بالتفصيل فى آخر هذا الفصل.

منذ سنة ١٩٤٧ لغاية ١٩٩٥ تم تسجيل ٢٤ كائناً حياً دقيقاً فى الولايات المتحدة لجميع أعمال المقاومة الحيوية للافات، وهذا التاريخ الذى بدأت فيه الـ FIFRA فى العمل، وهناك أعداد تقارب هذا العدد من الكائنات الحية الدقيقة قد سجلت فى مناطق أخرى من العالم. إن عملية تسجيل كائن حى دقيق، تحتاج إلى القيام بمئات التجارب على عوامل المقاومة الحيوية المرشحة لذلك، حتى نصل إلى الكائن الحى ذى الكفاءة العالية، وتحديد المرض أو النيماتودا المتخصص لها ويقاومها، وكذلك نوع النبات الذى يمكن وقايته من الكائن الممرض و/أو الظروف البيئية التى يعمل تحت تأثيرها الكائن المسجل.

مصفاة الفايفرا FIFRA Filter

من القوانين المنظمة لعمليات تسجيل عوامل المقاومة الحيوية، والتى تتبعها الفايفرا، هى التصفية. تبدأ هذه العملية حيث تستعمل أعداد كبيرة من الكائنات الدقيقة، التى أثبتت التجارب الأولية المعملية أن فيها نوعاً من المقاومة الحيوية، ويجرى عليها عمليات تصفية، بغض النظر عن التكاليف المالية وذلك بتجربتها على أعداد كثيرة من الأمراض، وتحت ظروف بيئية مختلفة وذلك ليثبت مدى فائدتها للزراعة والمجتمع، إذا ما استعملت على نطاق تجارى. ثم بعد ذلك تؤخذ الكائنات التى أثبتت جدارتها وتهمل الباقية، وهذا ما يسمى بالتصفية.

أما تسجيل عامل المقاومة الحيوية للاستعمالات التجارية يتطلب اختبارات رسمية لمعرفة مدى تأثير هذه المادة، لو أخذت بالفم أو عن طريق الجلد أو العين أو الجهاز التنفسى، وللإجراءات الصحية الأخرى تستعمل الحيوانات والأسماك. إذا كانت نتائج المرحلة الأولى

لاتظهر تأثيرات سيئة وأن عامل المقاومة الحيوية غير ممرض للنبات، عادة لايحتاج إلى اختبارات أخرى، ولكن الأمر يتطلب تصفية ثانية وهو الحصول على معلومات إضافية أخرى نتيجة التجارب الواسعة فى الحقل. أما التصفية الثالثة، فهذه تتطلب بعض المعلومات الأخرى الضرورية من حيث بعض الصفات البيولوجية. هذه المتطلبات تكون أقل مما هو مطلوب لمبيدات الآفات الكيماوية، وأن طول الوقت اللازم لكى يتم التسجيل، يكون أقل كثيراً مما يتطلبه المبيد الكيماوى بعد ذلك يخضع عامل المقاومة الحيوية إلى اختبارات معملية كثيرة تكلف كثيراً من الجهد والمال، وإذا ثبتت إيجابيته فى جميع هذه التجارب يوافق على تسجيله كمبيد حيوى ويسمح بتداوله فى الأسواق.

الغاء التسجيل Avoidance of Registration

هناك على الأقل ثلاث طرق فى الولات المتحدة، والتى بواسطتها يمكن للكائن الدقيق أن يستعمل فى مقاومة لآفات دون تصريح من الـ EUP ودون تسجيل. هذه الطرق هى:

١- أن يكون الكائن الدقيق (عامل المقاومة الحيوية) من السهل نقله بالحشرات أو النيماتودا.

٢- أن يكون عامل المقاومة الحيوية، موجوداً ومستوطناً فى التربة، كما فى حالة الكائنات التى تعيش داخل بذور الحشائش أو فى بقايات النبات، أو يمكن تشجيع نموه وزيادة نشاطه بالعمليات الزراعية.

٣- ألا يكون هناك أى ادعاء، بأن هذا الكائن الدقيق له دور فى المقاومة الحيوية، ولكن يمكن أن يكون له دور فى تحسين نمو النبات.

هناك بعض الإجراءات التى تستعمل فيها بعض النباتات فى المقاومة الحيوية، ولكنها معفاة من الإجراءات الرسمية القانونية المنظمة لاستعمال الكائنات الحية فى المقاومة الحيوية. هذه الإجراءات تشمل استعمال المحاصيل الخادعة والمحاصيل الصائدة التى تستعمل فى مقاومة بعض الأمراض وكذلك النيماتودا. لقد طور العلماء اليابانيون مقاومة حيوية رائعة لذبول الفيوزاريوم فى اليقطين القارورى Bottle gourd المتسبب عن الفطر *Fusarium oxysporum* f.sp. *legenariae* ، والتى تتضمن استعمال مخلوط من بقايات اليقطين مع نوع من أنواع البصل Welsh onion حيث يكون البصل كمحصول حاضن فقط ويحقن بالبكتيريا *Pseudomans gladioli* مثبطة لنمو فطر الذبول المذكور سابقاً. إن هذا الكائن

المضاد قد اختير من بين ٣٠٠ عزلة، وذلك لتأثيره المثبط الواسع ضد الفطر الممرض ولايسبب مرضه للبصل، إنه من الضرورى أن تتمازج جذور البصل والكائن المضاد (أحياناً يستعمل الثوم الصينى المعمر Chinese chive والذى أيضاً يدعم نمو الكائن المضاد) مع جذور اليقطين القارورى لتزويدها بمقاومة حيوية للبذول. يعتقد أن المضادات الحيوية المنتجة فى منطقة الجذر للبصل، تتسبب فى زيادة المقاومة. والآن هناك تساؤل فى المنظمة الدولية عن استعمال الكائنات الدقيقة فى المقاومة الحيوية فيما إذا كان عامل المقاومة الحيوية الميكروبى المزود بمحصول حاضن يمكن إعتباره معفياً من الإشراف القانونى المنظم للمقاومة الحيوية بالطريقة نفسها التى يعفى بها الكائن الحى الدقيق المحمول بالنيماتودا أو الحشرات.

الإشـــراف الدائـم Appropriate Oversight

بعض الكائنات الدقيقة المستعملة فى التضاد، من المفترض أنها سلالات إما شديدة أو غير شديدة المرضية من الكائن الممرض، وبالتالى فإن هناك نظرة مقنعة، بأن هذه الكائنات المضادة، هى كائنات ممرضة نباتية ضعيفة جدا لاتؤثر إلا على النبات فقط، وبالتالى فان هناك دليلاً مقنعاً لسلامة العاملين الذين يتعاملون يدوياً بهذه الكائنات، وكذلك سلامة المستهلكين الذين يتناولون الغذاء الناتج من نباتات عوملت بالكائنات المضادة خاصة بعد الجمع. ومن ناحية أخرى فإن ملاحظة سرعة الاختفاء الطبيعية للكائنات الحية الدقيقة المدخلة فى البيئة، سواء كان عن طريق تحولها من مكان إلى آخر، أو أنها تقيم مجتمعاتها وفق التوازن الطبيعى البيئى، وكذلك أيضاً فإن الكمية الكبيرة من هذه الكائنات المضادة تكون رمية أو فوق متطفلة متخصصة، كل ذلك يؤدى إلى القول بأنه لايمكن أن تقع أية حادثة ذات خطر معنوى من هذه العوامل للكائنات غير المستهدفة. كذلك فإنه من الصعوبة بمكان اجراء تطبيق عملى للقوانين المنظمة، بسبب الإنتشار الجديد الذى يحدث فى المنطقة حيث يكون التضاد الطبيعى للكائنات الممرضة عن طريق زيادة مؤقتة فقط فى الأعداد عن طريق إضافة الخلايا أو الميسيليوم عندما وحيث يحتاج إليها على النبات أو فى التربة.

يتم تشجيع الكائنات الدقيقة لتوطيد نفسها فى منطقة الجذر أو على الأوراق، والأكثر احتمالاً أن يكون ذلك على حساب كثير من الكائنات الدقيقة الأخرى، بالإضافة إلى الكائنات

الممرضة المستهدفة. فى بعض التجارب كان هناك ما يدل على التغيرات الكمية والنوعية فى التجمعات البكتيرية على جذور فول الصويا كاستجابة لإدخال البكتيريا المضادة *Bacil-lus cereus* فى منطقة الجذر. ولقد تبين أيضاً أن المضادات الحيوية المنتجة مرتبطة بمدة البقاء للسلالات (المنافسة فى منطقة الجذر) للبكتيريا الوميضة المنتجة لمادة Phenazine فى الأراضى المزروعة باستمرار قمحاً، نظراً لأن الطفرات غير المنتجة لمادة الـ Phenazine تقل بسرعة أكثر مما هو فى الاباء المنتجة لهذه المادة، يمكن أن يستنتج أن سلالات الآباء المنتجة لمادة الفينازين، تنجح فى البقاء حية عن طريق مقدرتها العالية فى تثبيط تجمعات أخرى فى منطقة الجذر. إن التغيرات فى تشكيل تجمعات الكائنات الحية الدقيقة من نوع إلى آخر كإستجابة لزيادة الأعداد المحقونة من الكائنات المضادة أمر محتوم لايمكن تجنبه.

من ناحية واقعية، فإن جميع العمليات الزراعية شاملة إدخال محاصيل جديدة، دورة زراعية، الحراثة والتسميد، فإنها تؤثر على الكائنات غير المستهدفة فى التربة أو أنها يمكن أن تتفاعل مع المحاصيل. من المواضيع وثيقة الصلة بسلامة البيئة حيث تدخل الكائنات الدقيقة فى التربة، تتعلق فى أى منهما يؤثر تأثيراً سالباً على الكائنات النافعة مثل الميكورهزا أو البكتيريا المثبتة للنيتروجين الجوى فى النباتات المعاملة. فى هذا المجال وجد أنه بالنسبة للخيار فإن البكتيريا الوميضة *Pseudomonas fluorescens* f.sp. *putida* المدخلة بكميات كبيرة فى التربة ليس لها تأثير لا على كفاءة اللقاح فى التربة ولا على التجمعات الجذرية بكلا النوعين من فطريات الميكورهزا VA.

إن الاقتراحات المذكورة فيما يلى هى أمثلة للترتيبات التى يجب أن تتبع لضمان سلامة وأمن عوامل المقاومة الحيوية، حتى نقلل أو نستبعد الاحتياج إلى التسجيل المبنى على قوانين قد وضعت للمبيدات الكيماوى.

١- نظراً لأن معظم الخطر المتوقع من الكائنات الدقيقة المنطلقة فى البيئة للمقاومة الحيوية للكائنات الممرضة النباتية، هو احتمال مقدرتها على احداث أمراض للنبات، فإن إخضاع عوامل المقاومة الحيوية الميكروبية سواء الدخيل أو المحلى الطبيعى لإشراف إجراءات الحجر الزراعى، يؤدى ذلك إلى حفظ الزراعة ضد الأمراض والآفات غير المروغوبة، وذلك عن طريق استبعاد الأنواع التى يثبت مقدرتها على إحداث أى ضرر للنبات مهما كان بسيطاً.

٢- جميع الطرق التى تستعمل فى تسجيل عوامل المقاومة الحيوية الميكروبية، تعتبر هذه العوامل كائنات مضادة تكون مترممة، وتفقد مقدرتها على النمو على درجات حرارة فوق ٣٥°م ولاتضاف إلى المواد الغذائية.

٣- الاهتمام بالمعلومات المنشورة فى المجلات العلمية والتى تتعلق بالميكروبات المستعملة فى المقاومة الحيوية وتطبيقها على السلالات والأنواع الأخرى القريبة منها فى التصنيف واستبعاد غير الملائم منها، هذا يقلل من الاعتماد على تسجيل عوامل المقاومة الحيوية التى تطبق على المواد الكيماوية.

إن المشرفين على زراعة بساتين الفاكهة والمحاصيل الحقلية والغابات، لديهم خبرة كبيرة جداً تتعلق بسلامة استعمال الكائنات الدقيقة فى المقاومة الحيوية. هذا يتضمن الخبرة فى استعمال Rhizobium والميكورهزا ولديهم تقارير رائعة عن سلامة استعمال هذه العوامل فى جميع أنحاءالعالم. هناك حالات خاصة تؤكد ضرورة أن يكون عليها إشراف خاص، فمثلاً ، عندما تضاف الكائنات المضادة إلى المنتجات الغذائية الطازجة. ولكن بشكل عام فإن الكائنات الدقيقة المستعملة فى المقاومة الحيوية لاتشكل خطراً كبيراً ولا صغيرا للبيئة أو المجتمع، وعلى أية حال فإن الأضرار التى تسببها الكائنات الدقيقة المستعملة فى المقاومة الحيوية (إذا كانت هناك أضرار) أقل جداً من الأضرار التى تسببها الأمراض المستهدف مقاومتها لو تركت بدون مقاومة.

إجراءات الاكتشاف وكفاءة الاختبار

لقد قال العالم Garret سنة ١٩٦٨ إن المقاومة الحيوية تكون أكثر كفاءة إذا كانت هناك إجراءات سليمة متبعة. الحشريون (أخصائى الحشرات) يشتغلون على المقاومة الحيوية الكلاسيكية للآفات الحشرية والأعشاب بالحشرات بعد اتباعهم مجموعة من الإجراءات وفقاً للأعداد الطبيعية التى تجمع من مناطق مختلفة، تمثل المناطق الجغرافية الأصلية لنشأة هذه الآفات، ثم تدخل هذه الاعداد المجموعة عن طريق سلسلة من إجراءات الحجر الزراعى وتطلق فى المنطقة حيث تنتشر الآفة المراد مقاومتها.

أما علماء تربية النبات فهم يشتغلون على مقاومة النبات للافة أو المرض التى/الذى تجمع أو تنتج germplasm مع اختلافات جينية للمقاومة للمرض أو الآفة المستهدفة، (غالباً ما تكون هذه المقاومة متعلقة مع الأنواع البرية المجموعة من المناطق الجغرافية الأصلية لنشأة هذه الأنواع من المحاصيل وتدخل إلى البلاد عن طريق إجراءات الحجر الزراعى)، يمكن إدخال صفة المقاومة فى الطرز المفيدة من ناحية محاصيلية ثم تستمر التربية حتى يتم إدخال صفة المقاومة مع الصفات المحصولية المقبولة، وبالتالى تظهر طرز فيها صفة مقاومة الآفات والصفات الجيدة للمحصول.

لقد اقترحت إجراءات الاكتشاف، تطور وإختبار عوامل المقاومة الحيوية للممرضات لكثير من الحالات النباتية، ولكن لم يكن هناك اجراء واحد شامل فى كل الحالات. ويبدو بوضوح أن هذه الإجراءات سوف تستمر لتدخل ، مع الخبرة وخاصة مع زيادة التعود على هذه الإجراءات مجالاً واسعاً، مع ذلك فإنه فى الوقت المناسب يمكن تأييد بدء استعمال، على الأقل خطوط رئيسية للإجراءات التى يمكن أن تعمل كمرشد إلى أبحاث جديدة ومستمرة وتطور للمقاومة الحيوية للممرضات النباتية باستعمال كائنات حية دقيقة مدخلة. إن الخطوات الحرجة هى اكتشاف السلالات المرشحة للمقاومة الحيوية ثم وضعها تحت اختبارات ذات كفاءة عالية ووضعها فى السجلات لاستعمالاتها التجارية.

الاكتشـــاف Discovery

يقصد بالاكتشاف هو عزل السلالات المرشحة طبيعياً للمقاومة الحيوية (كأن يكون عندها قابلية فى التضاد) من مصادر مختلفة واجراء تصفية أولية لمعرفة كفاءتها فى المقاومة الحيوية. كذلك الاكتشاف يمكن أن يشمل تكشف وظهور سلالات عن طريق التحورات الوراثية فى السلالات الموجودة طبيعياً، وهذا مبنى على توفر جينات مختلفة وراثياً ومفيدة فى هذا المجال، بحيث يسهل وضعها ببرامج التحسينات الوراثية. كذلك يشمل الاكتشاف التطورات الأولية والإختبارات للإنتاج بكميات كبيرة ونظم التشكيل نظراً لأنه بدون هذه الخطوات فإن السلالة الجيدة يمكن أن تهمل.

إن عملية الاكتشاف المذكورة سابقاً، عبارة عن جهد يجب أن يبقى مستمراً فى البحث وتحسين السلالات وطرق الإنتاج بكميات كبيرة، وكذلك نظم التوزيع. إن خط المصدر أو وسيلة الإمداد Pipe Line يجب أن يحافظ عليها باستمرار مملوءة، للحصول المستمر على السلالات الجيدة والزيادات المستقبلية.

وضع الخطط Strategies

هناك ثلاثة خطط عامة، يجب أخذها بعين الاعتبار، عند استعمال المقاومة الحيوية بالكائنات الدقيقة المدخلة.

١- تخفيض تجمعات الكائن الممرض و/أو تنظيم هذا الكائن بحيث يكون أقل من المستوى المؤثر اقتصادياً.

٢- منع الكائن الممرض من إصابة النبات.

٣- الحد من تكشف المرض بعد حدوث الإصابة.

تتضمن الخطوة الأولى استعمال لقاح من كائن مضاد متخصص، مثلاً، إضافة فطريات متطفلة Mycoparasite إلى التربة أو إضافة أى كائن آخر من ساكنات التربة، عنده قدرة على تحطيم وسائل التكاثر لبعض الكائنات الممرضة أو منع تكوينها. بالنسبة للكائنات الممرضة المستهدفة فى التربة، يمكن تخفيف شدتها باستعمال الكائنات المتطفلة الفطرية والمنافسات الطبيعية الموجودة فى التربة، ويمكن زيادة الفوائد المتحصل عليها من هذه الكائنات فى مقاومة الأمراض، باستعمال الدورة الزراعية، حيث يمكن تزويدها دورياً بالكائن المضاد المدخل إلى التربة مع الدورة الزراعية. وعلى أية حال فإن هناك استثناءات لهذه القاعدة وذلك عند استعمال بعض الكائنات مثل *S. sclerotivorum* فى المقاومة الحيوية للفطر *S. minor*. هناك تفسير بسيط لهذا الاستثناء، وهو أن الوقت المطلوب للإجراءات الصحية الطبيعية فى التربة يمكن تسريعها بشكل معنوى بواسطة إضافة الكائنات المضادة مباشرة إلى أرض الحقل دون انتظار الدورة الزراعية.

يمكن أن يكون هناك بعض الإجراءات لزيادة كفاءة الكائنات المضادة لتحافظ على بقاء تجمعات الكائن الممرض منخفضة بعد الضربة القاضية الأولية، وذلك باستعمال المدخنات أو

المعاملة بالحرارة. الكائنات الدقيقة المختارة لهذا الغرض، من المستحسن أن تكون ذات قوة منافسة عالية ومتكيفة جيداًمع ظروف التربة الفيزيائية والكيميائية المحتملة، وتضاف بكميات كبيرة متضمنة مصدر غذاء ليساعد ذلك فى التأكد من تزويدها بتجمعات كافية خلال المدة الزمنية اللازمة لتثبيط تجمعات الكائن الممرض. المقدرة على التطفل الفطرى بالإضافة إلى القوة التنافسية العالية يجب أن يكونا فى وضع مثالى. إن أنواع الفطر *Glio cladium* مثل *G. virens* سلالة GL-21 المستعمل فى تشكيلات وكذلك أنواع الفطر Tri-coderma T. harzianum المستعمل فى مزيج من أوراق الشجر والسماد البلدى أو الأراضى المشمسة Solar treated soils، قد أثبتت على أنها أكثر كفاءة باستعمال الاجراءات المذكورة سابقاً.

أما بالنسبة للنقطة الثانية، فإن أكثر الإجراءات نجاحاً لغاية سنة ١٩٩٤ تشمل وقاية ساحات العدوى فى النبات عن طريق إضافة الكائنات المضادة قبل وصول لقاح الكائن الممرض. هناك على الأقل ثلاثة عوامل من الستة عوامل المسجلة فى أمريكا، ذكر على أنها عوامل مقاومة حيوية ميكروبية قد تم اختيارها على أساس هذا الإجراء، شاملة سلالة K-84 من البكتيريا *A. radiobacter* فى مقاومة مرض التدرن التاجى وسلالة F-stop من *T. harzianum* المستعمل كمعاملة بذور لتحسين إنبات الذرة، الفول ومحاصيل خضروات أخرى، وكذلك سلالة BINABT من *T. harzianum polysporum* المستعمل ضد تحلل الخشب. كذلك فإن المقاومة الحيوية لعفن الجذر Annosus باستعمال *P. gigantea* أيضاً مبنياً على هذا الأساس.

أما بالنسبة للنقطة الثالثة، فإن هناك اجراءات عملية صعبة، يتوقع منها أن تجعل وظيفة المقاومة الحيوية حفظ جزء واحد من النبات على الأقل، بعد انطلاق اللقاح الخاص لعامل المقاومة على جزء آخر من النبات. من المتوقع أن ينتشر الكائن المضاد أو يدخل بشكل مميز فى النبات. هذا الكائن المضاد، من المتوقع أن يظهر تأثيره موضعياً أو جهازياً كمقاومة للكائن الممرض. نظراً لأن هذا الاجراء يمكن أن يكون بطيئاً جداً للوقاية ضد الإصابات الابتدائية يمكن أن يكون ذا مكانة أفضل لتحديد تكشف المرض بعد الإصابة.

إن التصفية المعملية، إذا ما استعملت، يمكن أن تكون مبنية على نتائج استعمال الكائن المضاد، زيادة على معرفة الميكانيكية المتوقعة لهذا النجاح المبنى على معرفة الكائن

الممرض ووبائية المرض. بعض الكائنات الممرضة، يكون أفضل مقاومة لها باستعمال المضادات الحيوية، الأخرى بالتنافس والبعض الآخر بالتطفل الفطرى، هناك مجموعة أخرى بالمقاومة المستحثة. بعض التصفيات، مثلاً ، بالنسبة لإنتاج المضادات الحيوية أو المتطفلات الفطرية يمكن أن تجرى فى العمل، ولكن التصفيات الأخرى، مثل تلك التى تجرى لمعرفة الأفراد المضادة يمكن أن تجرى فى الحقل فقط. بغض النظر عن التصفيات الخاصة، من المستحسن أن تصمم لتسمح بتقدير أو تقييم الآلاف أو عشرات الآلاف من السلالات.

التواجد الطبيعي للكائنات المضادة

يبدأ اكتشاف التواجد الطبيعى لعوامل المقاومة الحيوية الميكروبية لأمراض النبات والنيماتودا بطرق معملية، بحيث أن الكائنات المضادة المؤثرة، يمكن اكتشاف تواجدها فى التربة المحلية، أو الأكثر إحتمالاً أن تكون مترافقة فيها مع نباتات المحاصيل المحلية (كائنات حية دقيقة مترافقة مع النبات) . هذه الطرق يمكن أن تؤدى إلى زيادة وسهولة اكتشاف عديد من الكائنات المضادة على نباتات المحصول المحلى، عن طريق إعادة تعرض التربة أو الكائنات الدقيقة المرافقة للنبات، إلى العائل النباتى، الكائن الممرض المستهدف أو أنسجة العائل المصابة بالكائن الممرض. إن الكائنات الحية الدقيقة المترافقة مع النبات تكون جزءاً كبيراً جداً من المصدر الطبيعى الحيوى الذى يتفاعل مع نباتات المحاصيل. تكون السلالات المكتشفة والمختارة عوامل مقاومة حيوية جاهزة بسهولة، وذلك لأنها تكون متكيفة مع النبات أو الجزء النباتى حيث يجب أن تعمل، وكذلك يمكن اختيارها بسبب مقدرتها الفريدة فى وقاية النبات. كذلك يمكن أن تستعمل هذه الكائنات لمنع الإصابة أو تحديد تكشف المرض. هذه الكائنات تشمل الكائن الممرض فى أشكال غير شديدة المرضية أو عالية الشدة أو منزوعة السلاح (مثل البكتيريا السالبة لتكوين نواة الجليد *Pseudomonas syringae*) أو أشكال قريبة التقسيم ولكن غير ممرضة تدخل على أو مع النبات لتقوم بعملية المقاومة الحيوية عن طريق التضاد.

تبين فى الأبحاث الفرنسية أن الكائنات المضادة الفعالة لعديد من الكائنات الممرضة لنبات عباد الشمس، أمكن الحصول عليها عن طريق عزل البكتيريا ذات التأثير السام الواسع من الأوراق، الجذر وأجزاء أخرى من نبات عباد الشمس. البكتيريا المضادة التى استردت من

الأوراق، كانت بشكل أساسى اكتينومايستس وبكتيريا موجبة لصبغة غرام، بينما تلك المستردة من الجذور كانت أنواعاً من *Flavobacterium*، *Pseudomonas*، *Bacillus*. تختار الكائنات المضادة التى يمكن إعتبارها مرشحة للمقاومة الحيوية، وذلك لمقدرتها على التثبيط الواسع المدى فى المعمل، ومقدرتها على استعمار جذور عباد الشمس، عندما تضاف محقونة مع البذور. بواسطة هذا الإجراء أمكن الحصول على سلالات ذات مقدرة عالية فى تحسين ظهور البادرات وتقيها من أعفان الجذر والتاج المتسببة عن الفطريات *R. solani*، *S. rolfsii*، *Macrophomina phaseolina*.

كذلك نتيجة الدراسة على نبات الكاسافا، والتى فيها اتبعت نفس الإجراءات السابقة نفسها، إختيرت سلالات من البكتيريا الوميضة ذات كفاءة عالية فى المقاومة الحيوية ضد كل من:

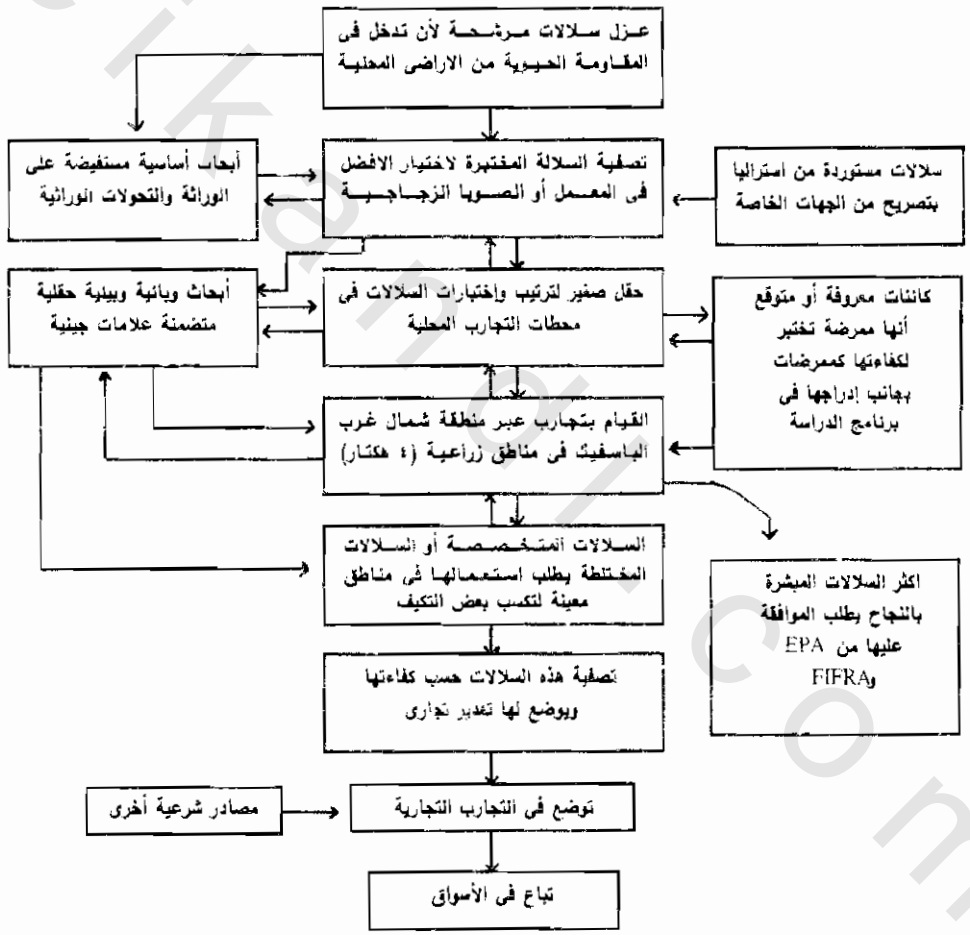
١- لفحة أوراق الكاسافا المتسببة عن *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis* عندما ترش على الأوراق.
٢- عفن الجذر التسبب عن الفطر بثيم أو *Diplodia manihotis* عندما غمرت التربة بالمعلق البكتيرى.
٣- تحلل الجذر بعد الجمع عندما غمرت الجذور المجموعة فى المعلق البكتيرى.

لم تتوفر سلالة واحدة من تلك البكتيريا ذات مقدرة على مقاومة الثلاثة أنواع من الأمراض.

من المشاريع العظيمة والتى بدأت سنة ١٩٩٣ فى دراسة المقاومة الحيوية للكائنات الممرضة النباتية، الدراسة التى تمت على الرز من قبل ثمانية أقطار أسيوية ومعهد أبحاث الرز العالمى فى الفلبين. كان هدف الدراسة البحث عن، وإختيار كائنات حية دقيقة من نباتات الرز والتربة فى أماكن تشبه أماكن زراعة الرز المحلية، وكانت جميع الدراسات تهدف إلى إيجاد كائنات مضادة فعالة فى مقاومة مرض لفحة الغمد الرايزوكتونى. ولقد ظهر من قبل بعض الباحثين أن المقومية الحيوية الفعالة لهذا المرض مبنية على أختيار سلالات من البكتيريا، وبشكل أساسى تضاف البكتيريا الوميضة أو تستعمل كمعاملة بذور. كانت كل جهة مشاركة فى هذا البحث تصفى البكتيريا المختارة من بين ٥٠٠ عزلة بالمتوسط فى كل سنة. يعنى أن هناك دراسة تمت على حوالى ٤-٥ آلاف عزلة فى السنة

لهذا المشروع. بالإضافة إلى دراسة العدد الكبير من العزلات، فكل العزلات الناتجة من التصفية تتجمع ويجرى لها تكيف مع نظم إدارة الرز المحلية والبيئية. هذا الإجراء أيضاً يبطل المشاكل غير المتوقعة أحياناً نتيجة التنقل العالمى للكائنات الحية الدقيقة، وهذا يؤدى إلى أن أحد المشاركين يجد سلالة خاصة معينة، تحتاج إلى اختبارات فى البلدان الأخرى، مع أنها جيدة فى بلده. جدول رقم ٣٢ يبين تسلسل طرق الحصول على العزلات المستعملة فى المقاومة الحيوية.

جدول (٣٢) : رسم توضيحى يشرح الطرق التى بواسطتها يتم الحصول على سلالات داخلة فى المقاومة الحيوية للمرض الماحق فى القمح فى شمال غرب الباسفيك.



لقد استعملت طرق جيدة لإيجاد عوامل مقاومة حيوية ميكروبية فعالة، لمقاومة المرض الماحق فى القمح، والتى من المتوقع أن تتكيف مع معظم الإراضى المحلية (جدول ٣٢). هذه الطريق مبنية على:

١- عزل الكائنات المضادة من منطقة جذور القمح، النامى فى تربة مأخوذة من حقول يحدث فيها المرض الماحق، ولكن قد حدث وأن انخفضت شدة المرض بسبب غير واضح. هناك كثير من الأراضى تحدث فيها هذه الظاهرة.

٢- تعزل الكائنات المضادة من منطقة جذر القمح النامى فى تربة حقنت بالكائن الممرض صناعياً. يمكن تكرار هذا الإجراء لزيادة الكائنات الدقيقة، المتكيفة مع جذور القمح المصابة بالمرض الماحق.

٣- تختار عزلات عشوائية من الكائنات المضادة ذات القدرة على إنتاج أجسام مضادة مثبطة لفطر المرض الماحق فى القمح على واحدة أو أكثر من بيئات الاجار القياسية.

٤- تختار الكائنات المضادة المرشحة لأن تكون عوامل مقاومة حيوية فى تجارب المعمل أو تختار بشكل عشوائى بطريقة الأطباق المخففة، من تربة مأخوذة من منطقة الجذر ثم تؤخذ وتختبر فى الصوبا الزجاجية. يختار قليل من السلالات، من هذه السلالات المختبرة ويجرى عليها اختبارات حقلية. تؤخذ أفضل السلالات التى تعطى أفضل نتائج وتستكمل عليها التجارب الأخرى.

الكائنات المضادة المحسنة وراثياً

يمكن أن يتضمن اختبار اكتشاف السلالات المضادة، أيضاً معرفة طرق تكشف سلالات الكائنات الدقيقة المحسنة، عن طريق معالجة وراثية أو فيما إذا كانت السلالة تحدث طبيعياً أو متحورة وراثياً، ويجب أن لاتحمل على متطلبات خاطئة، ولا أن تكون الطريقة عبارة عن تحورات وراثية بسيطة.

لقد قالم العالم Lindow سنة ١٩٩٢ بتطوير كائنات مضادة لتستعمل فى المقاومة الحيوية لسلالات البكتيرية النشيطة فى تكوين نواة الجليد Ice nuclation active (INA) وهى *Pseudomonas syringae* على المساحة الورقية لنبات البطاطس والمحاصيل الأخرى، من خلال إلغاء جين فى سلالة INA من *P. syringae*.

أما البكتيريا المحسنة من *A. radiobacter* K-84 ذات السلالة المسماة K-1026 قد أنتجت عن طريق إلغاء بعض أجزاء الـ DNA لمنع انتقال مقاومة الأجروسان من عامل المقاومة الحيوية إلى الكائن الممرض. إن السلالة K-1026 هى أول سلالة معالجة وراثياً مضادة استعملت تجارياً. إن التحورات الوراثية تطلب لتؤخر أو تمنع تحطم المقاومة الحيوية للتدرن التاجى بواسطة سلالة منتجة للأجروساين من سلالة غير شديدة من البكتيريا *A. radiobacter* وبالتالى تطيل مدة استعمال هذه المقاومة.

من النتائج المعنوية العالية، فى التحسينات الوراثية فى الكائنات الدقيقة لاستعمالها فى المقاومة الحيوية، هى الحصول على سلالات منتجة للمضادات الحيوية ذات الفعالية الجيدة فى المقاومة. مع أن هناك مئات أو الآلاف من السلالات ذات الكفاءة العالية فى المقاومة الحيوية والمنتجة للمضادات الحيوية، إلا أن القليل منها شائعة الاستعمال فى المقاومة الحيوية اعتماداً على إنتاج المضادات الحيوية. مثلاً هناك خمسة أنواع من البكتيريا الوميضة *Pseudomonas* من مناطق مختلفة فى العالم كلها تنتج المضاد الحيوى المسمى 2,4-diacetophloroglucind، هذه الخمسة سلالات كانت قد عزلت كل على إنفراد، وعرفت كفاءتها فى المقاومة الحيوية ضد *Thielaviopsis* مسبب عفن الجذر الأسود فى الدخان، وبطش سبتوريا على أوراق القمح والمرض الماحق فى القمح وكثيراً من ممرضات الجذر فى بنجر السكر، ولفحة غمد أوراق الرز الرايزوكتونى. وبالمثل فإن سلالات من مناطق بيئية مختلفة، قد تبين بأنها تنتج المضاد الحيوى Pyrrolnitrin فعال ضد الفطر *R. solani*. إحدى التطبيقات الوراثية على هذه السلالة (تفرز قليلا من المضادات الحيوية نسبياً) هو إختيار هذه السلالات، من الكائنات الدقيقة المترافقة مع النبات على أساس تكيفها مع المحصول والتربة المحلية ثم تعالج وراثياً للحصول على المضادات الحيوية المرغوبة والمناسبة للكائن الممرض المستدهف و/أو ظروف التربة.

من الممكن أيضا تحسين مقدرة التنافس (فى سلالة الكائن الداخل فى المقاومة الحيوية) ضد الكائنات الرمية غير المستهدفة بالإضافة إلى مقاومة الكائن الممرض المستهدف. فمثلاً سلالات 2-79 و 30-84 المختارة لمقاومة المرض الماحق فى القمح، غير قادرة على المنافسة القوية مع أنواع *Pythium* فى منطقة الجذر فى القمح. من ناحية أخرى فإن السلالة Q2-87 المختارة لمقاومة الفطر نفسه على القمح كانت قادرة على المنافسة مع *P. ultimum* وليس

مع *P. irregulare* فى منطقة الجذر فى القمح. يبدو أن Q2-87 تنتج مضاداً حيوياً مثبطاً للفطر *P. ultimum* وليس للفطر *P. irregulare*. هذا يدل على أن السلالات التى تجلب للمقاومة الحيوية للمرض الماحق فى القمح، يمكن أن تحدث تحسيناً وراثياً فى كفاءتها ضد هذا المرض عن طريق زيادة تنافسها مع أنواع الفطر *Pythium*.

نستطيع القول بأن بعض السلالات المحسنة وراثياً لكى تنتج مضادات حيوية يجب أن يجرى عليها دراسة على مواقع الجينات المسئولة عن إفراز المضادات الحيوية والتعامل معها وراثياً بحيث نحصل على أفضل السلالات فى إنتاج المضادات الحيوية كماً ونوعاً، وكذلك بحيث تناسب المحصول المزروع والتربة. وكذلك دراسة الجينات المسئولة عن التنافس، بحيث تحتوى السلالة المنتجة، على الجينات التى تساعد فى زيادة التنافس من حيث سرعة إفراز الأنزيمات أو سرعة التكاثر حتى تستوطن المكان بسرعة، عندئذ يمكن الحصول على سلالة قوية المنافسة وسريعة إفراز المضادات الحيوية، وبالتالى تكون أفضل السلالات المستعملة فى المقاومة الحيوية. هذان الاعتباران: زيادة المنافسة، وزيادة افراز المضادات الحيوية، لكى تتم دراستهما يحتاجان إلى متطلبات ونظم وأجهزة عملية وعلمية دقيقة، إذا توافرت هذه الاحتياجات نستطيع أن نحصل على سلالات ذات كفاءة عالية فى المقاومة الحيوية وتستعمل تجارياً.

تجارب الإختبارات والصيغة الشكلية Experimental Tests And Formulation

من بين أهم الاعتبارات فى اكتشاف واختيار السلالات المضادة، هى تجارب الاختبارات للإنتاج بكميات كبيرة والتشكيلات المناسبة للسلالات المرشحة لأن تدخل فى المقاومة الحيوية. لقد استعمل Schisler *et al* سنة ١٩٩٠ اجراءات سهلة للإنتاج بكميات كبيرة فى مزرعة سائلة لتصفية مايزيد عن ٣٥٠ كائن مضادة ذات كفاءة لمقاومة العفن الجاف فى البطاطس المتسبب عن الفطر *Fusarium sambucinum*. اعتبرت السلالات غير السهلة الإنتاج بكميات كبيرة فى المزرعة السائلة، غير مقبولة لإجراء اختبارات أخرى عليها حتى لو أظهرت كفاءة عالية كعوامل مقاومة حيوية. من أهم فوائد المزرعة الصحيحة المستعملة فى الإنتاج الكبير، هى أن السلالات المعرضة للاختبار، يمكن أن تساعد فى إظهار تأثيرات الكائنات المضادة، أما المزرعة غير الصحيحة، يمكن أن تقود إلى نبذ وترك

السلالات ذات التأثيرات الفعالة. لقد أظهر Slinirger & Jackson أن نوعية المادة الغذائية المكونة للمزرعة السائلة، كانت مهمة بالنسبة لكل من الإنتاج الكمى الكبير ولإنتاج مادة الفينازاين بواسطة البكتيريا *P. fluorescens* سلالة 79-2. بشكل خاص فإن كلاً من كبريتات الزنك ومادة $(NH_4)6\ NMO_7\ O_{24}$ تتفاعل مع الحديد لتزيد الحد الأعلى من إنتاج مادة Phenazine-1-Caboxylic acid فى حين أن بعض العلماء أثبت فى تجاربه على السلالة 79-2 فى التربة، أن الزنك يكون مترافقاً مع زيادة كفاءة المقاومة الحيوية.

إختبارات الكفاءة

تتضمن اختبارات الكفاءة إجراء الإختبارات فى قطع من الأرض بتكرار معين وتحت ظروف طبيعية بلقاح طبيعى أو صناعى. عادة فإن العزلات ذات الكفاءة العالية، هى فقط التى تدخل فى تجاب الكفاءة.

يمكن أن تجرى اختبارات الكفاءة إما فى محطات التجارب أو فى جميعات المزارعين. على أية حال فإن المهم فى الاختبار أن تكون هناك شدة عالية من مسبب المرض أو النيماتودا المستهدفة فى البحث، وذلك لتكون الإختبارات فعالة. من الممكن أن لايكون هناك جدوى، مثلاً، من إجراء اختبارات للمقاومة الحيوية لأمراض الجذور فى الحقل حيث يكون المرض المستهدف متحكماً به مسبقاً، وذلك عن طريق الدورة الزراعية. كذلك من المهم أيضاً إتباع أفضل العمليات الزراعية لنمو المحصول المرد إختبار السلالات عليه لمعرفة كفاءتها فى المقاومة الحيوية. يجب ألا نتوقع أن المقاومة الحيوية يمكن أن تتغلب على تأثيرات العمليات الزراعية المستعملة فى نمو المحصول.

فى الإجراءات التى تشمل استعمال عوامل المقاومة الحيوية الميكروبية بشكل كبير جداً على البذور، المجموع الخضرى أو أماكن إصابة خاصة أخرى، فإن اختبارات الكفاءة يمكن أن تقيم بعد إجراء اختبارات بمبيدات الآفات الكيماوية ومقارنتهما معاً. لقد قام Redmond *et al* بإجراء تصفية للفطريات والبكتيريا المعزولة من بتلات أزهار الورد غير المشوهة، وقدر كفاءتها فى المقاومة الحيوية للفحة بوترايتس عن طريق رش معلق الخلايا مباشرة على بتلات الورد، بعد يوم واحد قام بحقن البتلات نفسها بالفطر *Botrytis cinerea*. هذا الطور من العمل يمكن أن يسمى الاكتشاف Discovery وهو ما وصف سابقاً. ثم بعد ذلك فإن

أفضل العزلات تجرى عليها اختبارات كفاءة على جميع الأزهار المقطوفة، عن طريق إضافة هذه العزلات مباشرة رشاً على براعم الورد حيث تكون ضرورية فى هذه الأماكن، ثم بعد ذلك يستعمل المبيد الفطرى التجارى Iprodione لإجراء تقييم لكفاءة هذه السلالات. سواء بالنسبة لعوامل المقاومة الحيوية أو الكيماوية فإن الاستعمال التجارى لهذه المواد يتطلب توفر وقاية تامة ضد الإصابة لبعض الوقت بعد الجمع، ولسوء الحظ فإن عوامل المقاومة الحيوية الميكروبية ينظر إليها فى هذه الحالة كما فى المقاومة الكيماوية.

اختبارات الكفاءة التى تجرى على الكائنات الحية الدقيقة المرافقة للنبات لتحديد مقدرتها كعوامل مقاومة حيوية، يمكن أن تصنف بعد أن تجرى اختبارات على طرز النبات لمعرفة كفاءتها كأصناف زراعية عالية الإنتاج. فى الحقيقة فإن الاختبارات الحقلية لعوامل المقاومة الحيوية الميكروبية، يمكن أن ينظر إليها وكأنها تشابه تجارب تربية النبات من حيث الاجراءات الوراثية على السلالات المختلفة. إن أصناف المحاصيل الخاضعة للتجربة تحتاج إلى مدة طويلة من التجارب قبل طرحها للمزارعين، إلا أن الكائنات الحية الدقيقة المرافقة للنبات والتى تؤخذ لتستعمل فى المقاومة الحيوية لاتحتاج إلى اختبارات مكررة كثيراً ، كما فى حالة تربية النبات، فمثلاً بالنسبة لتربية النبات يحتاج الصنف الجديد 100 site - years ، فى حين أن عامل المقاومة الحيوية يحتاج من 15-20 site year.

التقييـــم:

يعتمد تقييم سلالة الكائن المضاد وكفاءتها فى المقاومة الحيوية، على احتساب النسبة المئوية لكل من زيادة مقاومة المرض أو خفض نسبة الإصابة المرضية أو تحسن زيادة نوعية وكمية المنتج النباتى، وكذلك مقدرة السلالة على إنتاج كميات كافية من اللقاح لإستعماله فى الحقول أو بساتين الفاكهة، أو الصوبات الزجاجية. يتم هذا التقييم مع جميعات المزارعين وضمن ظروف بيئية محددة. هذه الظروف يمكن أن تشمل نوعاً معيناً من المناخ أو التربة. كذلك فإن عملية التقييم تشمل اختبارات كفاءة التركيبات التى تستعمل عليها الكائنات الدقيقة فى المقاومة الحيوية، مبنية على نتائج الاختبارات الأولية المبكرة وتجارب الفعالية، وكذلك تشمل اختبارات كفاءة الأجهزة المستعملة فى معاملة التربة، البذور أو أجزاء النباتات النامية لمعرفة مدى مناسبتها.

كذلك فإن عملية التقييم تأخذ أيضاً فى عين الاعتبار، النظام الزراعى للمحصول كاملاً متضمناً أساليب مقاومة المرض، مثل معاملة التربة أو البذور أو رش المجموع الخضرى بالمبيدات الفطرية، كل ذلك يمكن أن يدخل فى فعالية عامل المقاومة الحيوية. كذلك يمكن أن يدخل فى الإعتبار الكائنات الممرضة الأخرى التى يمكن أن تلائمها طرق مقاومة الكائن الممرض المستهدف، وذلك حتى يمكن تمييز تخصص كل عامل فى المقاومة الحيوية ومدى تأثيره على زيادة الإنتاج. مثلاً إن مقاومة المرض الماحق فى القمح، وليس عفن الجذر الرايزكتونى أو عفن الجذر المتسبب عن بثيم على القمح، يمكن ألا تؤدى إلى زيادة المحصول، وفى بعض الحالات يقل الإنتاج. هذا يعنى أن الزيادة أو النقص فى إنتاج المحصول يجب أن توضع فى الاعتبار عند تقييم عامل المقاومة الحيوية.

إن مشكلة النتائج المتعارضة من موقع إلى موقع، يمكن التغلب عليها جزئياً عن طريق تقييم سلالات مختلفة لمواقع مختلفة. ولقد ثبت أن السلالات المنتجة مادة الفينازين (هى الأفضل) فى الأراضى ذات التركيب الرملى لمقاومة المرض الماحق فى القمح. أما السلالات المنتجة مادة Phloroglucinol فهى الأفضل فى الأراضى الطينية.

لكى نحصل على كميات كبيرة من عامل المقاومة الحيوية، يجب استعمال نظم تكنولوجية قياسة، كل نظام يناسب محصول معين وكائن مضاد معين، فيما يتصل بذلك، فإنه يمكن الاستفادة من بعض التسهيلات، وذلك باستعمال السلالات المتعددة أو السلالات المختلطة. كثير من المزارعين يستعملون أصنافاً مختلفة من المحاصيل لبيئات مختلفة، وبعض المزيج من أصناف المحصول ويستعمل معها مبيدات الأعشاب أو معاملة البذور بالكيماويات. وبالمثل فإن هناك بعض الإجراءات المعقدة مثل مزيج من الجينات تكون منتشرة فى الأصناف نفسها أو فى أصناف مختلطة وتتغير دورياً حسب تغير المرض والظروف البيئية وهذا يتطلب إجراءات معينة. لكى يكون هناك استعمال على نطاق كبير للمقاومة الحيوية، هذا يتطلب استعمال سلالات مختلفة أو مخلوط من السلالات، سواء بالنسبة للكائن المضاد أو المحصول، معدلة حسب الطلب للأمراض المختلفة، والظروف البيئية.

إن الغالبية العظمى من عوامل المقاومة الحيوية الميكروبية، يصعب تقييم كفاءتها حتى عندما يكون هناك دليل متواصل من التجارب، تدل على أن إنتاج المحصول يمكن أن يزداد،

الدورة الزراعية يمكن أن تقصر، نوعية المحصول المنتج يمكن أن تزداد، طول فترة الحياة الإنتاجية للبساتين يمكن أن تطول أو يمكن الاستغناء عن المبيدات الفطرية أو أن يكون هناك بعض الفوائد الأخرى. ترجع صعوبة التقييم فى هذه الحالة إلى التداخل الحيوى المعقد بين الكائن الممرض والكائن المضاد والكائن الرمى المنافس، وتفاعلاتها مع بعضها البعض ومع الظروف البيئية المختلفة والمتقلبة فى كثير من الأحيان.

obeikandl.com

ثانياً: الكائنات الدقيقة المستعملة تجارياً في المقاومة الحيوية

هناك أعداد غير قليلة من عوامل المقاومة الحيوية مسجلة عالمياً ، وتستعمل تجارياً على نطاق واسع وهى:

I: عوامل المقاومة الحيوية الفطرية:

١- الفطـــر Ampelomyces quisqualis

الاسم العلمى المستعمل فى المقاومة *Ampelomyces quisqualis* (AQ) isolate No=10 وهناك اسم آخر ، وهو AQ10.

صفـــات الفـــطر

تتكون تركيبات AQ10 من جراثيم بتركيز ^{٩١٠}/غرم من المركب الحامل لجراثيم الفطر. ينتج هذا الفطر جراثيم نتيجة نموه واحدات تخمرات فى بيئة نصف صلبة أو مغمورة بالماء، وتبقى الجراثيم فعالة فى الجزء الأساسى من التركيبة المسماه WP formulation. منتجات هذا الفطر لها مدة حياة تزيد أو تساوى ستة شهور، عندما تخزن فى مكان جاف بارد، وحوالى ٣ شهور فى حالة التجمد.

الصـــفة التجـــارية

إن الفطر المسمى AQ10 ، نوع من رتبة Coleomycetes وتحت قسم Deuteromycotina، كان يسمى سابقاً *Cicinnobiolum cesatii*، ولكن أعيد تسميته سنة ١٩٥٩ بالعلامة الشائعة AQ. الفطر معروف جيداً بأنه متطفل فطرى Hyperparasite على أجناس Erysiphaceae مسببة أمراض البياض الدقيقى. فى سنة ١٩٨٤ اكتشفت عزلة من AQ فى إحدى المناطق الجافة فى إسرائيل، وقد أشير إلى هذه العزلة بالعلامة AQ10. هذه العزلة أخذت تصريحاً للاستعمال فى أوروبا عن طريق الشركة الأوروبية الإسرائيلية Ecogen Israel Partnership, Jerusalem (شركة تابعة لايكوجين).

رقم الترخيص US 5190745 اسم المادة Ecoyen.

طريـــق عملـــه

بعد رش المستحضر الذى يحوى جراثيم الفطر بتركيز ^{٩١٠}/غرام، تنبت هذه الجراثيم، وبعد أن تعطى هيفات تتطفل هذه الهيفات على فطريات البياض الدقيقى. هذه العملية تتطلب نسبة رطوبة ٦٠٪ على الأقل فى البيئة الضيقة التى تحيط بالجراثيم النابتة. إذا ما دخلت الهيفا فى الكائن الممرض فإنها تمر فى عمليات تحتاج من ٢-٤ ساعات. يستطيع الكائن المتطفل أن يتكاثر مستقلاً عن البيئة الخارجية. النتيجة النهائية هو توقف تكشف البياض الدقيقى.

الإســـتعمال:

يستعمل الفطر AQ10 لمقاومة البياض الدقيقى الذى يهاجم محاصيل مختلفة مثل القرعيات، العنب، الطماطم ونباتات الزينة. مع أن كل محصول من هذه المحاصيل يهاجم بنوع مختلف من فطريات البياض الدقيقى، إلا أن AQ10 يمكنه أن يتطفل عليها جميعاً بالمستوى نفسه تقريباً. تستخدم تركيبات هذا الفطر كجزء من برنامج المقاومة المستنيرة للآفات ويستخدم بدلاً من المبيدات الكيماوية المعيارية لأمراض البياض الدقيقى. تستعمل هذه التركيبات رشاً بطريقة قياسية، وباستعمال تكنيك معين بوجود مطهرات سطحية متوافقة مع بقاء هذا الكائن حياً وفعالاً.

ســـميته للنـــبات:

المركب غير سام للنبات وغير ممرض.

نـــوع التشـــكيل:

يتكون التشكيل من WP.

توافقـــه:

يمكن أن يستعمل متزامنا مع المبيدات الحيوية للحشرات، التى تستعمل على نطاق تجارى مثل *Bacillus thuringiensis*، وعلى أية حال لايمكن مزجه مع المبيدات الفطرية الشائعة مثل مثبطات الستيرول الجهازية.

الاســـم التجـــاري:

AQ10 Ecogen.

التحـــلل:

الجزء الأساسى الفعال فى AQ10، يمكن أن يحدد بواسطة نوعين من الاختبارات، الأول اختبارات الإنبات، والثانى هو اختبار ظاهرة التطفل لتحديد حيوية الجراثيم وبقائها. تجرى اختبارات الإنبات بواسطة وضع الجراثيم فى أطباق فيها بيئة آجار، ثم تحضن لمدة ٤٨ ساعة والتى خلالها تبدأ الجراثيم فى الإنبات. تدل نسبة الإنبات على حيوية الجراثيم الموجودة ضمن التجمع. أما مستوى التطفل فيحدد فى مكان التجربة العملية in-situ وذلك عن طريق رش نباتات الخيار الملوثة بجراثيم البياض الدقيقى بمعلق جراثيم AQ10. بعد التحضين لمدة عشرة أيام (فى الصوبا الزجاجية) يتم فحص الأوراق ميكروسكوبياً فى منطقة الإصابة لملاحظة ظاهرة التطفل هذه ويمكن تحديدها بمقاسات معينة.

ســـميته للثدييـــات:

حتى سنة ١٩٩٦ لم يذكر ظهور حالة تسمم واحدة للحيوانات الثديية التى تغذت على نباتات قد عوملت بهذا الكائن، كذلك لم تظهر حالة عدوى ولا تهيج جلدى ولا حساسية فائقة. كذلك لم يظهر أى من هذه الأعراض على العمال أو الفنيين أثناء تداول هذا الكائن. كذلك لم تحدث أية أضرار للطيور الداجنة أو البرية أو النحل.

٢- الفطـــر Phlebiopsis gigantea

الاسم العلمى *Phlebiopsis gigantea* (Fr.) Jul ، وله أسماء أخرى منها *Phlebia gigantea* و *Peniophora gigantea*.

صـــفات الفـــطر

المنتجات التى تحمل جراثيم الفطر تبقى نشيطة لمدة ١-٢ أسبوع على درجة حرارة الغرفة العادية، ولمدة أكثر من ستة شهور تحت درجة ٨°م عندما يخزن فى أقفاص غير مفتوحة. لقد عرف منذ مدة طويلة أن هذا الفطر فعال فى منع الإصابة الناتجة عن جراثيم

الفطر *Heterobasidion annosum* فى الصنوبر والبيسيه الراتنجية. إن السلالة من هذا الفطر المعروفة باسم Rotstop كانت قد عزلت أساساً سنة ١٩٨٧ وذلك فى معهد الغابات الفلندى وذلك من قرم شجرة البيسيه المقطوعة والمتروكة فى الغابات، وكانت قد إستعملت كمعاملة جذوع على البيسية والصنوبر فى سنة ١٩٨٨، وقد أعيد عزلها سنة ١٩٨٩ من الأماكن نفسها التى رشت عليها. فى سنة ١٩٩١ تم وضعه فى تشكيلات بواسطة Kemira O. وقد تمت الموافقة على هذا المركب والتوصية باستعماله فى المقاومة الحيوية فى مؤتمر أمراض النبات المنعقد فى فنلندا من ٩-١٦ أغسطس سنة ١٩٩٣.

الاســـم التجـــاري

يصنع ويباع فى السوق باسم Rot stop (Kemira).

الاســـتعمال

يتنافس هذا الفطر مع الكائن الممرض على احتلال الأماكن التى يعيش فيها، ويستعمل كعامل مقاومة حيوية جيد ضد عفن الجذور وأعقاب أشجار الصنوبر والبيسيه الراتنجية المتسبب عن الفطر *Heterobasidion annosum* (والذى يسمى أيضاً *Fomes annosus*). أفضل الأوقات التى يوصى باستعماله فيها، هى الفترة التى يكون فيها الفطر الممرض *H. annosum* قابلاً للانتشار والنمو على قرم الأشجار (خلال فترة النمو الخضرى) حيث درجة الحرارة فوق ٨°م. يخلط المحضر الفطرى مع الماء ثم يرش المعلق على أسطح القرم بجهاز الرش على الرأس المقطوع بعد سقوط الشجرة طبيعياً أو نتيجة المرض.

هذا التحضير يسمى *WP*. أما المركب المسمى Rot stop غير متوافق مع المبيدات الفطرية الكيماوية، ولغاية ١٩٩٦ لم يوص باستعماله مع الكيماويات.

يمكن اختبار حيوية ونقاوة المنتج المحضر، وذلك بتحديد عدد المستعمرات المتكونة على طبق بترى. إن معدل النمو والنشاط اللوغاريتمى على مادة النمو المحتوية على مطحون الخشب كمصدر وحيد للطاقة، هى الطريقة الوحيـدة لمعرفة حيوية الفطر. إن وجود الفطر *H. annosum* يستعمل كدليل على وجود وفعالية التضاد الحيوى.

لاتوجد أية أضرار لهذا المركب على جميع الحيوانات الثديية، وكذلك لا يتسبب أية أضرار أو حساسية جلدية على العمال الذين يتعملون مع هذا المركب.

٣- الفطـــر Gliocladium virens

اكتشف هذا الفطر واستعمل فى المقاومة الحيوية من قبل مجموع USDA-ARA فى بلتسفايل، وطرح فى السوق للتداول سنة ١٩٩٠ بواسطة شركة W.R. Grace تحت اسم تجارى جلايو جارد Glio Gard و Soil Gard معتمدة على عزلات *G. virens*. يستعمل هذا الفطر فى المقاومة الحيوية ضد أمراض البادرات لنباتات الزينة وفى مشاتل كثيرة من النباتات الأخرى. السلالة GL-21 تستعمل فى أمريكا على نطاق واسع.

٤- الفطـــر Trichoderma harzianum

اكتشف هذا الفطر كعامل مقاومة حيوية فى مركز أبحاث ولاية Geneva ، وسجل تحت اسم تجارى F-Stop أو Kodak - F. Stop، وقد اكتشفت سلالة نوع *Polysporum* وتباع تحت اسم تجارى *BINABT* ويستعمل ضد كثير من أمراض النبات الكامنة فى التربة وضد أعفان الخشب. يباع فى أمريكا باسم Trichodex لمقاومة الفطر بوترايتس. السلالة KRL-AG2 تستعمل على نطاق واسع فى أمريكا.

٥- الخميـــرة Candida oleophila

تستعمل بشكل خاص لأمراض ما بعد الجمع خاصة السلالة Aspire Ecogen Inc Langhorne, PA (ذكر عن هذه الخميرة فى فصل مقاومة أمراض بعد الجمع فى هذا الكتاب).

٦- الفطـــر Verticillium lecanii

يستعمل لمقاومة مرض البياض الدقيقى فى الخيار والحمضيات والشعير وصدأ الفاصوليا والقرنفل وصدأ *P. recondita* على القمح، بالإضافة لمقاومة حشرة المن والذبابة البيضاء.

obeikandl.com

٧- الخميرة الأرجوانية Sporobolomyces roseus

٨- الخميرة Cryptococcus laurentii

تستعمل هاتان الخميرتان فى مقاومة أمراض ما بعد الجمع فى التفاح والكمثرى.

II : عوامل المقاومة الحيوية البكتيرية:

١- البكتيريا Bacillus subtilis

تباع هذه البكتيريا تحت اسم Kodiak (Gustafson) .

تستعمل هذه البكتيريا فى المقاومة الحيوية كمعاملة بذور، تستعمل فى أمريكا تحت اسم Kodiak، فى تكساس ذات رقم كودى GUS *376* وتصنع فى جستافون. تستعمر البكتيريا جذور النبات ولها قدرة عالية على التنافس مع الكائنات الممرضة التى تهاجم الجذور (موجبة لصبغة غرام) . أهم السلالات المستعملة فى المقاومة الحيوية هى GB03 والسلالة MBI-600 . أما السلالة A-13 فهى تباع تحت اسم Quantum-4000 وتستعمل لمعاملة بذور الفول السودانى قبل زراعتها. أما السلالة *GB03* والسلالة MBI600 فهى أكثر استعمالاً فى أمريكا وتباع تحت اسم Kodick وتستعمل لمقاومة سقوط البادرات فى القطن.

٢- البكتيريا Streptomyces griseoviridis

الاسم العلمى المستعمل فى المقاومة الحيوية *streptomyces griseoviridis* Anderson *et al* strain K-61.

صفات البكتيريا

تنتج البكتيريا ما يسمى موقف الفطريات Mycostop عن طريق التخمير، تتجمع المنتجات الجافة من هذا الكائن التى تحتوى على الأقل $^{8}10$ وحدة تكوين مستعمرات/غرام منتج. هذه المادة ثابتة لمدة ستة شهور عندما تخزن فى مكان مغلق درجة حرارته -٨°م أو لمدة ١٢ شهر على درجة حرار (-١٨°م).

لقد تم اكتشاف هذه البكتيريا على أساس أنها عامل مقاومة حيوية فى قسم أمراض النبات فى جامعة Helsinik ، ولقد وجدت هذه البكتيريا بوفرة فى الأراضى العضوية فى معظم البساتين. عند إجراء تصفية لعدد من السلالات تبين أن بعضها فعال كمضاد للكائنات الممرضة الكامنة فى التربة، وفى البذور (الفطريات)، أهم هذه السلالات هى k-61. لقد تم اكتشاف التركيب والاستعمال التجارى لهذه البكتيريا بواسطة O. Mohammadi سنة ١٩٩٤.

تصنع البكتيريا باسم Kemira. والأسم التجارى Mycostop Kemira أهم السلالات المستعملة فى أمريكا K-61.

الاســـتعمال:

إن المادة التى تفرزها البتيريا والتى تسمى Mycostop لها عدة طرق فى إظهار فعاليتها، منها:

١- المنافسة الشديدة على المكان والغذاء (المواد الغذائية المتوفرة).

٢- تحليل جدار خلية الفطر (الكائن الممرض للنبات) بواسطة إفراز إنزيمات خارجية.

٣- إفراز مواد مضادة فطرية من نواتج الأيض الغذائى.

ولقد تبين أن مادة موقف الفطريات Mycostop لها تأثير مشجع لنمو النباتات السلمية. أهم الفطريات التى تؤثر عليها هذه البكتيريا هى: فطريات الفيوزاريوم التى تسبب أمراض البذول وعفن قاعدة الجذر فى الخضروات ونباتات الزينة والأعشاب. كذلك فإنها تقاوم بعض الأمراض الكامنة فى التربة وفى البذور مثل *Phomopsis* والفطر *Alternaria*. يمكن أن تستعمل مادة موقف الفطريات هذه، فى الصوبات الزجاجية كمادة جافة لمعاملة البذور أو يستعمل كمعلق مائى تغمر فيه البذور أو يوضع فى ماء الرى.

يكون نوع التشكيل الناتج من هذه البكتيريا باسم WP. تكون مادة موقف الفطريات متوافقة مع عدد كبير من مبيدات الآفات. معظم هذه التركيبات يمكن أن تستعمل فى يوم التحضير نفسه.

تحدد حيوية ونقاوة مادة موقف الفطريات الناتجة من البكتيريا بعدد المستعمرات المتكونة فى المزرعة، وذلك عن طريق إجراء عد لها. تختبر الكفاءة الحيوية عن طريق

استعمال الحقن الصناعى فى بذور القرنبيط. لايسبب المركب أية أضرار للحيوانات ولاتوجد أية مخاطر صحية على الذين يشتركون فى التعامل مع هذه المادة، ولكن يوصى بعدم لمس المسحوق المستعمل للجلد.

الســـمية:

لايحدث أية تسمم للأسماك، أما بالنسبة للنحل فيؤثر بنسبة 9.8×10^8 cfu/kg.، أما بالنسبة للطيور الداجنة فيؤثر بنسبة 2.45×10^9 cfu/kg.

٣- البكتيـــريا Agrobacterium radiobacter K-84

اكتشفت البكتيريا واستعملت على نطاق واسع فى استراليا ضد مرض التدرن التاجى (سالبة جرام).

٤- Pseudomoans fluorescens

هذه البكتيريا سالبة غرام، تستعمل بواسطة شركة Ecogen فى Langhorne وتباع تحت الاسم التجارى Dagger G. وتستعمل ضد سقوط البادرات المتسبب عن بثيم ورايزوكتونيا فى القطن. السلالة EG1053 هى الأكثر استعمالاً فى أمريكا.

٥- Pseudomoans sgringae

السلالات المستعملة فى المقاومة الحيوية هى ESC-10، (Bio - Save 10 and Bio Save 11)، أما السلالة Eco science worcester MA فهى تستعمل فى مقاومة أمراض ما بعد الجمع.

٦- Berholdera cepacia

البكتيريا سالبة غرام، أهم سلالتها المستعملة فى المقاومة الحيوية هى Wisconsin، وتستعمل فى أمريكا على نطاق واسع.

المراجع

كتب أجنبيه وعربية

1- Agrios, G. N. 1997. Plant Pathology. 4th Edition. 635. Academic Press INC. San Diego, USA.

2- Baker, K. F. and R.J. Cook. 1974. Biological control of plant pathology. 433 pp. Freemon and Compay San Francisco. USA.

3- Charles, L. Wilson and M. E. Wisniewski. 1994. Biological control of post harvest diseases. Theory and paratic. 165 pp. Baca Raton Ann Arbor London. Tokyo.

4- Epton, H.A.S., Wilson, M. Nicholson, S.L. and Sigee, D.C. 1994. Ecology of plant pathogens 420. pp. Oxon. UK.

5- Hornby, D. 1990 Biological control of plant pathogens. 640 pp. Oxon. U.K.

6- Rosen, Fred D. Bennett, John L. Capinera. 1996. Pest management in the subtropics: integrated pest management. 578 pp. Andover. Hants U.K.

7- Tjamos, E.C. Papavizos, G.C., Cook, R. J. 1992. Biological control of plawt diseases. 350 pp. London U.K.

8- Tomlin, C.D. S. 1997. The pesticide manual. 11th Edition. 1500pp. British Erop Protection Council. Bear Farm, RG 42 5QE. U.K.

١- أبو عرقوب، محمود موسى ١٩٩٤ - أمراض النبات - الطبعة الثالثة - مترجم عن كتاب اجريوس الصادر سنة ١٩٨٨ - عدد الصفحات ١٤٠٠ صفحة - الناشر المكتبة الأكاديمية - القاهرة.

٢- توفيق ، محمد فؤاد - ١٩٩٧ - المكافحة البيولوجية فى الآفات الزراعية - ٧٥٨ صفحة. الناشر المكتبة الأكاديمية - القاهرة.

٣- ثابت ، كمال على - ١٩٧٦ مذكرات فى الأمراض الكامنة فى التربة - كلية الزراعة قسم أمراض النبات - جامعة القاهرة.

أبحاث سنة ١٩٩٧

1- Al-Rawahi, A.K. and J. G. Hancock. 1997. Rhizosphere competence of *Pythium oligandrum*. *Phtopathology* 87 (a) 951-959.

2- Bonsall, R.F., D. M. Weller and L. S. Thomashow. 1997. Quantification of 2,4 - Diacetyl phloroglucinol produced by fluorescent *Peseudomoans* spp. *in vitro* and in the rhizosphere of wheat. *Appliand Environ. Microbiol* 63 (3) : 951-955.

3- Candole. B.L. and C.S. Rothrock. 1997. Characterization of the sf suppressiveness of hairy vetch - Amended soils to *Thielaviopsis basicola* *Phytopathology* 87 (2): 197-202.

4- Conway, K.W., N.E. Maness and J.E. Motes. 1997. Integration of biological and chemical controls for *Rhizoctonia* aerial blight and root rot of Rosemary. *Plant Disease* 81 (7) : 795-798.

5- Elson, M.K., D.A. Schisler and R.J. Bothast. 1997. Selection of microorganisms for biological control of silfer scurf of potato tubers. *Plant Disease* 81 (6) : 647-652.

6- Hermosa, J.G. *et al.* 1997 Physiological and biochemical characterization of *Trichoderma harzianum* . A biological control agent aganist soil borne fungal plant pathogen. *Applied And Environmental Microbiol*: 63 (8) 3189-3198.

7- Kim, Dal-soo, D.M. Weller and R. J. Cook. 1997. Population dynamics of *Bacillus* sp. L. 324 -92 R12 and *Pseudomonas fluorescens* 2-79 RN 10 the Rhizosphere of wheat. *Phytopathology* 87 (5): 559-564.

8- Kohl, J., R. R. Belanger and N.J. Fokkema. 1997 Interaction of four antagonistic fungi with *Botrytis aclaoda* in dead onion leaves. *Phytopathology* 87 (6) : 634-642.

9- Korsten, L., E. E. Devilliers, F. C. Wehner and J. M. Kotze. 1997. Field sprays of *Bacillus subtilis* and fungicides for ©ontrol of preharvest fruit diseases of avocado in south Africa. *Plant Disease* 81 (5) : 455-459.

10- Leibinger, W. *et al* 1997. Contol of postharvest pathogens and colonization of the apple surface by antagonistic microorganisms in the field. *Phytopathology* 87 (11) : 1103-1110.

11- Lo, C.T., E. B. Nelson and G. E. Harmon. 1997. Improved biocontrol efficacy of *Trichoderma harzianum* 1295-22 for foliar phase of turf diseases by use of spray applications. *Plant Disease* 81 (10): 1132-1138.

12- Melzer, M.S., M. Dunn, T. Zhou and G. J. Boland. 1997. Assessment of hypovirulent isolates of *Cryphonectria parasitica* for potential in biological control of chestnut blight. *Can. J.* of *Plant pathology* 19 : 69-77.

13- Marschner, P., D. E. Crowley and R. M. Higashi. 1997. Root exudation and Physiological status of a root-colonizing fluorescent pseudomonal in mycorrhizal and non-mycorrhizal pepper *(Capsicum annuum) Plant and soil.* 189 : 11-20.

14- Oyarzum, P. J. *et Al.* 1997. Comparison of soil receptivity to *Thielaviopsis basicola, Aphanomyces euteiches* and *fusarium solani* f.sp. *pisi* causing root rot in pea. *Phytopathology* 87 (5) : 534-541.

15- Paulitz, T. C. 1997. Biological control of root pathogens in soilless and Hydroponic systems. *Hort Science* . 32 (2) 193-195.

16- Quadit - Hallman, A., J. Hallman and J. W. Kloepper. 1997. Bacterial endophytes in cotton: Location and interaction with other plant - associated bacteria. *Ca. J. Microbiology* 43 : 254-259.

17- Rodriguez, F. and W. F. PFender. 1997. Antibiosis and antagonism of *Sclerotinia homoeocarpa* and *Drechslera poae* by *Pesudomonas fluorescens* pf-5.

18- Schisler, D. A., P. J. Slininger and R. J. Bothast. 1997. Effects of antagonist cell concentration and two-strain mixtures on biological control of *Fusarium* dry rot of potatoes. *Phytopathology* 87 (2) : 177-183.

19- Shirasu, K. *et al.* 1997. Salicylic acid potentiates an agonist-dependent gain control that amplifies pathogen signals in the activation of defense mechanisms. *The Plant Cell* 9 : 261-270.

20- Smith, K. P., J. Handelsman and R. M. Goodman. 1997. Modeling Dose - Response relationship in biological control partitioning host responses to the pathogen and biological control agent *Phytopathology* 87 (3) : 720-729.

21- Stanghellini, M. E. and R. M. Miller 1997. Biosurfactants, their identity and potential efficacy in the biological control of zoosporic plant pathogens. *Plant Disease* 81 (1) : 4-12.

22- Toyota, K. and K. Ikeda. 1997. Relative importance of motility and antibiosis in the rhizoplane competence of a biocontro agent *Pseudomonas fluorescens Mel Rc 2Rif. Bio Fertil Soils.* 25 : 416-420.

23- Troxler, J. *et al.* 1997. Interaction between the biocontrol agent *Pseudomonas fluorescens* CHAO and *Thielaviopsis basicola* in tobacco roots observed by immuno fluorescens microscopy. *Plant Pathology* 46 : 62-71.

24- Thrane, C., A. Tronsmo and D. F. Jensen. 1997. Endo-1,3-P-glucanase and cellulase from *Trichoderma harzianum* purification and partial characterization, induction of and biological activity aganist *Pythium* spp. *European J.* of *Plant Pathology* 103 : 331-344.

25- Vavrina, C. S. 1997. Biological control strategies for successful stand Establishment : Introduction to the colloquinum. *Hort Science* 32 (2) 178-183.

26- Wilson, C. L., *et al.* 1997 Rapid evaluation of plant extracts and essential oils for antifungal activity aganist *Botrytis cinerea. Plant Disease* 81 (2) : 204 - 210.

أبحاث سنة ١٩٩٦

27- Benhamou, N., *et al.* 1996. Pre-inoculation of RiT-DNA - transformed pea roots with *Pseudomonas fluorescens* inhibits colonization by *Pythium ultimum. Planta* 199 : 105-117.

28- Craft, C. M. and E. B. Nelson. 1996. Microbial properties of composts that suppress damping-off and root rot of creeping bentgrass caused by *Pythium graminicola. Applied And Environmental Microbiology* 62 (5) 1550-1557.

29- Elmer, W. H. 1996, Association between Mn-reducing root bacteria and Nacl application in suppression of *Fusarium* crown and root rot of asparagus. *Phytopathology* 86 (1) : 1461-1467.

30- El-Tarabily, K. A., *et al.* 1996. Synergistic effects of a cellulase - producing *Micromonospora carbonacea* and an antibiotic - producing *streptomyces violascens* on the suppression of *Phytophthora cinnamomi* root rot of *Banksia grandis. Can.* J. of *Botany.* 74 : 618-624.

31- Exelrood, P. E., *et al.* Douglas - fir root - associated microorganisms with inhibitory activity towards fungal plant pathogens and human bacterial pathogens. *Can. J. Microbiology* 42 : 690-700.

32- Gould, A. B., D. Y. Kobayashi and M. S. Bergen. 1996. Identification of Bacteria for bilogical control of *Botrytis cinerea* on petunia using a petal disk assay. *Plant Disease* 80 (9) 1029-1033.

33- Guzzo, S. D. and E.M.F. Martins. 1996. Local and systemic induction of B-1,3-Glucanase and chitinase in coffee leaves protected aganist *Hemileia vastatrix* by *Bacillus thuringiensis. J. Phytopathol.* 44 : 449-451.

34- Handelsman, J. and E. V. stabb. 1996. Biocontrol of soilborne plant pathogens. *The Plant cell* 8 (10) : 1855-1869.

35- Hoffland, E., J. Hakulinen and J. A. Van Pelt. 1996. Comparison of systemic resistance induced by Avirulent and Nonpathogenic *Pseudomonas* sp. *Phytopatology* 86 (7) : 757-762.

36- Janisiewicz, W. 1996. Ecological diversity, niche overlap, and coexistance of antagonists used in developing mixtures for biocontrol of post harvest disease of apples. *Phytopathology* 86 (5) : 473-479.

37- Kim, D.H. and I.J. Misaghi. 1996. Biocontrol performance of two isolates of *Pseudomonas fluorescens* in modified soil atmospheres. *Phytopathology* 86 (11) 1238-1241.

38- Mclaren, D. L. and H.C. Huang. 1996. Control of Apothecial production of *Sclerotinia scleratiorum* by *Coniothyrium minitans* and *Talaromyces flavus. Plant Disease* 80 (12) : 1373-1378.

39- Lo, C.T. 196. Biological control of turfgrass diseases with rhizosphere competent strain of *Trichoderma harzianum. Plant Disease* 80 (7) 736-741.

40- Montesines, E. and B. Bonaterra. 1996. Dose - Response models in biological Control of plant pathogens an empirical verification *Phytopathology* 86 (5) : 464-472.

41- Marley, P. S. and R. J. Hillocks. 1996. Effect of root-knot nematodes *Meloidogyne* spp. on *Fusarium* wilt in pigeonpea. *Field crops Research* 46 : 15-20.

42- Menzies, J. G. and R. R. Belanger. 1996. Recent advances in cultural management of diseases of greenhouse crops. Can. J. of plant Pathology 18 : 168-193.

43- Pieterse, C.M.J. *et al.* 1996 Systemic resistance in arabidopsis induced by biocontrol baeteria is independent of salicylic acid accumulation and pathogenesis - related gene expression. *The Plant cell.* 8 : 1225-1237.

44- Sanker, P. and R. Jeyarajan. 1996. Compatibility of antagonists with *Azospirillum* in sesamum. *Indian Pathology.* 49 (1) 67-71.

45- Stockwell, V.O. *et al.* 1996 Transfer of pAgK84 from the biocontrol agent *Agrobacteriurn radiobacter* K84 to *A. tumefaciens* under field conditions *Phytopathology* 86 (1) 31-37.

46- Sturz, A. V. and B. G. Matheson. 1996. Populations of endophytic bacterial which influence host - resistance to *Erwinia* - induced bacterial soft rot in potato tubers. *Plant and Soil* 184 : 265-271.

47- Vicedo, B. *et al.* 1996. Spontaneous tranfer of the Ti Plasmid of *Agrobacterium tumefaciens* and the No paline catabolism plasmid of *A. radiobacter strain* K-84 in crown Gall tissue *Phytopathology* 86 (5) 528-534.

أبحاث سنة ١٩٩٥

48- Behrendt, C. J. *et al.* 1995. An integrated approach, using biological and chemical control to prevent blue stain in pine logs. *Can. J. Botany* 73 : 613-619.

49- Carruther, F.L., *et al.* 1995. The significance of antibiotic production by *Pseudomonas aureofaciens* PA 147-2 for biological control of *Phytophthora megasperma* root rot of asparagus. *Plant and soil.* 170 : 339-344.

50- Cartwright, D. K. and D. M. Benson. 1995. Optimization of biological control of *Rhizoctonia* stem rot of poinsettia by *Paecilomyces lilacinum* and *Pseudomoaus cepacia. Plant Disease* 79 (3) : 301-308.

51- Chambers, S. M. and E. S. Scott. 1995. *In vitro* antagonism *of Pyhtophthora cinnamomi* and *P. citricola* by isolates of *Trichoderma* spp. and *Gliocladium virens. J. Phytopathology*. 143 : 471-477.

52- Dickinson, J.M., J. R. Hanson and A. Truneh. 1995. Metabolites of some biological control agents. *Pestic. Sci.*, 44 : 389-393.

53- Fiddaman, P. J. and S. Rossall. 1995. Selection of bacterial antagonists for the biocontrol of *Rhizoctonia solani* in oilseed rape. *Plant Pathology* 44 : 695-703.

54-Go pinathan, S. 1995. Biological control of *Rhizoctonia* sp. root rot of *Casuarina equisetifolia* seedlings by *Frankia* sp. strains. *Biol. Fertil. Soils* 20: 221-225.

55- Janisiewicz, W. J. and B. Bors. 1995. Development of a microbial community of bacterial and yeast antagonists to Control wound - invading post harvest pathogens of fruits. *Applied and Environmental Microbiology* 61 (9) : 3261-3267.

56- Kohl, J. et al, 1995. Effect of *Ulocladium atrum* and other antagonistis on sporulation of *Botrytis cinerea* on dead lily leaves exposed to field conditions. *Phytopathology* 85 (4) : 393-401.

57- Korsten, L., *et al.*. 1995. Evaluation of bacterial epiphytes isolated from avocado leaf and fruit surface for biocontrol of avocado post harves disease. *Plant Disease* 79 (11) : 1149-1156.

58- Mc Quilken, M. P. *et al.*, 1995. Effect of *Coniothyrium minitans* on sclerotial survival and apothecial production of *Sclerotinia sclerotiorum* in field grown oilsed rape. *Plant Pathology* 44: 883-896.

59- Michereff, S. J. *et al* ,. 1995. Green house screening of *Trichoderma* isolates for control of *Curvularia* leaf sport of yam. *Mycopathologia* 130 : 103- 108.

60- Potjewijd, R., *et al.*,. 1995. Cellulose - based coatings as carriers for *Candida guillermondii* and *Debaryomyces* sp. in reducing decay of oranges. *Hort Science* 30 (7) : 1417-1421.

61- Schisler, D., A., *et al.* 1995. Evaluation of yeasts for biological control of Fusarium dry rot of potatoes. *American Potato* J. 72 : 339-353.

62- Tjamos, E.C. and D. R. Fravel. 1995. Detrimental effects of sublethal heating and *Talaromyces flavus* on nucrosclerotia of *Verticillium dahliae. Phytopathology* 85 (4): 388-392.

63- Toyota, K. M. Kitamure and M. Kimura - 1995. Suppression of *Fusarium Oxysporum* f.sp. *raphani* Peg-4 in soil following colonization by other *fusarium* sp. *Soil Biol. Biochem.* 27 (1) : 41-46.

64- Venkatasubbaiah, P., T. B. Sutton and W.S. Chiltion. 1995. The structure and biological properties of secondary metabolites produced by *Peltaster fructicola* a fungus associated with apple sooty blotch disease. *Plant Disease* 79 (11) : 1157-1160.

65- Wisniewski, M., et al. 1995 Effects of Ca^{2+} and Mg^{2+} on *Botrytis cinerea* and *Penicillium expansum in vitro* and on the bicocntrol activity of *Candida oleophila. Plant Pathology* 44 : 1016-1024.

66- Yang, D., L. Berrnier and M. Dessurault. 1995. *Phaeotheca dimorphospora* increases, *Trichoderma harzianum* density in soil and suppresses red pine damping off coused by *Cylindrocladium scoparium. Can.* J. *Botany* 74: 963-700.

أبحاث سنة ١٩٩٤

67- Abd- El-Moity, T. H. and A. I. Hanna. 1994. Biological control of *Rhizoctonia* discase in potato under diferent types of soil conditions. *Zagazig J. Agric. Res.*, 21 (6) 1683-1689.

68- Cotty, P. J. and D. B. Bhatnagar. 1994. Variability among A toxigenic *Aspergillus flavus* strains in ability to prevent Aflatoxin contamination and produciton of Aflatoxin Biosynthetic pathway enzymes. *Applied And Environmental Microbiology* 60 (7) : 2248-2251.

69- Dohroo, N. P. 1994. Integrated managemtn of yellows of ginger. *Indian Phytopathology* 44 : 90-92.

70- Holmes, K. A. 1994. Evaluation of *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae* for biocontrol of *Phytophthora parasitica* on *Catharanthus roseus. Plant Disease* 78 (2) : 193-199.

71- Janisiewicz, W. J., D. L. Peterson and R. Bors. 1994. Conrol of storage decay of apples with *sporobolomyces roseus. Plant Disease* 78 (5) : 466-470.

72- Mukhopadhyay, A. N. 1994. Biocontrol of soil borne fungal plant pathogens current *status*, future prospect and potential limitations. *Indian Phytopathology* 47 (2) : 119-126.

73- Roberts. R. G. 1994. Integrating biological control into post harvest disease management strategies. *Hort Sciens* 29 (7) : 758-762.

74- Sugar. D., et al. 1994. Integration of cultural methods with yeast treatment for conrol of post harvest fruit decay in pear. *Plant Disease*. 78 (8) 791-795.

75- Yuen, G. et al. 1994. Biological conrol of *Rhizoctonia solani* on tall fescue using fungal antagonists. *Plant Disease* 78 (2) 118-123.

أبحاث عام ١٩٩٣

76- Calvet, C., J. Pera and J. M. Barea. 1993. Growth response of marigold to inoculation with *Glomus mosseae, Trichoderma aureoviride* and *Pythium ultimum* in peat-perlit mixture. *Plant and soil* 148 : 1-6.

77- Cook, R. J. 1993. Making greater use of introduced microorganisms for biological control of plant pathogens. *Annul Rev. Phytopathology* 31: 53-80.

78- Knualsen, I. B. and J. P. Skou. 1993. The effectivity of *Tilletiopsis albescens* in biocontrol of powdery mildew. *Ann. Appl. Biology*. 123: 173-185.

79- Navi, S. S. and S. D. Singh. 1993. *Fusarium longipes* a mycoparasite of *Sclerospora graminicola* on pearl millet. *Indian Phytopathology* 46 (4) : 365-368.

80- Raguchander, T.. R. Samiappan and G. Arjunan. 1993. Biocontrol of *Macrophomina* root rot of mungbean. *Indian Phytopathology* 46 (4) 379-382.

أبحاث سنة ١٩٩٢

81- Andrews, J. H. 1992. Biological conrtol in the phyllosphere. *Ann. Rev. Phytopathology* 30: 603-635.

82- Huang, H. C. 1992. Ecological basis of biological control of soilborne plant pathogens. *Can. J. of Plant Pathology.* 14 : 86-91.

83- Mukhopadhyay, A. N., S. M. Shrestha and P. K. Mukherjee. 1992. Biological seed treatment for control soil - borne plant pathogen. *FAO Plant Prot. Bull.* 40 (1-2) : 21-29.

84- Ownley, B. H. and D. M. Benson. 1992. Evaluation of *Penicillium janthinellum* as a biological control of *Phytophthora* root rot of Azalea *J. Amer . Soc. Hort. Sci.* 117 (3) : 407-410.

85- Simon, E., E. Ceglarska - Hodi and I. Gara Mvolgyi. 1992. Microbial control of soil - borne pathogens in Hungary. *Bulletin OEPP / EPPO Bulletin* 22 : 457-461.

86- Utkheda, R. S., 1992. Biological control of soil - borne pathogens of fruit trees and grapevines. *Can. J. Plant Pathology.* 14 : 100-105.

87- Wisniewski, M. E. and C. L. Wilson. 1992. Biological control of post-harvest disease of fruits and vegetables. *Recent Advances. Hort Science* 27 (2) : 94-97.

أبحاث عام ١٩٩١

88- Baker, R. 1991. Diversity in biological control. *crop Protection* 10 (2) : 85-94.

89- Baker, R. 1991. Induction of rhizosphere competence in the biocontrol fungus *Trichoderma. Beltsville Symposia in Agricultural Research* 14 : 22-228.

90- Chet, I. et al. 1991. Mechanisms of biocontrol of soil-borne plant pathogens by rhizobacteria. *Beltsville Symposia in Agricultural Research* 14 : 229-236.

91- Fraved, D. R. and A. P. Keinath. 1991. Biocontrol of soil-borne plant pathogen fungi. *Beltsville symposia in Agricultural Research* 14 : 237-243.

92- Leong, J. et al. 1991. Genetics of iron transport in plant growth promoting *Pseudomonas putida* WCS 358. *Beltsville symposia in Agricultural Research* 14 : 271-278.

93- Kehri, H. K. and S. chandra. 1991. antagonism of *Trichoderma viride* to *Macrophomina phaseoline* and its application in the control of dry root-rot mung. *Indian Phytopathology* 44 (1) : 60-63.

94- Parke, J. L. et al. 1991. Biological control of *Pythium* damping-off and *Aphanomyces* root rot of peas by application of *Pseudomonas cepacia* or *P. fluorescens* to seed. *Plant Disease* 75 (10) 987-992.

95- Peer, S. et al. 1991. Stability of *Trichoderma harzianum* amds transformants in soil and rhizosphere. *Soil Biology & Biochemistry* 23 (11) : 1043-1046.

96- Peer, S. and J. Chet. 1991. *Trichoderma* protoplast fusion a tool for improving biological agent. *Can. J. of Microbiology*. 36 (1) 6-9.

97- Thomashow, L. S., and D. M. Weller. 1991. Role of antibiotics and siderphores in biocontrol of take-all disease of wheat. *Beltsville symposia in Agricultural Research* 14 : 245-251.

98- Wilson, C. L. et al. 1991. Biological control of postharvest diseases of fruits and vegetables: alternative to synthetic fungicides. *Crop Protection*. 10 (3) 172-177.

99- Adams, D. B. 1990. Ann. *Rev. Phytopathol.* 28 : 59-72.

100- Weller, D. M. 1988. *Ann. Rev. Phytopathol.* 26 : 379-407.

obeikandl.com

الفصل السادس

أهم أجناس الكائنات الحية الدقيقة المستعملة في المقاومة الحيوية

أولاً: الأجنـــاس الفطـــرية

I: الجنـــس *Trichoderma*

مقـــدمة

لقد ذكر الجنس *Trichoderma* منذ أكثر من مائة عام، وذلك من قبل العالم Persoon. يتكون هذا الجنس من مجموعة فطريات مترادفة الأسماء، تعزل من التربة ومن المواد العضوية المتحللة. عزلات هذا الفطر شائعة الانتشار، ومن السهولة عزلها وتربيتها في بيئة غذائية. بالإضافة لذلك فإن هذه العزلات تنمو بسرعة على كثير من المواد الغذائية المختلفة، وتنتج مضادات حيوية تكون نتيجة التمثيل الغذائي، كذلك فإن هذه العزلات يمكن أن تكون متطفلات على الفطريات الأخرى Mycoparasitic ضد مجال واسع من الكائنات الممرضة.

إن ظاهرة التطفل على الفطريات، وكذلك إنتاج المضادات الحيوية، قد ذكرت أول مرة للجنس *Trichoderma* بواسطة Weindling سنة ١٩٣٢ و ١٩٣٤. هناك تطبيقات تكنولوجية حديثة تستعمل فيها هذه الفطريات كعوامل مقاومة حيوية، كلها اعتمدت على الأبحاث السابقة التي ذكرها ذاك العالم.

معظم أنواع الجنس *Trichoderma* تنمو بسرعة على البيئة الغذائية الصناعية وتنتج أعداداً كبيرة من الجراثيم الكونيدية الصغيرة الخضراء أو البيضاء من خلايا تسمى Conidiogenous تقع في نهايات التفرعات العديدة للحوامل الكونيدية. هذه الصفات تسهل نسبياً عملية تعريف وتحديد الجنس *Trichoderma* ولكن تحديد الأنواع عملية صعبة جداً، لأن هناك تداخلاً كبيراً بين صفات هذه الأنواع، ويصعب وضع الاسم المحدد للنوع إلا بعد دراسة مستفيضة وواسعة.

لقد قسم العالم Aifai سنة ١٩٦٩ هذا الجنس الى تسعة أنواع، حددت على أساس الصفات المورفولوجية، إلا أن العالم Bisset سنة ١٩٩١ أعاد دراسة الجنس *Trichoderma* وأضاف اليه بعض Hypocrea ذات الأشكال المتقاربة، وأدى ذلك الى تقسيم هذا الجنس إلى خمسة مجموعات، وبالتالى فإن مفهوم الأنواع ضمن هذا الجنس واسع جداً، وهذا أدى إلى تقسيم الأنواع الى Specific وآخر Subspecific (هذا ما ذكره Samuels سنة ١٩٩٦).

من أكثر أنواع الجنس *Trichoderma* تحديداً ومعرفة، هى :-

1 - Trichoderma harzianum 2 - T. viride 3 - T.hamatum 4 - T. polysporum 5 - T. pseudokoningii 6 - T. Koningii

النوع الثالث والخامس تلائمها التربة عالية الرطوبة، فى حين أن النوع الثانى والرابع تلائمهما التربة ذات الحرارة المنخفضة، أما النوع الأول يتواجد فى المناطق الدافئة، أما النوع الثالث والسادس فإنهما يتواجدان فى ظروف المناخ المتقلب.

كفاءة الجنس في المقاومة الحيوية

١- معاملـــة تربـــة

قبل سنة ١٩٧٠ أجريت دراسات كثيرة على المقاومة الحيوية، وذلك باستعمال الجنس *Trichoderma* على التربة، وذلك لإحداث تغيرات فى التجمعات الطبيعية للكائنات الحية فى التربة أو فى الأجزاء النباتية المحيطة بها التربة، مما يؤدى إلى المقاومة الحيوية. لقد ذكر Bliss سنة ١٩٥١ أن مقاومة الفطر *Armillaria mellea* فى الحمضيات بعد التبخير بمادة ثانى كبريت الكربون، تعزى الى التجمعات الطبيعية للفطر *Trichodema* التى تنتشر بسرعة فى التربة المعقمة، ولكنه لم يضع تفسيراً لذلك، لأن هذه التجمعات تكون هى السبب فى مقاومة الكائن الممرض. ولقد ذكر أن الفطر *Trichoderma*، أكثر مقاومة لمادة ميثايل بروميد من الفطر الممرض *A.mellea*. ثم بعد ذلك ذكر العالم Chet سنة ١٩٨٠– ١٩٨١ أن الفطر *T.hamatum* يثبط نمو الفطر الممرض *R.solani* والفطر *Pythium sp.* ثم بعد ذلك حدث تطور كبير فى تفهم المقاومة الحيوية.

بدأت المقاومة الحيوية التطبيقية فى الحقل باستعمال الفطر *Trichoderma* بواسطة العالم *Well et al.* سنة ١٩٨٢، وذلك باستعمال تحضيرات من الفطر تريكوديرما النامى على بيئة صلبة (حبوب، شيلم أو قمح) وذلك للمقاومة الحقلية للفطر الممرض *Sclerotium rolf-sii* على نباتات الطماطم. هذا النظام من المقاومة يحتاج كميات كبيرة من المواد العضوية لينمو عليها الفطر المضاد (٤٢٠٠ كغم/ هكتار) لمقاومة المرض. إلا أن العالم Kabana استطاع أن يستعمل بعض المواد الحبيبية غير الذائبة (الدياتومات) المخلوطة مع المولاس لتنمية الفطر المضاد *T.harzianum*، ثم تؤخذ هذه الحبيبات وتضاف على خطوط التربة المزروعة بالفول السودانى، وهذا يحتاج ١١٢– ١٤٠ كغم/ هكتار، تنثر هذه المواد بعد الزراعة بحوالى ٧٠– ١٠٠ يوم، وهذا يؤدى الى مقاومة ناجحة للفطر *S.rolfsii* وأدى الى زيادة إنتاج الفول السودانى لثلاث سنوات متتالية. ولقد تبين أن مقاومة المرض بهذه الطريقة تعادل مقاومته باستعمال المبيد الفطرى *PCNB*.

عند تنمية الفطر *T.harzianum* على مواد صلبة وتنثر هذه المواد على التربة بالقرب من النباتات المزروعة، أعطى مقاومة حيوية ناجحة ضد الأمراض الآتية:

١ – العفن الأبيض فى البصل المتسبب عن *Sclerotium cepivorum* فى مصر والولايات المتحدة.

٢ – أمراض ذبول القطن والخيار المتسببة عن *Verticillium dahliae* فى روسيا.

٣ – أمراض سقوط البادرات الرايزوكتونى ولفحة سكلوروشيم فى كثير من المحاصيل فى اسرائيل.

٤ – عفن الثمار الرايزوكتونى فى الخيار فى إسرائيل.

لقد ذكر Kelley أن إضافة مواد غذائية طازجة الى التربة مع الفطر المضاد *T.harzianum* تشجع نمو الفطر الممرض *Pythium* وتساعد فى زيادة استعمار المواد العضوية، وهذا يؤدى إلى زيادة حدوث المرض. لقد تم الحصول على مقاومة تامة للمرض عند إضافة الكائن المضاد على شكل كرات، قبل زراعة بادرات الخيار المنقولة إلى الأرض الدائمة بحوالى ١٥– ٣٠ يوماً.

كذلك يمكن استعمال الجراثيم الكونيدية للفطر *Trichoderma* على شكل معلق تغمر فيه جذور شتلات الفراولة قبل زراعتها فى الأرض الدائمة، وهذا يؤدى إلى خفض حدوث الأمراض لهذه الشتلات. كذلك تم الحصول على مقاومة ممتازة لذبول الفيوزاريوم فى الاقحوان سنة ١٩٨٤، وذلك بإضافة مزيج من العلق المائى للجراثيم الكونيدية للفطر *T.viride* مع المبيد الفطرى البنليت، حيث إن هذا البيوتايب الفطرى مقاوم للمبيد بنليت. تستعمل جراثيم الفطر المضاد بتركيز $^{٤}١٠$ جرثومة كونيدية/ مل، وتضاف للتربة بعد تبخيرها ببخار الماء على حرارة ٨٢° م لمدة ساعتين.

أثبتت الدراسات الحديثة بواسطة Beagle *et al* سنة ١٩٨٤ وكذلك العالم Papavizas سنة ١٩٨٤، أن التحضيرات الفطرية الناتجة من التخمرات بكميات كبيرة Fermen-tor Biomass (FB) والتى على شكل مسحوق وطين او كرات من Alginate عند إضافتها إلى التربة، فإنها تتكاثر بسرعة وتثبط المرض بكفاءة أكثر من استعمال الجراثيم الكونيدية العادية أو الجراثيم الكلاميدية. كذلك وجد أن ال *(FB)* من فطريات *T.viride* و *T.harzianum* و*T.hamatum*، تقلل وتثبط بقاء ونمو الفطر الممرض *R.solani*، فى التربة وتخفض مرض عفن ثمار الطماطم الناتج عن رايزوكتونيا.

٢- معاملة بذور

يعتبر استعمال الفطر *Trichoderma* على البذور طريقة بديلة لإدخال الفطر فى التربة بدلاً من استعماله مباشرة على التربة فى التشكيلات المختلفة المذكورة سابقا، حيث إن هذه الطريقة تتطلب كمية قليلة من تحضيرات الفطر، إذا قيست بالكميات التى توضع فى خطوط التربة أو على شكل أكوام صغيرة broadcast.

لقد تم الحصول على مقاومة حيوية جيدة لسقوط البادرات المفاجئ فى البسلة والفجل المتسبب عن الفطر *R.solani* والفطر *Pythium*، وذلك بمعاملة البذور لكل من البسلة والفجل بالجراثيم الكونيدية للفطر *T.hamatum*، وكذلك تم الحصول على مقاومة جيدة من البيوتايب الناتج من استعمال الاشعة الفوق بنفسجية من الفطر *T.harzianum* و *T.viride*. وكذلك حصل تحسن كبير فى نمو النباتات وزيادة إنتاج فول الصويا المزروع فى تربة ملوثة بالفطر *Rhizoctonia* عند معاملة البذور بالفطر *T.pseudokoningii*، وكذلك عند معاملة حبوب

الذرة وفول الصويا بالفطر *T.harzianum*. إن استعمال الفطر الأخير كمعاملة بذور للقطن لمقاومة *R.solani* أعطى نتيجة جيدة فى الحقل فى إسرائيل.

هناك بعض الملاحظات يجب مراعاتها عند استعمال الجنس *Trichoderma* كمعاملة بذور، وهى:

١ – يجب أن يكون الفطر قادراً على التكاثر فى التربة.

٢ – يجب أن يكون الفطر ذا مقدرة على التنافس فى منطقة الرايزوسفير، وذلك لتثبيط الكائن الممرض بالمنافسة أو بالتطفل الفطرى او التضاد الحيوى.

٣ – يجب أن يكون الفطر ذا تضاد حيوى وله القدرة على التجمع وتكوين مستعمرات فى منطقة الرايزوسفير والسبيرموسفير.

٤ – يجب ألا يكون حساساً للسايدروفورز المفرزة من البكتيريا والكائنات الدقيقة الأخرى فى التربة.

٥ – يمكن تحسين كفاءة هذا الجنس عن طريق التنقية والاختيار والهندسة الوراثية والتربية.

٣ - الاستعمال على المجموع الخضري

كانت البداية الأولى فى استعمال الفطر *Trichoderma* على المجموع الخضرى، هو حقن جروح اشجار القيقب الاحمر بالفطر *T.harzianum* وهذا يمنع اختراق الجروح بفطريات الـ Hymenomycetes بعد ٢١ يوماً، ولكن بعد ٢١ شهراً فان ١٤٪ من الجروح المعاملة سببت زيادة فى تجمعات هذه الفطريات، وكان الكائن المضاد أقل فعالية عند استعماله فى الشتاء. ونظرا لأن الفطر *Trichoderma* ضعيف فى مقدرته على استعمار الخشب الحديث، فإن تحسن تأثيره يكون بسبب الكميات الكبيرة من اللقاح التى تضاف الى الجروح؛ مما يساعد على تأسيس موقع مؤقت حيث أن سيطرته تفقد مع الزمن.

من الأمثلة الأكثر نجاحا فى المقاومة الحيوية باستعمال الجنس *Trichoderma* على الاجزاء الخضرية فى النبات، هو استعماله للمقاومة الحيوية للأمراض التى تدخل عن طريق الجروح فى الأشجار والشجيرات، وذلك عن طريق إضافة الفطر إليها وقت التقليم . لقد ذكر

Grosclaude سنة ١٩٧٠ أن كفاءة الفطر *T.viride* ضد الفطر *Stereum purpureum*، الاسم القديم *Chondrostereum* مسبب مرض الورقة الفضية على البرقوق، تكون عالية عند استعماله وقت التقليم. ولقد ابتكر هذا العالم سنة ١٩٧٣ طريقة لاستعمال الجراثيم الكونيدية للفطر المضاد على الجروح أثناء القطع عن طريق استعمال مقصات خاصة للتقليم. فى إحدى التجارب العملية وجد أن إضافة الكائن المضاد بهذه الطريقة، قبل ٤٨ ساعة من الحقن بالكائن الممرض يحمى شجرة البرقوق ذات عمر سنتين، تماما من المرض، ولكن لايعطى النتيجة نفسها اذا استعمل الكائن المضاد مع الكائن الممرض في الوقت نفسه.

لا يقتصر استعمال الفطر *Trichoderma* على منع المرض فقط، ولكن أيضا يمكن أن تكون هناك معاملات علاجية لمقاومة مرض الورقة الفضية باستعمال الفطر *T.viride*، حيث يستعمل على اوتاد خشبية ٠,٨ *x* ١٠ سم توضع فى حفر على مسافات ١٠ سم فى جذع والأفرع الرئيسية لشجرة البرقوق المصابة بمرض الورقة الفضية، أو الخوخ أو أشجار الذكترين. استعملت هذه الطريقة فى اوائل السبعينيات واعطت نتائج كالآتى:

٥٠٪ من الأشجار أعطت أعراضاً بسيطة من مرض الورقة الفضية (إختفت الأعراض بعد فترة قصيرة)

٣٣٪ لم تعط أية أعراض.

١٧٪ لم تستجب لهذه المعاملة.

لقد أطلق العالم Ricard سنة ١٩٧٧ اصطلاح Immunizing Commensals على عوامل المقاومة الحيوية التى تحدث تأثيرات العلاج الحيوى وتحفظ أو تعالج النباتات من المرض دون أن تكون هى ممرضة. لقد كان هناك نجاح تام عند استعمال *T.viride* و*T.polysporum* لمقاومة مرض الورقة الفضية على الأشجار، وذبول الفيرتسليم على عيش الغراب، وقد سجل هذان النوعان تجاريا فى فرنسا وبريطانيا. وبحلول ١٩٨١ كان هناك أكثر من عشرين الف شجرة مثمرة قد عوملت تجاريا بالفطريات المذكورة.

لم يقتصر استعمال الجنس *Trichoderma* على الجروح فقط، وانما استعمله Tronsomo و Dennis سنة ١٩٧٧ لحفظ ثمار الفراولة من مرض عفن المخزن المتسبب عن الفطر

Botrytis cinerea، *Mucor mucedo* عن طريق رش نباتات الفراولة فى الحقل ابتداء من اول التزهير بمعلق مائى من الجراثيم الكونيدية لكل من *T.viride* و *T.polysporum*، وكانت نتيجة المقاومة الحيوية تشبه نتيجة استعمال المبيد الفطرى *Dichlofluanid*. كذلك أمكن حفظ ثمار الخوخ ضد مرض البقعة العينية المتسبب عن الفطر *B.cinerea* وذلك برش الجراثيم الكونيدية للفطر *T.pseudokoningii* بعد الحقن الصناعى للازهار بالكائن الممرض وليس عند حدوث المرض من الحقن الطبيعى. إن قلة نجاح المقاومة الحيوية لهذا المرض عند حدوث الإصابة الطبيعية، يكون بسبب درجة الحرارة المنخفضة السائدة وقت الإزهار. وجد أن الفطر المضاد *T.pseudokoningii* غير قادر على النمو على حرارة أقل من ٩° م، بينما الفطر الممرض *B.cinerea*، يمكن أن يعيش ويهاجم النبات على حرارة أقل من ٩° م. أما بالنسبة للفطر *T.harzianum*، وجد أن رش جراثيمه الكونيدية على أزهار التفاح يخفض الإصابة بمرض البقعة العينية على الثمار، وذلك لأن هذا الفطر يستطيع أن ينمو تحت درجات حرارة منخفضة، كذلك وجد أن مقدرة الفطر *T.harzianum* ضد الفطر *B.cinerea* على العنب فى الحقل تعتمد على درجة الحرارة وعلى تركيز اللقاح المستعمل من الجراثيم الكونيدية.

المضادات الحيوية التي يكونها الجنس *Trichoderma*

يبين شكل رقم ٧ المضادات الحيوية التى يكونها الفطر *Trichoderma* spp.

رقم ١ : Trichodermol ويفرزه الفطر *T. polysporum*

رقم ٢ : Harzianum ويفرزه الفطر *T. harzianum*

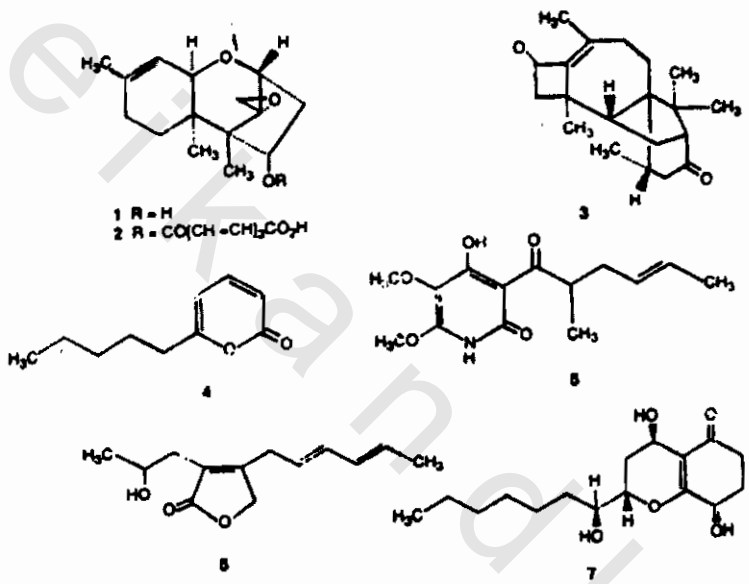
رقم ٣ : Harziandione ويفرزه الفطر *T. harzianum* strain *1*

رقم ٤ : *6* - pentyl - 2- pyrone، يفرزه الفطر *T. harzianum* السلالة المعروفة باسم (IMI275950). وجد أن هذا المركب فعال بتركيز ١٠ أجزاء فى المليون ضد الفطر *R.solani* والفطر مسبب المرض الماحق فى القمح. وهو يعطى مقاومة جيدة دون التأثير على النبات وينطلق ويتخلل التربة، ويمكن أن يعمل كمدخن متوسط الفاعلية.

رقم ٥ : Pyridone harzianopyridone وتفرزه السلالة (IMI 298371) من الفطر *T. harzianum* وهو يؤثر على الفطر *Botrytis cinerea* ويؤثر على *R.solani* بتركيز ١ ملغ/١ مل

٦ – harzianolide ، Butenolide ويفرزه *T.harzianum* تحت ظروف معينة.

٧ – Polyketides ويفرزه الفطر *T. harzianum* تحت ظروف معينة.



شكل رقم (٧) : التركيب الكيماوى للمضادات الحيوية التى يفرزها الفطر.

Trichoderma spp.

١ – Trichodermol
٢ – Harzianum
٣ – Harziandione
٤ – 6- pentyl - 2- pyrone
٥ – Pyridone harzianopyridone
٦ – Butenolide ، harzianolide
٧ – Polyketides

obeikandi.com

Trichoderma harzianum
ودوره في المقاومة الحيوية

مقـــدمة

يعتبر النوع *harzianum* من أهم الأنواع التابعة للجنس *Trichoderma* المستعمل فى المقاومة الحيوية لأمراض النبات. يعتبر هذا النوع بأنه نوع متكتل Species aggregate والذى يحوى وفرة كبيرة من السلالات، التى يمكن أن تستعمل كعوامل مقاومة حيوية ضد الفطريات الممرضة للنبات. الوضع التقسيمى لهذا الفطر غامض (هذا رأى Grondona *et* al. سنة ١٩٩٧). وإن الميزان المستعمل فى تصنيف وتعريف السلالات لغاية ١٩٩٧ لم يزودنا بطرق تمييز كافية، خاصة مع تلك العزلات المهمة فى برامج المقاومة الحيوية. هناك دراسات عديدة تهدف لوضع أوصاف لهذه الكائنات الحية الدقيقة، تعتمد على أساس نشاطها فى التضاد مع الفطريات أو تضادها الحيوى أو تطفلها على الكائنات الاخرى أو باتحاد أى منهما.

لقد تم تقسيم *T.harzianum* الى ٣ – ٥ مجموعات Sub specific وذلك اعتمادا على السلالات وعلى نوع الدراسة المتبعة. هناك حوالى ١٥ عزلة من هذا الفطر، أعتمد فى تقسيمها على ٨٢ صفة مورفولوجية وفسيولوجية وبيوكيميائية وعلى ٩٩ أيزوانزيم من سبعة نظم إنزيمية.

المجمـوعة الاولـــى: Cluster I

تسمى هذه المجموعة *I* Cluster وهى تحوى ٧٠٪ من مجموع العزلات، وهذه المجموعة تقسم الى قسمين 1 a و *1b*.

المجموعة 1a: تشمل العزلات الموجودة فى بريطانيا ذات أرقام ٢٤، ٢٩٢٩، ٢٦، ٢٩، ٢٩٢٨، ٢٩٢٧ وتتميز بأنها ذات مقاومة حيوية جيدة فى إسبانيا. جميع هذه السلالات لها Intercalary Chlamydospores وذات hydrolyzed gelatin وتنتج صبغات صفراء على بيئة MEA

المجموعة *1b* وتشمل عزلتين ذواتا أرقام ٢٩٢٥، ٢٩٣٣، وتختلف عن المجموعة *1a* فى كونها لا تنتج Intercalary Chlamydospores ولا تعطى لوناً أصفر على بيئة MEN.

المجمـــوعة الثانيـــة Cluster II :

تشمل هذه المجموعة العزلات ذات الارقام ٢٦٠، ٣,١١، ٢٩٢٣ وهى تنتشر فى فرنسا وزمبابوى، لها فعالية عالية فى المقاومة الحيوية لأمراض والنبات وذات مستوى ضعيف فى نشاط Extracellular enzyme. جميع أفراد هذه المجموعة تنتج مستعمرات ذات قطر أقل من ٨ سم على بيئة *MEA*، وتكون جراثيم كونيدية بقطر اكبر من ٢,٤ ميكروميتر. تنتج صبغات برتقالية على بيئة تحوى ٢٥ ٪ جلسرول آجار.

المجمـــوعة الثالثـــة Cluster III:

تنتشر هذه المجموعة فى الهند وتشمل أرقام ٢٩٢٤، ٢٩٣٠، ٢٩٣٢، ٢٩٣١. تنتج جراثيم كونيدية أقل من ٢,٤ ميكروميتر وتعطى ميسيليوم هوائياً على بيئة شبكس أمونيوم آجار، وعلى نترات آجار وهيدرولايزد جلاتين وتنتج صبغات ارجوانية وتتكشف إلى لون أصفر على بيئة *MEA*.

إن سلوك عزلات الفطر *T.harzianum* المختلفة: فى المقاومة الحيوية، يختلف حسب الفطر المستهدف فى المقاومة الحيوية. فمثلاً إن المقاومة الكبيرة التى تحدث للفطر *Aphanomyces cochlioides*، تكون بسبب أن هذا الفطر ذو جدر خلوية مكونة من السليلوز بالمقارنة مع ما يحدث من تثبيط للفطريات الاخرى مثل *Phoma beta* و *R.solani*، *Acremonium cucurbitacearum*، *Fusarium oxysporum f.sp. radicis lycopersi-ci* والتى تكون ذات جدر خلوية مكونة من الشيتين والجلوكان، وتكون المقاومة بسبب إنتاج إنزيم السليلوبيز من قبل جميع السلالات تقريباً. إن السلالة ٢٩٢٣ التابعة للمجموعة الثانية، هى العزلة الوحيدة التى لا تثبط نمو الفطر *P.betae* و *R.cochlioides* وبالمقابل فإن هذه العزلة تفتقر إلى إفراز البروتين وتظهر أقل مستوى من نشاطات الإنزيمات المحللة ضد الفطريات الأخرى. وبالتالى فإن هذه السلالة لا تعتبر من عوامل المقاومة الحيوية الفعالة،

وبالتالى يمكن القول بأن المستويات المختلفة فى المقاومة الحيوية التى يبديها الفطر *T.harzianum* تعتمد الى حد ما على نوع العزلة المستعملة فى المقاومة.

نظراً للاختلافات الواسعة ضمن الجنس *Trichoderma*، فمن الصعب استعمال أسماء معينة للنوع كما ذكرنا سابقاً.

المقاومة الحيوية للجنس Pythium بالجنس تريكوديرما

مقـــدمة:-

أنواع الجنس *Pythium* من بين الكائنات الممرضة الشديدة الخطورة، والكامنة فى التربة مسببة عفن البذور ومرض سقوط البادرات فى كثير من المحاصيل. على الرغم من الخسائر الاقتصادية الحقيقية المرافقة لأماكن تواجد هذا الجنس، إلا أن طرق مقاومته كيماوياً صعبة جدا، وذلك لأن التحكم فى الأمراض المتسببة عن الكائنات الكامنة فى التربة عن طريق معاملة البذور بالمبيدات الفطرية قد ثبت عدم فعاليته العملية. يعود السبب فى ذلك اساساً لظهور سلالات جديدة باستمرار من الفطر *Pythium* تكون مقاومة للمبيدات الفطرية، عدا عن أن هذه الكيماويات تضر بالبيئة، والأثر المتبقى السام لها فى المواد الغذائية سواء بالنسبة للنسان أو الحيوان. وبالتالى اتجهت جهود العلماء لإيجاد طرق بديلة فى مقاومة المراض عدا عن المبيدات الفطرية، أهم هذه الطرق البديلة هى المقاومة الحيوية. من أهم الكائنات الدقيقة المستعملة فى مقاومة الأمراض الكامنة فى التربة هو الفطر *Trichoderma*. أثبتت التجارب المعملية والحقلية على المقاومة الحيوية، مقدرة بعض سلالات الفطر المذكور على تخفيض لقاح الفطر *Pythium* فى التربة. لغاية مايو سنة ١٩٩٧ فإن الإجابة الشافية للطريقة التى بواسطتها يشارك التضاد الفطرى فى المقاومة الحيوية للفطر *Pythium spp* ليست واضحة تماما، مع أن ميكانيكية التضاد تشمل التطفل على الفطريات Mycoparasit-ism والتضاد الحيوى والمنافسة على الموقع والغذاء، كلها ذكرت بأنها تساهم كثيراً فى الاجابة عن التساؤل السابق. إذا وضعنا فى عين الاعتبار أن الفطر *Pythium sp* يتبع الفطريات البيضية والتى لجدر خلاياها تركيب مميز يحوى *B - (1,3) - (1,6) - D* - glu-cans وسليلوز بدلا من الشيتين chitin كمكون اساسى وكبير فى الجدار. وبالتالى يمكن أن نتوقع بأن الدور الذى يلعبه إنزيم Glucanases فى عملية التضاد الحيوى هو صحيح مائة فى المائة.

التفاعل الميسيليومي بين T.harzianum و P.ultimum

لقد تمت دراسة التفاعل بين هذين الفطرين وذلك كالاتى:-

ينمى الفطر *Pythium ultimun* سلالة BARR *447* على بيئة PDA ويوضع فى حضانة فى الظلام على حرارة ٢٦° م. أما الفطر *T.harzianum* سلالة (أو عزلة) *T-203* تنمى على بيئة PDA وتحضن على حرارة ٢٣ – ٢٥° م. لإجراء التجارب المزدوجة أخذت اقراص *PDA* (٥ ملم قطرا) من أطراف المزرعة القطرية النامية بقوة من مزرعة *T.harzianum* وأخرى من مزرعة *P.ultimum* ووضعت فى طبق جديد (فيه بيئة غذائية PDA) على سطح الطبق، تبعد عن بعضها البعض ٣ سم ثم حضنت الأطباق على حرارة ٢٥° م وتحت إضاءة مستمرة. عندئذ فإن الكائن المضاد وعائله كل منها ينمو باتجاه الاخر. لوحظ بعد ٤ – ٥ أيام من تحضين الأطباق ذات المزارع المزدوجة أن هيفات الفطر المضاد *T.harzianum* تنمو حتى تصل هيفات الفطر الاخر وتنمو عليها. وبعد سبعة أيام لوحظ أن الكائن المضاد كون أعداداً كبيرة من الجراثيم.

