الفصل الثانى

المقاومة الحيوية لمسببات الأمراض الكامنة فى التربة

Biocontrol of Soilborne Plant Pathogens

أولاً: المقاومة الحيوية للأمراض الكامنة في التربة بالفطريات

مقـــدمة:

تشمل المقاومة الحيوية استعمال ميكروبات كابحة لمسببات الأمراض، وذلك للحفاظ على الحالة الصحية للنبات. إن تثبيط المرض بواسطة عوامل المقاومة الحيوية يكون نتيجة التفاعلات بين النبات) والكائن الممرض وعامل المقاومة الحيوية (المجموعة الميكروبية على وحول النبات والبيئة الطبيعية. حتى فى الدراسات المعملية، فإن المقاومة الحيوية تعتمد على ثلاثة كائنات على الأقل، هى، النبات، الكائن الممرض والكائن المضاد. وبالتالى فإنه على الرغم من كفاءة المقاومة الحيوية فى التطبيقات المعملية، إلا أنه لايزال هناك كثير من الغموض يحتاج إلى تفسير من حيث علاقة الكائن الممرض مع الكائن المضاد.

إن التعقيدات الموجودة بين هذه النظم الثلاثة، يؤثر على قبول المقاومة الحيوية كوسيلة عامة فى مقاومة أمراض النبات، وذلك لسببين:

الأول: النتائج العملية المتحصل عليها من المقاومة الحيوية ليست متطابقة تماماً فى جميع الحالات، وبالتالى .. فإنه على الرغم من بعض النجاحات الفائقة بإستعمال عوامل المقاومة الحيوية فى الزراعة، إلا أنه لاتزال هناك بقايا من الشكوك العامة المتولدة عن الفشل القديم فى المقاومة الحيوية.

الثاني: لايزال التقدم فى فهم النظام العام للمقاومة الحيوية، ليس بالسرعة المطلوب وإنما بطىء إلى حد ما، وحديثاً حدث تقدم وزيادة فى أعداد عوامل المقاومة الحيوية وفى نظم عملها، عن طريق تطبيق الهندسة الوراثية والعمليات الحسابية التى تلائم هذا التعقيد..

المقاومة الحيوية للأمراض الكامنة فى التربة ذات صفة وتركيب معقدين، وذلك بسبب أن هذه الأمراض تحدث نتيجة تفاعلات معينة بين الكائن الممرض والبيئة والظروف

المحيطة بالعائل النباتى فى منطقة الرايزوسفير. ومما يميز منطقة الرايزوسفير بأنها سريعة التغير من حيث كفاءة وعدد الميكروبات الموجودة فيها، وارتفاع تجمعات البكتيريا بالمقارنة مع المنطقة البعيدة عن الرايزوسفير.

تحرر النباتات خلايا نشيطة التمثيل الغذائى من جذورها، وتتراكم بحيث تشكل ٢٠ ٪ من مكونات الكربون، متوزعة على الجذور فى منطقة الرايزوسفير، هذا يؤدى إلى القول، بأن هناك علاقة كبيرة موجودة ومتداخلة بين النبات وكائنات الرايزوسفير الدقيقة. يتعرض الرايزوسفير إلى تغيرات مفاجئة فى فترة قياسية قصيرة، مثل سقوط الأمطار، أوقات الجفاف، حيث أنهما يؤديان إلى تغيرات كبيرة فى تركيز الأملاح ورقم الحموضة، الكفاءة الأسموزية، كفاءة الماء وتركيب جزيئات التربة. أما فى الفترات الزمنية الطويلة، فإن الرايزوسفير يمكن أن يتغير بسبب نمو الجذر، التفاعلات مع البيئة الحيوية الأخرى فى التربة، والتغيرات الجوية (الطقس). هذه الديناميكية الطبيعية فى منطقة الرايزوسفير والتى تجعله مركزاً مهماً (مهتماً به) لمعرفة التفاعلات التى تؤدي إلى الأمراض والمقاومة الحيوية لهذه الأمراض.

يجب أن تؤخذ التعقيدات الموجودة فى منطقة الحدود المشتركة بين الجذور والتربة، بعين الاعتبار فى دراسة المقاومة الحيوية، والتى يجب أن تشمل جميع الكائنات الدقيقة وكل الصفات المشتركة بينها، وذلك إذا أردنا أن نفهم التفاعلات الأساسية التى تجرى فى تربة الحقل. كما أن دراسة الهندسة الوراثية من الأمور المهمة التى يمكن أن تتدخل فى الحصول على عوامل مقاومة حيوية فعالة.

يمكن أن نقسم دراسة المقاومة الحيوية للأمراض الكامنة فى التربة إلى عدة مواضيع، هى:

١- تفاعلات عامل المقاومة الحيوية مع الكائن الممرض.

٢- تفاعلات عامل المقاومة الحيوية مع النباتات العائل.

٣- تفاعلات عامل المقاومة الحيوية مع مجموعة الكائنات الحية الدقيقة فى التربة.

I : تفاعلات عامل المقاومة الحيوية مع الكائن الممرض

Interaction of Biocontrol Agent with the Pathogen

يشمل هذا الموضوع عدة أمور، منها:

١- **التضاد الحيوي:** هذا الجزء مشروح فى الفصل الأول من الكتاب.

٢- **المضادات الحيوية:** هذا الجزء مشروح فى الفصل الأول من الكتاب.

٣- **المقاومة للمضادات الحيوية Antibiotic Resistance**

من أهم الأهداف التى تستعمل لأجلها المقاومة الحيوية فى الزراعة، هو استبعاد الخطر الكامن المرافق لاستعمال مبيدات الآفات الكيماوية، واستبعاد تكشف المقاومة فى تجمعات الآفة. ومن الأهداف الاستراتيجية للمقاومة الحيوية هو تجمعات الكائن الممرض التى أصبحت مقاومة للمضادات الحيوية الناتجة من عوامل المقاومة الحيوية، هذه التجمعات من المحتمل أن تتكشف ببطء. هناك سببان لحدوث هذا التكشف، الأول: معظم عوامل المقاومة الحيوية التى تنتج أكثر من مضاد حيوى واحد وتقاوم مضادات حيوية متعددة، يكون تواجدها بنسبة بسيطة جداً. الثانى: تكون تجمعات الكائن الممرض المعرضة للمضادات الحيوية بنسبة منخفضة، وذلك لأن معظمها يكون فى التربة، فى حين أن معظم تجمعات عوامل المقاومة الحيوية تكون متمركزة فى الجذر، وبالتالى يكون تأثيرها على الكائن الممرض فى أقل حد ممكن. مع ذلك إذ كان هناك تأثير كاف على الكائن الممرض، فإن ظهور السلالات غير الممكن مقاومتها بواسطة عوامل المقاومة الحيوية لازمة الوجود، فمثلاً إن استعمال أدوية الإنسان باستمرار، تؤدى إلى تطور المقاومة فى الكائن الممرض، أما عن تكشف المقاومة المضاعفة للأدوية الناتجة من الطفرات الذاتية لم يتنبأ بحدوثها قديماً، ولكنها الآن ميكانيكية شائعة فى مقاومة المضادات الحيوية فى البكتيريا.

وبالتالى فإن الدراسات المكثفة مطلوبة لفهم القواعد الجزيئية لمقاومة الكائن الممرض للمضادات الحيوية، المنتجة بواسطة عوامل المقاومة الحيوية، ويجب أن تدرس ميكانيكية المقاومة قبل تطبيقها فى الحقل، وذلك لأن نتائج هذه الدراسة يمكن أن تستعمل مسبقاً لمنع تحطم المقاومة الحيوية. من الأمثلة التى تشمل مثل هذه الاجراءات هى تثبيط مقاومة

البروتينات، ترابط المضادات الحيوية التى تختار لجينات مقاومة مختلفة ومنع استعمال عوامل المقاومة ضد تجمعات الكائن الممرض، التى يتنبأ فيها بوجود نسبة عالية من المقاومة.

تنشأ عادة المقاومة للمضادات الحيوية فى التجمعات الحساسة عن طريق الطفرة الذاتية أو عن طريق نقل الجين أفقياً. الطفرات المانحة للمقاومة يمكن أن تؤثر على امتصاص المضادات الحيوية، أو على حساسية الهدف التى تؤثر عليه المضادات الحيوية. جينات المقاومة التى يمكن أن تنقل شيفرة الإنزيمات المحورة للمضادات الحيوية، أو تؤثر على كل من الجزيئات المقاومة فى المنطقة المستهدفة أو أماكن تدفق المعلومات الوراثية الخاصة، مثل هذه الجينات عندما تحمل بواسطة البكتيريا المنتجة للمضادات الحيوية تمنعها من الانتحار ذاتيا عندما تنتج المضادات الحيوية، هذه الجينات تعرف باسم جينات المقاومة الذاتية - Self resistance genes. هذه الجينات يمكن أن تنقل إلى الكائن الممرض المستهدف فى التربة نتيجة الطفرات، وبالتالى فإنه من الضرورى فهم الطفرات المانحة للمقاومة فى الكائنات الممرضة المستهدفة، بالإضافة إلى جينات المقاومة الذاتية عند تحضير الكائنات الدقيقة المضادة.

تظهر أهمية المقاومة الذاتية واضحة فى نظام المقاومة الحيوية لمرض التدرن التاجى. إن البكتيريا *A. radiobacter* تقاوم بكفاءة التدرن التاجى الذى يتسبب عن *A. tumefaci-ens* بشكل كبير عن طريق فعل المضاد الحيوية (Agrocin 84)، إلا أن هذه الفعالية تهددت بالفشل عند عزل سلالات من الكائن الممرض مقاومة لهذا المضاد الحيوى، معزولة من التدرنات الموجودة على النباتات المعاملة بالبكتيريا *A. radiobacter*. هذه العزلات من المحتمل أن تكون نتيجة انتقال بلازمد (PAgk 84) الذي يحمل كلاً من جينات إنتاج الأجروسان ٨٤، وجينات المقاومة من السلالة المستعملة فى المقاومة الحيوية إلى الكائن الممرض (هذا ما وجده Stockwell *et al* سنة ١٩٩٦). إن شطب أو إلغاء الوظائف فى شيفرة البلازمد للانتقال الزوجى، يخلق مشتقات غير متحركة من الـ (PA gk 84) والتى يمكن أن تزود بقوة كبح أكثر ثباتاً للمرض. هذا المثل يعطى دلالة على إمكانية مقاومة المضادات الحيوية فى الكائنات الممرضة المستهدفة، وأهمية فهم القواعد الوراثية لمقاومة المضادات الحيوية. وعلى الرغم من التحذير الواضح الذى تبين عن طريق نقل مقاومة أجرو

سايد ٨٤، إلا أن هناك قليلاً من الدراسات الأخرى قد ركزت على المقاومة للمضادات الحيوية الداخلة فى المقاومة الحيوية. الجين المشفرة لمادة Zwittermicin A *(zmaR)* كان قد نسخ، أو أجرى له كلونة من عامل المقاومة الحيوية المنتج Zwittermicin A من البكتيريا *B. cereus* سلالة UW85 (هذه الدراسة وجدها Milner *et al* سنة ١٩٩٦).

إن موقع zmaR قد وجد وتحدد فى سلالات مختلفة من *B. cereus*، متضمنة بعض تلك التى لاتنتج Zwittermicin A، هذا يؤدى إلى القول بامكانية النقل الأفقى لمقاومة Zwitter-micin *A* ضمن هذه الأنواع (هذا ما وجده Raffel *et al* سنة ١٩٩٦). مع أن zmaR يمكن أن تمنح مقاومة Zwittermicin A على البكتيريا *E. coli*، إلا أنه لايعرف فيما إذا كان zmaR قد يحصل له انتقال إلى أو يمكن أن يمنح مقاومة Zwittermicin A على الكائنات الحية الدقيقة فى التربة أو منطقة الرايزوسفير.

هناك قليل من المعلومات متوفرة فيما يتعلق بالطفرات الذاتية التى تعطى مقاومة للمضادات الحيوية على الكائنات الممرضة التى تكون هدفاً لخطط المقاومة الحيوية. وعلى أية حال، فإنه يمكن أن تبنى تنوءات عن أنواع ميكانيكيات المقاومة والتى يمكن أن تنتشر. فمثلاً الكائن الممرض للقمح *Septoria tritici* يتأقلم مع مادة 1-hydrox-yphenazine عن طريق الجينات الحائة على الكاتليز Superoxide dismutase، وإنتاج الميلانين، وبالتالى فإن طفرات الكائن الممرض التى تنتج بشكل أساسى مستويات عالية من هذه الواقيات Pro-tectants، من المحتمل ألا تكون مكبوحة بواسطة الكائن الدقيق المستعمل فى المقاومة الحيوية والمنتج لمادة الـ Phenazine. إن التغير الواسع الانتشار فى ممر التنفس للسيانيد المقاوم فى الكائنات الحية الدقيقة، يؤدى إلى القول بان الأستعمال الطويل لعوامل المقاومة الحيوية المنتجة هيدروجين السيانيد، يمكن أن تختار الكائنات الممرضة المحتوية مؤكسدات السيانيد المقاوم.

الدراسات الحديثة تظهر الاختلافات بين سلالات الكائن الممرض *G. graminis tritici* لحساسيته للمضادات الحيوية المنتجة بواسطة عوامل المقاومة الحيوية من البكتيريا الوميضة، وإحداث الأمراض بواسطة هذه السلالات المقاومة لاتثبط بفعالية، بواسطة عوامل المقاومة الحيوية. ولايبدو واضحاً فيما إذا كانت هذه السلالات المقاومة ناشئة من تجمعات حساسة عن

طريق الطفرة الذاتية أو نقل الجين، أو فيما إذا كانت بسيطة (ضعيفة) المناعة للمضادات الحيوية، بسبب افتقارها إلى جهاز الامتصاص المناسب أو هدف حساس فى الخلية. إن المقاومة بسبب الطفرات، انتقال الجين أو المناعة سوف تمثل تحدياً لاستعمال المقاومة الحيوية فى الحقل.

٤- المنافسة على الحديد Iron Competition

ملاحظة (ذكر هذا الموضوع فى الفصل الأول من الكتاب تحت عنوان السايدوفورز).

تؤثر المقاومة الحيوية عن طريق كبح نمو الكائن الممرض وذلك بحرمانه من المغذيات. أفضل مثل لفهم هذه الميكانيكية هو المنافسة على الحديد. كما هو معروف فإن الحديد شائع الوجود فى القشرة الأرضية، ولكن يكون معظمه موجوداً فى حالة غير قابلة للذوبان، على شكل هيدروكسايد الحديديك Ferric hydroxide، وبالتالى فإن الحديد يكون متاحاً للكائنات الحية الدقيقة على تركيزات 10^{-18} مول أو أقل فى محاليل التربة على درجة حموضة متعادلة. هذا يشكل تحدياً للبكتيريا والتى تتطلب الحديد بتركيز مكرومول للنمو. لقد حدث تطور فى نظم جذب الحديد فى البكتيريا بكفاءة عالية، وذلك لدخوله فى الخلية. النظام النموذجى فى ذلك هو السايدروفور Siderophore ، والتى هى رابطة حديد إشارية Iron binding ligand، وامتصاص بروتين والتى تنقل السايدروفور إلى الخلية.

المظهر المثير للانتباه فى حيوية السايدرفور هو أن الكائنات الحية الدقيقة المختلفة يمكن أن تستعمل نوع السايدرفور نفسه. كذلك يمكن للكائنات الحية الدقيقة أن تستعمل السايدرفوراتها لبعضها البعض إذا كانت تحتوى البروتين المناسب للامتصاص، والنباتات تستطيع أيضاً أن تكتسب الحديد من الـ Pseudobactins معينة. يلزم أبحاث أخرى مستفيضة لتصف مقدرة الكائنات الحية الدقيقة الكامنة فى التربة لاستعمال السايدروفورز المنتجة بواسطة عوامل المقاومة الحيوية. كما أن الانهيار السريع للمقاومة الحيوية يمكن أن يكون متوقعاً إذا كانت الكائنات الممرضة المستهدفة باستطاعتها أن تتغلب على طريقة تثبيط المرض المعتمدة على حرمانها من الحديد، عن طريق اكتساب المقدرة على استعمال السايدروفورز من جيرانها فى التربة.

٥- التطفـل الفطـري Parasitism

ملاحظة (ذكر هذا الموضوع فى الفصل الأول من الكتاب).

بالإضافة إلى التضاد الحيوى وحرمان الحديد، فإن بعض عوامل المقاومة الحيوية تخفض أيضاً أمراض النبات عن طريق التطفل على الكائنات الممرضة. فمثلاً الفطر *Tri-choderma* sp. يتطفل على الفطريات الممرضة النباتية. يمد الطفيل فروع هيفاته جهة العائل المستهدف، وتلتف حولها وتمسك بها بواسطة أجسام تشبه أعضاء الامتصاص وتخترق ميسيليومه. هذه الحوادث تتطلب تفاعلات خاصة بين الطفيل والفطر العائل، شاملة اكتشاف التركيب الكيماوى وصفات سطح الميسيليوم. يمكن توضيح التخصصية عن طريق ملاحظة أن الفطر *Trichoderma* يلتف حول هيفات الفطر *Pythium ultimum* ولا يلتف حول خيوط بلاستيكية ذات قطر مشابه لقطر الفطر *P. ultimum*. إن هضم جدر خلية العائل يكون منجزاً بواسطة إنزيمات مفرزة شاملة أنزيمات الـ Proteases، Chitinases و Glucanases. هذه الإنزيمات غالباً ما تكون ذات تأثير فعال ضد الفطريات بمفردها، وذات تأثير تعاونى فى مخاليط أو بالمضادات الحيوية.

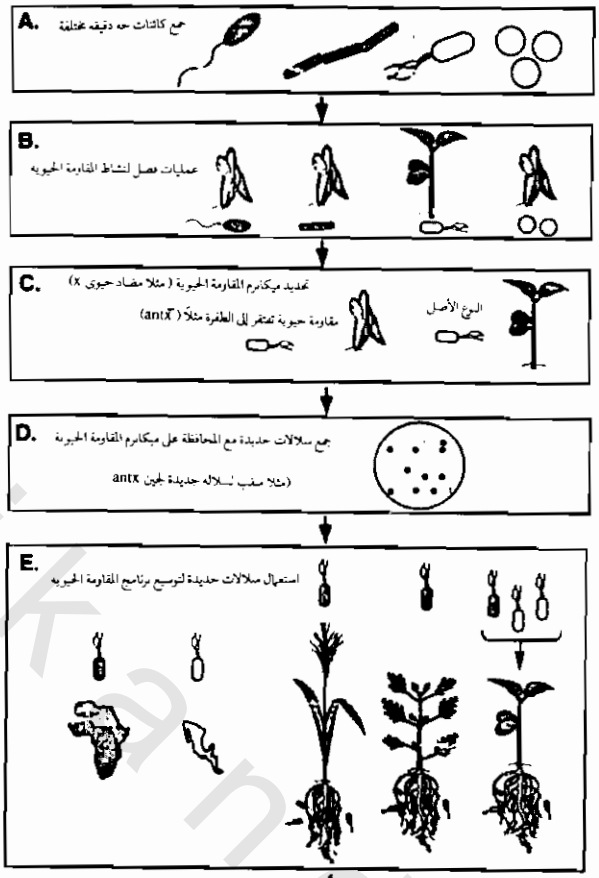
٦- التنوعات الوراثية بين عوامل المقاومة الحيوية:

Genetic Diversity Among Biocontrol Agents:

إن تعقيدات التفاعلات الداخلة بين عوامل المقاومة الحيوية والمدى الواسع من الظروف البيئية المختلفة، موجودة بشكل عالمى فى جميع المناطق الزراعية، هذا يجعل من غير المحتمل أن تكون السلالة الواحدة ذات التأثير فى مكان معين، لها التأثير نفسه فى جميع أنحاء العالم. إن التنوعات الوراثية للكائنات الحية الدقيقة ذات الكفاءة فى تثبيط المرض تبقى ذات قوة، على الرغم من اتساع المصادر غير المطروقة للمقاومة الحيوية لأمراض النبات. هناك حاجة للبحث عن سلالات جديدة للمقاومة الحيوية وبشكل خاص سلالات متكيفة مع تلك المواقع، التى ستستعمل فيها، وذلك اعتماداً على التفاعلات الوراثية، ولكن فيما إذا أخذت عزلات عشوائية بكتيرية من كل موقع قد أختير لتثبيط المرض فيه، (كما قد حصل بالنسبة للخمائر) فإن الجهود سوف تستمر وتكون مهمة عسيرة، وسوف لايكون هناك استعمال للتنوعات الوراثية التى يستفاد منها فى المقاومة الحيوية.

فى السنوات الأخيرة (١٩٩٤) حصل بعض النجاح فى بعض الأبحاث فى تعريف وتحديد سلالات المقاومة الحيوية المختلفة، والتى تثبط الكائنات الممرضة النباتية عن طريق ميكانيكيات عامة. استخدمت هذه الأبحاث بنجاح فى برامج المقاومة الحيوية للحشرات، والأكثر أهمية، والجدير بالذكر هو تطور *B. thuringiensis* والذى بنيت عليه استراتيجيات مقاومة الحشرات. هناك اقتراح مشابه لتلك الاستراتيجيات قد استعمل للمقاومة الحيوية لأمراض النبات، وهناك بعض النجاحات الجديرة بالاهتمام فى إيجاد سلالات متنوعة، والتى تثبط المرض، مبنية على ميكانزم شامل مبنى على أساس وراثى وكيمياء البروتينات.

الجينات المسئولة عن إنتاج المضادات الحيوية أو المقاومة الذاتية للمضادات الحيوية تكون محفوظة بين مُنْتجات المضاد الحيوى، وبالتالى تشكل قواعد جزيئات المنقبات Molecular probes للبحث عن سلالات جديدة منتجة للمضادات الحيوية. سلالات *B. cereus* المنتجة Zwittermicin A وسلالات البكتيريا الوميضة *P. fluorescens* المنتجة لمادة 2,4-diacetyl phloroglucinol، قد تم تعريفها وتحديدها فى أراضٍ من مناطق مختلفة جغرافياً وكيميائياً (هذا ما وجده Raffel *et al* سنة ١٩٩٦ وكذلك Keel *et al* سنة ١٩٩٦). السلالات التى تنتج المضادات الحيوية نفسها يمكن أن تختلف من ناحية الفينوتايب، ويمكن أن تظهر أثراً مفيداً تحت ظروف خاصة كما فى شكل ٣. بعض هذه السلالات يمكن أن تعطى مقاومة فعالة فى بعض الأراضى فى مناطق جغرافية معينة أو فى محاصيل أخرى (شكل ٣ ، ٤). بالإضافة لذلك فإن التنوعات الوراثية لهذه السلالات يمكن أن ترتبط عن طريق إنمائها فى لقاحات مختلطة. بعض المخلوطات من البكتيريا الوميضة، أو هذه البكتيريا مع الفطريات تثبط المرض بكفادة أكبر، مما لو كان الحقن بواحدة مفردة منها (هذا ما وجده Duffy *et al* سنة ١٩٩٦).



شكل رقم (٣) : نموذج مقترح لأبحاث المقاومة الحيوية وتطور برنامجها.

A و B = المرحلة الأولى

A . جمع كثير من الكائنات الحية الدقيقة المختلفة B . فصلها لنشاط المقاومة الحيوية

عزلات كثيرة يمكن أن تفصل لتعريفها كعزلات مثبطة للمرض. من غير المحتمل أن تلك السلالة ستكون فعالة تحت ظروف مختلفة.

C و D = اقتراح لتعريف السلالات الجديدة تلك (جملة) ستكون فعالة تحت ظروف مختلفة لتشرح ميكانزم المقاومة الحيوية (C) ولتعرف عوامل مقاومة حيوية جديدة التى تشارك فى الميكانزم D نفسه.

