

## الفصل الحادى عشر

## المقاومة الحيوية لبعض أمراض الخيار

## ١- مقاومة بعض أمراض الخيار اعتماداً على المقاومة المستحثة

## أ- نظام المقاومة المستحثة

لقد ذكرت الوقاية المستحثة Induced protection فى النباتات ضد الكائنات الممرضة المختلفة بواسطة حاثات Inducers حيوية أو غير حيوية منذ أوائل الثلاثينيات، عندما ذكر العالم Chester سنة ١٩٣٣ اصطلاح المناعة الفسيولوجية المكتسبة - Acquired physiological Immunity. منذ ذلك الوقت ذكرت عدة اصطلاحات، واستعملت لوصف ظاهرة المقاومة المستحثة Induced Resistance، مثل المقاومة المكتسبة الجهازية Systemic Acquired resistance، وكذلك اصطلاح المقاومة المنقولة Translocated Resistance، وكذلك مناعة النبات Plant Immunization.

يعرف نظام المقاومة المستحثة Induced Systemic Resistance (ISR) بأنه نظام وقاية النبات عن طريق استعمال عامل (حاث) يحفز النبات للمقاومة، يضاف إلى أى جزء من أجزاء النبات. الحاثات الكلاسيكية تشمل بعض الكائنات الممرضة، الكائنات الممرضة المقتولة بالحرارة، أو الكائنات الممرضة المضعفة، مواد كيميائية صناعية، نواتج التمثيل فى العوائل أو عوامل معدية، وكائنات ممرضة غير متوافقة مع العائل.

لقد ذكر Kuc et al سنة ١٩٧٥ أن الوقاية الجهازية فى الخيار ضد الفطر - *Colletotri chum lagenarium* أمكن الحصول عليها عن طريق الحقن المسبق للأوراق الفلقية الأولى بالكائن الممرض نفسه. بعد ذلك أثبتت الأبحاث أن المقاومة الجهازية يمكن أن تستحث فى أعداد كبيرة من المحاصيل، منها: القرعيات، البقوليات، البطاطس، الدخان، الطماطم والفواكه ضد مدى واسع من الكائنات الممرضة من ضمنها الفيروسات، الفطريات والبكتيريا.

إن كثيراً من الابحاث التى أجريت ابتداء من التسعينيات ذكرت أن نظام المقاومة المستحثة ISR يمكن أن يكون ميكائزماً بديلاً لعملية التضاد الحيوى للحصول على مقاومة

حيوية جيدة لأمراض النبات. هناك عدة فروق مهمة بين نظام ISR ونظام التضاد الحيوي كوسائل داخلية في المقاومة الحيوية. أهم هذه الفروق هي:

١ - أن فعل ISR مبني على أساس ميكانزم دفاعي في النبات، والذي يمكن أن ينشط بالعوامل الحادة، بينما يعتمد التضاد على الفعل المباشر لعوامل المقاومة الحيوية، مثل إنتاج كل من المضادات الحيوية أو السايدر فورز وسيانيد الهيدروجين (HCN) بالإضافة إلى التنافس الغذائي.

٢ - إن ISR ينشط كفاءة ميكانيكيات الدفاع المتعددة التي تشمل الزيادة في فاعلية إنزيمات Chitinases و  $\beta$ -1,3-glucanases و Peroxidases والبروتينات الأخرى ذات العلاقة بالمرضية (-PR) وتجمع المواد السامة الميكروبية، وهي مواد ذات وزن جزيئي منخفض مثل الفايثوالكسن وتكوين مواد حافظة من البوليمرز الحيوية مثل اللجنين، كالوس والهايڤروكسي بروتين، الغنى بالجلايكوبروتينيز، بينما يعتمد التضاد الحيوي 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، التي يمكن أن تقاوم بواسطة عامل حاد مفرد، فمثلاً في الخيار فإن معاملة الورقة الأولى في النبات بالكائن الممرض المسبب نكروزز، تحمي النبات ضد ١٣ كائناً ممرضاً على الأقل، شاملة الفطريات، البكتيريا والفيروسات، بينما في التضاد الحيوي، فإن الكائنات المضادة بشكل عام لا تكون فعالة ضد كائنات ممرضة متنوعة.

٤ - إن ISR حسب تعريفها تحفظ النبات جهازياً (بعد حقن النبات بالعامل الحاد) في جزء واحد من النبات، بينما ميكانيكية عوامل المقاومة الأخرى ليست جهازية.

لقد درس نظام المقاومة المستحثة للأمراض بشكل أساسي في المعمل وفي الصوبا الزجاجية. هناك بعض التقارير تدل على أن ISR تستطيع أن تقى المحاصيل النباتية تحت ظروف الحقل، فمثلاً، يمكن وقاية الخيار والبطيخ بالوقاية الجهازية، التي تتبع الحقن بالكائن *Colletotrichum orbiculare* في الحقل. أما في الدخان فإن الدراسات الحقلية المكثفة لمدة ثلاث سنوات في منطقة بورتوريكو، ذكرت بأن ISR تحفظ النبات ضد كل من السلالة الحساسة للميثالليكسيابل والسلالة المتحملة له من الفطر *Peronospora tabacina* وذلك

باستعمال الحقن المباشر للساق، بمعلق الجراثيم الأسبورانجية من بعض الأنواع التي تتبع الكائن الممرض نفسه. إن الاستعمال الواسع لـ ISR لم يتحقق بعد، وذلك بسبب أن ISR الكلاسيكية والسهلة الاستعمال تستخدم كائنات دقيقة ممرضة كعوامل حادثة، إلا أن الدراسات الحديثة جدا تحاول إيجاد عوامل حادثة غير ممرضة.

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

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

### ب- المقاومة المستحثة ضد انثراكنوز الخيار:

يتسبب مرض انثراكنوز الخيار عن الفطر *Colletotrichum orbiculare*. يمكن إحداث مقاومة مستحثة في الخيار ضد هذا المرض، وذلك بمعاملة بذور الخيار بسلالات معينة من البكتيريا الجذرية المشجعة لنمو النبات PGPR. توضع بذور الخيار في معلق

بكتيرى بتركيز  $10^8$  CFU / مل لمدة ٣٠ دقيقة قبل الزراعة. عند استعمال المعلق البكتيرى على التربة مباشرة يحضر بتركيز  $10^8$  CFU / مل، ويضاف إلى التربة بجانب كل نبات. السلالات التى تستعمل فى هذه الحالة، هى سلالات البكتيريا الوميضة *P. fluorescens* ذات أرقام B61 - 89 وكذلك 166 - 90 و 5 - INR و 5 - ISR. الجدول رقم (١٣١) يبين المقاومة الجهازية المستحثة ونمو النبات الناتج من استعمال PGPR.

جدول رقم ١٣١: تأثير استعمال PGPR فى المقاومة الجهازية المستحثة فى نبات الخيار فى مقاومة مرض الانثراكنوز.

