الفصل الثامن

المقاومة الحيوية لبعض أمراض الطماطم والبطاطس

أولا : الطماطم

١ - سقوط البادرات المتسبب عن رايزوكتونيا

مقـــــدمة

تصاب بادرات الطماطم بمرض السقوط المفاجىء Damping- off ويتسبب هذا المرض عن الفطر *Rhizoctonia solani* ويسبب خسائر كبيرة فى كثير من الزراعات. أجريت تجارب عديدة لمقاومة هذا المرض حيويا باستعمال أنواع مختلفة من البكتيريا. بعض أجناس هذه البكتيريا سالبة لصبغة غرام مثل *Psudomonas* وبعضها موجب لصبغة غرام مثل الجنس *Bacillus*، إلا أن البكتيريا *B.ubtilis* تعتبر أفضل الأجناس فى مقاومة هذا المرض.

تستعمل البكتيريا *B.subtilis* سلالة AB14، بنجاح فى مقاومة هذا المرض، وهى تنتج مضادات حيوية، أهمها IturinA ، Surfactin. المضاد الحيوى الأول عبارة عن سايكلوببتايد يحتوى على سبعة أجزاء من الأحماض الأمينية الإليفاتية، وهى: -L - Gln - L - Asn - D - Tyr - D - Asn- L- Ser- D- Pro، وجزء من حمض أمينى (شكل ٢٧ ، *A*). نشاط هذا المضاد الحيوى قوى جدا. أما المضاد الحيوى الثانى Surfactin فهو يحتوى B- hydroxy Fatty acid مرتبطة برابطة استر ببتايد، مع سبعة أجزاء من الأحماض الأمينية الفاسايكلك (L- Glu- L- Leu- D- Leu- L- Val - L- Asp - D - Leu- L- Leu-) (شكل ٢٧ ، B) هذا المضاد الحيوى ضعيف الفعالية، إلا أنه مطهر سطحى قوى.

مقـــاومة المـــرض:

تستعمل البكتيريا *Bacillus subtilis* سلالة RB14- C، والتى تظهر نشاطاً قوياً فى إنتاج المضادات الحيوية، ضد عديد من الكائنات الممرضة النباتية فى المعمل، عن طريق إنتاج المضاد الحيوى Surfactin و Iturin A. تتميز هذه البكتيريا بسهولة استعادتها من التربة، وأن الطفرة RB14 مقاومة ذاتيا لمادة الستربتومايسين، وبالتالى فهى تستعمل فى مقاومة مرض سقوط البادرات فى الطماطم.

كما يلاحظ فى الجدول رقم (٨٣) أن تأثير البكتيريا *B.subtilis* سلالة *RB14- C*. يلاحظ أنه فى الاوعية التى لم تلوث تربتها بالفطر R.solani. جميع بادرات الطماطم تنمو طبيعياً ولم تظهر عليها أية أعراض. أما فى الأوعية الملوثة تربتها بالفطر الممرض المذكور، فإن النسبة المئوية للنباتات المريضة تصل ٨٥,٢ ٪، وأن الوزن الجاف وطول الأفرع إنخفض بشكل معنوى. أما عند استعمال مزارع البكتيريا *B.subtilis* سلالة RB14 - C النامية فى المرق وخلطها مع التربة الملوثة بالفطر الممرض، فإن النسبة المئوية للنباتات المريضة تنخفض الى ١٦,٧ ٪، يزداد الوزن الجاف وطول الأفرع أيضا.

أمكن استعادة البكتيريا RB14 - C من التربة، بعد يوم واحد من استعمال المزارع. كان العدد الكلى للخلايا ٧,٧٦ x ١٠^٧ cuf/ غرام من التربة الجافة، كان عدد الجراثيم ١,٢٥ x ١٠^٨ *cfu*/ غرام تربة جافة. أما فى اليوم الرابع عشر، آخر أيام التجربة، كان عدد الخلايا ٤,٥٦ x ١٠^٧ *cfu* / غرام جافة، وعدد الجراثيم ٤,٧٨ x ١٠^٧ *cfu*/ غرام تربة جافة.

إن كمية المضاد الحيوى Iturin A و Surfactin المأخوذة من التربة ابتداء من اليوم الاول حتى اليوم الرابع عشر واضحة فى جدول رقم (٨٤). كانت هناك كميات معنوية مأخوذة من المادتين من التربة فى اليوم الرابع عشر، وقد كانت كمية الـ Iturin A تنخفض بسرعة اكثر من Surfactin ، على الرغم من أن وجودهما كان متساوياً فى اليوم الأول.

مما سبق يتبين لنا أن مرض سقوط البادرات المفاجىء فى الطماطم يمكن تثبيطه عند استعمال السلالة RB14- C وحقنها فى التربة. سواء كانت على شكل مزرعة مرق أو معلق خلوى أو خلايا نقية بمفردها. إن كون المضادات الحيوية تعزل ثانية من التربة، يؤكد أن هذه السلالة تفرز هذه المضادات فى التربة باستمرار.

وجـد أيضاً أن الجين *Ipa 14* والذى يتم كلونتـه من السلالة RB14 – والضـرورى لانتاج المضادين المذكورين، حصل له طفرة فى RB14 - C، وأن الطفرة RΔ1 نشأت منها. عند استعمال هذه الطفرة RΔ1 كان تأثيرها على خفض المريض قليلاً. اما الطفرة RΔ1 (pc 115) المنقولة عن الطفرة الاولى باستعمال البلازمد PC115 وتحـمل جين Ipa - I4 كانت شديدة الفعالية فى تثبيط المرض (جدول ٨٥).

من هذا يتبين أن المضادات الحيوية المذكورة سابقا والمنتجة من السلالة RB14 تلعب دوراً كبيراً فى تثبيط مرض سقوط البادرات فى الطماطم المتسبب عن الفطر *R.solani*، وأن جميع السلالات، RB14 - C و RΔ1 و RΔ1 (PC 115) تتواجد ويزداد عددها فى التربة.

جدول رقم (٨٣) : تأثير استعمال مزارع البكتيريا *B.subtilis* سلالة RB14- C على تثبيط مرض سقوط البادرات المفاجئ على نباتات الطماطم، المتسبب عن الفطر *R.solani* سلالة K-1 بعد ١٤ يوماً من الزراعة.

المعاملة		ملم طول النبات	ملغ الوزن الجاف للأفرع فى كل وعاء	٪ نباتات مريضة
R.solani	RB14 - C			
+	-	١٣,١	٧٧	٨٥,٢
+	مزرعة مرق	٧٧,٤	٥٠٢	١٦,٧
+	معلق خلوى	٦٦,٩	٥٧٤	٢٧,٨
+	مزرعة مرق منقاة بالة الطرد المركزية	٨٢,٤	٦٥١	١١,١
--	--	٨٣,١	٦٢٦	صفر

جدول رقم (٨٤) : تركيز المضادين الحيويين Iturin A و Surfactin المعزولين من التربة المعاملة بالبكتيريا مباشرة أو بعد ١٤ يوماً.

الشكل الذى تستعمل عليه السلالة RB14 - C	تركيز المضادات الحيوية ميكروغرام لكل غرام تربة جافة			
	بعد المعاملة بيوم واحد		بعد المعاملة ١٤ يوماً	
	Iturin A	Surfactin	Iturin A	Surfactin
مزرعة مرق	١٩,٤	١٨,١	٥,٣	١٨,١
مزرعة معلق خلوى	٠,٥٨	٤,٧٣	١.٧٨	٠,٨٩
مزرعة مرق منقاة بالطرد المركزى	١٩.٥	١٨,٠	١,٢٤	١٠,٧
كنترول	صفر	صفر	صفر	صفر

جدول (٨٥) : تأثير سلالة RB 14 - C ومشتقاتها على تثبيط مرض سقوط البادرات المفاجىء فى الطماطم المتسبب عن الفطر R.solani سلالة K-1 بعد ١٤ يوماً من الزراعة.

المعاملة		ملم طول الفرع	غرام وزن الأفرع الجاف لكل وعاء	٪ نباتات مريضة
R.solani	Bacterium			
+	--	١٧,٢	١٢,٩	٨٥,٢
+	RB14 - C	٧٠,٧	٥٦,٠	٢٤,١
+	RΔ1	٣٧,٢	٣١,٢	٦٤,٨
+	RΔ1 (pC115)	٦٩,٢	٥٣,٦	٢٩,٤
--	--	٩٥,٩	٧٠,٤	صفر

٢ - سقوط البادرات المتسبب عن بثيم

مقـــدمة

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

مقـاومة المـــرض:

تستعمل البكتيريا *P.aeruginosa* السلالة 7NSK2 ضد الفطر *Pythium splendens* المسبب سقوط بادرات نباتات الطماطم. إن جميع المعاملات البكتيرية تخفض بشكل معنوى الإصابة المرضية قبل ظهور البادرة فوق سطح التربة (جدول ٨٦) بالمقارنة مع الكنترول. اما فى حالة غياب الفطر الممرض لا يوجد فرق معنوى بين المعاملات البكتيرية فى تأثيرها على نمو وظهور نباتات الطماطم فوق سطح التربة. لا يوجد فرق معنوى فى وقاية النباتات من الإصابة قبل الظهور فوق سطح التربة باستعمال السلالة الأصلية 7NSK2 (٨٣٪ نسبة الإنبات) والطفرة سالبة الإنتاج لمادة Pyoverdin (MPFM1)، نسبة الإنبات ٨٢٪، والطفرة KMPCH (K5) سالبة الإنتاج لكل من Pyoverdin و Pyochelin (نسبة الإنبات ٨٤٪)، والمضاف اليها صفة إنتاج ال Pyochelin. أما الطفرة KMPCH السالبة الإنتاج للمادتين المضادتين، فهى أيضا تخفض الإصابة بالفطر بثيم (نسبة الإنبات ٧٦٪) ولكنها أقل كفاءة من سلالة الأبوين.

يمكن الحصول على أفضل مقاومة ضد مرض السقوط المفاجئ لبادرات الطماطم، بعد ظهورها فوق سطح التربة، عن طريق معاملة بذور الطماطم بالسلالة البكتيرية المنتجة لمادة Pyochelin وهى 7NSK2 ثم بعد ذلك السلالات MPFM1 و KMPCH (K5) (جدول ٨٦). الحقن بهذه السلالات يزيد عدد النباتات السليمة بعد ٩ أيام من ظهورها فوق سطح التربة من ٣٤٪ فى الكنترول إلى أكثر من ٥٥٪. أما السلالة KMPCH، تتميز بانخفاض فى مقدرتها على تثبيط الإصابة المرضية (نسبة النباتات السليمة ٤٦٪ بعد ٩ أيام من الظهور فوق سطح التربة، بالمقارنة مع السلالة الأم والطفرات MPFM1 و KMPCH(K5). إن انخفاض وقاية بادرات الطماطم ضد الفطر *P.splendens* باستعمال الطفرة KMPCH، لايكون بسبب ضعف مقدرتها على استعمار الجذر، وإنما بسبب ضعف إنتاجها للمواد المثبطة المذكورة سابقا، فى منطقة الرايزوسفير، بعد ٩ أيام من ظهور البادرات فوق سطح التربة فى الاختبارات الحيوية.

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

جدول رقم ٨٦ : تأثير البكتيريا P.aeruginosa السلالة 7NSK2، ومشتقاتها السالبة الإنتاج لـ Pyoverdin و / او Pyochelin على بذور الطماطم، وسلامة البادرات بعد الظهور فوق سطح التربة بمدة ١ ، ٤ ، ٩ أيام فى المقاومة الحيوية للفطر P.splendens .

