

الفصل العاشر

المقاومة الحيوية لأمراض بعض النباتات البقولية

أولاً: البسلة

١- أمراض الجذور في البسلة

مقدمة:

أهم أمراض الجذور التي تصيب البسلة، تسبب عن الفطريات *Pythium debaryanun* و *Rhizoctonia solani* والفطر *Fusarium oxysporum f.sp. pisi*

الكائنات المضادة التي تستعمل في المقاومة الحيوية لهذه الممرضات، هي:

١ - *Pseudomonas sp.* سلالة PS4.

٢ - *Bacillus subtilis* سلالة B10.

٣ - الفطر *Trichoderma harzianum* سلالة T6.

عند إجراء التجارب في الصويا الزجاجية، تضاف الكائنات المضادة إلى التربة قبل الزراعة بحوالي أسبوع، ثم بعد ذلك يضاف لقاح الكائنات الممرضة إلى التربة في الأوعية بنسبة ٢٪ من الفطر *R.solani* و ٥٪ من الفطر *Pythium sp* و *Fusarium sp*. يخلط اللقاح جيداً بالتربة وتسقى بالماء كل يوم بحيث تبقى رطبة فقط.

تضاف الكائنات المضادة في وقت زراعة البذور، وذلك على أساس معاملة بذور، حيث تحمل كل بذرة حوالي ١٠^٨ وحدة تكوين مستعمرات/ بذرة. تلقح البذور أيضاً ببكتيريا *Rhizobium leguminosarum*، حيث أثبتت الدراسات السابقة أن بكتيريا العقد الجذرية الملقحة بها البذور لا تتأثر نهائياً بأي من الكائنات المضادة عند زراعتها معاً في أطباق بتري، ولم تظهر أي منطقة تثبط.

يظهر من جدول رقم (١١٢) كفاءة الكائنات المضادة في خفض الإصابة المرضية، وزيادة النباتات النامية، ويزداد تثبيت النيتروجين لكل نبات.

جدول رقم (١١٢) : تأثير معاملة بذور البسلة بالكائنات المضادة على حدوث أمراض الجذور، وعلى البكتيريا المثبتة للنيتروجين الجوى.

مبلغ نيتروجين كلى/ نبات	عدد العقد الجذرية على كل نبات	% نباتات حية	% النباتات المصابة بعد الإنبات	% البادرات المصابة قبل الإنبات	المعاملة
٤٧,٩١	١٨	١٠٠	صفر	صفر	كنترول
٩٨,٢٤	٧١	١٠٠	صفر	صفر	بكتيريا العقد الجذرية <i>Pythium debaryanun</i>
٢٨,٧٢	١٠	٢٠	٢٤,٩	٥٥	الفطر لوحده
٣٦,٧٣	٢٢	٤٣,٣	١٦,٧	٤	الفطر + العقد الجذرية
٧٨,٣٥	٥٣,٥	٨٥	صفر	١٥	الفطر + العقد الجذرية + بسيدوموناس
٧٧,١٢	٥٠,٠	٦٨,٨	٦,٣	٢٠	الفطر + العقد الجذرية + بسلس
٧٦,٨٦	٥٤	٩٠	صفر	١٠	الفطر + العقد الجذرية + تريكوديرما <i>Rhizoctonia solani</i>
٢٥,٨٩	٨,٠	٢٠,٠	٢٤,٩	٥٥	الفطر لوحده
٢٨,٤٠	١٢,٠	٢٧,١	٢٢,٩	٥٠,٠	الفطر + بكتيريا العقد الجذرية
٧٤,٦٤	٤٦,٥	٧٣,٨	٦,٥	٢٠,٠	الفطر + العقد الجذرية + بسيدوموناس
٧٥,٤٦	٤٩,٥	٧٣,٨	٦,٣	٢٠	الفطر + العقد الجذرية + بسلس
٧٥,٥٩	٥٣,٠	٨٥,٠	صفر	١٥	الفطر + العقد الجذرية + تريكوديرما <i>Fusarium oxysporum pisi</i>
٢٢,٣٣	١١,-	٤٥,٤	٣٩,٥٨	٣٥	الفطر لوحده
٢٧,٢٦	١٤,-	٤٠,٨	٢٩,١٧	٣٠	الفطر + بكتيريا العقد الجذرية
٧٦,٧٨	٤٦,-	٧٧,٥	١١,٢٥	١٠	الفطر + العقد الجذرية + بسيدوموناس
٧٥,٦	٤٤,-	٧٨,٨	١٢,٥	١٠	الفطر + العقد الجذرية + بسلس
٧٦,٩٨	٥٠,-	٨٣,٨	٦,٢٥	١٠	الفطر + العقد الجذرية + تريكوديرما

يتبين من الجدول رقم (١١٢)، أن كلاً من البكتيريا *Bacillus* و *Pseudomonas* والفطر *Trichoderma* لها تأثير كبير على فطر الفيوزاريوم الممرض لجذور البسلة، حيث انخفضت نسبة الإصابة قبل الإنبات من ٥٥٪ إلى ١٠٪ (هذا بالنسبة للإصابة، قبل الظهور فوق سطح التربة) اما بالنسبة للإصابة بعد ظهور البادرات فوق سطح التربة، كان هناك تأثير كبير لهذه الكائنات المضادة على الفطر الممرض؛ حيث انخفضت الإصابة من ٢٤,٩٪ إلى صفر. لقد وجد أيضا أن هذه الكائنات المضادة تزيد عدد العقد الجذرية على النبات.

لذا يوصى باستعمال هذه الكائنات المضادة في المقاومة الحيوية للأمراض الكامنة في التربة، والتي تهاجم بذور وجذور نبات البسلة.

٢- العفن الأفانومايسي في البسلة

Peas Aphanomyces Root Rot

أ- المقاومة باستعمال مواد متطايرة ناتجة بالتحليل المائي لجروش بذور اللفت:

مقدمة:

يعتبر مرض عفن الجذر الأفانومايسي في البسلة *Aphanomyces root rot* واحداً من أهم الأمراض ذات التأثير الاقتصادي الكبير يتسبب هذا المرض عن الفطر الممرض *Aphanomyce euteiches* f.sp. *pisi* وهو يهاجم البذور المنتبة والسويقة الجنينية العليا في الأطوار المبكرة لنمو البادرة، ويهاجم جذور البسلة في أي وقت من موسم النمو. يمكن أن تبقى الجراثيم البيضية (مراحل الاطوار الساكنة للكائن الممرض) حية في التربة لعدة سنوات. هناك كثير من النباتات يمكن أن تكون عرضة لهذا الفطر، وبالتالي تجعل الفطر في دورة متجددة ومستمرة، وتكوين تجمعات جديدة حتى في غيات محصول البسلة، وهذا ما يجعل الدورة الزراعية قليلة الكفاءة في مقاومة هذا المرض.

لغاية سنة ١٩٩٧ لا يتوفر مبيدات فطرية فعالة في مقاومة هذا المرض، وعلى أية حال هناك عديد من الدراسات، أظهرت أن معاملة التربة عن طريق دفن نباتات العائلة الصليبية فيها، يمكن أن تخفض من مستويات بعض أمراض النبات الكامنة في التربة من ضمنها

A. euteiches. إن اللفت *Brassica napus* مثل بقية النباتات الأخرى في العائلة الصليبية يحتوي على مركبات تسمى Glucosinolates ويرمز لها (GSL). توجد هذه المواد في جميع أجزاء نبات اللفت، ولكن أعلى تركيز يكون في البذور. تتحلل إلى إنزيميا، وتنتج مركبات مهمة مختلفة تشمل Thiocyanates، Nitriles، Isothiocyanates، Oxazolidinethiones و Epithionitriles. كل هذه المركبات يمكن أن تكون ذات تأثير سام للكائنات الحية الدقيقة. الإنزيم المسئول عن تحطيم مادة GSL وهو Thioglucoside glucohydrolase ويسمى أيضاً Myrosinase. يعزل الإنزيم من GSL في أنسجة النبات السليم، ولكنه ينطلق عندما تسحق الأنسجة، أو عندما يحدث تحلل ذاتي للنبات. تكون مادة GSL ثابتة في مكونات النبات الجافة وفي مجروش البذور غير الدهنية (المنزوع منها الزيت صناعياً).

إن كفاءة نباتات العائلة الصليبية ضد عفن الجذر الأفانومايى قد ذكرت بواسطة Lewis & Papvizas سنة ١٩٧١ وبواسطة Chan & close سنة ١٩٨٧ عند الاستعمال في الصويا الزجاجية، وفي سنة ١٩٩٠ بواسطة Muenhchen *et al* عند الاستعمال في الحقل. ولقد ذكر هؤلاء العلماء أن المركبات المتطايرة من تحليل الأوراق الجافة هوائياً ونسيج الساق للكرنب في التربة تؤثر بشكل واضح على تقليل نمو الميسيليوم وتكشف الجراثيم البيضية للفطر *A. euteiches*.

مع أن الدلائل تشير إلى أن هناك علاقة بين النواتج المتطايرة بالتحليل المائي لمادة GSL وتثبيط الفطر *A. euteiches*، إلا أنه لا توجد أبحاث متخصصة تشير إلى أن نواتج تحليل GSL هي المسئولة عن التأثير السام تجاه الكائن الممرض. وبسبب هذا النقص قام Smolinska *et al* سنة ١٩٩٧ بإجراء أبحاث أثبت فيها أن هذه المواد المتطايرة من مجروش بذور اللفت، هي المسئولة عن التأثيرات السامة تجاه الفطر *A. euteiches f.sp. pisi*.

مقاومة المرض:

في دراسة تحليلية لمعرفة مكونات مجموعة الـ GSL سواء بالنسبة لبذور اللفت المجروشة المعقمة في الأوتوكليف أو غير المعقمة. يتبين من جدول رقم (١١٣) أن كلتا العينتين من البذور تحوى كميات كبيرة من المركبات الكيماوية الآتية:

1 -) 2 - hydroxyl - 3- butenyl

2 -) 3 - butenyl

3 -) 4 - pentenyl glucosinolate

4 -) glucosinolates سبعة مركبات بكميات متساوية من مركب الـ

أما عند دراسة المواد المتطايرة الناتجة من مجروش بذور اللفت بطريقة Gas chromatographic - mass spectrometric، بعد عملية التحليل المائي، فوجد أن الـ Nitriles متوفرة بكثرة في مجروش بذور اللفت المعقمة بالأوتوكليف، بينما مادة Isothiocyanates متوفرة بكثرة في مجروش بذور اللفت غير المعقمة جدول رقم (١١٤).

أما بالنسبة لتأثير المواد المتطايرة على نمو *M. euteiches f. sp. pisi* الفطر، فقد تبين أن المركبات المتطايرة المنطلقة من مجروش بذور اللفت بالتحليل المائي تمنع كلية نمو *M. euteiches f. sp. pisi* الفطر، إلا أن المواد المتطايرة المنطلقة من مجروش البذور المعقمة بالأوتوكليف ليس لها تأثير معنوي على تثبيط نمو *M. euteiches f. sp. pisi* الفطر. أما بالنسبة لتأثير المركبات المتطايرة على كفاءة الجراثيم الهدبية للفطر في إحداث المرض، كما هو واضح في جدول رقم (١١٥) فإن البذور غير المعقمة لها تأثير أكبر على نشاط وكفاءة الجراثيم الهدبية منها في حالة البذور المعقمة. ولقد وجد أن المواد المتطايرة من البذور السليمة تثبط كلية إنبات الجراثيم الهدبية المتحوصلة، كذلك فإن المواد المتطايرة المنطلقة من البذور المعقمة بالأوتوكليف، تثبط إنبات الجراثيم الهدبية بشكل معنوي، ولكن أقل منه في الحالة الأولى.

يمكن القول بأن مجروش بذور اللفت، أو المستخلص المائي لهذه البذور ذو سمية شديدة ضد الفطر *M. euteiches f. sp. pisi*، وأن هذه السمية متعلقة مع نواتج تحطيم مواد *GSL*، وأنه يمكن استعمال مجروش بذور اللفت في المقاومة الحيوية لمرض العفن الأفانومايسي في البسلة، وهذه أحدث طريقة في المقاومة الحيوية لأمراض الجذور في البسلة.

