الفصل الثالث

المقاومة الحيوية لأمراض بعد الجمع

Biological Control of Postharvest Diseases

أولاً: أساسيات المقاومة الحيوية لأمراض بعد الجمع

مقـــدمة:

مع أنه من الصعوبة تقدير الخسائر الكلية لأمراض ما بعد الجمع، إلا أن بعض التقديرات التى تذكرها وزارة الزراعة الأمريكية، تقول إن حوالى ٢٤ ٪ من المحاصيل تتعرض للفساد بعد الجمع فى أمريكا، وحوالى ٥٠ ٪ تتعرض للفساد فى الدول النامية والمناطق الاستوائية.

من المعروف أن المبيدات الفطرية هى الوسائل الأساسية فى مقاومة أمراض ما بعد الجمع، ولها استعمال عالمى واسع، وهذه المبيدات تقدر بحوالى ٢٦ ٪ من مبيدات الآفات فى أسواق أوروبا وآسيا، وحوالى ٦ ٪ فى الولايات المتحدة (Jutsum 1988). وعلى أية حال ونظراً لأن الفواكه والخضروات المجموعة عادة ما تعامل بالمبيدات الفطرية لوقف أو تقليل حدوث أمراض ما بعد الجمع، إلا أن هناك احتمالاً قوياً لتعرض الإنسان المباشر لهذه المبيدات أكثر من مبيدات الآفات الأخرى التى تستعمل لوقاية المجموع الخضرى فقط.

فى السنوات الأخيرة حدث هناك قلق عام حكومى وشعبى تجاه استعمال المبيدات الكيماوية على الثمار، وذلك لتأثيرها على صحة المستهلك، بالإضافة إلى تلوث البيئة. هناك تقرير من الأكاديمية العلمية الوطنية (NAS) ذكر فى سنة ١٩٨٩، يبين الأضرار التى تلحق بالصحة العامة الناتجة عن استعمال المبيدات الفطرية. وكنتيجة مباشرة لهذه الهموم الكبيرة التى تحملها العلماء تجاه المواطنين من الناحية الصحية، فان الوعى الحقيقى يدل على أن عديداً من المبيدات الفطرية (كابتان، بينومايل) تسبب الهلاك لكثير من المستهلكين، فقد صدر قرار بعدم استعمال هذه المبيدات على الثمار التى تتداول فى الأسواق لكثير من أنواع الثمار بعد الجمع. هذه الإجراءات أعطت دفعة كبيرة للتفكير فى مقاومة أمراض بعد الجمع بطرق أكثر سلامة. لقد أصدرت (NAS) تقريراً يوضح إمكانية مقاومة أمراض ما بعد الجمع بالطرق الحيوية (لبعض المحاصيل فى بعض المناطق) وذكر التقرير أيضاً أن بعض

المبيدات، وخاصة المبيدات الفطرية، عند الاستغناء عنها، سوف تسبب نقصاً كبيراً فى مقاومة الآفات وخاصة عند عدم توفير البديل الاقتصادى لهذه المبيدات.

على الرغم من هذه التقارير والاتجاه للحد من، أو حظر استعمال المبيدات الفطرية الصناعية، إلا أنه لايزال هناك استعمال لكثير من هذه المبيدات لمقاومة أمراض ما بعد الجمع. لقد صدر تقرير سنة ١٩٩١ عن المجلة Postharvest News and Information، يقول إن البرلمانات الأوربية قد أصدرت قراراً بمنع استعمال المبيدات الفطرية فى معاملة الفواكه والخضار بعد الجمع عندما تتوفر طرق المقاومة الحيوية البديلة. هناك جمعيات صحية تنادى بأن صناعة الكيماويات الزراعية، يجب أن تبدأ فى الاختفاء تدريجيا، وأن المنتجات الحيوية، سوف تصبح منافسة لهذه الكيماويات بسبب الإجراءات الوقائية لحماية البيئة.

من هذا يبدو واضحاً أن هناك حاجة ملحة، لتطوير طرق فعالة جديدة لمقاومة أمراض ما بعد الجمع والتى تحقق الهدف من ناحية الصحة العامة واستبعاد أخطار تلوث البيئة، وهذا المطلب سوف يتحقق بالتدريج فى المستقبل.

إن خفض كمية اللقاح المتبقى فى التربة أو على النبات، عن طريق الاستبعاد أو الإجراءات الصحية واستعمال المبيدات الفطرية غير الاختيارية مثل كربونات الصوديوم، صوديوم باى كربونات، الكلوراين النشيط وحمض السوربيك، والمعاملة بالحرارة يمكن أن تخفض بشكل واضح من شدة المرض على المنتجات بعد الجمع. إن تكنيك الجمع والتعامل وكل الطرق التي تقلل من حدوث الأضرار، على المنتجات أثناء الجمع وتحت ظروف المخزن، والتى تكون أفضل الظروف لبقاء مقاومة العائل، سوف تساعد فى وقف تكشف المرض بعد الجمع. بالإضافة إلى الطرق المذكورة سابقاً، على أية حال، هناك جهود كبيرة قد اتجهت لتحديد كفاءة المقاومة الحيوية لأمراض الفواكه والخضروات بعد الجمع كبديل حيوى للمبيدات الفطرية الصناعية المستعملة حالياً.

المقاومة الحيوية كمجال جديد:

تواجه عوامل المقاومة الحيوية صعوبات كثيرة فى انتقالها للتطبيق من المجال النظرى إلى المجال العملى (من المعمل إلى الحقل) ثم إلى الاستعمال التجارى فى السوق. هذه الصعوبات، جزء كبير منها، بسبب المشاكل التى تنتج عن عدم كفاءة عوامل المقاومة

الحيوية عند استعمالها فى الحقل تحت ظروف غير متحكم بها، وكذلك لقلة الحافز الاقتصادى لتطوير التكنولوجيا الضرورية لاستعمالها بكفاءة عالية. إن زيادة الدعم اللازم لانتشار، وتأييد الأبحاث فى هذا المجال، يعود بشكل كبير إلى كفاءة المقاومة الحيوية، والوعى الحقيقى بعدم سلامة استعمال المبيدات الفطرية الكيماوية. وعلى أية حال بسبب تغيير مجال الاقتصاد الاجتماعى، والتقدم المستمر فى الهندسة الوراثية، كل ذلك أدى إلى الثقة والتمسك بالمقاومة الحيوية كمجال ذو معنى لمقاومة الامراض والآفات بعد الجمع. كذلك فان التغيرات الحديثة فى قوانين بعض الدول، ساعدت فى إيجاد جو أكثر اهتماماً لاكتشاف وتطوير وسائل مقاومة حيوية تطرح فى الأسواق. كذلك فإن هناك عديداً من الشركات التى تتعامل مع الكيماويات الزراعية، قد اتجهت إلى تصنيع بعض عوامل المبيدات الحيوية وطرحها فى الأسواق لمقاومة أمراض ما بعد الجمع.

طرق المقاومة الحيوية لأمراض بعد الجمع

هناك طريقتان يمكن فيهما استعمال الكائنات الحية الدقيقة فى مقاومة أمراض ما بعد الجمع، الأولى: استعمال وتحوير الميكوفلورا المفيدة والتى تكون موجودة مسبقاً على سطوح الثمار والخضروات، الثانية: استعمال كائنات مضادة طبيعياً للكائنات الممرضة وإدخالها (وضعها) صناعياً على سطوح الثمار والخضروات لتضاد الكائنات المسببة لأمراض بعد الجمع. إن معرفتنا بالطرق التى بها يمكن التأثير على التجمعات التى تحدث طبيعياً من أنواع الكائنات الحية الدقيقة المختلفة، تكون ذات فائدة كبيرة ومهمة، وتؤدى إلى استعمال واسع فى المقاومة الحيوية لأمراض قبل وبعد الجمع. يمكن الحصول على هذه المعرفة خلال الإدخال الصناعى لأعداد كبير من الكائنات المضادة المعروفة ومن الدراسات المعملية الواسعة التى تطبق تدريجياً فى الحقل والمخزن.

هناك عدة عوامل تؤثر على كفاءة المقاومة الحيوية لأمراض ما بعد الجمع عند استعمال كائنات حية مدخلة صناعياً ذات كفاءة عالية فى التضاد ضد الكائنات الممرضة، هذه العوامل هى:

أولاً: بيئة المخزن لمنتجات بعد الجمع، هذه البيئة غالباً ما يمكن التحكم بها ويحافظ عليها. هذا التحكم يمكن أن يقلل من مشاكل عوامل المقاومة الحيوية المدخلة فى بيئة مختلفة

وغير خاضعة للتنبوء لما يحدث فيها، والتى كانت فيما سبق العامل المحدد لنجاح إجراءات المقاومة الحيوية فى الحقل.

ثانياً: تحديد عامل المقاومة المطلوب. إن المقدرة على تحديد عامل المقاومة الحيوية فى المكان المطلوب، إظهار نشاطه فيه يؤدى إلى زيادة نجاح المقاومة الحيوية لأمراض ما بعد الجمع.

ثالثاً: القيمة العالية لمنتجات بعد الجمع. إن القيمة الاقتصادية للمنتجات التى تعامل حيوياً، يمكن أن تجعل إجراءات المقاومة الحيوية مدروسة أكثر للحصول على فعالية أكثر من تلك الاجراءات التى تكون فى الحقل.

رابعاً: قصر الفترة المطلوب لظهور فعالية المقاومة الحيوية. بالنسبة لبعض المنتجات التى ترسل بعد الجمع مباشر طازجة إلى المستهلك، فإن الوقاية من أمراض ما بعد الجمع يحتاج إليها فى فترة قصيرة فقط، وبالتالى يجب استعمال الكائنات الحية الدقيقة سريعة التكاثر والمفعول.

مع أنه يبدو أن بيئة ما بعد الجمع، يمكن أن تناسب بشكل خاص تكشف عوامل المقاومة الحيوية، إلا أن هناك حاجة ماسة لزيادة الوقت والمال لدراسة هذه العوامل قبل إدخالها فى الاستعمال التجارى. وبالتالى فإن عزل، وتصفية، واختيار الكائنات المضادة عالية الكفاءة، من المستحسن أن تحصل على اهتمام وتفكير كافيين. إن الصفات المثالية للكائنات المضادة كما ذكرها Roberts سنة ١٩٩١ تبين أن أى كائن مضاد يستعمل فى المقاومة الحيوية لأمراض ما بعد الجمع، يجب أن تكون لديه المقدرة على الإستعمار والبقاء على المنتج النباتى بمستويات فعالة، وأن تكون متوافقة مع عمليات ما بعد الجمع الأخرى الطبيعية والكيميائية، وأن تكون فعالة تحت الظروف الباردة، وفى بعض الأحيان تحت ظروف جوية متحكم بها. بالإضافة لذلك يجب أن يكون الكائن الحى سهل الاستعمال فى الحصول على إنتاج كميات كبيرة منه باستعمال مواد أولية رخيصة الثمن.

ولقد ذكر Wilson سنة ١٩٨٩ صفات الكائن المضاد المثالى الذى يستعمل فى المقاومة الحيوية لأمراض بعد الجمع وهذه الصفات هى:

١- أن يكون ثابتاً وراثياً.

٢- أن يكون فعالاً على تركيزات منخفضة.

٣- ألا يكون شديد الحساسية فى متطلباته الغذائية.

٤- أن يكون ذا مقدرة على البقاء حياً فى الظروف البيئة المعاكسة (تشمل الحرارة المنخفضة وجو مخزن متحكم به).

٥- أن يكون فعالاً ضد مدى واسع من الكائنات الممرضة على ثمار وخضروات مختلفة.

٦- أن يكون سهل الانقياد لإنتاج كميات كبيرة على بيئة غذائية غير غالية الثمن.

٧- أن تكون لديه القدرة، وبسهولة لتكوين مكونات ذات سقف حياة مرتفع.

٨- أن يكون سهل الانتشار أثناء الاستعمال.

٩- ألايكون منتجات أيضية تكون ضارة بصحة الإنسان.

١٠- أن يكون مقاوماً لمبيدات الآفات ومتوافق مع الإجراءات التجارية وألا يكون ممرضاً للمنتجات الزراعية التى يستعمل عليها.

الكائنات الحية المستعملة في مقاومة أمراض بعد الجمع

لقد ذكر Cook & Baker سنة ١٩٨٣ فى كتابهما «المقاومة الحيوية»، مثالاً واحداً على المقاومة الحيوية لأمراض بعد الجمع فى الفواكه والخضروات. هذا المثال كان عن المقاومة الحيوية لعفن البوترايتس على الفراولة باستعمال الفطر *Trichoderma* sp. ومنذ ذلك الوقت، حصلت هناك أبحاث كثيرة تخص أمراض الثمار ومقاومتها بعد الجمع، ولقد تم تعريف عديد من هذه الكائنات المضادة.

لقد ذكرت الكائنات الميكروبية المضادة، والتى تقاوم عديداً من الكائنات المسببة لأمراض العفن على منتجات نباتية مختلفة فى جدول رقم (٦). من بين هذه الكائنات المهمة المضادة، الخمائر والكائنات الشبيهة بالخمائر مثل *Pichia guilliermondii*، حيث تم

عزله ودراسته من قبل Wilson & Chalutz سنة ١٩٨٩ . ثم تلى ذلك كثير من الباحثين درسوا مقاومة أعفان ما بعد الجمع على ثمار الحمضيات وفواكه أخرى باستعمال كائنات مضادة مثل *Acremonium breve* وعديد من أنواع *Cryptococcus*، عزلت بواسطة العالم Roberts سنة ١٩٩٠ لمقاومة أعفان ما بعد الجمع فى ثمار التفاح *Malus domestica* والكمثرى *Pyrus communis*. كذلك ذكر Janisiewicz سنة ١٩٨٨ أن بعض الخمائر تستطيع أن تستعمر سطح الثمرة لمدة طويلة تحت الظروف الجافة وتفرز مواد عديدة التسكر والتى تشجع بقاءها، وتحد وتثبط كلاً من المستعمرات الفطرية والإنبات السريع لتركيبات التكاثر الفطرية، وتستعمل المواد الغذائية المتوفرة بسرعة وتتبرعم بسرعة وتتأثر أقل ما يمكن بالمبيدات الفطرية والمبيدات الكيماوية الأخرى.

إن فعالية الخميرة *Pichia guilliermondii* والتى كانت تسمى سابقاً *Debaryomyces hansenii* ذات قوة عالية فى مقاومة عفن البوتراتيس فى التفاح وعفن البنسيليوم فى البرتقال *Citrus sinensis* عندما تضاف إلى الثمار المجروحة والمحقونة بالكائن الممرض.

بالإضافة إلى الخمائر المذكورة سابقاً، فان البكتيريا *Bacillus subtilis* و *Pseudomonas cepacia* قد أظهرتا كفاءة عالية فى مقاومة مدى واسع من كائنات العفن على العديد من المنتجات الزراعية. على أية حال فان كفاءتهما تظهر فى اعتمادهما على إنتاج مضادات حيوية فعالة فى التضاد، هذه الصفة يعتمد عليها بشكل خاص عند إعتمادها للاستعمال التجارى فى السوق. على الرغم من أن التضاد هو الصفة الأساسية التى يعتمد عليها فى مقاومة أمراض ما بعد الجمع، إلا أنه ليس الصفة الوحيدة، حيث يتداخل معه عوامل وصفات أخرى قد تكون محددة أو غير مفهومة نسبياً، من ضمن هذه العوامل، المنافسة على الغذاء وعلى المكان بحيث يتم استبعاد الكائن الممرض من المكان، والحث الذاتى على المقاومة وأحياناً التطفل المباشر. بالإضافة لذلك فقد ذكر Baker سنة ١٩٨٧، أن هناك ميكانيكيات أخرى غير واضحة تتدخل وتعمل فى الحياة الطبيعية بين الكائنات. كلما استمرت الأبحاث فى المقاومة الحيوية لأمراض ما بعد الجمع، فإن المعرفة بحقائق ودقائق هذه الأمور تزداد وضوحاً وبسرعة، ويمكن أن تبنى عليها استنتاجات كثيرة يمكن استعمالها فى أبحاث المقاومة الحيوية لأمراض السطح الورقى وهكذا. هناك بعض المعلومات مذكورة فى جدول رقم ٥ تتعلق بالمقاومة الحيوية لأمراض ما بعد الجمع.

جدول رقم ٥ : بعض المعلومات عن المقاومة الحيوية لأمراض ما بعد الجمع.

اسم النبات	اسم المرض	عامل المقاومة الحيوية المستعمل ضد المرض	أول سنة استعمل فيها
التفاح	العفن الأزرق	*Pseudomonas syringae*	١٩٨٧
التفاح	العفن الأزرق	*P. cepacia*	١٩٨٨
التفاح	العفن الأزرق	*Cryptococcus spp.*	١٩٩١
التفاح	العفن الأزرق	*Pichia guilliermondii*	١٩٩٠
التفاح	العفن الرمادى	*Pichia guilliermondii*	١٩٨٨ ، ١٩٩٠
التفاح	العفن الرمادى	*Pseudomonas cepacia*	١٩٨٨
التفاح	العفن الرمادى	*Cryptococcus laurentii*	١٩٩٠
التفاح	العفن الرمادى	*C. flavus, C. albidus*	١٩٩١
التفاح	العفن الرمادى	*Acremonium breve*	١٩٨٨
التفاح	عفن ميوكار	*Pseudomonas cepacia*	١٩٨٧
الكمثرى	العفن الأزرق	*P. cepacia*	١٩٨٨
الكمثرى	العفن الرمادى	*P. cepacia*	١٩٨٨
الكمثرى	العفن الرمادى	*P gladioli*	١٩٨٩
الكمثرى	عفن ميوكار	*C. laurentii*	١٩٩٠
الكمثرى	عفن ميوكار	*C. flavus, C. alibdus*	١٩٩٠
الحمضيات	العفن الأخضر	*Pichia guilliermondii*	١٩٨٩ + ١٩٩٠
الحمضيات	العفن الأخضر	*Bacillus subtilis*	١٩٨٤
الحمضيات	العفن الأزرق	*P. guilliermondii*	١٩٩٠
الحمضيات	العفن الحامض	*P. guilliermondii*	١٩٩٠
الحمضيات	العفن الحامض	*B. subtilis*	١٩٨٤
الحمضيات	العفن الحامض	*Trichoderma sp.*	١٩٨٣
الحمضيات	عفن قاعدة الساق	*B. subtilis*	١٩٨٤

(يتبع) :

اسم النبات	اسم المرض	عامل المقاومة الحيوية المستعمل ضد المرض	أول سنة استعمل فيها
النكترين	العفن البنى	*B. subtilis*	١٩٨٤
الخوخ	العفن البنى	*B. subtilis*	١٩٨٤
الخوخ	عفن رايزوبص	*Enterobacter cloacae*	١٩٨٧
المشمش	العفن البنى	*B. subtilis*	١٩٨٤
البرقوق	العفن البنى	*B. subtilis*	١٩٨٤
الكرز	عفن الترتاريا	*E. aerogenes*	١٩٨٦
الكرز	العفن البنى	*B. subtilis*	١٩٨٦
العنب	العفن الرمادى	*Trichoderma harzianum*	١٩٨٤
العنب	العفن الرمادى	*P. guilliermondii*	١٩٨٨
العنب	اعفن رايزوبس	*P. guilliermondii*	١٩٨٨
الطماطم	العفن الرمادى	*P. guillermondii*	١٩٨٨
الطماطم	عفن الترناريا	*P. guilliermondii*	١٩٨٨
الفراولة	العفن الرمادى	*Trichoderma sp.*	١٩٧٧
الأناناس	عفن بنسيليوم	*Attenuated strains of Penicill*	
البطاطس	العفن الطرى	*Pseudomonas putidae*	

أ: إجراءات ما قبل الجمع وأثرها في المقاومة الحيوية لأمراض ما بعد الجمع

مقـــدمة:

هناك قليل من الشك فى أن المقاومة الحيوية لأمراض ما بعد الجمع، لها كفاءة عالية فى تحسين صفات الثمار الطازجة وتصنيع الخضروات. كذلك فإن المقاومة الحيوية لأمراض ما بعد الجمع تحقق رغبات المستهلكين فى الحصول على الثمار والفواكة الطازجة غير معاملة بمواد ضارة على صحة الإنسان مثل المبيدات الكيماوية، وبالتالى يزداد الطلب على استعمال المقاومة الحيوية، حتى لو كانت تكاليفها أعلى من تكاليف المواد الكيماوية. هناك

تجارب عديدة ذكرت أن كثيراً من الكائنات الحية الدقيقة غير الممرضة سواء بكتيرية أو فطرية تكون مضادة وتستعمل فى حفظ ووقاية منتجات ما بعد الجمع.

هناك بعض الملاحظات التى يجب الانتباه إليها فى دراسة المقاومة الحيوية لأمراض ما بعد الجمع هذه الملاحظات هى:

١- متى يجب استعمال عامل المقاومة الحيوية بحيث يعطى أعلى فائدة ويستمر بقاؤه؟

٢- بعض المنتجات النباتية التى تبدو سليمة عند جمعها يمكن أن تحتفظ بإصابات كامنة قادرة على إحداث خسائر واضحة خلال فترة التخزين، إذا لم تؤخذ الإجراءات الصحية اللازمة.

٣- عملية حفظ الفواكه الطازجة والخضروات خلال فترة نموها، عن طريق استعمال الكائنات المضادة الطبيعية يمكن أن تكون مكلفة وصعبة التطبيق.

٤- هناك عوامل كثيرة يجب الاهتمام بها قبل الجمع، وكذلك طرق الجمع، كلها تؤثر على نوعية المنتجات الطازجة أثناء فترة التخزين والتسويق.

فى الصفحات القادمة نحاول تفسير هذه النقاط المذكورة أعلاه.

١- البلازما الجرثومية النباتية Plant Germ Plasm

هناك قليل من التجارب أثبتت أنه يمكن مقاومة بعض أمراض ما بعد الجمع (أمراض معينة) عن طريق إدخال جينات فى النبات، هذه الجينات تكسب المنتج النباتى صفة المقاومة للمرض. وعلى أية حال فإن هذه الطريقة لاتقلل من فوائد التربية الكلاسيكية للنبات لمقاومة الأمراض فى الحقل والتى بدورها، يمكن أن تؤثر أيضاً على نوعية المنتجات بعد الجمع. إن جهود مربى النبات، قد سببت زيادة فى إنتاج المحصول، وفى كثير من الحالات يكون ذلك مصحوباً بزيادة فى نوعية الثمار بعد الجمع وخفض الفاقد فى المخزن نتيجة التعفن. ولسوء الحظ فإن هذه الزيادة فى الإنتاج، فى بعض الحالات، تكون مترافقة بمشاكل ما بعد الجمع، وذلك بسبب أن المنتجين قد ركزوا اهتمامهم على تطوير وسائل النقل والمخزن وذلك لمقابلة زيادة الإنتاج وزيادة طلب السوق وليس لخفض شدة أمراض ما بعد الجمع. وإن

أفضل الطرق التى اتبعوها أثناء النقل هى استعمال طرق المقاومة الكيماوية، عندما تكون أمراض ما بعد الجمع مؤثرة كثيراً على نوعية المنتج الطازج.

هناك كثير من الكائنات الممرضة لما بعد الجمع، عبارة عن ممرضات جرحية، ومثل هذه الممرضات ليست سهلة الإذعان للمقاومة، عن طريق اتباع طرق تربية النبات لمقاومة الأمراض، إلا أنه هناك استثناءات جديرة بالذكر هى *Monilinia fructicola* (مسبب العفن البنى فى اللوزيات) والفطر *Phytophthora infestans* مسبب مرض اللفحة المتأخرة فى البطاطس. هذه الكائنات الممرضة تسبب خسائر كبيرة بعد الجمع نتيجة الإصابة التى تحدث خلال موسم النمو فى الحقل ثم تنتشر وتزداد أثناء التخزين. إن البلازما الجرثومية فى الخوخ ذات الكفاءة العالية فى المقاومة لمرض العفن البنى، قد عرفت فى شمال أمريكا، وإن نتائج دراسة مقاومة الأمراض التى أجريت تحت ظروف النمو فى كاليفورنيا لم تتأكد بعد.

من بين أصناف البطاطس النامية فى الولايات المتحدة، هناك جينات للمقاومة لمرض اللفحة المتأخرة، مثل صنف كينك وسيباجو، ولكن هذه المقاومة لاتصل إلى حد يحمى هذه النباتات فى جميع الأماكن، وبالتالى كان يعتمد على المبيدات الفطرية فى حماية نباتات البطاطس من الإصابة باللفحة المتأخرة خاصة فى زراعات المناطق المرتفعة، وبالتالى فإن إنتاج المناطق المرتفعة يكون ملوثاً ببقايا المبيدات الكيميائية، وهذا يؤدى إلى البحث للحصول على بلازما جرثومية أكثر مقاومة. هناك مصادر أكثر وأفضل للمقاومة فى البلازما الجرثومية فى كثير من الأصناف العالمية، عنها فى الأصناف التى تزرع تجارياً فى الولايات المتحدة، مما يجعل هذا الموضوع يأخذ الأسبقية الأولى فى الدراسات فى الولايات المتحدة.

٢- الطقس Weather

إن الأضرار المتسببة عن التجمد والصقيع، هى عامل أساسى محدد لإنتاج ثمار طازجة وخضروات فى كثير من المناطق الزراعية فى المناطق الدافئة. إن نبات الخرشوف صنف (GIOB) هو مثال على المحصول الذى يحتاج إلى موسم نمو طويل، والذى غالباً ما يرتبط إنتاجه بظروف الصقيع والتجمد فى الحقل. تتجمد البراعم على درجة ٢٩°ف، وبالتالى فإن

البكتيريا المشجعة لنواة الجليد Ice nucleating يمكن أن تعلب دوراً كبيراً فى حدوث أضرار الصقيع على هذا المحصول.

كذلك فإن أشجار الفاكهة بالإضافة لكثير من أنواع الخضار، يمكن أن يتحدد إنتاجها بشدة بصقيع الربيع المتأخر، والذى يمكن أن يحطم البراعم والثمار المتكشفة. إن البكتيريا المشجعة لتكوين نواة الجليد والتى تتبع الجنس *Pseudomonas*، قد تبين أنها العامل الأكبر المسبب لكثير من هذا التحطيم. لقد استعملت البكتيريا المضادة لتحل محل البكتيريا المشجعة لنواة الجليد فى البراعم وأعطت نتائج ممتازة. هناك تقارير أخرى فى برامج كثيرة، تبين أن البكتيريا غير المشجعة لنواة الجليد يمكن أن تكون أيضاً مضادة لبعض الكائنات الممرضة المسئولة عن أمراض ما بعد الجمع. من الممكن أن يكون هذا النشاط الثنائى (عدم تشجيع تكوين بللورات جليد بالإضافة إلى تضاد الكائنات الممرضة النباتية) يمكن أن يستخدم ليعطى قاعدة كبيرة لنشاط المقاومة الحيوية ضد الكائنات الممرضة التى تسبب أمراض ما بعد الجمع. وعلى أية حال فإن العقبة الكبيرة التى تواجه هذه الاستراتيجية هى بقاء البكتيريا المضادة على سطح النبات خلال موسم النمو (الفترة الدافئة والباردة).

بالإضافة لما سبق ذكره، فإن هناك تفاؤلاً يدل على استطاعة الباحثين اكتشاف ميكروبات مضادة جديدة باستمرار، متعددة الاستعمالات فى الطبيعة، والتى يمكن أن تستخدم بكفاءة وعلى نطاق واسع كعوامل مقاومة حيوية. هناك عدة أسباب لهذا التفاؤل ظهرت بعد اكتشاف كل من:

١- البكتيريا المضادة للبكتيريا، مسببة مرض اللفحة النارية فى التفاح والكمثرى *Erwinia amylovora*.

٢- البكتيريا غير المشجعة لتكوين بللورات الجليد.

٣- سلالات من البكتيريا *E. herbicola* التى اكتشفت لتعمل على خفض أضرار الصقيع واللفحة النارية.

إن مرض جرب التفاح المتسبب عن الفطر *Venturia inaequalis* هو واحد من أكثر الأمراض تحطيماً لثمار التفاح، هذا المرض يقاوم حالياً عن طريق استعمال مبيدات فطرية كيماوية خلال موسم النمو. هذا المرض يمثل تحدياً للمقاومة الحيوية للأسباب الآتية:

١- إن الثمرة يمكن أن تصاب خلال موسم النمو بواسطة جراثيم منتجة على الأوراق التى كانت مصابة مبكراً فى موسم النمو.