التحليل الوراثى يمكن أن يشرح ميكانزم المقاومة الحيوية مثل المشاركة بالمضادات الحيوية (X) للمقاومة الحيوية لـ (C). إن معرفة ميكانيكية المقاومة الحيوية والجينات المسئولة يمكن أن تؤدى الى تطور منقبات حمض نووى مصمم لتعريف سلالات جديدة بالميكانزم نفسه لنشاط المقاومة الحيوية، فى هذا المثل وصف على شكل منقب للجين ant X (D).

E : مع أن هناك تشابهاً فى ميكانزم المقاومة الحيوية، فإن السلالات المحتوية ant X يمكن أن تختلف وراثيا فى طرق مهمة، مشكلة بعض السلالات الجديدة مفيدة على المحاصيل المختلفة فى المناطق المختلفة جغرافياً، أو كجزء من المخلوط الوراثى المتنوع. هذا الاقتراح يؤدى بسهولة لتعريف مجموعات كثيرة من الخلايا المثبطة للمرض، وتمنع الاحتياج الى التكرار اللسنوى من البحث فى (A) الى C.

II: تفاعلات عامل المقاومة الحيوية مع النبات
Interactions of Biocontrol Agent With Plant

١- الاســـتعمار Colonization

يبدو منطقياً أن عامل المقاومة الحيوية، ينمو ويستمر أو يستعمر سطح النبات الذى يحفظه، وإن هذا الاستعمار من المعتمد أنه أساسى للمقاومة الحيوية. وعلى أية حال فإن الاستعمار أو حتى حجم التجمعات الأولية لعامل المقاومة الحيوية، قد تبين أنه ذو علاقة معنوية بتثبيط المرض فى قليل من الحالات. فمثلاً فى تثبيط مرض سقوط البادرات المفاجئ فى البسلة بواسطة الفطر *P. cepacia* (أعيد تسميته حديثاً باسم *Burkholderia cepacia*) هناك علاقة معنوية بين حجم التجمعات فى عامل المقاومة الحيوية ودرجة تثبيط المرض. كذلك فإن تثبيط المرض الماحق فى القمح يكون له علاقة بكثافة استعمار الجذور بواسطة البكتيريا الوميضة *P. fluorescens* سلالة 79-2. وعلى أية حال فإنه حتى فى التفاعلات التى تتطلب التواجد على شكل استعمال لتثبيط المرض، فإن عامل المقاومة الحيوية قد لايتطلب التواجد على كثافة عالية من التجمعات. هناك فى بعض الأحيان أنواع معينة من عوامل المقاومة الحيوية ذات الكفاءة العالية مثل *P. cepacia* و *B. cereus* تحرز تجمعاً معتدلاً فقط على جذور النباتات النامية فى الحقل، ويبدو أنها تحل محل (ليس زيادة) التجمعات للأفراد الطبيعية من أنواعها (هذا ما وجده King & Barke سنة ١٩٩٦)، هذه النتائج تؤدى إلى القول بأن الجذور لها كفاءة تحمل، أو أنها تستطيع أن تغذى وتدعم حجماً محدوداً من التجمعات لبعض أنواع البكتيريا.

إن معرفة وفهم التفاعل بين حجوم التجمعات لعامل المقاومة الحيوية والكائن الممرض قد تقدم بشكل واسع، بسبب الاقتراحات النظرية المعتدلة المقدمة بواسطة Johnson سنة ١٩٩٤ والزيادة التى حصلت عن طريق الإثبات التجريبى بواسطة Bonaterra سنة ١٩٩٦. إن استعمال النماذج الرياضية تزود الباحث بعمق فى تحليل النتائج، والتى يمكن التحصل عليها بصعوبة فى الأبحاث الماضية على المقاومة الحيوية. من هذا العمل يبدو واضحاً أن الاهتمام والانتباه يجب أن ينصبا على الجرعة المسئولة عن العلاقة بين كل من الميكروبات المشاركة، بسبب أن نتائج المقاومة الحيوية تكون مختلفة بشكل عام (عندما تسجل النتائج

عندما يكون المرض عالى الشدة أو منخفض الشدة جداً) . التوسع فى هذه الموديلات الرياضية، سوف يزيد فى موضوع الاستعمار اختلاف الزمن، وصف العلاقة، يبين شدة المرض أو مدى حدوثه، وتجمعات عامل المقاومة الحيوية والكائن الممرض أثناء تكشف النبات.

الصفات البكتيرية التى تشارك فى الانتشار الفعال أو غير الفعال على الجذور لاتزال غير واضحة جداً. على أية حال، تحت ظروف الحقل، الماء الراشح، من الممكن أن يلعب دوراً أساسياً فى الانتشار الفعال للبكتيريا على الجذور، مع ذلك فإن الحركة مهمة فى المقاومة الحيوية وفى العلاقة بين البكتيريا والنبات تحت بعض الظروف وليس كل الظروف، وتحمل الضغط الأسموزى يكون متعلقاً مع المقدرة على الاستعمار. تؤثر صفات سطح الخلية على الالتصاق بالجذور، والذى يمكن أن يكون ضرورياً للاستعمار.

بعض الطفرات التى توثر على تجمعات الميتابولزم الثانوى، هى أيضاً تؤثر على استعمار أجزاء النبات فى تربة الحقل. هناك اقتراح يبشر بالنجاح، من المحتمل أنه سيوسع نظام المميزات التى تعتبر مهمة للاستعمار، وهو تصفية الطفرات مباشرة لزيادة أو نقصان مقدرة استعمار الجذور. طفرات سلالات *Pseudomonas* لكلا الفينوتابيس، قد تم تعريفها، وإن تحليل هذه الطفرات يدل على أن التغذية البروتينية والأحماض الأمينية وفيتامين B_1، معدل نمو سريع، استعمال الأحماض العضوية، السكريات العديدة الدهنية، هذه الصفات تشارك فى المقدرة على الاستعمار.

إن دراسة استعمار الجذر بواسطة عوامل المقاومة الحيوية الفطرية أكثر تعقيداً منه فى حالة البكتيريا. إن تعريف الوحدة الفطرية للقياس وصعوبة توصيل التحليلات الوراثية تكون متحديات فى دراسة البيئة الفطرية. إحدى الدراسات ركزت إهتمامها على طفرات *Tricho-derma* ، والتى تكون مقاومة للمبيد الفطرى بينومايل. هذه الفطريات تزداد بصورة مذهلة فى استعمار الجذر والمقدرة على المقاومة الحيوية، حتى فى غياب البينومايل. ترتبط مقاومة البينومايل مع عديد من الفينوتايب، شاملة زيادة إنتاج السليوليز وتعدل الشكل الخارجى جاعلاً ذلك صعباً فى تحديد أساسيات زيادة الاستعمار. من الممكن أن زيادة إنتاج السليوليز تزيد استعمار الجذر عن طريق تأهيل الفطر *Trichoderma* فى استعمال بقايا خلية النبات، وإن هذه الزيادة فى الاستعمار تشجع المقاومة الحيوية.

٢- المقاومة المستحثة Induced Resistance

بعض عوامل المقاومة الحيوية تعمل على إحداث تغيير مؤكد فى بعض صفات النبات، مثل زيادة تحمله للإصابة بالكائن الممرض، هذه الظاهرة تعرف باسم المقاومة المستحثة. فى بعض الحالات يبدو واضحاً أن المقاومة المستحثة بواسطة عوامل المقاومة الحيوية تكون داخلة فى مجموعة الجينات ناتجات الجين نفسها، تكون داخلة فى استجابة النبات الموثوقة جيداً والمعروفة باسم المقاومة الجهازية المكتسبة Systemic acquired resistance (SAR)، ولكن هذا ليس دائماً هو الحال. إن SAR هى استجابة نموذجية لإصابة موضعية أو الإصابة بكائن ممرض موهن أو مثبط والتى تظهر بوضوح فى المقاومة التالية، بمدى كبير بالنسبة للكائنات الممرضة الأخرى. إن أفضل مثل لفهم المقاومة المستحثة، يحدث فى المقاومة الحيوية للأمراض التى تصيب أجزاء النبات فوق سطح التربة.

كان أول اقتراح بأن عوامل المقاومة الحيوية، من الممكن أن تحث على المقاومة فى العائل، مبنياً على أساس التجارب التى أظهرت أن المعاملة البكتيرية تحفظ درنات البطاطس من الإصابة التالية بالكتيريا *Pseudomonas solanacearum* والأبحاث الأكثر حداثة أظهرت أن عامل المقاومة الحيوية *P. fluorescens* سلالة CHAO يحث على تكوين بروتينات مرافقة لـ SAR تمنح مقاومة جهازية للكائن الممرض الفيروسى، وتحث على تجمع حمض السلسليك، والذى يلعب دوراً فى التحويل الاشارى Signal transduction فى الـ SAR . إن طفرات CHAO التى لاتنتج السايدروفور المسمى Pyoverdin لاتحث على SAR، هذا أدي إلى القول بأن هناك دوراً تركيبياً لعمليات الميتابولزم البكتيرية فى تثبيط المرض. هناك بكتيريا وميضة أخرى هى *P. putide* تحث على إحداث تعبيرات للجين المشفر PR1a الذى يكون مترافقاً مع الاستجابة الكلاسيكية لـ SAR. هناك سلالات أخرى من البكتيريا *P. fluorescens* لاتحث على إحداث تعبيرات لمنتجات الجين المترافقة مع الاستجابة الكلاسيكية لـ SAR، ولكن يبدو أنها بدلاً من ذلك تحث على استجابة وظيفية مناظرة.

هناك إتجاه آخر لإثبات المقاومة المستحثة والذى يمكن أو لايمكن أن يتضمن SAR، وهو أن بعض عوامل المقاومة الحيوية تثبط المرض عندما تستعمل بعيداً عن موقع الاصابة بالكائن الممرض، ولايمكن أن تتواجد فى موقع الاصابة. زيادة على ذلك، فى حالة تثبيط

ذبول الفيوزاريوم بالبكتيريا الوميضة *P. fluorescens*، فإن تحضيرات من السكريات العديدة الدهنية المأخوذة من سطح الخلية البكتيرية، تحث على إحداث مقاومة مشابهة تماماً لما تحدثه البكتيريا الحية، هذا أدى إلى القول بإن المقاومة الحيوية ليست بالضرورة بسبب نقل البكتيريا أو المضادات الحيوية خلال النبات. سواء كانت أم لم تكن عوامل المقاومة تثبط المرض عن طريق المقاومة المستحثة، فمن الأساسى أن SAR واستراتيجيات المقاومة الحيوية يجب أن تكون متوافقة وذلك لأن العمليات الزراعية المستقبلية من المحتمل أن تتطلب دمج استراتيجيات مقاومة الآفات الكثيرة.

٣- التغيرات الوراثية فى العائل Genetic Variation In The Host

مع أن كثيراً من الأبحاث قد ركزت على جينات النبات المؤثرة على التفاعل مع الكائنات الدقيقة النافعة ذات الصلة بالعلاقة التكافلية فى تثبيت النيتروجين، إلا أن هناك أدلة كثيرة تدل على أن النباتات تختلف فى قابليتها لدعم والاستجابة للميكروفلورا النافعة الأخرى. المقدرة على دعم كائنات دقيقة معينة داخلة فى المقاومة الحيوية تختلف بين أنواع النباتات وأصناف الأنواع المزروعة. يبدو أن بعض النباتات لها قدرة على جذب ودعم مجموعات من الكائنات الحية الدقيقة، والتى تكون مضادة لبعض الكائنات الممرضة.

تختلف أنواع البقوليات فى مدى استجابتها للكبتيريا المشجعة لنمو النبات *B. polymxa* وسلالات *Bacillus* المعزولة من جذور القمح، تشجع نمو القمح فى بعض أنواع الصنف المزروع. تختلف أنواع النباتات فى مقدرتها على حث الجينات للبناء الحيوى لمادة الـ Pyo-luteorin فى البكتيريا الوميضة *P. fluorescens*، من المحتمل بسبب الاختلافات فى تركيب إفراز الجذر بين الأنواع. سلالات هذه البكتيريا التى تنتج كمية كبيرة من Pyolute-orin ومن مادة 2,4-diacetyl phloroglucinol، تحدث زيادة كبيرة فى تثبيط المرض بالمقارنة مع السلالات، التى لاتفرز كميات كبيرة من تلك المواد فى بعض الاتحادات (العائل – الكائن الممرض) وليس مع الأخرى، وأن هذه التأثيرات تتعلق مع العائل وليست مع الكائن الممرض، ومع الحساسية للمضادات الحيوية. هناك دراسات عديدة بينت أن الأصناف المختلفة تختلف فى بقاءها، أو حدوث المرض فى وجود الكائن الممرض وعامل المقاومة الحيوية. الاعتراضان الرئيسيان فى تقييم تغيرات النبات لهذه الميزة أو الصفة هما:

الأول، فصل التأثيرات التى على الكائن الممرض عن تلك التى على العائل. الثانى، تقسيم أو تجزئة مقاومة العائل وتأييد أو دعم المقاومة الحيوية.

التطبيق العملى لاكتشاف أن النباتات تختلف فى مقدرتها لدعم المقاومة الحيوية، يكون بتشجيع هذه الصفة عن طريق التربية، هذه العملية قد تمت الإشارة إليها على أساس أنها التربية لحسن الضيافة، والتى تسمى (Hospitality) فى النبات العائل، ومن المحتمل أن يكون لها تأثير أساسى على فعالية المقاومة الحيوية لأمراض النبات التى حصل فيها حسن الضيافة لعامل المقاومة الحيوية، يمكن أن تنتج إفرازات جذرية، والتى تدعم نمو أو تحدث تغييرات فى الجينات فى الكائنات الحية الدقيقة شاملة تثبيط المرض وجذب عامل المقاومة الحيوية لمكان الإصابة، أو تستجيب لعامل المقاومة الحيوية عن طريق الاعتماد على إستجابة المقاومة. يمكن أن تستعمل التربية أيضاً لإنتاج طرز أيزوجنك Isogenic ، التى تستطيع أن تزود الأساسيات اللازمة لتعريف الصفات فى النباتات التى تؤثر فى علاقتها مع الكائنات الحية الدقيقة. سوف تكون التربية لحسن الضيافة فى عوامل المقاومة الحيوية سهلة وذلك عن طريق تحديد توارث هذه الصفة أو رسم الخريطة الجينية المرافقة لحسن الضيافة. هذا الاجراء قد تم بشكل أولى فى الطماطم التى فيها Inbred lines قد إشتقت من التلقيح الواسع والذى تم تقييمه لمقدرتها لدعم المقاومة الحيوية بواسطة *B. cereus*. التغيرات الأساسية فى هذه الصفة لوحظت بين هذه الطرز. وهكذا يتم التزويد بالأساسيات اللازمة لخرائط الجينات التى تشارك فى ظاهرة حسن الضيافة للبكتيريا *B. cereus*.

III: تفاعلات عوامل المقاومة الحيوية مع المجموعة الميكروبية المحيطة بالنبات

Interactions of Biocontrol Agents With Microbial Group Surrounded The plant.

إن تفاعل عامل المقاومة الحيوية مع المجموعة الميكروبية المحيطة بالنبات، يمكن أن يزودنا بمفاتيح لحل التساؤل الذى يقول لماذا يكون هناك كثير من الكائنات الدقيقة تثبط الكائن الممرض بكفاءة فى المعمل، ولكنها تفشل فى أن تعمل ذلك فى الحقل؟؟

الكائنات الدقيقة المستعملة فى المقاومة الحيوية، يمكن أن تتأثر بواسطة المجموعات الميكروبية المحيطة بها، وهى أيضاً يمكن أن تؤثر فيها. فى بعض الحالات يمكن لعوامل

المقاومة الحيوية أن تزيد أعداد المجموعة الميكروبية التى تكون على اتصال بها أثناء تثبيط المرض. تقترح الدراسات الحديثة أن المعالجة المدروسة للمجموعات الميكروبية يمكن أن تكون ذات تأثير قوى وشكل فعال من المقاومة الحيوية.

يبدو أن مقدرة البكتيريا *P. fluorescens* لتثبيط الذبول الفيوزاريومى فى الفجل، تكون جزئياً بسبب تأثيراتها على المجموعة الفطرية وبشكل خاص على السلالات غير الممرضة من *Fusarium oxysporum*. بعض أنواع البكتيريا الوميضة، تبين بأنها تحل محل الفطريات والبكتيريا المستوطنة، فى بعض الحالات فإنها تخفض تجمعات الكائنات الدقيقة الضارة. كذلك فإن المعاملات التى تزيد صحة النباتات، تستطيع أيضا أن تزيد فى أعداد البكتيريا المختزلة للمنغنيز فى مجموعة الرايزوسفير، بذلك تكون هناك زيادة فى كمية المنغنيز المتوفر للنبات، والذى يمكن بدوره أن يزيد المقاومة للمرض.

إن إدخال عامل المقاومة الحيوية *B. cereus* سلالة UW85 يستطيع أن يحث على إحداث تغيرات كبيرة فى تركيب مجموعات المزارع البكتيرية على جذور فول الصويا فى الحقل (هذا ما وجده Gilbert *et al* سنة ١٩٩٣). هذا التغيير يؤدى إلى تشكيل مجموعة تكون أكثر قرباً ومشابهة إلى المجموعات البكتيرية التى تكون موجودة فى تربة غير منطقة الرايزوسفر، منها فى مجموعة الجذر غير المعاملة. هذه النتائج ترتبط وتدعم أساساً من البحث السابق على تأثيرات مقاومة العائل وتحسينات التربة على مجموعات الرايزوسفير، هذا أدى إلى الاقتراح بنظريات التمويه Camouflage، والتى تفترض أن هناك ميكانزم لحفظ جذور النبات من المهاجمة بواسطة الكائنات الممرضة يكون بعمل الجذور Look أكثر منه شبيهاً للتربة، عن طريق زيادة تجمعات ساكنات التربة النموذجية وتقليل تجمعات الكائنات الدقيقة المرافقة للجذر النموذجية. إن فرضيات التمويه لم تختبر بعد مباشرة، ولكن يمكن أن تزودنا بأساسيات مفيدة لدراسة مجموعة العمليات، التى تؤثر فى المقاومة الحيوية للكائنات الممرضة االمرافقة للجذر.

هناك ثلاثة اعتراضات على التغيرات الميكروبية الناتجة من إدخال عامل المقاومة الحيوية:

أولاً: من الصعوبة تحديد فيما إذا كان تغير المجموعة يلعب دوراً فى تثبيط المرض، أو فيما إذا كان عبارة عن نتيجة بسيطة ليس لها علاقة فى تغيير مكروفلورا الرايزوسفير.

ثانياً : تتطلب عمليات تحليل نتائج أبحاث التكاثر فى المجموعة، أدوات حسابية دقيقة لتحليل المجموعات المعقدة ومستوياتها المتضاعفة فى التفاعل. يجب أن يكون هناك حذر وحيطة فى تفسير النتائج من الدراسات الأولية، ويجب الاعتماد على الطرق الإحصائية المتضاعفة فى الكومبيوتر.

ثالثاً : جميع الأبحاث التى أجريت لمعرفة تأثير كائنات المقاومة الحيوية على المجموعات الميكروبية قد تم الحصول عليها من المعمل وذلك لوصف المجموعات، ونظراً لأن أقل من ١ ٪ من البكتيريا فى التربة قابلة للزراعة فى المعمل، فإن الدراسات المبنية على النتائج المعملية، فإنها دون شك تتجاهل أهمية بعض الكائنات الدقيقة الأخرى فى التفاعلات. إن الإستعمال الحديث للتحليل الجزيئى لوصف المجموعات غير القابلة للزراعة فى كل من البيئة العادية والمتحورة، يزودنا بمجموعة من العوامل أو الأدوات لدراسة التفاعلات الميكروبية التى تؤثر على المقاومة الحيوية. (هذا ما وجده Oconnell *et al* سنة ١٩٩٦).

التأثيرات البيئية على المقاومة الحيوية لمسببات الأمراض الكامنة فى التربة
Ecological Effects on Biological Control of Soilborne Pathogens

مقدمة:

تعتبر التربة محيطاً معقداً يأوى أعداداً كبيرة من تجمعات الميكروبات، النباتات والحيوانات. هذه المخلوقات الحية تتفاعل باستمرار تحت تقلبات الظروف البيئية، تحافظ على بقائها أو تزداد أعدادها وفقاً للنظام الخارجى المؤثر عليها. بعض من هذه التفاعلات يمكن أن يكون نافعاً لتجمعات ميكروبية معينة، والبعض الآخر يمكن أن يكون ضاراً بها. التفاعلات الميكروبية الضارة أو السلبية هى التى تشكل أساساً للمقاومة الحيوية للكائنات الممرضة النباتية. يمكن الوصول إلى المقاومة الحيوية الناجحة لأمراض النبات الكامنة فى التربة، عن طريق المعرفة الأساسية للعلاقات البيئية للتجمعات الميكروبية المختلفة، شاملة الكائنات الممرضة النباتية وعوامل المقاومة الحيوية فى التربة. تعتبر المقاومة الحيوية للفطر *Sclero-tinia* spp. عن طريق التطفل الفطرى والتضاد الحيوى، مثالاً لتوضيح الإجابة عن السؤال الذى يقول لماذا تنجح عوامل المقاومة الحيوية فى محيط تربة معينة، وتفشل فى أخرى؟؟

المقاومة الحيوية للكائنات الممرضة المنتجة أجسام حجرية (سكلوروشيم)

هناك عديد من الفطريات عالية التطفل (ذات تطفل علوى) Hyperparasite معروفة جيداً لمقاومة الكائنات الممرضة المكونة أجسام حجرية. تشمل هذه الفطريات كل من:

١- *Sporidesmium sclerotivorum* يقاوم مرض سقوط البادرات المتسبب عن *Scleroti-nia minor*

٢- *Coniothyrium minitans* يقاوم مرض ذبول سكلوروتينا *S. sclerotiorum* الذى يصيب الخس وعباد الشمس وكذلك مرض العفن الأبيض فى البصل المتسبب عن *Scle-rotium cepivorum*.

٣- *Trichoderma harzianum* لمقاومة مرض اللفحة الجنوبية فى الطماطم والفول السودانى المتسبب عن *S. rolfsii*.

٤- *Talaromyces flavus* لمقاومة مرض ذبول الفيرتسليم فى الباذنجان المتسبب عن الفطر *Verticillium dahliae*.

٥- البكتيريا *Bacillus subtilis* لمقاومة العفن الأبيض فى البصل *S. cepivorum*

أظهرت الدراسات فى الولايات المتحدة أن معاملة واحدة بالفطر *Sporidesmium sclerotivorum* بمعدل ١٠٠-١٠٠٠ ماكروكونيدية لكل غرام من التربة يكون فعالاً فى خفض حدوث مرض سقوط بادرات الخس بنسبة ٤٠-٨٣٪ لأربعة سنوات متتالية. هناك دراسة أخرى أظهرت أن استعمال نفس الفطر السابق بمعدل ٢٠كغم/هكتار يخفض بشكل معنوى مرض سقوط بادرات الخس لثلاثة سنوات متتالية، أما فى السنة الرابعة والخامسة لم يظهر تأثير معنوى للفطر وذلك لزيادة التجمعات الداخلية للفطريات المتطفلة فى الأراضى المعاملة، مما جعل تأثيرها يشبه تأثير الأراضى غير المعاملة. إن المقاومة الحيوية لمرض سقوط بادرات الخس بالطرقة السابقة يمكن أن تكون ملائمة إقتصادياً وذلك بسبب استمرار بقاء فعل الكائن المضاد، مما يؤدى إلى خفض تكاليف المحصول وزيادة الدخل بالإضافة إلى قلة تكاليف تحضير اللقاح.