كغم الإنتاج لكل نبات	ملم مجمل قطر بقع الانثراكنوز لكل نبات	عدد الأوراق لكل نبات	سم طول الساق الجارية	السلالة البكتيرية المستعملة من البكتيريا الوميضة
٢,٣٧	٣٤,٣	٦٣,٢	٩٢,٧	89B- 61
٢,٥٧	٤٥,٨	٦٤,٢	٩٦,٢	90- 166
٢,٣٧	٣٦,٣	٦٥	٩٩,٥	INR-5
٢,٣٩	٢٩,٢	٦٤	٩٥,٩	INR- 7
٢,٢	١٥٣,٦	٤٤,٧	٨٤,٩	دون إضافة سلالات بكتيرية
٢,--	٦١,٩	٥٥,٧	٨٩,٦	دون إضافة الفطر الممرض (إصابة طبيعية)

### ج- المقاومة الجهازية المستحثة ضد التبغ الزاوي فى الخيار

يتسبب مرض البقعة الزاوية فى الخيار عن البكتيريا *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*. تعامل بذور الخيار كما سبق فى المرض الأول. (جدول رقم ١٣٢ يبين نتائج الاستعمال)

أما بالنسبة لطول بقاء مفعول المقاومة الجهازية المستحثة، فإن هذا يختلف حسب السلالة المستعملة كما فى جدول رقم (١٣٣). السلالة 89- B-27 تخفض بشكل معنوى المجموع الكلى لقطر البقعة على النبات، بالمقارنة مع النباتات التى لم تستعمل معها السلالة فى الطور

الورقى الأول. إن وقاية نبات الخيار بواسطة هذه السلالة، بشكل عام يمكن أن يستمر من الطور الورقى الأول إلى الطور الورقى الخامس. كان متوسط الخفض فى قطر البقعة بعد المعاملة بالسلالة 89 B- 27 / 19,7 ٪ بالمقارنة مع النباتات غير المعاملة بالكائن المضاد فى الطور اليرقى الأول، ويزداد فى الأطوار التالية حتى الخامس. أما الوقاية باستعمال السلالة 90- 166 فهى أكثر اختلافاً عنه فى حالة السلالة الأولى، حيث إن السلالة 90 - 166 تخفض متوسط قطر البقع على النباتات فى الطور الورقى الاول والثالث، وإن متوسط الخفض باستعمال هذه السلالة يزداد من 28 ٪ فى الطور اليرقى الثانى، ويصل إلى 48,7 ٪ فى الطور اليرقى الخامس.

جدول رقم ١٣٢: تأثير استعمال سلالات البكتيريا الوميضة فى المقاومة الجهازية المستحثة لمرض التبغ الزاوى فى الخيار

كغم الإنتاج لكل نبات	مجموع قطر البقع الزاوية/ نبات	عدد الأوراق لكل نبات	سم طول الساق الجارية	السلالة البكتيرية المستعملة من البكتيريا الوميضة
٢,٠٨	١١٠,٣	٦٤,٩	٩٦	89B- 61
٢,٠١	١٠٧,٢	٦٣,٦	١٠١,٥	90- 166
١,٨٤	١٠٠,٨	٥٩,٨	١٠٢,١	INR-5
١,٦٨	١٥٠,٣	٤٩,٣	٩١,١	دون إضافة سلالات بكتيرية
١,٤٩	٩٣,٥	٥١,-	٨٤,٨	دون إضافة كائن ممرض (إصابة طبيعية)

جدول رقم (١٣٣) : مدة بقاء تأثير المقاومة الجهازية المستحثة في نباتات الخيار.

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

#### ملاحظات على الجدول:

السلالة 90- 166 تتبع *Serratia marcescens*، أما السلالة 89B27 تتبع البكتيريا *Pseu- domonas putida*

#### د- المقاومة الجهازية المستحثة ضد ذبول الفيوزاريوم في الخيار

##### 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، والتي تقوم بالمقاومة الحيوية من خلال عدة طرق، مثل: التنافس على المغذيات، أو الحديد، والتنافس على أماكن العدوى على الجذور، أو إنتاج مضادات حيوية.

هناك ميكانيكية أخرى لمقاومة ذبول الفيوزاريوم، هي المقاومة المستحثة. لقد ذكر Gessler & Kuc سنة ١٩٨٢ أن المقاومة الجهازية في الخيار ضد *Fusarium oxysporum* *f.sp. cucumerinum* يمكن أن تستحث عن طريق الحقن المبكر للأوراق الحقيقية الأولى بالفطر *Colletotrichum orbiculare* أو فيروس نكروزز النخان. إن استعمال السلالات غير

الممرضة من الفيوزاريوم للحث على المقاومة (يطلق عليها أحياناً المقاومة بالتضاد - Cross protection) في 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 في البطيخ، الخيار والطماطم. معظم هذه الدراسات، لا تستثنى ميكانيكيات أخرى غير المقاومة المستحثة، بسبب أن الكائن الممرض وعوامل المقاومة الحيوية لم تكن منفصلة عن بعضها في المكان.

الأبحاث التي أجريت على الرايزوبكتيريا المشجعة لنمو النبات - pro-Plant growth moting rhizobacteria (PGPR) كعوامل مسببة للمقاومة الجهازية المستحثة (ISR) *In*-duced Systemic Resistance 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 في القرنفل. في هذه الدراسة فإن الكائن الممرض قد حقن في السيقان بعد أن تم إضافة الـ PGPR إلى الجذور.

لكي نحدد فيما إذا كانت الـ ISR هي ميكانيزم للمقاومة الحيوية، فمن الضروري استعمال نظام الفصل المكاني Spatially separation بين الـ PGPR والكائنات الممرضة، وذلك لأن الباحث لا يستطيع أن يستبعد إمكانية دور التضاد الحيوي أو المنافسة. كذلك يجب أن يشمل النظام أيضاً دخول الكائن المضاد بأى طريقة طبيعية على الجذور لمقاومة الكائنات الممرضة الكامنة في التربة، إذا كان العامل المدخل يستعمل أيضاً في المقاومة الحيوية العملية.