٢- إن العامل المحدد للإصابة، هو طول الوقت الذى يكون فيه سطح الورقة رطباً بكمية كافية، تسمح بإنبات الجرثومة. وإن اضافة عامل المقاومة الحيوية (الكائن المضاد) إلى سطح الورقة، حيث سيبقى حياً خلال موسم النمو الذى يمكن أن لايكون ملائماً له نظراً لقلة المواد الغذائية المتوفرة على معظم سطح الورقة والثمرة، لتطيل فترة بقاء معظم الكائنات المضادة، مما يسبب خفض كبير فى تكاثرها خلال الفترات الطويلة لتساقط الأوراق وجفافها.

٣- الفترات المتبادلة من ارتفاع وانخفاض الرطوبة، من الممكن أن تؤدى إلى بقاء معظم الكائنات المضادة البكتيرية والفطرية غير المرغوب وجودها على سطح المنتج النباتى. وعلى أية حال هناك بعض الخمائر تبدو وأنها قادرة على احتمال هذه التغيرات البيئية الحادة.

هناك إستراتيجية أكثر عملية، للمقاومة الحيوية للفطر *V. inaequalis* تعتمد على مهاجمة الكائن الممرض فى الورقة وبقايا الثمرة على الأرض تحت الشجرة فى نهاية موسم النمو. إن الكائن المضاد الذى يمكن أن يبقى حياً فى البيئة، من الممكن أن تكون لديه فرصة أكبر للحد من مرض جرب التفاح، أكثر من الذى يجبر على البقاء على سطوح الأوراق والثمار خلال موسم النمو. من الأمثلة الممتازة على هذا النوع من الإجراء هو مقاومة *Scler-otinia* sp. على الخس عن طريق الرش بجراثيم *Sporidesmium* على نبات الخس فى نهاية موسم النمو وما يتبع ذلك من إزالة بقايا النبات.

مع أن هناك أصنافاً من التفاح والكمثرى عندها مستويات عالية من المقاومة لمرض جرب التفاح (جرب الثمار) إلا أن دمج هذه المقاومة فى الأصناف التجارية لم يحظ بالأولوية فى الدراسة. إن رغبة المستهلك هى التى يمكن أن تغير هذا الاتجاه، وذلك عن طريق المستهلكين الذين يطالبون بخفض أو استبعاد المبيدات الفطرية عن الثمار.

إن مرض العفن البنى فى اللوزيات المتسبب عن *Monilinia fructicola* من أخطر الأمراض على أسواق اللوزيات، حيث أنه يحطم الثمار بعد الجمع، مع أن الإصابة الأولية

تكون على الثمار فى الحقل. هناك علاقة وطيدة بين كمية سقوط الأمطار قبل الجمع وشدة المرض. قد تم الحصول على بعض طرق المقاومة الحيوية، باستعمال البكتيريا المضادة *Ba-cillus subtilis*. إن الحصول على كميات كبيرة من هذه البكتيريا لكى تستعمر سطح الثمرة هى مشكلة كبيرة تقف فى طريق مقاومة مرض العفن البنى بواسطة هذه البكتيريا، والمشكلة نفسها تصادف كثير من عوامل المقاومة الحيوية.

٣- تغـذية النـبات Plant Nutrition

معظم الدراسات التى أجريت حتى سنة ١٩٩٤، على تأثير التغذية فى فترة قبل الجمع، على أمراض واضطرابات ما بعد الجمع، كلها تتعلق بالنواحى الفسيولوجية، وليست على الكائنات الممرضة النباتية. إن الإدراك الواضح للمقاومة الحيوية له أهمية كبيرة فى دراسة تغذية النبات، لذا يجب البحث عن طرق طبيعية لتخفف اضطرابات ما بعد الجمع وتخفيف قابلية الثمار للتحلل فى المخزن. من النتائج المبشرة بالنجاح هى التى حصل عليها من الأبحاث، التى أجريت على تأثيرات الكالسيوم فى زيادة المقاومة لأمراض واضطرابات ما بعد الجمع.

إن إضافة الكالسيوم إلى الثمار لايؤخر الشيخوخة فقط، ولكن أيضاً يقلل القابلية لأمراض واضطرابات بعد الجمع. فمثلاً نظراً لأن ثمار التفاح تعامل بالكالسيوم، فانها تبقى أكثر صلابة وتماسكاً من الثمار غير المعاملة، ويتوقف تقدم الشيخوخة عليها وتكون أقل قابلية للتحلل. ولسوء الحظ فإن المحتوى من الكالسيوم لايمكن زيادته ولكن يكون فعالاً فى ثمار التفاح عن طريق عملية الرش قبل الجمع، وذلك بسبب أن الحركة تكون أولاً فى الخشب ويفضل الاتجاه إلى الأنسجة المرستيمية ثم أنسجة النتح. أما البطاطس فإنها تستجيب لزيادة مستويات الكالسيوم فى التربة عن طريق تجمعها فى الدرنات. لقد وجد أن هناك علاقة معنوية بين زيادة الكالسيوم فى نسيج الدرنة وخفض قابليتها للإصابة بمرض العفن البكتيرى الطرى. يكون فعل الكالسيوم عن طريق خفض قابلية الدرنة للتحلل، عن طريق ارتباطه مع البكتين فى جدار الخلية مكوناً جسراً من الكاتيونات بين حمض البكتك او بين أحماض البكتك والسكريات العديدة الحمضية الأخرى. هذا يعوق إنتاج إنزيمات العائل التى تسبب الطراوة، بالإضافة إلى الإنزيمات المنتجة بواسطة الكائن الممرض الذى يسبب التحلل.

إن إضافة الكالسيوم بالإضافة إلى عوامل المقاومة الحيوية، يسبب زيادة فى كفاءة المقاومة الحيوية لبعض الكائنات الممرضة فى المخزن. فمثلاً مقاومة عفن البوترايتس والبنيسيليوم، قد تمت بنجاح عند خفض تركيز الكائنات المضادة المستعملة فى المقاومة الحيوية المستعملة فى وجود كلوريد الكالسيوم، وذلك لأن الكالسيوم يسبب خفضاً فى نسبة إنبات جراثيم الكائن الممرض وكذلك فى استطالة أنبوبة الإنبات، كما أن إضافة الكالسيوم يمكن أن تطيل فترة تأثير الكائن المضاد على الكائن الممرض الموجود على سطح الثمرة بعد الجمع.

تحت الظروف العادية، عندما تنضج الثمرة فإن التأثير المضاد للفطريات يمكن التغلب عليه عن طريق زيادة توفير المواد الغذائية. وجد أن إضافة الكالسيوم بالإضافة إلى أنها تؤخر الشيخوخة فى الثمار عن طريق تقليل المواد الغذائية المتوفرة، ولكن أيضاً يمكن أن يحدث تغييراً فى التركيب أو البيئة الأيونية على سطح الثمرة بشكل كاف لتنخفض قابلية استعمال المواد الغذائية المتوفرة. كذلك يمكن للكالسيوم أن يشجع نشاط ميكانيكية دفاع العائل، مثل إفراز الفايتوالكسن والمركبات المضادة للميكروبات الطبيعية الأخرى. ولسوء الحظ فإن المقاومة المستحثة Induced resistance، ليست هى العامل الأكبر والأهم فى معظم أمراض مع بعد الجمع بسبب طبيعة الشيخوخة فى أعضاء التخزين فى المخزن.

لقد تبين أن الأراضى الكابحة Suppressive soils تلعب دوراً مهماً فى مقاومة أمراض النبات الكامنة فى التربة، وفيما إذا كانت هذه الظاهرة لها تأثير على أمراض ما بعد الجمع، هذا يحتاج إلى دراسة كبيرة!!

ب: بيئة ما بعد الجمع والمقاومة الحيوية لأمراض ما بعد الجمع

مقـــدمة:

هناك كثير من التحديات يجب أن نواجهها قبل أن نستعمل المقاومة الحيوية استعمالاً ناجحاً على أساس تجارى لمقاومة أمراض تحلل الفاكهة والخضروات بعد الجمع فى المخزن. إن التنوع الهائل فى الاتحادات المختلفة بين كل من المحصول والكائن الممرض، البيئة الموجودة فى مجال ما بعد الجمع، يمثل تحدياً لاستعمال المقاومة الحيوية على نطاق تجارى

واسع. يجب أن تكون عوامل المقاومة الحيوية، مقاومة للكيماويات المستعملة لمقاومة الأمراض الفطرية والبكتيرية بالإضافة إلى الاضطرابات الفسيولوجية. كذلك يجب أن تكون عوامل المقاومة الحيوية متلائمة مع نظم التعامل الصناعى، مثل تنكات التخزين، والقنوات الصناعية، ووسائل التبليل، خطط الرش والأقماع الحرارية. بالإضافة لذلك فإن المقاومة الحيوية يجب أن تكون فعالة على مدى واسع من درجات الحرارة وجو المخزن.

من أهم الأسس التى يبنى عليها نجاح المقاومة الحيوية تجارياً لأمراض ما بعد الجمع، هو الفهم والتحكم فى بيئة ما بعد الجمع، وهذا يشمل دراسة تأثير وعلاقة البيئة مع تكشف المرض من حيث الظروف الطبيعية، مثل الحرارة، الرطوبة الحرة والرطوبة النسبية وتأثير ذلك على مقاومة المرض، وكذلك الظروف الحيوية، مثل البيئة الحيوية التى تشمل الكائن الممرض والكائن المضاد. إن بيئة ما بعد الجمع يمكن أن تكون واحدة من أفضل الفرص الموجودة لتكشف المقاومة الحيوية الناجحة، وذلك نظراً لإمكانية التحكم فى كثير من هذه العوامل البيئية.

لكى يتكشف المرض يجب أن تنشأ علاقة وثيقة بين كائن ممرض شديد وعائل قابل للإصابة وبيئة مناسبة لحدوث هذه العلاقة، يجب أن تتوفر فى المكان والزمان نفسه. هناك عديد من الكائنات الممرضة لما بعد الجمع، مثل تلك التى تسبب العفن الرمادى والعفن الأزرق تكون موجودة فى البيئة وتكون جاهزة للإصابة. إذا فرض وأن كلا من الكائن الممرض والعائل القابل للإصابة موجود فى بيئة ما بعد الجمع، فيجب أن يحدث تفهم سريع لإستراتيجية المقاومة الحيوية لهذه الأمراض الناتجة. إن الإجراء العادى هو معاملة المنتج النباتى بمواد كيماوية (مبيدات) أو مطهرات فطرية. هناك استراتيجيات أخرى يمكن أن تستعمل، تشمل التأثير فى البيئة الطبيعية لجعلها غير قابلة لتكشف المرض أو إدخال عوامل مقاومة حيوية والتى تنافس أو تتطفل على الكائن الممرض. ومن طرق المقاومة الأخرى، بالإضافة للتأثير المباشر على العلاقة بين الكائن الممرض والعائل، هو إحداث تحوير فى البيئة الطبيعية يمكن أن يزيد من فعالية التضاد بين الكائن الصديق والكائن الممرض المستهدف.

البيئـــة الطبيعيـــة Physical Environmental

استخدمت طرق تحور البيئة الطبيعية فى تحسين مقاومة التحلل فى الثمار والخضروات. لقد قام المنتجون والمتعاملون مع هذه المنتجات بإجراء تحويرات فى درجات الحرارة، الرطوبة النسبية وتركيب جو المخزن خلال فترة ما قبل التخزين، والمخزن وطرق النقل لمقاومة أمراض التحلل. وللحصول على أفضل مقاومة لهذه الأمراض، فإن اثنين أو أكثر من العوامل البيئية، غالباً ما يجب أن يجرى فيها تحور فى وقت متزامن. مع أن الحرارة غالباً ما تكون هى الأكثر سهولة في التحكم بها لمنع حدوث أمراض التحلل بعد الجمع، إلا أن هناك عوامل أخرى تتدخل بشكل ملائم لمقاومة التحلل. بالإضافة لذلك فإن كثيراً من الأبحاث، قد أثبتت أن هناك عوامل أخرى غير المقاومة الحيوية، يمكن بها منع حدوث أمراض التحلل بعد الجمع، مثل التخزين فى مخازن ذات ضغط جوى منخفض أو استعمال أشعة جاما والفوق بنفسجية.

أ: الحـــرارة Temperature

هناك عوامل كثيرة تؤثر على معدل وسرعة تبريد المنتج النباتى، هذه العوامل تشمل نوع وحجم الحاويات فى المخزن، نظام التخزين، اندفاع الهواء، الرطوبة النسبية، الحرارة الفعلية داخل الصندوق وفى الثمار ومعدلات التنفس وحركة الهواء. إن تأخير وصول المجموع الخضرى إلى المخزن المبرد، بالإضافة إلى سرعة خفض الحرارة يمكن أن تؤثر على مقاومة التحلل. مثلاً، كلما طال الوقت بين الجمع والتخزين، يزداد تحلل التفاح المتسبب عن الفطر *Penicillium*. أما تحلل العنب فلا يتأثر بإطالة أو تقصير الفترة ما بين الجمع والتخزين، إذا ما خزن بعد ذلك على حرارة (-٠,٥°م). ومن الأهمية بمكان أن نحافظ على درجة حرارة المخزن فى أقل درجة ممكنة من التغير، لأن التغيرات الكبيرة فى الحرارة، يمكن أن تؤثر سلبياً فى طول فترة التخزين، فمثلاً يزداد طول حياة ثمار التفاح والكمثرى فى المخزن كثيراً عندما تكون درجة حرارة المخزن (-١م°) عنه عندما تكون صفر مئوية ورطوبة نسبية ٢٥، ٤٠٪ بالترتيب.

وبشكل عام يمكن القول بأن تخزين الفواكه والخضروات على أقل درجة حرارة ممكنة، بحيث لايحدث فيها أضرار التجمد، يقلل كثيراً من أمراض التحلل. إن أفضل درجة حرارة

تخزين يمكن أن تتراوح ما بين (-١,٧°م) للكمثرى و (٢١,١°م) للطماطم. إن كلاً من التبريد والتجميد يوقف أو غالباً ما يغير فى الميتابولزم مؤدياً إلى إضعاف أو إلحاق أضرار بالنسيج النباتى، ويجعل الثمار والفواكه قابلة للمهاجمة بالكائنات الدقيقة الممرضة. مثلاً إن نباتات الباذنجان تتضرر على حرارة ٥°م وتصبح عالية القابلية للإصابة بعفن الترناريا. أما الفلفل الحلو فإنه يتضرر على حرارة أقل من ٧°م ويصبح أكثر قابلية للإصابة بعفن الترناريا، وبوترايتس. أما الطماطم عند تخزينها على درجة حرارة أقل من ١٠°م فإنها تكون قابلة للإصابة بعفن الترناريا، وتزيد القابلية للإصابة مع إطالة فترة تعرضها للبرودة. أما البطاطا الحلوة على درجة حرارة أقل من ١٠°م فإنها تكون معرضة للإصابة بفطريات التحلل والترناريا وبوترايتس، وميوكار وبنيسيليوم. كذلك الجزر عندما يبقى فى الحقل ويتعرض لأضرار التجمد فإنه يصبح قابلاً للإصابة بالعفن.

هناك كثير من فطريات التحلل يمكن أن تنمو على حرارة أقل من ٥°م، ولايمكن مقاومتها عن طريق تخفيض درجة حرارة المخزن فقط، هناك بعض الفطريات مثل *Copri-nus psychromorbidus* وهو من الفطريات البازيدية محبة لدرجات الحرارة المنخفضة، يسبب تحلل الكمثرى، وأفضل درجة حرارة لنموه هى ١٠°م ومن الصعب عزله على درجة حرارة الغرفة العادية. هناك عديد من فطريات التحلل، تسبب مشاكل فى الطعام المجمد. كذلك فإن الاختلافات فى درجات الحرارة والرطوبة النسبية خلال فترة إزالة الجليد، عادة لها تأثير فى إحداث أضرار للثمار والخضروات.

كذلك فإن الحرارة المرتفعة، يمكن أيضاً أن تستعمل فى مقاومة التحلل وهى مفيدة بشكل خاص لبعض المحاصيل، مثل المانجو، الباباظ، الفلفل والطماطم والتى تتضرر بالحرارة المنخفضة. عند المعاملة بالماء الساخن، فإن الحدود بين الحرارة اللازمة لمقاومة التحلل والحرارة التى تحدث أضراراً للمحصول غالباً ما تكون ضيقة جداً. إن الأصناف النباتية ومناخ منطقة النمو والوقت بين الإصابة والمعاملة، كل ذلك يمكن أن يؤثر فى نجاح مقاومة التحلل بالماء الساخن. كلما ازدادت درجة الحرارة المستعملة فى معاملة المنتج الزراعى قصر الوقت الضرورى للحصول على مُقاومة. أحياناً لاتظهر الأضرار مباشرة، ولكن يمكن أن تتكشف بعد عدة أسابيع فى المخزن، وبالتالى على الرغم من إن الماء الساخن يمكن أن يستعمل فى مقاومة التحللات الناتجة عن رايزوبس ومونيلينيا فى الخوخ الطازج ثم

إرساله إلى السوق فوراً، إلا أنه لايمكن أن يستعمل على الثمار ثم تخزن بعد ذلك. يمكن أن تكون مقاومة التحلل فعالة على درجات حرارة منخفضة إذا لزم إضافة المبيدات الفطرية الكيماوية أو الحيوية إلى الماء الساخن.

مع أن الماء الساخن عادة أكثر فعالية، إلا أن الهواء الساخن يستعمل لمقاومة التحلل فى المحاصيل التى تتضرر من الماء الساخن. فمثلاً تحلل بوترايتس ورايزوبس فى الفراولة وعنب الثعلب، تقاوم عن طريق تعرض الثمار لهواء رطب حرارته ٤٤°م لمدة ٣٠-٦٠ دقيقة، كذلك فانه فى أثناء فترة الشفاء (٣-١٠ أيام) حيث يتكون بيريديرم على الجروح فى البطاطا الحلوة. تزداد سرعة الشفاء إذا ارتفعت الحرارة من ١٢ إلى ٣٢°م وكانت الرطوبة النسبية فوق ٩٠٪. إن بيريديرم الجروح يعمل على حفظ الجذر الدرنى من الانهيار والإصابة الفطرية. كذلك فان شفاء الجروح فى درنات البطاطس يمكن تشجيعه عن طريق تعريض الدرنات لمدة ١٤ يوماً إلى رطوبة نسبية عالية وحرارة ١٣°م وتهوية جيدة. كذلك فإن تحلل ثمار التفاح واليقطين يمكن أن تقاوم عن طريق وضع الثمار قبل تخزينها على حرارة ٣٨°م و٢٦°م بالترتيب لمدة أسبوع واحد تقريباً.

٢- الرطوبة النسبية Relative Humidity

إن كلاً من الرطوبة النسبية العالية والمنخفضة، قد ثبت بأن لها علاقة بمقاومة أمراض ما بعد الجمع. تختلف الرطوبة النسبية فى الغرفة الباردة من المحيط إلى داخل الغرفة حيث توضع الأوعية التى تحتوى الفواكه والخضار السليمة أو التى بها جروح غير واضحة. أكياس البولى إثيلين المثقبة التى توضع فيها الثمار والخضروات المخزنة، تخلق رطوبة نسبية حوالى ٥-١٠٪ زيادة عن تلك السائدة فى جو المخزن، إلا أن ظاهرة التجعد وفقد الوزن، تقل باستعمال أكياس البولى إثيلين وبالمقابل تزداد نسبة التحلل المرضى.

المحاصيل مثل الخضار الورقية، يكون تخزينها أفضل على رطوبة نسبة ٩٨-١٠٠٪، لأن هذا يقلل من نسبة التحلل، وذلك لانخفاض نسبة الأنسجة التى تظهر بلون أصفر أو ميتة، حيث إن هذه الأنسجة هى مصدر التغذية للكائنات الدقيقة المحللة. بالإضافة لذلك فإن الإنزيمات الفطرية المنتجة من قبل الكائنات الممرضة أو الرمية، يمكن أن تتثبط فى الرطوبة النسبية العالية أو يحدث انخفاض كبير فى نشاطها.

وبالمقابل فإن بعض الفواكه مثل التفاح، الكمثرى والخوخ ذات طبقة الكيوتكل المتكشفة جيداً وطبقة البشرة الخارجية، تتحمل ظروف ذات مستوى منخفض نسبياً من الرطوبة النسبية. هذا يساعد فى منع التحلل فى المخزن. كذلك فإن الرطوبة النسبية المنخفضة غالباً ما تثبط إنبات الجراثيم الفطرية، وإن الاختلاف البسيط فى الرطوبة النسبية يكون له تأثير كبير فى حدوث أمراض التحلل، فمثلاً على حرارة (-١١°م) فإن الفطريات *Mucor piri-formis*، *Botrytis cinerea*، *Pezicula malicorticis*، *Penicillium expansum* و *Phialophora malorum*، تنبت على درجة رطوبة ١٠٠٪ فى غياب الماء الحر، ولكن أياً من هذه الفطريات لاينبت على ٩٧٪ رطوبة. وعلى أية حال فإنه عندما تحقن جروح بعض أنواع الكمثرى بكونيديات من هذه الفطريات الخمسة وتوضع على رطوبة نسبية ٩٧ ، ٩٩ أو ١٠٠٪ وحرارة (-١,١°م) فإن الفطريات الثانى والثالث والرابع تسبب تحلل الثمار على جميع مستويات الرطوبة النسبية، بينما الفطر الأول والأخير تسبب التحلل فقط على رطوبة نسبية ١٠٠٪.

٣- الجو المتحكم به Controlled Atmosphere

يمكن أن تؤثر التغيرات فى تركيز كل من الأكسجين، ثانى أكسيد الكربون، النيتروجين، أول أكسيد الكربون والإيثيلين فى جو المخزن، بشكل واضح على كل من العوائل النباتية والكائنات الممرضة وعوامل المقاومة الحيوية. إن الأجواء المتحكم بها تكون ذات فوائد فى مقاومة التحلل فى بعض الثمار والخضروات، ولكنها أحياناً تعطى نتائج سلبية لثمار وخضروات أخرى. إن تركيز الغاز ونسبته يجب أن يتحكم بها بكل عناية ودقة حتى لايحدث آثار جانبية غير مرغوبة. إن التغيرات فى تركيز كل من الأكسجين وثانى أكسيد الكربون، هى الأكثر حدوثاً فى جو المخزن. إن انخفاض الأكسجين عادة ما يرافقه زيادة مماثلة فى النيتروجين. الأمثلة الآتية توضح أهمية التحكم فى جو المخزن.

١- برتقال Cox's وتفاح Pippin تخزن جيداً فى جو ٣٪ أكسجين + ٥٪ ثانى أكسيد الكربون وتحفظ من الإصابة بالفطر *Gleosporium album* وينخفض إنتاج إنزيمات البكتولايتك ويقام التحلل.

٢- أضرار التبريد والأنثراكنوز فى الأفوكادرو تنخفض فى جو به ٢ ٪ أكسجين + ١٠ ٪ ثانى أكسيد الكربون.

٣- إصابة الكرات بالفطر *Botrytis porri* تنخفض فى جو به ١ ٪ أكسجين + ١٠ ٪ ثانى أكسيد الكربون.

٤- تحلل نهاية الساق فى كمثرى Anjou، ينخفض عند تخزين الثمار فى جو به ١ ٪ أكسجين + ٩٩ ٪ نيتروجين.

٥- تخزين الطماطم فى جو به ٣ ٪ أكسجين + ٣ ٪ ثانى ثانى أكسيد الكربون، يقلل ظهور الانثراكنوز، بنيسيليوم، بوترايتس، والعفن البكتير الطرى، بينما يزداد عفن الفيوزاريوم على رطوبة نسبية ٩٥-١٠٠ ٪.

٦- يمكن مقاومة التحلل فى فلفل الشطه، الشمام والبرقوق فى جو مخزن به ١٠-٣٠ ٪ ثانى أكسيد الكربون.

وبشكل عام يكمن القول بأن ارتفاع مستويات ثانى أكسيد الكربون تكون أكثر فعالية فى مقاومة الأمراض الفطرية عنه فى الأمراض البكتيرية، كذلك فإن أكسيد الكربون، يكون أقل فعالية عندما تزود الكائنات الممرضة بمواد غذائية ناتجة عن جروح الثمار.

هناك تأثير واضح للتفاعل بين جو المخزن ودرجة الحرارة، فمثلاً فى الحمضيات، فإن حدوث التحلل ينخفض كلما انخفض مستوى الأكسجين من ٢١-١٠ ٪ ولكن هذا يتم فقط على حرارة ١°م. العفن الطرى فى الطماطم ينخفض فى ٣ ٪ أكسجين + ٥ ٪ ثانى أكسيد الكربون على حرارة ١٣°م وليس على حرارة ٧°م أو ١٨°م.

غالباً ما يتجمع الإيثيلين فى جو المخزن وهذا يؤثر على تحلل الفواكه والخضروات. لقد وجد أن الإزالة المستمرة للإيثيلين من جو المخزن، يؤدى إلى خفض الانثراكنوز فى الأفوكادو ويقلل تحلل الليمون بفطريات *Diaporthe* و *Penicillium*، وبالمقابل فإن تحلل التفاح المتسبب عن *Gleosporium album* ينخفض على مستويات عالية من الإيثيلين.

جـ: طريقة فعل عوامل المقاومة الحيوية لأمراض ما بعد الجمع

Mode of Action of Biocontrol Agents of Postharvest Diseases

مقـــدمة:

إن معرفتنا لطرق فعل معظم عوامل المقاومة الحيوية، معروفة بنسبة بسيطة جداً ومعظمها ينصب على التضاد الحيوى. إن قلة معرفتنا لهذه الطرق، يعزى إلى المعرفة المحدودة عن التفاعل الذى يأخذ مجراه بين كل من العائل، الكائن الممرض وتأثير الظروف البيئة والحيوية المحيطة بساحة التفاعل، وكيفية حدوث التضاد فى موقع الإصابة. وبالتالى فإن المعلومات عن ميكانيكية التضاد حاسمة وضرورية لوضع استراتيجية ناجحة للمقاوية الحيوية لأمراض ما بعد الجمع هذه المعلومات تعتمد على الآتى:

١- اختيار أفضل الطرق وأفضل الأوقات لاستعمال الكائنات المضادة.

٢- تطوير والحصول على تركيبات مناسبة من عوامل المقاومة الحيوية تشجع على التضاد.

٣- تطوير واعتماد الأساس المنطقى لاختيار الكائنات المضادة الأكثر فعالية.

٤- تسجيل عوامل المقاومة الحيوية المستعملة تجارياً.

وبشكل عام فإن طريقة عمل كثير من الكائنات المضادة لأمراض ما بعد الجمع (بشكل خاص) غير واضحة تماماً. فى حالة عدم إنتاج مضادات حيوية، يبدو أن طريقة العمل تشكل ميكانيكية معقدة، والتى يمكن أن تشمل واحداً أو أكثر من العمليات الآتية: المنافسة على الغذاء، الاستبعاد من المكان، المقاومة المستحثة فى العائل والتفاعل المباشر بين الكائن المضاد والكائن الممرض.

١- التضـــاد الحيـــوي:

إن إفراز المضادات الحيوية ظاهرة عامة فى الطبيعة. هناك عدد كبير من البكتيريا تفرز مضادات حيوية فى المعمل، ويمكن أن يكون لها دور مهم فى وقاية المنتجات الزراعية ضد الأمراض قبل وبعد الجمع. فى تجارب التصفية للكائنات المضادة التى تتواجد طبيعياً وتكون مضادة لأمراض ما بعد الجمع، فى الحمضيات وفى ثمار الأشجار المتساقطة الأوراق، وجد

أن هناك تجمعات ميكروبية سطحية، مأخوذة من سطوح الأوراق والثمار، ذات تأثير مثبط ضد عديد من الكائنات الممرضة لما بعد الجمع فى المعمل. وعلى أية حال فإن إنتاج المضادات الحيوية فى البيئة الغذائية، قد لايكون ضرورياً لإثبات إنتاجها فى موقع عملها على سطح الثمرة، فى الحقيقة هناك بعض المضادات الحيوية ثبت إفرازها فى المعمل فقط.

