الفصل الأول

دراسة وتطور المقاومة الحيوية لأمراض النبات

تعريف المقاومة الحيوية:

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

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

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

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

١- حرق أو إزالة المخلفات (البقايا) النباتية.

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

٣- اتباع دورة زراعية مناسبة فى الحقول المختلفة.

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

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

تشمل المقاومة الحيوية للممرضات النباتية ثلاث قوى، وهى:

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

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

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

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

١- أن ينتج مضادات حيوية ضد الكائنات الممرضة.

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

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

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

طرق المقاومة الحيوية المستعملة سابقاً:

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

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

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

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

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

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

٢- تغيير ظروف التربة

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

٣- استعمال عوامل مساعدة في المقاومة الحيوية:

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

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

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

٤- استعمال النباتات الخادعة Decoy Crops

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

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

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

تفاعلات الكائنات الحية الدقيقة
Microorganisms Interactions

أولاً: التفاعل التطفلي Parasitic Interaction

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

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

يؤدى التفاعل التطفلى إلى:

١- زيادة فى شدة الاصابة.

٢- إنخفاض فى شدة الاصابة.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

ثانياً: التفاعل الرمي Saprophytic Interaction

أ- البقاء في التربة:

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

١- البقاء في صور ساكنة

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

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

٢- البقاء على حالة نشطة

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

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

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

ب- البقاء الترممي في أنسجة العائل الميتة في التربة:

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

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

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

جـ- البقاء الترممي في الأنسجة النباتية المصابة:

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

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

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

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

ثالثا: التضـــاد Antagonism

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

I: التضاد الحيوي Antibiosis

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

التضاد الحيوي والمقاومة الحيوية Antibiosis and Biological Control

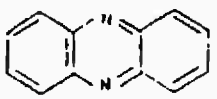
تعتبر ظاهرة التضاد الحيوى، من أهم الظواهر التى تستعمل فى المقاومة الحيوية لأمراض النبات، فهى تسبب تثبيط نمو الكائن الممرض أو تقضى عليه كلية أو أنها توقف إنبات الوحدات التكاثرية للكائن الممرض. تعتمد هذه الظاهرة فى المقاومة الحيوية على مقدرة إحدى الكائنات الدقيقة المضادة (الكائن الصديق) على إنتاج مضادات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

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

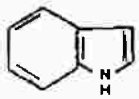
تؤثر الظروف الكيميائية والغذائية فى التربة على إنتاج المواد السامة الناتجة من التفاعلات الأيضية الغذائية للبكتيريا التى تصيب جذور النبات. تؤثر درجة الحموضة فى التربة، والأسمدة الكيماوية والمواد السليلوزية على نشاط البكتيريا الممرضة وعلى نوع المضاد الحيوى الناتج.

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

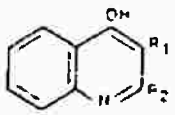
وجد أن بعض الأنواع البكتيرية تنتج ترياقات بكتيرية لاتؤثر إلا على الأنواع البكتيرية القريبة تقسيمياً. كان أول استعمال للبكتيريا فى المقاومة الحيوية هو استعمال البكتيريا *Agrobacterium radiobacter* لمقاومة مرض التدرن التاجى المتسبب عن البكتيريا *A. tumefaciens*. تنتج المقاومة هنا عن طريق إنتاج مضاد حيوى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



أ

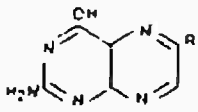


ب



جـ

د

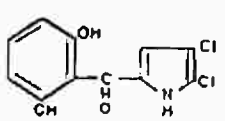


هـ

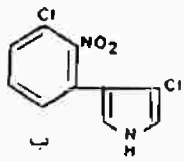
شكل (١ : أ) : بعض النماذج المهمة للمواد الثانوية الناجمة عن الأيض الغذائى للبكتيريا الوميضة من مجموعة Pseudomonals :

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

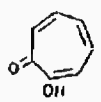
د – Phenylyrroles ، هـ – Pterines.



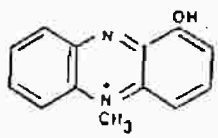
أ



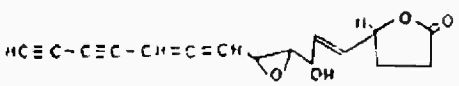
ب



جـ



د

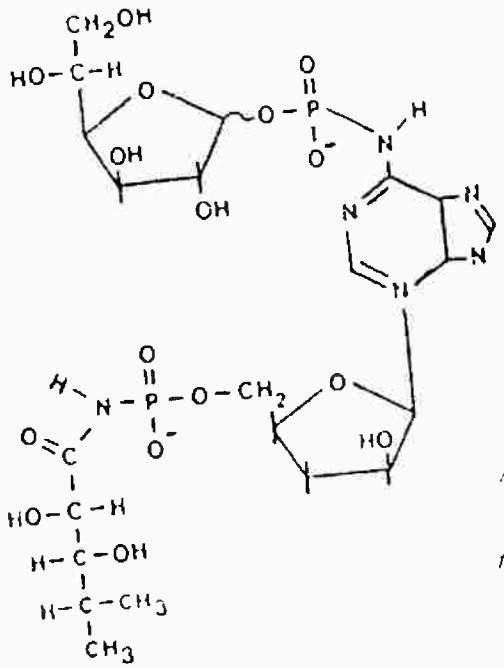


هـ

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

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

د – Pyocyanin ، هـ – Capacin.