وجد كذلك أيضاً أن معاملة التربة مرة واحدة بالفطر *C. minitans* تكون فعالة فى مقاومة مرض ذبول سكلوروتينا فى عباد الشمس ومرض العفن الأبيض فى البصل. لقد قام

Huang سنة ١٩٨٤ بالدراسة المتواصلة لمدة ثلاثة سنوات للحقول الملوثة طبيعياً بالفطر *S. sclerotiorum* ووجد أن استعمال *C. minitans* على شكل معاملة أثلام البذور، خفض حدوث مرض ذبول السكلوروتينا فى عباد الشمس بنسبة ٤٢-٥٦٪ بالمقارنة مع التربة غير المعاملة. هذه النتائج قد تم تأكيدها فى دراسات أخرى فى كندا وروسيا. ولقد وجد Bogda-nova *et al* سنة ١٩٨٦ أن الفطر *C. minitans* كان أكثر فعالية عند استعماله بتركيز ١٥٠كغم/هكتار عنه عند استعمال بتركيز ٥٠كغم/هكتار. هذه الدراسات أدت إلى القول بأن إضافة هذا الفطر إلى التربة يوقف نمو الفطر الممرض، وبذلك يخفض حدوث مرض ذبول السكلوروتينا فى عباد الشمس.

فى دراسة مستمرة لمدة سبعة سنوات على حقلين من حقول عباد الشمس ملوثين طبيعياً بالفطر الممرض *S. sclerotiorum* وجد أن هناك انخفاضاً كبيراً فى حدوث مرض الذبول السكلوروتونى بعد سبع سنوات من الزراعة المتكررة بمحصول عباد الشمس نفسه. ولقد أظهر تحليل التربة أن الانخفاض فى الذبول يمكن أن يعزى للزيادة فى تجمعات الفطر *C. mini-tans* الموجود طبيعياً فى التربة (استمر تأثير خفض المرض سنتين على الأقل)، وهذا يؤدى إلى القول بأن الفطر المضاد يمكن أن يستمر مفعوله وفائدته فى كبح تجمعات الكائن الممرض لمدة طويلة.

المقاومة الحيوية الناجحة للكائنات الممرضة الأخرى المكونة أجسام حجرية عن طريق التطفل الفطرى hyperparasites فى الحقل قد ذكرت بالنسبة لذبول الفيرتسليم فى الباذنجان. لقد قام Marois *et al* سنة ١٩٨٢ بمعاملة حقلين ملوثين بالفطر *Verticillium dahliae* باستعمال الفطر *T. flavus* وحصل على ٧٦٪ خفضاً فى شدة المرض وزيادة الإنتاج بنسبة ٦٧٪.

الأشكال البينية فى التربة وعلاقتها بالمقاومة الحيوية:

تحت أى ظروف بيئية، فإن كل التجمعات الميكروبية شاملة الكائنات الممرضة، الرميات، الكائنات المضادة والفطريات عالية التطفل، يجب أن تتنافس على المواد اللازمة للنمو وبقاء الحياة. إن نجاح التجمعات الميكروبية فى نظام خارجى معين يتطلب أقصى درجات النمو خلال فترات النمو النشيطة، بالإضافة إلى المقدرة على التحمل والبقاء فى

الظروف الصعبة. يجب أن تبنى استراتيجيات المقاومة الحيوية الفعالة للمرضات الكامنة فى التربة على بيئة الكائن الممرض، عوامل المقاومة الحيوية، نباتات العائل والمواد غير الحية المحيطة الأخرى.

الكائنات الممرضة متعددة أشكال الأجسام التكاثرية الساكنة:

خلال الانتخاب الطبيعى الذى يحدث بين الكائنات الحية الدقيقة، هناك كثير من الكائنات الممرضة الكامنة فى التربة قد حدث تطور فى صفاتها بحيث أصبحت أكثر قدرة على المنافسة والبقاء فى النظام الخارجى المعين. فمثلاً *S. sclerotiorum* فهو سريع التقلب فى سلوكه فى النمو، وفى استجابته للظروف المعاكسة. ينتج هذا الفطر أجسام حجرية كامنة سوداء، والتى هى متحملة للضغوط البيئية المختلفة وتكون مقاومة للاختراق بواسطة الفطريات المتطفلة Hyperparasites. هذه الأجسام الحجرية هى الأشكال التكاثرية التى يقضى عليها الفطر الشتاء، وهى تسلك سلوك اللقاح الأولى للأمراض لبعض النباتات الزيتية. يتكون الميسيليوم فى أنسجة النبات المصابة، وتكون لقاحاً فعالاً فى الانتشار الثانوى للمرض خلال موسم المحصول، ولكنها ضعيفة فى تحملها لبرودة الشتاء وفى المروج الجرداء.

إن المفتاح الأساسى لتطور درجات من المقاومة الحيوية الفعالة لأمراض السكليروتينا، يكون بتفهم الميكانيكيات الداخله فى كمون وإنبات الأجسام الحجرية. إن الأجسام الحجرية للفطر *S. sclerotiorum* فى التربة يمكن أن تنبت وتعطى نموات للميسيليوم الأولى لتنتج هيفات خضرية أو مكونات الأجسام الثمرية لتكوين Apothecia وجراثيم اسكية. إن سلوك كل نوع من هذا الإنبات له تأثير وبائى مختلف. تستطيع الميسيليومات الناتجة من إنبات الجسم الحجرى أن تصيب الجذر وتسبب ذبول عباد الشمس بنوعيه *H. annuus, H. tube-rosus* ونبات *Physostigia virginiana*. أما الجراثيم الاسكية الناتجة من الجسم الحجرى النابت Carpogenically فهى تهاجم الأنسجة الموجودة فوق سطح التربة، مسببة عفن الرأس فى عباد الشمس والقرطم، وتسبب عفن الساق وعفن القرن فى نباتات اللفت والفاصوليا والبسلة. إن كلاً من ذبول السكلوروتينا الناتج من التركيب المسمى myceliogen-esis وعفن الرأس الناتج من Carpogenesis يمكن أن تحدث على عباد الشمس.

تكون فترة السكون للأجسام الحجرية للفطر *S. sclerotiorum* مترافقة مع بداية تلون قشرة الأجسام الحجرية باللون الأسود. يكون التلون الأسود الكلى لقشرة الجسم الحجرى ضرورياً لمنع الإنبات الفورى بـ Myceliogenic ولتشجع كمونة (الجسم الحجرى). يمكن أن يستحث إنبات الـ Myceliogenic بواسطة المواد الغذائية المتوفرة، إما بواسطة إضافة خارجية أو تؤخذ من راشح الأجسام الحجرية المجروحة. تحدث الأضرار للأجسام الحجرية، بحيث تكون ناتجة لتغيرات الرطوبة والجفاف والشيخوخة أو التعرض لدرجات الحرارة تحت التجميد. إن تكشف ذبول السكليروتينا فى عباد الشمس يكون معتمداً على مقدرة الجسم الحجرى لينبت فى التربة Myceliogenically. لقد وجد Huang & Kozub سنة ١٩٩٠ أن أعلى حدوث للمرض فى عباد الشمس يكون عن طريق هذه الأجسام الحجرية ذات اللون الأسود غير المكتمل فى القشرة أو تلك التى اكتمل تلوينها ولكنها مجروحة.

هناك عوامل أخرى تؤثر على تكشف مرض الذبول فى عباد الشمس، وهى توزيع الأجسام الحجرية فى التربة. لقد وجد أن أعلى حدوث للمرض يكون عندما تدفن الأجسام الحجرية على عمق ٥ سم بالقرب من البذره، وتقل نسبة حدوث المرض كثيراً إذا كانت الأجسام الحجرية مدفونة على عمق ١سم من سطح التربة أو على عمق ١٥سم تحت البذرة وبالمثل فإن حدوث المرض يقل عندما يكون عمق البذرة والجسم الحجرى متساوياً ، ولكن هذه الأجسام الحجرية تكون بعيدة أفقياً عن البذره مسافة ١٠سم أو أكثر. هذه الدراسات تقترح بأن الأجسام الحجرية التى تكون ملتصقة بالجذر الرئيسى والجذور الجانبية هى المصدر الرئيسى للقاح حدوث المرض.

يتطلب إنبات الـ Carpogenic للجسم الحجرى للفطر *S. sclerotiorum* ظروف بيئية مناسبة، مثل ارتفاع الرطوبة، وأن تكون الحرارة من ١٠-٢٠°م أو درجة تبريد من ٣-٤م وكمية كافية من الأكسجين والإضاءة. هناك تقارير تدل على أن درجة الحرارة خلال تكوين الأجسام الحجرية وعمر الجسم الحجرى، كلها عوامل مهمة مؤثرة على إنبات الـ Carpogenic للجسم الحجرى للفطر.

فعالية عوامل المقاومة الحيوية Efficacy of Biological Control Agents

إن نجاح المقاومة الحيوية لمرض سقوط الخس السكلوروشى بالفطر *Sporidesmium sclerotivorum* وذبول السكلوروشيم فى عباد الشمس بواسطة *C. minitans*، قد تم نتيجة التفهم العميق للعلاقات البيئية بين كائنات التطفل الفطرى وعوائلها. إن كلا المتطفلين السابقين عندهما القدرة على تحطيم الأجسام الحجرية فى أماكنها الطبيعية. لقد لاحظ كل من Ayers & Adams سنة ١٩٧٩ أن الفطر الأول ينمو جيداً على الأجسام الحجرية الحية للكائن الممرض، وينمو ببطء على الأجسام الحجرية الميتة بالحرارة، ولاينمو على أى من البيئات الشائعة من الـ Mycological . أما المكروكونيديا للفطر نفسه فإنها تنبت وتهاجم الأجسام الحجرية للفطر *S. minor* فى التربة مؤدية إلى إنتاج حوالى ١٥٠٠٠ مكروكونيديا جديدة على كل جسم حجرى مصاب. والأكثر أهمية أن ميسيليوم الفطر *S. sclerotivorum* ينمو خلال التربة ويهاجم الأجسام الحجرية السليمة الأخرى من الفطر *S. minor*. بالإضافة للخفض فى كثافة اللقاح الأولى للفطر *S. minor* وزيادته فى الفطر *S. sclerotivorum*، تزداد المقاومة لمرض سقوط الخس فى السنوات المتتابعة، بسبب مقدرة الفطر على التطفل على الأجسام الحجرية الحديثة، على نباتات الخس المريضة فى الحقل.

مع أن الفطر *C. minitans* يهاجم كلاً من الهيفات والأجسام الحجرية النامية للفطر *S. sclerotiorum* فإن مقاومة مرض الذبول السكلوروشى فى عباد الشمس، يكون الحصول عليها، فقط عن طريق الخفض فى أعداد الأجسام الحجرية التى تقوم بدور اللقاح الأولى. أما التطفل الفطرى فيكون غير فعال فى منع الانتشار الثانوى للمرض، عن طريق تلامس جذور لجذر، وبالتالى فإن نجاح مقاومة الذبول السكلوروشى فى عباد الشمس، سقوط بادرات الخس والعفن الأبيض فى البصل يكون ناتجاً عن استبعاد أو التخلص من الأجسام الحجرية فى منطقة الجذر، بواسطة لقاح من *C. minitans* عند إضافته لخطوط البذور.

تحورات البيئة والمقاومة الحيوية:

تؤثر البيئة الطبيعية (الفيزيائية) والكيماوية على ثبات التجمعات الميكروبية فى التربة، فمثلاً تعرض الفطر *S. sclerotiorum* لظروف متبادلة من الرطوبة والجفاف أو التجمد أو

الجفاف، يسبب أضراراً للأجسام الحجرية، هذه الأجسام الحجرية المتضررة تنبت Myceli-ogenically مسببة إصابة وذبول عباد الشمس، وبعكس الأجسام الحجرية الكامنة والتى تكون مقاومة للتطفل الفطرى، حيث إن الأجسام الحجرية النابتة بالطريقة المذكورة تكون أكثر حساسية وقابلية للاختراق والاستعمار بالفطريات المتطفلة الآتية:

1- Trichoderma harzianum. *2- T. virens.* *3- Coniothyrium* minitans.

أما الأجسام الحجرية للفطر *S. sclerotionum* المنبتة Carpogenically، تكون أيضاً أكثر قابلية للاستعمار بالفطريات الثلاثة المذكورة سابقاً، عنه فى الأجسام الحجرية التى فى مرحلة السكون. وبالتالى فإنه فى غياب العائل فان الأجسام الحجرية غير الكامنه غالباً ما تفقد مقدرتها على التنافس وتفقد مقدرتها على الهروب من ضغط الطفيل.

إن تغيير الوسط الكيميائى للكائنات الحية، عن طريق إضافة مغذيات عضوية أو غير عضوية إلى التربة أو منطقة الرايزوسفير، غالباً ما يكون فعالاً فى مقاومة مسببات الأمراض الكامنة فى التربة. هناك تقارير عديدة تدل على أن معاملة التربة بمادة سينامايد الكالسيوم أو مخلوط S-H تثبط تكوين الـ Apothecial بواسطة الأجسام الحجرية للفطر *S. sclerotior-um*. حتى المواد المتطايرة الناتجة من معاملة التربة باليوريا، سينامايد الكالسيوم أو مخلوط *S-H* تكون ضارة لإنبات Carpogenic الأجسام الحجرية للفطر نفسه. إن إضافة الفطريات المتطفلة *C. minitans* أو *T. flavus* إلى حقل ملوث بالفطر الممرض المذكور سابقاً *S. scle-rotiorum*، أيضاً تكون فعالة فى خفض إنتاج الابوثيسيا. لكن الأبحاث الحديثة لمحاولة زيادة مقاومة الابوثيسيا للفطر المذكور عن طريق إضافة *C. minitans* إلى التربة المعاملة بمخلوط S-H أو سينامايد الكالسيوم، كانت غير ناجحة، بسبب أن التربة المعاملة تكون شاملة لكل من الكائن الممرض والفطر المتطفل. هناك دراسة مشابهة لمقاومةمرض سقوط البادرات المفاجىء فى عباد الشمس المتسبب عن الفطر بثيم، أوضحت أن اتحاد عوامل المقاومة الحيوية مع تحسين التربة يكون أكثر فعالية من عوامل المقاومة الحيوية لوحدها أو تحسين التربة لوحده. أمكن تخفيض المرض عن طريق معاملة البذور بالبكتيريا الوميضة *Pseudo-monas fluorescens* أو *Bacillus polymixa*، أو عن طريق معاملة التربة بحوالى ٠,٣ ٪ يوريا أو ٢ ٪ مخلوط S-H. وعلى أية حال فإن خفض المرض يكون أكثر عند استعمال البكتيريا الوميضة كمعاملة بذور ثم زرعتها فى تربة معاملة باليوريا أو مخلوط S-H. هذه الدراسة أدت إلى القول بأن بعض معاملات التربة بأى من الأوضاع المذكورة يمكن أن يكون

تأثيرها ضاراً على الكائن الممرض، ويبقى غير ضار على عوامل المقاومة الحيوية. وباستعمال هذه المواد، يمكن زيادة كفاءة عوامل المقاومة الحيوية المدخلة إلى التربة.

المقاومة الحيوية للفطريات الممرضة للجذور
Biological Control of Root Pathogenic Fungi

المقاومة الحيوية للفطريات الممرضة للجذور، يمكن أن تتواجد طبيعياً، حيث إن الكائنات المضادة تكون موجودة طبيعياً فى التربة، أو يمكن أن تتم هذه المقاومة عن طريق إدخال الكائنات المضادة صناعياً إلى التربة.

المقاومة الحيوية الطبيعية:

من المعروف جيداً أن بعض الأراضى عندها المقدرة على تثبيط حدوث المرض فى النبات، رغم أن العائل النباتى يكون قابلاً للإصابة والكائن الممرض موجود. هذا النوع من الأراضى يسمى الأراضى الكابحة Suppressive soils هذا الكبح الموجود فى التربة، إما أن يكون حيوياً أو غير حيوى. الكبح الحيوى يعزى إلى وجود بكتيريا غير ممرضة أو Actinomycetes أو فطريات. ولقد ذكر أن تبخير التربة ببخار الماء الساخن أو المعاملة بالمواد الكيماوية المتطايرة والتى تؤدى إلى تعقيم التربة وقتل الكائنات الحية الموجودة فيها، فإن هذه المعاملة تجعل التربة غير كابحة، نظراً لأن الكائنات الطبيعية المضادة الموجودة فى التربة تقتل بتلك المعاملة. هناك ظاهرة أخرى طبيعية، والتى هى تشبه تماماً عملية الكبح، تسمى التطهير الفطرى Mycostatic أو Mycostasis، وهى عبارة عن تثبيط النمو الفطرى وإعاقة إنبات الجراثيم دون تدخل الإنسان، وهذه الظاهرة إما أن تكون حيوية أو غير حيوية أيضاً.

إن مقدرة التربة على تثبيط أو كبح أشكال الممرضات النباتية، يكون بشكل متخصص نسبياً، هذا يعنى أن التربة يمكن أن تكون فعالة ونشيطة ضد أنواع معينة متواجدة دائماً فى التربة، ولكنها تفشل فى كبح أو تثبيط الأنواع الأخرى الداخلة إلى التربة، والتى ليست مستوطنة فيها. كذلك فإنها تعنى أن الكبح يمكن أن يكون ضد شكل معين من الكائن

obeikandi.com

الممرض، وليس للنوع الرمي أو غير الممرض. لقد ذكر Toussoun سنة ١٩٧٥ أن بعض الأراضي يمكن أن تكون مثبطة لبعض أنواع الفيوزاريوم الممرضة، بينما بعض الأراضي الأخرى تكون مثبطة لجميع أنواع الفيوزاريوم.

المقاومة الحيوية المعتمدة على الإدخال الصناعي في التربة:

تعتمد هذه الطريقة على إحداث تغيير أو تكيف في الظروف البيئية المتعلقة مع العائل، سواء من حيث تغير الميكوفلورا أو الظروف البيئية الأخرى، مثل الحرارة، والرطوبة ودرجة الـ pH. إن نتيجة العلاقة التطفلية في مثل هذه الطريقة تشبه تماماً العلاقة التطفلية التي تحدث في الحالة الطبيعية.

هناك اصطلاح يسمى Allelopathy، هذا يعني استعمال كائنات حية دقيقة في المقاومة الحيوية للكائنات الممرضة النباتية، هذه الظاهرة جذبت اهتمام كثير من علماء أمراض النبات. تعتمد هذه الفكرة على نقطتين أساسيتين هما، أولاً: الوقاية بالتضاد Cross protection. ثانياً: الاستعمال المباشر للمكروفلورا المضادة.

الوقاية بالتضاد، تعني استعمال سلالات من الكائن الممرض وتكون غير ممرضة Non pathogenic، أو غير شديدة المرضية avirulent أو ضعيفة المرضية hypovirulent أو سلالات مضعفة attenuated بالإضافة إلى استعمال كائن ممرض مخالف Alien. التضاد بين مكروفلورا التربة الرمية والكائنات الممرضة الكامنة في التربة، قد وجد بأنه ذو تأثير موجب وفعال في كثير من الحالات. إن المكروفلورا المضادة يمكن أن تكون مستوطنة التربة أو مدخلة إليها.

هناك مدى واسع من الكائنات الحية الدقيقة، تشمل البكتيريا، أكتينومايستس، الفطريات والفيروسات قد استعملت في وقاية النباتات ضد عديد من الكائنات الممرضة الكامنة في التربة. البكتيريا الحقيقة والأكتينومايستس استعملت في مقاومة بعض الأمراض الكامنة في التربة، مثل أمراض الفيوزاريوم. كذلك فإن البكتيريا *Bacillus subtilis* تستعمل حالياً وعلى نطاق واسع في مقاومة ذبول الفيوزاريوم في الطماطم. وبالمثل فإن هناك أنواعاً عديدة من الجنس *streptomyces* قد استعملت في المقاومة الحيوية لكثير من الأمراض الكامنة في التربة؛ خاصة تلك التي تتسبب عن أنواع الجنس فيوزاريوم.

وعلى أية حال فإنه من الجدير بالاهتمام، أنه على الرغم من أن البكتيريا والأكتينومايستس شائعة الوجود، بالإضافة إلى استجابتها السريعة إلى معاملات التربة، إلا أنها كائنات مضادة ضعيفة نوعا ما، وأن استعمالاتها التطبيقية محدودة نسبياً فى مقاومة الكائنات الممرضة للجذور. ومن الجدير بالذكر أيضاً أن طرق استعمال الكائنات المضادة فى المقاومة الحيوية للكائنات الممرضة للجذور الكامنة فى التربة تختلف كثيراً من مرض لآخر. إن التكنيك الذى يمكن أن يثبت نجاحاً فى مقاومة بعض الأمراض يمكن أن لايكون ناجحاً مع أمراض أخرى وبشكل عام فإن الكائن الدقيق الذى يختار للمقاومة الحيوية يمكن أن يستعمل بالأشكال الآتية:

١- على شكل مسحوق، بحيث يضاف مباشرة على شكل كوميات صغيرة broad casted على سطح التربة.

٢- على شكل معلق بحيث تغمر فيه جذور البادرات.

٣- أن يخلط مباشرة مع التربة.

٤- أن يستعمل على شكل تغليف للبذور أو التقاوى وهى أهم الطرق المذكورة.

ثانياً: المقاومة الحيوية لمسببات الأمراض الكامنة فى التربة بالبكتيريا
Biological Control of Soilborne Pathogens With Bacteria

مقدمة:

تعتبر الكائنات الدقيقة التى تنمو فى منطقة الرايزوسفير، نموذجية من حيث استعمالها كعوامل مقاومة حيوية، وذلك لأن منطقة الرايزوسفير تمثل خط الدفاع الأمامى ضد الكائنات الممرضة التى تهاجم الجذور. الكائنات الممرضة تواجه (تتصادم مع) الكائنات الحية الدقيقة المضادة والموجودة فى منطقة الرايزوسفير، قبل وأثناء الإصابة الأولية وأيضاً خلال الانتشار الثانوى على الجذر.

فى بعض الأراضى التى وصفت بأنها مثبطة للكائنات الممرضة بيولوجياً، فإن الكائنات الميكروبية المضادة فيها للكائنات الممرضة تكون موجودة بكميات كبيرة جداً، وهذا يؤدى

إلى مقاومة المرض. مع أن الاراضى المثبطة للمرض (الأمراض) تعتبر نادرة، إلا أنها تمثل نموذجاً ممتازاً للمقاومة الحيوية كاملة الكفاءة فى مقاومة مسببات الأمراض الكامنة فى التربة.

من بداية الثمانينيات فى هذا القرن، ذكرت أمثلة كثيرة عن البكتيريا التى يمكنها أن تقاوم بعض الأمراض الكامنة فى التربة وخاصة المعزولة من منطقة الرايزوسفير. هناك أبحاثاً أكثر حداثة تثبت نجاح محاولات المقاومة الحيوية باستعمال البكتيريا وتتعارض مع بعض النتائج السابقة.

كذلك فإن المقاومة الحيوية بالبكتيريا تحسن نمو النبات عن طريق تثبيط، أما الكائنات الممرضة المتخصصة أو الكائنات الثانوية. تنتج الكائنات الممرضة المتخصصة ما هو معروف جيداً باسم أمراض الجذر الوعائية ذات الأعراض الواضحة. أما الكائنات الممرضة الثانوية، فهى تكون طفيليات أو رميات والتى تسبب تحطيماً بشكل أساسى للأنسجة النباتية الحيوية النشيطة مثل الشعيرات الجذرية وقمم الجذور وخلايا القشرة، أما أعراض المرض فتكون غير واضحة.

لقد ميز العالم Schippers *et al* سنة ١٩٨٧ الكائنات الممرضة ثانوية التطفل عن الكائنات الحية الدقيقة غير المتطفلة، ولكنها ضارة فى منطقة الرايزوسفير، هذه الكائنات الأخيرة يطلق عليها DRMO وتشمل الرايزوبكتيريا الضارة (DRB) والفطريات الضارة.

