مقـــدمة

ظهرت فى أوائل التسعينيات من القرن الماضى ، أصوات كثيرة تنادى بالاهتمام بالبيئة والابتعاد عن تلويثها ، عقد مؤتمر قمة الأرض فى مدينة ريدو جانيرو ، وذلك لوضع إتفاقيات للحد من تلوث البيئة . كان الاهتمام الكبير فى هذا المؤتمر يتجه إلى ثقب الأوزون وتلوث الهواء الجوى وقليل من الاهتمام بتلوث التربة .

اتجه الاهتمام إلى تلوث البيئة ، نتيجة إنتشار كثير من الأمراض بين مستويات مختلفة من الناس ، والتى لا تكون متسببة إلا عن تلوث الغذاء أو الهواء ، نتيجة استعمال المواد الكيماوية على المنتجات الغذائية . من أهم هذه الأمراض : الفشل الكلوى ، والأورام وحساسية الصدر . هناك آلاف من أطنان المبيدات الكيماوية ، تستعمل على المنتجات الزراعية ، فى فترات النمو المختلفة ، فى كثير من المناطق الزراعية فى العالم . بعض هذه المبيدات تبقى فى التربة لمدة تصل حوالى خمسين عاماً ، والبعض الآخر أقل . كذلك فإن الأثر المتبقى لهذه الكيماويات ، فى ثمار الفواكه والخضراوات والأجزاء الورقية الأخرى ، عندما تدخل جسم الإنسان تودى إلى إحداث الأمراض المختلفة . وأيضاً فإن نباتات العلف الحيوانى المعاملة بالكيماويات عندما تتغذى عليها الحيوانات ، فإن الأثر المتبقى من هذه الكيماويات ينتقل إلى حليب الحيوان ولحمة ومن ثم إلى جسم الإنسان .

هذه الأسباب جعلت منظمة الصحة العالمية ، تنبه على كثير من دول العالم ، بوقف استعمال المبيدات الكيماوية ، ذات التأثير السام على الإنسان . استجابت بعض الدول فوراً وأوقفت استعمال المبيدات الكيماوية التى يتبقى منها أى أثر على الأجزاء المأكولة ، بعض الدول الأخرى تسمح بوجود حد أدنى للمواد الكيماوية غير السامة على أجزاء النبات المأكولة بحيث لا تزيد هذه الكمية عن هذا الحد . البعض الآخر لا يزال فى سبات عميق .

عند بداية وقف استعمال المبيدات الكيماوية ، اتجهت الدراسات العلمية للبحث عن وسيلة بديلة لهذه المبيدات الكيماوية ، بحيث تستعمل لخفض الإصابات المرضية أو وقفها ، وتسارعت الابحاث والاكتشافات كثيراً بحيث وصلت إلى طرق فعالة لمقاومة الأمراض تستبدل نهائياً الاعتماد على المبيدات الكيماوية . مـن هذه الطرق المستعملة فى مقاومة أمراض النبات ، دون الاعتماد على المبيدات الكيماوية هى موضوع كتابنا هذا وهى :

المقاومة الجهازية المكتسبة – المقاومة الجهازية المستحثة – المقاومة الحيوية – المضادات

الحيوية . هذه المواضيع الأربعة لها استعمالات تطبيقية عملية ذات فائدة كبيرة فى مقاومة أمراض النبات . بعضها يستعمل تجارياً على نطاق واسع ، والبعض الآخر لا يزال قيد البحث والدراسة حتى يصل إلى الوضع التجارى .

المقاومة المستحثة فى النباتات ، هى المقاومة التى تظهر بعد الحقن المسبق للنباتات ، بمختلف العوامل الحيوية ، أو بعد المعاملة المسبقة بمختلف العوامل الفيزيائية أو الكيماوية. لقد استحثت المقاومة فى مدى واسع من الأصناف النباتية ضد الفطريات ، البكتيريا ، الفيروسات وحتى الحشرات . إن المقاومة المستحثة قديمة ، وبغض النظر عن نوع العامل أو الكائن الممرض المستعمل كمشجع ، فإن مستوى المقاومة فى النبات يزداد ضد أصناف من الكائنات الممرضة . مثلاً إن إصابة الدخان شديد الحساسية لفيرس موزايك الدخان يحث على مقاومة جهازية ضد نفسه وضد فيروسات أخرى عديدة ، وضد بعض الفطريات والبكتيريا وحشرات المن .

لوحظت المقاومة المستحثة ، أولاً ، فى المنطقة المحيطة بأماكن الإصابة الأولية ، وتبقى محصورة فيها (مقاومة مستحثة موضعية) ولكن بعد بضع أيام ، يمكن أن تتكشف فى الأجزاء غير المحقونة من الأوراق المحقونة ، أو فى الأوراق غير المحقونة البعيدة عن مكان الحقن (مقاومة جهازية مستحثة) . إن المقاومة المستحثة يعبر عنها إما ببقع صغيرة أو بالمقاومة الكاملة للإصابة الثانوية ، بواسطة الكائن الممرض أو كائن ممرض مختلف . ولكى تظهر المقاومة المستحثة يجب أن يكون هناك فترة زمنية فاصلة بين الحقنة الأولى (الحث) وحقنة الاختبار . من المحتمل احتياج وقت للبناء والحركة الجهازية لمادة أو مواد تتكون فى الأوراق المحقونة وتنتقل إلى الأوراق غير المحقونة أو إلى أجزاء النبات الأخرى .

تتكشف المقاومة المستحثة الموضعية فى الأوراق المحقونة ، بعد ٢ – ٣ أيام من الحقن الأولى ، بينما المقاومة المستحثة الجهازية ، إذا وجدت ، فإنها غالباً ما تتكشف بعد ٧ أيام من الحقن الأولى ، ويمكن أن تستمر ٣ – ٥ أسابيع أو أكثر . يمكن منع المقاومة المستحثة من التكشف إذا ما عوملت النباتات بمادة أكتينومايسين D ، والتى يمنع نسخ DNA الخلية إلى RNA الناقل ، وبالتالى يمنع إنتاج بروتينات جديدة وأنزيمات والتى هى أساسية فى المقاومة المستحثة . هذا يوحى بأنه لكى تتكشف المقاومة المستحثة ، يجب أن تكون خلايا العائل قادرة على أن تقوم بعملية النسخ وإنتاج أنزيمات جديدة ، هذا يعنى أن حاثات المقاومة تشجع الجينوم (مجموعة العوامل الوراثية المسئولة عن ميكانيكية المقاومة فى

النبات) . يعتمد تكشف المقاومة المستحثة على / أو يتبع تكشف تفاعل فرط الحساسية . زيادة على ذلك فإن كلاً من تفاعل فرط الحساسية والمقاومة المستحثة فى النبات ، تكون مترافقة بإنتاج واحد أو أكثر من أنواع جديدة من بروتينات العائل فى الأنسجة المقاومة . هذه البروتينات تسمى البروتينات المتعلقة بالمرضية ، ولها دور كبير فى المقاومة المكتسبة .

كان اصطلاح المقاومة الجهازية المستحثة لغاية ١٩٩٦ ، يطلق على المقاومة المستحثة فى النبات ، سواء باستعمال مواد حيوية أو غير حيوية ، عن طريق الجذر أو المجموع الخضرى . ظهرت أبحاث بعد هذا التاريخ ، تبين أن المقاومة المستحثة عبارة عن قسمين : المقاومة الجهازية المكتسبة ، والمقاومة الجهازية المستحثة ، ولكن لم يحدد الفرق الجوهرى بينهما ، وبقى اصطلاح المقاومة المستحثة هو السائد ويطلق على النوعين دون تمييز ، إلا أنه فى أوائل ١٩٩٩ ظهرت آراء تنادى بتقسيم هذه المقاومة إلى قسمين ، مستحثة ومكتسبة .

القسم الأول ، المقاومة الجهازية المكتسبة ، وهى عبارة عن المقاومة الجهازية التى تظهر فى النبات بعد حقنة بكائن حى يسبب نكروزز فى الأوراق ، وتعتمد فى تكشفها على ممر حمض السلسليك ، ويتكون فيها مجموعات من البروتينات تسمى البروتينات المتعلقة بالمرضية . أما القسم الثانى ، يسمى المقاومة الجهازية المستحثة ، وهذه تعتمد فى تكشفها على أنواع من الرايز وبكتيريا المعزولة من التربة ، غالباً لا تظهر إلا فى نباتات ذات الفلقتين أو عديدة الفلقات ، ولغاية ٢٠٠١ لم تظهر فى نباتات أحادية الفلقة . تعتمد هذه المقاومة على ممر حمض الجسمنك والاثيلين وليس للبروتينات المتعلقة بالمرضية أى دور فى هذه المقاومة ، وكذلك فإنها لا تعتمد على حمض السلسليك .

هناك بعض النقاط لا تزال مشتركة بين المقاومة الجهازية المكتسبة والمقاومة الجهازية المستحثة ، تجعل بعض الباحثين لا يزال ينظر إلى المقاومتين نظرة واحد ، هى أنها مقاومة جهازية مستحثة ، ولكن مع تقدم الأبحاث سوف يتم إن شاء الله التأكد من أن هاتين المقاومتين كل لها صفاتها التى تميزها عن الأخرى .

يجب أن أوضح هنا أن كثيراً ، إن لم يكن كل ، الأبحاث لغاية سنة ١٩٩٨ لم تكن تميز المقاومتين عن بعضهما البعض ولكن الأبحاث التى ظهرت بعد ١٩٩٩ أكدت على التمييز بين المقاومتين .

أما بالنسبة للمقاومة الحيوية ، فهى تعرف بأنها استعمال الكائن الحى الدقيق الطبيعى أو

المحور وراثياً ، لخفض تأثير الكائنات الحية الدقيقة غير المرغوبة (الآفات) ، بحيث تكون هذه الكائنات الحية الدقيقة المستعملة متوافقة مع الكائنات الدقيقة النافعة ، وغير ضارة بالمحاصيل. أو يمكن القول بأن المقاومة الحيوية ، هى استعمال كائنات حية فى مقاومة كائنات حية أخرى ضارة سواء فى مجال الحشرات أو الأمراض أو حتى فى الحيوانات الراقية.

بدأ الاتجاه إلى المقاومة الحيوية فى أوائل الثلاثينيات من القرن الماضى ، حيث كانت تجرى التجارب على أساس إحداث تغيير فى ظروف التربة ، هذا التغيير يؤدى إلى تشجيع نمو بعض مكونات ميكوفلورا التربة على حساب تثبيط نشاط البعض الآخر . تعتبر هذه الطريقة اللبنة الأولى التى وضعت أساساً لبناء صرح علم المقاومة الحيوية لأمراض النبات . ثم بعد ذلك تتابعت الأبحاث بنشاط وقوة حتى وصلت إلى ما هى عليه الآن . إن أُحدث ما وصلت إليه المقاومة الحيوية هو إحداث تغييرات فى جينات بعض سلالات الكائنات الحية الدقيقة ، بحيث تصبح مقاومة أو مضادة للسلالات الممرضة أو مانعة لتكاثرها أو مثبطة لها ، أو عند حدوث تهجين بين السلالات المضادة والسلالات الممرضة ، يؤدى إلى ظهور نسل جديد غير قادر على إحداث المرض . هذه الأبحاث تتم حالياً باستخدام الهندسة الوراثية والتدخل فى تركيب DNA و RNA .

أما بالنسبة للمضادات الحيوية . فهى عبارة عن منتجات ميكروبية تستعمل فى مقاومة ميكروبات أخرى . اكتشفت المضادات الحيوية فى أواخر الثلاثينات من القرن الماضى ولكن لم تستعمل فى الزراعة إلا فى خمسينات ذاك القرن . مرت المضادات الحيوية بسلسلة طويلةمن الاكتشافات ، خاصة المضادات الحيوية الطبية ، حتى وصلت إلى ما هي عليه الآن. يوجد هناك كثير من المضادات الحيوية تستعمل فى مقاومة الفطريات الممرضة النباتية والأمراض النباتية فى اليابان ، حيث تكلفة تصنيع هذه المضادات منخفضة . تستعمل أيضاً فى أمريكا وأوروبا ضد مرض اللفحة النارية فى التفاح والكمثرى وضد لفحة الفلفل ومعظم أمراض الأرز .

يقع هذا الكتاب الذى بين أيدينا فى أربعة أجزاء :

الجزء الأول : **المقاومة الجهازية المكتسبة** ، هذا يقع فى قسمين ، الفصل الأول يتكلم عن المواد الكيماوية الحاثة على تخليق مقاومة جهازية مكتسبة ، والجزء الثانى من الفصل الثانى يتكلم عن الكائنات الحية الدقيقة الحاثة على تخليق المقاومة الجهازية المكتسبة .

يتكلم الفصل الأول عن المقاومة المحدثة فى النبات ، ويذكر الأبحاث التى أثبتت وجود المقاومة الجهازية المكتسبة . يتكلم عن مختصر لميكانيكية المقاومة الجهازية المكتسبة . أما الفصل الثانى يتكلم عن الميكانزم الداخل فى المقاومة الجهازية المكتسبة ، من حيث اللجننة والبروتينات المتعلقة بالمرضية . الجزء الأخير من الفصل الثانى يتكلم عن المواد الكيماوية المستعملة فى تخليق المقاومة الجهازية المكتسبة فى النبات .

يتكلم الكتاب بالتفصيل عن حمض السلسليك من حيث دوره فى النبات ودوره فى المقاومة الجهازية المكتسبة وتطبيق استعماله فى مقاومة أمراض النبات . بعد ذلك يتكلم عن عشرة مواد كيماوية حاثة على تخليق المقاومة الجهازية المكتسبة واستعمالها عملياً فى مقاومة الأمراض . أما القسم الثانى فهو يتكلم عن الكائنات الحية الدقيقة المستعملة فى تخليق مقاومة جهازية مكتسبة في النبات واستعمالها فى مقاومة أمراض النبات ، خاصة أمراض العنب والخيار .

أما الجزء الثانى من الكتاب ، يتكلم عن المقاومة الجهازية المستحثة . يقع هذا الجزء فى ثلاثة فصول : الفصل الأول تعريف وصفات المقاومة الجهازية المستحثة ، وخاصة الرايزوبكتيريا وصفاتها والطرق التى بها تخلق المقاومة الجهازية المستحثة . أما الفصل الثانى يتكلم عن التنبيه والتأشير والتعبير التى تحدث فى النبات لتخليق المقاومة الجهازية المستحثة . وكذلك يتكلم عن قابلية التوريث فى هذا النوع من المقاومة . هناك مقال طويل يبحث فى كيف توقف النباتات المستحثة الكائنات الممرضة . أما الفصل الأخير يتكلم عن التطبيقات العملية فى استخدام المقاومة الجهازية المستحثة ، فى مقاومة أمراض النبات واهتم الكتاب بأمراض الخيار – القطن – وغيرها كثير .

الجزء الثالث من الكتاب هو المقاومة الحيوية . هو أكبر الأجزاء حيث يقع فى خمسة فصول ، إن المقاومة الحيوية لأمراض النبات مجال خصب جداً للأبحاث العلمية . هناك مئات الأبحاث فى هذا الموضوع وأنا اختصرت الكثير منها . يتكلم الفصل الأول عن دراسة وتطور المقاومة الحيوية لأمراض النبات . أما الفصل الثانى يتكلم عن الكائنات الحية الدقيقة التى تستعمل وتباع تجارياً فى الأسواق لمقاومة أمراض النبات . أما الفصل الثالث ، يتكلم عن الأجناس التى تستعمل فى المقاومة الحيوية فى تجارب المعمل أو الصوبا الزجاجية أو التجارب الحقلية والتى لم تصل إلى مستوى الاستعمال التجارى فى الأسواق . كذلك فإن الفصل الرابع يتكلم بشكل خاص ، عن أمراض ما بعد الجمع ومقاومتها حيوياً خاصة ثمار

التفاح والكمثرى واللوزيات . أما الفصل الخامس يتكلم عن المقاومة الحيوية لكثير من الأمراض على كثير من النباتات الاقتصادية الهامة .

يتكلم الجزء الرابع من الكتاب عن حوالى مائة مضاد حيوى ، من حيث التركيب الكيماوى والكائنات المخلقة له واستعماله فى مقاومة أمراض النبات . يعتبر هذا الكتاب أول كتاب علمى يشمل مائة مضاد حيوى متعلق بالأمراض النباتية . فى الفصل الأخير نذكر مشاكل ظهور سلالات جديدة مقاومة للمضادات الحيوية .

أما بالنسبة للمراجع فإنى فى بعض الأجزاء ذكرت شبكات الانترنت التى أخذت منها الكثير من المعلومات وفى بعض الأجزاء رتبت المراجع حسب الحداثة وفى داخل كل منه رتبت حسب الحروف الهجائية . وضعت مراجع كل جزء فى آخر الجزء الخاص به .

إنى أقدم هذا الكتاب إلى مجموعتين من الأفراد . المجموعة الأولى تستفيد منه فى التطبيقات العملية مباشرة وهؤلاء هم المزارعون والفنيون . أما المجموعة الثانية فهى المجموعة الأكاديمية التى تهتم بالأبحاث ، خاصة طلاب كليات الزراعة والعلوم . وإنى لأرجو من الله سبحانه وتعالى أن يكون هذا الكتاب مصدراً ومرجعاً لهم يأخذون منه النافع المفيد . إنى أود أن أقول أن الكمال لله سبحانه وتعالى وإنى أعتذر عن كل خطأ ورد فى هذا الكتاب وعن أى نقص فى أى موضوع لم يأخذ حقه فى التوسع وذلك لأنى بذلت الجهد الجهيد فى الحصول على أقصى ما يمكن الحصول عليه من الأبحاث ، وإنى أرحب بكل نقد بناء حول موضوع هذا الكتاب ، يرسل إلى عنوان الناشر وأكون شاكراً .

والله من وراء القصد

المؤلف

الأستاذ الدكتور/ محمود موسى أبو عرقوب

الثامن من شهر أغسطس (آب) سنة ٢٠٠١ م

الموافق الثامن عشر من شهر جماد الأول سنة ١٤٢٢ هـ

obeikandl.com

الفصل الأول

المقاومة المحدثة في النبات

Inducing Resistance

أولاً: تحصين النبات

من عهد الخرافات إلى وقت المقاومة الجهازية المكتسبة

Plant Immunisation from myth to SAR

مقدمة:

ظهرت فكرة في السنوات الأخيرة من القرن التاسع عشر ، تقول : إن النبات عنده القدرة ، في أن يتكشف لديه شكل من أشكال المناعة المكتسبة للإصابة ، بعد أن يكون قد تعرض للإصابة بكائن ممرض سابق أو لمواد أنتيجينيه Antigenic مأخوذة من كائن ممرض . ظهرت هذه الفكرة منذ اكتشاف جهاز المناعة في الحيوان . اتجهت معظم الأبحاث إلى إثبات وجود أجسام مضادة مترسبة في تجارب التخثر ، وأثبتت بشكل غير حاسم ، بسبب ما يتوفر في عصارة النبات من بروتينات Cross-reaction مثل Lectins والذى يعطى تفاعل ارتباط غير متخصص . مع ذلك حصل على علامات تدل على أن عملية التحصين Vaccination ، ممكن أن تؤدى إلى تغييرات فى استجابة الأنسجة للإصابة الميكروبية اللاحقة . ظهرت محاولات لإثبات أن هذه الظاهرة تكون بسبب إنتاج أجسام مضادة متخصصة مشابهة لتلك الموجودة فى الحيوانات ، إلا أن هذه المحاولة حكم عليها بالفشل .

من إحدى النتائج التي حصل عليها من الدراسات المبكرة على المناعة في النبات ، هي أن زيادة المقاومة للكائن الممرض ، تكون عادة محدودة في الأماكن الأولية للحقن ، وتكون عادة موضعية أكثر منها جهازية بعكس ما هو حادث في الحيوان . الأساس الميكانيكي لهذه الملاحظة ، قد تم توضيحه بواسطة الاكتشاف الذي أدى إلى القول بأن أنسجة النبات المعرضة لظروف قاسية (غير طبيعية) أو لمهاجمة كائن ممرض ، يتجمع فيها مركبات ذات وزن جزيئي منخفض ومضادة للميكروبات تسمى فايتوالكسن phytoalexins ، ثم بعد ذلك

درست هذه الظاهرة بتوسع من حيث التخليق والبناء الحيوي ، مع أنه الآن يبدو واضحاً أن الفايتوالكسن ، هي واحدة فقط من مكونات معقدة لمنظومة الاستجابات الدفاعية المسئولة عند حدوث الإصابة الموضعية .

تجارب إثبات وجود المقاومة الجهازية المكتسبة :

كان أول دليل مقنع يثبت بأن النباتات يمكن أن يتكشف فيها مقاومة جهازية للكائنات الممرضة ، قد تم الحصول عليه من التجارب التي أجريت على نبات الدخان . إن الكائن الممرض المسبب مرض البياض الزغبى فى الدخان *Peronospora tabacina* ، عادة ما يهاجم الأوراق مسبباً ما يسمى بمرض العفن الأزرق . تبين أن حقن أنسجة الساق بالفطر المذكور يحدث مقاومة ضد ظهور المرض في الأوراق الواقعة فوق منطقة الحقن . يبدو أن تكشف مناطق متحللة موضعية نتيجة لنمو الكائن الممرض في الأنسجة الخارجية للساق ، يكون مهماً في الحث على المقاومة ، لأن الحقن بالكائن الممرض المقتول بالحرارة أو بالتفريغ الصوتي يكون غير فعال . تظهر الوقاية وتتكشف بعد فترة ثلاثة أسابيع من الحقن وتكون عالية بشكل فعال بحيث تخفض الإصابة بنسبة أكبر من ٩٠٪ مقارنة مع نباتات الكنترول غير المعاملة . ولقد تبين أن مثل هذا الحقن يمكن أن يقاوم المرض تحت ظروف الحقل ، مقارنة مع المعاملة بأفضل المبيدات الفطرية المتوفرة مثل الـ Metalaxyl . في هذا النظام من المقاومة ، فإن الوقاية من المرض تدوم طويلاً ، أقلها لنهاية موسم النمو فى النبات . إن الزيادة الحاصلة فى المقاومة ، على أية حال لا تنتقل خلال البذور .

هذه الزيادة فى المقاومة تسمى المقاومة الجهازية المكتسبة Systemic Acquired Resistance ويشار إليها (SAR) . لغاية سنة ١٩٩٩ لم يحدث لها كلونة cloned في مزارع تكاثر أنسجة الدخان . لقد ذكر Lucas *et al* سنة ١٩٨٥ ، أن النباتات التى حصل عليها من إعادة تكاثر أجزاء من قمم الفروع أو الأوراق من النباتات التى حصل فيها SAR كانت قابلة للإصابة بالمرض كما في حالة الكنترول . فى حين أن Tuzun & Kuc سنة ١٩٨٧ ، ذكرا بأن هناك نسبة معنوية من المقاومة الجهازية المكتسبة تظهر في الأجيال الناشئة عن طريق التكاثر بالأنسجة . إن هذا الاختلاف في النتيجتين يعود لاختلاف طرق الدراسة التي اتبعها كل منهما .

ذكر Ross سنة ١٩٦١ أن حقن ورقة واحدة من نبات الدخان المزروع المحتوي بقعه

موضعية مقاومة للفيرس TMV ، بنفس الفيرس ، يزيد المقاومة في الأوراق الأخرى لنفس النبات ولنفس الفيرس . لقد ظهرت هذه الاستجابة على شكل خفض في عدد وحجم البقع الموضعية . لقد بينت الأبحاث الأخيرة ، أن اللقاح الحاث لا يزيد المقاومة للفيرس TMV فقط ، لكن أيضاً للكائنات الممرضة الفطرية والبكتيرية غير ذات القرابة . فمثلاً إن نتائج أبحاث McIntyre سنة ١٩٨١ ذكرت بأن حقن نبات الدخان ذو الحساسية الفائقة (الكاشف) لإظهار البقع الموضعية بالفيرس TMV ، يحدث مقاومة لنوعين من الفطريات البيضية هما *Phytophthora parasitica* والفطر *Peronospora tabacina* وللبكتيريا *Pseudomonas tabaci* ، بالإضافة لنفس الفيرس TMV . كما وأن تكاثر حشرة المن *Myzus persicae* قد إنخفض أيضاً على النباتات المحقونة بالفيرس TMV. هذا أهم دليل واقعي يبين الاختلافات بين SAR فى النبات والمناعة فى الحيوان ، هذا يعنى أن هناك نقصاً في الاستجابة المتخصصة في النبات .

لقد تبين في أبحاث كثيرة متتابعة أن المقاومة الجهازية المكتسبة يمكن أيضاً أن تحدث في الفاصوليا والخيار ، حيث أنه في الخيار فإن النطاق الحيوي للوقاية التى منحت بواسطة SAR تشمل الكائنات الممرضة ، مثل فطريات البياض الدقيقي والبياض الزغبي وفطريات الذبول الوعائي وانثراكنوز المجموع الخضري وبكتيريا تبقع الأوراق والذبول ، فيرس نكروزز الدخان TNV وفيرس موزايك الخيار CMV .

هناك عدة صفات للمقاومة الجهازية المكتسبة ، ذكرها العلماء في أوائل السبعينيات منها:

١ - تحدث هذه المقاومة تحت تأثير بعض العوامل أو الكائنات الممرضة المسببة نكروزز ، مثل أعراض البقع الموضعية .

٢ - يحدث فترة حضانة لعدة أيام بين عملية الحث والظهور الكامل للمقاومة .

٣ - تمنح الوقاية للأنسجة التي لم تتعرض للحقن بالحاث .

٤ - يظهر التفاعل على شكل خفضاً في عدد البقع ، حجم ، إنتاج الجراثيم وتكاثر الكائن الممرض .

٥ - تدوم الوقاية لمدة طويلة غالباً لعدة أسابيع وأحياناً شهور .

٦ – الوقاية ليست متخصصة ، هذا يعني أنها فعالة ضد كائنات ممرضة غير ذات قرابة للعامل الحاث .

٧ – تنتقل إشارات المقاومة SAR وتكون قابلة للانتقال بواسطة التطعيم .

٨ – لا تنتقل الوقاية إلى البذور ولم يتحدد بعد ، الانتقال إلى الأنسجة الخضرية الداخلة فى التكاثر .

لغاية سنة ١٩٩٧ تبين أن SAR تظهر فى ٢٠ نبات على الأقل تتبع ستة عائلات نباتية مختلفة . بعض أنواع هذه المقاومة الجهازية قد ذكرت أيضاً مع الحَلَم والحشرات .

مختصر لميكانيكية SAR

يمكن وضع تمثيل مبسط لظاهرة SAR ، بحيث ، يمكن تخيل أن المعاملة بالحاث الأولي يولد إشارات في الأنسجة المعرضة والتي بعد ذلك تنتقل إلى الأجزاء البعيدة من النبات ، حيث تكون الخلايا قد أعدت إلى حد ما ، للمقاومة عند الحقن بالكائن المتحدي الثاني . يمكن القول بأن النقاط المهمة في تفسير ميكانيكية SAR كانت :

١ – إن القول بأن المقاومة الجهازية تحدث في نبات الـ *Arabidopsis* تهيء الفرصة إلى القول بأن الجزيئات الوراثية والهندسة الوراثية المستقبلية سوف تؤدي إلى تفسير كامل لميكانيكية SAR .

٢ – إن استعمال النباتات المحولة وراثياً يؤدي إلى القول بأن Salicylate hydroxylase هو المفتاح الأساسي لدور حمض السلسليك في دفاع النبات . إن تكشف المقاومة الوراثية هو الآن معروفاً ، بأن يكون مترافقاً مع التوضيحات المتناسقة لمجموعة من الجينات تنسخ بروتينات متعلقة بالدفاع ، وهذه تعمل كجزيئات نافعة تكون علامة على الاستجابة . وعلى أية حال ، لا يزال هناك فرضيات معقدة متعلقة بالعلاقة بين SAR وموت خلية النبات أثناء إحداث الاستجابة ، الدور الحيوي للجزيئات الإشارية Signal molecules ، عدا عن حمض السلسليك ، مثل Systemin ، Ethylene ، Jasmonates ، ولماذا بعض الكائنات الممرضة تبدو غير متأثرة بـ SAR . كل هذه الأمور سنوضحها في هذا الكتاب إن شاء الله . يبين جدول رقم ١ بعض تطور الأبحاث في SAR .

جدول رقم ١ : تسلسل اكتشاف وأبحاث SAR

السنة	الاكتشـــــاف
١٩٣٣	دراسة حول إمكانية وجود مناعة جهازية في النبات .
١٩٥٩	ملاحظات حقلية على وجود بعض أنواع المقاومة المكتسبة في الدخان .
١٩٦٠	ملاحظة المقاومة الجهازية المكتسبة في الدخان ضد مرض العفن الأزرق .
١٩٦١	ملاحظة المقاومة الجهازية المكتسبة في الدخان لفيرس موزايك الدخان .
١٩٧٥	ملاحظة المقاومة الجهازية المكتسبة في العائلة القرعية لبعض الأمراض الفيروسية .
١٩٨٢	ملاحظة المقاومة الجهازية المكتسبة في الشعير ضد بعض الأمراض الفطرية .
١٩٨٩	اكتشاف المقاومة الجهازية ضد بعض الحشرات .
١٩٩٢	اكتشاف المقاومة الجهازية في نبات *Arabidopsis* .
١٩٩٤	اكتشاف الدور الرئيسى والمركزى لحمض السلسليك في المقاومة الجهازية المكتسبة .
١٩٩٥	اكتشاف أول حاث يستعمل تجارياً للحصول على المقاومة الجهازية المكتسبة .
١٩٩٦	اكتشاف أن المقاومة الجهازية المستحثة تحدث بدون الحث على تكوين بروتينات متعلقة بالمرضية .
١٩٩٧	أثبت Press *et al* دور الكائنات PGPR فى إحداث مقاومة جهازية مستحثة .
١٩٩٨	إدخال بعض المستخلصات النباتية كمواد حاثة على المقاومة الجهازية المكتسبة .
١٩٩٩	أثبت العالم Chen أن دور حمض السلسليك يكون فقط فى المقاومة الجهازية المكتسبة وليس المستحثة .
٢٠٠٠	أثبت كل من Dong و Beer أن الرايبوفلافين يشجع تكوين ممر إشاري جديد إلى المقاومة الجهازية المكتسبة .
٢٠٠١	—

الاستغلال العملي للمقاومة الجهازية المكتسبة

استمرت الصناعات الزراعية الكيماوية ، لمدة طويلة مهتمة في اكتشاف مركبات ، يمكن أن تعمل بشكل غير مباشر ضد الكائنات الممرضة ، من خلال طرق دفاعية داخلية في النبات . لقد وجد فعلاً أن بعض المركبات ، والتي وضعت في البداية كمبيدات فطرية ، تعرف الآن بأنها تقوي الاستجابات الدفاعية في النبات ، أكثر من كونها ذات تأثير مباشر على الكائن الممرض . مثال ذلك مادة Probenazole .

إن توضيح الجزيئات والصفات البيوكيميائية لـ SAR قد أعطت الفرصة لزيادة الأبحاث الهادفة لاكتشاف الحاثات الدفاعية في النبات . هناك مركبات كيماوية مصنعة مثل مادة Benzothiadiazoles كمجموعة كيماوية والتي تشجع SAR، من أهم مشتقات هذه الكيماويات مادة CGA 245704 Bion وهي تستعمل الآن على نطاق تجاري في إحداث SAR .

عند دراسة فعل حاثات الدفاع النباتية ، اقترح بأنها سوف تكون ذات قيمة حيوية عالية في المقاومة المتكاملة لأمراض النبات ، خاصة عندما تكون مسببات هذه الأمراض مقاومة للمبيدات الفطرية التقليدية . بسبب أن هذه المركبات تؤثر أو تعمل على ممر الدفاع الداخلي في النبات ، فإنها تكون ذات مدى واسع في مقاومة المرض والتي يمكن أن تكون قوية . هناك عدة أسئلة تحتاج إلى إجابة وهي ، كيفية استعمالها ، الوقت الملائم لاستعمالها وطريقة إضافتها على المحاصيل المختلفة ، توافقها مع أنواع مبيدات الآفات الأخرى ، ومدى تداخلها مع العمليات الفسيولوجية في النبات . هذه الكيماويات تتحدد عن طريق تعريفها وعن طريق تغير استجابة الجين في النبات والميتابولزم مع التأثيرات الممكنة على نمو المحصول وتكشفه . يبدو أيضاً أنها ذات صفات مختلفة غير واضحة في فعالية الحاثات الدفاعية الكيماوية على الأنواع المختلفة من المحاصيل سواء أكانت مثل هذه الاختلافات راجعة إلى التنوع في امتصاص أو إلى الاستجابة بين الأنواع أو تعكس الاختلافات الحقيقية في حث وتنظيم ممرات الدفاع في النبات . جميع هذه الاحتمالات لغاية سنة ١٩٩٩ غير واضحة التفسير . نحتاج إلى أبحاث إضافية أخرى لكي نحدد الشكل الذي يجب أن تضاف به هذه الكيماويات على الأنواع المختلفة من المحاصيل . مثلا أجريت تجارب معملية لدراسة إمكانية استعمال هذه الكيماويات على شكل معاملة بذور لوقاية البادرات من الإصابة بالأمراض ، أعطت نتائج جيدة ولكنها تحتاج إلى دراسة أكثر لاستعمالها تجارياً .

الاتجاه الآخر في كفاءة الاستغلال العملي لـ SAR ، يكون عن طريق معالجة (التلاعب) في الاستجابة في المحاصيل المحولة وراثياً . تكون بروتينات الدفاع المستقلة المستحثة خلال عملية SAR ، مثل بعض البروتينات التي تسمى PR proteins ، تكون أساساً واضحاً في النباتات المحولة وراثياً مع بعض التحسينات في المقاومة للإصابة الفطرية . يجب أن يكون هناك اهتمام أكثر في إحداث تغير في الحث أو تنظيم ممر الـ SAR ، وبالتالي تكون أنسجة النبات جاهزة مسبقاً ضد المهاجمة . هناك عديد من الطفرات والتي بشكل أساسي توضح SAR ، قد عرفت وحددت في نبات *Arabidopsis* ، مبينة أن هذا الـ Phenotype يمكن أن يحدث طبيعياً ، ولكن الشيء غير المعروف هو التأثير الأساسي لعملية SAR في أنواع المحاصيل في الحقل .

ثانياً : الدراسات الحديثة على المقاومة الجهازية المكتسبة

مقدمة :

عقد المؤتمر الأول العالمي للمقاومة المحدثة في النبات في أواخر سنة ٢٠٠٠ ، نشر ملخص عن هذا المؤتمر في مارس سنة ٢٠٠١ . لم أجد أفضل من أن أضع ملخص ما قيل في هذا المؤتمر كمقدمة عن المقاومة المحدثة في النبات في كتابي هذا .

كما هو معروف فإن المقاومة المحدثة في النبات ، نوعين ، النوع الأول هو المقاومة الجهازية المكتسبة Systemic Acquired Resistance ويرمز إليها (SAR) ، والنوع الثاني هـو المقاومة الجهازية المستحثة Induced Systemic Resistance ويرمز إليها (ISR) . في هـذا المؤتمر الذي حضره حوالي ١٥٠ مشارك ، إتفقوا علـى أن هـذين الاصطلاحين يجـب أن ينظر إليها كمدلولين مختلفين ، هناك بعض الباحثين لم يوافق على ذلك واعتبر أن هذين الاصطلاحين مترادفين . بغض النظر عن هذا الاختلاف في الرأي ، فإن الأبحاث العديدة المنشورة في كثير من المجلات العلمية لغاية الآن مستمرة في التفريق بين هاتين المقاومتين .

مع أن اصطلاح المناعة أو إحداث المناعة Immunization ، قد استعمل ليدل على المناعة التـي تؤدي إلـى زيادة الكفاءة الدفاعية في الحيوان ، والاتفاق على أن عملية التحصين Vaccination في الفقاريات بعيدة الاحتمال عن هذين النوعين من المقاومة ، وبالتالـى فإن حالة المقاومة المحدثة في النبات ليس لها مشابه في الحيوان أو ليس لها معنى متخصص في الحيوان، إلا أنها تعطي مدلولاً على زيادة عامة في مقاومة النبات للأنواع المختلفة من الكائنات الممرضة . زيادة على ذلك فإنها نادراً ما تمنع حدوث المرض ، ولكنها بشكل عام تخفض إنتشاره وشدته على النبات . هذه الصفات تجعل المقاومة المحدثة في النبات ذات ميكانزم قوي يستغل لزيادة المقاومة العامة في المحاصيل النباتية . لقد وجد فعلاً أن أول مـــادة كيماوية تجارية تحدث أو تنبه المقاومة المحدثة في النبات هي مادة Acibenzolar - S - methyl ، ويرمز لها (BTH) . ولقد أدخلت حديثاً في الأسواق بواسطة Novartis تحت اسم تجاري Actigard وهي تستعمل في الولايات المتحدة وتباع في أوروبا تحت اسم BION .

إن ظاهرة المقاومة المحدثة في النبات قد وضعت تحت اسمين ، المقاومة الجهازية المكتسبة ، كما ذكر سابقاً ويرمز لها SAR ، والمقاومة الجهازية المستحثة ويرمز لها ISR . إن كـلا الاسمين يؤكد كلمة جهازية Systemic ، هـذا يدل على التأكيد على نقطة معينة ، وهي أن المقاومة التي تحدث في النبات ليست محددة في أجزاء النبات التي عوملت (بالحاثات) ولكنها تمتد إلى الأجزاء الأخرى غير المعاملة ، وغالباً إلى النموات المتكشفة الحديثة من أجزاء النبات . وعلى أية حال ، فإن هناك عوامل معينة تمنح الوقاية الموضعية فقط . هذا الشرح آثار سؤالاً مفاده ، هل هذه المقاومة الموضعية المستحثة تكون مشابهة لكل من SAR / ISR ؟؟ . باستثناء افتقارها إلى إنتاج إشارات منطلقة أو فيما إذا كانت تعكس ميكانزم معين فإن المقاومة الموضعية تختلف عن كلتا المقاومتين .

إن كلا من SAR / ISR جزء من الاستجابات الدفاعية المستحثة والتي يحدث لها إثارة بواسـطة كائنات ممرضة ضعيفة المرضية ، وبالتالي فـإن بعض الباحثين قد أكد فى أبحاثه، أن هـذا النوع مـــن المقاومة حتى يحدث يحتاج إلى شيء يستحثه ، وبالتالي يمكن أن تسمى مقاومـة جهازية مستحثة . بعض الباحثين مقتنع بأن تلك المقاومة المستحثة ، تعكس حالة فسيولوجية مخلقة ، هذا يعني أنها مخلقة من قبل النبات كنتيجة لتحريض مسبق ، وبالتالـي تكون مقاومة جهازية مكتسبة ، هذا هو التفسير الذي قدم لإظهار الاختلاف في التسمية .

في جلسة المناقشة في المؤتمر الدولي الأول ، قد تم الاتفاق على أن المقاومة المستحثة Induced Resistance ، هو اصطلاح عام ، والذي بواسطته فإن جميع أنواع الاستجابات المثارة ، التي تؤدي إلى زيادة الوقاية ضد أمراض النبات ، شاملاً كلاً من المقاومة المستحثة الجهازية والموضعية – يمكن أن تسمى بذلك – هذا الاصطلاح هو نفسه مثل الاصطلاح الذي استعمل بواسطة علماء البيئة ليدل على خفض أضرار النبات بواسطة الحشرات الماضغة بعد المهاجمة الأولى من قبل الحشرة . لكي نشير إلى المقاومة الجهازية الناتجة من ، مثلاً ، الإصابة بكائن ممرض ضعيف المرضية ، فإن الاصطلاحين ISR و SAR يمكن استعمالهما مترادفين ، هذه التسوية (حل وسط) يمكن أن تكون عادلة لكلا الاصطلاحين بالإضافة إلى استعمالهما الحالي في المراجع الموجودة الآن .

obeikandl.com

هناك دراسة قليلة لظاهرة المقاومة المستحثة الخاصة بظاهرة المقاومة المكتسبة الموضعية Localized Acquired Resistance (LAR) ، هذه قد وصفت بالتفصيل للكائنات الممرضة البكتيرية وفيرس موزايك الدخان . إن العلاقة بين LAR كجزء من مقاومة المرض الموضعية استجابة لـ TWV في الدخان ، مثل تفاعل فرط الحساسية (HR) Hypersensitive Reaction وكيف أن LAR تختلف عن استجابات المقاومة الجهازية المستحثة على مستويات جزيئية ووظيفية قد درست . تظهر في الدخان LAR في حلقة من الخلايا محيطة بمنطقة فرط الحساسية . لقد تبين أن حمض السلسليك (SA) عامل هام في تأسيس LAR و SAR ، ولكن نوع الأكسجين النشيط من المحتمل أن لا يلعب دوراً معنوياً في الـ LAR . كذلك فإن المقاومة المستحثة الموضعية يمكن أيضاً تنشيطها بواسطة بكتيريا حية وميتة ، بالإضافة إلى السكريات العديدة الدهنية البكتيرية Lipopoly saccharide (LPS) . تحدث المقاومة الموضعية المستحثة البكتيرية في طورين زمنيين متميزين : الطور الأول المقاومة المستحثة المبكرة وهذا يحتاج إلى (٦ - ٢٠) ساعة والذي يمكن أن يثبط بمثبطات بناء البروتين . الطور الثاني هو طور المقاومة المستحثة المتأخر، وهذا يحتاج إضاءة وحوالي ٢٤ ساعة ليتكشف . ماذا يحدث للنبات عند ظهور المقاومة المستحثة ؟؟ . في نباتات القمح التي استحثت بواسطة المادة التجارية BION أظهرت كمية قليلة من الفروع الجانبية (الاشطاءات) ، وكان إنتاج الحبوب أقل نسبياً . هذه الاستجابة السلبية كانت متعلقة بأطوار التكشف النباتي عند المعاملة ، بالإضافة إلى كمية النيتروجين المتوفرة للنبات . أما نباتات الفول بعد معاملتها بمادة BION كانت ذات حجوم أصغر نسبياً بالمقارنة مع الكنترول ، مع كمية قليلة من العقد الجذرية أيضاً .

الحث على المقاومة باستعمال عوامل حيوية وغير حيوية :

ذكرت المقاومة المكتسبة في كثير من الأنواع النباتية ، هذه المقاومة تستحث بالفطريات، البكتيريا ، المثيرات الميكروبية والكيماويات . بالإضافة إلى معاناة النبات من ظروف حيوية ، فإن البيئة أيضاً يمكن أن تغير استجابة العائل للإصابات . إن معاملة نبات القمح الشتوي بالبرد الشديد ، يؤدي إلى حالة من التقسية الشتوية ، تحث على المقاومة لأعفان الثلج *Microdochium nivale* . كذلك فإن النباتات المقساة بالبرد تظهر مستويات عالية من نسخ الـ Chitinase والـ Peroxidase . إن حقن مثل هذه النباتات المقساة بالبرد يؤدي

إلى زيـادة فـي إظهار PR - la (إحدى البروتينات المتعلقة بالمرضـية) ، وعديد مـن الأنزيمات الدفاعية المرافقة ، عند مقارنتها مع النباتات غير المقساة . كذلك وجد أن معاملة كل من القمح والشعير بالحمض غير الأميني β - aminobutyric acid (BABA) تحث المقاومة لنوعين من النيماتودا الحويصلية *Heterodera* عندما قدرت قيمتها عن طريق الخفض في تكوين الحويصلات ، كذلك فإن المعاملة بمادة BABA تخفض الإنتاج الكبير للبيض مـن قبل الأنواع المتخصصة من أنواع نيماتودا النجيليات *Meloidogyne* . أما التأثيرات علـى تكشف الأجيال الشبابيه للنيماتودا *Heterodera* إلى ديدان يافعة فلها أبحاث أخرى .

إن اكتشاف مادة الـ BION كمادة حاثة للمقاومة ، أدت إلى الحصول على معلومات وافرة على فعاليتها تحت الظروف الحقلية . إن هذه المادة تشجع مقاومة المرض في كثير من المحاصيل لمجال واسع من الكائنات الممرضة النباتية ، ولها تأثير مستمر يكون أكثر وضوحاً في نباتات إحادية الفلقة منه في ثنائية الفلقة . كذلك وجد أن هذه المادة لوحدها أو متحدة مع المبيدات الحشرية ، لها تأثير فعال في تنشيط المقاومة ضد الأمراض . استعملت هذه المادة بنجاح على محصول الطماطم ضد الفطر *Bemisa tabaci* ، فيرس تجعد أوراق الطماطم ، مؤدية إلى معدل إنتاج أفضل وإنخفـاض في حـدوث المرض . وبالتالي فإن مادة BION تدخـل في كثير من برامج وقاية النباتات ، وأظهـرت فوائد إضافيـة كثيرة للمزارعـين . أما نبات الـ *Arabidopsis* شـديد الإظهـار لتأثير الجـين NIMI ، يبدي حسـاسية فائقـة لمادة الـ BION ،وتستحث المقاومة بكمية أقل بمقدار عشرة أضعاف عنه في الخطوط غير المحولة وراثياً . هذا يؤدي إلى القول بأن مادة BION تتدخل مباشرة أو بشكل غير مباشر مع NIMI في تنشيط SAR .

أما مادة Oxycom TM ، وهي عبارة عن مادة مركبة من اتحاد مادتين لهما دور في توليد الأكسجين وهي مادة تجارية حاثة على المقاومة . أجريت تجارب على نبات الفاصوليا وجد أن Oxycom TM مبيد فطري هامشي ويحث الجينات المتعلقة بدفاع النبات على حل شيفرة البروتيـنات الداخلة في ميتابولزم الفينولات وتقسية جدار خلية النبات . نفس نظام الحث الجيني هذا لوحظ بعد الحث بواسطة حمض السلسليك أو الماء الأكسجيني .

أمـا مادة DF - 391 فهـي مادة مخلقة (وليسـت مبيد فطـري) مـن مشتقات

الـ Pyridine وتنتجها شركة (Dainippon Ink & Chemicals) ولقد ثبت بأنها مادة فعالة في الحث على المقاومة الجهازية المكتسبة في الخيار ضد مرض الانثراكنوز .

كما هو معروف ، فإن أمراض ذبول الفير تسليم ، مشهورة بالأضرار السيئة وصعوبة المقاومة . هذا النوع من الأمراض هدفاً كبيراً لكل الباحثين ، كل منهم يصبوا في الحصول على طرق جديدة لمقاومتها . إذا ما أخذ راشح مزراعة الفطر *Verticillium - albo - atrum* ورش على المجموع الخضري لنبات الخيار (الأوراق) ، فإنه يحفظ النباتات إذا ما حقنت عن طريق الجذور بالفطر الممرض نفسه . إذا ما رشت مادة RNAse A على أوراق الخيار قبل أو بعد الحقن بالفطر *V . albo - atrum* ، أيضاً فإنها تحدث أو تنبه استجابة النبات لمقاومة الفطر *Verticillium* . تبين أن نشاط الحث لهذه المادة يفقد تحت تأثير الحرارة والسستين ، إلا أن الحمض الأميني الموجود في هذا المادة يستمر فعال . بعض المواد الكيماوية مثل داي بوتاسيوم فسفيت عند إضافتها على المجموع الخضري لنبات الخيار ، تحدث موتاً لخلية موضعية ، وبالتالي فإن SAR تكون معتمدة على حمض السلسليك المثير .

الهندسة الوراثية الداخلة في مقاومة الكائنات الممرضة باستعمال جينات مشفرة لبروتينات متعلقة بالمرضية PRs أو بروتينات مضادة للفطريات R-genes ، Switches (NDR, EDS) أو جينات Avr لها دور في المقاومة المكتسبة .

التمييز والإشارات العابرة Recognition and Signal Transduction

أجريت دراسات عديدة واسعة على نبات الـ *Arabidopsis* ، فتحت الطريق لفهم الجزيء الداخل في المقاومة المكتسبة . ولقد أصبح واضحاً أن الاعتماد على الحاثات الأولية (الكائن الممرض الورقي ، الحقن بالرايزوبكتيريا أو التجريح) مختلفة في نقل الإشارات عبر الممرات وتكوين الحافز . هذه الممرات تعتمد على المنظمات الداخلية ، مثل حمض السلسليك ، الاثيلين وحمض الجسمنك (JA) ، للحث على تفاعلات دفاعية ، (وتتطلب أو لا تتطلب NPR1/ NIMI) ، مجموعة من التفاعلات الدفاعية تعمل ضد مجموعات من الكائنات الممرضة . يكون التداخل الواقع بين هذه الممرات موحٍ إلى تركيبات شبكية والتي فيها يتكون إشارات خارجية مختلفة مندمجة . فمثلا الممر العابر الإشاري للضوء مطلوب لحث أو تنبيه PR-1 (البروتين المتعلق بالمرضية) بواسطة حمض السلسليك مؤدياً إلى دفاعات

ظلام ضد إضاءة . إن التمثيل المنطقي للممرات وللتداخل يمكن أن يخفض إلى شبكة بسيطة نسبياً من عمليات العوامل الميكانيكية Boolean .

هناك من الدراسات ما يدعم ، وجود نوعين مختلفين ، من ممرات المقاومة المستحثة في الشعير ، إلى كل من الفطريات *Blumeria graminis* f. sp. *hordei* والفطر *Bipolaris sorokiniana* كانت موجودة . إن كلاً من حمض السلسليك ومثيلاته - 2,6 dichloroisonicotinic acid (INA) والمركب BION تحث مقاومة لـ *Blumeria* ولكن ليس لـ *Bipolaris* ، بينما JA فقط يحث مقاومة لـ *Bipolaris* استعملت طرقاً من التهجين لعزل تسعة جينات جديدة تسمى جينات الشعير المستحث كيماوياً (BCI) معزولة من الشعير المستحث بواسطة INA أو BION ، معظم هذه الجينات أو على الأقل واحداً منها قد استحثت بواسطة JA . ولقد أثبتت التجارب أن التداخل بين هذه الممرات يؤدي إلى المقاومة المكتسبة .

تهاجم النباتات في الحقل ، بالكائنات الدقيقة الممرضة ، وكذلك بالحشرات الماضغة ، هذه الأنواع المختلفة من المهاجمات ، يمكن أن تؤدي إلى توضيح الدفاعات التي يمكن التحكم بها بواسطة ممرات إشارية مختلفة ، وبالتالي يكون من الممكن ، القول بأن الحث على ممرات إشارية مختلفة بواسطة الحشرات الماضغة والكائنات الممرضة النباتية يؤدي إلى نماذج غير متوقعة للتعبيرات الدفاعية . لقد وجد أن معاملة نبات القطن بمادة BTH يؤدي إلى زيادة في كل من البروتينات المتعلقة بالمرضية الموضعية والجهازية . على أية حال لم يكن هناك تأثيراً على الذبابة البيضاء المتغذية مسبقاً على نباتات القطن وكذلك ديدان اللوز .

أنزيمات تحطيم جدار الخلية المفرزة من قبل الكائن الممرض *Erwinia carotovora* مسبب العفن الطري البكتيري ، تنبه ممر غير معتمد على حمض السلسليك في نبات الـ *Arabidopsis* ، وهذا يكون معتمداً على التأثيرات التعاونية للأثيلين و JA ولا يتطلب حمض السلسليك ولا NPR1 ، وعلى أية حال ، فإن هذا الممر يمكن أن يقوى بواسطة حمض السلسليك وحمض الجسمنك ، إلا أنه يثبط نشاط الجينات المستحثة بواسطة الجسمنك أسد لوحده . التداخلات المعقدة بين الانتقال الإشاري للممرات ، كانت قد اكتشفت في نبات *Arabidopsis* باستعمال DNA microarrays (مكون من 2400 ESTs) . قياسات RNA النسبي المتوفر (٢ – ٥ أضعاف المستحث فوق المستويات الأصلية) ، قد حدد في النباتات المتطابقة بعد الحقن بكائن ممرض غير متوافق أو عوملت

بإشارات مختلفة . أظهر التحليل التجميعي أن هناك انحرافاً في الحث الجيني بين المعاملات. لوحظ أكبر حث بعد المعاملة بحمض السلسليك وحمض الجسمنك حيث أن هناك ٥٥ جيناً قد استحثت بشكل عام .

لقد تبين أن BABA ذو قوة مكيفة عالية لميكانزم دفاع النبات . في الـ *Arabidopsis* فإن BABA يحفظ النبات ضد الإصابة بالفطر *P. parasitica* ، دون أن يعتمد على حمض السلسليك أو الجسمنك أسد أو الاثيلين ، ويحث على إنتاج سريع لترسيبات في جدار الخلية ، وبالتالي يوقف تقدم الفطر . كذلك فإن BABA يمكن أن يحفظ النبات ضد الفطر *P. syringae* ، ولكن في هذه الحالة ، فإن الوقاية تعتمد على حمض السلسليك والحث على البروتينات المتعلقة بالمرضية . أما في الدخان فإن نفس المركب يحفظ الدخان ضد مرض البياض الزغبي دون الاعتماد على حمض السلسليك ، ولكن حفظ الدخان ضد فيرس TMV يكون معتمداً على حمض السلسليك. يستعمل هذا المركب إما رشاً على المجموع الخضري أو على شكل معاملة تربة . في تجارب أخرى أظهر تفاعلاً واسعاً ضد الفطريات الكامنة في التربة ، والمحمولة في الهواء بالإضافة للنيماتودا.

المكونات الأولية لمر الإشارات المنتقلة مبكراً يشمل أكسيد النيتريك (NO) والذي ينشط بروتينات G ويفتح قنوات Ca^{++} . يكون أنزيم الـ Aconitase هدفاً ممكناً لأكسيد النيتريك ويمكن أن ينظم الحديد المتوفر المطلوب لإنتاج الجذر الهيدروكسيلى السام الذي يمكن أن يدخل في تفاعل الحساسية الفائقة لموت الخلية . اقترح أن حمض السلسليك يعمل من خلال الارتباط مع مستقبل ينشط فيما بعد ، من قبل أنزيم البروتين الحاث لحمض السلسليك والمسمى SA-inducible protein kinase (SIPK) والذي هو من أفراد عائلة MAP Kinase والذي يمكن أن يعمل في سلسلة MAPK مؤدياً إلى تنشيط الاستجابة الدفاعية . هناك نوعين من البروتينات رابطة لحمض السلسليك تسمى (SABPs) قد حددت وعرفت تماماً ، إحداهما يقع في الكلوروبلاست والآخر في الميتوكندريا . يكون إنجذاب هذه البروتينات لحمض السلسليك عالياً وحتى أعلى منه في الـ BION . الهدف المتوقع لمادة الـ BION قد عرف في شكل بروتين الذي يعمل فسفرة لـ NIM . إن مادة الـ BION ، حمض السلسليك و INA وجد أنها تثبط الفسفرة لـ NIM Kinase . كذلك وجد أن حمض السلسليك يثبط كلاً من تكاثر وحركة فيرس موزايك الدخان من خلية إلى أخرى في نبات الدخان ، ولكن يتدخل فقط في الانتقال الجهازي لفيرس

موزايك الخيار . المادة المثبطة للاكسيديز البديل وهي (SHAM) تثبط المقاومة لفيرس موزايك الدخان ، بينما المثبط لممر السايتوكروم ، سيانيد ، يحث على مقاومة فيرس موزايك الدخان .

بالرغم من المحاولات العديدة لفهم طبيعة الإشارات المتنقلة جهازياً ، إلا أنها لغاية الآن لم توضح . في دراسة نبات الـ *Arabidopsis* وجد أن الطفرة *dir1* (غير قادرة على إحداث مقاومة مكتسبة) هي الوحيدة التي ضعفت في مقدرتها على الحث على استجابات دفاعية جهازية . إن *dir1* هو دهن ينقل بروتين ، والذي لا يكون موجوداً في إفرازات اللحاء من طفرات *dir1* . لوحظت الإفرازات من الأنواع البرية للنباتات بشكل طبيعي بواسطة أوراق *dir1* مؤدية على الحث لـ PR-1 ، وبالتالي فإن الدهن الناقل للبروتين يمكن أن يكون إشارة لحائية متحركة أو مترافقة تماماً مع إنتاجها . إن دور حمض السلسليك المتنقل باللحاء في نقل المقاومة الجهازية المكتسبة ، اختبر باستعمال طفرة من نباتات الدخان المحول وراثياً (NahG) موضحة أنزيم هيدروكسيليز السلسيلات تحت تأثير مشجع لبناء السكروز المتخصص باللحاء. مثل هذه النباتات ، يحدث فيها إنخفاض كبير في مستويات حمض السلسليك في اللحاء وتخفض أو تلغي المقاومة الجهازية المكتسبة ، بينما لا تزال مسئولة عن تفاعل فرط الحساسية لفيرس TMV . إن نقل أو بناء حمض السلسليك في اللحاء ، بالتالي يجب أن يكون أساسياً للمقاومة الجهازية المكتسبة .

كيفية ظهور المقاومة :

السؤال الذي يطرح نفسه هو كيف تستطيع النباتات أن توقف تكشف الكائن الممرض في أنسجتها ؟؟ لقد تمت الإجابة على هذا السؤال عن طريق دراسة مجموعة الدفاعات المفترضة والتي تظهر كنتيجة للمقاومة المستحثة ، بعد تحصين النبات بالكائن الممرض . يبدو واضحاً أن هناك عديداً من العوائل النباتية تستجيب للمقاومة المستحثة ، ولكن الاشتراك النسبي لكل منهما في دفاع النبات لم تثبت بعد . جميع العمليات التي تحدث في النبات تكون تحت التحكم الوراثي ، وبالتالى فهي تشمل جميع أشكال المقاومة . إن استعمال التحليلات الوراثية لتحديد طبيعة مقاومة المرض ، شاملة الجينات المضاعفة والتي من المحتمل أن تدخل في توضيح الجين الرئيسي ، بالإضافة إلى الحث على المقاومة قد درست بتوسع.

إن عملية المقاومة المعقدة قد شرحت بالملاحظات الحديثة والتي تفسر المقاومة ، جين

لكل جين ، والتي يمكن أن تكون كثيرة القرب للوضع الطبيعي ، كما وأن الجينات المركبة يمكن أن تدخل في تفاعل (النبات – الكائن الممرض) العلاقة والتشابه بين المقاومة المكتسبة والمحولة وراثياً ، قد تم بحثها من قبل كثير من الباحثين الذين أظهروا أن المقاومة المحولة وراثياً في بعض الأنظمة (نبات –كائن ممرض) ، يمكن أن تكون مرتبطة ، مع التوضيح الأساسي للانزيمات ، مثل Chitinase والتي تمت مرافقتها مع المقاومة الجهازية المكتسبة . إن عملية الـ hydrolases في النبات توضح المقاومة المحولة وراثياً إلى كائن ممرض معين ، ذكرت أيضاً بأن تكون أكثر نشاطاً ضد الكائن الممرض المعين .

إن استعمال المقاومة الجهازية المكتسبة لمقاومة *Rynchosporiurn secalis* وفيرس التقزم الأصفر في الشعير ، قد وصفت بعلاقتها الوراثية في المقاومة المستحثة في الشعير . ولقد ذكر أنه ليس جميع الايكوتايب في نبات الـ *Arabidopsis* توضح هذا النوع من المقاومة الجهازية المستحثة إلى نفس المستوى . أثبتت التحليلات الوراثية أن هذه المقدرة كانت مترافقة مع موقع مفرد ISR-1 في النبات العائل .

إن عملية الحث على المقاومة الجهازية المكتسبة في فول الصويا يمكن أن تشمل الإثارة الكافية لتجمعات الـ Glyceollin من خلال ممر أكسدة والحث على تجمع الايزوفلافون عن طريق مستقبلات نووية (Ligands) . هذا يوضح أن عديداً من الممرات الإشارية المكملة تحدد ممرات المنتجات الثانوية الدفاعية خلال المقاومة الجهازية المكتسبة في فول الصويا . أما في الأرز فإن مادة BTH تحث إنتاج أنزيم Lipoxygenase ، ولكن دوره في المقاومة المكتسبة لم يوضح حتى سنة ٢٠٠١ . أما في نبات الـ *Arabidopsis* فإن مادة الـ BTH تزيد الحساسية للبكتيريا *Pseudomonas syringae* عن طريق تقوية تأثير جينات الـ PAL ، حيث أن هذه الجينات وعملية ترسيب السليلوز ، يمكن أيضاً أن تقوى بواسطة BTH بعد التجريح ، التأثير الذي يعتمد على وظائف الجين *NPR1* ، حيث أن هذا الجين يمكن أن يغير أو يعدل المقاومة الجهازية المكتسبة والممر الإشاري للجروح . أما في الخيار ، عند معاملة الفلقات مسبقاً بمادة BTH أو INA فإن ذلك يكيف النسيج لمثيرات حاثة أقوى لتجمعات mRNA chitinase أو إنتاج الماء الأكسجيني . هناك بروتينات متخصصة ، بالإضافة إلى عملية تنشيط نظام الـ Ubiquitin proteasome ، مطلوبين للتكييف ، هذا يدل على أن هناك أبحاث أخرى مطلوبة على البروتينات . كذلك فإن حمض السلسليك يقوي عمليات الأكسدة التي تندفع في نبات الدخان ، وبالتالي تسرع في

obeikandi.com

كل من ، موت الخلية وتعبيرات جين الدفاع . جميع هذه الاستجابات تكون أقل سرعة في النباتات المحولة وراثيا NahG . مثل هذه النباتات أظهرت أن المقاومة لفيرس موزايك الدخان والبكتيريا ، تعتمد على حوادث تقع في الطور قبل النكروتك ، من تفاعل فرط الحساسية ، مؤكدة أهمية المقياس لحركة المقاومة .

أما عن دور حمض الابسيسك (ABA) في مقاومة الكائنات الممرضة ، قد درس في نباتات الطماطم ذات الـ *sitiens* المفتقرة إلى ABA ، مثل هذه النباتات كانت أكثر مقاومة لكل من *Botrytis cinerea* ، *Sclerotinia sclerotiorum* ، *Alternaria solani* منه في الأنواع البرية للنبات . بينما BTH كان فعالاً في الحث على المقاومة ضد *B. cinerea* في أنواع النباتات البرية ، فإن الـ *sitiens* كانت أكثر حساسية واستجابة بمقدار عشرة أضعاف لهذا الحاث . هناك بعض الأبحاث تدل على أن ABA الداخلي يمكن أن يكون منظم سالب لاستجابة SAR .

إن التفاعل غير المتوافق بين الفلفل وبكتيريا زانثومونس كامبسترس ، استعمل لدراسة تأثير الوقاية الموضعية LPS البكتيري ضد تفاعل الحساسية الفائقة ، المستحثة بواسطة بكتيريا غير شديدة المرضية . وجد أن المعاملة التى تنتج LPS لم تنشط جينات البروتينات المتعلقة بالمرضية مباشرة ولكنها زودت قوة تعبيراتها بعد الحقن بالبكتيريا . كذلك فإن LPS أيضاً تقوي ميتابولزم الفينول بعد الحقن البكتيري . هناك نوعين من المضادات الميكروبية الفينولية مترافقة وهي Coumaroyl tyramine (CT) و Feruloyl tyramine (FT) تجمعت بسرعة أكثر بعد الحقن في الفلفل المعامل مسبقاً بـ LPS . واحداً من أكثر الاستجابات المستحثة شهرة في التفاعلات غير المتوافقة هو تجمع البروتينات المتعلقة بالمرضية PRs ، وبسبب إمتداد حثها إلى الأجزاء غير المحقونة من النبات حيث تتكشف المقاومة الجهازية المكتسبة ، يكون حدوثها مترافقاً مع حالة المقاومة المستحثة . بعض هذه الـ PRs ذات تأثير مضاد فطري أو مضاد بكتيري ، وهذا يؤدي إلى القول بأن هناك دوراً لهذه البروتينات في زيادة الوقاية ضد المرض في النباتات المستحثة . وبالتالي يمكن القول بأن هذه البروتينات غالباً ما تستعمل كعلامات للمقاومة الجهازية المكتسبة . يمكن أن يتكشف أثناء تفاعل المقاومة بقعاً متحللة، ولكن عملية التحلل هذه ليست من متطلبات تنبيه المقاومة الجهازية المكتسبة ، وتنشيط الجين الجهازي ، وعلى العكس من ذلك فإن النكروزز والحث المصاحب للمقاومة الجهازية المكتسبة ، يمكن أيضاً أن يحدث في التفاعلات غير المتوافقة .

يتطلب التأشير الجهازي وحث PRs تفاعل الإشارات المنتجة موضعياً والتي يمكن أن تتدخل في الضغط الميكانيكي بالإضافة إلى Oxygen species متفاعل . بالإضافة لذلك فإن التعبيرات لـ PRs المختلفة يمكن تنظيمها بواسطة إشارات مختلفة وعديد من PRs ، تكون أيضاً مستحثة في التكشفات المتحكم بها . بعض الاختبارات Organ - specific manner أدت إلى الاقتراح بأنها يمكن أن تعمل ليس فقط في الدفاعات ضد الكائنات الممرضة أو الضغوطات المماثلة، ولكن أيضاً تلعب دوراً شكلياً في النبات . بعض المهيجات الفطرية يمكن أن تحث PRs عن طريق تأثيرها السام على النباتات ، بينما أخرى تظهر بأنها تحتاج إلى منبه متخصص لحثها عن طريق تنشيط التأشيرات الداخلة في الممرات .

بالإضافة إلى الـ PRs ، فإن بناء الفاتيوالكسن وتقسية جدار الخلية هي استجابات دفاعية والتي تستحث خلال التفاعلات غير المتوافقة أو بالمعاملة بالمهيجات . هذه الاستجابات تتدخل في الزيادات في نشاطات أنزيمات الأكسدة بالإضافة إلى بناء الـ Terpenoid و/أو بوادئ اروماتيكية . بعض هذه الاستجابات تحدث بجانب منطقة العبور أو المعاملة ، وتخفض نشاط الإصابات اللاحقة . فمثلا نشاط البيروكسيديز يزداد جهازياً وبالتالي يكون مزوداً كفاءة اللجنين بعد الحقن التحصيني . تحدث كمية كبيرة من الأكسدة وتظهر بسرعة ، هذه الأكسدة يمكن أن تكون أداة في سرعة موت الخلية وتزيد اللجننة .

في أقراص الورقة المأخوذة من نبات الخيار ، المظهر للمقاومة الجهازية المكتسبة ، والمحصنة بالفطر *Colletotrichum orbiculare* ، فإن السايكلوهكسامايد يخفض إنطلاق الماء الأكسجينى ويزيد الاختراق الفطري وتكشف المرض ، وفي نفس الوقت يحدث زيادة في تعبيرات PRs . مثل هذه الملاحظات دعمت أهمية الـ Oxygen species النشط في توضيح المقاومة . وبشكل عام فإن العلاقة بين المقاومة المستحثة وتجمع PRs أقل وضوحاً .

الفصل الثاني

المقاومة الجهازية المكتسبة

Systemic Acquired Resistance

أولاً: تعريف وتطور اكتشاف المقاومة الجهازية المكتسبة

تعريف:

تعرف المقاومة الجهازية المكتسبة : بأنها نظام مستحث للمقاومة ينبه بواسطة الكائنات الممرضة التي تسبب نكروزز خلوي سريع في الأنسجة المصابة . يمكن وصفها نموذجياً ، بأن عملية الإصابة ، تنشط مقاومة المرض في نسيج المجموع الخضري غير المصاب وتزوده بوقاية تدوم طويلاً ضد مجال واسع من الكائنات الدقيقة مسببة الأمراض . ثبت حديثاً بأن المقاومة الجهازية المكتسبة تستحث بالمواد الكيماوية ، وأن حمض السلسليك ممر أساسي فيها. وفيما يلي بعض الصفات الحيوية للمقاومة الجهازية المكتسبة :

١ – تستحث بواسطة عوامل أو كائنات ممرضة مسببة أعراض نكروزز (بقع موضعية) .

٢ – تكون فترة الحضانة بين الحقن وظهور كامل التعبير حوالي سبعة أيام .

٣ – تمنح الوقاية للأنسجة غير المعرضة للكائن المحقون (الحاث) .

٤ – يظهر التعبير على شكل خفض في عدد البقع ، حجم ، إنتاج الجراثيم ، تكاثر الكائن الممرض .

٥ – تستمر الوقاية لمدة طويلة غالباً لعدة أسابيع أو حتى شهور .

٦ – الوقاية ليست متخصصة حيث أنها تكون فعالة ضد كائنات ممرضة غير ذات علاقة مع العامل الحاث .

٧ – الإشارات للمقاومة الجهازية المكتسبة تترجم وتنقل بالتطعيم .

٨ – لا تنقل المقاومة عبر البذور إلى الأجيال القادمة . أما الانتقال إلى الأنسجة المتكاثرة خضريا لم تكتمل الدراسة عليها بعد .

obeikandl.com

اكتشاف المقاومة الجهازية المكتسبة :

مقدمة :

تكون المقاومة الطبيعية في النبات ، ضد الكائنات المرضة أو الحشرات الماضغة ، مبنية بشكل جزئي ، على موانع أساسية مختلفة ، موجودة مسبقاً في النباتات قبل المهاجمة الحقيقية. إن التأثير المتجمع لجميع هذه الموانع يشار إليه باسم المقاومة التأسيسية Constitutive Resistance . بالإضافة لهذه الموانع ، فإن النبات يمكنه أن ينشط ميكانزم الوقاية عند مهاجمته من قبل الكائنات الغازية . هذا الميكانزم اصطلح على تسميته بالمقاومة المستحثة Induced Resistance ثم غير بعد ذلك وسمي المقاومة المكتسبة Acquired Resistance .

بعض النباتات المقاومة للأمراض ، توقف وتحصر إنتشار الكائنات المرضة ، الفطرية ، البكتيرية أو الفيروسية في مساحات صغيرة حول المنطقة الأولية للاختراق ، حيث يظهر بقع نكروزز . هذا التفاعل الخلوي مع الكائنات المهاجمة والذي يؤدي إلى موت الخلية ، يسمى الانتحار الذاتي أو تفاعل فرط الحساسية أو الحساسية الفائقة Hypersensitive Reaction (HR) . هذا التفاعل يمكن أن يؤدي إلى المقاومة المكتسبة ، وتعرف هذه ، بأنها مقاومة النبات للمهاجمات التالية من الكائن الممرض الذي أحدث بقعاً موضعية ولغيره من الممرضات النباتية .

تطور ابحاث المقاومة الجهازية المكتسبة :

لقد ظهرت أهمية المقاومة المكتسبة عن طريق كثير من الأبحاث منذ مدة طويلة ، حيث تبين أن النباتات المحقونة بالكائنات الحية الدقيقة المضعفة Attenuated ، يحدث فيها وقاية ضد الإصابات التالية من قبل الكائنات المرضة نفسها أو ذات القرابة بها . هذه النتائج والملاحظات لم تحاول أن تفرق بين تفاعل التضاد Antagonistic Interaction الناتج من الكائن المضعف ، أو الكائن غير الممرض والكائن الممرض ، من حيث تنشيط ميكانزم الدفاع في العائل .

كان أول اكتشاف للمقاومة المكتسبة سنة ١٩٥٢ في *Dianthus barbatus* الذي أصيب بفيرس موزايك القرنفل ، وذلك من قبل العالم Gilpatrick والذي نشرذلك في مجلة Science 115 : 701 - 702 . ثم بعد ذلك أثبتت الأبحاث أن المقاومة المكتسبة تقسم

openkanadi.com

إلى قسمين ، النوع الأول يسمى مقاومة مكتسبة موضعية Local Acquired (LAR) Resistance ، هذه تحدث في المنطقة المجاورة لبقع تفاعل فرط الحساسية . أما النوع الثاني يسمى المقاومة الجهازية المكتسبة Systemic Acquired Resistance (SAR) ، هـذه تتواجد في أجزاء النبات غير المحقونة والخالية من الكائن الممرض . تتكشف المقاومة الجهازية المكتسبة في عديد من تفاعلات الكائن الممرض والنبات ، تظهر بعد عدة أيام من الحقن الأولي ، ويمكن أن تستمر لعدة أسابيع وتكون فعالة ضد مجال واسع من الكائنات الممرضة، والتـي يمكـن أن تكـون ليست ذات علاقة مع الكائن الدقيق الحاث على هذه المقاومة .

من الشائع دائماً أن يترافق مع تفاعل فرط الحساسية ، ومع المقاومة الجهازية المكتسبة بناء مجموعات (تسمى عائلات) مختلفة من البروتينات ، ذات تأثير سيرولوجي متميز ويكون بناؤها جهازياً . تتميز هذه العائلات بأنها ذات وزن جزيئي منخفض وتسمى البروتينات ذات العلاقة بالمرضية Pathogenesis - related proteins وتكتب باختصار PRs . بعض هذه العائلات معروفة الوظائف ، والبعض الآخر يحتاج إلى تحديد وظائف . فمثلاً عائلة بروتينات PR-2 تحتوي نشاط وفعالية β-1,3-glucanase ، بينما عائلة بروتينات PR-3 هي مجموعة من Chitinases . إن دراسة موقع ، توقيت ظهور ووظائف العائلات الأخرى من PRs يدل على أن كثيراً منها يدخل في المقاومة المكتسبة .

إن تنشيط ميكانزم مقاومة الجينوم ، قد ذكر أخيراً بواسطة كثير من الباحثين ، من أشهرهم Ross A.F سنة ١٩٦٦ ، حيث كتب مقالاً طويلاً عن هذا الموضوع في مجلة Viruses of Plants ثم تلاه في الشهرة Hammerschmidt R. ، ففي سنة ١٩٩١ نشر مقالاً طويلاً في كتاب The Fungal Spore and Diseases Inhibition In Plants . ثم في سنة ١٩٩٥ كتب بتوسع عن المقاومة الجهازية المكتسبة في مجلة Dordrecht . ولقد أظهر بوضوح أن الإصابة الموضعية يمكن أن تؤدي إلى مقاومة ضد الإصابة اللاحقة في مجال واسع من الكائنات الممرضة المختلفة . وقد ذكر أن المقاومة تظهر موضعياً في المنطقة الابتدائية للحقن ، وبعدها يمكن أن تمتد جهازياً في الأنسجة بعيداً عن مكان الإصابة الأولية وتمتد إلى الجذور ، هذا النوع من المقاومة المستحثة ، قال ، من الأفضل أن تسمى المقاومة الجهازية المكتسبة Systemic Acquired Resistance وتكتب باختصار (SAR) . وبشكل عام فإن ظاهرة SAR يمكن أن تقارن مع المناعة المكتسبة أو التحصين

Immunization في الإنسان والحيوان ، مع أن الميكانزم الأساسي مختلف في كلتا الحالتين (النبات والحيوان) .

نظراً لوجود النباتات في الطبيعة ، معرضة باستمرار ، لمهاجمة أعداداً كبيرة من الكائنات الدقيقة ، وبالتالي فإن الله سبحانه وتعالى قد زودها بمقاومة أصلية موجودة فيها ضد الإصابات المختلفة . وبالتالي فإن SAR بجانب الدفاعات الأصلية في النبات ، هي سلاح آخر يشارك في المقاومة العامة التي يظهرها النبات ، وبالتالي تزود النبات بطريقة جديدة للبقاء.

هذا النوع من المقاومة (SAR) يمكن أن يظهر ضد مدى واسع من الكائنات الدقيقة، والتي يمكن أن تختلف عن الكائنات المسببة لحدوثها أصلاً . فمثلاً في الخيار فإن الحقن الابتدائي بالفطر *Colletotrichum lagenarium* ، مسبب مرض الانثراكنوز ، فإنه يحث على تكوين SAR ضد عشرات من الأمراض المتسببة عن فطريات أو بكتيريا بالإضافة إلى الأمراض الفيروسية . في معظم الحالات فإن الحقن الأولي يؤدي إلى حدوث نكروزز موضعي ثم بعد ذلك تظهر SAR .

في نظرية المقاومة المسماة Gene - for - Gene ، فإن النبات إما أن يكون مقاوم أو قابل للإصابة ، ضد سلالات معينة من الكائن الممرض ، أما SAR فهي نسبة عالية من المقاومة ضد مدى واسع من الكائنات الحية الدقيقة . أما عن الوقت اللازم لظهور هذه المقاومة فإنه يعتمد على كل من النبات ونوع الكائن الحاث على ظهور مقاومة SAR . لقد ذكر في أبحاث كثيرة على الخيار ، أن المقاومة SAR تظهر بسرعة كبيرة جداً ، حيث أن SAR تظهر بعد حوالي سبعة ساعات من الحقن الأولي بالبكتيريا *Pseudomonas syringae* . أما في تجارب على الدخان ، فقد تبين أن حقن جراثيم الكائن الممرض المسبب العفن الأزرق *peronospora parasitica* pv. *tabaci* ، تحت بشرة الساق في نباتات الدخان ، يؤدي إلى ظهور SAR في الأوراق ضد نفس الفطر بعد حوالي ٢ – ٣ أسابيع من الحقن الأولي .

إن مستوى الوقاية يمكن أن يختلف اعتماداً على الكائن المستعمل في الحقن الأولي وبشكل خاص على امتداد النكروزز . مع أن طرق القياس الحساسة لإحداث المقاومة ، لا تزال غير معروفة حتى الآن (١٩٩٨) ، إلا أن الصفة العامة التي تحدد مدى قوة الـ SAR ، هو التكشف الموضعي للنكروزز ، حيث أن نوع النكروزز والوقت اللازم لتكشفه من الأمور

الحاسمة في تحديد قوة SAR . فمثال على ذلك وجد أن الجروح التي تحدث في النبات نتيجة احتكاكه مع أشياء ساخنة أو باردة جداً ، تظهر SAR خلال ساعات ، ولكنها بشكل عام لا تحث على تكوين SAR . إذا ما تكونت الـ SAR في النبات فإنها تستمر لعدة أسابيع . وجد في الخيار أن حقن الورقة الأولي بأي كائن يسبب نكروزز ، ثم بعد ذلك بحوالى ٢ – ٣ أسابيع يحقن مرة أخرى ، فإن ذلك يحفظ النبات من الإصابة بعديد من الأمراض لغاية فترة الازهار . وجد أيضاً أن SAR يمكن إحداثها تحت الظروف الحقلية ، كما هو الحال في التجارب التي أجريت على الفول ، الدخان والخيار . إن كلاً من النباتات أحادية الفلقة وثنائية الفلقة ، يمكن أن يظهر فيها تفاعل SAR . إن عملية الحث على ظهور المقاومة في الأجزاء البعيدة عن مناطق الحقن الأولي ، يفترض أنها ناتجة عن عملية نقل إشارات جهازية تكونت في منطقة الحقن الأولي . هذه الإشارات تملأ النبات وتجهزه ضد الإصابات اللاحقة من الكائن الممرض ، وذلك عن طريق تنبيه مجموعة معقدة من الاستجابات الدفاعية والتي سنذكرها فيما بعد .

ثانياً : الميكانزم الداخل في المقاومة الجهازية المكتسبة

The Mechanisms Involved IN (SAR)

I : اللجننة والحواجز التركيبية الأخرى

Lignification and Other Structural Barriers

لقد لوحظت ظاهرة اللجننة في كثير من الأنواع النباتية ، حيث أنها عملية محاولة لمنع الإصابة بالكائنات الدقيقة الممرضة مثل ، الفطريات ، البكتيريا ، الفيروسات والنيماتودا . هناك دليل واضح يدل علي أن اللجننة ميكانزم مهم في مقاومة المرض ، وقد درس هذا الموضوع من قبل كثير من الباحثين . ليست اللجننة مقصورة على التفاعل غير المتوافق بين الكائن الممرض والنبات ، كما هو في نظام Gene-for-Gene إلا أنها أيضاً لوحظت في العائل غير المقاوم وفي حالة SAR .

يتكون اللجنين عن طريق Random Dehydrogenative Polymerization of Precursors الناتجة عن ممر الفينايل بروبانويد . تكون الخطوة الأولى في هذا الممر عبارة عن إزالة مجموعة الأمين للفينايل الانين إلى حمض السينامك Cinnamic acid وذلك باستعمال أنزيم فينايل الانين امونياليز (PAL) . إن الأنزيم PAL يزيد من البوادئ لبناء اللجنين ولعديد من مشتقات الفينايل بروبانويد ، المنتجات الثانوية للنبات الداخلة في المقاومة . من الأمثلة على هذه المواد ، مادة الـ Furanocoumarin ، وهي فايتوالكسن في البقوليات ، وكذلك مادة Isoflavonoid وهي فايتوالكسن في البقدونس ، بالإضافة إلى حمض السلسليك . إن أنزيم أل PAL يستحث في كثير من تفاعلات المقاومة الجهازية المكتسبة ، وبعد المعاملة بالمثيرات المختلفة للتفاعلات الدفاعية في النبات . وقد تبين أن تثبيط كفاءة PAL في الطبيعة عن طريق مثبطات متخصصة ، يؤدي إلى خفض المقاومة في نباتات مختلفة . هذا التخفيض في المقاومة ، يمكن أن يكون راجعاً بشكل جزئي إلى غياب مشتقات الفينايل بروبانويد .

من الأنزيمات الأخرى الداخلة في ممر الفينايل بروباونويد والتي تستحث أيضاً في تفاعلات المقاومة الجهازية المكتسبة :

١ – أنزيم Cinnamyl alcohol dehydrogenase ، حيث أن هذا الأنزيم هو المشخص الجيد لعملية اللجننة التي تحدث في جدر خلايا النبات .

obeikandl.com

٢ – 4 - Coumarate : Co A ligase .

٣ – Peroxidase .

يمكن أن تشارك عملية اللجننة في المقاومة ضد الأمراض ، بطرق مختلفة كثيرة ، إلا أن دورها في المقاومة الجهازية المكتسبة قليل . من الأمور الواضحة في تفسير دور اللجننة في المقاومة هي :

أولاً : دمج اللجنين في جدار خلية النبات ، حيث يرتبط به ويقويه ميكانيكياً ويجعله أكثر مقاومة للتحطيم بواسطة الأنزيمات المفرزة من قبل الكائنات الممرضة الغازية . يمكن لأنبوبة الانبات الفطرية أن تخترق خلايا النبات بالقوة الميكانيكية ، كما هو الحال في *Magnaporthe grisea* أو عن طريق تليين وإذابة جدار خلية النبات أنزيمياً .

ثانياً : صعوبة تحطيم تركيبات اتحاد اللجنين مع جدار خلية النبات . لقد تبين أن الحلمات الملجننة والهالات المتكونة على أوراق القمح المحقونة بالفطر *Botrytis cinerea* تكون عالية المقاومة للتحطيم في المعمل بالأنواع الفطرية المختلفة . هذه المقاومة تكون مدعومة أيضاً بالتجارب التي تختبر انطلاق الكربوهيدرات (بواسطة ترشيح المزرعة الفطرية) من الجذر الملجننة .

ثالثاً : تشكيل حاجز مانع للحركة الحرة للمغذيات . وجد أيضاً أن جدار الخلية الملجننة يمكن أن يشكل حاجزاً مانعاً للحركة الحرة للمغذيات ، وبالتالي تساعد في مجاعة الكائن الممرض .

رابعاً : يمكن لبوادئ اللجنين أن تمارس تأثيراً ساماً علي الكائن الممرض . وجد أيضاً أن بوادئ اللجنين نفسها يمكن أن تكون سامة للكائن الممرض وبالتالي تمنعه من اتمام عملية الاختراق .

خامساً : ترتبط بوادئ اللجنين مع جدر الخلية الفطرية جاعلة إياها أكثر قساوة وغير منفذة ، وبالتالي تعوق احداث النمو أو امتصاص الماء أو المغذيات للفطر فيموت جوعاً . وجد أن Coniferyl alcohol له سمية عالية في المعمل ضد كثير من الفطريات على تركيزات منخفضة . ولقد اقترح أن حدوث Polymerization لبوادئ اللجنين بواسطة الجذور الحرة Free radicals في المسافات البينية للخلايا ، يمكن أن يؤدي أيضاً إلى لجننة تركيبات الكائن الممرض . ولقد ذكر Kue and Hammerschnidt سنة ١٩٨٢ أن

ميسيليوم الفطر *Colletotrichum lagenarium* والفطر *Cladosporium cucumerinum* تصبح ملجننة في المعمل في وجود Coniferyl alcohol ، الماء الأكسجيني $H_2 O_2$ ، البيروكسيديز الخام المأخوذ من النباتات المنيعة . ولقد تبين حديثاً أن هيفا الفطر *Peronospora parasitica* مخترقة الـ ecotype المقاوم من نبات *Arabidopsis* تظهر ملجننة تحت الظروف الطبيعية . إن الأجزاء من الفطر الموجودة بين الخلايا ، فقط ، هي التي تصبح ملجننة ، بينما الممصات الداخلة في الخلايا تبقى غير متأثرة . لوحظ نفس التفاعل أيضاً في نبات الأرابدوبسز التي عوملت بالمادة الكيماوية الحاثة على المقاومة 2,6-dichloroisonicotinic acid (INA) وحقنت بعد ذلك بسلالة قوية من الفطر *P. parasitica* .

سادساً : تظهر اللجننة كاستجابة لتفاعل فرط الحساسية . وجد في نباتات الخيار التي حقنت بعزلة غير قوية من الفطر *C. lagenarium* ، أن المقاومة تكون متبوعة بتفاعل فرط الحساسية hypersensitive reaction (HR) من الخلايا التي اخترقت بواسطة أنبوبة الانبات . عندما تحصن أوراق أخرى من مثل هذه النباتات بنفس الفطر ، فإن المقاومة عندئذ تظهر على شكل لجننة في جدار خلية البشرة تحت عضو الامتصاص ، ولا يستطيع الفطر إختراق الخلية ولا يظهر تفاعل فرط الحساسية في الأوراق الأخرى .

سابعاً : تكوين تركيبات إضافية (حليمات) . وجد أن عملية تكوين تركيبات إضافية على جدار الخلية في مواقع محاولة الاختراق معروفة جيداً في كل من نباتات ثنائية الفلقة وإحادية الفلقة ، كطريقة لوقف إختراق بشرة الخلايا . وجد في كل من الخيار والبطاطس أن عملية الحث على المقاومة الجهازية المكتسبة ، تؤدي إلى معدل عال من تكوين الحليمات في الأوراق المحصنة والتي لم تهاجم سابقاً . كذلك أيضاً في الشعير فإن تكوين الحليمات يزداد في النباتات المستحثة . تتكون الحليمات أساساً من السليلوز، سليكون و UV fluorescent materials .

إن الدور المهم للسليلوز في توضيح المقاومة الجهازية المكتسبة قد دعم بدراسة طفرات نبات *Arabidopsis Isd* ، وهي تسمى البقع المشابهة للمرض (Lesion Simulating disease) والتي تبدي ترسبات من السليلوز في مواقع إختراق الكائن الممرض ، أكثر منه في أنواع النباتات البرية القابلة للإصابة .

بعد الإصابة ، يمكن أيضاً أن يحدث تقوية لجدار الخلية ، بواسطة أنزيم البيروكسيديز ،

obeikandl.com

المحفز بوصلات متقاطعة من جلايكو بروتينات تركيبات جدار الخلية ، الغنية بالهيدروكسى برولاين . كذلك فإن البروتينات الغنية بالجلايسين ، والتي تكون موجودة في جدار الخلية لكثير من النباتات ، تتراكم جهازياً في نباتات الدخان المصابة بفيرس موزايك الدخان TMV وفي نباتات الأرز المصابة بالفيرس . في نباتات الارابدوبسز فإن مستوى النسخ لعديد من البروتينات الغنية بالجلايسين يكون مرتفع قليلاً بعد المعاملة بحمض السلسليك .

جميع هذه التغيرات التي تحدث في تركيب جدر خلية النبات ، بعد الإصابة ، يمكن أن تشارك في المقاومة ، إما عن طريق وقف دخول الكائن الممرض مباشرة ، أو عن طريق إبطاء عملية الاختراق ، وبالتالي يسمح للنبات بأن ينشط ميكانيكيات دفاعية أخرى .

II : البروتينات المتعلقة بالمرضية Pathogenesis - Related Proteins

كان أول وصف للبروتينات المتعلقة بالمرضية (PRs) ، في أوائل السبعينيات ، في أوراق نبات الدخان المصابة بفيرس TMV . لقد كان أول تحديد لها على أساس أنها بروتينات تذوب في الأحماض ، مقاومة لإنزيم Protease ، بروتينات حامضية تتواجد في المسافات بين الخلايا ، أخيراً حددت فيها Basic homologs . تتجمع معظم البروتينات المتعلقة بالمرضية في الفراغات خارج الخلية أو في الفجوات الخلوية . وجد في الدخان أن البروتينات الحمضية المتعلقة بالمرضية ، تكون بشكل عام بين الخلايا ، والبروتينات القاعدية المتعلقة بالمرضية ، تكون في الفجوات الخلوية ، إلا أن هذا لا يكون قاعدة عامة لجميع أنواع النباتات الأخرى .

إن الـ PRs الموجودة في الفجوة الخلوية ، من المحتمل أن تمارس تأثيراً على التفاعل الدفاعي بعد عملية De compartimentalization للخلية ، بينما الـ PRs الموجودة بين الخلايا تكون على إتصال مباشر مع الكائن الممرض المخترق النسيج . تكون الـ PRs متواجدة في كثير من النباتات في المواقع المرضية .

وضع تعريف جديد للبروتينات المتعلقة بالمرضية (حديثاً) : وهو أنها بروتينات نباتية تتجمع بعد مهاجمة الكائن الممرض للنبات (أو الحالات المماثلة) ويكون لها دور كبير في المقاومة الجهازية المكتسبة ، وإن تجمع هذه البروتينات من أولى علامات حدوث المقاومة الجهازية المكتسبة . الكائنات المرضة المقصودة في هذا التعريف تشمل ، الكائنات الحية الدقيقة ، وكل من النيماتودا ، الحشرات ، الحيوانات المتغذية على الأعشاب . أما المقصود

بالحالات المماثلة ، فهي تعني معاملة النبات بكيماويات معينة أو معاناة النبات من أي مسببات أخرى . ولقد ذكر العالم Van Loon سنة ١٩٩٤ أن هناك إحدى عشر مجموعة من هذه البروتينات قد تم تصنيفها وتعريفها ، وفي سنة ٢٠٠٠ ارتفع هذا العدد ووصل أربعة عشر مجموعة وهي كما في جدول رقم ٢ .

جدول رقم ٢ : يبين البروتينات المتعلقة بالمرضية من حيث رقم العائلة ونوع النبات وصفاتها . الجين ، والمراجع

Families Type member	Properties	Gene symbol	Reference
PR-1 Tobacco PR-la	antifungal	Ypr 1	Antoniw et al.. 1980
PR-2 Tobacco PR-2	β-1.3-glucanase	Ypr 2. [Gns2 ('Glb')	Antoniw et al., 1980
PR-3 Tobacco P , Q	chitinase type I,II IV, V, VI, VII	Ypr 3, Chia	Van Loon. 1982
PR-4 Tobacco 'R'	chitinase type I, II	Ypr 4. Chid	Van Loon. 1982
PR-5 Tobacco S	thaumatin-like	Ypr 5	Van Loon. 1982
PR-6 Tomato Inhibitor I	proteinase-inhibitor	Ypr6, Pis ('Pin')	Green and Ryan, 1972.
PR-7 Tomato P_{69}	endoproteinase	Ypr7	Vera and Conejero, 1988
PR-8 Cucumber chitinase	chitinase type III	Ypr8, Chib	Métraux et al., 1988
PR-9 Tobacco 'lignin-fonning peroxidase'	peroxidase	Ypr9. Prx	Lagrimini et al., 1987
PR-10 Parsley 'PR1'	'ribonuclease-like'	Ypr10	Somssich et al., 1986
PR-11 Tobacco 'class V' chitinase	chitinase type I	Ypr11. Chic	Melchers et al., 1994
PR-12 Radish Rs-AFP3	defensin	Ypr12	Terras et al., 1992
PR-13 Arabidopsis THI2.1	thionin	Ypr13, Thi	Epple et al., 1995
PR-14 Barley LTP4	lipid-transfer protein	Ypr14, Ltp	Garcia-Olmeda et al.. 1995

هناك العديد من البروتينات المتعلقة بالمرضية ، منها PR-1 ، PR-2، β-1,3-glucanases ، PR-3 Chitinases ، PR-4 , Osmation (PR-5) ، تظهر نشاطات ضد الميكروبات في المعمل . زيادة على ذلك ، فإن كلاً من الـ Chitinases ، والـ β-1,3-glucanases ذات تأثيرات تعاونية ضد النشاطات الفطرية ، وهي أيضاً تطلق جزيئات والتي يمكن أن تعمل كمثيرات .

أما بالنسبة لنباتات الطماطم ، فقد تم تعريف تسع عائلات من البروتينات المتعلقة بالمرضية عرفت لغاية الآن (سنة ٢٠٠٠) على أساس مستوى mRNA فقط وهي مذكورة في جدول رقم ٣ .

obeikandl.com

جدول رقم ٣ : البروتينات المتعلقة بالمرضية في نباتات الطماطم وصفاتها

Families Member		Mol. wt. (kDa)	Isoel. point	Biochemical properties	Also known as
PR-1	a	14	10.7	unknown	P14 [3], P4 [4], c_4 [5], P14 [8], PR-Ib2 [15], P14b [16]
	b	14	10.9		p14 [3], p6 [4], c_2 [5], PR-1b1 [15], P14a [16]
	c	14			P14c [16]
PR-2	a (II)	35	6.4	ß-1,3-glucanase	P3 [4], c_5 [5], P36 [8]
	b (I)	33	>7		P5 [4], c_3 [5], P31 [8]
PR-3	a (II)	26	5.0	chitinase	P2 [4], p26 [8]
	b (I)	30	9.0		c_6 [5], P30 [8], p32 [10]
	c (I)	32	>7		c_7 [5], p31 [8], p34 [10]
	d (II)	27	3.9		27 kD chitinase [9]
PR-4	(a)	13	>7	chitinase	P2 [4]
PR-5	(a)	24	7	thaumatin-like	NP24 [6], P23 [11], AP24 [12]
PR-6	a	8	>7	proteinase-inhibitor	Inhibitor I [4]
	b	13	>7		Inhibitor II [5]
PR-7	(a)	69		endoproteinase	P69 [7], P70 [8]
PR-9	*	35	4.4	peroxidase-like	cevi-1 peroxidase [13]

أما في نباتات الدخان ، فقد تم تعريف وتحديد إحدى عشر عائلة من البروتينات المتعلقة بالمرضية ، وهي مذكورة بالتفصيل في جدول رقم ٤ . وهي أيضاً عرفت على أساس مستوى mRNA فقط .

obeikandi.com

جدول رقم ٤ : البروتينات المتعلقة بالمرضية في نبات الدخان *Nicotiana tabacum* والأنواع الأخرى التابعة لجنس *Nicotiana*

Families	Member	Mol. wt. (kDa)	Isoelectric point	Biochemical properties	Also known as
PR-1	(Nt.) a	15	4.0	unknown	IV[1], b_1[2]
	(Nt.) b	15	4.4		III[1], b_2[2]
	(Nt.) c	15	4.5		II[1], b_3[2]
	(Nt.) d	15			b_1[3]
	(Ns.) e	15			b_o[3]
	(Ng.) f	14			b_1''[3]
	(Nt.) g	17	10.7		basic PR-1[8,23]
	(Nl.) h	15			
PR-2	a (II)	31	4.1	ß-1,3-glucanase	I[1], b_4[2]
	b (II)	33	4.6		N[4], b_5[6]
	c (II)	35	4.7		O[4], $b_{6(b)}$[6,9], O'[7]
	d (III)	35	5.3		Q'[7], PR-35[13]
	e (I)	33	> 7		basic glucanase[10]
PR-3	a (II)	27	4.5	chitinase	p[4], b_7 (h)[6,9]
	b (II)	28	4.8		Q[4], $b_{8(b)}$[6,9]
	c (I)	34	> 7		chitinase 3[11], chi 34[20]
	d (I)	32	> 7		b13[9], chitinase 4[11], chi 32[20]
	e (I)	28	> 7		chi 28[20,24]
PR-4	a_1	15	6.0	chitinase	R[4], R'[5], b_{9c}[9], r_1[14]
	a_2	13			R[4], R'[5], b_{9b}[9], r_2[14]
	b_1	15	5.6		s_1[14]
	b_2	13			s_2[14]
	c	20	> 7		CBP 20[22]
PR-5	a	24	5.0	thaumatin-like	S[4], R[5], $b_{9(a)}$ 6,9), R 14)
	b	24	5.2		S[14]
	c	26	> 7		osmotin[16], AP24[17]
	d	26	> 7		n-osmotin[20]
PR-6	a	6	8.7	proteinase-inhibitor	subtilisin inhibitor[15,19], TIMPa[20]
	b	6	8.7		TIMPb[20]
PR-8	a (III)	28	4.4	chitinase/lysozyme	O[7], b_{6c}[9], acidic class III chitinase[18], lys 28a[20,24]
	b (III)	28	8.3		lys b_1[20,24]
	c (III)	28	8.3		lys b_2[20,24]
PR-9	a	39		peroxidase	P39a[20]
	b	40			P40a[20]
PR-11	a	41	> 7	chitinase	45 K[12,20], type V chitinase[21]

obeikandl.com

تتجمع الـ PRs بوفرة في مواقع الإصابة ، ولكن بعض منها تتجمع أيضاً في الأجزاء غير المحقونة من النبات المصاب ، ولكن تجمعها في هذه الأجزاء يكون بدرجة منخفضة عنه في الأجزاء المحقونة ، فمثلاً أوراق الدخان غير المحقونة ، يتجمع فيها ٥ – ١٠٪ فقط من كمية الـ PRs التي لوحظت في الأوراق المحقونة بالفيرس ، مظهرة تفاعل فرط الحساسية HR . إن الـ PRs التي تستحث جهازياً تسمى Systemically induced PRs وتسمى أيضاً بروتينات المقاومة الجهازية المكتسبة SAR proteins ، والجينات المتعلقة بها تسمى جينات المقاومة الجهازية المكتسبة SARgenes .

إن جينات وبروتينات المقاومة الجهازية المكتسبة ، تستحث جهازياً في العديد من الأنواع النباتية ، وأشهرها نبات الدخان ونبات *Arabidopsis thaliana* ، الطماطم ، البطاطس ، الخيار ، البطيخ و Stylosanthes . كذلك فإن الـ PRs توجد أيضاً في نباتات الفلقة الواحدة.

تختلف طبيعة ومستوى تعبير بروتينات SAR باختلاف أنواع النبات . فمثلاً في الدخان والارابدوبسز ، فإن PR-1 بين الخلايا ، هو البروتين الرئيسي المستحث أثناء المقاومة الجهازية المكتسبة ، بينما في الخيار فإن البروتين PR-1 يكون ضعيف التعبير ، ولكن البروتين Chitinase (PR-8) يكون عال التعبير . أما في الارابدوبسز فإن الحث على SAR بواسطة *Fusarium oxysporum* وفيرس تجعد اللفت ، بالإضافة إلى المعاملات بمادة INA و SA مرتبطة مع التخليق (الحث على) الجهازي لعديد من جينات SAR .

يمكن أن يحدد دور الـ PRs في الدفاع ، باستعمال النباتات المحولة وراثياً ، مظهرة الجينات ذات العلاقة . في الدخان فإن التعبيرات العالية لمادة PR-1 تزيد المقاومة معنوياً ضد الإصابة بالفطر المسمى *Peronospora tabacinia* و *Phythophtora parasitica* var. *nicotianae* . إن التعبيرات العالية لمادة Osmotin الدخان في البطاطس ، تؤخر تكشف الاعراض بعد الحقن بالفطر *P. infestans* . كذلك فإن التعبير العالي لمادة β-1,3-glucanase لفول الصويا ، في الدخان ، يزيد المقاومة ضد الفطر *Phytophthora megasperma* والفطر *Alternaria alternata* . وجد أن نباتات الكرنب والدخان عالية التعبير لـ Chitinase – الفاصوليا تكون أكثر مقاومة للفطر *R.solani* ولثلاثة كائنات ممرضة أخرى في التجارب الحقلية . إن التعبير العالي لمادة β-1,3-glucanase الشعير ، Chitinase أو البروتين المثبط للرايبوسوم في الدخان ، يؤدي إلى زيادة المقاومة للفطر

R.solani ، وتتعاون في إظهار تعبيرها مع كل من β-1,3-glucanase والـ Chitinase أو الـ Chitinase والبروتين المثبط للرايبوسوم ، تزيد التأثير الوقائي المتحصل عليه مع التعبير الناتج من بروتين واحد لوحده . ومن ناحية أخرى فإن خفض β-1,3-glucanase ، الموجود داخلياً في الفجوات النباتية في الدخان بواسطة Antisense transformation ، فإن الأوراق القابلة للإصابة بالفطر *Cercospora nicotianae* لا تتأثر ، والتعبير العالي لكل من PR-1 و PR-5 في نباتات الدخان المحولة وراثياً لا تمنح زيادة في المقاومة لفيرس TMV . في حالات معينة ، فقط ، تكون النباتات المحولة وراثياً عالية التعبير لواحد من الـ PRs ، أكثر مقاومة للكائن الممرض ، ومن المحتمل أن التعبير الملائم لعديد من PRs يمكن أن يكون ضرورياً في المقاومة الواسعة .

تكون نباتات الارابدوبسز نظام نموذجي مفيد لدراسة SAR ، والتحليل الوراثي للميكانزم المؤدي إلى SAR عن طريق التحليل للطفرات . إن كلا من الطفرتين *lsd* و *acd2* المسرعة لموت الخلية تظهر تكوين بقع أساسية في غياب الكائن الممرض ، زيادة التعبير لـ PRs والمقاومة للكائنات الممرضة الشديدة . إن الطفرة المكونة للمناعة immunity (*cim3*) تظهر تعبيراً أساسياً لـ PRs في حالة غياب موت الخلية وزيادة المقاومة للكائن الممرض شديد المرضية . عند المقارنة مع النوع الأصلي ، فإن طفرة عدم المناعة (*nim3*) لا تدوم مقاومتها للفطر *Peronospore parasitica* وتظهر إنخفاضاً كبيراً في تجمع الناسخات لـ PRs بعد المعاملة بمادة INA أو SA . إن مقدرة الجينات على عمل تشفير لـ PRs ، كانت قد استعملت أيضاً لعزل طفرات الارابدوبسز الأخري . إن الطفرة *CPr1* توضح بشكل أساسي PRs ، وتكون أكثر مقاومة للفطرين *P. parasitica* و *Pseudomonas syringae* . أما الطفرة *npr1* (وهي غير معبرة عن جينات PRs) فإنها لا تظهر حثاً لجينات PRs عن طريق المعاملة بمادة INA أو SA ولا تحفظ الوقاية طويلاً ، ضد الإصابة بالفطر *P.syringae* بعد الحث البيولوجي أو الكيماوي .

تكون العلاقة بين تعبيرات بروتينات PRs والمقاومة ، أيضاً ملاحظة في الهجين *Nicotiana glutinosa* X *N.debneyi* ، والتي تظهر تعبيرات بمستوى عال لعديد من PRs بالإضافة إلى البيروكسيديز والبولي فينول اكسيديز ، وتظهر زيادة في المقاومة ضد الإصابات الفيروسية ، البكتيرية والفطرية ، مقارنة مع الأنواع الأصلية الأخرى .

III: التكيف Conditioning

عندما تعامل النباتات بكائن حي ممرض ، مسبب أعراض النكروزز ، أو بمادة صناعية حاثة على الـ SAR ، فإن الأوراق التي تظهر فيها المقاومة الجهازية المكتسبة ، تتفاعل بسرعة أكثر وبكفاءة أكثر ضد الإصابة بالكائن الممرض شديد المرضية ، هذه العملية تسمى التكيف Conditioning أو إكساب الحساسية Sensitizing . التغيرات البيوكيميائية التي تحدث في النبات مكتسب الحساسية ، عادة ما تصبح ظاهرة ، فقط ، في لحظة حقنة بكائن التحصين . يظهر هناك ، على المستوى الخلوي ، تحول جهة الحساسية ، ليس فقط للكائنات الممرضة ، ولكن أيضاً للمثيرات الحيوية وغير الحيوية . مع أن هذه الظاهرة معروفة منذ مدة طويلة ، إلا أن الميكانزم الأساسي لا يزال غير واضح تماماً على مستوى بيوكيماوي أو جزيئي .

لقد قام العالمان Skipp & Deverall سنة ١٩٧٣ بعملية الحث على المقاومة في فلقات الفاصوليا من خلال عملية HR موضعية متسببة عن الفطر *Colletotrichum lindemuthianum* . تفاعلت الفلقات التي ظهرت فيها المقاومة بسرعة وأصبحت مقاومة للإصابة بنفس الكائن الممرض عند حقنها به مرة ثانية . وعلى أية حال فإن الأنسجة المحيطة بالمنطقة الابتدائية للإصابة ولتفاعل HR ، لم تصبح أكثر مقاومة ، فقط ، ضد الفطر ، ولكنها أظهرت أيضاً أعراض نكروزز بعد تعرضها لصدمة بالحرارة المعتدلة . وبالتالي فإن التغير في الحساسية في الخلايا المستحثة يؤدي إلى تغيير التفاعل مع الظروف البيئية القاسية ، بالإضافة إلى تغير وتفاعل أكثر سرعة للإصابة بالكائن الممرض .

في أنظمة (النبات –الكائن الممرض) فإن نظام الخيار مع الفطر الممرض *Colletotrichum* ونظام الطماطم مع الفطر فايتوفثورا ، فإن توقيت استجابة الدفاع يتغير أيضاً بعد المعاملة الحاثة . في كلتا الحالتين ، بالإضافة لحدوث المقاومة الزائدة ، فإن النباتات المستحثة تتفاعل بسرعة أكثر ضد الفطر الغازي (المخترق النسيج) . عند استعمال كربون ١٤ في بادئ معلم لمادة اللجنين ، فينايل بروبانويد ، مأخوذ من راشح أقراص ورقة من نباتات مستحثة بالفطر *C.lagenarium* ، أظهر أن النسيج ذو المقاومة ، عمل اتحاد للكربون ١٤ في اللجنين، مع الملاحظة بأن عملية اللجننة ، أو على الأقل الإشعاع الذاتي ، يدل على تجمع الفينولات ، هذا يكون غالباً ملاحظاً في النبات في أو حول منطقة محاولة أنبوبة الإنبات الفطرية للاختراق .

في التجارب التي أجريت على البقدونس ، وجد أن المعاملة بمادة SA أو INA لا تحدث بنفسها زيادة في مشتقات الـ Coumarin المفرزة ، ولكن تزيد بقوة مقدرة النبات على إنتاج Coumarins بعد المعاملة بمثير ، مثل الفطر *Phytophthora megasperma* f. sp. *glycinea* . كذلك تبقى لهذه النباتات القدرة الحقيقية على أن تدمج مشتقات الفينايل بروبانويد في جدار الخلية . في هذا النظام يبدو أن التكيف يكون راجعاً جزئياً إلى تحسين نقل الإشارات ، مؤدياً إلى تنشيط الجينات المشفرة لـ PAL و 4-coumarate: COA ligase . مثل هذه الخلايا المحدث فيها الحساسية (التكيف) أيضاً تستجيب لكميات أقل من المثيرات الفطرية . كذلك فإن الحقن المسبق للمزارع الخلوية للبقدونس بمادة methyl jasmonate يؤدي إلى نتائج مماثلة . وجد أيضاً أن زيادة إفراز الكومارين وزيادة اندماج الفينولات في جدار الخلية يكون تابعاً للمعاملة بالمثيرات الفطرية .

التجارب التي أجريت على فلقات الخيار الشاحبة (البيضاء) ، أظهرت أن عملية حك الكيوتكل بالمغذيات المختلفة الحاثة على SAR ، أيضاً ، تزيد كفاءة الخلايا المحصنة في سرعة إزالة الماء الأكسجيني . كذلك فإن الظهور السريع للحلمات المحتوية كالوس بعد التحصين بالكائن الممرض الفطري ، في الأوراق المستحثة ، مقارنة مع الأوراق غير المستحثة ، يمكن أن يكون راجعاً إلى زيادة النشاط للغشاء المتخصص المرتبط بالكالسيوم الثنائي الموجب Ca^{++} المنتظم مع أنزيم β-1,3 glucan synthase الذي يتواجد في النسيج المتكيف . أما في الأوراق السليمة غير المحصنة ، فإن نشاط هذا الانزيم يكون خامداً ، ولكنه سرعان ما ينشط عندما تصبح نفاذية الغشاء للكالسيوم الثنائي الموجب Ca^{++} فاسدة عن طريق محاولة الاختراق الفطرى . عندما يحدث التنشيط ، يمكن للخلايا أن تنتج كالوس بسرعة .

نظراً لأن تكييف الخلايا أو النباتات كلها ، لا يؤدي إلى تغييرات ظاهرة مباشرة ، إلا أن هذا التكييف يمكن ملاحظته أو إثباته ، فقط ، بعد المعاملة بالمثيرات أو التحصين بالحقن . ولقد تقرر لغاية سنة ١٩٩٧ أن المكونات غير المعروفة الداخلة أو المنتقلة خلال ممر نقل الإشارات يمكن أن تكون مستحثة .

لقد ثبت حديثاً أن SA يستطيع أن يقوي تعبيرات جينات الدفاع والتي لا تستجيب مباشرة لـ SA ولكنها تصبح مستحثة بعد المهاجمة بالكائن الممرض أو بعد عملية التجريح . هناك الكثير من طفرات نبات الارابدوبسز في الوقت الحالي تحت الدراسة والبحث ، قد فقدت مقدرتها على الاستجابة لتخليق SAR .

ثالثاً : المواد الحاثة على تخليق المقاومة الجهازية المكتسبة

I : المواد الكيماوية

Induction of Systemic Acquired Resistance In Plants By Chemicals

مقدمة :

هناك مواد طبيعية أو صناعية تكون حاثة للمقاومة الجهازية المكتسبة في النبات . كذلك فإن هناك مقاييس يجب أن تتوفر في أي عامل يستعمل في وقاية النبات حتى يوصف بأنه حاث على المقاومة الجهازية المكتسبة ، هذه المقاييس هي :

١ – يجب أن لا يكون هذا العامل ولا أي من مشتقاته التمثيلية ، ذو تأثير مباشر على نشاط أو حيوية الميكروبات ، لا في المعمل ولا في الحقل .

٢ – يجب أن يكون فعل هذا العامل على النبات ، مشابهاً لفعل ، أو تأثير الكائنات الحية الدقيقة ، غير المتوافقة مع النبات ، من حيث إثارة ميكانزم الدفاع المستحث دون إحداث أضرار على النبات .

٣ – يجب أن يكون هذا العامل قادراً على وقاية النبات ضد مجال واسع من الكائنات الممرضة ، وأن لا يكون متخصصاً . يجب أن يستمر مفعوله لمدة طويلة في وقاية النبات وأن ينبه ، على الأقل ، تفاعل واحد من التفاعلات الدفاعية في النبات ، مثل تكوين جزيئات كيماوية جديدة خلال تفاعل الكائن الممرض مع النبات ، بالإضافة لمنتجات مخلقة ذات تأثير حاث على المقاومة .

من أهم المواد الكيماوية الداخلة في تخليق المقاومة الجهازية المكتسبة في النبات الآتي :

١ - مواد غير عضوية Inorganic compounds

أ – أملاح الفسفات تحث على المقاومة الجهازية المكتسبة في الخيار والذرة .

ب – الكالسيوم المنفصل في منطقة استعمال الفسفات ، يولد إشارة للمقاومة الجهازية المكتسبة داخلياً .

obeikandi.com

جـ - ثاني أكسيد السليكون SiO2 يستحث المقاومة الجهازية المكتسبة ، مقروناً بزيادة نشاط الـ Chitinase والـ Peroxidase ، Polyphenol oxidase ، β-1,3 glucanase.

د - السليكون عند إضافته للتربة ، يحفظ نباتات الخيار ضد الفطر *Pythium* sp مع تخليق تغيرات بيوكيماوية متعلقة بالدفاع النباتي .

٢ - مركبات عضوية طبيعية Natural Organic Compounds

أ - أحماض دهنية (غير مشبعة ومؤكسدة) : مثل Arachidonic ، Linolenic ، Linoleic ، Oleic acid ، تستحث المقاومة الجهازية المكتسبة في البطاطس ضد الفطر *P. infestans* . هذا التأثير لا يكون مقروناً بزيادة مستويات حمض السلسليك ، أو عن طريق تعبيرات جين المقاومة الجهازية المكتسبة في الأجزاء المحفوظة جهازياً من النبات .

يعمل حمض الارشيدونك كمادة مثيرة ، نظراً لأنه يكون موجوداً طبيعياً في جراثيم الفطر فايتوفثورا وينطلق في نسيج النبات بعد الإصابة . لا يكون حمض الارشيدونك متحركاً في النباتات، ومن المحتمل أن يكون تأثيره الجهازي وسيطاً لإطلاق إشارات داخلية في النبات.

في الأرز فإن المشتقات المؤكسدة من حمض α-linolenic التي تتراكم في الأوراق المصابة ، يمكن أن تحث المقاومة الجهازية المكتسبة ، عندما تضاف إلى الجذور . أما مادة Oligomers of chitosan (Poly-N-glucosamine) ، والتي من المحتمل أن تنطلق بفعل أنزيم Chitosanase المشفر للنبات من الجدر المخترقة بالفطريات ، يمكن أن يقي جذور الطماطم من الفطر فيوزاريوم *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis lycopersici* مسبب الذبول ، عندما يضاف إلى بذور ، جذور أو إلى أوراق الطماطم . في هذا المثل فإن التغيرات الكبيرة في التركيب الخلوي ، مثل نكروزز الخلايا وترسب مادة شبيهة باللجنين ومواد شبيهة بالكالوس ، تأخذ مجراها في الجذور قبل حقنها بالكائن المحصن .

هناك أنواعاً من الفايتوفثورا تفرز مثيرات مثل Necrogenic peptides صغيرة . من هذه المثيرات مادة Cryptogein المأخوذة من الفطر *Phytophthora cryptogea* ، تحث المقاومة الجهازية المكتسبة في نباتات الدخان ضد *Peronospora Parasitica* var. *nicotianae* العامل المسبب لمرض الساق الأسود في الدخان . من المحتمل أن تكون هذه

المثيرات داخلة في إحدى خطوات الترسيب المتبوعة بالنقل الإشاري ، مؤدية إلى تنشيط الاستجابات الدفاعية .

إن جينات *hrp* البكتيرية ، مهمة لكثير من البكتيريا ، إما لاحداث المرض ، أو لتحث تفاعل الحساسية الفائقة في النباتات غير العوائل . البكتيريا *Pseudomonas syringae 61* (Pss 61) أو $Hrpz_{pss}$ منتجة جين *hrp* فى Pss61 ، يمكن أن تحث جينات البروتينات المتعلقة بالمقاومة ، والمقاومة الجهازية المكتسبة ، لعديد من الكائنات الممرضة عندما تضاف على نبات الخيار . في هذه الحالة فإن $Hrpz_{pss}$ يبدو أنها تنبه تفاعل فرط الحساسية الأولي والذى بدوره يتحول إلى مقاومة جهازية مكتسبة .

ب – مادة النيكوتين أمايد Nicotinamide

عند دراسة هذه المادة ، وجد أنها تزداد في أوراق نبات البسلة ، تحت ظروف قاسية من الأكسدة ، ويمكن أن تخلق التعبيرات النموذجية للجينات المتعلقة بالدفاع مثل CHS أو PAL ، ولقد افترض على أنها وسيطة في استجابات الظروف القاسية في النباتات ، يتحول الـ Nicotinamide في النباتات إلى ترايجونللين (N-methyl nicotinc acid) والذي يحث المقاومة في الشعير ضد الفطر *E. graminis* ويخفض الدرجات العالية من DNA methylation . إن التغيرات في هذه العملية الأخيرة يمكن أن تشجع ميكانزم الدفاع بعد مهاجمة الكائن الممرض ، ولكن دخول التراجونللين في المقاومة الجهازية المكتسبة يحتاج إلى كثير من الدراسة .

جـ – حمض السلسليك : ونتكلم عن حمض السلسليك بالتفصيل .

حمض السلسليك Salicylic Acid (SA)

مقدمة :

إن قصة اكتشاف وتاريخ حمض السلسليك ، مذكورة بشكل موسع في مجلة Aspirin. Sci. Am. 244: 84 - 90 من قبل العالم .Weissmann G سنة ١٩٩١ . وللفائدة ، يمكن أن نذكر ، بأن أول اكتشاف لحمض السلسليك ، كان في أوراق أشجار الصفصاف ، في القرن الرابع قبل الميلاد ، وأن كلمة Salicylic مأخوذة من الكلمة اللاتينية لشجرة الصفصاف *Salix* . إن دواء الاسبرين الذي يستعمله الانسان عبارة عن

مركب حمض السلسليك ، ومن صفات الأسبرين أنه يخضع لعمليات hydrolysis ذاتية ، ويتحول إلى حمض السلسليك في المحاليل المائية . عند الإضافة الخارجية للأسبرين على النبات أو الحيوان أو الإنسان ، فإنه يتحول إلى حمض السلسليك . يعمل حمض السلسليك على وقف بناء الغدد المكونة للالتهاب بسبب حمض الارشيدونك . وله فوائد كثيرة في العلاج .

لاحظ العالم White سنة ١٩٧٩ ، أن معاملة الدخان بحمض السلسليك يمكن أن يخفض الأعراض المرضية المتسببة عن فيرس موزايك الدخان ، ويمكن أن يؤدي إلى تجمع البروتينات المتعلقة بالمرضية PRs . هذه الملاحظة قد حدث لها فيما بعد تأكيداً ، في دراسات أخرى ، إمتدت إلى كائنات ممرضة فطرية وبكتيرية مختلفة . وبالمثل فإن استعمال حمض السلسليك على نباتات مختلفة ، أيضاً يحث جينات المقاومة الجهازية المكتسبة . كما أن العالم VanLoon سنة ١٩٨٣ ، بين أن هناك علاقة بين حمض السلسليك والمقاومة الجهازية المكتسبة ، واقترح بأن التجمعات المستحثة بالاثيلين من البروتينات المتعلقة بالمرضية، تكون وسيطة في النبات عن طريق بناء مركبات فينولية (عطرية) والتي تشابه في عملها فعل حمض السلسليك . في سنة ١٩٩٠ كان هناك باحثان منفصلان كل يعمل في معمله ، وضعا فرضيات ، مفادها أن حمض السلسليك يمكن أن يكون إشارة داخلية للمقاومة الجهازية المكتسبة . بنيت هذه الفرضيات على ملاحظة أن المستوى الداخلي لحمض السلسليك ، يزداد موضعياً وجهازياً في نباتات الدخان ، المحقونة موضعياً بفيرس موزايك الدخان . كذلك فإن حمض السلسليك يزداد فى لحاء نبات الخيار المحقون ، قبل إظهار تعبيرات المقاومة الجهازية المكتسبة ، هذا يكون متناسقاً مع دورة إشارية للمقاومة الجهازية المكتسبة .

الصفات العامة لحمض السلسليك :

يتبع حمض السلسليك مجموعة مختلفة (استثنائية) من الفينولات النباتية ، ويعرف عادة بأنه مركب كيماوي ذو حلقة عطرية ، تحمل مجموعة هيدوكسيل أو إحدى مشتقاتها الفعالة . عادة ما يشار إلى الفينولات النباتية ، بأنها منتجات ثانوية من ميتابولزم النبات . تعني كلمة ثانوية ، أن مثل هذه المركبات ذات أهمية بسيطة للنبات ، وفي بعض الأحيان ، يمكن أن تكون متوازنة مع الفضلات النباتية . هذا الاعتبار قد تغير أخيراً وأصبح ينظر إلى

الفينولات ، بأنها مركبات تلعب دوراً أساسياً في تنظيم نمو النبات وتكشفه ولها تداخلات مع الكائنات الحية الدقيقة الأخرى .

من المعروف أن الفينولات مواد أساسية للبناء الحيوي للجنين ، وهو مكون تركيبي مهم في جدر خلية النبات . زيادة على ذلك فإن معظم الفينولات يمكن أن تكون فايتوالكسين (سموم نباتية) تشارك في الدفاعات الكيماوية للنبات ضد الميكروبات ، الحشرات وأكلات العشب .

هناك عديداً من المركبات الفينولية تعمل كمركبات allelopathic ، تؤثر في إنبات ونمو بعض أنواع النباتات القريبة منها . تكون الجزيئات الفينولية المنتجة بواسطة جذور النبات، أساسية للإنبات ، تكوين الممصات والتصاق العائل في الأنواع المتطفلة من *Striga* . أوضحت الأبحاث الأخيرة ، بشكل كبير ، بأن الفينولات تعمل كإشارات Signals في التفاعل بين النبات والميكروب . ولقد وجد في بكتيريا التدرن التاجي *Agrobacterium tumefaciens* أن تعبير جين شدة المرضية ، قد تشجع بشكل خاص ، بواسطة مركبات فينولية منتجة من قبل النبات مثل Acetosyringone و α-hydroxy acetosyringone . كذلك تفرز أنواع متخصصة من الفلافونيدات من بذور وجذور البقوليات ، وتكون ضرورية لحث الجينات الخاصة بالعقد الجذرية *nod* في كل من أنواع الجنس *Rhizobium* و *Bradyrhizobium* .

يكون حمض السلسليك الحر ، عبارة عن مسحوق بللوري ، ينصهر على حرارة ١٥٧ – ١٥٩°م ، يذوب بشكل متوسط في الماء ، وشديد الذوبان في المذيبات العضوية القطبية، الرقم الهيدروجيني لمحلول مائي مشبع من حمض السلسليك (pH2.4) . يعطي حمض السلسليك إشعاعات فلوروسنتية بطول ٤١٢ نانوميتر ، عندما يهيج على ٣٠١ نانوميتر . يمكن أن يعتمد على هذه الصفة في الكشف عن هذا المركب ، في عدد من النظم النباتية . لقد حضرت أجسام مضادة لحمض السلسليك ولكنها لم تختبر في النبات .

أثبتت الدراسات الرياضية الحديثة لصفات حمض السلسليك أن له $pK_a = 2.94$ و $\log K_{ow} = 2.26$ وهذا يسمى (Octanol water partitioning coefficient) ، وهو ينتقل مسافات طويلة في اللحاء . وبالتالي فإن حمض السلسليك الحر ، يكون نشيطاً في الانتقال ، التمثيل ، التحويل ، ويمكن أن ينتقل بسرعة من النقطة الأولية التي يتواجد فيها أو بني فيها إلى الأنسجة النباتية البعيدة .

لقد تأكد وجود حمض السلسليك في النبات من قبل كثير من الباحثين ، ولقد أجري مسح شامل لحمض السلسليك في الأوراق ، في التركيبات التكاثرية ، لحوالي ٣٤ نوعاً مهماً من المحاصيل الزراعية ، وتأكد وجوده وإنتشاره الكلي فيها ، مثل الأرز ، الشعير ، فول الصويا وغيرها . تصل نسبته في هذه النباتات ، في الوزن الطازج ($1 ug\ g^{-1}$) . تكون أعلى نسبة لوجوده ، في النباتات المصابة بالكائنات الممرضة ، مسببة النكروزز وفي النباتات الـ Thermogenic الضوئية .

حمض السلسليك والازهار :

لقد عرف معظم الباحثين تأثير حمض السلسليك على الازهار، وذلك عند وضع قرص من الاسبرين في الماء الذي توضع فيه الازهار بعد قطفها ، حيث يجعل نضارة الازهار تستمر لمدة أطول . يمكن تفسير هذه الملاحظة ، علمياً ، وذلك بأن حمض السلسليك يثبط البناء الحيوي للأثيلين ، عن طريق إيقاف تحول مادة l-aminocyclopropane - l-carboxylic acid إلى الاثيلين . يكون هذا التثبيط في أعلى درجاته عند درجة حموضة pH 3.5 - 4.5 ، وإن التركيز اللازم لتثبيط إنتاج الاثيلين بنسبة ٥٠٪ هو ٤٠ ميكرومول ، بعد ثلاثة ساعات من التحضين . أظهر الاسبرين مستويات من التثبيط ، من بين ٢٢ مادة فينولية مختبرة ، مشابهة لتلك التي يحدها حمض السلسيك . بالمقابل فإن هناك بعض النتائج حصل عليها من دراسة معلق خلايا الكمثرى ، تدل على أن المستويات غير السامة من حمض السلسليك ، لم تؤثر على بناء الاثيلين في عقل فول الصويا . كذلك أيضاً ، فإنه من غير المحتمل أن تكون المستويات الداخلية لحمض السلسليك في الأنسجة الزهرية عالية بكمية كافية لتؤثر على تكوين الاثيلين في أنسجة الزهرة . بالإضافة لذلك فإن الاثيلين لا يكون دائماً داخلاً في شيخوخة الازهار . إلا أن هذه النتائج (لو كانت مؤكدة) لا تلغي دور حمض السلسليك فى تأثيره على تأخير البناء الحيوى للأثيلين فى بقية أنواع ازهار النباتات الأخرى . ولقد ثبت فعلاً أن الاسبرين يستمر في تأخير شيخوخة الازهار في الورد ، من المحتمل أن يكون هذا التأثير راجعاً إلى تحميض الوسط المستعمل لتغذية عقل الازهار ويمكن أن يتكاتف مع أحماض عضوية أخرى .

كانت أول ملاحظة للتأثيرات الحادثة على الازهار ، من قبل حمض السلسليك ، في مزارع أنسجة بعض أنواع نبات الدخان Organogenic المزودة بالكينتين واندول أستك أسد. وجد أن جميع أحماض الهيدروكسي بنزويك الاحادية ، تشجع تكوين البرعم الزهري من

obeikandi.com

كالوس نبات الدخان ، ويكون حمض السلسليك فعال حتى بتركيز ٤ ميكرومول . هناك عدداً من الجزيئات المختلفة الأخرى تحث على تكوين البرعم الزهري في مزارع خلية الدخان.

كان أول إقتراح بأن حمض السلسليك يتدخل في تنظيم الازهار ، في النباتات ، قد جاء من التجارب التي سمح فيها لحشرات المن بالتغذية على النموات الخضرية والتكاثرية لأفرع النبات *Xanthium strumarum* ذو النهار القصير . لقد إفترض أن العامل المسئول عن الحث على الازهار يمكن أن يتواجد في الندوة العسلية المفرزة من المن ، هذا العامل ينقله المن إلى النبات الذي يتغذى عليه ويحثه على الازهار . لقد عرفت وحددت المكونات الحاثة على الازهار ، بالإضافة إلى مثبطات الازهار ، في الندوات العسلية المجموعة من النبات المذكور سابقاً ، ومن النبات ذو النهار الطويل المسمى *Lemna gibb* سلالة G3 . تبين أن حمض السلسليك هو المادة الحاثة على الازهار في النبات ذو النهار القصير المذكور سابقاً . إن تركيز ٥,٦ ميكرومول ، تسبب أعلى حث لتكوين الازهار في النبات ذو النهار الطويل المذكور سابقاً . ولقد وجد أن حمض السلسليك يسرع إنتاج الازهار في نبات *Lemma* ، بينما له تأثير قليل على معدل تكشف الزهرة فيما بعد . وجدت تأثيرات مشابهة لحمض السلسليك على الازهار ، في كثير من الأنواع النباتية ، سواء كانت ذات نهار طويل أو قصير ، تتبع لعائلات مختلفة . بالإضافة لذلك وجد أن حمض السلسليك ، الاسبرين والفينولات القريبة منها ، تنبه الازهار ، تحت ظروف غير مشجعة من الفترات الضوئية في كل من النباتات التالية : *Spirodela polyrrhiza* ، *S. punctata* و *Wolffia microscopica* والتي تتبع لاجناس أخرى من عائلة Lemnaceae . كذلك وجد أن حمض السلسيك غير المتفكك أو المعامل حرارياً والذي هو في شكله الطبيعي ، الأكثر فعالية في تنشيط الازهار ، مع بعض الاستثناءات . بشكل عام فإن الزيادة في المقدرة على الاحتفاظ بالالكترون والخفض في حجم حلقة البنزين ، يتعلق مع مقدرة أحماض البنزويك المختلفة في الحث على الازهار .

وجد أن الاسبرين عندما يتحد مع السكروز ، يزيد تفتح الازهار في Oncidium (نوع من الاركد يستعمل للزينة) . كما ثبت أيضاً بأن تأثير حمض السلسليك ، على توقيت إبتداء البرعم الزهري ، وعلى العدد الكلي للبراعم الزهرية ، يكون تعاونياً مع تأثير حمض الجبرلك ، ويكون هذا متبوعاً بالزيادة في المحتوى الكلى من RNA ، أنزيم الفسفاتيز وبعض

البروتينات الأخرى في الأعضاء الخضرية للنباتات المعاملة . هناك تعاونًا متشابهًا بين حمض الجبرلك GA_3 وحمض السلسليك ، قد لوحظ في تسريع الازهار في نبات الارابدوبسز .

أما الميكانزم الذي بواسطته يستطيع حمض السلسليك الحث على الازهار في النباتات ، فهو غير مؤكد تمامًا . تقترح إحدى النظريات أن حمض السلسليك يحث الازهار عن طريق عمله كعامل مخلبي chelating agent ، بسبب أن مجموعة O-hydroxyl الحرة تمنح المعدن المخلبي نشاطًا على أحماض البنزويك . هذه الفكرة قد دعمت بحقيقة أن العوامل المخلبية يمكن أن تحث الازهار في نباتات عائلة Lemnaceae ، وأن هذا الحث مشابهًا لتأثير حمض السلسليك في حثه على الازهار . مع ذلك فإن النشاط الزهري لحمض البنزويك والفينولات الأخرى غير المخلبية ، يؤدي إلى القول بأن هناك ميكانيكيات أخرى داخلة في الحث على الازهار . إن الصفات المخلبية للحديد المتوفرة في حمض السلسليك ، يمكن بأى حال من الأحوال ، أن توضح التأثير المثبط لحمض السلسليك على أنزيم تشكيل الاثيلين ، بسبب أن الحديد عامل مساعد أساسي لانقلاب مادة 1 - aminocyclo - propane - 1 carboxlic acid إلى الاثيلين .

تأثير حمض السلسليك على الأغشية وامتصاص الأيونات :

تفرز الكيماويات المسماه Allelopathic بواسطة بعض النباتات ، لمنع إنبات أو تثبيط نمو النباتات المجاورة لها . لقد إقترح بأن حمض السلسليك المنتج في الرايزوسفير ، لبعض النباتات يعمل كعمل الكيماويات allelopathic والتي تثبط نمو التركيبات الخضرية القريبة منها . لقد وجد أن حمض السلسليك يخفض تجمع المواد الصلبة ، في الفروع النباتية لكثير من المحاصيل وأنواع الأعشاب ، هذا ربما يكون عن طريق التداخل في إنتقال الأيون الغشائي فى الجذور.

فى الأجهزة الحيوانية فإن حمض السلسليك ، يزيد كفاءة الأغشية ، وذلك عن طريق زيادة البوتاسيوم الواصل إليها ، وتخفيض نسبة الكلوريد الممتص . وبنظرة عميقة إلى الأجهزة النباتية ، يتبين أن حمض السلسليك بتركيز ٠,٠٥ مللي مول ، يثبط امتصاص الفسفات بنسبة ٥٤ ٪ ، وينخفض فعليًا امتصاص البوتاسيوم فى جذور نبات الشعير . كذلك فإن حمض السلسليك يثبط إمتصاص البوتاسيوم في جذور الشوفان ، بصفات وتركيزات معينة للأس الهيدروجيني . وجد أنه على درجة pH منخفضة ، فإن حمض السلسليك يكون أكثر كفاءة في تثبيط امتصاص البوتاسيوم ، هذا يؤدي إلى القول بأن الشكل الـ Protonated لحمض السلسليك يكون أكثر فعالية منه في حالة Charged form . يسبب

حمض السلسليك إنهيار أو إنكماش فى الأغشية الناقلة ، والكفاءة الالكتروكيماوية في الميتوكندريا ودرجة البروتون المعتمد على ATP في الأوعية الغنية بمادة التونوبلاست .

وجد أيضاً أن حمض السلسليك بتركيز (١-١٠) مللي مول ، يخفض بشكل معنوي درجة التنفس في أوراق نبات الفاصوليا ، وخيوط البشرة الخارجية في نبات *Commelina communis* . نظراً لأن التركيزات العالية من حمض السلسليك هي المستعملة في التجارب، فإنه من غير المحتمل أن هذه التركيزات تمتلك أية تأثيرات معنوية للتنظيم الفسيولوجي لسلوك الثغور . في التجارب المتأخرة على حمض السلسليك والأحماض الفينولية الأخرى تبين أنها عكست غلق الثغور المستحث بواسطة ABA وتساقط الورقة في الفاصوليا . كذلك تبين أن حمض السلسليك والمركبات الفينولية القريبة منه ، أيضاً ، تقاوم التأثيرات المثبطة للنمو المتسببة عن ABA في بادرات الفجل و *Amaranthus caudatus* .

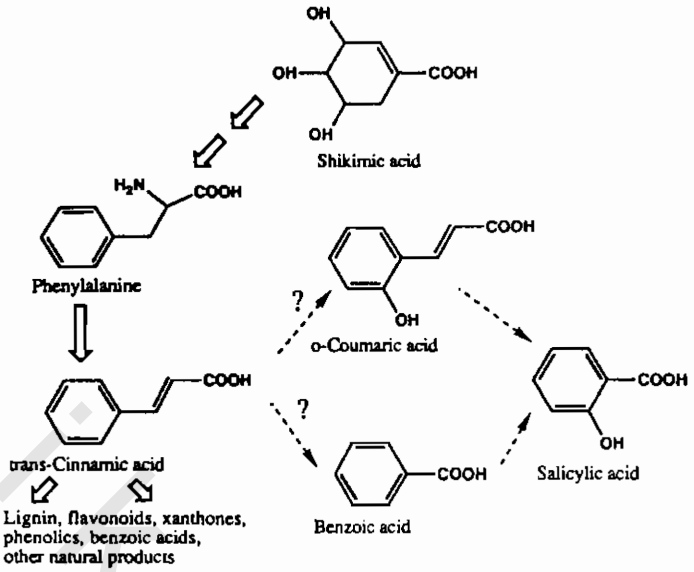
هناك تأثيرات أخرى لحمض السلسليك على تكشف النبات ، تشمل زيادة أعداد القرون والمحصول في بعض أنواع الفاصوليا Mung bean ، وتزيد في عدد وطول بذور *Panicum miliaceum* . عند استعمال حمض السلسليك مع أندول أستك أسد بتركيز ٠,١ مللي مول، فإنه يشجع تكوين بدايات الجذور العرضية في الفاصوليا المذكورة سابقاً . أما تركيز ٠,٠١ - ٠,١ مللي مول فإن حمض السلسليك يزيدنشاط أنزيم nitrate reductase في بادرات الفاصوليا بطريقة غير مباشرة ، عن طريق حفظ الأنزيم من المثبطات .

البناء الحيوى لحمض السلسليك فى النبات

Salicylic Acid Biosynthesis In Plants

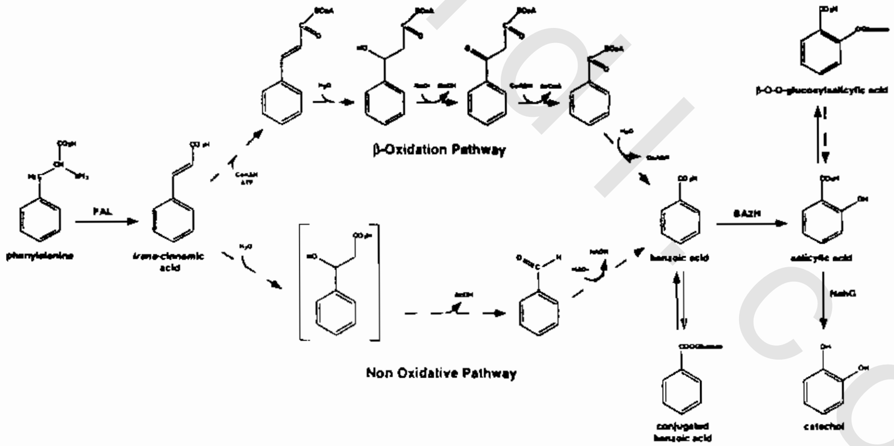
١ - ممر البناء الحيوي Biosynthetic Pathway

تعتمد أية محاولات مستقبلية ، للتعامل مع مستويات حمض السلسليك ، على فهم البناء الحيوي لهذا الحمض . إن أكثر وأشهر ميكانزم ، مهم ، لبناء أحماض البنزويك في النبات ، هو تحطيم السلسلة لأحماض السيناميك، والتي تكون وسيطات مهمة في ممر حمض الشيكمك Shikimic acid ، وبالتالي فإن SA (ortho - hydroxybenzoic acid) ، يمكن أن ينظر إليها كمشتق من حمض السيناميك Cinnamic acid (شكل رقم ١) . الانقلاب الذي يحدث في حمض السينامك إلى حمض السلسليك من المحتمل أن يسلك واحداً من الممرين . هذين الممرين يختلفين في موقع وترتيب وتفاعلات الـ β-oxidation و Ortho - hydroxylation ويمكن أن تعمل لوحدها في النبات .



Proposed pathway for salicylic acid biosynthesis in plants.

شكل رقم (١ : أ)



Proposed SA Biosynthetic Pathways in Plants.

Oxidative and nonoxidative pathways for the conversion of *t*-CA to BA, leading to formation of SA, are shown. Solid arrows indicate established biochemical reactions, whereas broken arrows indicate possible steps not yet described (see Yazaki et al., 1991).

شكل رقم (١ : ب)

obeikandl.com

الاقتراحات التي تقول إن كلا الممرين يمكن أن يعملا في النبات ، جاءت من الأبحاث المنشورة والتي لوحظ فيها أن إصابة نباتات الطماطم الصغيرة بالبكتيريا *Agrobacterium tumefaciens* يزيد في كمية الـ Ortho - hydroxylation الخاصة بالسينامك أسد إلى O - coumaric acid متبوعاً بواسطة β-oxidation إلى السلسليك أسد. أما في النباتات غير المصابة ، فإن السينامك أسد يتحول إلى بنزوك أسد ثم يدخل في ممر حمض السلسليك ، هذا يكون أكثر فعالية .

إن وجود كلا الممرين في النبات ، قد اقترح بواسطة El-Basyouni *et al* سنة ١٩٦٤ الذي وجد أن أحماض الهيدروكسي بنزوك يمكن أن تبنى في مجموعة من النباتات ، من تشابه وتطابق أحماض هيدروكسي سيناميك . وعلى أية حال فإن تجارب التغذية والبوادئ أظهرت أن الـ β-oxidation لنبات *Catalpa orata* هي آخر مرحلة في تكوين أحماض البنزويك من أحماض السيناميك المتطابقة . كذلك أيضاً فإن تغذية الأوراق الصغيرة لنبات *Gaultheria procumbens* بمادة البنزويك ذات كربون ١٤ أو سيناميك أسد ذو كربون ١٤ يؤدي إلى تكوين سلسليك أسد معلم ، هذا يؤدي إلى القول ، بأن نماذج الـ Hydroxylation لحمض hydroxybenzoic في النباتات يمكن أن تتأسس قبل وبعد β-oxidation .

٢ - البناء الحيوي الانزيمي

معظم الدراسات التي أجريت على عملية الهيدروكسليشن لمادة Cinnamate قد استعملت trans - cinnamate - 4 - hydroxylase والتي تقلب trans - cinnamic acid إلى Para coumaric acid .

هذا التفاعل هو الخطوة الأولي للبناء الحيوي لكل من اللجنين ، فلافونويدز والـ Ubiquinone . كان أول اكتشاف لهذا الأنزيم في النبات (في بادرات البسلة) ، ثم بعد ذلك اكتشف وجوده في أجزاء ميكروسوم *Quercus peduncalata* . أما بالنسبة لأنزيم Trans - cinnamate - 4 - hydroxylase كان موصوفاً (بالمناعة) في ميكروسومات وميتوكندريا البسلة ، وذلك باستعمال أجسام مضادة عديدة . الكلونة ولدت أنزيماً ضد أنزيم البكتيريا *Pseudomonas putida* والذي يطلق عليه Camphor hydroxylase .

تم حديثاً تنقية هذا الأنزيم من مكروسومات نسيج درنة نبات الطرطوفة ، المستحث بالمنغنيز . ولقد تم اكتشاف طريقة لفحص وتحليل هذا الأنزيم في النبات ، تسمي - High performance liquid chroma - tography protocol (HPLC) . أما الأنزيم الذي يقوم بقلب حمض trans - cinnamic *trans* إلى حمض 2-hydroxy cinnamic (0-coumaric) قد تم عزله من كلوروبلاست *Melilotus alba* . هناك مثال آخر هو طريقة *Ortho* - hydroxylation للحمض *trans* - cinnamic قد تم وصفها في كلوروبلاست نبات *Petunia hybride* . كلتا الحالتين بالنسبة - *trans* - cinnamate hydroxylase ، تكون غالباً وبالتأكيد هي سايتوكروم P - 450 - monoxygenases معتمدة على NADPH وتمثل P-450 الأكثر شهرة والذي تم اكتشافه في النباتات .

لا يوجد معلومات عن أنزيم Monoxygenase ، الذي يمكن أن يتدخل في بناء حمض السلسليك من حمض السينامك . من غير المعروف ، فيما إذا كانت تحولات هذه التجمعات من البوادئ ، تلعب دوراً معنوياً في تجمع حمض السلسليك ، خلال تفاعل الحساسية المفرطة . لقد عرفت كفاءة مثل هذه التحولات الموجودة عن طريق عزل يوريدين داي فسفو جلوكوز *trans* - cinnamate glucosyltrans ferase والتي يمكن أن تعمل كاتليز لـ glucosylation of Q - coumaric acid من جذور نبات البطاطا الحلوة . كذلك عرف إنقلاب حمض البنزويك ذو الكربون ١٤ إلى بنزول بتادي جلوكوز في السويقة الجنينية لنبات *Helianthus* .

لا نزال نحتاج إلى دراسات كثيرة ، لتأكيد ميكانزم ومنشطات البناء الحيوي لحمض السلسليك ، من حمض السينامك ، ولتنقية الأنزيمات الداخلة في البناء الحيوي لحمض السلسليك في الطبيعة . إن اكتشاف أهمية الدور الذي يقوم به هذا المركب في تنظيم بعض العمليات الفسيولوجية في النبات ، يعطي هذه الأبحاث والدراسات الأولوية القصوى . هذه الدراسات سوف تؤدي أخيراً إلى كلونة أنزيمات البناء الحيوي لحمض السلسليك من النبات.

إنتاج حمض السلسليك ميكروبياً :

هناك كثير من الكائنات الحية الدقيقة تنتج حمض السلسليك : أولاً عن طريق كروزمك أسد ، وهو وسيط مهم في ممر حمض الشكمك . يمكن أن تكون معدلات البناء

الحيوي الميكروبي لحمض السلسليك وإفرازه حقيقة واقعة . فمثلاً الميكروب *Mycopacterium smegmatis* ، ينتج ٣٦ ملغ حمض سلسليك لكل عشرة غرام وزن جاف من الخلايا في يوم واحد . أما الميكروب *Pseudomonas aeruginosa* ، فإنه ينتج حمض السلسليك كمادة وسيطة في البناء الحيوي لكل من Pyochelin و Phenolate سايدوفور ، والتي تلعب جزءاً مهماً في تفاعلاته مع نظام تغذية الكائنات الدقيقة المتنافسة على الغذاء . كذلك فإن الكائنات الحية الدقيقة المصاحبة لنباتات المحاصيل ، تكون أيضاً قادرة على بناء وإفراز السلسليك أسد . نظراً لأن الفضلات النباتية وإفرازات الجذور ، هي مواد جيدة لإنتاج حمض السلسليك الميكروبي ، فإن كميات كبيرة من حمض السلسليك يمكن أن تتواجد في عينات التربة المأخوذة من منطقة الرايزوسفير . فمثلاً تربة الرايزوسفير لنبات الذرة وبعض أنواع الفاصوليا تحتوي ٣١ ، ٤١ ميكروغرام سلسليك أسد في كل ١٠٠ غرام تربة بالترتيب ، بينما مستويات حمض السلسليك في التربة غير الرايزوسفيرية ، إما أنها تكون صفر (لاتحتوي على أية كمية من هذا الحمض) أو أنها تحوي كمية لا تذكر . ولقد وجد أيضاً أن أنواعاً مختلفة من أحماض البنزويك في الرايزوسفير ، تقوم بدور وقاية أو allelopathic .

حمض السلسليك إشارة للمقاومة الجهازية المكتسبة

Salicylic Acid As A Signal For SAR

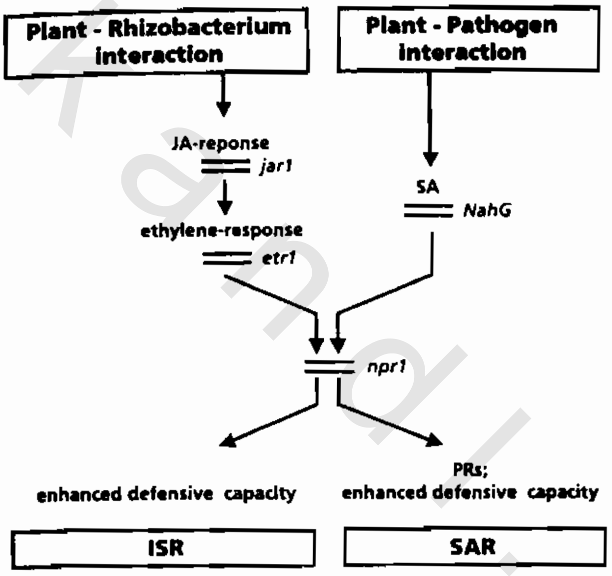
إن كلاً من توقيت الزيادة في حمض السلسليك ، بالإضافة إلى المستويات الداخلية ، التي يصل إليها ، والتي تكون كافية للحث على إنتاج البروتينات المتعلقة بالمرضية PRs ، كلها تتفق مع النظرية التي ، تقول بأن حمض السلسليك هو إشارة للمقاومة الجهازية المكتسبة . ومما يؤكد ذلك فإن نفس جينات PRs تكون مستحثة بالإضافات الداخلية لحمض السلسليك ، وخلال الحث الحيوي للمقاومة الجهازية المكتسبة . كذلك فإن تجمعات حمض السلسليك ، أيضاً ، تكون متعلقة بشكل كبير مع تعبيرات المقاومة الجهازية المكتسبة ، في نبات الدخان المحقون بفيرس موزايك الدخان الموضوع تحت مستويات حرارية مختلفة : فمثلاً على حرارة أعلى من ٣٢°م ، فإن كلا من SAR ، والتغيرات الملازمة للمقاومة ، تعبيرات PRs ، ومحتويات حمض السلسليك ، كلها تتوقف . أما على حرارة أقل من ٣٢°م فإن كل هذه العوامل تنشط وتعطي تعبيرات مجتمعة .

كانت أهمية حمض السلسليك في النقل الإشاري للمقاومة الجهازية المكتسبة ، أكثر تأكيداً باستعمال نبات الدخان المحول وراثياً ونباتات ارابدوبسز *Arabidopsis* المهندسة وراثياً لإظهار التعبير الواضح لأنزيم SA-hydroxylase ، هذا الأنزيم مأخوذ من البكتيريا *Pseudomonas putida* الداخل في ميتابولزم النفثالين ، ويكون عامل وسيط محفز لانقلاب حمض السلسليك إلى الكاتيكول غير النشط ، في المقاومة الجهازية المكتسبة في النباتات المعاملة بالجين *NahG* (جين نفثالين هيدروكسيليز) ، كما في شكل (رقم ٢) ، تكون مستويات حمض السلسليك منخفضة وتتوقف المقاومة الجهازية المكتسبة ، هذا يدل على أن حمض السلسليك يكون مطلوباً لحث المقاومة الجهازية المكتسبة . هذه الدراسات أظهرت أن استبعاد حمض السلسليك يؤثر في Gene - for - gene - resistance . إن أهمية حمض السلسليك في هذه المقاومة ، قد ثبت بوضوح باستعمال 2 - amino - indane - 2 - phosphoric acid والذي يرمز له (AIP) ، المثبط لنشاط PAL وممر البناء الحيوي لفينايل بروبانويد مؤدياً إلى حمض السلسليك . أصبح التفاعل غير المتوافق بين الايكوتايب Co1-O في نبات الارابدوبسز والفطر *Peronospora parasitica* عزلة EMWA، متوافقاً بعد معاملة هذا النبات بمادة AIP . التزويد الخارجي بحمض السلسليك يضاد تأثير AIP . وبالتالي فان نشاط كل من PAL وحمض السلسليك يكون مطلوباً للاستجابة الدفاعية بوساطة جين المقاومة .

