

الفصل الثامن عشر

- التقييم المناعى للكيميائيات الزراعية :

- * مقدمة
- * الانجازات
- * المنتجات التجارية .
- * النقاط المثيرة للمشاكل .
- * الآفاق المستقبلية .
- * قائمة المراجع

التقييم المناعى للكيميائيات الزراعية

Immunological assays for Agrochemicals

مقدمة Introduction :

هناك حاجة ملحة لايجاد طرق بسيطة قليلة التكاليف ذات كفاءة عالية لتقدير الكيمياءات الزراعية وغيرها من المواد الغريبة نظرا لزيادة تكاليف التحليل وتعاضم دور الاعتبارات البيئية . وتقدم طرق التقدير المناعى هذه المطالب والمميزات . وتستخدم هذه الطرق بشكل روتينى فى المعامل لتقدير الجزئيات الصغيرة كالهورمونات والادوية . ونظرا لبساطة الطرق المناعية اصبحت شائعة فى عيادات الاطباء الخاصة والمكاتب والمنازل . وسنحاول فى هذا المقال توضيح امكانية استخدام هذه الطرق فى تحليل وتقدير الكيمياءات الزراعية (مبيدات الحشائش - المبيدات الحشرية - المضادات الحيوية المرصقات النباتية - المواد الغريبة) والطرق المتاحة على نطاق تجارى ومستقبل التكنيك .

ولا يختلف التقييم المناعى عن اى تفاعل كيميائى اخر . فالجوه الكشاف A يتفاعل مع البروتين B ليعطى المنتج AB . والبروتين B ما هو الا مادة مخلقة حيويا (الجسم المضاد) ذات خواص ارتباطية متميزة لارتباطها مع المادة A . تكوين الجسم المضاد عبارة عن عملية مزدوجة الاطوار . الاول يشمل الجزئ الصغير الذى يقدر (الهابتين Hapten) يثبط بجزئ المناعة الاكبر كثيرا بمادة البروتين . والناتج يحقن فى عائل حيوانى الذى حمل استجابة مناعية تتمثل فى تخليق اجسام مضادة ذات صفات مختلفة (متعددة الانقسام) بعضها موجهة ضد الهابتين . وفى المقابل يمكن تطوير جسم مضاد وحيد الأوجه monoclonal متخصص باستخدام مزرعة خلايا فى الخارج In vitro مع طريقة الانتشار . والاجسام المضادة عبارة عن مواد عالية الدوام مما يمكنها من اظهار النشاط حتى بعد فترات طويلة من التخزين . ومن اول طرق التقييم المناعى للكيمياءات الزراعية تلك التى طورها Langone and vunakis عام ١٩٧٥ لمبيد الديلدرين . ولقد اختبر حديثا الجسم المضاد للديلدرين واثبت ارتباطا قويا مع الديلدرين بعد ١١ سنة من التخزين (المرجع الثالث) .

وبالرغم من ان طرق التحليل تختلف فيما بينها الا ان كل طريقة تتميز بتكوين معقد خاص من الهابتين مع الجسم المضاد . وهذا يمكن التأكد منه بقياس الانواع او المركبات الغير متفاعلة بدرجة تعتمد على تصميم التقييم . وبذلك يتضمن التقييم المناعى خطوتان : تحضين اولى للجسم المضاد مع المركب الكيمياءى تحت الاختبار متبوعا بتفاعل ثانى لتقدير درجة تكون المركب الابتدائى . والتقييم المناعى المشع (RIA) يتضمن ادخال المادة المشعة (الايروجين ٣ ، الكربون ١٤ ، اليود ١٢٥) فى الجوه الكشاف المماثل تماما للهابتين مما يمكن ويسهل من تقديره كمي . ومن الممكن استخدام التقييم المناعى الانزيمى المدموج مع الجسم المضاد المشع حيث يرتبط الانزيم مع الاجسام المضادة الموجهة ضد الهابتين . والانزيمات البيروكسيديز Horseradish