كان كل من Gutter & Littauer سنة ١٩٥٣ من بين أول من ذكروا أن البكتيريا *Bacillus subtilis* تمتلك فى المعمل نشاطاً مثبطاً ضد مدى واسع من الكائنات الممرضة للثمار. فى الأبحاث الحديثة بعد سنة ١٩٨٤ درس كثير من العلماء إمكانية استعمال هذه البكتيريا لمقاومة أمراض ما بعد الجمع المهمة فى الثمار والخضروات. فقد ذكر كل من Pusey & Wilson سنة ١٩٨٤، أن سلالة B-3 من البكتيريا المذكورة، فعالة فى مقاومة عفن ما بعد الجمع فى اللوزيات فى المعمل وتجارياً على مدى واسع. لقد ثبت أن هذه البكتيريا تثبط الكائن الممرض *Monilinia fructicola* فى المعمل ولكن لها تأثيراً بسيطاً أو ليس لها تأثير عند استعمالها على الفطر فى ثمار اللوزيات. ولقد وجد أن راشح الخلايا الحرة من السلالة B-3 من البتكتيريا *B. subtilis* فعالة فى مقاومة الكائن الممرض للوزيات بعد الجمع. عند عزل وتعريف المادة الفعالة التى تفرزها هذه السلالة وجد أنها Iturin peptides، هذه المضادات الحيوية لها دور كبير ضد الفطريات ولها دور قليل ضد البكتيريا وليس لها سمية أو إثارة حساسية عند الإنسان.

هناك أبحاث عديدة ذكرت أن بعض الفطريات والبكتيريا تفرز مضادات حيوية مثل *Bacillus pumilus* و *Myrothecium roridum* و *M. verrucaria* لديها مقدرة على تثبيط الفطر *Penicillium digitatum* على جروح ثمار الليمون.

ولقد ذكر Colyer & Mount سنة ١٩٨٤ أن سلالة من *Pseudomonas putida* المنتجة مضادات حيوية تحفظ درنات البطاطس من الإصابة بأمراض العفن الطرى لما بعد الجمع المتسبب عن البكتيريا *Erwinia sp.* عندما تستعمل هذه البكتيريا بعد جمع الدرنات. أما السلالات غير المنتجة للمضادات الحيوية، فهى تسبب خفضاً متوسطاً للعفن الطرى. اعتماداً على هذه النتائج يمكن القول بأن التضاد الحيوى هو المسئول عن هذا التثبيط فى مرض العفن الطرى الذى تظهره السلالة غير المنتجة للمضادات الحيوية.

كذلك ذكر Janisiewicz & Roitman سنة ١٩٨٨ أن البكتيريا *P. cepacia* فعالة فى مقاومة أمراض ما بعد الجمع فى كل من التفاح والكمثرى. تفرز هذه البكتيريا مادة Pyrrol-nitrin وهى مركب فعال ضد الفطريات، *Botrytis cinerea* و *P. expansum* فى البيئة بتركيز يقل عن ١ ملغ/مل. ولقد وجد أن ثمار التفاح والكمثرى المعاملة بمادة Pyrrolnitrin، بشكل عام، ينخفض عليها تكشف التحلل من مرض العفن الأزرق والعفن الرمادى الفطرى. بالإضافة لذلك هناك أربعة مشتقات كلورية من مادة الـ Phenylpyroole قد عزلت من إفرازات البكتيريا *P. cepacia* والتى تحوى مضادات فطرية فعالة ضد العفن الأزرق والرمادى على التفاح والكمثرى. كذلك فان الدور الذى تقوم به مادة Pyrrolnitrin هو مقاومة مرض العفن الأخضر فى الحمضيات. كما وجد أن العزلة من الفطر الممرض *P. digitatum* المقاومة لمادة Pyrrolnitrin، يمكن مقاومتها بواسطة البكتيريا *P. cepacia* عند إضافتها إلى جروح ثمرة الليمون المحتلة بواسطة جراثيم الكائن الممرض. هذه النتائج تؤدى إلى القول بأن هناك عوامل أخرى، مثل نضوب المواد الغذائية، الاستيلاء على المكان، يمكن أن تدخل فى ميكانيكية عمل البكتيريا *P. cepacia*.

إن إدخال عوامل مقاومة حيوية منتجة مضادات حيوية إلى طعام الإنسان (الفواكه والخضروات) يمكن أن يكون لها تأثير سيىء بالنسبة لمقاومة الإنسان للمضادات الحيوية، وبالتالى فإن مثل هذه العوامل يمكن ألا تكون مرغوبة أو لايسمح لها بالاستعمال. بالإضافة لذلك فان مثل هذه الكائنات المضادة، لاتكون مفضلة فى الاستعمال، نظراً لأن الكائنات الممرضة يمكن أن تتكشف فيها المقاومة لتلك المواد السامة الناتجة من الأيض الغذائى بسرعة أكثر منه فى الكائنات المضادة التى تعمل بطرق أخرى، والمحتمل أن فعاليتها يمكن أن تفقد بسرعة أكثر منه فى بعض المبيدات الفطرية الصناعية.

ولقد ثبت بكل تأكيد أن الكائنات الحية الدقيقة المستعملة فى المقاومة الحيوية لأمراض النبات والمنتجة مضادات حيوية ليست ضارة بالإنسان، وعلى أية حال فإن مادة الـ Mata-niycin هو مثال على المضادات الفطرية التى تستعمل بشكل واسع لحفظ الأغذية، والتى عرف بأن هناك مقاومة بسيطة قد تكشفت لها، ويبدو من المحتمل أن المضادات الحيوية الأخرى تسلك المجال نفسه.

ولكى نحدد أياً من الكائنات الحية الدقيقة المضادة والمنتجة للمضادات الحيوية مفضلة فى الاستعمال فى المقاومة الحيوية لأمراض بعد الجمع، هناك عدة عوامل يجب أن ينظر إليها.

١- معرفة الطريقة التى تعمل بها المضادات الحيوية المفرزة من الكائن الدقيق.

٢- تقدير إمكانية تداخل العوامل الأخرى مع الكائن الحى الدقيق المفرز للمضاد الحيوى ومدى فعالية هذا التداخل.

٣- الاهتمام بصحة الإنسان والبيئة المحيطة به، ومدى الأضرار التى تلحق بها جراء استعمال هذه الكائنات الحية الدقيقة.

٢- المنافسة على الغذاء والمكان

لقد سبق وأن قدمنا تعريفاً واضحاً عن مصطلح المنافسة. يمكن القول بأن البكتيريا والخمائر إلى حد ما، تتميز بارتفاع نسبة السطح إلى الحجم surface to volum ratio، فيكون عندها المقدرة على إمتصاص الغذاء من المحاليل المائية أو المخففة بسرعة وبكمية أكبر من أنابيب العدوى ومن الخيوط الفطرية فى الفطريات الممرضة. لقد ثبت فعلاً أن المنافسة على الغذاء على السطح الورقى، منتشرة كثيراً وظاهرة معروفة جيداً، فمثلاً إن البكتيريا السطحية (التى تعيش على سطوح النباتات)، ثبت بأنها تخفض إنبات كونيديات الفطر *B. cinerea*، من المحتمل أن يكون ذلك عن طريق نزع الأحماض الأمينية من مخلوط الجلوكوز والأحماض الأمينية، بسرعة أكثر مما تعمله كونيديات الفطر.

تحدث معظم إصابات الفواكه والخضار بعد الجمع، عن طريق الجروح السطحية التى تحدث خلال الجمع، وما يتبع ذلك من تعامل. لكى نقاوم الكائنات الممرضة الجرحية مقاومة حيوية، يجب أن يكون الكائن المضاد موجوداً طبيعياً فى موقع الجرح حيث يحدث التفاعل بين الكائن الممرض والكائن المضاد. وبالتالى فإن عامل المقاومة الحيوية الفعال، يجب أن تكون لديه صفات خاصة حتى يكون منافساً ناجحاً فى موقع الجرح، أهم هذه الصفات هى:

١- يجب أن يكون أفضل مضاد للكائن الممرض عند الانحرافات الكبيرة فى الظروف البيئية والغذائية.

٢- يجب أن ينمو بسرعة ويحتل مساحة كبيرة فى موقع الجرح.

٣- يجب أن يكون نشيطاً وفعالاً فى استغلاله للتركيزات المنخفضة من المواد الغذائية المتوفرة.

٤- يجب أن يبقى حياً ويتكشف أفضل من الكائن الممرض على سطوح المنتجات الزراعية وفى موقع الإصابة، تحت انحرافات الحرارة والحموضة والأسموزية.

لقد ذكرت الأبحاث الحديثة أن المقاومة الحيوية لأمراض ما بعد الجمع، للفواكه والخضروات، تكون باستعمال الكائنات الحية الدقيقة التى تتكاثر بسرعة وتستعمر الجرح وتنجح فى المنافسة على المواد الغذائية، وعلى المكان. فمثلاً الخمائر *Pichia guilliermon-dii* (كانت تسمى سابقاً *Debaryomyces hansenii*) و *Cryptococcus laurentii* و *Aureobasidium pullulans* و *Candida* sp والبكتيريا *Enterobacter cloacae* و *Pseudomonas cepacia* ، ذكرت بأنها تمتلك جميع الصفات السابقة، وبالتالى فهى عوامل مقاومة حيوية ممتازة.

إن المنافسة على احتلال الجرح تحت الظروف البيئية المختلفة، يمكن أن يكون العامل والدليل المؤدى إلى تقييم كفاءة عوامل المقاومة الحيوية. فمثلاً البكتيريا *P. cepacia* وجد بأنها تبقى حية وتزداد بسرعة فى العدد فى جروح ثمار الليمون والتفاح والكمثرى، أما على سطوح الثمار غير المجروحة فإن البكتيريا السابقة نفسها تبقى حية بنسبة بسيطة جداً. ومن ناحية أخرى ذكر Droby *et al* سنة ١٩٩٠ أن العزلة US-7 من الخميرة *P. guilliermon-dii* تبقى حية لمدة طويلة سواء فى موقع الجرح أو على سطح الثمرة غير المجروحة. كذلك يكون هناك سرعة استعمار لجروح ثمرة التفاح بالخميرة *C. laurentii* على حرارة تتراوح من صفر إلى ٢٠°م. ووجد أيضاً أن هذه الخميرة نفسها والفطر *C. flavus* يستعمران بسرعة جروح ثمار التفاح والكمثرى تحت ظروف جوية محيطية محكمة ومتحكم بها، فإن نسبة ١,٥ ٪ أكسجين أو ٢ ٪ ثانى أكسيد الكربون تكون غير ملائمة لتكشف الكائن الممرض.

وجد أن العزلة US-7 من الخميرة *P. guilliermondii* تتكاثر بسرعة كبيرة فى موقع الجرح تحت مجال واسع من الحرارة والرطوبة والظروف البيئية، وبهذا يمكن أن تزداد بالعدد بحوالى ١-٢ ضعف خلال ٢٤ ساعة، بينما فى نهاية فترة الحضانة، فإن جراثيم الكائن الممرض تبدأ فقط فى الإنبات والنمو. يكون معدل سرعة النمو فى الخميرة فى موقع الجرح على حرارة مختلفة، ومدة بقائه فى الأنسجة واضحة فى جدول رقم ٧.

جدول رقم ٧: معدل نمو الخميرة *P. guilliermondii* على سطح الجروح فى الجريب فروت، وكفاءتها فى المقاومة الحيوية للفطر *Penicillium digitatum*.

فترة الحضانة بالأيام	عدد وحدات تكوين مستعمرات لكل جرح على حرارة			الإصابة ٪ من الكنترول		
	٦°م	١١°م	٢٥°م	٦°م	١١°م	٢٥°م
صفر	٣١٠	$٣,٥١٠$	٥١٠	٤	٧	١٠
٣	$٢,٥١٠$	٥١٠	$٥,٥١٠$	٧	٢٥	٤٠
٩	٤١٠	٦١٠	$٥,٧١٠$	١٢	٣٠	٧٠
١٥	$٣,٨١٠$	$٥,٥١٠$	٦١٠	٢٠	٦٨	٨٠
٢٧	٤١٠	٥١٠	٤١٠	٤٥	٧٠	٨٥

يلاحظ أن مقدرة خلايا الكائن المضاد تزداد بسرعة فى العدد على حرارة منخفضة نسبياً بالمقارنة مع الكائن الممرض.

يمكن تفسير ما يلاحظ من زيادة الفعالية ضد العفن الأخضر على الجريب فروت، وذلك كالآتى: عند درجة حرارة مرتفة نسبياً (٢٥°م) فان فعالية الخميرة فى تخفيض الإصابة تتراوح من ١٠-٧٠٪ من الكنترول، أما على درجة حرارة منخفضة فتتراوح الإصابة من ٤٪ إلى ٤٥٪ من الكنترول.

هناك دلائل عديدة تدعم الافتراض القائل بأن تثبيط تكشف الكائن الممرض، عن طريق التضاد يعتمد إلى حد ما على المنافسة على الغذاء. مثل هذا التنافس لوحظ فى المعمل

عند دراسة الخميرة المذكورة سابقاً، عندما زرع كل من الكائن الممرض والكائن المضاد على البيئة الصناعية أو على محلول مغسول الجروح. يمكن خفض كفاءة الخيمرة بشكل واضح عن طريق إضافة مغذيات إلى معلق الجراثيم المستعمل فى الحقن. وبالمثل فإن البكتيريا *Enterobacter cloacae* وهى بكتيريا مضادة، تثبط إنبات الجراثيم فى الفطر *Rhizopus stolonifer* خلال التنافس على الغذاء.

إن دور التنافس على المواد الغذائية فى التضاد يمكن أن يكون كالآتى:

١- تثبيط إنبات الجراثيم أو نمو الكائن الممرض خلال فترة النمو المشترك لكلا الكائنين.

٢- تعتمد شدة تثبيط الكائن الممرض على تركيز التركيبات التكاثرية للكائن المضاد.

٣- يكون هناك خفض جزئى أو كلى لقوة التثبيط عند إضافة مواد غذائية من الخارج. هذا يدل على أن زيادة المواد الغذائية المتوفرة للكائن المضاد تقلل من كفاءته على التضاد.

فى معظم الأبحاث التى أجريت على المقاومة الحيوية لأمراض ما بعد الجمع فى الفواكه والخضروات، كانت هناك علاقة كمية بين تركيز الكائن المضاد وكفاءته فى المقاومة الحيوية. وبالتالى يبدو بوضوح أن هناك توازناً دقيقا موجود فى منطقة الجرح بين أعداد الكائن المضاد وتركيبات الكائن الممرض والتى تؤثر على نتائج التفاعل وتحديد فيما اذا كان الجرح سيصبح مركزاً للإصابة. إن التداخل فى التركيز الأولى لخلايا الكائن المضاد و/أو الجراثيم الفطرية يؤثر بوضوح على الإصابة. ومن ناحية أخرى فقد ثبت أن عدد خلايا الكائن المضاد فى موقع الجرح، لاتحدد دائماً كفاءة الكائن المضاد. ولقد ثبت أيضاً أن التكاثر والنمو الفعال لخلايا الخميرة US-7 يكون ضرورياً لهذه الخميرة ليكون سلوكها فعالاً فى المقاومة الحيوية. ولقد ثبت ذلك عند استعمال طفرة من الخميرة *P. guilliermondii* والتى فقدت نشاطها فى المقاومة الحيوية ضد الفطر *Penicillium digitatum* على ثمار الجريب فروت، وضد الفطر *B. cinerea* على التفاح، حتى عندما تضاف على الجروح بتركيزات عالية، بمقدار 10^{10} جرثومة/مل. تبقى أعداد التجمعات الخلوية لهذه الطفرة فى مواقع الجروح ثابتة خلال فترة الحضانة، بينما فى الطراز الأصلى، فإن عدد الخلايا يزداد من ٦٠-١٠٠ ضعف خلال ٢٤ ساعة. إن فشل الطفرة فى تثبيط إنبات جراثيم الكائن الممرض

فى البيئة الغذائية ذات الحد الأدنى من الأملاح، يؤدى إلى القول بأن هذه الطفرة تفقد مقدرتها على استعمال بعض المغذيات لتنمو فى البيئة جيداً وقد يكون هذا السبب فى فقد الكفاءة.

بينما تكون ظاهرة التنافس على الغذاء هى الأكثر انتشاراً فى التفاعل بين الكائنات الحية الدقيقة على المسطح الورقى، فإن القول بأن التنافس على الغذاء كميكانيكية فى التضاد، يفترض بأن الفطر الممرض يعتمد على مصدر خارجى للغذاء ليحدث الإنبات والاختراق داخل نسيج العائل. إلا أن هناك بعض العلماء يدعى بأن التنافس الغذائى ليس هو القوة الرئيسية على المسطح الورقى. إلا أنه يمكن القول بأن هذه الأدلة برهان مقنع على دور التنافس تحت الظروف الطبيعية فى المخزن وأهميته فى إحداث مقاومة حيوية للكائنات الممرضة على سطح الثمرة والورقة.

يمكن اختصار كل ما ذكر تحت النقاط الآتية:

١- إن سرعة النمو والاستعمار الكبير لموقع الجرح عن طريق الكائن المضاد هما صفتان مهمتان لكثير من عوامل المقاومة الحيوية لأمراض ما بعد الجمع.

٢- إن سرعة استنزاف المغذيات أو السيطرة على الأماكن المتاحة للكائن الممرض يؤدى إلى خفض معدل نموه وخفض حدوث الإصابة.

٣- للحصول على مستويات عالية من الكفاءة فى المقاومة الحيوية، يجب أن يصل عدد خلايا الكائن المضاد إلى الحد المطلوب لمنع الكائن الممرض من توطيد نفسه فى نسيج الثمار والخضروات.

٤- عند استعمال عامل المقاومة الحيوية، بعد أن يكون الكائن الممرض قد وطد نفسه فى النسيج، هذا يؤدى إلى إنخفاض كبير فى كفاءة عامل المقاومة الحيوية.

٣- استحداث مقاومة في العائل Induction Resistance In The Host

تعتبر المقاومة المستحثة شكل من أشكال المقاومة المهمة فى الأنسجة الخضرية للنبات. الميكانيكية نفسها من المقاومة يمكن إحداثها فى الثمار المجموعة والأنسجة الخضرية. ذكرت

بعض الأبحاث أن بعض عوامل المقاومة الحيوية يمكن أن تتفاعل مع نسيج العائل، وبشكل خاص مع السطوح المجروحة بحيث تؤدى إلى تشجيع عمليات شفاء الجروح.

كما ذكر سابقاً فإن هناك عديداً من الخمائر المضادة، غير المنتجة للمضادات الحيوية للكائنات الممرضة الجرحية، تكون أكثر فعالية عند استعمالها قبل الحقن بالكائن الممرض. إن إضافة خلايا الكائن المضاد بعد الحقن بالكائن الممرض يؤدى إلى خفض الكفاءة. لقد ذكر كل من Chalutz & Wilson سنة ١٩٩٠ أنه كلما طال الوقت المنقضى بين وقت الإصابة واستعمال الكائن المضاد، قلت كفاءة الكائن المضادة. فمثلاً على درجة حرارة ٢٥°م يحدث انخفاض بمقدار ٣٠٪ فقط من حدوث المرض عندما يضاف الكائن المضاد بعد الحقن بالكائن الممرض بفترة ٧ ساعات، ولايحدث خفض واضح عندما يضاف الكائن المضاد بعد ٢٤ ساعة من الحقن بالكائن الممرض، مع المقارنة بأن أكثر من ٩٠٪ خفض فى المرض، يحدث عندما يضاف الكائنان مع بعض فى الوقت نفسه. هذه النتائج حصل عليها فى التجارب المعملية، أما عند تطبيقها بصورة تجارية فكانت النتائج أقل من الأرقام المذكورة. هذه النتائج تؤدى إلى القول بأنه عند استعمال خلايا الخميرة، فإنه تحدث تغيرات فسيولوجية تؤدى إلى ظهور مقاومة مستحثة فى قشرة النسيج. وللتأكد من صحة هذه الفرضية يجرى تقدير لإنتاج الإثيلين من الأنسجة المعاملة بالخميرة. عندما كانت ترش المعلقات الخلوية من الخميرة المضادة US-7 وتوضع على سطح الجروح فى الجروب فروت وبوملى Pomelo وعنب المائدة أو أنسجة جذر الجزر، كان يلاحظ زيادة انطلاق الإيثيلين فى كل الأنسجة. فى أقراص جذر الجزر والتى استعملت model system، فان استعمال الخميرة المضادة لم يؤد إلى زيادة إنتاج الإيثيلين فقط، ولكن أيضاً إلى تجمع الفينولات أو المواد الشبيهة بالفينولات والتى لها صفات امتصاص ضوئى على ٢٨٠ نانوميتر.

عندما تزرع الخميرة على بيئة فى المعمل، فإن خلايا الخميرة لاتنتج الإيثيلين. إن دخول الإيثيلين فى عمليات الحث على المقاومة فى الجريب فروت وجذور الجزر، قد يكون عن طريق الحث على تنشيط إنزيم Phenylalanh ammonialyase والذى يسمى (PAL) وهذا الإنزيم هو الذى يحفز التفاعل فى نقطة التفرع فى خطوات ممر حمض الشكميك، وهذا يؤدى إلى بناء فينولات، فايتوالكسن ولجنين، كل هذه المنتجات مترافقة مع عمليات المقاومة المستحثة. فى ثمار الحمضيات فإن إنتاج الإيثيلين ونشاط الـ (PAL)، يمكن أن يستحثا بعد

إضافة الخميرة المضادة الفعالة إلى أقراص القشرة، بينما الإضافة الخارجية للإيثيلين إلى الأقراص أو إلى ثمرة الجريب فروت بكاملها تؤدى إلى حدوث مقاومة مستحثة للإصابة بالفطر *P. digitatum* (جدول رقم ٨). وبالتالى فإن إدخال منتجات الإيثيلين خلال التفاعل ما بين الكائن المضاد والنسيج النباتى، يؤدى إلى القول بأن هناك ميكانيكية مقاومة تحدث فى العائل فى مكان التفاعل مع الخميرة، ولكن لغاية سنة ١٩٩٤ لم تكتمل هذه النظرية، إلا أنه يمكن الاستفادة من هذه الظاهرة وذلك بالحصول على الكائنات الدقيقة التى تؤدى إلى حدوث مقاومة مستحثة فى منطقة الجروح فى الفواكه والخضروات بعد الجمع واستعمالها كعامل من عوامل المقاومة الحيوية لأمراض بعد الجمع.

جدول رقم ٨: نسبة الإصابة بالفطر *P. digitatum* بعد تعرض ثمار الجريب فروت إلى ٢٠ جزء فى المليون إيثيلين لمدة ٤٨ ساعة. ثم تحدد نسبة الإصابة بعد خمسة أيام على حرارة ٢٠°م.

عدد جراثيم الفطر الممرض	٪ نسبة إصابة
مع إيثيلين 10^4	صفر
مع إيثيلين 10^5	٨
بدون إيثيلين + 10^4	٢٠
بدون إيثيلين + 10^5	٣٩

ملاحظات على الجدول: كانت ثمار الجريب فروت المجموعة الطازجة تعرض إلى ٢٠ جزءاً فى المليون إيثيلين لمدة ٤٨ ساعة ثم تحقن بمعلق جراثيم الفطر الممرض عن طريق إحداث جروح صناعية فى القشرة وكانت تحدد نسبة الإصابة المئوية بعد خمسة أيام من التحضين على حرارة ٢٠°م.

٤- التفاعل المباشر مع الكائن الممرض:

لقد ثبت أن التطفل المباشر من قبل الكائن المضاد على تركيبات الكائن الممرض، يلعب دوراً مهماً فى المقاومة الحيوية ضد الأمراض الكامنة فى التربة وأمراض المجموع الخضرى.

لقد درس هذا الموضوع دراسة وافية (ذكر هذا الموضوع بالتفصيل فى الفصل الأول من الكتاب) بما يتعلق بالفطر *Trichoderma* والذى ذكر بأنه يضاد الكائنات الممرضة عن طريق التطفل المباشر. أما فى مجال أمراض ما بعد الجمع، هناك معلومات قليلة متوفرة عن هذا الموضوع. لقد ذكر Wisniewski *et al* سنة ١٩٩٢ أن الخميرة المضادة *Pichia guilliermondii* عندما تزرع مشتركة مع الفطر *Botrytis cinerea*، تظهر وكأنها مرتبطة بشدة مع هيفات الفطر الممرض *B. cinerea* (شكل رقم ٦) . هذا الالتصاق يمكن إعاقته عندما تعرض خلايا الخميرة أو هيفات الكائن الممرض إلى مركبات تؤثر على سلامة البروتين، أو عند تثبيط التنفس، ولقد اقترح الربط بنظام لايسيتين lectin-type فى هذا الاتصال. بالإضافة لذلك وجد أن الخميرة، تظهر مستويات عالية من B-1,3-glucanase النشيط، عند تنميتها على مصادر مختلفة من الكربون، أو على جدر خلوية لكثير من الكائنات الممرضة الفطرية، حيث يؤدى هذا إلى حدوث التصاق شديد بين الخميرة وسطح الكائن الممرض (بين الخميرة المضادة وجدار خلية الفطر الممرض) ويمكن أن يشجع كفاءة إنزيم الهيدرولسز لجدار الخلية، المفرز بواسطة الخميرة على النسيج خارج الخلية. عندما تزال خلايا الخميرة عن هيفات الكائن الممرض، يأخذ سطح الهيفا شكلاً مقعراً، ويحدث تحلل جزئى لجدار خلية الفطر *B. cinerea*. هذا يلاحظ عند موقع التلامس (شكل ٦) . وبالتالى فإن التماسك المتين لخلية الخميرة برفقة إنزيمات الهيدرولوسز، يمكن أن تكون مسئولة عن التحلل الذى يلاحظ فى جدار الخلية الفطرية، إن إنتاج إنزيم الـ Glucanase، يمكن أيضاً أن يشجع مقدرة البكتيريا على الالتصاق بالهيفا الفطرية وهذا يحدث بوضوح مع *Candida albicans*.

لقد لوحظ حديثاً أن السكريات العديدة المفرزة خارج الخلية من سطح خلايا الخميرة *P. guilliermondii* تسلك سلوك المضاد الفطرى Antifungal النشيط ضد الكائنات الممرضة لما بعد الجمع، وهذا يدل على أنها تتدخل فى طريقة فعل الخميرة. وبالتالى فإن النشاط الذى تقوم به هذه الخميرة فى المقاومة الحيوية (ومن المحتمل خمائر أخرى كعوامل فى المقاومة الحيوية) لايعتمد فقط على مقدرتها فى سرعة استعمار موقع الجروح والمنافسة على المغذيات ولكن أيضاً، يمكن أن تعتمد على مقدرتها على الالتصاق المتين بهيفات الكائن الممرض وإفرازها إنزيمات تحلل جدار الخلية.

شكل رقم (٦) : يبين التصاق خلايا الخميرة *Pichia guilliermondii* على ميسيليوم الفطر *Botrytis cinerea* ، وتظهر عملية التحطيم.

د : تشجيع عوامل المقاومة الحيوية لأمراض بعد الجمع ودمجها مع طرق المقاومة الأخرى

مقـــدمة:

تكمن الفائدة الأولية للمقاومة الحيوية لأمراض ما بعد الجمع فى المقدرة على التحكم بالظروف البيئية التى تحددها البيئة القريبة من سطوح المنتجات النباتية. بعد التأكد من هذه الخطوة، هناك عمليات أكبر تتبع بعد الجمع لتشجيع نشاط عوامل المقاومة الحيوية.

الأبحاث التى أجريت على المقاومة الحيوية فى المجال الورقى Phyllosphere قد وصلت إلى نتيجة بحيث يمكن للباحثين الحصول على فوائدة كثيرة عند تمام فهم بيئة الورقة والميكروبات السطحية على المنتجات النباتية. نظراً لأن البيئة الصغيرة المحيطة بالمنتجات النباتية المخزونة أقل تعقيداً من تلك المحيطة بالأوراق فى ظروف الحقل، وبالتالى فإن التحسن فى مقاومة أمراض ما بعد الجمع أكثر احتمالاً لأن يتم عند تمام معرفة كيفية تفاعل

الكائنات المضادة مع النبات العائل، البيئة والكائنات الحية الدقيقة الأخرى. كذلك فان إدراك الميكانيكيات المسئولة عن المقاومة الحيوية من الأمور الأساسية للتفسير الصحيح لأسباب النجاح أو الفشل وتكون أساسية لما قبل الاستعمال.

