الفصل الخامس

الاستعمال التجارى للكائنات الحية الدقيقة في المقاومة الحيوية

أولاً: إدخال الكائنات الحية الدقيقة في مجال المقاومة الحيوية
Introduce Microorganisms For Biological Control

مقـــدمة:

بدأت فكرة المقاومة الحيوية فى العشرينات من هذا القرن، حيث كانت تهتم بخفض الإصابة المرضية نتيجة إضافة المواد العضوية إلى التربة. إلا أن الاهتمام الكبير باستعمال الكائنات الحية الدقيقة فى المقاومة الحيوية لأمراض النبات بدأ منذ أوائل الستينيات من هذا القرن، حيث كانت تضاف الكائنات الحية الدقيقة إلى التربة المعقمة أو غير المعقمة فى التجارب المعملية، وفى السنوات الأخيرة ظهرت مبيدات حيوية Biocide تستعمل على نطاق تجارى فى المقاومة الحيوية.

مما يعمق اهتمام العلماء فى المقاومة الحيوية لمسببات أمراض النبات، النداءات التى تدعو لتقليل الاعتماد على المبيدات الكيماوية فى الزراعة، كما أن هناك ضرورة كبيرة للمقاومة الحيوية، خاصة فى الأمراض التى يصعب مقاومتها بالمبيدات الكيماوية من ناحية عملية أو اقتصادية. مثلاً لم تكن هناك مقاومة عملية أو كيميائية اقتصادية لمقاومة مرض التدرن التاجى المتسبب عن البكتيريا *Agrobacterium tumefaciens*، حتى أمكن إستعمال البكتيريا *A. radiobacter* K-84 للمقاومة الحيوية لهذا المرض كذلك لم تكن هناك طرق مقاومة كيميائية لمقاومة البكتيريا مكونة نواة الجليد Icu-nucleation إلا باستعمال البكتيريا المضادة لتكوين الجليد Ice-minus، وذلك لتخفيف أضرار الثلج على البطاطس. أحياناً يمكن تبرير إستعمال المقاومة الحيوية على أساس كفاءتها فى تخفيف الأضرار دون النظر إلى التكاليف الاقتصادية.

إن تعمق الاهتمام بالمقاومة الحيوية باستعمال الكائنات الحية الدقيقة، هو أيضا استجابة لتوفر وسائل وأدوات تكنولوجية حديثة ملائمة خاصة للكائنات الحية الدقيقة. فيما عدا

النباتات المقاومة للأمراض، فإن عوامل المقاومة الحيوية المتاحة للاستعمال ضد أمراض النبات ومعظم النيماتودا هى كائنات حية دقيقة. زيادة على ذلك فإن النباتات والكائنات الحية الدقيقة يمكن الآن أن تعامل معاملة خاصة لتعطى الميكانزم نفسه فى المقاومة الحيوية، كما هو الحال بإستعمال جين Bt لإنتاج Delta endotoxin المنقول من البكتيريا *Bacillus thuringiensis* إلى النباتات المقاومة لبعض الحشرات. يمكن الآن التفكير فى الكائنات الحية الدقيقة ذات الكفاءة فى تثبيط الكائنات الممرضة كمصدر عال للجينات؛ لادخالها فى مقاومة الأمراض.

يوافق معظم الباحثين على أن مقاومة الكائنات الممرضة بواسطة الأراضى الكابحة، الدورة الزراعية، وتحسين تأثير المادة العضوية، كلها مبنية على استغلال أو ادارة التجمعات الطبيعية للكائنات الحية الدقيقة لمقاومة الأمراض والنيماتودا ، وهى بالتالى أحسن الأمثلة فى المقاومة الحيوية لأمراض النباتات بالكائنات الحية الدقيقة. إن الاصطلاحات مثل General suppression، و Antagonistic potential للتربة، تستعمل لوصف المقاومة الحيوية للكائنات الممرضة بواسطة التجمعات الطبيعية للكائنات الحية الدقيقة فى التربة. زيادة على ذلك، فإن المقاومة الحيوية بواسطة الكائنات المضادة المستوطنة التربة، عادة لاتحتاج زيادة فى التكاليف، عدا عن تكاليف إجراءات الإدارة المطلوبة لابتداء أو الاستفادة من المقاومة.لغاية سنة ١٩٩٧ فإن الكائنات المضادة المستوطنة التربة لم يطرأ عليها أو تضخع لإشراف منظم. كذلك أيضاً ، فإن هناك حدوداً لمعرفتنا فى كيفية استعمال هذه التجمعات الطبيعية للكائنات الحية الدقيقة، لذلك فان المقاومة الحيوية للكائنات الممرضة النباتية سوف تعتمد أكثر فأكثر على ادخال واستعمال الكائنات الحية الدقيقة. وعلى العكس مما هو شائع، فإن عوامل المقاومة الحيوية الميكروبية المدخلة إلى التربة، لاتميل إلى البقاء الدائم حيث لاتتوطد طبيعياً ولاتبقى فى تجمعات أكبر مما يحدث لها طبيعياً ، لذلك يجب إضافتها باستمرار إلى التربة لكى نضمن مقاومة حيوية ناجحة. إن معظم هذه الكائنات الحية يجب أن تضاف مرة بعد أخرى حيث ومتى يحتاج إليها. يمكن القول بأن هذه الكائنات الحية الدقيقة المستعملة فى المقاومة الحيوية، عبارة عن مبيدات آفات حيوية، فيجب أن تطبق عليها شروط السلامة والأمان التى تطبق على المبيدات الكيماوية.

المقاومة الحيوية بإدخال الكائنات الحية الدقيقة مرة واحدة أو على فترات

هناك بعض الأمثلة على المقاومة الحيوية لأمراض النبات التى تظهر نتائجها بعد انطلاق لقاح عامل المقاومة الحيوية المدخل إلى التربة مرة واحدة. من هذه الأمثلة مرض القشرة السوداء على المجموع الخضرى لنبات المطاط المتسبب عن *Phyllachora huberi*، والذى ذكر على أنه يصبح فى حالة توقف وتثبيط بعد إضافة المتطلفات الفطرية *Cylindos-porum concentricum* و *Dicyma pulvinata*. كذلك المقاومة الحيوية للفطر *Sclerotina minor* بالمتطفل *Sporidesmium sclerotivorum*، على زراعات الخس فى أمريكا، هو مثال آخر لتثبيط تجمعات الكائن الممرض النباتى لأكثر من موسم نمو واحد، وذلك بعد إدخال الفطر المضاد مرة واحدة إلى التربة الطبيعية. وعلى أية حال فإن أفضل مقاومة حيوية للفطرية المذكورين سابقاً فى حقول الخس، وقد تم الحصول عليها باستعمال الفطر المضاد على فترات منتظمة، عنه فى حالة استعماله مرة واحدة. إن كلا المثالين يتلائم جيداً مع الاعتبار الذى يسمى Augmentation (الزيادة التراكمية) والذى يفضل انطلاق الأعداء الطبيعيين للآفة من الخارج على فترات منتظمة.

هناك أمثلة أخرى كثيرة للمقاومة الحيوية باستعمال المتطفلات الفطرية Mycopara-sites، قد درست، ولكن قليلاً منها يمتلك خاصية البقاء الذاتى بعد انطلاقة فى الحقنة الأولى. حتى فى الفطرين اللذين درس تطفلهما دراسة وافية، فإن *Conithyrium minitans* الذى يستعمل لاستبعاد سكلوروشيات الفطر الممرض *S. sclerotiorum*، والفطر *Ampelomyces quisqualis* الذى يستعمل لكبح جماح فطريات البياض الدقيقى (من حيث إنتاج اللقاح أو بقاءه حياً)، فإن هذين المتطفلين يجب أن يستعملا مرة بعد أخرى لكى يبقى تأثيرهما فعالاً. أما المتطفلات الفطرية مثل *Sphaerellopsis filum* و *Scytalidium uredinicola*، فإنها تتواجد طبيعياً وبشكل دائم على البثرات التيليتية للفطر *Cronartium strobilinum* على نبات البلوط وعلى التدرنات الاسيدية للفطر *C. quercuum* f.sp. *fusiforme* على الصنوبر، بالترتيب. أما الفطر *Tuberculin maxima*، فإنه يتواجد على شقوق بثرات الصدأ *Cronar-tium ribicola* على الصنوبر الأبيض ولايوجد أى دليل يؤدى إلى القول بأن مستويات تواجد هذه الفطريات طبيعياً يكون مرتفعاً بشكل معنوى دون إعادة تكرار استعمال هذه المتطفلات الفطرية.

التدرن التاجى المتسبب عن البكتيريا *Agrobacterium tumefaciens*، يقاوم بإضافة البكتيريا المتطفلة *A. radiobacter* strain k-84 مرة واحدة على الجذور العارية للغراس المنقولة، مثل، الخوخ، اللوز، الورد والتفاح، وبعض النباتات الأخرى القابلة للإصابة سواء نباتات زينة أو أشجار فاكهة، قبل زراعتها. وبالمثل فإن عفن جذر الصنوبر يقاوم بإضافة جراثيم *Phlebia gigantea* مرة واحدة إلى سطوح القارومات المقطوعة حديثاً من الصنوبريات. فى كلتا الحالتين فإن المقاومة الحيوية هى السائدة فى النباتات المعاملة ولكن لايوجد دليل على أن عوامل المقاومة الحيوية الداخلة تنتشر إلى الأشجار غير المعاملة أو القارومات المقطوعة، مع أن الأشجار غير المعاملة أو القارومات يمكن أن تستعمر بواسطة اللقاح أو السلالات التى تحدث طبيعياً من هذه الأنواع المستعملة نفسها فى المقاومة الحيوية.

هل معاملة النباتات مرة واحدة بالكائنات الحية الدقيقة المضادة لمقاومة أمراض النبات متشابهة مع استعمال الأعداء الطبيعين مرة واحدة لمقاومة الحشرات أو الأعشاب؟؟. الإختلاف يكون هنا بعد حقن النبات، فإن الكائنات الحية الدقيقة تنتشر فوق و/أو فى النبات أو فى أجزاء النبات المحقونة، بينما الأعداء الطبيعين للحشرة أو للحشائش، فإنها تنتشر فوق مساحة كبيرة من الحقل. والإجابة العملية لهذا السؤال تظهر من سلوك وزارة الزراعة الأمريكية، حيث إن وكالة الوقاية الحكومية (EPA) تعامل الكائنات الحية الدقيقة التى تستعمر النبات أو أجزاء النبات على أنها مبيدات آفات ميكروبية Microbial Pesticides وتنظمها وتشرف عليها وكالة معينة. وكما سيأتى ذكره، فإن هذه الوكالة تنظر إلى الكائنات الحية الدقيقة المضادة كمبيدات آفات، هذه الوكالة تضع تقييداً كبيراً للاستعمالات الواسعة للكائنات الحية الدقيقة فى المقاومة الحيوية. إن الأمثلة على المقاومة الحيوية للآفات الحشرية والأعشاب بالكائنات الحية الدقيقة قليلة الاستعمال. ابتداءً من سنة ١٩٨٧ كانت هناك أربعة أمثلة ناجحة ضد الآفات الحشرية واثنان ضد الأعشاب الضارة، بالمقارنة مع استعمال ٤٢١ حشرة لمقاومة الحشرات و ١١٣ حشرة لمقاومة الحشائش.

المقاومة الحيوية بإدخال الكائنات المضادة بصفة متكررة

يبدو واضحاً أن المقاومة الحيوية الفعالة للكائنات الممرضة النباتية، بإدخال الكائنات الحية الدقيقة، سوف تعتمد على إضافة عوامل المقاومة الحيوية، حيث ومتى يحتاج إليها فى

مقاومة الكائن الممرض المستهدف. إن الوقت المناسب لانطلاق الأعداد الهائلة من الكائن المستعمل فى المقاومة ومقدرته على الزيادة، هى خطوات ضرورية بشكل أساسى كوسيلة لتأسيس وبقاء هذه الكائنات المضادة التى أختيرت بدقة أو تكشفت خلال التحورات الجينية لتتكيف مع المكان والظروف المناسبة. ليس هناك شك فى أن ازدياد كفاءة هذه الطريقة قد ولدت نتيجة الانطلاقة الجديدة فى الأبحاث فى جميع أنحاء العالم على مئات الأفراد والأنواع وتحت الأنواع والسلالات، التى أظهرت تضاداً فى التجارب المعملية والحقلية ضد كائنات ممرضة نباتية، والتى إتخذت كوسيلة فى المقاومة الحيوية سواء ضد النيماتودا أو الفطريات.

هناك سؤال مهم، وهو على الرغم من التجارب العلمية العديدة المذكورة فى المراجع العلمية على المقاومة الحيوية لأمراض النبات بالفطريات المضادة التى تضاف باستمرار كلما لزم الأمر، إلا أنه فى الحقيقة، هناك أعداد قليلة من الكائنات الحية الدقيقة التى تستعمل فعلاً فى المقاومة الحيوية لأمراض النبات؟؟

للإجابة عن هذا السؤال ذكر Baker سنة ١٩٨٦ أنه لكى يكون هناك استعمال واسع للكائن الحى فى المقاومة الحيوية، يجب أن يكون هناك إلمام شامل عن ميكانيكية المقاومة الحيوية التى يعتمد عليها الكائن المضاد وكفاءتها ومردودها الاقتصادى بالنسبة لطرق المقاومة الأخرى. هناك سبب آخر هو عدم الإلمام التام بالظروف البيئية المناسبة لجميع الكائنات، التى تعطى نجاحاً فى المقاومة الحيوية فى المعمل، ولم تستعمل على نطاق واسع فى الطبيعة. كذلك فإن الباحث يستطيع الحصول على نتائج معملية ناجحة فى المقاومة الحيوية لبعض الممرضات النباتية، إلا أن هذا النجاح يتأخر تطبيقه أو يمنع استعماله سواء لأسباب تنظيمية حكومية أو تطبيقية فى الحقل، أو للنظر إلى أو اعتبار الكائنات التى تستعمل فى المقاومة كأنها مواد كيماوية، يجب تطبيق الشروط نفسها التى تطبق على المواد الكيماوية قبل استعمالها.

