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 - 1* 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 الستربتومايسين 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 ٪ و٤٧ – 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 تترايسكلين ، 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 ميسيليوم 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- سلالة P66A من الفطر *Chaetomiym globosum* تخفض نمو الفطر الممرض 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 غير 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
$^{٦}١٠ \times ٢,٣$	Ea 273 ($3x10^5$)	صفر	صفر	٢	٣
$^{٦}١٠ \times ٢,٣$	Ea 273 ($4x10^5$)	صفر	٥	٥	٦
$^{٦}١٠ \times ٢,٣$	Ea 273 ($1,5x10^6$)	صفر	صفر	صفر	٢
$^{٦}١٠ \times ٢,٣$	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 الجزيئي	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

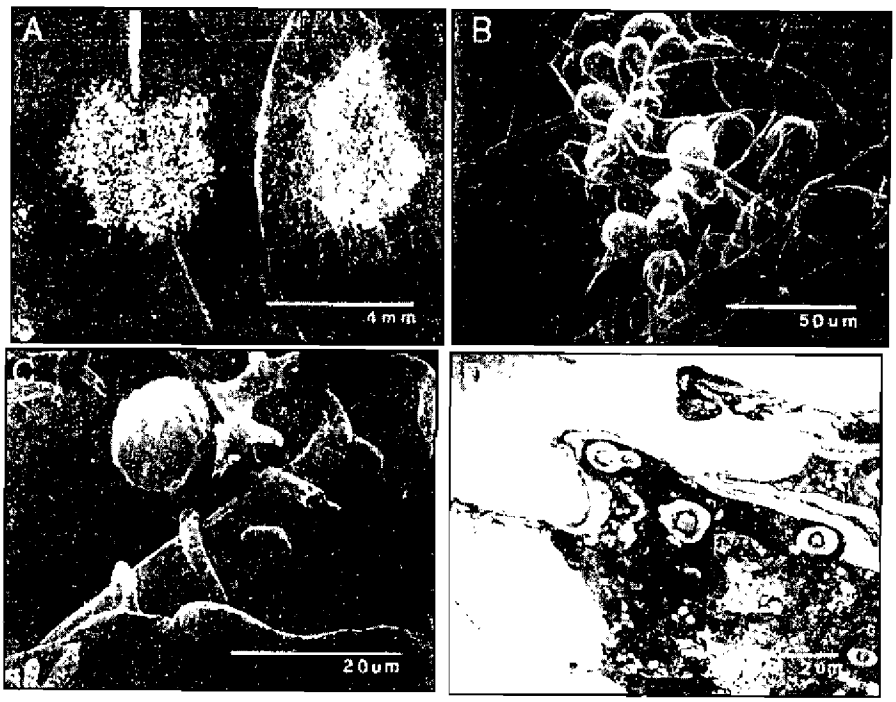
الفطر *Plasmopara viticola* وأمراض العنب المهمة الأخرى مثل أمراض البياض الدقيقي. هناك طرق أخرى فى مقاومة أمراض العنب، أكثر أماناً، هذه الطرق مثل استعمال مادة ال Triazole، Calcium polysulfide، والمعاملة بالحرارة فى الحقل، وكذلك استعمال الأشعة فوق البنفسجية.

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* بتركير 10^{7} 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 تركيز ١٠ x١٠ لكل مل من الفطر الممرض ترش بمعلق جراثيم الفطر المضاد *F.proliferatum* بتركيز ١٠٦ جرثومة مكروكونيدية/مل مع Tween 20 ٠,٠٢ ٪، 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 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

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 الصوبا 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 ١٠^٦ 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 ١٠^٦ 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 الملقوحة 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