على الرغم من النجاح المذكور فى كثير من الأبحاث عند استعمال الكائنات الحية الدقيقة فى المقاومة الحيوية لكثير من أمراض ما بعد الجمع فى كثير من المحاصيل، إلا أنه حتى فى النجاح الكبير لهذه الطريقة إذا ما قورن باستعمال المبيدات الكيماوية، فتبقى نتيجة استعمال المبيدات الكيماوية أفضل، ولكن ما يعيب استعمال المبيدات الكيماوية هو الأثر المتبقى السام الذى يؤثر على الصناعات الغذائية. وكما هو معروف فإن عوامل المقاومة الحيوية تعمل على وقاية السطح أو الجروح الحديثة فى المنتجات الزراعية، ولكنها غير قادرة على التأثير على الإصابة الكامنة أو المتمكنة من الثمرة. وسواء إستعملت المقاومة الحيوية أو الكيماوية، يجب أن تكون مترافقة بعمليات أخرى لتزداد كفاءتها، هذه العمليات هى: الإجراءات الصحية، العمليات اليدوية المنظمة، وذلك لتقليل إحداث الجروح فى المنتج النباتى وكذلك التجميد. أحياناً يفضل الجمع بين المقاومة الحيوية والكيماوية، ولكن هذا يتم بعد دراسة مستفيضة.

I : زيادة فعالية الكائنات الميكروبية المضادة

أ : الكائنات المضادة طبيعياً

يمكن تلخيص استعمال الميكروبات المضادة فى مقاومة أمراض ما بعد الجمع فى نقطتين أساسيتين: الأولى ، الاستفادة من الميكوفلورا الطبيعية الموجودة على سطوح المنتجات الزراعية. الثانية: ادخال واستعمال كائنات مضادة من الخارج بعد تجهيزها فى المعمل أو المصنع. إن البيئة الضيقة أو المحلية لسطوح الفواكه والخضروات لم تدرس بشكل واسع، وبالتالى فان التعامل الممكن مع الكائنات الحية الدقيقة النافعة الموجودة ضمن الميكوفلورا الطبيعية على سطوح المحاصيل النباتية المجموعة يكون فعلياً له فوائد فى المقاومة الحيوية.

إن الافتراض المنطقى فى كون المقاومة الحيوية، تحدث طبيعياً على سطوح الأجزاء الهوائية للنبات، قد دعم بالأبحاث التى أجريت على تجمعات الطبقة الخارجية على سطوح

الأوراق. من الدلائل التى تثبت ذلك، هو عند استعمال المبيدات الفطرية لمقاومة مسبب مرضى معين، تظهر هناك كائنات حية دقيقة أخرى ممرضة غير تلك التى كانت الهدف فى المقاومة، وذلك لعدم وجود تنافس قوى ضد هذه الكائنات، ولعدم تأثرها بالأثر المتبقى للمبيد. من أمثلة هذه الأمراض، أعفان ما بعد الجمع المتسببة عن الزيادة فى أعداد هذه المسببات مثل الفطر الذى يصيب الفراولة ويسمى *Rhizopus*، بعد استعمال المبيد الفطر بنليت لمقاومة الفطر *Botrytis cinerea* وكذلك الفطر *Alternaria citri*، على الحمضيات بعد استعمال المبيد الفطر بنليت لمقاومة *Penicillium* sp وكذلك *Colletotrichum gloe-osporioides* و *Phytophthora syringae* و *Alternaria tenuis* على ثمار التفاحيات بعد استعمال مادة Benzimidazols لمقاومة *Gloeosporium* spp. و *Penicillium expan-sum* .

هناك دليل آخر على حدوث المقاومة الحيوية الطبيعية على سطوح ثمار المحاصيل المجموعة، حيث يتبين أنه عند غسيل المنتجات الزراعية كثيراً قبل تخزينها، فإنه يظهر عليها أمراض عفن أكثر من تلك التى لم تغسل. ولقد وجد أن غسل وتجفيف ثمار الحمضيات يجعلها تتعفن بسرعة أكثر فى المخزن من تلك التى لم تغسل. ولقد وجد أيضاً أن البكتيريا والخمائر تكون سائدة فى ماء غسيل الثمار والخضروات، وهذا أدى إلى الاقتراح بأن التجمعات الميكروبية على سطوح الحمضيات تثبط طبيعياً مسببات العفن.

إن التداخل فى المتغيرات الكيماوية أو الغذائية على المسطح الورقى، يمكن أن يؤدى إلى تغيير فى تجمعات الكائنات الدقيقة الباقية على السطح. لقد أثبت كل من Morries & Rouse سنة ١٩٩٢ أن هناك اختلافاً فى مقدرة البكتيريا السطحية المأخوذة من سطوح أوراق الفاصوليا، فى استعمال مصدر وحيد الكربون والنيتروجين. عند إضافة مواد غذائية معينة على المجموع الخضرى للنبات فى الحقل، فإن هذا يؤدى إلى إحداث تحورات فى تركيب التجمعات البكتيرية ويغير فى حجم تجمعات البكتيريا الوميضة وفى بعض الأحيان يخفض الإصابة بالمرض المتسبب عن البكتيريا *Pseudomonas syringae*. وبالتالى فإنه فى بيئة بعد الجمع، من الممكن إحداث بعض التغيرات بحيث تلائم بعض الكائنات المضادة، وذلك عن طريق التحكم فى درجات الحرارة، الرطوبة والضغط الجوى.

كذلك يمكن زيادة الاستفادة من التجمعات النافعة من الكائنات الدقيقة السطحية عن طريق التداخل الوراثى فيها أو فى النبات، ومما يدعم هذا القول فان النبات الـ genotype له دور فى بقاء وتكاثر الكائنات الممرضة. فمثلاً تكون هناك اختلافات كبيرة فى تجمعات البكتيريا الشديدة المرضية *Pseudomonas syringae campestris* pv. *phaseoli* على طرز الفاصوليا القابلة والمقاومة للإصابة فى الحقل، وكذلك أن الـ genotype من الشوفان له دور مهم فى تدعيم تجمعات البكتيريا النشيطة المكونة لنواة الجليد. لقد عزى Bird سنة ١٩٨٩ النجاح الذى حصل عليه فى أصناف القطن Multiple adversity resistance (MAR) إلى الاتحادات بين كل من التلائم الكبير، المقاومة الوراثية وإلى الكائنات الدقيقة المرافقة للنبات والتى تعطيه وقاية ضد الأمرض والآفات الحشرية. إن التجمعات الميكروبية المعزولة من سطوح MAR تحتوى على أعداد من الكائنات المضادة أكثر من تلك المأخوذة من الأصناف القابلة للإصابة. أما صفات الـ Phenotype والتى من الممكن أن تؤثر على الميكوفلورا، تشمل طبوغرافية السطح الورقى والمواد الكيماوية المفرزة. والذى يمكن تصوره هو أن النباتات يمكن التداخل فيها عن طريق القواعد الوراثية أو إعادة الاتحادات فى أجزاء الـ DNA لتحسين المقاومة الحيوية الطبيعية لمنتجات بعد الجمع.

ب: ادخال الكائنات الدقيقة المضادة في الاستعمال

١- إنتاج ، تكوين ، اطلاق وتوزيع

من أهم الأمور المتعلقة بإنتاج الكائنات المضادة، سواء كان الناتج على شكل سائل أو صلب أو نصف صلب أو Surface fermentation هو أن يكون اللقاح متواجداً بشكل واضح على شكل مستعمرات قادرة على التضاد على سطوح النبات. هناك طرق غير دقيقة تستعمل فى المعامل أو فى الإنتاج التجارى، تؤدى إلى فقد الصفات المهمة والضرورية لإنجاح المقاومة الحيوية. فمثلاً الصفات التركيبية (المورفولوجى) للبكتيريا والتى تكون وظيفتها فى الطبيعة كوسيلة التصاق أو حواجز نفاذية أو Resins تبادل أيونى أو الحفظ من الضغط الأسموزى، يمكن أن تفقد تحت ظروف تكون سائدة فى المزارع المعملية. كذلك وجد أن Glycocalyx البكتيرى يفقد عندما تنمو البكتيريا فى كثير من البيئات المعملية، ولكن هذا

يمكن أن يوقف أحياناً بتغير ظروف المزرعة. إن مقدرة الميكروبات على إنتاج بعض مركبات الميتابولزم الداخلة فى التضاد الحيوى، يمكن أيضاً أن تتأثر خلال عمليات التهيج (التخمير). لقد ذكر Lindow سنة ١٩٩٢ أن السلالات من البكتيريا المضادة لـ *Pseudomonas syringae* النامية على بيئة غنية، لاتنتج مركبات مثبطة عند تنميتها على بيئة مصممة بحيث تشبه الظروف الغذائية على سطوح الأوراق. إن طرق الإنتاج التى تحافظ أو تزيد فى حيوية الكائنات المضادة يمكن أن تؤدى إلى زيادة فعالية المقاومة الحيوية.

إن إنتاج كميات كبيرة من الكائنات الحية الدقيقة، قد وصفت بأنها تشبه طرق إنتاج المنتجات الصيدلانية أكثر منها لإنتاج عوامل ميكروبية بحتة، تستعمل ثانية على سطوح النباتات. وبالتالى فإن الكائنات الدقيقة المستعملة فى المقاومة الحيوية، تمثل تحدياً فريداً فى الصناعة، بسبب احتياجها لكميات كبيرة كافية من اللقاح تكون متوافقة مع تكنولوجيا الاستعمال وما هو موجود من ظروف بيئية فى المخزن. يجب أن توضع كفاءة الإنتاج وتكاليفه فى عين الاعتبار قبل أن تدخل فى الاستعمال على نطاق تجارى واسع.

إن المحافظة على حيوية الكائنات الحية الدقيقة، هى أيضاً نقطة أساسية فى تشكيل الكائنات المضادة المستعملة على نطاق تجارى، فيجب أن يكون لعوامل المقاومة الحيوية حياة طويلة فى المخزن لاتقل عن ستة شهور، ومن المفضل أن تصل من ١-٢ سنة. إن التقدم العلمى فى استعمال الكبسولات سوف يطيل سقف الحياة لهذه المنتجات. بعض أنواع هذه المواد المضافة كمغلفات والتى تقوم بدور مهم فى ظروف الحقل القاسية (لتحفظ عوامل المقاومة من الجفاف والأشعة فوق البنفسجية)، يمكن ألا تكون ضرورية فى بيئة ما بعد الجمع. وعلى أية حال فان إمكانية إضافة مواد تجعل هذه الكائنات أكثر فاعلية، مثل المغذيات، منظم الحموضة أو مواد أخرى تشجع أو تزيد النشاط الميكروبى على المنتجات الزراعية المخزونة، يبدو أنه مبشراً بالنجاح. بالإضافة لذلك فان تكنولوجيا التشكيل تطورت بحيث تحسن انتشار والتصاق هذه العوامل على سطوح النبات فى الحقل، ويمكن أن تكون لها تطبيقات فى نظم ما بعد الجمع.

إن التشكيل والتوزيع يجب أن ينظر إليهما من وجهة نظر مشتركة. لكى نقرر أى طرق الاستعمال يجب أن تتبع، فمن المنطقى أن تحدد فى الوقت نفسه طرق التوزيع. يمكن لعوامل

المقاومة الحيوية أن تستعمل مترافقة مع الشمع (كما فى المبيدات الكيميائية) إما قبل أو بعد تسليمها لرجال الرش والتوزيع. يفضل أن تكون الكائنات الحية الدقيقة المضادة محفوظة فى شموع ذات قاعدة زيتية، وذلك لأن الزيوت المعدنية قد استعملت بنجاح لمدة طويلة فى تخزين مزارع البكتيريا والفطريات.

تغليف الثمرة بالشمع أو أى مادة أخرى، يمكن أن يؤثر سلبياً أو إيجابياً على فعالية عامل المقاومة الحيوية. لقد وجد أن بعض أنواع البكتيريا المضادة، تكون ذات نتيجة أفضل عند استعمالها بعد تغليف الثمرة بالشمع، ولقد وجد أن الشمع ليس له تأثير على كفاءة مقاومة البكتيريا *Bacillus subtilis* ضد العفن البنى فى الخوخ، سواء استعمل الشمع مع البكتيريا مختلطين أو كل منهما بمفرده.

لقد ذكر McLaughlin *et al* سنة ١٩٩٠ أن إضافة ٢ ٪ كلوريد الكالسيوم إلى معلق الخميرة، يزيد بشكل كبير مقدرة الخميرة *P. guilliermondii* لمقاومة أمراض بعد الجمع فى التفاح، وهذا يسبب انخفاض كمية الخميرة اللازمة للحصول على مثل هذه النتيجة فى المقاومة. كذلك فى تجارب أخرى، وجد أن استعمال الخميرة المذكورة نفسها، على الحمضيات أظهر زيادة كبيرة فى نشاط المقاومة الحيوية عند إضافة ١٠ ٪ من المبيد الفطرى Thiabendazole. هذه التجارب أثبتت كفاءة المقاومة الحيوية عند استعمال الخميرة على نطاق تجارى كبير لمقاومة أمراض ما بعد الجمع.

٢ : التداخل في البيئة المحيطة (الضيقة) Manipulation of Microenvironment

إن الجهود التى تبدل لتشجيع وزيادة كفاءة عوامل المقاومة الحيوية، عن طريق التداخل فى البيئة المحيطة، هى جهود ممتازة. ومما يسهل هذه المهمة أن كلاً من الحرارة، الرطوبة والتركيب الغازى، يمكن التحكم بها بسهولة فى عنابر المخزن. وبالطبع فإن الظروف السائدة والمستغلة بعد الجمع تكون مرتبة على الأوضاع المثلى لرفع مستوى سقف الحياة Shelf life لأقصى مدة ممكنة للمنتجات الزراعية وكبح العوامل المرضية. أحياناً فإن أفضل الفرص لتشجيع عوامل المقاومة الحيوية، يكون عن طريق التداخل فى البيئة المحيطية، والتى تشمل التغذية أو الوسط الكيماوى، الذى يمكن أن يتغير ليعطى الكائنات المضادة فائدة اختيارية أو زيادة كفاءتها على سطوح المنتجات الزراعية.

كما ذكر سابقاً، فإن إضافة المغذيات إلى المجموع الخضرى، أو سطوح النبات الأخرى، يمكن أن يغير كثيراً فى التجمعات السطحية للكائنات الدقيقة. كذلك فان التحسينات الغذائية قد ثبت بأنها تشجع الكائنات المضادة المدخلة على سطوح الأوراق. فمثلاً وجد Fokkema *et al* سنة ١٩٩٢ أن الخمائر *Sporobolomyces* ، *Cryptococcus* عندما ترش على أوراق القمح مترافقة مع ٢ ٪ سكروز و ٠,١ ٪ مستخلص خميرة، يزيد فى أعداد الخميرة المستعملة بالمقارنة مع الكنترول الذى استعمل فيه الخمائر مع الماء فقط. أما تجمعات الكائنات الممرضة مثل *Cochliobolus* و *Septoria* انخفضت فى البداية، وكان تكشف المرض بطيئاً فى المراحل الأولى. كذلك وجد أن تثبيط الفطر *Botrytis cinerea* بواسطة *Tricho-derma spp.*، على عناقيد العنب المنفصلة، كان أكبر عندما أضيف مستخلص المولت إلى لقاح الكائن المضاد. هناك أبحاث كثيرة أجريت على ٢٣ مصدراً نيتروجينياً و٣٦ مصدراً كربونياً، فوجد أن المركبات التى تشجع نمو الكائن المضاد كثيراً هى L-Asparagine و L-proline وتشجع المقاومة الحيوية للعفن الأزرق.

التركيب الغذائى لايؤثر فقط على كثافة تجمعات الكائن المضاد ومقدرته على المنافسة، وإنما يمكن أن يؤثر أيضاً على نواتج الميتابولزم التى تكون ذات تأثير مهم فى نظم المقاومة الحيوية لما بعد الجمع. هذه الأنظمة تشمل المضادات الحيوية أو إنزيمات تحطيم جدار الخلية. إن بناء المضادات الحيوية بواسطة الكائنات الحية الدقيقة، يتحكم فيه نظام نيتروجينى ثم يعرض لكبح أيضى. إن شكل وتركيز النيتروجين والكربون يمكن أن يكون مهماً فى بناء وإفراز المركبات التى هى أساسية لنجاح المقامة الحيوية.

كذلك وجد أن بعض الأملاح تشجع نشاط الخميرة المضادة لكل من *Botrytis cinerea* و *Penicillium* expansum ثمار التفاح المجموعة، ووجد أن كلوريد الكالسيوم بتركيز ٢ ٪ هو أفضل الأملاح المؤثرة وقد انتشر استعماله فى المقاومة الحيوية على نطاق واسع ضد كثير من الكائنات الممرضة.

وجد أيضاً أن بعض المواد العضوية، يمكن أن تحسن المقاومة الحيوية على السطوح الهوائية النباتية. وجد أن إضافة الـ Chitin على أوراق الفول السودانى، يساعد فى زيادة التجمعات البكتيرية المحللة للشيتين من البكتيريا *Bacillus cereus*، وإن هذه العملية أدت

إلى خفض كبير فى الإصابة المبكرة لتبقع الأوراق السيركوسبورى *Cercospora arachidicola*، كذلك إستعملت مادة hydrolyzed ctellulose وبعض أنواع Vegetable oils لتحسين التصاق ونشاط *Chaetomium globosum* لمقاومة أمراض المجموع الخضرى فى التفاح. كذلك يمكن تحسين المقاومة الحيوية لأمراض التفاح بإضافة Carboxy methyl cellulose مع الكائن المضاد *Trichoderma harzianum*.

٣- مخلوط الكائنات المضادة

ذكر Baker & Cook سنة ١٩٨٤ أن أفضل طريقة لتحقيق مقاومة حيوية ناجحة، هو استعمال مخلوط من عديد من الكائنات المضادة وليس واحداً فقط. يمكن القول كقاعدة عامة أن التركيبات من المخاليط المترافقة فى الطبيعة، تكون أكثر ثباتاً. إن مثل هذا المخلوط يجب أن يكون محتوياً كائنات متكاملة وليست متنافسة.

إن استعمال أكثر من كائن مضاد واحد، يمكن أن يحقق فوائد عديدة، عندما يمثل يكون مخلوط الكائنات الدقيقة تنوعاً فى ميكانيكية المقاومة الحيوية. هذا الإجراء يمكن أن يقلل فرصة الكائن الممرض فى التغلب على التثبيط الواقع عليه من قبل عامل المقاومة الحيوية المفرد، إذا كانت هناك فرصة للكائن الممرض أن يقوم بذلك.

يجب أن يؤخذ بعين الاعتبار، أن كائن مضاد واحداً قد لايكون فعالاً فى مقاومة جميع الكائنات الممرضة المهمة على محصول واحد. حتى عند استعمال المبيدات الفطرية الكيماوية، غالباً، فإن المبيد الواحد قد لايكون كافياً، على الأقل يجب استعمال اثنين من المبيدات الفطرية متحدين ومتوافقين لمقاومة أمراض ما بعد الجمع فى ثمار اللوزيات. هذا بسبب أن المبيدات الفطرية الفعالة ضد العفن البنى فى اللوزيات لاتعطى مقاومة ضد عفن رايزوبس، وهو مرض خطير جداً على اللوزيات بعد الجمع. إن المبيد الفطرى الذى يقاوم عفن رايزوبس، ليس له تأثير على العفن البنى. الفكرة نفسها تطبق على الكائنات المضادة الداخلة فى المقاومة الحيوية. لقد وجد أن المخلوط من الكائنين المضادين *Acremonium breve* و *Pseudomonas* spp. تعطى مقاومة شاملة وفعالة ضد أمراض ما بعد الجمع فى التفاح المتسببة عن *Penicillium expansum* و *Botrytis cinerea* وتكون النتيجة أفضل من استعمال كل منهما بمفرده.

هناك عدة نقاط يجب مراعاتها عند خلط عوامل المقاومة الحيوية:

١- أن يكون كل منهما فعالاً ضد الكائن الممرض المستعمل ضده.

٢- ألا يكون بينهما تنافس سواء على الغذاء أو المكان ولايكون بينهما تضاد.

٣- أن يكون المخلوط الناتج ثابتاً تحت الظروف البيئية المختلفة ومقاوم للمبيدات الكيماوية.

٤- التداخلات الوراثية Genetic Manipulation

مع أنه من الممكن تصور أن التداخلات الوراثية فى النبات العائل، يمكن أن تحسن المقاومة الحيوية، إلا أن التداخلات فى الكائن المضاد، يمكن أن تكون أكثر ملاءمة وإجراءً واقعياً لتحسين قدرته على المقاومة الحيوية. من المعروف جيداً أن الاختلافات الوراثية، تكون كثيرة بين سلالات الكائنات الدقيقة المضادة. الجينات التى تمنح قدرة عالية من التنافس أو الفعالية، للكائنات الدقيقة المضادة، يمكن أن تستعمل عن طريق اختيار أو تكنولوجيا إعادة الاتحاد فى الـ DNA. الجين المرغوب الذى يحدث أو يحقق صفات جيدة فى الكائنات المضادة يجب أن يدخل أو يوفر فى الكائن الدقيق الصفات الآتية:

١- المقدرة على استعمال مركبات العائل الأساسى.

٢- المقدرة على استعمال المركبات المضافة التى تلائم الكائن المضاد.

٣- تحمل مبيدات الآفات.

٤- استعمار سطوح العائل تحت ظروف المخزن.

٥- بناء المركبات التى تشارك فى التضاد، مثل المضادات الحيوية، الإنزيمات، السايدوفورز أو بروتينات مستقبله للسايدوفورز.

لقد إستعمل كثير من العلماء منهم Papavizas & Lewis الأشعة فوق البنفسجية ثم أتبعوا ذلك عمليات اختيار وذلك للحصول على عزلات من أنواع *Trichoderma* متحملة للمبيدات الفطرية، وزيادة إمكانية المقاومة الحيوية، ضد الأمراض الكامنة فى التربة. كذلك فإن العالم Tronsmo قام بتحسين المقاومة الحيوية للفطر *Botrytis cinerea* على التفاح عن طريق اختيار عزلات من الفطر *Trichoderma*، قادرة على النمو على حرارة منخفضة

نسبياً تعادل تلك الحرارة الجوية التى تكون سائدة وقت التزهير، عندما تحدث الإصابة الأولية. مثل تلك الاجراءات يمكن تطبيقها على الكائنات الدقيقة المضادة، التى تستعمل فى المقاومة الحيوية لأمراض ما بعد الجمع.

إن طرق إعادة الاتحاد بين أجزاء الـ DNA هى التى تؤهل الجينات لكى تدخل بدقة بالغة من خارج التجمعات الجينية لكى تقوم بعملها فى الكائنات الحية الدقيقة. كذلك يمكن التحكم فى الجينات التى تؤثر فى ميتابولزم الكائن الدقيق، بحيث يؤدى ذلك إلى زيادة إفراز المضادات الحيوية أو الإنزيمات. إن التداخلات الوراثية قد أجريت كثيراً فى التجارب على البكتيريا وأثبتت نجاحها، وهى لاتزال فى البداية بالنسبة للفطريات.

II: دمج المقاومة الحيوية بطرق مقاومة أخرى

Integrating Biocontrol With Other Control Strategies

مقـــدمة:

إن إنتاج الفواكه والخضروات الطازجة وانتقالها من المنتج (المزرعة) إلى المستهلك، تمر فى سلسلة من الحوادث، وبالتالى فإن المقاومة الملائمة للمرض، تعتمد على عدد من الإجراءات المستخدمة خلال هذه السلسلة من الأحداث. فى حالة غياب المبيدات الفطرية الصناعية، يكون من الأهمية بمكان إحداث دمج فى طرق المقاومة المختلفة بالإضافة إلى المقاومة الحيوية.

أ: التوافق مع الإجراءات العادية

يمكن أن يكون لتوافق الكائنات المضادة مع الاجراءات الزراعية والشروط الصحية والقوانين التجارية، أهمية فى تشجيع وتكشف عوامل المقاومة الحيوية لاستعمالها بعد الجمع. من المفضل أن تكون الكائنات المضادة المستعملة فى المقاومة الحيوية غير متأثرة بالمبيدات الكيماوية (سواء قبل أو بعد الجمع)، وأن تستعمل بعد تغليفها بالشمع، وأن تبقى حية مدة طويلة (سقف حياة مرتفع) وتقاوم الحرارة، الرطوبة وظروف المخزن خلال التخزين. كما ذكر سابقاً فإن أى تغيير فى البيئة لتلائم الكائن المضاد، يجب أن ينظر إليها بعين الاعتبار

من حيث التأثيرات التى تحدثها فى العائل والكائن الممرض. السلالة *B-3* من البكتيريا *Ba-cillus subtilis* ذات تأثير مضاد ضد العفن البنى فى اللوزيات، وجد أنها متوافقة مع الشمع التجارى، ومبيد الراى كلوران (المستعمل لمقاومة عفن الرايزوبس) وحرارة المخزن الباردة. إن التوافق بين الميكروبات المضادة والمبيدات الفطرية الصناعية يسمح بحرية الاختيار لاستعمال الكائن المضاد بالتوافق مع المستويات المنخفضة من المبيدات الفطرية. فى التجارب الرائدة التى استعمل فيها الخميرة المضادة *Pichia guilliermondii* سلالة US-7 على ثمار الحمضيات، فإن الخميرة كانت متحدة مع المبيد الفطرى ثيابندازول (TBZ) بنسبة ٠,١ الكمية الموصى بها لخفض تحلل الثمار إلى المستوى المساوى لتلك المستعملة فى المعاملة التجارية من TBZ فى المعدل الكامل.

ب: طرق مكملة للمقاومة الحيوية

هناك عدد من الإجراءات الوقائية تستعمل لخفض الفاقد نتيجة أمراض ما بعد الجمع. هذه الاجراءات استعملت كبديل للمبيدات الفطرية العادية، بعض هذه الإجراءات حديث نسبياً والبعض الآخر معروف منذ مدة، ولكن أعيد إليه الاهتمام بسبب الظروف الحياتية التى تطلب تقليل الضرر أو الأضرار المحتملة من المبيدات الفطرية المستعملة لما بعد الجمع. الطرق التى يمكن أن تستعمل لوحدها أو كجزء من اتحادات، تشمل، المعاملة بالحرارة، المقاومة المستحثة بالأشعة فوق البنفسجية، الراشح الكالسيومى، المعاملة بمركبات General Regarded as safe (GRAS) التى تستعمل بشكل عالم كمنكهات للطعام، والمنتجات الطبيعية المشتقة من النباتات. هذه الطرق يمكن استعمالها مع عوامل المقاومة الحيوية لتنتج تأثيرات مكملة أو متعاونة ضد الأمراض.

مع أن الميكروبات المضادة يمكن أن تكون فعالة عندما تتواجد، قبل أو فوراً بعد وصول الكائنات الممرضة على سطوح المنتجات الزراعية، إلا أنه من غير المحتمل أن تقاوم الإصابات الكامنة أو الابتدائية. هذا الضعف فى المقاومة الحيوية يمكن أن يعوض بواسطة طرق مقاومة أخرى ضمن نظام سلامة المنتجات. إن المعاملة بالحرارة ليس لها أثر متبقٍ كما هو متوقع بالنسبة للكائنات المضادة، وعلى كل حال فإن استعمال الحرارة على بعض المنتجات الزراعية، يمكن أن تكمل المقاومة الحيوية عن طريق قتل الكائنات الدقيقة التى تكون قد دخلت البشرة الخارجية أو طبقة الخلايا الخارجية. كذلك فإن تعقيم سطوح المنتجات

الزراعية قبل استعمال عامل المقاومة الحيوية، من المحتمل أيضاً أن يعطى الكائن المضاد فائدة فى عمله نظراً لاختفاء المنافسة المتوقعة بين الكائنات الأخرى وعامل المقاومة الحيوية. هذا الإجراء مماثل لما يحدث عند تعقيم التربة قبل إضافة الكائن المضاد إليها.

- كذلك فإن معدل نجاح المقاومة الحيوية يمكن أن يحسن أيضاً، عن طريق دمجها مع الطرق التى تزيد مقاومة العائل (مثل: التربية الكلاسيكية للنبات، الانتقاء، المقاومة المستحثة، الهندسة الوراثية) مثل هذه المقاومة يمكن أن تخفض حدوث ونشاط الإصابات الكامنة فى الأنسجة الداخلية والتى تكون بعيد عن الاتصال عن الكائن المضاد.

المواد المضادة للفطريات (مركبات GRAS أو المنتجات النباتية الطبيعية) والتى تثبط اختيارياً الكائنات الممرضة، يمكن أيضاً أن تستعمل متحدة مع عوامل المقاومة الحيوية، حيث أنها تجعل الكائنات الممرضة ضعيفة وتصبح معرضة للهجوم من قبل الكائنات المضادة.