هل الكائنات الدقيقة المضادة نماذج كيماوية أو حيوية ؟

إن معاملة الكائنات الدقيقة التى تستعمل فى مقاومة الآفات أو الأمراض كمعاملة المبيدات الكيماوية وتفضيل ذلك على إعتبارها نماذج كائنات حية، يبعدها عن الوضع

المناسب لها. إن هذا الاعتبار كان له أساس إنطلق منه وبنى عليه، هذا الأساس هو منتجات البكتيريا *Bacillus thuringiensis* والذى يسمى (Bt). إن مادة الـ Bt أعطت نجاحاً رائعاً فى مقاومة الحشرات، الا أن هذه المادة عليها بعض المآخذ من ناحية صحية مما سبب النظرة اليها كأنها مواد كيماوية، ولكن من المحتمل أن هذا سوف لايظل قياساً فى المستقبل بالنسبة للمقاومة بالكائنات الدقيقة كذلك فان ال Bt تعمل كمادة حية أو ميتة.

إن النظر إلى الكائنات الحية الدقيقة وكأنها كيماويات له ما يدعمه إلى حد ما، وذلك للأسباب الآتية:

١- عند إضافة هذه الكائنات باستمرار، عادة ما تستعمل فى تركيبات ومعها مواد مساعدة.

٢- تضاف هذه المواد أثناء الإستعمال بأجهزة مشابهة، إن لم تكن مطابقة لتلك التى تستعمل مع الكيماويات.

٣- هناك عامل آخر يدعم هذه النظرية هو الاهتمام والتأكيد على فعل المضادات الحيوية المنتجة بواسطة الكائنات الحية الدقيقة، والتى تعتمد عليها ميكانيكية المقاومة الحيوية.

هناك كثير من طرق المقاومة الحيوية لاتعتمد على هذه النقاط الثلاثة المذكورة سابقاً، مثل المقاومة الطبيعية فى العائل أو المقاومة المكتسبة، والتى يمكن أن تفسر على أساس أنها ميكانيكية كيماوية، وعلى الرغم من ذلك فإن الكائنات المضادة هى فقط التى تسمى مبيدات آفات حيوية Biopesticides.

هناك اختلاف كبير بين المنتج الطبيعى المستخلص من الكائن الدقيق (أو النبات) والمضاف مباشرة كمادة مبيدة للآفات، والمنتج الفعال حيوياً المتكون سواء عن طريق الجينات أو المصنع بطريق حيوى فى الخلايا أو أنسجة الكائن المستعمل فى المقاومة الحيوية، والذى يتفاعل مع الكائن الممرض النباتى. إن البكتيريا *Pseudomonas fluorescens* سلالة 2-79 مثبطة للمرض الماحق فى القمح المستبب عن الفطر *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* فى منطقة جذر القمح؛ وذلك لقدرتها على إنتاج مضاد حيوى Phenazine-1-Carboxylate. ولقد ثبت فى كثير من التجارب أن هذه السلالة تثبت نفسها فى التربة كأنها كائن دقيق داخل فى منطقة الرايزوسفير للقمح فى طور الثلاثة أوراق، وتنتج حوالى ٥٥-٨٠ ملغ من المضاد الحيوى Phenazine فى كل هكتار. حتى إذا كان إنتاج

المضاد الحيوى زيادة على ذلك عدة أضعاف، والذى دائماً يؤكد زيادة فعالية المقاومة الحيوية. إن كمية المضاد الحيوى المفرز، مهما ازدادت فإنها ستبقى أقل من نصف أو ربع المادة الكيماوية Triadimefon (Baytan) المستعملة كمعاملة بذور لمقاومة المرض. الكائنات الدقيقة التى تعطى كيماويات، أكثر وفراً من الناحية الاقتصادية بالمقارنة مع ما يدفعه المزارع عند استعمال مبيدات الآفات سواء بالنسبة للتغطية الجزئية أو الشاملة للنبات.

إن إحدى الاعتقادات الخاطئة والتى تنظر إلى الكائنات الحية المستعملة فى المقاومة الحيوية وكأنها كيماويات وليست مواد حية، خاصة إذا كانت السلالة المستعملة تعمل ضد مرض نباتى واحد أو عدة أمراض على المحصول نفسه أو محاصيل أخرى أو إذا دخلت فى المقاومة الشاملة مثل الكيماويات. إن كثيراً مما يسمى تقلب عوامل المقاومة الحيوية الميكروبية مبنى على أساس أن السلالة لاتعمل فى أى مكان تخضع فيه للتجربة. هناك بعض الأمور الغريبة التى تحدث فى المقاومة الحيوية للفطر *Pythium* مسبب مرض السقوط المفاجىء لنبات الحمص؛ حيث تستعمل البكتيريا الوميضة المتحصل عليها من منطقة الجذر فى القمح وليس من جذور البقوليات. فى حين أنه فى معظم الحالات تكون السلالات أكثر تخصصاً بنبات معين أو تربة معينة.

بالنسبة لأصناف المحصول المقاومة والتى تعامل كلية ببرامج المقاومة الحيوية، فإن جينات المقاومة للمرض، يمكن أن يكون عملها أكثر شمولاً وفى مدى متسع من الظروف البيئية والتى تكون مناسبة للنبات القابل للإصابة والكائن الممرض المستهدف. ولكن إلى حد نموذجى فإن هذه الجينات تنتشر فى أصناف كثيرة مختلفة من المحصول (كما هو ضرورى) لتناسب الظروف البيئية المختلفة.

إن الكفاءة الحقيقية للمقاومة الحيوية للميكروبات الممرضة النباتية، سوف تكون ذات فائدة فى الاستعمال، وذلك عند استعمال عدة سلالات متلائمة محلياً لكل مرض أو لكل محصول، ومن المحتمل لكل نوع تربة حيث تكون ممرضات الجذور مستهدفة، أو لكل مناخ حيث تكون ممرضات المجموع الخضرى مستهدفة. إن المقاومة الحيوية لمرض التدرن التاجى تعتبر استثناءً واضحاً، حيث يمكن الحصول على هذه المقاومة باستعمال سلالة K-84 من *A. radiobacter* فى ظروف بيئية مختلفة. وعلى العكس من ذلك فإن المقاومة الحيوية للمرض الماحق فى القمح Take-all ، باستعمال أنواع من البكتيريا الوميضة *Pseudomo-*

nas، يتطلب استعمال سلالات مختلفة من البكتيريا لأنواع الأراضى المختلفة. ولقد تبين فى التجارب أنه عند استعمال سلالات من طفرات Isogeneic بعضها قادر على إنتاج مادة الـ Phenazine (Phz^+) وبعضها غير قادر على إفراز هذه المادة (Phz^-)، فتبين أن نشاط السلالات الموجبة فى المقاومة الحيوية، يتناسب عكسياً مع النسبة المئوية لكل من الطمى، السلت، الحموضة القابلة للتعادل، المحتوى من الحديد والمنجنيز، المادة العضوية، الكربون الكلى والنيتروجين الكلى، وتتناسب إيجابياً مع النسبة المئوية للرمل، pH التربة، كبريت الكبريتات، نيتروجين الأمونيا، الصوديوم والزنك فى التربة. أما البكتيريا *A. radiobacter* K-84 ذات العلاقة القريبة جداً من المسبب المرضى *A. tumefaciens*، فإنها تضاف إلى الجروح مباشرة على أطراف الجذور العارية فى ساحة العدوى، وهذه من المتوقع أنها تعمل مثل أى مواد كيماوية أخرى تضاف للتربة لكى تزيد من نمو النبات العائل، بينما البكتيريا الوميضة *P. fluorescens* سلالة 79-2، عند مقارنتها مع البكتيريا الأولى نجد أن البكتيريا الأخيرة يجب أن تثبت نفسها فى منطقة الجذر (الرايزوسفير) منذ حقن البذور ونموها فى التربة بالإضافة إلى وجودها حول الجذر، فمن المتوقع أنها تكون أكثر حساسية للبيئة ولظروف التربة. إن اكتشاف الميكانيكية المتحكم بها وراثياً فى الكائنات الحية المستعملة فى المقاومة الحيوية سوف يحدث علاقة وإتصالاً قوياً بين الجذر وعامل المقاومة الحيوية (الكائن الحى الدقيق) وهذه العلاقة يمكن أن تنعكس إما فى الجذر أو فى عامل المقاومة الحيوية أو فى كليهما، وهذا سوف يفتح الطرق لكثير من التحسن فى المقاومة الحيوية للممرضات الجذرية، وهذا يعنى تقليل تأثير عوامل التربة التى تحد من كفاءة المقاومة الحيوية.

متطلبات تسجيل عوامل المقاومة الحيوية

تعتبر الولايات المتحدة الأمريكية، هى أولى بلاد العالم التى بدأت فى تسجيل عوامل المقاومة الحيوية، وفرض شروط خاصة فى هذه المواد، قبل طرحها فى الأسواق وتداولها، وتقارنها مع المبيدات الكيماوية، وذلك تجنباً لأية أضرار تلحق بالبيئة أو الإنسان. فى الولايات المتحدة وحسب القانون الذى وضعته (FIFRA) كل حرف اختصار للكلمات الآتية: Federal Insecticide, Fungicide and Rodenticide Act التى تدار بواسطة EPA والتى تعنى Environmental Protection Agency، فإن الكائنات الحية الدقيقة التى تدخل فى

مقاومة الآفات، إذا كانت سوف تدخل لمسافة أكبر من ١٠ أكار (٣,٩ هكتار) يجب أن تحصل على تصريح استعمال يسمى Experimental Use Permit (EUP) والمسجل فى القانون الفيدرالى رقم ٣٩ الفقرة ١١٣٠٦ . ويجب أن يتم تسجيل هذه الكائنات الحية الدقيقة كأنها مبيدات آفات ميكروبية Microbial Pesticide وذلك قبل عرضها للبيع. مثل هذه المتطلبات موجودة في أوروبا. هناك حوالى أربعة وعشرون عامل مقاومة حيوية ميكروبية شائعة الاستعمال ومسجلة فى الولايات المتحدة وتستعمل ضد أمراض. النبات وسوف نتكلم عن هذا بالتفصيل فى آخر هذا الفصل.

منذ سنة ١٩٤٧ لغاية ١٩٩٥ تم تسجيل ٢٤ كائناً حياً دقيقاً فى الولايات المتحدة لجميع أعمال المقاومة الحيوية للآفات، وهذا التاريخ الذى بدأت فيه الـ FIFRA فى العمل، وهناك أعداد تقارب هذا العدد من الكائنات الحية الدقيقة قد سجلت فى مناطق أخرى من العالم. إن عملية تسجيل كائن حى دقيق، تحتاج إلى القيام بمئات التجارب على عوامل المقاومة الحيوية المرشحة لذلك، حتى نصل إلى الكائن الحى ذى الكفاءة العالية، وتحديد المرض أو النيماتودا المتخصص لها ويقاومها، وكذلك نوع النبات الذى يمكن وقايته من الكائن الممرض و/أو الظروف البيئية التى يعمل تحت تأثيرها الكائن المسجل.

مصفاة الفايفرا FIFRA Filter

من القوانين المنظمة لعمليات تسجيل عوامل المقاومة الحيوية، والتى تتبعها الفايفرا، هى التصفية. تبدأ هذه العملية حيث تستعمل أعداد كبيرة من الكائنات الدقيقة، التى أثبتت التجارب الأولية المعملية أن فيها نوعاً من المقاومة الحيوية، ويجرى عليها عمليات تصفية، بغض النظر عن التكاليف المالية وذلك بتجربتها على أعداد كثيرة من الأمراض، وتحت ظروف بيئية مختلفة وذلك ليثبت مدى فائدتها للزراعة والمجتمع، إذا ما استعملت على نطاق تجارى. ثم بعد ذلك تؤخذ الكائنات التى أثبتت جدارتها وتهمل الباقية، وهذا ما يسمى بالتصفية.

أما تسجيل عامل المقاومة الحيوية للاستعمالات التجارية يتطلب اختبارات رسمية لمعرفة مدى تأثير هذه المادة، لو أخذت بالفم أو عن طريق الجلد أو العين أو الجهاز التنفسى، وللإجراءات الصحية الأخرى تستعمل الحيوانات والأسماك. إذا كانت نتائج المرحلة الأولى

لاتظهر تأثيرات سيئة وأن عامل المقاومة الحيوية غير ممرض للنبات، عادة لايحتاج إلى اختبارات أخرى، ولكن الأمر يتطلب تصفية ثانية وهو الحصول على معلومات إضافية أخرى نتيجة التجارب الواسعة فى الحقل. أما التصفية الثالثة، فهذه تتطلب بعض المعلومات الأخرى الضرورية من حيث بعض الصفات البيولوجية. هذه المتطلبات تكون أقل مما هو مطلوب لمبيدات الآفات الكيماوية، وأن طول الوقت اللازم لكى يتم التسجيل، يكون أقل كثيراً مما يتطلبه المبيد الكيماوى بعد ذلك يخضع عامل المقاومة الحيوية إلى اختبارات معملية كثيرة تكلف كثيراً من الجهد والمال، وإذا ثبتت إيجابيته فى جميع هذه التجارب يوافق على تسجيله كمبيد حيوى ويسمح بتداوله فى الأسواق.

الفـا. التسـجيل Avoidance of Registration

هناك على الأقل ثلاث طرق فى الولات المتحدة، والتى بواسطتها يمكن للكائن الدقيق أن يستعمل فى مقاومة لآفات دون تصريح من الـ EUP ودون تسجيل. هذه الطرق هى:

١- أن يكون الكائن الدقيق (عامل المقاومة الحيوية) من السهل نقله بالحشرات أو النيماتودا.

٢- أن يكون عامل المقاومة الحيوية، موجوداً ومستوطناً فى التربة، كما فى حالة الكائنات التى تعيش داخل بذور الحشائش أو فى بقايات النبات، أو يمكن تشجيع نموه وزيادة نشاطه بالعمليات الزراعية.

٣- ألا يكون هناك أى ادعاء، بأن هذا الكائن الدقيق له دور فى المقاومة الحيوية، ولكن يمكن أن يكون له دور فى تحسين نمو النبات.