هناك أدلة أخرى لدور حمض السلسليك في المقاومة الجهازية المكتسبة ، حصل عليها من طفرات نبات الارابدوبسز ، الطفرة *cim3* ، تظهر مناعة أساسية ضد الكائنات الممرضة الشديدة المرضيــة ، دون حـدوث بقع نكروزز واضحـة محددة ، تتجمع بمستويات تأسيسية لـ mRNAs كأداة للمقاومة الجهازية المكتسبة PR-1 ، PR-2 و PR-5 ، بالإضافة إلى مستويات مرتفعة من حمض السلسليك الحر والمحول .

إن أهمية حمض السلسليك قد ثبتت بواسطة تعبيرات الجين *nahG* في *cim3* . في هذه الحالة فإن كلاً من المناعة الأساسية والتعبيرات الأساسية لجينات المقاومة الجهازية المكتسبة تكون مفقودة . عرفت الطفرة غير الحساسة لحمض السلسليك ، بأنها التي تدوم حياتها على بيئة مزودة بتركيزات سامة من حمض السلسليك ، هذه الطفرة ليست فاقدة قدرتها على أخذ حمض السلسليك من البيئة ، ولا عندها القدرة لإنتاج مستويات عالية من حمض السلسليك بعد حقنها بكائن ممرض مسبب نكروزز . بعد الحقن الموضعي على

الأوراق السفلية ، فإن هذه الطفرة لم تظهر المقاومة الجهازية المكتسبة في الأوراق العلوية ، غير مشابهة فى ذلك النوع الأصلي . ليس للإضافات الخارجية لحمض السلسليك أية تأثير، بينما إضافة INA يعيد ويجدد المقاومة ، هذا يدل على أن الطفرة ، من المحتمل أن تكون في وقت ، أو بعد قليل من إدراك وصول حمض السلسليك ولكن قبل إدراك وصول INA وبالتالي فإن المقدرة على إدراك حمض السلسليك يكون أساسياً للحث على إنتاج المقاومة الجهازية المكتسبة .

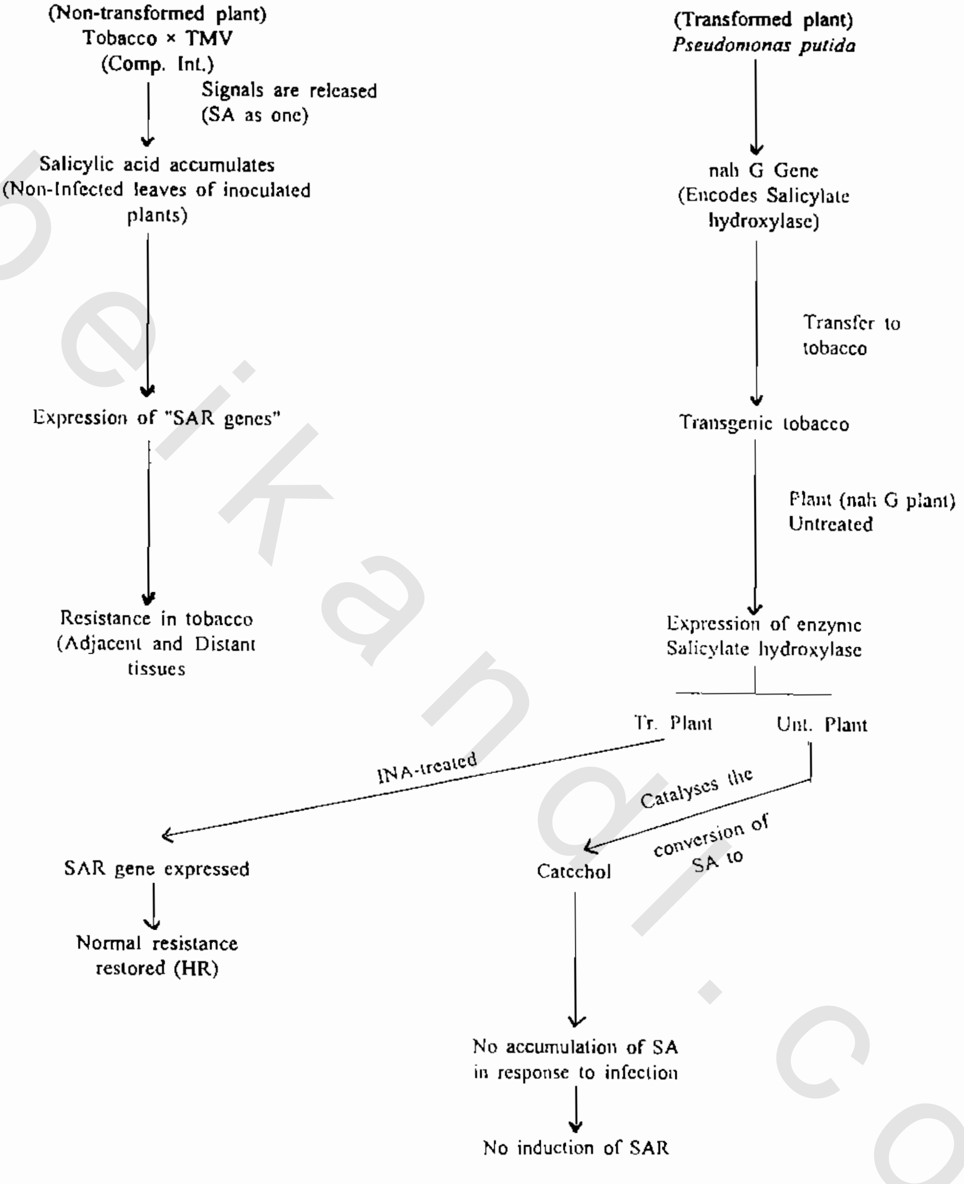


شكل رقم ٢ :أ :

ممرات النقل الإشاري تؤدي إلى المقاومة الجهازية المكتسبة المستحثة بالكائن الممرض (SAR)

المقاومة الجهازية المستحثة بالرايزوبكتيريا (ISR)

obeikandl.com



شكل رقم ٢ : ب : النقل الإشاري للمقاومة الجهازية المكتسبة

SA: Salicylic acid; SAR: Systemic acquired resistance

Tr : Treated; Unt.: Untreated

obeikandl.com

تجارب التطعيم Grafting بين NahG ونباتات النوع الأصلي ، أظهرت أن حمض السلسليك يكون ضرورياً للحث على المقاومة الجهازية المكتسبة ، ولكن هناك إشارة أخرى غير حمض السلسليك يمكن أن تنقل إلى الأوراق العلوية وتحث على المقاومة .

في تجارب أجريت على الورقة المفصولة من الخيار ، أدت إلى نتائج مفادها أن هناك إشارة جهازية أولية عدا من حمض السلسليك ، بإمكانها الحث على تجمع جهازي لحمض السلسليك . نباتات الدخان المحولة وراثياً ، تعبر بإدراك تنظيمي لجين PAL من الفاصوليا ، تظهر تثبيط مزدوج وراثي لنشاط PAL مع ملازمة تثبيط منتجات الفينايل بروبانويد . بعد الإصابة الموضعية لفيرس موزايك الدخان ، هذه النباتات تنتج كميات منخفضة من حمض السلسليك موضعياً وجهازياً . أما PRs فإنها تستحث موضعياً فقط وليس جهازياً ، كما وأن تحصين الأوراق العلوية لا يؤدي إلى تقييد أو حصر البقع كما هو ملاحظ في نباتات الكنترول . إن إجراء عملية التطعيم ، باستعمال طعوم من النوع الأصلي على أصول ذات جذور مثبطة لـ PAL ، فإنه لا يلغي المقاومة الجهازية المكتسبة . وعلى أية حال فإن المقاومة الجهازية المكتسبة ، تفقد ، عندما توضع طعوم مثبطة لـ PAL على أصول نباتات النوع الأصلي (البري) ، وبالمثل بالنسبة للتطعيم بالنباتات ذات الجين NahG . هذه التجارب دعمت الفكرة أو النظرية (فيما بعد) التي تقول إن الإشارات الجهازية قد تكون مركبات أخرى عدا عن حمض السلسليك الداخل في المقاومة الجهازية المكتسبة .

بجانب هذه التقارير الدالة على وجود إشارات جهازية ، عدا عن حمض السلسليك ، هناك دراستين أظهرتا أن حمض السلسليك المنتج في منطقة الإصابة ، ينتقل فعلاً إلى الأجزاء الجهازية في إطار الوقت السليم ، ليعمل كعامل حيوي إشاري للمقاومة الجهازية المكتسبة . وجد أنه عند معاملة الأوراق السفلية لنبات الدخان بالأكسجين ١٨ ، يتبين في حوالي ٦٠٪ من النباتات المعلمة أنه يمكن اكتشاف حمض السلسليك في الأوراق العلوية ، هذا يدل على الزيادة الجهازية لحمض السلسليك في الأوراق العلوية ، مؤدياً إلى درجات كبيرة من نفس الحمض منقولة من الورقة السفلية المحقونة . أما في الخيار فإن حمض السلسليك الداخلي المعلم إشعاعياً بعد تغذية بوادئه بحمض البنزويك BA في النسيج المصاب يسمح بحركة حمض السلسليك ذو الكربون ١٤ بحيث يمكن تتبعه . لقد تم اكتشاف حمض السلسليك ذو الكربون ١٤ في الورقة الأولى في النبات بعد يومين من تعليم الفلقة بحمض البنزويك ذو الكربون ١٤ وحقنها بفيرس نكروزز الدخان ، بينما المقاومة الجهازية

المكتسبة يمكن قياسها في الورقة الأولى بعد ثلاثة أيام من حقن الفلقة . كذلك فإن حقن الفلقة يزيد نقل حمض السلسليك إلى الورقة الأولى ، وبالتالي يبدو أن هناك غزارة في التأشير signaling لحمض السلسليك بالإضافة إلى مؤشرات جهازية أخرى يمكن أن تتدخل في المقاومة الجهازية المكتسبة .

طريقة فعل حمض السلسليك :

باستعمال الأبحاث البيوكيميائية ، تبين أن البروتين المرتبط بحمض السلسليك هو كاتليز . ونظراً لأن حمض السلسليك يوقف جزئياً نشاط الكاتليز لهذا البروتين المرتبط مع حمض السلسليك ، لذلك إقترح بأن الماء الأكسجيني (H_2O_2) ، يعمل كناقل ثانوي لحمض السلسليك للحث على تفاعلات متعلقة بالدفاع بالإضافة إلى المقاومة الجهازية المكتسبة . على أية حال ، هناك تقارير عديدة أظهرت أن الماء الأكسجيني ، من غير المحتمل أن يكون ناقل ثانوي لحمض السلسليك . إن المستوى الداخلي للماء الأكسجيني في الأوراق غير المصابة من نباتات الدخان المصابة، لا يتعلق مع تأسيس وتوطيد المقاومة الجهازية المكتسبة . تكون المستويات الداخلية من الماء الأكسجيني المتكشفة في النسيج غير المحقون من النباتات المحقونة موضعياً ، في مستوى النانومولر ، تحت الـ Kd لربط الكاتليز والذي ذكر بأنه يجب أن يكون ١٤ ميكرومول . بالإضافة لذلك ، وجد أنه ، مع أن أوراق نبات الكنترول المرشحة بواحد مول من الماء الأكسجيني يتجمع فيها PR-1mRNA ، إلا أن أوراق نباتات NahG المرشحة بالماء الأكسجيني على نفس التركيز لا يحدث فيها ذلك ، هذا الذي يدل على أن حمض السلسليك مطلوب لكي يقوم الماء الأكسجيني بعمله . تحت المستويات المرتفعة من الماء الأكسجيني على تجمع حمض السلسليك ، هذا أيضاً ، يؤدي إلى القول ، بأن الماء الأكسجيني ، من الممكن أيضاً أن يحث على تجمع PR-1mRNA أثناء تكوين حمض السلسليك .

إن الدور الحيوي لحمض السلسليك في تثبيط الكاتليز غير معروف . هناك تقارير عديدة أظهرت أن حمض السلسليك في تركيزات عالية (١ مللي مول) يمكن أن يرتبط مع ويثبط عديداً من الأنزيمات المحتوية هيماتين ، مثل الكاتليز ، اسكوربيت أو اكونيتيز بواسطة فعالية المحبة للحديد . في منطقة الإصابة (إذا ما حدثت) فإن مستوى حمض السلسليك يكون في المدى اللازم لتثبيط الكاتليز أو الأنزيمات الأخرى قريبة الصلة . وبالتالي فإن الماء الأكسجيني المنتج ، من الممكن تخيله أنه يضيف إلى/و يقوي تفاعل oxygen species

(H_2O_2 ، O_2 ،OH) الأكسجين المشحون الجاهز الإنتاج خلال oxidative burst ، بعد الحقن وينبه نظام الاستجابات الدفاعية الموضعية . وبالتالي فإن حمض السلسليك يمكن أن يمتلك فعاليات مختلفة على المستويات الموضعية والجهازية .

من الفعاليات الأخرى المعروفة لحمض السلسليك، هو تأثيره المباشر المضاد للميكروبات . كذلك فإن حمض السلسليك يمكنه أن يعمل كمثبط لخطوة من خطوات البناء الحيوي لحمض الجسمنك ، مركب يتدخل في التعبير الجيني المستحث بالجروح . والسؤال الذى بقى أن تعرف اجابته هو فيما إذا كانت هذه الأفعال كلها ذات صلة وثيقة مباشرة بالمقاومة الجهازية المكتسبة ؟؟

هناك اهتمامات كبيرة أعطيت لفعل حمض السلسليك فيما يتعلق بحادث عملية النكروزز الأولية ، هل حمض السلسليك مسبب لموت الخلية أم أنه نتيجة هذا الموت ؟؟ للإجابة على هذا السؤال يمكن القول :

١ - يمكن أن يكون حمض السلسليك ساماً .

٢ - عند إضافة حمض السلسليك بالمستويات المثالية ، فإنه يحث أو يخلق المقاومة الجهازية المكتسبة دون تكوين بقع نكروزز .

٣ - في النباتات المعبرة *nahG* ، حيث المستوى الداخلي لحمض السلسليك منخفض ، فإن تكوين البقع لا يكون ضعيفاً .

٤ - هناك عديداً من الطفرات مثل (Isd) وواحدة من (acd) تظهر البقع الموضعية وتجمع كميات عالية من حمض السلسليك ، وتعبر عن مستويات عالية من mRNA لجينات المقاومة الجهازية المكتسبة بالإضافة لزيادة المقاومة باتجاه الكائن الممرض .

تكون هذه المعلومات همزة الوصل بين النكروزز الأولي والمقاومة الجهازية المكتسبة . أظهرت تجارب الـ Epistasis أن التهجين بين نباتات الطفرات Isd_7 ، Isd_6 ، Isd_4 ، Isd_2 ، Isd_1 و NahG ، يعطي نباتات لا تعبر عن PR-1 وفقدت المقاومة ضد العزلات الشديدة للفطر *Peronospora parasitica* ، ونظراً لأن تكوين البقع يكون مقصوراً فقط في Isd_4 و Isd_2 موضحة *nahG* ، على الأقل ، فإن هذا النوع من النكروزز يكون مستقلاً عن حمض السلسليك . وبالمقابل فإنه في طفرات Isd_7 ، Isd_6 ، Isd_1 المعبرة عن *nahG*، يتوقف تكوين البقع ، هذا يدل على أن موت الخلية يكون معتمداً على أمور ذات

صلة بحمض السلسليك . هذه النتيجة محيرة إلى حد ما ، إلا أنه قد تم توضيحها بواسطة تجارب أخرى طويلة مذكورة في مجلة Plant Cell 7: 2013 - 2022 الصادرة سنة ١٩٩٥ تحت اسم الباحث Weymann *et al* .

هناك بعض النباتات تشكل البقع ذاتياً ، قد حصل عليها عن طريق التعبير العالي باستعمال أنزيم Invertase المأخوذ من الخمائر في الدخان ، من الفجوات العصارية يسمى (Vac Inv) أو المأخوذ من جدار الخلية ويسمى (CwIv) . مثل هذه النباتات تكون بقع ذاتية مترافقة مع ارتفاع مستويات حمض السلسليك ، يزيد تعبيرات جينات المقاومة الجهازية المكتسبة ، وتزيد المقاومة لفيرس X البطاطس ، ويبدو أن حمض السلسليك وسيط هام وحرج بين النكروزز وتكشف المقاومة الجهازية المكتسبة . الدراسة المهتمة بالنباتات عالية التعبير لأنزيم الانفرتيز السيتوبلازمي ، وتزيد الهكسوز إلى مستويات مشابهة لتلك التي في نباتات cwInv ، و vacInv ، ولكنها لم تظهر تعبيرات المقاومة الجهازية المكتسبة . تدل نتائج الدراسة على أن الهكسوز المدرك في النظام المفرز يكون أساسياً لتنشيط SAR syndrom . هذا يعطي مثالاً بأن ميكانزم الانتقال يتصل مع تمثيل أولي في ممر الإفراز إلى ميكانزم الدفاع .

في إحدى الأمثلة ، تبين أن موت الخلية يمكن أن ينفصل عن المقاومة . في طفرة الـ *ndr-1* (طفرة سلالة متخصصة في مقاومة المرض) في نبات الأرابدوبسز ، فإن القابلية للإصابة ، يمكن أن يعبر عنها ضد *P. syringae* DC 3000 ملجأ لجينات مختلفة ضعيفة الشدة المرضية ، مثل كل من *avrPph3* ، *avrRpt2* ، avrRpm1 ، *avrB* ، ولكنها تكون غائبة بعد الإصابة بالبكتيريا السابقة حاملة *avrRpt2* . هذه الطفرة يمكن أن تحث على بعض الاهتمام ، بمعلومات عن طبيعة حوادث الربط لعملية النكروزز للحث على استجابة المقاومة .

هناك حالة أخرى جديرة بالاهتمام ، حيث أن عملية النكروزز مفصولة عن المقاومة في نبات الارابدوبسز الخاضع للمقاومة الجهازية المستحثة ، بعد معاملة الجذور بالسلالة *Pseudomonas fluorescens* WCS 417r والذي هي من الرايزوبكتيريا المشجعة لنمو النبات (PGPR) . إن فهم المقاومة الجهازية المستحثة في هذا المثال الأخير ، يعطي إضاءة على ممر النكروزز المستقل للمقاومة الجهازية المستحثة .

obeikandl.com

إن دراسة الحاثات المختلفة لـPRs ، وكذلك المقاومة لفيرس موزايك الدخان فى الدخان قد أظهرت، أن حمض السلسليك وجلوكوسايد حمض السلسليك المتكونة بعد المعاملة تكون متناسقة مع فكرة أن حمض السلسليك ، وجلوكوسايد حمض السلسليك المكتونة بعد المعاملة تكون متناسقة مع فكرة أن حمض السلسليك يحتل دور مركزي في الممر لحث جينات المقاومة الجهازية المكتسبة . وعلى أية حال ، فإن المعاملة بمادة بولي اكرلك أسد يؤدي إلى حث PR-1 ومقاومة فيرس موزايك الدخان ، بدون تجمع لحمض السلسليك أو جلوكوسايد حمض السلسليك ، وبالتالي ، في هذه الحالة ، فإن تعبير جين PR والمقاومة يمكن أن تستحث بواسطة ممر مستقل عن حمض السلسليك . إن تأثير حمض البولي اكرلك يستمر آخذاً مجراه على حرارة أعلى من ٣٢°م والتي عادة تبطل تجمع حمض السلسليك والمقاومة بعد المعاملة بالكائنات الممرضة أو حاثات أخرى . مثل هذه الكيماويات يمكن أن تزودنا بأدوات للتبصر في الممر المؤدي إلى المقاومة .

حمض السلسليك ومقاومة الأمراض :

إن مقاومة الكائنات الممرضة ، وإنتاج البروتينات المتعلقة بالمرضية، في النباتات ، يمكن أن تستحث بواسطة حمض السلسليك أو اسيتايل سلسليك أسد ، حتى في غياب الكائن الدقيق الممرض . كان أول اكتشاف للوظيفة الوقائية لـ Salicylates في سنة ١٩٧٩ في نوع من الدخان يسمى Xanthi - nc حيث أن هذا النوع من الدخان يحوي جين يسمى (N) والذي نشأ أصلاً في الدخان *Nicotiana glutinosa* ، هذا الجين يمنح صفة تفاعل فرط الحساسية استجابة لفيرس موزايك الدخان . وجد أن حقن أوراق الدخان بمحلول حمض السلسليك تركيز ٠,٠١٪ ومحلول الأسبرين ٠,٠٢٪ ، بالإضافة إلى رش وري نباتات الدخان بالاسبرين قبل حقنها بفيرس موزايك الدخان ، سبب إنخفاض كبير جداً في عدد البقع المتكونة نتيجة الحقن بالفيرس . بالإضافة لذلك فإن حمض السلسليك خفض حجم البقعة في نوع الدخان Xanthi - nc . وبشكل عام ، فإن معظم الأبحاث ، تعتبر أن الخفض في حجم بقع فرط الحساسية ، قياساً مباشراً ومتكرراً لقياس المقاومة ، أكثر منه اعتماداً على الخفض في عدد البقع . وجد أيضاً أن المعاملة بالسلسيلات تؤدي إلى إنتاج بروتينات العائلة PR-1 في الأوراق المعاملة .

فيما بعد تبين أن الأسبرين يسبب زيادة في المقاومة وبروتينات العائلة PR-1 ، في أربعة أنواع مختلفة من الدخان *N.tabacum* . إن مستوى البروتينات PR المستحثة والوقاية من

فيرس موزايك الدخان ازدادت مع زيادة تركيز الأسبرين . يبدأ بناء البروتينات PR في الدخان بعد حوالي ١٨ ساعة في أقراص الورقة المعاملة بحمض السلسليك . إن الحث على إنتاج البروتينات المتعلقة بالمرضية في أقراص ورقة الدخان ، قد تم نسخه بانتظام بالهندسة الوراثية . كذلك فإن mRNAs للأيزوزايم القاعدي أو الحامضي لمادة β-1,3-glucanase إحدى أعضاء عائلة PR-2 ، قد استحثت بقوة بعد الحقن بفيرس موزايك الدخان أو المعاملة بحمض السلسليك لنباتات الدخان . وبالمثل في الخيار فإن الـ Chitinase الداخلي الموجود بين الخلايا وهو من عائلة البروتينات PR-3 قد استحثت جهازياً بعد الإصابة الفيروسية ، البكتيرية أو الفطرية . هذا البروتين يمكن أن يستحث بكفاءة بواسطة حمض السلسليك على مستوى تجمع RNA . يستحث الأسبرين بناء بروتينات PR-1 في نبات الدخان نوع Xanthi - nc وقد تم التحكم به على مستوى النسخ .

الإضافة الخارجية لحمض السلسليك ، تحث تكوين البروتينات المتعلقة بالمرضية ، أساساً في موقع الإضافة ، وبعكس الكائنات الممرضة التي تحث تكوين هذه البروتينات جهازياً . في الدخان ، فإن حمض السلسليك يحث بقوة كل من التشفير لـ mRNAs الحامضي والقاعدي لبروتينات PR-1 ، Basic acidic glucanases و Chitinases . وعلى أية حال فإن الدراسات الحديثة باستعمال التقنيات الجزئية المتقدمة ، أثبتت أن هناك أكثر من تسعة صفوف من PRs mRNAs والتي تستحث خلال تكشف المقاومة الجهازية المكتسبة لفيرس موزايك الدخان في الدخان ، ويمكن أن تستحث بواسطة حمض السلسليك بدرجات متشابهة . في نباتات الدخان ، النوع المزروع Samsun القابل للإصابة بفيرس موزايك الدخان ، والذي يحمل الجين الاليل (n) لا ينبه الحث على تكوين البروتينات المتعلقة بالمرضية وتفاعل فرط الحساسية ، بدلاً من ذلك فإن الفيرس ينتشر جهازياً مسبباً صفات الموزايك في الأوراق الأقل سناً . على أية حال فإن الأسبرين يحث على تكوين البروتينات المتعلقة بالمرضية في صنف الدخان المذكور سابقاً ، وفي نفس الوقت يخفض الإنتشار والتجمع الكلي لفيرس موزايك الدخان . أما الاثيلين و 1-amino cyclopropane - 1 - carboxylic acid (وهو بادىء مباشر للاثيلين) ، ومعاملات كيميائية مختلفة ، والتـي تؤدي إلى إنتاج الاثيلين ، تكون أيضاً قادرة على الحث على إنتاج ، على الأقل ، بعض البروتينات المتعلقة بالمرضية .

بالإضافة إلى حمض السلسليك والأسبرين ، وجد أيضاً أن حمض

2,6 - dihydroxybenzoic قادر مباشرة على أن يحث البروتينات المتعلقة بالمرضية والمقاومة للفيروسات ، بدون زيادة البناء الحيوي للاثيلين . هذه الملاحظة هامة بشكل خاص منذ عرف أن هذا الحمض هو المادة الكيماوية الثالثة بعد حمض السلسليك والأسبرين والتى تحث Thermogenesis في ذنيبات زنبق الودنية .

إن إضافة حمض السلسليك أو الأسبرين مباشرة إلى الأنسجة المحقونة بالكائن الممرض ، تحث على تخليق البروتينات المتعلقة بالمرضية (PRs) ، وتعطي بعض أشكال المقاومة للكائنات الممرضة ، في معظم الأبحاث التي أجريت على النباتات المختلفة باستثناء فول الصويا . أيضاً عند إضافة هذه المواد على شكل محاليل مائية إلى التربة ، وجد أن لها تأثير في خلق مقاومة جهازية مكتسبة ، وجد أن حمض السلسليك يخفض حجم البقع الناتجة من فيرس نكروتك الدخان في نباتات الدخان . أما بالنسبة للسلسيلات ، فإنها تخفض أعراض فيرس نكروزز الدخان عند حقنة في الهليون والفاصوليا بنسبة ٩٠ ٪ ، وتحث على تكوين البروتينات المتعلقة بالمرضية والمقاومة لفيرس موزايك الدخان في الفاصوليا واللوبيا . كذلك فإن حمض السلسليك يثبط تضاعف فيروس موزايك البرسيم الحجازي في بروتوبلاست اللوبيا بحوالي ٩٠ ٪ وهذا يعتمد على طريقة الإضافة . بعد ذلك يمكن القول ، أنه بالتأكيد ، فإن هناك مقاومات أخرى كثيرة يشجعها حمض السلسليك .

هناك حالات نادرة يقوم فيها حمض السلسليك بتثبيط ميكانزم معين في المقاومة ، فمثلاً ، تجريح الطماطم أو معاملتها بجزيئات البكتك ، تسبب التجمعات الجهازية لمثبط أنزيم البروتينيز والذي يمكن أن يزود النبات ببعض الوقاية ضد الحشرات الماصة أو القارضة . هذه الاستجابة يمكن أن تثبط عن طريق معاملة النباتات بالأسبرين أو حمض السلسليك . إن مقاومة عقل نبات القرنفل للفطر *Phytophthora parasitica* يمكن أن تستحث عن طريق غمر العقل في مستخلص فطري يحتوي مثيرات . عندما يضاف حمض السلسليك بتقدير ٠,٠٥ – ٠,٢ مللي مول إلى مستخلص الفطر المذكور سابقاً ، فإن بناء الفايتوالكسن في العقل ، يتثبط كلية وتبقى العقل قابلة للإصابة عندما تهاجم لاحقاً .

حمض السلسليك إشارة محتملة لمقاومة المرض في النبات :

نظراً لأن المقاومة الجهازية المكتسبة ، يمكن أن تستحث عن طريق الإصابات الموضعية، فإن وجود إشارات جهازية ، والتي تنشط البروتينات المتعلقة بالمرضية و/أو

ميكانيكيات مقاومات أخرى ، قد تم إفتراضه ، على الأقل منذ خمسة وعشرون عاماً ، من قبل كثير مـن الباحثين . إن الدليل الذي استخلص مـن نتائج تجارب التطعيم أو تطويق الساق ، دل علـى أن هناك إشارات تتحـرك خـلال نسيج اللحاء في الجهاز الوعائي في النبات .

الملاحظات الناتجة من أن الإضافات الخارجية من حمض السلسليك ، تحث على كل من تخليق المقاومة ، والبروتينات المتعلقة بالمرضية في النبات ، تدل على أن حمض السلسليك يكون ناقل مهم داخلي في النباتات مسببة الحرارة التي تسمي Thermogenic ، كذلك فإن تطور طرق تحليلية لتحديد مستوياته الداخلية في أنسجة النبات ، تهيء الطريق لمعرفة ، إمكانية أن حمض السلسليك يكون ناقل داخلي ، ينشط عناصر هامة في مقاومة العائل للكائنات الممرضة . لقد تبين أن هناك جين وحيد متوارث في مقاومة فيرس موزايك الدخان في الدخان ، هو الذي يزود الباحثين بجهاز تجريبي مناسب والذي به يمكن إختبار هذه الفرضية .

تكون مستويات حمض السلسليك في أصناف الدخان المقاومة لفيرس موزايك الدخان، خمسون ضعف (تقريباً) ، لما هو في الأصناف القابلة للإصابة ، (تصل حوالي ١٠ ميكروغرام لكل غرام وزن طازج) في الأوراق ، وعشرة أضعاف في الأوراق غير المصابة لنفس النبات . يكون حث الجينات المكونة للبروتينات المتعلقة بالمرضية رقم PR-1 متوازياً مع ارتفاع مستويات حمض السلسليك .

بينما فيرس موزايك الدخان يحث البروتينات المتعلقة بالمرضية ، فقط ، في أصناف الدخان المقاومة للمرض ، يكون هناك حمض سلسليك فعال في كل من الأصناف القابلة والمقاومة للإصابة . عند تغذية الأوراق المفصولة من نبات الدخان المقاوم ، المحتوي على جينات (NN) على حمض السلسليك ، تبين أن هناك زيادة في المستويات الداخلية لحمض السلسليك ، تكون كافية للحث الجهازي للبروتينات المتعلقة بالمرضية عائلة PR-1 ، وتزيد المقاومة لفيرس موزايك الدخان .

تصبح إصابات فيرس موزايك الدخان جهازية ، وأن الأصناف المقاومة تفشل في تجميع البروتينات المتعلقة بالمرضية عائلة PR-1 على حرارة ٣٢°م . هذا الفقد لتفاعل الحساسية الفائقة على درجات الحرارة العالية ، يكون مترافقاً مع عدم المقدرة على تجمع حمض

السلسليك . وعلى أية حال فإن رش الأوراق بحمض السلسليك يحث تكوين البروتينات المتعلقة بالمرضية PR-1 على كل من درجات الحرارة ٢٤°م و ٣٢°م .

ينتقل حمض السلسليك أيضاً ، من المواقع الأولية للإصابة إلى الأنسجة غير المصابة . عندما تفصل أوراق نبات الدخان المقاوم بعد ٢٤ ساعة من حقنها بفيرس موزايك الدخان ، فإن الإفرازات المتجمعة من أعناق الأوراق المفصولة ، تثبت أن الزيادة في حمض السلسليك الداخلي في الأوراق المحقونة بفيرس موزايك الدخان ، تكون متوازية مع مستويات حمض السلسليك في الإفرازات . تكون تجمعات حمض السلسليك في الورقة وكذلك الإفرازات متناسبة مع تركيز فيرس موزايك الدخان ، وتكون في الضوء أعلى منها في الظلام . قورنت مكونات أخرى مختلفة لفيرس موزايك الدخان ، لمعرفة مقدرتها على حث تجمعات حمض السلسليك والإفرازات ، وجد أن الغلاف البروتيني بتجمعاته المختلفة يفشل في الحث على تكوين حمض السلسليك ، ولكن الحمض النووي RNA الفيروسي غير المغلف ، يهيج تجمعات حمض السلسليك في الأوراق وفي اللحاء . كذلك فإن الأضرار الميكانيكية الحادثة في الورقة ، لا تشجع إنتاج حمض السلسليك والإفرازات .

يكون أعلى تركيز لحمض السلسليك الحر ، في ، وحول بقع تفاعل فرط الحساسية . أمكن اكتشاف وجود حمض السلسليك حراً ، فقط ، في اللحاء والأوراق الخالية من الفيرس في نباتات الدخان المقاومة والمحقونة بفيرس موزايك الدخان . هذه النتائج دعمت الفرضيات التي تقول بأن حمض السلسليك يعمل كإشارة داخلية في نظام حث البروتينات المتعلقة بالمرضية عائلة PR-1 وبعض مكونات المقاومة الجهازية المكتسبة في نبات الدخان المقاوم المحتوي (NN) .

هناك مجموعة أخرى من التجارب ، استعملت فيها تقنيات حديثة ، ذكرت أن حمض السلسليك يزيد بشكل مثير في لحاء نباتات الخيار المحقونة بفيروس نكروزز الدخان ، أو الكائن الممرض *Colletotrichum lagenarium* . تزداد مستويات حمض السلسليك لفترة قصيرة بعد الحقن ، بحيث تصل القمة قبل الكشف عن وجود مقاومة جهازية مكتسبة . وعلى أية حال ، فإن تحليل إفرازات اللحاء من أوراق الخيار ، يدل على أن الزيادة المكتشفة مبكراً من حمض السلسليك تحدث بعد ثمانية ساعات ، بعد الحقن بالبكتيريا الممرضة *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* . على الرغم من ذلك فإن التجمع الجهازي لحمض السلسليك ، قد لوحظ حتى عندما تبقى الأوراق المحقونة متعلقة مع النبات لمدة ٤

ساعات فقط ، بينما تدعم دور حمض السلسليك كمكون للممر الانتقالى مؤدياً إلى المقاومة. تؤدى هذه النتائج إلى القول بأن هناك إشارات كيميائية أخرى يمكن أن تكون مطلوبة للتجمعات الجهازية لحمض السلسليك . وعلى أية حال فإن طرق التحليل غير الحساسة نسبياً ، المستعملة في هذه الأوراق المدروسة ، أعطت فرصة للقول بأن كمية حمض السلسليك المفرز من الورقة المحقونة في الأربعة ساعات الأولى كانت كافية بكمية كبيرة لهذا المركب ليقوم بعمله كناقل إشاري أولي في المقاومة الجهازية المكتسبة .

تبين في الدراسات الحديثة ، عديداً من الملاحظات على الفعل الجزيئى لحمض السلسليك . وجد أن العنصر AS-1 الواقع بين منطقة 65-to .85 من فيرس موزايك القرنبيط 35S المشجع على المقاومة ، تبين بأنه كان ذو استجابة عالية لحمض السلسليك . تم الحصول على ١٠ – ١٢ ضعفاً من مقدرة الحث لـ GUS mRNA ، تم الحصول عليها ، بمعاملة نباتات الدخان المحولة وراثياً AS-1 GUS المندمجة مع حمض السلسليك ، كان الحث سريعاً وغير حساس لمادة السايكلوهكسمايد .

البروتينات المرتبطة مع حمض السلسليك ذات كتلة ظاهرة من 650KDa ، تظهر Kd لحمض السلسليك من ١٤ ميكرومول ، قد حددت وعرفت في نبات الدخان . كذلك وجد أن مادة 2,6-dihydroybenzoic acid والأسبرين تتنافس مع حمض السلسليك للارتباط. يبدو أن البروتينات المرتبطة مع حمض السلسليك تكون داخلة في اكتشاف وإنتقال حمض السلسليك الإشاري ، وهذا يشجع الاستجابة لمقاومة المرض عن طريق المقاومة الجهازية المكتسبة .

يتبين لنا من كل هذه التجارب والأبحاث ، أن حمض السلسليك يلعب دوراً أساسياً كمادة إشارية ، للمقاومة الجهازية المكتسبة في النبات ، وله دور فعال في تشجيع المقاومة ضد الإصابات الممرضة ، وأن حمض السلسليك هو المحور الأساسي للمقاومة الجهازية المكتسبة حيث أن وجوده يدل على وجدها وبنفس النسبة المتزايدة .

من هذا المنطلق إتجهت الأبحاث لاستعمال حمض السلسليك في تخفيض أو وقف الإصابة بكثير من الأمراض النباتية والتي سنذكرها فيما بعد إن شاء الله .

obeikandl.com

تطبيقات عملية لحمض السلسليك في إحداث مقاومة جهازية مكتسبة فى النبات

١ - احداث مقاومة جهازية في البسلة ضد مرض البياض الدقيقي

مقدمة :

يتسبب مرض البياض الدقيقي في البسلة *Pisum sativum* ، عن الفطر الممرض *Erysiphe pisi* ، ينتشر هذا المرض في مناطق واسعة من العالم ، بشكل يؤثر على الإنتاج . يكون أكثر إنتشار هذا المرض في المناطق ذات الأيام الجافة الحارة والليالي الباردة ، يؤثر المرض على الأوراق ، السيقان وعلى القرون لنباتات البسلة والبقوليات الأخرى ، يؤثر المرض على الاقتصاد الزراعي في الأقطار التي تعتبر فيها البسلة المصدر الأساسي للبروتين .

حاليًا ، فإن المقاومة الأساسية للمرض المعتمد عليها ، هي استعمال المبيدات الفطرية واستعمال الأصناف المزروعة المقاومة ، المعتمدة على الجينات المفردة . إن المخاطر المرافقة لاستعمال هاتين الطريقتين ، جعلت هناك باعثًا للحصول على طرق أكثر إقتصادية وتستجيب لنداء البيئة وموثوقة في مقاومة المرض . لهذه الأهداف بدأت كثير من الأبحاث تتجه إلى إبراز وتأكيد مقاومة المرض طبيعيا تحت سيطرة عمليات فسيولوجية معقدة ، بيوكيميائية ووراثية ، والتي يجب أن تكون حصينة بحيث لا تزول وتنجرف عند حدوث تغير في شدة الكائن الممرض .

من المؤكد الآن أن هناك كثيرًا من العوامل ، يمكن أن تعمل على النباتات لتحثها على تكوين مستويات عالية من المقاومة الجهازية ، للمهاجمة التالية من الكائن الممرض . تشمل هذه العوامل المهاجمة الأولية بالكائن الممرض ، عوامل كيميائية مختلفة ، ومواد حائة بيئية . يكون تخليق المقاومة الجهازية مترافقًا مع الحث الجيني ، وتنشيط ميكانزم المدى الواسع من مقاومة المرض ، وإنتاج مركبات دفاعية ذات مدى واسع بحيث تكون غير متخصصة ، وكثيرًا ما تكون فعالة ضد مدى واسع من العوامل الوراثية .

استعمال حمض السلسليك :

حمض السلسليك Salicylic acid هو (2- hydroxy benzoic acid) ويكتب SA ،

obeikandl.com

هو واحداً من مدى واسع من الكيماويات التي تحث على المقاومة الجهازية . في بعض الحالات ، فإن المعاملة الكيماوية ، تخلق تعبيرات لنفس الجينات ، وتخلق مقاومة ضد نفس مستوى الكائنات الممرضة ، والتي تسمى مقاومة مستحثة من الكائن الممرض . المقاومة المستحثة بواسطة المعاملات الكيماوية ، يمكن أن تكون فعالة جداً ، وأن تستعمل تجارياً وذات فائدة كبيرة ، لوقاية النباتات من مدى واسع من الكائنات الممرضة ، وتكون ثابته ، وتدوم طويلاً وغير ذات أثر ضار على البيئة .

إن الإضافة الخارجية لحمض السلسليك ، باستعماله كمحلول على أوراق نبات البسلة، خلق مقاومة جهازية ضد الكائن الممرض المسبب البياض الدقيقي ، وخفض حدوث الإصابة بنسبة ٢٠ - ٣٠ ٪ من نسبة النموات الفطرية التي استطاعت أن تنجح في إختراق الأوراق غير المعاملة بحمض السلسليك . يستعمل حمض السلسليك بنسبة ١,٥ - ١٥ مللي مول وتكون له نفس الفعالية في هذا المدى من التركيز ، إلا أنه عندما يستعمل بتركيز ٠,١٥ مللي مول لم يكن له تأثير ملموس على خفض المرض ، كذلك فإن استعمال الحمض بنسبة ١٥ مللي مول يكون محلوله ذو تأثير سام على النبات . أما تركيز ١,٥ مللي مول لم يسبب أضراراً ظاهرة على النبات . هذا يدل على أن تخليق المقاومة لم يكن راجعاً لأضرار تحدث في النسيج .

تدوم المقاومة المستحثة لمدة ١٣ يوم على الأقل بعد المعاملة ، ولكن إثارة الأوراق المعاملة بعد يوماً واحداً من إستعمال حمض السلسليك ، يمنع الظهور الكامل للمقاومة الجهازية المكتسبة . لا يظهر أي تعبير للمقاومة ، إذا ما حقنت الأوراق غير المعاملة بمدة أقل من ٣ أيام بعد استعمال حمض السلسليك . ينتقل تأثير حمض السلسليك إلى الأوراق في العقد فوق وأسفل الأوراق المعاملة . وبالتالي يمكن القول بأن الكيماويات الحاثة على المقاومة الجهازية ، يمكن أن تكون طريق إضافي في مقاومة أمراض البسلة . يتبين مما سبق أن مقاومة البسلة للبياض الدقيقي ، يمكن أن تزداد جهازياً باستعمال حمض السلسليك . ومن المهم ذكره أن حمض السلسليك ليس له أي تأثير على إنبات جراثيم الفطر الممرض ولا على تكوين الممصات الفطرية ولكن تأثيره يكون بتخليق مقاومة جهازية في النبات تمنع تقدم وإصابة الفطر الممرض ، وبالتالي تقلل نسبة الإصابة بالمرض .

٢ - احداث مقاومة جهازية في الأرز ضد بعض الأمراض

مقدمة :

كان أول توضيح بأن حمض السلسليك ، الفينول النباتي العام ، يلعب دوراً منظماً مهماً في النباتات ، نتيجة دراسات على النباتات الـ Thermogenesis من النباتات الضوئية، والزنبق Arum والتي قام بها Raskin *et al* سنة ١٩٨٧ . بعد ذلك تبين أن حمض السلسليك هو إشارة أساسية في المقاومة المكتسبة ضد الكائن الممرض في الدخان ، وفي الخيار. إن تكشف المقاومة المكتسبة ، غالباً ما يتبع موت نسيج موضعي في منطقة دخول الكائن الممرض ، هذا التفاعل يسمى تفاعل فرط الحساسية أو الحساسية الفائقة (HR) . بعد الحقن بالكائن الممرض الحاث ، فإن المقاومة الجهازية المكتسبة ، تتكون بالنسبة للكائن الممرض ، الذي سيغزو النبات فيما بعد ، وتتكشف في الأنسجة الخالية من الكائن الممرض . يمكن أن يكون حمض السلسليك إشارة مسئولة عن خلق (أو حث) المقاومة الجهازية المكتسبة واستمراريتها ، تكون الزيادة في حمض السلسليك ، مطلوبة لحث المقاومة الجهازية المكتسبة في الدخان ، وأن حمض السلسليك يعمل على الحث وتخليق البروتينات المتعلقة بالمرضية PRs موضعية وجهازية والتي تمتلك نشاط مضاد للكائن الممرض .

تكون الزيادة الجهازية في المستويات الداخلية لحمض السلسليك ، متوازية مع تخليق البروتينات المتعلقة بالمرضية والمقاومة الجهازية المكتسبة . مع أن الكمية الكلية لحمض السلسليك في نباتات الدخان السليمة *Nicotiana tabacum* L.cv *Xanthi* - nc نادراً ما تزيد عن ١٠٠ – ٢٠٠ نانوغرام لكل غرام وزن طازج ، إلا أنها تزيد وتصل إلى مقدار ٧٥ ميكوغرام/غرام وزن طازج موضعياً ، وتصل إلى ١,٥ ميكوغرام/غرام وزن طازج جهازياً ، بعد أن يستحث تفاعل فرط الحساسية بواسطة فيرس موزايك الدخان .

لقد شرح ممر البناء الحيوي لحمض السلسليك حديثاً بواسطة *Yalpani et al* سنة ١٩٩٣ في الدخان ، وتبين أن حمض السلسليك يبنى من حمض السينامك Cinnamic acid عن طريق حمض البنزويك ويتدخل في هذا التفاعل Benzoic - 2- hydroxylase كعامل مساعد حاث لحمض البنزويك ، والذي يعمل مثل Cyt P450 mono oxgenase

obeikandi.com

أما المادة B - O - D - glucosyl salicylic acid فهي أكبر مادة ناشئة عن تمثيل حمض السلسليك الخارجي والداخلي في الدخان ، ذكر أيضاً أن هناك إنتاج إستر GIC .

تنتج كميات كبيرة من B-O-D-glucosyl حمض السلسليك (٥٠ ميكروغرام/ غرام وزن طازج) في وجود بقع تفاعل فرط الحساسية المستحثة بواسطة فيرس موزايك الدخان ، بينما هناك نسبة قليلة من هذه المادة تتواجد في اللحاء والأوراق المحفوظة جهازياً . لقد وصف الأنزيم الذي يعمل كعامل مساعد لتحويل حمض السلسليك في جذور الشوفان وأوراق الدخان، هذا الأنزيم Salicylic acid glucosyl - transferase ، هذا الأنزيم قوي ومتخصص، ويستحث بواسطة SA والذي يتجمع في المناطق القريبة من بقع فرط الحساسية.

إن ظاهرة المقاومة المكتسبة ، غير محددة في النباتات ذات الفلقتين . إن كلاً من القمح والشعير ، يتكشف فيهما مقاومة للبياض الدقيقي المتسبب عن الفطر *Erysiphe graminis* f.sp. *tritici* بعد الحقن بالسلالات غير المتوافقة من البياض الدقيقي . من أفضل نتائج الأبحاث التي ذكرت عن المقاومة الجهازية المكتسبة في الحبوب كانت من الدراسات التي أجريت على الأرز (*Oryza sativa*) . أظهرت الأوراق العلوية فى نبات الارز مقاومة عالية ضد الفطر *Magnaportha grisea* العامل المسبب للفحة الارز (نتيجة ارتفاع مستوى حمض السلسليك فيها) ، بعد حقن الأوراق السفلى بالبكتيريا *Pseudomonas syringae* . إن أهمية البروتينات المتعلقة بالمرضية في المقاومة الجهازية المكتسبة في الأرز ليست واضحة كما هو الحال في الدخان والخيار .

اكتشفت زيادة في نشاط كل من الأنزيمين Chitinase و Glucanase ، فقط في الأوراق المحقونة بالبكتيريا السابقة الذكر ولم تكتشف جهازيًا . وعلى أية حال فإن نسخ هذين الأنزيمين ، قد استحث في الأرز بواسطة مثيرات مأخوذة من الكائن الممرض وحمض السلسليك. زيادة على ذلك فإن إضافة 2,6 - dichloro - isonicotinic acid المحتمل أن يكون مماثلاً لحمض السلسليك ، تنشط الدفاعات الطبيعية في النبات وتحث على المقاومة في الأرز ضد كل من *M. grisea* والبكتيريا *Xanthomonas oryzae* .

لقد تبين أن نبات الأرز يحتوي على أعلى مستويات من حمض السلسليك الداخلي من بين كثير من النباتات التي درست ، حيث أن مستويات هذا الحمض في الأوراق السليمة تصل ٣٠,٤ ميكوغرام/غرام وزن طازج والذي هو ضعف الكمية الموجودة في أوراق نباتات الدخان السليمة .

مستويات حمض السلسليك في الأرز المحقون بالكائن الممرض :

يظهر في جدول (رقم ٥) المستويات الحرة لحمض السلسليك في بادرات الأرز العادية النامية لمدة ٣٥ يوم ، وتؤخذ منها الأوراق أسبوعياً لتقدير حمض السلسليك فيها . يتبين من الجدول أن كمية حمض السلسليك في البادرات تتراوح من ٧,٤ - ١٥,٣ ميكروغرام/غرام مادة طازجة .

جدول رقم ٥ : كمية حمض السلسليك في أوراق بادرات الأرز بعد الزراعة .

عدد الأيام بعد الزراعة	كمية حمض السلسليك في الأوراق مقدرة على أساس ميكوغرام/غرام وزن طازج في الأوراق					
	الورقة الأولى	الورقة الثانية	الورقة الثالثة	الورقة الخامسة	الورقة السادسة
٧	٩,٢٨	–	–	–	–
١٤	٩,٤٠	١١,٤٠	–	–	–
٢١	٧,٣٧	١٢,٦٦	١٥,١	–	–
٢٨	٨,٧٥	١٣,٥٠	١٤,٢٠	١٢,٩٠	–
٣٥	٨,٣٢	١٥,٤	١٢,٨	١٢,١	١١,٨

أما بالنسبة للنباتات المحقونة بالكائن الممرض ، فقد تبين أن التفاعل بين نبات الأرز والكائن الممرض غير الشديد المرضية *P. syringae* D20 أدى إلى تفاعل فرط الحساسية وتخليق البروتينات المتعلقة بالمرضية . وعلى أية حال ، فإن الحقن بالكائن المذكور لم يسبب تغيرات معنوية ، موضعية ولا جهازية في مستويات حمض السلسليك في أوراق الأرز . كذلك فإن كمية حمض السلسليك في مناطق البقع التي استحثت بالبكتيريا ، أيضاً ، لا يحدث فيها تغيرات معنوية . بالنسبة لتفاعل فرط الحساسية ، فإنه يتكشف خلال ٤٨ ساعة في مناطق الحقن بالكائن الممرض . زيادة على ذلك فإن مستويات حمض السلسليك في الأوراق الخالية من الكائن الممرض لا تتغير . أما بالنسبة للحقن بالكائن *M. grisea* ، فإنه مثل الحقن بالبكتيريا *P. syringae* لا تغير مستويات حمض السلسليك في نبات الأرز . أما

بالنسبة للبقع المستحثة من قبل *M. grisea* فإنها تصبح واضحة بعد ٤٨ ساعة من الحقن وتستمر وتكبر حتى تصبح بمعدل ١,١ ملم طولاً بعد ٧ أيام من الحقن .

يبين جدول (رقم ٦) ، مستويات حمض السلسليك في الأنسجة المختلفة ، لصنف الأرز M-201 بعد الإصابة بالفطر *R. solani* شديد المرضية ، والذي ينتج بقع مائية كثيرة على غمد الورقة . خلال ٤٨ ساعة بعد الحقن فإن البقع المتكونة بواسطة هذا الفطر تمتد إلى أعلى غمد الورقة ، حتى تصل نصل الورقة الأولي ثم تصل إلى الورقة الثانية خلال ١٢٠ ساعة. تنخفض مستويات حمض السلسليك ، في غمد ورقة النبات فى النباتات المحقونة بالفطر . ترجع هذه الزيادة إلى كتلة النسيج غير المتعضي والموت المرافق للإصابة .

مع أن النتائج السابقة لا تدعم الدور الإشاري لحمض السلسليك في المقاومة المكتسبة للمرض في الأرز ، الا أن الاحتمالية لا تزال قائمة ، بأن المستويات العالية غير العادية لحمض السلسليك في الأرز يمكن أن تعمل كأساس دفاعي ضد *M. grisea* .

أجريت دراسة على ٢٨ صنف من الأرز ، من ضمنها أصناف أمريكية ، يابانية وهندية ومن مناطق عالية أخرى ، من بين هذه الأصناف ، تبين أن الصنف Jasmine 85 ، يحتوي أعلى مستوى من حمض السلسليك ، حوالي ٣٠,٤ ميكوغرام/غرام وزن طازج ، بينما الصنف A-301 يحتوي ٧,٦ ميكوغرام/غرام وزن طازج (جدول ٧) . درست مقاومة الأمراض ، في الأرز في التجارب الحقلية وفي الصوبا الزجاجية بعد الحقن بثلاثة سلالات من الفطر *M. grisea* مسبب مرض لفحة الأرز Rice blast والفطر *R. solani* مسبب مرض لفحة الغمد sheat blight ، تبين أن مقاومة نباتات الأرز للمرض تكون معنوية بارتفاع محتوى البادرات من حمض السلسليك . كلما ارتفع المستوى من حمض السلسليك كلما زادت درجة المقاومة للمرض كما في جدول رقم ٧ .

جدول رقم ٦ : مستويات حمض السلسليك (ميكوغرام/غرام وزن طازج) في الصنف M-201 بعد الحقن بالفطر الممرض *R. solani* .

التجـــــربة	الوقت بعد الحقن بالساعات	مستوى حمض السلسليك		
		أسفل الغمد	أعلى الغمد	نصل الورقة
نباتات محقونة بالفطر رايزوكتونيا	٤٨	٥,٠٦	٩,٨٧	٩,٦٩
نباتات محقونة بالفطر رايزوكتونيا	١٢٠	٢,١٧	٣,٨٨	٨,٦٩
كنترول	٤٨	٩,٢١	٨,٨٠	٩,١١
كنترول	١٢	٩,٢٦	١١,٧	٨,٧١

جدول رقم ٧ : بعض أصناف الأرز ومحتواها من حمض السلسليك ميكوغرام/غرام وزن طازج وصفة المقاومة لمرض لفحة الغمد .

اسم الصنف	مقدار حمض السلسليك ميكوغرام/غرام	صفة المقاومة للمرض
A-301 ياباني	٧,٦	شديد القابلية للاصابة
M.201 أمريكي	١٥,١	قابل للإصابة
Katy هندي	١٠,٢	شديد القابلية للإصابة
Texmont هندي	١٦,١	قابل للإصابة
Gui chow صيني	٢٦,٥	شديد المقاومة
Rico ياباني	٢٠,١	مقاوم
Jasmine أمريكي	٣٠,٤	شديد المقاومة
Cypress قبرص	١٣,٨	متوسط المقاومة
Jackson أمريكي	١١,٣	قابل للإصابة

obeikandl.com

٣ - دور حمض السلسليك في مقاومة الفطر *Pythiium* aphanidermatum في جذور الخيار

مقدمة :

لقد ثبت فعلاً في كثير من الأبحاث ، أن حمض السلسليك ، يعمل كإشارة جهازية، حاث أو عامل مخلق مطلوب في المقاومة الجهازية المكتسبة (هذا واضح في نباتات الدخان ، الفاصوليا والخيار) . يمكن لحمض السلسليك أن يعمل كإشارة جهازية والتي تنبه أو تحث استجابة المقاومة الجهازية أو الموضعية .

يبدو أن حمض السلسليك يفرز من اللحاء في الخيار ، من النباتات المصابة بـ *Pseudomonas syringae* p.v. *syringae* . كذلك وجدت زيادة مماثلة من حمض السلسليك في إفرازات اللحاء ، ظهرت بعد الإصابة بفيرس نكروتك الدخان أو بالفطر *Colletotrichum lagenarium* (الاسم المرادف *C. orbiculare*) ، هذان الكائنين الممرضين يسببان اعراض تبقع ويحثان على المقاومة الجهازية المكتسبة في الخيار . يزداد حمض السلسليك في أوراق الخيار ويصل إلى مستوى عال بعد خمسة أيام من الحقن بفيرس نكروزز الدخان أو *Sphaerotheca fuliginea* . ولقد أثبت بعض الباحثين أن الإضافة الخارجية لحمض السلسليك تحث المقاومة ضد فيرس موزايك الدخان . كذلك وجد أن حمض السلسليك الخارجي يحث على تجمع البروتينات المتعلقة بالمرضية في الدخان ، وهذا التجمع يتعلق مع زيادة المقاومة لفيرس موزايك الدخان .

من ناحية أخرى ، أثبتت بعض الدراسات أن حمض السلسليك ، يمكن أن لا يكون ناقلاً للإشارة الأولية الجهازية المكتسبة ، ويمكن أن يقوم فقط ، بدور منظم في إظهار تعبيرات جينات المقاومة الجهازية المكتسبة . ولقد أثبت Pieterse سنة ١٩٩٦ أن حمض السلسليك لا يدخل في المقاومة الجهازية المستحثة كإشارة في نباتات *Arabidopsis* NahG المحولة وراثياً ، والذي يوقف أنزيم تحطيم حمض السلسليك البكتيري . هذا يدل على أن حمض السلسليك يلعب دوراً كبيراً في المقاومة الجهازية المكتسبة ، وليس له دور في المقاومة الجهازية المستحثة .

obeikandl.com

حمض السلسليك وأمراض الجذور في الخيار :

أثبتت الدراسات التي أجراها *Chen et al* سنة ١٩٩٩ ، أن كثيراً من سلالات البكتيريا *Pseudomonas* تحث جهازياً المقاومة ضد مرض جذر الخيار ، المتسبب عن الفطر *P. aphanidermatum* ، وأن الدليل المرضي على الجذور المستحثة كان منخفض بشكل معنوي ، أكثر منه في الكنترول (جدول رقم ٨) . ولقد أثبت هذا العالم أن حمض السلسليك لايثبط معنوياً (في المعمل) نمو ميسيليوم الفطر على تركيز ١٠٠٠ ميكوغرام/ مل أو أقل . لقد تم تثبيط النمو بتركيزات ٣٠٠٠ - ٣٠٠٠٠ ميكوغرام/ مل (جدول رقم ٩) حيث تم تثبيط نمو الميسيليوم كلية .

جدول رقم ٨ : تثبيط النمو الميسيليومي للفطر *P. aphanidermatum* باستعمال حمض السلسليك في أطباق بتري على حموضة ٦,٥ - ٧ وعلى حرارة ٢٥° م . بعد ٢٤ ساعة من التحضين .

تركيز حمض السلسليك في البيئة الغذائية ميكوغرام/ $\frac{1}{10}$ غرام	ملم قطر المستعمرة الفطرية
صفر	٥٦
١٠٠	٥٤
٢٠٠	٥٣
٣٠٠	٤٧
٤٠٠	٤٥
٥٠٠	٤٠
٦٠٠	٣٢
٨٠٠	٢٥
١٠٠٠	٢٠
٢٠٠٠	٠٣
٣٠٠٠	صفر

كانت الجراثيم الهدبية أكثر حساسية لحمض السلسليك ، من الميسيليوم على تركيزات منخفضة . إن تركيز ١٠٠ – ٥٠٠٠ ميكوغرام/ مل كان مشجعاً لإنبات الجراثيم (جدول رقم ٩) . أما على تركيز ٥٠٠ ميكوغرام/ مل يزداد إنبات الجراثيم بنسبة ٧٠٪ أو أكثر مقارنة مع الكنترول . أما على تركيز ١٠٠٠ ميكوغرام فإنه يثبط إنبات الجراثيم .

جدول رقم ٩ : علاقة تركيز حمض السلسليك مع أنواع جراثيم الفطر الممرض *P. aphanider* matum **المتكونه وانباتها .**

نسبة تركيز الحمض	٪ نسبة إنبات الجراثيم	٪ تكوين الجراثيم الهدبية	٪ تكوين الحويصلات الجرثومية
صفر	٤٢	٢٠	٣٨
١٠٠ ميكوغرام/مل	٤٢	١٧	٤٥
١٠ ميكوغرام/مل	٤٧	١٧,٥	٤٦
١ ميكوغرام/مل	٤٢	١٧	٤٢
٠,١ ميكوغرام/مل	٧٨	١٥	٣٨
٠,٠١ ميكوغرام/مل	٧٦	٠٥	٣٥
١٠٠٠ ميكوغرام/مل	٣٥	٧	٧٥

ملاحظات على الجدول :

١ – كانت تحقن نسبة حمض السلسليك في ساق النبات .

٢ – كانت توضع جراثيم الفطر على جذور نبات الخيار بتركيز $١٠^{٤}$ جرثومة هدبية/ نبات بعد أربعة أيام من حقنها بحمض السلسليك .

٣ – كانت تؤخذ النتائج بعد ١٠ أيام من الحقن بالجراثيم الهدبية .

ولقد لخص العالم Chen سنة ١٩٩٩ هذه النتائج ، بالقول بأن الإضافات الخارجية من حمض السلسليك ، تفشل في خلق أو الحث على مقاومة جهازية أو موضعية ضد الكائن

الممرض للجذر المذكور سابقاً في الخيار ، ولكن التجمعات الداخلية لحمض السلسليك في جذور الخيار ، يمكن أن تتدخل في المقاومة الجهازية للمرض .

٤ - تأثير الظروف البيئية وحمض السلسليك والهرمونات النباتية على لفحة أوراق البسلة

مقدمة :

يتسبب مرض لفحة أوراق البسلة عن الفطر *Alternaria alternata* . ذكر أن هذا المرض يسبب خسارة تصل ٨٠٪ من إنتاج الحقول في بعض السنوات (Sharma 1983) . ثبت حديثاً أن حمض السلسليك (المركب الفينولي) يلعب دوراً مهماً في خلق مقاومة للمرض في النباتات (Delaney *et al* 1994) ، في حين أن الهرمونات النباتية ، تجعل النبات أكثر فعالية فسيولوجية وتزيد في إنتاج المحصول . إن تأثير كل من حمض السلسليك والهرمونات النباتية على لفحة الأوراق في البسلة ، قد درس بتوسع من قبل العالم Anita *et al* سنة ١٩٩٩ وفيما يلي نتائج الدراسة :

تأثير حمض السلسليك لوحدة أو مقترنا مع الهرمونات النباتية على المرض :

عند رش المجموع الخضري لنباتات البسلة ، بحمض السلسليك لوحده ، أو الهرمونات النباتية لوحدها أو رشهما معاً على النباتات ، يتبين من جدول رقم (١٠ ، ١١) أن استعمال حمض السلسليك بتركيز ١٠٠ جزء في المليون متحداً مع الهرمونات النباتية ، يزيد من إنتاج المحصول ويخفض نسبة الإصابة المرضية ، باستثناء استعمال حمض السلسليك بنفس النسبة مع ٢٠ جزء في المليون من مادة الـ Kinetin . يكون أكبر خفض للمرض عندما ترش النباتات بحمض السلسليك بتركيز ١٠٠ جزء في المليون + ١٠ جزء في المليون من الهرمون النباتي أندول بيوترك أسد ABA ، حيث كانت نسبة الخفض في المرض ٦٠,٥٦٪ .

جدول رقم ١٠ : تأثير الاتحادات المختلفة من حمض السلسليك والهرمونات النباتية على شدة مرض لفحة الأوراق في البسلة .

المعاملات جزء في المليون	دليل شدة المرض					
	عدد الأيام بعد الزراعة					
	٩٨	**١٢٨**	**١٣٥**	**١٤٢**	**١٤٩**	**١٥٦**
كنترول	١١,٨	١٥,٨	٢٠,٤	٢٤,٤	٢٦,٨	٣٠,٠
١٠٠ جزء حمض سلسليك	٥,٨	٩,٦	١١,٨	١٥,٦	١٥,٠	٢٤,٠
٥٠ جزء جبرلك أسد	١٣,٢	١٥,٤	١٨,٤	٢٦,٥	٢٤,٨	٣٠,٠
٢٠ جزء كاينتين	٥,٦	٧,٠	١٧,٤	٢٤,٤	٣٢,٦	٤٢,٠
١٠٠ جزء نفثالين أستك اسد	٩,٠	١١,٠	١٨,٦	٢٧,٠	٣٤,٤	٤٢,٠
١٠٠ جزء ايثيرال	٥,٠	٨,٠	١٦,٢	٢٣,٨	٢٩,٤	٣٧,٠
١٠ جزء أندول بيوترك أسد	١٠,٦	١٢,٠	١٨,٢	٢٧,٦	٣٤,٤	٣٧,٠
معاملة ٢ + ٣	٩,٦	١٤,٨	١٩,٠	٢٥,٤	٣٣,٤	٣٢,٠
معاملة ٢ + ٤	١٠,٦	١٥,٢	٢٠,٤	٢٨,٦	٣٨,٤	٤٥,٠
معاملة ٢ + ٥	٧,٦	١٣,٤	١٨,٤	٢٥,٦	٣١,٨	٣٧,٠
معاملة ٢ + ٦	٥,٠	٦,٨	١٣,٤	٢٠,٢	٢٤,٦	٣٠,٠
معاملة ٢ + ٧	٠,٨	١,٢	٦,٦	١١,٤	١٩,٦	٢٤,٠

ملاحظات على الجدول :

كان يحسب دليل المرض كما في معاملة Anita *et al* سنة ١٩٩٩

$$\text{دليل المرض} = \frac{\text{عدد الوريقات} \times \text{معدل الإصابة الورقية}}{\text{عدد الأوراق الكلية المصابة بالمرض} \times ٤} \times ١٠٠$$

obeikandl.com

أما عند استعمال حمض السلسليك لوحده بتركيز ١٠٠ جزء في المليون ، كانت نسبة الخفض في المرض ٣٧,٨٩٪ . أما عند استعمال حمض السلسليك بنسبة ١٠٠ جزء في المليون + الايثيرال ١٠٠ جزء في المليون ، كانت نسبة الخفض في المرض ٣٠,٤٦٪ . وعلى أية حال فإن حمض السلسليك متحداً مع الهرمونات النباتية الأخرى (حمض الجبرلك ، كاينتين ، نفثالين أستك أسد) لم تكن فعالة .

بالنسبة لإنتاج المحصول ، فقد تم الحصول على أعلى إنتاج باستعمال ١٠ جزء في المليون من أندول بيوترك أسد كانت قيمة الزيادة ٢٧,٨٥٪ عن الكنترول ، يتلوه بعد ذلك استعمال حمض السلسليك متحداً مع الهرمونات النباتية الأخرى . كانت شدة المرض ذات علاقة موجبة معنوية ، مع كمية جراثيم الفطر المتوفرة في الجو ودرجة الحرارة ، بينما كان هناك علاقة سلبية مع الرطوبة أو سقوط الأمطار . هذا يدل على أن ارتفاع درجة الحرارة مع إنخفاض الرطوبة تناسب تكاثر جراثيم الفطر *A. alternata* في الهواء ، وهذا يؤدي بدوره إلى زيادة شدة المرض ويكون ذلك بالقرب من نهاية موسم النمو .

جدول رقم ١١ : العلاقة بين شدة المرض ، الإنتاج ، درجة الحرارة ، الرطوبة النسبية ، الجراثيم في الجو وسقوط الأمطار .

شدة المرض	الرطوبة النسبية	متوسط درجات الحرارة	٪للجراثيم في الجو	كمية الإنتاج كغم/هكتار
١٠	٨٠	١٢	–	٣٢
١٥	٧٢	١٤,٥	١٠	٣٠
٢٠	٦٥	١٥,٨	٢٠	٢٥
٢٥	٥٢	١٦	٢٨	١٥
٣٠	٥٠,٢	١٧,١	٣٨	١٢
٣٥	٣٧,٦	١٨,٥	٥٠	١٠

ملاحظات على الجدول :

كانت تحدد النسبة المئوية للجراثيم في الجو ، وذلك باستعمال أطباق بترى بها ٢٠ مل PDA وبضع

قطرات من الستربتومايسين ، وتعرض هذه الأطباق مكشوفة ، لمدة خمسة دقائق ، بعد أن توضع على ارتفاعات ٥ ، ٥٠ ، ١٠٠ سم من سطح التربة ، ثم بعد ذلك تؤخذ هذه الأطباق وتحضن على حرارة ٢٧° م ، ثم بعد ثلاثة أيام تعد المستعمرات التي في الطبق وتحسب مستعمرات الفطر مسبب المرض ، على أساس أن كل مستعمرة ناتجة من جرثومة واحدة ، وتحسب النسبة المئوية بالنسبة لباقي أنواع الفطريات في الطبق . دليل المرض كما في الجدول السابق .

٥ - مقاومة مرض اللفحة المبكرة في الطماطم باستعمال حمض السلسليك

مقدمة :

يتسبب مرض اللفحة المبكرة في الطماطم عن الفطر *Alternaria solani* . يصنف هذا الفطر على أنه من تحت قسم فطريات Deuteromycotina (Imperfect fungi) ثم صف Hyphomycetes ثم من رتبة Hyphales . يسبب هذا المرض خسائر إقتصادية في كل من الطماطم ، البطاطس والباذنجان . يمكن أن يهاجم هذا المرض المجموع الخضري ، السيقان والثمار في النباتات المصابة . إذا كان حدوث المرض شديداً ، يمكن أن يسبب الفطر تساقط الأوراق وهذا يؤدي إلى خفض كمية الإنتاج .

تعتمد مقاومة هذا المرض بشكل أساسي ، على المبيدات الفطرية الكيماوية ، الدورة الزراعية الطويلة ، تطهير مراقد البذور بالبخار أو المدخنات ، ثم إتجهت المحاولات إلى طريقة تربية النبات لإنتاج أصناف من الطماطم مقاومة للمرض . ونظراً لافتقاد الجين الوحيد للمقاومة والطرق المعقدة فى التطبيقات الوراثية أدى إلى عدم توافر أصناف الطماطم التجارية التي يتوفر فيها مستوى عال أو كافٍ من المقاومة للفطر *A. solani* .

نظراً للمخاطر البيئية والصحية الناتجة عن استعمال المبيدات الفطرية الكيماوية ، اتجهت الأنظار لاستعمال بدائل لهذه الطريقة ، من بينها ، استعمال عوامل تحث وتنشط الوسائل الدفاعية في النبات ، وذلك لتزويده بوقاية ضد الفطر الممرض المذكور . من بين هذه العوامل التي تستجيب لها النباتات ما يعرف باسم المقاومة الجهازية المكتسبة (SAR) ، حيث أنها يمكن أن تزود النبات بوقاية كافية ضد هذا الكائن الممرض .

يمكن للمقاومة الجهازية المكتسبة ، أن تستحث في الدخان والارابدوبسز باستعمال

الهرمون النباتي ، حمض السلسليك Salicylic acid . هناك تقارير عديدة تفيد بأنه يمكن أن تستحث المقاومة الجهازية المكتسبة في الطماطم باستعمال مثيرات (أو مهيجات) حيوية مثـل فيـرس نكـروزز الدخان أو فطـر *P. infestans* . فـي حالـة استعمـال الفطر *P. infestans* ، فإن المقاومة المستحثة ، يمكن أن يكون لها بعض الفعاليـة ضـد الفطر *A. solani* . لا يوجد هناك تقارير تدل على أن المقاومة الجهازية المكتسبة ، يمكـن أن تستحـث فـي الطماطم باستعمـال مثير مأخـوذ مـن مزارع *A. solani* ، مـع أن الفطر *A. cassiae* ، يمتلك الفعالية ليحث المقاومة الجهازية المكتسبة في بعض أنواع الأعشاب المعمرة مثل *Cassia obtusifolia* .

إن إثارة الاستجابة للمقاومة الجهازية المكتسبة ، تسبب التجمع السريع لعديد من عائلات البروتينات المتعلقة بالمرضية (PRs) في المناطق بين الخلايا وخارج الخلايا في الورقة . بعض هذه البروتينات التي تتجمع خلال عملية المقاومة الجهازية المكتسبة ، ذكر على أنها ذات نشاطات أنزيمية (مثل Chitinase و Glucanase) ، هذه النشاطات تتفق مع ميكانزم الدفاع ضد الكائنات الممرضة الفطرية ، الفيروسية ، والبكتيرية. مع أن معظم الجزيئات المتوفرة والمعروفة والمتعلقة تماماً بالمقاومة الجهازية المكتسبة ، هي عائلة بروتينات PR-1 ، إلا أن الدور البيوكيميائي الدقيق لهذه البروتينات يبقى محتاجاً إلى شرح أكثر . إن تعبيرات جينات PR وخلق المقاومة الجهازية المكتسبة ، يمكن أن يحدث في غياب الكائنات الممرضة ، عن طريق إضافة مركبات صناعية مثل ، 2,6- dichloro isonicotinic acid ، والمركب Benzothiadiazole - 7 - carbothioic acid . وعلى أية حال فإن حمض السلسليك ، هـو أول مركب مشتق نباتي أظهـر مقدرته على احداث مقاومة جهازية مكتسبة .

لقد أصبح من المؤكد أن خلق المقاومة الجهازية المكتسبة ، وزيادة مقاومة المرض ، ينتج من المستويات الداخلية المرتفعة لحمض السلسليك في النسيج النباتي . بالإضافة إلى المقاومة الجهازية المكتسبة الناتجة عن رفع مستويات حمض السلسليك في النباتات ، فإن الإضافة الخارجية من حمض السلسليك يمكن أن تحث بكفاءة ، المقاومة الجهازية المكتسبة في بعض النباتات ضد بعض الأمراض إن لم يكن كلها .

لقد ذكر في بعض الأبحاث الحديثة ، أن تغذية حوامل أوراق نباتات الطماطم المفصولة بمادة dichloro-isonicotinic acid أو حمض السلسليك ، يزيد تعبيرات PRs mRNA .

وعلى أية حال فإن هذه الأبحاث لم تذكر محتوى التغيرات الداخلية لحمض السلسليك كإستجابة للمعاملة ، ولا لتكشف المقاومة الجهازية المكتسبة ، نظراً لأن الأوراق المتصلة لم تدخل في الدراسة .

١ - التأثير المباشر لحمض السلسليك على نمو الفطر A. solani في المعمل :

لا يتأثر النمو الميسيليومي للفطر *A. solani* عند إضافة حمض السلسليك إلى البيئة النامي فيها الفطر (جدول رقم ١٢) . كان متوسط قطر المزرعة للفطر ، لا يختلف معنوياً في الكنترول ، عنه عندما يضاف تركيزات مختلفة ، من حمض السلسليك إلى البيئة الغذائية ، من مجال صفر إلى ٢٠٠ ميكرومول .

جدول رقم ١٢ : تأثير حمض السلسليك على النمو الميسليومي للفطر *A. solani* في المعمل .

تركيز SA في البيئة الغذائية ميكرومول	سم قطر المستعمرة	٪ نمو المستعمرة
كنترول	٤,٧	١٠٠
٥٠	٤,٩	١٠٢
١٠٠	٤,٩٥	١٠٢,٥
١٥٠	٤,٨٩	٩٩,٦
٢٠٠	٤,٩	١٠٠,١

٢ - تأثير حمض السلسليك على تعبير جين PR-1B :

لو استحثت تجمعات PR-1B mRNA بواسطة معاملة أوراق الطماطم ، بحمض السلسليك ، فإن تجمعات PR-1B المنسوخة تستحث بعد ٢٤ ساعة من المعاملة بتركيز ٢٠٠ ميكرومول حمض السلسليك . تستمر تجمعات PR-1B mRNA في التعبير القوي بعد ٤٨ ساعة من المعاملة . لا يتكون تخليق أو تعبيرات إضافة لـ PR-1B المنسوخة في الأوراق غير المعاملة بحمض السلسليك خلال فترة الزمن المثالية .

obeikandi.com

٣ - تأثير الإضافة الخارجية لحمض السلسليك على الطماطم :

إن إضافة ٢٠٠ ميكرومول من حمض السلسليك في البيئة الغذائية (مزارع مائية) لجذور الطماطم ، لم يسبب أية تغيرات في إنتفاخ الورقة أو احداث أية مظاهر خارجية للتسمم في المجموع الخضري . وجد في دراسات سابقة أن نباتات الطماطم المعاملة بتركيز ٥٠٠ ميكرومول حمض سلسليك ، يسبب فقداً في انتفاخ الورقة ، وهذا يؤدي بعد ذلك إلى ذبول الورقة . بعد ٢٤ ساعة من المعاملة بحمض السلسليك بتركيز ٢٠٠ ميكرومول ، فإن المستويات الداخلية لحمض السلسليك الحر يزداد معنوياً (حوالي أربعة أضعاف) . أما بعد ٤٨ ساعة فإن المحتوى الداخلي يزداد بحوالي ٦٥ ضعف .

٤ - تأثير الإضافة الخارجية لحمض السلسليك على إصابة الطماطم بالفطر A. solani

إن إضافة حمض السلسليك ، إلى البيئة الغذائية السائلة ، النامية فيها جذور نباتات الطماطم، يؤثر تأثيراً معنوياً على الإصابة ، وتكشف البقع كاستجابة للحقن بالفطر الممرض *A.solani* . يكون عدد البقع لكل ورقة ومساحة النسيج الملفوح الكلي ، منخفضاً معنوياً عندما يضاف الحمض بتركيز ٢٠٠ ميكرومول في البيئة . تصبح نباتات الطماطم المحقونة بالجراثيم الكونيدية للفطر والتي لم يضاف إليها حمض سلسليك خارجي مريضة ، تظهر فيها لفحة الأوراق بحوالي ٤,٨ ضعف ما هو حادث في النباتات المعاملة بحمض السلسليك . الزيادة الطبيعية الحادثة داخلياً لمستوى حمض السلسيك الحر ، لم تتغير معنوياً كاستجابة للإصابة بالفطر . ويمكن القول باختصار :

١ – إن إضافة ٢٠٠ ميكرومول من حمض السلسليك إلى الجذور تزيد معنوياً المحتوى الداخلي للحمض في الأوراق .

٢ – يزداد مستوى الحمض الحر ، حتى يصل ٦٥ ضعف بعد ٤٨ ساعة من الإضافة ، وهذا ليس له أية تأثيرات سامة على النبات .

٣ – يزداد المحتوى الكلي لحمض السلسليك (الحر + SA - glucose conjugate) زيادة معنوية .

٤ – تعبيرات جين البروتينات المتعلقة بالمرضية PR-1B ، تستحث بقوة خلال ٢٤ ساعة من إضافة كمية أل ٢٠٠ ميكرومول من الحمض ويستمر هذا التعبير بعد ٤٨ ساعة ،

مع أن تخليق هذا الـ PR-1B لا يلاحظ في النباتات التي لا تعامل بحمض السلسليك .

٥ - إن حقن النباتات المعاملة بحمض السلسليك ، بالجراثيم الكونيدية للفطر الممرض *A. solani* يؤدي إلى خفض بنسبة ٨٣٪ من عدد البقع/ ورقة ، وخفض بنسبة ٧٧٪ في مساحة الورقة الملفوحة بالمقارنة مع الكنترول . هذا يعني أن حمض السلسليك يشجع المقاومة الجهازية المكتسبة في نباتات الطماطم ضد الفطر الممرض *A. solani* .

obeikandl.com

٤ - الجسمونات JASMONATES

مقدمة :

إن التواجد الكلي المنتشر للجسمونات JA والميثايل إستر لها MeJA ، في جميع أنواع النباتات الراقية قد درس بتوسع ، وهذا أدى إلى معرفة الدور السائد لهذه الجزيئات في ميتابولزم النبات .

تشتق الجسمونات من حمض الـ Linolenic ، وذلك بواسطة عملية الأكسدة الوسيطة لأنزيم Lipoxygenase (LOX) . ولها تركيبات مشابهة لـ eicosanoids في الثدييات والتي هي أيضاً تشتق من الأحماض الدهنية من خلال فعل أنزيم LOX . تتحرك الجسمونات في النبات بسهولة في كل من الطور السائل والطور الغازى . أما بالنسبة لميثايل جسمونات ، فهي تكون موجودة على شكل بخار (متطاير) ، مما يؤدي إلى القول ، بأنها يمكن أن تعمل أيضاً في الشكل الغازي في النظير المماثل للهرمون النباتي إثيلين .

تؤثر الجسمونات على عديد من العمليات الفسيولوجية المختلفة في النبات ، من ضمنها نمو الجذور ، تكوين الدرنات ، التفاف المحاليق ، شيخوخة الأوراق وفتح الثغور . هناك دور إضافي للجسمونات ، حيث أنها يمكن أن تقع في دور وسيط لاستجابة النباتات للضغوطات الخارجية ، مثل المهاجمة من قبل الكائنات الممرضة أو الحشرات الماضغة . التركيزات المنخفضة من JA تحث مثبطات أنزيم الـ Proteinase ، وهي Thionin ، Osmotin ، بروتين جدار الخلية الغني بالبرولين ، وأنزيمات أخرى مختلفة ، داخلة في تفاعلات دفاع النبات، مثل Chalcone synthose ، PAL و LOX . إن تخليق هذه البروتينات يؤدي إلى القول ، بأن هناك دوراً لـ JA في مساعدة النباتات لوقف نمو الكائنات الدقيقة الممرضة . هناك أدلة إضافية تدعم فكرة دخول الـ JA في المقاومة النباتية ، قد تم الحصول عليها من ملاحظة ، أن تجريح النباتات أو معاملة مزارع الخلية بمثيرات فطرية ، يؤدي إلى زيادة في عملية البناء الحيوي لـ JA .

دور الجسمونات في المقاومة الجهازية المكتسبة :

إن دور الجسمونات و MeJA في تخليق المقاومة الجهازية المكتسبة ، بقي غير واضحاً حتى سنة ١٩٩٧ ، ثم بعد ذلك أجريت دراسات عديدة على هذه المادة ، تبين أن جزيئات

JA تعمل كناقل ثانوي في نظام المقاومة الجهازية المكتسبة ، بشكل مماثل للاستجابة الجهازية المستحثة بواسطة التجريح .

التقارير المذكورة عن تخليق حالة مقاومة في النباتات باستعمال JA ، بقيت متناقضة لغاية سنة ١٩٩٤ ، إلا أن Mitchell & Walters سنة ١٩٩٥ قاما بتجارب مؤكدة تنفي كل ما سبق من تناقضات . أثبت هذان العالمان أنه يمكن تخليق مقاومة جهازية في نبات الشعير ضد الإصابة بفطر البياض الدقيقي *Erysiphe graminis* f. sp. *hordei* ، عن طريق معاملة الأوراق الأولى في البادرات بمادة MeJA . وكذلك فإنهما قاما بقياس الزيادة في نشاطات الـ PAL ، Peroxidase و LOX في الأجهزة الورقية . عند معاملة بادرات القمح بمادة MeJA ، قبل حقنها بالسلالة شديدة المرضية لفطر البياض الدقيقي للقمح *E. graminis* f. sp. *tritici* ، فإن نباتات القمح تعطي درجة عالية من المقاومة تظهر على شكل حليمات في منطقة محاول دخول الكائن الممرض ، مقارنة مع نباتات الكنترول . كذلك فإن Cohen *et al* سنة ١٩٩٦ خلّق مقاومة جهازية في نباتات البطاطس والطماطم ضد الفطر *Phytophthora infestans* عن طريق استعمال JA و MeJA . أما في الأرز فإن حقن النباتات بالكائن الممرض مسبب لفحة الأرز *Magnaporthe grisea* ومعاملة النباتات بمادة 2,6 - dichloro - isonicotinic acid (INA) وهو حاث صناعي على المقاومة ، أدى إلى زيادة في مستويات JA وبالتالي أدى إلى زيادة مقاومة النبات للمرض . وفي تجارب مماثلة تبين أن استعمال JA لم يؤدي إلى مقاومة موضعية ، إلا أنه يؤدي إلى مقاومة جهازية في الجزء العلوي من الورقة . كذلك تبين أن الجروح تحث على التجمع الجهازي والموضعي لـ JA ، إلا أنه لم يتواجد جينات معلمه للجروح المستحثة .

لقد تبين حديثاً أن حقن نبات الارابدوبسز ، بسلالة ضعيفة الشدة المرضية ، من الفطر *A. brassicola* يؤدي إلى زيادة في الـ JA الداخلي في الأوراق المعاملة ، بالإضافة إلى الأوراق العلوية غير المعاملة . ولقد بين Penninck سنة ١٩٩٧ أن معاملة النباتات بمادة MeJA ، تحث على تجميع مادة دفاعية ، مضادة فطرية ، ليست PR-1 ، بينما إضافة حمض السلسليك أو المركب INA المذكور سابقاً يؤدي إلى تجميع PR-1 ولكنها ليست دفاعية . هذه النتائج ، بالإضافة إلى نتائج تجارب استعمال طفرات نبات الارابدوبسز المتأثرة في مواقع مختلفة من ممر النقل الإشاري ، أدى إلى القول، بأن هناك ممرين مختلفين ، كلاهما يستحث بواسطة الكائنات الممرضة ، ولكن إحداهما يؤدي إلى تعبيرات PR-s عن

طريق حمض السلسليك ، والآخر يؤدي إلى تجمع الجسمونات وتخليق مقاومة جهازية مكتسبة .

هناك عوامل إضافية تقوي هذه الفرضية ، أتت من حقيقة أن جينات دفاع أخرى تتبع النظام المستقل عن حمض السلسيك في تخليق المقاومة ، مثل Thionin (Thi 2 - 1) حيث أنه يستحث في نبات الارابدوبسز بعد الحقن بالفطر فيوزاريوم و MeJA ، ولكن ليس بواسطة المعاملة بحمض السلسليك . يبدو أيضاً أن هناك بعض التداخلات بين الممرين ، نظراً لأن الاسبرين وحمض السلسليك كلاهما يثبط البناء الحيوي للجسمونات في النبات .

تأثير الجسمونات على لفحة الفايتوفثورا في البطاطس والطماطم :

إن كلاً من حمض الجسمونك Jasmonic acid (JA) ومادة ميثيل إستر جسمونك Jasmonic methyl ester (MeJA) ، هي مشتقات دهون نباتية والتي ثبت بأنها تلعب دوراً هاماً عند تجريح النبات ، وكذلك تدخل في تخليق مقاومة جهازية مكتسبة .

١ - سمية الجسمونات على النبات :

عند استعمال JA أو MeJA بتركيز أعلى من ١٠٠٠ ميكروغرام/مل على النبات ، فإن ذلك يسبب اصفرار خفيف في نبات الطماطم والبطاطس بعد ٢ - ٣ أيام من الرش ، بغض النظر عن التشكيلات التي استعمل عليها . يكون تركيز الاصفرار شديداً عند استعمال تركيز ٢٥٠٠ ميكروغرام/مل ، ويكون مصحوباً بخفض نمو النبات عند تركيز أعلى من ٥٠٠٠ ميكروغرام/مل .

عند استعمال JA و MeJA بتركيز ١٠٠ ميكروغرام بالإضافة إلى ١٠٠٠ ميكروغرام/مل ، لا تؤثر بشكل معنوي على محتويات النبات من كلوروفيل A أو B . وعلى أية حال فإن MeJA بتركيز ١٠٠٠ ميكروغرام لكل مل يخفض محتوى كلوروفيل A بنسبة ١٨٪ وكلوروفيل B بنسبة ١٩٪ ، والكاروتينات الكلية بنسبة ٢٠٪ . يكون المحتوى الداخلي للجسمونات في النباتات غير المعاملة أقل من ٠,١ ميكرومول/غرام من الوزن الطازج. يمكن القول بأنه لا يوجد فايتوالكسن ، لا في الطماطم ولا في البطاطس نتيجة استعمال JA أو MeJA .

٢ - الوقاية الموضعية لنباتات البطاطس :

عند استعمال كل من JA أو MeJA رشاً على سطوح الأوراق ، فإنه يقيها عندما تحقن بالفطر الممرض رشاً على الأوراق كما في جدول (رقم ١٣) . تعتمد درجة الوقاية على تركيز الجسمونات ، وعلى الفترة الفاصلة بين استعمال هذه المركبات والرش بالكائن الممرض . عندما تكون الفترة الفاصلة ساعتين ، فإن وقاية النبات تصل ٩٢٪ عند استعمال JA بتركيز ١٠٠ميكروغرام/مل وتصل إلى نسبة ١٠٠٪ عند تركيز ١٠٠٠ ميكروغرام/مل. عندما تكون الفترة الفاصلة خمسة أيام ، يكون هناك أعلى حفظ ووقاية للنبات باستعمال JA . إذا زادت الفترة الفاصلة إلى ثمانية أيام ، تنخفض نسبة الوقاية إلى ٦٧ ، ٧٧ ، ٧١ ، ٢٤٪ عند استعمال MeJA بتركيز ١٠٠ و ١٠٠٠ ميكروغرام .

أما عند استعمال JA رشاً على السطح السفلي للأوراق ، فإن نسبة الوقاية تنخفض إلى ٨٥٪ على تركيز ١٠٠٠ ميكروغرام/مل مقارنة مع السطح العلوي . أما عند استعمال JA على السطح السفلي للأوراق ويحقن الفطر الممرض على السطح العلوي للأوراق ، تكون أعلى نسبة للوقاية ، حيث تصل إلى ٨٥٪ وذلك عند استعمال تركيز ٥٠٠٠ ميكروغرام/مل.

جدول رقم ١٣ : تأثير استعمال JA و MeJA رشاً على نباتات البطاطس ، على تكشف مرض اللفحة المتأخرة ، وتأثير الفترة الفاصلة بين الحقن والرش على تكشف المرض .

الفترة بين الرش والحقن	ميكروغرام/مل تركيز المحلول	عدد البقع لكل نبات	ملم حجم البقعة	ملم٢ المساحة الملفوفة من الورقة	٪ نسبة الوقاية
٢ ساعة	كنترول	٤٨	٤,١	٦٠٣	–
	١٠٠ JA	٧	٣	٤٩	٩٢
	١٠٠٠ JA	صفر	–	–	١٠٠
	١٠٠ MeJA	٣٧	٤	٤٦٥	٢٣
	١٠٠٠ MeJA	٦,٠	٣,٥	٥٨,١	٩٠,٠
٥ أيام	كنترول	٢٨,٢	٤,٢	٣٨٨	–
	١٠٠ JA	١٠,١	٣,١	٧١,–	٨٢
	١٠٠٠ JA	٣,٢	٢,٤	١١,–	٩٧
	١٠٠ MeJA	–	–	–	–
٨ أيام	كنترول	١٢١	٦,٧	٤٣٠٠	–
	١٠٠ JA	٧٩	٤,٧	١٤٠٠	٦٧
	١٠٠٠ JA	٥٢	٤,٩	٩٨٠	٧٧
	١٠٠ MeJA	٨٣	٤,٤	١٢٦٠	٧١
	١٠٠٠ MeJA	١١٨	٥,٩	٣٢٧٠	٢٤
١١ يوم	كنترول	–	–	٦٤	–
	١٠٠ JA	–	–	٦٩	٨
	١٠٠٠ JA	–	–	٤٤	–
	١٠٠ MeJA	–	–	٦٣	٢
	١٠٠٠ MeJA	–	–	٥٣	١٧

٣ - الوقاية الجهازية لنباتات البطاطس :

يتبين من الجدولين (١٤، ١٥) أن استعمال JA بتركيز ٢٠٠٠ ميكروغرام/مل ، أعطى أعلى نسبة وقاية للنباتات ، ٨٠٪ ، عندما تكون الفترة الفاصلة بين الرش والحقن

obeikandi.com

بالكائن الممرض خمسة أيام ، وأعطى نسبة وقاية ٨٥٪ عندما كانت الفترة الفاصلة ٣ أو ٤ أيام . أما استعمال MeJA بتركيز ٢٠٠٠ ميكروغرام/مل ، أعطت وقاية ٧٧٪ عندما كانت الفترة الفاصلة خمسة أيام ، وأعطت نسبة وقاية ٩٣٪ عندما كانت الفترة الفاصلة ٣ أو ٤ أيام .

جدول رقم ١٤ : تكشف مرض اللفحة المتأخرة على نباتات البطاطس المعاملة على السطح السفلي للأوراق بمادة JA والمحقونة على السطح العلوي للأوراق بالفطر الممرض وكانت الفترة بين الحقن والرش خمسة أيام .

التركيز ميكروغرام/مل	عدد البقع لكل نبات	ملم٢ مساحة البقعة	ملم٢ المساحة الملفوفة من الورقة	٪ نسبة الوقاية من المرض
كنترول	٤٢	٤,٨	٧٦٠	–
١٠٠٠	١٠	٤,٢	١١٣	٨٥
٢٥٠٠	١٦	٤,٣	٢٣٢	٧٠
٥٠٠٠	١٠	٣,٨	١١٣	٨٥
١٠٠٠٠	١٢	٤,٤	١٨٢	٧٦

obeikandl.com

جدول رقم ١٥ : الوقاية الجهازية المستحثة في الأوراق العلوية لنباتات البطاطس ضد الفطر المسبب لمرض اللفحة المتأخرة ، باستعمال JA أو MeJA المضاف إلى الأوراق السفلية .

تركيز المركب المستعمل ميكروغرام/مل	ظهور الأعراض المرضية على الأوراق العلوية					
	بعد ٣ – ٤ أيام				بعد خمسة أيام	
	عدد البقع /نبات	ملم٢ حجم البقعة	ملم٢ المساحة الملفوحة	٪وقاية	٪ مساحة الورقة الملفوحة	٪وقاية
كنترول	٩٠	٥	١٧٦٧	–	٧١	–
JA ١٠٠٠	٦٧	٥	١٣١٦	٥٦	٣٣	٥٤
JA ٢٠٠٠	٤٤	٣,٢	٣٥٤	٨٠	١٨,٣	٧٥
MeJA ١٠٠٠	٦٦	٣,٣	٥١٣	٧١	٢٨,–	٦١
MeJA ٢٠٠٠	٥٣	٤,٠	٦٦٠	٦٣	١٩	٧٣

٤ - الوقاية الجهازية والموضعية في نباتات الطماطم :

تزداد نسبة الوقاية الموضعية والجهازية في نباتات الطماطم ، بزيادة الجرعة المستعملة من JA لغاية ٢٥٠٠ ميكروغرام/مل . على هذا التركيز ، فإن الوقاية الموضعية والجهازية تصل إلى مستوى ٨٢٪ و ٦٦٪ بالترتيب . عندما ترش النباتات بمحلول الاسيتون لكل من الـ JA و MeJA (٦٢,٥ – ١٠٠٠ ميكروغرام/مل) على السطح العلوي للأوراق ، ثم تحقن النباتات بعد ذلك بمدة خمسة أيام ، بالكائن الممرض ، تبين أن JA و MeJA بتركيز ١٠٠٠ ميكروغرام/مل تسبب اصفراراً فـي الأوراق العلوى للنبات بعد ٢ – ٣ أيام من الرش . كانت نباتات الكنترول بعد أربعة أيام من الحقن تظهر فيها نسبة الإصابة ٨١٪ . تبين من التجارب أن JA يعطي أو يسبب مقاومة معنوية تحفظ النباتات من المرض بالمقارنة مع MeJA في جميع التركيزات . عندما كانت تركيزات JA ١٢٥ ، ٢٥٠ ، ٥٠٠ ، ١٠٠٠ كانت نسبة الأوراق الملفوحة من النبات ٤٢٪ ، ٥٨٪ ، ٥٠٪ و ٤٠٪ . أما عند استعمال MeJA بنفس التركيز كانت نسبة الأوراق الملفوحة ٦٢، ٦٣، ٦٠، ٦١٪ بالترتيب وكانت نسبة الإصابة في الكنترول ٨٠٪ .

نتيجة لهذه التجارب ، يمكن القول ، بأنه يفضل استعمال JA في مقاومة مرض اللفحة المتأخرة في الطماطم بالتركيزات المذكورة سابقاً .

٥ - السستمين The Systemin

مقدمة :

بعد مهاجمة الحشرات للنبات ، يحدث هناك استجابة في النبات ، تنعكس على شكل تجمع مثبطات أنزيم البروتينز Proteinase في الأوراق المجروحة وغير المجروحة . يكون عمل مثبطات الأنزيم ، تثبيط نشاط أنزيم الهضم الموجود في القناة الهضمية في الحشرة ، وهذا يؤدي إلى سوء التغذية ، خفض النمو وأحياناً موت الحشرات المتغذية . الحث أو التخليق الجهازي لمثبطات البروتين ، قد درست بشكل واسع في كل من البطاطس والطماطم ، درس بدون تفصيل في أنواع نباتية أخرى من ضمنها البرسيم الحجازي ، البطيخ والذرة . عزلت إشارة جهازية من الطماطم ، ووجد أنها تتكون من ببتايد يتكون من ١٨ حمض أميني ، يسمى سستمين Systemin . تكون كمية السستمين منخفضة كما في حال الـ Femtomoles وتحث على بناء مثبطات الأنزيم Proteinase من جديد عند إضافتها لنباتات الطماطم الحديثة . الببتايد المصنع يحتفظ بكامل كفاءته في الحث كما هو الحال في الببتايد الطبيعي .

هناك مركبات أخرى مثل حمض الابسيسك Abscisic (ABA) والجسمونات ، تحث أنزيم Proteinase (Pin2) مثبط البروتين وتعبيرات الجين في الأوراق المعاملة ، وفي الجهاز الورقي كله . يكون هناك زيادة في مستويات حمض الابسيسك والجسمونات بعد عملية التجريح .

لا يتجمع في نباتات الطماطم والبطاطس Pin2 mRNA ، عندما تفتقر إلى حمض الابسيسك بعد عملية التجريح . هذا يؤدي إلى القول بأن حمض الابسيسك يتدخل في بعض المراحل خلال تخليق Pin2 بواسطة التجريح . كما وأن معاملة أوراق البطاطس بالجسمونات تحث على تجميع Pin2 mRNA في الأنواع الأصلية (البرية) وفي نباتات الطفرة التي تفتقد حمض الابسيسك .

هذه النتائج تؤدي إلى القول ، بأن الجسمونات داخلة في خطوة من خطوات جريان حمض الابسيسك في ممر نقل إشارة الجرح ، مؤدية إلى تنشيط جين Pin2 ، ومن ناحية أخرى فإن السستمين يحث تعبيرات جين Pin2 في الأنواع الأصلية من نباتات الطماطم والبطاطس ، ولكن ليس في النباتات التي تفتقر إلى حمض الابسيسك ، نظراً لأن كل

منهما ضار ميكانيكياً . وجد أن السستمين يحث تعبيرات جين Pin2 ويؤدي إلى زيادة في المحتوى الداخلي من حمض الابسيسك والجسمونات ، ومن المحتمل أن السستمين ينظم المستويات الداخلية لكل من حمض الابسيسك والجسمونات . وبناء على نتائج الدراسات الكثيرة ، في هذه الموضوع ، تبين أن المعاملة بحمض الابسيسك ، يؤدي إلى زيادة في الجسمونات ، ولكن المعاملة بالجسمونات لا تؤدي إلى زيادة في حمض الابسيسك . من ذلك يتبين أن السستمين وحمض الابسيسك يسيران في عملهما بعكس عمل الجسمونات.

حركة السستمين في النبات :

عند دراسة حركة السستمين في النبات ، يستعمل السستمين ذو الكربون المشع ١٤ ، عند إضافة هذا المركب إلى نباتات الطماطم المجروحة ، فإنه يتوزع خلال جروح الورقة خلال نصف ساعة ، ثم ينتقل إلى حامل الورقة ، الساق والأوراق العلوية خلال عدة ساعات. تكون حركة السستمين المعلم في النبات مشابهة لحركة السكروز المعلم بكربون ١٤ المضاف إلى جروح الورقة ، كما وأن عملية الـ Translocation للسستمين (H^3) تتثبط بكاشف الـ Sulfhydrl وهو مركب كيماوي P-chloromercuri benzene sulfonic acid والذي هو مثبط لـ apoplasmic اللحاء ، محمل وغير محمل بالسكروز . وبالتالي فإن عملية الـ Translocation للسستمين من المحتمل أن تحدث بواسطة ميكانزم مشابه لعملية Translocation للسكروز من منطقة الابوبلاست إلى اللحاء حيث ينتقل جهازياً .

بناء السستمين :

يبنى السستمين على أساس أنه بادئ لبروتين يتكون من ٢٠٠ حمض أمينيي ، السستمين الأولي Prosystemin مع سلسلة سستمين تقع في C-terminus . لا يمتلك السستمين الأولي تتابع إشاري للتأشير إلى ممر الإفراز ، وبالتالي يمكن أن يخزن في السيتوبلازم . mRNA لمادة السستمين الأولي موجود خلال نباتات الطماطم ما عدا الجذور ويتجمع في الأوراق بعد التجريح . تؤدي التعبيرات العالية لجين السستمين في نباتات الطماطم المحولة وراثياً ، إلى تعبيرات أساسية لمثبطات الـ Proteinase في غياب التجريح . كما وأن تطعيم الجـزء العلوي من نباتات الطماطم غير المحولة ، علـى الجـزء السفلي المحول Transformed مع جين السستين الأولي ، يؤدي إلى تعبيرات أساسية لأنزيم

obeikandi.com

البروتينيز المثبط للبروتينات في جميع النبات . وبالتالي فإن الإشارة المتنقلة ، السستمين ، تتولد بواسطة تعبيرات السستمين الأولي المحول وراثياً وتنتقل من الجزء السفلي المحول وراثياً خلال التطعيم إلى الجزء العلوي غير المحول ، حيث أن هناك تنشيط جينات مثبط البروتينيز. نباتات الطماطم المحولة بــ Antisense prosystemin CDNA ، تظهر خفضاً كبيراً في تعبيرات مثبطات البروتينيز بعد التجريح .

السستمين وأمراض النبات :

نباتات الطماطم التي تظهر تعبيرات عالية لجين السستمين الأولى ، تظهر أيضاً زيادة في مستويات أنزيم أكسدة البولي فينولز ، وتزود نباتات الطماطم الحديثة بالسستمين من خلال السيقان المقطوعة ، التي تحث نشاط أنزيم أكسدة البولي فينولز في الأوراق . هذا الأنزيم يستحث بعد التجريح أيضاً . كذلك فإن السستمين يحث أيضاً بناء mRNA لأنزيم اسبارتك بروتينيز في نباتات الطماطم ، وتبين حديثاً أن البروتين المرتبط مع السستمين قد تم عزله من أغشية بلازما ورقة الطماطم ، وأن هذا البروتين مشابه للخميرة ولبعض الأنزيمات الحيوانية .

مع أن هناك نتائج عديدة ، قد أشارت إلى السستمين على أنه إشارة جهازية حاثه على بناء مثبط البروتينيز بعد التجريح ، إلا أن تجارب أخرى أثبتت أن هناك ثلاثة إشارات أخرى قد تم اكتشافها ، ذات تنشيط لمسافات طويلة لتعبيرات جينات مثبطات البروتينيز ، وهي حمض الابسيسك ، إشارات إلكترونية وإشارات hydraulic .

بعد رش الجزء السفلي من المجموع الخضري لنباتات البطاطس المفتقدة لحمض الأبسيسك ، بمادة حمض الابسيسك ، فإن مستويات هذا الحمض تزداد في الأنسجة البعيدة غير المرشوشة ويتجمع Pin2 mRNA . تكون النباتات المفتقدة إلى حمض الابسيسك غير قادرة على بناء هذا الحمض من جديد ، وبالتالي من الممكن أن الإضافات الخارجية لحمض الابسيسك تنقل إلى النسيج غير المرشوش . لقد وجد Pearce & Ryan سنة ١٩٦٦ أن تزويد نباتات الطماطم الصغيرة بحمض الابسيسك ، يؤدي إلى تجمع كميات صغيرة جداً من أنزيم البروتينيز مثبط البروتين ، مقارنة مع المستويات التي تصلها بعد المعاملة بالسستمين ، وبالتالي يبدو أن حمض الابسيسك يكون مطلوبا للاستجابة بالجرح ولكنها لا تسلك كإشارة أولية للجرح .

٦ - مركب الـ Benzothiadiazole ودوره في المقاومة الجهازية المكتسبة

أ - مقاومة مرض البياض الزغبي في عباد الشمس

مقدمة :

نشرت دراسات عديدة ، فـي مجال مقدرة النبات على إظهار مقاومة ضد عوامل حيوية، مثل البكتيريا ، الفطريات ، والفيروسات وعوامل غير حيوية فيزيائية وكيميائية . هناك عديد من الميكانيكيات تتعلق بهذا الموضوع يمكن تنشيطها بواسطة الإصابة الموضعية الميكروبية ، والتي فيها تظهر الإستجابة الأولى للنبات ، على شكل موت خلية موضعية ، وتسمى هذه الظاهرة تفاعل فرط الحساسية (hypersensitive reaction) ثم بعد ذلك بإنتاج الفايتوالكسن ، تكوين الكالوس واللجننـة . هذا بالإضافة إلى تنشيط نظام دفاعي في النبات يسمـى المقاومة الجهازية المكتسبة Systemic Acquired Resistance (SAR) . أظهرت الدراسات البيوكيميائية أن استجابة SAR تكون مرتبطة بتجمع مركبات تسمى بروتينات متعلقة بالمرضية Pathogenesis Related proteins (PRs) ، هذه تشمل كل من β-1,3- glucanases و Chitinases وبروتينات غنية بالسستين متعلقة بـ Thaumatin والبروتينات PR-1 .

أثبتت الدراسات الحديثة أن معاملة النباتات بعوامل كيماوية مصنعة ، يمكن أن تستحث استجابة SAR . هناك كثير من المركبات أثبتت مقدرتها الجيدة على وقاية كثير من النباتات من الإصابة بالكائنات الممرضة الفطرية والبكتيرية ، في الصوبا الزجاجية ، بالإضافة إلى الزراعات تحت الظروف الحقلية . هذه الوقاية تكون عن طريق الحث على تخليق مقاومة جهازية مكتسبة في النبات .

هناك دراسات حديثة أخرى ، قد أثبتت أن معاملة النبات بمادة حاثة على SAR تسمى Benzo (1,2,3) thiazole - 7 - carbothioic acid - s - methy ester (BTH) ، قادرة على وقـاية عديداً من المحاصيل ضـد مجموعة من الأمراض ، هـذا ما أثبتـه كـل مـن Kessmann ومساعديـه سـنة ١٩٩٦ ، وكـذلك Ruess *et al* سنة ١٩٩٦ و Gorlach *et al* سنة ١٩٩٦ .

يباع في الأسواق مركب BTH تجارياً تحت اسم Bion ويستعمل في كثير من مناطق العالم الزراعية .

مركب BTH ومقاومة مرض البياض الزغبي في عباد الشمس :

عند استعمال BTH على شكل معاملة تربة أو رشاً على المجموع الخضري ، فإنه يظهر وقاية جيدة ضد مرض البياض الزغبي ، المتسبب عن الفطر *Plasmopara helinthi* في نباتات عباد الشمس . إن عملية غمر التربة بمعدل ١٥٠ – ٢٠٠ ملغ/كغم تربة وتكرار ذلك ثلاثة مرات ، بمعدل كل يوم مرة ، وتوقف قبل الحقن بالكائن الممرض بثلاثة أيام ، أعطت وقاية ضد المرض بنسبة ٨٠ – ٨٢٪ . أما عند استعمال تركيز ٣٠٠ ملغ/كغم تربة أعطت وقاية ٩٠٪ ، إلا أنه هنا ، ظهرت أعراض التسمم على النبات .

كما وأن هذا المركب ، يعطي وقاية جيدة ضد الفطر الممرض المذكور ، عندما يضاف للتربة قبل الحقن بالكائن الممرض بمدة يوم واحد ، وكذلك عند استعماله بعد الحقن بيوم واحد أيضاً . (جدول رقم ١٦) . في التجارب المعملية التي أجريت لمعرفة التأثير المباشر لهذا المركب على نمو الفطر *P. helianthi* في المعمل ثبت أن ليس له تأثير على نمو الفطر .

جدول رقم ١٦ : تأثير BTH على فطر البياض الزغبي لعباد الشمس ، عند استعماله معاملة تربة أو رشاً على المجموع الخضري على فترات مختلفة قبل أو بعد الحقن بالكائن الممرض .

طريقة استعمال المركب BTH	التركيز ميكروغرام/مل	موعد المعاملة باليوم		٪ نباتات مصابة	٪ وقاية
		قبل الحقن	بعد الحقن		
كنترول	صفر	صفر	–	٧٥	–
معاملة تربة	٣	٣	–	٠٥	٩٣
معاملة تربة	٤	٣	–	٢,٠	٩٧
رش المجموع الخضري	٣٥	١	–	٢٠,٠	٧٣
رش المجموع الخضري	٧٠	١	–	٢٥,٠	٦٦
رش المجموع الخضري	٣٥	–	١	٥٠,٠	٣٣
رش المجموع الخضري	٧٠	–	١	٢٥,–	٦٧

obeikandl.com

أما عند استعمال المركب BTH مضافاً إليه مادة Metalaxyl كمعاملة تربة بمعدلات منخفضة ، فإنه أعطى معدلات عالية من المقاومة ضد المرض ، وأن هذه النتيجة لم تكن مختلفة معنوياً عن استعمال الميثالكسايل لوحده (جدول رقم ١٧) . إن مركب BTH إذا استعمل معاملة تربة أو رشاً على المجموع الخضري فإنه يقي نباتات عباد الشمس من الإصابة بالفطر سواء كانت عن طريق التربة أو عن طريق المجموع الخضري .

جدول رقم ١٧ : تأثير استعمال BTH بتركيزات مختلفة مضافاً كمعاملة تربة ، بجرعات مختلفة (ثلاثة أيام قبل الحقن) متحداً مع مادة ميثالكسايل ، مضافة كمعاملة بذور بتركيز ١٠٠ و ٢٠٠ غرام/ كنتال حبوب ، على الإصابة بفطر البياض الزغبي في عباد الشمس .

تركيز BTH ملغ/كيلوتربة	ميثالكسايل ١٠٠ غ لكل قنطار بذور		ميثالكسايل ٢٠٠ غ لكل قنطار بذور		بدون ميثالكسايل	
	٪إصابة	٪وقاية	٪إصابة	٪وقاية	٪إصابة	٪وقاية
صفر	١٢	٩٠	١٤	٨٨	٨٥	–
١٠٠	٨	٩٤	٥	٩٥	٣٨	٦٨
١٥٠	٤	٩٧	٥,٥	٩٤	٢٠	٨٠
٢٠٠	٢	٩٩	٢	١٠٠	١٤	٨٤
٢٥٠	–	–	–	–	٥	٩٥
٣٠٠	–	–	–	–	٢	٩٣

ملاحظات على الجدول : الميثالكسايل مبيد فطري اسمه التجاري أبرون ، يوصى باستعماله بتركيز ٦٠٠ غرام لكل قنطار بذور .

obeikandl.com

ب - مقاومة مرض لفحة الأرز

Rice Blast

مقدمة :

لقد وصفت المقاومة الجهازية المكتسبة ، ضد كثير من الكائنات الممرضة ، في كثير من النباتات سواء كانت احادية الفلقة أم ثنائية ، خاصة بعد أن تهاجم هذه النباتات بكائنات ممرضة غير متوافقة معها . أما بالنسبة للأرز فقد ذكر أن المركب BTH يحث النبات على تخليق مقاومة كما في نباتات الارابدوبسز ، الفاصوليا ، الصليبيات ، الخيار ، الدخان ، القمح وعباد الشمس . يباع هذا المركب في الأسواق تجارياً تحت اسم Bion ويستعمل على نطاق واسع في أمريكا في مقاومة كثير من أمراض النبات .

في كثير من نباتات ثنائية الفلقة ، فإن BTH يستحث مجموعة من جينات SAR ، من ضمنها مجموعة من البروتينات المتعلقة بالمرضية PRs وخاصة العائلات من ١ – ٥ . كذلك فإن نفس الجينات قد استحثت بواسطة مهاجمة الكائن الممرض وبواسطة حاثات بيولوجية لـ SAR . في القمح ، فإن عدداً من cDNAs مشابهة للجينات المستحثة بواسطة BTH قد تم عزلها ، وتبين بأنها تتبع مجموعات من الجينات غير التي تتبع لـ SAR في الدخان ونبات الارابدوبسز .

وبالمثل فإن هناك جيناً في الأرز يستحث بواسطة حاث المقاومة Probenazole ، وهذا أيضاً غير تابع إلى الجينات الكلاسيكية للمقاومة الجهازية المكتسبة (SAR genes) . جينات القمح المستحثة بواسطة BTH ، غير قابلة بأن تستحث بواسطة حاثات بيولوجية لمقاومة *Erysiphe graminis* f.sp. *hordi* . بينما جينات القمح المستحثة بالكائن الممرض لم تكن تستحث بواسطة BTH . وبالمقابل فإنه في حالة الارابدوبسز والدخان والخيار فإن جينات SAR تستحث بكلا الطريقتين بالكائن الممرض الذي يستحث SAR بالإضافة إلى BTH.

مركب BTH ومرض لفحة الأرز :

إن معاملة بادرات الأرز بمادة BTH ، تكسب النباتات مقاومة ضد المهاجمات التالية بالفطر المسبب لمرض لفحة الأرز *Magnaporthe grisea* . إن هذه المادة تباع الآن في الأسواق تحت اسم Bion لوقاية نبات الأرز من هذا الفطر . إن عملية إشباع التربة بمادة

obeikandl.com

BTH ، تحث المقاومة في بادرات الأرز ضد الفطر المذكور كما يبدو من (جدول رقم ١٨). إن أفضل مقاومة قد تم الحصول عليها ، عند استعمال أقل جرعة وهى واحد جزء في المليون . إن العلاقة العكسية بين جرعة BTH وحصول الوقاية ، يدعم الرأي الذي يقول إن هذا المركب ، يعمل بشكل غير مباشر ، عن طريق استحداث المقاومة في النبات العائل ، أكثر منها عن طريق التأثير المباشر على الفطر .

أما عن الجينات المستحثة بواسطة BTH في الأرز فهى ١٤ وهي PIR 7b ، PIR2 ، PIR3 ، ITP5 ، ITP8 إلى ITP17 وهي مشابهة للجينات المستحثة بواسطة المركب INA .

جدول رقم ١٨ : وقاية نباتات الأرز من مرض اللفحة المتسبب عن الفطر *M. grisea* عن طريق معاملة التربة بمركبBTH .

المعاملة	التركيز جزء في المليون	عدد البقع / ورقة	٪إصابة فعليـــة
كنترول	–	١١,٣	١٠٠
BTH	١,٠	٢,١	١٩
BTH	١٠,٠	٤,٣	٣٨
BTH	١٠٠,٠	٧,١	٦٦

جـ - مقاومة مرض اللفحة النارية في التفاح
Apple Fire Blight

مقدمة :

يعتبر مرض اللفحة النارية ، من أهم الأمراض وأكثرها خطورة والتي تهاجم التفاح والكمثرى ، ويسبب خسائر إقتصادية كبيرة في جميع مناطق زراعة هذه الأشجار . يتسبب هذا المرض عن البكتيريا *Erwinia amylovora* . يحدث إختراق الكائن الممرض أساساً عن

obeikandl.com

طريق الفتحات الطبيعية (الغدد الرحيقية) ، في الأزهار أو عن طريق الجروح التي تحدث في الأفرع الهوائية الحديثة . عندما توطد البكتيريا نفسها في النبات ، تتكاثر وتتقدم في الفراغات الخلوية ، بين خلايا البرانشيما ، مؤدية إلى سرعة تكشف نكروزز في الأنسجة المصابة . تبدأ البكتيريا في تكوين الإفرازات الهلامية ، وهذه الإفرازات تأخذ شكل خيوط العنكبوت ، وتكون متصلة مع بعضها البعض في الشجرة الواحدة أو بين الأشجار المتقاربة ، تظهر لامعة في ضوء الشمس عندما ينظر إليها عن بعد . هذه الظاهرة من أهم الأعراض التشخيصية لهذا المرض .

تعتمد المقاومة الكيماوية لهذا المرض ، على استعمال المضادات الحيوية Streptomycin أو مركبات النحاس ، التي تمنع تكاثر البكتيريا وتوقف الإصابات الجديدة . لسوء الحظ ، فإن المضادات الحيوية ، تؤدي إلى ظهور سلالات بكتيرية مقاومة أو تجمعات بكتيرية غير حساسة للمضاد الحيوي ، وبالتالي فإن استعمالها يكون محدود جداً . أما مركبات النحاس ، فهي تسبب أعراض السمية على النباتات خاصة على الثمار ، مما يقلل من نوعيتها وبالتالي يجب عدم استعمالها ، بالإضافة إلى أنه لا يوجد أي من مركبات النحاس تعمل جهازياً ، وحتى تكون فعالة يجب أن تستعمل بحيث تغطي سطح النبات قبل وصول الكائن الممرض ودخوله النسيج النباتي .

تجنباً للأوضاع سالفة الذكر ، إتجهت أنظار العلماء إلى تخليق المقاومة الجهازية المكتسبة SAR . كما سبق وذكرنا في مقدمة الكتاب ، يجب أن تتوفر شروط معينة في المادة الكيماوية المستعملة ، حتى تسمى مادة حاثة للمقاومة الجهازية المكتسبة منها :

١ – أن لا يكون لهذه المادة أو أي من مشتقاتها تأثير مباشر على الكائن الممرض .

٢ – أن تقي النبات ضد مجال واسع من مسببات الأمراض وأن لا تكون متخصصة .

٣ – أن تنبه ، على الأقل ، واحداً من النظم الدفاعية عند النبات ضد الكائنات الممرضة .

من ميكانيكيات الدفاع ضد مسببات الأمراض ، هو زيادة مقاومة جدار الخلية (اللجننة) والتجمعات الجهازية للبروتينات المتعلقة بالمرضية PRs . هناك مركبات عضوية وغير عضوية ذكرت بأنها حاثات للمقاومة الجهازية المكتسبة . من بين هذه المواد مركب BTH الذي ثبت بأنه حاث للمقاومة الجهازية المكتسبة في كثير من النباتات ، وهو يباع حالياً في الأسواق تحت الاسم التجاري Bion في أمريكا وتحت اسم Actigard في أوروبا .

هناك أبحاث قليلة عن استعمال الكيماويات الحاثة للمقاومة في أشجار الفاكهة. من بين هذه المواد بالإضافة لمادة BTH ، مادة INA وهي 2,6-dichloroisonicotinic acid وهو يعطي مقاومة جيدة لمرض اللفحة النارية في الكمثرى ، وضد مرض جرب التفاح المتسبب عن الفطر *Venturia inaequalis* . أما BTH فقد اختبر على الكمثرى اليابانية ووجد أنه فعال جداً ضد الصدأ المتسبب عن *Gymnosporangium asiaticum* ، والجرب المتسبب عن *Venturia nashicola* . أدت هذه الأبحاث إلى تأكيد أن المقاومة الجهازية المكتسبة يمكن أن تنبه في أشجار الفاكهة كما في النباتات الحولية .

ملاحظة : يجب الانتباه إلى أن هذه الأسماء التالية كلها مترادفة والمقصود بها اسم واحد ، وهي :

1 - benzo (1,2,3) thiadiazole - 7 - carbothionic acid - S - methy ester .

2 - BTH .

3 - acibenzolar - S - methyl .

مقاومة المرض :

تبين من التجارب الفعلية (العملية) على مقاومة المرض ، أن استعمال BTH يسبب مقاومة معنوية لمرض اللفحة النارية في التفاح ، عند استعماله بتركيز ١٠٠ و ٢٠٠ ملغ/لتر وذلك في غراس النوع Golden Delicious سواء للطعوم أو الأشجار ، عندما استعمل رشاً على الأشجار قبل الحقن بالكائن الممرض . تكون الوقاية المتحصل عليها في غراس التفاح مشابهة للوقاية المتحصل عليها باستعمال المضاد الحيوي Plantomycin (بمعدل ١٠٠ ملغ/لتر سلفات الستربتومايسين) المستعملة مباشرة قبل الحقن . يكون متوسط المقاومة في الأشجار المطعومة ، في الصوبا الزجاجية ، والأشجار في الحقول بحوالى ٦٩٪ و ٥٠٪ بالترتيب (جدول رقم ١٩) . تكون وقاية غراس التفاح ، مرتبطة دائماً باستمرار ، مع تنشيط عائلتين (families) من الأنزيمات المتعلقة بالدفاع ، هما الـ Peroxidase و β-1,3-glucanases (جدول رقم ٢٠) . إن تراكم كلا الأنزيمين قد استحثت ، موضعياً ، في الأوراق المعاملة وكذلك جهازياً ، خاصة β-1,3- glucanases في الأوراق العلوية غير المعاملة ، ويستمر كذلك لمدة ١٧ يوم على الأقل . تدل هذه النتائج على أن BTH يشجع المقاومة الجهازية المكتسبة في التفاح عن طريق زيادة المركبات المتعلقة بالدفاع .

جدول رقم ١٩ : فعالية مركب BTH تركيز ١٠٠٠ ملغ و ٢٠٠٠ ملغ/لتر ، ضد مرض اللفحة النارية على غراس أشجار التفاح والأشجار المطعومة .

المعاملـــــة	٪ إصابة على الغراس المعاملة						٪ اصابة	
	قبل الحقن بمدة مقدرة باليوم						الطعوم	الأشجار
	صفر	٢	٤	٦	٨	١٠		
كنترول	٨٢	–	–	–	–	–	٨٠	٧٢
١٠٠ ملغ/لتر ستربتومايسين	٢٢	–	–	–	–	–	١٢	١٥
BTH ١٠٠ ملغ/لتر	–	٢٥	١٨	٢١	٢١	٢٧	–	–
BTH ٢٠٠ ملغ/لتر	–	٤٠	١٧	٣٢	٢٥	٣١	٣١	٥٠

جدول رقم ٢٠ : تخليق البيروكسيديز والـ β-1,3 glucanases في الأوراق الحديثة لغراس التفاح ، المعاملة مسبقاً بمركب BTH بتركيز ٢٠٠ ملغ/لتر .

المعاملـــــة	البيروكسيديز						β-1,3 - glucanases					
	عدد الأيام قبل الاستخلاص						عدد الأيام قبل الاستخلاص					
	٠	٢	٤	٦	٨	١٠	٠	٢	٤	٦	٨	١٠
BTH	–	٤٢٠	٧٠٠	٧٨٠	٨٠٠	٩٠٠	–	٠,٨	٢,٢	١,٦	١,٨	٢,٤
ستربتومايسين	٢٠٠	–	–	–	–	–	٠,٢	–	–	–	–	–
كنترول	١٨٠	–	–	–	–	–	٠,١	–	–	–	–	–

ملاحظات على الجدول : طريقة حساب البيروكسيديز غير تلك المستعملة في الأنزيم الثاني وهي مشروحة بإسهاب في مجلة سنة ٢٠٠٠

European J. of pathology 106 : 529 - 536

obeikandi.com

د - تأثير المركب BTH و Milsana على فطر البياض الدقيقي في الخيار الانجليزي الطويل

مقدمة :

يتسبب مرض البياض الدقيقي في الخيار عن الفطر *Sphaerotheca fuliginea* ، وهو من أكثر الأمراض خطورة وإنتشاراً على الخيار في الحقول وفي الصوبات الزجاجية ، يسبب خفضاً كبيراً في الإنتاج في جميع أنحاء العالم . تسبب إصابة الأوراق بهذا الفطر ، خفضاً في كل من عملية التنفس وعملية التمثيل الضوئي ، وهذا يؤدي إلى خفض عقد الثمار ، وتصبح الثمار المتكونة غير متماثلة النضج وتكون الثمرة ذات طعم غير طبيعي .

تعتمد مقاومة هذا المرض ، أساساً ، على استعمال المبيدات الفطرية ، إلا أن توفر العدد الكبير من اللقاح ، والظروف البيئية المناسبة لنمو الفطر في الصوبا الزجاجية ، وعدم رغبة المستهلك في استهلاك الثمار المعاملة بالمبيدات الفطرية ، كل ذلك أدى إلى الإعراض عن استعمال المبيدات الفطرية لمقاومة هذا المرض . اتجهت الأبحاث إلى تربية نباتات مقاومة ، إلا أن هذه المقاومة سرعان ما تنكسر لظهور سلالات جديدة من الفطر . بعد كل هذا إتجهت أنظار الباحثين إلى الدخول في برنامج المقاومة الجهازية المكتسبة ، وذلك باستعمال المركبات الكيماوية الحاثة على تجمع البروتينات والأنزيمات الخاصة بذلك . من أهم هذه المركبات هو مركب BTH ومركب الـ Milsana .

يعتبر مركب BTH من المركبات الكيماوية الجديدة المشجعة لمقاومة أمراض النبات ، ليس لهذا المركب أي تأثير مباشر على نمو الفطر ، إلا أنه يعتقد ، بأنه يلعب دوراً مماثلاً للدور الذي يلعبه حمض السلسيك ، في ممر النقل الإشاري ، الذي يؤدي إلى المقاومة الجهازية المكتسبة . وجد أن استعمال هذا المركب مرة واحدة على نباتات القمح ، يزودها بوقاية ضد مرض البياض الدقيقي المتسبب عن الفطر *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* ، طيلة مدة موسم النمو ، وتكون كمية الإنتاج مشابهة لإنتاج النباتات المعاملة بالمبيدات الفطرية القياسية . ولقد أرجع المؤلف هذه المقاومة ، إلى زيادة تكوين الحليمات واستجابة الخلية لتفاعل فرط الحساسية ، إلا أن هناك بعض الباحثين ، ذكر بأن هذه الحليمات وحدها لا تكون كافية لمنع الإصابة بالبياض الدقيقي ، ولكن هذا لا ينفي دورها في وقف الإصابة ولو جزئياً .

أما مركب Milsana ، فهو الاسم المسجل والمعطي لمستخلص أوراق نبات *Reynoutria sachalinensis* ، حيث بدأ تسويقه تجارياً في بداية التسعينيات ، كمسحوق قابل للبلل ، بواسطة شركة Munster الألمانية . أما الحالة السائلة التي حضر عليها ، تسمى Milsana flussig . حدث تحسن كبير في تكنولوجيا تحضير هذه المركبات ، وذلك منذ أوائل سنة ١٩٩٨ واستطاعت شركة KHH Biosci, Inc. أن تحضر هذا المركب عن طريق معاملها وإجراء مزيد من التجارب العلمية حتى تم التأكد من أن هذا المركب ليس له أية أضرار على البيئة أو على إنتاج الثمار .

من ناحية فسيولوجية وجد أن Milsana flussig يزيد نسبة كل من البيروكسيديز وβ-1,3 glucanases ويشكل نسبة عالية من الفينولات .

المركبان الكيماويان والمرض :

تبين أن استعمال المركب Milsana ، يخفض بشكل معنوي حدوث المرض بالنسبة للكنترول ، وذلك عن طريق تخليق مقاومة موضعية . أثبتت الدراسات الميكروسكوبية أن معظم ممصات الفطر قد إنهارت في المناطق التي استعمل عليها المركب ، ولم تكن هذه الممصات مغلفة بكبسولة . يحدث انهيار الممص خلال أربعة أيام من المعاملة . ولقد اقترح بأن الفينولات يمكن أن تتدخل في الاستجابة الدفاعية لمركب Milsana . أظهرت التجارب أنه يحدث انهيار كامل للفطر دون أن يحدث أي خلل في الشيتين الموجود في جدر الميسيليوم والممصات ، وتتجمع مواد electron dense حول تركيبات الاختراق . هذا يدل على أن النشاط المحلل للشيتين غير ضروري في الاستجابة الدفاعية المنشطة بواسطة مركب Milsana.

أما عند استعمال BTH ، تبين أنه يسبب زيادة في سمك جدار الخلية ، ويحدث بعض التغييرات الفسيولوجية ، إلا أن هذه التغيرات لا تكون كافية لخفض الإصابة بفطر البياض الدقيقي في الخيار .

تبين أن الإضافة المباشرة لمركب Milsana ، على نباتات الخيار ، تسبب خفضاً معنوياً في الوقاية الموضعية ضد مرض البياض الدقيقي ، وليس لها تأثير على الوقاية الجهازية للمرض (جدول رقم ٢١) في كل من أوراق النباتات الصغيرة والمتقدمة في السن . يكون الاختلاف في شدة المرض واضحاً خلال أربعة أيام من المعاملة .

أما بالنسبة لمركب BTH فلم يكن فعالاً في مقاومة المرض ، بغض النظر عن طريقة الاستعمال ، سواء بعد أو قبل الحقن بالكائن الممرض . زيادة على ذلك فإن الاستعمال المستمر والطويل لمركب BTH ، يؤدي إلى ظهور أغراض السمية على النبات ، مثل إصفرار نصل الورقة ، بينما تبقى العروق خضراء .

جدول رقم ٢١ : فعالية كل من BTH و Bilsana ضد مرض البياض الدقيقي ، على أوراق نبات الخيار الحديثة والقديمة .

المعاملـــــة	الأوراق الحديثة		الأوراق القديمة	
	موضعيا	جهازيا	موضعيا	جهازيا
كنتزول (محقون بالفطر)	٣,٣	٣,١٧	٢,٨٣	٣,١٣
BTH قبل الحقن بالفطر	٢,-	١,٧	١,٣٨	١,٨٢
BTH بعد الحقن بالفطر	٢,٢	٢,٩٢	٢,١٧	٣,٣٣
Milsana قبل الحقن بالفطر	١,٣	٣,١٧	صفر	٣,٥
Milsana بعد الحقن بالفطر	١,٥	٢,٥	صفر	٢,٨

ملاحظات على الجدول :

١ – كانت تحسب شدة المرض كما في معادلة Spencer D.M. سنة ١٩٧٧ في كتابة الصادر باسم طرق قياسية فى تقدير المبيدات الفطرية لمقاومة البياض الدقيقي في الخيار .

٢ – معاملات BTH كانت تتم قبل الحقن بالفطر الممرض بمدة ١٧ يوم في النباتات الصغيرة و ٢١ يوم في النباتات الكبيرة . أما بعد الحقن فكانت بمدة ١٧ يوم في النباتات الصغيرة و ١٣ يوم في النباتات الكبيرة .

٣ – كان يتم حقن النبات بالجراثيم بتركيز ٤ × $١٠^{٣}$ وحدة تكوين مستعمرات/ سم٣.

٤ – كان يستعمل BTH بتركيز ٢,٨ مللي مول .

٥ – كان يستعمل Milsana بنسبة ٠,٥ ٪ (وزن/حجم) .

هـ - مقاومة مرض البياض الدقيقى فى القمح
باستعمال المركب BTH

يتسبب مرض البياض الدقيقي في القمح عن الفطر *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* ، الاسم القديم المرادف له هو *Erysiphe graminis* f. sp. *tritici* . يؤثر هذا المرض على الإنتاج الكلي للقمح ، ويهاجم نباتات القمح في معظم مناطق زراعته في العالم . لعدة سنوات مضت كان استعمال الأصناف المقاومة أهم ، بل وأفضل طريقة لمقاومة مرض البياض الدقيقي في الحبوب ، طالما أن الجينات المسئولة عن المقاومة لا تزال فعالة .

تختلف أصناف القمح المزروعة كثيراً فيما بينها من حيث تكشف مرض البياض الدقيقي عليها في الحقل ، الأصناف غير كاملة المقاومة تظهر فيها سلالات المرض بشكل وبائي ، أما ذات المقاومة المتوسطة ، فيكون إنتشار المرض فيها أقل منه في الحالة الأولى . لهذه الأسباب اهتم كثير من الباحثين في دراسة تربية نباتات مقاومة لهذا المرض .

إن تكوين الحليمات التي تحدد الاختراق الأولي لفطر البياض الدقيقي ، قد تدخلت كثيراً في نوعية المقاومة الحقلية لنباتات القمح . مع أن الأصناف الألمانية (Zentos) قد أظهرت درجة عالية من المقاومة تحت الظروف الحقلية ، إلا أنه لا يعرف جين مقاومة ، عرف وحدد خاص بمرض البياض الدقيقي في القمح ، وأن الأسس السيتولوجية لهذه المقاومة غير معروفة .

يمكن أيضاً أن يشجع ميكانزم الدفاع النباتي جهازياً بواسطة عوامل ، أما حيوية أو غير حيوية دون تغير في جينوم النبات .إن المركب الاصطناعي BTH هو أول منتج كيماوي يدل على توليد جيل جديد من واقيات النبات ، والتي تكون فعالة عن طريق تنشيط المقاومة . يصنع هذا المركب منذ سنة ١٩٩٦ ويباع تجارياً في الأسواق في ألمانيا تحت اسم Bion لمقاومة البياض الدقيقي في القمح . إن استعمال هذا المركب مرة واحدة بنسبة ٣٠ غرام من المادة الفعالة/ هكتار على بعض أصناف القمح القابلة للإصابة ، يشجع فيها المقاومة وتدوم هذه المقاومة لمدة طويلة ، تأخذ الموسم الزراعي بأكمله في القمح الشتوي .

يكون فعل المركب BTH مماثلاً لفعل جزئ حمض السلسليك ، المعطي الإشارة الداخلية للدفاع . إن تشجيع عملية المقاومة في النبات ، يكون متبوعاً بتخليق ما يسمى جينات القمح المستحثة كيماوياً Wheat chemically induced genes ، وتكتب باختصار

(WCIG) . ونظراً لأن المعاملة بالمركب BTH تفشل في تشجيع الجينات التي نسخها يتجمع بعد التخليق الحيوي للمقاومة في القمح ، وبالتالي فإن Schaffrath *et al* سنة ١٩٩٧ قد اقترح بأن هناك ممرين إشاريين مختلفين موجودين لتخليق المقاومة في النباتات إحادية الفلقة .

يبدو أن عملية إفساد أو منع الاختراق الفطري في القمح ، تلعب دوراً فاصلاً في المقاومة المستحثة بواسطة المركب BTH ، ضد مرض البياض الدقيقي . مع أن الاختراق الفطري غير الناجح للنباتات المعاملة بالمركب BTH ، قد شرح عن طريق تكوين كثير من الحليمات غير الفعالة ، إلا أن العوامل المشاركة بكفاءتها العالية لا تزال غير واضحة .

٧ - مادة 2,6 - dichloro isonicotinic acid INA

يشار إلى هذه المادة وإلى الميثايل أستر لها بالحروف INA . اكتشفت هذه المواد كعوامل قادرة على حث المقاومة الجهازية المكتسبة في النباتات ، من قبل كثير من الباحثين منهم Kessmann *et al* سنة ١٩٩٣ و Metraux *et al* سنة ١٩٩١ و Staub *et al* سنة ١٩٩٢ . هذه المواد تزود بعض النباتات مثل الخيار والأرز وكثير من المحاصيل الأخرى ، بوقاية جيدة ضد الكائنات الممرضة الفطرية والبكتيرية والفيروسية في الصوبات الزجاجية ، بالإضافة إلى التجارب الحقلية (كما في جدول رقم ٢٤) . لقد درس تأثير هذه المادة على الخيار ، ولقد تبين أن نطاق فعاليتها يكون نموذجياً للمقاومة الملاحظة بعد الإصابة الموضعية بالكائنات الحية الدقيقة . هذا المركب ليس له فعالية معنوية في المعمل ، كما وأنه لا ينقلب في الظروف الحقلية إلى نواتج تمثيل مضادة للميكروبات .

obeikandi.com

جدول رقم ٢٤ أ : يبين نشاطة مادة INA في تجارب الحقل :

الكائن الممرض + العائل	معدل استعمال INA غ/ هكتولتر	٪ نسبة مساحة الورقة المصابة	
		الكنترول	التجربة
دخان + *Peronospora*	٢٠	٢٩	١٢
كمثرى + *Erwinia*	٢٥	٤٥	١٨
فلفل + *Xanthomonas*	٢٥	٦٦	١٠
أرز + *Pyricularia*	١ كيلو غرام	١٢	٣,٥
أرز + *Xanthomonas*	٢ كيلو غرام	٨,٢	٠,٢

جدول رقم ٢٤ ب : مقارنة المبيدات الفطرية مع المركب INA :

الكائن الممرض + العائل	المبيدات المستعملة	تركيز المبيد غم/هكتولتر	٪ مساحة الورقة المصابة
دخان + *Peronospora*	رايدومول+ مانكوزب	٢٤ + ٢٥	١٧
كمثرى + *Erwinia*	ستربتومايسين	٢٥	٤
فلفل + *Xanthomonas*	نحاس + مانكوزب	٢٠٠ + ١٠٠	٦,٥
أرز + *Pyricularia*	اورزيمات	٢,٥ كيلو غرام	٠,٥
أرز + *Xanthomonas*	TF - 130	٢ كيلو غرام	٠,١

ملاحظات على الجدول : كانت تضاف المادة الكيماوية على المجموع الخضري ، باستثناء الأرز ، أما مادة الاورزيمات فهي الاسم التجاري لمركب البروبينازول .

obeikandl.com

أجريت دراسات عديدة على هذا المركب ، أظهرت أنه في الدخان ، فإن النباتات المصابة بفيرس موزايك الدخان ، عند معاملتها بالمركب INA ، فإنه يحث تسعة (عائلات) من الجينات . لقد لوحظت علاقات مشابهة لما يحدث بين الجينات المستحثة جهازياً عند الإصابة بالكائن الممرض أو بواسطة استعمال INA في أنواع نباتية أخرى ، منها الخيار ونبات الارابدوبسز . لقد تبين أن INA يستحث كل من المركبات الآتية في الدخان :

1 - β - 1,3 - glucanases　　　2 - chitinase

3 - 6 - phosphogluconate - dehydrogenase (6-PGD)

بينما المركبات الآتية لم تتأثر بهذا المركب :

1 - Peroxidase　　2 - Acidic protease　　3 - Ammonia - lyase

4 - Phenylalanine ammonia - lyase　　5 - Polyphenolxidases

الأنزيمات التي لم تتأثر بالمركب INA ، هي نموذجية لاستجابات الدفاع الموضعية شاملة تفاعل فرط الحساسية . وبالتالي يبدو أن دور INA يشبه التخليق الحيوي لمقاومة المرض جهازياً مؤثراً على أي من الاستجابات المختبرة المرتبطة بالنكروزز الموضعي .

أظهرت دراسة النسج النباتية ، أن نباتات الارابدوبسز المعاملة بالمركب INA ، تستجيب للإصابة بالفطر *Peronospora parasitica* عن طريق نكروزز في الخلية المفردة المجاورة لمنطقة الاختراق . تصبح الهيفات القليلة التي لا تزال داخل الخلية محاطة بمجموعة من الخلايا المنكرته ويتوقف النمو ، هذا يكون مشابهاً لما يلاحظ في تفاعل فرط الحساسية الذي ينتج من الجينوتايب غير المتوافق من العائل والكائن الممرض .

باستعمال تركيزات منخفضة من الـ INA ، فإن كميات أكبر من الهيفات تنجح في اختراق النسيج ولكن الإصابة تتوقف تماماً . هناك تثبيط مشابه للإصابة ، يحدث في مناطق عديدة ، خلال عملية الإصابة ، في النباتات المستحثة كيماوياً أو حيوياً قد لوحظت في كثير من النباتات .

بالإضافة إلى تخليق جينات المقاومة الجهازية المكتسبة ، والأنزيمات المذكورة سابقاً فإن مركب INA ونظيره تكون قادرة على أن تجعل نسيج النبات مستجيباً لتفاعلات الدفاع الإضافية أسرع منه في النباتات غير المعاملة . ولقد ذكر Kauss *et al* سنة ١٩٩٢ أن

مزارع خلية البقدونس المعاملة مسبقاً بالمركب INA تحث عمليات التمثيل لمشتقات Phenylpropanoid بسرعة أكثر بعد المعاملة بالمثيرات الفطرية منه في الكنترول .

أما في الأرز فإن INA يسبب زيادة (نتيجة الحث) في نشاط الـ Lipoxygenase خلال يومين من الإضافة ، بينما المادة المشابهة لـ INA غير النشيطة ليس لها تأثير حاث . لقد ذكر *Seguchi et al* سنة ١٩٩٢ أن حمض Isonicotinic المشتق من N-cyanomethyl - 2 - chloroisonicotinamide يحتوي على مستوى عال من النشاط ضد لفحة الأرز . ولقد أثبت الباحثان أن الـ lipoxygenases (s) والنتائج العامة لتمثيل الدهن بالإضافة إلى الـ Peroxidase (s) تسرع أو تزداد في أوراق نبات الأرز المعامل كيماوياً والمحقون بفطر اللفحة مقارنة مع الكنترول . هذا يدل على أن الميكانزم بالإضافة إلى حث الجينات الموجودة مسبقاً للمقاومة الجهازية المكتسبة تكون داخلة في تفاعل الـ INA مع الحاثات الأخرى للمقاومة الجهازية المكتسبة .

وجد أن INA في بنجر السكر ، لا يحث جينات المقاومة الجهازية المكتسبة قبل الحقن بالفطر *Cercos pora beticola* ، أما في الأرز ، فإنه تحت الظروف المتحكم بها ، يمكن وقاية النبات من الفطر الممرض *M. grisea* باستعمال جزء واحد في المليون من INA رشاً على النبات ، بالإضافة إلى ١٠٠ جزء في المليون من INA تضاف إلى التربة .

أما الـ PRs فإنها تستحث فقط باستعمال ١٠٠ جزء في المليون من INA ، تكون بذلك مبعدة الشك عن الدور المحتمل لـ PRs ضد الفطر *M. grisea* . أما في الدخان ونبات الارابدوبسز فإن INA يعمل مستقلاً عن وجود حمض السلسليك ، عرف ذلك عن طريق عدم وجود تجمع لحمض السلسليك بعد المعاملة بـ INA ، وكذلك بفعل INA في نباتات NahG . كذلك فإن INA لا يزال فعال في الطفرة غير الحساسة لحمض السلسليك والذي يدل على أنه يعمل في عكس إتجاه حمض السلسليك .

هناك جزيئين لهما علاقة بمركب INA ، ذكر على أنهما يحفظان نبات الأرز ضد *M. grisea* هما :

الأول N-cyanomethyl - 2 - chloroisonicotinamide

الثاني N-phenylsulfonyl - 2 - chloro isonicotinamide

وذلك عن طريق حث المقاومة الجهازية المكتسبة . وبالتشابه مع INA ، فإن كلا المركبين ليس لهما أي تأثير مباشر على الفطر (أي ليست مضادات فطرية) في المعمل ، إلا أنها تزيد نشاطات أنزيم البيروكسيديز و LOX في النباتات المعاملة بعد الحقن بالكائن الممرض.

مقاومة العفن الأبيض في فول الصويا باستعمال INA

مقدمة :

تعتبر مادة 2,6 - dichloroisonicotinic acid (INA) بأنها مادة حاثة على المقاومة ضد الأمراض تحت ظروف الحقل ، ضد عديد من الأمراض الفطرية والبكتيرية لكل من الكمثرى ، الفلفل ، الدخان والأرز ومرض الصدأ في الفاصوليا الخضراء .

أثبتت الدراسات المستفيضة على كل من الارابدوبسز والدخان بأن المعاملة بمادة BTH تحث على المقاومة ضد الكائنات الممرضة الفطرية والبكتيرية والفيروسية وتكون مترافقة مع الزيادة في تجمع mRNAs للبروتينات المتعلقة بالمرضية PRs . كما ذكر سابقاً بأن المعاملة بمركب BTH تقي نباتات القمح من الإصابة بفطر البياض الدقيقي والصدأ *Puccinia recondita* و *Septoria* sp. .

مقاومة المرض :

يتسبب مرض العفن الأبيض في فول الصويا عن الفطر *Sclerotinia sclerotiorum* . تبين من التجارب التي أجريت على نبات فول الصويا المزروع في الحقول أو في الصوبات الزجاجية ، أن المعاملة بمركب INA يخفض شدة المرض بالعفن الأبيض بعد الإصابة الطبيعية ، بنسبة ٢٠ – ٧٠٪ مقارنة مع الكنترول ، في أصناف فول الصويا Elgin 87 و Williams 82 ، وهي تعتبر من الأصناف شديدة القابلية للإصابة . لم يكن التأثير كبيراً عند استعمال Corsoy 79 و NKS19 - 90 والتي هي أكثر مقاومة للإصابة بمرض العفن الأبيض في فول الصويا . أما عند استعمال BTH ، فكانت نسبة الخفض في الإصابة بحوالي ٢٠ – ٦٠٪ . كانت شدة الخفض ملاحظة في الأصناف الأكثر قابلية للإصابة كما في جدول رقم ٢٢ .

obeikandl.com

أما بالنسبة للإنتاج ، تبين التجارب أن زيادة الإنتاج متطابقة مع زيادة مقاومة المرض ، حيث يزيد الإنتاج كلما زادت نسبة المقاومة ، خاصة بالنسبة للأصناف القابلة للإصابة . تبين في تجارب الصويا الزجاجية أن إستعمال كل BTH و INA تؤدي إلى خفض معنوي في مساحة البقع الموضعية بعد أن تحقن النباتات بالفطر . كذلك فإن كل من المركبين لم يكن له أية آثار سامة على النبات ، وكذلك لم تكن مثبطة لنمو الفطر *Sclerotinia* في المعمل.

تبين من كل هذه التجارب أن استعمال كل من INA و BTH يؤدي إلى خفض شدة المرض كنتيجة للحث على المقاومة الجهازية في النبات ، وأن المركب INA يزيد إنتاجية النبات كما هو واضح في الجدول رقم ٢٣ .

جدول رقم ٢٢ : تأثير معاملة الأصناف القابلة للإصابة والمقاومة لمرض العفن الأبيض في فول الصويا بالمركبINA و BTH .

المعاملـــة	دليل المرض على الأصناف			
	NKS 19 - 90	Corsoy 79	Elgin 87	Williams 82
كنترول	٠,٣	١,٨	١٤,٥	٣٧,٩
INA 3 x 150 mg/L	٠,٣	٠,٩	٨,٧	٢٠,٩
INA 3 x 250 mg/L	٠,٣	٠,٦	٣,٦	١٦,٦
INA 3 x 350 mg/L	صفر	١,١	٢,٧	١٧,٧
BTH 4 x 350 mg/L	٠,٨	١,٨	١٤,٢	١٩,٥

ملاحظات على الجدول : كانت تستعمل المواد الكيماوية مقدرة بالمادة الفعالة .

كان يؤخذ دليل المرض حسب المعادلة الآتية :

$$\text{دليل المرض} = \frac{\text{مجموع الإصابات في كل نبات}}{\text{عدد البنايات} \times ٣} \times ١٠٠$$

جدول رقم ٢٣ : تأثير استعمال INA على إنتاج أصناف فول الصويا المقاومة والقابلة للإصابة بمرض العفن الأبيض.

المعاملـــة	الانتاج طن / هكتار في الأصناف			
	NKS 19 - 90	Corsoy 79	Elgin 87	Williams 82
كنترول (ماء)	٣٦,٦	٢٨,٩	٢٧,٦	١٩,٢
INA 3 x 150 mg/L	٣٦,٥	٢٨,٨	٢٩,٠	٢٠,٦
INA 3 x 250 mg/L	٣٥,٧	٢٨,٨	٢٩,٦	٢٣,٢
INA 3 x 350 mg/L	٣٥,٧	٢٨,٤	٢٩,٧	٢٢,٩

ملاحظات على الجدول : كان INA يستعمل مقدراً بالمادة الفعالة .

٨ - المركب DL - B - amino - n - butryic acid
BABA

مقدمة :

التركيب الكيماوي لهذا المركب DL - 3 - aminobutyric acid . يحفظ الطماطم ، البطاطس والدخان جهازياً ضد الفطر *Phytophthora infestans* و *Peronospora tabacina* بالترتيب . ليس لهذا المركب تأثير محسوس على الفطريات في العمل ، أو في النبات ، إلا أن له تأثير علاجي ، والذي يكون عن طريق العمل الحاث على المقاومة الجهازية المكتسبة . هناك عدة فرضيات وضعت لتفسير فعل BABA ، وهو الفعل التكافلي المؤثر على تحور جدار الخلية ، نظراً لأنه عند المعاملة بالمركب BABA ذو الكربون المشع ١٤ وجدت رابطة تكافلية في جدار الخلية والتي لاتنطلق إلا بعد التحطيم الأنزيمي لهذا الجدار .

هناك مادة قريبة الشبه من هذا المركب هي DL-3-amino - n - butanoic acid . تستعمل هذه المادة كحاثة على المقاومة في الطماطم ضد مرض البياض الزغبي . نظراً لأن التأثير لهذا المركب كمضاد فطري منخفض جداً ، فبالتالي يكون دوره في مقاومة أمراض

النبات كمادة حاثة على المقاومة الجهازية المكتسبة . يقوم هذا المركب بحث بعض البروتينات المتعلقة بالمرضية المترافقة مع المقاومة الجهازية المكتسبة في الدخان . يتطلب هذا المركب مزيداً من الأبحاث حتى يعتمد كمادة حاثة للمقاومة الجهازية المكتسبة . الحمض الأميني (غير البروتيني) aminobutyric acid قد استعمل كمادة حاثة للمقاومة في كثير من الأمراض الجهازية . وقد ذكر ظهوره مرة واحدة فقط في الطبيعة في إفرازات جذور الطماطم النامية في أرض مشمسة .

يستعمل المركب BABA لحفظ كثير من أنواع النباتات منها الطماطم ، الفلفل ، الدخان والقطن ضد مجموعات مختلفة من الكائنات الممرضة مثل :

1 - *Phytophthora* 2 - *Peronospora* 3 - *Fusarium*

4 - *Plasmopara* 5 - *Verticillium*

أ - مقاومة إنثراكنوز الفلفل باستعمال BABA

في الدراسات السابقة للعالم Jeum *et al* سنة ١٩٩٨ ، ذكر أن نباتات الفلفل المحقونة بعزلة غير شديدة المرضية من الفطر *Phytophthora capsici* ، أو المعاملة بمركب BABA، تحفظ النباتات قوية وتقاوم الإصابة التالية بسلالة الكائن الممرض شديد المرضية *P. capsici* . تختلف مستويات المقاومة المستحثة في الفلفل ، باختلاف عدة عوامل منها : 1 - Isomers of aminobutyric acid ، ٢ – التركيز ، ٣ – طريقة الاستعمال ، ٤ – المستويات الدائمة المتوفرة ، ٥ – مراحل نمو النبات ، ٦ – كثافة اللقاح . وعلى أية حال فإن ـ∝ و isomers - ४ لحمض الامانيوبيوترك ، كانت غير فعالة كعوامل حاثة على المقاومة . ومن الدراسات الحديثة ، ظهر أن تجمع البروتينات المتعلقة بالمرضية مثل β-1,3-glucanase و chitinases والمستوى الداخلي لحمض السلسليك ، كلها تتدخل في تخليق مقاومة ضد لفحة فايتوفثورا في نبات الفلفل المعاملة بالمركب BABA .