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

٣ - المقاومة الحيوية لذبول الفيوزاريوم في الطماطم

Tomato Fusarium With Biocontrol

مقـــدمة

يتسبب ذبول الفيوزاريوم فى الطماطم من الكائن الممرض الفطر *Fusarium oxyspor-um f .sp. lycopersici* ويرمـز له FOL. يسبب المرض خسائر كبيرة فى النباتات فى الصوبا الزجاجية وفى الحقل. أفضل طرق المقاومة لهذا المرض، استعمال الأصناف المقاومة، إلا أنه فى السنوات الماضية ظهرت سلالات جديدة من الفطر تغلبت على المقاومة فى هذه الأصناف. كذلك فإن المقاومة الكيماوية لهذا المرض غير ذات جدوى، وبالتالى فإن المقاومة الحيوية أكثر جاذبية وطلبا وأفضل بديل للمقاومة الكيماوية لهذا المرض.

ذكر كثير من الباحثين، أنه يمكن تثبيط مرض ذبول الفيوزاريوم فى الطماطم باستعمال البكتيريا الوميضة والسلالات غير الممرضة من الفطر فيوزاريوم، وأن الطريقة التى تتغلب بها هذه السلالة على السلالة الممرضة، هى مقدرتها على التنافس على الغذاء المتوفر، إلا أنه وجد حديثاً أن إنتاج الإنزيمات المحللة lytic enzymes بواسطة الكائنات الدقيقة المضادة، يمكن أن تكون هى الطريقة الفعالة ضد الفطر الممرض المذكور سابقاً. كذلك ذكر بعض الباحثين أنه يمكن مقاومة هذا المرض، باستعمال سلالات بكتيرية منتجة لإنزيمات التحلل.

لقد ذكر Alfonso *et al* سنة ١٩٩٢ أن الفطريات *Mucor rouxii*، *Aspergillus nidulans* و *Penicillium oxalicum*، تفرز إنزيمات محللة، ولها القدرة على تحطيم جدر خلية الفطر المسبب ذبول الفيوزاريوم فى الطماطم سلالة رقم ٢ . وأن الإنزيمات المفرزة من قبل هذه الفطريات، هى:

1) Chitinases
2) Chitosanases
3) B, 1-3 glucanases
4) Galactanases
5) B - acetyl glucosaminidases

مقـــاومة المـــرض:

أجريت التجارب على الطماطم صنف Novy، وهو قابل للإصابة بالفطر FOL سلالة ٢، حيث أخذت بذور هذا الصنف وزرعت فى مخلوط من الرمل، البيت، Vermiculite بنسبة متساوية ووضعت فى مراقد كبيرة على حرارة ٢٠° م ورطوبة نسبية ٨٠ – ١٠٠ ٪ مع إضاءة ١٦ ساعة يوميا لمدة ٤ أسابيع. نقلت البادرات التى تحمل ٢ – ٤ ورقات حقيقية، وزرعت فى أوعية مقاس ٢٢ *x* ٢٢ *x* ٩ سم، فيها تربة معقمة، وأوعية أخرى فيها تربة غير معقمة. قبل زراعة البادرات فى هذه الأوعية كانت تغمر جذورها فى معلق بتركز ١ *x* ١٠^{٦} جرثومة ماكروكونيدية من *FOL* لكل مل لمدة ٣٠ دقيقة، ثم تغمر بعد ذلك جذور هذه الشتلات فى معلق جراثيم الكائنات المضادة، كل على حدة، هذه الكائنات هى:

1 - Penicillium oxalicum

2 - Aspergillus nidulans

3 - P.purpurogenum

4 - Trichoderma koningii, T.harzianum

بتركيز 10^9 جرثومة/ مل، ويستعمل Tween - 80 مع مواد غذائية (مستخلص الخميرة ومستخلص المولت ١,٪) ثم وضعت هذه الأوعية فى الصوبا الزجاجية على حرارة ١٥-٣٠° م. قدرت الشدة المرضية بعد ٣٥ يوماً من نقل الشتلات.

كانت نتيجة التجارب، أن الفطريات المضادة المستعملة، حطمت خلايا الفطر الممرض FOL فى العمل وخفضت اعداد المكروكونيديا فى التربة. كما تبين أن الفطر *Penicillium oxalicum* هو أكثر عوامل المقاومة الحيوية فعالية فى التأثير على الكائن الممرض، ويخفض من شدة المرض سواء فى التربة المعقمة أو غير المعقمة. فى التربة المعقمة فإن الفطر *P.oxalicum* يخفض المرض بنسبة تتراوح من ٢٧ - ٥٠٪ وذلك حسب شدة المرض. اما الفطر *A.nidulans* و *P.purpurogenum* لم يكن لهما تأثير فى مقاومة المرض، إلا عندما تكون شدة الفطر منخفضة، وفى التربة المعقمة، فكانت نسبه تخفيض المرض ٥٥٪ و ٤٥٪ للفطرية على الترتيب. إن الجدولين ٨٧، ٨٨ يبينان تأثير استعمال الكائنات المضادة على شدة المرض فى أوضاع مختلفة. أما المقاومة الحيوية باستعمال البكتيريا فهى مذكورة مع مقاومة الذبول البكتيرى فى الصفحات اللاحقة.

جدول رقم (٨٧) : تأثير استعمال الكائنات المضادة على شدة مرض ذبول الفيوزاريوم فى الطماطم فى التربة غير المعقمة والمعقمة، عند اضافة مواد غذائية ودون مواد غذائية.

الكائن المضاد المستعمل فى التجربة	٪ الشدة المرضية فى تربة معقمة	٪ الشدة المرضية فى تربة غير معقمة	
		دون مواد غذائية	مع مواد غذائية
Penicillium oxalicum	٥٧,٢٩	٦٠,٧	٤٢,٩
Aspergillus nidulans	٦٩,١٢	٤٦,٩	٦٤,٣
Penicillium purpurogenum	٧٣,٣٦	٥٠,٠٠	٦٢,٥
Trichoderma koningii	--	٦٧,٩	٧١,٤
Trichoderma harzianum	--	٥٧,١	٧١,٤
كنترول	٧٩,٠٥	٦٢,٠٠	٦٢,٠

جدول رقم (٨٨) : تجمعات الفطر FOL سلالة ٢، وحدة تكوين مستعمرات / غرام طازج من الجذور فى رايزوسفير نباتات الطماطم، فى تربة معقمة بعد ٣٥ يوماً من استعمال الفطريات المضادة فى التربة، فى وجود أوعدم وجود مواد غذائية.

الكائن المضاد المستعمل فى التجربة	بدون مواد غذائية		مع مواد غذائية	
	عدد التجمعات	٪ شدة المرضية	عدد التجمعات	٪ شدة المرضية
Penicillium oxalicum	--	٢٥,٠٠	١٤٤٥	٣٧,٥
Aspergillus nidulans	٩١٢	٣١,٢٥	٣٢٣٦	٢٥,٠٠
Penicillium purpurogenum	٥٠١	٣٧,٢٥	٥٤٩٥	٣١,٢٥
كنترول	٥١٣	٦٢,٠٠	١٦٢٢	٦٢,٠٠

استعمال السلالة غير الممرضة (Fo 47) من الفطر *F.oxysporum* في مقاومة ذبول فيوزاريوم الطماطم:

السلالة غير الممرضة من الفطر *F.oxysporum* وتعطى رقم *Fo 47*، قد عزلت من التربة المثبطة لذبول الفيوزاريوم، فى إحدى مناطق فرنسا، وتبين فعاليتها فى خفض شدة هذا المرض فى كثير من التجارب والأبحاث. ولقد أثبتت التجارب أن هذه السلالة عندها القدرة العالية على التنافس فى أماكن الإصابة بالفطر الممرض على سطح الجذر، وكذلك لها قدرة تنافسية عالية على المواد الغذائية (الكربون والحديد)، هذه القدرة التنافسية من أهم العوامل التى تتدخل فى وقاية النبات من الإصابة بالكائن الممرض. زيادة على ذلك فإن هذه السلالة تحث على خلق مقاومة موضعية، غالباً ما تكون مترافقة مع الاستجابة للحساسية الفائقة أو الحساسية الجهازية، عندها يصبح النبات كله محفوظاً ضد الحقن بالكائن الممرض. يمكن اكتشاف المقاومة الجهازية المستحثة عن طريق الحقن المنافس فى وقت متأخر من نمو النبات، وفى مواقع مختلفة من النبات. فى حالة ذبول الفيوزاريوم، فقد ذكر Mandeel & Baker سنة ١٩٩١ أن السلالة Fo 47 يمكن أن تحث على مقاومة مرض ذبول الفيوزاريوم فى الخيار، وكذلك فى الحمص. أما فى حالة نباتات الطماطم.. فإن المقاومة المستحثة لذبول الفيوزاريوم يمكن الحصول عليها من Formae speciales من الفطر الممرض *F.oxysporum* على نبات القرنفل.

فى التجارب المتعددة التى أجريت على السلالة *Fo 47*، وجد أنها تقى نباتات الطماطم من الإصابة بالكائن المسبب لمرض ذبول الفيوزاريوم، وذلك لأن حقن نباتات الطماطم بهذه السلالة، يؤدى إلى زيادة الإنزيمات فى النبات، مثل إنزيم Chitinase فى الساق، حيث ارتفع الى ١٢٦ ٪ وفى الورقة ١٣٧ ٪ وفى سوائل خلية الورقة ١٥٥ ٪، كذلك أدت إلى زيادة إنزيم B- 1,3 - glucanase بنسبة ٣١٥ ٪، وانزيم *B- 1,4* glucosidase بنسبة ١٦٨ ٪. هذا يؤكد مقدرة هذه السلالة على إحداث مقاومة فى نباتات الطماطم، وهذا ما ظهر بالفعل، حيث إن هذه السلالة تخفض الإصابة بمرض ذبول الفيوزاريوم فى الطماطم من ٨٦ ٪ فى الكنترول إلى ٢٣ ٪ فى النباتات المعاملة.

٤ - المقاومة الحيوية للذبول البكتيري في الطماطم

Tomato Bacterial Wilt Biocontrol

مقـــدمة

إن امراض الذبول البكتيرى فى الطماطم من أكثر الأمراض إنتشاراً، وتسبب خسائر كبيرة فى إنتاج الطماطم. يتسبب مرض الذبول البكتيرى فى الطماطم عن البكتيريا *Pseudomonas solanacearum* .

أجريت دراسات عديدة لمقاومة مرض الذبول الفيوزاريومى باستعمال البكتيريا، فوجد أن أفضل عامل مقاومة حيوية بكتيرية لهذا المرض هى *S.oliviaceoviridis = Streptomyces corchorusii*. أما أفضل عامل مقاومة حيوية لذبول الطماطم المتسبب عن بكتيريا، فهى البكتيريا *Streptomyces mutabilis* ذو الاسم المرادف *S.rochei*.