إن طريقة الجذر المشقوق Split - root والتي تسمح بالفصل المكاني قد استعملت في بعض الدراسات على الـ ISR. استعملت هذه الطريقة في الدراسات على سلالات *F.oxysporum* غير الممرضة كدليل على المقاومة ضد ذبول الفير تسليم في الطماطم والخيار. لقد ذكر Zhou & Paulitz سنة ١٩٩٤ أن *ISR* هي ميكانيزم المقاومة الحيوية لعفن جذور الخيار المتسبب عن *Pythium aphanidermatum* بواسطة سلالات من PGPR، معتمداً في 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 في ٢٠ مل معلق جراثيم الفطر الممرض *Fusarium oxysporum f.sp. cucumerinum* (مسبب ذبول الخيار)، النصف الثاني يغمر في ١٠ مل من المعلق البكتيري *PGPR* خاصة السلالة 89 B- 27 من البكتيريا *Pseudomonas putida* أو السلالة 166- 90 من البكتيريا *Serratia marcescens*، يؤخذ الاحتياط التام لبقاء جزئى الجذر بعيدتين عن بعضهما أثناء وبعد المعاملة. ينقل كل نصف من جهاز الجذر المستعمل إلى وعاء بلاستيكي قطر مسطحة ١٠ سم، يكون النبات من الأعلى مربوطاً بحيث لا ينفصل إلى جزئين. 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 التي تموت بعد ٤ - ٦ أسابيع. لمعرفة انتقال البكتيريا، تجرى تجربة بالمواصفات نفسها، إلا أن الجذر يحقن بالسلالة L211 بدلاً من 89B 27، وتحسب الأوراق والنباتات الميتة بعد ٤ - ٦ أسابيع. أما عن دراسة تأثيرات ال ISR على حركة الكائن الممرض داخل النبات، فتجرى عملية عزل من السلامة الأولى إلى الرابعة في 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 بتري ذات بيئة PDA، وتحضن على ٢٥° م لمدة ٥ - ٧ أيام، وذلك لعزل الكائن الممرض. أما الجزء الثاني من الساق وحامل الورقة فيستعمل لعزل السلالة L211، التي تستعمل كدليل لبقاء نشاط ال ISR. لكي نختبر فيما إذا كانت البكتيريا المحقونة في 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 معنوي بعد المعاملة بـ PGPR سلالة 27-89B و 166-90. كان متوسط أعداد النباتات الميتة في الكنترول ٦٨٪، أما في المعاملة فقد وصلت إلى ٣٨ و ٣٢٪ باستعمال السلالات السابقة بالترتيب. كذلك فإن السلالة L-211 سببت خفصاً معنوياً في المرض. وفي جميع السلالات تأخر ظهور المرض.

لقد أمكن استعادة الكائن الممرض في الاسبوع الخامس من داخل السيقان بين السلامة الأولى والرابعة، ومن داخل حامل الورقة الأولى والثانية والثالثة في النباتات غير المعاملة بـ PGPR. أما في النباتات المعاملة بـ PGPR لم يمكن استعادة الكائن الممرض، إلا في منطقة قبل السلامة 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 166-90، والتي تحث على المقاومة الجهازية ضد الكائنات الممرضة في الخيار على المجموع الجذري، فإنها تخفض بشكل معنوي ذبول الفيوزاريوم في الخيار عند استعمالها كمعاملة جذور. هذا الخفض، في حدوث المرض يبدو أن له علاقة في إعاقة أو تأخير حركة الكائن الممرض في النباتات المعاملة بـ PGPR. إن طريقة الجذر المشقوق هي أفضل طريقة لدراسة المقاومة المستحثة بواسطة PGPR.

## ٢- عفن الجذر في الخيار

### مقدمة:-

إن مرض عفن الجذر والساق الذي يصيب الخيار في الصوبات الزجاجية المتسبب عن الفطريات *Pythium aphanidermatum* و *Pythium ultimum*، هو مشكلة خطيرة في إنتاج الخيار في مناطق كثيرة من العالم. لقد قام العالم Paulitz et al سنة ١٩٩٢ باختبار عزلات من البكتيريا *Pseudomonas* ودرستها على تثبيط الفطر الثاني على الخيار في المعمل وفي تجارب المزارع المسطبية. ولقد تبين أن هذه العزلات تثبط هذا المرض على

الخيار في تجارب الصوبات الزجاجية التي تستعمل بيئة الصخر الصوفي، وتزيد من الإنتاجية التسويقية للثمار.

يمكن لبكتيريا الرايزوسفير أن تثبط أمراض الجذر عن طريق المنافسة الغذائية مع الكائن الممرض، واستبعاد الكائن الممرض من مكان العدوى أو منطقة الإصابة، وإنتاج السايديروفورز أو مضادات حيوية تثبط الكائن الممرض، بالإضافة إلى الحث على مقاومة جهازية في النبات ضد الكائن الممرض.

### مقاومة المرض:

يقاوم مرض عفن الجذر والساق في الخيار المتسبب عن الفطر *P.aphanidermatum* باستعمال معلق خلوي من البكتيريا *Pseudomonas corrugata* عزلة ١٣ أو *P.fluorescens* السلالة Bu4C عزلة ١٥. إن كلا الكائنين يثبط حدوث المرض وشدته، وأن عزلة ١٥ تزيد الوزن الجاف للأفرع ومساحة الورقة وعدد الثمار في النباتات المعاملة. إن سبب خفض المرض وشدته، يعود إلى المقاومة المستحثة التي تحدثها البكتيريا ضد الفطر الممرض.

عند إضافة المعلق الخلوي البكتيري إلى التربة بعد ٢١ يوماً من الزراعة بتركيز  $4 \times 10^8$  cfu/ml أو  $6 \times 10^8$  cfu/ml ساء واستعمال معلق من الجراثيم الهدبية للفطر الممرض بتركيز ٥٠ الف جرثومة هدية/مل تضاف بعد ٢٨ يوماً من الزراعة، تحدث مقاومة جيدة المرض، عن طريق خفض انتشار الجراثيم الهدبية وعدم وصولها إلى منطقة التاج في النبات.

تظهر أعراض المرض على منطقة التاج في الخيار، على شكل تعفن أنسجة، مصحوباً بتلون بني مصفر. تظهر الأعراض الأولى على منطقة التاج في الخيار في المعاملات التي استعمل فيها الفطر الممرض بعد ٦ و ١٠ أيام من الحقل. أما الأعراض التي تظهرها النباتات المعاملة بالبكتيريا المضادة والمستعملة للمقاومة الحيوية (في وجود الكائن الممرض) فإنها تتأخر ٣-٥ أيام عن نباتات الكنترول. جدول رقم (١٣٤) يبين تأثير استعمال عوامل المقاومة الحيوية على صفات نمو نبات الخيار.

لقد ذكر Moulin et al سنة ١٩٩٦ في التجارب التي أجراها على الخيار، أن تثبيط عفن الجذر المتسبب عن الفطر بثيم بواسطة البكتيريا الوميضة يكون دائماً مترافقاً مع خفض

استعمار الجذر بواسطة الفطر الممرض *P.aphanidermatum*. ولقد وجد فعلاً أن السلالة CH31 من البكتيريا *P.fluorescens* تثبط استعمار الجذر بالفطر الممرض بينما لا تخفض السلالة CH1 من البكتيريا *P.putida* استعمار الجذر ولا شدة المرض. ولقد ذكر العالم السابق أن هذه النتائج لا تسمح بتحديد فيما إذا كان التثبيط للفطر الممرض يكون خلال الطور الترمي أو الطور التطفلي، وبالتالي لا نستطيع تحديد فيما إذا كان التضاد الميكروبي أو المقاومة المستحثة هي المسؤولة عن تثبيط الفطر الممرض.