مقاومة المرض :

لقد درست ثلاثة متشابهات لأحماض الأمانيوبيوترك هي : DL - ∝ - amino - n - butyric acid ويشار إليه بالاختصار AABA . أما الثاني فهو المركب الذي يشار إليه

obeikandi.com

BABA المذكور في الصفحة السابقة . أما المركب الثالث فهو DL - γ - amino - n - butyric acid والذي يشار إليه GABA . درست هذه المواد كحاثات غير حيوية . كانت المركبات تذاب في الماء وتستعمل رشاً على نباتات الفلفل على المجموع الخضري أو تعامل بها التربة . التركيزات المستعملة من هذه المركبات هي : صفر ، ١ ، ١٠ ، ١٠٠ و ١٠٠٠ ميكروغرام/مل ، ثم بعد ذلك تحقن النباتات (النبات يحمل ستة أوراق) بمعلق الجراثيم الكونيدية للفطر *C. coccodes* بعد أربعة أيام .

لتقدير تأثير BABA بجرعات مختلفة ، كانت تعامل تربة النبات ، عندما يكون النبات حاملاً ثمانية أوراق ، قبل الحقن بالكائن الممرض بمدة صفر ، ٥ ، ١٠ ، ١٥ يوم . أما معاملة الرش على المجموع الخضري ، كانت ترش ورقتين من الأوراق السفلية للنبات . ثم بعد يوم أو سبعة أيام تحقن جميع النباتات التي عوملت بالمركب BABA بالكائن الممرض مسبب إنثراكنوز الفلفل *C. coccodes* وذلك برش الجراثيم الكونيدية للفطر على المجموع الخضري للنبات .

لدراسة وقف توسع البقع المرضية المتكونة ، كانت توضع قطرات محتوية $١٠^٥$ جرثومة كونيدية/مل على كل ورقة من أوراق النبات التي عوملت بتركيز ١٠٠٠ ميكروغرام/مل من مركب BABA ، بشكل خاص على الورقتين السفليتين بالقرب من سطح التربة . كانت تحضن نباتات الفلفل المحقونة بالفطر الممرض ، في مراقد رطبة وفي الظلام على حرارة ٢٨° م لمدة ٣٦ ساعة ، ثم بعد ذلك توضع في الصوبات الزجاجية على حرارة ٢٧° م تحت إضاءة ٥٠٠٠ شمعة لمدة ١٦° ساعة في اليوم .

كان يحسب عدد وحجم البقع المتكونة على أوراق نبات الفلفل بعد سبعة أيام من الحقن بالفطر الممرض . تحسب نسبة الوقاية بالمعادلة الآتية :

$$\text{نسبة الوقاية} = ١٠٠ \left(١ - \frac{\text{عدد البقع المتكونة على النبات المعامل}}{\text{عدد البقع على نبات الكنترول}} \right)$$

نتائج الدراسة :

تبين من الدراسة السابقة أن المركب BABA و GABA ليس لهما أي تأثير مثبط لنمو الميسيليوم الفطري في المعمل ، حتى لو وصل التركيز ١٠٠٠ ميكروغرام/ مل ، بينما AABA ، يسبب حوالي ٢٩٪ تثبيط في نمو الميسيليوم على نفس التركيز . وعلى أية حال

فإن استعمال تركيز ١٠٠ ميكروغرام/مل من الثلاثة مركبات لا تؤثر على نمو الفطر الممرض .

يتبين من جدول (رقم ٢٥) أنه عند استعمال BABA ، رشاً على المجموع الخضري ، كان فعال جداً في وقاية النبات ضد الإصابة بالفطر الممرض في مرحلة ستة أوراق . أما بالنسبة لعدد البقع ، كان هناك خفضاً واضحاً في عدد البقع المتكونة على أوراق نباتات الفلفل المحقونة بجراثيم ١,٥ × ١٠^{٥} كونيدية/مل ، كلما زادت تركيزات BABA .

عندما استعمل BABA رشاً على المجموع الخضري بتركيز ١٠٠٠ ميكروغرام/مل ، حدث وقاية كاملة لنباتات الفلفل في مرحلة ستة أوراق . أما بالنسبة لمركب AABA ، فإن عدد بقع الانثراكنوز تنخفض تدريجياً بزيادة تركيز المركب . كانت أعلى نسبة وقاية ٧٠٪ في النباتات المرشوشة بتركيز ١٠٠٠ ميكروغرام/مل . أما المركب GABA ، فانه يسبب مقاومة منخفضة في نباتات الفلفل .

أما بالنسبة لمعاملة التربة كما في جدول رقم ٢٦ ، فإن المركب BABA سبب تكوين مقاومة مستحثة قوية ضد الفطر الممرض على نباتات الفلفل ، حيث كانت نسبة المقاومة تتراوح ما بين ٧٣ - ٨٥٪ بتركيز ١٠٠ و ١٠٠٠ ميكروغرام/مل بالترتيب . أما المركب AABA و GABA كانت نسبة المقاومة ٦٠ ، ٣٥٪ عند استعمال تركيز ١٠٠٠ ميكروغرام/مل لكل منهما بالترتيب . كانت هذه النتائج مشابهة لما هو حاصل عند رشهما على المجموع الخضري .

أما بالنسبة لتأثير الفترات الفاصلة بين المعاملة بالمركب الكيماوي ، والحقن بالكائن الممرض ، تبين أن BABA فعال جداً في وقاية نباتات الفلفل من مرض الانثراكنوز على الفترات المختلفة عند معاملة التربة بالجرعات المختلفة . عندما كان يحقن الكائن الممرض بعد ٥، ١٠ و ١٥ يوماً من معاملة التربة بمركب BABA ، بتركيز ١٠٠٠ ميكروغرام/مل كانت نسبة الوقاية ٩٣ ، ٩٦ ، ٨٥٪ بالترتيب . أما عند حقن النباتات بالكائن الممرض فوراً ، بعد المعاملة بالمادة الكيماوية ، كانت نسبة الوقاية ٥٠٪ في المستويات الثلاثة من التركيز ١٠ ، ١٠٠ و ١٠٠٠ ميكروغرام/مل .

أما بالنسبة لحجم البقع المتكونة ، فقد تبين أن المعاملة بالمركب الكيماوي BABA يخفض حجم البقعة من ٢,٥ ملم في الكنترول إلى ٠,٨ ملم في المعاملة . أما عند حقن النبات فوراً بعد المعاملة الكيماوية ، فلم يكن هناك تأثير على حجم البقع المتكونة . أما تأثير

obeikandi.com

الفترات الفاصلة بين المعاملة بالمادة الكيماوية والحقن بالكائن الممرض ، كانت تزداد نسبة الخفض في حجم البقع كلما زادت الفترة الفاصلة من ٥ إلى ١٠ إلى ١٥ يوم .

درست المقاومة الجهازية المستحثة لمرض انثراكنوز الفلفل ، عندما عوملت الورقتين السفليتين بمركب BABA تركيز ١٠٠٠ ميكروغرام/مل عندما كانت النباتات تحمل ثمانية أوراق . لم يكن هناك فرق معنوي في عدد البقع في وحدة المساحة الورقية في النبات في أي من الورقتين ، قد يكون هذا راجعاً إلى عدد البقع المتكونة ، حيث أنه قليل جداً . وبالمقابل فإن النباتات التي عوملت أوراقها السفلية ، قد حفظت بشدة أوراقها العلوية ، هذا يدل على تكوين المقاومة الجهازية المكتسبة .

يمكن تلخيص ما سبق ، بأن أفضل تركيز يستعمل من مركب BABA هو ١٠٠٠ ميكروغرام/مل وأفضل فترة فاصلة بين الحقن بالكائن الممرض والرش بالمادة الكيماوية هي فترة سبعة أيام ، جدول رقم ٢٧ .

جدول رقم ٢٥ : تأثير استعمال المركبات BABA ، AABA ، GABA رشاً على المجموع الخضري بتركيزات مختلفة ضد فطر إنثراكنوز الفلفل .

التركيز المستعمل ميكروغرام/مل	BABA		AABA		GABA	
	عدد البقع / سم^2 في الورقة	٪ وقاية	عدد البقع / سم^2 في الورقة	٪ وقاية	عدد البقع / سم^2 في الورقة	٪ وقاية
٠,١	-	-	-	-	٤,٨	صفر
١	٢,٩	-	٤	٢٠	٤,٢	٢٥
١٠	٢,٨	٤٠	٣,٨	٢٥	٤,٥	١٠
١٠٠	١,٥	٨٥	٢,-	٦٠	٤,-	٢٢
١٠٠٠	صفر	١٠٠	١,٥	٧١	٣,٨	٢٨

ملاحظات على الجدول : كانت النباتات تعامل في طور ستة أوراق . ترش بالمركبات الكيماوية قبل حقنها بالكائن الممرض (لمدة أربعة أيام) بتركيز ١,٥ × ١٠^{٥} جرثومة كونيدية/مل . كانت تعد البقع المتكونة بعد سبعة أيام من الحقن بالكائن الممرض .

جدول رقم ٢٦ : تأثير معاملة التربة المزروعة بالفلفل ضد فطر الانثراكنوز بالمركبات BABA ، AABA ، GABA . تكـون النباتات فـي طور ستة أوراق ثم تحقـن بالفطر الممرض بعد ٤ أيام بتركيز ٤ × ١٠^{٥} كونيدية/مـل . كـان يحسب عدد البقع بعد سبعة أيـام مـن الحقن بالفطر الممرض .

التركيز المستعمل ميكروغرام/مل	BABA		AABA		GABA	
	عدد البقع / سم^{٢} في الورقة	٪ وقـاية	عدد البقع / سم^{٢} في الورقة	٪ وقـاية	عدد البقع / سم^{٢} في الورقة	٪ وقـاية
٠,١	–	–	–	–	٦	صفر
١	٦	١٠	٥,٢	١٨	٥,٢	٢٨
١٠	٣,٨	٢٨	٤,٨	٢٢	٥,٥	٢٠
١٠٠	١,٨	٧٢	٤,٥	٣٠	٥,٨	١٨
١٠٠٠	١	٩٠	٢,٨	٦٠	٤	٣٨

جدول رقم ٢٧ : تأثير الفترة الزمنية الفاصلة بين رش مادة BABA والحقن بالكائن الممرض ، على حدوث الوقاية أو البقع الموضعية على نباتات الفلفل التي تحمل ثمانية أوراق .

BABA ميكروغرام/مل	صفريوم		٥يوم		١٠يوم		١٥يوم	
	عدد البقع الموضعية	٪ وقاية	عدد البقع الموضعية	٪ وقاية	عدد البقع الموضعية	٪ وقاية	عدد البقع الموضعية	٪ وقاية
٠,١	–	–	–	–	٦	٥	–	–
١	–	–	–	–	–	–	–	–
١٠	٣,٢	٥٠	٣,٨	٤٠	٢	٧٥	٦,٨	١٨
١٠٠	٣,٥	–	–	–	١,٨	٨٠	٣,٨	٣٨
١٠٠٠	٣,٥	٥٠	٠,٧	٩٥	١,٥	٩٩	٠,٨	٨٥

obeikandl.com

ب - مقاومة البياض الزغبي في عباد الشمس

مقدمة :

ذكرنا في الصفحات السابقة أن هناك ثلاثة متشابهات لمركب Aminobutyric acid ، تكون فعالة في وقاية النباتات ضد الأمراض . كما وأن المتشابه الثاني والثالث تستحث بروتينات متعلقة بالمرضية في أقراص أوراق الدخان ، كذلك فإن DL-2-amino-n-butanoic acid ، يحث على تكوين بروتينات متعلقة بالمرضية من عائلة PR-1 ، Chitinases ، β-1,3-glucanases ، والفايتوالكسن Capsidiol في نباتات الدخان . لقد ذكر في الدراسات الحديثة أن المركب BABA فعال جداً في وقاية الطماطم ضد فطر *Phytophthora infestans* وضد الفطر *Peronospora tabacinia* .

هناك مستويات عالية من البروتينات المتعلقة بالمرضية ، خاصة Chitinases ، β-1,3-glucanases تستحث في نباتات عباد الشمس كاستجابة للإصابة بالكائن الممرض *Plasmopara helianthi* أو نتيجة لعوامل فسيولوجية أو كيماوية تسبب معاناة للنبات .

مقاومة المرض :

يتسبب مرض البياض الزغبي في عباد الشمس عن الفطر *Plasmopara helianthi* . كما في المرض السابق ، انثراكنوز الفلفل ، استعملت المركبات الثلاثة AABA ، BABA و GABA في مقاومة هذا المرض . لم يثبت بأن لهذه الكيماويات سمية على الفطر الممرض أو النبات عندما تستعمل بتركيز ٢٠٠ ملغ/كيلوغرام تربة ، عندما استعملت كمعاملة تربة . وعلى أية حال فإن معاملة التربة بمركب BABA بتركيز ٣٠٠ ملغ/كيلوغرام تربة ، سبب أصفراراً خفيفاً في الأوراق وظهرت النباتات المعاملة أقصر إلى حد ما من نباتات الكنترول .

أما في التجارب الأخرى ، تبين أن BABA، يزود النباتات بمقاومة معنوية ضد المرض بنسبة ٨٣٪ ، في حين أن المركبين الآخرين لم يختلف تأثيرهما عن الكنترول ، عند إستعمالهما بتركيزات مختلفة . وعلى العكس من ذلك فإن المركب BABA أظهر في النباتات مقاومة ٤٦٪ و ٩٠٪ عند تركيز ١٠٠ و ٢٠٠ ملغ/كيلو تربة بالترتيب .

عند إجراء التجربة لمعرفة تأثير الفترة الفاصلة بين المعاملة بالمركب BABA وحقن

النبات بالفطر الممرض *P. helianthi* ، أظهرت النتائج أن المركب BABA فعال جداً في وقاية نباتات عباد الشمس ضد الإصابة بالفطر الممرض ، عندما استعمل كمعاملة تربة بيوم واحد قبل الحقن بالكائن الممرض ، حيث سبب وقاية بنسبة ٨١٪ . كما هو واضح في جدول رقم ٢٨ ، فإن المعاملة بالمركب BABA بتركيز ١٠٠ ملغ/كيلوتربة قبل الحقن بالكائن الممرض بمدة ثلاثة أيام ، فإن ذلك زود النبات بوقاية ٤٩٪ ولكن عند استعماله بعد الحقن بالكائن الممرض بيوم واحد كانت نسبة الوقاية ٤١٪ .

عند استعمال التركيزات المنخفضة من BABA (٥٠ و ١٠٠ ملغ/كيلوتربة) كان هناك نسبة وقاية ٣٨٪ و ٣٩٪ بالترتيب . أما في التركيزات العالية (٢٥٠ ملغ/كيلوتربة) أعطت نسبة عالية من المقاومة ٨٠ – ٨٣٪ ضد المرض . أما على تركيز ٣٠٠ ملغ/كيلوتربة كانت نسبة الوقاية ٩٠ – ١٠٠٪ .

لم يكن للمركب BABA أي تأثير مثبط لإنبات الجراثيم الهدبية للفطر الممرض *P. helianthi* في المعمل بتركيزات ١٠٠ ، ٢٠٠ ، ٣٠٠ ميكروغرام/مل وكانت نتيجة المعاملة كما هو في حالة الكنترول . كذلك فإن تكشف المرض الذي حصل عليه في النباتات الناتجة من بذور معاملة بالمركب BABA ومعلق الجراثيم الهدبية فى نفس الوقت لم يكن له أي تأثير على المرض . أما تأثير الفترات الزمنية الفاصلة بين الحقن بالكائن الممرض واستعمال المركب BABA فهي واضحة في جدول رقم ٢٩ .

جدول رقم ٢٩ : تأثير الفترات الزمنية الفاصلة بين المعاملة بالمركب BABA بتركيز ١٠٠ ملغ لكل كيلوغرام تربة ، والحقن بفطر البياض الزغبي في عباد الشمس على الوقاية من المرض .

الفترة الزمنية الفاصلة	٪ إصابة	٪ وقاية
٣ أيام قبل الحقن	٥٠	٤٩
يوم واحد قبل الحقن	١٩	٨١
يوم واحد بعد الحقن	٥٨	٤١

جدول رقم ٢٨ : تأثير استعمال المركب BABA ومثيلاته ضد فطر البياض الزغبي في نباتات عباد الشمس . كانت الكيماويات تضاف معاملة تربة قبل الحقن بالفطر الممرض بيوم واحد . حددت نسبة النباتات المصابة بعد ١٧ يوم من الحقن .

الكيماويات المستعملة	ميكروغرام لكل كيلوغرام تربة	٪ نباتات مصابة	٪ وقـــاية
كنترول	صفر	٧٧	–
AABA	١٠٠	٨٨	(–١٤)
AABA	٢٠٠	٨٠	(–٥)
BABA	٥٠	٥٠	٣٨
BABA	١٠٠	٥٠	٣٩
BABA	١٥٠	١٨	٨٥
BABA	٢٠٠	١٧	٩٠
BABA	٢٥٠	٠٤	٩٨
BABA	٣٠٠	–	١٠٠
GABA	١٠٠	٧٤	١٤
GABA	٢٠٠	٩٦	(–٢٤)

التفاعل بين مسبب البياض الزغبي في عباد الشمس ومثيرات حيوية وكيماوية

مقدمة :

خلال السنوات القليلة الماضية ، حدث خفضاً في استعمال المبيدات الكيماوية في مقاومة الآفات الزراعية ، وذلك نظراً لسميتها وتلوث البيئة بالإضافة إلى تكشف سلالات من الكائنات الممرضة ، مقاومة لهذه المبيدات . لهذه الأسباب اتجهت الأبحاث إلى طرق مقاومة

obeikandi.com

أخرى . ذكرت كثير من الأبحاث بأن هناك نوعاً من المقاومة الحيوية ، ذات تأثيرات واقية ضد كل من البكتيريا ، الفطريات والميكورهزا نوع Arbuscular .

تمتلك النباتات ميكانيكيات مختلفة للدفاع عن نفسها والتي تؤدي إلى خفض شدة المرض . إحدى هذه الميكانيكيات ، هي المقاومة الجهازية المكتسبة SAR ، وهذه يمكن أن تستحث أو تخلق بعوامل حيوية أو غير حيوية . ظهر أيضاً مشجعات نباتية كيماوية حديثة مثل INA (ذكر سابقاً بالتفصيل) و BABA و BTH وهذه تمثل فرصة هامة في مقاومة أمراض النبات .

لقد ذكر Tosi *et al* سنة ٢٠٠٠ أن فطر البياض الزغبي في عباد الشمس يمكن اعتباره نموذجاً أو موديلاً مناسباً جداً لدراسة التفاعل بين الكائن الممرض والميكورهزا ، وتأثير منشطات أخرى مثل BABA و BTH و CGA 245704 . عند دراسة تأثير هذه المواد فإنها تستعمل على شكل غمر للتربة ، أو رشاً على المجموع الخضري مع *Glomus mosseae* لوقاية نبات عباد الشمس من مرض البياض الزغبي .

الوقاية من المرض :

إن التفاعـــل بين فطـر البياض الزغبي وفطر الميكورهـزا والمثيـرات الكيماوية BABA و BTH ، في نباتات عباد الشمس القابلة للإصابة بمرض البياض الزغبي ، قد أجري عليها تجارب كثيرة . وجد أن غمر التربة بتركيز ٠,٥ - ١ غرام/ كيلوغرام تربة من BABA أو BTH وذلك قبل حقن النبات بالكائن الممرض بمدة ثلاثة أيام أو يوم واحد (النباتات مضاف لتربتها الميكورهزا المذكورة سابقاً) ، وجد أن ذلك أدى إلى وقاية متوسطة ضد الكائن الممرض (حوالي ٥٥ - ٥٠٪) وكذلك لوحظت تغيرات مورفولوجية ونقص في استعمار الميكورهزا لجذور النباتات المعاملة بـ BTH والنباتات المعاملة بالميكورهزا والمركب BTH . حصل تأخر في الظهور ونقص في الجهاز الجذري ، كانت أكثر وضوحاً في التركيزات العالية ولكنها تنخفض مع مرور الوقت .

عند استعمال BABA و BTH رشاً على المجموع الخضري بتركيز ٤ و ٢ مللي غرام/مل بالترتيب وذلك بعد يوم واحد من الحقن بالكائن الممرض (النباتات مزروعة في أماكن مزودة بالميكورهزا) أدى ذلك إلى الحصول على وقاية تصل ٨٠٪ عندما استعمل

الفطر الممرض حقناً في الأوراق ، لم يظهر أي تأثيرات على استعمار الميكورهزا للجهاز الجذري .

أظهرت الاختبارات المعملية تأثير هذه المركبات على فطر الميكورهزا ، وظهر أن إنبات كل من الاسبوروكاربس و *G. mosseae* يزداد مع المعاملة بالمركب BABA ، بينما ثبطت كثيراً عند المعاملة بالمركب BTH .

٩ - الرايبوفلافين The Riboflavin

مقدمة :

الرايبوفلافين ، عبارة عن فيتامين ينتج بواسطة النباتات والميكروبات ، والذي يقوم بفعل مساعد أنزيم Coenzyme في كثير من العمليات الفسيولوجية في كل من الحيوان ، النبات والميكروبات. يتدخل الرايبوفلافين في مضادات الأكسدة Antioxidation والـــ Peroxidation ، تؤثر هاتين العمليتين على إنتاج الأكسجين المتفاعل الوسيط (ROIs) في الجهد المؤكسد oxidative burst وما ينتج عنه من تفاعل فرط الحساسية .

إذا استعمل الرايبوفلافين رشاً على المجموع الخضري للنبات ، فإنه يؤدي إلى مقاومة كثير من الأمراض التي تصيب نباتات الدخان ، ويخفض الإصابة بمرض البياض الدقيقي في نباتات الفراولة ، عندما يتحد مع المثيونين ، أيونات معدنية ومطهرات سطحية . وبالتالي يمكن اعتبار الرايبوفلافين مادة مثيرة تهيج النبات لتكوين مقاومة جهازية مكتسبة أو أنه وسيط في نقل إشارة المقاومة .

هناك أدلة قدمها كل من Dong و Beer سنة ٢٠٠٠ ، تفيد بأن الرايبوفلافين مشجع لممر إشاري جديد ، يؤدي إلى المقاومة الجهازية ، حيث أن هذا المركب يشجع جينات البروتينات المتعلقة بالمرضية PRs في نبات الارابدوبسز والدخان ويخلق مقاومة جهازية ضد أربعة كائنات ممرضة هي :

1 - *Peronospora parasitica*
2 - *Pseudomonas syringae*
3 - *Alternaria alternata*
4 - *TMV*

من هذه الأربعة ، هناك ثلاثة نماذج جيدة تستعمل روتينياً في دراسة المقاومة ، هذا يؤدي إلى القول بأن الرايبوفلافين هو البادىء فى نقل إشارة المقاومة .

يمكن إلغاء الاستجابة للرايبوفلافين بواسطة الـ Kinase مثبط البروتين K252a وبواسطة الطفرة في جين NIM1/NP1 ولكن لا يتأثر في نباتات NahG . هذا يدل على أن التأشير المنبه بالرايبوفلافين يتطلب Protein kinases والفعل المنظم بواسطة جين NIM1/NP1 ولكن لا يتطلب تجمع حمض السلسليك .

١ - الرايبوفلافين يخلق مقاومة في الارابدوبسز :

عند استعمال الرايبوفلافين بتركيز من ٠,١ - ١٠ مللي مول ، رشاً على أوراق نبات الارابدوبسز فإنه يسبب خفضاً في الإصابة بالكائن الممرض مسبب البياض الدقيقي *Peronospora parasitica* ، يكون هناك إختلاف في درجات الإصابة بين المعاملات . مثلاً في النباتات المعاملة بالرايبوفلافين ، فإن الكائن الممرض ، لا ينتج كتلة مرئية من الجراثيم الكونيدية على سطوح الأوراق ، ولكن يبقى محصوراً على أطراف الورقة وعلى شكل جزر صغيرة . أما بالنسبة للحوامل الكونيدية على الورقة الواحدة ، فإنها تنخفض إلى ٠,١٪ مقارنة مع الكنترول ، وكذلك الجراثيم ، وبشكل عام فإنه يخفض الإصابة بالمرض بشكل معنوي بالنسبة للكنترول ، بعد ١٢ يوم من الحقن .

وبالتالي يمكن القول بأن المقاومة المخلقة بالرايبوفلافين ، ضد الممرضات الفطرية البيضية ، تكون واضحة عن طريق الخفض في الإصابة ، والخفض في أعداد الحوامل الجرثومية لكل ورقة ، وبالتالي خفض كمية الجراثيم المتكونة .

إن حدوث أعراض الإصفرار والنكروزز في نبات الارابدوبسز المحقون بالمسبب المرضي *P. syringae* pv. *tomato* DC 3000 ، قد خفضت بواسطة المعاملة بالرايبوفلافين . كان تقدير درجة الإصابة أيضاً مبنياً على كمية البكتيريا المأخوذة من نسيج الورقة ، يومياً لمدة خمسة أيام بعد الحقن . كان عدد البكتيريا المأخوذة من نباتات الكنترول في كل مرة أعلى بكثير (فرق معنوي) منه في النباتات المعاملة بمادة الرايبوفلافين . وبالتالي يمكن القول بأن الرايبوفلافين يخلق مقاومة بكفاءة ضد الكائن الممرض البكتيري .

٢ - الرايبوفلافين يخلق مقاومة في الدخان :

يتكشف في نباتات الدخان المعاملة بالرايبوفلافين ، رشاً على الأوراق بتركيز من ٠,١

– ١٠ مللي مول مقاومة ، ضد الفطر *A. alternata* وفيرس موزايك الدخان TMV . هذا يكون مبنياً على خفض أعداد وصغر أقطار البقع المتكشفة بعد الحقن بالفطر أو الفيرس . تكون درجة الخفض في أعداد البقع وأقطارها تابعاً لاستعمال الرايبوفلافين ، مختلفاً بالنسبة لكل من الفطر والفيرس المذكورين سابقاً . في النباتات المحقونة بفيرس TMV ، فإن المعاملة بالرايبوفلافين، تؤدي إلى خفض معنوي في أعداد البقع . أما بالنسبة لقطر البقعة ، فهو أيضاً ينخفض بالمعاملة بالرايبوفلافين ، ولكن لا يكون الخفض دائماً معنوياً .

أما في النباتات المحقونة بالفطر *A. alternata* ، فإن الخفض في كل من أعداد وأقطار البقع البنية يكون متماثلاً . بعد سبعة أيام من الحقن ، فإن أقطار البقع البنية في نباتات الكنترول تصل بشكل عام حوالي ١٠ ملم ، بينما البقع فى النباتات المعاملة بالرايبوفلافين كان حوالي ٣ ملم . إعتماداً على الخفض في قطر البقعة ، فإن المقاومة المخلقة بالرايبوفلافين كانت أكثر فعالية ضد الفطر الممرض *A. alternata* منه في فيرس TMV .

كان عدد البقع في أوراق الدخان ، المتسببة عن فيرس TMV ، في المعاملة بالرايبوفلافين، حوالي ٩١ بقعة ، أما في الكنترول كانت ١٨٥ بقعة ، في الأوراق السفلية، وبعد سبعة أيام كانت في الأوراق العلوية ٧٧ في النباتات المعاملة بالرايبوفلافين ، و ١٧٠ في نباتات الكنترول . أما بالنسبة لقطر البقعة فكانت في الأوراق السفلية للنباتات المعاملة بالرايبوفلافين ٥ ملم مقارنة مع ٦,٦ ملم في الكنترول ، أما في الأوراق العلوية فكانت ٣,١ ملم في النباتات المعاملة و ٥,٣ ملم في نباتات الكنترول .

٣ - نشاط أو حركة المقاومة المخلقة بالرايبوفلافين :

تتكشف المقاومة جهازياً خلال النبات في كل من نبات الارابدوبسز ضد كل من *Peronospora parasitica* و *P. syringae* ، وفي الدخان ضد كل من TMV و *A. alternata* ، وهذا يكون مبنياً على الخفض في درجة الإصابة في أجزاء النبات العلوية غير المعاملة والتي تتبع معاملة الأوراق السفلية بالرايبوفلافين (ذكر سابقاً) (جدول رقم ٣٠) .

أما بالنسبة لزمن تقدم نمو الكائن الممرض في الأنسجة النباتية ، فإن المقاومة في نبات الارابدوبسز المعامل بالرايبوفلافين ، تصبح واضحة بعد ثلاثة أيام ، وتصل إلى أعلى مستوى لها بعد خمسة أيام وتنخفض بسرعة بعد ٩ أيام من المعاملة . تكون المدة التي تتكشف فيها

المقاومة ضد كل من TMV و *A. alternata* متشابهة في نباتات الدخان . تصبح المقاومة ظاهرة بعد خمسة أيام ، وتصل إلى أعلى مستوى لها بعد ١٠ - ١٢ يوم بعد المعاملة . وعلى أية حال فإن دورة المقاومة تختلف لكلا الكائنين الممرضين . تنخفض أعراض البقعة البنية لمدة ٤٠ يوم بعد المعاملة ، بينما أقطار وأعداد بقع TMV لا تنخفض إلا بعد ٢٠ يوماً.

جدول رقم ٣٠ : تأثير تركيزات مختلفة من الرايبوفلافين على تكشف الإصابة بالفطر *P. parasitica* في نبات الارابدوبسز والفطر A. alternata في الدخان وفيرس TMV في الدخان .

مللي مول تركيز الرايبوفلافين	٪ نباتات مصابة في الارابدوبسز المحقون *P. parasitica*	قطر البقعة ملم في الدخان المصاب A. alternata	قطر البقعة ملم في الدخان المصاب بالفيرس TMV
كنترول	٧٢,-	١٠,-	٣,-
٥٠٠	٢٤,-	٢,٦	١,١
١٠٠٠	٢٥,-	٢,٤	١,٣
١٥٠٠	صفر	٢,٤٥	١,٤
٢٠٠٠	صفر	٢,٤	١,٤
٢٥٠٠	صفر	٢,٤	١,٣
٣٠٠٠	-	-	-

ملاحظات على الجدول :

١ - كانت تحقن النباتات بالكائن الممرض بعد خمسة أيام من المعاملة بالرايبوفلافين .

٢ - كانت تقدر الإصابة بعد سبعة أيام في الفطرين وبعد عشرة أيام في الفيرس .

٣ - كان الرايبوفلافين يرش على الأوراق السفلية للنبات .

٤ - تأثير الرايبوفلافين على النباتات والكائنات الممرضة :

تبين من دراسة الجرعة المؤثرة من الرايبوفلافين ، أن التركيز ٠,٥ - ١ مللي مول ، كانت فعالة وكافية لتخليق مقاومة جهازية ضد الكائنات الممرضة ، لا تؤدى زيادة التركيز إلى زيادة التأثير . لتحديد إمكانية حدوث السمية النباتية Phytotoxicity ، عوملت النباتات بتركيز من ٠,١ - ١٠ مللي مول من الرايبوفلافين . لم يظهر على الأوراق المعاملة أي نكرروزز ، أو أية تشوهات أخرى عندما فحصت ميكروسكوبياً . ومن ناحية أخرى فإن تأثير الرايبوفلافين على نمو *A. alternata* و *P. syringae* ، قد حددت في المعمل عن طريق نمو الكائنات الممرضة في بيئة مزودة بالرايبوفلافين ، بتركيز يتراوح ما بين صفر إلى عشرة مللي مول . كان نمو كلا الكائنين الممرضين جيداً على جميع التركيزات ، حدد ذلك عن طريق قياس أقطار المستعمرة ، في المزرعة الفطرية في أطباق بتري بها آجار ، وعن طريق قياس المستعمرات المتكونة من المعلق البكتيري . كان قطر المستعمرة للفطر *A. alternata* عند نموه في بيئة بها رايبوفلافين بتركيز صفر ، حوالي ٢,٤ سم ، أما عند تركيز ١ مللي مول ، كان القطر ٢,٣ سم ، أما عند تركيز ٧,٥ مللي مول ، كان القطر أيضاً ٢,٣ سم وبتركيز ١٠ مللي مول كان القطر أيضاً ٢,٣ سم .

أما بالنسبة للبكتيريا *P. syringae* كان النمو في المستعمرة جيداً ، وأعطى قطر ٢,٠٣ ملم في الكنترول وكان قطر الزرعة ١,٦٨ ملم عند استعمال الرايبوفلافين بتركيز ١٠ مللي مول ، وحوالي ١,٨ ملم على تركيز ٥ مللي مول .

يتبين من ذلك أن الرايبوفلافين ليس له تأثير مثبط لنمو الكائنات الحية الدقيقة ، سواء كانت فطريات أو بكتيريا . وكذلك ليس له تأثير سام على نمو النباتات الراقية .

٥ - القيمة العملية للرايبوفلافين في أمراض النبات :

أثبتت الدراسات التي قام بها Beer & Dong سنة ٢٠٠٠ أن الرايبوفلافين ينبه المقاومة الجهازية . هذه النتائج قد دعمت بالتطبيقات العملية ، التي أظهرت تكشف المقاومة في كل من الارابدوبسز والدخان ضد أربعة كائنات ممرضة ذكرت سابقاً . بالإضافة لذلك فإن جميع التجارب ، أثبتت أن ليس لهذا المركب تأثير سام على نمو الكائن الممرض في العمل ولا على نمو النباتات المعاملة به ، وبالتالي يمكن القول بأن الزيادة في مقاومة الأمراض ، لا تكون راجعة للتأثير المباشر لفعل الرايبوفلافين على الكائن الممرض ، بل هو

obeikandl.com

يقوم بحث النبات لتخليق مقاومة جهازية ضد هذه الممرضات . كانت المقاومة المستحثة من الرايبوفلافين فعالة ضد الفطر *A. alternata* . والذي لم يذكر سابقاً في أي بحث من الأبحاث أن له مقاومة من قبل بعض سلالات الارابدوبسز .

دلت الدراسات السابقة على الرايبوفلافين ، أن له كفاءة عملية في تخليق مقاومة جهازية يمكن تطبيقها في الصوبات الزجاجية ضد بعض الأمراض . إن الكيماويات المنبه أو الحاثه على تخليق المقاومة الجهازية لمقاومة الأمراض كثيرة ، ولكن الأعداد التي حققت نجاحاً عملياً لغاية الآن (سنة ٢٠٠٠) محدودة . فمثلاً حمض السلسليك ومركب INA غير ملائمة لمقاومة الأمراض وذلك لأن التركيز المطلوب لإحداث مقاومة يكون سام للنبات . بالمقابل فإن الدراسات التي أجريت على الرايبوفلافين ، أثبتت أنه غير سام ، حتى على أعلى تركيز مطلوب لتخليق المقاومة . إن مستوى المقاومة المستحثة بالرايبوفلافين ، في معظم الحالات ، يمكن تطبيقها عملياً والاستفادة منها .

تبين في بعض التجارب أن معاملة نباتات الدخان بالرايبوفلافين تخفض أقطار البقع البنية من ١٠ - ٣ ملم في معظم الحالات . يسبب هذا الخفض في قطر البقعة ، زيادة واضحة في نوعية أوراق الدخان وقيمتها التجارية . أثناء عملية تجفيف أوراق الدخان بعد الجمع ، فإن المناطق المتحللة في البقع المرضية على الأوراق تتسع كثيراً . أيضاً يمكن أن يحدث تغير في المركبات الكيماوية في الأوراق المصابة (أماكن البقع) ، مستوى السكر، البروتينات ، النوكتين ، البوتاسيوم والكلورايد والتي تتأثر سلبياً مع المرض ، حتى في أصغر خفض في حجم البقعة على الأوراق الطازجة ، هذا يؤدي إلى خفض كبير في القيمة التجارية في الأوراق الخام . يسبب الرايبوفلافين زيادة في المقاومة في نبات الارابدوبسز والدخان بنسبة ٤٠ - ٧٠٪ ، يعطي هذا المستوى فائدة كبيرة في وقاية النباتات والمحاصيل ضد الكائنات الممرضة . زيادة على ذلك فإن المقاومة المستحثة بالرايبوفلافين تبقى وتستمر حتى تكون فعالة ضد *A. alternata* في الدخان ٤٠ يوم . أخيراً فإن المقاومة المستحثة بالرايبوفلافين ليست متخصصة ويمكن أن تضع أساساً لوقاية كثير من النباتات من مدى واسع من الكائنات الممرضة .

يمكن القول بأن الرايبوفلافين يمتلك صفات مهمة وآمنة كعامل مقاومة للأمراض .

١٠ - حمض الاكساليك Oxalic Acid

ا - مقاومة العفن الابيض (سكلوروشيم) في اللفت

مقدمة :

في المقاومة الجهازية المكتسبة ، هناك مثيرات ترفع مستوى واحد أو أكثر من الإشارات الكيميائية المنقولة ، والتي بدورها تؤدي إلى تخليق متوازي للجينات ، تنظم ممرات الدفاع في الأنسجة البعيدة عن المكان الأول لمهاجمة الكائن الممرض ، وكنتيجة لذلك فإن النبات الذي قد حصن (أو هوجم) يظهر فيه مجال واسع من المقاومة لعديد من الكائنات الممرضة ، منها فطريات ، بكتيريا ، وفيروسات .

تعتمد المقاومة الجهازية التي تظهر في النبات ، على عدة ممرات دفاعية منها : ١ - اللجنين ، ٢ بروتينات متعلقة بالمرضية ، ٣ - فايتوالكسن ، ٤ - بروتينات صغيرة مضادة للميكروبات مثل Thionins و Defensins . وقد تبين أن هناك جزيئات كبيرة مثل حمض السلسليك وحمض الجسمنك والاثيلين ، تكون داخلة في تفاعل المقاومة الجهازية المكتسبة . هناك على الأقل ممرين ناقلين للإشارة قد تم تمييزها ، الأول ممر معتمد على حمض السلسليك وممر مستقل عن حمض السلسليك ، يشمل الممر الأخير حمض الجسمنك والاثيلين . إن تعرض النباتات لهذه الكيماويات الإشارية سوف يثير ممرات دفاعية خاصة . يمكن القول بأن المقاومة الجهازية المكتسبة تشير إلى الممر المعتمد على حمض السلسليك .

يمكن أن يحدث تخليق للمقاومة الجهازية في المحاصيل ، عن طريق الإضافات الخارجية لحاثات كيماوية مثل Methyl jasmonate ، وهي مماثلة في عملها لكل من حمض السلسليك ، بنزوثيادازول والمركب الكيماوي 2,6-dichloroisonicotinic acid وهي ذات فائدة كبيرة في مقاومة الكائنات الممرضة التي يصعب مقاومتها بشكل عام .

إن مرض عفن الساق في اللفت المتسبب عن الفطر *Sclerotinia sclerotiorum* ، وهو من الأمراض الكامنة في التربة ، يهاجم أصنافاً مختلفة من اللفت ، وليس لأي من طرق المقاومة الكلاسيكية فعالية ضده ، سواء بالمبيدات الفطرية أو الدورة الزراعية. اتجهت

الأبحاث لاستعمال المثيرات الفعالة في تخليق المقاومة الجهازية المكتسبة لمقاومة هذا المرض مثل حمض الاكساليك .

مقاومة المرض

وجد أن معاملة الأوراق السفلية من نبات اللفت ، بحمض الاكساليك تركيز ٢٠ مللي مول ، يؤدي إلى خلق مقاومة جهازية لمرض العفن الأبيض في الثلاثة أوراق التالية للأوراق المعاملة. هذه المقاومة لا تتسبب عن سمية فطرية لتركيز حمض الاكساليك ، يظهر كذلك تعبير لهذه المقاومة في الساق . في النباتات المعاملة بحمض الاكساليك ، فإن الانتشار العمودي لبقع الساق يتوقف وتنتقل الإشارة من أسفل إلى أعلى وكذلك من أعلى إلى أسفل. لقد تم اكتشاف تعبير المقاومة في الأوراق بعد المعاملة بستة ساعات ، وتستمر لمدة خمسة أسابيع على الأقل . يمكن اكتشاف المقاومة في الأوراق بعد ٢٤ ساعة من المعاملة، تكون هذه المقاومة تابعة لاستعمال ٠,٥ مللي مول اكساليك أسد . يمكن اكتشاف المقاومة الموضعية في الأوراق التي إنتشر فيها حمض الاكساليك ، في أوقات معينة فقط (بعد ١٢ ، ٤٨ ساعة وليس ٢٤ ساعة بعد المعاملة) ، على تركيزات منخفضة جداً من حمض الاكساليك ٠,٢٥ مللي مول أو مرتفعة قليلاً ٤٠ مللي مول . عندما يضاف حمض الاكساليك على مساحة منفصلة من الورقة ، يحدث مقاومة موضعية معنوية في نسيج الورقة المجاور . يلاحظ أكبر كمية من المقاومة في النسيج الملاصق لمنطقة حامل الورقة .

عندما إختبر تأثير حمض الاكساليك على نمو الفطر في المعمل ، استعمل بتركيز يتراوح ما بين صفر إلى ٢٠ مللي مول في بيئة مناسبة لنمو الفطر *S. sclerotiorum* . تبين أن هذه المادة غير سامة للفطر ، بل بالعكس تزيد من سرعة نمو الفطر ، كان قطر المزرعة الفطرية في الكنترول ٥١ ملم ، أما في المعاملة التي استعمل فيها حمض الاكساليك بتركيز واحد ملي مول ، كان قطرت مزرعة الفطر ٧١ ملم ، وكذلك نفس الحجم تقريباً عند استعمال الحمض بتركيز ٥ مللي مول . أما بتركيز ٠,٢٥ مللي مول كان قطر المزرعة ٥٨ ملم . كل التركيزات المستعملة أعطت زيادة في نمو المزرعة أكثر من الكنترول باستثناء تركيز ١٥ مللي مول حيث أعطى أقل من الكنترول بحوالي ٢ ملم .

يمكن القول بأن استعماض حمض الاكساليك بنسبة ٢٠ مللي مول رشاً على الأوراق السفلية ، يعطي مقاومة جهازية ضد مرض العفن الأبيض في اللفت تصل إلى ١٠٠٪ في

الأوراق الأولى من القاعدة ، وتقل في الأوراق العلوية حتى تصل ٧٠٪ ، لذلك يفضل رش النباتات بالمحلول قبل امتداد الساق وذلك لوقاية الأوراق السفلية ولكي تنتقل الإشارات إلى الأوراق العلوية وتمتد المقاومة حتى طور الأزهار (حوالي ٣٥ يوم) .

ب - مقاومة مرض موزايك الخيار على الكوسة

هناك بحث نشر في مجلة العلوم الزراعية ، في جامعة أسيوط رقم ٣٠ عدد ٤ سنة ١٩٩٩ ، ولم أستطع الحصول على أي بحث آخر مشابه لهذا البحث ، حيث أنه يتعلق بمقاومة نباتات الكوسة لفيرس موزايك الخيار . يقول الباحث في الملخص العربي المنشور .

لقد اكتسبت نباتات الكوسة مقاومة ضد الإصابة بفيرس موزايك الخيار عند معاملة البذور بحمض الاكساليك وذلك عند استعمال تركيز ١٠ مللي مول ، حيث أدى ذلك إلى خفض جزيئات الفيرس المعدية بنسبة ٣٧,٥٪ . أما عند استعمال حمض الاكساليك بنسبة ٠,١ مللي مول ، كانت نسبة إنبات بذور الكوسة ٩٧٪ وكانت نسبة مقاومة المرض ١٠٠٪ ، أما تركيز ١ مللي مول كانت نسبة الإنبات ٩٦٪ ومقاومة المرض ٩٨,٩٪ . أما تركيز ١٠ مللي مول كانت نسبة الإنبات ٩٥٪ ومقاومة المرض ٩٤,٨٪ أما بالنسبة لتأثير حمض الاكساليك على العوامل الأخرى فهو كما في جدول رقم ٣١ ، ٣٢ .

جدول رقم ٣١ : استجابة نباتات الكوسة النامية من بذور معاملة بحمض الاكساليك ، والتي حقنت بفيرس موزايك الخيار بعد الإنبات بمدة ٧ – ١٠ أيام . أخذت الاستجابة بعد ١٤ يوم من الحقن بالفيرس.

تركيز حمض الاكساليك (مللي مول)	شدة الموزايك	عدد البقع الموضعية	٪ خفض في فعالية جزيئات الفيرس
٠,١	++++	٢٣	٤,٢
١	+++	٢١	١٢,٥
١٠	++	١٥	٣٧,٥
كنترول	++++	٢٤	صفر

جدول رقم ٣٢ : الأضرار الواقعة على غشاء البلازما ، في الأوراق الأولى من نبات الكوسة المصابة بفيرس موزايك الخيار ، والتي كانت عوملت البذور قبل زراعتها بحمض الاكساليك .

تركيز حمض الاكساليك المستعمل في معاملة البذور	٪ تحطيم غشاء البلازمة بعد الحقن بفترة		
	٤يوم	٨يوم	١٢يوم
٠١ مللي مول	٩,١	١٣,-	١٣,٨
١ مللي مول	١٦,٨	٢٢,٨	٢٤,١
١٠ مللي مول	١٦,١	٢٢,٢	٢٤,٣
كنترول	١٤,٢	١٩,-	٢٣

١١ - مواد كيماوية أخرى

أ - مادة WL 28325 أو DCP

هذه المادة هي الاسم التجاري للاسم العلمي 2,2-dichloro - 3,3-dimethyl cyclopropane carboxyic acid ويرمز له بالرمز (DCP) . كان أول وصف لهذا المركب بواسطة Langcake & Wickins سنة ١٩٧٥ ، على أنه مركب متخصص في مقاومة مرض لفحة الأرز ، وهو ذو تأثير ضعيف على الفطريات في المعمل ، ويحث على بعض نشاط البيروكسيديز في النباتات المعاملة .

يظهر في نباتات الأرز المعاملة بمركب DCP ، نسيج بني أسرع في الاستجابة إلى حمض Picolinic (المفترض أنه فايتوتوكسن للفطر *Pyricularia oryzae*) منه في النباتات غير المعاملة . بعد الإصابة فإن النباتات المعاملة بـ DCP تتجمع فيها فايتوالكسنز تسمي Monilactone ، بمستويات أسرع وأعلى منه في الكنترول . وبالتالي فإن الدليل الأساسي للنشاط الحاث على المقاومة لمركب DCP يأتي من نتائج الأبحاث التي حصل عليها بعد الحقن ، والتي تشابه تلك المتحصل عليها عند استعمال المبيدات الفطرية ، زيادة على ذلك فإن DCP والمركبات المماثلة تزود النبات بمقاومة معنوية للفطر *C. lagenarium* في الخيار دون حث الـ Chitinase العلامة البيوكيميائية المميزة من المقاومة الجهازية

المكتسبة لهذا النبات. كذلك فإن DCP له تأثيرات على عملية الـ Melanization في المعمل ، وتأثير مضاد فطري ضعيف على جميع العوامل المثبطة للبناء الحيوي للميلانين . نظراً لأن الميلانين يكون هاماً لتكوين تركيبات إصابة النبات (عضو الالتصاق) وليس للنمو على البيئة الغذائية ، فإن التخصص الدقيق لفطريات تكوين الميلانين مع بعضها البعض ، مع التأثيرات المعملية على عملية melanization ، مع فقد العلاقة الإيجابية مع الموديل البيولوجي للمقاومة الجهازية المكتسبة ومع فقد تخليق الـ Chitinase في الخيار ، يدل على أن DCP يمكن أن تعمل مباشرة، أحياناً ، عن طريق تثبيط البناء الحيوي للميلانين .

ب- Fosethyl - AL

إن كلا من الـ Fosethyl - AL والميثالكسايل ، والمادة التي اكتشفت حديثاً Triazoles ، كلها من بين المركبات المشجعة على تكوين المقاومة الجهازية المكتسبة في النبات . إن مادة Fosethyl - AL ذات تأثير ضعيف كمضاد فطري في الاختبارات المعملية التقليدية . النباتات المعاملة مسبقاً بهذه المادة ، يتجمع فيها الفايتوالكسن بسرعة أكثر وتقل فعالية المثبطات الميتابولزمية مثل Glyphosate . قادت هذه التجارب إلى الاعتقاد بأن Fosethyl - AL مركب مستحث للمقاومة . ولقد بين كل من Fenn & Coffey سنة ١٩٨٤ ، بالاعتماد على ظروف المزرعة الغذائية ، بأن هذا المركب يتحطم إلى حمض الفسفوريك والذي هو ذو قوة عالية كمضاد فطري في المعمل . إن كلاً من المركبين لا يظهر أية نشاطات في البيئة الغذائية المحتوية تركيزات عالية من الفسفات . تعطي البيئة المصنعة والتي لا تحتوي فسفات ، دليلاً قوياً على النشاط المعملي ، نظراً لأن حمض الفسفوريك من المحتمل أن يتفاعل مع فسفات التمثيل الغذائي بين الخلايا . الدليل المقنع بأن هذا المركب ليس لديه نشاطاً حاثاً على المقاومة ، هو أن السلالات الفطرية المنتقاة ، غير حساسة له في المعمل ، لا تطول مقاومتها كثيراً بهذا المركب في النبات .

جـ- بروبينازول Propenazole

يكتب هذا المركب أحياناً Probenazole ، يطلق على التركيب المحتوي بروبينازول اسم تجاري هو Oryzemate ، وهو منتج تجاري يستعمل ضد لفحة الأرز . لهذه المادة تأثير قليل إذا استعملت قبل حقن نبات الأرز بالكائن الممرض ولكنه يقوي الاستجابات الدفاعية بعد

المهاجمة بالفطر *Magnaporthe grisea* . عند معاملة أصناف الأرز القابلة للإصابة للمرض ، بهذه المادة تتصرف وكأنها تحمل الجين الرئيسي للمقاومة .

يمكن القول بأن Probenazole ، مركب جهازي يستعمل بنجاح في وقاية الأرز ضد الإصابة بالفطر *Pyricularia oryzae* وبشكل ضعيف ضد *Xanthomonas oryzae* . يظهر المركب تفاعل ضعيف جداً في المعمل ضد هذه الممرضات .

يحث البروبينازول عديداً من الأنزيمات المختلفة المتعلقة بالدفاع النباتي ، إلى حد ما ، ولكن يسبب تجمعات معنوية لعوامل مضادة للكونيديات (Anticonidial factors) . عرفت هذه العوامل على أنها مواد سامة فطرية ، أو أنها أحماض دهنية غير مشبعة شاملة linolenic acid . بعد الإصابة بفطر اللفحة ، فإن عدداً من الأنزيمات يمكن أن تتدخل في دفاع النبات ، مظهرة نشاطاً أكثر في النباتات المعاملة بالبروبينازول منه في النباتات غير المعاملة (الكنترول) . كذلك فإن البروبينازول يقوي ما يسمى بالانفجار التنفسي Respiratory burst ويشجع تجميع جذور أنيونات السوبر أكسايد التي تلاحظ عادة بعد الإصابة بفطر اللفحة والتي يمكن أن تلعب دوراً مهماً في تفاعل النبات والكائن الممرض . وعلى أية حال فإن البروبينازول ليس له دور معنوي في حث أنزيم lipoxygenase ، جزئ معلم للمقاومة الجهازية المكتسبة في الأرز . وبالتالي فإن العلاقة بين العلامة البيولوجية للمقاومة الجهازية المكتسبة لا تزال تفتقد إلى بروبينازول بالرغم من أن هذه المادة الكيماوية تحفظ الأرز من الفطر *P. oryzae* .

د - مادة DCINA

مقاومة مرض جرب التفاح باستعمال DCINA

مقدمة :

يتسبب مرض جرب التفاح عن الفطر *Venturia inaequalis* ، وهو من أكثر الأمراض أهمية في جميع مناطق زراعة التفاح في العالم . نظراً للكفاءة الوبائية العالية للكائن الممرض ، فإنه يتطلب تكثيف استعمال المبيدات الفطرية في فترة النمو الخضري لمقاومة المرض ، وللحصول على إنتاج مضمون عالي الجودة .

لقد ذكر *Parisi et al* سنة ١٩٩٥ أن استعمال أصناف التفاح المقاومة للمرض ، يؤدي إلى خفض عدد مرات استعمال المبيد الفطري . وعلى كل حال فإن معظم الأصناف التجارية المنتشرة في العالم قابلة للإصابة بمرض جرب التفاح ، وإن إدخال صفة المقاومة الثابتة فيها يتطلب إجراءات ووقت طويل . إلا أن إجراءات المقاومة الجهازية المكتسبة ، للحصول على مستوى عال من المقاومة ، في وقت قصير ، عن طريق الإضافة الخارجية للكيماويات ، هي أكثر فائدة وأسهل تطبيقاً ، وبالتالي فإن دمج المقاومة الجهازية المكتسبة ، مع تنظيم التحكم في المرض ، يمكن أن يؤدي إلى خفض استعمال المبيدات الفطرية ، من حيث الكمية ومن حيث عدد المرات ، بالإضافة إلى فوائد تنقية البيئة ويبعد ظهور سلالات من الكائن الممرض مقاومة للمبيدات .

بالرغم من الفوائد الكبيرة لاستعمال المقاومة الجهازية المكتسبة في مقاومة مرض جرب التفاح ووقاية المحصول ، إلا أن الدراسات التي أجريت على هذا الموضوع قليلة جداً . أحدث هذه الأبحاث هي التي قام بها العالم *Ortega et al* سنة ١٩٩٦ وسنة ١٩٩٨ ، حيث ذكر أن الوقاية الجهازية المكتسبة لفطر جرب التفاح قد استحثت تحت ظروف الصوبا الزجاجية والحقلية أيضاً، بعد أن رشت النباتات بمركب 2,6-dichloroisonicotic acid (DCINA) ومركب 3,5-dichlorosalicylic .

مقاومة المرض :

إن استعمال المركب DCINA ، يستحث المقاومة في التفاح ضد فطر جرب التفاح. تتدخل المقاومة المكتسبة في جميع مراحل الإصابة ، باستثناء إنبات الجراثيم الكونيدية وتكوين أعضاء الالتصاق . أما عملية إنشاء وتأسيس الوسادة الهيفية Stromata بعد إختراق الكيوتكل قد تأثرت أيضاً بالمقاومة المكتسبة ، وقد تأكد ذلك عن طريق تأخير ظهور هذه التركيبات . كان هناك ١٠٪ فقط من الوسائد الهيفية الأولية قد إمتدت وتميزت إلى هيفات جارية في النباتات التي استحثت فيها المقاومة . أما في النباتات غير المعاملة ، كان تكوين الهيفات الجارية حوالي ١٠٠٪ في المناطق التي نجح فيها الاختراق . كذلك فإن طول وعدد الهيفات الجارية في النباتات المعاملة قد إنخفض أيضاً . وفي معظم الحالات ، لا التجرثم ولا تكوين المستعمرات قد حدث في النباتات المعاملة ، وذلك لتثبيط الوسادة الهيفية .

يستعمل المركب الكيماوي على شكل قطرات تحوي ٢٠ ميكرولتر (٢٥٠ جزء في

المليون) ، تحقن في ساق الغرسة ، ثم بعد سبعة أيام ، تحقن الغراس عن طريق رش الأوراق بمعلق جرثومي يحوي 10^5 جرثومة كونيدية/مل على الأوراق . تحضن الغراس في مراقد ذات رطوبة نسبية ١٠٠٪ لمدة ٢٤ ساعة قبل الحقن ، ثم لمدة ٣٦ ساعة بعد الحقن ، لتوفير أفضل ظروف للإصابة . كانت تؤخذ عينات الفحص على فترات يوم واحد حتى ١٢ يوم من الحقن .

تنبت الجراثيم الكونيدية للفطر *V. inaequalis* وتتكشف أعضاء الالتصاق خلال ١٢ ساعة من الحقن . بعد إختراق كيوتكل سطح النبات ، يبدأ الفطر في تكوين طبقة من الخلايا المستديرة ، مباشرة على خلايا البشرة ، هذه الوسادة الهيفية الأولية . يبدأ إختراق النبات العائل مع تمدد الوسادة الأولية ، بعد أن تصل إلى حجم معين وذلك بعد ٣ – ٤ أيام من الحقن . تتمايز (تتكشف) عديداً من الهيفات الجارية في كل منطقة إختراق ناجحة . تستطيل الهيفا الجارية تحت الكيونكل سامحة للفطر بالانتشار بعيداً عن خلايا البشرة . أثناء عملية تكوين المستعمرات ، يحدث تفرع قوي ويتكشف عديداً من الهيفات المتوازية ، هذا يؤدي إلى تكشف ما يسمى الوسادة الهيفية الثانوية وذلك بعد ٥ – ٧ أيام من الحقن . تشكل الهيفات الجارية والوسادة الهيفية الثانوية ، تركيب جانبي ملتف يسمى الهيفا المرجانية Corallold hyphae . بعد ذلك تتكون الحوامل الجرثومية للفطر ويتكون جراثيم كونيدية بعد ٩ – ١٢ يوم بعد الحقن . بعد تكوين الجراثيم تضغط على الكيوتكل فيندفع خارجاً ويتمزق ويشكل أعراض الجرب .

لم يؤثر المركب الكيماوي على نسبة إنبات جراثيم الفطر على أوراق التفاح . أما تأثيره على تكوين الوسادة الهيفة الأولية ، فإنه لم يوقفها ، إلا أنها تأخرت في التكوين . كانت نسبة الاختراق في الوسادة الهيفية الأولية حولي ٨٥٪ في النباتات المعاملة وغير المعاملة . أما الوسادة الهيفية الثانوية ، فقد توقف تكوينها تماماً في النباتات المعاملة وكانت نسبة الهيفات الجارية المتكونة ١٠٪ من المناطق التي نجحت فيها عملية الاختراق ، في النباتات المعاملة ، مقارنة مع ١٠٠٪ في نباتات الكنترول . وهذا يؤدي إلى وقف تكوين الوسادة الهيفية الثانية هذا يؤدي إلى خفض نسبة الإصابة بالمرض ٦٠٪ بعد ٩ أيام من الحقن بالفطر الممرض .

يمكن القول بأن معاملة نباتات التفاح بالمركب الكيماوي (DCINA) يؤدي إلى تكوين مقاومة جهازية مكتسبة ، تؤثر على كثير من مراحل الإصابة الفطرية للنبات ، وخاصة الأطوار الحرجة التي يتمكن فيها الفطر من تثبيت نفسه في خلية العائل ، وهذا

يؤدي إلى وقف إنتشار الفطر في النبات ، وإنخفاض تكوين الجراثيم الكونيدية ، وبالتالي خفض الإصابات الثانوية وبالتالي يحدث إنخفاض كبير في حدوث المرض بنسبة لا تقل عن ٨٠٪ مقارنة مع الكنترول .

هـ - حمض الارشيدونك

Arachidonic Acid (AA)

وقاية نباتات البطاطس من اللفحتين المبكرة والمتأخرة

مقدمة :

إن إصابة درنات البطاطس ، بسلالة شديدة المرضية من الكائن الممرض مسبب اللفحة المتأخرة *P. infestans* يخلق تفاعل فرط الحساسية . أمكن الحصول على تفاعل مشابه ، بعد معاملة شرائح من درنات البطاطس بحمض الارشيدونك (AA) ، وهو حمض دهني رئيسي في الغشاء الخلوي الميسيليومي وجراثيم الكائن الممرض . من المحتمل أن يعمل AA كمضاد فطري طبيعي يحث على تكوين فايتوالكسن ، بسبب أن بناء الفايتوالكسن يمكن أن يأخذ مجراه ، ويمكن لشرائح الدرنة أن لا تستعمر مدة طويلة بواسطة السلالات المتنافسة من الفطر الممرض السابق . أيضاً فإن أوراق البطاطس تستجيب للإصابة الموضعية بالسلالة شديدة المرضية من نفس الفطر ، عن طريق مقاومة الحقن بالمتحدي (التحصين) الثانوي الجهازي بسلالة شديدة المرضية من نفس الفطر ، ولكن ليس كما هو في الدرنات ، لا يوجد فايتوالكسن منتجة بعد ذلك .

لقد تم الحصول على مقاومة ، عندما عوملت أوراق البطاطس بتحضيرات جدر خلوية من الفطر الممرض المذكور *P. infestans* معروف بأنها تحتوي AA ، وبالحمض الدهني ذو القرابة معه وهو Eicosapentaenoic acid ويكتب (EAA) . أجريت دراسة مطولة بينت أنه عندما تعامل الأوراق السفلية لنباتات البطاطس بالأحماض الدهنية AA أو EAA ، فإن الأوراق العلوية تقاوم الإصابة بالفطر الممرض .

وقاية النبات :

عندما عوملت الأوراق الصغيرة السفلية من نباتات البطاطس ، النوع Bintje ، بمعلق

مائي من حمض دهني عديد غير مشبع ، الارشيدونك أسد (AA) ، حدث زيادة تقدر بثلاثة أضعاف في كمية حمض السلسليك الحر في الأوراق المعاملة ، لوحظت هذه الزيادة بعد ٣ ساعات من المعاملة . كان أعلى مستوى لحمض السلسليك الحر الذي يمكن قياسه في النباتات المعاملة ، بعد ٦ ساعات من المعاملة حيث يصل إلى ٣,٢١ ميكروغرام/غرام وزن طازج ، مقارنة مع ٠,١٥ ميكروغرام/غرام وزن طازج في الكنترول . أما مستويات حمض السلسليك المحول في الأوراق المعاملة ، يزداد حتى يصل ٥١ ميكروغرام/غرام وزن طازج بعد ٣ أيام من المعاملة ، مقارنة مع ٠,٨٣ ميكروغرام/غرام وزن طازج في الكنترول . بعد ٤ أيام من المعاملة بالمركب AA ، تصبح الأوراق العلوية مقاومة لمرض اللفحة المتأخرة في البطاطس ، ولكن لم يلاحظ أي تجمع لحمض السلسليك . لوحظت هذه الوقاية الجهازية في النباتات المعاملة بـ AA على تركيزات منخفضة حتى ١٠ جزء في المليون ، ومن غير المحتمل أن يكون ارتفاعها من AA المتنقل في النبات .

بالإضافة لذلك فإن المعاملة بالحمض AA تقي نباتات البطاطس من مرض اللفحة المبكرة المتسبب عن الفطر *Alternaria solani* . هذا يدل على المجال الواسع في الوقاية الذي تكتسبه النباتات من المعاملة بالمركب AA . يلاحظ تجمعات موضعية ، ولكن ليست جهازية للبروتينات المتعلقة بالمرضية ، أو للمواد الشبيهة بالبروتينات المتعلقة بالمرضية ، بعد ٢٤ ساعة من المعاملة بالمركب AA . إن استعمال أو إضافة حمض السلسليك على أوراق البطاطس لا يزيد المقاومة ضد الفطر *P. infestans* ، ولكن التجمعات الموضعية للبروتينات المتعلقة بالمرضية PR-1 لوحظت بعد ٢٤ ساعة من المعاملة .

تحتوي الأوراق الصغيرة السليمة من نباتات البطاطس ، القابلة للإصابة والمقاومة ، مستويات من حمض السلسليك أعلى منه في الأوراق القديمة ، ترتبط هذه الدرجة ، مع المقاومة الطبيعية للفطر مسبب مرض اللفحة المتأخرة . يمكن القول بأن أصناف البطاطس المزروعة في الحقل والتي تظهر مقاومة للمرض ، تحتوي كميات متحولة من حمض السلسليك أعلى منه في الأصناف القابلة للإصابة (جدول ٣٣ و ٣٤) .

جدول رقم ٣٣ : مستويات حمض السلسليك الحر والمتحول في أوراق نباتات البطاطس السليمة ، والبقع المرضية المتسببة على معلق للجراثيم الاسبورانجية للفطر *P. infestans* بتركيز ٥ × ١٠^٦/مل مضافة للأوراق . المناطق الملفوحة قيست بعد ٧ أيام من الحقن بالفطر الممرض.

الصنف المستعمل في الدراسة	مستوى حمض السلسليك ميكروغرام/غرام وزن طازج أوراق										المساحة الملفوحة في الورقة ملم				
	حر في الأوراق					محول في الأوراق									
	٢	٣	٤	٥	٦	٢	٣	٤	٥	٦	٢	٣	٤	٥	٦
Matida مقاوم	–	–	–	–	٢	٤	٤,٥	٦	١٢	١٨	١٦	٣,٥	٥	٧	١٨
Bintje قابل للإصابة	٠,٤	٠,٤	٠,٦	٠,٧	٠,٨	١	١,٠١	١,٢	١,٨	٢,٨	٤,٥	١٨٠	٢١٠	١٦٠	٨٠

جدول رقم ٣٤ : مستويات حمض السلسليك الحر والمحول ، في نباتات البطاطس ، مقدراً ميكروغرام/غرام وزن طازج في الورقة الرابعة بعد رش الورقة الثالثة بتركيز ١٥٠٠ جزء في المليون من AA .

المعاملـــة	الوقت بعد المعاملة بالساعات					
	١	٣	٦	٢٤	٤٨	٧٢
استعمال AA						
١ – حمض سلسليك حر	٠,٤٢	٠,٤	٠,١٢	٠,١٣	٠,٥٣	٠,٢٢
٢ – حمض سلسليك محول	١,٠٢	١,٦٦	١,٠٥	٠,٧١	١,٨٣	٠,٩٢
كنترول						
١ – حمض سلسليك حر	٠,٤٨	٠,٤٥	٠,٢٣	٠,١٨	٠,٥٤	٠,١١
٢ – حمض سلسليك محول	١,٣٧	١,٣٤	١,٤٢	١,٠٢	١,٤٨	١,٢٩

obeikandl.com

و - احداث مقاومة لبكتيريا العفن الطري في البطاطس ، باستعمال بعض المثيرات

مقدمة :

غالباً ما تعتمد ، مقاومة أمراض ما بعد الجمع في الفواكه والخضار ، على التحكم في جو المخزن ، التبريد والمبيدات الفطرية . إن التشديدات التي وضعت على استعمال المواد الكيماوية على المنتجات المخزنة ، والأثر المتبقى السام في المواد الغذائية ، سببت إجراء دراسات عديدة للحصول على بديل لهذه المواد الكيماوية لمقاومة أمراض ما بعد الجمع .

المقدرة على استحداث مقاومة في النبات القابل للإصابة ، عن طريق المعاملة المسبقة بالكيماويات ، الكائنات الدقيقة الممرضة ، منتجات ميتابولزم العوائل أو العوامل المعدية ، سلالات من الكائنات الممرضة والتي ليست ممرضة للنباتات المزروعة ، أو غير ممرضة للعائل ، أدت إلى البحث عن المقاومة الجهازية المكتسبة بأى من الطرق السابقة . إن استعمال المثيرات ، وهي المركبات التي تحث الاستجابة في النبات إلى استحداث مقاومة للكائنات الممرضة في الحقل إستعملت أيضاً لمقاومة أمراض ما بعد الجمع .

توضع البطاطس في الترتيب الرابع في الإنتاج العالمي ، خزن منها ٣,٥ مليون طن بعد محصول ١٩٩٥ في بريطانيا . ينتج أكبر فقد إقتصادي في درنات البطاطس المخزنة عن الإصابة بمرض العفن الطري المتسبب عن البكتيريا *Erwinia carotovora atroseptica* . لا يوجد أي مبيدات كيماوية تعطي تأثيراً فعالاً في مقاومة هذا المرض . تكون بكتيريا العفن الطري غير قادرة على اختراق كيوتكل النبات مباشرة ، وبالتالي يجب أن يتم إختراقها خلال الجروح الحادثة ، سواء أثناء الجمع أو أثناء الإجراءات التي تتم بعد الجمع وأثناء النقل . إن استعمال المثيرات لاستحداث مقاومة في الجروح ، طريقة ممكن أن تؤدي إلى مقاومة المرض.

المثيرات التي تحدث مقاومة في نباتات البطاطس القابلة للإصابة بالممرضات النباتية في الحقل ، هي جسمنك أسد (JA) الميثايل استر للجسمنك أسد (MeJA) وذلك عند استعمالها رشاً على المجموع الخضري . تسبب هذه المواد حثاً على تخليق مقاومة موضعية وجهازية للفطر *P. infestans* . كذلك فإن استعمال مكونات الجدار الخلوي لهذا الفطر

الممرض *P. infestans* تخلق مقاومة جهازية في البطاطس . كذلك فإن استعمال حمض الارشيدونك يستحث مقاومة جهازية لنفس الفطر السابق وللفطر *Alternaria solani* .

هناك أبحاث قليلة أجريت على تأثير المثيرات ، في زيادة مقاومة الدرنة ضد الكائنات الممرضة في المخـزن . إن المركب المسمى lipoglycoprotein المعزول من ميسيليوم الفطر *P. infestans* ، قد ذكر بأنه يزيد المقاومة في الدرنات المعاملة وفي النباتات المزروعة الناتجة من هذه الدرنات ، ضد الفطر نفسه .

كذلك وجد أن الأقراص المأخوذة من الدرنة والمعاملة بحمض Acetyl salicylic يزيد المقاومة ضد البكتيريا *E. carotovora* sp. *carotovora* ، إلا أن مقاومة الدرنات ليس من الضروري أن تكون بنفس الكفاءة في المخزن ، حيث المصدر الرئيسي للإصابة هي الجروح الموجودة على السطح .

استحداث مقاومة ضد المرض :

المثيرات المستعملة في هذه الدراسة هي :

١ – مادة (OG) وهي l-oligogalacturonides .

٢ – مادة PSCWH وهي مادة مستخلصة من جدار خلية الفطر *P. sojae* .

٣ – مادة chitosan oligomers (Oligomers of β - 1,4 - glucosamine) .

كانت الدرنات تجرح على عمق ٢ ملم وتضاف إليها هذه المثيرات وتخزن الدرنات على حرارة ٢٠°م ورطوبة نسبية ١٠٠٪ . تتكشف مقاومة طبيعية في الدرنة خلال ٨ – ٢٤ ساعة . عند معاملة الدرنات بالمادة الأولى وذلك بوضعها في جرح الدرنة ثم إضافة الكائن الممرض تتكشف المقاومة بعد ٨ ساعات ، أما في المادة الثانية بعد ٢٤ ساعة أما المادة الثالثة لم يكـن لها أي تأثيـر معنـوي فـي احداث المقاومة . يمكن ملاحظة ذلك من الجدول رقم ٣٥.

جدول رقم ٣٥ : تأثير المثيرات الثلاثة على إصابة البطاطس ببكتيريا العفن الطري .

المادة المستعملة	حجم المرض على الدرنة ملم٣ بعد الحقن بمدة	
	٨ ساعات	**٢٤ ساعة**
كنترول	٦٠٠	٢٤٠
OG	١٢٥	٧٠
PSCWH	٢٨٠	٢٠٠
Chitosan oligomers	٦٢٠	٢٥٠

ملاحظات على الجدول :

١ - كانت تحقن الدرنات بمعلق بكتيري يحوي $١٠^{٧}$ وحدة تكوين مستعمرات/مل .

٢ - كانت تخزن الدرنات على حرارة ٣,٥° م ورطوبة نسبية ٩٥٪ .

٣ - كانت تضاف المواد الكيماوية بتركيز ٠,٥ مل/جرح على عمق ٣ ملم .

عند دراسة تأثير المواد الثلاثة على نمو البكتيريا الممرضة في المعمل ، على بيئة دكستروز آجار ، تبين أن المواد الثلاثة ليس لها أي تأثير مثبط على نمو البكتيريا ، بل بالعكس فإن الثالثة تشجع نمو البكتيريا .

obeikandi.com

II : الكائنات الحية الدقيقة

مقدمة :

سبق أن ذكرنا في أول هذا الكتاب ، أن المقاومة الجهازية المكتسبة ، يمكن أن تتخلق بواسطة مواد كيماوية أو أحياء دقيقة . ذكرنا بالتفصيل المواد الكيماوية التي تحث على تخليق المقاومة الجهازية المكتسبة ، أما في هذا الجزء نذكر الكائنات الحية الدقيقة التي تحث على تخليق هذه المقاومة .

يتبين في جدول رقم ٣٦ الكائنات الحية الدقيقة والعوائل التي يظهر فيها تخليق المقاومة الجهازية المكتسبة أو المستحثة .

جدول رقم ٣٦ : أسماء الكائنات الحية الدقيقة الحاثة على كل من المقاومة الجهازية المكتسبة أو المستحثة والكائنات الممرضة التي تظهر ضدها هذه المقاومة . وأسماء العوائل النباتية والجينات المتعلقة بها .

Plant	Inducer organism	SAR	ISR	Systemic protection against	SAR genes
Alfalfa	*Colletotrichum lindemuthianum*	+		*Colletotrichum lindemuthianum*	NR
Arabidopsis	*Turnip crinkle virus*	+		*Pseudomonas syringae*	PR-1, PR-2
	Pseudomonas syringae			*Turnip crinkle virus*	
	Fusarium oxysporum			*Pseudomonas syringae*	
				Peronospora parasitica	
	Pseudomonas fluorescens		+	*Fusarium oxysporum* f. sp. *raphani*	Absent
	WCS 417			*Pseudomonas syringae* pv *tomato*	
Asparagus bean	*Tobacco necrosis virus*	+		*Tobacco necrosis virus*	NR
Barley	*Tobacco rattle virus*				
Bean*	*Erysiphe graminis* f. sp. *hordei*	+		*Erysiphe graminis* f. sp. *hordei*	NR
	Colletotrichum lindemuthianum	+		*Colletotrichum lindemuthianum*	NR
	Colletotrichum lagenarium			*TNV*	

NR: not recorded;* : SAR experiments with field tests were performed with these plants.

Plant	Inducer organism	SAR	ISR	Systemic protection against	SAR genes
	Uromyces phaseoli				
	Pseudomonas fluorescens		+	*Pseudomonas syringae phaseolicola*	Absent
Carnation	*Pseudomonas* sp.	+		*Fusarium*	NR
Cucumber*	*Colletotrichum lagenarium*	+		*Colletotrichum lagenarium*	Acidic chitinase
	Pseudoperonospora cubensis			*Cladosporium cucumerinum*	(PR-8).
	Pseudomonas lachrymans			*Fusarium oxysporum*	PR-1-like.
	Tobacco necrosis virus			*Pseudomonas lachrymans*	peroxidase
				Sphaerotheca fuliginea	
				Tobacco necrosis virus	
	Pseudomonas putida		+	*Colletotrichum orbiculare*	Absent
	Serratia marcescens				
Muskmelon	*Colletotrichum lagenarium*	+		*Colletotrichum lagenarium*	NR
Oilseed rape	*Leptosphaeria maculans*	+		*Leptosphaeria maculans*	NR
Pearl millet	*Sclerospore graminicola*	+		*Scleraspora graminicola*	NR
Potato	*Phytophthora infestans*	+		*Phytophthora infestans*	β- 1.3-glucanase
	Phytophthora cryptogea				
Radish	*Pseudomanas fluorescens*		+	*Fusarium oxsporum* f. sp. *raphani*	Absent
				Pseudomonas syringae pv *tomato*	
Red clover	*Bean yellow mosaic virus*	+		*Alternaria brassicola*	NR
Rice	*Pseudamonas syringae*	+		*Erysiphe polygoni*	
Sicklepod	*Alternaria crassiae*	+		*Magnaporthe grisea*	Lipoxygenase
Soybean	*Colletotrichum lagenarium*	+		*Alternaria crassiae*	NR
	Colletotrichum truncatum			*Colletotrichum truncatum*	NR
Srylosanthes	*Colletotrichum gloeosporioides*	+			
guianensis				*Colletotrichum gloeosporioides*	Acidic chitinase
Tobacco*	*Tobacco mosaic virus*	+			
	Tobacco necrosis virus			*Thielaviopsis basicola*	PR-1, PR-2,
	*Thielaviopsis basicola**			*Phytophthora parasitica*	PR-3, PR-4,
	Peronospora tabacina			*Peronospora tabacina*	PR-5, PR-lg,
	Pseudomonas syringae			*Pseudomonas syringae*	PR-8, SAR 8.2
	Pseudomonas fluorescens			*Phytophthora parasitica*	
	CHAO			*Pseudomonas tabaci*	
				Tobacco mosaic virus	
				Tobacco necrosis virus	
Tomato	*Phytophthora infestans*	+		*Phytophthora infestans*	Chitinase, P14
					(PR-1), P 70
Watermelon	*Fusarium oxysporum* f. sp.	+		*Colletotrichum lagenarrium*	Chitinase
	cucumerinum				

NR: not recorded;* : SAR experiments with field tests were performed with these plants.

١ - مقاومة أمراض البياض الدقيقي

أ - في العنب

مقدمة :

يتسبب مرض البياض الدقيقي في العنب عن الفطر *Uncinula necator* ، وهو مرض واسع الإنتشار في جميع أنحاء العالم ، ويحطم حقول عنب كثيرة . يمكن أن يهاجم الفطر الأزهار ، العناقيد ، الأوراق ، السيقان والثمار ويسبب فقد كبير في المحصول . لقد درست كل من المقاومة المستحثة بشكل عام والمقاومة الجهازية المكتسبة بشكل خاص ، ولقد درست الأخيرة بشكل واسع في النباتات الحولية والعشبية مثل الخيار ، الفاصوليا ، الدخان ، الطماطم ونباتات الارابدوبسز المقاومة لمجال واسع مع الكائنات الممرضة الفطرية ، البكتيرية والفيروسية .

لقد وجد Cohen سنة ١٩٧٨ أن نباتات الدخان المحقونة مسبقاً بالكائن الممرض المسبب مرض العفن الأزرق في الدخان *Peronospora tabacina* ، كانت مقاومة لمرض البياض الدقيقي في الدخان . أجري قليل من الأبحاث على النباتات المستديمة ، مثل الأشجار الخشبية والأشجار المثمرة مثل الأفوكادو وغيرها . تبين أن أشجار الأفوكادو عندما تحقن بالفطر *Phytophthora parasitica* المعزول من أشجار الحمضيات ، يستحث وقاية ضد كل من *P. cinnamomi* و *P. citricola* . كذلك وجد Schnathorst سنة ١٩٦١ أن الحقن المسبق للعنب بفيرس التفاف الأوراق ، يجعلها مقاومة لمرض البياض الدقيقي .

مقاومة المرض :

لقد تبين أن الحقن المسبق لنباتات العنب بفطر البياض الزغبي *Plasmopara viticola* يحدث مقاومة ضد الإصابة بفطر البياض الدقيقي *Uncinula necator* . تبين في إحدى التجارب أنه بعد ١٤ يوم من تعرض شجيرات العنب ، للجراثيم الكونيدية المحمولة بالهواء من الفطر *U. necator* ، فإن ١,٥ مستعمرة بياض دقيقي قد تكشفت على كل ورقة محقونة بفطر البياض الزغبي ، و ٢٣,٩ مستعمرة على شجيرات الكنترول . هذه المقاومة كانت محدودة على أنسجة الورقة المستعمرة بفطر البياض الزغبي ، ولم تنتقل إلى الأوراق المتكشفة حديثاً . لا يكون هناك وقاية من فطر البياض الدقيقي إذا فشل فطر البياض الزغبي في إصابة الشجيرات .

دل الفحص الميكروسكوبي ، على أن كونيديات فطر البياض الدقيقي ، تنبت على الأوراق المصابة بفطر البياض الزغبي ، ولكنها لا تستطيع إنتاج هيفات ثانوية أو مستعمرات . هذه الوقاية يمكن أن تصبح معكوسة وذلك برش المجموع الخضري للنباتات بمحلول ١,٠٪ سكروز ، خاصة الأوراق المصابة بالفطر *P. viticola* والذي يؤدي إلى استعادة القابلية للإصابة بالبياض الدقيقي . إن إضافة ١,٠٪ محلول سكروز يزيد تكشف فطر البياض الدقيقي في كل من نباتات الكنترول والنباتات المحقونة بفطر البياض الزغبي . يدل الحقن المتبادل على أن الإصابة بفطر البياض الدقيقي لا يثبط تكشف فطر البياض الزغبي .

ب - وقاية نباتات الخيار من الإصابة بالبياض الدقيقي

مقدمة :

يتسبب مرض البياض الدقيقي في الخيار عن الفطر *Sphaerotheca fuliginea* وهو من الأمراض الهامة ، حيث أنه يهاجم النباتات النامية في كل من الحقل أو الصوبا الزجاجية . تعتمد مقاومة المرض بشكل عام على استعمال المبيدات الفطرية ، ولكن الاتجاه الحديث في خفض استعمال مبيدات الآفات على المنتجات الزراعية ، مع الافتقار إلى أصناف الخيار المقاومة لهذا المرض والمرغوبة تجارياً ، جعل هناك حاجة للبحث عن طرق بديلة لمقاومة المرض .

يمكن أن تستحث المقاومة الجهازية ضد الأمراض المختلفة ، عن طريق رش الأوراق السفلية من نباتات الخيار بمحلول أملاح الاكسالات أو الفسفات . ولقد ذكر Reuveni *et al* سنة ٢٠٠٠ أنه يمكن تخفيض شدة مرض البياض الدقيقي في الخيار ، عن طريق تخليق مقاومة جهازية ، باستعمال الفسفات على شكل hydroponic system ، وتخليق مقاومة ضد بعض أنواع الصدأ واللفحة الشمالية للذرة . أصبح هذا الإجراء الآن طريقة عملية لمقاومة أمراض البياض الدقيقي في كثير من أنواع المحاصيل والخضار وأشجار الفاكهة ، مثل العنب ، التفاح ، المانجو والنكترين .

لقد وجد أن حقن الأوراق السفلية لنبات الخيار بعوامل حيوية ، مثل كائنات ممرضة غير شديدة المرضية ، أو كائنات ممرضة شديدة القوة المرضية ، والتي تسبب بقع موضعية محدودة ، أو كائنات غير ممرضة ، كل ذلك يخلق مقاومة جهازية مكتسبة ضد مدى واسع

obeikandl.com

من الكائنات الممرضة الفطرية ، البكتيرية والفيروسية . مثل هذا الحقن يشجع ميكانيكيات المقاومة في الأوراق غير المحقونة ويزودها بوقاية على مدى طويل ضد مجال واسع من الأمراض . لقد وجد أن تخليق المقاومة ضد *Alternaria brassica* قد لوحظت في المسترده بعد الحقن بعزلة غير شديدة المرضية من الفطر نفسه ، وفي الشعير ضد مرض البياض الدقيقي المتسبب عن الفطر *Erysiphe graminis* f.sp. *hordei* بعد الحقن المسبق بالفطر الرمي *Cladosporium macrocarpum* .

الوقاية من المرض :

إن حقن الورقتين الأوليتين من نباتات الخيار ، وهو في الطور الورقي الثاني عن طريق الرش بمعلق جراثيم عزلة الفطر *Alternaria cucumarina* غير الممرض ، أو الفطر *Cladosporium julvum* وذلك قبل حقنها بالكائن الممرض ، المسبب لمرض البياض الدقيقي في الخيار *S. fuliginea* ، يخلق مقاومة جهازية لمرض البياض الدقيقي على الأوراق من الثانية إلى الخامسة . كانت تظهر المقاومة الجهازية (يعبر عنها) بواسطة الخفض المعنوي في عدد مستعمرات البياض الدقيقي ، المتكونة على كل ورقة في النباتات المستحثة بالمقارنة مع النباتات غير المعاملة (الكنترول) . لقد أمكن ملاحظة المقاومة الجهازية ، عندما تم الحقن بالفطر الحاث قبل الحقن بالفطر الممرض بمدة ١ ، ٣ أو ٦ أيام . كذلك فإن زيادة تركيز لقاح الفطرين *C. fulvum* أو *A. cucumarina* ، تزيد الوقاية الجهازية وتخفض الإصابة المرضية بحوالي ٧١٪ و ٨٠٪ على الترتيب ، في عدد المستعمرات المتكونة على الأوراق العلوية مقارنة مع الكنترول . أما زيادة تركيز الحقن بالفطر الممرض *S. fuliginea* ، فإنه يزيد من عدد مستعمرات البياض الدقيقي على النباتات سواء المعاملة بالكائن الحاث على المقاومة أو الكنترول (جدول رقم ٣٧) . وعلى أية حال فإن النباتات المعاملة مسبقاً بالكائن الحاث تستمر حالتها أفضل من الكنترول . هذا يدل على أن مستوى الوقاية الجهازية يتعلق بتركيز لقاح الفطر الممرض . وعلى أية حال فإن استعمال المقاومة الجهازية المكتسبة تعتبر وسيلة جيدة تدخل في نظم الوقاية من الأمراض .

جدول رقم ٣٧ : تأثير تركيز اللقاح المستعمل من فطر البياض الدقيقي في الخيار على تخليق وقاية جهازية لمرض البياض الدقيقي في النبات المحقون مسبقاً بالفطر *C. fulvum* و *A. cucmarina* . تحسب المقاومة على أساس عدد مستعمرات الفطر الممرض على أوراق النبات .

تركيز الفطر الممرض كونيدية لكل ملم معلق جراثيم	*A. cucumarina*						*C. fulvum*					
	نباتات كنترول			نباتات خيار مستحثة			نباتات كنترول			نباتات خيار مستحثة		
	١٤يوم	١٧يوم	٢١يوم	١٤يوم	١٧يوم	٢١يوم	١٤يوم	١٧يوم	٢١يوم	١٤يوم	١٧يوم	٢١يوم
١×١٠^{٤}	٢١	٢٨,٧	٣٤,٥	٦,٤	١٢,٢	١٨	١٣,٨	١٩,٨	٤٧,٠	٠,٨	٢,٦	١١,٦
$٤,٥ \times ١٠^{٤}$	٤٤,٣	٥٧,٠	٦٥,٥	١٢,٧	٢٤,٨	٣٣,٥	٥٤,٤	٦٥,٢	٨١,٤	٢٤,٤	٣٨,٤	٥٠,٦
٢٠×١٠^{٤}	٦١,٨	٧٧,٥	٨٦,٧	٢٦,٥	٤٠,٧	٥٣,٧	٨٤,٨	١٠٥,٨	١٤١,٤	٤١,٦	٥٣,٤	٦٩

ملاحظات على الجدول :

كانت ترش أوراق نبات الخيار بمعلق جراثيم الكائن الحاث بتركيز ٥×١٠^{٦} كونيدية/مل من الفطر الأول ، وبتركيز ١٥٠×١٠^{٥} كونيدية/ مل من الفطر الثاني . ثم بعد ٢٤ ساعة كانت ترش النباتات بجراثيم الفطر الممرض بالتركيز المذكور في الجدول ، ثم بعد ١٤ ، ١٧ ، ٢١ يوم تحسب الإصابة على الأوراق على شكل عدد المستعمرات على الأوراق.

٢ - وقاية نباتات الطماطم من الإصابة باللفحة المتأخرة باستعمال فيروس نكروزز الدخان

مقدمة :

لقد درست المقاومة الجهازية المكتسبة SAR في أنواع مختلفة من المحاصيل ، ضد مدى واسع من الأمراض . أما في العائلة الباذنجانية ، هناك اهتمام كبير ، قد تركز على تخليق مقاومة جهازية في الدخان والبطاطس ضد الأمراض الفطرية ، البكتيرية والفيروسية ، بينما هناك قليل من الأبحاث قد أجريت لمحاولة تحصين نباتات الطماطم ضد المرض المذكور (فيروس نكروزز الدخان). أجريت أبحاث بواسطة Gessler & Heller سنة ١٩٨٦ على

المقاومة الجهازية المكتسبة في الطماطم ضد مرض اللفحة المتأخرة المتسبب على الفطر *Phytophthora infestans* وذلك عن طريق حقن الأوراق السفلية بنفس الفطر . كما أن Cohn *et al* سنة ١٩٩٤ ذكر أنه حتى ال ٩٠٪ من نباتات الطماطم التي حدث فيها وقاية ضد اللفحة المتأخرة ، يمكن الحصول عليها عن طريق الرش بمركب B - isomer للمركب aminobutyric acid ، بمدة يومين قبل الحقن بالفطر *P. infestans* .

إن العلاقة بين SAR وتجمع بروتينات PR في الطماطم ، قد حصلت على اهتمام كبير من الباحثين . بعض البروتينات المتعلقة بالمرضية في نباتات الطماطم والتي تتجمع كنتيجة للمعاملة بعوامل حيوية أو غيرى حيوية قد حددت على أنها Chitinase و β-(1,3)-glucanases . إحدي البروتينات المتعلقة بالمرضية في الطماطم عرف على أنه Endoproteinase وآخر على أساس أنه Peroxidase . البروتينات المتعلقة بالمرضية مثل P_{14} و AP_{24} (osmotin) لها نشاط كمضاد فطري ضد الفطر *P. infestans* ، قد تمت لها تنقية من نباتات الطماطم والدخان المصابة بالفطر المذكور سابقاً ، وفيرس موزايك الدخان بالترتيب . زيادة على ذلك فإن Liu *et al* سنة ١٩٩٤ ذكر أن التعبير الواضح جداً لمادة Osmotin في نباتات البطاطس المحولة وراثياً ، يؤخر إبتداء أعراض اللفحة المتأخرة بعد الحقن بالفطر *P. infestans* .

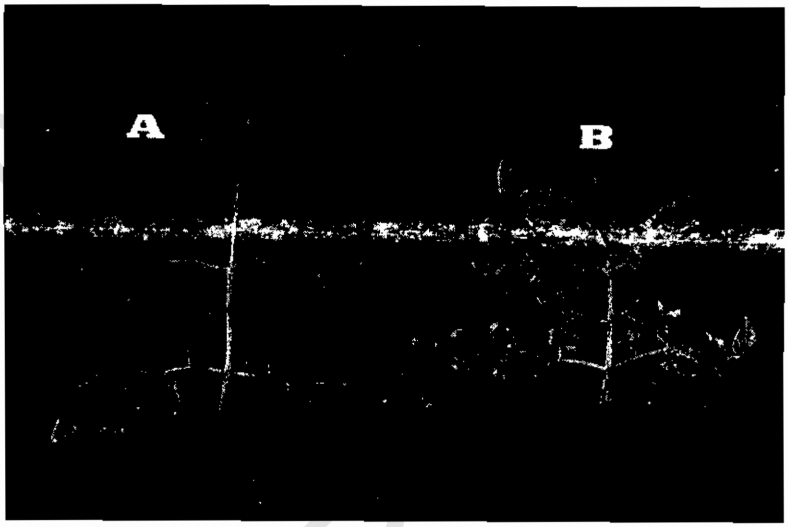
لقد ذكر بعض الباحثين بأنه يمكن تخليق المقاومة الجهازية ضد الأمراض ، عن طريق الحقن بفيرس نكروزز الدخان TNV ، في نباتات مختلفة خاصة الخيار والطماطم .

وقاية النباتات من المرض :

إن حقن نباتات الطماطم في الورقتين السفليتين ، رقم واحد ورقم إثنين بفيرس TNV ، يخلق مقاومة جهازية ضد الفطر *P. infestans* . تظهر المقاومة على شكل خفض في المساحة الكلية الملفوحة من الورقة المتسبب عن الفطر في النباتات المحقونة بالفيرس ، مقارنة مع الكنترول كما في (شكل رقم ٣) . ولقد وجد أيضاً أن معدلات المرض في الأوراق رقم ٣ ، ٤ من النباتات المعاملة بالمحلول المنظم (كنترول) كانت ٣,٢ ، ١,٩ بالمقارنة مع ٦٠ و ٢٣٪ في نسيج الورقة المصابة . كان مستوى الوقاية المخلقة بواسطة الحقن بالفيروس TNV ٥٤٪ في الورقة الثالثة و ٨٠٪ في الورقة الرابعة . تكون الوقاية واضحة في الورقة

obeikandi.com

الثالثة في اليوم الرابع ، وأن مستوى الوقاية يزداد مع الوقت ، نصل إلى أقصى وقاية بعد ثمانية أيام من الحقن بالفيرس TNV . تكون شدة المرض في نباتات الكنترول منخفضة نسبياً .



شكل رقم ٣ : الورقة الثالثة في نباتات الطماطم المعاملة ، للوقاية من مرض اللفحة المتأخرة وذلك بحقنها بالفيرس :

(A) **الورقة محقونة بالفيرس** TNV (**تظهر سليمة**) **معبرة عن حصول مقاومة جهازية مكتسبة .**

(B) **كنترول .**

البروتينات المتعلقة بالمرضية :

من الدراسات التحليلية للبروتينات المتجمعة في النباتات المحقونة بالفيرس ، قبل حقنها بالفطر الممرض ، تبين أن نباتات الطماطم التي تظهر مقاومة جهازية مكتسبة ضد الفطر *P. infestans* تحتوى على :

1 - Endoproteinase　　2 - β-(1,3) - glucanases　　3 - Chitinases

4 - AP_{24}　　5 - P_{14}

obeikandl.com

إن تخليق المقاومة الجهازية ، كان مصحوباً بزيادة في نشاط البيروكسيديز في الأوراق المحقونة ، بالإضافة إلى نسيج الورقة العلوية رقم ٣ . ومن ناحية أخرى فإن هناك زيادة معنوية في نشاط β-(1,3) glucanase قد لوحظ فقط في الأوراق المحقونة بفيرس نكروزز الدخان . كذلك فإن تحليل أنسجة أوراق النبات المستحثة ، أظهرت أن الحقن بفيرس TNA يؤدي إلى تخليق ثلاثة بيروكسيديز جديدة وواحد β-1,3-glucanase isozymes .

٣ - وقاية الطماطم من مرض ذبول الفيوزاريوم باستعمال الفطر *Penicillium oxalicum*

مقدمة :

يتسبب مـــرض ذبـول الفـيوزاريوم في الطماطم عن الفطر *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* . هذا المرض هام إقتصادياً . يخترق الفطر الأنسجة الوعائية في النبات ويسبب ذبول حاد في المجموع الخضري ، عن طريق قفل أوعية الخشب الناقلة ، وإعاقة حركة الماء . غالباً ما تغلف جدر الأوعية بمادة أمورفية إلكترونية غير منفذة ، هذه المادة تقفل فتحات فجوات برنشيما الخشب وتلبسها بغشاء منقر . تكون الإصابة مصحوبة بالموت التدريجي لخلايا برانشيما الخشب أثناء إصابة النبات . هناك مركبات كثيرة تشارك في تكشف الأعراض ، مثل الأنزيمات المركبات المنظمة للنمو ، التوكسينات والصموغ .

ذكر Decal *et al* سنة ١٩٩٧ ، أن معاملة نباتات الطماطم بالجراثيم الكونيدية للفطر *Penicillium oxalicum* يخلق مقاومة ضد ذبول الفيوزاريوم فى الطماطم . عند وضع كل من الفطر المضاد والفطر الممرض في أماكن متباعدة على نبات الطماطم أو في التربة ، هذا يمنع التفاعل المباشر بين الفطرين ، الفطر *P. oxalicum* يخلق خفضاً في شدة المرض ويستعمر رايزوسفير الطماطم ، ولكنه لا يدخل ساق نبات الطماطم . لقد درس الدور الممكن للبروتينات المتعلقة بالمرضية ، فوجد أنه لا يوجد أي دليل على دخولها في عملية المقاومة . في المزارع المائية فإن النباتات المعاملة بالفطر *P. oxalicum* ، تمتص كمية من السائل ، أكبر من النباتات غير المعاملـة ، عنـدما يصاب كلا النباتين بالفطـر الممرض ، هـذا يؤدي إلى القـول بأن الفـطر *P. oxalicum* يمنع ولو جزئياً قفل أو إنهيار الأوعية الخشبية في النباتات المصابة .

وقاية النبات من المرض :

عند معاملة نباتات الطماطم بمعلق من الجراثيم الكونيدية $١٠^{٧}$ كونيدية/مل ، من جراثيم الفطر *P. oxalicum* قبل حقنها بالفطر الممرض فيوزاريوم أوكسي سبوريوم لايكوبرسسياي ، كانت النتيجة إنخفاض كبير في شدة المرض . أظهرت الدراسة التشريحية أن النباتات غير المعاملة بالفطر *P. oxalicum* يظهر فيها فقد كامل في الكامبيوم (٧٥ – ١٠٠ ٪) وكذلك زيادة في عدد الحزم الوعائية ، ونقصاً في عدد الأوعية الخشبية (خفض بنسبة ٢٠ ٪) . كذلك يظهر خفضاً في قطر السويقة الجنينية العليا والسفلى بنسبة ٢٠ – ٣٠ ٪ . تتناسب أعداد الأوعية المستعمرة بالفطر الممرض إيجابياً مع تقدم المرض . وعلى أية حال فإن النباتات المستحثة بواسطة الفطر *P. oxalicum* تظهر خفضاً في المرض ، ولا تفقد أي نسبة من الكامبيوم ، ويتكون فيها إعداد قليلة من الحزم الوعائية ، وقليل من الأوعية تكون مستعمرة بالكائن الممرض .

لوحظت هذه التأثيرات في أصناف الطماطم ، القابلة للإصابة بالفطر سلالة (١ ، ٢) وتلاحظ جزئياً في الأصناف المقاومة لكلا السلالتين . إن عملية تجديد وإطالة فعالية الكامبيوم الذي يؤدي إلى تكوين خشب ثانوي إضافي ، يمكن أن تكون واحداً من أهم الأسباب التي تؤدي إلى خفض المرض في نباتات الطماطم المستحثة بالفطر *P. oxalicum* (جدول رقم ٣٨ ، ٣٩) .

obeikandl.com

جدول رقم ٣٨ : تأثير المعاملات المختلفة بالفطر *P. oxalicum* على تكشف مرض ذبول الفيوزاريوم في الطماطم ، وعلى الصفات المورفولوجية والتشريحية ، لساق نبات الطماطم القابل للإصابة بفيوزاريوم الذبول سلالة ٢ ومقاوم للسلالة ١ .

استعمال الفطر الحاث بتركيز 10^7 كونيدية/مل وتحقن النباتات بفطر الذبول 10^6 كونيد/مل	دليل المرض من صفر إلى خمسة	الدراسة الميكروسكوبية				
		٪ استعمار الخشب بالفطر الممرض	طبقات الكامبيوم	وعاء/حزمة	حزمة في المقطع	ميكروميتر قطر الوعاء
تلويث البذور قبل زراعتها	٣,٢	٧١,٤	صفر	١٠	٤	٢١,٧
فوراً يضاف على البذر قبل الزراعة	٢,٩	٦٤,٤	صفر	١٢	٤	٢٥,٦
على فلقات البادرات	٢,٤	٥٤,١	١,٨	١٣,٦	٧,٨	٣١,٧
على البادرة عمر ٧ يوم	٢,−	٤١,٤	١,٦	١٢,٦	٥,٦	٣٧,١
على البادرة قبل نقلها ٤ يوم	٢,٥	٥٦,٣	صفر	١٢,٨	٤,−	٣٣,٧
على البادرة فور نقلها	١,٨	٥١,٧	١,−	١٣,٢	٦,٢	٣٦,٨
كنترول	٤,١	٦٤,٤	٠,٢	١١,−	٥,٦	٣١,٤

جدول رقم ٣٩ : تأثير استعمال الفطر *P. oxalicum* على تكشف مرض ذبول الفيوزاريوم في الطماطم والتركيب التشريحي للصنفين . تؤخذ النتائج بعد ٢١ يوم من الحقن بالكائن الممرض .

الصنف	فيوزاريوم الذبول	الفطر الحاث	دليل المرض من صفر إلى خمسة	الدراسة الميكروسكوبية		
				٪ استعمار الفطر	طبقات الكامبيوم عدد	عدد الحزم في المقطع
قابل للإصابة للسلالتين	+	+	٣,٢	٠,٩	٢,٣	٤
قابل للإصابة للسلالتين	*	−	٢,٤	٩٨,٩	صفر	٦
قابل للإصابة للسلالتين	−	+	صفر	صفر	٢,٣	٤
قابل للإصابة للسلالتين	*	−	صفر	صفر	٢,٣	٥
مقاوم للسلالتين	+	+	صفر	٥,٧	١,−	٤
مقاوم للسلالتين	*	−	صفر	صفر	٠,١	٧
مقاوم للسلالتين	−	+	صفر	صفر	٣,٢	٦
مقاوم للسلالتين	*	−	صفر	صفر	٤,٢	٤

ملاحظات على الجدول : النجمة تدل على عدم الاستعمال .

obeikandi.com

obeikandl.com

المراجـــع

المراجـع العامـة :

1. Abdel-Aziz, N.A., 1999. Effects of chemical and heat treatments of seeds on squash infection by cucumber moasaic virus. *Assiut J. of Agri. Sci.*, 30, 4 : 193-206.

2. Anfoka, G. and H. Buchenauer. 1997. Systemic acquired resistance in tomato against *Phytophthora infestans* by pre-inoculation with tobacco necrosis virus. *Physiology and Molecular Plant Pathology*, 50 : 85-101.

3. Brisset, M.M., *et al.*, 2000. Acibenzolar–S–methyl induces the accumulation of defense – related enzymes in apple and protects from fire blight. *European J. of Plant Pathology*, 106 : 529-536.

4. Chen, C., *et al.*, 1999. Role of salicylic acid in systemic resistance induced by *Pseudomonas* sp. against *Pythium aphanidermatum* in cucumber roots. *European J. of Plant Pathology*, 105 : 477-486.

5. Coquoz, J.L., *et al.*, 1995. Arachidonic acid induces local but not systemic synthesis of salicylic acid and confers systemic resistance in potato plants to *Phytophthora infestans* and *Alternaria solani. Phytopathology*, 85 : 1219-1224.

6. Dann, E., *et al.*, 1998. Effects of treating soybean with INA and BTH on seed yields and the level of disease caused by *Sclerotinia sclerotiorum* in field and greenhouse studies. *European J. of Plant Pathology*, 104 : 271-278.

openkanal.com

7. Dong, H. and S. Beer. 2000. Riboflavin induces disease resistance in plants by activating a novel signal transduction pathway *Phytopathology*, 90 : 801-811.

8. Dutton, M.V., *et al.*, 1997. Induced resistance to *Erwinia carotovora* f. sp. *atroseptica*, through the treatment of surface wounds of potato tubers with elicitors. *J. Phytopathology*, 145, 163-169.

9. Gahalain, N., et al., 1999. Effect of environmental conditions, salicylic acid and phytohormones on pea leaf blight. *Indian Phytopath.*, 52 (3) : 270-273.

10. Geert, D.M. and M. Hofte. 1997. Salicylic acid produced by the rhizobacterium *Pseudomonas aeruginosa* 7WSK2 induces resistance to leaf infection by *Botrytic cinerea* on bean. *Phytopathology*, 87 : 588-593.

11. Jeun, Y.C., et al., 2000. Biochemical and cytological studies on mechanisms of systemically induced resistance to *Phytophthora infestans* in tomato plants. *J. Phytopathology*. 148 : 129-140.

12. Purkayastha, R.P. 1998. Disease resistance and induced immunity in plants. *Indian Phytopath*, 51 (3) : 211-221.

13. Raskin, I. 1992. Role of salicylic acid in plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 43 : 439-463.

14. Ryals, J.A., *et al.*, 1996. Systemic Acquired resistance. *The Plant Cell*, 8 : 1809-1819.

15. Ryals, J., S., Uknes and E. Ward. 1994. Systemic Acquired Resistance. *Plant Physiology*, 104 : 1109-1112.

16. Reuveni, M. 1999. Resistance to powdery mildew in grapevine induced by *Plasmopara viticola. Can. J. Plant. Pathology*, 21 : 272-275.

17. Silverman, P., *et al.*, 1995. Salicylic acid in rice. *Plant Physiology*, 108 : 633-639.

18. Sticher, L.B., *et al.*, 1997. Systemic acquired resistance. *Annu. Rev. Phytopathol.* 35 : 235-270.

19. Saskia, C.M., *et al.*, 2000. Enhancement of induced disease resistance by simultaneous activation of salicylate – and jasmonate – dependent defense pathways in *Arabidopsis thaliana*. PNAS, 97,15 : 8711-8716.

20. Schweizer, P., *et al.*, 1999. Different patterns of host genes are induced in rice by *P. syringae*, a biological inducer of resistance and the chemical inducer BTH. *European J. of Plant Pathology*, 105 : 659-665.

21. Ton, J., *et al.*, 2001. Heritability of rhizobacteria – mediated induced systemic resistance and basal resistance in Arabidopsis. *European J. of Plant Pathology*, 107 : 63-68.

22. Tosi, L. and A. Zazzerini. 2000. Interactions between *Plasmopara helianthi*, *Glomus mosseae* and two plant *activators* in sunflower plants. *European J. of Plant Pathology*, 106 : 735-744.

23. Ward, E., *et al.*, 1994. Induction of systemic acquired disease resistance in plants by chemicals. *Ann. Rev. Phytopathol.* 32 : 439-459.

24. Wurms, K., *et al.*, 1999. Effects of milsana and benzothiadiazole on the ultrastructure of powdery mildew haustoria on cucumber. *Phytopathology*, 89 : 728-736.

25. Xue, L., et al., 1998. Systemic Induction of peroxidases, 1, 3-ß-Glucanases, chitinases, and resistance in bean plants by binucleate *Rhizoctonia* species. *Phytopathology*, 88 : 359-365.

26. Zhou, T. and T.C. Paulitz. 1994. Induced resistance in the biocontrol of *Pythium aphanidermatum* by *Pseudomonas* sp. on cucumber. *J. Phytopathology*. 142 : 51-63.

مراجع خاصة بالبروتينات المتعلقة بالمرضية :

1. Van Loon, L.C., Pierpoint, W.S., Boller, T. and Conejero, V. 1994. Recommendations for naming plant pathogenesis- related proteins. *Plant Mol. Biol. Reporter 12* : 245-264.

2. Van Loon, L.C. and Van Strien, E.A. 1999. The families of pathogenesis-related proteins, their activities, and comparative analysis of PR-1 type proteins. *Physiol. Mol. Plant Pathol. 55* : 85-97.

مراجع خاصة متعلقة بالطماطم والدخان :

1. Van Loon, L.C. and Van Kammen, A. 1970. Polyacrylamide disc electrophoresis of the soluble leaf proteins from *Nicotiana tabacum* var. "Samsun" and "Samsun NN". II. Changes in protein constitution after infection with tobacco mosaic virus. *Virology*, 40 : 199-211.

2. Gianinazzi, S., Martin, C. and Vallée, J.C. 1970. Hypersensibilité aux virus, température et protéines solubles chez le *Nicotiana Xanthi* n.c. Apparition de nouvelles macromolécules lors de la répression de la synthèse virale. *C.R. Acad. Sci. Paris 270D* : 2383-2386.

3. Ahl, P., Cornu, A. and Gianinazzi, S. 1982. Soluble proteins as genetic markers in studies of resistance and phylogeny in *Nicotiana*. *Phytopathology* 72 : 80-85.

4. Van Loon, L.C. 1982. Regulation of changes in proteins and enzymes associated with active defense against virus infection. In : Active Defense Mechanisms in Plants (R.K.S. Wood, ed.), pp. 247-273. Plenum Press, New York, USA.

5. Pierpoint, W.S. 1983. The major proteins in extracts of tobacco leaves that are responding hypersensitivity to virus- infection. *Phytochemistry* 22 : 2691-2697.

6. Parents, J.G. and Asselin, A. 1984. Detection of pathogenesis- related (PR or b) and of other proteins in the intercellular fluid of hypersensitive plants infected with tobacco mosaic virus. *Can. J. Bot.* 62 : 564-569.

7. Pierpoint, W.S. 1986. The pathogenesis-related proteins of tobacco leaves. *Phytochemistry* 25 : 1595-1601.

8. Cornelissen, B.J.C., Horowitz, J., Van Kan, J.A.L., Goldberg, R.B. and Bol, J.F. 1987. Structure of tobacco genes encoding pathogenesis-related proteins from the PR-1 group. *Nucleic Acids Res*. 15 : 6799-6811.

9. Hogue, R. and Asselin, A. 1987. Detection of 10 additional pathogenesis-related (b) proteins in intercellular fluid extracts from stressed 'Xanthi-nc' tobacco leaf tissue. *Can. J. Bot.* 65 : 476-481.

10. Kauffmann, S., Legrand, M., Geoffroy, P. and Fritig, B. 1987. Biological function of 'pathogenesis-related' proteins : four PR proteins of tobacco have 1,3-ß-glucanase activity. EMBO J. 6 : 3209-3212.

11. Legrand, M., Kauffmann, S., Geoffroy, P. and Fritig, B. 1987. Biological function of 'pathogenesis-related' proteins : four tobacco pathogenesis-related proteins are chitinases. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 84 : 6750-6754.

12. Fritig, B., Rouster, J., Kauffmann, S., Stintzi, A., Geoffroy, P., Kopp, M. and Legrand, M. 1989. Virus-induced glycanhydrolases and effects of oligosaccharide signals on plant-virus interactions. In : Signal Molecules in Plants and Plant-Microbe Interactions (B.J.J. Lugtenberg, ed.), pp. 161-168. Springer-Verlag, Berlin / Heidelberg, Germany.

13. Van den Bulcke, M., Bauw, G., Castresana, C., Van Montagu, M. and Vandekerckhove, J. 1989. Characterization of vacuolar and extracellular ß(1,3)-glucanases of tobacco : evidence for a strictly compartmentalized plant defense system. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86 : 2673-2677.

14. Kauffmann, S., Legrand, M. and Fritig, B. 1990. Isolation and characterization of six pathogenesis-related (PR) proteins of Samsun NN tobacco. *Plant Mol. Biol.* 14 : 381-390.

15. Geoffroy, P., Legrand, M. and Fritig, B. 1990. Isolation and characterization of a proteinaceous inhibitor of microbial proteinases induced during the hypersensitive reaction of tobacco to tobacco mosaic virus. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 3 : 327-333.

16. Stintzi, A., Heitz, T., Kauffmann, S., Legrand, M. and Fritig, B. 1991. Identification of a basic pathogenesis-related, thaumatin-like protein of virus-infected tobacco as osmotin. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 38 : 137-146.

17. Woloshuk, C.P., Meulenhoff, J.S., Sela-Buurlage, M., Van den Elzen, P.J.M. and Cornelissen, B.J.C. 1991. Pathogen-induced proteins with inhibitory activity toward *Phytophthora infestans*. *Plant Cell* 3 : 619-628.

18. Lawton, K., Ward, E., Payne, G., Moyer, M. and Ryals, J. 1992. Acidic and basic class III chitinase mRNA accumulation in response to TMV infection of tobacco. *Plant Mol. Biol.* 19 : 735-743.

19. Heitz, T., Geoffroy, P., Stintzi, A., Fritig, B. and Legrand, M. 1993. cDNA cloning and gene expression analysis of the microbial proteinase inhibitor of tobacco. *J. Biol. Chem.* 268 : 16987-16992.

20. Stintzi, A., Heitz, T., Prasad, V., Wiedemann-Merdinoglu, S., Kauffmann, S., Geoffroy, P., Legrand, M. and Fritig, B. 1993. Plant 'pathogenesis-related' proteins and their role in defense against pathogens. *Biochimie* 75 : 687-706.

21. Melchers, L.S., Apotheker-de Groot, M., Van der Knaap, J.A., Ponstein, A.S., Sela-Buurlage, M.B., Bol, J.F., Cornelissen, B.J.C., Can den Elzen, P.J.M. and Linthorst, H.J.M. 1994. A new class of tobacco chitinases homologous to bacterial exo-chitinases displays antifungal activity. *Plant J. 5* : 469-480.

22. Ponstein, A.S., Bres-Vloemans, S.A., Sela-Buurlage, M.B., Van den Elzen, P.J.M., Melchers, L.S. and Cornelissen, B.j.C. 1994. A novel pathogen- and wound-inducible tobacco (*Nicotiana tabacum*) protein with antifungal activity. *Plant Physiol.* 104 : 109-118.

23. Brunner, F., Stintzi, A., Fritig, B. and Legrand, M. 1998. Substrate specificities of tobacco chitinases. *Plant J.* 14 : 225-234.

24. Niderman, T., Genetet, I., Bruyère, T., Gees, R., Stintzi, A., Legrand, M., Fritig, B. and Mösinger, E. 1995. Pathogenesis-related PR-1 proteins are antifungal; isolation and characterization of three 14-kilodalton proteins of tomato and of a basic PR-1 of tobacco with inhibitory activity against *Phytophthora infestans*. *Plant Physiol.* 108 : 17-27.

مراجع خاصة بالبروتينات المتعلقة بالمرضية فى الدخان :

1. Antoniw, J.F., Ritter, C.E., Pierpoint, W.S. and Van Loon, L.C. 1980. Comparison of three pathogenesis-related proteins from plans of two cultivars of tobacco infected with TMV. *J. Gen. Virol.* 47 : 79-87.

2. Epple, P., Apel, K. and Bohlmann, H. 1995. An *Arabidopsis thaliana* thionin gene is inducible via a signal transduction pathway different from that for pathogenesis-related proteins. *Plant Physiol.* 109 : 813-820.

3. Garcia-Oimedo, F., Molina, A., Segura, A. and Moreno, M. 1995. The defensive role of nonspecific lipid-transfer proteins in plants. *Trends Microbiol.* 3 : 72-74.

4. Green, T.R. and Ryan, C.A. 1972. Wound-induced proteinase inhibitor in plant leaves : a possible defense mechanism against insects. *Science* 175 : 776-777.

5. Lagrimini, L.M., Burkhart, W., Moyer, M. and Rothstein, S. 1987. Molecular cloning of complementary DNA encoding the lignin-forming peroxidase from tobacco : molecular analysis and tissue-specific expression. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84 : 7542-7546.

obeikandi.com

6. Melchers, L.S., Apotheker-de Groot, M., Van der Knaap, J.A., Ponstein, A.S., Sela Buurlage, M.B., Bol. J.F., Cornelissen, B.J.C., Van den Elzen, P.J.M. and Linthorst, H.J.M. 1994. A new class of tobacco chitinases homologous to bacterial exo-chitinases displays antifungal activity. *Plant J.* 5 : 469-480.

7. Métraux, J.-P., Streit, L. and Staub. Th. 1988. A pathogenesis- related protein in cucumber is a chitinase. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 33 : 1-9.

8. Somssich, I.E., Schmelzer, E., Bollmann, J. and Hahlbrock, K. 1986. Rapid activation by fungal elicitor of genes encoding "pathogenesis-related" proteins in cultured parsley cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 83 : 2427-2430.

9. Terras, F.R.G., Schools, H., De Bolle, M.F.C., Van Leuven, F., Rees, S.B., Vanderleyden, J., Cammue, B.P.A. and Broekaert, W.F. 1992. Analysis of two novel classes of plant antifungal proteins from radish (Raphanus sativus L.) seeds. *J. Biol. Chem.* 267 : 15301-15309.

10. Van Loon, L.C. 1982. Regulation of changes in proteins and enzymes associated with active defense against virus infection. In : Active Defense Mechanisms in Plants (R.K.S. Wood, ed.), pp. 247-273, Plenum Press, New York, USA.

11. Vera, P. and Conejerò, V. 1988. Pathogenesis-related proteins of tomato. P-69 as an alkaline endoproteinase. *Plant Physiol.* 87 : 58-63.

obeikandl.com

مراجع خاصة بالبروتينات المتعلقة بالمرضية فى الطماطم :

1. Green, T.R. and Ryan, C.A. 1972. Wound-induced proteinase inhibitor in plant leaves : a possible defense mechanism against insects. *Science* 175 : 776-777.

2. Gustafson, G. and Ryan, C.A. 1976. Specificity of protein turnover in tomato leaves. Accumulation of proteinase inhibitors, induced with the wound hormone, PIIF. *J. Biol. Chem.* 251 : 7004-7010.

3. Camacho Henriquez, A. and Sänger, H.L. 1982. Gelelectrophoretic analysis of phenol-extractableleaf proteins from different viroid / host combinations. *Arch. Virol.* 74 : 167-180.

4. De Wit, P.J.G.M., Buurlage, M.B. and Hammond, K.E. 1986. The occurrence of host-, pathogen- and interaction-specific proteins in the apoplast of *Caldosporium fuluum* (syn. *Fulvia fulva*) infected tomato leaves. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 29 : 159-172.

5. Granell, A., Belles, J.M. and Conejero, V. 1987. Induction of pathogenesis-related proteins in tomato by citrus exocortis viroid, silver ion and ethephon. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 31 : 83-90.

6. King, G.J., Turner, V.A., Hussey, C.E., Wurtele, E.S. and Lee, M. 1988. Isolation and characterization of a tomato cDNA clone which codes for a salt-induced protein. *Plant Mol. Biol.* 10 : 401-412.

obeikandl.com

7. Vera, P. and Conejero, V. 1988. Pathogenesis-related proteins of tomato. P-69 as an alkaline endoproteinase. *Plant Physiol.* 87 : 58-63.

8. Fischer, W., Christ, U., Baumgartner, M., Erismann, K.H. and Mösinger, E. 1989. Pathogenesis-related proteins of tomato : II. Biochemical and immunological characterization. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 35 : 67-83.

9. Joosten, M.H.A.J. and De Wit, P.J.G.M. 1989. Identification of several pathogenesis-related proteins in tomato leaves inoculated with *Cladosporium fulvum* (syn. *Fulvia fulva*) as 1,m3-ß-glucanases and chitinases. *Plant Physiol.* 89 : 945-951.

10. Garcia Breijo, F.J., Garro, R. and Conejero, V. 1990. C_7(P32) and C_6(P34) PR proteins induced in tomato leaves by citrus exocortis viroid infection are chitinases. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 36 : 249-260.

11. Rodrigo, I., Vera, P., Frank, R. and Conejero, V. 1991. Identification of the viroid-induced tomato pathogenesis-related (PR) protein P23 as the thaumatin-like tomato protein NP24 associated with osmotic stress. *Plant Mol. Biol.* 16 : 931-934.

12. Woloshuk, C.P., Meulenhoff, J.S., Sela-Buurlage, M., Van den Elzen, P.J.M. and Cornelissen, B.J.C. 1991. Pathogen-induced proteins with inhibitory activity toward Phytophthora infestans. *Plant Cell* 3 : 619-628.

13. Vera, P., Tornero, P. and Conejero, V. 1994. Cloning and expression analysis of a viroid-induced peroxidase from tomato plants. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 6 : 790-794.

14. Tornero, P., Conejero, V. and Vera, P. 1994. A gene encoding a novel isoform of the PR-1 protein family from tomato is induced upon viroid infection. *Mol. Gen. Genet.* 243 : 47-53.

15. Niderman, T., Genetet, I., Bruyère, T., Gees, R., Stintzi, A., Legrand, M., Fritig, B. and Mösinger, E. 1995. Pathogenesis-related PR-1 proteins are antifungal; isolationand characterization of three 14-kilodalton proteins of tomato and of a basic PR-1 of tobacco with inhibitor activity against *Phytophthora infestans*. *Plant Physiol.* 108 : 17-27.

obeikandl.com

الفصل الثالث

تعريف وصفات المقاومة الجهازية المستحثة

Identivication And Characteristics of ISR

تعريف:

تعرف المقاومة الجهازية المستحثه Induced Systemic Resistance (ISR) بأنها المقاومة المتخلقة جهازياً فى النبات ، تحت تأثير أو نتيجة ، حث النبات بواسطة أنواع من الرايزوبكتيريا ، ليس لحمض السلسليك تعبير اشارى فى هذه المقاومة وإنما تعتمد علي ممرات إشارية أخري أهمها حمض الجسمنك والاثيليين . وكذلك ليس للبروتينات المتعلقه بالمرضية دور فى هذه المقاومة . لهذه المقاومة ممر يختلف عن ممر المقاومة الجهازية المكتسبه Systemic Acquired Resistance (SAR) . لم يثبت لغية سنة ٢٠٠١ بأن هذه المقاومة تتخلق فى نباتات الفلقه الواحدة .

مقدمة:

إن معاملة أجزاء من النبات معاملة موضعية ، بعوامل حيوية أو غير حيوية ، معينة ، يؤدى إلي تكشف وحدوث مقاومة ضد الكائنات الممرضة فى الأجزاء البعيدة من النبات . والمقاومة المتخلقة بمثل هذه المعاملات ، تتميز ، بشكل عام بمقدرتها علي وقف نمو الكائن الممرض وخفض شدة الإصابة .

يمكن تقسيم طرق الحصول علي المقاومة المتخلقة فى النبات إلي قسمين :

١ – الطريقة الكلاسيكية فى الحصول على مقاومة مخلقة ، عن طريق الإصابة ، المسبقة بالكائنات الممرضة المسببة نكروزز ، مؤدية إلي مقاومة جهازيه فى الاجزاء البعيدة من النبات، هذا الشكل من المقاومة المخلقه ، يشار إليه بشكل عام باسم المقاومة الجهازية المكتسبة (SAR) . تتميز هذه المقاومة بالاتي .

أ – زيادة التجمعات الداخلية لحمض السلسليك .

ب – يكـون دائماً مصاحباً لها تعبيرات لتشفير الجينات الخاصة بالبروتينات المتعلقة بالمرضية.

٢ – النوع الثانى عن المقاومة المتخلقة فى النبات ، تتكشف كإستجابة لاستعمار جذور النبات ببعض سلالات معينة من الرايزوبكتيريا غير الممرضة ، غالباً ما يشار إلى هذا النوع من المقاومة باسم المقاومة الجهازية المستحثة (ISR) .

لقد وجد بان المقاومة الجهازيه المستحثه الناتجه بواسطة الرايزوبكتيريا Rhizobacteria mediated ISR ، تكون فعالة في مجموعة مختلفة من أنواع النباتات ، تحت الظروف التي تبقى فيها الرايزوبكتيريا منفصله مكانياً عن الكائن الممرض الذي تتخلق ضده هذه المقاومة . كذلك وجد أيضاً أن هذه المقاومة ، تزيد الكفاءة الدفاعية فى النبات وتكون فعاله ضد مجال واسع من الكائنات الممرضة النباتية .

أكثر النباتات التي أجري عليها دراسات عديدة ومتنوعة في هذا المجال ، هو نبات الأرابدوبسز *Arabidopsis* وسوف يتكرر هذا الاسم مرات عديدة جداً فى هذا الجزء من الكتاب.

وجد فى نبات الأرابدوبسز أن مستوي المقاومة المستحثة ، يمكن أن يتوسع أكثر ، عندما يحدث تنشيط لكلتا المقاومتين معاً ، هذا يدل على أن SAR و ISR تكون مقاومات تجمعية أو تراكمية وتشكل ميكانزمين مختلفين فى المقاومة المخلقة .

لقد درست المقاومة الجهازية المستحثة ، الناتجة بواسطة الرايزوبكتيريا ، بشكل واسع فى نبات الأرابدوبسز *Arabidopsis* ، باستعمال السلالة غير الممرضة من الرايزوبكتيريا WCS 417r كعامل حاث ، والبكتيريا *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC 3000 (Pst) ، على أساس أنها كائن ممرض يجرى التحصين به (أو كائن ممرض متحدى). في هذه التركيبة فأن الممر الاشارى للمقاومة الجهازية المستحثة، يختلف بشكل واضح عن ذاك الذي ينظم المقاومة الجهازية المكتسبة ، المستحثه من قبل الكائن الممرض . النباتات التي تحمل جين *NahG* ، غير المجمع لحمض السلسليك ، توضح تعبيرات جين Salicylatc hydrixylase gene *NahG* البكتيري ، تفشل فى إحداث تعبيرات المقاومة الجهازية المكتسبة ، ولكنها تظهر مستويات عادية من المقاومة الجهازية المستحثة ، بعد معاملة الجذور بالبكتيريا WCS 417r . هذا يدل على أن حمض السلسليك يكون اشارة Signal ضرورية لاستجابة المقاومة الجهازية المكتسبة ولكنه غير مطلوب للتاشير للمقاومة الجهازية المستحثة .

لقد وجد أن بعض طفرات نبات الأرابدوبسز ، التى ضعفت في إستجابتها إلى الهرمونات النباتيه ، Jasmonat (JA) أو الإثيلين ، تظهر مستويات عادية من المقاومة الجهازية المكتسبة، ولكنها غير قادرة على التعبير عن المقاومة الجهازية المستحثة الناتجه عن توسط WCS 417r . هذا يؤدي إلي القول (أنه علي العكس من SAR) ، فإن ISR تتطلب تأشيراتها ، مكونات الجسمونات واستجابة الاثيلين . بالرغم من هذه الاختلافات ، فإن ممر المقاومة SAR و ISR كلاهما ينظم بواسطة بروتين منظم NPR1/NIM1 ، ولكن إذا نظرنا إلى اتجاه NPR1/NIM1 نجد أن كلا الممرين يتباعد . هـــذا يدل ، علـــي أن هـــذا البروتين المنظم ، ينظم استجابات الدفاع بطرق مختلفة معتمده على الممر الذى يشجع بالاتجاه العكسي.

الرايزوبكتيريا في النبات

تتواجد بكتيريا الرايزوسفير ، باعداد كثيرة على سطوح جذور ، أنواعًا كثيرة من النباتات، حيث أن جذور النبات ، تزودها بالمواد الغذائية عن طريق افرازات الجذور وعن طريق فضلات هذه الجذور . هناك سلالات معينة من البكتيريا تتواجد فى منطقة الرايزوسفير ، تسمي البكتيريا المشجعة لنمو النبات Plant Growth - Promoting Rhizobacteria وتكتب باختصار (PGPR) . عند اضافة هذه البكتيريا إلى جذور النبات ، فإنها تشجع نمو النبات وتحسن مقدرته على تحمل الظروف القاسية. إن زيادة نمو وازدهار النبات ، يؤدي إلى زيادة تكاثر هذه ال PGPR ، وهذه بدورها تقلل من الاضرار الناشئة على النبات من قبل الكائنات الدقيقة الضارة والكائنات الممرضة .

تعتبر البكتيريا الضوئية *Pseudomonas* sp. ، من بين أكثر بكتيريا الرايزوسفير فعالية في خفض الأمراض الكامنة في التربة ، في الأراضي الكابته للأمراض ، حيث يكون حدوث المرض منخفضاً بالرغم من وجود الكائنات الممرضة والظروف البيئية المساعدة لحدوث المرض . هذه البكتيريا يمكن أن تضاد الكائنات الممرضة الكامنة في التربة عن طريق ميكانزمز مختلفة . مثلاً السايدروفورز البكتيري Bacterial Siderophores ، يثبط الكائنات الممرضة النباتيه عن طريق المنافسة علي الحديد ، كذلك فإن المضادات الحيوية يمكن أن توقف المنافسة بين الكائنات الحية الدقيقة نتيجة لتأثيرها على بعض هذه الكائنات ، وعدم تأثيرها

على البعض الأخر ، كذلك أنزيمات ال Chitinases وال Glucanases التي تحلل الخلايا الميكروبية .

أثبتت الدراسات التي أجريت علي تثبيط ذبول الفيوزاريوم في القرنفل والذي يتسبب عن الفطر *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* وذبول الفيوزاريوم في الفجل المتسبب عن الفطر *F. oxysporum* f.sp. *raphani* أن هذا التثبيط مبنياً على التنافس على الحديد كميكانزم لخفض المرض بواسطة السلالة WCS 358 من البكتيريا *Pseudomonas putida* . تفرز السلالة WCS 358 ، تحت الظروف التي تفتقر إلى الحديد في منطقة الرايزوسفير ، أو يكون الحديد متوفراً بكمية قليلة جداً ، سايدروفور نـــــــوع Pyoverdin (يسمى Pseudobacin 358) والذي يتمخلب Chelates مع أيونات الحديد الثلاثي ، قليلة التواجد ويكون ما يسمى معقد السايدروفور الحديدي Ferric Siderophore والذي يمكن أن ينتقل بشكل خاص إلى داخل الخلية البكتيرية . السايدروفورز المنطلقة بواسطة فيوزاريوم القرنقل أو الفجل ، تحت هذه الظروف تكون حديد مخلبي أقل كفاءة من Pseudobacin 358 ، وبالتالـــي يصبـــح الحديـــد المتوفر للكائنات المرضة محدود جداً فـــي وجود السلالة WCS 358 . يسبب نقص الحديد تثبيط إنبات الجرائيم الفطرية ويتوقف نحو الهيفات ، وهذا يقلل فرصة الكائن الممرض في احداث اصابة للنبات ، وبالتالي يخفض نسبة حدوث المرض وشدته . وبالمقابل فإن النبات لا يظهر وكأنه يعاني من نقص الحديد .

الطفرة البكتيرية الناشئة من Tn5 محول الطفرات ، وغير قادرة على إنتاج بـــيدوباسن ٣٥٨ ، والتي تكتب ($WCS\ 358\ Sid^-$) لا تخفض حدوث المرض . هناك سلالة بكتيرية مختلفة هي البكتيريا *Pseudomonas fluorescens WCS 417* لها تأثير يساوي ضعف تأثير السلالة WCS 358 في كبح شدة مرض ذبول الفيوزاريوم في القرنفل . وعلى أية حال وجد في بعض الدراسات أن الطفرة غير القادرة علي إنتاج السايدروفور من هذه السلالة ، كانت فعالة في كبح المرض كما في السلالة الأصلية ذات المقدرة على إنتاج السايدروفور. هذا يدل على أن هناك ميكانزم آخر غير المنافسة على الحديد مسئولاً عن وقاية نباتات القرنفل ضد فيوزاريوم الذبول بواسطة البكتيريا WCS 417 . عندما تضاف هذه البكتيريا إلى جذور نباتات القرنفل ، ثم بعد ذلك بمدة أسبوع يحقن فطر ذبول القرنفل في ساق النبات عن طريق التجريح ، يحدث خفض في شدة مرض الذبول مماثلاً لما يحدث عندما يكون الفطر والبكتيريا موجدين معاً في التربة بالقرب من الجذر . نظراً لتواجد السلالة

البكتيرية والكائن الممرض الفطري منفصلين مكانياً ، هذا يدل عن أن السلالة البكتيرية WCS 417 تقي نبات القرنفل من فطر الذبول عن طريق ميكانزم يتدخل فيه النبات .

لقد وجد أن قتل البكتيريا WCS 417 حرارياً قبل وضعها في التربة ، أنها لا تزال فعاله في كبح المرض ، كما لو أنها كانت لا تزال حية ، هذا يؤكد أن التأثير الواقي للبكتيريا يتداخل معه دور وسيط من قبل النبات ، أو أن النبات يستجيب بطريقة معينة ليقاوم الكائن الممرض تحت تأثير تواجد هذه البكتيريا . لقد تم الحصول على نتائج مشابهة ، عندما عوملت قمم جذور نبات الفجل بالسلالة نفسها أو السلالة WCS 374 ثم حقن بعد ذلك فطر ذبول الفجل في قواعد الجذور .

هذه النتائج والملاحظات وضعت أساساً علمياً ، مفاده ، أن بعض سلالات الرايزوبكتيريا غير الممرضة يمكن أن تكبح شدة المرض عن طريق خلق أو إستحداث مقاومة في النبات ، هذه المقاومة المستحثه ، يشار إليها أو تسمى المقاومة الجهازية المستحثه Induced (ISR) Systemic Resistance .

المقاومة الجهازية المستحثه الناتجة عن رايزوبكتيريا :

اولاً : المقاومة الجهازية المستحثه كميكانزم لكبح المرض :

أ – وقاية المجموع الجذري

لقد سبق أن تكلمنا في الجزء الأول من هذا الكتاب ، عن المقاومة الجهازية المكتسبة، وأنها تستعمل على نطاق واسع فى كثير من أنواع النباتات ، بينما الدراسات التي أجريت على المقاومة الجهازية المستحثه ، لاتزال قليلة ، ولغاية سنه ١٩٩٩ ، لاتزال محدودة في عدد قليل من الأنواع النباتية . والجدير بالذكر أنه لغاية سنة ٢٠٠٠ لم يذكر بأن المقاومة الجهازية المستحثه قد اكتشفت أو استعملت فى نباتات ذات الفلقه الواحدة . المعلومات المتوفره لدينا عن الأنواع النباتية التي تحدث فيها المقاومة الجهازية المستحثه مذكورة في جدول رقم ٤٠ .

الاجراءات العامة التي تتبع في الاختبارات ، للحصول على المقاومة الجهازية المستحثه فى النباتات تكون باحدى الطرق الأتيه :

١ – سكب المعلق البكتيري (المحضر من مزارع البكتيريا) على كمية التراب المراد زراعتها والمعقمه بالاوتوغليف .

٢ - غمر جذور البادرات في المعلق البكتيري أثناء النقل من المشتل إلى الارض الدائمة .

٣ - تغليف البذور بالمعلق البكتيري المحضر على شكل معجون .

جدول رقم ٤٠ : يبين السلالات البكتيريه التي تحدث المقاومة الجهازية المستحثه وأنواع النباتات التي تحدث فيها

Plant species	Bacterial strain	Challenging pathogen	Disease symptoms
Arabidopsis	*Pseudomonas fluorescens* WCS417	*Fusarium oxysporum* f. sp. *raphani*	Vascular wilt
		Pseudomonas syringae pv. *tomato*	Bacterial speck
		Peronospora parasitica	Downy mildew
	Pseudomonas putida WCS358	*Fusarium oxysporum* f. sp. *raphani*	Vascular wilt
		Pseudomonas syringae pv. *tomato*	Bacterial speck
Bean	*Pseudomonas aeruginosa* 7NSK2	*Botrytis cinerea*	Gray mold
		Colletotrichum lindemuthianum	Anthracnose
	Pseudomonas fluorescens S97	*Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*	Halo blight
Carnation	*Pseudomonas fluorescens* WCS417	*Fusarium oxysporum* f. sp. *raphani*	Vascular wilt
Cucumber	*Pseudomonas aureofaciens* 25-33	*Colletotrichum orbiculare*	Anthracnose
	Pseudomonas aureofaciens 28-9	*Colletotrichum orbiculare*	Anthracnose
	Pseudomonas aureofaciens 36-5	*Colletotrichum orbiculare*	Anthracnose
	Pseudomonas corrugata 13	*Pythium aphanidermatum*	Crown rot
	Pseudomonas fluorescens C15	*Pythium aphanidermatum*	Crown rot
	Pseudomonas fluorescens G8-4	*Colletotrichum orbiculare*	Anthracnose
	Pseudomonas putida 34-13	*Colletotrichum orbiculare*	Anthracnose
	Pseudomonas putida 89B-27	*Acalymma vittatum*	Herbivory
	Pseudomonas putida 89B-27	*Colletotrichum orbiculare*	Anthracnose
	Pseudomonas putida 89B-27	*Cucumber mosaic virus*	Systemic mosaic
	Pseudomonas putida 89B-27	*Diabrotica undecimpunctata*	Herbivory
	Pseudomonas putida 89B-27	*Erwinia tracheiphila*	Bacterial wilt
	Pseudomonas putida 89B-27	*Fusarium oxysporum* f. sp. *lachrymans*	Angular leaf spot
	Pseudomonas putida 89B-27	*Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*	Vascular wilt
	Serratia marcescens 90-166	*Acalymma vittatum*	Herbivory
	Serratia marcescens 90-166	*Colletotrichum orbiculare*	Anthracnose
	Serratia marcescens 90-166	*Cucumber mosaic virus*	Systemic mosaic
	Serratia marcescens 90-166	*Diabrotica undecimpunctata*	Herbivory
	Serratia marcescens 90-166	*Erwinia tracheiphila*	Bacterial wilt
	Serratia marcescens 90-166	*Fusarium oxysporum* f. sp. *lachrymans*	Angular leaf spot
	Serratia marcescens 90-166	*Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*	Vascular wilt
	Serratia plymuthica 2-97	*Colletotrichum orbiculare*	Anthracnose
Radish	*Pseudomonas fluorescens* WCS374	*Fusarium oxysporum* f. sp. *raphani*	Vascular wilt
	Pseudomonas fluorescens WCS417	*Alternaria brassicicola*	Necrotic lesions
	Pseudomonas fluorescens WCS417	*Fusarium oxysporum*	Necrotic lesions
	Pseudomonas fluorescens WCS417	*Fusarium oxysporum* f. sp. *raphani*	Vascular wilt
	Pseudomonas fluorescens WCS417	*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*	Necrotic lesions
Tobacco	*Pseudomonas aeruginosa* 7NSK2	*Tobacco mosaic virus*	Necrotic lesions
	Pseudomonas fluorescens CHAO	*Thielaviopsis basicola*	Black root rot
	Pseudomonas fluorescens CHAO	*Tobacco necrosis virus*	Necrotic lesions
	Serratia marcescens 90-166	*Pseudomonas syringae* pv. *tabaci*	Wildfire
Tomato	*Pseudomonas fluorescens* WCS417	*Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*	Vascular wilt
	Pseudomonas fluorescens 89B-27	*Cucumber mosaic virus*	Systemic mosaic
	Serratia marcescens 90-166	*Cucumber mosaic virus*	Systemic mosaic

obeikandi.com

بعد أي من هذه الاجراءات ، تحقن البادرات بالكائن الممرض المراد إختباره . ونظراً لأن الرايزوبكتيريا تتواجد على الجذور ، فإن المقاومة الجهازية ضد الكائنات الممرضة للجذر ، يجب أن تتحقق بوضوح عن طريق اضافة البكتيريا الحاثه على واحد من أجزاء النظام الجذري، ويضاف الفطر الممرض على جزء آخر من الجذر ، مثلاً يمكن إتباع طريقة الجذر المشقوق .

ب : وقاية المجموع الخضري :

الاجراءات التي تتبع للوقاية من الاصابة بالكائنات الممرضة للمجموع الخضري ، هي أسهل من الطرق المذكورة بالنسبة للجهاز الجذري ، لأن كلاً من الرايزوبكتيريا والكائن الممرض يكونان منفصلين بشكل طبيعي . وعلى أية حال ، فإن اضافة الرايزوبكتيريا إلى البذور أو الى التربة حيث تزرع فيها البذور ، أو تنقل إليها البادرات ، فإن هذه الرايزوبكتيريا ، يمكن أن تتحرك وتنتقل داخلياً في نسيج الاجزاء النباتية الهوائية ، وتمكن نفسها ، إلى حد ما ، على السطوح في الاجزاء الهوائية الخارجية .

نظراً لأن كثيراً من الرايزوبكتيريا التي تنبه ال ISR ، يمكن أيضاً أن تثبط نمو الكائن الممرض مباشرة ، فإن كفاءتها على كبح شدة المرض ، يمكن أن يشمل أكثر من ميكانزم. وبالتالي ، لكي نثبت أن المقاومة قد استحثت وأنها فعلاً جهازية ، يجب أن يكون واضحاً أن الرايزوبكتيريا الحاثة تكون غائبة من موقع دخول الكائن الممرض ، وأن ذلك البكتيريا الحاثة والكائن الممرض المحقون ، يبقى كل منهما بعيداً عن الاخر خلال فترة التجربة .

في كثير من الدراسات التي تعتبر فيها المقاومة المستحثه كميكانزم مسئول عن خفض المرض ، لم يكن هناك رفضاً قاطعاً عن احتمالية دخول ميكانزمز أخرى . فمثلاً معاملة بذور الفاصوليا بالبكتيريا *P. fluorescens* S_{97} ، يخفض عدد البقع الناتجه عن اللفحة الهالية إلى ١٧ ٪ من تلك الموجودة في نباتات الكنترول . لقد استبعدت الوقاية عندما عقم المعلق البكتيري في الاوتوغليف . هذا يدل على ضروره استعمال بكتيريا حية للحصول على وقاية. وسواء أكان وقف شدة المرض ناتجًا عن كائن حي دقيق أو من ISR فليس هذا واضحاً ، بسبب غياب البكتيريا المضادة من الاجزاء الهوائية في النباتات التي لم تجرى عليها الدراسة . علاوة على ذلك ، فإنه حتى عند غياب دليل مقنع ، يمكن أن تكون المقاومة المستحثه نتيجة مهمة لاستعمار النسيج النباتي ببكتيريا أو فطر متخصصين وغير ممرضين .

obeikandl.com

في دارسة مختصرة على المقاومة المستحثه بواسطة *P. aeruginosa* $7NSK_2$ فى الفاصوليا ضد مرض العفن الرمادي ، والوقاية الناتجة من توسط *P. fluorescens* WCS 417 في القرنفل ضد مرض ذبول الفيوزاريوم ، والمقاومة في الخيار ضد مرض الانثراكنرز المستحثه بواسطة اي من السته PGPR فإن كلاً من السيقان ، حوامل الأوراق، الفلقات و/أو مستخلص الورقة ، كلها تكون خالية من أو ملوثه علي الاكثر ، بكمية لا قيمة لها من البكتيريا الحاثه ، دالاً على دخول ال ISR في المقاومة .

عند استعمال الطفرات الذاتية المقاومة لمادة Rifampicin المستعملة لمعاملة البذور ، اكتشفت بعض السلالات من داخل جذور غير ملوثة السطح . وعلى أية حال ، ولا أي من هذه السلالات الحاثه قد وجدت في الأوراق المستعملة في الحقن . بعد حقن فلقات الخيار بالبكتيريا *P. putida* 898-27 و *Serratia marcescens* 90-166 ، تكاثرت في النسيج ولكن لم تستعاد ثانية من السيقان على بعد ١ أو ٢سم فوق أو تحت الفلقات . وبالتالي ، بينما بعض البكتيريا التي تحث المقاومة الجهازية تستعمر الأنسجة الداخلية ، فانها لا تبدو أنها تثبت نفسها علي الأوراق المحقونة بالكائن الممرض . هذا يؤدى إلى القول بأنه لا المنافسة ولا التضاد Antibiosis يكون داخلاً في كبح شدة المرض .

في الدراسات التي أجريت على وقاية الخيار ضد أمراض متسببة عن الفطريات الكامنة فى التربة ، استعملت إختبارات الجذر المشقوق ، التي فيها تحقن البكتيريا الحاثه والكائن الممرض معًا على أنصاف متباعدة من جذر البادرة ، ثم بعد ذلك زرعت البادرة بحيث يكون كل نصف جذر في وعاء منفصل . لقد وصفت المقاومة الجهازية المستحثة بأنها قادرة على تأخير تكشف الاعراض ، خفض شدة المرض ، وخفض حدوث المرض مقارنة مع نباتات الكنترول . لقد درست حركة البكتيريا الحاثة بواسطة كاميرات خاصة ، تبين أن البكتيريا ذات حركة محدوده ضمن الأوعية المحقونة فقط ، ولا تنتقل إلى الاوعيه التي فيها تم حقن الكائن الممرض . هذا يدل على أن PGPR والكائن الممرض يبقيان بعيدان مكانياً .

أما المقاومة الجهازية المستحثة في الفجل ، ضد ذبول الفيوزاريوم ، فقط ظهرت بوضوح في التحليل الحيوي الداخل فيه اختبار الصوف الصخري المبلل بمحلول غذائي . عندما وضعت البادرات بشكل أفقي على كؤوس من الصوف الصخري مع وضع الاجزاء البعيدة من الجذور على الكؤوس الموضوعة في اكياس بلاستيكية متقاربة مع كيس آخر به كؤوس تدعم الجزء الأقرب للنظام الجذري . تركت الجذور منبطحة خلال شقوق في

الاكياس . تم بعد ذلك عوملت الاجزاء البعيدة من الجذور بمعلق بكتيري في مستحلب التلك . بعد ٢ – ٣ أيام يحقن الطرف الأقرب من النظام الجذري بالكائن الممرض الفطري. تبقى البكتيريا مستعمرة الجذر محددة في الجزء البعيد من الجذر ولم يمكن استعادة الفطر من هذا الجزء . هذا يدل بوضوح على أن البكتيريا تبقى بعيده مكانياً من الكائن الممرض خلال فترة التجربة .

ثانيا : مقاييس تخليق المقاومة الجهازية المستحثه :

في بعض الدراسات التي أجريت للمقارنة بين المقاومة الجهازية المستحثه بواسطة الرايزوبكيتريا ، والمقاومة الجهازية المكتسبة المستحثه بواسطة الكائن الممرض . (أجريت هذه المقارنة مباشرة حيث يكون مستوي كبح شدة المرض فيهما متشابهاً) . يمكن القول باختصار بأن ISR الناتجه من توسط الرايزوبكتيريا بانها ظاهرة تحدث بشكل عام مشابهة لـــ SAR المستحثه بواسطة الكائن الممرض . مع أن تخليق SAR لا يعتمد على تكشف تفاعل فرط الحساسيه ، إلا أن أعلى تكشف لتأثيرها يكون عندما يسبب الكائن الحاث نكروزز ، وبالمقابل فإن الرايزوبكتيريا الحاثه ، بشكل نموذجي ، لا تسبب أيه اعراض ظاهرة على العائل ، بل بالعكس فانه يحدث زيادة في نمو النبات .

لقد وضع Steiner & Schonbeck سنه ١٩٩٥ معايير وأسس للتحقق من ISR وذلك لتمييز هذه المقاومة عن أي ميكانزمز أخرى ، التي يمكن بها تخفيض شدة المرض او حدوثه. هذه المعايير تكون ذات فائدة في المقارنة بين صفات كل من ISR و SAR .

١ – غياب التأثيرات السامة للعامل الحاث على الكائن الممرض المقصود :

تستبعد هذه الصفة ، أية تأثيرات مضادة مباشرة ، لنواتج التمثيل الفسيولوجي للكائن الحاث على الكائن الممرض ، وبشكل خاص مع المضادات الحيوية المنتجة بكتيرياً . من الصعب وضع وصف مطلق لـ ISR ، عندما تنتج البكتيريا الحاثه مواد ميتابولزمية تؤدي إلى تثبيط الكائن الممرض . حتى عندما لا يكون الكائن الدقيق الحاث ، موجوداً في المنطقة المحقونة بالكائن الممرض ، فإن الميتابولزم المنتج بواسطة الرايزوبكتيريا يمكن أن ينتقل خلال النبات مثبطاً الكائن الممرض مباشرة . مع أن المقاومة المستحثة ظهرت في تثبيط اللفحة الهالية halo blight على الفاصوليا بواسطة ال *P. fluorescens* S_{97} ، فإن الرايزوبكتيريم يظهر نشاط ال Bacteriostatic ضد الكائن الممرض للفاصوليا .. يمكن أن تنتج البكتيريا

المذكوره سابقاً ، مواد علي سطح البذور المنبته ، والتى يمكن أن تمتص إلى أعلى وتنتقل إلى المجموع الخضرى . يمكن أن تصبح تركيزات هذه المواد المثبطة ، مرتفعة إلى مقدار كافٍ لوقف تكاثر الكائن الممرض ، أو حتى يمكن بنفسها ، أيضاً ، أن تحث القاومة .

بعض المضادات الحيوية المنتجة بواسطة الرايزوبكتيريا مثل 2,4 - diacetyl phlero glucinol (DAP) أو Phenazine-1- Carboxylic acid (PCA) ، تكون سامة للنبات على تركيزات عالية ويمكن أن تحث ISR بنفس الطريقه التي يسبب فيها الكائن الممرض نكروزز موضعي . الرايزوبكتيريا *P. fluorescens* CHAO وهي سلالة من PGPR له ميكانزم متعدد في كبح شدة المرض ويسلك وكأنه endophte وينتج مواد ميتابولزمية عديدة سامة شاملة DAP ، Pyoluteorin وهيدروجين السيانيد . هذه المضادات الحيوية يمكن أن تؤثر فى نباتات الدخان وأحياناً تؤدي إلي تخليق استجابات دفاعية متعلقة بالظروف الصعبة. هناك مشتق من CHAO والذى ينتج بكميات كبيرة DAP و Pyoluteorin ، يحفظ جذور الدخان أفضل معنوياً مما يفعله النوع الأصلي ضد مرض العفن الأسود المتسبب عن القطر *Thielaviopsis basicola* ولكن فى نفس الوقت تخفض نمو النبات بشدة .

إن CHAO نادراً ما يتواجد متصلاً مع ميسيليوم الفطر *T. basicola* ، وعندما يصبح علي اتصال مباشر مع الكائن الممرض فإن CHAO لا يؤثر على السلامة الفسيولوجية للهيفا الفطرية . مع أن Pyoluteorin و DAP توقف عفن الجذر الأسود عن طريق تثبيط *T. basicola* ، إلا أنه لا يوجد هناك علاقة بين حساسية الكائنات الممرضة المختلفة للمضادات الحيوية ودرجة تثبيط المرض ، التى حصل عليها بواسطة البكتيريا .

لا يؤثر الإنتاج الكبير للمضاد الحيوى على وقاية القمح ضد الفطرين *Pythium ultimum* و *Gaeumannomyces graminis var. tritici* مسبب المرض الماحق فى القمح ، ولا على نمو نباتات القمح ، وبالمقابل فإن الإنتاج الكبير لمشتقات CHAO أظهرت زيادة فى كفاءتها فى وقاية الخيار ضد القطرين *F. oysporum* f.sp. *cucumerinum* و *Phomopsis sclerotioides* ، مقارنة مع سلالة النوع الأصلي . ومن الممكن إفتراضه أن منتجات الميتابولزم الثانوية التى تثبط *T. basicola* مباشرة ، يمكن أيضاً أن تحث مقاومة لجذور الدخان ضد المرض .