الدراسة بالميكروسكوب الالكتروني:

العينات الميسيليومية المأخوذة (بعد ٢، ٣، ٤، ٦، ٧ أيام من الحقن) من منطقة التفاعل فى تجارب المزارع المزدوجة، أخذت وجهزت للفحص بالميكروسكوب الإلكترونى. لوحظ فى العينات المأخوذة بعد يومين من الحقن أن هيفات الفطر المضاد، قد تم تشخيصها والتعرف عليها بسهولة، وذلك عن طريق سمك قطرها الأصغر من سمك قطر هيفات الفطر الاخر الممرض *P.ultimum* وتكون ملتفة حول خلاياه حيث تحضن الخلايا الرقيقة الخلايا السميكة.

شكل رقم ٨. يكون الالتفاف عادة شديداً ومحكماً حول هيفات الفطر *P.ultimum* مؤدية إلى انضغاط شديد لخلايا العائل، كما هو واضح عن طريق المظهر المتجعد لسطح الخلية. أما فى الأطوار المتقدمة من التطفل فان التفاف الفطر المضاد حول هيفات الفطر الممرض يزداد وتنهار خلايا العائل ويمكن تمييز ذلك بسهولة.

شكل رقم (٨) : صورة بالميكروسكوب الإلكترونى لتفاعل الفطر (T) *T.harzianum* مع الفطر (P) *P.ultimum*

a = التفاف هيفات الفطر T حول الفطر P (الاسهم) يلاحظ مظهر التجعد على سطح الخلية.

b = زيادة اعداد الفجوات.

المسطرة فى a = ٣ ميكروميتر.

المسطرة فى b = ٢ ميكروميتر.

الإجراءات الداخلة في التفاعل بين الفطرين

أخذت عينات ميسيليومية من منطقة التفاعل بين الفطرين، وأجريت عليها طرق معملية طويلة (مذكورة فى مجلة Applied And Environmental Microbiology الصادرة فى مايو ١٩٩٧ صفحة ٢٠٩٥ الى ٢٠٩٩)، وذلك لمعرفة الإنزيمات الداخلة فى التفاعل بين الفطرين. بينت الدراسة أنه فى العينات المأخوذة من المزرعة بعد يومين من الحقن أن خلايا *P.ultimum* المحاطة بواسطة هيفات الفطر *T.harzianum* يحدث فيها تغيرات مهمة تتميز أساسا عن طريق حدوث زيادة فى الفجوات وظهور انكماش موضعى فى الأغشية البلازمية فى المواقع النشيطة لاختراق الكائن المضاد (شكل *b* ، ٨). عند استعمال التكبيرات الكبيرة

يلاحظ انه فى معظم الحالات، فإن انكماش الغشاء البلازمى كان مترافقاً مع ترسب نسيج غشائى غير خلوى (Matrix) الذى فيه تركيبات صغيرة الكثافة الالكترونية مغمورة (شكل ٩). هذه الترسبات النصف كروية كانت معلمة بكثافة بواسطة المعلمات - B - 1,4 exoglucanase gold labeling. محاولات الكائن المضاد لاختراق هذه المواد المتكونة جديداً، نجحت كثيرا وأدت إلى نقص الكثافة على طول قناة الاختراق. الميكانيكية التى تتحكم فى عملية ترسيب السليلوز فى مثل هذه المناطق غير واضحة، مع أن هناك تفسيرين يمكن تقديمهما لذلك.

الاول: المواد المتجمعة يمكن أن تكون قد نشأت من جدار خلية العائل أثناء الانتفاخ ومط مادة البولى ميرز الموجودة مسبقاً. هذا يتطلب بوضوح فعل إنزيم السليوليز المنتج بواسطة الكائن المضاد، وهذا يمكن ان يقتضى ضمناً نقصاً فيما بعد فى المركبات السليلوزية المرتبطة فى جدار خلايا الفطر *Pythium*. وعلى أية حال فإنه فى ذلك الوقت بعد الحقن لم يمكن ملاحظة تغيرات واضحة فى جدر خلايا الفطر العائل أو إختلافات معنوية فى كثافة معلمات labeling السليلوز، بالمقارنة مع هيفات الكنترول النامية فى مزرعة مفردة. جدول رقم ٣٣.

الثانى : المواد المترسبة يمكن أن تكون قد ترسبت على شكل جزيئات مبنية حديثا. هذه الاحتمالية تثير سؤالا هو كيف تستطيع الخلايا الفطرية أن تنظم ترسيب المواد الشبيهة بتركيب الجدار فى مناطق غير عادية فى الخلية؟؟

البروتينات المرتبطة مع الأغشية مثل الانزيمات التى تكون متدخلة فى بناء مركبات بنائية، تعرف على أنها مرتبطة مع دهون، والتى تلعب دوراً كبيراً فى تنظيم نفاذية الأغشية البلازمية. التغيرات فى تركيب الدهون المتواجدة فى الأغشية البلازمية فى خلايا الفطر *Pythium*، من المحتمل أن تكون ناتجة من فعل مواد سامة منتجة من *T.harzianum* والتى تحث على نقض تنظيم الإنزيمات المرتبطة بالأغشية، مؤدية الى مناطق ذات ترسبات شبيهة بالجدار غير عادية. الدور الحيوى المضبوط للترسبات الغنية بالسليلوز لغاية الان غير مفهوم ولكن يمكن للباحث أن يتوقع أن التجمعات الكبيرة من المكونات التركيبية فى مناطق غير عادية تعكس استراتيجية دفاعية محكمة بواسطة خلايا الفطر *Pyhium* لمنع اختراق الكائن المضاد.

بمرور ٣ – ٤ أيام بعد الحقن (فى منطقة التفاعل بين الفطرين)، تظهر خلايا الفطر *Pythium* محطمة بشكل كبير وذلك عند قياسها بالتفاعل الكامل و / أو تفجر الغشاء

البلازمى وبواسطة التعضى غير المنتظم فى السيتوبلازم. تبدو جدر الخلايا أسمك منها فى الحالة العادية ومعلمة بالتساوى بـ Gold - complexed exoglucanase باستثناء المناطق التى يحدث فيها اختراق من قبل الفطر *Trichoderma*. بعد مرور ستة أيام من الحقن، تبدو هيفات الفطر *Pythium* (اساسيا) بشكل غير طبيعى، وعلى شكل قشور pleiomorphic فارغة (شكل ٩، *D*). فى الحالات المتقدمة من التطفل، فإن خلايا الكائن المضاد تتشعب كثيراً فى هيفات العائل وتخترق المنطقة التى عادة ما تكون مشغولة بسيتوبلازم العائل. هذا الاستعمار الكثيف، كثيرا ما يؤدى إلى ضغط ميكانيكى قوى (شكل ٩، *D* الأسهم) ضد جدر خلايا هيفات العائل. على الرغم من هذا التحطيم الكثيف لخلية العائل، فإن مناطق ارتباط ال Exoglucanase لا تزال ظاهرة فوق جدر خلية العائل حتى فى المناطق الملاصقة لمناطق الاختراق الفطرى (شكل ١٠، E). على أية حال فإن التحلل الكمى لـ Labeling يدل على نقص معنوى فى كثافة التعليم لطبقات جدار الخلية بالمقارنة مع تلك الموجود فى خلايا *Pythium* المجموعة بعد يومين من الحقن فى المزارع المزدوجة (جدول رقم ٣٣)

إن تفكك وارتخاء وحتى انحلال وذوبان الترسبات المتشكلة أولياً بين الأغشية البلازمية المنطوية وجدر خلية العائل، كانت غالبا مشاهدة فى مناطق اختراق *Trichoderma*، كما هو موضح عن طريق انطلاق أجزاء عديدة من الذهب على مسافات من منطقة الترسب (شكل ١٠، *E* الاسهم)، هذا يدل بوضوح على إنتاج كميات كبيرة من Cellulolytic enzymes. وباختبارات أخرى مشابهة، أثبتت ان بعض صفات التحطيم تظهر أساساً بواسطة التمزق فى طبقات الجدار الأكثر بعداً ، الذى يحدث فى مناطق جدار العائل المجاورة للاختراق الفطرى (شكل ١٠ الاسهم المزدوجة *E*). وعلى أية حال فان ما وجد، بأن السليلوز المعلم لا يزال متواجداً فوق الجدر المحطمة من الفطر *Pythium*، يؤدى الى القول بأن الإنزيمات المحللة للسليلوز ليست هى الصفة الحاسمة الوحيدة الداخلة فى عملية التضاد. مع أنه يبدو واضحاً أن مثل هذه الانزيمات تلعب دور المفتاح فى كسر جدر خلايا العائل فى مناطق محاولة الاختراق، إلا أنه يبدو محتملا أن هناك إنزيمات منتجة أخرى، تشارك أكثر فى الطور الترممى للكائن المضاد، عندما استعملت المركبات الرئيسية المرتبطة بالجدار على شكل مصدر للغذاء للتزويد بالطاقة اللازمة للتكاثر والتجرثم.

بعد سبعة أيام من الحقن، فإن خلايا الفطر *Pythium* كانت محطمة كلية، وفى معظم الحالات هناك كمية قليلة فقط من بقايا الجدار المعلمة كانت دليلا على الوجود السابق للخلية الفطرية (شكل ١٠، F) جدول ٣٣.

شكل رقم (٩) صورة بالميكروسكوب بالإلكترونى لتفاعل الفطر (T) *T.harzianum* مع الفطر (P) *P.ultimum*

c = اخفاض فى كثافة المعلمات على طول قناة اختراق الفطر T. الأسهم.

d = خلايا الكائن المضاد تخترق المنطقة المشغولة أساساً بسيتوبلازم العائل وتخلق ضغطاً ميكانيكياً على جدار خلية العائل (الأسهم).

المسطرة = ٠,٥ ميكروميتر

شكل رقم (١٠) تكملة لشكل رقم ٨،٩

E : تفكك وذوبان المواد الشبيهة بجدار الخلية فى منطقة إختراق T .

الاسهم المزدوجة = تمزق الطبقات الداخلية لجدار الكائن الممرض

F . اضمحلت خلايا P الى بقايا من الجدر والتى هى معلمة قليلا بمعلق Exoglucanase - gold complex

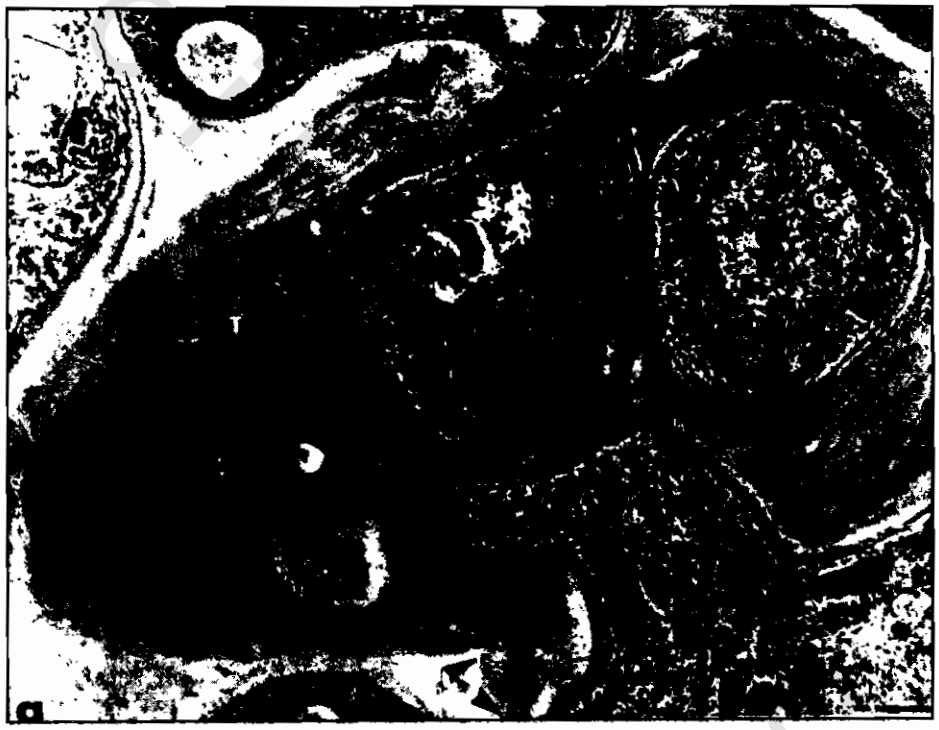
المسطرة فى E = ١ ميكروميتر

المسطرة فى F = ٠,٢٥ ميكروميتر

جدول رقم ٣٣ : كثافة المعلمات المتحصل عليها مع معقد الذهب B-1,3 glucanase , Exoglu-canase **فوق جدر خلية الفطر** *P.ultimum* **خلال تفاعله مع** *T.harzianum*

المعاملة	متوسط اعداد الاجزاء الذهبية لكل um^2 مع	
	Exoglueanase- gold	B- 1,3 - Glucanase- gold
كنترول (مزرعة مفردة)	١٤,٨ ∓ ٩٤,٦	١٢,٢ ∓ ٥١,٣
بعد يومين من التحضين	١٠,٣ ∓ ٨٧,٨	١٠,١ ∓ ٢٢,٦
بعد ٣ أيام من التحضين	٩,٥ ∓ ٧٨,٥	٦,٤ ∓ ١٠,٣
بعد ٤ أيام من التحضين	١٢,٢ ∓ ٦٠,٥	٢,٠ ∓ ٨,٢
بعد ٦ أيام من التحضين	٥,٣ ∓ ٣١,٨	٠,٥ ∓ ١,٠
بعد ٧ أيام من التحضين	٦,٤ ∓ ١٨,٥	صفر

بعد تحضين مقاطع من مناطق التفاعل مع المعقد الذهبى لـ B - 1,3 - glucanase، حدث نقص معنوى فى جدر خلايا *Pythium* المعلمة، وذلك بعد يومين من الحقن (جدول ٣٣). بعد ٣ – ٤ أيام من الحقن فإن التعليم كان منخفضاً الى شريحة بسيطة من الأجزاء الذهبية فوق طبقات جدار العائل الاكثر بعداً (شكل ١١). لوحظ فى مناطق اختراق الكائن المضاد انطلاق أجزاء ليبيفية معلمة (شكل ١١ رؤوس الأسهم). فى المراحل المتقدمة من التضاد (٦– ٧ أيام من الحقن) فإن جدر خلية الفطر *Pythium* المعلمة بـ B - 1,3 - glucanase قد اختفت (شكل ١٢، *b*). فى هذا الوقت يتجرثم الكائن المضاد بكميات كبيرة (شكل ١٢، *c*).



شكل رقم (١١) : صورة بالميكروسكوب الإلكترونى للتفاعل بين *T.harzianum* مع الفطر *Pythium ultimum* يشار اليه بحرف P.

a = التفاعل بعد ٣ أيام من الحقن، استعمار كبير لخلايا P، تجمع كبير للسيتوبلازم. يلاحظ انطلاق أجزاء الليبيفيات المعلمة (الأسهم).

المسطرة = ٠,٥ ميكروميتر.

شكل رقم (١٢) : تكملة لشكل رقم ١١ .

c + b = تفاعل بعد سبعة أيام من الحقن

B - 1,3 - Glucan لا تتواجد طويلاً فى الخلايا المتغيرة لهيفات P.

جراثيم (Ts) الفطر تريكوديرما تبدو على بيئة الآجار.

المسطرة فى c = ٠,٢٥ ميكروميتر

وفى b = ٠,٥ ميكروميتر

التغير الملاحظ فى مكونات B - 1,3 glucan فى جدار خلية العائل يكون متناسقاً مع الكفاءة المعروفة للفطر تريكوديرما فى إنتاج الإنزيمات Hydrolytic مثل B - 1,3 - gluca-nases. أما التغير فى B - 1,3 - glucans لا يحدث فقط فى مناطق الجدار الملاصقة لخلايا تريكوديرما ولكن أيضاً على مسافة من مناطق دخول الكائن المضاد، وبالتالى فإن B - 1,3 - glucanases يمكن أن تنتشر بحرية بين الخلايا وهذا ما يسهل للفطر تريكوديرما بالدخول خلال النسيج غير الخلوى المفكك. هذه الملاحظات تثير تساؤلا عن كيفية إضعاف جدار الخلية عن طريق فعل إنزيم B - 1,3 - glucanases المفرز من قبل تريكوديرما، وهل يمكن

أن تسهل انتشار المركبات السامة باتجاه المستقبلات الغشائية عن طريق زيادة نفاذية الجدار؟؟ وبالتالى يمكن التأكيد على أن الفعل الإنزيمى مع المضادات الحيوية لهما دور فعال فى تفاعل المقاومة الحيوية للفطر *T.harzianum*. وبالتالى يمكن القول بأن المقاومة الحيوية التى يقوم بها الفطر المضاد المذكور ضد الفطر الممرض *Pythium* تعتمد على:-

١ - إدراك والتصاق الفطر تريكوديرما مع الفطر *Pythium*، حيث إن هذا الاخير يشجع إنبات الجراثيم الكونيدية للفطر الأول.

٢ - إنتاج إنزيمات B - 1,3 - glucanases التى تضعف جدر خلية العائل، وإنتاج كمية قليلة من أنزيم السليوليز لتسمح باختراق موضعى للكائن المضاد.

٣ - إنتاج مضادات حيوية لتفسد نظام الميتابولزم فى العائل.

٤ - اختراق خلية العائل وإنتاج نشيط لإنزيم السليوليز يؤدى إلى تحطيم خلية الكائن الممرض.

التفاعل الهيفي بين T.harzianum والفطر Sclerotinia sclerotiorum

مقـــدمة

يسبب الفطر *S.sclerotiorum* أمراضاً خطيرة فى كثير من المحاصيل، مثل فول الصويا، عباد الشمس وكذلك لكثير من نباتات الخضار فى المناطق المعتدلة والرطبة. مع أن الفطر *T.harzianum*، ثبت بأنه فعال فى منع تكوين الأجسام الحجرية لكثير من الفطريات الممرضة للنبات، إلا أن ظاهرة التطفل الفطرى Mycoparasitism تلعب دوراً مهماً فى مقاومة الفطر *S.sclerotiorum* فى حقول التجارب. لقد تم معرفة التفاعل التطفلى بين الفطر تريكوديرما والفطريات الممرضة النباتية الكامنة فى التربة باستعمال الميكروسكوب الضوئى والإلكترونى.

تفاعـــل الفطـــرين

لقد درس التفاعل الهيفى بين الفطر *T.harzianum* سلالة *(BAFC cult No:72)*، المتطفلة على الفطريات والفطر الممرض النباتى *S.sclerotiorum* فى المزارع المزدوجة

dual culture وفى التربة المعقمة باستعمال الميكروسكوب الضوئى والإلكترونى. فى المزرعة المشتركة فإن هيفات الفطر المضاد تنمو باتجاه وتلتف حول هيفات الفطر الممرض (شكل رقم ١٣) . اما زيادة كثافة لفات هيفات الفطر تريكوديرما والتحطم الأولى لخلايا الفطر الممرض، فإنها تلاحظ فى المراحل المتأخرة من التطفل.

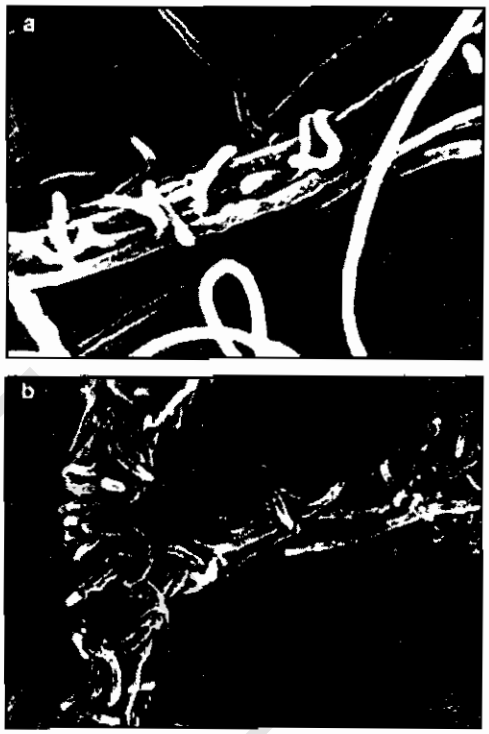
فى التربة المعقمة تنبت الجراثيم الكونيدية للفطر *T.harzianum* (المضاد) وتتكشف إلى ميسيليوم، وتتصل مع هيفات الفطر الممرض *S.sclerotiorum* وتشكل تفرعات قصيرة وأجساماً شبيهة بأعضاء الامتصاص والتى تساعد فى القبض والاختراق لجدر خلية العائل.

هناك نظام قد استعمل فى المعمل لاختبار مقدرة الفطر المضاد فى مقاومة مرض ذبول *Sclerotinia* فى الخيار والخس، حيث كانت تغسل بذور الخيار تحت الماء الجارى ثم يطهر سطحها بمادة *NaOCl* او فى ٥ ٪ إيثانول، ثم تغمر بعد ذلك فى معلق الجراثيم الكونيدية بنسبة ٥ x ١٠^{١٠} وحدة تكوين مستعمرات / مل من الفطر المضاد *T.harzianum* ثم تترك لتجف هوائيا وتزرع فى بيئة *Peat* مخلوط بنسبة ١٠٠ ٪ من الفطر الممرض *S.sclerotiorum* ثم توضع فى مراقد الإنبات على حرارة ١٧°م لمدة ٢٠ يوما. أما بالنسبة لتجارب الصوبا الزجاجية، فكانت تمزج التربة التى تزرع فيها بادرات الخس، بالجراثيم الكونيدية للفطر المضاد بتركيز ٣ x ١٠^{١٠} جرثومة /غرام تربة. كان يستعمل لقاح الفطر الممرض على شكل قطع من الآجار، الذى يحمل أجساماً حجرية منبتة بنسبة ٢ جسم حجرى منبت يدفن على عمق ٣ سم تحت سطح التربة، وعلى بعد ٢ سم من جذور البادرات.

إن تغليف البذور بالجراثيم الكونيدية للفطر المضاد، يؤدى الى خفض سقوط البادرات قبل وبعد ظهورها فوق سطح التربة المتسبب عن الفطر *S.sclerotiorum* فى الخيار بنسبة ٦٩ و ٨٠ ٪ بالترتيب، وفى الخس بنسبة ٤٦ و ٧٢ ٪ بالترتيب.

أما فى الصوبات الزجاجية فإن المرض المتسبب عن الفطر نفسه فى الخس قد انخفض بمعاملة البادرات بتحضيرات من البيت والنخالة ناميا عليها الفطر *T.harzianum*. وعلى الرغم من عدم الخفض المعنوى لهذا المرض، إلا أن بادرات الخس المعاملة بالفطر تريكوديرما نمت وتكشفت أفضل من الكنترول. أما فى عباد الشمس، كان هناك خفض معنوى، بمعدل يتراوح من ٦٨– ٨٤ ٪ فى حدوث المرض، قد تم الحصول عليه عن طريق خلط تحضيرات الفطر المضاد مع البيت والنخالة ووضعها فى منطقة جذور النبات. التطفل

الفطرى على الهيفات، عدا عن التطفل على الأجسام الحجرية، هو المقترح فى تفسير الميكانيكية التى بواسطتها يقاوم الفطر المضاد الفطر الممرض تحت هذه الظروف.



شكل رقم ١٣ صورة بالميكروسكوب الإلكترونى للتفاعل الهيفى بين الفطرين *T.harzianum* والفطر *S.sclerotiorum* فى المزرعة المزدوجة على بيئة صناعية.

a : هيفا الفطر تريكوديرما نامية على طول هيفات الفطر *S.clerotiorum* ومتفرعة باستمرار وملتفة حولها.

b : المراحل الأخيرة من التطفل. يظهر التفاف الهيفات بكثافة شديدة حول هيفات الفطر الممرض وتتحطم الخلايا.

المقياس ١٠ ميكروميتر.

تأثير الفطر المضاد تريكوديرما على الاجسام الحجرية للفطر *S.sclerotiorum*

هناك عديد من الكائنات التى تتغذى أو تتطفل على الأجسام الحجرية، قد درس احتمال كونها عوامل مقاومة حيوية. لقد ذكر Merriman سنة ١٩٧٦ أن الفطريات *Trichoderma*

sp.، *Penicillium sp* و *Fusarium sp.* وفطريات تربة أخرى تستعمر الأجسام الحجرية للفطر *S.sclerotiorum*. ولقد ذكر كل من Whipps و Budge سنة ١٩٩١ أن الفطريات *Gliocladium virens* و *Sporidesmium sclerotivorum* تستطيع أن تحطم الاجسام الحجرية للفطر *Sclerotinia sp* وأظهر أدلة على إمكانية استعمالها فى المقاومة الحيوية.

لقد ذكر Reeleder و Anas سنة ١٩٨٧ أن يرقات *Bradysia coprophil* تحطم الاجسام الحجرية لكثير من الفطريات الممرضة أثناء التغذية، وبالتالى تؤثر على بقاء الأجسام الحجرية حية وتزيد من قابليتها للإصابة بالكائنات الفطرية المتطفلة على الفطريات. بالاضافة لذلك فإن الأجسام الحجرية التى تأثرت بيرقات الحشرة السابقة يتطفل عليها الفطر *T.viride* بكثافة أكثر منه فى حالة الأجسام الحجرية غير المتأثرة بتغذية اليرقة. إن الإفرازات المغذية لليرقة تخفض مقدرة الأجسام الحجرية على الإنبات، هذا يمكن أن يكون بسبب نشاط إنزيم الـ chitinase فى المواد المفرزة. وبالتالى يمكن القول بأن إضافة مجموعات من هذه اليرقات فى تربة الحقل يمكن أن تؤدى الى خفض مدة بقاء الأجسام الحجرية حية فى التربة.

وجد فى معظم التجارب أن هناك عزلتين من الفطر *T.hamatum* تسبب تحطيماً كبيراً فى الأجسام الحجرية للفطر *S.sclerotiorum*، هما *3* - TMCS و *21* -TMMS والمعزولتين من الطين او التربة الملوثة بالسماد البلدى. كانت النسبة المئوية للاجسام الحجرية المنبتة منخفضة (صفر و ٣٪) تحت تأثير العزلتين المذكورتين بالترتيب، بالمقارنة مع الكنترول ٤٢٪. كذلك فى جميع المعاملات فإن تجرثم الكائن المضاد لوحظ بعد عشرة أيام.

أما بالنسبة لدور يرقات *B.coprophila* فان نوع الأضرار التى تسببها للاجسام الحجرية تختلف عن تلك الأضرار التى يسببها الفطر *T.hamatum*. فى الطور الأول من التحلل فإن طبقة القشرة من الجسم الحجرى تتحطم بواسطة التغذية باليرقة، بعد ذلك تتغذى اليرقة على طبقة النخاع مسببة أنفاقاً، حتى يصبح الجسم الحجرى كله مستهلكاً. أثناء التغذية فإن قطعاً سوداء من قشرة الجسم الحجرى تمر خلال الجهاز الهضمى ثم تفرز خارجا دون اى تحلل يذكر.

وبالمقابل فإن الفطر *T.hamatum* يخترق القشرة السوداء ويبدأ فى التحطيم الكلى للجسم الحجرى من الداخل. تبقى القشرة ذات مظهر سليم بصورة عامة دون ظهور أية اعراض

للأضرار فى البداية، ولكن الجسم الحجرى المستعمر بالفطر يأخذ المظهر المتجعد. إن وجود الفطر *T. hamatum* يبدو أنه ليس له أية تأثير على سلوك تغذية اليرقة. وعلى أية حال فإن تغذية اليرقة فى المرحلة الاولى تبدأ فى المناطق التى لم يوطد الفطر تريكوديرما نفسه فيها. لقد وجد أن اليرقة لا تستعمل الفطر تريكوديرما غذاء لها أبدا.

الاجسام الحجرية المعزولة من التربة المعقمة والمعاملة بالفطر تريكوديرما (حيث فقط العزلة *TMCS- 3* التى استعملت) تبين انه بين ٥٠ و ١٠٠ ٪ من سطوحها استعمرت بواسطة الفطر *T.hamatum*. أما فى التربة غير المعقمة فإن النسبة المئوية للسطح المستعمر كان لايزيد عن ٢٥ ٪ أما عند إضافة يرقات *B.coprophila* فإن النسبة المئوية لاستعمار السطح لم تزداد معنويا.

وجد أن الفطر *T.viride* له تأثير مضاد على *Phytophthora cinnamomi,*

P. fragariae, P. nicotianae ، P.cactorum

II : الجنس Gliocladium

الفطر Gliocladium roseum

مقـــدمة :

الكائنات الحية الدقيقة المضادة، لها دور كبير فى مقاومة كثير من أمراض النبات. لقد أجريت تجارب كثيرة لمقاومة مرض العفن الرمادى Gray mold وأمراض أخرى متسببة عن الكائن الممرض المهلك *Botrytis cinerea* فى الفواكه والخضروات والمحاصيل الحقلية، غراس أشجار الغابات ونباتات الزينة ومحاصيل أخرى. إن ظاهرة التضاد الميكروبى ضد الفطر *B.cinerea* من أهم طرق المقاومة الحيوية الملائمة وذات كفاءة عالية فى الوقت الحالى، ويمكن أن تكون مترافقة مع طرق المقاومة الاخرى، أو تستعمل لوحدها، وذلك حسب شدة المرض والظروف البيئية، وبالتالى فهى تساعد فى عدم الاعتماد على استعمال المبيدات الفطرية الكيماوية. كذلك فإن ظهور سلالات من الفطر *B.cinerea* مقاومة للمبيدات الفطرية وغير ملائمة لمقاومة العائل، تشارك فى جعل كثير من المحاصيل الحقلية غير مستقرة ومعرضة لخطر الهجوم من قبل الكائن الممرض. كذلك فإن المقاومة الحيوية بالكائنات الحية الدقيقة تبدو كطريقة لمنع أية أخطار مترافقة، تحدث للعمال من جراء استعمال المبيدات الفطرية الكيماوية وكذلك لاستبعاد الأثر المتبقى السام الذى يبقى فى المواد الغذائية، وتؤثر على صحة الإنسان أو الحيوان بالإضافة إلى أضرار البيئة.

إن الفطر الخيطى *Gliocladium roseum*، قد تبين بأنه فعال ومتعدد التأثيرات ضد الفطر *B.cinerea*، وخاصة عند تفاعله مع عوامل أخرى ظاهرة، مما يؤكد تحسن طرق وقاية النبات من الأمراض بالمقاومة الحيوية. وفيما يلى مقالة طويلة تتعلق بالفطر *G.roseum* وتوضيح الأدوار التى يقوم بها فى النظام الطبيعى فى المحاصيل ودورة كعامل مقاومة حيوية.

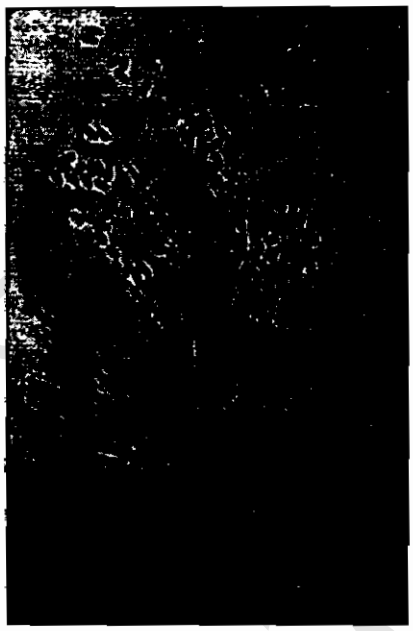
الشكل الخارجي والتصنيف:

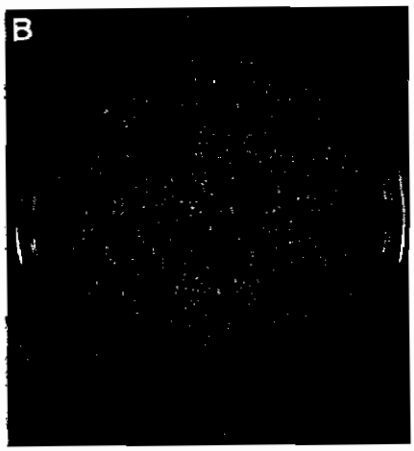
الفطر *G.roseum*. الاسم المرادف *Nectria ochroleuca*، وهو من الفطريات الإسكية المسماة Hypocreales وواحد من الـ hyphomycete غير العادية، والتى تنتج جراثيم

كونيدية، ذات خلية واحدة، على نوعين متميزين من الحوامل الكونيدية. النوع الأول متفرع على شكل Penicillately (خصل)، والثانى متفرع على شكل سوارى Verticillately (شكل رقم ١٤). تكون مستعمرات الفطر على بيئة الاجار بشكل عام، مبيضة برتقالية أو ذات لون سلامونى. يعتبر الفطر مختلف جنسياً عن عامل المقاومة الحيوية *Gliocladium virens*، والذى يسمى الآن *Trichoderma virens*، ويختلف أيضاً عن النوع النموذجى المسمى *Gliocladium penicillioides*. ولقد اقترح العالم Domsch *et al* سنة ١٩٨٠ أن الفطر *G.roseum* يدخل فى الجنس *Clonostachys* واقترح بان يشار إليه بأنه مجموعة من الأنواع.

البيـــئة:

الفطر *G.roseum* شائع الوجود فى الظروف البيئية المتطرفة غير العادية والمنحرفة عن الوضع الطبيعى، فمثلاً يتواجد الفطر فى المناطق الاستوائية والمدارية والمعتدلة والمناطق القطبية والمناطق الصحراوية فى العالم. ولقد ذكر بأنه يتواجد فى المناطق المزروعة والمناطق العشبية والغابات الخشبية والبساتين العادية، وأراضى المروج والمياه العذبة والاراضى الساحلية ؛ خاصة تلك المتعادلة والقريبة الى القلوية. يكون الفطر *G.roseum* غالباً مترافقاً مع حويصلات النيماتودا *Heterodera sp.*، *Globodera sp*، وأنواع أخرى من النيماتودا فى التربة، وكذلك مع الأجسام الحجرية للفطريات الآتية:





شكل (١٤) : الفطر *Gliocladium roseum*.

A : حوامل كونيدية : سوارية فى الأعلى.

خصلية فى الأسفل.

B : نمو الفطر على بيئة PDA.

1 - Sclerotinia sclerotiorum

2 - Phymatotrichum omnivorum

3 - R.solani

4 - Botrytis spp.

5 - Verticillium spp.

وفطريات أخرى فى التربة وعلى الأجزاء النباتية. ومنذ أوائل ستينيات هذا القرن فإن الفطر *G.roseum* قد حصل على شهرة عالمية كفطر متطفل mycoparasite على كثير من الفطريات.

كذلك فان هناك أشكالاً متعددة جديرة بالاهتمام من الفطر *G.roseum* تكون مرافقة للجذور، السيقان، الأوراق، الثمار وبذور النباتات. يتواجد الفطر على سطوح النبات مثل المجال الورقى فى الفراولة وسطح الميكورهزا فى نبات *Abies alba*. وتشير التقارير إلى أن

الفطر يتواجد بكثرة ضمن المجموع الخضرى والجذور الميتة والتى فى سن الشيخوخة لكثير من أنواع النباتات، وفى النباتات التى أصبحت ضعيفة عن طريق الظروف غير المناسبة، مثل استعمال مبيدات الحشائش عليها أو المهاجمة من قبل الأمراض.

من المعروف أن الفطر *G.roseum* قادر على استعمار أجزاء نبات فول الصويا دون إنتاج أعراض، حيث تظهر هذه الأجزاء سليمة، مثل الجذور،السيقان، القرون والبذور. وكذلك جذور البرسيم الأحمر وأوراق الفراولة وتوت العليق. فى هذه الحالات يبدو الفطر بوضوح مستعمراً العائل كمتطفل غير مسبب للمرض، فى فول الصويا، على الأقل، يكون ترافقه جهازياً. هناك بعض التقارير تشير الى أن الفطر *G.roseum* كان ممرضاً لثمار التفاح، درنات البطاطس، بادرات الصنوبر، *Exacum affine* والفول البلدى، إلا أن هذه التقارير غير مؤكدة من قبل كثير من الباحثين. الفطر الذى يطلق عليه الاسم القديم للفطر *G.sroseum* الذى سبق ذكره *N.ochroleuca* يوجد غالباً وفى كثير من الأحيان على أفرع الأشجار الميتة حديثاً، وفى أحيان أخرى يتواجد على الأعشاب والأنسجة اللحمية فى النباتات والفطريات.

اختيار الفطر *G.roseum* في المقاومة الحيوية

إن عملية اختيار الكائن الحى الدقيق فى المقاومة الحيوية، من الأمور الصعبة، حيث تكون أمام الباحث أعداد مذهلة من العزلات الميكروبية، والتى تستطيع أن تقوم بدور المقاومة الحيوية، ويكون من الصعوبة تبرير أو تثبيت التقييم، أو تحديد الكفاءة المثلى لاى منها فى المقاومة الحيوية، حيث إن هذه الامور تحتاج الى الحصر الطبيعى للميكروب ويتطلب امكانية استعمال الميكروب فى الانتاج التجارى (ذكر هذا الموضوع بالتفصيل فى الجزء الأول من الكتاب).

فى حالة اختيار الكائنات الدقيقة المضادة للفطر *B.cinerea*، فإن الباحثين قد أيدوا المنطق القائل بالتكيف البيئى للميكروب مع العائل النباتى، حيث إن هذا يكون مفيداً للحصول على مقاومة حيوية مفيدة وفعالة لمدة طويلة فى نظام المحاصيل، وبناء على ذلك تستعمل نباتات العائل كمصدر رئيسى للكائنات المختبرة. تشمل طرق الاختيار الفطريات

الخطيطة، الخمائر والبكتيريا، التى تعزل من الأوراق الميتة والحية ومن السيقان والأزهار والثمار، من نباتات العائل الخالية من مبيدات الافات، وكذلك فإن طرق الاختيار تشمل الكائنات الدقيقة رمية التغذية، الكائنات الممرضة الضعيفة والكائنات سطحية المعيشة وداخلية المعيشة غير الممرضة. تستعمل الكائنات الواقعة تحت الاختبار على نباتات الصوبا الزجاجية التى تفتقر الى التنوع المرغوب فى الميكوفلورا، حيث ترش بالمعلق المائى من التربة وتحضن فى جو عالى الرطوبة قبل إعادة عزل السلالة، وكذلك فإن نباتات العائل بدورها، تعمل كمادة اختبار وكمادة تفاعل للكائنات الدقيقة الطبيعية، وبالتالى تضيق مجال الكائنات الدقيقة للتقييم فى اختبارات الاختيار. بالنسبة لبعض العوائل، فإن هذا المجال يمكن تضيقه كثيراً، وذلك عن طريق إضافة جراثيم كونيدية من الفطر *B.cinerea* الى النباتات، وأخيراً إعادة اكتشاف الكائنات الدقيقة فقط من أجزاء النسيج التى فشل الكائن الممرض فى التجرثم عليها، الا أن الفطر *G.roseum* كان قد تم عزله مراراً من الأنسجة الحية والميتة تقريبا، من جميع العوائل المختبرة.

بعد تطبيق الإجراءات العملية فى الاختيار من بين مئات الكائنات الدقيقة المختبرة ضد الفطر *B.cinerea*. تبين أن الفطر *G.roseum* ذو فعالية ضد الفطر الممرض *B.cinerea* على كثير من العوائل النباتية منها، الفراولة، العليق، Black spruce ومدى واسع من نباتات الازهار والزينة والخضروات المنتجة فى الصوبات الزجاجية شاملة البيجونيا، جيرانيم، بونيستيا، بخور مريم *Exacum affine*، الطماطم، الخيار والفلفل. وبشكل عام فإنه فى جميع الحالات فإن الفطر *G.roseum* كان مشابهاً أو أكثر فى فعاليته من تأثير المعاملات بالمبيدات الفطرية فى الأوراق، القنابات الزهرية، السيقان، الازهار والثمار، وبالتالى فى هذه الأيام فإن الفطر *G.roseum* يستعمل تجارياً فى مقاومة امراض *B.cinerea* فى الصوبات الزجاجية.

المقاومة الحيوية للفطر B.cinerea

١- على الفراولة:

كان أول ظهور للفطر *G.roseum* كمضاد ذى قوة عالية ضد الفطر *B.cinerea*، فى الدراسات التى أجريت على الفراولة فى اوائل الثمانينيات. تبين أن عزلات الكائن المضاد

تثبط باستمرار الفطر الممرض المذكور بنسبة حوالى ٩٨ ٪ أو اكثر، وذلك فى الاختبارات التى أجريت على الاوراق المتصلة وغير المتصلة بالنبات والبتلات والأسدية. وكذلك وجد أن هذا الكائن المضاد، يؤدى دوره بثبات واستمرارية بطريقة أفضل من كائنات حية دقيقة أخرى مثل *Trichoderma viride*، *Alternaria alternata*، *Myrothecium verrucaria* و *Penicillium spp.* والمبيد الفطرى القياسى كبتان. تكون الانسجة التى تستعمل فى الاختبار عادة محقونة بالكائن الحى الدقيق المضاد بنسبة $^{٧}١٠$ جرثومة كونيدية/ مل ماء، بالإضافة لمادة مطهرة سطحية للفطريات، ثم يضاف لهذه الانسجة بعد ٢٤ ساعة الفطر الممرض *B.cinerea* بتركيز $^{٦}١٠$ جرثومة كونيدية/ مل ثم بعد ذلك تحضن على *PCA* ثم تقيم مقدرة التجرثم فى الكائن الممرض.

وعلى أية حال، فإن أفضل طريقة للتقييم، كانت تجرى فى قطع من الحقل مزروع فيها نباتات الفراولة على خطوط. كانت تستعمل الفطريات المختبرة بنسبة $^{٦}١٠$ جرثومة كونيدية/ مل، أو المبيد الفطرى كبتان، أسبوعيا لوقاية الازهار، الطريق الرئيسى لاختراق الثمار بواسطة الفطر الممرض *B.cinerea* فى الفراولة. كانت تجرى التجارب بسرعة قبل حلول الليل ونزول الندى، معتمدة فى ذلك على أن الندى والظلام يمكن ان يسهلا بقاء وفعالية عامل المقاومة الحيوية.

أجريت أربعة اختبارات على صنف الفراولة Red cot، فوجد أن الفطر *G.roseum* يثبط تواجد الفطر الممرض فى الاسدية والثمار بحوالى ٧٩ ٪ الى ٩٣ ٪ و ٤٨ ٪ الى ٧٦ ٪ بالترتيب.

هذه النتيجة، أفضل من النتائج المتحصل عليها، من أى عامل مقاومة أخرى أو حتى عند استعمال المبيد الفطرى كبتان. كذلك فان الفطر *G.roseum* كان أيضا ذا فعالية تشبه فعالية الكبتان ضد الفطر الممرض فى ثمار ثمانية أصناف فراولة. كما هو الحال فى الزراعات التجارية فإن الفطر الممرض *B.cinerea*، يكون بشكل عام متمرداً ويتجرثم على ١٥ – ٣٠ ٪ من الثمار، فيما لو كانت النباتات معاملة بالمبيد الفطرى المناسب أو الفطر المضاد *G.roseum*. إن التفسير المعقول لهذه الفروق العالية من نسبة التجرثم، يكون، لأن الأزهار فى بعض الاصناف المختبرة تبقى متفتحة لبضعة أيام فقط، وبالتالى يمكن أن تكون قد هربت من المعاملات الأسبوعية، أو أنها قد عوملت متأخرة كثيراً، وبالتالى ظهرت فيها

نسبة التجرثم المنخفضة ١٥ ٪، أما فى الأصناف الأخرى، فإن الاختبارات قد تكون شديدة فى تلك القطع، عندما حقنت صناعيا بالفطر الممرض وحدث تجرثم لهذا الكائن فى الثمار المجموعة بنسبة ٣٠ ٪، وقد قدرت فقط بعد عدة أيام فى درجة حرارة الغرفة العادية ورطوبة عالية. تعتبر الطرق المحسنة لتوقيت وتطبيق المعاملات وسيلة جيدة لتحسين فعالية المقاومة الحيوية فى الحقل.

الاستعمالات الأسبوعية للفطر *G.roseum* (10^6 جرثومة كونيدية/ مل) تعطى مقاومة جيدة للفطر الممرض *B.cinerea* على الفراولة المزروعة فى بيوت زجاجية مغطاة بالبلاستك فى حالة المناخ شديد الرطوبة. انخفض الفقد فى الثمار وقت الجمع أو بعد ٤ – ٥ أيام من الجمع بنسبة ٧٣ و ٤٨ ٪ بالترتيب فى الفراولة المعاملة بالفطر المضاد، بالمقارنة مع ٦٤ و ٣٦ ٪ باستعمال برنامج المبيد الفطرى أسبوعياً. بالإضافة للأزهار والثمار فان *G.roseum*، ثبتت فعاليته بشكل ملحوظ ضد الفطر *B.cinerea* على المجموع الخضرى فى الفراولة، حيث إن المجموع الخضرى هو المصدر الرئيسى للقاح فى الكائن الممرض فى زراعات الفراولة. فى بعض التجارب التى أجريت فى ستة خطوط، حيث أجريت عمليات الوقاية فى الربيع، أواخر الصيف، وبداية الخريف، كان المجموع الخضرى يحقن بالفطر الممرض (10^5 الى 10^6 جرثومة كونيدية/ مل) فان الرش متأخراً ٢ – ٥ أسابيع بلقاح الفطر المضاد *G.roseum* او فطريات المقاومة الحيوية الأخرى (10^7 جرثومة كونيدية / مل) او باستعمال المبيد الفطرى كلوروثالونايل، حيث إن هذا المبيد ذو فعالية استثنائية ضد الفطر *B.cinerea* فى أوراق الفراولة. وجد فى معظم الحالات أن الفطر المضاد *G.roseum* يثبط إنتاج الجراثيم فى الفطر *B.cinerea* على الاوراق بحوالى ٩٠ – ١٠٠ ٪ وكان دائما ذا فعالية تشبه فعالية الكلوروثالونال. إن كلا من الفطر المضاد *G.roseum* والمبيد الفطرى المذكور تثبط الكائن الممرض بحوالى ٦٠ ٪ فقط فى الاوراق التى قضت الشتاء ووصلت الى نصف طور الشيخوخة.

٢- توت العليق Raspberry

لقد وجد أن عزلات الفطر G.roseum، بشكل عام، تساوى أو تزيد فى تأثيرها عن الكائنات الحية الدقيقة المضادة الاخرى والمبيد الفطرى الكبتان ، عند اختبارها ضد الفطر الممرض *B.cinerea* على نبات العليق فى الحقل. يتطلب التثبيط الشديد، عادة، معاملة

الأزهار والثمار بالكائن المضاد، وذلك بسبب أن الفطر الممرض قادر على أن يهاجم الثميرات الصغيرة مباشرة، بالإضافة الى ذلك، عن طريق الاختراق خلال أنسجة الزهرة. عند معاملة العناقيد الزهرية فى أصناف العليق التى تثمر صيفا، بالفطر الممرض بمعدل ٥ x ١٠^٣ جرثومة كوندية/ مل (معاملة كنترول) او مع أى من الكائنات المضادة *G.roseum*، *T. viride*، *Trichotheciun roseum* جميعها بتركيز ١٠^٦ جرثومة كونيدية/ مل ماء. كانت تقدر شدة المرض بعد كل مرة تجمع فيها الازهار أو الثمار حيث كانت تحضن فى رطوبة عالية على ٢٠ – ٢٢ ° م لمدة عشرة أيام. دلت النتائج على ان الكائنات المضادة والمبيد الفطرى كابتان تثبط الفطر الممرض *B.cinerea* فى الأزهار والثمار غير الناضجة بنسبة ٥٧– ٧٣ ٪ و ٣٧ – ٦١ ٪ بالترتيب. أما فى التجارب التى أجريت على الثمار التى تحمل فى الصيف والخريف فإن الفطر المضاد *G.roseum* يثبط عفن الثمرة بحوالى ٢٧ – ٥٤ ٪ عندما يستعمل مرة واحدة على عناقيد الأزهار وبحوالى ٤٨ – ٦١ ٪ عندما كان يستعمل عندما تكون العناقيد الزهرية عند بداية التزهير ومرة ثانية عند تكشف الثمار، أما بالنسبة لتأثير الكبتان فكان ١٨ – ٢٥ ٪ و ٢٣ – ٤٠ ٪. إما تحت ظروف تأخير أو إطالة فترة التزهير والإثمار، تكون هناك ضرورة لتكرار المعاملة اكثر من مرتين للحصول على أفضل مقاومة لمرض عفن الثمار فى العليق. كذلك وجد أن الفطر *G.roseum*. له أيضا قوة مضادة للفطر *B.cinerea* فى الأوراق والقصبات فى العليق (شكل ١٥).

٣ - غراس الصنوبر والبيسيه

مع أن الفطر *G.roseum* لم يكن من بين المئات المتعددة من الميكروبات التى تم عزلها من أشجار الصنوبر Conifer فى منطقة Ontario، إلا أنه أمكن إثبات أن هذا الفطر له دور مضاد ضد الفطر *B.cinerea* فى غراس البيسيه السوداء Black spruce لا يقل عنه فى الفراولة. أما فى تجارب غرف التربية، فإن العزلات من *G.roseum* تثبط الفطر الممرض المذكور تماماً، وكان تأثيره أفضل من تأثير ١٣٢ عزلة ميكروبية من الصنوبر. كان هناك عزلة واحدة فقط من *T.viride* وعزلة واحدة من *Trichothecium spp* قد وصلت فى كفاءتها الى كفاءة الفطر *G.roseum* فى المقاومة الحيوية للفطر المذكور الممرض. أما فى دراسات الصوبا الزجاجية، فإن برامج المعاملة قد بدأت بالتزامن مع وقف نمو العروش،

وهذا موعد ابتداء ظهور وباء العفن الرمادى عادة. استعملت أربع معاملات من الفطر *G.roseum* بتركيز ٦١٠ أو ٨١٠ جرثومة كونيدية لكل ملم على فترات ٢ – ٤ أسابيع، كلها ثبطت إنتاج الجراثيم فى الفطر الممرض، وثبطت أعراض مرض العفن الرمادى على الغراس بطريقة مشابهة أو أكثر فعالية مما تحدثه المعاملة بمادة Chlorothalonil عند استعمالها فى نفس الوقت.

وجد فى التجارب اللاحقة فى الصوبا الزجاجية أن استعمال الفطر *G.roseum* يخفض حدوث الإصابة وقتل الأفرع بحوالى ٦٣– ٨١٪ بالمقارنة مع نسبة ٤٤ – ٥٥٪ التى تظهر عند استعمال مادة Chlorothalonil. أما عند إجراء معاملة مفردة واحدة من الفطر المضاد بتركيز ٦١٠ جرثومة كونيدية/مل وقت انغلاق العروش، وجد أنها تثبط الكائن الممرض بكفاءة تساوى كفاءة استعمال مادة Chlorothalonil ستة مرات على فترات ١ – ٢ اسبوع ابتداءً من انغلاق العروش. إن فاعلية المقاومة الحيوية للفطر *G.roseum* كانت مستمرة بشكل غير عادى (استثنائى) لمدة ٨ – ١٢ اسبوع او اكثر.

عند معاملة غراس البيسيه السوداء بالفطر *G.roseum* بتركيز ٥ x ٧١٠ جرثومة كونيدية/مل وحفظها تحت رطوبة نسبة عالية لمدة ٢٤ ساعة، ثم بعد ذلك حقنت بالكائن الممرض *B.cinerea* بتركيز ٥ x ٥١٠ جرثومة كونيدية لكل مل، ثم أعيدت تحت الرطوبة نفسها، لمدة ٢٤ ساعة وحرارة ٢٠ – ٢١ °م ثم بعد ذلك نقلت الى مراقد الانبات Growth chamber ثم فحصت كل ٢ – ٤ أيام لمعرفة كفاءة تجرثم الكائن الممرض ومحتواها من الكلوروفيل ومعدل اجراء عملية التمثيل الضوئى. وجد أه بعد ٦ – ١٥ يوماً فان الفطر الممرض تجرثم فى ٥٦– ٦٣٪ من الأوراق الابرية ، وأنتج (٢٩,٣ الى ٤٠,٥) x ٧١٠ جرثومة كونيدية لكل ورقة إبرية فى النباتات التى عوملت بالكائن الممرض فقط (الكنترول)، بينما النباتات التى عوملت بالكائن المضاد قبل حقنها بالكائن الممرض، فإن حدوث التجرثم للكائن المضاد كان ١ – ٨٪ وإنتاج الجراثيم (٠,٥ – ٦,٦) x ٣١٠ جرثومة كونيدية لكل ورقة إبرية وإن الكائن الممرض لم يتجرثم فى البادرات المعاملة بالكائن المضاد والماء (شكل رقم ١٦).

وجد أيضا أن الفطر المضاد يحدث تغيرات معنوية فى مستوى الكلوروفيل فى النباتات المعاملة والمحقونة بالفطر الممرض، وكذلك فإنه يمنع تخفيض مستوى التمثيل الكلوروفيلى

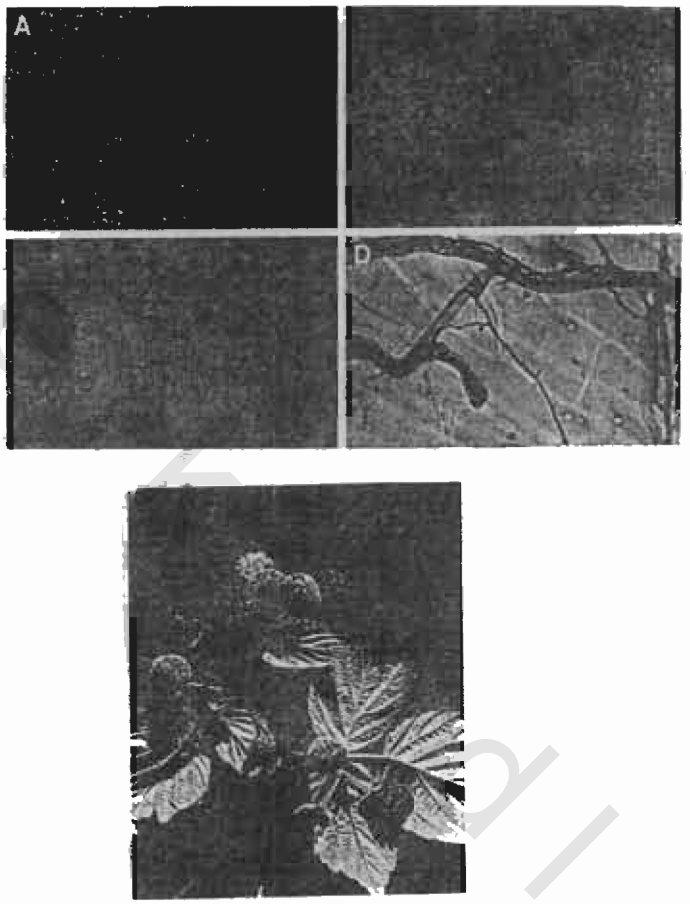
(الضوئى) فى النباتات المصابة بالفطر الممرض، ولكن ليس له تأثير على هذه الصفات عندما لا يكون الكائن الممرض موجوداً.

اما فى غراس الصنوبر الاحمر وجد أيضا أن الفطر *G.roseum* يعطى نتائج جيدة عند استعماله بتركيز $^{8}10$ جرثومة كونيدية / مل فإنها تثبط الفطر الممرض *B.cinerea* بحوالى ٨٨٪ فى غراس ذات عمر سنة واحدة، والمحقونة بالكائن الممرض بتركير $^{6}10$ جرثومة كونيدية لكل مل. كان الكائن المضاد أيضا قوياً فى معالجة العفن الرمادى فى الغراس ذات عمر سنتين وثلاثة سنوات النامية فى وجود اللقاح الطبيعى من *B.cinerea* فى الصوبات الزجاجية والمشاتل خارج الصوبا الزجاجية.

خضار ونباتات زينة في الصوبا الزجاجية

إن الأداء القوى للفطر *G. roseum* ضد الفطر *B.cinerea* فى العوائل المتنوعة مثل الفراولة والصنوبر، يدعم فكرة الاعتماد على أن هذا الكائن المضاد، يمكن أيضا أن يكون فعالاً ضد الكائن الممرض على كثير من النباتات النامية فى الصوبا الزجاجية، والتى تكون قابلة للإصابة بالفطر. فى دراسة مقارنة وجد أن العزلات الميكروبية المضادة المرافقة لنباتات الصوبا الزجاجية والتى يحصل عليها من المجموع الخضرى والازهار فى النباتات ذات المكروفلورا التى تم زيادتها بمعاملة مسبقة بمعلق من التربة الطبيعية. لقد تم الحصول على عزلات *G.roseum* باستمرار من أحد عشر نوعاً من نباتات الصوبا الزجاجية المستخدمة فى اختبارات المقاومة الحيوية، وقيمت على العوائل نفسها التى عزلت منها.

وجد أن الفطر *G.roseum* يثبط نمو الفطر *B.cinerea* بحوالى ٩٤٪ الى ١٠٠٪ فى اختبارات أقراص البيجونيا ونبات بخور مريم والجيرانيم، وفى اختبارات أجزاء الساق من الخيار، الفلفل والطماطم. لم يكن هناك أى كائن حى دقيق له تأثير أقوى من تأثير *G.roseum* ، قليل من العزلات الميكروبية الأخرى كانت ذات أداء مقارب لأدائه، باستثناء حالة نبات بخور مريم.



شكل رقم ١٥ تكشف تفاعل *G.roseum* مع الكائن الممرض *B.cinerea* فى العليق.

A : حوامل كونيدية سوارية وعلى شكل الخصلة للفطر المضاد *G.roseum* على نسيج الورقة الحية.

B : إنبات الجرثومة الكونيدية، وتكوين عضو التصاق للفطر *B.cinerea* فى الورقة فى غياب *G.roseum*.

C : عدم إنبات الجرثومة الكونيدية للفطر *B.cinerea* على الورقة فى وجود هيفات الفطر المضاد.

D : هيفات ضيقة من الفطر المضاد تلتف حول وتخترق هيفا سميكة من الفطر الممرض.

G : اعراض مرض العفن الرمادى المتسبب عن *B.cinerea* على ثمار العليق.

شكل رقم (١٦) : علامات واعراض مرض العفن الرمادى المتسبب عن الفطر *B.cinerea* على سيقان والأوراق الإبرية لغراس البيسيه السوداء.

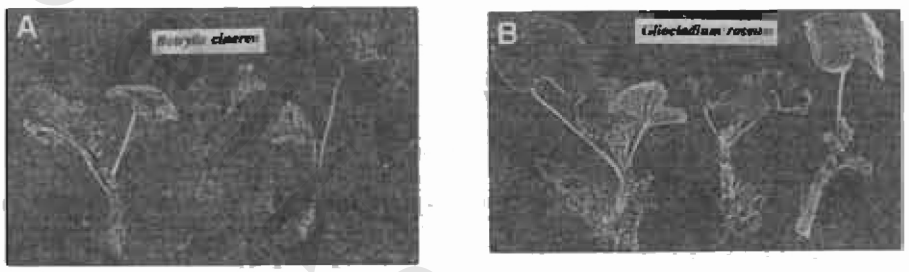
كانت هناك عزلات من *Trichoderma sp.* من بين العزلات ذات الأداء المتميز المشابه لأداء *G.roseum* فى بعض العوائل. من بين هذه العزلات *T.koningii* فى نبات البيجونيا وأخرى فى نبات بخور مريم وثلاثة عزلات من *T.harzianum* فى الجيرانيوم. من بين عزلات الجنس *Stilbella* (هذا الجنس لم يذكر فى أى من الأبحاث على أنه يدخل كعامل مقاومة حيوية)، كانت هناك عزلة واحدة هى *S.aciculosa* كان لها اداء متميز فى نبات بخور مريم، الخيار والفلفل. كانت هناك مجموعات أخرى من الميكروبات عالية الفعالية فى نبات بخور مريم. هناك عزلة أخرى من *G.roseum* تعطى بثبات وقاية جيدة على الأوراق والسيقان ضد الجراثيم الكونيدية للفطر *B.cinerea*، ولكنها كانت أقل فعالية ضد الإصابة فى البتلات. تكون البتلات المستعمرة من قبل الفطر الممرض والمتعلقة مع المجموع الخضرى للنبات شكلاً مهماً وهائلاً من اللقاح للكائن الممرض فى بخور مريم، جيرانيوم، البيتونيا، الطماطم وعوائل أخرى. فى كثير من التجارب تم الحصول على مقاومة حيوية بطريقة سهلة، وذلك عن طريق معاملة الازهار ضد الجراثيم الكونيدية للفطر *B.cinerea* وأفضل من طريقة معاملة المجموع الخضرى ضد ميسيليوم الكائن الممرض فى

البتلات المريضة. فمثلا فى حالة نبات بخور مريم فإن معاملة الأزهار بالفطر *G.roseum* قبل الحقن بالكائن الممرض، ثم بعد ذلك استعمال البتلات كمصدر لقاح على المجموع الخضرى، تثبط الكائن الممرض فى الأوراق بنسبة اكبر من ٩٠ ٪، وبالمقابل كان هناك ٤٠ – ٥٠ ٪ فقط مقاومة تم الحصول عليها فى الأوراق المعاملة بالفطر المضاد، ثم حقنت بعد ذلك بالبتلات المستعمرة.

يختلف أداء الفطر *G.roseum* ضد الفطر الممرض *B.cinerea* اختلافاً كبيراً فى ازهار نباتات الزينة فى الصوبات الزجاجية. وفى حالات عديدة كان أدنى من كفاءة أفضل عزلات الجنس *Trichoderma* والمبيدات الفطرية القياسية. فمثلا *G.roseum* يثبط الفطر *B.cinerea* بحوالى ٤٩ ٪ و ٦٨ ٪ بالترتيب فى الازهار كاملة التفتح، والتى وصلت طور الشيخوخة فى نباتات البيجونيا، بالمقارنة مع ٩٥ ٪ و ٩٣ ٪ بالترتيب بالنسبة لعزلة من *T.koningii* و ٨٥ ٪ و ٩٥ ٪ بالنسبة لمادة Chlorothalonil كانت هناك اختلافات جوهرية بين عزلات الفطر *G.roseum* من البيجونيا، وسبعة عوائل أخرى عندما اختبرت ضد الفطر الممرض فى البتلات، ولكن ليس فى أوراق من نبات البيجونيا. أما فى بتلات نبات بخور مريم فإن الفطر *G.roseum* وعزلة أخرى من *T.koningii* ثبطت الكائن الممرض بحوالى ٧٥ ٪ و ٩٠ ٪ بالترتيب. فى بتلات الجيرانيوم فإن *G.roseum* و *T.harzianum* كانت ذات فعالية بنسبة ٣٢ الى ٤٤ ٪ و ٤٤ – ٨٦ ٪ بالترتيب. تبرقش البتلات المتسبب عن الفطر *B.cinerea* فى نبات الجربارة Gerbera قد خوض بنسبة اكبر من ٩٠ ٪ بواسطة الفطر *G.roseum* وبواسطة الفطر *T. harzianum* ولكن كفاءة التضاد، لا فى هذا ولا فى ذاك قاومت لفحة البتلات تحت بعض الظروف فإن الفطر *G.roseum* يثبط الكائن الممرض فى بتلات عوائل مختلفة بحوالى ٨٥– ٩٥ ٪. هناك عوامل أخرى مختلفة تؤثر على كفاءة المقاومة الحيوية للفطر *G.roseum*، منها، عمر الزهرة، التلقيح، درجة الحرارة، فترات الرطوبة، تركيز اللقاح وطريقة استعمال اللقاح (شكل رقم ١٧).

غالباً ما يستعمر الفطر *B.cinerea* بتلات ازهار الطماطم المتدلية كغذاء أساسى، والتى منها يخترق ثمار الطماطم الناضجة أو الخضراء إما مباشرة اوعن طريق مهاجمة اوراق الكأس الملتصقة بالثمرة اولا ثم يدخل الى الثمرة. عندما تحقن البتلات بالكائن الممرض بتركيز ٥×١٠^{٥} جرثومة كونيدية/مل ثم تنبت هذه الجراثيم ونكون هيفات فإنها تتوجه

بالقرب وباتجاه الكأس الملتصق بالثمار الخضراء، وغالبا فإن جميع وريقات الكأس تصبح ملفوحة و ٩٥ ٪ من الثمار يتكشف فيها المرض (شكل رقم ١٨) . يمكن مقاومة لفحة الكأس وعفن الثمرة، كلية وبكفاءة عندما تعامل البتلات بالفطر *G.roseum* وذلك قبل حقنها بالكائن الممرض بمدة عدة ساعات (شكل ١٨) .



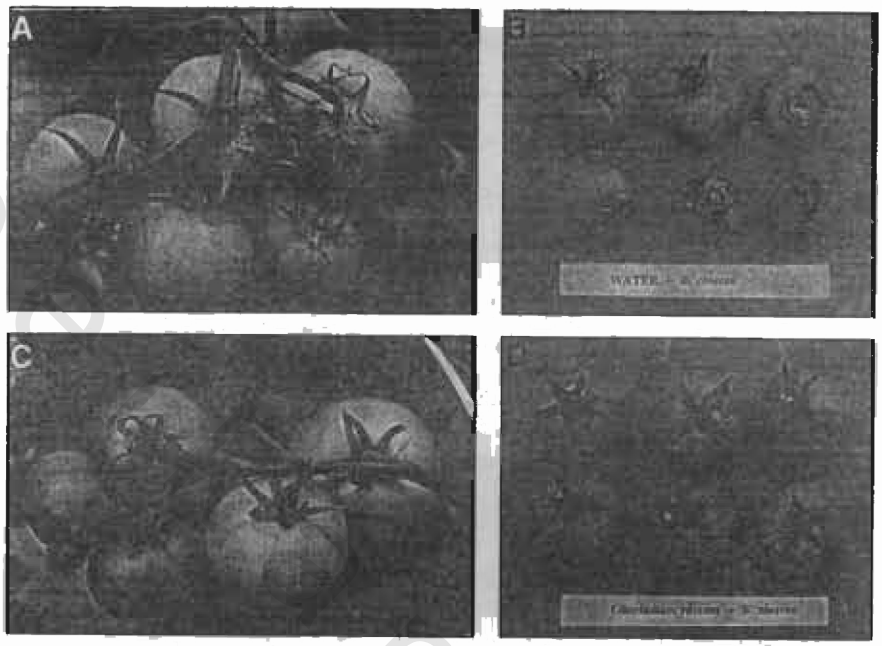
شكل رقم (١٧) المقاومة الحيوية للعفن الرمادى فى عقل الجيرانيوم باستعمال الفطر *G.roseum*.

A: عقل محقونة بالفطر الممرض *B.cinerea* فقط.

B : عقل محقونة بالفطر الممرض + الفطر المضاد.

جـــروح النبـــات

تعتبر جروح النبات مسرحاً آخر تلعب فيه عوامل المقاومة الحيوية دوراً فعالاً، وخاصة الفطر *G.roseum* . هذا الكائن المضاد يوقف بشدة الكائن الممرض *B.cinerea* فى عقل ونباتات الأم فى نبات الجيرانيوم (بعد فصل العقل عن النبات الأم وإحداث جروح فيه)، وفى جروح سيقان الطماطم عند ازالة الأوراق السفلية، وفى جروح ضربة الشمس على أوراق *Exacum affine* (١٩) . فى حالة نبات الجيرانيوم، فإن غمر العقل الحديثة التى فيها جروح ناتجة عن النهش أو إزالة الاوراق، فى المعلق الجرثومى للفطر *G.roseum* بتركيز $^{٧}١٠$ جرثومة كونيدية / مل ،يقاوم العفن الرمادى كلية تقريبا، هذه الكفاءة تشابه أو أحسن من التى يحدثها المبيد Iprodione . العقل المعاملة بالفطر *G.rosum*، يتكشف منها جذور سليمة.



شكل رقم (١٨) وقاية الكأس والثمار فى الطماطم ضد الفطر *B.cinerea* فى بتلات طماطم مستعمرة من قبل الفطر المضاد ،عن طريق معاملة البتلات بالفطر *G.roseum*.

A: كأس مصابة باللفحة ناشئة عن بتلات مريضة

B : عفن الثمار متكشف من كأس مريضة

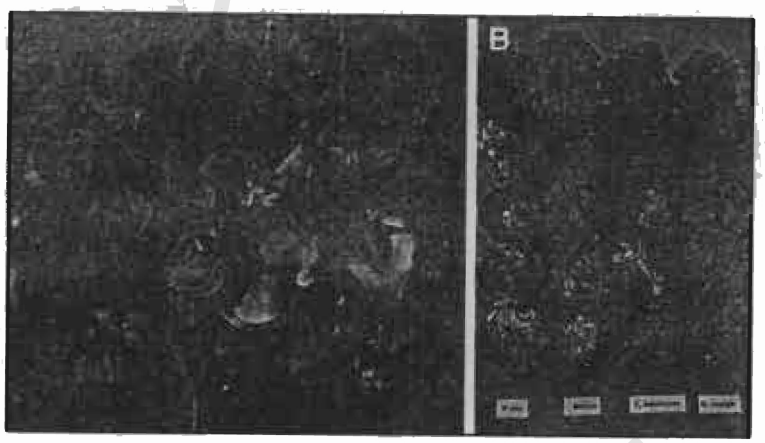
C : كأس سليمة محفوظة بواسطة الفطر *G.roseum* المستعمل على البتلات.

D : ثمار سليمة محفوظة بواسطة الفطر *G.roseum* ملتصقا مع البتلات.

بغزارة وتكون اكثر قوة من تلك التى عوملت بالمبيدات الفطرية، وبالمقابل فإن العقل التى حقنت بالفطر *B.cinerea* تتكشف عليها بقع كبيرة ويموت أكثر من ربعها بسرعة. أما فى الطماطم فإن استعمال الفطر *G.roseum* بتركيز $^{٧}١٠$ جرثومة كونيدية/ مل مضافاً الى الجروح الناتجة من إزالة الاوراق، يحفظ الساق لعدة شهور بعد الاستعمال. أمكن إعادة عزل الفطر *B.cinerea* من ٧٠٪ من مناطق الجروح التى حدثت، بعد إزالة الأوراق عندما حقنت هذه لجروح الحديثة بالكائن الممرض (بتركيز $٥ \times ^{٥}١٠$ جرثومة كونيدية/ مل) فقط،

ولكن من أقل من ٢ ٪ من الجـروح التى عـوملت بالفطر *G.roseum* قبل الحقن بالكائن الممرض بمدة ٢٤ ساعة.

يستمر بقاء الفطر *G.roseum* بشكل غير عادى فى السيقان الحية، وأمكن إعادة عزله من اكثر من ٩٨ ٪ من مناطق الجروح بعد ثلاثة شهور من الحقن. كذلك فإن جروح ضربة الشـمس فى اوراق *Exacum affine* تكون مناطق أكثر أهمية للاختراق بواسطة الفطر *B.cinerea*. إن معاملة الجروح التى تحدث صناعياً وتشابه جروح ضربة الشمس (باستعمال اللهب مثلا) وجروح ضربة الشمس الطبيعية باستعمال *G.roseum* (تركيز ٥ X ١٠^{٧} جرثومة كونيدية/ مل) يخفض شدة مرض العفن الرمادى المحدث بواسطة الفطر *B.cinerea* (تركيز ١٠^{٥} جرثومة كونيدية/ مل) بحوالى ٩٧ – ١٠٠ ٪.



شكل رقم (١٩) : النبات *Exacum affine*.

A : جروح متكونة من ضربة الشمس على الاوراق

B : المقاومة الحيوية للعفن الرمادى المتسبب عن *B.cinerea* فى النباتات ذات الجروح من ضربة الشمس.

بعد ثلاثة أسابيع من المعاملة بالكائن الممرض كان المرض شديدا فى الكنترول (أول صف على اليسار). كان متوسط الشدة فى النباتات المعاملة بمادة Iprodione او باستعمال الفطر *T.harzianum* الصفين الثانى والثالث بالترتيب. الصف الرابع على اليمين تظهر فيه مقاومة تامة للمرض باستعمال الفطر المضاد *G.roseum*.

العوامل المؤثرة على كفاءة G. roseum

١- طور نمو أعضاء العائل :

المرحلة التى تمر بها الاوراق ابتداءً من أول امتدادها فى المراحل الاولى من النمو، حتى الوصول الى طور الشيخوخة، بشكل عام، تكون ذات تأثير بسيط على فعالية الفطر *G.roseum* ضد الفطر الممرض *B. cinerea*، فى المجموع الخضرى لكل من الفراولة، البيجونيا ونبات بخور مريم. الأوراق التى بدأت فى الامتداد والتوسع فى البيجونيا وبخور مريم، تكون أقل قابلية لاستقبال الفطر الممرض والتى تقاوم فيها الاصابة (اذا حدثت) حيوياً بصعوبة او يصعب قياس نجاح المقاومة الحيوية فيها. فى العوائل الثلاثة المذكورة كانت كفاءة المقاومة الحيوية ٣٠ – ٧٠٪ أقل فى الاوراق فى سن الشيخوخة، بالمقارنة مع الأوراق التى فى مرحلة قبل الشيخوخة، وتكون صفراً تماماً فى الأوراق الميتة.

المقاومة الحيوية للفطر *B.cinerea* فى الأزهار تمثل تحدياً خاصاً بسبب تعقيد نمو، تكشف وتركيب الازهار. وبشكل عام فإن الأعضاء المختلفة فى الازهار المتكشفة والتى فى مرحلة الشيخوخة لمدة مختلفة من الزمن تكون مختلفة القابلية للإصابة بالفطر *B.cinerea*، وذات تفاعلات مختلفة بالكائنات الميكروبية المضادة. عند دراسة تأثير عمر الزهرة على المقاومة الحيوية للفطر *B.cinerea*، وجد فى دراسات على الازهار المتفتحة جزئياً، كاملة التفتح والازهار فى طور الشيخوخة لنبات البيجونيا التى قد حقنت بالكائن الممرض (10^6 جرثومة كونيدية/ مل) ثم الحقن بالكائن المضاد بعد ٢٤ ساعة (إما بالفطر *G.roseum* او الفطر *T.koningii* بتركيز 10^7 جرثومة كونيدية/مل) وجد أن هذه التركيزات من الكائن المضاد لا تؤثر على القابلية للإصابة بالفطر الممرض فى الأطوار المتتابعة لتكشف الزهرة. وجد أن الفطر *G.roseum* يثبط الكائن الممرض بحوالى صفر فى الأزهار المتفتحة جزئياً، ٤٩٪ فى الأزهار كاملة التفتح، ٦٨٪ فى الأزهار التى فى طور الشيخوخة، بينما *T.koningii* كانت مقدرته على التثبيط بحوالى ٩٣– ٩٥٪ فى المراحل الثلاثة.

٢- تركيـــز اللقـــاح

إن معرفة تركيز اللقاح للفطر *G.roseum* وعلاقاتها فى مقاومة الفطر الممرض *B.cinerea*، من الأساسيات المهمة لوضع أسس مناسبة لتوصيات استعمال المقاومة الحيوية فى امراض المحاصيل. كما هو متوقع فإن العلاقات تختلف كثيراً مع كل من المحصول، نوع وعمر العضو النباتى، تركيز الكائن الممرض، ظروف المناخ (الطقس المحيط بالنبات) وعوامل أخرى. وعن طريق الاستدلال فإن أفضل تركيز من الفطر *G.roseum* يختلف حسب المحصول ووقت الاستعمال والمكان الذى يستعمل عليه، سواء على المجموع الخضرى، الأزهار والثمار. وكما هو شائع فى التعامل مع الأمراض، فإن الاعتماد على تركيز اللقطاح للفطر *G.roseum* الذى يعطى مقاومة كافية ضد الفطر الممرض *B.cinerea* فى المحصول، هو مطلب حتمى يجب معرفته.

الدراسات التى أجريت تحت ظروف متحكم بها، زودتنا بصورة منظورة لمتطلبات اللقاح من الفطر المضاد لمقاومة الفطر الممرض فى عديد من المحاصيل. عند حقن المجموع الخضرى والأزهار فى البيجونيا ونبات بخور مريم بتركيزات مختلفة من الفطر الممرض (من صفر الى $١٠^{٦}$ جرثومة كونيدية/مل) ومن الفطر المضاد بتركيزات (من صفر الى $١٠^{٨}$ جرثومة كونيدية/ مل)، فى جميع الاتحادات تم الحصول على مقاومة حيوية جيدة، اساسا عندما كان تركيز الكائن المضاد مشابهاً أو أكثر من ذاك التركيز فى الكائن الممرض. فى دراسة مماثلة على العليق ، فإن المستويات العالية من المقاومة (٩٠- ١٠٠ ٪) قد تم الحصول عليها فى الأوراق لجميع الاتحادات من $١٠^{٣}$ الى $١٠^{٦}$ جرثومة كونيدية من الفطر الممرض/ مل و $١٠^{٤}$ الى $١٠^{٨}$ جرثومة كونيدية/ مل من الفطر المضاد، أما فى السيقان، الأسدية والمياسم، فقط عندما يكون تركيز الكائن المضاد ١٠ أو ١٠٠ ضعف أكثر من ذاك الذى للكائن الممرض. ومن غير المتوقع فإن الفطر المضاد على تركيز $١٠^{٨}$ جرثومة كونيدية/ مل غالباً ما تكون أقل فعالية من تركيز $١٠^{٧}$ او $١٠^{٨}$ جرثومة كونيدية فى الاسدية والمياسم، لوحظت أيضاً حالة واحدة فى المجموع الخضرى لشتلات البيسيه السوداء فى غرف الانبات. يبدو واضحاً أنه ليس من المهم زيادة التركيزات المثلى للفطر المضاد للمقاومة الحيوية فى المحاصيل، خاصة عندما تكون الظروف ملائمة لبقاء الكائن المضاد. فى

الصوبات الزجاجية وغرف الإنبات، فإن استعمال تركيز $^{7}10$ جرثومة كونيدية/مل من الفطر المضاد يثبط بشدة الفطر الممرض بتركيز $^{6}10$ جرثومة كونيدية/مل فى مختلف أعضاء نبات البيجونيا، بخور مريم، *Exacum*، جيرانيم، الجيربارا، الخيار، الفلفل، العليق، الفراولة، الطماطم وعوائل اخرى كثيرة. فى كل حالة فإن التركيز من الكائن الممرض كان كافياً ليحدث مرضاً خطيراً ومستمراً فى غياب الكائن المضاد.

إن تركيز اللقاح من $^{6}10$ الى $^{8}10$ جرثومة كونيدية/ مل من الفطر المضاد عادة، يعطى مقاومة جيدة للفطر الممرض فى المحاصيل فى الحقل وفى الصوبا الزجاجية. اللقاح المحتوى $^{6}10$ جرثومة كونيدية/ مل من الفطر المضاد عادة ما يكون كافياً فى الفراولة، البيجونيا، وبخور مريم. أما تركير $^{7}10$ جرثومة كونيدية/مل من الفطر المضاد يعطى نتائج أفضل فى العليق، أما تركيز $^{7}10$ – $^{8}10$ كان أقرب للوضع الأمثل للمقاومة الحيوية فى البيسيه السوداء.

فى تجارب أخرى وجد أن أستعمال الفطر *G.roseum* بتركيز ٥ x $^{6}10$ جرثومة كونيدية/ مل تثبط مرض لفحة الأوراق المتسبب عن الفطر *B.squamosa* على البصل فى الحقل بنسبة ٥٠ – ٥٨٪.

٣- الحـــــرارة

أجريت دراسات على الحرارة وعلاقتها مع فعالية المقاومة الحيوية التى يقوم بها الفطر *G.roseum* ضد الفطر الممرض *B.cinerea* فى خمسة عوائل. بشكل عام فان مستوى المقاومة الحيوية يكون عالياً على ٢٠ – ٢٥°م ، وأيضا على ٣٠°م فى العوائل التى فيها يمكن الحصول على قياس للاصابة، ولكنها كانت تدريجياً أقل على ١٥ و ١٠° م. درجات الحرارة المنخفضة تقلل المقاومة الحيوية بشكل هامشى (الحد الادنى) فى الاوراق فى نباتات الفراولة والبيجونيا وفى أسدية نبات العليق، ولكنها تقلل كفاءة المقاومة الحيوية بشكل متوسط فى اوراق العليق، بخور مريم والجيرانيوم وفى بتلات البيجونيا، ولكن بشكل عال وواضح فى بتلات بخور مريم والجيرانيوم. التأثيرات المختلفة لدرجة الحرارة على المقاومة الحيوية فى الاعضاء المختلفة فى العائل كانت واضحة فى أربعة عوائل. ومن الدراسات المستفيضة على

عزلات الفطر المضاد على ازهار بخور مريم والجيرانيوم، تبين أن للعائل الدور الاساسى فى المقاومة الحيوية وليس لعزلة الكائن المضاد، على درجات الحرارة المنخفضة.

٤ - الرطـــوبة الحـــرة

العلاقة بين الرطوبة الجوية، الندى، المطر، الرى أو أى أشكال أخرى من توفر الرطوبة، والمقاومة الحيوية للفطر *B.cinerea* فى المحاصيل المختلفة باستعمال الفطر المضاد *G.roseum*، ليس لها تأثير كبير، ولكن الدور الذى تقوم به، يكون فى بقاء، إنبات ونمو الفطر المضاد على سطوح النبات وفى عملية اختراق الفطر لسطح النبات. تفشل الجراثيم الكونيدية للفطر *G.roseum* فى الإنبات على المجموع الخضرى الجاف فى بادرات البيسيه السوداء فى مراقد الإنبات على ١٢، ٢٠ و ٢٨° م. كانت تحدد مقدرتها على الإنبات عن طريق إعادة عزل الفطر من بيئة PDA، فكانت تنخفض بشدة مع تقدم الزمن بعد إضافتها على البذور. فى البيسيه السوداء ومن المحتمل عوائل أخرى، فإن فترة الرطوبة ضرورية خلال الساعات الأولى من استعمال الفطر المضاد للحصول على أفضل نمو وأفضل مقاومة حيوية. أما فى الدراسات الحقلية، تبين أن فترة الامطار القصيرة (سواء كانت صناعية أو طبيعية) بعد استعمال الفطر المضاد على نباتات الفراولة، تستنزف كثافة اللقاح للكائن المضاد على الأوراق وتخفض كفاءة المقاومة الحيوية. بالإضافة للتأثيرات على الفطر المضاد، هناك تأثيرات أيضاً على الكائن الممرض وعلى النبات العائل أيضاً، وتؤثر بالتالى على كفاءة المقاومة الحيوية.

من ذلك يتبين أن الرطوبة العادية ضرورية لنجاح المقاومة الحيوية بالفطر المضاد المذكور سابقا، ولكن الرطوبة الغزيرة من الأمطار تخفض نسبة نجاح المقاومة الحيوية؛ لذا يجب مراعاة هذه النقطة عند رى النباتات، بحيث لا تصل قطرات الماء إلى أماكن استعمال (تواجد) الجراثيم الكونيدية للفطر المضاد.

علاقة الفطر *G.roseum* مع أنسجة العائل:

تكون الجراثيم الكونيدية للفطر *G.roseum* قادرة على الإنبات فى توفر الرطوبة على سطح العائل وتنتج أنبوبة إنبات بسيطة، وهيفا سطحية وتخترق الأوراق، السيقان، البتلات

والاسدية لأنواع مختلفة من النباتات. التكشف السطحى للكائن المضاد يمكن ملاحظته تماماً عند إجراء الدراسة تحت ظروف مستمرة من الرطوبة العالية وحرارة ٢١ – ٢٣°م على أوراق وساق وأسدية نبات الفراولة. هناك نسبة عالية (٧٠– ٩٠٪) من الجراثيم الكونيدية تنبت بعد ٤ – ١٢ ساعة من الحقن وتنتج أنبوبة إنبات ضيقة (١– ١,٥ ميكروميتر) والتى تستطيل بسرعة بعد ١٢– ١٦ ساعة على الأسدية والسيقان، بالترتيب وببطء بعد ١٢– ٢٤ ساعة على الأوراق. تتكشف تفرعات قصيرة (١– ٥ ميكروميتر) على أنابيب الإنبات، وهيفات بعد ١٦ ساعة وتخترق أنسجة العائل مباشرة. ومن الملاحظ أن الحوامل الكونيدية العنقودية (خصلية) والسوارية للفطر المضاد *G.roseum* تتكشف من هيفات سميكة سطحية على السيقان، الأسدية والأوراق بعد ٣٢– ٧٢ ساعة، وتنتج أعداداً كبيرة من الجراثيم الكونيدية بعد ٤٠– ٧٢ ساعة. وبالتالى فإن الكائن المضاد لديه كفاءة لأن يتكاثر فى الطور الـ epiphytic فى موقعه، وهذا ما يعرف بأنه طور ممتاز لعامل المقاومة الحيوية المستعمل على المجموع الخضرى والازهار، وبالتالى يمكن أن يشارك فى مؤازرة مقاومة الفطر الممرض *B.cinerea* فى المحصول.

يكون تكشف الفطر *G.roseum* بعد اختراقه المجموع الخضرى فى النبات والأزهار، بشكل عام غير واضح، سواء بقى محدوداً ومقتصراً فى مكانه أو استعمر مساحات كبيرة من أنسجة العائل، وهذا يمكن أن يعتمد على وظيفة، نوع، عمر والحالة الفسيولوجية لأنسجة العائل. الدلائل التفصيلية، مبنية على إعادة عزل الفطر المضاد من النسيج على مسافات مختلفة من منطقة الحقن. دلت الدراسة على أن الكائن المضاد يبقى فى موضعه (محليا) على الأقل لمدة ثلاثة شهور فى سيقان نباتات الطماطم النامية بقوة، إلا أنه يستعمر بشدة الاوراق فى سن الشيخوخة وكذلك أزهار الفراولة، البيجونيا، بخور مريم، والجيرانيوم وغالباً ما يتجرثم خلال يومين بعد موت الأنسجة. بينما الأنسجة فى طور الشيخوخة تشجع بشكل واضح الكائن المضاد بأن يستعمرها، إلا أنه أيضاً يستعمر العناصر الوعائية فى نباتات فول الصويا النامية بقوة ونباتات البرسيم الاحمر. لقد دلت جميع التجارب على أن أنسجة النبات العائل التى تحقن بالفطر المضاد تبقى خالية من الاعراض المرضية، إلا أنه فى حالات نادرة، عند استعمال لقاح مكثف من الميسيليوم تظهر بقع على السويقة الجنينية السفلى فى الفاصوليا.

طرق عمل الفطر *G.roseum*

يعتمد هذا الفطر فى عمله فى المقاومة الحيوية ضد الفطر الممرض *B.cinerea* على المنافسة على المواد الغذائية وعلى عملية التطفل الفطرى Mycoparasitism . تكون المنافسة الغذائية مهمة على المجال الورقى فى معظم نباتات الزينة. يبدو بشكل واضح ان الكائن المضاد يستعمر ويستغل الأنسجة المتقدمة فى السن بسرعة أكبر مما يعمله الكائن الممرض *B.cinerea*، وكذلك فانه يعوق استعمار الأنسجة من قبل الكائن الممرض. هذه الطريقة من العمل أساسية، بسبب أنها تشارك فى تثبيط اللقاح للفطر الممرض. ونظراً لأن الكائن المضاد متطفل فطرى على كل من الهيفات، الجراثيم، الاجسام الحجرية والاجسام الثمرية لكثير من الفطريات من ضمنها *B.cinerea*. مع أن جميع الدراسات كانت تثبت ظاهرة التطفل هذه معمليا على بيئة الآجار، إلا أن Sutton *et al* سنة ١٩٩٧ أثبت أن هذه العملية تتم فى الحقل على الاوراق فى نبات العليق.

ومن الجدير بالذكر أن بعض الدراسات أثبتت أن التفاعلات بين *G.roseum* والفطر *B.cinerea* تكون ظاهرة بوضوح على أوراق، أسدية ومياسم أزهار نبات العليق الموجودة تحت الرطوبة العالية المستمرة، على الأوراق فإن الفطر المضاد يثبط بقوة إنبات ونمو أنبوبة الانبات للفطر *B.cinerea*، ولكن نادراً ما يتطفل على الكائن الممرض. وعلى أية حال فإنه على السيقان، فإن الجراثيم الكونيدية للفطر الممرض كثيراً ما تنمو وتنتج أنابيب إنبات جيدة التكوين وهيفات سطحية بغض النظر عن قربها من الجراثيم الكونيدية، أنابيب الانبات او هيفات الفطر المضاد. يكون التضاد واضحاً على السيقان على شكل تثبيط معتدل لنمو أنبوبة الانبات وتطفل قوى على الفطر الممرض بواسطة الفطر المضاد. خلال توفر الرطوبة العالية (٣٢– ٧٢ ساعة) فإن تفرعات هيفية قصيرة من الفطر المضاد تتصل مع، تنمو على أو تلتف حول (وفى كثير من الحالات تخترق الجراثيم الكونيدية) هيفات الفطر *B.cinerea*. عادة فإن الخلايا المهاجمة تفقد محتوياتها، وتنهار بعض الهيفات، سواء كانت أم لم تكن خلايا الفطر الممرض حية عند اختراقها. الهيفات النامية داخليا أو خارجيا او السطحية او التى بين الخلايا، تدل على أن كثيرا من الهيفات تكون متداخلة مع بعضها البعض من كل من الفطرين الممرض والمضاد وذلك عند مقارنة النمو المتكرر الرقيق للهيفا فى الكائن الممرض المتكشفة ضمن الخلايا المتحطمة من الثقوب التى فى الحواجز للخلايا غير المتحطمة المتجاورة. وبشكل عام فإنه على سطوح الأسدية فإن الفطر المضاد لا يثبط إنبات،

نمو او إنتاج أعضاء الالتصاق appressoria ووسادة العدوى للفطر الممرض، ولم يلاحظ أنها تتطفل على الكائن الممرض. وعلى أية حال فإن الكائن المضاد يخفف كثيراً من حدوث الاستعمار فى الأسدية بواسطة الكائن الممرض. لقد اعتمد على الاختلافات فى توافر وتركيب المواد الغذائية والمواد المضادة الفطرية فى الإفرازات على سطح العائل، قد اعتمد عليها، كنظرية لتوضيح الاختلافات غير العادية فى تفاعلات الكائن المضاد مع الكائن الممرض على الانسجة المختلفة لنبات العليق.

بالإضافة الى التنافس والتطفل الفطرى، فمن المحتمل أن الفطر المضاد يضاد الفطر الممرض عن طريق التضاد الحيوى. ينتج الكائن المضاد مجموعة من المثبطات الفطرية وإنزيمات محللة للجدار، بعضها يستطيع أن يعمل فى سيناريو متشابك من التضاد الحيوى والتطفل الفطرى. كذلك فإن ظاهرة فقد الانتفاخ وتحلل هيفات الفطر الممرض كل منها تستحث بواسطة الفطر المضاد ويمكن أن تعتبر داخلة فى كلتا الطريقتين الداخلتين فى التضاد. وبشكل عام فإن التضاد الحيوى يظهر بأنه يعمل فقط فوق مساحة صغيرة، هذا يعنى أن الكائن المضاد يجب أن يكون له طريق للوصول الى المغذيات القريبة من الكائن الممرض، وأن هذا التنافس الغذائى يجب أن يكون داعماً للتضاد الحيوى. بينما الفطر *G.roseum* عنده قدرة لينتج على الاقل مادة مضادة فطرية من نواتج الميتابولزم، إلا أنه لايوجد أى دليل على دخول هذه المضادات الحيوية فى هذه المقاومة. ومما يؤيد ذلك أن الطفرات من الفطر المضاد التى تنتج مستويات عالية او متوسطة من نواتج التمثيل أو لا تنتج أبدا، لا تختلف فى كفاءتها فى المقاومة الحيوية ضد الفطر الممرض فى أوراق الفراولة. لايوجد اى دليل واضح على أن الفطر *G.roseum* يحدث مقاومة مستحدثة فى نباتات العائل.

هناك أنواع اخرى من الفطر *Gliocladium* تنتج مضادات حيوية مختلفة لها دور فى المقاومة الحيوية (شكل ٢٠) هذه المضادات هى:

١ – Viridin يفرزه الفطر *Gliocladium virens*

٢ – Gliotoxin يفرزه الفطر *G.deliquescens*

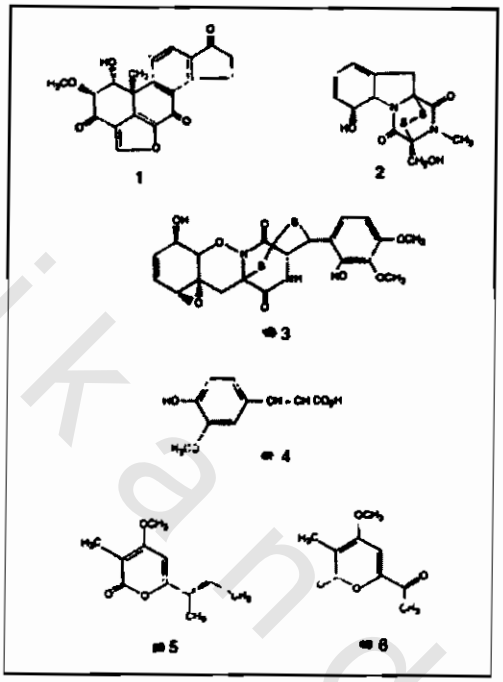
٣ – Gliovirin يفرزه الفطر *G.deliquescens*

٤ – Ferulic acid يفرزه الفطر السابق أيضا.

٥ – Viridin + Gliotoxin + dehydrogliotoxin يفرزه الفطر *G.flavafuscum*.

٦ – Pyrones,nectriapyrone يفرزه الفطر *G.vermoesenii*

٧ – Nectriapyrone + vermopyrone يفرزه الفطر السابق أيضاً.



شكل رقم (٢٠) : المضادات الحيوية التى تفرزها بعض أنواع الجنس *Gliocladium*.

١ – virdin
٢ – Gliotoxin
٣ – Gliovirin
٤ – Ferulic acid
٥ – dehydrogliotoxin
٦ – nectriapyrone

طرق استعمال الكائن المضاد G.roseum عمليا

حدث تقدم ملموس فى طرق تحضير اللقاح للكائن المضاد، ووقت استعماله وكيفية استعماله، وذلك للحصول على أعلى كفاءة فى المقاومة الحيوية باستعمال *G.roseum* ضد

obeikandl.com

الفطر الممرض *B.cinerea* على كثير من المحاصيل. يمكن الحصول على لقاح الفطر المضاد *G.roseum* بسهولة وقلة تكاليف، وذلك بتنمية الفطر على حبوب القمح أو النجيليات الأخرى. فى بعض المعامل يمكن الحصول على تركيزات عالية من الكائن المضاد (١ – ٥ x 10^{9} جرثومة كونيدية / غم) خلال ٣٥ يوماً على حبوب القمح المحفوظة على ٢٠ – ٢٣° م. بعد فترة النمو الابتدائى للميسيليوم الأولى (١٤– ١٨ يوماً) تترك المزارع لتجف ببطء، هذه العملية تشجع إنتاج الحوامل الكونيدية التى هى على شكل خصل والتى تنتج محصولا وفيرا من الجراثيم الكونيدية أكثر من إنتاج الحوامل الكونيدية ذات الشكل السوارى، حيث أن الحوامل الكونيدية السوارية تتكون عادة تحت ظروف الرطوبة العالية. بالإضافة الى الجراثيم الكونيدية فإن أجزاء الميسيليوم من الفطر *G.roseum* يمكن عزلها من حبوب القمح بعد ١٥ يوماً، حيث وجد أنها فعالة ضد الفطر الممرض *B.cinerea* فى الفراولة. الكونيديات المأخوذة من حبوب القمح يمكن تخزينها لمدة اكثر من سنة على حرارة ٣ – ٥° م، ولمدة ٣ شهور على حرارة ٢٠ – ٢٣° م دون اى فقد معنوى فى حيوية او كفاءة المقاومة الحيوية التى تحدثها، هذه المعلومات مهمة فى الإنتاج التجارى للكائن المضاد. قبل استعمال الكائن المضاد على المحاصيل، فإن الجراثيم الكونيدية لهذا الفطر يمكن أن تعلق فى ماء مضافا إليه مطهر سطحى مثل *Triton x - 100* أو أنها تتشكل على شكل مسحوق مع بودرة التلك أو أى حامل آخر.

إن أفضل طريقة لاستعمال الفطر *G.roseum* تعتمد على نوع نسيج العائل الذى يتطلب الوقاية، فمثلاً طريقة الرش تستعمل لإسقاط وترسيب القطيرات الصغيرة من اللقاح بانتظام على السطح المستهدف. هذه الطريقة مناسبة بشكل عام فى معاملة المجموع الخضرى والأزهار فى كثير من المحاصيل. هناك طرق أخرى أكثر تخصصاً وحداثة تكتشف باستمرار للاستعمال على الانسجة المستهدفة الخاصة. بالنسبة للجروح التى تحدث على عقل الجيرانيوم، تعامل بسهولة عن طريق الغمر السريع للعقل فى اللقاح، بينما الجروح الناتجةعن إزالة الأوراق فى الطماطم والخيار فى الصوبات الزجاجية، يمكن أن تعامل باستعمال الرشاشة اليدوية أو الفرشاة او قطعة قماش ماسحة. الوسائل التى تستعمل باستمرار لإزالة الأوراق السفلية، يمكن أن تستعمل لرش اللقاح على الجروح وتشارك فى فعالية هذه الطريقة. أزهار الفراولة والعليق يتم معاملتها بنجاح بالفطر المضاد *G.roseum* باستعمال النحل كعامل لنقل اللقاح.

دور نحل العسل في المقاومة الحيوية

يستعمل نحل العسل لنقل عوامل المقاومة الحيوية إلى الأزهار لمقاومة إصابة الأزهار بالكائن الممرض. فى الدراسات الحديثة التى تمت سنة ١٩٩٢ بواسطة Peng *et al* فى كندا وفى سنة ١٩٩٦ بواسطة *Yu* أيضاً فى كندا، تبين أن نحل العسل *Apis mellifera*، عامل نقل فعال للقاح الفطر المضاد *G.roseum* الى ازهار الفراولة والعليق. كذلك النحل الطنان *Bombus impatiens*، عامل نقل فعال لنفس الفطر لازهار العليق.

تتم عملية استعمال النحل، وذلك عن طريق تشكيل مسحوق من جراثيم الفطر المضاد. يوضع هذا المسحوق فى معلق مائى سميك ويعلق هذا المعلق فى خلية النحل أمام مدخلها. المواد التى يخلط بها هذا التركيب المحتوى على الجراثيم، لكى تستعمل من قبل نحل العسل أو النحل الطنان تتكون من تشكيلات مختلفة من المواد الغذائية شبه الجافة، مخلوطة مع بودرة التلك مع نخالة الذرة. كما سبق وذكرنا يعلق المعلق فى طريق النحلة لكى تلامسه أثناء خروجها من الخلية حيث يتلوث جسمها بهذه المواد التى تحمل جراثيم الفطر. عند إجراء اختبارات على النحل الذى يخرج من الخلية ويمر على هذا التركيب الذى يحوى ٥ x $١٠^{٨}$ الى ١ x $١٠^{٩}$ وحدة تكوين مستعمرات من الفطر المضاد *G.roseum*/ غرام، وجد أن كل نحلة تحمل مئات الألوف من الوحدات مكونة المستعمرات من الكائن المضاد. تستطيع كل نحلة أن تعطى ٣٠٠– ٢٧٠٠٠ وحدة تكوين مستعمرات لكل زهرة فى الفراولة، و ٦٠٠ – ٢١٠٠ وحدة تكوين مستعمرات لكل زهرة فى العليق، بينما فى النحل الطنان، تستطيع كل نحلة أن تنقل ٤٥٠– ٢٤٠٠ وحدة تكوين مستعمرات لكل زهرة فى العليق. إن كمية اللقاح التى تحملها نحلة العسل او النحلة من النوع الطنان تكون لقاحاً كافياً للمقاومة الحيوية للفطر الممرض *B.cinerea* فى بتلات الازهار والاسدية فى أزهار الفراولة وأزهار العليق، بينما ثمار العليق من الصعوبة بمكان، أن تكون كمية الجراثيم الواصلة اليها كافية للمقاومة الحيوية للفطر الممرض، وذلك بسبب أن النحل لا يزور هذه الثمار كثيرا حتى يضع عليها جراثيم الفطر المضاد *G.roseum*، عدا عن ذلك فإن الكائن الممرض يمكن أن يخترق الثمار الصغيرة مباشرة بالإضافة لمقدرته على اختراق بعض الازهار.

إن كفاءة النحل كعامل ناقل لعوامل المقاومة الحيوية، يمكن أن تتأثر بمصادر الرحيق الموجود فى مصادر أخرى خارج النبات المستهدف والموجود فى نباتات أخرى، وبالتالى فإن النحلة تذهب الى تلك المصادر وتنخفض أعداد الجراثيم التى تحملها من الفطر المضاد

نظراً لاحتكاكها مع أزهار غير الأزهار المستهدفة. كذلك تتأثر كفاءة النحلة فى المقاومة الحيوية بالفترة التى تبقى فيها الزهرة متفتحة وجاهزة لاستقبال النحلة، وبالظروف الجوية وبالمكان الذى تتواجد فيه خلايا النحل ومدى بعدها عن المحصول المستهدف. هناك نباتات كثيرة لديها خاصة جذب النحلة بسهولة بعيداً عن أزهار الفراولة، ولكن نبات العليق فيه مصدر رحيق مناسب للنحلة تنجذب اليه بسهولة بغض النظر عن وجود المغريات الأخرى من الأزهار المختلفة. إن النحل الطنان يتعامل باستمرار مع كلا المحصولين، وعلى العكس من نحل العسل فإن النحل الطنان يكون اكثر نشاطاً حيث يطوف باحثاً عن غذائه فى الظروف الجوية الباردة (٦ – ١٦°م). عندما تكون الظروف ملائمة، فإن النحل كعامل ناقل للفطر المضاد له فائدة كبيرة من حيث كونه ينقل كل يوم اللقاح الى الازهار المتفتحة باستمرار. إن التوافق بين اعطاء اللقاح بواسطة النحلة وحدوث تلقيح أزهار العائل بالنحلة عملية سهلة فى كثير من المحاصيل.

إن فعالية استعمال النحل، فى نقل جراثيم الفطر المضاد على بتلات الازهار، بشكل عام يثبط وجود الفطر الممرض *B.cinerea* على البتلات والأسدية والثمار بكفاءة تشبه استعمال اللقاح رشاً . فى بعض الحالات تكون هذه الكفاءة أفضل من استعمال طريقة الرش، وذلك لان الجراثيم المستعملة فى طريقة الرش يتسرب نسبة كبيرة منها مع المحلول، اما باستعمال النحل فإن نسبة الجراثيم تبقى مركزة فى الزهرة، وتزداد باستمرار كلما زادت مرات زيارة النحلة للزهرة يوميا. إذا كانت الظروف ملائمة فإن النحلة تضع (٣,٦ – ٣٢) x ١٠^{٤} وحدة تكوين مستعمرات من الفطر المضاد على الزهرة يومياً، وإذا كان مصدر اللقاح يحوى جراثيم بتركيز عال (٥ x ١٠^{٨}) وحدة تكوين مستعمرات فإن النحلة يمكن أن تضع (٩ – ١٨٠) x ١٠^{٤} وحدة تكوين مستعمرات من الفطر المضاد على الزهرة يومياً.

الفطـــر Gliocladium virens

هذا الفطر يعزل من التربة. وله تأثير مضاد لكثير من الكائنات الممرضة، حيث يتطفل على أربعة أنواع من الفطر *Phytophthora* الكامنة فى التربة. هذه الأنواع هى:

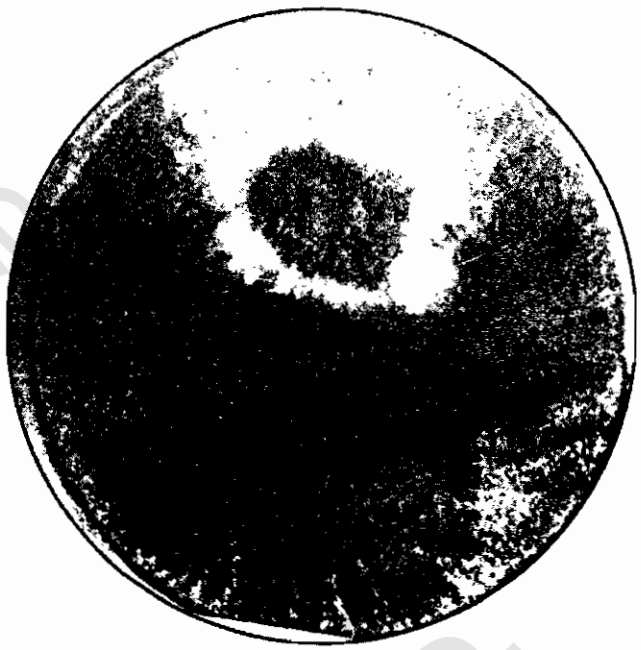
1 - Phytophthora cinnamomi.

2 - P. cactorum

3 - P.fragariae

4 - P.nicotianae

فى التجارب المعملية تبين أن الفطر *G.virens* يثبط نمو الفطر *P.cinnamomi* فى المزرعة المزدوجة فى أطباق بترى فى المعمل (شكل رقم ٢١).



شكل (٢١) : يبين تثبيط نمو الفطر *Phytophthora cinnamomi* (فى الاعلى) بواسطة الفطر المضاد *Gliocladium virens* فى المزرعة المزدوجة. يلاحظ النمو غير المتناسق للفطر الممرض *P.cinnamomi*.

III: الجنس Cladorrhinum

مقـــــدمة:

الابحاث الحديثة على المقاومة الحيوية للكائنات الممرضة النباتية الكامنة فى التربة، تجرى باستمرار وبتسارع مضطرد. هذا التسارع يعود جزئياً إلى زيادة المعرفة فى إنتاج، تشكيل وإعطاء او استعمال عوامل مقاومة حيوية مختلفة والتى تشمل فطريات، بكتيريا واكتينومايستس. هناك سبعة أجناس فطرية مشهورة فى المقاومة الحيوية مذكورة فى الفصل الأول من الكتاب، ويمكن أن يضاف إليها الجنس *Cladorrhinum*.

لعدة سنوات مضت، لاحظ العلماء فى معمل أمراض النبات قسم المقاومة الحيوية فى Beltsville فى أمريكا سنة ١٩٩٥، أن هناك فطراً لونه أبيض نشيط النمو، ينمو على بيئة ماء + آجار + مضادات حيوية مأخوذة من بذور البنجر الموضوعة لمدة ثلاثة أسابيع فى تربة مختلفة ملوثة بالفطر *R.solani*. عند وضع بذور البنجر فى تربة ملوثة بالفطر *R.solani* (هذا عمل روتينى لاختبار كثافة اللقاح للكائن الممرض فى التربة) ثم أخذها ووضعها على بيئة آجار فى المعمل، فإن هذا الفطر الأبيض ينمو من بذور البنجر على الآجار خلال ٢٤ ساعة ويحل محل الفطر *R.solani* فى بذور البنجر ويمنع النمو الترممى للكائن الممرض فى التربة. عند إرسال عينات من هذا الفطر الى معهد الدراسات البيولوجية *(CBS)* تحت رئاسة الدكتور *W.Gams* فى هولندا، صنف هذا الفطر على أساس أنه *Cladorrhinum foecundissimum Sacc & Marchal*.

تنمو مستعمرات هذا الفطر وتنتشر بالعرض وذات خصل شعرية ولها ميسيليوم هوائى وتكون ذات لون رمادى إلى أرجوانى مصفرة ذهبية، والتى أحيانا تشكل عناقيد من الهيفات الخضرية الشفافة. الجراثيم الكونيدية غير واضحة، وتأخذ الشكل الإصبعى أو الكروى، وذات حجم (٣– ٣,٥) *x* (٢,٥ – ٣) ميكروميتر. يمكن أن يعزل الفطر من التربة او من Buck-wheat وقد وصف الفطر بأنه من ساكنات التربة، إلا أنه من الصعوبة عزله من التربة نظرا لصعوبة إنبات الجراثيم الكونيدية على البيئات الغذائية المتوفرة.

لقد تبين أن لهذا الفطر نشاطاً فى افراز المضادات الحيوية ضد كل من *R.solani* والفطر *Pythium ultimum*. هناك أنواعاً أخرى من الفطر منها *C.brunnescens*، تثبط بشكل معنوى فطريات العفن الأبيض مثل *Trametes versicolor* و *Stereum rugosum*، ولقد تبين أن هذا الجنس يحلل السليلوز والبكتين والزايلين.

تأثير الفطر *Cladorrhinum* على نمو الفطر رايزوكتونيا

لقد درس الفطر *C.foecundissimum* النامى على تحضيرات من النخالة ودرست كفاءته فى المقاومة الحيوية ضد الفطر الكامن فى التربة *R.solani* ، فى التربة وفى المزارع بدون تربة، ودرست مقدرته على خفض حدوث مرض سقوط البادرات فى بنجر السكر، الباذنجان والفلفل، المتسبب عن الفطر *R.solani* ودرست مدى كفاءته على الاستعمال فى المقاومة الحيوية.

وجد أن اللقاح المكون من النخالة للعزلة *CF-1* من الفطر *C.foecundissimum* المحضنة لمدة ١٧ يوماً، لا تخفض مدة البقاء الحى للكائن الممرض *R.solani* على بذور بنجر السكر الملوثة بالفطر *R.solani* والمزروعة فى تربة لومية رملية *(LS)* او لومية رملية طينية *(SCL)*. لكن اللقاح المحضن نفسه لمدة ٢٣ يوماً منع نمو الكائن الممرض من الانتقال من بذور البنجر الى التربة. كذلك قد تم إيقاف النمو الترممى للفطر *R.solani* المضاف كمخلوط مع مجروش الذرة على المزارع بدون تربة soilless، أيضا قد تم إيقافه بواسطة العزلة *CF - 1* فى أربعة أنواع من الاراضى. كذلك هناك أربع عزلات أخرى من الفطر المضاد، وهى: CF-1، CBs- 182- 66, CBS- 181- 66, AT CC - 62373، كلها تمنع النمو التطفلى للفطر *R.solani* فى أراضى *LS* عندما يكون لقاح الكائن الممرض موجوداً فى مخاوط Soilless ومزوداً بمجروش الذرة. السلالات ذات العمر ٣٣ يوماً من السلالة *CF-1* والسلالة ATCC- 62375 منعت سقوط البادرات فى بنجر السكر المتسبب عن الفطر *R.solani* فى أراضى *SL* بعد أربعة أسابيع من النمو. أما استعمال السلالة *CF-1* فإنه ادى الى زيادة أعداد النباتات السليمة أكبر من ٩٠٪ أعلى من تلك المزروعة فى الكنترول. وعلى النقيض من ذلك فإن استعمال العزلات *CBS- 181- 66 CBS- 182- 66* أدى إلى زيادة اعداد النباتات السليمة بنسبة أقل من تلك المزروعة فى تربة ملوثة بالكائن الممرض. العزلات المحضرة والمخلوطة مع النخالة مثل CF-1 و ATCC- 62373 منعت سقوط البادرات فى الباذنجان والفلفل فى مخلوط بدون تربة Soilless، واعتماداً على معدل اللقاح المستعمل يؤدى ذلك الى زيادة النباتات السليمة بالمقارنة مع تلك المزرعة فى مخلوط دون تربة، خاليا من الكائن الممرض (جداول ٣٤، ٣٥، ٣٦).

جدول رقم ٣٤ : البقاء والنمو الترممى للفطر *R.solani* العزلة (R - 23) فى تربة LS و SCL مع تحضيرات الفطر المضاد على النخالة بأعمار مختلفة من السلالة ١ -CF.

نوع التربة	عمر اللقاح بالأيام	بقاء الفطر الممرض فى بذور بنجر ملوثة (دليل الاستعمار)	النمو الترممى للفطر الممرض من بذور بنجر ملوثة فى التربة (دليل الاستعمار) .
لومية رملية (LS)	الفطر الممرض لوحده	٤,٤	٣,٦
	نخالة فقط	٤,٣	٣,٢
	صفر	٤,٢	٣,٥
	٣	٤,٣	٢,٣
	٦	٣,٨	٠,٦
	١٠	٤,٤	٠,٤
	١٧	٣,٨	٠,١
لومية رملية طينيةSCL	الفطر المرض لوحده	٤,٣	٤,١
	نخالة فقط	٤,١	٤,٠
	صفر	٣,٧	٤,٠
	٣	٣,٦	٢,٦
	٦	٤,٣	١,٤
	١٠	٤,٤	٠,٨
	١٧	٤,٦	٠,٨

ملاحظات على الجدول:

كان التقدير يتم بعد ثلاثة أيام من إضافة تحضيرات النخالة (١٪ وزن/ وزن)الى تربة ملوثة بالفطر *R.soloni*. دليل الاستعمار: يدل على نمو الفطر الممرض على سطح أجار محيط ببذرة بنجر السكر حيث أن:-

صفر = لا يوجد نمو ٠ ١ = نمو على شكل خيوط قليلة . ٢، ٣، ٤، ٥ = ٢٥، ٥٠، ٧٥، ١٠٠ ٪ من السطح المحيط بالبذرة مغطى بالهيفات بالترتيب

جدول رقم (٣٥): النمو التطفلى للفطر الممرض *solani* العزلة *(R - 23)* من لقاح مجروش الذرة المخلوط مع مواد غير عضوية فى تربة لومية رملية مضافاً إليها تحضيرات الفطر المضاد *C.foecundissimum* النامى على النخالة ، والمكون من أربعة عزلات.

العزلة	النمو التطفلى للفطر الممرض دليل الاستعمار
R.solani لوحدة (كنترول	٣,٨
نخالة خالية من الكائن المضاد	٣,٢
السلالة CF-1	٠,١
السلالة ATCC - 62373	٠,١
السلالة CBS - 182 - 66	١,٥
السلالة CBS - 181 - 66	١,٦

ملاحظات على الجدول :

كان يتم التقدير بعد ٣ أسابيع من إضافة تحضيرات النخالة ١ ٪ وزن/ وزن إلى التربة الملوثة بالكائن الممرض. دليل الاستعمار كما فى الجدول السابق.

obeikandl.com

جدول (٣٦) : النباتات السليمة من الباذنجان والفلفل المزروعة فى مخلوط (بدون تربة زراعية) ، ملوثة بالفطر الممرض *R.solani* ، العزلة R- 23، المعاملة بمعدلات عديدة من تحضيرات ذات عمر ١٠ أيام من العزلات المختلفة من الفطر المضاد بعد ٢ و ٤ أسابيع من النمو.

العـــزلة	معدل اللقاح ٪ وزن/ وزن	٪ نباتات سليمة من الباذنجان بعد		٪ نباتات سليمة من الفلفل بعد	
		١٤ يوم	٢٨ يوم	١٤ يوم	٢٨ يوم
كنترول (بدون كائن ممرض)	صفر	٩٥	٨٩	٩٢	٨٩
كنترول (كائن ممرض فقط)	صفر	٥٧	١٠	٤٢	١٧
كنترول (نخالة بدون كائن مضاد)	صفر	٤٣	٧	٢٩	٠٧
CF- 1	٠,٣	٩٠	٨٥	٦٩	٢٠
--	٠,٧	٨٧	٧٣	٧٣	٢١
--	١,٣	--	--	٩٢	٨٩
--	٢,٦	--	--	٩٢	٦٩
ATCC - 62373	٠,٣	٩٤	٧٩	٤٧	١٨
--	٠,٧	٨٣	٥٧	٤٩	١٨
--	١,٣	--	--	٨٣	٥٦
--	٢,٦	--	--	٨٧	٦٩

ملاحظات على الجدول :

عوملت بادرات الباذنجان بالسلالة *CF- 1* **والسلالة** *ATCC - 62373* بمعـدل ١,٣ و ٢,٦ ٪ ، ولكنها لم تحدد تحضيرات النخالة الخالية من الكائن المضاد اضيف الى الكائن الممرض (زراعة بدون تربة ملوثة بالفطر) بمعدل ٠,٧ ٪ وزن/ وزن بالنسبة لتجارب الباذنجان و ٢,٦ ٪ وزن/ وزن لتجارب الفلفل.