أثبتت الابحاث الكثيرة، أن بعض مبيدات الحشائش لها دور فى تثبيط كثير من الامراض النباتية الكامنة فى التربة. وجد أن أفضل مبيدات الحشائش التى تساعد فى مقاومة ذبول الفيوزاريوم والبكتيرى، هى: مبيد الحشائش Pendimethalin والمبيد الثانى Metribuzin. ولقد وجد فى الأبحاث التى قام بها El-Shanshoury ورفاقه سنة ١٩٩٦ أن مقاومة الكائنات الممرضة المسببة للذبول الفيوزاريومى والبكتيرى، تختلف حسب نوع وتركيز مبيد الحشائش، ونوع الكائن المضاد المستعمل فى المقاومة، وكذلك نوع التربة. وإن نتائج أبحاثهم أدت الى القول بأن مبيدات الحشائش و / أو الكائنات الدقيقة المضادة لا تثبط الكائنات الممرضة كلية. إلا أنه يمكن القول بأن وسيلة الدفاع الكيماوية الحيوية ضمن العائل تستحث فى وجود مبيد الحشائش ووجود الكائن الحى الدقيق المضاد. وكذلك يمكن القول بأن الاتحادات بين الميكروبات المضادة *S.corchorusii* و *S.mutabilis*، ومبيدات الحشائش التجارية Pendimethalin و Metribuzin تمثل طريقة مقاومة فعالة ضد الكائنين الممرضين. وهذا يؤدى الى الاستنتاج بأن الكائن المضاد *Streptomyces* sp. يمكن أن يخفض حدوث المرضين، عندما يتحد مع عوامل مقاومة كيماوية متوافقة.

مقـاومة المـــرض:

اعتماداً على المقدمة السابقة، فيمكن دراسة المقاومة الحيوية لهذين المرضين كالآتى:

أ: عزل الكائن الممرض

تعزل الكائنات الممرضة المسببة للذبول الفيوزاريومى والبكتيرى من نباتات الطماطم المصابة. ينمى الفطر على بيئة Czapek - Dox agar ويحفظ على حرارة ٢٣° م. أما البكتيريا فتنمى على آجار مغذى على حرارة ٣٠° م لمدة ٤٨ ساعة، تفصل الخلايا البكتيرية وتغسل فى ماء معقم وتخفف لتركيز ٢ x ١٠^٦ خلية / مل او تحفظ على شكل معلق فى ماء معقم على حرارة ٢١ °م.

أما الكائنات المضادة *S.corchorusi* و *S.mutabilis* تعزل من التربة.

أما مبيدات الحشائش:-

الاول: Pendimethalin وتركيبه N - (1-ethyl propyl) - 3,4, dimethyl - 2,6 di- nitrobenzene amine

الثانى : Metribuzin وتركيبه 3- (1,1 - dimethylethyl) - (4 - amino - 6 - (methylthio) 1,2,4 - triazin - S - (4H) - one)

وان هذين المبيدين ليس لهما اى تأثير سام على نباتات الطماطم.

ب: الدراســات المعملـية:

تبين أن هناك تأثيراً مثبطاً لكل من *S.corchorusii* و *S.mutabilis* ضد فطر الذبول الفيوزاريومى، وكذلك فإن *S.mutabilis* ضد بكتيريا الذبول *P.solanacearum*. أما فى المزارع المضاف إليها مبيدات الحشائش المذكورة، فإن نمو الكائنات الممرضة قد تثبط، وأن درجة التثبيط هذه تتناسب مع تركيز مبيد الحشائش، إلا أن المبيد الأول أكثر فعالية من المبيد الثانى، وأن أفضل تثبيط كان على تركيز ٢ x ١٠^-٣ مول. أما الكائنات المضادة فإن نموها لم يتأثر بوجود مبيدات الحشائش، بل أحياناً أدى إلى زيادة النمو.

جـ- الدراســات الحقليــة:

تزرع بذور الطماطم المعقمة سطحيا فى أطباق بترى تحوى ورق نشاف به ٥ مل من كل مبيد من مبيدات الحشائش بتركيزات ٢ x ١٠ $^{-٤}$ ، و ٤ x ١٠ $^{-٤}$ ، ١ x ١٠ $^{-٣}$ و ٢ x ١٠ $^{-٣}$ مول. الجرعة الموصى بها للمبيد الاول ٢,٩ x ١٠ $^{-٤}$ مول والمبيد الثانى ٠,٥ x ١٠ $^{-٤}$ مول. تحفظ الأطباق فى الظلام لمدة خمسة أيام على حرارة ٢٥° م. بعد الإنبات تنقل البادرات إلى الأوعية ثم توضع الاوعية فى الصوبا الزجاجية، على رطوبة نسبية ٧٠ – ٨٠٪ وحرارة من ٢٤ – ٣٠° م وإضاءة ١٦ – ١٨ ساعة وظلام ٦ – ٨ ساعات. بعد ٤٠ يوماً من الإنبات، عندها، تحمل الشتلات حوالى ٦ أوراق، تحقن التربة بحوالى ٥ مل بتركيز ٢ x ١٠ ^{٦} جرثومة او خلية/مل من فطر الفيوزاريوم مسبب الذبول أو بكتيريا الذبول أو الفطر + البكتيريا، أو الفطر + الكائن المضاد، أو البكتيريا + الكائن المضاد، تبقى النباتات نامية لمدة ٣ أسابيع بعد الحقن.

د- النتائـــج:

من الجدولين رقم (٨٩، ٩٠) . يتبين لنا أن مبيد الحشائش الثانى، تأثيره يساوى ضعف تأثير المبيد الأول وكذلك فإن تأثير الكائن المضاد *S.mutabilis* تأثيره ضعف تأثير الكائن المضاد *S.corchorusii*

وكذلك يتبين من جدول (٩٠) أن عاملى المقاومة الحيوية عند وجودهما معاً مع وجود مسببات امراض الذبول الفيوزاريوم والبكتيريا، مع مبيدات الحشائش أدت إلى خفض الإصابة إلى صفر؛ مما يدل على كفاءة استعمال هذه المواد فى مقاومة ذبول الطماطم الفطرى والبكتيرى.

جدول رقم(٨٩) : تأثير التركيزات المختلفة من مبيدات الحشائش Pendimethalin وMetribuzin على مسببات الذبول الفيوزاريومى والبكتيرى وعوامل المقاومة الحيوية فى الطماطم.

تركيز مبيد الحشائش مول	الفطر الممرض فيوزاريوم		البكتيريا الممرضة بسيدوموناس		عامل المقاومة الحيوى الاول	عامل المقاومة الحيوى الثانى
	ملم قطر المزرعة	ملغ/١٠٠ مل مزرعة	عدد الخلايا/ملم ^{٢}١٠٨	ملغ/مل مزرعة	ملغ/١٠٠ مل مزرعة	ملغ/١٠٠ مل مزرعة
كنترول	٧٥	٩٥٠	٢,٨	٤٥,٠٠	٧٤٨	١٠٦٢
Pendimethalin						
٢ x ١٠$^{-٤}$	٥١	٦٣٠	٠,٣	٤٥,٠٠	٧٦٨	٨٤٠
٢,٩ x ١٠$^{-٤}$	٤٥	٦٠٠	٠,٢	١٥,٠٠	٧٧١	٨٥٦
٤ x ١٠$^{-٤}$	٤٢	٥٠٠	٠,٠٨	١٣,٥	٧٥٨	٦٩٨
١ x ١٠$^{-٣}$	٣٦	٣٨٠	٠,٠٤	٣,٨	٧٥٢	٥٧٠
٢ x ١٠$^{-٣}$	٢٥	٣٢٠	٠,٠٢	٢,٢٠	٧٤٩	٥٦٢
Metribuzin						
٠,٥ x ١٠$^{-٤}$	٧٠	٨٧٠	٢,٤٨	٣٥,٠	٧٤٣	١٠٤٦
٢ x ١٠$^{-٤}$	٦٤	٨٢٠	١,١٠	٢١,٠	٧٣٨	٤٩٨
٤ x ١٠$^{-٤}$	٥٤	٦٩٠	٠,٨٢	١٦,٠	٧٢٠	٧٢٨
١ x ١٠$^{-٣}$	٣٩	٤٨٠	٠,٦٨	١٢,٠	٦٢٦	٧٨٦
٢ x ١٠$^{-٣}$	٣٤	٤٢٠	٠,٣٢	٨,٥٠	٥٤٤	٩٥٦

ملاحظات على الجدول:

كان يحسب الوزن الطازج. عامل المقاومة الحيوية الاول *P.corchorusii* والثانى *P.mutabilis*.

obeikandl.com

جدول رقم (٩٠) : تأثير المعاملات المختلفة فى التربة غير المعقمة على أمراض الذبول الفطرى والبكتيرى فى الطماطم.

المعاملة	مبيد الحشائش لوحده		مبيد الحشائش + مسببات الامراض				مبيد الحشائش + كائنات ممرضة + كائنات مضادة			
	ملم طول الفرع	عدد الأوراق	دليل الذبول	ملم طول الفرع	عدد الأوراق	٪ استعمار لساق	دليل ذبول	ملم طول الفرع	عدد الأوراق	٪ استعمار لساق
تربة غير ملوثة بالممرضات	٢٤,٥	١٠	--	--	--	--	--	--	--	--
تربة ملوثة بالممرضات	٢٤,٥	١٠	٤.٧	٢٤	١٠	١٠٠	١,٧	٢٧,٥	١٠	٤٥,٥
المبيد الاول ١٠X١ $^{-٣}$ مول	٢٩,٧	١٢	٢,٩	١٢	٣	٥٨	صفر	٣٠,٥	١٢	٨,٣
المبيد الاول ١٠X٢ $^{-٣}$ مول	٢٤,٠	١٠	٢,٣	١٠	٢	٤١,٥	صفر	٢٥,٠	١٠	صفر
المبيد الثانى ١٠X١ $^{-٣}$ مول	٤٠	١٤	٢,٧	٣٠,٥	١٢	٧٥	٠,٣	٣٢,٠	١٢	٢٠,٨
المبيد الثانى ١٠X٢ $^{-٣}$ مول	٣٥	١٤	٢,٣	٢٩	٢	٥٠	صفر	٢٩,٥	١٢	٨,٣

ملاحظات على الجدول:

دليل الذبول من ١ – ٥ حيث أن ١ = تكون الإصابة من صفر الى ٢٤ ٪ والنبات سليم كل الأوراق خضراء. ٢ – الإصابة من ٢٥ – ٤٩ ٪ لأوراق السفلية صفراء. ٣ = الإصابة ٥٠ – ٧٤ ٪ تموت الأوراق السفلية وتصفر بعض الأوراق العلوية. ٤ = الإصابة ٧٥ – ٩٩ ٪ تموت الأوراق السفلية وتذبل الأوراق العلوية. القياس ٥ = الإصابة ١٠٠ ٪ ويموت النبات.

obeikandl.com

٥ - المقاومة الحيوية لذبول الفيرتسليم واللفحة المبكرة في الطماطم

Tomato Verticilium Wilt and Early Blight Biocontrol

مقـــدمة

تصاب الطماطم بمرض ذبول الفيرتسليم المتسبب عن الفطر *Verticillium albo-atrum* وكذلك باللفحة المبكرة المتسببة عن *Alternaria solani*.

لقد أثبتت الدراسات الحقلية أن غمر بذور الطماطم فى مرشحات مزارع الكائن المضاد *Streptomyces pulcher* أو *S.canescens*، الاسم المرادف *S. citreofluorescens* أو *S.albidoflavus* قبل الزراعة او حقن التربة بالكائنات المضادة بمدة سبعة أيام قبل الزراعة أو تغليف بذور الطماطم بجراثيم الكائن المضاد قبل الزراعة، كلها إجراءات تؤدى إلى خفض الإصابة بالمرض. إن عملية تغليف البذور، أفضل معاملة فعالة فى مقاومة جميع الكائنات الممرضة بعد ٤٢-٦٣ يوم من الزراعة. أما حقن التربة بالكائنات المضادة لمدة سبعة أيام قبل الزراعة تكون أقل فعالية فى مقاومة الكائنات الممرضة.

أما المعاملة التى تغمر فيها البذور فى مرشح مزرعة الكائنات المضادة كانت أقل المعاملات كفاءة فى مقاومة الأمراض. كذلك فإن التجارب أثبتت أن تغليف البذور بالكائن المضاد يؤدى إلى تحسين نمو الطماطم كما فى جدول (٩١).