جدول (١٣٤): تأثير استعمال عوامل المقاومة الحيوية على نباتات الخيار المحقونة بالفطر الممرض بثيم؛ حيث تستعمل عزلات البكتيريا الوميضة رقماً (١٣، ١٥).

غم	عدد	عدد	غم	سم	% حدوث المرض بعد الحقن			المعاملة
					٤٦	٥١	٦١	
وزن	الثمار	الأوراق	الوزن	طول	يوماً	يوماً	يوماً	
ثمار	على	على	الجاف	النبات	يوماً	يوماً	يوماً	
النبات	النبات	النبات	لكل	النبات	يوماً	يوماً	يوماً	
الواحد	الواحد	الواحد	نبات	نبات	يوماً	يوماً	يوماً	
٣٤١	١٥	٢٧	١٥.٣	٧٥	--	--	--	دون كائن ممرض ودون عامل مقاومة
٢١٨	٩	٢٤	١٦.٥	٧٤	٤٧	٤٧	٤٥	عزلة ١٣ + كائن ممرض
٢٤٦	١١	٢٥	١٥.٦	٦٠	٣٢	٢٨	٢٥	عزلة ١٥ + كائن ممرض
١٥٦	٥	٢٣	١٠.٢	٦٥	١٠٠	١٠٠	٧٥	الكائن الممرض لوحده

ملاحظات على الجدول:

البكتيريا عزله ١٣ مأخوذة من *Pseudomonas corrugata*، أما العزلة ١٥ فهي مأخوذة من السلالة Bu4C التابعة للبكتيريا *Pseudomonas fluorescens*.

### ٣ - مقاومة البياض الدقيقي في الخيار

#### أولاً: باستعمال الخمائر العاكسة Mirror yeasts

#### مقدمة:-

لوحظ في أوائل الثمانينيات أن بعض عزلات فطر البياض الدقيقي الذي يصيب الشعير *Erysiphe graminis f.sp hordei* المحفوظة لوقت طويل، تلوّث ببعض أنواع الخمائر العاكسة مثل *Tilletiopsis sp.*، وأن هذه الخمائر غالباً ما تؤثر على نمو الفطر *E.graminis*، وأن النتائج المتضاربة التي حصل عليها أثناء دراسة فطر البياض الدقيقي المذكور، تعزى إلى تلوّث هذا الفطر بفطريات الخميرة العاكسة *Tilletiopsis*. ولقد تأكّد هذا القول في العوامل التي استمرت تحتفظ بفطريات البياض الدقيقي لمدة طويلة جداً.

تصنّف الخميرة *Tilletiopsis*، بأنها تتبع صف Class الفطريات البازيدية ورتبة Tilletiales، وهي تتواجد في الطبيعة على شكل متطفلات سطحية على سطوح الأوراق، خاصة المصابة بالبياض الدقيقي أو فطريات الصدأ. هذه الخمائر تتبع فلورا المجال الورقي، حيث تزداد كمية الفطر مع تقدم عمر أوراق القمح والشعير والذخوخ والتفاح. يبدو أن هناك كميات من ال *Tilletiopsis* تكون معتمدة على الرطوبة التي على الأوراق، وتتواجد جراثيمها بأعداد كبيرة في الهواء بعد المطر. يمكن لهذه الفطريات أن يزدهر نموها على الإفرازات المغسولة عن الأوراق، كلما نمت الأوراق، دون ظهور أي آثار لتأثير هذه الخمائر على الأوراق. زيادة على ذلك فإن أنواع ال *Tilletiopsis* يمكن أن تنمو على الأوراق في غياب الفطريات الأخرى عن المجال الورقي، إلا أن هناك تقارير عديدة تدل على أن كمية هذه الخمائر أكثر في وجود الكائنات الممرضة، هذا ما ذكره Skou سنة ١٩٨٩ والعالم Knudsen سنة ١٩٩٠.

هناك أعداد من أنواع *Tilletiopsis* ذات ميسيليوم حقيقي التقسيم تتكاثر لاجنسياً عن طريق تكوين ثلاثة أنواع من الجراثيم هي: Chlamydospores, Ballistospores, Blas-tospores. تنبت الجراثيم وتنتج هيفات أحادية النواة متفرعة، والتي غالباً ما تكون محتوية على حواجز منكمشة. يمكن أن تتشكل خلايا الخميرة في كل من *T.minor* و *T.fulvescens*.

و *T.washingtonensis* وهى ذات جراثيم متبرعمة وهيفات كاذبة، ولا توجد فيها وصلات كلايية Clamp Connections .

لقد وجد أن الخمائر الشائعة فى المجال الورقى مثل *Sporobolomyces* تستطيع بنجاح أن تستعمر سطوح الاوراق، ويكون أكثر استعماراً وتواجداً لها، بالقرب من أماكن الإصابة الفطرية أو الأماكن المحطمة طبيعياً. يعتمد بقاء هذه الخمائر حية على توفر الغذاء على سطح الورقة، والذي سبق أن ذكرنا بأنه يكون ناصحاً من الورقة، أو من مصادر أخرى مثل الندوة العسلية لإفرازات حشرات المن.

يمكن أن تؤثر البيئة غير الحية، بشكل خاص، وتوفر الرطوبة والمحيط الحرارى على بقاء الخمائر حية (مثل الخميرة المذكورة سابقاً) على سطح الورقة. إن امكانية استعادة الخميرة، بعد استعمالها رشاً على شكل جراثيم blastospores على أوراق الخيار فى رطوبة نسبية ٩٥% ودرجة حرارة ٢٥° م تنخفض خلال الأسبوع الأول (هذا ما وجدته Urquhart et al سنة ١٩٩٤).

هناك أنواع عديدة من ال *Tilletiopsis* نالت اهتماماً كبيراً فى الدراسة بسبب كفاءتها كعوامل مقاومة حيوية للبياض الدقيقى على الشعير والخيار المتسبب عن الفطر *Blumeria Sphaerotheca* وبالترتيب. لكى تكون عوامل المقاومة الحيوية فعالة ضد نمو الكائن الممرض، فإن بقاءها حية فى المجال الورقى أو فى المجال الجذرى بكميات كافية، ضرورى جداً. لكى نزيد من مدة بقاء الخمائر فى المجال الورقى حية، يجب أن تكون تشكيلات اللقاح مترافقة مع أى مركب يحافظ على بقاء الرطوبة متوفرة لهذه الخمائر خاصة المواد الغذائية. إن العلاقة النوعية عن الترافق بين الخميرة *Tilletiopsis* وفطر البياض الدقيقى وتأثير ذلك على بقاء ونمو هذه الخميرة، لغاية ١٩٩٧ لم يحدد بعد.