هناك بعض الإجراءات التى تستعمل فيها بعض النباتات فى المقاومة الحيوية، ولكنها معفاة من الإجراءات الرسمية القانونية المنظمة لاستعمال الكائنات الحية فى المقاومة الحيوية. هذه الإجراءات تشمل استعمال المحاصيل الخادعة والمحاصيل الصائدة التى تستعمل فى مقاومة بعض الأمراض وكذلك النيماتودا. لقد طور العلماء اليابانيون مقاومة حيوية رائعة لذبول الفيوزاريوم فى اليقطين القارورى Bottle gourd المتسبب عن الفطر *Fusarium ox-ysporum* f.sp. *legenariae* ، والتى تتضمن استعمال مخلوط من بقايات اليقطين مع نوع من أنواع البصل Welsh onion حيث يكون البصل كمحصول حاضن فقط ويحقن بالبكتيريا *Pseudomans gladioli* مثبطة لنمو فطر الذبول المذكور سابقاً. إن هذا الكائن

المضاد قد اختير من بين ٣٠٠ عزلة، وذلك لتأثيره المثبط الواسع ضد الفطر الممرض ولايسبب مرضه للبصل، إنه من الضرورى أن تتمازج جذور البصل والكائن المضاد (أحياناً يستعمل الثوم الصينى المعمر Chinese chive والذى أيضاً يدعم نمو الكائن المضاد) مع جذور اليقطين القارورى لتزويدها بمقاومة حيوية للبذول. يعتقد أن المضادات الحيوية المنتجة فى منطقة الجذر للبصل، تتسبب فى زيادة المقاومة. والآن هناك تساؤل فى المنظمة الدولية عن استعمال الكائنات الدقيقة فى المقاومة الحيوية فيما إذا كان عامل المقاومة الحيوية الميكروبى المزود بمحصول حاضن يمكن إعتباره معفياً من الإشراف القانونى المنظم للمقاومة الحيوية بالطريقة نفسها التى يعفى بها الكائن الحى الدقيق المحمول بالنيماتودا أو الحشرات.

الإشـــراف الدائـــم Appropriate Oversight

بعض الكائنات الدقيقة المستعملة فى التضاد، من المفترض أنها سلالات إما شديدة أو غير شديدة المرضية من الكائن الممرض، وبالتالى فإن هناك نظرة مقنعة، بأن هذه الكائنات المضادة، هى كائنات ممرضة نباتية ضعيفة جدا لاتؤثر إلا على النبات فقط، وبالتالى فان هناك دليلاً مقنعاً لسلامة العاملين الذين يتعاملون يدوياً بهذه الكائنات، وكذلك سلامة المستهلكين الذين يتناولون الغذاء الناتج من نباتات عوملت بالكائنات المضادة خاصة بعد الجمع. ومن ناحية أخرى فإن ملاحظة سرعة الاختفاء الطبيعية للكائنات الحية الدقيقة المدخلة فى البيئة، سواء كان عن طريق تحولها من مكان إلى آخر، أو أنها تقيم مجتمعاتها وفق التوازن الطبيعى البيئى، وكذلك أيضاً فإن الكمية الكبيرة من هذه الكائنات المضادة تكون رمية أو فوق متطفلة متخصصة، كل ذلك يؤدى إلى القول بأنه لايمكن أن تقع أية حادثة ذات خطر معنوى من هذه العوامل للكائنات غير المستهدفة. كذلك فإنه من الصعوبة بمكان اجراء تطبيق عملى للقوانين المنظمة، بسبب الإنتشار الجديد الذى يحدث فى المنطقة حيث يكون التضاد الطبيعى للكائنات الممرضة عن طريق زيادة مؤقتة فقط فى الأعداد عن طريق إضافة الخلايا أو الميسيليوم عندما وحيث يحتاج إليها على النبات أو فى التربة.

يتم تشجيع الكائنات الدقيقة لتوطيد نفسها فى منطقة الجذر أو على الأوراق، والأكثر احتمالاً أن يكون ذلك على حساب كثير من الكائنات الدقيقة الأخرى، بالإضافة إلى الكائنات

الممرضة المستهدفة. فى بعض التجارب كان هناك ما يدل على التغيرات الكمية والنوعية فى التجمعات البكتيرية على جذور فول الصويا كاستجابة لإدخال البكتيريا المضادة *Bacil-lus cereus* فى منطقة الجذر. ولقد تبين أيضاً أن المضادات الحيوية المنتجة مرتبطة بمدة البقاء للسلالات (المنافسة فى منطقة الجذر) للبكتيريا الوميضة المنتجة لمادة Phenazine فى الأراضى المزروعة باستمرار قمحاً، نظراً لأن الطفرات غير المنتجة لمادة الـ Phenazine تقل بسرعة أكثر مما هو فى الاباء المنتجة لهذه المادة، يمكن أن يستنتج أن سلالات الآباء المنتجة لمادة الفينازين، تنجح فى البقاء حية عن طريق مقدرتها العالية فى تثبيط تجمعات أخرى فى منطقة الجذر. إن التغيرات فى تشكيل تجمعات الكائنات الحية الدقيقة من نوع إلى آخر كإستجابة لزيادة الأعداد المحقونة من الكائنات المضادة أمر محتوم لايمكن تجنبه.

من ناحية واقعية، فإن جميع العمليات الزراعية شاملة إدخال محاصيل جديدة، دورة زراعية، الحراثة والتسميد، فإنها تؤثر على الكائنات غير المستهدفة فى التربة أو أنها يمكن أن تتفاعل مع المحاصيل. من المواضيع وثيقة الصلة بسلامة البيئة حيث تدخل الكائنات الدقيقة فى التربة، تتعلق فى أى منهما يؤثر تأثيراً سالباً على الكائنات النافعة مثل الميكورهزا أو البكتيريا المثبتة للنيتروجين الجوى فى النباتات المعاملة. فى هذا المجال وجد أنه بالنسبة للخيار فإن البكتيريا الوميضة *Pseudomonas fluorescens* f.sp. *putida* المدخلة بكميات كبيرة فى التربة ليس لها تأثير لا على كفاءة اللقاح فى التربة ولا على التجمعات الجذرية بكلا النوعين من فطريات الميكورهزا VA.

إن الاقتراحات المذكورة فيما يلى هى أمثلة للترتيبات التى يجب أن تتبع لضمان سلامة وأمن عوامل المقاومة الحيوية، حتى نقلل أو نستبعد الاحتياج إلى التسجيل المبنى على قوانين قد وضعت للمبيدات الكيماوى.

١- نظراً لأن معظم الخطر المتوقع من الكائنات الدقيقة المنطلقة فى البيئة للمقاومة الحيوية للكائنات الممرضة النباتية، هو احتمال مقدرتها على احداث أمراض للنبات، فإن إخضاع عوامل المقاومة الحيوية الميكروبية سواء الدخيل أو المحلى الطبيعى لإشراف إجراءات الحجر الزراعى، يؤدى ذلك إلى حفظ الزراعة ضد الأمراض والآفات غير المروغوبة، وذلك عن طريق استبعاد الأنواع التى يثبت مقدرتها على إحداث أى ضرر للنبات مهما كان بسيطاً.

٢- جميع الطرق التى تستعمل فى تسجيل عوامل المقاومة الحيوية الميكروبية، تعتبر هذه العوامل كائنات مضادة تكون مترممة، وتفقد مقدرتها على النمو على درجات حرارة فوق ٣٥°م ولاتضاف إلى المواد الغذائية.

٣- الاهتمام بالمعلومات المنشورة فى المجلات العلمية والتى تتعلق بالميكروبات المستعملة فى المقاومة الحيوية وتطبيقها على السلالات والأنواع الأخرى القريبة منها فى التصنيف واستبعاد غير الملائم منها، هذا يقلل من الاعتماد على تسجيل عوامل المقاومة الحيوية التى تطبق على المواد الكيماوية.

إن المشرفين على زراعة بساتين الفاكهة والمحاصيل الحقلية والغابات، لديهم خبرة كبيرة جداً تتعلق بسلامة استعمال الكائنات الدقيقة فى المقاومة الحيوية. هذا يتضمن الخبرة فى استعمال Rhizobium والميكورهزا ولديهم تقارير رائعة عن سلامة استعمال هذه العوامل فى جميع أنحاءالعالم. هناك حالات خاصة تؤكد ضرورة أن يكون عليها إشراف خاص، فمثلاً ، عندما تضاف الكائنات المضادة إلى المنتجات الغذائية الطازجة. ولكن بشكل عام فإن الكائنات الدقيقة المستعملة فى المقاومة الحيوية لاتشكل خطراً كبيراً ولا صغيرا للبيئة أو المجتمع، وعلى أية حال فإن الأضرار التى تسببها الكائنات الدقيقة المستعملة فى المقاومة الحيوية (إذا كانت هناك أضرار) أقل جداً من الأضرار التى تسببها الأمراض المستهدف مقاومتها لو تركت بدون مقاومة.

إجراءات الاكتشاف وكفاءة الاختبار

لقد قال العالم Garret سنة ١٩٦٨ إن المقاومة الحيوية تكون أكثر كفاءة إذا كانت هناك إجراءات سليمة متبعة. الحشريون (أخصائى الحشرات) يشتغلون على المقاومة الحيوية الكلاسيكية للآفات الحشرية والأعشاب بالحشرات بعد اتباعهم مجموعة من الإجراءات وفقاً للأعداد الطبيعية التى تجمع من مناطق مختلفة، تمثل المناطق الجغرافية الأصلية لنشأة هذه الآفات، ثم تدخل هذه الاعداد المجموعة عن طريق سلسلة من إجراءات الحجر الزراعى وتطلق فى المنطقة حيث تنتشر الآفة المراد مقاومتها.

أما علماء تربية النبات فهم يشتغلون على مقاومة النبات للافة أو المرض التى/الذى تجمع أو تنتج germplasm مع اختلافات جينية للمقاومة للمرض أو الآفة المستهدفة، (غالباً ما تكون هذه المقاومة متعلقة مع الأنواع البرية المجموعة من المناطق الجغرافية الأصلية لنشأة هذه الأنواع من المحاصيل وتدخل إلى البلاد عن طريق إجراءات الحجر الزراعى)، يمكن إدخال صفة المقاومة فى الطرز المفيدة من ناحية محاصيلية ثم تستمر التربية حتى يتم إدخال صفة المقاومة مع الصفات المحصولية المقبولة، وبالتالى تظهر طرز فيها صفة مقاومة الآفات والصفات الجيدة للمحصول.

لقد اقترحت إجراءات الاكتشاف، تطور وإختبار عوامل المقاومة الحيوية للممرضات لكثير من الحالات النباتية، ولكن لم يكن هناك اجراء واحد شامل فى كل الحالات. ويبدو بوضوح أن هذه الإجراءات سوف تستمر لتدخل ، مع الخبرة وخاصة مع زيادة التعود على هذه الإجراءات مجالاً واسعاً، مع ذلك فإنه فى الوقت المناسب يمكن تأييد بدء استعمال، على الأقل خطوط رئيسية للإجراءات التى يمكن أن تعمل كمرشد إلى أبحاث جديدة ومستمرة وتطور للمقاومة الحيوية للممرضات النباتية باستعمال كائنات حية دقيقة مدخلة. إن الخطوات الحرجة هى اكتشاف السلالات المرشحة للمقاومة الحيوية ثم وضعها تحت اختبارات ذات كفاءة عالية ووضعها فى السجلات لاستعمالاتها التجارية.

الاكتشـــاف Discovery

يقصد بالاكتشاف هو عزل السلالات المرشحة طبيعياً للمقاومة الحيوية (كأن يكون عندها قابلية فى التضاد) من مصادر مختلفة واجراء تصفية أولية لمعرفة كفاءتها فى المقاومة الحيوية. كذلك الاكتشاف يمكن أن يشمل تكشف وظهور سلالات عن طريق التحورات الوراثية فى السلالات الموجودة طبيعياً، وهذا مبنى على توفر جينات مختلفة وراثياً ومفيدة فى هذا المجال، بحيث يسهل وضعها ببرامج التحسينات الوراثية. كذلك يشمل الاكتشاف التطورات الأولية والإختبارات للإنتاج بكميات كبيرة ونظم التشكيل نظراً لأنه بدون هذه الخطوات فإن السلالة الجيدة يمكن أن تهمل.

إن عملية الاكتشاف المذكورة سابقاً، عبارة عن جهد يجب أن يبقى مستمراً فى البحث وتحسين السلالات وطرق الإنتاج بكميات كبيرة، وكذلك نظم التوزيع. إن خط المصدر أو وسيلة الإمداد Pipe Line يجب أن يحافظ عليها باستمرار مملوءة، للحصول المستمر على السلالات الجيدة والزيادات المستقبلية.

وضع الخطط Strategies

هناك ثلاثة خطط عامة، يجب أخذها بعين الاعتبار، عند استعمال المقاومة الحيوية بالكائنات الدقيقة المدخلة.

١- تخفيض تجمعات الكائن الممرض و/أو تنظيم هذا الكائن بحيث يكون أقل من المستوى المؤثر اقتصادياً.

٢- منع الكائن الممرض من إصابة النبات.

٣- الحد من تكشف المرض بعد حدوث الإصابة.

تتضمن الخطوة الأولى استعمال لقاح من كائن مضاد متخصص، مثلاً، إضافة فطريات متطفلة Mycoparasite إلى التربة أو إضافة أى كائن آخر من ساكنات التربة، عنده قدرة على تحطيم وسائل التكاثر لبعض الكائنات الممرضة أو منع تكوينها. بالنسبة للكائنات الممرضة المستهدفة فى التربة، يمكن تخفيف شدتها باستعمال الكائنات المتطفلة الفطرية والمنافسات الطبيعية الموجودة فى التربة، ويمكن زيادة الفوائد المتحصل عليها من هذه الكائنات فى مقاومة الأمراض، باستعمال الدورة الزراعية، حيث يمكن تزويدها دورياً بالكائن المضاد المدخل إلى التربة مع الدورة الزراعية. وعلى أية حال فإن هناك استثناءات لهذه القاعدة وذلك عند استعمال بعض الكائنات مثل *S. sclerotivorum* فى المقاومة الحيوية للفطر *S. minor*. هناك تفسير بسيط لهذا الاستثناء، وهو أن الوقت المطلوب للإجراءات الصحية الطبيعية فى التربة يمكن تسريعها بشكل معنوى بواسطة إضافة الكائنات المضادة مباشرة إلى أرض الحقل دون انتظار الدورة الزراعية.