والفوسفاتيز القلوى من اكثر الانزيمات استخداما حيث ترتبط مع الجسم المضاد الثانى . والاجسام المضادة للهابتين Anti-hapten التى لم ترتبط بعد التحضين مع العينة مسموح لها ان تكون معقد مع الهابتين وتتحول الى حامل بروتينى يدمص على وسط صلب (تقييم غير متجانس) . ودرجة هذا الارتباط تقدر بالاضافة المتتابعة لمعقد الانزيم مع مضاد الجلوبيولين المعلم والوسط الملون ثم يقدر ناتج التفاعل بطريقة سبكتروفوتومترية ضوئية . ويطلق على هذا النوع من التقييم بال- Eli-sa اى بطريقة التقييم الانزيمى المرتبط بالمناعة وهى تتطلب فى الغالب ٢٤ ساعة لاعطاء بيانات كمية . اما الطرق الوصفية الغير متجانسة تستغرق عدة دقائق فقط . وحديثا امكن تطوير طرق تقييم متجانسة للكيميائيات الزراعية تتطلب عدة ثوانى قليلة لانتمام التقدير .

الانجازات Accomplishments :

لتوضيح الانجازات يكفى ان نشير وباختصار الى البحوث المنشورة وسيؤكد القارئ مدى الانجازات العظيمة فى صناعة الكيمياءات الزراعية ولكن هذه النجاحات لم وريما لن تنشر . والجدول رقم (١) يوضح الكيمياءات التى طور لها تكتيك التقييم المناعى موضحا فيه الحدود الدنيا للتقدير ونوع الجسم المضاد وطريقة التحليل ومصدر المرجع ويتضمن الجدول العديد من الهرمونات النباتية والمادة الغريبة دايوكسين وجميع هذه المواد ذات اهمية زراعية .

وهناك اعتبارات هامة فيما يتعلق بمستويات المضادات الحيوية التى قد توجد فى اللحوم والمنتجات الغذائية . والمضادات الحيوية يصعب تقديرها بالوسائل الكلاسيكية وقد امكن تطوير طرق تقييم مناعى لعدد من المنتجات (جدول ٢) ولقد قامت بعض الشركات بعمل طرق لبعض المضادات الحيوية التى تنتجها وسهلت من مهمة استخدام هذه الطرق على النطاق المنزلى والآن يتوفر فى الاسواق العديد من مجموعات التشخيص على النطاق التجارى . ومن المعروف ان الممرضات النباتية تسبب خسارة كبيرة تقدر بملايين الدولارات ومن هنا تمثل اهمية الكشف المبكر وتعريف هذه المسببات فى اتخاذ القرارات الخاصة بالسيطرة على الآفات IPM (. والمسببات المرضية ذات بروتينات متميزة المواصفات و / أو تركيبات انتيجينية خاصة يمكن تقديرها خلال الطرق المناعية والجدول (٣) يوضح بعض المسببات المرضية التى تم تطوير تقييم مناعى لها .

المنتجات التجارية Commercial products :

اظهرت العديد من الشركات اهتماما كبيرا بالتشخيص المناعى ولكن قليل منها تمكن من تطوير منتجات تجارية فى هذا المجال . ومن الواضح ان المؤسسات الصناعية تفضل ايجاد طرق تقييم مناعى للمركبات التى تنتجها ويكون استخدامها قاصرا على المهام الداخلية فى الشركات المنتجة ومن المؤسف عدم وجود رغبة لديها لتسويق المنتجات التشخيصية . وفى الوقت الحالى قامت شركتان بتسويق مجاميع اختبار بينما الشركات الاخرى تقوم بتطويرها .

وتقوم شركة Idetek, Inc. في سان برونو بالولايات المتحدة الأمريكية بتسويق الاجسام المضادة الوحيدة "monoclonal" للتقدير الكمي لبعض الهرمونات النباتية مثل الاندول - ٣ - اسيتيك آسيد ميثيل استر ، حامض الابسيسيك ، ريبوسيد الزيتين ، الدهيدرو زيتين ريبوسيد (المراجع رقم ٧) . وهذه الطرق الانزيمية المناعية Elisa تتمكن من تقدير كميات في حدود ٠.٢ - ٠.٥ مول / ١ ، مليلتير للمركبات الثلاثة الاخيرة . اما المركب اندول - ٣ - اسيتيك آسيد ميثيل استر يقدر في حدود ٥ - ١٠٠ مول / ١ مليلتر . وفي هذا الخصوص لا يرتبط الجسم المضاد بالحامض الحر ولكنه يرتبط فقط بالاستر . وهذا الجسم المضاد الوحيد الأوجه لا يتميز بدرجة عالية من التخصص لحلقة الاندول ولكن يدوا ان لها ميل تخصصي للسلسلة والقنطرة التي تربط البروتين الحامل مع الهابتين .