عوامل المقاومة الحيوية البكتيرية:

أظهرت أجناس عديدة من البكتيريا كفاءة فى المقاومة الحيوية لكثير من الأمراض، هذه الأجناس تشمل:

1- Actinoplanes *6- Azotobacter* *11- Flavobacterium* *16- Pasteuria*
2- Agrobacterium *7- Bacillus* *12- Hafinia* *17- Rhizobium*
3- Alcaligenes *8- Cellulomonas* *13- Micromonospora* *18- Bradyrhizobium*
4- Amorphosporangium *9- Enterobacter* *14- Pseudomonas* *19- Streptomyces*
5- Arthrobacter *10- Erwinia* *15- Serratia* *20- Xanthomona*

من الواضح أن عوامل المقاومة الحيوية ليست محدودة فى مجموعة بكتيرية معينة، وهذا ما يعطى التنوع فى مكروفلورا الرايزوسفير، ومن المحتمل أن السلالات ذات الكفاءة الفعالة، ذات التأثير الواسع، قد تم اكتشافها واستعمالها، وهناك كثير منها تكون فعالة تحت ظروف الحقل.

المثال الرئيسى المشهور لاستعمال البكتيريا فى المقاومة الحيوية، هى البكتيريا *Agrobacterium radiobacter* السلالة ٨٤ والتى تقاوم مرض التدرن التاجى المتسبب عن البكتيريا *A. tumefaciens*. إن السلالة ٨٤ هى أول بكتيريا تستعمل تجارياً فى المقاومة الحيوية ونجح استعمالها عالمياً، ولقد ذكرنا عن هذا الموضوع فى الفصل الأول من الكتاب.

أما الجنس *Bacillus* sp.، فقد تم اختباره على أنواع عديدة من النباتات لمعرفة مقدرته فى المقاومة الحيوية للأمراض. أفراد هذا الجنس يلجأ إليها للحصول على أنواع مفضلة للاستعمال فى المقاومة الحيوية، وذلك لأنها تنتج جراثيم داخلية Endospores ، والتى تتحمل الحرارة والجفاف. من أكثر الأنواع أهمية هو *B. subtilis* سلالة A13 ، والذى عزل بواسطة Broadbent سنة ١٩٧١ من ميسيليوم متحلل لفطر *Sclerotium rolfsii*. إن السلالة A13 تثبط فى المعمل عديداً من الكائنات الممرضة النباتية، وهى تحسن نمواً كثيراً من الأنواع النباتية فى الأراضى الطبيعية والمبخرة. عند استعمال هذه السلالة كمعاملة بذور، تزيد فى إنتاج الجزر بحوالى ٤٨ ٪، والشوفان ٣٣ ٪، الفول السودانى ٣٧ ٪. يبدو أن هذه السلالة تحسن نمو النباتات عن طريق تثبيط الكائنات الممرضة المتخصصة والثانوية وأيضاً عن طريق الحث المباشر لنمو النبات. منذ سنة ١٩٨٣ وهذه السلالة تباع فى الأسواق لمعاملة بذور الفول السودانى تحت اسم QUANTUM-4000.

أما الجنس *Pseudomonas sp.*، فقد حصل على دراسة كبيرة جداً واهتمام واسع كعامل مقاومة حيوية. الاهتمام العالمى بهذا الجنس من البكتيريا، قد نشأ عن طريق الدراسات الأولية فى كاليفورنيا فى أوائل السبعينيات. فى سنة ١٩٧٨ ذكر Burr *et al* أن سلالات البكتيريا الوميضة *P. fluorescens* و *P. putida* تستعمل مع بعض أنواع التقاوى، وجد أنها تحسن نمو البطاطس، هذه النتائج قد تأكدت سنة ١٩٨٠، واستعملت على بنجر السكر سنة ١٩٨٢ وعلى الفجل سنة ١٩٨٧ . ولقد وجد أن البكتيريا الوميضة تزيد إنتاج البطاطس من ٥–٣٣ ٪، وتزيد إنتاج بنجر السكر ٤–٨ أطنان للهكتار، وتسبب زيادة فى وزن جذور الفجل

٦٠-١٤٤ ٪. هذه السلالات والسلالات المشابهة لها أعطيت اسم مشجعات النمو النباتى الرايزوبكتيرية PGPR (ذكرت فى الفصل الأول من الكتاب). إن إصطلاح Rhizobacteria ابتكر للبكتيريا ذات المقدرة على استعمار الجذور بشكل كبير.

لقد اعتقد بأن PGPR تحسن نمو النبات، عن طريق استعمارها للجهاز الجذرى، واحتلال وإستيطان الجذور، أو تثبيط DRMO (الكائنات الدقيقة غير المتطفلة ولكنها ضارة فى منطقة الرايزوسفير) على الجذور. ولقد أثبتت بعض الدراسات أن PGPR تشجع نمو البطاطس بشكل أساسى عن طريق تثبيط DRMO المنتجة للسيانيد. ولقد ذكر فى هولندا أن زيادة إنتاجية البطاطس فى الحقل تكون ناتجة عن قابلية الـ PGPR فى تحسين نمو النبات. عند زراعة البطاطس فى الحقل مرة كل ثلاث سنوات، كان الإنتاج أقل بنسبة ١٠-١٥ ٪ عنه عند زراعتها مرة واحدة كل ستة سنوات، ويقل الإنتاج بنسبة ٣٠ ٪ عند زراعتها باستمرار فى الحقل. نفسه ولقد فسرت هذه الظاهرة بأن DRMO تحقق تجمعات مطلوبة للمرض فى وقت قصير وليس فى دورة زراعية طويلة. وهذا راجع لتأثير الدورة الزراعية.

كذلك فإن هناك سلالات من البكتيريا الوميضة *Pseudomonas* تثبط الكائنات الممرضة المتخصصة فى النبات. أهم الأمثلة على ذلك هو المقاومة الحيوية للمرض الماحق فى القمح Take-all disease. هذا المرض يصيب جذور القمح ويتسبب عن الفطر *Gaeu-mannomyces graminis* var. *tritici*. إن هذا المرض من أكثر الأمراض التى تصيب جذور القمح أهمية. بسبب عدم وجود مقاومة فى النبات العائل وأن المقاومة الكيماوية مكلفة إقتصادياً فقد اتجهت الدراسات المكثفة إلى المقاومة الحيوية باستعمال البكتيريا. فى سنة ١٩٨٣ عزل Weller & Cook البكتيريا الوميضة من جذور القمح النامية فى تربة مأخوذة من حقل حدث فيه انخفاض فى شدة المرض. يحدث انخفاض لهذا المرض (شكل من أشكال المقاومة الحيوية الطبيعية)، ويمكن توضيحه كنقص ذاتى فى شدة المرض وزيادة ملازمة فى الإنتاج بالزراعة الأحادية للقمح. لقد اختبرت البكتيريا الوميضة لمقاومة المرض الماحق، بسبب أن هذه البكتيريا يمكن أن يكون لها دور فى تخفيض المرض كنتيجة للدراسات الأولية. ولقد وجد أن البكتيريا *P. fluorescens* سلالة 2-79 (NRRLB-15132) بمفردها أو متحدة مع السلالة 13-79(NRRV B-15134) تثبط المرض على كل من القمح الربيعى والشتوى عند استعمالها كمعاملة بذور. كانت زيادة إنتاج القمح ١٧ ٪ فى التجار

و١١ ٪ فى الحقول التجارية. تكون نتيجة استعمال سلالتين أفضل من استعمال سلالة بمفردها بحوالى ٥٠ ٪. كما أن استعمال السلالة الثالثة 80-$R4_a$ (NRRL B-15133) تزيد فعالية المعاملة أكثر. إن اتحاد السلالات يمكن أن يحسن نشاط المكروفلورا الطبيعية فى تخفيض المرض. من سلالات البكتيريا PGPR، السلالة 79-2 فهى تستعمر الجذور بشدة، ويمكن أن تعزل من القمح المعامل خلال موسم النمو. عندما تضاف على شكل معاملة بذور فإن هذه السلالة تشكل ٥٠ ٪ من مجموع تجمعات البكتيريا الوميضة على الجذور الأولية لمدة شهرين بعد الإنبات. إن البكتيريا الوميضة التى تدخل فى PGPR وتلك التى تثبط الكائنات الممرضة المتخصصة لايمكن اعتبارها مجموعة منفصلة وظيفياً من البكتيريا. كثير من سلالات البكتيريا الوميضة تثبط كلاً من الكائنات الممرضة المتخصصة والثانوية.

اختيار البكتيريا المرشحة للمقاومة Selection of Candidate Bacteria

بسبب الوقت والتكاليف المطلوبة للتجارب الحقلية، فإن أفضل الطرق تكون مطلوبة لاختيار السلالات ذات الكفاءة والفعالية فى المقاومة الحيوية فى الحقل. إن بكتيريا الرايزوسفير مع مقدرتها على إحداث مقاومة حيوية، إلا أنه يبدو بأنها تشكل أقل من ١٠ ٪ من التجمعات الكلية للبكتيريا فى الرايزوسفير. إن فرصة اختيار سلالات فعالة يمكن أن تتحسن بداية عن طريق البكتيريا المعزولة، أولاً من البيئة نفسها التى سوف تستعمل فيها، فمثلاً، يمكن اختيار بكتيريا من رايزوسفير البسلة إذا كان الكائن الممرض المستهدف يسبب مرض الجذور فى البسلة. البكتيريا المعزولة من الأراضى ذات التأثير المثبط للكائنات الممرضة يمكن أن يزيد فى فرصة إيجاد سلالات فعالة، كذلك. هناك دليل واضح بأن البكتيريا الوميضة لها دور فى عملية كبح فى بعض الأراضى، لذبول الفيوزاريوم فى الكتان، الفجل والخيار، المرض الماحق فى القمح وعفن الجذر الأسود فى الدخان. تكون النسبة المئوية للبكتيريا الوميضة المثبطة للمرض الماحق، فى الاختبارات الحيوية فى الصوبا الزجاجية، أكثر، عندما تكون معزولة من جذور القمح النامية فى تربة كابحة أكثر منه فى الأراضى غير الكابحة.

نظراً لعدم وجود علاقة عامة بين مقدرة البكتيريا فى تثبيط الكائن الممرض فى المعمل وتثبيط المرض المتسبب عنه فى الحقل، فمن الممكن أن السلالات المنتجة لأكبر مساحة

تثبيط Inhibition zone على بيئة الآجار دائماً لاتكون هى الأفضل فى المقاومة الحيوية، وبالتالى عندما يكون هناك محاولات لتطوير نظام مقاومة حيوية، فإن التنقية الأولية للسلالات على بيئة الآجار قد لاتكون مفيدة.

يمكن أن يكون اختيار السلالات ذات التأثير الفعال فى الحقل، أكثر سهولة عن طريق استعمال اختبارات الصوبا الزجاجية. لقد تطورت طرق استعمال الصوبا الزجاجية لاختيار كائنات مضادة للفطر مسبب المرض الماحق فى القمح والفطر بثيم على القمح والبكتيريا *Er-winia Carotovora* على البطاطس و *Phytophthora megasperma* على فول الصويا. هناك قياسات مهمة فى الاختيار يعتمد عليها، مثل الطاقة اللقاحية للكائن الممرض، الظروف البيئة (الحرارة، ومحتوى التربة من الرطوبة) والجرعة من البكتيريا الخاضعة للاختبار. هناك طرق أخرى تستعمل فى اختيار السلالات تعتمد على مقدرة هذه السلالات فى استعمال الجذور، وكذلك على إدخال البكتيريا فى Spermosphere فول الصويا، بعد أن تكون قد أدخلت على البذرة أو فى التربة.

تشكيل عوامل المقاومة الحيوية البكتيرية Formulation of Bacterial Agents

تعتمد المقاومة الحيوية كما ذكرنا سابقاً، على التمكن والبقاء لتجمعات البكتيريا الأولية على المادة البذاتية أو فى التربة وعدم انخفاض حيويتها عن المستوى الذى يمكن أن تفقد عنده مقدرتها على المقاومة الحيوية. هناك كثير من عوامل التربة البيئية، تشمل الحرارة ورطوبة التربة، محتوى التربة من الطين clay، تؤثر على بقاء وتمكن البكتيريا وتفاعلها مع الكائن الممرض. إن الطريقة التى بها تزرع البكتيريا ثم بعد ذلك تعالج أثناء التصنيع، تؤثر على حيوية المنتج وتؤثر على تحمله للظروف المعاكسة عند تطبيقها عملياً. يكون تأثير العوامل التى تتعلق بحيوية اللقاح، أقل مع الجنس *Bacillus* منه مع البكتيريا سالبة لصبغة غرام، نظراً لأن Bacillus يكون جراثيم داخلية Endospores، وهذا ما يجعل هذا الجنس أكثر سهولة فى التشكيل. تعتبر طرق تشكيل عوامل المقاومة الحيوية البكتيرية سالبة غرام مشابهة لتلك التى تواجه تكشف الـ Rhizobia ، والتى تكون حساسة للجفاف والحرارة. إن كل من الـ *peat* والحاملات الأخرى التى تطورت للـ Rhizobia يمكن أن تكون مفيدة فى هذا المجال. إن تشكيلات الـ *peat* المحببة من البكتيريا الوميضة المعروفه تجاريا باسم

(Dagger TMG, Ecogen INC, Langhorne Pennsylvania) تظهر دليلاً لمقاومة الكائنات الممرضة للبادرات فى القطن. إن ربط البكتيريا فى Polymer gels مثل صمغ الـ xanthan أو alginate تكون ذات كفاءة أيضاً. لقد قام كل من Kloepper & Schroth سنة ١٩٨١ بتصنيع تشكيل جاف من سلالات PGPR للبطاطس عن طريق مزج البكتيريا مع صمغ الـ Xanthan ، ثم بعد ذلك يضاف التلك.

أسباب تعارض كفاءة عوامل المقاومة الحيوية البكتيرية:

إنه من المشجع حقاً أن هناك الآن عديداً من الأمثلة على المقاومة الحيوية بالبكتيريا فى الحقل، ولكن لسوء الحظ فإن هناك نتائج متضاربة عند استعمال نظم المقاومة الحيوية البكتيرية، عند مقاومة أمراض النبات، وهذا واضح فى جدول رقم١ . فمثلاً عند الاعتماد على إنتاج النبات كعامل قياسى لكفاءة عامل المقاومة الحيوية، فإنه يكون غير دقيق فى كثير من الحالات، حيث يبدو أن نمو النبات لايتحسن دائماً، وبالتالى فان مستوى كفاءة البكتيريا المستعملة يختلف كثيراً من تجربة لأخرى. كذلك فإن هناك عوامل كثيرة تؤدى إلى تضارب النتائج أهمها:

١- فقد الكفاءة البيئية فى المناطقة المختلفة من التجارب.

٢- غياب الكائن الممرض المستهدف.

٣- تنوع استعمار الجذر بالبكتيريا.

١- فقد الكفاءة البيئية Loss of Ecological Competence

تعرف الكفاءة البيئة بأنها مقدرة البكتيريا على المنافسة والبقاء حية فى الطبيعة. إن كثيراً من الصفات البكتيرية تشارك فى الكفاءة البيئية فى الرايزوسفير، وفقد أية صفة يمكن أن يخفض مقدرة البكتيريا لتصبح متوطدة أو تعمل على/بالقرب من الجذر. بعض الصفات المهمة فى هذا الموضوع، يمكن أن تفقد عندما ينمى الميكروب البكتيرى فى المعمل. فمثلاً البكتيريا فى الطبيعة عند عزلها أول مرة تحاط بكبسولة من مادة Exopolysacc ha- (ESP) ride. هذه الكبسولة تزيد فى الكفاءة البيئية للبكتيريا، ولكن يظهر فى المعمل طفرات من هذه

جدول رقم ١ : عوامل المقاومة الحيوية البكتيرية الفعالة فى الحقل واختلاف تأثيرها.

عامل المقاومة الحيوية (البكتيريا)	المحصول	الكائن الممرض	عدد التجارب ذات النتائج المعنوية على مجموع التجارب	٪ متوسط زيادة الإنتاج	٪ مدى الزيادة
Bacillus pumilus	قمح	*G. graminis tritic*	١/٤	٣٥	صفر–١١٤
Pseudomonas sp. TL3	بطاطس	DRMO	٦/١١	١٠	–٧ إلى ٢٤
Pseudomonas sp. SH-5	بنجر سكر	DRMO	٥/٩	١٢	–٣ إلى ٣٢
Pseudomonas putide W4p63	بطاطس	*Erwinia carotovora*	١/٣	٧	صفر إلى ١٢
Pseudomonas fluorescens E6	زينيا	DRMO	١٩/٢٣	٣٦	–٣ إلى ٣٦
Pseudomonas *fluorescens* 2-74	قمح	*G. graminis* tritici	٢/٣	١٧	٦ إلى ٢٧
Pseudomonas fluorescens 13-79	قمح	*G. graminis* tritici	٦/١٠	١١	–١ إلى ٢٥

obeikandl.com

البكتيريا تفتقد إلى هذه الكبسولة، هذه الطفرات التى تفتقد إلى الـ EPS تسود أخيراً فى المزرعة، وذلك لأنها تتكاثر بسرعة. مثل هذه الطفرات يمكن أن تكون أقل مقدرة على البقاء حية عندما تستعمل كعوامل مقاومة حيوية. كذلك فإن تكرار زراعة بعض أنواع البكتيريا الوميضة فى العمل، يمكن أن يؤدى إلى فقد الكفاءة البيئية، من المحتمل أن يكون ذلك متعلقاً بتغيرات فى الخلية والصفات المورفولوجية للمستعمرة أو فقد تركيبات معينة على سطح الخلية أو خفض فى مقدرة إنتاج الأجسام المضادة والسايدروفورز. وبالتالى يجب مراعاة هذه الحالات عند اختيار جنس من البكتيريا للمقاومة الحيوية، والبعد عن الوسائل التى تؤدى إلى خفض الكفاءة البيئية عند إجراءات الدراسات المعملية أو التطبيق الحقلى.

٢- غياب الكائن الممرض المستهدف Target Pathogen Absent

نظراً لأن عوامل المقاومة الحيوية البكتيرية تحدث تحسناً فى نمو النبات، عن طريق خفض الاضرار المتسببة عن الكائن الممرض، وإن الاستجابة الموجبة لدخولها لاتحدث عندما يكون الكائن (الكائنات) الممرض المستهدف غير موجود، أو عندما تكون الظروف البيئة غير ملائمة لتكشف المرض. لقد تم توضيح هذه الأمور عن طريق الدراسات على PGPR على البطاطس فى هولندا، وقد سبق ذكر ذلك فى الصفحات السابقة. عند دراسة PGPR خاصة سلالات البكتيريا الوميضة *P. fluorescens* المسماة WCS 374 و *P. putida* سلالة WCS 358 وسلالات أخرى تحسن نمو البطاطس وإنتاجها فى الدورة الزراعية القصيرة وليست الطويلة، كذلك وجد أن كفاءة سلالات *PGPR* يمكن أن تظهر متعارضة جداً إذا لم يوضع تاريخ حياة المحصول فى عين الاعتبار. وبالمثل فإن متوسط زيادة الإنتاج فى الفول السودانى المعامل بالبكتيريا *B. subtilis* سلالة A13 يكون ١٢ ٪ فى الحقول ذات الدورة الزراعية القصيرة (زرعت البقوليات مرة أو مرتين فى السنوات السابقة). أما فى الحقول التى لم تزرع بقوليات فى السنتين السابقتين، كانت نسبة الزيادة ٣,٤ ٪ أما عن تأثير الكائنات الممرضة الأخرى غير الكائن الممرض المستهدف فهذه لها تفسير آخر، وهو إذا كانت البكتيريا تثبط كائن ممرض واحد ويصبح الآخر سائداً، فإن هذه العاملة تبدو وكأنها غير فعالة. ولقد تبين أن الفشل فى الحصول على استجابة معنوية لنمو القمح باستعمال البكتيريا الوميضة سلالة Q72a-80 لمقاومة عفن الجذور المتسبب عن الفطر بثيم، قد حصلت

بسبب أن الفطر *R. solani* سلالة AG-8 قد وجدت أيضاً ، وأن البكتيريا الوميضة غير فعالة ضد عفن الجذر الرايزوكتونى، وبالتالى فإن تفهم دور الكائنات الممرضة فى النظام الزراعى الخارجى والظروف التى تناسب كل منها ضرورى جداً.

٣- تنوع استعمار الجذر بالبكتيريا

Variable Root Colonization By Bacteria

بشكل عام، فمن المفروض أن استعمار الجذور بواسطة البكتيريا المدخلة، يكون أساسياً للمقاومة الحيوية للكائنات الممرضة للجذر، وتزيد تجمعات البكتيريات المدخلة على الجذر، هذه التجمعات الجديدة والتى ازدادت أعدادها، هى التى تزيد مقاومة المرض. ولسوء الحظ هناك دراسات قليلة أجريت لمحاولة تقدير حجم التجمع البكتيرى على تجمع الكائن الممرض وعلى شدة المرض فى الجذور. لقد قام كل من Xu & Gross سنة ١٩٨٦ بإضافة *P. putida* سلالة W4P63 على أجزاء تقاوى البطاطس ومراقبة تجمعاتها، وتلك التى للبكتيريا *Erwinia Carotovora* على الجذور فى الحقل. تبين أن تجمعات السلالة W4P63 تتراوح ما بين $١٠^{٤}$ و $١٠^{٥}$ وحدة تكوين مستعمرات (Cfu) لكل غرام جذر، بينما تجمعات البكتيريات *E. carotovora* على هذه الجذور نفسها، يكون ١٠ ٪ فقط من تلك التى على الجذور ذات السلالة W4P63. عند معاملة حبوب القمح بجرعات عالية من البكتيريا الوميضة *P. fluorescens* سلالة 2-79 بتركيزات ($١٠^{٢}$ ، $١٠^{٤}$ ، $١٠^{٦}$ ، $١٠^{٨}$) وحدة تكوين مستعمرات/حبة ثم زرعت هذه الحبوب فى تربة طبيعية ملوثة بالكائن الممرض المسبب للمرض الماحق فى القمح، يكون هناك علاقة خطية مباشرة بين الجرعة من السلالة 2-79 على الحبة والتجمعات للسلالة 2-79 التى تكشفت على الجذر. زيادة على ذلك كانت هناك علاقة عكسية بين تجمعات 2-79 على الجذر وعدد بقع المرض. إن الدراسة التى أجريت بواسطة Bull سنة ١٩٨٧ أعطت نتائج مقنعة بأن مدى المقاومة الحيوية للمرض الماحق يتعلق مباشرة باستعمار الجذر.

إن نماذج الاستعمار المكانى المؤقت للبكتيريا المدخلة على الجذور المفردة، تعطى أفضل تحليل لمقدرة استعمار السلالة، ثبات المجموعة على الجذر ومدى الاستعمار. مثل هذه النماذج نادرة التحديد، بسبب الدراسات المعملية الكثيفة والبعد عن الدراسات الحقلية، بدلاً من التجمعات البكتيرية على الجذور، عادة ما تحدد عينات مأخوذة من مركز تجمع الجذور.

هذا النوع من تحديد العينات يؤدى إلى تقدير مغالٍ فيه لمتوسط التجمع للبكتيريا المدخلة، نظراً لأن تجمعات البكتيريا تكون أطول من الحجم الطبيعى، مفضلاً ذلك على التوزيع الطبيعى بين أجهزة الجذر فى النباتات المختلفة وبين الجذور المفردة فى النبات الواحد. تجمعات سلالات PGPR المدخلة *A1* أو SH5 على أجهزة الجذور أو على بادرات البطاطس أو بنجر السكر المفردة تختلف فى مقدار لايتجاوز ١٠-١٠٠. أما تجمعات البكتيريا الوميضة سلالة 79-2 على الجذور المفردة لنبات القمح تختلف أيضاً بحدود ١٠٠٠ ضعف، وإن ٢٠-٤٠٪ من هذه الجذور لم تكن مستعمرة لمدة أربعة أسابيع بعد الزراعة. حتى على الجذر المفرد فإن تجمعات البكتيريا المدخلة يمكن أن تختلف لعدة أضعاف على طول محور الجذر مع وجود أكبر تركيز بالقرب من مصدر اللقاح ويقل باتجاه قمة الجذر. عندما تجمع العينات، فإن النظام الجذرى أو الجذر ذا التجمع الأكبر يعطى عدداً غير متجانس من البكتيريا فى المتوسط ويعطى إدراكاً بأن استعمار الجذر يكون أفضل مما حدث.