٦ - المقاومة الحيوية لأمراض بوترايتس في الطماطم

Tomato Botrytis Diseases Biocontrol

اولا: بالفطـــريات:

مقـــدمة

تهاجم نباتات الطماطم فى كثير من الأحيان بالفطر *Botrytis cinerea*، حيث يهاجم الفطر الأزهار، الثمار، وجروح الساق الناتجة من العمليات الزراعية الروتينية، مثل إزالة الاوراق والفروع الجانبية، هذه العمليات ضرورية لبقاء النباتات حية أثناء الشتاء؛ لكى تحمل

جدول رقم (٩١) : تأثير المعاملات المختلفة من S.canescens على ذبول فيرتسليم الطماطم واللفحة المبكرة على فترات مختلفة من الزراعة.

المعاملة	% إنبات	% إصابة بعد عدد الأيام			عمق الجذر ملم بعد عدد الأيام			الوزن الجاف ملغ بعد		
		٢١ يوماً	٤٢ يوماً	٦٣ يوماً	٢١ يوماً	٤٢ يوماً	٦٣ يوماً	٢١ يوماً	٤٢ يوماً	٦٣ يوماً
أ – تربة غير ملوثة بالفطر الممرض	٩٦	صفر	صفر	صفر	١٥	٥٠	٦٥	٣٤	٢١٠	٨٤٥
ب – فطر الذبول مع:										
١ – تربة ملوثة كنترول.	٦٢	صفر	١٠,٧	١٠٠	١٥	٢٥	٦٠	٢٩	٨٣	٥٢٠
٢ – الكائن المضاد، غمر بذور.	٩٣	صفر	صفر	٥٧,١	١٥	٤٢	٦٧	٣١	١٣٤	٥٣٠
٣ – الكائن المضاد، حقناً فى التربة قبل الزراعة.	٩٤	صفر	صفر	صفر	١٤	٤٠	٦٨	٣٣	١٥٢	٨١٠
٤ – الكائن المضاد تغليف بذور.	٩٦	صفر	صفر	صفر	٣٠	٥٥	٧٠	٦٥	٣٣٤	١٠٧٠
جـ – فطر اللفحة المبكرة مع:										
١ – تربة ملوثة فقط (كنترول).	٩٣	صفر	١٧,٩	٨٦,٤	١٥	٥٠	٧٠	٢٥	١٦٥	٥٧٢
٢ – الكائن المضاد غمر بذور.	٩٥	صفر	٧,٧	٥٧,١	١٥	٤٠	٦٠	٢٤	١٤٥	٥٩٢
٣ – الكائن المضاد حقنا فى التربة.	٩٥	صفر	صفر	صفر	١٥	٥٥	٨٢	١٨,٥	١٦٧,٥	٥٧٨
٤ – الكائن المضاد تغليف بذور.	٩٦	صفر	صفر	صفر	١٢	٥١	٧٧	٢١	١٧٠	٨٩٧

obeikandl.com

ثماراً فى الربيع. إن تواجد الفطر بوتراتيس يمكن أن يخفض عن طريق درجات الحرارة المسائية (١٣ – ١٦° م)، وكذلك فى المناخ الأكثر برودة أو حيث ينمو المحصول فى الشتاء؛ إذ يتطلب حرارة مرتفعة، وفى كلتا الحالتين فإن الوقاية تكلف مبالغ كبيرة. أما الوقاية عن طريق المبيدات الكيماوية فإنها لا تعطى النتائج المطلوبة. ففى حالة استعمال Dicarboxi-mide أو Benzimidazol. فقد ظهرت سلالات من الفطر مقاومة لهذه المبيدات (هذا ما وجده Beever *et al* سنة ١٩٨٩). كما أن أبحاث العالم Morgen سنة ١٩٨٥ أثبتت أن دهن الساق بالمبيدات الكيماوية، يمكن أن يكون أكثر فعالية من الرش فى مقاومة جروح الساق.

أما الطريقة الممكنة والبديلة للحرارة والمبيدات الفطرية، فهى استعمال الكائنات الحية الدقيقة المضادة لمقاومة الفطر بوتراتيس. فلقد وجد أن كلاً من *Cladosporium herbarum* و *Penicillium* sp. لها تأثير فعال ضد الكائن الممرض *Botrytis* على أزهار وثمار الطماطم، سواء كان تواجد هذه الفطريات طبيعيا أم بالحقن الصناعى. ولقد وجد أن الفطر *Trichoderma harzianum* (يباع تجاريا تحت اسم Trichodex) لوحده أو متحداً مع المبيدات الفطرية، يقاوم الفطر الممرض بكفاءة عالية فى الصوبا الزجاجية ويفضل استعمال المبيد الكيماوى Iprodione معه.

مقاومة المرض

يقاوم مرض بوتراتيس حيوياً فى الطماطم، باستعمال أحد الفطرين: الأول *Clados-porium cladosporioides* والثانى *Trichoderma harzianum*.

أجريت بعض التجارب، بحيث أحدثت جروحاً كبيرة على ساق نبات الطماطم عن طريق قطع القمم أو إزالة الأوراق، ثم بعد ذلك حقنت هذه الجروح بالكائن الممرض *Botry-tis*، إما بالرش المباشر أو بوضع قطرة أو قطرتين (نقطة او نقطتين) من معلق الجراثيم على هذه الجروح. ثم بعد ذلك بحوالى ١ – ٢ ساعة تستعمل جراثيم الكائن المضاد إما رشا أو بالتنقيط بحيث يغطى الجرح جيدا بالمعلق الجرثومى . كذلك يمكن استعمال مقص الجيل Gel Sec- ateur لاضافة الفطريات المضادة ثم بعد ذلك تحقن النباتات بالفطر الممرض.

يتبين من جدولى رقم (٩٢، ٩٣) ، أن الكائنات المضادة قد خفضت نسبة الإصابة بالمرض، وتكون اكثر فعالية على درجات الحرارة العالية وأن العزلة *2-85* من الفطر

T.harzianum تكون فعالة ضد الفطر الممرض، أما السلالة *658* من الفطر المضاد الآخر *C.cladosporioides* فهى أكثر فعالية ضد المرض، وتعطى وقاية كاملة ضد الفطر الممرض. وبشكل عام فإن تأثير الفطر الثانى أكثر من الفطر الأول، ويعود ذلك لأن مقدرة الفطر الثانى على استعمار سطح الجروح عالية وتفوق مقدرة الفطر الأول. كذلك تظهر نتيجة التجارب التى يستعمل فيها المبيدات الفطرية، أن استعمال الكائنات المضادة فى المقاومة الحيوية، تعطى نتيجة أفضل من المبيدات الفطرية.

يكون أفضل تركيز لاستعمال الكائنات المضادة هو 10^8 جرثومة كونيدية/ مل من المعلق المائى.

جدول رقم (٩٢) : تأثير الكائنات المضادة والمبيدات الفطرية على إصابة نباتات الطماطم بالفطر بوتراتيس.

الكائن المضاد أو المبيد الفطرى المستعمل فى التجربة	التركيز جرثومة/مل	طريقة استعمال المبيد أو الكائن المضاد	
		تغطية نصف النبات	تغطية كاملة للنبات
		٪ متوسط الإصابة	٪ متوسط الإصابة
١ – بدون كائن ممرض وبدون مبيدات ولا كائنات مضادة (كنترول)	--	صفر	صفر
٢ – كائن ممرض وبدون مبيدات او كائنات مضادة	--	٩٣,٧	١٠٠,٠٠
٣ – كائن ممرض + *Trichoderma* (95-1)	10^8	٧٥	٣١,٢
٤ – كائن ممرض + *Trichoderma* (806)	10^8	٩٣,٧	٣١,٢
٥ – كائن ممرض + *Cladosporium* (656)	10^8	١٢,٥	صفر
٦ – كائن ممرض + *Cladosporium* (677)	10^8	١٢,٥	صفر
٧ – كائن ممرض + *Cladosporium* (712b)	10^8	٦,٢	٦,٢
٨ – كائن ممرض + مبيد Dichlofluanid	٢ غرام/ لتر ماء	٤٣,٧	١٢,٥
٩ – كائن ممرض + مبيد Iprodione	١ غرام/ لتر ماء	٦٨,٧	٦٢,٥
١٠ – كائن ممرض + مبيد Mancozeb	٢ غرام/ لتر ماء	٨٧,٥	٩٣,٧
١١ – كائن ممرض + مبيد Chlorothalonil	١٥٠ غرام/ لتر ماء	٦٨,٧	٧٦,٢

جدول رقم (٩٣) : تأثير الكائنات المضادة المستعملة بطريقة الجل على الإصابة بالفطر بوترايتس فى الطماطم.

توفر الكائن الممرض	الكائن المضاد	% الاصابة
+	--	١٠٠
+	*Trichoderma* 95 -1	٣٣,٣
+	*Trichoderma* 806	٥٠,٠
+	*Cladosporium* 677	صفر
+	*Cladosporium* 712b	صفر
+	*Cladosporium* 724	صفر

ثانيا : باستعمال خمائر مترممة

مقـــدمة :

تتعرض سطوح الأجزاء الهوائية من النبات، لتقلبات، الحرارة، الإشعاعات، الرطوبة النسبية، الرطوبة السطحية، الغازات وحركة الهواء. هذه الظروف يمكن أن تؤثر على مكروفلورا المحيط الورقى مباشرة، أو يمكن أن يكون لها تأثير غير مباشر عن طريق تحوير بعض صفات الورقة، مثل الوضع التمثيلى، الناحية المورفولوجية وبعض الصفات الكيماوية. إن تواجد المواد الغذائية على سطح النبات أمر ضرورى لنمو المترممات والكائنات الممرضة والتى يتكون لها نمو هيفى على سطح الأوراق قبل طور الاختراق. إن كمية ونوعية الغسيل (المحتوى كائنات دقيقة) المأخوذ من النباتات يتأثر بعمر النبات وبالظروف البيئية مثل، الحرارة، الضوء، التسميد، التلوث ورطوبة السطح. تعتبر الخميرة، البكتيريا والفطريات الخيطية من الساكنات الشائعة على سطوح النبات. لقد عرف أن الخميرة والبكتيريا لها قدرة على خفض إنبات الكونيديات عن طريق التنافس على المواد الغذائية. وعلى أية حال فإن إدخال الكائنات المضادة على المجال الورقى لمقاومة إصابة الأوراق بالكائنات الممرضة المتغذية على الأجزاء النباتية الميتة ذات تأثير متوسط الفعالية. ولقد ذكر Fokkema سنة ١٩٩١ أنه لكى نحصل على مقاومة حيوية فعالة، فإن الكائنات الحية الدقيقة المستعملة يجب

obeikandl.com

أن توطد نفسها فى المجال الورقى قبل وصول الكائن الممرض. ولكن فيما لو حدث وحصلت الإصابة، فيكون قد تأخر الكائن المضاد عن القيام بعمله المطلوب.

يتجرثم كثير من الرميات المتغذية على الأجزاء الميتة، على بقع الاصابة بالإضافة إلى المواد النباتية الميتة، وأن جراثيمها الكونيدية تشارك فى الأوبئة النباتية فى الموسم نفسه أو فى المواسم اللاحقة. إن الفطر *Botrytis* يتجرثم بشكل كبير على الأنسجة الميتة وعلى بقايا المحصول، وان الجراثيم الكونيدية من الدورات المتلاحقة من الإصابة تشارك فى تكشف الأوبئة فى المحصول.