كذلك فإن الأغلفة الطبيعية التى يمكن استعمالها فى المستقبل على المنتجات الزراعية، يجب أن تصمم بحيث تعيق الكائن الممرض من خلال تثبيط فعل و/أو تشجيع عوامل المقاومة الحيوية عن طريق تزويدها بالمغذيات وتوفر الظروف الطبيعية لنشاطها وأن تكون غير ضارة بالمستهلك الآدمى.

هـ: إنتاج عوامل المقاومة الحيوية بكميات كبيرة واختبارها فى مقاومة أمراض ما بعد الجمع

Large - Scale Production and Testing of Biological Control Agents For Postharvest Diseases

مقـــدمة:

هناك جسر (كوبرى) بين النظرية والتطبيق، يمكن أن يبنى عندما تؤدى المبيدات الميكروبية للآفات عملها بالتمام فى الأوضاع التجارية. إن أدوات النقل التى دائماً تستعمل فى التعامل ابتداءً من أطباق بترى إلى عمليات الإنتاج الضخمة، تشمل جميع عمليات التقييم المحتملة. إن إجرءات التقييم لعملية إنتاج المبيدات الحيوية للآفات، تنشأ من الأصل العام من

علم الحياة. جميعها تبدأ على قاعدة أبحاث متوجهة إلى أساسيات الحياة وخاصة الكائنات الدقيقة ومدى العمل الذى تقوم به.

إن موضوع المقاومة الحيوية لأمراض بعد الجمع، لايزال فى المراحل الأولى من النشأة، هناك معلومات قليلة جداً التى يمكن أن يؤسس عليها فكرة ودليل هادٍ لمستقبل التصنيع. الخطوة الأولية للتكشف التجارى لأى عامل من عوامل المقاومة الحيوية يمكن أن تحقق بواسطة الكائن المضاد الكفء حسب معايير معينة مبنية على الدراسات المعملية.

إن ظهور المبيدات الفطرية الحيوية لمقاومة أمراض ما بعد الجمع، يكون فى البداية ناتجاً عن بعض الاقتراحات التى تحث على تحليل وضبط فعالية الكائنات المضادة فى البيئة المعزولة، فى البحث العلمى. بعد التأكد من فعالية هذه الكائنات المضادة فى المقاومة الحيوية، فإنها تخضع لعمليات إنتاج ويطلق على أماكن إنتاجها مصانع التعليب، وهذا الإنتاج يتطلب كثيراً من الجهد والمال. إن استغلال الجهد والمال فى مثل هذا الاكتشاف يكون مشجعاً اعتماداً على نقطتين مهمتين: الأولى والأهم هو أن معظم المبيدات الفطرية الكيماوية سوف تسقط وتسحب من السوق، لأسباب طبية وبيئية، أما الثانية: فهى استمرارية ظهور سلالات من الكائنات الممرضة مقاومة أو متكيفة مع هذه المبيدات، وبالتالى تقل كفاءة هذه الكيماويات فى المقاومة، مما يؤدى إلى رفع معدل الاستعمال، وهذا يؤدى إلى زيادة تلوث البيئة وزيادة التكاليف وهنا نعود إلى النقطة الأولى.

زيادة على ذلك فإن بيئة ما بعد الجمع، يبدو أنها تمثل أفضل محيط أو بيئة للمناوة الحيوية، أفضل من تلك البيئة التى تكون سائدة تحت الظروف الحقلية. فى بيئة ما بعد الجمع، غالباً ما يكون من الممكن التحكم فى الحرارة والرطوبة. بالإضافة لذلك فان بيئة ما بعد الجمع هى صناعية Ecological island منفصلة عن التأثير المنظم للأنظمة الخارجية الميكروبية الطبيعية. مثل هذه الظروف تناسب استعمال الكائنات المضادة المدخلة فى البيئة للمقاومة الحيوية.

١- الميكروبات المضادة:

الخطوة الأولى فى تكشف عامل من عوامل المقاومة الحيوية تجارياً، تتحقق عن طريق كفاءة الكائن المضاد طبقاً لمعايير معينة على أساس الدراسات المعملية. لقد درس كل من

Wilson & Wisniewski سنة ١٩٩٢، اقتراحين أساسيين متوفرين لاستعمال الكائنات الحية الدقيقة المضادة، أحدهما هو كبح المرض عن طريق زيادة التجمعات السطحية من الكائنات الحية الدقيقة المضادة والتى من الممكن أن تزيد فى مقاومة ومنع انتشار المرض خلال التخزين. الاقتراح الثانى هو أن الكائنات المضادة يمكن أن تدخل صناعياً فى مواقع الجروح للمنتجات الزراعية المخزنة، عن طريق بعض التداخلات المعينة والتى يمكنها أن تزيد وتسبب مقاومة المرض. هذا الاقتراح مهم فى عالم الصناعة.

مع أن المعايير للكائن المضاد المثالى كثيرة، إلا أن المعايير المرغوب فيها لمتطلبات السوق الصناعية هى:

١- الثبات الوراثى.

٢- فعالية عالية وثابتة.

٣- المقدرة على البقاء حية تحت الظروف البيئية المعاكسة (سقف حياة طويل).

٤- أن يكون فعالاً ضد مدى واسع من الكائنات الممرضة على أصناف مختلفة من الفواكه والخضار.

٥- أن يكون ذا متطلبات سهلة للنمو، على بيئة رخصية الثمن من المهيجات (المواد المتخمرة).

٦- أن يكون ثابتاً ومستمر الفعالية لغاية آخر مدة التخزين.

٧- لا يُكوّن منتجات ثانوية للميتابولزم تسبب أضراراً للإنسان.

٨- أن تكون سلالاته مقاومة للمبيدات الفطرية القياسية.

٩- أن يكون متوافقاً مع المعاملات الكيميائية والفيزيائية الأخرى التى تعامل بها المنتجات الزراعية مثل المعاملة بالحرارة والشمع.

يمكن الحصول على الكائنات الدقيقة المضادة من عدة مصادر، وعلى أية حال فإن أكثر المصادر التى يمكن وضعها فى عين الاعتبار، هى ميكوفلورا سطح الورقة أو سطوح الثمار أو المنتجات الزراعية الأخرى التى يراد حفظها. لكى يكون هناك اختيار فنى ودقيق للكائن المضاد يجب إتباع ما يسمى (Silver bullet) الكرة الفضية، وهذا ما اقترحه Spurr & Knudsen . من أكثر العوامل المبشرة بالنجاح فى الأغراض التجارية، هى عمليات الإنتاج

الكبير المبنى على القدرة الفعلية للتكاثر للكائن المضاد. لقد ذكر Jutsum سنة ١٩٩٢ أن للصناعة دوراً قوياً فى ادخال عوامل المقاومة الحيوية فى برامجها لمقاومة الآفات. إن الاهتمام الكبير للباحثين ينصب على البكتيريا، ثم يلى ذلك الفطريات، وذلك لأنها أسهل فى الاستخدام لإنتاج كميات، كبيرة فى المشروعات الصناعية التى هى متوفرة الآن. زيادة على ذلك فإنه على الرغم من التقدم الواضح الذى قد وصل إليه فى السنوات الأخيرة لتأسيس المفهوم الأساسى للمقاومة الحيوية لأمراض ما بعد الجمع، إلا أنه لاتزال هناك فجوة بين المعلومات الحالية التى نحصل عليها من مراكز الأبحاث، وفعالية الكائنات الدقيقة المختلفة كنظام لمقاومة الآفات فى البيئة الطبيعية.

أولى التجارب الناجحة والرائد، هى التى وضعت بواسطة Pusey *et al* سنة ١٩٨٤لمقاومة مرض العفن البنى المتسبب عن *Monilinia* على الخوخ. هناك أبحاث أخرى عديدة أجريت على أساس افتراض أن الخمائر الناتجة من الميكوفلورا لسطح الأوراق، عندها كفاءة لتصبح منتجاً تجارياً يحقق المعايير المذكورة سابقاً للمبيد الفطرى الحيوى المثالى. ولقد ثبت أن السلالة US-7 من الخميرة *Pichia guilliermondii* تستعمل على نطاق تجارى واسع فى المقاومة الحيوية لأمراض بعد الجمع تحت مسمى ARO، فى اسرائيل و ARS فى الولايات المتحدة، والشركة المنتجة تسمى *Ecogen*. كذلك فان السلالة I-182 من *Candida* sp تستعمل أيضا فى المجال نفسه. ولقد أجريت تجارب السمية ونهاية الصلاحية End use product فثبت عدم تأثيرها السام على الإنسان أو الحيوان.

٢- الإنتاج الكمي للكائن الدقيق

تقوم صناعة المبيدات الحيوية، أولاً وأخيراً على القدرة لاختيار ميكروبات متوقع أن تكون فعلاً قادرة على إنتاج كمى كبير بالرغم من نموها تحت ظروف غير طبيعية نوعاً ما، وعلى الرغم من أن العمليات تكون ذات تكلفة عالية. إن أساس التجارب العملية مبنى على ما يسمى Fermentation (هذا يعنى إنتاج كميات كبيرة من الميكروبات عن طريق الـ Fer-mentation). وهذا يتضمن اختيار ظروف فسيوكيماوية مناسبة وبيئات مناسبة للنمو وتكاثر خلوى غزير فعال. إن النقطة المهمة بين أخصائيى الـ Fermentation هى التكلفة الفعلية، وأن تكون العملية متصلة بنظام الـ Fermentation المغمور. يجب أن تنتهى العملية ضمن ٢٤–٣٠ ساعة ويجب أن تعتمد بيئة النمو على مخلفات صناعية. جميع هذه المتطلبات

المذكورة سابقاً يجب أن تتحقق لحدوث عمليات الإنتاج الكمى في الخميرة المضادة. عند تعرض تجارب التكاثر لأفضل وسائل نمو (Fermetation) ، تصبح الخلية قادرة على التكاثر بأعداد كبيرة فتصل إلى ١٠٠٠ ضعف خلال ٢٠ ساعة فى عمليات التخمر المغمورة. هناك بعض أنواع المواد المختارة التى تستعمل فى البيئات الغذائية جدول رقم ٩. كذلك وجد أن البيئة المكونة من مخلوط محلول منقوع الذرة (بقايا مواد مستخلصة من صناعة النشا) والسكروز، يمكن أن تستبدل بمصادر طاقة أخرى مثل المالتوز، من البيئات المفضلة.

إن عملية التكلفة الفعلية هى شرط أساسى لعمليات الإنتاج الكمى، بسبب أن هذا المنتج يجب أن يثبت وجوده فى السوق ويدر أرباحاً على محترفى صناعة الكائنات المستعملة فى المقاومة الحيوية لأمراض بعد الجمع، والتى تكون منافسة لعمليات إنتاج المبيدات الفطرية، وبالتالى فإن خفض تكاليف الإنتاج تجعل سعر هذه المواد فى مقدرة على منافسة أسعار المبيدات الكيماوية.

جدول رقم ٩ : تأثير مواد المخلفات الصناعية على نمو الخميرة *Candida* Sp. سلالة I-182 وكفاءتها فى تثبيط نمو الفطر *Penicillium digitatum* فى المعمل.

بيئة النمو	عدد الخلايا بعد		٪ تثبيط نمو الفطر بنيسيليوم
	٢٤ ساعة	٤٨ ساعة	
NYDB	٥×١٠^{٨}	٧×١٠^{٨}	٩٤
CSM	٩×١٠^{٧}	٦×١٠^{٧}	–
CSL	٥×١٠^{٨}	٢×١٠^{٨}	٨١
Soybean meal	١×١٠^{٤}	٢×١٠^{٣}	–
Bone meal	٢×١٠^{٨}	٣×١٠^{٨}	–
Tomato juice	٣×١٠^{٨}	٣×١٠^{٨}	–
CSL + glucose	$٣,٥ \times ١٠^{٨}$	$٢,٨ \times ١٠^{٨}$	–
CSL + Sucrose	$٦,٥ \times ١٠^{٨}$	$١,١ \times ١٠^{٩}$	٩٤
CSL + Sucrose + NaCl	١٩×١٠^{٨}	١×١٠^{٩}	–
CSL + Soymeal	$٢,٣ \times ١٠^{٨}$	$٢,٣ \times ١٠^{٨}$	٩٢
CSL + CSM	١×١٠^{٨}	$١,٣ \times ١٠^{٨}$	٨٠
Orang peel extract	$٢,٧ \times ١٠^{٧}$	٣×١٠^{٧}	٨٩

NYDB = مغذيات ، أجزاء من الخميرة ، مرق الدكستروز . CSM = مجروش بذور القطن. CSL = محلول منقوع الذرة

٣- التحكم في نوعية المنتج:

المقدرة على التكاثر، هو السلوك أو الصفة المطلوبة غالباً للمنتج الحقيقى. وهذا يمكن أن يتحقق عن طريق توفير أدلة قوية تتفق مع الكفاءة النوعية (Quality Assurance (QA، والتى هى المقياس المحدد لقبول أى منتج فى السوق. بالنسبة لـ QA فى مبيدات الآفات، تعتمد على تنظيم فعالية الاختبارات فى المعمل وفى الحقل، والتى تكون غالباً الطرق السائدة فى التقييم. أما اختبارات الفعالية فهى فى أبسط أمورها، تلك الاختبارات التى تقيس استجابة المنتج لأى تأثير من عائق خارجى. الطرق نفسها تستعمل لتوضيح طريقة عمل أى كائن دقيق معين للمقاومة الحيوية، ويصبح مفتاح الأدوات فى أيدى الصناعيين لتحديد نوعية المنتة فى كل دورة تخمير. فى نهاية العملية وخلال تخزين المنتج، يجب أن تؤهل كل دفعة وتأخذ شهادة حسب سلوكها فى إختبار QA وبالتالى فإن اختبار الفعالية الحقيقية مهم كأهمية الإنتاج الكمى للنجاح فى تطوير المنتج للسوق.

الاختبارات المعملية والتى عادة ما تصمم للاختيار السريع والتنقية للكائنات المضادة الجديدة، تستعمل بطريقة معينة بحيث يمكن تقييم دفعات التخمير فى نهاية كل دورة. الاختبارات المعملية مبنية على كفاءة خلايا الخميرة لتثبيط إنبات الجراثيم الفطرية على بيئة صناعية تحتوى الحد الأدنى من المغذيات. هذا التكنيك بسيط ويمكن تكراره، ولكن ينقصه العلاقة المطلوبة مع النتائج المرغوبة لمقاومة المرض كما يظهر من التجارب الرائدة. وبالتالى فإن الاختبار فى الحقل على الجروح الصناعية المحدثة فى المنتجات الزراعية قد تم إضافته إلى إجراء الـ QA. فى هذا الاختبار فإن معلق الخلايا بتخفيفات متتابعة يضاف إلى الجروح مع كمية معروفة من الجراثيم الفطرية (الممرضة)، والنتيجة التى يتحصل عليها تعتمد على عدد الأيام اللازمة لتثبيط المرض، تؤكد النتائج المتحصل عليها ما هو متحصل عليه فى الاختبارات المعملية.

يجب أن تكون اختبارات الفعالية متناولة لعدة نقاط أثناء عملية الإنتاج وهى:

١- تستمر عملية التخمير لمدة ٢٠ ساعة فقط.

٢- تجمع الخلايا المتكونة فى المدة السابقة.

٣- تحديد نهاية تخمير المنتج.

إختبارات التحكم بالنوعية للكائنات المضادة والتى تعمل عن طريق فعالية مكونات المطهرات الفطرية، تكون سهلة نسبياً لتراقب بالتحليل الكيماوى، نفسها تصبح معقدة حيث وظائف الكائن المضادة عن طريق الأماكن المشغولة و/أو المنافسة على أماكن الغذاء بالإضافة إلى الاتصال المباشر. هذا الإجراء طبق فى حالة المقاومة الحيوية لأعفان الحمضيات ومقاومة *B. cinerea* على التفاح، وهذا يختلف عن نظام QA الذى يستعمل التحليل الكيماوى هنا، الإشارات المقاسة تكون موضوعية نسبياً ومملة. وكجزء من تطور المخطط يصبح أكبر أهمية لتأسيس أسرع وأبسط تقنيات QA بسبب الروتين العام المتبع فى الصناعة، حيث أن كل دفعة من الإنتاج يجب أن تخضع لإختبارات QA قبل استعمالها فى النباتات أو أماكن التخزين.

٤- تشكيل المنتجات Product Formulation

الأساس أو القلب أو الحامل لأى مبيد ميكروبى، يكون عبارة عن عجينة بها تركيز عال من الخلايا التى تكون قد جمعت بعد عملية التخمير، لكى يمكن تحضير هذا المركب طازجاً ويصبح منتج تجارى يجب أن يكون متوافقا مع معيارين أساسيين، هما:

١- أن يكون قادراً على حمل وحفظ أكبر كمية من الكائنات المضادة للمرض فى ظروف بيئية مختلفة.

٢- أن يكون ثابتاً أثناء التخزين لفترة طويلة، وهذا ما يطلق عليه، أن يكون ذا سقف حياة مرتفع لعدة شهور.

كل عامل ميكروبى يختار لأن يعرض فى السوق، يكون ذلك فقط عندما يمر بنجاح فى جميع الخطوات المتتابعة فى الاختبارات الحيوية فى المعمل وفى الحقل. وعلى أية حال فإن دخول عامل المقاومة الحيوية إلى الموقع الحقيقى فى الحقل أو فى مصانع التعليب يجعله تحت ظروف طبيعية أكثر قساوة، وبالتالى فإن عامل المقاومة الحيوية يجب أن يزود بمركبات مختلفة يشار إليها باسم المحملات أو المضافات Additives. من بين هذه الإضافات المطهرات السطحية، مواد متميهة humectants وغيرها حيث تكون مقوية ومشجعة لنشاط عامل المقاومة الحيوية.

تضاف الحافظات إلى التشكيل قبل تخزينه، لكى تقلل من فقد كفاءة المطهر الفطرى، بعد ووصول التشكيل إلى سقف الحياة Shelf-life. أما بالنسبة للخمائر فيكون الهدف منه حفظ المنتج من أن تفقد خلاياه حيويتها نظراً لأن الخلايا من المتوقع أن تتكاثر فى مواقع الجروح عند الاستعمال، وبالتالى تتنافس مع الجراثيم النابتة للكائن الممرض. فى السنوات الأخيرة هناك عديد من منتجات المقاومة الحيوية قد شكلت، ولكنها قد صممت أساساً لمقاومة الحشرات.

مبيدات الآفات الحيوية، قبل أن توزع تجارياً يجب أن تمر خلال سلسلة من الاجراءات العامة المستعملة للكيماويات القياسية. وبناء على ذلك ليس من المفروض أن تكون هذه المنتجات نافعة فقط، بل يجب أن تخضع لتوصيات مماثلة لتلك المفروضة على المبيدات الكيماوية عند التعامل بها سواء فى الحقل أو مع العمال. ومن الصفات الأساسية لهذا المنتج أن يكون مسحوقاً قابلاً للبلل أو تشكيل يدخل فى أساسه الزيت. كذلك فإن اختيار المادة الحاملة للمسحوق أو الزيت يجب أن تأخذ بعين الاعتبار ضرورة أن تبقى ضمن إطار محدد من المتطلبات البيئية بحيث لا يتخطاها (كما فى حالة المادة الفعالة أيضاً يجب أن يكون الحامل مستوفياً لمتطلبات سلامة البيئة). من المتوقع أن الحامل يخلق بيئة مثالية للخلايا وبالتالى فإنها يمكن أن تبقى ثابتة فى المخزن وتقوم بدورها أثناء الاستعمال.

يحدث الحامل الوقاية للمادة الفعالة من خلال طرق مختلفة أهم هذه الطرق هى المحافظة على ثبات الرطوبة ودرجة الحموضة فى المناطق المجاورة للخلايا. المساحيق القابلة للبلل والتشكيلات ذات القاعدة الزيتية قد صممت لمنتجات الخميرة، ويكون الناتج سهل الإستعمال مثل المبيدات الفطرية الكيماوية ويباع فى عبوات يكتب عليها مدة صلاحيته وكفاءته. إن حيوية الخميرة ذات سقف الحياة الطويل، يمكن أن تتدخل فى إطالة مدة مقاومة الآفة.

حين استعمال المبيد الحيوى على المنتجات الزراعية، يجب على عامل المقاومة الحيوية أن يتغلب على بعض الصعوبات أو العقبات البيئية، مثل درجات الحرارة المرتفعة، انخفاض أو فقد الرطوبة وإشارات التحطم البيولوجى. وعلى أية حال فإن الظروف البيئية فى المخزن بعد الجمع تكون أكثر ملاءمة للكائن المضاد منها فى الحقل. وللحصول على أفضل إنجاز فيجب المحافظة على عامل المقاومة الحيوية باستمرار، وذلك بتزويده بالإضافات المناسبة المذكورة سابقاً. ثبت فى جميع التجارب أن هناك علاقة بين سرعة وصول خلية عامل

المقاومة الحيوية فى موقع الجرح ومعدل مقاومة المرض. وكذلك أثبتت التجارب المعملية أن هناك انخفاضاً فى نسبة التصاق تشكيل عامل المقاومة الحيوية مع سطوح الثمار الخارجية، وبالتالى فإن زيادة الالتصاق على سطح الثمار يكون باستعمال بعض اللاصقات حيث يزيد من كفاءة المقاومة الحيوية.

٥- الوقاية المستنيرة لأمراض ما بعد الجمع:

يكون المنتج المثالى لعامل المقاومة الحيوية عبارة عن تركيب، يشمل جراثيم أو الأجزاء التكاثرية للكائن المضاد محمولة فى عامل معين كما سبق وذكرنا. هذا التركيب يعمل بمفرده ويستطيع أن يثبط الأعراض المرضيه دون الاعتماد على شدة المرض. وعلى أية حال، أحياناً ولأسباب مختلفة يكون عامل المقاومة الحيوية غير قادر على الإيفاء بهذه المتطلبات بنفسه. فى الأماكن ذات شدة المرض العالية، فإن الأقتراح فى هذه الحالة يكون عبارة عن استعمال اتحاد بين عامل المقاومة الحيوية ذى التأثير الوقائى وعامل المقاومة العلاجي، حيث إن المعاملة العلاجية تعتمد على استعمال المبيدات الكيماوية فقط. هذا الإجراء المستنير قد تقدم به Eckert سنة ١٩٨٩، الذى ذكر أن مقاومة الكائنات الممرضة الجرحية يجب أن تمر فى سلسلة من الإجراءات هى:

١- تطهير سطح الثمرة والبيئة المحيطة به.

٢- استئصال أو كبح الجراثيم النابتة فى موقع الجرح ، عن طريق اتحادات من المبيدات الفطرية.

٣- خفض قابلية الجرح للإصابة باستعمال مبيد فطرى وقائى مثل عوامل المقاومة الحيوية.

إن اقتراح الوقاية المستنيرة للآفات IPM يعتمد على مزج (خلط) المبيدات الفطرية الحيوية بكميات ذات تأثير قوى من المبيدات الفطرية المختلفة مثل Thiabendazole (TBS) للحمضيات أو Mertec و Captan لمنتجات الأشجار متساقطة الأوراق. تضاف المبيدات الفطرية الكيماوية دائماً بمعدل $^{1}/_{10}$ أو أقل من الجرعة الموصى باستعمالها.

عند تطبيق الوقاية المستنيرة للآفات نحصل على فائدتين: الأولى وقاية فعالية للآفة والثانية، جعل الأثر المتبقى للكيماويات فى أقل مستوى. ولقد ظهرت فائدة هذه الطريقة عند مزج منتجات الخميرة مع $^{1}/_{10}$ المعدل الموصى باستعماله من TBZ فى مقاومة *P. digita-*

tum و *P. expansum* على الحمضيات، والمبيد Mertec على التفاح. تدل النتائج فى جدول (١٠ ، ١١) على أن منتج الخميرة لوحده يمكن أن يثبط أعفان البنيسيلوم بنسبة ٥٠-٧٠٪ ولكن عند استعمال TBZ تصل نسبة الخفض إلى ٩٠٪. لذلك يوصى باستعمال هذه التركيبة المختلطة من عوامل المقاومة الحيوية مع المبيدات الكيماوية لمقاومة الأمراض شديدة الوطأة، ولكن الملاحظة المهمة هى أن عامل المقاومة الحيوية يجب أن يكون منخفض الحساسية بالنسبة للمبيد الفطرى.

جدول رقم ١٠ : النسبة المئوية لإصابة ثمار الجريب فروت بالعفن ومقاومتها بالخميرة *Candida* عزلة I-182.

تركيز عامل المقاومة الحيوية	٪ إصابة بالعفن
صفر	٩٥
٦١٠	٧٨
٧١٠	٦٢
٨١٠	١٠
٩١٠	٢

جدول رقم ١١ : النسبة المئوية لإصابة الجريب فروت بالعفن عند معاملتها بتركيز ٧١٠ وحدة تكوين مستعمرات لكل مل من الخميرة *P. guilliermondii* السلالة US-182 واستعمال المبيد الفطرى TBZ.

المعاملة	٪ إصابة بالعفن
كنترول مع المبيد لوحده	٨٠
كنترول مع الخميرة لوحدها	٤٠
مبيد لوحدة ٢٠ جزء فى المليون	٤٢
مبيد ٢٠ جزء فى المليون + خميرة	٣٨
مبيد ٥٠ جزء فى المليون	٥٠
مبيد ٥٠ جزء فى المليون + خميرة	٢٥
مبيد ١٠٠ جزء فى المليون	٣٨
مبيد ١٠٠ جزء فى المليون	٢٥

ثانياً: المقاومة الحيوية لأمراض بعد الجمع في التفاح
Biocontrol of Postharvest Diseases of Apples

I: مقاومة العفن الأزرق والرمادي وعين الثور

مقـــدمة:

تسبب أمراض ما بعد الجمع خسائر كبيرة فى إنتاج التفاح. هناك أكثر من ٩٠ نوعاً من الفطريات ذكرت ووصفت بأنها تسبب تحلل ثمار التفاح أثناء التخزين. تعتمد أهمية كل كائن ممرض على المناخ وظروف التخزين. هناك مرض حديث اكتشف فى ألمانيا سنة ١٩٨٨ بواسطة العالم Kennel يسبب عفن ثمار التفاح، ويسمى مرض عفن عين الثور فى التفاح Bull's Eye Rot ويتسبب عن *Pezicula malicorticis* وهو أهم أمراض التفاح فى المخزن. يهاجم الكائن الممرض ثمار التفاح عن طريق الجروح وعن طريق العديسات فى أواخر موسم النمو أو بعد الجمع. هناك كائنان مهمان أيضاً يهاجمان التفاح بعد الجمع الكائن الأول يسبب مرض العفن الأزرق، وهو الفطر *Penicillium expansum*، والثانى يسبب مرض العفن الرمادى وهو الفطر *Botrytis cinerea* وكلا الكائنين ممرضات جرحية، وتسبب خسائر كبيرة فى التفاح المخزن فى جميع مناطق زراعة التفاح.

إن مقاومة الكائنات الممرضة لما بعد الجمع، لاتزال تستعمل بشكل أساسى المبيدات الفطرية الصناعية، ولكن تكشف كائنات ممرضة مقاومة للمبيدات الفطرية، والصيحات العالمية لتخفيض استعمال مبيدات الآفات، كل ذلك شجع زيادة الأبحاث لوضع إستراتيجية بديلة لمقاومة أمراض ما بعد الجمع. إن استعمال الخميرة أو السلالات البكتيرية لمقاومة أمراض التحلل بعد الجمع فى عديد من الفواكه المتسببة عن الفطريات الممرضة، قد درس دراسة مستفيضة، وهناك أمثلة عديدة ناجحة موجود فى المقاومة الحيوية لأمراض بعد الجمع فى التفاح. فمثلاً فى الولايات المتحدة فإن سلالة 182 للخميرة *Candida deophila* تباع تجارياً تحت اسم (Aspire Ecogen Inc., Langhorne PA). والبكتيريا المسماة *Pseu-domonas syringae strain* ESC10 , ESC-11 وتباع تجارياً تحت اسم Bio-Save 11; و Eco Science, Worcester, Bio- Save 10 MA تستعمل على نطاق تجارى كمبيدات فطرية حيوية لأمراض بعد الجمع.

