# الفصل الخامس

# تطبيقات عملية لاستخدام ISR
# فى مقاومة أمراض النبات

**مقدمة :**

هناك كثير من الأبحاث التى أجريت ابتداءاً من أوائل التسعينيات ، ذكرت أن نظام الوقاية المستحثة ISR يمكن أن يكون ميكانزم ، بديلاً لعملية التضاد ، الحيوى للحصول على مقاومة حيوية جيدة لأمراض النبات . هناك عدة فروق بين نظام ISR ونظام التضاد الحيوى كوسائل داخلة فى المقاومة الحيوية لأمراض النبات ، أهم هذه الفروق هى :

١ – إن فعل ISR مبنى على أساس ميكانزم دفاعى فى النبات ، والذى يمكن أن ينشط بالعوامل الحائة ، بينما يعتمد التضاد الحيوي على الفعل المباشر لعوامل المقاومة الحيوية، مثل انتاج كل من المضادات الحيوية أو السايدروفورز وسيانيد الهيدروجين (HCN) بالإضافة إلى التنافس الغذائى .

٢ – إن ISR ينشط كفاءة ميكانيكيات الدفاع المتعددة التى تشمل الزيادة فى فاعلية إنزيمات Chitinases و B- 1,3 - glucanases ، Peroxidases والبروتينات الأخرى ذات العلاقة بالمرضية (-PR) وتجمع المواد الساة الميكروبية ، وهى مواد ذات وزن جزيئى منخفض مثل الفايتوالكسن وتكوين مواد حافظة من البوليمرز الحيوية مثل اللجنين ، كالوس والهايدروكسى بروليين ، الغنى بالجلايكوبروتينيز ، بينما يعتمد التضاد الحيوى على المنافسة على الغذاء أو المكان أو إفراز مضادات حيوية مختلفة تؤثر على الكائن الممرض .

٣ – تتميز ISR بأن تأثيرها يمكن أن يظهر ضد مدى واسع من الكائنات الممرضة ، التى يمكن أن تقاوم بواسطة عامل حاث مفرد ، فمثلاً فى الخيار فإن معاملة الورقة الأولى فى النبات بالكائن الممرض المسبب نكروزز ، تحمى النبات ضد ١٣ كائناً ممرضاً على الأقل ، شاملة الفطريات ، البكتيريا والفيروسات ، بينما فى التضاد الحيوى ، فإن الكائنات المضادة بشكل عام لا تكون فعالة ضد كائنات ممرضة متنوعة .

٤ – إن ISR حسب تعريفها تحفظ النبات جهازياً (بعد حقن النبات بالعامل الحاث) فى جزء واحد من النبات ، بينما ميكانيكية عوامل المقاومة الحيوية الأخرى ليست جهازية.

لقد درس نظام المقاومة المستحثة للأمراض بشكل أساسى فى المعمل وفى الصوبا الزجاجية . هناك بعض التقارير تدل على أن ISR تستطيع أن تقى المحاصيل النباتية تحت ظروف الحقل ، فمثلاً ، يمكن وقاية الخيار والبطيخ بالوقاية الجهازية المستحثة ، التى تتبع الحقن بالكائن *Colletotrichum orbiculare* فى الحقل . أما فى الدخان فإن الدراسات الحقلية المكثفة لمدة ثلاث سنوات فى منطقة بورتوريكو ، ذكرت بأن ISR تحفظ النبات ضد كل من السلالة الحساسة للميثاليكسايل والسلالة المتحملة له من الفطرة *Peronospora tabacina* وذلك باستعمال الحقن المباشر للساق ، بمعلق الجراثيم الأسبورانجية من بعض الأنواع التى تتبع الكائن الممرض نفسه . إن الاستعمال الواسع لـ ISR لم يتحقق بعد ، وذلك بسبب أن ISR الكلاسيكية والسهلة الاستعمال تستخدم كائنات دقيقة ممرضة كعوامل حاثة ، إلا أن الدراسات الحديثة جداً تحاول إيجاد عوامل حاثة غير ممرضة .

فى السنوات القليلة الماضية أجريت دراسات معملية عديدة ، أثبتت أن PGPR (ذكرت بالتفصيل فى الجزء الأول من الكتاب) ، يمكن أن تكون عوامل حاثة، وذلك بسبب ظهور بعض الوقاية الجهازية ضد بعض الكائنات الممرضة . إن PGPR يمكن أن تكون مصدراً عملياً لتزويد الزراعة بـ ISR ، ولكن هذه العملية فى الحقول الواسعة لا تزال قيد الدراسة .

فى الدراسة الحديثة تبين أن سلالات معينة من PGPR يمكن أن تعمل كعوامل حاثة فى أجهزة نباتية مختلفة فمثلاً وجد Van Peer *et al* سنة ١٩٧١ أن سلالة من *Pseudo-monas* sp. تسبب مقاومة جهازية مستحثة فى القرنفل ضد مرض ذبول الفيوزاريوم . أما Wei *et al* سنة ١٩٩١ ذكر أن حقن بذور الخيار بسلالة مختارة من PGPR يؤدى إلى مقاومة جهازية مستحثة فى أوراق الخيار ضد الانثراكتوز المتسبب عن *C.orbiculare* ، فى حين أن Alstrom سنة ١٩٩١ ، وجد أن المقاومة الجهازية أمكن حثها فى نباتات الفاصوليا ضد اللفحة الهالية halo blight المتسبب عن البكتيريا *P.syringae pv. phase-olicola* عن طريق معاملة البذور بالبكتيريا الوميضة *P.fluorescens* سلالة S-97 . كذلك فإن Zhou & Paulitz سنة ١٩٩٤ ذكر أن عفن الجذر فى الخيار المتسبب عن الفطر *Pythium aphanidermatum* يمكن أن يقاوم باستعمال سلالة من البكتيريا الوميضة *P.Fluorescens* عندما تضاف إلى الجهاز الجذرى بطرق عملية خاصة . كذلك وجد Maurhofer *et al* سنة ١٩٩٤ أن البكتيريا الوميضة المذكورة ، السلالة CHAO تحث على المقاومة فى الخيار ضد فيروس نكروزز الدخان .

# أولاً : مقاومة بعض أمراض الخيار

## ١ - وقاية نباتات الخيار من أعفان الجذور

### ١ - وقاية نباتات الخيار من عفن الجذر المتسبب عن الفطر بثيم افندرماتم

**مقدمة :**

يتسبب مرض عفن الجذر فى الخيار عن الفطر *Pythium aphanidermatum* . يهاجم هذا الفطر جذور نباتات الخيار الصغيرة ، مسبباً عفن الجذر والتاج وموت البادرة . أظهرت الدراسات الحديثة ، أن مرض الجذر فى الخيار المتسبب عن هذا الفطر ، يمكن كبحه suppress باستعمال سلالة من البكتيريا *Pseudomonas* . هذا الكبح يمكن أن يتسبب عن عدة ميكانيكيات ، من ضمنها المنافسة على الكمية المحدودة من الغذاء أو عن طريق التضاد الحيوى أو المقاومة المستحثة .

درست المقاومة الجهازية المستحثة ISR ضد أمراض النبات فى حوالى ٢٥ نوعاً من المحاصيل ، فى خلال الثلاثة عقود الماضية . بالنسبة لتأثير هذه المقاومة على الفطر موضوع الدراسة ، وجد أنها يمكن أن تؤثر بشكل غير مباشر على واحد أو أكثر من مراحل تكوين أو سلوك الجراثيم الهدبية ، قبل أو خلال الاصابة بالكائن الممرض . تسلك الجراثيم المتحركة لهذا الفطر كلقاح أولى ، حيث أن هذه الجراثيم تنجذب كيماوياً إلى إفرازات الجذر . هناك عديد من الأحماض الأمينية ، عديدات التسكر أو المركبات المتطايرة ، تشجع هذا الانجذاب وتحوصل الجراثيم .

لقد وجد أن ISR تقوم بتغيير طريقة استعمار الجذور بعد اصابتها بالكائن الممرض . لقد استعمل بعض الباحثين نظام الجذر المشقوق Spilt root system لاظهار أن البكتيريا بسيدوموناس (الرايزوبكتيريا) تمارس تأثير جهازى على كل من حدوث المرض المتسبب عن هذا الفطر ، الكتلة الحيوية ، وانتاج الثمار فى النباتات المصابة . فى الابحاث المبكرة على هذا المرض (Zhou & paulitz سنة ١٩٩٣) ذكرا أن انتشار الجراثيم الهدبية على سطح الجذر، يحدث بها تغيير على جذور الخيار المعاملة بالرايزوبكتيريا *Pseudomonas* sp. ، بالإضافة لذلك، فإن أفرازات الجذور المعاملة بالبكتيريا تكون أقل جذباً للجراثيم الهدبية للفطر الممرض.

يمكن تفسير هذا السلوك للمقاومة الجهازية المستحثة ISR ضد عفن الجذر فى الخيار، بسبب التأثير غير المباشر على سلوك الجراثيم الهدبية و/أو تأخير الاصابة بالكائن الممرض وتكشف المرض فى النباتات المعاملة بالرايزوبكتيريا ، وكذلك خفض معدل استعمار الجذر من قبل الكائن الممرض .

## مقاومة المرض :

### ١ – تأثير ISR على إنبات الجراثيم الهدبية

عندما حضن معلق من الجراثيم الهدبية لهذا الفطر مع أنسجة جذر نبات الخيار لمدة ٣ ساعات على درجة حرارة الغرفة العادية ٢٢ °م ، لوحظت جميع مراحل تكشف الجراثيم الهدبية تحت الميكروسكوب الضوئى . تبين أن جذور الخيار تشجع بشكل معنوى إنبات الجراثيم مقارنة مع الكنترول . عندما حضن معلق الجراثيم الهدبية فى وجود الجذور المبكترة بالسلالة ١٣ أو (٦٣–٢٨) من *Pseudomonas* ، ينخفض معدل الانبات بنسبة ٣٧ ٪ و ٣٥ ٪ بالترتيب مقارنة مع الكنترول . لوحظ فى الجذور السليمة المبكترة (النامية فى أوعية) انخفاض فى نسبة إنبات الجراثيم الهدبية بنسبة ٤٣ ٪ – ٤٧ ٪ . تدل هذه النتائج على أن الأفرازات المنطلقة من جذور الخيار التى كان قد حصل لها بكترة تؤثر على إنبات الجراثيم الهدبية للفطر الممرض جدول رقم ٤٦ .

**جدول رقم (٤٦) : إنبات الجراثيم الهدبية للفطر *P.aphanidermatum* فى ماء به بكتيريا بسيدوموناس أو في جذور الخيار المستحثة بنفس البكتيريا .**

| نوع التجربة | سلالة البكتيريا المستعملة | ٪ جراثيم هدبية نابتة | ٪ جراثيم متحوصلة | ٪ جراثيم نابتة |
|---|---|---|---|---|
| جذر مشقوق | ١٣ | ٢٠ | ٢٧ | ٥٢ |
| جذر مشقوق | (٦٣–٢٨) | ١٨ | ٢٨ | ٥٤ |
| كنترول | — | ٦ | ١١ | ٨٣ |
| جذر سليم | ١٣ | ١٧ | ٣٥ | ٤٨ |
| جذر سليم | (٦٣–٢٨) | ١٢ | ٤٤ | ٤٥ |
| كنترول | — | ٣ | ١٢ | ٨٥ |
| بدون جذور | — | ٤٧ | ٣١ | ٢٢ |

## ٢ – استعمار الجذر من قبل الجراثيم الهدبية

عندما غمرت جذور الخيار فى ماء به جراثيم هدبية للفطر الممرض ، بعض هذه الجراثيم اتجهت إلى الجذور والتصقت بها واستعمرت سطوح الجذور . كان متوسط اعداد الجراثيم المتحوصلة أو المنبهة / ملم٢ من قمة الجذر يختلف من ٨ فى الكنترول إلى ١,٧ فى الجذور المبكترة (جدول رقم ٤٧) . تبين أن سلالات البكتيريا *Pseudomonas* تخفض قوة الجذب فى الجذور ، وبالتالى تنخفض اعداد الجذور المجذوبة إلى الجذر . كانت نسبة الخفض تتراوح من ٧٠ ٪ – ٨٠ ٪ وذلك حسب السلالة .

كان هناك تأثير كبير على أعداد الجراثيم الفطرية التى تلتصق بالجذر ، وعلى تكوين أنبوبة الإنبات وعلى اختراق الجذور المبكترة . كان هذا التأثير معنوى بشكل كبير على الجذور المستعمرة كثيراً بالبكتيريا . يتبين من ذلك أن ISR المتكونة بواسطة *Pseudomonas* sp تخفض انتشار الكائن الممرض على جذور الخيار . كذلك فإن اصابة منطقة التاج فى الجذور المبكترة كانت منخفضة وتأخر حدوثها من ٤ – ٦ أيام بالمقارنة مع الكنترول . وبالتالى يمكن القول بأن البكترة يمكن أن تمارس تأثيراً مباشراً على سلوك جراثيم الفطر الممرض وعلى الاصابة عن طريق ISR وكذلك لها تأثير موضعى عن طريق التضاد الحيوى Antibiosis أو حدوث مقاومة مستحثة موضعية .

**جدول رقم (٤٧) : التحوصل وانبات الجراثيم الهدبية للفطر *P.aphanidermatum* على بعد ٥ ملم من قمة الجذر فى الخيار المبكتر بالبكتيريا بسيدوموناس . كانت تحضن الجراثيم الهدبية مع الجذور فى ماء معقم لمدة خميسة ساعات على حرارة ٢٢°م .**

| نوع التجربة | سلالة البكتيريا المستعملة | عدد الجراثيم الهدبية / ملم٢ من الجذر | ٪ انبات الجراثيم |
|---|---|---|---|
| جذر مشقوق | ١٣ | ٢,٨ | ٨٧ |
| جذر مشقوق | (٦٣–٢٨) | ٣,٠ | ٧٩ |
| جذر مشقوق | كنترول | ٧,٢ | ٨٦ |
| جذر سليم | ١٣ | ٢,٤ | ٧٨,٧ |
| جذر سليم | (٦٣–٢٨) | ١,٧ | ٧٨,٠ |
| كنترول | –– | ٨ | ٨٧ |

### ٣ – تأثير السلالات البكتيرية على خفض المرض

زرعت بذور الخيار الانجليزى الطويل *Cucumis sativus* ونبتت تحت ظروف مائية . بعد الانبات بثلاثة أيام ، حقنت النباتات بمعلق بكتيرى يحتوى ٥ × ١٠$^{٩}$ وحدة تكوين مستعمرات/مل . بعد خمسة أيام من الحقن البكتيرى ، حقنت بمعلق جرائيم الفطر الممرض المذكور سابقاً ، بتركيز ١,٥ × ١٠$^{٦}$ وحدة تكوين مستعمرات/مل . استعملت أربعة عزلات من البكتيريا *Pseudomonas* هى BTP-1 ، BTP-7 ، ATCC 17400 و $M_3$ . بعد خمسون يوماً درس كل من :

١ – شدة المرض فى النبات . ٢ – الوزن الطازج للنبات .

٣ – الوزن الجاف للجذر وكانت النتائج كما هو واضح فى جدول رقم ٤٨ . ظهرت أعراض المرض مبكرة على نباتات الكنترول بعد الحقن بالكائن الممرض من ٤–٥ أيام . أما النباتات التى حقنت بالبكتيريا السلالة ATCC 17400 ثم بعد ذلك حقنت بالكائن الممرض ، أظهرت أعراض المرض مشابهة للكنترول . فى نهاية التجربة كان معدل نسبة موت البادرات ٧٥ ٪ فى الكنترول ، و ٦٣ ٪ فى النباتات المعاملة بالسلالة البكتيرية المذكورة سابقاً . بالنسبة للوزن الجاف للجذر وجد أن المعاملة بالسلالة BTP-1 و M3 أعطت أعلى قيمة وبالرغم من وجود الكائن الممرض كانت الجذور كثيفة متماسكة وذات لون طبيعى . أما فى المعاملة بالسلالة ATCC 17400 كانت الجذور الثانوية قليلة وذات لون بنى ولزجة .

### ٤ – الكشف عن المضادات الفطرية والفينولات

فى نهاية التجربة أخذ المحلول الغذائى الذى كانت تنمو فيه نباتات الخيار وأجرى عليه اختبارات الكشف عن السايدروفور Pyoverdines . كانت النتيجة عدم وجود أى أثر لهذا المركب فى ثلاثة تجارب ووجوده فى تجربة BTP-7 وكانت هذه الكمية تقدر ٢ ميكروميتر . أما بالنسبة للمضادات الفطرية لم تتواجد فى البيئة النامية فيها النباتات .

تبين أن هناك فينولات موجودة فى محلول السلالة BTP-1 و M3 أكثر منه فى السلالتين الأخرتين . بعد هذه الدراسة يتبين أن السلالة BTP-1 و M3 ذات كفاءة فى مقاومة عفن جذور الخيار المتسبب عن الفطر *P.aphanidermatum* .

**جدول رقم (٤٨) : تأثير سلالات البكتيريا بسيدوموناس على نمو نباتات الخيار صنف Corona وشدة المرض المتسببة عن الفطر الممرض المذكور سابقاً .**

| التجربة | غرام وزن النبات الطازج | غرام وزن الجذر الجاف | دليل شدة المرض |
|---|---|---|---|
| كنترول (بدون فطر وبدون بكتيريا) | ١٣٨ | ٤,٩ | ٠,٦ |
| نباتات محقونة بالفطر فقط | ٦٠ | ٤,٢ | ٤,٣ |
| الفطر + سلالة BTP-7 | ١١٨ | ٤,٩ | ١,٨ |
| الفطر + سلالة ATCC | ٧١ | ٤,٧ | ٣,٩ |
| الفطر + سلالة M3 | ١٣٠ | ٥,٠ | ١,٢ |
| الفطر + سلالة BTP-1 | ١٦٠ | ٥,٨ | ١,٢٥ |

**ملاحظة على الجدول :**

دليل شدة المرض وضعت على أساس ستة درجات من صفر إلى خمسة حيث أن صفر بدون ذبول أما رقم ٥ يدل على موت كامل للنبات .

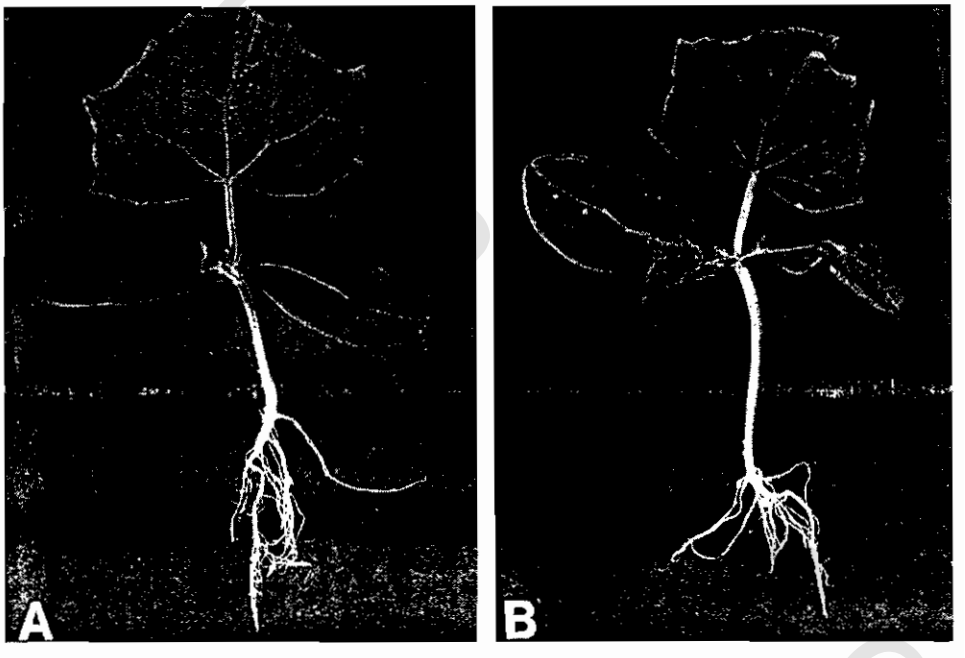
## ب - وقاية نباتات الخيار من عفن الجذور المتسبب عن *Pythium ultimum*

**مقدمة :**

إن المرض الذى سلطت عليه الأضواء وازداد اهتمام الباحثين به كمديل أو نموذج لنظام الكائن الممرض/العائل فى الأبحاث التطبيقية والأساسية للمقاومة الجهازية المستحثة ISR ، هو مرض عفن جذر الخيار المتسبب عن الفطر *Pythium ultimum* . لقد أثبتت الأبحاث التى تمت فى السنوات القليلة الماضية أن سلالات معينة من الرايزوبكتيريا تشمل *Pseudomomas* و *Serratia* sp. يمكن أن تعطى فوائد فى وقاية نباتات الخيار ضد الأمراض الناشئة من *Pythium* . من أهم الدراسات التى أجريت على ذلك هو استعمال البكتيريا *Serratia plymuthica* R1GC4 فى مقاومة عفن الجذر للخيار فى الصوبات الزجاجية .

## مقاومة المرض :

حقنت بادرات الخيار ، التى عوملت أو لم تعامل بالسلالة البكتيرية *S. plymuthica* R1GC4 ، بالفطر الممرض *P. ultimum* ، لتحديد مدى فعالية هذه البكتيريا فى وقف الاصابة الفطرية . تبين من التجارب كما فى شكل رقم ٥ . أن الأعراض النموذجية فى الجذر تتميز بتكوين بقع مائلة للون البنى ، تظهر بعد ثلاثة أيام من الحقن فى نباتات الكنترول المأخوذة من بذور غير معاملة بالبكتيريا . تظهر هذه البادرات بعد ٤-٥ أيام من حقنها بالكائن الممرض أعراض شديدة من عفن الجذور ، وذبول كما فى شكل رقم (o,d) . تموت معظم النباتات بعد سبعة أيام من الاصابة الفطرية .

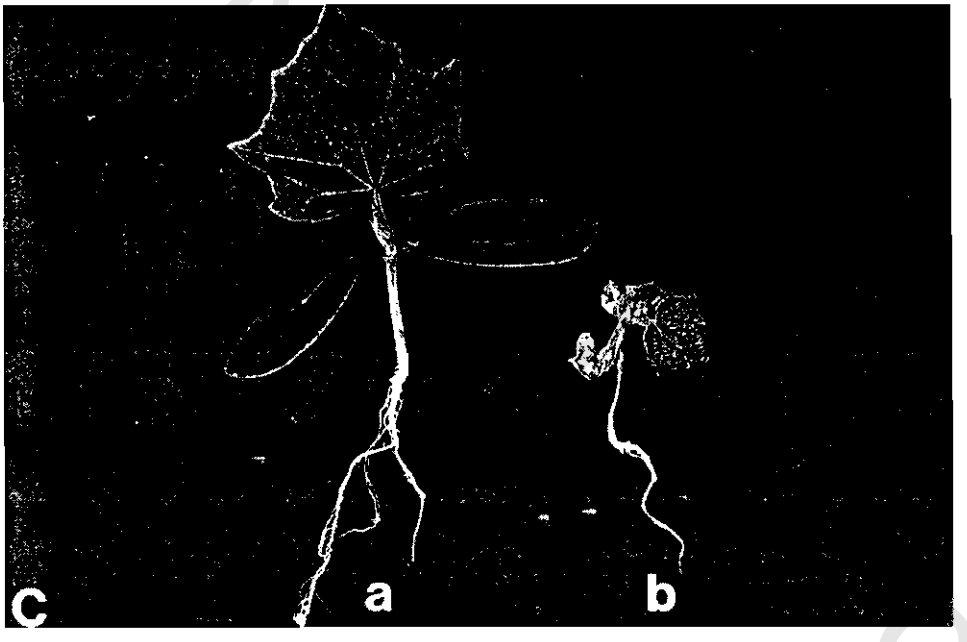



**شكل رقم** ( A, B : 5 ) **تأثير معاملة البذور بالبكتيريا** *Serratia plymuthica* **على تكشف أعراض المرض المتسبب عن الفطر** *P.ultimum* **فى بادرات الخيار .**

A = **كنترول (بدون كائن ممرض وبدون بكتيريا) .**

B = **نباتات معاملة بالبكتيريا وغير محقونة بالكائن الممرض .**

المعاملة البكتيرية للبذور ، قبل حقنها بالكائن الممرض *Pythium* ، أدى إلى خفض فى تكشف المرض فى البادرة منه فى حالة بادرات البذور غير المعاملة كما فى (شكل رقم ٥) بعد خمسة أيام من الاصابة الفطرية ، تكون البادرات الناتجة من بذور معاملة بالبكتيريا *Serratia* ، خالية من أية أعراض خارجية ظاهرة مثل الذبول أو الشيخوخة وتظهر خفضاً فى عدد البقع التى تظهر على الجذور (جدول رقم ٤٩) . مع أنه يمكن أن يلاحظ بعض البقع على الجذور الجانبية ، إلا أن عددها وحجمها يكون صغيراً ولا يصل إلى ماهو موجود فى النباتات غير المعاملة بالبكتيريا والمحقونة بالفطر .