جدول رقم (١١٣) : محتوى مجروش بذور اللفت من مادة GSL، سواء كانت البذور معقمة بالأوتوكليف أو غير معقمة.

محتوى GSL ميكومول لكل غرام بذور مجروشة		مادة الـ GSL
مجروش بذور اللفت المعقمة	مجروش بذور اللفت غير المعقمة	
٠,٢	٠,٣	Allyl
٣٦,٤	٣٧,٩	3 - Buteny l
١٢,٥	١٢,٨	4 - Pentenyl
٨٠,٤	٨٣,٢	2 - Hydroxy -3- butenyl
٦,٥	٦,٧	2 - OH - 4- Pentenyl
١,٠	٠,٩	4 - Methyl thio butyl
١,٩	٢,٥	Phenethyl
صفر	٠,٢	Indol-3-4-mentyl
٠,٩	٠,٧	5 - Methyl thio pentyl
٤,٠	٥,١	4 - Hydroxy indol- 3-4 - methyl
٥,-	٦,٣	Benzyl

جدول رقم (١١٤) : المواد المتطايرة في مجروش بذور اللفت المعقمة وغير المعقمة.

البذور غير المعقمة	البذور المعقمة
3 - methyl butanal	hydrogen sulfide
Hexanal	Benzene
Isopropylisothio cyanate	Butenenitrile
3 (E) - hexene	Pentenitrile
allyl iso thio cyanate	Hexennitrile
2 - methyl propyl iso thiocyanate	Butenyl isothio cyanate
Pentenyl isothio cyanate	Nitropentene
--	5 - methyl thiopentanenitrile
--	2 - phenyl ethyl nitrile
--	Ben zene propanenitrile
--	1-3 benzene dicorboxylic acid

جدول رقم (١١٥): تأثير المركبات المتطايرة من مجروش بذور اللفت المحللة مائياً على كفاءة لقاح الجراثيم الهدبية والبيضية للفطر الممرض *Aphanomyces euteiches f.sp pisi*.

جراثيم بيضية			جراثيم هدية		المعاملة
غرام وزن جذور/ نبات	غرام الوزن الطازج/ نبات	معدل المرض	غرام الوزن الطازج/ نبات	معدل المرض	
٠,٤٥	١,٦٣	---	١,٥٤	---	دون كائن ممرض
---	---	---	١,٣٨	---	دون بذور مجروشة
---	---	---	١,٣٩	---	بذور غير معقمة بالأوتوكليف
---	---	---	١,٣٩	---	بذور معقمة بالأوتوكليف
٠,١١	٠,٨٧	٣,٩	١,٢٥	١,٦	مع كائن ممرض
٠,٤٦	١,٦٤	٠,٢	١,٣٧	٠,٨	دون بذور مجروشة
---	---	---	---	---	بذور غير معقمة بالأوتوكليف
٠,٣٦	١,٤٣	٠,٩	١,٢٥	١,٢	بذور معقمة بالأوتوكليف

ملاحظات على الجدول:

بذور البسلة إما أن تعرض لمعلق الجراثيم الهدبية بتركيز 10×10^5 جرثومة هدية/مل ثم تحضن ٢٤ ساعة في غياب مجروش بذور اللفت أو في وجود مجروش بذور اللفت، غير المعقمة بالأوتوكليف أو المعقمة. ثم بعد ذلك زرعت البذور في تربة معقمة وأخذت النتائج بعد ١٨ يوم.

معدل المرض يقسم من صفر إلى ٤ حيث صفر = نبات سليم. ١ = الجذر لونه تغير بنسبة بسيطة ٢ = الجذر لونه متغير بشدة ولكن غير مكرشة. ٣ = الجذور كاملة التلون ومكرشة.

٤ = الجذور كاملة التعفن أو النبات ميت.

تكملة ملاحظات على الجدول :

أما في حالة الجراثيم البيضوية، كانت التربة تحقن بالجراثيم البيضوية بمعدل ٥٠٠ جرثومة/غرام، تم تحضن التربة المحقونة لمدة عشرة أيام في وجود بذور اللفت المعقمة بالأوتوكليف أو غير المعقمة، ثم بعد ذلك تخلط هذه الكمية القليلة من التربة مع تربة معقمة بكميات كبيرة، ثم تزرع بذور البسلة وتؤخذ النتائج بعد ١٨ يوماً.

ب- المقاومة باستعمال البكتيريا *Burkholderia cepacia*

لكي نحصل على مقاومة حيوية ناجحة ضد الكائنات الممرضة الكامنة في التربة، يجب أن يكون سطح البذرة أو الجذر مستعمراً بالكائن المضاد، بينما من الممكن أن يؤدي استعمار البذور النابتة إلى مقاومة حيوية فعالة لسقوط البادرات المفاجيء المتسبب عن الفطر *Pythium*، إلا أن عفن الجذر الأفانومايسى يتطلب وجود عامل المقاومة الحيوية خلال موسم النمو كله. وهذا ما يتوفر في البكتيريا *B.cepaci*.

يقاوم مرض عفن الجذر الأفانومايسى بالبكتيريا *Burkholderia cepacia* سلالة AMMDR1، وتستمر هذه السلالة تزداد في التربة حتى الأسبوع السادس من الزراعة، وبالتالي فإنها تحافظ على الجذور من الإصابة بالفطر طيلة موسم النمو.

تعامل بذور البسلة بالمعلق البكتيرى، ثم تجفف هوائياً بحيث تحصل كل بذرة على حوالي 10^{10} وحدة تكوين مستعمرات، ثم بعد ذلك تزرع هذه البذور في الأراض الدائمة. وجد أن هذه المعاملة تحفظ البسلة من الإصابة بمرض عفن الجذر الأفانومايسى طيلة موسم النمو.

وجد أيضاً أن معاملة بذور البسلة بالبكتيريا *Pseudomonas fluorescens* لوحدها أو متحدة مع المبيد الفطرى الكبتان تقاوم المرض بفعالية. عندما يكون مرض عفن الجذر متوسطاً إلى شديد، فإن معاملة البذور بالبكتيريا تؤدي إلى زيادة معنوية في عدد النباتات السليمة والإنتاج وخفض في شدة المرض.

بغض النظر عن المعاملة بالكبتان، فإن البكتيريا *Bur. cepacia* هي أكثر الكائنات فعالية في زيادة عدد النباتات السليمة بحوالى ٤٠% وزيادة الانتاج ٤٨% بالمقارنة مع الكبتان

لوحده . كذلك فإن البكتيريا الوميضة *P.fluorescens* دون كبتان، تكون فعالة جداً وتسبب زيادة فى كل من عدد النباتات السليمة والإنتاج بحوالى ٣٣% بالمقارنة مع الكبتان لوحده . كذلك فإن *Corynebacterium sp* دون كبتان يزيد فى عدد النباتات السليمة ٢٣%، ويزيد الإنتاج ١٢% بالمقارنة مع الكبتان لوحده .

ثانياً: الفاصوليا.

١- سقوط البادرات

مقدمة:

يعتبر الفطر *Sclerotium rolfsii* من الفطريات الكامنة فى التربة، والتي تسبب أمراضاً خطيرة على كثير من المحاصيل، ويهاجم مدى واسعاً من العوائل فى معظم مناطق العالم. يسبب الفطر مرض سقوط البادرات المفاجيء واللفحة، عفن الساق، والتي تنشأ عن إصابة النباتات بالأجسام الحجرية للفطر، التي تنبت على أو بالقرب من سطح التربة. هذه الأجسام الحجرية تتكون بشكل كبير على النبات المصاب، وهي التركيب المقاوم للظروف البيئية غير المناسبة للفطر، وتحافظ على بقاء الفطر حياً خلال الشتاء القارص .

المبيدات الكيماوية، غالباً غير فعالة ضد الفطر الممرض، وهي غير اقتصادية أو غير متوفرة . بالإضافة لذلك فان استعمال مبيدات الآفات المختلفة، من ضمنها المبيدات الفطرية، يمكن أن يؤثر تأثيراً ضاراً على المحصول، بالإضافة الى اضرار البيئة، وبالتالي أصبح من الضروري استعمال المقاومة الحيوية فى مقاومة هذا الفطر. هناك تحضيرات مختلفة من عوامل المقاومة الحيوية مثل *Gliocladium virens, Trichoderma spp* . وبعض أنواع البكتيريا، إما لوحدها أو مع تشميس التربة أو معاملة بذور فى الحقل لخفض أمراض الخضروات المتسببة عن الفطر الممرض *S.rolfsii* .

هناك عدة تقارير أثبتت أن كفاءة عوامل المقاومة الحيوية، لا تعتمد فقط على عامل المقاومة الحيوية وتخصصه، وإنما أيضاً على عزلات الكائن الممرض *S.rolfsii* . أثبتت الأبحاث الأولية فى المقاومة الحيوية على الفطر *G.virens* أن العزلة *GI- 3* من *G.virens* فعالة جداً فى المقاومة الحيوية ضد الفطر *S.rolfsii* العزلة *Sr-1* .

تعتمد المقاومة الحيوية الناجحة بشكل كبير على التركيبات المناسبة والنظام الفعال في استعمال عوامل المقاومة الحيوية. ذكرت الأبحاث الحديثة طرقاً كثيرة في استعمال عوامل المقاومة الحيوية بطرق تكنولوجية متقدمة كثيراً، من ضمن هذه الطرق استعمال الكتلة الحيوية الميكروبية المحمولة على حامل ترابي خامل Pyrax /Biomass في معاملة البذور، أو استعمال الحبيبات الحيوية أو الكرات أو المساحيق أو المواد الصلبة المحتوية على الكتلة الحيوية النشيطة. إن أسهل الطرق وأكثرها فعالية من هذه التركيبات، هي تجهيز مخلوط من حامل طيني خامل Inert Clay carrier مثل Pyrax مع مواد مخمرة وكتلة حيوية مسحوقية (هذا ما يسمى Pyrax / Biomass). هذه التحضيرات مصنوعة من عزلات من الفطرين *G.virens* و *Trichoderma sp*، فانها تخفض أمراض الرايزوكتونيا في البطاطس والقطن، وأمراض السقوط المفاجئ واللفحة في الفاصوليا المتسببة عن *S.rdfsii*.

مقاومة المرض:

يقاوم مرض سقوط البادرات ولفحة الفاصولياء المتسبب عن الفطر *Sclerotium rolfsii* عزلة *Sr-1* عن طريق استعمال تركيبات، تحوى الفطر المضاد *Gliocladium virens* عزلة G1-3.

لقد ثبت أن العزلة G1-3 تثبط إنبات الأجسام الحجرية للفطر الممرض. لقد أجريت دراسات حقلية حيث كانت تحقن قطع أرض ذات مساحة 1,1 م² بالفطر الممرض، حيث كان يؤخذ 10 غرام من مزرعة الفطر الممرض، وتخلط مع 120 غرام من رمل الكوارتز ويرطب بحوالى 10 مل ماء، وتوزع في مساحة قطعة التجربة ثم تعزق التربة على عمق 5 سم لخلط اللقاح مع التربة. في الوقت نفسه كانت تضاف تحضيرات من Pyrax/ biomass بمعدل 15، 30، 60، أو 120 غرام لكل قطعة على عمق 5 سم، هذه المعدلات تحوى 0,6 x 10⁴، 1 x 10⁴، 2,9 x 10⁴، 6,6 x 10⁴ وحدة تكوين مستعمرات من الفطر *G.virens* عزلة G1-3. أما تجارب الكنترول، فكان يستعمل معها ال Pyrax دون فطر مضاد. وفي تجربة زرعت بذور الفاصوليا بعد معاملتها بالمبيد الفطرى Metalaxy1، ثم سجلت النتائج بعد زراعة البذور بحوالى 11 يوماً و 35 يوماً وفي الوقت نفسه أى بعد 11 و 35 يوماً، حددت تجمعات الفطر لتحديد مدى زيادة أو نقص هذه التجمعات في التربة. فكانت النتائج كما في

جدول (١١٦، ١١٧) حيث يلاحظ في جدول رقم (١١٦) أن نباتات الفاصوليا السليمة بعد ١١ يوماً من الزراعة كانت ٦٢، ٦٤، ٦٠، ٦٣٪ حسب التركيز المستعمل من الفطر المضاد، أما في الكنترول فكانت النباتات السليمة ٢٥٪. أما النباتات السليمة بعد ٣٥ يوماً كانت في الكنترول ٢٠٪ أما في التجارب المعاملة بالفطر المضاد كانت ٥٥، ٥٨، ٥٦، ٦٥٪. أما بالنسبة لتجمعات الفطر في التربة، فقد زادت مع تقدم الوقت بعد الزراعة حتى اليوم ٣٥، ثم تبدأ بعد ذلك في الانخفاض. يلاحظ أن نسبة البادرات السليمة بعد ٣٥ يوماً أقل منه بعد ١١ يوماً، هذا بسبب تدخل كائنات ممرضة أخرى، تكون قد تنبعت في هذه الفترة الطويلة وهاجمت البادرات بالإضافة للفطر الممرض الأصلي.