لقد درست المقاومة الحيوية لأمراض تحلل الثمار فى المخزن، بالكائنات الدقيقة المضادة بشكل أساسى تحت ظروف بيئة متحكم بها. ونظراً لأن أعراض إصابة الثمار بعد الجمع بالكائنات الممرضة غالباً ما تكون نتيجة الإصابة المسبقة فى الحقل قبل الجمع، فانه من المفضل والمفيد استعمال هذه الكائنات قبل الجمع. ولكي ينجح هذا الإجراء، فإنه السلالات المفترض أن لها دوراً فى المقاومة الحيوية، يجب أن تتوفر فيها بعض الصفات، مثل تحملها لقلة توفر المغذيات، استعمال الأشعة فوق البنفسجية، الحرارة المنخفضة وتغير المناخ.

لقد وجد أن الخميرة الحمراء *Aureobasidium pullulans, Rhodotorula glutinis* والبكتيريا *Bacillus subtilis*، كائنات دقيقة شائعة الوجود (مستوطنات) سطوح الثمار والأوراق وذات درجة تحمل عالية من الجفاف والأشعة. كذلك فان استعمالها قبل الجمع له فوائد كثيرة يحقق الشروط التى وضعتها اللجنة المنظمة لإدارة المقاومة المستنيرة للافات فى أوروبا، بعدم استعمال الكائنات الدقيقة بعد الجمع فى الثمار والخضروات.

مقاومة أمراض العفن في التفاح:

عند إجراء التجارب على عوامل المقاومة الحيوية، استعملت السلالتان CF10 و CF40 من *Aureobasidium pullulans*. والسلالة CF35 من الخميرة الحمراء *Rho- glutinis dotorula* والسلالتين AG704 و HG77 من البكتيريا *B. subtilis*. تبين من التجارب أن الكائنات المضادة تختلف فى مقدرتها على كبح جماح أمراض العفن فى التفاح (الأزرق والرمادى وعين الثور) كما فى جدول رقم ١٢. حيث تبين أن السلالات المتحدة لها تأثير فى فاعلية المقاومة الحيوية بالمقارنة مع استعمال كل سلالة بمفردها. كما أن استعمال خليط من سلالات CF10 + AG704 +HG77 كان أكثر كفاءة فى مقاومة الأمراض من خليط السلالات CF35 + CF10 + CF40. كذلك وجد أن كل سلالة بمفردها والسلالات مجتمعة كانت أكثر كفاءة ضد العفن المتسبب عن *Botrytis cinerea* و *Penicillium* أكثر منها ضد العفن الناتج عن *Pezicula malicorticis*.

جدول رقم ١٢ : تأثير فعل السلالات منفردة ومخلوطة مع بعض على عفن الثمار فى التفاح.

عوامل المقاومة الحيوية المستعملة	معاملة A			معاملة B		
	ملم قطر البقعة المرضية المتسببة عن			ملم قطر البقعة المرضية المتسببة عن		
	الفطر الأول	الفطر الثانى	الفطر الثالث	الفطر الأول	الفطر الثانى	الفطر الثالث
كنترول	٢٩	٢٨	١٣	٣١	٣١	١٣
CF35 + CF10 + CF40	٠٧	١٨	٠٩	صفر	صفر	٠٢
CF10 + AG704 + HG 77	٠٣	٨	٠٨	صفر	صفر	٠١
CF10	١٥	٢٠	١٢	٣	٣	٠٤
Cf40	١٧	٢٢	١٠	٢	٤	٣,٩
CF35	١٦	٢١	١٢	٧	٥	٣,٩٥
HG77	١٣	١٧	٩,٥	٨	٦	٤,١
AG704	١٨	١٨	٨,١	٨	١٠	٠٥,٠

ملاحظات على الجدول:

الفطر الأول = *B. cinerea* ، الفطر الثانى *Penicillium expansum* الفطر الثالث = *Pezicula malicorticis*

كانت تحقن جروح الثمار بمقدار (20ul) من الكائن المضاد. بمفرده أو من المخلوط.

معاملة A التركيز الفطرى فيها $^{٦}١٠$ خلية/مل وتركيز البكتيريا $^{٧}١٠$ خلية/ملم كائنات مضادة.

معاملة B التركيز الفطرى فيها $^{٧}١٠$ خلية/مل وتركيز البكتيريا $^{٨}١٠$ خلية/ملم كائنات مضادة.

كانت تعامل الجروح بمقدار (20ul) من الكائن الممرض تركيز $^{٥}١٠$ جرثومة/مل.

كانت تقاس أقطار البقع المرضية بعد ٤ أسابيع من الحقن على درجة حرارة ٤°م.

أما عندما كانت ترش الأشجار فى الحقل، فإنه بعد الرش بمخلوط (CF35 + CF10 + CF40) M1 ، فان تجمعات الخميرة الحمراء *A. pullulants* زادت إلى حجم أكبر منه فى الكنترول. فى الفترة ما بين شهر أغسطس حتى الجمع فى أكتوبر فإن عدد CFU (وحدة تكوين مستعمرات) ازداد من $^{٢}١٠$ وحدة تكوين مستعمرات/سم^{٢} إلى ٨ x $^{٣}١٠$ وحدة/سم^{٢}

من سطح الثمرة. أما حجم تجمعات هذه الخميرة عن الرش بمخلوط (CF10 + AG704 + HG77) M2 كانت أقل منها في المخلوط الأول. أما في الكنترول (عند الرش بالماء)، فان حجم التجمعات بقى ما بين ٢١٠ CFU /سم٢ و ٦ x ٢١٠ CFU /سم٢ من الثمرة. أما التجمعات الطبيعية للفطر نفسه على ثمار التفاح المعاملة بالمبيدات الفطرية كانت أقل من تلك التجمعات الموجودة في الكنترول.

تكون تجمعات الخميرة الحمراء *R. glutinis* أكثر على الثمار المرشوشة بالمخلوط الأول M1 منها على الثمار المرشوشة بالماء، وتصل إلى تجمع ٢ x ٤١٠ CFU/سم٢، أما تجمعاتها على الثمار المعاملة بالمبيدات الفطرية تكون أقل بالمقارنة مع الكنترول. أما حجم تجمعات البكتيريا *B. subtilis*، يختلف حسب المعاملة، فالتجمعات بعد الرش بمخلوط M2 تكون أكثر من الكنترول وتصل إلى أقصى حد لها حوالى ٨ x ٣١٠ CFU/سم٢ من سطح الثمرة.

في المخزن المبرد فان حجم تجمعات *A. pullulans* على التفاح المعامل بالماء يبقى أقل من ٢ x ٢١٠ CFU /سم٢ من سطح الثمرة. أما التجمعات على التفاح المعامل بمخلوط M1، فإنها تنخفض من ٨,٨ x ٢١٠ CFU / سم٢ من سطح الثمرة في الموسم الأول (أكتوبر) إلى ٤ x ٢١٠ CFU / سم٢ من سطح الثمرة في آخر مارس من الموسم الثاني. أما على التفاح المعامل بمخلوط M2 فينخفض التركيز من ٤,٨ x ٢١٠ CFU / سم٢ إلى ٣ x ٢١٠ CFU / سم٢. كذلك في المخزن نفسه المبرد، فإن حجم تجمعات الخميرة الحمراء في الكنترول تبقى أقل من ٢,٢ x ٢١٠ CFU / سم٢. أما على التفاح المعامل بمخلوط M1 فإنها تصل ٨ x ٢١٠ CFU / سم٢ في الموسم الأول (أكتوبر) وبعد ذلك فإن حجم التجمعات ينخفض إلى ٢ x ٢١٠ CFU / سم٢ في الموسم الثاني (مارس).

نتيجة استعمال عوامل المقاومة الحيوية في الحقل، فإن هذه الكائنات المضادة تثبط الكائنات الممرضة في المخزن جدول رقم ١٣، بالمقارنة مع الكنترول (المعامل بالماء) والمعامل بالمخلوط M1 سواء في الموسم الأول أو الثاني وكذلك مخلوط M2 في الموسم الأولى والثاني خفضت بشكل معنوى نسبة الإصابة بكل ثمار تفاح. المخلوط الأول M1 خفض عدد الثمرات المصابة في الموسمين، بينما المخلوط الثاني M2 كان فعالاً في الموسم الأول فقط. لم يظهر أي فرق معنوى بين كفاءة المقاومة الحيوية وبين المقاومة بالمبيدات الفطرية الكيماوية.

جدول رقم ١٣ : ثمار التفاح المريضة ونسبة الإصابة على كل ثمرة بعد ٦ شهور من التخزين المبرد.

المعاملة	الموسم الأول		الموسم الثانى	
	٪ ثمار مصابة	نسبة الإصابة فى الثمرة الواحدة	٪ ثمار مصابة	نسبة الإصابة فى الثمرة الواحدة
كنترول	٥,٦	٠,١٤٢	٩,٩	٠,١٧٦
دي كلوفلينويد	٢,٦	٠,٠٣٤	٦,١	٠,٠٨١
مخلوط M1	٣,١	٠,٠٤١	٦,٢	٠,١٠١
مخلوط M2	٣,٥	٠,٥١	٧,٤	٠,١٠٦

ملاحظات على الجدول:

كانت الإصابة تتسبب عن *Pezicula* sp.، *Penicillium* sp.، *Monilinia fructigena*. كانت تقرر الإصابة فى كل ثمرة على أساس متوسط عدد الإصابات فى كل تفاحة، فى كل معاملة.

II : استعمال الخميرة الأرجوانية في مقاومة العفن الأزرق والرمادي في التفاح

مقدمة:

أصبحت المقاومة الحيوية لأمراض ما بعد الجمع فى التفاح، طريقة مبشرة بالنجاح وجذابة لأن تكون بديلة لاستعمال المبيدات الفطرية الكيماوية، خلال العقدين الأخيرين من هذا القرن. بدأت هذه الطريقة فى الظهور عند ابتداء ظهور مشاكل استعمال المبيدات الفطرية الكيماوية، مثل انخفاض كفاءتها مع الوقت (نتيجة ظهور سلالات مقاومة) ومخاطرها الصحية على الإنسان والبيئة.

الأبحاث التى أجريت على المقاومة الحيوية لأمراض ما بعد الجمع فى الثمار، كانت قد نشطت بعد النتائج التى أثبتت أن البكتيريا *Bacillus subtilis* المعزولة من التربة، تثبط بقوة

حدوث العفن البنى المتسبب عن الفطر *Monilina fructicola* على ثمار اللوزيات. حدث تقدم كبير فى هذه الأبحاث عندما تبين أن بعض البكتيريا والخمائر كانت مضادة ومتوفرة فى المكروفلورا الطبيعية فى التفاح، ولديها المقدرة فى مقاومة مرض العفن الأزرق المتسبب عن الفطر *Penicillium expansum* والعفن الرمادى المتسبب عن *Botrytis cinerea* التى تصيب التفاح والكمثرى.

نتيجة الأبحاث المستمرة على أمراض ما بعد الجمع فى التفاح، تبين أن الخميرة الأرجوانية *Sporobolomyces roseus* المعزولة من ثمار الكمثرى، وجد أنها ذات تأثير قوى فى تثبط العفن الأزرق والعفن الرمادى على ثمار التفاح والكمثرى. تبين أن هذه الخميرة تتواجد بشكل طبيعى وشائع فى المناطق المعتدلة وتعزل بكثرة من سطوح النبات ومن الجو المحيط بالنبات ومن ماء البحر.

تواجد الخميرة:

لقد تبين أن الخميرة الأرجوانية *S. roseus*، مستوطنة مع المكروفلورا على كثير من النباتات وأجزاء النبات، شاملة أزهار ثمار التفاح الناضجة، والمتقدمة فى النضج وفوق النضج وكذلك على ثمار العنب الناضجة والطرية فى كل من Raspberries ، Black berries. يزداد تواجد هذه الخميرة كثيراً كلما تقدم موسم النمو، وغالباً ما تكون مترافقة مع تقدم أنسجة النبات فى العمر، والزيادة الطارئة للمغذيات على سطوح النبات. كذلك وجد أن هذه الخميرة تكون ذات كفاءة عالية فى استعمار سطوح أوراق القمح. كذلك فإن الخميرة تزيل بكفاءة الندوة العسلية للمن من على الأوراق، وبالتالى تقلل الأساس الغذائى للكائن الممرض *Cochliobolus sativus* وتقلل المرض. ولقد تبين أن التضاد بين الخميرة *S. roseus* والكائنات الممرضة الأخرى يكون مبنياً على المنافسة الغذائية.

تكون كفاءة هذه الخميرة فى المقاومة الحيوية جيدة ضد *Septoria nodorum* على أوراق القمح وضد *Cladosporium herbarum* على بعض أنواع الصنوبريات وضد الفطر *C. cladosporioides* على أورق نبات الزينة، فم السمكة وضد الفطر *Alternaria porri* على أوراق البصل.

مقاومة العفن الأزرق والرمادي في التفاح:

لقد وجد أن الخميرة *S. roseus*، تخفض أو تقاوم كلية تكشف العفن على الجروح فى ثمار التفاح جولدن دلشص، عند حقن الثمار بقطرات محتوية الفطر الممرض *Penicillium expansum* (العفن الأزرق) أو الفطر *Botrytis cinerea* مسبب العفن الرمادى.

لم يكتشف أية بقع على ثمار التفاح التى عوملت بالخميرة *S. roseus* عن طريق الغمر بتركيز ٧,٩ x ١٠^{٦} CFU لكل مل، ثم حقنت بالفطر الممرض *P. expansum* على تركيز ١٠^{٣} أو ١٠^{٤} كونيديا/مل جدول رقم (١٤)، أو بالفطر *B. cinerea* بتركيز ١٠^{٣}، ١٠^{٤}، أو ١٠^{٥} كونيديا/ مل جدول رقم (١٤). كانت هناك مقاومة تامة للفطرة *B. cinerea* تم الحصول عليها على الثمار المعاملة بالكائن المضادة بتركيز ٦,٣ x ١٠^{٥} CFU /مل.

يكون أكثر خفض فى النسبة المئوية للجروح المصابة عند استعمال أعلى تركيزات من الكائنات المضادة ضد الفطرين الممرضين. عند استعمال مستحضرات الخميرة رشاً فان الخميرة خفضت النسبة المئوية للجروح المصابة على الثمرة بعد استبعادها من المخزن بمدة ٣ وستة شهور جدول رقم ١٥ . لم يكن هناك فرق فى النتائج عند استعمال الكائنات المضادة والمعاملة بالمبيدات الفطرية الكيماوية على الثمار المستبعدة من المخزن بعد ٣ شهور، وعلى أية حال فإن الثمار المعاملة بالمبيدات الفطرية حدث لها أعلى نسبة تعفن فى المخزن بعد ستة شهور.

لقد زادت تجمعات الخميرة *S. roseus* فى جروح ثمار التفاح المعاملة بالتنقيط من ٢,٣ x ١٠^{٤} إلى ١,٩ x ١٠^{٦} CFU / جرح خلال الـ ٤٨ ساعة الأولى بعد معاملة الثمار فى المخزن وتخزينها على ١٨ْم. ثم انخفضت التجمعات ولكنها بقيت على أعلى ارتفاع بعد ١٩ يوماً. أما على الثمار المخزنه على ١ْم، فان تجمعات الخميرة تزداد وتتضاعف بعد ١٣ يوماً فى المخزن وتقف على هذا المستوى لمدة ٢٢ يوماً. أما تجمعات الخميرة فى جروح الثمار التى تعامل رشاً ازدادت من ١,٣ x ١٠^{٤} CFU / جرح إلى ٢,٣ x ١٠^{٦} CFU / جرح بعد ٣ شهور فى المخزن على حرارة ١ْم.

جدول رقم ١٤ : تأثير استعمال الخميرة الأرجوانية فى مقاومة العفن الأزرق والعفن الرمادى فى ثمار التفاح عند حقنها فى الثمار بتركيزات مختلفة وحقن الفطريات الممرضة بتركيزات مختلفة كونيديا/ مل.

تركيز الخميرة مضروباً فى ٥١٠ CFU / مل	٪ جروح مصابة عند المعاملة بالفطر *P. expansum* بتركيز			٪ جروح مصابة عند المعاملة بالفطر *B. cinerea* بتركيز		
	٣١٠	٤١٠	٥١٠	٣١٠	٤١٠	٥١٠
صفر	٣٨	٥٩	١٠٠	٢٨	٧٨	٦٥
٠,٨	٢٠	٣٥	٩٠	صفر	٢٨	٣٩
١,٧	١٠	٠٤	٦١	صفر	٠٢	١٢
٢,٨	صفر	٠٨	١٧	صفر	١٢	٠٤
٦,٣	صفر	٠٥	٢٥	صفر	صفر	صفر
٧,٩	صفر	صفر	٠٦	صفر	صفر	صفر

إن الميكانيكية التى تعتمد عليها الخميرة الأرجوانية *S. roseus* فى مقاومة فطريات العفن الأزرق والرمادى، تعتمد على قوة التنافس على الغذاء وعلى أمور، منها: (١) مقدرة الخميرة على النمو فى رطوبة نسبية عالية دون الحاجة إلى ماء حر (٢) مقاومة الخميرة للتأثر بقوة ضخ المعلق أو فتحة الخرطوم أثناء الرش (٣) توافق الخميرة مع المبيدات الفطرية diphenylamine والمواد المضادة للأكسدة المستعملة لمقاومة الضربة السطحية (اضطرابات فسيولوجية).

ونظراً لأن الخميرة لاتنمو على حرارة ٣٦°م والتى هى أقل من حرارة جسم الإنسان، ونظراً لأنها دائمة الوجود فى الطبيعة ومكون رئيسى فى المجال الورقى وميكوفلورا الثمرة، وبالتالى .. فإنها لاتسبب أية أضرار للإنسان ويمكن استعمالها فى المقاومة بأمان.

جدول رقم ١٥ : تأثير الخميرة الأرجوانية العزلة FS-43-238 والمبيد الفطرى Thiabendazole على النسبة المئوية للجروح المصابة على لقاح جولدن دلشص.

المعاملـــة	٪ جروح مصابة بعد		ملاحظـــات
	٣ شهور	٦ شهور	
Diphenylamine	١٥	١٥	كانت الثمار تجرح ثم تحقن عن طريق الرش بمعلق يحتوى
الخميرة الأرجوانية	٠,٥	صفر	أما مخلوط من *P. expansum* ، *B. cinerea* أو كل منهـا ١
المبيد TBZ	١,٥	٨,٥	x ١٠^٤ كونيديا/مل. والمبيـد diphenylamine ٠,٢ ٪
LSD 0.05	٥,٩	٧,٤	(كنتـرول) أو الاتحاد بين الخمـيرة و TBZ بنسبـة ٠,٠٣ ٪
			وتخزن على ١٠م وأخذت الثمار وفحصت بعد ٣ ، ٦ شهور.

III : استعمال الخميرة الأرجوانية مع البكتيريا الوميضة في مقاومة العفن الأزرق في التفاح

لقد وجد أن استعمال الكائنين المضادين، البكتيريا الوميضة *Pseudomonas syingae* والخميرة الأرجوانية *S. roseus* ضد العفن الأزرق المتسبب عن الطفر *P. expansum* على التفاح يكون أكثر كفاءة عند خلط هذين المضادين بنسب متساوية ٥٠ : ٥٠ عن استعمال كل منهما بمفرده. إن تركيز الكائنين المضادين يؤثر فى شدة حدوث العفن الأزرق. كلما زاد تركيز المضادين، انخفضت شدة وحدوث المرض. كذلك فإن نسبة كل منهما إلى الآخر وتركيز كل منهما، يؤثر على تكشف البقع وعلى النسبة المئوية للجروح المصابة.

عند استعمال الحمض الأمينى L-asparagine، فإنه يزيد من كفاءة المقاومة الحيوية فى كل من *P. syringae* وبالتالى يزيد فى خفض شدة العفن على الثمار المصابة ولكنه لايزيد من كفاءة *S. roseus* وليس له تأثير معنوى عند اتحاد الكائنين مع بعضهما. ولقد وجد أن هذا التشجيع لنشاط *P. syringae* يكون بسبب زيادة مقدرة البكتيريا على التنافس ضد الكائن الممرض الفطرى، على مصدر النيتروجين، وهذا يؤدى إلى تشجيع النمو البكتيرى فى موقع الجرح جدول رقم ١٦.

تزداد تجمعات *P. syringae* و *S. roseus* عندما يستعمل كل منهما لوحده بمقدار عشرة أضعاف بعد ٧٢ ساعة من الاستعمال، ثم تبدأ بعد ذلك فى الانخفاض. كذلك فإن تجمعات *P. syringae* فى المخلوط (٥٠ : ٥٠)، تزداد أيضاً أكثر من عشرة أضعاف بعد ٩٦ سعاة، وتكون هذه الزيادة مشابهة لتجمعاتها عند استعمالها بمفردها. أما الخميرة *S. roseus* ، فان تجمعاتها عندما تكون فى المخلوط، تزداد خمسة أضعاف، إلا أنها تكون أقل عند استعمالها لوحدها.

ولقد تبين من الدراسة أن المواد الكربوهيدراتية ليست هى العامل المحدد لاستعمار الجروح بواسطة الكائن المضادة *P. syringae*، ولكن إضافة المركبات النيتروجينية، تزيد تجمعات الكائن المضاد غالباً بأكثر من الضعف، وهذا يبين أن للنتروجين دوراً إيجابياً فى المقاومة الحيوية بواسطة الكائن المضاد المذكور؛ لأنه يشجع تكاثر وزيادة أعداد هذا الكائن، وبالتالى فإن زيادة الكائنات المضادة يزيد من كفاءة المقاومة الحيوية.

جدول رقم ١٦ : تأثير استعمال L- asparagine ومعدل خلط الكائنين المضادين *P. syringae* سلالة L-59-66 والخميرة الأرجوانية سلالة FS-43-238 فى مخلوط، على شدة وحدوث العفن الأزرق على تفاح جولدن دلشص.

نسبة خلط السلالتين	قطر البقعة المرضية		٪ إصابة جروح	
	مع أسبرجين	بدون أسبرجين	مع أسبرجين	بدون أسبرجين
١٠٠ / صفر	٧,٥	١٢,٥	٣٠	٧٠
٥٠ / ٥٠	٠,٢	٠,٤	٥	١٢
صفر / ١٠٠	١٢,٠	٤,١	٦٠	٢٨
كنترول	٢٣,٠	٢٥,٠	٨٥	٩٥

ملاحظات على الجدول:

كانت الثمار تجرح وتحقن بالكائن المضاد لوحدة أو بنسبة ٥٠: ٥٠ وكانت توضع ٢,٥ X 10^{4} كونيديا/ملم من الفطر الممرض *P. expansum* / ملم وتحقن بعد سبعة أيام على حرارة ٢٢°م. كانت السلالتان تستعمل بتركيز ٦,٣ X 10° جرثومة / مل.

IV : استعمال الخميرة Candida oleophila في مقاومة العفن الأزرق والرمادي في التفاح

مقدمة:

تستعمل الخميرة *Candida oleophila* خاصة السلالتين 182 و ATCC 20372 المعزولة من سطوح ثمار الطماطم فى المقاومة الحيوية لأمراض العفن الأزرق والرمادى فى التفاح. ولقد وجد أن كفاءة هذه الخميرة تزداد عند استعمال أيونات الكالسيوم والمغنيسيوم. وعلى أية حال فإن طريقة عمل الكالسيوم فى تثبيط تكشف المرض ليست واضحة تماماً، إلا أنه قد اقترح فى تفسير ذلك، بأن المعاملة بالكالسيوم تزيد من صلابة جدر الخلايا عن طريق دخول الكالسيوم فى البكتات، حيث إن بكتات الكالسيوم مقاومة للإنزيم المفكك لخلايا النبات.

أثبتت الأبحاث الأولية أن إضافة ٢ ٪ كلوريد كالسيوم إلى تشكيلات الخميرة المذكورة، تشجع مقدرة هذه الخميرة لحفظ التفاح ضد أمراض التعفن بعد الجمع.

تأثير كلوريد الكالسيوم وكلوريد المغنيسيوم على إنبات ونمو الجراثيم:

إن تأثير ٢٥-١٧٥ ملى مول من كلوريد الكالسيوم أو كلوريد المغنيسيوم مع أو دون إضافة ٠,١ - ٠,٥ ملى مول غلوكوز على إنبات جراثيم كل من *B. cinerea* و *P. expansum* هو كالآتى:

١- إن زيادة تركيز كلوريد الكالسيوم تؤثر بشكل معنوى على إنبات الجراثيم فى كل من الكائنين الممرضين فى جميع تركيزات الجلوكوز المستعملة.

٢- تنخفض كفاءة التثبيط لكلوريد الكالسيوم فى وجود مستويات عالية من الجلوكوز.

هذا كان واضحاً بشكل خاص فى إنبات جراثيم الفطر *B. cinerea* فى وجود ٥ ملى مول غلوكوز.

أما إنبات جراثيم *P. expansum* فلم تتأثر كثيراً بإضافة كلوريد الكالسيوم، كما يتأثر *B. cinerea*. تنخفض النسبة المئوية لإنبات الجراثيم من حوالى ٥٠ ٪ فى الكنترول (فى وجود

٢٥ ملى مول كلوريد كالسيوم) إلى ١٠-٣٠٪ عند وجود تركيز كالسيوم، أكثر من ٥٠ ملى مول. مع أنه يبدو أن الجلوكوز ينبه إنبات الجراثيم فى غياب كلوريد الكالسيوم، إلا إنه يلاحظ تغير بسيط فقط فى مقدرة التركيزات العالية من الجلوكوز فى تقليل التأثير المثبط لكلوريد الكالسيوم. وعلى العكس، فليس هناك تأثير ثابت على إنبات الجراثيم الفطرية الممرضة عند إضافة ٢٥-١٧٥ ملى مول كلوريد مغنيسيوم.

أما عن استطالة أنبوبة الإنبات للفطريات الممرضة، فهى تتثبط أيضاً بزيادة تركيز كلوريد الكالسيوم (٢٠-١٧٥) ملى مول كما فى حالة إنبات الجراثيم، فإن التأثير المثبط لكلوريد الكالسيوم يكون أكثر وضوحاً مع الفطر *B. cinerea* منه مع الفطر *P. expansum*. زيادة مستويات الجلوكوز أيضاً تخفض التأثير المثبط لكلوريد الكالسيوم. وعلى أية حال، فإن تركيز الجلوكوز المطلوب لخفض التأثير التثبيطى لكلوريد الكالسيوم، يكون أكثر بالنسبة لاستطالة أنبوبة الإنبات (٥ - ٦٠ ملى مول غلوكوز) أكثر منه بالنسبة لإنبات الجراثيم (٠,٥-٥ ملى مول غلوكوز). لايوجد تأثير تثبيطى على استطالة أنبوبة الإنبات عند استعمال كلوريد المغنيسيوم.

نمو الخميرة في جروح ثمار التفاح:

تجمعات العزلات ١٨٢، ٢٤٧ من الخميرة *C. oleophila* حددت فى جروح التفاح فى وجود ١٨٠ ملى مول كلوريد كالسيوم أو ٢٠١ ملى مول كلوريد مغنسيوم. تعد خلايا الخميرة للعزلة ١٨٢ على أساس عدد الوحدات المشكلة للمستعمرات لكل جرح، وهذه لم تتأثر بإضافة أى من كلوريد الكالسيوم أو كلوريد المغنيسيوم، إلا أن الزيادة فى التجمعات فى الجروح كانت حوالى الضعف بعد تحضين الثمار لمدة ٢٤ و ٤٨ ساعة بغض النظر عن الملح المضاف. يزداد عدد الخلايا بسرعة من ٥ x ١٠^{٥} إلى حوالى ١٠ x ١٠^{٨} خلال ٢٤ ساعة، بالمقابل فإن تجمعات العزلة ٢٤٧ لاتزيد إلى المستوى نفسه، كما فى العزلة ١٨٢ . إن تجمعات العزلة ٢٤٧ لاتزيد عن ٧ x ١٠^{٦} CFU / جرح مع أنه ليس هناك تأثير مميز على النمو بعد إضافة كلوريد الكالسيوم أو المغنيسيوم.