شكل (٢) :

تركيب الترياق البكتيرى

Agrocin 84

المنتج عن النوع *Agrobac-terium rabiobacter*

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

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

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

٣ – *Scytalidium* Sp. يفرز المضاد الحيوى اسكيتاليدين ضد الفطر *Lentinus lepideus*.

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

أ- دور المضادات الحيوية في المقاومة الحيوية لأمراض النبات:

مقـــدمة:

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

المضادات الحيوية والتريقات البكتيرية Antibiotics And Bacteriocins

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

١- الأدلة الوراثية لدور المضادات الحيوية في المقاومة الحيوية :

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

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

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

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

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

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

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

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

الأدلة الوراثية لدور الترياقات البكتيرية في المقاومة الحيوية:

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

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

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

العلاقة بين التضاد الحيوي في المعمل والمقاومة الحيوية:

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

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

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

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

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

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

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

٣- ملاحظات علي الاختبارات المعملية:

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

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

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

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

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

٤- استعمال راشح المزرعة في إثبات التضاد الحيوي

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

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

٥- الكشف عن المضادات الحيوية في التربة

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

ب- مركبات غير المضادات الحيوية ودورها في المقاومة الحيوية

١- السايدروفورز Siderophores

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

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

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

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

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

١- لاتنتج الكائنات الممرضة سايدروفورز بنفسها.

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

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

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

التطبيقات العملية على السايدروفورز :

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

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

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

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

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

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

٢- المركبات المتطايرة Volatile Substances

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

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

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

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

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

أهم المركبات المتطايرة :

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

أهم الفطريات التي تنتج مركبات متطايرة :

Boletus varigatus، T. harzianum، Entrobacter cloacae

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

٣- الإنزيمـات Enzymes

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

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

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

٤- مواد سامة Poison Substances

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

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

٥- مطهرات سطحية حيوية Biosurfactants

مقدمة:

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

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

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

أ- دور الجراثيم الهدبية في الإصابة المرضية:

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

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

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

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

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

٣- أمراض اللفحة المتسببة عن *Phytophthora* sp.

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

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

ب- مقاومة الجراثيم الهدبية بالمطهرات السطحية الصناعية

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

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

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

٢- Nonionik = Ethylan CPX ، Spreadite, Triton x100

٣- Cationic = Cetrimide ، Deciquam 222 ، Hyamine 1622

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

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

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

جـ- مطهرات السطح الحيوية Biosurfactants

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

أما الأجناس الفطرية فهى *Torulopsis* , *Candida*

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

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

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

٣- تستعمل فى ميكانيكيات الدفاع ضد البكتيريا.

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

٥- تستعمل كمساعدات فى استعمار سطوح الأوراق.

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

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

ذ- الراهمنولبدز كمبيدات حيوية Rhamnolipids as Biocides

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

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

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

هـ- كفاءة الراهمنولبد فى المقاومة الحيوية:

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

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

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

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

طرق تغلب الكائن الممرض على ظاهرة التضاد

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

١- الهـــروب Escape

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

٢- المقاومـــة Resistance

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

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

2- *Cercosporella herpotrichoides*

3- *Ophiobolus graminis*

4- *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*

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

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

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

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

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

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

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

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

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

٣- التحـــمل Tolerance

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

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

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

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

II: التطفل الفطري Hyperparasitism = Mycoparasitism

مقدمة:

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

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

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

١- اختراق الهيفا مباشرة :

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

٢- التفاف هيفا المتطفل حول ميسيليوم الفطر العائل :

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

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

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

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

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

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

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

الأجناس الفطرية المستعملة في التطفل الفطري:

١- Trichoderma Species

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

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

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

يستعمل هذا الجنس فى مقاومة الأمراض الآتية:

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

٢- ذبول القطن والخيار المتسبب عن *Verticillium dahliae*

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

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

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

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

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

٢- Pythium nunn

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

1- *Pythium aphanidermatum* 3- *Phytophthora parasitica*

2- *R. solani* 4- *Phytophthora cinnamomi*

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

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

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

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

٣- Talaromyces flavus

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

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

Coniothyrium minitans – ٤

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

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

٥- Laetisaria arvalis

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

٦- Sporidesmium sclerotivorum

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

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

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

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

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

٧- Gliocladium sp.

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

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

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

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

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

٨- Penicillium vermiculatum

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

٩- Tetrasperma oligocladum

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

١٠- فطريات ثنائية المفعول

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

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

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

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

III: التحلل الفطري Lysis

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

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

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

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

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

ملاحظات عامة:

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

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

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

IV: المنافسة Competition

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

أ- التنافس بين الفطريات في التربة

يعتمد التنافس بين الفطريات فى التربة على عدة أمور منها:

١- قدرة التنافس الرمي للفطر Competitive of Saprophytic ability

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

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

٢- وجود جهاز إنزيمى جيد عند الفطر.

٣- قدرة الفطر على إفراز مضادات حيوية.

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

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

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

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

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

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

٢- الطاقة اللقاحية Inoculum potention

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

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

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

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

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

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

٣- الظـــروف البيئـــية Environmental Conditions

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

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

V: الكائنات الدقيقة التكافلية Symbiotic Microorganisms

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

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

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

١- بكتيريا العقد الجذرية

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

٢- الميكورهزا Mycorrhizae

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

٣- البكتيريا PGPR

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

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

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