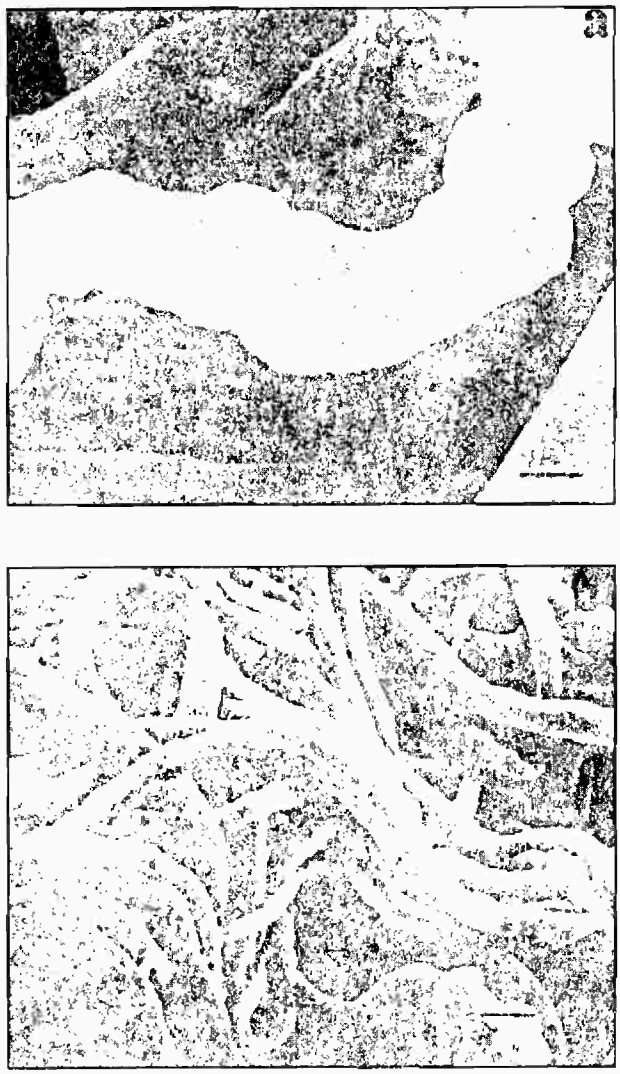
مقـــدمة:

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*.

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*.

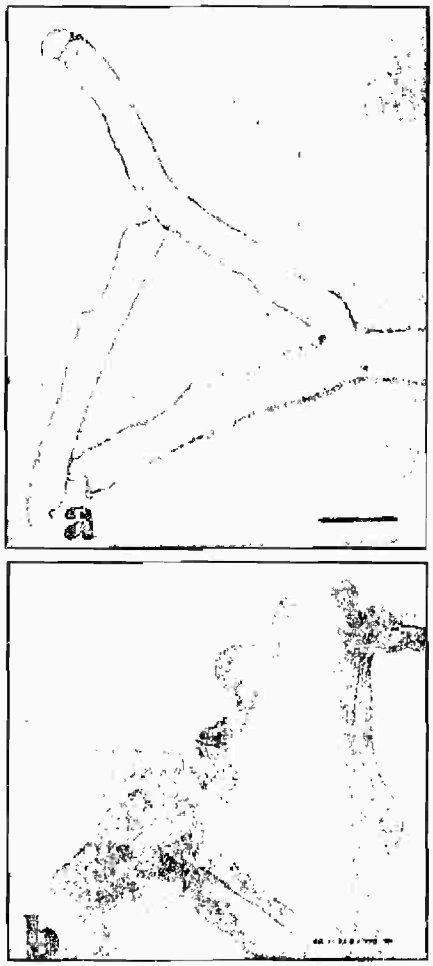


شكل رقم (٢٩) : تفاعل الفطر الممرض *M.laxa* مع الفطر المضاد *E.nigrum* .

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.

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 limona* ، *Citrus limon, Citrus aurantifolia* 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

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 10^{8} وحدة تكوين مستعمرات/مل، عندما ترش فوق المجموع الخضرى للأشجار التى رشت بمحلول البكتيريا الممرضة ذى التركيز 10^{8} 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 وفى 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.

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.

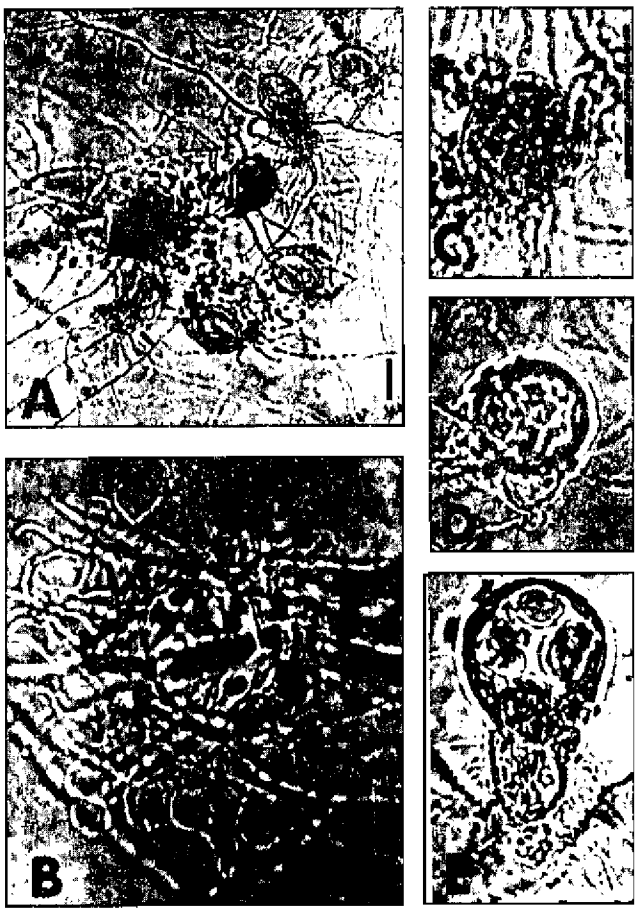
مقـــاومة المـــرض:

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 في 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



شكل (٣١) : صورة موضحة لتطفل الفطر *Pythium nunn* على تركيبات الأعضاء التناسلية للفطر *Phytophthora* sp.

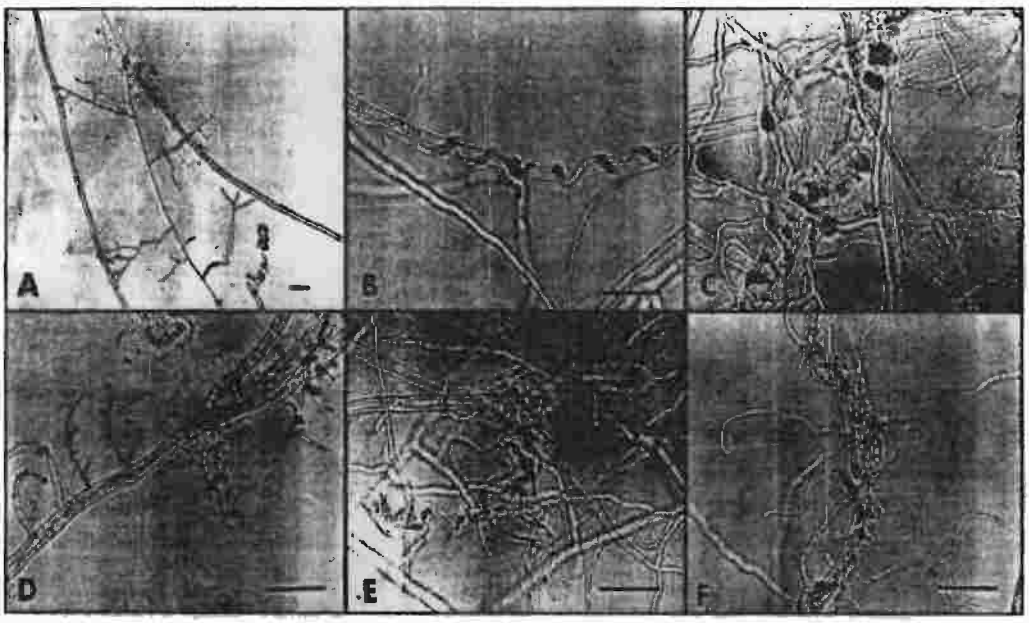
A و B = الأسبورانجيا للفطر *P.citrophthora* ملتفه عليها هيفات الفطر المضاد.

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.

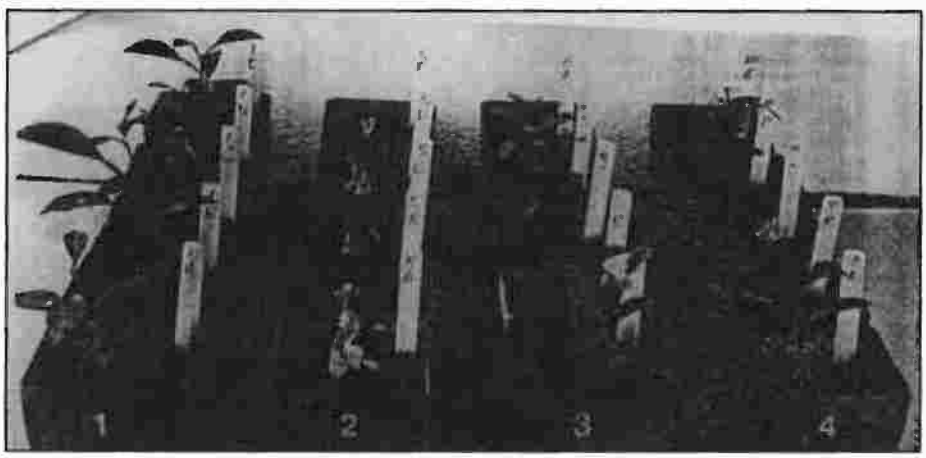
B : التفاف غير محكم لهيفات الفطر المضاد حول هيفات الفطر الممرض *P.parasitica* السلالة T593.

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.