لقد حصل على أفضل دليل للمقاومة الجهازية المستحثة الناتجة بواسطة PGPR ،

عندما ثبت بأن الرايزوبكتيريا لا تضاد الكائن الممرض في البيئة الغذائية . مثلاً من بين ستة سلالات ، وجدت بشكل أولي بأنها قادرة على إحداث مقاومة جهازية مستحثة في الخيار ضد مرض الانثراكنوز ، فان خمسة منها لا تثبط نمو الكائن الممرض المسبب للمرض ، وهو الفطر *Colletotrichum orbiculare* على ثلاثة بيئات غذائية . حتى عندما لا يلاحظ التثبيط في المزرعة ، فان التثبيط المباشر للكائن الممرض في منطقة الرايزوسفير لا يمكن استبعاده ، وذلك لأن الظروف السائدة في منطقة الرايزوسفير تختلف عن تلك الظروف الصناعية في البيئة الغذائية وأن أى مضاد حيوى منتج في هذه الظروف ، يمكن أن لا يكتشف .

بشكل عام فإن جميع الباحثين أقروا أن الرايزوبكتيريا الحاثة على تخليق مقاومة جهازية مستحثة ، لا يكون لها أي تأثير مباشر على الكائن الممرض الذي تستعمل ضده . إختلفت نتائج كثير من الأبحاث في هذا المجال ولكن التقرير النهائي يثبت ذلك . ولقد ذكر كثير من الباحثين أن من شروط الرايزوبكتيريا الحاثة على المقاومة الجهازية ، أن لا تؤثر مباشرة على الكائن الممرض وإذا حدث تأثير فتصبح هذه البكتيريا داخله في اعداد الكائنات المستعملة في المقاومة الحيوية تحت اسم التضاد الحيوي .

٢ - كبح شدة المقاومة المستحثة بالاستعمال المسبق لمثبطات متخصصة تؤثر على جين التعبير في النبات :

إذا ثبت وأن المقاومة المستحثة يمكن أن تثبط بواسطة مواد متخصصة ، مثل اكتينومايسين D المسمى (AMD) الذي يؤثر على جين التعبير في النبات ، تكون هذه المقاومة ، هي مقاومة مستحثة بالرايزوبكتيريا . هذا المعيار من الصعب تطبيقه ، بسبب أن مثبطات ميتابولزم النبات ، تؤثر على كثير من العمليات بجانب تنشيط ميكانزم الدفاع . بالنسبة لفطريات ال Eukaryotic سوف يحدث فيها اضطراب بنفس الطريقة كما في النباتات ، عندما تكون مثبطات بناء البروتين أو ال RNA المعتمد على DNA . إن تثبيط بناء بروتين ال Prokaryotic يؤثر على البكتيريا بالإضافة إلى البلاستيدات والميتوكندريا . يكون هذا المعيار الأكثر فائدة إذا كانت فيروسات ال DNA هي الكائنات الممرضة المقصودة (المتحدى) ، بسبب أن هذه الكائنات الممرضة الفيروسية تكون غير حساسة لـ AMD . وعلى أية حال فإن هناك قليل من الدراسات قد استخدمت الفيروسات ككائنات ممرضة متحداه Challenging لاختبارات المقاومة الجهازية المستحثة بواسطة الرايزوبكتيريا .

٣ – ضرورة وجود فترة زمنية فاصلة بين استعمال العامل الحاث وبداية حصول الوقاية فى النبات :

يحتاج النبات إلى فترة زمنية ليصل إلى الحالة المستحثة ، وذلك لأن التأثير الفوري لاستعمال الحاث على وقاية النبات (لو حدث) من غير المحتمل أن يكون حاصلاً من الزيادة فى كفاءة الرفاع العامة للنبات . أظهرت دراسات عديدة ، أنه بشكل عام ، لكى تزداد الكفاءة الدفاعية فى النبات ، فإن هذا يحتاج من بضعة أيام إلى أسبوع لكي تتكشف كل من SAR أو ISR . فى حالة إثارة ISR الناتجة بوساطة البكتيريا *P.* fluorescens WCS 374 ضد ذبول الفيوزاريوم في الفجل ، فإن هذا يحتاج على الأقل يومًا واحداً بعد استعمال البكتيريا لكى يحصل مقاومة معنوية مستحثة .

هـناك نتيجـة مغايـرة ، قد تم الحصول عليها من استعمال سلالات PGPR مثل *P. corrugata* 13 و *P. fluorescens* C15 والتى تحث المقاومة الجهازية في الخيار ضد مرض عفن التاج المتسبب عن الفطر الممرض *Pythium aphanidermatum* . عندما تستعمل سلالات PGPR وتضاف إلى أحد أنصاف الجذر (فى دراسة الجذر المشقوق) مفصولة مكانياً وزمانياً عن الجذور المحقونة بالكائن الممرض ، فإن حدوث عفن الساق قد تأخر وإنخفض دليل المرض ، ولكن إضافة البكتيريا قبل الحقن بمدة أسبوع واحد لم تخفض المرض إلي نفس الدرجة التى يصل إليها عندما تضاف البكتيريا ويحقن الكائن الممرض معًا فى نفس الوقت . هذه النتيجة غريبة ومدهشة من حيث الوقت النموذجى اللازم لحث ISR واستمراريتها . قدم الباحث تفسيراً لهذه النتيجة ، علي أساس أن الرابزوبكتيريا تنتج مواد مضادة فطرية من التمثيل الغذائى والتى تنتقل إلي نظام الجذر المقابل، ولكن هذا التفسير لا يؤخذ به وذلك لأن هذه العزلة من البكتيرية لا تثبط النمو الميسيلومى للفطر الممرض المذكور فى البيئة الغذائية (المزرعة فى العمل) .

٤ – عدم المقدرة على تحديد الجرعة النموذجية للحصول على استجابة كاملة :

تستحث المقاومة عادة ، عندما تحقن النباتات بجرعة من البكتيريا تتجاوز الحجم المطلوب لاحداث بداية تكوين المستعمرة . لا يوجد أي دليل واضح يثبت أن هناك زيادة تحدث فى المقاومة عندما تزداد كمية الجرعة البكتيرية أكثر من هذا الحجم . إذا ما حصل وتكونت مقاومة جهازية مستحثة ISR ، فإنها غالباً ، ما تستمر طول فترة حياة النبات ومع ذلك فإن مستوى المقاومة يظهر نقصاً فى أثناء نمو النبات. تبقى الأوراق المستحثة مقاومة حتى مراحل متقدمة من الشيخوخة . هذا يدل ضمناً على أن العامل الحاث ليس بالضرورة أن

obeikandi.com

يبقى موجوداً طول فترة حياة النبات . هناك فترة محددة والتى فيها يصبح حجم التجمع للبكتيريا الحائة فوق المستوى المطلوب لبداية المقاومة . يكون هذا الحجم كافياً لحث ISR، والتى تبقى نشيطة حتى لو تضاءلت كمية التجمعات عن المستوى التى إبتدأت به . هذا القول يتعارض مع الرأي الذي يقول بأن كبح شدة المرض ، تكون ناتجة عن التأثير المباشر لتثبيط الكائن الممرض ، حيث أن حجم التجمعات للكائن المضاد يجب أن يبقى عالياً طالما أن الكائن الممرض فى وضع يهدد فيه النبات .

عندما تحقن كل من *P. putida* 89B-27 أو 90-166 *S. marcescens* علي بذور الخيار قبل الزراعة ، ثم بعد الإنبات تحقن النباتات بـ *C.* orbiculare 89B-27 ، فإن ذلك يخفض مستوى قطر البقعة المرضية حوالى ٦٠ ٪ ، بينما السلالة 166-90 تكون غالباً أقل معنوية فى فعاليتها . تنخفض تجمعات السلالة (89B-27) بمعدل ثابت مع مرور الزمن ، تنخفض إلي ١٠^٩ وحدة تكوين مستعمرات/غرام جذور بعد الأسبوع الأول من الزراعة . وتصل ١٠^٣ بعد ثلاثة أسابيع من الزراعة . تكون ISR واضحة على الطور الورقى الأول ، ثم بعد ذلك تزداد بتقدم الزمن وتستمر لأكثر من خمسة أسابيع بعد الزراعة أو على الأقل إلى الطور الورقى الخامس . تكون ديناميكية تجمعات السلالة 166-90 مشابهة لما هو فى السلالة 89B-27 . تكون المقاومة الجهازية المستحثة أكثر تغيراً ولكنها بشكل عام تلاحظ فى جميع الأطوار الورقية . مع أن كثافة تجمعات السلالتين تنخفض على الجذور ، إلا أن ISR تستمر داعمة بذلك الفكرة التى تقول إذا ما حصل وأن حدثت المقاومة الجهازية فى النبات فإنها تستمر .

يكون مطلوب علي الأقل ١٠^٦ وحدة تكوين مستعمرات لكل غرام جذور ، من البكتيريـــا *P. putida* WCS 358 لوقف شدة مرض ذبول الفيوزاريوم على الفجل عن طريق التنافس على الحديد ، المعتمد على السايدروفور ، وأن هذا التجمع يجب أن يستمر لاستمرار كبح المرض . كذلك فإن كلاً من *P. fluorescens* WCS 374 و WCS 417 ، يمكن أيضاً أن توقف شدة مرض ذبول الفيوزاريوم فى الفجل عن طريق حث المقاومة الجهازية . كذلك فإن التركيز المطلوب أن يتوفر من البكتيريا على الجذور لحث المقاومة ISR هو ١٠^٦ وحدة تكوين مستعمرات / غرام جذور ، لا يلاحظ أى تثبيط لشدة المرض عندما تنخفض تجمعات بكتيريا الرايزوسفير WCS 417 أو WCS 374 على الجذور عن هذا المستوى . وعلى أية حال فإنه لا يوجد أية علاقة ظاهرة بين حدوث المرض فى الأطوار المتأخرة واستمرارية كثافة تجمعات منطقة الرايزوسفير . وبالتالى فإن التنبيه الأولي للنبات ،

يؤدي إلى حالته المستحثة ، وفرضاً لو حدث هذا ، فإن الزيادة فى الوقاية ضد الأمراض تكون مستقلة عن فعل التجمعات الباقية من البكتيريا الحاثة فى منطقة الرايزوسفير ، هذا يعنى أنه إذا انطلقت الشرارة الأولى فى حث النبات علي المقاومة ، فإن الاعداد الأخرى من البكتيريا فى الرايزوسفير ، لا يكون لها بعد ذلك أي دور في زيادة شدة الوقاية .

٥ – عدم تخصص الوقاية :

تكون المقاومة المستحثة بواسطة *P. Fluorescens* WCS 417 فى الفجل ، فعاله ضد ذبول الفيوزاريوم ، وتخفض من تكوين بقع النكروزز المتسببة عن الكائن الممرض البكتيرى غير شديد المرضية *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* والكائن الممرض الفطرى غير شديد المرضية الذي يهاجم الأوراق *Alternaria brassicola* وعزلات مختلفة من *F. oxysporum* . لقد تم الحصول على نفس النتائج عندما استعمل الرايزوبكيتريم الحاث منفصلاً مكانياً وزمانياً على الجذور ، أو على ورقة مفردة تختلف عن الأوراق التى حقنت بالكائن الممرض . كذلك فإن السلالة WCS 417 تحث أيضاً المقاومة ضد عفن الجذر الرايزوكتونى ، ولكن فقط إذا كانت كثافة اللقاح للكائن الممرض المسبب *R.solani* منخفضة نسبياً .

أمراض الخيار المتسببة عن الفطرين ، الفطر الأول الذي يهاجم الجذور *F. ox.* f.sp. *Cucumerinum* والفطر الثاني الذى يهاجم المجموع الخضرى *C. orbiculare* ونوعين من بكتيريا تبقح الأوراق ، النوع الأول *P. syringae* pv. *lachrymans* والنوع الثاني *Erwinia tracheiphila* قد كبحت شدتها بواسطة نفس السلالات من PGPR عن طريق تخليق مقاومة جهازية (جدول رقم ٤٠) . تدل هذه النتائج على أن ISR الناتجة بواسطة الرايزوبكتيريا تشبه المقاومة الجهازية المكتسبة SAR فى فعاليتها ضد الأمراض المتجمعة أو المتضاعفة . زيادة على ذلك كان هناك دراستين حديثتين ذكرتا أن نباتات الخيار النابتة من بذور معاملة بـ PGPR فى الحقل تساعد فى مقاومة أعداد قليلة من خنافس الخيار المبقعة والمخططة ، حيث أن المعاملة بهذه البكتيريا تؤدي إلى زيادة مقاومة الخنافس أكثر من استعمال المبيدات الحشرية اسبوعياً . ولقد وجد أيضاً أن الرايزوبكتيريا تزيد بشكل معنوي نمو وإنتاجية نباتات الخيار . يبدو أن البكتيريا الحاثة تخفض مستوي المركب الثانوي Cucurbitacin فى النباتات والتى تعمل كمنشطات غذائية للخنافس . تعتبر هذه الملاحظة

هامة جداً وذلك لأنها تبين أن تخليق المقاومة الجهازية بواسطة البكتيريا PGPR يكون مترافقاً مع تغيرات واضحة فى ميتابولزم النبات .

٦ - تكون المقاومة جهازية وموضعية :

كما ذكرنا سابقاً ، فإن الوقاية المستحثة ليست بالضرورة أن تكون جهازية ، وعلى أية حال فإنه فى وجود الرايزوبكتيريا الحاثة على المقاومة ، يجعل هذه المقاومة جهازية ومستمرة . يمكن إثبات ذلك باستعمال طفرات الكائن الممرض التي تكون غير حساسة للتضاد . ولقد ثبت أن المقاومة الجهازية المستحثة تنتقل من مكان التخليق إلى كلا الاتجاهين أعلى وأسفل النبات ، وتتولد حالة مستحثة فى الأنسجة البعيدة . كذلك تنبعث إشارة منقولة تحث المقاومة فى كل من الجذور والأغصان .

٧ - الاعتماد على جينوتايب النبات :

تفترض هذه الصفة وجود إختلافات معنوية فى مستوى ونوع المقاومة فى أنواع النباتات المزروعة المختلفة . مع أن المعلومات المتوفرة لدينا قليلة فى هذه الموضوع ، إلا أن الاختلافات المختصة فى الجينوتايب وعلاقتها فى مستوى المقاومة ، يمكن أن يكون متوقعاً إذا كانت المقاومة المستحثة تعطى زيادة فى كفاءة الدفاع الموجودة .

درست الأصناف المزروعة من الخيار والتى يظهر فيها ISR ضد مرض الأنثراكنوز ، درست فى صنف واحد مقاوم وثلاثة أصناف قابلة للإصابة . وجد أن السلالة *P.putida* 89B-27 تسبب حدوث مقاومة جهازية مستحثة فى الثلاثة أصناف المزروعة القابلة للإصابة، بينما السلالة *S.marcescens* 90-166 تسبب أيضاً فى صنفين فقط . فشلت كلتا السلالتين فى زيادة المقاومة فى الصنف المقاوم . لم يتبين أن هناك صنف متخصص يجذب إليه البكتيريا بحيث تستعمر جذوره بطريقة معينة (من السلالتين السابقتين) ، وبالتالى فإن فشل السلالات فى زيادة المقاومة فى الصنف المقاوم ، لا يمكن توضيحها عن طريق الاستعمار الضعيف للجذر . يبدو بوضوح أن المقاومة الموجودة مسبقاً فى الصنف المقاوم وراثياً ، لا يمكن أن تزداد أكثر من ذلك بواسطة PGPR . تدل هذه النتائج على أن أصناف النبات المزروعة تختلف فى استجابتها للرايزوبكتيريا .

وجد فى القرنفل أن البكتيريا *P.fluorescens* WCS 417 ، تخفض حدوث ذبول الفيوزاريوم فى صنف القرنفل متوسط المقاومة (Pallas) والصنف الأكثر قابلية للإصابة

(Lena) . هذه النتائج تدعم المقياس الذى يحدد وراثياً الاختلافات فى مستوى ISR الناتجة بواسطة PGPR الحادثة فى أصناف مختلفة وتؤكد وجود كفاءة دفاعية إضافية قد تم الحصول عليها عندما تعبر المقاومة المستحثة عن نفسها . وبالمقابل فإنه لا يوجد اختلافات وراثية فى المقدرة على الحث قد لوحظت فى نبات الفجل .

على المستويات العالية من جرعات الكائن الممرض ، فإن ISR تكون غير كافية لخفض شدة المرض ، وكذلك على المستويات المنخفضة من جرعات الكائن الممرض لا يظهر تأثير ISR بشكل كبير أو معنوى ، هذه النتائج ظهرت فى نبات الفجل فقط ولكنها لم تعمم فى بقية النباتات وإن كان يبدو من الوهلة الأولى أنها منطقية .

ثالثا : المحددات البكتيرية للمقاومة الجهازية المستحثة :

Bacterial Determinants of ISR

يبين جدول رقم (٤١) المحددات البكتيرية وأنواع النبات والسلالات البكتيريا الداخلة فى تخليق المقاومة الجهازية المستحثة .

جدول رقم (٤١) : يبين السلالات البكتيرية وأنواع النبات والمحددات البكتيرية ونوع المقاومة .

Bacterial strain	Plant species : bacterial determinnt	Type
Pseudomonas aeruginos strain 7NSK2	Tobacco : salicylic acid	SAR
	Bean : salicylic acid	SAR
Pseudomonas fluorescens		
CHAO	Tobacco : siderophore	SAR
WCs374	Radish : lipopolyacchride siderophore iron-regulated factor	ISR
WCS417	Carnation : lipopolysaccharide	ISR
	Radish : lipopolysaccharide iron-regulated factor	ISR
	Arabidopsis : lipopolysaccharide	ISR
Pseudomonas putida WCS358	*Arabidopsis* : lipopolysaccharide siderophore	ISR

obeikandl.com

هناك عدة عوامل تتدخل فى قدرة الرايزوبكتيريا على تخليق المقاومة الجهازية المستحثة . نتكلم عن هذه العوامل بالتفصيل :

١ - Lipopolysaccharid عديدات التسكر الدهنية (LSP) :

فى نظام وقاية القرنفل ضد مرض ذبول الفيوزاريوم بسلالة البكتيريا *P.fluorescens* WCS 417 وجد أن البكتيريا المقتولة حرارياً ، أو الغشاء الدهنى عديد التسكر البكتيرى الخارجى النقى LPS ، تكون فعالة فى حث المقاومة ، كما لو أن البكتيريا حية . تدل هذه الملاحظة على أن LPS البكتيرى يعمل كمحدد لتخليق المقاومة بواسطة السلالة WCS 417 فى القرنفل .

كذلك وجد فى الفجل أيضاً ، أن الـ LPS هو المنبه المسئول عن تخليق المقاومة . كذلك وجد أيضاً أن مستخلصات جدار الخلية للسلالتين WCS 374 و WCS 417 من نفس البكتيريا أو الـ LPS النقي محتوياً inner core -o- antigenic side chain (OA) ، تكون فعاليتها كفعالية البكتيريا الحية عندما تضاف إلى جذور الفجل . أما الطفرات البكتيرية المفتقدة (OA^-) بالإضافة لمستخلصات جدار الخلية تكون غير فعالة .

تبين هذه النتائج أن أية تأثيرات وقائية ، تكون ناتجة من الميتابولزم البكتيرى ، وتبين أيضاً أن هناك تخصصية ضمن تركيب O - antigenic side chain لعديدات التسكر الدهنية التى تحدد تخليق المقاومة الجهازية بهذه الرايزوبكتيريا . إن السلالاة WCS 374 التى بها OA الحاثة للمقاوكمة تكون فعالة ليس فقط على الجذور ولكن أيضاً عندما تضاف على الفلقات . وبالتال فإن النبات يكون قادر على أن يدرك وجود OA ليس فقط على سطح الجذر ولكن على سطح الورقة أيضاً .

كذلك فى الطماطم فإن مستوى المقاومة المستحثة بواسطة السلالة WCS 417 ضد فيوزاريوم الذبول تبدو أيضاً وبطريقة مماثلة أن لها علاقة بوجود OA الخاصة بـ LPS .

تشارك عديدات التسكر الدهنية فى نمو وبقاء البكتيريا فى النبات بواسطة عدة طرق منها :

١ - المساعدة فى الاستيطان وتكوين المستعمرات .

٢ - خلق ظروف بيئية مناسبة micro - environment .

٣ – تعل كحاجز أو عائق ضد المركبات الدفاعية فى النبات .

٤ – لها تأثير على تغيير أو تعديل تفاعلات العائل .

٢ – السايدروفورز Siderophores :

إن الـ O- antigenic side chain لمادة عديدات التسكر الدهنية ، تعتبر أكبر محدد للمقاومة الجهازية المستحثة ، تحت ظروف توفر الحديد بكمية كبيرة ، ولكن تحت ظروف كمية الحديد المحدودة فإن الطفرات التى ينقصها (OA^-) من السلالة WCS 374 و WCS 417 لم تضعف فى مقدرتها فى احداث مقاومة فى الفجل ضد فيوزاريوم الذبول . تدل هذه النتائج على أن هناك عامل محدد أو محددات بكتيرية ، تبدى أثرها فقط تحت ظروف توفر كمية قليلة من الحديد .

نظراً لأن السايدروفورز تنتج بواسطة البكتيريا تحت هذه الظروف ، فإن نوع الـ Pyo- verdin و Pseudopactin المنتجة من السلالات البكتيرية WCS ، قد أجرى عليها تجارب ، حيث عزلت وأضيفت إلى جذور الفجل . وجد أن السايدروفور المنقى من WCS 374 يستحث المقاومة بنفس المستوى الذى يؤديه LPS البكتيرى . فى حين أن السايدروفور المأخوذ من WCS 417 لايحدث ISR . وبالمثل فإن السايدروفور الخاص بالسلالة *P.putida* WCS 358 لا يحدث مقاومة جهازية ، وبالتالى فإن هذه السلالة لا تحث على المقاومة . السايدروفورز نوع بسيدوباكتين المأخوذة من الثلاثة سلالات لها نفس الانجذاب للحديد الثلاثى Ferric . وبالتالى فإن احتمالية أن البسيدوباكتين المنتج بواسطة السلالة WCS 374 ، يعمل بدون تخصص ، عن طريق خلق معاناة للحديد المحدود (كمية قليلة) فى النبات .

الطفرات التى لا تنتج سايدروفور (Sid^-) من السلالتين WCS 417 و WCS 374 ، تخلق مقاومة أقوى ، تحت ظروف نقص الحديد ، منه فى توفر كمية كبيرة من الحديد ، وتصل إلى نفس المستوى الذى قد تم التوصل إليه بعد المعاملة بالبكتيريا النوع الأصلى . يستطيع البسيدوبكتين المنتج من السلالة WCS 374 أن يخلق مقاومة ولكن لا يبدو بأنه مسئولاً عن ISR المتسببة عن WCS 374 تحت ظروف الحديد المنخفض . يبدو بوضوح أن المحددات البكتيرية المختلفة ، يمكن أن تخلق مقاومة فى الفجل ، إلا أن تأثيراتها تكون متكاملة أكثر منها تجمعية وأن التخليق الكامل بواحد من العوامل يخفى أى مشاركة من العوامل الأخرى .

٣ – حمض السلسليك Salicylic Acid :

لقد تكلمنا عن حمض السلسليك بتوسع كبير فى الجزء الأول من هذا الكتاب . إن لحمض السلسليك دور كبير فى المقاومة الجهازية المكتسبة ، أما دوره هنا فى المقاومة الجهازية المستحثة يختلف عن ذلك ، حيث أنه فى المقاومة الجهازية المستحثة ينظر إليه على أنه سايدروفور . لقد ذكر هذا التداخل لحمض السلسليك بين المقاومتين SAR و ISR فى كثير من الأبحاث ، حاولنا فى هذا الكتاب أن نحدد دور حمض السلسليك فى كل قاومة لوحدها حتى يسهل على القارئ فهم الموضوع بسهولة ويسر .

هناك عديداً من الأنواع البكتيرية الحاثة على المقاومة ، يمكن أن تنتج حمض السلسليك على أنه سايدروفور ، تحت ظروف محددة للحديد فى المزرعة . نظراً لأن التنافس الناتج بواسطة السايدروفورز على الحديد ، يحدث فى منطقة الرايزوسفير ، يجب أن يستدل على أن التحديد العام للحديد يحدث حول جذور النبات جاعلاً اياه ملائماً لتلك البكتيريا التى تستطيع انتاج حمض السلسليك على سطح الجذر . إن كلتا السلالتين WCS 374 و WCS 417 تنتج حمض السلسليك بنسبة ٥٠٠ ، ١٠٠ ميكروغرام/مل بالترتيب فى بيئة قياسية من الـ Succinate (SSM) . ينخفض تخليق حمض السلسليك بسرعة مع زيادة تركيز الحديد في بيئة SSM . السلالة WCS 358 لا تستحث المقاومة فى الفجل ضد فيوزاريو الذبول تحت تركيزات منخفضة من الحديد ولا تنتج حمض السلسليك فى المزرعة . يحث حمض السلسليك المقاومة فى الفجل ضد ذبول الفيوزاريوم عندما يضاف على الجذور بتركيزات منخفضة ($100fgg^{-1}$) فى مستحلب التلك . إن كفاءة السلالتين WCS 374 و WCS 417 فى انتاج حمض السلسليك فى المزرعة يكون متناسق مع مقدرتها على تنبيه ISR فى الفجل النامى تحت ظروف منخفضة من توفر الحديد .

السلالة WCS 374 لديها أكبر كفاءة لتنتج حمض السلسليك ، وبالتالى فإن انتاج حمض السلسليك فى هذه السلالة قد درس بتفصيل كبير . نتيجة الدراسات الوراثية الواسعة وتنقية الطفرات أدى ذلك إلى تعريف Cosmid يحتوى 28kb من جينومك DNA من هذه السلالة 5-kb *Eco* R1 أجزاء تحتوى Therein يكون كاف ليمنح انتاج حمض السلسليك فى السلالة التى ينقصها سايدروفور (WCS 358 sid-) . تعاقب جينات الأجزاء فى 5-kb يظهره ليكون جزء من أوبرون منظم الحديد محتوياً اطارات مقروءة مفتوحة متجانسة مع جينات البناء الحيوى لحمض السلسليك فى البكتيريا *P.aeruginosa* بالإضافة إلى جينات

داخلة فى ممر من isochorismate إلى سايدروفور واحد أو أكثر من نوع الإنتيروبكتين . عندما يحتوى الكوزمد جميع 28kb من جينومك DNA ، ينتقل فى السلالة WCS 358 ينقصها مستقبل (-Sid) . لقد حصل على سايدروفور جديد مضيئ بلون أخضر مزرق تحت الإضاءة الفوق بنفسجية ، سمى هذا السايدروفور fluorebacin . إن إفراز كميات كبيرة من حمض السلسليك بواسطة WCS 374 فى SSM ، من المحتمل أن يكون artefact ناتجًا من نقص مادة أو مواد مطلوبة لبناء الـ fluorebacin ، من المحتل أن هذا المركب إذا قورن مع حمض السلسليك ، يمكن أن يكون عاملاً حاثاً للمقاومة . يبدو أن السايدروفورز المختلفة تنبه ISR . لقد وجد حديثاً أن Pseudopacin 358 يمكن أن يعمل كحاث للمقاومة الجهازية المستحثة فى نبات الأرابدوبسز .

الدراسات التى أجريت على البكتيريا *P.aeruginosa* 7 NSK2 كعامل حاث للمقاومة من مجموعة الرايزوبكتيرم ، وعلى الفيرس TMV كعامل ممرض يصيب الأوراق (متحدى) أدت إلى القول بأن حمض السلسليك المنتج بكتيريا يشارك فى تخليق مقاومة جهازية بواسطة هذه السلالة . عندما استعمل لقاح من هذه البكتيريا كان نامياً على بيئة منخفضة المحتوى من الحديد فى الدراسة على نباتات مختلفة ، فإن ذلك أدى إلى خفض أعداد البقع المنتشرة المتسببة عن الفطر *Botrytis cinerea* على الفاصوليا بحوالى ٥٠ ٪ . أما عندما أخذ لقاح من هذه البكتيريا كان نامياً على بيئة غنية بالحديد فإنه لم يؤدى إلى كبح جماح المرض .

تحت الظروف ذات الحديد المنخفض ، فإن هذه السلالة من البكتيريا تنتج ثلاثة سايدروفورز هى : Pyoverdin ، Pyochelin وحمض السلسليك . إن كلاً من الطفرات التى لا تنتج المركب الأول والطفرات التى ينقصها المركبين الأول والثانى ، تحث المقاومة ضد العفن الرمادى فى الفاصوليا وضد فيرس موزايك الدخان فى الدخان ، بينما تلك السلالات التى لا تستطيع أن تنتج حمض السلسليك لم يكن لها أى تأثير فى هذين المرضين . ونظراً لأن حمض السلسليك يكون بادئ لمركب Pyochelin ، حيث أن لهذا الأخير دوراً فى ISR لا يمكن استبعاده .

لقد وجد أن النشاط الانتقالى لحمض السلسليك وجينات البناء الحيوى لمركب Pyochelin ، قد اكتشفت أثناء تكوين المستعمرات للسلالة 7 NSK_2 على جذور الفاصوليا ، هذا يدل على أنه يمكن للحديد أن يصبح محدداً فى منطقة الرايزوسفير . تشرح

هذه النتائج أن تخليق المقاومة الجهازية فى الفاصوليا بواسطة السلالة NSK_2 7 يعتمد على حالة التغذية بالحديد وتدل على أن فعل السايدروفورز المتخصصة ليس فقط على اكتساب الحديد بواسطة البكتيريا ، ولكن أيضاً فى تخليق المقاومة الجهازية فى النبات . نباتات الدخان المحولة وراثياً مع الجين *nahG* لا تستحث بواسطة البكتيريا المذكورة سابقاً ضد فيرس موازيك الدخان . وبالتالى فإن المقاومة المستحثة بواسطة السلالة NSK_2 7 فى الفاصوليا والدخان كلاهما يعتمد على حمض السلسليك المنتج بكتيرياً .

ليس من الواضح فيما إذا كانت الزيادة فى حمض السلسليك فى النباتات المبكترة ، يكون نتيجة التخليق بواسطة البكتيريا التى تبنى حمض السلسليك فى النبات أو فيما إذا كانت النباتات تمتص حمض السلسليك المتكون بكتيريا وتنقله إلى الأوراق . لقد وجد أن إدخال مجموعة الجينات المسئولة عن البناء الحيوى لحمض السلسليك pch DCBA من البكتيريا سلالة PAO1 *P. aeruginosa* تحت مؤثر أساسى فى السلالة CHAO ، لا يعطى زيادة أكثر فى تثبيط فيرس نكروزز الدخان أو العفن الأسود فى جذور الدخان . على أية حال فإن التدخل فى السلالة P_3 غير المنتجة لحمض السلسليك يؤدى إلى انتاج ٠,٨ ميكروغرام حمض سلسليك وأن تركيز $١٠^{١٠}$ وحدة تكوين مستعمرات من هذه السلالة يجعل عامل المقاومة الحيوية الضعيف هذا ، عامل حاث فعال ، مدخلاً بوضوح حمض السلسليك كعامل حاث محدد للمقاومة الجهازية المستحثة ISR فى هذا النظام .

السلالة الرايزوبكتيرية المنتجة حمض السلسليك 166-90 *S.marcescens* تخلق مقاومة لمرض اللفحة النارية فى الدخان المتسبب عن *P. syringae* pv. *tabaci* فى كل من الدخان المحول وراثياً وغير المحول وراثياً من حيث الجين *nahG* . زيادة على ذلك فإن الطفرات ذات *mini-Tns-phoA* والتى لا تنتج كمية يمكن اكتشافها من حمض السلسليك ، تخلق مقاومة إلى نفس المستوى فى كلا النوعين من النبات بالإضافة إلى المقاومة الحيوية المستحثة فى الخيار ضد الأنثراكنوز . وبالتالى فإ حمض السلسليك البكتيرى لا يبدو أنه داخلاً فى مقاومة المرض المتسبب بواسطة هذه السلالة .

تدل النتائج السابقة على تدخل حمض السلسليك المنتج بواسطة السلالة NSK2 7 فى تخليق المقاومة الجهازية فى الفاصوليا والدخان ولكن ليس بواسطة السلالة 166-90 فى تلك المقاومة المتخلقة فى الخيار والدخان . أما فى الفجل ، فإن تخليق المقاومة الجهازية بواسطة السلالتين WCS 417 و WCS 374 يكون واضح الارتباط بكفاءة هذه السلالات فى انتاج

حمض السلسليك ، ولكن تدخل حمض السلسليك فى التخليق يبقى محتاجاً إلى إثبات . الأخير هذا يمكن أن يطبق على المقاومة الجهازية المستحثة فى الدخان بواسطة السلالة CHAO . من الممكن أن يكون ذلك عن طريق استطاعة السلالة الرايزوبكتيرية على تخليق مقاومة بواسطة ميكانزمز مختلفة ، معتمدة على الظروف الموضعية فى الرايزوسفير . مثلاً تستطيع سلالة معينة أن تخلق ISR عن طريق ميكانزم أساسى أثناء إبتداء انتاج حمض السلسليك ، وبالتالى يحدث تنبيه لمقاومة أكثر أثناء انتاج حمض السلسليك عندما تكون الظروف المواجهة له ذات كمية حديد محدودة .

الحالة المستحثة فى النبات

The Induced State In The Plant

١ - المقاومة الجهازية المستحثة وعلاقتها بالبروتينات المتعلقة بالمرضية

إن تخليق المقاومة الجهازية المكتسبة SAR بواسطة حمض السلسليك ، يكون مترافقاً مع تجمع البروتينات المتعلقة بالمرضية (PRs) . هناك على الأقل أحد عشر من هذه البروتينات معروفة تستحث فى الدخان كاستجابة للكائنات الممرضة المسببة نكروزز ناتج عن تفاعل فرط الحساسية ، وجدت فى السائل المغسول من بين الخلايا Intercellular washing fluid (IWF) . وعلى أية حال فإن المقاوة المعتمدة على حمض السلسليك المستحثة بواسطة السلالة *P.aeruginosa* 7 NSK2 كانت واضحة بأنها ليست متعلقة مع التغيرات فى تركيب البروتين فى الأوراق التى حدث فيها وقاية .

إن معاملة أوراق الفجل بسلالة شديدة المرضية ، من الكائن الممرض ، أو باستعمال تركيز مللى مولر من حمض السلسليك ، تستحث المقاومة الجهازية المكتسبة والبروتينات المتعلقة بالمرضية المتجانسة من البروتينات ذات العائلات PR-1 إلى PR-5 . وعلى أية حال فإنه لا معاملة الجذر بتركيزات منخفضة من حمض السلسليك ولا بسلالات الرايزوبكتيريم (منبهة للمقاومة الجهازية المستحثة ISR) تستحث البروتينات المتعلقة بالمرضية سواء تحت تركيزات عالية أو منخفضة من توفر الحديد . بينما المقاومة الجهازية المستحثة يمكن أن تستحث بواسطة طفرات الرايزوبكتيريا (OA^-) تحت ظروف منخفضة الحديد ، وفى هذه الحالة يبدو أن حمض السلسليك لا ينتج بكميات كافية لتخليق PRs .

obeikandi.com

لقد تبين أن الكائن الممرض *P. syringae* pv. *tabaci* يستحث تخليق مستويات عالية من البروتينات المتعلقة بالمرضية ، فى حين أن الرايزوبكتيريا لا تعمل ذلك حتى عندما تستحث مستويات من الوقاية ضد فيوزاريوم الذبول فى الفجل . من هذا يتبين أن البروتينات المتعلقة بالمرضية لا يبدوا أنها تساهم فى تخليق وقاية فى النبات ناتجة عن المقاومة الجهازية المستحثة .

هذا النقص الواضح فى عدم دخول البروتينات المتعلقة بالمرضية فى المقاومة الجهازية المستحثة يدل على عدم وجود تعبير لجين هذه البروتينات فى نباتات الفجل المعاملة ، هذا يدل على أن ميكانزم المقاومة المخلقة بواسطة السلالة WCS 374 والسلالة WCS 417 يختلف عن المقاومة الجهازية المكتسبة SAR . وبالمقابل فإن ترافق البروتينات المتعلقة بالمرضية مع المقاومة المستحثة بواسطة CHAO فى الدخان ضد فيرس موازيك الدخان يدل على دخولها فى SAR .

٢ – التغيرات فى ميتابولزم الفايتو الكسنز أو المثبطات تكون غير منتظمة :

تعتمد الزيادة فى الكفاءة الدفاعية فى النبات ، والتى تظهر على شكل ISR ، على وجود مستويات عالية من المركبات التى تثبط الكائنات الممرضة النباتية مثل الفايتوالكسنز. إن مقاومة القرنفل لمرض ذبول الفيوزاريوم هى من نوع Polygenic وتكون مترافقة مع تجمعات الفايتوالكسنز . لا يلاحظ أى زيادة فى مستويات الفايتوالكسن فى القرنفل بعد الحقن بالسلالة WCS 417 وقبل الحقن بالكائن الممرض . تصبح مستويات الفايتوالكسن بعد الحقن مباشرة بفطر فيوزاريوم الذبول ، أعلى بكثير فى النباتات المحقونة بالسلالة WCS 417 منه فى النباتات غير المبكترة . أما المقاومة البولى جنك فى الفجل لفيوزاريوم الذبول ، فإنها لا تظهر أية ترافق مع الفايتوالكسن . بالرغم من الدراسات العديدة التى أجريت فى هذا المجال ، فإنه لم يكن بالإمكان ربط المقاومة الجهازية المستحثة ISR مع تغيرات فى المركبات المثبطة أو نظام البروتين Electrophoretic أو التنشيط الأنزيمى فى الفجل . بالرغم من ذلك ، فإنه بعد الحقن بالكائن الممرض فإن استجابة المقاومة فى الفجل تسرع وتزيد .

يعمل الـ LPS كعامل محدد قوى فى المقاومة ISR فى الفجل . أما فى الدخان فإن الـ LPS المأخوذ من الكائن الممرض *P.solanacearum* فإنه يحث على بناء عديدات الببتايد الشبيهة بالبروتينات المتعلقة بالمرضية ، أما تحضيرات LPS المأخوذة من البكتيريا

P.syringae pv. *syringae* ، فإنها تعمل بضعف ، مثيرات غير متخصصة للبناء الحيوى للفايتوالكسن فى فلقات فول الصويا . أما الـ LPS المنقى من البكتيريا *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* يخلق كميات كبيرة من β-1,3-glucanase mRNA فى اللفت على تركيزات منخفضة تصل ١٠ ميكروغرام/مل . فى هذه الحالة فإن The lipid A-inner core يكون مطلوباً للتنشيط ، ولكن OA ليس له دور . هذا يتعارض مع تخليق المقاومة بواسطة سلالات WCS والتى تعتمد على OA ولا تكون مترافقة مع تخليق الفايتوالكسنز أو البروتينات المتعلقة بالمرضية قبل الحقن بالكائن الممرض . بالرغم من ذلك فإن LPS ينبه بوضوح الممر الإشارى للمقاومة الجهازية المستحثة المتعلقة بالدفاع . إن دخول المقاومة الجهازية المستحثة فى وقاية الفاصوليا باستعمال *P.fluorescens* S97 يكون مقبول ظاهرياً على أساس تغيرات النبات العائل . المستويات المنخفضة من الكائن الممرض المحقون فى الأوراق التى حصل فيها وقاية ، وفى الـ IWF (المذكور سابقاً) ، من هذه الأوراق يكون متعلقاً مع ارتفاع عام فى محتوى البروتين فى الـ IWF ومترافقاً مع تجمع بعض المركبات الفينولية . إذن فإن التغيرات فى ميتابولزم النبات ، تحدث كنتيجة لبكترة البذرة مسبقاً ، ولكن أى علاقة سببية مع كبح شدة المرض لم تتأكد بعد علمياً .

إن دلائل تخليق استجابات دفاعية فى النبات ، قد أمكن الحصول عليها بعد استعمار الجذر بواسطة البكتيريا الضوئية .*Pseudomonas* spp خاصة *P.aureofaciens* تستحث أعراض لاستجابة تفاعل فرط الحساسية على فلقات الفاصوليا وفى مزارع معلق الفاصوليا ، وتستحث البروتينات الدفاعية مشابهة لاستجابات النبات للكائنات الممرضة الحاثة على تكوين المقاومة الجهازية المكتسبة SAR . العزلات من *P.tolaasii* ومن *P.putida* تستحث فقط بروتينات ذائبة فى أحماض معينة . بعد حقن الفلقات ، يحدث بعض التجمعات من الفايتوالكسنز ، وتكون الفينولات مترافقة مع تفاعل بنى خفيف ، هذا يدل على أن نباتات الفاصوليا تستجيب دفاعياً إلى رش المجموع الخضرى بهذه الأنواع من الرايزوبكتيريا . وعلى أية حال ، فإنه بعد معاملة الجذر ، لا يظهر أية تغيرات تمثيلية ، هذا يؤدى إلى القول بأن الرايزوبكتيريا لها تأثير بسيط جداً ، فقط على ميتابولزم الجذر . هذه الملاحظات تكون مهمه فى إظهار أن بعض الأنواع الرايزوبكتيرية لها نشاط ممرض محدود عندما تضاف على الأوراق، وكذلك فإن تفاعلات الدفاع الأولية لوحظت أيضاً فى الأوراق مظهرة المقاومة الجهازية المكتسبة SAR .

obeikandi.com

النشاط المثبط لثلاثة أنواع مختلفة من الخليط (خليط مواد عضوية) على عفن الجذر المتسبب عن الفطر *P.ultimum* و *P.aphanidermtum* والأنثراكنوز المتسبب عن *C.orbiculare* ، تكون مترافقة مع زيادة نشاط بيروكسيديز الورقة فى الخيار . تستحث البكتيريا بواسطة المواد الموجودة فى الخليط ، يعتقد بأنها متدخلة فى هذه المقاوة المستحثة ولكن مشاركتها لم تتوضح بعد . إن إجراء الحقن باستعمال الكائن الممرض *C.orbiculare* يزيد بشكل هائل نشاط البيروكسيديز الرئيسى مشابه الأنزيم فى النباتات النامية فى خليط المادة العضوية المساعدة على إحداث المرض ، ولكن هذه الزيادة تكون بشكل كبير حتى فى النباتات النامية فى خليط معدل من المواد العضوية الكابحة .

هناك سلالات من PGPR مثل *P.putida* 89 B-27 و *S.marcescens* 90-166 تحث المقاومة ضد فيرس موازيك الخيار وتظهر وكأنها تخفض عدد النباتات التى تظهر عليها أعراض . لا يتكشف فى النباتات التى حصل فيها مقاومة ، أعراض الموزايك خلال فترة التجربة ، بينما المقاومة الجهازية المكتسبة المستحثة بالكائن المرض ، تكون مظهرة تأثيرها كتأخير فى تكشف الأعراض . لم يمكن اكتشاف أى أنتجين فيروسى بواسطة اختبار الـ ELISH فى أى من النباتات التى لا تظهر أعراض المعاملة بـ PGPR . هذا يدل على أن النباتات المحقونة بالبكتيريا الحاثة أصبحت مقاوة للإصابة الفيروسية . المثيرات قليلات التسكر Oligosaccharide ذات المنشأ الفطرى ، قد ذكرت بأنها تمنع إصابة الدخان بفيرس موزايك الدخان ، من الممكن أن تكون الوقاية التى تظهر فى الخيار المعامل بـ PGPR ضد فيرس موازيك الخيار تكون راجعة إلى قليلات التسكر النصف مشتقة بكتيرياً والتى تعمل مباشرة أو بشكل غير مباشر فى منع دخول الفيرس فى الورقة .

٣ - التغيرات التركيبية :

الدراسات التى أجريت على نبات الفجل ، الذى حدث فيه مقاومة جهازية مسحثة ضد ذبول الفيوزاريوم ، قد عبر عنها بشكل أولى ، على شكل خفض فى النسبة المئوية للنباتات المريضة ، هذا يبدو بوضوح أنه راجعاً من تكرار الفشل الذريع للكائن الممرض المسبب ذبول الفيوزاريوم فى الفجل ، فى أن يصل أو يستعمر النسيج الوعائى . مثل هذه الإعاقة للدخول الفطرى ، يمكن أن تشمل تغيرات خلوية فى خلايا البشرة والقشرة والتى تؤدى إلى تثبيط أكبر فى عملية تكوين المستعمرات .

الدليل على مثل هذه التحورات التركيبية المستحثة بواسطة PGPR ، قد وصفت حديثاً فى نسيج جذر البسلة . جذور البسلة المحقونة مسبقاً بسلالة Endophytic والمستعملة فى المقاومة الحيوية *Bacillus pumilus* SE 34 ، قد حدث فيها وقاية ضد فطر عفن الجذر *F.oxysporum* f. sp. *pisi* ، مع أن الفطر والبكتيريا كانا على اتصال ، حيث تتدخل الهيفات الفطرية مع خلايا البكتيرية على سطح الجذر ، وتبقى فى نمو نشيط وتخترق بشرة الجذر ، وبالتالى فإن ميكانزم الوقاية لا يظهر أنه يعتمد على التضاد المباشر فى الرايزوسفير . أما فى الجذور غير المبكترة ، فإن الكائن الممرض يتكاثر باعداد هائلة خلال مساحة كبيرة من النسيج شاملاً الأنبوب الوعائى . إن بكترة الجذر بنفسه لا تؤدى إلى تغيرات ظاهرية (شكلية) فى نسيج الجذر . بعد الحقن بالكائن الممرض ، فإن نموه يكون محدوداً فى للبشرة والقشرة الخارجية . تكون جدر هذه الخلايا قوية فى المناطق التى يحاول الفطر الدخول منها وذلك عن طريق النمو التراكبى محتوياً كميات كبيرة من السليلوز ومواد فينولية تمنع بشكل فعال الدخول الفطرى . تظهر المواد الفينولية أيضاً فى المسافات بين الخلايا بالإضافة إلى السطح أو داخل الهيفات المخترقة من الكائن الممرض . وبالتالى فإن الوقاية المتحصل عليها بواسطة السلالة SE 34 تشمل تقسية جدار خلية العائل بعد الحقن بالكائن الممرض (فيوزاريوم ذبول البسلة) . ترى تركيبات جدارية وحليمات فى جذور البسلة المعاملة بالرايزوبكتيريم *P. fluorescens* 63-28 R ، بعد الحقن بالكائن الممرض ، إما بفطر ذبول الفيوزاريوم فى البسلة أو الفطر *Pythium ultimum* . هذا يدل على وجود التخليق العام للحواجز الدفاعية الفيزيائية التى تعوق تقدم الكائن الممرض . ذكر أيضاً أن السلالة WCS 417 تحث على تخليق جدر خلوية ذات قشرة سميكة فى جذور الطماطم إذا ما كانت خلايا الأبيديرمال أو الهايبوديرمل قد استعمرت بكثافة بواسطة البكتيريا .

الفصل الرابع

المقاومة الجهازية المستحثة الناتجة بواسطة الرايزوبكتيريا

أولاً: تنبيه - تأشير - تعبير

Rhizobacteria - mediated Induced Systemic Resistance

Triggering - Signalling - Expression

مقدمة :

تمتلك النباتات أساليب دفاعية مستحثة مختلفة ، لتقي نفسها ضد مهاجمة الكائنات الممرضة المثال الكلاسيكى الذى درس جيداً ، هو المقاومة المستحثة للمرض حيوياً Biologically-induced disease Resistance والتى تتصف بأنها تنشط بعد الإصابة بكائن ممرض ، يسبب نكروزز ، وتقوم بالأداء عن بعد وتحدث مقاومة فى أجزاء النبات غير المصابة ، ضد مجال واسع من الكائنات الممرضة النباتية شديدة المرضية . هذا الشكل من مقاومة الأمراض ، غالبًا ما يشار إليه باسم المقاومة الجهازية المكتسبة Systemic (SAR) Acquired Resistance . ولقد ذكرت هذه الظاهرة فى مجالات مختلفة من علاقة النبات مع الكائن الممرض .

تتصف المقاومة الجهازية المكتسبة بالصفات الآتية :

١ – حدوث زيادة مبكرة فى البناء الداخلى حمض السلسليك .

٢ – حدوث تشجيع للجينات المشفرة للبروتينات المتعلقة بالمرضية Pathogenesis related proteins لقد وجد أن النباتات المحولة وراثياً NahG التى توضح جين هيدروكسيليز السلسيلات البكترى *nahG* والتى لا تستطيع تجميع حمض السلسليك ، تكون غير قادرة على إظهار المقاومة الجهازية المكتسبة ولا تظهر تنشيط لجين PR بعد الإصابة بالكائن الممرض ، هذا يدل على أن حمض السلسليك ضرورياً فى التوسط فى الممر الاشاري للمقاومة الجهازية المكتسبة .

obeikandi.com

يتواجد في منطقة الرايزوسفير للنباتات ، اعداداً كبيرة جداً من البكتيريا ، هذه البكتيريا تعيش على سطوح جذور النبات ، حيث افرازات الجذر والـ lysates التي تزودها بالمغذيات . هناك سلالات معينة من بكتيريا الرايزوسفير تشجع نمو النبات وبالتالي تسمى الرايزوبكتيريا المشجعة لنمو النبات Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) . هناك سلالات بكتيرية عزلت من التربة الكابحة للمرض طبيعياً . تسمى البكتيريا الضوئية *Pseudomonas* sp. تشجع نمو النبات عن طريق كبح شدة الكائنات الممرضة الكامنة في التربة ..

يكون نشاط المقاومة الحيوية ، هذا ، فعال تحت ظروف الحقل وفى الصوبات الزجاجية الإنتاجية ، هذه الظاهرة يمكن أن تكون نتيجة التنافس على الغذاء أو المنافسة بواسطة السايدروفور على الحديد أو التضاد الحيوى . بعض هذه السلالات ذات القدرة على المقاومة الحيوية ، يكون عندها القدرة أيضاً ، على خفض شدة المرض عن طريق ميكانزم يتوسط فيه النبات ، والذى فى شكله الظاهرى يكون مشابهاً للمقاومة الجهازية المكتسبة المستحثة بواسطة الكائن الممرض . هذا النوع من المقاومة يسمى المقاومة المستحثة ، نظراً لأن المقاومة المستحثة تكون مشجعة جهازياً وتمتد إلى الأجزاء النباتية فوق سطح التربة ، لذا فإنه يطلق عليها اسم المقاومة الجهازية المستحثة بواسطة الرايزوبكتيريا (ISR) - Rhizobacteria - medi ated Induced Systemic Resistance .

لقد ذكرت المقاومة الجهازية المستحثة بواسطة الرايزوبكتيريا فى كثير من الأنواع النباتية ، مثل الفاصوليا ، القرنفل ، الخيار ، الفجل ، الدخان ، الطماطم . النبات النموذجى الذى درست عليه هذه القاومة بتوسع هو نبات الأرابدوبسز *Arabidopsis thaliana* . ولقد ذكر أن هذه المقاومة فعالة ضد مجال واسع من الكائنات الممرضة النباتية فطرية، بكتيرية وفيروسية

المقاومة الجهازية المستحثة فى الارابدوبسز :

لقد استعمل نبات الأرابدوبسز كنموذج مثالى لدراسة المقاومة الجهازية المستحثة ، وطبقت عليه أبحاث كثيرة جداً فى هذا المجال . لقد استعملت السلالة الرايزوبكتيرية غير الممرضة *P.fluorescens* WCS 47r فى دراسة المقاومة الجازية المستحثة ، كعامل حاث لهذه المقاومة ، نظراً لأن هذه السلالة أثبتت قدرتها على تنبيه هذه المقاومة فى كثير من

الأنواع النباتية ، مثل القرنفل ، الفجل والطماطم . إن استعمار جذور نبات الأرابدوبسز بهذه السلالة يقى النباتات ضد أنواع مختلفة من الكائنات الممرضة من ضمنها البكتيريا الممرضة للأوراق *P.syringae* pv. *tomato* DC 3000 (تكتب باختصار Pst DC 3000) وبكتيريا *Xanthomonas campestris* pv. *amoracia* ، والفطر الممرض لجذور الفجل *Fusarium oxysporum* f. sp. *raphani* وكذلك الفطر الذى يصيب الأوراق *Peronospora parasitica* . تكون المقاومة ضد هذه الكائنات الممرضة ظاهرة بشكل نموذجى ، حيث أنها تسبب خفض أعراض المرض وتثبط نمو الكائن الممرض . نظراً لأن الرايزوبكتيريا تبقى موضعية على الجذور ، وبالتالى تكون منفصلة مكانياً وزمانياً عن الكائن الممرض المتحدى (الذى يحقن للدراسة) ولقد ثبت أن طريقة فعلها فى كبح شدة المرض ، يكون عن طريق تنشيط المقاومة الجهازية المستحثة فى النبات .

I : التنبيه Triggering

١ – المشجعات المختلفة للمقاومة الجهازية المستحثة

تعتمد إثارة الـ ISR على اتحادات العائل / الرايزوبكتيريم . مثال على ذلك السلالة البكتيرية *P.putida* WCS 358r والسلالة *P.fluorescens* WCS 374r ، تسلك سلوكاً مختلفاً على أنواع النباتات المختلفة . فمثلاً نبات الأرابدوبسز يكون حساس وسريع الاستجابة للسلالة WCS 385r بينما الفجل والقرنفل لا تكون كذلك . وعلى العكس من ذلك ، فإن نبات الفجل يكون حساس وسريع الاستجابة للسلالة WCS 374r ، فى حين أن الأرابدوبسز لا يكون كذلك .

يحدث أيضاً تخليق مختلف للمقاومة ISR بين الأنواع المختلفة ظاهرياً من الأرابدوبسز مثل Columbia و Landsberg ، يكون معظم هذه الأنواع حساس للمعاملة بالسلالة WCS 417r ، بينما النوع RLD والنوع Wassilewskija لا تكون كذلك (كما فى جدول ٤٢) . هذا يؤدى إلى القول ، بأن هناك صفات خاصة متميزة ، بين النبات والرايزوبكتيريا الحاثة على المقاومة الجهازية المستحثة ، يجب توافرها (أو هى مطلوبة) لتخليق ISR وأن هذه المقاومة تكون محددة وراثياً .

جدول رقم (٤٢) : يبين استجابة الأنواع المختلفة من الأرابدوبسز للمقامتين ISR ، SAR .

Genotype	Phenotype	ISR	SAR
Ecotypes			
Columbia	Wild-type	+	+
landsberg *erecta*	Wild-type	+	+
RLD	Wild-type	-	+
Wassilewskija	Wild-type	-	+
Weiningen	Wild-type	+	+
C24	Wild-type	+	+
Cape Verd. islands	Wild-type	+	+
Shahdara	Wild-type	+	+
Kashmir	Wild-type	+	+
Renkum	Wild-type	+	+
Dijon		+	+
Mutnts/transgenics[2]			
SA related			
NahG	SA deficient	+	-
sid1-1	SA deficient	+	-
sid2-1	SA deficient	+	-
npr1-1	SA deficient; non-expressor of PR genes	-	-
cpr1-1	SA overproducer; constitutive expressor of PR genes	++	+
JA related			
jar1-1	Affected in JA response	-	+
S-12	*Lox2* co-suppressor; no induced JA levels	+	+
Ethylene related			
etr1-1	Ethylene insensitive	-	+
ein2-1	Ethylene insensitive	-	+
ein3-1	Ethylene insensitive	-	+
ein4-1	Ethylene insensitive	-	+
ein5-1	Ethylene insensitive	-	+
ein6-1	Ethylene insensitive	-	+
ein7-1	Ethylene insensitive	-	+
eir1-1	Ethylene insensitive in the roots only	- / +	+

obeikandl.com

٢ - المحددات البكتيرية الداخلة فى إثارة المقاومة الجهازية المستحثة فى الأرابدوبسز

فى الدراسات التى أجريت على الفجل ، تبين أن التحضريات النقية من الـ -Lipopol ysaccharides ويكتب LPS ، وتحضيرات جدار الخلية ، المحتوى LPS من السلالة WCS 417r ، تكون فعالة فى تخليق المقاومة الجهازية المستحثة ، كما فى حالة البكتيريا المذكورة عندما تكون حية . إن الطفرة الحاصلة من هذه السلالة والتى تسمى WCS 417r OĀ أو B4 والتى تفتقر إلى O - antigenic side chain of the LPS ، تفقد مقدرتها على الحث على المقاومة الجهازية المستحثة ، هذا يدل على أن LPS للسلالة المذكورة هو محدد رئيسى فى تخليق المقاومة الجهازية المستحثة فى الفجل ، بطريقة مماثلة فى الأرابدوبسز ، فإن تحضيرات جدار الخلية المحتوية LPS من السلالة WCS 417r تكون قادرة على حث المقاومة الجهازية المستحثة ، بينما تحضيرات جدار الخلية من LPS الطفرة B4 تكون غير قادرة على احداث ذلك . وعلى أية حال فإن البكتيريا الحية من الطفرة B4 تستحث مستويات عادية من الوقاية ضد كل من *P. syringae* pv. *tomato* DC 3000 والفطر فيوزاريوم مسبب ذبول الفجل ، يودى إلى القول بأن LPS له دور جزئى فقط فى إثارة المقاومة الجهازية المستحثة فى الأرابدوبسز، وأن المركبات البكتيرية الأخرى تكون داخلة أيضاً.

بالنسبة للمقاومة الجهازية المستحثة فى الفجل ، والتى تنبه بواسطة السلالة WCS 417r، فإن المحددات الإضافية قد افترضت بأنها الحديد المنظم ، نظراً لأنه تحت الظروف التى يكون فيها الحديد متوفراً بشكل منخفض، فإن الـ LPS للطفرة يقوم بحث المقاومة الجهازية المستحثة . إما بالنسبة للسلالة *P.putida* WCS 358r المخلقة للمقاومة الجهازية المستحثة ، فإن هذه المحددات البكتيرية لتنظيم الحديد ، افترضت بأنها تكون عبارة عن سايدروفور نوع بسيدوبكتين Pseudopactin لهذه السلالة . إن استعمال هذا السايدروفور النقى أو معقد هذا السايدروفور مع الحديد الثلاثى ، لا يخلق مقاومة جهازية ضد بكتيريا *P.syringae pv. tomato* DC 3000 . وعلى أية حال فإن الطفرة التى ينقصها البناء الحيوى لهذا السايدروفور، تكون غير فعالة فى تخليق مقاومة كما فى سلالة النوع الأصلى .

بالإضافة لذلك فإن هناك طفرتين من السلالة WCS 358r كلاهما يفتقر إلى O - antigenic side chain of the LPS ، وتفتقر أيضاً إلى البناء الحيوى للسايدروفور المذكور سابقاً ، تكون فى فعاليتها مشابهة للسلالة الأبوية فى تخليق المقاومة . لقد درس تأثير الأسواط (الأهداب) ومدى دخولها فى المقاومة المستحثة . لقد ثبت بأن الأسواط تنبه

المقاومة الجهازية المستحثة ، ولكن الطفرات التى ينقصها أسواط لا تكون متساوية التأثير إلى حد ما . هذا يدل على أن المقاومة الجهازية المستحثة الناتجة بواسطة الرايزوبكتيريا فى الأرابدوبسز هى طريقة معقدة ، ويمكن أن يدخل فيها عديداً من الصفات البكتيرية .

II : التأشير Signalling

١ – الممر الإشارى الجديد الذى ينظم المقاومة الجهازية المستحثة فى الأرابدوبسز

عند دراسة المقاومة الجهازية المكتسبة SAR تبين أنها تعتمد على ممر حمض السلسليك وأن هذا الحمض مطلوب لتخليق هذه المقاومة ، أما بالنسبة للمقاومة الجهازية المستحثة ISR ، فإنها تكون مستقلة عن حمض السلسليك وتعتمد على حمض الجسمنك أو الإيثلين .

عند مقارنة المقاومة الجهازية المكتسبة (SAR) المستحثة بواسطة الكائن الممرض ، مع المقاومة الجهازية المستحثة (ISR) الناتجة من وساطة السلالة WCS 417r فى الأرابدوبسز ، تبين أن الأخيرة تكون مستقلة عن تجميع حمض السلسليك أو تنشيط الجين المتعلق بالبروتينات المتعلقة بالمرضية . ونظراً لأن نباتات NahG لا تسبب تجمع حمض السلسليك ، فإنه يتكشف فيها مستويات من المقاومة الجهازية المستحثة ضد Pst DC 3000 بعد استعمار جذورها بالسلالة المذكورة سابقاً . وبالمثل فإن الطفرات التى لا تستطيع تخليق حمض السلسليك مثل *sid1-1* و *sid2-1* ، فإنها لا تظهر المقاومة الجهازية المستحثة الناتجة بوساطة WCS 417r ، هذا يدل ثانية على أن ISR الناتجة بوساطة هذه السلالة تكون مستقلة عن حمض السلسليك .

عند دراسة الطفرة التى تستجيب لحمض الجسمنك *jar1-1* والتى تستجيب للإثيلين etr1-1 وطفرة تنظيم المقاومة الجهازية المكتسبة *npr1-1* ، تبين أن النقل الإشارى يؤدى إلى الاستنتاج بأن الـ ISR الناتجة من وساطة WCS 417r تتطلب الاستجابة لكل من حمض الجسمنك والإيثلين ، وبالمثل بالنسبة لـ SAR تكون متعمدة على NPR1 (العامل المنظم). كما فى WCS 417r فإن ميثايل جسمونات MeJA والإثيلين تكون بادئ لـ 1-aminocyclopropane 1-carboxylate (ACC) تكون فعالة فى تخليق مقاومة ضد Pst DC 3000 فى نباتات الطفرة NahG غير المجمعة لحمض السلسليك . زيادة على ذلك فإن المقاومة الجهازية المستحثة بواسطة MeJA تكون مقفلة فى النباتات ذات الطفرات

jar1-1 ، *etr-1* و npr1-1 ، بينما الوقاية المستحثة بواسطة ACC كانت مؤثرة فى نباتات ذات الطفرة *etr-1* و *npr1-1* ولم تؤثر فى نباتات الطفرة *jar1-1* . لهذا افترض بأن ISR الناتجة بوساطة WCS 417r تتبع ممر اشارى جديد الذى فيه مكونات من الجسمنك أسد والإيثلين ، تكون داخله فيه على التعاقب ، لتنبه تفاعل دفاعى والذى يشبه SAR ، ويكون منظماً بواسطة NPR1 باتجاه تيار التفاعل لـ NPR1 ، فإن الجينات المتعلقة بالمرضية تنشط فى ممر الـ SAR وليس فى ممر ISR . يبدو بوضوح أن عامل التنظيم NPR1 ينظم بطرق مختلفة تعبير الجين المتعلق بالمقاومة ISR والمقاومة SAR ، معتمداً في ذلك على الممر الذى ينشط قبل بدء النسخ .

بالإضافة إلى WCS 417r فإن السلالة WCS 358r ، تبين بأنها تحث على تكوين ممر ISR مستقل عن حمض السلسليك فى الأرابدوبسز . زيادة على ذلك فإن السلالة المستعملة فى المقاومة الحيوية *Serratia marcescens* 90-166 تكون قادرة على تخليق مقاومة فى كل من نباتات الدخان النوع الأصلى والنوع المحول وراثياً NahG ضد البكتيريا *P. syringae* pv. *tabaci* دالاً على قدرتها فى تنبيه ممر مستقل عن حمض السلسليك ، ينظم المقاومة الجهازية ، وهو شائع بين الرايزوبكتيريا المخلقة مقاومة جهازية مستحثة ، ولكن ليس كل الرايزوبكتيريا المخلقة مقاومة ، تنبه المقاومة المستقلة عن حمض السلسليك . مثلاً فإن السلالة NSK2 7 التابعة لـ *P. aeruginosa* والمحسنة وراثياً والسلالة المنتجة حمض السلسليك بكمية كبيرة *P. fluorescens* P_3 تبين بأنها قادرة على تنبيه ممر SAR المعتمد على حمض السلسليك عن طريق انتاج حمض السلسليك على سطح الجذر .

٢ – تشرب الأوراق بالرايزوبكتيريا المخلقة ISR تنبه ممر الـ ISR

إن تشرب أوراق النبات بالبكتيريا المخلقة للمقاومة الجهازية المستحثة *P. fluorescens* WCS 417r تستحث مقاومة ضد *P. syringae pv. tomato* DC 3000 فى الأوراق غير المشربة . لدراسة فيما إذا كانت الأوراق المشربة بالرايزوبكتيريا المخلقة ISR ، يمكنها أن تنبه نفس الممر الإشارى كما فى حالة معاملة الجذور ، فإن الجينوتايب من الأرابدوبسز Columbia ، NahG ، *jar1-1* ، *etr1-1* ، *npr1-1* ، قد اختبرت لمعرفة قدرتها على تعبير ISR ضد المرض المذكور سابقاً ، بعد تشرب الثلاثة أوراق السفلية بالضغط وادخال البكتيريا WCS 417r المخلقة ISR . كانت النتائج ، أن الورقة المشربة ، والجذر المعامل بهذه السلالة البكتيرية ذات تأثير مشابه فى إثارة المقاومة الجهازية المستحثة فى نباتات النوع الأصلى

كولمبيا . أما النباتات نوع NahG غير المجمعة لحمض السلسليك ، أيضاً تظهر مستوى معنوى من المقاومة الجهازية المستحثة بعد حقن الورقة . وبالمقابل فإن الطفرات الأربعة الأخرى المذكورة سابقاً لم تظهر أى تعبير للمقاومة الجهازية المستحثة بعد تشرب الأوراق بالسلالة البكتيرية المذكورة والحاثة على تخليق مقاومة جهازية مستحثة . زيادة على ذلك فإن تشرب الثلاثة أوراق السفلية من كل نبات بنفس السلالة البكتيرية السابقة أو السلالة WCS 358r تؤدى إلى مستوى معنوى من الوقاية ضد الإصابة بالكائن الممرض P.syringae pv. *tomato* DC 3000 فى الأوراق غير المعاملة ، بينما السلالة WCS 374r لا تستحث المقاومة . هذه النتائج متوافقة تماماً مع تلك المتحصل عليها بعد المعاملة بالسلالة البكتيرية WCS 417r ، WCS 358r أو WCS 374r على الجذور وتدل على أن الرايزوبكتيريا المخلقة مقاومة جهازية مستحثة تنبه نفس الممر الإشارى الجهازى عندما تضاف إما إلى الجذور أو إلى الأوراق .

٣ – المقاومة ISR تتطلب تأشيراً معتمداً على الاثيلين فى موقع التخليق

لقد ذكر Rnoester *et al* سنة ١٩٩٩ عند اختياره مجموعة من طفرات الأرابدوبسز الموصوفة جيداً والتى تأثرت على مراحل مختلفة فى الممر الإشارى للاثيلين لمعرفة مقدرتها على التعبير عن المقاومة الجهازية المستحثة . وجد أنه ولا أى من الطفرات تكشفت بها مقاومة جهازية مستحثة ضد الفطر Pst DC 3000 بعد معاملة الجذور بالسلالة WCS 417r يبدو بوضوح أن الممر الإشارى للاثيلين ، السليم يكون مطلوباً للتعبير عن المقاومة الجهازية المستحثة . بينت الدراسة المهتمة بالفطرات أن الطفرة eir1-1 والتى تكون غير حساسة للاثيلين فى الجذور فقط كانت قادرة على أن تحث مقاومة جهازية مستحثة عندما شُرِّبت السلالة WCS 417r فى الأوراق ، ولكن ليس عندما استعملت البكتيريا على الجذور. إذا كان تأشير الاثيلين مطلوب فقط للتعبيرات الجهازية للمقاومة الجهازية المستحثة فى مواقع دخول الكائن (المتحدى) الممرض ، عندئذ فإن نباتات eir1-1 من المتوقع أن تسبب ظهور مستويات عادية من المقاومة الجهازية المستحثة فى الأوراق بعد استعمال السلالة WCS 417r على الجذور ، وعلى أية حال فليس هذا هو كل الحقيقة الفعلية . وبالتالى لقد افترض بأن تأشير الاثيلين يكون مطلوباً فى مناطق اضافة المادة الحاثة . هذا يؤدى إلى القول بأن الاثيلين يكون داخلاً فى توليد أو نقل اشارة المقاومة الجهازية المستحثة المنقولة . هذا لا يظهر امكانية استجابة مكونات الاثيلين التى يمكن أيضاً أن تكون مطلوبة لتعبيرات المقاومة الجهازية المستحثة فى أنسجة بعيدة عن موقع التخليق .

٤ – المقاومتان المستحثة والمكتسبة تعملان بصورة تجمعية :

تلعب الجزيئات الإشارية ، حمض السلسليك وحمض الجسمنك دوراً مهماً فى ممرات مقاومة المرض المستحثة . يمكن أن يعمل حمض الجسمنك والاثيلين بانسجام فى تشجيع استجابات الدفاع ، بينما حمض السلسليك يمكن أن يثبط الاستجابات المعتمدة على حمض الجسمنك . جرياً مع حقيقة أن المقاومتين المكتسبة والمستحثة ، تتشارك فى العامل المنظم NPR1 . السؤال الذى يطرح نفسه هو إلى أى مدى يتفاعل ممر المقاومة الجهازية المستحثة المعتمدة على حمض الجسمنك وممر المقاومة الجهازية المكتسبة المعتمدة على حمض السلسليك ؟؟ أجاب على هذا السؤال حديثاً Van Wees *et al* سنة ٢٠٠٠ ، بعد أن درس تفاعلات ممكنة بين كلا الممرين . يؤدى التنشيط المتزامن لكلا الممرين إلى تأثير تجمعى على مستويات الوقاية المستحثة ضد الكائن الممرض Pst DC 3000 فى الجينوتاييس للأرابدوبسز التى حصل فيها توقف إما فى SAR أو ISR ، فإن هذا التأثير التجمعى لم يكن واضحاً . زيادة على ذلك فإن تعبير الجين المعلم PR-1 للمقاومة الجهازية المكتسبة لم يكن متغيراً فى النباتات المعبرة لكلتا المقاومتين ISR و SAR مقارنة مع النباتات المعبرة للمقاومة SAR لوحدها . هذا يدل على أن ممر SAR و ISR تكون متوافقة وبالتالى لا يكون هناك تداخل معنوى بين ممرات هذه التأثيرات . زيادة على ذلك فإن النباتات المعبرة لكلا النوعين من المقاومة المستحثة لا تظهر مستويات مرتفعة من نسخ Npr1 . يبدو بوضوح أن المستوى التأسيسى لـ NPR1 يكون كافياً لتسهيل التعبيرات المتزامنة لكل من SAR و ISR . هذا يؤدى إلى القول بأن زيادة مستويات المقاومة قد تأسست من خلال التنشيط المتوازى المكمل لاستجابات الدفاع المعتمدة على NPR1 .

III : التعبيــر

١ – البحث عن جينات متعلقة بالمقاومة الجهازية المستحثة

تتصف حالة المقاومة الجهازية المكتسبة ، المستحثة بواسطة الكائن الممرض عن طريق التنشيط المصاحب لمجموعة جينات متعلقة بالمرضية . فى النباتات المعبرة للمقاومة الجهازية المكتسبة ، تتجمع منتجات الجين المتعلق بالمرضية جهازياً إلى مستويات من ٠,٣ ٪ إلى ١ ٪ من مجموع mRNA ومحتوى البروتين . وعلى أية حال ، مع أن بعض البروتينات المتعلقة بالمرضية تمتلك صفة النشاط ضد الميكروبات ، هذه الصفة جعلت هناك علاقة بين

تجمع البروتينات المتعلقة بالمرضية والمجال الواسع للمقاومة التى تتميز به المقاومة الجهازية المكتسبة إلا أنه لم يكن هناك إثباتاً مقنعاً . من بين الجينات المتعلقة بالدفاع المختبرة فى الأرابدوبسز (مثل الجينات المستحثة بحمض السلسليك ، PR-1 - PR-2 و PR-5 والجينات المستحثة بالاثيلين أو حمض الجسمنك *Hel* ، *ChiB* ، *Pdf1.2* ، *Atvsp* ، *Lox1* ، *Lox2* و *pal1*) لم يتبين أن أى منها منظم فى تعبير النباتات للمقاومة الجهازية المستحثة . زيادة على ذلك ، لا الفصل المميز القياسى لـ cDNA مجموعة WCS 417r الحاثة للنباتات ، ولا طريقة 2D-gel لتحليل البروتينيات من النباتات المستحثة وغير المستحثة أنتجت اختلافات معنوية ، وبالتالى فإنه يعكس ماهو فى SAR ، فإن بداية ISR تكون مترافقة مع تغيرات كبيرة فى جين التعبير . بالرغم من ذلك ، فإن النباتات المعبرة للمقاومة ISR ، تكون بوضوح أكثر مقاومة لأنواع مختلفة من الكائنات الممرضة . وبالتالى فإنه من المفروض أن تمتلك النباتات حتى الآن منتجات جين متعلق بالدفاع غير مكتشف والتى تشارك فى مقاومة مدى واسع من الأمراض .

فى دراسات أخرى ، وجد أنه لكى نبحث عن جينات متعلقة بالمقاومة ISR ، فصلت مجموعة كبيرة من خطوط lines نباتات الأرابدوبسز محتوية Enhancer - trap Ds trans- poson and B-glucuronidase (GUS) reporter gene . احدى هذه الخطوط المسماه enhancer - trap أظهر نشاط موضعى لمادة GUS فى الجذور بعد أن تم استعمارها بواسطة WCS 417r . ولقد تبين بوضوح أن جذور هذا الخط ، أظهرت نظام تعبيرى مماثل بعد معاملة الجذور بمادة 1-aminocyclopropane -1- carboxylate يرمز لها (ACC) بادئ الاثيلين . هذا يدل على أن هذا الخط يحتوى Transposon داخل فى The vicinity فى الجين المستحث بالاثيلين والذى ينظم فى الجذور بعد استعمارها بواسطة السلالة WCS 417r . هناك عديداً من الجينات مرشحة فى الـ Vicinity لـ Enhancer trap *DS* trans- poson . إن الأبحاث الجارية فى تعريف الجين المفترض بأنه متعلق بالمقاومة الجهازية المستحثة والذى يكون مسئولاً عن تعبير GUS ، في تقدم ، ويمكن أن تزودنا بتفهم أكثر لميكانزم الجزئ الداخل فى المقاومة الجهازية المستحثة الناتجة بواسطة الرايزوبكتيريا .

٢ - تحديد موقع جديد (ISR-1) ينظم ISR الناتجة بواسطة الرايزوبكتيريا

فى الدراسات الوراثية لتحديد الجينات المتعلقة بالمقاومة الجهازية المستحثة ، جمع

احدى عشر ايكوتايب من نبات الأرابدوبسز وأجرى عليها فصل لمعرفة كفاءتها فى التعبير عن ISR و SAR ضد Pst DC 3000 (المذكور سابقا) ، جميع الأيكوتايب المختبرة تكشفت فيها SAR . وعلى أية حال فإنه من الأحد عشر أيكوتايب المختبرة فإن RLD و WWJ ، هما فقط الذين لم يتكشف فيهما ISR بعد معاملة الجذور بالسلالة WCS 417r وجد أن الجينوتايب غير المستجيب للسلالة البكتيرية المذكورة كان مترافقاً معه ، مستوى عال من القابلية للاصابة بالكائن الممرض Pst DC 3000 المذكور سابقاً ، والذى يبدو واضحاً وكأنه يسبب تكاثر كبير للكائن الممرض فى الأوراق وأيضاً أعراض شديدة جداً للمرض . أظهر التحليل الوراثى لأفراد الجيل الأول ، الثانى والثالث للتهجين بين الأيكوتايب (كولمبيا) الحساس والمستجيب للسلالة WCS 417r والأيكوتايب RLD غير المستجيب لنفس السلالة ، أن كلاً من كفاءة تعبير ISR والمستوى العالى نسبياً للمقاومة الأساسية ضد Pst DC 3000 تكون مونوجنك والميزة السائدة تلك تكون مرتبطة وراثياً . المكان المطابق والمسمى ISR-1 قد حدد موضعه فى الخريطة الجينية بين معلمات CAPS B4 (ومعناها Cleard amplified polymorphic sequence) و GL1 على الكروموسوم رقم ٣ . تبين أنه لا الاستجابة للسلالة البكتيرية السابقة ولا المستوى العالى نسبياً للمقاومة القاعدية ضد Pst DC 3000 كان مكتملاً فى أفراد الجيل الأول من التهجين بين كل من الأيكوتايب RLD و WWJ هذا يدل على أن كلاً من الأيكوتايب الأول والثانى قد تأثرت فى نفس الموقع .

من الجدير بالذكر أن طفرات jar1-1 و etr1-1 والتى تتأثر فى استجابتها لحمض الجسمنك والاثيلن بالترتيب أظهرت الفينوتايب نفسه كما فى الأيكوتايبس RLD و WWJ فى ذلك ، كان كلاهما غير قادر لتوضيح المقاومة الجهازية المستحثة الناتجة بوساطة WCS 417r وأظهرت زيادة القابلية للاصابة بالكائن الممرض Pst DC 3000 .

وجد عند تحليل كل من الأيكوتايب RLD و WWJ ذوات الاستجابة للاثيلين ، تبين أن كلا النوعين يظهر حساسية منخفضة للاثيلين تكون Co-segregated مع الاليلات المتنحية للموضع ISR-1 . وبالتالى اقترح بأن الموقع ISR-1 فى الأرابدوبسز يشفر مكون جديد لمر استجابة الاثيلين والذى يلعب دوراً مهماً فى تأشير مقاومة المرض .

٣ – انتاج الجسمنك أسد والاثيلين أثناء تكوين ISR

إن زيادة الانتاج من الجسمنك أسد والاثيلين ، هى علاقة مبكرة للدفاع النشيط فى النباتات المصابة . كلتا الجزيئات المؤشرة تتناسق أو ترتبط مع تنشيط مجموعة كبيرة من استجابات الدفاع ، وعندما تضاف خارجياً تستطيع أن تستحث المقاومة بنفسها . فى الأرابدوبسز فإن كلاً من الجسمنك أسد والاثيلين تنشط مجموعات متخصصة من جينات متعلقة بالدفاع ومقاومة ضد Pst Dc 3000 . لقد راقب Van Wees et al سنة ١٩٩٩ تعبير مجموعة موصوفة جيداً من الجينات مستجيبة للاثيلين و/أو الجسمنك أسد (مثل *Lox-1* ، *Lox-2* ، *Atvsp* ، *Pdf1*-2 ، *Hel* ، ChiB ، Pal-1) فى نباتات الأرابدوبسز المعبرة للمقاومة الجهازية المستحثة الناتجة من وساطة WCS 417r ، تبين أنه ولا أى واحد من الجينات المختبرة دخلت فى تنظيم المقاومة فى النباتات المستحثة ، لا موضعياً فى الجذور ولا جهازياً فى الأوراق . هذا أدى إلى الاقتراح بأن المقاومة الجهازية المستحثة الناتجة من وساطة WCS 417r فى الارابدوبسز لم تكن مترافقة مع تغيرات كبيرة فى مستويات لا الجسمنك أسد ولا الاثيلين . وجد بتحليل مستويات المقاومة الجهازية والموضعية ، أن الجسمنك أسد والاثيلين ، أظهرت أن المقاومة الجهازية المستحثة بواسطة السلالة WCS 417r لا تكون مترافقة مع تغيرات فى إنتاج هذه الجزيئات الاشارية . باستعمال الـ Lox-2 المشترك فى التثبيط للخط المحول وراثياً S-12 ، ولقد تأكد أن الزيادة فى إنتاج حمض الجسمنك ، لا يكون مطلوباً فى التخليق أو تعبير المقاومة الجهازية المستحثة . النباتات المحولة وراثياً S-12 والتى تأثرت فى الانتاج لحمض الجسمنك كاستجابة للتجريح ، عبرت عن المستويات العادية للمقاومة الجهازية المستحثة ISR ، بصرف النظر عن فيما إذا كانت ISR قد استحثت عن طريق الجذور أو الأوراق . هذه النتائج مع بعضها البعض ، تؤدى إلى القول بأن تبعية الجسمنك أسد والاثيلين للمقاومة الجهازية المستحثة يكون مبنياً على زيادة الحساسية لهذه الهرمونات إذا قورنت مع الزيادة فى انتاجها .

٤ – فعالية الجينات المستجيبة لحمض الجسمنك فى النبات هى استجابة لـ ISR

إذا كان اعتماد الجسمنك أسد والاثيلين فى المقاومة ISR ، مبنياً على زيادة الحساسية لهذه الجزيئات الاشارية ، فإن النباتات المعبرة عن المقاومة ISR ، من المتوقع أنها تتفاعل بأسرع أو بأكثر قوة مع حمض الجسمنك المستحث بالكائن الممرض أو انتاج الاثيلين . وبالتالى فإن تعبير الجينات المستجيبة لحمض الجسمنك وهى *pdf1-2* ، *Lox-2* ، *Pal-1*

والجينات المستجيبة للاثيلين هى *Hel* و *ChiB* والجينات المستحثة بحمض السلسليك PR-2 ، PR-1 و PR-5 ، قد حللت بعد حقن نباتات الكنترول والنباتات المعبرة عن ISR و SAR . تبين أن الاصابة بالكائن الممرض Pst DC 3000 (المذكور سابقاً) استحث التعبير فى جميع الجينات المختبرة . فى النباتات المحقونة بالكائن الممرض ، فإن النباتات المعبرة عن SAR والجينات المستحثة بحمض السلسليك المذكورة سابقًا ، أظهرت فعالية تعبير بالمقارنة مع نباتات الكنترول المحقونة بالكائن الممرض . فى النباتات المحقونة ، النباتات المعبرة عن ISR ، فقط Atvsp ، لعبت دوراً فى زيادة مستوى التعبير بالمقاونة مع نباتات الكنترول المحقونة . لم تكن تعبيرات الجينات الأخرى المستجيبة لحمض الجسمنك ذات فعالية . هذا يؤدى إلى القول بأن ISR تكون مترافقة مع فعالية مجموعة متخصصة من الجينات مستجيبة لحمض الجسمنك .

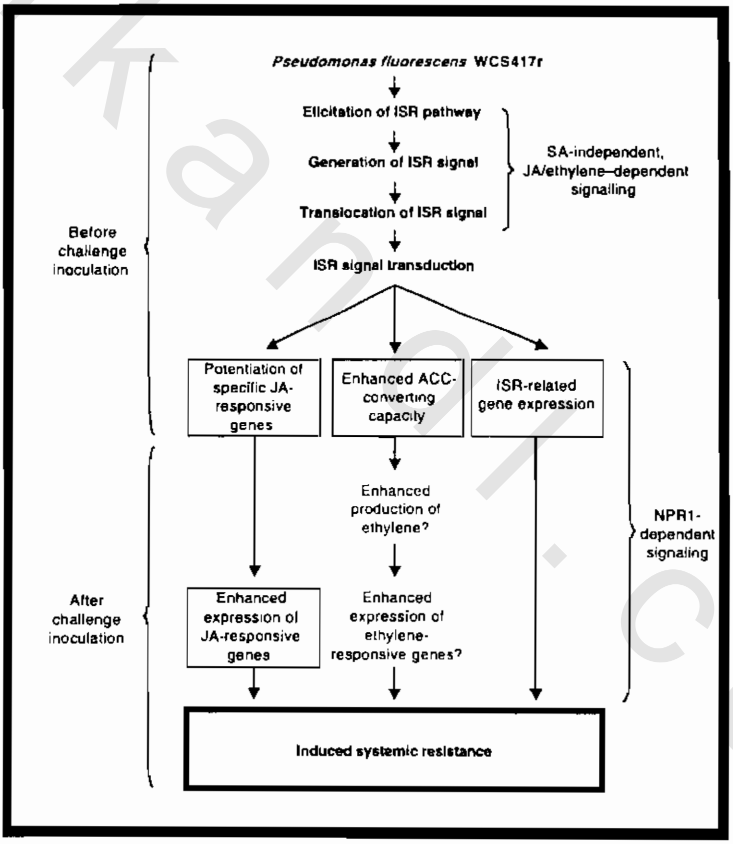
٥ – ISR تكون مترافقة مع زيادة الكفاءة لقلب ACC إلى الاثيلين

فى النباتات الراقية، ينتج الاثيلين من الميثونين عن طريق S-adenosyl-L-methionine (الذى يكتب SAM) وعن طريق 1-aminocyclopropane -1- carboxylic acid ويكتب (ACC) . على هذا الشكل Methionen - SAM $\rightarrow$ ACC $\rightarrow$ ethylene . الخطوتين الأخيرتين لهذا البناء الحيوى للممر يدخل فيها أنزيمات مساعدة هى ACC oxydases , ACC synthase بالترتيب . تؤدى اصابة الكائن الممرض إلى ظهور أعراض الإصفرار أو التحلل مسببة زيادة فى انتاج الاثيلين بأنزيم ACC synthase و ACC oxidase ، ويبدو أن نشاط هذين الأنزيمين يزداد تعاقبياً . يكون إنقلاب SAM تحت الظروف الطبيعية إلى ACC هى الخطوة المحددة لهذا المعدل ، وعلى أية حال ، فإنه خلال الاصابة ، فإن تجمعات ACC تكون مؤقتة وعابرة . هذا يدل على أن كفاءة ACC oxidase هى المقيدة لانتاج الاثيلين . ذكر فى الأبحاث القديمة أن كفاءة إنقلاب ACC إلى الاثيلين يزداد بانتظام فى نباتات الدخان المعبرة للمقاومة SAR مزوداً كفاءة أكبر لانتاج الاثيلين بعد الحقن بالكائن الممرض .

يكون انتاج الاثيلين فى نبات الارابدوبسز ، فى الأنسجة الجهازية معبراً عن ISR أو SAR ولا يزداد بالمقارنة مع النباتات غير المستحثة . وعلى أية حال ، بعد المعاملة بجرعة مشبعة من ١ مللى مول ACC ، فإن النباتات المعبرة عن ISR تظهر مستوى أعلى (احصائياً) فى انتاج الاثيلين من تلك النباتات فى الكنترول المعالة بمركب ACC بصرف

obeikandl.com

النظر عن فيما إذا كانت ISR قد استحثت بواسطة معاملة الجذور بالسلالة WCS 417r أو راشح الورقة . يختلف مقدار الزيادة فى كفاءة إنقلاب ACC من ٢٠ ٪ – ٥٠ ٪ حسب التجارب ، ويكون مشابهاً لذاك المشاهد فى النباتات المعبرة عن SAR . يبدو واضحاً أن الكفاءة فى قلب ACC إلى اثيلين يزداد فى نباتات الأرابدوبسز المعبرة أما عن ISR أو SAR مزودهما بكفاءة أكبر لانتاج الاثيلين بعد المهاجمة بالكائن الممرض . نظراً لأن اضافة ACC قد أظهرت بأنها تستحث المقاومة ضد الكائن الممرض Pst DC 3000 فى نبات الارابدوبسز ، يكون هناك انتاج أسرع أو أكبر للاثيلين فى الطور الأولى من الاصابة ، وهذا يمكن أن يشارك فى زيادة المقاومة ضد هذا الكائن الممرض (شكل رقم ٤) .



شكل رقم (٤) : خطوات تكوين المقاومة الجهازية المستحثة ISR ابتداءاً من السلالة WCS 417r .

يعتبر الاثيلين مركب اشارى هام فى استجابات دفاع النبات ، مع أنه ليس مطلوباً لتكشف SAR ، إلا أنه يزيد الحساسية فى الارابدوبسز لحمض السلسليك . زيادة على ذلك فإن استعمال طفرة نبات الدخان بالجين *etr1* المأخوذ من الأرابدوبسز والذى يعطى عدم الحساسية السائدة للاثيلين . ولقد ذكر حديثاً أن وجود الاثيلين يكون مطلوباً لمستوى عال من SAR فى الدخان ضد فيرس موزايك الدخان .

للبحث فى دور الاثيلين فى تعبير المقاومة ISR ، فإن الطفرة ذات الجين *etr-1* من نبات الارابدوبسز غير الحساسة للاثيلين قد أجرى عليها الاختبارات . السلالة البكتيرية WCS 417 لم تكن قادرة على تخليق مقاومة ضد التبقع البكتيرى فى هذه الطفرة . بينما SAR المستحثة بالكائن الممرض تتكشف فى الطفرة . نظراً لأن WCS 417 قد استعمرت جذور الطفرة ذات الجين *etr1* والنوع الأصلى إلى نفس المدى ، هذه المعلومات تجعل وجود الاثيلين كخطوة متخصصة وأساسية فى ممر النقل الاشارى مؤدياً إلى ISR .

وجد فعلاً إن إضافة بادئ الاثيلين ACC إلى نباتات النوع الأصلي من الأرابدوبسز يستحث مقاومة ضد الكائن الممرض البكتيرى *P.syringae* pv. *tomato* إلى نفس المستوى كما فى السلالات الرايزوبكتيرية ، ليس فى النوع الأصلى فقط ، ولكن أيضاً فى سلالات الارابدوبسز الحاملة جين nahG . هذه الملاحظات أدت إلى القول بأن البكتيريا المستحثة تنبه انتاج الاثيلين أو احداث تحورات للاثيلين بواسطة النبات .

لقد ثبت بأن الجسمنك أسد ، يتدخل كاشارة فى عديد من استجابات الدفاع النباتية . إن طفرة نبات الارابدوبسز ذات الجين *jar1* التى تستجيب لحمض الجسمنك ، تظهر مستويات النوع الأصلى من المقاومة الجهازية المكتسبة SAR المستحثة بواسطة الكائن المرض، ولكنها تفشل فى التعبير عن المقاومة الجهازية المستحثة ISR الناتجة من وساطة الرايزوبكتيريا . فى الدراسة التى طبقت على النوع الاصلى (البرى) وجد أن اضافة MeJA يستحث المقاومة كما يفعل ACC . وعلى أية حال فإن MeJA لا تستحث مقاومة فى الطفرة ذات الجبين *etr1* ، بينما ACC يقوم بحث مقاومة فى الطفرة ذات الجين *jar1* ، دالاً على أن وجود حمض الجسمنك يكون مطلوباً قبل التأشير الاثيلينى . وجد أنه لا الـ MeJA ولا ACC تستحث المقاومة فى الطفرة ذات الجين *npr1* مؤكداً فعلها قبل NPR1. من الممكن أن تكون الهرمونات مطلوبة بدون أى زيادة فى مستوياتها الداخلية ، مثلاً يعمل الاثيلين كمنظم داخلى لشيخوخة الأوراق فى الأرز ، وبالتالى فإن إضافة حمض الجسمنك

obeikandl.com

يشجع الشيخوخة بعد فصل الأوراق . فى أجزاء ورقة الأرز المعاملة بمركب MeJA فإن انتاج الاثيلين ، أقل منه في الأوراق المعاملة بالماء . وبالتالى فإن تشجيع الجسمنك أسد للشيخوخة يبدو بأنه راجعاً للزيادة فى الحساسية للاثيلين .

فى الاختبارات التى أجريت على نبات الارابدوبسز ، وجد أن معاملة بادرات هذا النبات بالرايزوبكتيريا الحاثة ، قبل الحقن بالكائن الممرض ، بمدة بضعة أيام إلى بضعة أسابيع يؤدى إلى تخليق ISR بالرغم من الفصل المكانى والزمانى بين الرايزوبكتيريا والكائن الممرض المحقون. زيادة على ذلك فإن ISA فى الارابدوبسز كانت فعالة ضد كائنات ممرضة مختلفة ، بينما الايكوتايب كولمبيا و Landsberg - erecta كانت مستجيبة للتخليق بواسطة WCS 417 أو WCS 385 ، أما الأيكوتايب RLD لم يكن مستحثاً . يمتلك الايكوتايب الأخير مستوى منخفض من المقاومة القاعدية لـ *P. syringae* pv. tomato ، يدعم فكرة أن المقاومة المستحثة تمثل زيادة بقاء الكفاءة الدفاعية. إن نقص التعبير للمقاومة ISR فى الأيكوتايب RLD وفى الطفرات ذات الجينات *jra1* ، *etr1* ، *npr1* ، تستبعد امكانية أن المضادات الحيوية المنتجة بواسطة الرايزوبكتيريا يمكن أن تكون مسئولة عن ، أو مشاركة فى ، المقاومة ISR ، وبالتالى فإن ISR فى الأرابدوبسز تشابه في عديد من صفاتها تلك الصفات التى فى SAR .

على فرض أن الجسمنك أسد والاثيلين مواد تأشيرية في المقاومة ISR ، فإن حمض السلسليك ليس كذلك ، وبالتالى فإن تأشير الممر الذى ينبه بواسطة هذه البكتيريا الحاثة على المقاومة فى الأرابدوبسز يكون مختلفاً عنه فى SAR كما فى شكل رقم (٤). للتمييز بين المقاومتين خلال هذين الممرين المختلفين وفى مجال الاستعمال للاصطلاح SAR لوصف المقاومة المستحثة المعتمدة على تأشير حمض السلسليك ومترافقة مع حث الجينات المتعلقة بالمرضية، يبدو أنه من الأفضل استعمال اصطلاح SAR عندما تجتمع هذه الشروط . ولقد اقترح أن يقتصر اصطلاح ISR ليشير إلى المقاومة الجهازية المستحثة بواسطة الرايزوبكتيريا التى لا تعتمد على تأشير حمض السلسليك وغير مترافقة مع تجمع البروتينات المتعلقة بالمرضية فى النبات .

مع أن مستوى المقاومة المتحصل عليها بواسطة SAR و ISR يكون بشكل عام متشابه فى الارابدوبسز ، إلا أن ISR ، عادة تمنح مقاومة أقل قليلاً منه فى حالة SAR . تبين النتائج الأولية أن المقاومة المستحثة بواسطة PGPR ، يمكن أن تقوى أكثر عن طريق إضافة حمض السلسليك ، هذا يدل على أن البكتيريا الحاثة لا تنشط نفس المجال من استجابة النبات كما تفعل الكائنات الممرضة .

مما سبق يمكن الاستنتاج بأن اجتماع المقاومتين SAR و ISR يمكن أن يمنح مستوى عال من الوقاية ، يكون أكبر منه فى حالة استعمال كل واحدة منهن بمفردها . كما هو معروف فإن SAR تكون مترافقة مع تجمع البروتينات المتعلقة بالمرضية ولكن هذه تفتقر إليها ISR ، لهذا فإن ISR يجب أن تكون معتمدة على حالات أخرى مختلفة .

مقدرة ISR على كبح شدة المرض تحت الظروف الحقلية

نظراً لأن PGPR الحاثة على ISR تكون متواجدة طبيعياً فى منطقة الرايزوسفير فى النبات ، وهى من سكان التربة ، السؤال الذى يطرح نفسه هو ، هل النباتات النامية تحت الظروف الحقلية يمكن أن تستحث طبيعياً ؟؟

لا يوجد دراسات متوسعة تهتم بهذا الموضوع ، إلا أن PGPR تستطيع أن تقى النباتات من المرض تحت ظروف الزراعة الحقلية التجارية ، وفى كثير من الحالات فإن كبح شدة المرض تعزى إلى المقاومة ISR . وجد فى احدى التجارب ، أنه فى أربعة سنوات متتالية ، فإن معالة البذور بالسلالة البكتيرية الحاثة على المقاومة وهى *P. fluorescens* strain WCS 374 ، تخفض مرض ذبول الفيوزاريوم فى الفجل المزروع فى الصوبا الزجاجية الملوثة تربتها طبيعياً بالكائن الممرض بنسبة تصل إلى ٥٠ ٪ . إن استعمال نفس هذه التربة فى الاختبارات الحيوية ، أثبت أن الطفرة التى تفتقر إلى (OA^-) لا تكبح شدة المرض . ونظراً لأن (OA) فى الـ LPS يستحث المقاومة الجهازية المستحثة ولكنه غير سام للكائن الممرض المسبب ذبول الفجل ، أعطت هذه الملاحظة برهانًا قويًا جداً للتأكيد بأن ISR هى ميكانزم مسئول عن كبح جماح المرض .

استعملت أربعة سلالات من PGPR ، بأن أضيفت إلى البذور (معاملة بذور) ثم بعد ذلك غمرت التربة بمعلق من هذه السلالات عند نقل البادرات إليها . أدت هذه المعاملة إلى كبح شدة المرض ، فى كل من مرض تبقع الورقة الزاوى والانثراكنوز فى الخيار ، فى ثلاثة تجارب حقلية لمدة سنتين متتاليتين . فى التجارب الثلاثة الأخرى ، فإن معظم سلالات PGPR شجعت النمو الموسمى للنبات وسببت زيادة فى الانتاج . تحت نفس الظروف فإن مرض الذبول البكتيرى ، الذى يحدث طبيعياً والمتسبب عن *E.tracheiphila* قد حصل له أيضاً خفضاً معنوياً . تدل هذه النتائج على أن المعاملة بالرايزوبكتيريا الحاثة على ISR يمكن أن تقوم بعملين هما تشجيع نمو النبات وخفض شدة حدوث المرض تحت الظروف الحقلية.

يعتمد تخليق المقاومة ، على استعمار النظام الجذرى فى النبات ، بواسطة الرايزوبكتيريا المخلقة أو الحاثة للمقاومة بأعداد كافية لتنبيه ISR . هذا عادة ما يتم إنجازه عن طريق إضافة المعلقات البكتيرية إلى التربة قبل الزراعة أو أثناء نقل البادرات ، أو عن طريق تغليف البذور بأعداد هائلة من هذه البكتيريا . لقد صممت هذه المعاملات لتعطى بكتيريا PGPR فوائد المنافسة ضد مكروفلورا التربة الطبيعية ، يجب أن تبقى سلالات PGPR مترافقة مع جذور النبات لكى تبقى حية ولكى تعطى مفعولها . إن أقل تركيز من هذه البكتيريا يجب أن يستعمل للحصول على ISR هو $١٠^{١٠}$ وحدة تكوين مستعمرات/مل . مع أن التجمعات البكتيرية الكلية فى منطقة الرايزوسفير يمكن أن يزيد عن هذا المستوى بكثير ، إلا أن التنوع البكتيرى الهائل والمنافسة الشديدة بين هذه السلالات على سطح الجذر ، يجعل من غير المحتمل أن تكون بداية نشاط هذه الـ PGPR تتجاوز هذه الكمية .

بعض البكتيريا مستعمرة الجذور ، يمكن أن تدخل جذور النبات وتعيش على أنها En-dophytes داخل النبات . يمكن الاعتقاد بأن سلوك هذا النوع من البكتيريا يساعد فى تخليق مقاومة ISR ، نظراً لأن كثير من خلايا النبات تبدو وكأنها متصلة مع البكتيريا مستعمرة الجذور أكثر من البكتيريا PGPR المتواجدة فى منطقة الرايزوسفير . مع أن السلالة WCS 417 تسلك وكأنها Endophytes فى الطماطم ، إلا أن الطفرة التى تتميز $(O\bar{A})$ تستعمر أنسجة الجذر الداخلية بصورة أقل كفاءة . وعلى أية حال فإن يعكس المقاومة الحيوية الناتجة عن طريق التضاد البكتيرى ، فإن مساندة وتأييد كبح شدة المرض ، يمكن أن يكون فعالاً حتى لو كانت تجمعات البكتيريا تنخفض مع تقدم الزمن . إذا ما حدث وأن تنشط ميكانزم المقاومة ISR طبيعياً فى العائل فإنه يحتفظ به ويؤكده بزيادة كفاءة الدفاع لمدد طويلة ويكون فعال ضد كائنات ممرضة متنوعة . يمكن للمقاومة ISR أن تكون فعالة وتنتقل حتى فى الأجيال الناتجة عن مزارع الأنسجة من النباتات المستحثة .

لكى نقلل من الاعتماد على وقاية المحاصيل كيماوياً ، لمقاومة الأمراض ، فإن العوامل الحيوية قد حصلت على اهتمام كبير فى هذا المجال . لذلك يمكن القول بأن PGPR قدمت بديلاً جذاباً فى تزويد النبات بمقاومة يمكن أن تتصف بأنها طبيعية ، بدون مخاطر ، فعالة ، دائمة ومتينة . وعلى أية حال فإنه يمكن اجراء اتحاد بين طرق المقاومة المختلفة للحصول على أفضل نتيجة فى مقاومة المرض .

فى النهاية يمكن القول بأن ISA سوف تكون طريقة قيمة وفعالة وصديقة للبيئة عند انتشار استعمالها فى مقاومة أمراض النبات على نطاق واسع فى المستقبل .

obeikandi.com

ثانياً: قابلية التوريث فى ISR

مقدمة :

عندما يكون هناك منبه ملائم ، بحيث يؤثر على النباتات جهازياً ، ويزيد كفاءة الدفاع فيها ضد مهاجمة الكائنات المرضة ، هذه المقاومة تسمى المقاومة الجهازية المستحثة أو المقاومة الجهازية المكتسبة . المقاومة المستحثة ، تتصف بشكل عام ، بأنها تقيد نمو الكائن الممرض وتحدث خفضاً فى شدة المرض . إن تكشف المجال الواسع للمقاومة الجهازية المكتسبة SAR ، بعد الاصابة الأولية بالكائن الممرض قد درست بتوسع من قبل Ryal *et al* سنة ١٩٩٦ . وقد كتبنا عنها بالتفصيل فى الجزء الأول من الكتاب .

أما بالنسبة للمقاومة الجهازية المستحثة ISR ، فقد عرفت منذ إكتشاف كفاءة الرايزوبكتيريا فى خلق مقاومة جهازية فى النبات فى أوائل التسعينيات . لقد ذكرت هذه المقاومة فى أنواع مختلفة من النباتات ، ضد مجال واسع من الكائنات المرضة . إن الميكانيكيات التى بواسطتها تستحث البكتيريا هذه المقاومة ، مختلفة . بعض سلالات الرايزوبكتيريا تنبه ممر المقاومة المعتمد على حمض السلسليك عن طريق انتاج حمض السلسليك على سطح الجذر ، البعض الأخر يشجع ممر مستقل عن حمض السلسليك .

لقد وجد أن نبات الارابدوبسز *Arabidopsis thaliana* هو من أفضل أنواع النباتات لدراسة المقاومتين ISR ، SAR وهو موديل جيد لجذب الأبحاث وشرح ميكانزم الجزئ الأساسى للمقاومة ISR وذلك باستعمال السلالة WCS *Pseudomonas fluorescens* 417r كعامل حاث للمقاومة . لقد ذكر أن ISR يمكن أن تستحث مستقلة عن SAR ودون الاعتماد على تعبير جيناتها . زيادة على ذلك فإن الممر التأشيرى للمقاومة ISR يعمل باستقلالية عن حمض السلسليك ، ولكن يتطلب استجابة كاملة لهرمونات النبات ، الجسمونات Jasmonte (JA) والاثيلين .

أظهرت الأبحاث المستفيضة التى أجراها Pieterse *et al* سنة ٢٠٠٠ أن تخليق المقاومة ISR لا يؤدى إلى زيادة انتاج حمض الجسمنك والايثلين ولا يؤدي إلى زيادة فى التعبير للجينات الحساسة أو المستجيبة لحمض الجسمنك أو الاثيلين . هذه الملاحظات أدت إلى القول بأن المقاومة ISR مبنية على حساسية الأنسجة لهذه الهرمونات ، وليس على الزيادة فى انتاجها . بالرغم من الاختلافات بين ISR الناتجة من وساطة WCS 417r ، والمقاومة

SAR الناتجة عن الكائن الممرض ، فإن استجابة كلتا المقاومتين ، تتوقف فى الطفرة ذات الجين *npr1-1* . هذا يدل على أن كلتا المقاومتين تنظم بواسطة بروتين منظم يسمى NPR-1 . بعد بدء النسخ لهذا البروتين ، فإن كلا الممرين يتشعب دالاً على أن هذا البروتين ينظم بطرق مختلفة لاستجابات الدفاع ، معتمداً عل الممر الذى ينشط قبل بدء النسخ له . والجدير بالذكر أن تنشيط كل من ممر ISR المعتمد على الاثيلين أو الجسمنك أسد وممر SAR المعتمد على حمض السلسليك يؤدى إلى زيادة مستوى المقاومة ضد (Pst) (سبق ذكره بالتفصيل) ، هذا ما وجده Van Wees *et al* سنة ٢٠٠٠ . هذا يدل على أن تأثيرات ISR و SAR تكون تجمعية Additive .

اختلافات قابلية ISR للحث أو التخليق :

وجد أن كفاءة المقدرة على التعبير عن ISR الناتجة بواسطة WCS 417r ، تكون معتمدة على جينوتايب النبات . مثلاً الاكتوتايب Columbia من نبات الأرابدوبسز والذى يكتب *(Col)* وكذلك Landsberg erecta الذى يكتب *(Ler)* ، تكون حساسة لتخليق مقاومة ISR بواسطة السلالة المذكورة ، بينما الأكتوتايب RLD لم يكن كذلك . وجد فى القرنفل ، أن هناك أيضاً تخصص فى الأصناف المزروعة ، بغض النظر عن التعبير للمقاومة ISR الناتجة بواسطة نفس السلالة . إن المقاومة ISRالمخلقة بواسطة السلالة WCS 417r ضد ذبول الفيوزاريوم المتسبب عن الفطر *F. ox.* f.sp. *dianthi* فى القرنفل ، كان واضح التعبير فى الصنف توسط المقاومة Pallas ، ولكن أقل قوة وثبات فى الصنف القابل للاصابة Lena . هذا يؤدى إلى القول بأن مستوى المقاومة الأساسية يستطيع أن يؤثر فى المدى الذى تعبر فيه ISR الناتجة بواسطة WCS 417r . مثل هذه الملاحظات تناسب الفرضيات التى تقول بأن المقاومة المستحثة تشارك فى زيادة وجود الميكانيكيات الدفاعية . وعلى أية حال هناك مواقع عديدة ذكرت ، والتى فيها علاقة واضحة بين كفاءة تعبير المقاومة ISR الناتجة من وساطة الرايزوبكتيريا ومستوى المقاومة الأساسية ضد الكائن الممرض المتحدى . مثلاً فى الخيار ، هناك نوعين قابلين للاصابة وتظهر تعبير ISR بعد المعاملة بـ *Serratia marcescens* 90-166 ، بينما الصنف المقاوم لا يظهر ذلك . زيادة على ذلك فإن كل الأصناف القابلة للاصابة والمقاومة من الفجل كانت قادرة عل التعبير عن ISR الناتجة بواسطة WCS 374 ضد فيوزاريوم الذبول إلى نفس المدى .

هناك توضيح أكثر للعلاقة بين المقاومة ISR الناتجة بواسطة WCS 417r والمقاومة الأساسية ضد Pst فى الارابدوبسز . هناك دراسات وراثية اعتمدت على الاختلافات الطبيعية فى قابلية الحث للمقاومة ISR بين الأيكوتايبس كانت نتائجها مقنعة . من بين عشرة ايكوتايب اختبرت ، وجد أن كل من الصنف RLD و Wassilewskija (Ws) فشلت فى إظهار ISR بعد معاملة الجذور بالبكتيريا WCS 417r بينما كان عندها قدرة كاملة على إظهار SAR بعد الاصابة المسبقة بالسلالة غير شديدة المرضية (avrRpt2) من Pst جدول رقم ٤٣ . هذا الفينوتايب من RLD و Ws غير الحاث للمقاومة ISR ، لا يمكن أن يعزى إلى فقر استعمار الجذر بواسطة البكتيريا WCS 417r الحاثة ISR ، وبسبب أن كلا الأيكوتايب يسمح بمستويات من استعمار الجذر مساوية لتلك الايكوتايبس الحاثة علـــى ISR . على نحو لافت للنظر فإن الفينوتايب غير القادر على حث ISR من RLD و Ws تكون مرتبطة مع المستوى المنخفض نسبياً من المقاومة الأساسية ضد Pst . بعد الحقن بالكائن الممرض فإن أعراض المرض فى كل من RLD و Ws كانت تتميز بوجود كثير من بقع النكروتك الكبيرة أو البقع المائية ، محاطة بأفراز واضح كثيراً ، بينما الممرض على نباتات Col كانت أكثر حصراً وتقييداً وتخفض شدة المرض معنوياً . زيادة على ذلك فإن كلا من RLD و Ws سمحت بمستوى نمو لـ Pst أعلى ، يقدر على الأقل بخمسة أضعاف مقارنة مع الأيكوتايب الحاثة للمقاومة ISR (جدول رقم ٤٣) . يبدو بوضوح أن RLD و Ws تفتقر إلى واحد أو أكثر من الميزات الوراثية والتى لا تتدخل فقط فى التعبير الخاص لـ ISR ، ولكن أيضاً تشارك فى المقاومة الأساسية ضد Pst .

جدول رقم (٤٣) : قياسات للمقاومة ISR الناتجة من البكتيريا WCS 417r ، وقياسات للمقاومة SAR المستحثة بالكائن الممرض، والمقاومة الأساسية ضد Pst فى ايكوتايب مختلفة من الارابدوبسز.

الايكوتايب	٪ وقاية مستحثة بالمقاومة ISR	٪ وقاية مستحثة بالمقاومة SAR	المقاومة الأساسية
Col	٤٢,٢	٦١,٨	٢,٣٦
Ler	٤٥,٨	٥٧,٨	٢,٨٣
Cvi	١٩,٣	٣٧,٦	٣,٠٦
Sha	٣٢,٣	٤٣,١	٢,٧١
Kas	١٧,٠	٤٥,٢	٢,١٧
C24	٢٥,٧	٣٨,٧	٢,١٢
Wei	٢٧,٩	٣٨,٠	٢,٩٦
Ren	٤١,٥	٥٤,٩	٢,٧٧
RLD	(٤,٩-)	٦٢,٨	٣,٦١
Ws	(٥,٣--)	٤٢,٨	٣,٧١

ملاحظات على الجدول :

١ - المقاومة ISR استحثت عن طريق نقل البادرات ذات عمر أسبوعين إلى تربة محتوية البكتيريا WCS 417r بتركيز ٥ × ١٠^٨ وحدة تكوين مستعمرات/غرام جذور .

٢ - المقاومة SAR استحثت عن طريق التشرب بالضغط بمعلق من الكائن الممرض غير شديد المرضية السلالة avrRpt2 من Pst بتركيز ١٠^٨ وحدة تكوين مستعمرات/مل فى الورقتين السفليتين ، ويتم الحقن قبل الحقن بالكائن المتحدى بمدة أربعة أيام ، عندما تصبح النباتات بعمر خمسة أسابيع . كانت النباتات تحقن بالكائن المتحدى عن طريق غمر الأوراق فى معلق بكتيرى من Pst بتركيز ٢,٥ × ١٠^٨ وحدة تكوين مستعمرات/مل . بعد ٣-٥ أيام تحسب الأعراض المرضية فى النبات .

٣ - كانت تحسب الوقاية المستحثة على أساس خفض فى النسبة المئوية للأوراق ذات الأعراض المرضية مقارنة مع نباتات الكنترول .

٤ - كانت تحسب قيمة المقاومة الأساسية كمتوسط لوغاريتم تكاثر Pst كل ثلاثة أيام . النباتات ذات عمر خمسة أسابيع كانت تحقن بالتشرب بالضغط بمعلق من السلالة الشديدة المرضية من Pst بتركيز ٥ × ١٠^٦ وحدة تكوين مستعمرات/مل فى الأوراق . كان يحدد عدد البكتيريا Pst لكل غرام من وزن الورقة الطازجة ، فوراً بعد التشرب بالضغط وبعد ثلاثة أيام .

obeikandi.com

تحديد موقع ISR-1 المتحكم فى المقاومتين الأساسية و ISR الناتجة بواسطة WCS 417r ضد Pst

لدراسة التغير الحادث طبيعياً فى قابلية ISR لأن تستحث ضد Pst وكذلك المقاومة الأساسية ، أجرى تحليل وراثى بواسطة التهجين بين الأيكوتايب RLD والأيكوتايب Ws غير القابلة لأن تستحث ISR ، مع الأيكوتايب Col و *Ler* القادرة على أن تستحث ISR . كانت أفراد الجيل الأول كلها قادرة على التعبير عن ISR وأظهرت مستويات من النمو مشابهة لما فى Pst فى أوراقها ، متشابهة مع الأباء التى تستحث ISR (جدول رقم ٤٤) . تبين هذه النتائج أن حث ISR والمقاومة الأساسية ضد Pst كلاهما يكون وراثياً ومن الصفات السائدة . لكى نعرف فيما إذا كانت هذه الصفات mono or multigenic ، فإن أفراد الجيل الثانى الناتج من تهجين RLD x Col اختبرت لعزل أو فصل صفات حث ISR والمقاومة الأساسية . من بين الثمانية وتسعون نباتاً ، أفراد الجيل الثانى التى اختبرت كان هناك ٢٨ فرداً غير حساساً للمعاملة بالسلالة WCS 417r، وتظهر مستوى شدة مرض مشابهاً لتلك التى تظهرها نباتات RLD ، بينما كان هناك سبعون نباتاً حساسة للمعاملة بنفس السلالة وأظهرت شدة مرض مشابهة لما تظهره نباتات Col المعبرة عن ISR . هذه النتائج متطابقة مع نسبة العزل الوراثى ٣ : ١ ، هذا يدل على أن كلاً من المقدرة على استحداث المقاومة ISR والمقاومة الأساسية ضد Pst تكون متوارثة على شكل monogenic .

للدراسة المستفيضة على توريث صفة استحداث المقاومة ISR وعلاقتها مع المقاومة الأساسية ، فإن أفراد الجيل الثانى الناتج من RLD x Col أجري فيها تلقيح ذاتى ، هذا أدى إلى الحصول على ٧٤ مجموعة من الجيل الثالث ، ثم بعد ذلك ١٦ نبات من الجيل الثالث غيرمستحثة من كل مجموعة ، قد حقنت بالكائن الممرض Pst ثم بعد ذلك حددت أعراض المرض بعد ٣ ، ٤ ، ٥ أيام . أظهر تقدير الأعراض أن ١٧ مجموعة من الجيل الثالث كانت متشابهة الزيجوت homozygous لمتوسط الأعراض المرضية Col-like ، ٤٠ مجموعة نباتية من الجيل الثالث كانت مختلفة الزيجوت Heterozygous مظهرة كلاً من متوسط وشديد الأعراض المرضية ، ١٧ مجموعة من الجيل الثالث كانت متشابهة الزيجوت لشدة الأعراض المرضية مثل RLD-like . هذه الانعزالات بين أفراد الجيل الثالث فى شدة المرض تناسب نظرية مندل التى تذكر الانعزال بنسبة ١ : ٢ : ١ هذا يؤكد أن المقاومة

الأساسية تورث على شكل monogenic ضد الممرض Pst . هناك خمسة مجموعات من RLD-like وخمسة مجموعات Col-like قد اختبرت لمعرفة نمو Pst فى الأوراق وحساسيتها لتخليق ISR بواسطة WCS 417r . خمسة مجموعات من أفراد الجيل الثالث تتصف بواسطة أعراض المرض Col-like كانت كاملة المقدرة على التعبير عن ISR الناتجة من وساطة السلالة المذكورة سابقاً وسمحت بمستويات منخفضة نسبياً من نمو Pst . وبالمقابل فإن خمسة مجموعات من أفراد الجيل الثالث تتصف بأنها ذات أعراض مرضية مثل RLD-like لم تستحث ISR بعد معاملتها بنفس السلالة البكتيرية وسمحت بمستويات عالية نسبياً من نمو Pst . هذا يبين الانعزال الجماعى Co-segregation لمقدرة استحداث المقاومة ISR ومقاومة أساسية عالية نسبياً . ومن ناحية أخرى فإن ISR غير القابلة للحث والمقاومة الأساسية المنخفضة نسبياً ، ذكر أن النظامين الدفاعيين لهما يكونان مرتبطين وراثياً وأن الموقع المشابه حدد بأنه الجين ISR-1 ، هذا ما قرره Ton *et al* سنة ١٩٩٩ .

بتطبيق دراسات وراثية معقدة وحسابات تفاضلية طويلة (لا مجال لذكرها هنا) لتحديد مكان هذا الجين ، وجد أنه من بين ٣٢ اختبار عزل ، قد درست وحدد ١٥ كروموزوم ، واحد منها عليه الجين ، وبعد دراسة التباديل والتوافيق عليها ، تبين أن الجين ISR-1 يقع على الكروموسوم الثالث بين العلامتين *Ein3* و GL1 .

جدول رقم (٤٤) : قياسات للمقاومة ISR الناتجة بواسطة WCS 417r والمقاومة الأساسية ضد Pst فى ايكوتايب مختلفة من أفراد نباتات الجيل الأول لنباتات الارابروبسز .

الجينوتايب	٪ وقاية مستحثة	المقاومة الأساسية
Col	٣٥,٧	٢,٣٦
Col x RLD	٤٩,٩	٢,٢٤
Col x Ws	٥٠,٠	٢,٣٥
Ler	٣٦,٠	٢,٨٣
Ler x Ws	٢٩,٠	٢,٨
RLD	٣,١	٣,٦١
Ws	٠,٥	٣,٧١
Ws x RLD	٠,١	٣,٥١

ملاحظات على الجدول :

١ - كانت ISR تستحث عن طريق نقل بادرات ذات عمر أسبوعين إلى تربة ملوثة بالسلالة البكتيرية المذكورة فى أعلى الجدول بتركيز ٥ × ١٠^٨ وحدة تكوين مستعمرات لكل غرام .

٢ - كانت تحقن النباتات ذات عمر خمسة أسابيع بالكائن الممرض عن طريق غمر الأوراق فى معلق بكتيرى من Pst بتركيز ٢,٥ × ١٠^٨ وحدة تكوين مستعمرات/مل كانت تحسب أعراض المرض بعد ٣ أيام من الحقن .

٣ - الوقاية ISR ، تتمثل كخفض فى النسبة المئوية للنباتات ذات الأعراض المرضية مقاسه نسبياً مع نباتات الكنترول المتحدى .

٤ - كانت تقدر المقاومة الأساسية عن طريق حساب متوسط لوغاريتمات تكاثر Pst على فترات كل ثلاثة أيام . النباتات ذات عمر خمسة أسابيع كان تحقن بالضغط المشرب بمستخلص سلالة شديدة المرضية من Pst بتركيز ٥ × ١٠^٦ وحدة تكوين مستعمرات/مل فى الأوراق ، مباشرة بعد الحقن التشربى وبعد ثلاثة أيام ، عدد البكتيريا من Pst لكل غرام من وزن الورقة الطازج قد حددت .

مدى تأثر كل من الايكوتايب RLD و Ws بالموقع ISR-1

يظهر الايكوتايب Ws نفس سلوك الفينوتايب ، مثل RLD ، وبعد التهجين بـ Col أو *Ler* ، وجد أن الفينوتايب بطريقة مماثلة يكون متنحى ، لاختبار فيما إذا كان RLD و Ws كل منهما متأثر بنفس الصفة ، أجرى تهجين بين الايكوتايبين ، وحللت الذرية لدراسة الصفتين ، استحداث ISR والمقاومة الأساسية ضد الكائن الممرض Pst . من نتائج دراسة أفراد الجيل الأول تبين أنها سلكت مثل أباءها فى عدم استحداثها للمقاومة ISR ، حيث أنها فشلت فى تخليق ISR تحت تأثير السلالة WCS 417r وسمحت بمستويات عالية نسبياً من نمو Pst فى أوراقها مشابهاً لما يحدث فى أبوي كليهما (جدول رقم ٤٤) . وتدل هذه النتائج على أن RLD و Ws تكون غير قادرة على أن تكمل بعضها البعض فى المقدرة لتعبير عن ISR والمقاومة الأساسية ضد Pst مؤكداً أن كلا الأيكوتايب متأثراً بموقع ISR-1 .

موقع الـ ISR-1 لا يكون متدخلاً فى المقاومة الأساسية ضد Peronospore parasitica

إن تدخل موقع ISR-1 فى كلتا الحالتين ، المقاومة الجهازية المستحثة والمقاومة الأساسية ضد Pst ، أدت إلى الاقتراح بأن ISR-1 يشفر إلى مكون عام والذى يتدخل فى استجابة المقاومتين . لاختبار فيما إذا كان هذا الموقع ينظم بالتماثل كل من ISR والمقاومة الأساسية ضد كائنات ممرضة مختلفة ، فإن استجابات المقاوة للايكوتايب Col و Ws ضد البياض الزغبى المتسبب عن الفطر *P.parasitica* قد درست . فى هذا التفاعل بين النبات والكائن الممرض ، فإن المقاومة المستحثة قد عبر عنها كخفض فى شدة الأعراض المرضية وخفض فى تجرثم الكائن الممرض فى (ISR-1 / ISR-1) Col . معاملة الجذور بالسلالة البكتيرية WCS 417r أدت إلى مقاومة مستحثة حقيقية واقعية ضد الفطرة *P. parasitic* (جدول رقم ٤٥) . وبالمقابل فإن الايكوتايب (isr-1/isr-1) Ws لم تتكشف فيه مقاومة ضد هذا الكائن الممرض بعد معاملة الجذور بنفس السلالة البكتيرية . وبالتالى فإن الموقع ISR-1 ، لا يكون فقط متدخلاً فى المقاومة المستحثة ضد الكائن الممرض البكتيرى Pst ، ولكن أيضاً ضد الفطر *P. parasitica* . وعلى أية حال فإن النباتات غير المستحثة من Ws المصابة بالفطر المذكور ، لا تظهر زيادة فى القابلية للاصابة بالمرض مقارنة مع Col جدول ٤٥ . يبدو أيضاً أن موقع الـ ISR-1 لا يشارك فى المقارنة الأساسية ضد الفطر *P. parasitica* مع أنه متدخل فى تنظيم المقاومة الجهازية المستحثة ضد الكائن الممرض .

جدول رقم (٤٥) : قياسات للمقاومة ISR الناتجة من وساطة السلالة WCS 417r والمقاومة الأساسية ضد الفطر *P. parsitica* فى الايكوتايب (ISR-1 x ISR-1) Col و (isr-1 x isr-1) Ws من نبات الارابدوبسز.

الايكوتايب	المعاملة	معدل المرض على عدد الأوراق الموجودة/صنف				مجموع عدد الأوراق	٪ عدد الأوراق بالجراثيم	عدد الجراثيم المعزولة جرثومة/غرام وزن طازج من الورقة
		صفر	١	٢	٣			
Col	كنترول	٨٠	٤٥	٦٦	٤٣	٢٣٤	٦٦	$١٠,٨ \times ١٠^{٦}$
Col	WCS 417r	١٢٨	١٢	٣٣	٢٧	٢٠٠	٣٦	$١,٥ \times ١٠^{٦}$
Ws	كنترول	١١٨	٢١	٢٠	٢١	١٨٠	٣٤	$٥,٣ \times ١٠^{٦}$
Ws	WCS 417r	١٢٧	١٩	٣٠	٣٩	٢٠٥	٣٨	$٦,٢ \times ١٠^{٦}$

ملاحظات على الجدول :

كان يحسب معدل المرض على أساس كثافة الجراثيم على كل ورقة . صفر = لا يوجد تجرثم . ١ = أقل من ٥٠ ٪ من سطح الورقة مغطى بالجراثيم . ٢ = أكثر من ٥٠ ٪ من سطح الورقة مغطى بالجراثيم . ٣ = سطح الورقة مغطى كله بكثافة بالجراثيم بالإضافة إلى الأصفرار وانهيار الورقة . كانت المقاومة الجهازية المستحثة تستحث عن طريق نقل البادرات ذات عمر أسبوعين إلى تربة ملوثة بالبكتيريا WCS 417r بتركيز ٥ × $١٠^{٨}$ وحدة تكوين مستعمرات/مل . تحقن النباتات بعد ٣ أسابيع بالكائن المتحدى عن طريق اضافة قطيرات تحتوى معلق جراثيم *P.parasitica* السلالة ACOq بتركيز ٥ × $١٠^{٥}$ جرثومة/مل على سطوح الأوراق ، بعد ١١ يوم من الحقن بالمتحدى ، تدرس أعراض المرض وتفصل الجراثيم وتعد .

الصفات الفسيولوجية للفينوتايب الذى يحمل ISR-1

من المعلومات المذكورة سابقاً يتبين أن موقع ISR-1 فى الارابدوبسز يتصف بالآتى :

١ – يتدخل فى المقاومة ISR ضد كائنات ممرضة مختلفة بالاضافة إلى المقاومة الأساسية المتخصصة ضد *Pst* ، بينما لا يتدخل فى المقاومة الأساسية ضد الكائن الممرض *P.parasitica* .

٢ – استجابة الطفرة etr1-1 للاثيلين واستجابة الطفرة jar1-1 للجسمنك أسد تظهر فينوتايب مشابه مثل الايكوتايب RLD و Ws ويكونا توقفا فى ISR الناتجة من وساطة السلالة WCS 417r ومؤثرة فى المقاومة الأساسية ضد Pst ، وغير متأثرة فى المقاومة الأساسية ضد *P.parasitica* . هذا التشابه فى صفات الفينوتايب يؤدى إلى القول بأن موقع ISR-1 يمكن أن يكون متدخلاً فى التأشير المعتمد على الاثيلين/حمض الجسمنك.

٣ – بنيت الدراسات الحديثة أن RLD (isr-1 / isr-1) و Ws (isr-1 x isr-1) تظهر خفضاً فى الحساسية للاثيلين بالمقارنة مع Col (ISR-1 / ISR-1) كما قد حدد بواسطة الاستجابات الفسيولوجية وتعبيرات الجين المعتمد على الاثيلين . هذا يخفض الحساسية للاثيلين فى تجميع الانعزالات بالاليلات المتنحية فى موقع ISR-1 . هذا ما وجده Ton *et al* سنة ٢٠٠٠ .

٤ – اعتماداً على ما سبق ، إقترح بأن موقع ISR-1 يشفر إلى مكونات الممر المستجيب للاثيلين الذى يلعب دوراً فى استجابة المقاومة المعتمدة على الاثيلين ويكون مطلوب فى تعبير ISR الناتجة من وساطة الرايزوبكتيريا .

obeikandl.com

دراسة ISR فى نبات الارابدوبسز

١ - زيادة المقاومة المستحثة للمرض بواسطة التنشيط المتزامن لممرات الدفاع المعتمدة على الجسمونات والسلسيلات في الارابدوبسز Arabidopsis thaliana

تلعب الجزيئات المؤشرة النباتية ، حمض السلسليك AS ، حمض الجسمنك JA ، دوراً مهماً فى ممرات المقاومة المستحثة للأمراض . يؤدى التداخل بين الممرات المعتمدة على JA و SA إلى تثبيط الاستجابات الدفاعية الناتجة بوساطة JA . عند إجراء دراسات على امكانية تفاعلات التضاد بين ممر SAR المعتمد على حمض السلسليك والذى يستحث بعد الاصابة بالكائن الممرض ، وممر المقاومة المستحثة ISR المعتمد على حمض الجسمنك والذى ينبه بواسطة *Pseudomonas* وهى رايزوبكتيريا غير ممرضة ، فى نبات الارابدوبسز *Arabidopsis thaliana* ، فإن كلاً من SAR و ISR ، تكون فعالة ضد مجال واسع من الكائنات الممرضة ، من ضمنها ، الكائن الممرض (Pst) (سبق ذكره مراراً) الذى يصيب المجموع الخضرى . يؤدى التنشيط المتزامن لكل من SAR و ISR إلى التأثير التجميعى على مستوى الوقاية المستحثة ضد Pst .

فى الجينوتايب الخاصة بالارابدوبسز والتى تتعطل فيها إما SAR أو ISR ، هذا التأثير التجمعى لا يكون واضحاً . زيادة على ذلك فإن تخليق ISR ، لا يؤثر على تعبير الجين PR-1 المعلم لـ SAR ، فى النباتات التى تظهر تعبير SAR . تدل هذه الملاحظات مجتمعة على أن ممر كل من SAR و ISR تكون متوافقة ، ولا يكون هناك تعارض بين هذه الممرات . إن كلاً من SAR و ISR كلاهما يتطلب مفتاح تنظيم البروتين NPR-1 . إن النباتات التى تظهر كلا النوعين من المقاومة ، لا تظهر مستويات عالية من Npr-1 المنسوخ ، هذا يدل على أن المستوى الأول (الاساسى) لـ NPR-1 يكون كافياً لتسهيل التعبير الذاتى لكل من SAR و ISR . تؤدى هذه النتائج إلى القول بأن زيادة مستوى الوقاية يكون ناشئاً من خلال التنشيط المتوازى لهما متكاملين . وكذلك فإن استجابات الدفاع المعتمدة على NPR-1 تنشط فى المقاومتين ضد Pst . وبالتالى فإن الاتحاد بين SAR و ISR يزودنا بأداة فعالة فى تحسين مقاومة المرض .

٢ - المقاومة ISR فى الأرابدوبسز تتطلب حساسية للجسمونات والاثيلين ولكنها لا تكون متلازمة (مرتبطة) مع الزيادة فى انتاجهما

يتكشف فى النباتات ، زيادة فى الكفاءة الدفاعية ، ضد مجال واسع من الكائنات الممرضة النباتية ، بعد استعمار جذورها بواسطة سلالات معينة من البكتيريا غير المرضة (الرايزوبكتيريا) . فى نبات الأرابدوبسز ، فإن المقاومة المخلقة بهذه الطريقة تسمى مقاومة جهازية مستحثة ISA . تقوم هذه المقاومة بعملها مستقلة عن حمض السلسليك ، ولكنها تتطلب استجابة مباشرة أو حساسية لهرمونات النبات ، مثل حمض الجسمنك JA والاثيلين.

لدراسة الدور الذى يقوم به JA والاثيلين فى الممر الاشارى لـ ISR ، حددت مستويات هذه الجزيئات التأشيرية فى نبات الأرابدوبسز بعد تخليق ISR بواسطة الرايزوبكتيريا *P.fluorescens* WCS 417r ، ثم بعد ذلك تحقن بالكائن الممرض *P. syringae* pv. *tomato* DC 3000 . بعد معاملة الجذور بهذه السلالة البكتيرية الحاثة على تخليق ISR وهى المذكورة سابقاً ، فإنه ، لا المحتوى من حمض الجسمنك ولا مستوى نشوء وتكوين الاثيلين تغير مع تغير شدة المقاومة الموجودة فى الأوراق جهازياً .

كذلك وجد أن حقن الأوراق بالتشريب Infiltration بالسلالة WCS 417r أدى إلى تنبيه ممر المقاومة الجهازية المستحثة المعتمد على الاثيلين ، ولكنها لم تسبب تغيرات موضعية فى الانتاج فى أى من هذه الجزيئات المؤشرة .

تدل هذه النتائج على أن ISR الناتجة بوساطة الرايزوبكتيريا ليست مبنية على تخليق تغيرات فى البناء الحيوى لحمض الجسمنك أو الاثيلين . وعلى أية حال فإنه فى النباتات المعبرة عن ISR تكون كفاءة إنقلاب 1-aminocyclopropane -1- carboxy- (ACC) late إلى الاثيلين تزداد بشكل معنوى مؤدية إلى زيادة عالية فى القدرة على انتاج الاثيلين بعد مهاجمة الكائن الممرض .

٣ - تتطلب ISR فى الأرابدوبسز تأشير يعتمد على الاثيلين فى موقع دخول البكتيريا الحاثة على تخليق هذه المقاومة

تختلف استجابة ISR عن استجابة SAR ، حيث أن ISR تكون غير معتمدة ومستقلة عن حمض السلسليك وغير مترافقة مع البروتينات المتعلقة بالمرضية . درست عدة طفرات من نبات الأرابدوبسز من التى تستجيب للاثيلين ، وأظهرت أعراض طبيعية أساسية للاصابة

بالكائن الممرض Pst . كانت المقاومة ISR مختفية غير ظاهرة فى الطفرات غير الحساسة للاثيلين (الطفرات التى تحمل جين etr1-1) ، بينما المقاومة SAR لم تتأثر بذلك . لقد حصل على نفس النتائج باستعمال طفرات غير حساسة للاثيلين تحمل جين ein2 خلال ein7 . هذا يدل على أن تعبير ISR يتطلب الممر الانتقالى الاشارى الكامل Complete signal - transduction pathway المعروف حتى الآن .

إن تخليق ISR بواسطة WCS 417r لم يكن مترافقاً مع زيادة انتاج الاثيلين فى الجذور أو الأوراق ، ولا فى الزيادة فى تعبير الجينات المشفرة لأنزيم البناء الحيوى للاثيلين ACC synthase و ACC oxidase . الطفرة التى تحمل *eir-1* مظهرة عدم الحساسية للاثيلين فى الجذور فقط ، لا تظهر تعبير ISR بعد اضافة WCS 417r إلى الجذور ولا تظهر سلوك ISR عندما حقنت البكتيريا الحاثة تشرباً فى الأوراق . تؤدى هذه النتائج إلى القول بأنه لكى تتخلق ISR فإن الاستجابة للاثيلين تكون مطلوبة فى مواقع اضافة الرايزوبكتيريا الحاثة على المقاومة ISR .

٤ – الممر الجديد الذى ينظم ISR فى الأرابدوبسز

بعد دراسة عدة طفرات لنبات الارابدوبسز ، خاصة الطفرة *jar-1* المستجيبة لحمض الجسمنك ، والطفرة *etr-1* المستجيبة للاثيلين والطفرة *npr-1* المنظمة للمقاومة SAR ، يمكن القول بأن النقل الاشارى الذى يؤدى إلى إظهار المقاومة ISR الناتجة من WCS 417r يتطلب استجابة لكل من الجسمنات والاثيلين وتكون معتمدة على NPR-1 . وبالمثل فإنه فى هذه الطفرة ، فإن Me JA والاثيلين تعمل بادئ لمادة ACC حيث يكون فعال فى تخليق مقاومة ضد Pst فى نباتات ذات الجين NahG التى لا تجمع حمض السلسليك . زيادة على ذلك فإن المقاومة المستحثة بواسطة Me JA ، قد وقفت فى النباتات التى تحمل الجينات *jar-1* ، *etr-1* و npr-1 ، بينما الوقاية المستحثة بواسطة ACC تأثرت فى النباتات ذات الجينات etr-1 و npr-1 وليس فى نباتات الجين jar-1 .

بناء على ذلك يمكن الافتراض بأن ISR تتبع ممر اشارى جديد الذى فى مكوناته الاستجابات من الاثيلين والجسمونات تكون مرتبطة لتنبه تفاعل الدفاع الذى (مثل SAR) يكون منظماً بواسطة *NPR-1* . بهذا يمكن تقديم الدليل على أن العمليات التى تتم بعد بدء النسخ للجين NPR-1 فى ممر ISR تكون مختلفة عن تلك الموجودة فى ممر SAR .

هذا يدل على أن NPR-1 تنظم الاستجابات الدفاعية بطرق مختلفة معتمدة على إشارات تثار خلال تخليق المقاومة .

٥ – تحديد موقع فى الارابدوبسز ينظم تعبير كلتا المقاومتين ، المقاومة ISR والمقاومة الأساسية ضد Pst .

لقد اختيرت عشرة أنواع من الأيكوتايب من نبات الأرابدوبسز فى الدراسة ، وذلك لكفاءتها فى التعبير عن ISR ، وكذلك في التعبير عن SAR ضد الكائن الممرض Pst . أظهرت جميع هذه الأنواع المقاومة SAR ، بينما أظهر ثمانية المقاومة ISR وإثنان من العشرة (RLD و Ws) عدم استجابة ولم تتكشف فيهما ISR ، بعد معاملة الجذور بالبكتيريا غير الممرضة WCS 417r . النوع غير الحساس من الفينوتايب كان مترافقاً مع قابلية عالية للاصابة بالكائن الممرض Pst . أفراد الجيل الأول الناتجة من التلقيح بين RLD و Ws (غير الحساسة) من ناحية والأنواع الحساسة Columbia (Col) و *(Ler)* Landsberg erecta من ناحية أخرى ، كانت قادرة بشكل كامل على إظهار ISR ، وتظهر مستوى عال نسبياً من المقاومة الأساسية مشابهة لاستجابة الأب من WSC 417r . هذا يدل على أن الكفاءة فى التعبير أو إظهار ISR والمستوى العالى نسبياً من المقاومة الأساسية ضد Pst تكون صفة سائدة وراثية . تحليل أفراد الجيل الثانى والثالث من نتائج التهجين بين Col x RLD أظهرت أن عملية التخليق للمقاومة ISR والمقاومة الأساسية العالية نسبياً ضد Pst تنعزل بنسبة ٣ : ١ ، هذا يؤدى إلى القول بأن ميكانيكيات المقاومة تكون محددة مونوجنك ومرتبطة وراثياً . تبين أنه لا السلالة المستجيبة لـ WCS 417r ولا المستوى العالى نسبياً من المقاومة الأساسية ضد Pst كانت متكاملة فى أفراد الجيل الأول من التلقيح بين RLD و Ws . هذا يدل على أن RLD و Ws كلاهما يتأثر بنفس الموقع ، هذا ضرورياً للتعبير وإظهار ISR والمقاومة الأساسية ضد Pst . هذا الموقع يشار إليه ISR-1 وقد وضع فى الخريطة الجينية بين العلامة B4 و GL1 على الكروموسوم III .

الملاحظات التى يمكن اكتشافها من العلاقة بين ISR والمقاومة الأساسية ضد Pst ، هى أن ISR الناتجة ضد Pst تتطلب وجود جين مفرد سائد والذى يقوم بدوره فى إظهار المقاومة الأساسية ضد الإصابة بالكائن الممرض Pst .

٦ – المقاومة ISR فى نبات الارابدوبسز لا تكون مترافقة مع التأثير المباشر على الجينات المتعلقة بالدفاع المعروفة ، ولكنها تشجع إظهار الجين المستحث بالجسمونات Atvsp بعد الحقن بالكائن المتحدى

فى نبات الارابدوبسز ، تكون وظائف ممر ISR مستقلة عن حمض السلسليك ، ولكنها تتطلب استجابة لكل من الجسمونات والاثيلين . ذكر فى بعض الدراسات أن الجينات المتعلقة بالدفاع ، مثل الجينات المستجيبة لحمض السلسليك PR-1 ، PR-2 ، PR-5 والجين المستحث بالاثيلين *Hel* والجينات المستجيبة للاثيلين والجسمونات *ChiB* و *Pdf1-2* والجينات المستحثة بالجسمونات *Atvsp* ، *Lox2* ، *Pall* ، *Pin2* ، تكون غير مستحثة موضعياً فى الجذور ولا جهازياً فى الأوراق ، بعد تخليق ISR بواسطة WCS 417r . وبالمقابل فإن النباتات المصابة بالكائن الممرض شديد المرضية (Pst) أو النباتات التى تظهر تعبير SAR المستحثة بواسطة إعادة الاصابة للأوراق السفلية بالكائن الممرض غير شديد المرضية Pst (avrRpt2) ، تظهر مستوى عال من التعبير لمعظم الجينات المتعلقة بالدفاع .

بعد الحقن بالكائن الممرض Pst فإن الجين PR المنسوخ يتجمع بمستوى عال فى النباتات المظهره SAR أكثر منه فى النباتات المظهرة ISR ونباتات الكنترول . هذا يدل على أن SAR تتدخل بتقوية إظهار جين PR المستجيب لحمض السلسليك . بالمقابل فإن النباتات المظهرة ISR ضد الكائن الممرض المحقون ، تؤدى إلى زيادة مستوى تجمع نسخ Atvsp . الجينات الأخرى المتعلقة بالدفاع الحساسة لحمض الجسمنك لم تكن ذات كفاءة خلال ظهور ISR ، هذا يدل على أن ISR تكون مترافقة مع كفاءة الجينات المتخصصة المستجيبة للجسمونات .

ثالثاً : كيف توقف النباتات المستحثة الكائنات الممرضة ؟؟

مقدمة :

يمكن أن تؤدى المعاملة الموضعية للنباتات بالكائنات الممرضة ، سواء شديدة القدرة المرضية ، أو غير شديدة ، والتى تسبب بقع متحللة (نكروزز) Necrotic lesions ، أو ببعض الكائنات غير الممرضة ، أو ببعض الكيماويات الحيوية أو غير الحيوية ، إلى تخليق مقاومة جهازية أو موضعية للأمراض المتسببة عن المهاجمات التالية للكائنات الممرضة التى تهاجم هذه النباتات المعاملة . المقاومة المستحثة الناتجة عن المعاملة المسبقة ، بأى من العوامل المذكورة، تتميز بشكل عام بالخفض فى حجم وعدد البقع التى تتكشف بعد حقن النبات المستحث بالكائن الممرض شديد القدرة المرضية ، وأحياناً تكون استجابة النبات على شكل تفاعل الحساسية الفائقة HR .

يمكن أن يحدث هذا الشكل المستحث من المقاومة فى غياب الجينات الكبيرة المتخصصة بالتطفل (لمقاومة الأمراض) فى النبات ، ولكن من المحتمل استعمال نفس الدفاعات التى تستعمل فى أشكال أخرى من المقاومة .

يمكن أن تقسم المقاومة المستحثة ضد الكائنات الممرضة إلى مجموعتين كبيرتين . المجموعة الأولى هى المقاومة الجهازية المكتسبة Systemic Acquired Resistance (تكتب SAR) . هذا النوع من المقاومة يتكشف إما موضعياً أو جهازياً كاستجابة إلى الكائن الممرض الذى يسبب بقع متحللة (نكروزز) . البقعة الموضعية إما أن تكون نتيجة لاصابة ناجحة أو تفاعل فرط الحساسية Hypersinsitive (response) reaction (HR) . يكون ظهور المقاومة (التعبير) بشكل عام فعال ضد مدى واسع من الكائنات الممرضة ، وتكون مترافقة مع إنتاج بروتينات متعلقة بالمرضية Pathogensis Related proteins (PRs) ، ويمكن أن تكون ناتجة عن عمليات معتمدة على وساطة حمض السلسليك أو مركبات مصنعة مثل CGA-24574 (مشتقات البنزوثيادوزول ويشار إليها BTH) ومركب (2,6 - dichloroisonicotinic acid أو CGA-41396) إليها INA والتى يبدو أنها تعمل مشابهة لعمل حمض السلسليك .

أما النوع الثانى من المقاومة المستحثة ، فإنها تتكشف جهازياً ، كاستجابة لاستعمار جذور النبات بواسطة بعض أنواع بكتيريا الرايزوسفير تعرف باسم (Plnt growth promoting

rhizobacteria) PGPR . يعرف هذا النوع من المقاومة باسم المقاومة الجهازية المستحثة Induced systemic resistance (ISR) . تكون هذه المقاومة ناتجة عن وساطة ممر حساس للاثيلين / حمض الجسمنك ، ولا يتدخل فى إظهارها بروتيات متعلقة بالمرضية PRs .

أدى التحليل الوراثى للمقاومة الجهازية المكتسبة إلى تعريف وكلونه Cloing جينات عديدة والتى تبدو وكأنها مفتاحاً لتنظيم هذا النوع من المقاومة . درست سلسلة من الطفرات في نبات الارابدوبسز *Arabidopsis* والذي هو أساس الأبحاث كلها في هذا المجال. هذه الدراسة شملت ، الطفرات التى تعبر عن البقع الذاتية (مثل طفرة Isd) بالاضافة إلى مجموعة من الطفرات التى تعبر عن المقاومة ، أو تظهرها بدون بقع ذاتية (مثل طفرة *cpr*) . هناك مجموعة أخرى من الطفرات عزلت من نبات الارابدوبسز ، تم الحصول عليها عن طريق التنقية أو التصفية لصفة فقد تعبير المقاومة كاستجابة لحمض السلسليك أو مشجعات مقاومة اصطناعية . أدت هذه التصفية إلى عزل الطفرة *npr-1* أو *sai-1* . تعتبر هذه الاكتشافات مهمة ، لأن هذا الجين يكون مفتاح فى التعبير عن المقاومة الناشئة عن وساطة حمض السلسليك . كذلك فإن استعمال تكنولوجيا التحولات الوراثية سمح بالحصول على تقديرات أكثر لدور حمض السلسليك والـ Catalases فى ممر التأشير الذى يؤدى إلى المقاومة . بالإضافة لذلك فإن الطفرات التى تكون غير حساسة لحمض الجسمنك، أو لا تستطيع بناء هذا الجزئ الاشارى، لها قيمة عالية فى تفهم تنظيم المقاومة الجهازية المستحثة المعتمدة على الجسمينات .

إن تفهم التنظيم الوراثى فى كل من SAR و ISR يكون مهماً فى تحديد كيف تكون النباتات قادرة على نقل الاشارات ، المتولدة أثناء الاصابة ، والتى تؤدى إلى التعبير أو إظهار جينات الدفاع المفترض وجودها ، ومقدرة النبات لإظهار مقاومة فعالة ضد مدى واسع من الكائنات الممرضة .

١ – التغيرات التى تحصل فى النبات قبل تحصينها والتى تعبر عن المقاومة المكتسبة

كما ذكرنا سابقاً ، فإن احدى نتائج تخليق المقاومة الجهازية المكتسبة SAR ، فى النبات ، هو نظام التعبير المسمى البروتينات المتعلقة بالمرضية PRs . يمكن تخيل الأدوار التى تقوم بها PRs بسهولة ، وذلك عن طريق نشاطها كأنها Glucanases أو Chitinases أو عن طريق مرافقتها لبروتينات مضادات ميكروبية أخرى .

إن موقع الكثير من البروتينات المتعلقة بالمرضية فى الـ Apoplast فى النبات ، يؤدى أيضاً إلى القول بأن هذه البروتينات ، تكون فى موقع يسهل لها الاتصال مع الكائن الممرض أثناء عملية الاصابة . إن التحولات الوراثية التى تحدث فى النبات والخاصة بالجينات المتعلقة بالمرضية ، قد أظهر أيضاً بأنها تزيد المقاومة فى النباتات لكائنات ممرضة معينة ، وبالتالى تدعم النظرية التى تقول بأن هناك تعبير للجين المتعلق بالمرضية يظهر فى حالة المقاومة الجهازية المكتسبة . وبالمثل ، فإن تحليل الطفرات التى هى معبرة بشكل أساسى عن الجينات المتعلقة بالمرضية ، تدعم أيضاً الافتراض بأن البروتينات المتعلقة بالمرضية تكون متعلقة بالمقاومة الجهازية المكتسبة .

وعلى أية حال فإن النباتات المحولة وراثياً ، المعبرة عن الجينات المتعلقة بالمرضية ، ليس بالضرورة لأن تصبح أكثر مقاومة لجميع الكائنات الممرضة . هذا يؤدى إلى القول بأن البروتينات المتعلقة بالمرضية تكون جزء فقط من فينوتايب مقاومة المرض المستحثة . السؤال الذى لا يزال يطرح نفسه ويحتاج إلى اجابه ، هو كيف تشارك البروتينات المتعلقة بالمرضية مباشرة فى مقاومة المرض وإذا حدث ذلك فإلى أى درجة هى تشارك فى ذلك ؟؟

هناك نظامين واضحين للميكانيكية التى يمكن للبروتينات المتعلقة بالمرضية أن تلعبهما فى المقاومة الجهازية المكتسبة هما :

١ – التوقف المباشر لتكشف الكائنات الممرضة الفطرية (الفطرية البيضية) والبكتيرية ، عن طريق فعل التحلل المائى hydrolytic لجدر خلايا الكائن الممرض أو بواسطة نشاط تضاد ميكروبى آخر .

٢ – النشاط الأنزيمى لـ Glucanases والـ Chitinases ، يمكن أن تساعد أيضاً بطريق غير مباشر فى المقاومة عن طريق اطلاق منبهات غير متخصصة .

مع أن هناك فى التجارب المعملية براهين تدعم هذه القوانين ، وتشير بوضوح إلى أن البروتينات المتعلقة بالمرضية تمارس نشاطاً مباشراً كمضادات للكائنات المرضة فى النبات و/أو تطلق مثيرات لا تكون موجودة . إن نتيجة التحصين الحقيقى ، تكون معتمدة على كيفية عمل البروتينات المتعلقة بالمرضية فى النبات ، وعلى تحديد النشاط المباشر لها كمضادات ميكروبية .

لقد وجد فى الأبحاث الأخيرة سنة ٢٠٠١ أن إطلاق المثيرات الجديدة فى النبات ، ضرورية وأساسية فى حدوث المقاومة الجهازية المكتسبة . هذه المثيرات تعتمد على البروتينات

المتعلقة بالمرضية وهذه البروتينات المتعلقة بالمرضية معتمدة على نشاط الجينات الخاصة بذلك. هذه الجينات تثيرها وتنبهها أما الاصابة المرضية وإما ممرات حمض السلسليك .