**شكل رقم (C : 5) حيث أن هذا الشكل تكملة للشكل السابق .**

**a = نباتات محقونة بالفطر الممرض والبكتيريا المضادة .**

**b = نباتات محقونة بالفطر الممرض فقط .**

**جدول رقم (٤٩) : تأثير المعاملة بالبكتيريا *S.plymuthica* على عدد البقع الجذرية فى نباتات الخيار المحقونة بالفطر الممرض *P.ultimum* .**

| عدد الأيام بعد الحقن | عدد البقع على الجذر فى | |
|---|---|---|
| | نباتات غير مبكترة | نباتات مبكترة |
| ١ | صفر | صفر |
| ٢ | ١ | صفر |
| ٣ | ٨ | صفر |
| ٤ | ١١ | ٢ |
| ٥ | ١٣ | ٣ |
| ٦ | ١٥ | ٣ |

أظهرت الدراسات التشريحية على جذور نباتات الخيار ، أن هناك اختلافات كبيرة فى امتداد التفاعلات الدفاعية فى النباتات المبكترة وغير المبكترة . كانت هذه الملاحظات أكثر تأكيداً عند دراستها بالميكروسكوب الالكترونى . تبين من الدراسة الميكروسكوبية أن تقدم الفطر يبقى محدوداً ومقتصراً على الأنسجة الخارجية فى الجذر فى البادرات الناتجة عن بذور مبكترة ، يكون هذا متلازماً مع ترسبات غنية بالسليلوز ، اضافية فى جدار الخلية ، فى المناطق التى يحتمل دخول الكائن الممرض منها ، وكذلك يكون هناك تجمعات لمواد أسموزية فى مناطق وجود تجمعات الفطر (جدول رقم ٥٠) .

يظهر فى هيفات الفطر الممرض المحاطة بهذه المواد غير المنفذة تغيرات واضحة تشمل اضطراب فى تعضى السيتوبلازم وفى حالات كثيرة تفقد البروتوبلازم . أظهرت الدراسات الكيماوية للخلية أن السليلوز ، البكتين ، الكالوس تظهر بشكل كبير فى جدار الخلية . وقد أظهرت الدراسة فى هذا المجال أن المعاملة بالبكتيريا *S.plymuthica* تجعل نباتات الخيار الحساسة للاصابة بالفطر تتفاعل بسرعة أكثر وبكفاءة أكثر عند مهاجمتها بالكائن الممرض عن طريق تكوين حواجز طبيعية وكيميائية فى المناطق التى يحتمل أن يدخل منها الفطر .

**جدول رقم (٥٠) : تأثير استعمال البكتيريا *S.plymuthica* على معدل امتداد مستعمرات الفطر الممرض *P.ultimum* فى أنسجة جذور نباتات الخيار بعد خمسة أيام من الحقن .**

| نسيج الجذر | عدد الهيفات الفطرية فى كل خلية نباتية فى النباتات غير المبكترة | عدد الهيفات الفطرية فى كل خلية نباتية فى النباتات المبكترة |
|---|---|---|
| البشرة الخارجية | ١٠,٦ | ٤,٥ |
| القشرة الخارجية | ٦,٨ | ١,٥ |
| القشرة الداخلية | ٥,٢ | ٠,٥ |
| البرنشيما الوعائية | ٣,٨ | صفر |
| الأنبوب الوعائى | ٢,٣ | صفر |

يتبين مما سبق ، أن معاملة بذور الخيار بالرايزوبكتيريا المذكورة ، تؤدى إلى جعل نباتات الخيار أكثر حساسية للاصابة بالفطر الممرض ، وهذا ينعكس على إظهار ميكانيكيات كثيرة لمقاومة الكائن الممرض ، منها :

١ – وقف تقدم هيفات الفطر فى نسيج العائل .

٢ – تكوين حواجز مانعة لتقدم الهيفا .

٣ – تكوين مواد كيماوية وترسبات فى جدار الخلية مثل الجلاكتوز ، وهذا له دور كبير فى وقف تقدم الفطر .

ولقد ذكر Benhamou *et al* سنة ٢٠٠٠ أنه يمكن استعمال هذه البكتيريا على شكل معاملة بذور لوقاية نباتات الخيار من الاصابة بمرض سقوط البادرات ، بشكل تجارى فى الصوبات الزجاجية ، حيث أن تأثير هذه البكتيريا يعطى البادرات وقاية لمدة طويلة بعد الانبات .

## ٢ - وقاية نباتات الخيار من ذبول الفيوزاريوم

### مقدمة :

إن ميكانيكية المقاومة الحيوية لذبول الفيوزاريوم باستعمال الكائنات الحية الدقيقة ، عملية معقدة . قد ركزت معظم الدراسات السابقة على استعمال الأنواع غير الممرضة من الفيوزاريوم أو الكائنات المضادة الأخرى ، والتى تقوم بالمقاومة الحيوية من خلال عدة طرق ، مثل : التنافس على المغذيات ، أو الحديد ، والتنافس على أماكن العدوى على الجذور ، أو انتاج مضادات حيوية .

هناك ميكانيكية أخرى لمقاومة ذبول الفيوزاريوم ، هى المقاومة المستحثة . لقد ذكر Gessler & Kuc سنة ١٩٨٢ أن المقاومة الجهازية فى الخيار ضد *Fusarium oxyspor-um f.sp. cucumerinum* يمكن أن تستحث عن طريق الحقن المبكر للأوراق الحقيقية الأولى بالفطر *Colletotrichum orbiculare* أو فيرس نكروزز الدخان . إن استعمال السلالات غير الممرضة من الفيوزاريوم للحث على المقاومة (يطلق عليها أحياناً المقاومة بالتضاد Cross - protection) فى النبات ضد ذبول الفيوزاريوم قد درست دراسة واسعة . الحقن المبكر بالأنواع غير الممرضة من الفطر *F.oxysporum* يحث على تكوين مقاومة موضعية أو جهازية ضد ذبول الفيوزاريوم فى البطيخ ، الخيار والطماطم . معظم هذه الدراسات ، لا تستثنى ميكانيكيات أخرى غير المقاوة المستحثة ، بسبب أن الكائن الممرض وعوامل المقاومة الحيوية لم تكن منفصلة عن بعضها فى المكان .

الأبحاث التى أجريت على الرايزوبكتيريا المشجعة لنمو النبات Plant growth - pro-moting rhizobacteria (PGPR) كعوامل مسببة للمقاومة الجهازية المستحثة -In duced Systemic Resistance (ISR) ضد كائنات ممرضة مختلفة تشمل الفطر *F.oxysporum* ، قد تم الوصول إليها حديثاً . لقد ذكر Van Peer *et al* سنة ١٩٩١ أن سلالات من أنواع البكتيريا *Pseudomonas sp.* تثبط ذبول الفيوزاريوم فى القرنفل . فى هذه الدراسة فإن الكائن الممرض قد حقن فى السيقان بعد أن تم إضافة الـ PGPR إلى الجذور .

لكى نحدد فيما إذا كانت الـ ISR هى ميكانزم للمقاومة الحيوية ، فمن الضرورى استعمال نظام الفصل المكانى Spatilly separation بين الـ PGPR والكائنات الممرضة ،

وذلك لأن الباحث لا يستطيع أن يستبعد إمكانية دور التضاد الحيوى أو المنافسة . كذلك يجب أن يشمل النظام أيضاً دخول الكائن المضاد بأى طريقة طبيعية على الجذور لمقاومة الكائنات الممرضة الكامنة فى التربة ، إذا كان العامل المدخل يستعمل أيضاً فى المقاومة الحيوية العملية .

إن طريقة الجذر المشقوق Split - root والتى تسمح بالفصل المكانى قد استعملت فى بعض الدراسات على الـ ISR . استعملت هذه الطريقة فى الدراسات على سلالات *F.oxysporum* غير الممرضة ، كدليل على المقاومة ضد ذبول الفير تسليم فى الطماطم والخيار . لقد ذكر Zhou & Paulitz سنة ١٩٩٤ أن ISR هى ميكانزم المقاومة الحيوية لعفن جذور الخيار المتسبب عن *Pythium aphanidermatum* بواسطة سلالات من PGPR ، معتمداً فى ذلك على دراسة طريقة الجذر المشقوق .

## دراسة المقاومة الحيوية للمرض باستعمال طريقة الجذر المشقوق

أجريت الدراسات على نباتات الخيار ذات عمر أسبوعين ، حيث كشف عن جذور هذه النباتات وغسلت جيداً بالماء ، ثم بعد ذلك تشق الجذر بعناية إلى نصفين بسكين حاد جداً . النصف الأول يغمر فى ٢٠ مل معلق جراثيم الفطر الممرض *Fusarium oxyporum* f.sp *cucumerinum* (مسبب ذبول الخيار) ، النصف الثانى يغمر فى ١٠ مل من المعلق البكتيرى PGPR خاصة السلالة 89 B-27 من البكتيريا *Pseudomonas putida* أو السلالة 90-166 من البكتيريا *Serratia marcescens* ، يؤخذ الاحتياط التام لبقاء جزئى الجذر بعيدين عن بعضهما أثناء وبعد المعاملة . ينقل كل نصف من جهاز الجذر المستعمل إلى وعاء بلاستيكى قطر مسطحه ١٠ سم ، يكون النبات من أعلى مربوطاً بحيث لا ينفصل إلى جزءين . توضع الأوعية على بنشات تحت رطوبة عالية وحرارة ٢٥ °م لمدة ٥ – ٧ أيام، قبل نقلها إلى الصوبا الزجاجية .

أما بالنسبة لدراسة المرض ، تعد النباتات التى تموت بعد ٤–٦ أسابيع . لمعرفة انتقال البكتيريا ، تجرى تجربة بالمواصفات نفسها ، إلا أن الجذر يحقن بالسلالة L211 بدلاً من 89B 27 ، تحسب الأوراق والنباتات الميتة بعد ٤–٦ أسابيع . أما عن دراسة تأثيرات الـ ISR على حركة الكائن الممرض داخل النبات ، فتجرى عملية عزل من السلامية الأولى إلى الرابعة فى الساق ، وكذلك من حامل الورقة الأولى إلى الرابعة ، وذلك بعد ١–٥ أسابيع

من الحقن بالكائن الممرض . تشق أجزاء الساق وحامل الورقة وتجرى عليها عمليات العزل النموذجية في أطباق بترى ذات بيئة PDA ، وتحضن على ٢٥ °م لمدة ٥–٧ أيام ، وذلك لعزل الكائن الممرض . أما الجزء الثانى من الساق وحامل الورقة فيستعمل لعزل السلالة L211 التى تستعمل كدليل لبقاء نشاط الـ ISR . لكى نختبر فيما إذا كانت البكتيريا المحقونة فى أحد أجزاء الجذر قد انتقلت من الوعاء الذى يحوى الجذور المحقونة بالبكتيريا إلى الوعاء الآخر ، نحاول عزل السلالة L-211 من الجذور الخارجية فى كلا الوعائين بعد ١–٥ أسابيع من الحقن ، بالإضافة إلى أخذ أجزاء من السلاميات الأولى إلى الرابعة وأعناق الأوراق من الأولى إلى الرابعة .

بعد إجراء هذه التجارب تبين أن أعداد النباتات الميتة كانت منخفضة بشكل معنوى بعد المعاملة بـ PGPR سلالة 27 - 89B و 90-166 . كان متوسط أعداد النباتات الميتة فى الكنترول ٦٨ ٪ ، أما فى المعاملة فقد وصلت إلى ٣٨ و ٣٢ ٪ باستعمال السلالات السابقة بالترتيب . كذلك فإن السلالة L-211 سببت خفضاً معنوياً فى المرض . وفى جميع السلالات تأخر ظهور المرض .

لقد أمكن استعادة الكائن الممرض فى الأسبوع الخامس من داخل السيقان بين السلامية الأولى والرابعة ، ومن داخل حامل الورقة الأولى والثانية والثالثة فى النباتات غير المعاملة بـ PGPR . أما فى النباتات المعاملة بـ PGPR لم يمكن استعادة الكائن الممرض ، إلا فى منطقة قبل السلامية الأولى بعد ٤ أسابيع من المعاملة . لم يمكن استعادة السلالة L-211 من السيقان أو حوامل الأوراق .

مما سبق يتبين أن PGPR السلالة 27-89B و 90-166 ، والتى تحث على المقاومة الجهازية المستحثة ضد الكائنات الممرضة فى الخيار على المجموع الجذرى ، تخفض بشكل معنوى ذبول الفيوزاريـوم فى الخيار عند استعمالها كمعاملة جذور . هذا الخفض فى حـدوث المرض يبدو أن له علاقة فى إعاقة أو تأخير حركة الكائن الممرض فى النباتات المعاملة بـ PGPR . إن طريقة الجذر المشقوق هى أفضل طريقة لدراسة المقاومة المستحثة بواسطة PGPR .

## ٣ - وقاية نباتات الخيار من مرض إنثراكنوز الخيار

يتسبب مرض انثراكنوز الخيار عن الفطر *Colletotrichum orbiculare* . يمكن إحداث مقاومة مستحثة فى الخيار ضد هذا المرض ، وذلك بمعاملة بذور الخيار بسلالات معينة من البكتيريا الجذرية المشجعة لنمو النبات PGPR . توضع بذور الخيار فى معلق بكتيرى بتركيز $10^{8}$ CFU / مل ، لمدة ٣٠ دقيقة قبل الزراعة . عند استعمال المعلق البكتيرى على التربة مباشرة يحضر بتركيز $10^{5}$ CFU / مل ، ويضاف إلى التربة بجانب كل نبات . السلالات التى تستعمل فى هذه الحالة ، هى سلالات البكتيريا الوميضة *P.fluorescens* ذات أرقام 89-B61 وكذلك 90-166 و INR-5 و ISR-5 . الجدول رقم (٥١) يبين المقاومة الجهازية المستحثة ونمو النبات الناتج من استعمال PGPR .

**جدول رقم (٥١) : تأثير استعمال سلالات من PGPR فى المقاومة الجهازية المستحثة فى نبات الخيار فى مقاومة مرض الانثراكنوز .**

| السلالة البكتيرية المستعملة من البكتيريا الوميضة | سم طول الساق الجارية | عدد الأوراق لكل نبات | ملم مجمل قطع بقع الانثراكنوز لكل نبات | كغم الانتاج لكل نبات |
|---|---|---|---|---|
| 89B-61 | ٩٢,٧ | ٦٣,٢ | ٣٤,٣ | ٢,٣٧ |
| 90-166 | ٩٦,٢ | ٦٤,٢ | ٤٥, | ٢,٥٧ |
| INR-5 | ٩٩,٥ | ٦٥ | ٣٦,٣ | ٢,٣٧ |
| INR-7 | ٩٥,٩ | ٦٤ | ٢٩,٢ | ٢,٣٩ |
| دون إضافة سلالات بكتيرية | ٨٤,٩ | ٤٤,٧ | ١٥٣,٦ | ٢,٢ |
| دون إضافة الفطر الممرض (إصابة طبيعية) | ٨٩,٦ | ٥٥,٧ | ٦١,٩ | ٢,٠٠ |

# ٤ - وقاية الخيار من مرض التبقع الزاوى البكتيرى فى ورقة الخيار

## مقدمة :

ينظر الآن إلى البكتيريا المشجعة لنمو النبات PGPR ، بأنها بكتيريا مستعمرة لجذور النباتات ، تنتمى إلى أجناس وأنواع مختلفة . أشهر السلالات التى درست تتبع إلى الجنس *Pseudomonas* و *Bacillus* . الدراسات التى أجريت على هذه البكتيريا أظهرت أن PGPR تشجع نمو النبات مباشرة عن طريق منظمات نمو نباتية، أو أنها تحث النباتات على امتصاص المواد الغذائية من التربة أو بطرقة غير مباشرة ، عن طريق انتاج سايدروفورز أو مضادات حيوية لوقاية النباتات من الكائنات الممرضة الكامنة فى التربة أو الرايزوبكتيريا الضارة .

الدراسات الحديثة التى أجريت على ميكانزمز المقاومة الحيوية ، باستعمال PGPR ، أظهت أن بعض سلالات PGPR تحفظ النبات من كائنات ممرضة مختلفة عن طريق المقاومة الجهازية المستحثة ISR فى النبات . هناك ثلاثة مجموعات من الباحثين ذكرت سنة ١٩٩١ أن PGPR يمكن أن تحث على تخليق مقاومة جهازية فى نظم مختلفة من النبات / الكائن الممرض . ذكر Peer *et al* سنة ١٩٩١ أنه يمكن الاعتماد على ISR فى القرنفل لمقاومة ذبول الفيوزاريوم وذلك باستعمال سلالة من *Pseudomonas* ، بينما Wei *et al* سنة ١٩٩١ ذكر أنه يمكن الاعتماد على ISR لمقاومة إنثراكنوز الخيار المتسبب عن *C.orbiculare* وغيرها كثير .

## مقاومة المرض :

يتسبب مرض التبقع الزاوى فى الخيار عن البكتيريا *Pseudomonas syringae pv. lachrymans* . يقاوم هذا المرض حيوياً باستعمال الرايزوبكتيريا *Pseudomonas putida* السلالة 89B-27 أو السلالة 166-90 من البكتيريا *Serratia marcescens* . عند معاملة بذور الخيار بهاتين السلالتين يحدث خفض بشكل معنوى فى عدد وحجم البقع الزاوية على الأوراق مقارنة بالكنترول (جدول رقم ٥٢) . كان متوسط معدل الخفض فى مساحة البقعة ٥٣,٢ ٪ بعد المعاملة بالسلالة (89B-27) وكان حوالى ٦٠ ٪ بعد المعاملة بالسلالة (90-166) . عند معاملة البذور أو الفلقات بكلتا السلالتين ، انخفض تجمع الكائن الممرض من لوغاريتم ٨ وحدة تكوين مستعمرات / سم٢ فى نباتات الكنترول إلى لوغاريتم ٥,٥ وحدة

تكوين مستعمرات / سم٢ مع السلالة البكتيرية الأولى ، وإلى لوغاريتم ٦,٢ وحدة تكوين مستعمرات / سم٢ عند المعاملة بالسلالة البكتيرية الثانية . لا يوجد فرق معنوى فى نتائج الحقن ، سواء فى فلقات البادرة أو معاملة البذور بالبكتيريا قبل الزراعة . لوحظت البقع الموضعية المتحللة على الفلقات بعد خمسة أيام من الحقن بالكائن الممرض . لم يلاحظ تكشف أى بقع بعد الحقن بالرايزوبكتيريا . أما عن تجمع السلالتين (89B-27) و -90) (166 فقد ازدادت بسرعة فى الفلقات بعد الحقن ، ووصلت إلى لوغاريتم ٩ وحدة تكوين مستعمرات / فلقة فى اليوم الرابع عشر بعد الحقن .

أما بالنسبة لطول مدة بقاء مفعول المقاومة الجهازية المستحثة ، فإن هذا يختلف حسب السلالة المستعملة كما فى (جدول رقم ٥٣) . السلالة 27 - 89B تخفض بشكل معنوى المجموع الكلى لقطر البقعة على النبات بالمقارنة مع الكنترول (النباتات التى لم تستعمل معها السلالة فى الطور الورقى الأول) . إن وقاية نبات الخيار بهذه السلالة ، بشكل عام ، يمكن أن يستمر من الطور الورقى الأول إلى الطور الورقى الخامس . كان متوسط الخفض فى قطر البقعة بعد المعاملة بالسلالة 27 - 89B ، ١٩,٧ ٪ بالمقارنة مع النباتات غير المعاملة بالكائن المضاد فى الطور الورقى الأول ويزداد فى الأطوار التالية حتى الخامس . أما الوقاية باستعمال السلالة 166-90 فهى أكثر اختلافاً عنه فى حالة السلالة الأولى ، حيث أن هذه السلالة تخفض متوسط قطر البقعة على النبات فى الطور الورقى الأول والثالث ، وإن متوسط الخفض باستعمال هذه السلالة يزداد من ٢٨ ٪ فى الطور الورقى الثانى ويصل إلى ٤٨,٧ ٪ فى الطور الورقى الخامس .

**جدول رقم ٥٢ : حجم وعدد البقع المرضية على الخيار نوع Straight 8 الناتجة عن بكتيريا التبقع الزاوى بعد معاملة البذور بالرايزوبكتيريا *P.putida* السلالة (89B-27) والسلالة 90-166 *S.marcescens* .**

| نوع السلالة المستعمل فى التجربة | عدد البقع / ورقة | | ملم٢ مساحة البقعة | |
|---|---|---|---|---|
| | معاملة بذور | معاملة فلقات | معاملة بذور | معاملة فلقات |
| كنترول | ١٥,٩ | ١٧,٥ | ٧٨ | ١٢٨ |
| 89B-27 | ٤,١ | ٧,٠ | ٢٢ | ٢٦ |
| 90-166 | ٥,١ | ٥,٢ | ١٨ | ٣٠ |

**جدول رقم ٥٣ : مدة بقاء تأثير المقاومة الجهازية المستحثة فى نباتات الخيار بالأطوار الورقية .**

| المعاملة | ملم متوسط قطر البقعة على الورقة | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | الأولى | الثانية | الثالثة | الرابعة | الخامسة |
| كنترول (غير محقون) بالسلالة البكتيرية | ١٦٨,٨ | ١٠١,٨ | ١٢٠,٧ | ٦٣,٢ | ١٣٢ |
| سلالة 90-166 | ١٤٥,٥ | ٨٤,٧ | ١١٤,٢ | ٣٨,١ | ١٠٩,٨ |
| سلالة 89B-27 | ١٢٩,٩ | ٤٠,١ | ٦٩,٨ | ٢٠,٧ | ٨٦,٢ |
| ٪ متوسط وقاية النبات للسلالة الأولى | -- | ٢٨ | -- | ٤٤,٢ | ٤٨,٧ |
| ٪ متوسط وقاية النبات للسلالة الثانية | ١٩,٧ | ٥٩ | ٤١,٨ | ٥٦,٣ | ٥٨,٢ |

**ملاحظات على الجدول**

السلالة 90-166 تتبع *Serratia marcescens* ، أما السلالة 89B-27 تتبع البكتيريا *Pseudomonas putida* .

## ٥ - وقاية نباتات الخيار والطماطم من الاصابة بفيرس موزايك الخيار

### مقدمة :

كما هو معروف ، فإن الإصابة الموضعية التى تؤدى إلى الوقاية من الكائنات الممرضة ذات العلاقة مع المسبب لهذه البقع ، تسمى الوقاية بالتضاد cross protection ، أما الوقاية الناتجة عن كائنات غير ذات علاقة مع الكائن الممرض المسبب لهذه البقع الموضعية تسمى المقاومة الجهازية المكتسبة أو المستحثة (كما سبق فى الجزء الأول من الكتاب) . أجريت دراسات عديدة منذ أوائل السبعينيات ، فى هذا الموضوع ، وثبت أن المقاومة الجهازية لمدى واسع من الكائنات الممرضة ، يمكن أن تستحث فى النباتات المحقونة مسبقاً بكائنات ممرضة، مثل الفطريات ، البكتيريا والفيروسات ، الكائنات الممرضة غير التوافقة ، وذلك اعتماداً علي المقاومة الجهازية المستحدثة أو المكتسبة .

لقد ثبت من بعض التجارب ، أن المقاومة فى الخيار ضد فيرس موزايك الخيار CMV ، يمكن أن تستحث عن طريق حقن النبات مسبقاً بكل من فطر الانثراكنوز *C.orbiculare*

وبكتيريا التبقع الزاوى فى أوراق الخيار *Pseudomonas syringae pv. lachrymans* أو فيرس نكروزز الدخان TNV . أظهرت الدراسات فى التسعينيات أن بعض الرايزوبكتيريا المشجعة لنمو PGPR ، أيضاً تعمل كحائات للمقاومة الجهازية فى النباتات . فى جميع هذه الدراسات كان هناك فصل زمانى ومكانى بين استعمال بكتيريا (الرايزوبكتيريا) والكائن الممرض ، أدى إلى تخليق مقاومة جهازية ضد هذا الكائن المرض . لا يمكن أن تتواجد سلالات PGPR فى ساق أو أوراق النبات . هذا يؤدى إلى القول بأن الوقاية ضد أمراض الأوراق والسيقان بواسطة سلالات PGPR يرجع لبعض أشكال المقاومة الجهازية المستحثة ISR .