IV الجنس Talaromyces

دور الجنس في المقاومة الحيوية

يعتبر الفطر *T.flavus* من الفطريات الإسكية ساكنات التربة، الطور اللاجنسى له يسمى *Penicillium dangeardii* وله اسم مرادف هو *P.vermiculatum*. يستعمل هذا الفطر فى المقاومة الحيوية لبعض امراض النبات، فهو يثبط ذبول الفير تسليم فى الطماطم، الباذنجان والبطاطس، ويتطفل على كل *Sclerotium Sclerotinia , R.solani, Sclerotium rolf-sii,* من وبشكل عام فان الميكانيكية المستعملة من قبل هذا الكائن المضاد فى المقاومة الحيوية ضد الفطريات الممرضة النباتية، تشمل التطفل الفطرى Mycoparasitism، التضاد الحيوى، التنافس والمقاومة المستحثة.

يستعمل هذا الفطر الأنزيمات المحللة لجدار الخلية مثل Chitinase, B- 1.3 - gluca-nase, cellulase, فى التضاد الحيوى. وجد أن الفطر *T.flavus* يضاد الفطر *Verticillium dahliae* عن طريق التطفل والتضاد الحيوى، ووجد أيضاً أن الأجسام الحجرية الدقيقة Mi-crosclerotia للفطر الممرض *V.dahliae*، يمكن أن تقتل براشح مزرعة الفطر المضاد *T.flavus*. هذه السمية التى يظهرها راشح المزرعة يمكن أن تعزى الى فعل مادة Glucose oxidase. مع أن الفطر *T.flavus* ينتج عديداً من الإنزيمات المفرزة خارج الخلايا، إلا أنه لغاية ١٩٩٧ لم يحدد أى من هذه الانزيمات له الدور الأهم الذى يلعبه فى المقاومة الحيوية.

استعملت فى إحدى التجارب عشر سلالات عادية، وطفرتان من السلالات المقاومة للمبيد الفطرى بينومايل، من الفطر *T.flavus* ودرست مقدرتها على إفراز الإنزيمات المحطمة للجدار الخلوى ،وهى Chitinase و B- 1,3 - glucanase و Cullulase ودورها فى التطفل على الأجسام الحجرية للفطر *S.rolfsii*، وذلك لخفض الإصابة بمرض عفن ساق الفاصوليا ومقدرتها على إفراز مواد مضادة فطرية توقف نشاط الفطر الممرض *V.dahliae*.

تبين أن الطفرة المقاومة للبينومايل Ben TFI - R6 تفرز كميات كبيرة من الإنزيمات خارج الخلية، وتزيد نشاط التثبيط ضد الفطر *S.rolfsii* و *V.dahliae* بالمقارنة مع السلالات العادية والطفرات الاخرى. ولقد تبين أن ظاهرة التطفل الفطرية بواسطة *T.flavus* والمقاومة

الحيوية به ضد الفطر الممرض *S.rolfsii*، تتعلق بنشاطه لإفراز إنزيم Chitinase. ومن ناحية أخرى فإن نشاط *T.flavus* فى المقاومة الحيوية للفطر *V.dahliae* يعتمد على نشاط مركبات التضاد الفطرى مثل Glucose - oxidase حيث إن هذه المادة تعوق إنبات ونمو هيفات الفطر، وتسبب اللون الأسود فى الأجسام الحجرية الدقيقة Microsclerotia المتكونة حديثا. الجدول (رقم ٣٧) يبين كفاءة بعض السلالات فى إنتاج الإنزيمات المختلفة.

أما بالنسبة للمقاومة الحيوية لمرض عفن ساق الفاصوليا المتسبب عن الفطر *S.rolfsii*، فتبين أن عزلات الفطر *T.flavus* قادرة على تخفيض المرض بنسبة ٦٤٪، وذلك عند معاملة الأجسام الحجرية بالجراثيم الكونيدية من السلالة المقاومة للمبيد بنليت TFI-R6، بينما لم تخفض السلالة TF- 62 و TF- 46 الإصابة بالمرض (جدول رقم ٣٧). أما عن علاقة الانزيمات وتثبيط المرض فهو واضح فى جدول (رقم ٣٨). اما عن العزلات الأخرى فيتراوح خفضها للمرض من ٥ – ٥٢٪.

تعتبر ظاهرة تطفل *T.flavus* على الأجسام الحجرية للفطر الممرض *S.rolfsii* ميكانيكية مهمة فى تثبيط هذا الفطر وخفض المرض (شكل ٢٢). وقد وجد أن السلالة TF1-R6 لها قدرة عالية على التطفل الفطرى، ووجد أنها تستعمر ٦٣٪ من الأجسام الحجرية للفطر الممرض، بينما السلالات TF- 62 و TF- 46 لم تستعمر اى جسم حجرى.

كانت تجارب الصوبا الزجاجية تجرى كالآتى:

– تحضر أوعية بلاستيكية قطر ١٠ سم، وتملأ بحوالى ٣٥٠ غرام تربة رملية، ويزرع فى كل وعاء خمس بذور من الفاصوليا. كانت تحضر أجسام حجرية جافة للفطر *S.rolfsii* وتنقع فى المعلق الجرثومى للفطر المضاد *T.flavus* بتركيز ^{7}١٠ جرثومة/ مل، ثم بعد ذلك يؤخذ جسم حجرى واحد ويوضع على بعد نصف سم من بذرة الفاصوليا، ثم تغطى البذرة والجسم الحجرى بحوالى ١٥٠ غرام تربة رملية. تحفظ الأوعية فى الصوبا الزجاجية على حرارة ٢٥ – ٣٠°م تقدر أعراض المرض (عفن الساق) كل يوم لمدة ثلاثة اسابيع بعد الانبات.

جدول رقم ٣٧ : النشاط الإنزيمى ونشاط سلالات T.flavus ضد الفطرين *S.rolfsii* و *V.dahliae*.

السلالة المستعملة	نوع الانزيم				S. rolfsii		V.dahliae
	Chitinase	Glucanase	Cellulase	Glucose oxidase	٪ تطفل على الأجسام الحجرية فى التربة	٪ خفض إصابة المرض	نشاط التضاد الحيوى
TFI - R6	١٥,١	١٧٢٤	٥٥,١	٥٢٩	٦٣	٦٤	٥١٢
TF - 64	١٠,٠	٨١٣	٨,١	٢٨٠	٥٦	٥٢	١٢٨
TF - 17	٨,٩	٩٧٠	٢٥,٣	١١٧	٤٤	٤٣	٦٤
TF - 1	٨,٩	١٠١٠	٢٧,٦	١٢٩	١٨	٣٢	٦٤
FFI - R3	٤,٢	٧١٠	١٨,٢	١٦٥	٠٤	٥	١٢٨
TF - 62	٠,٩	٩٥٢	٥,٠	١٣١	صفر	صفر	٦٤
TF - 46	٠,٦	١١٠	٦,٤	٩٦	صفر	صفر	٨

ملاحظات على الجدول:

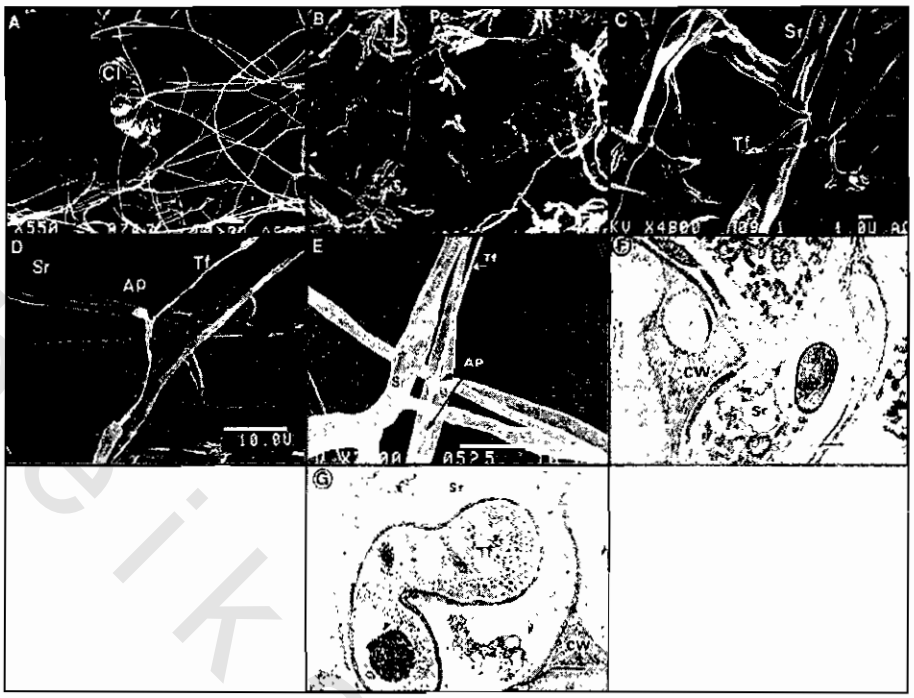
Chitinase = مكرومول من N-acetyl glucoseamine / ساعة / ملغم من البروتين.

Cellulase و Glucanase = مكرومول غلوكوز / ساعة/ ملغم من البروتين.

Glucose oxidase = مكرومولز H2O2 / دقيقة / ملغم من البروتين.

نشاط التضاد الحيوى للفطر *V.* dahliae = أعلى تخفيف من راشح المزرعة الذى يثبط إنبات الأجسام الحجرية الصغيرة للفطر كلية.

فى دراسة فسيولوجية على الفطر *T.flavus*، وجد أن أفضل نمو خضرى وإنتاج للهيفات الفطرية، يحدث عند تنميتها على سكريات معقدة مثل عديدات التسكر (٣٢ غرام/ لتر من البيئة) و *B-glucosides* (٢,٤ غرام لكل لتر من البيئة). وكان أقل نمو للهيفات على



شكل رقم (٢٢) :

صورة بالميكروسكوب الإلكترونى تظهر تطفل الفطر T.flavus على الأجسام الحجرية للفطر *S.rolfsii*.

A : تحضين الأجسام الحجرية المحقونة فى الظلام للحث على الدورة الجنسية للفطر T.flavus وتكوين الأجسام الثمرية (Cl).

B : تحضين الأجسام الحجرية المحقونة تحت الإضاءة المستمرة يؤدى الى النموات الخضرية، وتكوين بنسيليا عديدة (Pe).

C + D : يلاحظ أن الأجسام الحجرية للفطر *S.rolfsii* تستعمر جزئياً بالفطر *T.flavus*، وتظهر هيفات *S.rolfsii* (Sr) مهاجمة من قبل الفطر المضاد Tf وتلتف هيفات Tf حول هيفات Sr كما فى C + D.

D +E = على طول هيفات *T.Flavus* فإن معظم مناطق التلامس مع S.rolfsii تنتفخ وتظهر مفصلية. كذلك أنبوبة الاختراق تظهر أيضاً منتفخة مثل تركيب عضو الالتصاق (Ap).

F + G = يلاحظ هيفا *T.flavus* تخترق الجدر الخلوية السميكة (CW) فى الأجسام الحجرية للفطر *S.rolfsii* متبوعاً بتحطيم عضيات خلية العائل وإختفاء محتويات السيتوبلازم.

مقياس الرسم = ١ ميكروميتر.

السكريات الأحادية. اما إنتاج الجراثيم الاسكية فيتم بعد ٦ أسابيع من النمو على بيئة صلبة وتحضينها على ٣٧° م. وجد أن أفضل مصدر غذائى هو السكريات القليلةالتسكر oligosac-charides؛ حيث تعطى ٢,٩ x ١٠^٨ جرثومة/ ٥,٥ سم قطر بيئة فى أطباق بترى، أما Monosaccharides فتعطى ١,٦ أو ١,٤ x ١٠^٨ جرثومة / ٥,٥ سم قطر فى البيئة فى أطباق بترى. بالنسبة لمصدر الكربون، ليست هناك علاقة بين تكوين الجراثيم الإسكية والوزن الجاف للهيفا. أما المصادر المختلفة للنيتروجين فتعطى من صفر الى ١٠^٩ جرثومة اسكية لكل ٥,٥ قطر بيئة فى طبق بترى و ١٠^-٤ – ١٠^-٥ غرام من الهيفات الجافة لكل مل. وبشكل عام فإن مصدر النيتروجين، الذى يؤدى لأفضل إنتاج من الجراثيم الإسكية يعطى أيضاً أفضل إنتاج من الهيفات الجافة. ولقد وجد أن عدد الجراثيم الاسكية يزيد كلما زادت نسبة *C/N* من ٥ : ١ الى ٣٠ : ١، هذا التأثير يكون أكثر وضوحاً كلما كان *C:N* يزداد من ٥ : ١ الى ١٥ : ١. فى النسبة المنخفضة من *C:N* اقل من ١٥ : ١ فإن المعاملة بمادة hypoxan-thine كمصدر للنيتروجين يؤدى الى زيادة معنوية فى نمو ووزن الهيفات منه فى حالة المعاملة بترترات الأمونيوم. لا يوجد فرق معنوى عندما يكون *C:N* مساوياً أو أكبر من ١٥ : ١.

كان حدوث مرض ذبول الفيرتسليم أقل بنسبة ٥٠٪ على نباتات الباذنجان العاملة تربتها بالجراثيم الاسكية الناتجة من مزرعة نامية على بيئة *PDA* بالمقارنة مع نباتات الباذنجان المعاملة تربته بالجراثيم الإسكية الناتجة من مزرعة نامية على بيئة بها hypoxan-thine + لاكتوز أو مالتوز. وبالتالى فإن مصادر الكربون والنيتروجين التى تزيد قليلا إنتاج الجراثيم الاسكية للفطر *T.flavus* تخفض كفاءة المقاومة الحيوية لذبول الفير تسليم بالمقارنة مع الجراثيم الإسكية الناتجة من بيئة PDA . (جدولان رقم ٣٨، ٣٩).

الجدول (٣٨) : العلاقة بين النشاط الإنزيمى فى راشح مزرعة سلالات الفطر T.flavus ومقدرتها على التطفل على الاجسام الحجرية للفطر S.rolfsii لخفض مرض عفن ساق الفاصوليا فى تجارب الصوبا الزجاجية.

الإنـــزيم	Coefficient	Correlation
	التطفل الفطرى	خفض المرض
Chitinase	٠,٨٩٥	٠,٩٥٢
Glucanase	٠,٢٨٣	٠,٣٢٣
Cellulase	٠,٥٤٦	٠,٣٨٧
Glucose oxidase	٠,٥٤٤	٠,٤٢٦

ملاحظات على الجدول

Correlation و Coefficient معتمدة على جدول (رقم ٣٧).

الأرقام معنوية من صفر على $P = 0.05$.

جدول رقم (٣٩) : العلاقة بين المقدرة على التطفل على الأجسام الحجرية للفطر S.rolfsii، والخفض فى شدة مرض عفن ساق الفاصوليا.

٪ تطفل على الأجسام الحجرية	٪ خفض المرض
٥	١٨
٦	٢٠
١٠	٣٠
١٨	٤٠
٣٠	٣٨
٤٥	٤٥
٥٥	٥٨
٧٠	٧٠

obeikandl.com

ثانيا: الأجنـــاس البكتيـــرية

I : الجنـــس Pseudomonas

مقـــدمة:

أفراد هذا الجنس بكتيريات على شكل عصيات مستقيمة، الى منحنية، ذات أبعاد (٠,٥ – ١) x (١,٥ – ٤) ميكرون، متحركة بواسطة سوط واحد او اكثر. يوجد أنواع كثيرة من هذا الجنس شائعة كمستوطنات تربة أو الماء النقى أو مع الأحياء البحرية. معظم الأنواع الممرضة من هذا الجنس تصيب النبات، قليل منها يصيب الحيوان أو الإنسان.

بعض الأنواع من هذا الجنس تسمى بكتيريا وميضة (لامعة) وذلك لأنه عند تنميتها على بيئة غذائية منخفضة المحتوى من الحديد، تنتج صبغات لامعة منتشرة خضراء مصفرة. البعض الآخر لا ينتج صبغات لامعة وتشكل مجموعة بسيدوموناس عديمة الصبغات.

أهم الأنواع التى تدخل فى المقاومة الحيوية لأمراض النبات هى *Pseudomonas fluorescens* خاصة السلالة *CHAO*. والنوع الثانى *P.putida* والثالث *P.aevuginosa*.

الســـلالة *P.fluorescence CHAO*

هناك بعض السلالات من البكتيريا الوميضة *P.fluorescence* المستعمرة لجذور النبات، تستطيع أن تثبط أمراضاً نباتية مختلفة كامنة فى التربة، وبالتالى تزيد النمو وكمية الإنتاج فى المحاصيل الزراعية. يكون تثبيط الكائنات الممرضة التى تهاجم الجذور عن طريق إنتاج مواد تسمى مضادات ميكروبات او مركبات حديد مخلبية *Iron - Chelating metabolites*. هذه المواد يعتمد عليها فى الميكانيكية الأساسية فى تثبيط الأمراض بواسطة هذه البكتيريا. أهم المواد التى لها دور فعال فى تثبيط الأمراض هى:

1 - Phenazine - 1 - Carboxylic acid.

2 - Hydrogen Cyanide

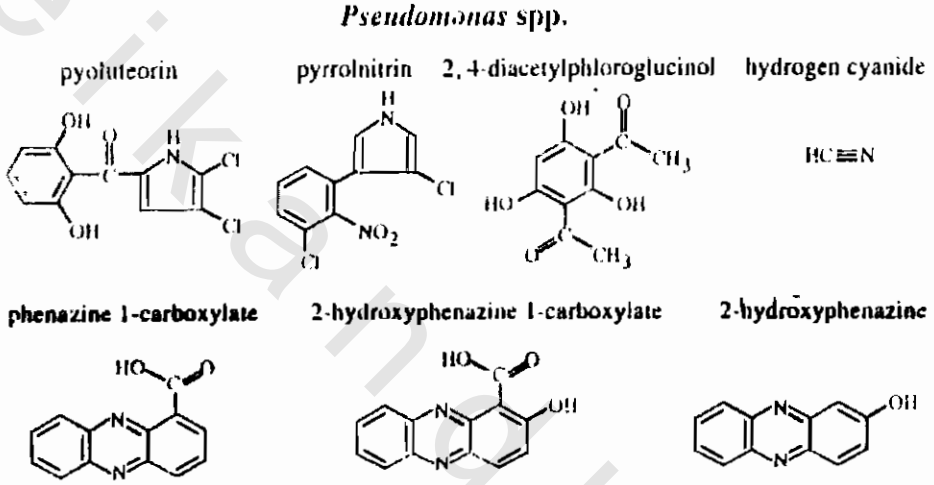
3 - 2,4 - diacetyl phloroglucinol (Ph1)

4 - Oomycin A

5 - Pyoluteorin (Plt)

6 - Pyrrolnitrin

يبين (شكل ٢٣) الصيغ الكيميائية لبعض هذه المركبات:



شكل (٢٣) : بعض المركبات الكيماوية التى تفرزها أنواع مختلفة من البكتيريا الوميضة، ولها دور فى تثبيط الأمراض النباتية.

أثناء نمو البكتيريا تحت ظروف محدودة فى كمية الحديد، فإن البكتيريا الوميضة ينطلق عنها وميض معين، وتنتج سايدروفورز خضراء مصفرة يطلق عليها Pyoverdines (Pvd) أو تسمى Pseudobactins. السايدروفورز تجعل الحديد تركيباً معقداً مع التربة؛ مما يجعله أقل توفراً للكائن الممرض. إن الدليل على دخول الـ (Pvd) فى تثبيط الأمراض، قد جاء من الدراسات التى أجريت على تنقية الـ Pvd (مقارنة مع مركبات الحديد المخلبية والطفرات السالبة لـ Pvd).

إن المركب Pvd قد استعمل فى المقاومة الحيوية للفطر *Pythium sp*، *Fusarium sp* والبكتيريا *Erwinia carotovore*. ومع ذلك فإنه فى عدد من سلالات *Pseudomonas* فإن ال Pvd يظهر دوراً بسيطاً جداً فى تثبيط الأمراض. هناك معلومات قليلة معروفة عن السايدروفور Pyochelin (Pch)، البادئ الأساسى له هو حمض السلسليك (Sal) وهذا ينتج بواسطة بعض سلالات *Pseudomonas*. لقد ذكر بأن Pch يشارك فى مقاومة الفطر *Pythi-um* على نباتات الطماطم حيث تفرزه السلالة *P.aeruginosa*.

البكتيريا *P.fluorescens CHAO*، عزلت أصلاً من تربة مثبطة لمرض العفن الأسود لجذور الدخان، حيث وجد أنها تقى نباتات مختلفة من أمراض الجذور المتسببة عن أنواع مختلفة من الفطريات الممرضة النباتية. هناك نواتج تمثيل ثانوية عديدة تنتج بواسطة السلالة *CHAO*، قد ثبت بأنها تلعب دوراً فى تثبيط المرض، هذا ما وجده Ked & Defago سنة ١٩٩٦، أهم هذه النواتج هما HCN و Ph1، حيث يساعدان فى تثبيط العفن الأسود فى الدخان. كذلك وجد أن ال Ph1 يدخل فى تثبيط المرض الماحق (Take all) فى القمح. أما المركب Plt فقد وجد أنه يساهم أيضاً فى وقاية بعض أنواع النباتات من الاصابة بمرض سقوط البادرات المفاجىء، إلا أن هناك أدلة واضحة تبين أن دخول Pvd المذكور سابقا فى المقاومة الحيوية لأمراض الجذور غير أكيد. كذلك فان السلالة CHAO تنتج أيضاً Pch وSal، ولكن دورهما فى تثبيط الأمراض لم يدرس جيدا.

إن الجين الكروى المنظم Global activator والذى يطلق عليه Gac *A* فى السلالة المذكورة سابقا، ينظم سلوك عديد من نواتج التمثيل الثانوية من HCN، Ph1 و Plt وإنزيمات Tryptophan side-chain oxidase، وأنزيم Protease و Phospholipase *C*. إن جين تنظيم الاستجابة Gac *A* وجين تطابق الإحساس Lern A هما مكونان مهمان فى الجنس *Pseudomonas*. إن الجين Gac A غير مطلوب لإنتاج مركبات الحديد المخلبية فى CHAO، ولكن فى الطفرات السالبة لإنتاج Gac *A* من *P.fluorescens* سلالة *BL 915*، فأنها تفشل فى بناء عديد من عوامل المضادات الفطرية مثل HCN و Pyrrolnitrin، وتضعف كفاءتها فى تثبيط الأمراض. أيضاً وبطريقة مماثلة فإن الطفرات السالبة لإنتاج Gac A من السلالة CHAO، تكون مقدرتهاعلى تثبيط عفن الجذر الأسود فى الدخان منخفضة بشدة بالمقارنة مع السلالة الأصلية موجبة الإنتاج للجين Gac A.

كذلك فإن السلالة *CHAO* تثبط عديداً من الأمراض النباتية المختلفة المتسببة عن فطريات كامنة فى التربة. تنتج البكتيريا الوميضة مواد مضادة ميكروبية ذكرناها سابقاً، والتى كلها ضرورية لتثبيط المرض، إلا أن هناك مشتقات من السلالة *CHAO* ذات طفرة فى الجين الكروى المنظم (Gac A) والذى يعد غير قادر على إنتاج Phl، Ph1، HCN، وهذا يفشل فى وقاية نباتات ذات الفلقتين مثل Cress، والخيار ضد مرض سقوط البادرات المتسبب عن الفطر *Pythium ultimum*. وبالمقابل فإن الطفرات السالبة لإنتاج Gac A تستطيع أن تقى نباتات ذات الفلقة الواحدة وخاصة النجيليات مثل القمح والذرة ضد سقوط البادرات والذى يتسبب عن الفطر السابق نفسه. وتحفظ القمح من الإصابة بالمرض الماحق. وعلى أية حال فإن الطفرات السالبة فى إنتاج Gac A، تنتج كثيراً من Pch و Pvd. للحصول على تفسير اكبر للوقاية من المرض الذى يتم بواسطة السلالة السالبة لـ Gac A، يجب دراسة الطفرات الثنائية السالبة فى إنتاج Gac A و Pvd مثل السلالة CHA - 496 التى أنشئت عن طريق الإحلال الجينى.

السلالة CHA- 496 تنتج كميات كبيرة من Pch و Sal بالمقارنة مع السلالة CHAO، وتحفظ القمح من الإصابة بالفطر *P.ultimum* و *Gaeumannomyces graminis* مسبب المرض الماحق (جدول رقم ٤٠)، بينما نبات ال Cress والخيار لم يمكن حفظهما. إن إضافة كلوريد الحديديك يكبح إنتاج Pch و Sal بواسطة السلالة CHA- 496 فى المعمل، ويفسد وقاية النبات فى عالم التربة الصغير.

يمكن القول باختصار أن وظيفة الجين Gac A ضرورية لوقاية نباتات ذوات الفلقتين ضد أمراض الجذور وليست ضرورية لنباتات الفلقة الواحدة خاصة النجيليات. كذلك يمكن القول بأن Pch و / او Sal تكون داخلة فى مقدرة الطفرة المزدوجة السلبية فى إنتاج Pvd وGac A من السلالة CHAO لكبح أمراض جذور العائلة النجيلية.

جدول رقم (٤٠) : تأثير الحديد على تثبيط مرض سقوط البادرات المتسبب عن الفطر *P.ultimum* والمرض الماحق فى القمح المتسبب عن الفطر *G.g.tritici* بواسطة استعمال البكتيريا *P.fluorescens* سلالة CHAO، وطفرة CHA - 496 السالبة الإنتاج لكل من Gac A و Pvd.

السلالة البكتيرية	الحديد	تقدير سقوط البادرات				تقدير المرض الماحق فى القمح			
		الوزن الطازج للنبات ملغ		٪ إصابة مرضية		الوزن الطازج للنبات ملغ		دليل المرض	
		بدون فطر	مع فطر	بدون فطر	مع فطر	بدون فطر	مع فطر	بدون فطر	مع فطر
كنترول	---	٦١٥	٣٣٣	صفر	٨٠	٦٢٧	٣٠٣	صفر	٢,٤
CHAO	---	٥٧٨	٤٤٩	صفر	٤٠	٦٢٣	٦٢٤	صفر	٠,٧
CHA-496	---	٥٩٧	٤٥٢	صفر	٣٥	٦٣٦	٥١٥	صفر	١,٧
كنترول	+	٥٧٨	٢٩٤	صفر	٨٠	٥٩٢	٣٢٦	صفر	٢,٣
CHAO	+	٥٨٠	٤١٩	صفر	٧٥	٥٨٥	٥٥٩	صفر	٠,٤
CHA-496	+	٥٧٠	٣٣٧	صفر	٧٠	٥٦٤	٣٩٤	صفر	٢,٠

ملاحظات على الجدول:

السلالة CHAO هى الاصلية اما CHA - 496 فهى طفرة من السلالة الاصلية لا يوجد فيها Gac A ولا Pvd. كان يضاف الحديد على شكل كلوريد الحديديك الى التركيز النهائى من ٩,٩ ميكوغرام حديد / g^{-1} من التربة الجافة. كان دليل المرض يقسم من صفر الى ٤، حيث إن صفر بدون مرض، أما ٤ تموت النباتات (Keet *et al* سنة ١٩٩٢).

إن إدخال Cosmid pME 3090 الى البكتيريا الوميضة سلالة CHAO التى هى عامل مقاومة حيوية جيد ضد امراض نباتية مختلفة، متسببة عن كائنات ممرضة كامنة فى التربة، يضاعف إنتاج المضادات الحيوية الناتجة عن التفاعلات الايضية بمقدار ٣ – ٥

أضعاف، هذه المضادات هى Plt و Ph1 فى المعمل . السلالة CHAO/ pME 3090، أيضا تنتج كمية كبيرة من ال Plt و Ph1 فى منطقة الرايزوسفير فى القمح المصاب أو غير المصاب بالفطر *P.ultimun*. إن كفاءة المقاومة الحيوية للسلالة الاصلية والسلالة المركبة قد تم مقارنتهما باستعمال اتحادات من العائل – الكائن الممرض المختلفة فى نظام الجينوتايب. لا تتأثر وقاية القمح بالإنتاج الكبير من المضادات الحيوية، لا الوقاية ضد *P.ultimum* ولا ضد فطر المرض الماحق *G.g.tritici* ولا يتأثر نمو نبات القمح. وبالمقابل فإن السلالة المركبة *CHAO/pME 3090* أظهرت زيادة كبيرة فى وقاية الخيار من مرض ذبول الفيوزاريوم وفطر *Phomopsis sclerotioides* بالمقارنة مع السلالة الاصلية *CHAO*. السلالات المنتجة كميات كبيرة من المضادات الحيوية، تحفظ جذور نبات الدخان بشكل معنوى أفضل ضد الفطر *Thielaviopsis basicola* من السلالة الاصلية، ولكن تخفض بشكل كبير نمو نباتات الدخان، وتكون سامة أيضا على نمو نباتات الذرة السكرية. عندما تنمو السلالة المركبة على بيئة King's Bagar او مولت آجار، فإنها تثبط جميع الكائنات الممرضة بشكل أفضل مما تعمله السلالة الاصلية *CHAO* . إن مادتى Plt و Phl المصنعتين كانتا سامتين لجميع الفطريات المختبرة. كانت نباتات الدخان ونباتات الذرة السكرية أكثر حساسية لتلك المادتين المصنعتين من نباتات الخيار والقمح. لا توجد علاقة بين حساسية الكائن الممرض للمضادات الحيوية المصنعة ودرجة تثبيط المرض بواسطة السلالة المركبة المذكورة سابقاً. وكذلك لا يوجد علاقة بين حساسية النبات وسمية السلالة المركبة. وبالتالى يمكن القول بأن الانواع النباتية أفضل من الكائن الممرض فى تحديد فيما إذا كانت Cosmid pME 3090فى *P.fluorescens* السلالة CHAO تؤدى الى تحسين المقاومة الحيوية وتثبيط المرض (جدول رقم ٤١).

جدول رقم (٤١) : درجة تثبيط الفطريات الممرضة النباتية بواسطة السلالتين البكتيريتين الأصلية والمركبة على أطباق الآجار.

الفطر المستعمل فى التجربة	التثبيط ملم على بيئة King's agar B		التثبيط ملم على بيئة مولت آجار	
	CHAO	CHAO/ pME 3090	CHAO	CHAO/ pME 3090
Pythium ultimum	٣,٢	١٠,٨	١,٧	٤,٢
G.graminis var. tritici	١٠,٤	١١,٣	١٣,٥	١٦,٨
Thielaviopsis basicola	--	--	١٠,٤	١٣,٦
Rhizoctonia solani	٣,٦	٥,٦	٣,٧	٥,٧
F.oxysporum F.sp cucumerinum	٠,٧	١,٢	٤,٥	٨,٨

ملاحظات على الجدول : يقاس تثبيط نمو الفطر (ملم) بين حافة ميسليوم الفطر والمستعمرة البكتيرية .

(-) الفطر ينمو ضعيف جداً.

دور السلسيلك أسد في المقاومة المستحثة

بعض أنواع البكتيريا غير الممرضة، التى تعيش فى منطقة الرايزوسفير، تحدث تغيرات فسيولوجية خلال النبات كله، جاعلة إياه أكثر مقاومة للكائنات الممرضة. هذه الظاهرة تسمى المقاومة الجهازية المستحثة Induced systemic resistance (ISR). لقد ذكرت هذه الظاهرة فى كثير من بكتيريا الرايزوسفير فى كثير من النباتات. تخفض المقاومة المستحثة أعراض المرض لمدى واسع من الكائنات الممرضة، وإن صفاتها الفسيولوجية فى دراسة مستمرة ومتقدمة. فى بعض الحالات فإن ISR بواسطة بكتيريا الرايزوسفير تتميز بواسطة التجمعات الجهازية للبروتينات المتعلقة بالمرضية، تلك التى تكون أيضاً مترافقة مع الكائن الممرض الحاث على المقاومة الجهازية المكتسبة، ويطلق عليها Systemic acquired resis-

(SAR) tance. فى حالات أخرى فإن *ISR* لبكتيريا الرايزوسفير لا تكون مترافقة مع تجمع البروتينات المتعلقة مع المرضية.

كيف يقود تفاعل الجذر مع بكتيريا الرايزوسفير الى *ISR*؟؟ لاتزال الاجـابة عن هذا السؤال غير واضحة (١٩٩٧)، ولكن هناك نوعين من العوامل البكتيرية المحددة، ضرورية لـ *ISR* قد تم وصفهما تماماً. سلسلة O-antigenic من الغشاء الخارجى لمادة Lipopolysac-charides (LPS) من البكتيريا *P.fluorescens* سلالة *WCS- 417r* و *WCS - 374*، يبدو أنها المسئولة عن *ISR* لذبول الفيوزاريوم فى الفجل. بالإضافة لذلك فإن LPS من *WCS-417-r* قد وجدت أساسية لـ *ISR* لذبول الفيوزاريوم فى القرنفل. وعلى أية حال فإن الطفرات من *WCS - 417r* و *WCS- 374* الخالية من *LPS* كانت لاتزال قادرة على خلق مقاومة للذبول الفيوزاريومى فى نباتات الفجل النامية فى محلول مغذى يحوى مقداراً منخفضاً من الحديد. فى حالة المستوى المنخفض من الحديد، فإن البكتيريا تنتج جزيئات من الحديد المخلبى يسمى Siderophores ليكتسب الحديد الكافى. السايدروفورز تفرز فى البيئة، وأن المعقد من الحديد الذى يكون فيها إختيارياً فى الاسترداد مع المستقبلات البروتينية الخاصة بالأغشية. المعلومات عن الدور الذى تقوم به السايدروفورز فى *ISR* محدودة ومثيرة للخلاف. هناك طفرة واحدة من البكتيريا *P.fluorescens* وهى سلالة *CHAO* غير قادرة على إنتاج سايدرفور Pyoverdin وتفتقد المقدرة على الحث على *ISR* ضد فيروس نكروزز الدخان فى الدخان. فى نظام ذبول فيوزاريوم – الفجل ذو الحديد المنخفض، فإن الطفرة التى تفتقر إلى Pyoverdin من *WCS- 374* و *WCS- 417r* تحث على مستويات المقاومة نفسها فى السلالة الاصلية. وعلى أية حال فإنه فى هذا النظام فإن الدور للـ Pyoverdin لا يمكن استبعاده، وذلك لأن استعمال ال Pyoverdin المنقى (على الجذر) من المزارع المعملية للسلالة *WCS- 374* تحث على *ISR*. أما السلسلك أسد *(SA)* فهو نوع آخر من السايدروفورز المنتج بواسطة السلالتين *WCS- 417r* و *WCS- 374* و *CHAO* التى يمكن أن تدخل فى ال *ISR*. إن *SA* عامل مهم فى ال *SAR* المستحثة من الكائن الممرض، ويمكن أن تحث على مقاومة جهازية للكائنات الممرضة بعد معاملة الجذر او التربة. ولغاية الآن (١٩٩٧) فإن الدليل على تدخل *SA* البكتيرى فى *ISR* لايزال عرضياً لانه لا توجد طفرات تفتقر الى *SA* من الرايزوبكتيريا الحاثة على *ISR* قد اختبرت على إنتاج *ISR*.

إن البكتيريا *P.aeruginosa 7NSK2* هى رايزوبكتيريا حاثة على نمو النبات، وعامل مقاومة حيوية فعال ضد الكائنات الفطرية الممرضة للجذور مثل *Pythium splendens* فى الطماطم. فى الظروف المحددة للحديد، تنتج هذه السلالة ثلاثة أنواع من السايدروفورز هى Pyoverdin، Pyochelin و SA. هذا الأخير هو أيضاً باديء للبناء الحيوى لمادة *Pyoche-lin*. فى الدراسات على الطفرات التى تفتقر الى السايدروفورز على نباتات الطماطم، فان ال Pyoverdin او ال Pyochelin، ثبت بأنهما ضروريان فى السلالة الاصلية للحصول على مستوى عال من المقاومة الحيوية لسقوط البادرات الناتج عن الفطر بثيم. إن ال Pyoverdin و Pyochelin اكثر احتمالاً لأن يعملا عن طريق التنافس على الحديد مع الفطر بثيم، وعلى أية حال بالنسبة لمادة Pyochelin فقد ذكر Buysens *et al.* سنة ١٩٩٦ أن هناك احتمالية تغير طريقة العمل فى المقاومة المستحثة. فى الدراسة نفسها وجد أن الطفرة التى تنتج *SA* على أساس أنه السايدروفور الوحيد، فإنها تستعيد بعض المقدرة على تثبيط مرض سقوط البادرات الناتج عن بثيم. قد يكون السبب راجعاً فى ذلك إلى المقاومة المستحثة بواسطة *SA*.

فى دراسة على نباتات الفاصوليا كانت هناك اختبارات لتحديد الرايزوبكتيريم *P.aeruginosa 7NSK2* فيما اذا كانت مهمة فى احداث مقاومة مستحثة ضد الفطر *Botry-tis cinerea*. وعن طريق الاختلافات فى حالة التغذية بالحديد للبكتيريا أثناء التلقيح، فلقد وجد أن المقاومة المستحثة بواسطة السلالة *P.aeruginosa 7NSK2* هى عبارة عن تنظيم فى الحديد. ونظراً لأن هذه السلالة تنتج ثلاثة سايدروفورز، تحت ظروف تواجد الحديد المحدودة وهى Pyoverdin ، Pyochelin و SA، فلقد اختبرت هذه المواد الثلاثة لمعرفة دورها فى المقاومة المستحثة عن طريق استعمال طفرة تفتقر الى واحد أو أكثر من هذه المواد. تبين من نتائج التجارب أن سلسيلك أسد يعتبر أساسيا للحث على المقاومة ضد الفطر *B.cinerea* بواسطة سلالة البكتيريا *7NSK2* فى الفاصوليا ولا يمكن استبعاد دور ال Pyo-chelin. كذلك فإن حالة التغذية بالحديد فى فترة تحضير اللقاح تؤثر على حالة نسخ نشاط جين بناء حمض السلسيلك وال Pyochelin بالطريقة نفسها، كما يتأثر فى الحث على المقاومة الجهازية للفطر *B.cinerea*.

II : الجنـــس Bacillus

مقـــدمة:

أفراد هذا الجنس بكتيريات عصوية هوائية او غير هوائية اختيارياً. تكون جراثيم داخلية، تتحرك عن طريق أسواط جسمية، بعض الأنواع غير منحرك، الجراثيم الداخلية بيضية أو كروية، موجبة لصبغة غرام. بعض الأنواع مختلفة التفاعل مع هذه الصبغة، موجبة لاختبار الكاتاليز. أنواع هذا الجنس غالبيتها رمية والبعض منها يصيب الحيوانات والحشرات مسبباً لها أمراضاً. النوع المثالى لهذا الجنس *Bacillus subtilis*.

أنواع هذا الجنس، كمجموعة، تبدى كثيراً من الفوائد، أكثر من التى تبديها البكتيريا الوميضة أو البكتيريا الأخرى موجبة غرام، وذلك عند استعمالها كمعاملة بذور (تلقيح بذور) لوقاية هذه البذور من الكائنات الممرضة التى تهاجم الجذور. تتميز هذه البكتيريا بأنها ذات سقف حياة طويل Longer shelf life وذلك لمقدرتها على تكوين جراثيم داخلية ونشاطها فى إنتاج مضادات حيوية ذات مدى واسع التأثير.

من أكثر السلالات معرفة وذات أهمية كبيرة فى المقاومة الحيوية هى *B.subtilis A13*. عزل هذا الكائن منذ ٢٥ سنة فى استراليا (هذا ما ذكره Broadbent سنة ١٩٧١)، هذه السلالة أختيرت على اساس مقدرتها التثبيطية فى المعمل لعديد من الكائنات الممرضة، وتبين أيضا أنها تشجع نمو كثير من النباتات مثل الحبوب، الذرة الرفيعة، الجزر وغيرها، عند استعمالها حقنا فى البذور.

هناك سلالة مهمة أخرى هى *B. subtilis GBO- 3* وهى تباع الآن فى الولايات المتحدة تحت اسم Kodiak لمقاومة مرض سقوط البادرات أساسا فى القطن. إن السلالات ذات التأثير الواسع المدى مطلوبة فى المقاومة الحيوية وخاصة على بعض المحاصيل مثل القمح الذى يبذر مباشرة، والذى عندئذ يمكن أن تهاجم جذوره مباشرة بأى من الفطريات التابعة للمجموعات Oomycetes، Basidiomycotina، Acomycotina. ولقد ذكر Faul وCamphell سنة ١٩٧٩ أن المرض الماحق فى القمح قد أمكن تثبيطه، وأن هيفات الفطر المسبب للمرض وهو *G.graminis* var. *tritici* قد تحللت على جذور القمح المحقونة فى الحقل بمعلق من خلايا البكتيريا المسماة *B.cereus* var *mycoides* المعزولة أساساً من

التربة المحتوية مسبب المرض. ولكن هل تستطيع هذه البكتريا مقاومة المرض الماحق فى الحقول الملوثة طبيعيا بالكائن الممرض عند إدخالها فى التربة على شكل معاملة بذور؟؟ هذا غير واضح تماما لغاية سنة ١٩٩٧، ولكن كثيراً من نتائج التجارب تبشر بالنجاح التام.

تعتبر أنواع الجنس *Bacillus* كمجموعة، أقل فعالية وكفاءة فى استعمار منطقة الرايزوسفير بالمقارنة مع البكتيريا الوميضة. وعلى أية حال هناك أبحاث مستمرة ومتتالية تذكر قوائم طويلة من الكائنات التى تستعمر منطقة الرايزوسفير، وتسبب أمراض الجذور ويمكن مقاومتها بأنواع *Bacillus* عند إدخالها فى التربة كمعاملة بذور.

من تلك الأمثلة ما يلى:

١ – *B.cereus UW85* لمقاومة مرض سقوط البادرات فى البرسيم الحجازى وأمراض أخرى كثيرة.

٢ – *B.megaterium B153- 2-2* لمقاومة مرض العفن الرايزوكتونى فى جذور فول الصويا.

٣ – *B.subtilis GBO-3* لمقاومة مرض سقوط البادرات فى القطن.

٤ – *B.mycoides* لمقاومة المرض الماحق فى القمح.

ذكرت بعض التجارب التى أجريت فى الصين، نجاح استعمال أنواع من البكتيريا *Ba-cillus* كعوامل تسبب زيادة الإنتاج، عند إدخالها للتربة كمعاملة بذور، على عديد من المحاصيل النباتية، من ضمنها القمح والرز. ولقد ذكر Mavingui *et al* سنة ١٩٩٢ أن تجمعات *B.polymyxa*، فى منطقة الرايزوسفير والرايزوبلين تختلف عن تلك الموجودة فى Bulk soil، ومن الممكن عزل سلالات من أنواع *Bacillus* والتى يمكن أن تكون ذات كفاءة رايزوسفيرية فى القمح، أو ذات نشاط فعال ضد مدى واسع من الكائنات الممرضة النباتية فى جذور القمح.

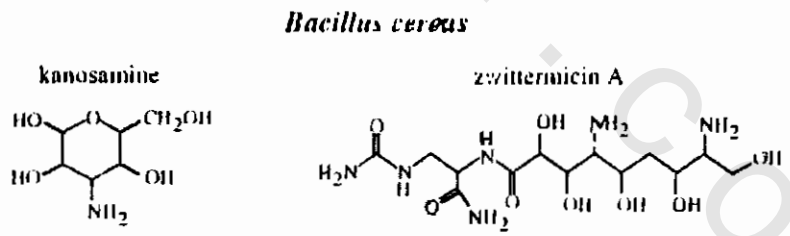
السلالة *B. cereus UW-85*

لهذه السلالة مدى واسع فى المقاومة الحيوية فى كثير من النباتات، فهى تقى بادرات البرسيم الحجازى من الإصابة بمرض السقوط المتسبب عن *Phytophthora medicaginis* وبادرات الخيار من الإصابة بالفطر *P.nicotianae*، وثمار الخيار من العفن المتسبب عن

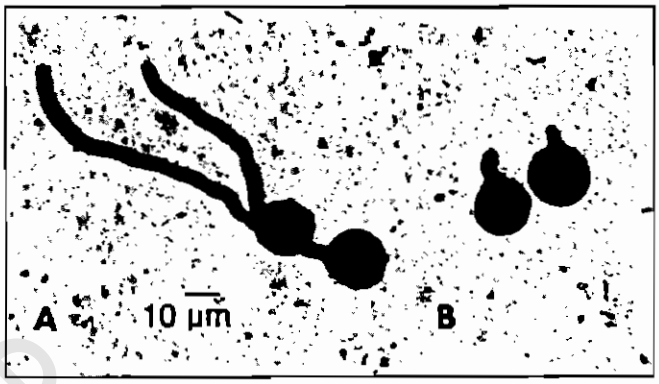
الفطر *Pythium aphanidermatum*، والفول السودانى من الإصابة بالفطر *Sclerotinia minor*، وهى أيضاً تزيد وتشجع نمو بكتيريا العقد الجذرية على فول الصويا، وتسبب تغيرات حقيقية فى العلاقات البكتيرية على جذور فول الصويا.

إن تثبيط مرض سقوط بادرات البرسيم الحجازى فى المعمل، يكون مترافقاً مع ظهور أجزاء من المضادات الحيوية خارجة من الخليج فى المزارع البكتيرية كاملة التجرثم فى السلالة المذكورة. وقد تبين أن هناك نوعين من المضادات الحيوية تفرزهما هذه السلالة فى المزرعة (شكل ٢٤)

إن المستعمرات والراشحات البكتيرية، المأخوذة من المزارع البكتيرية للبكتيريا *B.cereus UB-85*، تثبط سقوط البادرات المذكورة سابقا، وذلك لأنها تفرز نوعين من المضادات الحيوية، الأول يسمى Zwittermicin A (شكل ٢٤) وهو Aminopoly of مكون من ٣٩٦ Da والذى هو كايتونك على pH7. اما الثانى فيتكون من Antibiotic B ومن المتوقع أن يكون اسمه Kanosamine ويبدو أنه يتكون من Aminoglycoside يحتوى سكريات ثنائية. كلا النوعين من المضادات الحيوية يمنع المرض عن بادرات البرسيم الحجازى. عند تنقية النوع الأول، فإنه يخفض استطالة أنابيب الإنبات الناتجة من حويصلات الفطر *P.medicaginis* (شكل ٢٥). أما المضاد الثانى فهو يسبب انتفاخاً فى أنبوبة الإنبات وبالتالى يفقدها المقدرة على إحداث المرض (جدول رقم ٤٢).



شكل (٢٤) : التركيب الكيماوى للمضادات الحيوية، التى تفرزها البكتيريا *B.cereus* سلالة UB-85.



شكل (٢٥) : تأثير المضاد الحيوى Zwittermicin A **على إنبات حويصلات الفطر** Phytoph-thora medicaginis **بعد ساعتين من نقله الى البيئة الغذائية المناسبة.** A = **غير معاملة.** B = **معاملة بكمية ١٠٠ ميكو غرام / مل من المضاد الحيوى.**

أما بالنسبة السلالات الناتجة من الطفرات باستعمال Tn 917 او مادة Mitomycin C، وجد أنه من بين ٢٦٨٢ طفرة، هناك خمس طفرات فقط تخفض تجمع المضادات الحيوية وذات نشاط عال فى تخفيض المرض، ومن بين ١٧٠٠ طفرة هناك ثلاث طفرات ذات كفاءة منخفضة فى تخفيض المرض، وتجمع المضادات الحيوية بكمية أقل من السلالة الأصلية. إن كمية المضادات الحيوية التى تتجمع بواسطة الطفرات، تكون مرتبطة معنوياً مع مستوى تخفيض المرض. إن إضافة المضادات- سواء الأول أو الثانى- الى نباتات البرسيم الحجازى المحقونة بمزرعة طفرة غير مثبطة للمرض يؤدى الى تثبيط المرض. هذه النتائج تؤدى الى القول بأن البكتيريا *B.cereus UW- 85* تفرز نوعين من المضادات الحيوية ذات التأثير المطهر للفطريات Fungistatic، والتى تشارك فى تثبيط مرض سقوط بادرات البرسيم الحجازى.

أما بالنسبة للطفرة *UW030* ففى جدول (رقم ٤٣)، يتبين تأثير هذه الطفرة، حيث إنه دون إضافة المضاد الحيوى يكون تأثيرها على تخفيض المرض قليلاً جداً، مما يدل على أنها لا تفرز أيًا من المضادات الحيوية المذكورة سابقاً.

جدول رقم (٤٢): تثبيط استطالة أنبوبة الإنبات للجراثيم الهدبية للفطر *P.medicaginis* بالمضادات الحيوية المفرزة من قبل البكتيريا المضادة.

المضاد الحيوى	ميكروميتر طول أنبوبة الانبات تحت تأثير تركيزات المضادات الحيوية ميكوغرام / مل								
	صفر	٢٥	٥٠	٧٥	١٠٠	٢٥٠	٥٠٠	٧٥٠	١٠٠٠
Zwittermicin A	٣٤٠	٢٩٠	٢٤٠	٢١٠	١٤٠	--	--	--	--
Kanosamine (Antibotic B)	٢٨٠	--	--	--	--	٢١٠	٢٠٨	٢٠٠	١٩٠

ملاحظات على الجدول :

كانت الجراثيم الهدبية تعامل لمدة ٤ ساعات بواحد من المضادات الحيوية.

جدول رقم (٤٣) : تأثير المضادات الحيوية على تثبيط المرض بواسطة الطفرة UW030 فى سقوط البادرات.

المعاملة	المضاد الحيوى المضاف ميكوغرام/ أنبوبة اختيار	٪ النباتات السليمة
50 % TSB + Pm	--	٧
UW - 85 + Pm	--	٧٦
UW 030 + Pm	--	٠٩
UW 303 + Pm + Zm A	٢٠	٤٣
UW 030 + Pm + Zm A	١٠٠	٩٨
UW + Pm + Antibiotic B	٦٠	١٧

ملاحظات على الجدول :

كل أنبوبة اختبار تحوى ٣ بذور، والنتيجة مأخوذة من ٥٤ بادرة. الكنترول كلها سليمة.

Pm تعنى ٣×١٠^{٣} جرثومة هدبية من الفطر الممرض أضيفت إلى كل أنبوبة اختبار.

TSB = Trypticase Soy broth، *ZmA* = المضاد الحيوى الأول.

العزلتان *A13* و *AF-1*

العزلة *A13*، تعتبر من العزلات المهمة التابعة للبكتيريا *B.subtilis*، ولها دور مهم فى المقاومة الحيوية. وجد عند معاملة البذور بالعزلة *A13*، تزيد إنتاجية كل من الجزر، الشوفان، الفول السودانى. هذه العزلة تباع فى السوق لمعاملة بذور الفول السودانى تحت الاسم التجارى Quantum- 4000. يعزى تحسن نمو النبات الى تثبيط الكائنات الممرضة الرئيسية أو الثانوية، ويمكن أيضا أن يرجع الى التشجيع المباشر لنمو النبات.

أما العزلة *AF-1*، كان أول عزل لها من الخلايا المتحللة للفطر *Sclerotium rolfsii*، ولقد وجد أنها ذات قدرة تثبيطية فى المعمل لعديد من الكائنات الممرضة النباتية وتحسن النمو فى كثير من أنواع النباتات فى التربة المبخرة ببخار الماء الساخن والتربة الطبيعية. إن العزلة *AF-1* تعتبر من أهم العزلات التابعة للبكتيريا *B.subtilis*، ولقد ذكر بانها تعمل على شكل رايزوبكتيريم مشجع لنمو النبات يسمى (ذكرنا ذلك سابقاً فى الفصل الأول) *PGPR* وكعامل مقاومة حيوية لمقاومة مرض العفن التاجى فى الفول السودانى، وكذلك تشجع تكوين العقد الجذرية. إن بكترة البذور بالسلالة *AF-1* يسبب زيادة مستويات الفينولات الكلية وأنزيمات Lipoxygenase و Peroxidase، Phenylalanine ammonia lyase فى البادرات المبكترة، يدل على إمكانية تدخل المقاومة المستحثة فى النبات العائل فى مقاومة الأمراض التى تستعمل فيها *AF-1*. إن مقدرة البكتريا *B.subtilis* على استعمار الجذور باستمرار والبقاء حية لمدة طويلة عند إدخالها فى منطقة الرايزوسفير/ الرايزوبلين لنبات الفول السودانى، له أهمية كبيرة، وذلك لأنها يمكن أن تبقى حية لتكوين لقاح ناجح باستمرار تحت مدى واسع من الظروف.

عند حقن البكتيريا السلالة *AF-1* النامية لمدة ست ساعات، مجتمعة مع الفطر *Aspergillus niger* فى أوقات مختلفة وعلى فترات مختلفة، لوحظ التصاق الخلايا البكتيرية مع الميسيليوم الفطرى، وتتكاثر الخلايا البكتيرية فى مكانها وتستعمر سطح الميسيليوم. إن نمو السلالة *AF-1* يؤدى الى تحطيم جدار الخلية، ويتبع ذلك تحلل الخلية. أما حقن السلالة *AF-1* فى بيئة محتوية *A.niger* بعد مدة، صفر، ٦ و ١٢ ساعة فإنها تثبط أكبر من ٩٠٪ من النمو الفطرى. اما عند حقنها فى البيئة بعد ١٨ و ٢٠ ساعة من بداية نمو الفطر، فإن النمو الفطرى يثبط بنسبة ٧٠٪ و ٥٦٪ بالترتيب إذا قيس بالنسبة للوزن الجاف. أما فى المزارع المزدوجة Dual Culture، فإن النمو الفطرى لم يكن متبوعاً بتكوين جراثيم. التحضيرات الميسيليومية من الفطر *A.niger* عند إضافتها كمصدر أولى للكربون يدعم نمو

البكتيريا *B.subtilis* مثل الزيادة التى تسببها إضافة مادة الشيتين. البروتين المستخلص والمرسب من راشح مزرعة *B.subtilis* سلالة *AF-1* له تأثير معنوى فى وقت نمو الفطر *A.niger*. أما بذور الفول السودانى المبكترة بالبكتيريا *AF-1*، فإنها تظهر إنخفاضاً كبيراً فى حدوث مرض عفن التاج المتسبب عن الفطر *A.niger* عند زراعتها فى التربة الملوثة بالفطر، هذا يؤدى الى القول باحتمال الدور الذى تقوم به هذه البكتيريا فى المقاومة الحيوية للفطر *A.niger*.

مما سبق ذكره، يتأكد لدينا أن العزلة *AF-1* عامل مقاومة حيوية ومشجع لنمو النبات *PGPR*، وهذا ما أيده Podil *et al* سنة ١٩٩٥، وهى تثبط نمو الكائنات الفطرية الممرضة للنبات عن طريق إفراز مواد منتشرة ذات تأثير مطهر فطرى شبيهة بالمضادات الحيوية. كذلك فإن السلالة *AF-1* عندها المقدرة على خلق مقاومة مستحثة فى العائل فى بعض أنواع البسلة والفول السودانى، بالإضافة الى تشجيع العقد الجذرية فى البسلة الهندية. تكون كفاءة المقاومة الحيوية فى هذه البكتيريا عن طريق المواد الشبيهة بالمضادات الحيوية، أو عن طريق المقاومة المستحثة فى النبات. كذلك هناك طريقة أخرى تعتمد عليها هذه البكتريا فى المقاومة الحيوية وهى تحليل جدر خلايا الفطر الممرض، كما يحدث فى مقاومة الفطر المسبب للمرض الماحق فى القمح. إن مقدرة البكتيريا *AF-1* على استعمار الميسيليوم الفطرى وبالتالى تحطيم الجدار الخلوى، يفسر على أن البكتيريا ترتبط مع السطح الفطرى وتتكاثر فى الموقع نفسه. تكون حساسية الفطر للبكتيريا عالية كلما صغر عمر المزرعة الفطرية، وذلك لان تثبيط نمو الجدار الخلوى يكون نشيطاً فى الأطوار الاولى من النمو (جدول ٤٤). إن نمو البكتيريا *AF-1* على التحضيرات الميسيلومية للفطر *A.niger* يؤدى الى القول بأن هذه السلالة عندها القابلية لإنتاج Extracellular proteins *(EP)* والتى تتدخل فى النمو الفطرى. إن تحضيرات *EP* من مزارع *AF-1* النامية على الشيتين توقف نمو الفطر *A.niger*، وهذا يؤدى إلى القول باحتمال تدخل مادة Chitin inducible proteins فى عملية توقف نمو الفطر المذكور.

لقد ذكر فى مراجع كثيرة أن الكائنات الحية الدقيقة القادرة على تحليل الكائنات الاخرى، تلعب دوراً مهماً فى المقاومة الحيوية لأمراض النبات، هذا التحليل يتم بواسطة عديدة من الإنزيمات من بينها الإنزيمات المحللة للشيتين، وهذا يمكن تطبيقه على البكتيريا *AF-1* والقول بأنها قادرة على تحليل الشيتين Chitinolysis، وبهذه الطريقة تقوم بدور المقاومة الحيوية الفعال ضد الفطر *A.niger*.

جدول رقم (٤٤) : تأثير البكتيريا *AF- 1* على نمو الفطر *A.niger* فى المزارع المزدوجة السائلة.

المعاملة	الوزن الجاف ملغ بعد مدة التحضين بالساعات				
	صفر	٦	١٢	١٨	٢٤
بكتيريا + فطر	١٠	٢٠	٣٠	٩٠	١٤٠
فطر لوحده	٢٠٠	٢٢٠	٢٤	٢٨٠	٣٠٠

ملاحظات على الجدول:

كانت تستعمل البكتيريا بتركير 10^6 وحدة تكوين مستعمرات/مل. أما الفطر فكان يحقن بتركيز ٣٠ جرثومة/ مل من البيئة.

البكتيريا *B. subtilis Cot-1* في الصوبات الضبابية

الصوبات الزجاجية الضبابية Fogging glasshouses، هى عبارة عن صوبات زجاجية تزود النباتات التى تنمو فيها بالرطوبة العالية باستمرار. تستعمل الآن على نطاق واسع لإحداث تأقلم لوسائل التكاثر الدقيقة والحساسة فى النباتات، مثل البادرات الناتجة من مزارع الأنسجة أو بادرات أبحاث الهندسة الوراثية. إن فترة ٣ – ٦ أسابيع من الرطوبة العالية، مطلوبة لمنع جفاف مزارع الأنسجة النباتية التى يتكشف منها نظام جذرى ضعيف ذو طبقات شمعية وكيوتكل قليلة، وثغور غير منتظمة خلال فترة النمو فى المعمل. إن كلا من التشوهات الفسيولوجية والظروف البيئية تزيد فى قابلية النباتات للإصابة بالكائنات الممرضة الفطرية بعد نقلها الى بيئة ال Compost (مزارع من المواد العضوية المتحللة). بمعزل عن العفن الرمادى المتسبب عن الفطر *B.cinerea* والذى هو مستوطن الصوبات الزجاجية، فإن دخول الكائنات الممرضة *Pythlum*، *Phytophthora* إلى الصوبات الزجاجية الضبابية يسبب فقداً كبيراً فى البادرات نتيجة الإصابة بمرض سقوط البادرات المتسبب عن الفطرين السابقين، وهذا يسبب خسائر اقتصادية كبيرة فى شركات إنتاج البادرات من المحاصيل المحسنة أو التى تخضع لتجارب الهندسة الوراثية أو مزارع النسج. كذلك فإن هذين الفطرين يسببان مشاكل كبيرة فى مراقد البذور. إن استعمال المبيدات الفطرية Prophylactic ثلاث

مرات فى الأسبوع هى الطريقة المقنعة فى حفظ النباتات ضد الإصابة بالفطريات فى الصوبات الزجاجية الضبابية، ولكن هذه المبيدات لها مآخذ كبيرة، مما أدى إلى الاتجاه إلى المقاومة الحيوية.

إن البكتيريا Cot-1 قادرة على منع حدوث مرض سقوط البادرات المنسبب عن كل من *Pythium* و *Phytophthora* فى كثير من النباتات مثل *Astilbe*، *Photinia*، *Hemer-ocallis* وبادرات الجنس *Brassica* تحت ظروف الرطوبة العالية جدا، وفى الصوبات الزجاجية الضبابية. بالنسبة لـ *Photinia* فإن كفاءة المقاومة الحيوية تكون مشابهة للنتيجة المتحصل عليها من استعمال المبيد الفطرى Metalaxy، عندما يكون تركيز الكائن المضاد المضاف للجذور أكبر من أو يساوى ٣ x ١٠^٥ وحدة تكوين مستعمرات/ غرام طازج من الجذور Root Fresh weight (RFW) ويكون اللقاح الفطرى للكائن الممرض أقل من أو يساوى ١٠^٣ جرثومة بيضية / غرام بيت. تستعمر البكتيريا *Cot-1* النظام الجذرى المتكشف فى *Photinia* (micro plants) وبادرات *Brassica* النامية فى البيت *Peat* خلال ٢٨ يوماً فى الحقل فى فترة التأقلم فى الصوبات الزجاجية الضبابية. عند استعمال اللقاح ٤ x ١٠^٦ و ٣ x ١٠^٥ وحدة تكوين مستعمرات/ غرام *RFW*، فإن أعداد الجراثيم تبقى بين ١٠^٥ و ١٠^٦ وحدة تكوين مستعمرات/ غرام *RFW* فى المقاطع الأكبر عمراً من النظام الجذرى وبين ١٠^٤ و ١٠^٥ وحدة تكوين مستعمرات على مقاطع قمة الجذر. إن استعمال البكتيريا Cot-1 يثبط قليلاً مرض سقوط البادرات على نبات *Daphne*. إن ظهور المقاومة الضعيفة فى جذور *Daphne* وتثبيط البكتيريا *Cot-1* بواسطة البيئة الميتة لنسج مزرعة *Daphne* يؤدى الى القول بأن النشاط الضعيف للمقاومة الحيوية يكون بسبب انطلاق مركبات مثبطة بواسطة جذور *Daphne* (جدول رقم ٤٥، ٤٦).

هناك كائنات حية دقيقة مضادة تستعمل فى مقاومة الأمراض فى الصوبات الزجاجية الضبابية، منها:

1- *Bacillus*
2 - *Enterobacter*
3 - *Pseudomonas*
4 - *Gliocladium*
5 - *Pythium*
6 - *Trichoderma*

بعض هذه الكائنات تستعمل على نطاق تجارى واسع مثل *B. subtilis* فى القطن وسلالات الفطر *Gliocladium* فى نباتات أخرى. وعلى أية حال فإن توفر هذه الكائنات المضادة يغطى الاحتياجات بنسبة كبيرة ويساهم فى وقاية النباتات بصفة تجارية.

جدول رقم (٤٥) : تأثير استعمال البكتيريا B.subtilis Cot-1 على مرض سقوط البادرات فى بعض النباتات.

النبات	٪ سقوط بادرات بالفطر بثيم عند استعمال			٪ سقوط بادرات بالفطر فايتوفثورا عند استعمال			٪ سقوط بادرات من مخلوط فطريات ممرضة		
	مبيد فطرى	بكتيريا	كنترول	مبيد فطرى	بكتيريا	كنترول	مبيد فطرى	بكتيريا	كنترول
Aster	٦	٢	٩٦	٢	٤	١٠٠	٧	١١	٩٥
Daphne	٤	٦٢	٨٦	٥	٧٤	٩٤	٦	٨٩	٩٥
Photinia	٤	٧	٩٩	٦	٣	٩٦	٣	٠٧	١٠٠
Hemerocallis	٧	١	٩٩	٩	٣	٧٢	٨	٠٤	٩٥
Brassica	١	٩	٩١	٧	٤	١٠٠	٥	١٧	١٠٠

ملاحظات على الجدول: المبيد الفطرى المستعمل Metalaxyl.
الجراثيم البيضية المستعملة $^{٢}١٠$ جرثومة/ غم بيت. المخلوط يستعمل فيه ٥x $^{٢}١٠$ جرثومة بيضية/ غرام بيت.

جدول رقم (٤٦) : تأثير تركيز لقاح البكتيريا B.subtilis Cot-1 والفطر Pythium ultimum على النسبة المئوية لسقوط البادرات فى نبات Photinia.

المعاملة	الجرعة	لقاح الفطر *Pythium* (جرثومة بيضية/ غرام بيت)			
		$^{١}١٠$	$^{٢}١٠$	$^{٣}١٠$	$^{٤}١٠$
مبيد ميتا ليكسايل	--	٦	٢	٦	٣
Cot - 1	$^{٩}١٠$	٦	٧	١٤	٦١
Cot - 1	$^{٨}١٠$	٢	٦	٥٤	٦٩
Cot - 1	$^{٧}١٠$	٣٠	٧٤	٩٧	٩٥
Cot - 1	$^{٥}١٠$	٩٥	٩٤	٩٦	٩٨
كنترول	--	٩٤	٩٩	٩٦	٩٨

III : الجنـــس Streptomyces

مقـــدمة :

تتميز أفراد هذا الجنس، بأن لها هيفات متفرعة رفيعة، دون جدر عرضية، يتراوح قطرها حوالى ٠,٥ ٢ ميكرون. عند اكتمال النمو، يكون الميسيليوم الهوائى سلاسل جراثيم من ثلاثة الى عدة جراثيم فى كل سلسلة. كذلك فإن أفراد هذا الجنس تكون مستعمراتها على البيئة الغذائية بحجم صغير (١ – ١٠ ملم) فى القطر. تكون المستعمرات فى البداية ذات سطح ناعم إلى حد ما، ولكن بعد ذلك فإن ما ينتج من الميسيليوم الهوائى، يمكن أن يظهر المستعمرة بشكل حبيبى أو مسحوقى أو مخملى. تكون الأنواع المتعددة والسلالات المتعددة من هذا الجنس صبغات مختلفة كثيرا، والتى تلون الميسيليوم والمواد التى تنمو عليها، وكذلك فهى أيضاً تكون واحداً أو أكثر من المضادات الحيوية التى هى فعالة ضد البكتيريا، الفطريات، الطحالب، البروتوزوا أو الأنسجة المتدرنة. كل أنواع هذا الجنس ساكنات تربة، وموجبة لصبغة غرام.

من ناحية نموذجية، فإن عامل المقاومة الحيوية، للكائنات الممرضة النباتية الفطرية للجذور النباتية، يجب أن يفرز مواد بكميات كافية ذات نشاط تضادى فى منطقة الرايزوسفير، وذلك لإحداث خفض معنوى فى أعراض أمراض الجذر. أجريت محاولات كثيرة للتحسين الوراثى لأنواع الجنس *Sreptomyces* للحصول على عامل مقاومة حيوية ضد كثير من مسببات الأمراض الفطرية، وذلك لأن هذا الجنس عنده المقدرة على إفراز مضادات حيوية كبيرة، ذات مدى واسع التأثير، كمنتجات تمثيل ثانوية، بالإضافة لإنزيمات مختلفة ذات تأثير محطم لجدار الخلية الفطرية، مثل: السليوليز، هيميسليوليز، شيتينيز، أمليز، جلوكاينز وغيرها.

الدراسات المستفيضة التى أجريت على راشح مزارع الجنس*Streptomyces* لمقاومة أمراض المجموع الخضرى، أعطت نتائج تبين أن حوالى تسعة من عشرة منتجات مختبرة تثبط على الأقل مرضاً واحداً فى الصوبا الزجاجية. لقد ذكر Reddi & Rao أن عزلات من *Streptomyces ambofaciens* كانت قادرة على مقاومة مرض سقوط بادرات الطماطم المتسبب عن الفطر بثيم، ومرض ذبول الفيوزاريوم فى نباتات القطن فى الأراضى المحقونة

صناعياً. هناك تثبيط مماثل لأمراض الجذور قد تم الحصول عليه، من قبل كثير من الباحثين وذلك باستعمال ال *Streptomyces* على شكل جراثيم أو ميسيليوم أو اتحادات من كليهما فى مراقد الإنبات فى الصوبات الزجاجية. ومن الجدير بالذكر أن Rothrock & Gottlieb سنة ١٩٨١، ذكرا أن هناك نتائج واضحة تثبت أن مقاومة عفن الجذر الرايزوكتونى فى نباتات البسلة باستعمال *S.hygroscopicus var. geldanus* فى تربة معقمة محقونة صناعياً، تعتمد على تركيز المضاد الحيوى Geldanamycin (تقارب ٢٠ ميكوغرام/ غرام تربة) الذى يفرزه الفطر المذكور فى التربة. هناك كثير من الدراسات قد أثبتت الأهمية الكمية والنوعية لانواع الجنس *Streptomyces* فى منطقة الرايزوسفير؛ حيث إنها من الممكن أن تعمل كمشجعات نمو نباتية، بالإضافة الى استعمار الجذر حتى لو كانت بتركيز $^{٢}١٠$ – $^{٥}١٠$ وحدة تكوين مستعمرات من بين السلالات البكتيرية فى منطقة رايزوسفير القمح.

لقد ثبت أن السلالة *WYEC- 108* التابعة للجنس *Streptomyces lydicus* من أكثر السلالات فعالية وقوة ضد الفطر *Pythium ultimum* فى اختبارات الأطباق. وكما هو معروف فإن أنواع الجنس *Pythium* هى من بين أكثر الممرضات النباتية الكامنة فى التربة التى تسبب عفن البذور والجذر وسقوط البادرات، قبل وبعد ظهورها فوق سطح التربة على مدى واسع من العوائل.

طرق فعل الجنس Streptomyces في المقاومة الحيوية:

١ – يمكن أن يقوم الجنس *Srteptomyces* بتثبيط نمو الجراثيم، كما فى حالة الفطر *Helmin-thosporium sativum*، أو عن طريق تحليل ميسيليوم الفطر الممرض.

٢ – عن طريق التطفل على الكائن الممرض.

٣ – عن طريق إفراز مضادات حيوية، حيث إن *Streptomyces cinnamomeus*، لديه كفاءة عالية فى إنتاج المضادات الحيوية فى المعمل، وتؤثر على كثير من الفطريات الممرضة للنبات. من أهم هذه المضادات Polyenes، Cinnamycin، وهى مركبات عديدة البروتين Polypeptide تنتج بواسطة *S.cinnamomeus f.sp.cinnamomeus*. كذلك فإن المضاد الحيوى Heptanes من أكثر المضادات فعالية حيث تفرزه أنواع أخرى من الجنس نفسه. أما النوع *S.hygroscopicus var. gelda-*

nus فإنه ينتج المضاد الحيوى Geldanamycin ذا تأثير فعال ضد عديد من الممرضات النباتية الفطرية.

٤ – يمكن أن يكون التأثير الحيوى عن طريق مواد مضادة متطايرة. ذكر أن هناك بعض الأنواع من هذا الجنس تفرز مركبات ذات تأثير مضاد فطرى، هذه المركبات هى:

1- Hemipyocianine

2 - Chlororaphin

3 - Phenazine - A

4 - Carboxylic acid

5 - Phenazine - B

الفطريات التي تقاوم حيويا باستعمال أنواع الجنس *Streptomyces*

١ – *Fusarium oxysporum f.sp. cubens* على الموز معاملة فسائل. ويقاوم مرض فيوزاريوم على الدخان (جدول ٤٧).

٢ – *Pythium sp.* مسبب عفن جذور نباتات قصب السكر والذرة، معاملة عقل وبذور.

٣ – *Rhizoctonia solani* فى المعمل والحقل.

٤ – *Phoma sp.* على كثير من عوائله، معاملة بذور

٥ – *Stemphyllium sp.* على كثير من عوائله معاملة بذور

٦ – كذلك وجد أن غمر البذور او الجذور او البادرات فى معلق متجانس من S.ochracei scleroticus يقاوم بنجاح ذبول الفيرتسليم فى القطن بنسبة ٧٣,٩٪، وفى الفلفل ٧١,٤٪، وفى الباذنجان ٧٤٪، وذبول فيوزاريوم الطماطم بنسبة ٧٣,١٪، ذبول البطيخ ٨٦,٤٪، ذبول الشمام ٨٥,٧٪، ذبول الخيار ٩٢,٩٪.

٧ – *Phytophthora sp* فى الفلفل، يقاوم بنسبة ٧٣,٣٪ وفى الطماطم بنسبة ٧١,٤٪.

٨ – ذبول *Colletotrichum sp* فى الباذنجان بنسبة ٧٨,٣٪.

٩ – عفن الجذور المتسبب عن الفطر *R.solani* يقاوم باستعمال *S.hygroscopicus var. geldanus* فى تربة معقمة إذا حقنت بالكائن المضاد قبل ساعتين من حقنها بالفطر الممرض.

١٠ – كذلك وجد أن تعفير البذور بأنواع من الجنس *Streptomyces*، يمنع أو يخفض أمراض عفن الجذور فى الصليبيات المتسبب عن *Alternaria brassicola* والفطر *R.solani*. ومن ناحية أخرى وجد أن رش البيت *Peat* بمعلق من أنوع *Streptomyces* يخفض مرض عفن الجذر فى الخيار المتسبب عن الفطر *Pythium* وفى حالات كثيرة يمنع ذبول الفيوزاريوم فى القرنفل.

١١ – لقد وجد Tahvonen سنة ١٩٨٨ أن استعمال تحضيرات من المسحوق الجاف من أنواع *Streptomyces* بتركيز ٥ – ١٥ غرام/ kg^{-1} فى تعفير البذور و ٠,١ – غرام/ ١٠م٢، فعالة فى مقاومة أمراض جذور الخيار وذبول القرنفل. كذلك وجد أن تعفير حبوب القمح والشعير بالتحضيرات المسحوقية من *S.griseoviridis* يكون ناجحاً ضد الأمراض، التى تصيب الجذور والمتسببة عن أنواع فيوزاريوم و *Bipolaris sorokiniana* فى تجارب الصوبا الزجاجية، ووجد أيضاً أن ٣ – ١٥ غراماً من التحضيرات المسحوقية/كغم بذور تكون فعالة فى خفض عفن الجذر، يبقى التأثير الفعال على البذور المعاملة ثابتا لمدة ٢ – ٤ أسابيع عندما تخزن البذور المعاملة فى ظروف جافة. يبين (جدول ٤٨) قائمة بالفطريات التى تقاومها أنواع مختلفة من الجنس *Streptomyces*.

تأثير الجنس *streptomyces* على النبات العائل:

إن طرق مقاومة امراض النبات المختلفة، بما فيها استعمال عوامل المقاومة الحيوية، تسبب زيادة فى نمو النبات، هذه الزيادة، تعزى الى التأثير المباشر المرافق لمقاومة الكائنات الممرضة النباتية.

ذكر كثير من العلماء أن نمو النبات العائل يكون أفضل فى غياب الكائنات الحية الدقيقة، بينما ذكرت مجموعة أخرى من العلماء بان نمو النبات العائل يكون بالمعدل نفسه سواء فى غياب أو وجود الكائنات الحية الدقيقة غير الممرضة. فى حين أن مجموعة أخرى ذكرت بأن نمو النبات يكون أفضل فى وجود الكائنات الحية الدقيقة غير الممرضة.

لقد وجد أن بعض نباتات الذرة التى تنمو مترافقة مع الفطر *Pythium graminicola* فى تربة معاملة بمضادات حيوية غير نقية من الجنس *Steptomyces*.، كانت أطول وذات جذور أعمق فى التربة، من تلك النامية فى تربة غير معاملة والتى تحتوى *P.graminicole* فقط. كذلك وجد أن معاملة نباتات الموز بانواع من الاكتينومايستس مضادة أو ضعيفة التضاد فى التربة نفسها التى تنمو فيها النباتات، تؤدى إلى زيادة كبيرة فى النمو أكثر من تلك المعاملة بالاكتينومايسيتس شديدة التضاد المأخوذة من تربة أخرى. كذلك وجد أن بعض الكائنات المضادة أو راشح مستعمراتها يكون له تأثير سام على النبات، ويثبط إنبات البذور أو نمو البادرات أو نمو النبات الكامل، فى بعض أنواع النباتات.

لقد ذكر Turhan سنة ١٩٨١ أن السلالة *C - 2- 9* من الجنس *Streptomyces* لم يكن لها تأثير ضار على انبات البذور او نمو البادرات او النباتات المعاملة بها، بل بالعكس فهى تحسن مظهر النبات ويكون إنتاج الثمار أفضل منه فى الكنترول. كذلك وجد أن بعض أنواع الجنس *Streptomyces* تخفض حدوث الأضرار لحبوب الشعير وتزيد النمو وتسبب زيادة الوزن الطازج للنباتات الناتجة من بذور غير مصابة بالمرض.

إن استعمال مادة Mycostop وهى تحضير مسحوقى تجارى من الجنس *Streptomyc-es*، لا تزيد فى إنتاج الشعير فقط، بل تزيد فى انتاج القمح زيادة معنوية، وهى تزيد بشكل عام إنتاج النجيليات، الخيار والقرنفل فى التجارب الخولية بنسب تتراوح من ١٠ – ٣٠٪. أما فى نباتات الخس زاد الإنتاج ٣٠٪ وانخفضت الإصابة بالفطر الممرض *Botrytis cinerea* بنسبة ٧٠٪. وانخفضت الإصابة بالفطر *R.solani* بنسبة ٦٠٪. يمكن القول بشكل عام أن التحضيرات المختلفة من الجنس *Streptomyces* المستعملة فى المقاومة الحيوية، عدا عن أنها تقاوم كثيراً من الأمراض الاقتصادية المهمة، فهى تسبب زيادة او تحسناً فى نمو وإنتاج معظم النباتات التى تعامل بها، بغض النظر عن النوع البكتيرى المستعمل فى المقاومة او الفطر الممرض.

جدول رقم (٤٧) : التأثير التثبيطى لأنواع من Streptomyces النامية على بيئات مختلفة ضد الفطر Fusarium tabacium .

نوع الكائن المضاد	ملم تثبيط فى البيئات الغذائية المختلفة							
	نترات + نشا		فول الصويا		جلايسيرول اسبرجين		مستخلص السمك	
	جافة	سائلة	جافة	سائلة	جافة	سائلة	جافة	سائلة
S.cyanoviridis	١٤	٣٨	١٣	٤٧	١٧	٣٥	١٧	٣٨
S.murinus	١٢	٣٢	١١	٥١	١٣	٢٨	١١	٢٥
S.griseoplanus	١٤	٣٧	١٢	٤٦	٢٤	٣٥	٢١	٤٦

جدول رقم (٤٨) : التأثير المثبط لأنواع من Streptomyces النامية على بيئة (نشا- نتريت) ضد فطريات ممرضة مختلفة.

الكائن الممرض	التثبيط ملم للكائن الممرض عند استعمال أنواع مختلفة من ستربتومايسس		
	S.cyanovirides	S.murimus	S.griseoplanus
Aspergillus niger	١٢	صفر	١٧
A. Fumigatus	٢٠	١٦	٢٣
Microsporum gypsium	صفر	١٣	١٦
Macrophomina phaseoli	٢٨	٢٤	٣٠
Alternaria alternata	٢٦	١٩	٣٢
Drechslera spp	٢١	صفر	٣٥
Fusarium solani	١٦	١٨	٢٦
F. moniliforme	١٤	١٤	١٨
F. tabacinum	٣٨	٣٢	٣٧
Candida albicans	صفر	صفر	صفر
C.pseudotropicales	صفر	صفر	صفر
Cryptococcus neoformans	صفر	صفر	صفر
Trichosporon beigilli	صفر	صفر	صفر
Saccharomyces cerevisiae	صفر	صفر	صفر

كفاءة السلالة *WYEC - 108* في المقاومة الحيوية لاعفان البذور والجذور

تظهر السلالة *Streptomyces lydicus WYEC - 108* قوة تضاد فى المعمل، ضد الكائنات الممرضة النباتية الفطرية، فى اختبارات الأطباق، وذلك عن طريق إنتاج مضادات حيوية خارج الخلية ناتجة عن عمليات ال *Metabolites*. عند زراعة كل من *Pythium ultimum* أو *R.solani* فى بيئة سائلة مع هذه السلالة، يلاحظ تثبيط نمو الفطريات. أما عند استعمال جراثيم هذه السلالة او الميسيليوم المأخوذ منها، على شكل غلاف لبذور البسلة فإن هذا يؤدى الى حفظ البذور من الإصابة بالفطر *P.ultimum* عند زراعة البسلة فى التربة الغنية بالجراثيم البيضية. بينما جميع البذور (١٠٠ ٪) غير المغلفة بأى أجزاء من تلك السلالة (وسائل المقاومة الحيوية) تصاب بالفطر نفسه خلال ٤٨ ساعة بعد الإنبات، أقل من ٣٥ ٪ من البذور المغلفة بوسائل المقاومة الحيوية ظهرت فيها الإصابة. اما عند زراعة البذور المغلفة بوسائل المقاومة الحيوية فى التربة، قبل إدخال الكائن الممرض إليها بمدة ٢٤ ساعة أو بمدة ٩٦ ساعة بعد إدخال الكائن الممرض إليها، فإن أقل من ٢٥ ٪ من البذور النابتة تصبح مصابة (جدولا ٤٩، ٥٠)

الدراسات التى أجريت على مراقد الإنبات، أجريت أيضاً لاختبار التأثير على نمو النبات ومقدرة التثبيط التى تظهرها السلالة موضوع الدراسة، على عفن البذور والجذور المتسبب عن الفطر *Pythium*. عندما تضاف هذه السلالة فى تشكيل يتكون من (جراثيم الكائن المضاد + بيت موص + رمل) بتركيز 10^{8} وحدة تكوين مستعمرات لكل غرام الى تربة غير معقمة أو تربة معقمة ومحقونة بالفطر الممرض *P.ultimum* المزروعة ببذور البسلة أو القطن، أن هناك زيادة معنوية فى متوسط عدد النباتات السليمة، وفى طول النبات ووزن النبات فى كلتا الحالتين، بالمقارنة مع نباتات الكنترول غير المعاملة والمزروعة فى اراضٍ مماثلة (جدول ٥٢).

أثبتت الدراسات الحقلية أن هيفات أفراد السلالة *WYEC - 108* عندها القدرة على الاستعمار والانتقال الى أسفل مع الجذر كلما استطال. تحتاج هذه السلالة لفترة أطول من ٣٠ يوماً حتى يمكن للتجمعات البكتيرية أن تستعمر الجذور المستطيلة الناتجة عن البذور النابتة، وتبقى ثابتة على تركيز 10^{5} وحدة تكوين مستعمرات/ غرام فى منطقة الرايزوسفير، بينما

تنخفض التجمعات فى غير منطقة الرايزوسفير لهذه السلالة على الأقل بنسبة ١٠٠ ضعف (من ١٠^٥ الى ١٠^٣) أو أقل وحدة تكوين مستعمرات/ غرام. جدول ٥١.

إن ثبات تجمعات السلالة *WYEC - 108* المحضنة على حرارة ٢٥°م فى تلك التشكيلات أو فى تربة معقمة أو غير معقمة لم يمكن تحديدها. فى الظروف الثلاثة فإن تجمعات السلالة المذكورة تبقى ثابتة فى حجمها لمدة ٩٠ يوما او أكثر. عند وضع بذور كل من البسلة، القطن، والذرة السكرية فى اراضٍ غير معقمة أو معقمة محتوية ١٠^٦ وحدة تكوين مستعمرات أو أكثر من السلالة نفسها/ غرام، فإنها تستعمر الجذور المستطيلة. بعد فترة نمو تصل أسبوع واحد فإن تجمعات هذه السلالة ذات تركيز ١٠^٥ وحدة تكوين مستعمرات/غرام وزن رطب من الجذور، وجدت أنها لاتزال على جذور البسلة فى التربة المعقمة المعاملة، وفى الظروف المعاكسة ١٠^٤ وحدة تكوين مستعمرات/غرام وجدت فى التربة غير المعقمة المعاملة.

أجريت دراسات أخرى على التفاعل فى المعمل بين السلالة المذكورة والفطر *P.ultimum*، حيث مزجت ميسيليومات السلالة المذكورة مع الجراثيم البيضية للفطر المذكور، فى الآجار، والذى بعدئذ استعمل على شكل غشاء لتغليف شريحة overslips. بعد ستة ساعات من تحضين هذه المستحضرات فى أوعية الصبغ Staining jars على حرارة ٢٥° م، يحدث تفاعل مباشر بين الكائنات الحية الدقيقة، يمكن ملاحظته بالميكروسكوب الالكترونى. أظهرت النتائج أن السلالة *WYEC - 108* كانت قادرة ليس فقط على تحطيم الجراثيم البيضية النابتة للفطر *P.ultimum*، ولكنها أيضاً قادرة على تحطيم جدر خلايا الهيفات الفطرية. هذه النتائج تظهر أن هذه السلالة ذات كفاءة عالية فى المقاومة الحيوية، يمكن استعمالها فى مقاومة أمراض عفن الجذور والبذور المتسببة عن جنس *Pythium*.

جدول رقم (٤٩) : تأثير معاملة بذور البسلة والقطن بالسلالة WYEC - 108 من البكتيريا ستربتومايسز على مرض عفن البذور، سقوط البادرات، الطول، الوزن الطازج، لنباتات البسلة والقطن المزروعة فى تربة محقونة صناعيا بالفطر P.ultimum سلالة P- 8 .

المعاملة	بسلة			قطن		
	٪ نباتات مريضة	سم طول النبات	غ وزن النبات الرطب	٪ نباتات مريضة	سم طول النبات	غ وزن النبات الرطب
تربة معقمة	---	---	---	---	---	---
كنترول (دون أى إضافات)	١٤,٣	١٨,١	٨٩	١٧,٥	١٨,٨	١٣٣
تركيز منخفض من الفطر الممرض	٨٥,٧	١,١٤	٠٩	٩٢,٩	٣,٥٧	١٩
تركيز مرتفع من الفطر الممرض	٩٦,٤	٠,٢٩	٠٣	٩٦,٤	٠,٣	١
تركيز منخفض من الفطر +سلالة البكتيريا	٢٨,٥	١١,٦	٩٨	٤٦,٤	١٣,٨	٧١
تركير مرتفع من الفطر + سلالة البكتيريا	٣٥,٧	١٣,٣	١٢٩	٣٥,٧	١٦,٤	٧٨
كنترول (سلالة البكتيريا)	٨,٢٦	١٩	١٥٠	٧,١٥	١٧,٣	٧٩
تربة غير معقمة	---	---	---	---	---	---
كنترول (دون أى إضافات)	٢١,٤	١٦	٧٣	٨,٢٥	١٩,٧	٩٦
تركيز منخفض من الفطر الممرض	٦٧,٨	٣,٥٨	٢٦	٨,٤٧	٣,٨٧	١٧
تركيز مرتفع من الفطر الممرض	٧٨,٦	٠,٧٤	١٢	٩٦,٤	١,٨٢	١٢
تركيز منخفض من الفطر + سلالة البكتيريا	٣٢,١	١٠,١	٦٥	٣٢,١	١٢,٨	٦٤
تريكير مرتفع من الفطر + سلالة البكتيريا	٤٦,٦	٧,٦٥	٤٤	٣٩,٢	٨,٣٧	٤١
كنترول (سلالة البكتيريا)	٨,٤٦	١٨,٩	٩٢	٢١,٤	١٦,٦	٦٢

ملاحظات على الجدول:

التركيز المنخفض من الفطر الممرض = التربة معاملة بنسبة ١٤ جرثومة بيضية / مل.
التركيز المرتفع من الفطر = التربة معاملة بنسبة ٥٠٠ جرثومة بيضية/مل. النباتات المريضة = تشمل عفن البذور وسقوط البادرات بعد وقبل ظهورها فوق سطح التربة. السلالة البكتيرية تضاف بتركيز 10^{8} وحدة تكوين مستعمرات/ غرام تربة.

obeikandl.com

جدول رقم (٥٠) : الاستعمال الاولى للسلالة WYEC- 108 على جذور البسلة، القطن والذرة فى تربة معقمة وغير معقمة.

نوع التربة	متوسط العدد من وحدات تكوين مستعمرات/ غم وزن رطب من الجذر ± SD		
	البسلة	القطن	الذرة السكرية
معقمة	$^{٥}١٠ \times ٣,٠١ \mp ^{٥}١٠ \times ٢,٢٢$	$^{٥}١٠ \times ٢,٤٧ \mp ^{٤}١٠ \times ٢,٧٤$	$^{٣}١٠ \times ٦,٧٧ \mp ^{٣}١٠ \times ٣,٧٥$
غير معقمة	$^{٤}١٠ \times ٩,٧٨ \mp ^{٤}١٠ \times ٦,٢٩$	$^{٥}١٠ \times ٥,٢ \mp ^{٣}١٠ \times ٤$	$^{٣}١٠ \times ٣ \mp ^{٣}١٠ \times ١,٥$

ملاحظات على الجدول:

كان يؤخذ المتوسط من خمس عينات. عند الزراعة كانت تجمعات *WYEC - 108* $^{٧}١٠ \times ١$ فى التربة المعقمة و $^{٥}١٠ \times ١,٦$ وحدة تكوين مستعمرات / غرام تربة غير معقمة. كانت تؤخذ عينات الجذور بعد سبعة أيام من الإنبات.

جدول رقم (٥١) : التضاد الحيوى فى المعمل، الذى تظهره السلالة WYEC - 108.

الكائن الممرض	البيئة الغذائية	التضاد بعد		القدرةعلى الحياة بعد خمسة أيام
		٢ يوم	٥ يوم	
Pythium ultimum wheat 1	PDA	+++	+++	--
P. ultimum P8	PDA	+++	+++	--
P. ultimum P9	PDA	+++	+++	--
Aphanomyces euteiches Bob-F	CMA	+	+++	--
A. euteiches A6	CMA	++	+++	--
Fusarium oxysporum	PDA	-	++	+
F.solani f.sp. pisi	PDA	-	+	+
F. solani f.sp. pisi F6	PDA	-	++	+
Rhizoctonia solani	PDA	+	++	+
R. solani R4	V- 8A	+	++	+
Phymatotrichum omnivorum	PDA	+	++	+

ملاحظات على الجدول:

دليل التضاد +++ تعنى أكبر من ٢ سم، ++ تعنى أقل من ٢ سم وأكبر من ١ سم، + تعنى أصغر من ١ سم وأكبر من نصف سم. (–) تعنى أقل من نصف سم.

دليل القدرة على البقاء – تعنى دون نمو ، + تعنى نمو.

CMA = مجروش الذرة + آجار. *V - 8A* = عصير طماطم + آجار (٢٥٠ غرام عصير طماطم + ٢,٥ غرام كربونات كالسيوم توضع فى الة الطرد المركزى على ٣٠٠٠ لفة فى الدقيقة لمدة ١٥ دقيقة ثم يؤخذ العائم ليكمل إلى لتر من بيئة *V- 8A*.

جدول رقم (٥٢): مقدرة السلالة WYEC- 108 على تثبيط النمو الميسيليومى للفطر الممرض فى بيئة سائلة مع مصادر مختلفة من السكر كمصدر للكربون

نوع السكر فى البيئة	متوسط الوزن الجاف (ملغ) ±SD من الفطريات الممرضة					
	P.ultimum P8		*P.ultimum* P9		*R.solani x 5* Fs	
	كنترول	+ سلالة البكتريا	كنترول	+ سلالة البكتريا	كنترول	+ سلالة البكتريا
بدون سكر مضاف	٢٩	١٩,٥	٤٠	٢٢	٣٤,٥	٣٠,٤
جلوكوز	٤٠,٦	١٨	٢٨,٣	١٩,٩	٢٧,٦	١٩,٥
سوربوز – ل	٢٦,٤	١٦,٣	٣٩,٦	١١,٨	٤٤,١	٢٤,٩
سكروز	٢٨,٤	٢٨,٢	٢٢,٥	٣١,٦	٣٨	٤٠,٥

الفصل السابع

المقاومة الحيوية لأمراض بعض النجيليات

I القمـــح

١- المقاومة الحيوية للمرض الماحق في القمح

Biological Control of Wheat Take-all Disease

مقـــدمة

يتسبب المرض الماحق Take - all disease فى القمح عن الفطر *Gaeumannomyces graminis var. tritici* ويرمز له *(G.G.T)*. يهاجم هذا الفطر منطقة التاج والجذر فى القمح نوع *Triticum aestivum*، وكذلك يهاجم نبات الشعير *Hordeum vulgare*. ينتشر هذا المرض عالمياً. الأصناف التجارية المقاومة للمرض الماحق غير متوفرة. كذلك فإن المبيدات الفطرية التى اختبرت أو سجلت لهذا المرض، تكون ذات نتائج متناقضة فى بعض الأراضى. لذلك فإن استعمال عوامل المقاومة الحيوية الفطرية والبكتيرية ذات الكفاءة العالية، هى طريقة مقاومة بديلة.

توجه الاهتمام الى اختيار البكتيريا الوميضة *Pseudomonas spp.* والتى تنتج مضادات حيوية، مثل مادتى الـ phloroglucinol و Phenazine. التجارب التى أجريت فى الشمال الشرقى من أمريكا والتى كانت فيها تعامل الحبوب بالبكتيريا الوميضة، أظهرت زيادة فى إنتاج القمح بمعدل ١٧ ٪ فى تجارب القطع الصغيرة وبنسبة ١١ ٪ فى الاختبارات الحقلية على مدى واسع.

الفطر المسبب للمرض، له hypovirulent، اسمه *G. graminis var. graminis* ويرمز له بالحروف *(G.G.G)* وهو لا يسبب مرضية، ويطلق عليه العزلة المتحملة للبرد ويعزل من جذور القمح او النجيليات الأخرى، يعتبر عامل مقاومة حيوية، حيث يثبط المرض الماحق فى أستراليا وأوروبا (هذا ما وجده *Wong et al* سنة ١٩٩٣). وكذلك وجد أن الفطر *Phialophora graminicole*، يقوم بالدور نفسه فى تثبيط المرض.

ونظرا لأن هذه الفطريات المضادة تستعمر قشرة الجذر، فإنها يمكن أن تحث على زيادة ميكانيكية المقاومة فى العائل، سواء فى القمح أو الشعير، مسببة طبقة من اللجنين والسوبرين أكبر سمكاً فى البشرة الداخلية Endodermis والاوعية الخشبية، زيادة على ذلك، فإنها يمكن أن تتنافس مباشرة مع الفطر الممرض *G.G.T* على المواد الغذائية نفسها والمواقع المناسبة فى / على الجذور. أخيراً فإنها يمكن أن تزيد كمية المواد المفرزة من الجذور، وبالتالى تزيد تجمعات الكائنات المضادة الأخرى فى منطقة الرايزوسفير الميكروبية مثل *Pseudomonas*، والتى تتكيف بشكل خاص جيداً وبسرعة لاستعمال إفرازات الجذر.

إن استعمال اتحادات من عوامل المقاومة الحيوية، يمكن أن يكون الحل الوحيد الممكن لزيادة توافق مقاومة المرض وعدم تضاريها. لقد وجد Pierson & Weller سنة ١٩٩١ أن استعمال اتحاد بين سلالات ٢ – ٤ من البكتيريا الوميضة *P.fluorescens* يزيد بشكل معنوى مقاومة المرض الماحق وأفضل من استعمال كل سلالة لوحدها.

لقد وجد أن الفطر *G.G.G* والفطر *P.graminicola* تحمى القمح من الإصابة بالمرض الماحق فى تجارب الصوبا الزجاجية والتجارب الحقلية فى أستراليا وأوروبا وأمريكا. كذلك وجد أن هذين الفطرين يزيدان إنتاج القمح بنسبة ١٠–٤٥ ٪ فى التجارب الحقلية، ولكن بشكل عام فإنها تكون فى المتوسط ٢٥ ٪. أما فى ألمانيا فقد وجد فى التجارب الحقلية أن خلط ثلاث عزلات من الفطر *G.G.G* مع واحدة من الفطر *Phialophora sp.* ، تخفض حدوث المرض فى القمح الشتوى وتزيد الإنتاج بشكل كبير جداً بنسبة ٢٦٩ ٪، حيث كان يضاف اللقاح من هذين الفطرين بنسبة ٥,٣ كغم/ هكتار من اللقاح النامى على حبوب الشوفان.

اولا : مقاومة المرض بالفطريات:

١- استعمال الفطرين *G.G.G* و *P.graminicola*

يقاوم المرض الماحق فى القمح باستعمال الفطرين *G.G.G* و (lobed hyphopodia) *P.graminicola*. عند إضافة اللقاح من هذين الفطرين بمعدل ٦٠ كغم/ هكتار فى خطوط زراعة الحبوب، فإن ذلك يخفض المرض ويزيد إنتاج الحبوب بحوالى ٣٣ – ٤٥ ٪ ،

بالمقارنة مع الكنترول. أما استعمال ٣٠ كغم/ هكتار من لقاح الفطريات النامى على الشوفان يخفض أيضاً حدوث المرض معنويا ويزيد إنتاج الحبوب بنسبة ٢١ – ٤٤ ٪ هذه المستويات العالية من مقاومة المرض الماحق، أمكن الحصول عليها من التجارب الحقلية فى الحقول ذات أنواع التربة المختلفة، ذات *pH* مختلفة ولثلاثة سنوات متتابعة. (جدول رقم ٥٣).

أدت المعاملة التى يستعمل فيها G.G.G إلى عدم ظهور أعراض، ولكن لا تسبب زيادة فى إنتاج الحبوب. عند استعمال معدلات عالية من لقاح الفطرين فإن حوالى ٦٥–٨٠٪ من النباتات ذات الاشطاءات تستعمر جذورها بهذه الفطريات. إن استعمال *G.G.G* عزلة 90 3B -والفطر *P.graminicola* العزلة *Ky* لمقاومة المرض الماحق فى القمح، قد تم تسجيلها والترخيص باستعمالها تجاريا.

جدول رقم (٥٣) : تأثير الحقن بعزلات مختلفة من الفطر *G.G.G* والفطر *P.graminicola* على شدة المرض الماحق فى القمح، وإنتاج الحبوب فى وجود الفطر الممرض *G.g.t*.

المعاملة	متوسط دليل المرض (صفر – ١٠)	متوسط إنتاج الحبوب كغم/ ٠,٧٥ م٢
كنترول دون فطريات	صفر	١٣,٧
G.g.t.	٥,٣	٦,٨
G.G.G. (90/3B + G.g.t.	٣,٧	٨,٦
G.G.G. (3367IDAR) + G.g.t	٦,٠	٦,٨
Phialophora (Ky) + G.g.T	٢,٥	٩,٨
Phialophora (KC) + G.g.T	٤,٠	٨,٦
Phialopharo (K1) + G.g.T	٣,٢	٨,٧

٢ - استعمال الفطر العقيم الاحمر Sterile Red Fungus

الفطر العقيم الأحمر يرمز له *(SRF)*، وهو من الفطريات البازيدية، يعزل من جذور القمح ذى الاسم العلمى *Triticum aestivum*، وأعشاب الراى *Lolium rigidum*. ولقد تبين أن هذا الفطر يقى نبات القمح من الإصابة بالمرض الماحق. كذلك وجد أن هذا الفطر يشجع نمو القمح وبعض الأعشاب الاخرى. الدراسات المتعددة التى أجريت على الفطر *SRF* أثبتت أنه عامل مقاومة حيوية فعال فى مقاومة المرض الماحق فى القمح، ولكن هناك ثلاثة عوامل، تؤثر على فعالية هذا الفطر، وهى: نوع التربة، صنف القمح المزروع، ونوع البكتيريا المتواجدة فى منطقة الرايزوبلين فى جذور القمح خاصة الجنس *Streptomyces*.

لقد وجد أن هناك علاقة معنوية بين الفطر SRF و G.G.t ونوع التربة والوقاية من المرض الماحق. يكون أعلى حفظ للقمح من المرض فى الأراضى المسامية، والتى تسمح بالنمو الغزير للفطر *SRF*. وعلى أية حال، يلاحظ التشجيع الزائد لنمو القمح فى الأراضى الغنية نسبيا. هذا يؤدى الى القول بأن التربة الغنية تزيد نشاط الميتابولزم فى الفطر، وبالتالى تزيد من إفرازات الفطر المشجعة لنمو القمح، كما أن وجود الكائنات الدقيقة فى التربة يشجع نمو الفطر *SRF* ويزيد إفرازاته المشجعة لنمو القمح.

وجد، أيضا، أن هناك علاقة معنوية بين تفاعل الفطر SRF وأصناف القمح المستعملة فى الدراسة ومدى إصابتها بالمرض المتسبب عن الفطر G.g.t، فوجد أن SRF يحفظ جميع أنواع القمح من الإصابة بالمرض، وأن أعلى وقاية للقمح تكون فى الصنف Gutha حيث انخفض دليل المرض (يقسم من صفر الى ٥) من ٤,٦٤ فى الكنترول الى ١,٦٤ فى النباتات المعاملة. وبالتالى يمكن القول بأن الفطر SRF يمكن أن يستعمل على نطاق تجارى فى مقاومة المرض الماحق فى القمح على الصنف Gutha. أما الصنف Aroona والذى هو شديد القابلية للإصابة بالمرض، فقد سبب الفطر SRF خفض دليل المرض فى هذا الصنف من ٤,٧ فى الكنترول الى ٢,٤ فى المعاملة. كذلك وجد بأن هذا الفطر يسبب زيادة الوزن الطازج فى الجذور وفى السيقان فى نباتات القمح المعاملة، ولكن بنسب تختلف حسب الأصناف، فمثلا فى الصنف Gutha يزداد الوزن الطازج للجذور من ٠,٢٨٣ غرام فى الكنترول إلى ٠,٩١٥ غرام فى البادرة الواحدة، ويزداد وزن الأفرع من ٠,٤١٩ غرام فى الكنترول إلى ٠,٨٦٢ غرام فى المعاملة (عمر النبات ٣ أسابيع).

اما بالنسبة لنوع البكتيريا *Streptomyces* المتواجدة فى منطقة جذور القمح، فوجد أن السلالة *A-63*، عند وجودها لا تسبب خفضاً فى الإصابة بالمرض، وقد عزى ذلك الى أن الفطر *SRF* تنخفض أعداده ولا يقدر على منافسة هذه السلالة، أما عند وجود السلالة Ax فإنها تشجع نمو الفطر SRF وبالتالى تخفض نسبة الإصابة بالمرض، حيث وجد بأنها تخفض دليل المرض من ٤,٦ فى الكنترول الى ٢,٧٤ فى المعاملة، وكذلك فإنها تسبب زيادة نمو النبات. عند وجود السلالتين معاً فيزداد نشاط الفطر SRF وتنخفض شدة الإصابة بالمرض.

ثانيا: مقاومة المرض بالبكتيريا:

تعتبر البكتيريا الوميضة *Pseudomonas fluorescens* السلالات *79 - 2*، *87 - Q_2* والبكتريا *P. chlororaphis* (الاسم السابق *P. aureofaciens*) تقوم السلالة *30-84* بالمقاومة الحيوية للمرض الماحق فى القمح المتسبب عن *G.g.t*، وذلك لأنها تنتج ثلاثة Phenazines، هى بشكل أساسى *PCA* وكميات صغيرة من 1 - 2- hydroxy phenazine Carboxylic acid، وكمية صغيرة من 2 - hydroxyphenazine. كذلك وجد بأن هذه السلالات تفرز بعض السايدروفورز والمضادات الحيوية التى تساهم فى مقاومة المرض.

إن تثبيط هذا الكائن الممرض بالسلالات البكتيرية المذكورة يكون معتمداً بشكل أساسى على المضادات الحيوية:

1 - Phenazine - 1- Carboxylic acid (PCA)

2 - 2 - 4 - diacetyl phloroglucinol (Ph1)

المضاد الثانى تفرزه البكتيريا السلالة *87 - Q_2* ودورة أقل فى تثبيط المرض.

النتائج المتضاربة التى يتحصل عليها من التجارب الحقلية لعوامل المقاومة الحيوية فى تثبيط الكائنات الممرضة النباتية الكامنة فى التربة تعزى الى عدة عوامل، منها:

١ – الاختلاف فى المقدرة على استعمار منطقة الرايزوسفير من قبل الكائن المضاد المستعمل.

٢ – عدم ثبات نواتج التمثيل (المضادات الحيوية) التى تفرزها هذه الكائنات وتضاد بها الكائنات الأخرى.

٣ – الفشل فى إنتاج المضادات الحيوية أو المواد المضادة الأخرى فى الوقت المناسب وفى المكان المناسب.

مقاومة المرض

يقاوم المرض الماحق فى القمح باستعمال البكتيريا *Pseudomonas fluorescens* سلالة *79 -2* وكذلك باستعمال البكتيريا *P.chlororaphic* سلالة *84 -30*. وإن كلتا السلالتين تنتج المضاد الحيوى المذكور سابقا *PCA*، وهما يثبطان المرض بكفاءة عالية. أما السلالة *87 -Q_2* والتى تنتج المضاد الحيوى *PhI* تثبط المرض بكفاءة أقل (جدول ٥٤).

جدول رقم (٥٤): العلاقة بين حساسية عزلات Ggt لكل من المضادات الحيوية PhI، PCA، وتثبيط المرض الماحق فى القمح بواسطة السلالات البكتيرية المختلفة.

عزلة الكائن المسبب للمرض	دليل المرض على النباتات المعاملة بسلالات البكتيريا				حساسية الكائن الممرض للمضاد الحيوى
	كنترول	2 - 79	30 - 84	Q_2 - 87	
L - 112	٦,٤٤	٤,٧٠	٢,٨٨	٤,٠٧	حساسة
L - 114	٥,٥٤	٢,٤١	٢,٨٣	٤,٧٤	حساسة
1818	٥,٨٣	٥,٨٥	٦,٤	٤,٢٥	غير حساسة
MV- 113	٣,٢٩	٢,١٥	--	٢,٧٥	غير حساسة
1856	٣,١٧	١,٢٨	--	٠,٧٣	ح + غ

ملاحظات على الجدول:

يقسم دليل المرض من صفر الى ثمانية؛ حيث إن صفر بادرات سليمة أما ٨ فهى بادرات ميتة. ح = تعنى حساسة لمادة *PhI*، غ تعنى غير حساسة لمادة *PCA*.

ثالثا : مقاومة المرض بالفطر والبكتيريا

إن المعاملات التى تستعمل فيها اتحادات من Ggg المضافة الى التربة ومعاملة حبوب القمح بسلالات من البكتيريا *Pseudomonas* سواء كانت *84 - 30*، *80 - $Q\ 29_7$*، *$Q\ 69_c$* - *80* او استعمال مخلوط من سلالات *87 - Q2* و *80 - QIC*، *Q8.d*، *80 - $Q69_c$*، تثبط حدوث المرض تثبيطا معنويا أفضل من استعمال كل سلالة لوحدها. يبين الجدول رقم (٥٥) أن أفضل معاملة هو استعمال خليط من سلالات البكتيريا مع *Ggg* حيث تثبط دليل المرض من ٥,٨٦ الى ٢,٤٥، فى حين أن خليط السلالات البكتيرية لوحده يثبط دليل المرض الى ٣,٨٤.

جدول رقم(٥٥) : يبين تأثير استعمال الفطر .Ggg مع سلالات من البكتيريا Pseudomonas على المرض الماحق فى نباتات القمح المزروعة فى قطع مساحتها ١٦ م٢.

معاملة البذور	سلالة البكتيريا	دليل المرض من صفر حتى ٨	
		دون Ggg	مع Ggg
P.chlororaphis	30 - 80	٤,٧٣	٣,٢٧
P.fluorescens	Q2 - 87	٥,٢٩	٣,٧٧
P.f.putida	$Q69_c$ - 80	٥,٤٤	٣,٣٣
P.fluorescens	2 - 79	٥,٥٨	٣,٥٦
P.fluorescens	$Q29_Z$- 80	٥,٣٤	٣,٤١
مخلوط من سلالات البكتريا	مجموع السلالات	٣,٨٤	٢,٤٥
ميثيل سليلوز	--	٥,٥٣	٣,٤٣
ماء	--	٥,٨٦	٣,٧٥

اما جدول رقم (٥٦)، فإنه يبين تأثير *Ggg* والبكتيريا *Pseudomonas sp.* المستعملة لوحدها أو متحدة مع غيرها، على إصابة منطقة التاج فى الجذور وكذلك الجذور الحديثة فى القمح الشتوى بالإصابة بالفطر *Ggt*، حيث كان يضاف الفطر إلى خطوط الزراعة على شكل لقاح محمول فى حبوب الشوفان، أو كمعاملة بذور، حيث كان يستعمل فى بعض المعاملات

مخلوط من أربع سلالات بكتيرية بكميات متساوية من Q_2 - 87، $Q1_c$ - 80، $Q8d$ - 80، $Q69_c$ - 80، كانت تستعمل على شكل معاملة بذور مع ١,٥ ٪ ميثايل سليلوز. يلاحظ أن مخلوط السلالات مع الفطر *Ggg* تثبط الإصابة فى الجذور الأولية من ١٠٠ ٪ إصابة فى الكنترول الى ٨٥ ٪، فى حين أنها تثبط إصابة الجذور التاجية من ٢١ ٪ فى الكنترول الى ٧,٥ ٪. من هذا يتبين أن استعمال مخلوط من سلالات البكتيريا مع الفطر *Ggg* طريقة فعالة فى المقاومة الحيوية لفطر المرض الماحق فى القمح، ويكون ذلك فى المراحل المتأخرة من النمو، وليس فى المرحلة الاولى من تكوين الجذور.

جدول رقم (٥٦) : يبين تأثير استعمال السلالات البكتيرية والفطر Ggg على الإصابة بالمرض فى الجذور الجنينية او التاجية.

المعاملة	٪ حدوث المرض فى الجذور الجنينية	٪ حدوث المرض فى الجذور التاجية
مخلوط من أربع سلالات بكتيرية فقط (حبوب)	٨٥	١٤,٨
الاربع سلالات + الفطر المضاد معاملة خطوط	٩٣	١٨
الفطر المضاد لوحدة معاملة خطوط	٩٤	٨
الفطر لوحدة معاملة حبوب	٩٧	١٢,٥
كنترول	١٠٠	٢٢,٥

٢ - المقاومة الحيوية لمرض البقعة العينية في القمح

Biological Control of Eye Spot Disease of Wheat

مقـــدمة

يتسبب مرض البقعة العينية فى القمح عن الفطر *Pseudocercosporella herpotri-choides*. يهاجم هذا الفطر قواعد السيقان فى النجيليات، فى المناطق المعتدلة، ويسبب مرض البقعة العينية. يبقى هذا الفطر حياً بين المحاصيل فى قواعد النباتات المصابة. عند

حرق قواعد النباتات المصابة، من المتوقع أن يؤدى ذلك الى خفض حدوث المرض فيما بعد فى المحاصيل القابلة للاصابة، عن طريق خفض مصدر اللقاح. مثل هذا التأثير ذكر فى نيوزيلاندا بواسطة Blair سنة ١٩٥٤، ولكن الأبحاث الأخيرة التى أجريت فى بريطانيا لم تعط اى دليل على أن حرق قواعد النباتات يؤدى الى خفض معنوى فى حدوث المرض (هذا ما ذكره Shipton سنة ١٩٧٢)، وعلى النقيض من ذلك فلقد وجد فى الأبحاث الحديثة أن حدوث وشدة المرض، تكون غالباً أكثر، حيث يحرق القش وقواعد النباتات، وكذلك عندما تجمع هذه البقايا فى رزم وتزال من الحقل أو حيث تقطع وتدمج فى التربة (هذا ما وجده Prew *et al* سنة ١٩٩٥).

إن السبب فى ظهور مرض البقعة العينية أكثر بعد حرق البقايا النباتية غير مؤكد، ولكن من الممكن أن ينخفض المرض فى وجود بقايا المحصول كاستجابة غير مباشرة لتأثيرات بقايا المحصول السابق (او بسبب العمليات الزراعية التى تؤدى إلى خلط بقايا المحصول مع التربة) على نمو المحصول اللاحق، أو على الشكل الخارجى لبادرات العائل. إن كلا من تلك العمليات تؤثر من خلال تأثيرها على البيئة المحيطة بالنبات والكائن الممرض. ولكن يمكن القول، بأن الكائنات الحية الدقيقة قد تتكشف على القش المتحلل أو على بقايا قواعد النباتات وتتنافس مع الفطر المسبب للمرض وفى هذا تؤثر على بقائه حيا وعلى تجرثمه أو مقدرته على إصابة البادرات فى المحاصيل اللاحقة.

أجريت ثلاث تجارب منفصلة أظهرت أن نسيج نبات القمح المصاب بفطر البقعة العينية، يتكون عليه كميات قليلة من الجراثيم فى وجود قش القمح المضغوط فى رزم، أكثر منها فى حالة عدم وجودها، وهذا ما يؤكد الملاحظات السابقة، بأنه غالبا ما يكون هناك قليل من المرض فى الأراضى التى تحرث وتخلط التربة بالقش، أكثر منه حيث يحرق القش. أما عن تجرثم الفطر فى أنسجة نبات القمح، فإنه ليس مرتبطاً مع حيوية ونمو نبات القمح، والذى عادة يمكن عزله من النسيج المصاب، بعد مدة من الزمن يكون خلالها فقد مقدرته على إنتاج الجراثيم. كثير من المستعمرات التى عزلت من مثل هذا النسيج، أيضاً تفشل فى التجرثم تحت الظروف المستعملة فى الدراسة، ولكن كانت المستعمرات المتجرثمة موجودة تقريبا بالتساوى، سواء كانت معزولة من النسيج الذى قد تم مزجه مع قواعد قش السيقان أو تلك المعزولة من النسيج الذى لم يمزج مع قواعد قش السيقان.

مقاومـــة المـــرض:

١-المقاومة باستعمال الفطريات

كما سبق وذكرنا، فإن الفطر المسبب للمرض يبقى حياً ومستعمراً قش النبات الذى أصيب سابقا، هذه المستعمرات تكون المصدر الأساسى للقاح، الذى يحدث الإصابة اللاحقة، وتكتمل دورة الحياة والإصابة بالفطر وحدوث المرض. تدل نتائج الدراسات التى أجريت لإيجاد كائن دقيق يضاد الكائن الممرض ويتنافس معه على قش النبات، ويثبط إنتاج اللقاح وبالتالى يثبط إصابة العائل، تدل على أن هناك ١٣ فطراً قادراً على ذلك، وأن هناك سلالة بكتيرية تستعمل تجاريا من *Streptomyces griseoviridis*، حيث ثبت بأنها ذات كفاءة عالية فى المقاومة الحيوية لهذا الفطر الممرض، ولغيره من الفطريات، التى تهاجم قواعد سيقان نبات القمح. إن كفاءة المقاومة الحيوية لهذا الكائن الدقيق، قد بنيت على أساس تثبيط النمو أو التطفل الفطرى الفوقى على الكائن الممرض *P.herpotrichoides* النامى على أنواع عديدة من البيئات الغذائية فى المعمل. عند حقن قش نبات القمح بالكائن الممرض والكائن المضاد معا، فإن ذلك يخفض من شدة حدوث المرض فى نباتات التجربة النامية فى أوعية تربتها ملوثة بهذا القش المحقون به كلا الكائنين. عند حقن القش أولاً بالكائن الممرض ثم بعد ذلك بالكائن المضاد، يحدث خفض للمرض، ولكن بنسبة أقل منه فى الحالة الاولى. وعلى أية حال فإن عزلة واحدة من الفطر *Trichoderma* أعطت نتائج ايجابية عالية فى مقاومة المرض فى المعمل وفى التجارب الحقلية باتباع طرق حقن مختلفة، وبالتالى تكون هذه العزلة فعالة ضد الفطر الممرض، خلال وجوده على حالة الطور المترمم من دورة الحياة.

٢-المقاومة باستعمال البكتيريا

هناك عزلات من البكتيريا *Pseudomonas fluorescens 220* وكذلك عزلات من البكتيريا *Streptomyces griseoviridis*، أظهرت مقاومة حيوية فعالة ضد الكائن الممرض فى المعمل وفى التجارب الحقلية، وبالتالى يمكن أن تستعمل تجاريا فى مقاومة هذا المرض. إن راشحات مزارع هذه السلالات من البكتيريا تثبط إنبات جراثيم الفطر الممرض، وكذلك تثبط نمو الهيفات الفطرية. يعتمد العامل الاساسى فى هذا التثبيط على وجود مضادات

حيوية فى راشح المزارع. هذه المضادات الحيوية هى Phenazine - 1- Carboxylic acid راشح مزارع البكتيريا *P.fluorescens - 220* يثبط نمو الفطر الممرض، كما فى جدول رقم (٥٧) . وإن المزارع القديمة تكون ذات كفاءة أعلى فى تثبيط نمو الفطر، وذلك لزيادة تراكم المواد الفعالة فى المزرعة. كذلك فإن تأثير هذا الراشح على إنبات الجراثيم الكونيدية للفطر الممرض، يكون مشابها للتأثير على النمو. تزداد قوة التثبيط بزيادة عمر المزرعة (جدول ٥٨) .