٢ – استجابة النبات ومقدرته على إظهار المقاومة المستحثة

عدا عن التغيرات البيوكيميائية التى تحدث فى النباتات ، كنتيجة للمعاملة الحاثة (أو المخلقة) للمقاومة ، هناك استجابات معينة يجب أن يظهرها النبات أو تكون متوفرة عنده لكى يكون ظهور المقاومة الجهازية كاملاً . هناك دراسات قليلة أجريت فى هذا الموضوع (استجابة النبات العائل المستحث لما بعد الاصابة) . وفيما يلى نقدم شرحاً مفصلاً لآخر الابحاث (سنة ٢٠٠١) على هذا الموضوع .

١ – الفطريات وخاصة الفطريات البيضية

المقاومة المستحثة للأمراض فى الفاصوليا الخضراء ضد الفطر *Colletotrichum lindemuthianum* قد ذكرت على أنها ظاهرة موضعية فى عديد من أجزاء النبات ، تستحث على مسافة قصيرة من موقع تخليق المقاومة فى السويقة الجينينية السفلية المستطيلة بالإضافة إلى الظاهرة الجهازية فى النبات الأخضر الأكبر . فى أنسجة السويقة الجنينية السفلية ، فإن تكشف الأطوار المبكرة من السلالات المتوافقة من الفطر الممرض فى النسيج المظهر المقاومة المستحثة ، يكون مشابهاً لتلك المرئية فى أنسجة الكنترول . ينتج الفطر أعضاء التصاق ، توطد نفسها فى النسيج النباتي وتؤسس هيفا اصابة أولية فى نباتات الكنترول والنباتات المستحثة . هذا يختلف بوضوح عن تفاعل فرط الحساسية HR ، يكون هذا واضحاً بواسطة أنسجة العائل بعد الحقن بسلالة غير متوافقة من الفطر . تلاحظ الاختلافات بين نباتات الكنترول والنباتات المستحثة ، فقط ، بعد تأسيس الهيفا الأولية . فى نباتات الكنترول يحدث انتشار سريع للهيفا الثانوية المتكشفة من الهيفا الأولية ، أما فى النباتات المستحثة يتوقف تكشف نمو الفطر فى طور الهيفا الأولية . يكون توقف تكشف الهيفا متبوعاً بتلون بنى فى خلايا العائل (أحياناً يكون متبوع أيضاً بتأخر فى الاستجابة لتفاعل فرط الحساسية) وتجمع الفايتوالكسنز . إن تكشف الفطر الممرض المذكور سابقاً فى الأنسجة المستحثة يكون مشابهاً لتلك الملاحظ فى المقاوة المتعلقة بالعمر فى الفاصوليا للسلالات المتوافقة من نفس الفطر . نظراً لأن المقاومة المتعلقة بالعمر فى السويقات الجنينية السفلى فى فول الصويا للفطر *Phytophthora megasperma* var. *sojae* . يكون مترافقاً مع انتاج

الفايتوالكسنز ، فمن الممكن أن نحدد فيما إذا كانت المقاومة المتعلقة بالعمر فى الفاصوليا تظهر نفس السلوك فى انتاج الفايتوالكسن يمكن ملاحظته فى الأنسجة المستحثة .

بناء على توقيت وقوع هذه الحوادث الفسيولوجية الموصوفة سابقاً ، يكون من الصعب تحديد فيما إذا كانت المقاومة المستحثة ضد المرض ، يكون حدوثها عن طرق دفاعات تقليدية Traditional (مثل تفاعل فرط الحساسية ، الفايتوالكسنز) و/أو عن طريق التأثير على قابلية الكائن الممرض لجعل التغير التطورى فى حالته من طور التغذية الحيوية فى الاصابة إلى حالته فى طور التغذية الترمية . هذا الميكانزم الأخير قد شرح باختصار بواسطة Elliston *et al* سنة ١٩٧٦ من حيث علاقته مع الأبحاث الأخرى ، التى اقترحت أن هناك علاقة بين أفراز الـ Polygalacturonases والانقلاب من طور التغذية الحيوية إلى طور التغذية الرمية . ولقد ذكر هذا العالم أن التغيرات المفترضة فى كيمياء جدار الخلية المتسببة عن التخليق الناتج من قابلية الكائن الممرض لأن ينتقل من الهيفا الأولية إلى الهيفا الثانوية بسبب عدم نشاط الـ polygalacturonase على الجدر الخلوية فى الأنسجة المستحثة . فى حين أن Showalter *et al* سنة ١٩٨٥ ذكر أن أنسجة السويقة الجنينية السفلى فى الفاصوليا الملاصقة لمكان الحقن بسلالة غير متوافقة من الفطر *C.lindemuthianum* ، قد رفعت بقوة النسخ لمادة hydroxyproline الغنية بـ glycoproteins . نظراً لأن جدر الخلية الغنية بهذه البروتينات تكون أقل قابلية للاصابة بأنزيم Pectinases ، أكثر منه فى الجدر غير المحورة . لقد درس دراسة تامة نظام التغيرات التركيبية فى جدر خلية الفاصوليا فى علاقته مع المقاومة المستحة للمرض الموصوفة للسويقات الجنينية فى الفاصوليا .

وعلى العكس من نتائج الدراسات التى أجريت على السويقة الجنينية السفلى ، بواسطة Elliston *et al* سنة ١٩٧٦–١٩٧٧ ، وجد أن المرض المستحث واستجابة المقاومة فى أوراق الفاصوليا للفطر المذكور سابقاً ، المستحثة بالحقن المسبق للأوراق السفلية بنفس الفطر ، تكون مترافقة مع خفض أعداد الاصابات من أعضاء الالتصاق ، وكانت نسبة الخفض فى الاختراق مترافقة مع سرعة تكوين الحليمات تحت أعضاء الالتصاق . وبالتالى فإن انخفاض حدوث المرض فى الأنسجة المستحثة يمكن أن يعزى إلى قلة الاختراق فى أنسجة الورقة بواسطة الكائن الممرض .

كذلك فإن هناك خفضاً مشابهاً للاختراق بواسطة الفطريات ، يحدث فى نباتات الخيار التى يكون فيها التعبير عن المقاومة المستحثة للمرض للفطريات المهاجمة للورقة قد ثبت بأنها

مترافقة مع تحور سريع للبشرة الخارجية لجدار خلية العائل فى النقطة التى منها يحاول الفطر الاختراق . الدراسة السيتولوجية للنباتات المستجيبة للمقاومة المستحثة للفطر *C. orbiculare*، قد تمت بتوسع كبير ، ولقد تبين أن هناك تقريباً علاقة عكسية بين عدد الاختراقات الناجحة فى نباتات الكنترول مع عدد الاختراقات غير الناجحة فى النباتات المستحثة .

أما عن دراسة كيمياء النسج Histochemistry ، فقد اعتمد عليها لاكتشاف كل من ترسبات اللجنين والسليلوز تحت أعضاء الالتصاق التى لم تنجح فى الاختراق . كذلك فإن الدراسة الدقيقة لتركيب الخلايا الذى قام به Stein *et al* سنة ١٩٩٣ ، أثبت أيضاً أن جدر خلايا البشرة الخارجية تكون متحورة تحت عضو الالتصاق ، وأن هذه التحورات تشمل مركبات فينولية وسليكون .

إن التحور السريع لجدار خلية البشرة الخارجية ، مباشرة تحت عضو الالتصاق ، يمكن أن يكون توضيحاً ممكناً لفشل الكائنات الممرضة الفطرية لكى تخترق بنجاح أوراق نبات الخيار موضحة (معبرة) عن المقاومة المستحثة للمرض . إن الفشل فى الاختراق والدخول داخل الأنسجة ، يعطينا تفسيراً منطقياً ، أيضاً ، فى توضيح إنخفاض الأعداد والحجوم للبقع التى تتكشف فى نبات الخيار الذى فيه مقاومة مستحثة للمرض . وعلى أية حال فإنه ليس من الواضح أى من التحورات (إذا وجدت بكثرة) لجدار الخلية ، التى تكون هى المفتاح لقفل أو منع دخول الكائن الممرض فى النسيج ، وإذا ما كانت هذه التغيرات هى السبب فى المقاومة أو أنها تحدث فقط بعد أن تكون الاصابة قد توقفت .

ليس كل أعضاء الالتصاق التى تتكون على خلايا البشرة الخارجية لنبات الخيار ، تكون موقوفة عن الاختراق إلى داخل النسيج . فى بعض الحالات ، تتكون هيفا الاختراق الأولية ، ولكن يبدو بأنها ، أما أن تتغطى أو تنغمر فى بولمر شبيه اللجنين والذى يمكنه بكفاءة وقف أى تكشفات أخرى للهيفا ، أو أن يحدث لجننة كلية لخلية البشرة الخارجية ، تمنع وتوقف التكشفات اللاحقة لهذه الهيفا .

ومن ناحية أخرى فإن نسبة قليلة من أعضاء الالتصاق ، تكون هيفات عدوى (اختراق) Penetration pegs التى تؤدى إلى اختراق ناجح للنسيج ، دون ظهور أى استجابة للعائل . تعتبر هذه الملاحظات التى ذكرت سابقاً هامة ، وذلك لأنها تساعد فى توضيح لماذا يكون

تعبير المقاومة المستحثة للفطر *C.orbiculare* على شكل اعداد أقل وأصغر من البقع ، الظاهرة وليس التثبيط الكامل للمرض .

إن الاختراق الناجح بواسطة بعض (وليس كل) أعضاء الالتصاق ، فى الأنسجة المستحثة ، يثير سؤالين : السؤال الأول لماذا خلايا العائل فى النباتات المستحثة تستجيب بسرعة للاصابة ؟؟ الاجابة عن هذا السؤال سوف تكون لاحقاً إن شاء الله . أما السؤال الثانى فهو ماهو دور البروتينات المتعلقة بالمرضية والأنزيمات الأخرى المستحثة جهازياً ؟؟

للاجابة على هذا السؤال يمكن القول بأن المقاومة المستحثة للمرض فى الخيار ، تكون مصحوبة بتجمعات من الـ Chitinase والـ Peroxidase فى الفراغات ما بين الخلوية فى نسيج العائل بعد المعاملة بالعامل الحاث . مع أن هناك دوراً ممكناً فى زيادة مقدرة اللجننة يمكن أن يفترض بالنسبة للـ Peroxidase إلا أنه لا يوجد دليلاً مباشراً يدعم هذا الدور . يمكن لهيفات الفطر *C.orbiculare* التى اخترقت بنجاح ودخلت الأوراق المستحثة ، أن تصبح متصلة مع الـ Chitinases . علاوة على ذلك ، لا يوجد دليل يثبت أن نمو الهيفا يكون محدوداً بعد أن تكون قد تأسست ، أو أن هذه الإنزيمات تتدخل مباشرة مع الكائن الممرض . ملاحظة أن نشاط كلاً من الـ Chitinase والـ Peroxidase يبقى عالياً في أوراق الخيار من النباتات التى فيها حالة المقاومة المستحثة لا تدوم طويلاً ، هذا يؤدى إلى القول بأن وجود هذه الإنزيمات لا يكون كافياً لشرح حالة المقاومة المستحثة .

الدراسات التى تمت لحالة ما بعد الحقن فى الأنسجة المستحثة ، في قد تم أجراؤها أيضاً مع الفطريات البيضية . فمثلاً أوراق نبات الارابدوبسز ذو المقاومة المكتسبة يخترق بواسطة *Peronospora parastica* ، ولكن الكائن الممرض لا يتكشف . النكروزز المنتشر فى خلايا العائل على طول الهيفا قد تمت ملاحظته فى نسيج الورقة المستحثة . كما ذكر أيضاً أن اللجننة تشارك فى المقاومة المتخصصة للطفيليات فى هذا النظام ، وأن السلوك السيتولوجى لعملية اللجننة يبدو مشابهاً لنظام نكروزز العائل الملاحظ كاستجابة من النباتات المستحثة للمرض المتسبب عن *Peronospora* . وبالتالى يبدو من المحتمل أن عملية اللجننة تكون أيضاً جزءاً من دفاعات المقاومة المستحثة للأمراض فى نبات الارابدوبسز . وعلى أية حال ، نظراً لأن الدفاعات الكثيرة من المحتمل أن يعبر عنها ، فإن اللجننة فى المقاومة المستحثة من المحتمل أيضاً أنها سوف تلعب دوراً جزئيًا فى الدفاع كما هو الحال فى المقاومة المتخصصة للطفيليات .

البكتيريا :

لقد اختبرت المقاومة المستحثة للكائنات الممرضة البكتيرية . ذكرت الدراسات المبكرة أن تشريب أوراق الدخان بخلايا ميتة حرارياً من البكتيريا *Ralstonia solanacearum* يمكن أن يحث مقاومة موضعية ضد نفس الكائن الممرض . ومن الجدير بالذكر أن الخلايا الميتة حرارياً ، يمكن أيضاً أن تقى النسيج ضد تفاعل (استجابة) فرط الحساسية المنبه بواسطة عزلة غير شديدة المرضية من البكتيريا المذكورة سابقاً ، تكون المقاومة المستحثة مترافقة مع انخفاض نمو البكتيريا الداخلة فى تحصين النبات فى النسيج المستحث وانتاج مواد مثبطة .

إن المقاومة الجهازية المكتسبة أو المستحثة ضد الكائنات الممرضة البكتيرية شديدة المرضية أو غير شديدة المرضية ، أيضاً قد ذكرت كمسببات تخفض أعراض النكروتك . إن النقص فى أعوراض النكروتك التى تتكشف فى النباتات المعبرة عن الأمراض المستحثة ، بعد الحقن بالبكتيريا ، قد افترض بأنها تكون نتيجة لتثبيط المرض أو لاندماجها فى أعراض تفاعل فرط الحساسية . بناء على الملاحظات التى تفيد بأن التجمعات البكتيرية فى نباتات الكنترول لم تكن مختلفة عن هذه التجمعات فى النباتات المعبرة عن المقاومة المستحثة للمرض . لقد ذكر أن هناك زيادة فى الـ Antioxidants تحدث جهازياً فى الدخان كاستجابة للمقاومة المتخلقة وكاستجابة للمعاملة بحمض السلسليك ، وهذا التغير فى حالة الـ Antioxidant قد اقترحت بأنها الأساس للتعبير عن بقعة النكروتك .

فى معظم الدراسات التى أجريت على البكتيريا لتخليق مقاومة ، تبين أن هناك خفضاً فى النمو البكتيرى فى النباتات المستحثة بنسبة ١-٣ درجات مقارنة مع نباتات الكنترول . هذا يؤدى إلى القول بأن مثبطات النمو البكتيرى ، تتكون كنتيجة لتخليق مقاومة ، أو لأن ذاك النبات يستجيب بسرعة للحقن عن طريق انتاج مثبطات نمو بكتيرى . وعلى أية حال فإن نباتات الارابدوبسز المستحثة ، تُستجيب للحقن بالبكتيريا *Pseudomonas* ، على شكل زيادة فى تجمع حمض السلسليك وتخليق جين PR-1 المنسوخ . بطريقة كيماوية معينة ، فإن رتبه رقم ثلاثة من الأبوبلاستك الششتينيز المحمض ، من الخيار قد تم تجانسه إلى الأيزوزايم وانتج على شكل بروتينات متعلقة بالمرضية فى الخيار ، ولكن لا نشاط هذا الإنزيم ضد البكتيريا ولا التجمعات الزائدة من هذا الإنزيم بعد التحصين البكتيرى ، قد ذكرت فى هذا المجال . نظراً لأن هناك بداية معينة من الخلايا البكتيرية مطلوبة لتسبب تفاعل فرط حساسية واضح ، أو تكشف سريع للمرض متبوعاً بالنكروزز ، فمن الممكن أن هذه المثبطات

(أما أن تكون منتجة كنتيجة للتخليق أو التحصين) يمكن أن تخفظ تجمعات الخلايا البكتيرية تحت البداية اللازمة لتكشف أعراض ميكروسكوبية . هذا الخفض فى التجمعات البكتيرية فى نسيج الورقة ، يمكن أن يحسب لفينوتايب المقاومة المستحثة الملاحظة بعد التحصين بالبكتيريا .

لقد وصفت المقاومة ، فى غياب نكروزز فرط الحساسية ، جزئياً فى طفرات *dnd-1* فى نبات الارابدوبسز ، حيث أن النباتات التى بها هذه الطفرة ، تعبر بشكال أساسى عن جينات PR-1 و Glucanase وتحتوى مستويات عالية من حمض السلسليك ، ويبدو أنها تعبر أساسياً عن المقاومة المكتسبة ضد البكتيريا *P.syringae* . تكون تجمعات هذه البكتيريا فى نباتات *dnd-1* منخفضة بمقدار درجة واحدة تحت الذى يرى فى النوع الأصلى . تستجيب نباتات *dnd-1* عندما تستحث بالحقن بالبكتيريا شديدة المرضية *P.syringae* عن طريق التخليق الزائد من PR-1 و Glucanase . هذا يؤدى إلى القول بأن جزءاً من المقاومة الملاحظة يمكن أن يكون بسبب التعبيرات الدفاعية لما بعد الحقن وليس فقط تغطية للأعراض .

إن حقن نباتات الطفرة *dnd-1* بعزلة غير شديدة المرضية من البكتيريا السابق ذكرها ، يؤدى إلى انخفاض فى تعبير فرط الحساسية ، ولكن التجمعات البكتيرية ، تكون أيضاً ، أقل مما يرى فى العزلات شديدة المرضية فى نباتات *dnd-1* . هذه المقاومة المتخصصة بالطفيليات والتى تتبع علاقة جين/جين ، تكون متبوعة ، أيضاً بكمية أكبر من تعبيرات PR-1 والجلوكاينز بعد التحصين ، منه فى المشاهد بعد الحقن بنفس البكتيريا *P. syringae* المتوافقة . وبالتالى فإنه حتى تعبير المقاومة فى النباتات ذات الطفرة *dnd-1* والتى تسلك سلوكاً متشابهاً جداً مع النباتات ذات المقاومة المكتسبة تكون متبوعة بتخليق زائد من الدفاع بعد التحصين ، يؤدى إلى القول بأن تعبير الأعراض يمكن أن يكون راجعاً إلى التثبيط السريع للنمو البكتيرى .

إن انخفاض انتاج البقع المتحللة المتسببة عن بكتيريا شديدة القدرة المرضية أو غير شديدة ، فى النباتات المستحثة يكون مشابهاً لما هو ملاحظ فى النباتات المشربة أوراقها بطفرات *hrp* ، مقارنة مع سلالات النوع الأصلى شديد القوة المرضية وغير الشديدة . إن طفرات البكتيريا *hrp* تتضاعف فى أنسجة النبات إلى مستويات تصل مستويات النوع الأصلى أو أقل منه قليلاً وأحياناً تزيد . نظراً لأن طفرات *hrp* تنمو طبيعياً فى المعمل ، فمن الممكن

أن هناك عوامل متعلقة بالعائل تقيد نموها . لقد وجد كل من Lindgren و Jakobck سنة ١٩٩٣ أن طفرات *hrp* تحث على نسخ للجينات المترافقة مع الدفاعات الفعالة وتجمع الفايتوالكسنز . هناك عدة نسخ لجين جديد قد لوحظت خلال ساعة واحدة من الحقن . وبالتالى فإن واحداً من السيناريوهات الذى يمكن أن يحسب في تثبيط المرض يكون عبارة عن تخليق سريع للدفاعات التى من الممكن أن تخفض أو توقف نمو البكتيريا فى الـ *in planta* . هذه الدفعات المستحثة ، يمكن أن تمنع البكتيريا من الوصول إلى التجمعات الحرجة المطلوبة لتسبب نكروزز ، أو يمكن بطريقة ما أن تثبط انتاج العوامل المطلوبة بواسطة البكتيريا لبداية موت الخلية .

الفيروسات

الدراسات الكلاسيكية التى أجريت بواسطة Ross سنة ١٩٦١ ، ذكرت أن الحقن الموضعى لنباتات الدخان ذات الجين N بفيرس موزايك الدخان ، تؤدى إلى زيادة فى المقاومة الجهازية والتى يعبر عنها بواسطة خفض فى كل من حجم وعدد البقع المتحللة . هذا يؤدى إلى القول بأن حالة المقاومة المستحثة تخفض تضاعف و/أو إنتشار الفيرس . مع أنه قد تم الافتراض بأن المقاومة المستحثة الملاحظة للفيروسات مثل البكتيريا ، تكون راجعة إلى تخفيض شدة أعراض النكروتك . أثبتت الدراسات الحديثة أن الدفاعات الزائدة ، هى التى تعمل عن طريق ، تثبيط شدة الاصابة .

يبدو أن المقاومة المستحثة ضد الأمراض فى الدخان (ضد فيرس موزايك الدخان) ، أيضاً تكون نتيجة للتأثير على الفيرس . لقد ذكر Mur *et al* سنة ١٩٩٧ أن نباتات الدخان المحولة وراثياً ، والتى تظهر Salicylate hydroxylase لوقف تجمع حمض السلسليك ، تؤدى إلى الانتشار الكبير لفيرس TMV فى نباتات الدخان ذات الجين N ، حتى النكروتك فينوتايب يستمر التعبير عنه . يمكن تفسير هذه النتيجة ، جزئياً عن طريق المعلومات التى تدل على أن حمض السلسليك يخلق ميكانيكيات تتدخل فى التأثير على تضاعف الفيرس TMV ، فى كل من نباتات الدخان الجينوتايب ذات الجين N (ذات المقاومة للحساسية الفائقة) والنباتات ذات الجين (nn) القابلة للاصابة . إن الحقيقة التى تقول بأن حمض السلسليك يتأثر بتضاعف الفيرس ، قد لوحظت فى نباتات الدخان القابلة للاصابة ، هذا يدعم بقوة دور المقاومة الناتجة بواسطة Salicylate العاملة عن طريق التأثير على تكشف

تضاعف الفيرس وليس على تكشف الأعراض . فى دراسات لاحقة أخرى ، وجد أن المقاومة الناتجة بواسطة حمض السلسليك فى الدخان لفيرس PVY و CMV ، بأنها متعلقة بتثبيط التضاعف والحركة الفيروسية .

إن معاملة نبات الارابدوبسز بالمادة الحاثة المصنعة CGA - 245704 ، يؤدى إلى مقاومة فيرس التواء اللفت Turnip crinkle virus (TCV) . تتحدد هذه المقاومة عن طريق النقص فى أعراض النكروتك . يبدو أن النقص فى الأعراض ، يكون راجعاً إلى تثبيط التضاعف الفيروسى لأنه لا يمكن اكتشاف RNA فيروسى فى النبات .

وبالتالى ، فإنه على الأقل ، بالنسبة للمقاومة المستحثة المعتمدة على السلسلات (SAR) ، فإن الفينوتايب المقاوم الملاحظ ، يمكن أن يوضح بواسطة ، إما التأثير على التضاعف الفيروسى أو الحركة الفيروسية . إن كلتا الطريقتين يمكن أن تؤدى إلى تقليل المرض ، وعلى أية حال ، فإن الميكانزم البيوكيماوى الداخل فى توقيف التضاعف الفيروسى أو الحركة الفيروسية لغاية الآن (سنة ٢٠٠٠) تحتاج إلى شرح وتوضيح .

سرعة استجابة النبات للمواد الحاثة

يدل ملخص الابحاث التى أجريت فى هذا المجال ، أن النباتات التى تظهر المقاومة المستحثة ، تستجيب عن طريق بعض أنواع التفاعلات البيوكيميائية التى تحدث فى النبات العائل ، والتى يكون نتيجتها توقف أو تثبيط تكشف الكائنات الممرضة . بالنسبة للفطريات ، تظهر المقاومة ضدها على شكل ترسبات فى الحواجز التركيبية للخلايا ، تحدث بكل عام كاستجابة للاصابة . هذا التركيب فى الحواجز لا يظهر بشكل واضح فى الاصابات البكتيرية أو الفيروسية . تحدث هذه الاستجابة بسرعة خلال ٢٤ ساعة . ولكن كيف تكون النباتات قادرة على الاستجابة السريعة للاصابة ؟؟ هذا لا يزال قيد البحث .

هناك تفسيرات كثيرة لسرعة استجابة النبات للمواد الحاثة أو الاصابات المرضية منها :

١ – إن منتجات جين R فى النبات تكون ضرورية للتعرف على منتجات جينات الكائن الممرض غير شديدة المرضية ، وهذا التعرف يؤدى إلى تفاعلات الدفاع سواء فى المقاومة المستحثة أو المكتسبة .

٢ – إن البروتينات المتعلقة بالمرضية PRs ، تعمل على اطلاق منبهات غير متخصصة من جدر الخلية ، هذه المنبهات سريعاً ما تحدث دفاعات ضد الاصابات الفطرية أو البكتيرية،

تظهر هذه الدفاعات على شكل تكوين فينولات أو أفراز أنزيمات سريعاً ما تؤثر على الكائن الممرض . ولقد وجد أن هذه البروتينات يمكن أن تثبط التكشف الفطرى أو البكتيرى بشكل أكبر وأسرع منه فى حالة استعمال بعض المبيدات الفطرية .

٣ – إن الكائنات الممرضة التى تهاجم النبات (التى يحدث لها تثبيط) يمكن أن تطلق مثيرات تنبه وسائل الدفاع فى النبات ، سواء عن طريق الجينات أو الطرق الفسيولوجية . لوحظ هذا النوع من الاستجابة فى فول الصويا ، حيث أن المعاملة المسبقة بمادة metalaxyl تقى فول الصويا ضد الاصابة بالفطر *Phytophthora megasperma* var. *sojae* وأن جزءاً من هذه الوقاية يكون مترافقاً مع الانتاج السريع لـ glycollin فى منطقة الاصابة (من المحتمل أن يكون هذا راجعاً إلى اطلاق مثيرات من الكائن الممرض المضعف بمادة metalaxyl) .

٤ – يمكن لأنسجة النبات أن تتكيف بحيث تستجيب سريعاً جداً للاصابة . وجد أن نباتات الخيار المعبرة عن SAR يحدث فيها لجننة لجدر الخلايا بسرعة أكثر كاستجابة للتجريح، وأن هذه الزيادة فى اللجننة يمكن أن تكون منبهه مسبقاً بواسطة التجريح ، أو الجروح المخلقة بواسطة الاختراق الفطرى . هذه الزيادة فى القدرة على اللجننة يمكن أيضاً أن تساعد فى توضيح النقص فى الاصابة الفيروسية بعد الحقن الميكانيكى (تجريح) بالفيروسات .

٥ – تنعكس سرعة استجابة النبات على سرعة ترسب الكالوس . وقد ذكر بأن هذه الحالة تكون مترافقة مع مقاومة المرض المستحثة فى الخيار ، وأن النباتات المظهرة أو المعبرة عن SAR ، تمتلك مستويات عالية من β - 1,3 - glucan synthase والذى من الممكن أن يشارك فى البناء السريع للكالوس فى مناطق الاصابة .

٦ – سرعة انتاج المركب Hydrogen peroxidase . لقد وجد أن نباتات الخيار المعاملة بحمض السلسليك أو منشطات الوقاية والتى تشبه حمض السلسليك ، تستجيب بسرعة للاصابة عن طريق انتاج هيدروجين بيروكسيديز . إن مصدر هذا المركب غير معروف ، ولكن فى تجارب كثيرة وجد أن apoplastic peroxidases يمكن أن يكون داخلاً فى المقاومة الجهازية المستحثة أو فى انتاج Hydrogen peroxid .

الفصل الخامس

تطبيقات عملية لاستخدام ISR
فى مقاومة أمراض النبات

مقدمة :

هناك كثير من الأبحاث التى أجريت ابتداءاً من أوائل التسعينيات ، ذكرت أن نظام الوقاية المستحثة ISR يمكن أن يكون ميكانزم ، بديلاً لعملية التضاد ، الحيوى للحصول على مقاومة حيوية جيدة لأمراض النبات . هناك عدة فروق بين نظام ISR ونظام التضاد الحيوى كوسائل داخلة فى المقاومة الحيوية لأمراض النبات ، أهم هذه الفروق هى :

١ - إن فعل ISR مبنى على أساس ميكانزم دفاعى فى النبات ، والذى يمكن أن ينشط بالعوامل الحاثة ، بينما يعتمد التضاد الحيوي على الفعل المباشر لعوامل المقاومة الحيوية، مثل انتاج كل من المضادات الحيوية أو السايدروفورز وسيانيد الهيدروجين (HCN) بالإضافة إلى التنافس الغذائى .

٢ - إن ISR ينشط كفاءة ميكانيكيات الدفاع المتعددة التى تشمل الزيادة فى فاعلية إنزيمات Chitinases و B- 1,3 - glucanases ، Peroxidases والبروتينات الأخرى ذات العلاقة بالمرضية (-PR) وتجمع المواد الساة الميكروبية ، وهى مواد ذات وزن جزيئى منخفض مثل الفايتوالكسن وتكوين مواد حافظة من البوليمرز الحيوية مثل اللجنين ، كالوس والهايدروكسى برولين ، الغنى بالجلايكوبروتينيز ، بينما يعتمد التضاد الحيوى على المنافسة على الغذاء أو المكان أو إفراز مضادات حيوية مختلفة تؤثر على الكائن الممرض .

٣ - تتميز ISR بأن تأثيرها يمكن أن يظهر ضد مدى واسع من الكائنات الممرضة ، التى يمكن أن تقاوم بواسطة عامل حاث مفرد ، فمثلاً فى الخيار فإن معاملة الورقة الأولى فى النبات بالكائن الممرض المسبب نكروزز ، تحمى النبات ضد ١٣ كائناً ممرضاً على الأقل ، شاملة الفطريات ، البكتيريا والفيروسات ، بينما فى التضاد الحيوى ، فإن الكائنات المضادة بشكل عام لا تكون فعالة ضد كائنات ممرضة متنوعة .

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

لقد درس نظام المقاومة المستحثة للأمراض بشكل أساسى فى المعمل وفى الصوبا الزجاجية . هناك بعض التقارير تدل على أن ISR تستطيع أن تقى المحاصيل النباتية تحت ظروف الحقل ، فمثلاً ، يمكن وقاية الخيار والبطيخ بالوقاية الجهازية المستحثة ، التى تتبع الحقن بالكائن *Colletotrichum orbiculare* فى الحقل . أما فى الدخان فإن الدراسات الحقلية المكثفة لمدة ثلاث سنوات فى منطقة بورتوريكو ، ذكرت بأن ISR تحفظ النبات ضد كل من السلالة الحساسة للميثاليكسايل والسلالة المتحملة له من الفطرة *Peronospora tabacina* وذلك باستعمال الحقن المباشر للساق ، بمعلق الجراثيم الأسبورانجية من بعض الأنواع التى تتبع الكائن الممرض نفسه . إن الاستعمال الواسع لـ ISR لم يتحقق بعد ، وذلك بسبب أن ISR الكلاسيكية والسهلة الاستعمال تستخدم كائنات دقيقة ممرضة كعوامل حاثة ، إلا أن الدراسات الحديثة جداً تحاول إيجاد عوامل حاثة غير ممرضة .

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

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

أولاً : مقاومة بعض أمراض الخيار

١ - وقاية نباتات الخيار من أعفان الجذور

أ - وقاية نباتات الخيار من عفن الجذر المتسبب عن الفطر بثيم افندرماتم

مقدمة :

يتسبب مرض عفن الجذر فى الخيار عن الفطر *Pythium aphanidermatum* . يهاجم هذا الفطر جذور نباتات الخيار الصغيرة ، مسبباً عفن الجذر والتاج وموت البادرة . أظهرت الدراسات الحديثة ، أن مرض الجذر فى الخيار المتسبب عن هذا الفطر ، يمكن كبحه suppress باستعمال سلالة من البكتيريا *Pseudomonas* . هذا الكبح يمكن أن يتسبب عن عدة ميكانيكيات ، من ضمنها المنافسة على الكمية المحدودة من الغذاء أو عن طريق التضاد الحيوى أو المقاومة المستحثة .

درست المقاومة الجهازية المستحثة ISR ضد أمراض النبات فى حوالى ٢٥ نوعاً من المحاصيل ، فى خلال الثلاثة عقود الماضية . بالنسبة لتأثير هذه المقاومة على الفطر موضوع الدراسة ، وجد أنها يمكن أن تؤثر بشكل غير مباشر على واحد أو أكثر من مراحل تكوين أو سلوك الجراثيم الهدبية ، قبل أو خلال الاصابة بالكائن الممرض . تسلك الجراثيم المتحركة لهذا الفطر كلقاح أولى ، حيث أن هذه الجراثيم تنجذب كيماوياً إلى إفرازات الجذر . هناك عديد من الأحماض الأمينية ، عديدات التسكر أو المركبات المتطايرة ، تشجع هذا الانجذاب وتحوصل الجراثيم .

لقد وجد أن ISR تقوم بتغيير طريقة استعمار الجذور بعد اصابتها بالكائن الممرض . لقد استعمل بعض الباحثين نظام الجذر المشقوق Spilt root system لاظهار أن البكتيريا بسيدوموناس (الرايزوبكتيريا) تمارس تأثير جهازى على كل من حدوث المرض المتسبب عن هذا الفطر ، الكتلة الحيوية ، وانتاج الثمار فى النباتات المصابة . فى الابحاث المبكرة على هذا المرض (Zhou & paulitz سنة ١٩٩٣) ذكرا أن انتشار الجراثيم الهدبية على سطح الجذر، يحدث بها تغيير على جذور الخيار المعاملة بالرايزوبكتيريا *Pseudomonas* sp. ، بالإضافة لذلك، فإن أفرازات الجذور المعاملة بالبكتيريا تكون أقل جذباً للجراثيم الهدبية للفطر الممرض.

يمكن تفسير هذا السلوك للمقاومة الجهازية المستحثة ISR ضد عفن الجذر فى الخيار، بسبب التأثير غير المباشر على سلوك الجراثيم الهدبية و/أو تأخير الاصابة بالكائن الممرض وتكشف المرض فى النباتات المعاملة بالرايزوبكتيريا ، وكذلك خفض معدل استعمار الجذر من قبل الكائن الممرض .

مقاومة المرض :

١ - تأثير ISR على إنبات الجراثيم الهدبية

عندما حضن معلق من الجراثيم الهدبية لهذا الفطر مع أنسجة جذر نبات الخيار لمدة ٣ ساعات على درجة حرارة الغرفة العادية ٢٢ °م ، لوحظت جميع مراحل تكشف الجراثيم الهدبية تحت الميكروسكوب الضوئى . تبين أن جذور الخيار تشجع بشكل معنوى إنبات الجراثيم مقارنة مع الكنترول . عندما حضن معلق الجراثيم الهدبية فى وجود الجذور المبكترة بالسلالة ١٣ أو (٦٣-٢٨) من *Pseudomonas* ، ينخفض معدل الانبات بنسبة ٣٧ ٪ و ٣٥ ٪ بالترتيب مقارنة مع الكنترول . لوحظ فى الجذور السليمة المبكترة (النامية فى أوعية) انخفاض فى نسبة إنبات الجراثيم الهدبية بنسبة ٤٣ ٪ - ٤٧ ٪ . تدل هذه النتائج على أن الأفرازات المنطلقة من جذور الخيار التى كان قد حصل لها بكترة تؤثر على إنبات الجراثيم الهدبية للفطر الممرض جدول رقم ٤٦ .

جدول رقم (٤٦) : إنبات الجراثيم الهدبية للفطر *P.aphanidermatum* فى ماء به بكتيريا بسيدوموناس أو في جذور الخيار المستحثة بنفس البكتيريا .

نوع التجربة	سلالة البكتيريا المستعملة	٪ جراثيم هدبية نابتة	٪ جراثيم متحوصلة	٪ جراثيم نابتة
جذر مشقوق	١٣	٢٠	٢٧	٥٢
جذر مشقوق	(٦٣-٢٨)	١٨	٢٨	٥٤
كنترول	---	٦	١١	٨٣
جذر سليم	١٣	١٧	٣٥	٤٨
جذر سليم	(٦٣-٢٨)	١٢	٤٤	٤٥
كنترول	---	٣	١٢	٨٥
بدون جذور	---	٤٧	٣١	٢٢

٢ - استعمار الجذر من قبل الجراثيم الهدبية

عندما غمرت جذور الخيار فى ماء به جراثيم هدبية للفطر الممرض ، بعض هذه الجراثيم اتجهت إلى الجذور والتصقت بها واستعمرت سطوح الجذور . كان متوسط اعداد الجراثيم المتحوصلة أو المنبهة / ملم٢ من قمة الجذر يختلف من ٨ فى الكنترول إلى ١,٧ فى الجذور المبكترة (جدول رقم ٤٧) . تبين أن سلالات البكتيريا *Pseudomonas* تخفض قوة الجذب فى الجذور ، وبالتالى تنخفض اعداد الجذور المجذوبة إلى الجذر . كانت نسبة الخفض تتراوح من ٧٠ ٪ - ٨٠ ٪ وذلك حسب السلالة .

كان هناك تأثير كبير على أعداد الجراثيم الفطرية التى تلتصق بالجذر ، وعلى تكوين أنبوبة الإنبات وعلى اختراق الجذور المبكترة . كان هذا التأثير معنوى بشكل كبير على الجذور المستعمرة كثيراً بالبكتيريا . يتبين من ذلك أن ISR المتكونة بواسطة *Pseudomonas* sp تخفض انتشار الكائن الممرض على جذور الخيار . كذلك فإن اصابة منطقة التاج فى الجذور المبكترة كانت منخفضة وتأخر حدوثها من ٤ - ٦ أيام بالمقارنة مع الكنترول . وبالتالى يمكن القول بأن البكترة يمكن أن تمارس تأثيراً مباشراً على سلوك جراثيم الفطر الممرض وعلى الاصابة عن طريق ISR وكذلك لها تأثير موضعى عن طريق التضاد الحيوى Antibiosis أو حدوث مقاومة مستحثة موضعية .

جدول رقم (٤٧) : التحوصل وإنبات الجراثيم الهدبية للفطر *P.aphanidermatum* على بعد ٥ ملم من قمة الجذر فى الخيار المبكتر بالبكتيريا بسيدوموناس . كانت تحضن الجراثيم الهدبية مع الجذور فى ماء معقم لمدة خميسة ساعات على حرارة ٢٢ °م .

نوع التجربة	سلالة البكتيريا المستعملة	عدد الجراثيم الهدبية / ملم٢ من الجذر	٪ انبات الجراثيم
جذر مشقوق	١٣	٢,٨	٨٧
جذر مشقوق	(٦٣-٢٨)	٣,٠	٧٩
جذر مشقوق	كنترول	٧,٢	٨٦
جذر سليم	١٣	٢,٤	٧٨,٧
جذر سليم	(٦٣-٢٨)	١,٧	٧٨,٠
كنترول	--	٨	٨٧

٣ – تأثير السلالات البكتيرية على خفض المرض

زرعت بذور الخيار الانجليزى الطويل *Cucumis sativus* ونبتت تحت ظروف مائية . بعد الانبات بثلاثة أيام ، حقنت النباتات بمعلق بكتيرى يحتوى ٥ × ١٠^٩ وحدة تكوين مستعمرات/مل . بعد خمسة أيام من الحقن البكتيرى ، حقنت بمعلق جراثيم الفطر الممرض المذكور سابقاً ، بتركيز ١,٥ × ١٠^٦ وحدة تكوين مستعمرات/مل . استعملت أربعة عزلات من البكتيريا *Pseudomonas* هى BTP-1 ، BTP-7 ، ATCC 17400 و M_3 . بعد خمسون يوماً درس كل من :

١ – شدة المرض فى النبات .　　　٢ – الوزن الطازج للنبات .

٣ – الوزن الجاف للجذر وكانت النتائج كما هو واضح فى جدول رقم ٤٨ . ظهرت أعراض المرض مبكرة على نباتات الكنترول بعد الحقن بالكائن الممرض من ٤–٥ أيام . أما النباتات التى حقنت بالبكتيريا السلالة ATCC 17400 ثم بعد ذلك حقنت بالكائن الممرض ، أظهرت أعراض المرض مشابهة للكنترول . فى نهاية التجربة كان معدل نسبة موت البادرات ٧٥ ٪ فى الكنترول ، و ٦٣ ٪ فى النباتات المعاملة بالسلالة البكتيرية المذكورة سابقاً . بالنسبة للوزن الجاف للجذر وجد أن المعاملة بالسلالة BTP-1 و M3 أعطت أعلى قيمة وبالرغم من وجود الكائن الممرض كانت الجذور كثيفة متماسكة وذات لون طبيعى . أما فى المعاملة بالسلالة ATCC 17400 كانت الجذور الثانوية قليلة وذات لون بنى ولزجة .

٤ – الكشف عن المضادات الفطرية والفينولات

فى نهاية التجربة أخذ المحلول الغذائى الذى كانت تنمو فيه نباتات الخيار وأجرى عليه اختبارات الكشف عن السايدروفور Pyoverdines . كانت النتيجة عدم وجود أى أثر لهذا المركب فى ثلاثة تجارب ووجوده فى تجربة BTP-7 وكانت هذه الكمية تقدر ٢ ميكروميتر . أما بالنسبة للمضادات الفطرية لم تتواجد فى البيئة النامية فيها النباتات .

تبين أن هناك فينولات موجودة فى محلول السلالة BTP-1 و M3 أكثر منه فى السلالتين الأخرتين . بعد هذه الدراسة يتبين أن السلالة BTP-1 و M3 ذات كفاءة فى مقاومة عفن جذور الخيار المتسبب عن الفطر *P.aphanidermatum* .

obeikandi.com

جدول رقم (٤٨) : تأثير سلالات البكتيريا بسيدوموناس على نمو نباتات الخيار صنف Corona وشدة المرض المتسببة عن الفطر الممرض المذكور سابقاً .

التجربة	غرام وزن النبات الطازج	غرام وزن الجذر الجاف	دليل شدة المرض
كنترول (بدون فطر وبدون بكتيريا)	١٣٨	٤,٩	٠,٦
نباتات محقونة بالفطر فقط	٦٠	٤,٢	٤,٣
الفطر + سلالة BTP-7	١١٨	٤,٩	١,٨
الفطر + سلالة ATCC	٧١	٤,٧	٣,٩
الفطر + سلالة M3	١٣٠	٥,٠	١,٢
الفطر + سلالة BTP-1	١٦٠	٥,٨	١,٢٥

ملاحظة على الجدول :

دليل شدة المرض وضعت على أساس ستة درجات من صفر إلى خمسة حيث أن صفر بدون ذبول أما رقم ٥ يدل على موت كامل للنبات .

ب - وقاية نباتات الخيار من عفن الجذور المتسبب عن Pythium ultimum

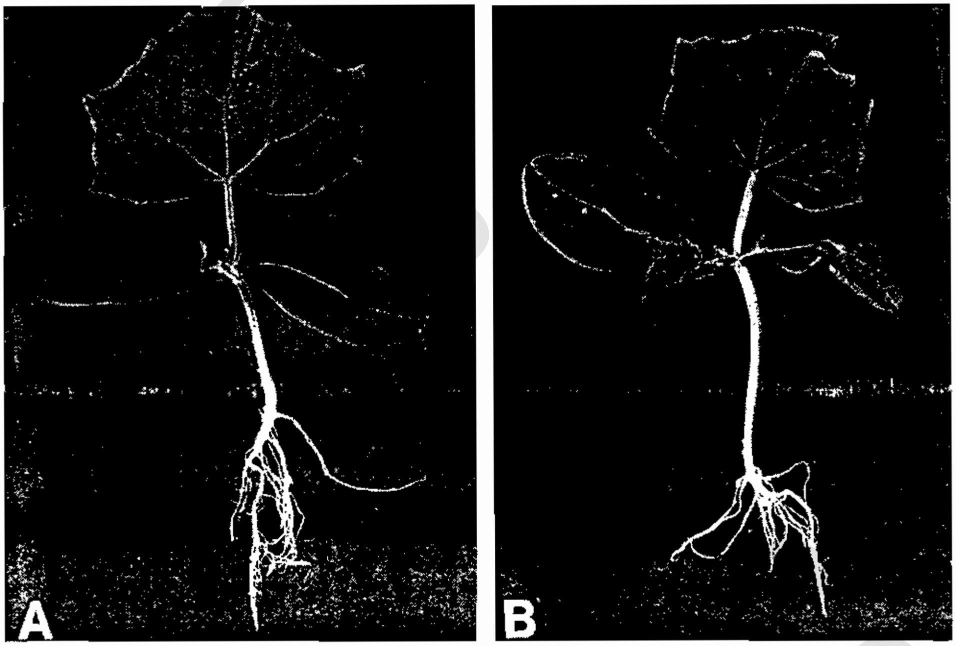
مقدمة :

إن المرض الذى سلطت عليه الأضواء وازداد اهتمام الباحثين به كمديل أو نموذج لنظام الكائن الممرض/العائل فى الأبحاث التطبيقية والأساسية للمقاومة الجهازية المستحثة ISR ، هو مرض عفن جذر الخيار المتسبب عن الفطر *Pythium ultimum* . لقد أثبتت الأبحاث التى تمت فى السنوات القليلة الماضية أن سلالات معينة من الرايزوبكتيريا تشمل *Pseudomomas* و *Serratia* sp. يمكن أن تعطى فوائد فى وقاية نباتات الخيار ضد الأمراض الناشئة من *Pythium* . من أهم الدراسات التى أجريت على ذلك هو استعمال البكتيريا *Serratia plymuthica* R1GC4 فى مقاومة عفن الجذر للخيار فى الصوبات الزجاجية .

obeikandl.com

مقاومة المرض :

حقنت بادرات الخيار ، التى عوملت أو لم تعامل بالسلالة البكتيرية *S. plymuthica* R1GC4 ، بالفطر الممرض *P. ultimum* ، لتحديد مدى فعالية هذه البكتيريا فى وقف الاصابة الفطرية . تبين من التجارب كما فى شكل رقم ٥ . أن الأعراض النموذجية فى الجذر تتميز بتكوين بقع مائلة للون البنى ، تظهر بعد ثلاثة أيام من الحقن فى نباتات الكنترول المأخوذة من بذور غير معاملة بالبكتيريا . تظهر هذه البادرات بعد ٤–٥ أيام من حقنها بالكائن الممرض أعراض شديدة من عفن الجذور ، وذبول كما فى شكل رقم (o,d). تموت معظم النباتات بعد سبعة أيام من الاصابة الفطرية .



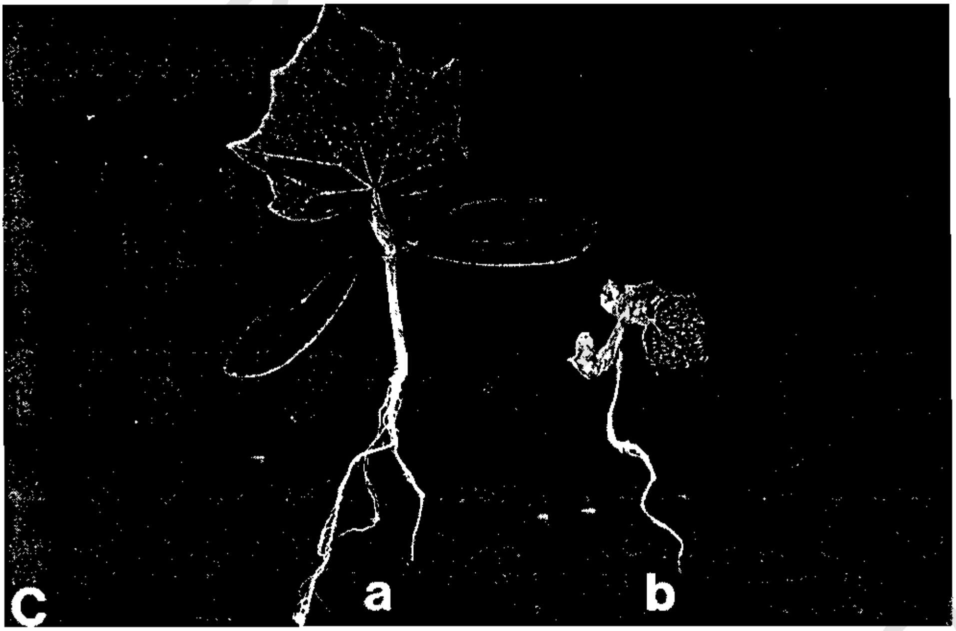
شكل رقم (A, B : 5) **تأثير معاملة البذور بالبكتيريا** *Serratia plymuthica* **على تكشف أعراض المرض المتسبب عن الفطر** *P.ultimum* **فى بادرات الخيار .**

A = **كنترول (بدون كائن ممرض وبدون بكتيريا) .**

B = **نباتات معاملة بالبكتيريا وغير محقونة بالكائن الممرض .**

obeikandi.com

المعاملة البكتيرية للبذور ، قبل حقنها بالكائن الممرض *Pythium* ، أدى إلى خفض فى تكشف المرض فى البادرة منه فى حالة بادرات البذور غير المعاملة كما فى (شكل رقم ٥) بعد خمسة أيام من الاصابة الفطرية ، تكون البادرات الناتجة من بذور معاملة بالبكتيريا *Serratia* ، خالية من أية أعراض خارجية ظاهرة مثل الذبول أو الشيخوخة وتظهر خفضاً فى عدد البقع التى تظهر على الجذور (جدول رقم ٤٩) . مع أنه يمكن أن يلاحظ بعض البقع على الجذور الجانبية ، إلا أن عددها وحجمها يكون صغيراً ولا يصل إلى ماهو موجود فى النباتات غير المعاملة بالبكتيريا والمحقونة بالفطر .



شكل رقم (5 : C) حيث أن هذا الشكل تكملة للشكل السابق .

a = نباتات محقونة بالفطر الممرض والبكتيريا المضادة .

b = نباتات محقونة بالفطر الممرض فقط .

جدول رقم (٤٩) : تأثير المعاملة بالبكتيريا *S.plymuthica* على عدد البقع الجذرية فى نباتات الخيار المحقونة بالفطر الممرض *P.ultimum* .

عدد الأيام بعد الحقن	عدد البقع على الجذر فى	
	نباتات غير مبكترة	نباتات مبكترة
١	صفر	صفر
٢	١	صفر
٣	٨	صفر
٤	١١	٢
٥	١٣	٣
٦	١٥	٣

أظهرت الدراسات التشريحية على جذور نباتات الخيار ، أن هناك اختلافات كبيرة فى امتداد التفاعلات الدفاعية فى النباتات المبكترة وغير المبكترة . كانت هذه الملاحظات أكثر تأكيداً عند دراستها بالميكروسكوب الالكترونى . تبين من الدراسة الميكروسكوبية أن تقدم الفطر يبقى محدوداً ومقتصراً على الأنسجة الخارجية فى الجذر فى البادرات الناتجة عن بذور مبكترة ، يكون هذا متلازماً مع ترسبات غنية بالسليلوز ، اضافية فى جدار الخلية ، فى المناطق التى يحتمل دخول الكائن الممرض منها ، وكذلك يكون هناك تجمعات لمواد أسموزية فى مناطق وجود تجمعات الفطر (جدول رقم ٥٠) .

يظهر فى هيفات الفطر الممرض المحاطة بهذه المواد غير المنفذة تغيرات واضحة تشمل اضطراب فى تعضى السيتوبلازم وفى حالات كثيرة تفقد البروتوبلازم . أظهرت الدراسات الكيماوية للخلية أن السليلوز ، البكتين ، الكالوس تظهر بشكل كبير فى جدار الخلية . وقد أظهرت الدراسة فى هذا المجال أن المعاملة بالبكتيريا *S.plymuthica* تجعل نباتات الخيار الحساسة للاصابة بالفطر تتفاعل بسرعة أكثر وبكفاءة أكثر عند مهاجمتها بالكائن الممرض عن طريق تكوين حواجز طبيعية وكيميائية فى المناطق التى يحتمل أن يدخل منها الفطر .

obeikandl.com

جدول رقم (٥٠) : تأثير استعمال البكتيريا *S.plymuthica* على معدل امتداد مستعمرات الفطر الممرض *P.ultimum* فى أنسجة جذور نباتات الخيار بعد خمسة أيام من الحقن .

نسيج الجذر	عدد الهيفات الفطرية فى كل خلية نباتية فى النباتات غير المبكترة	عدد الهيفات الفطرية فى كل خلية نباتية فى النباتات المبكترة
البشرة الخارجية	١٠,٦	٤,٥
القشرة الخارجية	٦,٨	١,٥
القشرة الداخلية	٥,٢	٠,٥
البرنشيما الوعائية	٣,٨	صفر
الأنبوب الوعائى	٢,٣	صفر

يتبين مما سبق ، أن معاملة بذور الخيار بالرايزوبكتيريا المذكورة ، تؤدى إلى جعل نباتات الخيار أكثر حساسية للاصابة بالفطر الممرض ، وهذا ينعكس على إظهار ميكانيكيات كثيرة لمقاومة الكائن الممرض ، منها :

١ - وقف تقدم هيفات الفطر فى نسيج العائل .

٢ - تكوين حواجز مانعة لتقدم الهيفا .

٣ - تكوين مواد كيماوية وترسبات فى جدار الخلية مثل الجلاكتوز ، وهذا له دور كبير فى وقف تقدم الفطر .

ولقد ذكر Benhamou *et al* سنة ٢٠٠٠ أنه يمكن استعمال هذه البكتيريا على شكل معاملة بذور لوقاية نباتات الخيار من الاصابة بمرض سقوط البادرات ، بشكل تجارى فى الصوبات الزجاجية ، حيث أن تأثير هذه البكتيريا يعطى البادرات وقاية لمدة طويلة بعد الانبات .

obeikandl.com

٢ - وقاية نباتات الخيار من ذبول الفيوزاريوم

مقدمة :

إن ميكانيكية المقاومة الحيوية لذبول الفيوزاريوم باستعمال الكائنات الحية الدقيقة ، عملية معقدة . قد ركزت معظم الدراسات السابقة على استعمال الأنواع غير الممرضة من الفيوزاريوم أو الكائنات المضادة الأخرى ، والتى تقوم بالمقاومة الحيوية من خلال عدة طرق ، مثل : التنافس على المغذيات ، أو الحديد ، والتنافس على أماكن العدوى على الجذور ، أو انتاج مضادات حيوية .

هناك ميكانيكية أخرى لمقاومة ذبول الفيوزاريوم ، هى المقاومة المستحثة . لقد ذكر Gessler & Kuc سنة ١٩٨٢ أن المقاومة الجهازية فى الخيار ضد *Fusarium oxyspor-um f.sp. cucumerinum* يمكن أن تستحث عن طريق الحقن المبكر للأوراق الحقيقية الأولى بالفطر *Colletotrichum orbiculare* أو فيرس نكروزز الدخان . إن استعمال السلالات غير الممرضة من الفيوزاريوم للحث على المقاومة (يطلق عليها أحياناً المقاومة بالتضاد Cross - protection) فى النبات ضد ذبول الفيوزاريوم قد درست دراسة واسعة . الحقن المبكر بالأنواع غير الممرضة من الفطر *F.oxysporum* يحث على تكوين مقاومة موضعية أو جهازية ضد ذبول الفيوزاريوم فى البطيخ ، الخيار والطماطم . معظم هذه الدراسات ، لا تستثنى ميكانيكيات أخرى غير المقاوة المستحثة ، بسبب أن الكائن الممرض وعوامل المقاومة الحيوية لم تكن منفصلة عن بعضها فى المكان .

الأبحاث التى أجريت على الرايزوبكتيريا المشجعة لنمو النبات Plant growth - pro-moting rhizobacteria (PGPR) كعوامل مسببة للمقاومة الجهازية المستحثة In-(ISR) duced Systemic Resistance ضد كائنات ممرضة مختلفة تشمل الفطر *F.oxysporum* ، قد تم الوصول إليها حديثاً . لقد ذكر Van Peer *et al* سنة ١٩٩١ أن سلالات من أنواع البكتيريا *Pseudomonas sp.* تثبط ذبول الفيوزاريوم فى القرنفل . فى هذه الدراسة فإن الكائن الممرض قد حقن فى السيقان بعد أن تم إضافة الـ PGPR إلى الجذور .

لكى نحدد فيما إذا كانت الـ ISR هى ميكانزم للمقاومة الحيوية ، فمن الضرورى استعمال نظام الفصل المكانى Spatilly separation بين الـ PGPR والكائنات الممرضة ،

obeikandi.com

وذلك لأن الباحث لا يستطيع أن يستبعد إمكانية دور التضاد الحيوى أو المنافسة . كذلك يجب أن يشمل النظام أيضاً دخول الكائن المضاد بأى طريقة طبيعية على الجذور لمقاومة الكائنات الممرضة الكامنة فى التربة ، إذا كان العامل المدخل يستعمل أيضاً فى المقاومة الحيوية العملية .

إن طريقة الجذر المشقوق Split - root والتى تسمح بالفصل المكانى قد استعملت فى بعض الدراسات على الـ ISR . استعملت هذه الطريقة فى الدراسات على سلالات *F.oxysporum* غير الممرضة ، كدليل على المقاومة ضد ذبول الفير تسليم فى الطماطم والخيار . لقد ذكر Zhou & Paulitz سنة ١٩٩٤ أن ISR هى ميكانزم المقاومة الحيوية لعفن جذور الخيار المتسبب عن *Pythium aphanidermatum* بواسطة سلالات من PGPR ، معتمداً فى ذلك على دراسة طريقة الجذر المشقوق .

دراسة المقاومة الحيوية للمرض باستعمال طريقة الجذر المشقوق

أجريت الدراسات على نباتات الخيار ذات عمر أسبوعين ، حيث كشف عن جذور هذه النباتات وغسلت جيداً بالماء ، ثم بعد ذلك تشق الجذر بعناية إلى نصفين بسكين حاد جداً . النصف الأول يغمر فى ٢٠ مل معلق جراثيم الفطر الممرض *Fusarium oxyporum* f.sp *cucumerinum* (مسبب ذبول الخيار) ، النصف الثانى يغمر فى ١٠ مل من المعلق البكتيرى PGPR خاصة السلالة 89 B-27 من البكتيريا *Pseudomonas putida* أو السلالة 166-90 من البكتيريا *Serratia marcescens* ، يؤخذ الاحتياط التام لبقاء جزئى الجذر بعيدين عن بعضهما أثناء وبعد المعاملة . ينقل كل نصف من جهاز الجذر المستعمل إلى وعاء بلاستيكى قطر مسطحه ١٠ سم ، يكون النبات من أعلى مربوطاً بحيث لا ينفصل إلى جزءين . توضع الأوعية على بنشات تحت رطوبة عالية وحرارة ٢٥ °م لمدة ٥ – ٧ أيام، قبل نقلها إلى الصوبا الزجاجية .

أما بالنسبة لدراسة المرض ، تعد النباتات التى تموت بعد ٤–٦ أسابيع . لمعرفة انتقال البكتيريا ، تجرى تجربة بالمواصفات نفسها ، إلا أن الجذر يحقن بالسلالة L211 بدلاً من 89B 27 ، تحسب الأوراق والنباتات الميتة بعد ٤–٦ أسابيع . أما عن دراسة تأثيرات الـ ISR على حركة الكائن الممرض داخل النبات ، فتجرى عملية عزل من السلامية الأولى إلى الرابعة فى الساق ، وكذلك من حامل الورقة الأولى إلى الرابعة ، وذلك بعد ١–٥ أسابيع

من الحقن بالكائن الممرض . تشق أجزاء الساق وحامل الورقة وتجرى عليها عمليات العزل النموذجية في أطباق بترى ذات بيئة PDA ، وتحضن على ٢٥ °م لمدة ٥–٧ أيام ، وذلك لعزل الكائن الممرض . أما الجزء الثانى من الساق وحامل الورقة فيستعمل لعزل السلالة L211 التى تستعمل كدليل لبقاء نشاط الـ ISR . لكى نختبر فيما إذا كانت البكتيريا المحقونة فى أحد أجزاء الجذر قد انتقلت من الوعاء الذى يحوى الجذور المحقونة بالبكتيريا إلى الوعاء الآخر ، نحاول عزل السلالة L-211 من الجذور الخارجية فى كلا الوعائين بعد ١–٥ أسابيع من الحقن ، بالإضافة إلى أخذ أجزاء من السلاميات الأولى إلى الرابعة وأعناق الأوراق من الأولى إلى الرابعة .

بعد إجراء هذه التجارب تبين أن أعداد النباتات الميتة كانت منخفضة بشكل معنوى بعد المعاملة بـ PGPR سلالة 27 - 89B و 166-90 . كان متوسط أعداد النباتات الميتة فى الكنترول ٦٨ ٪ ، أما فى المعاملة فقد وصلت إلى ٣٨ و ٣٢ ٪ باستعمال السلالات السابقة بالترتيب . كذلك فإن السلالة L-211 سببت خفضاً معنوياً فى المرض . وفى جميع السلالات تأخر ظهور المرض .

لقد أمكن استعادة الكائن الممرض فى الأسبوع الخامس من داخل السيقان بين السلامية الأولى والرابعة ، ومن داخل حامل الورقة الأولى والثانية والثالثة فى النباتات غير المعاملة بـ PGPR . أما فى النباتات المعاملة بـ PGPR لم يمكن استعادة الكائن الممرض ، إلا فى منطقة قبل السلامية الأولى بعد ٤ أسابيع من المعاملة . لم يمكن استعادة السلالة L-211 من السيقان أو حوامل الأوراق .

مما سبق يتبين أن PGPR السلالة 27-89B و 166-90 ، والتى تحث على المقاومة الجهازية المستحثة ضد الكائنات المرضة فى الخيار على المجموع الجذرى ، تخفض بشكل معنوى ذبول الفيوزاريوم فى الخيار عند استعمالها كمعاملة جذور . هذا الخفض فى حدوث المرض يبدو أن له علاقة فى إعاقة أو تأخير حركة الكائن الممرض فى النباتات المعاملة بـ PGPR . إن طريقة الجذر المشقوق هى أفضل طريقة لدراسة المقاومة المستحثة بواسطة PGPR .

obeikandl.com

٣ - وقاية نباتات الخيار من مرض إنثراكنوز الخيار

يتسبب مرض انثراكنوز الخيار عن الفطر *Colletotrichum orbiculare* . يمكن إحداث مقاومة مستحثة فى الخيار ضد هذا المرض ، وذلك بمعاملة بذور الخيار بسلالات معينة من البكتيريا الجذرية المشجعة لنمو النبات PGPR . توضع بذور الخيار فى معلق بكتيرى بتركيز ١٠^{٨} CFU / مل ، لمدة ٣٠ دقيقة قبل الزراعة . عند استعمال المعلق البكتيرى على التربة مباشرة يحضر بتركيز ١٠^{٥} CFU / مل ، ويضاف إلى التربة بجانب كل نبات . السلالات التى تستعمل فى هذه الحالة ، هى سلالات البكتيريا الوميضة *P.fluorescens* ذات أرقام 89-B61 وكذلك 90-166 و INR-5 و ISR-5 . الجدول رقم (٥١) يبين المقاومة الجهازية المستحثة ونمو النبات الناتج من استعمال PGPR .

جدول رقم (٥١) : تأثير استعمال سلالات من PGPR فى المقاومة الجهازية المستحثة فى نبات الخيار فى مقاومة مرض الانثراكنوز.

السلالة البكتيرية المستعملة من البكتيريا الوميضة	سم طول الساق الجارية	عدد الأوراق لكل نبات	ملم مجمل قطع بقع الانثراكنوز لكل نبات	كغم الانتاج لكل نبات
89B-61	٩٢,٧	٦٣,٢	٣٤,٣	٢,٣٧
90-166	٩٦,٢	٦٤,٢	٤٥,	٢,٥٧
INR-5	٩٩,٥	٦٥	٣٦,٣	٢,٣٧
INR-7	٩٥,٩	٦٤	٢٩,٢	٢,٣٩
دون إضافة سلالات بكتيرية	٨٤,٩	٤٤,٧	١٥٣,٦	٢,٢
دون إضافة الفطر الممرض (إصابة طبيعية)	٨٩,٦	٥٥,٧	٦١,٩	٢,٠٠

٤ - وقاية الخيار من مرض التبقع الزاوى البكتيرى فى ورقة الخيار

مقدمة :

ينظر الآن إلى البكتيريا المشجعة لنمو النبات PGPR ، بأنها بكتيريا مستعمرة لجذور النباتات ، تنتمى إلى أجناس وأنواع مختلفة . أشهر السلالات التى درست تتبع إلى الجنس *Pseudomonas* و *Bacillus* . الدراسات التى أجريت على هذه البكتيريا أظهرت أن PGPR تشجع نمو النبات مباشرة عن طريق منظمات نمو نباتية، أو أنها تحث النباتات على امتصاص المواد الغذائية من التربة أو بطرقة غير مباشرة ، عن طريق انتاج سايدروفورز أو مضادات حيوية لوقاية النباتات من الكائنات الممرضة الكامنة فى التربة أو الرايزوبكتيريا الضارة .

الدراسات الحديثة التى أجريت على ميكانزمز المقاومة الحيوية ، باستعمال PGPR ، أظهت أن بعض سلالات PGPR تحفظ النبات من كائنات ممرضة مختلفة عن طريق المقاومة الجهازية المستحثة ISR فى النبات . هناك ثلاثة مجموعات من الباحثين ذكرت سنة ١٩٩١ أن PGPR يمكن أن تحث على تخليق مقاومة جهازية فى نظم مختلفة من النبات / الكائن الممرض . ذكر Peer *et al* سنة ١٩٩١ أنه يمكن الاعتماد على ISR فى القرنفل لمقاومة ذبول الفيوزاريوم وذلك باستعمال سلالة من *Pseudomonas* ، بينما Wei *et al* سنة ١٩٩١ ذكر أنه يمكن الاعتماد على ISR لمقاومة إنثراكنوز الخيار المتسبب عن *C.orbiculare* وغيرها كثير .

مقاومة المرض :

يتسبب مرض التبقع الزاوى فى الخيار عن البكتيريا *Pseudomonas syringae pv. lachrymans* . يقاوم هذا المرض حيوياً باستعمال الرايزوبكتيريا *Pseudomonas putida* السلالة 89B-27 أو السلالة 166-90 من البكتيريا *Serratia marcescens* . عند معاملة بذور الخيار بهاتين السلالتين يحدث خفض بشكل معنوى فى عدد وحجم البقع الزاوية على الأوراق مقارنة بالكنترول (جدول رقم ٥٢) . كان متوسط معدل الخفض فى مساحة البقعة ٥٣,٢ ٪ بعد المعاملة بالسلالة (89B-27) وكان حوالى ٦٠ ٪ بعد المعاملة بالسلالة (90-166) . عند معاملة البذور أو الفلقات بكلتا السلالتين ، انخفض تجمع الكائن الممرض من لوغاريتم ٨ وحدة تكوين مستعمرات / سم٢ فى نباتات الكنترول إلى لوغاريتم ٥,٥ وحدة

تكوين مستعمرات / سم٢ مع السلالة البكتيرية الأولى ، وإلى لوغاريتم ٦,٢ وحدة تكوين مستعمرات / سم٢ عند المعاملة بالسلالة البكتيرية الثانية . لا يوجد فرق معنوى فى نتائج الحقن ، سواء فى فلقات البادرة أو معاملة البذور بالبكتيريا قبل الزراعة . لوحظت البقع الموضعية المتحللة على الفلقات بعد خمسة أيام من الحقن بالكائن الممرض . لم يلاحظ تكشف أى بقع بعد الحقن بالرايزوبكتيريا . أما عن تجمع السلالتين (89B-27) و (90-166) فقد ازدادت بسرعة فى الفلقات بعد الحقن ، ووصلت إلى لوغاريتم ٩ وحدة تكوين مستعمرات / فلقة فى اليوم الرابع عشر بعد الحقن .

أما بالنسبة لطول مدة بقاء مفعول المقاومة الجهازية المستحثة ، فإن هذا يختلف حسب السلالة المستعملة كما فى (جدول رقم ٥٣) . السلالة 27 - 89B تخفض بشكل معنوى المجموع الكلى لقطر البقعة على النبات بالمقارنة مع الكنترول (النباتات التى لم تستعمل معها السلالة فى الطور الورقى الأول) . إن وقاية نبات الخيار بهذه السلالة ، بشكل عام ، يمكن أن يستمر من الطور الورقى الأول إلى الطور الورقى الخامس . كان متوسط الخفض فى قطر البقعة بعد المعاملة بالسلالة 27 - 89B ، ١٩,٧ ٪ بالمقارنة مع النباتات غير المعاملة بالكائن المضاد فى الطور الورقى الأول ويزداد فى الأطوار التالية حتى الخامس . أما الوقاية باستعمال السلالة 166-90 فهى أكثر اختلافاً عنه فى حالة السلالة الأولى ، حيث أن هذه السلالة تخفض متوسط قطر البقعة على النبات فى الطور الورقى الأول والثالث ، وإن متوسط الخفض باستعمال هذه السلالة يزداد من ٢٨ ٪ فى الطور الورقى الثانى ويصل إلى ٤٨,٧ ٪ فى الطور الورقى الخامس .

جدول رقم ٥٢ : حجم وعدد البقع المرضية على الخيار نوع Straight 8 الناتجة عن بكتيريا التبقع الزاوى بعد معاملة البذور بالرايزوبكتيريا *P.putida* **السلالة (89B-27) والسلالة 166-90** *S.marcescens* .

نوع السلالة المستعمل فى التجربة	عدد البقع / ورقة		ملم٢ مساحة البقعة	
	معاملة بذور	معاملة فلقات	معاملة بذور	معاملة فلقات
كنترول	١٥,٩	١٧,٥	٧٨	١٢٨
89B-27	٤,١	٧,٠	٢٢	٢٦
90-166	٥,١	٥,٢	١٨	٣٠

جدول رقم ٥٣ : مدة بقاء تأثير المقاومة الجهازية المستحثة فى نباتات الخيار بالأطوار الورقية .

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

ملاحظات على الجدول

السلالة 166-90 تتبع *Serratia marcescens* ، أما السلالة 89B-27 تتبع البكتيريا *Pseudomonas putida* .

٥ - وقاية نباتات الخيار والطماطم من الاصابة بفيرس موزايك الخيار

مقدمة :

كما هو معروف ، فإن الإصابة الموضعية التى تؤدى إلى الوقاية من الكائنات الممرضة ذات العلاقة مع المسبب لهذه البقع ، تسمى الوقاية بالتضاد cross protection ، أما الوقاية الناتجة عن كائنات غير ذات علاقة مع الكائن الممرض المسبب لهذه البقع الموضعية تسمى المقاومة الجهازية المكتسبة أو المستحثة (كما سبق فى الجزء الأول من الكتاب) . أجريت دراسات عديدة منذ أوائل السبعينيات ، فى هذا الموضوع ، وثبت أن المقاومة الجهازية لمدى واسع من الكائنات الممرضة ، يمكن أن تستحث فى النباتات المحقونة مسبقاً بكائنات ممرضة، مثل الفطريات ، البكتيريا والفيروسات ، الكائنات الممرضة غير التوافقة ، وذلك اعتماداً على المقاومة الجهازية المستحدثة أو المكتسبة .

لقد ثبت من بعض التجارب ، أن المقاومة فى الخيار ضد فيرس موزايك الخيار CMV ، يمكن أن تستحث عن طريق حقن النبات مسبقاً بكل من فطر الانثراكنوز *C.orbiculare*

وبكتيريا التبقع الزاوى فى أوراق الخيار *Pseudomonas syringae pv. lachrymans* أو فيرس نكروزز الدخان TNV . أظهرت الدراسات فى التسعينيات أن بعض الرايزوبكتيريا المشجعة لنمو PGPR ، أيضاً تعمل كحاثات للمقاومة الجهازية فى النباتات . فى جميع هذه الدراسات كان هناك فصل زمانى ومكانى بين استعمال بكتيريا (الرايزوبكتيريا) والكائن الممرض ، أدى إلى تخليق مقاومة جهازية ضد هذا الكائن المرض . لا يمكن أن تتواجد سلالات PGPR فى ساق أو أوراق النبات . هذا يؤدى إلى القول بأن الوقاية ضد أمراض الأوراق والسيقان بواسطة سلالات PGPR يرجع لبعض أشكال المقاومة الجهازية المستحثة ISR .

الوقاية من الاصابة بفيرس موزايك الخيار :

استعملت الرايزوبكتيريا 89B-27 *Pseudomonas fluorescens* و *Serratia marcesens* (90-166) والتى ذكرت فى كثير من الأبحاث بأنها تخلق مقاومة جهازية مستحثة ، فى نبات الخيار ضد بعض الأمراض الفطرية والبكتيرية ، وذلك لمعرفة كفاءتها فى وقاية الخيار من الإصابة (أو تكشف الإصابة) بمرض موزايك الخيار CMV .

عند معاملة بذور الخيار بسلالات PGPR ، فإنها تخفض باستمرار متوسط أعداد النباتات التى تظهر عليها أعراض الإصابة الفيروسية ، خفضاً معنوياً ، مقارنة مع نباتات الكنترول ، وذلك عندما حقن الفيرس فى فلقات البادرة . أما النباتات المعاملة بالرايزوبكتيريا المذكورة ، فإنه لم يتكشف عليها أعراض أولية خلال ١٤ يوم بعد الحقن بالفيرس وبقيت خالية من الفيرس . فى بعض الدراسات على الخيار ، لم يكن هناك امكانية لاكتشاف انتجين فيروسى باستعمال اختبار ELISA فى النباتات غير المظهرة للأعراض المعاملة بالرايزوبكتيريا ، بينما فيرس CMV كان واضحاً فى كل ورقة من أوراق النبات المظهرة للأعراض . كذلك فإن نفس السلالتين من PGPR قد تم دراستهما وتقديرهما لمعرفة تأثير CMV على تكشف الأعراض فى نباتات الطماطم . فى جميع التجارب فإن شدة الإصابة (المنطقة تحت المنحنى المتقدم للمرض (AUDPC) كانت أقل معنوياً بالنسبة للسلالة 89B-27 عنه فى النباتات غير المبكترة ، الكنترول . إن AUDPC بالنسبة للسلالة 166-90 كانت أيضاً منخفضة معنوياً ولكن أكثر من تلك الناتجة عن السلالة 27-89B . تدل هذه النتائج على أن PGPR يمكن أن تكون أكثر وضوحاً فى كفائتها عندما تدخل فى برامج وقاية النبات من الأمراض الفيروسة جدول ٥٤ ، ٥٥ .

جدول رقم (٥٤) : تأثير المقاومة الجهازية المستحثة الناتجة عن PGPR فى تخفيض تكشف أعراض CMV فى الخيار .

المعاملة	٪ عدد النباتات المظهرة للأعراض فى التجارب من ١–٥					
	١	٢	٣	٤	٥	المتوسط
فيروس فقط (كنترول)	٧٠	٦٠	٨٠	٩٠	١٠٠	٠
PGPR 90-166	٤٠	٦٠	٧٠	٧٠	٩٠	٦٦
PGPR 89B-27	١٠	١٠	٣٠	٦٠	٥٠	٣٢
بدون فيرس وبدون بكتيريا	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر

ملاحظات على الجدول :

أخذت النتائج بعد ١٤ يوم من حقن النبات بالفيرس . كانت تضاف الرايزوبكتيريا على البذور قبل زراعتها ثم بعد ثلاثة أسابيع تحقن البادرات بالفيرس . كانت تستعمل البكتيريا بتركيز يتراوح ما بين ٥ × $١٠^{٩}$ إلى ١ × $١٠^{١٠}$ وحدة تكوين مستعمرات / بذرة .

جدول رقم (٥٥) : تأثير استعمال PGPR فى تخفيض تكشف أعراض CMV على نباتات الطماطم .

المعاملة	متوسط شدة المرض الذى يظهر بعد الحقن بالفيرس بمدة (أيام)						
	١٨	٢٢	٢٦	٢٩	٣٢	٣٥	AUDPC
تجربة أولى كنترول	٥٨	٦٤	٧٠	٧٠	٧٤	٧٤	١١٤
تجربة أولى 89B-27	٣٠	٣٨	٤٤	٤٤	٤٤	٥٠	٧٠,٥
تجربة أولى 90-166	١٨	٢٢	٢٦	٢٦	٢٨	٢٨	٤١,٩
تجربة ثانية كنترول	٦٢	٦٢	٦٤	٦٤	٦٨	٦٨	١٠٩,٧
تجربة ثانية 89B-27	٤٠	٤٢	٤٤	٤٦	٤٦	٥٤	٧٥,٩
تجربة ثانية 90-166	١٦	١٨	١٨	١٨	٢٠	٢٠	٣٢,٧
تجربة ثالثة كنترول	٣٠	٥٠	٥٤	٥٤	٥٨	٥٨	٨٧,٢
تجربة ثالثة 89B-27	١٤	٢٢	٣٢	٣٢	٣٦	٣٦	٤٧,٨
تجربة ثالثة 90-166	١٠	١٦	١٦	١٦	١٦	١٦	٢٦,٠

obeikandi.com

ملاحظات على الجدول :

كـــان يتـــم حقن الفيرس فى الورقتين الأوليتين. كانت تحسب شدة المرض حسب المعادلة التى ذكرها Raupach *et al* سنة ١٩٩٦ .

٦ - مقاومة أمراض الخيار فى الحقل باستعمال الرايزوبكتيريا مع أو بدون التدخين بمركب الميثايل بروماید

مقدمة :

هناك دراسات كثيرة ، تمت على المقاومة الجهازية المستحثة ISR ، فى المعمل أو فى الصوبا الزجاجية . قليل من الدراسات التى طبقت تجارياً في الحقل . منذ السبعينيات بدأ استعمال مركب ميثايل بروماید بشكل كبير فى الزراعة ، وذلك بسبب ثباته وكفاءته فى مقاومة الأمراض والآفات الكامنة فى التربة ، تحت مدى واسع من رطوبة وحرارة التربة وأن تكلفته الاقتصادية منخفضة ، وسهولة تداوله فى الحقل . فى سنة ١٩٩٥ كان ميثايل بروماید ، واحداً من بين خمسة مواد كيماوية ، أكثر شيوعاً فى مقاومة الآفات فى الولايات المتحدة ، حيث بلغ الاستهلاك حوالى ٢٥-٢٧ ألف مليون طن سنوياً . بعد ذلك تبين أن لهذا المركب تأثير على سلامة الغلاف الجوى والأوزون ، بدأ حظر استعماله فى الزراعة وخفض انتاجه .

هناك مدخنات عديدة يمكن أن تكون بديلة للميثايل بروماید منها : Metam - sodium والذى يسمى (Vapam) ، Dichloropropene ، Chloropicrin ، Dazomet . ولقد تبين حديثاً أن ميثايل أيوديد ، هو المادة الفعالة جداً والتى تستعمل على نطاق واسع مثل ميثايل بروماید ، ولكن بالنسبة لاستعماله فى مقاومة الأمراض الكامنة فى التربة ، لا يزال هناك معارضة لاستعماله .

اتجهت الأبحاث فى السنوات الأخيرة إلى استعمال ISR كميكانزم فعال لمقاومة أمراض النبات ، حيث أن هذه المقاومة تستحث بواسطة الرايزوبكتيريا المشجعة لنمو النبات . عند معاملة بذور الخيار بالرايزوبكتيريا ، فإن هذا يؤدى إلى خلق ISR ضد العديد من الكائنات الممرضة فى الصوبا الزجاجية وفى الحقل . أجريت تجارب لمعرفة كفاءة الرايزوبكتيريا فى خلق ISR عند وجود الميثايل بروماید .

تأثير استعمال الرايزوبكتيريا :

بعد معاملة بذور الخيار بسلالات من PGPR . تعامل كمية من البذور بسلالة مفردة وكميات أخرى تعامل بخليط من سلالات *Bacillus* وسلالة ME-1 *Curtobacterium flaccumfaciens pumilus* INR-7 ، وسلالة GB03 من البكتيريا *Bacillus subtilis* .

عندما زرعت بذور الخيار فى تربة غير معاملة بميثايل برومايد ، فإن جميع البذور التى عوملت بالبكتيريا حدث فيها زيادة معنوية فى كمية النمو كما فى جدول رقم (٥٦ ، ٥٧) بالمقارنة مع الكنترول . أما عندما زرعت بذور الخيار فى تربة معاملة بالميثايل برومايد ، فإن بعض السلالات أعطت زيادة معنوية فى نمو نبات الخيار ، والسلالات الأخرى كان تأثيرها فى التربة المعاملة بالميثايل برومايد كما فى غير المعاملة من حيث طول مدادات النبات .

أما بالنسبة للأمراض التى تحدث طبيعياً على المجموع الخضرى (دون حقن صناعى) فهى الأمراض الآتية :

١ - مسبب التبقع الزاوى فى ورقة الخيار

1 - *Pseudomonas syringae* pv. lachrymans

٢ - مسبب مرض الانثراكنوز فى الخيار

2 - *Colletotrichum orbiculare*

تبين أن جميع المعاملات قد سببت خفضاً معنوياً فى شدة المرض على المجموع الخضرى مقارنة مع الكنترول مع أو بدون الميثايل برومايد . بذور الخيار التى عوملت بخليط من سلالات PGPR أعطت مستوى أعلى فى وقاية النباتات من الأمراض سواء فى التربة المدخنة بالميثايل برومايد أم غير المدخنة . تؤدى هذه النتائج إلى القول بأن المقاومة ISR لا تتأثر إذا ما ألغى استعمال ميثايل برومايد من عمليات تطهير التربة ، وتبقى فعالة فى وقاية النبات من الأمراض .

جدول رقم ٥٦ : تشجيع نمو بادرات الخيار ووقايتها ضد مرض التبقع الزاوى فى الورقة ، الذى يحدث طبيعياً دون تدخل الإنسان ، باستعمال الرايزوبكتيريا ، معاملة بذور ، مع أو بدون تدخين التربة بميثايل بروماid .

المعاملة	متوسط طول المدادات لنبات الخيار (سم)		دليل مرض البقعة الزاوية	
	مع ميثايل بروماید	بدون ميثايل بروماید	مع ميثايل بروماید	بدون ميثايل بروماید
كنترول	٥٩,٩	٥٠,٥	٣,٢٧	٣,١٢
INR-7	٨٩,١	٨٣,١	١,٤	١,٣٣
ME-1	٦٨,١	٧٥,٩	٢,٠٨	١,٩١
GBO3	٦٥,٧	٦٧,٧	٢,٠٥	١,٩٢
INR-7 + ME1	٧٦,٦	٨١,٠	١,٤٦	١,٥١
INR-7 + GB03	٧٥,٥	٧٨,٩	١,٣٥	١,٤
ME-1 + GB03	٧١,١	٧٧,٨	١,٩٨	١,٧٣
INR-7 + ME-1 + GB03	٥٩,٩	٨٥,٦	١,٢٥	١,٥

ملاحظات على الجدول :

كان يضاف ميثايل بروماید فى أماكن زراعة البذور (٣٣ ٪ كلوروبكرين + ٦٧ ٪ ميثايل بروماید) بنسبة ٣٩٣ كغم/هكتار ثم تغطى مباشرة بالبلاستك الأسود .

كان يقاس طول البادرات بعد ٣١ يوم من الزراعة . أما مقياس دليل المرض فكان يؤخذ بعد ٥٧ يوم من الزراعة كان يقسم هذا الدليل من صفر – ٥ حيث أن صفر = لا يوجد بقع . ١ = ٢٠ ٪ من مساحة الورقة مبقع ، ٢ = ٢٠ – ٤٠ ٪ من مساحة الورقة مبقع ٣ = ٤٠ – ٦٠ ٪ من مساحة الورقة مبقع ، ٤ = ٦٠ – ٨٠ ٪ من مساحة الورقة مبقع . ٥ = ٨٠ – ١٠٠ ٪ من مساحة الورقة مبقع .

obeikandl.com

جدول رقم (٥٧) : تشجيع نمو بادرات الخيار ، ووقايتها ضد مرض الانثراكنوز الذى يحدث طبيعياً دون تدخل الإنسان عند معاملة بذور الخيار بسلالات الرايزوبكتيريا وتزرع فى تربة مدخنة أو غير مدخنة بميثايل بروميد .

المعاملة	متوسط طول مدادات النبات (سم)		دليل المرض (من صفر – ٥)	
	مع ميثايل بروميد	بدون ميثايل بروميد	مع ميثايل بروميد	بدون ميثايل بروميد
كنترول	٤٧,٤	٣١,٩	٢,٨٣	٣,١
INR-7	٥٩,٧	٤٢,٢	١,٩١	١,٨٥
ME-1	٥٥,٥	٣٩,٧	٢,٢٥	٢,٢٧
GBO3	٥٨,١	٤٠,٩	٢,٠١	٢,١٩
INR-7 + ME1	٥٧,٧	٣٩,٩	١,٤٦	١,٢٤
ME-1 + GB03	٥٧,٤	٤٣,٨	١,٦٩	١,٤٢
INR-7 + GB03	٥٥,١	٤٤,٢	١,٦٨	١,٦٢
INR-7 + GB03 + ME1	٥٥,٧	٤٨,٢	١,٤٠	١,١٧

ملاحظات على الجدول :

كان يضاف ميثايل برومايد فى أماكن زراعة البذور (٣٣ ٪ كلوروبكرين + ٦٧ ٪ ميثايل برومايد) بنسبة ٣٩٣ كغم/هكتار ثم تغطى مباشرة بالبلاستك الأسود .

كان يقاس طول البادرات بعد ٣١ يوم من الزراعة . أما مقياس دليل المرض فكان يؤخذ بعد ٥٧ يوم من الزراعة كان يقسم هذا الدليل من صفر – ٥ حيث أن صفر = لا يوجد بقع . ١ = ٢٠ ٪ من مساحة الورقة مبقع ، ٢ = ٢٠ – ٤٠ ٪ من مساحة الورقة مبقع ٣ = ٤٠ – ٦٠ ٪ من مساحة الورقة مبقع ، ٤ = ٦٠ – ٨٠ ٪ من مساحة الورقة مبقع . ٥ = ٨٠ – ١٠٠ ٪ من مساحة الورقة مبقع .

ثانياً: مقاومة بعض أمراض القطن

١ - ذبول القطن

مقدمة :

يتسبب مرض ذبول القطن عن الفطر *Sclerotium rolfsii* . ينتشر هذا الفطر الممرض فى معظم بقاع العالم ، ويهاجم كثيراً من المحاصيل .

لقد تم تحديد ١٦ سلالة من بين ٤٠ سلالة من البكتيريا الوميضة PGPR (التى تكلمنا عنها كثيراً فى موضوعات سابقة) ، معزولة من رايزوسفير القطن ، ووجد أنها مضادة للفطر *Sclerotium rolfsii* . يكون مستوى تثبيط نمو الكائن الممرض منخفضاً عندما تزود البيئة الغذائية بكلوريد الحديد الثلاثى مع وجود الكائن المضاد . تنخفض أيضاً حيوية الأجسام الحجرية عند غمرها فى المعلق البكتيري أو راشح مزرعة خلايا الكائن المضاد . وجد أن عزلات البكتيريا الوميضة ساينوجنك ، وأن نواتج الميتابولزم تثبط فعلياً نمو الكائن الممرض فى تجارب الصوبا الزجاجية ، وجد أن العزلة FP-47 أكثر كفاءة فى تثبيط المرض .

جدول رقم (٥٨) : تأثير البكتيريا الوميضة فى خفض ذبول السكلوروشيم فى القطن تحت ظروف الصوبا الزجاجية.

العزلة	٪ متوسط عدد النباتات المريضة
Fp - 28	٢٩,٩
Fp - 43	٢٦,٦
Fp - 47	٩,٩
كنترول	٧٩,٩

لمعرفة تأثير عزلات البكتيريا على نمو الفطر المرض فى المعمل ، تستعمل بيئة PAF وتسمى آجار بسيدوموناس للبكتيريا الوميضة ، أو تستعمل بيئة King's B medium . يبين الجدول رقم (٥٨) مقدرة عزلات البكتيريا فى تثبيط نمو الفطر ، فى المعمل . وجد أن

٣٣ ٪ من عزلات البكتيريا تثبط نمو الفطر وتتراوح مساحة التثبيط Inhibition Zone من ٣ – ١٤ ملم . إن أفضل العزلات كفاءة فى تثبيط الفطر الممرض هى ذات الأرقام ٢٨ ، ٤٣ ، ٤٧ ويكون أفضل فعل لها عند عدم توفر الحديد فى البيئة ، وذلك لأن إمتصاص الحديد ينظم بواسطة السايدروفورز التى تفرزها البكتيريا ، وتقلل من توفر الحديد للكائن الممرض . كذلك فإن عزلات البكتيريا تثبط حيوية الأجسام الحجرية للفطر كما فى جدول رقم (٥٩). تزداد نسبة خفض الحيوية بازدياد مدة غمر الأجسام الحجرية فى المعلق البكتيرى ، وإن أقوى السلالات هى FP-47 .

مقاومة المرض :

عند دراسة تأثير البكتيريا على تثبيط المرض فى الصوبا الزجاجية . تعامل بذور القطن بعزلات البكتيريا الوميضة عن طريق غمرها فى المعلق الخلوي البكتيرى لمدة ٢٤–٤٨ ساعة ، ثم بعد ذلك توضع البذور على ورق نشاف لكى تجف هوائياً . وقد تبين من التجربة أن بذرة القطن تحمل من (٣,٨ – ٥,٩) × $١٠^{٩}$ وحدة تكوين مستعمرات . فى بعض التجارب العملية ، حضرت أوعية بلاستيكية ووضعت فيها تربة معقمة ومزجت الطبقة السطحية من تربة الوعاء بعمق ٦ سم بالأجسام الحجرية للفطر الممرض ، ثم زرعت بعد ذلك بذور القطن . بعد إنبات البذور بحوالى أسبوعين أخذت النتائج ، تبين أن سلالات البكتيريا الثلاثة تثبط حدوث المرض ، كما فى جدول رقم (٥٩) ، وبالتالى يمكن القول بإمكانية استعمال هذه السلالات فى مقاومة المرض فى الحقل مستقبلاً .

جدول رقم (٥٩) : تأثير سلالات البكتيريا الوميضة على نمو الفطر *S.rolfsii* فى المعمل وتأثير راشح المزرعة على حيوية ، ونمو الأجسام الحجرية للفطر بعد غمر هذه الأجسام فى المعلق البكتيرى.

السلالات المستعملة	ملم تثبيط فى البيئة PAF		٪ الأجسام الحجرية الحية والقادرة على الإنبات بعد غمرها فى المعلق البكتيرى لمدة من الزمن			
	+ PAF حديد ثلاثى	بدون PAF حديد ثلاثى	١ ساعة	٢٤ ساعة	٧ أيام	٢٤ يوماً
FP - 23	٢	٣	--	--	--	--
FP - 24	١٣	٩	--	--	--	--
FP - 25	٧	١٢	٧٧,١	٨١,٥	٦٤,٧	٣٥,٨
FP - 26	٨	١١	--	--	--	--
FP - 33	صفر	٥	٨١,٨	٥٣,٣	٦٣,٣	٤٤,٧
FP - 28	صفر	٨	٩٠,٠	٣٦,٧	٨٢,٣	٣١,١
FP - 43	٩	١١	١٠٠,٠	٢٦,٧	٣٠,٠	٦,٢
FP - 47	٥	٩	١٠٠	٢٧,٣	٣٦,٧	صفر
كنترول	--	--	١٠٠	٩٣,٣	١٠٠,٠	٨٠

٢ - سقوط بادرات القطن

مقدمة :

تعتبر الكائنات الممرضة التى تهاجم بادرات القطن مثل *Rhizoctonia solani* ، *Macrophomina phaseolina* ، *Xanthomonas campestris malvacearum* والفطر *Pythium* ، من المشاكل الكبيرة فى معظم أنحاء العالم . كثير من هذه الكائنات الممرضة تستطيع أن تعيش فى التربة لفترات طويلة ، خاصة فى وجود بقايا العائل ، وبالتالى فإنه من الصعب مقاومتها سواء بالمواد الكيماوية أو تربية أصناف مقاومة . فى الفترات الماضية حدث نجاح كبير فى المقاومة الحيوية للأمراض الكامنة فى التربة ، عن طريق استعمال البكتيريا

الوميضة *Pseudomonas fluorescens* ، عن طريق معاملة البذور بالمعلق الخلوى لهذه البكتيريا .

ثبت بأن العزلة BL915 من البكتيريا السابقة ، المعزولة من التربة ، فعالة ضد الفطر *R.solani* مسبب مرض سقوط البادرات فى القطن . الاختبارات التى أجريت على هذه العزلة لمعرفة الأساس الذى تبنى عليه مقدرتها فى المقاومة الحيوية ، أثبت أن هذه السلالة تنتج Pyrrolnitrin ، وهو من المضادات الحيوية ومن المنتجات الثانوية لعمليات الميتابولزم فى البكتيريا ، ومن المعروف أنه يثبط نمو الفطر *R.solani* وفطريات أخرى .

مقاومة المرض :

يقاوم مرض سقوط البادرات الرايزوكتونى فى القطن باستعمال البكتيريا الوميضة P.fluorescens سلالة F-11 و F-5 ، وكذلك باستعمال البكتيريا الوميضة *P.putida* .

لمعرفة تأثير البكتيريا الوميضة على نمو الفطر *R.solani* فى المعمل ، كان يزرع الفطر على نوعين من البيئات ، الأولى : King's broth (KB) والثانية : بطاطس – دكستروز – مرق . كانت توضع البيئة فى دوارق سعة ١٠٠ مل يوضع فيه ٢٠ مل بيئة ، ثم يضاف إليه ٠,١ ملم معلق بكتيرى بتركيز حوالى $١٠^{٧}$ / مل وحدة تكوين مستعمرات ، من سلالات مختلفة من البكتيريا الوميضة ، ثم يوضع فى الدورق نفسه قرص من مزرعة الفطر بقطر ٦ ملم ، ثم تحضن الدوارق على حرارة ٢٧ °م لمدة خمسة أيام ثم يدرس تأثير البكتيريا على الوزن الجاف لنمو الفطر .

يبين جدول رقم (٦٠) أن نمو الفطر ينخفض بشكل كبير ، ويكون أكبر فى بيئة مرق KB منه فى بيئة مرق PD فكانت نسبة الخفض فى الأولى ٥٣,٩٢٪ وفى الثانية ٧٥,٨٢٪.

عند دراسة تأثير البكتيريا الوميضة على إصابة البادرات بالمرض فى الصوبا الزجاجية . كانت توضع تربة معقمة فى أوعية بلاستيكية ذات قطر ٢٠سم، وكانت تلوث التربة بحوالى ٥٠ ملم من معلق مزرعة الفطر الممرض *R.solani* (تحتوى ١٠٠ ملغ وزن ميسيليوم طازج) ، ثم بعد ذلك كانت تزرع البذور المعاملة بالبكتيريا (سلالات مختلفة من البكتيريا الوميضة) بحيث تحمل كل بذرة حوالى $١٠^{٨}$ وحدة تكوين مزارع . يزرع فى كل وعاء

عشـــرة بــذور ، ثم بعد حوالى ٤ أسابيع تدرس النتائج . كانت النتائج كما فى جدول رقم (٦٠)، حيث إن ٥٢ ٪ من النباتات فى الكنترول ظهر عليها تعفن منطقة التاج ثم السقوط المفاجئ، بينما فى حالة النباتات المعاملة بالبكتيريا فتتراوح نسبة الإصابة من صفر إلى ٤٧٪.

مما ســبق يتبين أن السلالة F-11، هى أفضل السلالات فى كبح جماح المرض ثم يليها السلالة رقم F-5 . ولقد اقترح Laha *et al* سنة ١٩٩٢ استعمال *P.putida* فى مقاومة معظم أمراض القطن ، بعد أن أثبت فى تجاربه نجاح هذه البكتيريا فى التجارب الحقلية .

جدول رقم (٦٠) : تأثـــير الســـلالات المختلفة من البكتيريا الوميضة على النمو الميسيليومى للفطر *R.solani* على بيئات مختلفة ، وتأثير السلالة على نسبة المرض فى القطن فى الصوبا الزجاجية.

السلالة	ملغ متوسط الوزن الجاف للميسيليوم على بيئة		٪ بادرات قطن مصابة
	King's B broth	PD broth	
كنترول	٣٠٠	٢٩٠	٥٢,٦
F - 1	٩٠	١٣٨	--
F - 2	٧٠	١١٠	٢٣,٥
F - 3	٨٠	١٥٠	--
F - 4	٤٠	٢١٨	--
F - 5	١١٠	١٦٠	١١,٤
F - 6	١١٠	١١٥	١٦,٦
F - 7	٣٨	١٧٨	١٦,٥
F - 10	٧٥	١٣٠	٤٧
F - 11	٨٠	١٣٢	صفر

٣ - الذبول الفطرى والبكتيرى فى القطن

مقدمة :

لقد ذكر *Podile et al* سنة ١٩٨٨ أن هناك كائنات مضادة موجودة فى رازيوسفير نبات القطن لها دور كبير فى المقاومة الحيوية لأمراض القطن ، وتسبب زيادة فى نمو وانتاج النبات . من هذه الكائنات *Pseudomonas aeruginosa* ، *P.fluorescens* ، *Bacillus subtilis* . ولقد اختبرت هذه الكائنات المضادة ضد بعض الكائنات الممرضة للقطن ، منها :

1 - *Rhizoctonia solani*

2 - *Sclerotium rolfsii*

3 - *Fusarium solani*

4 - *Erwinia carotovora*

5 - *Xanthomonas citri*

وجد أن البكتيريا *P.aeruginose* لها كفاءة عالية فى تثبيط تكشف جميع الممرضات المذكورة سابقاً ، فى حين أن *B.subtilis* مضادة للفطريات فقط . أما *P.fluorescens* فهى تثبط جميع الممرضات السابقة باستثناء *F.solani* .

مقاومة الأمراض :

عزلت الميكروبات الممرضة لنبات القطن من نباتات القطن المصابة بالذبول ، ثم أعيد حقنها فى نباتات القطن فى الصوبا الزجاجية ، فأحدثت إصابة ثم بعد ذلك عزلت من النباتات ونميت على بيئة *PDA* . هذه الكائنات الممرضة هى :

1 - *Xanthomonas malvacearum.*

2 - *Rhizoctonia solani.*

3 - *Fusarium vasinfectum.*

4 - *Verticillium dahliae.*

أما بالنسبة للكائنات المضادة المستعملة فى المقاومة الحيوية ، فهى :

obeikandl.com

١ – السلالة ٤١ من البكتيريا *Pseudomonas fluorescens* .

٢ – السلالة ٢٣ من البكتيريا *Bacillus subtilis* .

٣ – السلالة ٢٦ من البكتيريا *Bacillus megatherium* .

٤ – البكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* .

نميت هذه البكتيريا على بيئة جلوكوز – ببتون – آجار ، محتوية ١٠ غرام ببتون و ١٠ غرام غلسرول و ٥ غرام كلوريد صوديوم و ٢٠ غرام آجار فى لتر ماء . كانت تلقح الأطباق النامية فيها الكائنات الممرضة بوضع أجزاء من الكائنات المضادة ، وتحضن على ٢٥–٢٨°م ، ثم درست نتائج التضاد بعد ثلاثة أيام . كانت النتائج كما فى جدول رقم (٦١) . تبين أن الثلاثة أنواع من البكتيريا المضادة تثبط نمو الأربعة كائنات الممرضة ، وكان التأثير الكبير للبكتيريا *B.subtilis* ثم *B.megatherium* . أما البكتيريا الرابعة فلم تستعمل فى تجارب المعمل وإنما استعملت فى التجارب الحقلية مباشرة .

أما بالنسبة لدراسة تأثير الكائنات المضادة على الكائنات الممرضة فى الحقل . فكانت تنقع بذور القطن (بعد تنظيفها وتطهيرها خارجياً) فى تخفيفات مختلفة من معلق مزرعة البكتيريا ١٠ ٪ ، ٢٥ ٪ ، ٥٠ ٪ لمدة ١٨ ساعة (كانت مزارع البكتيريا مكونة من ١٠ غرام ببتون + ١٠ مل غليسيرول + ٥ غرام كلوريد صوديوم + ١٠٠٠ مل ماء) ، ثم بعد ذلك تجفف على ورق نشاف ، ثم تزرع فى تربة الحقل مباشرة ، بعد التأكد من أن تربة الحقل ملوثة طبيعياً بالكائنات الممرضة ، وزيادة على هذا التلوث الطبيعى كانت تلوث صناعياً بإضافة أربعة أطباق بترى / م٢ من كل كائن ممرض .

درست النتائج بعد أسبوعين ، فوجد أن إنبات بذور القطن يزداد فى المعاملة التى استعملت فيها البكتيريا بتخفيف ١٠ ٪ (جدول رقم ٦٢) وأن ظهور البادرات فوق سطح التربة قد ازداد بنسبة استعمال الكائنات المضادة ، وأن استعمال كائنين مضادين معاً يكون تأثيرهما أفضل من استعمال كل منهما بمفرده ، وأن استعمال الكائن المضاد ضد الممرضين أفضل منه ضد ممرض واحد . أفضل تركيز لخفض شدة المرض هو ١٠ ٪ أيضاً (جدول رقم ٦٢) . وقد تم تثبيط جميع الكائنات الممرضة فى التربة ، بحيث انخفض تأثيرها على البادرات وعلى الإنبات ، وبالتالى على تكشف المرض ، وقد سببت المعاملات بالكائنات المضادة زيادة فى انتاج القطن (جدول رقم ٦٣) .

كان أفضل الكائنات المضادة للممرضات المذكورة سابقاً هى البكتيريا *B.subtilis* سلالة ٢٣ ثم *P.fluorescens* سلالة ٤١ .

جدول رقم (٦١) : تأثير استعمال البكتيريا المضادة على الكائنات الممرضة للقطن فى المعمل .

الكائنات الممرضة المستعملة فى الدراسة	٪ قطر منطقة التثبيط فى طبق بترى عند استعمال البكتيريا		
	P.fluorescens	*B.subtilis*	*B.megatherium*
Xanthomonas malvacearum	٢٦,٢٥	٣٥,٠٠	٢٣,٠٠
Rhizoctonia solani	٢٢,٠٠	٣١,٢٥	١٨,٧٥
Verticillium dahliae	٢٠,٢٥	٣٢,٥	٢٤,٢٥
Fusarium vasinfectum	٢٣,٢٥	١٩,٢٥	١٥,٢٥

جدول رقم (٦٢) : تأثير الكائنات المضادة على إنبات بذور القطن وعلى نمو البادرات فى التربة الملوثة بالكائنات الممرضة بعد ١٤ يوماً من الزراعة (على الصنف Kirgiziyaz) .

الكائنات المضادة	٪ إنبات البذور على تخفيف			ملم طول البادرات على تخفيف		
	١٠ ٪	٢٥ ٪	٥٠ ٪	١٠ ٪	٢٥ ٪	٥٠ ٪
Pseudomonas fluorescens	٩١,٦	٨١,٦	٥٧,٣	٧,٧	٥,٦	٣,٩
Bacillus subtilis	٩٨,٣	٨٨,٣	٥٨,٣	٨,٢	٥,٩	٤,٢
Bacillus megatherium	٩١,٦	٨٠,٠٠	٦٣,٣	٧,٤	٥,٢	٣,٧
كنترول	٧٦,٠٠	٧٦,٠٠	٧٦,٠٠	٦,٥	٦,٥	٦,٥

obeikandi.com

جدول رقم (٦٣) : تأثير استعمال الكائن المضاد على ظهور البادرات ، ظهور المرض ، وانتاج القطن فى الصنف (Kirgiziya 3) ضد الفطر *R.solani* والبكتيريا *X.malvacearum* .

الكائن المضاد المستعمل فى التجربة	٪ إنبات بذور فى وجود			انتاج غرام/نبات فى حالة وجود			٪ إصابة بالمرض فى حالة وجود		
	بكتيريا + فطر	فطر	بكتيريا	بكتيريا + فطر	فطر	بكتيريا	بكتيريا + فطر	فطر	بكتيريا
كنترول	٨٠	٨٠	٨٠,٠	٢٨,٨	٢٨,٨	٢٨,٨	٢٣	٢٣	٢٣
Pseudomonas fluorescens	٩٦,٧	٦٦,٧	٧٣,٣	٤٤,٨	٣٦,٦	٣٥,٢	٣,٠	٨	١٤
Bacillus subtilis	٩٣,٣	٨٣,٣	٨٠,٠	٤٣,٣	٣٥,٧	٣٥,٣	٣,٠	٧	١٥
Bacillus megatherium	٩٠,٠	٧٠,٠	٧٦,٧	٤٢,١	٣٦,٥	٣٢,٠	٦,٠	٨	٢٠

obeikandl.com

ثالثاً: بنجر السكر

سقوط البادرات

مقدمة :

يصاب بنجر السكر Sugar beat (الاسم العلمى *Beta vulgaris*) بمرض سقوط البادرات الذى يتسبب عن الفطر *Pythium* ، وقد سبق وذكرنا كثيراً عن أنواع هذا الفطر وطرق إصابتها لكثير من العوائل ، وذكرنا أسباباً كثيرة للاتجاه للمقاومة الحيوية ، بدلاً من الطرق التقليدية فى المقاومة .

تنبت الجراثيم الأسبورانجية للفطر *Pythium* بسرعة ، كاستجابة لإفرازات البذور أو الجذور وتهاجم أنسجة العائل بسرعة ، وبالتالى فإن بعض الأنواع النباتية مثل الخيار وبنجر السكر تكون قابلة للإصابة لسقوط البادرات خلال الأيام الأولى من الإنبات فقط . لقد استعملت التركيبات ذات الأشكال الكروية التى تحوى عامل المقاومة الحيوية الفطرية لتقاوم الكائنات الممرضة ، هذه الكرات استعملت مع *Pythium oligandrum* لخفض إصابة بادرات بنجر السكر بالسقوط المفاجىء .

مقاومة المرض :

يقاوم مرض سقوط بادرات بنجر السكر المتسبب عن الفطر *Pythium ultimum* باستعمال البكتيريا المضادة *Pseudomonas putida* سلالة 40 RNF ؛ حيث تضاف على كرات البذور وتؤدي إلى خفض حدوث المرض . إن استعمال تركيز ٦ × ١٠^{٧} وحدة تكوين مستعمرات/ كرة بذور من السلالة 40-RNF يخفض الإصابة بالفطر من ٧٠ ٪ إلى ٢٦ ٪ عندما تزرع البذور فى تربة محقونة صناعياً (٢٥٠ وحدة تكاثر من الفطر *P.ultimum* / غرام تربة جافة) . تعتمد كفاءة السلالة 40-RNF على الكثافة التى تستعمل بها فى كرات البذور (بمعدل ٢ × ١٠^{٤} إلى ٦ × ١٠^{٨} وحدة تكوين مستعمرات لكل كرة بذور)، وعلى عدد وحدات التكاثر للفطر الممرض فى التربة . السلالة المضادة 40-RNF ينخفض عددها أو تتوقف عن التنافس ، عندما تصل إلى التركيز ١٠^{٦} وحدة تكاثر / كرة بذور وهذا يكون بعد ثلاثة أيام من الزراعة ، ويعتمد على كثافة اللقاح . هذا يدل على أن الوقت الحرج الذى تتم خلاله مقاومة مرض بادرات بنجر السكر المتسبب عن *P.ultimum* هى الفترة من ٣ – ٤ أيام بعد الزراعة . إن السلالة 40-RNF تخفض العملية الاستعمارية لغلاف البذرة من قبل الفطر الممرض بنسبة ٤٣ ٪ خلال ٤٨ ساعة بعد الزراعة ، وتسبب

خفضاً يقدر بحوالى ٦٨ ٪ فى عدد الأسبورانجيات للفطر المرض فى التربة المحيطة بالبادرة (على بعد من صفر إلى نصف ملم) ، كذلك فإنها تخفض سقوط البادرات قبل وبعد ظهورها فوق سطح التربة من ٦٩,٥ ٪ فى الكنترول إلى ٣٧,٥ ٪ فى المعاملة . هذه النتيجة تقارب نتيجة استعمال المبيد الفطرى Hymexazol ؛ حيث يخفض الإصابة من ٦٩,٥ ٪ إلى ٤٠ ٪ فى المعاملة جدولى (رقم ٦٤ ، ٦٥) .

جدول رقم (٦٤) تأثير البكتيريا المضادة *P.putida* 40 RNF على استعمار قشرة بذور بنجر السكر بالفطر P.ultimum مسبب سقوط البادرات .

تركيز البكتيريا	٪ استعمار قشرة البذرة بالفطر الممرض بعد فترة			
	١٢ ساعة	٢٤ ساعة	٤٨ ساعة	٩٦ ساعة
٣ × ١٠^{٧} Cfu / بذره	٢	١٦	٢٢	٥٨
كنترول	٢٢	٥٨	٦٥	٧٨

ملاحظات على الجدول : كانت تزرع البذور فى تربة محقونة بالفطر الممرض تركيز ٢٥٠ وحدة تكاثر/غرام تربة.

جدول رقم (٦٥) : تأثير زيادة عدد الأجزاء التكاثرية للفطر الممرض على مقاومة مرض سقوط البادرات باستعمال البكتيريا المضادة *Pseudomonas putida* سلالة 40RNT . البذور معاملة بنسبة ٥ × ١٠^{٧} وحدة تكوين مستعمرات لكل كرة بذور ، ومزرعة فى الأرض الملوثة بالفطر الممرض بالتركيزات المذكورة فى الجدول . النتيجة بعد ١٤ يوماً من الزراعة .

تركيز الفطر كرة فطرية لكل غرم تربة	٪ سقوط بادرات	تركيز البكتيريا	٪ سقوط بادرات عند معاملة التربة ٢٥٠ كرة فطرية / غرام تربة
٢٠٠	٣٧	٢ × ١٠^{٤}	٥٨
٢٥٠	٤٠	٢ × ١٠^{٦}	٤٠
٥٠٠	٥٣	٢ × ١٠^{٧}	٢٢
١٠٠٠	٧٣	٢ × ١٠^{٨}	١٤,٠
٢٠٠٠	٩٠	٢ × ١٠^{٨}	١٥,٣
كنترول	٩٢	كنترول	٧٨

ملاحظات على الجدول :

الجزء الأول من الجدول ، والذى هو تركيز الفطر مع النسبة المئوية لسقوط البادرات ، تجربة لوحدها غير مرتبطة مع الجزء الثانى من الجدول ، وهو تركيز البكتيريا مع النسبة المئوية لسقوط البادرات .

رابعاً: وقاية نباتات الدخان من فيرس نكروزز الدخان باستعمال السلالة CHAO

مقدمة :

تعتبر السلالة *Pseudomonas fluorescens* CHAO ، عامل فعال في المقاومة الحيوية للمرض الماحق (take-all) فى القمح المتسبب عن *Gaeumannomyces graminis var. tritici* فى الحقل ، وأمراض أخرى تتسبب عن كائنات ممرضة كامنة فى التربة وفى تجارب الصويا الزجاجية . تنتج هذه السلالة سايدروفور Pyoverdine (Pvd) ، حمض السلسليك ، أندول أسيتيت ومواد سامة أخرى ناتجة عن الميتابولزم ، مثل HCN ، 2,4 dia-cetylphloroglucinol (PhI) و Pyoluteorin (PIt) .

درس تأثير كل من HCN و PhI فى تثبيط شدة مرض العفن الأسود فى الدخان ، درس تأثير PhI فى تثبيط المرض الماحق فى القمح . وجد أن Pyoverdine ، على أية حال، لا يثبط المرض معنوياً . أما السلالة CHA 400 ، والتى لا تنتج Pyoverdine ، (وهى طفرة من CHAO) تثبط مرض العفن الأسود فى الدخان والمرض الماحق فى القمح ، بكفاءة تشبه كفاءة النوع الأصلى . يوجد فى السلالة CHAO جين من (0.8 kb) يسمى *gacA* (global activator) والذى ينظم تعبيرات منتجات التمثيل الثانوية . لقد عرف هذا الجين ودرس جيداً ، وتبين أنه يوقف انتاج كل من HCN ، PhI و PIt ، ووجوده فى السلالة CHAO يؤدى إلى فقد كفاءتها فى وقاية الدخان من عفن الجذر الأسود المتسبب عن الكائن الممرض *Thielaviopsis basicola* .

هناك دليل مفصل عن تأثير السلالة CHAO على ميتابولزم النبات فى غياب الكائن الممرض لا مجال لذكره هنا . فى حالة وجود السلالة CHAO ، تظهر جذور الدخان زيادة فى تكوين الشعيرات الجذرية مقارنة مع النباتات النامية فى غياب البكتيريا .

نظراً لأن هذه السلالة ، يمكنها أن تتواجد فى قشرة الجذر ، فإن عمليات التمثيل ، من الممكن أن تصب فى النبات ، ويمكن أن تؤدى إلى زيادة المعاناة فى النبات . من المعروف أن هذه المعاناة ، يمكن أن تخلق ميكانزم دفاعى ضد الكائنات الممرضة ، مثل هذه المعاناة ، من الممكن أن تتسبب بواسطة PIt و PhI وهما مركبان سامان للنبات يفرزان بواسطة السلالة البكتيرية CHAO . هناك عامل آخر ينبه المقاومة الجهازية المستحثة ، هو

obeikandi.com

حمض السلسليك المفرز من هذه السلالة . كذلك فإن حمض السلسليك المضاف على الأوراق ، يمكن أيضاً أن يكون اشارة داخلية للنبات والتى تتحرك من مكان الإصابة إلى أجزاء أخرى من النبات وتخلق المقاومة الجهازية المكتسبة .

وقاية نبات الدخان من فيرس نكروزز الدخان :

نتيجة الأبحاث المستمرة ، تبين أن السلالة CHAO من البكتيريا *Pseudomonas fluorescens* تثبط شدة أمراض عديدة فى النباتات ، متسببة عن كائنات ممرضة كامنة فى التربة ، وهى أيضاً يمكن أن توقف بعض أمراض المجموع الخضرى . أجريت تجربة على نباتات الدخان ، حيث استعمل *Nicotiana glutinosa* ونوعين من *N.tabacum* . كانت هذه الأنواع قد زرعت فى تربة طبيعية معقمة بالأوتوغليف ، ثم حقنت قبل زراعتها بالدخان ، بالسلالة CHAO . زرعت نباتات الدخان بعد حقن البكتيريا بحوالى ٤٠ يوماً . كانت النتيجة أن كل النباتات المختبرة ، أظهرت مقاومة فى الأوراق ضد الإصابة بفيرس نكروزز الدخان (TNV) ، بدرجة تشبه إلى حد ما النباتات التى حصل فيها وقاية بالتضاد Cross protection حين حقنت مسبقاً بسلالة ضعيفة من TNV .

أظهرت الاختبارات التحليلية أن نفس الكمية من البروتينات المتعلقة بالمرضية PRs المجموعات PR-1 ، B 1,3 - glucanases و Endochitinases ، كانت قد استحثت فى السائل بين الخلايا فى أوراق النبات النامية فى وجود السلالة CHAO كما هو موجود فى السائل الذى بين الخلايا فى النباتات التى قد حصل لها وقاية بالتضاد . أمكن اعادة عزل السلالة CHAO من الجذور ، ولكن لم يمكن اكتشافها فى السيقان أو الأوراق . السلالة CHA 96 ذات الجين *gacA* وهى طفرة سالبة من السلالة CHAO ينقصها انتاج المضادات الحيوية ولا تستطيع كبح شدة مرض العفن الأسود فى الجذر ، تبين أن لها نفس الكفاءة فى تخليق PRs والمقاومة ضد TNV كما تفعل سلالة النوع البرى . أما السلالة CHA 400 التى لا تنتج Pyoverdine ، وهى طفرة من السلالة CHAO لها نفس الكفاءة فى كبح شدة مرض العفن الأسود فى الجذر فى الدخان والمرض الماحق فى القمح ، كما فى حالة سلالة النوع البرى ، وهى قادرة على حث تخليق PRs ، وهى ذات مقاومة جزئية ضد فيرس TNV . أما السلالة P3 ، وهى سلالة أخرى من النوع الأصلي للبكتيريا *P.fluorescens* وهى لا تستطيع أن تثبط الأمراض المتسببة عن كائنات ممرضة كامنة فى التربة ، وهى لا تحث على المقاومة ولا على تخليق PR s فى الدخان .

obeikandl.com

جدول رقم (٦٦) : تأثير معاملة التربة بالسلالة CHAO من البكتيريا *P.fluorescens* ومشتقاتها CHA 96 التى ينقصها الجين *gacA* والسلالة CHA 400 التى تنقصها Pyoverdine ، على نكروزز الورقة فى أنواع نبات الدخان المتسبب عن الفيرس TNV .

المعاملة	عدد البقع لكل ورقة	ملم متوسط قطر البقعة	٪ المساحة المتحللة من الورقة	انتاج PRs	نشاط B-1,3 Glucanase	نشاط Chitinase
١ – نوع الدخان البرى زانثا						
كنترول للاصابة بالفيرس	١٤٢	١,٤	١٠٠	–	١,٠	١,٠
المقاومة بالتضاد	٢٠	٠,٦	١٧	+	١٤,٠	٥,١
السلالة CHAO	٢٥	٠,٨٥	٢٠	+	٦,٦	٣,٨
السلالة CHA 96	٢٨	٠,٨٥	٢٣	+	٥,٢	٥,٥
السلالة CHA 400	٩٨	١,٣	٥٤	+	٣,٤	٢,٥
السلالة P3	٩٥,٣	٠,٨	٨٥	+	١,٤	١,٣
٢ – نوع الدخان (بارلى ٦٣)						
كنترول	١٢,٠	١,٣	١٠٠	–	١,٠	١,٠
مقاومة بالتضاد	٣,٥	٠,٦٥	٩	+	٢,١	٣,٢
السلالة CHAO	٤,٥	٠,٨	٢١	+	٢,١	٢,٣
السلالة CHA 96	٥	٠,٧	٩	+	٢,٠	٤,٤
السلالة CHA 400	١٣	١,٦	٦٦	+	٢,٧	٣,٤
٣ – الدخان الأصلى *N.glutinosa*						
كنترول	١٨,٥	١,٣	١٠٠	دون	١,٠	١,٠
المقاومة بالتضاد	٢,٥	٠,٧	١٠	دون	٥,٨	٢,٣
السلالة CHAO	٣,٥	٠,٨	١٨	دون	٤,٩	٢,٥
السلالة CHA 96	٣,٥	٠,٨٥	٣٢	دون	٣,٢	٢,٦
السلالة CHA 400	١٥,٥	١,١	٦٩	دون	٨,٣	٣,٢
السلالة P3	٢٦	١,٣	٨٤	دون	٠,٦	١,٠

obeikandl.com

ملاحظات على الجدول :

يقصد بالمقاومة بالتضاد أن النباتات كانت قد حقنت بالفيرس المضعف على الأوراق السفلية ثم بعد سبعة أيام تحقن بنفس الفيرس غير المضعف الأوراق العلوية . كانت تحسب الأعراض فى الأوراق العلوية بالنسبة للنشاط :

B - 1,3 - Glucanase كان يحسب كالآتى :

١ = ٨ وحدات / غرام من الورقة بالنسبة للصنف الأول

١ = ٦ وحدات / غرام من الورقة بالنسبة للصنف الثانى

١ = ١٠ وحدات / غرام من الورقة بالنسبة للصنف الثالث

Chitinase

١ = 28 pkat / غرام من الورقة بالنسبة للصنف الأول

١ = 33 pkat / غرام من الورقة بالنسبة للصنف الثانى

١ = 34 pkat / غرام من الورقة بالنسبة للصنف الثالث

أما بالنسبة لتحلل الورقة

١٠٠ ٪ تعنى ٢٠٠ ملم٢ متحلل من سطح الورقة فى الصف الأول

١٠٠ ٪ تعنى ٩٥ ملم٢ متحلل من سطح الورقة فى الصف الثانى

١٠٠ ٪ تعنى ٤٢ ملم٢ متحلل من سطح الورقة فى الصف الثالث

إن استعمار جذور نباتات الدخان بالسلالة CHAO ومشتقاتها بالإضافة إلى اصابة الورقة بالفيرس TNV تسبب زيادة فى حمض السلسليك فى الأوراق . تبين هذه النتائج أن استعمار جذور الدخان بواسطة السلالة CHAO تخفض النكروزز المتكون فى الأوراق من الفيرس TNV وتخلق تغيرات فسيولوجية فى النبات ، إلى حد ما ، كما تخلق مقاومة جهازية عن طريق حقن الورقة بالفيرس TNV .

لقد تبين من التجارب العلمية الوراثية أن الجين البكتيرى *gacA* والذى يكون مهماً فى وقاية الجذور ليس له تأثير على تخليق مقاومة فى الورقة ولا على الانتاج البكتيرى للسايدروفور Pyoverdine والذى ليس له دور فى وقاية الجذر ، يتدخل فى تخليق مقاومة فى الأوراق (جدول رقم ٦٦) .

خامساً: الطماطم

١ - سقوط البادرات المتسبب عن بثيم

مقدمة :

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

مقاومة المرض :

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 رقم ٦٧) بالمقارنة مع الكنترول . أما 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 الانتاج لمادة Pyoverdin (MPFM1) ، نسبة الإنبات ٨٢ ٪ ، والطفرة (K5) KMPCH سالبة الانتاج لكل من Pyoverdin و Pyochelin (نسبة الإنبات ٨٤ ٪) ، والمضاف إليها صفة انتاج الـ Pyochelin . أما الطفرة KMPCH السالبة الانتاج للمادتين المضادتين ، فهى أيضاً 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 ٦٧) . 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 ، لا يكون بسبب ضعف مقدرتها على استعمار الجذر ، وإنما بسبب ضعف انتاجها للمواد المثبطة المذكورة سابقاً فى منطقة الرايزوسفير بعد ٩ أيام من ظهور البادرات فوق سطح التربة فى الاختبارات الحيوية .

يمكن القول باختصار أن إنتاج الـ Pyoverdin ليس ضرورياً للمقاومة الحيوية فى السلالات المنتجة لمادة Pyochelin ، أما السلالات التى لا تنتج أياً من الـ Pyoverdin أو الـ Pyo- chelin مثل KMPCH من *P.aeruginosa* ، فإن 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 السلسليك أسد والسايدروفورز .

جدول رقم (٦٧) : تأثير البكتيريا P.aeruginosa السلالة 7NSK2 ، ومشتقاتها السالبة الانتاج لـ Pyoverdin و / أو 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			الانتاج الكلى من المضادات	
		١ يوم	٤ أيام	٩ أيام	Pyoverdin	Pyochelin
بدون بكتيريا وبدون فطر	٩٨	٩٨	٩٨	٩٨	--	--
فطر ممرض بدون 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	--	+

٢ - وقاية الطماطم من فيرس تبرقش الطماطم

Tomato Mottle Virus (ToMov)

مقدمة :

تبنى استراتيجية وقاية النبات من الأمراض الفيروسية ، على استعمال الأصناف المقاومة وراثياً ، العمليات الزراعية المختارة ، مقاومة الحشرات الناقلة للفيرس أو هذه العوامل مجتمعة . استعمل حديثاً طريقة الوقاية بالتضاد Cross protection ، والنباتات المهندسة وراثياً والتى تظهر فيها تركيبات فيروسية فقط أو بروتينات غير تركيبية للفيرس . بالنسبة لاستعمال الأصناف المقاومة وراثياً ، هى أفضل الطرق المستعملة اقتصادياً وبيئياً ، إلا أن الأصناف التجارية المقاومة وراثياً ، لا تكون دائماً متوفرة . أما بالنسبة للوقاية بالتضاد ، فقد نجحت مع عديد من نظم فيرس / عائل ، ولكن هذه الطريقة لا تكون عملية أو ملائمة مع بعض المحاصيل ، ويكون لها مخاطر واضحة مرافقة لحقن المحصول بالعامل المعدى . أما بالنسبة للهندسة الوراثية فى النباتات ، فإنه للحصول على نباتات مقاومة للفيرس ، لا تزال الأبحاث فى هذا المجال غير موفقة إلى نتيجة ايجابية . هناك نوع من الكوسا حصل فيه تغيرات وراثية ويستعمل تجارياً ، هذا ما وجده Tricoli *et al* سنة ١٩٩٥ ، حيث اشترك فى البحث عشرة علماء . أما عن طريق مقاومة العوامل الحشرية الناقلة للفيرس ، فهى أيضاً ذات مآخذ كثيرة، منها تلوث البيئة ، والأثر المتبقى السام على المحصول . وبالتالى يبقى أمام الباحثين ، استعمال المقاومة الجهازية المكتسبة SAR أو المقاومة الجهازية المستحثة ISR .

لقد ذكر Maurhofer *et al* سنة ١٩٩٤ أنه يمكن استعمال *P.fluorescens* كعامل حاث للمقاومة ضد فيرس نكروزز الدخان (TNV) ، فى الدخان ، ولقد لاحظوا أيضاً خفضاً فى عدد البقع المتكونة على النباتات المعاملة بالرايزوبكتيريا . كان Raupach *et al* سنة ١٩٩٦ أول من ذكر أن معاملة بذور الخيار أو الطماطم بالرايزوبكتيريا PGPR ، يؤدى إلى تخليق مقاومة جهازية ضد الإصابة الجهازية بفيرس موزايك الخيار CMV ، كما ذكر Zehnder *et al* سنة ١٩٩٩ تعريفاً لسلالات PGPR التى تقى الطماطم من الإصابة الجهازية بفيرس موزايك الدخان تحت ظروف الصوبا الزجاجية والحقل .

تنقل الذبابة البيضاء whitefly فيروسا Geminiviruses فى الطماطم ، ونظراً لصعوبة مقاومة هذه الحشرة ، فإن المرض إنتشر بنسبة ١٠٠ ٪ فى ولاية فلوريدا ، وسبب خسائر

تقدر ١٤٠ مليون دولار سنة ١٩٩٠ و ١٩٩١ . وكذلك نظراً لعدم توفر أصناف مقاومة وراثياً لهذا المرض ، فإن مقاومته أصبحت معقدة كثيراً حيث أن الذبابة البيضاء يظهر فيها سلالات مقاومة للمبيدات الحشرية ، وكذلك صعوبة الدراسة البيولوجية للحشرة . عند استعمال المبيدات الحشرية الجهازية ، فإن ذلك يؤدى إلى التخلص من الذبابة البيضاء وجميع الأمراض الفيروسية المنقولة بهذه الذبابة .

الدراسات التى أجريت لتقدير كفاءة المقاومة الناتجة بواسطة PGPR وهى المقاومة الجهازية المستحثة ISR ، فى الطماطم ضد الاصابة بفيرس تبرقش الطماطم (ToMov) ، تحت الظروف الحقلية ، تبين أن معاملة نباتات الطماطم بسلالة معينة من PGPR ، يخفض فى بعض الحالات شدة المرض وزيادة على ذلك ، فإن المعاملة ببعض هذه السلالات يزيد من انتاجية ثمار الطماطم فى القطفات الأولى من الثمار .

وقاية نباتات الطماطم من الاصابة بالفيرس :

تستعمل سلالات البكتيريا PGPR على شكل تشكيلات مصنعة ، إما أن تكون على شكل مسحوق أو على شكل كرات صغيرة . تضاف هذه التركيبات على بذور نباتات الطماطم . قدرت فعاليتها تحت الظروف الحقلية ، على احداث مقاومة لفيرس تبقع الطماطم. السلالات التى أجريت عليها التجارب ، أثبتت فعاليتها فى تجارب سابقة من حيث مقدرتها على تخليق مقاومة جهازية مستحثة ، هذه السلالات هى :

1 - *Bacillus amyloliquefaciens 937a*

2 - *Bacillus subtilis 937 b*

3 - *Bcillus pumilus SE 34*

درست جميع النباتات من حيث ظهور الأعراض وحللت لمعرفة وجود ToMov DNA بعد ٤٠ يوم من نقل البادرات إلى الأرض الزراعية . قدرت كثافة وجود الذبابة البيضاء لكل نبات وكمية الثمار مرتين على الأقل فى الموسم (جدول رقم ٦٨) .

حدث أحسن وقاية للنباتات ضد فيرس ToMov عند استعمال البكتيريا على شكل كرات صغيرة . تبين أنه تحت الظروف الطبيعية والمستويات العالية من توفر العامل الناقل للفيرس ، فإن بعض سلالات الرايزوبكتيريا تؤدى إلى خفض وجود الفيرس وشدة المرض ،

وفى كثير من الأحيان تسبب زيادة فى إنتاج الثمار . وبالتالى يمكن وضع سلالات الرايزوبكتيريا فى برامج وقاية نباتات الطماطم ضد الاصابة بالفيرس المذكور تحت ظروف الحقل لكى تستعمل تجارياً فى الأسواق .

جدول رقم (٦٨) : تأثير استعمال سلالات من الرايزوبكتيريا فى وقاية نباتات الطماطم من الاصابة بفيرس ToMoV ، وتأثير ذلك على انتاج نباتات الطماطم .

السلالة البكتيرية المستعملة فى الوقاية	عدد الحشرات/نبات خلال موسم النمو			الانتاج كيلو غرام/عشرة نبات	معدل شدة المرض
	زاحفة	حورية	Pupae		
كنترول	١٣,٧	٣٩,٢	١٤,٠	٣٨	٢,٦
معاملة بذور 937a	١٤,٠	٢٦,٠	١٦,٧	٣٦	٢,٧
معاملة بذور 937b	٧,٦	١٦,٧	٦,٠	٣٧	٢,٦
مسحوق 937a	٦,٢	١٨,٢	٦,٠	٤٨	١,٣
مسحوق 937b	١١,٥	١٨,٧	٢,٥	٥٥	١,٤
مسحوق + معاملة بذور 937a	١٠,٢	٢٣,٢	٩,٥	٤٦	١,١
مسحوق + معاملة بذور 937b	١١,٢	٣٦,٠	١٣,٥	٤٠	١,٥
مسحوق SE 34	٨,٠	٢١,٠	١٥,٧	٣٨	٢,٣
معاملة بذور SE 34	٢٣,٣	٢٨,٣	١٨,٣	٤٠	٢,٢
مسحوق + معاملة بذور SE 34	٧,٧	١٦,٣	١٨,٠	٤٢	٢,١

ملاحظات على الجدول :

كانت تضاف البكتيريا بتركيز ١ × ١٠^{٧} وحدة تكوين مستعمرات / مل . كانت تعد أفراد الحشرة بعد نقل الشتلات بحوالى ٢٢ يوم . كانت تقسم شدة المرض من صفر إلى خمسة . حيث أن صفر = لا يوجد أعراض ، ١ = تبرقش خفيف على الأوراق الحديثة ، ٢ = يظهر بقع على الساق الرئيسى ، ٣ = يظهر بقع على معظم النبات ، ٤ = تشوه كبير فى جميع أوراق النبات ، ٥ = تشوه كل الأوراق وتقزم النبات . كانت تؤخذ الأعراض بعد ٤٠ يوم من النقل .

obeikandl.com

سادساً : الفجـــل

ذبول الفيوزاريوم فى الفجل

مقدمة :

يزرع الفجل *Raphanus sativus* فى بعض البلدان الأوروبية فى الصوبات الزجاجية بصورة اقتصادية على مدار السنة ، بحيث يجمع حوالى تسع مرات فى السنة ، وقد تصل إلى ١٥ مرة . تكون فترة نمو الفجل خلال فصل الصيف ثلاثة أسابيع تزداد تدريجياً حتى تصل ٦ أسابيع فى الشتاء . وهذا يعتمد على الأصناف التى تستعمل فى الزراعة ، حيث إن هناك أصنافاً مختلفة ، كل صنف متلائم مع الظروف البيئية للموسم الذى يزرع فيه .

يصاب الفجل بمرض ذبول الفيوزاريوم ، وهذا المرض وعائى يتسبب عن الفطر *Fusarium oxysporum f.sp.raphani* كان يسمى سابقاً *Fusarium oxysporum f.sp conglutinans* سلالة رقم ٢ . تظهر الأعراض على شكل تلون فى نسيج الخشب باللون البنى و / أو الأسود فى الجذور المصابة ، تصفر الأوراق ، وتتحول إلى اللون البنى اللامع . يظهر المرض فى الدول الأوروبية ، خاصة هولندا فى الفترة من مايو إلى نوفمبر عند ارتفاع حرارة التربة من ٢٢-٢٤°م . يناسب المرض انخفاض المستوى المائى فى التربة ، حيث يتكشف المرض بشكل كبير عند الجفاف النسبى وارتفاع درجة الحرارة عن ٢٠°م . يتكرر المرض سنوياً فى المكان نفسه فى الصوبات الزجاجية . تمتد المناطق التى يظهر فيها المرض فى الصوبات الزجاجية إما ببطء أو بسرعة كبيرة . يمكن أن يفسر الانتشار البطئ فى المناطق الملوثة فى بعض الصوبات الزجاجية عن طريق القدرة الكابحة للتربة الناتجة عن تواجد كائنات حية لها القدرة على التأثير على الكائن الممرض ؛ خاصة العزلات غير الممرضة من الفطر *Fusarium oxysporum* أو تواجد البكتيريا الوميضة فى التربة . أما الانتشار السريع للمرض فى التربة ، فإنه يكون بسبب عدم تعقيم التربة بالبخار ؛ مما يجعل هذه الطريقة فعالة فى مقاومة المرض . كذلك فإن تبخير التربة بمادة Metham sodium قد استعمل بنجاح فى مقاومة هذا الرض ، وتؤدى إلى زيادة فى شد ة نمو النبات . هذه الطريقة ناجحة فى مقاومة المرض ، ولكن تكاليفها عالية إلى حد ما ، حيث يلزم ١٥ لتر ماء/ م٢ من المساحة . لقد ظهرت بعض الأصناف فى هولندا مقاومة لمرض ذبول الفيوزاريوم .

openkandil.com

إن المقاومة الحيوية لأمراض النبات الكامنة فى التربة باستعمال البكتيريا ، هى الطريقة البديلة أو المكملة لطرق المقاومة الطبيعية أو الكيماوية ، المتبعة فى المقاومة منذ سبعين سنة . كما سبق وذكرنا كثيراً فإن البكتيريا المستعمرة للجذر وذات التأثير النافع على نمو النبات يشار إليها باسم PGPR . إن هذه البكتيريا يمكنها أن تحسن نمو النبات ، إما عن طريق الحث المباشر للنبات ، أو تثبيط الكائنات الممرضة . إن الطريقة الفعالة فى تثبيط الكائنات الممرضة تكون عن طريق المنافسة على المواد الغذائية (كربون ، نيتروجين ، حديد ثلاثى) أو بعض الإفرازات مثل المضادات الحيوية ، أو المقاومة المستحثة .

كان أول ذكر لاستعمال البكتيريا PGPR على الفجل سنة ١٩٧٨ بواسطة Kloep-per & Scheoth وبواسطة Geels *et al* سنة ١٩٨٥ . إن بكترة بذور الفجل بالبكتيريا *Pseudomonas fluorescens* سلالة WCS 374 أدت إلى تشجيع نمو النبات بشكل معنوى . تعتمد المقاومة الحيوية لذبول الفيوزاريوم فى الفجل باستعمال البكتيريا الوميضة على المنافسة على الحديد الثلاثى ، وذلك بواسطة السايدروفورز البكتيرية . إلا أن الدراسات الحديثة قد أثبتت أن السلالة WCS 374 تشجع تكوين مقاومة مستحثة جهازية فى الفجل ضد ذبول الفيوزاريوم .

مقاومة المرض :

يقاوم مرض ذبول الفجل المتسبب عن الفطر *Fusarium oxysporum f.sp. raphani* وذلك باستعمال البكتيريا الوميضة *Pseudomonas fluorescens* سلالة WCS 374 بتركيز ١٠^{٦} إلى ١٠^{٧} وحدة تكوين مستعمرات / بذرة . تخفض هذه السلالة نسبة الإصابة بالمرض من ٦٨,٣ ٪ إلى ١٨,٦ ٪، وتزيد انتاجية النبات من ١٩,٥ ٪ إلى ١٠٠ ٪ بالنسبة للكنترول . تستعمل البكتيريا على شكل غلاف يغلف البذور قبل زراعتها .

أثبتت الدراسات الحديثة على المقاومة الحيوية لذبول الفيوزاريوم فى الفجل ، أن هناك نوعين من البكتيريا الوميضة *Pseudomonas* لهما دور فعال فى مقاومة المرض : النوع الأول هى *P.putida* السلالة WCS 358 ، حيث تخفض المرض بحوالى ٣٠ ٪ . أما النوع الثانى فهو *P.fluorescens* السلالة WCS 374 ؛ حيث تخفض المرض بحوالى ٢٥ ٪ . الميكانزم الوحيد الداخل فى تثبيط المرض بواسطة السلالة WCS 358 هو السايدروفورز الداخلة فى التنافس على الحديد الثلاثى ، بينما تثبط السلالة WCS 374 المرض عن طريق

خلق مقاومة مستحثة . إن كفاءة السايدروفورز فى تثبيط المرض وكذلك المقاوة المستحثة ، تعتمد كثيراً على مستوى حدوث المرض . كلتا الطريقتين فى المقاومة الحيوية تكون فعالة على مدى واسع لحدوث المرض ، حى يصل أعلى خفض إلى ٣٠ ٪ عندما يكون مستوى إنتشار المرض حوالى ٥٠ ٪ من النباتات .

إن كثافة تجمعات السلالة WCS 358 فى منطقة الرايزوسفير والسلالة WCS 374 له دور كبير فى تحديد كفاءتها فى تثبيط مرض ذبول الفيوزاريوم فى الفجل . إن أقل كثافة مطلوبة لحدوث خفض معنوى فى المرض هو ١٠^٥ وحدة تكوين مستعمرات من تجمعات سلالات البكتيريا لكل غرام جذور . عندما ينخفض تجمع البكتيريا عن هذا العدد فى الرايزوسفير ، يكون له تأثير كبير على خفض كفاء تها فى تثبيط ذبول فيوزاريوم الفجل . أما عند زيادة التجعات (فى كلتا السلالتين) فى منطقة الرايزوسفير إلى مستوى أعلى من ١٠^٧ وحدة تكوين مستعمرات / غرام جذور ، فإنه يزيد فى خفض نسبة حدوث المرض ، إلا أن هذه الزيادة غير معنوية بالنسبة لتركيز ١٠^٥ وحدة تكوين مستعمرات / غرام جذور .

أما فى الصوبات الزجاجية التى يزرع فيها الفجل بصورة تجارية ، فإن معاملة بذور الفجل بالسلالة *P.fluorescens* WCS 374 ، فإنها تثبط شدة مرض ذبول الفيوزاريوم وتسبب زيادة فى انتاج الفجل . أما فى الصوبا الزجاجية التى تلوث طبيعياً بفطر الفيوزاريوم الممرض للفجل ، تبين أن السلالة WCS 374 وليس الطفرة التى تفتقر إلى O-antigen تثبط شدة المرض من ٨٠ ٪ فى الكنترول إلى ٢٥ ٪ في المعاملات(جدول ٦٩) . هذه النتائج تشجع استعمال هذه السلالة فى مقاومة المرض تجارياً فى الصوبا الزجاجية .

فى الاختبارات الحيوية على مستخلص جدر خلايا السلالة WCS 374 و WCS 417 التى تحتوى LPS غير نقى ، أو نقى ، وجد أنها تسبب مقاومة جهازية ، بينما السلالة *P.putida* WCS 358 أو المركب LPS النقى أو غير النقى لم تسبب مقاومة جهازية . كذلك وجد أنه لا الطفرات المقاومة للفاج من WCS 374 و WCS 417 التى تفتقر إلى O-antigenic side chain of the LPS ولا أل lipid A / innercore النقى أو الخام لهذه الطفرات يخفض شدة المرض فى التجارب الحقلية . السلالة WCS 374 وليس طفرتها التى ينقصها O-antigen ، أيضاً تخلق مقاومة جهازية عندما تضاف على فلقات الفجل ، وبالتالى يمكن القول بأن O-antigen المخلق للمقاومة من السلالة WCS 374 تكون فعالة ليس فقط على الجذور ولكن أيضاً على الفلقات .

جدول رقم (٦٩) : نباتات الفجل النامية من بذور مبكترة والنامية فى الصوبا الزجاجية الملوثة تربتها طبيعياً (دون تدخل الإنسان) بفطر فيوزاريوم الذبول للفجل ونسبة ظهور المرض .

السلالة المستعملة فى التجربة	٪ نباتات مريضة	
	تربة ملوثة طبيعياً بالكائن الممرض	تربة ملوثة طبيعياً + رمل غير ملوث
كنترول	٧٩	٨٠
WSC 374	٣٢	٢٥
WSC 374 (OA^-)	٧٥	٧٢
WSC 358	٣٠	٢٨

ملاحظات على الجدول :

كان يضاف الرمل لتسهيل نمو جذور الفجل وتسهيل حدوث الإصابة – الجدول نتائجه من التجارب الحقلية الملوثة طبيعياً .

obeikandl.com

سابعاً : القرنفل Carnation

ذبول الفيوزاريوم فى القرنفل

مقدمة :

يمكن تثبيط مرض ذبول الفيوزاريوم فى القرنفل *Dianthus sp.* المتسبب عن الفطر *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* باستعمال البكتيريا *Pseudomonas* سلالة *WCS 417r* . تستطيع هذه السلالة أن تضاد الكائن الممرض ، عن طريق المنافسة على وسيطات السايدروفورز للحديد ، وعن طريق مضادات فطرية أخرى . وبعيداً عن التضاد فإن ذبول الفيوزاريوم فى القرنفل يمكن أن يثبط عن طريق المقاومة المستحثة بواسطة السلالة WCS 417r ، وذلك إذا عوملت الجذور بهذه السلالة ، وكان الكائن الممرض محقوناً مباشرة فى الساق . يتكون الغشاء الخارجى للسلالة المضادة من سكريات عديدة دهنية تسمى lipopoly saccharides ، هذا الغشاء يتدخل فى تنبيه المقاومة المستحثة فى القرنفل ضد ذبول الفيوزاريوم . كانت المقاومة ضد الفطر الممرض تستحث باستمرار بواسطة السلالة WCS 417r فى صنف القرنفل متوسط المقاومة المسمى Pallas ، ولكن أحياناً فى الصنف القابل للاصابة Lena (هذا ما وجده Van Peer *et al* سنة ١٩٩١ وكذلك Duijff *et al* سنة ١٩٩٣) . وهناك ميكانزم معين فى تثبيط المرض والذي لا داعي لشرحه هنا ، يمكن القول باختصار بأن السلالة WCS 417r هى سلالة تبشر بالنجاح فى التطبيقات العملية فى مقاومة ذبول الفيوزاريوم فى القرنفل . إن النجاح فى هذه التطبيقات العملية سيكون فى بعض من جوانبه معتمداً علـى مدى الظروف البيئية السائدة ، التى تكون فيها السلالة WCS 714r قادرة على تثبيط مرض الذبول بكفاءة .

إن توفير الظروف البيئية المناسبة لتشجيع وزيادة نشاط عوامل المقاومة الحيوية ، يمكن أن يؤدى إلى زيادة نجاح المقاومة الحيوية ضد الكائنات الممرضة النباتية الكامنة فى التربة . تكون أمراض ذبول الفيوزاريوم أكثر شدة فى التربة ذات الحموضة البسيطة . إن رفع pH التربة باتجاه أو فوق نقطة التعادل ، طريقة تستعمل فى عمليات المقاومة ، التى تعتمد على الإجراءات الزراعية لأمراض الذبول . كذلك فإن استعمال البكتيريا الوميضة فى المقاومة الحيوية لأمراض الذبول ، يؤدى إلى خفض أو استبعاد المرض إذا كانت التربة ذات رقم حموض أقل من pH7 . ونظراً لأن المقاومة الحيوية لمرض ذبول الفيوزاريوم فى القرنفل

تعتمد أحياناً على المنافسة على وسيطات السايدروفور للحديد ، فإن التأثير على المرض إذا كانت التربة ذات pH منخفض يعزى إلى زيادة توفر الحديد ، وبالتالى خفض نشاط التضاد الذى يظهر بواسطة البكتيريا الوميضة .

مقاومة المرض :

يقاوم مرض ذبول الفيوزاريوم فى القرنفل باستعمال البكتيريا الوميضة *Pseudomonas fluorescens* السلالة WCS 417r . وجد أن لرقم حموضة المحلول المغذى الذى تنمو عليه البكتيريا المضادة تأثراً كبيراً على تثبيط مرض الذبول فى القرنفل النامى على بيئة الصوف الصخرى . ولقد وجد أن السلالة المذكورة تخفض معنوياً ذبول الفيوزاريوم فى صنف القرنفل القابل للإصابة Lena ، عندما تربى على بيئة ذات رقم pH 7.5 ، وذلك عندما حقنت جذور الصنف بالفطر المسبب للمرض . لم يكن هناك خفض معنوى للمرض، عندما كان رقم الحموضة (٥,٥-٦,٥) . يكون خفض المرض مرتبطاً بالانتاج العالى فى المعمل لمادة السايدروفور والتضاد النشيط ضد الفطر الممرض بالسلالة WCS 417r على رقم pH 7.5 منه على رقم ٦,٥ أو ٥,٥ .

أما فى الأصناف متوسطة القابلية للاصابة مثل Pallas ، فإن خفض المرض يكون معنوياً باستعمال السلالة WCS 417r نفسها ، ولكن عندما تربى على بيئة ذات حموضة pH 5.5 ، حيث أن هذا التأثير يشابه التأثير المطلوب لاحداث المقاومة المستحثة فى نفس الصنف .

مما سبق ، يمكن القول بأن تأثير الـ pH على مقاومة ذبول الفيوزاريوم فى القرنفل باستعمال السلالة البكتيرية المذكورة ، يختلف حسب أصناف القرنفل ، والتى تختلف فى مستوى مقاومتها ضد فيوزاريوم الذبول . إن الأصناف القابلة للإصابة مثل الصنف Lena ، يكون تأثير السلالة البكتيرية فى خفض الإصابة فيها أكثر فعالية ونشاطاً على pH 7.5 ؛ لأن المقاومة هنا تعتمد على السايدروفورز والتضاد الحيوى . أما فى الأصناف متوسطة المقاومة للمرض مثل Pallas فإن شدة المرض تنخفض أيضاً ، ولكن هنا تنخفض عن طريق التضاد (بنسبة بسيطة جداً) ، وبنسبة عالية عن طريق المقاومة المستحثة بواسطة السلالة البكتيرية ، حيث إن المقاومة المستحثة تكون فعالة على pH منخفض .

لقد وجد أن إنبات الجراثيم الكونيدية ونمو أنابيب الإنبات للفطر الممرض يثبط بزيادة

pH البيئة الغذائية فى المعمل (جدول رقم ٧٠) . تكون شدة الخفض حسب توفر عناصر المواد الغذائية الأساسية ، مثل : الفسفور ، المغنيسيوم ، الحديد ، المنغنيز ، المولبيديوم والزنك، وهذه يمكن أن تخفض تكشف الفطر على رقم حموضة مرتفع . وجد أنه من غير المحتمل أن توفر الحديد يكون داخلاً فى خفض إنبات الجرايم الكونيدية ، وخفض نمو أنبوبة إنبات الفطر الممرض . كذلك فإن إنبات الجراثيم الكونيدية للفطر الممرض فى المعمل يتأثر معنوياً برقم الحموضة .

إن خفض مرض ذبول الفيوزاريوم بالسلالة البكتيرية WCS 417r عند حقنها فى جذور الأصناف متوسطة القابلية للمرض لم يتأثر برقم الحموضة المنخفض للمحلول الغذائى، هذا يمكن توضيحه كما ذكرنا سابقاً بأن المقاومة هنا تعتمد على إحداث المقاومة المستحثة .

جدول رقم (٧٠) : تأثير البكتيريا المضادة على نمو أنبوبة الإنبات ، وإنبات الجراثيم الكونيدية للفطر المسبب لذبول الفيوزاريوم فى القرنفل ، باستعمال السلالة البكتيرية WCS 417r فى بيئة CNS على درجات حموضة مختلفة بعد الحقن بمدة ٤ أو ٨ ساعات وتحضين على حرارة ٢٢°م .