كفاءة المقاومة الحيوية بوجود كلوريد الكالسيوم:

عند دراسة تأثير إضافة ٩٠ و ١٨٠ ملى مول كلوريد الكالسيوم إلى جروح التفاح مع أو دون عزلات الخميرة *C. oleophila* رقم ١٨٢ و ٢٤٧ على تكشف الإصابة بالفطرين *B. cinerea* و *P. expansum*. وجد أن معاملة التفاح بكلوريد الكالسيوم لوحده، تؤدى إلى خفض قليل فى قطر البقعة على ثمرة التفاح عند قياسها بعد عشرة أيام من التحضين على حرارة ٢٠-٢٢°م. وعلى أية حال فإن إضافة كلوريد الكالسيوم، متحداً مع المعلق الخلوى للعزلة ١٨٢، يشجع بشكل واضح كفاءة هذه العزلة ضد تكشف العفن والتحلل بأى من الكائنين المذكورين سابقاً. عندما تستعمل خلايا بتركيز ٧١٠ أو ٨١٠ خلية/مل من العزلة ١٨٢ وتضاف إلى الجروح المحقونة مباشرة مع أو دون كلوريد الكالسيوم، يكون تكشف البقع محدوداً بقطر يتراوح من ٢-٥ ملم فى التفاح المحقون بأى من الكائنين الممرضين. وبالمقابل فإن قطر البقع فى الكنترول فى ثمار التفاح المحقونة بأى من الفطرين السابقين *B. cinerea* أو *P. expansum* يكون ٤٨ و ٣٣ملم بالترتيب. إن استعمال العزلة ١٨٢ لوحدها بتركيز $^{٦}١٠$ خلية/مل، يؤدى إلى خفض بسيط جداً فى القطر. وعلى أية حال فإن قطر البقعة ينخفض من ٤٥-٥ملم عند استعمال العزلة نفسها وبنفس التركيز ولكن مضافاً إليها ٩٠ أو ١٨٠ ملى مول كلوريد كالسيوم، يضاف إلى الجروح قبل الحقن بأى من الكائنين الممرضين.

أما العزلة ٢٤٧ من الخميرة السابقة لاتكون فعالة كما فى العزلة ١٨٢ فى منع إصابة جروح التفاح بالفطرين الممرضين، عدا عن ذلك، فإن تفاعل هذه العزلة مع كلوريد الكالسيوم لايكون مماثلاً لما هو فى العزلة ١٨٢. إن إضافة كلوريد الكالسيوم إلى المعلق الخلوى للعزلة ٢٤٧ يفشل فى تثبيط تكشف البقع بأى من الكائنين الممرضين بالمقارنة مع جروح الكنترول المعاملة بخلايا الخميرة فقط. أن تأثير كلوريد الكالسيوم على كفاءة المقاومة الحيوية للعزلة ٢٤٧ يكون فقط ضد الفطر *B. cinerea* عندما يضاف بمقدار ٩٠ أو ١٨٠ ملى مول كلوريد كالسيوم إلى المعلق الخلوى بتركيز $^{٦}١٠$ خلية/مل. ينخفض قطر البقعة من ٤٤ ملم فى جروح الكنترول إلى ٣٠ و ١٥ ملم فى وجود ٩٠ و ١٨٠ ملى مول كلوريد كالسيوم على الترتيب.

تأثير كلوريد الكالسيوم على نشاط البكتولايتك في المعمل:

يقاس تأثير كلوريد الكالسيوم على نشاط البكتولايتك، على أساس كمية السكريات المختزلة المنطلقة من المواد البكتينية بواسطة تحضيرات الإنزيم الخام المتحصل عليه من الكائنين الممرضين المذكورين سابقاً. إن مقدرة الإنزيم الخام للفطر *B. cinerea* لإجراء هيدرولايزز فى مادة البكتين، لايتأثر عن طريق إضافة تركيزات عالية من كلوريد الكالسيوم إلى الدرجة نفسها، كما فى الإنزيم الخام المحضر والمتحصل عليه من الفطر *P. expansum*. مع أن جميع تركيزات كلوريد الكالسيوم من ٢٥-١٧٥ ملى مول تثبط انطلاق السكريات المختزلة من مواد البكتين، إلا أن أكبر تأثير يكون لتحضيرات الإنزيم المأخوذة من الفطر السابق. يمكن الحصول على تأثير متوسط لإنزيم البكتينيز المتحصل عليه من الفطر المذكور، عند إضافة كلوريد الكالسيوم إلى مزيج التفاعل على تركيزات ٢٥، ٥٠ أو ٧٥ ملى مول. يحدث تثبيط قوى لنشاط إنزيم البكتينيز، عندما يزداد تركيز كلوريد الكالسيوم من ١٢٥ إلى ١٥٠ أو ١٨٠ ملى مول.

obeikandl.com

ثالثاً: المقاومة الحيوية لأمرض ما بعد الجمع في الكمثرى

مرض عفن الجانب Side Rot

مقـــدمة:

يتسبب مرض عفن الجانب أو مرض التحلل فى الكمثرى عن الفطر *Phialophora malorum* ، وهو يصيب الكمثرى نوع *Pyrus communis*، وهو من أهم الأمراض التى تسبب خسارة اقتصادية كبيرة فى مجال الصناعات الغذائية التى يدخل فيها ثمار الكمثرى. مع أن المبيدات الفطرية المستعملة بعد الجمع، يمكن أن تسبب خفضاً فى مرض التحلل، إلا أن المبيدات المسجلة حالياً فى الولايات المتحدة بالنسبة للكمثرى، ليست فعالة ضد الفطر المسبب لهذا المرض. بالإضافة لذلك فإن المقاومة للمبيدات الفطرية لما بعد الجمع، قد ظهرت فى كثير من الكائنات الممرضة، وفى بعض الأسواق فإن بيع الثمار التى يثبت أن بها بقايا مبيدات فطرية لما بعد الجمع يكون ممنوعاً بالقانون. وبناء على ذلك فإن هناك حاجة ملحة إلى طرق أخرى لمقاومة مرض التحلل، والتى تكون إما مكملة أو تحل محل المبيدات الفطرية.

إن المعاملات التى تغير الصفة التركيبية فى الثمرة، يمكن أن تؤثر على قابلية ثمار الكمثرى لمرض التحلل بعد الجمع. فمثلاً الرش بمادة كلوريد الكالسيوم خلال موسم النمو، يزيد نسبة الكالسيوم فى الثمرة ويقلل من شدة مرض عفن الجانب فى الثمرة. كذلك فإن خفض نسبة النيتروجين فى الثمرة يكون مترافقاً مع خفض شدة العفن الأزرق فى الكمثرى. وبالتالى فإن الإهتمام بأشجار الكمثرى، بخفض نسبة النيتروجين فى الثمار مترافقاً مع الرش الصيفى بكلوريد الكالسيوم يؤدى إلى الخفض فى شدة المرض. إن محتوى الثمرة من النيتروجين (الكمثرى) يتأثر بتوقيت استعمال الأسمدة وإضافتها للتربة. الأسمدة التى تضاف، قبل جمع الثمار بمدة شهر، تؤدى إلى خفض نسبة النيتروجين فى الثمرة، فى حين أن الإضافات قبل أو بعد فترة التزهير تؤدى إلى ارتفاع نسبى فى كمية النيتروجين الداخلة فى الثمرة.

إن درجة نضج الثمار تؤثر فى قابليتها للتحلل بعد الجمع. يكون الكاشف الأول لنضج ثمار الكمثرى عبارة عن قياس درجة التصلب والتى تقاس بالـ Penetrometer والذى يطلق على الوحدة منه نيوتين Newton (وهو يساوى ٠,٢٢٤٨ ليبرة) وإن معدل هذا التصلب الملائم لجمع الثمار تجارياً يكون فى مجال محدد فى جميع مناطق زراعة الكمثرى فى البلاد المتقدمة زراعياً. تكون بداية نضج الثمار على حوالى ٧١ نيوتين وتستمر إلى ٥٣ نيوتين؛ حيث يجب عدم قطف الكمثرى إذا تجاوزت الثمار هذين الرقمين صعوداً عن ٧١ أو هبوطاً عن ٥٣. إن الشدة المرضية لكثير من أمراض بعد الجمع فى الكمثرى تزداد كلما تقدمت الثمرة فى النضج وكلما تأخر قطف الثمار. كذلك فإن جو المخزن ذا التركيز المنخفض من الأكسجين والمرتفع من ثانى أكسيد الكربون، يؤخر ظهور طور الشيخوخة أثناء التخزين، كذلك يمكن أن يقلل من شدة أمراض التحلل الفطرية فى المخزن، على أية حال فإن مستويات ثانى أكسيد الكربون التى تقلل فعلياً من النشاط الفطرى، ويمكن أن تسبب اضطرابات فسيولوجية فى الثمرة.

المقاومة الحيوية لأمراض التحلل الفطرى فى ثمار الكمثرى بعد الجمع، قد ثبت نجاحها باستعمال البكتيريا وأنواع من الخميرة. فمثلاً الخميرة *Cryptococcus laurentii*، قادرة على استعمار الجروح فى ثمار الكمثرى تحت ظروف درجات حرارة منخفضة (صفر مئوى) وجو منخفضه فيه نسبة الأكسجين ومرتفعة فيه نسبة ثانى أكسيد الكربون.

مقاومة أمراض التحلل بعد الجمع:

فى الدراسات المستفيضة على هذا الموضوع، تبين أن هناك عدة عوامل تؤدى إلى خفض شدة الإصابة بالعفن الأزرق وكذلك العفن الجانبى فى ثمار الكمثرى، هذه العوامل هى:

١- الجمع المبكر للثمار.

٢- النسبة المنخفضة من النيتروجين والمرتفعة من الكالسيوم فى الثمار.

٣- جو المخزن المتحكم به بحيث يحوى ٢ ٪ أكسجين و ٠,٦ ٪ ثانى أكسيد الكربون على درجة حرارة صفرْم.

٤- استعمال الخميرة *Cryptococcus flavus* و *C. lauventii* بتركيز ١ x ٨١٠ خلية/مل.

لقد تبين أن استعمال الخمائر المذكورة سابقا، كلها مجتمعة مع بعض أو منفردة تخفض نسبة الإصابة بالعفن الأزرق ٩٥ ٪ وبنسبة ١٠٠ ٪ من العفن الجانبى، هذه النتيجة يتحصل عليها عند توافر الاتحادات الآتية: الجمع المبكر، انخفاض نسبة النيتروجين وارتفاع نسبة الكالسيوم فى الثمار واستعمال الخميرة بتركيز ١ x ٨١٠ خلية/مل مضافاً إليها ٠,١ الجرعة الموصى بها من المبيد الفطرى Thiabendazole. أما دون استعمال الخميرة المضادة فإن الإجراءات الأخرى تثبط نسبة العفن الأزرق بنسبة ٣٣-٦٤ ٪ والعفن الجانبى بنسبة ٦٧ ٪ الجدولان ١٧ ، ١٨ يبينان نتائج بعض المعاملات المذكورة سابقاً.

جدول رقم ١٧ : شدة التحلل بالفعن الأزرق المتسبب عن *P. expansum* فى ثمار الكمثرى نوع Bosc فى معاملات مختلفة.

نوع المخزن	وقت القطف	قطر البقعة المرضية على ثمار التفاح ملم											
		بدون خميرة				مع خميرة بدون مبيد				مع خميرة + مبيد			
		نيتروجين عال		نيتروجين منخفض		نيتروجين عال		نيتروجين منخفض		نيتروجين عال		نيتروجين منخفض	
		Ca^-	Ca^+	Ca^-	Ca^+	Ca^-	Ca^+	Ca^-	Ca^+	Ca^-	Ca^+	Ca^-	Ca^+
مخزن عادى أ	متأخر	٤٢	٣٥	٣٧	٣٠	١٨	٧	١٩	٦	–	–	–	–
مخزن عادى أ	مبكر	٣٠	٢٢	٢٨	١٨	١٢	٥	١٠	٢	–	–	–	–
مخزن عادى ب	متأخر	٣٠	٢٩	٢٨	٢٤	١٨	٧	١٢	٧	٤	٢	٢	١
مخزن عادب ب	مبكر	٢٢	٢٠	٢٠	١٢	١٨	٧	١٢	٧	٥	٢	٢	١
مخزن متحكم به	متأخر	٢٩	٢٧	٢٨	٥٦	١٣	٥	١٢	٤	–	–	–	–
مخزن متحكم به	مبكر	٢٠	١٨	١٩	١٠	١٠	٣	٩	٢	–	–	–	–

ملاحظات على الجدول:

المخزن العادى = يكون ذو هواء عادى. المخزن المتحكم به = جو به ٢ ٪ أكسجين + ٠,٦ ثانى أكسيد الكربون.
الخميرة خلطت مع المبيد Thiabendazole بنسبة ٥٦,٩ غم/لتر
الثمار المقطوفة تعامل بعد الجمع بالماء أو بالخمير *Cryptococcus laurentii* والثمار المحفونة تخزن لمدة ٢-٣ شهور على درجة صفر مئوية Ca^- = بدون إضافة كالسيوم Ca^+ = إضافة كالسيوم.

جدول رقم ١٨ : متانة ثمرة الكمثرى وقت الجمع من أشجار معاملة بنسب مختلفة من النيتروجين والكالسيوم، بعضها مقطوف مبكراً والآخر متأخراً. المتانة تقاس بالبنيوتين.

وقت الجمع	الموسم الثاني				الموسم الأول			
	نيتروجين منخفض		نيتروجين مرتفع		نيتروجين منخفض		نيتروجين مرتفع	
	دون كالسيوم	مع كالسيوم	دون كالسيوم	مع كالسيوم	دون كالسيوم	مع كالسيوم	دون كالسيوم	مع كالسيوم
مبكر	٦٩,٢	٧١,٨	٦٩,٢	٧٤,٥	٦٨,٧	٧٠,١	٦٦,٩	٦٩,٢
متأخر	٦٢,٤	٦٥,٦	٥٦,٢	٥٩,٤	٥٤,٠	٥٨,٥	٥٣,١	٥٥,٨

obeikandl.com

رابعاً: المقاومة الحيوية لأمراض ما بعد الجمع في البرتقال

مقـــدمة:

إن كلاً من مرض العفن الأخضر والعفن الأزرق المتسببان عن *Penicillium digitatum* ، *P. italicum* والعفن الحامض المتسبب عن *Geotrichum candidum*، تعتبر من أكثر الأمراض التى تسبب خسائر كبيرة بعد الجمع فى ثمار الحمضيات فى معظم أنحاء العالم. تقاوم هذه الأمراض تجارياً، غالباً، باستعمال المبيدات الفطرية التى توضع مع الغلاف الذى تغلف به الثمرة أو فى الشمع الذى تغطى به الثمرة. ويتبع ذلك بعض الإجراءات الاخرى، مثل استعمال المخزن المبرد. وعلى أية حال، فإن فعالية المبيدات الفطرية، غالباً، ما تقل بالتدريج عن طريق تكشف سلالات مقاومة من الكائن الممرض. زيادة على ذلك فإن مؤسسة الصحة العالمية أصبحت تهتم كثيراً بالمبيدات المتبقية على الثمار، وتصدر نشرات كثيرة تحذر منها، أو تحدد أقصى كمية يجب أن تبقى على الثمرة حتى يسمح بتداولها فى السوق. هناك دول تمنع إدخال المنتجات الزراعية، إذا ثبت فيها أثر متبقٍ للمبيدات الفطرية. كل هذا أدى إلى الاهتمام والتأكيد على الحاجة الملحة لإيجاد بديل لهذه المبيدات الكيماوية وهى المقاومة الحيوية.

لقد ذكر Waks *et al* سنة ١٩٨٥ أن تشميع الثمار (دون أية إضافات) يقلل من أمراض العفن. أما فى السنوات الأخيرة، حدث تقدم كبير فى أبحاث المقاومة الحيوية واستعمالها بدلاً من المبيدات الكيماوية. كان أول ذكر للكائنات المضادة التى يمكن أن تؤثر على الكائنات الممرضة لثمار الحمضيات بواسطة Deverall سنة ١٩٨٤، ثم بعد ذلك توالت الاكتشافات، ففى سنة ١٩٩٢ ذكر Smilanick أن الخميرة *Candida guillermondii* ذات الاسم المرادف *Pichia guilliermondii* سلالة US7 والتى عرفت سابقاً على أنها *Debaryomyces hansenii*، لها صفات تجعلها مرشحة لأن تكون من أهم عوامل المقاومة الحيوية لأمراض ما بعد الجمع فى الحمضيات. هذه الخميرة تعزل أصلاً من سطح ثمرة الليمون *Citrus limon* وتظهر كفاءة عالية فى المعمل كمضادة لعديد من الممرضات الجرحية وهى لاتنتج مضادات حيوية فى المزرعة، وهى تتواجد أيضاً على سطوح جروح الثمرة، وهى مقاومة نسبياً للمبيدات الفطرية، التى تستعمل بعد الجمع وشائعة الوجود على المنتجات الغذائية. تنافس الخميرة على المغذيات فى مواقع الجروح، يؤدى إلى تثبيط إنبات الجراثيم أو

استطالة أنبوبة الإنبات للكائن الممرض، وهى الطريقة الأساسية التى تبنى عليها فعلها فى التضاد ضد الكائنات الممرضة. هناك أيضاً جنس آخر من الخمائر وهو *Debaryomyces* sp. سلالة ٢٣٠ تعزل من سطوح ثمار التفاح *Malus domestica* ولها دور فعال فى التضاد الفطرى.

لكى يكون عامل المقاومة الحيوية متداولاً تجارياً، يجب أن يكون استعماله متوافقاً مع شروط عملية التعليب التى تطبق على ثمار الحمضيات. عادة فإن ثمار الحمضيات تمر خلال خطوات أهمها عملية التشميع Waxing حيث غالباً ما تضاف فيها المبيدات الفطرية، كذلك فإن هذه الخطوة يمكن أن تكون المرحلة النموذجية لاستعمال الكائنات المضادة (المقاومة الحيوية). إن عملية التغليف المفيدة والمبينة على مشتقات السليلوز قد تطورت حديثاً بواسطة قسم الزراعة المريكى USDA سنة ١٩٩٤. حيث أنه فى الدراسات الأولية لهذه العملية، وجد أن السلالة U57 من *P. guilliermondii* المختلطة مع Soidum carboxymethyl cellulose واستعمالها على ثمار البرتقال أدت إلى عدم ظهور أية أمراض تحلل. كما أن McGuire سنة ١٩٩٤ اختبرت مدى توافق السلالة US7 فى ستة أنواع من الأغلفة الداخل فى تركيبها Methyl cellulose والمضافة إلى الجريب فروت *Citrus paradisi* المعامل حرارياً. فوجد أن FMC705 فقط هو المتوافق مع هذه الخميرة، حيث إن هذا الغلاف لايحوى راتنج ولا مواد ضارة ذائبة. إن عملية التشميع أو تغليف الثمار التى تستعمل كحامل لعوامل المقاومة الحيوية، يمكن أن تساعد فى التصاق أو ربط عامل المقاومة الحيوية مع الثمرة، كذلك فإن عملية التغليف هذه تساعد فى نمو الكائن المضاد (عامل المقاومة الحيوية).

مقاومة أعفان ثمار البرتقال بعد الجمع

بعد تخزين ثمار البرتقال لمدة أسبوع على درجة حرار ١٦°م ورطوبة نسبية ٩٠٪ فإن *Pichia guilliermondii* سلالة US7 الموضوعة على غلاف Methyl cellulose (MC)، تكون فعالة فى تخفيض العفن فى البرتقال Pineapple كما هو واضح فى جدول (رقم ١٩). أما بعد أسبوعين فإن الثمار المغلفة بمادة Imazalil والمخلوط معها السلالة US7، تكون أكثر فاعلية من المعاملة الأولى، أما بعد ثلاثة أسابيع، فإن الخميرة المختلطة مع الـ Imazalil تكون أكثر فعالية من أى غلاف آخر. كذلك فإن ثمار البرتقال المعاملة بالسلالة نفسها من الخميرة، يكون تكشف العفن فيها، بشكل عام، أقل من الثمار المغلفة بمادة Methyl cellu-

lose لوحدها، وأن هذا النوع من الأغلفة ليس له دور فى منع التحلل. مع أن الغلاف *SH* والذى تركيبه Shellac - based coating (FMC 360 HS) وهو (FMC corp) والمعتمد على أساس راتنجيات قلوية ذائبة، يقلل من حدوث التحلل إلى حد ما. إن السلالة المضادة US7 الموجودة فى غلاف Methyl cellulose، تكون أكثر فعالية فى خفض التحلل خلال الأسبوعين الأوليين من المعاملة، وكذلك فإن السلالة ٢٣٠ من الخميرة نفسها عند وضعها فى الغلاف نفسه يكون تأثيرها أكثر فى الأسبوع الثانى من المعاملة.

يحدث خفض فى كفاءة الكائنات المضادة خلال التخزين، وهذا يمكن أن يعزى إلى التغيرات فى الاستجابة المرضية للتحلل. فى الأسبوع الأول فإن الفطر *Penicillium* sp. يكون مسئولاً عن جميع التعفنات. بعد أربعة أسابيع من التخزين، فإن ٦١٪ من التعفن الحاصل يمكن أن يعزى إلى عفن طرف الساق المتسبب عن *Phomopsis citri* وعلى العكس من الفطر *Penicillium*، فإن هذا الفطر لايتكشف فى الجروح ولكنه يؤثر على قاعدة الثمرة (بقايا الكأس/الساق) قبل الجمع، ويتكشف كلما تقدمت قاعدة الثمرة فى السن بعد الجمع. كما أن بقايا SOPP (Sodium ortho phenyl phenate) الناتج من اجراءات عمليات غسل غرف التعليب، إذا وجد فى أماكن الجروح يمكن أن يكون له تأثير على الخميرة، بالإضافة إلى تجمعات الكائن الممرض.

إن فعالية السلالة US7 فى التغليف مع مادة (MC) على ثمار برتقال فالنسيا مذكورة فى جدول (رقم ١٩). لكن فى هذه التجارب فإن هذه السلالة كانت تضاف كمعلق مائى لتقدير فوائد وعدم فوائد اتحاد الكائن المضاد مع الغلاف. مع أن السلالة US7 فى الغلاف MC مع إضافة بعض المغذيات، تؤدى إلى انخفاض واضح فى مستويات التحلل بالمقارنة مع استعمالها بمعاملات أخرى.

كذلك فإن استعمال الغلاف MC لوحده لايساعد ولايخفى فعالية السلالة المضادة من الخميرة. وهذا يختلف عنه فى حالة استعمال المبيدات الفطرية الكيماوية اللازمة لكى تتحد مع شمع الثمرة لتساوى كمية المقاومة فى التحلل الناتجة من استعمال المبيد الفطرى لوحده. ذكر McLaughlin سنة ١٩٩٠ أن كلوريد الكالسيوم يمكن أن يزيد بشكل معنوى كمية المقاومة للعفن المتحصل عليها باستعمال السلالة US7 عن طريق إحداث تخفيض فى إنبات كل من الجراثيم الكونيرية واستطالة أنبوبة الإنبات الجرثومية للكائن الممرض. فى حين أن استعمال كلوريد الكالسيوم فى غياب الكائن المضاد لايؤدى إلى خفض معنوى فى المرض.

يجب الأخذ بعين الاعتبار أن برتقال فالنسيا Valencia يظهر فيه التحلل بنسبة أقل منه فى البرتقال Pineapple، حيث ان هذا الأخير من المعروف بأنه أكثر قابلية للتحمل خاصة بالإصابة بالفطر بنيسيليوم ، وذلك إما لزيادة القابلية للتجريح فى القشرة، أو بسبب الجمع المبكر فى الصباح عندما يكون لقاح الفطر فى أعلى نسبة تواجد له. إن هذا الفطر هو المسئول عن جميع التحلل فى برتقال فالنسيا خلال الأسبوعين الأوليين من التخزين. أما تعفن نهاية الساق، فيظهر فقط فى الأسبوع الثالث والرابع بعد أربعة أسابيع من التخزين فإن ١٣,٩ ٪ من جميع التحلل فى برتقال فالنسيا يعزى إلى عفن نهاية الساق.

جدول رقم ١٩ : النسبة المئوية لحدوث التحلل فى البرتقال نوع Pineapple ، Valencia المخزن على حرارة ١٦م ورطوبة نسبية ٩٠ ٪.

المعاملة	تخزين أسبوع واحد		تخزين أسبوعين		تخزين ٣ أسابيع		تخزين ٤ أسابيع	
	صنف P	صنف V	صنف P	صنف V	صنف P	صنف V	صنف P	صنف V
NS/MC 2%	٥,٥	٣,٦	٢٧,٠	١٣,٦	٤٧,٥	٢٢,٨	٦٦,٠	٢٦,٤
NS/MC + US7	٠,٥	٢,٨	١٢,٠	٧,٦	٣٤,٠	١٤,٠	٥٩,٠	١٧,٦
NS/MC + 230	٦,٥	–	١٩,٥	–	٣٩,٥	–	٥٣,٠	–
NS/MC + US7 + N	–	٠,٤	–	٤,٠	–	١١,٢	–	١٦,٨
NS/MC + I	٤,٠	١,٢	٩,٢	٣,٦	٢١,٦	٥,٠	٣٢,٤	٧,٢
SH	٥,٦	–	١٦,٠	–	٣١,٢	–	٤٧.٦	–
US7	٠	٢,٨	–	٧,٦	–	١٣,٦	–	١٨,٠
SH + I	٣,٢	١,٢	٩,٢	٣,٦	٢٥,٦	٧,٦	٤٣,٢	١١,٢
UC	١٠,٠	٦,٨	٣٠,٤	١٦,٨	٤٧,٢	٢٣,٢	٦٠,٨	٢٦,٨

ملاحظات على الجدول:

NS = شمعى طبيعى . MC = تشكيل بمادة ميثايل سليلوز .US7 + NS/MC = الغلاف الأول مع الخميرة *Candida guilliermondii* سلالة NS/MC230. US7 = التركيب السابق مع الخمير *De-baryomyces* sp. سلالة ٢٣٠ . I = المبيد الفطرى Imazalil بتركيز ٢٠ غرم/لتر. SH = الشيلاك التجارى محملاً على شمع الحمضيات .FMC 360 HS SH-I= شمع الشيلاك مع المبيد الفطرى Imaz-alil بنسبة ٢٠ غرام/لتر. UC = الثمار غير مغلفة. N = مغذيات مكونة من ٠,٢ ٪ جلوكوز، ٠,٢٢ ٪ كلوريد كالسيوم. US7 = معلق مائى من السلالة للخميرة US7 . Valencia= V. Pinapple .

خامساً: المقاومة الحيوية لأمراض ما بعد الجمع فى ثمار الأفوكادو

مقـــدمة:

نبات الأفوكادو *Persea americana* Mill الواسع الانتشار فى جنوب أفريقيا، قابل للإصابة بأمراض قبل الجمع، مثل مرض البقعة السوداء Black spot (BS) الذى يتسبب عن *Pseudocercospora purpurea* ، وكذلك مرض البطش الهبابية Sooty (SB) Blotch الذى يتسبب عن *Akaropeltopsis* sp.، وهما أكثر الأمراض أهمية بالإضافة إلى مرض العفن الهبابى قبل الجمع. تقدر الخسائر من BS بحوالى ٦٩ ٪ فى ثمار الأشجار غير المطلق عليها طرق المقاومة. فهو يؤدى إلى خفض القيمة التسويقية للثمار بسبب المنظر القبيح الناتج عن سوء التلون فى القشرة. غالباً يستعمل فى جنوب أفريقيا، المبيد الفطرى الكلوراين بعد الجمع لإزالة اللون الأسود النامى على السطح من الفطر *Akaropeltopsis*. هناك أضراراً كثيرة تكون مرافقة لاستعمال المبيدات الفطرية، منها صعوبة إزالة الآثار المتبقية من مركبات النحاس فى مصانع التعليب، ومقدرة الكائن الممرض على تكوين سلالات مقاومة للمبيدات الفطرية المستعملة، كذلك الأضرار على صحة الإنسان وتلوث البيئة.

أما أمراض بعد الجمع، فهى:

١ – الأنثراكنوز. ٢ – عفن طرف الساق (SE)

٣ – عفن الثمار المركب الذى يتسبب عن *Dothiorella / Colletotrichum* ويكتب (DCC)

أهم الفطريات التى تسبب أمراض بعد الجمع، فهى:

١ – *Colletotrichium gloeosporioides* يكون مترافقاً مع الأنثراكنوز

٢ – *Dothiorella aromatrca* يسبب كلاً من مرض SE و DCC

٣ – *Phomopsis perseae* ، *Fusarium solani* ، *Pestalotiopsis versicolor* ، *Lasio-diplodia theobromae* ، *Fusarium decemcellulare* ، *F. sambucinum* ، *Drechslera setariae* ، *Rhizopus stolonifer*. هذه المجموعة من الفطريات تسبب أمراضاً متشابهة ومتداخلة مع بعضها البعض، وكلها تشبه مرض عفن طرف الساق (SE).