جدول رقم (٥٧) : تأثير راشح مزرعة البكتيريا P.fluorescens السلالة 220 على نمو هيفات الفطر المسبب لمرض البقعة العينية فى القمح، وعلى نسبة إنبات الجراثيم.

المعاملة	تأثير راشح المزرعة مل على نمو الفطر ملم بعد ٢.٥ ساعة من التحضين			٪ تخفيض إنبات جراثيم الفطر تحت تأثير تخفيفات مختلفة من راشح المزرعة					
	١٠	٥	١	صفر	٢	٤	١٦	٣٢	٦٤
كنترول (آجار مغذى)	١,٦	٢	١,٨	١٠٠	١٠٠	١٠٠	١٠٠	١٠٠	١٠٠
السلالة 1 - 220	صفر	١	١,٩	صفر	صفر	١٠٠	١٠٠	١٠٠	١٠٠
بيئة غذائية كاملة	١,٥	١,٩	١,٩	—	—	—	—	—	—
السلالة 2 - 220	صفر	٠,٤	١,٧	صفر	صفر	٩٠	١٠٠	١٠٠	١٠٠
السلالة 3 - 220	صفر	٠,٣	١,٧	صفر	صفر	صفر	صفر	٩٠	١٠٠
السلالة 4 - 220	صفر	صفر	١,٨	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر	١٠٠
السلالة 5 - 220	صفر	صفر	١,٨	صفر	صفر	صفر	صفر	٤٧	١٠٠

جدول رقم (٥٨) : تأثير البكتيريا P.fluorescens على إصابة نبات القمح بالفطر الممرض.

السلالة المستعملة	عمر المزرعة باليوم	سلالة الكائن الممرض المستعملة	٪ حدوث المرض
٢٢٠	٤	١٢ – ٢٢	صفر
٢٢٠	١	١٢ – ٢٢	٩,٤
٢٢٠/١٩٧	١	١٢ – ٢٢	٩,٣
٢٢٠/٢٧٢	١	١٢ – ٢٢	١٠,٩
اجار مغذى فقط	--	١٢ – ٢٢	١١,٧
ستخلص مزرعة سلالة ٢٢٠	--	١٢ – ٢٢	٧,٤
ايثانول	--	١٢ – ٢٢	١١,٢

٣ - المقاومة الحيوية للمرض الماحق وعفن رايزوكتونيا في القمح
Biological Control of Take-all and Rhizoctonia Rot Diseases of Wheat

مقـــدمة:

تتعرض نباتات القمح للإصابة بواحد أو أكثر، من أهم ثلاثة أمراض تصيب الجذور وهى:

١ – المرض الماحق فى القمح Take all diseas، ويتسبب عن الفطر *Gaeumannomyces graminis var. tritici* ويرمز له *Ggt*.

٢ – عفن الجذور الرايزوكتونى، ويتسبب عن *Rhizoctonia solani* سلالة *AG-8* و *R.oryzae*.

٣ – عفن بثيم فى الجذور، ويتسبب عن أنواع من *P.ultimum* و *P.irregulare*

كذلك فإن الشعير، يتعرض أيضاً للأضرار الناتجة من الإصابة بهذه الكائنات الممرضة المسئولة عن هذه الأمراض الثلاثة، خاصة الفطر *R.solani* سلالة *AG-8*. تستعمل طرق

كثيرة لمقاومة هذه الأمراض معظمها وقائية، إلا أنه لا توجد أية طريقة كافية للحصول على وقاية كاملة لهذه الأمراض الثلاثة، او أنها تزيد فى إنتاج غلة المحصول. إلا أن الطرق الحيوية المستعملة فى مقاومة هذه الأمراض تؤدى إلى خفض الإصابة من ٢٥ ٪ الى ٨٨ ٪ حسب الكائن الممرض ونوع الكائن المضاد. أفضل الكائنات المضادة المستعملة فى هذه المقاومة الحيوية هى البكتيريا *Bacillus subtilis* سلالة *92 - 324*.

إن كفاءة استعمال أنواع البكتيريا الوميضة *Pseudomonas* المنتجة للمضادات الحيوية لمقاومة المرض الماحق، عند إدخالها فى منطقة الرايزوسفير كحقن للبذور قد تأكد تماماً. بعض السلالات الأكثر فعالية، قد تم عزلها من رايزوسفير القمح النامى فى تربة من الحقول التى حدث فيها المرض الماحق، ولكنها تنخفض بالزراعة المتكررة من القمح، وقد تم ذكر ذلك بالتفصيل سابقاً.

أما مجموعة أنواع البكتيريا *Bacillus*، فهى تعطى فوائد أكثر من التى تقدمها البكتيريا *Pseudomonas*، وبعض أنواع البكتيريا السالبة غرام التى تستعمل حقنا للبذور، لحفظها من الكائنات الممرضة الجذرية، فهى تتصف بأنها ذات سقف حياة طويل وذات مقدرة على تكوين جراثيم داخلية Endospores، وذات نشاط واسع التأثير، نتيجة المضادات الحيوية التى تفرزها. من أهم هذه الأفراد *B.subtilis A-13* وسلالة *92 - L324* من النوع نفسه، هذه السلالات عرفت وعزلت منذ أوائل السبعينيات فى استراليا. لقد صنفت هذه السلالات واختيرت بناء على كونها ذات نشاط تثبيطى فى المعمل لتسعة أنواع من الكائنات الممرضة المختبرة، وتبين بعد ذلك بأنها تشجع نمو كثير من النباتات، مثل: الحبوب، الذرة السكرية، الجزر، عندما تستعمل حقناً فى البذور.

مقاومة الأمراض:

فى التجارب المعملية لمعرفة تأثير البكتيريا *Bacillus sp* سلالة 92-324 L (جدول رقم ٥٩)، وجد أنه عند وضع ١٠ ميكولتر من السلالة *92 -L-324* فى طبق بترى على بيئة *PDA* تم تحضينها على حرارة ١٥° م، بعد يومين يؤخذ من هذه المزرعة أقراصاً بقطر ٨ ملم وتوضع فى وسط طبق بترى نامياً فيه عزلات فطرية موضوع الاختبار، ثم تحضن هذه الأطباق على حرارة ١٥° م لمدة أسبوع، ثم تدرس هذه العزلات التى تثبط بواسطة هذه

البكتيريا. وجد أن البكتيريا تثبط نمو ٣٦ عزلة من الفطر مسبب المرض الماحق للقمح *Ggt* وكانت نسبة التثبيط ٦١ ٪، أما بالنسبة للفطر *R.soloni* فقد ثبطت جميع السلالات المختبرة خاصة *AG-1*، *Ag2-1*، *AG-3*، وكانت نسبة التثبيط ٤٥ ٪، ٥٠ ٪، ٤٧ ٪ بالترتيب. اما الفطر *R.oryzae* عزلة *AG-D* فقد ثبطت بنسبة ٥٥ ٪ . أما نسبة تثبيط الفطر بثيم فكانت تتراوح من ٨٨ ٪ الى ٢٥ ٪.

جدول رقم ٥٩ : فعالية البكتيريا Bacillus سلالة 92 - 324 - L٤٢٥ ضد الفطريات الممرضة.

الجنس	النوع	تحت المجموعة	عدد العزلات المثبطة مقسوما على عدد العزلات المختبرة	٪ تثبيط نمو فى طبق بترى
Gaeumannomyces	*graminis*	*tritici*	٣٦/٣٦	٦١
Rhizoctonia	*solani*	AG - 1	٢/٢	٤٥
Rhizoctonia	*solani*	AG2- 1	٣/٣	٥٠
Rhizoctonia	*solani*	AG2-2	٣/٣	٤٧
Rhizoctonia	*solani*	AG 3	٣/٣	٥٥
Rhizoctonia	*oryzae*	AG - D	١/١	٥٥
Rhizoctonia	*oryzae*	AG - F	١/١	٥٦
Pythium	*irregulare*	--	١/١	٣٣
Pythium	*ultimum*	*ultimum*	١/١	٣٨
Pythium	*ultimum*	*sporangliferum*	٢/٢	٣٣
Pythium	*sylvaticum*	--	١/١	٨٨
Pythium	*gramineum*	--	١/٢	٢٥

ملاحظات على الجدول:

كانت تحسب نسبة التثبيط بقياس طول نصف قطر النمو الفطرى المتجه جهة مستعمرة البكتيريا ، مقسوماً على طول نصف القطر فى المزرعة الفطرية المتجه لغير المستعمرة البكتيرية.

أما فى الدراسات الحقلية، فكانت تزرع حبوب القمح بعد معاملتها بالمعلق البكتيرى، بحيث تحمل كل حبة حوالى 10^{6} – 10^{7} وحدة تكاثر بكتيرية من البكتيريا *Bacillus*، أما عند استعمال *P.fluorescens putida* السلالة *80 - Q69c* فكانت تستعمل بتركيز 10^{8} وحدة تكاثر / حبة قمح. أما فى الكنترول كانت تعامل الحبوب بالماء أو تعامل بنسبة ١,٥ ٪ معلق ميثايل سليلوز. كانت تعقم التربة قبل الزراعة بمادة ميثايل بروماید بمعدل ٥٠ غرام لكل م٢ تضاف على عمق ٦ ملم قبل الزراعة مباشرة. فى تجارب المقارنة مع استعمال الكيماويات، كانت تستعمل الكيماويات على شكل معاملة بذور وهى Metalaxyl (Apron) بنسبة ١٠,٦ ملغ/ كغم حبوب، مادة *PCNB* بنسبة ٥٢ ملغ/ كغم حبوب، مادة Dividend بنسبة ١٢٠ ملغ/ كغم حبوب. وكانت النتائج كما هو مذكور فى (جدول رقم ٦٠). كانت شدة المرض فى الجذور المصابة بالفطر *Ggt* فى الكنترول ٣,٨٤ إنخفضت الى ٢,٣٨ عند المعاملة ببكتيريا *Bacillus* والى ٢,٢٩ عند استعمال البكتيريا *Pseudomonas* سلالة *80 - Q69c*. اما بالنسبة للإصابة بالفطر *R.solani*، فإن عدد الجذور المصابة كان فى الكنترول ٦,٢ إنخفضت الى ٥,٢٢ فى حالة استعمال البكتيريا *Bacillus* والى ٤,٩٧ فى حالة استعمال البكتيريا *Pseudo-monas* سلالة *80 - Q69c* أما الإنتاج فقد ارتفع بنسبة كبيرة.

إن السلالة *92 - L324* من البكتيريا *Bacillus sp* ذات تأثير فعال ضد الفطريات التى تهاجم نباتات القمح، وهى: *Ggt*، *R.solani* سلالة *AG-8* والفطر *Pythium irregulare* والفطر *P.ultimum*، وهى ذات تأثير تثبيطى واسع المجال، وتنمو على حرارة ٤ – ٤٠° م هذه الانواع الثلاثة من الفطريات الممرضة عوامل محددة كثيرا لانتاج القمح فى كثير من مناطق الولايات المتحدة (جدول ٦١).

كذلك فإن السلالة *92 -324 -L* من *Bacillus* قد اختيرت من بين ٢٠٠٠ عزلة من رايزوسفير ورايزوبلين نبات القمح وهى تثبط الثلاث فطريات الممرضة السابقة الذكر. إن مقدرة هذه البكتيريا على النمو تحت حرارة ٤° م يجعلها أكثر مقدرة على مقاومة هذه الفطريات الممرضة فى القمح الشتوى. وبالتالى يمكن وضع هذه البكتيريا فى برامج المقاومة الحيوية التجارية لأمراض النبات.

جدول رقم (٦٠) : تأثير استعمال البكتيريا Bacillus و Pseudomonas على إصابة نبات القمح بالمرض الماحق وعفن رايزوكتونيا.

المعاملة	% إنبات	سم طول النبات بعد ٢١ يوماً	شدة المرض
مع الفطر R.solani			
كنترول	٩١	٢٠,٢	٤.٦٩
ميثايل سليلوز	٨٧,٩	٢٠,٨	٤,٥
باسلص 92 - L324	٩٢,٠	٢١,٢	٣,٦٢
باسلص 92 - L331	٨٤,٠	١٨,٩	٣,٥٥
باسلص 92 - P206	٨٤,٠	٢٠,–	٣,٦
مع الفطر Ggt			
كنترول	٩٢	٢٠,١	٣,٩٢
ميثايل سليلوز	٩٥	١٩,٧	٣.٦٩
باسلص 92 - L324	٨٩	٢٠,٢	٢,٨
باسلص 92 - L331	٩٣	١٩,٦	٣.١٣
باسلص 92 -L206	٩٦	١٩,٦	٢.٧٦

ملاحظات على الجدول:

كانت تحسب شدة المرض فى المرضين على مقياس صفر – ٨. أما إصابة الجذر، فكانت تقدر نسبة الإصابة بالمرض فى حالة المرض الماحق، وذلك بعدد الجذور ذات البقع السوداء النموذجية بالنسبة للجهاز الجذرى كله، والنظام نفسه بالنسبة للعفن الرايزوكتونى. كانت تستعمل بكتيريا *Bacillus* بتركيز $١٠^{٦,٣}$ وحدة تكوين مستعمرات/ حبة. اما بكتيريا *Pseudomonas*، فكانت تستعمل بتركيز $١٠^{٧,٨}$ وحدة تكوين مستعمرات لكل حبة.

جدول رقم (٦١) : تأثير تدخين التربة ومعاملة البذور واستعمال المبيدات الفطرية وعوامل المقاومة الحيوية على إصابة الجذور والإنتاج الكلى لغلة القمح.

نوع لقمح	المعاملة	كغم إنتاج / هكتار	إصابة الجذور فى التربة المعاملة بالفطر	
			Ggt	R. solani
ربيعى	كنترول	١٥٧٣,٣	٣,٨٤	٦,٢
ربيعى	ميثيل سليلوز	١٥٥٨,٢	--	--
ربيعى	تدخين تربة	٢٠٦٢,٨	٠,٣٩	١,٤١
ربيعى	ابرون / PCNB	١٣٥٦,٧	٢,٤٤	٥,٦٧
ربيعى	دايفينوكونازول	١٢١٢,٥	٢,٨٦	٦,٣٤
ربيعى	بسلص L-324-92	١٢٤٧,٠	٢,٣٨	٥,٢٢
ربيعى	بسيدموناس $Q69_c$-80	١٤٨٦,٥	٢,٢٩	٤,٩٧
شتوى	كنترول	--	٠,٣٧	٣,٤٦
شتوى	تدخين تربة	--	٠,٠٤	١,٦٤
شتوى	بسلص L-324- 92	--	٠,٢٩	٣,٣٧
شتوى	بسيدموناس $Q69_c$-80	--	٠,٨٥	٢,٦٦

ملاحظات على الجدول : الملاحظات نفسها على الجدول السابق.

٤ - المقاومة الحيوية لعفن بثيم في القمح

Biological Control of Pythium Root Rot of Wheat

مقـــدمة:

إن عفن الجذر فى القمح *Triticum aestivum* المتسبب عن الفطر *Pythium*، يحدث فى جميع مناطق زراعة القمح. يتسبب هذا المرض عن ١٩ نوعاً من الفطر بثيم. تحدث

obeikandi.com

الإصابة الجذرية غالبا على الجذيرات الدقيقة والتى يصعب ملاحظتها فى التربة. تحدث بعض الإصابات أحيانا على الجذور الجنينية والتاجية وتسبب بقعاً بنية متحللة. أما الأعراض التى تظهر فوق سطح التربة، فتكون عبارة عن تقزم، اصفرار وقلة الإشطاءات وتأخر النضج، هذه الأعراض الأخيرة يصعب تمييزها فى المساحات الكبيرة.

لا توجد أصناف قمح مقاومة لعفن بثيم، وإن المعاملة الكيماوية بالمبيدات الفطرية للحبوب لاتكون فعالة فى كثير من الحالات وفى كثير من الظروف البيئية، وخاصة مع صنف القمح الطرى الأحمر. لذلك فإن استعمال المقاومة الحيوية لهذا الفطر من الأمور المهمة خاصة بعد ثبوت فعاليتها فى مقاومة كثير من الأمراض الكامنة فى التربة. هناك بعض سلالات البكتيريا الوميضة تقاوم عفن بثيم فى القمح وتزيد إنتاجية الغلة.

مقاومة المرض:

أهم أنواع البكتيريا التى تثبط عفن الجذر فى القمح المتسبب عن بثيم، فى مراقد البذور (جدول رقم ٦٢)، قد استخدمت فى معرفة مدى قدرتها على تثبيط الفطر بثيم فى المعمل ومدى التضاد الحيوى مع ثلاثة أنواع من بثيم، ثم درس تأثيرها على تثبيط المرض فى الحقل.

لقد وجد أن البكتيريا *P.fluorescens* سلالة 2-79R والبكتيريا / *Burkholderia cepacia* سلالة *23 - 1* وسلالة *30 -1* من *Pseudomonas sp*، هى أفضل السلالات فعالية لتثبيط عفن الجذر المتسبب عن بثيم تحت ظروف الحقل، وتزيد أحياناً كمية الإنتاج (جدول ٦٣). إن السلالات التى تكون فعالة فى الحقل، فهى أيضاً تظهر أثرها فى تثبيط الفطر فى المعمل وتظهر التضاد الحيوى مع ثلاثة أنواع من الجنس *Pythium*. إلا أنه وجد أن السلالات التى تظهر مستوى تضاد حيوى عالٍ فى المعمل، لا تكون فعالة فى الحقل بالمستوى نفسه. يمكن تثبيط المرض فى الحقل وزيادة الإنتاج بمستوى ثابت باستعمال تلك السلالات المذكورة سابقاً ، وذلك عند استعمالها بتركيز $^{٦}١٠$ وحدة تكوين مستعمرات/ حبة.

جدول رقم (٦٢) : تأثير استعمال سلالات من البكتيريا فى اختبارات مراقد البذور وفعاليتها فى المعمل، ضد ثلاثة انواع من بثيم.

البكتيريا المستعملة	السلالة	عدد السلالات الفعالة على عدد السلالات المختبرة	مساحة ملم٢ مثبطة بواسطة البكتيريا مع الفطر الممرض		
			P. irregulare	*P. torulosum*	*P. graminicola*
P.fluorescens	$Q29_z$ - 80	$^2/_4$	٨	١٣	١
P.fluorescens	Q2 - 87	$^2/_4$	١٩	٢٠	١٤
P.fluorescens	$Q65_c$ - 80	$^3/_4$	٢٠	٢٠	١٤
P.fluorescens	Ap- 9	--	٢٠	٢٠	١١
P.fluorescens	2 - 79	$^5/_5$	١٣	١١	٦
Arthrobacter oxydans	1 - 21	$^3/_5$	صفر	صفر	صفر
Burkholderia cepacia	1 - 23	$^3/_5$	١٤	١٥	١١
B.cepacia	2 - 58	$^2/_5$	صفر	٥	صفر
Pseudomonas fluorescons	1 - 30	$^3/_5$	٥	١٠	صفر

obeikandl.com

جدول رقم (٦٣) : تأثير معاملة البذور على حدوث الاصابة بالفطر بثيم فى بادرات القمح بعد ٤ - ٦ أسابيع من الزراعة وعلى الانتاج. ويظهر فى الجدول استعمال مواد كمعاملة تربة.

البكتيريا المعاملة بها الحبوب	معاملة اضافية فى التربة	٪ اصابة بالفطر بثيم		كغم / هكتار الانتاج
		على الجذر كله	الجذر القريب من الحبة	
كنترول	--	١٠٠	٥٠	٤٣٨١
Burkholderia cepacia 1- 23	--	٧٠	٣٥	٤٨٣١
B. cepacia 1 - 23	ميثاليكسايل	٦٥	٣٢	٤٧٢٣
B. cepacia 1 - 23	مكرر	٦٧	٣٣	٤٦٨٣
B. cepacia 1 - 23	سماد فسفورى	٤٠	٢٢	٤٥٣٥
Pseudomonas sp 1- 30	--	٤٥	٢٣	٤٤٨٢
Pseudomonas sp 1- 30	ميثاليكسايل	٣٠	١٨	٤٦٠٣
Pseudomonas sp 1- 30	مكررة	٥٥	٢٥	٤٤٠١
P.fluorescens $Q69_c$*-80*	سماد فسفورى	٤٠	٢٧	٤٥٥٥

ملاحظات على الجدول

كان يستعمل الميثاليكسايل بنسبة ٠,٣١ غرام / كيلو حبوب، وكانت تضاف البكتيريا إلى التربة بمعدل ١,٥ x 10^{13} وحدة تكوين مستعمرات فى ٧٣٨ لتر ماء/ هكتار، وكانت تضاف إلى التربة بعد ٣ أسابيع من الزراعة.

٥ - المقاومة الحيوية لبعض الأمراض الكامنة في حبوب القمح
Biological Control of Some Seedborne Diseases of Wheat

مقـــدمة:

لقد تم إثبات أن معاملة البذور بالبكتيريا Bacterization طريقة ناجحة لزيادة تثبيت النيتروجين فى التربة، وأن هذه الطريقة إختيرت على نطاق واسع فى أغراض أخرى، مثل

الحث على تنشيط النمو أو المقاومة الحيوية لأمراض النبات. فى معظم الحالات فإن العزلات البكتيرية المفردة لمثبتات النيتروجين، البكتيريا مشجعة النمو أو مضادات الكائنات الممرضة، قد استعملت مع البذور أو أجزاء التقاوى مع التأكيد بأنها يمكن أن تتكاثر وتنتشر إلى الجذور وهناك تبين نشاطها. ومن الثابت جيدا أن بكتيريا تثبيت النيتروجين *Rhizobium* وبعض أنواع البكتيريا المشجعة للنمو النباتى تسلك هذا السلوك نفسه. كذلك أيضا بالنسبة لبعض الكائنات المضادة عند استعمالها مع البذور لمنافسة مسببات بعض الأمراض النباتية.

يبدو أن معاملة البذور بالبكتيريا تؤدى الى استعمار الجذور، وفى بعض الحالات تؤدى الى نتيجة جيدة فى المقاومة الحيوية للأمراض. وعلى أية حال فإن كثيراً من الباحثين ذكروا أيضاً أن هناك اختلافاً وعدم تطابق فى نتائج المقاومة الحيوية لبعض الأمراض الكامنة فى الحبوب باستعمال البكتيريا، وفشلوا فى الحصول على تفاعلات أسو نتائج جيدة فى الصوبات الزجاجية بحيث يمكن تكرارها فى الحقل (هذا ما ذكره Duczek سنة ١٩٩٤). من أهم العوامل المحددة لاستعمال عملية البكترة فى مقاومة أمراض النبات، هو اختيار العزلات المناسبة للمناخ، التربة، وسط النمو، نوع المرض والتوافقات المحصولية والإجراءات العملية التى تتبع ذلك.

فى مناطق إنتاج الحبوب فى السويد، يعتمد على المركبات الكيماوية لمقاومة مسببات الأمراض الكامنة فى البذور، ولكن بدأ الاتجاه حديثا الى الطرق الحيوية كطفرة وانطلاقة جديدة فى مقاومة الامراض.

مقـــاومة الأمـــــراض

أهم الأمراض الكامنة مسبباتها فى الحبوب، والتى تسبب خسائر كبيرة فى القمح والشعير والشوفان والراى، هى:

١ – مرض البقعة الشبكية فى الشعير، ويتسبب عن *Drechslera teres*

٢ – مرض العفن الثلجى فى النجيليات، ويتسبب عن *Microdochium nivale*

٣ – مرض التقحم العادى فى القمح، ويتسبب عن *Tilletia caries*

تقاوم هذه الأمراض حيوياً باستعمال العزلة *MA - 342* والعزلة *MA 250* من البكتيريا *Pseudomonas sp* (الجداول من ٦٤ حتى ٦٦).

تظهر السلالتان *MA- 342* و *MA - 250* درجة عالية من خفض المرض. السلالة الاولى تخفض حدوث المرض بنسبة ٧٨٪ فى حالة الإصابة بالفطر *D.teres* و ٨٠٪ فى حالة الإصابة بالفطر *M.nivale* وحوالى ١٠٠٪ فى حالة الإصابة بالفطر *T.caries*. لا يوجد فرق معنوى عند مقارنة فعل هذه السلالة مع فعل المبيدات الكيماوية. وكذلك تبين أن المعاملة بالبكتيريا والكيماويات تزيد معنوياً عدد النباتات فى كل متر مربع، وتخفض بشكل معنوى عدد الـ Coleoptiles ذات اللون الأسود. أما السلالة الثانية *MA - 250* فهى تعطى نتيجة أقل بشكل عام من السلالة الاولى، وليس بتأثير الكيماويات نفسه. تتميز السلالة الأولى بالقدرة على البقاء فعالة بعد التخزين لمدة طويلة. اما السلالة الثانية فتتميز بمقدرتها الفائقة فى مقاومة المرض المتسبب عن الفطر *M.nivale*.

لتنمية هذه السلالات من البكتيريا، تؤخذ العزلات موضوع الإختيار، وتنمى على بيئة *TSA 10 Agar* وهى تتكون من ١٠ غرام Tryptic soy Broth + ١٢ غرام Technical Agar فى لتر ماء مقطر تترك لتنمو مدة أسبوع. يجرى للحبوب بكترة عن طريق خلط اللقاح البكتيرى مع الحبوب بنسبة ٣٠٠ مل من القاح البكتيرى/ كغم حبوب، حيث توضع الحبوب واللقاح فى كيس بلاستيكى، وترج لمدة ٤ – ٥ دقائق، ثم تجفف الحبوب أمام مروحة على حرارة الغرفة العادية لمدة ٢٤ ساعة، ثم تخزن على حرارة الغرفة العادية لمدة أسبوع واحد قبل الزراعة.

جدول رقم (٦٤) : تأثير استعمال البكتيريا بسيدوموناس السلالة MA-342 على الإصابة بالفطر D.teres و T.caries.

المعاملة	عدد النباتات فى مساحة ١٠ م٢	٪ سنابل مصابة *T.caries*	عدد النباتات المصابة بالفطر *D.teres* فى م٢	إنتاج الغلة كغم/ هكتار	وزن الهكتولتر كغم	غرام وزن الألف حبة
كنترول	٣٦٠٠	٢٣	٤٦٠	٤٩٧٠٠	٦٤,٧	٤١,٥
Panoctine 400	٣٦١٠	٢	٣	٥٥١٠٠	٦٦,٣	٤٣,٨
السلالة MA - 342	٣٥٣٠	صفر	٣	٥٤٨٠٠	٦٦	٤٣,٧

جدول رقم (٦٥) : تأثير مدة وحرارة التخزين للبكتيريا، السلالة MA- 342 على خفض الإصابة بالفطر D.teres.

المعاملة	٪ نباتات مريضة ناتجة من بذور معاملة بالبكتيريا بعد التخزين على حرارة ٤° و-٢٠°م لمدة		٪ نباتات مريضة بعد معاملة البذور بالبكتيريا وتخزينها على حرارة ٤° م و ٢٠°م قبل الزراعة لمدة					
	شهر	شهرين	٧ يوم	١٤ يوم	٢١ يوم	٢٨ يوم	٣٥ يوم	٤٢ يوم
كنترول على ٢٠° م	٢٩	١٨	١٤	٢٢	٣٣	٣١	٣٠	٢٩
MA-342 +CMc 20c°	--	--	١٦	١٨	٢٣	٢٢,٥	٢٢	٢٢
MA-342 20c°	--	--	٧	٤	٢	٣	٣,٥	٤
MA-342 4c°	٥	١٨	٤	٤	٥	٦	٦,٥	٧
MA - 342 Fresh	--	٣						
MA- 342 (-20°c)	٣	٥						

جدول رقم (٦٦) : تأثير استعمال السلالتين MA- 342 و MA- 250 على الإصابة بالفطر M.nivale.

المعاملة	الغلة كغم لكل هكتار	عدد النباتات لكل ١٠ م٢	٪ عصيفات سوداء	كغم وزن الهكتولتر	غرام وزن الالف حبة
كنترول	٤٦٠٠٠	٢٦٠٠	٨٩	٧٨,٩	٤٣,٤
Panoctine 400	٤٥٢٠٠	٤٩١٠	٨	٧٩,٥	٤٣,٤
السلالة MA - 250	٤٢٤٠٠	٤٢٨٠	٤٠	٧٩,٩	٤٤,٥
السلالة MA - 342	٤٣١٠٠	٣٩٥٠	٢٩	٧٨,٨	٤٣,٠

٦ - المقاومة الحيوية لأمراض فيوزاريوم وباي بولارس في بادرات القمح والشعير

مقـــدمة

يعتبر الفطر *Fusarium culmorum* من مسببات الأمراض الكامنة فى التربة وفى البذور، ويصيب البادرات ويسبب مرض عفن القدم البنى ولفحة البادرات. أما الفطر *Co-chliobolus sativus*، الاسم المرادف *Bipolaris sorokiniana*، يسبب أمراضاً متشابهة الأعراض على الكوليتل والجذور فى البادرات المصابة فى النجيليات والأعشاب الأخرى. هذه الأمراض مهمة اقتصادياً خاصة فى المناطق ذات الأمطار المنخفضة أو المتوسطة. كلا الفطرين الممرضين يكونان غير متركزين فى غلاف البذرة Pericarp، أو أن الجراثيم الكونيدية يمكن أن تحمل خارجياً على القشرة testa. يمكن أن تحدث الإصابة عن طريق الثغور الموجود فى السويقة الجنينية السفلى، والتى من خلالها يتقدم الفطر فى الجذر، منطقة النمو الساقى والكولبتول.

التحكم فى الظروف البيئية للكائنات الممرضة، يؤدى إلى طرق مقاومة مختلفة، شاملة استعمال حبوب سليمة، واستعمال الكيماويات بالإضافة إلى معاملة البذور حيويا. زيادة على ذلك فإن الإصابة الثانوية من اللقاح الكامن فى التربة، بالإضافة للقاح الناتج من بقايا النبات يكون من الصعوبة مقاومتها عن طريق معاملة البذور كيماويا. لقد ذكر Mielke سنة ١٩٨٨ أنه لم يظهر أى مبيد فطرى فعال، أو لم يتوفر، بحيث يقى المحصول فى الحقل. كذلك ذكر Daanen *et al* سنة ١٩٩١، أن تطهير الحبوب (كما هو متبع فى كثير من البلدان) لا يمنع حدوث مرض عفن القدم البنى، أو الإصابات الأخرى خلال موسم النمو. وذكر أنه فى بعض البلدان يكون امتداد عفن القدم البنى فى الأراضى الطينية أكثر شدة، كنتيجة لمعاملة الحبوب بالمبيدات الفطرية، من الممكن أن تكون هذه الزيادة بسبب استبعاد الكائنات المضادة والفعالة ضد الكائن الممرض.

لقد ذكر Myvall *et al* سنة ١٩٧٣ أن الفطر *F.culmorum* لا يستطيع أن يقف أمام منافسة الكائنات المترممة الطبيعية الموجودة على أجزاء النبات الميتة. ويبدو أن المقدرة على

التنافس الرمى من الصفات المهمة لكفاءة الكائنات المضادة ضد الفطرين *F.culmorum* و*B.sorokiniane*.

مقاومة الأمراض:

أكثر الكائنات المضادة نجاحاً فى مقاومة الفطرين السابقين، هى عزلات من الفطر *Idriella bolleyi* والفطر *Gliocladium roseum* سواء فى القمح او الشعير

وجد فى التجارب الحقلية أن الفطر *G.roseum* يعطى أفضل مقاومة للفطر *F.culmorum* فى القمح الشتوى. يزداد الإنبات بعد الزراعة بحوالى شهر واحد بنسبة ١٧٠ ٪، وينخفض دليل المرض بحوالى ٧٣ ٪، ويزداد الوزن الجاف للنبات بنسبة ٢٥ ٪ بالمقارنة مع الكنترول. عند الحصاد يلاحظ زيادة عدد الإشطاءات بنسبة ٧٣ ٪ فى النباتات ويزداد إنتاج الحبوب بنسبة ١٦٠ ٪. أما وزن الألف حبة يزداد بنسبة ٤ ٪. هذه النتائج تماثل- وان لم تكن أحسن من- نتائج استعمال الكيماويات فى مقاومة المرض (جداول ٦٧، ٦٨، ٦٩) تبين نتائج التجارب الحقلية على الفطريات الممرضة ومقاومتها.

بالنسبة للفطر *I.bolleyi* فإن استعماله فى المقاومة الحيوية، يعطى أرقاماً أقل من الفطر *G.roseum*، إلا أنها لا تزال معنوية بالمقارنة مع الكنترول، عندما يقارن دليل المرض وعدد الإشطاءات فى النبات. بينما الفطر *Chaetomium sp* لا يظهر أى خفض للمرض. زيادة على ذلك فإن تجارب الحقل باستعمال الشعير المصاب بالفطر *B.sorokiniana*، أظهرت تأثيراً معنوياً مع الفطر *G.roseum*، حيث يسبب زيادة الوزن الجاف للنبات بعد شهر واحد ويزيد وزن الالف حبة وقت الحصاد. إن كفاءة مقاومة المرض باستعمال *G.roseum* على الفطر *F.culmorum* على الشعير الربيعى قد تأكدت فى التجارب الحقلية.

جدول رقم (٦٧) : نتائج استعمال الكائنات المضادة على نباتات القمح المحقونة بنسبة ٣٠ ٪ طبيعيا ومحقونة صناعياً بمعلق جراثيم F.culmorum ١٠ ^{٦} كونيدية / مل و ١ ٪ بيل جل.

المعاملة	٪ الإنبات	دليل المرض	متوسط الوزن الجاف غم لستين بادرة
Chaetomium sp No 184	١٨,٩	١,٣	٠,٤٤
Idriella bolleyi No 454	٣٢,٣	٠,٧	٠,٥
Gliocladium roseum No 726	٦١,٠	٠,٤	٠,٥٤
المبيد الفطرى Sibutol	٦٣,٠	٠,٣	٠,٥٣
كنترول	٢٢,٥	١,٥	٠,٤٣

ملاحظات على الجدول:

دليل المرض يقسم من صفر حتى ٤ : حيث صفر = نباتات سليمة. ١ = تلون بنى خفيف على الكولبتيل. ٢ = تلون بنى متوسط على الكولبتيل والجذور. ٣ = تلون شديد جداً على الكولبتل والجذور ٤ = النباتات ميتة،

جدول رقم (٦٨) : نتائج التجارب الحقلية على الشعير المحقون طبيعيا بنسبة ٧٠ ٪ بالفطر B.sorokiniana، وفى تجربة أخرى محقون صناعيا بمعلق فطرى تركيز ١٠ x١,٨ ^{٦} جرثومة كونيدية/ مل من الفطر F.culmorum.

المعـــاملة	٪ إنبات حبوب مع		دليل المرض		غ/ الوزن الجاف لستين نبات		الإنتاج كغم لمساحة معينة	
	B.soro.	F.cul	B.soro.	F.cul	B.soro.	F.cul.	B.soro.	F.cul.
Chaetomium sp.. 184	٦٤	--	٠,٨٥	--	٠,٢٧٩	--	٤٣٩,٥	--
Idriella bolleyi - 454	٦١,٣	٦٢,٩	٠,٦٣	٠,٠٧	٠,٥٧٥	٥,٧٨	٥٠٣,٨	٣٦١,٥
Gliocladium roseum	٦٩,٥	٦٣,٣	٠,٥٩	٠,٠١	٠,٦٤٣	٦,١٧	٥٩٣,٢	٣٦٨٩,٨
المبيد الفطرى Fungazil	٤٨,٤	٦١,٤	٠,٥٠	٠,٠١	٠,٥٨٢	٥,٤٩	٥٤٩,١	٢٧٦٣,٤
كنترول	٦٦,٧	٥٥,٧	٠,٧٩	٠,٠٨	٠,٥١٠	٥,٧٧	٤٥٦,٣	٣٤٨٦,٨

ملاحظات على الجدول: دليل المرض كما هو فى الجدول السابق

B.sorokiniana = B.soro *F.culmorum = F. cul.*

جدول رقم (٦٩) : دليل المرض والمقاومة الحيوية لبادرات القمح المحقونة طبيعيا بالفطر *F.culmorum* والشعير المحقون بالفطر *Bipolaris* sorokiniana

المعاملة	Fusarium culmorum		Bipolaris sorokiniana	
	متوسط دليل المرض	٪ نباتات مقاومة	متوسط دليل المرض	٪ نباتات مقاومة
Acremonium sp	٠,٧٥	٢٥	٠,٨٦	١٤
Trichoderma sp	٠,٨٦	١٤	٠,٥٢	٤٨
Chaetomium sp	٠,٢٧	٧٣	٠,٦٦	٤٤
Humicola sp	١,٠	صفر	٠,٥٢	٤٨
Idriella bolleyi	٠,٢٤	٧٦	٠,٤٣	٥٧
Fusorium sambucinum	١,٠	صفر	٠,٦٩	٤١
Gliocladium roseum	٠,٣٣	٦٧	٠,٦١	٤٩

ملاحظات على الجدول:

– دليل المرض كما هو فى الجدول السابق.

obeikandl.com

II : الشـــعير

المقاومة الحيوية لبعض أمراض الشعير

مقـــدمة

يمكن حفظ نبات الشعير من الإصابة بالكائنات الممرضة شديدة المرضية، عن طريق الحقن المبكر بعزلات شديدة أو غير شديدة المرضية من الكائنات الممرضة الأخرى، أو من كائنات مترممة أو كائنات دقيقة أخرى. هذا الإحراء يسمى المقاومة المستحثة Induced re-sistance. هذه الوقاية تكون ناتجة من خلال تنشيط وسائل الدفاع فى العائل، ولقد لوحظت فى كثير من أنواع النباتات، فى السنوات الأخيرة، خاصة فى الشعير *(Hordeum vulgare L.)*. هناك إجراءات عديدة للمقاومة المستحثة، قد درست، وإن ميكانيكية هذه المقاومة تشمل تثبيط الكائن الممرض. إن جينات الاستجابة الدفاعية المفترضة يمكن أن تنشط عن طريق الكائنات الدقيقة الحاثة على المقاومة وعلى منتجات هذه الجينات.

هناك دراسات عديدة أثبتت أن هناك إمكانية فى مقاومة الفطر *Drechslera teres*، الاسم القديم *Pyrenophora teres* والاسم المرادف هو *Helminthosporium teres*، مسبب مرض التلطخ الشبكى فى الشعير، وهو مرض خطير فى معظم أماكن زراعة الشعير، وذلك عن طريق استعمال الفطر *Bipolaris maydis* المعزول من الذرة الشامية، والفطر *Septoria nodorum* المعزول من القمح.

مقـــاومة المـــرض:

أهم الأمراض التى تصيب الشعير ويمكن مقاومتها حيويا، هى:

١ – مرض التلطخ الشبكى فى الشعير، ويتسبب عن الفطر *Helminthosporium teres*.

٢ – مرض لفحة البادرات فى الشعير، المتسبب عن الفطر *Bipolaris sorokiniana*

٣ – مرض البياض الدقيقى فى الشعير، المتسبب عن *Erysiphe graminis f.sp hordei*

٤ – المرض المتسبب عن الفطر *Rhynchosporium secalis*

إن الحقن المبكر لأوراق الشعير فى الورقة المتكشفة الثانية، بأى من الفطرين غير الممرضين للشعير، وهما، الفطر *Bipolaris maydis* المعزول من الذرة الشامية، أو الفطر *Septoria nodorum* المعزول من القمح، بمدة ٢٤ ساعة قبل حقنها بالكائنات الممرضة، خاصة العزلة شديدة المرض *Drechslera teres f.sp. maculata*، يؤدى إلى الخفض المعنوى للإصابة بالمرض. يكون متوسط الخفض فى شدة المرض (الاصابة المرضية) بحوالى ٣٩ – ٧٠٪ و ٢٢ – ٦٥٪ بعد الحقن المبكر بالفطر *B.maydis* و *S.nodorum* بالترتيب، وإن كلا الفطرين فعال ضد الفطر *D.teres* فى مختلف أصناف الشعير، وضد كائنات ممرضة أخرى فى الشعير، مثل الفطريات المذكورة أعلاه. يبين فحص الأوراق المصابة بالميكروسكوب الضوئى أن أوراق النبات غير المعاملة (الكنترول) تظهر عليها نموات الميسيليوم وتجرثم الفطر *D.teres* بشكل كبير جداً. وعلى العكس من ذلك، فإن المستويات المنخفضة من *D.teres* فى أوراق الشعير المحقونة مسبقاً بالفطر *B.maydis* او *S.nodorum* كانت مترافقة بظهور بقع صغيرة جداً ونمو ميسيليوم محدود جداً، وقليل من التجرثم أو عدم وجود تجرثم، وهذه الأعراض تعرف بأنها تفاعل فرط الحساسية.

من المعروف أن الفطرين الحاثين على المقاومة، وهما: *B.maydis* و *S.nodorum* كلاهما غير ممرض للشعير، إلا أنهما أحيانا، يكونان بقعاً صغيرة جداً، ترى بالعين المجردة على أوراق الشعير المحقونة بهما، هذه البقع لا تكبر ولا يحدث فيها تجرثم للفطر.

فى تجارب أخرى، وجد أن الفطر *B.sorokiniana* (جدول ٧٠)، قد تثبط بشكل معنوى بالحقن المبكر بالفطرين *B.maydis* و *S.nodorum* بنسبة ٤٨٪ و ٤١٪ بالترتيب. أما فى صنف الشعير *Lenka*، فقط استطاع كلا الفطرين أن يسبب خفضاً معنوياً للإصابة بمرض البياض الدقيقى فى الشعير بنسبة ٢٩٪ و ١٠٪ بالترتيب. فى بعض التجارب التى استعمل فيها الفطر الأول بتركيز ٢ x ١٠^{٥} كونيدية/ مل، والثانى بتركيز ٥,٤ x ١٠^{٧} جرثومة كونيدية/ مل، فإنهما يخفضان الإصابة بالفطر *R.secalis* بشكل معنوى. وبالتالى فإن الفطر *B.maydis* يخفض الإصابة بالفطر *R.secalis* بحوالى ٦٩٪ و ٤٨٪ فى الصنفين Canor و Lenka بينما الفطر *S.nodorum* يخفض الإصابة بنسبة ٧٣٪ و ٣٩٪ فى الصنفين السابقين نفسيهما. جدولان رقم (٧١، ٧٢).

جدول رقم (٧٠) : متوسط علامات المرض والنسبة المئوية لخفض الإصابة بالفطر *Bipo lais sorokiniana* والفطر *Erysiphe graminis f.sp. hordei* والفطر *Rhyn-chosporium secalis*، على الورقة المتكشفة الثانية فى الشعير الربيعى صنف Canor و Lenka مع أو دون المعاملة بالفطر الحاث على المقاومة الحيوية *Bipolaris maydis* أو *Septoria* nodorum.

العامل الحاث على المقاومة	B.sorokiniana		E.graminis hordei		R.secalis	
	متوسط دليل المرض	% خفض فى دليل المرض	متوسط دليل المرض	% خفض فى دليل المرض	متوسط دليل المرض	% خفض فى دليل المرض
الصنف كانور						
كنترول	١٣,٣	--	١٠,٨	--	١٤,-	--
B.maydis	١٠,٣	٢٢,٦	٨,٣	٢٣,١	٤,٣	٦٩,٣
S.nodorum	١٠,٥	٢١,١	١٠,٥	٢,٨	٣,٨	٧٢,٩
الصنف لنكا						
كنترول	١٧,٨	--	١٢,-	--	١٦,٥	--
B.maydis	٩,٣	٤٧,٨	٨,٥	٢٩,٢	٨,٥	٤٨,٥
S.nodorum	١٠,٥	٤١,٠	١٠,٨	١٠,-	١٠,٠	٣٩,٤

ملاحظات على الجدول:

دليل المرض من صفر حتى ٢٠.

صفر = صفر٪ إصابة . ١ = من صفر إلى ٥٪ إصابة، ٢ = ٥ - ١٠٪ إصابة أوراق... وهكذا.

جدول رقم (٧١) : متوسط علامات المرض، والنسبة المئوية لخفض الاصابة بالفطر *D.teres* على الورقة المتكشفة الثانية فى الشعير الربيعى صنف كانور ولنكا مع، أو بدون الكائن الحاث على المقاومة بتركيزات مختلفة من الفطرين ***B.maydis*** و ***S.nodorum***.

تركيز الكونيديات للكائن الحاث. كونيديا /مل	الصنف كانور		الصنف لنكا	
	متوسط علامات المرض	٪ خفض فى علامات المرض	متوسط علامات المرض	٪ خفض فى علامات المرض
B. maydis				
صفر	٤,٩	---	٧١	---
١٠٠٠	٤,٩	صفر	٦,٥	٨,٥
٧٥٠٠	٣,٦	٢٦,٥	٢,٩	٥٩,٢
١٥٠٠٠	٣,٠	٣٨,٨	٢,٣	٦٧,٦
S.nodorum				
صفر	٤,٣	---	٤,٣	---
١٠٠٠٠٠	٢,٣	٤٦,٥	٢,٨	٣٤,٩
٧٥٠٠٠٠	٢,٧	٣٧,٢	٢,٣	٤٦,٥
١٥٠٠٠٠٠	١,٥	٦٥,١	١,٨	٥٨,١

أما بالنسبة لتأثير فترة تخزين اللقاح قبل استعماله، فإن جدول رقم (٧٢)، يبين أنه بالنسبة للفطر *B.maydis* لا يوجد فرق فى تأثيره سواء خزن ٢٤, ٥٤, ٧٨ ساعة، على الصنفين، أما بالنسبة للفطر *S.nodorum* فيختلف تأثيره باختلاف فترة تخزينه قبل حقنه فى النبات.

جدول رقم (٧٢) : متوسط دليل المرض للفطر *D.teres* على الورقة المتكشفة الثانية فى الشعير صنفى كانور ولنكا بعد حقنهما بالفطر الحاث، وبعد فترات مختلفة من التحضين قبل الحقن بالفطر المستهدف.

الصنف المستعمل		دليل المرض مع الفطر المضاد						دليل المرض مع الفطر المضاد					
		B. maydis بعد فترة تحضين (ساعة)						*S. nodorum* بعد فترة تحضين (ساعة)					
	كنترول	٢	٨	٢٤	٥٤	٧٨	٢	٨	٢٤	٥٤	٧٨	كنترول
كانور	٣,٦	٢,٥	١,٨	١,٥	١,٨	١,٨	٣,٥	٥,٠	٣,٠	٢,٥	٢,٥	٤,٠
لنكا	٤,٧	٢,٥	٢,٤	١,٣	١,٣	١,٤	٢,٥	٤,٥	٢,٨	٢,٣	١,٨	٤,٢

ملاحظات على الجدول: دليل المرض : كما فى جدول رقم ٧٠.

III : الـــذرة

١ - المقاومة الحيوية لمرض سقوط البادرات

مقـــــدمة

فى الوقت الحـالى (١٩٩٧)، فإن مـعظم حـبوب الذرة الهـجين التجـارية التى تبـاع فى أمريكا، تـعامل بالمبيـدات، وأهم هذه المبيدات الكيـماوية، هو المبيـد الفطرى Captan، وهو يستعمل لزيادة إنبات الحبوب وزيادة عدد البادرات التى تظهر فوق سطح التربة، وذلك عن طريق خـفض شدة أمراض عـفن الحبوب وعـفن الجذور المتسـببة عن كـثير من الكائنات الممرضـة الكامنة فى التربة، من ضمنها *Pythium*، *Fusarium sp*. حتى عند استعمال الكبـتـان، فإن حـوالى ٣٥٪ من بادرات الذرة يمكن أن تصـاب فى مناطق وسط الغرب فى امريكا.

إن المقاومة الحيوية باستعمال الكائنات المضادة لوحدها، أو كعوامل مساعدة لتخفيض استعمال مبيدات الآفات الكيماوية، فى نظام الوقاية المتكاملة والمستنيرة للأمراض، أصبحت أكثر أهمية فى السنوات الاخيرة. الميكروبات النافعة فى هذا المجال، هى فطريات وبكتيريا مضادة تستعمل على شكل معاملة بذور، تعطى فرصة جيدة ومفيدة لوقاية المحصول من الكائنات الممرضة الفطرية الكامنة فى التربة، وبالتالى أجريت أبحاث كثيرة فى هذا المجال، فمثلاً البكتيريا الوميضة *Pseudomonas cepacia* والبكتيريا *P.fluorescens* تستعمل مباشرة على بذور البسلة لوقايتها من أمراض الجذور.

أما بالنسبة لحبوب الذرة فيستعمل معها لقاح البكتيريا *Burkholderia cepacia (Pseudomonas cepacia)* محملاً على البيت *peat* على شكل غلاف للبذور لتثبيط الأمـراض الكامنة فى التـربة، والمتـسـبـبـة عن الفطر *Pythium ultimum* و *P.arrhenomanes* وكـذلك الفطر *Fusarium graminearum*. ونظرا لأن هذه البكتيريا ذات مقدرة على النمو والتكاثر على الحبوب المنبتة ويمكنها أن تستعمر الجذر كله أو منطقة الرايزوسفير ، فإنه يطلق عليها ميكروبات ذات كفاءة رايزوسفيرية Rhizosphere compe-tent. كذلك يدخل فى المقاومة الحيوية لأمراض الذرة الفطرين *Gliocladium virens* و *Trichoderma viride*

مقـــاومة المـــرض

أمراض حبوب الذرة سواء كانت عفن البذور، سقوط البادرات قبل أو بعد ظهورها فوق سطح التربة المتسببة عن الفطريات

1 - Pythium ultimum

2 - P.arrhenomanes

3 - Fusarium sp.

تقاوم بالكائنات الآتية:

١ – *Gliocladium virens* العزلات G1 - 3 أو G1- 21.

٢ – *Trichoderma viride* العزلة Tv-1.

٣ – البكتيريا *Pseudomonas cepacia* العزلات Bc- B - Bc- T و Bc-1. إن معاملة حبوب الذرة بعوامل المقاومة الحيوية المذكورة، بالإضافة لاستعمال المبيد الفطر كبتان، تزيد بشكل معنوى عدد البادرات الثابتة السليمة، وطول النبات وزيادة الوزن الطازج للنبات، وتخفض شدة عفن الجذور بالمقارنة مع الكنترول. إن تغليف الحبوب بعامل المقاومة الحيوية، الفطر *G.virens* العزلة G1- 3 تكون أفضل المعاملات، وتؤدى إلى زيادة كبيرة فى أعداد البادرات النابتة والسليمة فوق سطح التربة، وتخفض من شدة مرض عفن الجذر، أفضل مما هو ناتج فى حالة استعمال المبيد الفطرى كبتان. أما المعاملة بالبكتيريا *P.cepacie (B.cepacia)*. سلالات Bc- B - Bc- T - Bc- 1 أو الفطر *T.viride* العزلة Tv-1 فإنها تعطى نتائج جيدة من حيث خفض شدة المرض وارتفاع طول النبات ووزنه الطازج، ولكنها أقل نسبياً مما هو فى حالة الفطر *G.virens*.

إن أقل عدد من الوحدات التكاثرية اللازمة لتلتصق مع حبة الذرة للحصول على نتيجة تشبه نتيجة استعمال المبيد الفطرى كبتان هى 10^4 و 10^5 وحدة تكوين مستعمرات من العزلة *G1-3* و 10^6 وحدة تكوين مستعمرات من العزلة *Tv - 1* وأكبر من 10^8 من العزلة *Bc- B*، أما عند استعمال وحدات تكاثر من *G1-3* بمعدل أكبر من 10^6 وحدة تكوين مستعمرات/ حبة، فتكون النتيجة أفضل منه فى حالة استعمال الكبتان مع الحبوب.

وبشكل عام فإن عوامل المقاومة الحيوية، لها فوائد كبيرة عندما تستعمل مع حبوب الذرة. إن حوالى ٢٦ ٪ و ٤٠ ٪ من الحبوب غير المعاملة بالكائنات المضادة تنبت فى درجة حرارة ١٨°، ٢٥° م بالترتيب، بالمقارنة مع ٨٧ ٪ و ٩٠ ٪ فى حالة الحبوب المعاملة بالكائنات المضادة جدول رقم (٧٣). فى درجة الحرارة المنخفضة، فإن جميع الحبوب المعاملة بالكائنات المضادة باستثناء سلالة *Bc-1* تزيد فى أعداد النباتات السليمة من ١٥ -٦٥ ٪. أما فى درجات الحرارة المرتفعة، فإن جميع المعاملات تزيد فى أعداد النباتات السليمة من ١٥- ٥٠ ٪. كذلك فإن لجميع المعاملات تأثير على طول النبات كما فى جدول رقم (٧٤). حيث يظهر فى الجدول أن تغليف الحبوب بالعزلة *G1-3* كانت هى المعاملة الوحيدة التى أعطت وزناً طازجاً للنبات مشابهاً أو أكبر منه فى حالة عدم تلويث التربة بالكائنات الممرضة فى درجات الحرارة المختلفة ١٨° م و ٢٥م. وبشكل عام يمكن القول بأن تأثير الكائنات المضادة يكون أفضل على درجات الحرارة المنخفضة.

جدول رقم (٧٣) : تأثير معاملة حبوب الذرة بالكائنات المضادة على طول النبات، والوزن الطازج، المزروعة فى التربة الملوثة بتركيب من *P.ultimum* و *P.arrhenomanes* و *Fusarium graminearum* على درجات الحرارة ١٨ و٢٥° م.

المعاملة	سم طول النبات بعد ١٨ يوماً من الزراعة		غرام الوزن الطازج للنبات بعد ١٨ يوماً من الزراعة	
	١٨°م	٢٥°م	١٨°م	٢٥°م
بذور غير معاملة فى تربة ملوثة بالكائنات الممرضة	٢,٩	٣,٥	١,٣	١,٤
بذور غير معاملة فى تربة غير ملوثة بالكائنات الممرضة	١٢,٨	١٦,٦	٣,٧	٥,١
بذور معاملة بالكبتان	٧,٥	٩,٧	٢,٧	٣,١
بذور معاملة *G.virens* عزلة G1-3	١٥,١	١٧,٩	٤,٥	٥,٠
بذور معاملة *G.virens* عزلة G1-21	١١,٣	١٢,١	٣,٢	٣,٦
بذور معاملة *T.viride* عزلة TV-1	٨,٤	١٠,٩	٢,٧	٣,٥
بذور معاملة *P.cepacia* عزلة Bc-B	١١,٤	١٥,٠	٢,٩	٤,٢
بذور معاملة *P.cepacia* عزلة Bc-T	٦,١	٨,٩	١,٥	٢,٧
بذور معاملة *P.cepacia* عزلة Bc-1	٥,٧	١١,٤	١,٩	٣,٦

جدول رقم (٧٤) تأثير معاملة حبوب الذرة بالكائنات المضادة على نسبة النباتات السليمة فى التربة الملوثة بتركيبة من الفطريات الممرضة الثلاثة على حرارة ١٨° م و ٢٥° م بعد ١٨ يوم من الإنبات.

المعاملة	درجة الحرارة ١٨° م		درجة الحرارة ٢٥° م	
	٪ نباتات سليمة	دليل المرض	٪ نباتات سليمة	دليل المرض
بذور غير معاملة فى تربة ملوثة بالممرضات	٨٩,٠	٢,٥	٩٠	٢,٤
بذور غير معاملة فى تربة غير ملوثة	٣٠,٠	٤,٦	٤٠	٤,٥
بذور معاملة بالكبتان	٦٠,٠	٣,٦	٧٠	٣,٥
بذور معاملة بالفطر *G.virens* و G1-3	٩٠,٠	٢,٥	٩٠	٢,٥
بذور معاملة بالفطر *G.virens*، G1-21	٧٠,٠	٣,٥	٧٨	٣,٤
بذور معاملة بالفطر *T.viride*، Tv-1	٦٠,٠	٣,٦	٧٨	٣,٥
بذور معاملة بالبكتيريا Bc-B	٦٠,٠	٣,٤	٧٨,٥	٢,٦
بذور معاملة بالبكتيريا Bc-1	٣٨,٠	٤,٠	٥٨	٣,٥
بذور معاملة بالبكتيريا Bc-T	٣٩,٠	٣,٩	٥٧,٥	٣,٦

ملاحظات على الجدول:

دليل المرض يقسم من ١ – ٥ : حيث إن ١ = أكبر من ٢ ٪ نباتات سليمة . ٢ = ٣ – ٣٠ ٪ مرض بسيط. ٣ = ٣١ – ٦٠ ٪ مرض متوسط ٤ = ٦١ – ٩٠ ٪ مرض شديد. ٥ = أكبر من ٩١ ٪ نبات ميت. البكتيريا المستعملة *Pseudomona cepacia*.

المقاومة الحيوية لأمراض بادرات الذرة *Sh2*

مقـــدمة

إن معاملة البذور بالمبيدات الكيماوية، لمقاومة الكائنات الممرضة الكامنة فى البذور، قد نجحت نجاحاً كبيراً فيما مضى، وذلك لانخفاض نسبة المبيد المستعمل وانخفاض تأثيره على

obeikandl.com

البيئة، الا أن المقاومة الحيوية بدأت فى الاستعمال واستبعدت هذه الكيماويات، ومع ذلك فإن هناك اتجاهاً فى استعمال المبيدات الكيماوية مع عوامل المقاومة الحيوية فى مقاومة أمراض البذور. إن استعمال المبيدات الكيماوية مشتركة مع عوامل المقاومة الحيوية، يمكن أن يخفض من شدة التنافس من قبل الميكروبات الأخرى التى تتأثر بالمبيدات الكيماوية (ولا تتأثر بها عوامل المقاومة الحيوية)، وكذلك يمكن أن تزيد من كفاءة إنتاج المحصول بسبب التأثيرات المنشطة للنمو الناتجة من عامل المقاومة الحيوية. فمثلاً فإن زراعة النبات *Brassica napus* ومعاملة بذوره بالبكتيريا المتحملة للمبيدات الفطرية (مع استعمال المبيدات الفطرية) يزيد نسبة إنبات البادرات بالرغم من وجود الكائن الممرض *R.solani*، هذا يمكن أن يكون بسبب التأثيرات المشجعة للنمو من قبل البكتيريا ومقاومة المرض بالمبيدات الكيماوية.

إن أصناف الذرة ذات الجين *Sh2* ذات الاندوسبيرم المتجعد shrunken فيها معدل عال من نسبة السكر إلى النشا، وبالتالى فهى قابلة للإصابة بعديد من الكائنات الممرضة الكامنة فى البذور وفى التربة. وحيث إن الذرة تشبه البسلة فى كونها تفقد السكريات من البذور أثناء الانتفاخ والإنبات، وهذا يناسبه البرودة والظروف الرطبة، والتى أيضاً تناسب تكشف الكائنات الممرضة للبذور مثل الفطر *Pythium ultimum* الذى يسبب عفن حبوب الذرة السكرية. أما الفطر *Penicillium oxalicum* فإنه يسبب موت البادرات قبل وبعض ظهورها فوق سطح التربة، بالإضافة لمرض لفحة البادرات وتقزم البادرات الحديثة. يتواجد هذا الفطر فى التربة، ولكنه يحدث أكبر الأضرار عندما تتلوث به الحبوب خلال فترة النضج أو الحصاد.

مقاومة الأمراض:-

الأمراض المتسببة عن *Pythium ultimum* و *Penicilium oxalicum* يمكن أن تقاوم عن طريق استعمال المبيدات الفطرية Metaxayl بالنسبة للفطر الأول أو Imazalil بالنسبة للفطر الثانى. بالإضافة لذلك وجد أن البكتيريا *Pseudomonas aureofaciens* العزلة AB-254 لها فعالية ضد الفطر الأول، بينما العزلة *AB- 842* لها تأثير فعال ضد الفطر الثانى.

فى دراسة لمقارنة استعمال عوامل المقاومة الحيوية لوحدها أو مقترنة مع المبيدات الفطرية المذكورة سابقا، وجد أن معاملة البذور بالمبيد الفطرى Metalaxyl لمقاومة الفطر *P.ultimum*، بمعدلات تتراوح من ١٠٠ ٪ الى ٠,٠١ ٪ من الجرعة الموصى بها إما لوحده أو

متحدا مع البكتيريا المضادة المذكورة، العزلة *AB- 254*، فوجد فى التجارب الحقلية أن اتحاد المبيد الكيماوى مع عامل المقاومة الحيوية ليس له تأثير على كفاءة عامل المقاومة الحيوية فى تخفيض المرض. كذلك فإن استعمال المبيد الفطرى Imazalil كمعاملة بذور بتركيزات من ١ ٪ الى ١٠٠ ٪ من الجرعة الموصى بها متحداً مع عامل المقاومة الحيوية العزلة البكتيرية AB-842 ضد الفطر *Penicillium oxalicum*، لم يكن له أى تأثير على كفاءة عامل المقاومة الحيوية فى التجارب الحقلية. عند استعمال المبيد الفطرى Metalaxyl بتركيزات من صفر الى ١٠٠ ٪ من الجرعة الموصى بها مع البكتيريا العزلة *AB-254* كانت نسبة البادرات السليمة ٦٨ ٪، أما فى حالة استعمال البكتيريا لوحدها فكانت نسبة النباتات السليمة ٦٦ ٪. أما عند استعمال المبيد لوحده، فكانت نسبة البادرات السليمة من ٢١– ٧٥ ٪، وذلك حسب تركيز المبيد المستعمل. كانت النسبة نفسها مع المبيد الفطرى Imazalil والعزلة البكتيرية AB-842 ضد الفطر *Penicillium oxalicum*.

IV : قصب السكر

المقاومة الحيوية لمرض سمطة الورقة في قصب السكر

Biological Control of Leaf Scald of Sugarcane

مسبب المرض:-

مرض سمطة الورقة Leaf scald فى قصب السكر من الأمراض الخطيرة التى تهدد زراعة القصب، وتظهر فى معظم مناطق زراعة القصب العالمية، وتسبب خسائر كبيرة عندما تنتشر فى مناطق جديدة تزرع الأصناف القابلة للإصابة.

يتسبب المرض عن البكتيريا *Xanthomonas albilineans*. وهى بكتيريا تخترق الخشب وتسبب اصفراراً فى الاوراق المتكونة على النبات. تتميز هذه البكتيريا بأن لها طور سكون طويلاً، وهذا ما يجعل اكتشافها فى الحجر الزراعى من الأمور الصعبة. لا تقاوم هذه البكتيريا باستعمال الماء الساخن، الطريقة الروتينية التى تستعمل ضد الكائنات الممرضة الاخرى لقصب السكر. تنتقل هذه البكتيريا ميكانيكيا أثناء الحصاد، ويمكن أن تنتشر أيضاً طبيعيا، مثلا عن طريق الهواء الذى يحمل الإفرازات اللزجة، فى الظروف الهوائية الشديدة. المأوى الطبيعى لهذه البكتيريا هى الأعشاب ذات الورقة العريضة، وهذا يجعل من المستحيل استئصالها عمليا.

تفرز البكتيريا *X.albilineas* مجموعة من السموم النباتية تسمى Albicidins والتى توقف اختياريا تكاثر ال *DNA* فى البكتيريا والكلوروبلاست. التجارب التى أجريت على الطفرات وانعكاساتها فى انتشار المادة السامة، اظهرت أن هناك علاقة وثيقة بين إنتاج هذه المادة السامة، والمقدرة على إحداث الاصفرار فى قصب السكر. كما وجد بأن هذه المادة السامة (من ناحية صحية) لها كفاءة طبية كمضاد حيوى بسبب فعاليتها فى مجال واسع كمبيد بكتيرى. وبالتالى فإن سمية ال Albicidins يمكن أن تفيد الكائن الممرض عند تنافسه مع البكتيريات الأخرى فى ساحة العدوى (موقع الاصابة)، او عند اختراق نبات قصب السكر.

لقد أمكن حديثاً (١٩٩٤) عزل سلالة من البكتيريا *Pantoea dispersa* (الاسم المرادف *Erwinia herbicola*) عندها مقدرة على إزالة سمية ال Albicidins خارج

الخلايا. هذه السلالة المزيلة لسمية هذه المادة لا تنتج أى مضاد حيوى ضد البكتيريا *X.albilineans*، ولكنها تقريباً تسبب مقاومة حيوية كاملة لمرض سمطة الورقة فى أصناف قصب السكر شديدة القابلية للإصابة بالمرض، عن طريق إزالة سمية المادة Albicidins حال خروجها من الخلية البكتيرية (هذا ما وجده Zhang & Birch سنة ١٩٩٦). ونظراً لأن هذه المادة السامة تلعب دوراً مهماً فى مرضية البكتيريا *X.albilineans*، فإنه من المتوقع أن تكون ميكانيكية إزالة سمية المادة السامة، لا تعمل فقط لتسهيل مكان مناسب تستعمره البكتيريا *P.dispersa* فى المنافسة مع البكتيريا الممرضة فى ساحة العدوى، ولكن أيضا يحفظ النبات عن طريق إزالة تأثير السمية النباتية لمادة Albicidins الداخلة فى تكشف مرض سمطة الورقة فى قصب السكر. إن الجين *(albD)* يشفر encoding لإنزيم جديد مزيل لسمية ال Albicidins يسمى *(AlbD)*، قد تم استنساخه من البكتيريا *P.dispersa* سلالة *SB-1403* وعرف تتابع تركيبه، وهذا ما سهل لكثير من الباحثين اكتشاف ومعرفة فوائد إزالة سمية ال Albicidins فى مقاومة مرض سمطة الورقة فى قصب السكر.

مقاومة المرض

يمكن مقاومة مرض سمطة الورقة فى قصب السكر المتسبب عن البكتيريا *Xanthomonas albilineans*، وذلك باستخدام الهندسة الوراثية على البكتيريا *(Erwinia herbicola) Pantoea dispersa* للحصول على سلالات فيها جين (albD)، الذى يشفر للحصول على انزيم مزيل سمية الالبسدين وهو (AlbD) ولقد تم الحصول فعلياً على هذه السلالات مثل السلالة PM19 ، وهى ذات كفاءة عالية فى مقاومة المرض، وتخفض نسبة حدوث الإعراض بحوالى ٩٥ ٪، حتى من اللقاح الذى يحوى $^{٣}١٠$ ضعف خلايا الكائن الممرض سلالة *XA3* كما فى جدول رقم ٧٥. إن الطفرة التى لا تحوى AlbD من البكتيريا *P.dispersa* تكون أقل فعالية فى المقاومة الحيوية لهذا المرض؛ خاصة عندما تكون نسبة *Pantoea*: *Xanthomonas* $^{-٣}١٠$ والتى تؤدى الى ١٥ ٪ أقل فى كفاءة المقاومة الحيوية أو ٤ – ٥ أضعاف الأعراض، التى على شكل الخطوط المقلمة البيضاء من الأعراض التى تسببها السلالة الاصلية جدول رقم (٧٥).

جدول رقم (٧٥) : كفاءة المقاومة الحيوية للبكتيريا *Pantoea dispersa* SB 1403 rif عزلات PM18, PM1 و PM19 ضد مرض سمطة ورقة قصب السكر، المتسبب عن *X.albilineans* XH3.

المعاملة	عدد الخطوط المقلمة البيضاء	٪ كفاءة المقاومة الحيوية
ماء (كنترول)	صفر	--
سلالة XH3 تركيز ٤ x ١٠^{٨} CFU	١٢٩	صفر
XH3 x (٤x١٠^{٨}) + SB 1403 rif (٤ x ١٠^{٧}) CFU	١	٩٩,٢
XH3 (٤x١٠^{٨}) + SB 1403 rif (٤ x ١٠^{٦}) CFU	٣	٩٧,٧
XH3 (٤x١٠^{٨}) + SB 1403 rif (٤ x ١٠^{٥}) CFU	٥	٩٦,١
XH3 (٤x١٠^{٨}) + PM1 (٤ x ١٠^{٧}) CFU	٨	٩٣,٨
XH3 (٤x١٠^{٨}) + PM1 (٤ x ١٠^{٦}) CFU	٩	٩٣,٠
XH3 (٤x١٠^{٨}) + PM18 (٤ x ١٠^{٧}) CFU	٩	٩٣,٠
XH3 (٤x١٠^{٨}) + PM18 (٤ x ١٠^{٦}) CFU	١١	٩١,٥
XH3 (٤x١٠^{٨}) + PM19 (٤ x ١٠^{٧}) CFU	صفر	١٠٠
XH3 (٤x١٠^{٨}) + PM19 (٤ x ١٠^{٦}) CFU	٤	٩٦,٩

ملاحظات على الجدول:

كانت تعد الخيوط المقلمة البيضاء بعد ١٤ يوماً من حقن قصب السكر صنف *Q44*، والذى هو شديد القابلية للإصابة يحتوى اللقاح ٢٠٠ ميكولتر من الكائن الممرض. السلالة XH3 هى السلالة الممرضة من *X.albilineans*. أما CFU تعنى وحدة تكوين مستعمرات.

V : الأرز

١ - المقاومة الحيوية للفحة غمد الأرز بالبكتيريا

Biological Control of Rice Sheat Bight

مقـــدمة

إن الفطر *T.sasakii = (Thanetophorus cucumeris) = Rhizoctoniea solani*، من الفطريات الكامنة فى التربة، وهو كائن ممرض خطير وله مدى عائلى واسع. يصيب هذا الفطر كثيراً من أنواع المحاصيل، ومن ضمنها الأرز *Oryza sativa*. يتسبب مرض لفحة الغمد فى الرز Sheat bight (ShB) عن الفطر *R.solani*، ويسبب خسائر كبيرة فى المحصول فى كثير من مناطق زراعة الأرز، مثل الصين، كوريا، فيتنام، اليابان، امريكا والهند. إن التكاليف العالية للمقاومة الكيماوية وإمكانية التأثير على البيئة، شجع كثير من الباحثين لاكتشاف طريقة آمنة بديلة لمقاومة هذا المرض. وبالتالى فإن استعمال البكتيريا المضادة للفطر المسبب *ShB* تعتبر طريقة بديلة للمقاومة الكيماوية.

مقـاومة المـــرض:

يقاوم مرض لفحة الغمد فى الأرز المتسبب عن الفطر *R.solani* باستعمال أى من السلالتين: الأولى التابعة للبكتيريا *Pseudomonas putida* والثانية التابعة للبكتيريا *P.fluorescens* حيث تنخفض الإصابة بالمرض بنسبة ٦٨ ٪ و ٥٢ ٪ بالترتيب، أما المبيد الفطرى Validamycin فإنه يسبب خفض الإصابة بنسبة ٢٧ ٪.

يتبين من الجدول رقم (٧٦) أن السلالة *V1 - 4i* التابعة للبكتيريا *P.putida* تثبط نمو الفطر الممرض بحوالى ١٥ ملم فى طبق بترى، فى حين أنها تثبط نسبة الاصابة بالمرض فى الحقل بنسبة ٦٧,٦ ٪، أما السلالة *U113-b* التابعة للبكتيريا *P.fluorescens* فهى تثبط نمو الفطر فى المعمل بحوالى ٢٥ ملم فى طبق بترى، وتثبط المرض فى الحقل بنسبة ٥٠,٩ ٪. أما سلالة البكتيريا *Bacillus* فهى تثبط نمو الفطر فى المعمل ٥ ملم، وتثبط

الإصابة فى الحقل بنسبة ٣٦,٣٪. أما المبيد الفطرى Validamycin فهو يثبط المرض فى الحقل بنسبة ٢٦,٥٪، وتبين أيضاً أن إنزيم Chitinase ليس له دور فى تخفيض المرض.

تستعمل البكتيريا على شكل معلق تنقع فيه حبوب الأرز بنسبة 10^{7} وحدة تكوين مستمرات /مل ماء لمدة ١٢ ساعة، ثم بعد ذلك تزرع الحبوب فى اليوم التالى. عندما يصبح عمر البادرات ٢١ يوماً تنزع وتنقع جذورها فى معلق بكتيرى بنسبة ٠,٥٪ لمدة ساعة واحدة ثم تزرع فى الحقل، وبعد ٢٥ أو ٤٠ يوماً بعد النقل ترش النباتات بالمعلق البكتيرى بالنسبة نفسها السابقة.

أما بالنسبة للمبيد الفطرى، فإنه يستعمل بنسبة ٣٪ سواء فى نقع البذور او غمر الجذور أو رش النباتات.

جدول رقم (٧٦) : تثبيط نمو الفطر *R.solani* ونسبة مرض لفحة غمد الرز صنف IR50 بمعاملات من البكتيريا فى الحقل.

المعاملة	ملم تثبط نمو الفطر فى المعمل	٪ خفض المرض	إفراز إنزيم Chitinase
P.fluorescens U113B	٢٥	٥٢,١	صفر
P.fluorescens FO12	١١	٤٥,٨	صفر
P.fluorescens FOO6	٨	٥١,٨	٢
P.putida V14i	١٥	٦٧,٦	صفر
P.putida V20d	١٦	٣٥,٢	صفر
P.putida U113C	٢٥	٥٠,٩	صفر
Bacillus NF4 - 03	٥	٣٦,٣	٥
Validamycin	--	٢٦,٥	--
كنترول	--	صفر	--

٢- المقاومة الحيوية للفحة غمد الأرز بالفطر أسبرجلس

Biological Control of Rice Sheat Blight By Aspergillus

مقـــدمة

يعتبر الفطر *Aspergillus terreus* متطفلا على عديد من الفطريات من ضمنها الفطر *R.solani* مسبب مرض لفحة الغمد فى الأرز. ولقد وجد أن كفاءة هذا الفطر فى مقاومة مرض لفحة الغمد فى الأرز يعتمد على

(١) البيئة التى ينمو فيها الأرز.

(٢) درجة حموضة التربة.

(٣) عدد مرات الرش التى تطبق على نباتات الأرز.

مقاومة المرض

يستعمل الفطر *A.terreus* فى المقاومة الحيوية لمرض لفحة غمد الأرز، حيث يخفض المرض سواء كانت الزراعة فى الخريف أو فى الشتاء. تكون كفاءة الكائن المضاد فى أشدها عندما يكون نامياً على بيئة نخالة القمح مع البيت، بالمقارنة مع غيرها من البيئات. كذلك فإن الفطر المضاد يكون أكثر فاعلية فى تثبيط المرض، عندما يكون الأرز مزروعاً فى تربة ذات pH يتراوح من ٧,٢ – ٧,٢٨ بالمقارنة مع التربة ذات pH ٥,٢ – ٥,٥. كذلك فإن رش نباتات الأرز بمعلق جراثيم الفطر المضاد باستمرار أو قبل حقنها بالفطر الممرض لمدة ثلاثة أيام على الاجزاء الهوائية من الأرز يثبط حدوث المرض. ولقد وجد أن الفطر المضاد *A.terreus* يثبط نمو الفطر الممرض *R.solani* فى المعمل (جدولان رقم ٧٧، ٧٩).

أجريت تجربة كالآتى:

نقلت بادرات الأرز ذات عمر ٢٦ يوماً وزرعت فى أوعية ذات قطر ٢٥ سم تحتوى تربة تشبه تماماً تربة الحقل. حقنت أغمدة النباتات بأجسام حجرية للفطر *R.solani* ذات عمر ١٢ يوماً. أخذت جراثيم الفطر المضاد بتركيز ٤٧ x ١٠^{٦} جرثومة/مل النامية على بيئة *PDA*، ورشت على النباتات المحقونة بالكائن الممرض. يكون الرش إما بمعدل ثلاثة أيام قبل الحقن بالفطر الممرض أو بعد الحقن بمدة ثلاثة أيام، أو فى وقت الحقن نفسه بالكائن الممرض.

obeikandl.com

كانت النتائج كما هو فى جدول (رقم ٧٨)، حيث إن الإصابة بالفطر الممرض تنخفض على كل من الإشطاءات والأغمدة، سواء كانت الزراعة فى الخريف أو الشتاء، ويكون المرض منخفضاً بشكل معنوى فى الأراضى المتعادلة عنه فى الأراضى الحامضية. يكون انخفاض حجم البقع على غمد الاوراق أكبر، عند استعمال معلق جراثيم الفطر المضاد رشاً بمدة ثلاثة أيام قبل الحقن بالكائن الممرض، أكثر منه عند الرش باستمرار أو فى يوم حقن النباتات نفسه بالكائن الممرض. يكون أقل انخفاض للمرض عندما يحقن الكائن الممرض فى النبات بمدة ثلاثة أيام قبل الرش بمعلق جراثيم الفطر المضاد. يكون حجم البقع أكثر انخفاضا بعد ٤ أيام من الحقن بالكائن الممرض، ثم يزداد بتقدم الوقت.

جدول رقم (٧٧) : تكشف الأجسام الحجرية للفطر R.solani فى وجود الفطر A.terreus فى المعمل.

وقت حقن البيئة بالفطر الممرض والمضاد (البيئة ٢٥٠ غرام ذرة)	عدد الأجسام الجوية المتكونة	ملغ الوزن الرطب للأجسام الحجرية	ملغ الوزن الجاف للأجسام الحجرية
حقن الفطر الممرض خمسة أيام قبل الفطر المضاد	٣٤٤,٤	٤٦٠٤,٠	٣٥٩٠
حقن الفطر الممرض والمضاد فى الوقت نفسه	٢,٦	٣٥,٢	٢٧,٤
حقن الفطر الممرض خمسة أيام بعد الفطر المضاد	٠,٨	١٠,٦	٨,٤

أما فى جدول رقم ٧٩.. فإنه يظهر تأثير حموضة التربة ونوع البيئة الغذائية النامى عليها الفطر الممرض والمضاد على حدوث المرض. يبدو أن نسبة تكوين الإشطاءات فى الأراضى ذات الحموضة ٥,٥ أكثر منها فى حالة التربة ذات حموضة ٧,٢٨. أما إصابة الأغمدة فإنها تنخفض فى حموضة pH ٧,٢٨ عنها فى حموضة pH ٥,٥.

جدول رقم (٧٨) : مساحة البقع ملم٢ على غمد الورقة المحقونة بالكائن الممرض على فترات مختلفة فى وجود الكائن المضاد.

عدد الأيام بعد آخر معاملة	حقن الفطر الممرض أولا ثم المضاد بعد ٣ أيام	حقن الفطر الممرض والمضاد فى اليوم نفسه	حقن الكائن المضاد ثم بعد ٣ أيام الكائن الممرض
٤	٤٤,٢٤	٢٢,٥٢	٣,٥٥
١٠	٥٢,٥١	٤٢,٦٠	٢٢,٦٠
١٦	٥٨,٥٠	٦١,٢١	٤٣,٥٠
٢٢	٦٠,٤٠	٦٠,٧٠	٤٧,٦٨
٢٨	٧٨,٤٠	٧٠,٧٧	٥٥,٠٦
٤٦	٨١,١٩	٥٠,١٠	٤٥,٩٨
٧٦	٨٦,٧٧	٥٨,٣٨	٤٧,٦٨

جدول رقم (٧٩) : تأثير حموضة التربة، ونوع البيئة الغذائية النامى عليها الفطر الممرض والمضاد على حدوث المرض.

نوع البيئة النامية عليها الفطريات	٪ إصابة إشطاءات على حموضة		٪ إصابة أغمدة على حموضة	
	pH ٥,٥	pH ٧,٢٨	pH ٥,٥	pH ٧,٢٨
ذرة + رمل (الفطرين)	٤٣,٧	٣٤,٩	٢٦,٣	٢٢,٢
نخالة قمح + بيت (الفطرين)	٣٩,١	٢٩,٧	٢٤,٨	١٩,١
كنترول (الكائن الممرض لوحده على ذرة)	٨٤,٥	٤٦,٧	٣٨,٠	٢٨,١

٣ - المقاومة الحيوية لمرض لفحة الورقة في الأرز

Biological Control of Rice Leaf Bight Disease

مقـــدمة

كثير من مكروفلورا المجال الورقى فى أوراق الأرز ذات تأثير مضاد على البكتيريا المسببة للفحة الاوراق فى الأرز وهى *Xanthomonas oryzae pv. oryzae* ويرمز لها *XOo*. ولقد تبين فى كثير من الأبحاث أن كفاءة الكائنات المضادة تعتمد على طريقة الحقن المستعملة فى حقن الكائن المضاد.

مقـاومة المـــرض:

يمكن مقاومة مرض لفحة الورقة فى الأرز المتسبب عن XOo وذلك باستعمال البكتيريا *Erwinia herbicola*. هذه البكتيريا عالية الفعالية فى المقاومة الحيوية حتى ولو كانت متواجدة بمعدل منخفض (١:١). وتسبب خفضاً فى المرض يصل ٩٠٪ عندما تتواجد بنسبة (١:٥٠). كذلك فإن البكتيريا *Bacillus subtilis* تعطى نتيجة جيدة فى مقاومة المرض. أفضل طريقة حقن لاستعمال البكتيريا هى طريقة قص القمة Tip clipping، حيث تعطى أحسن مقاومة من الطرق الأخرى، سواء باستعمال القطنة الماسحة أو الراشح حقناً.

طريقـــة العمـــل:

يحضر معلق من الكائن الممرض بتركيز 10^{8} وحدة تكوين مستعمرات/مل وكذلك يحضر معلق من البكتيريا المضادة بتركيز 10^{6} وحدة تكوين مستعمرات/ مل. يحضر من هذين المعلقين مستحضرات تكون بنسبة ١:٥٠، ١:٢٥، ١:١٠، ١:٥، ١:٢,٥، ١:١، صفر:١ ثم تحقن هذه النسب فى نباتات الأرز ذات عمر ٢٥ يوما، وبعد ١٥ يوماً من الحقن تسجل النتيجة. طرق الحقن هى:

١ - الحقن بالراشح Direct infiltration.

٢ - طريقة القص Clipping method

٣ - طريقة القطنة الماسحة Swab method.

يتبين من الجدول رقم (٨٠) أن أفضل الكائنات المضادة هى البكتيريا *Erwinia her-bicola* ثم تليها البكتيريا *Bacillus subtilis* ثم بعد ذلك الخلايا الميتة من الكائن الممرض نفسه. كذلك يتبين أنه كلما انخفضت نسبة الكائن المضاد الى الكائن الممرض، زادت نسبة الإصابة بالمرض، وإن أفضل نسبة هى ١:٥٠ .

أما فى جدول رقم (٨١) فيتبين أن أفضل طريقة حقن هى طريقة قص القمة، ثم يليها بعد ذلك القطنة الماسحة (المبلولة) ثم طريقة الراشح، وذلك فى جميع الكائنات المضادة المستعملة.

جدول رقم (٨٠) : تأثير الكائنات المضادة بنسبة مختلفة على خفض مرض لفحة الورقة فى الأرز.

الكائن المضاد	٪ خفض المرض على نسب مختلفة من الكائن المضاد : الكائن الممرض					
	١:٥٠	١:٢٥	١:١٠	١:٥	٢,٥	١:١	صفر:١
Erwinia herbicola	٩١,٧	٨٧,٢	٨٢	٧٦,٨	٦٨,١	٦٠,٦	٠,٠٤
Bacillus subtilis	٨٥,٠	٧٩,١	٧٤,٦	٦٩,٣	٦٣,٥	٥٣,٢	٠,٠٤
Serratia sp.	٧٤,٢	٦٨,٣	٥٩,٢	٥٥,٧	٤٨,٣	٤٠,٣	٠,٠٤
Aspergillus oryzae	٦٤,٠	٥٧,٧	٥٤,٤	٤٨,٠	٤٠,٥	٣٢,٧	٠,٠٤
Aspergillus sp	٦٠,٨	٥٥,٠	٥١,٠	٤٦,٩	٣٥,٢	٢٨,١	٠,٠٤
خلايا ميتة من XOo	٧٨	٧٥,٢	٦٠,٥	٤٦,٣	٢٨,١	٢٠,٢	٠,٠٤

جدول رقم (٨١) : تأثير طريقة الحقن المستعملة مع الكائن المضاد على نسبة حدوث مرض لفحة الورقة فى الأرز

الكائن المضاد المستعمل	٪ خفض حدوث المرض باستعمال طرق الحقن المختلفة		
	قص القمة	القطنة المبللة	الراشح
B.subtilis	٤٨,٦	٣٤,٧	١٨,٥
E.herbicola	٥٠,٩	٣٦,٩	١٩,٥
Serratia sp	٤٨,٣	٣٢,٢	١٨,٣
A.oryzae	٤٥,٤	٣١,٠	١٧,٦
Aspergillus sp	٤٥,٤	٣٠,٥	١٧,٠
خلايا ميتة من XOo	٣٧,٩	٢٩,٢	١٥,٨
كنترول	٠,٠٤	٠,٠٤	صفر

٤- المقاومة الحيوية لمرض باكانا في الأرز

Bakanae Disease Biocontrol

مقـــدمة

يتسبب مرض باكانا فى الأرز عن الفطر *Fusarium moniliforme*. كان أول ظهور لهذا المرض فى اليابان ولكنه الآن واسع الانتشار فى مناطق جنوب شرق آسيا. العرض النموذجى والمميز لهذا المرض هو الاستطالة غير الطبيعية فى البادرات. الكائن الممرض له مدى عوائلى واسع وينتشر فى كثير من مناطق العالم. ومن المعروف أيضا أن الكائن الممرض يسبب مرض عفن الساق ولفحة الاوراق فى الذرة، وعفن الساق فى الذرة السورجوم، والتعفن الداخلى للتين وعفن تاج الأسبرجلس.

تظهر أعراض المرض على نباتات رالأرز على شكل استطالة البادرات، عفن القدم، وعفن البادرات، عقم وتلون البذور. يمكن أن يكون الكائن الممرض من الكائنات الممرضة

الكامنة فى التربة أو فى البذور. وبشكل عام فإن اللقاح الكامن فى البذور يمكن أن يكون المصدر الأساسى للإصابة الثانوية. تحت الظروف البيئية المناسبة، فإن النباتات المصابة فى بؤر مختلفة، تكون لديها الكفاءة فى إنتاج الكثير من الجراثيم الكونيدية، والتى فيما بعد تهاجم النباتات السليمة القريبة، والذى يؤدى الى خفض الانتاج.

الطرق الفنية فى زراعة الأرز فى اليابان قبل نقله الى الأرض المستديمة، أدى إلى ظهور كثير من الأمراض لم تكن موجودة من قبل. من ضمن هذه الأمراض مرض باكانا. من مشاكل مقاومة هذا المرض، هو صعوبة تمييز البادرات المصابة من قبل المزارعين، بسبب عدم وجود أعراض ظاهرة فى البادرات المصابة باستثناء الطول الزائد واللون الاصفر الباهت الخفيف فى مرحلة النقل. يمكن عزل الفطر حتى من الفلقات التى تظهر وكأنها سليمة. بادرات الأرز الناشئة من حبوب مصابة تميل لأن تظهر أعراض المرض مبكراً.

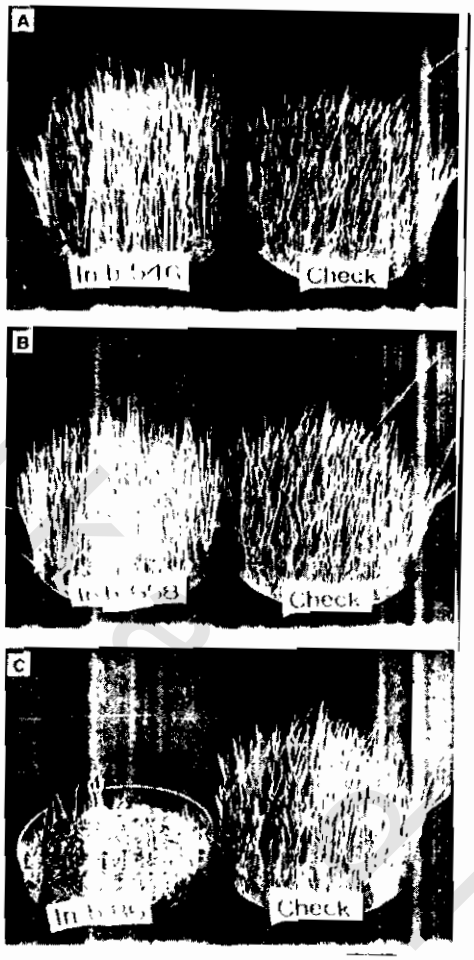
فى الوقت الحالى ١٩٩٦، فان أهم طريقة لمقاومة هذا المرض، هى معاملة البذور بالمبيدات الفطرية، إلا أن هناك سلالات من الفطر تظهر مقاومة ضد المبيدات الفطرية.

مقاومة المرض:

يقاوم مرض باكانا فى الأرز المتسبب عن الفطر *Fusarium moniliforme* باستعمال سلالات من البكتيريا لم تحدد بعد (لغاية ١٩٩٧)، ولكنها معزولة من ماء حقول الأرز أو منطقة الرايزوسفير فى جذور الأرز أو من نباتات الأرز المصابة بالمرض. لقد تم تحديد ١١٣ عزلة من بين ٤٤١ عزلة، تبين أنها مثبطة لنمو ميسيليوم الفطر، ولقد قسمت هذه البكتيريا المعزولة الى ثلاث مجموعات:

١ – مجموعة تشجع إنبات الحبوب ونمو البادرات وتجعلها قوية.
٢ – مجموعة ليس لها تأثير على نمو وإنبات البادرات.
٣ – مجموعة من البكتيريا ضارة وتثبط نمو البادرات (شكل ٢٦).

إن عملية بكترة حبوب الأرز المصابة طبيعيا، تخفض حدوث مرض بكانا فى مراقد البذور. لقد وجد أن غمر بذور الأرز صنف IR-58 فى معلق سلالات البكتيريا يخفض المرض بنسبة تتراوح من ٧١,٧ حتى ٩٦,٣٪ جدول رقم (٨٢).



شكل (٢٦) : تأثير العزلات المختلفة من البكتيريا المضادة على إنبات حبوب ونمو بادرات الأرز لمقاومة مرض باكانا.

A : تشجع إنبات البذور وتزيد قوة البادرات.

B : لا تؤثر على نمو وإنبات البادرات.

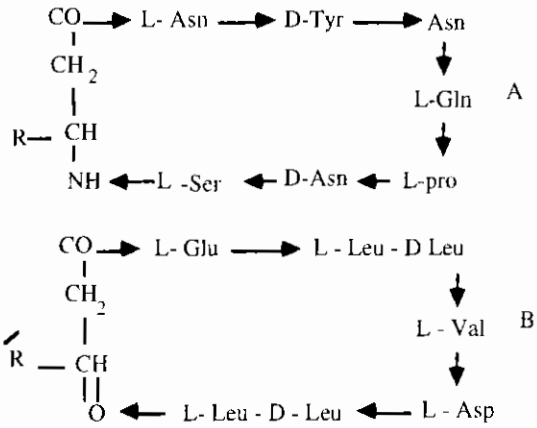
C : تأثير ضار على إنبات البذور ونمو البادرات.

الارقام تدل على السلالات.

جدول رقم (٨٢) : تأثير عملية البكترة على إصابة الأرز صنف IR - 58 بمرض باكانا، (البكتريا معزولة من حقول الأرز).

عزلة الفطر الممرض	٪ إصابة نتيجة استعمال عزلات البكتيريا		
	Inb - 714	Inb - 715	كنترول
F- 4	٢٨	٢٩,٦٧	٢٢,٦٧
F- 5	٣,٠٠	٦,٠٠	١٢
F- 11	٢,٦٧	٩,٦٧	٤,٠
F- 12	٣٨,٦٧	٢٥,٠٠	٢٤,٢٣
F- 14	٢٣,٢٣	٢٣	٣٢
F- 22	٢٠,٠٠	١٦,٦٧	٤٠,٠٠
F- 25	٨,٦٧	٤,٠٠	٩,٠٠

أما فى الصوبا الزجاجية فإن أفضل عزلة بكتيرية كانت Inb-527، وكان تخفيضها للمرض يتراوح من ٩١,٣ ٪ حتى ٩٨,٧ ٪، وذلك حسب سلالة الفطر الممرض المستعملة فى التجربة، تليها العزلة Inb- 442.

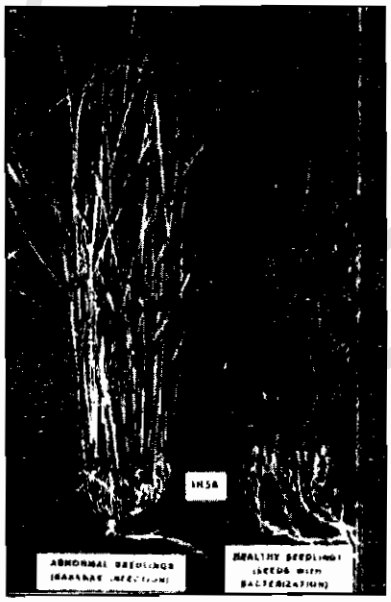


شكل (٢٧– أ) : تركيب المضاد الحيوى Iturin A فى جزء A، والمضاد Surfactin فى جزء B.

R = واحدة من هذه السلاسل. Ch3 (Ch2) 10، Ch3 Ch2 CH (CH3) $(CH2)_8$

$(CH3)_2$ CH $(CH2)_9$، $(CH3)_2$ CH $(CH2)_{10}$ أو CH3 (CH2) 12

R' = $(CH3)_2$ CH (CH2)9



شكل ٢٧ب، : بادرات الارز النامية من بذور معاملة البكتيريا المضادة. على اليمن بادرات سليمة غير مصابة بمرض بكانا. على اليسار بادرات مريضة غير معاملة بالبكتيريا ومصابة بمرض بكانا. الصنف IR-58

الفصل الثامن

المقاومة الحيوية لبعض أمراض الطماطم والبطاطس

أولا : الطماطم

١ - سقوط البادرات المتسبب عن رايزوكتونيا

مقـــــدمة

تصاب بادرات الطماطم بمرض السقوط المفاجىء Damping- off ويتسبب هذا المرض عن الفطر *Rhizoctonia solani* ويسبب خسائر كبيرة فى كثير من الزراعات. أجريت تجارب عديدة لمقاومة هذا المرض حيويا باستعمال أنواع مختلفة من البكتيريا. بعض أجناس هذه البكتيريا سالبة لصبغة غرام مثل *Psudomonas* وبعضها موجب لصبغة غرام مثل الجنس *Bacillus*، إلا أن البكتيريا *B.ubtilis* تعتبر أفضل الأجناس فى مقاومة هذا المرض.

تستعمل البكتيريا *B.subtilis* سلالة AB14، بنجاح فى مقاومة هذا المرض، وهى تنتج مضادات حيوية، أهمها IturinA ، Surfactin. المضاد الحيوى الأول عبارة عن سايكلوببتايد يحتوى على سبعة أجزاء من الأحماض الأمينية الإليفاتية، وهى: -L - Gln - L - Asn - D - Tyr - D- Asn- L- Ser- L- Asn - D - Pro، وجزء من حمض أمينى (شكل ٢٧ ، *A*). نشاط هذا المضاد الحيوى قوى جدا. أما المضاد الحيوى الثانى Surfactin فهو يحتوى B- hydroxy Fatty acid مرتبطة برابطة استر ببتايد، مع سبعة أجزاء من الأحماض الأمينية الفاسايكلك (L- Glu- L- Leu- D- Leu- L- Val - L- Asp - D - Leu- L- Leu-) (شكل ٢٧ ، B) هذا المضاد الحيوى ضعيف الفعالية، إلا أنه مطهر سطحى قوى.

مقـــاومة المـــرض:

تستعمل البكتيريا *Bacillus subtilis* سلالة RB14- C، والتى تظهر نشاطاً قوياً فى إنتاج المضادات الحيوية، ضد عديد من الكائنات الممرضة النباتية فى المعمل، عن طريق إنتاج المضاد الحيوى Surfactin و Iturin A. تتميز هذه البكتيريا بسهولة استعادتها من التربة، وأن الطفرة RB14 مقاومة ذاتيا لمادة الستربتومايسين، وبالتالى فهى تستعمل فى مقاومة مرض سقوط البادرات فى الطماطم.

كما يلاحظ فى الجدول رقم (٨٣) أن تأثير البكتيريا *B.subtilis* سلالة *RB14- C*. يلاحظ أنه فى الاوعية التى لم تلوث تربتها بالفطر R.solani. جميع بادرات الطماطم تنمو طبيعياً ولم تظهر عليها أية أعراض. أما فى الأوعية الملوثة تربتها بالفطر الممرض المذكور، فإن النسبة المئوية للنباتات المريضة تصل ٨٥,٢ ٪، وأن الوزن الجاف وطول الأفرع إنخفض بشكل معنوى. أما عند استعمال مزارع البكتيريا *B.subtilis* سلالة RB14 - C النامية فى المرق وخلطها مع التربة الملوثة بالفطر الممرض، فإن النسبة المئوية للنباتات المريضة تنخفض الى ١٦,٧ ٪، يزداد الوزن الجاف وطول الأفرع أيضا.

أمكن استعادة البكتيريا RB14 - C من التربة، بعد يوم واحد من استعمال المزارع. كان العدد الكلى للخلايا ٧,٧٦ x ١٠^٧ cuf/ غرام من التربة الجافة، كان عدد الجراثيم ١,٢٥ x ١٠^٨ *cfu*/ غرام تربة جافة. أما فى اليوم الرابع عشر، آخر أيام التجربة، كان عدد الخلايا ٤,٥٦ x ١٠^٧ *cfu* / غرام جافة، وعدد الجراثيم ٤,٧٨ x ١٠^٧ *cfu*/ غرام تربة جافة.

إن كمية المضاد الحيوى Iturin A و Surfactin المأخوذة من التربة ابتداء من اليوم الاول حتى اليوم الرابع عشر واضحة فى جدول رقم (٨٤). كانت هناك كميات معنوية مأخوذة من المادتين من التربة فى اليوم الرابع عشر، وقد كانت كمية الـ Iturin A تنخفض بسرعة اكثر من Surfactin ، على الرغم من أن وجودهما كان متساوياً فى اليوم الأول.

مما سبق يتبين لنا أن مرض سقوط البادرات المفاجىء فى الطماطم يمكن تثبيطه عند استعمال السلالة RB14- C وحقنها فى التربة. سواء كانت على شكل مزرعة مرق أو معلق خلوى أو خلايا نقية بمفردها. إن كون المضادات الحيوية تعزل ثانية من التربة، يؤكد أن هذه السلالة تفرز هذه المضادات فى التربة باستمرار.

وجـد أيضاً أن الجين *Ipa 14* والذى يتم كلونتـه من السلالة RB14 – والضـرورى لانتاج المضادين المذكورين، حصل له طفرة فى RB14 - C، وأن الطفرة RΔ1 نشأت منها. عند استعمال هذه الطفرة RΔ1 كان تأثيرها على خفض المريض قليلاً. اما الطفرة RΔ1 (pc 115) المنقولة عن الطفرة الاولى باستعمال البلازمد PC115 وتحـمل جين Ipa - I4 كانت شديدة الفعالية فى تثبيط المرض (جدول ٨٥).

من هذا يتبين أن المضادات الحيوية المذكورة سابقا والمنتجة من السلالة RB14 تلعب دوراً كبيراً فى تثبيط مرض سقوط البادرات فى الطماطم المتسبب عن الفطر *R.solani*، وأن جميع السلالات، RB14 - C و RΔ1 و RΔ1 (PC 115) تتواجد ويزداد عددها فى التربة.

جدول رقم (٨٣) : تأثير استعمال مزارع البكتيريا *B.subtilis* سلالة RB14- C على تثبيط مرض سقوط البادرات المفاجئ على نباتات الطماطم، المتسبب عن الفطر *R.solani* سلالة K-1 بعد ١٤ يوماً من الزراعة.

المعاملة		ملم طول النبات	ملغ الوزن الجاف للأفرع فى كل وعاء	٪ نباتات مريضة
R.solani	RB14 - C			
+	-	١٣,١	٧٧	٨٥,٢
+	مزرعة مرق	٧٧,٤	٥٠٢	١٦,٧
+	معلق خلوى	٦٦,٩	٥٧٤	٢٧,٨
+	مزرعة مرق منقاة بالة الطرد المركزية	٨٢,٤	٦٥١	١١,١
--	--	٨٣,١	٦٢٦	صفر

جدول رقم (٨٤) : تركيز المضادين الحيويين Iturin A و Surfactin المعزولين من التربة المعاملة بالبكتيريا مباشرة أو بعد ١٤ يوماً.

الشكل الذى تستعمل عليه السلالة RB14 - C	تركيز المضادات الحيوية ميكروغرام لكل غرام تربة جافة			
	بعد المعاملة بيوم واحد		بعد المعاملة ١٤ يوماً	
	Iturin A	Surfactin	Iturin A	Surfactin
مزرعة مرق	١٩,٤	١٨,١	٥,٣	١٨,١
مزرعة معلق خلوى	٠,٥٨	٤,٧٣	١.٧٨	٠.٨٩
مزرعة مرق منقاة بالطرد المركزى	١٩.٥	١٨,٠	١,٢٤	١٠.٧
كنترول	صفر	صفر	صفر	صفر

جدول (٨٥) : تأثير سلالة RB 14 - C ومشتقاتها على تثبيط مرض سقوط البادرات المفاجىء فى الطماطم المتسبب عن الفطر R.solani سلالة K-1 بعد ١٤ يوماً من الزراعة.

المعاملة		ملم طول الفرع	غرام وزن الأفرع الجاف لكل وعاء	٪ نباتات مريضة
R.solani	Bacterium			
+	--	١٧,٢	١٢,٩	٨٥,٢
+	RB14 - C	٧٠,٧	٥٦,٠	٢٤.١
+	RΔ1	٣٧,٢	٣١,٢	٦٤.٨
+	RΔ1 (pC115)	٦٩,٢	٥٣,٦	٢٩,٤
--	--	٩٥,٩	٧٠,٤	صفر

٢ - سقوط البادرات المتسبب عن بثيم

مقـــدمة

إن البكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* سلالة 7NSK2، هى عزلة من منطقة الرايزوسفير فى نبات الشعير، وهى تؤدى الى تحسين نمو كثير من المحاصيل. تحت ظروف انخفاض توفر الحديد، فإن هذه البكتيريا تنتج ثلاثة سايدروفورز. الأول حمض السلسيلك (TLC (Thin layer Chromatographic. الثانى Pyochelin وهو مشتق من حمض السليسلك، الثالث Pyoverdin. ولقد وجد أن هذه السلالة ذات فعالية فى تضادها ضد الفطر *Pythium* المسبب لمرض سقوط البادرات المفاجىء لنباتات الطماطم. لقد ثبت بأن مادة ال Pyoverdin لها دور مهم فى المقاومة الحيوية لهذا الفطر، إذا هاجم بادرات القطن سبب عفن جذور القمح. لقد ثبت من الأبحاث الكثيرة أن مادة ال Pyochelin التى تنتجها البكتيريا *P.aeruginosa* السلالة 7NSK2 لها تأثير فعال ضد الفطر *Pythium sp*.

مقـاومة المـــرض:

تستعمل البكتيريا *P.aeruginosa* السلالة 7NSK2 ضد الفطر *Pythium splendens* المسبب سقوط بادرات نباتات الطماطم. إن جميع المعاملات البكتيرية تخفض بشكل معنوى الإصابة المرضية قبل ظهور البادرة فوق سطح التربة (جدول ٨٦) بالمقارنة مع الكنترول. اما فى حالة غياب الفطر الممرض لا يوجد فرق معنوى بين المعاملات البكتيرية فى تأثيرها على نمو وظهور نباتات الطماطم فوق سطح التربة. لا يوجد فرق معنوى فى وقاية النباتات من الإصابة قبل الظهور فوق سطح التربة باستعمال السلالة الأصلية 7NSK2 (٨٣٪ نسبة الإنبات) والطفرة سالبة الإنتاج لمادة Pyoverdin (MPFM1)، نسبة الإنبات ٨٢٪، والطفرة KMPCH (K5) سالبة الإنتاج لكل من Pyoverdin و Pyochelin (نسبة الإنبات ٨٤٪)، والمضاف اليها صفة إنتاج ال Pyochelin. أما الطفرة KMPCH السالبة الإنتاج للمادتين المضادتين، فهى أيضا تخفض الإصابة بالفطر بثيم (نسبة الإنبات ٧٦٪) ولكنها أقل كفاءة من سلالة الأبوين.

يمكن الحصول على أفضل مقاومة ضد مرض السقوط المفاجئ لبادرات الطماطم، بعد ظهورها فوق سطح التربة، عن طريق معاملة بذور الطماطم بالسلالة البكتيرية المنتجة لمادة Pyochelin وهى 7NSK2 ثم بعد ذلك السلالات MPFM1 و KMPCH (K5) (جدول ٨٦). الحقن بهذه السلالات يزيد عدد النباتات السليمة بعد ٩ أيام من ظهورها فوق سطح التربة من ٣٤٪ فى الكنترول إلى أكثر من ٥٥٪. أما السلالة KMPCH، تتميز بانخفاض فى مقدرتها على تثبيط الإصابة المرضية (نسبة النباتات السليمة ٤٦٪ بعد ٩ أيام من الظهور فوق سطح التربة، بالمقارنة مع السلالة الأم والطفرات MPFM1 و KMPCH(K5). إن انخفاض وقاية بادرات الطماطم ضد الفطر *P.splendens* باستعمال الطفرة KMPCH، لايكون بسبب ضعف مقدرتها على استعمار الجذر، وإنما بسبب ضعف إنتاجها للمواد المثبطة المذكورة سابقا، فى منطقة الرايزوسفير، بعد ٩ أيام من ظهور البادرات فوق سطح التربة فى الاختبارات الحيوية.

يمكن القول باختصار أن إنتاج ال Pyoverdin ليس ضرورياً للمقاومة الحيوية فى السلالات المنتجة لمادة Pyochelin. أما السلالات التى لا تنتج أياً من ال Pyoverdin أو ال Pyochelin مثل KMPCH من *P.aeruginosa*، فان تأثيرها لا يقل عن الكنترول. من هذا يمكن القول بأن Pyochelin يكون المسئول عن القدرة على المقاومة الحيوية للبكتيريا *P.aeruginosa* 7NSK2، وكذلك لا يستبعد تأثير مادة السليسلك أسد والسايدروفورز.

جدول رقم ٨٦ : تأثير البكتيريا P.aeruginosa السلالة 7NSK2، ومشتقاتها السالبة الإنتاج لـ Pyoverdin و / او Pyochelin على بذور الطماطم، وسلامة البادرات بعد الظهور فوق سطح التربة بمدة ١ ، ٤ ، ٩ أيام فى المقاومة الحيوية للفطر P.splendens .

المعاملة	% بذور سليمة قبل الإنبات	% بادرات سليمة بعد الإنبات			الإنتاج الكلى من المضادات	
		١ يوم	٤ أيام	٩ أيام	Pyoverdin	Pyochelin
دون بكتيريا ودون فطر	٩٨	٩٨	٩٨	٩٨	--	--
فطر ممرض دون بكتيريا	٦١	٤٣	٣٨	٣٤	--	--
فطر ممرض + سلالة 7NSK2	٩٠	٧٨	٦٢	٥٨	+	+
فطر ممرض + سلالة MPFM1	٨٧	٨٢	٧٠	٥٢	--	+
فطر ممرض + سلالة KMPCH	٨٧	٧٦	٦٠	٤٦	--	--
فطر ممرض + سلالة KMPCH (K5)	٨٦	٨٠	٧٨	٦٢	--	+
فطر ممرض + سلالة SPCN1	٨٢	٧٥	٦٢	٥٠	--	+

٣ - المقاومة الحيوية لذبول الفيوزاريوم في الطماطم

Tomato Fusarium With Biocontrol

مقـــدمة

يتسبب ذبول الفيوزاريوم فى الطماطم من الكائن الممرض الفطر *Fusarium oxyspor-um f .sp. lycopersici* ويرمـز له FOL. يسبب المرض خسائر كبيرة فى النباتات فى الصوبا الزجاجية وفى الحقل. أفضل طرق المقاومة لهذا المرض، استعمال الأصناف المقاومة، إلا أنه فى السنوات الماضية ظهرت سلالات جديدة من الفطر تغلبت على المقاومة فى هذه الأصناف. كذلك فإن المقاومة الكيماوية لهذا المرض غير ذات جدوى، وبالتالى فإن المقاومة الحيوية أكثر جاذبية وطلبا وأفضل بديل للمقاومة الكيماوية لهذا المرض.

ذكر كثير من الباحثين، أنه يمكن تثبيط مرض ذبول الفيوزاريوم فى الطماطم باستعمال البكتيريا الوميضة والسلالات غير الممرضة من الفطر فيوزاريوم، وأن الطريقة التى تتغلب بها هذه السلالة على السلالة الممرضة، هى مقدرتها على التنافس على الغذاء المتوفر، إلا أنه وجد حديثاً أن إنتاج الإنزيمات المحللة lytic enzymes بواسطة الكائنات الدقيقة المضادة، يمكن أن تكون هى الطريقة الفعالة ضد الفطر الممرض المذكور سابقاً. كذلك ذكر بعض الباحثين أنه يمكن مقاومة هذا المرض، باستعمال سلالات بكتيرية منتجة لإنزيمات التحلل.

لقد ذكر Alfonso *et al* سنة ١٩٩٢ أن الفطريات *Mucor rouxii*، *Aspergillus nidulans* و *Penicillium oxalicum*، تفرز إنزيمات محللة، ولها القدرة على تحطيم جدر خلية الفطر المسبب ذبول الفيوزاريوم فى الطماطم سلالة رقم ٢ . وأن الإنزيمات المفرزة من قبل هذه الفطريات، هى:

1) Chitinases
2) Chitosanases
3) B, 1-3 glucanases
4) Galactanases
5) B - acetyl glucosaminidases

مقـــاومة المـــرض:

أجريت التجارب على الطماطم صنف Novy، وهو قابل للإصابة بالفطر FOL سلالة ٢، حيث أخذت بذور هذا الصنف وزرعت فى مخلوط من الرمل، البيت، Vermiculite بنسبة متساوية ووضعت فى مراقد كبيرة على حرارة ٢٠° م ورطوبة نسبية ٨٠ – ١٠٠ ٪ مع إضاءة ١٦ ساعة يوميا لمدة ٤ أسابيع. نقلت البادرات التى تحمل ٢ – ٤ ورقات حقيقية، وزرعت فى أوعية مقاس ٢٢ *x* ٢٢ *x* ٩ سم، فيها تربة معقمة، وأوعية أخرى فيها تربة غير معقمة. قبل زراعة البادرات فى هذه الأوعية كانت تغمر جذورها فى معلق بتركز ١ *x* ١٠^{٦} جرثومة ماكروكونيدية من *FOL* لكل مل لمدة ٣٠ دقيقة، ثم تغمر بعد ذلك جذور هذه الشتلات فى معلق جراثيم الكائنات المضادة، كل على حدة، هذه الكائنات هى:

1 - Penicillium oxalicum

2 - Aspergillus nidulans

3 - P.purpurogenum

4 - Trichoderma koningii, T.harzianum

بتركيز 10^9 جرثومة/ مل، ويستعمل Tween - 80 مع مواد غذائية (مستخلص الخميرة ومستخلص المولت ١,٪) ثم وضعت هذه الأوعية فى الصوبا الزجاجية على حرارة ١٥-٣٠° م. قدرت الشدة المرضية بعد ٣٥ يوماً من نقل الشتلات.

كانت نتيجة التجارب، أن الفطريات المضادة المستعملة، حطمت خلايا الفطر الممرض FOL فى العمل وخفضت اعداد المكروكونيديا فى التربة. كما تبين أن الفطر *Penicillium oxalicum* هو أكثر عوامل المقاومة الحيوية فعالية فى التأثير على الكائن الممرض، ويخفض من شدة المرض سواء فى التربة المعقمة أو غير المعقمة. فى التربة المعقمة فإن الفطر *P.oxalicum* يخفض المرض بنسبة تتراوح من ٢٧ - ٥٠٪ وذلك حسب شدة المرض. اما الفطر *A.nidulans* و *P.purpurogenum* لم يكن لهما تأثير فى مقاومة المرض، إلا عندما تكون شدة الفطر منخفضة، وفى التربة المعقمة، فكانت نسبه تخفيض المرض ٥٥٪ و ٤٥٪ للفطرية على الترتيب. إن الجدولين ٨٧، ٨٨ يبينان تأثير استعمال الكائنات المضادة على شدة المرض فى أوضاع مختلفة. أما المقاومة الحيوية باستعمال البكتيريا فهى مذكورة مع مقاومة الذبول البكتيرى فى الصفحات اللاحقة.

جدول رقم (٨٧) : تأثير استعمال الكائنات المضادة على شدة مرض ذبول الفيوزاريوم فى الطماطم فى التربة غير المعقمة والمعقمة، عند اضافة مواد غذائية ودون مواد غذائية.

الكائن المضاد المستعمل فى التجربة	٪ الشدة المرضية فى تربة معقمة	٪ الشدة المرضية فى تربة غير معقمة	
		دون مواد غذائية	مع مواد غذائية
Penicillium oxalicum	٥٧,٢٩	٦٠,٧	٤٢,٩
Aspergillus nidulans	٦٩,١٢	٤٦,٩	٦٤,٣
Penicillium purpurogenum	٧٣,٣٦	٥٠,٠٠	٦٢,٥
Trichoderma koningii	--	٦٧,٩	٧١,٤
Trichoderma harzianum	--	٥٧,١	٧١,٤
كنترول	٧٩,٠٥	٦٢,٠٠	٦٢,٠

جدول رقم (٨٨) : تجمعات الفطر FOL سلالة ٢ ، وحدة تكوين مستعمرات / غرام طازج من الجذور فى رايزوسفير نباتات الطماطم، فى تربة معقمة بعد ٣٥ يوماً من استعمال الفطريات المضادة فى التربة، فى وجود أوعدم وجود مواد غذائية.

الكائن المضاد المستعمل فى التجربة	بدون مواد غذائية		مع مواد غذائية	
	عدد التجمعات	٪ شدة المرضية	عدد التجمعات	٪ شدة المرضية
Penicillium oxalicum	--	٢٥,٠٠	١٤٤٥	٣٧,٥
Aspergillus nidulans	٩١٢	٣١,٢٥	٣٢٣٦	٢٥,٠٠
Penicillium purpurogenum	٥٠١	٣٧,٢٥	٥٤٩٥	٣١,٢٥
كنترول	٥١٣	٦٢,٠٠	١٦٢٢	٦٢,٠٠

استعمال السلالة غير الممرضة (Fo 47) من الفطر *F.oxysporum* في مقاومة ذبول فيوزاريوم الطماطم:

السلالة غير الممرضة من الفطر *F.oxysporum* وتعطى رقم *Fo 47*، قد عزلت من التربة المثبطة لذبول الفيوزاريوم، فى إحدى مناطق فرنسا، وتبين فعاليتها فى خفض شدة هذا المرض فى كثير من التجارب والأبحاث. ولقد أثبتت التجارب أن هذه السلالة عندها القدرة العالية على التنافس فى أماكن الإصابة بالفطر الممرض على سطح الجذر، وكذلك لها قدرة تنافسية عالية على المواد الغذائية (الكربون والحديد)، هذه القدرة التنافسية من أهم العوامل التى تتدخل فى وقاية النبات من الإصابة بالكائن الممرض. زيادة على ذلك فإن هذه السلالة تحث على خلق مقاومة موضعية، غالباً ما تكون مترافقة مع الاستجابة للحساسية الفائقة أو الحساسية الجهازية، عندها يصبح النبات كله محفوظاً ضد الحقن بالكائن الممرض. يمكن اكتشاف المقاومة الجهازية المستحثة عن طريق الحقن المنافس فى وقت متأخر من نمو النبات، وفى مواقع مختلفة من النبات. فى حالة ذبول الفيوزاريوم، فقد ذكر Mandeel & Baker سنة ١٩٩١ أن السلالة Fo 47 يمكن أن تحث على مقاومة مرض ذبول الفيوزاريوم فى الخيار، وكذلك فى الحمص. أما فى حالة نباتات الطماطم.. فإن المقاومة المستحثة لذبول الفيوزاريوم يمكن الحصول عليها من Formae speciales من الفطر الممرض *F.oxysporum* على نبات القرنفل.

فى التجارب المتعددة التى أجريت على السلالة *Fo 47*، وجد أنها تقى نباتات الطماطم من الإصابة بالكائن المسبب لمرض ذبول الفيوزاريوم، وذلك لأن حقن نباتات الطماطم بهذه السلالة، يؤدى إلى زيادة الإنزيمات فى النبات، مثل إنزيم Chitinase فى الساق، حيث ارتفع الى ١٢٦ ٪ وفى الورقة ١٣٧ ٪ وفى سوائل خلية الورقة ١٥٥ ٪، كذلك أدت إلى زيادة إنزيم B- 1,3 - glucanase بنسبة ٣١٥ ٪، وانزيم *B- 1,4* glucosidase بنسبة ١٦٨ ٪. هذا يؤكد مقدرة هذه السلالة على إحداث مقاومة فى نباتات الطماطم، وهذا ما ظهر بالفعل، حيث إن هذه السلالة تخفض الإصابة بمرض ذبول الفيوزاريوم فى الطماطم من ٨٦ ٪ فى الكنترول إلى ٢٣ ٪ فى النباتات المعاملة.