رقم الحموضة	٪ جراثيم نابتة بعد ٤ ساعات	٪ جراثيم نابتة بعد ٨ ساعات	ميكروميتر طول أنبوبة الإنبات بعد ٨ ساعات	وزن الميسيليوم غرام مادة جافة لكل لتر بيئة	السايدروفورز OD 400 g-1 وزن رطب لكل ١ ,٠ لتر
٥,٥	١٩	٨٤	٣١	١,٨٩	٠,٣
٦,٥	١٠	٦٤	٢٢	٢,٧٨	٠,٤
٧,٥	٥	٣٨	١٣	٢,٨٩	٠,٩

ملاحظات على الجدول :

. Carnation nutrient solution = CNS

opeikandi.com

ثامنـــاً : العصفر Safflower

سقوط البادرات

مقدمة :

يتعرض نبات العصفر Safflower ذو الاسم العلمى *Carthamus tinctorius* إلى الإصابة بالفطر المرض *Pythium* ، وهذا يؤدى إلى أمراض عفن البذرة ، السقوط المفاجئ وعفن الجذور . يمكن أن تكون هذه الأمراض شديدة تحت ظروف الرى الغزير . تبدأ الإصابة بالفطر بثيم مجموعة G ، وهى شكل عقيم من الفطر *Pythium ultimum* . هناك أنواع أخرى من هذا الجنس تسبب أمراضاً للعصفر فى كثير من مناطق العالم ، أهم هذه الأنواع :

1 - P.oligandrum
2 - P.debaryanum
3 - P.ultimum
4 - P.splendens
5 - P.myriotylum
6 - P.acanthicum

مقاومة المرض :

يقاوم مرض سقــوط البادرات فى العصفر المتسبب عن الفطر *Pythium ultimum var. ultimum* مجموعـــة G الشـــكل العقيم من الفـــطر *P.ultimum* وذلك بمعاملة بذور العصفر بالبكتيريا *Pseudomonas fluorescens* سلالة 2-1 أو ٦-٩-٢ أو ٣-٧ أو باستعمال البكتيريا *Erwinia rhapontici* سلالة 7-16 بتركيز ١٠^{٦} وحدة تكوين مستعمرات/بذرة .

كما هو واضح فى جدول رقم (٧١) فإن البكتيريا *P.fluorescens* سلالة 2-1 تخفض النسبة المئوية لسقوط البادرات قبل ظهورها فوق سطح التربة من ٨٥,٧ ٪ فى الكنترول إلى ١٣,٤ ٪ فى المعاملة ، أما سقوط البادرات بعد ظهورها فوق سطح التربة فلم يختلف كثيراً عنه فى الكنترول . أما البكتيريا *Erwinia rhapontici* سلالة 7-16 ، فهى تخفـــض الإصابة قبل ظهور البادرات فوق سطح التربة من ٨٦,٦ ٪ فى الكنترول إلى ١١,٩ ٪ ، وكذلك تخفض نسبة الإصابة فى البادرات بعد ظهورها فوق سطح التربة مـــن ١ ٪ فى الكنترول إلى ٠,٥ ٪ فى المعاملة .

obeikandl.com

أما بالنسبة لتأثير درجات الحرارة على سقوط البادرات الناتج عن الفطر بثيم فى نبات العصفر عند معاملتها بالبكتيريا ، وجد أن أفضل درجة حرارة لتطبق عليها المقاومة الحيوية هى ١٠ ْم حيث تكون نسبة البادرات السليمة بعد ٢٠ يوماً من الزراعة ٧٥,٩ ٪ ، أما عند درجة حرارة ١٥ ْم فتكون نسبة البادرات السليمة ٤٩,١ ٪ ، فى حين أنه على حرارة ٢٥ ْم تكون نسبة البادرات السليمة ٤١,٩ ٪ ، جدول رقم (٧٢) .

أما بالنسبة لتأثير المقاومة الحيوية على طول النبات (جدول رقم ٧٣) ، فوجد أن البكتيريا *E.rhapontici* تسبب زيادة فى طول النبات من ٢,٣٣ سم فى الكنترول إلى ٣,١٣ سم فى المعاملة بعد سبعة أيام من الزراعة . أما البكتيريا *P.fluorescens* سلالة 2-7 فإنها تسبب زيادة طول النباتات من ٢,٤٥ سم فى الكنترول إلى ٣,٣٥ سم فى المعاملة .

جدول رقم (٧١) : تأثير استعمال البكتيريا المضادة على ظهور البادرات فوق سطح التربة فى العصفر ، فى التربة الملوثة طبيعياً بالفطر المرض *Pythium ultinum var. ultimum* بعد ٢٨ يوماً من الزراعة .

البكتيريا المضادة ورقم السلالة	٪ ظهور البادرات	٪ سقوط البادرات: قبل ظهورها فوق سطح التربة	٪ سقوط البادرات: بعد ظهورها فوق سطح التربة
المجموعة الأولى			
كنترول	٣١,٩	٦٤,٧	١
Pseudomonas fluorescens (1-2)	٨٥,٧	١٣,٤	٥,٩
P.fluorescens (3-3)	٨٥,٦	١٥,٣	١,٥
P.fluorescens (6-9-2)	٨٩,٣	٤,٨	٤,٨
P.fluorescens (7-3)	٨٥,٧	١٤,٤	٣,٠
Erwinia caratovora	٧٦,٦	١٩,٨	٤,٢
Bacillus polymyxa	٦٣,٣	٣٦,٤	١,٠
المجموعة الثانية			
كنترول	٢٦,٧	٧١,٧	١,٠
Erwinia rhapontici (16-7)	٨٦,٦	١١,٩	٠,٥
E.rhapontici (16-5)	٧٦,٤	٢٢,٨	٢,١
E.rhapontici (17-8)	٧٢,٨	١٨,٧	٨,٣

obeikandl.com

جدول رقم (٧٢) : تأثير معاملة بذور العصفر بالبكتيريا المضادة قبل زراعتها ، على طول النبات .

البكتيريا المعاملة بها البذور	سم طول النبات بعد ٧ أيام	سم طول النبات بعد ١٤ يوماً
كنترول	٢,٣٣	٤,٤٣
Erwinia rhapontici (18-7)	٣,١٣	٥,٤٥
E.rhapontici (17-8)	٢,٧٥	٥,٠٨
E.rhapontici (16-7)	٢,٧٠	٥,٠٥
Pseudomonas fluorescens (7-3)	٣,٣٥	٥,٦٥
P.fluorescens (6-9-2)	٢,٩	٥,٠٥

جدول رقم (٧٣) : تأثير درجة الحرارة على نسبة ظهور البادرات فوق سطح التربة بعد معاملة البذور بالبكتيريا المضادة وزراعتها فى تربة ملوثة بالكائن الممرض ، وتعرضها لدرجة الحرارة .

درجة الحرارة مئوية	٪ ظهور البادرات بعد ٢٠ يوماً
١٠	٧٥,٩
١٥	٤٩,١
٢٠	٤١
٢٥	٤١,٩

obeikandi.com

تاسـعاً : الحمص

ذبول الفيوزاريوم فى الحمص

مقدمة :

يتسبب مرض ذبول الفيوزاريوم فى الحمص عن الفطر *Fusarium oxysporum f.sp. ciceris* . يكون هذا المرض المحدد لانتاج الحمص فى أماكن زراعته ، وخاصة فى أماكن الانتاج المشهورة مثل شبه القارة الهندية ، ومناطق حوض البحر الأبيض المتوسط . يمكن تقدير نقص الانتاج الذى يعزى إلى هذا المرض بحوالى ١٠ ٪ فى الهند وإسبانيا ، وحوالى ٤٠ ٪ فى تونس .

يستطيع الفطر المسبب للمرض أن يبقى حياً فى التربة لعدة سنوات على شكل جراثيم كلاميدية ، والتى تخفض بشكل واضح كفاءة الدورة الزراعية فى خفض الإصابة بالمرض (كطريقة للتهرب من المرض) . تعتبر الطرق الأكثر فعالية والعملية لمقاومة هذا المرض ، غالباً هو استعمال الأصناف المقاومة ، إلا أن فعالية هذه الطريقة فقدت أهميتها بسرعة بسبب ظهور سلالات من الكائن الممرض تحطم هذه المقاومة . ونظراً لأن صنف الحمص Kabuli كبير الحجم ومستدير والبذور ذات لون بيج مرغوب والذى يزرع فى منطقة حوض البحر الأبيض المتوسط ، قابل للإصابة بمعظم سلالات الفطر الممرض *F.O. ciceris* . ظهرت اتجاهات حديثة لاكتشاف طرق جديدة بديلة أكثر فعالية لمقاومة المرض .

مقاومة المرض باستعمال البكتيريا الوميضة :

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

جدول رقم (٧٤) : كفاءة سلالات البكتيريا P.fluorescens فى تثبيط مرض ذبول الحمص المتسبب عن الفطر *F.O.f.sp.ciceris* ومدى تأثر تجمعات البكتيريا فى رايزوسفير نبات الحمص فى الحقل .

المعاملة	سلالة البكتيريا الوميضة المستعملة	تجمعات البكتيريا فى الرايزوسفير مضروباً فى ١٠⁴ cuf / غرام تربة بعد			٪ ظهور البادرات فى الحقل	٪ حدوث المرض على فترات		الانتاج كغم / هكتار
		١٥ يوماً	٤٥ يوماً	٦٠ يوماً		١٥ يوماً	٧٥ يوماً	
معاملة بذور فقط	PF-1	٣,٥	٨,٥	١١	٩٨,٦	٢,٧٥	١٦,٩	١٠٧٩
	PF-2	٣,٥	٩,٦	١٢,٢	٩٨,٣	٢,٤٥	١٦,٧٥	١٠١٤
	PF-27	٣,٥	٩,٨	١٣,٥	٩٩,١	١,٧	١٦,٩	٩٩٧
معاملة بذور + معاملة تربة	PF-1	٣,١٥	١٥,٨	١٩,٥	١٠٠	٠,٣٥	٥,٨	١٥٣١.٥
	PF-2	٣,١٥	١٤,٨	١٨,٣	٩٩,٢٥	١,١	٥,٠	١٤٨٩
	PF-27	٣,٨	١٨,١٥	٢٢,١	١٠٠	٠,١٥	٥,٦	١٤٥٨,٥
كاربندازايم	--	١,١٥	٢,٦٥	٣,١٥	٩٩,٦٥	١,٦	٥,٦٥	١٢٥١,٥
كنترول (ماء)	--	١,١٥	٢,٩	٣,٦٥	٧١,٢	٣٣,٧	٤٦,٥	٧٠٠

البكتيريا المستعملة فى مقاومة مرض ذبول الفيوزاريوم فى الحمص ، تعزل من منطقة الرايزوسفير لمحاصيل مختلفة ، وبعد التأكد من أن هذه السلالة فعالة ضد هذا المرض ، يكون التفكير فى إيجاد حامل يحمل وسائل التكاثر لهذه البكتيريا ، ويحافظ على بقائها حية فى المخزن لمدة طويلة ، فى التشكيلات التى أساسها بودرة التلك والبيت ، فإن البكتيريا تبقى حية في هذه التشكيلات لمدة ٢٤٠ يوم فى المخزن . عند معاملة بذور الحمص بالتشكيلات البكتيرية المحمولة على بودرة التلك فإن البكتيريا *P.fluorescens* تبقى حية على هذه البذور على الأقل لمدة ١٨٠ يوماً . عند زراعة هذه البذور فى التربة ، فإن الكائن المضاد (البكتيريا) تنتقل إلى منطقة الرايزوسفير وتبقى حية فيه وتزداد أعدادها ، وإن البادرات الناتجة من هذه البذور تقاوم مرض ذبول الحمص فى التجارب الحقلية وتزيد الانتاج . عند زراعة البذور المعاملة بالكائن المضاد ثم معاملة منطقة الجذر بنفس النسبة من الكائن المضاد ، فإن كفاءة البكتيريا تزداد ، لا تؤثر البكتيريا *P.fluorescens* على / ولا تثبط البكتيريا النافعة المثبتة للنيتروجين الجوى *Rhizobium* و *Azospirillum* فــى المعمــل ، كذلك فإن عاملة

البذور بالمبيدات الفطرية مثل الثيرام ، كاربندازايم ، لا تثبط البكتيريا الوميضة المضادة فى المعمل .

أجريت تجارب على ٢٧ عزلة من البكتيريا الوميضة لمعرفة كفاءتها فى تثبيط نمو فطر ذبول الفيوزاريوم فى الحمص فى المعمل ، فوجد أن أربع منها وهى : PF1 ، PF12 ، PF21 ، PF27 ، شديدة التأثير فى تثبيط نمو الفطر الممرض في المعمل ، حيث كان قطر مساحة التثبيط ٤٢ ، ١٤ ، ٤١ ، ٣٥ ملم / سلالة بالترتيب جدول رقم (٧٤) . فى التجارب الحقلية وجد أن السلالة PF1 ، هى الوحيدة التى كان لها تأثير واضح فى تثبيط المرض وتزيد من عدد النباتات السليمة فى الحقل (جدول رقم ٧٤) .

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

obeikandl.com

عاشراً : البسلة الهندية Pigeon pea

مقاومة ذبول الفيوزاريوم

مقدمة :

كما هو معروف ، فإن الرايزوبكتيريا PGPR ، تدخل فى مقاومة أمراض النبات ، عن طريق تخليق مقاومة جهازية مستحثة ISR . هناك سلالات من هذه الرايزوبكتيريا تكون المقاومة فيها مبنية على المنافسة على الحديد ، خلق بيئة معينة ، تضاد حيوى أو تخليق مقاومة مستحثة . تتخلق هذه المقاومة عن طريق حقن النبات مسبقاً بالرايزوبكتيريا .

إن المركب Phenylalanine ammonia - lyase PAL ، هو احدى المواد المنبهة لجين المقاومة فى التفاعلات غير المتوافقة بين الكائن الممرض والنبات ، وهو يعمل كعامل مساعد فى تحويل L-phenyl-alanine لينتج حمض السنمك ، وهو مركز أساسى تنطلق منه منتجات نبات ثانوية . يساعد PAL البناء الحيوى للجنين والفينولات الأخرى والتى تتجمع كاستجابة للاصابة . كذلك فإن زيادة البيروكسيديز يساعد فى تخليق المقاومة الجهازية المستحثة ISR .

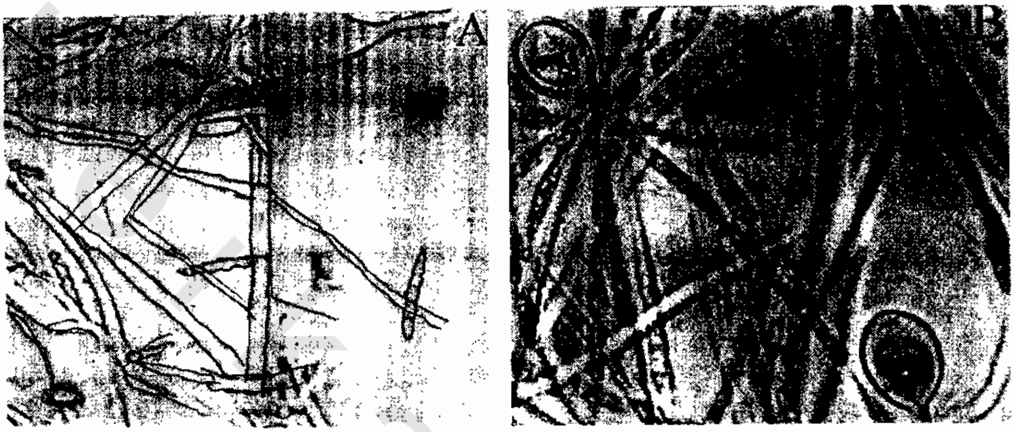
يعتبر مرض ذبول الفيوزاريوم فى البسلة الهندية ، مرض مهم اقتصادياً وهو من الأمراض الجهازية ، ويتسبب عن الفطر *Fusarium udum* . لقد ذكر Vasudeva *et al* سنة ١٩٦٢ ، كيف يمكن وقف شدة المرض عن طريق استعمال البكتيريا *Bacillus subtilis* والتى تطلق مضادات حيوية فى الرايزوسفير . تكتسب بادرات البسلة الهندية مقاومة ضد الإصابة بالفطر *F.udum* بسبب نشاط الـ Bulbiformin عندما تبكتر البذور بالبكتيريا *B.subtilis* قبل الزراعة . لقد ذكر كثير من الباحثين أن البكتيريا *B.subtilis* AF1 تؤثر على نمو الفطر الممرض *F.udum* . إن بكتره البذور بالسلالة AF-1 يزيد نمو النبات وتزداد نسبة ظهور البادرات وتكوين العقد الجذرية فى البسلة الهندية .

مقاومة المرض :

عند استعمال راشح مزرعة البكتيريا *B.subtilis* AF-1 لدراسة تأثيره على نمو الفطر الممرض *F.udum* فى المزارع السائلة ، فإنه أظهر تثبيط لنمو الفطر فى المزرعة وكان هذا واضحاً عند دراسة الوزن الجاف للفطر فى المزرعة . كانت نسبة تثبيط نمو الفطر ٤٠ ٪

obeikandi.com

(جدول رقم ٧٥) . عند فحص الهيفات ميكروسكوبياً ، تبين وجود تركيبات بصلية الشكل فى الهيفا الفطرية القريبة من البكتيريا (شكل رقم ٦) . كان الخفض فى تكوين الجراثيم الكونيدية متناسباً مع تثبيط نمو الهيفا .



شكل رقم (٦) :A : يظهر نمو الفطر الممرض سليم والجراثيم الكونيدية واضحة .

B : التركيبات البصلية الشكل ظاهرة ولا يتكون جراثيم كونيدية ، وذلك من تأثير البكتيريا المضادة .

عند معاملة البذور بالمعلق البكتيرى ، فإن ذلك خفض بشكل معنوى حدوث الذبول فى البسلة الهندية بنسبة ٥٠ ٪ . لقد أظهرت الدراسة أن المعاملة بالبكتيريا تسبب زيادة فى نشاط PAL منذ بداية اليوم الأول . أما المادة CMC التى يوضع فيها جراثيم البكتيريا لم تحدث أى تغيير معنوى فى نشاط PAL ، كانت النسبة ٥-١٤ ٪ ، وصلت نسبة النشاط الزائد ٣٠ ٪ . كذلك ارتفع نشاط البيروكسيديز منذ اليوم السادس بعد المعاملة .

عندما غلفت البذور بالمعجون المحتوى بكتيريا بنسبة ١ : ٠,٥ ٪ ثم زرعت فى أوعية تحتوى الفطر الممرض *F.udum* بنسبة ٢ غرام ميسيليوم / كيلو تربة ثم قيست نسبة المرض بعد ٣٠ يوم، وجد أن هذه العملية تخفض حدوث المرض من ٨٠ ٪ فى الكنترول إلى ٣٥ ٪ في المعاملة .

جدول رقم (٧٥) : الوزن الجاف للفطر *F.udum* المتكون فى مزرعة مائية ، ٢٥ مل بيئة زتشارد محتوية تركيزات مختلفة من راشح مزرعة البكتيريا *B.subtilis* AF-1 . كان يقاس نمو الفطر ملغ وزن جاف بعد ٧ أيام من النمو .

نسبة استعمال راشح مزرعة البكتيريا	ملغ الوزن الجاف للفطر
بدون راشح (كنترول)	٤٥٠
٥ ٪ راشح	٤٢٠
١٠ ٪ راشح	٣٨٠
٢٠ ٪ راشح	٣٠٠
٤٠ ٪ راشح	٢٨٠

حادى عشر : الفاصوليا

مقاومة عفن بوترايتس فى الفاصوليا

مقدمة :

لقد وجد أن السلالة البكتيرية *Pseudomonas aeruginosa* 7NSK2 تحدث مقاومة مستحثة فى الفاصوليا ضد الفطر *Botrytis cinerea* وتقلل من نسبة الإصابة .

إن السلالة البكتيرية المذكورة (الرايزوبكتيريا PGPR) . هى عامل مقامة حيوية فعالة ضد أعفان الجذور المتسببة عن *Pythium splendens* على الطماطم . تنتج هذه السلالة فى الظروف المحددة من الحديد ثلاثة سايدروفور هى : Pyoverdin ، Pyochelin وحمض السلسليك ، هذا الأخير يكون أيضاً بادئ للبناء الحيوى لـ Pyochelin . إن كلاً من المركبين Pyoverdin و Pyochelin عوامل أساسية للمقاومة الحيوية ، حيث أنهما يدخلان فى المنافسة على الحديد ضد الفطر المرض *Pythium* .

obeikandi.com

ثانى عشر : الصنوبر

وقاية بعض أنواع الصنوبر من مرض الصدا المغزلى

مقدمة :

يتسبب مرض الصدأ المغزلى فى الصنوبر عن الفطر *Cronartium quercuum f.sp. fusiforme* وهو من أهم الأمراض الخطيرة التى تهاجم غابات الصنوبر وتؤثر على انتاج الخشب فى الصنوبر *Pinus taeda* . يظهر المرض بشدة وبعنف فـى الغابات ذات العمر من ١ – ٨ سنوات . يمكن أن تصل نسبة الاصابة ١٠٠ ٪ فى الزراعات ذات عمر خمسة سنوات فى المناطق الجنوبية من أمريكا . تسبب الاصابة أضراراً كبيرة فى الساق حيث يصبح غير صالحاً لصنع الألواح الخشبية أو قلب الخشب أو الصناعات الأخرى . ينتشر المرض بنسبة ٣ ٪ سنوياً فى المناطق الموبوءة . يرجع انتشار المرض إلى زراعة الأصناف القابلة للاصابة ، وخفض استعمال الحرق لبقايا أنواع *Quercus* .

يقاوم المرض فى مزارع غراس الأشجار ، باستعمال المبيدات الجهازية مثل Bayleton كمعاملة بذور فى البداية ، ثم يستعمل رشاً على المجوع الخضرى حتى نتقى فترة الاصابة بالجراثيم البازيدية والتى تظهر بعد شهور من الزراعة . بعد الزراعة فى الغابات تكون الطريقة الوحيدة لخفض الاصابة بالمرض ، هو استعمال المبيدات الفطرية Triadimefon ، هذه الطريقة غير عملية وغير اقتصادية . الطريقة البديلة لاستعمال المبيدات الفطرية هو استعمال الرايزوبكتيريا PGPR ، حيث أن هذا النوع من البكتيريا يتواجد طبيعياً فى التربة وتستعمر جذور النبات .

بالرغم من قلة الأبحاث على استعمال البكتيريا PGPR على نباتات الغابات ، إلا أن بعض الأبحاث أثبتت وجود هذه البكتيريا على جذور نوعين من الصنوبر slah و loblolly . هناك قليل من سلالات PGPR ، قد استعملت فى تشجيع نمو غراس الصنوبر وشجعت إنبات البذور ونمو الغراس فى كلا النوعين من الصنوبر . أما عن قدرتها فى خفض الاصابة بالصدأ المغزلى فيصل حوالى ١ ٪ ، وهذا يعطى فوائد عالية بالنسبة للمنتجات الصناعية للغابات .

جدول رقم (٧٦) : نسبة اصابة شتلات الصنوبر بالصدأ المغزلى بعد ستة شهور من زراعة البذور المعاملة بالرايزوبكتيريا.

السلالات البكتيرية المستعملة فى التجربة	٪ اصابة البادرات		
	منطقة رقم ١	منطقة رقم ٢	منطقة رقم ٣
كنترول	٣٦	٢٥	٣١
مبيد فطرى جهازى Bayleton	٤,٠	٤,٠	٥,٠
B.subtilis	٣٣,٠	٤,٥	٢٠,٠
Paenibacillus macerans PM2	٢٦,٠	١٥,٠	٢٠,٠
B.pumilus INR-7	٢٣,٠	٢,٠	١٦,٠
B.pumilus SE 49	٤٢,٠	١٥,٠	٢٨,٠
B.pumilus SE 52	٢٨,٠	٣,٠	١٧,٠
B.sphaericus SE 56	٢١,٠	١٦,٠	٢١,٠
B.pumilus SE 34	١٦,٠	١٦,٠	١٦,٠
Serratia marcescens (90-166)	٢٥,٠	٢,٠	١٢,٠

ملاحظات على الجدول :

المنطقة رقم ١ : كانت الظروف الجوية والبيئية مناسبة لانتشار جراثيم الفطر وتكشف المرض . أما فى المنطقة الثانية والثالثة فكانت الظروف البيئية متقاربة ومقاربة للظروف السائدة فى الغابات .

الوقاية من المرض باستعمال الرايزوبكتيريا

التجارب التى أجريت فى هذا المجال ، استعملت ثمانية سلالات من الرايزوبكتيريا PGPR ، لمعرفة كفاءتها فى خلق مقاومة جهازية لحفظ الصنوبر نوع loblolly من الفطر مسبب الصدأ المغزلى . تعامل بذور الصنوبر بالبكتيريا وقت الزراعة ثم بعد ذلك تحقن الغراس الصغيرة (البادرات) صناعياً بالجراثيم البازيدية للفطر الممرض المسبب الصدأ المغزلى المذكور سابقاً بعد الزراعة بمدة شهر واحد . بعد مضى ستة شهور من الحقن بالجراثيم البازيدية ، تفحص الغراس لملاحظة أعراض الاصابة بالفطر من حيث وجود انتفاخ أو تدرنات للاصابة

الفطرية . عند مقارنة الغراس المعاملة بالبكتيريا مع الغراس الكنترول ، وجد أن السلالتين : (SE 34) *Bacillus pumilus* ، والسلالة الثانية *Serratia marcescens* (90-166) ، تخفض بشكل معنوى عدد التدرنات . أما السلالتين (INR-7) و (SE 52) من *B.pumilus* فهى أيضاً تخفض أعداد التدرنات ، ولكن بنسبة أقل . كانت نسبة الاصابة فى نباتات الكنترول ٣١ ٪ أما فى الغراس المعاملة بسلالات البكتيريا كانت نسبة الاصابة تتراوح من ١٣–١٦ ٪ (جدول رقم ٧٦) . وبالتالى يبدو أن هذه السلالات الأربعة من الرايزوبكتيريا تخلق مقاومة جهازية ضد الصدأ المغزلى فى الصنوبر صنف loblolly ، وبالتالى يمكن استعمالها تجارياً .

opeikandl.com

obeikandl.com

المراجـــع

2001 :

1. Hammerschmidt, R., Métraux, J.-P. and Van Loon, L.C. 2001. Inducing resistance : a summary of papers presented at the First International Symposium on Induced Resistance to Plant Diseases, Corfu, May 2000. ***Eur. J. Plant Pathol.*** 107 : 1-6. [PDF-file]
2. Mercado-Blanco, J., Van der Drift, K.M.G.M., Olsson, P.E., Thomas-Oates, J.E., Van Loon, L.C. and Bakker, P.A.H.M. 2001. Analysis of the *pmsCEAB* gene cluster involved in biosynthesis of salicylic acid and the siderophore pseudomonine in the biocontrols strain *Pseudomonas fluorescens* WCS374. ***J. Bacteriol.*** 183 : 1909-1920. [PDF-file].
3. Pieterse, C.M.J., Van Pelt, J.A., Van Wees, S.C.M., Ton, J., Léon-Kloosterziel, K.M., Keurentjes, J.J.B., Verhagen, B.W.M., Knoester, M., Van der Sluis, I., Bakker, P.A.H.M. and Van Loon, L.C. 2001. Rhizobacteria- mediated induced systemic resistance : triggering, signalling, and expression. ***Eur. J. Plant Pathol.*** 107 : 51-61. [PDF-file].
4. Ton, J., Davison, S., Van Loon, L.C. and Pieterse, C.M.J. 2001. Heritability of rhizobacteria-mediated induced systemic resistance and basal resistance in *Arabidopsis*. ***Eur. J. Plant Pathol.*** 107 : 63-68. [PDF-file]
5. Ton, J., Davison, S., Van Wees, S.C.M., Van Loon, L.C. and Pieterse, C.M.J. 2001. The *Arabidopsis ISR1* locus controlling rhizobacteria-mediated induced systemic resistance is involved in ethylene signaling. ***Plant Physiol.*** 125 : 652-661. [PDF-file]

obeikandl.com

2000 :

6. Folders, J., Tomassen, J., Van Loon, L.C. and Bitter, W. 2000. Identification of a chitin-binding protein secreted by *Pseudomonas aeruginosa*. ***J. Bacteriol***. 182 : 1257-1263. [PDF-file]

7. Pieterse, C.M.J., Van Pelt, J.A., Ton, J., Parchmann, S., Mueller, M.J., Buchala, A.J., Métraux, J.-P. and Van Loon, L.C. 2000. Rhizobacteria-mediated induced systemic resistance (ISR) in *Arabidopsis* requires sensitivity to jasmonate and ethylene but is not accompanied by an increase in their production. ***Physiol. Mol. Plant Pathol***. 57 : 123-134. [PDF-file]

8. Pieterse, C.M.K., Van Wees, S.C.M., Ton, J., Léon-Kloosterziel, K.M., Van Pelt, J.A., Keurentjes, J.J.B., Knoester, M. and Van Loon, L.C. 2000 Rhizobacteria-mediated induced systemic resistance (ISR) in *Arabidopsis* : involvement of jasmonate and ethylene. In : Biology of Plant-Microbe Interactions, Volume 2 (P.J.G.M. De Wit, T. Bisseling and W.J. Stiekema, eds), The International Society for Molecular Plant-Microbe Interactions, St. Paul, MN., pp. 291-296.

9. Slusarenko, A.J., Fraser, R.S.S. and Van Loon, L.C. (eds.) 2000. Mechanisms of Resistance to Plant Diseases. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, 620 pp.

10. Van Loon, L.C. 2000. Helping plants to defend themselves : biocontrol by disease-suppressing rhizobacteria. In : Developments in Plant Genetics and Breeding, Vol. 6; Phytosfere '99, Highlights in European Plant Biotechnology Research and Technology Transfer (G.E. de Vries and K. Metzlaff, eds), Elsevier, Amsterdam, The Netherlands, pp. 203-213.

obeikandi.com

11. Van Loon, L.C. 2000. Systemic induced resistance. In : Mechanisms of Resistance to Plant Diseases (A.J. Slusarenko, R.S.S., Fraser and L.C. Van Loon, eds), Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, pp. 521-574.

12. Van Wees, S.C.M., De Swart, E.A.M., De Swart, E.A.M., Van Pelt, J.A., Van Loon, L.C. and Pieterse, C.M.J. 2000. Enhancement of induced disease resistance by simultaneous activation of salicylate- and jasmonate-dependent defense pathways in *Arabidopsis thaliana*. ***Proc. Natl. Acad. Sci. USA***, 97 : 8711-8716. [PDF-file]

1999 :

13. De Boer, M., Van der Sluis, I., Van Loon, L.C. and Bakker, P.A.H.M. 1999. Combining fluorescent *Pseudomonas* spp. strains to enhance suppression of *fusarium* wilt of radish. ***Eur. J. Plant Pathol***. 105 : 201-210. [PDF-file]

14. Duijff, B.J., Recorbet, G., Bakker, P.A.H.M., Loper, J.E. and Lemanceau, P. 1999. Microbial antagonism at the root level is involved in suppression of *Fusarium* wilt by the combination of nonpathogenic *Fusarium oxysporum* Fo47 and *Pseudomonas putida* WCS358. ***Phytopathology*** 89, 1073-1079. [PDF-file]

15. Glandorf, D.C.M., Verheggen, P., Jansen, T., Thomashow, L.S., Leeflang, P., Smit, E., Wernars, K., Bakker, P.A.H.M. and Van Loon, L.C. 1999. Field release of genetically modified *Pseudomonas putida* WCS358r to study effects on the indiginous soil microflora. In : Workshop Proceedings Leeuwenhorst Congress Centre Noordwijkerhout, the Netherlands, March 5-6, 1998, pp. 41-46. Coordination Commission Risk Assessment Research (CCRO).

16. Knoester, M., Pieterse, C.M.J., Bol, J.F. and Van Loon, L.C. 1999. Systemic resistance in *Arabidopsis* induced by rhizobacteria requires ethylene-dependent signaling at the site of application. ***Mol. Plant-Microbe Interact***. 12 : 720-727. [PDF-file]

17. Pieterse, C.M.J. and Van Loon, L.C. 1999. Salicylic acid-independent plant defence pathways. ***Trends Plant Sci***. 4 : 52-58. [PDF-file]

18. Simons, B.H., Millenaar, F.F., Mulder, L., Van Loon, L.C. and Lambers, H. 1999. Enhanced expression and activation of the alternative oxidase during infection of *Arabidopsis thaliana* with *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*. ***Plant Physiol***. 120 : 529-538. [PDF-file]

19. Smit, E., Leeflang, P., Glandorf, B., Van Elsas, J.D. and Wernars, K. 1999. Analysis of fungal diversity in the wheat rhizosphere by sequencing of cloned PCR-amplified genes encoding 18S rRNE and temperature gradient gel electrophoresis. ***Appl. Environm. Microbiol***. 65 : 2614-2621.

20. Steijl, H., Niemann, G.J. and Boon, J.J. 1999. Changes in chemical composition related to fungal infection and induced resistance in carnation and radish investigated by pyrolysis mass spectrometry. ***Phys. Mol. Plant Pathol***. 55 : 297-311.

21. Ton, J., Peterse, C.M.J., and Van Loon, L.C. 1999. Identification of a locus in *Arabidopsis* controlling both the expression of rhizobacteria-mediated induced systemic resistance (ISR) and basal resistance against *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*. ***Mol. Plant-Microbe Interact***. 12 : 911-918. [PDF-file]

22. Van Loon, L.C. 1999. Occurrence and properties of plant pathogenesis-related proteins. In : Pathogenesis-Related Proteins in Plants (S.K. Datta and S. Muthukrishnan, eds), pp. 1-19. CRC Press, Boca Raton, FL.

23. Van Loon, L.C. and Van Strien, E.A. 1999. The families of pathogenesis-related proteins, their activities, and comparative analysis of PR-1 type proteins. ***Physiol. Mol. Plant Pathol***. 55 : 85-97.

24. Van Wees, S.C.M. 1999. Rhizobacteria-mediated induced systemic resistance in *Arabidopsis* : signal transduction and expression, pp. 1-137, Ph.D. Thesis Utrecht University, ISBN 90-393-2174-4.

25. Van Wees, S.C.M., Luijendijk, M., Smoorenburg, I., Van Loon, L.C. and Pieterse, C.M.J. 1999. Rhizobacteria-mediated induced systemic resistance (ISR) in *Arabidopsis* is not associated with a direct effect on expression of known defense-related genes, but stimulates the expression of the jasmonate-inducible gene *Atvsp* upon challenge. ***Plant Mol. Biol***. 41 : 537-549. [PDF-file]

1998 :

26. Alabouvette, C., Schippers, B., Lemanceau, P. and Bakker, P.A.H.M. 1998. Biological control of *Fusarium* wilts : towards development of commercial products. In : Plant-Microbe Interactions and Biological Control (G.J. Boland and L.D. Kuykendall, eds), pp. 15-36. Marcel Dekker, New York.

27. Bakker, P.A.H.M., Raaijmakers, J.M., and Schippers, B. 1998. Siderophore receptor as a marker to track fluorescent *Pseudomonas* spp. In : Molecular Microbial Ecology Manual (A.D.L. Akkermans, J.D. Van Elsas and F.J. De Bruijn, eds), 6.1.4. pp. 1-9, Kluwer, Dordrecht.

28. De Boer, M., Van der Sluis, I., Van Loon, L.C. and Bakker, P.A.H.M. 1998. In vitro compatibility between fluorescent *Pseudomonas* spp. strains can increase effectivity of *Fusarium* wilt control by combinations of these strains. In : Molecular Approaches to Biological Control (B.K. Duffy, U. Rosenberger and G. DJfago, eds), IOBC / wprs Bulletin 21 (9) : 257-262.

29. Chin-A-Woeng, T., Bloemberg, G.V., Van der Bij, A., Van der Drift, K.M.G.M., Schripsema, J., Kroon, B., Scheffer, R.J., Keel, C., Bakker, P.A.H.M., Tichy, H.V., De Bruijn, F.J., Thomas-Oates, J.E. and Lugtenberg, B.J.J. 1988. Biocontrol by phenazine-1-carboxamide-producing *Pseudomonas chlororaphis* PCL1391 of tomato root rot caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici*. ***Mol. Plant-Microbe Interact***. 11 : 1069-1077.

30. Dekkers, L.C., Van der Bij, A.J., Mulders, I.H.M., Phoelich, C.C., Wentwoord, R.A.R., Glandorf, D.C.M., Wijffelman, C.A. and Lugtenberg, B.J.J. 1998. Role of the 0-antigen of lipopolysaccharide, and possible roles of growth rate and of NADH : ubiquinone oxidoreductase *(nuo)* in competitive tomato root-tip colonization by *Pseudomonas fluorescens* WCS356. ***Mol. Plant- Microbe Interact***. 11 : 763-771.

31. Knoester, M. 1998. The Involvement of Ethylene in Plant Disease Resistance, pp. 1-124, Ph.D. Thesis Utrecht University, ISBN 90-393-1815-8.

32. Knoester, M., Van Loon, L.C., Van den Heuvel, J., Henning, J., Bol, J.F. and Linthorst, H.J.M. 1998. Ethylene-insensitive tobacco lacks nonhost resistance against soil-borne fungi. ***Proc. Natl. Acad. Sci. USA*** 95 : 1933-1937. [PDF-file]

33. Mercado-Blanco, J., Olsson, P.E., Van der Sluis, I., Van der Drift, K.M.G.M., Thomas-Oates, J.E., Van Loon, L.C. and Bakker, P.A.H.M. 1988. Analysis of a gene cluster involved in the biosynthesis of a new salicylic acid-based siderophore and its implication for the suppression of *Fusarium* wilt by *Pseudomonas fluorescens* WCS374. In : Molecular Approaches to Biological Control (B.K. Duffy, U. Rosenberger and G. Défago, eds), IOCB / wprs Bulletin 21 (9) : 35-40.

34. Pieterse, C.M.J., Van Wees, S.C.M., Van Pelt, J.A., Knoester, M., Laan, R., Gerrits, H., Weisbeek, P.J. and Van Loon, L.C. 1998. A novel signaling pathway controlling induced systemic resistance in *Arabidopsis*. ***Plant Cell*** 10 : 1571-1580. [PDF-file]

35. Pieterse, C.M.J., Van Wees, S.C.M., Van Pelt, J.A. and Van Loon, L.C. 1998. A novel defence pathway in *Arabidopsis* induced by biocontrol bacteria. *Med. Fac. Landbouww. Univ. Gent.* 63 (3b) : 931-940.

36. Ton, J., Pieterse, C.M.J. and Van Loon, L.C. 1998. Genetic analysis of induced systemic resistance in *Arabidopsis thaliana* : association between induced and basal resistance. In : Molecular Approaches to Biological Control (B.K. Duffy, U. Rosenberger and G. Défago, eds), IOBC / wprc Bulletin 21 (9) : 111-115.

37. Van Loon, L.C. 1998. Biotechnology as a means to improve biological control pf plant diseases. *Med. Fac. Landbouww. Univ. Gent.* 63 : 1657-1666.

38. Van Loon, L.C., bakker, P.A.H.M. and Pieterse, C.M.J. 1998. Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. ***Annu. Rev. Phytopathol.*** 36 : 453-483.

39. Van Loon, L.C., Bakker, P.A.H.M. and Pieterse, C.M.J. 1998. Induction and expression of PGPR-mediated induced resistance against pathogens. In : Molecular Approaches to Biological Control (B.K. Duffy, U. Rosenberger and G. Défago, eds), IOBC / wprs Bulletin 21 (9) : 103-110.

1997 :

40. De Boer, M., Van der Sluis, I., Van Loon, L.C. and Bakker, P.A.H.M. 1997. *In vitro* compatibility between fluorescent *Pseudomonas* spp. strains can increase effectivity of *Fusarium* wilt control by combinations of these strains. In : Plant Growth-Promoting Rhizobacteria – Present Status and Future Prospects (A. Ogoshi, K. Kobayashi, Y. Homma, F. Kodama, N. Kondo and S. Akino, eds.), pp. 380-382. Faculty of Agriculture, Hokkaido University, Sapporo, Japan.

41. Glandorf, D.C.M., Bakker, P.A.H.M. and Van Loon, L.C. 1997. Influence of the production of antibacterial and antifungal proteins by transgenic plants on the saprophytic soil microflora. ***Acta Bot. Neerl.*** 46 : 85-104.

42. Glandorf, D.C.M., Thomashow, L.S., Smit, E., Wernars, K., Bakker, P.A.H.M. and Van Loon, L.C. 1997. Field release of genetically modified *Pseudomonas putida* WCS358R to study effects on the indigenous soil microflora : preliminary

experiments. In : Plant Growth- Promoting Rhizobacteria – Present Status and Future Prospects (A. Ogoshi, K. Kobayashi, Y. Homma, F. Kodama, N. Kondo and S. Akino, eds.), pp. 428-430. Faculty of Agriculture, Hokkaido University, Sapporo, Japan.

43. Govers, F., Drenth, A., Pieterse, C.M.J. 1997. The potato late blight pathogen *Phytophthora infestans* and other pathogenic oomycota. In : The Mycota, Vol. V, Part B : Plant Relationships (G.C. Carroll and P. Tudzynski, eds.), pp. 17-36. Springer, Berlin.

44. Hoffland, E., Bakker, P.A.H.M. and Van Loon, L.C. 1997. Multiple disease protection by rhizobacteria that induce systemic resistance – reply. ***Phytopathology*** 82 : 138. [PDF-file]

45. Klerk, H. and Van Loon, L.C. 1997. Characteristics of protein turnover in the developing first leaf of oats (*Avena sativa* L.). ***J. Plant Physiol.*** 151 : 176-187.

46. Knoester, M., Bol, J.F., Van Loon, L.C. and Linthorst, H.J.M. 1997. Modulation of ethylene production in transgenic tobacco. In : Biology and Biotechnology of the Plant Hormone Ethylene (A.K. Kanellis et al., eds.), pp. 347-354. Kluwer, Dordrecht.

47. Knoester, M., Hennig, J., Van Loon, L.C., Bol, J.F. and Linthorst, H.J.M. 1997. Isolation and characterization of a tobacco cDNA encoding an *ETR1* homolog. ***Plant Physiol.*** 115 : 1731. http :// www.tarweed.com / pgr / PGR97-188.html.

48. Knoester, M., Linthorst, H.J.M., Bol, J.F. and Van Loon, L.C. 1997. Modulation of stress-inducible ethylene biosynthesis by sense and antisense gene expression in tobacco. ***Plant Science*** 126 : 173-183.

obeikandi.com

49. Mercado-Blanco, J., Olsson, P.E., Van der Drift, K.M.G.M., Thomas-Oates, J.E., Van Loon, L.C. and Bakker, P.A.H.M. 1997. Analysis of a gene cluster involved in the production of salicylic acid and a new siderophore in *Pseudomonas fluorescens* WCS374. In : Plant Growth- Promoting Rhizobacteria – Present Status and Future Prospects (A. Ogoshi, K. Kobayashi, Y. Homma, F. Kodama, N. Kondo and S. Akino, eds.), pp. 355-357. Faculty of Agriculture, Hokkaido University, Sapporo, Japan.

50. Schippers, B. and Roosje, G.S. 1997. Hundred years of history and the future of the foundation "Willie Commelin Scholten Phytopathological Laboratory". ***Eur. J. Plant Pathol***. 103 : 667-671. [PDF-file]

51. Schippers, B. and Scheffer, R. 1997. Jas voor radijs; beschermen met bacteriën. Natuur en Techniek 65 : 66-77.

52. Van Loon, L.C., Bakker, P.A.H.M. and Pieterse, C.M.J. 1997. Mechanisms of PGPR-induced resistance against pathogens. In : Plant Growth-Promoting Rhizobacteria – Present Status and Future Prospects (A. Ogoshi, K. Kobayashi, Y. Homma, F. Kodama, N. Kondo and S. Akino, eds.), pp. 50-57.Faculty of Agriculture, Hokkaido University, Sapporo, Japan.

53. Van Loon, L.C. 1997. Induced resistance and the role of pathogenesis-related proteins. ***Eur. J. Plant Pathol***. 103 : 753-765. [PDF-file]

54. Van Wees, S.C.M., Pieterse, C.M.J., Trijssenaar, A., Van't Westende, Y., Hartog, F. and Van Loon, L.C. 1997. Differential induction of systemic resistance in *Arabidopsis* by biocontrol bacteria. ***Mol. Plant-Microbe Interact***. 10 : 716-724. [PDF-file]

1996 :

55. Bol, J.F., Buchel, A.S., Knoester, M., Baladin, T., Van Loon, L.C. and Linthorst, H.J.M. 1996. Regulation of the expression of plant defence genes. *Plant Growth Regulation* 18 : 87-91.

56. De Boer, M., Van Loon, L.C. and Bakker, P.A.H.M. 1996. Biological control of *Fusarium* wilt of radish by combinations of fluorescent *Pseudomonas* spp. strains. in : Biological and Integrated Control of Root Diseases in Soilless Cultures (C. Alabouvette, ed.), *IOBC wprs Bulletin* 19 : 47-52.

57. De Weger, L.A., Bloemberg, G.V., Van Wezel, T., Van Raamsdonk, M., Glandorf, D.C.M., Van Vuurde, J., Jann, K. and Lugtenberg, B.J.J. 1996. A novel cell surface polysaccharide in *Pseudomonas putida* WCS358, which shares characteristics with *Escherichia coli* K antigens, is not involved in root colonization. ***J. Bacteriol***. 178 : 1955-1961.

58. Folders, J., De Groot, A., Van Loon, L.C. and Tommassen, J. 1996. Biocontrol of soil-borne plant pathogens by means of biotechnology. in : Biologicala nd Integrated Control of Root Diseases in Soilless Cultures (C. Alabouvette, ed.), *IOBC wprs Bulletin* 19 : 115-119.

59. Hoffland, E., Hakulinen, J. and Van Pelt, J.A. 1996. Comparison of systemic resistance induced by avirulent and nonpathogenic *Pseudomonas* species. ***Phytopathology*** 86 : 757-762.

60. Hoffland, E., Niemann, G.J., Van Pelt, J.A., Pureveen, J.B.M., Eijkel, G.B., Boon, J.J.a nd Lambers, H. 1996. Relative growth rate correlates negatively with pathogen resistance in radish : the role of plant chemistry. ***Plant Cell Environ***. 19 : 1281-1290.

61. Leeman M., Den Ouden, F.M., Van Pelt, J.A., Cornelissen, C., Matamala-Garros, A., Bakker, P.A.H.M. and Schippers, B. 1996. Suppression of *Fusarium* wilt of radish by co-inoculation of fluorescent *Pseudomonas* spp. and root-colonizing fungi. ***Eur. J. Plant Pathol***. 102 : 21-31.

62. Leeman, M., Den Ouden, F.M., Van Pelt, J.A., Dirkx, F.P.M., Steijl, H., Bakker, P.A.H.M. and Schippers, B. 1996. Iron availability affects induction of systemic resistance to *Fusarium* wilt of radish by *Pseudomonas fluorescens*. ***Phytopathology*** 86 : 149-155.

63. Pieterse, C.M.J., Van Wees, S.C.M., Hoffland, E., Van Pelt, J.A. and Van Loon, L.C. 1996. Systemic resistance in *Arabidopsis* induced by biocontrol bacteria is independent of salicylic acid accumulation and pathogenesis-related gene expression. ***Plant Cell***. 8 : 1225-1237.

64. Peterse, C.M.J., Van Wees, S.C.M., Van Pelt, J.A., Trijssenaar, A., Van't Westende, Y.A.M., Bolink, E.M. and Van Loon, L.C. 1996. Systemic resistance in *Arabidopsis thaliana* induced by biocontrol bacteria. *med. Fac. Landbouww. Univ. Gent*. 61 / 2a : 209-220.

65. Van Loon, L.C. 1996. Disease-suppressive actions of *Pseudomonas* bacteria : induced resistance. in : Biological and Integrated Control of Root Diseases in Soilless Cultures (C. Alabouvette, ed.), *IOBC wprs Bulletin* 19 : 53-61.

<u>1995 :</u>

66. Bakker, P.A.H.M., Raaijmakers, J.M., Leeman, M., Van der Sluis, I., Van Pelt, J.A. and Schippers, B. 1995. Effects of the pseudobactin uptake protein A on the ecology of rhizosphere

obeikandl.com

pseudomonas. in : The Biosafety Results of Field Tests of Genetically Modified Plants and Organisms (D.D. Jones, ed.), pp. 143-148. University of California, Oakland, CA, USA.

67. Cornelussen, M.H.M., Karssen, C.M. and Van Loon, L.C. 1995. UV-induced cross-linking of abscisic acid to binding proteins. ***Phytochemistry*** 39 : 959-968.

68. Duijff, B.J., Erkelens, A., Bakker, P.A.H.M. and Schippers, B. 1995. Influence of pH on Suppression of *Fusarium* wilt of carnation by *Pseudomonas fluorescens* WCS417r. ***J. Phytopathol***. 143 : 217-222.

69. Glandorf, D.C.M., Bakker, P.A.H.M. and Van Loon, L.C. 1995. Influence of the expression of antibacterial and antifungal genes in transgenic plants on the saprophytic soil microflora. in : Unanswered Safety Questions when Employing GMO's. Workshop Proceedings Leeuwenhorst Congress Centre Noordwijke4rhout, the Netherlands, May 2-4, 1995, pp. 111-115. Coordination Commission Risk Assessment Research (CCRO).

70. Hoffland, E., Pieterse, C.M.J., Bik, L. and Van Pelt, J.A. 1995. Induced systemic resistance in radish is not associated with accumulation of pathogenesis-related proteins. ***Physiol. Mol. Plant Pathol***. 46 : 309-320.

71. Hoffland, E., Pieterse, C.M.J., Bik, L. and Van Pelt, J.A. 1995. Induced resistance in *Arabidopsis* and radish : involvement of PR proteins. in : Environmental Biotic Factors in Integrated Plant Disease Control (M. Mai/2ka, ed.). Proceedings 3rd Conference of European Foundation for Plant Pathology Pozanan, Poland, September 509, 1994, pp. 265-268. *The Polish Phytopathological Society, Poznan.*

72. Knoester, M., Bol, J.F., Van Loon, L.C. and Linthorst, H.J.M. 1995. Virus-induced gene expression for enzymes of ethylene biosynthesis in hypersensitively reacting tobacco. ***Mol. Plant-Microbe Interact***. 8 : 177-180.

73. Leeman, M. 1995. Suppression of *Fusarium* Wilt of Radish by Flourescent *Pseudomonas* spp. Induction of disease resistance, co-inoculation with fungi and commercial application. Ph.D. Thesis Utrecht University, 119 pp.

74. Leeman, M., Van Pelt, J.A., Den Ouden, F.M., Heinsbroke, M., Bakker, P.A.H.M. and Schippers, B. 1995. Induction of systemic resistance by *Pseudomonas fluorescens* in radish cultivars differing in susceptibility to *Fusarium* wilt, using a novel bioassay. ***Eur. J. Plant Pathol***. 101 : 655-664.

75. Leeman, M., Van Pelt, J.A., Den Ouden, F.M., Heinsbroek, M., Bakker, P.A.H.M. and Schippers, B. 1995. Induction of systemic resistance against *Fusarium* wilt of radish by lipopolysaccharides of *Pseudomonas fluorescens*. ***Phytopathology*** 85 : 1021-1027.

76. Leeman, M., Van Pelt, J.A., Hendrickx, M.J., Scheffer, R.J., Bakker, P.A.H.M. and Schippers, B. 1995. Biocontrol of *Fusarium* wilt of radish in commercial greenhouse trials by seed treatment with *Pseudomonas fluorescens* WCS374. ***Phytopathology*** 85 : 1301-1305.

77. Raaijmakers, J.M., Van der Sluis, I., Koster, M., Bakker, P.A.H.M., Weisbeek, P.J. and Schippers, B. 1995. Utilization of heterologous siderophores and rhizoshphere competence of fluorescent *Pseudomonas* spp. ***Can. J. Microbiol***. 41 : 126-135.

78. Raaijmakers, J.M., Leeman, M., Van Oorschot, M.M.P., Van der Sluis, I., Schippers, B. and Bakker, P.A.H.M. 1995. Dose-response relationships in biological control of *Fusarium* wilt of radish by *Pseudomonas* spp. ***Phytopathology*** 85 : 1075-1081.

79. Raaijmakers, J.M., Van der Sluis, I., Van den Hout, M., Bakker, P.A.H.M. and Schippers, B. 1995. Dispersal of wild-type and genetically-modified *Pseudomonas* spp from treated seeds or soil to aerial parts of radish plants. ***Boil Biol. Biochem.*** 27 : 1473-1478.

80. Schippers, B., Scheffer, R.J., Lugtenberg, B.J.J. and Weisbeek, P.J. 1995. Biocoating of seeds with plant growth- promoting rhizobacteria to improve plant establishment. Outlook on Agriculture 24 : 179-185.

81. Steijl, H., Van der Sluis, I., Van den Heuvel, J. and Van Loon, L.C. 1995. Aspects of induced resistance in radish; effects of PGPR induced systemic resistance on disease progress. in : Environmental Biotic Factors in Integrated Plant Disease Control (M. Ma1/2ka, ed.). Proceedings 3rd Conference of European Foundation for Plant Pathology Poznan, Poland, September 5-9, 1994, pp. 523-526. *The Polish Phytopathological Society, Poznan.*

82. Van den Heuvel, J., Van Dam, J.A.C. and Van der Sluis, I. 1995. How general is the induction of resistance by nonpathogenic rhizobacteria ? in : Environmental Biotic Factors in Integrated Plant Disease Control (M. Ma1/2ka, ed.), Proceedings 3rd Conference of European Foundation for Plant Pathology Poznan, Poland, September 5-9, 1994, pp. 261-264. *The Polish Phytopathological Society, Poznan.*

83. Van der Wolf, J.M., Van Beckhoven, J.R.C.M., De Vries, P.M., Raaijmakers, J.M., Bakker, P.A.H.M., Bertheau, Y. and Van Vuurde, J.W.L. 1995. Polymerase chain reaction for verification of fluorescent colonies of *Erwinia chrysanthemi* and *Pseudomonas putida* WCS358 in immunofluorescence colony staining. ***J. Appl. Microbiol.*** 79 : 569-577.

1994 :

84. Duijff, B.J. 1994. Suppression of *Fusarium* Wilt by Fluorescent *Pseudomonas* spp.; Mechanisms, Influence of Environmental Factors and Effects on Plant Iron Nutrition. Ph.D. Thesis Utrecht University, 95 pp.

85. Duijff, B.J., Bakker, P.A.H.M. and Schippers, B. 1994. Ferric pseudobactin 358 as an iron source for carnation. ***J. Plant Nutrition*** 17 : 2069-2078.

86. Duijff, B.J., Bakker, P.A.H.M. and Schippers, B. 1994. Suppression of *Fusarium* wilt of carnation by *Pseudomonas putida* WCS358 at different levels of disease incidence and iron availability. ***Biocontrol Sci. Technol.*** 4 : 279-288.

87. Duijff, B.J., Kogel, W.J. de, Bakker, P.A.H.M. and Schippers, B. 1994. Influence of pseudobactin 358 on the iron nutrition of barley. ***Soil Biol. Biochem.*** 26 : 1681-1688.

88. Duijff, B.J., Kogel, W.J. de, Bakker, P.A.H.M. and Schippers, B. 1994. Significance of pseudobactin 358 for the iron nutrition of plants. in : Improving plant productivity with rhizosphere bacteria (M.H. Ryder, P.M. Stephens and G.D. Bowen, eds), pp. 142-144. CSIRO, Adelaide, Australia.

89. Glandorf, D.C.M., Sluis, I. van der, Anderson, A.J., Bakker, P.A.H.M. and Schippers, B. 1994. Agglutination, adherence

and root colonization by fluorescent pseudomonads. ***Appl. Environ. Microbiol***. 60 : 1726-1733.

90. Lugtenberg, B.J.J., Weger, L.A. de and Schippers, B. 1994. Bacterization to protect seed and rhisosphere against disease. in : BCPC Monograph No. 57 : Seed Treatment : Progress and Prospects, pp. 293-302.

91. Niemann, G.J. 1994. A crucial role of phenolic metabolism in resistance of carnations to wilt diseases. ***Acta Horticult***. 381 : 565-571.

92. Niemann, G.J. and Steijl, H. 1994. Phenolics in the interaction Pseudomonas sp. / Dianthus caryophyllus / *Fusarium oxysporum f*. sp. *dianthi*. ***Acta Horticult***. 381 : 572-575.

93. Raaijmakers, J.M. 1994. Microbial Interactions in the Rhizosphere; Root Colonization by *Pseudomonas* spp. and Suppression of *Fusarium* Wilt. Ph.D. Thesis Utrecht University, 127 pp.

94. Raaijmakers, J.M., Bitter, W., Punte, H.L.M., Bakker, P.A.H.M., Weisbeek, P.J. and Schippers, B. 1994. Siderophore receptor *PupA* as a marker to monitor wild- type *Pseudomonas putida* WCS358 in natural environments. ***Appl. Environ. Microbiol***. 60 : 1184-1190.

95. Van Loon, L.C. 1994. De plant tussen belagers en beschermers. ***Gewasbescherming*** 25 : 20-26.

96. Van Loon, L.C., Pierpoint, W.S., Boller, Th., and Conejero, V. 1994. Recommendations for naming plant pathogenesis-related proteins. ***Plant Mol. Biol. Reporter*** 12 : 245-264.

1993 :

97. Duijff, B.J., Meijer, J.W., Bakker, P.A.H.M. and Schippers, B. 1993. Siderophore-mediated competition for iron and induced resistance in suppression of *Fusarium* wilt of carnation by fluorescent *Pseudomonas* spp. ***Neth. J. Plant Pathol***. 99 : 277-289.

98. Glandorf, D.C.M., Peters, L.G.L., Van der Sluis, I., Bakker, P.A.H.M. and Schippers, B. 1993. Crop specificity of rhizosphere pseudomonads and the involvement of root agglutinins. ***Soil Biol. Biochem***. 25 : 981-989.

99. Klerk, H., Rebers, M. and Van Loon, L.C. 1993. Effects of light and regulators on senescence-related changes in soluble proteins in detached oat (*Avena sativa* L.) leaves. ***Plant Growth Regul***. 13 : 137-145.

100. Lemanceau, P., Bakker, P.A.H.M., De Kogel, W.J., Alabouvette, C. and Schippers, B. 1993. Antagonistic effect of nonpathogenic *Fusarium oxysporum* FO47 and pseudobactin 358 upon pathogenic *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*. ***Appl. Environ. Microbiol***. 59 : 74-82.

101. Niemann, G.J. 1993. The anthranilamide phytoalexins of the *Caryophyllaceae* and related compounds. ***Phytochemistry*** 34 : 319-328.

102. Schippers, B. 1993. Exploitation of microbial mechanisms to promote plant health and plant growth. ***Phytoparasitica*** 21 : 275-279 (guest editorial).

103. Van den Boogert, P.H.J.F. 1993. The Ecology of *Verticillium biguttatum,* its Significance for the Population Dynamics of *Rhizoctonia solani* in potato. Ph.D. Thesis Utrecht University, 116 pp.

104. Van Loon, L.C. 1993. De plant tussen belagers en beschermers. Oratie Universiteit Utrecht, 20 pp.

105. Van Loon, L.C. 1993. Plant defences. in : Defence Mechanisms, pp. 77-142, 380-383. Biotol Series, Butterworth / Heinemann, Oxford, UK.

106. Van Loon, L.C. and Pennings, G.G.H. 1993. Involvement of ethylene in the induction of systemic acquired resistance in tobacco. In : Mechanisms of Plant Defense Responses (B. Fritig and M. Legrand, eds), pp. 156-159. Kluwer, Dordrecht.

107. Van Loon, L.C., Bakker, P.A.H.M. and Scheffer, R.J. 1993. Seed treatment with bacteria protects plants against soil- borne diseases. ***Profyta*** 4 : 14-17.

108. Wijdeveld, M.M.G., Goldbach, R.W., Meurs, C. and Van Loon, L.C. 1993. On the relationship between X-bodies and symptom development in plants infected with different tobamoviruses. ***Archiv. Virol.*** 133 : 143-155.

opelkandi.com

الفصل السادس

دراسة وتطور المقاومة الحيوية لأمراض النبات

تعريف المقاومة الحيوية :

عرف العالم Garret (سنة ١٩٦٥) المقاومة الحيوية فى أمراض النبات ، بأنها الحالة التى تسبب ، أو الطريقة التى بواسطتها يمكن التأثير على بقاء أو نشاط الكائن الممرض عن طريق كائن حى آخر غير الإنسان ، مما ينتج عنه انخفاض الإصابة بالمرض .

أما كل من Baker & Cook سنة ١٩٧٤ فقد ذكرا تعريفاً آخر للمقاومة الحيوية مقارباً للتعريف السابق ، وهو أن المقاومة الحيوية هى الطريقة التى بها ، يمكن خفض كثافة اللقاح أو كفاءة أجزاء الكائن الممرض أو الطفيل ، سواء أكان فى الحالة النشيطة (الفعالة) أم فى حالة الكمون ، عن طريق واحد أو أكثر من الكائنات الحية الدقيقة ، بمساعدة الظروف الطبيعية فى التربة ، أو عن طريق أدخال هذه الكائنات صناعياً إلى البيئة الطبيعية للكائنات الممرضة . هذا التعريف أقره كل من Whipps و Baker سنة ١٩٨٧ .

أما Cooks سنة ١٩٨٩ فقد ذكر تعريفاً أكثر شمولاً للمقاومة الحيوية وقال «إن المقاومة الحيوية هى استعمال الكائن الحى الدقيق الطبيعى أو المحور فى الجينات أو منتجات الجين لخفض تأثير الكائنات الحية الدقيقة غير المرغوبة (الآفات) ، وبحيث تلائم هذه الكائنات الحية الدقيقة المرغوبة عند استعمالها على كل من المحاصيل الحقلية ، الأشجار ، الحيوانات والحشرات ، الكائنات الحية الدقيقة النافعة الأخرى ، ولا تسبب لها أضراراً .

ويمكن القول بأن هناك طرقاً عديدة تستعمل لخفض كمية أو كفاءة الكائن الممرض ، بالإضافة إلي المقاومة الحيوية ، وهذه الطرق هى :

١ - حرق أو إزالة المخلفات (البقايا) النباتية .

٢ - استئصال العوائل المتبادلة للكائن الممرض أو إزالة العوائل الحولية التى يقضى الكائن الممرض الشتاء عليها .

٣ - اتباع دورة زراعية مناسبة فى الحقول المختلفة .

٤ - خلق ظروف غير مناسبة لنمو و/أو بقاء الكائن الممرض فى التربة عن طريق التشميس،

تغير رقم الحموضة ، زيادة الأسمدة العضوية ، تحسين العمليات الزراعية ، اتباع طرق رى معينة ، حراثة التربة .

٥ – تحسين المقاومة فى النبات عن طريق التربية أو التطعيم .

تشمل المقاومة الحيوية للممرضات النباتية ثلاث قوى ، وهى :

١ – خفض (إنقاص) كثافة لقاح الكائن الممرض ، بواسطة كائنات دقيقة مضادة له ، تسمى مضادات الممرضات النباتية أو الكائنات الصديقة ، هذه الكائنات قد تكون دخيلة على الوسط أو مستوطنة فيه .

٢ – حماية سطح النبات بواسطة لقاح مسبق preinoculum ضد عدو ممرض لهذا النبات .

٣ – إحداث عدم توافق فسيولوجى بين العائل النباتى والكائن الممرض ، عن طريق الهندسة الوراثية أو بالتطعيم بكائن دقيق ممرض أقل شدة ، أو غير ممرض للنبات العائل على الأطلاق .

وقد أقر معظم الباحثين أن العنصر الفعال فى المقاومة الحيوية لأمراض النبات ، يجب أن يقوم بواحد أو أكثر مما يلى :

١ – أن ينتج مضادات حيوية ضد الكائنات الممرضة .

٢ – ينتج مركبات تعمل كحاملات للحديد Siderphores لجعل هذا العنصر أقل إتاحة للكائنات الممرضة .

٣ – أن تكون لديه قدرة عالية على التنافس على الغذاء و/أو المكان الضرورى لنمو الكائن الممرض وعلى احتلال الأماكن المفضلة من قبل الممرضات .

٤ – أن ينتج مركبات هرمونية تزيد فى نمو النبات ، مثل : المواد الشبيهة بالجبرلينات أو تزيد مقاومة النبات للأمراض .

١ - المقاومة الحيوية الحديثة :

تعرف المقاومة الحيوية بأنها استعمال الكائن الحى الدقيق الطبيعى أو المحور (فى الجينات أو منتجات الجين) لخفض تأثير الكائنات الحية الدقيقة غير المرغوبة (الأفات) ، بحيث تكون هذه الكائنات الحية الدقيقة المستعملة متوافقة مع الكائنات الدقيقة النافعة وغير ضارة

بالمحاصيل الزراعية . أو يمكن القول بأن المقاومة الحيوية هي استعمال كائنات حية فى مقاومة كائنات حية أخرى ضارة ، سواء فى مجال الحشرات أو الأمراض أو حتى فى الحيوانات الراقية .

بدأ الاتجاه إلى المقاومة الحيوية فى أوائل الثلاثينيات من هذا القرن ، حيث كانت تجرى التجارب على أساس إحداث تغيير فى ظروف التربة ، هذا التغير يؤدى إلى تشجيع نمو بعض مكونات ميكوفلورا التربة ، على حساب تثبيط نشاط البعض الآخر . تعتبر هذه الطريقة اللبنة الأولى التى وضعت أساساً لبناء صرح علم المقاومة الحيوية لأمراض النبات . ثم بعد ذلك تتابعت الأبحاث بنشاط وقوة حتى وصلت إلى ماهى عليه الان . إن أحدث ما وصلت إليه المقاومة الحيوية هو إحداث تغييرات فى جينات بعض سلالات الكائنات الحية الدقيقة ، بحيث تصبح مقاومة أو مضادة للسلالات الممرضة ، أو مانعة لتكاثرها أو مثبطة لها ، أو عند حدوث تهجين بين السلالات المضادة والسلالات الممرضة يؤدى ذلك إلى ظهور نسل جديد غير قادر على إحداث المرض . هذه الأبحاث تتم حالياً باستخدام الهندسة الوراثية والتداخل فى تركيب الـ DNA و RNA .

بدأت فى أوائل التسعينيات من هذا القرن أصوات كثيرة تنادى بالاهتمام بالبيئة والابتعاد عن تلويثها ، وعقد مؤتمر قمة الأرض فى مدينة ريدوجانيرو ، وذلك لوضع اتفاقيات للحد من تلوث البيئة ، وكان الاهتمام الكبير فى هذه المؤتمرات يتجه إلى ثقب الأوزون وتلوث الهواء الجوى وقليل من الاهتمام بتلوث التربة .

اتجه الاهتمام إلى تلوث البيئة ، نتيجة انتشار كثير من الأمراض بين مستويات مختلفة من الناس ، والتى لا تكون متسببة إلا عن تلوث الغذاء أو الهواء نتيجة استعمال المواد الكيماوية على المنتجات الغذائية . من أهم هذه الأمراض – الفشل الكلوى والأورام وحساسية الصدر . هناك آلاف من أطنان المبيدات الكيماوية تستعمل على المنتجات الزراعية فى فترات النمو المختلفة فى كثير من المناطق الزراعية فى العالم . بعض هذه المبيدات الكيماوية تبقى فى التربة لمدة تصل حوالى خمسين عاماً والبعض الآخر أقل . كذلك فإن الأثر المتبقى لهذه الكيماويات فى ثمار الفواكه والخضروات أو الأجزاء الورقية الأخرى عندما تدخل جسم الإنسان ، تؤدى إلى إحداث الأمراض المختلفة . كذلك فإن نباتات العلف الحيوانى عندما تتغذى عليها الحيوانات ، فإن الأثر المتبقى من الكيماويات ينتقل إلى حليب الحيوان ولحمه ، ومن ثم إلى جسم الإنسان .

هناك أسباب عديدة جعلت العلماء يتجهون بأبحاثهم إلى المقاومة الحيوية والابتعاد إلى حد ما عن استعمال المواد الكيماوية ، فى مقاومة أمراض النبات ، أهم هذه الأسباب هى :

١ – تلوث البيئة . كما ذكرنا سابقاً ، هناك آلاف الأطنان من المبيدات الكياوية تستعمل سنوياً على المنتجات الزراعية ، هذه المبيدات ، بغض النظر عن التكاليف الاقتصادية ، فإنها تقوم بتلويث البيئة من حيث الهواء والتربة والماء ، وتحدث أثرها تدريجياً حيث إنها تتراكم فى جسم الإنسان وتصل إلى الحد الفعال ، فيبدأ ظهور الأعراض المرضية عليه .

٢ – الأثر المتبقى على المنتجات الغذائية . إن استعمال المبيدات الكيماوية على المنتجات الزراعية ، يؤدى إلى بقاء نسبة معينة تقدر بأجزاء فى المليون ، تبقى داخل الثمرة أو على الأجزاء الخضرية التى يتغذى عليها الإنسان . هذه النسبة الضئيلة عندما تدخل جسم الإنسان تحدث أثرها الضار بصحة المستهلك .

هناك بعض الدول تمنع استيراد المنتجات الزراعية ، حتى لو كانت نسبة الأثر المتبقى من المبيدات عليها ، منخفضة جداً ، وكذلك بالنسبة للمواد العلفية للحيوانات ، حيث إنه فى الحالة الأخيرة ينتقل تأثير المبيد إلى المنتجات الحيوانية التى يتغذى عليها الإنسان .

٣ – هناك كثير من الأمراض النباتية يصعب مقاومتها كيماوياً ، إما لعدم فعالية المبيدات الكيماوية المكتشفة ، أو لصعوبة تطبيق واستعمال هذه المبيدات من الناحية العملية أو الاقتصادية .

٤ – فى كثير من مسببات الأمراض النباتية ، تظهر سلالات جديدة من الكائنات الممرضة ، تكون مقاومة للمبيدات الكيماوية ، وبالتالى يلزم استعمال مبيدات كيماوية جديدة لمقاومة هذه السلالات الجديدة ، وبعد فترة تظهر سلالات جديدة أخرى من المسبب المرضى تكون مقاومة لهذه الكيماويات وهكذا ، إلا أن سرعة ظهور السلالات الجديدة المقاومة للمبيدات الفطرية ، أسرع بكثير من ظهور مبيدات كيماوية جديدة ، وبالتالى تبقى الحالة راجحة باتجاه السلالات الممرضة الجديدة وانتشارها .

٥ – أما فى الطريقة الكلاسيكية لتربية النباتات المقاومة للأمراض ، فإن الأصناف الجديدة المقاومة سرعان ما تنكسر مقاومتها عند ظهور طفرة أو سلالة جديدة من الكائن الممرض ، وبالتالى تعاد الكرة ثانية لإيجاد أصناف مقاومة ، وهذا يحتاج لوقت طويل .

٦ – هناك أنواع عديدة من النباتات لا يتوفر فيها الأصناف المقاومة للأمراض ، مما يضطر إلى استعمال المقاومة الحيوية .

هذه الأسباب السابقة جعلت العلماء يتجهون فى أبحاثهم إلى المقاومة الحيوية فى مقاومة أمراض النبات .

٢ - الاسس التى تعتمد عليها المقاومة الحيوية :

١ – **التضاد الحيوى Antibiosis** . إن ظاهرة التضاد الحيوى ، من أهم الظواهر التى تستعمل فى المقاومة الحيوية لأمراض النبات ، فهى تسبب تثبيط نمو الكائن الممرض أو تقضى عليه كلية ، أو أنها توقف إنبات الوحدات التكاثرية للكائن الممرض . تعتمد ظاهرة التضاد الحيوى على مقدرة الكائن الممرض على انتاج مضادات حيوية أو ترياقات بكتيرية . يمكن اعتبار التضاد الحيوى مثل التضاد Antagonism ، الذي يعتمد على نواتج تمثيلية تكون متخصصة أو غير متخصصة ناتجة عن الميكروب ، مثل عوامل التحلل ، الإنزيمات ، المواد المتطايرة ، أو السايدروفورز أو مواد سامة أخرى .

٢ – **التطفل الفطرى Mycoparasitism** . عندما يتطفل فطر على فطر آخر ، هذه الظاهرة تسمى التطفل الفطرى Mycoparasite . هناك عدة طرق بواسطتها يهاجم المتطفل الفطرى تركيبات الفطر الممرض (المتطفل عليه) ، منها : أ – اختراق الهيفا مباشرة . ب – التفاف المتطفل حول ميسيليوم الفطر المتطفل عليه وقد يخترقها أو لا يخترقها . جـ – يفرز الفطر المتطفل إنزيمات تهضم جدر الميسيليوم فى الفطر الممرض ، أو أنه يفرز مواد مضادة تسبب تحللاً داخلياً فى الفطر المتطفل عليه .

٣ – **التحلل الفطرى Lysis** . يعرف التحلل الفطرى بأنه تحطيم أو تحلل أو ذوبان أو تفكك المركبات الحيوية فى الكائن الحى بواسطة إنزيمات معينة . هناك نوعان من التحلل الفطرى : النوع الأول يسمى تحللاً فطرياً خارجياً وهو عبارة عن هضم جزئى إنزيمى لجدر الخلايا الحية بواسطة كائنات حية دقيقة خارجية . أما النوع الثانى ، فهو تحلل فطرى داخلى ، وهو عبارة عن ذوبان بروتوبلازم الخلية دون هضم سابق ، أو مصاحب للجدار ، سواء كان ذلك بعوامل منتجة ذاتياً أو مبتدأة بعوامل خارجية ، وهذا يمكن أن ينتج عنه تغيرات ميتابولزمية داخلية ، أو يؤدي إلى التعرض لمواد سامة مثل تلك الناتجة من كائنات أخرى .

٤ – **المنافسة Competition** . يعرف التنافس بأنه محاولة كائنين أو أكثر فى الحصول على الحد الذى يتطلبه كل منهما من المواد المتوفرة أمامه ، بشكل معين وتحت ظروف معينة ، موجودة عليها تلك المادة ، عندما لا تكون هذه المادة متوفرة بكمية تكفى المتنافسين . يكون التنافس على الغذاء وبعض عوامل النمو الخاصة وعلى الأكسجين ، وعلى المكان وهذا ما يسمى استعمار المكان . لا يحدث التنافس على أشياء تكون متوفرة بشكل كاف لجميع الكائنات .

٥ – **الكائنات الدقيقة التكافلية Symbiotic Microorganisms** . هناك كثير من الأبحاث والتجارب ، أثبتت أن كثيراً من الكائنات الدقيقة التكافلية من البكتريا والفطريات الشعاعية التى تتوطن أنسجة النبات وأسطح الجذور ، لها دور كبير فى مقاومة النبات للأمراض ، ويتم ذلك بسيطرة جينية من العائل . أهم أشكال الكائنات الدقيقة التكافلية هى البكتريا العقدية (بكتيريا العقد الجذرية) والميكورهزا . هناك نوع من البكتيريا المشجعة لنمو النبات Plant Growth Promoting (PGPR) Rhizobacteria ، تعزل من منطقة الجذور فى النبات ، ويمكن حقنها فى البذور لتزيد فى نمو النبات وتؤدى إلى زيادة المحصول . وجد أن هذه المجموعة من PGPR تستعمر سطح الجذر وتقلل من تجمعات الميكروبات الضارة والممرضة للنبات . وبالتالى فإن التنافس والاستعمار هى القوى التى تستعملها PGPR . فى السنوات الأخيرة ، استعملت هذه المجموعة على نطاق واسع فى المقاومة الحيوية لأمراض النبات .

بعد هذه المقدمة ، هل نستطيع القول بأن المقاومة الحيوية وصلت إلى المستوى المطلوب من حيث الاستعمال والتطبيق فى أمراض النبات ؟؟ . للإجابة عن هذا السؤال نقول إن المقاومة الحيوية ، نجحت إلى حد ما فى مقاومة كثير من الأمراض النباتية فى الحقل وفى المخزن ، وإن هناك كبسولات أو حبيبات تباع فى الأسواق ومصرح باستعمالها فى المقاومة الحيوية للأمراض المخصصة لها وتسمى مبيدات حيوية Biocides . ومن ناحية أخرى هناك كثير من الأمراض نجحت المقاومة الحيوية فى مقاومتها معملياً أو تحت ظروف متحكم بها ، ولكنها لغاية ١٩٩٧ لم تنجح فى الاستعمال الحقلى .

هناك صعوبات كبيرة تواجه الباحثين فى الحصول على النتيجة النهائية للمبيد الحيوى Biocide ، وهو الكائن الدقيق الذى يستعمل فى المقاومة الحيوية . بعض هذه الصعوبات

تتعلق بالإجراءات البحثية والبعض الآخر يتعلق بالتطبيق . حتى يتم نشر واستعمال المستحضر الحيوى على نطاق واسع ، يجب أن يمر بعدة مراحل ، هذه المراحل هى :

١ – اكتشاف الكائن الدقيق واختباره على مسببات الأمراض ، التى سيقاومها فى المعمل وفى الحقل .

٢ – الملاءمة التامة لهذا الكائن الدقيق ، من حيث قدرته فى المقاومة وعدم إحداث أضرار للكائنات المفيدة وتحمله للمبيدات الكيماوية ، وأن يكون ذا سقف حياة طويل أثناء التخزين .

٣ – التصريح من الجهات الحكومية الخاصة باستعمال هذا المركب .

٤ – تحضير المركب فى تشكيلات أو تركيبات معينة لاستعماله فى الأوقات المناسبة .

أما من ناحية الصعوبات الأخرى ، فإن هذا يتعلق بالبيئة المعقدة والمركبة التى تستعمل فيها الكائنات الدقيقة فى مقاومة المرض . معظم الأمراض التى تستعمل معها الكائنات الدقيقة المضادة هى أمراض كامنة فى التربة أو فى البذور ، وإن معظم هذه المضادات تعزل من التربة ، وهذا يعنى أن بيئة التربة هى الملائمة لهذه الكائنات .

إن بيئة التربة عبارة عن تركيب معقد ، من حيث الكائنات الحية الكثيرة التى تتواجد فيها ، ومن حيث اختلاف التركيب الفيزيائى والكيميائى من منطقة لأخرى ، ومن حيث الظروف البيئية التى تختلف من وقت لآخر . والأهم من كل ذلك ، هى عملية التوازن البيئى التى تحدث فى التربة طبيعياً والتى يصعب التحكم بها مدة طويلة . إذا ما تم وأضيفت بعض الكائنات المضادة إلى التربة لمقاومة مرض ما ، فإن هذا الكائن المضاف يزداد فى العدد كثيراً لفترة معينة ، بحيث لا تستمر هذه الزيادة طويلاً ، بل قد تقوم بدورها فى المقاومة الحيوية لموسم واحد أو اثنين على الأكثر ، ثم بعد ذلك تنخفض هذه الأعداد وتعود إلى وضعها الطبيعى فى التربة بحالة توازن . هذه المشكلة (التوازن الطبيعى) من أهم المشاكل التى تقابل تطبيق المقاومة الحيوية فى الحقل . أما بالنسبة للتوازن البيئى على السطح الورقى أو فوق سطح التربة فيكون تأثيره أقل .

من الصعوبات الأخرى التى تواجه تطبيق المقاومة الحيوية ، هو اختلاف الظروف البيئية فى المناطق الزراعية المختلفة . يكون تأثير هذا الاختلاف أقل كثيراً بالنسبة للمبيدات الفطرية

عنه فى المقاومة الحيوية . عدا عن ذلك هناك بعض العوامل المضادة ، التى تحتاج إلى توافر رطوبة معينة فى ظروف ، يكون من الصعب توفرها فى الحقل ، مثل مقاومة بعض أمراض البياض الدقيقى حيوياً .

بشكل عام ، يمكن القول بأن المقاومة الحيوية قد خطت خطوات سريعة جداً فى الأبحاث المعملية ، ولكنها أقل من ذلك فى التطبيقات الحقلية وسوف يأتى الزمن (إن شاء الله) الذى تستعمل فيه المقاومة الحيوية فى مقاومة معظم الأمراض النباتية ، وبالتالى نضع حداً كبيراً للمحافظة على صحة بنى الإنسان من التلوث الغذائى ، والمحافظة على البيئة من التلوث الضار والتلوث الهوائى . ونتكلم الآن عن الأسس التى تعتمد عليها المقاومة الحيوية بالتفصيل .

أولا : *التضاد* Antagonism

يقصد بالتضاد جميع أنواع العلاقات التى يكون فيها كائن حى يعانى من كائن حى آخر ، ومن هذه العلاقات :

I : *التضاد الحيوى* Antibiosis

يمكن تعريف التضاد الحيوى ، بأنه مقدرة كائن حى على إفراز مادة أو أكثر من المواد الأيضية ، تؤثر تأثيراً ضاراً على واحد أو أكثر من الكائنات الأخرى . لا يقتصر التضاد الحيوى على الكائنات الدقيقة بل إن بعض النباتات تفرز جذورها مواد مضادة ، بحيث تؤثر على طبيعة الكائنات الدقيقة التى تنمو فى المجال الجذرى .

هناك أصناف من النباتات تكون مقاومة للإصابة بالمرض ، وذلك لأن جذورها تفرز مواد مضادة تؤثر على الكائنات الممرضة ، ومن الأمثلة على ذلك ، وجد أن نباتات الكتان تقاوم الإصابة بمرض الذبول نتيجة الاختلاف فى ميكوفلورا المجال الجذرى ، وهذا الاختلاف ينشأ بالتالى نتيجة لإفراز الجذر لحمض الهيدروسيانيك .

من المعروف أن المضادات الحيوية المكتشفة حتى الآن (١٩٩٧) ، منها ٩٥ ٪ ناتج عن كائنات دقيقة معزولة أصلاً من التربة . لقد درس تأثير هذه المضادات الحيوية فى المعمل على أطباق بترى أو فى تربة معقمة أو متعادلة بصورة أو أخرى . لقد اعترض كثير من الباحثين على أن المضادات الحيوية تفرز فى التربة غير المعقمة ، أو أن يكون لها دور فى

التفاعلات الميكروبية فى التربة غير المعقمة . تدل بعض الأبحاث على أن المضادات الحيوية لا يظهر لها أثر فى التربة غير المعقمة ، إما لتحللها بإنزيمات الكائنات الدقيقة كما فى حالة مادة Penicillen ، أو لادمصاصها على سطح حبيبات التربة كما فى حالة الستربتومايسين أو لتأثرها بالرقم الهيدروجينى pH فى التربة . فمن المعروف أن كلاً من الفردين ، والكلورما يسين متعادل ، والستربتومايسين قاعدى ، وهذا يدل على أن التربة لا تكون دائماً مناسبة للمضادات الحيوية ، أو يمكن أن يقف عمل المضادات الحيوية أو تأثيرها نتيجة لتفاعلات كيميائية غير معروفة .

يرى العالم Garret سنة ١٩٦٥ أن كل العوامل المذكورة سابقاً لا تعنى أن المضادات الحيوية ليس لها دور فى تفاعل الكائنات الدقيقة فى التربة ، هذا التفاعل يجب أن لا نتخيله بالصورة التى يظهر بها على أطباق بترى أو فى التربة المعقمة ، بل يجب أن يكون تصور تأثيره فى حدود ميكرونات قليلة ، وأن يكون فعله إخلاء الوسط الغذائى الضيق المساحة من الكائنات الدقيقة المنافسة ، ويجب أن ينظر إلى المضادات الحيوية بأنها مواد عضوية متحولة ، وعلى هذا الأساس فإن أدمصاصها فى التربة يساعد على حفظها من التحول لفترة أطول وبالتالى يكون ذلك لمصلحة الكائن الدقيق .

النتيجة مما سبق ، أن بعض الكائنات الدقيقة فى التربة ، وجذور بعض النباتات ، تفرز مواد مضادة . وجد أن التربة غير المعقمة توقف إنبات جراثيم بعض الفطريات ، ولكن وجد أن هذه الظاهرة يمكن تخطيها أو التغلب عليها بإضافة مادة الغلوكوز بنسبة ٠,١ ٪ ، وكانت هذه أول إشارة إلى سمية التربة . ولقد أكدت تجارب كثيرة أن التربة تمنع إنبات جراثيم الفطر إلا فى وجود منبه ، هذا المنبه إما أن يكون فى صورة مادة غذائية أو إفراز جذرى أو فى صورة بقايا نباتية ، هذه المادة المنبهة لا يقتصر دورها على كونها مادة غذائية، إذ أنها تقوم بدورها حتى بتركيزات منخفضة جداً . من هنا نحصل على نتيجة أن التربة فيها سمية توقف إنبات الجراثيم الفطرية ، ويمكن التغلب على هذه السمية بإضافة مادة غذائية أو مادة منبهة .

اعترض علماء كثيرون على هذا التعليل ، لتفسير عدم إنبات جراثيم الفطريات فى التربة، وقد ذهب بعض العلماء إلى القول بأن عدم إنبات الجراثيم لا يعدو أن يكون نتيجة لنمو بعض الكائنات الدقيقة على المادة الغذائية الموجودة علس سطح الجرثومة الحية ، وشبه

ذلك بالكائنات الدقيقة التى تنمو على سطح الجذر ، هذه الكائنات الدقيقة تمنع إنبات الجرثومة إلا بعد إضافة مادة غذائية منبهة ، وقد اعترض بعض العلماء على سمية التربة اعتماداً على الأسس الآتية :

١ - لم يستطيع أحد التأكد من وجود مادة سامة فى التربة عن طريق الفصل .

٢ - طرق البحث المستعملة ، منها وضع الجراثيم فى أكياس السلوفان أو على الآجار تشجع نمو الكائنات الدقيقة المضادة .

٣ - المضادات الحيوية بصفة عامة مواد متحولة ، وبالتالى لا تتجمع فى التربة ولا تسبب سمية فيها .

لقد وجد أن لسمية التربة أهمية كبيرة فى بقاء الفطريات فى التربة ، فقد وجد أن جراثيم كثير من الفطريات تبقى ساكنة تحت سمية التربة ثم تنبت بالتأثير المنبه لإفرازات جذر العائل المناسب . كذلك فإن سمية التربة تؤثر على هيفات الإنبات ، فقد وجد أنه عندما تنمو الجراثيم المكروكونيدية لفطر الفيوزاريوم ، فإنها تكون جراثيم كلاميدية على قمة هيفا الإنبات بسرعة ، وأحياناً تتحول الجرثومة الماكروكونيدية إلى جرثومة كلاميدية مباشرة فى التربة غير المعقمة .

إن لسمية التربة أهمية كبيرة فى بقاء الفطريات فى التربة ، فقد وجد أن جراثيم بعض الفطريات تبقى ساكنة تحت تأثير سمية التربة ، ثم تنبت بالتأثير المنبه لإفرازات جذور العائل المناسب . وجد أن بعض المواد العضوية تقلل من سمية التربة وتعمل على إنبات الجراثيم ، فى حين أن بعض المواد تزيد من سمية التربة وتوقف إنبات الجراثيم .

لقد أمكن فى حالات كثيرة ، مقاومة الإصابة أو المرض بواسطة وقف (تخفيف) سمية التربة فى غياب العائل المناسب ، ففى هذه الحالة تنمو الجراثيم ولا تجد العائل القابل للإصابة وتنتهى هيفا الإنبات بالتحلل . عند زيادة سمية التربة تبقى جراثيم الطفيل ساكنة ويستطيع النبات الهروب من الإصابة . يمكن القول بأن سمية التربة فى مصلحة الطفيل أحياناً ، لأنها تجعل الجراثيم ساكنة إجبارياً حتى تأتى مادة منبهه ، يفرزها عائل مناسب وتنبت الجراثيم بعد أن تنكسر سمية التربة ثم تحدث الإصابة .

أمكن مقاومة الإصابة ، إما بكسر سمية التربة قبل ميعاد الزراعة بمدة معينة ، وبذلك تنبت الجراثيم ولا تجد العائل المناسب فتموت ، أو عن طريق إضافة مواد تسبب زيادة سمية

التربة ، وتبقي الجراثيم ساكنة ، وتنبت بذور العائل وتكبر الجذور وتهرب من الإصابة .

لقد أمكن مقاومة عفن جذور الفاصوليا المتسبب عن الإصابة بالفطر *R. solani* بإضافة السليلوز قبل الزراعة بعدة أيام ، حيث وجد أن جراثيم الفطر الكلاميدية تنبت عادة فى جوار بذور العائل ، وأن هذه الجراثيم لا تنبت عند إضافة السليلوز ، وذلك بسبب ارتفاع سمية التربة . وكذلك فإن إضافة الجلوكوز إلى التربة المعاملة بالسليلوز تزيد من سميتها ، فى حين أن إضافة الجلوكوز إلى التربة بمفرده يكسر سمية التربة . كذلك وجد أن إضافة المضاد الحيوى الأورومايسين أو الستربتومايسين إلى التربة تقلل بشكل واضح من سمية التربة بالنسبة للجراثيم الكلاميدية .

وجد بعض الباحثين سنة ١٩٦٩ ، أن إضافة مسحوق مخلفات صناعة القهوة إلى التربة بنسبة ٢/١ - ١ ٪ قبل زراعة الفاصوليا بفترة ٧-١٤ يوم ، ينتج عنه مقاومة مرض الذبول ، وأن الجراثيم الكلاميدية تنمو وتعطى هيفا إنبات ، إلا أن هذه الهيفا تموت وتتحلل بعد ذلك ، وقد وجد أن تنشيط إنبات الجراثيم يتم خلال ثمانية ساعات من إضافة المخلفات، ثم ترتفع سمية التربة بعد ذلك ، وتبقى مرتفعة لفترة تصل إلى ٢٨ يوماً ، فى أثنائها لا تنبت جراثيم الفطر المسبب للمرض ، خلال هذه الفترة يستطيع النبات أن ينمو ويكبر ويقاوم المرض .

كذلك ثبت أن إضافة مسحوق تبن البرسيم الحجازى إلى التربة بنسبة ١ ٪ تؤدى إلى خفض سمية التربة بالنسبة للجراثيم الأندوكونيدية والكلاميدية للفطر *Thielaviopsis basicola* الذى يسبب عفن جذور كثير من النباتات .

٢ - التضاد الحيوى والمقاومة الحيوية Antibiosis and Biological Control

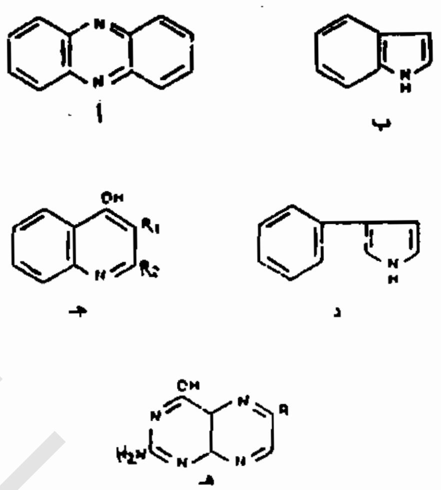
تعتبر ظاهرة التضاد الحيوي ، من أهم الظواهر التى تستعمل فى المقاومة الحيوية لأمراض النبات ، فهى تسبب تثبيط نمو الكائن الممرض أو تقضى عليه كلية أو أنها توقف إنبات الوحدات التكاثرية له . تعتمد هذه الظاهرة فى المقاومة الحيوية على مقدرة إحدى الكائنات الدقيقة المضادة (الكائن الصديق) على انتاج مضادات حيوية تتكون من مواد سامة وهى نواتج ثانوية Secondary products عن الأيض الغذائى ، أو أنها تنتج توكسينات (مواد سامة) مثل تلك التى يطلق عليها ترياقات بكتيرية . هذه المواد السامة تسبب وقف النمو الخضرى وموت ميسيليوم الفطر الممرض بطريقة مباشرة .

لقد اعتبرت البكتيريا الوميضة من مجموعة Pseudomonales من العناصر المهمة فى المكافحة البيولوجية لمرضات النبات ، عن طريق إنتاجها مواد سامة ناتجة عن الأيض الغذائى أو بقيامها بنشاط ميكروبى مضاد ، إذ تنتج أنواعاً من هذه البكتيريا مضادات حيوية مثل مادة التروبولون (شكل ٧) التى تمنع وتقتل مدى كبيراً من البكتيريا الممرضة للنبات ، كما لها القردة على الهدم السريع للمستعمرات الفطرية الكامنة بالتربة . لقد ذكر أن البكتيريا *Pseudomonas capacia* ، تنتج نوعين من المضادات الحيوية الاستيلينية Capacins A) (P & كما لوحظ فى نوع بكتيرى آخر قدرته على أكسدة الجليسين إلى سيانيد الهيدروجين .

تؤثر الظروف الكيميائية والغذائية فى التربة على انتاج المواد السامة الناتجة من التفاعلات الأيضية الغذائية للبكتيريات التى تصيب جذور النبات . تؤثر درجة الحموضة فى التربة ، والأسمدة الكيماوية والمواد السليلوزية على نشاط البكتيريا الممرضة وعلى نوع المضاد الحيوى الناتج .

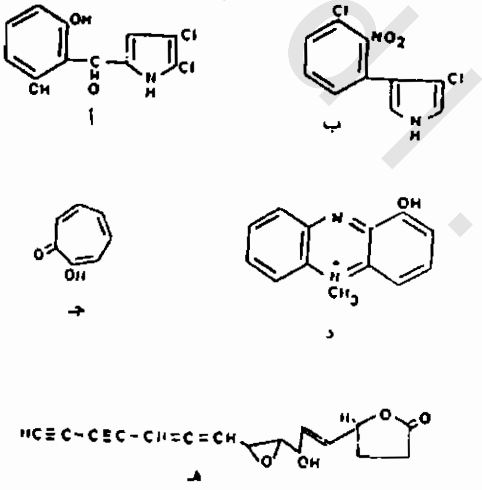
أما بالنسبة للفطريات ، فقد لوحظ أن الفطر *Gliocladium virens* يقاوم الفطر *Pythium ultimum* عن طريق انتاج مضادات حيوية . كما وجد أنه فى مجال جذور بادرات القطن فإن السلالة البكتيرية *Pseudomonas fluorescens pf5* لها القدرة فى حماية النبات من الفطرين *P. ultimum* و *R. solani* من خلال مضادين حيويين ، إحداهما البلتروين مضاد للفطر الأول ، والمضاد الحيوى الثانى البيرونترين الذى يضاد الفطر الثانى . عند معاملة بذور القطن بمستحضر لهذه العزلة البكتيرية ، لم تصاب البادرات بالذبول . كذلك وجد أن الفطر *G. virens* يقوم بدور المقاومة الحيوية ضد أمراض الذبول ، عن طريق إنتاج المضاد الحيوي الجيلوفرين . عند استعمال بعض أنواع *Streptomyces* فى المقاومة الحيوية ، وجد أنها تفرز المضاد الحيوى الجيلداماميسين .

وجد أن بعض الأنواع البكتيرية تنتج ترياقات بكتيرية لا تؤثر إلا علي الأنواع البكتيرية القريبة تقسيمياً . كان أول استعمال للبكتيريا فى المقاومة الحيوية هو استعمال البكتيريا *Agrobacterium radiobacter* لمقاومة مرض التدرن التاجى المتسبب عن البكتيريا *A. tumefaciens* . تنتج المقاومة هنا عن طريق إنتاج مضاد حيوى Agrocine 84 (شكل ٨)، إلا أنه ظهر أخيراً سلالات من الكائن الممرض مقاومة للمضاد الحيوى الناتج من البكتيريا المضادة .



شكل (٧ :أ) : بعض النماذج المهمة للمواد الثانوية الناجمة عن الأيض الغذائى للبكتيريا الوميضة من مجموعة *Pseudomonals* :

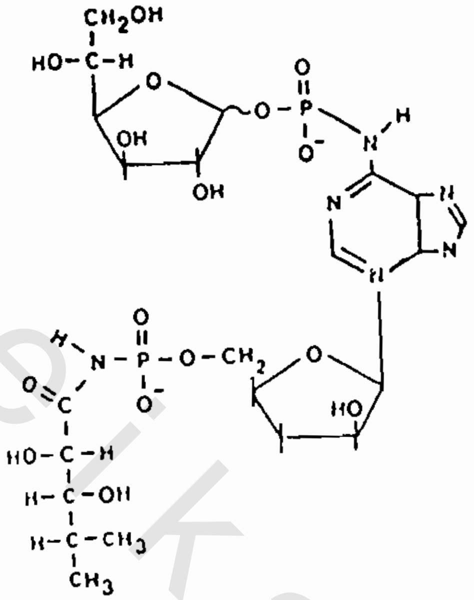
أ – Phenazines ، ب – Indoles ، جـ – Pyo Compounds ،
د – Phenylyrroles ، هـ – Pterines .



شكل (٧ :ب) : نماذج لمضادات حيوية ناتجة من بكتيريا *Pseudomonals* :

أ – Pyoleutorin ، ب – Pyrrolnitrin ، جـ – Tropolone ،
د – Pyocyanin ، هـ – Capacin .

obeikandl.com



شكل (٨) : تركيب الترياق البكتيرى
Agrocin 84
المنتج عن النوع
Agrobacterium
. radiobacter

هناك فطريات كثيرة لها دور فى المقاومة الحيوية لأمراض النبات ، حيث تفرز مضادات حيوية ذات تأثير علي حياة الكائن الممرض ، من هذه الفطريات .

١ – *Athelia bombacina* يفرز مضاداً حيوياً ضد الفطر *Ventura inaequalis* .

٢ – *Chaetomium globosum* يفرز مضاداً حيوياً (الكيتونين) ضد فطر جرب التفاح السابق .

٣ – *Scytalidium sp.* يفرز المضاد الحيوى اسكيتاليدين ضد الفطر *Lentinus lepideus* .

٤ – *Penicillium chrysogenum* يفرز مضاداً حيوياً ضد الفطر *Verticillium albo . atrum*

أ- دور المضادات الحيوية فى المقاومة الحيوية لأمراض النبات :

كانت أول ملاحظة للمضادات الحيوية بواسطة Roy سنة ١٩٥٠ حيث لاحظ انخفاض معدل ذبول مرض الفيوزاريوم المتسبب عن الفطر *Fusarium udum* بواسطة البكتيريا *Bacillus subtilis* ، والتي تطلق مضاداً حيوياً علي سطح الجذر . لقد أستطاع Vasudeva سنة ١٩٥٢ أن ينمي البكتيريا المذكورة والحصول علي كمية كبيرة من هذا المضاد ، ولقد أمكن عزلة وتنقيته سنة ١٩٥٨ وسمى Bulbiformin . ولقد تبين أن انتاج

obeikandi.com

هذا المضاد يزداد بشكل واضح في التربة المعقمة الغنية بحمض الأسبارتك والدكستروز وبقايا بعض الجذور . لقد أمكن خفض ذبول البسلة الهندية بنسبة ٨٨ ٪ عند استعمال هذا المضاد الحيوى ، وقد أصبحت هذه البسلة مقاومة للفطر *F. udum* عندما عوملت البذور بالبكتيريا المذكورة قبل الزراعة ، وذلك لأن المضاد الحيوى Bulbiformin يصبح جهازياً فى النبات ، ويقى جذور النبات من الإصابة .

ب - مركبات غير المضادات الحيوية ودورها فى المقاومة الحيوية :

١ - السايدروفورز Siderophores

هناك مركبات غير المضادات الحيوية ، تدخل أيضاً فى المقاومة الحيوية للكائنات الممرضة النباتية ، تفرز أيضاً بواسطة الكائنات الحية الدقيقة . أكثر هذه المواد دراسة هى مادة السايدروفورز . يمكن القول بأن هذه المادة عبارة عن مركبات خارجة من الخلايا ، ذات وزن جزيئى منخفض لها جاذبية عالية للحديد المخلبى فى تكافؤه الثلاثى (حديديك) الذى ينقل الحديد إلى الخلايا البكتيرية . إن المقدرة على فصل الحديد من مركباته تعطى فائدة كبيرة للكائن الدقيق فى المنافسة . هناك ما يثبت بأن مركبات السايدروفورز يمكن أن تلعب دوراً نشيطاً فى تثبيط بعض الكائنات الدقيقة الممرضة بواسطة كائنات دقيقة أخرى تفرزها ، بحيث تجعل عنصر الحديد أقل إتاحة للممرضات .

عندما تنمو البكتيريا الوميضة فى ظروف ذات نسبة منخفضة من الحديد ، فإنها تنتج صبغة صفراء . السايدروفورز الناتجة من البكتيريا الوميضة هى من نوع Pyoverdine ، عندما يرتبط مع البروتينات ذات الغشاء المستقبل تأخذ التركيب المعقد لـ siderophoreiron .

أول من أجرى أبحاثاً على هذه المركبات هو Kloepper *et al* سنة ١٩٨٠ ، وذكر أهمية إنتاجها كميكانزم فى المقاومة الحيوية ، ثم بعد ذلك ذكر أن السايدروفورز تدخل فى تثبيط أنواع وأشكال أنواع f.sp. لكل من الفطريات *Fusarium oxysporum* ، *Gaeu-mannomyces var. tritici* ، *Pythium sp.* ، *DRMO* . ونظراً لأن السايدروفورز تفصل كمية الحديد الثلاثى المتوافرة فى الرايزوسفير وترتبط بها ، وبالتالى فإنها تحدد توافرها للكائنات الممرضة وتثبط نموها .

إن توفر كمية الحديد الثلاثى فى التربة ، تنخفض لوغاريتيمياً مع زيادة pH التربة ، وبالتالى فإن فعل السايدروفورز يكون أكثر شدة وفعالية فى الأراضى القلوية والمتعادلة أكثر منه فى الأراضى الحامضية . يعتقد بأن الكائنات المرضة حساسة للتثبيط الناتج بواسطة السايدروفورز لعدة أسباب ، منها :

١ - لا تنتج الكائنات المرضة سايدروفورز بنفسها .

٢ - الكائنات المرضة غير قادرة على استعمال السايدروفورز ، المنتجة من قبل الكائنات المضادة أو بواسطة الأحياء الدقيقة الأخرى فى ظروفها البيئية .

٣ - تنتج الكائنات المرضة مركبات تشبه السايدروفورز ذات قوة جذب ضعيفة جداً للحديد أقل من تلك المنتجة بواسطة الكائنات المضادة .

٤ - تنتج بعض الكائنات المرضة مركبات تشبه السايدروفورز ، يمكن أن تستعملها الكائنات المضادة ، فى حين أن هذه الكائنات المرضة لا تستطيع استعمال السايدروفورز المنتج بواسطة الكائنات المضادة .

التطبيقات العملية على السايدروفورز :

١ - وجد أن سلالات البكتيريا الوميضة المضادة المنتجة للسايدروفورز تزيد فى ظهور بادرات القطن فوق سطح التربة ، فى التربة المعاملة بالفطر *Pythium ultimum* بالمقارنة مع سلالات البكتيريا الوميضة *P. fluorescens* غير المنتجة للسايدروفورز .

٢ - وجد العالم Loper سنة ١٩٨٨ أن تجمعات البكتيريا الوميضة المنتجة للسايدروفورز تلعب دوراً مهماً فى وقاية بذور القطن أثناء الإنبات .

٣ - تقوم البكتيريا المنتجة للسايدروفورز بتثبيط الفطر *Pythium* خلال ظهور بادرات معظم البقوليات فوق سطح التربة . كذلك يمكن للسايدروفورز أن تدخل فى المقاومة الحيوية لكائنات ممرضة أخرى .

٤ - إن التضاد الذى تظهره سلالات *Pseudomonas* تجاه البكتيريا *Erwinia caratovora* يعزى إلى السايدروفورز المسمى Pseudobactin الذى تفرزه سلالات البكتيريا *Pseudomonas* .

٥ – الطفرات البكتيرية من البكتيريا بسيدوموناس غير المنتجة لمادة Pseudobactin مثل *Pseudomonas putida* ليس لها تأثير على إنبات الجراثيم الكلاميدية للفطر *Fusarium oxysporum f. sp. cucumerinum* ، بينما السلالات الأصلية تمنع إنبات هذه الجراثيم .

٦ – إن إنتاج السايدروفورز يمكن أن يؤثر فى الاتحاد مع أو الإحلال محل المضادات الحيوية المنتجة لتثبيط الفطر *Gaeumannomyces graminis var. tritici* .

٢ - المركبات المتطايرة Volatile Substances

لم تدرس المركبات المتطايرة وأثرها فى المقاومة الحيوية كثيراً . ذكر أن *Entrobacter cloacae* عامل مهم فى المقاومة الحيوية لأمراض البادرات اعتماداً على خاصية المركبات المتطايرة . وجد فى المعمل أن هذا الكائن ، يثبط تثبيطاً متناسقاً النمو الإشعاعى للفطريات الممرضة النباتية ، مثل *Pythium ultimum* ، *V. dahliae* و *R. sotani* .

وجد أن التقطير الجزئى والحرارة المنخفضة ، يمكن أن تلتقط المواد المتطايرة من مزرعة *E. cloacae* ، مؤدية إلى احتجاز (مسك) أجزاء من المركبات المتطاير التى تثبط النمو الفطرى ، عندما تضاف إلى المزرعة الحديثة . إن طرق التحليل المستعملة مثل Gas chromatography تثبت وجود نسبة من هذه المواد والتى عرفت على أنها أمونيا .

ذكر أن هناك مواد متطايرة مثل Alkyl pyrones والتى تنتج من الفطر *T. harzianum* عند إضافته لمخلوط التربة مع البيت peat soil mixture ، هذه المركبات تثبط الفطر *R. solani* وتمنعه من احداث سقوط بادرات مفاجئ فى نبات الخس .

لقد ذكر Claydon *et al* سنة ١٩٨٧ أن المركبات المتطايرة عبارة عن مواد أيضية ذات قوة عالية فى تثبيط عديد من الفطريات فى المعمل . ولقد وصفها بأنها عبارة عن Fungistatic لمعظم الفطريات ، ولكنها تعمل Paramorphogens (هذا يعنى أنها تحول التوزيع الطبيعى لكتلة الفطر) لبعض الفطريات خاصة *R. solani* و *R. cerealis* . كذلك فإن المواد المتطايرة يمكن أيضاً أن تدخل فى وقاية النباتات من الكائنات الممرضة ، عن طريق أفرازها من قبل فطريات الميكورهزا الخارجية .

اهم المركبات المتطايرة :

١ – إيثانول ٢ – أيزوبيوثانول ٣ – أيزوأمايل الكحول ٤ – أيزوبيوترك أسد

اهم الفطريات التى تنتج مركبات متطايرة :

Boletus varigatus ، T. harzianum ، Entrobacter cloacae

وجد أن الإيثانول بشكل عام يسبب تشجيع الفطر *Phytophthora cinnamomi* والفطر *Fomes annosus* فى المعمل ، بينما المركبات الأخرى تثبط هذه الكائنات الممرضة بتركيزات معينة .

٣ - الإنزيمات Enzymes

إن مساهمة الإنزيمات فى المقاومة الحيوية ، تجعل هناك صعوبة فى التمييز بين التطفل الفطرى المسمى Parasitism والتضاد الحيوى المسمى Antibiosis . فمثلاً إنتاج الإنزيم المحطم لجدار خلية الكائن الممرض بواسطة الكائن المضاد ، يمكن أن يدخل باستمرار فى عمليتى التطفل الفطرى والتضاد الحيوى . هناك بعض الإنزيمات الأخرى ، يمكن أن تدخل فى عملية التضاد الحيوى فقط . مثلاً العزلة Tfl من الفطر *Talaromyces flavus* (الاسم الجديد *Penicillium dangeardii* وغالباً ما يسمى *P. vermiculatum*) يقاوم ذبول الفيرتسلم فى الباذنجان ، وعنده الكفاءة لوقف ذبول الفيرتسليم فى البطاطس فى ظروف الحقل ، وذلك اعتماداً على إفراز الإنزيمات . هذه العزلة من *T. flavus* لم يلاحظ أنها تتطفل على *V. dahliae* ، مع أن الفطر الأصلى يتطفل على كائنات ممرضة أخرى مثل *Rhizoctonia* و *Sclerotinia* . يعتبر الفطر *T. flavus* منافس جيد فى التربة . بالإضافة إلى ذلك فإن هذا الفطر المضاد ينتج مركب يقتل الأجسام الحجرية الصغيرة للفطر *V. dahliae* فى كل من المعمل والتربة . لم تفلح المحاولات الأولية فى تنقية هذا المركب ، الذى يقتل الأجسام الحجرية ، نظراً لسرعة فقده لنشاطه الحيوى خلال الإجراءات الكيماوية والفيزيائية ، التى تؤدى إلى فصل أجزائه .

من المحتمل أن يكون النشاط الحيوى للفطر *T. flavus* ناجماً عن منتجات التفاعل الإنزيمى مع مادة التفاعل ، ولقد ذكر هذا الاقتراح عندما اكتشف أن هذا النشاط يمكن أن يعاد فقده ، عن طريق إعادة الاتحاد بين مواد التفاعل . إن الاكتشاف الذى أدى إلى القول

obeikandi.com

بأن أجزاء الأسيتون القابلة للترسيب تتفاعل بتخصص عال مع الجلوكوز ، سهلت تعريف هذا المركب على أنه إنزيم Glucose oxidase ، وأن ناتج هذا التفاعل هو فوق أكسيد الهيدروجين ، والذى يقتل الأجسام الحجرية للكائن الممرض المذكور سابقاً . إن الجلوكوز أو إنزيم أكسدة الجلوكوز كلاً بمفرده ، لا يقتل الأجسام الحجرية الصغيرة فى التربة ، بينما الإضافة المتزامنة من الجلوكوز واكسيديز الجلوكوز ، تخفض أعداد الأجسام الحجرية الصغيرة للفطر القابلة للحياة والمدفونة فى التربة . بالإضافة لذلك فإنه ما لم يضاف فوق أكسيد الهيدروجين لوحدة بتركيزات عالية نسبياً ، فإنه لا يقتل الأجسام الحجرية فى التربة. وبالتالى فإن التضاد الحيوى يعتقد بأنه داخلاً فى هذه المقاومة الحيوية ، ولكن دور أكسيديز الجلوكوز لم يحدد فى التجارب .

من الممكن أن يحدث التطفل الفطرى على الفطر *R. solani* بواسطة الفطر *T. flavus* كثيراً فى وجود الجلوكوز ، بسبب تكوين فوق أكسيد الهيدروجين . إن المضاد الحيوى lactobacillin قد تم تعريفه بواسطة فوق أكسيد الهيدروجين .

٤ - مواد سامة Poison Substances

إن مادة الـ Viridiol المنتجة بواسطة الفطر *G. virens* ، هى مادة سامة للنبات وخاصة نباتات المحاصيل ، وتعتبر مبيد حشائش لبعض الأعشاب . ولقد وجد أن مادة الـ Viridin المنتجة بواسطة الفطر السابق ، والتى هى مثبطة فطرية وبكتيرية ، من السهل تحولها إلى Viridiol السامة نباتياً . هناك تقارير متضاربة تتعلق بسمية النواتج الأيضية للبكتيريا *Bacillus sp.* . ذكر Baker *et al* سنة ١٩٨٥ أن راشحات المزارع المعقمة بالأوتوغليف المأخوذة من عزلات من البكتيريا *B. subtilis* تحد من شدة صدأ الفول فى الحقل ، ولكن الراشح المأخوذ من عزلة واحدة ، يكون أيضاً ضاراً على نمو النبات ، ويؤدى إلى خفض الانتاج. وبالمثل فإن هناك ٥-٦ نواتج أيضية للبكتيريا *Bacillus* سامة لبادرات الأرز بتركيزات معينة . على النقيض من ذلك ذكر Gregory *et al* سنة ١٩٥٢ أن المضادات الحيوية المأخوذة من *Bacillus sp., Streptomyces* لاتسبب أية أضرار لبادرات البرسيم الحجازى .

هناك بعض التقارير التى تفيد بأن بعض نواتج الأيض الفطرى ، ذات تأثير مضاد لإنبات البذور . إن أجزاء الأيثر الذائبة فى راشحات مزرعة الفطر *Chaetomium cupreum* تثبط نمو عديد من الفطريات الممرضة ، وأيضاً تؤخر إنبات بذور فول الصويا . إن نواتج

opeikanor.com

الأيض فى كل من *T. viride* ، *Aspergillus* ، *Fusarium* و *Penicillium* وجد أنها تخفض من كفاءة إنبات بذور اللفت ، الخس ، البسلة وحبوب القمح تحت ظروف الاختبار.

٥ - مطهرات سطحية حيوية Biosurfactants

مقدمة :

هناك مطهرات سطحية حيوية ، عرفت بأنها تسبب أنفجار الغشاء البلازمى فى الكائن الحى ، وهذا نوع من ميكانيكية التضاد بين الكائنات الحية الدقيقة . هذا النوع من المطهرات متخصص بالجراثيم الهدبية ، وتفرزه البكتيريا التى تعيش على الطبقة السطحية من النباتات فى الطبيعة . هذه المطهرات تستعمل بكفاءة عالية ضد الكائنات الممرضة النباتية ، التى تسبب إصابات شديدة فى المجموع الخضرى .

إن وجود الماء الحر ، والذى هو ضرورى لانطلاق وانتشار وحركة الجراثيم الهدبية ، يكون ظروفاً مثلى جيدة لذوبان وانتشار المطهر السطحى الحيوى المسمى Rhamnolipids ، وهذا المطهر يسبب سرعة انفجار وتحلل الجراثيم الهدبية ، الذى يحدث فى وجود كمية قليلة ولكن كافية من تركيز الـ Rhamnolipids ، وهذ يؤدى إلى موت وتحلل الجراثيم ، قبل أن تحتل أنسجة النبات العائل . إن استعمال هذا المطهر السطحى الحيوى المفرز من قبل البكتيريا عامل مهم فى المقاومة الحيوية ، ويمكن أن يقلل استعمال المبيدات الكيماوية .

ثانياً : التطفل الفطرى Hyperparasitism = Mycoparasitism

مقدمة :

عندما يتطفل فطر على فطر آخر ، فإن هذه الظاهرة تسمى التطفل الفطرى Mycopa-rasite . أول من أكتشف هذه الظاهرة هو العالم Weindling سنة ١٩٣٢ عندما لاحظ أن الفطر *Trichoderma lignorum* ، يمكن أن يتطفل على عدد من الفطريات الكامنة فى التربة فى المعمل ، وأقترح أنه من الممكن مقاومة بعض الفطريات الممرضة فى التربة ، عن طريق تزويد التربة بمقدار كبير من هذا المتطفل . وبالتالى فإن فكرة المقاومة الحيوية لمسببات الأمراض النباتية بواسطة التطفل الفطرى ولدت فى تلك الفترة . فى السنوات اللاحقة لهذا التاريخ حوالى ٦٦ سنة ، حدث فيها دراسة وأبحاث كثيرة علي هذا الموضوع ، ولكن

التطبيق العملى فى الحقل لهذه الظاهرة لا يزال بأعداد قليلة وليس بالكثرة الملاحظة فى التجارب المعملية .

هناك عدة طرق بواسطتها يهاجم المتطفل الفطرى تركيبات الفطر الآخر منها :

١ - اختراق الهيفا مباشرة :

يمكن للفطر المتطفل أن يخترق هيفا الفطر العائل وينمو داخل هذه الهيفا ، كما يحدث للفطر *R. solani* مع كثير من الفطريات الطحلبية Phycomycete والفطر *Didymella exitialis* فى الفطر مسبب المرض الماحق فى القمح *G. graminis tritici* و *Mycena citricolor* فى الفطر *Mucor* ، وبالتالى يتغذى الفطر المتطفل على محتويات عائله (الفطر المتطفل عليه) ويقضى عليه .

٢ - التفاف هيفا الفطر المتطفل حول ميسيليوم الفطر العائل :

يمكن أن تلتف هيفات الفطر المتطفل حول ميسليوم الفطر العائل ، فى بعض الحالات يحدث اختراق لهيفات الفطر المتطفل عليه وأحياناً لا يحدث اختراق . هذا يحدث مع الفطر *Trichoderma viride* ، فى هذه الحالة فإن الفطر المتطفل يفرز إنزيمات تهضم جدر الميسيليوم فى الفطر المتطفل عليه أو أن الفطر المتطفل يمكن أن يفرز مواد مضادة يمكن أن تثبط نمو الفطر المتطفل عليه أو تسبب له تحللاً داخلياً . أو أن الفطر المتطفل يطلق أحماضاً أمينية تثبط نمو الفطر المتطفل عليه كما فى *Didymella exitialis* . أحياناً يكون الفطر المتطفل عضو التصاق ، ثم يكون ممصاً haustoria فى هيفا الفطر المتطفل عليه .

هناك أمثلة كثيرة من الفطريات التى تتطفل على الكائنات الممرضة النباتية ، قليل من هذه الأجناس درس دراسة وافية بهدف استعماله فى المقاومة الحيوية ، إلا أن استعمال هذه المتطفلات فى المقاومة الحيوية العملية قليل نسبياً وذلك للأسباب الآتية :

١ - هناك صعوبة اقتصادية فى استعمال المتطفلات الفطرية فى المقاومة الحيوية ، وذلك بسبب ارتفاع تكاليف تحضير اللقاح وتكاليف إضافته إلى تربة الحقل .

٢ - انخفاض نسبة نجاح المقاومة الحيوية للمرض فى حالة ملاءمة الظروف البيئية للكائن الممرض وعدم مناسبتها للطفيل .

٣ - قلة معرفة الظروف البيئية الملائمة ، حين استعمال المتطفل الفطرى وصعوبة تحديد الهدف من استعمال هذا المتطفل .

٤ – قلة المعرفة العملية بظروف مسبب المرض ومدى ملاءمتها للفطر الذى يتطفل عليه .

٥ – استمرار التغيرات الحيوية فى التربة وكثرة العوامل التى تتحكم بها .

الأجناس الفطرية المستعملة فى التطفل الفطرى :

١- Trichoderma Species

كما ذكرنا سابقاً فإن أنواع الفطر تريكوديرما ، قد درست دراسة وافية من حيث علاقتها بالمقاومة الحيوية . تستعمل هذه الأنواع بكفاءة عالية جداً فى المقاومة الحيوية عند إضافتها إلى تربة معقمة ، أو عند الزراعة بدون تربة فى الصوبات الزجاجية ، ولكن تنخفض هذه الكفاءة عند استعمالها فى التربة الطبيعية ، ولقد وجد أنه عند تبخير تربة الحقل بمادة ميثايل برومايد ، بنسبة ٢٠٠ كغم/هكتار ، ثم معاملتها بعد ذلك بتركيبات من الفطر *T. harzianum* بنسبة ١٥٠٠ كغم/هكتار ، تكون هناك كفاءة عالية ومعنوية فى كبح جماح مرض سقوط البادرات المفاجئ فى الجذر المتسبب عن الفطر *R. solani* ، ونظراً لأن هذا الفطر ضعيف المنافسة فى التربة، فقد أمكن التغلب على هذه الصفة بتنميته على خليط من المولاس وحبيبات من تربة ذات بقايات الدياتومات المتحجرة ، وهذه البيئات عند إضافتها فى الحقل بعد زراعته بالفول السودانى بمدة ٧٠-١٠٠ يوم ، بنسبة ١٤٠ كغم/هكتار ، هذه المعاملة أعطت نتائج جيدة ومعنوية فى مقاومة المرض المتسبب عن الفطر *Sclerotium rolfsii*، وقد تبين أن هناك علاقة عكسية بين كمية اللقاح من *T. harzianum* المضاف إلى التربة وحدوث المرض النباتى فى التربة الطبيعية المضاف إليها *R. solani* بمعدل ٢ غرام لكل ١-١٠ كغم تربة ، أو بنسبة (٤,٥-٢٢) × ٦٠ غرام/هكتار بعمق ١٥سم) فى الصوبا الزجاجية .

هناك دراسة أخرى تبين فيها ، أن إضافة الفطر على قطع من الحقل بمعدل ١٦٣ كغم حبيبات نامى عليها الفطر/هكتار على عمق ١٠سم ، أعطت نتائج جيدة ومعنوية فى وقف إصابة بنجر السكر بمرض عفن الجذور المتسبب عن الفطر *R. solani* . وقد تبين أنه للحصول على مقاومة جيدة باستعمال أنواع من الفطر *Trichoderma* تحتاج التربة حبيبات من الفطر على الأقل $١٠^{٥}$ وحدة تكوين مستعمرات/غرام تربة . يبدو أن هذا الرقم مرتفع وذلك لأن قوة المنافسة لهذا الفطر ضعيفة .

يستعمل الفطر *T. harzianum* ضد فطريات ممرضة كثيرة لجذور النبات ، حيث يلتف الفطر المتطفل حول عائله مخترقاً هيفاته وتراكيبه الساكنة من خلال ثقوب بالعائل نتجت

obeikandi.com

عن إفراز الطفيل لإنزيمات B-(1,3)- glucanase . هناك سلالات لهذا الفطر لا تسلك سلوكاً طفيلياً ، بل ينتج عند تفاعلها مع الكائن الممرض مضادات حيوية .

يستعمل هذا الجنس فى مقاومة الأمراض الآتية :

١ – العفن الأبيض فى البصل المتسبب عن *Sclerotium cepivorum* .

٢ – ذبول القطن والخيار المتسبب عن *Verticillium dahliae* .

٣ – لفحة البادرات فى معظم النباتات المتسببة عن *S. rolfsii* .

٤ – سقوط البادرات المفاجئ فى كثير من النباتات المتسبب عن *R. solani* .

٥ – عفن ثمار الخيار المتسبب عن *R. solani* .

من أهم أنواع الجنس *Trichoderma* المتطفلة على فطريات أخرى ، هى :

1- T. harzianum. *2- T. hamatum.* *3- T. koningii.*
4- T. polysporum. *5- T. longibrachiata.* *6- T. viride.*

٢ - Pythium nunn

لهذا الفطر دور مهم جداً فى التطفل الفطرى على مسببات الأمراض الكامنة فى التربة . عندما يهاجم هذا الفطر كل من *Pythium ultimum* و *P. vexans* ، فإن هيفا الفطر المتطفل تلتف حول هيفات الفطر العائل ، ثم تحللها وتميتها بعد ذلك . أما عند مهاجمة هذا الفطر لكل من الفطريات :

1- Pythium aphanidermatum. *2- R. solani.*
3- Phytophthora parasitica. *4- Phytophthora cinnamomi.*

فإن الفطر المتطفل يكون تركيباً يشبه عضو الالتصاق ويتطفل على هيفا الفطر العائل .

عند استعمال الفطر المتطفل فى تربة معقمة بالبخار ومهواة ، فإنه يسبب وقف إصابة بادرات الخيار بالسقوط المفاجئ المتسبب عن الفطر *P. ultimum* . إن مقاومة المرض تعتمد على نقطتين ، الأولى مدى تجمع الكائن الممرض ، والثانية مدى توفر الفطر المتطفل ، عندما ينجح الفطر المتطفل فى خفض كمية اللقاح للفطر الممرض تنجح المقاومة الحيوية . على كل حال ، فإن توفر المواد العضوية فى التربة كمصدر للطاقة ، فإن هذا يزيد فى كفاءته فى المقاومة الحيوية ، حيث إن الفطر *P. nunn* يعتمد على المواد العضوية وليس

على أجزاء الفطر العائل فى زيادة كثافة اللقاح الخاص به .

فى حالة التفاعل بين الفطر *P. nunn* وعوائله الفطرية ، يحدث كما فى حالة التفاعل بين الفطرين *Trichoderma* و *Rhizoctonia* ، فإن عامل المقاومة الحيوية لا ينتج تركيبات ساكنة جديدة كنتيجة لتطفله ، إلا أنه يتكون تركيبات جديدة كنتيجة للنمو الترممى على المواد العضوية الطازجة . يبدو أنه من الضرورة بمكان ، إضافة *P. nunn* إلى بقايا المحصول بعد الجمع وقبل دفن هذه البقايا فى التربة ، هذه العملية سوف تسمح للفطر المتطفل بزيادة تجمعاته على المادة العضوية الطازجة ، فى الوقت نفسه فإنه يكون فى الوضع المثالي ليتطفل على أية وسائل تكاثرية أو تركيبية للكائن الممرض المتكونة على أنسجة المحصول .

هناك نوع آخر يسمى *P. oligandarum* وهو متطفل حيوى مهم ، يتطفل على الفطر المسبب للمرض الماحق فى القمح *G. graminis tritici* وأنواع من الفطر *Fusarium* ، *R. solani* ، *P. ultimum* .

٣ - Talaromyces flavus

يعتبر هذا الفطر من المتطفلات الفطرية التى تتطفل على كل من *R. solani* ، *Sclerotinio sclerotiorum* . أمكن الحصول على مقاومة بنسبة ٦٨-٩٢ ٪ لذبول سكلوروتينا فى نبات عباد الشمس عندما دفنت الأجسام الحجرية للفطر المسبب للمرض *S. sclerotiorum* مع الفطر المتطفل *T. flavus* فى تربة الحقل . كذلك فقد تبين أن الفطر المتطفل يوقف ذبول الفيرتسليم فى البطاطس ، عندما يضاف إلى التربة على شكل تركيبات محببة بمعدل لا يقل عن ٣٦,٢ كغم/هكتار . أما النتائج فى الحقل نفسه فى السنة التالية ، فكانت تدل على أن هذا الفطر المتطفل عنده كفاءة عالية كعامل من عوامل المقاومة الحيوية ويوصى باستعماله كثيراً .

٤ - Coniothyrium minitans

هذا الفطر من الفطريات المتطفلة ، ويظهر كفاءة عالية فى المقاومة الحيوية لعدد من الأمراض المتسببة عن *Sclerotinia sp.* و *Sclerotium cepivorum* . لقد أجريت على هذا الفطر دراسات عديدة فى كل من بريطانيا ، كندا واستراليا لاستعماله على نطاق واسع فى المقاومة الحيوية . فقد ثبت فى بريطانيا أن هذا الفطر واسع الانتشار فى الأراضى الخشنة والناعمة . عند تجهيز مزرعة من (الرمل - الذرة) لهذا الفطر وخلطه جيداً مع التربة ، فإن

حوالى ٨٥-٩٩ ٪ من الأجسام الحجرية للفطر *S. trifoliorum* قتلت خلال (١١) أسبوع . أما الأبحاث التى أجريت باستعمال الغبار البكنيدى لهذا الفطر وإضافته إلى الحقل بعد إضافة الأجسام الحجرية للفطريات الأخرى على سطح التربة ، تبين إأن الإصابة بهذه الأجسام الحجرية تكون متناقصة باستمرار .

أما فى كندا فقد وجد أن الأجسام الحجرية للفطر *Sclerotinia sclerotiorum* المتكونة على جذور وسيقان عباد الشمس ، تصبح مهاجمة من قبل الفطر *C. minitans* فى نهاية موسم النمو . وبالتالى فإن المقاومة الحيوية الطبيعية بواسطة هذا الفطر تبدأ بعد تكوين الأجسام الحجرية على النبات بفترة قصيرة . أما فى الاختبارات الحقلية ، فإن الحقول المصابة طبيعياً أو المحقونة صناعياً بالفطر الممرض ، يحدث فيها مقاومة للمرض بنسبة ٤٢-٧٨ ٪ عند استعمال الفطر المتطفل فى حفر البذور أو فى خطوطها بمعدل ١ كغم من تحضيرات الفطر المتطفل لكل ٦ م من طول الخط ، وقد أثبتت هذه التجارب كفاءة هذا الفطر فى المقاومة الحيوية ، ولكن استعماله غير اقتصادى ، حيث يتطلب الهكتار حوالى ٦ أطنان من تحضيرات الفطر ، وهنا تكمن المشكلة .

٥- Laetisaria arvalis

هذا الفطر من الفطريات المتطفلة على الفطريات الممرضة ، وقد جذب الانتباه لاستعماله فى المقاومة الحيوية للأمراض المتسببة عن *Pythium* و *Rhizoctonia* . هذا الفطر عنده كفاءة عالية فى خفض أصابة بادرات بنجر المائدة بمرض السقوط المفاجئ المتسبب عن الفطر *P. ultimum* عند إضافته للتربة بمعدل ٧٥-١٥٠ م٣/هكتار ، وقد أثبتت بعض التجارب أنه كلما زادت كمية الفطر المتطفل ، انخفضت نسبة الإصابة بالمرض . عند إضافة الفطر *L. arvalis* إلى التربة بمعدل ١٠٠ جسم حجرى/غرام تربة ($٢,٢٤ \times ١٠^{١١}$ جسم حجرى/هكتار بسمك ١٥سم) يكون أفضل مقاومة للمرض خاصة فى التربة المعقمة بالبخار عنه فى التربة العادية . هذا يدل على أن المكروفلورا الطبيعية فى التربة لها تأثير معاكس فى تفاعل الكائن الممرض مع الفطر المتطفل ، أى أنها تؤثر على فعالية وكفاءة الفطر المتطفل .

٦- Sporidesmium selerotivorum

درس هذا الفطر دراسة واسعة فى مقاومة إصابة نبات الخس بالفطر *Sclerotinia*

minor . ينتج هذا الفطر كونيديات صغيرة وكبيرة وجراثيم كلاميدية ، أجسام حجرية صغيرة وميسيليوم . يعتمد فى نموه على عدة مصادر من الكربون ، مثل الجلوكوز ، المنوز والمالتوز ، وهذه تعطى أعلى نسبة إنبات من بين جميع مصادر الكربون . أعلى نسبة إنبات يتحصل عليها عندما تكون نسبة تخفيف جراثيمه ١ : ١٠ جسم حجرى . يستطيع الفطر أن يستعمل المواد العضوية وغير العضوية فى حصوله على النيتروجين ، ولكنه يفضل مصدر الجلوتامين ويحتاج إلى الثيامين والبايوتين . أفضل pH لنمو هى ٤,٥–٥,٥ . أما بالنسبة لدرجات الحرارة ، فإن الفطر ينمو ببطء شديد جداً ويعطى حوالى ١٠٠ ملغ وزن جاف خلال فترة ٤–٥ أسابيع على درجة حرارة ٢٥ °م .

يبدو أن هذا الفطر ذو كفاءة عالية جداً فى المقاومة الحيوية ، يعيش إجبارى التطفل على الأجسام الحجرية لكثير من الفطريات ، منها :

1- Botrytis cinerea. *2- Sclerotium cepivorum.* *3- S. trifoliorum.*
4- S. minor. *5- S. sclerotiorum.*

تنبت جراثيم الفطر المتطفل كاستجابة للمواد الكيماوية المنطلقة من الأجسام الحجرية المجاورة ، ثم تخترق أنبوبة العدوى الجسم الحجرى ، بعد الاختراق ، تدخل الهيفا النسيج الداخلى للجسم الحجرى والذى يتكون أساساً من بتاجلوكانيز ، يشجع الفطر المتطفل الأجسام الحجرية لتزيد من كفاءة إنزيم الجلوكانيز ، وهذا يؤدى إلى تحطيم الجلوكان ويحوله إلى جلوكوز والذى يستطيع إن يستعمله الفطر المتطفل . إن الزيادة فى نشاط إنزيم الجلوكانيز وبعض الإنزيمات الأخرى ، يمكن أن يتشجع عن طريق إنتاج أعضاء امتصاص للفطر المتطفل فى داخل خلايا الأجسام الحجرية . بعد أن تتم عدوى الأجسام الحجرية وتحللها ، ينمو الميسيليوم خارج الجسم الحجرى فى التربة المجاورة لمسافة ٣ سم حيث يهاجم أجساماً حجرية أخرى سليمة . خلال فترة إصابة الجسم الحجرى الأول وامتداده إلى جسم حجرى ثان ، فإنه ينتج حوالى ١٥ ألف ماكروكونيديا .

إصابة وتحطيم الأجسام الحجرية للفطر *S.minor* فى التربة يلائمه درجة حرارة ٢٠–٢٥ °م ، ومجال حموضة حوالى ٥,٥–٧,٥ pH ، والمحتوى المائى للتربة حوالى ٨ *Bars* أو أكثر . تحت الظروف المثلى لنمو الفطر المتطفل فى الحقل ، فإنه يمكن أن يصيب ويحطم جميع الأجسام الحجرية الموجودة فى سمك ١٤ سم فى التربة السطحية ، ونظراً لأن

سطح التربة يكون أكثر جفافاً من العمق ، فإن هذا الفطر المتطفل يكون أكثر نشاطاً على أعماق أكثر من ٢ سم من سطح التربة .

٧- Gliocladium sp.

يعيش هذا الفطر فى التربة الحمضية وينمو بسرعة كمترمم ، ولذا يسهل تنميته مخبرياً حيث ينتج جراثيم كلاميدية . تتولد كونيديات هذا الجنس على حامل للجراثيم ذى كرات لزجة . تطلق أنواع هذا الجنس مركبات ، بعضها سام للنبات وناتجة عن الأيض الغذائى ، والبعض الآخر يعمل كمضادات حيوية ضد الفطريات والبكتيريا .

من أشهر أنواع هذا الفطر فى المقاومة الحيوية هو *G. roseum* ، يعيش فى الأراضى المتعادلة والقلوية ويتطفل على الجراثيم البيضية للفطر الممرض *Phytophthora erythroseptica* ، يخترق مباشرة الجراثيم الكلاميدية أو إسبورانجيات الفطر *P. palmivora* دون أن يتطفل على هيفاته ، كما يفرز الإنزيمات المحللة للكيتين β (1,3) glucanase والكيتينيز عند تطفله على الفطر *Botrytis allii* . التوكسينات التى يفرزها هذا الفطر ذات وزن جزيئى منخفض وتعمل على مسافات قريبة من العائل .

من الأنواع المهمة الأخرى ، *G. virnes* المعروف بتطفله على الفطرين *R. solani* ، *S. sclerotiorum* وله القدرة على إنتاج عدة مضادات حيوية مثل الجليوتوسين والفيريدين، التى تزيد من مدى عوائله فى مجال المقاومة الحيوية .

أما النوع *G. catenulatum* ، فإنه يهاجم الهيفات والأجسام الحجرية لعديد من أنواع الجنس فيوزاريوم قاتلاً إياها بالملامسة فقط . حيث إن هذه الملامسة تسبب تحبب سيتوبلازم خلايا العائل وتحلل هيفاته ، بالإضافة لذلك فإنه يطلق مضاداً حيوياً يسمى الجيليوفيرين .

٨- Penicillium vermiculatum

يعمل هذا الفطر كطفيل فطرى ، وينتج مضادات حيوية مثل الفيرميسيلين والفيرماستانين والفيميكيولين ، وقد سجل هذا الفطر تحت اسم الجنس رقم ٣ السابق ذكره *T. flavus* . هذا الفطر فعال فى المقاومة الحيوية لأمراض البياض الدقيقى على نبات الباذنجان ، كما يتطفل على الفطر *S. sclerotiorum* وذلك بغزوه مباشرة للهيفات مسبباً

تحبباً فى سيتوبلازم العائل وتهدم جدر خلاياه . أما *P. frequetans* فإنه يتطفل على الأجسام الحجرية لعديد من الفطريات وخاصة الفطر *P. ultimum* .

٩ - Tetrasperma oligocladum

هذا الفطر من مجموعة الفطريات Hyphomycetes ، وهو نموذج ممتاز فى المقاومة الحيوية، من خلال تطفله الفطرى الذى يؤدى إلى خفض لقاح الكائن الممرض فى التربة .

١٠ - فطريات ثنائية المفعول

هناك فطريات يتداخل فعلها ما بين التطفل الفطرى والتضاد الحيوى ، وهى :

١ – *Scytalidium uredicinicola* ، يتطفل على الأطوار الأسيدية لأنواع من الصدأ التابعة للجنسين *Cronartium* و *Endocronartium* .

٢ – *Ampelomyces quisqualis* . نجح هذا الفطر كعنصر مهم فى المقاومة الحيوية للبياض الدقيقى داخل الصوبات الزراعية الناتج عن *Sphaerotheca fuliginea* و *Ery-siphe cichoracearum* ، وثبت أن هذا الجنس يتحمل المبيدات الفطرية الترايفولين والكينوميثيونيت .

٣ – *Dicyma pulvinate* . يقاوم فطريات تبقع الأوراق مثل *Cercosporidium perso-natum* على الفول السودانى ، حيث يهدم هذا الفطر حاملات كونيديات الفطريات الممرضة المذكورة . مكا ينتج سماً فطرياً هو Sesquiterpene 1.3 deoxyphome-none ، يعمل هذا السم ضد أنواع من الفطريات تتبع جنس *Cladosporium* .

ثالثا : التحلل الفطرى Lysis

يعرف التحلل الفطرى Lysis ، بأنه تحطيم أو تحلل أو ذوبان أو تفكك المركبات الحيوية فى الكائن الحى بواسطة إنزيمات معينة . هناك نوعان من التحلل الفطرى : النوع الأول يسمى تحلل فطرى خارجى Exolysis ، وهو عبارة عن هضم جزئى إنزيمى لجدر الخلايا الحية بواسطة كائنات دقيقة خارجية . يدخل هذا النوع من التحلل فى مجال التطفل الفطرى الذى ذكرناه سابقاً . أما النوع الثانى من التحلل الفطرى ، فهو تحلل فطرى داخلى Endolysis وهو عبارة عن ذوبان بروتوبلازم الخلية بدون هضم سابق للجدار أو مصاحب

لهذا الهضم ، سواء كان ذلك بعوامل منتجة ذاتياً أو مبتدأة بعوامل خارجية ، وهذا يمكن أن ينتج من أحد الأسباب الآتية :

١ – تغيرات ميتابولزمية داخلية ناتجة عن التقدم بالسن أو الشيخوخة أو نقص التغذية أو عدم المقدرة على استعمال المواد الغذائية ، بسبب بعض الظروف البيئية غير الملائمة ، مثل نقص الأكسجين ، أو بسبب تجمع نواتج ميتابولزمية من التكاثر الذاتى ، تكون سامة . هذه التغيرات يشار إليها بالتحلل الذاتى Autolysis . كذلك يمكن أن يكون التحلل الفطرى الداخلى ناتجاً عن كائنات حية دقيقة خاصة البكتيريا ، والتى بشكل عام تنشأ أو تتكاثر حول الميسيليوم خاصة عند زيادة تسرب محتويات الخلية ، وهذا ما يشار إليه باسم التحلل المتنوع heterolysis . إن بعض الكائنات الحية الدقيقة قد تكون مجرد رميات على سطح الميسيليوم الميت ، أو قد تكون ضارة للميسيليوم الحى عن طريق إنتاج توكسينات أو عن طريق زيادة الأسموزية الخارجية أو عن طريق الإضافة الكبيرة من الأكسجين الخارجى أو المواد الغذائية أو كليهما .

٢ – التعرض لمواد سامة مثل تلك الناتجة عن كائنات أخرى ، أو نتيجة تفسخ مواد عضوية أو بواسطة مبيدات فطرية مستعملة من قبل الإنسان . إن التعرض لجرعة بسيطة من ثانى كبريتيد الكربون أو التعرض لحرارة معتدلة تجعل بعض الكائنات الممرضة ضعيفة ويسهل مهاجمتها بواسطة الفطريات الأخرى ، كما يحدث مع الفطر *Armillaria mellea* ومهاجمته من قبل الفطر *Trichoderma viride* . يكون تأثير المضادات الحيوية مثالاً لهذه الحالة ، حيث إن هذه المضادات الحيوية تخترق الهيفا وتسبب ذوبان البروتوبلازم ، انهيار وبلزمة أو انفجار الخلية . لقد ذكر Huber *et al* سنة ١٩٦٦ أن هذا النوع من التحلل الناتج عن البكتريا يسمى Bacterial necrosis . يمكن أن تتثبط البكتيريا بواسطة مضادات حيوية ناتجة عن بكتيريا أخرى (ترياقات بكتيرية) أو أكتينومايستس (ستربتومايسين) أو فطريات (بنسلين) .

٣ – تفاعلات المناعة . إن البكتيريات التى تتحد مع الأجسام المضادة الناتجة بواسطة الحيوانات الثديية ، تتفاعل معها كتفاعل دفاعى لها ، يمكن لهذه الأجسام المضادة أن تسبب نفاذية على سطوح الأغشية ، هذه النفاذية يمكن أن تتغير وتتسع إلى درجة أنها تسبب رشح محتويات الخلية . هذا يحدث مع الكائنات الممرضة للحيوانات ، ويمكن أن يحدث فى حالة عدم التوافق السيتوبلازمى المميت بين سلالات مختلفة من الفطريات فى المزرعة .

ملاحظات عامة :

عندما لا تكون هناك مقدرة ، لظاهرة التضاد الحيوى ، على إحداث نقص فى كثافة لقاح الكائن الممرض إلى الحد الذى لا يحدث فيه إصابة للنبات ، فيمكن أن تعتمد المقاومة الحيوية على ظاهرة التحلل ، وهنا تعتمد قدرة عنصر المقاومة الحيوية على إنتاج إنزيمات خارجية تهدم جدر خلايا الفطر الممرض .

هناك بعض أنواع من البكتيريا تفرز إنزيم الكيتينيز لكى تحلل هيفات فطر الفيوزاريوم . لا تكون هذه الظاهرة دائماً ناجحة ، حيث إن هناك بعض الفطريات الممرضة للنبات مثل الفطر *Pythium debarynum* ، وعلى الرغم من أن جذورها ضعيفة التكوين ، فإنها تقاوم البكتيريا المحللة للكيتين . فى بعض التجارب ثبت أن البكتيريا المسماة *Servatia mares-cens* تستطيع أن تحطم هيفات الفطر *sclerotium rolfsii* ، وبمستخلص منها أمكن هدم مادة الكيتين .

لقد وجد أن هناك زيادة واضحة فى أعداد البكتيريا والفطريات الشعاعية Actinomycetes عند خلطها بمادة الكيتين ، غير أن خليطاً من هذه المواد مع لقاح من البكتيريا الهلامية Myxobacteria ، تسبب زيادة فى أعداد البكتيريا فقط . عند إضافة كمية صغيرة من الكيتين مع لقاح من عنصر بيولوجى محلل لها ، تتمكن أفراد عديدة من هذا العنصر أن تقوم ذاتياً بالدور المحلل للفطر . لقد أمكن عزل سلالات بكتيرية مهاجمة للخلايا (Cytophaga) لها القدرة على توطن جذور أربعة أنواع من الصنوبريات وحمايتها من بعض الممرضات الفطرية ، وذلك من خلال الإفراز البكتيرى المحلل للكيتين والبروتين . كما وجد أن هناك عزلة من هذه البكتيريا تنتج مضاداً حيوياً فعالاً Phenzine type قد يكون له دور فى مكافحة المرض .

رابعاً : المنافسة Competition

يعرف التنافس بأنه محاولة كائنين أو أكثر فى الحصول على الحد الذى يتطلبه ، من المادة المتوفرة أمامه بشكل معين ، وتحت ظروف معينة ، موجودة عليها تلك المادة ، عندما لا تكون هذه المادة متوفرة بكمية تكفى المتنافسين . يكون التنافس على الغذاء وبعض عوامل النمو الخاصة وعلى الأكسجين وعلى المكان . لا يحدث التنافس على أشياء تكون متوفرة بشكل كاف لجميع الكائنات .

خامساً : الكائنات الدقيقة التكافلية Symbiotic Microorganisms

هناك كثير من الأبحاث والتجارب ، أثبتت أن كثيراً من الكائنات الدقيقة التكافلية ، من البكتيريا والفطريات الشعاعية التى تتوطن أنسجة النبات وأسطح الجذور ، لها دور كبير فى مقاومة النبات للفطريات أو الممرضات التى تهاجمه ، ويتم ذلك بسيطرة جينية من العائل . إن مكونات إفرازات البذور والجذور فى بعض سلالات القطن ، تؤثر فى مستويات أعداد البكتيريا والفطريات الشعاعية المتواجدة على أسطح الجذور وفى مجال الانتشار الجذرى . لقد وجد أن تركيزات الكائنات المصاحبة لأجزاء النبات الهوائية فى السلالات من النباتات المقاومة للممرضات ، أعلى من نظيراتها فى سلالات لا تملك هذه القدرة ، وأن المعاشرات الغالبة تكون قد تشكلت من أنواع من البكتيريا تابعة لجنس *Bacillus* مثل *B. megaferi-um* و *B. cereus* ، وعلى العكس من ذلك فقد تبين أن هناك بعض المعاشرات ظهرت فى بعض الميكروبات التى لم تكن ممرضة للنبات ، قد أصبحت قادرة على إيقاف نموه .

لقد عزل من المجال الجذرى لنباتات بنجر السكر ، عديد من أنواع البكتيريا المانعة لنمو بادرات هذه النباتات ، وتشجع فى توطين الفطريات الممرضة للجذور . وقد أمكن من خلال تلقيح التربة بأنواع من البكتيريا المشجعة لنمو النباتات إبعاد البكتيرية الممرضة لها . وجد عند تلقيح بعض النباتات مثل السورجوم والكرنب بسلالة البكتيريا *B. subtilis* A13 ، فإن ذلك يؤدى إلى إبعاد البكتيريا الضارة من المجال الجذرى لهذه النباتات ، مما أدى إلى زيادة المحصول. أهم أشكال الكائنات الدقيقة التكافلية هى :

١ - بكتيريا العقد الجذرية

لقد ذكر Chakraborty سنة ١٩٨٨ أن *Rhizobium sp.*، يقاوم مرض عفن الجذر فى البسلة *Pisum sativum* وفول الصويا ، حيث إن *Rhizobium japonicum* مضادة للفطر مسبب المرض *Macrophomina phaseolina* ويخفض بشكل عام حدوث المرض . ولقد سميت المادة التى يفرزها الرايزوبيوم باسم Rhizobitoxine ، كذلك وجد أن *R. leguminosarum* يثبط نمو الفطر الممرض *R. solani* .

٢ - الميكورهزا Mycorrhizae

لقد استعملت الميكورهزا الفطرية فى المقاومة الحيوية ضد كثير من الكائنات الممرضة

خاصة الفطريات الكامنة فى التربة . إن الميكورهزا الخارجية Ectomycorrhizae تعمل كعازل ميكانيكى لإختراق خلايا القشرة ، وهذا يعطيها بعض المقاومة . بعض أنواع الميكورهزا الداخلية Endomycorrhizae تحث على إنتاج مركبات طيارة وغير طيارة بواسطة خلايا القشرة والتى تثبط الكائن الممرض و/أو تدعم نمو الكائنات المضادة فى منطقة الجذر . أما الميكورهزا الوعائية Vesicular arbuscular mycorrhizae (VAM) ، فهى أكثر ما يبشر بالنجاح فى المقاومة الحيوية وعليها تجارب كثيرة ناجحة ، سنذكرها فى الجزء الثانى من الكتاب . لقد حصل Jalali سنة ١٩٩٠ على خفض معنوى وعال لذبول الحمص وعفن جذور Mung bean باستعمال الميكورهزا (VAM) .

٣ - البكتيريا PGPR

هناك نوع من البكتيريا المشجعة لنمو النبات تسمى Plant Growth Promoting Rhizobacteria ويطلق عليها (PGPR) ، تعزل من منطقة الجذور فى النبات ، ويمكن حقنها مع البذور لتزيد نمو النبات ، وتؤدى وبالتالى إلى زيادة المحصول .

تستعمر البكتيريا PGPR سطح الجذر وتقلل من تجمعات الميكروبات الضارة على نمو النبات ، وبالتالى فإن التنافس الغذائى والتنافس المكانى (الاستعمار) هما القوتين اللتين تعتمد عليهما البكتيريا PGPR .

ثبت فى السنوات الأخيرة أن البكتيريا PGPR تستعمل فى المقاومة الحيوية بنجاح حيث إنه عند استعمال البكتيريا *B. subtilis* سلالة AFI كمعاملة بذور ، فإن هذا يؤدى إلى زيادة مقاومة النبات لأمراض الجذور ، وكذلك يؤدي أيضاً إلى زيادة النمو والانتاج النباتى .

obeikandl.com

الفصل السابع

الكائنات الدقيقة المستعملة تجارياً فى المقاومة الحيوية

هناك أعداد غير قليلة من عوامل المقاومة الحيوية مسجلة عالمياً ، وتستعمل تجارياً على نطاق واسع وهى :

I : عوامل المقاومة الحيوية الفطرية :

١ - الفطر Ampelomyces quisqualis

الاسم العلمى المستعمل فى المقاومة *Ampelomyces quisqualis* isolate (AQ) No=10 وهناك اسم آخر ، وهو AQ10 .

صفات الفطر

تتكون تركيبات AQ10 من جراثيم بتركيز 10^9/ غرم من المركب الحامل لجراثيم الفطر . ينتج هذا الفطر جراثيم نتيجة نموه واحداث تخمرات فى بيئة نصف صلبة أو مغمورة بالماء ، وتبقى الجراثيم فعالة فى الجزء الأساسى من التركيبة المسماه WP formulation . منتجات هذا الفطر لها مدة حياة تزيد أو تساوى ستة شهور ، عندما تخزن فى مكان جاف بارد ، وحوالى ٣ شهور فى حالة التجمد .

الصفة التجارية

إن الفطر المسمى AQ10 ، نوع من رتبة Coleomycetes وتحت قسم Deuteromy-cotina ، كان يسمى سابقاً *Cicinnobiolum cesatii* ، ولكن أعيد تسميته سنة ١٩٥٩ بالعلامة الشائعة AQ . الفطر معروف جيداً بأنه متطفل فطرى Hyperparasite على أجناس Erysiphaceae مسببة أمراض البياض الدقيقى . فى سنة ١٩٨٤ اكتشفت عزلة من AQ فى إحدى المناطق الجافة فى إسرائيل ، وقد أشير إلى هذه العزلة بالعلامة AQ10 . هذه العزلة أخذت تصريحاً للاستعمال فى أوروبا عن طريق الشركة الأوروبية الإسرائيلية Ecogen Israel Partnership, Jerusalem (شركة تابعة لايكوجين) .