يمكن أن يكون هناك بعض الإجراءات لزيادة كفاءة الكائنات المضادة لتحافظ على بقاء تجمعات الكائن الممرض منخفضة بعد الضربة القاضية الأولية، وذلك باستعمال المدخنات أو

المعاملة بالحرارة. الكائنات الدقيقة المختارة لهذا الغرض، من المستحسن أن تكون ذات قوة منافسة عالية ومتكيفة جيداًمع ظروف التربة الفيزيائية والكيميائية المحتملة، وتضاف بكميات كبيرة متضمنة مصدر غذاء ليساعد ذلك فى التأكد من تزويدها بتجمعات كافية خلال المدة الزمنية اللازمة لتثبيط تجمعات الكائن الممرض. المقدرة على التطفل الفطرى بالإضافة إلى القوة التنافسية العالية يجب أن يكونا فى وضع مثالى. إن أنواع الفطر *Glio cladium* مثل *G. virens* سلالة GL-21 المستعمل فى تشكيلات وكذلك أنواع الفطر Tri-coderma T. harzianum المستعمل فى مزيج من أوراق الشجر والسماد البلدى أو الأراضى المشمسة Solar treated soils، قد أثبتت على أنها أكثر كفاءة باستعمال الاجراءات المذكورة سابقاً.

أما بالنسبة للنقطة الثانية، فإن أكثر الإجراءات نجاحاً لغاية سنة ١٩٩٤ تشمل وقاية ساحات العدوى فى النبات عن طريق إضافة الكائنات المضادة قبل وصول لقاح الكائن الممرض. هناك على الأقل ثلاثة عوامل من الستة عوامل المسجلة فى أمريكا، ذكر على أنها عوامل مقاومة حيوية ميكروبية قد تم اختيارها على أساس هذا الإجراء، شاملة سلالة K-84 من البكتيريا *A. radiobacter* فى مقاومة مرض التدرن التاجى وسلالة F-stop من *T. harzianum* المستعمل كمعاملة بذور لتحسين إنبات الذرة، الفول ومحاصيل خضروات أخرى، وكذلك سلالة BINABT من *T. harzianun polysporum* المستعمل ضد تحلل الخشب. كذلك فإن المقاومة الحيوية لعفن الجذر Annosus باستعمال *P. gigantea* أيضاً مبنياً على هذا الأساس.

أما بالنسبة للنقطة الثالثة، فإن هناك اجراءات عملية صعبة، يتوقع منها أن تجعل وظيفة المقاومة الحيوية حفظ جزء واحد من النبات على الأقل، بعد انطلاق اللقاح الخاص لعامل المقاومة على جزء آخر من النبات. من المتوقع أن ينتشر الكائن المضاد أو يدخل بشكل مميز فى النبات. هذا الكائن المضاد، من المتوقع أن يظهر تأثيره موضعياً أو جهازياً كمقاومة للكائن الممرض. نظراً لأن هذا الاجراء يمكن أن يكون بطيئاً جداً للوقاية ضد الإصابات الابتدائية يمكن أن يكون ذا مكانة أفضل لتحديد تكشف المرض بعد الإصابة.

إن التصفية المعملية، إذا ما استعملت، يمكن أن تكون مبنية على نتائج استعمال الكائن المضاد، زيادة على معرفة الميكانيكية المتوقعة لهذا النجاح المبنى على معرفة الكائن

الممرض ووبائية المرض. بعض الكائنات الممرضة، يكون أفضل مقاومة لها باستعمال المضادات الحيوية، الأخرى بالتنافس والبعض الآخر بالتطفل الفطرى، هناك مجموعة أخرى بالمقاومة المستحثة. بعض التصفيات، مثلاً ، بالنسبة لإنتاج المضادات الحيوية أو المتطفلات الفطرية يمكن أن تجرى فى العمل، ولكن التصفيات الأخرى، مثل تلك التى تجرى لمعرفة الأفراد المضادة يمكن أن تجرى فى الحقل فقط. بغض النظر عن التصفيات الخاصة، من المستحسن أن تصمم لتسمح بتقدير أو تقييم الآلاف أو عشرات الآلاف من السلالات.

التواجد الطبيعي للكائنات المضادة

يبدأ اكتشاف التواجد الطبيعى لعوامل المقاومة الحيوية الميكروبية لأمراض النبات والنيماتودا بطرق معملية، بحيث أن الكائنات المضادة المؤثرة، يمكن اكتشاف تواجدها فى التربة المحلية، أو الأكثر إحتمالاً أن تكون مترافقة فيها مع نباتات المحاصيل المحلية (كائنات حية دقيقة مترافقة مع النبات) . هذه الطرق يمكن أن تؤدى إلى زيادة وسهولة اكتشاف عديد من الكائنات المضادة على نباتات المحصول المحلى، عن طريق إعادة تعرض التربة أو الكائنات الدقيقة المرافقة للنبات، إلى العائل النباتى، الكائن الممرض المستهدف أو أنسجة العائل المصابة بالكائن الممرض. إن الكائنات الحية الدقيقة المترافقة مع النبات تكون جزءاً كبيراً جداً من المصدر الطبيعى الحيوى الذى يتفاعل مع نباتات المحاصيل. تكون السلالات المكتشفة والمختارة عوامل مقاومة حيوية جاهزة بسهولة، وذلك لأنها تكون متكيفة مع النبات أو الجزء النباتى حيث يجب أن تعمل، وكذلك يمكن اختيارها بسبب مقدرتها الفريدة فى وقاية النبات. كذلك يمكن أن تستعمل هذه الكائنات لمنع الإصابة أو تحديد تكشف المرض. هذه الكائنات تشمل الكائن الممرض فى أشكال غير شديدة المرضية أو عالية الشدة أو منزوعة السلاح (مثل البكتيريا السالبة لتكوين نواة الجليد *Pseudomonas syringae*) أو أشكال قريبة التقسيم ولكن غير ممرضة تدخل على أو مع النبات لتقوم بعملية المقاومة الحيوية عن طريق التضاد.

تبين فى الأبحاث الفرنسية أن الكائنات المضادة الفعالة لعديد من الكائنات الممرضة لنبات عباد الشمس، أمكن الحصول عليها عن طريق عزل البكتيريا ذات التأثير السام الواسع من الأوراق، الجذر وأجزاء أخرى من نبات عباد الشمس. البكتيريا المضادة التى استردت من

الأوراق، كانت بشكل أساسى اكتينومايستس وبكتيريا موجبة لصبغة غرام، بينما تلك المستردة من الجذور كانت أنواعاً من *Bacillus*، *Pseudomonas*، *Flavobacterium*. تختار الكائنات المضادة التى يمكن إعتبارها مرشحة للمقاومة الحيوية، وذلك لمقدرتها على التثبيط الواسع المدى فى المعمل، ومقدرتها على استعمار جذور عباد الشمس، عندما تضاف محقونة مع البذور. بواسطة هذا الإجراء أمكن الحصول على سلالات ذات مقدرة عالية فى تحسين ظهور البادرات وتقيها من أعفان الجذر والتاج المتسببة عن الفطريات *R. solani*، *S. rolf-sii*، *Macrophomina phaseolina*.

كذلك نتيجة الدراسة على نبات الكاسافا، والتى فيها اتبعت نفس الإجراءات السابقة نفسها، إختيرت سلالات من البكتيريا الوميضة ذات كفاءة عالية فى المقاومة الحيوية ضد كل من:

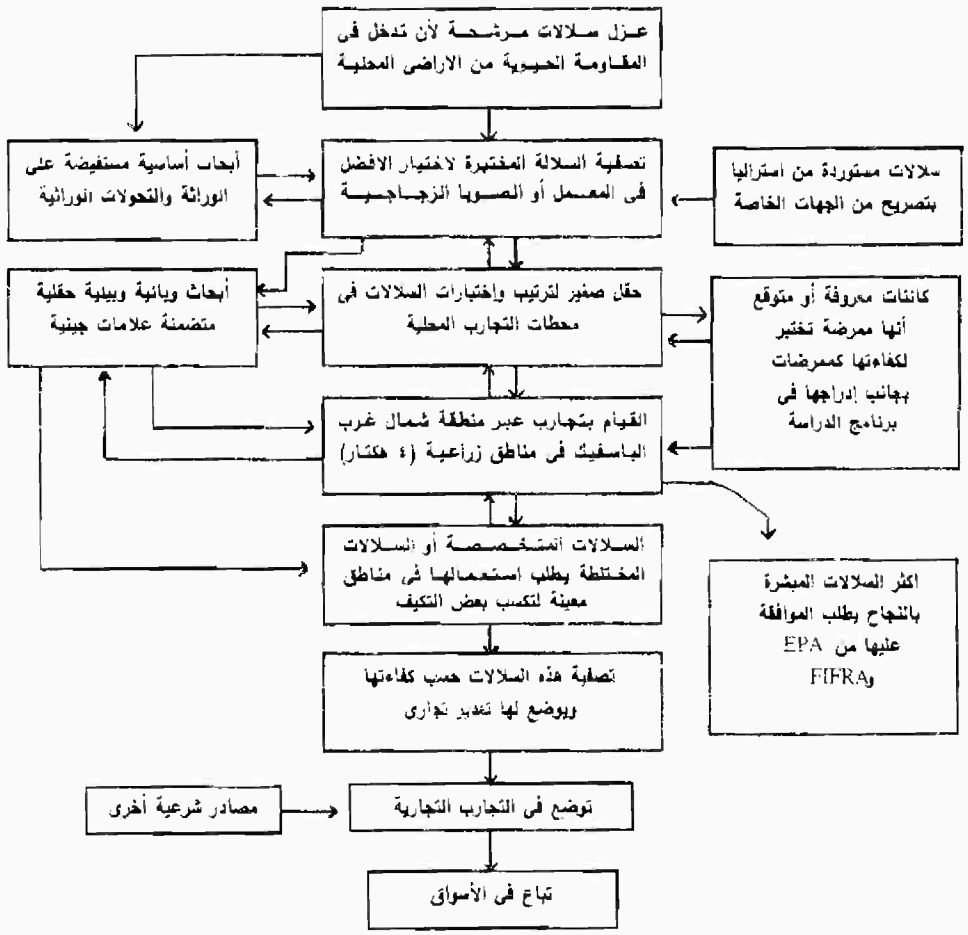
١- لفحة أوراق الكاسافا المتسببة عن *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis* عندما ترش على الأوراق.
٢- عفن الجذر التسبب عن الفطر بثيم أو *Diplodia manihotis* عندما غمرت التربة بالمعلق البكتيرى.
٣- تحلل الجذر بعد الجمع عندما غمرت الجذور المجموعة فى المعلق البكتيرى.

لم تتوفر سلالة واحدة من تلك البكتيريا ذات مقدرة على مقاومة الثلاثة أنواع من الأمراض.

من المشاريع العظيمة والتى بدأت سنة ١٩٩٣ فى دراسة المقاومة الحيوية للكائنات الممرضة النباتية، الدراسة التى تمت على الرز من قبل ثمانية أقطار أسيوية ومعهد أبحاث الرز العالمى فى الفلبين. كان هدف الدراسة البحث عن، وإختيار كائنات حية دقيقة من نباتات الرز والتربة فى أماكن تشبه أماكن زراعة الرز المحلية، وكانت جميع الدراسات تهدف إلى إيجاد كائنات مضادة فعالة فى مقاومة مرض لفحة الغمد الرايزوكتونى. ولقد ظهر من قبل بعض الباحثين أن المقومية الحيوية الفعالة لهذا المرض مبنية على أختيار سلالات من البكتيريا، وبشكل أساسى تضاف البكتيريا الوميضة أو تستعمل كمعاملة بذور. كانت كل جهة مشاركة فى هذا البحث تصفى البكتيريا المختارة من بين ٥٠٠ عزلة بالمتوسط فى كل سنة. يعنى أن هناك دراسة تمت على حوالى ٤-٥ آلاف عزلة فى السنة

لهذا المشروع. بالإضافة إلى دراسة العدد الكبير من العزلات، فكل العزلات الناتجة من التصفية تتجمع ويجرى لها تكيف مع نظم إدارة الرز المحلية والبيئية. هذا الإجراء أيضاً يبطل المشاكل غير المتوقعة أحياناً نتيجة التنقل العالمي للكائنات الحية الدقيقة، وهذا يؤدى إلى أن أحد المشاركين يجد سلالة خاصة معينة، تحتاج إلى اختبارات فى البلدان الأخرى، مع أنها جيدة فى بلده. جدول رقم ٣٢ يبين تسلسل طرق الحصول على العزلات المستعملة فى المقاومة الحيوية.

جدول (٣٢) : رسم توضيحى يشرح الطرق التى بواسطتها يتم الحصول على سلالات داخلة فى المقاومة الحيوية للمرض الماحق فى القمح فى شمال غرب الباسفيك.



لقد استعملت طرق جيدة لإيجاد عوامل مقاومة حيوية ميكروبية فعالة، لمقاومة المرض الماحق فى القمح، والتى من المتوقع أن تتكيف مع معظم الإراضى المحلية (جدول ٣٢). هذه الطريق مبنية على:

١- عزل الكائنات المضادة من منطقة جذور القمح، النامى فى تربة مأخوذة من حقول يحدث فيها المرض الماحق، ولكن قد حدث وأن انخفضت شدة المرض بسبب غير واضح. هناك كثير من الأراضى تحدث فيها هذه الظاهرة.

٢- تعزل الكائنات المضادة من منطقة جذر القمح النامى فى تربة حقنت بالكائن الممرض صناعياً. يمكن تكرار هذا الإجراء لزيادة الكائنات الدقيقة، المتكيفة مع جذور القمح المصابة بالمرض الماحق.

٣- تختار عزلات عشوائية من الكائنات المضادة ذات القدرة على إنتاج أجسام مضادة مثبطة لفطر المرض الماحق فى القمح على واحدة أو أكثر من بيئات الاجار القياسية.

٤- تختار الكائنات المضادة المرشحة لأن تكون عوامل مقاومة حيوية فى تجارب المعمل أو تختار بشكل عشوائى بطريقة الأطباق المخففة، من تربة مأخوذة من منطقة الجذر ثم تؤخذ وتختبر فى الصوبا الزجاجية. يختار قليل من السلالات، من هذه السلالات المختبرة ويجرى عليها اختبارات حقلية. تؤخذ أفضل السلالات التى تعطى أفضل نتائج وتستكمل عليها التجارب الأخرى.