**الوقاية من الاصابة بفيرس موزايك الخيار :**

استعملت الرايزوبكتيريا *Pseudomonas fluorescens* 89B-27 و *Serratia marcesens* (90-166) والتى ذكرت فى كثير من الأبحاث بأنها تخلق مقاومة جهازية مستحثة ، فى نبات الخيار ضد بعض الأمراض الفطرية والبكتيرية ، وذلك لمعرفة كفاءتها فى وقاية الخيار من الإصابة (أو تكشف الإصابة) بمرض موزايك الخيار CMV .

عند معاملة بذور الخيار بسلالات PGPR ، فإنها تخفض باستمرار متوسط أعداد النباتات التى تظهر عليها أعراض الإصابة الفيروسية ، خفضاً معنوياً ، مقارنة مع نباتات الكنترول ، وذلك عندما حقن الفيرس فى فلقات البادرة . أما النباتات المعاملة بالرايزوبكتيريا المذكورة ، فإنه لم يتكشف عليها أعراض أولية خلال ١٤ يوم بعد الحقن بالفيرس وبقيت خالية من الفيرس . فى بعض الدراسات على الخيار ، لم يكن هناك امكانية لاكتشاف انتجين فيروسى باستعمال اختبار ELISA فى النباتات غير المظهرة للأعراض المعاملة بالرايزوبكتيريا ، بينما فيرس CMV كان واضحاً فى كل ورقة من أوراق النبات المظهرة للأعراض . كذلك فإن نفس السلالتين من PGPR قد تم دراستهما وتقديرهما لمعرفة تأثير CMV على تكشف الأعراض فى نباتات الطماطم . فى جميع التجارب فإن شدة الإصابة (المنطقة تحت المنحنى المتقدم للمرض (AUDPC) كانت أقل معنوياً بالنسبة للسلالة 89B-27 عنه فى النباتات غير المبكترة ، الكنترول . إن AUDPC بالنسبة للسلالة 90-166 كانت أيضاً منخفضة معنوياً ولكن أكثر من تلك الناتجة عن السلالة 89B-27 . تدل هذه النتائج على أن PGPR يمكن أن تكون أكثر وضوحاً فى كفائتها عندما تدخل فى برامج وقاية النهات من الأمراض الفيروسة جدول ٥٤ ، ٥٥ .

**جدول رقم (٥٤) : تأثير المقاومة الجهازية المستحثة الناتجة عن PGPR فى تخفيض تكشف أعراض CMV فى الخيار .**

| المعاملة | ٪ عدد النباتات المظهرة للأعراض فى التجارب من ١-٥ | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | ١ | ٢ | ٣ | ٤ | ٥ | المتوسط |
| فيروس فقط (كنترول) | ٧٠ | ٦٠ | ٨٠ | ٩٠ | ١٠٠ | ٠ |
| PGPR 90-166 | ٤٠ | ٦٠ | ٧٠ | ٧٠ | ٩٠ | ٦٦ |
| PGPR 89B-27 | ١٠ | ١٠ | ٣٠ | ٦٠ | ٥٠ | ٣٢ |
| بدون فيرس وبدون بكتيريا | صفر | صفر | صفر | صفر | صفر | صفر |

**ملاحظات على الجدول :**

أخذت النتائج بعد ١٤ يوم من حقن النبات بالفيرس . كانت تضاف الرايزوبكتيريا على البذور قبل زراعتها ثم بعد ثلاثة أسابيع تحقن البادرات بالفيرس . كانت تستعمل البكتيريا بتركيز يتراوح ما بين ٥ × $١٠^{٩}$ إلى ١ × $١٠^{١٠}$ وحدة تكوين مستعمرات / بذرة .

**جدول رقم (٥٥) : تأثير استعمال PGPR فى تخفيض تكشف أعراض CMV على نباتات الطماطم .**

| المعاملة | متوسط شدة المرض الذى يظهر بعد الحقن بالفيرس بمدة (أيام) | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | ١٨ | ٢٢ | ٢٦ | ٢٩ | ٣٢ | ٣٥ | AUDPC |
| تجربة أولى كنترول | ٥٨ | ٦٤ | ٧٠ | ٧٠ | ٧٤ | ٧٤ | ١١٤ |
| تجربة أولى 89B-27 | ٣٠ | ٣٨ | ٤٤ | ٤٤ | ٤٤ | ٥٠ | ٧٠,٥ |
| تجربة أولى 90-166 | ١٨ | ٢٢ | ٢٦ | ٢٦ | ٢٨ | ٢٨ | ٤١,٩ |
| تجربة ثانية كنترول | ٦٢ | ٦٢ | ٦٤ | ٦٤ | ٦٨ | ٦٨ | ١٠٩,٧ |
| تجربة ثانية 89B-27 | ٤٠ | ٤٢ | ٤٤ | ٤٦ | ٤٦ | ٥٤ | ٧٥,٩ |
| تجربة ثانية 90-166 | ١٦ | ١٨ | ١٨ | ١٨ | ٢٠ | ٢٠ | ٣٢,٧ |
| تجربة ثالثة كنترول | ٣٠ | ٥٠ | ٥٤ | ٥٤ | ٥٨ | ٥٨ | ٨٧,٢ |
| تجربة ثالثة 89B-27 | ١٤ | ٢٢ | ٣٢ | ٣٢ | ٣٦ | ٣٦ | ٤٧,٨ |
| تجربة ثالثة 90-166 | ١٠ | ١٦ | ١٦ | ١٦ | ١٦ | ١٦ | ٢٦,٠ |

**ملاحظات على الجدول :**

كـــان يتـــم حقن الفيرس فى الورقتين الأوليتين. كانت تحسب شدة المرض حسب المعادلة التى ذكرها Raupach *et al* سنة ١٩٩٦ .

## ٦ - مقاومة أمراض الخيار فى الحقل باستعمال الرايزوبكتيريا مع أو بدون التدخين بمركب الميثايل بروميد

**مقدمة :**

هناك دراسات كثيرة ، تمت على المقاومة الجهازية المستحثة ISR ، فى المعمل أو فى الصوبا الزجاجية . قليل من الدراسات التى طبقت تجارياً في الحقل . منذ السبعينيات بدأ استعمال مركب ميثايل بروميد بشكل كبير فى الزراعة ، وذلك بسبب ثباته وكفاءته فى مقاومة الأمراض والآفات الكامنة فى التربة ، تحت مدى واسع من رطوبة وحرارة التربة وأن تكلفته الاقتصادية منخفضة ، وسهولة تداوله فى الحقل . فى سنة ١٩٩٥ كان ميثايل بروميد ، واحداً من بين خمسة مواد كيماوية ، أكثر شيوعاً فى مقاومة الآفات فى الولايات المتحدة ، حيث بلغ الاستهلاك حوالى ٢٥-٢٧ ألف مليون طن سنوياً . بعد ذلك تبين أن لهذا المركب تأثير على سلامة الغلاف الجوى والأوزون ، بدأ حظر استعماله فى الزراعة وخفض انتاجه .

هناك مدخنات عديدة يمكن أن تكون بديلة للميثايل بروميد منها : Metam - sodium والذى يسمى (Vapam) ، Dichloropropene ، Chloropicrin ، Dazomet . ولقد تبين حديثاً أن ميثايل أيوديد ، هو المادة الفعالة جداً والتى تستعمل على نطاق واسع مثل ميثايل بروميد ، ولكن بالنسبة لاستعماله فى مقاومة الأمراض الكامنة فى التربة ، لا يزال هناك معارضة لاستعماله .

اتجهت الأبحاث فى السنوات الأخيرة إلى استعمال ISR كميكانزم فعال لمقاومة أمراض النبات ، حيث أن هذه المقاومة تستحث بواسطة الرايزوبكتيريا المشجعة لنمو النبات . عند معاملة بذور الخيار بالرايزوبكتيريا ، فإن هذا يؤدى إلى خلق ISR ضد العديد من الكائنات الممرضة فى الصوبا الزجاجية وفى الحقل . أجريت تجارب لمعرفة كفاءة الرايزوبكتيريا فى خلق ISR عند وجود الميثايل بروميد .

**تأثير استعمال الرايزوبكتيريا :**

بعد معاملة بذور الخيار بسلالات من PGPR . تعامل كمية من البذور بسلالة مفردة وكميات أخرى تعامل بخليط من سلالات *Bacillus* وسلالة ME-1 *Curtobacterium* INR-7 *flaccumfaciens pumilus* ، وسلالة GB03 من البكتيريا *Bacillus subtilis* .

عندما زرعت بذور الخيار فى تربة غير معاملة بميثايل بروميد ، فإن جميع البذور التى عوملت بالبكتيريا حدث فيها زيادة معنوية فى كمية النمو كما فى جدول رقم (٥٦ ، ٥٧) بالمقارنة مع الكنترول . أما عندما زرعت بذور الخيار فى تربة معاملة بالميثايل بروميد ، فإن بعض السلالات أعطت زيادة معنوية فى نمو نبات الخيار ، والسلالات الأخرى كان تأثيرها فى التربة المعاملة بالميثايل بروميد كما فى غير المعاملة من حيث طول مدادات النبات .

أما بالنسبة للأمراض التى تحدث طبيعياً على المجوع الخضرى (دون حقن صناعى) فهى الأمراض الآتية :

١ – مسبب التبقع الزاوى فى ورقة الخيار

1 - *Pseudomonas syringae* pv. lachrymans

٢ – مسبب مرض الانثراكنوز فى الخيار 2 - *Colletotrichum orbiculare*

تبين أن جميع المعاملات قد سببت خفضاً معنوياً فى شدة المرض على المجموع الخضرى مقارنة مع الكنترول مع أو بدون الميثايل بروميد . بذور الخيار التى عوملت بخليط من سلالات PGPR أعطت مستوى أعلى فى وقاية النباتات من الأمراض سواء فى التربة المدخنة بالميثايل بروميد أم غير المدخنة . تؤدى هذه النتائج إلى القول بأن المقاومة ISR لا تتأثر إذا ما ألغى استعمال ميثايل بروميد من عمليات تطهير التربة ، وتبقى فعالة فى وقاية النبات من الأمراض .

**جدول رقم ٥٦ : تشجيع نمو بادرات الخيار ووقايتها ضد مرض التبقع الزاوى فى الورقة ، الذى يحدث طبيعياً دون تدخل الإنسان ، باستعمال الرايزوبكتيريا ، معاملة بذور ، مع أو بدون تدخين التربة بميثايل بروميد .**

| المعاملة | متوسط طول المدادات لنبات الخيار (سم) | | دليل مرض البقعة الزاوية | |
|---|---|---|---|---|
| | مع ميثايل بروميد | بدون ميثايل بروميد | مع ميثايل بروميد | بدون ميثايل بروميد |
| كنترول | ٥٩,٩ | ٥٠,٥ | ٣,٢٧ | ٣,١٢ |
| INR-7 | ٨٩,١ | ٨٣,١ | ١,٤ | ١,٣٣ |
| ME-1 | ٦٨,١ | ٧٥,٩ | ٢,٠٨ | ١,٩١ |
| GBO3 | ٦٥,٧ | ٦٧,٧ | ٢,٠٥ | ١,٩٢ |
| INR-7 + ME1 | ٧٦,٦ | ٨١,٠ | ١,٤٦ | ١,٥١ |
| INR-7 + GB03 | ٧٥,٥ | ٧٨,٩ | ١,٣٥ | ١,٤ |
| ME-1 + GB03 | ٧١,١ | ٧٧,٨ | ١,٩٨ | ١,٧٣ |
| INR-7 + ME-1 + GB03 | ٥٩,٩ | ٨٥,٦ | ١,٢٥ | ١,٥ |

**ملاحظات على الجدول :**

كان يضاف ميثايل بروميد فى أماكن زراعة البذور (٣٣ ٪ كلوروبكرين + ٦٧ ٪ ميثايل بروميد) بنسبة ٣٩٣ كغم/هكتار ثم تغطى مباشرة بالبلاستك الأسود .

كان يقاس طول البادرات بعد ٣١ يوم من الزراعة . أما مقياس دليل المرض فكان يؤخذ بعد ٥٧ يوم من الزراعة كان يقسم هذا الدليل من صفر – ٥ حيث أن صفر = لا يوجد بقع . ١ = ٢٠ ٪ من مساحة الورقة مبقع ، ٢ = ٢٠ – ٤٠ ٪ من مساحة الورقة مبقع ٣ = ٤٠ – ٦٠ ٪ من مساحة الورقة مبقع ، ٤ = ٦٠ – ٨٠ ٪ من مساحة الورقة مبقع . ٥ = ٨٠ – ١٠٠ ٪ من مساحة الورقة مبقع .

**جدول رقم (٥٧) : تشجيع نمو بادرات الخيار ، ووقايتها ضد مرض الانثراكنوز الذى يحدث طبيعياً دون تدخل الإنسان عند معاملة بذور الخيار بسلالات الرايزوبكتيريا وتزرع فى تربة مدخنة أو غير مدخنة بميثايل بروميد .**

| المعاملة | متوسط طول مدادات النبات (سم) | | دليل المرض (من صفر – ٥) | |
|---|---|---|---|---|
| | مع ميثايل بروميد | بدون ميثايل بروميد | مع ميثايل بروميد | بدون ميثايل بروميد |
| كنترول | ٤٧,٤ | ٣١,٩ | ٢,٨٣ | ٣,١ |
| INR-7 | ٥٩,٧ | ٤٢,٢ | ١,٩١ | ١,٨٥ |
| ME-1 | ٥٥,٥ | ٣٩,٧ | ٢,٢٥ | ٢,٢٧ |
| GBO3 | ٥٨,١ | ٤٠,٩ | ٢,٠١ | ٢,١٩ |
| INR-7 + ME1 | ٥٧,٧ | ٣٩,٩ | ١,٤٦ | ١,٢٤ |
| ME-1 + GB03 | ٥٧,٤ | ٤٣,٨ | ١,٦٩ | ١,٤٢ |
| INR-7 + GB03 | ٥٥,١ | ٤٤,٢ | ١,٦٨ | ١,٦٢ |
| INR-7 + GB03 + ME1 | ٥٥,٧ | ٤٨,٢ | ١,٤٠ | ١,١٧ |

**ملاحظات على الجدول :**

كان يضاف ميثايل بروميد فى أماكن زراعة البذور (٣٣ ٪ كلوروبكرين + ٦٧ ٪ ميثايل بروميد) بنسبة ٣٩٣ كغم/هكتار ثم تغطى مباشرة بالبلاستك الأسود .

كان يقاس طول البادرات بعد ٣١ يوم من الزراعة . أما مقياس دليل المرض فكان يؤخذ بعد ٥٧ يوم من الزراعة كان يقسم هذا الدليل من صفر – ٥ حيث أن صفر = لا يوجد بقع . ١ = ٢٠ ٪ من مساحة الورقة مبقع ، ٢ = ٢٠ – ٤٠ ٪ من مساحة الورقة مبقع ٣ = ٤٠ – ٦٠ ٪ من مساحة الورقة مبقع ، ٤ = ٦٠ – ٨٠ ٪ من مساحة الورقة مبقع . ٥ = ٨٠ – ١٠٠ ٪ من مساحة الورقة مبقع .

# ثانياً : مقاومة بعض أمراض القطن

## ١ - ذبول القطن

### مقدمة :

يتسبب مرض ذبول القطن عن الفطر *Sclerotium rolfsii* . ينتشر هذا الفطر الممرض فى معظم بقاع العالم ، ويهاجم كثيراً من المحاصيل .

لقد تم تحديد ١٦ سلالة من بين ٤٠ سلالة من البكتيريا الوميضة PGPR (التى تكلمنا عنها كثيراً فى موضوعات سابقة) ، معزولة من رايزوسفير القطن ، ووجد أنها مضادة للفطر *Sclerotium rolfsii* . يكون مستوى تثبيط نمو الكائن الممرض منخفضاً عندما تزود البيئة الغذائية بكلوريد الحديد الثلاثى مع وجود الكائن المضاد . تنخفض أيضاً حيوية الأجسام الحجرية عند غمرها فى المعلق البكتيري أو راشح مزرعة خلايا الكائن المضاد . وجد أن عزلات البكتيريا الوميضة ساينوجنك ، وأن نواتج الميتابولزم تثبط فعلياً نمو الكائن الممرض فى تجارب الصوبا الزجاجية ، وجد أن العزلة FP-47 أكثر كفاءة فى تثبيط المرض .

**جدول رقم (٥٨) : تأثير البكتيريا الوميضة فى خفض ذبول السكلوروشيم فى القطن تحت ظروف الصوبا الزجاجية.**

| العزلة | ٪ متوسط عدد النباتات المريضة |
|---|---|
| Fp - 28 | ٢٩,٩ |
| Fp - 43 | ٢٦,٦ |
| Fp - 47 | ٩,٩ |
| كنترول | ٧٩,٩ |

لمعرفة تأثير عزلات البكتيريا على نمو الفطر المرض فى المعمل ، تستعمل بيئة PAF وتسمى آجار بسيدوموناس للبكتيريا الوميضة ، أو تستعمل بيئة King's B medium . يبين الجدول رقم (٥٨) مقدرة عزلات البكتيريا فى تثبيط نمو الفطر ، فى المعمل . وجد أن

٣٣ ٪ من عزلات البكتيريا تثبط نمو الفطر وتتراوح مساحة التثبيط Inhibition Zone من ٣ – ١٤ ملم . إن أفضل العزلات كفاءة فى تثبيط الفطر الممرض هى ذات الأرقام ٢٨ ، ٤٣ ، ٤٧ ويكون أفضل فعل لها عند عدم توفر الحديد فى البيئة ، وذلك لأن إمتصاص الحديد ينظم بواسطة السايدروفورز التى تفرزها البكتيريا ، وتقلل من توفر الحديد للكائن الممرض . كذلك فإن عزلات البكتيريا تثبط حيوية الأجسام الحجرية للفطر كما فى جدول رقم (٥٩). تزداد نسبة خفض الحيوية بازدياد مدة غمر الأجسام الحجرية فى المعلق البكتيرى ، وإن أقوى السلالات هى FP-47 .

**مقاومة المرض :**

عند دراسة تأثير البكتيريا على تثبيط المرض فى الصوبا الزجاجية . تعامل بذور القطن بعزلات البكتيريا الوميضة عن طريق غمرها فى المعلق الخلوي البكتيرى لمدة ٢٤–٤٨ ساعة ، ثم بعد ذلك توضع البذور على ورق نشاف لكى تجف هوائياً . وقد تبين من التجربة أن بذرة القطن تحمل من (٣,٨ – ٥,٩) × $١٠^{٩}$ وحدة تكوين مستعمرات . فى بعض التجارب العملية ، حضرت أوعية بلاستيكية ووضعت فيها تربة معقمة ومزجت الطبقة السطحية من تربة الوعاء بعمق ٦ سم بالأجسام الحجرية للفطر الممرض ، ثم زرعت بعد ذلك بذور القطن . بعد إنبات البذور بحوالى أسبوعين أخذت النتائج ، تبين أن سلالات البكتيريا الثلاثة تثبط حدوث المرض ، كما فى جدول رقم (٥٩) ، وبالتالى يمكن القول بإمكانية استعمال هذه السلالات فى مقاومة المرض فى الحقل مستقبلاً .

**جدول رقم (٥٩) : تأثير سلالات البكتيريا الوميضة على نمو الفطر *S.rolfsii* فى المعمل وتأثير راشح المزرعة على حيوية ، ونمو الأجسام الحجرية للفطر بعد غمر هذه الأجسام فى المعلق البكتيرى .**

| السلالات المستعملة | ملم تثبيط فى البيئة PAF | | ٪ الأجسام الحجرية الحية والقادرة على الإنبات بعد غمرها فى المعلق البكتيرى لمدة من الزمن | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | + PAF حديد ثلاثى | PAF بدون حديد ثلاثى | ١ ساعة | ٢٤ ساعة | ٧ أيام | ٢٤ يوماً |
| FP - 23 | ٢ | ٣ | -- | -- | -- | -- |
| FP - 24 | ١٣ | ٩ | -- | -- | -- | -- |
| FP - 25 | ٧ | ١٢ | ٧٧,١ | ٨١,٥ | ٦٤,٧ | ٣٥,٨ |
| FP - 26 | ٨ | ١١ | -- | -- | -- | -- |
| FP - 33 | صفر | ٥ | ٨١,٨ | ٥٣,٣ | ٦٣,٣ | ٤٤,٧ |
| FP - 28 | صفر | ٨ | ٩٠,٠ | ٣٦,٧ | ٨٢,٣ | ٣١,١ |
| FP - 43 | ٩ | ١١ | ١٠٠,٠ | ٢٦,٧ | ٣٠,٠ | ٦,٢ |
| FP - 47 | ٥ | ٩ | ١٠٠ | ٢٧,٣ | ٣٦,٧ | صفر |
| كنترول | -- | -- | ١٠٠ | ٩٣,٣ | ١٠٠,٠ | ٨٠ |

## ٢ - سقوط بادرات القطن

### مقدمة :

تعتبر الكائنات الممرضة التى تهاجم بادرات القطن مثل *Rhizoctonia solani* ، *Ma-crophomina phaseolina* ، *Xanthomonas campestris malvacearum* والفطر *Pythium* ، من المشاكل الكبيرة فى معظم أنحاء العالم . كثير من هذه الكائنات الممرضة تستطيع أن تعيش فى التربة لفترات طويلة ، خاصة فى وجود بقايا العائل ، وبالتالى فإنه من الصعب مقاومتها سواء بالمواد الكيماوية أو تربية أصناف مقاومة . فى الفترات الماضية حدث نجاح كبير فى المقاومة الحيوية للأمراض الكامنة فى التربة ، عن طريق استعمال البكتيريا

الوميضة *Pseudomonas fluorescens* ، عن طريق معاملة البذور بالمعلق الخلوى لهذه البكتيريا .

ثبت بأن العزلة BL915 من البكتيريا السابقة ، المعزولة من التربة ، فعالة ضد الفطر *R.solani* مسبب مرض سقوط البادرات فى القطن . الاختبارات التى أجريت على هذه العزلة لمعرفة الأساس الذى تبنى عليه مقدرتها فى المقاومة الحيوية ، أثبت أن هذه السلالة تنتج Pyrrolnitrin ، وهو من المضادات الحيوية ومن المنتجات الثانوية لعمليات الميتابولزم فى البكتيريا ، ومن المعروف أنه يثبط نمو الفطر *R.solani* وفطريات أخرى .

**مقاومة المرض :**

يقاوم مرض سقوط البادرات الرايزوكتونى فى القطن باستعمال البكتيريا الوميضة P.fluorescens سلالة F-11 و F-5 ، وكذلك باستعمال البكتيريا الوميضة *P.putida* .

لمعرفة تأثير البكتيريا الوميضة على نمو الفطر *R.solani* فى المعمل ، كان يزرع الفطر على نوعين من البيئات ، الأولى : King's broth (KB) والثانية : بطاطس – دكستروز – مرق . كانت توضع البيئة فى دوارق سعة ١٠٠ مل يوضع فيه ٢٠ مل بيئة ، ثم يضاف إليه ٠,١ ملم معلق بكتيرى بتركيز حوالى $10^{7}$ / مل وحدة تكوين مستعمرات ، من سلالات مختلفة من البكتيريا الوميضة ، ثم يوضع فى الدورق نفسه قرص من مزرعة الفطر بقطر ٦ ملم ، ثم تحضن الدوارق على حرارة ٢٧ °م لمدة خمسة أيام ثم يدرس تأثير البكتيريا على الوزن الجاف لنمو الفطر .

يبين جدول رقم (٦٠) أن نمو الفطر ينخفض بشكل كبير ، ويكون أكبر فى بيئة مرق KB منه فى بيئة مرق PD فكانت نسبة الخفض فى الأولى ٥٣,٩٢٪ وفى الثانية ٧٥,٨٢٪.

