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 التحديد، 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 نكروزز 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 ٢,٥ 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 $\times$ ^{4}١٠) بعد ١٨ يوماً من الرش بحيث تصل ١ $\times$ ^{4}١٠ جرثومة/ سم٢ فى حين أنه فى نباتات الكنترول يكون عدد الجراثيم ٢,٨ $\times$ ^{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

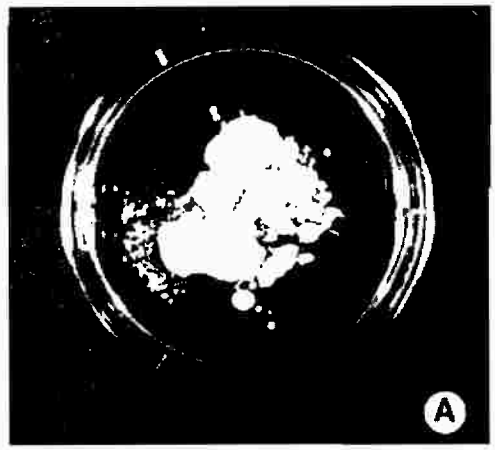
يكون نمو هاتين الخميرتين *T.pallescens* و *T.washingtonensis*، على بيئة الآجار متشابهما على درجة حرارة ١٥ – ٣٠° م، ولكن النمو ينخفض بشكل معنوى على درجة حرارة ٣° م. يكون أفضل نمو وتجرثم على بيئة المرق على حرارة ١٥– ٣٠° م ويتوقف النمو على حرارة ٣٠ – ٣٥° م. تنبت الجراثيم Ballistospores على درجة *pH* تتراوح 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).

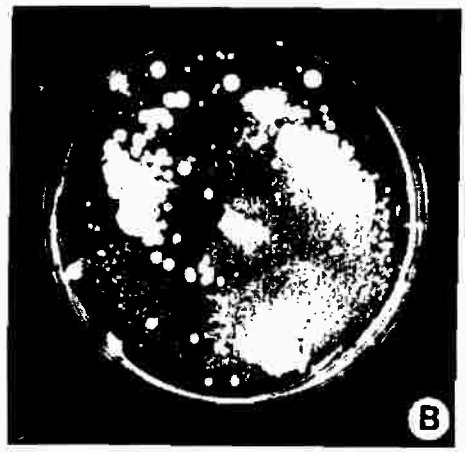
شكل رقم ٣٤ : فعالية الخميرة *T.pallescens* فى المقاومة الحيوية ضد مرض البياض الدقيقى فى الخيار.

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.

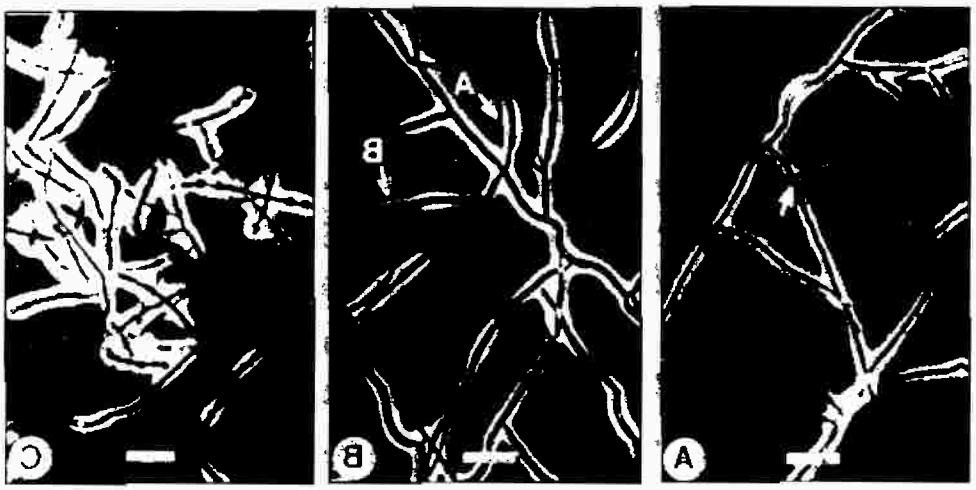




شكل (٣٥-أ) العلوى:

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.*

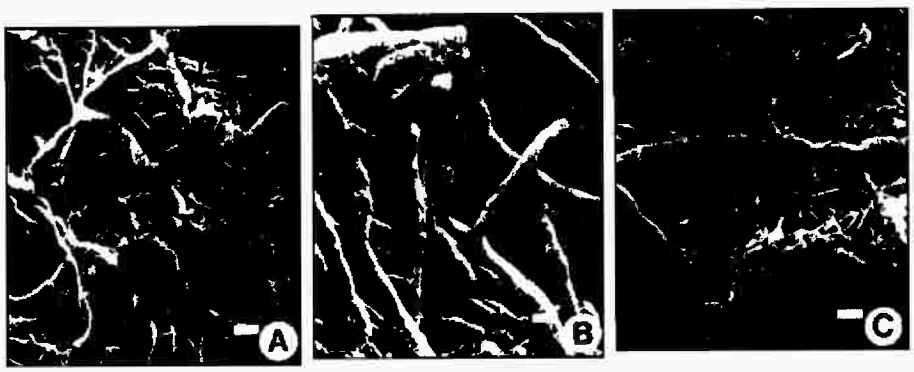
A : أجزاء هيفا حية مفككة ذات سيتوبلازم منكمش مفصول، بأجزاء من الهيفا مجوفة ذات حواجز فى الخميرة *T.pallescens* على بيئة PDA التفرع عند الأسهم.

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 بالعرق) 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 وتلوث 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، ١,٠ ٪ 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 واسع، 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 ليبفات 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.

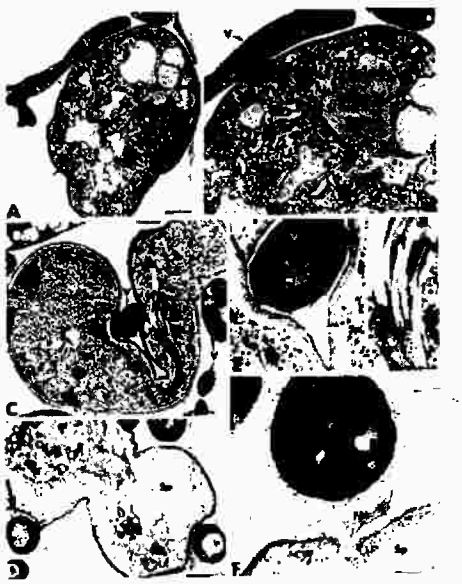
٢ – حدوث ضغط ميكانيكى وإفراز إنزيمات محللة لجدر خلية الفطر الممرض مثل إنزيم Chitinases.

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.



شكل (٣٧ أ) :

صورة بالميكروسكوب الإلكترونى للتفاعل بين أنسجة ورقة الخيار وفطر البياض الدقيقى (SP).

B + A . بعد ٢٤ ساعة أما F - C 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.

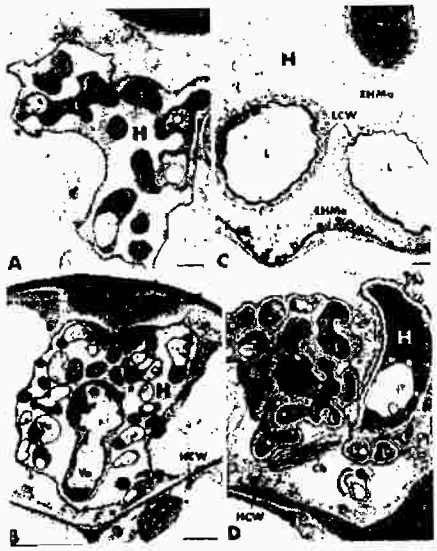
تكبير B ٥٠٠٠ مرة والمسطرة ٢ ملى مكرون.

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.