٤ - المقاومة الحيوية للذبول البكتيري في الطماطم

Tomato Bacterial Wilt Biocontrol

مقـــدمة

إن امراض الذبول البكتيرى فى الطماطم من أكثر الأمراض إنتشاراً، وتسبب خسائر كبيرة فى إنتاج الطماطم. يتسبب مرض الذبول البكتيرى فى الطماطم عن البكتيريا *Pseudomonas solanacearum*.

أجريت دراسات عديدة لمقاومة مرض الذبول الفيوزاريومى باستعمال البكتيريا، فوجد أن أفضل عامل مقاومة حيوية بكتيرية لهذا المرض هى *S.oliviaceoviridis = Streptomyces corchorusii*. أما أفضل عامل مقاومة حيوية لذبول الطماطم المتسبب عن بكتيريا، فهى البكتيريا *Streptomyces mutabilis* ذو الاسم المرادف *S.rochei*.

أثبتت الابحاث الكثيرة، أن بعض مبيدات الحشائش لها دور فى تثبيط كثير من الامراض النباتية الكامنة فى التربة. وجد أن أفضل مبيدات الحشائش التى تساعد فى مقاومة ذبول الفيوزاريوم والبكتيرى، هى: مبيد الحشائش Pendimethalin والمبيد الثانى Metribuzin. ولقد وجد فى الأبحاث التى قام بها El-Shanshoury ورفاقه سنة ١٩٩٦ أن مقاومة الكائنات الممرضة المسببة للذبول الفيوزاريومى والبكتيرى، تختلف حسب نوع وتركيز مبيد الحشائش، ونوع الكائن المضاد المستعمل فى المقاومة، وكذلك نوع التربة. وإن نتائج أبحاثهم أدت الى القول بأن مبيدات الحشائش و / أو الكائنات الدقيقة المضادة لا تثبط الكائنات الممرضة كلية. إلا أنه يمكن القول بأن وسيلة الدفاع الكيماوية الحيوية ضمن العائل تستحث فى وجود مبيد الحشائش ووجود الكائن الحى الدقيق المضاد. وكذلك يمكن القول بأن الاتحادات بين الميكروبات المضادة *S.corchorusii* و *S.mutabilis*، ومبيدات الحشائش التجارية Pendimethalin و Metribuzin تمثل طريقة مقاومة فعالة ضد الكائنين الممرضين. وهذا يؤدى الى الاستنتاج بأن الكائن المضاد *Streptomyces* sp. يمكن أن يخفض حدوث المرضين، عندما يتحد مع عوامل مقاومة كيماوية متوافقة.

مقـاومة المـــرض:

اعتماداً على المقدمة السابقة، فيمكن دراسة المقاومة الحيوية لهذين المرضين كالآتى:

أ: عزل الكائن الممرض

تعزل الكائنات الممرضة المسببة للذبول الفيوزاريومى والبكتيرى من نباتات الطماطم المصابة. ينمى الفطر على بيئة Czapek - Dox agar ويحفظ على حرارة ٢٣° م. أما البكتيريا فتنمى على آجار مغذى على حرارة ٣٠° م لمدة ٤٨ ساعة، تفصل الخلايا البكتيرية وتغسل فى ماء معقم وتخفف لتركيز ٢ x ١٠^٦ خلية / مل او تحفظ على شكل معلق فى ماء معقم على حرارة ٢١ °م.

أما الكائنات المضادة *S.corchorusi* و *S.mutabilis* تعزل من التربة.

أما مبيدات الحشائش:-

الاول: Pendimethalin وتركيبه N - (1-ethyl propyl) - 3,4. dimethyl - 2,6 di- nitrobenzene amine

الثانى : Metribuzin وتركيبه (4 - amino - 6 - (1,1 - dimethylethyl) -3 (methylthio) 1,2,4 - triazin - S - (4H) - one)

وان هذين المبيدين ليس لهما اى تأثير سام على نباتات الطماطم.

ب: الدراســات المعملـية:

تبين أن هناك تأثيراً مثبطاً لكل من *S.corchorusii* و *S.mutabilis* ضد فطر الذبول الفيوزاريومى، وكذلك فإن *S.mutabilis* ضد بكتيريا الذبول *P.solanacearum*. أما فى المزارع المضاف إليها مبيدات الحشائش المذكورة، فإن نمو الكائنات الممرضة قد تثبط، وأن درجة التثبيط هذه تتناسب مع تركيز مبيد الحشائش، إلا أن المبيد الأول أكثر فعالية من المبيد الثانى، وأن أفضل تثبيط كان على تركيز ٢ x ١٠^-٣ مول. أما الكائنات المضادة فإن نموها لم يتأثر بوجود مبيدات الحشائش، بل أحياناً أدى إلى زيادة النمو.

جـ- الدراســات الحقليــة:

تزرع بذور الطماطم المعقمة سطحيا فى أطباق بترى تحوى ورق نشاف به ٥ مل من كل مبيد من مبيدات الحشائش بتركيزات ٢ x ١٠ $^{-٤}$ ، و ٤ x ١٠ $^{-٤}$ ، ١ x ١٠ $^{-٣}$ و ٢ x ١٠ $^{-٣}$ مول. الجرعة الموصى بها للمبيد الاول ٢,٩ x ١٠ $^{-٤}$ مول والمبيد الثانى ٠,٥ x ١٠ $^{-٤}$ مول. تحفظ الأطباق فى الظلام لمدة خمسة أيام على حرارة ٢٥° م. بعد الإنبات تنقل البادرات إلى الأوعية ثم توضع الاوعية فى الصوبا الزجاجية، على رطوبة نسبية ٧٠ – ٨٠٪ وحرارة من ٢٤ – ٣٠° م وإضاءة ١٦ – ١٨ ساعة وظلام ٦ – ٨ ساعات. بعد ٤٠ يوماً من الإنبات، عندها، تحمل الشتلات حوالى ٦ أوراق، تحقن التربة بحوالى ٥ مل بتركيز ٢ x ١٠ ^{٦} جرثومة او خلية/مل من فطر الفيوزاريوم مسبب الذبول أو بكتيريا الذبول أو الفطر + البكتيريا، أو الفطر + الكائن المضاد، أو البكتيريا + الكائن المضاد، تبقى النباتات نامية لمدة ٣ أسابيع بعد الحقن.

د- النتائــــج:

من الجدولين رقم (٨٩، ٩٠) . يتبين لنا أن مبيد الحشائش الثانى، تأثيره يساوى ضعف تأثير المبيد الأول وكذلك فإن تأثير الكائن المضاد *S.mutabilis* تأثيره ضعف تأثير الكائن المضاد *S.corchorusii*

وكذلك يتبين من جدول (٩٠) أن عاملى المقاومة الحيوية عند وجودهما معاً مع وجود مسببات امراض الذبول الفيوزاريوم والبكتيريا، مع مبيدات الحشائش أدت إلى خفض الإصابة إلى صفر؛ مما يدل على كفاءة استعمال هذه المواد فى مقاومة ذبول الطماطم الفطرى والبكتيرى.

جدول رقم(٨٩) : تأثير التركيزات المختلفة من مبيدات الحشائش Pendimethalin وMetribuzin على مسببات الذبول الفيوزاريومى والبكتيرى وعوامل المقاومة الحيوية فى الطماطم.

تركيز مبيد الحشائش مول	الفطر الممرض فيوزاريوم		البكتيريا الممرضة بسيدوموناس		عامل المقاومة الحيوى الاول	عامل المقاومة الحيوى الثانى
	ملم قطر المزرعة	ملغ/١٠٠ مل مزرعة	عدد الخلايا/ملم ^{٢}١٠٨	ملغ/مل مزرعة	ملغ/١٠٠ مل مزرعة	ملغ/١٠٠ مل مزرعة
كنترول	٧٥	٩٥٠	٢,٨	٤٥,٠٠	٧٤٨	١٠٦٢
Pendimethalin						
٢ x ١٠$^{-٤}$	٥١	٦٣٠	٠,٣	٤٥,٠٠	٧٦٨	٨٤٠
٢,٩ x ١٠$^{-٤}$	٤٥	٦٠٠	٠,٢	١٥,٠٠	٧٧١	٨٥٦
٤ x ١٠$^{-٤}$	٤٢	٥٠٠	٠,٠٨	١٣,٥	٧٥٨	٦٩٨
١ x ١٠$^{-٣}$	٣٦	٣٨٠	٠,٠٤	٣,٨	٧٥٢	٥٧٠
٢ x ١٠$^{-٣}$	٢٥	٣٢٠	٠,٠٢	٢,٢٠	٧٤٩	٥٦٢
Metribuzin						
٠,٥ x ١٠$^{-٤}$	٧٠	٨٧٠	٢,٤٨	٣٥,٠	٧٤٣	١٠٤٦
٢ x ١٠$^{-٤}$	٦٤	٨٢٠	١,١٠	٢١,٠	٧٣٨	٤٩٨
٤ x ١٠$^{-٤}$	٥٤	٦٩٠	٠,٨٢	١٦,٠	٧٢٠	٧٢٨
١ x ١٠$^{-٣}$	٣٩	٤٨٠	٠,٦٨	١٢,٠	٦٢٦	٧٨٦
٢ x ١٠$^{-٣}$	٣٤	٤٢٠	٠,٣٢	٨,٥٠	٥٤٤	٩٥٦

ملاحظات على الجدول:

كان يحسب الوزن الطازج. عامل المقاومة الحيوية الاول *P.corchorusii* والثانى *P.mutabilis*.

obeikandl.com

جدول رقم (٩٠) : تأثير المعاملات المختلفة فى التربة غير المعقمة على أمراض الذبول الفطرى والبكتيرى فى الطماطم.

المعاملة	مبيد الحشائش لوحده		مبيد الحشائش + مسببات الامراض				مبيد الحشائش + كائنات ممرضة + كائنات مضادة			
	ملم طول الفرع	عدد الأوراق	دليل الذبول	ملم طول الفرع	عدد الأوراق	٪ استعمار لساق	دليل ذبول	ملم طول الفرع	عدد الأوراق	٪ استعمار لساق
تربة غير ملوثة بالممرضات	٢٤,٥	١٠	--	--	--	--	--	--	--	--
تربة ملوثة بالممرضات	٢٤,٥	١٠	٤.٧	٢٤	١٠	١٠٠	١,٧	٢٧,٥	١٠	٤٥,٥
المبيد الاول ١٠X١ $^{-٣}$ مول	٢٩,٧	١٢	٢,٩	١٢	٣	٥٨	صفر	٣٠,٥	١٢	٨,٣
المبيد الاول ١٠X٢ $^{-٣}$ مول	٢٤,٠	١٠	٢,٣	١٠	٢	٤١,٥	صفر	٢٥,٠	١٠	صفر
المبيد الثانى ١٠X١ $^{-٣}$ مول	٤٠	١٤	٢,٧	٣٠,٥	١٢	٧٥	٠,٣	٣٢,٠	١٢	٢٠,٨
المبيد الثانى ١٠X٢ $^{-٣}$ مول	٣٥	١٤	٢,٣	٢٩	٢	٥٠	صفر	٢٩,٥	١٢	٨,٣

ملاحظات على الجدول:

دليل الذبول من ١ – ٥ حيث أن ١ = تكون الإصابة من صفر الى ٢٤ ٪ والنبات سليم كل الأوراق خضراء. ٢ – الإصابة من ٢٥ – ٤٩ ٪ لأوراق السفلية صفراء. ٣ = الإصابة ٥٠ – ٧٤ ٪ تموت الأوراق السفلية وتصفر بعض الأوراق العلوية. ٤ = الإصابة ٧٥ – ٩٩ ٪ تموت الأوراق السفلية وتذبل الأوراق العلوية. القياس ٥ = الإصابة ١٠٠ ٪ ويموت النبات.

obeikandl.com

٥ - المقاومة الحيوية لذبول الفيرتسليم واللفحة المبكرة في الطماطم

Tomato Verticilium Wilt and Early Blight Biocontrol

مقـــدمة

تصاب الطماطم بمرض ذبول الفيرتسليم المتسبب عن الفطر *Verticillium albo-atrum* وكذلك باللفحة المبكرة المتسببة عن *Alternaria solani*.

لقد أثبتت الدراسات الحقلية أن غمر بذور الطماطم فى مرشحات مزارع الكائن المضاد *Streptomyces pulcher* أو *S.canescens*، الاسم المرادف *S. citreofluorescens* أو *S.albidoflavus* قبل الزراعة او حقن التربة بالكائنات المضادة بمدة سبعة أيام قبل الزراعة أو تغليف بذور الطماطم بجراثيم الكائن المضاد قبل الزراعة، كلها إجراءات تؤدى إلى خفض الإصابة بالمرض. إن عملية تغليف البذور، أفضل معاملة فعالة فى مقاومة جميع الكائنات الممرضة بعد ٤٢-٦٣ يوم من الزراعة. أما حقن التربة بالكائنات المضادة لمدة سبعة أيام قبل الزراعة تكون أقل فعالية فى مقاومة الكائنات الممرضة.

أما المعاملة التى تغمر فيها البذور فى مرشح مزرعة الكائنات المضادة كانت أقل المعاملات كفاءة فى مقاومة الأمراض. كذلك فإن التجارب أثبتت أن تغليف البذور بالكائن المضاد يؤدى إلى تحسين نمو الطماطم كما فى جدول (٩١).

٦ - المقاومة الحيوية لأمراض بوترايتس في الطماطم

Tomato Botrytis Diseases Biocontrol

اولا: بالفطـــريات:

مقـــدمة

تهاجم نباتات الطماطم فى كثير من الأحيان بالفطر *Botrytis cinerea*، حيث يهاجم الفطر الأزهار، الثمار، وجروح الساق الناتجة من العمليات الزراعية الروتينية، مثل إزالة الاوراق والفروع الجانبية، هذه العمليات ضرورية لبقاء النباتات حية أثناء الشتاء؛ لكى تحمل

جدول رقم (٩١) : تأثير المعاملات المختلفة من S.canescens على ذبول فيرتسليم الطماطم واللفحة المبكرة على فترات مختلفة من الزراعة.

المعاملة	% إنبات	% إصابة بعد عدد الأيام			عمق الجذر ملم بعد عدد الأيام			الوزن الجاف ملغ بعد		
		٢١ يوماً	٤٢ يوماً	٦٣ يوماً	٢١ يوماً	٤٢ يوماً	٦٣ يوماً	٢١ يوماً	٤٢ يوماً	٦٣ يوماً
أ – تربة غير ملوثة بالفطر الممرض	٩٦	صفر	صفر	صفر	١٥	٥٠	٦٥	٣٤	٢١٠	٨٤٥
ب – فطر الذبول مع:										
١ – تربة ملوثة كنترول.	٦٢	صفر	١٠,٧	١٠٠	١٥	٢٥	٦٠	٢٩	٨٣	٥٢٠
٢ – الكائن المضاد، غمر بذور.	٩٣	صفر	صفر	٥٧,١	١٥	٤٢	٦٧	٣١	١٣٤	٥٣٠
٣ – الكائن المضاد، حقناً فى التربة قبل الزراعة.	٩٤	صفر	صفر	صفر	١٤	٤٠	٦٨	٣٣	١٥٢	٨١٠
٤ – الكائن المضاد تغليف بذور.	٩٦	صفر	صفر	صفر	٣٠	٥٥	٧٠	٦٥	٣٣٤	١٠٧٠
جـ – فطر اللفحة المبكرة مع:										
١ – تربة ملوثة فقط (كنترول).	٩٣	صفر	١٧,٩	٨٦,٤	١٥	٥٠	٧٠	٢٥	١٦٥	٥٧٢
٢ – الكائن المضاد غمر بذور.	٩٥	صفر	٧,٧	٥٧,١	١٥	٤٠	٦٠	٢٤	١٤٥	٥٩٢
٣ – الكائن المضاد حقنا فى التربة.	٩٥	صفر	صفر	صفر	١٥	٥٥	٨٢	١٨,٥	١٦٧,٥	٥٧٨
٤ – الكائن المضاد تغليف بذور.	٩٦	صفر	صفر	صفر	١٢	٥١	٧٧	٢١	١٧٠	٨٩٧

obeikandl.com

ثماراً فى الربيع. إن تواجد الفطر بوتراتيس يمكن أن يخفض عن طريق درجات الحرارة المسائية (١٣ – ١٦° م)، وكذلك فى المناخ الأكثر برودة أو حيث ينمو المحصول فى الشتاء؛ إذ يتطلب حرارة مرتفعة، وفى كلتا الحالتين فإن الوقاية تكلف مبالغ كبيرة. أما الوقاية عن طريق المبيدات الكيماوية فإنها لا تعطى النتائج المطلوبة. ففى حالة استعمال Dicarboximide أو Benzimidazol. فقد ظهرت سلالات من الفطر مقاومة لهذه المبيدات (هذا ما وجده Beever *et al* سنة ١٩٨٩). كما أن أبحاث العالم Morgen سنة ١٩٨٥ أثبتت أن دهن الساق بالمبيدات الكيماوية، يمكن أن يكون أكثر فعالية من الرش فى مقاومة جروح الساق.

أما الطريقة الممكنة والبديلة للحرارة والمبيدات الفطرية، فهى استعمال الكائنات الحية الدقيقة المضادة لمقاومة الفطر بوتراتيس. فلقد وجد أن كلاً من *Cladosporium herbarum* و *Penicillium* sp. لها تأثير فعال ضد الكائن الممرض *Botrytis* على أزهار وثمار الطماطم، سواء كان تواجد هذه الفطريات طبيعيا أم بالحقن الصناعى. ولقد وجد أن الفطر *Trichoderma harzianum* (يباع تجاريا تحت اسم Trichodex) لوحده أو متحداً مع المبيدات الفطرية، يقاوم الفطر الممرض بكفاءة عالية فى الصوبا الزجاجية ويفضل استعمال المبيد الكيماوى Iprodione معه.

مقاومة المرض

يقاوم مرض بوتراتيس حيوياً فى الطماطم، باستعمال أحد الفطرين: الأول *Cladosporium cladosporioides* والثانى *Trichoderma harzianum*.

أجريت بعض التجارب، بحيث أحدثت جروحاً كبيرة على ساق نبات الطماطم عن طريق قطع القمم أو إزالة الأوراق، ثم بعد ذلك حقنت هذه الجروح بالكائن الممرض *Botrytis*، إما بالرش المباشر أو بوضع قطرة أو قطرتين (نقطة او نقطتين) من معلق الجراثيم على هذه الجروح. ثم بعد ذلك بحوالى ١ – ٢ ساعة تستعمل جراثيم الكائن المضاد إما رشا أو بالتنقيط بحيث يغطى الجرح جيدا بالمعلق الجرثومى. كذلك يمكن استعمال مقص الجيل Gel Secateur لاضافة الفطريات المضادة ثم بعد ذلك تحقن النباتات بالفطر الممرض.

يتبين من جدولى رقم (٩٢، ٩٣)، أن الكائنات المضادة قد خفضت نسبة الإصابة بالمرض، وتكون اكثر فعالية على درجات الحرارة العالية وأن العزلة *2-85* من الفطر

T.harzianum تكون فعالة ضد الفطر الممرض، أما السلالة *658* من الفطر المضاد الآخر *C.cladosporioides* فهى أكثر فعالية ضد المرض، وتعطى وقاية كاملة ضد الفطر الممرض. وبشكل عام فإن تأثير الفطر الثانى أكثر من الفطر الأول، ويعود ذلك لأن مقدرة الفطر الثانى على استعمار سطح الجروح عالية وتفوق مقدرة الفطر الأول. كذلك تظهر نتيجة التجارب التى يستعمل فيها المبيدات الفطرية، أن استعمال الكائنات المضادة فى المقاومة الحيوية، تعطى نتيجة أفضل من المبيدات الفطرية.

يكون أفضل تركيز لاستعمال الكائنات المضادة هو 10^8 جرثومة كونيدية/ مل من المعلق المائى.

جدول رقم (٩٢) : تأثير الكائنات المضادة والمبيدات الفطرية على إصابة نباتات الطماطم بالفطر بوتراتيس.

الكائن المضاد أو المبيد الفطرى المستعمل فى التجربة	التركيز جرثومة/مل	طريقة استعمال المبيد أو الكائن المضاد	
		تغطية نصف النبات	تغطية كاملة للنبات
		٪ متوسط الإصابة	٪ متوسط الإصابة
١ – بدون كائن ممرض وبدون مبيدات ولا كائنات مضادة (كنترول)	--	صفر	صفر
٢ – كائن ممرض وبدون مبيدات او كائنات مضادة	--	٩٣,٧	١٠٠,٠٠
٣ – كائن ممرض + *Trichoderma* (95-1)	10^8	٧٥	٣١,٢
٤ – كائن ممرض + *Trichoderma* (806)	10^8	٩٣,٧	٣١,٢
٥ – كائن ممرض + *Cladosporium* (656)	10^8	١٢,٥	صفر
٦ – كائن ممرض + *Cladosporium* (677)	10^8	١٢,٥	صفر
٧ – كائن ممرض + *Cladosporium* (712b)	10^8	٦,٢	٦,٢
٨ – كائن ممرض + مبيد Dichlofluanid	٢ غرام/ لتر ماء	٤٣,٧	١٢,٥
٩ – كائن ممرض + مبيد Iprodione	١ غرام/ لتر ماء	٦٨,٧	٦٢,٥
١٠ – كائن ممرض + مبيد Mancozeb	٢ غرام/ لتر ماء	٨٧,٥	٩٣,٧
١١ – كائن ممرض + مبيد Chlorothalonil	١٥٠ غرام/ لتر ماء	٦٨,٧	٧٦,٢

جدول رقم (٩٣) : تأثير الكائنات المضادة المستعملة بطريقة الجل على الإصابة بالفطر بوترايتس فى الطماطم.

توفر الكائن الممرض	الكائن المضاد	% الاصابة
+	--	١٠٠
+	*Trichoderma* 95 -1	٣٣,٣
+	*Trichoderma* 806	٥٠,٠
+	*Cladosporium* 677	صفر
+	*Cladosporium* 712b	صفر
+	*Cladosporium* 724	صفر

ثانيا : باستعمال خمائر مترممة

مقـــدمة :

تتعرض سطوح الأجزاء الهوائية من النبات، لتقلبات، الحرارة، الإشعاعات، الرطوبة النسبية، الرطوبة السطحية، الغازات وحركة الهواء. هذه الظروف يمكن أن تؤثر على مكروفلورا المحيط الورقى مباشرة، أو يمكن أن يكون لها تأثير غير مباشر عن طريق تحوير بعض صفات الورقة، مثل الوضع التمثيلى، الناحية المورفولوجية وبعض الصفات الكيماوية. إن تواجد المواد الغذائية على سطح النبات أمر ضرورى لنمو المترممات والكائنات الممرضة والتى يتكون لها نمو هيفى على سطح الأوراق قبل طور الاختراق. إن كمية ونوعية الغسيل (المحتوى كائنات دقيقة) المأخوذ من النباتات يتأثر بعمر النبات وبالظروف البيئية مثل، الحرارة، الضوء، التسميد، التلوث ورطوبة السطح. تعتبر الخميرة، البكتيريا والفطريات الخيطية من الساكنات الشائعة على سطوح النبات. لقد عرف أن الخميرة والبكتيريا لها قدرة على خفض إنبات الكونيديات عن طريق التنافس على المواد الغذائية. وعلى أية حال فإن إدخال الكائنات المضادة على المجال الورقى لمقاومة إصابة الأوراق بالكائنات الممرضة المتغذية على الأجزاء النباتية الميتة ذات تأثير متوسط الفعالية. ولقد ذكر Fokkema سنة ١٩٩١ أنه لكى نحصل على مقاومة حيوية فعالة، فإن الكائنات الحية الدقيقة المستعملة يجب

obeikandl.com

أن توطد نفسها فى المجال الورقى قبل وصول الكائن الممرض. ولكن فيما لو حدث وحصلت الإصابة، فيكون قد تأخر الكائن المضاد عن القيام بعمله المطلوب.

يتجرثم كثير من الرميات المتغذية على الأجزاء الميتة، على بقع الاصابة بالإضافة إلى المواد النباتية الميتة، وأن جراثيمها الكونيدية تشارك فى الأوبئة النباتية فى الموسم نفسه أو فى المواسم اللاحقة. إن الفطر *Botrytis* يتجرثم بشكل كبير على الأنسجة الميتة وعلى بقايا المحصول، وان الجراثيم الكونيدية من الدورات المتلاحقة من الإصابة تشارك فى تكشف الأوبئة فى المحصول.

لقد قام كل من Peng & Sutton سنة ١٩٩١ بإجراء أبحاث على الفطر *B.cinerea* على الفراولة. وكذلك قام العالم Fokkema سنة ١٩٩٢ بدراسة الفطر *B.aclada* على البصل، فوجدا أنه يمكن استعمال المقاومة الحيوية لخفض قدرة التجرثم فى الكائن، وبالتالى خفض أعداد الجراثيم الكونيدية التى تشارك فى إحداث الأوبئة النباتية.

مقاومة المرض:

يقاوم مرض العفن الرمادى Gray mold المتسبب عن الفطر *B.cinerea* فى الطماطم باستعمال عزلة من الخميرة *Rhodotorula glutinis* وهى تعزل من أوراق نبات البطاطس وعزلتين من الخميرة *Cryptococcus albidus* سلالة *(O53)* تعزل من أوراق نبات الشيلم Rye. لقد وجد أن هاتين العزلتين تقاوم المرض بكفاءة عاليةِ. تقوم هذه العزلات بخفض إنبات الجراثيم الكونيدية وشدة أعراض العفن على الأوراق المنفصلة عن النبات الأم، وتقاوم المرض أيضاً على جميع النبات، وتكون فعالة كما فى حالة استعمال الفطر المضاد *Tricho-derma harzianum* سلالة *T39*.

إن إضافة الجلوكوز ومادة KH2PO4 بنسبة ٠,٠٢ مول لكل من العزلات السابقة وإضافتها الى معلق الجراثيم الكونيدية للفطر *B.Cinerea* تشجع حدوث الإصابة المرضية، وذلك لأن عزلات الخمائر تكون فعالة على أقل مستوى من المغذيات، وكلها تتنافس على الغذاء مع الجراثيم الكونيدية للفطر الممرض. كذلك فإن المقاومة المستحثة فى العائل بواسطة خلايا الخميرة الميتة أو الحية يمكن أيضاً أن يكون لها دور فى المقاومة الحيوية. بعد خمسة أيام من استعمال الخمائر تصل كثافة تجمعات الخميرة إلى حوالى (٧ الى ٨) x ١٠^{٣} وحدة تكوين مستعمرات/ سم٢ من أوراق الطماطم السلطمة، وتصل إلى ٧,٥ – ٨,٥ ضعفاً فى

الأوراق المصابة. كذلك فإن توسع البقع وتجرثم الفطر الممرض ينخفض بعد تمكنه من الاوراق.

يجب أن يستعمل معلق جراثيم الخمائر او الفطر تريكوديرما *T.harzianum* سلالة *T39* إما وقت حقن الفطر الممرض *B.cinerea* أو مبكراً بمدة خمسة أيام. فى حالة الحقن المتأخر يجب تحضين النباتات المعاملة تحت ظروف جافة (جدول ٩٤) يبين تأثير استعمال المقاومة الحيوية ضد الفطر بتوراتيس على نباتات الطماطم.

عند استعمال عامل المقاومة الحيوية مباشرة مع الكائن الممرض، فإن شدة المرض تنخفض بشكل معنوى بنسبة ٧٥- ٨٠٪. أما استعمال عامل المقاومة الحيوية قبل الحقن بالكائن الممرض بمدة خمسة أيام يؤدى إلى خفض شدة المرض خفضاً معنوياً بنسبة ٤٨-٦٢٪. كما أن قدرة الكائن الممرض على التجرثم تنخفض بشكل معنوى باستعمال جميع عزلات الخميرة على درجة حرارة ١٠-١٨° م. اما على درجة ٥°م، فإن التجرثم ينخفض معنوياً فقط بالعزلة F131 و 053.

جدول رقم (٩٤) : تأثير استعمال بعض عوامل المقاومة الحيوية المحقونة مع محلول مغذى على إصابة نبات الطماطم بفطر B.cinerea.

المعاملة	% إنبات الجراثيم الكونيدية للفطر الممرض	شدة المرض على الاوراق المفصولة	شدة المرض على النبات
كنترول	٨٠	٣,٤	٢,٣
Rhodotorula glutinis F147	صفر	٠,٦	٠,٤
Cryptococcus albidus F131	٠,٩	١,٢	١,٦٥
C.albidus 053	صفر	٠,٢٣	١,٣٥
Trichoderma harzianum	٥,٢	١,١	٠,١٥

ملاحظات على الجدول:

دليل المرض كما ذكر فى الجداول السابقة.

٧ - المقاومة الحيوية للفحة الجنوبية في الطماطم

Tomato South Blight Biocontrol

مقـــدمة

يهاجم الفطر *Sclerotium rolfsii* عديدا من محاصيل الخضار مسببا خسائر كبيرة فى كل من الدخان، الفول السودانى، البطاطس، الفلفل، الجزر والطماطم. تعتبر الأجسام الحجرية للفطر هى وسيلة لنقل الفطر وحفظه أثناء موسم الشتاء وبقائه حياً لمدة طويلة فى الحقل. عندما تنبت الأجسام الحجرية بالقرب من سطح التربة، فإن الفطر يهاجم النباتات ويسبب لها الذبول أو تقرح الساق والذى يؤدى الى موت النبات. إجراءات وقاية النبات من هذا الفطر، تتطلب خفض أعداد الأجسام الحجرية التى يقضى عليها الفطر الشتاء فى التربة، أو منع حدوث الإصابة. كذلك فإن المقاومة الحيوية باستعمال بعض المركبات مثل PCNB، ميثايل بروماىد، كلوروبكرين، ميتاصوديوم يمكن أن تحد من المرض بسبب سميتها للأجسام الحجرية. وعلى أية حال.. فإن استعمال هذه الكيماويات قد أصبح محدوداً إلى حد ما وذلك بسبب أضرار الأثر المتبقى للمبيد فى المادة النباتية والتأثير على ثقب الأوزون. كذلك فإن الإجراءات الزراعية والتى تؤدى إلى دفن الأجسام الحجرية، مثل الحراثة العميقة، فانها تؤدى الى ابعاد الكائن الممرض من ساحة العدوى التى هى بالقرب من ساق النبات. لا يتوفر لغاية ١٩٩٥ عوائل مقاومة للكائن الممرض فى كثير من المحاصيل. بدأت المقاومة الحيوية لهذا المرض باستعمال كائنات مضادة لهذا الفطر، سواء كانت بكتيريا، فطراً أو اكتينومايستس، ومعظم هذه العوامل اكتشفت أثناء الدراسات المعملية، وقليل منها بالدراسات الحقلية. لقد وجد أن هناك عزلة من الفطر *Gliocladium virens*، وهو من فطريات التربة المترممة، يعزل من الاجسام الحجرية للفطر *Sclerotinia minor* لها فاعلية عالية فى المقاومة الحيوية للفطر مسبب المرض المذكور.

كذلك وجد أن حدوث المرض على بادرات الطماطم ينخفض كثيراً باستعمال عامل المقاومة الحيوية *G.virens* وتنخفض حيوية الأجسام الحجرية للفطر *S.rolfsii* الموجودة لغاية عمق ٣٠ سم فى التربة، وبالتالى فإن هذا العامل المضاد هو القطر المرشح للمقاومة الحيوية للكائن الممرض فى الحقل، ويستعمل تجارياً باسم Gliogard.

مقـاومة المـــرض:

يقاوم مرض اللفحة الجنوبية فى الطماطم المتسبب عن الفطر *S.rolfsii* باستعمال سلالتين من الفطر المضاد *Gliocladium virens*، السلالة الاولى GL-3 والسلالة الثانية GL- 21. يمكن ان تستعمل هاتين السلالتين إما مع حبيبات النخالة bran prill أو مع حبيبات الـ Vermiculite. إن عامل المقاومة الحيوية هذا، يخفض حدوث المرض معنوياً فى الطماطم من ٦٩ ٪ فى الكنترول الى ٢٧ ٪ باستعمال حبيبات النخالة مع العزلة GL-3. كما أن الخفض فى شدة الإصابة أقل منه فى حالة استعمال المبيد الفطرى PCNB (حوالى ١٥ ٪) مع أن هذا المبيد يخفض الإصابة بالفطر تخفيضاً معنوياً.

أما بالنسبة لإنتاج المحصول، فيكون إنتاج الطماطم أكثر فى المعاملات التى يستعمل فيها عامل المقاومة الحيوية على شكل حبيبات نخالة مع العزلة GL-3، فى حين أن المعاملة بالمبيد الفطرى PCNB تخفض نسبة الإصابة، ولا تؤثر على الإنتاج جدول رقم (٩٥).

جدول رقم (٩٤): تأثير استعمال عامل المقاومة الحيوية G.virens والمبيد الفطرى على حدوث مرض اللفحة الجنوبية فى الطماطم، وعلى كمية الانتاج فى الموسم.

طرق معاملة التربة	٪ حدوث المرض		كغم الانتاج الكلى / وحدة مساحة	
	الموسم الأول	الموسم الثانى	الموسم الأول	الموسم الثانى
تربة ملوثة بالفطر الممرض طبيعيا	٤٧,٥	٥٠,٧	٢٤,٥	٣٠,٨
اضافة الفطر الممرض للتربة	٦٩,٢	٥١,٥	١٨,٦	٢٠,–
الكائن الممرض + كرات نخالة فقط	٣٥,٨	٧٥,٢	٢٨,٨	١٨,٠٠
الكائن الممرض + GL-3 بالنخالة	٢٦,٧	٤١,٥	٣٣,٥	٢٦,٨
الكائن الممرض + GL-21 بالنخالة	٤٨,٣	٥٦,٨	١٧,–	٢٤,٠٠
الكائن الممرض + حبيبات فيرماكيوليت	٤٦,٧	٦٠,٢	٢٢,٣	٢٥,٣
الكائن الممرض + GL-3 فى الفيرماكيوليت	٤٥,٨	٧٣,٨	٢٣,٣	٢١,٦
الكائن الممرض + GL-21 فى الفيرماكيوليت	٦٠,٨	٥٩,٢	٢٠,٥	٢٦,٢
الكائن الممرض + PCNB	١٥	١٢,٥	٢٣,٥	٢٤,٩
الكائن الممرض + Flutolanil	٢٩,٢	٧,٨	٢٠,٣	٢٧,٦

ثانيا : البطاطس

١- المقاومة الحيوية اللفحة المتأخرة فى البطاطس

Potato Late Blight Disease Biocontrol

مقـــدمة:

هناك دراسات أجريت على البكتيريا *Xenorhabdus bovienii*، سالبة لصبغة غرام وتتبع عائلة Enterobacteriaceae، هذه البكتيريا تعيش على شكل تبادل منفعة مترافقة مع النيماتودا الممرضة للحشرات فى الجنس *Steinernema*، وتحمل فى أمعاء الأجيال النشيطة الفعالة من النيماتودا *(IJ)*. تخترق الاجيال النشيطة الحشرة العائل، وتنطلق البكتيريا من أمعاء النيماتودا فى دم الحشرة وتجدلها بيئة غذائية حيث تتغذى وتقتل العائل. هذا المعقد النيماتودى البكتيرى، قد تطور تجارياً كعامل مقاومة حيوية ضد الآفات الحشرية.

إن الطبيعة المضادة للفطريات التى تتصف بها بعض منتجات الميتابولزم لهذه البكتيريا، قد عرفت تماماً وذلك سنة ١٩٩٥ من قبل *Li et al*، وحدد مجال فعالية هذه المواد المضادة ضد الفطريات. لقد اختبرت هذه المضادات على ٣٢ نوعاً من الفطريات، من بينها:

1 - Botrytis cinerea
2 - Ceratocystis ulmi
3 - C.dryocoetidis
4 - Mucor piriformis
5 - Pythium coloratum
6 - P.ultimum
7 - Trichoderma pseudokingii

ولقد تثبطت نمو هذه الفطريات كلية. لقد تم عزل وتعريف نوعين مهمين من هذه المضادات الحيوية، وهما Indoles ومركب Dithiolopyrrolones من البكتيريا *X.bovienii*. وقد تبين أن هذين المضادين الحيويين لهما تأثير مثبط على نمو *B.cinerea*، *Pythium ul-*

Phytophthora infestans ، *timum* وبناء على ذلك يمكن استعمال هذه البكتيريا فى المقاومة الحيوية فى الحقل.

مقاومة المرض:

يمكن مقاومة مرض اللفحة المتأخرة فى البطاطس المتسببة عن الفطر *Phytophthora infestans* باستعمال مستخلصات مزارع البكتيريا *Xenorhabdus bovienii* سلالة A2 ذات عمر ٩٦ ساعة، النامية على بيئة مرق فوق الصويا. يتم هذا الاستخلاص باستعمال ايثايل اسيتيت. يعتبر هذا المستخلص مبيداً فطرياً حيوياً لفطر اللفحة المتأخرة بتركيز ٠,١ ملغ/ مل على بيئة الشوفان – آجار. عند استعمال هذا المستخلص على أوراق نباتات البطاطس ذات عمر ٤ – ٥ أسابيع، للوقاية، رشا بتركيز ٥ – ١٠ ملغ/ مل، وجد أن تركيز ١٠ ملغ/ مل يثبط تكشف اللفحة بعد سبعة ايام من الرش وتصبح الإصابة ٢ ٪ بدلاً من ١٠٠ ٪ فى الكنترول، (فى التجربة كانت تحقن النباتات بفطر الفحة بعد رش المستخلص البكتيرى بحوالى ٢٤ ساعة). اما النباتات المعاملة بتركيز ٥ ملغ/ مل فتظهر عليها الاصابة بنسبة ٢٢ ٪.

هناك أعراض جانبية لاستعمال هذا المستخلص، حيث وجد أن أعراض التسمم تظهر على وريقات نبات البطاطس، وتزداد نسبة الأوراق التى تظهر عليها أعراض السمية بازدياد التركيز المستعمل. تظهر أولى الأعراض على النبات إذا رش بتركيز يزيد عن تركيز ١٠ ملغ/ مل، اما أقل من هذا التركيز فلا يسبب ظهور تلك الأعراض. يكون هذا المستخلص مبيداً فطرياً حيوياً إذا استعمل بتركيز ٠,١ – ١ ملغ/ مل ويثبط كلية نمو الفطر (جدول رقم ٩٥)، حيث يحدث تحلل للميسيليوم تماماً ويحاط بالإفرازات. وعلى العكس من ذلك يكون هذا المستخلص موقفاً للنمو الفطرى Fungistatic على الفطريات *P.ultimum* و *R.solni* إذا استعمل بتركيز ١ ملغ/ مل.

لقد تم عزل أربعة مشتقات اندولية وسبعة مشتقات من ال Xenorhabdins من المركبات العضوية المأخوذة من المزرعة العائمة للبكتيريا *X.bovienii*. زيادة على ذلك فإن هناك ثلاثة من الأربعة مشتقات الإندولية المعزولة تثبط نمو ميسليوم فطر اللفحة المتأخرة على أطباق بترى تركيز ٥٠ – ١٠٠ ميكوغرام /مل (هذا ما وجده له Li *et al* سنة ١٩٩٥)

إن مركبات ال Xenorhabdins تحتوى حلقة Pyrrothine، وان جميع المركبات التى تحتوى هذه الحلقة، تكون ذات كفاءة عالية ضد عديد من الفطريات الممرضة، وبالتالى فإن مفعول مشتقات الإندولين مع مركبات ال Xenorhabdins مجتمعة تكون ذات تأثير كبير ضد فطر اللفحة المتأخرة، جدول ٩٧ .

جدول رقم (٩٦) : تأثير المركبات العضوية المعزولة من مزرعة البكتيريا *X.bovienii* على نمو الفطريات المختلفة فى أطباق بترى.

المعاملة	سم قطر مزرعة النمو الفطرى على أطباق بترى		
	P.infestans	*R.solani*	*Pythium ultimum*
ماء مقطر (كنترول)	٨,٥	٨	٨,٧
محلول توين ٢٠	٧,٨	٨,٤	٨,٧
ميثاليكسايل ١, ملغ/ مل	١,٨	٤	صفر
كلوروثانونايل ١, ملغ/ مل	صفر	صفر	٨,٧
مستخلص البكتيريا ٠,٠١ ملغ /مل	٥,٩	٣,٨	٧,٨
مستخلص البكيريا ٠,١ ملغ / مل	صفر	٢	٣,٧
مستخلص البكيريا ١,٠ ملغ / مل	صفر	صفر	صفر

جدول رقم (٩٧) : نسبة اصابة وريقات البطاطس، المحقونة، وهى ذات عمر ٤ – ٥ أسابيع بفطر اللفحة المتأخرة بعد معاملتها بمدة ثمانية أيام بتركيزات من مستخلص مزرعة البكتيريا *X.bovienii*.

المعاملة	٪ إصابة الوريقات بالمرض
ماء مقطر كنترول	١٠٠
توين ٢٠	١٩٩
مستخلص تركيز ٥ ملغ/ مل	٢٢
مستخلص تركيز ١٠ ملغ/مل	٢
مادة كلورو تالونايل ١٠ غم/مل	صفر

٢ - مقاومة العفن الجاف في البطاطس

Potato Dry Rot Disease Biocontrol

مقـــدمة

كان أول عزل للسلالة البكتيرية B37W (NRRLB- 1488) من البكتيريا *Pseudo-monas cepacia* سنة ١٩٩١، بواسطة Schisler *et al* ، وذلك أثناء دراستهم لزيادة كفاءة الفطر *Colletotrichum truncatum* كمبيد حيوى للحشائش وخاصة حشيشة *Sesbania ex-altata*. ولقد وجد الباحثون أن هذه السلالة تثبط نمو كونيديات الفطر بنسبة ٧٥ ٪ وتوقف كلية تكوين الممصات. هذه الحقيقة ترافقت مع كون هذه السلالة، كائناً دقيقاً ينمو على أسطح الأوراق، وله قدرة تنافسية عالية، جعلت هذه السلالة مجال دراسة لاستعمالها فى المقاومة الحيوية للفطر *Fusarium sambucinum*، مسبب مرض العفن الجاف فى البطاطس. أظهرت التجارب الاولية أن هذه السلالة لها كفاءة عالية فى مقاومة المرض، أو حفظ البطاطس من الإصابة بالعفن الجاف، وتخفض مساحة البقع بنسبة ٩٢ ٪ بالمقارنة مع الكنترول.

من الدراسات المستفيضة على هذه السلالة تبين أنها تتبع البكتيريا *Pseudomonas cepacia* ، وانها تعتمد فى كفاءتها فى المقاومة الحيوية على إفراز المضاد الحيوى Pyrrol-nitrin، حيث إن هذه المادة لها تأثير قوى ضد الفطر المسبب لمرض العفن الجاف.

مقـــاومة المـــرض:

يتسبب مرض العفن الجاف فى البطاطس عن الفطر *Fusarium sambucinum* سلالة *R - 6380* ويمكن مقاومته حيوياً باستعمال البكتيريا *Pseudomonas cepacia* سلالة *B37W*، حيث إن لهذه السلالة قدرة على تثبيط نمو الفطر فى المزرعة فى المعمل. ترجع القدرة التثبيطية لهذه البكتيريا ضد الفطر الممرض، نتيجة إفراز مضاد حيوى يسمى Pyrrol-nitrin وهو قريب الشبه من المركب 2-chloropyrrolnitrin وتركيبه الكيماوى C10 H6 Cl2 N2 O2 (شكل رقم *1,B* فى الفصل الأول من الكتاب). وأن هذه السلالة لها قدرة عالية على تثبيط النمو الفطرى على البيئة الغذائية (جدول ٩٨).

بالإضافة لهذا المركب، هناك مضادات حيوية أخرى تفرز من قبل هذه السلالة، مثل Phenylpyrroles، ومواد استيلينية مضادة للبكتيريا مثل مركب Cepacin A و Cepacin B والمضاد الفطرى Pseudanes ومركبات مضادة فطرية ببتيدية مثل Altericidin A,B,C وBacteriocins، سايدروفورز، ولكن الدور الأساسى لفعل هذه البكتيريا يرجع لمادة Pyrrol-nitrin (هذا لم يتأكد لغاية ١٩٩٥).

فى إحدى التجارب عندما حقنت بعض جروح البطاطس بالبكتيريا *P.cepacia* سلالة *B37W*، وحقنت الجروح الاخرى بمخلوط يحتوى البكتيريا والفطر المسبب للمرض، وجد أن البكتيريا يزداد تركيزها فى الجروح من ٢,٧٥ x ١٠^{٥} الى ١,٧٢ x ١٠^{٦} وحدة تكوين مستعمرات، وفى التجربة الثانية تصل ١,٢ x ١٠^{٦} وحدة تكوين مستعمرات، وهذا يدل على أن السلالة المذكورة قادرة على استعمار جروح درنات البطاطس.

يمكن القول بأن هذه السلالة البكتيرية عندها القدرة على أن تقاوم مرض العفن الجاف فى البطاطس عن طريقين، الطريق الأول إفراز مضادات حيوية تؤثر على الفطر الممرض وتثبط نموه، والطريق الثانى هو استعمار جروح درنات البطاطس؛ بحيث لا تسمح لاى كائن ممرض أن يخترق هذه الجروح ويسبب مرضاً.

لغاية سنة ١٩٩٧ لم يطبق استعمال هذه البكتيريا فى المقاومة الحيوية لمرض العفن الجاف فى البطاطس على نطاق تجارى فى الحقل، ولكن من الممكن أن يتم ذلك فى الوقت القريب بسهولة إن شاء الله.

جدول رقم (٩٨) : نمو الفطر المسبب للعفن الجاف فى البطاطس *F.sambucinum* سلالة R- 6380 فى غياب وفى وجود *P.cepacia* سلالة B37W على بيئات مختلفة.

نوع البيئة	ملم نمو المستعمرات الفطرية بعد مدة			
	٣ أيام		٧ أيام	
	مع بكتيريا مضادة	بدون بكتيريا مضادة	مع بكتيريا مضادة	بدون بكتيريا مضادة
بطاطس دكستروز اجار	٢٤	٢٦	٣٠	٤٣
سابيروويد مالتوز آجار	٢٣	٢٧	٣٠	٤٤
ترنيك فول صويا آجار	٢٤	٣٣	٢٧	٤٤

٣- المقاومة الحيوية لرايزوكتونيا البطاطس

Potato Rhizoctonia Disease Biocontrol

مقـــدمة

يعتبر الفطر *Rhizoctonia solani* سلالة *(AG-3)* فطراً ممرضاً خطيراً على البطاطس خاصة النموات الحديثة التى تظهر من تقاوى البطاطس، والتى يمكن أن تصاب بشدة بهذا المرض. عندما تزرع البطاطس فى الفترة التى تكون فيها درجة الحرارة من ٨-١٣°م، تكون إصابة البطاطس فى هذه الفترة على أشدها. يمكن تثبيط نمو الفطر *R.solani* بالكائنات المضادة الفطرية أو بحيوانات التربة المتغذية على الفطريات. تحتاج معظم الفطريات المضادة للفطر *R.solani* إلى تربة ذات درجة حرارة مرتفعة نسبيا (اكبر من ١٨°م) لكى تكون فعالة. كذلك بالنسبة للرطوبة، فلقد وجد أن هذا الفطر يكون على أشده فى إحداث مرض تقرح الساق فى البطاطس تحت الظروف الجافة. تكون أعلى درجات الإصابة للنموات الحديثة فى البطاطس عندما تكون محتويات التربة من الرطوبة ٤٥ ٪ من قدرة التربة على

الاحتفاظ بالماء. ولكن يبدو أن النيماتودا المضادة للفطر *Aphelenchus avenea* تكون غير نشيطة خلال الفترات الجافة فى التربة، حيث إنها تلتف وتدخل فى فترة سكون جافة. كذلك فان رطوبة التربة المنخفضة تسبب الهجرة والتكيف البيئى الحيوى للنيماتودا ولا توجد أدلة على نشاطها تحت الظروف الجافة.

إن الفطر *Verticillium biguttatum* من أهم الكائنات المضادة للفطر *R.solani* وهو يتطلب درجة حرارة عالية فى التربة (أعلى من ١٣° م) لإظهار أكبر كفاءة له.

لقد ذكر Bollen *et al* سنة ١٩٩٠ أن الحشرة ذات الذنب القافز *Folsomia fimetaria* والنيماتودا *A. avenae* تستطيع أن تقضى على مسبب مرض تقرح الساق الرايزوكتونى فى البطاطس على درجة حرارة ١٥° م.

مقـــاومة المـــرض:

يمكن مقاومة مرض التقرح الرايزوكتونى فى البطاطس المتسبب عن الفطر *Rhizocto-nia solani* سلالة *AG-3* ، وذلك باستعمال الحشرة ذات الذنب القافز *F.fimetaria* والنيماتودا *A.avenae* المتغذية على الفطر الممرض، وذلك عندما تكون درجة حرارة التربة من ١٠– ١٥° م، والتربة ذات رطوبة عالية.

لقد وجد فى بعض التجارب التى أجريت فى الصوبا الزجاجية تحت حرارة ١٠ و ١٥° م والتى تم فيها تلويث التربة بمقدار ٢٠ جسم حجرى من الرايزوكتونيا/ ١ كغم تربة، ثم إضافة الحشرات ذات الذنب القافز والنيماتودا بمقدار ٢٥٠ أو ١٠٠٠ وحدة من الحشرة/كغم تربة وحوالى ١٥٠٠ او ٢٢٥٠٠ وحدة من النيماتودا/ كغم تربة، وقدرت شدة المرض بعد حوالى أربعة أسابيع من الزراعة. كانت النتائج كما فى جدول رقم (٩٩)، حيث تبين أنه فى غياب الحشرة *F.fimetaria* أو النيماتودا *A.avenae* يكون دليل المرض مرتفعاً ويميل إلى الارتفاع أكثر على درجة حرارة ١٠° م منه على حرارة ١٥° م، ولقد وجد أن هذه الحشرة تخفض دليل المرض على حرارة ١٠° م وليس على ١٥° م، بينما النيماتودا تخفض دليل المرض على كل من درجتى الحرارة ١٠° م و ١٥° م، ولكن الانخفاض يكون عالياً على حرارة ١٠° م.

يبدو أن تأثير كل من الحشرة والنيماتودا على دليل المرض يكون عبارة عن تفاعل متعاون. لا يكون هناك تأثير معنوى لخفض دليل المرض عند استعمال كل منهما لوحده، وعلى أية حال فانه عند وجود ٢٥٠ وحدة من الحشرة/ كيلوغرام تربة، فإن شدة المرض تنخفض مع وجود أعلى تركيز من تجمعات النيماتودا (جدول ١٠٠).

لقد وجد أن أعداد الحشرة والنيماتودا تزداد بشكل كبير بعد ١٤ يوماً من الحقن، وتكون الزيادة أكبر على درجة حرارة ١٥° م منها على حرارة ١٥° م جدول رقم ١٠١.

تبين هذه التجارب، أن حيوانات التربة الملتهمة للفطر، تكون فعالة فى خفض إصابة ساق البطاطس بالمرض المتسبب عن *R.solani* على حرارة ١٥°م وكذلك بدرجة أقل على ١٥° م. هذا النشاط لحيوانات التربة الصغيرة والمتغذية على الفطريات على درجات الحرارة المنخفضة، يمكن أن يعتمد عليها فى المقاومة الحيوية للفطر *R.solni*، إذا أمكن تجهيز التجمعات الكافية من الحشرة والنيماتودا والاحتفاظ بها لاستعمالها فى الوقت المناسب. إن فائدة هذه الحيوانات، تكمن فى كونها من المكونات الاساسية لميكوفونا التربة، وهى من ساكنات التربة، وبالتالى لا تحدث عنها أضرار فى التوازن البيئى، وهى لا تعتمد فى غذائها أساساً على الفطر رايزوكتونيا.

جدول رقم (٩٩) : تأثير الحشرة *F.fimetaria* والنيماتودا *A.avenae* على دليل المرض المتسبب عن الفطر رايزوكتونيا فى ساق البطاطس تحت تأثير درجات الحرارة المختلفة.

كمية الإضافة من الحشرة والنيماتودا / كغم تربة	دليل المرض من صفر – ١٠٠ على	
	حرارة ١٠° م	حرارة ١٥° م
الحشرة ذات الذنب القافز		
صفر	٨٠	٧١
٢٥٠	٧٥	٦٥
١٠٠٠	٦٠	٦٥
النيماتودا		
صفر	٨٣	٧٢
١٥٠٠	٧٦	٦٩
٢٢٥٠٠	٥٦	٦٠
حشرة + نيماتودا		
٢٥٠ + ٢٢٥٠٠	٥٠	٥٥
١٠٠٠ + ٢٢٥٠٠	٣٥	٤٠

جدول رقم (١٠٠) : تأثير اتحاد الحشرة ذات الذنب القافز مع النيماتودا على دليل المرض فى ساق البطاطس المتسبب عن الفطر رايزوكتونيا.

المعاملة عدد الحشرات + النيماتودا	دليل المرض من صفر – ١٠٠
صفر + صفر	٧٧
صفر + ١٥٠٠	٧٥
صفر + ٢٢٥٠٠	٧٣
٢٥٠ + صفر	٧٨
٢٥٠ + ١٥٠٠	٧٢
٢٥٠ + ٢٥٠٠	٦٠
١٠٠٠ + صفر	٧٧
١٠٠٠ + ١٥٠٠	٧٠
١٠٠٠ + ٢٢٥٠٠	٤٠

جدول (١٠١) : تكشف تجمعات الحشرة والنيماتودا من اليوم الأول إلى اليوم الرابع عشر، بعد الاستعمال على التربة.

عدد الوحدات المحقونة بها التربة فى اليوم الاول/ كيلو غرام تربة		عدد الوحدات التى تتواجد فى التربة بعد ١٤ يوم من الحقن/ كيلو غرام تربة	
الحشرة	النيماتودا	الحشرة	النيماتودا
صفر	صفر	صفر	صفر
صفر	١٥٠٠	صفر	١٠٧٠٠
صفر	٢٢٥٠٠	صفر	٧٩٠٠٠
٢٥٠	صفر	١١٦٥	صفر
٢٥٠	١٥٠٠	١٠١٦	٨٠٠٠
٢٥٠	٢٢٥٠٠	٩٧٣	٥٢٣٠٠
١٠٠٠	صفر	٢٩٣٣	صفر
١٠٠٠	١٥٠٠	٤٧٤٠	٣٣٩٠
١٠٠٠	٢٢٥٠٠	٢٧٥٨	٤٥٩٥٠

أما بالنسبة لتأثير الرطوبة على نشاط كل من الحشرة والنيماتودا، فلقد وجد أن النيماتودا تكون اكثر فعالية فى تثبيط إصابة ساق البطاطس تحت ظروف التربة متوسطة الجفاف وليس الجافة أو الرطبة، وهذا يمكن أن يفسر كالآتى:

١ – أثناء الفترة الاولى من إضافة النيماتودا للتربة، فإن تجمعات النيماتودا تزداد قليلاً تحت الظروف الجافة أكثر منه تحت الظروف الرطبة فى التربة.

٢ – تحت الظروف الجافة يحدث انحدار كبير فى المغذيات بين أجزاء التربة فى غير الرايزوسفير والرايزوبلين، وهذا ناتج عن زيادة الإفرازات والنشاط الميكروبى فى رايزوسفير نباتات البطاطس التى تعانى من الجفاف. هذا يشجع النيماتودا لأن تتحرك إلى سطح الجذر للحصول على الغذاء، وبالتالى تصادف وجود الفطر *R.solami* فتتغذى عليه أو تثبطه، كذلك وجد أن النيماتودا المتغذية على الفطر تخفض حجم عضو الالتصاق للفطر، وذلك عن طريق كشطه عن سطح النبات.

٣ – تحت الظروف الرطبة، تكون النيماتودا أكثر تحملاً لأن تستمر فى تغذيتها خارج منطقة الرايزوسفير، وبالتالى تبتعد عن سطح الجذر ولا تصل إلى الفطر.

أما بالنسبة لتأثير رطوبة التربة على كفاءة الحشرة، فى خفض إصابة ساق البطاطس بالفطر *R.solani*، فإنه أقل وضوحاً عنه فى حالة النيماتودا *A.avenae*، مع أن الحشرة تتكاثر بسرعة اكبر فى التربة الرطبة. أما بالنسبة للاتحادات بين الحشرة والنيماتودا، فإنه لا تزيد كفاءتها على مقاومة الفطر، سواء تحت الظروف الرطبة أو العادية، وذلك بسبب أن الحشرة لوحدها لها القدرة على تخفيض الإصابة الى أقل مستوى. وعلى أية حال فإنه تحت الظروف الجافة مع المستوى العالى من لقاح الفطر، لا يكون هناك تأثير إضافى لفعالية النيماتودا.

ويمكن القول باختصار بأن الحشرة والنيماتودا كلاهما قادر على تخفيض الإصابة بتقرح ساق البطاطس الرايزوكتونى، عندما تضاف إلى التربة بتجمعات تماثل تلك الموجودة طبيعيا فى التربة، وكلاهما فعال على مدى واسع من نسبة الرطوبة فى التربة.

٤- المقاومة الحيوية لمرض ذبول البطاطس البكتيري

Potato Bacterial Wilt Disease Biocontrol

مقـــدمة

يتسبب مرض الذبول البكتيرى فى البطاطس عن البكتيريا *Pseudomonas solanac-earum*. هذا المرض من أكثر الأمراض المدمرة للبطاطس فى معظم أماكن زراعتها، والمسئول عن الخسائر الكبيرة فى الإنتاج سواء فى الحقل أو فى المخزن. يصبح المرض خطيراً عندما تزرع البطاطس فى الحقل نفسه لعدة سنوات متتالية. ومما يزيد مشكلة هذا المرض أنه لا يوجد مبيدات كيماوية فعالة ضده، ولغاية ١٩٩٦ لم تتوفر أصناف مقاومة له، وهذا ما يؤدى إلى الاتجاه الى المقاومة الحيوية.

إن استعمال البكتيريوفاج فى المقاومة الحيوية، لم يتحصل على الاهتمام الكبير فى المقاومة الحيوية، وهذا ما ذكره Eayre *et al* سنة ١٩٩٥، وذلك للاعتقاد بأن البكتيريوفاج عالى التخصص، وأن عوائل الفاج وتفاعلها معه غير ثابتة لكثير من الفيروسات. وعلى أية حال فإن فاج البكتيريا *P.solanacearum*، قد عزل من أجزاء النبات ومن التربة، ولقد ذكر Tanake *et al* سنة ١٩٩٠ أن هناك احتمالية لاستعمال الفاج فى حفظ نبات الدخان من الإصابة ببكتيريا الذبول.

مقـــاومة المـــرض:

لم أعثر فى الأبحاث التى اطلعت عليها (لا تقل عن ٣٠٠ بحث) فى المقاومة الحيوية، على بحث يذكر استعمال الفاج فى مقاومة بكتيريا الذبول فى البطاطس، سوى البحث المذكور فى مجلة Zagazig J.Agric Res.Vol.23 No (6) 1996 من صفحة ١٠٥٣-١٠٦٣ (مصر). وتذكر نتائج هذا البحث ما يلى:

إن إضافة البكتيروفاج المتخصص تؤدى إلى تقليل حدوث وشدة الإصابة بالذبول البكتيرى فى البطاطس، مقارنة بالكنترول (عدم استعمال الفاج)، كما تؤدى أيضاً إلى تقليل الفقد فى أعداد ووزن درنات البطاطس الناتجة، كما أوضحت النتائج أن أعداد الميكروب المسبب للمرض تقل بدرجة معنوية، وبالمقابل تزداد أعداد الفاج، وذلك بعد تسعين يوماً من المعاملة. يتطلب هذا البحث مزيداً من الدراسة بهدف التطبيق العملى فى الحقل.

٥ - المقاومة الحيوية لمرض جرب البطاطس

Potato Scabies Disease Biocontrol

مقـــــدمة

يتسبب مرض جرب البطاطس من عدة أنواع من *Streptomyces sp*، ولكن بشكل اساسى عن *S.scabies*. ليس للمرض تأثير يذكر على إنتاج الدرنات، ولكنه يؤثر بشكل كبير على نوعية الدرنات، وبالتالى يقلل كثيراً من القيمة التسويقية لهذه الدرنات. هناك محاصيل أخرى مثل، الفجل، البنجر، الجزر، اللفت والبطيخ تصاب أيضاً بأنواع من هذا الجنس. فى الولايات الأمريكية جميع زراعات البطاطس يظهر عليها مرض الجرب. لقد ذكرت طرق كثيرة لمقاومة هذا المرض، ولغاية ١٩٩٦ فإن أفضل طريقة فى المقاومة هى استعمال الأصناف المقاومة، إلا أن هناك عديداً من أصناف البطاطس المفضلة للمستهلك وبعض الطرز الأخرى تفتقر إلى صفة المقاومة. فمثلاً هناك حوالى ٧٠٪ من طرز البطاطس فى ولاية منيسوتيا قابلة للإصابة بهذا المرض.

فى سنة ١٩٥٩ ظهرت فكرة المقاومة الحيوية لهذا المرض، وذلك عند ملاحظة انخفاض حدوث المرض فى الحقول التى تزرع فيها البطاطس باستمرار لمدة طويلة فى ولاية واشنجتن. لوحظت مثل هذه الظاهرة فى الحقول التى زرعت بالبطاطس لمدة ٢٨ سنة متكررة، هذا ما ذكره Lorange *et al* سنة ١٩٨٩. عزلت سلالات عديدة من هذا الجنس من عديسات درنات البطاطس المجموعة من التربة المثبطة للمرض. هذه السلالات أظهرت قوة تثبيطية كبيرة للسلالات الممرضة من *S.scabies* ولا تسبب أعراض مرض الجرب على نباتات البطاطس (هذا ما وجده Lorange *et al* سنة ١٩٩٥). فى إحدى التجارب التى قام بها هذا العالم، فإن واحدة من هذه السلالات مع السلالة المثبطة المعزولة من التربة المسببة للمرض أجرى لها تقدير لمعرفة قدرتها على مقاومة الجرب فى أرض زرعت أربع سنوات متتالية بالبطاطس. عند حقن السلالة المثبطة للمرض فى التربة المسببة للمرض، فإن هذه السلالة تخفض ظهور المرض معنويا. بعد ذلك نشأ اعتقاد بأن هذه السلالة أو السلالات المثبطة الأخرى للمرض من سلالات *Streptomyces*، تكون مسئولة عن الانحدار الطبيعى لحدوث مرض جرب البطاطس فى الحقل. هذا ما وجده (Liu *et al* سنة ١٩٩٥).

هناك معلومات قليلة عن السلالات المختلفة المثبطة أو المسببة للمرض من جنس البكتيريا *Streptomyces* الموجودة فى الطبيعة، سواء فى الأراضى الكابحة للمرض أو المسببة له وكذلك عن أنواع التفاعل بين هذه السلالات.

مقاومة المرض:

كما ذكر فى المقدمة فان هذا المرض يتسبب عن البكتيريا S.scabies، أشد سلالة مسببة للمرض هى *(RB3II)* ، وهناك سلالات شديدة المرضية أخرى من هذه البكتيريا. فى الدراسات الموسعة التى أجريت على هذا الكائن المرضى فى الولايات المتحدة سنة ١٩٩٦، فقد تم عزل ٩٣ سلالة لهذا الكائن من عديسات الدرنات المأخوذة من أراضٍ كابحة للمرض أو التى تسبب المرض. وجد أن السلالات القياسية التى تكبح مسبب المرض تنحصر فى السلالتين الأولى PonR، والثانية Pon SII فى أمريكا. ووجد أيضاً أن هناك ٢٢ سلالة لها نشاط فى كبح شدة المرض، أكبر من نشاط السلالتين القياسيتين فى أوروبا. وأن هذه السلالات غير ممرضة لنباتات البطاطس تحت اى ظروف من ظروف البيئة. كذلك وجد أن هناك ١٧ سلالة شديدة المرضية. وجد فى التجارب المعملية أن هناك تفاعلاً تنافسياً بين هذه السلالات على مكان الإصابة وعلى المواد الغذائية المتوفرة. وجد أن هناك ستة سلالات ذات مقدرة مختلفة على تثبيط السلالات شديدة الإصابة فى المعمل.

بناء على ما سبق، فإنه يمكن استعمال السلالات المثبطة للسلالات الممرضة فى الحقول للحصول على المقاومة الحيوية. لقد استعملت السلالات الستة السابقة وهى ذات أرقام ١٥، ١٧، ٢٦، ٣٢، ٤٤، ٩٣ بالإضافة إلى السلالات القياسية PonR و PonSII فى خفض الاصابة.

بعد التحضير الجيد للسلالات المثبطة، وذلك حسب إجراءات وطرق عملية طويلة، يحضر معلق بتركيز مختلف من السلالات الستة المذكورة سابقاً، والسلالتين القياسيتين بالترتيب كالاتى $٢x١٠^{٦}$، $٧x١٠^{٧}$ ، $٦x١٠^{٨}$، $٨x١٠^{٧}$، $٦x١٠^{٧}$، $٩x١٠^{٧}$، $٨x١٠^{٧}$وحدة تكوين مستعمرات/ مل. يضاف لقاح كل سلالة إلى كمية من التربة المسببة للمرض بنسبة ١٪ من حجمها وتمزج لمدة ٤ دقائق، ثم توضع التربة فى أوعية بلاستيكية، ترتب هذه الأوعية فى صفوف تبعد عن بعضها ٩١,٤ سم. بعد نضج درنات البطاطس تجمع

بعناية فائقة وتزال عنها الأتربة اللاصقة بها، وتحدد البقع التى عليها الدرنات حسب تدريج من ١ – ٥ وأن البقع ذات تدرج ٣ – ٥ هى الأعراض المسببة للخسائر التجارية.

بعد إجراء التجربة وتم جمع المحصول، تبين أن السلالات الثمانية عندها كفاءة فى تثبيط مرض جرب البطاطس، كل السلالات تخفض المرض بشكل معنوى، باستثناء السلالة رقم ٢٦ حيث تخفض عدد البقع فقط (ليس معنويا) بالمقارنة مع الكنترول، ولم يلاحظ أى فرق فى كمية إنتاج درنات البطاطس.

فى دراسة لمعرفة تأثير استعمال اكثر من سلالة مع بعضها البعض، وجد أن استعمال سلالتين مثبطتين يؤدى إلى خفض نسبة المرض كثيراً، وأفضل من استعمال كل سلالة لوحدها.

تبين أن السلالات المثبطة للمرض عندها القدرة على إفراز مضادات حيوية عالية التأثير على السلالات الممرضة، وأن أقوى هذه المضادات الحيوية ناتجة من السلالات ١٥، ٣٢، ٩٣ وهى تعطى أفضل مقاومة لمرض جرب البطاطس، وهى لا تسبب أية أضرار لنبات البطاطس، جدول رقم (١٠٢).

فى دراسة للتمييز بين السلالات الممرضة والسلالات المثبطة للسلالات الممرضة، ذكر Loria سنة ١٩٨٩ أن السلالات الممرضة من *S.scabies* تكون ذات جراثيم ملساء رمادية اللون تتولد على سلسلة حلزونية الشكل وهى تنتج مادة الميلانين. ولقد تبين أن اكثر السلالات فى شدتها المرضية هى السلالات ذات ارقام ٨٢، ٨٧، ٨٨، ٨٩. يبين جدول رقم ١٠٣ تأثير استعمال السلالات المضادة مع السلالات شديدة المرضية، وتفاعل كل واحدة مع الأخرى وتأثير ذلك على مقياس المرض.

يتبين من جدول رقم ١٠٣ أن تفاعل السلالة ٩٣ يؤدى الى متوسط اصابة مع الاربع سلالات الممرضة بحوالى ٢، وكذلك السلالة رقم ١٥ ثم يأتى بعدها السلالة رقم ٣٢. أما أضعف السلالات فهى السلالات القياسية PonR، PonSII، خاصة مع السلالة رقم ٨٧.

جدول رقم (١٠٢) : المقاومة الحيوية لمرض جرب البطاطس باستعمال السلالات المثبطة للمرض فى الحقل.

السلالة المستعملة فى المقاومة	عدد البقع التى تقع فى مجال (٣- ٥) حسب المقياس المتعارف عليه
تربة عادية دون أية تدخل	٣,١
كنترول	٢,٥٦
سلالة ٢٦	١,٤٩
سلالة PonSII	٠,٩٢
سلالة PON R	٠,٥٤
سلالة ١٧	٠,٧٦
سلالة ٤٤	٠,٢٣
سلالة ٣٢	٠,١٦
سلالة ١٥	٠,١
سلالة ٩٣	٠,٠٩

جدول رقم (١٠٣) : مقدرة السلالات الثمانية المثبطة للسلالات الممرضة فى تثبيط مرض جرب البطاطس عند تفاعل كل سلالة مثبطة مع سلالة ممرضة لوحدها.

السلالة المثبطة للمرض	متوسط عدد البقع على الدرنات نتيجة تفاعل السلالة الممرضة مع المثبطة				متوسط تفاعل السلالة المثبطة مع جميع السلالات الممرضة
	٨٢	٨٧	٨٨	٨٩	
كنترول	١٠٨	٧٤,٠	٧١,٠	٧٠,٥	٨٠,٩
Pon R	١٠,٥	١٣	٣,٠	٢,٥	٧,٣
Pon SII	٣,٥	٦,٥	٤,٥	٦,٠	٥,١
٤٤	٧,٥	١,٥	١,٥	٦,٥	٤,٣
٢٦	٥,٥	٦,٥	صفر	٣,٥	٣,٩
١٧	٩,٠	صفر	صفر	٤,٥	٣,٤
٣٢	٤,٥	١,٠	٣,٠	٢,٠	٢,٦
٩٣	٢,٠	١,٥	٢,٠	٢,٥	٢,٠
١٥	٤,٠	٠,٥	صفر	٣,٥	٢,٠

الفصل التاسع

المقاومة الحيوية لبعض أمراض أشجار الفاكهة

أولا : التفاح

١- المقاومة الحيوية لمرض اللفحة النارية في التفاح

Apple Fire Blight Disease Biocontrol

مقدمة :

يهاجم مرض اللفحة النارية Fire Blight كثيراً من نباتات العائلة الوردية، ويتسبب عن البكتريا *Erwinia amylovora*، وهو مهم بشكل خاص على أشجار التفاح والكمثرى. ينتشر هذا المرض عالمياً ويؤدى الى خسائر اقتصادية كبيرة خاصة فى المصانع التى تعتمد على ثمار التفاح والكمثرى. يقاوم المرض بالرش بالمضاد الحيوى ستر بتومايسيين خلال فترة التزهير أو المضاد الحيوى Oxytetracycline ، وكانت هذه الطريقة فى الفترة السابقة أفضل طريقة للمقاومة ، ولكن بعد ذلك أصبحت محددة الاستعمال بسبب ظهور سلالات من البكتريا الممرضة *E . amylovora* مقاومة للمضاد الحيوى ستربتومايسيين، وقد عزلت هذه السلالات من كثيرمن البساتين فى كاليفورنيا .

هناك دراسات عديدة أكدت المقاومة الحيوية لهذا المرض ، وذلك عن طريق استعمال بكتريا غير ممرضة ، تعطى اللون الأصفر فى المزرعة، والتى عرفت فيما بعد باسم *Erwinia herbicola* ويطلق عليها اسم *Pantoea agglomerans*. فى الدراسات العملية لمقاومة مرض اللفحة النارية على أزهار التفاح باستعمال البكتريا *E.herbicola* ظهرت نتائج تشابه نتائج استعمال المضاد الحيوى ستربتومايسسين غالباً ما تكون البكتريا المضادة مترافقة مع الكبتريا الممرضة فى الأنسجة المصابة وتتواجد على السطوح الخارجية لكل من أشجار التفاح والكمثرى، وهى تعتبر من الكائنات المثبطة لنمو البكتريا الممرضة فى الطبيعة.

لقد تم التعرف على أجناس أخرى من البكتريا لها تأثير مضاد على البكتريا المسببة لمرض اللفحة النارية فى التفاح ، هذه الأجناس هى *Arthrobacter* و *Pseudomonas* ولكن أكثر الأجناس أهمية فى مقاومة مرض اللفحة النارية هو *Erwinia herbicola*، ولقد تبين أن هذه البكتريا تتواجد على مياسم أزهار التفاح، وتستعمرها بالطريقة نفسها التى تتبعها البكتريا الممرضة *E . amylovora* ولقد وجد أنه تحت الظروف المناخية الجافة نسبياً فإن تجمع البكتريا يحدث بشكل كبير على مياسم الأزهار ، ثم بعد ذلك عند حدوث الأمطار أو الندى الكثيف (هذا يسهل عملية انتقال البكتريا) فإنها تنتقل إلى داخل الأنسجة .

مقـاومة المـرض :

تركزت برامج مقاومة المرض على تثبيط البكتريا الممرضة *E . amylovora* على الأجزاء الزهرية عن طريق استعمال المضادات الحيوية ،ولكن المقاومة الحيوية باستعمال الكائنات الحية الدقيقة حلت الآن محل المضادات الحيوية. ولقد ثبت حديثاً أن البكتريا *Pseudomonas fluorescens* السلالة A 506 تستعمل تجارياً لمقاومة مرض اللفحة النارية فى التفاح، وكذلك البكتريا *Erwinia herbicola* السلالة *Cq - I* إذا استعملتا منفصلتين كل على حده أو متحدتين مع بعضها البعض على أزهار التفاح . التجارت التى أجريت لعدة سنوات على استعمال مخلوط *P . fluorescens* السلالة *A506* مع البكتريا *E . herbicola* السلالة Cq-1 قد خفضت حدوث المرض بنسبة ٦٠ ٪ ، ونظراً لأن هذا الخفض أقل مما هو مطلوب، لذلك، اتجهت الأبحاث إلى تكملة هذه المقاومة باستعمال المضادات الحيوية ، ولكن يجب أن تكون هذه المضادات غير مؤثرة على البكتريا المضادة .

ميكانيكية تثبيط اللفحة النارية بالمقاومة الحيوية :

إن الميكانيكية التى بواسطتها أو التى تقوم بها البكتريا *E . herbicola* فى تثبيط البكتريا *E . amylovora* فى النباتات تعتمد على عدة إجراءات، منها :

١ – أن البكتريا المضادة تثبط البكتريا الممرضة عن طريق رفع حموضة الوسط الذى تتواجدان فيه معا acidification وهذه الطريقة سوف نتكلم عنها فيما بعد إن شاء الله .
٢ – المنافسة على المواد الغذائية .

٣- انطلاق مواد مثبطة من العائل مستحثة بواسطة البكتريا المضادة .

٤- إنتاج مواد توقف نمو وتكاثر البكتريا الممرضة Bacteriostatic أو Bacteriocin.

٥- إنتاج مضادات حيوية تؤثر بها على البكتيريا الممرضة .

٦- تستحث النبات على الاستجابة لتفاعل فرط الحساسية Hypersensitivity.

إن تحسين المقاومة الحيوية لمرض اللفحة النارية باستعمال *E.herbicola* يمكن أن يتم عن طريق فهم ميكانيكية الكائن الممرض *E.amylovora*، واعتماداً على هذه المعرفة يمكن الاستفادة منها فى :

١- اختيار أكثر السلالات فعالية وكفاءة من الكائن المضاد .

٢- اختيار أفضل الأوقات والظروف البيئية للحصول على أفضل مقاومة .

٣- معرفة الظروف البيئية Ecologyالمحيطة بالنبات .

يمكن القول بأن سلالات *E.herbicola* تستطيع أن تثبط تكشف الكائن الممرض بواحد أو أكثر من هذه الميكانيكيات، معتمدة فى ذلك على الكفاءة الوارثية للسلالة والظروف التى يحدث فيها هذا التفاعل .

تأثير الـ *pH* على معدل نمو الكائن الممرض والكائن المضاد :

السلالات التى استعملت فى الدراسة من *E. amylovora* هى Ea273 ومن *E.herbicola* هى Eh112y و Eh141، وقد اختبرت هذه السلالات لمعرفة مقدرتهاعلى النمو على مستويات pH مختلفة. وجد أن معدل نمو Eh112y و Eh141 يتأثر قليلاً ب pH أعلى من متوسط ٤,٥ – ٨، بينما نمو السلالة Ea273 يتثبط بشكل كبير على مستويات أقل من pH6 وأعلى من ٧. وقد تبين أن Eh141 لا تخفض ال pH فى البيئة إلى المستوى نفسه الذى تقوم به Eh112y (الحد النهائى pH ٥,٣ مع الكبتريا Eh141 و٣,٢ للبكتريا Eh112y) . هذه النتائج تؤدى الى القول بأن البكتريا المضادة يمكن أن تثبط البكتريا الممرضة فى البيئة عن طريق خفض الpH . ولقد تبين فى تجارب أخرى أن كفاءة السلالات فى خفض إصابة ثمار الكمثرى وأزهار التفاح بالسلالة Ea273 ليست مرتبطة بتأثير هذه السلالة على حموضة البيئة.

توافق المضادات الحيوية مع السلالات المقاومة لمرض اللفحة النارية :

فى التجارب الحقلية وجد أن البكتريا *Pseudomonas fluorescens* سلالة A506 والطفرة المقاومة للمضاد الحيوى الستربتومايسيين والتى هى ناتجة عن البكتريا *Erwinia herbicola* سلالة Cq-1 (Cq-1s) .عند رش هاتين السلالتين على أزهار التفاح فى وقت تكون فيه الأشجار مزهرة بنسبة ٣٠ ٪ وكذلك رش الأشجار بالماء أو Streptomycin sulfate أو أكسى تتراسيكلين ، يكون الرش على الأزهار بعد يومين من رش البكتريا المضادة، لمعرفة تأثيرهذه الكيماويات على تجمعات البكتريا *P.fluorescens* سلالة *E. herbicola A506* وسلالة *Cq-1s* خلال التزهير . يكون أعلى وجود للبكتريا سلالة A506 وسلالة cq-1s خلال التزهير ، ويكون أعلى وجود لهاتين السلالتين فى الأزهار، من ٥٨ – ١٠٠ ٪ و ٤٧ – ١٠٠ ٪ على الترتيب . ويكون متوسط حجم التجمعات فى للسلالتين 10^4 إلى 10^6 وحدة تكوين مستعمرات/ زهرة، وتبين أن المضاد الحيوى الستربتومايسين لم يقلل من تجمعات السلالتين. أما استعمال أوكسى ترايسكلين ، فإنه خفض من تكاثر السلالتين بنسبة ٢٣ ٪ الى ٥٨ ٪ وخفض من حجم التجمعات السلالتين بنسبة ١٠ – ١٠٠ ٪ ضعف . وعلى العكس من ذلك فإنه عند استعمال أوكسى تتراسيلكين بعد سبعة أيام من رش الأشجار بالبكتريا المضادة ، يحدث هناك خفض قليل فقط فى تكاثر وحجم تجمعات هاتين السلالتين . وبالتالى يمكن القول بأنه يمكن تحسين فعالية السلالة A506 والسلالة Cq-1s باستعمال المضاد الحيوى أوكسى تتراسيكلين ، ولكن يجب أن يرش هذا المضاد بعد أن تكون البكتريا المضادة قد وطدت نفسها على مياسم الأزهار، وهذه المدة تتروح من ٧ – ١٠ أيام . إذا إتبع هذا الإجراء فإن مقاومة مرض اللفحة النارية فى التفاح تصل الى ١٠٠ ٪ .

صنف التفاح *Crab* ودوره فى دراسه اللفحة النارية :

لكى تكون الأبحاث مستمرة وذات نتائج أكثر تطبيقاً فى الحقل ، يجب أن تتوفر أزهار التفاح طيلة أيام السنة، وغير مقتصرة على موسم التزهير ، وذلك حتى تطول فترة وضعها تحت الاختبار وتكرار التجارت. ونظراً لأن أزهار التفاح تكون ذات عمر قصير فبالتالى اتجهت الأبحاث للحصول على صنف يعطى أزهارا طيلة أيام السنة لكى يوفر مادة سهلة للبحث . لذا فقد اختير صنف التفاح Crab ليكون مادة بحث أساسية فى دراسة مرض اللفحة النارية التى تصيب الأزهار ، وذلك لتوفر الصفات الآتية :

١- مقدرة هذا الصنف على إنتاج كمية كبيرة من الأزهار .

٢- مقدرة هذا الصنف على إنتاج الأزهار طيلة أيام السنة، بغض النظر عن موسم التزهير وعمر الشجرة. (حيث إن أشجار التفاح والكمثرى لا تعطى أزهاراً قبل عمر سنتين) .

٣- قابلية الصنف العالية للاصابة بمرض اللفحة النارية .

٤- سهولة الحصول على شتلات هذا الصنف، حيث إنه يستعمل كملقحات، ويباع على نطاق واسع .

٥- عند استعمال السلالات البكتيرية المضادة A506 و Cq - 1s لوحدها أو مترافقة مع بعضها البعض على مياسم أزهار التفاح صنف Crab قبل حقنها بالكائن الممرض سلالة Ea 153 يكون تفاعل هذ الصنف مع هذه الكبتريا مشابهاً لتفاعل بقية الأصناف الأخرى التى لها موسم أزهار محدد .

٢- المقاومة الحيوية لمرض جرب التفاح
Apple Scab Disease Biocontrol

أولاً : باستعمال الكائنات المضادة الفطرية

مقـــدمة :

يتسبب مرض جرب التفاح عن الفطر *Venturia inaequalis* والاسم المرادف *Spilocaea pomi* ، إذا لم يقاوم هذا الفطر فإنه يكون العامل المحدد لإنتاج التفاح فى المناطق ذات المناخ المعتدل الرطب . مع أن الأصناف المقاومة قد عرفت وزرعت عدة سنوات متتابعة ، إلا أن المرض لا يزال يحتاج الى المقاومة بالمبيدات الكيماوية. ونظراً لأن استعمال المبيدات يبدو أنه يكون محدوداً بسبب تلوث البيئة ، لذا تتجه الأنظار الآن إلى المقاومة الحيوية .

تظهر أعراض المرض على شكل بقع ذات لون أخضر زيتونى إلى بنى على الأوراق وبراعم الأزهار والفريعات ، يمكن أن يؤدى المرض الى تساقط الأوراق. تظهر الأعراض

على الثمار المصابة فى البداية على شكل بقع قطيفية، والتى لا تلبث أن تصبح فلينية وتخفض فى نوعية وحجم ثمرة التفاح . يمكن أن تقدر الخسائر الناتجة عن جرب التفاح بحوالى ٧٠ ٪ أو أكثر من قيمة الإنتاج الكلى للثمار، وهذا يعتمد على الصنف والظروف البيئية (هذا ما ذكره Agrios سنة ١٩٩٧) . المبيدات الفطرية الكيماوية المستعملة لمقاومة جرب التفاح تمثل ٩,٥ ٪ من مبيدات الآفات المستعملة فى الزراعة فى كندا . زيادة على ذلك فإن العزلات الفطرية المقاومة للمبيدات الفطرية قد ظهرت وعرفت فى كثير من البلدان ، مثل: فرنسا ، الولايات المتحدة ، أستراليا وكندا . ونتيجة لذلك اتجهت الأبحاث الى إيجاد طرق مقاومة بديلة للمبيدات الفطرية الكيماوية وهى المقاومة الحيوية .

فى الدراسة التى أجريت لإيجاد مقاومة حيوية ضد مسبب جرب التفاح، كانت هناك نقطتان هامتان وأساسيتان فى الدراسة :

الأولى : البحث عن كائن حى دقيق يستطيع أن يخفض أو يستبعد إنتاج الجراثيم الأسكية للكائن الممرض عن طريق تثبط تكوين الاجسام الثمرية Pseudothecia . هذا العمل قد بدأ منذ سنة ١٩٨٢ بواسطة Heye والذى ذكر فى دراسته صفات ٥٧ كائناً حياً دقيقاً من ساكنات أوراق الفتاح . ولقد وجد أن هناك ستة كائنات حية تخفض عدد الأجسام الثمرية ، من بين هذه الكائنات *Athelia bombacina* والفطر *Chaetomium globosum*، لهما تأثير مضاد عال وفعال فى منع تكوين الأجسام الثمرية وإنتاج الجراثيم الأسكية .

الثانية : إتخاذ الإجراءات اللازمة التى تستهدف الطور اللاجنسى للكائن الممرض مسبب جرب التفاح . يجب أن يضاف الكائن الدقيق الذى يستطيع أن يثبط النموات الخضرية للفطر *V.inaequalis* إلى الاشجار فى أواخر الربيع ، أو فى بداية الصيف وذلك لمنع الإصابات الثانوية المتسببة عن الجراثيم الكونيدية. كذلك فإن الكائن الدقيق يجب أن يستعمل أيضاً فى أواخر الصيف أو بداية الخريف لمنع تكاثر الأنواع المنافسة، والتى تسمى Compatible mating types ، وبالتالى يخفض من أعداد الأجسام الثمرية المتكونة فى أوراق التفاح الميتة .

مقـاومة المـــرض :

لقد ذكر العالم Oumit سنة ١٩٩٦ ، أن هناك خمسة فطريات لديها المقدرة الكافية فى تثبيط نمو ميسيلوم الفطر *V.inaequalis* بنسبة أكبر من ٨٠ ٪ فى التجارب المعلمية ، هذه الفطريات هى :

١- *Aureobasidium sp.* يخفض نمو الفطر الممرض بنسبة ٨٥,٨ ٪ .

٢- سلالة P28Aمن فطر غيرمعرف يخفض نسبة نمو الفطر الممرض بنسبة ٨٠,١ ٪ .

٣- سلالة P164A من الفطر*Ophiostoma sp* يخفض نسبة نمو الفطر الممرض ٩٥,٨ ٪ .

٤- سلالة P59A من الفطر *Phoma sp* يخفض نمو الفطر الممرض ٨٠,٧ ٪ .

٥- سـلالة P66A مـن الفـطـر *Chaetomiym globosum* تخـفـض نمو الفطر الممـرض ٨٨,٩ ٪.

٦- *Athelia bombacina* يثبط تكوين الأجسام الثمرية وتكوين الجراثيم الأسكية ١٠٠ ٪ .

تستعمل هذه الفطريات فى مقاومة مرض جرب التفاح ، ولكن فعاليتها وكفاءتها تتأثر بكل من درجات الحرارة والحموضة والاضاءة . فوجد أن الحرارة المنخفضة تخفض قليلاً تثبيط الفطر الممرض بواسطة الفطر المضاد *Phoma sp* (P59A) أما رقم الحموضة المتعادل يزيد قدرة تثبيط العزلة *P28A* من الفطر غر المعرف و (P66A) من الفطر *C.globosum* كذلك فإن الظلام المستمر يزيد من تثبيط الكائن الممرض بواسطة الفطر *Aureobasidium sp*، أما الضوء المستمر فإنه يناسب التثبيط بواسطة الفطر *Phoma sp p59A* كما وأن إنبات الجراثيم الكونيدية للفطر مسبب جرب التفاح ينخفض معنوياً تحت تأثير جميع السلالات المذكورة سابقاً، ويكون التثبيط أشد كلما اقترب الفطر المضاد من الفطر الممرض .

أما الفطر *Ophiostoma sp* فإنه يثبط نمو الكائن الممرض بنسبة تصل ١٠٠ ٪ بغض النظر عن الحرارة أو الحموضة أو فترة الإضاءة . ولقد وجد أن توفر الببتون فى البيئة الغذائية يخفض التثبيط ٨ ٪ . ونظراً لأن *Ophiostoma sp* يثبط الفطر الممرض بنسبة ٩٢ – ١٠٠ ٪ ولا يتأثير بالظروف البيئية والغذائية ، فإن هذا الفطر هو المستقبل المرجو فى المقاومة الحيوية لمرض جرب التفاح . الجدولان رقم (١٠٤ ، ١٠٥) .

جدول رقم (١٠٤) : تأثير المعاملات المختلفة على تثبيط نمو الفطر المسبب لجرب التفاح.

عزلة الفطر المضاد المستعملة في التجربة	٪ تثبيط نمو الفطر الممرض تحت درجات الحرارة والحموضة									
	درجات الحرارة درجة مئوية					رقم الحموضة pH				
	٥	١٠	١٥	٢٠	٢٥	٥	٥,٥	٦	٦,٥	٧
Aureobasidium sp	٦٢,٥	٨٠	٧٠	١٠٠	٨٨,٣	٧٢,٩	٧٢,٧	٧١,٥	٧٦,٦	٥٠,٠
سلالة P28A الفطر غير المعرف	٦٢,٥	٨٥,٧	٧١,٦	٦١,١	٨٢,٢	٦٧,٤	٤٩,٤	٥١,٨	٥٢,٢	٨٣,٤
Phoma sp P59 A	٢٥,٠	٤٤,١	٤,٧	٥٩,٣	٦٩,٨	٢٨,٤	٢٠,٢	٢١,٨	٣٨,١	١٦,٨
C.globosum P66A	٥٥,٠	١٠٠	١٠٠	١٠٠	١٠٠	٨٢,٣	٥٤,٩	٥١,٠	٧١,٨	١٠٠
Ophiostoma sp	١٠٠	١٠٠	١٠٠	١٠٠	١٠٠	١٠٠	١٠٠	١٠٠	١٠٠	١٠٠

ملاحظات علي الجدول :

الفطر *Chaetonium globosum* هو الفطر *Phoma (P66A)*

جدول رقم (١٠٥) : تأثير العزلات الفطرية المختلفة على إنبات الجراثيم الكونيدية لفطر جرب التفاح .

الفطر المضاد المستعمل في التجربة	٪ إنبات الجراثيم الكونيدية لفطر الجرب الموضوعة على مسافات مختلفة من محيط عزلة الفطر المضاد		
	١سم	٢سم	٣سم
Aureobasidium sp	٥٨	٦٥	–
العزلة P28A الفطر غير المعرف	٥٥,٨	٦١,٠	–
Phoma sp P59 A	٥٤,٨	٦١,٥	–
C.globosum	٤٩,٧	٥٧,١	–
Ophiostoma sp	٣٨,٩	٤٧,١	٥١,٠
كنترول	٦٨,٣	٦٨,٥	٧٢

ثانيا : استعمال مستخلص البقايا الميتة من عيش الغراب

تعتمد هذه الطريقة فى المقاومة، على استخلاص البقايا الميتة لفطر عيش الغراب ، ثم تترك لتختمر لاهوائياً ، لمدة سبعة أيام ثم تعامل بمادة Spreader sticker ثم ترش على نباتات التفاح أسبوعياً من بداية تفتح البراعم إلى سقوط بتلات الأزهار .

وجد أن المستخلص المائى لبقايا فطر عيش الغراب تخفض من نسبة المرض على أوراق التفاح ، بحيث تنخفض مساحة الأجزاء التى تظهرعليها الأعراض فى الأوراق ، وينخفض ظهور المرض على الأشجار بشكل عام إلى حد ما. من التجارب التى أجريت على هذا المستخلص ، وجد أن له تأثيراً بشكل عام فى خفض حدوث المرض ، إلا أنه ليس بكفاءة المبيد الفطرى كبتان عندما يرش فى الوقت نفسه .

يعود تأثير وفعل هذا المستخلص إلى ظهور تجمعات بكتيرية على سطوح الأوراق تستمر لمدة شهر بعد آخر رشة ، هذه التجمعات البكتيرية تكون منجذبة للمستخلص المرشوش على الأوراق، ولها دور كبير فى منافسة الكائن الممرض، وبالتالى تخفض من حدوث المرض .

من بين المجموعات البكتيرية التى تظهر وتتكاثر على الأوراق هى بسيدوموناس ، اكتيونومايستس ، وبسلص ، هذا الموضوع يحتاج إلى بحث كثير حتى يمكن استعماله بطريقة عملية ، فى مقاومة جرب التفاح .

٣- المقاومة الحيوية لمرض عفن الجذر والتاج في التفاح
Apple Root and Crown Rot Biocontrol

مقـــدمة :

يتسبب مرض عفن الجذر والتاج فى التفاح عن الفطر *Phytophthora cactorum*. هناك أنواع عديدة أخرى من الجنس *Phytophthora* قد ثبت تدخلها فى هذا المرض فى أنحاء أخرى من العالم .

يمكن أن تتم المقاومة الكيماوية لأعفان الجذر والتاج فى أشجار التفاح عن طريق استعمال مادة Metalatyl أو Fosetyl - Al ، هذه المبيدات الكيماوية غيرمصرح بها وغير

مسجلة فى كثير من دول العالم لكى تستعمل على التفاح، حتى لو كانت هذه المبيدات مسجلة للاستعمال ، فإن متطلبات نقاوة البيئة تحتم إيجاد طرق بديلة لمقاومة هذه الأمراض ، لتحل محل استعمال المبيدات الكيماوية ، وأهم هذه الطرق هى المقاومة الحيوية .

هناك سلالة من البكتريا *Enterobacter aerogenes*، عزلت من منطقة الجذر فى بساتين التفاح وقد أطلق على هذه العزلة B8. لقد ثبت من التجارت المعملية أن هذه العزلة مضادة حيويا للفطر *P . cactorum* عند تنميتها على بيئة مجروش الذرة والاجار. إن المضادات الحيوية التى تفرزها *E.aerogenes* قد وصفت بأنها متعادلة وذات وزن جزيئى منخفض ، تحت ظروف الصوبا الزجاجية وباستعمال تربة حقل معقمة فإن السلالة B8 تخفض الإصابة بالمرض معنوياً فى غراس التفاح .

مقاومة المرض :

يقاوم مرض عفن التاج والجذر فى التفاح باستعمال البكتيريا *E.aerogenes. B8*. ولقد وجد فى التجارت الحقلية أن استعمال هذه السلالة من البكتريا على التربة على شكل معلق، يوضع فى أخاديد حول ساق شجرة التفاح، يخفض بشكل معنوى النسبة المئوية للإصابة فى أشجار التفاح الملقحة صناعياً بالفطر الممرض، خاصة التفاح المطعوم على أصل . M M106. وفى تجارت حقلية أخرى تبين أن الأشجار المحقونة طبيعياً بالفطر الممرض والمعاملة بالكائن المضاد على شكل محلول فى خطوط حول الأشجار ، تودى إلى بقاء الأشجار حية وذات إنتاج وفير، ولا يهاجمها المرض لمدة ثلاثة سنوات ، فى حين أن الأشجار غير المعاملة ماتت واجتثت من البستان .

فى دراسة لمعرفة تأثير البكتريا المضادة سلالة B8 على ميكوفلورا جذور التفاح ، وجد أن هناك ١٦ عزلة من بين ٥٧ عزلة فطر، تتثبط معنوياً بهذه البكتريا. هذا يبين أن حوالى ٢٨ ٪ من الميكو فلورا الفطرية تثبطت بالبكتريا ، ومن بين ٥٩ عزلة بكتيرية وجد أن ٣٥ عزلة تثبطت معنوياً بالبكتريا موضوع التجربة اى حوالى ٥٩,٣ ٪ هذه النتائج تدل على أن المضادات الحيوية المنتجة من قبل السلالة B8 ذات تأثير واسع المدى وليس متخصصاً ضد الفطر الممرض *P . cactorum*، واعتماداً على هذه الصفة فمن المحتمل أن البكتريا تحفظ أشجار التفاح من الإصابة بأمراض أخرى سواء كانت بكترية أو فطرية .

ثانيا : الكمثرى

المقاومة الحيوية لمرض اللفحة النارية فى الكمثرى :

Pear Fire Blight Disease Biocontrol

مقـــدمة :

تصاب الكمثرى بمرض اللفحة النارية، كما فى حالة التفاح ، يتسبب المرض عن البكتريا *Erwinia amylovora*. كانت تعتمد طرق مقاومة هذا المرض على رش النباتات بالمضادات الحيوية ، ستربتومايسين ، أوكسى تتراسيكلين (تيراميسين) ، بالاضافة الى استعمال المركبات المحتوية على نحاس. هذه المواد مبيدات بكتيرية Bactericides وتستعمل خلال وبعد الفترات التى يكون فيها الطقس مناسباً لتجمعات البكتريا السطحية. باستثناء طرق المقاومة باستعمال الإجراءات الصحية ، مثل قطع الأجزاء المصابة فى الأشجار ، تخفيض التسميد النيتروجينى ، خفض نسبة ماء الرى ، فإن طرق المقاومة الأخرى غير متوفرة لهذا المرض ، فمثلاً الأصناف المقاومة لمرض اللفحة النارية وذات صفات زراعية جيدة غير متوفرة. كذلك فإن التكاليف المرتفعة للمقاومة الكيماوية وظهور سلالات جديدة من الكائن الممرض مقاومة للمبيدات الكيماوية أدى الى التوجه الى المقاومة الحيوية .

مقـــاومة المـــرض :

يقاوم مرض اللفحة النارية فى الكمثرى باستعمال البكتريا *Pseudomonas fluorescens* سلالة 506A، حيث أن هذه البكتريا مضادة للمضاد الحيوى ستربتومايسين واكسى تتراسيكلين. هذه البكتريا تستمر فى التكاثر ويزداد حجم تجمعاتها أكثر من 10^5 خلية لكل مهماز ثمرى لمدة ثلاثين يوماً على الأشجار المحقونة بها مرة واحدة . تحتفظ أكثر من ٩٠ ٪ من الأزهار على الأشجار المحقونة بتجمعات كبيرة من السلالة 506 A. كذلك فإن حجم تجمعات هذه السلالة يكون مرتفعاً فى الأشجار، التى حقنت بها فقط ويكون مساويا للتجمعات فى الأشجار التى حقنت بالسلالة نفسها وبالمضاد الحيوى ، ستربتومايسين ، وبالتالى فإن المضاد الحيوى ستربتومايسين يعمل متضامناً مع السلالة 506A فى مقاومة مرض اللفحة النارية فى الكمثرى .

باستعمال السلالة 506A انخفضت أعراض مرض اللفحة النارية على أشجار الكمثرى من ٢٠ ٪ فى الكنترول الى ٨,١ ٪ فى المعاملة، وعند استعمال السلالة مع المضاد الحيوى ستربتومايسين إنخفض المرض الى ٧,٢ ٪ . أما عند استعمال السلالة مع أوكسى تتراسيكلين انخفض حدوث المرض من ١٣,٦ ٪ فى الكنترول الى ٦,٤ ٪ ، أما بالنسبة لعدد خطوط الأعراض المرضية Strikes انخفض باستعمال السلالة 506A من ٩,٤٦ ٪ فى الكنترول إلى ٣,٣٥ ٪ فى المعاملة .

تتميز السلالة 506A بعدة صفات تجعلها مفضلة كعامل مقاومة حيوية، هذه المميزات :

١- هذه البكتريا ذات كفاءة وقدرة عالية فى استعمار أنسجة الكمثرى .

٢- تتحمل هذه البكتريا المضادات الحيوية المستعملة فى المقاومة، وكذلك مبيدات الآفات.

٣- تقاوم هذه البكتريا مرض اللفحة النارية، وفى الوقت نفسه تقاوم البكتريا التى تسبب أضراراً للنباتات وقت التجمد Frost injury to pear

البكتريا : *Erwinia herbicola* واللفحة النارية فى الكمثرى :

لقد ثبت فى كثير من التجارب أن البكتريا *E.herbicola* تستعمل فى المقاومة الحيوية لمرض اللفحة النارية فى التفاح، ولقد استعملت هذه البكتريا فى مقاومة اللفحة النارية فى الكمثرى. لقد وجد أن جميع سلالات البكتريا *E.herbicola* تتضاعف أعدادها كثيراً فى ثمار الكمثرى من ٣ x 10^{6} الى ٢ x 10^{7} فى ٢٤ ساعة بالمقارنة. مع الكنترول يزداد *pH* نسيج ثمار الكمثرى المعاملة بالبكتريا قليلاً أو يكون بالقيمة نفسها فى الكنترول. هذه النتائج لا تدعم الفرضية التى تقول بأن سلالات *E.herbicola* تخفض الإصابة بالمرضية فى ثمار الكمثرى عن طريق زيادة تحميض نسيج الكمثرى .

لقد وجد أن هناك خمس سلالات تابعة للبكتريا *E.herbicola* تنتج كميات كبيرة من المضادات الحيوية، هذه السلالات هى Eh318 , Eh252 , Eh314 , Eh327, Eh 104. وهذه السلالات كائنات مضادة ممتازة للبكتريا الممرضة *E.amylovora*. السلالة Ea273 وبالمقابل هناك سبع سلالات للبكتريا *E .herbicola* لا تنتج مضادات حيوية، وإذا أنتجتها تكون بكمية قليلة جدا ، وبالتالى فهى ضعيفة التأثير فى مقاومة مرض اللفحة النارية فى

الحقل . هذه السلالات هى , Eh159 ,Eh173 , Eh175 , Eh190 , Eh246 , Eh108 Eh141. إن أكثر سلالات *E.herbicola* إفرازاً للمضادات الحيوية وأكثرها استعمالاً فى مقاومة مرضة اللفحة النارية فى الحقل هى السلالة Eh318 (جدول رقم ١٠٦) . يتبين من الجدول أن السلالة Ea273 R318 يصعب مقاومتها فى المعمل لأنها مقاومة للمضادات الحيوية المفرزة من قبل السلالة Eh318، والتى تستعمل فى المقاومة الحيوية ، ولكن فى الطبيعة(فى الحقل) فإن السلالة Eh318 تقاوم السلالة الممرضة المذكورة ، هذا يدل على أن المقاومة الحيوية لمرض اللفحة النارية فى الحقل لا تعتمد على المضادات الحيوية فقط .

جدول رقم (١٠٦) : مقدرة السلالة *Eh318* على حفظ ثمار الكمثرى غير الناضجة من الإصابة بمرض اللفحة النارية بعد حقنها بالسلالات الممرضة Ea273 وEa273 R318 حيث إن الاخيرة طفرة من الأولى ومقاومة للمضادات الحيوية الناتجة من *Eh318* .

عدد وحدات البكتيريا Eh 318 فى ٥٠ ميكولتر	عدد وحدات CFU من الكائن الممرض المحقونة/ ثمرة كمثرى	عدد الثمار المصابة بالمرض بعد مدة			
		٢٤ ساعة	٤٨ ساعة	٧٢ ساعة	١٢٠ ساعة
كنترول	Ea 273 ($3x10^5$)	٦	٦	٦	٦
كنترول	Ea 273 R318 ($8x10^6$)	٦	٦	٦	٦
٦١٠ x ٢,٣	Ea 273 ($3x10^5$)	صفر	صفر	٢	٣
٦١٠ x ٢,٣	Ea 273 ($4x10^5$)	صفر	٥	٥	٦
٦١٠ x ٢,٣	Ea 273 ($1,5x10^6$)	صفر	صفر	صفر	٢
٦١٠ x ٢,٣	Ea 273 R318 ($2x10^6$)	١	٦	٦	٦

ملاحظات على الجدول:

كانت تضاف وحدات البكتيريا المضادة *Eh318* الى ثمار الكمثرى بمدة ساعتين قبل حقنها بالكائن الممرض.

CFU = وحدة تكوين مستعمرات.

السـلالة *Eh 1087*

فى أواخر سنة ١٩٩٦ ظهرت سلالة جديدة من البكتيريا *Erwinia herbicola* أعطى لها رقم Eh 1087 ، وهى قادرة على تثبيط أقوى سلالات اللفحة النارية وأشدها مرضية وهى السلالة Ea 8862. إن مقدرة السلالة Eh 1087 تشابه مقدرة السلالة Eh 112y وأكثر قوة من Eh 252 (حيث أن Eh252 و Eh 112y اكتشفت مؤخراً على أن لها دورا كبيرا فى مقاومة مرض اللفحة النارية). لقد وجد أن السلالة Eh 1087 لها قدرة على تثبيط نمو كل من:-

١ – *Erwinia amylovora* بنسبة ١٠٠ ٪ فى المعمل.

٢ – *Escherichia coli* بنسبة ١٠٠ ٪ فى المعمل.

٣ – *Escherichia chrysanthemi* بنسبة ١٠٠ ٪ فى المعمل.

٤ – *Pseudomonas fluorescens* بنسبة ٥٠ ٪ فى المعمل.

٥ – *Pseudomonas syringae pv. phaseolicola* بنسبة ٥٠ ٪ فى المعمل.

٦ – *Xanthomonas campestris pv. compestris* بنسبة ٥٠ ٪ فى المعمل.

٧ – السلالة Eh 112y من *E.herbicola* بنسبة ٥٠ ٪ فى المعمل.

وجد أن السلالة Eh 1087 تثبط نمو Ea 8862 على ثمار الكمثرى غير الناضجة وينخفض المرض بشكل معنوى على الكمثرى بعد خمسة أيام من الحقن. يعتبر المضاد الحيوى الناتج من السلالة Eh 1087 مطهراً بكتيرياً أو مبيداً بكتيرياً Bactericidal ضد السلالة Ea 8862. كذلك فإن فاعلية هذا المضاد الحيوى لا تتثبط باستعمال إنزيم Proteases أو استعمال تركيز عال من أيونات الحديديك، هذا يدل على أنه ليس بروتينياً non- peptide وليس سايدروفور، كذلك فإنه لا يثبط باستعمال أى من الأحماض الأمينية الاساسية. وهو ثابت أيضاً ضد الأحماض والقواعد، ولكنه يثبط بالحرارة العالية، ويهضم بواسطة B-lactamase (جدول ١٠٧).

جدول رقم (١٠٧) : مقارنة بين صفات المضادات الحيوية المفرزة من سلالات مختلفة من البكتيريا المضادة *E.herbicola*.

السلالة	مدى مفعول المضاد	الحمض الأميني المثبط له	وزنه الجزيئى	مدى الاستجابة لكل من		
				الحرارة	Protease	pH
Eh 1087	واسع	لا يوجد	لم يحدد	حساس لأعلى من ٨٥° م	ثابت	ثابت من ٣,٩ – ٩
Eh 252	ضيق	هستدين	لم يحدد	لم يحدد	حساس	لم يحدد
Eh 112y	ضيق	لا يوجد	٨٠٠ Da	ثابت للحرارة حتى التعقيم	ثابت	base labile
Eh Cq-1	واسع	هستدين	اقل من ٣٥٠٠	لم يحدد	ثابت	ثابت من ٣,٥ – ١٥
Eh Cq-11	ضيق	لا يوجد	اقل من ٣٥٠٠	لم يحدد	ثابت	ثابت من ٣,٥ – ١٥
Eh 318	لم يحدد	R.R.H	٢٩٦ Da	لم يحدد	لم يحدد	لم يحدد

ملاحظات على الجدول *Eh Cq1* تسمى *herbicolin O*، الثانية Eh Cq- 11 *herbicolin I*. الحمض الأميني *R.R.H* = أرجنين، هستدين، ارجنين.

ثالثا : العنب

المقاومة الحيوية لمرض البياض دقيقي في العنب

Grapevine Powdery Mildew Disease Biocontrol

مقـــدمة :

تكلمنا عن هذا الموضوع بالتفصيل فى الجزء الأول من الكتاب فى موضوع المقاومة الحيوية لأمراض البياض الدقيقى.

يتسبب مرض البياض الدقيقى فى العنب عن الفطر *Uncinula necator*

الفطر المستعمل فى المقاومة الحيوية هو *Ampelomyces quisqualis*. هذا الفطر يتطفل على الثمار الأسكية لفطر البياض الدقيقى. مع أن هذا الفطر المضاد لا يبقى مستمراً طيلة حياته متطفلاً فى الطبيعة على الثمار الأسكية للفطر الممرض *U.necator* على أوراق العنب، إلا أنه يقضى الشتاء متطفلاً على الثمار الأسكية فى قلف شجيرات العنب. وكذلك مع أن حوالى ١ ٪ فقط من مجموع تجمعات الثمار الأسكية على القلف يكون متطفلاً عليها، إلا أن القلف يبقى هو المكان الأساسى والمهم للفطر المضاد *A.quisqualis* لقضاء فترة الشتاء، وكذلك فإنه يبقى مرافقاً ومجاوراً للمستعمرات المتكشفة لفطر البياض الدقيقى على الأوراق، مشابهاً فى ذلك تواجده بالقرب من الثمار الأسكية السليمة، والتى أيضاً تقضى الشتاء على القلف، وينطلق منها اللقاح الاولى ليهاجم أوراق العنب المنطلقة من البراعم.

فى الدراسات المعملية على الثمار الأسكية لفطر البياض الدقيقى الذى يتطفل عليه الفطر *A.quisqualis*، تبين أن الإصابة تحدث خلال الأطوار المبكرة من التكشف قبل أو أثناء الأطوار الأولى لتكوين الزوائد فى الثمرة الأسكية، ولكن قبل تلون الجدار (جدار الثمرة الأسكية) . عندما يستعمل الفطر المضاد على شجيرات العنب عن طريق تربيته على فتائل من القطن، فإن انتشاره يكون سريعاً ويزداد تطفله على الثمار الأسكية للفطر الممرض، وهذا يؤدى إلى خفض أعداد الثمار الأسكية المنتشرة من الأوراق الى القلف بنسبة ٥٠-٦٠ ٪ من أعداد الثمار الأسكية، التى تقضى الشتاء على قلف شجيرات العنب.

أكثر عزلات الفطر *A.quisqualis* كفاءة فى مقاومة مرض البياض الدقيقى هى *SF419, G273, G5* و *SF 423*. العوامل المحددة لنشاط هذه العزلات هى الرطوبة المتوفرة

قبل أو أثناء استعمال المعلق الجرثومى. هذه العزلات تخفض الإصابة بحوالى ٩٠-٩٨٪ بالمقارنة مع الكنترول، عند استعمال العزلات بتركيز ٢ x ١٠^٦ جرثومة كونيدية/مل. ولقد تبين فى كثير من الابحاث أن استعمال الفطر المضاد فى أطوار النمو الأول للنبات يكون أكثر فعالية فى مقاومة مرض البياض الدقيقى، أفضل مما لو استعمل الفطر مرتين، ولكن بعد نمو البراعم بحوالى ٢١ يوماً. إن الانتشار المبكر للفطر المضاد على المستعمرات الأولية لفطر البياض الدقيقى، هو العامل المهم جدا فى تخفيض نسبة كبيرة من اللقاح، والتى تنتشر ثانية وتصيب الأوراق والثمار.

كما سبق وذكرنا، فإن العامل المحدد لنجاح الفطر *A.quisqualis* هو توفر الرطوبة أو الماء الحر على النبات، لذلك اكتشفت طرقا عديدة لتلافى هذه المشكلة. ذكر بعض العلماء أن استعمال مزارع من فتائل القطن يربى عليها الفطر، ثم تؤخذ هذه الفتائل وتوضع على أفرع شجيرات العنب حيث ينتقل منها الفطر المضاد. بعض العلماء ذكر استعمال زيت البرافين مع المعلق الجرثومى ليقلل من احتياج الفطر للرطوبة. كلا الطريقتين تسهل إلى حد ما مهمة الفطر المضاد فى مقاومة مرض البياض الدقيقى.

٣- المقاومة الحيوية لمرض البياض الزغبي في العنب
Grape vine Downy Mildew Disease Biocontrol

مقـــدمة:

فى أوائل الثمانينيات، كان هناك عديد من الظروف الاضطرارية لمقاومة أكثر أمراض العنب باستعمال المبيدات الفطرية ، حيث كان ولا يزال يستعمل الكبتان وال Mancozeb، إلا أنه فى اوائل التسعينيات بدأ التوقف عن استعمال المبيدات الفطرية وذلك لأنها تدخل فى نواتج صناعة العنب، ومع ذلك فإن مادة ال Metalaxyl لم تسجل رسمياً ضمن قائمة المبيدات المستعملة على عنب النبيذ، ووضع عليها حظر شديد لمنع التداول، وكذلك فإن المبيدات الفطرية النحاسية لها تأثير سام على أصناف العنب الجيدة.

كل هذه الظروف استحثت جهود العلماء للبدء فى تجارب واستعمال المقاومة الحيوية فى أمراض العنب، خاصة فى مقاومة مرض البياض الزغبى downy mildew المتسبب عن

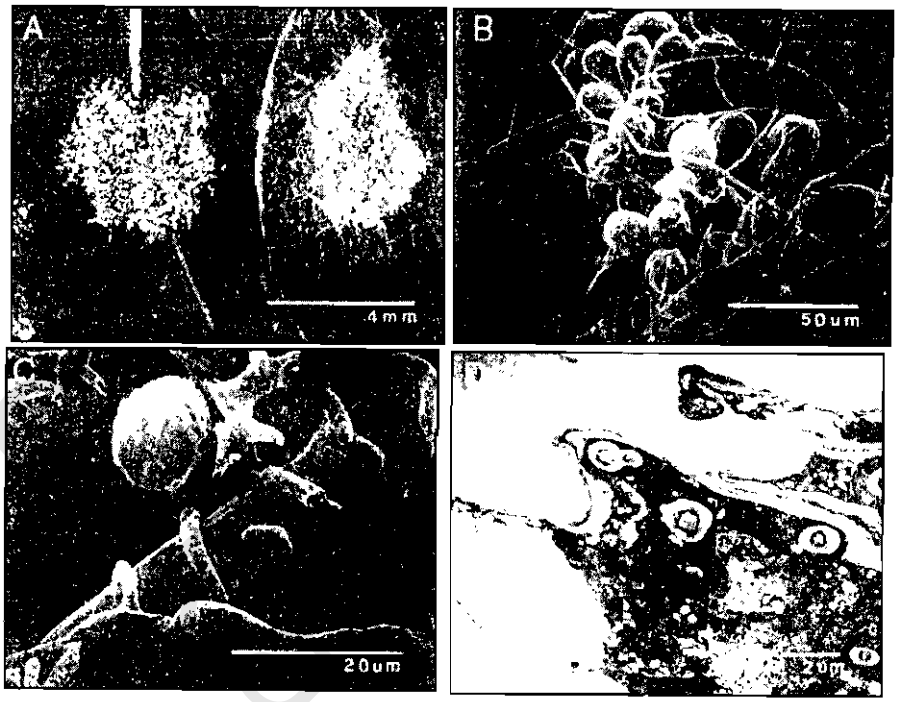
الفطر *Plasmopara viticola* وأمراض العنب المهمة الأخرى مثل أمراض البياض الدقيقى. هناك طرق أخرى فى مقاومة أمراض العنب، أكثر أماناً، هذه الطرق مثل استعمال مادة ال Triazole، Calcium polysulfide، والمعاملة بالحرارة فى الحقل، وكذلك استعمال الأشعة فوق البنفسجية.

نتيجة الابحاث المتعددة التى أجريت للحصول على مقاومة حيوية لمرض البياض الزغبى فى العنب، وجد أن الفطر *Fusarium proliferatum* الاسم المرادف *Gibberella fujikuroi* ينمو بشكل كبير على المستعمرات المتجرثمة للفطر الممرض *Plasmopara viticola* هذا ما وجده Pearson سنة ١٩٩١.

مقاومة المرض

يقاوم مرض البياض الزغبى فى العنب المتسبب عن الفطر *Plasmopara viticola* مقاومة باستعمال الفطر المضاد *Fusarium proliferatum* العزلة G6. يمكن الحصول على هذا الفطر من بقع البياض الزغبى على العنب. عند تنمية هذا الفطر على بيئة PDA يكون مستعمرات بيضاء زغبة، تتحول إلى اللون الأرجوانى وتصل أقصى نمو لها (حوالى ٧,٥ سم قطر المستعمرة) على درجة حرارة ٢٥° م بعد ثمانية أيام. يكون الفطر جراثيم مكروكونيديا Microconidia وماكروكونيديا Macroconidia

فى الدراسات المعملية عند رش اقراص من ورق العنب المصاب بالبياض الزغبى بالفطر المضاد سلالة G6 بتركيز 10^{6} جرثومة مكروكونيدية/مل، وذلك لدراسة تفاعل الفطرين مع بعضهما البعض على البيئة الطبيعية (ورق العنب)، تبين أنه يحدث هناك نمو غزير لميسيليوم الفطر المضاد فوق سطح المستعمرات الموجودة للفطر الممرض بعد ستة أيام. فى شكل (رقم ٢٨) يتبين أن الفطر المضاد ينمو فوق الحامل الأسبورانجى والجراثيم الأسبورانجية للفطر الممرض ويكون Phialides ومكروكونيديات، يلاحظ أن هيفات الفطر المضاد تلتف حول الحوامل الاسبورانجية، ويلاحظ تواجد الهيفات أيضاً داخل الحوامل الأسبورانجية للفطر الممرض.