رقم الترخيص US 5190745 . اسم المادة Ecoyen .

obeikandl.com

طريقة عمله

بعد رش المستحضر الذى يحوى جراثيم الفطر بتركيز 10^{9}/ غرام ، تنبت هذه الجراثيم، وبعد أن تعطى هيفات تتطفل هذه الهيفات على فطريات البياض الدقيقى . هذه العملية تتطلب نسبة رطوبة ٦٠ ٪ على الأقل فى البيئة الضيقة التى تحيط بالجراثيم النابتة . إذا ما دخلت الهيفا فى الكائن الممرض فإنها تمر فى عمليات تحتاج من ٢–٤ ساعات . يستطيع الكائن المتطفل أن يتكاثر عن البيئة الخارجية . النتيجة النهائية هو توقف تكشف البياض الدقيقى .

الاستعمال :

يستعمل الفطر AQ10 لمقاومة البياض الدقيقى الذى يهاجم محاصيل مختلفة ، مثل القرعيات ، العنب ، الطماطم ونباتات الزينة . مع أن كل محصول من هذه المحاصيل يهاجم بنوع مختلف من فطريات البياض الدقيقى ، إلا أن AQ10 يمكنه أن يتطفل عليها جميعاً بنفس المستوي تقريباً . تستخدم تركيبات هذا الفطر كجزء من برنامج المقاومة المستنيرة للآفات ، ويستخدم بدلاً من المبيدات الكيماوية المعيارية لأمراض البياض الدقيقى . تستعمل هذه التركيبات رشاً بطريقة قياسية ، وباستعمال تكنيك معين بوجود مطهرات سطحية متوافقة مع بقاء هذا الكائن حياً وفعالاً .

الاسم التجارى

AQ10 Ecogen .

التحلل

الجزء الأساسى الفعال فى AQ10 ، يمكن أن يحدد بواسطة نوعين من الاختبارات ، الأول : اختبارات الإنبات ، والثانى : هو اختبار ظاهرة التطفل لتحديد حيوية الجراثيم وبقائها. تجرى اختبارات الإنبات بواسطة وضع الجراثيم فى أطباق فيها بيئة آجار ، ثم تحضن لمدة ٤٨ ساعة والتى خلالها تبدأ الجراثيم فى الإنبات . تدل نسبة الإنبات على حيوية الجراثيم الموجودة ضمن التجمع. أما مستوى التطفل فيحدد فى مكان التجربة العملية in-situ وذلك عن طريق رش نباتات الخيار الملوثة بجراثيم البياض الدقيقى بمعلق جراثيم AQ10 . بعد التحضين لمدة عشرة أيام (فى الصوبا الزجاجية) يتم فحص الأوراق ميكروسكوبياً فى منطقة الإصابة ، لملاحظة ظاهرة التطفل هذه ، ويمكن تحديدها بمقاسات معينة .

سميته للثدييات :

حتى سنة ١٩٩٦ لم يذكر ظهور حالة تسمم واحدة للحيوانات الثديية التى تغذت على نباتات قد عوملت بهذا الكائن ، كذلك لم تظهر حالة عدوى ولا تهيج جلدى ولا حساسية فائقة . كذلك لم يظهر أى من هذه الأعراض على العمال أو الفنيين أثناء تداول هذا الكائن . كذلك لم تحدث أية أضرار للطيور الداجنة أو البرية أو النحل .

٢ - الفطر Phlebiopsis gigantea

الاسم العلمى *Phlebiopsis gigantea* (Fr.) Jul ، وله أسماء أخرى منها *Phlebia gigantea* و *Peniophora gigantea* .

صفات الفطر

المنتجات التى تحمل جراثيم الفطر تبقى نشيطة لمدة ١-٢ أسبوع على درجة حرارة الغرفة العادية ، ولمدة أكثر من ستة شهور تحت درجة ٨ ْم ، عندما يخزن فى أقفاص غير مفتوحة . لقد عرف منذ مدة طويلة أن هذا الفطر فعال فى منع الإصابة الناتجة عن جراثيم الفطر *Heterobasidion annosum* فى الصنوبر والبيسيه الراتنجية . إن السلالة من هذا الفطر المعروفة باسم Rotstop كانت قد عزلت أساساً سنة ١٩٨٧ وذلك فى معهد الغابات الفلندى من قرم شجرة البيسيه المقطوعة والمتروكة فى الغابات ، وكانت قد استعملت كمعاملة جذوع على البيسيه والصنوبر فى سنة ١٩٨٨ ، وقد أعيد عزلها سنة ١٩٨٩ من الأماكن نفسها التى رشت عليها . فى سنة ١٩٩١ تم وضعه فى تشكيلات بواسطة Kemira O. . وقد تمت الموافقة على هذا المركب والتوصية باستعماله فى المقاومة الحيوية فى مؤتمر أمراض النبات المنعقد فى فنلندا من ٩-١٦ أغسطس سنة ١٩٩٣ .

الاسم التجارى

يصنع ويباع فى السوق باسم Rot stop (Kemira) .

الاستعمال

يتنافس هذا الفطر مع الكائن الممرض ، على احتلال الأماكن التى يعيش فيها ، ويستعمل كعامل مقاومة حيوية جيد ، ضد عفن الجذور وأعقاب أشجار الصنوبر والبيسيه الراتنجية ، المتسبب عن الفطر *Heterobasidion annosum* (والذى يسمى أيضاً *Fomes*

annosus) . أفضل الأوقات التي يوصى باستعماله فيها ، هي الفترة التي يكون فيها الفطر الممرض *H. annosum* قابلاً للانتشار والنمو على قرم الأشجار (خلال فترة النمو الخضرى) حيث درجة الحرارة فوق ٨ °م . يخلط المحضر الفطرى مع الماء ثم يرش المعلق على أسطح القرم ، بجهاز الرش على الرأس المقطوع ، بعد سقوط الشجرة طبيعياً أو نتيجة المرض.

هذا التحضير يسمى *WP* . أما المركب المسمى Rot stop فإنه غير متوافق مع المبيدات الفطرية الكيماوية ، ولغاية ١٩٩٦ لم يوص باستعماله مع الكيماويات .

يمكن اختبار حيوية ونقاوة المنتج المحضر ، وذلك بتحديد عدد المستعمرات المتكونة على طبق بترى . إن معدل النمو والنشاط اللوغاريتمى على مادة النمو المحتوية على مطحون الخشب كمصدر وحيد للطاقة ، هى الطريقة الوحيدة لمعرفة حيوية الفطر . إن وجود الفطر *H. annosum* يستعمل كدليل على وجود وفعالية التضاد الحيوى .

لا توجد أية أضرار لهذا المركب على جميع الحيوانات الثديية ، وكذلك لا يسبب أية أضرار أو حساسية جلدية على العمال الذين يتعاملون مع هذا المركب .

٣ - *الفطر* Gliocladium virens تغير اسمه واصبح Clonostachy rosea

اكتشف هذا الفطر واستعمل فى المقاومة الحيوية من قبل مجموع USDA-ARA فى بلتسفايل ، وطرح فى السوق للتداول سنة ١٩٩٠ بواسطة شركة W.R. Grace تحت اسم تجارى جلايوجارد Glio Gard و Soil Gard معتمدة على عزلات *G. virens* . يستعمل هذا الفطر فى المقاومة الحيوية ضد أمراض البادرات ، لنباتات الزينة ، وفى مشاتل كثيرة من النباتات الأخري . السلالة GL-21 تستعمل فى أمريكا على نطاق واسع .

٤ - *الفطر* Trichoderma harzianum

اكتشف هذا الفطر كعامل مقاومة حيوية فى مركز أبحاث ولاية Geneva ، وسجل تحت اسم تجارى F-Stop أو Kodak - F. Stop ، وقد اكتشفت سلالة نوع *Polysporum* وتباع تحت اسم تجارى *BINABT* ويستعمل ضد كثير من أمراض النبات الكامنة فى التربة ، ويباع تجارياً باسم Rootshield، وضد أعفان الخشب . يباع فى أمريكا باسم Trichodex لمقاومة الفطر بوترايتس . السلالة KPLAG2 تستعمل على نطاق واسع فى أمريكا. أما الفطر *T. virens* فإنه يباع تحت اسم Pyrax . أما السلالة T39 من الفطر *T. harzianum* فهى مسجلة فى اسرائيل واليونان تحت اسم Trichodex وتباع تجارياً .

٥ - الخميرة Candida oleophila

تستعمل بشكل خاص لأمراض ما بعد الجمع ، خاصة السلالة Aspire Ecogen Inc PA, Langhorne (ذكرت هذه الخميرة فى فصل مقاومة أمراض بعد الجمع فى هذا الكتاب) تباع تجارياً تحت اسم Aspire .

٦ - الفطر Verticillium lecanii

يستعمل لمقاومة مرض البياض الدقيقى ، فى الخيار والحمضيات والشعير ، وصدأ الفاصوليا والقرنفل وصدأ *P. recondita* على القمح ، بالإضافة لمقاومة حشرة المن والذبابة البيضاء .

٧ - الخميرة الأرجوانية Sporobolomyces roseus

٨ - الخميرة Cryptococcus laurentii

تستعمل هاتان الخميرتان فى مقاومة أمراض ما بعد الجمع فى التفاح والكمثرى .

٩ - الفطر *Aspergillus niger* AN 27

يباع تجارياً تحت اسم Kalisena SD يستعمل معاملة بذور ، Kalisena LD يستعمل معاملة تربة . هذا الفطر مكتوب عنه بالتفصيل فى الفصل الثالث .

II : عوامل المقاومة الحيوية الفطرية :

١ - البكتيريا Bacillus subtilis

تباع هذه البكتيريا تحت اسم Kodiak (Gustafson) .

تستعمل هذه البكتيريا فى المقاومة الحيوية كمعاملة بذور ، تستعمل فى أمريكا تحت اسم Kodiak ، فى تكساس ذات رقم كودى GUS 376 وتصنع فى جستافون . تستعمر البكتيريا جذور النبات ولها قدرة عالية على التنافس مع الكائنات المرضة التى تهاجم الجذور (موجبة لصبغة غرام) . أهم السلالات المستعملة فى المقاومة الحيوية هى GB03 والسلالة MBI-600 . أما السلالة A-13 فهى تباع تحت اسم Quantum-4000 وتستعمل لمعاملة بذور الفول السودانى قبل زراعتها . أما السلالة GB03 والسلالة MBI600 فهى أكثر استعمالاً فى أمريكا وتباع تحت اسم Kodick وتستعمل لمقاومة سقوط البادرات فى القطن .

٢ - البكتيريا Streptomyces griseoviridis

الاسم العلمى المستعمل فى المقاومة الحيوية *Streptomyces griseoviridis* Anderson *et al* strain K-61 .

صفات البكتيريا

تنتج البكتيريا ما يسمى موقف الفطريات Mycostop عن طريق التخمير ، تتجمع المنتجات الجافة من هذا الكائن التى تحتوى على الأقل ١٠ ^٨ وحدة تكوين مستعمرات/غرام منتج . هذه المادة ثابتة لمدة ستة شهور ، عندما تخزن فى مكان مغلق درجة حرارته –٨ْ م أو لمدة ١٢ شهر على درجة حرارة (–١٨ْم) .

لقد تم اكتشاف هذه البكتيريا على أساس أنها عامل مقاومة حيوية فى قسم أمراض النبات فى جامعة Helsinik ، ولقد وجدت هذه البكتيريا بوفرة فى الأراضى العضوية فى معظم البساتين . عند إجراء تصفية لعدد من السلالات ، تبين أن بعضها فعال كمضاد للكائنات المرضة الكامنة فى التربة ، وفى البذور (الفطريات) ، أهم هذه السلالات هى K-61 . لقد تم اكتشاف التركيب والاستعمال التجارى لهذه البكتيريا بواسطة O. Mo-hammadi سنة ١٩٩٤ .

تصنع البكتيريا تحت اسم Kemira . والاسم التجارى Mycostop Kemira . أهم السلالات المستعملة فى أمريكا K-61 .

الاستعمال

إن المادة التى تفرزها البكتيريا والتى تسمى Mycostop لها عدة طرق فى إظهار فعاليتها ، منها :

١ – المنافسة الشديدة على المكان والغذاء (المواد الغذائية المتوفرة) .

٢ – تحليل جدار خلية الفطر (الكائن الممرض للنبات) بواسطة إفراز إنزيمات خارجية .

٣ – إفراز مواد مضادة فطرية من نواتج الأيض الغذائى .

ولقد تبين أن مادة موقف الفطريات Mycostop لها تأثير مشجع لنمو النباتات السلمية. أهم الفطريات التى تؤثر عليها هذه البكتيريا هى : فطريات الفيوزاريوم التى تسبب أمراض

obeikandi.com

البذول وعفن قاعدة الجذر فى الخضروات ونباتات الزينة والأعشاب . كذلك فإنها تقاوم بعض الأمراض الكامنة فى التربة ، وفى البذور مثل *Phomopsis* والفطر *Alternaria* . يمكن أن تستعمل مادة موقف الفطريات هذه ، فى الصوبات الزجاجية كمادة جافة لمعاملة البذور أو يستعمل كمعلق مائى تغمر فيه البذور أو يوضع فى ماء الرى .

يكون نوع التشكيل الناتج من هذه البكتيريا باسم WP . تكون مادة موقف الفطريات متوافقة مع عدد كبير من مبيدات الآفات . معظم هذه التركيبات يمكن أن تستعمل فى يوم التحضير نفسه .

تحدد حيوية ونقاوة مادة موقف الفطريات ، الناتجة من البكتيريا ، بعدد المستعمرات المتكونة فى المزرعة ، وذلك عن طريق إجراء عد لها ، تختبر الكفاءة الحيوية عن طريق استعمال الحقن الصناعى فى بذور القرنبيط . لا يسبب المركب أية أضرار للحيوانات ولا توجد أية مخاطر صحية على الذين يشتركون فى التعامل مع هذه المادة ، ولكن يوصى بعدم لمس المسحوق المستعمل للجلد .

السميه

لا يحدث أية تسمم للأسماك ، أما بالنسبة للنحل فيؤثر بنسبة 9.8×10^8 cfu/kg. ، أما بالنسبة للطيور الداجنة فيؤثر بنسبة 2.45×10^8 cfu/kg. .

٣ - البكتيريا Agrobacterium radiobacter K-84

اكتشفت البكتيريا واستعملت على نطاق واسع فى استراليا ، ضد مرض التدرن التاجى (سالبة جرام) . الآن استبدلت هذه البكتيريا بالسلالة K1026 لأنها تتميز بصفات أفضل من صفات K84 ، مذكور بالتفصيل فى الفصل القادم .

٤ - Pseudomoans fluorescens

هذه البكتيريا سالبة غرام ، تستعمل بواسطة شركة Ecogen فى Langhorne وتباع تحت الاسم التجارى .Dagger G ، وتستعمل ضد سقوط البادرات المتسبب عن بثيم ورايزوكتونيا فى القطن . السلالة EG1053 هى الأكثر استعمالاً فى أمريكا .

السلالة A506 متوفرة الآن وتباع تجارياً للمقاومة الحيوية لمرض اللفحة النارية فى التفاح تحت اسم Blight Ban A506 .

٥ - Pseudomoans sgringae

السلالات المستعملة فى المقاومة الحيوية هى ESC-10 ، (Bio - Save 100 and Bio Save 110) ، أما السلالة Eco science worcester MA فهى تستعمل فى مقاومة أمراض ما بعد الجمع .

٦ - Berkholdera cepacia

البكتيريا سالبة غرام ، أهم سلالتها المستعملة فى المقاومة الحيوية هى Wisconsin ، وتستعمل فى أمريكا على نطاق واسع .

obeikandl.com

الفصل الثامن

أهم أجناس الكائنات الحية الدقيقة المستعملة فى المقاومة الحيوية

أولاً : الأجناس الفطرية

I : الجنس Trichoderma

مقدمـــة

لقد ذكر الجنس *Trichoderma* منذ أكثر من مائة عام ، وذلك من قبل العالم Persoon . يتكون هذا الجنس من مجموعة فطريات مترادفة الأسماء ، تعزل من التربة ومن المواد العضوية المتحللة . عزلات هذا الفطر شائعة الانتشار ، ومن السهولة عزلها وتربيتها فى بيئة غذائية . بالإضافة لذلك ، فإن هذه العزلات تنمو بسرعة على كثير من المواد الغذائية المختلفة ، وتنتج مضادات حيوية تكون نتيجة التمثيل الغذائى ، وكذلك فإن هذه العزلات يمكن أن تكون متطفلات على الفطريات الأخرى Mycoparasitic ضد مجال واسع من الكائنات الممرضة .

إن ظاهرة التطفل على الفطريات ، وكذلك إنتاج المضادات الحيوية ، قد ذكرت أول مرة للجنس *Trichoderma* بواسطة Weindling سنة ١٩٣٢ و ١٩٣٤ . هناك تطبيقات تكنولوجية حديثة تستعمل فيها هذه الفطريات كعوامل مقاومة حيوية ، كلها اعتمدت على الأبحاث السابقة التى ذكرها ذاك العالم .

معظم أنواع الجنس *Trichoderma* تنمو بسرعة ، على البيئة الغذائية الصناعية ، وتنتج أعداداً كبيرة من الجراثيم الكونيدية الصغيرة الخضراء أو البيضاء من خلايا تسمى Conidiogenous ، تقع فى نهايات التفرعات العديدة للحوامل الكونيدية . هذه الصفات تسهل نسبياً عملية تعريف وتحديد الجنس *Trichoderma* ، ولكن تحديد الأنواع عملية صعبة جداً، لأن هناك تداخلاً كبيراً بين صفات هذه الأنواع ، ويصعب وضع الاسم المحدد للنوع إلا بعد دراسة مستفيضة وواسعة .

obeikandi.com

لقد قسم العالم Aifai سنة ١٩٦٩ هذا الجنس إلى تسعة أنواع ، حددت على أساس الصفات المورفولوجية ، إلا أن العالم Bisset سنة ١٩٩١ أعادة دراسة الجنس *Trichoderma* وأضاف إليه بعض الـ Hypocrea ذات الأشكال المتقاربة ، وأدى ذلك إلى تقسيم هذا الجنس إلى خمس مجموعات ، وبالتالى فإن مفهوم الأنواع ضمن هذال الجنس واسع جداً ، وهذا أدى إلى تقسيم الأنواع إلى Specific وآخر Subspecific (هذا ما ذكره Samuels سنة ١٩٩٦) .

من أكثر أنواع الجنس *Trichoderma* تحديداً ومعرفة ، هى :

1 - Trichoderma harzianum　*2 - T. viride*　*3 - T. hamatum.*

4 - T. polysporum　*5 - T. pseudokoningii*　*6 - T. Koningii*

النوع الثالث والخامس تلائمها التربة عالية الرطوبة ، فى حين أن النوع الثانى والرابع تلائمهما التربة ذات الحرارة المنخفضة ، أما النوع الأول يتواجد فى المناطق الدافئة ، أما النوع الثالث والسادس فإنهما يتواجدان فى ظروف المناخ المتقلب .

كفاءة الجنس فى المقاومة الحيوية :

١ - معاملة تربة

قبل سنة ١٩٧٠ أجريت دراسات كثيرة على المقاومة الحيوية ، وذلك باستعمال الجنس *Trichoderma* على التربة ، وذلك لإحداث تغيرات فى التجمعات الطبيعية للكائنات الحية فى التربة أو فى الأجزاء النباتية المحيطة بها التربة ، مما يؤدى إلى المقاومة الحيوية ، لقد ذكر Bliss سنة ١٩٥١ أن مقاومة الفطر *Armillaria mellea* فى الحمضيات بعد التبخير بمادة ثانى كبريت الكربون ، تعزى إلى التجمعات الطبيعية للفطر *Trichoderma* التى تنتشر بسرعة فى التربة المعقمة ، ولكنه لم يضع تفسيراً لذلك ، لأن هذه التجمعات تكون هي السبب فى مقاومة الكائن الممرض . ولقد ذكر أن الفطر *Trichoderma* ، أكثر مقاومة لمادة ميثايل برومايد من الفطر الممرض *A. mellea* . ثم بعد ذلك ذكر العالم Chet سنة ١٩٨٠-١٩٨١ أن الفطر *T. hamatum* يثبط نمو الفطر الممرض *R. solani* والفطر *Pythium sp.* ثم بعد ذلك حدث تطور كبير فى تفهم المقاومة الحيوية .

بدأت المقاومة الحيوية التطبيقية فى الحقل ، باستعمال الفطر *Trichoderma* بواسطة

العالم .Well *et al* سنة ١٩٨٢ ، وذلك باستعمال تحضيرات من الفطر تريكوديرما النامى على بيئة صلبة (حبوب ، شيلم أو قمح) وذلك للمقاومة الحقلية للفطر الممرض *Sclerotium rolfsii* على نباتات الطماطم . يحتاج هذا النظام من المقاومة كميات كبيرة من المواد العضوية لينمو عليها الفطر المضاد (٤٢٠٠ كغم/هكتار) لمقاومة المرض . إلا أن العالم Kabana أستطاع أن يستعمل بعض المواد الحبيبية غير الذائبة (الداياتومات) المخلوطة مع المولاس لتنمية الفطر المضاد *T. harzianum* ، ثم تؤخذ هذه الحبيبات وتضاف على خطوط التربة المزروعة بالفول السودانى ، وهذا يحتاج ١١٢-١٤٠ كغم/هكتار . تنثر هذه المواد بعد الزراعة بحوالى ٧٠-١٠٠ يوم ، وهذا يؤدى إلى مقاومة ناجحة للفطر *S. rolfsii* وأدى إلى زيادة انتاج الفول السودانى لثلاث سنوات متتالية . ولقد تبين أن مقاومة المرض بهذه الطريقة تعادل مقاومته باستعمال المبيد الفطرى *PCNB* .

عند تنمية الفطر *T. harzianum* على مواد صلبة وتنثر هذه المواد على التربة بالقرب من النباتات المزروعة ، أعطى مقاومة حيوية ناجحة ضد الأمراض الآتية :

١ - العفن الأبيض فى البصل المتسبب عن *Sclerotium cepivorum* فى مصر والولايات المتحدة .

٢ - أمراض ذبول القطن والخيار المتسببة عن *Verticillium dahliae* فى روسيا .

٣ - أمراض سقوط البادرات الرايزوكتونى ولفحة سكلوروشيم فى كثير من المحاصيل فى اسرائيل .

٤ - عفن الثمار الرايزوكتونى فى الخيار فى إسرائيل .

لقد ذكر Kelley أن إضافة مواد غذائية طازجة ، إلى التربة مع الفطر المضاد *T. harzianum* تشجع نمو الفطر الممرض *Pythium* وتساعد فى زيادة استعمار المواد العضوية ، وهذا يؤدى إلى زيادة حدوث المرض . لقد تم الحصول على مقاومة تامة للمرض عند إضافة الكائن المضاد على شكل كرات ، قبل زراعة بادرات الخيار المنقولة إلى الأرض الدائمة بحوالى ١٥-٣٠ يوماً .

كذلك يمكن استعمال الجراثيم الكونيدية للفطر *Trichoderma* على شكل معلق تغمر فيه جذور شتلات الفراولة قبل زراعتها فى الأرض الدائمة ، وهذ يؤدى إلى خفض حدوث الأمراض لهذه الشتلات . كذلك تم الحصول على مقاومة ممتازة لذبول الفيوزاريوم

فى الأقحوان سنة ١٩٨٤ ، وذلك بإضافة مزيج من المعلق المائى للجراثيم الكونيدية للفطر *T. viride* مع المبيد الفطرى البنليت ، حيث إن هذا البيوتايب الفطرى مقاوم للمبيد بنليت . تستعمل جراثيم الفطر المضاد بتركيز ١٠^٤ جرثومة كونيدية/مل ، وتضاف للتربة بعد تبخيرها ببخار الماء على حرارة ٨٢° م لمدة ساعتين .

أثبتت الدراسات الحديثة بواسطة Beagle *et al* سنة ١٩٨٤ وكذلك العالم Papavi-zas سنة ١٩٨٤ ، أن التحضيرات الفطرية الناتجة من التخمرات بكميات كبيرة *(FB) Fer-mentor Biomass* والتى على شكل مسحوق وطين أو كرات من Alginate عند إضافتها إلى التربة ، فإنها تتكاثر بسرعة وتثبط المرض بكفاءة أكثر من استعمال الجراثيم الكونيدية العادية أو الجراثيم الكلاميدية . كذلك وجد أن الـ *(FB)* من فطريات *T. viride* و *T. harzianum* و *T. hamatum* ، تقلل وتثبط بقاء ونمو الفطر الممرض *R. solani* فى التربة وتخفض مرض عفن ثمار الطماطم الناتج عن رايزوكتونيا .

٢ - معاملة بذور

يعتبر استعمال الفطر *Trichoderma* على البذور ، طريقة بديلة لإدخال الفطر فى التربة بدلاً من استعماله مباشرة على التربة فى التشكيلات المختلفة المذكورة سابقاً ، حيث إن هذه الطريقة تتطلب كمية قليلة من تحضيرات الفطر ، إذا قيست بالكميات التى توضع فى خطوط التربة أو على شكل أكوام صغيرة broadcast .

لقد تم الحصول على مقاومة حيوية جيدة لسقوط البادرات المفاجئ فى البسلة والفجل المتسبب عن الفطر *R. solani* والفطر *Pythium* ، وذلك بمعاملة البذور لكل من البسلة والفجل بالجراثيم الكونيدية للفطر *T. hamatum* ، وكذلك تم الحصول على مقاومة جيدة من البيوتايب الناتج من استعمال الأشعة الفوق بنفسجية من الفطر *T. harzianum* و *T. viride* . وكذلك حصل تحسن كبير فى نمو النباتات وزيادة انتاج فول الصويا المزروع فى تربة ملوثة بالفطر *Rhizoctonia* عند معاملة البذور بالفطر *T. pseudokoningii* ، وكذلك عند معاملة حبوب الذرة وفول الصويا بالفطر *T. harzianum* . إن استعمال الفطر الأخير كمعاملة بذور للقطن لمقاومة *R. solani* أعطى نتيجة جيدة فى الحقل فى إسرائيل .

هناك بعض الملاحظات يجب مراعاتها عند استعمال الجنس *Trichoderma* كمعاملة بذور ، هى :

١ – يجب أن يكون الفطر قادراً على التكاثر فى التربة .

٢ – يجب أن يكون الفطر ذا مقدرة على التنافس فى منطقة الرايزوسفير ، وذلك لتثبيط الكائن الممرض بالمنافسة أو بالتطفل الفطرى أو التضاد الحيوى .

٣ – يجب أن يكون الفطر ذا تضاد حيوى ، وله القدرة على التجمع وتكوين مستعمرات فى منطقة الرايزوسفير والسبيرموسفير .

٤ – يجب ألا يكون حساساً للسايدروفورز المفرزة من البكتيريا والكائنات الدقيقة الأخرى فى التربة .

٥ – يمكن تحسين كفاءة هذا الجنس عن طريق التنقية والاختيار والهندسة الوراثية والتربية.

٣ - الاستعمال على المجموع الخضرى

كانت البداية الأولى فى استعمال الفطر Trichoderma على المجموع الخضرى ، وذلك عن طريق حقن جروح أشجار القيقب الأحمر بالفطر T. harzianum ، وهذا يمنع اختراق الجروح بفطريات الـ Hymenomycetes بعد ٢١ يوماً ، ولكن بعد ٢١ شهراً فإن ١٤ ٪ من الجروح المعاملة سببت زيادة فى تجمعات هذه الفطريات ، وكان الكائن المضاد أقل فعالية عند استعماله فى الشتاء . ونظراً لأن الفطر Trichoderma ضعيف فى مقدرته على استعمار الخشب الحديث ، فإن تحسن تأثيره يكون بسبب الكميات الكبيرة من اللقاح التى تضاف إلى الجروح، مما يساعد على تأسيس موقع مؤقت حيث أن سيطرته تفقد مع الزمن.

من الأمثلة الأكثر نجاحاً فى المقاومة الحيوية باستعمال الجنس *Trichoderma* على الأجزاء الخضرية فى النبات ، هو استعماله للمقاومة الحيوية للأمراض التى تدخل عن طريق الجروح فى الأشجار والشجيرات ، وذلك عن طريق إضافة الفطر إليها وقت التقليم . لقد ذكر Grosclaude سنة ١٩٧٠ أن كفاءة الفطر *T. viride* ضد الفطر *Stereum purpureum* الاسم القديم *Chondrostereum* ، مسبب مرض الورقة الفضية على البرقوق ، تكون عالية عند استعماله وقت التقليم . ولقد ابتكر هذا العالم سنة ١٩٧٣ طريقة لاستعمال الجراثيم الكونيدية للفطر المضاد على الجروح أثناء القطع ، عن طريق استعمال مقصات خاصة للتقليم . فى إحدى التجارب العملية وجد أن إضافة الكائن المضاد بهذه الطريقة ، قبل ٤٨ ساعة من الحقن بالكائن الممرض يحمى شجرة البرقوق ذات عمر سنتين ، تماماً

من المرض ، ولكن لا يعطى نفس النتيجة إذا استعمل الكائن المضاد مع الكائن الممرض فى نفس الوقت .

لا يقتصر استعمال الفطر *Trichoderma* على منع إبتداء المرض فقط ، ولكن أيضاً يمكن أن تكون هناك معاملات علاجية لمقاومة مرض الورقة الفضية باستعمال الفطر *T. viride* ، حيث يستعمل على أوتاد خشبية ٠,٨ × ١٠ سم توضع فى حفر على مسافات ١٠ سم فى الجذع والأفرع الرئيسية لشجرة البرقوق المصابة بمرض الورقة الفضية ، أو الخوخ أو أشجار النكترين . استعملت هذه الطريقة فى أوائل السبعينيات وأعطت نتائج كالآتى :

١ – ٥٠ ٪ من الأشجار أعطت أعراضاً بسيطة من مرض الورقة الفضية (إختفت الأعراض بعد فترة قصيرة) .

٢ – ٣٣ ٪ لم تعط أية أعراض .

٣ – ١٧ ٪ لم تستجب لهذه المعاملة .

لقد أطلق العالم Ricard سنة ١٩٧٧ اصطلاح Immunizing Commensals على عوامل المقاومة الحيوية ، التى تحدث تأثيرات العلاج الحيوى ، وتحفظ أو تعالج النباتات من المرض دون أن تكون هى ممرضة . لقد كان هناك نجاح تام عند استعمال *T. viride* و *T. polysporum* لمقاومة مرض الورقة الفضية على الأشجار ، وذبول الفيرتسليم على عيش الغراب ، وقد سجل هذان النوعان تجارياً فى فرنسا وبريطانيا . وبحلول ١٩٨١ كان هناك أكثر من عشرين ألف شجرة مثمرة قد عوملت تجارياً بالفطريات المذكورة .

لم يقتصر استعمال الجنس *Trichoderma* على الجروح فقط ، وإنما استعمله Tronsomo و Dennis سنة ١٩٧٧ لحفظ ثمار الفراولة من مرض عفن المخزن المتسبب عن الفطر *Botrytis cinerea* ، *Mucor mucedo* عن طريق رش نباتات الفراولة فى الحقل ابتداء من أول التزهير بمعلق مائى من الجراثيم الكونيدية لكل من *T. viride* و *T. polysporum* ، وكانت نتيجة المقاومة الحيوية تشبه نتيجة استعمال المبيد الفطرى *Dichlofluanid* . كذلك أمكن حفظ ثمار الخوخ ضد مرض البقعة العينية المتسبب عن الفطر *B. cinerea* وذلك برش الجراثيم الكونيدية للفطر *T. pseudokoningii* بعد الحقن الصناعى للأزهار بالكائن الممرض وليس عند حدوث المرض من الحقن الطبيعى . إن إنخفاض نجاح المقاومة الحيوية لهذا المرض عند حدوث الإصابة الطبيعية ، يكون بسبب درجة الحرارة

المنخفضة السائدة وقت الإزهار . وجد أن الفطر المضاد *T. pseudokoningii* غير قادر على النمو على حرارة أقل من ٩ ْم ، بينما الفطر الممرض *B. cinerea* ، يمكن أن يعيش ويهاجم النبات على حرارة أقل من ٩ ْم . أما بالنسبة للفطر *T. harzianum* ، وجد أن رش جراثيمه الكونيدية على أزهار التفاح يخفض الإصابة بمرض البقعة العينية على الثمار ، وذلك لأن هذا الفطر يستطيع أن ينمو تحت درجات حرارة منخفضة ، كذلك وجد أن مقدرة الفطر *T. harzianum* ضد الفطر *B. cinerea* على العنب فى الحقل تعتمد على درجة الحرارة وعلى تركيز اللقاح المستعمل من الجراثيم الكونيدية .

المضادات الحيوية التي يكونها الجنس *Trichoderma*

يبين شكل رقم ٩ المضادات الحيوية التى يكونها الفطر *Trichoderma spp.*

رقم ١ : Trichodermol ويفرزه الفطر *T. polysporum* .

رقم ٢ : Harzianum ويفرزه الفطر *T. harzianum* .

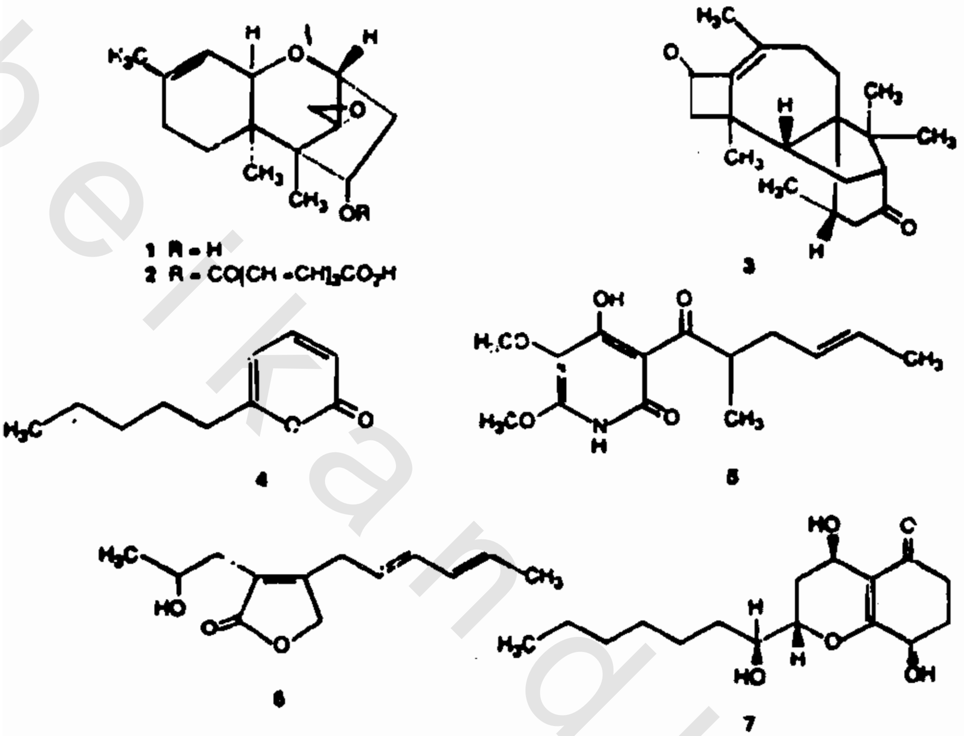
رقم ٣ : Harziandione ويفرزه الفطر *T. harzianum* . بعض سلالات معينة .

رقم ٤ : 6 - pentyl - 2 - pyrone ويفرزه الفطر *T. harzianum* السلالة المعروفة باسم (IMI 275950) . وجد أن هذا المركب فعال بتركيز ١٠ أجزاء فى المليون ضد الفطر *R. solani* والفطر مسبب المرض الماحق فى القمح . وهو يعطى مقاومة جيدة دون التأثير على النبات وينطلق ويتخلل التربة ، ويمكن أن يعمل كمدخن متوسط الفاعلية .

رقم ٥ : Pyridone harzianopyridone وتفرزه السلالة (IMI 298371) من الفطر T. harzianum وهو يؤثر على الفطر *Botrytis cinerea* ويؤثر على *R. solani* بتركيز ١ ملغ/١ مل .

رقم ٦ : harzianolide ، Butenolide ويفرزه *T. harzianum* تحت ظروف معينة .

رقم ٧ : Polyketides ويفرزه الفطر *T. harzianum* تحت ظروف معينة .



شكل (٩) : التركيب الكيماوى للمضادات الحيوية التى يفرزها الفطر *Trichoderma spp.* :

١ – Trichodermol

٢ – Harzianum

٣ – Harziandione

٤ – 6-pentyl - 2- pyrone

٥ – Pyridone harzianopyridone

٦ – Butenolide ، harzianolide

٧ – Polyketides

obeikandi.com

تريكوديرما عامل مقاومة حيوية ضد الفطريات الممرضة النباتية

Trichoderma As A Biocontrol Agent Aganist Pathogenic Fungi

مقدمة :

هناك بعض الكائنات الحية الدقيقة ، لها فوائد عملية فى خفض شدة الأمراض النباتية وتشجع نمو وتكاثر المحاصيل النباتية ، عندما تستعمل كمعاملة بذور أو معاملة تربة أو الأجزاء النباتية الأخرى . عوامل المقاومة الحيوية ، هذه ، موجودة بشكل عام فى منطقة الرايزوسفير فى النباتات . كذلك فإن البكتيريا والكائنات الدقيقة الأخرى (سلالات كثيرة من الفطريات) وصفت بأنها عوامل مقاومة حيوية ضد الفطريات الممرضة للنبات . لقد ذكر فى أوائل الستينيات أن الفطر *Phebia gigantea* يستعمل لمقاومة *Heterobasidium annosus* ، وبهذا يصبح أول عامل مقاومة حيوية يتم استعماله عملياً . ثم بعد ذلك استعملت سلالات غير ممرضة من الفطر *Fusarium* لمقاومة ذبول البطاطا الحلوة المتسبب عن الفطر *Fusarium sp.* . كذلك فإن سلالات من الفطر *Verticillium biguttatum* استعملت لمقاومة إصابة محصول البطاطا الحلوة ، بالفطر *R. solani* . ثم بعد ذلك فطريات أخرى مثل *Coniothyrium minitans* ، *Sporidesmium sclerotivorum* أو الفطر *Pythium nunn* قد استعملت فى المقاومة الحيوية وبعضها يسوق تجارياً .

هذه الأجناس درست بشكل استثنائى ، إلا أن مجمل الدراسة (حوالى ٩٠٪) فى مجال المقاومة الحيوية لأمراض النبات الفطرية ، أجريت على سلالات الجنس *Trichoderma* . من هذه الأنواع :

1 - T. harzianum *2 - T. viride* *3 - T. virens*

4 - T. hamatum *5 - T. koningii* *6 - T. pseudokoningii*

يرجع الاهتمام بالفطر تريكوديرما فى مقاومة أمراض النبات إلى عدة أسباب . السبب الأول :كثرة أعداد الأبحاث المنشورة عنه والتى تظهر كل سنة ، والتى تكون فيها سلالات التريكوديرما عوامل مقاومة حيوية جيدة . السبب الثانى : ارتفاع أعداد سلالات التريكوديرما المسوقة تجارياً فى الوقت الحالى . أما السبب الثالث فهو الكميات الكبيرة من هذه المنتجات المستعملة بواسطة المزارعين كل سنة .

تأكيداً للأبحاث التى ذكرت بأن التريكوديرما يقوم بدور هام كعامل مقاومة حيوية ، هناك فى منطقة Valley of Rhone ينتج حوالى ١٥ طن سنوياً من لقاح التريكوديرما ضد الفطر *Armillaria* ، حيث أن هذا الفطر المضاد يستعمل كثيراً فى أماكن كثيرة من المناطق الزراعية هناك .

إن نجاح سلالات التريكوديرما كعوامل مقاومة حيوية مبنى على عدة عوامل :

١ – كفاءة هذه السلالات العالية فى التكاثر .

٢ – مقدرتها على البقاء وتحمل الظروف غير الملائمة .

٣ – فعاليتها فى مكافحة الفطريات الممرضة النباتية .

٤ – فعاليتها فى تشجيع نمو النبات .

هذه الصفات ، جعلت الفطر تريكوديرما جنس موجود دائماً وبكثرة فى أى مكان ، وبكثافة عالية بنسبة ٣ ٪ من مجموع العزلات الفطرية فى الغابات ، وحوالى ١,٥ ٪ من العزلات المأخوذة من التربة العادية . زيادة على ذلك ، فإن لقاح التريكوديرما يتكشف وينمو أفضل فى الرايزوسفير حول النباتات المريضة منه حول النباتات السليمة ، وذلك لأن النباتات المريضة تفرز مواد تستعمل من قبل الفطر تريكوديرما كمغذيات مناسبة لنموه .

سلالات التريكوديرما كعوامل مقاومة حيوية :

لقد ذكرت صفة التضاد الفطرى الطبيعية ، بأنها متوفرة فى الجنس تريكوديرما منذ أكثر من ستين عاماً ، إلا أن أول تقرير عن تجارب المقاومة الحيوية التى يستعمل فيها الجنس المذكور ، تحت ظروف الحقل الطبيعية منذ ٤٠ سنة (هذا ما ذكره Chet *et al* سنة ١٩٩٧) . بعد ذلك حدث تقدم كبير فى اتجاه تحسين الجنس كعامل مقاومة حيوية فى العشرة سنوات الماضية ، أكثر مما حدث له خلال الستين سنة السابقة . نظراً لأن هناك عدة عزلات من هذا الجنس ، قد أمكن الحصول عليها من أماكن تواجدها الطبيعية ، وتستعمل فى تجارب المقاومة الحيوية ، ضد عديد من الكائنات الممرضة الكامنة فى التربة (جدول رقم ٧٧) ، وأن تسجيل هذا الجنس بواسطة وكالة وقاية البيئة أكد أنه عامل مقاومة حيوية يستعمل تجارياً ، كان تتويجاً لعديد من الأبحاث التى أجريت على هذا الجنس .

جدول رقم ٧٧ : أنواع من التريكوديرما المستعملة فى مقاومة بعض الأمراض الفطرية الكامنة فى التربة .

Antagonist	Target pathogen	Host
T. harzianum	*Sclerotium rolfsii*	Sugar beet
	Pythium ultimum	Lettuce
	Fusarium oxysporum	Narcissus, cotton
	Rhizoctonia solani	Lettuce, bean
	Verticillium spp.	Tomato
	Botrytis cinerea	Tomato
	B. cinerea	Strawberry
	B. cinerea	Grape
T. hamatum	Take-all	Wheat and rye-grass
	F. oxysporum	Narcissus
	R. solani	Tomato
	R. solani	Cotton, snap beans
T. viride	*Penicillium digitatum*	Orange
	Phytium ultimum	Lettuce
	F. oxysporum	Narcissus
	R. solani	Cotton, Tomato, Potato, snap beans
T. virens	*P. ultimum*	Cotton
	R. solani	Potato
	Phytophthora spp.	Apple tree
T. koningii	*Take-all*	Wheat and rye-grass
	R. solani	Cowpea
T. polysporum	*Fomes annosus*	
T. reesei	*Rhizopus stolonifer*	
Trichoderma ssp.	*Rhizoctonia*	Vegetables,
	Phytium	Field crops
	Rhizoctonia	Potato
	Verticillium	Mushrooms
	Pythium	Pea
	Rhizoctonia	Radish
	Sclerotium	Apple seedling
G. roseum	*Verticillium dahliae*	Potato
Gliocladium spp.	*Rhizoctonia*	Ornamentals
	Pythium	
Gliocladium spp.	*Sclerotium*	Bean
Gliocladium spp.	*Rhizoctonia*	Peanut

obeikandi.com

تتميز سـلالات هذا الجنس ، بأنها متحملة لأنواع من المبيدات الفطرية (جدول رقم ٧٨) . أيضاً تتميز هذه السلالات بأنها تعتمد فى فعلها على التضاد الفطرى ، وهذا التضاد يعتمد على ميكانزمز مختلفة ، والتى يمكن أن تعمل تعاونياً ، وتكون مهمة فى عمليات التضــاد التى تعتمد على عديد من العوامل ، تشمل هويات سلالات الجنس تريكوديرما وعلى طبيعة الفطر الممرض الذى يحصل ضده تضاد ، بالإضافة إلى الظروف البيئية شاملة المغذيات pH ، الحرارة ، تركيز الحديد المتوفر وغيرها .

جدول رقم ٧٨ : يبين أنواع الفطر تريكوديرما والمبيدات الفطرية التى تتحملها .

STRAIN	FUNGICIDE
T. viride T1	Benomyl
T. harzianum	Benomyl
T. harzianum WT-6	Benomyl
T. viride	Benomyl
T. virens	Benomyl
T. harzianum	Benomyl
T. viride	Benomyl
G. virens	Benomyl
Trichoderma spp.	Methyl bromide
Trichoderma spp.	PCNB
T. viride	Captafol
T. harzianum	
Trichoderma spp.	Captan
	Chlorothaloni
	l Iprodione
	Procymidone
	Vinclozolin
T. harzianum	Diclofluanide

obeikandl.com

الميكانزم الداخل فى المقاومة الحيوية من قبل أنواع التريكوديرما :

١ - تشجيع العوامل الدفاعية فى النبات

Stimulation of The Plant Defensive Mechanisms

تنتج بعض سلالات التريكوديرما عوامل نمو مثل الأكسينات ، سايتوكيونينز Citoquinines ، والإيثلين ، هذه تشجع نمو النبات وتشجع الميكانزم الدفاعى فيه ، وكذلك تشجع تكوين الميكورهزا . تسبب هذه العوامل زيادة فى نمو النبات تصل إلى ٣٠٠٪ فى بعض الحالات . فى بعض التجارب التى أجريت فى البيوت الزجاجية ، كانت الزيادة فى الانتاجية ملموسة بالمقارنة مع الكنترول ، وذلك عندما عوملت بذور النبات مسبقاً بجراثيم الفطر تريكوديرما . حتى فى الأراضى غير الملوثة بالممرضات ، تحدث زيادة الانتاجية بعد إضافة جراثيم التريكوديرما إلى التربة ، هذا يكون بسبب انتاج عوامل مشجعة لنمو النبات من قبل هذا الفطر .

٢ - المنافسة Competition

تعتبر المجاعة من أكثر الأسباب شيوعا ، فى موت الكائنات الحية الدقيقة ضعيفة المنافسة . وبالتالى فإن المنافسة على قدر محدود من العوامل الغذائية (الحديد مثلاً) ، يمكن أن يكون لها دوراً كبيراً فى المقاومة الحيوية للكائنات الممرضة النباتية . تنتج بعض سلالات الجنس تريكوديرما سايدروفورز فعالة فى/ والتى تجذب إليها الحديد ، وبالتالى توقف نمو الفطريات الأخرى . وبالتالى فإن السلالات مثل T35 من النوع *T. harzianum* والتى تقاوم الفطر *F. oxysporum* يكون ذلك عن طريق المنافسة على المغذيات واستعمار الرايزوسفير . يعتبر الفطر قوياً فى التضاد الفطرى إذا توفرت فيه الصفات الآتية :

١ - عندما يكون لديه قدرة على التغلب على التأثيرات الفطرية السامة فى التربة ، الناتجة من نواتج التمثيل الغذائى من أنواع الفطريات الأخرى .

٢ - عندما يكيف نفسه تحت ظروف شديدة المنافسة .

تنمو سلالات التريكوديرما بسرعة عندما تحقن فى التربة وذلك لسببين :

١ - هذه السلالات مقاومة بطبيعتها لكثير من المواد السامة مثل مبيدات الحشائش والمبيدات الفطرية .

٢ – تستطيع هذه السلالات أن تعيد نفسها بسرعة كبيرة ، بعد إضافة جرعات مؤثرة كبيرة (قبل الموت) من هذه المواد السامة .

٣ - التضاد الحيوى Antibiosis

يدل مفهوم هذا الاصطلاح ، على التفاعلات التى تشمل مركبات قابلة للانتشار ذات وزن جزيئى منخفض، أو المضادات الحيوية المنتجة بواسطة الكائن الحى الدقيق، والتى تثبط نمو كائن حى دقيق آخر . بالنسبة للجنس تريكوديرما ، فإن لديه سلالات مختلفة تنتج مركبات متطايرة وغير متطايرة والتى تثبط نمو الفطريات الممرضة . بعض سلالات تريكوديرما والتى معظمها ينتمى إلى النوع *T. reesei* تنتج مضادات حيوية ذائبة ، مثل Trichodermin ، والذى هو يثبط تماماً نمو كثير من الكائنات الممرضة الفطرية التى أجريت عليها التجارب .

هناك سلالات أخرى من التريكوديرما تنتج Peptides مثل Alamethicin ، Suzukacillin و Trichorzianine ومضادات حيوية أخرى مثل Gliovirin ، Gliotoxin و Viridin ومركبات متطايرة مثل Pyrones ، كل هذه المركبات لها تأثير نشيط وفعال ضد الفطريات عندما تكون موجودة مع الفطريات الممرضة النباتية .

هناك أدلة أخرى ، قد دعمت الدور المهم للمضادات الحيوية ، المنتجة والداخلة فى المقاومة الحيوية للكائنات الممرضة النباتية . كثير من عوامل المقاومة الحيوية ، تنتج مضادات حيوية فى المعمل ، فى بعض الحالات فإن انتاج المضاد الحيوى ، يرتبط مع كفاءة المقاومة الحيوية ، حيث وجد أن تأثير المضادات الحيوية النقية يشبه تأثير عامل المقاومة الحيوية الذى انتجه فى المقاومة الحيوية . تكون الطفرات التى تفتقر إلى انتاج المضادات الحيوية أقل فاعلية فى المقاومة الحيوية من الأبويين . بعض المضادات الحيوية المنتجة بواسطة عوامل المقاومة الحيوية يمكن أن تعزل من أماكن التواجد الطبيعى لهذه العوامل مثل الرايزوسفير . لقد كان يعتقد لمدة طويلة أن تأثير المضادات الحيوية فى المقاومة الحيوية التى يبديها الجنس تريكوديرما غير مؤكدة .

ثبت بأن كثير من سلالات تريكوديرما ، تنتج كميات كبيرة من المضادات الحيوية مثل Gliovirin ، الذى تنتجه طفرات من *T. virens* والتى تسبب مقاومة حيوية شبيهة للنوع الأصلى ، وبالإضافة لذلك فإن سلالات من الفطر *T. longibrachiatum* والتى هى مضادة للفطر *Mycena citricolor* الذى يسبب مرض تبقع الأوراق فى القهوة ، تنتج كل من Sorbicillin ، Bisvertinol ، Bisvertinolone و Trichodimenol والتى ليس لها تأثير

حيوى ضد *M. citricolor*. ومن ناحية أخرى فإن السلالات التى تفتقر إلى المضاد الحيوى مثل الطفرات التى تفتقر إلى Gliovirin من الفطر *T. virens* ، تفشل فى وقاية بادرات القطن من الإصابة بالفطر *P. ultimum* ، فى حين أن السلالة الأصلية تقوم بالوقاية .

لقد أثبت العالم Howell سنة ١٩٩٦ فى دراسته على المقاومة الحيوية ، باستعمال *T. virens* لسقوط بادرات القطن المتسبب عن الفطر *P. ultimum* ، أن بعض السلالات تنتج Viridin ، viridiol ، Gliovirin ، سلالات أخرى تنتج المركبين الأوليين بالإضافة إلى Gliotoxin ، ولا تفرز Gliovirin ، وتبين أن جميع السلالات التى تنجح لأن تكون عوامل مقاومة حيوية تنتج Gliovirin . كذلك فإن عزلات الفطر *T. harzianum* المأخوذة من جذور القمح، تنتج كل من المواد الآتية : Cyclonerodiol و Octaketide ketodiol ، كلاهما يظهر نشاط فعال فى المقاومة الحيوية لفطر المرض الماحق فى القمح *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* ، بينما بعض العزلات من الفطر *T. virens* تنتج viridin ، viridiol ، Gliovirin ، Gliotoxin ، إلا أن بعض السلالات لا تنتج هذا المركب الأخير .

إن نمو وتجرثم كلاً من الفطريات الممرضة *P. ultimum* ، *R. solani* ، *Sclerotium rolfsii* يثبط بقوة بواسطة Gliotoxin فقط . أيضاً فإن الـ viridin يكون أكثر فعالية فى تثبيط نمو الفطر *R. solani* منه فى كل من *P. ultimum* و *S. rolfsii* .

إن أكثر السلالات (التابعة للفطر *T. harzianum*) فعالية فى مقاومة الفطر الماحق فى القمح هى التى تنتج نوعين من المضادات الحيوية التى تتبع Pyrone . كذلك فإن الفطر *T. koningii* أيضاً تنتج مشتقات الـ Pyrone والذى يثبط نمو فطر المرض الماحق فى النجيليات وفطريات ممرضة أخرى نباتية . كذلك فإن مقدرة سلالات *T. hamatum* و *T. harzianum* على أفراز مركبات Pyrones كمضادات فطرية ، تعتبر هى الأساس فى استعمال هذه السلالات فى المقاومة الحيوية تجارياً . وكذلك وجد أن السلالات من *T. polysporum* المستعملة فى مقاومة *Fomes annosus* تنتج مشتقات O-acetyl و O-methyl لـ Anthraguinones والتى تثبط بشكل ملحوظ كثيراً من الكائنات الممرضة .

من الأمور الهامة التى درست فى مجال المضادات الحيوية ، هى ظهور سلالات من الكائنات الممرضة الفطرية مقاومة لهذه المضادات الحيوية . نظراً لأن المضادات الحيوية متخصصة واختيارية ، فمن الممكن ظهور سلالات مقاومة لها ، إلا أنه يمكن القول بأن

سلالات الفطر تريكوديرما لديها أكثر من ميكانزم فى انتاج المضادات الحيوية ، وهذ يؤدى إلى تنوع المضادات الحيوية المنتجة ، وبالتالى من الصعوبة بمكان ، أن يظهر سلالات من الكائنات الممرضة مقاومة لجميع هذه المضادات المنتجة ، بالإضافة إلى أن سلالات التريكوديرما لا تعتمد كلية فى عملها على المضادات الحيوية ، بل هناك ميكانزمز أخرى تستعملها فى مقاومة الكائنات الممرضة النباتية .

٤ - ***التطفل الفطرى*** **Mycoparasitism**

يعرف التطفل الفطرى بشكل عام ، بأنه المهاجمة المباشرة من قبل الفطر (عامل المقاومة الحيوية) على التركيبات الفطرية (للفطر الممرض) سواء كانت ميسيليوم أو جراثيم أو سيكليروشيم (أجسام حجرية) يتبع ذلك ، استعمالها كمغذيات للفطر المتطفل . عندما يتطفل فطر على فطريات ممرضة متطفلة أخرى عندئذ يستعمل الاصطلاح فوق التطفل Hyper parasitism .

يقسم التطفل الفطرى إلى قسمين من حيث التغذية :

١ – تغذية على مواد ميته Necrotrophic parasitism .

٢ – تغذية حيوية Biotrophic parasitism .

بالنسبة للطفيليات التى تتطفل على مواد ميته ، فإن هذا الطفيل يقتل خلايا العائل قبل أو مباشرة بعد إختراقها لاستعمال المواد الغذائية المنطلقة . أما المتطفل ذو التغذية الحيوية فإنه قادر على الحصول على المواد الغذائية ، من خلال العائل الحى بدون احداث أضرار ، أو يسبب أضراراً بسيطة للعائل فى المراحل المبكرة من التطفل الفطرى . بالنسبة للتطفل على المواد الميتة فإنه يكون أكثر عدوانية وله مجال واسع من العوائل ، ويكون غير متخصص فى طريقة تطفله . أما تطفل التغذية الحيوية ، فإن مجاله يكون مقيد أكثر من حيث العوائل ، ويكون تركيبات متخصصة لامتصاص المواد الغذائية من عوائله . يكون التطفل ذو التغذية الحيوية أكثر انتشاراً فى الطبيعة من التطفل ذو التغذية على المواد الميتة .

السلالات المتطفلة فطرياً من الفطر *Trichoderma* تكون من النوع ذو التغذية على مواد ميته ، تشمل هذه العملية عدة خطوات ، التعرف على العائل ، الألتفاف ، تكوين عضو التصاق ، الاختراق وهضم تركيبات العائل . هناك أنواع عديدة من علاقات التطفل الفطرى بين الفطر تريكوديرما وعوائله ، منها الالتفاف حول العائل ، الاختراق ، وهذا يعتمد

على الظروف الخارجية ، وعلى عمر الميسيليوم ، حيث تكون الهيفات القديمة أقل مقدرة على اختراق هيفات العائل .

يمكن أن يكون لانتاج الأنزيمات دور كميكانزم للمهاجمة من قبل سلالات تريكوديرما ، وبالتالى يكون لها دوراً فى المقاومة الحيوية ، وفى بعض الأحيان لا يكون لها أى دور . وهذا يعتمد على السلالات المتخصصة من الفطر تريكوديرما وعلى نوع العائل وسلالاته ، تركيب جدار خلية العائل والظروف المحيطة الخارجية . من الدراسات العديدة التى أجريت على سلالات التريكوديرما ، وجد أن بعضاً منها يقوم بدوره فى قتل عائله باستعمال الإنزيمات ، وسلالات أخرى لا تستعمل الإنزيمات .

لقد تأكد دخول الأنزيمات المحللة للخلية فى عملية التضاد الفطرى ، اعتماداً على التجارب المعملية التى ثبت فيها مقدرة السلالات الفطرية من الفطر تريكوديرما على انتاج الأنزيمات المحللة للخلية مثل Chitinases ، Glucanases ، Proteases ، Lipases ، Phosphateses ، فى المزارع المزدوجة للفطر تريكوديرما والفطريات الأخرى الممرضة بالمقارنة مع نتائج المزارع المفردة التى يستعمل فيها فطر واحد . لقد وجد أن هيفات الفطر *T. harzianum* تهاجم هيفات الفطر الممرض حيث تحلل أماكن الاختراق وتدخل فى تجويفات الهيفا وتسبب تحللها . هذا يؤدى إلى القول بأن تحطيم الخلايا يكون ناتجاً عن تحلل أنزيمى باستعمال Chitinases و Glucanases المنتجة بواسطة التريكوديرما .

ذكر بعض الباحثين أن تحطيم الهيفا الفطرية ، يعود إلى المعاناة الغذائية المتسببة عن التطفل الفطرى والذى لا يفرز Hydrolases والتى تؤدى فى النهاية إلى التحلل الذاتى لجدار خلية العائل . زيادة على ذلك فإنه تحت ظروف طبيعية معينة ، فإن أنزيمات الهيدرولاتيك يبدو أنها تكون غير نشيطة وإن جدر الهيفا الحية تهرب من التحلل . تتحطم الجدر الهيفية فقط عندما يصبح سيتوبلازم العائل فى مرحلة الاحتضار نتيجة فعل السموم ، انطلاق أنزيمات الهيدرولاتيك ، بواسطة الفطر تريكوديرما .

ذكر بعض المؤلفين ، أن معظم سلالات التريكوديرما ، تسبب التحطيم الفطرى للفطريات الممرضة ، عن طريق التضاد الحيوى الذى يؤدى إلى موت الخلية ، ويتبع ذلك تحطيم جدر الخلية بواسطة أنزيمات الهيدرولتك ، كما ذكر البعض الآخر من الباحثين أن هناك تعاونا بين أنزيمات الهيدرولايتك والمضادات الحيوية ، وأن لكل منهما دوراً فى التضاد الحيوى .

تحسين سلالات التريكوديرما كعوامل مقاومة حيوية

Improvement of Trichoderma Strains As Biocontrol Agents

مقدمة :

إن المعرفة غير المؤكدة عن القواعد الوراثية فى الفطر تريكوديرما ، جعلت تطبيقه محدود نسبياً كعامل مقاومة حيوية فى السنوات الماضية . إذا ما أريد تحسين سلالات هذا الفطر وراثياً ، يجب استعمال التحول الوراثى ، التكامل الوراثى وإعادة التركيب الوراثى . ولغاية الآن فإن السلالات المحسنة التى تم الحصول عليها ، كان باستعمال المطفرات ، مثل الأشعة فوق البنفسجية ، ولكن هذه الطفرات كانت محدودة بالنسبة للسلالات المقاومة للـ Benomil والسلالات المنتجة كميات كبيرة من Gliovirine .

لقد أجريت تجارب على اندماج البروتوبلاست بين سلالات التريكوديرما - Intra - or Intergenic باستعمال طفرات مقاومة لكل من Benomyl ، Hygromycin أو Propi- conazole واختبار الهجن فى بيئة مناسبة . استطاع Toyama *et al* سنة ١٩٨٦ باستعمال طريقة Recombinants أن يحصل من *T. reesei* على سلالات لها قوة مضاعفة من نشاط أنزيم سليلوليز عن الأبويين . وبالتالى يمكن الحصول على سلالات ذات قوة تحليل خلوية عالية بالمقارنة مع النوع الأصلى باستعمال هذه الطريقة المذكورة . كذلك فإن الإندماج البروتوبلاستى يستعمل فى اتحاد الصفات الوراثية المرغوبة للمقاومة الحيوية من السلالات المختلفة من الفطر *T. harzianum* .

بالإضافة لذلك فإن الـ Heterokaryons قد حصل عليها بواسطة الاتحاد الهيفى Anastomosis فى الفطر *T. pseudokoningii* ، تكون الهجن غير ثابتة وتمر فى دورات تشبه Parasexual . تنتهى العملية باتحادات والتى تختلف فى الشكل المورفولوجى ومن الممكن أيضاً فى تركيب الجينوم الخاص بها . كذلك أمكن الحصول على -hyperpoly ploids المفترض والـ Aneuploids من الفطر *T. reesei* بالمعاملة بالكولشيسين ، وقد أظهرت نشاط عال من السليوليز .

١ - تحسين كفاءة الهيدرولايتك Improvement of The Hydrolytic Capacity

نتيجة لدراسة أنزيمات الهيدرولز بين الخلوية للجنس تريكوديرما ، وما يتعلق بها من جينات ، يمثل نقطتين هامتين :

١ – إمكانية عزل سلالات ذات مستويات عالية فى انتاج الأنزيم ، من سلالات التريكوديرما والتى هى معروفة مسبقاً بأنها عوامل مقاومة حيوية جيدة .

٢ – تحسين ميكانيكيات الدفاع فى النبات ، ضد الفطريات الممرضة النباتية ، عن طريق التعبير عن هذه الأنزيمات (الهيدرولسز) فى النباتات .

بالنسبة للنقطة الأولى ، أمكن الحصول على سلالات من التريكوديرما عند زراعتها على البيئة مع وجود ميسيليوم ، وجدر خلوية من الفطريات ، فايتوفثورا ، فيوزاريوم ، بوترايتس وفطريات ممرضة أخرى أظهرت هذه السلالات أمكانية انتاج Glucanases والـ Chitinases وأيضاً زيادة فى نشاط التضاد الفطرى لبعض هذه الأنزيمات .

إن كثيراً من أنزيمات الهيدرولسز للفطر *T. harzianum* قد تم تعريفها وتنقيتها ، وأن بعض الجينات المشفرة لها قد أمكن كلونتها فيما بعد . إن معظم جينات الفطر تريكوديرما موجودة بشكل نسخ مفردة وتنسخ بانتظام وإن إجراء عملية الـ Amplificating لها يمكن أن يزيد فى كفاءة التضاد الفطرى أكثر من الأنواع الأصلية .

٢ - تحسين انتاج المضادات الحيوية Improvement of Antibiotic Production

لم يكن واضحًا لغاية أوائل الثمانينيات بأن مطفرات التريكوديرما قد استعملت للحصول على سلالات ذات فعالية عالية فى المقاومة الحيوية ، أو لها مقدرة عالية على تحمل المبيدات الفطرية . ولقد أمكن الحصول على طفرات من *T. virens* تختلف عن سلالات النوع الأصلى فى مقدرتها على انتاج المضاد الحيوى Gliovirin . أما الطفرات المخلقة باستعمال الأشعة فوق البنفسجية من الفطر *T. virens* فهي ذات مقدرة عالية فى انتاج الـ Gliovi-rin وذات قدرة عالية فى وقاية نباتات القطن من مرض سقوط البادرات الناتج عن الفطر *P. ultimum* عنه فى السلالات الأصلية . ولقد تبين أن الطفرات التى تنتج كميات أعلى من نواتج التمثيل فى بيئة Gliotoxin ، تكون أكثر فعالية فى التضاد الفطرى ضد فطر العفن الأبيض فى البصل .

ولقد تبين أن السلالات ذات الانتاج العالى من المضاد الحيوى ، تكون أيضاً ذات سرعة نمو عالية وتتصف أيضاً بمعدل نمو عال نسبياً ، وأن هذه الطفرات هى ذات القدرة الأفضل فى التضاد الفطرى .

٣ - تحسين مقاومة سلالات التريكوديرما للمبيدات الفطرية

Improvement for fungicide Resistance

يمكن أن يكون استعمال عامل المقاومة الحيوية بمفرده ، أحياناً ، غير كاف ، مما يلجأ إلى استعمال اتحادات من عوامل المقاومة الأخرى مثل ، استعمال المدخنات فى التربة ، أو استعمال المبيدات الفطرية بنصف الجرعة المحددة لها ، هذا يمكن أن يؤدى إلى نتائج ممتازة وفعالة فى المقاومة . إن اتحادات عوامل المقاومة الحيوية والمبيدات الفطرية ، أو حتى الأنزيمات النقية مع المبيدات الفطرية أدى إلى جعل المقاومة الحيوية ذات تأثير واسع ، ويغطى على بعض سلبيات استعمال عوامل المقاومة الحيوية بمفرده .

لقد وجد أن اتحاد الفطر *T. harzianum* مع مركبات بنتاكلورونتروبنزين ، يزيد مقاومة المرض أكثر من استعمال كل منها لوحده . كذلك عند استعمال التريكوديرما مع المبيد الفطرى Chlorothalonil رشاً على الأوراق المصابة بالفطر الممرض *Botrytis squamosa* وذلك بمعدل ٣–٤ رشات على فترات أسبوعية ، أدى إلى خفض المرض بنسبة ٦٠ ٪ من كثافة تبقع الأوراق . وحتى تتم هذه النتيجة يجب أن تكون سلالات الفطر تريكوديرما مقاومة (أو متحملة) للمبيدات التى تستعمل معها .

حتى يتم الحصول على سلالات مقاومة أو متحملة للمبيدات الفطرية ، من الفطر تريكوديرما ، استعملت طرق من الهندسة الوراثية لإدخال صفات المقاومة ضد المبيدات فى سلالات الفطر تريكوديرما ، منها استعمال البلازمد المأخوذ من الفطر *Aspergillus niger* الذى يحمل جينات *amds* أو *hyg* ، حيث أن الجين الأول يزيد كفاءة استعمال الأسيتاميد كمصدر وحيد للنيتروجين ، أما الجين الثانى يعمل تغييرات لجعل السلالة قادرة على النمو فى وجود المضاد الحيوى هايجروميسين . الجينات المتجانسة من Podospora و Neurospora ، قد استعملت لتكملة طفرات *ura* فى الـ Auxotrophs للتريكوديرما .

كذلك أمكن الحصول على سلالات من التريكوديرما ذات قدرة عالية فى انتاج Chitinases ، والـ Glucanases و Proteases ، جميع هذه الأنزيمات ضرورية فى نجاح عامل المقاومة الحيوية ، حيث أنه يعتمد عليها فى التضاد الفطرى والتضاد الحيوى والتطفل.

obeikandl.com

طرق استعمال *التريكوديرما* :

لقد مضت مدة طويلة بين اكتشاف التريكوديرما كعامل مقاومة حيوية فى التجارب المعملية وبين استثماره تجارياً . خلال هذه المدة تطورت طرق عديدة لاستعمال هذا الفطر تجارياً ، إبتدأت من حيث تنميته على نخالة القمح إلى تنميته على حبيبات طمى غنية بالمولاس . يمكن الآن تحضير هذا الفطر على عدة أشكال منها مسحوق ، كرات ، حبيبات أو على شكل مواد جيلاتينية ، كذلك يمكن أن يستعمل على شكل كابسولات .

غالباً ما تحضر جراثيم الفطر تريكديرما ، على شكل كتلة صلبة مخلوطة بمادة عضوية تسمى Alginate . تستعمل نخالة القمح كحامل لجراثيم الفطر . تبقى مثل هذه التحضيرات جافة لعدة أسابيع . يجب أن ترطب هذه الكتلة لمدة يومين قبل أن تستعمل فى الحقل . هناك تحضير آخر للفطر يكون عبارة عن هيفات نامية على نخالة قمح معقمة ومرطبة بالماء ، هذه يمكن أن تستعمل كبديل للتحضيرات السابقة .

هناك ثلاثة أشكال يحضر عليها فطر التريكوديرما :

١ – قد يكون على شكل صلب ، محمولاً على أنواع مختلفة من النخالة أو على نخالة القمح أو على مخلوط من البيت Peat أو على حبيبات الشعير ، هذا التركيب يكون عبارة عن جراثيم فقط .

٢ – قد يكون على شكل سائل ، وهذا يستعمل للحصول على الجراثيم بكمية كبيرة جداً ، هذا الشكل غالباً ما يستعمل كمعاملة بذور .

٣ – يحضر على شكل مواد شبه صلبة توضع فى صفائح مملوءة بالمولاس ، أو بعض أنواع الخميرة ، وهذا اللقاح يكون عبارة عن ميسيليوم وجراثيم كلاميدية .

لكى يكون المحضر الفطري متحملاً للجفاف ، يضاف إلى البيئة الغذائية النامى عليها الفطر *T. harzianum* نسبة ٩ ٪ غليسيرول ، وبالتالى فإن التحضيرات الناتجة من ذلك تتحمل الجفاف مدة طويلة . كذلك يفضل تنمية الفطر على بيئة شبكس ، وبيت وطحالب، حيث أنه فى هذه الحالة ينتج كميات كبيرة من الجراثيم ذات عمر طويل. يمكن أن تضاف تحضيرات الفطر إلى التربة مباشرة وذلك لمقاومة الأمراض الكامنة فى التربة، أو يمكن أن يستعمل رشاً على أجزاء النبات الهوائية ، أو يمكن أن يستعمل على شكل تغليف للبذور .

بالنسبة لطريقة أضافته إلى التربة ، يمكن أن يخلط مع سطح التربة ، أو يوضع فى الخطوط التى ستزرع فيها البذور ، وهذه أفضل طريقة لاستعمال التحضيرات التجارية من الفطر *T. hamatum* أو الفطر *T. harzianum* . كذلك فإن هذه الطريقة يمكن أن تؤدى إلى تحطيم الكائن الممرض بسرعة أو منع تكوين أو إعادة بناء مستعمراته ، وتستعمل لوقاية البذور المنبتة .

عند استعمال المحضر التجارى Pyrax (مخلوط من Alginate مع الفطر *T. virens*) وأضافته فى خطوط الزراعة ، فإنه يمنع أصابة بادرات القطن بالفطر *R. solani* . عند استعمال Pyrax بنسبة 10^3 كونيديدية/كيلو غرام تربة ، فإنه يحفظ نباتات الفاصوليا من الإصابة بالفطر *S. rolfsii* . يمكن أن يستعمل المحضر التجارى مخلوطاً مع الأجزاء النباتية (مثل الدرنات ، العقل وغيرها) وذلك لوقاية النباتات من الإصابة بالفطر *R. solani* أو فيرتسليم . كذلك يمكن أن يستعمل رشاً على الأجزاء الخضرية فى النبات ، وذلك بعد عملية التقليم لحفظ النباتات من الإصابة عن طريق الجروح . هذا التحضير يكون بنسبة (١–٢) × 10^5 جرثومة كونيدية/مل ماء ، يمكن أن يضاف إلى المعلق مادة لاصقة وذلك حسب سطح النبات .

دور انزيم Protease المفرز من قبل *T. harzianum*

فى مقاومة الفطر *Botrytis cinerea*

مقدمة :

إن انتاج أنزيم بروتييز شائعاً فى كثير من الكائنات الحية الدقيقة ، ومن ضمنها الفطريات وكذلك الفطر تريكوديرما . لقد ذكر بأن نشاط Proteolytic للفطر *T. viride* يدخل فى المقاومة الحيوية للفطر *S. rolfsii* فى التربة المعقمة بالأوتوغليف . أما فى البكتيريا *Bacillus megaterium* ، فإن أنزيم إندوبروتينيز يمكن أن يثبط الأنزيمات الخلوية الخارجية للفطر *R. solani* . لقد تمت تنقية واحداً من مجموعة أنزيمات الهيدرولايتك والذى يعتقد بأنه يلعب دوراً مهماً فى التطفل الفطرى ، بواسطة الفطر *T. harzianum* وقد عرف على أساس أنه Serine protease . وجد أن الميسيليوم المعقم فى الأوتوغليف وتحضيرات جدار الخلية الفطرية أو الشيتين تستحث هذا الأنزيم ، وإن انتاجه يكبح بواسطة

الجلوكوز، وبالتالى فإنه لا يستحث بوجود الجلوكوز. كذلك وجد أن نشاط بروتييز الفطر *T. harzianum* يزداد عندما تحتوى البيئة الغذائية السائلة مصدر نيتروجين عضوى . ولقد ذكر أن البروتييز هذا ، يتدخل فى تحطيم جدر خلية الكائن الممرض وكذلك الأغشية الخلوية وحتى البروتينات المنطلقة نتيجة تحلل الكائن الممرض وبالتالى توفر مواد غذائية للتطفل الفطرى .

دور الانزيم فى المقاومة الحيوية :

لقد درس دور الأنزيم Protease الذى يفرزه الفطر *T. harzianum* السلالة T39 فى مقاومة الفطر الممرض *B. cinerea* . وجد أن هذه السلالة تفرز كمية تقدر بحوالى 58 mu/ml أما السلالة NCIM 1185 فوجد أنها تفرز كمية تقدر 54 mu/ml من هذا الأنزيم فى اليوم الخامس من النمو على بيئة غذائية سائلة . أما على أوراق الفاصوليا المصابة بالفطر *B. cinerea* والمعاملة بالسلالتين المذكورتين فتبين أن كمية الأنزيم المفرز كانت ٠,٦ و ٠,٩ mu/ml للسلالتين بالترتيب. وكانت الكمية ٠,٥ mu/ml للفطر *B. cinerea* لوحده بعد ٤٨ ساعة من التحضين . أما فى مزرعة السلالة T39 المذكورة سابقاً والمحتوية Protease ، كان هناك ٥٥ ٪ خفضاً فى نسبة إنبات الفطر *B. cinerea* وخفض بنسبة ٨٠٪ فى طول أنبوبة الإنبات بعد ١٧ ساعة من التحضير فى المعمل .

عندما استعملت عزلات الفطر تريكوديرما المذكورة سابقاً ، على أوراق الفاصوليا المصابة بالفطر الممرض *B. cinerea* ، فإنها تسببت فى زيادة بناء البروتييز فأصبحت 1 mu / ml للسلالة الأولى و 1.2 mu/ml للسلالة الثانية . كذلك فإن معدل إنبات جراثيم الفطر الممرض إنخفضت بنسبة ٩٨ ٪ بعد ٧ أيام من التحضين . كذلك فإن أنزيمات الهيدرولك المنتجة بواسطة الكائن الممرض ، وكذلك أنزيمات Endo-polygalacturonases (PG) و Exo-PG كلها قد ثبطت جزئياً بواسطة أنزيم Protease من عزلات الفطر تريكوديرما . أما المركب Carboxymethyl cellulase فإنه قد ثبط بواسطة بروتييز السلالة الثانية من تريكوديرما .

أما على سطوح أوراق الفاصوليا ، فإن البروتييز (الذى قد حصل عليه من البيئة الغذائية السائلة لعزلات الفطر تريكوديرما) أدى إلى خفض شدة الأصابة المرضية بنسبة ٥٦-١٠٠٪ . لقد جمعت البيئة الغذائية السائلة المحتوية بروتييز المصنع على سطح أوراق الفاصوليا المعاملة بالفطر الممرض *B. cinerea* والفطر *T. harzianum* وأضيفت على أوراق طازجة مصابة

بالفطر الممرض، قد سببت خفضاً فى شدة المرض يتراوح بين ٥٦ - ١٠٠٪ و ٣٠-٧٥ ٪ مع قطرات السائل المجموع من الأوراق المعاملة بالسلالة T39 و NCIM 1185 بالترتيب .

لقد تم الحصول على زيادة فى خفض شدة المرض ، عن طريق اتحاد الجراثيم الكونيدية لعزلات الفطر *T. harzianum* مع البروتييز المتحصل عليه من البيئة الغذائية .

إن مثبطات البروتييز التى هى :

1 - trans - epoxysuccinyl - L - leucylamido - (guanidino) butane (E64).

2 - antipain hydrochloride

3 - Mixture of inhibitors

باستثناء Pepstatin A أبطلت كلياً أو جزئياً تأثير المقاومة الحيوية للسلالة T39 ، ووجد أن هذه السلالة فقيرة من حيث انتاج Chitinase والـ β-1,3 glucanase فى المعمل . هذه الأنزيمات لم يمكن اكتشافها على الأوراق المعاملة بالسلالة T39 ، وهذا أدى إلى الاقتراح بأن الـ Protease داخل فى المقاومة الحيوية للفطر *B. cinerea* .

المركبات المضادة الفطرية الذى يفرزها *R. solani* ضد الفطر *T. harzianum*

أجريت دراسة على العزلة Th008 للفطر *T. harzianum* لمعرفة مقدرتها على التضاد مع الفطر *R. solani* ، وجد أن عزلة الفطر تريكديرما تفرز مادة Trichodermin ذات وزن جزيئى ٢٩٢ ، وكذلك تفرز ببتايد صغير وزنه الجزيئى ٨٧٦ ، فى البيئة الغذائية المزروعة فيها . وجد أن هذه المواد مضاده فى المزرعة ، لنمو ميسيليوم الكائن الممرض الفطرى الكامن فى التربة *R. solani* السلالة 2B-12 ، والتى هى شديدة المرضية لبادرات فول الصويا .

عندما وضع ١٠٠ ملغ من الميسيليوم الجاف المعامل بالأوتوغليف مع الفطر *R. solani* إلى ٢٠٠ مل من المزرعة الغذائية السائلة للفطر *T. harzianum* ، فإن كمية مركبات المضادات الفطرية المفرزة من قبل الفطر تريكوديرما كانت ٣,٥ ضعف الكمية المفرزة فيما لو كان الفطر موجوداً لوحده .

يفرز الفطر *R. solani* مشتقات مادة Coumarin ذات وزن جزيئى ٣١٣ فى البيئة السائلة ، والتى تثبط نمو ميسيليوم الفطر *T. harzianum* . وعلى أية حال فإن تثبيط نمو ميسيليوم الفطر تريكوديرما ، يتطلب تركيز أعلى من تلك المركبات (المضادات الفطرية) التى يفرزها تريكوديرما ضد الكائن الممرض . إن المكية المحتواه فى ١٠٠ ملغ من الميسيليوم الفطرى الجاف المعقم من الفطر تريكوديرما الموضوع فى ٢٠٠ مل بيئة غذائية سائلة للفطر *R. solani* لا يؤثر على كمية المركبات المضادة الفطرية المفرزة بواسطة الكائن الممرض .

يمكن القول باختصار ، أن سلالة *R. solani* المذكورة ، تفرز مشتقات كيومارين والتى تثبط نمو عزلة الفطر تريكوديرما المذكورة ، ولكن هذا التثبيط يكون منخفضاً إلى حد ما نتيجة التضاد مع المركبات التى تفرزها سلالة الفطر تريكوديرما .

تحسين كفاءة *T. harzianum* فى المقاومة الحيوية لأمراض بعض الأعشاب

تعتبر السلالة 22-1295 من الفطر *T. harzianum* عامل مقاومة حيوية عالى الكفاءة لعديد من الأمراض الفطرية . وجد أن استعمال المعلق الجرثومى لهذه السلالة ، رشاً على النباتات العشبية ، يخفض بشكل معنوى أمراض ، عفن الجذور ، البقعة البنية ، والبقعة الدولارية فى الأعشاب الزاحفة فى الصوبا الزجاجية والحقول العامة . تكون المقاومة أفضل عندما يضاف Triton X-100 بنسبة ١,١ ٪ إلى محلول المعلق المائى .

عندما يطبق الرش أسبوعياً ، فإن معاملة المقاومة الحيوية تكون مشابهة فى تأثيرها ، لتأثير المبيدات الفطرية القياسية . أما عند استعمال تحضيرات فطر المقاومة على شكل حبيبات توضع فى أكوام صغيرة ، أيضاً فإنها تخفض حدوث المرض معنوياً بالنسبة للأمراض الثلاثة المذكورة سابقاً بالإضافة إلى تحسين نوعية المسطحات العشبية .

تزداد تجمعات الفطر *Trichoderma sp.* فى منطقة الجذور من ١٠–١٠٠ ضعف بعد المعاملة مقارنة مع المنطقة التى لم تعامل . وعلى أية حال فإن السلالة 22-1295 تكون موجودة بمستويات عالية على أوراق الأعشاب فقط بعد المعاملة رشاً . وبشكل عام يمكن القول أن السلالة المذكورة تمتلك كفاءة عالية فى تواجدها فى منطقة الرايزوسفير والمجموع

obeikandl.com

الخضرى (جدول رقم ٧٩) . يمكن الحصول على مقاومة الأمراض بكفاءة عالية عند استعمال طريقة معاملة التربة متبوعة بالرش على المجموع الخضرى .

جدول رقم ٧٩ : تجمعات السلالة 22-1295 من الفطر *T. harzianum* فى منطقة الرايزوسفير وفى المجموع الخضرى لبعض الأعشاب الزاحفة ، المعاملة بهذه السلالة رشاً على الأوراق أو على شكل حبيبات على التربة .

المعاملة	التجمعات فى الرايزوسفير		التجمعات على المجموع الخضرى	
	تربة معقمة	تربة طبيعية	تربة معقمة	تربة طبيعية
كنترول	$٢,٩ \times ١٠^{٣}$	$١,٨ \times ١٠^{٤}$	$٣,٦ \times ١٠^{٣}$	٦×١٠^{٤}
المعاملة بالحبيبات	$٢,٤ \times ١٠^{٥}$	١×١٠^{٥}	$٦,٧ \times ١٠^{٣}$	٧×١٠^{٤}
رشاً على الأوراق	١×١٠^{٥}	$١,٨ \times ١٠^{٥}$	٤×١٠^{٥}	٣×١٠^{٥}

ملاحظات على الجدول :

١ – أخذت القياسات بعد أسبوع من الرش ، حيث كان معدل وجود الفطر تريكوديرما فى التربة (٢–٥) × $١٠^{٣}$ وحدة تكوين مستعمرات/غرام فى التربة غير المعاملة بالحرارة وأصبح ١ × $١٠^{٢}$ بعد التعقيم فى بداية التجربة . بعد الرش فإن مستويات وحدة تكوين مستعمرات بعد ٣ ساعات من الاستعمال كانت ٥ × $١٠^{٥}$ وحدة تكوين مستعمرات/غرام تربة وحوالى ١ × $١٠^{٥}$ وحدة تكوين مستعمرات/غرام من الأوراق . كانت تخلط حبيبات تحضيرات الفطر مع التربة سواء معقمة أو غير معقمة قبل زراعة البذور. عندما تصبح النباتات ذات عمر عشرة أيام كانت ترش بالفطر .

عزلات الفطر تريكوديرما المتطفلة على الفطر *Sclerotium rolfsii*

مقدمة :

يعتبر الفطر *S. rolfsii* احدى الكائنات الممرضة الفطرية الكامنة فى التربة ، وهو من الفطريات غير المتخصصة ، وله أهمية عالمية واسعة ، ويهاجم مدى عوائلى واسع قد يصل إلى حوالى ٥٠٠ نوع نباتى . تكون المقاومة الحيوية الناجحة لهذا الفطر عن طريق تلويث الحقول بمزارع من الفطر *Trichoderma sp.* . كما هو معروف فإن فطر التريكوديرما يهاجم الأجسام الحجرية لكل من *S. rolfsii* ، *Botrytis cinerea* و *Sclerotinia sp.* ويقضى عليها ويجعلها غير ذات أهمية .

obeikandi.com

نتائج الابحاث :

جهزت ٤٤ عزلة من الفطر تريكوديرما ، تتبع ثمانية أنواع ، درس تأثيرها على عزلة واحدة من الفطر الممرض *S. rolfsii* النامية فى بيئة PDA . أنتجت الأجسام الحجرية فى المعمل وذلك بعد حقن أطباق بترى تحتوى بيئة PDA بلقاح من الفطر *S. rolfsii* ثم حضنت الأطباق على حرارة ٢٥ ْم لمدة ٤ أسابيع . أخذت الأجسام الحجرية ذات الأشكال المتماثلة وخزنت واستعملت فى التجارب .

أجريت عملية تطهير لسطوح الأجسام الحجرية باستعمال كلوراكس ٢ ٪ لمدة خمسة دقائق ثم غسلت بماء معقم لإزالة ما يعلق بها من هيفات ، ثم عرضت بعد ذلك للإصابة بعزلات الفطر تريكوديرما عن طريق وضع ٤٠–٥٠ جسم حجرى حول أطراف مستعمرات الفطر تريكوديرما النامية فى أطباق بترى على بيئة PDA . بعد ٢٤ ساعة من التحضين على حرارة ٢٥ ْم كان الفطر تريكوديرما قد غطى فى نموه الأجسام الحجرية . أخذت الأجسام الحجرية واجرى لها عملية تنظيف ثم وضعت فى أطباق بها بيئة مثبطة لنمو التريكوديرما .

تبين من الدراسة السابقة أن عزلات الفطر تريكوديرما تختلف معنوياً فى مقدرتها على أصابة ، هرس وقتل الأجسام الحجرية للفطر *S. rolfsii* . كانت تتراوح نسبة القتل فى الأجسام الحجرية من صفر–١٠٠ ٪ ، معتمدة على نوع الفطر الذى تتبعه هذه العزلة . من بين ٤٤ عزلة تبين أن هناك ١٤ عزلة تستطيع أن تصيب وتقتل الأجسام الحجرية كلها ، هناك ١٣ عزلة تستطيع أن تقتل بعض الأجسام الحجرية و ١٧ عزلة لم تستطع أن تهاجم الأجسام الحجرية جدول رقم ٨٠ .

من بين ١٣ عزلة من الفطر *T. harzianum* وستة عزلات من كل من *T. hamatum* و *T. koningii* جعلت الجسم الحجرى المصاب إما ناعماً وإما طرى جداً . من بين الأنواع الأخرى فإن *T. auroviride* فقط هو الذى جعل الجسم الحجرى ناعم جداً ، بينما الأنواع الأخرى ، تركت الجسم الحجرى أما صلب أو صلب جداً . عزلات *T. harzianum* بشكل عام ، قتلت الأجسام الحجرية وجعلتها ناعمة . عند ملاحظة الشكل الخارجى للجسم الحجرى ، تبين أن هيفات الفطر تريكوديرما تخترق الجزء المصاب من الجسم الحجرى وتتكاثر داخله مكونة جراثيم . مثل هذا الاختراق يتكرر كثيراً فى الأجسام

الحجرية المصابة . أما فى حالة الجسم الحجرى الذى بقى صلباً فإن استعمار هذه الأجسام كان قليلاً والاختراق نادراً .

تطفل الفطر تريكوديرما على الفطر
Botryodiplodia theobromae

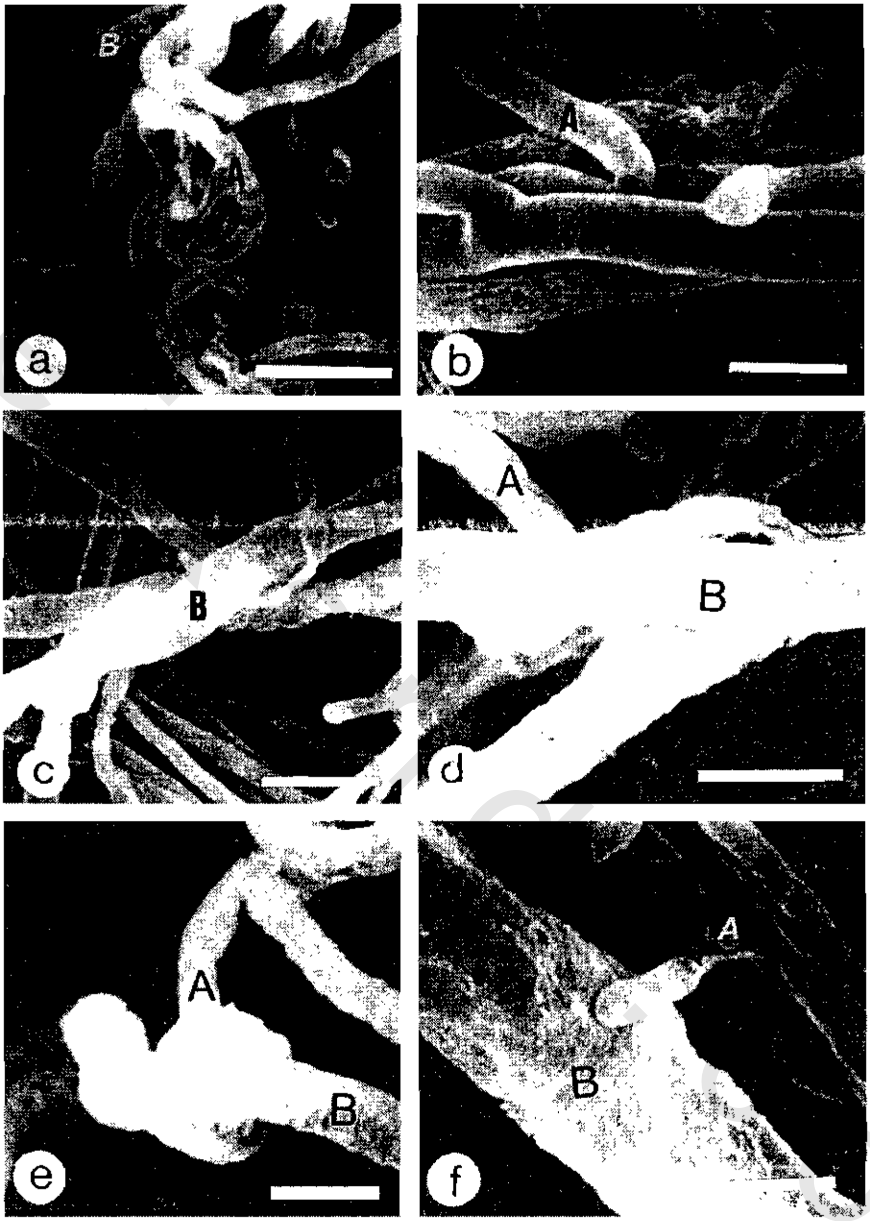
درس التطفل الفطرى ، لأنواع مختلفة من الفطر تريكوديرما ، ضد الكائن الممرض الخطير *B. theobromae* بواسطة Scanning electron microscopy . أظهرت الملاحظات الميكروسكوبية أن النمو الفطرى فى المزارع المزدوجة ، يظهر أن معظم العزلات تكون اتصال هيفى مع الكائن الممرض خلال يومين بعد الحقن ، مؤدياً إلى تثبيط نمو الكائن الممرض . وعلى أية حال فإن Tv-4 *T. viride* ، *T. hamatum* و *T. pseudokoningii* ، تثبط نمو الكائن الممرض قبل الاتصال الهيفى وتظهر منطقة Inhibition zone بين مستعمرات كلا الفطرين . أظهرت الاختبارات بالمسح الالكترونى أنه فى حالة التفاعل الهيفى ، أن التأثير القوى للفطريات المضادة (*T. viride* Tv-1) و Tv-3 و *T. harzianum Th-1* و Th-2 و *T. longibrachiatum* ضد الفطر *B. theobromae* ، يتأسس أما عن طريق الالتفاف حول الهيفا أو عن طريق اختراق الخلايا الهيفية بتشكيلات خطافية (كُلابية) ، أعضاء التصاق وتركيبات تشبه أعضاء الامتصاص. الشكل رقم ١٠ يوضح طرق تسلسل طرق التطفل هذه .

جدول رقم ٨٠ : تفاعل سلالات الفطر تريكوديرما مع الفطر *S. rolfsii* .

Isolate No.	*Trichoderma* spp.	التجارب المفضلة						% Sclerotia killed	Degree of maceration
		D	V	NV	BC	R	C		
T005	*T. harzianum*	-	+	-	-	+	+	0.0	S
T040	*T. harzianum*	-	-	-	+	-	-	100.0	VS
T126	*T. harzianum*	-	-	-	+	-	-	100.0	S
T127	*T. harzianum*	-	-	-	-	+	-	13.0	S
T165	*T. harzianum*	+	-	+	+	+	-	100.0	VS
T166	*T. harzianum*	+	-	+	+	+	-	4.6	H
T171	*T. harzianum*	+	-	-	+	+	-	100.0	S
T250	*T. harzianum*	+	-	-	+	-	-	100.0	VS
T257	*T. harzianum*	-	-	-	+	-	-	86.7	S
T295	*T. harzianum*	-	-	-	+	-	-	100.0	VS
144	*T. harzianum*	-	-	-	nt	nt	nt	100.0	S
146	*T. harzianum*	-	-	+	nt	nt	nt	100.0	S
268	*T. harzianum*	+	-	-	nt	nt	nt	100.0	S
390	*T. harzianum*	+	-	-	nt	nt	nt	91.7	H
391	*T. harzianum*	+	-	-	nt	nt	nt	91.2	S
T024	*T. hamatum*	+	+	-	+	+	-	100.0	S
T047	*T. hamatum*	+	-	-	-	+	+	61.9	H
T049	*T. hamatum*	-	-	-	-	+	+	0.0	H
T093	*T. hamatum*	-	-	-	-	+	+	100.0	H
T095	*T. hamatum*	-	-	-	-	+	+	87.5	S
T096	*T. hamatum*	-	-	-	+	+	-	0.0	H
T099	*T. hamatum*	-	-	-	-	+	+	0.0	VH
T107	*T. hamatum*	-	-	-	-	+	+	40.9	H
T134	*T. hamatum*	-	-	-	+	+	+	0.0	VH
T221	*T. hamatum*	+	-	-	-	+	-	0.0	VH
T292	*T. hamatum*	-	-	-	-	+	-	0.0	S
T309	*T. hamatum*	-	+	-	+	+	-	79.0	VS
354	*T. hamatum*	-	-	-	nt	nt	nt	100.0	VS
355	*T. hamatum*	-	-	-	nt	nt	nt	0.0	H
T007	*T. koningii*	-	-	-	-	-	-	100.0	S
T017	*T. koningii*	-	-	-	-	-	-	0.0	S
T026	*T. koningii*	-	-	-	+	-	-	0.0	VH
T029	*T. koningii*	-	-	-	+	-	-	0.0	S
T043	*T. koningii*	-	-	-	+	+	-	0.0	VS
T116	*T. koningii*	-	-	-	+	-	+	52.2	H
T119	*T. koningii*	-	-	-	-	+	+	0.0	VH
T235	*T. koningii*	-	-	-	+	-	-	79.2	VH
T236	*T. koningii*	-	-	-	+	-	-	85.7	S
356	*T. koningii*	-	-	-	nt	nt	nt	100.0	VS
357	*T. longibrachiatum*	-	-	-	nt	nt	nt	0.0	VH
358	*T. polysporum*	-	nt	nt	nt	nt	nt	0.0	VH
359	*T. pseudokoningii*	-	-	-	nt	nt	nt	0.0	VH
361	*T. auroviride*	-	-	-	nt	nt	nt	93.8	VS
362	*T. oiluliferum*	-	-	-	nt	nt	nt	0.0	VH

* D : Dual culture; V : Volatiles; NV : Non-volatiles; BC : *Botrytis cinerea;*
R : *Rhizoctonia*; C : Cold tolerance; : S : soft; VS : very soft : H : hard ; VH : Very hard.

obeikandl.com



شكل رقم ١٠ : دراسة بالميكروسكوب الالكترونى على تطفل الفطر تريكوديرما على الفطر *Botryodiplodia theobromae*

تابع شكل رقم ١٠

توضيح الأشكال :

A : الفطر المتطفل : *Trichoderma sp.*

B : الفطر المتطفل عليه : *Botryodiplodia theobromae*

a : أفرع قصيرة من *T. viride* سلالة Tv-1 .A محيطة بهيفا الفطر المتطفل عليه B

b : تركيب قصير يشبه الممص متفرع من نفس السلالة ملتصق مع هيفا الفطر المتطفل عليه .

c و d : العزلة Tv-3 من الفطر المتطفل *T. viride* ملتفة حول هيفات الفطر المتطفل عليه بزوايا مختلفة .

e : هيفا Tv-3 ملتفة بكثافة حول هيفات الفطر المتطفل عليه مشكلة عقدة .

f : تركيب يشبه الخطاف من Tv-3 ملتصق مع هيفا الفطر المتطفل عليه .

g : تركيب يشبه عضو الالتصاق مكون من قبل العزلة Th-1 تضغط وتعصر هيفا الفطر المتطفل عليه .

h : خطاطيف من السلالة Th-2 مخترقة هيفا الكائن المتطفل عليه .

I : منظر يشبه البترة على القمة (السهم) بعد أن تصبح متصلة مع هيفا الفطر المتطفل عليه .

J : انفجار وتحطم هيفا الفطر المتطفل عليه بعد التداخل مع Th-2 .

K : تركيب يشبه عضو الالتصاق مظهراً *T. longibrachiatum* ممسكاً هيفا الفطر المتطفل عليه .

l : تجعد ، انفجار وانهيار هيفات الفطر المتطفل عليه بعد إختراقه بالفطر *T. koningii* .

مقياس الرسم : ٥ ، ٢ ، ٤ ، ٢ ، ٤ ، ١,٥ ، ٢ ، ٣ ، ١ ، ٤ ، ٥ ، ٨ ميكرومتر بالترتيب .

obeikandl.com

II : الجنس Clonostachys

الفطر *Gliocladium roseum*

الاسم الجديد *Clonostachys rosea*

مقدمـــة

الكائنات الحية الدقيقة المضادة ، لها دور كبير فى مقاومة كثير من أمراض النبات . لقد أجريت تجارب كثيرة لمقاومة مرض العفن الرمادى Gray mold وأمراض أخرى متسببة عن الكائن الممرض المهلك *Botrytis cinerea* فى الفواكه والخضروات والمحاصيل الحقلية ، غراس أشجار الغابات ونباتات الزينة ومحاصيل أخرى . إن ظاهرة التضاد الميكروبى ضد الفطر *B. cinerea* من أهم طرق المقاومة الحيوية الملائمة ، وذات كفاءة عالية فى الوقت الحالى ، ويمكن أن تكون مترافقة مع طرق المقاومة الأخرى ، أو تستعمل لوحدها ، وذلك حسب شدة المرض والظروف البيئية ، وبالتالى فهى تساعد فى عدم الاعتماد على استعمال المبيدات الفطرية الكيماوية . كذلك فإن ظهور سلالات من الفطر *B. cinerea* مقاومة للمبيدات الفطرية وغير ملائمة لمقاومة العائل ، تشارك فى جعل كثير من المحاصيل الحقلية غير مستقرة ومعرضة لخطر الهجوم من قبل الكائن الممرض . كذلك فإن المقاومة الحيوية بالكائنات الحية الدقيقة ، تبدو كطريقة لمنع أية أخطار مترافقة ، تحدث للعمال من جراء استعمال المبيدات الفطرية الكيماوية وكذلك لاستبعاد الأثر المتبقى السام الذى يبقى فى المواد الغذائية ، وتؤثر على صحة الإنسان أو الحيوان بالإضافة إلى أضرار البيئة .

إن الفطر الخيطى *Gliocladium roseum* ، قد تبين بأنه فعال ومتعدد التأثيرات ضد الفطر *B. cinerea* ، وخاصة عند تفاعله مع عوامل أخرى ظاهرة ، مما يؤكد تحسن طرق وقاية النبات من الأمراض بالمقاومة الحيوية . وفيما يلى مقالة طويلة تتعلق بالفطر *G. roseum* وتوضيح الأدوار التى يقوم بها فى النظام الطبيعى فى المحاصيل ودوره كعامل مقاومة حيوية .

الشكل الخارجى والتصنيف :

الفطر *G. roseum* الاسم المرادف *Nectria ochroleuca* ولقد وضع له اسم جديد هو *Clonostachys rosea* ، وهو من الفطريات الإسكية المسماة Hypocreales وواحد من الـ hyphomycete غير العادية ، والتى تنتج جراثيم كونيدية ، ذات خلية واحدة ، على

نوعين متميزين من الحوامل الكونيدية . النوع الأول متفرع على شكل Penicillately (خصل) والثانى متفرع على شكل سوارى Verticillately . تكون مستعمرات الفطر على بيئة الاجار بشكل عام ، مبيضة برتقالية أو ذات لون سلامونى . يعتبر الفطر مختلف جنسياً عن عامل المقاومة الحيوية *Gliocladium virens* والذى يسمى الآن *Trichoderma virens* ويختلف أيضاً عن النوع النموذجى المسمى *Gliocladium penicillioides* . ولقد اقترح العالم Domosch *et al* سنة ١٩٨٠ أن الفطر *G. roseum* يدخل فى الجنس *Clonostachys* واقترح بأن يشار إليه كمجموعة من الأنواع . ولقد وافقت لجنة تسمية الفطريات سنة ١٩٩٩ علي الاقتراح المقدم من قبل العالم السابق وأعطى هذا الفطر الاسم *Clonostachys rosea* .

البيئة :

الفطر *C. rosea* شائع الوجود فى الظروف البيئية المتطرفة غير العادية والمنحرفة عن الوضع الطبيعى ، فمثلاً يتواجد الفطر فى المناطق الأستوائية والمدارية والمعتدلة والمناطق القطبية والمناطق الصحراوية فى العالم . ولقد ذكر بأنه يتواجد فى المناطق المزروعة والمناطق العشبية والغابات الخشبية والبساتين العادية ، وأراضى المروج والمياه العذبة والأراضى الساحلية ؛ خاصة تلك المتعادلة والقريبة إلى القلوية . يكون الفطر *C. rosea* غالباً مترافقاً مع حويصلات النيماتودا *Heterodera sp.* ، *Globodera sp.* وأنواع أخرى من النيماتودا فى التربة وكذلك مع الأجسام الحجرية للفطريات الآتية :

1 - *Sclerotinia sclerotiorum*

2 - *Phymatotrichum omnivorum*

3 - *R. solani*

4 - *Botrytis spp.*

5 - *Verticillium spp.*

وفطريات أخرى فى التربة وعلى الأجزاء النباتية . ومنذ أوائل ستينيات القرن الماضي ، فإن الفطر *C. rosea* قد حصل على شهرة عالمية كفطر متطفل mycoparasite على كثير من الفطريات .

كذلك فإن هناك أشكالاً متعددة جديرة بالاهتمام من الفطر *C. rosea* تكون مرافقة للجذور ، السيقان ، الأوراق ، الثمار وبذور النباتات . يتواجد الفطر على سطوح النبات مثل

openkanal.com

المجال الورقى فى الفراولة وسطح الميكورهزا فى نبات *Abies alba* . وتشير التقارير إلى أن الفطر يتواجد بكثرة ، ضمن المجموع الخضرى ، والجذور الميتة والتى فى سن الشيخوخة لكثير من أنواع النباتات ، وفى النباتات التى أصبحت ضعيفة عن طريق الظروف غير المناسبة، مثل استعمال مبيدات الحشائش عليها أو المهاجمة من قبل الأمراض .

من المعروف أن الفطر *C. rosea* قادر على استعمار أجزاء نبات فول الصويا دون انتاج أعراض ، حيث تظهر هذه الأجزاء سليمة ، مثل الجذور ، السيقان ، القرون والبذور . وكذلك جذور البرسيم الأحمر وأوراق الفراولة وتوت العليق . فى هذه الحالات يبدو الفطر بوضوح مستعمراً العائل كمتطفل غير مسبب للمرض ، فى فول الصويا ، على الأقل ، يكون ترافقه جهازياً . هناك بعض التقارير تشير إلى أن الفطر *C. rosea* كان ممرضاً لثمار التفاح ، درنات البطاطس ، بادرات الصنوبر ، *Exacum affine* والفول البلدى ، إلا أن هذه التقارير غير مؤكدة من قبل كثير من الباحثين . الفطر الذى يطلق عليه الاسم القديم للفطر *C. rosea* الذى سبق ذكره *N. ochroleuca* يوجد غالباً وفى كثير من الأحيان على أفرع الأشجار الميتة حديثاً ، وفى أحيان أخرى يتواجد على الأعشاب والأنسجة اللحمية فى النباتات والفطريات .

اختيار الفطر *C. rosea* فى المقاومة الحيوية

إن عملية اختيار الكائن الحى الدقيق فى المقاومة الحيوية ، من الأمور الصعبة ، حيث تكون أمام الباحث أعداد مذهلة من العزلات الميكروبية ، والتى تستطيع أن تقوم بدور المقاومة الحيوية ، ويكون من الصعوبة تبرير أو تثبيت التقييم ، أو تحديد الكفاءة المثلى لأى منها فى المقاومة الحيوية ، حيث إن هذه الأمور تحتاج إلى الحصر الطبيعى للميكروب ويتطلب امكانية استعمال الميكروب فى الانتاج التجارى .

فى حالة اختيار الكائنات الدقيقة المضادة للفطر B. cinerea ، فإن الباحثين قد أيدوا المنطق القائل بالتكيف البيئى للميكروب مع العائل النباتى ، حيث إن هذا يكون مفيداً للحصول على مقاومة حيوية مفيدة وفعالة لمدة طويلة فى نظام المحاصيل ، وبناء على ذلك تستعمل نباتات العائل كمصدر رئيسى للكائنات المختبرة . تشمل طرق الاختيار الفطريات الخيطية ، الخمائر والبكتيريا ، التى تعزل من الأوراق الميتة والحية ومن السيقان والأزهار والثمار ، من نباتات العائل الخالية من مبيدات الآفات ، وكذلك فإن طرق الاختيار تشمل

الكائنات الدقيقة رمية التغذية ، الكائنات الممرضة الضعيفة والكائنات سطحية المعيشة وداخلية المعيشة غير الممرضة . تستعمل الكائنات الواقعة تحت الاختبار ، على نباتات الصوبا الزجاجية التى تفتقر إلى التنوع المرغوب فى الميكوفلورا ، حيث ترش بالمعلق المائى من التربة وتحضن فى جو عالى الرطوبة قبل إعادة عزل السلالة ، وكذلك فإن نباتات العائل بدورها ، تعمل كمادة اختبار وكمادة تفاعل للكائنات الدقيقة الطبيعية ، وبالتالى تضيق مجال الكائنات الدقيقة للتقييم فى اختبارات الاختيار . بالنسبة لبعض العوائل ، فإن هذا المجال يمكن تضيقه كثيراً ، وذلك عن طريق إضافة جراثيم كونيدية من الفطر *B. cinerea* إلى النباتات ، وأخيراً إعادة اكتشاف الكائنات الدقيقة ، فقط ، من أجزاء النسيج التى فشل الكائن الممرض فى التجرثم عليها ، إلا أن الفطر كان قد تم عزله مراراً من الأنسجة الحية والميتة تقريباً ، من جميع العوائل المختبرة .

بعد تطبيق الإجراءات العملية فى الاختيار من بين مئات الكائنات الدقيقة المختبرة ضد الفطر *B. cinerea* . تبين أن الفطر *C. rosea* ذو فعالية ضد الفطر الممرض *B. cinerea* على كثير من العوائل النباتية منها ، الفراولة ، العليق ، Black spruce ومدى واسع من نباتات الازهار والزينة والخضروات المنتجة فى الصوبات الزجاجية شاملة البيجونيا ، جيرانيم ، بونيستيا ، بخور مريم *Exacum affine* ، الطماطم ، الخيار والفلفل . وبشكل عام فإنه فى جميع الحالات فإن الفطر *C. rosea* كان مشابهاً أو أكثر فى فعاليته من تأثير المعاملات بالمبيدات الفطرية فى الأوراق ، القنابات الزهرية ، السيقان ، الأزهار والثمار ، وبالتالى فى هذه الأيام فإن الفطر *C. rosea* يستعمل تجارياً فى مقاومة أمراض *B. cinerea* فى الصوبات الزجاجية .

العوامل المؤثرة على كفاءة *C. rosea*

١ - طور نمو أعضاء العائل :

المرحلة التى تمر بها الأوراق ابتداء من أول امتدادها فى المراحل الأولى من النمو ، حتى الوصول إلى طور الشيخوخة ، بشكل عام ، تكون ذات تأثير بسيط على فعالية الفطر *C. rosea* ضد الفطر الممرض *B. cinerea* ، فى المجموع الخضرى لكل من الفراولة ، البيجونيا ونبات بخور مريم . الأوراق التى بدأت فى الامتداد والتوسع فى البيجونيا وبخور مريم، تكون أقل قابلية لاستقبال الفطر الممرض والتى تقاوم فيها الاصابة (إذا حدثت) حيوياً

بصعوبة أو يصعب قياس نجاح المقاومة الحيوية فيها . فى العوائل الثلاثة المذكورة كانت كفاءة المقاومة الحيوية ٣٠-٧٠ ٪ أقل فى الأوراق فى سن الشيخوخة ، بالمقارنة مع الأوراق التى فى مرحلة قبل الشيخوخة ، وتكون صفراً تماماً فى الأوراق الميتة .

المقاومة الحيوية للفطر *B. cinerea* فى الأزهار ، تمثل تحدياً خاصاً بسبب تعقيد نمو ، تكشف وتركيب الأزهار . وبشكل عام فإن الأعضاء المختلفة فى الأزهار المتكشفة والتى فى مرحلة الشيخوخة لمدة مختلفة من الزمن ، تكون مختلفة القابلية للإصابة بالفطر *B. cinerea*، وذات تفاعلات مختلفة بالكائنات الميكروبية المضادة . عند دراسة تأثير عمر الزهرة علـى المقاومـة الحـيوية للفـطر *B. cinerea* ، وجد فى دراسات على الأزهار المتفتحة جزئياً ، كاملة التفتح والازهار فى طور الشيخوخة لنبات البيجونيا التى قد حقنت بالكائن الممرض (١٠^٦ جرثومة كونيدية/مل) ثم الحقن بالكائن المضاد بعد ٢٤ ساعة (إما بالفطر *C. rosea* أو الفطر *T. koningii* بتركيز ١٠^٧ جرثومة كونيدية/مل) ، وجد أن هذه التركيزات من الكائن المضاد لا تؤثر على القابلية للإصابة بالفطر الممرض فى الأطوار المتتابعة لتكشف الزهرة . وجد أن الفطر *C. rosea* يثبط الكائن الممرض بحوالى ، صفر فى الأزهار المتفتحة جزئياً ، ٤٩ ٪ فى الأزهـار كاملـة التفتـح ، ٦٨ ٪ فى الأزهار التى فى طور الشيخوخة ، بينما *T. koningii* كانت مقدرته على التثبيط بحوالى ٩٣-٩٥ ٪ فى المراحل الثلاثة .

٢ - تركيز اللقاح :

إن معرفة تركيز اللقاح للفطر *C. rosea* وعلاقاتها فى مقاومة الفطر الممرض *B. cinerea* من الأساسيات المهمة لوضع أسس مناسبة لتوصيات استعمال المقاومة الحيوية فى أمراض المحاصيل . كما هو متوقع فإن العلاقات تختلف كثيراً مع كل من ، المحصول ، نوع وعمر العضو النباتى ، تركيز الكائن الممرض ، ظروف المناخ (الطقس المحيط بالنبات) وعوامل أخرى . وعن طريق الاستدلال فإن أفضل تركيز من الفطر *C. rosea* يختلف حسب المحصول ووقت الاستعمال والمكان الذى يستعمل عليه ، سواء على المجموع الخضرى ، الازهار والثمار . وكما هو شائع فى التعامل مع الأمراض ، فإن الاعتماد على تركيز اللقاح للفطر *C. rosea* الذى يعطى مقاومة كافية ضد الفطر الممرض *B. cinerea* فى المحصول ، هو مطلب حتمى يجب معرفته .

الدراسات التى أجريت تحت ظروف متحكم بها ، زودتنا بصورة منظورة ، لمتطلبات اللقاح من الفطر المضاد ، لمقاومة الفطر الممرض فى عديد من المحاصيل. عند حقن المجموع الخضرى والأزهار فى البيجونيا ونبات بخور مريم بتركيزات مختلفة من الفطر الممرض (من صفر إلى ١٠^{٦} جرثومة كونيدية/مل) ومن الفطر المضاد بتركيزات (من صفر إلى ١٠^{٨} جرثومة كونيدية/مل) ، فى جميع الاتحادات تم الحصول على مقاومة حيوية جيدة ، أساساً عندما كان تركيز الكائن المضاد مشابهاً أو أكثر من ذاك التركيز فى الكائن الممرض. فى دراسة مماثلة على العليق ، فإن المستويات العالية من المقاومة (٩٠–١٠٠ ٪) قد تم الحصول عليها فى الأوراق لجميع الاتحادات من ١٠^{٣} إلى ١٠^{٦} جرثومة كونيدية من الفطر الممرض/مل و ١٠^{٤} إلى ١٠^{٨} جرثومة كونيدية/مل من الفطر المضاد ، أما فى السيقان ، الأسدية والمياسم فقط عندما يكون تركيز الكائن المضاد ١٠ أو ١٠٠ ضعف تركيز الكائن الممرض . ومن غير المتوقع فإن الفطر المضاد على تركيز ١٠^{٨} جرثومة كونيدية/مل غالباً ما تكون أقل فعالية من تركيز ١٠^{٧} جرثومة كونيدية فى الأسدية والمياسم ، لوحظت أيضاً حالة واحدة فى المجموع الخضرى لشتلات البيسيه السوداء فى غرف الإنبات . يبدو واضحاً أنه ليس من المهم زيادة التركيزات المثلى للفطر المضاد للمقاومة الحيوية فى المحاصيل، خاصة عندما تكون الظروف ملائمة لبقاء الكائن المضاد . فى الصوبات الزجاجية وغرف الإنبات ، فإن استعمال تركيز ١٠^{٧} جرثومة كونيدية/مل من الفطر المضاد يثبط بشدة الفطر الممرض بتركيز ١٠^{٦} جرثومة كونيدية/مل فى مختلف أعضاء نبات البيجونيا ، بخور مريم ، *Exa-cum* ، جيرانيم ، الجيربارا، الخيار، الفلفل، العليق، الفراولة، الطماطم وعوائل أخرى كثيرة. فى كل حالة فإن التركيز من الكائن الممرض كان كافياً ليحدث مرضاً خطيراً ومستمراً فى غياب الكائن المضاد.

إن تركيز اللقاح من ١٠^{٦} إلى ١٠^{٨} جرثومة كونيدية/مل من الفطر المضاد ، عادة ، يعطى مقاومة جيدة للفطر الممرض فى المحاصيل فى الحقل وفى الصوبا الزجاجية . اللقاح المحتوى ١٠^{٦} جرثومة كونيدية/مل من الفطر ، المضاد عادة ما يكون كافياً فى الفراولة ، البيجونيا ، وبخور مريم . أما تركيز ١٠^{٧} جرثومة كونيدية/مل من الفطر المضاد يعطى نتائج أفضل فى العليق ، أما تركيز ١٠^{٧} – ١٠^{٨} كان أقرب للوضع الأمثل للمقاومة الحيوية فى البيسيه السوداء .

وجد فى تجارب أخرى أن استعمال الفطر *C. rosea* بتركيز ٥ × ١٠^{٦} جرثومة كونيدية/مل تثبط مرض لفحة الأوراق المتسبب عن الفطر *B. squamosa* على البصل فى الحقل بنسبة ٥٠–٥٨٪ .

٣ - الحـــرارة :

أجريت دراسات على الحرارة وعلاقتها مع فعالية المقاومة الحيوية التى يقوم بها الفطر *C. rosea* ضد الفطر الممرض *B. cinerea* فى خمسة عوائل . بشكل عام فإن مستوى المقاومة الحيوية يكون عاليًا على ٢٠-٢٥ °م ، وأيضاً على ٣٠ °م فى العوائل التى فيها يمكن الحصول على قياس للاصابة ، ولكنها كانت تدريجياً أقل من ١٥ و ١٠ °م . درجات الحرارة المنخفضة تقلل المقاومة الحيوية بشكل هامشى (الحد الأدنى) فى الأوراق فى نباتات الفراولة والبيجونيا وفى أسدية نبات العليق ، ولكنها تقلل كفاءة المقاومة الحيوية بشكل متوسط فى أوراق العليق ، بخور مريم والجيرانيوم وفى بتلات البيجونيا ، ولكن بشكل عال وواضح فى بتلات بخور مريم والجيرانيوم . التأثيرات المختلفة لدرجة الحرارة على المقاومة الحيوية فى الأعضاء المختلفة فى العائل ، كانت واضحة فى أربعة عوائل . ومن الدراسات المستفيضة على عزلات الفطر المضاد على أزهار بخور مريم والجيرانيوم ، تبين أن للعائل الدور الأساسى فى المقاومة الحيوية وليس لعزلة الكائن المضاد ، على درجات الحرارة المنخفضة .

٤ - الرطـوبة الحـــرة :

العلاقة بين الرطوبة الجوية ، الندى ، المطر ، الرى أو أى أشكال أخرى من توفر الرطوبة، والمقاومة الحيوية للفطر *B. cinerea* فى المحاصيل المختلفة باستعمال الفطر المضاد *C. rosea* ، ليس لها تأثير كبير ، ولكن الدور الذى تقوم به ، يكون فى بقاء ، إنبات ونمو الفطر المضاد على سطوح النبات وفى عملية اختراق الفطر لسطح النبات . تفشل الجراثيم الكونيدية للفطر *C. rosea* فى الإنبات على المجموع الخضرى الجاف فى بادرات البيسيه السوداء فى مراقد الإنبات على ١٢ ، ٢٠ و ٢٨ °م . كانت تحدد مقدرتها على الإنبات عن طريق إعادة عزل الفطر من بيئة PDA ، فكانت تنخفض بشدة مع تقدم الزمن بعد إضافتها على البذور فى البيسيه السوداء ومن المحتمل على عوائل أخرى . إن فترة الرطوبة ضرورية خلال الساعات الأولى من استعمال الفطر المضاد للحصول على أفضل نمو وأفضل مقاومة حيوية . أما فى الدراسات الحقلية ، تبين أن فترة الأمطار القصيرة (سواء كانت صناعية أو طبيعية) بعد استعمال الفطر المضاد على نباتات الفراولة ، تستنزف كثافة اللقاح للكائن المضاد على الأوراق وتخفض كفاءة المقاومة الحيوية . بالإضافة للتأثيرات على الفطر المضاد ، هناك تأثيرات أيضاً على الكائن الممرض وعلى النبات العائل أيضاً ، بالتالي تؤثر على كفاءة المقاومة الحيوية .

من ذلك يتبين أن الرطوبة العادية ، ضرورية لنجاح المقاومة الحيوية بالفطر المضاد المذكور سابقاً ، ولكن الرطوبة الغزيرة من الأمطار تخفض نسبة نجاح المقاومة الحيوية ؛ لذا يجب مراعاة هذه النقطة عند رى النباتات ، بحيث لا تصل قطرات الماء إلى أماكن استعمال (تواجد) الجراثيم الكونيدية للفطر المضاد .

علاقة الفطر *C. rosea* مع أنسجة العائل :

تكون الجراثيم الكونيدية للفطر *C. rosea* قادرة على الإنبات فى توفر الرطوبة على سطح العائل وتنتج أنبوبة إنبات بسيطة ، وهيفا سطحية وتخترق الأوراق ، السيقان ، البتلات والأسدية لأنواع مختلفة من النباتات . التكشف السطحى للكائن المضاد يمكن ملاحظته تماماً عند إجراء الدراسة تحت ظروف مستمرة من الرطوبة العالية وحرارة ٢١-٢٣ °م على أوراق وساق وأسدية نبات الفراولة . هناك نسبة عالية (٧٠-٩٠ ٪) من الجراثيم الكونيدية تنبت بعد ٤-١٢ ساعة من الحقن ، وتنتج أنبوبة إنبات ضيقة (١ - ١,٥ ميكروميتر) والتى تستطيل بسرعة بعد ١٢-١٦ ساعة علي الأسدية والسيقان ، بالترتيب وببطء بعد ١٢-٢٤ ساعة على الأوراق ، تتكشف تفرعات قصيرة (١-٥ ميكروميتر) على أنابيب الإنبات ، وهيفات بعد ١٦ ساعة ، وتخترق أنسجة العائل مباشرة . من الملاحظ أن الحوامل الكونيدية العنقودية (خصلية) والسوارية للفطر المضاد *C. rosea* تتكشف من هيفات سميكة سطحية على السيقان ، الأسدية والأوراق بعد ٣٢-٧٢ ساعة ، وتنتج أعداداً كبيرة من الجراثيم الكونيدية بعد ٤٠-٧٢ ساعة . وبالتالى فإن الكائن المضاد ، لديه كفاءة لأن يتكاثر فى الطور الـ epiphytic فى موقعه ، وهذا ما يعرف بأنه طور ممتاز لعامل المقاومة الحيوية المستعمل على المجموع الخضرى والازهار ، وبالتالى يمكن أن يشارك فى مؤازرة مقاومة الفطر الممرض *B. cinerea* فى المحصول .

يكون تكشف الفطر *C. rosea* بعد اختراقه المجموع الخضرى فى النبات والأزهار ، بشكل عام غير واضح ، سواء بقى محدداً ومقتصراً فى مكانه أو استعمر مساحات كبيرة من أنسجة العائل ، وهذا يمكن أن يعتمد على وظيفة ، نوع ، عمر والحالة الفسيولوجية لأنسجة العائل . الدلائل التفصيلية ، مبنية على إعادة عزل الفطر المضاد من النسيج على مسافات مختلفة من منطقة الحقن . دلت الدراسة على أن الكائن المضاد يبقى فى موضعه (محلياً) على الأقل لمدة ثلاثة شهور فى سيقان نباتات الطماطم النامية بقوة ، إلا أنه يستعمر

بشدة الأوراق فى سن الشيخوخة وكذلك أزهار الفراولة ، البيجونيا ، بخور مريم ، والجيرانيوم وغالباً ما يتجرثم خلال يومين بعد موت الأنسجة . تشجع الأنسجة فى طور الشيخوخة بشكل واضح ، الكائن المضاد ، بأن يستعمرها ، إلا أنه أيضاً يستعمر العناصر الوعائية فى نباتات فول الصويا النامية بقوة ونباتات البرسيم الأحمر . لقد دلت جميع التجارب على أن أنسجة النبات العائل التى تحقن بالفطر المضاد تبقى خالية من أية أعراض متسببة عنه ، إلا أنه فى حالات نادرة ، عند استعمال لقاح مكثف من الميسيليوم تظهر بقع على السويقة الجنينية السفلى فى الفاصوليا .

طرق عمل الفطر *C. rosea*

يعتمد هذا الفطر فى عمله فى المقاومة الحيوية ضد الفطر الممرض *B. cinerea* على المنافسة على المواد الغذائية وعلى عملية التطفل الفطرى Mycoparasitism . تكون المنافسة الغذائية مهمة على المجال الورقى فى معظم نباتات الزينة . يبدو بشكل واضح أن الكائن المضاد يستعمر ويستغل الأنسجة المتقدمة فى السن بسرعة أكبر مما يعمله الكائن الممرض *B. cinerea* ، وكذلك فإنه يعوق استعمار الأنسجة الحديثة من قبل الكائن الممرض . هذه الطريقة من العمل أساسية ، بسبب أنها تشارك فى تثبيط اللقاح للفطر الممرض . ونظراً لأن الكائن المضاد متطفل فطرى على كل من الهيفات ، الجراثيم ، الأجسام الحجرية والأجسام الثمرية لكثير من الفطريـــات الممرضـــة مـــن ضمنها *B. cinerea* إلا أن Sutton *et al* سنة ١٩٩٧ أثبت أن هذه العمليات لا تتم كلها معاً فى الحقل لا على الأوراق فى نبات العليق .

ومـن الجـدير بالذكر أن بعض الدراسات أثبتت أن التفاعلات بين *C. rosea* والفطر *B. cinerea* تكون ظاهرة بوضوح على أوراق ، أسدية ومياسم أزهار نبات العليق الموجودة تحت الرطوبة العالية المستمرة ، علي الأوراق فإن الفطر المضاد يثبط بقوة إنبات ونمو أنبوبة الإنبات للفطر *B. cinerea* ، ولكن نادراً ما يتطفل على الكائن الممرض . أما على السيقان ، فإن الجراثيم الكونيدية للفطر الممرض كثيراً ما تنمو وتنتج أنابيب إنبات جيدة التكوين وهيفات سطحية بغض النظر عن قربها من الجراثيم الكونيدية ، أنابيب الإنبات أو هيفات الفطر المضاد . يكون التضاد واضحاً على السيقان على شكل تثبيط معتدل لنمو أنبوبة الإنبات ، وتطفل قوى على الفطر الممرض بواسطة الفطر المضاد . خلال توفر الرطوبة العالية

(٢٢-٧٢ ساعة) فإن تفرعات هيفية قصيرة من الفطر المضاد تتصل مع ، تنمو على أو تلتف حول (وفى كثير من الحالات تخترق الجراثيم الكونيدية) هيفات الفطر *B. cinerea* ، عادة فإن الخلايا المهاجمة تفقد محتوياتها ، وتنهار بعض الهيفات ، سواء كانت أم لم تكن خلايا الفطر الممرض حية عند اختراقها . الهيفات النامية داخلياً أو خارجياً أو السطحية أو التى بين الخلايا ، تدل على أن كثيراً من الهيفات تكون متداخلة مع بعضها البعض من كل من الفطرين ، الممرض والمضاد وذلك عند مقارنة النمو المتكرر الرقيق للهيفا فى الكائن الممرض المتكشفة ضمن الخلايا المتحطمة من الثقوب التى فى الحواجز للخلايا غير المتحطمة المتجاورة . وبشكل عام فإنه على سطوح الأسدية ، فإن الفطر المضاد لا يثبط إنبات ، نمو أو انتاج أعضاء الالتصاق appressoria ووسادة العدوى للفطر الممرض ، ولم يلاحظ أنها تتطفل على الكائن الممرض . وعلى أية حال فإن الكائن المضاد يخفف كثيراً من حدوث الاستعمار فى الأسدية بواسطة الكائن الممرض . لقد اعتمد على الاختلافات فى توافر وتركيب المواد الغذائية والمواد المضادة الفطرية فى الإفرازات على سطح العائل ، قد اعتمد عليها ، كنظرية لتوضيح الاختلافات غير العادية فى تفاعلات الكائن المضاد مع الكائن الممرض على الأنسجة المختلفة لنبات العليق .

بالإضافة إلى التنافس والتطفل الفطرى ، فمن المحتمل أن الفطر المضاد ، يضاد الفطر الممرض عن طريق التضاد الحيوى . ينتج الكائن المضاد مجموعة من المثبطات الفطرية وإنزيمات محللة للجدار ، بعضها يستطيع أن يعمل فى سيناريو متشابك من التضاد الحيوى والتطفل الفطرى . كذلك فإن ظاهرة فقد الانتفاخ ، وتحلل هيفات الفطر الممرض كل منها تستحث بواسطة الفطر المضاد ، ويمكن أن تعتبر داخلة فى كلتا الطريقتين الداخلتين فى التضاد . وبشكل عام فإن التضاد الحيوى يظهر بأنه يعمل فقط فوق مساحة صغيرة ، هذا يعنى أن الكائن المضاد يجب أن يكون له طريق للوصول إلى المغذيات القريبة من الكائن الممرض ، وأن هذا التنافس الغذائى يجب أن يكون داعماً للتضاد الحيوى . بينما الفطر *C. rosea* عنده قدرة لينتج على الأقل مادة مضادة فطرية من نواتج الميتابولزم ، إلا أنه لا يوجد أى دليل على دخول هذه المضادات الحيوية فى هذه المقاومة . ومما يؤيد ذلك أن الطفرات من الفطر المضاد ، التى تنتج مستويات عالية أو متوسطة من نواتج التمثيل أو لا تنتج أبداً ، لا تختلف فى كفاءتها فى المقاومة الحيوية ضد الفطر الممرض فى أوراق الفراولة . لا يوجد أى دليل واضح على أن الفطر *C. rosea* يحدث مقاومة مستحدثة فى نباتات العائل .

هناك أنواع أخرى من الفطر *Gliocladium* تنتج مضادات حيوية مختلفة لها دور فى المقاومة الحيوية (شكل ١١) هذه المضادات هى :

١ – Viridin يفرزه الفطر *Gliocladium virens* .

٢ – Gliotoxin يفرزه الفطر *G. deliquescens* .

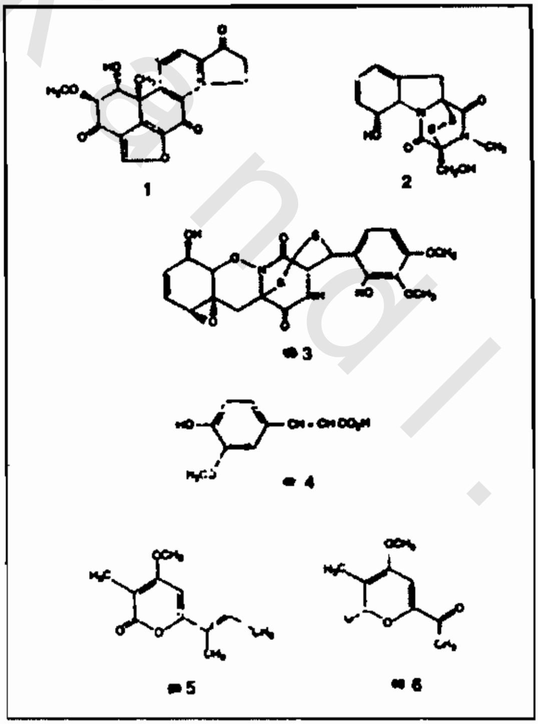
٣ – Gliovirin يفرزه الفطر *G. deliquescens* .

٤ – Ferulic acid يفرزه الفطر السابق أيضاً .

٥ – Viridin + Gliotoxin + dehydrogliotoxin يفرزه الفطر *G. flavafuscum* .

٦ – Pyrones, nectriapyrone يفرزه الفطر *G. vermoesenii* .

٧ – Nectriapyrone + vermopyrone يفرزه الفطر السابق أيضاً .



شكل رقم (١١) : المضادات الحيوية التى تفرزها بعض أنواع الجنس *Gliocladium* .

١ – virdin ٢ – Gliotoxin ٣ – Gliovirin

٤ – Ferulic acid ٥ – dehydrogliotoxin ٦ – nectriapyrone

طرق استعمال الكائن المضاد عملياً

حـــدث تقـــدم ملموس فـــى طـــرق تحضـــير اللقاح للكائن المضاد ، ووقت استعمـــاله وكيفية استعماله ، وذلك للحصول على أعلى كفاءة فى المقاومة الحيوية باستعمال *C. rosea* ضد الفطر الممرض *B. cinerea* على كثير من المحاصيل . يمكن الحصـــول علـــى لقاح الفطر المضاد *C. rosea* بسهولة وقلة تكاليف ، وذلك بتنمية الفطر علـــى حـــبوب القمح أو النجيليات الأخرى . فى بعض المعامل يمكن الحصول على تركيزات عالية من الكائن المضاد (١ – ٥ × ١٠⁹ جرثومة كونيدية/غم) خلال ٣٥ يوماً على حبوب القمح المحفوظة على ٢٠ – ٢٣°م . بعد فترة النمو الابتدائى للميسيليوم الأولى (١٤–١٨ يوماً) تترك المزارع لتجف ببطء . هذه العملية تشجع إنتاج الحوامل الكونيدية التى هى على شكل خصل والتى تنتج محصولاً وفيراً من الجراثيم الكونيدية أكثر من انتاج الحوامل الكونيدية ذات الشكل السوارى ، حيث أن الحوامل الكونيدية السوارية تتكون عادة تحت ظروف الرطوبة العالية . بالإضافة إلى الجراثيم الكونيدية فإن أجزاء الميسيليوم من الفطر *C. rosea* يمكن عزلها من حبوب القمح بعد ١٥ يوماً ، حيث وجد أنها فعالة ضد الفطر الممرض *B. cinerea* فى الفراولة . الكونيديات المأخوذة من حبوب القمح يمكن تخزينها لمدة أكثر من سنة على حرارة ٣ – ٥°م ، ولمد ٣ شهور على حرارة ٢٠ – ٢٣°م دون أى فقد معنوى فى حيوية أو كفاءة المقاومة الحيوية التى تحدثها ، هذه المعلومات مهمة فى الانتاج التجارى للكائن المضاد . قبل استعمال الكائن المضاد على المحاصيل ، فإن الجراثيم الكونيدية لهذا الفطر يمكن أن تعلق فى ماء مضافاً إليه مطهر سطحى مثل *Triton x - 100* أو أنها تتشكل على شكل مسحوق مع بودرة التلك أو أى حامل آخر .

إن أفضل طريقة لاستعمال الفطر *C. rosea* تعتمد على نوع نسيـج العائل الذى يتطلب الوقاية ، فمثلاً طريقة الرش ، تستعمل لإسقاط وترسيب القطيرات الصغيرة من اللقاح بانتظام علس السطح المستهدف . هذه الطريقة مناسبة بشكل عام فى معاملة المجموع الخضرى والأزهار فى كثير من المحاصيل . هناك طرق أخرى أكثر تخصصاً وحداثة تكتشف باستمرار للاستعمال على الأنسجة المستهدفة الخاصة . بالنسبة للجروح التى تحدث على

عقل الجيرانيوم ، تعامل بسهولة عن طريق الغمر السريع للعقل فى اللقاح ، بينما الجروح الناتجة عن إزالة الأوراق فى الطماطم والخيار فى الصوبات الزجاجية ، يمكن أن تعامل باستعمال الرشاشة اليدوية أو الفرشاة أو قطعة قماش ماسحة . الأدوات التى تستعمل باسمرار لإزالة الأوراق السفلية ، يمكن أن تستعمل لرش اللقاح على الجروح وتشارك فى فعالية هذه الطريقة . أزهار الفراولة والعليق يتم معاملتها بنجاح بالفطر المضاد *C. rosea* باستعمال النحل كعامل لنقل اللقاح .

obeikandl.com

III : الجنس Cladorrhinum

مقدمـــة

الأبحـــاث الحديثة علـــى المقاومـــة الحيوية للكائنات الممرضة النباتية الكامنة فى التربـــة ، تجرى باستمرار وبتسارع مضطرد . يعود هذا التسارع جزئياً ، إلى زيادة المعرفة فى انـــتاج ، تشكـــيل وإعـــطاء أو استعمال عوامل مقاومة حيوية مختلفة والتى تشمل فطريـــات ، بكتيريـــا واكتينومايستس . هناك سبعة أجناس فطرية مشهورة فى المقاومة الحيوية مذكورة فى الفصل الأول من الكتاب ، ويمكن أن يضاف إليها الجنس *Cladorrhinum* .

لعدة سنوات مضت ، لاحظ العلماء فى معمل أمراض النبات ، قسم المقاومة الحيوية فى Beltsville فى أمريكا سنة ١٩٩٥ ، أن هناك فطراً لونه أبيض نشيط النمو ، ينمو على بيئة ماء + آجار + مضادات حيوية مأخوذة من بذور البنجر الموضوعة لمدة ثلاثة أسابيع فى تربة مختلفة ملوثة بالفطر *R. solani* . عند وضع بذور البنجر فى تربة ملوثة بالفطر *R. solani* (هذا عمل روتينى لاختبار كثافة اللقاح للكائن الممرض فى التربة) ثم أخذها ووضعها على بيئة آجار فى المعمل ، فإن هذا الفطر الأبيض ينمو من بذور البنجر على الآجار خلال ٢٤ ساعة ويحل محل الفطر *R. solani* فى بذور البنجر ويمنع النمو الترممى للكائن الممرض فى التربة . عند إرسال عينات من هذا الفطر إلى معهد الدراسات البيولوجية *(CBS)* تحت رئاسة الدكتور *W. Gams* فى هولندا ، صنف هذا الفطر على أساس أنه *Cladorrhinum foecundissimum* Sacc & Marchal .

تنمـــو مستعمـــرات هـــذا الفطـــر ، تنتشر بالعرض وتكون ذات خصل شعرية ولها ميسيليوم هوائـــى وتكـــون ذات لـــون رمـــادى إلى أرجوانى مصفرة ذهبية ، والتى أحياناً تشكل عناقيد من الهيفات الخضرية الشفافة . الجراثيم الكونيدية غير واضحة ، وتأخذ الشكل الإصبعى أو الكروى ، وذات حجم (٣-٣,٥) × (٢,٥-٣) ميكروميتر . يمكن أن يعزل الفطر من التربة أو من Buckwheat ، وقد وصف الفطر بأنه من ساكنات التربة ، إلا أنه من الصعوبة عزله من التربة نظراً لصعوبة إنبات الجراثيم الكونيدية على البيئات الغذائية المتوفرة .

لقد تبين أن لهذا الفطر نشاطاً فى أفراز المضادات الحيوية ضد كل من *R. solani* والفطر *Pythium ultimum* . هناك أنواعاً أخرى من الفطر منها *C. brunnescens* ، تثبط بشكل معنوى فطريات العفن الأبيض مثل *Trametes versicolor* و *Stereum rugosum* ، ولقد تبين أن هذا الجنس يحلل السليلوز والبكتين والزايلين .

تأثير الفطر *Cladorrhinum* على نمو الفطر رايزوكتونيا

لقد درس الفطر *C. foecundissimum* النامى على تحضيرات من النخالة ، ودرست كفاءته فى المقاومة الحيوية ضد الفطر الكامن فى التربة *R. solani* ، فى التربة وفى المزارع بدون تربة ، ودرست مقدرته على خفض حدوث مرض سقوط البادرات فى بنجر السكر ، الباذنجان والفلفل ، المتسبب عن الفطر *R. solani* ودرست مدى كفاءته على الاستعمال فى المقاومة الحيوية .

وجد أن اللقاح المكون من النخالة ، للعزلة *CF-1* من الفطر *C. foecundissimum* المحضنة لمدة ١٧ يوماً ، لا تخفض مدة البقاء الحى للكائن الممرض *R. solani* على بذور بنجر السكر الملوثة بالفطر *R. solani* والمزروعة فى تربة لومية رملية *(LS)* أو لومية رملية طينية *(SCL)* . لكن اللقاح المحضن نفسه لمدة ٢٣ يوماً ، منع نمو الكائن الممرض من الانتقال من بذور البنجر إلى التربة . كذلك قد تم إيقاف النمو الترمى للفطر *R. solani* المضاف كمخلوط مع مجروش الذرة على المزارع بدون تربة soilless ، أيضاً قد تم إيقافه بواسطة العزلة *CF - 1* فى أربعة أنواع من الأراضى . كذلك هناك أربع عزلات أخرى من الفطر المضاد ، وهى : CBs- 182-66, CBS- 181-66, AT CC - 62373, CF-1 ، كلها تمنع النمو التطفلى للفطر *R. solani* فى أراضى *LS* عندما يكون لقاح الكائن الممرض موجوداً فى مخلوط Soilless ومزوداً بمجروش الذرة . الأفراد ذات العمر ٣٣ يوماً من السلالة *CF-1* والسلالة ATCC-62375 منعت سقوط البادرات فى بنجر السكر المتسبب عن الفطر *R. solani* فى أراضى *SL* بعد أربعة أسابيع من النمو . أما استعمال السلالة *CF-1* فإنه أدى إلى زيادة أعداد النباتات السليمة أكبر من ٩٠ ٪ أعلى من تلك المزروعة فى الكنترول . وعلى النقيض من ذلك فإن استعمال العزلات CBS - 181 - 66 CBS - 182 - 66 أدى إلى زيادة أعداد النباتات السليمة بنسبة أقل من تلك المزروعة فى

تربة ملوثة بالكائن الممرض . العزلات المحضرة والمخلوطة مع النخالة مثل CF-1 و ATCC-62373 منعت سقوط البادرات فى الباذنجان والفلفل فى مخلوط بدون تربة soilless ، واعتماداً على معدل اللقاح المستعمل ، يؤدى ذلك إلى زيادة النباتات السليمة بالمقارنة مع تلك المزروعة فى مخلوط دون تربة ، خالياً من الكائن الممرض (جدول ٨١ ، ٨٢ ، ٨٣) .

جدول رقم ٨١ : البقاء والنمو الترممى للفطر *R.solani* العزلة (R-23) فى تربة LS و SCL مع تحضيرات الفطر المضاد على النخالة بأعمار مختلفة من السلالة CF-1 .

نوع التربة	عمر اللقاح بالأيام	بقاء الفطر الممرض فى بذور بنجر ملوثة (دليل الاستعمار)	النمو الترممى للفطر الممرض من بذور بنجر ملوثة فى التربة (دليل الاستعمار)
لومية رملية (LS)	الفطر الممرض لوحده	٤,٤	٣,٦
	نخاله فقط	٤,٣	٣,٢
	صفر	٤,٢	٣,٥
	٣	٤,٣	٢,٣
	٦	٣,٨	٠,٦
	١٠	٤,٤	٠,٤
	١٧	٣,٨	٠,١
لومية رملية طينية SCL	الفطر الممرض لوحدة	٤,٣	٤,١
	نخالة واحدة	٤,١	٤,٠
	صفر	٣,٧	٤,٠
	٣	٣,٦	٢,٦
	٦	٤,٣	١,٤
	١٠	٤,٤	٠,٨
	١٧	٤,٦	٠,٨

ملاحظات على الجدول :

كان التقدير يتم بعد ثلاثة أيام من إضافة تحضيرات النخالة (١ ٪ وزن/وزن) إلى تربة ملوثة بالفطر *R.solani* . دليل الاستعمار : يــدل على نمو الفطر الممرض على سطح آجار محيط ببذرة بنجر السكر حيث أن :

صفر = لا يوجد نمو . ١ = نمو على شكل خيوط قليلة .

٢ ، ٣ ، ٤ ، ٥ = ٢٥ ، ٥٠ ، ٧٥ ، ١٠٠ ٪ من السطح المحيط بالبذرة مغطى بالهيفات ، بالترتيب

جدول رقم ٨٢ : النمو التطفلى للفطر الممرض *R. solani* العزلة *(R-23)* من لقاح مجروش الذرة المخلوط مع مواد غير عضوية فى تربة لومية رملية مضافاً إليها تحضيرات الفطر المضاد *C.foecundissimum* النامي على النخالة ، والمكون من أربعة عزلات .

العزلة	النمو التطفلى للفطر الممرض دليل الاستعمار
R.solani لوحدة (كنترول)	٣,٨
نخالة خالية من الكائن المضاد	٣,٢
السلالة CF-1	٠,١
السلالة ATCC-62373	٠,١
السلالة CBS-182-66	١,٥
السلالة CBS-181-66	١,٦

ملاحظات على الجدول :

كان يتم التقدير بعد ٣ أسابيع من إضافة تحضيرات النخالة ١ ٪ وزن/وزن إلى التربة الملوثة بالكائن الممرض . دليل الاستعمار كما فى الجدول السابق .

جدول رقم ٨٣ : النباتات السليمة من الباذنجان والفلفل المزروعة فى مخلوط (بدون تربة زراعية) ، ملوثة بالفطر الممرض *R. solani* العزلة *(R-23)* المعاملة بمعدلات عديدة من تحضيرات ذات عمر ١٠ أيام من العزلات المختلفة من الفطر المضاد بعد ٢ و ٤ أسابيع من النمو .

العزلة	معدل اللقاح ٪ وزن / وزن	٪ نباتات سليمة من الباذنجان بعد		٪ نباتات سليمة من الفلفل بعد	
		١٤ يوم	٢٨ يوم	١٤ يوم	٢٨ يوم
كنترول (بدون كائن ممرض)	صفر	٩٥	٨٩	٩٢	٨٩
كنترول (كائن ممرض فقط)	صفر	٥٧	١٠	٤٢	١٧
كنترول (نخالة بدون كائن مضاد)	صفر	٤٣	٧	٢٩	٠٧
CF-1	٠,٣	٩٠	٨٥	٦٩	٢٠
CF-1	٠,٧	٨٧	٧٣	٧٣	٢١
CF-1	١,٣	--	--	٩٢	٨٩
CF-1	٢,٦	--	--	٩٢	٦٩
ATCC-62373	٠,٣	٩٤	٧٩	٤٧	١٨
ATCC-62373	٠,٧	٨٣	٥٧	٤٩	١٨
ATCC-62373	١,٣	--	--	٨٣	٥٦
ATCC-62373	٢,٦	--	--	٨٧	٦٩

ملاحظات على الجدول :

عوملت بادرات الباذنجان بالسلالة CF-1 والسلالة ATCC-62373 بمعدل ١,٣ و ٢,٦ ٪ ، ولكنها لم تحدد تحضيرات النخالة الخالية من الكائن المضاد الذي أضيف إلى الكائن الممرض (زراعة بدون تربة ملوثة بالفطر) بمعدل ٠,٧ ٪ وزن/وزن بالنسبة لتجارب الباذنجان و ٢,٦ ٪ وزن/وزن لتجارب الفلفل .

obeikandl.com

IV : الجنس Talaromyces

دور الجنس فى المقاومة الحيوية

يعتبر الفطر *T.flavus* من الفطريات الإسكية ساكنات التربة ، الطور اللاجنسى له يسمى *Penicillium dangeardii* وله اسم مرادف هو *P.vermiculatum* ، يستعمل هذا الفطر فى المقاومة الحيوية لبعض أمراض النبات ، فهو يثبط ذبول الفير تسليم فى الطماطم ، الباذنجان والبطاطس ، ويتطفل على كل من *Sclerotium sclerotinia, R.solani,* *Sclerotium rolfsii* وبشكل عام فإن الميكانيكية المستعملة من قبل هذا الكائن المضاد فى المقاومة الحيوية ضد الفطريات الممرضة النباتية ، تشمل التطفل الفطرى *Mycoparasitism* ، التضاد الحيوى ، التنافس والمقاومة المستحثة .

يستعمل هذا الفطر الأنزيمات المحللة لجدار الخلية ، مثل Chitinase, β- 1,3 - glucanase, cellulase فى التضاد الحيوى . وجد أن الفطر *T. flavus* يضاد الفطر *verticillium dahliae* عن طريق التطفل والتضاد الحيوى ، ووجد أيضاً أن الأجسام الحجرية الدقيقة Microsclerotia للفطر الممرض *V.dahliae* ، يمكن أن تقتل براشح مزرعة الفطر المضاد *T.flavus* . هذه السمية التى يظهرها راشح المزرعة يمكن أن تعزى إلى فعل مادة Glucose oxidase . مع أن الفطر *T.flavus* ينتج عديداً من الإنزيمات المفرزة خارج الخلايا ، إلا أنه لغاية ١٩٩٧ لم يحدد أى من هذه الإنزيمات له الدور الأهم الذى يلعبه فى المقاومة الحيوية .

استعملت فى إحدى التجارب عشر سلالات عادية ، وطفرتان من السلالات المقاومة للمبيد الفطرى بينومايل، من الفطر *T.flavus* ، ودرست مقدرتها على إفراز الإنزيمات المحطمة للجدار الخلوى ، وهـى Chitinase و β-1,3 - glucanase و Cellulase ودورها فى التطفل على الأجسام الحجرية للفطر *S.rolfsii* ، وذلك لخفض الإصابة بمرض عفن ساق الفاصوليا ، ومقدرتها على إفراز مواد مضادة فطرية توقف نشاط الفطر الممرض *V.dahliae* .

تبين أن الطفرة المقاومة للبينومايل Ben TFI-R6 تفرز كميات كبيرة من الإنزيمات خارج الخلية ، وتزيد نشاط التثبيط ضد الفطر *S.rolfsii* و *V.dahliae* بالمقارنة مع السلالات العادية والطفرات الأخرى . ولقد تبين أن ظاهرة التطفل الفطرية بواسطة *T.flavus*

والمقاومة الحيوية به ضد الفطر الممرض *S.rolfsii* ، تتعلق بنشاطه لإفراز إنزيم Chitinase . ومن ناحية أخرى فإن نشاط *T.flavus* فى المقاومة الحيوية للفطر *V.dahliae* يعتمد على نشاط مركبات التضاد الفطري مثل Glucose - oxidase حيث إن هذه المادة تعوق إنبات ونمو هيفات الفطر ، وتسبب اللون الأسود فى الأجسام الحجرية الدقيقة Microsclerotia المتكونة حديثاً . الجدول (رقم ٨٤) يبين كفاءة بعض السلالات فى انتاج الإنزيمات المختلفة .