إن اختلاف مقدرة البكتيريا المدخلة على استعمار الجذر، سواء كان بالنسبة للنبات الواحد (إذا قيس بنبات آخر) أو بالنسبة لجذر دون الآخر على النبات نفسه، ومن المحتمل أن يكون السبب الرئيسى فى تعارض نتائج المقاومة متعلقا بعوامل المقاومة الحيوية.

استعمار الجذر Root Colonization

مقدمة:

لكى تكون البكتيرية الواحدة المدخلة إلى الجذر مستعمرة له، كم يجب أن يكون من الجذر مستعمرة ولكم من الزمن؟؟ ماحجم التجمع الذى يجب أن تصل إليه؟؟. إن الأدلة المؤكدة لاستعمار الجذر غير متوفرة، وإن الدليل المؤكد على استعمار أحد الكائنات للجذر وظروف هذا الاستعمار، لايناسب جميع نظم المقاومة الحيوية، وهذا يجعل صعوبة تعميم أساليب استعمار الجذر بين كل الكائنات الدقيقة. لقد قام Scher *et al* سنة ١٩٨٤ بتعريف مستعمرات جذور الذرة على أنها البكتيريا التى تبلغ أكثر من ٥ x $١٠^{٣}$ غرام/جذر.

وهناك تعريف آخر يقول بأن مستعمرة الجذر هى البكتيريا الواحدة التى عند إدخالها فى الجذر تصبح على طول الجذر فى التربة الطبيعية، تتكاثر، تبقى حية لعدة أسابيع فى وجود

تنافس من مكروفلورا الرايزوسفير الطبيعية. هذا التعريف يستبعد البكتيريا التى تكون قد انتقلت من الرايزوسفير، أو تلك التى تستطيع أن توطد نفسها على الجذور فى غياب التنافس فقط.

لقد اتفق العلماء على استعمال اصطلاح استعمار الجذر Root colonization، بأن يشمل استعمار الجذر داخلى وعلى السطح بالإضافة إلى تربة الرايزوسفير بواسطة البكتيريا المدخلة، وبحيث لاتكون البكتيريا مقتصرة على مكان محدد.

لقد استعمل كل من Ahmed & Baker سنة ١٩٨٧ إصطلاح الكفاءة الرايزوسفيرية Rhizosphere Competense لوصف مقدرة عوامل المقاومة الحيوية على أن تنمو وتعمل فى الرايزوسفير. كذلك فإن الكفاءة الرايزوسفيرية من الممكن أن تعرف بأنها المقدرة النسبية على استعمار الجذر. وبالتالى فإن الكفاءة الرايزوسفيرية تختلف بين سلالات البكتيريا، فإن السلالة غير القادرة على استعمار الجذر، تسمى غير ذات كفاءة رايزوسفيرية، أو ذات كفاءة رايزوسفيرية منخفضة. يمكن تحديد الكفاءة الرازيوسفيرية رقمياً عن طريق قياس التجمعات التى تصل إليها على الجذر و/أو بواسطة تحديد الطول أو عدد الجذور المستعمرة، وبالتالى يمكن مقارنة السلالات على هذا الأساس. تكون السلالة ذات الكفاءة الرايزوسفيرية العالية أكثر تواجداً على الجذور وفى منطقة الرايزوسفير، وهذا يزيد من فعاليتها فى المقاومة الحيوية أكثر من تلك البكتيريا ذات الكفاءة الرايزوسفيرية المنخفضة.

عملية استعمار الجذر The Process of Root Colonization

لقد افترض Howie *et al* سنة ١٩٨٧ أن استعمار جذور القمح بواسطة البكتيريا *P. flu-orescens* يحدث فى طورين: فى الطور الأول تلتصق البكتيريا مع الجذر، وبعدئذ تنتقل على طول قمة الجذر، وفى الطور الثانى تنتشر البكتيريا موضعياً وتتكاثر إلى حدود تجعلها ملائمة وقادرة على المنافسة مع الكائنات الدقيقة الطبيعية الأخرى وتبقى حية معها، هذه العملية يمكن أن تطبق على نظم المقاومة الحيوية الأخرى.

يبدأ الطور الأول عندما تصبح البكتيريا المدخلة على البذور أو أجزاء التقاوى مرتبطة مع الجذور المنبتة. بعض أنواع الالتصاق مع خلايا سطح الجذر يكون أساسياً لابتداء الطور الأول ويمكن أيضاً أن يؤمن زيادة إفرازات الجذر الأولية. كلما استطال الجذر، تحمل بعض البكتيريا

على طول هذا الجذر مع امتداد القمة، بينما البعض الآخر يبقى فى الخلف وتكون كمصدر للقاح على الأجزاء القديمة من الجذر. يكون التكاثر البكتيرى على قمة الجذر مثالياً ويسمح بانتقال البكتيريا على طول الجذر، كلما نمت الجذور ولكن دون تكاثر لهذه البكتيريا، يمكن أن يستمر الانتقال حتى يصل اللقاح الأول الموجود على قمة الجذر إلى تركيز منخفض جداً. هناك أدلة على حدوث هذا الطور، تشمل الملاحظات التى ذكرها Bull سنة ١٩٨٧، بأن البكتيريا المأخوذة من البيئات الملائمة المختلفة مثل البكتيريا *P. fluorescens* سلالة 2-79 و$Q72_a$-80 (وهما عوامل مقاومة حيوية معزولة من جذور القمح) أما *E. coli*، *P. syringae*، *X. campestris*، *E. Carotovora* و *E. herbicola* (وهى ليست عوامل مقاومة حيوية) تلتصق بالتساوى مع جذور القمح. زيادة على ذلك، بعد أن يكون قد تم إضافتها إلى حبوب القمح وبعد أن تكون البذرة قد زرعت فى تربة طبيعية، فإن هذه البكتيريا قد اكتشفت على طول الجذر (فى غياب الماء الراشح) بأعداد متساوية تقريباً بعد أربعة أيام من الزراعة. أخيراً فإن تجمعات جميع السلالات على طول الجذور المفردة تنخفض بانتظام من البذرة إلى القمة.

يكون انتقال البكتيريا عن طريق قمة الجذر، أحياناً، غير فعال، وأن القمم لاتصبح دائماً (أو تبقى) مستعمرة. لقد قام العالم Bull سنة ١٩٨٩ بتقسيم الجذور الرشيمية الخارجة من حبوب القمح المعاملة بالبكتيريا الوميضة سلالة 2-79 فوراً بعد إنباتها ولم يستطع أن يكتشف هذه البكتيريا على ٢٠-٤٠ ٪ من الجذور الرشيمية المفردة. إن فقد البكتيريا المدخلة من القمة يمكن أن يحدث نتيجة إزالة فيزيائية مثل:

١- تحرك قمة الجذر أو احتكاكها مع حبيبات التربة.

٢- إدمصاصها على حبيبات التربة.

٣- المنافسة مع البكتيريا الطبيعية فى التربة.

يمكن أن يكون النقص الأولى فى اعداد البكتيريا، نتيجة لعدم مقدرة البكتيريا فى الوقت نفسه الذى تنتشر فيه على قمة الجذر، على التكاثر بسرعة كافية لتحافظ على نسبة التقدم مع قمة الجذر والتى تمتد بسرعة خلال التربة ٢-٩ ملم/يوم ، عن طريق استطالة الخلايا فى منطقة الاستطالة (١٠-٢٠ مرة من طولها الأصلى).

يكون المصير النهائى للبكتيريا المدخلة، بأن تسيطر إلى حد كبير على طول الجذر عن طريق مقدرتها على المنافسة مع المكروفلورا الطبيعية خلال الطور الثانى. البكتيريا المؤهلة للرايزوسفير سوف تتكاثر وتبقى حية على الجذر، حيث إن البكتيريا غير المؤهلة للرايزوسفير تختفى بسرعة. باستعمال البكتيريا نفسها الموصوفة سابقاً لمعاملة حبوب القمح، فإن العالم Bull أظهر أنه بعد ١٤ يوماً، فإن تجمعات عوامل المقاومة الحيوية (سلالات البكتيريا الوميضة) تكون أكثر من هذه البكتيريات التى هى ليست عوامل مقاومة حيوية على الجذور فى التربة الطبيعية، ولكن تجمعات جميع السلالات تكون تقريباً بالمستوى نفسه على الجذور فى التربة المعقمة. لقد ذكر كل من Dupler & Baker سنة ١٩٨٥ أن *P. putida* سلالة N-IR تستعمر رايزوسفير جذور الفجل بأقل فعالية عندما تضاف البكتيريا إلى تربة نشيطة حيوياً منه عندما تكون التربة نفسها مجففة هوائياً قبل الاختبار لتخفيض كفاءة الكائنات الحية الدقيقة، قد يكون التنافس أكبر فى التربة السابقة.

من المحتمل أن يكون للمغذيات، تأثير أكبر من المكان فى العوامل المحددة للتنافس بين البكتيريا أثناء استعمار الرايزوسفير. تظهر الملاحظات المباشرة المأخوذة عن الجذور من التربة، أن معظم سطح الجذر يكون مكاناً مفتوحاً ويبقى غير مستعمر. تميل البكتيريا لأن تتجمع فى الأثلام بين الخلايا حيث من المحتمل أن تكون المغذيات أكثر توافراً. ونظراً لأن مقدرة الاحتمال للجذر تكون محدودة، فإن أية سلالة مدخلة يجب أن تحتل أماكن البكتيريا الطبيعية المتوطدة على الجذر، إذا أرادت أن تصبح متمكنة فى الجذر، وبالتالى كاستجابة للسلالة المدخلة فى التجمعات الكلية للكائنات الدقيقة فى الرايزوسفير يمكن أن لاتتغير، ولكن إلى حد ما فإن تركيب المجموعة يتغير.

العوامل المؤثرة على استعمار الجذر:

يكون توزيع البكتيريا المدخلة، على طول الجذر خلال الطور الأول، أما تكاثرها وبقاؤها حية فيكون خلال الطور الثانى وكلاهما يتأثر كثيراً بالعوامل الحيوية وغير الحيوية. لقد درس Howie *et al* سنة ١٩٨٧ كفاءة استيعاب الرايزوسفير على الطورين الأول والثانى لاستعمار جذور القمح عن طريق البذور المعاملة بالبكتيريا الوميضة سلالة 79-2. تتكشف أكبر

تجمعات على الجذور على (-٠,٣) Bars (البار هو وحدة لقياس الضغط يساوى مليون داين/سم٢) فى تربة، وعلى (-٠,٧) بار فى تربتين آخرتين. لقد اقترح بان (-٠,٣ إلى -٠,٧) هو المدى الذى يتوفر فيه الأكسجين وتكون كفاءة انتفاخ الخلايا و/أو توفر المغذيات فى الوضع النموذجى لنمو خلية البكتيريا. تنتشر السلالة 2-79 من البذور إلى الجذور حتى فى التربة على كفاءة استيعاب (-٠,٤) بار وأن الاتجاه إلى أسفل يمكن أن يحدث فى الاتجاه تحت التربة إلى (-٠,٧) بار. يمكن أن تتكشف على (-٠,٤) بار وأقل حيث يعتقد بأنه يظهر أساسيات الطور الأول؛ نظراً لأنه من المحتمل بأن الخلايا ستكون غير قادرة بأن تبقى كفاءة الانتفاخ للنمو على مثل كفاءة القبول. من وجهة نظر عملية، إنه لمن المشجع أن البكتيريا المدخلة يمكن أن تنتشر من الأجزاء الثابتة الصغيرة (البذور) الحبوب، أجزاء التقاوى) إلى الجذور زيادة عن مثل هذا المدى الواسع من كفاءة القبول.

إن انتقال البكتيريا على طول الجذير المستطيل (الطور الأول) لايتطلب ماءً راشحاً، مع ذلك، مثل هذا الماء يزيد الحركة البكتيرية. فى التجارب الحقلية الممتازة، راقب كل من Schroth & Bahme سنة ١٩٨٧ البكتيريا الوميضة المضافة إلى أجزاء التقاوى خاصة السلالة A1-B على جذور البطاطس قبل وبعد الرى. يحرك الماء خلايا A1-B من أجزاء التقاوى إلى التربة ويعيد انتشار هذه التجمعات من A1-B التى تكون قد توطدت على الجذور قبل الرى، والذى يؤدى إلى زيادة التجمعات قرب قمم الجذور. هذه الأبحاث تؤكد بأن الماء الراشح يمكن أن يقوم بتجديد تجمعات الخلايا المدخلة على قمة الجذر.

إن فضل درجة حرارة لنمو البكتيريا الوميضة *P. putida, P. fluorescens* هى ٢٥-٣٠°م ولكن استعمار الجذور بهذه البكتيريا يكون عادة أكبر على درجة حرارة ٢٠°م. يزداد النشاط الميكروبى فى التربة كلما إنخفضت حرارة التربة، وبالتالى فإن أفضل استعمار يكون عادة على درجات حرارة منخفضة، هذا من المحتمل أن يعكس انخفاض التنافس من قبل المكروفلورا الطبيعية.

أما بالنسبة لرقم الـ pH، فإن نمو البكتيريا السابق ذكرها يظهر سلوكاً متشابهاً على درجات حموضة مختلفة، بينما نجدها تميل لأن تنمو أفضل فى المعمل على رقم pH متعادل أو أعلى قليلاً. يكون استعمار جذور القمح بالبكتيريا الوميضة سلالة 2-79 أكثر شدة فى

الرايزوسفير على رقم pH (٦–٦,٥) أكثر منه على رقم ٧ أو أعلى، من المحتمل أن يكون ذلك لانخفاض المنافسة من قبل بكتيريا الرايزوسفير الطبيعية على حموضة عالية.

كذلك فإن جينوتايب النبات يؤثر على نوعية وتركيب مكروفلورا الرايزوسفير، من الممكن أن يكون ذلك عن طريق الإفرازات المختلفة فى الجذر والتداخل فى جينوتايب العائل يمكن أن يعطى بعض الصلاحية لتحسين فعالية أو ثبات استعمار الجذر عن طريق البكتيريا المدخلة. مثلاً القمح طراز S-615 وطراز Rescue، كلاهما قابل للإصابة بمرض عفن الجذر العادى، حديث تختفى أعداد كبيرة من بكتيريا الرايزوسفير أكثر منه فى الطراز Apex المقاوم للمرض، يمكن أن يكون للجينات تدخل كبير فى هذا الموضوع. زيادة على ذلك فإن تجمعات بكتيريا الرايزوسفير الطبيعية على الطراز S-A5B تكون أيضاً مشابهة لما فى الطراز Apex. الطرز المقاومة تحتوى نسبة مئوية أعلى من البكتيريا التى تضاد *Cochliobolus sativus* منه فى الطرز القابلة للإصابة. من هذا يتبين أن استعمار الجذر يتأثر بجينوتايب العائل.

يمكن للكائنات الدقيقة الطبيعية أيضاً ، أن تزيد استعمار الجذر بالبكتيريا المدخلة. إن تجمعات البكتيريا سالبة غرام الطبيعية *Pseudomonas* sp. ومنها *P. fluorescens* المعاملة بها حبوب القمح تكون أكثر على الجذور المصابة بالفطر مسبب المرض الماحق فى القمح منه على الجذور السليمة. أظهرت الدراسات بالميكروسكوب الالكترونى أن البكتيريا تتكاثر فى بقع الإصابة، من المحتمل أن يكون ذلك بسبب التوفر الكبير للغذاء فى هذه الأماكن الدقيقة الحجم. يمكن للبكتيريا الوميضة المدخلة أن تشجع الى مدى كبير أكثر منه فى حالة البكتيريا الطبيعية حتى فى البقعة الواحدة من المرض الماحق، يمكن أن تشجع تجمعات البكتيريا الوميضة سلالة *2-79* عشرة أضعاف فى كل ١ سم من الجذر. هذا له دلالة عملية، نظراً لأن الأنسجة المصابة تكون حيث يحتاج إلى البكتيريا المثبطة أكبر. استعمار البقع يزيد الوقاية ضد الانتشار الثانوى للفطر مسبب المرض الماحق فى القمح على الجذور.

العوامل المؤثرة على الكفاءة الرايزوسفيرية:

بجانب البيئة المناسبة للرايزوسفير، فان الاستعمار الناجح للجذر يتطلب أن تكون للبكتيريا المدخلة كفاءة رايزوسفيرية، ذات صفات تتدخل فى الإلتصاق، التوزيع، النمو

والبقاء حية. الصفات البكتيرية التى تشارك فى الكفاءة الرايزوسفيرية عديدة، ولكن أهمها يذكر فيمايلى:

١- السكريات العديدة لسطح الخلية

السكريات العديدة الموجودة على سطح الخلية البكتيرية، تكون مطلوبة لبعض أنواع البكتيريا المرافقة للنبات، لتقوم بتوطيد نفسها بها. هناك كثير من عديدات التسكر المختلفة الموجودة على سطح الخلية، تكون مهمة فى التصاق البكتيريا *A. tumefaciens* على خلية النبات (تعتبر الخطوة الأولى فى المرضية)، وفى عقد البقوليات المتسببة عن رايزوبيوم Rhi-zobium. كذلك يمكن أن تكون الليبفات السليلوزية هى المثبتة للبكتيريا (التدرن التاجى) على سطح الخلية النباتية، ويمكن أن تكون وسيطة لالتصاق *Rhizobium leguminosarum* على الشعيرات الجذرية فى البسلة. هناك بكتيريا أخرى مثل *Pseudomonas* sp. تنتج ليبفات سليلوزية مشابهة لتلك الليبفات. هناك سلالات من بكتيريا التدرن التاجى الحاملة طفرات فى أى من tow chromosomal فى مركز الشدة، ويشار إليها chvA و chvB ضعيفة الالتصاق وغير شديدة. إن تواجد chvB مطلوب لبناء السكريات العديدة خارج الخلية، وحلقة 1,2-B-glucan. التواجد المتماثل بين جينات chvA للبكتيريات *A. tumefa-ciens* والـ DNA من *Azospirillum brasilense* و *A. lipoferum*، الحرة الحياة، البكتيريا المثبتة للنيتروجين هى التى أيضاً تلتصق مع سطح الجذر. إن الـ Cosmid library للبكتيريا *A. brasilense* يكون مكملاً لطفرات *R. meliloti* التى تفتقر إلى إنتاج ESP سسنوجلايكان، وهو من السكريات العديدة الخارجية المطلوبة لتعقد *Rhizobium*. هذه الدراسات أدت إلى القول بأن الأطوار المبكرة فى التفاعل بين *Azospirillum* وجذور النبات، يمكن أن تحمل التشابه نفسه لتلك التى تحدث مع *Rhizobium, Agrobacterium*. هذه المتشابهات من الممكن أن تمتد إلى تلك البكتيريا القادرة على المقاومة الحيوية.

إن البكتيريا الموجودة فى البيئات الملائمة المختلفة، تشمل الرايزوسفير، لاتكون عادة محاطة بواسطة EPS الذى يربط الخلايا مع بعضها البعض، وبالتالى يتوسط فى تكوين المستعمرات الصغيرة. إن الـ EPS يحفظ الخلية من الجفاف ومن العوامل المضادة للبكتيريا ومن المفترسات، ويسعف الخلايا عن طريق تركيز المغذيات والأيونات. مثل هذا التركيب من المحتمل أن يكون مساعداً للبكتيريا المدخلة فى منع استبدالها بالكائنات الحية الدقيقة المطلوبة.

٢- الأهـــداب Fimbriae

هذه التركيبات البروتينية أو الزوائد الخيطية تعمل فى الربط البكتيرى مع الخلايا الحيوانية والسطوح الجامدة. كذلك فإن الأهداب تتوسط فى التصاق السلالات المثبتة للنيتروجين فى *Enterobacter, Klebsiella* لجذور الأعشاب والنجيليات، هذا يساعد فى توطيد هذه البكتيريا المرافقة للنبات. لقد لاحظ كل من Vesper & Bauer سنة ١٩٨٦ على كل من *Rhizobium trifolii* و *Bradyrhizobium japonicum*، أن هذه الأهداب هى التى تلعب دوراً فى الالتصاق، وقد قرر العالمان أن هناكعلاقة بين عدد الخلايا المهدبة فى المجموعات البكتيرية وعدد الخلايا التى يلتصق بها فى جذور فول الصويا. إن حدوث أى طفرة فى البكتيريا *B.Japonicum* والتى تؤدى إلى زيادة النسبة المئوية للخلايا المهدبة فى تجمعاتها، يظهر فيها نسبة عالية من الخلايا الملتصقة بالجذور وتتحسن صفة استعمار الجذر. إن السلالة البكتيرية (المثبطة لمسبب المرض الماحق فى القمح) *P.fluorescens* سلالة 2-79 تنتج أهداب تقوم بدور هام فى التصاق البكتيريا مع جذور الذرة، ويمكن أيضا أن تتدخل فى نقل الطور الأول على جذور القمح.

٣- الأســـواط Flagella

تظهر وظيفة الأسواط فى حركة البكتيريا فى التربة وعلى طول الجذر. بغض النظر عن وظيفتها، فمن غير المحتمل أن هذه الحركة التى تتم بواسطة الأسواط، يمكن أن تحدث فى التربة التى تكون أجف من (-٠,٥) بار، بسبب أن الغشاء المائى يصبح رقيقاً جداً وأن الماء المالىء للمسامات يكون صغيراً جداً وغير مستمر. لقد وجد Howie *et al* سنة ١٩٨٧ أن الطفرات الناتجة من البكتيريا الوميضة، غير ذات الأسواط مثل السلالات 80R- $R7_z$ و $R1_a$ 80R- و $R4_a$ -80R تستعمر جذور القمح فى نوعين مختلفين من الأراضى إلى الدرجة نفسها كما فى الأنواع الأصلية على مدى ٠,٢ بار (مناسب للحركة) و (-٢,٠) غير مناسب للحركة. هذه النتائج تدل بوضوح على أن الأسواط غير أساسية للحركة البكتيرية على طول جذور القمح. وبطريقة مماثلة فإن *P.putida* سلالة RW3 والطفرة غير ذات الأسواط Tns المستعملة كمعاملة بذور تكشف إلى تجمعات مماثلة على جذور فول الصويا. وعلى النقيض من ذلك فلقد ذكر De Weger *et al* سنة ١٩٨٧ أن هناك أربع طفرات من السلالة Tns غير متحركة من البكتيريا الوميضة WCS374 المضافة إلى جذور ذات طول ١ سم الناتجة من

أجزاء تقاوى البطاطس، أعطت تجمعات منخفضة بشكل واضح عن السلالات الأصلية على الجذور على عمق ٨ سم. ولقد لخصوا أبحاثهم بأن الحركة مطلوبة لاسعمار جذور البطاطس النامية. يبدو من تناقض هذه النتائج أن هناك احتياطات يجب أخذها بعين الاعتبار عند إجراء هذه التجارب.