جدول رقم (١١٦): العلاقة بين تركيز الفطر المضاد *G.virens* في الحامل Pyrax/ Biomass ونسبة البادرات السليمة من الفاصوليا بعد ١١، ٣٥ يوماً.

% نسبة البادرات السليمة بعد		المعاملة تركيز الكائن المضاد
١١ يوماً	٣٥ يوماً	
٢٥	٢٠	كنترول (صفر)
٦٢	٥٥	١٠ x ٠,٦
٦٤	٥٨	١٠ x ١
٦٠	٥٦	١٠ x ٢,٩
٦٣	٦٥	١٠ x ٦,٦

هذه الدراسة تؤكد أن ال Pyrax /Biomass المحتوى الفطر المضاد *G.virens* تمنع حدوث مرض سقوط البادرات في الفاصوليا المتسبب عن الفطر *S.rolfsii*، وتبين أن المعدلات المستعملة في التجربة، هي أقل من التركيزات التي كانت تستعمل في تجارب سابقة، حيث كان يستعمل معلق الجراثيم دون أن يحمل على مواد حاملة خاملة مثل Pyrax، وبالتالي يحقق لنا قلة التكاليف من حيث قلة عدد الجراثيم اللازمة للاستعمال، بالإضافة لرخص ثمنه، إذا قورن بالحوامل الأخرى مثل بودرة التلك.

جدول رقم (١١٧): يبين زيادة تجمعات الفطر المستعمل في المقاومة *G.virens* في التربة بعد فترات مختلفة من إضافته إليها.

المعاملة	عدد الأيام بعد إضافة المسحوق للتربة	لوجارتم العدد النهائي لـ cfu / غرام تربة
Pyrax/biomass g/ l.l M ² soil	15	3,81
	15	3,8
	15	3,91
	30	4,01
	30	4,32
	30	4,16
	60	4,46
	60	5,12
	60	4,79
	120	4,82
	120	5,54
	120	5,19

٢- العفن الأبيض

مقدمة:

يعتبر الفطر *Sclerotinia sclerotiorum* من الفطريات الممرضة وشديدة الخطورة، بسبب أمراضاً على حوالي ٤٠٨ أنواع نباتية. يشار إلى المرض الناتج عن هذا الكائن الممرض باسم العفن الأبيض White mold، ويسبب خسائر في الإنتاج في كثير من المحاصيل المهمة اقتصادياً، مثل: عباد الشمس، كانولا، الجزر والفاصوليا. قبل أن يهاجم الفطر أنسجة النبات السليمة فإن جراثيمه تتطلب مصدراً خارجياً للطاقة. في حالة العفن الأبيض في الفاصولياء، فإن أهم مصدر عادي للطاقة هو أجزاء الزهرة القديمة. بعد استعمار مصدر الطاقة (التغذية) هذا فإن الكائن الممرض يخترق الأنسجة الحية المجاورة ويبدأ المرض. فالإصل في الإصابة بهذا الفطر هو استعمار بتلات الأزهار.

هناك عدة عوامل، من المعروف، أنها تؤثر على عملية استعمار بتلات الأزهار بواسطة الفطر الممرض *S.sclerotiorum*. لقد وجد أن حرارة الهواء والرطوبة النسبية وكفاءة الماء Water potential وتقلبات رطوبة أسطح النبات كلها، تؤثر على إنبات الجراثيم الأسكية ونمو ميسيليوم الفطر، وتؤثر على قدرته على استعمار البتلات القديمة، في هذه الحالة يجب على الفطر الممرض أن يتنافس مع الفطريات الخيطية، البكتيريا والخمائر، التي يعرف بأنها ساكنات بتلات الفاصولياء. معظم هذه الكائنات الدقيقة مضادة للفطر *S.sclerotiorum*. في التجارب المعملية في المعمل أو الصوبا الزجاجية، قد تم عزل كل من الفطريات الآتية:

- 1 - *Cladosporium cladosporioides*
- 2 - *Alternaria alternate*
- 3 - *Drechslera sp.*
- 4 - *Epicoccum purpurascens, E.nigrum*
- 5 - *Fusarium graminearum*
- 6 - *Fusarium heterosporum*

هذه الفطريات تخفض من شدة وحدوث المرض، وتعتبر كائنات مضادة ومن عوامل المقاومة الحيوية. عند إضافة هذه الكائنات الى نباتات الفاصولياء المحقونة طبيعياً تحت ظروف الحقل، يكون هناك انخفاض ظاهر في المرض ويكون بنسب مختلفة. يعزى الاختلاف في كفاءة عوامل المقاومة الحيوية هذه تحت ظروف الحقل، إلى العوامل البيئية المؤثرة على حيوية ونشاط عوامل المقاومة الحيوية.

مقاومة المرض:

أ- باستعمال الفطريات:

يمكن مقارنة العفن الأبيض في الفاصولياء باستعمال الفطر *Alternaria alternate* وذلك بتركيز 2 x 10⁶ جرثومة / مل رشاً على الأوراق في المراحل الأولى من الإنبات بحيث تكون درجة الحرارة أقل من 20° م، والرطوبة النسبية أقل من 80%، هذا الرش يخفض الإصابة بالمرض من 21 - 100% بالمقارنة مع الكنترول، وذلك حسب درجة الحرارة والرطوبة النسبية. وجد أنه عندما تكون درجة الحرارة 24° م والرطوبة النسبية 100%.

تنخفض كفاءة هذا الفطر في المقاومة الحيوية، وتظهر أعراض المرض على شكل بقع، وكذلك عندما تكون الرطوبة النسبية ٩٥% على حرارة ٢٤° م تنخفض كفاءة المقاومة الحيوية، وينخفض التأثير أكثر على حرارة ٢٨° م ورطوبة نسبية ٩٥%، في هذه الظروف يسبب الفطر الممرض بقعاً على الأوراق تصل إلى قطر ٤ ملم، وقد يصل قطر البقعة إلى ١٦ ملم على حرارة ٢٠° م ورطوبة نسبية ٩٥%. أما على رطوبة نسبية ١٠٠% وحرارة ٢٠° م، إلى ٢٤° م فيكون قطر البقعة ٤٠ ملم.

يمكن استعمال الفطر *Epicoccum nigrum* بتركيز ١٠ x ٢° جرثومة/ مل في مقاومة المرض، وإن كفاءة وفعالية هذا الفطر لا تتأثر باختلاف درجات الحرارة أو الرطوبة النسبية السائدة أثناء المعاملة. يخفض هذا الفطر المضاد الإصابة ١٠٠% وذلك لأن هذا الفطر يتأثر بدرجة تأثر الفطر الممرض نفسها من حيث الحرارة والرطوبة النسبية ويكون شديد المنافسة له.

ومن الجدير بالذكر أن نشاط وقوة المرضية للفطر الممرض على نباتات الفاصوليا تختلف حسب درجة الحرارة السائدة والرطوبة النسبية. أول من ذكر هذا التقرير هو Hannusch & Boland سنة ١٩٩٦. وقد ذكراً أيضاً أن تأثير درجة حرارة الهواء على مرض العفن الأبيض في الفاصوليا هو كالاتي: درجة حرارة ١٥-٢٥° م أفضل درجة حرارة لتكشف البقع (أعراض الإصابة) على الأوراق، درجة حرارة ٣٠° م يتوقف تكشف بقع الإصابة تماماً. وقد ذكر الباحثان أن الفطر الممرض *S.sclerotiorum* يمكن أن يحدث المرض تحت ظروف عالية الرطوبة الجوية، والتي تجعل أسطح النبات رطبة ومبللة، مع توفر أفضل درجة حرارة لنموه، وهي ٢٤° م.

ب- باستعمال البكتيريا:

كما سبق وذكرنا أن مرض العفن الأبيض في الفاصولياء والبقوليات الأخرى يتسبب عن الفطر *Sclerotinia sclerotiorum*، وهو ينشأ معتمداً على إنبات الجراثيم الأسكية على الأزهار، واستعمال بتلات الأزهار كمصدر غذائي للميسيليوم، قبل أن يخترق هذا الميسيليوم أنسجة النبات الخضراء. إن المقاومة الحيوية التي تعتمد على استعمال كائنات حية دقيقة

مضادة، تستعمر الأزهار، وتمنع تمكن الكائن الممرض منها، قد تنبه إليها كثير من الباحثين، ووضعوها في الاعتبار للقضاء على هذا الفطر في مراحل الأولى.

على الرغم من الأسبقية في استعمال البكتيريا في مقاومة الأمراض، التي تكون فيها الزهرة ساحة العدوى الأولية، إلا أن هناك قليلاً من الأبحاث تتعلق باستعمال البكتيريا ضد مرض العفن الأبيض في البقوليات. لقد ذكر Huang *et al* سنة ١٩٩٣ أنه يمكن تثبيط العفن الأبيض على الفاصوليا الجافة الصالحة للأكل باستعمال البكتيريا *Erwinia herbicola* سلالة B1، تحت ظروف الصوبا الزجاجية، ولكن كانت النتيجة غير ذلك في التجارب الحقلية. بعد رش المعلق البكتيري على النباتات في الحقل، فإن السلالة B1 تبقى حية على الأوراق، وتستعمر الأزهار خلال الفترة الأولى من التزهير، وبالتالي فإن تواجد البكتيريا على النبات لمدة طويلة قبل الأزهار ليس من العوامل المحددة المهمة في مقاومة المرض.

اكتشفت السلالة B2 على أزهار نباتات الفاصوليا المعاملة في التجارب الحقلية بتجمعات على مستويات تتراوح من ٢١٠ - ٦١٠ وحدة تكوين مستعمرات لكل زهرة. وباعتبار أن الفطر الممرض يستطيع أن ينبت بعد ٣ ساعات، ويحترق أنسجة الزهرة بعد ٢٤ ساعة ويستعمر الزهرة بعد ٤٨ ساعة، فإن مقدرة الكائن المضاد على أن يتكاثر ويصل إلى تجمعات مستويات فعالة ويحث على ميكائزم تثبيط الكائن الممرض ضمن هذه الفترة، يعتبر الإطار المهم لفعالية عامل المقاومة الحيوية.

تحدث التغيرات الكبيرة في فسيولوجيا الزهرة خلال فترة النضج والشيخوخة، ويمكن أن تحسب هذه التغيرات لصالح الإصابة بالفطر في الأزهار المتفتحة، وليس في البراعم الخضراء. لقد ذكر بأن البكتيريا المضادة التي تهاجم الكائنات الممرضة التي تصيب الزهرة تحتل مراكز معينة في الزهرة، وهذا يؤدي إلى القول بأن الاستعمار بواسطة البكتيريا من المحتمل أن يتأثر أيضاً بفسولوجيا الزهرة.

إن أفضل درجة حرارة للنمو المخبري لسلالات *E. herbicola* قد ذكرت بأنها بين ٢٨-٣٠ م، هذه الدرجة تمثل السقف العلوي المحدد لإصابة الزهرة بالفطر الممرض، والتي تكون أكثر ملاءمة على ٢٠-٢٥ م.