الكائنات المضادة المحسنة وراثياً

يمكن أن يتضمن اختبار اكتشاف السلالات المضادة، أيضاً معرفة طرق تكشف سلالات الكائنات الدقيقة المحسنة، عن طريق معالجة وراثية أو فيما إذا كانت السلالة تحدث طبيعياً أو متحورة وراثياً، ويجب أن لاتحمل على متطلبات خاطئة، ولا أن تكون الطريقة عبارة عن تحورات وراثية بسيطة.

لقد قالم العالم Lindow سنة ١٩٩٢ بتطوير كائنات مضادة لتستعمل فى المقاومة الحيوية لسلالات البكتيرية النشيطة فى تكوين نواة الجليد Ice nuclation active (INA) وهى *Pseudomonas syringae* على المساحة الورقية لنبات البطاطس والمحاصيل الأخرى، من خلال إلغاء جين فى سلالة INA من *P. syringae*.

أما البكتيريا المحسنة من *A. radiobacter* K-84 ذات السلالة المسماة K-1026 قد أنتجت عن طريق إلغاء بعض أجزاء الـ DNA لمنع انتقال مقاومة الأجروسان من عامل المقاومة الحيوية إلى الكائن الممرض. إن السلالة K-1026 هى أول سلالة معالجة وراثياً مضادة استعملت تجارياً. إن التحورات الوراثية تطلب لتؤخر أو تمنع تحطم المقاومة الحيوية للتدرن التاجى بواسطة سلالة منتجة للأجروساين من سلالة غير شديدة من البكتيريا *A. radiobacter* وبالتالى تطيل مدة استعمال هذه المقاومة.

من النتائج المعنوية العالية، فى التحسينات الوراثية فى الكائنات الدقيقة لاستعمالها فى المقاومة الحيوية، هى الحصول على سلالات منتجة للمضادات الحيوية ذات الفعالية الجيدة فى المقاومة. مع أن هناك مئات أو الآلاف من السلالات ذات الكفاءة العالية فى المقاومة الحيوية والمنتجة للمضادات الحيوية، إلا أن القليل منها شائعة الاستعمال فى المقاومة الحيوية اعتماداً على إنتاج المضادات الحيوية. مثلاً هناك خمسة أنواع من البكتيريا الوميضة *Pseudomonas* من مناطق مختلفة فى العالم كلها تنتج المضاد الحيوى المسمى 2,4-diacetophloroglucind، هذه الخمسة سلالات كانت قد عزلت كل على إنفراد، وعرفت كفاءتها فى المقاومة الحيوية ضد *Thielaviopsis* مسبب عفن الجذر الأسود فى الدخان، وبطش سبتوريا على أوراق القمح والمرض الماحق فى القمح وكثيراً من ممرضات الجذر فى بنجر السكر، ولفحة غمد أوراق الرز الرايزوكتونى. وبالمثل فإن سلالات من مناطق بيئية مختلفة، قد تبين بأنها تنتج المضاد الحيوى Pyrrolnitrin فعال ضد الفطر *R. solani*. إحدى التطبيقات الوراثية على هذه السلالة (تفرز قليلا من المضادات الحيوية نسبياً) هو إختيار هذه السلالات، من الكائنات الدقيقة المترافقة مع النبات على أساس تكيفها مع المحصول والتربة المحلية ثم تعالج وراثياً للحصول على المضادات الحيوية المرغوبة والمناسبة للكائن الممرض المستدهف و/أو ظروف التربة.

من الممكن أيضا تحسين مقدرة التنافس (فى سلالة الكائن الداخل فى المقاومة الحيوية) ضد الكائنات الرمية غير المستهدفة بالإضافة إلى مقاومة الكائن الممرض المستهدف. فمثلاً سلالات 2-79 و 30-84 المختارة لمقاومة المرض الماحق فى القمح، غير قادرة على المنافسة القوية مع أنواع *Pythium* فى منطقة الجذر فى القمح. من ناحية أخرى فإن السلالة Q2-87 المختارة لمقاومة الفطر نفسه على القمح كانت قادرة على المنافسة مع *P. ultimum* وليس

مع *P. irregulare* فى منطقة الجذر فى القمح. يبدو أن Q2-87 تنتج مضاداً حيوياً مثبطاً للفطر *P. ultimum* وليس للفطر *P. irregulare*. هذا يدل على أن السلالات التى تجلب للمقاومة الحيوية للمرض الماحق فى القمح، يمكن أن تحدث تحسيناً وراثياً فى كفاءتها ضد هذا المرض عن طريق زيادة تنافسها مع أنواع الفطر *Pythium*.

نستطيع القول بأن بعض السلالات المحسنة وراثياً لكى تنتج مضادات حيوية يجب أن يجرى عليها دراسة على مواقع الجينات المسئولة عن إفراز المضادات الحيوية والتعامل معها وراثياً بحيث نحصل على أفضل السلالات فى إنتاج المضادات الحيوية كماً ونوعاً، وكذلك بحيث تناسب المحصول المزروع والتربة. وكذلك دراسة الجينات المسئولة عن التنافس، بحيث تحتوى السلالة المنتجة، على الجينات التى تساعد فى زيادة التنافس من حيث سرعة إفراز الأنزيمات أو سرعة التكاثر حتى تستوطن المكان بسرعة، عندئذ يمكن الحصول على سلالة قوية المنافسة وسريعة إفراز المضادات الحيوية، وبالتالى تكون أفضل السلالات المستعملة فى المقاومة الحيوية. هذان الاعتباران: زيادة المنافسة، وزيادة افراز المضادات الحيوية، لكى تتم دراستهما يحتاجان إلى متطلبات ونظم وأجهزة عملية وعلمية دقيقة، إذا توافرت هذه الاحتياجات نستطيع أن نحصل على سلالات ذات كفاءة عالية فى المقاومة الحيوية وتستعمل تجارياً.

تجارب الإختبارات والصيغة الشكلية Experimental Tests And Formulation

من بين أهم الاعتبارات فى اكتشاف واختيار السلالات المضادة، هى تجارب الاختبارات للإنتاج بكميات كبيرة والتشكيلات المناسبة للسلالات المرشحة لأن تدخل فى المقاومة الحيوية. لقد استعمل Schisler *et al* سنة ١٩٩٠ اجراءات سهلة للإنتاج بكميات كبيرة فى مزرعة سائلة لتصفية مايزيد عن ٣٥٠ كائن مضادة ذات كفاءة لمقاومة العفن الجاف فى البطاطس المتسبب عن الفطر *Fusarium sambucinum*. اعتبرت السلالات غير السهلة الإنتاج بكميات كبيرة فى المزرعة السائلة، غير مقبولة لإجراء اختبارات أخرى عليها حتى لو أظهرت كفاءة عالية كعوامل مقاومة حيوية. من أهم فوائد المزرعة الصحيحة المستعملة فى الإنتاج الكبير، هى أن السلالات المعرضة للاختبار، يمكن أن تساعد فى إظهار تأثيرات الكائنات المضادة، أما المزرعة غير الصحيحة، يمكن أن تقود إلى نبذ وترك

السلالات ذات التأثيرات الفعالة. لقد أظهر Slinirger & Jackson أن نوعية المادة الغذائية المكونة للمزرعة السائلة، كانت مهمة بالنسبة لكل من الإنتاج الكمى الكبير ولإنتاج مادة الفينازاين بواسطة البكتيريا *P. fluorescens* سلالة 2-79. بشكل خاص فإن كلاً من كبريتات الزنك ومادة $(NH_4)6\ NMO_7\ O_{24}$ تتفاعل مع الحديد لتزيد الحد الأعلى من إنتاج مادة Phenazine-1-Caboxylic acid فى حين أن بعض العلماء أثبت فى تجاربه على السلالة 2-79 فى التربة، أن الزنك يكون مترافقاً مع زيادة كفاءة المقاومة الحيوية.

إختبارات الكفاءة

تتضمن اختبارات الكفاءة إجراء الإختبارات فى قطع من الأرض بتكرار معين وتحت ظروف طبيعية بلقاح طبيعى أو صناعى. عادة فإن العزلات ذات الكفاءة العالية، هى فقط التى تدخل فى تجاب الكفاءة.

يمكن أن تجرى اختبارات الكفاءة إما فى محطات التجارب أو فى جميعات المزارعين. على أية حال فإن المهم فى الاختبار أن تكون هناك شدة عالية من مسبب المرض أو النيماتودا المستهدفة فى البحث، وذلك لتكون الإختبارات فعالة. من الممكن أن لايكون هناك جدوى، مثلاً، من إجراء اختبارات للمقاومة الحيوية لأمراض الجذور فى الحقل حيث يكون المرض المستهدف متحكماً به مسبقاً، وذلك عن طريق الدورة الزراعية. كذلك من المهم أيضاً إتباع أفضل العمليات الزراعية لنمو المحصول المرد إختبار السلالات عليه لمعرفة كفاءتها فى المقاومة الحيوية. يجب ألا نتوقع أن المقاومة الحيوية يمكن أن تتغلب على تأثيرات العمليات الزراعية المستعملة فى نمو المحصول.

فى الإجراءات التى تشمل استعمال عوامل المقاومة الحيوية الميكروبية بشكل كبير جداً على البذور، المجموع الخضرى أو أماكن إصابة خاصة أخرى، فإن اختبارات الكفاءة يمكن أن تقيم بعد إجراء اختبارات بمبيدات الآفات الكيماوية ومقارنتهما معاً. لقد قام Redmond *et al* بإجراء تصفية للفطريات والبكتيريا المعزولة من بتلات أزهار الورد غير المشوهة، وقدر كفاءتها فى المقاومة الحيوية للفحة بوترايتس عن طريق رش معلق الخلايا مباشرة على بتلات الورد، بعد يوم واحد قام بحقن البتلات نفسها بالفطر *Botrytis cinerea*. هذا الطور من العمل يمكن أن يسمى الاكتشاف Discovery وهو ما وصف سابقاً. ثم بعد ذلك فإن

أفضل العزلات تجرى عليها اختبارات كفاءة على جميع الأزهار المقطوفة، عن طريق إضافة هذه العزلات مباشرة رشاً على براعم الورد حيث تكون ضرورية فى هذه الأماكن، ثم بعد ذلك يستعمل المبيد الفطرى التجارى Iprodione لإجراء تقييم لكفاءة هذه السلالات. سواء بالنسبة لعوامل المقاومة الحيوية أو الكيماوية فإن الاستعمال التجارى لهذه المواد يتطلب توفر وقاية تامة ضد الإصابة لبعض الوقت بعد الجمع، ولسوء الحظ فإن عوامل المقاومة الحيوية الميكروبية ينظر إليها فى هذه الحالة كما فى المقاومة الكيماوية.

اختبارات الكفاءة التى تجرى على الكائنات الحية الدقيقة المرافقة للنبات لتحديد مقدرتها كعوامل مقاومة حيوية، يمكن أن تصنف بعد أن تجرى اختبارات على طرز النبات لمعرفة كفاءتها كأصناف زراعية عالية الإنتاج. فى الحقيقة فإن الاختبارات الحقلية لعوامل المقاومة الحيوية الميكروبية، يمكن أن ينظر إليها وكأنها تشابه تجارب تربية النبات من حيث الاجراءات الوراثية على السلالات المختلفة. إن أصناف المحاصيل الخاضعة للتجربة تحتاج إلى مدة طويلة من التجارب قبل طرحها للمزارعين، إلا أن الكائنات الحية الدقيقة المرافقة للنبات والتى تؤخذ لتستعمل فى المقاومة الحيوية لاتحتاج إلى اختبارات مكررة كثيراً ، كما فى حالة تربية النبات، فمثلاً بالنسبة لتربية النبات يحتاج الصنف الجديد 100 site - years ، فى حين أن عامل المقاومة الحيوية يحتاج من 15-20 site year.

التقييـــم:

يعتمد تقييم سلالة الكائن المضاد وكفاءتها فى المقاومة الحيوية، على احتساب النسبة المئوية لكل من زيادة مقاومة المرض أو خفض نسبة الإصابة المرضية أو تحسن زيادة نوعية وكمية المنتج النباتى، وكذلك مقدرة السلالة على إنتاج كميات كافية من اللقاح لإستعماله فى الحقول أو بساتين الفاكهة، أو الصوبات الزجاجية. يتم هذا التقييم مع جميعات المزارعين وضمن ظروف بيئية محددة. هذه الظروف يمكن أن تشمل نوعاً معيناً من المناخ أو التربة. كذلك فإن عملية التقييم تشمل اختبارات كفاءة التركيبات التى تستعمل عليها الكائنات الدقيقة فى المقاومة الحيوية، مبنية على نتائج الاختبارات الأولية المبكرة وتجارب الفعالية، وكذلك تشمل اختبارات كفاءة الأجهزة المستعملة فى معاملة التربة، البذور أو أجزاء النباتات النامية لمعرفة مدى مناسبتها.

كذلك فإن عملية التقييم تأخذ أيضاً فى عين الاعتبار، النظام الزراعى للمحصول كاملاً متضمناً أساليب مقاومة المرض، مثل معاملة التربة أو البذور أو رش المجموع الخضرى بالمبيدات الفطرية، كل ذلك يمكن أن يدخل فى فعالية عامل المقاومة الحيوية. كذلك يمكن أن يدخل فى الإعتبار الكائنات الممرضة الأخرى التى يمكن أن تلائمها طرق مقاومة الكائن الممرض المستهدف، وذلك حتى يمكن تمييز تخصص كل عامل فى المقاومة الحيوية ومدى تأثيره على زيادة الإنتاج. مثلاً إن مقاومة المرض الماحق فى القمح، وليس عفن الجذر الرايزكتونى أو عفن الجذر المتسبب عن بثيم على القمح، يمكن ألا تؤدى إلى زيادة المحصول، وفى بعض الحالات يقل الإنتاج. هذا يعنى أن الزيادة أو النقص فى إنتاج المحصول يجب أن توضع فى الاعتبار عند تقييم عامل المقاومة الحيوية.