### مقاومة المرض:

يتسبب البياض الدقيقى فى الخيار عن الفطر *Sphaerotheca fuliginea*. هذا المرض ينتشر كثيراً على نباتات الخيار *Cucumis sativus*، وخاصة فى الصوبات الزجاجية. الطرق المتبعة لمقاومة هذا المرض والمتوفرة على شكل تجارى لجميع الزارعين، هو الاستعمال

المتكرر لعنصر الكبريت، استعمال سليكات الصوديوم في المحلول المغذى في المزارع المائية (دون تربة) او استعمال الأصناف المقاومة. أثبتت التجارب أن أياً من الطرق المذكورة لا يحقق مستوى عالياً من مقاومة المرض، وكل منها له استعمالات محدودة.

لقد وصفت عوامل مقاومة حيوية عديدة ذات كفاءة عالية لمقاومة أمراض البياض الدقيقى، من ضمنها الفطريات عالية التطفل hyperparasitic:

١ - الفطر *Ampelomyces quisqualis* والذي يثبط إنتاج الكونيديات وتكوين الثمار الأسكية Cleistothecial للفطر *Acremonium alternatum*.

٢ - *Stephanosaurus sp* (الاسم المرادف *Sporothrix*)، خميرة من الفطريات الأسكية، والتي تثبط نمو وتكوين الجراثيم في فطريات البياض الدقيقى .

٣ - *Tilletiopsis sp* خميرة مكونة جراثيم ballistospores، والتي تثبط تكشف مرض البياض الدقيقى على الخيار والشعير.

إن كلا من *Stephanosaurus sp* و *Tilletiopsis sp* عوامل مقاومة حيوية ذات كفاءة عالية ضد البياض الدقيقى على الورد والخيار تحت ظروف الزراعة الاقتصادية، في كثير من مناطق كندا وهولندا (شكل ٢٤).

### استعمال الخميرة *Tilletiopsis sp*.

يمكن مقاومة مرض البياض الدقيقى في الخيار باستعمال كل من الخميرة *T.pallesens* والخميرة *T.washingtonensis* باستعمال معلق جرثومى تركيز ١٠<sup>٨</sup> خلية/مل، مأخوذ من مزرعة ذات عمر ثلاثة أيام. يرش المعلق الجرثومى على أسطح الأوراق العلوية، الثمار المتكشفة، السيقان والأزهار. يستمر الرش حتى يسيل المعلق الجرثومى من على الأسطح، وهذا يقدر بحوالى ٢.٥ مل/ ورقة. يجرى الرش لأول مرة عندما يكون النبات حاملاً عشرة اوراق، ثم يكرر الرش بعد ٧ - ١٤ يوماً على الأوراق نفسها. يتبين من جدول رقم (١٣٥) ان الخميرة *T.pallesens* تخفض مساحة بقع البياض الدقيقى (عدد الجراثيم/ سم<sup>٢</sup> x ١٠<sup>٤</sup>) بعد ١٨ يوماً من الرش بحيث تصل ١ x ١٠<sup>٤</sup> جرثومة/ سم<sup>٢</sup> فى حين أنه فى نباتات الكنترول يكون عدد الجراثيم ٢.٨ x ١٠<sup>٤</sup> جرثومة/ سم<sup>٢</sup>. أما الخميرة

*T.washingtonensis* تكون أقل تأثيراً من الخميرة الأولى. اما جدول رقم (١٣٦) فيبين كثافة الجراثيم (الثلاثة أنواع المتكونة بعد الرش) وكيف أنها تقل كلما تقدم بها الوقت بعد الرش.

جدول رقم (١٣٥) : كثافة الجراثيم الكونيدية لفطر البياض الدقيقى، بعد الرش بالخميرة *T.pallescens* والخميرة *T.washingtonensis*. على نبات الخيار.

عدد جراثيم فطر البياض الدقيقى / سم <sup>٢</sup> فى البقعة مضروباً فى ١٠ بعد الرش بمدة						الخميرة
١٨ يوم	١٦ يوم	١٢ يوم	٨ يوم	٤ يوم	١ يوم	
١,٠٠	٢,٨	٣,٦	٣,٥	١,٨	٦,٥	<i>T.pallescens</i>
١,٤	٣,٨	١,٢	٢,٦	١,٨	٦,-	<i>T.washingtonensis</i>
٢,٨	٨,٩	٤,٨	٧,٠٠	٤,٨	٧,٨	كنترول

جدول رقم (١٣٦) : كثافة تواجد الخميرة *T.pallescens* فوق سطح ورقة الخيار، بعد الرش بأنواع الجراثيم الثلاثة.

كثافة التجمعات / cfu ورقة بعد الرش بمدة. العدد هو لوغارتم ١٠						نوع الجراثيم
٣٥ يوم	٣٠ يوم	٢٥ يوم	١٥ يوم	٥ يوم	صفر يوم	
---	١,٥	١,٥	٢,٥	٣,٥	٤,٥	Blastospores
صفر	٢,٥	٣	٢,٨	٣,٦	٤,٥	Ballistospores
صفر	---	---	٢,٨	٢,٥	٤,٥	Chlamyospores

يكون نمو هاتين الخميرتين *T.washingtonensis* و *T.pallesens*، على بيئة الآجار متشابهها على درجة حرارة ١٥ - ٣٠ م، ولكن النمو ينخفض بشكل معنوي على درجة حرارة ٣ م. يكون أفضل نمو وتجرثم على بيئة المرق على حرارة ١٥ - ٣٠ م ويتوقف النمو على حرارة ٣٠ - ٣٥ م. تنبت الجراثيم Ballistospores على درجة *pH* تتراوح ما بين ٣,٨ - ٧,٩. أفضل بيئة لتكوين Blastospores هي بيئة ٢,٥% د - جلوكوز + ١% بيتون + ٠,١ مستخلص خميرة (شكل رقم ٣٥).

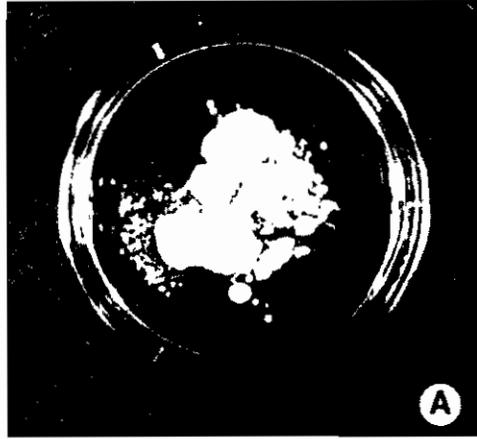


شكل رقم ٣٤: فعالية الخميرة *T.pallesens* في المقاومة الحيوية ضد مرض البياض الدقيقي في الخيار.

A : ورقة نبات خيار محسبة بمرض البياض الدقيقي.