٤- الانجـــذاب الكيمـــاوي Chemotaxis

فى الأراضى ذات الكفاءة المناسبة للحركة، فان الانجذاب الكيماوى نحو البذور أو إفرازات الجذر، يمكن أن يساهم فى مقدرة البكتيريا على استعمار الجذور. قد يكون الانجذاب الكيماوى مهماً بشكل خاص عندما تكون البكتيريا مضافة إلى التربة أو فى حفر البذور (الأخاديد)، وبالتالى لاتكون فى البداية على اتصال مع النبات. ذكر Scher *et al* سنة ١٩٨٥ أن هناك انجذاب كيماوياً للبكتيريا الوميضة لإفرازات بذور فول الصويا فى التربة المشبعة بالماء. لقد وجدوا أن البكتيريا *P. putida* سلالة RW1 تتحرك مسافة ١سم باتجاه بذور فول الصويا فى ١٢ ساعة. كما تبين فى الدراسة المعملية أن *Azospirillum lipofer-um*، تظهر الانجذاب الكيماوى لإفرازات جذور القمح وإلى السكروز فى طبق بترى. أما فى التربة المعقمة والتى هى بالقرب من كفاءة السعة الحقلية، فإن البكتيريا *A. brasilense* سلالة Cd والبكتيريا الوميضة سلالة 82011، كل منها يهاجر عدة سنتيمترات باتجاه جذور القمح، ولكن حركتها تكون أقل، فى التربة، عندما لايكون هناك جذور للقمح. كذلك وجد أن الرايزوبيا تنجذب إلى بعض المواد الموجودة فى إفرازات جذور النبات.

بالتالى يمكن القول بأن الانجذاب الكيماوى يساعد فى توجيه البكتيريا إلى موطن الإصابة. لقد ذكر كل من Solby & Bergman سنة ١٩٨٣ أن الطفرات المتحركة وليست المنجذبة كيماوياً من *R. meliloti* فى التربة المعقمة تنتشر أكثر، بنسبة بسيطة، عن الطفرة غير المتحركة وأكثر ضعفاً من السلالة الأصلية. إن البكتيريا الوميضة و *P. putida* تنجذب إلى بعض المواد المفرزه من كونيديات *Cochliobolus victoriae* والأجسام الحجرية للفطر *Macrophomina phaseolina*.

٥- تحمل الضغط الأسموزي Osmotolerance

إن صفة تحمل ظروف التربة الجافة والكفاءة الأسموزية المنخفضة، يمكن أن تساعد فى بقاء البكتيريا حية فى منطقة الرايزوسفير. مع الثبات النشيط فى المناطق ذات الرشح المائى

العالى، فإن كفاءة النبات على تحمل الانحرافات فى التربة المغطية للجذر، يمكن أن تصبح منخفضة جداً خلال فترات النتح العالية. فى بعض الدراسات على البكتيريا المقاومة للجفاف (هذه البكتيريا تبقى حية لمدة ١٥ يوماً على الأقل فى الجفاف) والبكتيريا الحساسة للجفاف (هذه البكتيريا تموت خلال ١-٤ أيام تحت الظروف الجافة)، ظهرت السلالات المقاومة بشكل عام لتحمل ضغط اسموزى أكبر من تلك السلالات الحساسة. لقد ذكر Loper *et al* سنة ١٩٨٥ أن هناك علاقة بين التحمل الأسموزى وحجم التجمع لثمانية سلالات من البكتيريا الوميضة على جذور البطاطس. وعلى النقيض من ذلك، فقد وجد بعض الباحثين أن البكتيريا *P. putida* سلالة MK280 والطفرة الحساسة للأسموزية تستعمر جذور القطن النامية فى تربة على (-١,٨) بار بالتساوى تماماً. إذا كانت السلالات المتحملة للأسموزية تساعد فى البقاء على قيد الحياة لبعض البكتيريا المدخلة على الجذور، فمن المحتمل أن تزيد فى البقاء على قيد الحياة عن طريق تكشف سلالات منتجة لكميات كبيرة من الـ proline. إن هذه المادة الواقية للأسموزية Osmoproectant فى البكتيريا *Salmonella typhimuri-um* وكائنات حية دقيقة أخرى. بعض الطفرات المنتجة لكميات كبيرة من الـ proline من البكتيريا السابقة و *E. coli* و *K. pneumoniae* تكتسب زيادة التحمل للأسموزية.

٦- إستعمال الكربوهيدرات المعقدة Complex Carbohydrate Utilization

مع أن معظم إفرازات الجذر يمكن تمثيلها فوراً بواسطة البكتيريا المدخلة إلى التربة طبيعياً، إلا أن قليلاً من الكائنات الحية الدقيقة يمكن أن تحلل المادة الهلامية المغطية لقمة الجذر والتى تتكون (بشكل جزئى) من كربوهيدرات معقدة مثل السليلوز، الهميسليلوز والبكتين. إن المقدرة على استعمال هذه الكربوهيدرات يمكن أن يزيد الكفاءة التنافسية فى البكتيريا المدخلة، نظراً لأنها تسمح بفعالية أكثر فى استعمار قمة الجذر خلال الطور الأول. الطفرات الناتجة من الفطر *T. harzianum* ذات القدرة الكبيرة على إفراز إنزيم السليوليز، لها قدرة كبيرة فى منافسة الرميات والكائنات ذات الكفاءة الرايزوسفيرية العالية، بمقارنتها مع الأنواع الأصلية. مثل هذه الطفرات يمكن أن تكون أكثر منافسة بسبب زيادة استعمال السليلوز الموجود على الجذر.

ميكانيكية تثبيط الكائن الممرض

ذكر هذا الموضوع فى الفصل الأول من الكتاب.

ثالثاً: المقاومة الحيوية لأمراض الجذور في المزارع المائية أو بدون تربة

Biological Control of Root Pathogens In Soilless and Hydroponic Systems

مقـــدمة:

إن نظم المزارع المائية أو دون تربة تستعمل على نطاق واسع فى جميع أنحاء العالم، لإنتاج الزهور، أوراق الزينة Foliage وكذلك نباتات الـ Bedding ومحاصيل الخضار. تنمو النباتات فى محاليل غذائية مع، أو دون وجودة مادة صلبة فى المزرعة لتلتصق بها الجذور. النظم المائية للزراعة Hydroponic Systems دون مواد صلبة، تعتمد على تكنيك الغشاء الغذائى Nutrient Film Technique ويرمز له (NFT). كذلك يمكن أن تزرع النباتات فى مزرعة رملية، صخور صوفية، أو فى أكياس تحتوى *peat* أو نشارة خشب.

المحلول الغذائى المستعمل، إما أن يكون متكرر الدورة Recirculated (يسمى نظاماً مغلقاً) أو أنه يجفف (يفرغ) بعد الاستعمال ويسمى نظاماًمفتوحاً Open System. هذه الأنظمة أصبحت شائعة الاستعمال فى العقدين الأخيرين من هذا القرن، فى أمريكا وشمال أوروبا وكندا، خاصة لتنمية المحاصيل ذات القيمة الاقتصادية العالية فى الصوبا الزجاجية، مثل الطماطم، الخيار، الخس، الفلفل والسبانخ. مع أن هذه الطريقة تحتاج إلى رأس مال كبير، إلا أن المردود يكون مناسباً، حيث يكون هناك تقنينا للمواد الغذائية وكمية المياه بحيث تناسب الناحية الفسيولوجية والظروف البيئية للحصول. كذلك يمكن التحكم بتغذية النبات والظروف الفسيولوجية بواسطة المزارع، مما يؤدى إلى زيادة الإنتاج، وجودة المنتج والتحكم فى مواد الإنتاج. تكون جميع العناصر الغذائية فى المحلول جاهزة للنبات (متوفرة بصورة قابلة للإمتصاص)، وبالتالى لايكون هناك تنافس بين العناصر الغذائية، ويمكن استعمال كثافة عالية من النباتات. هناك فائدة أخرى لهذا النوع من الزراعة هو منع حدوث أمراض الجذور.

إن الكائنات الممرضة الكامنة فى التربة، خاصة الفطريات، هى التى تنتج لقاحاً فى التربة، والذى يمكن أن يبدأ فى إظهار أمراض الجذور فى مزارع الصوبا الزجاجية. لكى

نمنع هذا التلوث، فان معظم مزارعى الصوبات الزراعية يستعملون تربة معقمة أو مبسترة وذلك لإستبعاد اللقاح قبل البدء فى الزراعة. هناك طرق أخرى تستعمل لاستبعاد اللقاح، منها التبخير، البخار المخلوط بالهواء، تدخين التربة، استعمال المبيدات الفطرية. ولكى نرتاح من كل هذه الطرق يلجأ إلى نظام المزارع المائية لاستبعاد الكائنات الممرضة الكامنة فى التربة.

وعلى أية حال، فإن نظم الزراعة بدون تربة أو المزارع المائية، لاتكون دائماً خالية من مشاكل الأمراض، حيث إن بعض أنواع الأمراض تكون منتشرة ومدمرة. هناك عدة عوامل تزيد خطورة وضع المرض فى المزارع بدون تربة. وأهم هذه العوامل:

١- فى نظام الزراعة بدون تربة فى الصوبا الزجاجية، تكون النباتات متماثلة وراثياً تماماً، وبالتالى تكون متماثلة فى القابلية للإصابة، بالإضافة لذلك فان كثافة النباتات يمكن أن تناسب حركة الكائنات الممرضة من النباتات المصابة إلى النباتات السليمة.

٢- تكون الظروف البيئية (الطبيعية) خاصة الحرارة والرطوبة، فى بعض الأحيان ملائمة تماماً للكائن الممرض.

٣- فى النظام المفتوح، عند إعادة دورة الماء، فإن الكائنات الممرضة يمكن أن تنتشر بسهولة من نبات إلى آخر خاصة الفطريات الهدبية التى تنتج جراثيم ساكنة، وبالتالى فإن كمية قليلة ملوثة من الماء (المحلول الغذائى) يمكن أن تؤدى إلى إصابة شاملة وخسارة كبيرة. فى بعض التجارب وجد أن ٢٠ جرثومة هدبية من الفطر *Pythium aphaniderma-tum*، إذا أدخلت فى ١٠٠ لتر محلول غذائى فى نظام NFT، تؤدى إلى خسائر كبيرة فى إنتاج محصول الخيار (هذا ما وجده Menzies *et al* سنة ١٩٩٦). لذلك أصبح النظام المقفول أكثر انتشاراً بسبب مشاكل تلوث الماء الأرضى، الذى يكون مرافقاً للنظام المفتوح.

٤- إن المواد المستعملة فى نظام الزراعة بدون تربة تفتقر إلى التنوع الميكروبى والتوازن الحيوى Biological Buffering الموجود فى التربة الطبيعية. حيث إنه فى التربة الطبيعية كثيراً من الكائنات الممرضة الكامنة فى التربة تكون محدودة النشاط نتيجة وجود تضاد من كائنات دقيقة أخرى، كذلك تعرضها إلى المنافسة على الغذاء وإلى المواد المضادة للفطريات. وبالتالى إذا أدخل كائن ممرض إلى التربة العادية، فإنه ينتشر فيها

ببطء شديد جداً إذا قيس بسرعته لو أدخل فى تربة معقمة أو فى مزارع بدون تربة لأنه سوف لايلاقي منافسة ولاتضاد من كائنات حية أخرى، وبالتالى يمكن لهذا الكائن الممرض أن يوطد نفسه ويسبب مرضاً شديداً.

دخول الكائنات الممرضة إلى نظم الزراعة المائية:

مع أن نظم الزراعة بدون تربة، أو الزراعة المائية، تبدأ نقية بدون كائنات ممرضة، إلا أنه يمكن أن تحدث فيها أمراض شديدة. السؤال هو كيف وصلت هذه المسببات المرضية؟؟. لقد حاول Jarvis سنة ١٩٩٢ الإجابة عن هذا السؤال وقام بدراسة هذا الموضوع جيداً، ووجد أن اللقاح يمكن أن يأتى من خارج الصوبا الزجاجية على التربة الداخلة عن طريق أحذية العمال، الأدوات الزراعية، الأجهزة أو عن طريق الغبار، أو عن طريق الرمال المأخوذة من جوانب الأنهار أو الحصمة (الزلط) المستعمل فى تغطية الطرقات فى الصوبا الزجاجية، يمكن أيضاً أن يحمل الكائنات الممرضة النباتية. بعض الكائنات الممرضة الكامنة فى التربة مثل *Fusarium Oxysporum* f. sp. *radicislycopersici*، يمكن أن يكون جراثيم محمولة فى الهواء تسمى كونيديات Conidia، والتى يمكن أن تنتقل إلى الصوبا الزجاجية، كذلك فإن اللقاح يمكن أن يدخل عن طريق البذور الملوثة (المصابة) أو وسائل التكاثر الأخرى. لقد تبين أن الـ *peat* يمكن أن يحتوى كائنات ممرضة. الماء، وخاصة ماء الخزانات أو الماء السطحى يمكن أن يحمل الكائنات الممرضة ذات الجراثيم الهدبية المتحركة مثل *Pythium*. حتى الحشرات مثل البعوضة الفطرية Fungus gnats *(Bradysia* sp.) وذباب الشاطىء *Scatella stagnalis*، يمكن أن تكون عاملاً ناقلاً للكائنات الممرضة فى الصوبا الزجاجية. إن هذه الحشرات يمكن أن تكتسب الكائنات الممرضة عن طريق التلوث الخارجى لجسمها أو أنها تتغذى على الأجزاء الفطرية مثل الجراثيم البيضية وتخرجها فى أماكن أخرى وهى لاتزال حية.

أمراض نظم الزراعة المائية:

رغم الانتشار الكبير وحدوث الأمراض الكامنة فى التربة فى الأراضى الزراعية، إلا أن هناك نسبة قليلة قد ذكر حدوثها فى نظم الزراعة المائية. إن أكثر الكائنات الممرضة الفطرية

أهمية، هى التى تنتج الجراثيم الهدبية والتى تنتج جراثيم سابحة لها أسواط وغير جنسية، والتى يمكن أن تتحرك بسهولة فى الماء وتهاجم الجذور. هذه الجراثيم الهدبية، تتكون وتنطلق من تركيب يسمى حافظة جرثومية Sporangium على سطح الجذر. تسبح الجراثيم المنطلقة فى المحلول المائى أو فى الغشاء المائى المحيط بالمواد الصلبة فى البيئة الغذائية، وتعتمد فى الإصابة على خاصية الجذب الكيماوى، أو أنها تتحرك مباشرة باتجاه إفرازات الجذر. إذا ما حدث وأن قابلت هذه الجراثيم، الجذر، فإن تلتصق به وتفقد أسواطها وتتحوصل عن طريق تكوين جدار خلوى، ثم تخترق الجذر عن طريق أنبوبة إنبات. معظم هذه المسببات المرضية تتبع الأجناس *Pythium*، *Phytophthora*، *Olpidium*. كما أن الفطر الأخير، يمكن أن يكون ناقلاً للأمراض الفيروسية، مثل مرض العرق الكبير فى الخس. ولقد وجد حديثاً أن أنواعاً من الجنس *Plasmopara* (مسبب مرض البياض الزغبى) الذى عادة ما يصيب المجموع الخضرى، قد ذكر العلماء Stanghellini *et al* سنة ١٩٩٠ بأن هذا الفطر يصيب جذور بعض نباتات الزراعات المائية.

الكائنات الممرضة المنتجة جراثيم هدبية، يمكن أن تسبب أعفان الجذر وأعفان البادرات، التقزم، خفض الإنتاج وانهيار النبات إذا ما اخترق الكائن الممرض النبات وتجاوز منطقة التاج. أهم الكائنات الممرضة الفطرية غير التابعة للفطريات الهدبية والتى تسبب أمراض الذبول فى المزارع المائية، هى:

1- *Fusarium oxysporium* 2- *Verticillium dahliae*

3- *Fusarium oxysporium* f.sp. *radicis - lycopersici*

4- *Thielaviopsis basicola* 5- *Colletotrichum coccod*

كان أول ذكر للفطر رقم ٣ فى كندا سنة ١٩٧٥ وهو يسبب مرض عفن الجذر والتاج. (كان أول ذكر لهذا الفطر رقم خمسة سنة ١٩٨٣)، هذه الكائنات الممرضة تكون جراثيم محمولة فى الهواء تسمى كونيديا *conidia*، ويبدو أنها تنتقل وتتحرك بواسطة الهواء أكثر من حركتها بواسطة المحلول الغذائى الملوث.

هناك على الأقل ثلاثة أنواع من البكتيريا ذكرت بأنها تصيب النباتات فى المزارع المائية، اثنان منها من الكامنات فى التربة وهما *Pseudomonas solanacearum, Clavi-bacter michiganense* sub., sp. *michiganensis*، تسبب التقرح البكتيرى والذبول فى

الطماطم. كذلك عزلت *Erwinia sp.* من نباتات طماطم مريضة فى المزارع المائية فى الصوبا الزجاجية.

المقاومة الحيوية في الزراعة بدون تربة:

يبدو أن المقاومة الحيوية تكون مثالية وملائمة لنظم الزراعة دون تربة فى النظام المغلق. حتى تكون المقاومة الحيوية ناجحة فى أى مكان يجب أن تكون فى أوضاع مغلقة. من أهم أسباب فشل المقاومة الحيوية فى الحقول الزراعية، هو قلة الثبات فى تركيبات عوامل المقاومة الحيوية، غالباً ما يكون ذلك بسبب عدم ملاءمة الظروف البيئية. كما هو معروف، فإن عوامل المقاومة الحيوية، هى كائنات حية دقيقة وتكون حساسة لدرجة الحرارة، الرطوبة، الـ pH وغيرها، وذلك على عكس المبيدات الفطرية. وعلى أية حال فإن الظروف البيئية فى الصوبا الزجاجية تكون أكثر تماثلاً ويمكن ضبطها لتكون ملائمة لنمو عامل المقاومةالحيوية وغير ملائمة للكائن الممرض. هناك سبب آخر لعدم ثبات نشاط عوامل المقاومة الحيوية فى الحقل، هو فشل هذه العوامل فى توطيد نفسها فى التربة التى تكون محتوية بشكل مسبق على ميكروبات منافسة أخرى. وعلى أية حال، فإن معظم نظم الزراعة بدون تربة تكون معقمة أساساً فى البداية، ومن السهولة أن يتوطد فيها تجمعات عالية من عوامل المقاومة الحيوية قبل ابتداء الزيادة فى تجمعات الكائنات المنافسة.

يمكن إضافة عوامل المقاومة الحيوية بسهولة إلى المحلول المغذى فى نظام المزارع المائية والذى يقوم بدوره بنشر وتوزيع هذه العوامل. إن معظم المحاصيل التى تستعمل فى المزارع المائية، تكون لها قيمة اقتصادية عالية بحيث أنها يمكن أن تعوض تكاليف الزراعة والوقاية (المقاومة الحيوية). بالإضافة لذلك فإن إستعمال المقاومة الحيوية يمكن أن يعطى قيمة تسويقية، وذلك لأن المستهلكين يفضلون المحاصيل النامية بدون مبيدات فطرية.

على الرغم من فوائد المقاومة الحيوية فى نظم المزارع المائية، إلا أن هناك أبحاثاً قليلة جداً منذ سنة ١٩٨٥ أجريت فى هذا الموضوع بالمقارنة مع نظم الزراعة الأخرى، فإن معظم هذه الدراسات تشمل استعمال Rhizobacteria مثل أنواع *Bacillus, Pseudomonas*. فمثلاً إستعملت البكتيريا الوميضة ضد ذبول الفيوزاريوم فى مزارع القرنفل (مزارع الصوف الصخرى)، ويعود فعل هذه البكتيريا إلى تأثير السايدروفورز. كذلك وجد حديثاً أن أنواعاً من البكتيريا *Pseudomonas* spp. تحث أيضاً على المقاومة الجهازية فى النباتات لكثير من

الكائنات الممرضة من ضمنها ذبول الفيوزاريوم (هذا ما وجده Duijff *et al* سنة ١٩٩٣)، وأمراض الجهاز الخضرى (Wei *et al* سنة ١٩٩١) كذلك وجد أن بعض أنواع هذه البكتيريا تقلل إستعمار جذور الخيار من قبل الفطر *Pythium aphanidermatum*. من أهم أنواع هذه البكتيريا التى تثبط إنبات الجراثيم الهدبية والانجذاب الكيماوى والتى تستعمل بنجاح فى المحلول الغذائى لنبات الخيار حيث تخفض الإصابة بعفن الجذر وسقوط البادرات وتزيد الإنبات بنسبة ١٢-١٨٪ هى *P. corrugata Pseudomonas fluorescens* (هذا ما وجده *Moulin et al* سنة ١٩٩٥). ووجد أيضاً أن أمراض البثيم على الخيار مرتبطة مع نظام مزارع الصوف الصخرى (Postma *et al* سنة ١٩٩٥).

أما البكتيريا *Bacillus subtilis* فهى تقاوم جزئيا الفطر *F. oxysporum f.sp. radi-cis - lycopersici* وأمراض الفاتيوفثورا على الطماطم فى المزارع المائية. كذلك استعملت الاكتينومايستس فى المقاومة الحيوية، فوجد أن *streptomyces* sp. ذو تأثير عال وفعال ويباع فى الأسواق تحت اسم Mycostop (هذا الاسم شائع فى فنلندا)، وهذا المنتج له فعالية عالية ضد *F. oxysporum* على نبات الجربارة (نبات زهرى من الفصيلة المركبة اسمه العلمى *Gerbera jamesonii*) وضد أمراض بثيم على الخيار فى مزارع الصوف الصخرى.

أما أنواع الفطر *Trichoderma sp.* فهى واسعة الانتشار فى المقاومة الحيوية فى الصوبا الزجاجية وتستعمل بنجاح ضد الفطر *F. oxysporum* f.sp. radicis - *lycopersici* على الطماطم وضد *Pythium ultimum* على الخيار.

كذلك فإن الفطر *Gliocladium virens* يستعمل على نطاق واسع فى الولايات المتحدة الأمريكية ويباع تجارياً ويقاوم أمراض سقوط البادرات المفاجىء المتسبب عن *Pythium, R. solani* فى مزراع الـ *peta*. كذلك تستعمل الأشكال غير الممرضة من أنواع *F. oxyspor-um* لوقاية النباتات ضد الكائنات الممرضة المسببة للذبول من Forma specialis لنفس النوع الممرض على الطماطم والقرنفل وللكائنات الممرضة والمسببة لعفن الجذر والتاج فى الطماطم.

كذلك فإن الأنواع المتطفلة الفطرية (فوق التطفل) أو Mycoparasitica من الفطر *Pythium periplocum* تستعمل ضد الأنواع الممرضة من الفطر بثيم على الخيار.

رابعاً: معاملة البذور حيوياً لمقاومة مسببات الأمراض الكامنة في التربة

Biological Seed Treatment For Control of Soil-born Pathogens

مقـــدمة:

تعتبر المقاومة الحيوية للآفات جزءاً متمماً ومساعداً للعمليات الزراعية الأخري التى تؤثر فى الإنتاج الزراعى. إن معاملة البذور حيوياً لمقاومة أمراض البذور والبادرات، توفر للمزارع بديلاً عن المبيدات الفطرية الكيماوية. على الرغم من أن معاملة البذور حيوياً يمكن أن تكون ذات تأثير فعال، إلا أنه يجب الأخذ بعين الاعتبار بأنها تختلف عن معاملة البذور كيماوياً ، وذلك لأنها عبارة عن استعمال كائنات حية دقيقة لمقاومة كائنات حية دقيقة أخرى.

إن شروط التخزين والاستعمال لعوامل المقاومة الحيوية يجب أن تكون أكثر دقة من تلك المطلوبة للكيماويات المستعملة مع البذور، كذلك فإن تفاعلاتها المختلفة مع العائل ومع الظروف البيئية، يمكن أن تجعل معاملة البذور حيوياً ذات مجال ضيق الاستعمال عنه فى بعض المبيدات الكيماوية. على العكس من ذلك، فإن بعض عوامل المقاومة الحيوية المستعملة كمعاملة بذور، تكون أكثر مقدرة على استعمار الرايزوسفير وتزيد كفاءة النبات الإنتاجية.