إن مشكلة النتائج المتعارضة من موقع إلى موقع، يمكن التغلب عليها جزئياً عن طريق تقييم سلالات مختلفة لمواقع مختلفة. ولقد ثبت أن السلالات المنتجة مادة الفينازين (هى الأفضل) فى الأراضى ذات التركيب الرملى لمقاومة المرض الماحق فى القمح. أما السلالات المنتجة مادة Phloroglucinol فهى الأفضل فى الأراضى الطينية.

لكى نحصل على كميات كبيرة من عامل المقاومة الحيوية، يجب استعمال نظم تكنولوجية قياسة، كل نظام يناسب محصول معين وكائن مضاد معين، فيما يتصل بذلك، فإنه يمكن الاستفادة من بعض التسهيلات، وذلك باستعمال السلالات المتعددة أو السلالات المختلطة. كثير من المزارعين يستعملون أصنافاً مختلفة من المحاصيل لبيئات مختلفة، وبعض المزيج من أصناف المحصول ويستعمل معها مبيدات الأعشاب أو معاملة البذور بالكيماويات. وبالمثل فإن هناك بعض الإجراءات المعقدة مثل مزيج من الجينات تكون منتشرة فى الأصناف نفسها أو فى أصناف مختلطة وتتغير دورياً حسب تغير المرض والظروف البيئية وهذا يتطلب إجراءات معينة. لكى يكون هناك استعمال على نطاق كبير للمقاومة الحيوية، هذا يتطلب استعمال سلالات مختلفة أو مخلوط من السلالات، سواء بالنسبة للكائن المضاد أو المحصول، معدلة حسب الطلب للأمراض المختلفة، والظروف البيئية.

إن الغالبية العظمى من عوامل المقاومة الحيوية الميكروبية، يصعب تقييم كفاءتها حتى عندما يكون هناك دليل متواصل من التجارب، تدل على أن إنتاج المحصول يمكن أن يزداد،

الدورة الزراعية يمكن أن تقصر، نوعية المحصول المنتج يمكن أن تزداد، طول فترة الحياة الإنتاجية للبساتين يمكن أن تطول أو يمكن الاستغناء عن المبيدات الفطرية أو أن يكون هناك بعض الفوائد الأخرى. ترجع صعوبة التقييم فى هذه الحالة إلى التداخل الحيوى المعقد بين الكائن الممرض والكائن المضاد والكائن الرمى المنافس، وتفاعلاتها مع بعضها البعض ومع الظروف البيئية المختلفة والمتقلبة فى كثير من الأحيان.

ثانياً : الكائنات الدقيقة المستعملة تجارياً في المقاومة الحيوية

هناك أعداد غير قليلة من عوامل المقاومة الحيوية مسجلة عالمياً ، وتستعمل تجارياً على نطاق واسع وهى:

I : عوامل المقاومة الحيوية الفطرية:

١- الفطـــر Ampelomyces quisqualis

الاسم العلمى المستعمل فى المقاومة *Ampelomyces quisqualis* (AQ) isolate No=10 وهناك اسم آخر ، وهو AQ10.

صفـات الفـــطر

تتكون تركيبات AQ10 من جراثيم بتركيز ^{٩١٠}/غرم من المركب الحامل لجراثيم الفطر. ينتج هذا الفطر جراثيم نتيجة نموه واحدات تخمرات فى بيئة نصف صلبة أو مغمورة بالماء، وتبقى الجراثيم فعالة فى الجزء الأساسى من التركيبة المسماه WP formulation. منتجات هذا الفطر لها مدة حياة تزيد أو تساوى ستة شهور، عندما تخزن فى مكان جاف بارد، وحوالى ٣ شهور فى حالة التجمد.

الصـــفة التجـــارية

إن الفطر المسمى AQ10 ، نوع من رتبة Coleomycetes وتحت قسم Deuteromycotina، كان يسمى سابقاً *Cicinnobiolum cesatii*، ولكن أعيد تسميته سنة ١٩٥٩ بالعلامة الشائعة AQ. الفطر معروف جيداً بأنه متطفل فطرى Hyperparasite على أجناس Erysiphaceae مسببة أمراض البياض الدقيقى. فى سنة ١٩٨٤ اكتشفت عزلة من AQ فى إحدى المناطق الجافة فى إسرائيل، وقد أشير إلى هذه العزلة بالعلامة AQ10. هذه العزلة أخذت تصريحاً للاستعمال فى أوروبا عن طريق الشركة الأوروبية الإسرائيلية Ecogen Israel Partnership, Jerusalem (شركة تابعة لايكوجين).

رقم الترخيص US 5190745 اسم المادة Ecoyen.

طريـــق عملـــه

بعد رش المستحضر الذى يحوى جراثيم الفطر بتركيز 10^{9}/غرام، تنبت هذه الجراثيم، وبعد أن تعطى هيفات تتطفل هذه الهيفات على فطريات البياض الدقيقى. هذه العملية تتطلب نسبة رطوبة ٦٠٪ على الأقل فى البيئة الضيقة التى تحيط بالجراثيم النابتة. إذا ما دخلت الهيفا فى الكائن الممرض فإنها تمر فى عمليات تحتاج من ٢-٤ ساعات. يستطيع الكائن المتطفل أن يتكاثر مستقلاً عن البيئة الخارجية. النتيجة النهائية هو توقف تكشف البياض الدقيقى.

الإســـتعمال:

يستعمل الفطر AQ10 لمقاومة البياض الدقيقى الذى يهاجم محاصيل مختلفة مثل القرعيات، العنب، الطماطم ونباتات الزينة. مع أن كل محصول من هذه المحاصيل يهاجم بنوع مختلف من فطريات البياض الدقيقى، إلا أن AQ10 يمكنه أن يتطفل عليها جميعاً بالمستوى نفسه تقريباً. تستخدم تركيبات هذا الفطر كجزء من برنامج المقاومة المستنيرة للآفات ويستخدم بدلاً من المبيدات الكيماوية المعيارية لأمراض البياض الدقيقى. تستعمل هذه التركيبات رشاً بطريقة قياسية، وباستعمال تكنيك معين بوجود مطهرات سطحية متوافقة مع بقاء هذا الكائن حياً وفعالاً.

ســـميته للنـــبات:

المركب غير سام للنبات وغير ممرض.

نـــوع التشـــكيل:

يتكون التشكيل من WP.

توافقـــه:

يمكن أن يستعمل متزامنا مع المبيدات الحيوية للحشرات، التى تستعمل على نطاق تجارى مثل *Bacillus thuringiensis*، وعلى أية حال لايمكن مزجه مع المبيدات الفطرية الشائعة مثل مثبطات الستيرول الجهازية.

الاســـم التجـــاري:

AQ10 Ecogen.

التحـــلل:

الجزء الأساسى الفعال فى AQ10، يمكن أن يحـدد بواسطة نوعين من الاخـتـبـارات، الأول اختبارات الإنبات، والثانى هو اختبار ظاهرة التطفل لتحديد حيوية الجراثيم وبقائها. تجرى اختبارات الإنبات بواسطة وضع الجراثيم فى أطباق فيها بيئة آجار، ثم تحضن لمدة ٤٨ ساعة والتى خلالها تبدأ الجراثيم فى الإنبات. تدل نسبة الإنبات على حيوية الجراثيم الموجودة ضمن التجمع. أما مستوى التطفل فيحدد فى مكان التجربة العملية in-situ وذلك عن طريق رش نباتات الخيار الملوثة بجراثيم البياض الدقيقى بمعلق جراثيم AQ10. بعد التحضين لمدة عشرة أيام (فى الصوبا الزجاجية) يتم فحص الأوراق ميكروسكوبياً فى منطقة الإصابة لملاحظة ظاهرة التطفل هذه ويمكن تحديدها بمقاسات معينة.

ســـميته للثدييـــات:

حتى سنة ١٩٩٦ لم يذكر ظهور حالة تسمم واحدة للحيوانات الثديية التى تغذت على نباتات قد عوملت بهذا الكائن، كذلك لم تظهر حالة عدوى ولا تهيج جلدى ولا حساسية فائقة. كذلك لم يظهر أى من هذه الأعراض على العمال أو الفنيين أثناء تداول هذا الكائن. كذلك لم تحدث أية أضرار للطيور الداجنة أو البرية أو النحل.

٢- الفطـــر Phlebiopsis gigantea

الاسم العلمى *Phlebiopsis gigantea* (Fr.) Jul ، وله أسماء أخرى منها *Phlebia gigantea* و *Peniophora gigantea*.

صـــفات الفـــطر

المنتجات التى تحمل جراثيم الفطر تبقى نشيطة لمدة ١-٢ أسبوع على درجة حرارة الغرفة العادية، ولمدة أكثر من ستة شهور تحت درجة ٨°م عندما يخزن فى أقفاص غير مفتوحة. لقد عرف منذ مدة طويلة أن هذا الفطر فعال فى منع الإصابة الناتجة عن جراثيم

الفطر *Heterobasidion annosum* فى الصنوبر والبيسيه الراتنجية. إن السلالة من هذا الفطر المعروفة باسم Rotstop كانت قد عزلت أساساً سنة ١٩٨٧ وذلك فى معهد الغابات الفلندى وذلك من قرم شجرة البيسيه المقطوعة والمتروكة فى الغابات، وكانت قد إستعملت كمعاملة جذوع على البيسية والصنوبر فى سنة ١٩٨٨، وقد أعيد عزلها سنة ١٩٨٩ من الأماكن نفسها التى رشت عليها. فى سنة ١٩٩١ تم وضعه فى تشكيلات بواسطة Kemira O. وقد تمت الموافقة على هذا المركب والتوصية باستعماله فى المقاومة الحيوية فى مؤتمر أمراض النبات المنعقد فى فنلندا من ٩-١٦ أغسطس سنة ١٩٩٣.

الاســـم التجـــاري

يصنع ويباع فى السوق باسم Rot stop (Kemira).

الاســـتعمال

يتنافس هذا الفطر مع الكائن الممرض على احتلال الأماكن التى يعيش فيها، ويستعمل كعامل مقاومة حيوية جيد ضد عفن الجذور وأعقاب أشجار الصنوبر والبيسيه الراتنجية المتسبب عن الفطر *Heterobasidion annosum* (والذى يسمى أيضاً *Fomes annosus*). أفضل الأوقات التى يوصى باستعماله فيها، هى الفترة التى يكون فيها الفطر الممرض *H. annosum* قابلاً للانتشار والنمو على قرم الأشجار (خلال فترة النمو الخضرى) حيث درجة الحرارة فوق ٨°م. يخلط المحضر الفطرى مع الماء ثم يرش المعلق على أسطح القرم بجهاز الرش على الرأس المقطوع بعد سقوط الشجرة طبيعياً أو نتيجة المرض.

هذا التحضير يسمى *WP*. أما المركب المسمى Rot stop غير متوافق مع المبيدات الفطرية الكيماوية، ولغاية ١٩٩٦ لم يوص باستعماله مع الكيماويات.

يمكن اختبار حيوية ونقاوة المنتج المحضر، وذلك بتحديد عدد المستعمرات المتكونة على طبق بترى. إن معدل النمو والنشاط اللوغاريتمى على مادة النمو المحتوية على مطحون الخشب كمصدر وحيد للطاقة، هى الطريقة الوحيـدة لمعرفة حيوية الفطر. إن وجود الفطر *H. annosum* يستعمل كدليل على وجود وفعالية التضاد الحيوى.

لاتوجد أية أضرار لهذا المركب على جميع الحيوانات الثديية، وكذلك لا يتسبب أية أضرار أو حساسية جلدية على العمال الذين يتعملون مع هذا المركب.

٣- الفطـــر Gliocladium virens

اكتشف هذا الفطر واستعمل فى المقاومة الحيوية من قبل مجموع USDA-ARA فى بلتسفايل، وطرح فى السوق للتداول سنة ١٩٩٠ بواسطة شركة W.R. Grace تحت اسم تجارى جلايو جارد Glio Gard و Soil Gard معتمدة على عزلات *G. virens*. يستعمل هذا الفطر فى المقاومة الحيوية ضد أمراض البادرات لنباتات الزينة وفى مشاتل كثيرة من النباتات الأخرى. السلالة GL-21 تستعمل فى أمريكا على نطاق واسع.

٤- الفطـــر Trichoderma harzianum

اكتشف هذا الفطر كعامل مقاومة حيوية فى مركز أبحاث ولاية Geneva ، وسجل تحت اسم تجارى F-Stop أو Kodak - F. Stop، وقد اكتشفت سلالة نوع *Polysporum* وتباع تحت اسم تجارى *BINABT* ويستعمل ضد كثير من أمراض النبات الكامنة فى التربة وضد أعفان الخشب. يباع فى أمريكا باسم Trichodex لمقاومة الفطر بوترايتس. السلالة KRL-AG2 تستعمل على نطاق واسع فى أمريكا.

٥- الخميـــرة Candida oleophila

تستعمل بشكل خاص لأمراض ما بعد الجمع خاصة السلالة Aspire Ecogen Inc Langhorne, PA (ذكر عن هذه الخميرة فى فصل مقاومة أمراض بعد الجمع فى هذا الكتاب).

٦- الفطـــر Verticillium lecanii

يستعمل لمقاومة مرض البياض الدقيقى فى الخيار والحمضيات والشعير وصدأ الفاصوليا والقرنفل وصدأ *P. recondita* على القمح، بالإضافة لمقاومة حشرة المن والذبابة البيضاء.

٧- الخميرة الأرجوانية Sporobolomyces roseus

٨- الخمـــيرة Cryptococcus laurentii

تستعمل هاتان الخميرتان في مقاومة أمراض ما بعد الجمع في التفاح والكمثرى.

II : عوامل المقاومة الحيوية البكتيرية:

١- البكتيـــريا Bacillus subtilis

تباع هذه البكتيريا تحت اسم Kodiak (Gustafson) .

تستعمل هذه البكتيريا في المقاومة الحيوية كمعاملة بذور، تستعمل في أمريكا تحت اسم Kodiak، في تكساس ذات رقم كودى *376* GUS وتصنع في جستافون. تستعمر البكتيريا جذور النبات ولها قدرة عالية على التنافس مع الكائنات الممرضة التى تهاجم الجذور (موجبة لصبغة غرام). أهم السلالات المستعملة في المقاومة الحيوية هي GB03 والسلالة MBI-600 . أما السلالة A-13 فهي تباع تحت اسم Quantum-4000 وتستعمل لمعاملة بذور الفول السودانى قبل زراعتها. أما السلالة *GB03* والسلالة MBI600 فهى أكثر استعمالاً في أمريكا وتباع تحت اسم Kodick وتستعمل لمقاومة سقوط البادرات في القطن.