شكل رقم ٢٨ : التفاعل الهيفى بين الفطر *Fusarium proliferatum* والفطر *Plasmopara viticola* فى المعمل.

A : بقع من البياض الزغبى على السطح السفلى للأوراق بقطر ٢ سم بعد ١١ يوماً من الحقن بمعلق جراثيم تركيز 10^5 جرثومة كونيدية / مل. البقعة التى على اليمين رشت بالجراثيم الكونيدية للفطر المضاد سلالة *G6* بتركيز 10^6 جرثومة/ مل بعد خمسة أيام من تكوينها. أما البقعة على اليسار كنترول.

B : الصورة بالميكروسكوب الالكترونى لبقع فطر البياض الزغبى. تظهر هيفات صغيرة للفطر المضاد سلالة *G6* نامية فوق الجراثيم والحوامل الأسبورانجية للفطر *P.viticola*.

C : هيفات الفطر المضاد ملتفة حول الحوامل الاسبورانجية للفطر الممرض، فى بقعة مستعمرة بالفطر الممرض.

D: صورة بالميكروسكوب الإلكترونى لهيفات مقسمة للفطر المضاد داخل الحامل الأسبورانجى للفطر الممرض بعد ٤ أيام من حقن بقع البياض الزغبى بالجراثيم المكروكونيدية للفطر المضاد.

تأثير الفطر المضاد على الفطر الممرض في الحقل

كانت شجيرات العنب التى سبق حقنها بالجراثيم الاسبورانجية تركير ١٠ x١٠ لكل مل من الفطر الممرض ترش بمعلق جراثيم الفطر المضاد *F.proliferatum* بتركيز ١٠^{٦} جرثومة مكروكونيدية/مل مع ٠,٠٢٪ Tween 20، يستمر الرش حتى يسيل المحلول عن الأوراق، كانت تجرى عملية الرش كل أسبوع لمدة ثلاثة شهور. أما تجارب المقارنة باستعمال المبيدات الكيماوية مثل مانكوزب والداى ثان م ٤٥، فكانت تستعمل بنسبة ٤,٥ كغم/ هكتار، وترش النباتات المصابة بالفطر الممرض كل أسبوعين ولمدة ٣ شهور.

كما يتبين من جدول رقم (١٠٨) أن المعاملة بالفطر المضاد، تخفض حدوث مرض البياض الزغبى على عناقيد العنب من ٤٣,٣٪ الى ١٤٪ (أى إن نسبة الخفض ٦٨٪) وأن مساحة المنطقة المصابة بالمرض انخفضت من ٢٧,٤٪ إلى ٦,٤٪ (أى إن نسبة الخفض ٧٧٪). أما على الأوراق فإن شدة المرض انخفضت من ٣,١٪ الى ٠,٩٪. (نسبة الخفض ٧١٪). أما على ثمار العنب المعاملة بالفطر المضاد لم تختلف النتيجة عنه فى النباتات المعاملة بالمبيد الفطرى مانكوزب.

مما سبق يمكن القول بأنه يمكن مقاومة مرض البياض الزغبى فى العنب، وذلك برش النباتات بالمعلق الجرثومى للفطر *Fusarium proliferatum* سلالة *G6* أسبوعياً لمدة ثلاثة شهور.

جدول رقم(١٠٨) : تأثير استعمال المبيدات الفطرية والفطر المضاد *Fusarium proliferatum* سلالة *G6* على حدوث، وشدة مرض البياض الزغبى على العنب.

المعاملة	إصابة العنقود		إصابة الورقة	
	٪ إصابة	٪ مساحة المنطقة المصابة	٪ إصابة	٪ مساحة المنطقة المصابة
كنترول	٨٤,٨	٢٧,٤	٢٩,١	٣,١
مانكوزب	٣٠,١	٢,٩	١٠,٣	٠,٦
سلالة G6 من الفطر المضاد	٣٢,١	٣,٢	٣,٠	٠,٢

جدول رقم (١٠٩) : تأثير المبيدات الفطرية على النمو الإشعاعى، وإنبات الجراثيم المكروكونيدية للفطر المضاد *F. proliferatum* سلالة *G6* على بيئة *PDA*.

المبيد الفطرى المستعمل	تركيز المادة الفعالة فى المبيد ميكوغرام/ مل	٪ تثبيط النمو الإشعاعى بتركيز ميكوغرام/ مل				٪ تثبيط إنبات الجراثيم المكروكونيدية على تركيز ميكوغرام/ مل			
		١	١٠	١٠٠	١٠٠٠	١	١٠	١٠٠	١٠٠٠
Triadimefon (Bayleton)	١١٢ – ١٥٠	٥٨,٩	٧٣,١	٨٤,٣	٨٥,٣	٤٨,٦	٥٢,١	٥٩,٥	٦٤,٥
Myclobutani (Nova)	٩٠ – ١٥٠	٧١,٦	٨٧,٣	١٠٠	١٠٠	٢٢,٢	٥٤,٠	٩٤,١	٩٦,١
Benomyl (Benlate)	٥٩٩ – ٨٩٩	١٠٠	١٠٠	١٠٠	١٠٠	٥١,٢	٦٣,٠	٨٨,٥	٩٨,٧
Captan	١١٩٨	صفر	صفر	٥٣,٣	٦٠,٩	٠,٧	٥,٧	٩١,٣	٩٨,٤
Mancozeb (Dithane)	٢٨٧٦-٣٨٣٥	٣,٦	٦,٦	١١,٧	٤٠,٦	٥٨,٤	٨٩,٧	٩٩,٠٠	١٠٠,٠
Fosetyl	١٩١٧–٤٧٩٣	١,١	٢,١	٢,٦	٦١,٤	٤٣,٧	٤٥,٤	٥٠,٤	٥٨,٤
Sulfur	٢٢٠٥–٥٥١٢	١١	١١,٧	١١,٢	١٠,٢	١,٥	٨,٣	١٠,٠	١٠,٩
CUSO4	٢٣٧٣	صفر	صفر	صفر	٢١,٩	٣,٨	٥,٠	٥,٥	١١,١

obeikandl.com

حساسية الفطر المضاد للمبيدات الفطرية

يتبين من جدول رقم (١٠٩) حساسية الفطر *F.proliferatum* سلالة *G6* للمبيدات الفطرية. المبيد بينومايل يثبط كلية النمو الإشعاعى للفطر فى جميع التراكيز المستعملة. كذلك فإن Myclobutanil بتركيزات ١٠٠ و ١٠٠٠ ميكوغرام/ مل فى بيئة الآجار تثبط أيضا جميع النموات الإشعاعية للفطر، إلا أن هذين التركيزين لا يستعملان فى التطبيقات العملية فى الحقل.

إنبات الجراثيم المكروكونيدية لسلالة الفطر المضاد G6 تنخفض بشدة (أكبر من ٧٥٪) عند استعمال المبيد الفطرى مانكوزب بتركيزات ١٠، ١٠٠، ١٠٠٠ ميكوغرام/مل فى بيئة PDA. أما Myclobutanil و Benomyl، Captan، Dinocap و Ferban بتركيز ١٠٠ و ١ ميكوغرام/مل تخفض النمو بنسبة ٣٥ – ٦٥٪.

٣ - المقاومة الحيوية لمرض التدرن التاجي في العنب

Grape vine Crown Gall Disease Biocontrol

مقـــدمة:

تسبب البكتيريا *Agrobacterium vitis* مرض التدرن التاجى Crown gall فى العنب. يعيش هذا الميكروب فى أنسجة النبات الداخلية فى العنب، وبالتالى ينتشر مع أجزاء النبات التكاثرية. تتبع إجراءات حديثة لإنتاج نباتات عنب خالية من الكائن الممرض، باستعمال مزارع النسج (مزارع قمة الساق) أو المعاملة بالحرارة. وقد نجحت هذه الطرق فى الحصول على نباتات خالية من الكائن الممرض. وعلى أية حال فيما لو تم الحصول على نباتات خالية من الكائن الممرض، فمن الضرورى المحافظة عليها ووقايتها من أن تصبح مصابة بالكائن الممرض، الذى يمكن أن يتواجد فى بقايا نباتات العنب المتحللة فى التربة.

مقـــاومة المـــرض:

إن بكتيريا التدرن التاجى غير الممرضة *Agrobacterium radiobacter* السلالة K-84، قد استعملت بنجاح كعامل مقاومة حيوية لمقاومة مرض التدرن التاجى فى كثير من

الأنواع النباتية، تعتبر مادة الأجروسين Agrocin المنتجة بواسطة السلالة K-84 العامل الأساسى فى ميكانيكية المقاومة، ويسمى Agrocin 84.

التجارب المتعددة التى أجريت على K-84، أثبتت أن هذه السلالة غير فعالة فى منع إصابة نباتات العنب بالبكتيريا *A.vitis*، وبالتالى أجريت تجارب أخرى عديدة، تركزت على البحث عن سلالة تمنع إصابة العنب بالكائن *A.vitis*. لقد تمكن العالم Xiaoy *et al* سنة ١٩٨٦ من عزل سلالة غير مسببة للتدرن من البكتيريا *A.tumefaciens biovar 1 (HLB-2)*، والتى تثبط نمو عديد من سلالات البكتيريا الممرضة، وتوقف تكشف التدرن التاجى على العنب فى الصنوبا الزجاجية. كذلك استطاع Staphorst سنة ١٩٨٥ من دراسة ١٦ سلالة من بينها السلالة F2/5 ، والتى تثبط نمو معظم سلالات *A.vitis* فى المعمل وتثبط تكوين التدرن التاجى على العنب فى الصوبات الزجاجية. كما ذكر كل من Burr و Reid سنة ١٩٩٣ أن السلالة *F2/5* تنتج آجروسين، والذى هو مثبط لمعظم سلالات *A.vitis* فى المعمل، وأن السلالة F2/5 فعالة فى تثبيط الأورام المتكونة على مواقع الجروح على العنب المحقون صناعياً بعديد من سلالات *A.vitis*. ولقد وجد كذلك أن السلالة F2/5 تكون أكثر فعالية عندما تحقن الجروح فى نفس وقت دخول الكائن الممرض أو قبله بمعدل ١ : ١ من كلا الكائنين.

لقد ذكر بعض العلماء أن ميكانيكية فعل السلالة F2/5 فى تثبيط مسبب المرض *A.vitis* هو إفراز مادة الآجروسين ونجاحها فى المنافسة على مواقع الارتباط فى الخلية، إلا أن Burr *et al* سنة ١٩٩٧ قد أثبت ان السلالة F2/5 لا تعتمد فى كفاءتها فى المقاومة الحيوية على إفراز الأجروسين، وأن هذه المادة ليس لها دور فى فعل السلالة المذكورة، وكذلك لا تعتمد على المنافسة على الارتباط فى مواقع الخلية مع الكائن الممرض. وبهذه النتيجة يكون Burr *et al* قد الغى النظرية السابقة، والتى كانت تفسر ميكانيكية الدور الذى تقوم به السلالة F2/5 فى المقاومة الحيوية للمرض.

التجارب التى قام بها العالم Burr *et al* تعتمد على الهندسة الوراثية ودراسة الجينات بتوسع وكذلك اعتمد على التحطيم بالصوت Sonicated والتحطيم الحرارى بالأوتوكليف (لاداع لذكر هذه التجارب هنا) ولكنه خلص الى أن المقاومة باستعمال F2/5 يكون خاصاً

ونوعياً بالعنب؛ نظراً لأن تكوين الأورام على الطماطم وعباد الشمس وجنس *Kalanchoe* لم تتثبط.

مما سبق يمكن القول بأنه يمكن مقاومة مرض التدرن التاجى فى العنب باستعمال السلالة F2/5 من *A.vitis* ، وذلك باستعمال معلق بكتيرى بتركيز ١,٣x ١٠^٨ وحدة تكوين مستعمرات/مل؛ حيث تغمر قمم الأفرع بطول ا سم فى هذا المعلق لمدة ٢٠ دقيقة، أو يمكن أن يحقن هذا المعلق فى عقد الأفرع الحديثة لشجيرات العنب بمعدل ١/مل من المعلق البكتيرى فى كل فرع.

أما تفسير هذه المقاومة فإنه لا يزال قيد البحث خاصة بالنسبة للعنب، لغاية ١٩٩٧ لم يتحصل على التفسير المقنع لذلك.

رابعاً: اللوزيات

١- المقاومة الحيوية لمرض العفن البني ولفحة الأزهار في الكرز الحلو

Sweet Cherry Brown Rot and Flowers Blight Biocontrol

مقـــدمة:

يتسبب مرض العفن البنى فى اللوزيات عن الفطر *Monilinia fructicola* والفطر *M.laxa*. وهو من المشاكل السنوية التى تظهر على ثمار اللوزيات فى كثير من مناطق زراعتها. تسبب الإصابة بالفطرين لفحة الأزهار والفريعات، وتسبب تقرحاً على نسيج الخشب وعفن الثمار. بدأت الإجراءات العملية لمقاومة هذا المرض عن طريق الحد من طور لفحة الأزهار. يكون مصدر لقاح لفحة الأزهار، أساساً من الجراثيم الكونيدية المنطلقة من الثمار المتكرمشة (المومياء) التى قضت فترة الشتاء على هذا الشكل، ومن التقرحات الموجودة على الفريعات الملفوحة فى الموسم السابق.

لقد ذكر أن هناك اصابات كامنة (ساكنة) فى ثمار اللوزيات، على المشمش والخوخ والبرقوق، وقد استنتج بأنها تحدث فى الكرز، حيث يصبح الكائن الممرض كامناً فوراً بعد إصابة الثمرة غير الناضجة ويستأنف النمو فقط عندما تبدأ الثمرة فى النضج. تبدأ الإصابات الكامنة فى المشمش والخوخ بين تمام التزهير وسقوط التمرد. يمكن أن يسبب المرض خفضاً معنوياً فى الثمار، حتى خلال فترة النضج والجمع الجافة.

إن ظهور السلالات المقاومة للمبيدات من فطريات العفن البنى، أدت إلى الإسراع فى البحث عن بديل لهذه المقاومة لهذا المرض، وذلك عن طريق المقاومة الحيوية. تكون السطوح الورقية للأجزاء الهوائية فى النبات، أماكن مناسبة لسكون الكائنات الحية الدقيقة السطحية، والتى كثير منها يكون قادراً على التأثير فى نمو الكائن الممرض. تكون الأزهار واحداً من تلك الاماكن التى تسكنها الكائنات الدقيقة المضادة للفطر الممرض. كما هو معروف فإن الفطريات هى الكائنات المضادة المفضلة فى الاستعمال فى المقاومة الحيوية لمسببات الأمراض الفطرية، وذلك نظراً لتشابه المتطلبات الحياتية والاستعمالات الغذائية فى المجموعتين المضادة والممرضة.

مقـــاومة المـــرض:

درس التأثير المضاد للفطريات الآتية:

1 - Aureobasidium pullulans

2 - Epicoccum purpurascens

3 - Gliocladium roseum

ضد الفطر الممرض *Monilinia fructicola*، تحت الظروف الحقلية وفى المشاتل. وجد أنه عند استعمال الجراثيم الكونيدية لكل فطر بتركيز ٥ x ١٠^٦ جرثومة/ مل، ورشها على الأزهار، ثم بعد ذلك حقن هذه الأزهار بالجراثيم الكونيدية للفطر الممرض بتركيز ٥ x ١٠^٤ جرثومة/ مل، فتبين فى التجربة، أنه بالنسبة لتجارب المشاتل وجد ، أنه بالنسبة للأزهار التى لم تظهر قبل عملية الرش بالكائنات المضادة، فإن إمكانية عزل واسترجاع الفطر الممرض منها لم يكن معنويا، وكانت نسبة الاسترجاع منخفضة جدا ومساوية للمستويات التى يتحصل عليها عند رش النباتات بالمبيد الفطرى بنليت قبل الحقن بالكائن الممرض.

اما فى التجارب الحقلية فوجد أن استعمال الفطر *E.purpurascens* يخفض لفحة البادرات بنسبة ٥٠ ٪ بالنسبة للكنترول ، بينما استعمال *A.pullulans* خفض لفحة الازهار بنسبة ٣٠ ٪، فى حين أن المبيد الفطرى Iprodione خفض نسبة الإصابة ٩١ ٪. أما الإصابات الكامنة للفطر الممرض *M.fructicola*، فوجد أن استعمال الفطر *E.purpurascens* والفطر *A.pullulans* على الأزهار يخفض عدد الإصابات الكامنة للفطر فى ثمار الكرز الأخضر بنسبة ٣٣ ٪ للأول و ٤٢ ٪ للثانى، ووجد أيضاً أن استعمال مبيد الحشائش Paraquat على شكل محلول مخفف تغمر فيه الثمار يزيد فعالية الفطرين السابقين. أما المبيد الفطرى Iprodione فيسبب خفضاً فى الإصابة بنسبة ٦٨ ٪. كذلك وجد أن الفطر المضاد *E.purpurascens* والفطر *G.roseum* يمكن استرجاع عزلهما من سطوح النبات، التى غمرت فى مبيد الحشائش Paraquat وكان عزلهما معنوياً بالمقارنة مع الكنترول.

أما بالنسبة لتأثير الفطريات المضادة على نسبة عقد الأزهار وتكوين الثمار، وجد أنه عند استعمال الفطر *E.purpurascens* بتركيز ١٠^٥ وحدة تكوين مستعمرات/مل، أن نسبة الأزهار العاقدة ٢٧,٨ ٪ بالمقارنة مع الكنترول ٢٢,٦ ٪. اما الفطر *A.pullulans* عند استعماله

بتركيز (١-٥) x ^{٦}١٠ وحدة تكوين مستعمرات/مل فإن نسبة عقد الثمار تكون ٢٠,٨ ٪، بالمقارنة مع الكنترول ٢٢,٦ ٪. أما الفطر *G.roseum* عند استعماله بتركيز (١-٥) x ^{٦}١٠ وحدة تكوين مستعمرات /مل، كانت نسبة الأزهار العاقدة ٢٦ ٪، فى حين أن المبيد الفطرى Iprodione بتركيز ١,١٢ كغم/ هكتار كانت نسبة عقد الثمار ٢٨,٣ ٪.

يمكن القول بصفة عامة أن المقاومة الحيوية للمجال الورقى يتطلب استعمال كائنات حية دقيقة، تستطيع أن تتكيف لتنمو على الجزء النباتى نفسه، الذى سوف يهاجم بالكائن الممرض ويوطد نفسه فيه. فى حالة العفن البنى فإن الكائنات الحية المستعملة فى المقاومة، يمكن أن تؤثر على تكشف المرض سواء بالنسبة للأزهار الملقحة أو الثمار المصابة عن طريق توطيد نفسها فى الأماكن المهاجمة من قبل الكائن الممرض، وعن طريق المنافسة على المواد الغذائية، وكذلك إفراز بعض المضادات الحيوية الفعالة ضد الكائن الممرض.

٢- المقاومة الحيوية لمرض عفن مونيلينيا فى اللوزيات

Stone- Fruit Trees Monilinia Disease Biocontrol

مقـــدمة:

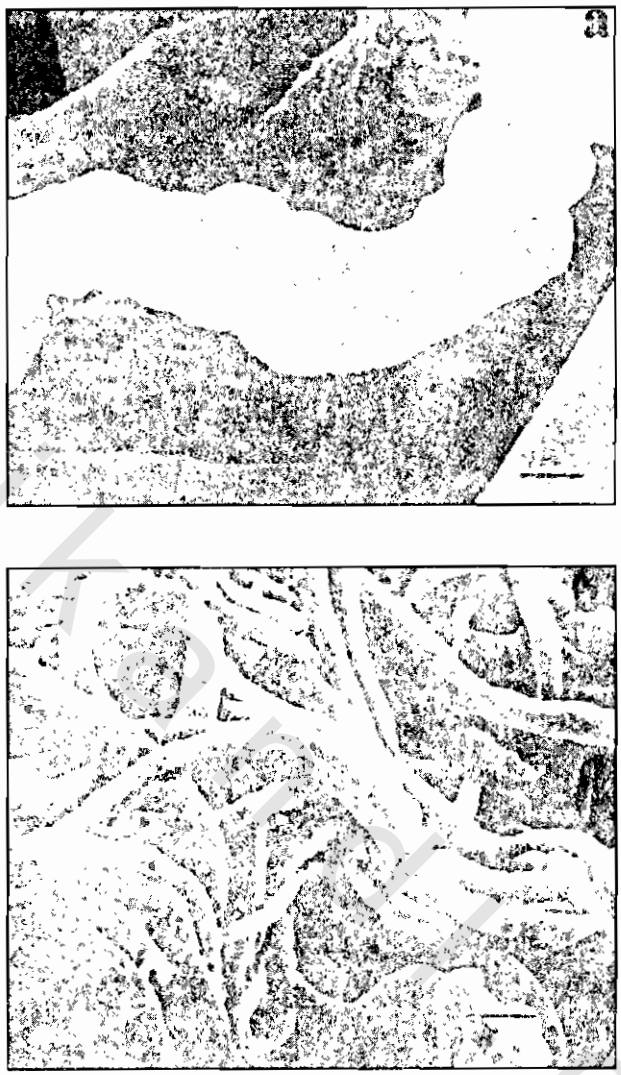
يتسبب عفن مونيلينيا فى اللوزيات عن الفطر *Monilinia laxa*. هذا المرض من الأمراض الخطيرة التى تهاجم ثمار اللوزيات ويسبب خسائر كبيرة. لذا فإن المقاومة الحيوية لهذا المرض من الأمور المهمة، لاسيما أن النتائج الأولية مبشرة بالنجاح. لقد استطاع Melgarejo *et al* سنة ١٩٨٥ أن يحصل على عزلة من الفطر *Epicoccum nigrum*، وهو من مكونات ميكوفلورا الخوخ، وثبت بأن له كفاءة عالية فى المقاومة الحيوية للفطر *M.laxa* سواء فى الحقل أو المعمل. تعتمد ميكانيكية التضاد الحيوى بين الكائنين على مقدرة الفطر المضاد لإفراز مادة Flavipin، هذه المادة ذات تأثير مضاد حيوى تجاه الفطر الممرض، وعزلت من مزارع الفطر المضاد *E.nigrum*.

obeikandl.com

مقـاومة المـرض:

يقاوم مرض عفن مونيلينيا اللوزيات المتسبب عن الفطر *Monilinia laxa* بواسطة الفطر المضاد *Epicoccum nigrum*. يعتمد الفطر المضاد فى مقاومة الكائن الممرض على إفراز المضاد الحيوى Flavipin على جراثيم، ميسيليوم، أنابيب الإنبات للفطر الممرض *M.laxa* ويثبطها فى المزرعة الغذائية. كذلك فإن هذا المضاد يؤثر على تكشف الستروماتا فى المزارع الغذائية. تتكون كميات كبيرة من تجمعات الجراثيم الكونيدية للفطر الممرض على الستروماتا المعرضة للفطر المضاد ولمادة Flavipin . يحدث تشوهات كبيرة فى أنابيب الإنبات، مثل الانتفاخ، الالتفاف، التشعبات غير الطبيعية، تظهر كلها بعد المعاملة بالفطر *E.nigrum* أو بمادة Flavipin. كذلك يلاحظ بالميكروسكوب الإلكترونى تجمعات من السيتوبلازم فى الخلايا، وتتكون أعداد كبيرة من الفجوات، وكميات كبيرة من الأجسام الدهنية مرافقة لأغشية الخلية. يحدث فى بعض الأحيان تغيرات فى التعضى فى الأغشية الخلوية فى الفطر (شكل ٢٩، ٣٠).

اعتماداً على هذه النتائج، يمكن التأكيد على استعمال الفطر *Epicoccum nigrum* فى المقاومة الحيوية لمرض مونيلينيا فى اللوزيات المتسبب عن الفطر *M.laxa*.

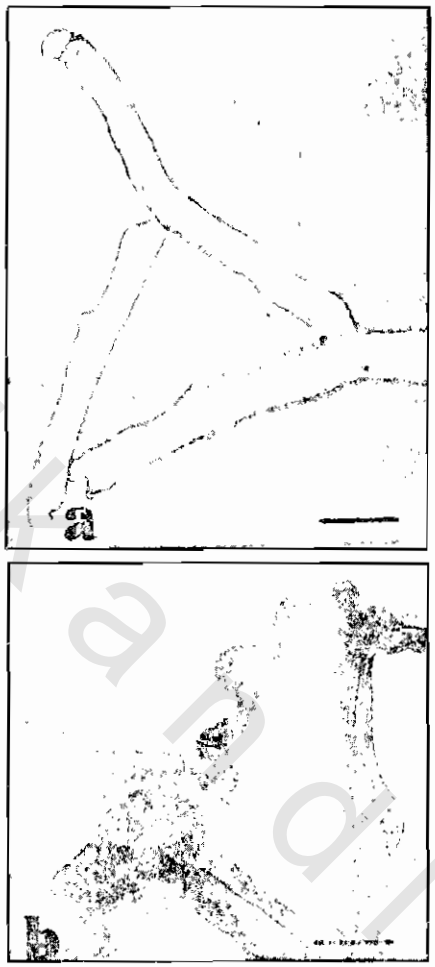


شكل رقم (٢٩) : تفاعل الفطر الممرض *M.laxa* مع الفطر المضاد *E.nigrum* .

A : الهيفات المشوهة للفطر *Monilinia laxa* تحت تأثير المضاد الحيوى المفرز من الفطر *E.nigrum* .

B : الهيفات العادية للفطر *M.laxa*.

المزرعة ذات عمر ١٤ يوماً ، المسطرة السوداء بطول ١٠ ملى ميكرون.



شكل رقم (٣٠) : صورة بالميكروسكوب الضوئى لطريقة التفاف هيفات الفطر *E.nigrum* حول الفطر *M.laxa*.

A : التفرع غير العادى فى هيفات الفطر *M.laxa* .

B : التفاف هيفات الفطر *E.nigrum* حول الفطر *M.laxa*.

طول المسطرة ١٠٠ ملى ميكرون.

obeikandl.com

خامساً: الحمضيات

١- المقاومة الحيوية لمرض تقرح الحمضيات

Citrus Canker Disease Biocontrol

مقـــدمة:

يعتبر مرض تقرح الحمضيات المتسبب عن البكتيريا *Xanthomonas campestris pv.citri* واحداً من أهم الأمراض التى تهاجم الحمضيات، وتظهر شدته على الأنواع: *Citrus limon, Citrus aurantifolia* ، *Citrus limona* أجريت محاولات لإيجاد طرق فعالة واقتصادية لمقاومة هذا المرض، من ضمنها استعمال المضادات الحيوية، ولكن نجاح هذه الطريقة كان جزئياً وذلك لكثرة العوامل المؤثرة عليها. فى السنوات الأخيرة عرفت وحددت بعض الكائنات البكتيرية والفطرية المضادة ذات كفاءة عالية فى المقاومة الحيوية لأمراض المجموع الخضرى فى النبات.

مقـــاومة المـــرض:

هناك ثلاثة أنواع من البكتيريا تثبط نمو المسبب المرضى فى المعمل، وتخفض الإصابة فى الحقل هذه البكتيريا، هى:

1 - *Bacillus subtilis*
2 - *Bacillus polymyxa*
3 - *Pseudomonas fluorescens*

كذلك هناك ثلاثة أنواع من الفطريات، لها الدور نفسه فى المقاومة الحيوية لهذا المرض، هذه الفطريات هى:

1 - *Aspergillus* terrus
2 - *Trichoderma viride*
3 - *T.harzianum*

ولقد تبين بعد الأبحاث المتعددة أن أفضل هذه الكائنات الستة فى مقاومة مرض تقرح الحمضيات البكتيرى، هى البكتيريا *Bacillus subtilis*، حيث وجد بأنها تخفض نمو

obeikandl.com

البكتيريا الممرضة فى المعمل بمقدار ١٤,٧ ملم، وتثبط حدوث المرض فى الحقل بنسبة ٦١,٩ ٪. تستعمل هذه البكتيريا وهى ذات عمر ٢٤ ساعة بتركيز $^{٨}١٠$ وحدة تكوين مستعمرات/مل، عندما ترش فوق المجموع الخضرى للأشجار التى رشت بمحلول البكتيريا الممرضة ذى التركيز $^{٨}١٠$ وحدة تكوين مستعمرات/ مل (جدول رقم ١٠٨).

لقد وجد أنه تحت ظروف الصوبا الزجاجية، فإن البكتيريا المضادة *B.subtilis*، تكون أكثر كفاءة ومعنوية فى خفض حدوث مرض تقرح الحمضيات البكتيرى، عند مقارنتها بالكائنات الأخرى، عند رشها مشتركة مع الكائن الممرض. أما بالنسبة للفطريات المستعملة فكان الفطر *Aspergillus terreus* هو أفضلها. إن دور هذه الكائنات فى مقاومة المرض عند رشها على المجموع الخضرى للنبات، يدخل ضمن طرق المقاومة الحيوية، التى ذكرت فى الفصل الأول من الكتاب.

جدول رقم (١٠٨) : مساحة تثبيط نمو الكائن الممرض *X.camp. pv. citri* باستعمال الكائنات المضادة وتأثيرها على حدث المرض.

الكائن المضاد المستعمل	ملم٢ مساحة تثبيط النمو فى المزرعة	٪ شدة المرض	٪ مقاومة المرض
Bacillus subtilis	١٤,٧	٣٠,٩١	٦١,٩
Pseudomonas flourescens	١٣,٩	٤٠,٥	٥٠,١
Aspergillus terreus	١١,٢	٣٤,٥	٤٧,٥
Bacillus polymyxa	٧,٩	٤٩,٧	٣٨,٥
Trichoderma viride	XX	٤٨,٤	٤٠,٣
Trichoderma harzianum	XX	٤١,٩	٤٨,٣
كنترول	--	١٠٠	صفر

ملاحظات على الجدول:

xx تعنى أن الفطر نمى على مستعمرة البكتيريا فقط.

Camp تعنى *Campestris*.

٢- المقاومة الحيوية لمرض عفن الجذور في الحمضيات

Citrus Root Ro t Disease Biocontrol

أ- المقاومة باستعمال الفطر Penicillium funiculosum

مقـــدمة:

إن أعفان الجذر المتسببة عن الفطر *Phytophthora* واعفان التاج فى أشجار الحمضيات ونباتات الزينة الخشبية من أهم الأمراض المنتشرة فى الطبيعة، وهى من الأمراض التى تسبب خسائر كبيرة فى زراعات المشاتل وفي الحقل. يبدأ المرض غالباً على الغراس (الشتلات)، العقل المجذرة، أو الأجزاء الأخرى من النباتات النشيطة، مثل الأوعية الخشبية أو المشاتل، وأخيراً يسبب خسائر فى الحقل. كان أول ذكر لإصابة الحمضيات بأعفان الجذور المتسببة عن الفطر فايتوفتورا سنة ١٩٢٩. هناك أنواع عديدة من هذا الجنس تسبب عفن جذور الحمضيات منها *P.cinnamomi*، وهو أهم الأنواع الداخلة فى عفن الجذر، كذلك *P.parasitica* (الاسم المرادف *P.nicotianae*) والنوع الاخر المتخصص فى الحمضيات، هو *P.citrophthora*. هذه الأنواع تسبب أصعب المشاكل فى مشاتل الحمضيات وأشجار الفاكهة فى كثير من بلدان العالم.

لغاية سنة ١٩٩٥ كانت تقاوم أعفان الجذور المتسببة عن الفطريات السابق ذكرها، جزئيا بالعمليات الزراعية، وكذلك فإن الأصناف المقاومة متوفرة، إلا أن هناك بعض العوامل تهيىء هذه الأصناف للإصابة بالمرض، مثل طريقة الرى (الرى بالغمر) حيث إن هذه الطريقة يمكن أن تخفض المقاومة أو تلغيها. أما عن المقاومة الكيماوية والتى يستعمل فيها الكيماويات ضد الفطريات البيضية المتخصصة مثل Metalaxyl، Fosetyl Al، فإنها نجحت فى المقاومة، إلا أنها ليست دائماً مرغوبة بسبب تكاليف استعمالها، والأضرار العالية التى تسببها للبيئة وسميتها للمحاصيل، زيادة على ذلك ظهور سلالات من الكائن الممرض مقاومة لهذه المبيدات.

مع أن المقاومة الحيوية لفطريات أمراض الجذور، قد درست من قبل كثير من الباحثين، إلا أن هناك دراسات قليلة أجريت على المقاومة الحيوية للفطر *Phytophthora* عن طريق استعمال الكائنات الدقيقة الفطرية عالية التطفل أو المضادة ذكرت. بعض الدراسات الحديثة،

بأنه يحدث هناك خفض فى مرض عفن الجذر المتسبب عن الفطر *Phytophthora* باستعمال أنواع من الفطريات، مثل:

1 - *Aspergillus*
2 - *Gliocladium*
3 - *Myrothecium*
4 - *Penicillium*
5 - *Trichoderma*

يعتبر الفطر *Penicillium funiculosum* من اكثر الفطريات انتشارا وشيوعاً من الفطريات ساكنات التربة التى تسمى Soil - inhabiting hyphomyces. إن كفاءة هذا الفطر ضد عديد من أنواع الجنس فايتوفتورا قد ذكرت سنة ١٩٨٨ من قبل العالم Tsae *et al*، ولقد أثبت هذا العالم أن هذا الفطر المضاد يقاوم مرض تصمغ فايتوفثورا (إصابة القلف) على سيقان غراس البرتقال الحلو وأشجار الليمون، عن طريق خفض مساحة البقع المتكونة بواسطة الفطر الممرض *P.citrophthora*، والفطر *P.parasitica*

مقاومة المرض:

يقاوم مرض عفن جذور الحمضيات المتسبب عن الفطريات *P.citrophthora* أو *P.cinnamomi* مقاومة حيوية باستعمال الفطر المضاد *Penicillium funiculosum*. لهذا الفطر مقدرة على خفض مرض عفن جذور البرتقال الحلو المتسبب عن الفطريات المذكورة، فى الصوبا الزجاجية، وله تأثير كبير أيضاً فى زيادة نمو الأفرع، ولكن ليس فى عدد القمم البيضاء. إن هذا النمو الجيد الذى يتحصل عليه فى الغراس بواسطة الفطر المضاد فى وجود الفطر الممرض *P.parasitica* يكون بسيطاً وليس معنوياً (جدول رقم ١٠٩).

توجد ثلاث تحت عزلات للفطر المضاد *P.funiculosum*، وكلها متشابهة فى تأثيرها على حدوث المرض، ولكنها تختلف فى لون المزرعة وفى مقدرتها على التجرثم. العزلة T327S تعطى مزرعة خضراء اللون مع كثافة كبيرة فى التجرثم، بينما العزلة T327L، تعطى مزرعة ذات لون مبيض، ذات إنتاج بسيط من الجراثيم، أما العزلة T327 H تعطى مزرعة ذات لون أصفر مخضر، أما تجرثمها فهو وسط بين نسبة تجرثم العزلتين السابقتين.

أما بالنسبة لتأثير هذه الثلاثة تحت عزلات، على حدوث المرض، فقد وجد أن T327S تعطى التأثير الأعلى (جدول ١١٠)، وكذلك فإنها تعطى أفضل تأثير فى زيادة نمو النموات الخضرية، ثم يأتى بعدها T327 H. أما بالنسبة لكثافة تجمعات هذه العزلات فهى تزداد فى بعض النباتات خلال الأربعة أسابيع الأولى من الاستعمال، ثم تقل بعد ذلك.

أفضل طريقة للحصول على مقاومة حيوية جيدة لمرض عفن الجذور فى الحمضيات، هى خلط لقاح جراثيم الفطر المضاد مع التربة المحيطة بجذور البادرات (الغراس)، هذا يكون أكثر فعالية من غمر جذور الغراس فى معلق جراثيم الفطر قبل نقلها إلى التربة المستديمة. كذلك فإن الفطر المضاد يكون أكثر فعالية فى زيادة نمو النبات، عندما يستعمل خلطا مع التربة بتركيز ٧,٠ ٪ من التربة. أما عند استعماله بنسبة ٣٥,٠ ٪ مرتين خلال ٣ شهور، فإنه يكون أكثر فعالية فى مقاومة المرض المتسبب عن *P.cinnamomi*

جدول رقم ١٠٩ : تأثير وجود الكائن المضاد مع مسبب المرض على نمو شتلات (غراس) البرتقال الحلو بعد ٨ أسابيع من الحقن.

أنواع الفطر المضاد	ملم النمو الحديث للأفرع		عدد قمم الجذور البيضاء	
	دون كائن مضاد	مع كائن مضاد	دون كائن مضاد	مع كائن مضاد
كنترول	٥٢,٤	٨١,٦	٢٨,٤	٢٠
P.citrophthora	٣٢,٤	٩٦,٠	٨,٢	٢٧,٦
P.parasitica	٤٩,-	٩٨,٨	٢٤,٤	٣٤,٤

ملاحظات على الجدول:

كان ينمى لقاح الفطر المضاد *P.funiculosum* على بيئة نخالة بيت ويخلط مع التربة بنسبة ٧,٠ ٪.

جدول رقم (١١٠) : تأثير الثلاث تحت عزلات للفطر المضاد على شتلات البرتقال الحلو، فى وجود الكائن الممرض.

الكائن الممرض	العزلة T 327H				العزلة T 327L				العزلة T 327S			
	أ	ب	جـ	د	أ	ب	جـ	د	أ	ب	جـ	د
P.citrophthora	٥٤,٢	٦٦٠,٨	٣٠٦,٦	٤٢	٤٤,٦	٥٢٦,٧	١٨٩,٥	٤٠	٨٦	١٠٢٧,٨	٣٣٤,٢	٤٥
P. Parasitica	٦٤,-	٧٣٩,-	٢٥٤,٧	٤٣	٥٢,-	٦٠٠,٧	٢٣,٨	٣٩	٨٥,٦	٩٦٢,١	٣٤٤,٣	٣٨
كنترول	١١٤,-	١٢٢٤,٤	٣٩٤,٥	٨١	٦٣,٤	٧٣٣,٧	٢٩٧	٨٢	١١٠,٢	١٣٤٨,٤	٤٢١,٦	٨٠

ملاحظات على الجدول :

أ = ملم طول زيادة النمو فى النموات الحديثة . ب = ملغ وزن القمة الزائدة فى النمو. جـ = ملغ وزن الجذور. د = نسبة الإصابة بالمرض.

obeikandl.com

ب - المقاومة باستعمال الفطر *Pythium nunn*

مقـــدمة:

الفطر *Pythium nunn*، من الفطريات التى تتطفل على الفطريات الأخـــرى Mycoparasitic (هذا ما وجده العالم Lifshitz سنة ١٩٨٤) . ولقد تم عزل هذا الفطر من التربة لأول مرة فى كلورادو سنة ١٩٨٤ . لقد أثبتت كثير من الأبحاث كفاءة هذا الفطر فى تثبيط مرض موت البادرات، قبل ظهورها فوق سطح التربة فى كثير من النباتات، المتسبب عن الفطر الممرض *Pythium ultimum* فى مزارع الصوبا الزجاجية. كذلك ثبت بأن هذا الفطر مضاد فى المعمل لكثير من فطريات أمراض الجذور الأخرى، من ضمنها الجنس *Phytophthora*. ولغاية سنة ١٩٩٥ لم يثبت بأن الفطر *Pythium nunn* ضار لأى نبات.

إن كفاءة هذا الفطر فى تضاده ضد الفطر الممرض (الذى يتطفل عليه) يكون عن طريق التفاف الفطر المضاد *P.nunn* حول هيفات الفطر الممرض *Phytophthora sp*، أو عن طريق اختراق هذه الهيفات أو تحليلها، وكذلك بالنسبة لأية تركيبات تكاثرية للفطر الممرض. يمكن للفطر المضاد *P.nunn* أن يقاوم *Pythium ultimum* على الخيار عن طريق خفض تجمعات هذا الفطر الممرض، وبالتالى خفض حدوث المرض.

هناك بعض أنواع من المواد العضوية من ضمنها مجروش الشوفان، عندما تضاف إلى التربة، فإنها تزيد بشكل كبير تجمعات *P.nunn* المترممة فى التربة. كذلك فإن هذا الفطر المضاد *P.nunn* يستطيع أن يتنافس بكفاءة مع الفطر الممرض *P.ultimum* على المواد العضوية المتوفرة، وبالتالى يخفض النشاط الرمى وكفاءة اللقاح للكائن الممرض فى التربة.

مقـــاومة المـــرض:

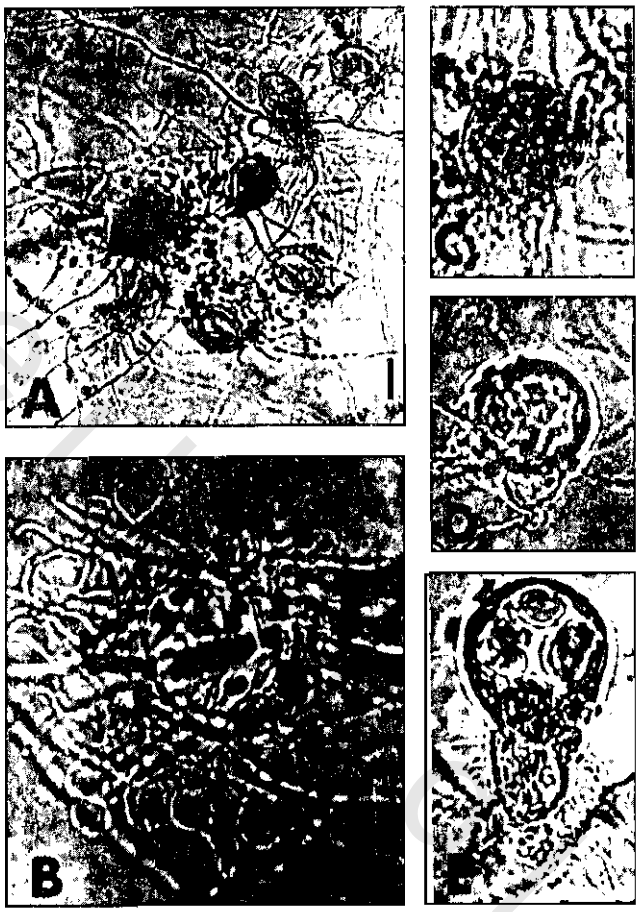
يقاوم مرض عفن الجذور فى الحمضيات المتسبب عن *Phytophthora parasitica* أو *P.cinnamomi* وذلك باستعمال الفطر المتطفل (على الفطريات) *Pythium nunn* . لقد وجد أن هذا الفطر يتطفل على هيفات وأسبورانجيات، والجراثيم الكلاميدية والأعضاء الجنسية لخمسة أنواع من الفطر فايتوفثورا، منها الفطر *P.cinnamomi*، *P.citrophthora* و*P.parasitica* فى المعمل ويسبب تثبيطاً فى نمو الميسيليوم لهذه الأنواع (شكل ٣١، ٣٢،

٣٣)، جدول رقم ١١١ . تنخفض كثافة تجمعات الفطر المضاد *P.nunn* النامية على مزيج من البيت والرمل والمحمولة ومخزنة لمدة ٥٦ يوماً ، ويكون إنخفاضها مستمر تدريجياً ما لم يضاف ١ ٪ من مطحون الشوفان بعد أسبوعين. كذلك فإن كثافة التجمعات للثلاثة أنواع من الفطر الممرض فايتوفثورا، أيضاً تزداد بعد إضافة ١ ٪ من مطحون الشوفان. تنخفض كثافة تجمعات *P.cinnamomi* و *P.citrophthora* وعزلة واحدة من *P.parasitica* فى البيئة المضاف إليها الشوفان فى وجود *P.nunn*، ولكن لا يحدث خفض فى كثافة تجمعات العزلات الأخرى من *P.parasitica* مع أو دون الشوفان. إن كفاءة الفطر *P.nunn*. عند وجوده بنسبة ١٠٠٠ وحدة تكاثر/ غرام تربة فى تثبيط عفن الجذر فى البرتقال الحلو *Citrus sinensis* المتسبب عن *P.parasitica*، يخفض المرض بشكل معنوى، ولكنه يسبب خفضاً بسيطاً فى نمو الأشجار.

جدول رقم (١١١) : التطفل على وتثبيط نمو أنواع Phytophthora باستعمال الفطر Pythium nunn فى المعمل.

التركيبات المتطفل عليها الفطر	عزلات P.cinnamomi		عزلة P.citrophthora	عزلات P. parasitica	
	T 139	B101	P1156	T 131	593
هيفات	التفاف شديد اختراق، تحلل	التفاف شديد اختراق، تحلل	التفاف غير محكم	التفاف شديد واختراق	التفاف شديد
الأسبورنجيات	التفاف حولها نادراً ما يحدث اختراق	لا يحدث اختراق	التفاف شديد واختراق	التفاف شديد واختراق	التفاف شديد واختراق
الجراثيم الكلاميدية	لا يوجد تفاعل	لا يوجد تفاعل	غير قابل للتطبيق	التفاف، اختراق، تحلل	التفاف، اختراق، تحلل
الأعضاء الجنسية	اختراق	اختراق	غير قابل للتطبيق	اختراق وتحلل	اختراق وتحلل
٪ تخفيض نمو بعد ٧ يوم من اضافة الكائن المضاد	٤٨,١	٤٦	٤,٣	٢٨,٨	٣٧,٧

obeikandl.com



شكل (٣١) : صورة موضحة لتطفل الفطر *Pythium nunn* على تركيبات الأعضاء التناسلية للفطر *Phytophthora* sp.

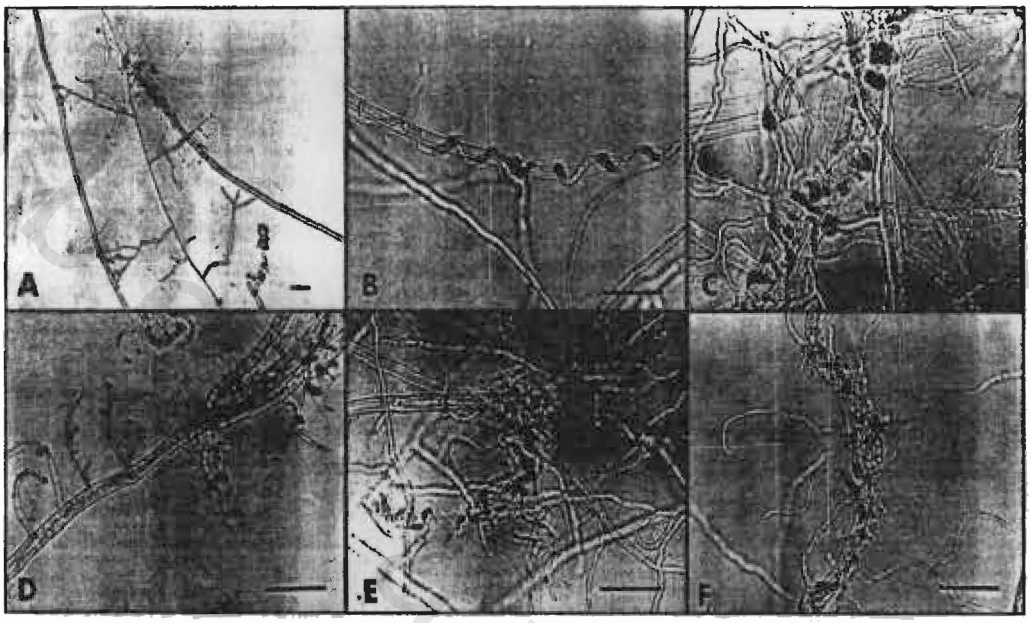
B و A = الأسبورانجيا للفطر *P.citrophthora* ملتفه عليها هيفات الفطر المضاد.

C = هيفات الفطر المضاد تلتف بقوة حول الجراثيم الكلاميدية للفطر *P.parasitica*.

D : هيفات الفطر المضاد تخترق عضو التكاثر الأنثوى للفطر السابق نفسه.

E : هيفات الفطر المضاد تلتف حول، وتخترق عضو التكاثر الذكرى للفطر الممرض *P.cinnamomi*.

مقياس التصوير (المسطرة) ٣٠٠ ميكروميتر.



شكل (٣٢) : صورة توضح التفاعل بين الفطر المضاد *Pythium nunn* والفطر الممرض *Phytophthora* sp.

A : هيفات الفطر المضاد تتجه في نموها وتتفرع جهة هيفات الفطر الممرض *P.cinnamomi* وتلتف حولها، سلالة (T139). هيفات الفطر المضاد قطرها صغير بالمقارنة مع هيفات الفطر الممرض.

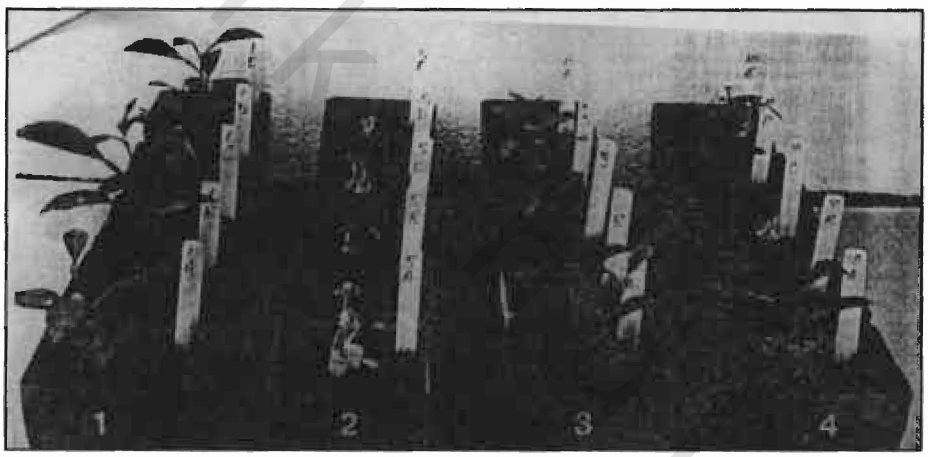
B : التفاف غير محكم لهيفات الفطر المضاد حول هيفات الفطر الممرض *P.parasitica* السلالة T593.

C : ارتباط محكم لهيفات الفطر المضاد حول الفطر الممرض *P.parasitica* سلالة (T131) ، الكتل السوداء تبين اماكن التفاف هيفات الفطر المضاد حول الفطر الممرض.

D: هيفات الفطر المضاد نامية داخل هيفات الفطر الممرض وخارجة من خلالها سلالة (B lol).

E,F: هيفات الفطر المرض (سلالة T139) *P.cinnamomi* محطمة ومتحللة بواسطة الفطر المضاد.

المسطرة قياس ٣٠ ميكروميتر.



شكل (٣٣) : تأثير استعمال الفطر المضاد *Pythium nunn* على إصابة شتلات البرتقال السكرى بالفطر *Phytophthora parasitica*.

رقم ١ : كنترول لا يوجد فطر ممرض ولا فطر مضاد.

رقم ٢ : يوجد فطر ممرض لوحده فقط (جميع الشتلات ماتت).

رقم ٣ : فطر مضاد لوحده (انخفض نمو النباتات بنسبة ٤٠ ٪ عنه فى الكنترول).

رقم ٤ : فطر ممرض + فطر مضاد (نبات واحد فقط مات).

عمر الشتلات ٨ أسابيع. كل حوض يحوى خمسة نباتات، عوملت التربة بمعدل ١٠٠٠ جزء/ غرام تربة.

الفصل العاشر

المقاومة الحيوية لأمراض بعض النباتات البقولية

أولا: البسلة

١- امراض الجذور في البسلة

مقـــدمة:

أهم أمراض الجذور التى تصيب البسلة، تتسبب عن الفطريات *Pythium debaryanun* و *Rhizoctonia solani* والفطر *Fusarium oxysporum f.sp. pisi*

الكائنات المضادة التى تستعمل فى المقاومة الحيوية لهذه الممرضات، هى:

١ – *Pseudomonas sp.* سلالة PS4.

٢ – *Bacillus subtilis* سلالة *B10*.

٣ – الفطر *Trichoderma harzianum* سلالة T6.

عند إجراء التجارب فى الصوبا الزجاجية، تضاف الكائنات المضادة إلى التربة قبل الزراعة بحوالى أسبوع، ثم بعد ذلك يضاف لقاح الكائنات الممرضة إلى التربة فى الأوعية بنسبة ٢ ٪ من الفطر *R.solani* و ٥ ٪ من الفطر *Pythium sp* و *Fusarium sp*. يخلط اللقاح جيدا بالتربة وتسقى بالماء كل يوم بحيث تبقى رطبة فقط.

تضاف الكائنات المضادة فى وقت زراعة البذور، وذلك على أساس معاملة بذور، حيث تحمل كل بذرة حوالى ٨١٠ وحدة تكوين مستعمرات/ بذرة. تلقح البذور أيضاً ببكتيريا *Rhizobium leguminosarum*، حيث أثبتت الدراسات السابقة أن بكتيريا العقد الجذرية الملقحة بها البذور لا تتأثر نهائيا بأى من الكائنات المضادة عند زراعتها معاً فى أطباق بترى، ولم تظهر أى منطقة تثبط.

يظهر من جدول رقم (١١٢) كفاءة الكائنات المضادة فى خفض الإصابة المرضية، وزيادة النباتات النامية، ويزداد تثبيت النيتروجين لكل نبات.

جدول رقم (١١٢) : تأثير معاملة بذور البسلة بالكائنات المضادة على حدوث أمراض الجذور، وعلى البكتيريا المثبتة للنيتروجين الجوى.

المعاملة	% البادرات المصابة قبل الإنبات	% النباتات المصابة بعد الإنبات	% نباتات حية	عدد العقد الجذرية على كل نبات	ملغ نيتروجين كلى/ نبات
كنترول	صفر	صفر	١٠٠	١٨	٤٧,٩١
بكتيريا العقد الجذرية	صفر	صفر	١٠٠	٧١	٩٨,٢٤
Pythium debaryanun					
الفطر لوحده	٥٥	٢٤,٩	٢٠	١٠	٢٨,٧٢
الفطر + العقد الجذرية	٤	١٦,٧	٤٣,٣	٢٢	٣٦,٧٣
الفطر + العقد الجذرية + بسيدوموناس	١٥	صفر	٨٥	٥٣,٥	٧٨,٣٥
الفطر + العقد الجذرية + بسلص	٢٠	٦,٣	٦٨,٨	٥٠,٠	٧٧,١٢
الفطر + العقد الجذرية + تريكوديرما	١٠	صفر	٩٠	٥٤	٧٦,٨٦
Rhizoctonia solani					
الفطر لوحدة	٥٥	٢٤,٩	٢٠,٠	٨,٠	٢٥,٨٩
الفطر +بكتيريا العقد الجذرية	٥٠,٠	٢٢,٩	٢٧,١	١٢,٠	٢٨,٤٠
الفطر + العقد الجذرية + بسيدوموناس	٢٠,٠	٦,٥	٧٣,٨	٤٦,٥	٧٤,٦٤
الفطر + العقد الجذرية + بسلص	٢٠	٦,٣	٧٣,٨	٤٩,٥	٧٥,٤٦
الفطر + العقد الجذرية + تريكوديرما	١٥	صفر	٨٥,٠	٥٣,٠	٧٥,٥٩
Fusarium oxysporum pisi					
الفطر لوحده	٣٥	٣٩,٥٨	٤٥,٤	١١,-	٢٢,٣٣
الفطر +بكتيريا العقد الجذرية	٣٠	٢٩,١٧	٤٠,٨	١٤,-	٢٧,٢٦
الفطر + العقد الجذرية + بسيدوموناس	١٠	١١,٢٥	٧٧,٥	٤٦,-	٧٦,٧٨
الفطر + العقذر الجذرية + بسلص	١٠	١٢,٥	٧٨,٨	٤٤,-	٧٥,٦
الفطر + العقد الجذرية + تريكوديرما	١٠	٦,٢٥	٨٣,٨	٥٠,-	٧٦,٩٨

يتبين من الجدول رقم (١١٢)، أن كلاً من البكتيريا *Pseudomonas* و *Bacillus* والفطر *Trichoderma* لها تأثير كبير على فطر الفيوزاريوم الممرض لجذور البسلة، حيث انخفضت نسبة الإصابة قبل الإنبات من ٥٥ ٪ الى ١٠ ٪ (هذا بالنسبة للإصابة، قبل الظهور فوق سطح التربة) اما بالنسبة للاصابة بعد ظهور البادرات فوق سطح التربة، كان هناك تأثير كبير لهذه الكائنات المضادة على الفطر الممرض؛ حيث انخفضت الإصابة من ٢٤,٩ ٪ إلى صفر. لقد وجد أيضا أن هذه الكائنات المضادة تزيد عدد العقد الجذرية على النبات.

لذا يوصى باستعمال هذه الكائنات المضادة فى المقاومة الحيوية للأمراض الكامنة فى التربة، والتى تهاجم بذور وجذور نبات البسلة.

٢- العفن الأفانومايسي في البسلة

Peas Aphanomyces Root Rot

أ- المقاومة باستعمال مواد متطايرة ناتجة بالتحليل المائي لمجروش بذور اللفت:

مقـــدمة:

يعتبر مرض عفن الجذر الأفانومايسى فى البسلة Aphanomyces root rot واحداً من أهم الأمراض ذات التأثير الاقتصادى الكبير يتسبب هذا المرض عن الفطر الممرض *Aphanomyce euteiches* f.sp. *pisi* وهو يهاجم البذور المنبتة والسويقة الجنينية العليا فى الأطوار المبكرة لنمو البادرة، ويهاجم جذور البسلة فى أى وقت من موسم النمو. يمكن أن تبقى الجراثيم البيضية (مراحل الاطوار الساكنة للكائن الممرض) حية فى التربة لعدة سنوات. هناك كثير من النباتات يمكن أن تكون عوائل لهذا الفطر، وبالتالى تجعل الفطر فى دورة متجددة ومستمرة، وتكوين تجمعات جديدة حتى فى غيات محصول البسلة، وهذا ما يجعل الدورة الزراعية قليلة الكفاءة فى مقاومة هذا المرض.

لغاية سنة ١٩٩٧ لا يتوفر مبيدات فطرية فعالة فى مقاومة هذا المرض، وعلى أية حال هناك عديد من الدراسات، أظهرت أن معاملة التربة عن طريق دفن نباتات العائلة الصليبية فيها، يمكن أن تخفض من مستويات بعض أمراض النبات الكامنة فى التربة من ضمنها

obeikandl.com

A.euteiches. إن اللفت *Brassica napus* مثل بقية النباتات الأخرى فى العائلة الصليبية يحتوى على مركبات تسمى Glucosinolates ويرمز لها *(GSL)*. توجد هذه المواد فى جميع أجزاء نبات اللفت، ولكن أعلى تركيز يكون فى البذور. تتحلل الى GSL إنزيميا، وتنتج مركبات مهمة مختلفة تشمل Isothiocyanates، Nitriles، Thiocyanates، Oxazolidinethiones و Epithionitriles. كل هذه المركبات يمكن أن تكون ذات تأثير سام للكائنات الحية الدقيقة. الإنزيم المسئول عن تحطيم مادةGSL وهو Thioglucoside glucohydrolase ويسمى أيضاً Myrosinase. يعزل الإنزيم من GSL فى أنسجة النبات السليم، ولكنه ينطلق عندما تسحق الأنسجة، أو عندما يحدث تحلل ذاتى للنبات. تكون مادة GSL ثابتة فى مكونات النبات الجافة وفى مجروش البذور غير الدهنية (المنزوع منها الزيت صناعياً).

إن كفاءة نباتات العائلة الصليبية ضد عفن الجذر الأفانومايسى قد ذكرت بواسطة Lewis & Papvizas سنة ١٩٧١ وبواسطة Chan & close سنة ١٩٨٧ عند الاستعمال فى الصوبا الزجاجية، وفى سنة ١٩٩٠ بواسطة Muenhlchen *et al* عند الاستعمال فى الحقل. ولقد ذكر هؤلاء العلماء أن المركبات المتطايرة من تحليل الأوراق الجافة هوائيا ونسيج الساق للكرنب فى التربة تؤثر بشكل واضح على تقليل نمو الميسيليوم وتكشف الجراثيم البيضية للفطر *A.euteiches*.

مع أن الدلائل تشير إلى أن هناك علاقة بين النواتج المتطايرة بالتحليل المائى لمادة *GSL* وتثبيط الفطر *A.euteiches*، إلا أنه لا توجد أبحاث متخصصة تشير إلى أن نواتج تحليل *GSL* هى المسئولة عن التأثير السام تجاه الكائن الممرض. وبسبب هذا النقص قام Smolinska *et al* سنة ١٩٩٧ بإجراء أبحاث أثبت فيها أن هذه المواد المتطايرة من مجروش بذور اللفت، هى المسئولة عن التأثيرات السامة تجاه الفطر *A.euteiches f.sp. pisi*

مقاومة المرض:

فى دراسة تحليلية لمعرفة مكونات مجموعة الـ *GSL* سواء بالنسبة لبذور اللفت المجروشة المعقمة فى الأوتوكليف أو غير المعقمة. يتبين من جدول رقم (١١٣) أن كلتا العينتين من البذور تحوى كميات كبيرة من المركبات الكيماوية الآتية:

1 -) 2 - hydroxyl - 3- butenyl

2 -) 3 - butenyl

3 -) 4 - pentenyl glucosinolate

4 -) glucosinolates سبعة مركبات بكميات متساوية من مركب الـ

أمـا عند دراسـة المواد المتطايرة الناتجـة من مـجـروش بذور اللفت بطريقـة Gas chromatographic - mass spectrometric، بعد عـمليـة التـحليل المائى، فـوجـد أن ال Nitriles مـتـوفـرة بكثـرة فى مـجـروش بذور اللفت المعـقـمـة بالأوتوكليف، بينمـا مـادة Isothiocyanates متوفرة بكثرة فى مجروش بذور اللفت غير المعقمة جدول رقم (١١٤).

أما بالنسبة لتأثير المواد المتطايرة على نمو ميسيليوم الفطر *A.euteiches f.sp pisi*، فقد تبين أن المركبات المتطايرة المنطلقة من مجروش بذور اللفت بالتحليل المائى تمنع كلية نمو ميسيليوم الفطر، إلا أن المواد المتطايرة المنطلقة من مجروش البذور المعقمة بالأوتوكليف ليس لها تأثير معنوى على تثبيط نمو ميسيليوم الفطر. أما بالنسبة لتأثير المركبات المتطايرة على كفاءة الجراثيم الهدبية للفطر فى إحداث المرض، كما هو واضح فى جدول رقم (١١٥) فإن البذور غير المعقمة لها تأثير أكبر على نشاط وكفاءة الجراثيم الهدبية منها فى حالة البذور المعقمة. ولقد وجد أن المواد المتطايرة من البذور السليمة تثبط كلية إنبات الجراثيم الهدبية المتحوصلة، كذلك فإن المواد المتطايرة المنطلقة من البذور المعقمة بالأوتوكليف، تثبط إنبات الجراثيم الهدبية بشكل معنوى، ولكن أقل منه فى الحالة الأولى.

يمكن القول بأن مجروش بذور اللفت، او المستخلص المائى لهذه البذور ذو سمية شديدة ضد الفطر *A.euteiches*، وأن هذه السمية متعلقة مع نواتج تحطيم مواد *GSL*، وأنه يمكن استعمال مجروش بذور اللفت فى المقاومة الحيوية لمرض العفن الأفانومايسى فى البسلة، وهذه أحدث طريقة فى المقاومة الحيوية لأمراض الجذور فى البسلة.

جدول رقم (١١٣) : محتوى مجروش بذور اللفت من مادة GSL، سواء كانت البذور معقمة بالأوتوكليف أو غير معقمة.

مادة الـ GSL	محتوى GSL ميكومول لكل غرام بذور مجروشة	
	مجروش بذور اللفت غير المعقمة	مجروش بذور اللفت المعقمة
Allyl	٠,٣	٠,٢
3 - Buteny l	٣٧,٩	٣٦,٤
4 - Pentenyl	١٢,٨	١٢,٥
2 - Hydroxy -3- butenyl	٨٣,٢	٨٠,٤
2 - OH - 4- Pentenyl	٦,٧	٦,٥
4 - Methy1 thio butyl	٠,٩	١,٠
Phenethyl	٢,٥	١,٩
Indol-3-4-mentyl	٠,٢	صفر
5 - Methy1 thio pentyl	٠,٧	٠,٩
4 - Hydroxy indol- 3-4 - methyl	٥,١	٤,٠
Benzyl	٦,٣	٥,–

جدول رقم (١١٤) : المواد المتطايرة فى مجروش بذور اللفت المعقمة وغير المعقمة.

البذور المعقمة	البذور غير المعقمة
hydrogen sulfide	3 - methy1 butanal
Benzene	Hexanal
Butenenitrile	Isopropylisothio cyanate
Pentenenitrile	3 (E) - hexene
Hexennitrile	ally1 iso thio cyanate
Buteny1 isothio cyanate	2 - methy1 propy1 iso thiocyanate
Nitropentene	Penteny1 isothio cyanate
5 - methy1 thiopentanenitrile	--
2 - pheny1 ethy1 nitrile	--
Ben zene propanenitrile	--
1-3 benzene dicorboxilic acid	--

جدول رقم (١١٥) : تأثير المركبات المتطايرة من مجروش بذور اللفت المحللة مائياً على كفاءة لقاح الجراثيم الهدبية والبيضية للفطر الممرض *Aphanomyces euteiches f.sp pisi*.

المعاملة	جراثيم هدبية		جراثيم بيضية		
	معدل المرض	غرام الوزن الطازج/ نبات	معدل المرض	غرام الوزن الطازج/ نبات	غرام وزن جذور/ نبات
دون كائن ممرض					
دون بذور مجروشة	--	١,٥٤	--	١,٦٣	٠,٤٥
بذور غير معقمة	--	١,٣٨	--	--	--
بالأوتوكليف					
بذور معقمة	--	١,٣٩	--	--	--
بالأوتوكليف					
مع كائن ممرض					
دون بذور مجروشة	١,٦	١,٢٥	٣,٩	٠,٨٧	٠,١١
بذور غير معقمة	٠,٨	١,٣٧	٠,٢	١,٦٤	٠,٤٦
بالأوتوكليف					
بذور معقمة بالأوتوكليف	١,٢	١,٢٥	٠,٩	١,٤٣	٠,٣٦

ملاحظات على الجدول:

بذور البسلة إما أن تعرض لمعلق الجراثيم الهدبية بتركيز x ٥ ١٠^{٢} جرثومة هدبية/مل ثم تحضن ٢٤ ساعة فى غياب مجروش بذور اللفت أو فى وجود مجروش بذور اللفت، غير المعقمة بالأوتوكليف أو المعقمة. ثم بعد ذلك زرعت البذور فى تربة معقمة وأخذت النتائج بعد ١٨ يوم

معدل المرض يقسم من صفر الى ٤ حيث صفر = نبات سليم. ١ = الجذر لونه تغير بنسبة بسيطة ٢ = الجذور لونها متغير بشدة ولكن غير مكرشة. ٣ = الجذور كاملة التلون ومكرمشة.

٤ = الجذور كاملة التعفن أو النبات ميت.

تكملة ملاحظات على الجدول :

أما فى حالة الجراثيم البيضية، كانت التربة تحقن بالجراثيم البيضية بمعدل ٥٠٠ جرثومة/غرام، تم تحضن التربة المحقونة لمدة عشرة أيام فى وجود بذور اللفت المعقمة بالأوتوكليف أو غير المعقمة، ثم بعد ذلك تخلط هذه الكمية القليلة من التربة مع تربة معقمة بكميات كبيرة، ثم تزرع بذور البسلة وتؤخذ النتائج بعد ١٨ يوماً.

ب - المقاومة باستعمال البكتيريا *Burkholderia cepacia*

لكى نحصل على مقاومة حيوية ناجحة ضد الكائنات الممرضة الكامنة فى التربة، يجب أن يكون سطح البذرة او الجذر مستعمراً بالكائن المضاد، بينما من الممكن أن يؤدى استعمار البذور النابتة إلى مقاومة حيوية فعالة لسقوط البادرات المفاجىء المتسبب عن الفطر *Pythium*، إلا أن عفن الجذر الأفانومايسى يتطلب وجود عامل المقاومة الحيوية خلال موسم النمو كله. وهذا ما يتوفر فى البكتيريا *B.cepaci*.

يقاوم مرض عفن الجذر الأفانومايسى بالبكتيريا *Burkholderia cepacia* سلالة AMMDR1، وتستمر هذه السلالة تزداد فى التربة حتى الأسبوع السادس من الزراعة، وبالتالى فإنها تحافظ على الجذور من الإصابة بالفطر طيلة موسم النمو.

تعامل بذور البسلة بالمعلق البكتيرى، ثم تجفف هوائيا بحيث تحصل كل بذرة على حوالى ^{٨,٨١٠} وحدة تكوين مستعمرات، ثم بعد ذلك تزرع هذه البذور فى الأراض الدائمة. وجد أن هذه المعاملة تحفظ البسلة من الإصابة بمرض عفن الجذر الأفانومايسى طيلة موسم النمو.

وجد أيضاً أن معاملة بذور البسلة بالبكتيريا *Pseudomonas fluorescens* لوحدها أو متحدة مع المبيد الفطرى الكبتان تقاوم المرض بفعالية. عندما يكون مرض عفن الجذر متوسطاً إلى شديد، فإن معاملة البذور بالبكتيريا تؤدى الى زيادة معنوية فى عدد النباتات السليمة والإنتاج وخفض فى شدة المرض.

بغض النظر عن المعاملة بالكبتان، فان البكتيريا *Bur. cepacia* هى أكثر الكائنات فعالية فى زيادة عدد النباتات السليمة بحوالى ٤٠ ٪ وزيادة الانتاج ٤٨ ٪ بالمقارنة مع الكبتان

لوحده. كذلك فإن البكتيريا الوميضة *P.fluorescens* دون كبتان، تكون فعالة جداً وتسبب زيادة فى كل من عدد النباتات السليمة والإنتاج بحوالى ٣٣ ٪ بالمقارنة مع الكبتان لوحده.

كذلك فإن *Corynebacterium sp* دون كبتان يزيد فى عدد النباتات السليمة ٢٣ ٪، ويزيد الإنتاج ١٢ ٪ بالمقارنة مع الكبتان لوحده.

ثانيا: الفاصـــوليا.

١- ســـقوط البـــادرات

مقـــدمة:

يعتبر الفطر *Sclerotium rolfsii* من الفطريات الكامنة فى التربة، والتى تسبب أمراضاً خطيرة على كثير من المحاصيل، ويهاجم مدى واسعاً من العوائل فى معظم مناطق العالم. يسبب الفطر مرض سقوط البادرات المفاجيء واللفحة، عفن الساق، والتى تنشأ عن اصابة النباتات بالأجسام الحجرية للفطر، التى تنبت على أو بالقرب من سطح التربة. هذه الأجسام الحجرية تتكون بشكل كبير على النبات المصاب، وهى التركيب المقاوم للظروف البيئية غير المناسبة للفطر، وتحافظ على بقاء الفطر حياً خلال الشتاء القارص.

المبيدات الكيماوية، غالباً غير فعالة ضد الفطر الممرض، وهى غير اقتصادية أو غير متوفرة. بالإضافة لذلك فان استعمال مبيدات الآفات المختلفة، من ضمنها المبيدات الفطرية، يمكن أن يؤثر تأثيراً ضاراً على المحصول، بالإضافة الى اضرار البيئة، وبالتالى أصبح من الضرورى استعمال المقاومة الحيوية فى مقاومة هذا الفطر. هناك تحضيرات مختلفة من عوامل المقاومة الحيوية مثل *Gliocladium virens, Trichoderma spp*. وبعض أنواع البكتيريا، إما لوحدها أو مع تشميس التربة أو معاملة بذور فى الحقل لخفض أمراض الخضروات المتسببة عن الفطر الممرض *S.rolfsii*.

هناك عدة تقارير أثبتت أن كفاءة عوامل المقاومة الحيوية، لا تعتمد فقط على عامل المقاومة الحيوية وتخصصه، وإنما أيضاً على عزلات الكائن الممرض *S.rolfsii*. أثبتت الأبحاث الأولية فى المقاومة الحيوية على الفطر *G.virens* أن العزلة *G.virens* من *GI- 3* فعالة جداً فى المقاومة الحيوية ضد الفطر *S.rolfsii* العزلة *Sr-1*.

تعتمد المقاومة الحيوية الناجحة بشكل كبير على التركيبات المناسبة والنظام الفعال فى استعمال عوامل المقاومة الحيوية. ذكرت الأبحاث الحديثة طرقاً كثيرة فى استعمال عوامل المقاومة الحيوية بطرق تكنولوجية متقدمة كثيراً، من ضمن هذه الطرق استعمال الكتلة الحيوية الميكروبية المحمولة على حامل ترابى خامل Pyrax /Biomass فى معاملة البذور، أو استعمال الحبيبات الحيوية أو الكرات أو المساحيق أو المواد الصلبة المحتوية على الكتلة الحيوية النشيطة. إن أسهل الطرق واكثرها فعالية من هذه التركيبات، هى تجهيز مخلوط من حامل طينى خامل Inert Clay carrier مثل Pyrax مع مواد مخمرة وكتلة حيوية مسحوقية (هذا ما يسمى Pyrax / Biomass). هذه التحضيرات مصنوعة من عزلات من الفطرين *Trichoderma sp* , *G.virens*، فانها تخفض أمراض الرايزوكتونيا فى البطاطس والقطن، وأمراض السقوط المفاجئ واللفحة فى الفاصوليا المتسببة عن *S.rdfsii*.

مقـــاومة المـــرض:

يقاوم مرض سقوط البادرات ولفحة الفاصولياء المتسبب عن الفطر *Sclerotium rolfsii* عزلة *Sr-1* عن طريق استعمال تركيبات، تحوى الفطر المضاد *Gliocladium virens* عزلة G1- 3.

لقد ثبت أن العزلة *G1-3* تثبط إنبات الأجسام الحجرية للفطر الممرض. لقد أجريت دراسات حقلية حيث كانت تحقن قطع أرض ذات مساحة ١,١ م٢ بالفطر الممرض، حيث كان يؤخذ ١٠ غرام من مزرعة الفطر الممرض، وتخلط مع ١٢٠ غرام من رمل الكوارتز ويرطب بحوالى ١٠ مل ماء، وتوزع فى مساحة قطعة التجربة ثم تعزق التربة على عمق ٥ سم لخلط اللقاح مع التربة. فى الوقت نفسه كانت تضاف تحضيرات من Pyrax/ biomass بمعدل ١٥، ٣٠، ٦٠ أو ١٢٠ غرام لكل قطعة على عمق ٥ سم، هذه المعدلات تحوى ٠,٦ x ١٠^{٤}، ١ x ١٠^{٤}، ٢,٩ x ١٠^{٤}، ٦,٦ x ١٠^{٤} وحدة تكوين مستعمرات من الفطر *G.virens* عزلة *G1-3*. أما تجارب الكنترول، فكان يستعمل معها ال Pyrax دون فطر مضاد. وفى تجربة زرعت بذور الفاصوليا بعد معاملتها بالمبيد الفطرى Metalaxy1، ثم سجلت النتائج بعد زراعة البذور بحوالى ١١ يوماً و ٣٥ يوماً وفى الوقت نفسه أى بعد ١١ و ٣٥ يوماً، حددت تجمعات الفطر لتحديد مدى زيادة او نقص هذه التجمعات فى التربة. فكانت النتائج كما فى

جدولى (١١٦، ١١٧) حيث يلاحظ فى جدول رقم (١١٦) أن نباتات الفاصوليا السليمة بعد ١١ يوماً من الزراعة كانت ٦٢، ٦٤، ٦٠، ٦٣٪ حسب التركيز المستعمل من الفطر المضاد، أما فى الكنترول فكانت النباتات السليمة ٢٥٪. أما النباتات السليمة بعد ٣٥ يوماً كانت فى الكنترول ٢٠٪ أما فى التجارب المعاملة بالفطر المضاد كانت ٥٥، ٥٨، ٥٦، ٦٥٪. أما بالنسبة لتجمعات الفطر فى التربة، فقد زادت مع تقدم الوقت بعد الزراعة حتى اليوم ٣٥، ثم تبدأ بعد ذلك فى الانخفاض. يلاحظ أن نسبة البادرات السليمة بعد ٣٥ يوماً أقل منه بعد ١١ يوماً، هذا بسبب تدخل كائنات ممرضة أخرى، تكون قد تنبهت فى هذه الفترة الطويلة وهاجمت البادرات بالإضافة للفطر الممرض الأصلى.

جدول رقم (١١٦): العلاقة بين تركيز الفطر المضاد G.virens فى الحامل Pyrax/ Biomass ونسبة البادرات السليمة من الفاصوليا بعد ١١، ٣٥ يوماً.

المعاملة تركيز الكائن المضاد	٪ نسبة البادرات السليمة بعد	
	١١ يوماً	٣٥ يوماً
كنترول (صفر)	٢٥	٢٠
$٠,٦ \times ١٠^{٤}$	٦٢	٥٥
١×١٠^{٤}	٦٤	٥٨
$٢,٩ \times ١٠^{٤}$	٦٠	٥٦
$٦,٦ \times ١٠^{٤}$	٦٣	٦٥

هذه الدراسة تؤكد أن ال Pyrax /Biomass المحتوى الفطر المضاد *G.virens* تمنع حدوث مرض سقوط البادرات فى الفاصوليا المتسبب عن الفطر *S.rolfsii*، وتبين أن المعدلات المستعملة فى التجربة، هى أقل من التركيزات التى كانت تستعمل فى تجارب سابقة، حيث كان يستعمل معلق الجراثيم دون أن يحمل على مواد حاملة خاملة مثل Pyrax، وبالتالى يحقق لنا قلة التكاليف من حيث قلة عدد الجراثيم اللازمة للاستعمال، بالاضافة لرخص ثمنه، إذا قورن بالحوامل الأخرى مثل بودرة التلك.

جدول رقم (١١٧) : يبين زيادة تجمعات الفطر المستعمل فى المقاومة G.virens فى التربة بعد فترات مختلفة من إضافته إليها.

المعاملة Pyrax/biomass g/ l.l M^2 soil	عدد الأيام بعد إضافة المسحوق للتربة	لوجارتم العدد النهائى لـ cfu / .غرام تربة
١٥	صفر	٣,٨١
١٥	١١	٣,٨
١٥	٣٥	٣,٩١
٣٠	صفر	٤,٠١
٣٠	١١	٤,٣٢
٣٠	٣٥	٤,١٦
٦٠	صفر	٤,٤٦
٦٠	١١	٥,١٢
٦٠	٣٥	٤,٧٩
١٢٠	صفر	٤,٨٢
١٢٠	١١	٥,٥٤
١٢٠	٣٥	٥,١٩

٢ - العفـــن الأبيـــض

مقـــدمة :

يعتبر الفطر *Sclerotinia sclerotiorum* من الفطريات الممرضة وشديدة الخطورة، بسبب أمراضاً على حوالى ٤٠٨ أنواع نباتية. يشار إلى المرض الناتج عن هذا الكائن الممرض باسم العفن الأبيض White mold، ويسبب خسائر فى الإنتاج فى كثير من المحاصيل المهمة اقتصادياً، مثل: عباد الشمس، كانولا، الجزر والفاصوليا. قبل أن يهاجم الفطر أنسجة النبات السليمة فإن جرائيمه تتطلب مصدراً خارجياً للطاقة. فى حالة العفن الأبيض فى الفاصولياء، فإن أهم مصدر عادى للطاقة هو أجزاء الزهرة القديمة. بعد استعمار مصدر الطاقة (التغذية) هذا فإن الكائن الممرض يخترق الأنسجة الحية المجاورة ويبدأ المرض. فالإصل فى الإصابة بهذا الفطر هو استعمار بتلات الأزهار.

هناك عدة عوامل، من المعروف، أنها تؤثر على عملية استعمار بتلات الأزهار بواسطة الفطر الممرض *S.sclerotiorum*. لقد وجد أن حرارة الهواء والرطوبة النسبية وكفاءة الماء Water potential وتقلبات رطوبة أسطح النبات كلها، تؤثر على إنبات الجراثيم الأسكية ونمو ميسيليوم الفطر، وتؤثر على مقدرته على استعمار البتلات القديمة، فى هذه الحالة يجب على الفطر الممرض أن يتنافس مع الفطريات الخيطية، البكتيريا والخمائر، التى يعرف بأنها ساكنات بتلات الفاصولياء. معظم هذه الكائنات الدقيقة مضادة للفطر *S.sclerotiorum*. فى التجارب المعملية فى المعمل او الصوبا الزجاجية، قد تم عزل كل من الفطريات الآتية:

1 - Cladosporium cladosporioides

2 - Alternaria alternate

3 - Drechslera sp.

4 - Epicoccum purpurascens, E.nigrum

5 - Fusarium graminearum

6 - Fusarium heterosporum

هذه الفطريات تخفض من شدة وحدوث المرض، وتعتبر كائنات مضادة ومن عوامل المقاومة الحيوية. عند إضافة هذه الكائنات الى نباتات الفاصولياء المحقونة طبيعيا تحت ظروف الحقل، يكون هناك انخفاض ظاهر فى المرض ويكون بنسب مختلفة. يعزى الاختلاف فى كفاءة عوامل المقاومة الحيوية هذه تحت ظروف الحقل، إلى العوامل البيئية المؤثرة على حيوية ونشاط عوامل المقاومة الحيوية.

مقاومة المرض:

أ- باستعمال الفطريات:

يمكن مقارنة العفن الابيض فى الفاصولياء باستعمال الفطر *Alternaria alternate* وذلك بتركيز ٢ x ١٠ ^ جرثومة /مل رشاً على الأوراق فى المراحل الأولى من الإنبات بحيث تكون درجة الحرارة أقل من ٢٠° م ، والرطوبة النسبية أقل من ٨٠٪ ، هذا الرش يخفض الإصابة بالمرض من ٢١ – ١٠٠٪ بالمقارنة مع الكنترول، وذلك حسب درجة الحرارة والرطوبة النسبية. وجد أنه عندما تكون درجة الحرارة ٢٤° م والرطوبة النسبية ١٠٠٪

تنخفض كفاءة هذا الفطر فى المقاومة الحيوية، وتظهر أعراض المرض على شكل بقع، وكذلك عندما تكون الرطوبة النسبية ٩٥٪ على حرارة ٢٤°م تنخفض كفاءة المقاومة الحيوية، وينخفض التأثير أكثر على حرارة ٢٨°م ورطوبة نسبية ٩٥٪، فى هذه الظروف يسبب الفطر الممرض بقعاً على الأوراق تصل إلى قطر ٤ ملم، وقد يصل قطر البقعة الى ١٦ ملم على حرارة ٢٠° م ورطوبة نسبية ٩٥٪. أما على رطوبة نسبية ١٠٠٪ وحرارة ٢٠°م، الى ٢٤°مم فيكون قطر البقعة ٤٠ ملم.

يمكن استعمال الفطر *Epicoccum nigrum* بتركيز ٢x ١٠° جرثومة/ مل فى مقاومة المرض، وإن كفاءة وفعالية هذا الفطر لا تتأثر باختلاف درجات الحرارة أو الرطوبة النسبية السائدة أثناء المعاملة. يخفض هذا الفطر المضاد الاصابة ١٠٠٪ وذلك لأن هذا الفطر يتأثر بدرجة تأثر الفطر الممرض نفسها من حيث الحرارة والرطوبة النسبية ويكون شديد المنافسة له.

ومن الجدير بالذكر أن نشاط وقوة المرضية للفطر الممرض على نباتات الفاصوليا تختلف حسب درجة الحرارة السائدة والرطوبة النسبية. أول من ذكر هذا التقرير هو Hannusch & Boland سنة ١٩٩٦. وقد ذكرا أيضاً أن تأثير درجة حرارة الهواء على مرض العفن الأبيض فى الفاصوليا هو كالآتى: درجة حرارة ١٥– ٢٥°م أفضل درجة حرارة لتكشف البقع (أعراض الإصابة) على الأوراق، درجة حرارة ٣٠°م يتوقف تكشف بقع الإصابة تماماً. وقد ذكر الباحثان أن الفطر الممرض *S.sclerotiorum* يمكن أن يحدث المرض تحت ظروف عالية الرطوبة الجوية، والتى تجعل أسطح النبات رطبة ومبللة، مع توفر أفضل درجة حرارة لنموه، وهى ٢٤°م.

ب - باستعمال البكتيريا:

كما سبق وذكرنا أن مرض العفن الأبيض فى الفاصولياء والبقوليات الأخرى يتسبب عن الفطر *Sclerotinia sclerotiorum*، وهو ينشأ معتمداً على إنبات الجراثيم الأسكية على الأزهار، واستعمال بتلات الأزهار كمصدر غذائى للميسيليوم، قبل أن يخترق هذا الميسيليوم أنسجة النبات الخضراء. إن المقاومة الحيوية التى تعتمد على استعمال كائنات حية دقيقة

مضادة، تستعمر الأزهار، وتمنع تمكن الكائن الممرض منها، قد تنبه إليها كثير من الباحثين، ووضعوها فى الاعتبار للقضاء على هذا الفطر فى مراحله الأولى.

على الرغم من الأسبقية فى استعمال البكتيريا فى مقاومة الأمراض، التى تكون فيها الزهرة ساحة العدوى الأولية، إلا أن هناك قليلاً من الأبحاث تتعلق باستعمال البكتيريا ضد مرض العفن الأبيض فى البقوليات. لقد ذكر Huang *et al* سنة ١٩٩٣ أنه يمكن تثبيط العفن الأبيض على الفاصوليا الجافة الصالحة للأكل باستعمال البكتيريا *Erwinia herbicola* سلالة *B1*، تحت ظروف الصوبا الزجاجية، ولكن كانت النتيجة غير ذلك فى التجارب الحقلية. بعد رش المعلق البكتيرى على النباتات فى الحقل، فإن السلالة *B1* تبقى حية على الأوراق، وتستعمر الأزهار خلال الفترة الأولى من التزهير، وبالتالى فإن تواجد البكتيريا على النبات لمدة طويلة قبل الأزهار ليس من العوامل المحددة المهمة فى مقاومة المرض.

اكتشفت السلالة *B2* على أزهار نباتات الفاصوليا المعاملة فى التجارب الحقلية بتجمعات على مستويات تتراوح من $١٠^{٢}$ – $١٠^{٦}$ وحدة تكوين مستعمرات لكل زهرة. وباعتبار أن الفطر الممرض يستطيع أن ينبت بعد ٣ ساعات، ويخترق أنسجة الزهرة بعد ٢٤ ساعة ويستعمر الزهرة بعد ٤٨ ساعة، فإن مقدرة الكائن المضاد على أن يتكاثر ويصل إلى تجمعات مستويات فعالة ويحث على ميكانزم تثبيط الكائن الممرض ضمن هذه الفترة، يعتبر الإطار المهم لفعالية عامل المقاومة الحيوية.

تحدث التغيرات الكبيرة فى فسيولوجيا الزهرة خلال فترة النضج والشيخوخة، ويمكن أن تحسب هذه التغيرات لصالح الإصابة بالفطر فى الأزهار المتفتحة، وليس فى البراعم الخضراء. لقد ذكر بأن البكتيريا المضادة التى تهاجم الكائنات الممرضة التى تصيب الزهرة تحتل مراكز معينة فى الزهرة، وهذا يؤدى إلى القول بأن الاستعمار بواسطة البكتيريا من المحتمل أن يتأثر أيضا بفسيولوجيا الزهرة.

إن أفضل درجة حرارة للنمو المخبرى لسلالات *E.herbicola* قد ذكرت بأنها بين ٢٨ – ٣٠ °م، هذه الدرجة تمثل السقف العلوى المحدد لإصابة الزهرة بالفطر الممرض، والتى تكون أكثر ملاءمة على ٢٠ – ٢٥ °م.

مقـاومة المـرض:

هناك ثلاث سـلالات من البكتـيـريا *Erwinia herbicola* تستـعـمل على أزهار الفاصولياء، قبل أن تحقن بالجراثيم الأسكية للفطر الممرض. إن تثبيط إنبات الجراثيم الأسكية كما فى جدول رقم (١١٨)، حيث إنه بعد تحضين البكتيريا مدة ٢٤ ساعة ينخفض إنبات الجراثيم الأسكية من ٧٨ ٪ فى الكنترول إلى ٢٠ ٪ فى المعاملة. مع أن سلالات البكتيريا تسلك سلوكاً متشابهاً فى التكاثر على الأزهار، إلا أن التركيز يزداد بسرعة أكثر على الأزهار، حيث إنه يكون فى البداية أقل من $١٠^{٢}$ وحدة تكوين مستعمرات لكل زهرة؛ حتى يصل إلى تركيز أكبر من $١٠^{٧}$ وحدة تكوين مستعمرات لكل زهرة خلال ١٦ ساعة على حرارة $٢٥^{٥}$ م، وهى تكون فعالة فى تثبيط الكائن الممرض بعد فترات مختلفة من التكاثر ومستويات مختلفة من التجمعات.

جدول رقم (١١٨) : تأثير سلالات البكتيريا E.herbicola المستعملة على أزهار الفاصولياء من حيث نسبة إنبات الفطر الممرض، مساحة البقع الممرضة وزيادة أعداد البكتيريا بعد التحضين.

السلالات	٪ إنبات جراثيم الفطر الممرض تحت تأثير البكتيريا المحضنة مدة (ساعة)			ملم مقياس بقع المرض بعد تحضين البكتيريا مدة (ساعة)			زيادة اعداد البكتيريا بعد فترة تحضين (ساعة)		
	صفر	٦	٢٤	صفر	٦	٢٤	صفر	٦	٢٤
كنترول	٧٨	٦٠	٧٥	٣,٨	٣,٦	٤,٠	--	--	--
سلالة B1	٧٠	٧٥	٢٠	٤,-	٤,-	١,٥	$٢_{١٠}$	$٤,٣_{١٠}$	$٨_{١٠}$
سلالة B346	٧٥	١٠	٩	٣,٧	١,٢	١,-	$١,٩_{١٠}$	$٤,٥_{١٠}$	$٨.١_{١٠}$
سلالة B367	٨٠	١٨	٣	٣,٦	١,٣	١,٢	$١,٩_{١٠}$	$٤,٤_{١٠}$	$٧,٨_{١٠}$

ملاحظات على الجدول:

كانت تحقن الأزهار بالجراثيم الأسكية بعد فترة التحضين المذكورة. كانت تحسب نسبة إنبات الجراثيم بعد ٤ ساعات من الحقن. مساحة البقعة كانت تحسب بعد ٣ أيام من حقن الأزهار بالجراثيم الأسكية. مقياس البقع من ١ - ٤: حيث إن ١ = لا تتشكل بقع: ٢ = قطر البقعة أقل من ١ سم ٣ = قطر البقعة من ١ - ٣ سم. ٤ = قطر البقعة أكبر من ٣ سم.

تتطلب السلالة البكتيرية B1 تحضيناً لمدة ٢٤ ساعة على الأقل حتى تقوم بعملية تثبيط إنبات ونمو الفطر الممرض، وبالتالى تثبيط المرض، بينما السلالات B346، B367 تكون قادرة على تثبيط المرض بعد تحضينها لمدة ٦ ساعات فقط، عندما يكون مستوى تجمعها أقل من ^{5}١٠ وحدة تكوين مستعمرات/ زهرة. إن تكاثر جميع السلالات يكون محدوداً بزهرة الفاصوليا فى مرحلة تفتحها الكامل (الطور الناضج)، والذى يستمر يوماً واحداً تحت ظروف الحقل. تختلف السلالات فى مقدرتها على حفظ نبات الفاصوليا من الإصابة بمرض العفن الأبيض، وذلك حسب مقدرتها على استعمار أجزاء النبات التى يخترق منها الكائن الممرض. لقد وجد أنه عند استعمال السلالة B346 والسلالة B367 على البراعم المغلقة، فتكون مقدرتها التضادية ضد الكائن الممرض، تظهر أولاً عندما تصبح الأزهار كاملة التفتح، وتستمر هذه المقدرة حتى تصبح الزهرة فى مرحلة الشيخوخة وأخيراً تتلف. أما بالنسبة للسلالة B1 فإن تثبيطها للكائن الممرض، لا يبدأ إلا حين بداية وصول الأزهار طور الشيخوخة.

إن تكاثر وتضاد سلالات البكتيريا *E.herbicola* على الأزهار فى المعمل يكون فى أشده على حرارة من ٢٨ – ٣٠°م، وينخفض كثيراً على حرارة ٢٠° م. اذا كانت درجة حرارة عروش الفاصوليا أقل من ٢٠°م (وهى غير مناسبة لنمو البكتيريا *E.herbicola*) بمعدل أكبر من ١٦ ساعة يوميا، فهى تكون محددة لمقدرة سلالات البكتيريا على التكاثر، حتى عندما تكون الأزهار فى طور النضج. أما درجة الحرارة ٢٥° م على الاقل لمدة ٦ ساعات يوميا، تكون مناسبة لتكاثر البكتيريا وتقلل الإصابة بالمرض (جدول رقم ١١٩).

يجب ملاحظة أن تثبيط المرض باستعمال السلالة B1 لا يحدث إلا عند وصول أعداد هذه البكتيريا الى مستوى اكبر من ^{7}١٠ وحدة تكوين مستعمرات لكل زهرة، وأن تبقى على هذا التركيز لمدة ٨ ساعات على الأقل.

أما بالنسبة للسلالتين B346، B367 يمكن أن تقوم بعملها فى تثبيط المرض، عندما يكون تركيزها ^{4}١٠ وحدة تكوين مستعمرات لكل زهرة.

ترجع كفاءة سلالات البكتيريا *E.herbicola* فى المقاومة الحيوية إلى مقدرتها على إفراز مادة Herbicolin A، وهذه المادة فعالة فى تثبيط الكائنات الممرضة المستعمرة للسطح

الورقى أو منطقة رايزوسفير الجذر. أكثر السلالات إفرازاً لمادة Herbicolin A هى السلالة B247

جدول رقم (١١٩) : تأثير درجة الحرارة على كفاءة البكتيريا E.herbicola ضد الفطر S.sclerotiorum على ازهار الفاصوليا، حيث تقاس الأعراض على الأوراق الملتصقة بالنبات بعد فترات مختلفة من قبل الحقن بالبكتيريا على الأزهار.

السلالة	فترة التحضين قبل الحقن بالبكتيريا	درجة الحرارة المئوية التى حقنت عليها الأزهار	دليل البقع	مستوى تجمعات الأزهار لكل زهرة
السلالة B367	٦	٢٠	٣,٢	$٣,٥٨_{١٠}$
	--	٢٨	١,٨	$٤,٣_{١٠}$
	٢٤	٢٠	١,–	$٧,١٨_{١٠}$
	--	٢٨	١,–	$٧,٢٦_{١٠}$
B1	٢٤	٢٠	٢,٧	$٧,٥٤_{١٠}$
	--	٢٨	١,٣	$٨,٢٦_{١٠}$
كنترول	٦	٢٣	٣,٣	صفر
	٢٤	٢٣	٣	صفر

ملاحظات على الجدول:

دليل المرض كما فى الجدول السابق. كانت تستعمل سلالات B1 و B367 كمعلق خلوى على الأزهار بمعدل $١٠^{٣,٥}$ وحدة تكوين مستعمرات/ زهرة. عوملت كل زهرة بجراثيم أسكية $١٠^{٣}$ جرثومة/مل قبل الحقن بالبكتيريا، ثم توضع على أوراق الفاصوليا، وتحفظ فى مراقد على حرارة ٢٣ ° م. بعد ثلاثة أيام يقاس دليل المرض.

٣ - عفن بوترايتس على اوراق الفاصوليا.

مقـــدمة:

يهـاجم الفطر *Botrytis cinerea*، السـيـقـان، الأوراق، الازهار والثـمـار لكثـيـر من المحـاصـيل ومن أهمـهـا الفـاصـولـيـاء. بـعـد دراسـات عـديدة تبين أن الفطر *Trichoderma harzianum* العزلة T39 عامل مقاومة حيوية فعال يستعمل ضد هذا الكائن الممرض تحت الظروف التجارية. هناك عدة ميكانيكيات قد اقترحت لتفسير الدور، الذى يقوم به الفطر المضاد *T.harzianum* فى المقاومة الحيوية. مثلاً المنافسة على الغذاء والمكان قد اقترحت فى تفسير مقاومـة الفطر *B.cinerea*؛ نظراً لأن هذا الفطر يتطلب مـواد غـذائيـة خـارجـيـة للإنبات ولاستطالة أنبوبـة الإنبات لمدة من الزمن تستغرق عدة ساعات على السطح الورقى قبل اخـتـراق النبـات العائل. كذلك فإن ظاهرة فوق التطفل Mycoparasitism ضـد الفطر *B.cinerea* قد ذكـرت بواسطة Belanger *et al* سنة ١٩٩٥ وبواسطة Tronomo & Raa سنة ١٩٧٧. أمـا Lorit *et al* سنة ١٩٩٣ فـقـد ذكـر أن هناك مـثـبطات فطرية يفـرزها *T.harzianum* ضـد الفطر *B.cinerea* بواسطة إنزيمات Chitinolytic. كذلك فإن إنتاج المواد المثبطة او المضادات الحيوية تثبط تجرثم الفطر الممرض وتخلق مقاومة مستحثة ضده، كل ذلك يدخل فى مقاومة هذا المرض.

الإنزيمات المحللة للبكتين خارج الخلايا Extracellular pectolytic enzymes للكائن الممرض تلعب دوراً مهماً فى المرضية. هناك مجموعة مختلفة من الإنزيمات البكتينية تنتج بواسطة الفطر *B.cinerea* من بينها hydrolases مـثل إنزيم Polygalacturonase (PG) وبكتين مـيثيل استـريز (PME) وإنـــزيم lyases مـــثل Pectate lyase (PL). الإنزيمات المحطمة للبكتين تحطم تركيب جدر خلية النبات، الجزيئات المنطلقة من جدار الخلية بواسطة هذه الإنزيمات تثير استجابة النبات للدفاع. وجد أن عزلة T39 من الفطر *T.harzianum* لها تأثير مثبط لنشاط الانزيمات المحطمة للبكتين المفرزة من قبل الكائن الممرض *B.cinerea*، وأن نسبة تثبيط هذه الإنزيمات تتراوح من ٣٠ – ٨٣٪ وذلك حسب نوع الإنزيم.

مقـاومة المـــرض:

يقاوم مرض بوترايتس على أوراق الفاصولياء المتسبب عن الفطر *Botrytis cinerea* بواسطة الفطر المضـاد *Trichoderma harzianum* السـلالة T39، وذلك بتـركيـز 10^7 جرثومة كونيدية/مل رشا على الأوراق، ولكن حقن النبات بهذا المعلق يعطى نتيجة أفضل.

إن إنبات واستطالة أنبوبة الإنبات فى الجراثيم الكونيدية للكائن الممرض على أوراق الفاصوليا تنخفض فى وجود عامل المقاومة الحيوية T39. يلاحظ خفض حوالى ٢٠- ٥٠٪ فى كتلة أنبوبة الإنبات بعد ٢٠ ساعة من الحقن. هذا الخفض فى الانبات لا يؤدى الى منع تام لتكشف المرض على الأوراق. بعد يوم واحد من الحقن فإن شدة المرض على الأوراق بالكائن الممرض، سواء كان عامل المقاومة الحيوية موجوداً أو غير موجود، تكون متشابهة حيث يظهر حوالى ١٠٪ مناطق متحللة (مصابة)، بعد ذلك يتكشف المرض بسرعة فى نباتات الكنترول، ويسبب تقزماً ونكروزز تاماً على الورقة ١٠٠٪، بينما فى حالة وجود الفطر المضاد فإن مناطق الإصابة النكروززية تصل حوالى ٥٠٪ من سطح الورقة (جدول رقم ١٢٠).

إن إنتاج الإنزيمات المحطمة بواسطة الفطر الممرض، عند قياسها بعد أربعة أيام من الحقن كانت حوالى ١,٣ وحدة إنزيمية من الإنزيم (PG) وحوالى ٩ Microequivalents من هيدروكسيد الصوديوم، والذى يعطى دليلا على نشاط إنزيم (PME)وحوالى ١,٥ وحدة من أنزيم (PL) أمكن اكتشافها على أوراق الفاصوليا. تحت الظروف نفسها، فإن الفطر المضاد لاينتج أياً من هذه الإنزيمات. أما على الأوراق المصابة بالكائن الممرض فى وجود عامل المقاومة الحيوية، فإن نشاط إنزيم (PG) المفرز من الكائن الممرض انخفض بحوالى ٤٠- ٨٣٪ ، وكان هناك خفض حوالى ١٠٠٪ فى نشاط إنزيم ر(PME)، وحوالى ٣٠٪ خفضا فى نشاط إنزيم PL.

اعتماداً على هذه النتائج المذكورة يمكن القول بأن الفطر المضاد *T.harzianum* يقوم بدوره فى المقاومة الحيوية عن طريق خفض نشاط أنزيمات الكائن الممرض، وهذا يعطى تأثيراً غير مباشر فى تشجيع وسائل الدفاع فى العائل.

جدول رقم (١٢٠) : يبين تأثير الكائن المضاد على شدة المرض المتسبب عن الفطر B.cinerea بعد ١ – ٤ أيام من الحقن.

المعاملة	عدد الأيام بعد الحقن	دليل شدة المرض
الكائن الممرض لوحده	١	٢
الكائن الممرض لوحده	٢	٤,٥
الكائن الممرض لوحده	٣	٧,–
الكائن الممرض لوحده	٤	٦.٩
الكائن الممرض + الكائن المضاد	١	١,٥
الكائن الممرض + الكائن المضاد	٢	١,٦
الكائن الممرض + الكائن المضاد	٣	٣,٤
الكائن الممرض + الكائن المضاد	٤	٣,٢

ملاحظات على الجدول:

يستعمل الكائن الممرض حقناً فى الأوراق بتركيز ٥ x $١٠^{٥}$ جرثومة كونيدية/مل.

يستعمل الكائن المضاد حقناً فى الأوراق بتركيز $١٠^{٧}$ جرثومة كونيدية/مل.

يقسم دليل المرض من ١ – ٧ : حيث إن صفر = دون أعراض. ١ = ١٢ ٪ من مساحة الورقة مصابة تحت نقطة الحقن. ٢ = ١٣ – ٢٥ ٪ من مساحة الورقة مصابة تحت نقطة الحقن. ٣ = ٢٦ – ٥٠ ٪ من الورقة مصابة. ٤ = ٥١– ١٠٠ ٪ من مساحة الورقة مصابة. ٥ = امتداد منطقة التحلل بعد مساحة نقطة الحقن حوالى ٦ ملم. ٦ = امتداد منطقة التحلل حول نقطة الحقن بحوالى ٢ – ٥ ملم. ٧ = امتداد منطقة التحلل بعد نقطة الحقن أكثر من ٥ ملم.

عند مقارنة استعمال عزلات أخرى من الفطر المضاد، كما هو واضح من جدول رقم (١٢١)، يتبين أن العزلة T39 تخفض المرض معنوياً وتخفض نشاط إنزيم PG للكائن الممرض بعد يوم و يومين من الحقن، مع أن نشاط PG لم يخفض بواسطة T39 فى اليوم الثالث من الحقن، إلا أن شدة المرض تأثرت بالخفض السابق للنشاط الإنزيمى.

أما عن تأثير الفطر المضاد على نشاط إنزيمات الفطر الممرض *B.cinerea*، والتى يفرزها فى أوراق الفاصوليا وتحطم البكتين مثل *PME* و *PL* فلقد وجد (جدول رقم ١٢٢) أن السلالة *T39* من الفطر المضاد لا تنتج أياً من *PME* او *PL* على أوراق الفاصوليا. أما نشاط هذين الإنزيمين المفرزين من الفطر الممرض على أوراق الفاصوليا عند استعمال ٤ غرامات من *KH2PO4*/ لتر لزيادة تشجيع وحدوث المرض، حيث إن الفوسفات تشجع اختراق الفطر وتزيد نشاط بعض الإنزيمات البكتينية (والفطر المضاد) فقد أدى ذلك إلى خفض نشاط هذه الإنزيمات بحوالى ٣٠ و ١٠٠ ٪ بالترتيب قياسا لنشاطهما عند غياب عامل المقاومة الحيوية.

جدول رقم (١٢١) : تأثير عزلات الفطر المضاد تريكوديرما على نشاط إنزيم PG وشدة المرض المتسببة عن B.cinerea.

عزلات الفطر المضاد Trichoderma	فترة التحضين بالأيام					
	يوم واحد		يومين		٣ أيام	
	شدة المرض	عدد وحدات PG	شدة المرض	عدد وحدات PG	شدة المرض	عدد وحدات PG
كنترول	١,٤٧	٠,١٨	٣,١٨	١,٢	٦,٢	١,–
T - 39	٠,٤٦	٠,٠٣	١,٥٨	٠,٧	٢,٥	١,١
T - 28	١,٨٥	٠,٩٠	٣,٦٥	١,٣٤	٦,٤	١,٣
T - 99	١,٦٢	٠,١٥	٢,٧	١,١٧	٥,٥	١,٢٨

ملاحظات على الجدول:

شدة المرض مقسمة من صفر إلى ٧، كما فى الجدول السابق.

وحدة واحدة من الانزيم = كمية الإنزيم التى تطلق (1 um) حمض جلاكتيورونك فى ساعة واحدة.

جدول رقم (١٢٢) : تأثير الكائن المضاد T.harzianum عزلة T39 على الفطر الممرض B.cinerea المزود بتركيز ٤ غرام KH2PO4 / لتر بعد ثلاثة أيام من الحقن.

المعاملة	شدة المرض	نشاط PL	نشاط PME
الكائن الممرض لوحده	٣,٩	١,٥	٨,٥
الكائن الممرض + الكائن المضاد	٠,٣	١,-	صفر

ملاحظات على الجدول :

شدة المرض تقسم كما فى الجدول السابق.

الوحدة الواحدة من إنزيم PL = كمية الإنزيم التى تسبب زيادة حوالى ٢,٦ فى الادمصاص على ٢٣٥ نانومير، والذى يساوى انطلاق واحد من Umol مجموعة ألدهايد.

الوحدة الواحدة من إنزيم PME = عدد المكروكوفيلنت من هيدروكسيد الصوديوم الممتص/ مل من الراشح المنتج من أوراق الفاصوليا/ ساعة.

obeikandl.com

ثالثا : الحمـــص

١- عفن بوترايتس في بذور الحمص

مقـــدمة :

يعتبر محصول الحمص ثالث أهم محصول بقولى فى العالم بعد الفاصولياء Beans والبسلة Peas. الأبحاث التى أجريت على الفطر *Botrytis cinerea* على نبات الحمص *Cicer arietinum*، كانت قد تركزت على إصابة المجموع الخضرى، والتى عادة ما تحدث وقت التزهير. فى الجنوب الشرقى من أستراليا تحدث الإصابة بالفطر *B.cinerea* أثناء إنبات البذور وخلال ظهور البادرات فوق سطح التربة، مسببا انخفاضاً كبيراً فى نسبة الإنبات، ومسبباً مرض العفن الطرى فى أسفل الساق (هذا ما وجده Bretag & Mebalds سنة ١٩٨٧) لذا يمكن اعتبار الفطر *B.cinerea* من الفطريات الكامنة فى البذور، وعادة ما يقاوم بمعاملة البذور بالمبيدات الفطرية. يمكن استئصال الفطر *B.cinerea* من بذور الحمص باستعمال الحرارة الرطبة او باطالة مدة التخزين (هذا ما وجده Burgess *et al* سنة ١٩٩٧).

وعلى أية حال فإن استعمال عامل المقاومة الحيوية مع البذور بمصاحبة البكترة *Rhizobium* يمكن أن يؤدى الى مقاومة فعالة وتثبيط جيد للفطر. يتواجد الفطر الممرض بكثرة على قشرة بذور الحمص (هذا ما وجده Burgess سنة ١٩٩٧)، وبالتالى من الممكن وبسهولة مقاومته بالكائنات المضادة التى يعامل بها سطح البذور بشكل خاص.

هناك بعض الفطريات المضادة للفطر *B.cinerea* قد درست وعرفت تماماً منذ سنة ١٩٩٢ بواسطة العالم Dubos. أهم هذه الفطريات أنواع *Gliocladium* و *Trichoderma*. أفضل النتائج حصل عليها من استعمال الفطر *T.harzianum* لمقاومة اصابة المجموع الخضرى لكثير من النباتات وخاصة الحمص، عندما يضاف إلى المجموع الخضرى تحت ظروف بيئية متحكم بها.

مقاومة الفطر الممرض:

يقاوم الفطر *B.cinerea* على الحمص باستعمال الفطر المضاد *Gliocladium roseum*، وقد درس هذا الفطر كالآتى:

أ- تأثير الكائن المضاد علي تجرثم الكائن الممرض

لدراسة تأثير الكائن المضاد *G.roseum* على تجرثم الفطر الممرض *B.cinerea* على بذور الحمص المصابة طبيعيا أو المحقونة صناعيا بالفطر الممرض، كانت تجرى عملية الدراسة بالفحص فى أطباق بترى. كانت تؤخذ كمية من البذور، وتحقن بمعلق جرثومى من الفطر الممرض بتركيز 10^{4} جرثومة كونيدية/مل ثم فى اليوم الثانى تعامل بمعلق جرثومى من الكائن المضاد بتركيز 10^{5} – 10^{8} جرثومة كونيدية/مل، أو تحقن بالمبيد الفطرى ثيرام أو SDW ثم توضع فى طبق به (Semi selective agarmedium)BSM. تحضن البذور المعاملة لمدة ١٤ يوماً على حرارة 20° م مع ١٢ ساعة إضاءة.

لقد وجد أن حدوث تجرثم الفطر الممرض على بذور الحمص المحقونة به طبيعياً أو صناعياً كان متشابهاً فى غياب الفطر المضاد *G.roseum* (جدول رقم ١٢٣). أما فى حالة وجود الكائن المضاد سواء كان طبيعياً او صناعياً بتركيز 10^{7} و 10^{8} جرثومة كونيدية/ مل يثبط تجرثم الفطر الممرض بالترتيب.

ب- تفاعل الكائن المضاد مع بكتيريا العقد الجذرية

الدراسات المتعددة التى أجريت لمعرفة تفاعل الكائن المضاد مع بكتيريا العقد الجذرية على الحمص، أثبتت أنه لا يوجد تفاعل بين الرايزوبيوم على اختلاف نسبة تركيزه عند حقنه لبذور الحمص، وتركيز الفطر المضاد، على البادرات الناتجة من بذور محقونة بالفطر الممرض *B.cinerea*. لا يوجد فرق معنوى فى أعداد العقد الجذرية عند معاملة البذور بالفطر المضاد تركيز 3×10^{7} جرثومة كونيدية/ مل فى أول خمسة سنتيمترات فى أعلى الجذر الأصلى، وذلك بعد عشرة أسابيع من الزراعة. جدول (١٢٤) يبين تأثير معاملة البذور بالفطر المضاد تركيز $3x\ 10^{8}$ جرثومة كونيدية/مل على حدوث العقد الجذرية فى منطقة الثلاثة سنتيمترات العلوية من الجذر بعد ستة أسابيع من الزراعة.

جدول رقم (١٢٣) : تزثير معاملة بذور الحمص بالفطر G.roseum أو المبيد الفطرى الثيرام على تجرثم الفطر الممرض B.cinerea.

المعاملة تركيز الفطر المضاد	٪ تجرثم الفطر الممرض فى حالة حقنه فى البذور	
	طبيعيا	صناعيا
كنترول (ماء)	٨٣,٣	٨٣,٣
10^{5} جرثومة /مل	٣٦,٧	٣٧,٢
10^{6} جرثومة /مل	٣٠,–	٣٢,٢
10^{7} جرثومة /مل	٢٠,–	٢١,–
10^{8} جرثومة /مل	١٣,٣	١٦,٣
الثيرام	٦,٧	––

جدول رقم (١٢٤) : تأثير معاملة بذور الحمص بالفطر المضاد على أعداد العقد الجذرية المتكونة على مسافة ٣ سم من قمة الجذر الرئيسى لنبات الحمص بعد ٦ أسابيع من الزراعة.

معاملة البذور	متوسط عدد العقد الجذرية
الفطر الممرض X٣ 10^{5} + ثيرام	١٣,٣
الفطر الممرض X٣ 10^{5} + الفطر المضاد	١٢,٧
الفطر الممرض X٣ 10^{3} + ماء مقطر	١٠,–
الفطر الممرض X٣ 10^{3} + الفطر المضاد	١٤,٧

جـ- تجرثم الفطر المضاد عند وجوده مع الفطر الممرض

عند حقن الكائنين معاً فى بذور الحمص، ثم وضع هذه البذور فى بيئة ملائمة للإنبات (رطوبة ومواد غذائية)، لوحظ أن تجرثم الفطر المضاد *G.roseum* يتفوق كثيراً على تجرثم

الفطر *B.cinerea* ويسبقه بحوالى أسبوع. ولقد لوحظ أن الفطر المضاد يتجرثم بغزارة على سطح البذرة، ويلتف حول الحوامل الكونيدية للفطر الممرض، ولكن لم يلاحظ أن الفطر المضاد يخترق أو ينمو داخل هيفات الفطر الممرض

وجد عند تحضين الفطر الممرض على بيئة PDA المعاملة براشح من مزرعة الفطر *Trichoderma virede*، فإن ذلك يؤدى إلى خفض نمو الفطر *B.cinerea* تسعة أضعاف بالمقارنة مع الكنترول، بينما لا يلاحظ فرق معنوى عند استعمال راشح مزرعة الفطر *G.roseum*، مما يدل على أنه لا توجد مضادات حيوية فى راشح الفطر *G.roseum*.

د - تأثير الفطر المضاد على نسبة إنبات البذور

عند دراسة تأثير الكائن المضاد على نسبة إنبات البذور وعلى بقاء البادرات حية (جدول رقم١٢٥)، تبين أن نسبة البادرات السليمة فى الأوعية المزروعة فيها البذور والمحقونة بالفطر الممرض والفطر المضاد بعد خمسة أسابيع من الزراعة، أن نسبة هذه البادرات تزداد من ٢٩,٢ ٪ الى ٥٩,٧ ٪ عند حقنها بالفطر المضاد *G.*roseum تركيز ٣ x ١٠^{٧} جرثومة كونيدية/مل، ومن ١,٤ ٪ الى ٦٩,٤ ٪ عند حقنها بالفطر المضاد نفسه بتركيز ٣x ١٠^{٨} جرثومة كونيدية/مل، وهذا ما يشابه معاملة البذور بالمبيد الفطرى ثيرام.

مما سبق يتبين أن الفطر المضاد *G.roseum* السلالة DAR72372 مضاد قوى جداً ضد الفطر الممرض *Botrytis cinerea*، حيث إنه يثبط تجرثم الفطر الممرض، ويزيد نسبة البادرات السليمة. وجد أيضاً أن الفطر المضاد يبقى تركيزه فى التربة دون تغير معنوى لمدة ٤ أسابيع.

جدول رقم (١٢٥) : تأثير استعمال تركيزات مختلفة من الفطر الممرض والفطر المضاد على بقاء بادرات الحمص حية، بعد خمسة أسابيع من الزراعة، وعلى حرارة مختلفة.

المعاملة	٪ البادرات الحية على درجات حرارة	
	٨ – ١٦° م	١٦ – ٢٠° م
ماء مقطر + كائن ممرض ٣ x ١٠^٥	١,٤	١,٤
كائن مضاد ٣ x ١٠^٦ + كائن ممرض ٣ x ١٠^٥	٤,٢	١٦,٧
كائن مضاد ٣ x ١٠^٧ + كائن ممرض ٣ x ١٠^٥	٢٢,٢	٥٠,٠
كائن مضاد ٣ x ١٠^٨ + كائن ممرض ٣ x ١٠^٥	٦٩,٤	٦٣,٩
ماء مقطر + كائن مضاد ٣ x ١٠^٤	٢٩,٢	٢٢,٢
كائن مضاد ٣ x ١٠^٦ + كائن ممرض ٣ x ١٠^٤	٢٦,٤	٤١,٧
كائن مضاد ٣ x ١٠^٧ + كائن ممرض ٣ x ١٠^٤	٥٩,٧	٦٦,٧
كائن مضاد ٣ x ١٠^٨ + كائن ممرض ٣ x ١٠^٤	٧٩,٢	٨٣,٣
ماء مقطر + كائن ممرض ٣ x ١٠^٣	٧٧,٨	٧٦,٤
كائن مضاد ٣ x ١٠^٦ + كائن ممرض ٣ x ١٠^٣	٨٣,٣	٧٦,٤
كائن مضاد ٣ x ١٠^٧ + كائن ممرض ٣ x ١٠^٣	٨٧,٥	٩٤,٤
كائن مضاد ٣ x ١٠^٨ + كائن ممرض ٣ x ١٠^٣	٩٣,١	٨٧,٥

٢ - عفن سكلورشيم

تركزت الأبحاث التى تتعلق بتفاعل الميكورهزا مع أمراض النبات، على الأمراض التى تتسبب عن الكائنات الممرضة الكامنة فى التربة. تشير معظم الابحاث إلى أن ميكورهزا Vesicular Arbuscalar Mycorrhiza (VAM) يخفض من شدة المرض فى كثير من الأمراض، ولكن نتائج هذه الابحاث كانت فى كثير من الحالات متضاربة، حتى مع الفطر الواحد نفسه. إن فطريات الميكورهزا، أحياناً، تكون واسعة الاختلاف فى فعاليتها بين الأنواع المختلفة من نفس العائل، وبالتالى فإن البعض منها يكون أكثر كفاءة من الأخرى. إن نوعية

الميكورهزا (تبعية الفطر) يمكن أن تكون أحد العوامل الرئيسية فى كفاءة مقاومة الأمراض الكامنة فى التربة عن طريق VAM. أجريت تجربة لمعرفة فيما اذا كان اعتماد الميكورهزا على نوع العائل يؤثر على التفاعل بين فطر VAM المسمى *Glomus fasciculatum* والكائن الممرض المسمى *Sclerotium rolfsii* فى الحمص.