إن عوامل المقاومة الحيوية الفعالة، قد تطورت مع الكائنات الممرضة للبذور وللبادرات مثل بثيم، رايزوكتونيا وفيوزاريوم. هناك تنوع كبير موجود الآن فى مراحل مختلفة من التطور لمعاملة البذور. أكثر الدراسات أجريت على البكتيريا التابعة للأجناس: *Pseudomo-nas*، *Enterobacter* ، *Erwinia, Bacillus* وأهم الفطريات هى *Trichoderma*، *Glio-cladium*. أما الأكتينوماسبس فأهمها *Streptomyces*. وعلى أية حال إذا لم يمكن تحديد أو تعريف عامل المقاومة الحيوية الفعال للإستعمال كمعاملة بذور، فلا يكون هناك ضمان بأن تبقى مقاومة المرض المتحصل عليها من هذه المعاملة ثابتة. إن فعالية معاملة البذور حيوياً، يمكن أن تتأثر بواسطة حموضة التربة وتركيز الحديد، الرطوبة، الحرارة وكثافة لقاح الكائن الممرض. كذلك فإن هذه الفعالية، يمكن أن تتأثر بواسطة بعض الصفات الخاصة بعامل المقاومة الحيوية ومعاملة البذور نفسها. هذه تشمل كثافة لقاح عامل المقاومة الحيوية على

الحبوب، مثل تطعيم البذرة Priming، التشكيلات والإضافات التى تزيد فعالية وبقاء عامل المقاومة حياً فى المنتجات التشكيلة، المحصول وعامل المقاومة المتخصص ضد كائن ممرض معين، والتوافق مع لقاح الميكروبات الأخرى أو المبيدات الفطرية الكيماوية.

من أهم الدراسات التى أجريت فى هذا الموضوع هو مقاومة عفن بذور الذرة السكرية *sh2* المتسبب عن الفطر *Pythium* باستعمال البكتيريا *Pseudomonas aureofaciens* السلالة AB254.

أكثر الأجناس الفطرية أهمية فى المقاومة الحيوية هما الفطرين *Gliocladium, Tri-choderma*. لقد ثبت أن لهذين الفطرين كفاءة عالية فى المقاومة الحيوية لكثير من الفطريات الممرضة للنبات خاصة الكامنة فى التربة. هناك عديد من الأمراض قد ثبت مقاومتها بنجاح باستعمال هذه الفطريات المضادة فى التربة. إن معاملة البذور بمعلق جرثومى من هذه الفطريات المضادة، هى معاملة حديثة نسبياً وأكثر ملاءمة لتوصيل هذه الفطريات للبذور ولمقاومة الأمراض الكامنة فى التربة.

إن دمج المقاومة الحيوية والمعاملة بالمبيدات الفطرية فى معاملة البذور، تعطى نتائج جيدة فى مقاومة الأمراض. إن هذه الفكرة مبنية على معاملة البذور أولاً بالكائن المضاد *Gliocladium virens* بتركيز 10^7 كونيدية/مل ثم بعد ذلك بالمبيد الفطرى كربوكسين ٠,١ ٪ . هذه الطريقة ذات تأثير فعال ضد عديد من الممرضات النباتية الكامنة فى التربة، من أهمها *Sclerotium rolfsii* ، *R. solani* ، *Fusarium oxysporum* فى الحمص والعدس والفول السودانى.

معاملة البذور حيوياً:

إن كيفية استعمال الكائنات المضادة، تبقى العائق الكبير فى استعمال المقاومة الحيوية على نطاق تجارى وعملى، على الرغم من ذلك، هناك حقيقة تؤكد أن السنوات الأخيرة قد شهدت تقدماً ملحوظاً فى استعمال هذه التكنولوجيا لمقاومة الأمراض الكامنة فى التربة. فى كثير من الحالات قد تم بنجاح استعمال الكائنات المضادة على التربة، ولكن الكميات الكبيرة اللازمة من الكائنات المضادة تحد من استعمال هذه الطريقة على نطاق واسع.

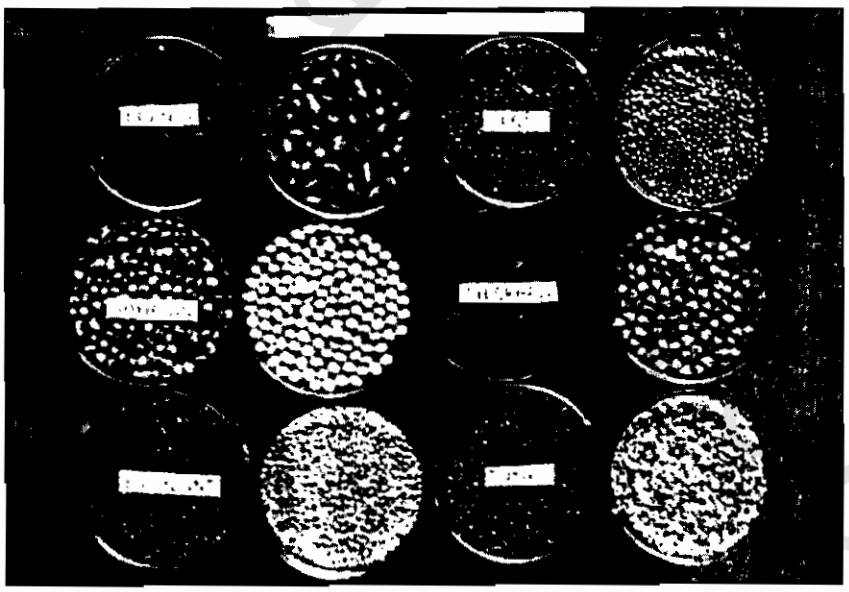
الطريقة الأكثر إقتصادية والتى، غالباً، أكثر كفاءة فى المقاومة الحيوية، تكون عبارة عن ادخال الكائن المضاد مع المادة النباتية. هذا الاقتراح قد تم إثباته بأنه أفضل طريقة ناجحة فى المقاومة الحيوية لمسببات الأمراض الكامنة فى التربة وعلى سطح البذور. عند معاملة البذور حيوياً، وذلك عن طريق حقنها بالكائنات الفطرية المضادة سريعة النمو، هذا يمنع تحلل البذور ولفحة البادرات وذلك بواسطة التفريغ المبكر للمغذيات الذائبة، وبالتالى تقلل من إمكانية اختراق الكتلة الحيوية من قبل الكائن الممرض، عن طريق تزويدها بغطاء واق وعن طريق إنتاج مضادات حيوية وإنزيمات مثبطة وأحياناً بالتطفل.

طرق معاملة البذور حيوياً:

يستعمل المعلق الجرثومى بالإضافة إلى المسحوق الجاف من الفطريات المضادة على شكل غلاف للبذور. يكون الإجراء العام فى معاملة البذور حيوياً عن طريق جمع الجراثيم الكونيدية من مزارع الفطر النامية جيداً فى بيئة PDA، ويعمل من هذه الجراثيم معلق بالتركيز المطلوب، (يمكن استعمال مواد لاصقة أو الاستغناء عنها). تعوم البذور فى المعلق المحضر لمدة عشر دقائق ثم تجفف هوائياً ثم بعد ذلك تزرع. شكل رقم ٤، يبين بذوراً مختلفة مغلفة بمعلق من الجراثيم الكونيدية من الفطر المضاد *Gliocladium virens*. عندما تنبت البذور المعاملة، تتكاثر الكائنات المضادة على الغلاف دون أى تأثيرات على الإنبات، وبالتالى فإنها تخلق حاجزاً فيزيائياً ضد الاختراق بأي من الكائنات الممرضة (شكل ٥).

يمكن استعمال مواد لاصقة فى المعلق الجرثومى مثل ميثوسيل ٢٪ وزن/حجم، كاربوكسى ميثايل سليلوز (CMC) ١٪، بولى ميثايل الكحول ٢٠٪ وزن/حجم، بولى سلفيت ٠,٨٪ وزن/حجم، لابونايت 508 بنسبة ١,٥٪ وزن/حجم، بولى تران *N* بنسبة ٠,٦٪ وزن/حجم وبلى جيل. وعلى أية حال إذا كان سطح البذور خشناً، كما فى حالة بذور الحمص، فليس من الضرورى إستعمال المواد اللاصقة. إن عملية ربط Solid Matrix priming (SMP) مع معاملة البذور حيوياً يحسن درجة المقاومة عن طريق التثبيت المبكر للكائن المضاد على غلاق البذرة. إن الطريقة العامة العملية لاستعمال مكونات SMP وتعويم البذور بالمعلق الجرثومى لعامل المقاومة الحيوية (٤ غرام مع ١مل معلق جراثيم) ثم يمزج مع ٦ غرام حامل عضوى Bituminous coal أو Sphagnum moos أو leonardite

shale. تخلط البذور مع الحامل العضوى مع الماء حتى يصبح مستوى الرطوبة النهائى فى المخلوط ٦٠٪، بالنسبة لبذور الخيار و ٩٠٪ للطماطم، ثم بعد ذلك يحضن المخلوط لمدة أربعة أيام على حرارة ٢٠°م قبل الزراعة. إن تكنيك استعمال الفطر *Trichoderma* مع SMP مسجل تجارياً فى الولايات المتحدة للمقاومة الحيوية ضد عفن البذور وتحلل البادرات.



شكل رقم (٤): يبين بذور مختلفة مغلفة بمعلق من الجراثيم الكويندية للفطر *Gliocladium virens*.

شكل رقم (٥) : بادرات الحمص، فول الصويا والخروع معاملة بالكائن الفطرى المضاد *Gliocladium virens*. لم يؤثر هذا الفطر على نسبة وكيفية الإنبات. البذور المعاملة على اليمين وغير المعاملة على اليسار.

كثافة لقاح عامل المقاومة الحيوية:

هناك عدد محدود، يجب أن لا تقل عنه الخلايا أو وسائل التكاثير لعامل المقاومة الحيوية حتى يمكن الحصول على مستوى ملائم من وقاية البذور. لقد وجد أن وقاية سلالة معينة من الذرة السكرية *sh2* من الإصابة بالفطر بثيم باستعمال البكتيريا *Pseudomonas aureofoci-ens* سلالة AB254 تزيد بزيادة تركيز اللقاح المستعمل فى الصوبا الزجاجية وفى الحقل. وجد (مثلاً) فى الحقل أن تركيز $^{٧}١٠$ وحدة تكوين مستعمرات من السلالة AB254 سببت زيادة ٩٠٪ من ظهور البادرات وهذا ما يساوى تأثير المبيد الفطرى *Metalaxyl* الذى يستعمل ضد الفطريات البيضية ومنها الفطر *Pythium*. تحت ظروف المرض الشديدة فى الصوبا الزجاجية، فإن تركيز $^{٧,٥}١٠$ وحدة تكوين مستعمرات، يعطى أعلى نسبة ظهور للبادرات. ووجد أن $^{٧}١٠-^{٧,٥}١٠$ وحدة تكوين مستعمرات من البكتيريا لكل حبة ذرة

ضرورياً لوقاية الذرة السكرية من عفن بثيم فى البذور. كذلك وجد أن ^{٧,٥١٠} وحدة تكوين مستعمرات من البكتيريا *P. putida* سلالة R20 تعطى أعلى وقاية لبذور بنجر السكر من الإصابة بالفطر *Pythium ultimum*.

عوامل المقاومة الحيوية وتطعيم (تغليف) البذرة:

إن عملية تطعيم البذرة (تغليف) تقوم بعمليات فسيولوجية مختلفة، والتى تؤدى إلى زيادة إنبات البذور وقوتها، من خلال زيادة الرطوبة. إن عمليات إصلاح الغشاء المغلف للبذرة، من المفترض أن تحدث خلال التطعيم وغالباً ما تزيد نسبة إنبات البذور وقوة البادرات. إن إضافة عوامل المقاومة الحيوية الميكروبية أثناء عملية التطعيم (التغليف) وهذا ما يسمى BioPriming، يسمح باستعمار البذرة قبل إنباتها ويضيف اتجاهاً جديداً لعملية تطعيم البذرة. إن الاستعمار المبكر للبذرة، يزود عامل المقاومة الحيوية بفائدة تنافسية تساعد فى زيادة التغلب على الكائن الممرض، مثل *P. ultiumum* وغالباً ما يؤدى إلى مقاومة جيدة تحفظ البذرة عند مقارنتها مع طريقة التغليف البسيطة للبذرة.

عملية الحقن (التغليف) الحيوى Biopriming، تعنى تغليف البذرة بعامل المقاومة الحيوية، مثل البكتيريا *P. aureofaciens* سلالة AB254 ثم التميه Hydrating لمدة ٢٠ ساعة تحت ظروف جو دافى (٢٣°م) فى Moist Vermiculite أو على ورق نشاف Blot-ters للإنبات فى قفص بلاستيكى مانع لتسرب الماء ذاتياً. تؤخذ البذور قبل أن يبدأ الجذر فى الإنبات. أما عن عامل المقاومة الحيوية فانه يبدأ فى التكاثر على البذور أثناء عملية التغليف هذه Biopriming.

حقن البذور بكثافة منخفضة قبل عملية الـ Bio-priming يؤدى إلى زيادة التجمعات البكتيرية. تبين أن نتيجة المقاومة الحيوية لعفن بثيم فى البذور عند استعمال البكتيريا بتركيز ^{٦١٠} أو ^{٨١٠} وحدة تكوين مستعمرات تشابه تماماً معاملة البذور بالمبيد الفطرى Metalaxyl، حيث تبلغ نسبة الإنبات ٩١ ٪ ويكون طول النبات فى الحالة الأولى ١٦,٧سم أما فى حالة المبيد، فكان طول النبات ١٥,٩سم.

تشكيل عوامل المقاومة الحيوية ومدة بقاء هذا التشكيل:

البذور المعاملة حيوياً تكون أكثر تأثراً بالظروف البيئية غير الملائمة، أثناء النقل والتخزين من تلك البذور المعاملة بالمبيدات الكيماوية. معظم تشكيلات الكائنات الحية الدقيقة لاتستطيع أن تتحمل الجفاف أو الحرارة العالية. وأن فقد الحيوية يجعل هذه التشكيلات غير فعالة. إن تشكيلات المقاومة الحيوية الناجحة، يجب أن تحتفظ بحيويتها حتى تستعمل من قبل المزارع، وأن الكمية غير المستعملة يجب أن تكون صالحة للتخزين للاستعمال فى السنة القادمة. زيادة على ذلك فإن تركيبات المقاومة الحيوية، يكون طول مدة بقائها ذات فعالية محدوداً حتى تحت ظروف التخزين المثالية. إن اللقاح المستعمل فى المقاومة الحيوية والمأخوذ من ميكروبات تكون جراثيم داخلية مثل البكتيريا Bacillus أو الجراثيم الفطرية، يكون لها سقف حياة، أطول من تلك الكائنات التى لاتكون جراثيم داخلية مثل البكتيريا *Pseudomonas* والتحضريات الفطرية الميسيليومية.

تكنولوجيا تشكيلات عوامل المقاومة الحيوية لديها كفاءة فى زيادة فعالية معاملة البذور الحيوية. معظم أبحاث التشكيلات تتجه مباشرة لإنتاج لقاح يتميز بأنه ذو كثافة عالية من الأجزاء التكاثيرة الحية، وذو سقف حياة طويل، والثبات تحت الظروف البيئية غير الملائمة ويجب أن يكون المنتج سهل الاستعمال وأن ينتج تجارياً. ذكر كثير من الباحثين أنه يمكن تحسين فاعلية أو إطالة سقف الحياة عن طريق إحداث تحويرات فى التشكيلات الميكروبية. لقد أمكن زيادة فعالية المقاومة الحيوية لنوعين من جنس *Trichoderma* المستعملة ضد عفن البذور المتسبب عن الفطر بثيم وذلك عن طريق إضافة سكريات عديدة Polysaccharides أو أحماض الكربوكسلك إلى معاملة البذور. ولقد وجد كل من Burr و Caesar سنة ١٩٩١ أن إضافة السكروز إلى تحضيرات من Talc-MC إلى عديد من البكتيريا يحسن بقاء التشكيلات حية فى المخزن. كذلك وجد Harman & Taylor سنة ١٩٨٨ أنه يمكن تحسين فعالية البذور المعاملة بالفطر *Trichoderma* عن طريق تحوير فى الـ *pH* ليلائم عامل المقاومة الحيوية

إن المواد التى تعامل بها البذور حيوياً يمكن أن تُشَكل (تأخذ تشكيلات) كمنتج لاستعماله على البذور وقت الزراعة أو تعامل به البذور وتكون جاهزة للزراعة. لقد أمكن حفظ حبوب

الذرة السكرية العاملة بالبكتيريا *P. aureofaciens* سلالة AB254 المجففة حتى ٩-١٠٪ رطوبة قبل تخزينها على حرارة ٨°م، أو على حرارة الغرفة العادية ٢٤°م لمدة ٧,٥ شهر.

درجة حرارة المخزن هى العامل الأساسى فى إطالة مدة التخزين للبكتيريا السابق ذكرها على حبوب الذرة السكرية جدول رقم ٢. وجد أن حيوية اللقاح على البذور المعاملة والمخزون على درجة حرارة ٨°م أو ٢٤°م تنخفض بسرعة خلال الشهر الأول. وبعد ٧,٥ شهر من التخزين تفقد البذور حوالى ^{1,410} وحدة تكوين مستعمرات عندما تخزن على ٨°م، وتفقد حوالى ^{310} وحدة عند التخزين على حرارة ٢٤°م.

إن شروط التخزين تؤثر على بقاء البكتيريا المذكورة سابقاً، حية على البذور، ولكن عملية Bio-priming للبذور بعد التخزين تؤدى إلى بقاء تجمعات البكتيريا على البذور حية وبالتالى تحافظ على مقدرتها فى حفظ البذور. ظهور البادرات فوق سطح التربة، فى التربة الملوثة بالفطر الممرض *P. ultimum* ينخفض بسرعة أكثر عندما تكون البذور قد خزنت على حرارة ٢٤°م منه على حرارة ٨°م. ظهور البادرات من البذور المغلفة بالسلالة AB254 المخزنة على حرارة ٢٤°م تنخفض إلى مستوى البذور غير المعاملة بعد ٣,٥ شهر فى المخزن، بينما البذور التى تخزن على حرارة ٨°م تبقى محتفظة بحيويتها ومقدرتها على مقاومة الفطر لمدة ٧,٥ شهر. ظهور البادرات من البذور المخزنة لمدة ٣,٥ شهر على حرارة ٨°م أو ٢٤°م تنخفض إلى مستوى المعاملة بالمادة الكيماوية الـ Metalaxyl عندما تحقن البذور Bio-prime قبل الزراعة. بعد ٧,٥ شهر من التخزين، فقط، البذور المحفوظة على حرارة ٨°م ثم حصل لها Bio-prime جعلت نسبة الإنبات، كما هى فى البذور المعاملة بالمبيد الفطرى ميثالكسيايل.

إن عملية الـ Bio-priming تحسن طول سقف الحياة فى البذور المعاملة. كثير من البكتيريا قادرة على أن تنتج مواد حافظة مثل Exopolysaccharides فى المكان الموجودة فيه ويمكن أن تفعل الشئ نفسه أثناء عملية الـ Bio-briming. وجد أن عملية الـ Bio-priming بالبكتيريا P. aureofaciens سلالة AB254 تؤدى إلى زيادة وقاية البذور من عفن بثيم بعد ٦ شهور من التخزين أفضل منه فى حالة تغليف البذور. جدول ٣. كذلك وجد بأن مدة بقاء البكتيريا *Enterobacter cloacae* سلالة EC102 على البذور أمكن تحسينها عندما سمح للبكتيريا أن تزداد على البذرة Solid matrix priming.

جدول رقم ٢ : تأثير حرارة المخزن على حيوية البكتيريا *P. aureofaciens* سلالة AB254 المستعملة على حبوب الذرة السكرية sh2 وعلى المقاومة الحيوية لعفن بثيم فى البذور.

معاملـــة البـــذور	٪ نسبة ظهور البادرات فوق سطح التربة			
	مدة التخزين بالأشهر			
	صفر	١	٣,٥	٧,٥
كنترول (بدون معاملة)	٢٥	٤٣	١٨	٣٨
ميثايلكسايل ٠,٣ غم/كيلو بذور	٤٦	٩١	٧٢	٨٢
بذور مغلفة بسلالة البكتيريا (غير مخزنة)	٤٣			
بذور معاملة Bio- prime بسلالة بكتيريا غير مخزنة	٥٦	٨٧	٧٥	٨٨
بذور مغلفة بسلالة البكتيريا ومخزنة على ٨°م	–	٧٨	٦٤	٧٠
بذور مغلفة بسلالة البكتيريا ومخزنة على ٢٤°م	–	٧٦	٣٤	٤٨
بذور معاملة Bio-prime بعد التخزين على ٨°م	–	٨٩	٧٤	٨٥
بذور معاملة Bio-prime بعد التخزين على ٢٤°م	–	٨٢	٦٧	٦٤

جدول رقم ٣ : ظهور بادرات الذرة السكرية بعد المعاملة Bio-priming أو تغليف البذور بالبكتيريا P. aureofaciens سلالة AB 254 على ١٥°م لمدة ٦ شهور.

معاملـــة البـــذور	٪ ظهور البادرات فوق سطح التربة	
	فى الصوبا بعد المعاملة مباشرة	فى الحقل بعد ٦ شهور
السلالة معاملة Bio-prime ومخزنه	٧٩	٦٨
السلالة معاملة تغليف ومخزنة	٦٦	٤٨
السلالة مغلفة وقت الزراعة	–	٦٦
ميثايلكسايل ٠,٣غم/كيلو بذور	٢٤	٥٠

كان يستعمل فى التجربة الفطر *P. ultimum* بمقدار ٩١٠ وحدة تكاثرية/غرام تربة (في الصوبا الزجاجية) وكان يستعمل بمقدار ٦٥٠ وحدة تكاثرية/غرام تربة فى الحقل.

التوافق مع لقاحات الميكروبات الأخرى:

حسب أبحاث Waller سنة ١٩٨٨، فإن الاتحادات المتوافقة من سلالات عوامل المقاومة الحيوية البكتيرية، يمكن أن تعطى نتائج فى مقاومة الأمراض، أفضل من استعمال كل سلالة لوحدها. هذه الميزة يمكن أن تكون بسبب المدى الواسع من التلاؤم بين البكتيريا والظروف الفيزيائية والحيوية والكيماوية. السلالات المتحدة يمكن أن لاتعطى النتائج المرغوبة إذا حصل تنافس بين عوامل المقاومة الحيوية. إن عملية التنافس بين السلالات البكتيرية المحقونة على البذور، يمكن أن تعتمد على كثافة لقاحها الأولى. وجد Fukui *et al* سنة ١٩٩٤ أن التنافس بين سلالتين من بسيدوموناس على بذور بنجر السكر، يكون أقل ما يمكن عند حقن السلالتين بأقل تركيز ممكن. إذا حقنت إحدى السلالتين بكثافة أكبر من السلالة الثانية، يبدو واضحاً أن هناك تضاداً حيوياً بين السلالتين.

إن المقاومة الحيوية المثالية التى تطبق على البذور، لحمايتها من الأعفان فى التربة، يجب أن يستعمل فيها سلالات متوافقة أثناء الحقن، وأن يكون تركيز السلالتين متقارباً جداً، خاصة السلالات المثبتة للنيتروجين التى تستعمل فى محاصيل البقوليات. مثلاً بعض سلالات بسيدوموناس وسلالات *Bacillus cereus* تزيد تكوين العقد الجذرية نتيجة الحقن بكل من *Bradyrhizobium, Rhizobium*.