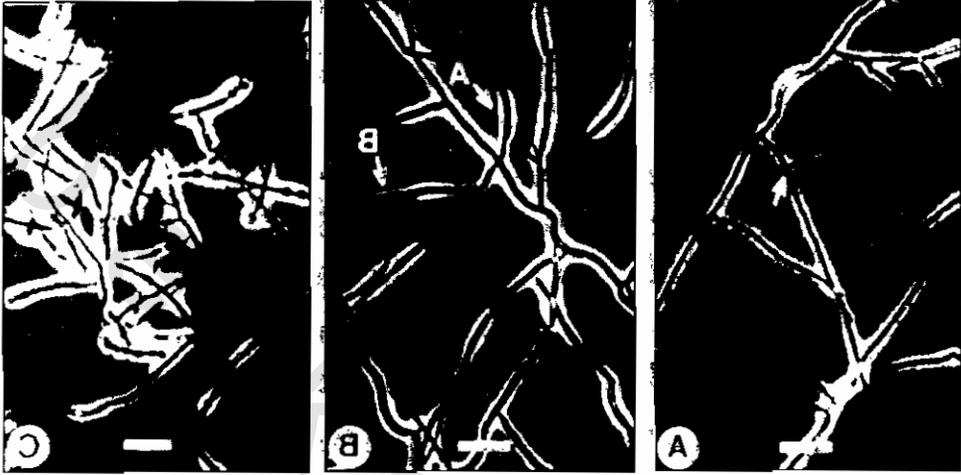
D : ورقة نبات الخيار. الجزء الأيمن معاملة بالخميرة ولا تظهر عليه اعراض المرض.

اما الجزء الأيسر غير معاملة بالخميرة، تظهر عليه اعراض المرض.



شكل (٣٥-أ) العلوي:

- A: مستعمرة من الخميرة *T. washingtonensis* نامية على بيئة مولت إكسترا آجار.  
B: مستعمرة من الخميرة *T. pallescens* يظهر فيها عديد من المستعمرات النجمية،  
المرافقة ناشئة من الجراثيم Ballistospores المنطلقة من المستعمرة الأصلية.



شكل (٣٥) ب السفلى):

الصفات الميكروسكوبية للخميرة *Tilletiopsis sp.*

- A: أجزاء هيفا حية مفككة ذات سيتوبلازم منكمش مفصول، بأجزاء من الهيفا مجوفة ذات حواجز في الخميرة *T. pallescens* على بيئة PDA التفرع عند الأسهم.
- B: السهم المكتوب عليه A يشير إلى جراثيم blastospores أما السهم B يشير إلى الجراثيم المتكررة ملتصقة على السطح ذات عمر ٢٤ ساعة للخميرة *T. pallescens* على بيئة PDA.
- C: جراثيم كلاميضية للخميرة *T. washingtonensis* من بيئة (TII) بعد عشرة أيام من النمو. المسطرة البيضاء تدل على طول ١٠ ميكرونات.

عندما يرش معلق جراثيم Blastospores تركيز  $10^8$  خلية / مل على أسطح أوراق الخيار تحت رطوبة نسبة ٨٥٪ وحرارة  $25^{\circ}\text{C}$  م، يمكن أن تبقى الخميرة حية، لمدة خمسة أسابيع. كما أن رش الخيار ثلاث مرات بين الرشة والأخرى مدة أسبوع، فإن ذلك يخفض من كثافة جراثيم البياض الدقيقى، ومن نمو هيفات الفطر وقدرتها على التجرثم. تصبح خلايا الفطر مجمدة ومنهارة عند فحصها بالميكروسكوب الإلكتروني، وتصبح الحوامل الجرثومية ضعيفة الإنتاج فتحمل جرثومة واحدة أو اثنتين (شكل ٣٦). يحدث نمو جيد للخميرة *Tilletiopsis* على مادة Laminarin كمصدر وحيد للكربون في المعمل ولكنها لا تنمو على الشيتين. إن نشاط إنزيم B - 1,3 glucanase يمكن أن يكون العامل الفعال في نشاط هذه الخميرة في المقاومة الحيوية للبياض الدقيقى.



شكل رقم (٣٦) : صورة بالميكروسكوب الإلكتروني لهيفات فطر البياض الدقيقى والكونيديا بعد ٤٨ ساعة من الرش بالخميرة *T. Pallescens*.

- A : هيفات فطر البياض الدقيقى معاملة بالخميرة، يظهر انهيار الخلايا، وتفقد سلامة التركيب.  
 B : هيفات فطر البياض الدقيقى (فى الكنترول، المعاملة بالمرق) سليمة تماماً من حيث الجدر والحوامل الكونيدية.  
 C : جراثيم الخميرة على سطح الورقة ملاصقة لهيفات فطر البياض الدقيقى.  
 المسطرة البيضاء تدل على طول ١٠ ميكرونات

يجب ملاحظة أن نمو الخميرة *Tilletiopsis* على بيئة الآجار بطئ جداً وتلوث البيئة بسهولة بالفطريات الرمية، لذا يجب إضافة كل من المضادات الحيوية امبسلين، داي كلوران، روزينجال، للبيئة. إن مادة الداي كلوران لا تمنع إنبات جراثيم الفطريات الملوثة، ولكنها تثبط نموها وتسمح بنمو مستعمرات الخميرة. أما الروزينجال فإنه يعطى الخميرة اللون البنى الفاتح، أما الملوثة الأخرى فإنها لا تمتص هذا اللون بسرعة امتصاص الخميرة المذكورة.

نظراً لأن نمو هذه الخميرة بطئ جداً على البيئات الصلبة، ولكنه سريع على البيئات السائلة، لذا يفضل تنميتها على البيئات السائلة لكي تستعمل في المقاومة الحيوية. تشجع البيئة السائلة تكوين جراثيم blastospores. تسمى البيئة المشهورة التي تنمو عليها هذه الخميرة TII وتتكون من ٢,٥% د-جلوكوز، ١% باكتوببتون، ١% مستخلص الخميرة. يمكن الحصول من هذه البيئة على تركيز جرثومي  $10^8$  جرثومة/مل خلال ٧٢ ساعة بعد التحضين على ٢٠° م. تتكون الجراثيم الكلاميدية من جراثيم Blastospores خلال ستة أيام. تستعمل الخميرة النتريت او النترات كمصدر وحيد للنيتروجين.