لقد قام كل من Peng & Sutton سنة ١٩٩١ بإجراء أبحاث على الفطر *B.cinerea* على الفراولة. وكذلك قام العالم Fokkema سنة ١٩٩٢ بدراسة الفطر *B.aclada* على البصل، فوجدا أنه يمكن استعمال المقاومة الحيوية لخفض قدرة التجرثم فى الكائن، وبالتالى خفض أعداد الجراثيم الكونيدية التى تشارك فى إحداث الأوبئة النباتية.

مقاومة المرض:

يقاوم مرض العفن الرمادى Gray mold المتسبب عن الفطر *B.cinerea* فى الطماطم باستعمال عزلة من الخميرة *Rhodotorula glutinis* وهى تعزل من أوراق نبات البطاطس وعزلتين من الخميرة *Cryptococcus albidus* سلالة *(O53)* تعزل من أوراق نبات الشيلم Rye. لقد وجد أن هاتين العزلتين تقاوم المرض بكفاءة عاليةٍ. تقوم هذه العزلات بخفض إنبات الجراثيم الكونيدية وشدة أعراض العفن على الأوراق المنفصلة عن النبات الأم، وتقاوم المرض أيضاً على جميع النبات، وتكون فعالة كما فى حالة استعمال الفطر المضاد *Tricho-derma harzianum* سلالة *T39*.

إن إضافة الجلوكوز ومادة KH2PO4 بنسبة ٠,٠٢ مول لكل من العزلات السابقة وإضافتها الى معلق الجراثيم الكونيدية للفطر *B.Cinerea* تشجع حدوث الإصابة المرضية، وذلك لأن عزلات الخمائر تكون فعالة على أقل مستوى من المغذيات، وكلها تتنافس على الغذاء مع الجراثيم الكونيدية للفطر الممرض. كذلك فإن المقاومة المستحثة فى العائل بواسطة خلايا الخميرة الميتة أو الحية يمكن أيضاً أن يكون لها دور فى المقاومة الحيوية. بعد خمسة أيام من استعمال الخمائر تصل كثافة تجمعات الخميرة إلى حوالى (٧ الى ٨) x ١٠^{٣} وحدة تكوين مستعمرات/ سم٢ من أوراق الطماطم السلطمة، وتصل إلى ٧,٥ – ٨,٥ ضعفاً فى

الأوراق المصابة. كذلك فإن توسع البقع وتجرثم الفطر الممرض ينخفض بعد تمكنه من الاوراق.

يجب أن يستعمل معلق جراثيم الخمائر او الفطر تريكوديرما *T.harzianum* سلالة *T39* إما وقت حقن الفطر الممرض *B.cinerea* أو مبكراً بمدة خمسة أيام. فى حالة الحقن المتأخر يجب تحضين النباتات المعاملة تحت ظروف جافة (جدول ٩٤) يبين تأثير استعمال المقاومة الحيوية ضد الفطر بتوراتيس على نباتات الطماطم.

عند استعمال عامل المقاومة الحيوية مباشرة مع الكائن الممرض، فإن شدة المرض تنخفض بشكل معنوى بنسبة ٧٥- ٨٠٪. أما استعمال عامل المقاومة الحيوية قبل الحقن بالكائن الممرض بمدة خمسة أيام يؤدى إلى خفض شدة المرض خفضاً معنوياً بنسبة ٤٨-٦٢٪. كما أن قدرة الكائن الممرض على التجرثم تنخفض بشكل معنوى باستعمال جميع عزلات الخميرة على درجة حرارة ١٠-١٨° م. اما على درجة ٥°م، فإن التجرثم ينخفض معنوياً فقط بالعزلة F131 و 053.

جدول رقم (٩٤) : تأثير استعمال بعض عوامل المقاومة الحيوية المحقونة مع محلول مغذى على إصابة نبات الطماطم بفطر B.cinerea.

المعاملة	% إنبات الجراثيم الكونيدية للفطر الممرض	شدة المرض على الاوراق المفصولة	شدة المرض على النبات
كنترول	٨٠	٣,٤	٢,٣
Rhodotorula glutinis F147	صفر	٠,٦	٠,٤
Cryptococcus albidus F131	٠,٩	١,٢	١,٦٥
C.albidus 053	صفر	٠,٢٣	١,٣٥
Trichoderma harzianum	٥,٢	١,١	٠,١٥

ملاحظات على الجدول:

دليل المرض كما ذكر فى الجداول السابقة.

٧ - المقاومة الحيوية للفحة الجنوبية في الطماطم

Tomato South Blight Biocontrol

مقـــدمة

يهاجم الفطر *Sclerotium rolfsii* عديدا من محاصيل الخضار مسببا خسائر كبيرة فى كل من الدخان، الفول السودانى، البطاطس، الفلفل، الجزر والطماطم. تعتبر الأجسام الحجرية للفطر هى وسيلة لنقل الفطر وحفظه أثناء موسم الشتاء وبقائه حياً لمدة طويلة فى الحقل. عندما تنبت الأجسام الحجرية بالقرب من سطح التربة، فإن الفطر يهاجم النباتات ويسبب لها الذبول أو تقرح الساق والذى يؤدى الى موت النبات. إجراءات وقاية النبات من هذا الفطر، تتطلب خفض أعداد الأجسام الحجرية التى يقضى عليها الفطر الشتاء فى التربة، أو منع حدوث الإصابة. كذلك فإن المقاومة الحيوية باستعمال بعض المركبات مثل PCNB، ميثايل بروماىد، كلوروبكرين، ميتاصوديوم يمكن أن تحد من المرض بسبب سميتها للأجسام الحجرية. وعلى أية حال.. فإن استعمال هذه الكيماويات قد أصبح محدوداً إلى حد ما وذلك بسبب أضرار الأثر المتبقى للمبيد فى المادة النباتية والتأثير على ثقب الأوزون. كذلك فإن الإجراءات الزراعية والتى تؤدى إلى دفن الأجسام الحجرية، مثل الحراثة العميقة، فانها تؤدى الى ابعاد الكائن الممرض من ساحة العدوى التى هى بالقرب من ساق النبات. لا يتوفر لغاية ١٩٩٥ عوائل مقاومة للكائن الممرض فى كثير من المحاصيل. بدأت المقاومة الحيوية لهذا المرض باستعمال كائنات مضادة لهذا الفطر، سواء كانت بكتيريا، فطراً أو اكتينومايستس، ومعظم هذه العوامل اكتشفت أثناء الدراسات المعملية، وقليل منها بالدراسات الحقلية. لقد وجد أن هناك عزلة من الفطر *Gliocladium virens*، وهو من فطريات التربة المترممة، يعزل من الاجسام الحجرية للفطر *Sclerotinia minor* لها فاعلية عالية فى المقاومة الحيوية للفطر مسبب المرض المذكور.

كذلك وجد أن حدوث المرض على بادرات الطماطم ينخفض كثيراً باستعمال عامل المقاومة الحيوية *G.virens* وتنخفض حيوية الأجسام الحجرية للفطر *S.rolfsii* الموجودة لغاية عمق ٣٠ سم فى التربة، وبالتالى فإن هذا العامل المضاد هو القطر المرشح للمقاومة الحيوية للكائن الممرض فى الحقل، ويستعمل تجارياً باسم Gliogard.

مقـــاومة المـــرض:

يقاوم مرض اللفحة الجنوبية فى الطماطم المتسبب عن الفطر *S.rolfsii* باستعمال سلالتين من الفطر المضاد *Gliocladium virens*، السلالة الاولى GL-3 والسلالة الثانية GL- 21. يمكن ان تستعمل هاتين السلالتين إما مع حبيبات النخالة bran prill أو مع حبيبات الـ Vermiculite. إن عامل المقاومة الحيوية هذا، يخفض حدوث المرض معنوياً فى الطماطم من ٦٩ ٪ فى الكنترول الى ٢٧ ٪ باستعمال حبيبات النخالة مع العزلة GL-3. كما أن الخفض فى شدة الإصابة أقل منه فى حالة استعمال المبيد الفطرى PCNB (حوالى ١٥ ٪) مع أن هذا المبيد يخفض الإصابة بالفطر تخفيضاً معنوياً.

أما بالنسبة لإنتاج المحصول، فيكون إنتاج الطماطم أكثر فى المعاملات التى يستعمل فيها عامل المقاومة الحيوية على شكل حبيبات نخالة مع العزلة GL-3، فى حين أن المعاملة بالمبيد الفطرى PCNB تخفض نسبة الإصابة، ولا تؤثر على الإنتاج جدول رقم (٩٥).

جدول رقم (٩٤): تأثير استعمال عامل المقاومة الحيوية G.virens والمبيد الفطرى على حدوث مرض اللفحة الجنوبية فى الطماطم، وعلى كمية الانتاج فى الموسم.

طرق معاملة التربة	٪ حدوث المرض		كغم الانتاج الكلى / وحدة مساحة	
	الموسم الأول	الموسم الثانى	الموسم الأول	الموسم الثانى
تربة ملوثة بالفطر الممرض طبيعيا	٤٧,٥	٥٠,٧	٢٤,٥	٣٠,٨
اضافة الفطر الممرض للتربة	٦٩,٢	٥١,٥	١٨,٦	٢٠,–
الكائن الممرض + كرات نخالة فقط	٣٥,٨	٧٥,٢	٢٨,٨	١٨,٠٠
الكائن الممرض + GL-3 بالنخالة	٢٦,٧	٤١,٥	٣٣,٥	٢٦,٨
الكائن الممرض + GL-21 بالنخالة	٤٨,٣	٥٦,٨	١٧,–	٢٤,٠٠
الكائن الممرض + حبيبات فيرماكيوليت	٤٦,٧	٦٠,٢	٢٢,٣	٢٥,٣
الكائن الممرض + GL-3 فى الفيرماكيوليت	٤٥,٨	٧٣,٨	٢٣,٣	٢١,٦
الكائن الممرض + GL-21 فى الفيرماكيوليت	٦٠,٨	٥٩,٢	٢٠,٥	٢٦,٢
الكائن الممرض + PCNB	١٥	١٢,٥	٢٣,٥	٢٤,٩
الكائن الممرض + Flutolanil	٢٩,٢	٧,٨	٢٠,٣	٢٧,٦

ثانيا : البطاطس

١- المقاومة الحيوية اللفحة المتأخرة فى البطاطس

Potato Late Blight Disease Biocontrol

مقـــدمة:

هناك دراسات أجريت على البكتيريا *Xenorhabdus bovienii*، سالبة لصبغة غرام وتتبع عائلة Enterobacteriaceae، هذه البكتيريا تعيش على شكل تبادل منفعة مترافقة مع النيماتودا الممرضة للحشرات فى الجنس *Steinernema*، وتحمل فى أمعاء الأجيال النشيطة الفعالة من النيماتودا *(IJ)*. تخترق الاجيال النشيطة الحشرة العائل، وتنطلق البكتيريا من أمعاء النيماتودا فى دم الحشرة وتجدلها بيئة غذائية حيث تتغذى وتقتل العائل. هذا المعقد النيماتودى البكتيرى، قد تطور تجارياً كعامل مقاومة حيوية ضد الآفات الحشرية.