التوافق مع الكيماويات المعاملة بها البذور:

إن اتحاد المقاومة الحيوية مع المقاومة الكيماوية، ينظر إليه كوسيلة لزيادة الحصول على وقاية للمحصول تحت ظروف تكون غير ملائمة لقيام عامل المقاومة الحيوية بمفرده بهذه المهمة. إن كلاً من المقاومة الحيوية والكيماوية، يمكن أن توجه إلى الكائن الممرض نفسه أو إلى كائنات ممرضة أخرى. فمثلا المبيد الفطرى Imazalil فعال فى مقاومة أعفان بثيم وفيوزاريوم فى حبوب الذرة. ولقد وجد Mathre *et al* سنة ١٩٩٥ أن المبيد الفطرى Meta-laxyl ملائم للمقاومة مع *P. aureofaciens* سلالة AB 254 لمقاومة الفطر *P. ultimum* كما أن Imazelil ملائم للمقاومة مع استعمال بكتيريا بسيدوموناس السابقة الذكر لمقاومة الفطر *P. oxalicum*. لقد وجد فى هذه التجارب أن كلا من المقاومة الحيوية والكيماوية تكون ذات فعالية عالية لوحدها، ولكن تلاحظ التأثيرات الإضافية عند استعمال البكتيريا *P.*

aureofaciens سلالة AB254 مع المبيد الفطرى Imazalil فى معاملة البذور، وهذا يؤدى إلى مقاومة عفن البذرة المتسبب عن بثيم ويؤدى إلى زيادة النمو وقوة البادرات.

كذلك فى مقاومة الفطر *R. solani* على بذور البسلة، تحصل زيادة فى المقاومة عند استعمال البكتيريا *B. subtilis* مع أى من المبيدات الفطرية ثيرام، كاربوكسين وكذلك مقاومة أعفان بذور *Brassica napus* بالمبيد الفطرى كابتان وكل من البكتيريا الوميضة *Serratia* sp.

سقف الحياة لعوامل المقاومة الحيوية على البذور المغلفة:

إن معاملة البذور حيوياً ، يجب أن تستغرق مدة من الزمن تصل إلى بضع شهور، ابتداءً من أول العملية حتى الاستعمال العملى للبذور فى الزراعة. من إحدى العوائق الهامة للاستعمالات التجارية لتحضيرات الكائنات فى المقاومة الحيوية (الكائنات المضادة) للممرضات النباتية، هو فقد الكائن المضاد لحيويته بعد مدة معينة. هناك محاولات عديدة أجريت لتحديد حيوية التحضيرات الفطرية لكل من *Trichoderma* , *Gliocladium* عند تخزينها على درجة حرارة الغرفة العادية أو فى الثلاجة. وعلى أية حال هناك محاولات قليلة أجريت لتحديد حيوية الكائن المضاد على البذور المغلفة. عند تخزين بذور الفجل المغلفة بالفطر *Trichoderma*، على درجة حرارة الغرفة العادية (٢٠-٢٥°م) يبقى الكائن المضاد حياً لمدة تتراوح من ٢-١٤ شهراً ، وهذا يعتمد على نوع العزلة. كذلك حددت حيوية الفطر *G. virens* على بذور الحمص المغلفة فوجد أن ٨٨٪ من الكائن المضاد يبقى حياً على درجة حرارة الغرفة العادية لمدة أربعة شهور، وأن ١٠٠٪ من الكائن المضاد يبقي حياً لمدة خمسة شهور إذا حفظ فى الثلاجة. هذه النتائج تعطى دفعة قوية للصناعات الزراعية التى تتدخل لاستخدام الكائنات المضادة فى المقاومة الحيوية لاستخدامها على مستوى تجارى.

دور المقاومة الحيوية في المقاومة المستنيرة للآفات:

تستلزم الإدارة المتكاملة للافات (IPM) استراتيجيات متزامنة أو متتالية لاستعمال عديد من طريق المقاومة. تعتبر المقاومة الحيوية طريقة خاصة وذات قيمة فى مكونات IPM، أو

هى مكون أساسى في الاطار العالم لـ IPM ويمكن استغلالها أفضل استغلال. كما هو معروف فإن المقاومة الحيوية عند تطبيقها على البذور، فإنها تزود المحصول بوقاية أطول منه فى حالة معاملة البذور بالمطهرات الفطرية. بالإضافة لذلك فإنها تعطى فوائد لايمكن الحصول عليها باستعمال واقيات البذور الفطرية الكيماوية خاصة المقدرة على استعمار ووقاية البذور والبادرات.

تعطي المبيدات الفطرية وقاية أولية ولكنها تتحطم بعد ٢-٣ أسابيع. إن دمج عملية معاملة البذور حيوياً مع استعمال أقل جرعة ممكنة من المبيدات الفطرية تحسن درجة مقاومة المرض. إن استعمال هاتين الطريقتين يكمل كل منهما الآخر وتزيد من حفظ ووقاية المحصول. زيادة على ذلك فإن المبيدات الفطرية عند استعمالها بجرعة أقل من الجرعة المميتة تضعف الكائنات الممرضة وتجعلها أكثر عرضة وتأثراً بالمهاجمة بكائنات المقاومة الحيوية.

إن أنواع كل من *Trichoderma , Gliocladium*، لها فوائد متميزة كعوامل مقاومة حيوية، وهى أنها متوافقة مع معظم الكيماويات التى تستعمل فى الزراعة، والتى تستعمل بكثل خاص فى معاملة البذور، وهى غير حساسة لعديد من المبيدات الفطرية مثل الكاربوكسين، ميثايلكسايل، كابتان، أوكسى كلوريد النحاس، كوانتوزين، أوكزادكسايل، وكبريتات النحاس، وبالتالى فهى تسمح بإمكانية دمج واستعمال هذه المبيدات الفطرية ومعاملة البذور حيوياً بالفطرين المذكورين. لقد تم تطوير طريقة فى الهند سنة ١٩٩٠ تعتمد على تغليف البذور أولاً بالفطر *G. virens* ثم بعد ذلك استعمال ٠,١-٠,٢ ٪ كاربوكسين (فيتافاكس ٧٥ مسحوق قابل للبلل) وإن هذه العملية تكلف ٢,٥ دولار للهكتار الواحدة. ولقد تبين أن هذا التكنيك ذو فعالية عالية فى خفض شدة كثير من الأمراض المتسببة عن كائنات ممرضة كامنة فى التربة مثل *Sclerotium rolfsii*، *R. solani*، *Fusarium oxysporum* وإن فعالية هذه الطريقة ظاهرة فى جدول رقم ٤، حيث إن هذه المعاملة أدت إلى زيادة فى إنتاج الحمص بنسبة ٢١١ ٪ وزيادة إنتاج العدس ٧٥,٠٨ ٪ وإن هذه الطريقة تستعمل على نطاق تجارى فى الهند.

معاملة البذور حيوياً لمقاومة بعض الأمراض:

يبين جدول رقم ٤ بعض المحاصيل التى يمكن أن تعامل بذورها حيوياً لمقاومة بعض الأمراض. ومن الجدير بالذكر أن أول الأبحاث التي بدأت فى هذا الموضوع كانت سنة ١٩٥٦ وذلك من قبل العالم Wright عندما إستعمل الفطر *Trichoderma viride* لمقاومة فطر بثيم على نباتات المستردة البيضاء.

جدول رقم ٤ : يبين بعض الكائنات المضادة التى تستعمل فى المقاومة الحيوية لبعض أمراض النبات وذلك عند استعمالها كمعاملة بذور.

اسم المحصول	اسم الكائن الممرض	اسم الكائن المضاد	تاريخ أول استعمال
المستردة البيضاء	*Pythium* sp.	*Trichoderma viride*	١٩٥٦
		Penicillium sp.	١٩٥٦
الخيار	*Sclerotinia sclerotiorum*	*Trichoderma* harzianum	١٩٧٢
البسلة والفجل	*Pythium sp., R. solani*	Trichoderma hamatum	١٩٨٠
الايرس (سوسن)	*Sclerotium rolfsii, R.solani*	Trichoderma harzianum	١٩٨٢
القطن	*R. solani*	T. harzianum, T. hamatum	١٩٨٢
Snap - bean	*R. solani*	T. harzianum	١٩٨٢
البسلة	*Pythium ultimum*	T. hamatum	١٩٨٣
الفاصوليا ، البسلة والخيار	*Pythium* spp.	Trichoderma spp.	١٩٨٤
البسلة والخيار والطماطم	*Pythium* spp.	*T. harzianum, T. koningii*	١٩٨٦
البطاطس	*R. solani*	*Gliocladium virens,*	
		T. harzianum, T. viride	١٩٨٨
القطن ، القمح، الشمام	*Fusarium oxysporum*	*T. harzianum*	١٩٨٦
بنجر السكر	*S. rolfsii*	*T. harzianum*	١٩٨٦
	P. aphanidermatum	*T. harzianum*	١٩٨٦ ، ١٩٩٠
الطماطم	*F. oxysporum*	*T. harzianum*	١٩٨٧
	P. aphanidermatum	*G. virens*	١٩٩٠
القطن ، البطيخ	*F. oxysporum*	*T. harzianum*	١٩٨٩
القرنبيط	*P. aphanidermatum*	*T. harzianum*	١٩٨٩
الفول السودانى	*S. rolfsii*	*T. harzianum, G. virens*	١٩٨٩ ، ١٩٩٠
الحمص	*S. rolfsii*	*T. harzianum*	١٩٩٠
	R. solani, F. oxysporum	*G. virens*	١٩٩١

جدول رقم ٥ : تأثير استعمال المقاومة المتكاملة، الحيوية مع المبيد الفطرى. حيث يستعمل *G. virens* بتركيز 10^{7} كونيديا/مل + كربوكسين ٠,١ ٪.

المعاملة	عدد النبات فى الهكتار	٪ زيادة فى عدد النبات	الإنتاج قنطار/هكتار	٪ زيادة الإنتاج
الحمص				
مقاومة متكاملة	١٦٩٧٩٢	٢٩٠	١٤,٣٢	٢١١
كنترول	٤٣٥٠٠	–	٤,٦	–
العدس				
مقاومة متكاملة	٣٠٣٥٠٠	١٠٣,٦٩	١١,٦٦	٧٥,٠٨
كنترول	١٤٩٠٠٠	–	٦,٦٦	–

obeikandl.com

خامساً: المقاومة الحيوية للأمراض الكامنة في التربة لكل من التفاح والعنب
Biological Control of Soilborne Diseases of Apple And Grapevines

مقـــدمة:

تسبب الكائنات الممرضة النباتية الكامنة فى التربة، خسائر اقتصادية كبيرة فى المحاصيل الزراعية فى معظم أنحاء العالم. هذه الكائنات الممرضة، تسبب أمراض عفن الجذور، عفن التاج أو الرقبة، سقوط البادرات المفاجىء، اللفحات، تحلل الثمار والذبول، فى بساتين الفاكهه والمحاصيل الحقلية والخضار. الخسائر المالية غير مقدرة فى العالم كله ولكنها تبلغ ٤ ملايين دولار سنوياً فى الولايات المتحدة الأمريكية. هذه الخسائر لاتشمل تكاليف إضافة وإستعمال المبيدات الفطرية.

بسبب تلك الخسائر الكبيرة، فمن الضرورى تطوير وتحسين طرق حديثة لمقاومة الأمراض الكامنة فى التربة. كذلك هناك حاجة ماسة لتطوير طرق مقاومة بديلة لهذه الأمراض لتحل محل أو لتساعد المبيدات الكيماوية المستعملة. أهم المشاكل المختلفة التى تتسبب عن المقاومة الكيماوية، هى حدوث وتكشف ظاهرة المقاومة عند الكائنات الحية ضد هذه الكيماويات، كذلك التكاليف العالية والتأثير السلبى على الكائنات الدقيقة النافعة وظهور آفات ثانوية وتلوث البيئة. ومن الأمثلة عن تلوث البيئة، هو بقاء الكيماويات غير المرغوبة فى ماء التربة والتسمم المباشر بالعناصر الثقيلة والحظر من إحداث السرطان. ولقد أثبتت الإحصاءات أن حوالى ٨٠٪ من المبيدات الفطرية المستعملة هذه الأيام، يمكن أن يكون لها صفة الحث على تكوين الأورام.

كما سبق وأن عرفنا المقاومة الحيوية فى الفصل الأول من الكتاب بأنها خفض كثافة اللقاح أو النشاطات التى يحدثها الكائن الممرض سواء فى حالته النشيطة أو الكامنة، بواحد أو أكثر من الكائنات الدقيقة. هذا يمكن أن يحدث طبيعياً عن طريق التداخل فى كل من البيئة، العائل أو الكائن المضاد أو بواسطة الإنتاج الكبير لواحد أو أكثر من الكائنات المضادة. إن ميكانيكية المقاومة الحيوية لأمراض النبات ميكانيكية معقدة جداً.

إن الأمراض الكامنة فى التربة لأشجار الفاكهة المهمة اقتصادياً والعنب هى:

١- أمراض عفن الجذر والتاج المتسببة عن أنواع من الفطرين *Phytophthora* ، *Pythium*

٢- مرض التدرن التاجى المتسبب عن البكتيريا *Agrobacterium tumefaciens*

٣- مرض تدهور العنب المتسبب عن الفطر *Pythium ultimum*

٤- مرض إعادة استنبات التفاح المتسبب عن تفاعل الفطريات والبكتيريا والنيماتودا.

١- المقاومة الحيوية لأمراض عفن الجذر والتاج في التفاح:

يتسبب مرض عفن الجذر والتاج فى أشجار (غراس) التفاح *Malus demestica* أساساً عن الفطر *Phytophthora cactorum* وهناك أنواعاً أخرى وجدت مرافقة لهذا المرض فى مناطق أخرى من العالم. وجد فى بولندا أن المرض يتسبب أساساً عن الفطر *P. syringae* ثم بعد ذلك تصاب الأشجار بالفطر *P. cactorum*، وأحياناً يكون مصاحب لهما الفطر *Pythi-um ultimum*. أما فى كاليفورنيا يتسبب المرض عن عشرة أنواع من الجنس *Phytophtho-ra*، أهما *P. cambivora*، و *P. cryptogea*. أما فى ولاية نيويورك، فإن المرض يكون مترافقاً مع الفطر *Pythium irregulare*.

لقد تم الحصول على مقاومة مرض عفن التاج فى التفاح، عن طريق استعمال انواعاً من البكتيريا المنتجة لمادة السايدروفور، وذلك بإضافتها مباشرة على البقع المتسببة عن الفطر *P. cactorum*. ولقد استعملت مادة Binab T والتى هى عبارة عن الفطر *T.viride* بتركيز ٥ x 10^{6} جرثومة لكل مل للمقاومة الحيوية للفطر *P. cactorum* على التفاح. هذه المعاملة تؤدى إلى خفض مساحة بقع النكروزز بنسبة تتراوح من ٥٣-٧٥٪ بعد سبعة أيام من الاستعمال.

هناك عدة عزلات من الفطر *Gliocladium* sp. و *Trichoderma* sp. ذات كفاءة عالية فى المقاومة الحيوية للفطر *P. cactorum* وذلك عن استعمالها على شتلات التفاح نوع ماكنتوش ذات عمر ١٤ يوماً، وذلك بغمرها فى المعلقات الجرثومية لهذه الفطريات لمدة ٢٥ ساعة ثلاثة مرات، مرة كل أسبوع. هذا الإجراء يخفض الإصابة المرضية كثيراً ويزيد من الوزن الجاف للنبات بالمقارنة مع الكنترول. ولقد وجد أن كلا من Oomycetes ، Hy-

Chytridiomycetes ، phomycetes تستطيع أن تستعمر الجراثيم البيضية للفطر *Phytoph-thora megasperma* نوع Soja وكذلك الفطر *P. cactorum*.

كذلك وجد أن البكتيريا *Enterobacter aerogenes* التى تباع تحت اسم (B8) مضادة للفطر الممرض *P. cactorum* فى المعمل وكذلك فى الصوبا الزجاجية وتخفض إصابة الغراس بالفطر المذكور. كذلك هناك ستة عزلات من البكتيريا *Bacillus subtilis*، عند إستعمالها على غراس التفاح تخفض كثيراً الإصابة بالمرض. ولقد وجد أن دور كل من *Enterobacter aerogenes* وعزلات البكتيريا الستة فى المقاومة الحيوية هو إفراز مضادات حيوية متعادلة ذات وزن جزيئى منخفض. إن هذه العوامل سواء الفطرية أو البكتيرية، حتى تقوم بعملها جيداً تحتاج إضافة الأسمدة النيتروجينية والفسفورية إلى التربة وذلك لإحداث أقصى إفراز من المضادات الحيوية وأية افرازات مضادة فطرية أخرى، وذلك لتخفيض نمو الفطر الممرض *P. cactorum*. كذلك يكون أفضل استعمال لعوامل المقاومة الحيوية هذه فى التربة، عندما تكون حرارة التربة ١٨°م بالنسبة للفطر و ٢٥°م بالنسبة للبكتيريا.

وجد فى تجارب الحقل أنه عند استعمال *E. aerogenes* لوحده فى التربة على شكل إشباع بالمحلول للتربة وقاعدة ساق النبات، أنه يخفض بشكل معنوى إصابة أشجار التفاح المحقونة صناعياً بالفطر الممرض، وأن أفضل الأصول التى تستجيب لهذه المعاملة هى (Malling - Merton) MM106. ووجد أيضاً أن هذه الأشجار تبقى حية وتعطى ثماراً بعد ثلاثة سنوات ويزيد إنتاجها، أما الأشجار التى حقنت بالفطر الممرض ولم تعامل بعامل المقاومة الحيوية (B8)، فإنها تموت فوراً.

٢- المقاومة الحيوية لمرض إعادة استنبات التفاح

Biological Control of Apple Replant Disease

يعتبر مرض إعادة استنبات التفاح (ARD) واحداً من أهم مشاكل إعادة استنبات التفاح، ويساهم فى إحداث النمو الضعيف لأشجار التفاح النامية فى أماكن التفاح القديم أو بساتين الكمثرى. يثبط هذا المرض النمو الأولى للأشجار الحديثة ويخفض إنتاج الثمار فى التفاح واللوزيات فى جميع مناطق زراعة أشجار الفاكهة فى العالم. مع أن ARD قد تم تحديده بواسطة كثير من الباحثين لعدة سنوات، إلا أن المسبب الرئيسى له لم يحدد جيداً بعد.

نظراً لأن المقاومة المتحصل عليها عن طريق تبخر التربة أو تعقيمها أو بكليهما معاً، لاتكون ذات كفاءة عالية، إلا أن مسبب ARD يعتقد بأنه حيوى Biotic. فى الولايات الشرقية لأمريكا، يعتقد بأن العامل المسبب للمرض هو نيماتودا متطفلة (هذا ما ذكره Mai *et al* سنة ١٩٨١). إما Sewell سنة ١٩٨٢ فقد ذكر بأن هناك فطريات *Pythiaceous* مترافقة مع ARD فى بريطانيا. كذلك تبين أن بكتيريا التربة والاكتينومايستس لها دور أيضاً فى المرض ARD. وبعض التقارير تشير إلى أن المرض من الأمراض الفسيولوجية ونقص التغذية.

أما عن المقاومة الحيوية لهذا المرض فقد تبين أن هناك سلالتين من *Penicillium janthinellum* وسسلالة واحدة *Constantinella terrestris* ومن *Trichoderma* sp. وسلالتين من البكتيريا *Bacillus subtilis* لها دور فى المرض ARD، فوجد أنها أحياناً تثبط بشكل معنوى نمو شتلات التفاح المزروعة فى أوعية وأحياناً يكون لها تأثير إيجابى فى خفض المرض، هذا تبين فى مناطق مختلفة من بريطانيا وكولمبيا. وعلى العكس من ذلك هناك أبحاث أخرى تدل على أن الفطريات والبكتيريا والنيماتودا لوحدها أو تفاعلاتها جميعاً يمكن أن تشارك فى حدوث ARD فى أراضي بساتين التفاح.

لقد تبين أن العزلة البكتيرية BACT-1 من البكتيريا *B. subtilis* لها تأثير فعال ومعنوى مضاد فى المعمل ضد ١٧ عزلة فطرية معزولة من تربة ARD، وتسبب زيادة طول غراس التفاح، إذا ما زرع التفاح فى تربة معقمة ومسمدة فى الصوبا الزجاجية. كذلك فإن ارتفاع النبات يزداد أيضاً فى وجود عزلة EBW4 من البكتيريا *B. subtilis* فى تربة معقمة ومسمدة فى الصوبا الزجاجية. ولكن هذه العزلة لاتظهر تضاداً حيوياً ضد معظم فطريات ARD فى المعمل.

أما تحت ظروف الحقل، فإن استعمال العزلة البكتيرية المذكورة سابقاً، لوحدها، تكون فعالة فى تشجيع نمو أشجار التفاح فى تربة ARD وإن هذه العزلة تزيد بشكل معنوى نمو الشجرة عندما تستعمل متحدة مع Metham صوديوم و peat وسماد أزوت وفسفور وبوتاس. كذلك فى الصوبا الزجاجية تكون هناك زيادة معنوية فى نمو الشتلات عند مزج تربة ARD مع *Glomus mosseae*. هذه النتائج تؤدى إلى القول بأن *G. mosseae* والعزلة البكتيرية EBW4 لهما كفاءة عالية فى تحسين نمو أشجار التفاح فى تربة ARD.

٣- المقاومة الحيوية لمرض التدرن التاجي:

يتسبب مرض التدرن التاجى عن البكتيريا *Agrobacterium tumefaciens* ويسبب خسائر إقتصادية كبيرة فى مشاتل نباتات العائل الوردية واللوزيات وأنواع *Rubus*، العنب ومعظم أنواع الأشجار التى تحمل ثماراً جوزية. ينتشر المرض كثيراً فى مشاتل التفاح وتصل نسبة الإصابة أحياناً ٣٥٪ فى بعض المشاتل الموبوءة.

هناك عدة محاولات غير ناجحة لمقاومة مرض التدرن التاجى فى التفاح باستعمال مبيدات الآفات. حدث هناك نجاح فقط باستعمال المقاومة الحيوية وذلك باستعمال السلالة K-84 من البكتيريا *Agrobacterium radiobacter*. مع أن هذه السلالة تعطى نتائج جيدة فى مقاومة مرض التدرن التاجى فى أشجار اللوزيات، إلا أن تأثيرها قليل جداً فى مقاومة المرض على التفاح. ولقد وجد فى بعض الأبحاث أن هذه البكتيريا تزيد أحياناً من شدة المرض فى التفاحيات. وعلى أية حال وجد أن غمر الجذر فى معلق السلالة AB8 من البكتيريا *B. Subtilis* يقاوم مرض التدرن التاجى على شتلات التفاح الصغيرة تحت ظروف الحقل.

٤- المقاومة الحيوية لمرض تدهور العنب

Biological Control of Decline of Grapevines

يصاب العنب *Vitis vinifera* بمرض التدهور، حيث أصبح هذا المرض من المشاكل الخطيرة فى مناطق زراعة العنب. تكون الأعراض النموذجية لهذا المرض، عبارة عن تأخير وبطء وضعف نمو الشجيرات، تصبح الفروع الجانبية مصفرة ويزداد هذا الاصفرار حتى يشمل المجموع الخضرى، ينخفض الإنتاج كثيراً وتكون ثمرات (حبات) العنب المتكون صغيرة. يبدأ أول ظهور للمرض على شجيرات العنب ذات عمر ٤-٥ سنوات، حيث هذه الشجيرات تكون حساسة لإظهار الإغراض. يظهر على جذور وجذوع الأشجار المصابة تعفن تحت مستوى سطح التربة وانخفاض فى عدد الجذور المغذية. يحدث موت للشجيرات بعد ظهور أولى الأعراض بسنتين. الفطر المسبب للمرض هو *Pythium ultimum* فى كل من بريطانيا وكولومبيا وإستراليا وجنوب أفريقيا.

يقاوم هذ المرض حيوياً باستعمال البكتيريا *Enterobacter aerogenes* بمعدل ١,٤ x $^{١٠}١٠$ وحدة تكوين مستعمرات/ شجرة توضع حول القاعدة. هذا الإجراء يمنع موت الشجيرات المصابة وتعود الشجرة إلى حالتها السليمة.

obeikandl.com