أهم الأنواع التي يمكن أن تستعمل في المقاومة الحيوية للبياض الدقيقى فى الخيار من بين ١٤٣ عزلة، هى:

*T.washingtonensis* , *T.pallescens* , *T.minor* , *T.albescen*

## ثانياً : باستعمال الفطر *Verticillium lecanii*

### مقدمة:

أصبح التعامل مع مرض البياض الدقيقى فى الصوبات الزجاجية، من الأمور المهمة والتحديات الكبيرة، لأن هذا المرض ينتشر فى كثير من المناطق ويسبب خسائر كبيرة فى معظم المحاصيل. فى العقدين الأخيرين من هذا القرن ظهرت توصيات مختلفة لمقاومة هذا المرض، تشمل تطهير الصوبات الزجاجية وتعقيم تركيباتها، وزراعة الأصناف المقاومة. وعلى أية حال فإن المدى العوائلى الواسع لمسببات أمراض البياض الدقيقى، بالإضافة

لمقدرتها على التكاثر السريع والكبير جداً تحت الظروف البيئية المناسبة، والتي عادة ما تسود في الصوبات الزجاجية، هذه الصفات غالباً ما تقلل من كفاءة تلك الإجراءات في المقاومة. أما الكيماويات مثل الكبريت، الدنوكاب والبينومايل، بالإضافة إلى المبيدات الفطرية الجهازية، يتم استعمالها على نطاق واسع، إلا أنها بشكل عام لا تحسن الكفاءة الكلية لهذه المقاومة ولا يوجد لها تقبل من قبل مجموعة المستهلكين، حتى إذا استعملت بتركيزات غير سامة. إن زيادة الاهتمام بالبيئة وسرعة ظهور سلالات مقاومة للمبيدات من الكائن الممرض قللت من الاتجاه لاستعمال الكيماويات في مقاومة البياض الدقيقى. وبالتالي فإنه على الرغم من الجهود الكبيرة التي تبذل لمقاومة هذا المرض، إلا أنه لا يزال المشكلة السائدة الكبيرة في زراعات الصوبات الزجاجية. وكنتيجة لذلك اتجهت المحاولات الحديثة لإيجاد طريقة فعالة وأكثر سلامة لمقاومة مرض البياض الدقيقى.

من أهم الطرق التي تستعمل الان في مقاومة مرض البياض الدقيقى هو استعمال عوامل المقاومة الحيوية. لقد تم اكتشاف كثير من عوامل المقاومة الحيوية لكثير من أمراض النبات في السنوات القليلة الماضية. يتجه الاهتمام الزائد الى الكائنات الحية المضادة لفطريات البياض الدقيقى، وذلك بسبب كفاءتها في خفض كثافة لقاح الكائن الممرض. هناك عديد من الفطريات، مثل: الخميرة *Stepha- Ampelomyces quisqualis, Tilletiopsis sp*، وأخيراً *Paecilomyces noasus spp.*، *Aphanocladium album, (Sporothrix spp.)*، *es farinosus*، ذكر بأنها تتطفل على كثير من فطريات البياض الدقيقى، وتخفض حدوث المرض بشكل معنوى.

هناك كائن آخر متطفل على الفطريات، والذي جذب انتباه كثير من الباحثين بسبب المدى العائلى الواسع له، حيث يؤثر على كثير من الحشرات وفطريات الصدأ والبياض الدقيقى، هذا الفطر هو *Verticillium lecanii*. في السنوات الاخيرة استعمل هذا الفطر على مستوى تجارى في مقاومة أمراض البياض الدقيقى، ويدخل ضمن المبيدات الحيوية Bio-pesticide

لقد ثبت بما لا يدع مجالاً للشك أن الفطر *V.lecanii* لديه المقدرة في مقاومة حشرة المن والذبابة البيضاء (أهم الآفات والأكثر شيوعاً في الصوبات الزجاجية)، وكذلك مقدرته في مقاومة فطريات الصدأ خاصة صدأ القرنفل وكثير من الفطريات الأخرى، مثل:

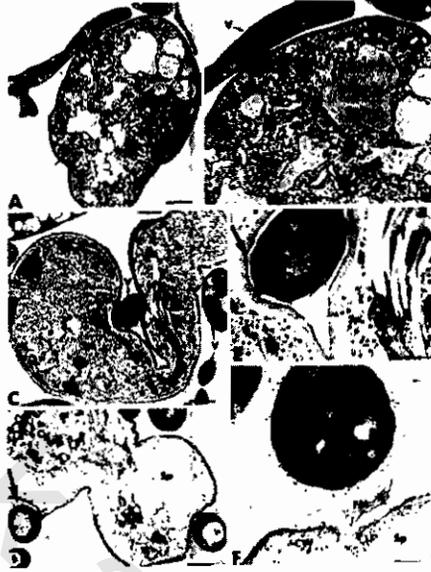
- 1 - *Uromyces dianthi* مسبب صدأ القرنفل  
 2 - *Uromyces appendiculatus* مسبب صدأ الفاصوليا المتقزمة  
 3 - *Puccinia recondita* مسبب صدأ القمح  
 4 - *Oidium tingtanium* مسبب البياض الدقيقى على الحمضيات  
 5 - *Erysiphe graminis* مسبب البياض الدقيقى على الشعير  
 6 - *Sphaerotheca fuliginea* مسبب البياض الدقيقى على الخيار

### مقاومة المرض:

يقاوم مرض البياض الدقيقى فى الخيار المتسبب عن الفطر *Sphaerotheca fuliginea* باستعمال الفطر *Verticillium lecanii*. يؤدى هذا الفطر الى تخفيض كبير فى حدوث المرض وفى شدة الإصابة. ولقد تبين بالدراسة واستعمال الميكروسكوب الإلكتروني، أن هذا الفطر يستعمر تركيبات العائل عن طريق الربط المحكم لها، وذلك باستعمال لبيقات رقيقة لزجة. بعد رش الكائن المضاد بحوالى ٢٤ ساعة على النبات المصاب، عند ملامسة الكائن المضاد للكائن الممرض يحدث اتساع كبير فى فجوة خلية الفطر الممرض، وتحدث اضطرابات فى تعضى سيتوبلازم الهيفات. أما بعد ٣٦ ساعة من المعاملة يحدث انكماش فى البلازما الغشائية المبطنة للخلايا، ويبدأ السيتوبلازم فى التجمع فى بعض الأماكن. وباستعمال بعض المواد الكاشفة (WGA) (اجلوتينين جنين القمح ومعقد من مركبات الذهب) تبين أن دخول الفطر المضاد بين خلايا الكائن الممرض لا يسبب تغيراً كبيراً فى جدار الخلية، إلا فى منطقة اختراق الهيفات. أما بعد ٤٨ ساعة من الحقن يحدث اضطرابات كبيرة فى عضيات السيتوبلازم وتفقد الخلية انتفاخها ويحدث التواء فى جدار الخلية. هذه الاضطرابات تؤدى إلى القول بأن اختراق الكائن المضاد للكائن الممرض يكون عن طريق الضغط الميكانيكى أو التأثير الإنزيمى الموضعى (hydrolysis) عن طريق فسل إنزيم ال Chitinases. أما بعد ٧٢ ساعة، بعد أن يحدث اتصال تام بين خلايا الفطرين، تنهار خلايا فطر البياض الدقيقى، يستنزف البروتوبلازم نتيجة التكاثر الكبير الذى يحدث للفطر المضاد وتحاط الخلايا تماماً بالكائن المضاد، (شكل ٣٧).