ولقد قامت مؤسسة Granite Division-Environmental Diagnostics Inc. في ولاية برلنجتون بامريكا بتسويق وحدات اختبار للكشف عن الكيمياءات الزراعية على صورة شرائط سريعة Quick-cards مع الجواهر الكشافة (الجسم المضاد والوساط اللازمة للانزيم) . وتحتوى الشرائط على جوهر كشاف يغير اللون في حالة وجود المركب الكيمياءى تحت الاختبار . وهذا الاسلوب يتطلب عدة دقائق فقط ويعتبر شبه كمي Semi-quantitative ويوضح ما اذا كانت العينة تحتوى على مستوى اعلى من الحد المعين وليس كميته بالضبط . ونظر لبساطة وثبات طريقة الشرائط يمكن استخدامها بشكل واسع لاختبار الكشف الروتيني على عدد كبير من العينات . وفي الوقت الحالى توجد هذه الشرائط في الاسواق للكشف عن المبيدات الباراكوات والباراثيون وكذلك عن ستة مضادات حيوية (كلورأمفينيكول - جنتاميسين - نيومايسين - سلفا ميثازين - سلفا داي ميثوكسين والتيلوسين) وكذلك الترايتون اكس - الافلاتوكسين وصلصة فول الصويا .

وبالرغم من ان مؤسسة Immunosystems Inc. بولاية بدفورد بامريكا لم تسوق بعد من المنتج الخاص بها الا انها طورت طرق تقييم مناعية متماثلة للعديد من الكيمياءات الزراعية (مرجع ٣) . وتعتمد هذه الطرق على التكنيك المعروف EMIT الذى يقيس تأثير ارتباط الجسم المضاد على نشاط الانزيم (جلوكوز - ٦ فوسفات ديهيدروجينيز) المرتبط بروابط مع الهابتين . عندما يرتبط الجسم المضاد بمعقد الانزيم والهابتين يحدث تناقض لمعدل التفاعل الانزيمى بدرجة تتناسب مع كمية الارتباط . ولو حدث تخمين لتجهيز الجسم المضاد فى البداية مع العينة المحتوية على المركب الكيمياءى سوف يحدث ارتباط لبعض الاجسام المضادة بالهابتين الحر ومن ثم يصبح بعيدا عن متناول الارتباط بمعقد الانزيم والهابتين . وفي هذا الاسلوب يمكن قياس تركيز المادة الزراعية الموجودة فى العينة . والتحليل يتم فى غاية السرعة (١٥ - ٤٥ ثانية) كما ان له القدرة على تكرار تمثيل النتائج Reproducible ، كما انه يمكن من التغلب على بعض المشاكل الصعبة فى عمليات التحليل مثل الارتباط بالجدر والغسيل المرتبطة بطرق التقييم الغير متجانسة . وحيث ان تكنيك EMIT تتطلب توفر اسبكتروفوتومتر لتقدير معدل التفاعل فان جميع الخطوات تقريبا تكون آلية .

وهناك العديد من مجموعات التقييم او التشخيص المناعى لعدد من الممرضات النباتية تحت التطوير . وهذه المواد لم تصمم بهدف البحث العلمى ولكنها استهدفت الاسهام فى الصناعات الخاصة بالبستنة والحشائش النجيلية والفاكهة . ولقد قامت مؤسسة التشخيص الزراعية diagnostics Agri- Assoc. بالولايات المتحدة الامريكية وحدات متكاملة للكشف عن ثلاثة مسببات مرضية لأعشاب وحلبات السباق هى فطريات البياض واللفحة والتبقع البنى عن طريق تطوير اسلوب الانزيم المناعى Elisa والاجسام المضادة وحيدة الأوجه . ولو تضافرت أنشطة ومجهودات الشركات فى تسويق هذه المنتجات لأصبح واضحا ولموسا تواجد طرق سريعة للكشف عن المسببات المرضية .