إن الطبيعة المضادة للفطريات التى تتصف بها بعض منتجات الميتابولزم لهذه البكتيريا، قد عرفت تماماً وذلك سنة ١٩٩٥ من قبل *Li et al*، وحدد مجال فعالية هذه المواد المضادة ضد الفطريات. لقد اختبرت هذه المضادات على ٣٢ نوعاً من الفطريات، من بينها:

1 - Botrytis cinerea
2 - Ceratocystis ulmi
3 - C.dryocoetidis
4 - Mucor piriformis
5 - Pythium coloratum
6 - P.ultimum
7 - Trichoderma pseudokingii

ولقد تثبطت نمو هذه الفطريات كلية. لقد تم عزل وتعريف نوعين مهمين من هذه المضادات الحيوية، وهما Indoles ومركب Dithiolopyrrolones من البكتيريا *X.bovienii*. وقد تبين أن هذين المضادين الحيويين لهما تأثير مثبط على نمو *B.cinerea*، *Pythium ul-*

Phytophthora infestans ، *timum* وبناء على ذلك يمكن استعمال هذه البكتيريا فى المقاومة الحيوية فى الحقل.

مقاومة المرض:

يمكن مقاومة مرض اللفحة المتأخرة فى البطاطس المتسببة عن الفطر *Phytophthora infestans* باستعمال مستخلصات مزارع البكتيريا *Xenorhabdus bovienii* سلالة A2 ذات عمر ٩٦ ساعة، النامية على بيئة مرق فوق الصويا. يتم هذا الاستخلاص باستعمال ايثايل اسيتيت. يعتبر هذا المستخلص مبيداً فطرياً حيوياً لفطر اللفحة المتأخرة بتركيز ٠,١ ملغ/ مل على بيئة الشوفان – آجار. عند استعمال هذا المستخلص على أوراق نباتات البطاطس ذات عمر ٤ – ٥ أسابيع، للوقاية، رشا بتركيز ٥ – ١٠ ملغ/ مل، وجد أن تركيز ١٠ ملغ/ مل يثبط تكشف اللفحة بعد سبعة ايام من الرش وتصبح الإصابة ٢ ٪ بدلاً من ١٠٠ ٪ فى الكنترول، (فى التجربة كانت تحقن النباتات بفطر الفحة بعد رش المستخلص البكتيرى بحوالى ٢٤ ساعة). اما النباتات المعاملة بتركيز ٥ ملغ/ مل فتظهر عليها الاصابة بنسبة ٢٢ ٪.

هناك أعراض جانبية لاستعمال هذا المستخلص، حيث وجد أن أعراض التسمم تظهر على وريقات نبات البطاطس، وتزداد نسبة الأوراق التى تظهر عليها أعراض السمية بازدياد التركيز المستعمل. تظهر أولى الأعراض على النبات إذا رش بتركيز يزيد عن تركيز ١٠ ملغ/ مل، اما أقل من هذا التركيز فلا يسبب ظهور تلك الأعراض. يكون هذا المستخلص مبيداً فطرياً حيوياً إذا استعمل بتركيز ٠,١ – ١ ملغ/ مل ويثبط كلية نمو الفطر (جدول رقم ٩٥)، حيث يحدث تحلل للميسيليوم تماماً ويحاط بالإفرازات. وعلى العكس من ذلك يكون هذا المستخلص موقفاً للنمو الفطرى Fungistatic على الفطريات *P.ultimum* و *R.solni* إذا استعمل بتركيز ١ ملغ/ مل.

لقد تم عزل أربعة مشتقات اندولية وسبعة مشتقات من ال Xenorhabdins من المركبات العضوية المأخوذة من المزرعة العائمة للبكتيريا *X.bovienii*. زيادة على ذلك فإن هناك ثلاثة من الأربعة مشتقات الإندولية المعزولة تثبط نمو ميسليوم فطر اللفحة المتأخرة على أطباق بترى تركيز ٥٠ – ١٠٠ ميكوغرام /مل (هذا ما وجده له Li *et al* سنة ١٩٩٥)

إن مركبات ال Xenorhabdins تحتوى حلقة Pyrrothine، وان جميع المركبات التى تحتوى هذه الحلقة، تكون ذات كفاءة عالية ضد عديد من الفطريات الممرضة، وبالتالى فإن مفعول مشتقات الإندولين مع مركبات ال Xenorhabdins مجتمعة تكون ذات تأثير كبير ضد فطر اللفحة المتأخرة، جدول ٩٧ .

جدول رقم (٩٦) : تأثير المركبات العضوية المعزولة من مزرعة البكتيريا *X.bovienii* على نمو الفطريات المختلفة فى أطباق بترى.

المعاملة	سم قطر مزرعة النمو الفطرى على أطباق بترى		
	P.infestans	*R.solani*	*Pythium ultimum*
ماء مقطر (كنترول)	٨,٥	٨	٨,٧
محلول توين ٢٠	٧,٨	٨,٤	٨,٧
ميثاليكسايل ١, ملغ/ مل	١,٨	٤	صفر
كلوروثانونايل ١, ملغ/ مل	صفر	صفر	٨,٧
مستخلص البكتيريا ٠,٠١ ملغ /مل	٥,٩	٣,٨	٧,٨
مستخلص البكيريا ٠,١ ملغ / مل	صفر	٢	٣,٧
مستخلص البكيريا ١,٠ ملغ / مل	صفر	صفر	صفر

جدول رقم (٩٧) : نسبة اصابة وريقات البطاطس، المحقونة، وهى ذات عمر ٤ – ٥ أسابيع بفطر اللفحة المتأخرة بعد معاملتها بمدة ثمانية أيام بتركيزات من مستخلص مزرعة البكتيريا *X.bovienii*.

المعاملة	٪ إصابة الوريقات بالمرض
ماء مقطر كنترول	١٠٠
توين ٢٠	١٩٩
مستخلص تركيز ٥ ملغ/ مل	٢٢
مستخلص تركيز ١٠ ملغ/مل	٢
مادة كلورو تالونايل ١٠ غم/مل	صفر

٢ - مقاومة العفن الجاف في البطاطس

Potato Dry Rot Disease Biocontrol

مقـــدمة

كان أول عزل للسلالة البكتيرية B37W (NRRLB- 1488) من البكتيريا *Pseudo-monas cepacia* سنة ١٩٩١، بواسطة Schisler *et al* ، وذلك أثناء دراستهم لزيادة كفاءة الفطر *Colletotrichum truncatum* كمبيد حيوى للحشائش وخاصة حشيشة *Sesbania ex-altata*. ولقد وجد الباحثون أن هذه السلالة تثبط نمو كونيديات الفطر بنسبة ٧٥ ٪ وتوقف كلية تكوين الممصات. هذه الحقيقة ترافقت مع كون هذه السلالة، كائناً دقيقاً ينمو على أسطح الأوراق، وله قدرة تنافسية عالية، جعلت هذه السلالة مجال دراسة لاستعمالها فى المقاومة الحيوية للفطر *Fusarium sambucinum*، مسبب مرض العفن الجاف فى البطاطس. أظهرت التجارب الاولية أن هذه السلالة لها كفاءة عالية فى مقاومة المرض، أو حفظ البطاطس من الإصابة بالعفن الجاف، وتخفض مساحة البقع بنسبة ٩٢ ٪ بالمقارنة مع الكنترول.

من الدراسات المستفيضة على هذه السلالة تبين أنها تتبع البكتيريا *Pseudomonas cepacia* ، وانها تعتمد فى كفاءتها فى المقاومة الحيوية على إفراز المضاد الحيوى Pyrrol-nitrin، حيث إن هذه المادة لها تأثير قوى ضد الفطر المسبب لمرض العفن الجاف.

مقـــاومة المـــرض:

يتسبب مرض العفن الجاف فى البطاطس عن الفطر *Fusarium sambucinum* سلالة *R - 6380* ويمكن مقاومته حيوياً باستعمال البكتيريا *Pseudomonas cepacia* سلالة *B37W*، حيث إن لهذه السلالة قدرة على تثبيط نمو الفطر فى المزرعة فى المعمل. ترجع القدرة التثبيطية لهذه البكتيريا ضد الفطر الممرض، نتيجة إفراز مضاد حيوى يسمى Pyrrol-nitrin وهو قريب الشبه من المركب 2-chloropyrrolnitrin وتركيبه الكيماوى C10 H6 Cl2 N2 O2 (شكل رقم *1,B* فى الفصل الأول من الكتاب). وأن هذه السلالة لها قدرة عالية على تثبيط النمو الفطرى على البيئة الغذائية (جدول ٩٨).

بالإضافة لهذا المركب، هناك مضادات حيوية أخرى تفرز من قبل هذه السلالة، مثل Phenylpyrroles، ومواد استيلينية مضادة للبكتيريا مثل مركب Cepacin A و Cepacin B والمضاد الفطرى Pseudanes ومركبات مضادة فطرية ببتيدية مثل Altericidin A,B,C وBacteriocins، سايدروفورز، ولكن الدور الأساسى لفعل هذه البكتيريا يرجع لمادة Pyrrol-nitrin (هذا لم يتأكد لغاية ١٩٩٥).

فى إحدى التجارب عندما حقنت بعض جروح البطاطس بالبكتيريا *P.cepacia* سلالة *B37W*، وحقنت الجروح الاخرى بمخلوط يحتوى البكتيريا والفطر المسبب للمرض، وجد أن البكتيريا يزداد تركيزها فى الجروح من ٢,٧٥ x ١٠^{٥} الى ١,٧٢ x ١٠^{٦} وحدة تكوين مستعمرات، وفى التجربة الثانية تصل ١,٢ x ١٠^{٦} وحدة تكوين مستعمرات، وهذا يدل على أن السلالة المذكورة قادرة على استعمار جروح درنات البطاطس.

يمكن القول بأن هذه السلالة البكتيرية عندها القدرة على أن تقاوم مرض العفن الجاف فى البطاطس عن طريقين، الطريق الأول إفراز مضادات حيوية تؤثر على الفطر الممرض وتثبط نموه، والطريق الثانى هو استعمار جروح درنات البطاطس؛ بحيث لا تسمح لاى كائن ممرض أن يخترق هذه الجروح ويسبب مرضاً.

لغاية سنة ١٩٩٧ لم يطبق استعمال هذه البكتيريا فى المقاومة الحيوية لمرض العفن الجاف فى البطاطس على نطاق تجارى فى الحقل، ولكن من الممكن أن يتم ذلك فى الوقت القريب بسهولة إن شاء الله.

جدول رقم (٩٨) : نمو الفطر المسبب للعفن الجاف فى البطاطس *F.sambucinum* سلالة R- 6380 فى غياب وفى وجود *P.cepacia* سلالة B37W على بيئات مختلفة.

نوع البيئة	ملم نمو المستعمرات الفطرية بعد مدة			
	٣ أيام		٧ أيام	
	مع بكتيريا مضادة	بدون بكتيريا مضادة	مع بكتيريا مضادة	بدون بكتيريا مضادة
بطاطس دكستروز اجار	٢٤	٢٦	٣٠	٤٣
سابيروويد مالتوز آجار	٢٣	٢٧	٣٠	٤٤
ترنيك فول صويا آجار	٢٤	٣٣	٢٧	٤٤

٣- المقاومة الحيوية لرايزوكتونيا البطاطس

Potato Rhizoctonia Disease Biocontrol

مقـــدمة

يعتبر الفطر *Rhizoctonia solani* سلالة *(AG-3)* فطراً ممرضاً خطيراً على البطاطس خاصة النموات الحديثة التى تظهر من تقاوى البطاطس، والتى يمكن أن تصاب بشدة بهذا المرض. عندما تزرع البطاطس فى الفترة التى تكون فيها درجة الحرارة من ٨-١٣°م، تكون إصابة البطاطس فى هذه الفترة على أشدها. يمكن تثبيط نمو الفطر *R.solani* بالكائنات المضادة الفطرية أو بحيوانات التربة المتغذية على الفطريات. تحتاج معظم الفطريات المضادة للفطر *R.solani* إلى تربة ذات درجة حرارة مرتفعة نسبيا (اكبر من ١٨°م) لكى تكون فعالة. كذلك بالنسبة للرطوبة، فلقد وجد أن هذا الفطر يكون على أشده فى إحداث مرض تقرح الساق فى البطاطس تحت الظروف الجافة. تكون أعلى درجات الإصابة للنموات الحديثة فى البطاطس عندما تكون محتويات التربة من الرطوبة ٤٥ ٪ من قدرة التربة على

الاحتفاظ بالماء. ولكن يبدو أن النيماتودا المضادة للفطر *Aphelenchus avenea* تكون غير نشيطة خلال الفترات الجافة فى التربة، حيث إنها تلتف وتدخل فى فترة سكون جافة. كذلك فان رطوبة التربة المنخفضة تسبب الهجرة والتكيف البيئى الحيوى للنيماتودا ولا توجد أدلة على نشاطها تحت الظروف الجافة.