زرعت أصناف من الحمص Jg62 و BG256، الاول قابل والثانى متحمل للإصابة بالعفن المتسبب عن الفطر *Sclerotium rolfsii* فى أوعية ذات قطر ٢٠ سم فيها تربة معقمة، وأخرى فيها تربة غير معقمة. كانت تعقم التربة باستعمال ١ ٪ فورمالدهيد ثم غطيت بقطع من ال Alkathane لمدة ٤٨ ساعة، بعد أن تكون التربة قد نشرت قليلاً لطرد أدخنة الفورمالدهيد. كانت الزراعة تتم على عمق نصف سنتيمتر تحت مستوى سطح التربة، وكان يزرع فى الوعاء عشر بذور. بعد الإنبات بحوالى أسبوع، تزال البادرات الزائدة عن خمس من كل وعاء. يحضر لقاح من فطر الميكورهزا السابق *G.fasciculatum* وذلك بتركه يتكاثر على صنف القمح Sujatha لمدة ثلاثة شهور، يؤخذ هذا اللقاح ويضاف مع بذور الحمص وقت الزراعة بنسبة ٥ غرام لكل موضع بذرة (كان هناك ٩ – ١٠ جراثيم/ ٥ غم تربة). كان الفطر الممرض *S.rolfsii* ينمى فى دوارق سعة ٢٥٠ مل محتوية بيئة بطاطس – دكتروز، بيئة سائلة. كانت تجمع مزارع الفطر ذات عمر ٢٠ يوم وتخلط مع تربة وعاء الزراعة بمعدل دورق واحد/ وعاء، وكان اللقاح يضاف إلى التربة قبل زراعة الحمص بمدة ٣– ٤ أيام.

كانت النتائج تدرس بعد ١١٠ أيام بحيث يسجل وزن النبات الجاف، وزن الإنتاج من البذور، كذلك كانت تحسب جذور الميكورهزا. كانت تصنف جراثيم الفطر VAM حسب طريقة Nicolson & Gerdeman سنة ١٩٦٣. كانت تحسب كفاءة الميكورهزا حسب طريقة Plen cheiie *et al* ثم تحسب نسبة إنبات البذور.

فى هذه الدراسة وجد أن الصنف Jg 62 يعتمد بنسبة ٧٤ ٪ على الميكورهزا أكثر من الصنف BG 256.

هذا الصنف يعرف بأنه قابل للإصابة بعفن السكلوروشيم. عند استعمال فطر VAM كان الإنتاج ضعف ما هو فى الكنترول، وكذلك يزيد الوزن الجاف بحوالى ١٠٦,٧٥ ٪ زيادة عن

الكنترول، وبالتالى يمكن القول أن استعمال الفطر *G.fasciculatum* يحسن جميع صفات الصنف *JG62* أفضل من الكنترول جدول رقم (١٢٦).

أما الصنف BG256 كان أقل اعتماداً على الميكورهزا، وبالتالى لم يستجب كثيراً لإضافة فطر VAM.

فى هذا الصنف زاد الوزن الجاف بمقدار ٣٨,٤٪ عن الكنترول، ولكن نسبة الإنبات كانت ٢٠,٧٪ أكثر منه فى الكنترول، أما بالنسبة لتأثير الميكورهزا على الفطر الممرض، فكان سلبياً، ولم يحدث أى خفض للمرض فى هذا الصنف.

التبعية الميكورهزية Mycorrhizal dependency

تعرف التبعية الميكورهزية بأنها درجة اعتماد النبات على حالة الميكورهزا الموجودة لإظهار أعلى نمو وأعلى انتاج فى مستوى معين من الخصوبة للتربة. إن تأثير الاصناف هو واحد من أكثر العوامل أهمية، والذى يؤخذ بعين الاعتبار أثناء دراسة التبعية الميكورهزية للنباتات. إن فعالية الفطر VAM نفسه يمكن أن تختلف كثيراً بين الأنواع المختلفة فى النبات العائل، وبالتالى فإن بعض اتحادات الفطر – العائل هى الاكثر تأثيراً من العوامل الاخرى فى هذه الدراسة فإن المقاومة الحيوية للكائن الممرض والزيادة فى الانتاج قد حصلت فى الصنف JG 62، وليست فى الصنف BG256. هذا يؤدى إلى القول بأن التبعية الميكورهزية والمقاومة الحيوية بواسطة VAM تكون متداخلة، ولكى نحصل على أعلى مقاومة حيوية واعلى فائدة للنمو والإنتاج، فمن الضرورى أن يكون هناك تقدير خاص للتبعية الميكورهزية للنبات تحت الدراسة، قبل المقاومة الحيوية بفطر VAM.

جـدول رقم (١٢٦) : التـفـاعل بين الفطر المرض S.rolfsii والـفطر G.fasciculatum فـى أصناف الحمص.

المعاملة	٪ عدد البذور النابتة من الصنف		غرام الوزن الجاف/ نبات		عدد البذور / نبات	
	BG 256	JG 62	BG 256	JG 62	BG 256	JG 62
كنترول (ماء)	٦٠	٨٠	١٢	١٠	٩	٨
الفطر الممرض لوحدة	٥٢	٤٦	٤	٣,٥	٧	٥
الميكورهزا لوحدها	٨٦	٩٣	١٢,١	١٥,١	١٢	١٥
الفطر الممرض + الميكورهزا	٣٦	٧٥	٣	١٢,٢	١٠	١٢
تبعية الميكورهزا	٤٪	١٨,٤	--	--	--	--

٣ - ذبول الفيوزاريوم

مقدمة:

يتسبب مرض ذبول الفيوزاريوم فى الحمص عن الفطر *Fusarium oxysporum F.sp. ciceris* هذا المرض يكون المحدد لإنتاج الحمص فى أماكن زراعته؛ وخاصة فى أماكن الإنتاج المشهورة مثل شبه القارة الهندية، ومناطق حوض البحر الأبيض المتوسط. يمكن تقدير نقص الإنتاج الذى يعزى الى هذا المرض بحوالى ١٠ ٪ فى الهند وإسبانيا، وحوالى ٤٠ ٪ فى تونس.

يستطيع الفطر المسبب للمرض أن يبقى حياً فى التربة لعدة سنوات على شكل جراثيم كلاميدية، والتى تخفض بشكل واضح كفاءة الدورة الزراعية فى خفض الإصابة بالمرض (كطريقة للتهرب من المرض) . تعتبر الطرق الأكثر فعالية والعملية لمقاومة هذا المرض غالباً هو استعمال الأصناف المقاومة، إلا أن فعالية هذه الطريقة فقدت أهميتها بسرعة بسبب ظهور سلالات من الكائن الممرض تحطم هذه المقاومة. ونظراً لأن صنف الحمص Kabuli

(كبير الحجم ومستدير البذور ذات لون بيج مرغوب) والذى يزرع فى منطقة حوض البحر الأبيض المتوسط، قابل للإصابة بمعظم سلالات الفطر الممرض *F.o.ciceris*. ظهرت اتجاهات حديثة لاكتشاف طرق جديدة بديلة أكثر فعالية لمقاومة المرض.

محاولات مقاومة المرض حيويا:

العزلات غير الممرضة من الفطر *F.oxysporum*، من بين أكثر عوامل المقاومة الحيوية اتجاها لاتباعها فى مقاومة أمراض ذبول الفيوزاريوم المتسببة عن F.sp. من الفطر نفسه ولكنها ممرضة. تدل الدراسات على ميكانيكية تثبيط ذبول الفيوزاريوم، التى استعملت فى بعض الأراضى الطبيعية، على أن السلالات غير الممرضة من الفطر *F.oxysporum*، تدخل ولها دور فى المقاومة الحيوية، وبالتالى فإن استعمال هذه السلالات من هذا الفطر وإضافتها إلى التربة الملوثة بالفطر الممرض، يجعل هذه التربة مثبطة للمرض. لقد ذكر Larkin *et al* سنة ١٩٩٦ أن السلالات غير الممرضة من الفطر *F.oxysporum* هى العامل الحيوى والمضاد الرئيسى والمسئول عن تثبيط ذبول الفيوزاريوم فى البطيخ. لقد فسرت ميكانيكية تثبيط هذا المرض اعتماداً على السلالات غير الممرضة للفطر *F.oxysporum*، وذلك عن طريق:

١ – التنافس الرمى على المواد الغذائية على أو بالقرب من سطح الجذر.

٢ – المنافسة الطفيلية على أماكن الإصابة على الجذر.

٣ – الحث على المقاومة الجهازية فى العائل.

لقد ذكر Mandel & Baker سنة ١٩٩١، أن هذه الميكانيكيات لا تغنى إحداها بالضرورة عن الاخرى. ولقد ذكر أن الطرق الثلاثة المذكورة، تكون فعالة فى أى عزلة مفردة من *F.oxysporum*. هناك دراسات عديدة بينت أن الحقن المسبق للجذور بالسلالات غير الممرضة من الفطر *F.oxysporum* أو سلالات من *F.oxysporum f.spp.* ، يمكن أن تحمى عوائل مختلفة من أمراض الذبول الفيوزاريومى بعد الحقن بالفطر الممرض. ولقد أثبتت Hervas *et al* سنة ١٩٩٢ أن معاملة البذور المنبتة بمعلق من الجراثيم الكونيدية إما

بإحدى السلالات غير الممرضة من الفطر *F.o. ciceris* أو العزلات من *F.oxysporum*، تحفظ أصناف الحمص من المرض المتسبب من السلالة رقم خمسة شديدة المرضية من الفطر *F.o. ciceris*. فى تلك الدراسة فإن حقنة واحدة من الفطر المضاد كانت تقى النبات من الإصابة بالفطر الممرض. كانت تحقن النباتات عن طريق غمر جذورها فى معلق الجراثيم. ولقد وجد أن العزلة Fo9009 من الفطر *F.oxysporum* تخفض بشكل معنوى كمية المرض فى الحمص صنف ICCV-4 وJG 62 بعد حقنها بالسلالة رقم خمسة من الفطر *F.o. ciceris* ، بينما السلالة Fo 90105 تحفظ فقط الصنف ICCV-4 من سلالة الكائن الممرض نفسه.

فى بعض الحالات فإن ترافق الفطر غير الممرض من *F.oxysporum* مع بكتيريا الرايزوسفير (البكتيريا الوميضة) *Pseudomonas* spp. تثبط أمراض ذبول الفيوزاريوم بكفاءة أكثر وثباتاً أكثر منه عند استعمال كل كائن مضاد بمفرده. وبالتالى فإن تكشف اتحادات متوافقة من عوامل المقاومة الحيوية هوالهدف المحدد الاتجاه فى المقاومة الحيوية. لقد وجد حديثا بأن راشح مزرعة البكتيريا *Bacillus sp* المعزولة من رايزوسفير جذور الحمص، تثبط إنبات الجراثيم الكونيدية ونمو الهيفات لكل من الفطر الممرض *F.o. ciceris*والفطر غير الممرض *F.oxysporum*.

مقاومة المرض باستعمال عزلات غير ممرضة من الفيوزاريوم:

عند معاملة بذور الحمص صنف ICCV-4 وصنف PV- 61 بالجراثيم الكونيدية لعزلات *Fo- 90105* غير الممرضة من الفطر *F.oxysporum* معلقة فى Methylcellulose بتركيز ٣ x $١٠^{٧}$ جرثومة/ بذرة او بمادة Methyl celluIose لوحده وزرعت فى تربة محقونة صناعية بحوالى ٥٠٠٠ – ١٠٠٠٠ جرثومة كلاميدية لكل غرام تربة من سلالة خمسة للفطر *F.oxysporum f.sp. ciceris*، وجد أن معاملة البذور بالعزلة Fo- 90105 تزيد بشكل معنوى فترة الحضانة للمرض، ١١ يوماً للصنف ICCV - 4 ولمدة ٢٥ يوماً للصنف PV- 61 وتخفض حدوث المرض (جدول رقم ١٢٧). هذا الحفظ من المرض كان أعلى وأكثر ثباتاً واتساقاً فى الصنف PV- 61 منه فى الصنف ICCV-4، وكان متناسقاً مع

تركيز اللقاح ١٠٠٠٠ جرثومة كلاميدية/ غرام تربة، باستثناء فترة الحضانة فى الصنف PV-61 والتى تزداد بحوالى عشرة أيام. عند معاملة بذور العنف ICCV-4 بالسلالة Fo-90105 بتركيز ٣ x ١٠^٧ جرثومة / بذرة و/ أو البكتيريا *Bacillus* عزلة *RGAF- 51* بنسبة ١٠^٨ وحدة تكوين مستعمرات/ بذرة ثم زرعت فى تربة ملوثة، لم يكن هناك تأثير لعزلة البكتيريا على نسبة الوقاية التى تحدث بواسطة Fo 90105. وعلى أية حال فإن درجة الوقاية بسلالات الفطر *F.oxysporum* غير الممرضة أعلى وأكثر ثباتاً عندما تزرع النباتات الناتجة من بذور معاملة فى رمل معقم لمدة ستة أيام، ثم تنقل على تربة ملوثة كما يلاحظ فى جدول رقم ١٢٨.

جدول رقم (١٢٧) : تأثير معاملة البذور بالعزلة Fo-90105 من الفطر F.oxysporum على تكشف مرض ذبول الفيوزاريوم فى أصناف الحمص المزروعة فى تربة ملوثة بسلالة رقم ٥ من الفطر الممرض F.o.ciceris.

الصنف	عدد جراثيم سلالة رقم ٥/ غرام تربة	معاملة البذور	تقدير المرض	
			فترة الحضانة حتى بداية ظهور المرض باليوم	٪ حدوث المرض
ICCV - 4	٥٠٠٠	Fo - 90105	٤٦,٨	٢٠,٥
ICCV - 4	--	كنترول	٣٥,٤	٧٣,٧
ICCV - 4	١٠٠٠٠	Fo - 90105	٢٩,٧	١٠٠
ICCV - 4	--	كنترول	٢٨,٣	٩٧,٩
PV - 61	٥٠٠٠	Fo - 90105	٤٦,٥	٤,٣
PV - 61	--	كنترول	٢١,٧	٧٢,٢
PV - 61	١٠٠٠٠	Fo - 90105	٣٠,٣	٩٠,٨
PV - 61	--	كنترول	٢٠,٠	٨٩,٦

جدول رقم (١٢٨) : تأثير معاملة البذور بالبكتيريا Bacillus العزلة RGAF 51، والعزلة غير الممرضة من الفطر فيوزاريوم Fo- 90105 كل لوحده أو متحداً من الاخر، على تكشف مرض ذبول الفيوزاريوم فى الحمص الصنف ICCV-4 المزروعة فى تربة ملوثة بالفطر الممرض سلالة رقم ٥ .

جراثيم السلالة الممرضة لكل غرام تربة	معاملة البذور بالسلالات المضادة	فترة الحضانة لظهور المرض باليوم	دليل المرض من صفر الى واحد	٪ حدوث المرض
١٠٠٠	كنترول	١٧,٦	٠,٧٣	٩٧,٩
١٠٠٠	RGAF - 51	١٨,٥	٠,٦١	٨١,٧
١٠٠٠	Fo- 90105	١٨,٤	٠,٦٣	٩٣,٣
١٠٠٠	RGAF51+ Fo - 90105	١٧,٤	٠,٦٥	٩٦,٧
٢٠٠٠	كنترول	١٥,٨	٠,٩١	١٠٠
٢٠٠٠	RGAF- 51	١٥,٩	٠,٨٣	٩٨,٣
٢٠٠٠	Fo- 90105	١٨,١	٠,٦٦	٨١,٧
٢٠٠٠	RGAF- 51 + Fo - 90105	١٨,١	٠,٦٨	٩١,٦

مقاومة المرض باستعمال البكتيريا الوميضة:

هناك سلالات عديدة من البكتيريا *Pseudomonas fluorescens* ذكرت على أنها تثبط الأمراض الكامنة فى التربة المتسببة عن الكائنات الممرضة الفطرية. هناك كثير من التجارب فى الصوبات الزجاجية والتطبيقات الحقلية أثبتت كفاءة هذه البكتيريا فى تثبيط كثير من الأمراض الكامنة فى التربة. تعتمد التطبيقات العملية التجارية لاستعمال هذه البكتيريا على تطور التشكيلات التجارية التى تبقى فيها البكتيريا حية لمدة طويلة من الوقت. كذلك فإن تطور الطرق المناسبة لاستعمال هذه المواد فى مقاومة المرض فى بداية أو نهاية الإصابة وتقدير الكفاءة الحقلية فى المقاومة وزيادة الإنتاج هى الهدف النهائى من التجارب التى أجريت على مقاومة مرض ذبول الفيوزاريوم فى الحمص.

البكتيريا المستعملة فى مقاومة مرض ذبول الفيوزاريوم فى الحمص، تعزل من منطقة الرايزوسفير لمحاصيل مختلفة، وبعد التأكد من أن هذه السلالة فعالة ضد هذا المرض، يكون التفكير فى إيجاد حامل يحمل وسائل التكاثر لهذه البكتيريا، ويحافظ على بقائها حية فى المخزن لمدة طويلة. فى التشكيلات التى أساسها بودرة التلك والبيت، فإن تشكيلات هذه البكتيريا تبقى حية لمة ٢٤٠ يوم فى المخزن. عند معاملة بذور الحمص بالتشكيلات البكتيرية المحمولة على بودرة التلك فإن البكتيريا *P.fluorescens* تبقى حية على هذه البذور على الأقل لمدة ١٨٠ يوماً، عند زراعة هذه البذور فى التربة، فإن الكائن المضاد (البكتيريا) تنتقل إلى منطقة الرايزوسفير وتبقى حية فيه وتزداد أعدادها، وإن البادرات الناتجة من هذه البذور تقاوم مرض ذبول الحمص فى التجارب الحقلية وتزيد الإنتاج. عند زراعة البذور المعاملة بالكائن المضاد ثم معاملة منطقة الجذر بنفس النسبة من الكائن المضاد، فان كفاءة البكتيريا تزداد. لا تؤثر البكتيريا *P.fluorescens* على / ولا تثبط البكتيريا النافعة المثبتة للنيتروجين الجوى *Rhizobium* و *Azospirillum* فى المعمل، كذلك فإن معاملة البذور بالمبيدات الفطرية مثل الثيرام، كاربندازايم، لا تثبط البكتيريا الوميضة المضادة فى المعمل.

أجريت تجارب على ٢٧ عزلة من البكتيريا الوميضة لمعرفة كفاءتها فى تثبيط نمو فطر ذبول الفيوزاريوم فى الحمص فى المعمل، فوجد أن أربع منها وهى: PF1، PF12، PF21، PF27، شديدة التأثير فى تثبيط نمو الفطر الممرض حيث كان قطر مساحة التثبيط ٤٢، ١٤، ٤١، ٣٥ ملم/ سلالة بالترتيب جدول رقم ١٢٩. فى التجارب الحقلية وجد أن السلالة PF1، هى الوحيدة التى كان لها تأثير واضح فى تثبيط المرض وتزيد من عدد النباتات السليمة فى الحقل (جدول رقم ١٢٩).

إن استعمال البكتيريا P.fluorescens، معاملة بذور، أو إضافة إلى التربة، لا توثر على تكوين العقد الجذرية فى النبات بل بالعكس فهى تزيد عدد العقد الجذرية فى النبات، فوجد أن عدد العقد الجذرية فى النباتات المعاملة بـ *R.japonicum* كانت ٢٥/ نبات، ثم زادت إلى ٢٥,٣/ نبات، فى النباتات المعاملة بالكائنين معاً.

جدول رقم (١٢٩) : كفاءة سلالات البكتيريا P.fluorescens فى تثبيط مرض ذبول الحمص المتسبب عن الفطر F.o.f.sp.ciceris، وتجمعات البكتيريا فى رايزوسفير نبات الحمص فى الحقل.

المعاملة	سلسلة البكتيريا الوميضة المستعملة	تجمعات البكتيريا فى الرايزوسفير مضروبا فى 10^4 cuf/ غرام تربة بعد			% ظهور البادرات فى الحقل	% حدوث المرض على فترات		الإنتاج كغم/ هكتار
		١٥ يوماً	٤٥ يوماً	٦٠ يوماً		١٥ يوماً	٧٥ يوماً	
معاملة بذور فقط	PF-1	٣,٥	٨,٥	١١	٩٨,٦	٢,٧٥	١٦,٩	١٠٧٩
	PF-2	٣,٥	٩,٦	١٢,٢	٩٨,٣	٢,٤٥	١٦,٧٥	١٠١٤
	PF-27	٣,٥	٩,٨	١٣,٥	٩٩,١	١,٧	١٦,٩	٩٩٧
معاملة بذور + معاملة تربة	PF-1	٣,١٥	١٥,٨	١٩,٥	١٠٠	٠,٣٥	٥,٨	١٥٣١,٥
	PF-2	٣,١٥	١٤,٨	١٨,٣	٩٩,٢٥	١,١	٥,–	١٤٨٩
	PF-27	٣,٨	١٨,١٥	٢٢,١	١٠٠	٠,١٥	٥,٦	١٤٥٨,٥
كاربندازايم	––	١,١٥	٢,٦٥	٣,١٥	٩٩,٦٥	١,٦	٥,٦٥	١٢٥١,٥
كنترول (ماء)	––	١,١٥	٢,٩	٣,٦٥	٧١,٢	٣٣,٧	٤٦,٥	٧٠٠

obeikandl.com

رابعا: فـــول الصـــويا

١- تقـــرح الســـاق

مقـــدمة:

إن مرض تقرح الساق فى فول الصويا المتسبب عن الفطر *Diaporthe phaseolorum f.sp.meridionalis* ويرمـز له *(Dpm)* والاسم المـرادف *(Phomapsis phaseoli f.sp. meridionalis)* يسبب خسائر كبيرة فى معظم مناطق زراعة فول الصويا، خاصة فى البرازيل، بوليفيا، براغواى وجنوب امريكا. يتراوح الفقد فى الحقول الفردية ما بين ٢٠-١٠٠ ٪، وذلك حسب الأصناف القابلة للإصابة وطور النمو الذى يصاب فيه النبات.

يعيش الكائن الممرض فى بقايا المحصول التى تبقى على سطح التربة، وبالتالى تنتقل الجراثيم عن طريق رذاذ المطر إلى النباتات النامية. تظهر الاعراض خلال طور تكاثر النبات، إلا أن الإصابة تحدث فى أى طور من أطوار نمو النبات، وذلك حسب طول فترة حضانة الفطر، لا يوجد هناك دورة ثانية للمرض. وبالتالى فإن الشدة النهائية للمرض تكون مرتبطة نسبيا مع مستوى الإصابة المبكر. كذلك يمكن أن تحدث الإصابة عن طريق الجذور. تختلف أصناف فول الصويا كثيرا فى قابليتها للإصابة. مع أن استعمار الأنسجة يبقى متأخراً (مختفيا) فى الأصناف المقاومة، إلا أن الفطر يتجرثم على بقايا المحصول، وبالتالى فإن الأصناف المقاومة يمكن أن تتفاعل كحاويات أو حافظات للكائن الممرض (هذا ما ذكره العالم Garrido سنة ١٩٩٤).

تؤثر العمليات الزراعية على حدوث المرض. إن قلة عدد مرات الحراثة تكون مترافقة مع زيادة حدوث المرض ونقص الإنتاج. أما الحراثة العميقة فإنها تخفض حدوث المرض أو تؤخر إصابة النبات. أحيانا يكون للحراثة السطحية فوائد كثيرة فى العمليات الزراعية، والتى فيها تكون بقايا المحصول متروكة على سطح التربة، حيث إن هذه البقايا تخلط مع الطبقة السطحية للتربة عن طريق الخربشة. تعمل الجراثيم البكنيدية والإسكية المنتجة على بقايا المحصول كلقاح ابتدائى لوباء تقرح الساق فى فول الصويا.

نالت المقاومة الحيوية لهذا المرض حظاً بسيطاً من الدراسة. ولكن كل الاهتمام انصب على الفطر المضاد *Chaetomium globosum* حيث وجد أن هذا الفطر المترمم الكامن فى التربة مضاد قوى لعديد من الكائنات الممرضة الكامنة فى التربة وفى البذور، وله كفاءة فى مقاومة بعض الأمراض. ولقد ذكرت ميكانيكية هذا الفطر فى مقاومة الأمراض بأنها تعتمد على التضاد الحيوى والتطفل. إن الفطر المضاد *C.globosum* مستعمر أولى للمواد الغنية بالسليلوز واللجنين، ولقد ذكر أن له دوراً فى تحليل الخشب والألياف الطبيعية فى نتائج كثير من الأبحاث.

لقد استطاع كثير من العلماء عزل هذا الفطر بكثرة، من بقايا نبات فول الصويا المجموعة من سطح التربة فى الحقل، وعزله كذلك من بذور فول الصويا. ونظراً لمرافقة هذا الفطر لأنسجة فول الصويا، وتضاده للكائن الممرض المسبب تقرح الساق، فقد أجريت عليه دراسات عديدة فى مجال المقاومة الحيوية.

مقاومة المرض:

يقاوم مرض تقرح الساق فى فول الصويا المتسبب عن الفطر (Dpm) حيويا، باستعمال السلالة *CgA-1* من الفطر *Chaetomium globosum*. هذه السلالة منتجة للمضادات الحيوية فى المعمل.

عندما تعامل بذور فول الصويا بالسلالة المذكورة CgA-1 أو CgNA من الكائن المضاد وتزرع فى تربة ملوثة بالفطر الممرض DPM، يلاحظ أن استعمار النبات من قبل الكائن الممرض يكون منخفضاً وبنسبة ٥٣٪ للنباتات التى عوملت بذورها بالسلالة CgA-1 ، وبنسبة ٨٠٪ فى النباتات التى عوملت بذورها بالسلالة CgNA وبنسبة ٨٧٪ فى نباتات الكنترول، هذه النسبة تظهر فى النباتات فى طور النمو الخامس. إن السلالة CgA-1 هى التى تسبب أقل نسبة من النباتات المستعمرة من قبل الفطر الممرض. إن متوسط النسبة المئوية لطول الساق المستعمر من قبل الكائن المرض فى هذه المعاملات يكون ١١٪، ٢٩٪، ٤٧٪ بالترتيب، وإن العزلتين تخفضان نسبة طول الساق المستعمرة مقارنة مع الكنترول.

عند زراعة بذور فول الصويا فى تربة ملوثة بالكائن الممرض، ثم معاملة هذه التربة بلقاح من الفطر المضاد *C. globosum* سلالة CgA1 او CgNA، وذلك بأن تمزج هذه السلالات مزجاً جيداً مع التربة قبل الزراعة بمدة ٣٠ يوماً. تبين أن إستعمار الفطر الممرض للنبات يبقى كامناً حتى طور النمو السادس، وتكون نسبة الاستعمار كالآتى: ١٧ ٪، ٣٣ ٪ بالنسبة للسلالتين بالترتيب مقارنة مع ٨٧ ٪ فى الكنترول. إن متوسط طول الساق المستعمر من قبل الكائن الممرض كان ٧ ٪، ١٨ ٪، ٤٧ ٪ بالترتيب، وكانت نسبة النباتات التى تحطمت نهائيا ١٧ ٪ بالنسبة للمعاملة بالسلالة CgA1 و ٣٧ ٪ بالنسبة للمعاملة بالسلالة CgNA و١٠٠ ٪ فى الكنترول

تبين هذه الدراسة أنه من الممكن تخفيض اللقاح الأولى للفطر Dpm فى بقايا محصول فول الصويا على سطح التربة، وذلك باستعمال الفطر المضاد *C.globosum*، حيث من المعروف أن لهذا الفطر القدرة على تحطيم المواد ذات المحتوى الفقير من المواد الغذائية والمعقدة، مثل الخشب المخزن والجوت والألياف الطبيعية، ويستعمل السليلوز واللجنين كمصادر كربون لغذائه. إن سلالتى الفطر المضاد سواء المنتجة للمضادات الحيوية CgA1 أو غير المنتجة CgNA كلاهما تثبط تجرثم الفطر الممرض، إلا أن هذا التثبيط يعتمد على الرطوبة المتوفرة فى ساق النبات أكثر منه على الرطوبة النسبية الجوية. إن هذا التثبيط للتجرثم يؤدى الى تثبيط انتشار المرض، حيث إن التجرثم الاولى وانتشار الجراثيم تكون الخطوة الأولى فى انتشار المرض.

٢- عفن الساق البنى

يتسبب مرض عفن الساق البنى فى فول الصويا عن الفطر *Phialophora gregata*. يقاوم هذا المرض بيولوجيا باستعمال الفطر *Trichoderma harzianum* النامى على بيئة قشر الأرز كمادة حاملة للفطر الى التربة. تحت ظروف كل من الصوبا والحقل، وجد أن إضافة فطر المقاومة الحيوية الى التربة تؤدى الى زيادة نسبة الإنبات، وكذلك الوزن الطازج والجاف وعدد العقد البكتيرية وكل من المحتوى الكيماوى من النيتروجين والبروتين لنبات فوق الصويا.

ويقول الباحث Yehla *et al* سنة ١٩٩٤ فى البحث الذى نشره فى مجلة امراض النبات المصرية مجلد ٢٢ عدد ٢ من صفحة ١٢٣–١٥٧ الذى أخذ منها هذا البحث.

حيث يذكر الباحث أن التحليل الكيمائى لراشح مزرعة الفطر المضاد *T.harzianum* يحتوى على بعض من منظمات النمو، وأهمها أندول أستك أسد وقليل من الثيامين والبانتوثينيك وفيتامين *B*، وهذا يسبب زيادة معنوية فى نمو محصول فول الصويا. ولقد أدت معاملة التربة بالفطر المضاد فى وجود الفطر المسبب للمرض *P.gregata* تحت كل من ظروف الصويا الزجاجية والحقل الى نتائج معنوية فى مقاومة المرض، أفضل من تلك المتحصل عليها من استخدام المبيد الفطرى (بنليت ٥٠) فى وجود الفطر الممرض.

لم أجد أى بحث يتكلم عن مقاومة هذا المرض حيوياً فى جميع الابحاث التى اطلعت عليها (حوالى ٣٠٠ بحث) سوى هذا البحث المذكور عنوانه سابقا.(المؤلف).

obeikandl.com

خامسا : الفول السوداني

عفن الساق والثمرة

مقـــدمة :

يعتبر الفطر *Sclerotium rolfsii* من الكائنات الممرضة الكامنة فى التربة، ويهاجم مدى واسع من العوائل النباتية. من أهم العوائل التى يهاجمها هذا الفطر، نبات الفول السودانى Groundnut. من أهم الأعراض التى يسببها هذا الفطر على نباتات الفول السودانى، عفن البذور، لفحة البادرات، عفن الساق والرقبة، عفن حامل الثمرة وعفن الثمرة فى كثير من أصناف الفول السودانى هذا ما وجده المولف فى دراسته على الفول السودانى. للمرض أهمية اقتصادية كبيرة خاصة فى المناطق التى فيها رى غزير. إن عفن البذرة ولفحة البادرات أقل انتشارا من الأضرار التى تصيب الثمار والساق. يقضى الفطر الشتاء ويبقى فى أجزاء المحصول على التربة على شكل أجسام حجرية.

هناك بعض الطرق لمقاومة المرض، منها تبادل زراعة الفول السودانى مع أفراد العائلة الزنبقية، هذا ما وجده Zeiden *et al.* سنة ١٩٨٦. كذلك المقاومة الحيوية باستعمال الفطر *Trichoderma* واستعمال المبيدات الكيماوية. هذه الطرق تقلل من نسبة تواجد اللقاح فى التربة، وبالتالى تقلل من حدوث المرض.

مقـــاومة المـــرض:

يقاوم مرض عفن الساق والثمرة فى الفول السودانى حيويا باستعمال الفطر *Trichoderma harzianum*. لقد وجد أن استعمال جراثيم هذا الفطر المضاد معاملة بذور للفول السودانى، تثبط من حدوث المرض. يعود هذا التثبيط إلى تخفيض عدد الأجسام الحجرية للفطر الممرض *S.rolfsii* أو بسبب زيادة أعداد الفطر المضاد، بحيث تكون ذات قوة تنافس عالية ضد الكائن الممرض. كذلك وجد أن الفطر المضاد يسبب زيادة فى إنتاج محصول الفول السودانى تقدر بحوالى ٤٦,٧ ٪، فى حين أن المعاملة بالمبيدات الكيماوية تزيد الإنتاج بنسبة ٣٢,١ ٪. جدول رقم ١٣٠ يبين أن الخفض فى نسبة عفن الساق بواسطة الفطر المضاد حوالى ٥٩,٨ ٪، فى حين أن المعاملة بالمبيدات الكيماوية تخفض الإصابة بحوالى

٤٩,٨ ٪. أما بالنسبة لعفن الثمار، فإن الفطر المضاد يخفض الإصابة ٤٤ ٪ فى حين أن المعاملة بالكيماويات تخفض الاصابة ٣٧,٢ ٪

جدول رقم (١٣٠) : مقارنة بين كفاءة طرق المقاومة المختلفة المستعملة فى مقاومة مرض عفن الساق والثمرة فى الفول السودانى المتسبب عن الفطر *S.rolfsii*.

المعاملة	٪ عفن الساق	٪ عفن الثمرة	وزن ١٠٠ بذرة رطبة غم	٪ زيادة الإنتاج
كنترول (دون معاملة)	٢٤,١	٢٣,١	٢٦,٣	--
دورة زراعية فيها نباتات بصل	١١,١	٩,٤	٣٥,٨	١٨,٩
دورة زراعية فيها نباتات ثوم	١٢,٩	١٢,٧	٣٣,٧	١٨,٨
الفطر المضاد *T.harzianum*	٩,٢	٨,٠٠	٣٦,٨	٢٠,٤
مبيد كرباندازيم	١٠,٩	٩,٢	٣٦	١٨,٩

obeikandl.com

الفصل الحادى عشر

المقاومة الحيوية لبعض أمراض الخيار

١- مقاومة بعض أمراض الخيار اعتمادا على المقاومة المستحثة

أ- نظام المقاومة المستحثة

لقد ذكرت الوقاية المستحثة Induced protection فى النباتات ضد الكائنات الممرضة المختلفة بواسطة حاثات Inducers حيوية او غير حيوية منذ أوائل الثلاثينيات، عندما ذكر العالم Chester سنة ١٩٣٣ اصطلاح المناعة الفسيولوجية المكتسبة Acquired physiological Immunity. منذ ذلك الوقت ذكرت عدة اصطلاحات، واستعملت لوصف ظاهرة المقاومة المستحثة Induced Resistance، مثل المقاومة المكتسبة الجهازية Systemic Acquired resistance، وكذلك اصطلاح المقاومة المنقولة Translocated Resistance، وكذلك مناعة النبات Plant Immunization.

يعرف نظام المقاومة المستحثة Induced Systemic Resistance (ISR) بأنه نظام وقاية النبات عن طرق استعمال عامل (حاث) يحفز النبات للمقاومة، يضاف إلى أى جزء من أجزاء النبات. الحاثات الكلاسيكية تشمل بعض الكائنات الممرضة، الكائنات الممرضة المقتولة بالحرارة، أو الكائنات الممرضة المضعفة، مواد كيماوية صناعية، نواتج التمثيل فى العوائل أو عوامل معدية، وكائنات ممرضة غير متوافقة مع العائل.

لقد ذكر Kuc et *al* سنة ١٩٧٥ أن الوقاية الجهازية فى الخيار ضد الفطر *Colletotrichum lagenarium* أمكن الحصول عليها عن طريق الحقن المسبق للأوراق الفلقية الأولى بالكائن الممرض نفسه. بعد ذلك أثبتت الأبحاث أن المقاومة الجهازية يمكن أن تستحث فى أعداد كبيرة من المحاصيل، منها: القرعيات، البقوليات، البطاطس، الدخان، الطماطم والفواكه ضد مدى واسع من الكائنات الممرضة من ضمنها الفيروسات، الفطريات والبكتيريا.

إن كثيراً من الابحاث التى أجريت ابتداء من التسعينيات ذكرت أن نظام المقاومة المستحثة ISR يمكن أن يكون ميكانزم بديلاً لعملية التضاد الحيوى للحصول على مقاومة

حيوية جيدة لأمراض النبات. هناك عدة فروق مهمة بين نظام ISR ونظام التضاد الحيوى كوسائل داخلة فى المقاومة الحيوية. أهم هذه الفروق هى:

١ – أن فعل ISR مبنى على أساس ميكانزم دفاعى فى النبات، والذى يمكن أن ينشط بالعوامل الحاثة، بينما يعتمد التضاد على الفعل المباشر لعوامل المقاومة الحيوية، مثل إنتاج كل من المضادات الحيوية او السايدرفورز وسيانيد الهيدروجين (HCN) بالإضافة إلى التنافس الغذائى.

٢ – إن ISR ينشط كفاءة ميكانيكيات الدفاع المتعددة التى تشمل الزيادة فى فاعلية إنزيمات Chitinases و B- 1,3 - glucanases، Peroxidases والبروتينات الأخرى ذات العلاقة بالمرضية (PR-) وتجمع المواد السامة الميكروبية، وهى مواد ذات وزن جزيئى منخفض مثل الفايتوالكسن وتكوين مواد حافظة من البوليمرز الحيوية مثل اللجنين، كالوس والهايدروكسى بروليين، الغنى بالجلايكوبروتينيز، بينما يعتمد التضاد الحيوى على المنافسة على الغذاء أو المكان أو إفراز مضادات حيوية مختلفة تؤثر على الكائن الممرض.

٣ – تتميز ISR بأن تأثيرها يمكن أن يظهر ضد مدى واسع من الكائنات الممرضة، التى يمكن أن تقاوم بواسطة عامل حاث مفرد، فمثلاً فى الخيار فإن معاملة الورقة الأولى فى النبات بالكائن الممرض المسبب نكروزز، تحمى النبات ضد ١٣ كائناً ممرضاً على الأقل، شاملة الفطريات، البكتيريا والفيروسات، بينما فى التضاد الحيوى، فإن الكائنات المضادة بشكل عام لا تكون فعالة ضد كائنات ممرضة متنوعة.

٤ – إن ISR حسب تعريفها تحفظ النبات جهازيا (بعد حقن النبات بالعامل الحاث) فى جزء واحد من النبات، بينما ميكانيكية عوامل المقاومة الاخرى ليست جهازية.

لقد درس نظام المقاومة المستحثة للأمراض بشكل أساسى فى المعمل وفى الصوبا الزجاجية. هناك بعض التقارير تدل على أن ISR تستطيع أن تقى المحاصيل النباتية تحت ظروف الحقل، فمثلاً، يمكن وقاية الخيار والبطيخ بالوقاية الجهازية، التى تتبع الحقن بالكائن *Colletotrichum orbiculare* فى الحقل. أما فى الدخان فإن الدراسات الحقلية المكثفة لمدة ثلاث سنوات فى منطقة بورتوريكو، ذكرت بأن *ISR* تحفظ النبات ضد كل من السلالة الحساسة للميثاليكسيايل والسلالة المتحملة له من الفطر *Peronospora tabacina* وذلك

باستعمال الحقن المباشر للساق، بمعلق الجراثيم الأسبورانجية من بعض الأنواع التى تتبع الكائن الممرض نفسه. إن الاستعمال الواسع لـ ISR لم يتحقق بعد، وذلك بسبب أن ISR الكلاسيكية والسهلة الاستعمال تستخدم كائنات دقيقة ممرضة كعوامل حاثة، إلا أن الدراسات الحديثة جدا تحاول إيجاد عوامل حاثة غير ممرضة.

فى السنوات القليلة الماضية أجريت دراسات معملية عديدة، أثبتت أن PGPR ذكرت بالتفصيل فى الجزء الأول من الكتاب، يمكن أن تكون عوامل حاثة، وذلك بسبب ظهور بعض الوقاية الجهازية ضد بعض الكائنات الممرضة. إن PGPR يمكن أن تكون مصدرا عمليا لتزويد الزراعة بـ ISR، ولكن هذه العملية فى الحقول الواسعة لا تزال قيد الدراسة.

فى الدراسة الحديثة تبين أن سلالات معينة من PGPR يمكن أن تعمل كعوامل حاثة فى أجهزة نباتية مختلفة فمثلاً وجد Van Peer *et al* سنة ١٩٧١ أن سلالة من *Pseudo-monas sp* تسبب مقاومة جهازية مستحثة فى القرنفل ضد مرض ذبول الفيوزاريوم. أما *Wei et al* سنة ١٩٩١ ذكر أن حقن بذور الخيار بسلالة مختارة من PGPR يؤدى إلى مقاومة جهازية مستحثة فى أوراق الخيار ضد الانتراكنوز المتسبب عن *C.orbiculare*، فى حين أن Alstrom سنة ١٩٩١، وجد أن المقاومة الجهازية أمكن حثها فى نباتات الفاصوليا ضد اللفحة الهالية halo blight المتسبب عن البكتيريا *P.syringae pv. phaseolicola* عن طريق معاملة البذور بالبكتيريا الوميضة *P.fluorescens* سلالة *S-97*. كذلك فان Zhou & Paulitz سنة ١٩٩٤ ذكر أن عفن الجذر فى الخيار المتسبب عن الفطر *Pythium aphani-dermatum* يمكن أن يقاوم باستعمال سلالة من البكتيريا الوميضة *P.Fluorescens* عندما تضاف إلى الجهاز الجذرى بطرق عملية خاصة. كذلك وجد Maurhofer *et al* سنة ١٩٩٤ أن البكتيريا الوميضة المذكورة السلالة CHAO تحث على المقاومة فى الخيار ضد فيروس نكروزز الدخان.

ب - المقاومة المستحثة ضد انثراكنوز الخيار:

يتسبب مرض انثراكنوز الخيار عن الفطر *Colletotrichum orbiculare*. يمكن إحداث مقاومة مستحثة فى الخيار ضد هذا المرض، وذلك بمعاملة بذور الخيار بسلالات معينة من البكتيريا الجذرية المشجعة لنمو النبات PGPR. توضع بذور الخيار فى معلق

بكتيرى بتركيز ٨١٠ CFU / مل لمدة ٣٠ دقيقة قبل الزراعة. عند استعمال المعلق البكتيرى على التربة مباشرة يحضر بتركير ٥١٠ CFU/ مل، ويضاف إلى التربة بجانب كل نبات. السلالات التى تستعمل فى هذه الحالة، هى سلالات البكتيريا الوميضة *P.fluorescens* ذات أرقام B61 -89 وكذلك 166 - 90 و 5 - INR و ISR-5. الجدول رقم (١٣١) يبين المقاومة الجهازية المستحثة ونمو النبات الناتج من استعمال PGPR.

جدول رقم ١٣١ : تأثير استعمال PGPR فى المقاومة الجهازية المستحثة فى نبات الخيار فى مقاومة مرض الانثراكنوز.

السلالة البكتيرية المستعملة من البكتيريا الوميضة	سم طول الساق الجارية	عدد الأوراق لكل نبات	ملم مجمل قطر بقع الانثراكنوز لكل نبات	كغم الإنتاج لكل نبات
89B- 61	٩٢,٧	٦٣,٢	٣٤,٣	٢,٣٧
90- 166	٩٦,٢	٦٤,٢	٤٥,٨	٢,٥٧
INR-5	٩٩,٥	٦٥	٣٦,٣	٢,٣٧
INR- 7	٩٥,٩	٦٤	٢٩,٢	٢,٣٩
دون إضافة سلالات بكتيرية	٨٤,٩	٤٤.٧	١٥٣.٦	٢,٢
دون إضافة الفطر الممرض (إصابة طبيعية)	٨٩,٦	٥٥,٧	٦١,٩	٢,--

جـ- المقاومة الجهازية المستحثة ضد التبقع الزاوي في الخيار

يتسبب مرض البقعة الزاوية فى الخيار عن البكتيريا *Pseudomonas syringae pv. lachrymans*. تعامل بذور الخيار كما سبق فى المرض الأول. (جدول رقم ١٣٢ يبين نتائج الاستعمال)

أما بالنسبة لطول بقاء مفعول المقاومة الجهازية المستحثة، فإن هذا يختلف حسب السلالة المستعملة كما فى جدول رقم (١٣٣). السلالة B-27 -89 تخفض بشكل معنوى المجموع الكلى لقطر البقعة على النبات، بالمقارنة مع النباتات التى لم تستعمل معها السلالة فى الطور

الورقى الأول. إن وقاية نبات الخيار بواسطة هذه السلالة، بشكل عام يمكن أن يستمر من الطور الورقى الأول إلى الطور الورقى الخامس. كان متوسط الخفض فى قطر البقعة بعد المعاملة بالسلالة 27 -B 89 / ١٩,٧ ٪ بالمقارنة مع النباتات غير المعاملة بالكائن المضاد فى الطور اليرقى الأول، ويزداد فى الأطوار التالية حتى الخامس. أما الوقاية باستعمال السلالة 166 -90 فهى أكثر اختلافاً عنه فى حالة السلالة الأولى، حيث إن السلالة 166 - 90 تخفض متوسط قطر البقع على النبات فى الطور الورقى الاول والثالث، وإن متوسط الخفض باستعمال هذه السلالة يزداد من ٢٨ ٪ فى الطور اليرقى الثانى، ويصل إلى ٤٨,٧ ٪ فى الطور اليرقى الخامس.

جدول رقم ١٣٢ : تأثير استعمال سلالات البكتيريا الوميضة فى المقاومة الجهازية المستحثة لمرض التبقع الزاوى فى الخيار

السلالة البكتيرية المستعملة من البكتيريا الوميضة	سم طول الساق الجارية	عدد الأوراق لكل نبات	مجموع قطر البقع الزاوية/ نبات	كغم الإنتاج لكل نبات
89B- 61	٩٦	٦٤,٩	١١٠,٣	٢,٠٨
90- 166	١٠١,٥	٦٣,٦	١٠٧,٢	٢,٠١
INR-5	١٠٢,١	٥٩,٨	١٠٠,٨	١,٨٤
دون إضافة سلالات بكتيرية	٩١,١	٤٩,٣	١٥٠,٣	١,٦٨
دون إضافة كائن ممرض (إصابة طبيعية)	٨٤,٨	٥١,–	٩٣,٥	١,٤٩

جدول رقم (١٣٣) : مدة بقاء تأثير المقاومة الجهازية المستحثة فى نباتات الخيار.

المعاملة	ملم متوسط قطر البقعة على الورقة				
	الأولى	الثانية	الثالثة	الرابعة	الخامسة
كنترول (غير محقون) بالسلالة البكتيرية	١٦٨,٨	١٠١,٨	١٢٠,٧	٦٣,٢	١٣٢
سلالة 166 -90	١٤٥,٥	٨٤,٧	١١٤,٢	٣٨,١	١٠٩,٨
سلالة 27 -89B	١٢٩,٩	٤٠,١	٦٩,٨	٢٠,٧	٨٦,٢
٪ متوسط وقاية النبات للسلالة الأولى	--	٢٨	--	٤٤,٢	٤٨,٧
٪ متوسط وقاية النبات للسلالة الثانية	١٩,٧	٥٩	٤١,٨	٥٦,٣	٥٨,٢

ملاحظات على الجدول:

السلالة 166 -90 تتبع *Serratia marcescens*، أما السلالة 89B27 تتبع البكتيريا *Pseudomonas putida*

د - المقاومة الجهازية المستحثة ضد ذبول الفيوزاريوم في الخيار

مقـــــدمة:-

إن ميكانيكية المقاومة الحيوية لذبول الفيوزاريوم باستعمال الكائنات الحية الدقيقة، عملية معقدة. قد ركزت معظم الدراسات السابقة على استعمال الأنواع غير الممرضة من الفيوزاريوم أو الكائنات المضادة الأخرى، والتى تقوم بالمقاومة الحيوية من خلال عدة طرق، مثل: التنافس على المغذيات، أو الحديد، والتنافس على أماكن العدوى على الجذور، أو إنتاج مضادات حيوية.

هناك ميكانيكية أخرى لمقاومة ذبول الفيوزاريوم، هى المقاومة المستحثة. لقد ذكر Gessler & Kuc سنة ١٩٨٢ أن المقاومة الجهازية فى الخيار ضد *Fusarium oxysporum f.sp. cucumerinum* يمكن أن تستحث عن طريق الحقن المبكر للأوراق الحقيقية الأولى بالفطر *Colletotrichum orbiculare* أو فيرس تكروزز الدخان. إن استعمال السلالات غير

الممرضة من الفيوزاريوم للحث على المقاومة (يطلق عليها أحياناً المقاومة بالتضاد - Cross protection) فى النبات ضد ذبول الفيوزاريوم قد درست دراسة واسعة. الحقن المبكر بالأنواع غير الممرضة من الفطر *F.oxysporum* يحث على تكوين مقاومة موضعية أو جهازية ضد ذبول الفيوزاريوم فى البطيخ، الخيار والطماطم. معظم هذه الدراسات، لا تستثنى ميكانيكيات أخرى غير المقاومة المستحثة، بسبب أن الكائن الممرض وعوامل المقاومة الحيوية لم تكن منفصلة عن بعضها فى المكان.

الأبحاث التى أجريت على الرايزوبكتيريا المشجعة لنمو النبات Plant growth - promoting rhizobacteria (PGPR) كعوامل مسببة للمقاومة الجهازية المستحثة Induced Systemic Resistance (ISR) ضد كائنات ممرضة مختلفة تشمل الفطر *F.oxysporum*، قد تم الوصول إليها حديثاً. لقد ذكر Van Peer *et al* سنة ١٩٩١ أن سلالات من أنواع البكتيريا *Pseudomonas sp.* تثبط ذبول الفيوزاريوم فى القرنفل. فى هذه الدراسة فإن الكائن الممرض قد حقن فى السيقان بعد أن تم إضافة ال PGPR إلى الجذور.

لكى نحدد فيما إذا كانت ال ISR هى ميكانزم للمقاومة الحيوية، فمن الضرورى استعمال نظام الفصل المكانى Spatially separation بين ال PGPR والكائنات الممرضة، وذلك لأن الباحث لا يستطيع أن يستبعد إمكانية دور التضاد الحيوى أو المنافسة. كذلك يجب أن يشمل النظام أيضا دخول الكائن المضاد بأى طريقة طبيعية على الجذور لمقاومة الكائنات الممرضة الكامنة فى التربة، إذا كان العامل المدخل يستعمل أيضاً فى المقاومة الحيوية العملية.

إن طريقة الجذر المشقوق Split - root والتى تسمح بالفصل المكانى قد استعملت فى بعض الدراسات على ال ISR. استعملت هذه الطريقة فى الدراسات على سلالات *F.oxysporum* غير الممرضة كدليل على المقاومة ضد ذبول الفير تسليم فى الطماطم والخيار. لقد ذكر Zhou & Paulitz سنة ١٩٩٤ أن *ISR* هى ميكانزم المقاومة الحيوية لعفن جذور الخيار المتسبب عن *Pythium aphanidermatum* بواسطة سلالات من PGPR، معتمداً فى ذلك على دراسة طريقة الجذر المشقوق.

دراسة المقاومة الحيوية للمرض باستعمال طريقة الجذر المشقوق:

أجريت الدراسات على نباتات الخيار ذات عمر أسبوعين، حيث كشف عن جذور هذه النباتات وغسلت جيداً بالماء، ثم بعد ذلك تشق الجذر بعناية إلى نصفين بسكين حاد جداً. النصف الأول يغمر فى ٢٠ مل معلق جراثيم الفطر الممرض *Fusarium oxysporum f.sp. cucumerinum* (مسبب ذبول الخيار)، النصف الثانى يغمر فى ١٠ مل من المعلق البكتيرى *PGPR* خاصة السلالة *89 B- 27* من البكتيريا *Pseudomonas putida* أو السلالة 166 -90 من البكتيريا *Serratia marcescens*، يؤخذ الاحتياط التام لبقاء جزئى الجذر بعيدين عن بعضهما أثناء وبعد المعاملة. ينقل كل نصف من جهاز الجذر المستعمل إلى وعاء بلاسيتيكى قطر مسطحه ١٠ سم، يكون النبات من الأعلى مربوطاً بحيث لا ينفصل إلى جزءين. توضع الأوعية على بنشات تحت رطوبة عالية وحرارة ٢٥° م لمدة ٥ – ٧ أيام، قبل نقلها الى الصوبا الزجاجية.

أما بالنسبة لدراسة المرض، تعد النباتات التى تموت بعد ٤– ٦ أسابيع. لمعرفة انتقال البكتيريا، تجرى تجربة بالمواصفات نفسها، إلا أن الجذر يحقن بالسلالة L211 بدلاً من 27 89B، وتحسب الأوراق والنباتات الميتة بعد ٤ – ٦ أسابيع. أما عن دراسة تأثيرات ال ISR على حركة الكائن الممرض داخل النبات، فتجرى عملية عزل من السلامية الأولى إلى الرابعة فى الساق، وكذلك من حامل الورقة الأولى إلى الرابعة، وذلك بعد ١ – ٥ أسابيع من الحقن بالكائن الممرض. تشق أجزاء الساق وحامل الورقة وتجرى عليها عمليات العزل النموذجية فى أطباق بترى ذات بيئة PDA، وتحضن على ٢٥° م لمدة ٥ – ٧ أيام، وذلك لعزل الكائن الممرض. أما الجزء الثانى من الساق وحامل الورقة فيستعمل لعزل السلالة L211، التى تستعمل كدليل لبقاء نشاط ال ISR . لكى نختبر فيما إذا كانت البكتيريا المحقونة فى أحد أجزاء الجذر قد انتقلت من الوعاء الذى يحوى الجذور المحقونة بالبكتيريا إلى الوعاء الآخر، نحاول عزل السلالة L- 211 من الجذور الخارجية فى كلا الوعائين بعد ١–٥ أسابيع من الحقن، بالإضافة إلى أخذ أجزاء من السلاميات الأولى إلى الرابعة وأعناق الأوراق من الأولى إلى الرابعة.

بعد إجراء هذه التجارب تبين أن أعداد النباتات الميتة كانت منخفضة بشكل معنوى بعد المعاملة بـ PGPR سلالة 89B- 27 و 166 -90. كان متوسط أعداد النباتات الميتة فى الكنترول ٦٨٪ ، أما فى المعاملة فقد وصلت الى ٣٨ و ٣٢٪ باستعمال السلالات السابقة بالترتيب. كذلك فإن السلالة L- 211 سببت خفضاً معنوياً فى المرض. وفى جميع السلالات تأخر ظهور المرض.

لقد أمكن استعادة الكائن الممرض فى الاسبوع الخامس من داخل السيقان بين السلامية الأولى والرابعة، ومن داخل حامل الورقة الأولى والثانية والثالثة فى النباتات غير المعاملة بـ PGPR. أما فى النباتات المعاملة بـ PGPR لم يمكن استعادة الكائن الممرض، إلا فى منطقة قبل السلامية الأولى بعد ٤ أسابيع من المعاملة. لم يمكن استعادة السلالة L-211 من السيقان أو حوامل الأوراق.

مما سبق يتبين أن PGPR السلالة 89B-27 و 166 -90، والتى تحث على المقاومة الجهازية ضد الكائنات الممرضة فى الخيار على المجموع الجذرى، فإنها تخفض بشكل معنوى ذبول الفيوزاريوم فى الخيار عند استعمالها كمعاملة جذور. هذا الخفض فى حدوث المرض يبدو أن له علاقة فى إعاقة او تأخير حركة الكائن الممرض فى النباتات المعاملة بـ PGPR. إن طريقة الجذر المشقوق هى أفضل طريقة لدراسة المقاومة المستحثة بواسطة PGPR.

٢- عفن الجذر في الخيار

مقـــــدمة:-

إن مرض عفن الجذر والساق الذى يصيب الخيار فى الصوبات الزجاجية المتسبب عن الفطريات *Pythium aphanidermatum* و *Pythium ultimum*، هو مشكلة خطيرة فى إنتاج الخيار فى مناطق كثيرة من العالم. لقد قام العالم Paulitz *et al* سنة ١٩٩٢ باختيار عزلات من البكتيريا *Pseudomonas* ودراستها على تثبيط الفطر الثانى على الخيار فى المعمل وفى تجارب المزارع المسطبية. ولقد تبين أن هذه العزلات تثبط هذا المرض على

الخيار فى تجارب الصوبات الزجاجية التى تستعمل بيئة الصخر الصوفى، وتزيد من الإنتاجية التسويقية للثمار.

يمكن لبكتيريا الرايزوسفير أن تثبط أمراض الجذر عن طريق المنافسة الغذائية مع الكائن الممرض، واستبعاد الكائن الممرض من مكان العدوى أو منطقة الإصابة، وإنتاج السايدروفورز أو مضادات حيوية تثبط الكائن الممرض، بالإضافة الى الحث على مقاومة جهازية فى النبات ضد الكائن الممرض.

مقاومة المرض:

يقاوم مرض عفن الجذر والساق فى الخيار المتسبب عن الفطر *P.aphanidermatum* باستعمال معلق خلوى من البكتيريا *Pseudomonas corrugata* عزلة ١٣ أو *P.fluorescens* السلالة Bu4C عزلة ١٥. إن كلا الكائنين يثبط حدوث المرض وشدته، وأن عزلة ١٥ تزيد الوزن الجاف للأفراع ومساحة الورقة وعدد الثمار فى النباتات المعاملة. إن سبب خفض المرض وشدته، يعود إلى المقاومة المستحثة التى تحدثها البكتيريا ضد الفطر الممرض.

عند اضافة المعلق الخلوى البكتيرى الى التربة بعد ٢١ يوماً من الزراعة بتركيز ٤ x ٧١٠ cfu /مل أو ٦ x ٨١٠ cfu /مل ماء واستعمال معلق من الجراثيم الهدبية للفطر الممرض بتركيز ٥٠ الف جرثومة هدبية/ مل تضاف بعد ٢٨ يوماً من الزراعة، تحدث مقاومة جيدة المرض، عن طريق خفض انتشار الجراثيم الهدبية وعدم وصولها الى منطقة التاج فى النبات.

تظهر أعراض المرض على منطقة التاج فى الخيار، على شكل تعفن أنسجة، مصحوباً بتلون بنى مصفر. تظهر الأعراض الأولى على منطقة التاج فى الخيار فى المعاملات التى استعمل فيها الفطر الممرض بعد ٦ و ١٠ أيام من الحقن. أما الأعراض التى تظهرها النباتات العاملة بالبكتيريا المضادة والمستعملة للمقاومة الحيوية (فى وجود الكائن الممرض) فإنها تتأخر ٣–٥ أيام عن نباتات الكنترول. جدول رقم (١٣٤) يبين تأثير استعمال عوامل المقاومة الحيوية على صفات نمو نبات الخيار.

لقد ذكر Moulin *et al* سنة ١٩٩٦ فى التجارب التى أجراها على الخيار، أن تثبيط عفن الجذر المتسبب عن الفطر بثيم بواسطة البكتيريا الوميضة يكون دائماً مترافقاً مع خفض

استعمار الجذر بواسطة الفطر الممرض *P.aphanidermatum*. ولقد وجد فعلاً أن السلالة CH31 من البكتيريا *P.fluorescens* تثبط استعمار الجذر بالفطر الممرض بينما لا تخفض السلالة CH1 من البكتيريا P.putida استعمار الجذر ولا شدة المرض. ولقد ذكر العالم السابق أن هذه النتائج لا تسمح بتحديد فيما إذا كان التثبيط للفطر الممرض يكون خلال الطور الترممى أو الطور التطفلى، وبالتالى لا نستطيع تحديد فيما إذا كان التضاد الميكروبى أو المقاومة المستحثة هى المسئولة عن تثبيط الفطر الممرض.

جدول (١٣٤): تأثير استعمال عوامل المقاومة الحيوية على نباتات الخيار المحقونة بالفطر الممرض بثيم؛ حيث تستعمل عزلات البكتيريا الوميضة رقما (١٣، ١٥).

المعاملة	% حدوث المرض بعد الحقن			سم طول النبات	غم الوزن الجاف لكل نبات	عدد الأوراق على النبات الواحد	عدد الثمار على النبات الواحد	غم وزن ثمار النبات الواحد
	٤٦ يوماً	٥١ يوماً	٦١ يوماً					
دون كائن ممرض ودون عامل مقاومة	--	--	--	٧٥	١٥,٣	٢٧	١٥	٣٤١
عزلة ١٣ + كائن ممرض	٤٥	٤٧	٤٧	٧٤	١٦,٥	٢٤	٩	٢١٨
عزلة ١٥ + كائن ممرض	٢٥	٢٨	٣٢	٦٠	١٥,٥	٢٥	١١	٢٤١
الكائن الممرض لوحده	٧٥	١٠٠	١٠٠	٦٥	١٠,٢	٢٣	٥	١٥٦

ملاحظات على الجدول:

البكتيريا عزله ١٣ مأخوذة من *Pseudomonas corrugata*، اما العزلة ١٥ فهى مأخوذة من السلالة Bu4C التابعة للبكتيريا *Pseudomonas fluorescens*.

٣ - مقاومة البياض الدقيقي في الخيار

أولاً: باستعمال الخمائر العاكسة Mirror yeasts

مقـــــدمة:-

لوحظ فى أوائل الثمانينيات أن بعض عزلات فطر البياض الدقيقى الذى يصيب الشعير *Erysiphe graminis f.sp hordei* المحفوظة لوقت طويل، تتلوث ببعض أنواع الخمائر العاكسة مثل *Tilletiopsis sp.*، وأن هذه الخمائر غالباً ما تؤثر على نمو الفطر *E.graminis*، وأن النتائج المتضاربة التى حصل عليها أثناء دراسة فطر البياض الدقيقى المذكور، تعزى الى تلوث هذا الفطر بفطريات الخميرة العاكسة *Tilletiopsis*. ولقد تأكد هذا القول فى المعامل التى استمرت تحتفظ بفطريات البياض الدقيقى لمدة طويلة جدا.

تصنف الخميرة *Tilletiopsis*، بأنها تتبع صف Class الفطريات البازيدية ورتبة Tilletiales، وهى تتواجد فى الطبيعة على شكل متطفلات سطحية على سطوح الأوراق، خاصة المصابة بالبياض الدقيقى أو فطريات الصدأ. هذه الخمائر تتبع فلورا المجال الورقى، حيث تزداد كمية الفطر مع تقدم عمر أوراق القمح والشعير والخوخ والتفاح. يبدو أن هناك كميات من ال *Tilletiopsis* تكون معتمدة على الرطوبة التى على الأوراق، وتتواجد جراثيمها بأعداد كبيرة فى الهواء بعد المطر. يمكن لهذه الفطريات أن يزدهر نموها على الإفرازات المغسولة عن الأوراق، كلما نمت الأوراق، دون ظهور أى آثار لتأثير هذه الخمائر على الأوراق. زيادة على ذلك فإن أنواع ال *Tilletiopsis* يمكن أن تنمو على الأوراق فى غياب الفطريات الاخرى عن المجال الورقى، الا أن هناك تقارير عديدة تدل على أن كمية هذه الخمائر أكثر فى وجود الكائنات الممرضة، هذا ما ذكره Skou سنة ١٩٨٩ والعالم Knudsen سنة ١٩٩٠.

هناك أعداد من أنواع *Tilletiopsis* ذات ميسيليوم حقيقى التقسيم تتكاثر لاجنسياً عن طريق تكوين ثلاثة أنواع من الجراثيم هى:- Chlamydospores, Ballistospores, Blastospores. تنبت الجراثيم وتنتج هيفات أحادية النواة متفرعة، والتى غالباً ما تكون محتوية على حواجز منكمشة. يمكن أن تتشكل خلايا الخميرة فى كل من *T.fulvescens* و *T.minor*

و *T.washingtonensis* وهى ذات جراثيم متبرعمة وهيفات كاذبة، ولا توجد فيها وصلات كلابية Clamp Connections.

لقد وجد أن الخمائر الشائعة فى المجال الورقى مثل *Sporobolomyces* تستطيع بنجاح أن تستعمر سطوح الاوراق، ويكون أكثر استعماراً وتواجداً لها، بالقرب من أماكن الإصابة الفطرية أو الأماكن المحطمة طبيعياً. يعتمد بقاء هذه الخمائر حية على توفر الغذاء على سطح الورقة، والذى سبق أن ذكرنا بأنه يكون ناضحا من الورقة، أو من مصادر أخرى مثل الندوة العسلية لإفرازات حشرات المن.

يمكن أن تؤثر البيئة غير الحية، بشكل خاص، وتوفر الرطوبة والمحيط الحرارى على بقاء الخمائر حية (مثل الخميرة المذكورة سابقا) على سطح الورقة. إن امكانية استعادة الخميرة، بعد استعمالها رشا على شكل جراثيم blastospores على أوراق الخيار فى رطوبة نسبية ٩٥٪ ودرجة حرارة ٢٥° م تنخفض خلال الأسبوع الأول (هذا ما وجده Urquhart *et al* سنة ١٩٩٤).

هناك أنواع عديدة من ال *Tilletiopsis* نالت اهتماماً كبيراً فى الدراسة بسبب كفاءتها كعوامل مقاومة حيوية للبياض الدقيقى على الشعير والخيار المتسبب عن الفطر *Blumeria* و *Sphaerotheca* بالترتيب. لكى تكون عوامل المقاومة الحيوية فعالة ضد نمو الكائن الممرض، فإن بقاءها حية فى المجال الورقى أو فى المجال الجذرى بكميات كافية، ضرورى جداً. لكى نزيد من مدة بقاء الخمائر فى المجال الورقى حية، يجب أن تكون تشكيلات اللقاح مترافقة مع أى مركب يحافظ على بقاء الرطوبة متوفرة لهذه الخمائر خاصة المواد الغذائية. إن العلاقة النوعية عن الترافق بين الخميرة *Tilletiopsis* وفطر البياض الدقيقى وتأثير ذلك على بقاء ونمو هذه الخميرة، لغاية ١٩٩٧ لم يحدد بعد.

مقاومة المرض:

يتسبب البياض الدقيقى فى الخيار عن الفطر *Sphaerotheca fuliginea*. هذا المرض ينتشر كثيراً على نباتات الخيار *Cucumis sativus*، وخاصة فى الصوبات الزجاجية. الطرق المتبعة لمقاومة هذا المرض والمتوفرة على شكل تجارى لجميع الزارعين، هو الاستعمال

المتكرر لعنصر الكبريت، استعمال سليكات الصوديوم فى المحلول المغذى فى المزارع المائية (دون تربة) او استعمال الأصناف المقاومة. أثبتت التجارب أن أياً من الطرق المذكورة لا يحقق مستوى عالياً من مقاومة المرض، وكل منها له استعمالات محدودة.

لقد وصفت عوامل مقاومة حيوية عديدة ذات كفاءة عالية لمقاومة أمراض البياض الدقيقى، من ضمنها الفطريات عالية التطفل hyperparasitic:

١ - الفطر *Ampelomyces quisqualis* والذى يثبط إنتاج الكونيديات وتكوين الثمار الأسكية Cleistothecial للفطر *Acremonium alternatum*.

٢ - *Stephanoascus sp* (الاسم المرادف *Sporothrix*)، خميرة من الفطريات الأسكية، والتى تثبط نمو وتكوين الجراثيم فى فطريات البياض الدقيقى.

٣ - *Tilletiopsis sp* خميرة مكونة جراثيم ballistospores، والتى تثبط تكشف مرض البياض الدقيقى على الخيار والشعير.

إن كلا من *Stephanoascus sp* و *Tilletiopsis sp* عوامل مقاومة حيوية ذات كفاءة عالية ضد البياض الدقيقى على الورد والخيار تحت ظروف الزراعة الاقتصادية، فى كثير من مناطق كندا وهولندا (شكل ٣٤).

استعمال الخميرة *Tilletiopsis sp*.

يمكن مقاومة مرض البياض الدقيقى فى الخيار باستعمال كل من الخميرة *T.pallescens* والخميرة *T.washingtonensis* باستعمال معلق جرثومى تركيز ^{8}١٠ خلية/مل، مأخوذ من مزرعة ذات عمر ثلاثة أيام. يرش المعلق الجرثومى على أسطح الأوراق العلوية، الثمار المتكشفة، السيقان والأزهار. يستمر الرش حتى يسيل المعلق الجرثومى من على الأسطح، وهذا يقدر بحوالى ٣,٥ مل/ ورقة. يجرى الرش لأول مرة عندما يكون النبات حاملاً عشرة اوراق، ثم يكرر الرش بعد ٧ - ١٤ يوماً على الأوراق نفسها. يتبين من جدول رقم (١٣٥) ان الخميرة *T.pallescns* تخفض مساحة بقع البياض الدقيقى (عدد الجراثيم/ سم٢ x ^{4}١٠) بعد ١٨ يوماً من الرش بحيث تصل ١ x ^{4}١٠ جرثومة/ سم٢ فى حين أنه فى نباتات الكنترول يكون عدد الجراثيم ٢,٨ x ^{4}١٠ جرثومة/ سم٢. أما الخميرة

T.washingtonensis تكون أقل تأثيراً من الخميرة الأولى. اما جدول رقم (١٣٦) فيبين كثافة الجراثيم (الثلاثة أنواع المتكونة بعد الرش) وكيف أنها تقل كلما تقدم بها الوقت بعد الرش.

جدول رقم (١٣٥) : كثافة الجراثيم الكونيدية لفطر البياض الدقيقى، بعد الرش بالخميرة *T.pallescens* والخميرة *T.washingtonensis*. على نبات الخيار.

الخميرة	عدد جراثيم فطر البياض الدقيقى/ سم٢ فى البقعة مضروباً فى ١٠^٤ بعد الرش بمدة					
	١ يوم	٤ يوم	٨ يوم	١٢ يوم	١٦ يوم	١٨ يوم
T.pallescens	٦,٥	١,٨	٣,٥	٣,٦	٢,٨	١,٠٠
T.washingtonensis	٦,–	١,٨	٢,٦	١,٢	٣,٨	١,٤
كنترول	٧,٨	٤,٨	٧,٠٠	٤,٨	٨,٩	٢,٨

جدول رقم (١٣٦) : كثافة تواجد الخميرة T.pallescens **فوق سطح ورقة الخيار، بعد الرش بأنواع الجراثيم الثلاثة.**

نوع الجراثيم	كثافة التجمعات cfu / ورقة بعد الرش بمدة. العدد هو لوغارتم ١٠					
	صفر يوم	٥ يوم	١٥ يوم	٢٥ يوم	٣٠ يوم	٣٥ يوم
Blastospores	٤,٥	٣,٥	٢,٥	١,٥	١,٥	--
Ballistospores	٤,٥	٣,٦	٢,٨	٣	٢,٥	صفر
Chlamydospores	٤,٥	٢,٥	٢,٨	--	--	صفر

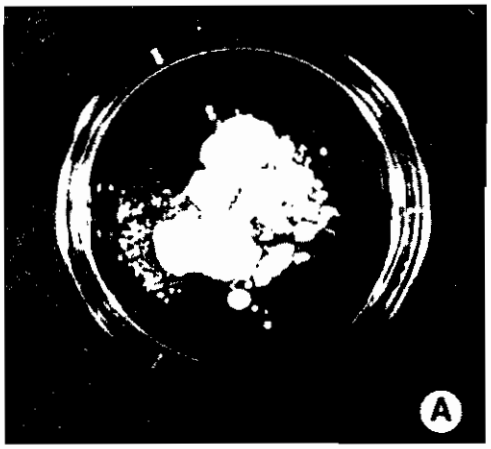
يكون نمو هاتين الخميرتين *T.pallescens* و *T.washingtonensis*، على بيئة الآجار متشابهـا على درجة حرارة ١٥ – ٣٠° م، ولكن النمو ينخفض بشكل معنوى على درجة حرارة ٣° م. يكون أفضل نمو وتجرثم على بيئة المرق على حرارة ١٥– ٣٠° م ويتوقف النمو على حرارة ٣٠ – ٣٥° م. تنبت الجراثيم Ballistospores على درجة *pH* تتراوح ما بين ٣,٨ – ٧,٩. أفضل بيئة لتكوين Blastospores هى بيئة ٢,٥ ٪ د – جلوكوز + ١ ٪ ببتون + ٠,١ مستخلص خميرة (شكل رقم ٣٥).

شكل رقم ٣٤ : فعالية الخميرة *T.pallescens* فى المقاومة الحيوية ضد مرض البياض الدقيقى فى الخيار.

A : ورقة نبات خيار مصابة بمرض البياض الدقيقى.

D : ورقة نبات الخيار. الجزء الأيمن معامل بالخميرة ولا تظهر عليه اعراض المرض.

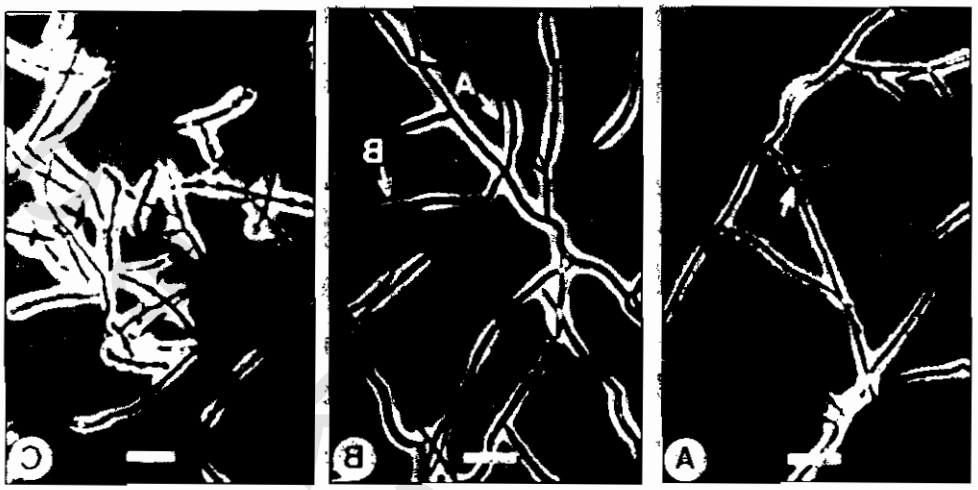
اما الجزء الأيسر غير معامل بالخميرة، تظهر عليه اعراض المرض.



شكل (٣٥-أ) العلوى:

A: مستعمرة من الخميرة *T.washingtonensis* نامية على بيئة مولت إكسترا آجار.

B : مستعمرة من الخميرة *T.pallescens* يظهر فيها عديد من المستعمرات النجمية، المرافقة ناشئة من الجراثيم Ballistospores المنطلقة من المستعمرة الأصلية.



شكل (٣٥ ب السفلى) :

الصفات الميكروسكوبية للخميرة *Tilletiopsis sp.*

A : أجزاء هيفا حية مفككة ذات سيتوبلازم منكمش مفصول، بأجزاء من الهيفا مجوفة ذات حواجز فى الخميرة *T.pallescens* على بيئة PDA التفرع عند الأسهم.

B : السهم المكتوب عليه A يشير إلى جراثيم blastospores أما السهم B يشير إلى الجراثيم المتكررة ملتصقة على السترجما ذات عمر ٢٤ ساعة للخميرة *T.pallescens* على بيئة PDA.

C : جراثيم كلاميدية للخميرة *T.washingtonensis* من بيئة (TII) بعد عشرة أيام من النمو.

المسطرة البيضاء تدل على طول ١٠ ميكرونات.

عندما يرش معلق جراثيم Blastospores تركيز 10^{8} خلية /مل على أسطح أوراق الخيار تحت رطوبة نسبة ٨٥٪ وحرارة ٢٥° م، يمكن أن تبقى الخميرة حية، لمدة خمسة أسابيع. كما أن رش الخيار ثلاث مرات بين الرشة والأخرى مدة أسبوع، فإن ذلك يخفض من كثافة جراثيم البياض الدقيقى، ومن نمو هيفات الفطر وقدرتها على التجرثم. تصبح خلايا الفطر محعدة ومنهارة عند فحصها بالميكروسكوب الإلكترونى، وتصبح الحوامل الجرثومية ضعيفة الإنتاج فتحمل جرثومة واحدة أو اثنتين (شكل ٣٦). يحدث نمو جيد للخميرة *Tilletiopsis* على مادة Laminarin كمصدر وحيد للكربون فى المعمل ولكنها لاتنمو على الشيتين. إن نشاط إنزيم B - 1,3 glucanase يمكن أن يكون العامل الفعال فى نشاط هذه الخميرة فى المقاومة الحيوية للبياض الدقيقى.

شكل رقم (٣٦) : صورة بالميكروسكوب الالكترونى لهيفات فطر البياض الدقيقى والكونيديا بعد ٤٨ ساعة من الرش بالخميرة *T.Pallescens*.

A : هيفات فطر البياض الدقيقى معاملة بالخميرة، يظهر انهيار الخلايا، وتفقد سلامة التركيب.

B: هيفات فطر البياض الدقيقى (فى الكنترول، المعاملة بالمرق) سليمة تماماً من حيث الجدر والحوامل الكونيدية.

C: جراثيم الخميرة على سطح الورقة ملاصقة لهيفات فطر البياض الدقيقى.

المسطرة البيضاء تدل على طول ١٠ ميكرونات

يجب ملاحظة أن نمو الخميرة *Tilletiopsis* على بيئة الآجار بطئ جداً وتتلوث البيئة بسهولة بالفطريات الرمية، لذا يجب إضافة كل من المضادات الحيوية امبسلين، داى كلوران، روزينجال، للبيئة. إن مادة الداى كلوران لا تمنع إنبات جراثيم الفطريات الملوثة، ولكنها تثبط نموها وتسمح بنمو مستعمرات الخميرة. أما الروزينجال فإنه يعطى الخميرة اللون البنى الفاتح، أما الملوثات الاخرى فإنها لا تمتص هذا اللون بسرعة امتصاص الخميرة المذكورة.

نظراً لأن نمو هذه الخميرة بطئ جدا على البيئات الصلبة، ولكنه سريع على البيئات السائلة، لذا يفضل تنميتها على البيئات السائلة لكى تستعمل فى المقاومة الحيوية. تشجع البيئة السائلة تكوين جراثيم blastospores. تسمى البيئة المشهورة التى تنمو عليها هذه الخميرة TII وتتكون من ٢,٥ ٪ د-جلوكوز، ١ ٪ باكتوببتون، ٠,١ ٪ مستخلص الخميرة. يمكن الحصول من هذه البيئة على تركيز جرثومى 10^8 جرثومة/ مل خلال ٧٢ ساعة بعد التحضين على ٢٠° م. تتكون الجراثيم الكلاميدية من جراثيم Blastospores خلال ستة أيام. تستعمل الخميرة النتريت او النترات كمصدر وحيد للنيتروجين.

أهم الأنواع التى يمكن أن تستعمل فى المقاومة الحيوية للبياض الدقيقى فى الخيار من بين ١٤٣ عزلة، هى:

T.washingtonensis ، *T.pallescens* ، *T.minor* ، *T.albescen*

ثانياً: باستعمال الفطر *Verticillium lecanii*

مقـــدمة:

أصبح التعامل مع مرض البياض الدقيقى فى الصوبات الزجاجية، من الأمور المهمة والتحديات الكبيرة، لأن هذا المرض ينتشر فى كثير من المناطق ويسبب خسائر كبيرة فى معظم المحاصيل. فى العقدين الأخيرين من هذا القرن ظهرت توصيات مختلفة لمقاومة هذا المرض، تشمل تطهير الصوبات الزجاجية وتعقيم تركيباتها، وزراعة الأصناف المقاومة. وعلى أية حال فإن المدى العوائلى الواسع لمسببات أمراض البياض الدقيقى، بالإضافة

لمقدرتها على التكاثر السريع والكبير جداً تحت الظروف البيئية المناسبة، والتى عادة ما تسود فى الصوبات الزجاجية، هذه الصفات غالباً ما تقلل من كفاءة تلك الإجراءات فى المقاومة. أما الكيماويات مثل الكبريت، الدنوكاب والبينومايل، بالاضافة إلى المبيدات الفطرية الجهازية، يتم استعمالها على نطاق راسع، إلا أنها بشكل عام لا تحسن الكفاءة الكلية لهذه المقاومة ولايوجد لها تقبل من قبل مجموعة المستهلكين، حتى إذا استعملت بتركيزات غير سامة. إن زيادة الاهتمام بالبيئة وسرعة ظهور سلالات مقاومة للمبيدات من الكائن الممرض قللت من الاتجاه لاستعمال الكيماويات فى مقاومة البياض الدقيقى. وبالتالى فإنه على الرغم من الجهود الكبيرة التى تبذل لمقاومة هذا المرض، إلا أنه لا يزال المشكلة السائدة الكبيرة فى زراعات الصوبات الزجاجية. وكنتيجة لذلك اتجهت المحاولات الحديثة لإيجاد طريقة فعالة وأكثر سلامة لمقاومة مرض البياض الدقيقى.

من أهم الطرق التى تستعمل الان فى مقاومة مرض البياض الدقيقى هو استعمال عوامل المقاومة الحيوية. لقد تم اكتشاف كثير من عوامل المقاومة الحيوية لكثير من أمراض النبات فى السنوات القليلة الماضية. يتجه الاهتمام الزائد الى الكائنات الحية المضادة لفطريات البياض الدقيقى، وذلك بسبب كفاءتها فى خفض كثافة لقاح الكائن الممرض. هناك عديد من الفطريات، مثل: الخميرة *Stepha- Ampelomyces quisqualis, Tilletiopsis sp* *noasus spp.* ، *Aphanocladium album, (Sporothrix spp).* وأخيرا *Paeciliomyc- es farinosus*، ذكر بأنها تتطفل على كثير من فطريات البياض الدقيقى، وتخفض حدوث المرض بشكل معنوى.

هناك كائن آخر متطفل على الفطريات، والذى جذب انتباه كثير من الباحثين بسبب المدى العائلى الواسع له، حيث يؤثر على كثير من الحشرات وفطريات الصدأ والبياض الدقيقى، هذا الفطر هو *Verticillium lecanii*. فى السنوات الاخيرة استعمل هذا الفطر على مستوى تجارى فى مقاومة أمراض البياض الدقيقى، ويدخل ضمن المبيدات الحيوية Bio-pesticide

لقد ثبت بما لا يدع مجالاً للشك أن الفطر *V.lecanii* لديه المقدرة فى مقاومة حشرة المن والذبابة البيضاء (أهم الآفات والأكثر شيوعاً فى الصوبات الزجاجية)، وكذلك مقدرته فى مقاومة فطريات الصدأ خاصة صدأ القرنفل وكثير من الفطريات الأخرى، مثل:

مسبب صدأ القرنفل	*1 - Uromyces dianthi*
مسبب صدأ الفاصوليا المتقزمة	*2 - Uromyces appendiculatus*
مسبب صدأ القمح	*3 - Puccinia recondita*
مسبب البياض الدقيقى على الحمضيات	*4 - Oidium tingtanium*
مسبب البياض الدقيقى على الشعير	*5 - Erysiphe graminis*
مسبب البياض الدقيقى على الخيار	*6 - Sphaerotheca fuliginea*

مقاومة المرض:

يقاوم مرض البياض الدقيقى فى الخيار المتسبب عن الفطر *Sphaerotheca fuliginea* باستعمال الفطر *Verticillium lecanii* . يؤدى هذا الفطر الى تخفيض كبير فى حدوث المرض وفى شدة الإصابة. ولقد تبين بالدراسة واستعمال الميكروسكوب الإلكترونى، أن هذا الفطر يستعمر تركيبات العائل عن طريق الربط المحكم لها، وذلك باستعمال لبيفات رقيقة لزجة. بعد رش الكائن المضاد بحوالى ٢٤ ساعة على النبات المصاب، عند ملامسة الكائن المضاد للكائن الممرض يحدث اتساع كبير فى فجوة خلية الفطر الممرض، وتحدث اضطرابات فى تعضى سيتوبلازم الهيفات. أما بعد ٣٦ ساعة من المعاملة يحدث انكماش فى البلازما الغشائية المبطنة للخلايا، ويبدأ السيتوبلازم فى التجمع فى بعض الأماكن. وباستعمال بعض المواد الكاشفة (WGA) (اجلوتينين جنين القمح ومعقد من مركبات الذهب) تبين أن دخول الفطر المضاد بين خلايا الكائن الممرض لا يسبب تغيراً كبيراً فى جدار الخلية، إلا فى منطقة اختراق الهيفات. أما بعد ٤٨ ساعة من الحقن يحدث اضطرابات كبيرة فى عضيات السيتوبلازم وتفقد الخلية انتفاخها ويحدث التواء فى جدار الخلية. هذه الاضطرابات تؤدى إلى القول بأن اختراق الكائن المضاد للكائن الممرض يكون عن طريق الضغط الميكانيكى او التأثير الإنزيمى الموضعى (hydrolysis) عن طريق فعل إنزيم ال Chitinases. أما بعد ٧٢ ساعة، بعد أن يحدث اتصال تام بين خلايا الفطرين، تنهار خلايا فطر البياض الدقيقى، يستنزف البروتوبلازم نتيجة التكاثر الكبير الذى يحدث للفطر المضاد وتحاط الخلايا تماماً بالكائن المضاد،(شكل ٣٧).

يمكن تلخيص الدور الذى يقوم به الفطر المضاد *V.lecanii* ضد فطر البياض الدقيقى على الخيار *S.fuliginea* فى الآتى:

١ – التصاق الفطر المضاد مع فطر البياض الدقيقى.

٢ – حدوث ضغط ميكانيكى وإفراز إنزيمات محللة لجدر خلية الفطر الممرض مثل إنزيم Chitinases.

٣ – اختراق نموات من الفطر المضاد هيفات فطر البياض الدقيقى والوصول إلى المحتويات الداخلية.

٤ – تهضم خلايا فطر البياض الدقيقى وتنطلق خلايا الكائن المضاد من بين الخلايا الميتة لفطر البياض الدقيقى.

٥ – يؤدى التفاعل بين الفطرين الى تشوه الشكل الخارجى والوظيفى لخلية وممصات فطر البياض الدقيقى.

من كل ذلك يتبين أهمية الفطر *V.lecanii* فى المقاومة الحيوية للحشرات والفطريات الضارة بالنباتات فى الصوبا الزجاجية وفى الحقل، وخاصة فطريات البياض الدقيقى.

obeikandl.com

شكل (٣٧ أ) :

صورة بالميكروسكوب الإلكترونى للتفاعل بين أنسجة ورقة الخيار وفطر البياض الدقيقى (SP).

A + B. بعد ٢٤ ساعة أما C - F بعد ٣٦ ساعة من الحقن بالفطر المضاد *Verticillium lecanii* (V)

A: هيفات الفطر المضاد (V) تلتف حول الكائن الممرض (SP) دون أن تسبب تشوهات حقيقية (التكبير ٤٠٠٠ مرة) المسطرة تساوى ٢ ملى ميكرون.

B : تكبير عال جدا يبين الاتساع الكبير فى الفجوة مصحوباً بعدم تعضى السيتوبلازم – التكبير ٨٠٠٠ مرة المسطرة تساوى ١ ملى ميكرون.

C: هيفات الكائن الممرض مشوهة بشكل واضح، حيث تنكمش الطبقة البلازمية المبطنة لجدار الهيفات، ويتجمع السيتوبلازم فى اماكن محددة Cy. التكبير ٨٠٠٠ مرة.

D: تتغير الخلايا بشكل كبير كما يلاحظ من انكماش السيتوبلازم وتجمع المكونات. التكبير ٨٠٠٠ مرة.

E : يلتصق الكائن المضاد (V) مع خلايا العائل فى المنطقة الواقعة بين السطحين (الأسهم) عن طريق حصيرة من الليبيفات. التكبير ٢٤٠٠٠ مرة والمقياس ٠,٥ ملى ميكرون.

F : جدار خلية الكائن الممرض CW يبدو واضحاً الروابط الليبيفية FM. التكبير ٤٠٠٠٠ مرة والمسطرة ٠,٢٥ ملى ميكرون.

شكل (٣٧ ب) : تفاعل الكائن الممرض (SP) مع أنسجة ورقة الخيار بعد ٤٨ ساعة من الحقن بالفطر المضاد (V).

A+ B : عدم التعضى فى سيتوبلازم (CY) فى الكائن الممرض. تبقى المكونات على شكل كتل غير محددة من المواد الحبيبية، تعرف هذه الخلايا عن طريق فقد انتفاخها والتواء جدار الخلية (CW)، والذى يكون متلاصقاً تماماً مع الكائن المضاد (V) السهم B، يلاحظ خلايا الكائن المضاد داخل هيفات الكائن الممرض (SP).

التكبير فى A يساوى ٨٠٠٠ مرة ، المسطرة ١ ملى ميكرون.

التكبير فى B يساوى ١٦٠٠٠مرة، المسطرة ٠,٥ ملى ميكرون.

C – خلايا الكائن الممرض (SP) مخترقة بهيفات الكائن المضاد (V) تظهر عند السهم. التكبير ٨٠٠٠ مرة – المسطرة ١ ملى ميكرون

D : يحدث استعمار لهيفات العائل عن طريق الغضط الميكانيكى ضد حواجز العائل (زوج الأسهم) (S) الحاجز.

التكبير ١٩٠٠٠ مرة المسطرة ٠,٥ ملى ميكرون.

شكل (٣٧ جـ) : تفاعل الكائن الممرض (SP) مع نسيج ورقة الخيار بعد ٧٢ ساعة من الحقن بالكائن المضاد (V).

A + B : خلايا الكائن الممرض منهارة (A) أو حتى يستنزف البروتوبلازم B.

تكبير A ٨٠٠٠ مرة والمسطرة ١ ملى ميكرون.

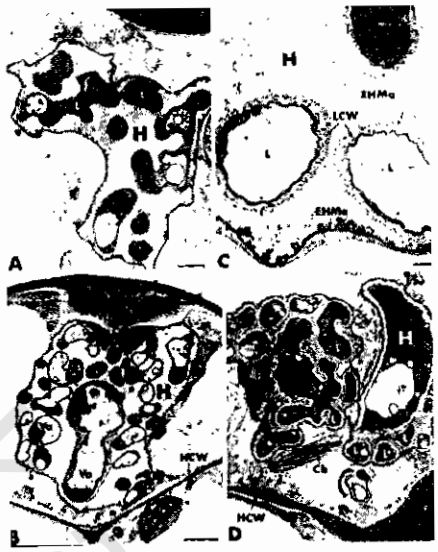
تكبير B ٥٠٠٠ مرة والمسطرة ٢ ملى مكرون.

C + D: تحطيم جدار خلية العائل (CW) السهم فى C يبين انفجار الخلايا.

التكبير فى C ٣٢٠٠٠ مرة، والمسطرة ٠,٢٥ ملى ميكرون.

التكبير فى D ٢٤٠٠٠ مرة، والمسطرة نصف ملى ميكرون.

E : فى الأطوار المتقدمة من التفاعل بين الكائن المضاد والممرض تختفى جدر خلية الكائن الممرض كلية. التكبير ٣٢٠٠٠ مرة والمسطرة ربع ملى ميكرون.



شكل (٣٧د) : تفاعل بين نسيج ورقة الخيار وفطر البياض الدقيقى : A بعد ٢٤ ساعة ،B و C بعد ٣٦ – ٤٨ ساعة و D بعد ٧٢ ساعة من الحقن بالفطر المضاد.

A: جسم الممص (H) يبدو محفوظاً، أيضاً زيادة الفجوة فى خصوص الممص (L). التكبير ٨٠٠٠ مرة. المسطرة ١ ملى ميكرون.

B + C = زيادة فى سعة الفجوات (Va) فى B، تؤدى لأن تكون فصوص الممص فارغة تقريبا ومحاطة بجدار سميك (LCW) وهذا ظاهر فى C.

EHMa : منشأ لبيفات ممصات خارجية.

EHMe : منشأ لأغشية ممصات خارجية.

HCW : جدار خلية العائل.

D: جسم الممص محطم كلية وفصوص الممص تحطمت بشكل واضح وتحللت. Ch = كلوروبلاست.

التكبير فى B ٣٢٠٠٠ مرة، المسطرة ٠,٢٥ ملى ميكرون.

التكبير فى C ٨٠٠٠ مرة، المسطرة ٢ ملى ميكرون.

التكبير فى D ٨٠٠٠ مرة، المسطرة ١ ملى ميكرون.

الفصل الثانى عشر

المقاومة الحيوية لبعض أمراض نباتات اقتصادية من عوائل مختلفة

أولاً : القطن

١- ذبول القطن

مقـــدمة

يتسبب مرض ذبول القطن عن الفطر *Sclerotium rolfsii*. ينتشر هذا الفطر الممرض فى معظم بقاع العالم، ويهاجم كثيراً من المحاصيل.

لقد تم تحديد ١٦ سلالة من بين ٤٠ سلالة من البكتيريا الوميضة PGPR (التى تكلمنا عنها كثيراً فى موضوعات سابقة)، معزولة من رايزوسفير القطن، ووجد أنها مضادة للفطر *Sclerotium rolfsii*. يكون مستوى تثبيط نمو الكائن الممرض منخفضاً عندما تزود البيئة الغذائية بكلوريد الحديد الثلاثى مع وجود الكائن المضاد. تنخفض أيضاً حيوية الأجسام الحجرية عند غمرها فى المعلق البكتيرى أو راشح مزرعة خلايا الكائن المضاد. وجد أن عزلات البكتيريا الوميضة ساينوجنك، وأن نواتج الميتابولزم تثبط فعليا نمو الكائن الممرض فى تجارب الصوبا الزجاجية، وجد أن العزلة FP-47 أكثر كفاءة فى تثبيط المرض.

لمعرفة تأثير عزلات البكتيريا على نمو الفطر الممرض فى المعمل، تستعمل بيئة PAF وتسمى آجار بسيدوموناس للبكتيريا الوميضة، أو تستعمل بيئة King's B medium. يبين الجدول رقم (١٣٧)، مقدرة عزلات البكتيريا فى تثبيط نمو الفطر، فى المعمل. وجد أن ٣٣٪ من عزلات البكتيريا تثبط نمو الفطر وتتراوح مساحة التثبيط Inhibition Zone من ٣ – ١٤ ملم. إن أفضل العزلات كفاءة فى تثبيط الفطر الممرض هى ذات الأرقام ٢٨، ٤٣، ٤٧ ويكون أفضل فعل لها عند عدم توفر الحديد فى البيئة، وذلك لأن امتصاص الحديد ينظم بواسطة السايدروفورز التى تفرزها البكتيريا، وتقلل من توفر الحديد للكائن الممرض. كذلك

فإن عزلات البكتيريا تثبط حيوية الأجسام الحجرية للفطر كما فى جدول رقم (١٣٧). تزداد نسبة خفض الحيوية بازدياد مدة غمر الأجسام الحجرية فى المعلق البكتيرى، وإن أقوى السلالات هى Fp - 47.

مقاومة المرض:

عند دراسة تأثير البكتيريا على تثبيط المرض فى الصوبا الزجاجية. تعامل بذور القطن بعزلات البكتيريا الوميضة عن طريق غمرها فى المعلق الخلوى البكتيرى لمدة ٢٤ – ٤٨ ساعة، ثم بعد ذلك توضع البذور على ورق نشاف لكى تجف هوائياً. وقد تبين من التجربة أن بذرة القطن تحمل من (٣,٨ – ٥,٩) x 10^9 وحدة تكوين مستعمرات. فى بعض التجارب العملية، حضرت أوعية بلاستيكية ووضعت فيها تربة معقمة ومزجت الطبقة السطحية من تربة الوعاء بعمق ٦ سم بالأجسام الحجرية للفطر الممرض، ثم زرعت بعد ذلك بذور القطن. بعد إنبات البذور بحوالى أسبوعين أخذت النتائج، تبين أن سلالات البكتيريا الثلاثة تثبط حدوث المرض، كما فى جدول رقم (١٣٨)، وبالتالى يمكن القول بإمكانية استعمال هذه السلالات فى مقاومة المرض فى الحقل مستقبلاً.

جدول رقم (١٣٨) : تأثير البكتيريا الوميضة فى خفض ذبول السكلوروشيم فى القطن تحت ظروف الصوبا الزجاجية.

العزلة	% متوسط عدد النباتات المريضة
Fp - 28	٢٩,٩
Fp - 43	٢٦,٦
Fp - 47	٩,٩
كنترول	٧٩,٩

جدول رقم (١٣٧) : تأثير سلالات البكتيريا الوميضة على نمو الفطر S.rolfsii فى المعمل وتأثير راشح المزرعة على حيوية، ونمو الأجسام الحجرية للفطر بعد غمر هذه الأجسام فى المعلق البكتيرى.

السلالات المستعملة	ملم تثبيط فى البيئة PAF		٪ الأجسام الحجرية الحية والقادرة على الإنبات بعد غمرها فى المعلق البكتيرى لمدة من الزمن			
	PAF + حديد ثلاثى	PAF دون حديد ثلاثى	١ ساعة	٢٤ ساعة	٧ أيام	٢٤ يوماً
FP - 23	٢	٣	--	--	--	--
FP - 24	١٣	٩	--	--	--	--
FP - 25	٧	١٢	٧٧,١	٨١,٥	٦٤,٧	٣٥,٨
FP - 26	٨	١١	--	--	--	--
FP - 33	صفر	٥	٨١,٨	٥٣,٣	٦٣,٣	٤٤,٧
FP - 28	صفر	٨	٩٠,-	٣٦,٧	٨٢,٣	٣١,١
FP - 43	٩	١١	١٠٠,-	٢٦,٧	٣٠,-	٦,٢
FP - 47	٥	٩	١٠٠	٢٧,٣	٣٦,٧	صفر
كنترول	--	--	١٠٠	٩٣,٣	١٠٠,-	٨٠

٢- سقوط بادرات القطن

مقـــدمة

تعتبر الكائنات الممرضة التى تهاجم بادرات القطن مثل *Rhizoctonia solani*، *Macrophomina phaseolina*، *Xanthomonas campestris malvacearum* والفطر *Pythium*، من المشاكل الكبيرة فى معظم أنحاء العالم. كثير من هذه الكائنات الممرضة تستطيع أن تعيش فى التربة لفترات طويلة، خاصة فى وجود بقايا العائل، وبالتالى فانه من الصعب

مقاومتها سواء بالمواد الكيماوية أو تربية أصناف مقاومة. فى الفترات الماضية حدث نجاح كبير فى المقاومة الحيوية للأمراض الكامنة فى التربة، عن طريق استعمال البكتيريا الوميضة Pseudomonas fluorescens، عن طريق معاملة البذور بالمعلق الخلوى لهذه البكتيريا.

ثبت بأن العزلة BL915 من البكتيريا السابقة، المعزولة من التربة، فعالة ضد الفطر *R.solani* مسبب مرض سقوط البادرات فى القطن. الاختبارات التى أجريت على هذه العزلة لمعرفة الأساس الذى تبنى عليه مقدرتها فى المقاومة الحيوية، أثبت أن هذه السلالة تنتج Pyrrolnitrin، وهو من المضادات الحيوية ومن المنتجات الثانوية لعمليات الميتابولزم فى البكتيريا، ومن المعروف أنه يثبط نمو الفطر *R.solani* وفطريات أخرى.

مقاومة المرض:

يقاوم مرض سقوط البادرات الرايزوكتونى فى القطن باستعمال البكتيريا الوميضة P.fluorescens سلالة F.11 وF.5، وكذلك باستعمال البكتيريا الوميضة *P.putida*.

لمعرفة تأثير البكتيريا الوميضة على نمو الفطر *R.solani* فى المعمل، كان يزرع الفطر على نوعين من البيئات، الأولى: King's broth (KB) والثانية: بطاطس – دكستروز – مرق. كانت توضع البيئة فى دوارق سعة ١٠٠ مل يوضع فيه ٢٠ مل بيئة، ثم يضاف إليه ٠,١ ملم معلق بكتيرى بتركيز حوالى $^{٧}١٠$/مل وحدة تكوين مستعمرات، من سلالات مختلفة من البكتيريا الوميضة، ثم يوضع فى الدورق نفسه قرص من مزرعة الفطر بقطر ٦ ملم، ثم تحضن الدوارق على حرارة ٢٧° م لمدة خمسة أيام ثم يدرس تأثير البكتيريا على الوزن الجاف لنمو الفطر.

يبين جدول رقم (١٣٩) أن نمو الفطر ينخفض بشكل كبير، ويكون أكبر فى بيئة مرق KB منه فى بيئة مرق PD فكانت نسبة الخفض فى الأولى ٥٣,٩٢٪ وفى الثانية ٧٥,٨٢٪.

عند دراسة تأثير البكتيريا الوميضة على إصابة البادرات بالمرض فى الصوبا الزجاجية. كانت توضع تربة معقمة فى أوعية بلاستيكية ذات قطر ٢٠ سم، وكانت تلوث التربة بحوالى ٥٠ ملم من معلق مزرعة الفطر الممرض *R.solani* (تحتوى ١٠٠ ملغ وزن ميسيليوم طازج)، ثم بعد ذلك كانت تزرع البذور المعاملة بالبكتيريا (سلالات مختلفة من البكتيريا

الوميضة) بحيث تحمل كل بذرة حوالى 10^8 وحدة تكوين مزارع. تزرع فى كل وعاء عشر بذور، ثم بعد حوالى ٤ أسابيع تدرس النتائج. كانت النتائج كما فى جدول رقم (١٣٩)، حيث إن ٥٢ ٪ من النباتات فى الكنترول ظهر عليها تعفن منطقة التاج ثم السقوط المفاجئ، بينما فى حالة النباتات المعاملة باالبكتيريا فتتراوح نسبة الإصابة من صفر الى ٤٧ ٪.

مما سبق يتبين أن السلالة F- 11، هى أفضل السلالات فى كبح جماح المرض ثم يليها السلالة رقم F-5. ولقد اقترح Laha *et al* سنة ١٩٩٢ استعمال *P.putida* فى مقاومة معظم أمراض القطن، بعد أن أثبت فى تجاربه نجاح هذه البكتيريا فى التجارب الحقلية.

جدول رقم (١٣٩) : تأثير السلالات المختلفة من البكتيريا الوميضة على النمو الميسيليومى للفطر *R.solani* على بيئات مختلفة، وتأثير السلالة على نسبة المرض فى القطن فى الصوبا الزجاجية.

السلالة	ملغ متوسط الوزن الجاف للميسيليوم على بيئة		٪ بادرات قطن مصابة
	King's B broth	PD broth	
كنترول	٣٠٠	٢٩٠	٥٢,٦
F -1	٩٠	١٣٨	--
F -2	٧٠	١١٠	٢٣,٥
F -3	٨٠	١٥٠	--
F -4	٤٠	٢١٨	—
F -5	١١٠	١٦٠	١١,٤
F -6	١١٠	١١٥	١٦,٦
F -7	٣٨	١٧٨	١٦,٥
F -10	٧٥	١٣٠	٤٧
F -11	٨٠	١٣٢	صفر

٣ - الذبول الفطري والبكتيري

مقـــدمة

لقد ذكر Podile *et al* سنة ١٩٨٨ أن هناك كائنات مضادة موجودة فى رايزوسفير نبات القطن لها دور كبير فى المقاومة الحيوية لأمراض القطن، وتسبب زيادة فى نمو وإنتاج النبات. من هذه الكائنات *Pseudomonas aeruginosa*، *P.fluorescens*، *Bacillus sub-tilis* ولقد اختبرت هذه الكائنات المضادة ضد بعض الكائنات الممرضة للقطن، منها:

1 - *Rhizoctonia solani*

2 - *Sclerotium rolfsii*

3 - *Fusarium solani*

4 - *Erwinia carotovora*

5 - *Xanthomonas citri*

وجد أن البكتيريا *P.aeruginose* لها كفاءة عالية فى تثبيط تكشف جميع الممرضات المذكورة سابقا، فى حين أن *B.subtilis* مضادة للفطريات فقط. اما *P.fluorescens* فهى تثبط جميع الممرضات السابقة باستثناء *F.solani*.

مقاومة الأمراض:

عزلت الميكروبات الممرضة لنبات القطن من نباتات القطن المصابة بالذبول، ثم أعيد حقنها فى نباتات القطن فى الصوبا الزجاجية، فأحدثت إصابة ثم بعد ذلك عزلت من النباتات ونميت على بيئة *PDA*. هذه الكائنات الممرضة هى :

1 - *Xanthomonas malvacearum*

2 - *Rhizoctonie solani*

3 - *Fusarium vasinfectum*

4 - *Verticillium dahliae*

openkandil.com

أما بالنسبة للكائنات المضادة المستعملة فى المقاومة الحيوية، فهى:

١ – السلالة ٤١ من البكتيريا *Pseudomonas fluorescens*

٢ – السلالة ٢٣ من البكتيريا *Bacillus subtilis*

٣ – السلالة ٢٦ من البكتيريا *Bacillus megatherium*

٤ – البكتيريا *Pseudomonas aeruginosa*

نميت هذه البكتيريا على بيئة جلوكوز – ببتون – آجار، محتوية ١٠ غرام ببتون و ١٠ غرام غلسرول و ٥ غرام كلوريد صوديوم و ٢٠ غرام آجار فى لتر ماء. كانت تلقح الأطباق النامية فيها الكائنات الممرضة بوضع أجزاء من الكائنات المضادة، وتحضن على ٢٥– ٢٨° م، ثم درست نتائج التسناد بعد ثلاثة أيام. كانت النتائج كما فى جدول رقم (١٤٠). تبين أن الثلاثة أنواع من البكتيريا المضادة تثبط نمو الأربعة كائنات الممرضة، وكان أكثر تأثيراً للبكتيريا *B.subtilis* ثم *B.megatherium*. أما البكتيريا الرابعة فلم تستعمل فى تجارب المعمل وإنما استعملت فى التجارب الحقلية مباشرة.

أما بالنسبة لدراسة تأثير الكائنات المضادة على الكائنات الممرضة فى الحقل. فكانت تنقع بذور القطن (بعد تنظيفها وتطهيرها خارجيا) فى تخفيفات مختلفة من معلق مزرعة البكتيريا ١٠ ٪، ٢٥ ٪، ٥٠ ٪ لمدة ١٨ ساعة (كانت مزارع البكتيريا مكونة من ١٠ غرام ببتون + ١٠ مل غليسيرول + ٥ غرام كلوريد صوديوم + ١٠٠٠ مل ماء)، ثم بعد ذلك تجفف على ورق نشاف، ثم تزرع فى تربة الحقل مباشرة، بعد التأكد من أن تربة الحقل ملوثة طبيعياً بالكائنات الممرضة، وزيادة على هذا التلوث الطبيعى كانت تلوث صناعياً بإضافة أربعة أطباق بترى/ م٢ من كل كائن ممرض.

درست النتائج بعد أسبوعين، فوجد أن إنبات بذور القطن يزداد فى المعاملة التى استعملت فيها البكتيريا بتخفيف ١٠ ٪ (جدول رقم ١٤١) وإن ظهور البادرات فوق سطح التربة قد ازداد بنسبة استعمال الكائنات المضادة، وأن استعمال كائنين مضادين معا يكون تأثيرهما أفضل من استعمال كل منهما بمفرده، وأن استعمال الكائن المضاد ضد الممرضين أفضل منه ضد ممرض واحد. أفضل تركيز لخفض شدة المرض هو ١٠ ٪ أيضا (جدول رقم

١٤٢) . وقد تم تثبيط جميع الكائنات الممرضة فى التربة، بحيث انخفض تأثيرها على البادرات وعلى الإنبات، وبالتالى على تكشف المرض، وقد سببت المعاملات بالكائنات المضادة زيادة فى إنتاج القطن.

كان أفضل الكائنات المضادة للممرضات المذكورة سابقا هى البكتيريا *B.subtilis* سلالة ٢٣ ثم P.fluorescens سلالة ٤١ .

جدول رقم (١٤٠) : تأثير استعمال البكتيريا المضادة على الكائنات الممرضة للقطن فى المعمل.

الكائنات الممرضة المستعملة فى الدراسة	٪ قطر منطقة التثبيط فى طبق بترى عند استعمال البكتيريا		
	P.fluorescens	*B.subtilis*	*B.megatherium*
Xanthomonas malvacearum	٢٦,٢٥	٣٥,٠٠	٢٣,٠٠
Rhizoctonia solani	٢٢,٠٠	٣١,٢٥	١٨,٧٥
Verticillium dahliae	٢٠,٢٥	٣٢,٥	٢٤,٢٥
Fusarium vasinfectum	٢٣,٢٥	١٩,٢٥	١٥,٢٥

جدول رقم (١٤١) : تأثير الكائنات المضادة على إنبات بذور القطن وعلى نمو البادرات فى التربة الملوثة بالكائنات الممرضة بعد ١٤ يوماً من الزراعة (على الصنف Kirgiziyaz) .

الكائنات المضادة	٪ إنبات البذور على تخفيف			ملم طول البادرات على تخفيف		
	١٠ ٪	٢٥ ٪	٥٠ ٪	١٠ ٪	٢٥ ٪	٥٠ ٪
Pseudomonas Fluorescens	٩١,٦	٨١,٦	٥٧,٣	٧,٧	٥,٦	٣,٩
Bacillus subtilis	٩٨,٣	٨٨,٣	٥٨,٣	٨,٢	٥,٩	٤,٢
Bacillus megatherium	٩١,٦	٨٠,–	٦٣,٣	٧,٤	٥,٢	٣,٧
كنترول	٧٦,–	٧٦,–	٧٦,–	٦,٥	٦,٥	٦,٥

جدول رقم (١٤٢) : تأثير استعمال الكائن المضاد على ظهور البادرات، ظهور المرض، وإنتاج القطن فى الصنف (Kirgiziya 3) ضد الفطر *R.solani* والبكتيريا *X.malvacearum*.

الكائن المضاد المستعمل فى التجربة	٪ إنبات بذور فى وجود			إنتاج غرام/ نبات فى حالة وجود			٪ إصابة بالمرض فى حالة وجود		
	بكتيريا + فطر	فطر	بكتيريا	بكتيريا + فطر	فطر	بكتيريا	بكتيريا + فطر	فطر	بكتيريا
كنترول	٨٠	٨٠	٨٠,–	٢٨,٨	٢٨,٨	٢٨,٨	٢٣	٢٣	٢٣
Pseudomonas fluorescens	٩٦,٧	٦٦,٧	٧٣,٣	٤٤,٨	٣٦,٦	٣٥,٢	٣,–	٨	١٤
Bacillus subtilis	٩٣,٣	٨٣,٣	٨٠,–	٤٣,٣	٣٥,٧	٣٥,٣	٣,–	٧	١٥
Bacillus megatherium	٩٠,–	٧٠,–	٧٦,٧	٤٢,١	٣٦,٥	٣٢,٠	٦,٠	٨	٢٠

obeikandl.com

٤ - مقاومة ذبول الفيرتسليم بالميكورهزا

مقـــدمة

كـما هو معـروف فـإن الميكورهزا، عـبـارة عن تركـيـب من جـذر النبـات مع الفطر ولانستطيع أن نسمى الجزء من الجذر النباتى المصاب بالفطر، جذراً، بل يسمى ميكورهزا Mycorrhiza، وهى كلمة مركبة من Mycos وتعني Fungus فطر، وكلمة Rhiza وتعنى Root جـذر. وتقـسم الميكورهزا الى ثلاثة أنواع، ويعـتـبـر نوع الميكورهزا Vesicular Arbuscular وتكتب باختصار (VAME) وتسمى احيانا Endotrophlic mycorrhiza وهو النوع الثالث، بعد النوع الاول Ectotrophic والنوع الثانى Ectoendotrophic.

فى النوع الثـالث من الميكورهزا لا يوجـد شـبكة هارتنج تحـيط بالجـذر، وإنما يوجـد شعيرات جذرية ويكون للفطر اتصال داخلى وخارجى، ويلاحظ داخل خلايا الجذر أشكال من المثانات Vesical وخلايا أخرى فيها تفرعات. وتتميز الفطريات هنا بأنها متخصصة، ولغاية سنة ١٩٥٠ كـان من الصـعب تنميـتـها على بيئـة صناعـية، ولكن بعد ذلك أمكن تنميـتـها ودراستها على بيئة صناعية.

بدأت دراسة تأثير VAME على امراض النبات فى أواخر الستينيات، وذلك من قبل Safir سنة ١٩٦٨، ومنذ ذلك الوقت توفر عـديد من الدراسات عن مـقدرة ال VAME فى تخـفيف شدة امـراض النبات الكامنة فى التـربة. لقد أظهر Hwang *et al* سنـة ١٩٩٢ فـى أبحاثه، أن VAME يستطيع أن يخفض حـدوث الذبول الفيوزاريومى وفيرتسليم فى البرسيم الحجازى، ويقلل من أعداد وسائل تكاثر الفطريات فى التربة.

وعلى أية حـال فإن بعض التـقـارير أظهـرت أن المرض النبـاتى لا يتـأثر بـالإصـابة بـ VAME، فى حين أن هناك أبحاثا أخـرى، قـد أثبتت أن وسـائل تكاثر الفطر *Verticillium dahliae* فى اعناق اوراق القطن وفى الجـهاز الوعائى تحدث تلون، وأن هذا التلون يزداد عن طريق الحـقن بفطر الميكورهزا المسـمى *Glomus* fasciculatum، وأن شـدة مـرض الذبول تزداد بسرعة بواسطة *VAEM*، فى حين أن هناك أبحـاثاً أخـرى أجـريت بواسطة *Liu* سنة ١٩٩٤ أثبتت أن فطر الميكورهزا يخفض الإصابة بذبول الفيرتسليم إلى حد كبير جداً.

مقاومة المرض:

أهم الفطريات الداخلة فى الميكورهزا ذاتية التغذية هى *G.mosseae* b*Glomus versi-forme* و *Sclerocystis sinuosa*. أثبتت معظم التجارب السابقة أن الفطر الأول فعال جدا فى مقاومة ذبول الفيرتسليم فى القطن، وللحصول على هذا الفطر بكميات كبيرة، فإنه يربى على قطع من جذور بعض أنواع البرسيم خاصة *Trifolium repens*.