النقاط المثيرة للمشاكل Probelm areas :

يتطلب تطوير الاجسام المضادة المتخصصة مع الهيبتين خطوتان رئيسيتان : الاولى يتمثل فى الازدواج Coupling للجزئ الحامل للاتيجين بالهيبتين من خلال القنطرة ، والثانى نظام حقن الحيوان لزرع الاجسام المضادة . وكلا الخطوتان قد يختلفان فى مدى الملاءمة لانتاج الجسم المضاد ضد التناسق الجزئى الخاص . ومن الثابت ان بعض الجزيات الحاملة للجينات المناعية (مثل البيومين سيرم البقر - الهيموسيانين - والبيومين البيض) اكثر ملاءمة عن غيرها عندما ترتبط بالهيبتين الخاص المتميز . إن استخدام مجموعة القنطرة المتخصصة (التركيب الكيميائى - الطول والوضع الهندسي) التى تربط الهيبتين بالجزئ الحامل الاكبر تحدد التوجيه الخاص للهيبتين للمادة الحاملة ومن ثم يتأثر تنظيم وتمييز الجسم المضاد للهيبتين . والجسم المضاد للانندول آستييك آسيد على سبيل المثال تبدو ذات تخصص عالى لا ستر الميثيل عنه منع الحامض الحر موضحا ان تميز وتنظيم تركيب القنطرة فى غاية الاهمية . وفى بعض الحالات وخلال تطوير طريقة التقييم المناعى للديوكسين فان الاجسام المضادة المتخصصة للقنطرة قد تزال بدون التأثير على التخصص للهيبتين . ان نظام وبروتوكول الحقن وعدد وحدات حقن المناعة ووقت جمع السيرم بعد الحقن تغير من حساسية وتخصص الاجسام المضادة .

التقييم المناعى الغير متجانس فى غاية التعقيد ويحتاج لوقت طويل ويختلف من فرد لآخر . وفى هذه الطرق يجب ان تدمص الجزيات على وسط صلب عادة كريات البولى استيرين وصفائح الحجم الدقيقة ، كما يجب ان تزود بالمواد الناشرة ، ان تستخدم بتركيزات مناسبة ، ان يسمح لها بالتفاعل خلال الفترات المحددة سلفا . ونظرا للعديد من الخطوات اليدوية والغير متجانسة فى المعامل فان النتائج قد تختلف . وحتى نستطيع مد زيادة كفاءة تكرار تمثيل النتائج وتقصير وقت التحليل لا نتوقع تطوير طرق مناعية على نطاق واسع هذا الخصوص .

يجب استغلال اسلوب الخلايا فى الخارج In vitro لانتاج الاجسام المضادة حيث ان تجهيز الجسم المضاد المتميز الخاص مطلوب لتوفير الوحدات التشخيصية على النطاق التجارى . حيوانات التجارب تنتج اجسام مضادة ذات تركيزات وتخصصية مختلفة خلال دورة المناعة . وعلى الجانب

الاخر انه بمجرد تطوير وعزل خط خلوى مناسب يصبح فى الامكان توفير كميات غير محدودة من الجسم المضاد كلما كانت هناك حاجة اليها . واستخدام التكنيك المضاد السيرم المتعدد التكاثر لا يجب ان يرفض ، وبدلا من ذلك يجب تقييم الاسلوب المتوفر لبيان اى مصدر من الاجسام المضادة يعطى افضل النتائج . والاجسام المضادة وحيدة الأوجه تحقق ثوابت منخفضة ومن ثم تكون غير مناسبة فى بعض التطبيقات .

ربما تكون الصعوبات التى تؤثر على تجارة الكيمياءات الزراعية سببا فى اقتناع الصناعة باهمية تسويق الطرق التشخيصية للتقييم المناعى . وتطوير وحدات تجارية للاختبارات مكلفة جدا ولكن التقييم المناعى لن يصبح طريقة روتينية حتى تسوق هذه الوحدات تجاريا . ولسوء الحظ ان معظم طرق التقييم تطور فى المعامل الاكاديمية ولكنها لم تصل للمستوى التجارى .