مقاومة المرض:

هناك ثلاث سلالات من البكتيريا *Erwinia herbicola* تستعمل على أزهار الفاصولياء، قبل أن تحقن بالجراثيم الأسكية للفطر الممرض. إن تثبيط إنبات الجراثيم الأسكية كما في جدول رقم (١١٨)، حيث إنه بعد تحضين البكتيريا مدة ٢٤ ساعة ينخفض إنبات الجراثيم الأسكية من ٧٨٪ في الكنترول إلى ٢٠٪ في المعاملة. مع أن سلالات البكتيريا تسلك سلوكاً متشابهاً في التكاثر على الأزهار، إلا أن التركيز يزداد بسرعة أكثر على الأزهار، حيث إنه يكون في البداية أقل من ١٠ وحدة تكوين مستعمرات لكل زهرة؛ حتى يصل إلى تركيز أكبر من ١٠ وحدة تكوين مستعمرات لكل زهرة خلال ١٦ ساعة على حرارة ٢٥° م، وهي تكون فعالة في تثبيط الكائن الممرض بعد فترات مختلفة من التكاثر ومستويات مختلفة من التجمعات.

جدول رقم (١١٨) : تأثير سلالات البكتيريا *E. herbicola* المستعملة على أزهار الفاصولياء من حيث نسبة إنبات الفطر الممرض، مساحة البقع الممرضة وزيادة أعداد البكتيريا بعد التحضين.

السلالات	% إنبات جراثيم الفطر الممرض تحت تأثير البكتيريا المحضنة مدة (ساعة)			ملم مقياس بقع المرض بعد تحضين البكتيريا مدة (ساعة)			زيادة اعداد البكتيريا بعد فترة تحضين (ساعة)		
	صفر	٦	٢٤	صفر	٦	٢٤	صفر	٦	٢٤
كنترول	٧٨	٦٠	٧٥	٣,٨	٣,٦	٤,٠	—	—	—
سلالة B1	٧٠	٧٥	٢٠	٤,-	٤,-	١,٥	٢١٠	٤,٣١٠	٨١٠
سلالة B346	٧٥	١٠	٩	٣,٧	١,٢	١,-	١,٩١٠	٤,٥١٠	٨٠١٠
سلالة B367	٨٠	١٨	٣	٣,٦	١,٣	١,٢	١,٩١٠	٤,٤١٠	٧,٨١٠

ملاحظات على الجدول:

كانت تحقن الأزهار بالجراثيم الأسكية بعد فترة التحضين المذكورة. كانت تحسب نسبة إنبات الجراثيم بعد ٤ ساعات من الحقن. مساحة البقعة كانت تحسب بعد ٣ أيام من حقن الأزهار بالجراثيم الأسكية. مقياس البقع من ١ - ٤: حيث إن ١ = لا تتشكل بقع: ٢ = قطر البقعة أقل من ١ سم ٣ = قطر البقعة من ١ - ٣ سم. ٤ = قطر البقعة أكبر من ٣ سم.

تتطلب السلالة البكتيرية B1 تحضيناً لمدة ٢٤ ساعة على الأقل حتى تقوم بعملية تثبيط نباتات ونمو الفطر الممرض، وبالتالي تثبيط المرض، بينما السلالات B367، B346 تكون قادرة على تثبيط المرض بعد تحضينها لمدة ٦ ساعات فقط، عندما يكون مستوى تجمعها أقل من ١٠^٥ وحدة تكوين مستعمرات/ زهرة. إن تكاثر جميع السلالات يكون محدوداً بزهرة الفاصوليا في مرحلة تفتحها الكامل (الطور الناضج)، والذي يستمر يوماً واحداً تحت ظروف الحقل. تختلف السلالات في مقدرتها على حفظ نبات الفاصوليا من الإصابة بمرض العفن الأبيض، وذلك حسب مقدرتها على استعمار أجزاء النبات التي يخترق منها الكائن الممرض. لقد وجد أنه عند استعمال السلالة B346 والسلالة B367 على البراعم المغلقة، فتكون مقدرتها التصادية ضد الكائن الممرض، تظهر أولاً عندما تصبح الأزهار كاملة التفتح، وتستمر هذه المقدرة حتى تصبح الزهرة في مرحلة الشيخوخة وأخيراً تتلف. أما بالنسبة للسلالة B1 فإن تثبيطها للكائن الممرض، لا يبدأ إلا حين بداية وصول الأزهار طور الشيخوخة.

إن تكاثر وتضاد سلالات البكتيريا *E.herbicola* على الأزهار في المعمل يكون في أشده على حرارة من ٢٨ - ٣٠ م، وينخفض كثيراً على حرارة ٢٠ م. إذا كانت درجة حرارة عروش الفاصوليا أقل من ٢٠ م (وهي غير مناسبة لنمو البكتيريا *E.herbicola*) بمعدل أكبر من ١٦ ساعة يومياً، فهي تكون محددة لمقدرة سلالات البكتيريا على التكاثر، حتى عندما تكون الأزهار في طور النضج. أما درجة الحرارة ٢٥ م على الأقل لمدة ٦ ساعات يومياً، تكون مناسبة لتكاثر البكتيريا وتقل الإصابة بالمرض (جدول رقم ١١٩).

يجب ملاحظة أن تثبيط المرض باستعمال السلالة B1 لا يحدث إلا عند وصول أعداد هذه البكتيريا إلى مستوى أكبر من ١٠^٦ وحدة تكوين مستعمرات لكل زهرة، وأن تبقى على هذا التركيز لمدة ٨ ساعات على الأقل.

أما بالنسبة للسلالتين B367، B346 يمكن أن تقوم بعملها في تثبيط المرض، عندما يكون تركيزها ١٠^٤ وحدة تكوين مستعمرات لكل زهرة.

ترجع كفاءة سلالات البكتيريا *E.herbicola* في المقاومة الحيوية إلى مقدرتها على إفراز مادة Herbicolin A، وهذه المادة فعالة في تثبيط الكائنات الممرضة المستعمرة للسطح

الورقي أو منطقة رايزوسفير الجذر. أكثر السلالات إفرازاً لمادة Herbicolin A هي السلالة B247

جدول رقم (١١٩) : تأثير درجة الحرارة على كفاءة البكتيريا *E.herbicola* ضد الفطر *S.sclerotiorum* على ازهار الفاصوليا، حيث تقاس الأعراض على الأوراق المتصقة بالنبات بعد فترات مختلفة من قبل الحقن بالبكتيريا على الأزهار.

السلالة	فترة التحضين قبل الحقن بالبكتيريا	درجة الحرارة المنوية التي حققت عليها الأزهار	دليل البقع	مستوى تجمعات الأزهار لكل زهرة
السلالة B367	٦	٢٠	٣,٢	٣,٥٨١٠
	---	٢٨	١,٨	٤,٣١٠
	٢٤	٢٠	١,-	٧,١٨١٠
	---	٢٨	١,-	٧,٢٦١٠
	٢٤	٢٠	٢,٧	٧,٥٤١٠
	---	٢٨	١,٣	٨,٢٦١٠
B1	٦	٢٣	٣,٣	صفر
	٢٤	٢٣	٣	صفر
كنترول				

ملاحظات على الجدول:

دليل المرض كما في الجدول السابق. كانت تستعمل سلالات B1 و B367 كمعلق خلوي على الأزهار بمعدل ٣,٥١٠ وحدة تكوين مستعمرات/ زهرة. عوملت كل زهرة بجراثيم أسكية ٣١٠ جرثومة/مل قبل الحقن بالبكتيريا، ثم توضع على أوراق الفاصوليا، وتحفظ في مرآد على حرارة ٢٣ °م. بعد ثلاثة أيام يقاس دليل المرض.

٣- عفن بوترايتس على اوراق الفاصوليا.

مقدمة :

يهاجم الفطر *Botrytis cinerea*، السيقان، الأوراق، الازهار والثمار لكثير من المحاصيل ومن أهمها الفاصولياء. بعد دراسات عديدة تبين أن الفطر *Trichoderma harzianum* العزلة T39 عامل مقاومة حيوية فعال يستعمل ضد هذا الكائن الممرض تحت الظروف التجارية. هناك عدة ميكانيكيات قد اقترحت لتفسير الدور، الذي يقوم به الفطر المضاد *T.harzianum* في المقاومة الحيوية. مثلاً المنافسة على الغذاء والمكان قد اقترحت في تفسير مقاومة الفطر *B.cinerea*: نظراً لأن هذا الفطر يتطلب مواد غذائية خارجية للإنبات ولاستطالة أنبوية الإنبات لمدة من الزمن تستغرق عدة ساعات على السطح الورقي قبل اختراق النبات العائل. كذلك فإن ظاهرة فوق التطفل Mycoparasitism ضد الفطر *B.cinerea* قد ذكرت بواسطة Belanger et al سنة ١٩٩٥ وبواسطة Tronomo & Raa سنة ١٩٧٧. أما Lorit et al سنة ١٩٩٣ فقد ذكر أن هناك مثبطات فطرية يفرزها *T.harzianum* ضد الفطر *B.cinerea* بواسطة إنزيمات Chitinolytic. كذلك فإن إنتاج المواد المثبطة او المضادات الحيوية تثبط تجرثم الفطر الممرض وتخلق مقاومة مستحثة ضده، كل ذلك يدخل في مقاومة هذا المرض.

الإنزيمات المحللة للبكتين خارج الخلايا Extracellular pectolytic enzymes للكائن الممرض تلعب دوراً مهماً في المرضية. هناك مجموعة مختلفة من الإنزيمات البكتينية تنتج بواسطة الفطر *B.cinerea* من بينها hydrolases مثل إنزيم Polygalacturonase (PG) وبكتين ميثيل استريز (PME) وإنزيم lyases مثل Pectate lyase (PL). الإنزيمات المحطمة للبكتين تحطم تركيب جدر خلية النبات، الجزيئات المنطلقة من جدار الخلية بواسطة هذه الإنزيمات تغير استجابة النبات للدفاع. وجد أن عزلة T39 من الفطر *T.harzianum* لها تأثير مثبط لنشاط الإنزيمات المحطمة للبكتين المفروزة من قبل الكائن الممرض *B.cinerea*، وأن نسبة تثبيط هذه الإنزيمات تتراوح من ٣٠ - ٨٣% وذلك حسب نوع الإنزيم.

مقاومة المرض:

يقاوم مرض بوترايتس على أوراق الفاصولياء المتسبب عن الفطر *Botrytis cinerea* بواسطة الفطر المضاد *Trichoderma harzianum* السلالة T39، وذلك بتركيز ١٠٪ جرثومة كونيدية/مل رشا على الأوراق، ولكن حقن النبات بهذا المعلق يعطى نتيجة أفضل.

إن إنبات واستطالة أنبوية الإنبات في الجراثيم الكونيدية للكائن الممرض على أوراق الفاصولياء تنخفض في وجود عامل المقاومة الحيوية T39. يلاحظ خفض حوالى ٢٠ - ٥٠٪ في كثلة أنبوية الإنبات بعد ٢٠ ساعة من الحقن. هذا الخفض في الإنبات لا يؤدي الى منع تام لتكشف المرض على الأوراق. بعد يوم واحد من الحقن فإن شدة المرض على الأوراق بالكائن الممرض، سواء كان عامل المقاومة الحيوية موجوداً أو غير موجود، تكون متشابهة حيث يظهر حوالى ١٠٪ مناطق متحللة (مصابة)، بعد ذلك يتكشف المرض بسرعة في نباتات الكنترول، ويسبب تقزماً ونكروزز تاماً على الورقة ١٠٠٪، بينما في حالة وجود الفطر المضاد فإن مناطق الإصابة النكروزية تصل حوالى ٥٠٪ من سطح الورقة (جدول رقم ١٢٠).

إن إنتاج الإنزيمات المحطمة بواسطة الفطر الممرض، عند قياسها بعد أربعة أيام من الحقن كانت حوالى ١,٣ وحدة إنزيمية من الإنزيم (PG) وحوالى ٩ Microequivalents من هيدروكسيد الصوديوم، والذي يعطى دليلاً على نشاط إنزيم (PME) وحوالى ١,٥ وحدة من أنزيم (PL) أمكن اكتشافها على أوراق الفاصولياء. تحت الظروف نفسها، فإن الفطر المضاد لا ينتج أيّاً من هذه الإنزيمات. أما على الأوراق المصابة بالكائن الممرض في وجود عامل المقاومة الحيوية، فإن نشاط إنزيم (PG) المفرز من الكائن الممرض انخفض بحوالى ٤٠ - ٨٣٪، وكان هناك خفض حوالى ١٠٠٪ في نشاط إنزيم (PME)، وحوالى ٣٠٪ خفضاً في نشاط إنزيم PL.