أجريت تجربة على بذور القطن، منها أصناف قابلة للإصابة بالذبول وصنف قابل للتحمل للمرض. زرعت البذور النابتة فى أوعية بها تربة معقمة، مزج بهذه التربة فطر الميكورهزا بمعدل ٤٠٠٠ وحدة لكل وعاء ذى قطر ٢٠ سم وبمعدل ١٢٠٠٠ وحدة للأوعية الكبيرة. خلطت هذه التربة بمعدل ٣٪ حجماً من الفطر الممرض *Verticillium dahliae*، السلالة الشديدة المرضية والتى تسمى Jing-yang، او يستعمل ١٠٠ جسم حجرى من النوع الصغير (١٠٠– ٢٠٠ ملى ميكرون) لكل وعاء من الفطر الممرض أو يستعمل معلق جراثيم بمعدل $^{٧}١٠$ جرثومة كونيدية/ مل فى الأوعية الكبيرة. زرعت بادرات القطن التى تحمل ورقة واحدة فى هذه الاوعية. ثم بعد ذلك درس نبات القطن من جميع النواحى مثل، ارتفاع النبات، عدد الأوراق، مساحة الورقة.. الخ

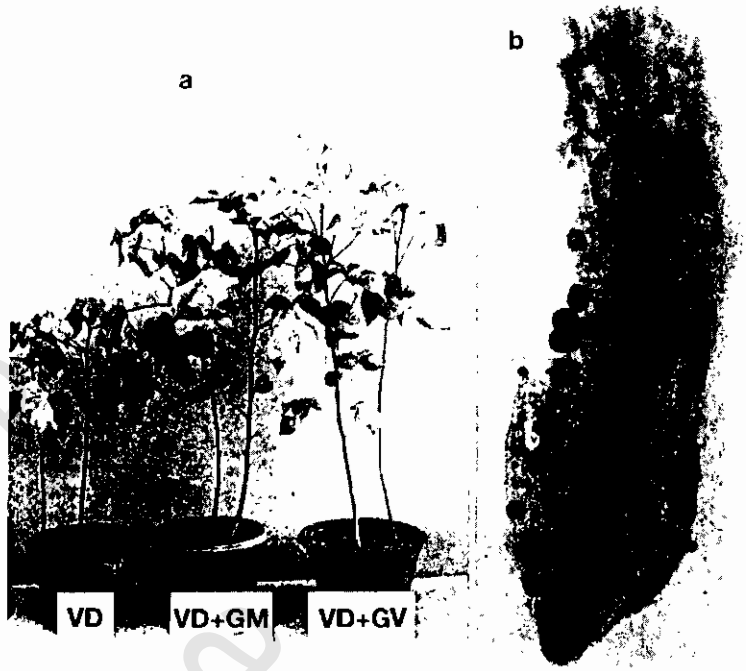
أظهرت النتائج كما فى جدول رقم (١٤٣) تأثير استعمال أنواع مختلفة من فطر الميكورهزا على نبات القطن. تبين أن بادرات القطن المحقونة بالأجسام الحجرية الصغيرة من الفطر *V.dahliae* لم تظهر أية أعراض على الأوراق، وكذلك فإن حدوث المرض وشدته على النباتات المعاملة بـ VAME كان منخفضاً بشكل معنوى عن الكنترول جدول رقم (١٤٤)، وأن VAME يخفض مرض ذبول الفيرتسليم فى جميع مراحل نمو القطن، وكذلك تبين أيضا أن الفطر *Glomus versiforme* هو أكثر كفاءة فى المقاومة الحيوية من اى فطر ميكورهزا آخر. لا توجد هناك علاقة بين عدد المثانات التى يكونها الفطر فى الجذور وشدة المرض، وكذلك فإن النسبة المئوية للـ Arbuscules فى الجذر ونسبة ال VAME/ arbus-cules ذات علاقة سلبية مع شدة المرض على صنف القطن شديد القابلية للإصابة، وهذا يبين أن كمية ال arbuscules تكون شديدة العلاقة مع تكشف المرض.

يمكن القول اعتماداً على النتائج السابقة أن بعض سلالات من VAME يمكن أن تستعمل بنجاح فى المقاومة الحيوية لأمراض النبات، ويرجع ذلك لأن فطر الميكورهزا يستعمر كلاً من خلايا القلنسوة، المرستيم، منطقة الاستطالة من قمة الجذر، وبالتالى لا تسمح للفطر الممرض بأن يستعمر هذه الأماكن ويسبب المرض. علاوة على ذلك فإن فطر الميكورهزا يخفض عدد الأجسام الحجرية المنبتة للفطر الممرض التى تتواجد فى المجال الجذرى القريب من الميكورهزا، فى حين أن الجراثيم الفطرية لفطر الميكورهزا لا تتأثر بوجود الفطر الممرض *V.dahliae*. تتناسب النسبة المئوية للـ arbuscule المستعمرة للجذر عكسيا مع شدة المرض، بينما عدد المثانات فى الجذر لا تسلك هذا السلوك.

يبين شكل رقم (٣٨) استجابة نباتات القطن لفطر الميكورهزا.

جدول رقم (١٤٣) : تأثير استعمال فطريات الميكورهزا المختلفة على نبات القطن وتأثير فطر ذبول الفيرتسليم.

المعاملة	سم طول النبات	ملغ الوزن الجاف/ نبات	٪ حدوث المرض
كنترول	١٠,٥	١٦٩	صفر
الفطر الممرض سلالة رقم ١	٩,٧	١٤٥	٤٣,٣
الفطر الممرض سلالة رقم ٢	٨,٣	١٥١	٣٥,٥
تربة طبيعية + *Glomus hio.*	١٢,٨	١٨٦	صفر
تربة طبيعية + *G.mosseae*	١٣,١	١٨٣	صفر
تربة طبيعية + *G.versiforme*	١٣,١	١٩٣	صفر
الفطر الممرض سلالة ١ + *G. hoi*	١١,١	١٧٢	٢٣,٣
الفطر الممرض سلالة ١ + *G. Mosseae*	١١,٧	١٧٨	٢٣,٣
الفطر الممرض سلالة ١ + *G. versiforme*	١٢,٣	١٨٩	٢٠,٠
الفطر الممرض سلالة ٢ + *G. hoi*	٨,٩	١٨٠	٢٣,٣
الفطر الممرض سلالة ٢ + *G. mosseae*	٩,٩	١٨١	٢٣,٣
الفطر الممرض سلالة ٢ + *G. vers* .	١٢,٥	١٩٠	١٦,٧



شكل رقم (٣٨) : تأثير فطر ذبول الفيرتسليم على صنف القطن (Litai 8) شديد القابلية للإصابة فى معاملات مختلفة مع فطر الميكورهزا.

VD : بذور نابتة محقونة بفطر الفيرتسليم شديد القدرة المرضية سلالة Jing-yang.

VD + GM: بذور نابتة محقونة بسلالة الفطر الممرض وفطر الميكورهزا *Glomus mosseae*.

VD + GV: بذور منبتة محقونة بفطر الذبول السلالة الشديدة المرضية وفطرالميكورهزا *G.versiforme*.

B: حالة قمة جذر البادرة المحقونة بفطر الميكورهزا *G.versiforme*.

جدول رقم (١٤٤) : تأثير فطر الميكورهزا *G.versiforme* على الصفات المختلفة لنبات القطن بوجود وعدم وجود الكائن الممرض فيرتسليم السلالة شديدة المرضية.

المعاملة	سم طول النبات	سم٢ مساحة الورقة	ملم قطر الساق	٪ مرض	الوزن اليانع/ نبات غرام	عدد البراعم الزهرية / نبات	عدد الجوزات لكل نبات	عدد البذور لكل نبات	ملم طول الشعرة
سلالة الفطر الممرض شديدة المرضية	٤٩,٢	١١,٨	٤,٢	٣٥,٥	٤٦٨	٤,٣	١,٦	٩,-	٢٤,٢
السلالة شديدة المرضية + فطر الميكورهزا	٦٤,٤	٣٠,٦	٥,٨	١٦,٧	٦٣٧	٧,—	٣,—	٢٠,-	٢٦,٥

٥ - عفـــن أسبرجلـــس

مقـــدمة

تعرف الافلاتوكسنز Aflatoxins بأنها مجموعة من المواد السامة أو المسرطنة (مسببة للسرطان)، وهى من النواتج التمثيلية الفطرية، تنتج بواسطة عزلات معينة من الفطريات *Aspergillus flavus*، *A.parasiticus, A.nomius*. هناك قوانين محكمة تنظم كمية الأفلاتوكسين المسموح بها فى الغذاء أو أعلاف الماشية فى معظم بقاع العالم. أهم هذه المواد وأكثرها سمية هو أفلاتوكسين B1، وهو ينتج بواسطة الثلاثة أنواع الفطرية المذكورة سابقاً. يسبب التلوث بالأفلاتوكسن قلقاً كبيراً فى الولايات المتحدة؛ خاصة فى الصناعة المعتمدة على بذور القطن، بسبب أن الافلاتوكسنين فى البذور الملوثة يمكن أن ينتقل بسهولة الى حليب الأبقار، بشكل محورى قليلاً (هذا ما وجده Park *et al* سنة ١٩٨٨ وكذلك Robens *et al* سنة ١٩٩٢).

تعتبر كسبة بذور القطن من الغذاء المفضل لابقار الحليب، وتفرض الحكومة الامريكية إلا تزيد نسبة الافلاتوكسين عن ٠,٥ ميكوغرام/ كيلوغرام حليب. أثبتت الابحاث العديدة أن

الملوث الأساسى والعامل الرئيسى لإنتاج الأفلاتوكسن فى بذور القطن هو الفطر *Aspergillus flavus* ينتشر هذا الفطر فى كثير من زراعات القطن، حيث يهاجم لوزات القطن من خلال الفتحات الأرجوانية اللون، التى تحدثها دودة لوزات القطن. ولقد حدث تقدم كبير فى دراسة هذه الظاهرة عن طريق تقليد الفتحات الأرجوانية التى تحدثها دودة اللوز.

يمكن تقسيم سلالات الفطر *A.flavus* على أساس الصفات الفسيولوجية، المورفولوجية والوراثية، إلى مجموعتين، السلالة *S* والسلالة *L*. الجدول رقم (١٤٥) يوضح صفات كل سلالة.

جدول رقم (١٤٤) : يبين صفات سلالات الفطر *A.flavus*.

السلالة S	السلالة L
١ – عزلات هذه السلالة تنتج كمية كبيرة من الأجسام الحجرية.	عزلات هذه السلالة تنتج كمية قليلة من الأجسام الحجرية.
٢ – الجسم الحجرى قياسه أصغر من ٤٠٠ ملى ميكرون.	الجسم الحجرى قياسه أكبر من ٤٠٠ ملى ميكرون.
٣ – تنتج عزلات هذه السلالة كمية قليلة جداً من الجراثيم الكونيدية.	تنتج عزلات هذه السلالة كمية كبيرة من الجراثيم الكونيدية.
٤ – تنتج كمية كبيرة من الأفلاتوكسن.	تنتج كمية قليلة جداً أو لا تنتج أى أفلاتوكسن.
٥ – العزلات متكيفة مع التربة، وأهمها LA2-5	العزلات غيرمتكيفة كثيرا مع التربة، وأهمها AF36.
٦ – لغاية سنة ١٩٩٧، هناك ١١ عزلة معروفة.	٦ – لغاية سنة ١٩٩٧ هناك ٥ عزلات معروفة.

لقد وجد أن كثيرا من السلالات المختلطة من الفطر *A.flavus* تهاجم تجاويف بذور القطن والبذور نفسها فى اللوزة. يمكن أن تنتج التركيزات العالية من الافلاتوكسينز من كل من الجراثيم الكونيدية والأجسام الحجرية للفطر المذكور سابقاً. يمكن أن تعزى بعض المواد ذات السمية الخاصة التى تكون مترافقة مع التلوث بالفطر *A.flavus*، إلى نشاطات الافلاتوكسينز المتكونة من نواتج الميتابولزم الموجودة فى الأجسام الحجرية. فى الأبحاث

السابقة على مدى سبعة سنوات (منذ ١٩٩٠) تم دراسة الأجسام الحجرية للسلالة S من الفطر الموجود فى تجويفات لوزات القطن غير كاملة التفتح Tight locks فى القطن التجارى فى أمريكا، إلا أن تكوين الأجسام الحجرية بواسطة الفطر خلال تطور المحصول نادراً ما تم وصفه. تنتشر السلالة S كثيراً فى معظم مناطق زراعة القطن.

بعض العزلات من السلالة L تخفض بكفاءة عالية مستويات الأفلاتوكسن B1 فى بذور القطن، عندما تحقن السلالتان معاً S + L. هذه السلالة المضادة للسلالة المسببة للتسمم تخفض نسبة التلوث عن طريق استبعاد السلالات المنتجة للافلاتوكسن، وذلك اعتماداً على القدرة العالية للمنافسة خلال إصابة المحصول. يبدو أن السلالات المزيلة للتسمم تتكشف كعوامل مقاومة حيوية، يكون عملها مباشرة فى منع التلوث بالأفلاتوكسن. وعلى أية حال.. فإن كفاءة عزلات السلالة L المزيلة للتسمم فى تحديد التلوث بالأفلاتوكسن فى بذور القطن المتسبب عن عزلات من السلالة S لم تدرس كثيراً، حيث إن الأبحاث لا تزال فى بدايتها.

يؤثر عمر اللوزة وقت الحقن على تكوين الأفلاتوكسن فى بذور القطن المتكشفة ويمكن أن يؤثر بالمثل فى مقدرة عزلات سلالة S من الفطر *A.flavus* فى استعمار تجاويف لوزة انقطن وإنتاج أجسام حجرية ضمن أنسجة النبات المستعمرة. مثل هذا التأثير يمكن، أيضاً أن يجعل الأجسام الحجرية للسلالة S قادرة على إحداث التلوث الوبائى بالأفلاتوكسن فى الحقل.

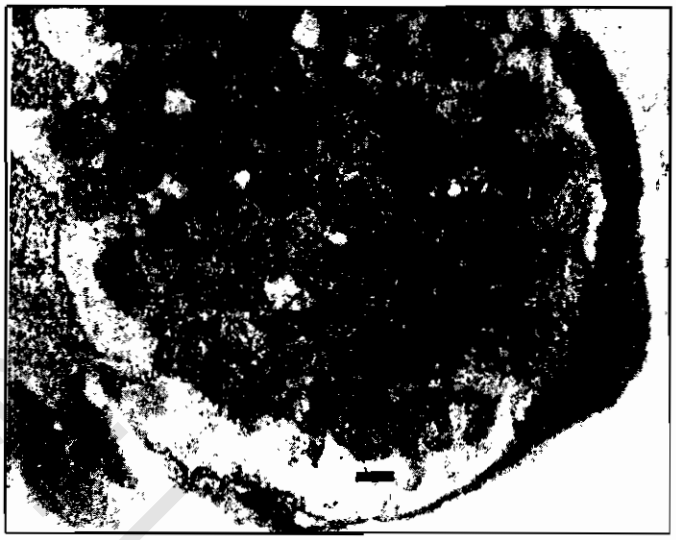
إلغاء تأثير السلالة *S* باستعمال السلالة *L*

كما سبق وذكرنا فإن السلالة *S* لها ١١ عزلة، أما السلالة *L* فلها ٥ عزلات. لإجراء التجارب فى الصوبا الزجاجية تزرع بذور القطن فى أوعية ذات قطر ٤٠ سم، هذه الأوعية محتوية مخلوط من الطين والرمل والحصباء بنسبة ١:١:١ توضع هذه الأوعية تحت حرارة ٢٨ – ٣٦° م. بعد الإنبات بحوالى ٢١ يوماً تسمد هذه الأوعية بمقدار نصف لتر محلول مغذى.

بعد تكوين لوزات القطن ووصول عمرها ٢٥ – ٣٠ يوماً، يجرى فيها (صناعيا) ثقوب أرجوانية اللون تشابه ثقوب دودة لوز القطن، ويكون عمق الثقب ١ – ٢ ملم. تحقن اللوزات عن طريق الثقوب المحدثة، بالجراثيم الكونيدية من عزلات السلالة S وعزلات السلالة L التى كانت قد نميت على البيئة المناسبة لها. يوضع فى كل ثقب ٢٠٠٠ جرثومة كونيدية، وعند إجراء الحقن المشترك من السلالتين يحقن من كل سلالة ٢٠٠٠ جرثومة كونيدية فى الثقب نفسه. بعد ذلك تقارن اللوزات ذات عمر ٢٧– ٣٢ يوماً من حيث تكوين أجسام حجرية. بعد ١٧ يوماً من الحقن يكشف عن أفلاتوكسن B1 فى اللوزات.

نتيجة الدراسة تبين أن جميع عزلات السلالة S تكون أجساماً حجرية على سطح مصاريع اللوزة عند حقنها وهى ذات عمر ٢٥–٣٠ يوماً، كما فى جدول رقم (١٤٦). كان معدل تواجد هذه الأجسام يزيد عن ١٠٠ جسم حجرى لكل مصراع. كانت هناك عزلة واحدة هى STV4 - 28 هى التى كونت اجساماً حجرية بكمية منخفضة (٢٦ جسم حجرى لكل مصراع). اما عزلات السلالة L واهمها AF36 لم تكون أية أجسام حجرية، ولكنها كونت جراثيم كونيدية بين غلاف البذرة والفلقة (شكل ٣٩). أما عزلات السلالة S فإنها كونت اجساماً حجرية كبيرة تحل محل الاندوسبيرم فى بذور القطن (شكل ٤٠). وكذلك فإن عدد الأجسام الحجرية المتكونة يقل كلما تقدم عمر اللوزة قبل الحقن بالفطر. يلاحظ أيضاً أن عزلة AF36 عند تواجدها مع عزلات S تقلل كثيراً من الاجسام الحجرية المتكونة من عزلات السلالة S، كما فى جدول رقم (١٤٦). كذلك فإن هذه العزلة تخفض من إنتاج الأفلاتوكسين بدرجة كبيرة بنسبة ٨٨– ٩٦ ٪ ، كما فى جدول رقم (١٤٧)، (شكل ٤١).

مما سبق يتبين أن العزلة AF36 من السلالة Lعامل مقاومة حيوية فعال جداً يجب أن يستعمل على نباتات القطن لحمايتها من التلوث بالأفلاتوكسين B1 المفرز من قبل السلالة S. وأن العزلة AF36 تحافظ على سلامة بذور القطن، وتقلل من نسبة السلالات الضارة. كذلك فإن مقدرة هذه العزلة على تثبيط تكوين الأجسام الحجرية فى بذور القطن المتكشفة يمكن أن تطيل فترة تخزين القطن دون أن يكون للسلالة S تأثير عليه.



شكل رقم (٣٩) : تكوين الاجسام الحجرية من الفطر *A.flavus* بين غلاف البذرة والفلقة فى القطن. هذا يكون فى المنطقة الظاهرة حيث كانت الأجسام الحجرية أكثر ملاحظة. المسطرة تمثل ١٠٠ ملى ميكرون

شكل(٤٠) : مقطع عرضى فى بذرة القطن من جوزة محقونة بالفطر *Aspergillus flavus* سلالة S عزلة LA2 - 5 . معظم الاندوسبيرم قد احتل بواسطة الأجسام الحجرية. المسطرة تساوى ١٠٠ ملى ميكرون.

شكل رقم (٤١) : فجوات بذرة القطن محقونة بالفطر *Aspergillus flavus* سلالة S، العزلة LA2-5 لوحدها على اليمين. ومترافقة مع العزلة AF36 على الشمال. تتكون الأجسام الحجرية على المناطق المحقونة بالسلالة S. تتكون كمية أقل كثيرا من الأجسام الحجرية فى المناطق المحقونة بكلتا السلالتين AF36 وعزلة من سلالة S. المسطرة ٣ ملم.

جدول رقم (١٤٦) : تأثير الحقن المشترك بالسلالة AF 36 مع عزلات السلالة S من الفطر الممرض *A.flavus* علي صفات نبات القطن.

العزلة	السلالة	ملغ الوزن الجاف للوزة	دليل الأجسام الحجرية على اللوزة	٪ بذور فيها جراثيم كونيدية	٪ البذور مع الأجسام الحجرية		الأجسام الحجرية/ بذرة	
					محقونة سلالة S	محقونة سلالة L	سلالة S	سلالة L
AF - 36	L	٦٤٠	صفر	٥٦	--	--	--	--
AL3 - 39	S	٦٠٣	٤,٦	صفر	٢٩	٣	٣٤,٨	١
AL3 - 39 + AF-36	L+S	٧٣٩,٢٥	١,٦	٥٦	--	--	---	--
MR3 - 15	S	٧١٩,٢٥	٥,٩	صفر	١٣	صفر	٦,٣	صفر
MR3 - 15 + AF-36	L+S	٧٩٠,٠	٠,٤	٦٦	--	--	--	--
AL2 - 5	S	٦٣٢,٥	٥,٥	صفر	٤٥	٢	٧٨,٦	٠,١
AL2-5 + AF-36	L+S	٥٨٩	١,٥	٦٤	--	--	--	--
YV5 - 12	S	٧٨٣,٢٥	٥,٨	صفر	٢٦	صفر	٣٣,٧	صفر
YV5 - 12 + AF-36	L+S	٦٩٩,٢٥	صفر	٧٥	--	---	--	---
كنترول	--	١١٧٩,١٣	صفر	--	--	--	--	--

ملاحظات على الجدول :

دليل الأجسام الحجرية على اللوزة يقسم الى سبعة درجات كالآتى: صفر = لا يوجد. ١ = من ١ – ٢٥ جسماً حجرياً. ٢ يساوى ٢٦ – ٥٠ جسماً حجرياً. ٣ يساوى ٥١ – ١٠٠ جسم حجرى. ٤ يساوى ١٠١ – ٢٥٠ جسماً حجرياً. أما ٥ تساوى ٢٥١– ٥٠٠ جسم حجرى. ٦ = ٥٠١ – ١٠٠٠ جسم حجرى. ٧ = أكثر من ١٠٠٠ جسم حجرى.

obeikandl.com

جدول رقم (١٤٧) : تأثير العزلة AF-36 على التلوث بالأفلاتوكسن، الناتج من الفطر *A.flavus*، على بذور القطن المتكشفة والملوثة بعزلات S و L .

العزلة المختبرة	السلالة	كمية أفلاتوكسن B1 ميكوغرام/ كيلو غرام بذور ملوثة بالفطر		
		العزلة المختبرة لوحدها	العزلة المختبرة + العزلة AF - 36	٪ خفض الإصابة بالمرض
D2 - 18	L	٥٢٨٣١	٦٢١٣	٨٨,٣٤
PM- 11	L	١٠١٦٣٢	٣٨٣٢	٩٦,٢٣
PM-12	S	١٧٧١٨٦	١٠٠	٩٩,٩٤
PM-65	S	٣٨٦٧٨٨	١٩	٩٩,٩٩
WHT - 3	L	١٤٨٨	٤٠٢٤	--
YV1	L	٥٣١	صفر	--
D2X	S	٩١٠٤٦	١٤	٩٩,٩٩
PM3	S	١٠٨٦٤٠	٤٥	٩٩,٩٦
AF- 36	L	صفز	—	--

ثانياً: عبـاد الشمـــس

المقاومة الحيوية لذبول سكلورتينا

أ - باستعمال الفطريات

مقـــــدمة

الفطر *Sclerotinia sclerotiorum*، مسبب مرض ذبول سكلوروتينا، ولفحة القمة فى نبات عباد الشمس *Helianthus annuus*، وهو كائن ممرض خطير على هذا النبات، ويسبب خسائر كبيرة فى الإنتاج وفى نوعية المحصول. يهاجم الفطر بذور نبات عباد الشمس، مسبباً عدم ظهور البادرات فوق سطح التربة، ويهاجم أيضاً الجذور للنباتات النامية ومكتملة النمو، مؤديا إلى عفن الجذر وتقرح قاعدة الساق، والذبول. يزداد تلوث التربة فى

obeikandi.com

المناطق الرطبة وبالتالى تزداد الاصابة. لا توجد طرق تربية قد تم الحصول بها على أصناف مقاومة للمرض. أما المقاومة الكيماوية فهى غير فعالة.

تنبت الأجسام الحجرية لهذا الفطر فى التربة، وتعطى ميسيليوم يسبب ذبول النبات، أو تنبت الأجسام الحجرية Carpogenically وتسبب عفن القمة والساق. نظراً لوجود الأجسام الحجرية للفطر فى التربة، فإنها تتعرض للمهاجمة من قبل الكائنات الحية الدقيقة الأخرى الموجودة فى التربة، مثل:

1 - *Coniothyrium minitans*

2 - *Talaromyces flavus = Penicillium vermiculatum*

3 - *Sporidesmium sclerotivorum*

4 - *Trichoderma viride*

5 - *Gliocladium catenulatum*

يتطفل كل من الفطر رقم ١ والفطر رقم ٢ على الهيفات والأجسام الحجرية للفطر الممرض المذكور سابقاً.

يتطفل الفطر الاول على الاجسام الحجرية للكائن الممرض فى الحقل، وهو فعال فى المقاومة الحيوية لذبول سكلوروتينا عباد الشمس فى الحقول، التى تتلوث طبيعيا أو صناعيا بالكائن الممرض. أما الفطر رقم ٢ فإن كفاءته فى المقاومة الحيوية لا تعادل كفاءة الفطر الأول فى مقاومة المرض نفسه.

مقاومة المرض:

يقاوم مرض ذبول السكلوروتينا فى عباد الشمس المتسبب عن الفطر *Sclerotinia* scle-*rotiorum* باستعمال الفطر المتطفل (على فطريات أخرى) *Coniothyrium minitans*. إن استعمال هذا الفطر لسنتين متتابعتين فى المقاومة الحيوية يحفظ المحصول من الإصابة بالمرض فى السنة الثالثة.

نتيجة التجارب التى أجريت على مقاومة مرض ذبول السكلوروتينا فى عباد الشمس، وجد أن استعمال الفطر *T.flavus* و *C.minitans* وقت زراعة البذور، يمكن أن يخفض

حدوث المرض فى عباد الشمس (جدول رقم ١٤٨) . أما فى الطور المتأخر لتكشف البذور، فإن حدوث المرض لا يتأثر بالمعاملة بالكائنات المضاد كمقاومة حيوية .

أما بالنسبة للفطر *T.flavus*، فإنه يخفض معنوياً حدوث مرض الذبول من ٤٧,٣ ٪ فى الكنترول الى ٣,٤ ٪ فى المعاملة . أما بالنسبة للفطر *C.minitans* فإنه يخفض حدوث المرض معنويا من ٥٤,٢ ٪ فى الكنترول الى ٢,٤ ٪ فى المعاملة . كما وجد أن هذا الفطر يخفض حدوث المرض معنوياً، بغض النظر عن تركيز الاستعمال (جدول رقم ١٤٩)،. سواء كان الفطر نامياً على نخالة، واستعمل بمعدل ٢٥–١٠٠ غرام/٦م طول خط، أو ناميا على مخلوط النخالة مع الحجر الجيرى واستعمل بنسبة ٢٥٠– ١٠٠٠ غرام/٦ م طول خط فكانت النتيجة خفض المرض بنسبة أقل من ٨ ٪ مقارنة مع ٤٧,٩ ٪ فى الكنترول .

اما عند استعمال خليط من الفطرين *C.minitans* و *T.flavus* بنسب مختلفة، كانت النتيجة خفض فى شدة المرض عنه فى الكنترول (جدول رقم ١٥٠) . كانت نسبة المرض فى الكنترول ١٦,٤ ٪ فى حين كانت مع استعمال الفطرين أقل من ١ ٪، وأن هذه النتيجة تشبه نتيجة استعمال الفطر *C.minitans* لوحده . أما عن الإنتاج، فإن المقاومة الحيوية أدت إلى زيادة إنتاج البذور، حيث ازداد الإنتاج من ٢٣٥٠ كغم/ هكتار فى الكنترول الى ٢٨٧٠ كغم/ هكتار فى المعاملة (جدول ١٤٩) .

جدول رقم (١٤٨) : تأثير استعمال الفطر *T.flavus* و *C.minitans* على حدوث مرض سكلوروتينا وعلى إنتاج بذور عباد الشمس.

المعاملة	٪ نباتات ذابلة فى ثلاثة تجارب			كغم بذور إنتاج للهكتار فى ثلاثة تجارب		
	١	٢	٣	١	٢	٣
كنترول	صفر	صفر	صفر	١٢٦٠	١٩٦٠	١٤٩٠
نخالة قمح	٠,١	٠,٤	٠,٦	١٣٩٠	٢٣٧٠	١٤٩٠
الكائن الممرض	٥٤,٢	٤٧,٥	٣٦,٧	٩٥٠	٨٧٠	٣٠٠
الكائن الممـــرض + نخالة	١٦,٧	١٧,٣	١٤,٨	٩٩٠	١١٩٠	٣٣٠
الكائن الممـــرض + *T.flavus*	صفر	٠,٧	٣,٨	١٤٣٠	١٩١٠	٣٤٠
الكائن الممـــرض + *C.minitans*	٣,٣	١,١	١,٢	١٣٣٠	١٧٣٠	٥٩٠
الكائن الممـــرض + الكائنين المضادين معاً	١,٤	صفر	٠,٣	١٣٦٠	٢١٠٠	٣٣٠

ملاحظات على الجدول:

كانت تؤخذ الأجسام الحجرية للكائن الممرض من قمم عباد الشمس النامية وتضاف بنسبة ٢٥٠ وحدة لكل خط طوله ٦ م. كان يضاف *T.flavus* بنسبة ٤٥ غرام لكل خط طوله ٦ م. أما الفطر *C.minitans* كان يضاف بنسبة ٥٠ غراماً لكل خط طوله ٦ م. أما الكائنان معاً فكان يضاف ٢٣ غراماً من الاول مع ١٠٠ غرام من الثانى.

جدول رقم (١٤٩) : تأثير استعمال معدلات مختلفة من *C.minitans* على حدوث مرض الذبول وإنتاج بذور عباد الشمس.

المعاملة	٪ نباتات ذابلة	كغم الإنتاج/ هكتار
دون أى إضافة	٠,٢	١٣٦٠
كائن ممرض لوحده	٤٧,٩	٨٠٠
كائن ممرض + *C.minitans*		
موجود فى ٢٥ غرام نخالة	٠,٥	١٢٠٠
موجود فى٥٠ غرام نخالة	٠,٢	١٢٦٠
موجود فى ١٠٠ غرام نخالة	٠,٣	١٢٤٠
كائن ممرض+ كائن مضاد معقم فى الأوتوكليف		
موجود فى ٢٥ غرام نخالة	٣٨,١	٨٩٠
موجود فى ٥٠ غرام نخالة	٣٢,٢	١٠٤٠
موجود فى ١٠٠ غرام نخالة	٣٥,٨	٩٨٠
كائن ممرض + كائن مضاد		
موجود فى٢٥٠ غرام نخالة	٨,٠٠	١٣٣٠
موجود فى٥٠٠ غرام نخالة	٧,١	١٠٤٠
موجود فى١٠٠٠ غرام نخالة	٢,٤	١٦٧٠

ملاحظة على الجدول:

كان الفطر *C.minitans* ينمو على نخالة ومخلوط من الحجر الجيرى مع النخالة.

obeikandl.com

جدول رقم (١٥٠) : تأثير استعمال *T.flavus* و *C.minitans* فى الخريف أو الربيع على حدوث مرض السكلوروتينا فى عباد الشمس.

المعاملة	٪ حدوث المرض	٪ نباتات مريضة حسب وقت اضافة الكائن المضاد					
		٢٠ يونيه	٤ يوليو	١٨ يوليو	٢ اغسطس	١٥ اغسطس	١٢ سبتمبر
نخالة قمح	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر
الكائن الممرض لوحده	١٦,٣	٥	٧	٨	١٢	٢٥	٣٢
الكائن الممرض + نخالة قمح	١٢,١	٣	٣	٣	٣,٥	٥	١٠
كائن ممرض + *T.flavus*	٤,١	صفر	صفر	صفر	١	٢	٣
كائن ممرض + كائنين مضادين C/T = 1:2	٠,٥	صفر	صفر	صفر	صفر	٢	٤
كائن ممرض + كائنين مضادين C/T = 1:1	٠,٧	--	--	--	--	--	--
كائن ممرض + كائنين مضادين C/T = 2:1	صفر	--	--	--	--	--	--
كائن ممرض + *C.minitans*	صفر	--	--	--	--	--	--
كنترول (دون أية اضافة)	٠,٢	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر

ملاحظات على الجدول:

C/T تعنى نسبة الفطر *C.minitans* الى الفطر *T.flavus*.

obeikandl.com

ب - باستعمال البكتيريا بسيدوموناس

مقـــدمة

أثبتت الدراسات التى أجريت على مرض ذبول السكلورتينا Sclerotinia wilt، أن حقن البذور بالبكتيريا له فوائد كثيرة على نمو النبات، عن طريق حفظ البذور والنباتات ضد الكائنات الممرضة فى التربة. ولقد تبين أيضاً فى التجارب الحقلية أن البكتيريا *Pseudomonas cepacia*، تزيد من نسبة ظهور بادرات عباد الشمس فوق سطح التربة، على الرغم من وجود الكائن الممرض *S.sclerotiorum*. كذلك فإن بعض سلالات من أنواع البكتيريا *Pseudomonas fluorescens* و *P.putida* لها دور فعال فى مقاومة كثير من الأمراض الكامنة فى التربة؛ خاصة التى تصيب بادرات عباد الشمس.

مقاومة المرض:

يقاوم مرض ذبول السكلورتينا فى عباد الشمس المتسبب عن الفطر *Sclerotinia sclerotiorum* حيويا باستعمال تركيز $١٠^{٦}$ وحدة تكوين مستعمرات لكل بذرة من البكتيريا *P.putida* و *P.fluorescens*. تعفر البذور بمخلوط البيت الحامل للبكتيريا، أو توضع حبيبات البيت مع الطين مع معلق البكتيريا فى التربة حيث تزرع البذور. وحتى تكون هناك نتائج جيدة، يجب أن تحمل كل بذرة حوالى $١٠^{٧} - ١٠^{٨}$ وحدة تكوين مستعمرات من البكتيريا.

إن السلالتين *Tl-5* و *G92* اللتين استعملتا فى التجارب الحقلية، ثبت بأنهما تحفظا نبات عباد الشمس من الإصابة بالمرض، حيث إن السلالة *T1-5* تعطى ٣٢,٧٪ نباتات سليمة زيادة عن الكنترول، السلالة *G-92* تعطى ٤٣,٦٪ زيادة عن الكنترول. ولقد اختبرت مقدرة هاتين السلالتين على استعمار جذور نبات عباد الشمس، فوجد أن السلالة *Tl5* بعد شهر واحد من الزراعة تزداد بمقدار $٢,٦ \times ١٠^{٣}$ وحدة تكوين مستعمرات/ ملغ جذور يانعة. أما السلالة *G-92* تزداد بمقدار $٣,٢ \times ١٠^{٣}$ وحدة تكوين مستعمرات/ ملغ وزن جذور يانعة.

هناك حوالى ١٤,٢٨٪ من سلالات البكتيريا *Pseudomonas* تثبط نحو ميسيليوم الفطر الممرض المذكور فى التجارب المعملية. كذلك فإن هذه السلالات تثبط تكوين الأجسام الحجرية فى البيئة الغذائية، ولقد ثبت أن معظم هذه السلالات تنتج مادة السيانيد فى البيئة

الغذائية، هذه المادة لها دور كبير فى المقاومة الحيوية. أثبتت التجارب أيضاً أنه لا توجد علاقة بين قدرة البكتيريا على تثبيط نمو الكائن الممرض فى المعمل، ومقدرتها على تثبيط حدوث المرض فى الحقل، وذلك لأن السلالتين Tl-5 و G-92 لا يكون لهما تأثير مثبط فى المعمل فى حين أن لهما تأثيراً فى حفظ النبات من الإصابة بالمرض فى الحقل. قد يعود دور هذه السلالات فى وقاية النبات من المرض إلى إحداث مقاومة مستحثة فى النبات، أو أنها تكون تحت ظروف الحقل أكثر قدرة على إفراز المضادات الحيوية او السيانيد او السايدروفورز.

٢- عفن ساق عباد الشمس المتسبب عن سكلوروتينا

مقـــدمة

إن كلا من الفطرين *Sclerotinia minor* و *S.sclerotiorum* من الكائنات الممرضة الكامنة فى التربة والتى تهاجم نبات عباد الشمس. كلا النوعين يهاجم المجموع الجذرى ويسبب عفن قاعدة الساق والذبول. فى جنوب أستراليا هناك أكثر من ٧٥٪ من محاصيل عباد الشمس تهاجم بالفطر *S.minor*، ويحدث فيها المرض بنسبة تصل ٥٠٪.

مقاومة هذا المرض محدودة فى استعمال دورة زراعية طويلة، والزراعة المبكرة للهجن المتحملة لهذا المرض. أما الأصناف التجارية المقاومة لهذا المرض، فهى غير متوفرة حتى ١٩٩٧. أما المقاومة باستعمال المبيد الفطرى Dicarboximide فهى عالية التكاليف وتستعمل فقط فى حالة وصول نسبة المرض الى ٢٠٪. زيادة على ذلك فإن هناك سلالات من *S.minor* أظهرت مقاومة للمبيدات الفطرية.

هناك تحضيرات فطرية تجارية مسجلة للمقاومة الحيوية للفطر *Sclerotinia sp*. ولقد وجد أن الفطر المضاد *Gliocladium virens* هو واحد من أكثر عوامل المقاومة الحيوية فعالية فى خفض حيوية الأجسام الحجرية فى المعمل. أثبتت الاختبارات الأولية على عزلة من الفطر *G.virens* المأخوذة من عباد الشمس فى الحقل، فعاليتها فى المقاومة الحيوية للفطر *S.minor*.

إن الكميات الكبيرة من عوامل المقاومة الحيوية المطلوبة لمقاومة فعالة، لهذا المرض تجعل طريقة معاملة التربة بها غير عملية؛ لذا يتجه لمعاملة البذور عن طريق تغليفها بعوامل المقاومة الحيوية كطريقة سهلة واقتصادية، ونجحت كثيراً فى مقاومة كثير من الكائنات الممرضة الكامنة فى التربة مثل *R.solani* و*Pythium* sp. هناك منتجان تجاريان هما :Glio Gard و Soil Gard معتمدة على عزلات الفطر *G.virens* عزلة *GL-21* مسجلة الان فى الولايات المتحدة لمقاومة هذه الأمراض.

مقاومة المرض:

يقاوم مرض عفن الساق السكلوروتينى فى عباد الشمس المتسبب عن الفطر *Sclerotinia minor*، وذلك باستعمال الفطر *Gliocladium virens*. عند دراسة التفاعل الحيوى بين الفطر الممرض والكائن المضاد معملياً، وجد غياب المحتوى السيتوبلازمى لعديد من قمم هيفات الفطر الممرض شكل رقم (٤٢)، وفى البعض الآخر تأخذ الهيفات الشكل البصلى، ولكن لم يلاحظ اختراق هيفات الفطر. ينمو الفطر *G.virens* فوق ميسيليوم الفطر الممرض على بيئة PDA ويستعمر بدايات تكوين الأجسام الحجرية، وبالتالى يمنع تكوين وتلون الأجسام الحجرية المتكونة. عند محاولة إعادة عزل الكائن الممرض من المناطق التى كان ينمو فيها سابقاً، لم يمكن عزل إلا الفطر المضاد حيث يكون قد استعمر جميع أجزاء الفطر الممرض.

عند معاملة التربة بمعلق الجراثيم الكونيدية للفطر المضاد، فإن ذلك يخفض من حدوث المرض (حتى بعد حقن الجذور بالكائن المسرض) من ٥٥,٦٪ فى الكنترول الى ٢٥٪ فى المعاملة. أما عند معاملة البذور بالفطر المضاد *G.virens* فإنه يخفض حدوث المرض بعد حقن الجذور الأصلية بالفطر الممرض *S.minor* من ٥٨,٨٪ فى الكنترول الى ١٧,٧٪ فى المعاملة. أما عند معاملة البذور بالكائن المضاد، ثم بعد ذلك حقن الجذور الطرفية بالكائن الممرض فإن ذلك يخفض الاصابة من ٦٠٪ فى الكنترول إلى ١٥,٨٪ فى المعاملة، تظهر الأعراض بعد سبعة أسابيع من الزراعة. أما بالنسبة لتأثير الفطر المضاد على نمو جذور نباتات عباد الشمس، فإن هذه المعاملة تؤدى الى خفض وزن الجذور الغض عنه فى الكنترول، أما الوزن الجاف فلا يتأثر بالمعاملة بالكائن المضاد جدول رقم (١٥٢).

شكل رقم (٤٢) : تصوير بالميكروسكوب الضوئى لميسيليوم الفطر الممرض *S.minor*، وتأثير الفطر المضاد *G.virens* عليها.

على الشمال تأخذ الهيفات الشكل البصلى.

على اليمين تظهر قمم الهيفات خالية من السيتوبلازم، وتبدو فارغة.

جدول رقم (١٥١) : تأثير تحضين الفطر المضاد *G.virens* مع الفطر الممرض *S.minor* فى التربة لمدة سبعة أسابيع على حيوية وإمكانية عزل الأجسام الحجرية للفطر الممرض.

مصدر الأجسام الحجرية	المعاملة	% استعادة الأجسام الحجرية	% حيوية الأجسام الحجرية	% أجسام حجرية مستعمرة الجذور
بيئة غذائية	--	٨١,٣	٦٤,٦	صفر
من الحقل	--	٥٤,٢	٤٨,٦	صفر
بيئة غذائية	*G.virens*	٦,٣	٥٠,٠٠	صفر
من الحقل	*G.virens*	٥٦,٣	١٠,-	١٣,٨

جدول رقم (١٥٢) : نسبة حدوث المرض فى الحقل بعد سبعة أسابيع من حقن التربة بالفطر الممرض *S.minor* فى الجذر الاصلى والجذور الجانبية للنباتات النامية من بذور معاملة بالفطر المضاد *G.virens* وتأثير هذه المعاملة على الوزن الجاف للجذور.

المعاملة	٪ حدوث المرض بعد حقن كل من			غم الوزن الجاف للجذور الجانبية فى النبات ذاته الذى يحمل			
	الجذر الرئيسى	الجذور الجانبية	متوسط الإصابة	٤ أوراق	٨ أوراق	مرحلة تكشف البراعم	مرحلة أزهار مبكر
كنترول	٤٦	٢٨	٣٧	٠,٠٧	٠,٨٤	٠,٩٩	٠,٩٨
G.virens	٣٠	١٤,٤	٢٢,٢	٠,٠٧	٠,٥٢	١,١٩	٠,٨٧

ثالثا : العصفر Safflower

١- سقوط البادرات

مقـــدمة

يتعرض نبات العصفر Safflower ذو الاسم العلمى *Carthamus tinctorius* إلى الإصابة بالفطر الممرض *Pythium* وهذا يؤدى إلى أمراض عفن البذرة، السقوط المفاجىء وعفن الجذور. يمكن أن تكون هذه الأمراض شديدة تحت ظروف الرى الغزير. تبدأ الإصابة بالفطر بثيم مجموعة *G*، وهى شكل عقيم من الفطر *Pythium ultimum*. هناك أنواع أخرى من هذا الجنس تسبب أمراضاً للعصفر فى كثير من مناطق العالم، أهم هذه الأنواع:

1 - *P.oligandrum*
2 - *P.debaryanum*
3 - *P.ultimum*
4 - *P.splendens*
5 - *P.myriotylum*
6 - *P.acanthicum*

مقاومة المرض :

يقاوم مرض سقوط البادرات فى العصفر المتسبب عن الفطر *Pythium ultimum var. ultimum* مجموعة *G* الشكل العقيم من الفطر *P.ultimum*، وذلك بمعاملة بذور العصفر بالبكتيريا *Pseudomonas fluorescens* سلالة *2 -1* او ٦-٩-٢ أو ٣- ٧ او باستعمال البكتيريا *Erwinia rhapontici* سلالة *16-7* بتركيز 10^{6} وحدة تكوين مستعمرات/ بذرة.

كما هو واضح فى جدول رقم (١٥٣) فإن البكتيريا *P.fluorescens* سلالة *2-1* تخفض النسبة المئوية لسقوط البادرات قبل ظهورها فوق سطح التربة من ٨٥,٧٪ فى الكنترول إلى ١٣,٤٪ فى المعاملة، أما سقوط البادرات بعد ظهورها فوق سطح التربة فلم يختلف كثيراً عنه فى الكنترول. أما البكتيريا *Erwinia rhapontici* سلالة 16-7، فهى تخفض الإصابة قبل ظهور البادرات فوق سطح التربة من ٨٦,٦٪ فى الكنترول إلى ١١,٩٪، وكذلك تخفض نسبة الإصابة فى البادرات بعد ظهورها فوق سطح التربة من ١٪ فى الكنترول إلى ٥,٠٪ فى المعاملة.

أما بالنسبة لتأثير درجات الحرارة على سقوط البادرات الناتج عن الفطر بثيم فى نبات العصفر عند معاملتها بالبكتيريا، وجد أن أفضل درجة حرارة لتطبق عليها المقاومة الحيوية هى ١٠° م حيث تكون نسبة البادرات السليمة بعد ٢٠ يوماً من الزراعة ٧٥,٩٪، اما عند درجة حرارة ١٥° م فتكون نسبة البادرات السليمة ٤٩,١٪، فى حين أنه على حرارة ٢٥° م تكون نسبة البادرات السليمة ٤١,٩٪. جدول رقم (١٥٤).

أما بالنسبة لتأثير المقاومة الحيوية على طول النبات (جدول رقم ١٥٥)، فوجد أن البكتيريا *E.rhapontici* تسبب زيادة فى طول النبات من ٢,٣٣ سم فى الكنترول إلى ٣,١٣ سم فى المعاملة بعد سبعة أيام من الزراعة. أما البكتيريا *P.fluorescens* سلالة *2-7* فإنها تسبب زيادة طول النباتات من ٢,٤٥ سم فى الكنترول إلى ٣,٣٥ سم فى المعاملة.

جدول رقم (١٥٣) : تأثير استعمال البكتيريا المضادة على ظهور البادرات فوق سطح التربة فى العصفر، فى التربة الملوثة طبيعيا بالفطر الممرض *Pythium ultimum var . ultimum* بعد ٢٨ يوماً من الزراعة.

البكتيريا المضادة ورقم السلالة	٪ ظهور البادرات	٪ سقوط البادرات	
		قبل ظهورها فوق سطح التربة	بعد ظهورها فوق سطح التربة
المجموعة الأولى			
كنترول	٣١,٩	٦٤,٧	١
Pseudomonas fluorescens (1-2)	٨٥,٧	١٣,٤	٥,٩
P.fluorescens (3-3)	٨٥,٦	١٥,٣	١,٥
P.fluorescens (6-9-2)	٨٩,٣	٤,٨	٤,٨
P.fluorescens (7-3)	٨٥,٧	١٤,٤	٣,–
Erwinia caratovora	٧٦,٦	١٩,٨	٤,٢
Bacillus polymyxa	٦٣,٣	٣٦,٤	١,–
المجموعة الثانية			
كنترول	٢٦,٧	٧١,٧	١,–
Erwinia rhapontici (16-7)	٨٦,٦	١١,٩	٠,٥
E.rhapontici (16-5)	٧٦,٤	٢٢,٨	٢,١
E.rhapontici (17-8)	٧٢,٨	١٨,٧	٨,٣

جدول رقم (١٥٤) : تأثير معاملة بذور العصفر بالبكتيريا المضادة قبل زراعتها، على طول النبات.

البكتيريا المعاملة بها البذور	سم طول النبات بعد ٧ أيام	سم طول النبات بعد ١٤ يوماً
كنترول	٢,٣٣	٤,٤٣
Erwinia rhapontici 18-7	٣,١٣	٥,٤٥
E.rhapontici 17 - 8	٢,٧٥	٥,٠٨
E.rhapontici 16-7	٢,٧٠	٥,٠٥
Pseudomonas fluorescens 7 - 3	٣,٣٥	٥,٦٥
P.fluorescens 6-9-2	٢,٩	٥,٠٥

جدول رقم (١٥٥) : تأثير درجة الحرارة على نسبة ظهور البادرات فوق سطح التربة بعد معاملة البذور بالبكتيريا المضادة وزراعتها فى تربة ملوثة بالكائن الممرض، وتعرضها لدرجة الحرارة.

درجة الحرارة مئوية	٪ ظهور البادرات بعد ٢٠ يوماً
١٠	٧٥,٩
١٥	٤٩,١
٢٠	٤١
٢٥	٤١,٩

٢ - صدأ العصفر Safflower Rust

مقـــدمة

يصاب نبات العصفر بمرض الصدأ، الذى يتسبب عن الفطر *Puccinia carthami*، وهذا المرض شائع وخطير فى معظم زراعة العصفر؛ خاصة فى إيطاليا. أثبتت الدراسات الإيطالية أن جميع الأصناف المزروعة فى إيطاليا قابلة للإصابة بالمرض، ويمكن أن تصل نسبة الإصابة فى أعلى درجة لها ٥٠ ٪ من المساحة الورقية فى النبات.

الفطر *Puccinia carthami* من فطريات الصدأ متباين الميسيليوم أحادى العائل، ذو دورة حياة طويلة، وله شكلان من اطوار الإصابة المرضية: طور البادرات وطور المجموع الخضرى.

طور البادرات:

يظهر طور إصابة البادرات عند الإصابة بالجراثيم البازيدية، الناشئة من الجراثيم التيليتية الموجودة فى التربة (او الكامنة فى التربة) .تظهر البثرات الصفراء البرتقالية المتكونة فى بثرة أسيدية، ثم بعد ذلك فى وعاء بكنى، فى البداية على الفلقات والسويقة الجنينية السفلى. يظهر على البادرات المصابة ظاهرة التدلى، ثم ذبول وانتفاخ فى السويقة الجنينية السفلى. تظهر البثرات اليوريدية، التى تحوى الجراثيم اليوريدية على كل من السطح السفلى والعلوى للأوراق.

طور المجموع الخضري:

يتميز طور إصابة المجموع الخضرى، والذى يحدث فى مرحلة متأخرة من نمو النبات، بظهور البثرات اليوريدية على الأوراق، الأزهار والثمار، ويمكن أن يسبب خسائر كبيرة فى الإنتاج. عندما يصل النبات طور النضج، تتحول البثرات اليوريدية إلى بثرات تيليتية سوداء تحتوى الجراثيم التيليتية، والتى تقضى الشتاء على البذور أو على أجزاء النبات المصابة من المحصول السابق، أو على الأنواع البرية من نبات العصفر.

كما فى كثير من الأمراض التى تهاجم مدى واسعاً من العوائل، فإن أكثر الطرق فعالية واقتصادية فى مقاومة الصدأ فى العصفر هى زراعة أصناف مقاومة. إن معاملة البذور بالمبيدات الفطرية يمكن أن تمنع المرض فى حالة الإصابة الناتجة عن الجراثيم الكامنة فى البذور حين زراعتها فى تربة خالية من المرض. مع ذلك فإن معاملة البذور هى طريقة غير ناجحة فى منع الإصابة الناتجة عن الجراثيم الكامنة فى التربة.

مقاومة المرض:

يقاوم مرض صدأ العصفر الناتج عن الفطر *Puccinia carthami* حيويا، وذلك باستعمال مجموعتين من الكائنات الحية الدقيق: المجموعة الأولى هى الفطريات *Tricho-*

derma viride و *T.harzianum* حيث إن استعمال كل منها لوحده أو مجتمعين معاً، عند استعمالها كلقاح مجفف هوائيا مضافا الى التربة، يخفضان إصابة البادرات كثيراً. أما المجموعة الثانية فهى مجموعة البكتيريا *Bacillus cereus* و *B.subtilis* و *B.thuringiensis* و *Pesudomonas fluorescens*، وهذه تستعمل إما معاملة تربة أو معاملة بذور.

يمكن الحصول على أحسن مقاومة لصدأ العصفر من اتحاد *B.cereus + T.viride*، أو *P.fluorescens +T.viride*، أو *B.cereus + T.harzianum + T.viride*، او *T.harzianum + T.viride + P.fluorescens*.

يتبين من جدول رقم (١٥٧) أن الفطر *T.viride* عند إضافته للتربة بمعدل ٣٠ غرام لقاح جاف هوائيا لكل كيلو غرام تربة يخفض الإصابة بفطر الصدأ من ٦٣ ٪ فى الكنترول إلى ٣,٨ ٪ فى المعاملة. أما الفطر *T.harzianum* عند إضافته بمعدل ٣٠ غرام لكل كيلو غرام تربة، يخفض الإصابة من ٦٣ ٪ فى الكنترول الى ١٧,٣٧ فى المعاملة. أما عند استعمال هذه الفطريات معاملة بذور بمعدل ٤ x ١٠^{٩} وحدة تكوين مستعمرات/ بذرة لا تخفض الإصابة معنوياً، كما هو واضح فى جدول رقم (١٥٦).

أما بالنسبة للمعاملة بالبكتيريا، فعند استعمال البكتيريا بمعدل ٤ x ١٠^{٩} وحدة تكوين مستعمرات/ مل كمعاملة تربة، أو معاملة بذور، فإنها تعطى نتيجة معنوية فى مقاومة المرض (جدول رقم ١٥٨). وان أفضل اتحادات لمقاومة المرض هى *B.cereus* و*B.subtilis*، كل منهما مع *P.fluorescens*.

أما بالنسبة لطول البادرات، فقد وجد أن طول البادرة يتحسن باستعمال تركيبات من *B. cereus +P.fluorescens* وكذلك *B.cereus + B.subitilis* كمعاملة بذور. أما فى معاملة تربة فإن الاتحاد الناتج من *B.cereus + P.fluoresceus* هو فقط الذى يحسن طول البادرات (جدول ١٥٩).

جدول رقم (١٥٦) : تأثير العزلات الفطرية المضادة المضافة كلقاح تربة أو معاملة بذور على الإصابة بمرض صدأ العصفر المعاملة به البذور.

المعاملة	٪ نباتات مصابة	٪ نباتات مصابة
	لقاح مجلف هوائياً مضافاً للتربة ١٠ غم/ كيلو تربة	معاملة بذور بنسبة ١٠x٤^{٩} Cuf/ بذرة
Trichoderma viride	٢٧,٠٥	٦٦,٣٢
T.harzianum (128)	٣٦,٤	٥٦,٨٧
T.harzianum (129)	٥٢,٢٠	٥٩,٠٥
Gliocladium roseum	٦١,٤٢	٧٥,٥
كنترول (تربة ملوثة بالممرض)	٦٢,٤٧	—
مبيد فطرى ثيرام + كربوكسين	--	٠,٦٧

جدول رقم (١٥٧) : تأثير معاملة التربة بالفطريات المضادة *T.viride* و*T.harzianum* سلالة ١٢٨ مضافة لوحدها او متحدة مع بعضها, على الإصابة بفطر الصدأ، المعاملة به البذور (صدأ العصفر) .

المعاملة	غرام / كيلو غرام تربة	٪ نباتات مصابة
Trichoderma viride	١٠	٣١,٣١
T.viride	١٥	٢٦,٦٤
T.viride	٢٠	٢١,٢٨
T.viride	٣٠	٣,٨
T.harzianum	١٠	٣٧,٧٥
T.harzianum	١٥	٣٥,١١
T.harzianum	٢٠	٢٦,٦٥
T.harzianum	٣٠	١٧,٣٧
T.viride + *T.harzianum*	١٠+١٠	٥٢,١١
T.viride + *T.harzianum*	١٥+١٥	٣٣,٥٣
T.viride + *T.harzianum*	٢٠+١٠	١٥,٥٦
مبيد فطرى ثيرام ـ كاربوكسين	الجرعة العادية	٠,٢٥
كنترول	—	٦٣,٥٧

جدول رقم (١٥٨) : تأثير استعمال عزلات البكتيريا المضادة كمعاملة ترية أو معاملة بذور على فطر الصدأ فى العصفر، حيث تعامل البذور بفطر الصدأ قبل زراعتها.

العزلات البكتيرية المستعملة	تركيز الاستعمال	٪ نباتات مصابة	
	CUF / مل	معاملة ترية	معاملة بذور
Bacillus subtilis	٤ x ١٠^٧	٥٢,٥٧	٤٤,٠٧
Bacillus subtilis	٤ x ١٠^٩	٣٠,٠٩	٥٠,٦٠
B.cereus	٤ x ١٠^٧	٤٧,٥٦	٢٨,٢٩
B.cereus	٤ x ١٠^٩	٢٩,٩٣	٢٥,٩٩
Pseudomonas fluorescens (14)	٤ x ١٠^٧	٥١,٢١	٣٦,٠٧
P.fluorescens (14)	٤ x ١٠^٩	٣٥,١٧	٥٤,٥٠
B.thuringiensis	٤ x ١٠^٧	٣٦,٨٨	٢٨,٠٨
B.cerens + P.fluorescens (14)	٤ x ١٠^٧	٤٥,٦٦	٤٦,٧٩
B.cereus + B.subtilis	٤ x ١٠^٧	٥٠,٣٠	٥٢,٠٠
المبيد الفطرى ثيرام + كاربوكسين	--	--	صفر
كنترول	--	٦٣,٧٤	٦٣,٧٤

obeikandl.com

جدول رقم (١٥٩) : تأثير بعض العزلات الفطرية مضافة كلقاح ترية ومعاملة بذور على طول بادرات العصفر، حيث إن البذور كانت تلوث بالكائن الممرض (فطر الصدأ).

عزلات الفطر المضاد المستعمل فى التجربة	سم طول البادرات	
	لقاح مجفف هوائياً مضافاً للترية ١٠ غم / كيلو	معاملة بذور x٤ ١٠^{٩} CFU / بذرة
Trichoderma viride	١١,٨٧	٧,٧٦
T.harzianum (128)	١٢,٦٢	٨,٥٤
T.harzianum (129)	١٠,٢٣	٨,٠٤
Gliocladium roseum (110)	٨,٨٠	٧,٣٥
G. roseum (111)	١٠,٣٨	٧,٠٨
Bacillus subtilis	١٠,٣٣	١٣,٤٧
B.cereus	٩,٤٢	١١,٥٣
P.fluorescens (14)	٩,١٦	١٣,٥٩
P. fluorescens (16)	٨,٨١	١٢,٢١
B.cereus + P.fluorescens	٩,٣٦	١٣,١٢
B.subtilis + B.cereus	٨,٦١	١٢,٠١
كنترول	٨,٠٦	--
ثيرام + كاربوكسين	--	٨,٣٤

رابعاً: بنجر السكر

سقوط البادرات

مقدمة

يصاب بنجر السكر Sugar beat (الاسم العلمى *Beta vulgaris*) بمرض سقوط البادرات الذى يتسبب عن الفطر *Pythium*، وقد سبق وذكرنا كثيراً عن أنواع هذا الفطر وطرق إصابتها لكثير من العوائل، وذكرنا أسباباً كثيرة للاتجاه للمقاومة الحيوية، بدلاً من الطرق التقليدية فى المقاومة.

تنبت الجراثيم الأسبورانجية للفطر *Pythium* بسرعة كاستجابة لإفرازات البذور أو الجذور وتهاجم أنسجة العائل بسرعة، وبالتالى فإن بعض الأنواع النباتية مثل الخيار وبنجر السكر تكون قابلة للإصابة لسقوط البادرات خلال الأيام الأولى من الإنبات فقط. لقد استعملت التركيبات ذات الأشكال الكروية التى تحوى عامل المقاومة الحيوية الفطرية لتقاوم الكائنات الممرضة، هذه الكرات استعملت مع *Pythium oligandrum* لخفض إصابة بادرات بنجر السكر بالسقوط المفاجىء.

مقاومة المرض:

يقاوم مرض سقوط بادرات بنجر السكر المتسبب عن الفطر *Pythium ultimum* باستعمال البكتيريا المضادة *Pseudomonas putida* سلالة *40 RNF*؛ حيث تضاف على كرات البذور وتخفض حدوث المرض. إن استعمال تركيز ٦ x ١٠^٧ وحدة تكوين مستعمرات/ كرة بذور من السلالة *40- RNF* يخفض الإصابة بالفطر من ٧٠ إلى ٢٦ ٪ عندما تزرع البذور فى تربة محقونة صناعياً (٢٥٠ وحدة تكاثر من الفطر *P.ultimum*/غرام تربة جافة). تعتمد كفاءة السلالة 40- RNF على الكثافة التى تستعمل بها فى كرات البذور (بمعدل ٢ x ١٠^٤ إلى ٦ x ١٠^٨ وحدة تكوين مستعمرات لكل كرة بذور)، وعلى عدد وحدات التكاثر للفطر الممرض فى التربة، السلالة المضادة 40- RNF ينخفض عددها أو تتوقف عن التنافس، عندما تصل إلى التركيز ١٠^٦ وحدة تكاثر/ كرة بذور بعد ثلاثة أيام من الزراعة، وهذا يعتمد على كثافة اللقاح. هذا يدل على أن الوقت الحرج الذى تتم خلاله مقاومة مرض بادرات بنجر السكر المتسبب عن *P.ultimum* هى الفترة من ٣ – ٤ أيام بعد الزراعة. إن السلالة 40-RNF تخفض العملية الاستعمارية لغلاف البذرة من قبل الفطر الممرض بنسبة ٤٣ ٪ خلال ٤٨ ساعة بعد الزراعة، وتسبب خفضاً يقدر بحوالى ٦٨ ٪ فى عدد الأسبورانجيات للفطر الممرض فى التربة المحيطة بالبادرة (على بعد من صفر إلى نصف ملم)، كذلك فإنها تخفض سقوط البادرات قبل وبعد ظهورها فوق سطح التربة من ٦٩,٥ ٪ فى الكنترول الى ٣٧,٥ ٪ فى المعاملة. هذه النتيجة تقارب نتيجة استعمال المبيد الفطرى hymexazol؛ حيث يخفض الإصابة من ٦٩,٥ ٪ إلى ٤٠ ٪ فى المعاملة جدولى رقم (١٦٠، ١٦١).

جدول رقم (١٦٠) : تأثير البكتيريا المضادة *P.putida* 40 RNF على استعمار قشرة بذور بنجر السكر بالفطر مسبب سقوط البادرات.

تركيز البكتيريا	٪ استعمار قشرة البذرة بالفطر الممرض بعد فترة			
	١٢ ساعة	٢٤ ساعة	٤٨ ساعة	٩٦ ساعة
٣x١٠^{٧} Cfu / بذره	٢	١٦	٢٢	٥٨
كنترول	٢٢	٥٨	٦٥	٧٨

ملاحظات على الجدول:

كانت تزرع البذور فى تربة محقونة بالفطر الممرض تركيز ٢٥٠ وحدة تكاثر/ غرام تربة.

جدول رقم (١٦١) : تأثير زيادة عدد الاجزاء التكاثرية للفطر الممرض على مقاومة مرض سقوط البادرات باستعمال البكتيريا المضادة *Pseudomonas putida* سلالة 40RNT. البذور معاملة بنسبة ٥ x ١٠^{٧} وحدة تكوين مستعمرات لكل كرة بذور ومزرعة فى الأرض الملوثة بالفطر الممرض بالتركيزات المذكورة فى الجدول. النتيجة بعد ١٤ يوماً من الزراعة.

تركيز الفطر كرة فطرية لكل غرام تربة	٪ سقوط بادرات	تركيز البكتيريا	٪ سقوط بادرات عند معاملة التربة ٢٥٠ كرة فطرية/ غرام تربة
٢٠٠	٣٧	٢ x ١٠^{٤}	٥٨
٢٥٠	٤٠	٢ x ١٠^{٦}	٤٠
٥٠٠	٥٣	٢ x ١٠^{٧}	٢٢
١٠٠٠	٧٣	٢ x ١٠^{٨}	١٤,٠
٢٠٠٠	٩٠	٢ x ١٠^{٨}	١٥,٣
كنترول	٩٢	كنترول	٧٨

ملاحظات على الجدول:

الجزء الأول من الجدول، والذى هو تركيز الفطر مع النسبة المئوية لسقوط البادرات، تجربة لوحدها غير مرتبطة مع الجزء الثانى من الجدول، وهو تركيز البكتيريا مع النسبة المئوية لسقوط البادرات.

خامساً: الفجـــل

ذبول الفيوزاريوم في الفجل

مقـــــدمة

يزرع الفجل *Raphanus sativus* فى بعض البلدان الأوروبية فى الصوبات الزجاجية بصورة اقتصادية على مدار السنة، بحيث يجمع حوالى تسع مرات فى السنة، وقد تصل إلى ١٥ مرة. خلال فصل الصيف تكون فترة نمو الفجل ثلاثة أسابيع تزداد تدريجيا حتى تصل ٦ أسابيع فى الشتاء. وهذا يعتمد على الأصناف التى تستعمل فى الزراعة، حيث إن هناك أصنافاً مختلفة، كل صنف متلائم مع الظروف البيئية للموسم الذى يزرع فيه.

يصاب الفجل بمرض ذبول الفيوزاريوم، وهذا المرض وعائى يتسبب عن الفطر *Fusarium oxysporum f..sp.raphani* كان يسمى سابقاً *Fusarium oxysporum f.sp conglutinans* سلالة رقم 2. تظهر الأعراض على شكل تلون فى نسيج الخشب باللون البنى و / أو الأسود فى الجذور المصابة، تصفر الأوراق، والتى تتحول إلى اللون البنى اللامع. يظهر المرض فى الدول الأوروبية، خاصة هولندا فى الفترة من مايو إلى نوفمبر عند ارتفاع حرارة التربة من ٢٢ – ٢٤° م. يناسب المرض انخفاض المستوى المائى فى التربة، حيث يتكشف المرض بشكل كبير عند الجفاف النسبى وارتفاع درجة الحرارة عن ٢٠° م . يتكرر المرض سنوياً فى المكان نفسه فى الصوبات الزجاجية. المناطق التى يظهر فيها المرض فى الصوبات الزجاجية تمتد إما ببطء أو بسرعة كبيرة. الانتشار البطىء فى المناطق الملوثة فى بعض الصوبات الزجاجية يمكن أن يفسر عن طريق القدرة الكابحة للتربة الناتجة عن تواجد كائنات حية لها القدرة على التأثير على الكائن الممرض؛ خاصة العزلات غير الممرضة من الفطر *Fusarium oxysporum* او تواجد البكتيريا الوميضة فى التربة. أما الانتشار السريع

للمرض فى التربة، فإنه يكون بسبب عدم تعقيم التربة بالبخار؛ مما يجعل هذه الطريقة فعالة فى مقاومة المرض. كذلك فإن تبخير التربة بمادة Metham sodium قد استعمل بنجاح فى مقاومة هذا المرض، وتؤدى إلى زيادة فى شدة نمو النبات. هذه الطريقة ناجحة فى مقاومة المرض، ولكن تكاليفها عالية إلى حد ما، حيث يلزم ١٥ لتر ماء/ ١٠٠ م٢ من المساحة. لقد ظهرت بعض الأصناف فى هولندا مقاومة لمرض ذبول الفيوزاريوم.

إن المقاومة الحيوية لأمراض النبات الكامنة فى التربة باستعمال البكتيريا هى الطريقة البديلة أو المكملة لطرق المقاومة الطبيعية أو الكيماوية، المتبعة فى المقاومة منذ سبعين سنة. كما سبق وذكرنا كثيراً فإن البكتيريا المستعمرة للجذر وذات التأثير النافع على نمو النبات يشار إليها باسم PGPR. إن هذه البكتيريا يمكنها أن تحسن نمو النبات، إما عن طريق الحث المباشر للنبات، أو تثبيط الكائنات الممرضة. إن الطريقة الفعالة فى تثبيط الكائنات الممرضة تكون عن طريق المنافسة على المواد الغذائية (كربون، نيتروجين، حديد ثلاثى) أو بعض الإفرازات مثل المضادات الحيوية، أو المقاومة المستحثة.

كان أول ذكر لاستعمال البكتيريا PGRP على الفجل سنة ١٩٧٨ بواسطة Kloepper & Schroth وبواسطة Geels e*t al* سنة ١٩٨٥. إن بكترة بذور الفجل بالبكتيريا *Pseudomonas fluorescens* سلالة WCS 374 أدت إلى تشجيع نمو النبات بشكل معنوى. تعتمد المقاومة الحيوية لذبول الفيوزاريوم فى الفجل باستعمال البكتيريا الوميضة على المنافسة على الحديد الثلاثى، وذلك بواسطة السايدروفورز البكتيرية. إلا أن الدراسات الحديثة قد أثبتت أن السلالة WCS 374 تشجع تكوين مقاومة مستحثة جهازية فى الفجل ضد ذبول الفيوزاريوم.

مقاومة المرض:

يقاوم مرض ذبول الفجل المتسبب عن الفطر *Fusarium oxysporum f.sp. raphani*، وذلك باستعمال البكتيريا الوميضة *Pseudomonas fluorescens* سلالة WCS 374 بتركيز 10^{6} إلى 10^{7} وحدة تكوين مستعمرات/ بذرة. تخفض هذه السلالة نسبة الإصابة بالمرض من ٦٨,٣ ٪ الى ١٨,٦ ٪، وتزيد إنتاجية النبات من ١٩,٥ ٪ الى ١٠٠ ٪ بالنسبة للكنترول. تستعمل البكتيريا على شكل غلاف يغلف البذور قبل زراعتها.

أثبتت الدراسات الحديثة على المقاومة الحيوية لذبول الفيوزاريوم فى الفجل، أن هناك نوعين من البكتيريا الوميضة *Pseudomonas* لهما دور فعال فى مقاومة المرض: النوع الأول هى *P.putida* السلالة WCS 358، حيث تخفض المرض بحوالى ٣٠٪. أما النوع الثانى فهو *P.fluorescens* السلالة WCS 374؛ حيث تخفض المرض بحوالى ٢٥٪. الميكانزم الوحيد الداخل فى تثبيط المرض بواسطة السلالة WCS 358 هو السايدوفورز الداخلة فى التنافس على الحديد الثلاثى، بينما تثبط السلالة WCS 374 المرض عن طريق خلق مقاومة مستحثة. ان كفاءة السايدوفورز فى تثبيط المرض وكذلك المقاومة المستحثة، تعتمد كثيراً على مستوى حدوث المرض. كلتا الطريقتين فى المقاومة الحيوية تكون فعالة على مدى واسع لحدوث المرض، حيث يصل اعلى خفض إلى ٣٠٪ عندما يكون مستوى المرض حوالى ٥٠٪ من النباتات.

كثافة تجمعات السلالة WCS 358 فى منطقة الرايزوسفير والسلالة WCS 374 لها دور كبير فى تحديد كفاءتها فى تثبيط مرض ذبول الفيوزاريوم فى الفجل. إن أقل كثافة مطلوبة لحدوث خفض معنوى فى المرض هو 10^{0} وحدة تكوين مستعمرات من تجمعات سلالات البكتيريا لكل غرام جذور. عندما ينخفض تجمع البكتيريا عن هذا العدد فى الرايزوسفير، يكون له تأثير كبير على خفض كفاءتها فى تثبيط ذبول فيوزاريوم الفجل. أما عند زيادة التجمعات (فى كلتا السلالتين) فى منطقة الرايزوسفير إلى مستوى أعلى من 10^{7} وحدة تكوين مستعمرات/غرام جذور، فإنه يزيد فى خفض نسبة حدوث المرض، إلا أن هذه الزيادة غير معنوية بالنسبة لتركيز 10^{0} وحدة تكوين مستعمرات/ غرام جذور.

سادساً: القرنفل Carnation

ذبول الفيوزاريوم في القرنفل

مقـــدمة

يمكن تثبيط مرض ذبول الفيوزاريوم فى القرنفل *Dianthus sp.* المتسبب عن الفطر *Fusarium oxysporum* f.sp *dianthi* باستعمال البكتيريا *Pseudomonas* سلالة *WCS 417r* . تستطيع هذه السلالة أن تضاد الكائن الممرض، عن طريق المنافسة على وسيطات

السايدروفرز للحديد، وعن طريق مضادات فطرية أخرى. وبعيداً عن التضاد فإن ذبول الفيوزاريوم فى القرنفل يمكن أن يثبط عن طريق المقاومة المستحثة بواسطة السلالة WCS 47r ، وذلك إذا عوملت الجذور بهذه السلالة، وكان الكائن الممرض محقوناً مباشرة فى الساق. يتكون الغشاء الخارجى للسلالة المضادة من سكريات عديدة دهنية تسمى lipopoly saccharides، هذا الغشاء يتدخل فى تنبيه المقاومة المستحثة فى القرنفل ضد ذبول الفيوزاريوم. كانت المقاومة ضد الفطر الممرض تستحث باستمرار بواسطة السلالة WCS 417r فى صنف القرنفل متوسط المقاومة المسمى Pallas، ولكن أحياناً فقط فى الصنف القابل للإصابة Lena (هذا ما وجده Van Peer *et al* سنة ١٩٩١ وكذلك Duijff et al سنة ١٩٩٣) . وبسبب الميكانزم المعقد فى تثبيط المرض فإن السلالة WCS 417r هى سلالة تبشر بالنجاح فى التطبيقات العملية فى مقاومة ذبول الفيورازيوم فى القرنفل. إن النجاح فى هذه التطبيقات العملية سيكون فى بعضِ من جوانبه معتمداً على مدى الظروف البيئية السائدة، التى تكون فيها السلالة WCS 714r قادرة على تثبيط مرض الذبول بكفاءة.

إن توفير الظروف البيئية المناسبة لتشجيع وزيادة نشاط عوامل المقاومة الحيوية، يمكن أن يؤدى الى زيادة نجاح المقاومة الحيوية ضد الكائنات المرضة النباتية الكامنة فى التربة. تكون أمراض ذبول الفيوزاريوم أكثر شدة فى التربة ذات الحموضة البسيطة. إن رفع pH التربة باتجاه أو فوق نقطة التعادل، طريقة تستعمل فى عمليات المقاومة، التى تعتمد على الإجراءات الزراعية لأمراض الذبول. كذلك فإن استعمال البكتيريا الوميضة فى المقاومة الحيوية لأمراض الذبول، يؤدى إلى خفض او استبعاد المرض إذا كانت التربة ذات رقم حموضة أقل من pH7. ونظراً لأن المقاومة الحيوية لمرض ذبول الفيوزاريوم فى القرنفل تعتمد على المنافسة على وسيطات السايدرفور للحديد، فإن التأثير على المرض إذا كانت التربة ذات pH منخفض يعزى الى زيادة توفر الحديد، وبالتالى خفض نشاط التضاد الذى يظهر بواسطة البكتيريا الوميضة.

مقاومة المرض

يقاوم مرض ذبول الفيوزاريوم فى القرنفل باستعمال البكتيريا الوميضة *Pseudomonas fluorescens* السلالة WCS417r . وجد أن لرقم حموضة المحلول المغذى الذى تنمو عليه

البكتيريا المضادة تأثيراً كبيراً على تثبيط مرض الذبول فى القرنفل النامى على بيئة الصوف الصخرى. ولقد وجد أن السلالة المذكورة تخفض معنوياً ذبول الفيوزاريوم فى صنف القرنفل القابل للإصابة Lena، عندما تربى على بيئة ذات رقم pH 7.5، وذلك عندما حقنت جذور الصنف بالفطر المسبب للمرض. لم يكن هناك خفض معنوى للمرض، عندما كان رقم الحموضة (٥,٥ – ٦,٥). يكون خفض المرض مرتبطاً بالإنتاج العالى فى المعمل لمادة السايدرفور والتضاد النشيط ضد الفطر الممرض بالسلالة WCS417r على رقم pH7.5 منه على رقم ٦,٥ أو ٥,٥.

أما فى الأصناف متوسطة القابلية للاصابة مثل Pallas، فإن خفض المرض يكون معنوياً باستعمال السلالة WCS417r نفسها، ولكن عندما تربى على بيئة ذات حموضة pH5.5، وهذا التأثير يشابه التأثير المطلوب لاحداث المقاومة المستحثة فى نفس الصنف.

مما سبق، يمكن القول بأن تأثير ال pH على مقاومة ذبول الفيوزاريوم فى القرنفل باستعمال السلالة البكتيرية المذكورة، يختلف حسب أصناف القرنفل، والتى تختلف فى مستوى مقاومتها ضد فيوزاريوم الذبول. إن الأصناف القابلة للإصابة مثل الصنف Lena، تأثير السلالة البكتيرية فى خفض الإصابة فيها أكثر فعالية ونشاطاً على pH7.5؛ لأن هنا تعتمد على السايدرفورز والتضاد الحيوى. أما فى الأصناف متوسطة المقاومة ثل Pallas فإن شدة المرض تنخفض أيضاً، ولكن هنا تنخفض عن طريق التضاد يطة جداً)، وبنسبة عالية عن طريق المقاومة المستحثة بواسطة السلالات البكتيرية؛ مقاومة المستحثة تكون فعالة على pH منخفض.

لقد وجد أن إنبات الجراثيم الكونيدية ونمو أنابيب الانبات للفطر الممرض يثبط بزيادة pH الـ ية فى المعمل (جدول رقم ١٦٢). تكون شدة الخفض حسب توفر عناصر المواد الغذائيه الأساسية، مثل: الفسفور، المغنيسيوم، الحديد، المنغنيز، المولبيديوم والزنك، وهذه يمكن أن تخفض تكشف الفطر على رقم حموضة مرتفع. وجد أنه من غير المحتمل أن توفر الحديد يكون داخلاً فى خفض إنبات الجراثيم الكونيدية، وخفض نمو أنبوبة إنبات الفطر الممرض. كذلك فإن إنبات الجراثيم الكونيدية للفطر الممرض فى المعمل يتأثر معنوياً برقم الحموضة.

إن خفض مرض ذبول الفيوزاريوم بالسلالة البكتيرية WCS417r عند حقنها فى جذور الأصناف متوسطة القابلية للمرض لم يتأثر برقم الحموضة المنخفض للمحلول الغذائى، هذا يمكن توضيحه كما ذكرنا سابقاً على إحداث المقاومة المستحثة.

جدول رقم (١٦٢) : تأثير البكتيريا المضادة على نمو أنبوبة الإنبات وإنبات الجراثيم الكونيدية للفطر المسبب لذبول الفيوزاريوم فى القرنفل، باستعمال السلالة البكتيرية WCS417r فى بيئة CNS على درجات حموضة مختلفة بعد الحقن بمدة ٤ أو ٨ ساعات على حرارة ٢٢°م

رقم الحموضة	٪ جراثيم نابتة بعد		ميكروميتر طول أنبوبة الإنبات بعد ٨ ساعات	وزن الميسيليوم غرام مادة جافة لكل لتر بيئة	السايدروفورز OD400 g-1 وزن رطب لكل ٠,١ لتر
	٤ ساعات	٨ ساعات			
٥,٥	١٩	٨٤	٣١	١,٨٩	٠,٣
٦,٥	١٠	٦٤	٢٢	٢,٧٨	٠,٤
٧,٥	٥	٣٨	١٣	٢,٨٩	٠,٩

ملاحظات على الجدول: CNS = Carnation nutrient Solution.

سابعا: الكستناء Chustnut

المقاومة الحيوية للفحة الكستناء في اوروبا

ملاحظـــة

،كتبت عن هذا الموضوع أبحاث كثيرة، وبالتفصيل فى كثير من المراجع؛ وحيث إن شجرة الكستناء محدودة فى بلادنا العربية فسوف نكتب عنه باختصار شديد،.

مقـــــدمة

يعتبر الفطر *Cryphonectria parasitica* (الاسم المرادف *Endothia parasitica*) العامل المسبب لمرض لفحة الكستناء. هذا الفطر هو الكائن الممرض لكل من أنواع *Castanea* و *Quercus*. بعد أن أدخل هذا الفطر الى أمريكا فى بداية هذا القرن، فإنه استطاع أن يقضى على معظم أشجار الكستناء *C.dentata* كنوع من الأشجار المهمة فى غابات شرق الولايات المتحدة. النتيجة نفسها حصل عليها، عندما ظهرت لفحة الكستناء فى أوروبا، الا أن ظاهرة المقاومة الحيوية الطبيعية التى ظهرت فى غابات أوروبا منعت استسلام كستناء أوروبا *C.sativa* لمرض اللفحة، وبالتالى لم يقض عليها نهائياً.

أدخلت شجرة الكستناء *Castanea sativa* إلى أوروبا بواسطة الرومان من آسيا الصغرى، وقد كانت هذه الشجرة ذات أهمية إقتصادية كبيرة فى المناطق الجبلية فى أوروبا الجنوبية، فى جبال الألب من إيطاليا الى هنجاريا، وعلى طول ساحل البحر الأسود، وهى تزود أصحاب الغابات بالأخشاب للوقود ولاستخراج المواد التنينية، ومهاد للحيوانات وثمار للاستهلاك الآدمى وعلف للحيوانات. إن دخول فطر مرض اللفحة *C.parasitica* أدى إلى سرعة تدهور هذه الأشجار فى كثير من مناطق زراعتها بعد الحرب العالمية الثانية.

تكون الإصابة بالفطر شديدة فى البداية، وتؤدى إلى فناء سريع للأشجار. فى الحدائق الصغيرة تكون نسبة الاصابة ٩٠ ٪ فى الأشجار ذات عمر ٤ – ٥ سنوات، وتموت خلال بضع سنوات، ولكن تبقى الجذور حية ويمكن أن تعيد وتجدد الشجرة. أما فى الأشجار الأكبر سناً فإن منطقة التاج تصبح كلها ملفوحة، وخلال ١٠–١٥ سنة يقضى على الأشجار نهائيا ولا يكون عندها القدرة على استعادة الإنبات، وذلك لتعفن الجذور. فيما لو حدث وأن وصل الفطر الممرض الى منطقة خالية من المرض، لا يلبث أن ينتشر سريعاً بحيث إنه خلال سنة أو سنتين، تصل نسبة الإصابة من ١٤– ٦٥ ٪.

أعراض المرض:

الفطر *C.parasitica* متطفل جرحى يهاجم أفرع وسيقان الكستناء مسبباً القلف الأملس Smooth bark فى الأفرع الحديثة، ويصبح القلف محمراً وغائراً قليلا. ينمو الفطر فى الكامبيوم وفى أنسجة القلف مكوناً مراوح ميسيليومية بنية باهتة. يؤدى تفاعل النبات مع

الفطر إلى تشققات فى القلف. ينمو الفطر ويحيط بالأفرع ويسبب الذبول والموت الرجعى (موت القمم) فى الأجزاء البعيدة من النمو. تكون الأجسام البكنيدية والأجسام الثمرية Peri-thecia مغمورة فى وسادة هيفية Stroma صفراء برتقالية تحدث تشققاً فى القلف. يمكن تشخيص المرض بسهولة، وذلك عن طريق الأوراق الجافة التى تبقى معلقة فى الفريعات الصغيرة، وعن طريق التفرعات الغزيرة المتكونة تحت منطقة التقرح. الجذور لا تصاب والقرم تعود وتعطى نموات جديدة، تعيد تجديد الشجرة.

السلالات الأقل شدة: Hypovirulence

لاحظ العالم Biraghi سنة ١٩٥١ أن هناك حديقة صغيرة من الكستناء ذات مظهر سليم غير طبيعى، على الرغم من أن نسبة الإصابة ٨٥٪ فى الأفرع. كانت بعض التقرحات طويلة جدا، وكان القلف مشققاً نسبيا وذا لون أسود، كان ميسيليوم الفطر محصوراً فى الطبقة الخارجية من القلف مؤدياً الى تقرحات سطحية. لقد درست هذه الظاهرة جيداً، وقرر Bira-ghi بأن هناك مقاومة فى هذه الأشجار للإصابة بالمرض. فى سنة ١٩٦٤ قام Grente بعزل سلالة نموذجية من الفطر *C.parasiticia* من التقرحات التى تم شفاؤها. وجد أن الصبغات والتبرعمات كانت أقل فى هذه السلالات منه فى السلالات العادية من الفطر، تظهر هذه السلالة باللون الأبيض عندما تنمو على بيئة PDA. السلالات غير النموذجية كانت تنخفض شدتها عندما تحقن فى أشجار الكستناء. زيادة على ذلك فإن حقن السلالات البيضاء مع السلالات العادية يؤدى إلى شفاء التقرحات. لقد سمى Grente هذه الظاهرة باسم السلالة منخفضة الشدة hypovirulent. إن السلالات البيضاء بالإضافة إلى السلالة الشديدة هما Phenotype ، ومتحكم بها عن طريق السيتوبلازم، وذات وزن جزيئى مرتفع، وذات خيط مزدوج من RNAs. يمكن للسلالات منخفضة الشدة أن تقلب السلالات الشديدة وتجعلها أقل شدة عن طريق تحويل dsRNA وذلك عن طريق الالتحام الهيفى hyphal anastomosis. هذه الظاهرة هى الأساس فى المقاومة الحيوية.

تحمل السلالات الأقل شدة خيطاً مزدوجاً من RNAs يشبه الفيرس، وهذا يحد من مقدرتها المرضية بوضوح. يبدو أن الخيط المزدوج من RNAs يظهر تأثيره عن طريق الالتحام الهيفى من السلالات الأقل شدة الى السلالات الشديدة، وبالتالى تصبح السلالات الشديدة أقل شدة، وعند ذلك فإن تكشف القروح ينخفض او يتوقف.

إنتقـــال *Transmission of dsRNA*

ينتقل الخيط المزدوج من dsRNA بتكرار مختلف الى الكونيديات المنتجة غير جنسياً. تكون السلالات المحتوية dsRNA إناث عقيمة، ولكن تستطيع أن تقوم بدور مذكر فى التقابلات الجنسية. وعلى أية حال فإن dsRNA لا ينتقل فى الجراثيم الأسكية. إن انتقال dsRNA عن طريق الالتحام الهيفى يكون متحكماً فيه بنظام التوافقات الخضرية (V-C) (Vegetative Compatibility) الشاملة على مراكز ٥ – ٧ من (V - C). اذا تواجدت الأليلات المتطابقة Identical alleles فى جميع المراكز (V - C)، يتكون التحام ظاهر، وينتقل dsRNA بسرعة بين المستعمرات. وبالمقابل لـ dsRNA فان DNA الموجود فى الميتوكندريا لايكون جاهزاً للانتقال بين السلالات المتوافقة خضرياً. وعلى أية حال فإن تحول dsRNA يمكن أن يحدث أيضاً بين السلالات فى مجموعات مختلفة (V-C) ولكن يكون أكثر بطئا وبمعدلات منخفضة. فى هذه الحالات فإن الالتحام المؤقت يمكن أن يسمح لـ dsRNA للمرور، قبل أن تقتل التفاعلات غير المتوافقة الخلايا المندمجة.

التطبيقات الحقلية للسلالة منخفضة الشدة

الهدف من الاستعمالات الواسعة للسلالات منخفضة الشدة من الفطر *C.parasitica* هو سرعة شفاء القروح المعالجة. إن عملية حقن التقرحات النشيطة بالسلالات منخفضة الشدة تشفى التقرحات، عندما تستعمل السلالات ذات مجموعة (V-C) ملائمة. المخاليط من السلالات منخفضة الشدة المختلفة، وغالباً ما تثبت الأفضلية للسلالة المفردة. بالإضافة لذلك فإن معاملات الغابات الموجودة؛ حيث يوجد قليل من لقاح السلالة منخفضة الشدة، يمكن أن تشجع الانتشار فى السلالات منخفضة الشدة.

منذ سنة ١٩٦٧ لغاية ١٩٧٢ بدأت التجارب الحقلية فى شمال فرنسا. كان تواجد المرض منخفضاً من ١ – ١٠ بؤر لكل هكتار، كانت هذه البؤر ذات تقرحات ٥ – ١٠، وكانت السلالات منخفضة الشدة نادرة الوجود. فى إحدى التجارب فى منطقة ذات ٢٠ هكتار حقن حوالى ٢٠٠ تقرح فى الخريف بسلالة ملائمة منخفضة الشدة، وجد أن معظم التقرحات المعاملة لم تتوسع حتى الربيع القادم، ولم يصبح أى منها مميتاً، بعد أربعة سنوات فإن التقرحات غير المعاملة أيضاً أظهرت علامات الشفاء، وانخفضت ظاهرة تحطم الأشجار،

ضمن نصف قطر ٥ م من الأرض. هناك تجارب حقلية عديدة ناجحة تمت فى مناطق مختلفة من فرنسا.

بعد أن يتم تعريف وتحديد مجموعة (V - C) الخاصة من الفطر *C.parasitica* يحضر مخلوط مضبوط (حسب نسبة الاستعمال) من السلالات منخفضة الشدة، ويوضع فى أنابيب ويوزع على أصحاب مزارع الكستناء. تحدد أطراف التقرح لتحديد مكان الإصابة جيداً، وذلك عن طريق إزالة الطبقة الرقيقة من القلف قبل استعمال خليط السلالة منخفضة الشدة، ثم يضاف هذا الخليط فى ثقوب بعيدة عن بعضها البعض ٢ – ٣ سم حول التقرح. يضبط مخلوط السلالات منخفضة الشدة من الفطر *C.parasitica*، وذلك حسب المناطق التى يستعمل فيها (وهو متوفر حالياً بشكل تجارى فى فرنسا). يعتمد نجاح المقاومة الحيوية فى هذه الطريقة على انتشار وتواجد السلالات منخفضة الشدة فى التقرحات.

وجد فى بعض التجارب فى إيطاليا على ٢٣٣ تقرح بنسبة ١٧ تقرح/هكتار؛ حيث تبين فى الغابات التى حقنت بمخلوط مكون من خمسة سلالات منخفضة الشدة، والتى كانت متوافقة مع السلالات شديدة المرضية المحلية، أنه خلال ست سنوات كانت جميع التقرحات قد شفيت تماما. اما التقرحات الجديدة التى لم تعامل على الشجرة نفسها، فقد انخفض نشاطها من ٤١ ٪ إلى ٢٥ ٪، فى حين أنه فى الكنترول زادت هذه النسبة ٣٠ ٪.

أما فى سنة ١٩٩٣ أجريت تجارب واسعة فى جنوب إيطاليا على غابات بمساحة ٣٠٠٠ هكتار، بنسبة ٣٠ تقرح لكل هكتار؛ حيث حقنت بمخلوط من أربع سلالات منخفضة الشدة ذات كفاءة تحويلية واسعة، فقط أعطت نتائج فى شفاء التقرحات تقدر بحوالى ٩٥ ٪ ، وثبطت من نشاط التقرحات الجديدة بنسبة ٤٠ ٪.

يمكن وقاية جروح التطعيم أو التركيب فى الكستناء من الإصابة بفطر اللفحة، وذلك بطلاء هذه الجروح بنوع من الشمع يحتوى بكتيريا *Bacillus subtilis*.

يمكن القول باختصار أن المقاومة الحيوية للفحة الكستناء يكون باستعمال السلالات منخفضة الشدة؛ بحيث تكون مختلطة مع السلالات عالية الشدة الممرضة، وهذا يحدث تغيراً فى هذه السلالات الشديدة، وتتحول بالتدريج الى سلالات منخفضة الشدة عن طريق

التغيرات الوراثية خاصة فى DNA و RNA، والتى تؤدى الى تحول السلالات الشديدة المرضية الى منخفضة.

هذا النوع من المقاومة الحيوية لا يخضع لأساسيات المقاومة الحيوية السابق الكلام عنها فى هذا الكتاب؛ حيث إنها لا تخضع للتنافس على الغذاء أو المكان، ولا تعتمد على التضاد الحيوى على ظاهرة فوق التطفل.

تم بحمد الله

،وآخر دعواهم أن الحمد لله رب العالمين،

obeikandl.com

المراجـع

أبحاث سنة ١٩٩٧

1- Askary, H., B., Nicole and B. Jacques. 1997. Ultrastructural and Cytochemical Investigations of the Antagonistic Effect of *Verticillium lecanii* on cucumber powdery mildew. *Phytopathology* 87 (3) : 359-368.

2- Benhamou, N. and I. Chet. 1997. Cellular and Molecular Mechanisms Involved In The Interaction Between *Trichoderma harzianum* and *Pythium ultimum. Applied and Environmental Microbiology* 63 (5) : 2095-2099.

3- Burgess, D. R., T. Bretag and P. J. Keane. 1997. Biological control of seedbrone *Botrytis cinerea* in chickpea with *Gliocladium roseum. Plant Pathology* 46 : 298-305.

4- Burr, T. J., C. L. Reid, E. Tagliati, C. Bazzi and S. Sule. 1997. Biological control of Grape crown Gall by strain F2/5 Is not associated with agrocin production or competition of attachment sites on grape cell. *Phytopathology* 87 (7) : 706-711.

5- Clarkson, J. P. and J. A. Lucas. 1997. The role of antibiotic production by a strain of *Pseudomonas fluorescens* in the suppression of *Pseudocercosporella herpotrichoides* the causal agent of eye spot disease of cereals. *J. of Applied Microbiology* 82 : 499-506.

6- Engelkes, C.A., R. L. Nuclo and D. R. Fravel. 1997. Effect of carbon, Nitrogen and C:N Ration on agrowth, sporulation and Biological efficacy of *Talaromyces flavus. Phytopathology* 87 (5) : 500-505.

7- Fuchs, J. G., Y. Moenne - Loccoz and G. Defago. 1997. Non pathogenic *Fusarium Oxysporum* strain FO47 Induces Resistance to *Fusarium* wilt in tomato. *Plant Disease* 81 (5) : 492-496.

8- Garber, R. K. and P. J. Cotty. 1997. Formation of sclerotia and aflatoxins in developing cotton bolls infected by the S strain of *Aspergillus flavus* and potential for biological control with an atoxigenic strain. *phytopathology* 87 (9) : 940-945.

9- Gracia - Garza, J. A., R. D. Reeleder and T. C. Paulitz. 1997. Degradation of *sclerotia of Sclerotinia sclerotiorum* by fungus gnats (*Bradysia coprophila)* and the biocontrol fungi *Trichoderma* spp. *Soil Biol Biochem.* 123-129.

10- Hervas, A., L. Blanca and R. M. Jimenez - Diaz. 1997. Influence of chickpea genotype and *Bacillus* sp. on protection from *Fusarium* wilt by the seed treatment with non-pathogenic *Fusarium Oxysporum. European J. of Plant Pathology* 103 : 631-642.

11- Ken, K. Ng., L. MacDonald and Z.K. Punja. 1997. Biological control rose powdery mildew with the antagonist yeast *Tilletiopsis pallescens Hort Science* 32 (2) : 262 - 266.

12- Kim, Dal-Soon, R. J. Cook and D. M. Weller. 1997. *Bacillus* sp. L 324-92 for biological control of three root diseases of wheat grown with reduced tillage. *Phytopathology* 87 (5) : 551-558.

13- Lootsma, M. and K. Scholte. 1997. Effect of soil moisture content on the suppression of *Rhizoctonia* stem canker on potato by the nematode *Aphelenchus avenae* and the springtail *Flosomia fimetaria. Plant Pathology* 46: 209-215.

14- Lootsma, M. and K. Scholte. 1997. Effects of the springtail *Folsomia fimetaria* and the nematode *Aphelenchus avenae* on *Rhizoctonia solani* stem infection of potato at temperatures of 10 and 15C.° *Plant Pathology* 46 : 203-208.

15- Lyngs, H. J. *et al.* 1997. Control of *Drechslera teres* and other barley pathogens by preinoculation with *Bipolaris maydis* and *septoria nodorum. Phytopathology* 86 (6) : 602-607.

16- Madi, L., T. Katan, J. Katan and Y. Henis. 1997. Biological control of *Sclerotium rolfsii* and *Verticillium dahliae* by *Talaromyces flavus* Is Mediated by different mechanisms. *Phytopathology* 87 (10) 1054 - 1060.

17- Mao, W., J. A. Lewis, P. K. Hebbar and R. D. Lumsden. 1997. Seed treatment with a fugnal or a bacterial antagonist for reducing Corn

damping- off caused by species of *Pythium* and *Fusarium. Plant Disease* 81 (5) : 450-454.

18- Margrate, H., H. G. Bernalt and J. Lennart. 1997. Biological control of cereal seed- borne diseases by seed bacterization with greenhouse - selected *Bacteria. European J. of plant Pathology* 103 : 25-33.

19- Meyer, G. D. and H. Monica. 1997. Salicylic acid produced by the Rhizobacterium *Pseudomonas aeruginosa* 7 NSK2. Induces Resistance to Leaf Infection by *Botrytis cinerea* on bean. Phytopathol. 87 (6) : 588-593.

20- Ng, K.K. and J. M. Webster. 1997. Antimycotic activity of *Xenorhabdus bovienii* (Enterobacteriaceae) metabolites aganist *Phytophthora infestans* on potato plants. *Canadian J. of Plant Pathology*. 19 (2) : 125-132.

21- Ouimet, O., O. Carisse and P. Neumann. 1997. Environmental and untritional factors affecting the *in vitro* inhibition of the vegetative growth of *Venturia inaequalis* by five antagonistic fungl. *Can. J. Bot.* 75 : 632-639.

22- ------ , ------ , ------ . 1997. Evaluation of fungal isolates fo the inhibition of vegetative growth of *Venturia inaequalis. Can. J. Bot.* 75 : 626-631.

23- Philon, V., C. Odile and P. Timothy. 1997. *In vitro* evaluation of fungal isolation for their ability to influence leaf rheology, production of pseudothecia, and ascospores of *Venturia inaequalis. European J. of plant Pathology* 103 : 441-452.

24- Pusey, P. L. 1997. Crab apple blossoms as a model for research on biological control of fire blight. *Phytopathology* 87 (11) : 1096-1102.

25- Rosales, A. M. and T. W. Mew. 1997. Suppression of *Fusarium moniliforme* in rice - associated antagonistic bacteria. *Plant Disease* (81) : 49-53.

26- Schmidli - Sacherer, P., C. Keel and G. Defago. 1997. The global regulator GacA of *Pseudomonas fluorescens* CHAO is required for sup-

pression of root diseases in dicotyledons but not in gramineae. *Plant Pathology* 46 : 80-90.

27- Smolinska, U. *et al.* 1997. Inhibition of *Aphanomyces euteiches* f.sp. *pisi* by volatiles produced by hydrolysis of *Brassica napus* seed meal. *Plant Disease* 81 (3) : 288-292.

28- ------. 1997. Toxicity of glucosinolate degradation products from *Brassica napus* seed meal toward *Aphanomyces euteiches* f.sp. *pisi. Phytopathology* 87 (1) : 77-82.

29- Sutton, J. C. *et al.* 1997. *Gliocladium roseum* A versatile adversary of *Botrytis cinerea* in crops. *Plant Disease* 81 (4) : 316-328.

30- Witting, H. P.P., K. B. Johnson and J. W. Pscheidt. 1997. Effect of epiphytic fungi on brown rot blossom blight and latent infections in sweet cherry. *Plant Disease* 81 (4) : 383 - 387.

31- Zhang, L. and R.G. Brich. 1997. Mechanisms of biocontrol by *Pantoea dispersa* of sugar cane leaf scald disease caused by *Xanthomonas albilineans. J. of Applied Microbiology* 82 : 448-454.

أبحاث سنة ١٩٩٦

32- Asaka, O. and M. Shody. 1996. Biocontrol of *Rhizoctonia solani* damping-off of tomato with *Bacillus subtilis* RB14. *Applied and Environmental Microbiology* 4081-4085.

33- Belanger, R. R. and J. W. Deacon. 1996. Interaction specificity of the biocontrol agent *Sporothrix flocculosa* a video microscopy study. *Phytopathology* . 86 (12) : 1317-1323.

34- Berger, F., *et al.* 1996. Effect of pathogen inoculum, antagonist density, and plant species on biological control of *Phytophthora and pythium* damping-off by *Bacillus subtilis* Cto-1 in high-humidity fogging glasshouses. *Phytopathology* 86 (5) : 428-433.

35- Belal, E. B., Sh. El-Gremi, M. Gabr and M. E. K. Ibrahim. 1996. Usage of peat-based inocula of selected antagonists aganist certain soil-borne

pathogens of pea in the presence of *Rhizobium leguminosarum. J. Agr. Res. Tanta. Univ.* 22 (4) : 444-449.

36- Burgess, D. R. and G. Hepwoth. 1996. Biocontrol of sclerotinia stem rot *Sclerotinia minor* in sunflower by seed treatment with *Gliocladium virens. Plant Pathology* 45 : 583-592.

37- Buysens, S., *et al.* 1996. Involvement of Pyochelin and Pyoverdin in suppression of Pythium - Induced damping-off of tomato by *Pseudomonas aeruginosa* 7 NSK2. *Applied and Environmental Microbiology* 865-871.

38- Daqun, L., N. A. Anderson and L. L. Kinkel. 1996. Selection and characterization of strains of *Sterptomyces* suppressive to the potato scab pathogen. *Candian J. Microbiology* 42: 487-502.

39- Eden, M. A., R. A. Hill and A. Stewart. 1996. Biological control of *Botrytis* stem infection of greenhouse tomatoes. *Plant Pathology* 45: 276-284.

40- El-Shanshoury, A., *et al.* 1996. Effects of *streptomyces corchorusii, Streptomyces mutabilis*, pendimethalin, and metribuzin on the control of bacterial and *Fusarium* wilt of tomato. *Can. J. Botary* 1016-1022.

41- Falk, S.P., *et al.* 1996. *Fusarium proliferatum* as a biological agent aganist grape downy mildew. *Phytopathology* 86 (10) : 1010-1017.

42- Gogoi, R. and A. K. Roy. 1996. Effect of soil pH and media on the antagonism of *Aspergillus terreus* to the rice sheath blight fungus. *Indian Phytopathology* 49 (1) : 32-37.

43- Hannusch, D. J. and G. J. Boland. 1996. Influence of air temperature and relative humidity on biological control of white mold of bean (*sclerotinia sclerotiorum*). *Phytopathology* 86 (2) : 156-162.

44- Inbar, J., M. Ana and I. Chet. 1996. Hyphal interaction between *Trichoderma harzianum* and *sclerotinia sclerotiorum* and its role in biological control. *Soil. Biol. Biochem.* 28 (6) : 757-763.

45- Jalaluddin, M. and J. F. Jenkyn. 1996. Effects of wheat crop debris on the sporulation and survival of *Pseudocercosporella herpotrichoides*. *Plant Pathology* 45 : 1052-1064.

46- Kearns, L. P. and C. N. Hale. 1996. Partial characterization of an inhibitory strain of *Erwinia herbicola* with potential as a biological agent for *Erwinia amylovora* the fire blight pathogen. *J. of Applied Bacteriology* 81 : 369-374.

47- Kalita, P., L. C. Bora and K. N. Bhagabati. 1996. Phylloplane microflora of citrus and their role in management of citrus canker. *Indian Phytopathology* 49 (3) : 234-237.

48- King, E. B. and J. L. Parke. 1996. Population density of the biocontrol agent *Burkholderia cepacia* on four pea cultivars. *Soil. Bio. Biochemistry* 28 (3) 307-312.

49- Laha, G. S., J. P. Verma and R. P. Singh. 1996. Effectiveness of fluorescent Pseudomonads in the management of sclerotial wilt of cotton. *Indian Phytopathology* 49 (1) : 3-8.

50- Lowis, J. A. and D. R. Fravel. 1996. Biocontrol fungi on snap bean damping- off caused by *sclerotium rolfsii* in the field and on germination of sclerotia. *Plant Disease* 80 (6) : 655-659.

51- Lindow, S E., G. Mc Gourty and R. El Kins. 1996. Interactions of antibiotics with *Pseudomans fluorescens* strain A 506 in the control of fire blight and frost injury to pear. *Phytopathology* 86 (8) : 841-848.

52- Liang, X. Y., *et al* 1996. Control of damping-off of safflower by bacterial seed treatment. *Can. J. of plant pathology*. 18 : 43-49.

53- Milus, E. A. and C. S. Rothrock. 1996. Efficacy of bacterial seed treatments for controlling *Pythium* root rot of winter wheat. *Plant Disease* 81 (2) 180-184.

54- Moulin, F., P. Lemanceau and C. Alabouvette. 1996. Suppression of *Pythium* root rot of cucumber by a fluorescent Pseudomonad is related to reduced root colonization by *Pythium aphanidermatum*. *J. Phytopath.*, 144: 125-129.

55- Mosa, A. A., N. Y. Abd El-ghafar and B. A. othman. 1996. Bacteriophages of *Pseudomonas solanacearum* and their potential for biological control of potato bacterial wilt. *Zagazig J. Agric Res.* 23 (6) : 1053-1057.

56- Pereira, J. and O. D. Dhingra. 1996. Suppression of *Diaporthe phaseolorum* f.sp. *meridionalis* in soybean stems by *Chaetomium globosum*. *plant Pathology* 46 : 216-223.

57- Podile, A. R. and A. P. Prakash. 1996. Lysis and biological control of *Aspergillus niger* by *Bacillus subtilis* AF-1. *Can. J. Microbiology 42* : 533-538.

58- Slininger, P. J. *et al.* 1996. Effect of growth culture physiological state, metabolites and formulation on the viability, phytotoxicity and efficacy of the take-all biocontrol agent *Pseudomonas fluorescens* 2-79 stored encapsulated on wheat sees. *Appli. Microbiol. Biotechnol.* 45 : 391-398.

59-Shah-Smith, D. A. and R. G. Burns. 1996. control of damping-off of sugar beet by *Pseudomonas putida* applied to seed pellets. *Plant Pathology* 45 : 572-582.

60- Stockwell, V. O., K. B. Johnson and J. E. Loper. 1996. Compatibility of bacterial antagonists of *Erwinia amylovora* with antibiotics used to control fire blight. *Phytopathology* 86 (8) : 834-840.

61- Urquhart, E. J. and Z. K. Rinja. 1996. Epiphytic growth and survival of *Tilletiopsis pallescens*, a potential biological ccontrol agent of *Sphaerotheca fuliginea* on cucumber leves. *Can. J. Bot.*, 75 : 892-901.

62- Wei, G., J. W. Kloepper and S. Tuzun. 1996. Induced systemic resistance to cucumber diseases and increased plant growth by plant growth - promoting *Rhizobacteria* under field conditions. *Phytopathology* 86 (2) : 221-224.

63- Wong, P. T. W., J. A. Mead and M. P. Holley. 1996. Enhanced field control of wheat take-all using cold tolerant isolates of *Goeumanno-*

myces graminis var. *graminis* and *Phialophora* sp. (lobed hyphopodia). *plant Pathology* 45 : 285-293.

64- Yohalem, D. S., E. V. Nordheim and J. H. Andrews. 1996. The effect of water extracts of spent mushroom compost on apple scab in the field. *Phytopathology* 86 (9) : 914-922.

65- Zhang, P. G., *et al.* 1991. *Gliocladium roseum* reduces physiological changes associated with infection of black spruce seddlings by *Botrytis cinerea. Can J. of Plant Pathology* 18 : 7-13.

66- Zimand, G., Y. Elad and I. Chet. 1996. Effects of *Trichoderma harzianum* on *Botrytis cinerea* pathogenicity. *Phytopatology* 86 (11) 1255-1260.

67- Zhang, W., W. A. Dick and H. A. Hoitink. 1996. Compost - Induced systemic acquired resistance in cucumber to *Pythium* root rot and *Anthracnose* . *Phytopathology* 86 (10) : 1066-1070.

أبحاث سنة ١٩٩٥

68- Benyagoub, M. and R. R. Belanger. 1995. Development of a mutant strain of *Sporothrix flocculosa* with resistance to dodemorph-acetate. *Phytopathology* 85 (7) : 766-770.

69- Dann, E. K. and B. J. Deverall. 1995. Effectiveness of systemic resistance in bean agnist floiar and soil-borne pathogens and induced by biological and chemical means. *Plant Pathology* 44 : 458-466.

70- Duffy, B. K. and D. M. Weller. 1995. Use of *Gaeumannomyces graminis* var. *graminis* alone and in combination with fluorescent *Psseudomonas* sp. to suppress Take-all of wheat. *Plant Disease* (79 (9) : 907-911.

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

72- Fang, J. G. and P. H. Tsao. 1995. Evaluation of *Pythium nunn* as a potential biocontrol agent aganist *Phytophthora* root rots of Azalea and sweet orange. *Phytopathology* 85 (1) : 29-36.

73- Falk, S. Pl. *et al.* 1995. Parasitism of *Uncinula necator* cleistothecia by the mycoparasite *Ampelomyces quisqualis. Phytopathology.* 85 (7) : 794-800.

74- Falk, S. P., *et al.* 1995. Partial control of grape powdery mildew by the mycoparasite *Ampelomyces quisqulis. Plant Disease* 79 (5) : 483-490.

75- Fang, J. G. and P. H. Tsao. 1995. Efficacy of *Penicillium funiculosum* as a biological conrol agent aganist *Phytophthora* root rots of azalea and citrus. *Phytopathology* 85 (8) : 871-878.

76- Howell, C. R. and R. D. Stipanovic. 1995. Mechanisms in the biocontrol of *Rhizoctonia solani* induced cotton seedling disease by *Gliocladium virens* : Antibiosis . *Phytopathology* 85 (4) 469-472.

77- Knudsen, J. M. B., J. Hockenhull. and D. F. Jensen. 1995. Biocontrol of Seedling diseases of barley and wheat caused by *Fusarium culmorum and Bipolaris sorokiniane* effects of selected fungal antagonists on growth and gield components. *Plant Pathology* 44 : 467-477.

78- Leeman, M. *et al.* 1995. Biocontrol of *Fusarium* wilt of radish in commerical greenhouse trials by seed treatment with *Pseudomonas fluorescens* WCS 374: *Phytopathology* 85 (10) : 1301-1305.

79- Lewis, J. A., D. R. Fravel and G.C. Papavizas. 1995. *Cladorrhinum foecundissimum* a potential biological control agent for the reduction of *Rhizoctonia solani. Soil Biol. Biochem.* 27 (7) : 863-869.

80- Liu, Run-Jin. 1995 Effect of vesicular-arbuscular mycorrhizial fungi on *Verticillium* wilt of cotton. *Mycorrhiza* 5 : 293-297.

81- Liu, L., J. W. Kloepper and S. Tuzun. 1995. Induction of systemic resistance in cucumber aganist bacterial angular leaf spot by plant growth promoting *Rhizobacteria. Phytopathology* 85 (8) 843-847.

82- ------ , ------ , ------. 1995. Induction of systemic resistance in cucumber aganist *Fusarium* wilt by plant growth-promoting *Rhizobacteria. Phytopathology* 85 (6) : 695-698.

83- ------ , ------ , ------. 1995. Induction of systemic resistance in cucumber by plant growth-promoting *Rhizobacteria*: Duration of protection and effect of host resistance on protection and root colonization. *Phytopathology* 85 (10) : 1064-1068.

84- Maurhafer, M., *et al.* 1995. Influence of plant species on disease suppression by *Pseudomonas fluorescens* strain CHAO with enhanced antibiotic production. *Plant pathology* 44 : 40-50.

85- Mazzola, M., *et al.* 1995. Variation in sensitivity of *Gaeumannomyces graminis* to antibiotics produced by fluorescent *Pseudomans* spp. and effect on biological conro! of Take-all disease of wheat. *Applied and Environmental Microbiology* 61 (7) : 2554-2559.

86- Mathre, D. E., *et al.* 1995. Combined biological and chemical seed treatments for control of two seedling diseases of Sh2 sweet corn. *Plant Disease* 79 (11) : 1145-1148.

87- Madrigal, C. and P. Melgarejo. 1995. Morphological effects of *Epiccocum nigrum* and its antibiotic flavipin on *Monilinia laxa. Can. J. Botany* 73: 425-431.

88- Raaijmakers, J. M., *et al.* 1995. Dose-Response relationships in biological control of *Fusarium* wilt of radish by *Pseudomonas* spp. *Phytopathology* 84 (10) : 1075-1081.

89- Safiyazov, J. S., R. N. Mannanov and R. K. Sattarova. 1995. The use of bacterial antagonists for the control of cotton diseases. *Field crops Research* 43: 51-54.

90- Slininger, P. J. and M. A. Shea-Wilbur. 1995. Liquid-culture, pH, temperature and carbon (not nitrogen) source regulate phenazine productivity of the Take-all biocontrol agent *Pseudomonas fluorescens* 2-79. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 43 : 794-800.

91- Vidhyasekaran. P. and M. Muthamilan. 1995. Development of formulations of *Pseudomans fluorescens* for control of chickpea wilt. *Plant Disease* 79 (8) : 782-786.

92- Walter, M. Y. and D. L. Crawford. 1995. Characterization of *streptomycin lydicus* WYEC 108 as a potential biocontrol agant aganist fungal root and seed rots. *Applied and Environmental Microbiology* 61 (8) 3119-3129.

أبحاث سنة ١٩٩٤

93- Belanger, R.R., C. Labbe and W.R. Jarvis. 1994. Commerical-Scale control of rose powdery mildew with a fungal antagonist. *Plant Disease* 78 (4) : 420-424.

94- Burkhead, K., *et al.* 1994. Pyrrolnitrin production by biological control agent *Pseudomonas cepacia* B37W in culture and in colonized wounds of potato. *Applied And Environmental Microbiology* 60 (6) : 2031-2039.

95- Decal, A., *et al.* 1994. Biological control of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici. Plant Pathology*. 44 : 909 - 917.

96- Elad, Y., J. Kohl and N. J. Fokkema. 1994. Control of infection and sporulation of *Botrytis cinerea* on bean and tomato by saprophytic yeasts. *Phytopathology* 84 (10) 1193-1200.

97- Hill, D.S., *et al.* 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 (1) 78-85.

98- Heller, W. E. and R. Theiler - Hedtrich. 1994. Antagonism of *Chaetomium globosum, Gliocladium virens* and *Trichoderma viride to* four soilborne *Phytophthora* spp. *J. Phytopathology* 141 : 390-394.

99- Heiniger, U. and D. Rigling. 1994. Biological control of chestnut blight in Europe. *Ann. Rew Phytopathology*. 32 : 581-599.

100- Marchi, A. and R. S. Utkheda. 1994. Effect of *Enterobacter aerogenes* on the rhizosphere microflora of apple trees. *J. Phytopathology* 141 : 127-132.

101- McLaren, D. L., et al. 1994. Biological control of *sclerotinia* wilt of sunflower with *Talaromyces flavus and Coniothyrium minitans. Plant Disease* 78 (3) : 231-235.

102- Pierson, E. A. and D. M. Weller. 1994. Use of mixture of Fluorescent *Pseudomonas* to suppress Take-all disease and improve the growth of wheat. *Phytopathology* 84 (9) : 940-947

103- Ristaino, J. B., J. A. Lewis and R. D. Lumsden. 1994. Influence of isolates of *Gliocladium virens* and Delivery systems on biological control of southern blight on carrot and tomato in the field. *Plant Disease* 78 (2) : 153-156.

104- Silo - Suh, L., A. *et al.* 1994. Biological activities of two fungistatic antibiotics produced by *Bacillus cereus* UW85. *Applied And Environmental Microbiology*, June, 2023-2030.

105- Thara, K. V. and S. S. Gnanamanickam. 1994. Biological control of rice sheath blight in India : Lack of correlation between chitinase production by bacterial antagonists and sheath blight suppression. *Plant and Soil*. 160 : 277-280.

106- Tost, L. and A. Zazzerini. 1994. Evaluation of some fungi and bacteria for potential control of safflower rust. J. *Phytopathology* 142: 131-140.

107- Urquhart E. J., J. G. Menzies and Z.K. Punja. 1994. Growth and biological conrtol activity of *Tilletiopsis* species aganist powdery mildew (*Sphaerotheca fuliginea*) on greenhouse cucumber. *Phytopathology* 84 (4) : 341-351.

108- Wodzinski, R. S., *et al.* 1994. Machanisms of inhibition of *Erwinia amylovora* by *Erwinia herbicola in vitro and in vivo. J. Applied Bacteriology* 76 : 22-29.

109- Yehla, A. H., *et al.* 1994. Biological soil treatment with *Trichoderma harzianum* to control brown stem rot of soybean in Egypt. *Egypt. J. Phytopathology* 22 (1) : 143-157.

110- Yuen, G. Y., *et al.* 1994. Influences of antagonist population levels, blossom develoment stage and canopy temperature on the inhibition of *Sclerotinia sclerotiorum* on dry edible bean by *Erwinia herbicola. Phytopathology* 84 (5) : 495-501.

111- Zhou. T., and T. C. Paulitz. 1994. Induced resistance in the biological control of *Pythium aphanidermatum* by *Pseudomonas* spp. on cucumber. *J. Phytopathology* 142 : 51-63.

بعض الأبحاث قبل سنة ١٩٩٤

112- Asghari, M. R. and C. D. Mayee. 1992. Comparative efficiency of management practices on stem and pod rots of groundnut. *Indian Phytopathology* 44 (3) : 328-332.

113- El-Abyad, M. S., *et al.* 1993. Towards the biological control of fungal and bacterial diseases of tomato using antogonistic *Streptomyces* spp. *Plant and Soil.* 149 : 185-195.

114- Jayaraman, J. and D. Kumar. 1992. Influence of the biocontrol of *Sclerotium rolfsii* in chickpea varieties. *Indian Phytopathology*, (?) 102-104.

115- Kurtboke, D. I., *et al.* 1993. Responses of a sterile red fungus to soil types, wheat varieties and the presence of certain isolates of *Streptomyces. Plant and Soil* 157 : 35-40.

116- Laha, G., S., R. P. Singh and J. P. Verma. 1992. Biocontrol of *Rhizoctonia solani* in cotton by *Pseudomonas fluorescent. Indian Phytopathology* 45 (4) : 412-415.

117- Mukherjee, B. and C. Sen. 1992. *Aspergillus* and *Penicillium* species potential agents for biocontrol of *Macrophomina phaseolina. Indian phytopathology* 45 (1) : 39-43.

118- Papavizas, G. C. 1985. *Trichoderma* and *Gliocladium* : Biology, Ecology, and potential for biocontrol. *Ann. Rev. Phytopathology*. 23: (23-54).

119- Peng, G., J. C. Sutton and P. G. Kevan. 1992. Effectiveness of honey bees for applying the biocontrol agent *Gliocladium roseum* to strawberry flowers to suppress *Botrytis cinerea. Can. J. of. Plant pathology 14* (2) : 117-130.

120- Saikia, P. and H. D. Chowdhury. 1993. Phylloplane microflora for the control of bacterial leaf blight of rice coused by *Xanthomonas oryzae pv. oryzae. Indian Phytopathology* 46 (3) : 218-223.

obeikandl.com