نظراً لأن معظم الثمار تصدر عن طريق البحر، وتحتاج إلى فترة طويلة من التخزين، فان الفقد الذى يحدث للثمار بعد الجمع يؤثر كثيراً على صناعة الأفوكادو. هناك مقاومة محدودة يمكن أن يتحصل عليها عن طريق الرش قبل الجمع بالمبيدات الفطرية مثل البنليت وأكسى كلوريد النحاس، أو بعد الجمع عن طريق استعمال الـ Prochloraze. وعلى أية حال ونظراً لأن هذا المركب الأخير غير معتمد ولا مسجل للاستعمال على الثمار المصدرة إلى أوروبا، فإن طرق المقاومة تعتمد على إجراءات زراعية روتينية، بالإضافة لمساوئ إستعمال المبيدات الفطرية المذكورة سابقاً، كل ذلك أدى إلى جعل معظم الباحثين يفضلون الاتجاه إلى المقاومة الحيوية.

كان أول الأبحاث على المقاومة الحيوية لأمراض الأفوكادو بواسطة Korsten *et al* سنة ١٩٨٨، حيث ذكر فعالية المقاومة الحيوية لأمراض بعد الجمع مثل الانثراكنوز SE ، DCC عند استعمال البكتيريا *Bacillus subtilis* رشاً على الأشجار قبل الجمع. لقد نجحت المقاومة باستعمال هذه البكتيريا فى مقاومة أمراض قبل الجمع مثل BS ، SB ، كما نجحت فى مقاومة أمراض الثمار بعد الجمع.

مقاومة أمراض بعد الجمع

من الدراسات العملية السابقة ثبت أن البكتيريا *B. subtilis* المعزولة من المجال الورقى للأفوكادو لها دور فعال فى تثبيط نمو بعض الفطريات فى المعمل وفى ثمار الأفوكادو بعد الجمع، أهم هذه الفطريات بالإضافة للفطريات المذكورة سابقاً هو فطر *Thyronectria pseudotrichta*. ولقد ثبت علمياً أن هذه البكتيريا ذات كفاءة عالية فى مقاومة أمراض الانثراكنوز وSE و DCC، عندما ترش على أشجار الأفوكادو فى الحقل، أو عندما تستعمل مع الشمع المغلف للثمار أو عند غمر الثمار فى معلقها.

البكتيريا *B. subtilis* سلالة B246 تحضر بكميات كبيرة للاستعمال الحقلى، تخلط التشكيلات البكتيرية فى ٥٠٠ لتر ماء وتوضع فى تنكات للحصول على تركيز ٨١٠ خلية/مل ماء. ترش الأشجار بهذا المعلق بحيث تغسل الشجرة كلها. لمقارنة كفاءة المقاومة الحيوية، مع المقاومة الكيماوية استعملت المبيدات الكيماوية مثل البنليت بتركيز ٢٥ غرام/لتر ماء وكذلك المركب أوكسى كلوريد النحاس، فكانت النتائج، كما فى جدول رقم ٢٠ . يلاحظ

أن الرش بالمعلق البكتيرى المتحد مع أوكسى كلوريد النحاس أو البنليت يخفض شدة كل من الأمراض BS ، SB بشكل معنوى. أما جدول رقم ٢١ فيبين تأثير استعمال البكتيريا فى مادة الشمع وتغليف الثمار بها.

جدول رقم ٢٠ : تأثير رش الأشجار فى الحقل قبل الجمع بكل من المبيدات الفطرية، البكتيريا *B. subtilis* سلالة B246 لوحدها أو متحدة مع المبيدات الفطرية على شدة إصابة ثمار الأفوكادو بالمرضين البقعة السوداء والبطش الهبابية.

المعاملة	التركيز	شدة المرض فى		وقت الرش
		البقعة السوداء	البطش الهبابية	
كنترول	–	١,٨٩	١,٢٧	فى أى وقت فى السنة
أوكسى كلوريد النحاس	٢٥ غم/لتر	٠,٣٦	٠,٤٢	أكتوبر + نوفمبر + يناير
أوكسى كلوريد النحاس + بكتيريا	٢٥ غم/لتر + $^{8}١٠$ خلية/مل	٠,٧٧	٠,٨٠	نوفمبر
أوكسى كلوريد النحاس + بنليت	٢٥ + ٤ غرام/لتر	٠,٤٤	٠,٥٨	أكتوبر
بكتيريا	$^{8}١٠$ خلية / مل	٠,٩٣	٠,٦٧	نوفمبر + ديسمبر + يناير
بكتيريا + بنليت	$^{8}١٠$ خلية/ مل + ٤ غرام/لتر	٠,٧٢	١,٢٥	أكتوبر

ملاحظات على الجدول:

كانت شدة المرض تقدر على أساس ثلاث درجات من صفر إلى ٣ فى مرض البقعة السوداء: إذا لم يوجد فى الثمرة أية بقع تعطى صفراً، إذا وجد ثلاث بقع تعطى رقم١ . إذا وجد سبع بقع تعطى رقم٢ ، إذا وجد ١١ بقعة تعطى رقم٣. أما بالنسبة لمرض البطش الهبابية فكانت تقسم من صفر – ٤ . إذا كانت الثمرة خالية تعطى صفراً. إذا كان فيها خطان صغيران عند القمة تعطى رقم١ . إذا كان فيها ثلاثة خطوط متوسطة الطول تخرج من القمة تعطى رقم ٢ . وإذا كان فيها أربعة خطوط طويلة ناتجة من القمة تعطى رقم ٣ . إذا كان هناك ستة خطوط ناتجة من القمة تعطى رقم ٤ .

جدول رقم ٢١ : تأثير تركيزات مختلفة من البكتيريا *B. subtilis* المستعملة فى الشمع المغلف للثمار على شدة الأمراض التى تصيب ثمار الأفوكادو بعد الجمع.

البكتيريا بتركيز خلية فى ml^{-1}	شـــدة المـــرض				متوسط تأثير المعاملة
	تقديرات خارجية		تقديرات داخلية		
	الانثراكنوز	SE	الانثراكنوز	SE	DCC
صفر	١,٠٢	٠,١٠	٢,٠٩	١,٤٣	٠,٣٦	١,٠٠
10^{8}	٠,٣٤	٠,٠١	١,٥١	١,٣٩	٠,١٧	٠,٦٩
10^{7}	٠,٤٠	٠,٠١	١,٤٠	٠,٩٣	٠,٢٥	٠,٦٠
10^{6}	٠,٢١	٠,٠١	١,٦٢	١,١٧	٠,٠٤	٠,٦١
10^{5}	٠,٦١	٠,٠٣	١,٨٥	١,١٠	٠,١٠	٠,٧٤

كانت تقدر شدة المرض على قياس من صفر إلى عشر؛ حيث إن صفر = الثمرة سليمة. وعشرة الثمرة متعفنة كلية.

سادساً: المقاومة الحيوية لأمراض ما بعد الجمع فى البطاطس

١- المقاومة الحيوية لمرض القشرة الفضية في درنات البطاطس

Biological control of Silver Scurf of Potato Tubers

مقـــدمة:

يتسبب مرض القشرة الفضية فى البطاطس عن الفطر *Helminthosporium solani*، وهو من أهم أمراض التخزين بالنسبة للبطاطس *Solanum tuberosum*. وقد سبب هذا المرض خسائر فى مصانع رقائق البطاطس فى ولاياته Idaho خلال موسم ٩٢-١٩٩٣ بما يعادل ٨,٥ مليون دولار. تكون أعراض المرض مقتصرة على منطقة البشرة الخارجية Peri-derm، وبالتالى فإن خسائر المرض تكون ناتجة عن خفض نوعية الدرنة وعن تلون وتقشر جلد الدرنة، وكذلك فقد الرطوبة الناتج عن تمزق طبقة البريديرم. وعلى أية حال فإن تمزق طبقة البريديرم يجعل الدرنة أكثر قابلية للتعرض والإصابة بمسببات أمراض المخازن الأخرى، والتى تتطلب وجود جروح لكى تحدث إصابتها.

لقد ازدادت أهمية هذا المرض فى السنوات الأخيرة بسبب تكشف كثير من سلالات الفطر *H. solani* المقاومة للمبيد الفطرى المستعمل ضدها Thiabendazole (TBZ)، حيث إن هذا المبيد هو المستعمل تجارياً لمقاومة مرض العفن الجاف الفيوزاريومى على درنات البطاطس. هناك عدة عوامل تشجع استعمال المقاومة الحيوية لمرض القشرة الفضية فى البطاطس، منها:

١- ثبت أن الأراضى ذات المحتوى العالى من البكتيريا تخفض حدوث هذا المرض (Admas سنة ١٩٧٠).

٢- ظروف تخزين البطاطس تلائم المقاومة الحيوية لمرض القشرة الفضية بسبب أن الفطر *H. solani* يتكاثر خلال فترة قصيرة عند توفر الرطوبة الحرة فى مخازن البطاطس.

٣- يمكن لعوامل المقاومة الحيوية المستعملة أن تستفيد من الفترة نفسها، التى يتوفر فيها رطوبة حرة بحيث تتكاثر وتنافس الكائن الممرض.

٤- لقد ذكر Chun & Shetty سنة ١٩٩٤ أن سلالة البكتيريا *Pseudomonas corrugata* يمكن أن تناسبها ظروف المخزن وتخفض حدوث المرض بنسبة عالية جداً.

مقاومة المرض حيوياً:

لقد ثبت بالبحث العلمى أن هناك بعض السلالات تثبط مسبب المرض *H. solani*، هى:

١- *Pseudomonas putida* (PM1)
٢- *Nocardia globerula* (S244)
٣- *Xanthomonas campestris* (P76)

تقوم هذه السلالات بدورها فى المقاومة الحيوية عند غمر درنات البطاطس فى معلقاتها الجرثومية بتركيزات تتراوح من 10^{5}-10^{8} وحدة تكوين مستعمرات/مل محلول ،كما هو فى جدولى ٢٢ ، ٢٣.

جدول رقم ٢٢ : تأثير الكائنات المضادة على تكشف الحامل الكونيدى للفطر *H. solani* السلالة الأولى والثالثة حساسة للمبيد TBZ أما السلالة الثانية فهى مقاومة لهذا المبيد.

سلالة الكائن المضاد	٪ إصابة سطح الدرنات عند إستعمال السلالات الممرضة فى التجربة		
	SS 2-2	HSND 07	HSND 25
Aureobacterium barkeri	٢١,٢	١٨,١	٤١,٥
Xanthomonas campestris	١٨,٣	٥٥,١	٣١,٨
Nocardia globerula	٢٨,٢	١١,٥	٣٥,٢
Pseudomonas putida	١١,٥	٢٦,٥	٣٠,٢
Bacillus sphaericus	٣٢,٥	١٧,٥	٢٠,٧
كنترول	٢٢,٥	٣٨,٢	٢٧,٥

جدول رقم ٢٣ : تأثير استعمال سلالات ميكروبية على تكشف الحوامل الكونيدية للفطر *H. solani* السلالة SS 2-2 ، وتأثير ذلك على مساحة السطح المصابة فى درنات البطاطس.

سلالة الكائن المضاد	٪ تثبيط للحوامل الكونيدية	
	سلالة SS2-2 عادية	سلالة SS 2-2 مقاومة لمضاد رافمبسين
A. barkeri	٣٥	٢٧
X. campestris	٤٢	٣٠
P. putida	٣٣	٤٩
كنترول	٢٩	٢٩

٢- المقاومة الحيوية لمرض العفن الجاف في البطاطس

Biological Control of Dry Rot of Potatoes

أ- المقاومة باستعمال الخمائر

مقـــدمة:

يعتبر مرض العفن الجاف فى البطاطس، من الأمراض المهمة والمنتشرة فى معظم أماكن تخزين البطاطس. يتسبب هذا المرض عن كل من الفطر *Gibberella pulicaris* المرادفالأسم *Fusarium sambucinum* Fuckel والفطر *Nectria haemat-ococca* Berk المرادف للاسم *Fusarium solani* var. *coeruleum* . يسبب هذا المرض خسائر كبيرة فى معظم مخازن الباطس فى العالم. تقدر الخسائر فى المحصول التى يسببها العفن الجاف الفيوزاريومى بحوالى ٦ ٪ وقد تصل أحياناً إلى ٢٥ ٪ من الانتاج. قدرت الخسائر فى درنات البطاطس فى أسواق نيويورك بين سنتى ١٩٧٢ و ١٩٨٠ بحوالى ١٨ ٪.

بالإضافة إلى أن الفطر يحطم أنسجة الدرنة، فإن *G. pulicaris* يستطيع أن ينتج توكسينات ذات تأثير ضار على الأجهزة الداخلية فى الإنسان Trichothecene toxins وقد يمتد تأثيرها إلى الحيوان.

معظم أصناف البطاطس المزروعة قابلة للإصابة بالمرض. كذلك إن الفطر *F. sambucinum* له سلالات لديها مقاومة مكتسبة للمبيد الفطرى (TBZ) ثيوبندازول، وهو المادة الكيماوية الوحيدة المسجلة والفعالة ضد مرض العفن الجاف، يبدو أن هذه المقاومة المكتسبة، قابلة للإنتشار، ومن المحتمل أن تستمر وتسود فى الحقل نظراً لاحتمال وجود توافق وراثى بين سلالات الفطر. ولقد ذكر Langerfeld سنة ١٩٩٠ أن الفطر *F. solani* var. *coeruleum* عنده مقاومة ضد TBZ.

إن الظروف التى تؤدى إلى حدوث مرض العفن الجاف فى البطاطس تكون ملائمة للمقاومة الحيوية لهذا لامرض. يتطلب الفطر المسبب للمرض وجود جرح لكى يدخل منه إلى الدرنة. ونظراً لأن جروح البطاطس تشفى بعد مدة تتراوح من خمسة أيام إلى عدة أسابيع فى المخزن عن طريق تكوين بيريديرم الجروح، فإن عامل المقاومة الحيوية يحتاج لمثل هذه الفترة؛ كى يبقى حياً ويمنع دخول الكائن الممرض خلال هذه الفترة القصيرة نسبياً والتى عندها تكون درنات البطاطس المجروحة قابلة للإصابة. بالإضافة لذلك فإن ظروف مخزن البطاطس (رطوبة نسبية مرتفعة ٨٠٪ ودرجة حرارة بين ٥-١٥°م) تكون مناسبة لنمو كثير من العوامل الميكروبية. مع أن قليلاً من سلالات الخميرة فعالة فى مقاومة هذا المرض إلا أن هناك سلالات بكتيرية تثبط وأحياناً تستبعد تكشف العفن الجاف المتسبب عن الفطر *G. pulicaris*. لقد حددت وعرفت عوامل مقاومة حيوية بكتيرية، تقوم فعلياً بتخفيض حدوث العفن الجاف المتسبب عن الفطر السابق، إلى مستويات قليلة، كذلك فإن بعض أنواع الخميرة قد ثبت فعاليتها وكفاءتها فى مقاومة هذا المرض.

مقاومة المرض:

نتيجة التجارب العديدة التى أجريت على استعمال المقاومة الحيوية ضد مرض العفن الجاف باستعمال الخمائر، وجد أن أهم أنواع الخمائر التى تعطى مقاومة فعالة ومعنوية لهذا المرض هى:

تعزل من قشرة درنة البطاطس أو من التربة المحيطة بها

1- Cryptococcus laurentii NRRL Y-2536

وهى فعالة بتركيز يتراوح ما بين ٢ x ١٠^٦ إلى ٣ x ١٠^٧ خلية/ مل، وهى تقاوم الفطرين اللذين يسببان المرض. جدولا ٢٤ و ٢٥ كذلك فإن الخميرة

2- Debaryomyces robertsiae NRRL Y-6670

وهى فعالة بالتركيز نفسه ولكنها أقل كفاءة من الخميرة الأولى

أما الخميرة *3- Candida guilliermondii* NRRL Y-12723 فإنها تسبب خفضاً فى إنبات الجراثيم الكونيدية للفطريات الممرضة والمسببة لمرضة العفن الجاف فى البطاطس.

جدول رقم ٢٤ : تأثير سلالات الخميرة على إنبات كونيديات الفطر *F. sambucinum* سلالة 6380.

رقم السلالة	مساحة البقة المستعمرة بالفطر الممرض ملم عند إستعمال تركيز		٪ إنبات الجراثيم الكونيدية للفطر الممرض	إسم السلالة المستعملة فى المقاومة الحيوية
	٣ x ١٠^٦ خلية/ مل	٢ x ١٠^٧ خلية/ مل		
Y - 12723	٦	٤	٥٧	*Candida guilliermondii*
Y - 2536	٩	٥	٩١	*Cryptococcus laurentii*
Y - 6670	٨	٧	٨٧	*Debaryomyces robertsiae*
Y - 1842	٩	٨	٧٦	*Pichia capsulata*
Y - 12632	٧	٩	٧٩	*Saccharomyces cerevisiae*

obeikandl.com

جدول رقم ٢٥ : فعالية سلالات الخميرة فى تقليل الأنسجة المستعمرة بالفطر *F. solani* var. *coeruleum* سلالة رقم ١٢٥٧ .

إسم السلالة	رقم السلالة	ملم أنسجة مستعمرة
C. guilliermondii	Y - 12723	١٣
Cryptococcus laurentii	Y - 2536	١١
C. laurentii	Y - 7139	١٠
D. robertsiae	Y - 6670	١٣
Pichia capsulata	Y - 1842	١٣
S. cerevisiae	Y - 12632	١٤

ب- مقاومة مرض العفن الجاف بالبكتيريا

تستعمل بعض سلالات البكتيريا فى المقاومة الحيوية لمرض العفن الجاف فى درنات البطاطس المتسبب عن *F. sambucinum* الاسم المرادف *Gibberella pulicaris*. جميع لتركيزات التى تستعمل سواء كانت 10^{6} أو 10^{7} أو 10^{8} وحدة تكوين مستعمرات/ مل تخفض حدوث المرض بنسبة تتراوح ما بين ٣٨-٧٦٪ . عند استعمال سلالات البكتيريا المضادة مختلطة مع بعضها يكون تأثيرها فى مقاومة المرض أفضل من استعمال كل نوع لوحدة، حيث انه عند استعمال أزواج مختلفة من البكتيريا المضادة ينخفض حدوث المرض بنسبة ٧٪ أو أكثر. أهم أنواع البكتيريا المستعملة فى المقاومة الحيوية لهذا المرض، هى:

1- *Pseudomonas* fluorescens strain P22 : Y. 05 . B - 21053
2- *P. corrugata* strain S09. P. 06 . B - 21049
3- *P. corrugata* strain S09. T. 14 . B - 21051
4- *P. fluorescens* strain S09. Y. 08 . B - 21128
5- *Enterobacter cloacae* strain S11. P. 07 . B - 21050

وجد أنه عند استعمال البكتيريا الأولى بتركيز 10^{6} وحدة تكوين مستعمرات/مل تنخفض مساحة الأنسجة المستعمرة من قبل الفطر الممرض من ٢٠,٣ ملم فى الكنترول إلى ١٠,٣٥ ملم فى المعاملة، وتنخفض إلى ٦,٤٥ و ٤,٤ عند زيادة تركيز البكتيريا إلى 10^{7} و10^{8} وحدة تكوين مستعمرات/مل بالترتيب جدول ٢٦ ، ٢٧ يبين تأثير استعمال البكتيريا المضادة مفردة، أو فى تجمعات فى تضاد الفطر الممرض.

جدول رقم ٢٦ : تأثير استعمال البكتيريا المضادة على تكشف أعراض مرض العفن الجاف على درنات البطاطس المصابة بالفطر *G. pulicaris* R-6380 .

سلالة البكتيريا المستعملة في المقاومة الحيوية	مساحة المستعمرة الفطرية على سطح درنة البطاطس ملم^2
Pseudomonas fluorescens B-21053	٦,٧
P. corrugata B-21049	٦,٥
P. corrugata B- 21050	٧,٦
P. fluorescens B-21128	٥,٣
Enterobacter cloacae B-21050	٨,٢
Contol	٢٠,٣

جدول رقم ٢٧ : تأثير استعمال أزواج من البكتيريا فى المقاومة الحيوية لمرض العفن الجاف فى البطاطس المتسبب عن *G. pulicaris* السلالة R-6380 .

أزواج البكتيريا المضادة	مساحة البقعة المرضية ملم	٪ خفض فى مساحة البقعة بالنسبة للكنترول
Enterobacter sp. B-21101 + *Pseudomonas fluorescens*. B-21053	١٣,٦	٥٥
Enterobacter sp. B-21101 + *P. corrugata*. B-21049	١٣,٧	٥٤
Enterobacter sp. B-21101 + *Enterobacter* sp. B-21103	١١,٢	٦٣
Enterobacter sp. B-21101 + *Pantoea agglomerans* . B-21048	١٠,٧	٦٤
Enterobacter sp. B-21101 + *P. fluorescens*. B-21102	١٢,١	٦٠
Enterobacter sp. B-21101 + *P. corrugata*. B-21105	٩,٣	٦٩
P. fluorescens B-21053 + *P. fluorescens*. B-21102	٨,٧	٧١
P. corrugata. B- 21049 + *Pantoea* sp. B-21104	٧,٧	٧٤
Pantoea sp. B- 21104 + *P. corrugata*. B-21105	١٠,٧	٦٤
Pantoea sp. B- 21104 + *Pantoea agglomerans*. B-21048	١٢,٦	٥٨

obeikandl.com

٣- المقاومة الحيوية لمرض العفن الطري البكتيرى في درنات البطاطس

Biological Control of Bacterial Soft Rot In Potato Tubers

مقـــدمة:

يتسبب مرض العفن الطرى البكتيرى فى البطاطس عن البكتيريا *Erwinia carotovo-ra* pv. *atroseptica* ويرمز لها بالحروف (ECA) تظهر أعراض الإصابة أحياناً فى الحقل ولكنها فى الغالب تظهر فى المخزن. يظهر فى البداية على النسيج المصاب بقع مائية صغيرة، والتى تتسع بسرعة ولا يلبث أن يزداد عمقها وقطرها، تصبح المناطق المصابة طرية ورقيقة، يمكن أن يصبح سطحها متلوناً ومنخفضاً إلى حد ما، أو يمكن أن تظهر مجعدة أو ذات سطح متقرح ذى بثرات، تكون حواف البقع فى كثير من الحالات محددة تماماً فى البداية ولكن بعد ذلك تصبح غير واضحة. تصبح الأنسجة الموجودة فى المنطقة المصابة معتمة غير شفافة فى وقت قصير، أو تظهر بلون كريمى لزج، تتحلل إلى كتلة طرية من الخلايا غير المتعضية. فى بعض الدرنات يمكن أن يبقى السطح الخارجى سليماً، بينما كل المحتويات تكون قد تحولت إلى سائل كثيف عكر، ويمكن أن تنقلب الدرنة إلى كتلة متحللة طرية مائية شفافة خلال ٣-٥ أيام. يسبب هذا المرض خسائر كبيرة فى البطاطس.

كانت مقاومة الأعفان الطرية مبنية على وجه الحصر، فى العمليات الصحية والعمليات الزراعية حيث تزال جميع البقايا من المستودعات، وتطهر الجدران بمحاليل محتوية على الفورمالدهيد أو كبريتات النحاس، وتجنب جرح الدرنة قدر الإمكان، وأن تبقى الدرنة جافة والمخزن ذا حرارة ٤-٦°م. لم يوص باستعمال المقاومة الكيماوية بشكل عام. فى السنوات الأخير حصل على مقاومة جيدة لهذا المرض عن طريق المقاومة الحيوية.

المقاومة الحيوية للمرض:

لقد وجد أن استعمال سلالات من البكتيريا *Pseudomonas* وإضافتها إلى أجزاء تقاوى البطاطس، يخفض تجمعات البكتيريا المسببة للمرض، على الجذور والدرنات المتكونة حديثاً، وبالتالى عند انتقال هذه الدرنات إلى المخزن تكون حاملة نسبة بسيطة جداً من الكائن الممرض. كذلك وجد أن معاملة التقاوى قبل زرعها، بالبكتيريا *Pseudomonas putida*

يؤدى إلى مقاومة جيدة للمرض بعد الجمع. إن كلاً من Xu & Gross سنة ١٩٨٦ أجريا تحديثاً فى طرق انتقاء وتعريف عدد من سلالات البكتيريا الوميضة Fluorescent من أنواع *Pseudomonas* مضادة للبكتيريا الممرضة *E. carotovara* ، والتى لديها أيضاً القدرة على أن تنمو وتزدهر فى منطقة جذور البطاطس.

لقد نشأت فكرة المقاومة الحيوية لمرض العفن الطرى فى البطاطس عن طريق إضافة عوامل المقاومة الحيوية إلى تقاوى البطاطس (التقاوى المكونة من درنات صغيرة أو أجزاء من الدرنات الكبيرة) قبل الزراعة كمعاملة بذور. وفقاً لذلك فإنه يمكن الحصول على المقاومة الحيوية عن طريق كبح جماح نمو ونشاط البكتيريا الممرضة فى التربة أو على سطح الدرنة. كذلك فإن وجود ظاهرة التنافس فى المجال الجذرى بين البكتيريا الوميضة (سلالات بسيدوموناس) ومقدرتها على إنتاج نواتج تمثيل ثانوية قادرة على إحداث تغيير فى التجمعات الميكروبية فى منطقة الجذر. وبالتالى فإن عوامل المقاومة الحيوية الفعالة ضد هذا المرض، مأخوذة من أفراد البكتيريا الوميضة.

فى سنة ١٩٩٣ وجد Van Buren *et al* أن ٣٢٪ من ١٩٢ سلالة من الأندوفاتيك بكتيريا والمعزولة من ساق وأنسجة درنات البطاطس، هى عوامل مقاومة حيوية فعالة ضد أنواع البكتيريا *Clavibacter michiganensis* sub sp. *sepedonicus* ، ووجد أن السلالة CICA90 من البكتيريا الوميضة قادرة على استعمار الجذر والساق خارجياً وداخلياً وأن لها دوراً كبيراً فى المقاومة الحيوية عند إجراء التجارب على أصناف مختلفة من البطاطس فى المعمل، وجد أن الصنف Sebago يعزل منه أكبر نسبة من البكتيريا المضادة والمثبطة لنمو الجنس *Erwinia*، ووجد أن الغرام الواحد من الدرنة يحوى ٢,٧٨ x ١٠^{٦} وحدة تكوين مستعمرات. من أهم أنواع البكتيريا المعزولة من هذا الصنف، والتى لها تأثير مثبط على البكتيريا الممرضة (Eca) هى بالترتيب حسب عدد تواجدها وكفاءتها فى تثبيط النكائن الممرض.

1- *Curtobacterium luteum* 2- *Bacillus amyloliquefaciens*

3- *Pantoea agglomerans* 4- *Pseudomonas tolaasii*

5- *Bacillus alcalophilus* sub sp. *halodurans* 6- *serratia liquefaciens / grimessi*

ولقد وجد أن تكشف مرض العفن الطرى فى البطاطس يتناسب عكسياً مع تجمعات البكتيريا الاندوفانيك، والتى لها القدرة على تثبيط نمو Eca (جدول رقم ٢٨).

مما سبق يتبين أن زيادة وجود تجمعات البكتيريا السابق ذكرها على الدرنة منذ فترة وجودها فى الحقل، تخفض من حدوث مرض العفن الطرى فى البطاطس فى المخزن، لذلك يجب أن تبنى المقاومة الحيوية على هذا الأساس.

يتبين من جدول رقم ٢٨ أنه كلما زاد تركيز البكتيريا المضادة الموجودة على سطح الدرنة انخفضت شدة المرض فى جميع أصناف التجربة، وهذا له علاقة بمدى مقاومة الصنف لمرض الساق الأسود.

جدول رقم ٢٨ : تكشف مرض العفن الطرى على خمسة أصناف من البطاطس.

الصنف	سم قطر بقعة العفن الطرى	عدد البكتيريا x ١٠^{٦} على الدرنة والمثبطة للكائن الممرض	عدد البكتيريا x ١٠^{٦} الكلية مثبطة وغير مثبطة على الدرنة	مقاومة الصنف لمرض الساق الأسود
كينبك	٠,٩٥	١,٨٩	٦,٧٢	متوسط المقاومة
سيباجو	١,٢٥	١,٣٨	٢,٧٨	عال المقاومة
جرين موانتن	١,١٢	١,٣١	٣,٩٤	متوسط المقاومة
روست باربانك	١,٦٨	٠,٢٣	١,٧٨	عال المقاومة
بيوت	٢,٨١	٠,٠١	٠,٥٠	قابل للإصابة