اعتماداً على هذه النتائج المذكورة يمكن القول بأن الفطر المضاد *T.harzianum* يقوم بدوره في المقاومة الحيوية عن طريق خفض نشاط أنزيمات الكائن الممرض، وهذا يعطى تأثيراً غير مباشر في تشجيع وسائل الدفاع في العائل.

جدول رقم (١٢٠) : يبين تأثير الكائن المضاد على شدة المرض المتسبب عن الفطر B.cinerea بعد ١ - ٤ أيام من الحقن .

المعاملة	عدد الأيام بعد الحقن	دليل شدة المرض
الكائن الممرض لوحده	١	٢
الكائن الممرض لوحده	٢	٤,٥
الكائن الممرض لوحده	٣	٧,-
الكائن الممرض لوحده	٤	٦,٩
الكائن الممرض + الكائن المضاد	١	١,٥
الكائن الممرض + الكائن المضاد	٢	١,٦
الكائن الممرض + الكائن المضاد	٣	٣,٤
الكائن الممرض + الكائن المضاد	٤	٣,٢

ملاحظات على الجدول :

يستعمل الكائن الممرض حقناً في الأوراق بتركيز 10×10^6 جرثومة كونيديا/مل.

يستعمل الكائن المضاد حقناً في الأوراق بتركيز 10^7 جرثومة كونيديا/مل.

يقسم دليل المرض من ١ - ٧ : حيث إن صفر = دون أعراض. ١ = ١٢٪ من مساحة الورقة مصابة تحت نقطة الحقن. ٢ = ١٣ - ٢٥٪ من مساحة الورقة مصابة تحت نقطة الحقن. ٣ = ٢٦ - ٥٠٪ من الورقة مصابة. ٤ = ٥١ - ١٠٠٪ من مساحة الورقة مصابة. ٥ = امتداد منطقة التحلل بعد مساحة نقطة الحقن حوالي ٦ ملم. ٦ = امتداد منطقة التحلل حول نقطة الحقن بحوالي ٢ - ٥ ملم. ٧ = امتداد منطقة التحلل بعد نقطة الحقن أكثر من ٥ ملم.

عند مقارنة استعمال عزلات أخرى من الفطر المضاد، كما هو واضح من جدول رقم (١٢١)، يتبين أن العزلة T39 تخفض المرض معنوياً وتخفض نشاط إنزيم PG للكائن الممرض بعد يوم ويومين من الحقن، مع أن نشاط PG لم يخفض بواسطة T39 في اليوم الثالث من الحقن، إلا أن شدة المرض تأثرت بالخفض السابق للنشاط الإنزيمي.

أما عن تأثير الفطر المضاد على نشاط إنزيمات الفطر الممرض *B.cinerea*، والتي يفرزها في أوراق الفاصوليا وتحطم البكتين مثل *PME* و *PL* فلقد وجد (جدول رقم ١٢٢) أن السلالة T39 من الفطر المضاد لا تنتج أيًا من *PME* أو *PL* على أوراق الفاصوليا. أما نشاط هذين الإنزيمين المفرزين من الفطر الممرض على أوراق الفاصوليا عند استعمال ٤ غرامات من KH_2PO_4 / لتر لزيادة تشجيع وحدوث المرض، حيث إن الفوسفات تشجع اختراق الفطر وتزيد نشاط بعض الإنزيمات البكتينية (والفطر المضاد) فقد أدى ذلك إلى خفض نشاط هذه الإنزيمات بحوالي ٣٠ و ١٠٠٪ بالترتيب قياسا لنشاطهما عند غياب عامل المقاومة الحيوية.

جدول رقم (١٢١) : تأثير عزلات الفطر المضاد تريكوديرما على نشاط إنزيم PG وشدة المرض المتسببة عن *B.cinerea*.

فترة التحضين بالأيام						عزلات الفطر المضاد Trichoderma
٣ أيام		يومية		يوم واحد		
عدد وحدات PG	شدة المرض	عدد وحدات PG	شدة المرض	عدد وحدات PG	شدة المرض	
١،-	٦،٢	١،٢	٣،١٨	٠،١٨	١،٤٧	كنترول
١،١	٢،٥	٠،٧	١،٥٨	٠،٠٣	٠،٤٦	T - 39
١،٣	٦،٤	١،٣٤	٣،٦٥	٠،٩٠	١،٨٥	T - 28
١،٢٨	٥،٥	١،١٧	٢،٧	٠،١٥	١،٦٢	T - 99

ملاحظات على الجدول:

شدة المرض مقسمة من صفر إلى ٧، كما في الجدول السابق.

وحدة واحدة من الإنزيم = كمية الإنزيم التي تطلق (1 um) حمض جلاكتيورونيك في ساعة واحدة.

جدول رقم (١٢٢): تأثير الكائن المضاد *T.harzianum* عزلة T39 على الفطر الممرض *B.cinerea* المزود بتركيز ٤ غرام KH_2PO_4 / لتر بعد ثلاثة أيام من الحقن.

المعاملة	شدة المرض	نشاط PL	نشاط PME
الكائن الممرض لوحده	٣,٩	١,٥	٨,٥
الكائن الممرض + الكائن المضاد	٠,٣	١,-	صفر

ملاحظات على الجدول :

شدة المرض تقسم كما في الجدول السابق .

الوحدة الواحدة من إنزيم PL = كمية الإنزيم التي تسبب زيادة حوالى ٢,٦ فى الادمصاص على ٢٣٥ نانومير، والذي يساوى انطلاق واحد من $Umol$ مجموعة أدهايد.

الوحدة الواحدة من إنزيم PME = عدد المكروكوفيلنت من هيدروكسيد الصوديوم الممتص / مل من الراشح المنتج من أوراق الفاصوليا/ ساعة.

ثالثاً: الحمص

١- عفن بوترايتس في بذور الحمص

مقدمة:

يعتبر محصول الحمص ثالث أهم محصول بقولى فى العالم بعد الفاصولياء Beans والبسلة Peas. الأبحاث التى أجريت على الفطر *Botrytis cinerea* على نبات الحمص *Cicer arietinum*، كانت قد تركزت على إصابة المجموع الخضرى، والتى عادة ما تحدث وقت التزهير. فى الجنوب الشرقى من أستراليا تحدث الإصابة بالفطر *B.cinerea* أثناء إنبات البذور وخلال ظهور البادرات فوق سطح التربة، مسببا انخفاضاً كبيراً فى نسبة الإنبات، ومسبباً مرض العفن الطرى فى أسفل الساق (هذا ما وجده Bretag & Mebalds سنة ١٩٨٧) لذا يمكن اعتبار الفطر *B.cinerea* من الفطريات الكامنة فى البذور، وعادة ما يقاوم بمعاملة البذور بالمبيدات الفطرية. يمكن استئصال الفطر *B.cinerea* من بذور الحمص باستعمال الحرارة الرطبة أو باطالة مدة التخزين (هذا ما وجده Burgess et al سنة ١٩٩٧).

وعلى أية حال فإن استعمال عامل المقاومة الحيوية مع البذور بمصاحبة البكترة *Rhizobium* يمكن أن يودى الى مقاومة فعالة وتثبيت جيد للفطر. يتواجد الفطر الممرض بكثرة على قشرة بذور الحمص (هذا ما وجده Burgess سنة ١٩٩٧)، وبالتالي من الممكن وبسهولة مقاومته بالكائنات المضادة التى يعامل بها سطح البذور بشكل خاص.

هناك بعض الفطريات المضادة للفطر *B.cinerea* قد درست وعرفت تماماً منذ سنة ١٩٩٢ بواسطة العالم Dubos. أهم هذه الفطريات أنواع *Gliocladium* و *Trichoderma*. أفضل النتائج حصل عليها من استعمال الفطر *T.harzianum* لمقاومة إصابة المجموع الخضرى لكثير من النباتات وخاصة الحمص، عندما يضاف إلى المجموع الخضرى تحت ظروف بيئية متحكم بها.

مقاومة الفطر الممرض:

يقاوم الفطر *B.cinerea* على الحمص باستعمال الفطر المضاد *Gliocladium roseum*، وقد درس هذا الفطر كالاتى:

أ- تأثير الكائن المضاد علي تجرثم الكائن الممرض

لدراسة تأثير الكائن المضاد *G.roseum* على تجرثم الفطر الممرض *B.cinerea* على بذور الحمص المصابة طبيعياً أو المحقونة صناعياً بالفطر الممرض، كانت تجرى عملية الدراسة بالفحص في أطباق بتري. كانت تؤخذ كمية من البذور، وتحقن بمعلق جرثومي من الفطر الممرض بتركيز 10^4 جرثومة كونيديية/مل ثم في اليوم الثاني تعامل بمعلق جرثومي من الكائن المضاد بتركيز $10^5 - 10^6$ جرثومة كونيديية/مل، أو تحقن بالمبيد الفطري ثيرام SDW ثم توضع في طبق به (Semi selective agar medium) BSM. تحضن البذور المعاملة لمدة 14 يوماً على حرارة 20°C مع 12 ساعة إضاءة.

لقد وجد أن حدوث تجرثم الفطر الممرض على بذور الحمص المحقونة به طبيعياً أو صناعياً كان متشابهاً في غياب الفطر المضاد *G.roseum* (جدول رقم 123). أما في حالة وجود الكائن المضاد سواء كان طبيعياً أو صناعياً بتركيز 10^7 و 10^8 جرثومة كونيديية/مل يثبط تجرثم الفطر الممرض بالترتيب.

ب- تفاعل الكائن المضاد مع بكتيريا العقد الجذرية

الدراسات المتعددة التي أجريت لمعرفة تفاعل الكائن المضاد مع بكتيريا العقد الجذرية على الحمص، أثبتت أنه لا يوجد تفاعل بين الرايزوبيوم على اختلاف نسبة تركيزه عند حقنه لبذور الحمص، وتركيز الفطر المضاد، على البادرات الناتجة من بذور محقونة بالفطر الممرض *B.cinerea*. لا يوجد فرق معنوي في أعداد العقد الجذرية عند معاملة البذور بالفطر المضاد تركيز 3×10^7 جرثومة كونيديية/مل في أول خمسة سنتيمترات في أعلى الجذر الأصلي، وذلك بعد عشرة أسابيع من الزراعة. جدول (124) يبين تأثير معاملة البذور بالفطر المضاد تركيز 3×10^8 جرثومة كونيديية/مل على حدوث العقد الجذرية في منطقة الثلاثة سنتيمترات العلوية من الجذر بعد ستة أسابيع من الزراعة.

جدول رقم (١٢٣): تأثير معاملة بذور الحمص بالفطر *G.roseum* أو المبيد الفطري الثيرام على تجرثم الفطر الممرض *B.cinerea*.

% تجرثم الفطر الممرض في حالة حقنه في البذور		المعاملة تركيز الفطر المضاد
صناعيا	طبيعيًا	
٨٣,٣	٨٣,٣	كنترول (ماء)
٣٧,٢	٣٦,٧	١٠ ^٥ جرثومة /مل
٣٢,٢	٣٠,-	١٠ ^٦ جرثومة /مل
٢١,-	٢٠,-	١٠ ^٧ جرثومة /مل
١٦,٣	١٣,٣	١٠ ^٨ جرثومة /مل
--	٦,٧	الثيرام

جدول رقم (١٢٤): تأثير معاملة بذور الحمص بالفطر المضاد على أعداد العقد الجذرية المتكونة على مسافة ٣ سم من قمة الجذر الرئيسي لنبات الحمص بعد ٦ أسابيع من الزراعة.