الآفاق المستقبلية Future thrusts :

سنوضح فى هذا المقام رأينا الشخصى فى مستقبل طرق التقييم المناعى للكيمياءات الزراعية بناء على تحفظاتنا السابقة . ونحن نتوقع توسع كبير لاشراك هذه الطرق فى المجالين الاكاديمى والصناعى للكشف عن الكيمياءات ومسببات الامراض الاكثر حساسية فى البيئة وجميع الاطراف فى حاجة الى استخدام التقييم المناعى للتعامل مع المشاكل البيئية لتأكيد صلاحية هذه الطرق . وسيزداد استخدام هذه الطريقة المدمجة مع الانزيم وكذلك الاعتماد على طريقة التقييم المتجانس نظرا لكفاءتها العالية فى تكرار تحقيق النتائج وقصر وقت اجرائها . ويمكن دمج وتكامل طريقة التقييم المناعى مع غيرها من طرق التحليل الاخرى . والاجسام المضادة المرتبطة بالمادة الحاملة المدعمة الصلبة يمكن استخدامها كاعمدة لتركيز المبيدات من الحجم الكبيرة من الماء . والمبيد قد يزاح ويقدر بالوسائل الكروماتوجرافية . كما ان الاعمدة الكبيرة يمكن ان تستخدم لتنقية الماء من الملوثات البيئية الغير مرغوبة . وربما ان احسن طريق لقبول الطريقة المناعية لتحليل المبيدات هو اثبات كفاءتها للكيميائيون المعينون بالتحليل فى اتجاه التأكيد على انها وسيلة مكتملة ومدعمة للطرق التقليدية المتاحة وليست بديلا لها .

نتوقع كذلك استخدام مكثف للاجسام المضادة وحيدة الأوجه وكذلك استخدام الاجهزة المختصة . استخدام التقييم المناعى يتطلب اجهزة بسيطة او لوحات الالوان خاصة فى الدول الاقل تقدما حيث ان هذه الدول تعاني نقصا فى الافراد المدربين وامكانيات التحليل بالمقارنة بالدول النامية . ومن ثم يصبح من المتوقع قبول التقييم المناعى نظرا لانخفاض التكلفة وسهولة اجراء العملية .

ولقد طورت طرق التقييم المناعى لتحليل توكسينات البكتريا من سلالات الباسيللس ثورينجينسس التى تستخدم لمكافحة الحشرات التابعة لرتب حرشقية الاجنحة وذات الجناحين (المرجع ١٥) . ومازالت تحت الاختبار والتطوير مع المبيدات ذات الجزئيات الناجمة من الاصول الحيوية . حيث ان هذه الجزئيات يصعب تقديرها بالطرق التقليدية مثل الكروماتوجرافى الغازى السائل ولكنها

تتلاءم تماما مع طرق التقييم المناعى . والطرق التكنولوجية الحيوية تسمح بادخال هذه التوكسينات فى النباتات وغيرها من الكائنات الحية . وستكون طريقة التقييم المناعى طريقة الاختبار للكشف عن هذه المركبات الجديدة وتقييم ضرر هذه الوسائل الحديثة .

مما لا شك فيه ان معامل التحليل مشغولة كثيرا بتقدير مستوى مخلفات الكيماويات الزراعية والمركبات الغريبة نظرا للحاجة الملحة من قبل العامة للتحكم فى مواصفات البيئة . ولسوء الحظ ان طرق التحليل الكلاسيكية مكلفة للغاية وتحتاج لوقت كبير ومحددة التطبيق فى عدد قليل من المعامل كما انها تتطلب اشخاص على درجة عالية من التدريب وتحتاج اجهزة عالية التطور . وعندما تصبح طريقة التقييم المناعى عملا روتينيا وسريعا وقليل التكاليف سنرى تزايد كبير فى تحليل عينات بيئية . وهذا التزايد مرهون بمدى اهتمام الوكالات المعنية بشئون البيئة بتطوير وتعميم اسلوب التقييم المناعى للكشف عن الملوثات المختلفة .