يمكن تلخيص الدور الذي يقوم به الفطر المضاد *V.lecanii* ضد فطر البياض الدقيقى على الخيار *S.fuliginea* فى الآتى:

- ١ - التصاق الفطر المضاد مع فطر البياض الدقيقى .
  - ٢ - حدوث ضغط ميكانيكى وإفراز إنزيمات محللة لجدر خلية الفطر الممرض مثل إنزيم Chitinases .
  - ٣ - اختراق نموات من الفطر المضاد هيفات فطر البياض الدقيقى والوصول إلى المحتويات الداخلية .
  - ٤ - تهضم خلايا فطر البياض الدقيقى وتنطلق خلايا الكائن المضاد من بين الخلايا الميتة لفطر البياض الدقيقى .
  - ٥ - يؤدى التفاعل بين الفطرين الى تشوه الشكل الخارجى والوظيفى لخلية ومصاصات فطر البياض الدقيقى .
- من كل ذلك يتبين أهمية الفطر *V.lecanii* فى المقاومة الحيوية للحشرات والفطريات الضارة بالنباتات فى الصوبا الزجاجية وفى الحقل، وخاصة فطريات البياض الدقيقى .



شكل (٣٧) أ :

- صورة بالميكروسكوب الإلكتروني للتفاعل بين أنسجة ورقة الخيار وفطر البياض الدقيقى (SP).
- A + B. بعد ٢٤ ساعة أما C - F بعد ٣٦ ساعة من الحقن بالفطر المضاد *Verticillium lecanii* (V)
- A: هيفات الفطر المضاد (V) تلتف حول الكائن الممرض (SP) دون أن تسبب تشوهات حقيقية (التكبير ٤٠٠٠ مرة) المسطرة تساوى ٢ مللى ميكرون.
- B: تكبير عال جدا يبين الاتساع الكبير فى الفجوة مصحوباً بعدم تعضى السيتوبلازم - التكبير ٨٠٠٠ مرة المسطرة تساوى ١ مللى ميكرون.
- C: هيفات الكائن الممرض مشوهة بشكل واضح، حيث تنكش الطبقة البلازمية المبطنة لجدار الهيفات، ويتجمع السيتوبلازم فى أماكن محددة Cy. التكبير ٨٠٠٠ مرة.
- D: تتغير الخلايا بشكل كبير كما يلاحظ من انكماش السيتوبلازم وتجمع المكونات. التكبير ٨٠٠٠ مرة.
- E: يلتصق الكائن المضاد (V) مع خلايا العائل فى المنطقة الواقعة بين السطحين (الأسهم) عن طريق حصيرة من اللييفات. التكبير ٢٤٠٠٠ مرة والمقياس ٠,٥ مللى ميكرون.
- F: جدار خلية الكائن الممرض CW يبدو واضحاً الروابط اللييفية FM. التكبير ٤٠٠٠٠ مرة والمسطرة ٠,٢٥ مللى ميكرون.



شكل (٣٧ ب) : تفاعل الكائن الممرض (SP) مع أنسجة ورقة الخيار بعد ٤٨ ساعة من الحقن باللفطر المضاد (V).

A + B : عدم التعرض في سيتوبلازم (CY) في الكائن الممرض. تبقى المكونات على شكل كتل غير محددة من المواد الحبيبية، تعرف هذه الخلايا عن طريق فقد انتفاخها والتواء جدار الخلية (CW)، والذي يكون متلاصقاً تماماً مع الكائن المضاد (V) السهم B، يلاحظ خلايا الكائن المضاد داخل هيفات الكائن الممرض (SP).

التكبير في A يساوي ٨٠٠٠ مرة، المسطرة ١ ملى ميكرون.

التكبير في B يساوي ١٦٠٠٠ مرة، المسطرة ٠,٥ ملى ميكرون.

C - خلايا الكائن الممرض (SP) مختزقة بهيفات الكائن المضاد (V) تظهر عند السهم. التكبير ٨٠٠٠ مرة - المسطرة ١ ملى ميكرون

D : يحدث استعمار لهيفات العائل عن طريق الضغط الميكانيكي ضد حواجز العائل (زوج الأسهم) (S) الحاجز.

التكبير ١٩٠٠٠ مرة المسطرة ٠,٥ ملى ميكرون.



شكل (٣٧ ج) : تفاعل الكائن الممرض (SP) مع نسيج ورقة الخيار بعد ٧٢ ساعة من الحقن بالكائن المضاد (V).

A + B : خلايا الكائن الممرض منهارة (A) أو حتى يستنزف البروتوبلازم B.

تكبير A ٨٠٠٠ مرة والمسطرة ١ ملي ميكرون.

تكبير B ٥٠٠٠ مرة والمسطرة ٢ ملي ميكرون.

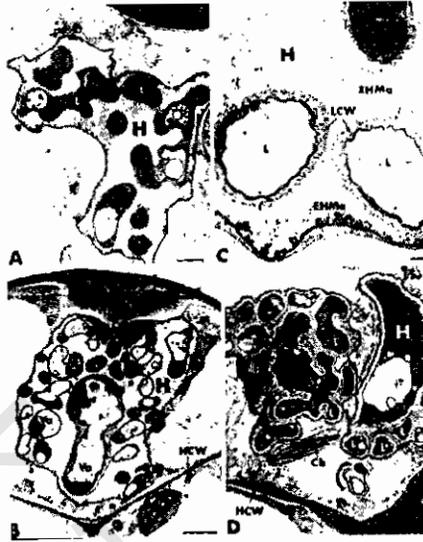
C + D : تحطيم جدار خلية العائل (CW) السهم في C يبين انفجار الخلايا.

التكبير في C ٣٢٠٠٠ مرة، والمسطرة ٠,٢٥ ملي ميكرون.

التكبير في D ٢٤٠٠٠ مرة، والمسطرة نصف ملي ميكرون.

E : في الأطوار المتقدمة من التفاعل بين الكائن المضاد والممرض تختفى جدر خلية الكائن

الممرض كلية. التكبير ٣٢٠٠٠ مرة والمسطرة ربع ملي ميكرون.



شكل (٤٣٧) : تفاعل بين نسيج ورقة الخيار وفطر البياض الدقيقي : A بعد ٢٤ ساعة ، B، و C بعد ٣٦ - ٤٨ ساعة و D بعد ٧٢ ساعة من الحقن بالفطر المضاد.

A: جسم الممص (H) يبدو محفوظاً، أيضاً زيادة الفجوة في فصوص الممص (L). التكبير ٨٠٠٠ مرة. المسطرة ١ ملى ميكرون.

B + C = زيادة في سعة الفجوات (Va) في B، تؤدي لأن تكون فصوص الممص فارغة تقريباً ومحاطة بجدار سميك (LCW) وهذا ظاهر في C.

EHMa: منشأ لبيفات ممصات خارجية.

EHMe: منشأ لأغشية ممصات خارجية.

HCW: جدار خلية العائل.

D: جسم الممص محطم كلية وفصوص الممص تحطمت بشكل واضح وتحالت. Ch = كلوروبلاست.

التكبير في B ٣٢٠٠٠ مرة، المسطرة ٠,٢٥ ملى ميكرون.

التكبير في C ٨٠٠٠ مرة، المسطرة ٢ ملى ميكرون.

التكبير في D ٨٠٠٠ مرة، المسطرة ١ ملى ميكرون.