متوسط عدد العقد الجذرية	معاملة البذور
١٣,٣	الفطر الممرض ٣ X ١٠ ^٥ + ثيرام
١٢,٧	الفطر الممرض ٣ X ١٠ ^٥ + الفطر المضاد
١٠,-	الفطر الممرض ٣ X ١٠ ^٣ + ماء مقطر
١٤,٧	الفطر الممرض ٣ X ١٠ ^٣ + الفطر المضاد

ج- تجرثم الفطر المضاد عند وجوده مع الفطر الممرض

عند حقن الكائنين معاً في بذور الحمص، ثم وضع هذه البذور في بيئة ملائمة للإنبات (رطوبة و مواد غذائية)، لوحظ أن تجرثم الفطر المضاد *G.roseum* يتفوق كثيراً على تجرثم

الفطر *B.cinerea* ويسبقه بحوالى أسبوع. ولقد لوحظ أن الفطر المضاد يتجرثم بغزارة على سطح البذرة، ويلتف حول الحوامل الكونيدية للفطر الممرض، ولكن لم يلاحظ أن الفطر المضاد يخترق أو ينمو داخل هيفات الفطر الممرض

وجد عند تحضين الفطر الممرض على بيئة PDA المعاملة براشح من مزرعة الفطر *Trichoderma virede*، فإن ذلك يؤدي إلى خفض نمو الفطر *B.cinerea* تسعة أضعاف بالمقارنة مع الكنترول، بينما لا يلاحظ فرق معنوي عند استعمال راشح مزرعة الفطر *G.roseum*، مما يدل على أنه لا توجد مضادات حيوية في راشح الفطر *G.roseum*.

د- تأثير الفطر المضاد على نسبة إنبات البذور

عند دراسة تأثير الكائن المضاد على نسبة إنبات البذور وعلى بقاء البادرات حية (جدول رقم ١٢٥)، تبين أن نسبة البادرات السليمة في الأوعية المزروعة فيها البذور والمحقونة بالفطر الممرض والفطر المضاد بعد خمسة أسابيع من الزراعة، أن نسبة هذه البادرات تزداد من ٢٩,٢% إلى ٥٩,٧% عند حقنها بالفطر المضاد *G.roseum* تركيز ٣ x ١٠^٧ جرثومة كونيدية/مل، ومن ١,٤% إلى ٦٩,٤% عند حقنها بالفطر المضاد نفسه بتركيز ٣ x ١٠^٨ جرثومة كونيدية/مل، وهذا ما يشابه معاملة البذور بالمبيد الفطري ثيرام.

مما سبق يتبين أن الفطر المضاد *G.roseum* السلالة DAR72372 مضاد قوى جداً ضد الفطر الممرض *Botrytis cinerea*؛ حيث إنه يثبط تجرثم الفطر الممرض، ويزيد نسبة البادرات السليمة. وجد أيضاً أن الفطر المضاد يبقى تركيزه في التربة دون تغير معنوي لمدة ٤ أسابيع.

جدول رقم (١٢٥) : تأثير استعمال تركيزات مختلفة من الفطر الممرض والفطر المضاد على بقاء بادرات الحمص حية، بعد خمسة أسابيع من الزراعة، وعلى حرارة مختلفة.

% البادرات الحية على درجات حرارة		المعاملة
١٦ - ٢٠ م	٨ - ١٦ م	
١,٤	١,٤	ماء مقطر + كائن ممرض ١٠ x ٣
١٦,٧	٤,٢	كائن مضاد ١٠ x ٣ + كائن ممرض ١٠ x ٣
٥٠,٠	٢٢,٢	كائن مضاد ١٠ x ٣ + ٧١٠ x ٣ + كائن ممرض ١٠ x ٣
٦٣,٩	٦٩,٤	كائن مضاد ١٠ x ٣ + ٨١٠ x ٣ + كائن ممرض ١٠ x ٣
٢٢,٢	٢٩,٢	ماء مقطر + كائن مضاد ١٠ x ٣
٤١,٧	٢٦,٤	كائن مضاد ١٠ x ٣ + ٦١٠ x ٣ + كائن ممرض ١٠ x ٣
٦٦,٧	٥٩,٧	كائن مضاد ١٠ x ٣ + ٧١٠ x ٣ + كائن ممرض ١٠ x ٣
٨٣,٣	٧٩,٢	كائن مضاد ١٠ x ٣ + ٨١٠ x ٣ + كائن ممرض ١٠ x ٣
٧٦,٤	٧٧,٨	ماء مقطر + كائن ممرض ١٠ x ٣
٧٦,٤	٨٣,٣	كائن مضاد ١٠ x ٣ + ٦١٠ x ٣ + كائن ممرض ١٠ x ٣
٩٤,٤	٨٧,٥	كائن مضاد ١٠ x ٣ + ٧١٠ x ٣ + كائن ممرض ١٠ x ٣
٨٧,٥	٩٣,١	كائن مضاد ١٠ x ٣ + ٨١٠ x ٣ + كائن ممرض ١٠ x ٣

٢- عفن سكلورشييم

تركزت الأبحاث التي تتعلق بتفاعل الميكوريزا مع أمراض النبات، على الأمراض التي تتسبب عن الكائنات الممرضة الكامنة في التربة. تشير معظم الابحاث إلى أن ميكوريزا Vesicular Arbuscular Mycorrhiza (VAM) يخفض من شدة المرض في كثير من الأمراض، ولكن نتائج هذه الابحاث كانت في كثير من الحالات متضاربة، حتى مع الفطر الواحد نفسه. إن فطريات الميكوريزا، أحياناً، تكون واسعة الاختلاف في فعاليتها بين الأنواع المختلفة من نفس العائل، وبالتالي فإن البعض منها يكون أكثر كفاءة من الأخرى. إن نوعية

الميكورهما (تبعية الفطر) يمكن أن تكون أحد العوامل الرئيسية في كفاءة مقاومة الأمراض الكامنة في التربة عن طريق VAM. أجريت تجربة لمعرفة فيما إذا كان اعتماد الميكورهما على نوع العائل يؤثر على التفاعل بين فطر VAM المسمى *Glomus fasciculatum* والكائن الممرض المسمى *Sclerotium rolfsii* في الحمص.

زرعت أصناف من الحمص Jg62 و BG256، الأول قابل والثاني متحمل للإصابة بالعفن المتسبب عن الفطر *Sclerotium rolfsii* في أوعية ذات قطر ٢٠ سم فيها تربة معقمة، وأخرى فيها تربة غير معقمة. كانت تعقم التربة باستعمال ١٪ فورمالدهيد ثم غطيت بقطع من الـ Alkathane لمدة ٤٨ ساعة، بعد أن تكون التربة قد نشرت قليلاً لطرد أدخنة الفورمالدهيد. كانت الزراعة تتم على عمق نصف سنتيمتر تحت مستوى سطح التربة، وكان يزرع في الوعاء عشر بذور. بعد الإنبات بحوالي أسبوع، تزال البادرات الزائدة عن خمس من كل وعاء. يحضر لقاح من فطر الميكورهما السابق *G.fasciculatum* وذلك بتركه يتكاثر على صنف القمح Sujatha لمدة ثلاثة شهور، يؤخذ هذا اللقاح ويضاف مع بذور الحمص وقت الزراعة بنسبة ٥ غرام لكل موضع بذرة (كان هناك ٩ - ١٠ جراثيم/ ٥ غم تربة). كان الفطر الممرض *S.rolfsii* ينمى في دوارق سعة ٢٥٠ مل محتوية بيئة بطاطس - دكتوروز، بيئة سائلة. كانت تجمع مزارع الفطر ذات عمر ٢٠ يوم وتخلط مع تربة وعاء الزراعة بمعدل دورق واحد/ وعاء، وكان اللقاح يضاف إلى التربة قبل زراعة الحمص بمدة ٣-٤ أيام.

كانت النتائج تدرس بعد ١١٠ أيام بحيث يسجل وزن النبات الجاف، وزن الإنتاج من البذور، كذلك كانت تحسب جذور الميكورهما. كانت تصنف جراثيم الفطر VAM حسب طريقة Nicolson & Gerdeman سنة ١٩٦٣. كانت تحسب كفاءة الميكورهما حسب طريقة Plen cheie et al ثم تحسب نسبة إنبات البذور.

في هذه الدراسة وجد أن الصنف Jg 62 يعتمد بنسبة ٧٤٪ على الميكورهما أكثر من الصنف BG 256.

هذا الصنف يعرف بأنه قابل للإصابة بعفن السكر وشيم. عند استعمال فطر VAM كان الإنتاج ضعف ما هو في الكنترول، وكذلك يزيد الوزن الجاف بحوالي ١٠٦,٧٥٪ زيادة عن

الكنترول، وبالتالي يمكن القول أن استعمال الفطر *G.fasciculatum* يحسن جميع صفات الصنف JG62 أفضل من الكنترول جدول رقم (١٢٦).

أما الصنف BG256 كان أقل اعتماداً على الميكوريزا، وبالتالي لم يستجب كثيراً لإضافة فطر VAM.

في هذا الصنف زاد الوزن الجاف بمقدار ٣٨,٤٪ عن الكنترول، ولكن نسبة الإنبات كانت ٢٠,٧٪ أكثر منه في الكنترول، أما بالنسبة لتأثير الميكوريزا على الفطر الممرض، فكان سلبياً، ولم يحدث أى خفض للمرض في هذا الصنف.

التبعية الميكوريزية Mycorrhizal dependency

تعرف التبعية الميكوريزية بأنها درجة اعتماد النبات على حالة الميكوريزا الموجودة لإظهار أعلى نمو وأعلى إنتاج في مستوى معين من الخصوبة للتربة. إن تأثير الاصناف هو واحد من أكثر العوامل أهمية، والذي يؤخذ بعين الاعتبار أثناء دراسة التبعية الميكوريزية للنباتات. إن فعالية الفطر VAM نفسه يمكن أن تختلف كثيراً بين الأنواع المختلفة في النبات العائل، وبالتالي فإن بعض اتحادات الفطر - العائل هي الأكثر تأثيراً من العوامل الأخرى في هذه الدراسة فإن المقاومة الحيوية للكائن الممرض والزيادة في الإنتاج قد حصلت في الصنف JG 62، وليست في الصنف BG256. هذا يؤدي إلى القول بأن التبعية الميكوريزية والمقاومة الحيوية بواسطة VAM تكون متداخلة، ولكي نحصل على أعلى مقاومة حيوية وأعلى فائدة للنمو والإنتاج، فمن الضروري أن يكون هناك تقدير خاص للتبعية الميكوريزية للنبات تحت الدراسة، قبل المقاومة الحيوية بفطر VAM.

جدول رقم (١٢٦): التفاعل بين الفطر المرض *S.rolfsii* والفطر *G.fasciculatum* في أصناف الحمص.

عدد البذور / نبات		غرام الوزن الجاف / نبات		% عدد البذور النابتة من الصنف		المعاملة
JG 62	BG 256	JG 62	BG 256	JG 62	BG 256	
٨	٩	١٠	١٢	٨٠	٦٠	كنترول (ماء)
٥	٧	٣,٥	٤	٤٦	٥٢	الفطر الممرض لوحدة
١٥	١٢	١٥,١	١٢,١	٩٣	٨٦	الميكوريزا لوحدها
١٢	١٠	١٢,٢	٣	٧٥	٣٦	الفطر الممرض + الميكوريزا
---	---	---	---	١٨,٤	%٤	تبعية الميكوريزا

٣- ذبول الفيوزاريوم

مقدمة:

يتسبب مرض ذبول الفيوزاريوم في الحمص عن الفطر *Fusarium oxysporum F.sp.* *ciceris* هذا المرض يكون المحدد لإنتاج الحمص في أماكن زراعته؛ وخاصة في أماكن الإنتاج المشهورة مثل شبه القارة الهندية، ومناطق حوض البحر الأبيض المتوسط. يمكن تقدير نقص الإنتاج الذي يعزى إلى هذا المرض بحوالي ١٠٪ في الهند وإسبانيا، وحوالي ٤٠٪ في تونس.

يستطيع الفطر المسبب للمرض أن يبقى حياً في التربة لعدة سنوات على شكل جراثيم كلاميدية، والتي تخفض بشكل واضح كفاءة الدورة الزراعية في 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 البذور ذات لون بيج مرغوب) والذي يزرع في 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.