إن الفطر *Verticillium biguttatum* من أهم الكائنات المضادة للفطر *R.solani* وهو يتطلب درجة حرارة عالية فى التربة (أعلى من ١٣° م) لإظهار أكبر كفاءة له.

لقد ذكر Bollen *et al* سنة ١٩٩٠ أن الحشرة ذات الذنب القافز *Folsomia fimetaria* والنيماتودا *A. avenae* تستطيع أن تقضى على مسبب مرض تقرح الساق الرايزوكتونى فى البطاطس على درجة حرارة ١٥° م.

مقـــاومة المـــرض:

يمكن مقاومة مرض التقرح الرايزوكتونى فى البطاطس المتسبب عن الفطر *Rhizocto-nia solani* سلالة *AG-3* ، وذلك باستعمال الحشرة ذات الذنب القافز *F.fimetaria* والنيماتودا *A.avenae* المتغذية على الفطر الممرض، وذلك عندما تكون درجة حرارة التربة من ١٠– ١٥° م، والتربة ذات رطوبة عالية.

لقد وجد فى بعض التجارب التى أجريت فى الصوبا الزجاجية تحت حرارة ١٠ و ١٥° م والتى تم فيها تلويث التربة بمقدار ٢٠ جسم حجرى من الرايزوكتونيا/ ١ كغم تربة، ثم إضافة الحشرات ذات الذنب القافز والنيماتودا بمقدار ٢٥٠ أو ١٠٠٠ وحدة من الحشرة/كغم تربة وحوالى ١٥٠٠ او ٢٢٥٠٠ وحدة من النيماتودا/ كغم تربة، وقدرت شدة المرض بعد حوالى أربعة أسابيع من الزراعة. كانت النتائج كما فى جدول رقم (٩٩)، حيث تبين أنه فى غياب الحشرة *F.fimetaria* أو النيماتودا *A.avenae* يكون دليل المرض مرتفعاً ويميل إلى الارتفاع أكثر على درجة حرارة ١٠° م منه على حرارة ١٥° م، ولقد وجد أن هذه الحشرة تخفض دليل المرض على حرارة ١٠° م وليس على ١٥° م، بينما النيماتودا تخفض دليل المرض على كل من درجتى الحرارة ١٠° م و ١٥° م، ولكن الانخفاض يكون عالياً على حرارة ١٠° م.

يبدو أن تأثير كل من الحشرة والنيماتودا على دليل المرض يكون عبارة عن تفاعل متعاون. لا يكون هناك تأثير معنوى لخفض دليل المرض عند استعمال كل منهما لوحده، وعلى أية حال فانه عند وجود ٢٥٠ وحدة من الحشرة/ كيلوغرام تربة، فإن شدة المرض تنخفض مع وجود أعلى تركيز من تجمعات النيماتودا (جدول ١٠٠).

لقد وجد أن أعداد الحشرة والنيماتودا تزداد بشكل كبير بعد ١٤ يوماً من الحقن، وتكون الزيادة أكبر على درجة حرارة ١٥° م منها على حرارة ١٥° م جدول رقم ١٠١.

تبين هذه التجارب، أن حيوانات التربة الملتهمة للفطر، تكون فعالة فى خفض إصابة ساق البطاطس بالمرض المتسبب عن *R.solani* على حرارة ١٥°م وكذلك بدرجة أقل على ١٥° م. هذا النشاط لحيوانات التربة الصغيرة والمتغذية على الفطريات على درجات الحرارة المنخفضة، يمكن أن يعتمد عليها فى المقاومة الحيوية للفطر *R.solni*، إذا أمكن تجهيز التجمعات الكافية من الحشرة والنيماتودا والاحتفاظ بها لاستعمالها فى الوقت المناسب. إن فائدة هذه الحيوانات، تكمن فى كونها من المكونات الاساسية لميكوفونا التربة، وهى من ساكنات التربة، وبالتالى لا تحدث عنها أضرار فى التوازن البيئى، وهى لا تعتمد فى غذائها أساساً على الفطر رايزوكتونيا.

جدول رقم (٩٩) : تأثير الحشرة *F.fimetaria* والنيماتودا *A.avenae* على دليل المرض المتسبب عن الفطر رايزوكتونيا فى ساق البطاطس تحت تأثير درجات الحرارة المختلفة.

كمية الإضافة من الحشرة والنيماتودا / كغم تربة	دليل المرض من صفر – ١٠٠ على	
	حرارة ١٠° م	حرارة ١٥° م
الحشرة ذات الذنب القافز		
صفر	٨٠	٧١
٢٥٠	٧٥	٦٥
١٠٠٠	٦٠	٦٥
النيماتودا		
صفر	٨٣	٧٢
١٥٠٠	٧٦	٦٩
٢٢٥٠٠	٥٦	٦٠
حشرة + نيماتودا		
٢٥٠ + ٢٢٥٠٠	٥٠	٥٥
١٠٠٠ + ٢٢٥٠٠	٣٥	٤٠

جدول رقم (١٠٠) : تأثير اتحاد الحشرة ذات الذنب القافز مع النيماتودا على دليل المرض فى ساق البطاطس المتسبب عن الفطر رايزوكتونيا.

المعاملة عدد الحشرات + النيماتودا	دليل المرض من صفر – ١٠٠
صفر + صفر	٧٧
صفر + ١٥٠٠	٧٥
صفر + ٢٢٥٠٠	٧٣
٢٥٠ + صفر	٧٨
٢٥٠ + ١٥٠٠	٧٢
٢٥٠ + ٢٥٠٠	٦٠
١٠٠٠ + صفر	٧٧
١٠٠٠ + ١٥٠٠	٧٠
١٠٠٠ + ٢٢٥٠٠	٤٠

جدول (١٠١) : تكشف تجمعات الحشرة والنيماتودا من اليوم الأول إلى اليوم الرابع عشر، بعد الاستعمال على التربة.

عدد الوحدات المحقونة بها التربة فى اليوم الاول/ كيلو غرام تربة		عدد الوحدات التى تتواجد فى التربة بعد ١٤ يوم من الحقن/ كيلو غرام تربة	
الحشرة	النيماتودا	الحشرة	النيماتودا
صفر	صفر	صفر	صفر
صفر	١٥٠٠	صفر	١٠٧٠٠
صفر	٢٢٥٠٠	صفر	٧٩٠٠٠
٢٥٠	صفر	١١٦٥	صفر
٢٥٠	١٥٠٠	١٠١٦	٨٠٠٠
٢٥٠	٢٢٥٠٠	٩٧٣	٥٢٣٠٠
١٠٠٠	صفر	٢٩٣٣	صفر
١٠٠٠	١٥٠٠	٤٧٤٠	٣٣٩٠
١٠٠٠	٢٢٥٠٠	٢٧٥٨	٤٥٩٥٠

أما بالنسبة لتأثير الرطوبة على نشاط كل من الحشرة والنيماتودا، فلقد وجد أن النيماتودا تكون اكثر فعالية فى تثبيط إصابة ساق البطاطس تحت ظروف التربة متوسطة الجفاف وليس الجافة أو الرطبة، وهذا يمكن أن يفسر كالآتى:

١ – أثناء الفترة الاولى من إضافة النيماتودا للتربة، فإن تجمعات النيماتودا تزداد قليلاً تحت الظروف الجافة أكثر منه تحت الظروف الرطبة فى التربة.

٢ – تحت الظروف الجافة يحدث انحدار كبير فى المغذيات بين أجزاء التربة فى غير الرايزوسفير والرايزوبلين، وهذا ناتج عن زيادة الإفرازات والنشاط الميكروبى فى رايزوسفير نباتات البطاطس التى تعانى من الجفاف. هذا يشجع النيماتودا لأن تتحرك إلى سطح الجذر للحصول على الغذاء، وبالتالى تصادف وجود الفطر *R.solami* فتتغذى عليه أو تثبطه، كذلك وجد أن النيماتودا المتغذية على الفطر تخفض حجم عضو الالتصاق للفطر، وذلك عن طريق كشطه عن سطح النبات.

٣ – تحت الظروف الرطبة، تكون النيماتودا أكثر تحملاً لأن تستمر فى تغذيتها خارج منطقة الرايزوسفير، وبالتالى تبتعد عن سطح الجذر ولا تصل إلى الفطر.

أما بالنسبة لتأثير رطوبة التربة على كفاءة الحشرة، فى خفض إصابة ساق البطاطس بالفطر *R.solani*، فإنه أقل وضوحاً عنه فى حالة النيماتودا *A.avenae*، مع أن الحشرة تتكاثر بسرعة اكبر فى التربة الرطبة. أما بالنسبة للاتحادات بين الحشرة والنيماتودا، فإنه لا تزيد كفاءتها على مقاومة الفطر، سواء تحت الظروف الرطبة أو العادية، وذلك بسبب أن الحشرة لوحدها لها القدرة على تخفيض الإصابة الى أقل مستوى. وعلى أية حال فإنه تحت الظروف الجافة مع المستوى العالى من لقاح الفطر، لا يكون هناك تأثير إضافى لفعالية النيماتودا.

ويمكن القول باختصار بأن الحشرة والنيماتودا كلاهما قادر على تخفيض الإصابة بتقرح ساق البطاطس الرايزوكتونى، عندما تضاف إلى التربة بتجمعات تماثل تلك الموجودة طبيعيا فى التربة، وكلاهما فعال على مدى واسع من نسبة الرطوبة فى التربة.

٤- المقاومة الحيوية لمرض ذبول البطاطس البكتيري

Potato Bacterial Wilt Disease Biocontrol

مقـــدمة

يتسبب مرض الذبول البكتيرى فى البطاطس عن البكتيريا *Pseudomonas solanac-earum*. هذا المرض من أكثر الأمراض المدمرة للبطاطس فى معظم أماكن زراعتها، والمسئول عن الخسائر الكبيرة فى الإنتاج سواء فى الحقل أو فى المخزن. يصبح المرض خطيراً عندما تزرع البطاطس فى الحقل نفسه لعدة سنوات متتالية. ومما يزيد مشكلة هذا المرض أنه لا يوجد مبيدات كيماوية فعالة ضده، ولغاية ١٩٩٦ لم تتوفر أصناف مقاومة له، وهذا ما يؤدى إلى الاتجاه الى المقاومة الحيوية.

إن استعمال البكتيريوفاج فى المقاومة الحيوية، لم يتحصل على الاهتمام الكبير فى المقاومة الحيوية، وهذا ما ذكره Eayre *et al* سنة ١٩٩٥، وذلك للاعتقاد بأن البكتيريوفاج عالى التخصص، وأن عوائل الفاج وتفاعلها معه غير ثابتة لكثير من الفيروسات. وعلى أية حال فإن فاج البكتيريا *P.solanacearum*، قد عزل من أجزاء النبات ومن التربة، ولقد ذكر Tanake *et al* سنة ١٩٩٠ أن هناك احتمالية لاستعمال الفاج فى حفظ نبات الدخان من الإصابة ببكتيريا الذبول.