عند دراسة تأثير البكتيريا الوميضة على إصابة البادرات بالمرض فى الصوبا الزجاجية . كانت توضع تربة معقمة فى أوعية بلاستيكية ذات قطر ٢٠سم، وكانت تلوث التربة بحوالى ٥٠ ملم من معلق مزرعة الفطر الممرض *R.solani* (تحتوى ١٠٠ ملغ وزن ميسيليوم طازج) ، ثم بعد ذلك كانت تزرع البذور المعاملة بالبكتيريا (سلالات مختلفة من البكتيريا الوميضة) بحيث تحمل كل بذرة حوالى $10^{8}$ وحدة تكوين مزارع . يزرع فى كل وعاء

عشـــرة بـــذور ، ثم بعد حوالى ٤ أسابيع تدرس النتائج . كانت النتائج كما فى جدول رقم (٦٠)، حيث إن ٥٢ ٪ من النباتات فى الكنترول ظهر عليها تعفن منطقة التاج ثم السقوط المفاجئ، بينما فى حالة النباتات المعاملة بالبكتيريا فتتراوح نسبة الإصابة من صفر إلى ٤٧ ٪.

مما ســـبق يتبين أن السلالة F-11، هى أفضل السلالات فى كبح جماح المرض ثم يليها السلالة رقم F-5 . ولقد اقترح Laha *et al* سنة ١٩٩٢ استعمال *P.putida* فى مقاومة معظم أمراض القطن ، بعد أن أثبت فى تجاربه نجاح هذه البكتيريا فى التجارب الحقلية .

**جدول رقم (٦٠) : تأثـــير الســـلالات المختلفة من البكتيريا الوميضة على النمو الميسيليومى للفطر *R.solani* على بيئات مختلفة ، وتأثير السلالة على نسبة المرض فى القطن فى الصوبا الزجاجية.**

| السلالة | ملغ متوسط الوزن الجاف للميسيليوم على بيئة | | ٪ بادرات قطن مصابة |
|---|---|---|---|
| | King's B broth | PD broth | |
| كنترول | ٣٠٠ | ٢٩٠ | ٥٢,٦ |
| F - 1 | ٩٠ | ١٣٨ | -- |
| F - 2 | ٧٠ | ١١٠ | ٢٣,٥ |
| F - 3 | ٨٠ | ١٥٠ | -- |
| F - 4 | ٤٠ | ٢١٨ | -- |
| F - 5 | ١١٠ | ١٦٠ | ١١,٤ |
| F - 6 | ١١٠ | ١١٥ | ١٦,٦ |
| F - 7 | ٣٨ | ١٧٨ | ١٦,٥ |
| F - 10 | ٧٥ | ١٣٠ | ٤٧ |
| F - 11 | ٨٠ | ١٣٢ | صفر |

## ٣ - الذبول الفطرى والبكتيرى فى القطن

### مقدمة :

لقد ذكر Podile *et al* سنة ١٩٨٨ أن هناك كائنات مضادة موجودة فى رازيوسفير نبات القطن لها دور كبير فى المقاومة الحيوية لأمراض القطن ، وتسبب زيادة فى نمو وانتاج النبات . من هذه الكائنات *Pseudomonas aeruginosa* ، *P.fluorescens* ، *Bacillus subtilis* . ولقد اختبرت هذه الكائنات المضادة ضد بعض الكائنات الممرضة للقطن ، منها :

*1 - Rhizoctonia solani*

*2 - Sclerotium rolfsii*

*3 - Fusarium solani*

*4 - Erwinia carotovora*

*5 - Xanthomonas citri*

وجد أن البكتيريا *P.aeruginose* لها كفاءة عالية فى تثبيط تكشف جميع الممرضات المذكورة سابقاً ، فى حين أن *B.subtilis* مضادة للفطريات فقط . أما *P.fluorescens* فهى تثبط جميع الممرضات السابقة باستثناء *F.solani* .

### مقاومة الامراض :

عزلت الميكروبات الممرضة لنبات القطن من نباتات القطن المصابة بالذبول ، ثم أعيد حقنها فى نباتات القطن فى الصوبا الزجاجية ، فأحدثت إصابة ثم بعد ذلك عزلت من النباتات ونميت على بيئة *PDA* . هذه الكائنات الممرضة هى :

*1 - Xanthomonas malvacearum.*

*2 - Rhizoctonia solani.*

*3 - Fusarium vasinfectum.*

*4 - Verticillium dahliae.*

أما بالنسبة للكائنات المضادة المستعملة فى المقاومة الحيوية ، فهى :



obeikandl.com

١ – السلالة ٤١ من البكتيريا *Pseudomonas fluorescens* .

٢ – السلالة ٢٣ من البكتيريا *Bacillus subtilis* .

٣ – السلالة ٢٦ من البكتيريا *Bacillus megatherium* .

٤ – البكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* .

نميت هذه البكتيريا على بيئة جلوكوز – ببتون – آجار ، محتوية ١٠ غرام ببتون و ١٠ غرام غلسرول و ٥ غرام كلوريد صوديوم و ٢٠ غرام آجار فى لتر ماء . كانت تلقح الأطباق النامية فيها الكائنات الممرضة بوضع أجزاء من الكائنات المضادة ، وتحضن على ٢٥–٢٨°م ، ثم درست نتائج التضاد بعد ثلاثة أيام . كانت النتائج كما فى جدول رقم (٦١) . تبين أن الثلاثة أنواع من البكتيريا المضادة تثبط نمو الأربعة كائنات الممرضة ، وكان التأثير الكبير للبكتيريا *B.subtilis* ثم *B.megatherium* . أما البكتيريا الرابعة فلم تستعمل فى تجارب المعمل وإنما استعملت فى التجارب الحقلية مباشرة .

أما بالنسبة لدراسة تأثير الكائنات المضادة على الكائنات الممرضة فى الحقل . فكانت تنقع بذور القطن (بعد تنظيفها وتطهيرها خارجياً) فى تخفيفات مختلفة من معلق مزرعة البكتيريا ١٠ ٪ ، ٢٥ ٪ ، ٥٠ ٪ لمدة ١٨ ساعة (كانت مزارع البكتيريا مكونة من ١٠ غرام ببتون + ١٠ مل غليسيرول + ٥ غرام كلوريد صوديوم + ١٠٠٠ مل ماء) ، ثم بعد ذلك تجفف على ورق نشاف ، ثم تزرع فى تربة الحقل مباشرة ، بعد التأكد من أن تربة الحقل ملوثة طبيعياً بالكائنات الممرضة ، وزيادة على هذا التلوث الطبيعى كانت تلوث صناعياً بإضافة أربعة أطباق بترى / م٢ من كل كائن ممرض .

درست النتائج بعد أسبوعين ، فوجد أن إنبات بذور القطن يزداد فى المعاملة التى استعملت فيها البكتيريا بتخفيف ١٠ ٪ (جدول رقم ٦٢) وأن ظهور البادرات فوق سطح التربة قد ازداد بنسبة استعمال الكائنات المضادة ، وأن استعمال كائنين مضادين معاً يكون تأثيرهما أفضل من استعمال كل منهما بمفرده ، وأن استعمال الكائن المضاد ضد الممرضين أفضل منه ضد ممرض واحد . أفضل تركيز لخفض شدة المرض هو ١٠ ٪ أيضاً (جدول رقم ٦٢) . وقد تم تثبيط جميع الكائنات الممرضة فى التربة ، بحيث انخفض تأثيرها على البادرات وعلى الإنبات ، وبالتالى على تكشف المرض ، وقد سببت المعاملات بالكائنات المضادة زيادة فى انتاج القطن (جدول رقم ٦٣) .

كان أفضل الكائنات المضادة للممرضات المذكورة سابقاً هى البكتيريا *B.subtilis* سلالة ٢٣ ثم *P.fluorescens* سلالة ٤١ .

**جدول رقم (٦١) : تأثير استعمال البكتيريا المضادة على الكائنات الممرضة للقطن فى المعمل .**

| الكائنات الممرضة المستعملة فى الدراسة | ٪ قطر منطقة التثبيط فى طبق بترى عند استعمال البكتيريا | | |
|---|---|---|---|
| | *P.fluorescens* | *B.subtilis* | *B.megatherium* |
| *Xanthomonas malvacearum* | ٢٦,٢٥ | ٣٥,٠٠ | ٢٣,٠٠ |
| *Rhizoctonia solani* | ٢٢,٠٠ | ٣١,٢٥ | ١٨,٧٥ |
| *Verticillium dahliae* | ٢٠,٢٥ | ٣٢,٥ | ٢٤,٢٥ |
| *Fusarium vasinfectum* | ٢٣,٢٥ | ١٩,٢٥ | ١٥,٢٥ |

**جدول رقم (٦٢) : تأثير الكائنات المضادة على إنبات بذور القطن وعلى نمو البادرات فى التربة الملوثة بالكائنات الممرضة بعد ١٤ يوماً من الزراعة (على الصنف Kirgiziyaz) .**

| الكائنات المضادة | ٪ إنبات البذور على تخفيف | | | ملم طول البادرات على تخفيف | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | ٪ ١٠ | ٪ ٢٥ | ٪ ٥٠ | ٪ ١٠ | ٪ ٢٥ | ٪ ٥٠ |
| *Pseudomonas fluorescens* | ٩١,٦ | ٨١,٦ | ٥٧,٣ | ٧,٧ | ٥,٦ | ٣,٩ |
| *Bacillus subtilis* | ٩٨,٣ | ٨٨,٣ | ٥٨,٣ | ٨,٢ | ٥,٩ | ٤,٢ |
| *Bacillus megatherium* | ٩١,٦ | ٨٠,٠٠ | ٦٣,٣ | ٧,٤ | ٥,٢ | ٣,٧ |
| كنترول | ٧٦,٠٠ | ٧٦,٠٠ | ٧٦,٠٠ | ٦,٥ | ٦,٥ | ٦,٥ |

جدول رقم (٦٣) : تأثير استعمال الكائن المضاد على ظهور البادرات ، ظهور المرض ، وانتاج القطن فى الصنف (Kirgiziya 3) ضد الفطر *R.solani* والبكتيريا *X.malvacearum* .

| الكائن المضاد المستعمل فى التجربة | ٪ إنبات بذور فى وجود | | | انتاج غرام/نبات فى حالة وجود | | | ٪ إصابة بالمرض فى حالة وجود | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | بكتيريا + فطر | فطر | بكتيريا | بكتيريا + فطر | فطر | بكتيريا | بكتيريا + فطر | فطر | بكتيريا |
| كنترول | ٨٠ | ٨٠ | ٨٠,٠ | ٢٨,٨ | ٢٨,٨ | ٢٨,٨ | ٢٣ | ٢٣ | ٢٣ |
| *Pseudomonas fluorescens* | ٩٦,٧ | ٦٦,٧ | ٧٣,٣ | ٤٤,٨ | ٣٦,٦ | ٣٥,٢ | ٣,٠ | ٨ | ١٤ |
| *Bacillus subtilis* | ٩٣,٣ | ٨٣,٣ | ٨٠,٠ | ٤٣,٣ | ٣٥,٧ | ٣٥,٣ | ٣,٠ | ٧ | ١٥ |
| *Bacillus megatherium* | ٩٠,٠ | ٧٠,٠ | ٧٦,٧ | ٤٢,١ | ٣٦,٥ | ٣٢,٠ | ٦,٠ | ٨ | ٢٠ |

# ثالثاً: بنجر السكر

## سقوط البادرات

### مقدمة :

يصاب بنجر السكر Sugar beat (الاسم العلمى *Beta vulgaris*) بمرض سقوط البادرات الذى يتسبب عن الفطر *Pythium* ، وقد سبق وذكرنا كثيراً عن أنواع هذا الفطر وطرق إصابتها لكثير من العوائل ، وذكرنا أسباباً كثيرة للاتجاه للمقاومة الحيوية ، بدلاً من الطرق التقليدية فى المقاومة .

تنبت الجرائيم الأسبورانجية للفطر *Pythium* بسرعة ، كاستجابة لإفرازات البذور أو الجذور وتهاجم أنسجة العائل بسرعة ، وبالتالى فإن بعض الأنواع النباتية مثل الخيار وبنجر السكر تكون قابلة للإصابة لسقوط البادرات خلال الأيام الأولى من الإنبات فقط . لقد استعملت التركيبات ذات الأشكال الكروية التى تحوى عامل المقاومة الحيوية الفطرية لتقاوم الكائنات الممرضة ، هذه الكرات استعملت مع *Pythium oligandrum* لخفض إصابة بادرات بنجر السكر بالسقوط المفاجئ .

### مقاومة المرض :

يقاوم مرض سقوط بادرات بنجر السكر المتسبب عن الفطر *Pythium ultimum* باستعمال البكتيريا المضادة *Pseudomonas putida* سلالة 40 RNF ؛ حيث تضاف على كرات البذور وتؤدي إلى خفض حدوث المرض . إن استعمال تركيز ٦ × $١٠^{٧}$ وحدة تكوين مستعمرات/ كرة بذور من السلالة 40-RNF يخفض الإصابة بالفطر من ٧٠ ٪ إلى ٢٦ ٪ عندما تزرع البذور فى تربة محقونة صناعياً (٢٥٠ وحدة تكاثر من الفطر *P.ultimum* / غرام تربة جافة) . تعتمد كفاءة السلالة 40-RNF على الكثافة التى تستعمل بها فى كرات البذور (بمعدل ٢ × $١٠^{٤}$ إلى ٦ × $١٠^{٨}$ وحدة تكوين مستعمرات لكل كرة بذور)، وعلى عدد وحدات التكاثر للفطر الممرض فى التربة . السلالة المضادة 40-RNF ينخفض عددها أو تتوقف عن التنافس ، عندما تصل إلى التركيز $١٠^{٦}$ وحدة تكاثر / كرة بذور وهذا يكون بعد ثلاثة أيام من الزراعة ، ويعتمد على كثافة اللقاح . هذا يدل على أن الوقت الحرج الذى تتم خلاله مقاومة مرض بادرات بنجر السكر المتسبب عن *P.ultimum* هى الفترة من ٣ – ٤ أيام بعد الزراعة . إن السلالة 40-RNF تخفض العملية الاستعمارية لغلاف البذرة من قبل الفطر الممرض بنسبة ٤٣ ٪ خلال ٤٨ ساعة بعد الزراعة ، وتسبب

خفضاً يقدر بحوالى ٦٨ ٪ فى عدد الأسبورانجيات للفطر المرض فى التربة المحيطة بالبادرة (على بعد من صفر إلى نصف ملم) ، كذلك فإنها تخفض سقوط البادرات قبل وبعد ظهورها فوق سطح التربة من ٦٩,٥ ٪ فى الكنترول إلى ٣٧,٥ ٪ فى المعاملة . هذه النتيجة تقارب نتيجة استعمال المبيد الفطرى Hymexazol ؛ حيث يخفض الإصابة من ٦٩,٥ ٪ إلى ٤٠ ٪ فى المعاملة جدولى (رقم ٦٤ ، ٦٥) .

**جدول رقم (٦٤) تأثير البكتيريا المضادة** *P.putida* 40 RNF **على استعمار قشرة بذور بنجر السكر بالفطر** P.ultimum **مسبب سقوط البادرات .**

| تركيز البكتيريا | ٪ استعمار قشرة البذرة بالفطر الممرض بعد فترة | | | |
|---|---|---|---|---|
| | ١٢ ساعة | ٢٤ ساعة | ٤٨ ساعة | ٩٦ ساعة |
| ٣ × ١٠$^{٧}$ Cfu / بذره | ٢ | ١٦ | ٢٢ | ٥٨ |
| كنترول | ٢٢ | ٥٨ | ٦٥ | ٧٨ |

**ملاحظات على الجدول** : كانت تزرع البذور فى تربة محقونة بالفطر الممرض تركيز ٢٥٠ وحدة تكاثر/غرام تربة.

**جدول رقم (٦٥) : تأثير زيادة عدد الأجزاء التكاثرية للفطر الممرض على مقاومة مرض سقوط البادرات باستعمال البكتيريا المضادة** *Pseudomonas putida* **سلالة** 40RNT **. البذور معاملة بنسبة ٥ × ١٠$^{٧}$ وحدة تكوين مستعمرات لكل كرة بذور ، ومزرعة فى الأرض الملوثة بالفطر الممرض بالتركيزات المذكورة فى الجدول . النتيجة بعد ١٤ يوماً من الزراعة .**

| تركيز الفطر كرة فطرية لكل غرم تربة | ٪ سقوط بادرات | تركيز البكتيريا | ٪ سقوط بادرات عند معاملة التربة ٢٥٠ كرة فطرية / غرام تربة |
|---|---|---|---|
| ٢٠٠ | ٣٧ | ٢ × ١٠$^{٤}$ | ٥٨ |
| ٢٥٠ | ٤٠ | ٢ × ١٠$^{٦}$ | ٤٠ |
| ٥٠٠ | ٥٣ | ٢ × ١٠$^{٧}$ | ٢٢ |
| ١٠٠٠ | ٧٣ | ٢ × ١٠$^{٨}$ | ١٤,٠ |
| ٢٠٠٠ | ٩٠ | ٢ × ١٠$^{٨}$ | ١٥,٣ |
| كنترول | ٩٢ | كنترول | ٧٨ |

**ملاحظات على الجدول :**

الجزء الأول من الجدول ، والذى هو تركيز الفطر مع النسبة المئوية لسقوط البادرات ، تجربة لوحدها غير مرتبطة مع الجزء الثانى من الجدول ، وهو تركيز البكتيريا مع النسبة المئوية لسقوط البادرات .

# رابعاً: وقاية نباتات الدخان من فيرس نكروزز الدخان باستعمال السلالة CHAO

## مقدمة :

تعتبر السلالة CHAO *Pseudomonas fluorescens* ، عامل فعال في المقاومة الحيوية للمرض الماحق (take-all) فى القمح المتسبب عن *Gaeumannomyces grami-nis var. tritici* فى الحقل ، وأمراض أخرى تتسبب عن كائنات ممرضة كامنة فى التربة وفى تجارب الصوبا الزجاجية . تنتج هذه السلالة سايدروفور Pyoverdine (Pvd) ، حمض السلسليك ، أندول أسيتيت ومواد سامة أخرى ناتجة عن الميتابولزم ، مثل HCN ، 2,4 dia-cetylphloroglucinol (PhI) و Pyoluteorin (PIt) .

درس تأثير كل من HCN و PhI فى تثبيط شدة مرض العفن الأسود فى الدخان ، درس تأثير PhI فى تثبيط المرض الماحق فى القمح . وجد أن Pyoverdine ، على أية حال، لا يثبط المرض معنوياً . أما السلالة CHA 400 ، والتى لا تنتج Pyoverdine ، (وهى طفرة من CHAO) تثبط مرض العفن الأسود فى الدخان والمرض الماحق فى القمح ، بكفاءة تشبه كفاءة النوع الأصلى . يوجد فى السلالة CHAO جين من (0.8 kb) يسمى *gacA* (global activator) والذى ينظم تعبيرات منتجات التمثيل الثانوية . لقد عرف هذا الجين ودرس جيداً ، وتبين أنه يوقف انتاج كل من HCN ، PhI و PIt ، ووجوده فى السلالة CHAO يؤدى إلى فقد كفاءتها فى وقاية الدخان من عفن الجذر الأسود المتسبب عن الكائن الممرض *Thielaviopsis basicola* .

هناك دليل مفصل عن تأثير السلالة CHAO على ميتابولزم النبات فى غياب الكائن الممرض لا مجال لذكره هنا . فى حالة وجود السلالة CHAO ، تظهر جذور الدخان زيادة فى تكوين الشعيرات الجذرية مقارنة مع النباتات النامية فى غياب البكتيريا .

نظراً لأن هذه السلالة ، يمكنها أن تتواجد فى قشرة الجذر ، فإن عمليات التمثيل ، من الممكن أن تصب فى النبات ، ويمكن أن تؤدى إلى زيادة المعاناة فى النبات . من المعروف أن هذه المعاناة ، يمكن أن تخلق ميكانزم دفاعى ضد الكائنات الممرضة ، مثل هذه المعاناة ، من الممكن أن تتسبب بواسطة PIt و PhI وهما مركبان سامان للنبات يفرزان بواسطة السلالة البكتيرية CHAO . هناك عامل آخر ينبه المقاومة الجهازية المستحثة ، هو

حمض السلسليك المفرز من هذه السلالة . كذلك فإن حمض السلسليك المضاف على الأوراق ، يمكن أيضاً أن يكون اشارة داخلية للنبات والتى تتحرك من مكان الإصابة إلى أجزاء أخرى من النبات وتخلق المقاومة الجهازية المكتسبة .

**وقاية نبات الدخان من فيرس نكروزز الدخان :**

نتيجة الأبحاث المستمرة ، تبين أن السلالة CHAO من البكتيريا *Pseudomonas fluorescens* تثبط شدة أمراض عديدة فى النباتات ، متسببة عن كائنات ممرضة كامنة فى التربة ، وهى أيضاً يمكن أن توقف بعض أمراض المجموع الخضرى . أجريت تجربة على نباتات الدخان ، حيث استعمل *Nicotiana glutinosa* ونوعين من *N.tabacum* . كانت هذه الأنواع قد زرعت فى تربة طبيعية معقمة بالأوتوغليف ، ثم حقنت قبل زراعتها بالدخان ، بالسلالة CHAO . زرعت نباتات الدخان بعد حقن البكتيريا بحوالى ٤٠ يوماً . كانت النتيجة أن كل النباتات المختبرة ، أظهرت مقاومة فى الأوراق ضد الإصابة بفيرس نكروزز الدخان (TNV) ، بدرجة تشبه إلى حد ما النباتات التى حصل فيها وقاية بالتضاد Cross protection حين حقنت مسبقاً بسلالة ضعيفة من TNV .

أظهرت الاختبارات التحليلية أن نفس الكمية من البروتينات المتعلقة بالمرضية PRs المجموعات PR-1 ، B 1,3 - glucanases و Endochitinases ، كانت قد استحثت فى السائل بين الخلايا فى أوراق النبات النامية فى وجود السلالة CHAO كما هو موجود فى السائل الذى بين الخلايا فى النباتات التى قد حصل لها وقاية بالتضاد . أمكن اعادة عزل السلالة CHAO من الجذور ، ولكن لم يمكن اكتشافها فى السيقان أو الأوراق . السلالة CHA 96 ذات الجين *gacA* وهى طفرة سالبة من السلالة CHAO ينقصها انتاج المضادات الحيوية ولا تستطيع كبح شدة مرض العفن الأسود فى الجذر ، تبين أن لها نفس الكفاءة فى تخليق PRs والمقاومة ضد TNV كما تفعل سلالة النوع البرى . أما السلالة CHA 400 التى لا تنتج Pyoverdine ، وهى طفرة من السلالة CHAO لها نفس الكفاءة فى كبح شدة مرض العفن الأسود فى الجذر فى الدخان والمرض الماحق فى القمح ، كما فى حالة سلالة النوع البرى ، وهى قادرة على حث تخليق PRs ، وهى ذات مقاومة جزئية ضد فيرس TNV . أما السلالة P3 ، وهى سلالة أخرى من النوع الأصلي للبكتيريا *P.fluorescens* وهى لا تستطيع أن تثبط الأمراض المتسببة عن كائنات ممرضة كامنة فى التربة ، وهى لا تحث على المقاومة ولا على تخليق PR s فى الدخان .