جدول (١) : الكيمائيات الزراعية التي طور لها طرق التقييم المناعي

المرجع	الطريقة	مضاد السموم المتعدد	حدود التقدير	المادة الكيميائية
4	RIA	P	66 pg	Abscisic acid
5	ELISA	P	13 pg	
6	RIA	M	4 pg	
7	ELISA	M	5 pg	
3	EMIT	P	5 ng	Aldicarb
2	RIA	P	700 pg	Aldrin
8	ELISA	P	0.5 ng	Aflatoxin
9	Fluorometric	P	100 pg	2-aminobenzimidazole
10	ELISA	P	215 pg	Atrazine
11	ELISA	P	9.6 ng	BAY SIR8514
9	Fluorometric	P	0.1 ng	Benomyl
12	RIA	P	1.25 ng	
13, 14	Immunodiffusi	P	1 ng	S- bioallethrin
٥٥	ELI SA	P	0.5 ng	Bacillus thuringiensis
15	EILISA	105 ng ^a	subs. kurstaki	
15	ELISA	P	220 ng ^a	subs. berliner
19	RIA	P	2 ng	2-(Chlorophenyl)- isovaleric acid
20	ELISA	P	0.1 ng	chlorsulfuron
21	---	---	---	Cypermethrin
22	RIA	P	13 ng ^a	2,4-D
3	EMIT	P	2.5 ng	
23	ELISA	P	20 ng	Diclofop-methyl
23	Flouorometric	P	10 ng	
2	RIA	P	150 pg	Dieldrin
3	EMIT	P	10 ng	
11	ELISA	P	3.9 ng	Diflubenzuron

(تابع جدول - ١)

المرجع	الطريقة	مضاد السموم المتعدد	حدود التقدير	المادة الكيميائية
7	ELISA	M	7 pg	Dihydrozeati n rilbocide
24	RIA	P	4 ng	Dimethylallyl- adenineriboside
24	RIA	P	1 ng	Dioxin
25	RIA	P	25 pg	
26	ELISA	M	1 ng	
26	RIA	P	2 pg	Gibberellic acid
27	ELISA	P	0.01 ug	Gypsy moth nuclear polyhedrosis virus
28	RIA	P	200 pg	
29	RIA	P	94 pg	IAA methyl ester
30	ELISA	P	3 pg	
31	RUA	M	94 og	
31	ELISA	M	94 pg	
7	ELISA	M	200 pg	
32	ELISA	P	0.2 ng	
33	ELISA	M	6-100 ppb	Iprodione
34	ELISA	M	6 ppb	Maleic hydrazide
35	ELISA	P	63 pg	
12	RIA	P	125 ng	Metalaxyl
36	ELISA	P	275 ng	Methyl-2-benzimi- dazole carbamate
37	ELISA	M	1 ug	Paraoxon
38	RIA	P	10 ng, 0.1 ng	
39	RIA	P	0.5 ng	Paraquat
40	ELISA	P	0.1 ng	
41	RIA	P	4 ng	
43	ELISA	P	7.8 ng	Parathion
44	RIA	P	20 ng	
44	ELISA	P	20 ng	
8	ELISA	P	2.5 ng	

المرجع	الطريقة	مضاد السموم المتعدد	حدود التقدير	المادة الكيميائية
11	ELISA	P	6.8 ng	Penfluron
21	---	---	---	Permethrin
8	ELISA	P	10 ng	Soluble soy
45	ELISA	M	---	Surflan
46	ELISA	P	4.8 ng	Terbutryn
47	ELISA	P	1 ng	Triadimefon
22	RIA	P	3.3 ng ^a	2, 4, 5-T
48	RIA	P	15 pg	Zeatin riboside
7		M	7 pg	
49	RIA	P	100 pg	Zeranol

^a Sensitivity expressed as 1/50.

جدول (٢) : قائمة جزئية بالمضادات الحيوية التي طور لها طرق التقييم المناعي .