٢- البكتيـــريا Streptomyces griseoviridis

الاسم العلمى المستعمل في المقاومة الحيوية *streptomyces griseoviridis* Anderson *et al* strain K-61.

صفـــات البكتيـــريا

تنتج البكتيريا ما يسمى موقف الفطريات Mycostop عن طريق التخمير، تتجمع المنتجات الجافة من هذا الكائن التى تحتوى على الأقل $١٠^{٨}$ وحدة تكوين مستعمرات/ غرام منتج. هذه المادة ثابتة لمدة ستة شهور عندما تخزن في مكان مغلق درجة حرارته -٨°م أو لمدة ١٢ شهر على درجة حرار (-١٨°م).

لقد تم اكتشاف هذه البكتيريا على أساس أنها عامل مقاومة حيوية فى قسم أمراض النبات فى جامعة Helsinik ، ولقد وجدت هذه البكتيريا بوفرة فى الأراضى العضوية فى معظم البساتين. عند إجراء تصفية لعدد من السلالات تبين أن بعضها فعال كمضاد للكائنات الممرضة الكامنة فى التربة، وفى البذور (الفطريات)، أهم هذه السلالات هى k-61. لقد تم اكتشاف التركيب والاستعمال التجارى لهذه البكتيريا بواسطة O. Mohammadi سنة ١٩٩٤ .

تصنع البكتيريا باسم Kemira. والأسم التجارى Mycostop Kemira أهم السلالات المستعملة فى أمريكا K-61.

الاســـتعمال:

إن المادة التى تفرزها البكتيريا والتى تسمى Mycostop لها عدة طرق فى إظهار فعاليتها، منها:

١- المنافسة الشديدة على المكان والغذاء (المواد الغذائية المتوفرة).

٢- تحليل جدار خلية الفطر (الكائن الممرض للنبات) بواسطة إفراز إنزيمات خارجية.

٣- إفراز مواد مضادة فطرية من نواتج الأيض الغذائى.

ولقد تبين أن مادة موقف الفطريات Mycostop لها تأثير مشجع لنمو النباتات السلمية. أهم الفطريات التى تؤثر عليها هذه البكتيريا هى: فطريات الفيوزاريوم التى تسبب أمراض البذول وعفن قاعدة الجذر فى الخضروات ونباتات الزينة والأعشاب. كذلك فإنها تقاوم بعض الأمراض الكامنة فى التربة وفى البذور مثل *Phomopsis* والفطر *Alternaria*. يمكن أن تستعمل مادة موقف الفطريات هذه، فى الصوبات الزجاجية كمادة جافة لمعاملة البذور أو يستعمل كمعلق مائى تغمر فيه البذور أو يوضع فى ماء الرى.

يكون نوع التشكيل الناتج من هذه البكتيريا باسم WP. تكون مادة موقف الفطريات متوافقة مع عدد كبير من مبيدات الآفات. معظم هذه التركيبات يمكن أن تستعمل فى يوم التحضير نفسه.

تحدد حيوية ونقاوة مادة موقف الفطريات الناتجة من البكتيريا بعدد المستعمرات المتكونة فى المزرعة، وذلك عن طريق إجراء عد لها. تختبر الكفاءة الحيوية عن طريق

استعمال الحقن الصناعي فى بذور القرنبيط. لايسبب المركب أية أضرار للحيوانات ولاتوجد أية مخاطر صحية على الذين يشتركون فى التعامل مع هذه المادة، ولكن يوصى بعدم لمس المسحوق المستعمل للجلد.

الســـميه:

لايحدث أية تسمم للأسماك، أما بالنسبة للنحل فيؤثر بنسبة 9.8×10^8 cfu/kg.، أما بالنسبة للطيور الداجنة فيؤثر بنسبة 2.45×10^9 cfu/kg.

٣- البكتيـــريا Agrobacterium radiobacter K-84

اكتشفت البكتيريا واستعملت على نطاق واسع فى استراليا ضد مرض التدرن التاجى (سالبة جرام).

٤- Pseudomoans fluorescens

هذه البكتيريا سالبة غرام، تستعمل بواسطة شركة Ecogen فى Langhorne وتباع تحت الاسم التجارى Dagger G. وتستعمل ضد سقوط البادرات المتسبب عن بثيم ورايزوكتونيا فى القطن. السلالة EG1053 هى الأكثر استعمالاً فى أمريكا.

٥- Pseudomoans sgringae

السلالات المستعملة فى المقاومة الحيوية هى ESC-10، (Bio - Save 10 and Bio Save 11)، أما السلالة Eco science worcester MA فهى تستعمل فى مقاومة أمراض ما بعد الجمع.

٦- Berholdera cepacia

البكتيريا سالبة غرام، أهم سلالتها المستعملة فى المقاومة الحيوية هى Wisconsin، وتستعمل فى أمريكا على نطاق واسع.

المراجع

كتب أجنبيه وعربية

1- Agrios, G. N. 1997. Plant Pathology. 4th Edition. 635. Academic Press INC. San Diego, USA.

2- Baker, K. F. and R.J. Cook. 1974. Biological control of plant pathology. 433 pp. Freemon and Compay San Francisco. USA.

3- Charles, L. Wilson and M. E. Wisniewski. 1994. Biological control of post harvest diseases. Theory and paratic. 165 pp. Baca Raton Ann Arbor London. Tokyo.

4- Epton, H.A.S., Wilson, M. Nicholson, S.L. and Sigee, D.C. 1994. Ecology of plant pathogens 420. pp. Oxon. UK.

5- Hornby, D. 1990 Biological control of plant pathogens. 640 pp. Oxon. U.K.

6- Rosen, Fred D. Bennett, John L. Capinera. 1996. Pest management in the subtropics: integrated pest management. 578 pp. Andover. Hants U.K.

7- Tjamos, E.C. Papavizos, G.C., Cook, R. J. 1992. Biological control of plawt diseases. 350 pp. London U.K.

8- Tomlin, C.D. S. 1997. The pesticide manual. 11th Edition. 1500pp. British Erop Protection Council. Bear Farm, RG 42 5QE. U.K.

١- أبو عرقوب، محمود موسى ١٩٩٤ - أمراض النبات - الطبعة الثالثة - مترجم عن كتاب اجريوس الصادر سنة ١٩٨٨ - عدد الصفحات ١٤٠٠ صفحة - الناشر المكتبة الأكاديمية - القاهرة.

٢- توفيق ، محمد فؤاد - ١٩٩٧ - المكافحة البيولوجية فى الآفات الزراعية - ٧٥٨ صفحة. الناشر المكتبة الأكاديمية - القاهرة.

٣- ثابت ، كمال على - ١٩٧٦ مذكرات فى الأمراض الكامنة فى التربة - كلية الزراعة قسم أمراض النبات - جامعة القاهرة.

أبحاث سنة ١٩٩٧

1- Al-Rawahi, A.K. and J. G. Hancock. 1997. Rhizosphere competence of *Pythium oligandrum. Phtopathology* 87 (a) 951-959.

2- Bonsall, R.F., D. M. Weller and L. S. Thomashow. 1997. Quantification of 2,4 - Diacetyl phloroglucinol produced by fluorescent *Peseudomoans* spp. *in vitro* and in the rhizosphere of wheat. *Appliand Environ. Microbiol* 63 (3) : 951-955.

3- Candole. B.L. and C.S. Rothrock. 1997. Characterization of the sf suppressiveness of hairy vetch - Amended soils to *Thielaviopsis basicola Phytopathology* 87 (2): 197-202.

4- Conway, K.W., N.E. Maness and J.E. Motes. 1997. Integration of biological and chemical controls for *Rhizoctonia* aerial blight and root rot of Rosemary. *Plant Disease* 81 (7) : 795-798.

5- Elson, M.K., D.A. Schisler and R.J. Bothast. 1997. Selection of microorganisms for biological control of silfer scurf of potato tubers. *Plant Disease* 81 (6) : 647-652.

6- Hermosa, J.G. *et al.* 1997 Physiological and biochemical characterization of *Trichoderma harzianum* . A biological control agent aganist soil borne fungal plant pathogen. *Applied And Environmental Microbiol*: 63 (8) 3189-3198.

7- Kim, Dal-soo, D.M. Weller and R. J. Cook. 1997. Population dynamics of *Bacillus* sp. L. 324 -92 R12 and *Pseudomonas fluorescens* 2-79 RN 10 the Rhizosphere of wheat. *Phytopathology* 87 (5): 559-564.

8- Kohl, J., R. R. Belanger and N.J. Fokkema. 1997 Interaction of four antagonistic fungi with *Botrytis aclaoda* in dead onion leaves. *Phytopathology* 87 (6) : 634-642.

9- Korsten, L., E. E. Devilliers, F. C. Wehner and J. M. Kotze. 1997. Field sprays of *Bacillus subtilis* and fungicides for ©ontrol of preharvest fruit diseases of avocado in south Africa. *Plant Disease* 81 (5) : 455-459.

10- Leibinger, W. *et al* 1997. Contol of postharvest pathogens and colonization of the apple surface by antagonistic microorganisms in the field. *Phytopathology* 87 (11) : 1103-1110.

11- Lo, C.T., E. B. Nelson and G. E. Harmon. 1997. Improved biocontrol efficacy of *Trichoderma harzianum* 1295-22 for foliar phase of turf diseases by use of spray applications. *Plant Disease* 81 (10): 1132-1138.

12- Melzer, M.S., M. Dunn, T. Zhou and G. J. Boland. 1997. Assessment of hypovirulent isolates of *Cryphonectria parasitica* for potential in biological control of chestnut blight. *Can. J.* of *Plant pathology* 19 : 69-77.

13- Marschner, P., D. E. Crowley and R. M. Higashi. 1997. Root exudation and Physiological status of a root-colonizing fluorescent pseudomonal in mycorrhizal and non-mycorrhizal pepper *(Capsicum annuum) Plant and soil.* 189 : 11-20.

14- Oyarzum, P. J. *et Al.* 1997. Comparison of soil receptivity to *Thielaviopsis basicola, Aphanomyces euteiches* and *fusarium solani* f.sp. *pisi* causing root rot in pea. *Phytopathology* 87 (5) : 534-541.

15- Paulitz, T. C. 1997. Biological control of root pathogens in soilless and Hydroponic systems. *Hort Science* . 32 (2) 193-195.

16- Quadit - Hallman, A., J. Hallman and J. W. Kloepper. 1997. Bacterial endophytes in cotton: Location and interaction with other plant - associated bacteria. *Ca. J. Microbiology* 43 : 254-259.

17- Rodriguez, F. and W. F. PFender. 1997. Antibiosis and antagonism of *Sclerotinia homoeocarpa* and *Drechslera poae* by *Pesudomonas fluorescens* pf-5.

18- Schisler, D. A., P. J. Slininger and R. J. Bothast. 1997. Effects of antagonist cell concentration and two-strain mixtures on biological control of *Fusarium* dry rot of potatoes. *Phytopathology* 87 (2) : 177-183.

19- Shirasu, K. *et al.* 1997. Salicylic acid potentiates an agonist-dependent gain control that amplifies pathogen signals in the activation of defense mechanisms. *The Plant Cell* 9 : 261-270.

20- Smith, K. P., J. Handelsman and R. M. Goodman. 1997. Modeling Dose - Response relationship in biological control partitioning host responses to the pathogen and biological control agent *Phytopathology* 87 (3) : 720-729.

21- Stanghellini, M. E. and R. M. Miller 1997. Biosurfactants, their identity and potential efficacy in the biological control of zoosporic plant pathogens. *Plant Disease* 81 (1) : 4-12.

22- Toyota, K. and K. Ikeda. 1997. Relative importance of motility and antibiosis in the rhizoplane competence of a biocontro agent *Pseudomonas fluorescens Mel Rc 2Rif. Bio Fertil Soils.* 25 : 416-420.

23- Troxler. J. *et al.* 1997. Interaction between the biocontrol agent *Pseudomonas fluorescens* CHAO and *Thielaviopsis basicola* in tobacco roots observed by immuno fluorescens microscopy. *Plant Pathology* 46 : 62-71.

24- Thrane, C., A. Tronsmo and D. F. Jensen. 1997. Endo-1,3-P-glucanase and cellulase from *Trichoderma harzianum* purification and partial characterization, induction of and biological activity aganist *Pythium* spp. *European J.* of *Plant Pathology* 103 : 331-344.

25- Vavrina, C. S. 1997. Biological control strategies for successful stand Establishment : Introduction to the colloquinum. *Hort Science* 32 (2) 178-183.

26- Wilson, C. L., *et al.* 1997 Rapid evaluation of plant extracts and essential oils for antifungal activity aganist *Botrytis cinerea. Plant Disease* 81 (2) : 204 - 210.

أبحاث سنة ١٩٩٦

27- Benhamou, N., *et al.* 1996. Pre-inoculation of RiT-DNA - transformed pea roots with *Pseudomonas fluorescens* inhibits colonization by *Pythium ultimum. Planta* 199 : 105-117.

28- Craft, C. M. and E. B. Nelson. 1996. Microbial properties of composts that suppress damping-off and root rot of creeping bentgrass caused by *Pythium graminicola. Applied And Environmental Microbiology* 62 (5) 1550-1557.

29- Elmer, W. H. 1996, Association between Mn-reducing root bacteria and Nacl application in suppression of *Fusarium* crown and root rot of asparagus. *Phytopathology* 86 (1) : 1461-1467.

30- El-Tarabily, K. A., *et al.* 1996. Synergistic effects of a cellulase - producing *Micromonospora carbonacea* and an antibiotic - producing *streptomyces violascens* on the suppression of *Phytophthora cinnamomi* root rot of *Banksia grandis. Can.* J. of *Botany.* 74 : 618-624.

31- Exelrood, P. E., *et al.* Douglas - fir root - associated microorganisms with inhibitory activity towards fungal plant pathogens and human bacterial pathogens. *Can. J. Microbiology* 42 : 690-700.