**جدول رقم (٦٦) : تأثير معاملة التربة بالسلالة CHAO من البكتيريا *P.fluorescens* ومشتقاتها CHA 96 التى ينقصها الجين *gacA* والسلالة CHA 400 التى تنقصها Pyoverdine ، على نكروزز الورقة فى أنواع نبات الدخان المتسبب عن الفيرس TNV .**

| المعاملة | عدد البقع لكل ورقة | ملم متوسط قطر البقعة | ٪ المساحة المتحللة من الورقة | انتاج PRs | نشاط B-1,3 Glucanase | نشاط Chitinase |
|---|---|---|---|---|---|---|
| ١ – نوع الدخان البرى زانثا | | | | | | |
| كنترول للاصابة بالفيرس | ١٤٢ | ١,٤ | ١٠٠ | – | ١,٠ | ١,٠ |
| المقاومة بالتضاد | ٢٠ | ٠,٦ | ١٧ | + | ١٤,٠ | ٥,١ |
| السلالة CHAO | ٢٥ | ٠,٨٥ | ٢٠ | + | ٦,٦ | ٣,٨ |
| السلالة CHA 96 | ٢٨ | ٠,٨٥ | ٢٣ | + | ٥,٢ | ٥,٥ |
| السلالة CHA 400 | ٩٨ | ١,٣ | ٥٤ | + | ٣,٤ | ٢,٥ |
| السلالة P3 | ٩٥,٣ | ٠,٨ | ٨٥ | + | ١,٤ | ١,٣ |
| ٢ – نوع الدخان (بارلى ٦٣) | | | | | | |
| كنترول | ١٢,٠ | ١,٣ | ١٠٠ | – | ١,٠ | ١,٠ |
| مقاومة بالتضاد | ٣,٥ | ٠,٦٥ | ٩ | + | ٢,١ | ٣,٢ |
| السلالة CHAO | ٤,٥ | ٠,٨ | ٢١ | + | ٢,١ | ٢,٣ |
| السلالة CHA 96 | ٥ | ٠,٧ | ٩ | + | ٢,٠ | ٤,٤ |
| السلالة CHA 400 | ١٣ | ١,٦ | ٦٦ | + | ٢,٧ | ٣,٤ |
| ٣ – الدخان الأصلى *N.glutinosa* | | | | | | |
| كنترول | ١٨,٥ | ١,٣ | ١٠٠ | دون | ١,٠ | ١,٠ |
| المقاومة بالتضاد | ٢,٥ | ٠,٧ | ١٠ | دون | ٥,٨ | ٢,٣ |
| السلالة CHAO | ٣,٥ | ٠,٨ | ١٨ | دون | ٤,٩ | ٢,٥ |
| السلالة CHA 96 | ٣,٥ | ٠,٨٥ | ٣٢ | دون | ٣,٢ | ٢,٦ |
| السلالة CHA 400 | ١٥,٥ | ١,١ | ٦٩ | دون | ٨,٣ | ٣,٢ |
| السلالة P3 | ٢٦ | ١,٣ | ٨٤ | دون | ٠,٦ | ١,٠ |



obeikandl.com

**ملاحظات على الجدول :**

يقصد بالمقاومة بالتضاد أن النباتات كانت قد حقنت بالفيرس المضعف على الأوراق السفلية ثم بعد سبعة أيام تحقن بنفس الفيرس غير المضعف الأوراق العلوية . كانت تحسب الأعراض فى الأوراق العلوية بالنسبة للنشاط :

B - 1,3 - Glucanase كان يحسب كالآتى :

١ = ٨ وحدات / غرام من الورقة بالنسبة للصنف الأول

١ = ٦ وحدات / غرام من الورقة بالنسبة للصنف الثانى

١ = ١٠ وحدات / غرام من الورقة بالنسبة للصنف الثالث

Chitinase

١ = 28 pkat / غرام من الورقة بالنسبة للصنف الأول

١ = 33 pkat / غرام من الورقة بالنسبة للصنف الثانى

١ = 34 pkat / غرام من الورقة بالنسبة للصنف الثالث

أما بالنسبة لتحلل الورقة

١٠٠ ٪ تعنى ٢٠٠ ملم٢ متحلل من سطح الورقة فى الصف الأول

١٠٠ ٪ تعنى ٩٥ ملم٢ متحلل من سطح الورقة فى الصف الثانى

١٠٠ ٪ تعنى ٤٢ ملم٢ متحلل من سطح الورقة فى الصف الثالث

إن استعمار جذور نباتات الدخان بالسلالة CHAO ومشتقاتها بالإضافة إلى اصابة الورقة بالفيرس TNV تسبب زيادة فى حمض السلسليك فى الأوراق . تبين هذه النتائج أن استعمار جذور الدخان بواسطة السلالة CHAO تخفض النكروزز المتكون فى الأوراق من الفيرس TNV وتخلق تغيرات فسيولوجية فى النبات ، إلى حد ما ، كما تخلق مقاومة جهازية عن طريق حقن الورقة بالفيرس TNV .

لقد تبين من التجارب العلمية الوراثية أن الجين البكتيرى *gacA* والذى يكون مهماً فى وقاية الجذور ليس له تأثير على تخليق مقاومة فى الورقة ولا على الانتاج البكتيرى للسايدروفور Pyoverdine والذى ليس له دور فى وقاية الجذر ، يتدخل فى تخليق مقاومة فى الأوراق (جدول رقم ٦٦) .

# خامساً: الطماطم

## ١ - سقوط البادرات المتسبب عن بثيم

### مقدمة :

إن البكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* سلالة 7NSK2 ، هى عزلة من منطقة الرايزوسفير فى نبات الشعير ، وهى تؤدى إلى تحسين نمو كثير من المحاصيل . تحت ظروف انخفاض توفر الحديد ، فإن هذه البكتيريا تنتج ثلاثة سايدروفورز . الأول حمض السلسليك TLC (Thin layer Chromatographic) . الثانى Pyochelin وهو مشتق من حمض السلسليك ، الثالث Pyoverdin . ولقد وجد أن هذه السلالة ذات فعالية فى تضادها ضد الفطر *Pythium* المسبب لمرض سقوط البادرات المفاجئ لنباتات الطماطم . لقد ثبت بأن مادة الـ Pyoverdin لها دور مهم فى المقاومة الحيوية لهذا الفطر ، إذا هوجمت بادرات القطن سبب عفن جذور القمح . لقد ثبت من الأبحاث الكثيرة أن مادة الـ Pyochelin التى تنتجها البكتيريا *P.aeruginosa* السلالة 7NSK2 لها تأثير فعال ضد الفطر *Pythium sp*.

### مقاومة المرض :

تستعمل البكتيريا *P.aeruginosa* السلالة 7NSK2 ضد الفطر *Pythium splendens* المسبب سقوط بادرات نباتات الطماطم . إن جميع المعاملات البكتيرية تخفض بشكل معنوى الإصابة المرضية قبل ظهور البادرة فوق سطح التربة (جدول رقم ٦٧) بالمقارنة مع الكنترول . أما فى حالة غياب الفطر الممرض لا يوجد فرق معنوى بين المعاملات البكتيرية فى تأثيرها على نمو وظهور نباتات الطماطم فوق سطح التربة . لا يوجد فرق معنوى فى وقاية النباتات من الإصابة قبل الظهور فوق سطح التربة باستعمال السلالة الأصلية 7NSK2 (٨٣ ٪ نسبة الإنبات) والطفرة سالبة الانتاج لمادة Pyoverdin (MPFM1) ، نسبة الإنبات ٨٢ ٪ ، والطفرة KMPCH (K5) سالبة الانتاج لكل من Pyoverdin و Pyochelin (نسبة الإنبات ٨٤ ٪) ، والمضاف إليها صفة انتاج الـ Pyochelin . أما الطفرة KMPCH السالبة الانتاج للمادتين المضادتين ، فهى أيضاً تخفض الإصابة بالفطر بثيم (نسبة الإنبات ٧٦ ٪) ولكنها أقل كفاءة من سلالة الأبوين .

يمكن الحصول على أفضل مقاومة ضد مرض السقوط المفاجئ لبادرات الطماطم ، بعد ظهورها فوق سطح التربة ، عن طريق معاملة بذور الطماطم بالسلالة البكتيرية المنتجة

لمادة Pyochelin وهى 7NSK2 ثم بعد ذلك السلالات MPFM1 و KMPCH (K5) (جدول ٦٧) . الحقن بهذه السلالات يزيد عدد النباتات السليمة بعد ٩ أيام من ظهورها فوق سطح التربة من ٣٤ ٪ فى الكنترول إلى أكثر من ٥٥ ٪ . أما السلالة KMPCH ، تتميز بانخفاض فى مقدرتها على تثبيط الإصابة المرضية (نسبة النباتات السليمة ٤٦ ٪ بعد ٩ أيام من الظهور فوق سطح التربة) ، بالمقارنة مع السلالة الأم ، والطفرات MPFM1 و KMPCH (K5) . إن انخفاض وقاية بادرات الطماطم ضد الفطر *P.splendens* باستعمال الطفرة KMPCH ، لا يكون بسبب ضعف مقدرتها على استعمار الجذر ، وإنما بسبب ضعف انتاجها للمواد المثبطة المذكورة سابقاً فى منطقة الرايزوسفير بعد ٩ أيام من ظهور البادرات فوق سطح التربة فى الاختبارات الحيوية .

يمكن القول باختصار أن إنتاج الـ Pyoverdin ليس ضرورياً للمقاومة الحيوية فى السلالات المنتجة لمادة Pyochelin ، أما السلالات التى لا تنتج أياً من الـ Pyoverdin أو الـ Pyochelin مثل KMPCH من *P.aeruginosa* ، فإن تأثيرها لا يقل عن الكنترول . من هذا يمكن القول بأن Pyochelin يكون المسئول عن القدرة على المقاومة الحيوية للبكتيريا *P.aeruginosa* 7NSK2 ، وكذلك لا يستبعد تأثير مادة السلسليك أسد والسايدروفورز .

**جدول رقم (٦٧) : تأثير البكتيريا** P.aeruginosa **السلالة** 7NSK2 **، ومشتقاتها السالبة الانتاج لـ** Pyoverdin **و / أو** Pyochelin **على بذور الطماطم ، وسلامة البادرات بعد الظهور فوق سطح التربة بمدة ١ ، ٤ ، ٩ أيام فى المقاومة الحيوية للفطر** *P.splendens* .

| المعاملة | ٪ بذور سليمة قبل الإنبات | ٪ بادرات سليمة بعد الإنبات | | | الانتاج الكلى من المضادات | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | ١ يوم | ٤ أيام | ٩ أيام | Pyoverdin | Pyochelin |
| بدون بكتيريا وبدون فطر | ٩٨ | ٩٨ | ٩٨ | ٩٨ | -- | -- |
| فطر ممرض بدون بكتيريا | ٦١ | ٤٣ | ٣٨ | ٣٤ | -- | -- |
| فطر ممرض+سلالة 7NSK2 | ٩٠ | ٧٨ | ٦٢ | ٥٨ | + | + |
| فطر ممرض+سلالة MPFM1 | ٨٧ | ٨٢ | ٧٠ | ٥٢ | -- | + |
| فطر ممرض+سلالة KMPCH | ٨٧ | ٧٦ | ٦٠ | ٤٦ | -- | -- |
| فطر ممرض+سلالة KMPCH (K5) | ٨٦ | ٨٠ | ٧٨ | ٦٢ | -- | + |
| فطر ممرض+سلالة SPCN1 | ٨٢ | ٧٥ | ٦٢ | ٥٠ | -- | + |

## ٢ - وقاية الطماطم من فيرس تبرقش الطماطم

## Tomato Mottle Virus (ToMov)

**مقدمة :**

تبنى استراتيجية وقاية النبات من الأمراض الفيروسية ، على استعمال الأصناف المقاومة وراثياً ، العمليات الزراعية المختارة ، مقاومة الحشرات الناقلة للفيرس أو هذه العوامل مجتمعة . استعمل حديثاً طريقة الوقاية بالتضاد Cross protection ، والنباتات المهندسة وراثياً والتى تظهر فيها تركيبات فيروسية فقط أو بروتينات غير تركيبية للفيرس . بالنسبة لاستعمال الأصناف المقاومة وراثياً ، هى أفضل الطرق المستعملة اقتصادياً وبيئياً ، إلا أن الأصناف التجارية المقاومة وراثياً ، لا تكون دائماً متوفرة . أما بالنسبة للوقاية بالتضاد ، فقد نجحت مع عديد من نظم فيرس / عائل ، ولكن هذه الطريقة لا تكون عملية أو ملائمة مع بعض المحاصيل ، ويكون لها مخاطر واضحة مرافقة لحقن المحصول بالعامل المعدى . أما بالنسبة للهندسة الوراثية فى النباتات ، فإنه للحصول على نباتات مقاومة للفيرس ، لا تزال الأبحاث فى هذا المجال غير موفقة إلى نتيجة ايجابية . هناك نوع من الكوسا حصل فيه تغيرات وراثية ويستعمل تجارياً ، هذا ما وجده Tricoli *et al* سنة ١٩٩٥ ، حيث اشترك فى البحث عشرة علماء . أما عن طريق مقاومة العوامل الحشرية الناقلة للفيرس ، فهى أيضاً ذات مآخذ كثيرة، منها تلوث البيئة ، والأثر المتبقى السام على المحصول . وبالتالى يبقى أمام الباحثين ، استعمال المقاومة الجهازية المكتسبة SAR أو المقاومة الجهازية المستحثة ISR .

لقد ذكر Maurhofer *et al* سنة ١٩٩٤ أنه يمكن استعمال *P.fluorescens* كعامل حاث للمقاومة ضد فيرس تكرووز الدخان (TNV) ، فى الدخان ، ولقد لاحظوا أيضاً خفضاً فى عدد البقع المتكونة على النباتات المعاملة بالرايزوبكتيريا . كان Raupach *et al* سنة ١٩٩٦ أول من ذكر أن معاملة بذور الخيار أو الطماطم بالرايزوبكتيريا PGPR ، يؤدى إلى تخليق مقاومة جهازية ضد الإصابة الجهازية بفيرس موزايك الخيار CMV ، كا ذكر Zehnder *et al* سنة ١٩٩٩ تعريفاً لسلالات PGPR التى تقى الطماطم من الإصابة الجهازية بفيرس موزايك الدخان تحت ظروف الصوبا الزجاجية والحقل .

تنقل الذبابة البيضاء whitefly فيروسا Geminiviruses فى الطاطم ، ونظراً لصعوبة مقاومة هذه الحشرة ، فإن المرض إنتشر بنسبة ١٠٠ ٪ فى ولاية فلوريدا ، وسبب خسائر

تقدر ١٤٠ مليون دولار سنة ١٩٩٠ و ١٩٩١ . وكذلك نظراً لعدم توفر أصناف مقاومة وراثياً لهذا المرض ، فإن مقاومته أصبحت معقدة كثيراً حيث أن الذبابة البيضاء يظهر فيها سلالات مقاومة للمبيدات الحشرية ، وكذلك صعوبة الدراسة البيولوجية للحشرة . عند استعمال المبيدات الحشرية الجهازية ، فإن ذلك يؤدى إلى التخلص من الذبابة البيضاء وجميع الأمراض الفيروسية المنقولة بهذه الذبابة .

الدراسات التى أجريت لتقدير كفاءة المقاومة الناتجة بواسطة PGPR وهى المقاومة الجهازية المستحثة ISR ، فى الطماطم ضد الاصابة بفيرس تبرقش الطماطم (ToMov) ، تحت الظروف الحقلية ، تبين أن معاملة نباتات الطماطم بسلالة معينة من PGPR ، يخفض فى بعض الحالات شدة المرض وزيادة على ذلك ، فإن المعاملة ببعض هذه السلالات يزيد من انتاجية ثمار الطماطم فى القطفات الأولى من الثمار .

**وقاية نباتات الطماطم من الاصابة بالفيرس :**

تستعمل سلالات البكتيريا PGPR على شكل تشكيلات مصنعة ، إما أن تكون على شكل مسحوق أو على شكل كرات صغيرة . تضاف هذه التركيبات على بذور نباتات الطماطم . قدرت فعاليتها تحت الظروف الحقلية ، على احداث مقاومة لفيرس تبقع الطماطم. السلالات التى أجريت عليها التجارب ، أثبتت فعاليتها فى تجارب سابقة من حيث مقدرتها على تخليق مقاومة جهازية مستحثة ، هذه السلالات هى :

*1 - Bacillus amyloliquefaciens 937a*

*2 - Bacillus subtilis 937 b*

*3 - Bcillus pumilus SE 34*

درست جميع النباتات من حيث ظهور الأعراض وحللت لمعرفة وجود ToMov DNA بعد ٤٠ يوم من نقل البادرات إلى الأرض الزراعية . قدرت كثافة وجود الذبابة البيضاء لكل نبات وكمية الثمار مرتين على الأقل فى الموسم (جدول رقم ٦٨) .

حدث أحسن وقاية للنباتات ضد فيرس ToMov عند استعمال البكتيريا على شكل كرات صغيرة . تبين أنه تحت الظروف الطبيعية والمستويات العالية من توفر العامل الناقل للفيرس ، فإن بعض سلالات الرايزوبكتيريا تؤدى إلى خفض وجود الفيرس وشدة المرض ،

وفى كثير من الأحيان تسبب زيادة فى إنتاج الثمار . وبالتالى يمكن وضع سلالات الرايزوبكتيريا فى برامج وقاية نباتات الطماطم ضد الاصابة بالفيرس المذكور تحت ظروف الحقل لكى تستعمل تجارياً فى الأسواق .

**جدول رقم (٦٨) : تأثير استعمال سلالات من الرايزوبكتيريا فى وقاية نباتات الطماطم من الاصابة بفيرس ToMoV ، وتأثير ذلك على انتاج نباتات الطماطم .**

| السلالة البكتيرية المستعملة فى الوقاية | عدد الحشرات/نبات خلال موسم النمو | | | الانتاج كيلو غرام/عشرة نبات | معدل شدة المرض |
|---|---|---|---|---|---|
| | زاحفة | حورية | Pupae | | |
| كنترول | ١٣,٧ | ٣٩,٢ | ١٤,٠ | ٣٨ | ٢,٦ |
| معاملة بذور 937a | ١٤,٠ | ٢٦,٠ | ١٦,٧ | ٣٦ | ٢,٧ |
| معاملة بذور 937b | ٧,٦ | ١٦,٧ | ٦,٠ | ٣٧ | ٢,٦ |
| مسحوق 937a | ٦,٢ | ١٨,٢ | ٦,٠ | ٤٨ | ١,٣ |
| مسحوق 937b | ١١,٥ | ١٨,٧ | ٢,٥ | ٥٥ | ١,٤ |
| مسحوق + معاملة بذور 937a | ١٠,٢ | ٢٣,٢ | ٩,٥ | ٤٦ | ١,١ |
| مسحوق + معاملة بذور 937b | ١١,٢ | ٣٦,٠ | ١٣,٥ | ٤٠ | ١,٥ |
| مسحوق SE 34 | ٨,٠ | ٢١,٠ | ١٥,٧ | ٣٨ | ٢,٣ |
| معاملة بذور SE 34 | ٢٣,٣ | ٢٨,٣ | ١٨,٣ | ٤٠ | ٢,٢ |
| مسحوق + معاملة بذور SE 34 | ٧,٧ | ١٦,٣ | ١٨,٠ | ٤٢ | ٢,١ |

**ملاحظات على الجدول :**

كانت تضاف البكتيريا بتركيز ١ × $١٠^{٧}$ وحدة تكوين مستعمرات / مل . كانت تعد أفراد الحشرة بعد نقل الشتلات بحوالى ٢٢ يوم . كانت تقسم شدة المرض من صفر إلى خمسة . حيث أن صفر = لا يوجد أعراض ، ١ = تبرقش خفيف على الأوراق الحديثة ، ٢ = يظهر بقع على الساق الرئيسى ، ٣ = يظهر بقع على معظم النبات ، ٤ = تشوه كبير فى جميع أوراق النبات ، ٥ = تشوه كل الأوراق وتقزم النبات . كانت تؤخذ الأعراض بعد ٤٠ يوم من النقل .

# سادساً : الفجـــل

## ذبول الفيوزاريوم فى الفجل

**مقدمة :**

يزرع الفجل *Raphanus sativus* فى بعض البلدان الأوروبية فى الصوبات الزجاجية بصورة اقتصادية على مدار السنة ، بحيث يجمع حوالى تسع مرات فى السنة ، وقد تصل إلى ١٥ مرة . تكون فترة نمو الفجل خلال فصل الصيف ثلاثة أسابيع تزداد تدريجياً حتى تصل ٦ أسابيع فى الشتاء . وهذا يعتمد على الأصناف التى تستعمل فى الزراعة ، حيث إن هناك أصنافاً مختلفة ، كل صنف متلائم مع الظروف البيئية للموسم الذى يزرع فيه .

يصاب الفجل بمرض ذبول الفيوزاريوم ، وهذا المرض وعائى يتسبب عن الفطر *Fusarium oxysporum f.sp.raphani* كان يسمى سابقاً *Fusarium oxysporum f.sp conglutinans* سلالة رقم ٢ . تظهر الأعراض على شكل تلون فى نسيج الخشب باللون البنى و / أو الأسود فى الجذور المصابة ، تصفر الأوراق ، وتتحول إلى اللون البنى اللامع . يظهر المرض فى الدول الأوروبية ، خاصة هولندا فى الفترة من مايو إلى نوفمبر عند ارتفاع حرارة التربة من ٢٢-٢٤ °م . يناسب المرض انخفاض المستوى المائى فى التربة ، حيث يتكشف المرض بشكل كبير عند الجفاف النسبى وارتفاع درجة الحرارة عن ٢٠ °م . يتكرر المرض سنوياً فى المكان نفسه فى الصوبات الزجاجية . تمتد المناطق التى يظهر فيها المرض فى الصوبات الزجاجية إما ببطء أو بسرعة كبيرة . يمكن أن يفسر الانتشار البطئ فى المناطق الملوثة فى بعض الصوبات الزجاجية عن طريق القدرة الكابحة للتربة الناتجة عن تواجد كائنات حية لها القدرة على التأثير على الكائن الممرض ؛ خاصة العزلات غير الممرضة من الفطر *Fusarium oxysporum* أو تواجد البكتيريا الوميضة فى التربة . أما الانتشار السريع للمرض فى التربة ، فإنه يكون بسبب عدم تعقيم التربة بالبخار ؛ مما يجعل هذه الطريقة فعالة فى مقاومة المرض . كذلك فإن تبخير التربة بمادة Metham sodium قد استعمل بنجاح فى مقاومة هذا الرض ، وتؤدى إلى زيادة فى شد ة نمو النبات . هذه الطريقة ناجحة فى مقاومة المرض ، ولكن تكاليفها عالية إلى حد ما ، حيث يلزم ١٥ لتر ماء/ م٢ من المساحة . لقد ظهرت بعض الأصناف فى هولندا مقاومة لمرض ذبول الفيوزاريوم .

إن المقاومة الحيوية لأمراض النبات الكامنة فى التربة باستعمال البكتيريا ، هى الطريقة البديلة أو المكملة لطرق المقاومة الطبيعية أو الكيماوية ، المتبعة فى المقاومة منذ سبعين سنة . كما سبق وذكرنا كثيراً فإن البكتيريا المستعمرة للجذر وذات التأثير النافع على نمو النبات يشار إليها باسم PGPR . إن هذه البكتيريا يمكنها أن تحسن نمو النبات ، إما عن طريق الحث المباشر للنبات ، أو تثبيط الكائنات الممرضة . إن الطريقة الفعالة فى تثبيط الكائنات الممرضة تكون عن طريق المنافسة على المواد الغذائية (كربون ، نيتروجين ، حديد ثلاثى) أو بعض الإفرازات مثل المضادات الحيوية ، أو المقاومة المستحثة .

كان أول ذكر لاستعمال البكتيريا PGPR على الفجل سنة ١٩٧٨ بواسطة Kloep-per & Scheoth وبواسطة Geels *et al* سنة ١٩٨٥ . إن بكترة بذور الفجل بالبكتيريا *Pseudomonas fluorescens* سلالة WCS 374 أدت إلى تشجيع نمو النبات بشكل معنوى . تعتمد المقاومة الحيوية لذبول الفيوزاريوم فى الفجل باستعمال البكتيريا الوميضة على المنافسة على الحديد الثلاثى ، وذلك بواسطة السايدروفورز البكتيرية . إلا أن الدراسات الحديثة قد أثبتت أن السلالة WCS 374 تشجع تكوين مقاومة مستحثة جهازية فى الفجل ضد ذبول الفيوزاريوم .

**مقاومة المرض :**

يقاوم مرض ذبول الفجل المتسبب عن الفطر *Fusarium oxysporum f.sp. rapha-ni* وذلك باستعمال البكتيريا الوميضة *Pseudomonas fluorescens* سلالة WCS 374 بتركيز $10^{6}$ إلى $10^{7}$ وحدة تكوين مستعمرات / بذرة . تخفض هذه السلالة نسبة الإصابة بالمرض من ٦٨,٣ ٪ إلى ١٨,٦ ٪، وتزيد انتاجية النبات من ١٩,٥ ٪ إلى ١٠٠ ٪ بالنسبة للكنترول . تستعمل البكتيريا على شكل غلاف يغلف البذور قبل زراعتها .

أثبتت الدراسات الحديثة على المقاومة الحيوية لذبول الفيوزاريوم فى الفجل ، أن هناك نوعين من البكتيريا الوميضة *Pseudomonas* لهما دور فعال فى مقاومة المرض : النوع الأول هى *P.putida* السلالة WCS 358 ، حيث تخفض المرض بحوالى ٣٠ ٪ . أما النوع الثانى فهو *P.fluorescens* السلالة WCS 374 ؛ حيث تخفض المرض بحوالى ٢٥ ٪ . الميكانزم الوحيد الداخل فى تثبيط المرض بواسطة السلالة WCS 358 هو السايدروفورز الداخلة فى التنافس على الحديد الثلاثى ، بينما تثبط السلالة WCS 374 المرض عن طريق

خلق مقاومة مستحثة . إن كفاءة السايدروفورز فى تثبيط المرض وكذلك المقاوة المستحثة ، تعتمد كثيراً على مستوى حدوث المرض . كلتا الطريقتين فى المقاومة الحيوية تكون فعالة على مدى واسع لحدوث المرض ، حى يصل أعلى خفض إلى ٣٠ ٪ عندما يكون مستوى إنتشار المرض حوالى ٥٠ ٪ من النباتات .