مضاد السموم المتعدد

المرجع	الطريقة	والوحيد	حد التقدير	المضاد الحيوي
50	RIA	P	10 pg	Chloamphenicol
8	ELISA	P	5 ng	
8	ELISA	P	10 ng	Gentamicin
51	RIA	P	0.02 units	Hygromycin 8
8	ELISA	P	10 ng	Neomycin
52	---	---	---	Penicillin G
8	ELISA	P	10 ng	Sulfadimethoxine
8	ELISA	P	10 ng	Sulfamethazin
8	DELISA	P	10 ng	Tylosin

جدول (٣) : قائمة جزئية للمرضات النباتية التي طورت لها طرق التقييم المناعي .

المرجع	المسبب المرضي	المرض النباتي
53	Rhizoctonia	Brown Patch
53	Sclerotinia homoeocarpa	Dollar Spot
53	Phythium spp.	Pythium Blight
54		Tobacco Ringapote Virus

قائمة المراجع

1. B. D. Hammock and R. O. Mumma, ACS Symposium Series 136, 321-352 (1980).
2. J. J. Langone and H. VanVunakis, Res. commun. Chem. Pathol. pharmacol. 10, 163-171 (1975).
3. B. S. Ferguson, Sixth Int. congress of Pesticide Chemistry, Poster Session (1986).
4. E. W. Weiler, Planta 144, 255-263 (1979).
5. E. W. Weiler, Physiol. Plant. 54, 510-514 (1982).
6. R. Mertens, B. Deus-Neumann and E. W. Weiler, FEBS Lett., 160, 269-272 (1983).
7. Idetek, Inc., San Bruno, CA 94066 USA.
8. Granite Division - Environmental Diagnostics, Inc., Burlington, NC, USA.
9. H. R. Lukens, G. B. Williams, S. A. Levinson, W. B. Dandliker and K. Murayama, Environ. Sci. Technol. 11, 292 (1977).
10. S. J. Huber, Chemosphere 14, 1795-1803 (1985).
11. S. I. Wie and B. D. Hammock, J. Agric. Food Chem. 30, 949-957 (1982), 32, 1294-1301 (1984).
12. W. H. Newsome and J. B. Shields, J. Agric. Food Chem. 29, 220-222 (1981).
13. K. D. Wing, B. D. hammock and D. A. Wustner, J. Agric. Food chem. 26, 1328-1333 (1978).
14. K. D. Wing and B. D. Hammock, Experientia 35, 1619-1620 (1979).

15. S. I. Wie, B. D. Hammock, S. S. Gill, E. Crate, R. E. Andrews, Jr., R. M. Faust, L. A. Bulla, Jr. and C. H. Schaefer, *J. Appl. Bacteriol.* 57, 447-454 (1984).
16. S. I. Wie, R. E. Andrews, Jr., B. D. Hammock, R. Faust and L. A. Bulla, Jr., *Appl. Environ. Microbiol.* 43, 891-894 (1982).
17. P.Y.K. Cheung and B. D. hammock, *Current Microbiol.* 12, 121-126 (1985).
18. P.Y.K. Cheung and B. D. hammock, *Appl. Environ. Microbiol.*, in press.
19. M. M. kelley, E. W. Zahnouw, W. C. Peterson and S. T. Toy, *J. Agric. Good Chem.* 33, 962-965 (1985).
20. J. Ohnishi, Y. Nishikawa, Y. Suzuki, T. Matsuda and J. Miyalmoto, Sixth Int. Congress of Pesticide Chemistry, Poster Session (1986).
21. M. J. Wraith, E. J. Hitchings, A. P. Woodbridge, E. R. Cole and T. R. Roberts, Sixth Int. congress of Pesticide Chemistry, Poster Session (1986).
22. D. F. Rinder and J. R. Flecker, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 26, 375-380 (1981).
23. M. Schwalbe, E. Dorn and K. Beyerman, *J. Agric. Food Chem.* 32, 734-741 (1984).
24. W. DeCreef, N. Dekegel and R. Hjamers, *Arch. Internat. de Physiologie et Biochimie.* 88, B134-B135 (1980).
25. P. W. Albro, M. I. Luster, K. Chae, S. K. Chaudhary, G. Clark, L. D. Lawson, J. T. Corbett and J. D. McKinney. *toxicol. Appl. Pharmacol.* 50, 137-146 (1979).
26. E. W. Weiler and U. Wiczorek, *Planta* 152, 159-167 (1981).
27. M. Ma, J. K. Burkholder, R. E. Webb and H. T. Hsu, *J. Econ. Entomol.* 77, 637-540 (1984).
28. W. Pengelly and F. Meins, Jr., *Planta* 136, 173-180 (1977).
29. E. W. Weiler, *Planta* 153, 319-325 (1981).
30. E. W. Weiler, P. S. Jourdan and W. Conrad, *Planta*, 153, 561-571 (1981).
31. R. Mettens, J. Eberle, A. Arnscheidt and E.W. Weiler, *Planta* 166, 389-393 (1985).