مقـــاومة المـــرض:

لم أعثر فى الأبحاث التى اطلعت عليها (لا تقل عن ٣٠٠ بحث) فى المقاومة الحيوية، على بحث يذكر استعمال الفاج فى مقاومة بكتيريا الذبول فى البطاطس، سوى البحث المذكور فى مجلة Zagazig J.Agric Res.Vol.23 No (6) 1996 من صفحة ١٠٥٣-١٠٦٣ (مصر). وتذكر نتائج هذا البحث ما يلى:

إن إضافة البكتيروفاج المتخصص تؤدى إلى تقليل حدوث وشدة الإصابة بالذبول البكتيرى فى البطاطس، مقارنة بالكنترول (عدم استعمال الفاج)، كما تؤدى أيضاً إلى تقليل الفقد فى أعداد ووزن درنات البطاطس الناتجة، كما أوضحت النتائج أن أعداد الميكروب المسبب للمرض تقل بدرجة معنوية، وبالمقابل تزداد أعداد الفاج، وذلك بعد تسعين يوماً من المعاملة. يتطلب هذا البحث مزيداً من الدراسة بهدف التطبيق العملى فى الحقل.

٥ - المقاومة الحيوية لمرض جرب البطاطس

Potato Scabies Disease Biocontrol

مقـــــدمة

يتسبب مرض جرب البطاطس من عدة أنواع من *Streptomyces sp*، ولكن بشكل اساسى عن *S.scabies*. ليس للمرض تأثير يذكر على إنتاج الدرنات، ولكنه يؤثر بشكل كبير على نوعية الدرنات، وبالتالى يقلل كثيراً من القيمة التسويقية لهذه الدرنات. هناك محاصيل أخرى مثل، الفجل، البنجر، الجزر، اللفت والبطيخ تصاب أيضاً بأنواع من هذا الجنس. فى الولايات الأمريكية جميع زراعات البطاطس يظهر عليها مرض الجرب. لقد ذكرت طرق كثيرة لمقاومة هذا المرض، ولغاية ١٩٩٦ فإن أفضل طريقة فى المقاومة هى استعمال الأصناف المقاومة، إلا أن هناك عديداً من أصناف البطاطس المفضلة للمستهلك وبعض الطرز الأخرى تفتقر إلى صفة المقاومة. فمثلاً هناك حوالى ٧٠٪ من طرز البطاطس فى ولاية منيسوتيا قابلة للإصابة بهذا المرض.

فى سنة ١٩٥٩ ظهرت فكرة المقاومة الحيوية لهذا المرض، وذلك عند ملاحظة انخفاض حدوث المرض فى الحقول التى تزرع فيها البطاطس باستمرار لمدة طويلة فى ولاية واشنجتن. لوحظت مثل هذه الظاهرة فى الحقول التى زرعت بالبطاطس لمدة ٢٨ سنة متكررة، هذا ما ذكره Lorange *et al* سنة ١٩٨٩. عزلت سلالات عديدة من هذا الجنس من عديسات درنات البطاطس المجموعة من التربة المثبطة للمرض. هذه السلالات أظهرت قوة تثبيطية كبيرة للسلالات الممرضة من *S.scabies* ولا تسبب أعراض مرض الجرب على نباتات البطاطس (هذا ما وجده Lorange *et al* سنة ١٩٩٥). فى إحدى التجارب التى قام بها هذا العالم، فإن واحدة من هذه السلالات مع السلالة المثبطة المعزولة من التربة المسببة للمرض أجرى لها تقدير لمعرفة قدرتها على مقاومة الجرب فى أرض زرعت أربع سنوات متتالية بالبطاطس. عند حقن السلالة المثبطة للمرض فى التربة المسببة للمرض، فإن هذه السلالة تخفض ظهور المرض معنويا. بعد ذلك نشأ اعتقاد بأن هذه السلالة أو السلالات المثبطة الأخرى للمرض من سلالات *Streptomyces*، تكون مسئولة عن الانحدار الطبيعى لحدوث مرض جرب البطاطس فى الحقل. هذا ما وجده (Liu *et al* سنة ١٩٩٥).

هناك معلومات قليلة عن السلالات المختلفة المثبطة أو المسببة للمرض من جنس البكتيريا *Streptomyces* الموجودة فى الطبيعة، سواء فى الأراضى الكابحة للمرض أو المسببة له وكذلك عن أنواع التفاعل بين هذه السلالات.

مقاومة المرض:

كما ذكر فى المقدمة فان هذا المرض يتسبب عن البكتيريا S.scabies، أشد سلالة مسببة للمرض هى *(RB3II)* ، وهناك سلالات شديدة المرضية أخرى من هذه البكتيريا. فى الدراسات الموسعة التى أجريت على هذا الكائن المرضى فى الولايات المتحدة سنة ١٩٩٦، فقد تم عزل ٩٣ سلالة لهذا الكائن من عديسات الدرنات المأخوذة من أراضٍ كابحة للمرض أو التى تسبب المرض. وجد أن السلالات القياسية التى تكبح مسبب المرض تنحصر فى السلالتين الأولى PonR، والثانية Pon SII فى أمريكا. ووجد أيضاً أن هناك ٢٢ سلالة لها نشاط فى كبح شدة المرض، أكبر من نشاط السلالتين القياسيتين فى أوروبا. وأن هذه السلالات غير ممرضة لنباتات البطاطس تحت اى ظروف من ظروف البيئة. كذلك وجد أن هناك ١٧ سلالة شديدة المرضية. وجد فى التجارب المعملية أن هناك تفاعلاً تنافسياً بين هذه السلالات على مكان الإصابة وعلى المواد الغذائية المتوفرة. وجد أن هناك ستة سلالات ذات مقدرة مختلفة على تثبيط السلالات شديدة الإصابة فى المعمل.

بناء على ما سبق، فإنه يمكن استعمال السلالات المثبطة للسلالات الممرضة فى الحقول للحصول على المقاومة الحيوية. لقد استعملت السلالات الستة السابقة وهى ذات أرقام ١٥، ١٧، ٢٦، ٣٢، ٤٤، ٩٣ بالإضافة إلى السلالات القياسية PonR و PonSII فى خفض الاصابة.

بعد التحضير الجيد للسلالات المثبطة، وذلك حسب إجراءات وطرق عملية طويلة، يحضر معلق بتركيز مختلف من السلالات الستة المذكورة سابقاً، والسلالتين القياسيتين بالترتيب كالاتى ٢×١٠^{٦}، ٧×١٠^{٧} ، ٦×١٠^{٨}، ٨×١٠^{٧}، ٦×١٠^{٧}، ٩×١٠^{٧}، ٨×١٠^{٧}وحدة تكوين مستعمرات/ مل. يضاف لقاح كل سلالة إلى كمية من التربة المسببة للمرض بنسبة ١٪ من حجمها وتمزج لمدة ٤ دقائق، ثم توضع التربة فى أوعية بلاستيكية، ترتب هذه الأوعية فى صفوف تبعد عن بعضها ٩١,٤ سم. بعد نضج درنات البطاطس تجمع

بعناية فائقة وتزال عنها الأتربة اللاصقة بها، وتحدد البقع التى عليها الدرنات حسب تدريج من ١ – ٥ وأن البقع ذات تدرج ٣ – ٥ هى الأعراض المسببة للخسائر التجارية.

بعد إجراء التجربة وتم جمع المحصول، تبين أن السلالات الثمانية عندها كفاءة فى تثبيط مرض جرب البطاطس، كل السلالات تخفض المرض بشكل معنوى، باستثناء السلالة رقم ٢٦ حيث تخفض عدد البقع فقط (ليس معنويا) بالمقارنة مع الكنترول، ولم يلاحظ أى فرق فى كمية إنتاج درنات البطاطس.

فى دراسة لمعرفة تأثير استعمال اكثر من سلالة مع بعضها البعض، وجد أن استعمال سلالتين مثبطتين يؤدى إلى خفض نسبة المرض كثيراً، وأفضل من استعمال كل سلالة لوحدها.

تبين أن السلالات المثبطة للمرض عندها القدرة على إفراز مضادات حيوية عالية التأثير على السلالات الممرضة، وأن أقوى هذه المضادات الحيوية ناتجة من السلالات ١٥، ٣٢، ٩٣ وهى تعطى أفضل مقاومة لمرض جرب البطاطس، وهى لا تسبب أية أضرار لنبات البطاطس، جدول رقم (١٠٢).

فى دراسة للتمييز بين السلالات الممرضة والسلالات المثبطة للسلالات الممرضة، ذكر Loria سنة ١٩٨٩ أن السلالات الممرضة من *S.scabies* تكون ذات جراثيم ملساء رمادية اللون تتولد على سلسلة حلزونية الشكل وهى تنتج مادة الميلانين. ولقد تبين أن اكثر السلالات فى شدتها المرضية هى السلالات ذات ارقام ٨٢، ٨٧، ٨٨، ٨٩. يبين جدول رقم ١٠٣ تأثير استعمال السلالات المضادة مع السلالات شديدة المرضية، وتفاعل كل واحدة مع الأخرى وتأثير ذلك على مقياس المرض.

يتبين من جدول رقم ١٠٣ أن تفاعل السلالة ٩٣ يؤدى الى متوسط اصابة مع الاربع سلالات الممرضة بحوالى ٢، وكذلك السلالة رقم ١٥ ثم يأتى بعدها السلالة رقم ٣٢. أما أضعف السلالات فهى السلالات القياسية PonR، PonSII، خاصة مع السلالة رقم ٨٧.

جدول رقم (١٠٢) : المقاومة الحيوية لمرض جرب البطاطس باستعمال السلالات المثبطة للمرض فى الحقل.

السلالة المستعملة فى المقاومة	عدد البقع التى تقع فى مجال (٣- ٥) حسب المقياس المتعارف عليه
تربة عادية دون أية تدخل	٣,١
كنترول	٢,٥٦
سلالة ٢٦	١,٤٩
سلالة PonSII	٠,٩٢
سلالة PON R	٠,٥٤
سلالة ١٧	٠,٧٦
سلالة ٤٤	٠,٢٣
سلالة ٣٢	٠,١٦
سلالة ١٥	٠,١
سلالة ٩٣	٠,٠٩

جدول رقم (١٠٣) : مقدرة السلالات الثمانية المثبطة للسلالات الممرضة فى تثبيط مرض جرب البطاطس عند تفاعل كل سلالة مثبطة مع سلالة ممرضة لوحدها.

السلالة المثبطة للمرض	متوسط عدد البقع على الدرنات نتيجة تفاعل السلالة الممرضة مع المثبطة				متوسط تفاعل السلالة المثبطة مع جميع السلالات الممرضة
	٨٢	٨٧	٨٨	٨٩	
كنترول	١٠٨	٧٤,٠	٧١,٠	٧٠,٥	٨٠,٩
Pon R	١٠,٥	١٣	٣,٠	٢,٥	٧,٣
Pon SII	٣,٥	٦,٥	٤,٥	٦,٠	٥,١
٤٤	٧,٥	١,٥	١,٥	٦,٥	٤,٣
٢٦	٥,٥	٦,٥	صفر	٣,٥	٣,٩
١٧	٩,٠	صفر	صفر	٤,٥	٣,٤
٣٢	٤,٥	١,٠	٣,٠	٢,٠	٢,٦
٩٣	٢,٠	١,٥	٢,٠	٢,٥	٢,٠
١٥	٤,٠	٠,٥	صفر	٣,٥	٢,٠