إن كثافة تجمعات السلالة WCS 358 فى منطقة الرايزوسفير والسلالة WCS 374 له دور كبير فى تحديد كفاءتها فى تثبيط مرض ذبول الفيوزاريوم فى الفجل . إن أقل كثافة مطلوبة لحدوث خفض معنوى فى المرض هو $10^5$ وحدة تكوين مستعمرات من تجمعات سلالات البكتيريا لكل غرام جذور . عندما ينخفض تجمع البكتيريا عن هذا العدد فى الرايزوسفير ، يكون له تأثير كبير على خفض كفاء تها فى تثبيط ذبول فيوزاريوم الفجل . أما عند زيادة التجعات (فى كلتا السلالتين) فى منطقة الرايزوسفير إلى مستوى أعلى من $10^7$ وحدة تكوين مستعمرات / غرام جذور ، فإنه يزيد فى خفض نسبة حدوث المرض ، إلا أن هذه الزيادة غير معنوية بالنسبة لتركيز $10^5$ وحدة تكوين مستعمرات / غرام جذور .

أما فى الصوبات الزجاجية التى يزرع فيها الفجل بصورة تجارية ، فإن معاملة بذور الفجل بالسلالة WCS 374 *P.fluorescens* ، فإنها تثبط شدة مرض ذبول الفيوزاريوم وتسبب زيادة فى انتاج الفجل . أما فى الصوبا الزجاجية التى تلوث طبيعياً بفطر الفيوزاريوم الممرض للفجل ، تبين أن السلالة WCS 374 وليس الطفرة التى تفتقر إلى O-antigen تثبط شدة المرض من ٨٠ ٪ فى الكنترول إلى ٢٥ ٪ في المعاملات(جدول ٦٩) . هذه النتائج تشجع استعمال هذه السلالة فى مقاومة المرض تجارياً فى الصوبا الزجاجية .

فى الاختبارات الحيوية على مستخلص جدر خلايا السلالة WCS 374 و WCS 417 التى تحتوى LPS غير نقى ، أو نقى ، وجد أنها تسبب مقاومة جهازية ، بينما السلالة WCS 358 *P.putida* أو المركب LPS النقى أو غير النقى لم تسبب مقاومة جهازية . كذلك وجد أنه لا الطفرات المقاومة للفاج من WCS 374 و WCS 417 التى تفتقر إلى O-antigenic side chain of the LPS ولا أل lipid A / innercore النقى أو الخام لهذه الطفرات يخفض شدة المرض فى التجارب الحقلية . السلالة WCS 374 وليس طفرتها التى ينقصها O-antigen ، أيضاً تخلق مقاومة جهازية عندما تضاف على فلقات الفجل ، وبالتالى يمكن القول بأن O-antigen المخلق للمقاومة من السلالة WCS 374 تكون فعالة ليس فقط على الجذور ولكن أيضاً على الفلقات .

**جدول رقم (٦٩) : نباتات الفجل النامية من بذور مبكترة والنامية فى الصوبا الزجاجية الملوثة تربتها طبيعياً (دون تدخل الإنسان) بفطر فيوزاريوم الذبول للفجل ونسبة ظهور المرض .**

| السلالة المستعملة فى التجربة | / نباتات مريضة | |
|---|---|---|
| | تربة ملوثة طبيعياً بالكائن الممرض | تربة ملوثة طبيعياً + رمل غير ملوث |
| كنترول | ٧٩ | ٨٠ |
| WSC 374 | ٣٢ | ٢٥ |
| WSC 374 ($OA^-$) | ٧٥ | ٧٢ |
| WSC 358 | ٣٠ | ٢٨ |

**ملاحظات على الجدول :**

كان يضاف الرمل لتسهيل نمو جذور الفجل وتسهيل حدوث الإصابة – الجدول نتائجه من التجارب الحقلية الملوثة طبيعياً .



obeikandl.com

# سابعاً: القرنفل Carnation

## ذبول الفيوزاريوم فى القرنفل

### مقدمة :

يمكن تثبيط مرض ذبول الفيوزاريوم فى القرنفل *Dianthus sp.* المتسبب عن الفطر *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* باستعمال البكتيريا *Pseudomonas* سلالة *WCS 417r* . تستطيع هذه السلالة أن تضاد الكائن الممرض ، عن طريق المنافسة على وسيطات السايدروفورز للحديد ، وعن طريق مضادات فطرية أخرى . وبعيداً عن التضاد فإن ذبول الفيوزاريوم فى القرنفل يمكن أن يثبط عن طريق المقاومة المستحثة بواسطة السلالة WCS 417r ، وذلك إذا عوملت الجذور بهذه السلالة ، وكان الكائن الممرض محقوناً مباشرة فى الساق . يتكون الغشاء الخارجي للسلالة المضادة من سكريات عديدة دهنية تسمى lipopoly saccharides ، هذا الغشاء يتدخل فى تنبيه المقاومة المستحثة فى القرنفل ضد ذبول الفيوزاريوم . كانت المقاومة ضد الفطر الممرض تستحث باستمرار بواسطة السلالة WCS 417r فى صنف القرنفل متوسط المقاومة المسمى Pallas ، ولكن أحياناً فى الصنف القابل للاصابة Lena (هذا ما وجده Van Peer *et al* سنة ١٩٩١ وكذلك Duijff *et al* سنة ١٩٩٣) . وهناك ميكانزم معين فى تثبيط المرض والذي لا داعي لشرحه هنا ، يمكن القول باختصار بأن السلالة WCS 417r هى سلالة تبشر بالنجاح فى التطبيقات العملية فى مقاومة ذبول الفيوزاريوم فى القرنفل . إن النجاح فى هذه التطبيقات العملية سيكون فى بعض من جوانبه معتمداً علـى مدى الظروف البيئية السائدة ، التى تكون فيها السلالة WCS 714r قادرة على تثبيط مرض الذبول بكفاءة .

إن توفير الظروف البيئية المناسبة لتشجيع وزيادة نشاط عوامل المقاومة الحيوية ، يمكن أن يؤدى إلى زيادة نجاح المقاومة الحيوية ضد الكائنات الممرضة النباتية الكامنة فى التربة . تكون أمراض ذبول الفيوزاريوم أكثر شدة فى التربة ذات الحموضة البسيطة . إن رفع pH التربة باتجاه أو فوق نقطة التعادل ، طريقة تستعمل فى عمليات المقاومة ، التى تعتمد على الإجراءات الزراعية لأمراض الذبول . كذلك فإن استعمال البكتيريا الوميضة فى المقاومة الحيوية لأمراض الذبول ، يؤدى إلى خفض أو استبعاد المرض إذا كانت التربة ذات رقم حموض أقل من pH7 . ونظراً لأن المقاومة الحيوية لمرض ذبول الفيوزاريوم فى القرنفل

تعتمد أحياناً على المنافسة على وسيطات السايدروفور للحديد ، فإن التأثير على المرض إذا كانت التربة ذات pH منخفض يعزى إلى زيادة توفر الحديد ، وبالتالى خفض نشاط التضاد الذى يظهر بواسطة البكتيريا الوميضة .

**مقاومة المرض :**

يقاوم مرض ذبول الفيوزاريوم فى القرنفل باستعمال البكتيريا الوميضة *Pseudomonas fluorescens* السلالة WCS 417r . وجد أن لرقم حموضة المحلول المغذى الذى تنمو عليه البكتيريا المضادة تأثراً كبيراً على تثبيط مرض الذبول فى القرنفل النامى على بيئة الصوف الصخرى . ولقد وجد أن السلالة المذكورة تخفض معنوياً ذبول الفيوزاريوم فى صنف القرنفل القابل للإصابة Lena ، عندما تربى على بيئة ذات رقم pH 7.5 ، وذلك عندما حقنت جذور الصنف بالفطر المسبب للمرض . لم يكن هناك خفض معنوى للمرض، عندما كان رقم الحموضة (٥,٥–٦,٥) . يكون خفض المرض مرتبطاً بالانتاج العالى فى المعمل لمادة السايدروفور والتضاد النشيط ضد الفطر المرض بالسلالة WCS 417r على رقم pH 7.5 منه على رقم ٦,٥ أو ٥,٥ .

أما فى الأصناف متوسطة القابلية للاصابة مثل Pallas ، فإن خفض المرض يكون معنوياً باستعمال السلالة WCS 417r نفسها ، ولكن عندما تربى على بيئة ذات حموضة pH 5.5 ، حيث أن هذا التأثير يشابه التأثير المطلوب لاحداث المقاومة المستحثة فى نفس الصنف .

مما سبق ، يمكن القول بأن تأثير الـ pH على مقاومة ذبول الفيوزاريوم فى القرنفل باستعمال السلالة البكتيرية المذكورة ، يختلف حسب أصناف القرنفل ، والتى تختلف فى مستوى مقاومتها ضد فيوزاريوم الذبول . إن الأصناف القابلة للإصابة مثل الصنف Lena ، يكون تأثير السلالة البكتيرية فى خفض الإصابة فيها أكثر فعالية ونشاطاً على pH 7.5 ؛ لأن المقاومة هنا تعتمد على السايدروفورز والتضاد الحيوى . أما فى الأصناف متوسطة المقاومة للمرض مثل Pallas فإن شدة المرض تنخفض أيضاً ، ولكن هنا تنخفض عن طريق التضاد (بنسبة بسيطة جداً) ، وبنسبة عالية عن طريق المقاومة المستحثة بواسطة السلالة البكتيرية ، حيث إن المقاومة المستحثة تكون فعالة على pH منخفض .

لقد وجد أن إنبات الجراثيم الكونيدية ونمو أنابيب الإنبات للفطر المرض يثبط بزيادة

pH البيئة الغذائية فى المعمل (جدول رقم ٧٠) . تكون شدة الخفض حسب توفر عناصر المواد الغذائية الأساسية ، مثل : الفسفور ، المغنيسيوم ، الحديد ، المنغنيز ، المولبيديوم والزنك، وهذه يمكن أن تخفض تكشف الفطر على رقم حموضة مرتفع . وجد أنه من غير المحتمل أن توفر الحديد يكون داخلاً فى خفض إنبات الجرايم الكونيدية ، وخفض نمو أنبوبة إنبات الفطر الممرض . كذلك فإن إنبات الجراثيم الكونيدية للفطر الممرض فى المعمل يتأثر معنوياً برقم الحموضة .

إن خفض مرض ذبول الفيوزاريوم بالسلالة البكتيرية WCS 417r عند حقنها فى جذور الأصناف متوسطة القابلية للمرض لم يتأثر برقم الحموضة المنخفض للمحلول الغذائى، هذا يمكن توضيحه كما ذكرنا سابقاً بأن المقاومة هنا تعتمد على إحداث المقاومة المستحثة .

**جدول رقم (٧٠) : تأثير البكتيريا المضادة على نمو أنبوبة الإنبات ، وانبات الجراثيم الكونيدية للفطر المسبب لذبول الفيوزاريوم فى القرنفل ، باستعمال السلالة البكتيرية WCS 417r فى بيئة CNS على درجات حموضة مختلفة بعد الحقن بمدة ٤ أو ٨ ساعات وتحضين على حرارة ٢٢° م .**

| رقم الحموضة | ٪ جراثيم نابتة بعد | | ميكروميتر طول أنبوبة الإنبات بعد ٨ ساعات | وزن الميسيليوم غرام مادة جافة لكل لتر بيئة | السايدروفورز OD 400 g-1وزن رطب لكل ٠,١ لتر |
|---|---|---|---|---|---|
| | ٤ ساعات | ٨ ساعات | | | |
| ٥,٥ | ١٩ | ٨٤ | ٣١ | ١,٨٩ | ٠,٣ |
| ٦,٥ | ١٠ | ٦٤ | ٢٢ | ٢,٧٨ | ٠,٤ |
| ٧,٥ | ٥ | ٣٨ | ١٣ | ٢,٨٩ | ٠,٩ |

**ملاحظات على الجدول :**

. Carnation nutrient solution = CNS

# ثامنـــاً : العصفر Safflower

## سقوط البادرات

### مقدمة :

يتعرض نبات العصفر Safflower ذو الاسم العلمى *Carthamus tinctorius* إلى الإصابة بالفطر المرض *Pythium* ، وهذا يؤدى إلى أمراض عفن البذرة ، السقوط المفاجئ وعفن الجذور . يمكن أن تكون هذه الأمراض شديدة تحت ظروف الرى الغزير . تبدأ الإصابة بالفطر بثيم مجموعة G ، وهى شكل عقيم من الفطر *Pythium ultimum* . هناك أنواع أخرى من هذا الجنس تسبب أمراضاً للعصفر فى كثير من مناطق العالم ، أهم هذه الأنواع :

*1 - P.oligandrum*
*2 - P.debaryanum*
*3 - P.ultimum*
*4 - P.splendens*
*5 - P.myriotylum*
*6 - P.acanthicum*

### مقاومة المرض :

يقاوم مرض سقـوط البادرات فى العصفر المتسبب عن الفطر *Pythium ultimum var. ultimum* مجموعـة G الشـكل العقيم من الفـطر *P.ultimum* وذلك بمعاملة بذور العصفر بالبكتيريا *Pseudomonas fluorescens* سلالة 2-1 أو ٦-٩-٢ أو ٣-٧ أو باستعمال البكتيريا *Erwinia rhapontici* سلالة 7-16 بتركيز $10^{6}$ وحدة تكوين مستعمرات/بذرة .

كما هو واضح فى جدول رقم (٧١) فإن البكتيريا *P.fluorescens* سلالة 2-1 تخفض النسبة المئوية لسقوط البادرات قبل ظهورها فوق سطح التربة من ٨٥,٧ ٪ فى الكنترول إلى ١٣,٤ ٪ فى المعاملة ، أما سقوط البادرات بعد ظهورها فوق سطح التربة فلم يختلف كثيراً عنه فى الكنترول . أما البكتيريا *Erwinia rhapontici* سلالة 7-16 ، فهى تخفـض الإصابة قبل ظهور البادرات فوق سطح التربة من ٨٦,٦ ٪ فى الكنترول إلى ١١,٩ ٪ ، وكذلك تخفض نسبة الإصابة فى البادرات بعد ظهورها فوق سطح التربة مـن ١ ٪ فى الكنترول إلى ٠,٥ ٪ فى المعاملة .

أما بالنسبة لتأثير درجات الحرارة على سقوط البادرات الناتج عن الفطر بثيم فى نبات العصفر عند معاملتها بالبكتيريا ، وجد أن أفضل درجة حرارة لتطبق عليها المقاومة الحيوية هى ١٠ °م حيث تكون نسبة البادرات السليمة بعد ٢٠ يوماً من الزراعة ٧٥,٩ ٪ ، أما عند درجة حرارة ١٥ °م فتكون نسبة البادرات السليمة ٤٩,١ ٪ ، فى حين أنه على حرارة ٢٥ °م تكون نسبة البادرات السليمة ٤١,٩ ٪ ، جدول رقم (٧٢) .

أما بالنسبة لتأثير المقاومة الحيوية على طول النبات (جدول رقم ٧٣) ، فوجد أن البكتيريا *E.rhapontici* تسبب زيادة فى طول النبات من ٢,٣٣ سم فى الكنترول إلى ٣,١٣ سم فى المعاملة بعد سبعة أيام من الزراعة . أما البكتيريا *P.fluorescens* سلالة 7-2 فإنها تسبب زيادة طول النباتات من ٢,٤٥ سم فى الكنترول إلى ٣,٣٥ سم فى المعاملة .

**جدول رقم (٧١) : تأثير استعمال البكتيريا المضادة على ظهور البادرات فوق سطح التربة فى العصفر ، فى التربة الملوثة طبيعياً بالفطر الممرض *Pythium ultimum var. ultimum* بعد ٢٨ يوماً من الزراعة .**

| البكتيريا المضادة ورقم السلالة | ٪ ظهور البادرات | ٪ سقوط البادرات | |
|---|---|---|---|
| | | قبل ظهورها فوق سطح التربة | بعد ظهورها فوق سطح التربة |
| المجموعة الأولى | | | |
| كنترول | ٣١,٩ | ٦٤,٧ | ١ |
| *Pseudomonas fluorescens (1-2)* | ٨٥,٧ | ١٣,٤ | ٥,٩ |
| *P.fluorescens (3-3)* | ٨٥,٦ | ١٥,٣ | ١,٥ |
| *P.fluorescens (6-9-2)* | ٨٩,٣ | ٤,٨ | ٤,٨ |
| *P.fluorescens (7-3)* | ٨٥,٧ | ١٤,٤ | ٣,٠ |
| *Erwinia caratovora* | ٧٦,٦ | ١٩,٨ | ٤,٢ |
| *Bacillus polymyxa* | ٦٣,٣ | ٣٦,٤ | ١,٠ |
| المجموعة الثانية | | | |
| كنترول | ٢٦,٧ | ٧١,٧ | ١,٠ |
| *Erwinia rhapontici (16-7)* | ٨٦,٦ | ١١,٩ | ٠,٥ |
| *E.rhapontici (16-5)* | ٧٦,٤ | ٢٢,٨ | ٢,١ |
| *E.rhapontici (17-8)* | ٧٢,٨ | ١٨,٧ | ٨,٣ |

جدول رقم (٧٢) : تأثير معاملة بذور العصفر بالبكتيريا المضادة قبل زراعتها ، على طول النبات .

| البكتيريا المعاملة بها البذور | سم طول النبات بعد ٧ أيام | سم طول النبات بعد ١٤ يوماً |
|---|---|---|
| كنترول | ٢,٣٣ | ٤,٤٣ |
| *Erwinia rhapontici (18-7)* | ٣,١٣ | ٥,٤٥ |
| *E.rhapontici (17-8)* | ٢,٧٥ | ٥,٠٨ |
| *E.rhapontici (16-7)* | ٢,٧٠ | ٥,٠٥ |
| *Pseudomonas fluorescens (7-3)* | ٣,٣٥ | ٥,٦٥ |
| *P.fluorescens (6-9-2)* | ٢,٩ | ٥,٠٥ |

جدول رقم (٧٣) : تأثير درجة الحرارة على نسبة ظهور البادرات فوق سطح التربة بعد معاملة البذور بالبكتيريا المضادة وزراعتها فى تربة ملوثة بالكائن الممرض ، وتعرضها لدرجة الحرارة .

| درجة الحرارة مئوية | ٪ ظهور البادرات بعد ٢٠ يوماً |
|---|---|
| ١٠ | ٧٥,٩ |
| ١٥ | ٤٩,١ |
| ٢٠ | ٤١ |
| ٢٥ | ٤١,٩ |

# تاسعاً: الحمص

## ذبول الفيوزاريوم فى الحمص

### مقدمة :

يتسبب مرض ذبول الفيوزاريوم فى الحمص عن الفطر *Fusarium oxysporum f.sp. ciceris* . يكون هذا المرض المحدد لانتاج الحمص فى أماكن زراعته ، وخاصة فى أماكن الانتاج المشهورة مثل شبه القارة الهندية ، ومناطق حوض البحر الأبيض المتوسط . يمكن تقدير نقص الانتاج الذى يعزى إلى هذا المرض بحوالى ١٠ ٪ فى الهند وإسبانيا ، وحوالى ٤٠ ٪ فى تونس .

يستطيع الفطر المسبب للمرض أن يبقى حياً فى التربة لعدة سنوات على شكل جراثيم كلاميدية ، والتى تخفض بشكل واضح كفاءة الدورة الزراعية فى خفض الإصابة بالمرض (كطريقة للتهرب من المرض) . تعتبر الطرق الأكثر فعالية والعملية لمقاومة هذا المرض ، غالباً هو استعمال الأصناف المقاومة ، إلا أن فعالية هذه الطريقة فقدت أهميتها بسرعة بسبب ظهور سلالات من الكائن الممرض تحطم هذه المقاومة . ونظراً لأن صنف الحمص Kabuli كبير الحجم ومستدير والبذور ذات لون بيج مرغوب والذى يزرع فى منطقة حوض البحر الأبيض المتوسط ، قابل للإصابة بمعظم سلالات الفطر الممرض *F.O. ciceris* . ظهرت اتجاهات حديثة لاكتشاف طرق جديدة بديلة أكثر فعالية لمقاومة المرض .

### مقاومة المرض باستعمال البكتيريا الوميضة :

هناك سلالات عديدة من البكتيريا *Pseudomonas fluorescens* ذكرت على أنها تثبط الأمراض الكامنة فى التربة المتسببة عن الكائنات الممرضة الفطرية . هناك كثير من التجارب فى الصوبات الزجاجية والتطبيقات الحقلية ، أثبتت كفاءة هذه البكتيريا فى تثبيط كثير من الأمراض الكامنة فى التربة . تعتمد التطبيقات العملية التجارية لاستعمال هذه البكتيريا على تطور التشكيلات التجارية التى تبقى فيها البكتيريا حية لمدة طويلة من الوقت . كذلك فإن تطور الطرق المناسبة لاستعمال هذه المواد فى مقاومة المرض فى بداية أو نهاية الإصابة وتقدير الكفاءة الحقلية فى المقاومة وزيادة الانتاج ، هى الهدف النهائى من التجارب التى أجريت على مقاومة مرض ذبول الفيوزاريوم فى الحمص .

**جدول رقم (٧٤) : كفاءة سلالات البكتيريا P.fluorescens فى تثبيط مرض ذبول الحمص المتسبب عن الفطر *F.O.f.sp.ciceris* ومدى تأثر تجمعات البكتيريا فى رايزوسفير نبات الحمص فى الحقل .**

| المعاملة | سلالة البكتيريا الوسيطة المستعملة | تجمعات البكتيريا فى الرايزوسفير مصروناً فى ١٠^٤ جرام تربة جاف / cuf | | | ٪ ظهور البادرات فى الحقل | ٪ حدوث المرض على فترات | | الانتاج كغم / هكتار |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | ١٥ يوماً | ٤٥ يوماً | ٦٠ يوماً | | ١٥ يوماً | ٧٥ يوماً | |
| معاملة بذور فقط | PF-1 | ٣,٥ | ٨,٥ | ١١ | ٩٨,٦ | ٢,٧٥ | ١٦,٩ | ١٠٧٩ |
| | PF-2 | ٣,٥ | ٩,٦ | ١٢,٢ | ٩٨,٣ | ٢,٤٥ | ١٦,٧٥ | ١٠١٤ |
| | PF-27 | ٣,٥ | ٩,٨ | ١٣,٥ | ٩٩,١ | ١,٧ | ١٦,٩ | ٩٩٧ |
| معاملة بذور + معاملة تربة | PF-1 | ٣,١٥ | ١٥,٨ | ١٩,٥ | ١٠٠ | ٠,٣٥ | ٥,٨ | ١٥٣١,٥ |
| | PF-2 | ٣,١٥ | ١٤,٨ | ١٨,٣ | ٩٩,٢٥ | ١,١ | ٥,٠ | ١٤٨٩ |
| | PF-27 | ٣,٨ | ١٨,١٥ | ٢٢,١ | ١٠٠ | ٠,١٥ | ٥,٦ | ١٤٥٨,٥ |
| كاربندازايم | -- | ١,١٥ | ٢,٦٥ | ٣,١٥ | ٩٩,٦٥ | ١,٦ | ٥,٦٥ | ١٢٥١,٥ |
| كنترول (ماء) | -- | ١,١٥ | ٢,٩ | ٣,٦٥ | ٧١,٢ | ٣٣,٧ | ٤٦,٥ | ٧٠٠ |

البكتيريا المستعملة فى مقاومة مرض ذبول الفيوزاريوم فى الحمص ، تعزل من منطقة الرايزوسفير لمحاصيل مختلفة ، وبعد التأكد من أن هذه السلالة فعالة ضد هذا المرض ، يكون التفكير فى إيجاد حامل يحمل وسائل التكاثر لهذه البكتيريا ، ويحافظ على بقائها حية فى المخزن لمدة طويلة ، فى التشكيلات التى أساسها بودرة التلك والبيت ، فإن البكتيريا تبقى حية في هذه التشكيلات لمدة ٢٤٠ يوم فى المخزن . عند معاملة بذور الحمص بالتشكيلات البكتيرية المحمولة على بودرة التلك فإن البكتيريا *P.fluorescens* تبقى حية على هذه البذور على الأقل لمدة ١٨٠ يوماً . عند زراعة هذه البذور فى التربة ، فإن الكائن المضاد (البكتيريا) تنتقل إلى منطقة الرايزوسفير وتبقى حية فيه وتزداد أعدادها ، وإن البادرات الناتجة من هذه البذور تقاوم مرض ذبول الحمص فى التجارب الحقلية وتزيد الانتاج . عند زراعة البذور المعاملة بالكائن المضاد ثم معاملة منطقة الجذر بنفس النسبة من الكائن المضاد ، فإن كفاءة البكتيريا تزداد ، لا تؤثر البكتيريا *P.fluorescens* على / ولا تثبط البكتيريا النافعة المثبتة للنيتروجين الجوى *Rhizobium* و *Azospirillum* فـــى المعمـــل ، كذلك فإن عاملة

البذور بالمبيدات الفطرية مثل الثيرام ، كاربندازايم ، لا تثبط البكتيريا الوميضة المضادة فى المعمل .