32. W. H. Newsome and P. G. Collins, Sixth Int. Congress of Pesticide Chemistry Poster Session (1986).
33. Maryland Agric. Exp. Sta. Annual Report (1985) Regional Project NE-115.
34. R. O. Harrison, A. A. Brimfield, K. W. Hunter, Jr. and J. O. Nelson, Sixth Int. Congress of pesticide Chemistry, Poster Session (1986).
35. W. H. Newsome, *J. Agric. Food Chem.* 33, 528-530 (1985).
36. K. W. Hunter and D. E. Lenz, *Life Sci.* 30, 355-361 d(1982).
37. A. A. Brimfield, D. E. Lenz, C. Graham and K. W. Hunter, *J. Agric. Food Chem.* 33, 1237-1242 d(1985).
38. D. Fatori and W. M. Hunter, *Clin. Chim. Acta* 100, 81 (1980).
39. T. Levitt, *Proc. Analyt. Div. Chem. Soc.* 16, 72-76 (1979).
40. J. Van Emon, B. D. hammock and J. N. Sieber, *Anal. Chem.* 58, 1866-1873 (1986).
41. C. D. Ercegovich, R. P. Vallejo, R. R. Gettig, L. Woods, E. R. Bogus and R. O. Mumma, *J. Agric. Food Chem.* 29, 559-563 (1981).
42. R. P. Vallejo, E. R. Bogus and R. O. mumma, *J. Agric. Food Chem.* 30, 572-580 (1982).
43. A. Y. Al-Rubae, Ph. D. Thesis, The Pennsylvania State University (1978).
44. J. F. Brady, M. S. Thesis, The Pennsylvania State University (1984).
45. A. H. Kuniyuki and S. McCarthy, Sixth Int. Congress of Pesticide Chemistry, Poster Session (1986).
46. A. U. Humber and S. J. Hock, *J. Plant Dis. Prot.* 92, 147-156 (1985).
47. W. H. newsome, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 36, 9-14 (1986).
48. E. W. Weiler, *Planta* 149, 152-162 (1980).
49. J. P. Duchakel, *Ann. Rech. Veterinaires* 16, 93-97 (1985).
50. D. Arnold and A. Somogyl, *J. Assoc. Off. anal. Chem.* 68, 984-990 (1985).
51. M. A. Foglesong and D. S. LeFeber, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 65, 48-51 (1982).

52. P. Rohner and J. Nicolet, *J. Food Prot.* 48, 59-62 (1985).
53. AGRI-DIAGNOSTICS Assoc., cinnaminson, NJ, USA.
54. C. P. Romaine, S. R. Newhart and D. Anzola, *Phytopathol.* 71, 308-312 (1981).
55. J. Van Emon, J. N. Seiber and B. D. hammock, Sixth Int. Congress of Pesticide Chemistry Poster Session (1986).
56. M. Landerlaan, B. Watkins, R. Devivar and L. Stanker, Sixth int. Congress of pesticide Chemistry, Poster Session (1986).
57. P. W. Albro, K. Chae, M. Luster, J. D. McKinney, S. Chaudhary, G. Clark, J. Fawkes and J. Corbett, *Environ. Health Persp.* 20, 247 (1977).
58. B. D. Hammock, S. J. Gee, P. Y. K. Cheung, T. Miyamoto, M. H. Goodrow and J. N. seiber, Sixth Int. congress of Pesticide Chemistry, Poster Session (1986).