محاولات مقاومة المرض حيويًا:

العزلات غير الممرضة من الفطر *F.oxysporum*، من بين أكثر عوامل المقاومة الحيوية اتجاهًا لاتباعها في مقاومة أمراض ذبول الفيوزاريوم المتسببة عن *F.sp.* من الفطر نفسه ولكنها ممرضة. تدل الدراسات على ميكانيكية تثبيط ذبول الفيوزاريوم، التي استعملت في بعض الأراضي الطبيعية، على أن السلالات غير الممرضة من الفطر *F.oxysporum*، تدخل ولها دور في المقاومة الحيوية، وبالتالي فإن استعمال هذه السلالات من هذا الفطر وإضافتها إلى التربة الملوثة بالفطر الممرض، يجعل هذه التربة مثبطة للمرض. لقد ذكر Larkin et al سنة ١٩٩٦ أن السلالات غير الممرضة من الفطر *F.oxysporum* هي العامل الحيوي والمضاد الرئيسي والمسئول عن تثبيط ذبول الفيوزاريوم في البطيخ. لقد فسرت ميكانيكية تثبيط هذا المرض اعتماداً على السلالات غير الممرضة للفطر *F.oxysporum*، وذلك عن طريق:

- ١ - التنافس الرمي على المواد الغذائية على أو بالقرب من سطح الجذر.
- ٢ - المنافسة الطفيلية على أماكن الإصابة على الجذر.
- ٣ - الحث على المقاومة الجهازية في العائل.

لقد ذكر Mandel & Baker سنة ١٩٩١، أن هذه الميكانيكيات لا تغني إحداها بالضرورة عن الأخرى. ولقد ذكر أن الطرق الثلاثة المذكورة، تكون فعالة في أي عزلة مفردة من *F.oxysporum*. هناك دراسات عديدة بينت أن الحقن المسبق للجذور بالسلالات غير الممرضة من الفطر *F.oxysporum* أو سلالات من *F.oxysporum f.spp.*، يمكن أن تحمي عوائل مختلفة من أمراض الذبول الفيوزاريومي بعد الحقن بالفطر الممرض. ولقد أثبتت Hervas et al سنة ١٩٩٢ أن معاملة البذور المنبثة بمعلق من الجراثيم الكونيدية إما

يأخذى السلالات غير الممرضة من الفطر *F.o. ciceris* أو العزلات من *F.oxysporum*، تحفظ أصناف الحمص من المرض المتسبب من السلالة رقم خمسة شديدة المرضية من الفطر *F.o. ciceris*. فى تلك الدراسة فإن حقنة واحدة من الفطر المضاد كانت تقى النبات من الإصابة بالفطر الممرض. كانت تحقن النباتات عن طريق غمر جذورها فى معلق الجراثيم. ولقد وجد أن العزلة Fo9009 من الفطر *F.oxysporum* تخفض بشكل معنوى كمية المرض فى الحمص صنف ICCV-4 و JG 62 بعد حقنها بالسلالة رقم خمسة من الفطر *F.o. ciceris*، بينما السلالة Fo 90105 تحفظ فقط الصنف ICCV-4 من سلالة الكائن الممرض نفسه.

فى بعض الحالات فإن ترافق الفطر غير الممرض من *F.oxysporum* مع بكتيريا الرايزوسفير (البكتيريا الوميضة) *Pseudomonas spp.* تثبط أمراض ذبول الفيوزاريوم بكفاءة أكثر وثباتاً أكثر منه عند استعمال كل كائن مضاد بمفرده. وبالتالي فإن تكشف اتحادات متوافقة من عوامل المقاومة الحيوية هو الهدف المحدد الاتجاه فى المقاومة الحيوية. لقد وجد حديثاً بأن راشح مزرعة البكتيريا *Bacillus sp* المعزولة من رايزوسفير جذور الحمص، تثبط إنبات الجراثيم الكونيدية ونمو الهيفات لكل من الفطر الممرض *F.o. ciceris* والفطر غير الممرض *F.oxysporum*.

مقاومة المرض باستعمال عزلات غير ممرضة من الفيوزاريوم:

عند معاملة بذور الحمص صنف ICCV-4 وصنف PV- 61 بالجراثيم الكونيدية لعزلات Fo- 90105 غير الممرضة من الفطر *F.oxysporum* معلقة فى Methylcellulose بتركيز 3×10^7 جرثومة/ بذرة او بمادة Methyl cellulose لوحده وزرعت فى تربة محقونة صناعية بحوالى 5000 - 10000 جرثومة كلاميديه لكل غرام تربة من سلالة خمسة للفطر *F.oxysporum f.sp. ciceris*، وجد أن معاملة البذور بالعزلة Fo- 90105 تزيد بشكل معنوى فترة الحضانة للمرض، 11 يوماً للصنف ICCV - 4 ولمدة 25 يوماً للصنف PV- 61 وتخفض حدوث المرض (جدول رقم 127). هذا الحفظ من المرض كان أعلى وأكثر ثباتاً واتساقاً فى الصنف PV- 61 منه فى الصنف ICCV-4، وكان متناسقاً مع

تركيز اللقاح ١٠٠٠٠ جرثومة كلاميدية/ غرام تربة، باستثناء فترة الحضانة في الصنف PV-61 والتي تزداد بحوالي عشرة أيام. عند معاملة بذور العنف 4-ICCV بالسلاطة Fo-90105 بتركيز ٣ x ١٠^٧ جرثومة / بذرة و/ أو البكتيريا *Bacillus* عزلة 51-RGAF بنسبة ١٠^٨ وحدة تكوين مستعمرات/ بذرة ثم زرعت في تربة ملوثة، لم يكن هناك تأثير لعزلة البكتيريا على نسبة الوقاية التي تحدث بواسطة Fo 90105. وعلى أية حال فإن درجة الوقاية بسلاطات الفطر *F.oxysporum* غير الممرضة أعلى وأكثر ثباتاً عندما تزرع النباتات الناتجة من بذور معاملة في رمل معقم لمدة ستة أيام، ثم تنقل على تربة ملوثة كما يلاحظ في جدول رقم ١٢٨.

جدول رقم (١٢٧) : تأثير معاملة البذور بالعزلة Fo-90105 من الفطر *F.oxysporum* على تكشف مرض ذبول الفيزاريوم في أصناف الحمص المزروعة في تربة ملوثة بسلاطة رقم ٥ من الفطر الممرض *F.o.ciceris*.

تقدير المرض		معاملة البذور	عدد جراثيم سلاطة رقم ٥ / غرام تربة	الصنف
% حدوث المرض	فترة الحضانة حتى بداية ظهور المرض باليوم			
٢٠.٥	٤٦,٨	Fo - 90105	٥٠٠٠	ICCV - 4
٧٣.٧	٣٥,٤	كنترول	—	ICCV - 4
١٠٠	٢٩,٧	Fo - 90105	١٠٠٠٠	ICCV - 4
٩٧,٩	٢٨,٣	كنترول	—	ICCV - 4
٤,٣	٤٦,٥	Fo - 90105	٥٠٠٠	PV - 61
٧٢,٢	٢١,٧	كنترول	—	PV - 61
٩٠,٨	٣٠,٣	Fo - 90105	١٠٠٠٠	PV - 61
٨٩,٦	٢٠,٠	كنترول	—	PV - 61

جدول رقم (١٢٨) : تأثير معاملة البذور بالبكتيريا *Bacillus* العزلة RGAF 51، والعزلة غير الممرضة من الفطر فيوزاريوم Fo- 90105 كل لوحده أو متحداً من الآخر، على تكشف مرض ذبول الفيوزاريوم في الحمص الصنف ICCV-4 المزروعة في تربة ملوثة بالفطر الممرض سلالة رقم ٥ .

جراثيم السلالة الممرضة لكل غرام تربة	معاملة البذور بالسلالات المضادة	فترة الحضانة لظهور المرض باليوم	دليل المرض من صفر الى واحد	% حدوث المرض
١٠٠٠	كنترول	١٧,٦	٠,٧٣	٩٧,٩
١٠٠٠	RGAF - 51	١٨,٥	٠,٦١	٨١,٧
١٠٠٠	Fo- 90105	١٨,٤	٠,٦٣	٩٣,٣
١٠٠٠	RGAF51+ Fo - 90105	١٧,٤	٠,٦٥	٩٦,٧
٢٠٠٠	كنترول	١٥,٨	٠,٩١	١٠٠
٢٠٠٠	RGAF- 51	١٥,٩	٠,٨٣	٩٨,٣
٢٠٠٠	Fo- 90105	١٨,١	٠,٦٦	٨١,٧
٢٠٠٠	RGAF- 51 + Fo - 90105	١٨,١	٠,٦٨	٩١,٦

مقاومة المرض باستعمال البكتيريا الوميضة:

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

البكتيريا المستعملة في مقاومة مرض ذبول الفيوزاريوم في الحمص، تعزل من منطقة الرايزوسفير لمحاصيل مختلفة، وبعد التأكد من أن هذه السلالة فعالة ضد هذا المرض، يكون التفكير في إيجاد حامل يحمل وسائل التكاثر لهذه البكتيريا، ويحافظ على بقائها حية في المخزن لمدة طويلة. في التشكيلات التي أساسها بودرة التلك والبيت، فإن تشكيلات هذه البكتيريا تبقى حية لمة ٢٤٠ يوم في 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 في التربة، فإن الكائن المضاد (البكتيريا) تنتقل إلى منطقة الرايزوسفير وتبقى حية فيه وتزداد أعدادها، وإن البادرات الناتجة من هذه البذور تقاوم مرض ذبول الحمص في التجارب الحقلية وتزيد الإنتاج. 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 للنتروجين الجوي *Rhizobium* و *Azospirillum* في المعمل، كذلك فإن معاملة البذور بالمبيدات الفطرية مثل الثيرام، كاريندازام، لا تثبط البكتيريا الوميضة المضادة في المعمل.

أجريت تجارب على ٢٧ عزلة من البكتيريا الوميضة لمعرفة كفاءتها في تثبيط نمو فطر ذبول الفيوزاريوم في الحمص في المعمل، فوجد أن أربع منها وهي: PF1، PF12، PF21، PF27، شديدة التأثير في تثبيط نمو الفطر الممرض حيث كان قطر مساحة التثبيط ٤٢، ١٤، ٤١، ٣٥ ملم/ سلالة بالترتيب جدول رقم ١٢٩. في التجارب الحقلية وجد أن السلالة PF1، هي الوحيدة التي كان لها تأثير واضح في تثبيط المرض وتزيد من عدد النباتات السليمة في الحقل (جدول رقم ١٢٩).

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

جدول رقم (١٢٩) : كفاءة سلالات البكتيريا *P.fluorescens* في تثبيط مرض ذبول الحمص المتسبب عن الفطر *F.oxspicaris*.
وتتبعات البكتيريا في رايزوسفير نبات الحمص في الحقل.

الإنتاج كغم/ هكتار	% حدوث المرض على فترات		% ظهور البالرات في الحقل	تجمعات البكتيريا في الرايزوسفير مضروبا في ١٠ ^٤ cuf / غرام تربة بعد			سلالة البكتيريا الوحيضة المستعملة	المعاملة
	٧٥ يوما	١٥ يوما		٦٠ يوما	٤٥ يوما	١٥ يوما		
١٠٧٩	١٦,٩	٢,٧٥	٩٨,٦	١١	٨,٥	٣,٥	PF-1	معاملة بذور فقط
١٠١٤	١٦,٧٥	٢,٤٥	٩٨,٣	١٢,٢	٩,٦	٣,٥	PF-2	
٩٩٧	١٦,٩	١,٧	٩٩,١	١٣,٥	٩,٨	٣,٥	PF-27	
١٥٣١,٥	٥,٨	٠,٣٥	١٠٠	١٩,٥	١٥,٨	٣,١٥	PF-1	معاملة بذور + معاملة تربة
١٤٨٩	٥,٠	١,١	٩٩,٧٥	١٨,٣	١٤,٨	٣,١٥	PF-2	
١٤٥٨,٥	٥,٦	٠,١٥	١٠٠	٢٢,١	١٨,١٥	٣,٨	PF-27	
١٢٥١,٥	٥,٦٥	١,٦	٩٩,٦٥	٣,١٥	٢,٦٥	١,١٥	—	كاربندازيم
٧٠٠	٤٦,٥	٣٣,٧	٧١,٢	٣,٦٥	٢,٩	١,١٥	—	كنترول (ماء)

رابعاً: فول الصويا

١- تقرح الساق

مقدمة:

إن مرض تقرح الساق في فول الصويا المتسبب عن الفطر *Diaporthe phaseolorum meridionalis* f.sp. ويرمز له (Dpm) والاسم المرادف (*Phomopsis phaseoli* f.sp. *meridionalis*) يسبب خسائر كبيرة في معظم مناطق زراعة فول الصويا، خاصة في البرازيل، بوليفيا، براغواي وجنوب أمريكا. يتراوح الفقد في الحقول الفردية ما بين ٢٠-١٠٠٪، وذلك حسب الأصناف القابلة للإصابة وطور النمو الذي يصاب فيه النبات.