أجريت تجارب على ٢٧ عزلة من البكتيريا الوميضة لمعرفة كفاءتها فى تثبيط نمو فطر ذبول الفيوزاريوم فى الحمص فى المعمل ، فوجد أن أربع منها وهى : PF1 ، PF12 ، PF21 ، PF27 ، شديدة التأثير فى تثبيط نمو الفطر الممرض في المعمل ، حيث كان قطر مساحة التثبيط ٤٢ ، ١٤ ، ٤١ ، ٣٥ ملم / سلالة بالترتيب جدول رقم (٧٤) . فى التجارب الحقلية وجد أن السلالة PF1 ، هى الوحيدة التى كان لها تأثير واضح فى تثبيط المرض وتزيد من عدد النباتات السليمة فى الحقل (جدول رقم ٧٤) .

إن استعمال البكتيريا *P.fluorescens* معاملة بذور ، أو إضافة إلى التربة ، لا تؤثر على تكوين العقد الجذرية فى النبات بل بالعكس فهى تزيد عدد العقد الجذرية فى النبات ، فوجد أن عدد العقد الجذرية فى النباتات المعاملة بـ *R.japonicum* كانت ٢٥ / نبات ، ثم زادت إلى ٢٥,٣ ٪ نبات ، فى النباتات المعاملة بالكائنين معاً .

# عاشراً : البسلة الهندية Pigeon pea

## مقاومة ذبول الفيوزاريوم

### مقدمة :

كما هو معروف ، فإن الرايزوبكتيريا PGPR ، تدخل فى مقاومة أمراض النبات ، عن طريق تخليق مقاومة جهازية مستحثة ISR . هناك سلالات من هذه الرايزوبكتيريا تكون المقاومة فيها مبنية على المنافسة على الحديد ، خلق بيئة معينة ، تضاد حيوى أو تخليق مقاومة مستحثة . تتخلق هذه المقاومة عن طريق حقن النبات مسبقاً بالرايزوبكتيريا .

إن المركب Phenylalanine ammonia - lyase PAL ، هو احدى المواد المنبهة لجين المقاومة فى التفاعلات غير المتوافقة بين الكائن الممرض والنبات ، وهو يعمل كعامل مساعد فى تحويل L-phenyl-alanine لينتج حمض السنمك ، وهو مركز أساسى تنطلق منه منتجات نبات ثانوية . يساعد PAL البناء الحيوى للجنين والفينولات الأخرى والتى تتجمع كاستجابة للاصابة . كذلك فإن زيادة البيروكسيديز يساعد فى تخليق المقاومة الجهازية المستحثة ISR .

يعتبر مرض ذبول الفيوزاريوم فى البسلة الهندية ، مرض مهم اقتصادياً وهو من الأمراض الجهازية ، ويتسبب عن الفطر *Fusarium udum* . لقد ذكر Vasudeva *et al* سنة ١٩٦٢ ، كيف يمكن وقف شدة المرض عن طريق استعمال البكتيريا *Bacillus subtilis* والتى تطلق مضادات حيوية فى الرايزوسفير . تكتسب بادرات البسلة الهندية مقاومة ضد الإصابة بالفطر *F.udum* بسبب نشاط الـ Bulbiformin عندما تبكتر البذور بالبكتيريا *B.subtilis* قبل الزراعة . لقد ذكر كثير من الباحثين أن البكتيريا *B.subtilis* AF1 تؤثر على نمو الفطر الممرض *F.udum* . إن بكتره البذور بالسلالة AF-1 يزيد نمو النبات وتزداد نسبة ظهور البادرات وتكوين العقد الجذرية فى البسلة الهندية .

### مقاومة المرض :

عند استعمال راشح مزرعة البكتيريا *B.subtilis* AF-1 لدراسة تأثيره على نمو الفطر الممرض *F.udum* فى المزارع السائلة ، فإنه أظهر تثبيط لنمو الفطر فى المزرعة وكان هذا واضحاً عند دراسة الوزن الجاف للفطر فى المزرعة . كانت نسبة تثبيط نمو الفطر ٤٠ ٪

(جدول رقم ٧٥) . عند فحص الهيفات ميكروسكوبياً ، تبين وجود تركيبات بصلية الشكل فى الهيفا الفطرية القريبة من البكتيريا (شكل رقم ٦) . كان الخفض فى تكوين الجراثيم الكونيدية متناسباً مع تثبيط نمو الهيفا .

**شكل رقم (٦) :A : يظهر نمو الفطر الممرض سليم والجراثيم الكونيدية واضحة .**

**B : التركيبات البصلية الشكل ظاهرة ولا يتكون جراثيم كونيدية ، وذلك من تأثير البكتيريا المضادة .**

عند معاملة البذور بالمعلق البكتيرى ، فإن ذلك خفض بشكل معنوى حدوث الذبول فى البسلة الهندية بنسبة ٥٠ ٪ . لقد أظهرت الدراسة أن المعاملة بالبكتيريا تسبب زيادة فى نشاط PAL منذ بداية اليوم الأول . أما المادة CMC التى يوضع فيها جراثيم البكتيريا لم تحدث أى تغيير معنوى فى نشاط PAL ، كانت النسبة ٥-١٤ ٪ ، وصلت نسبة النشاط الزائد ٣٠ ٪ . كذلك ارتفع نشاط البيروكسيديز منذ اليوم السادس بعد المعاملة .

عندما غلفت البذور بالمعجون المحتوى بكتيريا بنسبة ١ : ٠,٥ ٪ ثم زرعت فى أوعية تحتوى الفطر الممرض *F.udum* بنسبة ٢ غرام ميسيليوم / كيلو تربة ثم قيست نسبة المرض بعد ٣٠ يوم، وجد أن هذه العملية تخفض حدوث المرض من ٨٠ ٪ فى الكنترول إلى ٣٥ ٪ في المعاملة .

**جدول رقم (٧٥) : الوزن الجاف للفطر *F.udum* المتكون فى مزرعة مائية ، ٢٥ مل بيئة رتشارد محتوية تركيزات مختلفة من راشح مزرعة البكتيريا *B.subtilis* AF-1 . كان يقاس نمو الفطر ملغ وزن جاف بعد ٧ أيام من النمو .**

| نسبة استعمال راشح مزرعة البكتيريا | ملغ الوزن الجاف للفطر |
|---|---|
| بدون راشح (كنترول) | ٤٥٠ |
| ٥ ٪ راشح | ٤٢٠ |
| ١٠ ٪ راشح | ٣٨٠ |
| ٢٠ ٪ راشح | ٣٠٠ |
| ٤٠ ٪ راشح | ٢٨٠ |

# حادى عشر : الفاصوليا

## مقاومة عفن بوترايتس فى الفاصوليا

### مقدمة :

لقد وجد أن السلالة البكتيرية *Pseudomonas aeruginosa* 7NSK2 تحدث مقاومة مستحثة فى الفاصوليا ضد الفطر *Botrytis cinerea* وتقلل من نسبة الإصابة .

إن السلالة البكتيرية المذكورة (الرايزوبكتيريا PGPR) . هى عامل مقامة حيوية فعالة ضد أعفان الجذور المتسببة عن *Pythium splendens* على الطماطم . تنتج هذه السلالة فى الظروف المحددة من الحديد ثلاثة سايدروفور هى : Pyoverdin ، Pyochelin وحمض السلسليك ، هذا الأخير يكون أيضاً بادئ للبناء الحيوى لـ Pyochelin . إن كلاً من المركبين Pyoverdin و Pyochelin عوامل أساسية للمقاومة الحيوية ، حيث أنهما يدخلان فى المنافسة على الحديد ضد الفطر الممرض *Pythium* .

# ثانى عشر : الصنوبر

## وقاية بعض انواع الصنوبر من مرض الصدأ المغزلى

### مقدمة :

يتسبب مرض الصدأ المغزلى فى الصنوبر عن الفطر *Cronartium quercuum f.sp. fusiforme* وهو من أهم الأمراض الخطيرة التى تهاجم غابات الصنوبر وتؤثر على انتاج الخشب فى الصنوبر *Pinus taeda* . يظهر المرض بشدة وبعنف فى الغابات ذات العمر من ١ – ٨ سنوات . يمكن أن تصل نسبة الاصابة ١٠٠ ٪ فى الزراعات ذات عمر خمسة سنوات فى المناطق الجنوبية من أمريكا . تسبب الاصابة أضراراً كبيرة فى الساق حيث يصبح غير صالحاً لصنع الألواح الخشبية أو قلب الخشب أو الصناعات الأخرى . ينتشر المرض بنسبة ٣ ٪ سنوياً فى المناطق الموبوءة . يرجع انتشار المرض إلى زراعة الأصناف القابلة للاصابة ، وخفض استعمال الحرق لبقايا أنواع *Quercus* .

يقاوم المرض فى مزارع غراس الأشجار ، باستعمال المبيدات الجهازية مثل Bayleton كمعاملة بذور فى البداية ، ثم يستعمل رشاً على المجوع الخضرى حتى نتقى فترة الاصابة بالجراثيم البازيدية والتى تظهر بعد شهور من الزراعة . بعد الزراعة فى الغابات تكون الطريقة الوحيدة لخفض الاصابة بالمرض ، هو استعمال المبيدات الفطرية Triadimefon ، هذه الطريقة غير عملية وغير اقتصادية . الطريقة البديلة لاستعمال المبيدات الفطرية هو استعمال الرايزوبكتيريا PGPR ، حيث أن هذا النوع من البكتيريا يتواجد طبيعياً فى التربة وتستعمر جذور النبات .

بالرغم من قلة الأبحاث على استعمال البكتيريا PGPR على نباتات الغابات ، إلا أن بعض الأبحاث أثبتت وجود هذه البكتيريا على جذور نوعين من الصنوبر slah و loblolly . هناك قليل من سلالات PGPR ، قد استعملت فى تشجيع نمو غراس الصنوبر وشجعت إنبات البذور ونمو الغراس فى كلا النوعين من الصنوبر . أما عن قدرتها فى خفض الاصابة بالصدأ المغزلى فيصل حوالى ١ ٪ ، وهذا يعطى فوائد عالية بالنسبة للمنتجات الصناعية للغابات .

**جدول رقم (٧٦) : نسبة اصابة شتلات الصنوبر بالصدأ المغزلى بعد ستة شهور من زراعة البذور المعاملة بالرايزوبكتيريا.**

| السلالات البكتيرية المستعملة فى التجربة | ٪ اصابة البادرات | | |
|---|---|---|---|
| | منطقة رقم ١ | منطقة رقم ٢ | منطقة رقم ٣ |
| كنترول | ٣٦ | ٢٥ | ٣١ |
| مبيد فطرى جهازى Bayleton | ٤,٠ | ٤,٠ | ٥,٠ |
| *B.subtilis* | ٣٣,٠ | ٤,٥ | ٢٠,٠ |
| *Paenibacillus macerans* PM2 | ٢٦,٠ | ١٥,٠ | ٢٠,٠ |
| *B.pumilus* INR-7 | ٢٣,٠ | ٢,٠ | ١٦,٠ |
| *B.pumilus* SE 49 | ٤٢,٠ | ١٥,٠ | ٢٨,٠ |
| *B.pumilus* SE 52 | ٢٨,٠ | ٣,٠ | ١٧,٠ |
| *B.sphaericus* SE 56 | ٢١,٠ | ١٦,٠ | ٢١,٠ |
| *B.pumilus* SE 34 | ١٦,٠ | ١٦,٠ | ١٦,٠ |
| *Serratia marcescens* (90-166) | ٢٥,٠ | ٢,٠ | ١٢,٠ |

**ملاحظات على الجدول :**

المنطقة رقم ١ : كانت الظروف الجوية والبيئية مناسبة لانتشار جراثيم الفطر وتكشف المرض . أما فى المنطقة الثانية والثالثة فكانت الظروف البيئية متقاربة ومقاربة للظروف السائدة فى الغابات .

## الوقاية من المرض باستعمال الرايزوبكتيريا

التجارب التى أجريت فى هذا المجال ، استعملت ثمانية سلالات من الرايزوبكتيريا PGPR ، لمعرفة كفاءتها فى خلق مقاومة جهازية لحفظ الصنوبر نوع loblolly من الفطر مسبب الصدأ المغزلى . تعامل بذور الصنوبر بالبكتيريا وقت الزراعة ثم بعد ذلك تحقن الغراس الصغيرة (البادرات) صناعياً بالجراثيم البازيدية للفطر الممرض المسبب الصدأ المغزلى المذكور سابقاً بعد الزراعة بمدة شهر واحد . بعد مضى ستة شهور من الحقن بالجراثيم البازيدية ، تفحص الغراس لملاحظة أعراض الاصابة بالفطر من حيث وجود انتفاخ أو تدرنات للاصابة

الفطرية . عند مقارنة الغراس المعاملة بالبكتيريا مع الغراس الكنترول ، وجد أن السلالتين : *Bacillus pumilus* (SE 34) ، والسلالة الثانية *Serratia marcescens* (90-166) ، تخفض بشكل معنوى عدد التدرنات . أما السلالتين (INR-7) و (SE 52) من *B.pumilus* فهى أيضاً تخفض أعداد التدرنات ، ولكن بنسبة أقل . كانت نسبة الاصابة فى نباتات الكنترول ٣١ ٪ أما فى الغراس المعاملة بسلالات البكتيريا كانت نسبة الاصابة تتراوح من ١٣-١٦ ٪ (جدول رقم ٧٦) . وبالتالى يبدو أن هذه السلالات الأربعة من الرايزوبكتيريا تخلق مقاومة جهازية ضد الصدأ المغزلى فى الصنوبر صنف loblolly ، وبالتالى يمكن استعمالها تجارياً .

obeikandl.com

# المراجـــع


**2001 :**

1. Hammerschmidt, R., Métraux, J.-P. and Van Loon, L.C. 2001. Inducing resistance : a summary of papers presented at the First International Symposium on Induced Resistance to Plant Diseases, Corfu, May 2000. ***Eur. J. Plant Pathol.*** 107 : 1-6. [PDF-file]

2. Mercado-Blanco, J., Van der Drift, K.M.G.M., Olsson, P.E., Thomas-Oates, J.E., Van Loon, L.C. and Bakker, P.A.H.M. 2001. Analysis of the *pmsCEAB* gene cluster involved in biosynthesis of salicylic acid and the siderophore pseudomonine in the biocontrols strain *Pseudomonas fluorescens* WCS374. ***J. Bacteriol.*** 183 : 1909-1920. [PDF-file].

3. Pieterse, C.M.J., Van Pelt, J.A., Van Wees, S.C.M., Ton, J., Léon-Kloosterziel, K.M., Keurentjes, J.J.B., Verhagen, B.W.M., Knoester, M., Van der Sluis, I., Bakker, P.A.H.M. and Van Loon, L.C. 2001. Rhizobacteria- mediated induced systemic resistance : triggering, signalling, and expression. ***Eur. J. Plant Pathol.*** 107 : 51-61. [PDF-file].

4. Ton, J., Davison, S., Van Loon, L.C. and Pieterse, C.M.J. 2001. Heritability of rhizobacteria-mediated induced systemic resistance and basal resistance in *Arabidopsis*. ***Eur. J. Plant Pathol.*** 107 : 63-68. [PDF-file]

5. Ton, J., Davison, S., Van Wees, S.C.M., Van Loon, L.C. and Pieterse, C.M.J. 2001. The *Arabidopsis ISR1* locus controlling rhizobacteria-mediated induced systemic resistance is involved in ethylene signaling. ***Plant Physiol.*** 125 : 652-661. [PDF-file]

**2000 :**

6. Folders, J., Tomassen, J., Van Loon, L.C. and Bitter, W. 2000. Identification of a chitin-binding protein secreted by *Pseudomonas aeruginosa*. ***J. Bacteriol.*** 182 : 1257-1263. [PDF-file]

7. Pieterse, C.M.J., Van Pelt, J.A., Ton, J., Parchmann, S., Mueller, M.J., Buchala, A.J., Métraux, J.-P. and Van Loon, L.C. 2000. Rhizobacteria-mediated induced systemic resistance (ISR) in *Arabidopsis* requires sensitivity to jasmonate and ethylene but is not accompanied by an increase in their production. ***Physiol. Mol. Plant Pathol.*** 57 : 123-134. [PDF-file]

8. Pieterse, C.M.K., Van Wees, S.C.M., Ton, J., Léon-Kloosterziel, K.M., Van Pelt, J.A., Keurentjes, J.J.B., Knoester, M. and Van Loon, L.C. 2000 Rhizobacteria-mediated induced systemic resistance (ISR) in *Arabidopsis* : involvement of jasmonate and ethylene. In : Biology of Plant-Microbe Interactions, Volume 2 (P.J.G.M. De Wit, T. Bisseling and W.J. Stiekema, eds), The International Society for Molecular Plant-Microbe Interactions, St. Paul, MN., pp. 291-296.

9. Slusarenko, A.J., Fraser, R.S.S. and Van Loon, L.C. (eds.) 2000. Mechanisms of Resistance to Plant Diseases. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, 620 pp.

10. Van Loon, L.C. 2000. Helping plants to defend themselves : biocontrol by disease-suppressing rhizobacteria. In : Developments in Plant Genetics and Breeding, Vol. 6; Phytosfere '99, Highlights in European Plant Biotechnology Research and Technology Transfer (G.E. de Vries and K. Metzlaff, eds), Elsevier, Amsterdam, The Netherlands, pp. 203-213.

11. Van Loon, L.C. 2000. Systemic induced resistance. In : Mechanisms of Resistance to Plant Diseases (A.J. Slusarenko, R.S.S., Fraser and L.C. Van Loon, eds), Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, pp. 521-574.

12. Van Wees, S.C.M., De Swart, E.A.M., De Swart, E.A.M., Van Pelt, J.A., Van Loon, L.C. and Pieterse, C.M.J. 2000. Enhancement of induced disease resistance by simultaneous activation of salicylate- and jasmonate-dependent defense pathways in *Arabidopsis thaliana*. ***Proc. Natl. Acad. Sci. USA***, 97 : 8711-8716. [PDF-file]

**1999 :**

13. De Boer, M., Van der Sluis, I., Van Loon, L.C. and Bakker, P.A.H.M. 1999. Combining fluorescent *Pseudomonas* spp. strains to enhance suppression of *fusarium* wilt of radish. ***Eur. J. Plant Pathol***. 105 : 201-210. [PDF-file]

14. Duijff, B.J., Recorbet, G., Bakker, P.A.H.M., Loper, J.E. and Lemanceau, P. 1999. Microbial antagonism at the root level is involved in suppression of *Fusarium* wilt by the combination of nonpathogenic *Fusarium oxysporum* Fo47 and *Pseudomonas putida* WCS358. ***Phytopathology*** 89, 1073-1079. [PDF-file]

15. Glandorf, D.C.M., Verheggen, P., Jansen, T., Thomashow, L.S., Leeflang, P., Smit, E., Wernars, K., Bakker, P.A.H.M. and Van Loon, L.C. 1999. Field release of genetically modified *Pseudomonas putida* WCS358r to study effects on the indiginous soil microflora. In : Workshop Proceedings Leeuwenhorst Congress Centre Noordwijkerhout, the Netherlands, March 5-6, 1998, pp. 41-46. Coordination Commission Risk Assessment Research (CCRO).



openkanal.com

16. Knoester, M., Pieterse, C.M.J., Bol, J.F. and Van Loon, L.C. 1999. Systemic resistance in *Arabidopsis* induced by rhizobacteria requires ethylene-dependent signaling at the site of application. ***Mol. Plant-Microbe Interact***. 12 : 720-727. [PDF-file]

17. Pieterse, C.M.J. and Van Loon, L.C. 1999. Salicylic acid-independent plant defence pathways. ***Trends Plant Sci***. 4 : 52-58. [PDF-file]

18. Simons, B.H., Millenaar, F.F., Mulder, L., Van Loon, L.C. and Lambers, H. 1999. Enhanced expression and activation of the alternative oxidase during infection of *Arabidopsis thaliana* with *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*. ***Plant Physiol***. 120 : 529-538. [PDF-file]

19. Smit, E., Leeflang, P., Glandorf, B., Van Elsas, J.D. and Wernars, K. 1999. Analysis of fungal diversity in the wheat rhizosphere by sequencing of cloned PCR-amplified genes encoding 18S rRNE and temperature gradient gel electrophoresis. ***Appl. Environm. Microbiol***. 65 : 2614-2621.

20. Steijl, H., Niemann, G.J. and Boon, J.J. 1999. Changes in chemical composition related to fungal infection and induced resistance in carnation and radish investigated by pyrolysis mass spectrometry. ***Phys. Mol. Plant Pathol***. 55 : 297-311.

21. Ton, J., Peterse, C.M.J., and Van Loon, L.C. 1999. Identification of a locus in *Arabidopsis* controlling both the expression of rhizobacteria-mediated induced systemic resistance (ISR) and basal resistance against *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*. ***Mol. Plant-Microbe Interact***. 12 : 911-918. [PDF-file]

22. Van Loon, L.C. 1999. Occurrence and properties of plant pathogenesis-related proteins. In : Pathogenesis-Related Proteins in Plants (S.K. Datta and S. Muthukrishnan, eds), pp. 1-19. CRC Press, Boca Raton, FL.

23. Van Loon, L.C. and Van Strien, E.A. 1999. The families of pathogenesis-related proteins, their activities, and comparative analysis of PR-1 type proteins. ***Physiol. Mol. Plant Pathol.*** 55 : 85-97.

24. Van Wees, S.C.M. 1999. Rhizobacteria-mediated induced systemic resistance in *Arabidopsis* : signal transduction and expression, pp. 1-137, Ph.D. Thesis Utrecht University, ISBN 90-393-2174-4.

25. Van Wees, S.C.M., Luijendijk, M., Smoorenburg, I., Van Loon, L.C. and Pieterse, C.M.J. 1999. Rhizobacteria-mediated induced systemic resistance (ISR) in *Arabidopsis* is not associated with a direct effect on expression of known defense-related genes, but stimulates the expression of the jasmonate-inducible gene *Atvsp* upon challenge. ***Plant Mol. Biol.*** 41 : 537-549. [PDF-file]

**1998 :**

26. Alabouvette, C., Schippers, B., Lemanceau, P. and Bakker, P.A.H.M. 1998. Biological control of *Fusarium* wilts : towards development of commercial products. In : Plant-Microbe Interactions and Biological Control (G.J. Boland and L.D. Kuykendall, eds), pp. 15-36. Marcel Dekker, New York.



obeikandl.com

27. Bakker, P.A.H.M., Raaijmakers, J.M., and Schippers, B. 1998. Siderophore receptor as a marker to track fluorescent *Pseudomonas* spp. In : Molecular Microbial Ecology Manual (A.D.L. Akkermans, J.D. Van Elsas and F.J. De Bruijn, eds), 6.1.4. pp. 1-9, Kluwer, Dordrecht.

28. De Boer, M., Van der Sluis, I., Van Loon, L.C. and Bakker, P.A.H.M. 1998. In vitro compatibility between fluorescent *Pseudomonas* spp. strains can increase effectivity of *Fusarium* wilt control by combinations of these strains. In : Molecular Approaches to Biological Control (B.K. Duffy, U. Rosenberger and G. DJfago, eds), IOBC / wprs Bulletin 21 (9) : 257-262.