32- Gould, A. B., D. Y. Kobayashi and M. S. Bergen. 1996. Identification of Bacteria for bilogical control of *Botrytis cinerea* on petunia using a petal disk assay. *Plant Disease* 80 (9) 1029-1033.

33- Guzzo, S. D. and E.M.F. Martins. 1996. Local and systemic induction of B-1,3-Glucanase and chitinase in coffee leaves protected aganist *Hemileia vastatrix* by *Bacillus thuringiensis. J. Phytopathol.* 44 : 449-451.

34- Handelsman, J. and E. V. stabb. 1996. Biocontrol of soilborne plant pathogens. *The Plant cell* 8 (10) : 1855-1869.

35- Hoffland, E., J. Hakulinen and J. A. Van Pelt. 1996. Comparison of systemic resistance induced by Avirulent and Nonpathogenic *Pseudomonas* sp. *Phytopatology* 86 (7) : 757-762.

36- Janisiewicz, W. 1996. Ecological diversity, niche overlap, and coexistance of antagonists used in developing mixtures for biocontrol of post harvest disease of apples. *Phytopathology* 86 (5) : 473-479.

37- Kim, D.H. and I.J. Misaghi. 1996. Biocontrol performance of two isolates of *Pseudomonas fluorescens* in modified soil atmospheres. *Phytopathology* 86 (11) 1238-1241.

38- Mclaren, D. L. and H.C. Huang. 1996. Control of Apothecial production of *Sclerotinia scleratiorum* by *Coniothyrium minitans* and *Talaromyces flavus. Plant Disease* 80 (12) : 1373-1378.

39- Lo, C.T. 196. Biological control of turfgrass diseases with rhizosphere competent strain of *Trichoderma harzianum. Plant Disease* 80 (7) 736-741.

40- Montesines, E. and B. Bonaterra. 1996. Dose - Response models in biological Control of plant pathogens an empirical verification *Phytopathology* 86 (5) : 464-472.

41- Marley, P. S. and R. J. Hillocks. 1996. Effect of root-knot nematodes *Meloidogyne* spp. on *Fusarium* wilt in pigeonpea. *Field crops Research* 46 : 15-20.

42- Menzies, J. G. and R. R. Belanger. 1996. Recent advances in cultural management of diseases of greenhouse crops. Can. J. of plant Pathology 18 : 168-193.

43- Pieterse, C.M.J. *et al.* 1996 Systemic resistance in arabidopsis induced by biocontrol bacteria is independent of salicylic acid accumulation and pathogenesis - related gene expression. *The Plant cell.* 8 : 1225-1237.

44- Sanker, P. and R. Jeyarajan. 1996. Compatibility of antagonists with *Azospirillum* in sesamum. *Indian Pathology.* 49 (1) 67-71.

45- Stockwell, V.O. *et al.* 1996 Transfer of pAgK84 from the biocontrol agent *Agrobacteriurn radiobacter* K84 to *A. tumefaciens* under field conditions *Phytopathology* 86 (1) 31-37.

46- Sturz, A. V. and B. G. Matheson. 1996. Populations of endophytic bacterial which influence host - resistance to *Erwinia* - induced bacterial soft rot in potato tubers. *Plant and Soil* 184 : 265-271.

47- Vicedo, B. *et al.* 1996. Spontaneous tranfer of the Ti Plasmid of *Agrobacterium tumefaciens* and the No paline catabolism plasmid of *A. radiobacter strain* K-84 in crown Gall tissue *Phytopathology* 86 (5) 528-534.

أبحاث سنة ١٩٩٥

48- Behrendt, C. J. *et al.* 1995. An integrated approach, using biological and chemical control to prevent blue stain in pine logs. *Can. J. Botany* 73 : 613-619.

49- Carruther, F.L., *et al.* 1995. The significance of antibiotic production by *Pseudomonas aureofaciens* PA 147-2 for biological control of *Phytophthora megasperma* root rot of asparagus. *Plant and soil.* 170 : 339-344.

50- Cartwright, D. K. and D. M. Benson. 1995. Optimization of biological control of *Rhizoctonia* stem rot of poinsettia by *Paecilomyces lilacinum* and *Pseudomoaus cepacia. Plant Disease* 79 (3) : 301-308.

51- Chambers. S. M. and E. S. Scott. 1995. *In vitro* antagonism *of Pyhtophthora cinnamomi* and *P. citricola* by isolates of *Trichoderma* spp. and *Gliocladium virens. J. Phytopathology*. 143 : 471-477.

52- Dickinson. J.M., J. R. Hanson and A. Truneh. 1995. Metabolites of some biological control agents. *Pestic. Sci.*, 44 : 389-393.

53- Fiddaman, P. J. and S. Rossall. 1995. Selection of bacterial antagonists for the biocontrol of *Rhizoctonia solani* in oilseed rape. *Plant Pathology* 44 : 695-703.

54-Go pinathan, S. 1995. Biological control of *Rhizoctonia* sp. root rot of *Casuarina equisetifolia* seedlings by *Frankia* sp. strains. *Biol. Fertil. Soils* 20: 221-225.

55- Janisiewicz, W. J. and B. Bors. 1995. Development of a microbial community of bacterial and yeast antagonists to Control wound - invading post harvest pathogens of fruits. *Applied and Environmental Microbiology* 61 (9) : 3261-3267.

56- Kohl, J. et al, 1995. Effect of *Ulocladium atrum* and other antagonistis on sporulation of *Botrytis cinerea* on dead lily leaves exposed to field conditions. *Phytopathology* 85 (4) : 393-401.

57- Korsten, L., *et al.*. 1995. Evaluation of bacterial epiphytes isolated from avocado leaf and fruit surface for biocontrol of avocado post harves disease. *Plant Disease* 79 (11) : 1149-1156.

58- Mc Quilken, M. P. *et al.*, 1995. Effect of *Coniothyrium minitans* on sclerotial survival and apothecial production of *Sclerotinia sclerotiorum* in field grown oilsed rape. *Plant Pathology* 44: 883-896.

59- Michereff, S. J. *et al* ,. 1995. Green house screening of *Trichoderma* isolates for control of *Curvularia* leaf sport of yam. *Mycopathologia* 130 : 103- 108.

60- Potjewijd, R., *et al*.,. 1995. Cellulose - based coatings as carriers for *Candida guillermondii* and *Debaryomyces* sp. in reducing decay of oranges. *Hort Science* 30 (7) : 1417-1421.

61- Schisler, D., A., *et al.* 1995. Evaluation of yeasts for biological control of Fusarium dry rot of potatoes. *American Potato* J. 72 : 339-353.

62- Tjamos, E.C. and D. R. Fravel. 1995. Detrimental effects of sublethal heating and *Talaromyces flavus* on microsclerotia of *Verticillium dahliae*. *Phytopathology* 85 (4): 388-392.

63- Toyota, K. M. Kitamure and M. Kimura - 1995. Suppression of *Fusarium Oxysporum* f.sp. *raphani* Peg-4 in soil following colonization by other *fusarium* sp. *Soil Biol. Biochem.* 27 (1) : 41-46.

64- Venkatasubbaiah, P., T. B. Sutton and W.S. Chiltion. 1995. The structure and biological properties of secondary metabolites produced by *Peltaster fructicola* a fungus associated with apple sooty blotch disease. *Plant Disease* 79 (11) : 1157-1160.

65- Wisniewski, M., et al. 1995 Effects of Ca^{2+} and Mg^{2+} on *Botrytis cinerea* and *Penicillium expansum in vitro* and on the bicocntrol activity of *Candida oleophila*. *Plant Pathology* 44 : 1016-1024.

66- Yang, D., L. Bermier and M. Dessurault. 1995. *Phaeotheca dimorphospora* increases, *Trichoderma harzianum* density in soil and suppresses red pine damping off coused by *Cylindrocladium scoparium*. *Can.* J. *Botany* 74: 963-700.

أبحاث سنة ١٩٩٤

67- Abd- El-Moity, T. H. and A. I. Hanna. 1994. Biological control of *Rhizoctonia* disease in potato under diferent types of soil conditions. *Zagazig J. Agric. Res.*, 21 (6) 1683-1689.

68- Cotty, P. J. and D. B. Bhatnagar. 1994. Variability among A toxigenic *Aspergillus flavus* strains in ability to prevent Aflatoxin contamination and produciton of Aflatoxin Biosynthetic pathway enzymes. *Applied And Environmental Microbiology* 60 (7) : 2248-2251.

69- Dohroo, N. P. 1994. Integrated managemtn of yellows of ginger. *Indian Phytopathology* 44 : 90-92.

70- Holmes, K. A. 1994. Evaluation of *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae* for biocontrol of *Phytophthora parasitica* on *Catharanthus roseus*. *Plant Disease* 78 (2) : 193-199.

71- Jantsiewicz, W. J., D. L. Peterson and R. Bors. 1994. Conrol of storage decay of apples with *sporobolomyces roseus*. *Plant Disease* 78 (5) : 466-470.

72- Mukhopadhyay, A. N. 1994. Biocontrol of soil borne fungal plant pathogens current *status*, future prospect and potential limitations. *Indian Phytopathology* 47 (2) : 119-126.

73- Roberts. R. G. 1994. Integrating biological control into post harvest disease management strategies. *Hort Sciens* 29 (7) : 758-762.

74- Sugar. D., et al. 1994. Integration of cultural methods with yeast treatment for conrol of post harvest fruit decay in pear. *Plant Disease*. 78 (8) 791-795.

75- Yuen, G. et al. 1994. Biological conrol of *Rhizoctonia solani* on tall fescue using fungal antagonists. *Plant Disease* 78 (2) 118-123.

أبحاث عام ١٩٩٣

76- Calvet, C., J. Pera and J. M. Barea. 1993. Growth response of marigold to inoculation with *Glomus mosseae, Trichoderma aureoviride* and *Pythium ultimum* in peat-perlit mixture. *Plant and soil* 148 : 1-6.

77- Cook, R. J. 1993. Making greater use of introduced microorganisms for biological control of plant pathogens. *Annul Rev. Phytopathology* 31: 53-80.

78- Knualsen, I. B. and J. P. Skou. 1993. The effectivity of *Tilletiopsis albescens* in biocontrol of powdery mildew. *Ann. Appl. Biology*. 123: 173-185.

79- Navi, S. S. and S. D. Singh. 1993. *Fusarium longipes* a mycoparasite of *Sclerospora graminicola* on pearl millet. *Indian Phytopathology* 46 (4) : 365-368.

80- Raguchander, T.. R. Samiappan and G. Arjunan. 1993. Biocontrol of *Macrophomina* root rot of mungbean. *Indian Phytopathology* 46 (4) 379-382.

أبحاث سنة ١٩٩٢

81- Andrews, J. H. 1992. Biological conrtol in the phyllosphere. *Ann. Rev. Phytopathology* 30: 603-635.

82- Huang, H. C. 1992. Ecological basis of biological control of soilborne plant pathogens. *Can. J. of Plant Pathology*. 14 : 86-91.

83- Mukhopadhyay, A. N., S. M. Shrestha and P. K. Mukherjee. 1992. Biological seed treatment for control soil - borne plant pathogen. *FAO Plant Prot. Bull.* 40 (1-2) : 21-29.

84- Ownley, B. H. and D. M. Benson. 1992. Evaluation of *Penicillium janthinellum* as a biological control of *Phytophthora* root rot of Azalea *J. Amer . Soc. Hort. Sci.* 117 (3) : 407-410.

85- Simon, E., E. Ceglarska - Hodi and I. Gara Mvolgyi. 1992. Microbial control of soil - borne pathogens in Hungary. *Bulletin OEPP / EPPO Bulletin* 22 : 457-461.

86- Utkheda, R. S., 1992. Biological control of soil - borne pathogens of fruit trees and grapevines. *Can. J. Plant Pathology*. 14 : 100-105.

87- Wisniewski, M. E. and C. L. Wilson. 1992. Biological control of postharvest disease of fruits and vegetables. *Recent Advances. Hort Science* 27 (2) : 94-97.

أبحاث عام ١٩٩١

88- Baker, R. 1991. Diversity in biological control. *crop Protection* 10 (2) : 85-94.

89- Baker, R. 1991. Induction of rhizosphere competence in the biocontrol fungus *Trichoderma. Beltsville Symposia in Agricultural Research* 14 : 22-228.

90- Chet, I. et al. 1991. Mechanisms of biocontrol of soil-borne plant pathogens by rhizobacteria. *Beltsville Symposia in Agricultural Research* 14 : 229-236.

91- Fraved, D. R. and A. P. Keinath. 1991. Biocontrol of soil-borne plant pathogen fungi. *Beltsville symposia in Agricultural Research* 14 : 237-243.

92- Leong, J. et al. 1991. Genetics of iron transport in plant growth promoting *Pseudomonas putida* WCS 358. *Beltsville symposia in Agricultural Research* 14 : 271-278.

93- Kehri, H. K. and S. chandra. 1991. antagonism of *Trichoderma viride* to *Macrophomina phaseoline* and its application in the control of dry root-rot mung. *Indian Phytopathology* 44 (1) : 60-63.

94- Parke, J. L. et al. 1991. Biological control of *Pythium* damping-off and *Aphanomyces* root rot of peas by application of *Pseudomonas cepacia* or *P. fluorescens* to seed. *Plant Disease* 75 (10) 987-992.

95- Peer, S. et al. 1991. Stability of *Trichoderma harzianum* amds transformants in soil and rhizosphere. *Soil Biology & Biochemistry* 23 (11) : 1043-1046.

96- Peer. S. and J. Chet. 1991. *Trichoderma* protoplast fusion a tool for improving biological agent. *Can. J. of Microbiology*. 36 (1) 6-9.

97- Thomashow, L. S., and D. M. Weller. 1991. Role of antibiotics and siderphores in biocontrol of take-all disease of wheat. *Beltsville symposia in Agricultural Research* 14 : 245-251.

98- Wilson, C. L. et al. 1991. Biological control of postharvest diseases of fruits and vegetables: alternative to synthetic fungicides. *Crop Protection*. 10 (3) 172-177.

99- Adams, D. B. 1990. Ann. *Rev. Phytopathol.* 28 : 59-72.

100- Weller, D. M. 1988. *Ann. Rev. Phytopathol.* 26 : 379-407.