يعيش الكائن الممرض في بقايا المحصول التي تبقى على سطح التربة، وبالتالي تنتقل الجراثيم عن طريق رذاذ المطر إلى النباتات النامية. تظهر الأعراض خلال طور تكاثر النبات، إلا أن الإصابة تحدث في أي طور من أطوار نمو النبات، وذلك حسب طول فترة حضانة الفطر، لا يوجد هناك دورة ثانية للمرض. وبالتالي فإن الشدة النهائية للمرض تكون مرتبطة نسبياً مع مستوى الإصابة المبكر. كذلك يمكن أن تحدث الإصابة عن طريق الجذور. تختلف أصناف فول الصويا كثيراً في قابليتها للإصابة. مع أن استعمار الأنسجة يبقى متأخراً (مختفياً) في الأصناف المقاومة، إلا أن الفطر يتجرثم على بقايا المحصول، وبالتالي فإن الأصناف المقاومة يمكن أن تتفاعل كحوايات أو حافظات للكائن الممرض (هذا ما ذكره العالم Garrido سنة ١٩٩٤).

تؤثر العمليات الزراعية على حدوث المرض. إن قلة عدد مرات الحرثة تكون مترافقة مع زيادة حدوث المرض ونقص الإنتاج. أما الحرثة العميقة فإنها تخفض حدوث المرض أو تؤخر إصابة النبات. أحياناً يكون للحرثة السطحية فوائد كثيرة في العمليات الزراعية، والتي فيها تكون بقايا المحصول متروكة على سطح التربة، حيث إن هذه البقايا تخلط مع الطبقة السطحية للتربة عن طريق الخريشة. تعمل الجراثيم البكتيرية والإسكية المنتجة على بقايا المحصول كلقاح ابتدائي لوباء تقرح الساق في فول الصويا.

نالت المقاومة الحيوية لهذا المرض حظاً بسيطاً من الدراسة. ولكن كل الاهتمام انصب على الفطر المضاد *Chaetomium globosum* حيث وجد أن هذا الفطر المترمم الكامن في التربة مضاد قوى لعدد من الكائنات الممرضة الكامنة في التربة وفي البذور، وله كفاءة في مقاومة بعض الأمراض. ولقد ذكرت ميكانيكية هذا الفطر في مقاومة الأمراض بأنها تعتمد على التصادم الحيوى والتطفل. إن الفطر المضاد *C. globosum* مستعمر أولى للمواد الغنية بالسليولوز واللجنين، ولقد ذكر أن له دوراً في تحليل الخشب والألياف الطبيعية في نتائج كثير من الأبحاث.

لقد استطاع كثير من العلماء عزل هذا الفطر بكثرة، من بقايا نبات فول الصويا المجموعة من سطح التربة في الحقل، وعزله كذلك من بذور فول الصويا. ونظراً لمرافقة هذا الفطر لأنسجة فول الصويا، وتضاده للكائن الممرض المسبب تقرح الساق، فقد أجريت عليه دراسات عديدة في مجال المقاومة الحيوية.

مقاومة المرض:

يقاوم مرض تقرح الساق في فول الصويا المتسبب عن الفطر (Dpm) حيويًا، باستعمال السلالة *CgA-1* من الفطر *Chaetomium globosum*. هذه السلالة منتجة للمضادات الحيوية في المعمل.

عندما تعامل بذور فول الصويا بالسلالة المذكورة *CgA-1* أو *CgNA* من الكائن المضاد وتزرع في تربة ملوثة بالفطر الممرض DPM، يلاحظ أن استعمار النبات من قبل الكائن الممرض يكون منخفضاً وينسبة ٥٣% للنباتات التي عوملت بذورها بالسلالة *CgA-1*، وينسبة ٨٠% في النباتات التي عوملت بذورها بالسلالة *CgNA* وينسبة ٨٧% في نباتات الكنترول، وهذه النسبة تظهر في النباتات في طور النمو الخامس. إن السلالة *CgA-1* هي التي تسبب أقل نسبة من النباتات المستعمرة من قبل الفطر الممرض. إن متوسط النسبة المثوية لطول الساق المستعمر من قبل الكائن المرض في هذه المعاملات يكون ١١%، ٢٩%، ٤٧% بالترتيب، وإن العزلتين تخفضان نسبة طول الساق المستعمرة مقارنة مع الكنترول.

عند زراعة بذور فول الصويا في تربة ملوثة بالكائن الممرض، ثم معاملة هذه التربة بلقاح من الفطر المضاد *C. globosum* سلالة CgA1 أو CgNA، وذلك بأن تمزج هذه السلالات مزجاً جيداً مع التربة قبل الزراعة بمدة ٣٠ يوماً. تبين أن إستعمار الفطر الممرض للنبات يبقى كامناً حتى طور النمو السادس، وتكون نسبة الاستعمار كالاتي: ١٧٪، ٣٣٪ بالنسبة للسلالتين بالترتيب مقارنة مع ٨٧٪ فى الكنترول. إن متوسط طول الساق المستعمر من قبل الكائن الممرض كان ٧٪، ١٨٪، ٤٧٪ بالترتيب، وكانت نسبة النباتات التى تحطمت نهائيا ١٧٪ بالنسبة للمعاملة بالسلالة CgA1 و ٣٧٪ بالنسبة للمعاملة بالسلالة CgNA و ١٠٠٪ فى الكنترول

تبين هذه الدراسة أنه من الممكن تخفيض اللقاح الأولى للفطر Dpm فى بقايا محصول فول الصويا على سطح التربة، وذلك باستعمال الفطر المضاد *C. globosum*، حيث من المعروف أن لهذا الفطر القدرة على تحطيم المواد ذات المحتوى الفقير من المواد الغذائية والمعقدة، مثل الخشب المخزن والجوت والألياف الطبيعية، ويستعمل السليلوز واللجنين كمصادر كربون لغذائه. إن سلالتى الفطر المضاد سواء المنتجة للمضادات الحيوية CgA1 أو غير المنتجة CgNA كلاهما تثبط تجرثم الفطر الممرض، إلا أن هذا التثبيط يعتمد على الرطوبة المتوفرة فى ساق النبات أكثر منه على الرطوبة النسبية الجوية. إن هذا التثبيط للتجرثم يؤدي الى تثبيط انتشار المرض، حيث إن التجرثم الاولى وانتشار الجراثيم تكون الخطوة الأولى فى انتشار المرض.

٢- عفن الساق البنى

يتسبب مرض عفن الساق البنى فى فول الصويا عن الفطر *Phialophora gregata*. يقاوم هذا المرض بيولوجيا باستعمال الفطر *Trichoderma harzianum* النامى على بيئة قشر الأرز كمادة حاملة للفطر الى التربة. تحت ظروف كل من الصويا والحقل، وجد أن إضافة فطر المقاومة الحيوية الى التربة تؤدي الى زيادة نسبة الإنبات، وكذلك الوزن الطازج والجاف وعدد العقد البكتيرية وكل من المحتوى الكيماوى من النيتروجين والبروتين لنبات فوق الصويا.

ويقول الباحث Yehla *et al* سنة ١٩٩٤ فى البحث الذى نشره فى مجلة امراض النبات المصرية مجلد ٢٢ عدد ٢ من صفحة ١٢٣-١٥٧ الذى أخذ منها هذا البحث.

حيث يذكر الباحث أن التحليل الكيماى لراشح مزرعة الفطر المضاد *T.harzianum* يحتوى على بعض من منظمات النمو، وأهمها أندول أستك أسد وقليل من الثيامين والبانثوثينيك وفيتامين B، وهذا يسبب زيادة معنوية فى نمو محصول فول الصويا. ولقد أدت معاملة التربة بالفطر المضاد فى وجود الفطر المسبب للمرض *P.gregata* تحت كل من ظروف الصويا الزجاجية والحقل الى نتائج معنوية فى مقاومة المرض، أفضل من تلك المتحصل عليها من استخدام المبيد الفطرى (بنليت ٥٠) فى وجود الفطر الممرض.

لم أجد أى بحث يتكلم عن مقاومة هذا المرض حيويًا فى جميع الابحاث التى اطلعت عليها (حوالى ٣٠٠ بحث) سوى هذا البحث المذكور عنوانه سابقا. (المؤلف).

خامسا: الفول السوداني

عفن الساق والثمرة

مقدمة:

يعتبر الفطر *Sclerotium rolfsii* من الكائنات الممرضة الكامنة في التربة، ويهاجم مدى واسع من العوائل النباتية. من أهم العوائل التي يهاجمها هذا الفطر، نبات الفول السوداني *Groundnut*. من أهم الأعراض التي يسببها هذا الفطر على نباتات الفول السوداني، عفن البذور، لفحة البادرات، عفن الساق والرقبة، عفن حامل الثمرة وعفن الثمرة في كثير من أصناف الفول السوداني هذا ما وجده المؤلف في دراسته على الفول السوداني. للمرض أهمية اقتصادية كبيرة خاصة في المناطق التي فيها رى غزير. إن عفن البذرة ولفحة البادرات أقل انتشارا من الأضرار التي تصيب الثمار والساق. يقضى الفطر الشتاء ويبقى في أجزاء المحصول على التربة على شكل أجسام حجرية.

هناك بعض الطرق لمقاومة المرض، منها تبادل زراعة الفول السوداني مع أفراد العائلة الزنبقية، هذا ما وجدته *Zeiden et al.* سنة ١٩٨٦. كذلك المقاومة الحيوية باستعمال الفطر *Trichoderma* واستعمال المبيدات الكيماوية. هذه الطرق تقلل من نسبة تواجد اللقاح في التربة، وبالتالي تقلل من حدوث المرض.

مقاومة المرض:

يقاوم مرض عفن الساق والثمرة في الفول السوداني حيويا باستعمال الفطر *Trichoderma harzianum*. لقد وجد أن استعمال جراثيم هذا الفطر المضاد معاملة بذور للفول السوداني، تثبط من حدوث المرض. يعود هذا التثبيط إلى تخفيض عدد الأجسام الحجرية للفطر الممرض *S.rolfsii* أو بسبب زيادة أعداد الفطر المضاد، بحيث تكون ذات قوة تنافس عالية ضد الكائن الممرض. كذلك وجد أن الفطر المضاد يسبب زيادة في إنتاج محصول الفول السوداني تقدر بحوالي ٤٦,٧%، في حين أن المعاملة بالمبيدات الكيماوية تزيد الإنتاج بنسبة ٣٢,١%. حدول رقم ١٣٠ يبين أن الخفض في نسبة عفن الساق بواسطة الفطر المضاد حوالي ٥٩,٨%، في حين أن المعاملة بالمبيدات الكيماوية تخفض الإصابة بحوالي

٤٩,٨%. أما بالنسبة لعفن الثمار، فإن الفطر المضاد يخفض الإصابة ٤٤% في حين أن المعاملة بالكيميائيات تخفض الإصابة ٣٧,٢%.

جدول رقم (١٣٠): مقارنة بين كفاءة طرق المقاومة المختلفة المستعملة في مقاومة مرض عفن الساق والثمرة في الفول السوداني المتسبب عن الفطر

S.rolfsii.

المعاملة	% عفن الساق	% عفن الثمرة	وزن ١٠٠ بذرة رطبة غم	% زيادة الإنتاج
كنترول (دون معاملة)	٢٤,١	٢٣,١	٢٦,٣	—
دورة زراعية فيها نباتات بصل	١١,١	٩,٤	٣٥,٨	١٨,٩
دورة زراعية فيها نباتات ثوم	١٢,٩	١٢,٧	٣٣,٧	١٨,٨
الفطر المضاد <i>T.harzianum</i>	٩,٢	٨,٠٠	٣٦,٨	٢٠,٤
مبيد كرياندازيم	١٠,٩	٩,٢	٣٦	١٨,٩