29. Chin-A-Woeng, T., Bloemberg, G.V., Van der Bij, A., Van der Drift, K.M.G.M., Schripsema, J., Kroon, B., Scheffer, R.J., Keel, C., Bakker, P.A.H.M., Tichy, H.V., De Bruijn, F.J., Thomas-Oates, J.E. and Lugtenberg, B.J.J. 1988. Biocontrol by phenazine-1-carboxamide-producing *Pseudomonas chlororaphis* PCL1391 of tomato root rot caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici*. ***Mol. Plant-Microbe Interact***. 11 : 1069-1077.

30. Dekkers, L.C., Van der Bij, A.J., Mulders, I.H.M., Phoelich, C.C., Wentwoord, R.A.R., Glandorf, D.C.M., Wijffelman, C.A. and Lugtenberg, B.J.J. 1998. Role of the 0-antigen of lipopolysaccharide, and possible roles of growth rate and of NADH : ubiquinone oxidoreductase *(nuo)* in competitive tomato root-tip colonization by *Pseudomonas fluorescens* WCS356. ***Mol. Plant- Microbe Interact***. 11 : 763-771.



obeikandl.com

31. Knoester, M. 1998. The Involvement of Ethylene in Plant Disease Resistance, pp. 1-124, Ph.D. Thesis Utrecht University, ISBN 90-393-1815-8.

32. Knoester, M., Van Loon, L.C., Van den Heuvel, J., Henning, J., Bol, J.F. and Linthorst, H.J.M. 1998. Ethylene-insensitive tobacco lacks nonhost resistance against soil-borne fungi. ***Proc. Natl. Acad. Sci. USA*** 95 : 1933-1937. [PDF-file]

33. Mercado-Blanco, J., Olsson, P.E., Van der Sluis, I., Van der Drift, K.M.G.M., Thomas-Oates, J.E., Van Loon, L.C. and Bakker, P.A.H.M. 1988. Analysis of a gene cluster involved in the biosynthesis of a new salicylic acid-based siderophore and its implication for the suppression of *Fusarium* wilt by *Pseudomonas fluorescens* WCS374. In : Molecular Approaches to Biological Control (B.K. Duffy, U. Rosenberger and G. Défago, eds), IOCB / wprs Bulletin 21 (9) : 35-40.

34. Pieterse, C.M.J., Van Wees, S.C.M., Van Pelt, J.A., Knoester, M., Laan, R., Gerrits, H., Weisbeek, P.J. and Van Loon, L.C. 1998. A novel signaling pathway controlling induced systemic resistance in *Arabidopsis*. ***Plant Cell*** 10 : 1571-1580. [PDF-file]

35. Pieterse, C.M.J., Van Wees, S.C.M., Van Pelt, J.A. and Van Loon, L.C. 1998. A novel defence pathway in *Arabidopsis* induced by biocontrol bacteria. *Med. Fac. Landbouww. Univ. Gent.* 63 (3b) : 931-940.

36. Ton, J., Pieterse, C.M.J. and Van Loon, L.C. 1998. Genetic analysis of induced systemic resistance in *Arabidopsis thaliana* : association between induced and basal resistance. In : Molecular Approaches to Biological Control (B.K. Duffy, U. Rosenberger and G. Défago, eds), IOBC / wprc Bulletin 21 (9) : 111-115.

37. Van Loon, L.C. 1998. Biotechnology as a means to improve biological control pf plant diseases. *Med. Fac. Landbouww. Univ. Gent.* 63 : 1657-1666.

38. Van Loon, L.C., bakker, P.A.H.M. and Pieterse, C.M.J. 1998. Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. ***Annu. Rev. Phytopathol.*** 36 : 453-483.

39. Van Loon, L.C., Bakker, P.A.H.M. and Pieterse, C.M.J. 1998. Induction and expression of PGPR-mediated induced resistance against pathogens. In : Molecular Approaches to Biological Control (B.K. Duffy, U. Rosenberger and G. Défago, eds), IOBC / wprs Bulletin 21 (9) : 103-110.

**1997 :**

40. De Boer, M., Van der Sluis, I., Van Loon, L.C. and Bakker, P.A.H.M. 1997. *In vitro* compatibility between fluorescent *Pseudomonas* spp. strains can increase effectivity of *Fusarium* wilt control by combinations of these strains. In : Plant Growth-Promoting Rhizobacteria – Present Status and Future Prospects (A. Ogoshi, K. Kobayashi, Y. Homma, F. Kodama, N. Kondo and S. Akino, eds.), pp. 380-382. Faculty of Agriculture, Hokkaido University, Sapporo, Japan.

41. Glandorf, D.C.M., Bakker, P.A.H.M. and Van Loon, L.C. 1997. Influence of the production of antibacterial and antifungal proteins by transgenic plants on the saprophytic soil microflora. ***Acta Bot. Neerl.*** 46 : 85-104.

42. Glandorf, D.C.M., Thomashow, L.S., Smit, E., Wernars, K., Bakker, P.A.H.M. and Van Loon, L.C. 1997. Field release of genetically modified *Pseudomonas putida* WCS358R to study effects on the indigenous soil microflora : preliminary

experiments. In : Plant Growth- Promoting Rhizobacteria – Present Status and Future Prospects (A. Ogoshi, K. Kobayashi, Y. Homma, F. Kodama, N. Kondo and S. Akino, eds.), pp. 428-430. Faculty of Agriculture, Hokkaido University, Sapporo, Japan.

43. Govers, F., Drenth, A., Pieterse, C.M.J. 1997. The potato late blight pathogen *Phytophthora infestans* and other pathogenic oomycota. In : The Mycota, Vol. V, Part B : Plant Relationships (G.C. Carroll and P. Tudzynski, eds.), pp. 17-36. Springer, Berlin.

44. Hoffland, E., Bakker, P.A.H.M. and Van Loon, L.C. 1997. Multiple disease protection by rhizobacteria that induce systemic resistance – reply. ***Phytopathology*** 82 : 138. [PDF-file]

45. Klerk, H. and Van Loon, L.C. 1997. Characteristics of protein turnover in the developing first leaf of oats (*Avena sativa* L.). ***J. Plant Physiol.*** 151 : 176-187.

46. Knoester, M., Bol, J.F., Van Loon, L.C. and Linthorst, H.J.M. 1997. Modulation of ethylene production in transgenic tobacco. In : Biology and Biotechnology of the Plant Hormone Ethylene (A.K. Kanellis et al., eds.), pp. 347-354. Kluwer, Dordrecht.

47. Knoester, M., Hennig, J., Van Loon, L.C., Bol, J.F. and Linthorst, H.J.M. 1997. Isolation and characterization of a tobacco cDNA encoding an *ETR1* homolog. ***Plant Physiol.*** 115 : 1731. http :// www.tarweed.com / pgr / PGR97-188.html.

48. Knoester, M., Linthorst, H.J.M., Bol, J.F. and Van Loon, L.C. 1997. Modulation of stress-inducible ethylene biosynthesis by sense and antisense gene expression in tobacco. ***Plant Science*** 126 : 173-183.

49. Mercado-Blanco, J., Olsson, P.E., Van der Drift, K.M.G.M., Thomas-Oates, J.E., Van Loon, L.C. and Bakker, P.A.H.M. 1997. Analysis of a gene cluster involved in the production of salicylic acid and a new siderophore in *Pseudomonas fluorescens* WCS374. In : Plant Growth- Promoting Rhizobacteria – Present Status and Future Prospects (A. Ogoshi, K. Kobayashi, Y. Homma, F. Kodama, N. Kondo and S. Akino, eds.), pp. 355-357. Faculty of Agriculture, Hokkaido University, Sapporo, Japan.

50. Schippers, B. and Roosje, G.S. 1997. Hundred years of history and the future of the foundation "Willie Commelin Scholten Phytopathological Laboratory". ***Eur. J. Plant Pathol***. 103 : 667-671. [PDF-file]

51. Schippers, B. and Scheffer, R. 1997. Jas voor radijs; beschermen met bacteriën. Natuur en Techniek 65 : 66-77.

52. Van Loon, L.C., Bakker, P.A.H.M. and Pieterse, C.M.J. 1997. Mechanisms of PGPR-induced resistance against pathogens. In : Plant Growth-Promoting Rhizobacteria – Present Status and Future Prospects (A. Ogoshi, K. Kobayashi, Y. Homma, F. Kodama, N. Kondo and S. Akino, eds.), pp. 50-57.Faculty of Agriculture, Hokkaido University, Sapporo, Japan.

53. Van Loon, L.C. 1997. Induced resistance and the role of pathogenesis-related proteins. ***Eur. J. Plant Pathol***. 103 : 753-765. [PDF-file]

54. Van Wees, S.C.M., Pieterse, C.M.J., Trijssenaar, A., Van't Westende, Y., Hartog, F. and Van Loon, L.C. 1997. Differential induction of systemic resistance in *Arabidopsis* by biocontrol bacteria. ***Mol. Plant-Microbe Interact***. 10 : 716-724. [PDF-file]

**1996 :**

55. Bol, J.F., Buchel, A.S., Knoester, M., Baladin, T., Van Loon, L.C. and Linthorst, H.J.M. 1996. Regulation of the expression of plant defence genes. *Plant Growth Regulation* 18 : 87-91.

56. De Boer, M., Van Loon, L.C. and Bakker, P.A.H.M. 1996. Biological control of *Fusarium* wilt of radish by combinations of fluorescent *Pseudomonas* spp. strains. in : Biological and Integrated Control of Root Diseases in Soilless Cultures (C. Alabouvette, ed.), *IOBC wprs Bulletin* 19 : 47-52.

57. De Weger, L.A., Bloemberg, G.V., Van Wezel, T., Van Raamsdonk, M., Glandorf, D.C.M., Van Vuurde, J., Jann, K. and Lugtenberg, B.J.J. 1996. A novel cell surface polysaccharide in *Pseudomonas putida* WCS358, which shares characteristics with *Escherichia coli* K antigens, is not involved in root colonization. ***J. Bacteriol.*** 178 : 1955-1961.

58. Folders, J., De Groot, A., Van Loon, L.C. and Tommassen, J. 1996. Biocontrol of soil-borne plant pathogens by means of biotechnology. in : Biologicala nd Integrated Control of Root Diseases in Soilless Cultures (C. Alabouvette, ed.), *IOBC wprs Bulletin* 19 : 115-119.

59. Hoffland, E., Hakulinen, J. and Van Pelt, J.A. 1996. Comparison of systemic resistance induced by avirulent and nonpathogenic *Pseudomonas* species. ***Phytopathology*** 86 : 757-762.

60. Hoffland, E., Niemann, G.J., Van Pelt, J.A., Pureveen, J.B.M., Eijkel, G.B., Boon, J.J.a nd Lambers, H. 1996. Relative growth rate correlates negatively with pathogen resistance in radish : the role of plant chemistry. ***Plant Cell Environ.*** 19 : 1281-1290.

61. Leeman M., Den Ouden, F.M., Van Pelt, J.A., Cornelissen, C., Matamala-Garros, A., Bakker, P.A.H.M. and Schippers, B. 1996. Suppression of *Fusarium* wilt of radish by co-inoculation of fluorescent *Pseudomonas* spp. and root-colonizing fungi. ***Eur. J. Plant Pathol.*** 102 : 21-31.

62. Leeman, M., Den Ouden, F.M., Van Pelt, J.A., Dirkx, F.P.M., Steijl, H., Bakker, P.A.H.M. and Schippers, B. 1996. Iron availability affects induction of systemic resistance to *Fusarium* wilt of radish by *Pseudomonas fluorescens*. ***Phytopathology*** 86 : 149-155.

63. Pieterse, C.M.J., Van Wees, S.C.M., Hoffland, E., Van Pelt, J.A. and Van Loon, L.C. 1996. Systemic resistance in *Arabidopsis* induced by biocontrol bacteria is independent of salicylic acid accumulation and pathogenesis-related gene expression. ***Plant Cell.*** 8 : 1225-1237.

64. Peterse, C.M.J., Van Wees, S.C.M., Van Pelt, J.A., Trijssenaar, A., Van't Westende, Y.A.M., Bolink, E.M. and Van Loon, L.C. 1996. Systemic resistance in *Arabidopsis thaliana* induced by biocontrol bacteria. *med. Fac. Landbouww. Univ. Gent.* 61 / 2a : 209-220.

65. Van Loon, L.C. 1996. Disease-suppressive actions of *Pseudomonas* bacteria : induced resistance. in : Biological and Integrated Control of Root Diseases in Soilless Cultures (C. Alabouvette, ed.), *IOBC wprs Bulletin* 19 : 53-61.

**1995 :**

66. Bakker, P.A.H.M., Raaijmakers, J.M., Leeman, M., Van der Sluis, I., Van Pelt, J.A. and Schippers, B. 1995. Effects of the pseudobactin uptake protein A on the ecology of rhizosphere

pseudomonas. in : The Biosafety Results of Field Tests of Genetically Modified Plants and Organisms (D.D. Jones, ed.), pp. 143-148. University of California, Oakland, CA, USA.

67. Cornelussen, M.H.M., Karssen, C.M. and Van Loon, L.C. 1995. UV-induced cross-linking of abscisic acid to binding proteins. ***Phytochemistry*** 39 : 959-968.

68. Duijff, B.J., Erkelens, A., Bakker, P.A.H.M. and Schippers, B. 1995. Influence of pH on Suppression of *Fusarium* wilt of carnation by *Pseudomonas fluorescens* WCS417r. ***J. Phytopathol***. 143 : 217-222.

69. Glandorf, D.C.M., Bakker, P.A.H.M. and Van Loon, L.C. 1995. Influence of the expression of antibacterial and antifungal genes in transgenic plants on the saprophytic soil microflora. in : Unanswered Safety Questions when Employing GMO's. Workshop Proceedings Leeuwenhorst Congress Centre Noordwijke4rhout, the Netherlands, May 2-4, 1995, pp. 111-115. Coordination Commission Risk Assessment Research (CCRO).

70. Hoffland, E., Pieterse, C.M.J., Bik, L. and Van Pelt, J.A. 1995. Induced systemic resistance in radish is not associated with accumulation of pathogenesis-related proteins. ***Physiol. Mol. Plant Pathol***. 46 : 309-320.

71. Hoffland, E., Pieterse, C.M.J., Bik, L. and Van Pelt, J.A. 1995. Induced resistance in *Arabidopsis* and radish : involvement of PR proteins. in : Environmental Biotic Factors in Integrated Plant Disease Control (M. Mal/2ka, ed.). Proceedings 3rd Conference of European Foundation for Plant Pathology Pozanan, Poland, September 509, 1994, pp. 265-268. *The Polish Phytopathological Society, Poznan.*

72. Knoester, M., Bol, J.F., Van Loon, L.C. and Linthorst, H.J.M. 1995. Virus-induced gene expression for enzymes of ethylene biosynthesis in hypersensitively reacting tobacco. ***Mol. Plant-Microbe Interact.*** 8 : 177-180.

73. Leeman, M. 1995. Suppression of *Fusarium* Wilt of Radish by Flourescent ***Pseudomonas*** spp. Induction of disease resistance, co-inoculation with fungi and commercial application. Ph.D. Thesis Utrecht University, 119 pp.

74. Leeman, M., Van Pelt, J.A., Den Ouden, F.M., Heinsbroke, M., Bakker, P.A.H.M. and Schippers, B. 1995. Induction of systemic resistance by ***Pseudomonas fluorescens*** in radish cultivars differing in susceptibility to *Fusarium* wilt, using a novel bioassay. ***Eur. J. Plant Pathol.*** 101 : 655-664.

75. Leeman, M., Van Pelt, J.A., Den Ouden, F.M., Heinsbroek, M., Bakker, P.A.H.M. and Schippers, B. 1995. Induction of systemic resistance against *Fusarium* wilt of radish by lipopolysaccharides of *Pseudomonas fluorescens*. ***Phytopathology*** 85 : 1021-1027.

76. Leeman, M., Van Pelt, J.A., Hendrickx, M.J., Scheffer, R.J., Bakker, P.A.H.M. and Schippers, B. 1995. Biocontrol of *Fusarium* wilt of radish in commercial greenhouse trials by seed treatment with *Pseudomonas fluorescens* WCS374. ***Phytopathology*** 85 : 1301-1305.

77. Raaijmakers, J.M., Van der Sluis, I., Koster, M., Bakker, P.A.H.M., Weisbeek, P.J. and Schippers, B. 1995. Utilization of heterologous siderophores and rhizoshphere competence of fluorescent *Pseudomonas* spp. ***Can. J. Microbiol.*** 41 : 126-135.

78. Raaijmakers, J.M., Leeman, M., Van Oorschot, M.M.P., Van der Sluis, I., Schippers, B. and Bakker, P.A.H.M. 1995. Dose-response relationships in biological control of *Fusarium* wilt of radish by *Pseudomonas* spp. ***Phytopathology*** 85 : 1075-1081.

79. Raaijmakers, J.M., Van der Sluis, I., Van den Hout, M., Bakker, P.A.H.M. and Schippers, B. 1995. Dispersal of wild-type and genetically-modified *Pseudomonas* spp from treated seeds or soil to aerial parts of radish plants. ***Boil Biol. Biochem.*** 27 : 1473-1478.

80. Schippers, B., Scheffer, R.J., Lugtenberg, B.J.J. and Weisbeek, P.J. 1995. Biocoating of seeds with plant growth- promoting rhizobacteria to improve plant establishment. Outlook on Agriculture 24 : 179-185.

81. Steijl, H., Van der Sluis, I., Van den Heuvel, J. and Van Loon, L.C. 1995. Aspects of induced resistance in radish; effects of PGPR induced systemic resistance on disease progress. in : Environmental Biotic Factors in Integrated Plant Disease Control (M. Mai/2ka, ed.). Proceedings 3rd Conference of European Foundation for Plant Pathology Poznan, Poland, September 5-9, 1994, pp. 523-526. *The Polish Phytopathological Society, Poznan.*

82. Van den Heuvel, J., Van Dam, J.A.C. and Van der Sluis, I. 1995. How general is the induction of resistance by nonpathogenic rhizobacteria ? in : Environmental Biotic Factors in Integrated Plant Disease Control (M. Mai/2ka, ed.), Proceedings 3rd Conference of European Foundation for Plant Pathology Poznan, Poland, September 5-9, 1994, pp. 261-264. *The Polish Phytopathological Society, Poznan.*

83. Van der Wolf, J.M., Van Beckhoven, J.R.C.M., De Vries, P.M., Raaijmakers, J.M., Bakker, P.A.H.M., Bertheau, Y. and Van Vuurde, J.W.L. 1995. Polymerase chain reaction for verification of fluorescent colonies of *Erwinia chrysanthemi* and *Pseudomonas putida* WCS358 in immunofluorescence colony staining. ***J. Appl. Microbiol.*** 79 : 569-577.

**1994 :**

84. Duijff, B.J. 1994. Suppression of *Fusarium* Wilt by Fluorescent *Pseudomonas* spp.; Mechanisms, Influence of Environmental Factors and Effects on Plant Iron Nutrition. Ph.D. Thesis Utrecht University, 95 pp.

85. Duijff, B.J., Bakker, P.A.H.M. and Schippers, B. 1994. Ferric pseudobactin 358 as an iron source for carnation. ***J. Plant Nutrition*** 17 : 2069-2078.

86. Duijff, B.J., Bakker, P.A.H.M. and Schippers, B. 1994. Suppression of *Fusarium* wilt of carnation by *Pseudomonas putida* WCS358 at different levels of disease incidence and iron availability. ***Biocontrol Sci. Technol.*** 4 : 279-288.

87. Duijff, B.J., Kogel, W.J. de, Bakker, P.A.H.M. and Schippers, B. 1994. Influence of pseudobactin 358 on the iron nutrition of barley. ***Soil Biol. Biochem.*** 26 : 1681-1688.

88. Duijff, B.J., Kogel, W.J. de, Bakker, P.A.H.M. and Schippers, B. 1994. Significance of pseudobactin 358 for the iron nutrition of plants. in : Improving plant productivity with rhizosphere bacteria (M.H. Ryder, P.M. Stephens and G.D. Bowen, eds), pp. 142-144. CSIRO, Adelaide, Australia.

89. Glandorf, D.C.M., Sluis, I. van der, Anderson, A.J., Bakker, P.A.H.M. and Schippers, B. 1994. Agglutination, adherence



obeikandl.com

and root colonization by fluorescent pseudomonads. ***Appl. Environ. Microbiol***. 60 : 1726-1733.

90. Lugtenberg, B.J.J., Weger, L.A. de and Schippers, B. 1994. Bacterization to protect seed and rhisosphere against disease. in : BCPC Monograph No. 57 : Seed Treatment : Progress and Prospects, pp. 293-302.

91. Niemann, G.J. 1994. A crucial role of phenolic metabolism in resistance of carnations to wilt diseases. ***Acta Horticult***. 381 : 565-571.

92. Niemann, G.J. and Steijl, H. 1994. Phenolics in the interaction Pseudomonas sp. / Dianthus caryophyllus / *Fusarium oxysporum f.* sp. *dianthi*. ***Acta Horticult***. 381 : 572-575.

93. Raaijmakers, J.M. 1994. Microbial Interactions in the Rhizosphere; Root Colonization by *Pseudomonas* spp. and Suppression of *Fusarium* Wilt. Ph.D. Thesis Utrecht University, 127 pp.

94. Raaijmakers, J.M., Bitter, W., Punte, H.L.M., Bakker, P.A.H.M., Weisbeek, P.J. and Schippers, B. 1994. Siderophore receptor *PupA* as a marker to monitor wild- type *Pseudomonas putida* WCS358 in natural environments. ***Appl. Environ. Microbiol***. 60 : 1184-1190.

95. Van Loon, L.C. 1994. De plant tussen belagers en beschermers. ***Gewasbescherming*** 25 : 20-26.

96. Van Loon, L.C., Pierpoint, W.S., Boller, Th., and Conejero, V. 1994. Recommendations for naming plant pathogenesis-related proteins. ***Plant Mol. Biol. Reporter*** 12 : 245-264.

**1993 :**

97. Duijff, B.J., Meijer, J.W., Bakker, P.A.H.M. and Schippers, B. 1993. Siderophore-mediated competition for iron and induced resistance in suppression of *Fusarium* wilt of carnation by fluorescent *Pseudomonas* spp. ***Neth. J. Plant Pathol.*** 99 : 277-289.

98. Glandorf, D.C.M., Peters, L.G.L., Van der Sluis, I., Bakker, P.A.H.M. and Schippers, B. 1993. Crop specificity of rhizosphere pseudomonads and the involvement of root agglutinins. ***Soil Biol. Biochem.*** 25 : 981-989.

99. Klerk, H., Rebers, M. and Van Loon, L.C. 1993. Effects of light and regulators on senescence-related changes in soluble proteins in detached oat (*Avena sativa* L.) leaves. ***Plant Growth Regul.*** 13 : 137-145.

100. Lemanceau, P., Bakker, P.A.H.M., De Kogel, W.J., Alabouvette, C. and Schippers, B. 1993. Antagonistic effect of nonpathogenic *Fusarium oxysporum* FO47 and pseudobactin 358 upon pathogenic *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*. ***Appl. Environ. Microbiol.*** 59 : 74-82.

101. Niemann, G.J. 1993. The anthranilamide phytoalexins of the *Caryophyllaceae* and related compounds. ***Phytochemistry*** 34 : 319-328.

102. Schippers, B. 1993. Exploitation of microbial mechanisms to promote plant health and plant growth. ***Phytoparasitica*** 21 : 275-279 (guest editorial).

103. Van den Boogert, P.H.J.F. 1993. The Ecology of *Verticillium biguttatum,* its Significance for the Population Dynamics of *Rhizoctonia solani* in potato. Ph.D. Thesis Utrecht University, 116 pp.

104. Van Loon, L.C. 1993. De plant tussen belagers en beschermers. Oratie Universiteit Utrecht, 20 pp.

105. Van Loon, L.C. 1993. Plant defences. in : Defence Mechanisms, pp. 77-142, 380-383. Biotol Series, Butterworth / Heinemann, Oxford, UK.

106. Van Loon, L.C. and Pennings, G.G.H. 1993. Involvement of ethylene in the induction of systemic acquired resistance in tobacco. In : Mechanisms of Plant Defense Responses (B. Fritig and M. Legrand, eds), pp. 156-159. Kluwer, Dordrecht.

107. Van Loon, L.C., Bakker, P.A.H.M. and Scheffer, R.J. 1993. Seed treatment with bacteria protects plants against soil- borne diseases. ***Profyta*** 4 : 14-17.

108. Wijdeveld, M.M.G., Goldbach, R.W., Meurs, C. and Van Loon, L.C. 1993. On the relationship between X-bodies and symptom development in plants infected with different tobamoviruses. ***Archiv. Virol.*** 133 : 143-155.

openkandi.com