أما بالنسبة للمقاومة الحيوية لمرض عفن ساق الفاصوليا المتسبب عن الفطر *S.rolfsii* ، فتبين أن عزلات الفطر *T.flavus* قادرة على تخفيض المرض بنسبة ٦٤ ٪ ، وذلك عند معاملة الأجسام الحجرية بالجراثيم الكونيدية من السلالة المقاومة للمبيد بنليت TFI-R6 ، بينما لم تخفض السلالة TF-62 و TF-46 الإصابة بالمرض (جدول رقم ٨٤) . أما عن علاقة الإنزيمات وتثبيط المرض فهو واضح فى جدول (رقم ٨٥) . أما عن العزلات الأخرى فيتراوح خفضها للمرض من ٥–٥٢ ٪ .

تعتبر ظاهرة تطفل *T.flavus* على الأجسام الحجرية للفطر الممرض *S.rolfsii* ميكانيكية مهمة فى تثبيط هذا الفطر وخفض المرض (شكل ١٢) . وقد وجد أن السلالة TFI-R6 لها قدرة عالية على التطفل الفطرى ، ووجد أنها تستعمر ٦٣ ٪ من الأجسام الحجرية للفطر الممرض ، بينما السلالات TF-62 و TF-46 لم تستعمر أى جسم حجرى .

كانت تجارب الصوبا الزجاجية تجرى كالآتى :

تحضر أوعية بلاستيكية قطر ١٠ سم ، وتملأ بحوالى ٣٥٠ غرام تربة رملية ، ويزرع فى كل وعاء خمس بذور من الفاصوليا . كانت تحضر أجسام حجرية جافة للفطر *S.rolfsii* وتنقع فى المعلق الجرثومى للفطر المضاد *T.flavus* بتركيز 10^{7} جرثومة/مل، ثم بعد ذلك يؤخذ جسم حجرى واحد ويوضع على بعد نصف سم من بذرة الفاصوليا ، ثم تغطى البذرة والجسم الحجرى بحوالى ١٥٠ غرام تربة رملية . تحفظ الأوعية فى الصوبا الزجاجية على حرارة ٢٥–٣٠°م ، تقدر أعراض المرض (عفن الساق) كل يوم لمدة ثلاثة أسابيع بعد الإنبات .

جدول رقم ٨٤ : النشاط الإنزيمى ونشاط سلالات *T.flavus* ضد الفطرين *S.rolfsii* و *V.dahliae*

السلالة المستعملة	نوع الإنزيم				S.rolfsii		V.dahliae
	Chitinase	Glucanase	Cellulase	Glucose oxidase	٪ تطفل على الأجسام الحجرية فى التربة	٪ خفض إصابة المرض	نشاط التضاد الحيوى
TFI-R6	١٥,١	١٧٢٤	٥٥,١	٥٢٩	٦٣	٦٤	٥١٢
TF-64	١٠,٠	٨١٣	٨,١	٢٨٠	٥٦	٥٢	١٢٨
TF-17	٨,٩	٩٧٠	٢٥,٣	١١٧	٤٤	٤٣	٦٤
TF-1	٨,٩	١٠١٠	٢٧,٦	١٢٩	١٨	٣٢	٦٤
FFI-R3	٤,٢	٧١٠	١٨,٢	١٦٥	٠٤	٥	١٢٨
TF-62	٠,٩	٩٥٢	٥,٠	١٣١	صفر	صفر	٦٤
TF-46	٠,٦	١١٠	٦,٤	٩٦	صفر	صفر	٨

ملاحظات على الجدول :

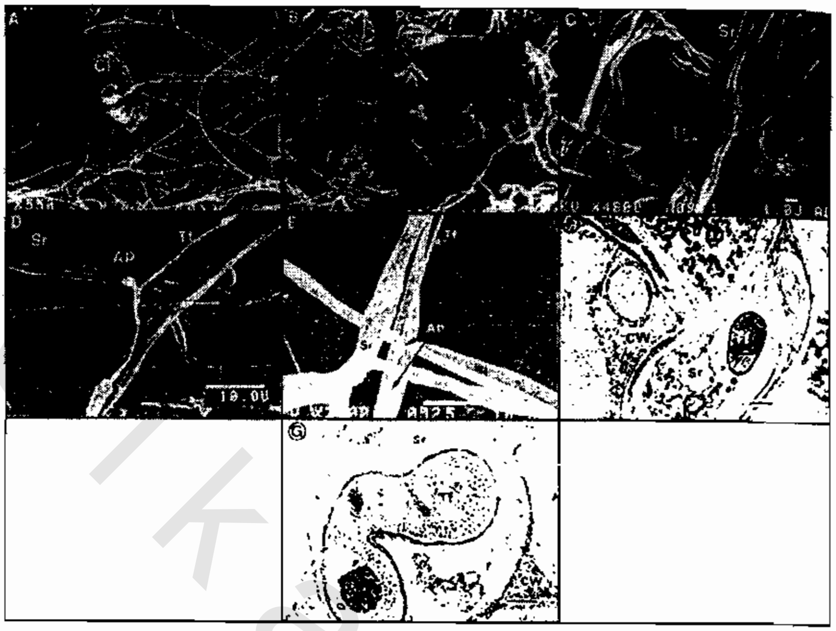
Chitinase = مكرومول من N-acetyl glucoseamine / ساعة/ملغم من البروتين.

Cellulase و Glucanase = مكرومول غلوكوز / ساعة / ملغم من البروتين .

Glucose oxidase = مكرومولز H2O2 / دقيقة / ملغم من البروتين .

نشاط التضاد الحيوى للفطر *V.dahliae* = أعلى تخفيف من راشح المزرعة الذى يثبط إنبات الأجسام الحجرية الصغيرة للفطر كلية .

فى دراسة فسيولوجية على الفطر *T.flavus* ، وجد أن أفضل نمو خضرى وانتاج للهيفات الفطرية ، يحدث عند تنميتها على سكريات معقدة مثل عديدات التسكر (٣٢ غرام/لتر من البيئة) و *B.glucosides* (٢,٤ غرام لكل لتر من البيئة) . وكان أقل نمو للهيفات على السكريات الأحادية . أما انتاج الجراثيم الاسكية فيتم بعد ٦ أسابيع من النمو على بيئة صلبة وتحضينها على ٣٧ ْم . وجد أن أفضل مصدر غذائى هو السكريات القليلة التسكر oligosaccharides ؛ حيث تعطى ٢,٩ × ١٠^٨ جرثومة / ٥,٥ سم قطر بيئة فى أطباق بترى ، أما Monosaccharides فتعطى ١,٦ أو ١,٤ × ١٠^٨ جرثومة / ٥,٥ سم



شكل رقم (١٢) : صورة بالميكروسكوب الإلكترونى تظهر تطفل الفطر *T.flavus* على الأجسام الحجرية للفطر *S.rolfsii* .

A : تحضين الأجسام الحجرية المحقونة ، فى الظلام ، للحث على الدورة الجنسية للفطر *T.flavus* وتكوين الأجسام الثمرية(Cl) .

B : تحضـين الأجسام الحجرية المحقونة تحت الإضاءة المستمرة يؤدى إلى النموات الخضرية ، وتكوين بنسيليا عديدة(Pc) .

C + D : يلاحظ أن الأجسام الحجرية للفطر *S.rolfsii* تستعمر جزئياً بالفطر *T.flavus* ، وتظهر هيفات (Sr) *S.rolfsii* مهاجمة من قبل الفطر المضاد Tf وتلتف هيفات Tf حول هيفات Sr كما فى (C + D) .

D + E : على طول هيفات *T.flavus* فإن معظم مناطق التلامس مع *S.rolfsii* تنتفخ وتظهر مفصلية . كذلك أنبوبة الاختراق تظهر أيضاً منتفخة مثل تركيب عضو الالتصاق (Ap) .

F + G : يلاحظ هيفا *T.flavus* تخترق الجدر الخلوية السميكة (CW) فى الأجسام الحجرية للفطر *S.rolfsii* متبوعاً بتحطيم عضيات خلية العائل واختفاء محتويات السيتوبلازم .

مقياس الرسم = ١ ميكروميتر .

فطر فى البيئة فى أطباق بترى . بالنسبة لمصدر الكربون ، ليست هناك علاقة بين تكوين الجراثيم الإسكية والوزن الجاف للهيفا . أما المصادر المختلفة للنيتروجين فتعطى من صفر إلى ١٠^٩ جرثومة أسكية لكل ٥,٥ قطر بيئة فى طبق بترى و ١٠^-٤ - ١٠^-٥ غرام من الهيفات الجافة لكل مل . وبشكل عام فإن مصدر النيتروجين ، الذى يؤدى لأفضل إنتاج من الجراثيم الإسكية يعطى أيضاً أفضل إنتاج من الهيفات الجافة . ولقد وجد أن عدد الجراثيم الإسكية يزيد كلما زادت نسبة *C/N* من ٥ : ١ إلى ٣٠ : ١ ، هذا التأثير يكون أكثر وضوحاً كلما كان C:N يزداد من ٥ : ١ إلى ١٥ : ١ . فى النسبة المنخفضة من *C:N* أقل من ١٥ : ١ فإن المعاملة بمادة hypoxanthine كمصدر للنيتروجين يؤدى إلى زيادة معنوية فى نمو ووزن الهيفات منه فى حالة المعاملة بترترات الأمونيوم . لا يوجد فرق معنوى عندما يكون *C:N* مساوياً أو أكبر من ١٥ : ١ .

كان حدوث مرض ذبول الفيرتسليم أقل بنسبة ٥٠ ٪ على نباتات الباذنجان المعاملة تربتها بالجراثيم الاسكية الناتجة من مزرعة نامية على بيئة PDA بالمقارنة مع نباتات الباذنجان المعاملة تربته بالجراثيم الإسكية الناتجة من مزرعة نامية على بيئة بها hypoxanthine + لاكتوز أو مالتوز . وبالتالى فإن مصادر الكربون والنيتروجين التى تزيد قليلاً انتاج الجراثيم الاسكية للفطر *T.flavus* تخفض كفاءة المقاومة الحيوية لذبول الفير تسليم بالمقارنة مع الجراثيم الإسكية الناتجة من بيئة PDA (جدولان رقم ٨٥ ، ٨٦) .

جدول رقم (٨٥) : العلاقة بين النشاط الإنزيمى فى راشح مزرعة سلالات الفطر *T.flavus* ، ومقدرتها على التطفل على الأجسام الحجرية للفطر *S.rolfsii* لخفض مرض عفن ساق الفاصوليا فى تجارب الصوبا الزجاجية.

الإنزيم	Coefficient التطفل الفطرى	Correlation خفض المرض
Chitinase	٠,٨٩٥	٠,٩٥٢
Glucanase	٠,٢٨٣	٠,٣٢٣
Cellulase	٠,٥٤٦	٠,٣٨٧
Glueose oxidase	٠,٥٤٤	٠,٤٢٦

ملاحظات على الجدول :

Correlation و Coefficient معتمدة على جدول (رقم ٨٤) .

الأرقام معنوية من صفر على P = 0.05 .

جدول رقم (٨٦) : العلاقة بين المقدرة على التطفل على الأجسام الحجرية للفطر *S.rolfsii* ، والخفض في شدة مرض عفن ساق الفاصوليا .

٪ تطفل على الأجسام الحجرية	٪ خفض المرض
٥	١٨
٦	٢٠
١٠	٣٠
١٨	٤٠
٣٠	٣٨
٤٥	٤٥
٥٥	٥٨
٧٠	٧٠

obeikandi.com

V : الجنس Aspergillus niger An 27

مقدمـــة

فى الأبحاث التى قام بها Sharma & Sen سنة ١٩٩١ فى الهند على نباتات العائلة القرعية التى تصاب بفيوزاريوم الذبول ، وجد أن بعض أنواع الجينوتايب تنجو من الإصابة بالمرض بالرغم من وجود الكائن الممرض بكثرة ، وعند فحص الرايزوسفير لهذه النباتات وجد أنها غنية جداً بالفطر *Aspergillus niger* . وجد عند دراسة هذا الجنس أن العزلة التى تصاحب النباتات الناجية من المرض هى AN 27 .

عند دراسة هذه العزلة معملياً ، وجد أن لها دوراً كبيراً فى تثبيط نمو العزلة الفطرية الممرضة من الجنس فيوزاريوم ، مثل *Fusarium oxysporum meloins* و *F. solani* ووجد أيضاً أن العزلة AN 27 يمكن أن تقتل عديد من الـ formae speciales لكل من الفطريات الآتية :

1 - Fusarium oxysporum. *2 - F. udum.* *3 - Macrophomina phaseolina*
4 - Pythium sp. *5 - Rhizoctonia solani.* *6 - Sclerotinia sclerotiorum*

وجد كذلك أيضاً أن العزلة *A.niger* An 27 لا تسمح بتكوين تركيبات ساكنة فى أى من الفطريات السابقة . كما لوحظ نوعين من التفاعلات فى المزارع البيئية بين هذه العزلة والعزلات الممرضة الأخرى . التفاعل الأول : يسبب منطقة تثبيط Inhibition zones ويسبب تحلل فى خلايا بعض السلالات الممرضة أو ينمو ويتجرثم فوق نموات الكائن الممرض مع أو بدون مقاومة أولية . التفاعل الثانى : يثبط إنبات الجراثيم ويسبب اضطراب وتحلل فى الجراثيم الكلاميدية والأجسام الحجرية ، ولكنه لا يثبط نمو الفطر *S. rolfsii* ، إلا أن هناك أبحاثاً أكدت تأثر هذا الفطر بالعزلة المضادة *A.niger* AN 27 .

صفات الفطر Aspergillus niger AN 27

كما هو معروف فإن الجنس *Aspergillus sp.* ينتج أنواعاً مختلفة من المركبات الفعالة، تشمل عوامل مضادات فطرية ومضادات حيوية ، هذا ما وجده Fujimoto *et al* سنة ١٩٩٣ . عند دراسة هذه العوامل المضادة الفطرية والبكتيرية بطرق التحليل الحديثة ، وجد أنها تحتوى على المركب trans and cis 4 (3- acetoxy -6- methoxy -2-

hydroxyphenyl -2- methoxy butanolide . وجد أن الحد الأدنى من تركيز هذا المركب المثبط للفطر *F. oxysporum melonis* (يثبط نمو الميسيليوم) هو عشرة جزء فى المليون ، ويمنع النمو تماماً على تركيز ١٥٠ جزء في المليون . لقد وجد فى دراسة مقارنة على الفطر *Trichoderma harzianum* ، أن هذا الفطر يمتلك مضادات فطرية هى harzianolide و butanolide . إن وجود حلقة الـ butanolide فى المركب الذى ينتج بواسطة السلالة AN 27 ، يؤيد طبيعة التضاد الفطرى لهذا المركب . عند استعمال الصبغات المتطايرة والميكروسكوب الفلوروسنتى فى دراسة منطقة التثبيط فى البيئة الغذائية ، تبين أن الفطر AN 27 فقط هو المتواجد فى منطقة التثبيط ، بينما هيفات كل من *Pythium aphanidermatum* ، *F.ciceris* ، *F.oxysporum* ، *Macrophomina phaseolina* و *R.solani* ، حصل لها تجويف وموت بدون اختراق . عند استعمال الميكروسكوب الالكترونى ، لوحظ أن الفطر AN 27 يلتف ويتجرثم حول الكائن الممرض . أخيراً فإن الهيفا الميته من هذه الكائنات الممرضة تخترق . وقد تبين فـــى دراسات لاحقة أن الفطر AN 27 يتصل ويستمر فى غزوه للأجزاء الميته .

أثبتت الدراسات المتخصصة أن الفطر AN 27 ، ينتج كلاً من مجموعتى هيدروكساميت وكاتيكوليت للسايدروفورز (هذا ما أثبته Mondal & Sen سنة ١٩٩٩) . كما هو معروف عن دور السايدروفورز فى كفاءته فى التضاد والمنافسة فى الرايزوسفير وتشجيع النمو النباتى ، هذه الأمور الثلاثة متوفرة فى الفطر موضوع الدراسة AN 27 . وبالتالى يمكن الافتراض بأن انتاج السايدروفورز بواسطة هذه السلالة الفطرية له دور كبير فى ظاهرة التضاد .

الفطر *Aspergillus niger* من الفطريات الموجودة دائماً ، ويفضل التواجد فى التربة (غازيات التربة) . يوجد فى التربة على عمق ٤٥ سم ويتحمل مجال واسع من درجات الحموضة ، تتراوح من pH 4-8 ولكن ليس لحموضة التربة تأثيراً على انتشاره ، وهو يتحمل الجفاف .

يمكن عزل الفطر *Aspergillus niger* AN 27 بسهولة من التربة حيث أنه يتواجد مترمماً فى التربة ، وينتج كميات كبيرة من الجراثيم الكونيدية ويهاجم الكائنات الممرضة فى البيئة الغذائية وفى التربة ، ويفرز مواد ناتجة عن التمثيل الغذائى ضد هذه الكائنات . إن سهولة تحرك هذا الفطر ومجال تأثيره الواسع، يسهل الطريق لاستغلاله كعامل مقاومة حيوية.

التركيبات التجارية للفطر Aspergillus niger AN 27

بالنظر إلى جميع الاعتبارات الهامة فى تحضير الكائن الحى ، وجعله مناسباً للتداول فى المقاومة الحيوية تحت ظروف بيئية مختلفة ، فلقد تم تحضير خمسة أنواع من التركيبات التجارية من هذا الفطر هى Kalisena SL ، Pusa Mrida و Kala sipahi وهى كبسولات . أما المركب الذى يستعمل لمعاملة التربة فهو المركب Kalisena SD ، أما لمعاملة البذور فهو المركب Beej Bandhu . الأربعة مركبات الأولى لها سقف حياة عال يمتد لأكثر من سنتين على حرارة من ١٥ – ٣٥° م ، عندما توضع فى أكياس من البولى إيثلين وتخزن تحت درجات رطوبة نسبية أقل من ٨٠ ٪ . أن طرق تحضير هذا الفطر سهلة وقليلة التكاليف ، وكذلك فإن الحامل المستعمل غير خطير ويستعمل بأمان من قبل العمال وكذلك غير ضار على الكائنات الدقيقة الأخرى غير المقصودة بالمقاومة . أما المادة المستعملة فى معاملة البذور ، فهى لا تؤثر على نمو وخروج البادرة من البذرة . إن التركيب Kalisena SD يزيد إلى حد ما نسبة الإنبات وقوة البادرات . تكون التركيبات المذكورة فعالة فى التربة القلوية والحامضية ، وتحت ظروف رطوبة تربة عالية أو منخفضة وعلى درجات حرارة تتراوح ما بين ١٨ – ٤٥° م .

التجارب الحقلية على الفطر AN 27

أجريت تجارب عديدة باستعمال هذا الفطر فى المقاومة الحيوية ، على عديد من المحاصيل والخضار وأشجار الفاكهة ، منها :

١ - الشمام :

عند معاملة البذور بالمركب Kalisena SD بنسبة ٨ غرام/كيلو غرام ومعاملة التربة بالمركب Kalisena SL بمعدل ٣٠ غرام/نقرة تزرع فيها البذرة ، حصل على نسبة وقاية ٨١ ٪ ضد ذبول الفيوزاريوم فى القرعيات ، وكانت النموات أقوى حتى ولو كانت نسبة الإصابة المرضية ١٥ ٪ . كانت نسبة الانتاج تزيد بنسبة ٥ ٪ أعلى منه فى المناطق غير المعاملة (كنترول) . أصبحت تجمعات الفطر فيوزاريوم فى منطقة الرايزوسفير لنبات الشمام الناتج من بذور معاملة بالمادة Kalisena SD ، منخفضة بنسبة ٩٥ ٪ فى نهاية الشهر الثانى. كذلك تبين فى نفس المحصول أن الكائن الممرض غير قادر على التكاثر وتوطيد نفسه فى نسيج الجذر بتجمعات مختلفة بنسبة ٨٧ ٪ أقل منه فى الكنترول . هذا يدل على وجود مقاومة مخلقة فى النباتات الناتجة من بذور معاملة .

لتأكيد هذه المعلومات السابقة ، أجريت تجارب معملية ، حيث نقعت بذور الشمام لمدة ٢٤ ساعة فى معلق جراثيم *Aspergillus niger* AN 27 ثم وضعت فى الرمل لمدة ستة أيام. غسلت جذور هذه البادرات (الفلقات المفتوحة) فى ماء جار للتخلص من جراثيم *A.niger* ثم وضعت هذه البادرات فى معلق جراثيم الفطر *F. oxysporum melonis* . تبين أن بادرات الشمام الناتجة من بذور معاملة بالمادة Kalisena SD أظهرت ٥٦ ٪ مقاومة للفطر الممرض دون تواجد فيزيائى للفطر *A. niger* فى منطقة الجذر . كانت هذه البادرات ذات محتوى أعلى من الـ Peroxidase ، Polyphenol oxidase ، Phenylalanine ammonialyase بنسبة ٥٨ ٪ ، ٢٦ ٪ ، ٢ ٪ بالترتيب . كذلك فإن محتوى اللجنين يكون أكبر فى أنسجة هذه النباتات. كانت نفس الظاهرة من المقاومة المستحثة مشاهدة فى محاصيل أخرى.

٢ - الأرز :

لوحظ أن بادرات الأرز الناتجة من حبوب معاملة بالمادة Kalisena SD تظهر نسبة ٣٠٪ خفضاً فى مرض لفحة الغمد بالمقارنة مع الكنترول . كذلك فإن المعاملة شجعت نمو الجذور والفروع وشجعت زيادة أعداد الاشطاءات وكذلك لوحظ زيادة وجود كل من الـ Peroxidase ، Polyphenol oxidase .

٣ - القرنبيط :

عند معاملة بذور القرنبيط بالمادة Kalisena SL وزراعتها فى حقول ملوثة بالفطر الممرض *Sclerotina sclerotiorum* ، فإن ذلك أدى إلى نجاح الشتلات فى مقاومة الفطر الممرض واستمرارها فى النمو وأعطاء محصول جيد ، حيث أن الفطر *A.niger* AN 27 يتطفل ويقتل الأجسام الحجرية للفطر الممرض ولا يسمح بتكوين أجسام حجرية جديدة فى التربة .

٤ - الخضار والفواكه :

إن مرض سقوط البادرات قبل أو بعد ظهورها فوق سطح التربة ، فى كثير من بادرات الخضار أو غراس أشجار الفاكهة ، هى من المشاكل الكبيرة المتسببة عن الفطر *Pythium aphanidermatum* والفطر *R.solani* . أمكن التغلب على هذه المشكلة عن طريق معاملة البذور والتربة بالمواد Kalisena SD و Kalisena SL . بينما المعاملة بالمادة الأولى تحفظ

البذور من العفن الميكروبى والسقوط قبل الظهور فوق سطح التربة ، فإن المعاملة بالمادة الثانية تجعل حبيبات الفطر المضاد *A.niger* تنتشر فى التربة وتحفظ النباتات عن مهاجمة الكائن الممرض فى الأطوار الأخيرة . إن معاملة التربة اجراء أساسى للحصول على وقايــة تصل ٩٥ ٪ ، هذا يعتمد على المدة الفاصلة بين معاملة التربة ووقت الزراعة وعلى درجات الحرارة المعينة . عند حرارة التربة ما بين ٢٧ – ٣٥ °م ، والمدة عشرة أيام قبل الزراعة تكون كافية وفعالة ، يجب أن تجرى معاملة التربة قبل الزراعة بمدة ١٥ – ٢٠ يوم .

٥ - البطاطس :

تبين من الدراسة الحقلية أن درنات البطاطس الناتجة من تقاوى غير معاملة بمركبات الفطر *A.niger* تظهر نسبة أصابة حوالى ٧٧ ٪ ، بالمقابل ١٠ ٪ فى النباتات الناتجة من درنات معاملة (إصابة بادرات) . فى هذه الحالة يكون الكائن الممرض موجوداً فى التقاوى وفى التربة . يحدث زيادة بنسبة ١٠ ٪ فى انتاج المحصول فى النباتات المعاملة ، وبالمثل فإنه قد تم الحصول على مقاومة بنسبة ٩٣ ٪ ضد مرض العفن الفحمى فى البطاطس المتسبب عن *Macrophomina phaseolina* الملوث للتربة ، بالمقابل كانت نسبة الأصابة ٨٧ ٪ فى الأراضى غير المعاملة . كذلك فإن معاملة التقاوى سببت زيادة فى انتاج محصول البطاطس فى التربة العادية بنسبة ١٨,٥ ٪ . كذلك فإن معاملة التربة بتركيبات Kalisena خفضت تجمعات الفطر *M.phaseolina* بنسبة ٧٩ ٪ . عند دراسة الرايزوسفير فى البطاطس وجد أن تجمعات الفطر *A.niger* تزداد بنسبة ١٥٠ ٪ فى نهاية موسم النمو تحت ظروف الحقل . يمكن لهذه التجمعات أن تنمو وتتكاثر جيداً على الرايزوبلين والرايزوسفير لنبات الحمص والقرنبيط . وبالتالى يمكن القول بأن *A.niger* AN 27 تشارك فى المنافسة فى منطقة الرايزوسفير ، وهذا دليل واضح على نجاح تواجد هذا الفطر المضاد فى منطقة الرايزوسفير .

٦ - الذرة :

عند معاملة حبوب الذرة بالمركب Kalisena SD فإنه خفض الأصابة بالفطر *Macrophomina* من ٣٠ ٪ إلى ٧ ٪ .

٧ - العصفر Safflower

يهاجم نبات العصفر بالفطر *F. oxysporum carthami* حيثما زرعت البذور . عند معاملة البذور بالمركب Kalisena SD بنسبة ٤ غرام/كيلو غرام بذور ، فهو يخفض حدوث

المرض من ٦١ ٪ فى الكنترول إلى ١٩ ٪ فى النباتات المعاملة . وكذلك فإنه يزيد من نسبة إنبات البذور وسلامة النباتات وزيادة الانتاج .

تشجيع نمو المحاصيل :

لقد ذكر سابقاً أن بادرات القرنبيط ، قد حصل لها وقاية من مرض سقوط البادرات المتسبب عن بعض أنواع الجنس *Pythium* والفطر *R.solani* . إن معاملة البذور والتربة بالمركب Kalisena يزيد نسبة البادرات الناجية من الاصابة بنسبة ٤٥ ٪ عند معاملة البذور وتصل النسبة ١٤١,٥ ٪ عند معاملة التربة ، هذا ما وجده Sen *et al* سنة ١٩٩٨ . وبالمثل حصل تشجيع فى نمو نبات Brinjal . وقد ذكرت زيادة المحصول فى كثير من النباتات التى ذكرناها سابقاً .

هذا أدى إلى القول بأن هناك مواد يفرزها الفطر *A.niger* AN 27 تؤدى إلى تشجيع نمو النبات . بعد التجارب المستمرة فى هذا الموضوع ، أمكن عزل مركبين مشجعين للنمو من هذا الفطر ، عرف هذين المركبين على أساس أن المركب الأول

2- Carboxy methyl 3-n hexyl maleic acid

والمركب الثانى 2- methylene -3- hexyl butanedioic acid

المركب الأول أكثر فعالية فى زيادة إنبات نمو بادرات القرنبيط ، بينما الثانى أكثر تشجيعاً لنمو الجذور . كان هذان المركبين فعالين على تركيز ٢,٥ جزء فى المليون ، وهما يشبهان مشجعات النمو الأخرى ، حيث أنها تكون ضارة إذا استعملت بتركيزات عالية .

حقائق عن الفطر Aspergillus niger

١ - لا يدخل هذا الفطر ضمن قائمة الأنواع السامة ، من الأنواع التابعة للجنس *Aspergillus* المسئولة عن تكوين سموم فطرية mycotoxins فى المواد الغذائية للإنسان والحيوان . تبين فى جميع التجارب أن هذا النوع لا يفرز سموم فطرية وقد ثبت ذلك بالتجارب على الفئران .

٢ - لقد ثبت بأن هذا الفطر يقلل من نسبة التلوث بالأفلاتوكسن ، وقد يعود ذلك إلى كون هذا الفطر يشارك فى تخفيض رقم الحموضة فى المادة التى يكون متواجد فيها ، وإلى المواد المثبطة التى ينتجها والتى تحطم الإفلاتوكسن .

obeikandl.com

٣ – لقد ثبت بأن مرض الـ Aspergillosis والذى يصيب الرئة فى الحيوانات ذات الدم الحار ، يعود فى معظم الحالات إلى الفطر *A. fumigatus* وبنسبة بسيطة إلى *A.flavus* وبنسبة أقل إلى كل من *A.niger* ، *A.nidulans* ، *A.terreus* . إن الحجوم الصغيرة التى تتميز بها الجراثيم الكونيدية للفطر *A. funigatus* يجعلها تخترق بسرعة (alveoli) للرئة أسرع منه فى الجراثيم الكونيدية الكبيرة ، كمـا فى *A.niger* و *A.flavus* .

٤ – لقد ذكر أن الفطر *A.niger* يسبب مرض لفحة البادرات فى القطن وفى الفول السودانى، إلا أن التجارب العديدة والدقيقة أثبتت أن نباتات القطن لا تظهر أية لفحة بادرات عند معاملة البذور بالمركب Kalisena SD بنسبة ٢ ، ٤ و ٦ ٪ بعد جمع المحصول وتهيئة التربة للمحصول القادم . لم يكن هناك أية اختلافات فى تجمعات *A.niger* (١–١,٥) × ١٠^{٧} وحدة تكوين مستعمرات/غرام تربة ، بين الحقول التى زرعت فيها البذور معاملة والتى زرعت فيها البذور غير معاملة . ولو أن الفطر *A.niger* يسبب لفحة بادرات فى الفول السودانى أو القطن ، لكانت المعاملة بالمركب Kalisena SD سبباً فى زيادة الإصابة ، وهذا لم يحدث مما يدل على أن الفطر بريئاً من هذه التهمة وبالتالى يمكن نقل السلالة AN 27 من قائمة الفطريات الممرضة إلى غير الممرضة .

٥ – هناك فوائد عملية زراعية وصناعية للفطر *A.niger* ، منها :

أ – يستخدم هذا الفطر تجارياً لانتاج حمض الستريك ، والذى يستعمل بكثره فى الطعام ، الكيماويات والصناعات الصيدلانية .

ب – بقايا الميسيليوم من الفطر *A.niger* الباقية من تصنيع حمض الستريك ، تستعمل فى تصنيع Chitosan ، وهذا الأخير يستعمل بشكل واسع فى الزراعة ، مستحضرات التجميل ، الطعام والصناعات الدوائية .

جـ – يستخدم الفطر *A.niger* تجارياً لانتاج إنزيمات مهمة فى التجارب الزراعية والصناعية.

د – يلعب الفطر دوراً مهماً فى إذابة الفوسفات .

هـ – للفطر دور فعال موجب فى علاقته مع فطريات الميكورهزا نوع arbuscular وبالتالى يشجع نمو النبات وقوته .

VI : الجنس Pythium Oligandrum

لقد ذكرت كفاءة الفطر المذكور أعلاه كعامل مقاومة حيوية لمقاومة أمراض سقوط البادرات وأمراض الجذور من قبل كثير من الباحثين . نظراً لأن هذا الفطر ينمو فى منطقة الرايزوسفير لمدى واسع من المحاصيل الزراعية الهامة ، ويستمر وجوده فى هذه المنطقة لمدة طويلة ، لذا اتجه الاهتمام لاستعماله فى المقاومة الحيوية ضد مدى واسع من أمراض الجذور.

يتطفل هذا الفطر على مدى واسع من الفطريات الممرضة للنبات ، وقد ثبت ذلك من تجارب عدة علماء ، حيث وجد أن هذا الفطر يتطفل على أنواع من *Pythium* وعلى الفطر *Verticillium dahliae* . يشمل تطفل هذا الفطر حصوله على المغذيات عن طريق الالتفاف واختراق وتحطيم خلية العائل (الفطر الذى يتطفل عليه) لا ينتج هذا الفطر مركبات مثبطة قابلة للانتشار ، ولكن يمكن أن ينتج مضادات حيوية متطايرة على بعض البيئات الغذائية والتى تثبط نمو بعض الفطريات .

أجريت دراسة لعديد من الفطريات ، لمعرفة مدى قابليتها أو مقاومتها للمهاجمة بهذا الفطر بعدة طرق مختلفة . تشمل هذه الطرق ، تقدير كمية النمو للفطر *P. oligandrum* فوق مستعمرات العائل فى المزرعة والالتفاف حول هيفات العائل ، وكذلك تقدير الخفض فى نشاط الإنزيمات المحللة للسيليلوز ، بواسطة فطريات العائل النامية على ورق ترشيح فى وجود الفطر المضاد . وكذلك تحديد معدلات تحطم السيتوبلازم فى هيفا العائل القابل للاصابة عند ملامسته للفطر المضاد ، وقياسات التركيبات التكاثرية لهذا الفطر المنتجة فى منطقة التفاعل .

تظهر نشاطات التطفل الفطرى عادة ، فى النموات الخضرية ثم يتبع ذلك تكوين التركيب التكاثرى الأنثوى ثم تكوين الجراثيم البيضية .

لقد ذكر أن الفطر *P. oligandrum* يشجع تفاعلات الدفاع فى جذور الطماطم ضد الاصابة بالفطر *F.oxysporum f. sp. radicis lycopersici* .

ثانياً : الأجناس البكتيـــرية

I : الجنس Pseudomonas

مقدمـــة

أفراد هذا الجنس بكتيريات على شكل عصيات مستقيمة ، إلى منحنية ، ذات أبعاد (٠,٥ – ١) × (١,٥ – ٤) ميكرون ، متحركة بواسطة سوط واحد أو أكثر . يوجد أنواع كثيرة من هذا الجنس شائعة كمستوطنات تربة أو الماء النقى أو مع الأحياء البحرية . معظم الأنواع الممرضة من هذا الجنس تصيب النبات ، قليل منها يصيب الحيوان أو الإنسان .

بعض الأنواع من هذا الجنس تسمى بكتيريا وميضة (لامعة) وذلك لأنه عند تنميتها على بيئة غذائية منخفضة المحتوى من الحديد ، تنتج صبغات لامعة منتشرة خضراء مصفرة . البعض الآخر لا ينتج صبغات لامعة ، وتشكل مجموعة بسيدوموناس عديمة الصبغات .

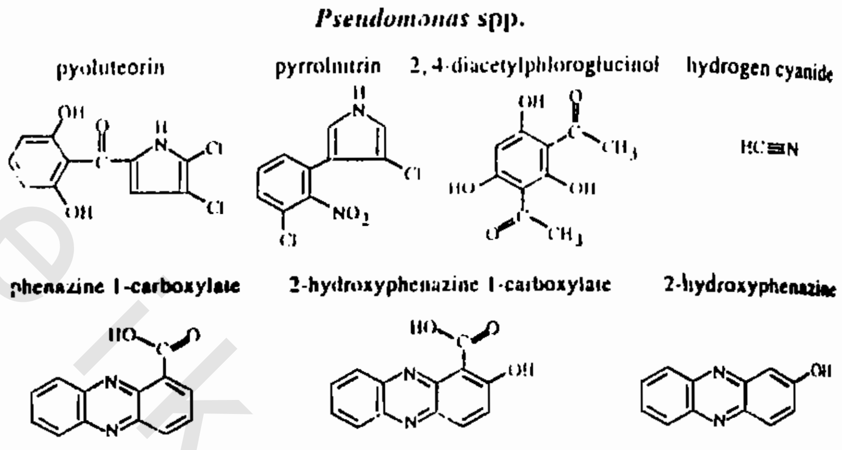
أهم الأنواع التى تدخل فى المقاومة الحيوية لأمراض النبات هى *Pseudomonas fluorescens* خاصة السلالة *CHAO* . والنوع الثانى *P.putida* والثالث *P.aevuginosa* .

السلالة *P.fluorescence CHAO*

هناك بعض السلالات من البكتيريا الوميضة *P.fluorescence* المستعمرة لجذور النبات، تستطيع أن تثبط أمراضاً نباتية مختلفة كامنة فى التربة ، وبالتالى تزيد النمو وكمية الانتاج فى المحاصيل الزراعية . يكون تثبيط الكائنات الممرضة التى تهاجم الجذور ، عن طريق انتاج مواد تسمى مضادات ميكروبات أو مركبات حديد مخلبية *Iron - Chelating metabolites* . هذه المواد يعتمد عليها فى الميكانيكية الأساسية فى تثبيط الأمراض بواسطة هذه البكتيريا . أهم المواد التى لها دور فعال فى تثبيط الأمراض هى :

1 - Phenazine -1- Carboxylic acid.
2 - Hydrogen Cyanide.
3 - 2,4- diacetyl phloroglucinol (Phl).
4 - Oomycin A.
5 - Pyoluteorin (Plt).
6 - Pyrrolnitrin.

يبين (شكل ١٣) الصيغ الكيميائية لبعض هذه المركبات :



شكل رقم (١٣) : بعض المركبات الكيماوية التى تفرزها أنواع مختلفة من البكتيريا الوميضة ، ولها دور فى تثبيط الأمراض النباتية .

أثناء نمو البكتيريا تحت ظروف محدودة فى كمية الحديد ، فإن البكتيريا الوميضة ينطلق منها وميض معين ، وتنتج سايدروفورز خضراء مصفرة يطلق عليها Pyover- (Pvd) dines أو تسمى Pseudobactins . السايدروفورز تجعل الحديد تركيباً معقداً مع التربة ؛ مما يجعله أقل توفراً للكائن الممرض . إن الدليل على دخول الـ (Pvd) فى تثبيط الأمراض ، قد جاء من الدراسات التى أجريت على تنقية الـ Pvd (مقارنة مع مركبات الحديد المخلبية والطفرات السالبة لـ Pvd) .

لقد استعمل المركب Pvd فى المقاومة الحيوية للفطر *Pythium sp* ، *Fusarium sp* والبكتيريا *Erwinia carotovore* . ومع ذلك فإنه فى عدد من سلالات *Pseudomonas* فإن الـ Pvd يظهر دوراً بسيطاً جداً فى تثبيط الأمراض . هناك معلومات قليلة معروفة عن السايدروفور Pyochelin (Pch) ، البادئ الأساسى له هو حمض السلسليك *(SA)* وهذا ينتج بواسطة بعض سلالات *Pseudomonas* . لقد ذكر بأن Pch يشارك فى مقاومة الفطر *Pythium* على نباتات الطماطم حيث تفرزه السلالة *P.aeruginosa* .

obeikandl.com

عزلت البكتيريا *P.fluorescens CHAO* ، أصلاً من تربة مثبطة لمرض العفن الأسود لجذور الدخان ، حيث وجد أنها تقى نباتات مختلفة من أمراض الجذور المتسببة عن أنواع مختلفة من الفطريات الممرضة النباتية . هناك نواتج تمثيل ثانوية عديدة تنتج بواسطة السلالة *CHAO* ، قد ثبت بأنها تلعب دوراً فى تثبيط المرض ، هذا ما وجده Ked & Defago سنة ١٩٦٩ ، أهم هذه النواتج هما HCN و Phl حيث يساعدان فى تثبيط العفن الأسود فى الدخان . كذلك وجد أن الـ Phl يدخل فى تثبيط المرض الماحق (Take all) فى القمح . أما المركب Plt فقد وجد أنه يساهم أيضاً ، فى وقاية بعض أنواع النباتات ، من الاصابة بمرض سقوط البادرات المفاجئ ، إلا أن هناك أدلة واضحة تبين أن دخول Pvd المذكور سابقاً فى المقاومة الحيوية لأمراض الجذور غير أكيد . كذلك فإن السلالة CHAO تنتج أيضاً Pch و SA ولكن دورهما فى تثبيط الأمراض لم يدرس جيداً .

إن الجين الكروى المنظم Global activator والذى يطلق عليه Gac A فى السلالة المذكورة سابقاً ، ينظم سلوك عديد من نواتج التمثيل الثانوية من HCN ، Phl و Plt وإنزيمات Tryptophan side-chain oxidase ، وأنزيم Protease و Phospholipase C . إن جين تنظيم الاستجابة Gac A وجين تطابق الإحساس Lem A هما مكونان مهمان فى الجنس *Pseudomonas* . إن الجين Gac A غير مطلوب لانتاج مركبات الحديد المخلبية فى السلالة CHAO ، ولكن فى الطفرات السالبة لانتاج Gac A من *P.fluorescens* سلالة BL 915 ، فإنها تفشل فى بناء عديد من عوامل المضادات الفطرية مثل HCN و Pyrrolnitrin ، وتضعف كفاءتها فى تثبيط الأمراض . أيضاً وبطريقة مماثلة فإن الطفرات السالبة لانتاج Gac A من السلالة CHAO، تكون مقدرتها على تثبيط عفن الجذر الأسود فى الدخان منخفضة بشدة بالمقارنة مع السلالة الأصلية موجبة الانتاج للجين Gac A .

كذلك فإن السلالة CHAO تثبط عديداً من الأمراض النباتية المختلفة المتسببة عن فطريات كامنة فى التربة . تنتج البكتيريا الوميضة مواد مضادة ميكروبية ذكرناها سابقاً ، والتى كلها ضرورية لتثبيط المرض ، إلا أن هناك مشتقات من السلالة CHAO ذات طفرة فى الجين الكروى المنظم (Gac A) والذى يعد غير قادر على انتاج Phl ، Plt ، HCN ، وهذا

يفشل فى وقاية نباتات ذات الفلقتين مثل Cress ، والخيار ضد مرض سقوط البادرات المتسبب عن الفطر *Pythium ultimum* . وبالمقابل فإن الطفرات السالبة لانتاج Gac A تستطيع أن تقى نباتات ذات الفلقة الواحدة وخاصة النجيليات مثل القمح والذرة من سقوط البادرات والذى يتسبب عن الفطر السابق نفسه . وتحفظ القمح من الإصابة بالمرض الماحق . وعلى أية حال فإن الطفرات السالبة فى انتاج Gac A ، تنتج كثيراً من Pch و Pvd . للحصول على تفسير أكبر للوقاية من المرض الذى يتم بواسطة السلالة السالبة لـ Gac A ، يجب دراسة الطفرات الثنائية السالبة فى انتاج Gac A و Pvdمثل السلالة CHA-496 التى أنشئت عن طريق الإحلال الجينى .

تنتج السلالة CHA-496 كميات كبيرة من Pch و Sal بالمقارنة مع السلالة CHAO، وتحفظ القمح من الإصابة بالفطر *P.ultimum* و *Gaeumannomyces graminis* مسبب المرض الماحق في القمح (جدول رقم ٨٧) ، بينما نبات الـ Cress والخيار لم يمكن حفظهما . إن إضافة كلوريد الحديديك يكبح انتاج Pch و Sal بواسطة السلالة CHA-496 فى المعمل ، ويفسد وقاية النبات فى عالم التربة الصغير .

يمكن القول باختصار أن وظيفة الجين Gac A ضرورية لوقاية نباتات ذوات الفلقتين ضد أمراض الجذور ، وليست ضرورية لنباتات الفلقة الواحدة خاصة النجيليات . كذلك يمكن القول بأن Pch و / أو Sal تكون داخلة فى مقدرة الطفرة المزدوجة السلبية فى انتاج Pvd و Gac A من السلالة CHAO لكبح أمراض جذور العائلة النجيلية .

جدول رقم (٨٧) : تأثير الحديد على تثبيط مرض سقوط البادرات المتسبب عن الفطر *P.ultimum* والمرض الماحق فى القمح المتسبب عن الفطر *G.g.tritici* بواسطة استعمال البكتيريا *P.fluorescens* سلالة CHAO ، وطفرة CHA-496 السالبة الانتاج لكل من Gac A و Pvd .

السلالة البكتيرية	الحديد	تقدير سقوط البادرات				تقدير المرض الماحق فى القمح			
		الوزن الطازج للنبات ملغ		٪ إصابة مرضية		الوزن الطازج للنبات ملغ		دليل المرض	
		بدون فطر	مع فطر	بدون فطر	مع فطر	بدون فطر	مع فطر	بدون فطر	مع فطر
كنترول	--	٦١٥	٣٣٣	صفر	٨٠	٦٢٧	٣٠٣	صفر	٢,٤
CHAO	--	٥٧٨	٤٤٩	صفر	٤٠	٦٢٣	٦٢٤	صفر	٠,٧
CHA-496	--	٥٩٧	٤٥٢	صفر	٣٥	٦٣٦	٥١٥	صفر	١,٧
كنترول	+	٥٧٨	٢٩٤	صفر	٨٠	٥٩٢	٣٢٦	صفر	٢,٣
CHAO	+	٥٨٠	٤١٩	صفر	٧٥	٥٨٥	٥٥٩	صفر	٠,٤
CHA-496	+	٥٧٠	٣٣٧	صفر	٧٠	٥٦٤	٣٩٤	صفر	٢,٠

ملاحظات على الجدول :

السلالة CHAO هى الأصلية أما CHA-496 فهى طفرة من السلالة الأصلية لا يوجد فيها Gac A ولا Pvd . كان يضاف الحديد على شكل كلوريد الحديديك إلى التركيز النهائى من ٩,٩ ميكو غرام حديد / g^{-1} من التربة الجافة . كان دليل المرض يقسم من صفر إلى ٤ ، حيث إن صفر بدون مرض ، أما ٤ تموت النباتات (Keet *et al* سنة ١٩٩٢) .

إن إدخال Cosmid pME 3090 إلى البكتيريا الوميضة سلالة CHAO التى هى عامل مقاومة حيوية جيد ، ضد أمراض نباتية مختلفة ، متسببة عن كائنات ممرضة كامنة فى التربة، يضاعف انتاج المضادات الحيوية الناتجة عن التفاعلات الأيضية بمقدار ٣ – ٥ أضعاف ، هذه المضادات هى Plt و Ph1 فى المعمل . السلالة CHAO/pME 3090 ، أيضاً تنتج كمية كبيرة من الـ Plt و Ph1 فى منطقة الرايزوسفير فى القمح المصاب أو غير

المصاب بالفطر *P.ultimum* . إن كفاءة المقاومة الحيوية ، للسلالة الأصلية والسلالة المركبة قد تم مقارنتهما باستعمال اتحادات من العائل – الكائن الممرض المختلفة فى نظام الجينوتايب . لا تتأثر وقاية القمح بالانتاج الكبير من المضادات الحيوية ، لا الوقاية ضد *P.ultimum* ولا ضد فطر المرض الماحق *G.g.tritici* ولا يتأثر نمو نبات القمح . وبالمقابل فإن السلالة المركبة CHAO/pME 3090 أظهرت زيادة كبيرة فى وقاية الخيار من مرض ذبول الفيوزاريوم وفطر *Phomopsis sclerotioides* بالمقارنة مع السلالة الأصلية *CHAO* . السلالات المنتجة كميات كبيرة من المضادات الحيوية ، تخفظ جذور نبات الدخان بشكل معنوى أفضل ضد الفطر *Thielaviopsis basicola* من السلالة الأصلية ، ولكن تخفض بشكل كبير نمو نباتات الدخان ، وتكون سامة أيضاً على نمو نباتات الذرة السكرية . عندما تنمو السلالة المركبة على بيئة King's Bagar أو مولت آجار ، فإنها تثبط جميع الكائنات الممرضة بشكل أفضل مما تعمله السلالة الأصلية *CHAO* . إن مادتى Plt و Phl المصنعتين كانتا سامتين لجميع الفطريات المختبرة . كانت نباتات الدخان ونباتات الذرة السكرية أكثر حساسية لتلك المادتين المصنعتين من نباتات الخيار والقمح . لا توجد علاقة بين حساسية الكائن الممرض للمضادات الحيوية المصنعة ، ودرجة تثبيط المرض بواسطة السلالة المركبة المذكورة سابقاً . وكذلك لا يوجد علاقة بين حساسية النبات وسمية السلالة المركبة . وبالتالى يمكن القول بأن الأنواع النباتية أفضل من الكائن الممرض فى تحديد فيما إذا اكانت Cos-mid pME 3090 فى *P.fluorescens* السلالة CHAO تؤدى إلى تحسين المقاومة الحيوية وتثبيط المرض (جدول رقم ٨٨) .

جدول رقم (٨٨) : درجة تثبيط الفطريات الممرضة النباتية بواسطة السلالتين البكتيريتين الأصلية والمركبة على أطباق الآجار .

الفطر المستعمل فى التجربة	التثبيط ملم على بيئة King's agar B		التثبيط ملم على بيئة مولت آجار	
	CHAO	CHAO/pME 3090	CHAO	CHAO/pME 3090
Pythium ultimum	٣,٢	١٠,٨	١,٧	٤,٢
G.graminis var. tritici	١٠,٤	١١,٣	١٣,٥	١٦,٨
Thielaviopsis basicola	--	--	١٠,٤	١٣,٦
Rhizoctonia solani	٣,٦	٥,٦	٣,٧	٥,٧
F.oxysporum f.sp cucumerinum	٠,٧	١,٢	٤,٥	٨,٨

ملاحظات على الجدول :

يقاس تثبيط نمو الفطر (ملم) بين حافة ميسيليوم الفطر والمستعمرة البكتيرية (--) الفطر ينمو ضعيف جداً .

أما النوع الثانى فهو *Pseudomonas cepacia* فقد تغير اسمه وأصبح *Burkholderia cepacia* . تقاوم هذه البكتيريا عديداً من الأمراض منها :

١ - سقوط بادرات الذرة قبل وبعد ظهورها فوق سطح التربة وذلك بالسلالة PHQM 100.

٢ - عفن الجلد النتن ، فى البصل ، بالسلالة المعزولة من جذور الذرة أما السلالة ATCC 25416 فهى تسبب المرض .

٣ - عفن جذور الفجل ، البسلة وعباد الشمس .

II : الجنس Bacillus

مقدمـــة

أفراد هذا الجنس بكتيريات عصوية هوائية أو غير هوائية اختيارياً . تكون جراثيم داخلية ، تتحرك عن طريق أسواط جسمية ، بعض الأنواع غير متحرك ، الجراثيم الداخلية بيضاوية أو كروية ، موجبة لصبغة غرام . بعض الأنواع مختلفة التفاعل مع هذه الصبغة ، موجبة لاختبار الكاتاليز . أنواع هذا الجنس غالبيتها رمية والبعض منها يصيب الحيوانات والحشرات مسبباً لها أمراضاً . النوع المثالى لهذا الجنس *Bacillus subtilis* .

أنواع هذا الجنس ، كمجموعة ، تبدى كثيراً من الفوائد أكثر من التى تبديها البكتيريا الوميضة أو البكتيريا الأخرى موجبة غرام ، وذلك عند استعمالها كمعاملة بذور (تلقيح بذور) لوقاية هذه البذور من الكائنات الممرضة التى تهاجم الجذور . تتميز هذه البكتيريا بأنها ذات سقف حياة طويل Longer shelf life وذلك لمقدرتها على تكوين جراثيم داخلية ونشاطها فى انتاج مضادات حيوية ذات مدى واسع التأثير .

من أكثر السلالات معرفة وذات أهمية كبيرة فى المقاومة الحيوية هى *B.subtilis A13* . عزل هذا الكائن منذ ٢٥ سنة فى استراليا (هذا ما ذكره Broadbent سنة ١٩٧١). اختيرت هذه السلالة على أساس مقدرتها التثبيطية فى المعمل لعديد من الكائنات الممرضة ، وتبين أيضاً أنها تشجع نمو كثير من النباتات مثل الحبوب ، الذرة الرفيعة ، الجزر وغيرها ، عدن استعمالها حقناً فى البذور .

هناك سلالة مهمة أخرى هى *B.subtilis GBO-3* وهى تباع الآن فى الولايات المتحدة تحت اسم Kodiak لمقاومة مرض سقوط البادرات أساساً فى القطن . إن السلالات ذات التأثير الواسع المدى مطلوبة فى المقاومة الحيوية ، وخاصة على بعض المحاصيل ، مثل القمح الذى يبذر مباشرة ، والذى عندئذ يمكن أن تهاجم جذوره مباشرة بأى من الفطريات التابعة للمجموعات Oomycetes ، Basidiomycotina ، Acomycotina . ولقد ذكر Faul و Camphell سنة ١٩٧٩ أن المرض الماحق فى القمح قد أمكن تثبيطه ، وأن هيفات الفطر المسبب للمرض وهو *G.graminis var. tritici* قد تحللت على جذور القمح المحقونة فى الحقل بمعلق من خلايا البكتيريا المسماه *B.cereus var mycoides* المعزولة أساساً من

التربة المحتوية مسبب المرض . ولكن هل تستطيع هذه البكتيريا مقاومة المرض الماحق فى الحقول الملوثة طبيعياً بالكائن الممرض عند إدخالها فى التربة على شكل معاملة بذور ؟؟ هذا غير واضح تماماً لغاية سنة ١٩٩٧ ، ولكن كثيراً من نتائج التجارب تبشر بالنجاح التام .

تعتبر أنواع الجنس *Bacillus* كمجموعة ، أقل فعالية وكفاءة فى استعمار منطقة الرايزوسفير بالمقارنة مع البكتيريا الوميضة . وعلى أية حال هناك أبحاث مستمرة ومتتالية تذكر قوائم طويلة من الكائنات التى تستعمر منطقة الرايزوسفير ، وتسبب أمراض الجذور ويمكن مقاومتها بأنواع *Bacillus* عند إ. خالها فى التربة كمعاملة بذور .

من تلك الأمثلة ما يلى :

١ – *B.cereus UW85* لمقاومة مرض سقوط البادرات فى البرسيم الحجازى وأمراض أخرى كثيرة .

٢ – *B.megaterium B153-2-2* لمقاومة مرض العفن الرايزوكتونى فى جذور فول الصويا.

٣ – *B.subtilis GBO-3* لمقاومة مرض سقوط البادرات فى القطن .

٤ – *B.mycoides* لمقاومة المرض الماحق فى القمح .

ذكرت بعض التجارب التى أجريت فى الصين ، نجاح استعمال أنواع من البكتيريا *Bacillus* كعوامل تسبب زيادة الانتاج ، عند إدخالها للتربة كمعاملة بذور ، على عديد من المحاصيل النباتية ، من ضمنها القمح والرز . ولقد ذكر Mavingui *et al* سنة ١٩٩٢ أن تجمعات *B.polymyxa* ، فى منطقة الرايزوسفير والرايزوبلين تختلف عن تلك الموجودة فى Bulk soil ، ومن الممكن عزل سلالات من أنواع *Bacillus* والتى يمكن أن تكون ذات كفاءة رايزوسفيرية فى القمح ، أو ذات نشاط فعال ضد مدى واسع من الكائنات الممرضة النباتية فى جذور القمح .

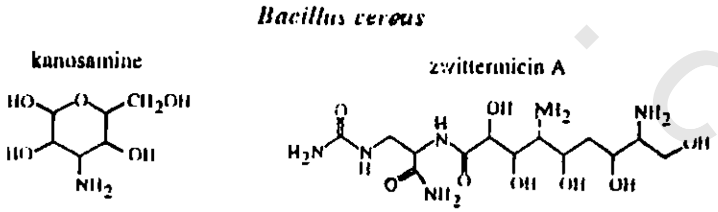
السلالة *B.cereus UW-85*

لهذه السلالة مدى واسع فى المقاومة الحيوية فى كثير من النباتات ، فهى تقى بادرات البرسيم الحجازى من الإصابة بمرض السقوط المتسبب عن *Phytophtora medicaginis* وبادرات الخيار من الإصابة بالفطر *P.nicotianae* ، وثمار الخيار من العفن المتسبب عن

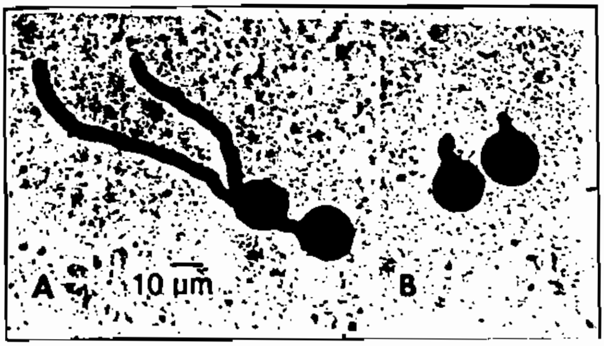
الفطر *Pythium aphanidermatum* ، والفول السودانى من الإصابة بالفطر *Sclerotinia minor* ، وهى أيضاً تزيد وتشجع نمو بكتيريا العقد الجذرية على فول الصويا ، وتسبب تغيرات حقيقية فى العلاقات البكتيرية على جذور فول الصويا .

إن تثبيط مرض سقوط بادرات البرسيم الحجازى فى المعمل ، يكون مترافقاً مع ظهور أجزاء من المضادات الحيوية خارجة من الخلية فى المزارع البكتيرية كاملة التجرثم فى السلالة المذكورة . وقد تبين أن هناك نوعين من المضادات الحيوية تفرزهما هذه السلالة فى المزرعة (شكل ١٤) .

إن المستعمرات والراشحات البكتيرية ، المأخوذة من المزارع البكتيرية للبكتيريا *B.cereus* UB-85 ، تثبط سقوط البادرات المذكورة سابقاً ، وذلك لأنها تفرز نوعين من المضادات الحيوية ، الأول يسمى Zwittermicin A (شكل ١٤) وهو Aminopoly مكون من ٣٩٦ Da والذى هو كايتونك على pH7 . أما الثانى فيتكون من Antibiotic-B ومن المتوقع أن يكون اسمه Kanosamine ، ويبدو أنه يتكون من Aminoglycoside يحتوى سكريات ثنائية . كلا النوعين من المضادات الحيوية يمنع المرض عن بادرات البرسيم الحجازى . عند تنقية النوع الأول ، فإنه يخفض استطالة أنابيب الإنبات الناتجة من حويصلات الفطر *P.medicaginis*(شكل ١٥) . أما المضاد الثانى فهو يسبب انتفاخاً فى أنبوبة الإنبات وبالتالى يفقدها المقدرة على إحداث المرض (جدول رقم ٨٩) .



شكل رقم (١٤) : التركيب الكيماوى للمضادات الحيوية، التى تفرزها البكتيريا *B.cereus* سلالة UB-85



شكل رقم (١٥) : تأثير المضاد الحيوى Zwittermicin A على إنبات حويصلات الفطر *Phytophthora medicaginis* بعد ساعتين من نقله إلى البيئة الغذائية المناسبة . A = غير معاملة . B = معاملة بكمية ١٠٠ ميكو غرام / مل من المضاد الحيوى ..

أما بالنسبة السلالات الناتجة من الطفرات باستعمال Tn 917 أو مادة Mitomycin ، وجد أنه من بين ٢٦٨٢ طفرة ، هناك خمس طفرات فقط ، تخفض تجمع المضادات الحيوية وذات نشاط عال فى تخفيض المرض ، ومن بين ١٧٠٠ طفرة هناك ثلاث طفرات ذات كفاءة منخفضة فى تخفيض المرض ، وتجمع المضادات الحيوية بكمية أقل من السلالة الأصلية . إن كمية المضادات الحيوية التى تتجمع بواسطة الطفرات ، تكون مرتبطة معنوياً مع مستوى تخفيض المرض . إن رضافة المضادات – سواء الأول أو الثانى – إلى نباتات البرسيم الحجازى ، المحقونة بمزرعة طفرة غير مثبطة للمرض ، يؤدى إلى تثبيط المرض . هذه النتائج تؤدى إلى القول بأن البكتيريا *B.cereus UW-85* تفرز نوعين من المضادات الحيوية ذات تأثير مطهر للفطريات Fungistatic ، والتى تشارك فى تثبيط مرض سقوط بادرات البرسيم الحجازى .

أما بالنسبة للطفرة *UW030* ففى جدول (رقم ٩٠) ، يتبين تأثير هذه الطفرة ، حيث أنه بدون إضافة المضاد الحيوى يكون تأثيرها على تخفيض المرض قليلاً جداً ، مما يدل على أنها لا تفرز أياً من المضادات الحيوية المذكورة سابقاً .

جدول رقم (٨٩) : تثبيط استطالة أنبوبة الإنبات ، للجراثيم الهدبية للفطر *P. medicaginis* بالمضادات الحيوية المفرزة من قبل البكتيريا المضادة .

المضاد الحيوى	ميكروميتر طول أنبوبة الإنبات تحت تأثير تركيزات المضادات الحيوية ميكوغرام/مل								
	صفر	٢٥	٥٠	٧٥	١٠٠	٢٥٠	٥٠٠	٧٥٠	١٠٠٠
Zwittermicin A	٣٤٠	٢٩٠	٢٤٠	٢١٠	١٤٠	--	--	--	--
Kanosamine (Antibiotic B)	٢٨٠	--	--	--	--	٢١٠	٢٠٨	٢٠٠	١٩٠

ملاحظات على الجدول :

كانت الجراثيم الهدبية تعامل لمدة ٤ ساعات بواحد من المضادات الحيوية .

جدول رقم (٩٠) : تأثير المضادات الحيوية على تثبيط مرض سقوط البادرات ، هذه المضادات مفرزة بواسطة الطفرة UW030 .

المعاملة	المضاد الحيوى المضاف ميكوغرام / أنبوبة اختيار	٪ النباتات السليمة
50 % TSB + Pm	--	٧
UW - 85 + Pm	--	٧٦
UW 030 + Pm	--	٠٩
UW 303 + Pm + Zm A	٢٠	٤٣
UW 030 + Pm + Zm A	١٠٠	٩٨
UW + Pm + Antibiotic B	٦٠	١٧

ملاحظات على الجدول :

كل أنبوبة اختبار تحتوى ٣ بذور ، والنتيجة مأخوذة من ٥٤ بادرة . الكنترول كلها سليمة ، Pm تعنى ٣×١٠^{٣} جرثومة هدبية من الفطر الممرض أضيفت إلى كل أنبوبة اختبار . Trypticase Soy broth = *TSB* ، *ZmA* = المضاد الحيوى الأول .

obeikandi.com

العزلتان *A13* و *AF-1*

العزلة *A13* ، تعتبر من العزلات المهمة التابعة للبكتيريا *B.subtilis* ، ولها دور مهم فى المقاومة الحيوية . وجد عند معاملة البذور بالعزلة A13 ، تزيد انتاجية كل من الجزر ، الشوفان ، الفول السودانى . تباع هذه العزلة فى السوق لمعاملة بذور الفول السودانى تحت الاسم التجارى Quantum-4000 . يعزى تحسن نمو النبات إلى تثبيط الكائنات الممرضة الرئيسية أو الثانوية ، ويمكن أيضاً أن يرجع إلى التشجيع المباشر لنمو النبات .

أما العزلة AF-1 ، كان أول عزل لها من الخلايا المتحللة للفطر *Sclerotium rolfsii* ولقد وجد أنها ذات قدرة تثبيطية فى المعمل لعديد من الكائنات الممرضة النباتية ، وتحسن النمو فى كثير من أنواع النباتات فى التربة المبخرة ببخار الماء الساخن والتربة الطبيعية . إن العزلة AF-1 تعتبر من أهم العزلات التابعة للبكتيريا *B.subtilis* ، ولقد ذكر بأنها تعمل على شكل رايزوبكتيريم مشجع لنمو النبات يسمى (ذكرنا ذلك سابقاً فى الفصل الأول) *PGPR* وكعامل مقاومة حيوية لمقاومة مرض العفن التاجى فى الفول السودانى ، وكذلك تشجع تكوين العقد الجذرية . إن بكترة البذور بالسلالة *AF-1* يسبب زيادة مستويات الفينولات الكلية وأنزيمات Lipoxygenase و Peroxidase ، Phenylalanine ammonisa فى البادرات المبكترة ، هذا يدل على إمكانية تدخل المقاومة المستحثة فى النبات العائل فى مقاومة الأمراض التى تستعمل فيها *AF-1* . إن مقدرة البكتريا *B.subtilis* على استعمار الجذور باستمرار ، والبقاء حية لمدة طويلة عند إدخالها فى منطقة الرايزوسفير / الرايزوبلين لنبات الفول السودانى ، له أهمية كبيرة ، وذلك لأنها يمكن أن تبقى حية لتكوين لقاح ناجح باستمرار تحت مدى واسع من الظروف .

عند حقن البكتيريا السلالة AF-1 النامية لمدة ست ساعات ، مجتمعة مع الفطر *Aspergillus niger* فى أوقات مختلفة وعلى فترات مختلفة ، لوحظ التصاق الخلايا البكتيرية مع الميسيليوم الفطرى ، وتتكاثر الخلايا البكتيرية فى مكانها وتستعمر سطح الميسيليوم . إن نمو السلالة *AF-1* يؤدى إلى تحطيم جدار الخلية ، ويتبع ذلك تحلل الخلية أما حقن السلالة *AF-1* فى بيئة محتوية *A.niger* بعد مدة ، صفر ، ٦ و ١٢ ساعة ، فإنه تثبط أكبر من ٩٠ ٪ من النمو الفطرى . أما عند حقنها فى البيئة بعد ١٨ و ٢٠ ساعة من بداية نمو الفطر ، فإن النمو الفطرى يثبط بنسبة ٧٠ ٪ و ٥٦ ٪ بالترتيب إذا قيس بالنسبة للوزن الجاف . أما فى المزارع المزدوجة Dual Culture ، فإن النمو الفطرى لم يكن

متبوعاً بتكوين جراثيم . التحضيرات الميسيليومية من الفطر *A.niger* عند إضافتها كمصدر أولي للكربون ، يدعم نمو البكتيريا *B.subtilis* مثل الزيادة التى تسببها إضافة مادة الشيتين . البروتين المستخلص والمرسب من راشح مزرعة *B.subtilis* سلالة *AF-1* له تأثير معنوى فى وقت نمو الفطر *A.niger* . أما بذور الفول السودانى المبكترة بالبكتيريا *AF-1* ، فإنها تظهر إنخفاضاً كبيراً فى حدوث مرض عفن التاج المتسبب عن الفطر *A.niger* عند زراعتها فى التربة الملوثة بالفطر ، هذا يؤدى إلى القول باحتمال الدور الذى تقوم به هذه البكتيريا فى المقاومة الحيوية للفطر *A.niger* .

مما سبق ذكره ، يتأكد لدينا أن العزلة *AF-1* عامل مقاومة حيوية ومشجع لنمو النبات *(PGPR)* ، وهذا ما أيده Podil *et al* سنة ١٩٩٥ ، وهى تثبط نمو الكائنات الفطرية الممرضة للنبات ، عن طريق إفراز مواد منتشرة ذات تأثير مطهر فطري شبيهة بالمضادات الحيوية. كذلك فإن السلالة *AF-1* عندها المقدرة على خلق مقاومة مستحثة فى العائل فى بعض أنواع البسلة والفول السودانى ، بالإضافة إلى تشجيع العقد الجذرية فى البسلة الهندية. تكون كفاءة المقاومة الحيوية فى هذه البكتيريا، عن طريق المواد الشبيهة بالمضادات الحيوية ، أو عن طريق المقاومة المستحثة فى النبات . كذلك هناك طريقة أخرى تعتمد عليها هذه البكتيريا فى المقاومة الحيوية ، وهى تحليل جدر خلايا الفطر الممرض ، كما يحدث فى مقاومة الفطر المسبب للمرض الماحق في القمح . إن مقدرة البكتيريا *AF-1* على استعمار الميسيليوم الفطرى وبالتالى تحطيم الجدار الخلوى ، يفسر على أن البكتيريا ترتبط مع السطح الفطرى وتتكاثر فى الموقع نفسه . تكون حساسية الفطر للبكتيريا عالية كلما صغر عمر المزرعة الفطرية ، وذلك لأن تثبيط نمو الجدار الخلوى يكون سهلاً فى الأطوار الأولى من النمو (جدول ٩١) . إن نمو البكتيريا *AF-1* على التحضيرات الميسيلومية للفطر *A.niger* يؤدى إلى القول بأن هذه السلالة عندها القابلية لانتاج Extracellular proteins *(EP)* والتى تتدخل فى النمو الفطرى . إن تحضيرات *EP* من مزارع *AF-1* النامية على الشيتين توقف نمو الفطر *A.niger* ، وهذا يؤدى إلى القول باحتمال تدخل مادة Chitin inducible proteins فى عملية وقف نمو الفطر المذكور .

لقد ذكر فى مراجع كثيرة ، أن الكائنات الحية الدقيقة القادرة على تحليل الكائنات الأخرى ، تلعب دوراً مهماً فى المقاومة الحيوية لأمراض النبات ، هذا التحليل يتم بواسطة عديدة من الإنزيمات ، من بينها الإنزيمات المحللة للشيتين ، وهذا يمكن تطبيقه على

البكتيريا *AF-1* والقول بأنها قادرة على تحليل الشيتين Chitinolysis ، وبهذه الطريقة تقوم بدور المقاومة الحيوية الفعال ضد الفطر *A.niger* .

جدول رقم (٩١) : تأثير البكتيريا *AF-1* على نمو الفطر *A.niger* فى المزارع المزدوجة السائلة .

المعاملة	الوزن الجاف ملغ بعد مدة التحضين بالساعات				
	صفر	٦	١٢	١٨	٢٤
بكتيريا + فطر	١٠	٢٠	٣٠	٩٠	١٤٠
فطر لوحده	٢٠٠	٢٢٠	٢٤	٢٨٠	٣٠٠

ملاحظات على الجدول :

كانت تستعمل البكتيريا بتركيز ١٠^{٦} وحدة تكوين مستعمرات/مل . أما الفطر فكان يحقن بتركيز ٣٠ جرثومة/مل من البيئة .

البكتيريا *B.subtilis Cot-1* فى الصوبات الضبابية

الصوبات الزجاجية الضبابية Fogging glasshouses ، هى عبارة عن صوبات زجاجية تزود النباتات التى تنمو فيها بالرطوبة العالية باستمرار . تستعمل الآن على نطاق واسع لإحداث تأقلم لوسائل التكاثر الدقيقة والحساسة فى النباتات ، مثل البادرات الناتجة من مزارع الأنسجة أو بادرات أبحاث الهندسة الوراثية . إن فترة ٣ – ٦ أسابيع من الرطوبة العالية، مطلوبة لمنع جفاف مزارع الأنسجة النباتية التى يتكشف منها نظام جذرى ضعيف ذو طبقات شمعية وكيوتكل قليلة ، وثغور غير منتظمة العمل خلال فترة النمو فى المعمل . إن كلا من التشوهات الفسيولوجية ، والظروف البيئية ، تزيد فى قابلية النباتات للإصابة بالكائنات المرضة الفطرية بعد نقلها إلى بيئة الـ Compost (مزارع من المواد العضوية المتحللة) . بإستثناء العفن الرمادى المتسبب عن الفطر *B.cinerea* والذى هو مستوطن الصوبات الزجاجية ، فإن دخول الكائنات الممرضة *Pythium* ، *Phytophthora* إلى الصوبات الزجاجية الضبابية ، يسبب فقداً كبيراً فى البادرات ، نتيجة الإصابة بمرض سقوط البادرات المتسبب عن الفطرين السابقين ، وهذا يسبب خسائر اقتصادية كبيرة فى شركات انتاج البادرات ، من المحاصيل المحسنة أو التى تخضع لتجارب الهندسة الوراثية أو مزارع النسج. كذلك فإن هذين الفطرين يسببان مشاكل كبيرة فى مراقد البذور . إن استعمال

obeikandi.com

المبيدات الفطرية Prophylactic ثلاث مرات فى الأسبوع ، هى الطريقة الفعالة فى حفظ النباتات ضد الإصابة بالفطريات فى الصوبات الزجاجية الضبابية ، ولكن هذه المبيدات لها مآخذ كبيرة ، مما أدى إلى الاتجاه إلى المقاومة الحيوية .

إن البكتيريا Cot-1 قادرة على منع حدوث مرض سقوط البادرات المتسبب عن كل من *Pythium* و *Phytophthora* فى كثير من النباتات مثل *Astilbe* ، *Photinia* ، *Hemer-ocallis* وبادرات الجنس *Brassica* تحت ظروف الرطوبة العالية جداً ، وفى الصوبات الزجاجية الضبابية . بالنسبة للـ *Photinia* فإن كفاءة المقاومة الحيوية ، تكون مشابهة للنتيجة المتحصل عليها من استعمال المبيد الفطرى Metalaxy ، عندما يكون تركيز الكائن المضاد المضاف للجذور أكبر من أو يساوى ٣ × ١٠^٥ وحدة تكوين مستعمرات / غرام طازج من الجذور Root Fresh weight (RFW) ، ويكون اللقاح الفطرى للكائن الممرض أقل من أو يساوى ١٠^٣ جرثومة بيضية / غرام بيت . تستعمر البكتيريا *Cot-1* النظام الجذرى المتكشف فى *Photinia* (micro plants) وبادرات *Brassica* النامية فى البيت *Peat* خلال ٢٨ يوماً فى الحقل فى فترة التأقلم فى الصوبات الزجاجية الضبابية . عند استعمال اللقاح ٤ × ١٠^٦ و ٣ × ١٠^٥ وحدة تكوين مستعمرات / غرام *RFW* فإن أعداد الجراثيم تبقى بين ١٠^٥ و ١٠^٦ وحدة تكوين مستعمرات / غرام *RFW* فى المقاطع الأكبر عمراً من النظام الجذرى ، وبين ١٠^٤ و ١٠^٥ وحدة تكوين مستعمرات على مقاطع قمة الجذر . إن استعمال البكتيريا Cot-1 يثبط قليلاً مرض سقوط البادرات على نبات *Daphne* . إن ظهور المقاومة الضعيفة فى جذور *Daphne* وتثبيط البكتيريا *Cot-1* بواسطة البيئة الميتة لنسج مزرعة *Daphne* يؤدى إلى القول بأن النشاط الضعيف للمقاومة الحيوية ، يكون بسبب انطلاق مركبات مثبطة بواسطة جذور *Daphne* (جدول رقم ٩٢ ، ٩٣) .

هناك كائنات حية دقيقة مضادة ، تستعمل فى مقاومة الأمراض فى الصوبات الزجاجية الضبابية ، منها :

1 - *Bacillus*
2 - *Enterobacter*
3 - *Pseudomonas*
4 - *Gliocladium*
5 - *Pythium*
6 - *Trichoderma*

obeikandl.com

بعض هذه الكائنات تستعمل على نطاق تجارى واسع مثل *B.subtilis* فى القطن وسلالات الفطر *Gliocladium* فى نباتات أخرى . وعلى أية حال فإن توفر هذه الكائنات المضادة يغطى الاحتياجات المطلوبة للوقاية بنسبة كبيرة ويساهم فى وقاية النباتات بصفة تجارية .

جدول رقم (٩٢) : تأثير استعمال البكتيريا B.subtilis Cot-1 على مرض سقوط البادرات فى بعض النباتات.

النبات	٪ سقوط بادرات بالفطر بثيم عند استعمال			٪ سقوط بادرات بالفطر فايتوفثورا عند استعمال			٪ سقوط بادرات من مخلوط فطريات ممرضة عند إستعمال		
	مبيد فطرى	بكتيريا	كنترول	مبيد فطرى	بكتيريا	كنترول	مبيد فطرى	بكتيريا	كنترول
Aster	٦	٢	٩٦	٢	٤	١٠٠	٧	١١	٩٥
Daphne	٤	٦٢	٨٦	٥	٧٤	٩٤	٦	٨٩	٩٥
Photinia	٤	٧	٩٩	٦	٣	٩٦	٣	٠٧	١٠٠
Hemerocallis	٧	١	٩٩	٩	٣	٧٢	٨	٠٤	٩٥
Brassica	١	٩	٩١	٧	٤	١٠٠	٥	١٧	١٠٠

ملاحظات على الجدول : المبيد الفطرى المستعمل Metalaxyl .

الجراثيم البيضية المستعملة $١٠^{٢}$ جرثومة/غم بيت. المخلوط يستعمل فيه ٥ × $١٠^{٢}$ جرثومة بيضية / غرام بيت .

جدول رقم (٩٣) : تأثير تركيز لقاح البكتيريا *B.subtilis* Cot-1 والفطر *Pythium ultimum* على النسبة المئوية لسقوط البادرات فى نبات *Photinia* .

المعاملة	الجرعة	لقاح الفطر *Pythium* (جرثومة بيضية/غرام بيت)			
		$١٠^{١}$	$١٠^{٢}$	$١٠^{٣}$	$١٠^{٤}$
مبيد ميتا ليكسايل	--	٦	٢	٦	٣
Cot - 1	$١٠^{٩}$	٦	٧	١٤	٦١
Cot - 1	$١٠^{٨}$	٢	٦	٥٤	٦٩
Cot - 1	$١٠^{٧}$	٢٠	٧٤	٩٧	٩٥
Cot - 1	$١٠^{٥}$	٩٥	٩٤	٩٦	٩٨
كنترول	--	٩٤	٩٩	٩٦	٩٨

obeikandl.com

III : الجنس Streptomyces

مقدمـــة

تتميز أفراد هذا الجنس ، بأن لها هيفات متفرعة رفيعة دون جدر عرضية ، يتراوح قطرها حوالى ٢٠,٥ ميكرون . عند اكتمال النمو ، يكون الميسيليوم الهوائى سلاسل جراثيم من ثلاثة إلى عدة جراثيم فى كل سلسلة . كذلك فإن أفراد هذا الجنس تكون مستعمراتها على البيئة الغذائية بحجم صغير (١ – ١٠ ملم) فى القطر . تكون المستعمرات فى البداية ذات سطح ناعم إلى حد ما ، ولكن بعد ذلك فإن ما ينتج من الميسيليوم الهوائى ، يمكن أن يظهر المستعمرة بشكل حبيبى أو مسحوقى أو مخملى . تكون الأنواع المتعددة والسلالات المتعددة من هذا الجنس صبغات مختلفة كثيراً ، والتى تلون الميسيليوم والمواد التى تنمو عليها، وكذلك فهى أيضاً تكون واحداً أو أكثر من المضادات الحيوية التى هى فعالة ضد البكتيريا ، الفطريات ، الطحالب ، البروتوزوا أو الأنسجة المتدرنة . كل أنواع هذا الجنس ساكنات تربة ، وموجبة لصبغة غرام .

من ناحية نموذجية ، فإن عامل المقاومة الحيوية ، للكائنات الممرضة ، النباتية الفطرية ، للجذور النباتية ، يجب أن يفرز مواد بكميات كافية ذات نشاط تضادى فى منطقة الرايزوسفير، وذلك لإحداث خفض معنوى فى أعراض أمراض الجذر . أجريت محاولات كثيرة للتحسين الوراثى لأنواع الجنس *Sreptomyces* للحصول على عامل مقاومة حيوية ضد كثير من مسببات الأمراض الفطرية ، وذلك لأن هذا الجنس عنده المقدرة على إفراز مضادات حيوية كبيرة ، ذات مدى واسع التأثير ، كمنتجات تمثيل ثانوية ، بالإضافة لإنزيمات مختلفة ذات تأثير محطم لجدار الخلية الفطرية ، مثل : السليوليز ، شيتينيز ، أمليز ، جلوكاينز ، هيميسليوليز وغيرها .

الدراسات المستفيضة التى أجريت على راشح مزارع الجنس *Streptomyces* لمقاومة أمراض المجموع الخضرى ، أعطت نتائج ، تبين أن حوالى تسعة من عشرة منتجات مختبرة تثبط على الأقل مرضاً واحداً فى الصوبا الزجاجية . لقد ذكر Raddi & Rao أن عزلات من *Streptomyces ambofaciens* كانت قادرة على مقاومة مرض سقوط بادرات الطماطم المتسبب عن الفطر بثيم ، ومرض ذبول الفيوزاريوم فى نباتات القطن فى الأراضى المحقونة صناعياً . هناك تثبيط مماثل لأمراض الجذور قد تم الحصول عليه ، من قبل كثير من

الباحثين وذلك باستعمال الـ *Streptomyces* علي شكل جراثيم أو ميسيليوم أو اتحادات من كليهما فى مراقد الإنبات فى الصوبات الزجاجية . ومن الجدير بالذكر أن Rothrock & Gottlieb سنة ١٩٨١ ، ذكرا أن هناك نتائج واضحة تثبت أن مقاومة عفن الجذر الرايزوكتونى فى نباتات البسلة باستعمال *S.hygroscopicus var. geldanus* فى تربة معقمة محقونة صناعياً ، تعتمد على تركيز المضاد الحيوى Geldanamycin (تقارب ٢٠ ميكوغرام / غرام تربة) الذى يفرزه الكائن المضاد المذكور فى التربة . هناك كثير من الدراسات قد أثبتت الأهمية الكمية والنوعية لأنواع الجنس *Streptomyces* فى منطقة الرايزوسفير ؛ حيث إنها من الممكن أن تعمل كمشجعات نمو نباتية ، بالإضافة إلى استعمار الجذر حتى لو كانت بتركيز ١٠^{٢} – ١٠^{٥} وحدة تكوين مستعمرات من بين السلالات البكتيرية فى منطقة رايزوسفير القمح .

لقد ثبت أن السلالة *WYEC-108* التابعة للجنس *Streptomyces lydicus* من أكثر السلالات فعالية وقوة ضد الفطر *Pythium ultimum* فى اختبارات الإطباق . وكما هو معروف فإن أنواع الجنس *Pythium* هى من بين أكثر الممرضات النباتية الكامنة فى التربة التى تسبب عفن البذور والجذر وسقوط البادرات ، قبل وبعد ظهورها فوق سطح التربة على مدى واسع من العوائل .

طرق فعل الجنس Streptomyces فى المقاومة الحيوية :

١ – يمكن أن يقوم الجنس *Streptomyces* بتثبيط نمو الجراثيم ، كما فى حالة الفطر *Helminthosporium sativum* ، أو عن طريق تحليل ميسيليوم الفطر الممرض .

٢ – عن طريق التطفل على الكائن الممرض .

٣ – عن طريق إفراز مضادات حيوية ، حيث إن *Streptomyces cinnamomeus* ، لديه كفاءة عالية فى انتاج المضادات الحيوية فى المعمل ، وتؤثر على كثير من الفطريات الممرضة للنبات . من أهم هذه المضادات Cinnamycin ، Polyenes ، وهى مركبات عديدة البروتين Polypeptide تنتج بواسطة *S.cinnamomeus f.sp.cinnamomeus*. كذلك فإن المضاد الحيوى Heptanes من أكثر المضادات فعالية حيث تفرزه أنواع أخرى من الجنس نفسه . أما النوع *S.hygroscopicus var geldanus* فإنه ينتج المضاد الحيوى Geldanamycin ذو تأثير فعال ضد عديد من الممرضات النباتية الفطرية.

٤ – يمكن أن يكون التأثير الحيوى عن طريق مواد مضادة متطايرة . ذكر أن هناك بعض الأنواع من هذا الجنس ، تفرز مركبات ذات تأثير مضاد فطرى ، هذه المركبات هى :

1 - Hemipyocianine

2 - Chlororaphin

3 - Phenazine - A

4 - Carboxylic acid

5 - Phenazine - B

الفطريات التى تقاوم حيوياً باستعمال أنواع الجنس *Streptomyces*

١ – *Fusarium oxysporum f. sp. cubens* على الموز معاملة فسائل . ويقاوم مرض فيوزاريوم على الدخان (جدول ٩٤) .

٢ – *Pythium sp.* مسبب عفن جذور نباتات قصب السكر والذرة ، معاملة عقل وبذور .

٣ – *Rhizoctonia solani* فى المعمل والحقل .

٤ – *Phoma sp.* على كثير من عوائله ، معاملة بذور .

٥ – *Stemphyllium sp.* على كثير من عوائله معاملة بذور .

٦ – كذلك وجد أن غمر البذور أو الجذور أو البادرات فى معلق متجانس من *S.ochracei scleroticus* يقاوم بنجاح ذبول الفيرتسليم فى القطن بنسبة ٧٣,٩ ٪ ، وفى الفلفل ٧١,٤ ٪ ، وفى الباذنجان ٧٤ ٪ ، وذبول فيوزاريوم الطماطم بنسبة ٧٣,١ ٪ ، ذبول البطيخ ٨٦,٤ ٪ ، ذبول الشمام ٨٥,٧ ٪ ، ذبول الخيار ٩٢,٩ ٪ .

٧ – *Phytophthora sp* فى الفلفل ، يقاوم بنسبة ٧٣,٣ ٪ وفى الطماطم بنسبة ٧١,٤٪.

٨ – ذبول *Colletotrichum sp* فى الباذنجان بنسبة ٧٨,٣ ٪ .

٩ – عفن الجذور المتسبب عن الفطر *R. solani* يقاوم باستعمال *S.hygroscopicus var. geldanus* فى تربة معقمة ، إذا حقنت بالكائن المضاد قبل ساعتين من حقنها بالفطر الممرض .

obeikandi.com

١٠- كذلك وجد أن تعفير البذور بأنواع من الجنس *Streptomyces* ، يمنع أو يخفض أمراض عفن الجذور فى الصليبيات المتسبب عن *Alternaria brassicola* والفطر *R.solani* . ومن ناحية أخرى وجد أن رش البيت *Peat* بمعلق من أنواع *Strepto-myces* يخفض مرض عفن الجذر فى الخيار المتسبب عن الفطر *Pythium* وفى حالات كثيرة يمنع ذبول الفيوزاريوم فى القرنفل .

١١- لقد وجد Tahvonen سنة ١٩٨٨ أن استعمال تحضيرات من المسحوق الجاف من أنواع *Streptomyces* بتركيز ٥-١٥ غرام/kg^{-1} فى تعفير البذور و ٠,١-غرام/١٠م٢ ، فعالة فى مقاومة أمراض جذور الخيار وذبول القرنفل . كذلك وجد أن تعفير حبوب القمح والشعير بالتحضيرات المسحوقية من *S.griseovirides* يكون ناجحاً ضد الأمراض ، التى تصيب الجذور والمتسببة عن أنواع فيوزاريوم و *Bipolaris sorokiniana* فى تجارب الصوبا الزجاجية ، ووجد أيضاً أن ٣-١٥ غراماً من التحضيرات المسحوقية/كغم بذور تكون فعالة فى خفض عفن الجذر ، يبقى التأثير الفعال على البذور المعاملة ثابتاً لمدة ٢-٤ أسابيع عندما تخزن البذور المعاملة فى ظروف جافة . يبين (جدول ٩٥) قائمة بالفطريات التى تقاومها أنواع مختلفة من الجنس *Streptomyces* .

تأثيرات الجنس *streptomyces* على النبات العائل :

إن طرق مقاومة أمراض النبات المختلفة ، بما فيها استعمال عوامل المقاومة الحيوية ، تسبب زيادة فى نمو النبات ، هذه الزيادة ، تعزى إلى التأثير المباشر المرافق لمقاومة الكائنات الممرضة النباتية .

ذكر كثير من العلماء أن نمو النبات العائل يكون أفضل فى غياب الكائنات الحية الدقيقة ، بينما ذكرت مجموعة أخرى من العلماء بأن نمو النبات العائل يكون بالمعدل نفسه سواء فى غياب أو وجود الكائنات الحية الدقيقة غير الممرضة . فى حين أن مجموعة أخرى ذكرت بأن نمو النبات يكون أفضل فى وجود الكائنات الحية الدقيقة غير الممرضة .

لقد وجد أن بعض نباتات الذرة ، التى تنمو مترافقة مع الفطر *Pythium graminico-la* فى تربة معاملة بمضادات حيوية غير نقية ، من الجنس *Streptomyces* ، كانت أطول وذات جذور أعمق فى التربة ، من تلك النامية فى تربة غير معاملة والتى تحتوى

P.graminicole فقط. كذلك وجد أن معاملة نباتات الموز بأنواع من الأكتينومايستس مضادة أو ضعيفة التضاد فى التربة نفسها التى تنمو فيها النباتات ، تؤدى إلى زيادة كبيرة فى النمو أكثر من تلك المعاملة بالأكتينومايستس شديدة التضاد المأخوذة من تربة أخرى . كذلك وجد أن بعض الكائنات المضادة أو راشح مستعمراتها يكون له تأثير سام على النبات ، ويثبط إنبات البذور أو نمو البادرات أو نمو النبات الكامل ، فى بعض النباتات .

لقد ذكر Turhan سنة ١٩٨١ أن السلالة C - 2 - 9 من الجنس *Streptomyces* لم يكن لها تأثير ضار على إنبات البذور أو نمو البادرات أو النباتات المعاملة بها ، بل بالعكس فهى تحسن مظهر النبات ويكون انتاج الثمار أفضل منه فى الكنترول . كذلك وجد أن بعض أنواع الجنس *Streptomyces* تخفض حدوث الأضرار لحبوب الشعير وتزيد النمو وتسبب زيادة الوزن الطازج للنباتات الناتجة من بذور غير مصابة بالمرض .

إن استعمال مادة Mycostop وهى تحضير مسحوقى تجارى من الجنس *Streptomyces* ، لا تزيد فى انتاج الشعير فقط ، بل تزيد فى انتاج القمح زيادة معنوية ، وهى تزيد بشكل عام ، إنتاج النجيليات ، الخيار والقرنفل فى التجارب الحقلية بنسب تتراوح من ١٠ – ٣٠ ٪ . أما فى نباتات الخس زاد الانتاج ٣٠ ٪ وانخفضت الإصابة بالفطر الممرض *Botrytis cinerea* بنسبة ٧٠ ٪ ، وانخفضت الإصابة بالفطر *R.solani* بنسبة ٦٠٪ . يمكن القول بشكل عام أن التحضيرات المختلفة من الجنس *Streptomyces* المستعملة فى المقاومة الحيوية ، عدا عن أنها تقاوم كثيراً من الأمراض الاقتصادية المهمة ، فهى تسبب زيادة أو تحسناً فى نمو وانتاج معظم النباتات التى تعامل بها ، بغض النظر عن النوع البكتيرى المستعمل فى المقاومة أو الفطر الممرض .

جدول رقم (٩٤) : التأثير التثبيطى لأنواع من *Streptomyces* النامية على بيئات مختلفة ضد الفطر *Fusarium tabacium* .

نوع الكائن المضاد	ملم تثبيط فى البيئات الغذائية المختلفة							
	نترات + نشا		فول الصويا		جلايسيرول أسبرجين		مستخلص السمك	
	جافة	سائلة	جافة	سائلة	جافة	سائلة	جافة	سائلة
S.cyanoviridis	١٤	٣٨	١٣	٤٧	١٧	٣٥	١٧	٣٨
S.murinus	١٢	٣٢	١١	٥١	١٣	٢٨	١١	٢٥
S.griseoplanus	١٤	٣٧	١٢	٤٦	٢٤	٣٥	٢١	٤٦

obeikandi.com

جدول رقم (٩٥) : التأثير المثبط لأنواع من *Streptomyces* النامية على بيئة (نشا - نتريت) ضد فطريات ممرضة مختلفة .

الكائن الممرض	التثبيط ملم للكائن الممرض عند استعمال أنواع مختلفة من ستربتومايسس		
	S.cyanovirides	*S.murimus*	*S.griseoplanus*
Aspergillus niger	١٢	صفر	١٧
A.Fumigatus	٢٠	١٦	٢٣
Microsporum gypsium	صفر	١٣	١٦
Macrophomina phaseoli	٢٨	٢٤	٣٠
Alternaria alternata	٢٦	١٩	٣٢
Drechslera spp	٢١	صفر	٣٥
Fusarium solani	١٦	١٨	٢٦
F.moniliforme	١٤	١٤	١٨
F. tabacinum	٣٨	٣٢	٣٧
Candida albicans	صفر	صفر	صفر
C.pseudotropocales	صفر	صفر	صفر
Cryptococcus neoformans	صفر	صفر	صفر
Trichosporon beigilli	صفر	صفر	صفر
Saccharomyces cereviseae	صفر	صفر	صفر

كفاءة السلالة *WYEC-108* فى المقاومة الحيوية لاعفان البذور والجذور

تظهر السلالة *Streptomyces lydicus WYEC - 108* قوة تضاد فى المعمل ، ضد الكائنات الممرضة النباتية الفطرية ، فى اختبارات الأطباق ، وذلك عن طريق انتاج مضادات حيوية خارج الخلية ناتجة عن عمليات الـ Metabolites . عند زراعة كل من *Pythium ultimum* أو *R.solani* فى بيئة سائلة مع هذه السلالة ، يلاحظ تثبيط نمو الفطريات . أما عند استعمال جراثيم هذه السلالة أو الميسيليوم المأخوذ منها ، على شكل غلاف لبذور البسلة ، فإن هذا يؤدى إلى حفظ البذور من الإصابة بالفطر *P.ultimum* عند زراعة البسلة فى التربة الغنية بالجراثيم البيضية . بينما جميع البذور (١٠٠ ٪) غير المغلفة بأى أجزاء من تلك السلالة (وسائل المقاومة الحيوية) تصاب بالفطر نفسه خلال ٤٨ ساعة بعد الإنبات ،

أقل من ٣٥ ٪ من البذور المغلفة بوسائل المقاومة الحيوية ظهرت فيها الإصابة. أما عند زراعة البذور المغلفة بوسائل المقاومة الحيوية فى التربة ، قبل إدخال الكائن الممرض إليها بمدة ٢٤ ساعة أو بعد إدخال الكائن الممرض إليها بمدة ٩٦ ساعة ، فإن أقل من ٢٥٪ من البذور النابتة تصبح مصابة (جدولا ٩٦ ، ٩٧) .

الدراسات التى أجريت على مراقد الإنبات، أجريت أيضاً لاختبار التأثير على نمو الإنبات ومقدرة التثبيط التى تظهرها السلالة موضوع الدراسة ، على عفن البذور والجذور المتسبب عن الفطر *Pythium* . عندما تضاف هذه السلالة فى تشكيل يتكون من (جراثيم الكائن المضاد + بيت موص + رمل) بتركيز 10^{8} وحدة تكوين مستعمرات لكل غرام إلى تربة غير معقمة أو تربة معقمة ومحقونة بالفطر الممرض *P.ultimum* المزروعة ببذور البسلة أو القطن، أن هناك زيادة معنوية فى متوسط عدد النباتات السليمة ، وفى طول ووزن النبات فى كلتا الحالتين ، بالمقارنة مع نباتات الكنترول غير المعاملة والمزروعة فى أراضٍ مماثلة (جدول ٩٩) .

أثبتت الدراسات الحقلية أن هيفات أفراد السلالة *WYEC-108* عندها القدرة على الاستعمار والانتقال إلى أسفل مع الجذر كلما استطال . تحتاج هذه السلالة لفترة أطول من ٣٠ يوماً حتى يمكن للتجمعات البكتيرية أن تستعمر الجذور المستطيلة الناتجة عن البذور النابتة ، وتبقى ثابتة على تركيز 10^{5} وحدة تكوين مستعمرات/غرام فى منطقة الرايزوسفير ، بينما تنخفض التجمعات فى غير منطقة الرايزوسفير لهذه السلالة على الأقل بنسبة ١٠٠ ضعف (من 10^{5} إلى 10^{3}) أو أقل وحدة تكوين مستعمرات/غرام . جدول ٩٨ .

إن ثبات تجمعات السلالة *WYEC-108* المحضنة على حرارة ٢٥ °م فى تلك التشكيلات أو فى تربة معقمة أو غير معقمة لم يمكن تحديدها . فى الظروف الثلاثة فإن تجمعات السلالة المذكورة تبقى ثابتة فى حجمها لمدة ٩٠ يوماً أو أكثر . عند وضع بذور كل من البسلة ، القطن ، والذرة السكرية فى تربة غير معقمة أو معقمة محتوية 10^{6} وحدة تكوين مستعمرات أو أكثر من السلالة نفسها/غرام ، فإنها تستعمر الجذور المستطيلة . بعد فترة نمو تصل أسبوع واحد فإن تجمعات هذه السلالة ذات تركيز 10^{5} وحدة تكوين مستعمرات/غرام وزن رطب من الجذور ، وجدت أنها لا تزال على جذور البسلة فى التربة المعقمة المعاملة ، وفى الظروف المعاكسة 10^{4} وحدة تكوين مستعمرات/غرام وجدت فى التربة غير المعقمة المعاملة .

أجريت دراسات أخرى على التفاعل فى المعمل بين السلالة المذكورة والفطر

P.ultimum ، حيث مزجت ميسيليومات السلالة المذكورة مع الجراثيم البيضية للفطر المذكور ، فى الآجار ، والذى بعدئذ استعمل على شكل غشاء لتغليف شريحة overslips . بعد ستة ساعات من تحضين هذه المستحضرات فى أوعية الصبغ Staining jars على حرارة ٢٥ °م ، يحدث تفاعل مباشر بين الكائنات الحية الدقيقة ، يمكن ملاحظته بالميكروسكوب الإلكترونى . أظهرت النتائج أن السلالة *WYEC-108* كانت قادرة ، ليس فقط، على تحطيم الجراثيم البيضية النابتة للفطر *P.ultimum* ، ولكنها أيضاً قادرة على تحطيم جدر خلايا الهيفات الفطرية . تظهر هذه النتائج أن هذه السلالة ذات كفاءة عالية فى المقاومة الحيوية ، يمكن استعمالها فى مقاومة أمراض عفن الجذور والبذور المتسببة عن جنس *Pythium* .

جدول رقم (٩٦) : تأثير معاملة بذور البسلة والقطن بالسلالة *WYEC-108* من البكتيريا ستربتومايسز، على مرض عفن البذور ، سقوط البادرات ، الطول ، الوزن الطازج ، لنباتات البسلة والقطن المزروعة فى تربة محقونة صناعياً بالفطر *P.ultimum* سلالة P-8 .

المعاملة	بسلة			قطن		
	٪ نباتات مريضة	سم طول النبات	غ وزن النبات الرطب	٪ نباتات مريضة	سم طول النبات	غ وزن النبات الرطب
تربة معقمة	—	—	—	—	—	—
كنترول (دون أى إضافات)	١٤,٣	١٨,١	٨٩	١٧,٥	١٨,٨	١٣٣
تركيز منخفض من الفطر الممرض	٨٥,٧	١,١٤	٠٩	٩٢,٩	٣,٥٧	١٩
تركيز مرتفع من الفطر الممرض	٩٦,٤	٠,٢٩	٠٣	٩٦,٤	٠,٣	١
تركيز منخفض من الفطر + سلالة البكتيريا	٢٨,٥	١١,٦	٩٨	٤٦,٤	١٣,٨	٧١
تركيز مرتفع من الفطر + سلالة البكتيريا	٣٥,٧	١٣,٣	١٢٩	٣٥,٧	١٦,٤	٧٨
كنترول (سلالة البكتيريا)	٨,٢٦	١٩	١٥٠	٧,١٥	١٧,٣	٧٩
تربة غير معقمة	—	—	—	—	—	—
كنترول (دون أى إضافات)	٢١,٤	١٦	٧٣	٨,٢٥	١٩,٧	٩٦
تركيز منخفض من الفطر الممرض	٦٧,٨	٣,٥٨	٢٦	٨,٤٧	٣,٨٧	١٧
تركيز مرتفع من الفطر الممرض	٧٨,٦	٠,٧٤	١٢	٩٦,٤	١,٨٢	١٢
تركيز منخفض من الفطر الممرض + سلالة البكتيريا	٣٢,١	١٠,١	٦٥	٣٢,١	١٢,٨	٦٤
تركيز مرتفع من الفطر الممرض + سلالة البكتيريا	٤٦,٦	٧,٦٥	٤٤	٣٩,٢	٨,٣٧	٤١
كنترول (سلالة البكتيريا)	٨,٤٦	١٨,٩	٩٢	٢١,٤	١٦,٦	٦٢

obeikandl.com

ملاحظات على الجدول :

التركيز المنخفض من الفطر الممرض = التربة معاملة بنسبة ١٤ جرثومة بيضية/مل . التركيز المرتفع من الفطر = التربة معاملة بنسبة ٥٠٠ جرثومة بيضية/مل . النباتات المريضة = تشمل عفن البذور وسقوط البادرات بعد وقبل ظهورها فوق سطح التربة . السلالة البكتيرية تضاف بتركيز ١٠^{٨} وحدة تكوين مستعمرات/غرام تربة .

جدول رقم (٩٧) : الاستعمال الأولى للسلالة WYEC-108 على جذور البسلة ، القطن والذرة فى تربة معقمة وغير معقمة .

نوع التربة	متوسط العدد من وحدات تكوين مستعمرات/غم وزن رطب من الجذر SD		
	البسلة	القطن	الذرة السكرية
معقمة	٣,٠١ × ١٠^{٥} ± ٢,٢٢ × ١٠^{٥}	٢,٤٧ × ١٠^{٥} ± ٢,٧٤ × ١٠^{٤}	٦,٧٧ × ١٠^{٣} ± ٣,٧٥ × ١٠^{٣}
غير معقمة	٩,٧٨ × ١٠^{٤} ± ٦,٢٩ × ١٠^{٤}	٥,٢ × ١٠^{٥} ± ٤ × ١٠^{٣}	٣ × ١٠^{٣} ± ١,٥ × ١٠^{٣}

ملاحظات على الجدول :

كان يؤخذ المتوسط من خمس عينات . عند الزراعة كانت تجمعات *WYEC-108* = ١ × ١٠^{٧} فى التربة المعقمة و ١,٦ × ١٠^{٥} وحدة تكوين مستعمرات / غرام تربة غير معقمة . كانت تؤخذ عينات الجذور بعد سبعة أيام من الإنبات .

جدول رقم (٩٨) : التضاد الحيوى فى المعمل الذى تظهره السلالة WYEC-108 .

الكائن الممرض	البيئة الغذائية	التضاد بعد		القدرة على الحياة بعد خمسة أيام
		٢ يوم	٥ يوم	
Pythium ultinum wheat 1	PDA	+++	+++	–
P.ultimum P8	PDA	+++	+++	–
P.ultimum P9	PDA	+++	+++	–
Aphanomyces euteiches Bob-F	CMA	+	+++	–
A.euteiches A6	CMA	++	+++	–
Fusarium oxysporum	PDA	-	++	+
F.solani f.sp.pisi	PDA	-	+	+
F.solani f.sp. psis F6	PDA	-	++	+
Rhizoctonia solani	PDA	+	++	+
R.solani R4	V-8A	+	++	+
Phymatotrichum omnivorum	PDA	+	++	+

obeikandl.com

ملاحظات على الجدول :

دليل التضاد +++ تعنى أكبر من ٢ سم ، ++ تعنى أقل من ٢ سم وأكبر من ١ سم + تعنى أصغر من ١ سم وأكبر من نصف سم ، (−) تعنى أقل من نصف سم .

دليل القدرة على البقاء − تعنى دون نمو ، + تعنى نمو .

CMA = مجروش الذرة + آجار . V - 8A = عصير طماطم + آجار ، ٢٥٠ غرام عصير طماطم + ٢,٥ غرام كربونات كالسيوم توضع فى ألة الطرد المركزى على ٣٠٠٠ لفة فى الدقيقة لمدة ١٥ دقيقة ثم يؤخذ العائم ليكمل إلى لتر من بيئة V-8A

جدول رقم (٩٩) : مقدرة السلالة WYEC-108 على تثبيط النمو الميسيليومى للفطر الممرض فى بيئة سائلة مع مصادر مختلفة من السكر كمصدر للكربون .

نوع السكر فى البيئة	متوسط الوزن الجاف (ملغ) ± SD من الفطريات الممرضة					
	P.ultimum P8		*P.ultimum* P9		*R.solani* x 5 Fs	
	كنترول	+ سلالة البكتيريا	كنترول	+ سلالة البكتيريا	كنترول	+ سلالة البكتيريا
بدون سكر مضاف	٢٩	١٩,٥	٤٠	٢٢	٣٤,٥	٣٠,٤
جلوكوز	٤٠,٦	١٨	٢٨,٣	١٩,٩	٢٧,٦	١٩,٥
سوربوز − ل	٢٦,٤	١٦,٣	٣٩,٦	١١,٨	٤٤,١	٢٤,٩
سكروز	٢٨,٤	٢٨,٢	٢٢,٥	٣١,٦	٣٨	٤٠,٥

obeikandl.com

IV : السلالة K-1026 من الجنس Agrobacterium المهندسة وراثياً ودورها فى مقاومة مرض التدرن التاجى

مقدمـــة

يعتبر مرض التدرن التاجى Crown gall من الأمراض واسعة الانتشار عالمياً ، ويتسبب عن أنواع من الجنس *Agrobacterium* ، وهو المسئول عن الخسائر التى تحدث فى المشاتل وفى الحقول بين كثير من أنواع النباتات . إن المقاومة الحيوية الناجحة لمرض التدرن التاجى باستعمال السلالة غير الممرضة K84 من الجنس أجروبكتيريم ، قد طبقت عملياً على مستوى تجارى لمدة ٣٠ سنة تقريباً . مع أن هناك استعمال عالمى لهذه البكتيريا ، إلا أن هناك أعداداً من الأبحاث أثبتت أن هناك أخطاراً كبيرة وأثاراً ضارة غير متوقعة نتيجة استعمالها . مع كل ذلك ، فإن نظام المقاومة الحيوية باستعمال السلالة K84 ، قد يكون أحياناً أكثر العوامل الحيوية المتوفرة حالياً نجاحاً لمقاومة أمراض التدرن التاجي البكتيرية فى النباتات . وعلى أية حال فإن الجيل الثانى من السلالة K84 قد تم الحصول عليه بالهندسة الوراثية ، وذلـك للحصول على المقاومة الحيوية الآمنة للتدرن التاجى . هذه السلالة كانت تسمى K-1026 وأصبحت أول كائن حى دقيق مهندس (GEM) مسجل ، ليكون مصرح له كمبيد آفات يستعمل تجارياً . هناك أعداداً كثيرة من الدراسات قد أنجزت لمقارنة K-1026 مع أبويها السلالة K-84 ، ولكن لغاية سنة ٢٠٠٠ لا تزال المعلومات المتوفرة والمكتوبة عن هذه السلالة تحتاج إلى توضيح أكثر .

مرض التدرن التاجي Crown Gall Disease

يتسبب مرض التدرن التاجى عن أنواع مختلفة من الجنس أجروبكتيريم ، منها *A.tumefaciens* ، *A.rhizogenes* و *A.vitis* ، كانت تسمى سابقاً أنواع حيوية biovar رقم ١ ، ٢ ، ٣ للجنس أجروبكتيريم ، هذه الأنواع تهاجم مدى واسع من المحاصيل . هناك أكثر من ٦٠٠ نوع عوائلى موصوف لهذا الجنس ، ولكن الأمراض التى ذكرت على أنها هامة اقتصادياً ، تعتبر أعداد قليلة ، منها تلك التى تهاجم أشجار الفاكهة (اللوز ، التفاح ، الكمثرى ، المشمش ، الكرز ، الخوخ ، البرقوق) ، الجوزيات مثل (الجوز ، البيكان) والعنبيات مثل (عنب الثعلب وعنب الذيب والعنب) وأعداد كثيرة من ثنائية الفلقة منها بعض نباتات الزينة مثل الورد والأقحوان .

obeikandl.com

لم تحدد الخسائر الاقتصادية فى الانتاج ، نتيجة لهذه الأمراض ، تحديداً دقيقاً ، ولكن أجرى حصراً فى الثمانينيات فى أسبانيا ، دل على أن ٧٠ ٪ من المشاتل قد هوجمت بمرض التدرن التاجى ، أما عن حدوث المرض فقد وصل إلى نسبة ٩٠ ٪ من النباتات التى هوجمت بالكائن الممرض . يؤثر المرض تأثيراً كبيراً على نوعية المادة المهاجمة أو المصابة ، كذلك فإن المرض يمكن أن يسبب أضراراً للمحاصيل النامية . تكون الخسارة الاقتصادية محصورة أساساً ، فى المشاتل ، حيث أن النباتات المتورمة (المتدرنة) يجب أن تقلع وتجرى إبادتها .

تعتبر أنواع الجنس أجروبكتيريم من البكتيريا ساكنة التربة ، والتى تحدث إصابتها عن طريق الجروح فقط ، أو عن طريق العديسات ، وتستحث خلايا النبات لتتكاثر على شكل ورم . يتم الحصول على هذا الورم عن طريق نقل قطعة منفصلة من الـ DNA البكتيرى (تسمى T-DNA) إلى أنوية خلايا النبات ، حيث تتحكم فى الانتاج العالى لهرمونات النمو النباتية (الأكسينات والسايتوكاينينات) وبناء المركبات الغريبة الجديدة المسماه Opines . يتواجد الـ T-DNA على سلالات الـ tumorigenic للجنس أجروبكتيريم فى بلازمدز كبيرة ، تسمى البلازميدات المخلقة للوزم (Ti) . كما ذكر Kerr سنة ١٩٩١ فإن تخليق التدرن التاجى يشمل خطوات عديدة منها :

١ – الانجذاب الكيماوى للبكتيريا . يكون ناتجاً عن بعض المركبات الفينولية المفرزة من الأنسجة المجروحة .

٢ – التصاق وتثبت البكتيريا مع خلايا النبات .

٣ – حث جينات الشدة المرضية بواسطة مركبات الفينولات النباتية .

٤ – عملية الـ T-DNA والتى تنقل قطعة منفصلة من DNA البكتيريا إلى خلية النبات .

٥ – دمج الـ T-DNA فى جينوم النبات .

٦ – بناء T-DNA يشفر للهرمونات النباتية .

٧ – سرعة إنقسام خلية النبات لتكون ورم .

٨ – بناء Opines .

تكون هذه العملية متبوعة بنمو مميز للجنس أجروبكتيريم ، بسبب استخدام الـ Opines والنقل المحتمل لبلازمد Ti إلى خلايا بكتيرية أخرى مستحثة بواسطة Opines .

openkanali.com

صفات السلالة K84

كان اكتشاف السلالة K84 ، نتيجة لملاحظة قوية وحاذقة فى الحقل ، وذلك عندما لاحظ New & Kerr سنة ١٩٧٢ أن معدل وجود الأفراد المرضة إلى غير الممرضة من البكتيريا أجروبكتيرم كان مرتبطاً تماماً بحدوث التدرن التاجى على غراس اللوز . عندئذ قاموا بمحاولات لتحديد فيما إذا كانت زيادة أعداد الكائنات غير الممرضة على الجذور يمكن أن تثبط تكوين الورم بواسطة الكائن الممرض . ثم بعد ذلك ، توالت الأبحاث لمعرفة علاقة الأفراد غير الممرضة مع الأفراد الممرضة .

عزلت السلالة K84 فى استراليا ، من تربة قد تم الحصول عليها ، من منطقة محيطة بورم فى ساق الخوخ ، وعندما حقنت هذه السلالة فى غراس الخوخ لم يظهر على هذه الغراس أورام ، عندئذ تم معرفة تأثير هذه السلالة على السلالة الممرضة . عند عزل السلالة الممرضة وحقنها ثانية مع السلالة K84 فى النبات بنسبة ١ : ١ ، لم يتكون تدرن تاجى على النبات .

لقد صنفت السلالة K84 على أنها *A.radiobacter* ولقد استمر هذا التصنيف معمولاً به من ذلك الوقت ، مبنياً على أن هذه السلالة غير ممرضة وتتبع biovar رقم ٢ من الجنس *Agrobacterium* . اعتماداً على التقسيم والتصنيف الحديث للجنس أجروبكتيريم ، فإن السلالة K84 يجب أن تسمى *A.rhizogenes* ، إلا أن هذا التصنيف لأنواع الجنس أجروبكتيريم لم يعتمد من قبل كثير من الباحثين .

تحتوى السلالة K84 على ثلاثة بلازميدات طبيعية هى :

1 - pAgK 434 (ويسمى أيضاً pAtk 84 a)

وهو أكبر من 300kd ويعمل تشفير لانتاج الأجروسان 434 .

2 - pNoc (ويسمى أيضاً pAtK84 b)

ويعمل تشفير لـ Catabolism of nopaline وهو يساوى 173 kb

3 - pAgK 84

وهذا يساوى 47.7 kd والذى يشفر لانتاج ومناعة للأجروسان 84 .

ونظراً لأن pNoc يمتلك مساحات كبيرة التناظر (أكثر من ٥٠ ٪) مع بلازمد Ti من السلالة C58 للبكتيريا *A.tumefaciens* ، افترض أن pNoc يمكن أن يكون انتاج مهمل من البلازمد نوع pTiC 58 والذى قد تم تعطيل فعاليته فى T-DNA ومناطق *vir* والذى يؤدى إلى فقد فى الـ oncogenicity .

المقاومة الحيوية باستعمال السلالة K84

إن أكثر الطرق نجاحاً (إلى حد بعيد) فى منع مرض التدرن التاجى ، يتم باستعمال السلالة K84 ، وهناك عدة تقارير قد أظهرت كفاءة K84 فى مقاومة مرض التدرن التاجى فى عوائل مختلفة ، وبلدان مختلفة فى معظم أنحاء العالم . إن ما أظهرته التجارب الأولية باستعمال هذه السلالة فى المقاومة الحيوية ، كان عبارة عن انتاج مضاد حيوى عالى التخصص للاجروبكتيريم يسمى Agrocin 84 هذا المضاد تركيبه di-substituted ، fraudulent adenine nucleoside analoge والذى هو فعال ضد بعض سلالات ممرضة من أنواع الجنس أجروبكتيريم .

تقاوم السلالة K84 بنجاح السلالات التى تكون حساسة للأجروسين 84 ، حيث أن انتاج مثل هذا المضاد الحيوى يكون مطلوباً للمقاومة الفعالة . وعلى أية حال فإنه تحت الظروف الحقلية فإن السلالة K84 يمكن أيضاً أن تقاوم الكائنات الممرضة والتى تكون مقاومة للأجروسين 84 . لم يحدد الميكانزم المستعمل بواسطة السلالة K84 لمقاومة الكائنات الممرضة المقاومة للأجروسين 84 (لم يحدد تماماً) ولكن المعلومات المتوفرة الآن (٢٠٠١) ، تدل على أن المقاومة الحيوية المتحصل عليها بهذا العامل ظاهرة معقدة . إن انتاج الأجروسين 84 يبدو أنه واحداً فقط من الصفات الداخلة فى هذه العملية .

تنتج السلالة K84 مادة ثانية مضادة للجنس أجروبكتيرم تسمى أجروسين 434 ، والتى هى أقل تثبيطاً من أجروسين 84 فى المعمل . هذا الأجروسين والذى غالباً ما يكون تركيبه الكيماوى di-substituted cytidine nucleoside ، يثبط فقط سلالة biovar 2 من الجنس أجروبكتيريم (يسمى الآن *A.rhizogenes*) . إذن فإن الأجروسين 434 يمكن أن يلعب دوراً فى المقاومة الحيوية للكائنات الممرضة الحساسة لـ 434 من Biovar 2 . كذلك أيضاً فإن K84 تنتج مادة ثالثة شبيهة بالمضاد الحيوى ، تسمى ALS 84 والذى يثبط فى المعمل عدة ثيرموجنك من سلالات أجروبكتيريم . إن نشاط التثبيط للمادة ALS 84 يكون

متعلقاً مع انتاج السايدروفورز بواسطة K84 تحت ظروف كمية حديد محدودة . إن التركيب الكيماوى والدور الفعال الذى يقوم به ALS 84 فى المقاومة الحيوية للتدرن التاجى بواسطة السلالة K84 لايزال غير محدد حتى الآن (يوليو ٢٠٠٠) .

اسباب فشل المقاومة الحيوية بالسلالة K84

بالرغم من النجاح الذى حققته K84 فى المقاومة الحيوية ، إلا أن هذا النجاح كان محدوداً وأحياناً معكوساً ، أي لا يسبب مقاومة وإنما يسبب مرض . هذا يعنى أن هناك بعض المشاكل المحتملة يمكن أن تكون مترافقة مع استعمالها فى المقاومة الحيوية . معظم الأبحاث التى ذكرت الفشل (أبحاث قليلة) لم تكن قد وضحت هذا الفشل ، بسبب عدم توفر معلومات عن السلالات المعزولة من النباتات المتورمة المعاملة بالسلالة K84 . يمكن أن يكون الفشل نابعاً عن وجود تجمعات كبيرة من الكائنات المرضة المقاومة للأجروسين 84 ، أو الاصابات المتأخرة ، وجود الأجروبكتيريم على شكل كائن ممرض داخلى Endophytic ، تشكيلات مع أعداد منخفضة من خلايا K84 الحية ، تركيزات منخفضة من K84 على الجذور مقارنة مع لقاح الكائن الممرض فى التربة ، معاملة اللقاح معاملة غير مناسبة ، مدة البقاء القصيرة (حية) لـ K84 فى التربة ، وجود تضاد حيوى أو منافسات على استعمار الجذر ... الخ . زيادة على ذلك فمن الضرورى أن نلاحظ أن تجارب المقاومة الحيوية يجب أن تجري في ظروف تشابه الظروف الطبيعية من حيث الاصابة والمعاملات حتى يبدو كأنها ممثلة للكفاءة الحقيقية للسلالة K84 . تجارب الحقن المختلط لمعاملة السيقان أو الجذور بمخلوط من الكائن الممرض وعامل المقاومة الحيوية ، لا تكون ملائمة ، وذلك لأنها لا تستطيع أن توجد ظروف مشابهة لتلك التى تكون متوفرة للسلالة K84 عند استعمالها فى الطبيعة .

هناك سبب آخر للفشل ، متعلق بانتقال البلازمد (وهو مشروح فيما بعد بالتفصيل) . لقد ذكر العالم Panagopoulos *et al* سنة ١٩٧٩ ، أن هناك فشل للسلالة K84 فى تجارب الحقل ، وذلك عندما كانت K84 والكائن الممرض الحساس للأجروسين 84 محقونين معاً على جذور شتلات اللوز ، كانت الكائنات المرضة المقاومة للأجروسين 84 بعد ذلك تعزل من الأورام الكثيرة التى تكشفت ، ومن بينها عزلات عديدة كانت أيضاً تنتج أجروسين 84 .

ما يستنتج من هذه المعلومات هو أن الجينات المنظمة لانتاج أجروسين 84 والحساسية له كانت منقولة من السلالة K84 إلى مستقبل ممرض ، مودياً إلى تحطيم تجارب المقاومة الحيوية هذه ، وذلك لأنه بعد مثل هذا الانتقال يصبح المستقبل الممرض مقاوم للأجروسين 84 . فى ذلك الوقت كان الجين pAgK 84 يمكن نقله أيضاً فى المعمل من K84 إلى مستقبل أجروبكتيريا . إن حدوث واقعة النقل هذه فى تجارب المقاومة الحيوية كان من المحتمل بسبب (يعود جزئياً) إلى التجمعات الكثيفة العالية من كل من الكائن الممرض وعامل المقاومة الحيوية والذى كل منهما يُدخل صناعياً . بالرغم من ذلك فإن هذه النتائج أثارت السؤال الآتى وهو فيما إذا كان مثل هذا التحطيم يمكن أن يحدث خلال التجارب الطبيعية للمقاومة الحيوية مستعملة K84 فى الحقل . ذكر فى هذا المجال أن نقل الجين PAgk 84 من السلالة K84 إلى *A.tumefaciens* يمكن أيضاً أن يحدث فى عديد من تجارب المقاومة الحيوية ، والذى فيها معاملات حقن التربة والنبات تشابه كثيراً الظروف السائدة عندما تكون المقاومة الحيوية ناجحة فى المشاتل . زيادة على ذلك فإن العالم Lu ذكر سنة ١٩٩٤ أنه يمكن إعادة أكتشاف عديداً من العزلات الممرضة من أجروبكتيريم المعزولة محتوية pAgK84 ، من التدرنات الموجودة على النباتات المعاملة مسبقة بالسلالة K84 ونامية فى المشاتل التجارية فى الولايات المتحدة . كذلك فإن Stockwell *et al* سنة ١٩٩٦ ذكر الاكتشاف الحقلى للنقل التزاوجى transconjugants للسلالة الممرضة الناتجة من تجارب الحقن المشترك على الكرز .

تشير جميع هذه التقارير إلى حدوث التكرار النسبى لانتقال pAgK84 خلال الاستعمال العملي للسلالة K84 ، هذا يمكن أن يخفض بشكل كبير جداً كفاءتها فى المقاومة الحيوية ، بسبب أن النقل التزاوجى Transconjugants يكون منتجات أجروسين 84 ومقاومة للمضاد الحيوى . زيادة على ذلك فإن تجارب المقاومة الحيوية التى تستعمل مثل هذا النقل التزاوجى لمثل الكائن الممرض المستعمل فى الحقن ، تدل على أنها لم تقاوم بواسطة K84 واقترح بأنها كانت مهددة كفاءة K84 فى مدة قصيرة أو متوسطة . لمنع مثل هذا الانتقال وحراسة المقاومة الحيوية للتدرن التاجى من التحطم بسبب النقل التزاوجى للجين pAgK 84 من K84 إلى سلالة أجروبكتيرم الممرضة K1026 مخفية pAgK84 التى ينقصها نقل المشتقات (Tra^-) قد تم دراستها والتغلب عليها .

سلالة الكائن الحى الدقيق المهندسة وراثيا K1026

الكائن الحى الدقيق المهندس وراثياً Genetically engineered (GEM) microorganism ، لقد تم الحصول على السلالة K1026 بعد نجاح التعاون بين فريق الباحثين الاستراليين والباحثين الأمريكان فى شمال أمريكا ، الذين اشتركوا فى اكتشاف وتحديد صفات السلالة K84 ، عندما كانوا يبحثون فى الصفات البيولوجية لبلازميدات الجنس أجروبكتيريم . وقد تم وضع خرائط لـ pAgK84 وعرفت محددات النقل التزاوجى (Tra region) بواسطة مخلق الطفرات Transposon mutagenesis ، وباستعمال دراسات وراثية معقدة وطرق حديثة فى الهندسة الوراثية ، أمكن الحصول على سلالة ناتجة من الهندسة الجينية لكل من K84 و pAgK1026 وسميت هذه السلالة باسم K1026 .

فعالية السلالة K1026 فى المقاومة الحيوية

يوجد فى جدول رقم ١٠٠ مقارنة لفعالية السلالة K84 و K1026 فى الوضع الطبيعى (ليس المعملي) ضد سلالات أجروبكتيريم الحساسة والمقاومة للأجروسين 84 . تظهر هذه التجارب بشكل واضح أن كفاءة السلالة K1026 مشابهة تماماً لكفاءة السلالة K84 فى مقاومة التدرن التاجى ، تحت ظروف مختلفة وعوائل مختلفة ومناطق مختلفة (بلدان ومقاطعات) . تقاوم كلتا السلالتين التدرن التاجى حتى تحت إصابة شديدة للمرض. كذلك فإن كلتا السلالتين لديها قدرة على مقاومة المرض المتسبب عن كل من الكائنات الممرضة الحساسة للأجروسين 84 والمقاومة له . كذلك فإن هذه التجارب تظهر أن السلالة K1026 عندها القدرة أيضاً على استعمال ميكانزمز أخرى ليس لها علاقة مع الحساسية للأجروسين 84 بنفس السلوك كما فى سلالة K84 . نظراً للقيود المحددة لاستعمال GEM المطلق فى كثير من الأقطار ، فإن النتائج المتوفرة عن مقارنة فعالية المقاومة الحيوية فى الظروف الحقلية الحرة ، هى فقط تلك المأخوذة من تونس والولايات المتحدة حيث أن كلتا السلالتين أظهرت نفس النتائج .

بالإضافة لذلك ، هناك أربعة مشاتل تجارية كبيرة فى أستراليا قد زودت الباحثين بتصاريح عن فعالية السلالة K1026 فى مقاومة مرض التدرن التاجى فى أعداد من العوائل النباتية ، قد تبين فى بعض من هذه المشاتل بأن السلالة K1026 لاتزال فى الاستعمال لمدة تزيد عن عشرة سنوات . يمكن الاستنتاج من هذه المعلومات بأن السلالة المذكورة K1026

تستطيع أن تقاوم معنوياً مرض التدرن التاجى (significantly) الناتج من الإصابة الطبيعية فى المشتل أو الحقل حيث يكون حدوث المرض ، عادة ، أقل من ذاك الناتج عن اللقاحات الصناعية بالكائن الممرض .

انتقال بلازمد اجروسين 84

لقد تمت دراسات عديدة لتحديد امكانية انتقال وتكرار هذا الانتقال ، لبلازمد أجروسين 84 من السلالات K84 و K1026 إلى مستقبلات من الجنس أجروبكتيرم ، فى عديد من تجارب المقاومة الحيوية ، على عوائل نباتية مختلفة (مثل هجين الخوخ × اللوز ، الورد ، الصفصاف) . فى عدد أربعة من عشرة من التجارب التي أجريت حديثاً ، تبين أن pAgK84 كان قد انتقل من K84 إلى المستقبل فى الكائن الممرض فى أنسجة التدرن التاجى من نباتات متورمة معاملة بالسلالة K84 ، ولكن لم يظهر فى أى من التجارب أن انتقل pAgK1026 أو أكتشف فى التدرنات من نباتات معاملة بالسلالة K1026 . لقد أكتشف انتقال pAg K84 فى تدرنات عوائل كل من تهجين خوخ × لوز GF677 ، الصفصاف والورد .

تدل هذه المعلومات على أن هناك احتمالات عاليه ومتكررة لانتقال pAgK84 من K84 وكذلك تدل على غياب هذا الانتقال التزاوجى عند استعمال السلالة K1026 للمقاومة الحيوية لمرض التدرن التاجى فى ظروف مشابهة للظروف الطبيعية .

جدول رقم (١٠٠) : مقارنة بين السلالة K84 والسلالة K1026 من حيث كفاءتها فى المقامة الحيوية .

Country	Host	Challenge pathogen	Susceptibility to agrocin 84	Treatment	Number of analyzed plants	% of plants with galls	Index of biocontrol efficiency[a]
Australia	Young almonds	K27	Susceptible	Untreated	12	100	
				K84	14	14	86
				K1026	12	25	75
	Old almonds	K27	Susceptible	Untreated	15	100	
				K84	15	20	80
				K1026	15	27	73
Jordan	Tomato	B4	Susceptible	Untreated	12	75	
				K84	12	0	100
				K1026	12	0	100

Country	Host	Challenge pathogen	Susceptibility to agrocin 84	Treatment	Number of analyzed plants	% of plants with galls	Index of biocontrol efficiency[a]
		8301	Susceptible	Untreated	12	83	
				K84	12	0	100
				K1026	12	0	100
		B1	Resistant	Untreated	12	67	
				K84	12	0	100
				K1026	12	0	100
Spain	Hybrid peach x almond GF677	804-42	Susceptible	Untreated	110	3	
				K84	110	0	100
				K1026	110	0	100
		805-3	Susceptible	Untreated	110	13	
				K84	110	0	100
				K1026	110	1	92
	Hybrid peach x almond Adafuel	804-42	Susceptible	Untreated	110	21	
				K84	110	1	95
				K1026	110	0	100
		805-3	Susceptible	Untreated	110	71	
				K84	110	0	100
				K1026	110	1	99
	Hybrid peach x almond GF677	678-2	Resistant	Untreated	50	50	
				K84	50	17	66
				K1026	50	0	100
		436-3	Resistant	Untreated	50	19	
				K84	50	0	100
				K1026	50	0	100
Spain	Hybrid peach x almond GF677	325-4	Susceptible	Untreated	78	69	
				K84	85	6	91
				K1026	99	1	96
Spain	Hybrid peach x almond GF677	325-4	Susceptible	Untreated	61	91	
				K84	50	4	96
				K1026	57	7	92
Spain	Hybrid peach x almond GF677	B6	Resistant	Untreated	76	9	
				K84	56	0	100
				K1026	70	0	100
		66R	Resistant	Untreated	66	18	
				K84	80	0	100
				K1026	61	2	89

obeikandl.com

Country	Host	Challenge pathogen	Susceptibilty to agrocin 84	Treatment	Number of analyzed plants	% of plants with galls	Index of biocontrol efficiencya
Spain	Cherry Camil	678-2	Resistant	Untreated	41	66	
				K84	38	8	88
				K1026	39	8	88
	Cherry Colt	678-2	Resistant	Untreated	57	54	
				K84	57	7	87
				K1026	57	5	90
	Cherry 'Damil'	678-2	Resistant	Untreated	52	8	
				K84	28	0	100
				K1026	32	0	100
	Cherry 'F12.1'	678-2	Resistant	Untreated	39	85	
				K84	20	30	65
				K1026	22	14	84
	Cherry 'Inmil'	678-2	Resistant	Untreated	65	19	
				K84	46	4	77
				K1026	39	3	86
Tunisia	Sour almond	Natural infection		Untreated	47	100	
				K84	59	3	97
				K1026	117	3	97
USA	Apple	n.a.[b]	n.a.	Untreated	125	7	
				K84	125	2	71
				K1026	125	0	100
	Apricot/Peach	n.a.	n.a.	Untreated	125	17	
				K84	125	1	94
				K1026	125	0	100
	Pear	n.a.	n.a.	Untreated	125	10	
				K84	125	1	90
				K1026	125	0	100
	Prunus tomentosa	n.a.	n.a.	Untreated	125	9	
				K84	125	0	100
				K1026	125	0	100
	Walunt	n.a.	n.a.	Untreated	125	7	
				K84	125	0	100
				K1026	125	0	100

ملاحظات : دليل المقاومة الحيوية للتدرن الثانى = ١٠٠ ٪ - (٪ من المرض الحادث فى التجربة × ١٠٠) مقسوماً على (٪ من المرض الحادث فى الكنترول) . هذه المعادلة حسب ما ذكره Penyalver and lopez سنة ١٩٩٩ . n.a. = غير متوفر .

انتاج المضادات الحيوية بواسطة السلالة K1026

اجروسين 84 . 434 و 84 ALS

إن انتاج السلالة K1026 للأجروسين 84 ، يدل على أن pAgK1026 يحتفظ بمراكز البناء الحيوى للأجروسين 84 من pAgK84 . زيادة على ذلك فإن كميات الأجروسين 84 المنتجة بواسطة السلالة K1026 تكون مشابهة لتلك المنتجة بواسطة K84 . هذا يؤدى إلى القول بأن pAgK1026 يحتفظ بعدة نسخ من جده الأعلى pAgK84 ، وأن ليس هناك محددات لثبات البلازمد قد حذفت . كذلك فإن السلالة K1026تنتج أجروسين 434 ، إلى حد ما ، كما هو الحال فى السلالة K84 ، نظراً لأن انتاج هذا الأجروسين يكون مشفر له على pAgK434 والذى هو موجود فى كلتا السلالتين . كذلك فإن ALS84 ينتج أيضاً بواسطة السلالة K1026 بنفس الكمية المنتجة بواسطة السلالة K84، نظراً لأن انتاجه يبدو أنه مشفر له كروموسومياً (هذه أبحاث Penyalver *et al* سنة ٢٠٠٠) .

استعمار الجذر والبقاء فى الرايزوسفير بواسطة السلالة K1026

كما هو معروف ، فإنه يجب أن ينمو عامل المقاومة الحيوية ويستمر وجوده على سطح النبات الذى يستعمل لوقايته . إن الاستعمار والبقاء فى منطقة الرايزوسفير ، قد تأكد بشكل كبير ، بأنه من الأمور الأساسية للمقاومة الحيوية للكائنات الممرضة الكامنة فى التربة .

لقد ثبت بأن K84 عامل استعمار جيد للجهاز الجذرى لكثير من العوائل النباتية المختلفة . ومن المعقول افتراض أن كفاءة السلالة K84 لاستعمار جذور النباتات المعاملة بها، هو عامل مهم مطلوب لنجاح المقاومة الحيوية لمرض التدرن التاجى . فى هذا المجال فإن مستويات استعمار جذور غراس الخوخ بواسطة السلالة K84 و K1026 كان متشابهاً . هذا يدل على أن K1026 كانت جيدة فى الاستعمار كما هو الحال فى السلالة K84 ، على الأقل ، خلال فترة الثلاثة أسابيع التى أجريت فيها التجربة .

كذلك فقد أمكن استرجاع السلالة K1026من الجذور بعد سبعة شهور من حقنها فى شتلات اللوز . زيادة على ذلك ، فإن دراسات المقارنة على مقدرة السلالة K84 والسلالة K1026 للبقاء حية فى الرايزوسفير ، قد أظهرت بأن كلتا السلالتين تبقى حية على مستويات تقارب $١٠^{٦}$ وحدة تكوين مستعمرات لكل غرام من الجذر ، بعد ثمانية شهور من حقنها على الجذور فى النباتات الناتجة من تهجين (خوخ × لوز GF677) .

بالاختصار يمكن القول بأن شطب الجين *tra* من pAgK84 فى السلالة K84 لانتاج K1026 لا يؤثر فى مقدرتها على استعمار الجذور وبقاءها حية فى منطقة الرايزوسفير .

مناقشة الأسباب المحتملة لفشل المقاومة الحيوية بالسلالة K1026

يمكن أن تفشل المقاومة الحيوية للتدرن التاجى عن طريق نقل بلازمد Ti من الجنس أجروبكتيرم الممرض كمعطى إلى السلالة K84 كمستقبل ، والتى عندئذ تصبح ممرضة ، بالرغم من احتفاظها بالمقدرة على انتاج الأجروسين 84 والمناعة . إن الجين pNoc من السلالة K84 الذى ينتمى إلى المجموعة غير المتوافقة (Inc Rh1) كما فى بلازمد Ti نوع nopaline ، وأن وجوده فى السلالة K84 ، قد أعتقد بأنه أمان للمقاومة الحيوية عن طريق منع أكتساب بلازمد Ti. حتى البلازميدات غير المتوافقة، تكون غير قادرة على التضاعف فى نفس الخلية ، مثل هذه الوقاية من الممكن أن لا تكون فعاليتها كما هو متوقع منها . لقد ذكر Stockwell *et al* سنة ١٩٩٠ أن Transposon - tagged لبلازمد Ti ، قد تم نقله إلى السلالة K84 بعد الحقن المشترك للبكتيريا *A.tumefaciens* و K84 فى سيقان الطماطم ، ولكن ولا أى من صفات الانتقال التزاوجى قد تم إنجازها . زيادة على ذلك فقد ذكر وصف للانتقال الذاتى للبلازمد Ti من *A.tumefaciens* إلى السلالة K84 فى نسيج التدرن التاجى . هذا الانتقال اكتشف مرة واحدة فقط فى واحد من أورام تجربة مقاومة حيوية .

أظهرت تجارب التهجين أن إعادة الاتحاد بين بلازمد Ti وجين pNoc ، يمكن حدوثها فى K84 ، مؤدية إلى تكوين بلازمد Ti جديد . إن التكرار الذى به يمكن لبلازمد Ti أن ينتقل تزاوجياً إلى السلالة K84 فى الحقل وكيفية إنعكاسه أو تأثيره على كفاءة المقاومة الحيوية لا تزال غير معروفة (٢٠٠٠) . إن صفات نواتج الانتقال التزاوجى شديد المرضية المشتقة من K84 المتحصل عليها فى دراسات كثيرة قورنت مع سلوك النوع الأصلى للبكتيريا *A.tumefaciens* المعطى لبلازمد Ti . إن كلاً من المدى العوائلى ، المقدرة على تخليق أورام فى كثير من الأشجار المثمرة ، وثبات المحددات المرضية فى عزلات من الأورام لم تختلف بين تلك السلالتين . وعلى أية حال فإن الانتقال التزاوجى لم يكن مسيطراً عليه بواسطة K84 واستمر حياً فى نظام الجذر على كثافة تجمعات عالية أكبر منه فى بلازمد Ti السلالة المعطية النوع الأصلى . وبالتالى فإن ظهور وامكانية التواجد فى التربة للسلالات

الحاملة بلازمد Ti فى K84 قد وصف من قبل العالم Vicedo *et al* سنة ١٩٩٦ ، ولكن يبدو أنها حادثة غير متكررة .

يمكن التأكيد بأن المقاومة الحيوية لمرض التدرن التاجى باستعمال سلالة K1026 ناجحة بنسبة ١٠٠ ٪ إلا إذا كانت هذه السلالة قادرة على أن تكتسب بلازمد Ti (وتصبح ممرضة) وهذا التوقع أو الافتراض غير ممكن الحدوث أبداً ، وذلك لأن انتقال بلازمد Ti من السلالات المختلفة من البكتيريا *A.tumefaciens* إلى السلالة K1026 لم تحدث أبداً فى أية تجربة أجريت على المقاومة الحيوية باستعمال السلالة K1026 .

الاستعمال التجارى للسلالة K1026

تحضر السلالة K84 وتباع تجارياً بواسطة عديد من الشركات ، على أشكال مختلفة من التحضيرات . يمكن أن تحضر على الشكل الآتى :

تجهز مزارع بكتيرية على أطباق بترى (أطباق آجار) ، تجفف خلايا البكتيريا بالتجميد ، يعمل منها تشكيلات على شكل كرات صغيرة مكونة من مجموعة من الخلايا البكتيرية مغلفة بمادة كاربوكسى ميثايل سليلوز ثم تغلف بعد ذلك بمادة البيت Peat الناعمة جداً ، وبالتالى يصبح التحضير مثل تحضير بكتيريا العقد الجذرية *Rhizobium* . هناك أشكال وحوامل مختلفة تحضر عليها البكتيريا K84 وذلك حسب الشركات المنتجة ، وهى الآن متوفرة بكميات كافية لجميع الطلبات . وقد راعت الشركات مدة التخزين وطريقة الاستعمال كمنتج تجارى فعال للمقاومة الحيوية .

أما بالنسبة للسلالة الجديدة K1026 التى غطت فى استعمالها على استعمال السلالة السابقة K84 وكادت تلغيها الان (٢٠٠١) ، فهى تحضر بنفس الطريقة وتباع الان فى الأسواق بشكل تجارى محمولة على البيت Peat .

سجلت السلالة K1026 كمبيد حيوى Biopesticide فى أستراليا فى نهاية ١٩٨٨ ، وأصبحت أول كائن حى مهندس وراثياً GEM يستعمل تجارياً ويعرض للجمهور . يباع المنتج التجارى تحت اسم NOGALL (بدون أورام) بواسطة شركة Bio-Care فى أستراليا . ينتج هذا المحضر على شكل تركيبات محمولة على البيت Peat تحتوى على الأقل 10^{9} بكتيرية فى الغرام الواحد ، ذات سقف حياة يصل ستة شهور . انتشر استعمال هذا المبيد الآن فى الأسواق الأمريكية .

المعلومات المتوفرة حالياً ، تدعم تسجيل واستعمال السلالة K1026 (والتى هى GEM) كمبيد حيوى للمقاومة الحيوية لمرض التدرن التاجى ، وذلك لأنها فعالة تحت ظروف مختلفة ، عوائل مختلفة ، أقطار وبلدان مختلفة . كذلك ، نظراً لأن استعمالها لا يشكل أية خطورة لا للكائنات الحية الدقيقة ولا للبيئة . إذن يجب أن تستعمل السلالة K1026 حيث كانت السلالة K84 تستعمل وذلك فى المقاومة الحيوية الأمنة لمرض التدرن التاجى .

الأمان Safety

كل الدراسات التى أجريت على سمية K84 واستعمالها العالمى الواسع ، لمدة ثلاثون سنة ، أثبتت بما لم يدع مجالاً للشك أن هذه السلالة غير ضارة للنبات ، الحيوان وكذلك الإنسان . أما السلالة K1026 فهى كما سبق وذكرنا أنها GEM وأن جميع الأبحاث التى أجريت عليها لغاية يوليو ٢٠٠٠ أثبتت بأنها لا تزال غير ضارة لهذه الكائنات الحية (النبات – الحيوان – الإنسان) وكذلك غير ضارة للبيئة . من الملاحظات الهامة الواجب ذكرها هي الآتي :

١ – إن السلالة K84 هى الجد الأعلى للسلالة K1026 قد سجلت على أنها مبيد حيوى biopesticide وقد استعملت تجارياً فى أقطار عديدة حيث لم يذكر فى هذه الأقطار أية أضرار تسببها هذه السلالة .

٢ – إن السلالة K1026 مماثلة تماماً Identical للسلالة K84 باستثناء إفتقارها إلى جزء 5.9kb من بلازمد 84 الأجروسين ، وبالتالى تكون مانعة لانتقال بلازمد 84 الأجروسين . لا يوجد بقايا غريبة للـ DNA فى السلالة (GEM K1026) .

٣ – السلالة K1026 لا تحتوى على جينات مشفرة لبلازمد Ti داخلة فى تخليق مرض التدرن التاجى .

٤ – السلالة K1026 هى Biovar 2-strain من الجنس أجروبكتيريم ولا تستطيع النمو على حرارة ٣٧ ْم (درجة حرارة جسم الإنسان). أما الكائنات الدقيقة الشبيهة بـ *A.radiobacter* ، تصبح ذات تأثير ضار متزايد على الإنسان عند هذه الدرجة من الحرارة ، ولكن هذه السلالات الطبية تظهر تحمل لدرجات حرارة أعلى ويمكن أن تنمو على حرارة ٣٥ ْم ، بينما السلالة K1026 لاتستطيع ذلك .

٥ – الأجروسين 84 المنتج بواسطة K1026 و K84 يكون متخصص لأنواع البكتيريا الممرضة للنبات والتى تتبع الجنس أجروبكتيريم . أما الكائنات الدقيقة الأخرى لا تتأثر به . وبالتالى لا يكون هناك أضراراً للبيئة من استعمال الأجروسينات 84 ، 434 و ALS 84 عند استعمال K84 أو K1026 ، كذلك لم يثبت أية أضرار من هذه المواد عند انتاجها من السلالة K1026 .

كلمة مختصرة عن الموضوع :

السلالة K84 من الجنس أجروبكتيريم كانت تسمى سابقاً *A.radiobacter* ، استعملت بنجاح كعامل مقاومة حيوية لمقاومة مرض التدرن التاجى لمدة ٣٠ سنة فى جميع أنحاء العالم . بالرغم من كفاءتها العالية ، إلا أن لها خطراً مهماً يحدث أحياناً ، حيث أنها يمكن أن تفشل فى المقاومة الحيوية للمرض وتصبح نفسها ممرضة . هذا الفشل يكون راجعاً إلى انتقال البلازمد pAgK84 إلى السلالات من الجنس نفسه . هذا البلازمد يعمل تشفير لانتاج الأجروسين 84 والمناعة ضده وهو العامل الرئيسى فى المقاومة الحيوية لمرض التدرن التاجى بواسطة السلالة K84 . أمكن الحصول على الجيل الثانى من السلالة K84 وأجرى عليه الهندسة الوراثية وحصل على سلالة تسمى K1026 ، هذه السلالة تحتوى على فقرة مشطوبة فى منطقة نقل pAgK 84 وهي التي تتحكم في عدم تحول هذه السلالة من كونها عامل مقاوم إلي عامل ممرض .

V : جنس البكتيريا Pantoea agglomerans

الاسم القديم Erwinia herbicola

يستعمل هذا الجنس من البكتيريا فى المقاومة الحيوية لكثير من أمراض النبات الفطرية والبكتيرية منها :

١ – معاملة حبوب القمح بهذه البكتيريا يقيها من الاصابة بالأمراض الآتية :

1 - *Fusarium culmorum*

2 - *F. nivale*

3 - *Pythium ultimum.*

4 - *R. solani.* مسبب لفحة الغمد فى القمح

5 - *Puccinia recondita f. sp. tritici.*

6 - *Pseudomonas syringae pv. syringae.*

7 - *Verticillium dahliae* البكتيريا المعزولة من الأجسام الحجرية للفطر

٢ – فى الطماطم تقاوم الاصابة بالفطر *Alternaria solani* .

٣ – فى الفاصوليا تقاوم الإصابة بالفطر *Sclerotinia sclerotiorum*

٤ – فى وقاية بذور القطن من الإصابة بالبكتيريا

Xanthomonas campestris pv. malvacearum

٥ – فى وقاية الأرز من إصابة البادرات بالبكتيريا *Xanthomonas oryzae*

٦ – فى وقاية الفاصوليا الهندية من الإصابة *X. campestris pv. vingnaeradiatae*

٧ – فى وقاية التفاح من الإصابة بمرض اللفحة النارية المتسبب عن

Erwinia amylovera

obeikandl.com

الفصل التاسع

المقاومة الحيوية لأمراض ما بعد الجمع

أولاً : التغليف الحيوى الفعال Bioactive Coating

ودورة فى مقاومة أمراض مابعد الجمع فى التفاح والحمضيات

مقدمـــة

أظهرت الدراسات المعملية فى السنوات القليلة الماضية ، أن بعض الكائنات الدقيقة ، يمكن استعمالها فى مقاومة أمراض مابعد الجمع . كذلك فإن بعض الخمائر والبكتيريا المضادة المعزولة من سطوح الثمار ، أظهرت فعالية ذات مدى واسع ضد عديد من الكائنات الممرضة ، لما بعد الجمع لكثير من أنواع الثمار . لقد وجد حديثاً أن الخميرة *Candida oleophila* وسلالتين من البكتيريا *Pseudomonas syringae* متوفرة وتباع تجارياً تحت أسماء Aspire و Biosave-100 و Biosave-110 بالترتيب . إن قبول عوامل المقاومة الحيوية المجهزة بديلاً عن المبيدات الفطرية ، يعتمد على كفاءتها التجارية . لغاية الآن (مارس ٢٠٠٠) فإن الكائنات الدقيقة المضادة المتوفرة ، عندما تستعمل لوحدها ، لا تظهر نفس المستويات من المقاومة ، مقارنة مع المبيدات الفطرية . أدت هذه النتيجة إلى البحث عن عملية مساعدة ، والتى تزيد كفاءة التضاد الميكروبى فى المقاومة الحيوية .

فى التجارب الحقلية (نصف تجارية) ، فإن استعمال جرعة منخفضة من المبيد الفطرى Thiabendazole وجدت بأنها تزيد فعالية الخميرة المضادة فى المقاومة الحيوية وتجعلها تصل مستويات مساوية لما تحدثه الجرعات الكاملة من المبيدات الفطرية .

وبالمثل فى دراسات معملية ، فإن الاتحاد بين المضادات الميكروبية مع كلوريد الكالسيوم، مركبات نيتروجينية أو 2- deoxy -D- glucose ، أظهرت زيادة فى كفاءة بعض الكائنات المضادة وخفضت بشكل كبير التركيزات المطلوبة من البكتيريا والخمائر للحصول على كفاءة عالية فى المقاومة الحيوية .

لقد قام El-Ghaouth *et al* سنة ٢٠٠٠ بتطوير منتج يستعمل فى المقاومة الحيوية يسمى Bio-active coating (المغلف الحيوى الفعال) ، يتكون من اتحاد الخميرة المضادة

مع مادة Chitosan وهى مادة محولة كيماوياً ، وتحضر تجارياً بإضافة ٢, ٪ جلايكو لشيتوزان مع معلق جراثيم الخميرة .

تبين فى الدراسات المعملية أن اتحاد *C. saitoana* مع Glycolchitosan ، كان أكثر فعالية فى مقاومة تحلل ثمار التفاح والحمضيات ، أفضل من استعمال كل منهما لوحده . إن هذا المركب الجديد المسمى المغلف الحيوى الفعال يسمح بالاستفادة من صفة الـ Glycolchitosan فى تضاد الفطريات وصفة التضاد فى الخميرة جدول رقم ١٠١ .

جدول رقم (١٠١) : تجمعات الخميرة *C.saitoana* فى تفاح جولدن دليشص ، فى الجروح وعلى سطح الثمار فى وجود وعدم وجود Glycolchitosan .

المعاملة	مدة التخزين يوم	عدد خلايا الخميرة (لوغاريتم وحدة تكوين مستعمرات)	
		على سطوح الثمار	فى الجروح
الخميرة لوحدها	صفر	٤,٤٧	٤,٦
	٤٢	٤,٩	٦,٠١
المغلف الحيوى الفعال	صفر	٤,٦٢	٤,٥١
	٤٢	٤,٨١	٥,٩١

مقاومة الأمراض :

إن كفاءة المغلف الحيوى الفعال فى المقاومة الحيوية لأمراض مابعد الجمع فى ثمار التفاح والحمضيات ، قد قدرت تحت الإصابة الطبيعية والتى تشابه ظروف التخزين التجارى لهذه المنتجات . تبين أن نمو الخميرة *C. saitoana* فى جروح ثمار التفاح ، وعلى سطوح الثمار لم يتأثر بوجود Glycolchitosan . كان المغلف الحيوى الفعال أكثر فعالية فى مقاومة تحلل ثمار عديد من أنواع التفاح مثل ، رد دلشص ، Rome ، جولدن دليشص وإمبير ، أكثر من استعمال كل من الخميرة لوحدها أو المادة الكيماوية لوحدها . كذلك تبين أن المغلف الحيوى الفعال أفضل فى كفاءته فى خفض تحلل ثمار التفاح من استعمال الثيوبندازول . كذلك فإن المغلف الحيوى الفعال أفضل فى مقاومة تحلل الحمضيات من

الخميرة *C.saitoana* لوحدها ، وذلك بالنسبة للأصناف (Pine apple ، Hamil ، Washington navel ، Valencia) والصنف Eureka lemon وكانت نسبة الوقاية تشابه ماهو ناتج من استعمال Imazalil . إن المعاملة بالمغلف الحيوى الفعال والمبيد الفطري Imazalil تعطى مقاومة مستمرة لمرض تحلل ثمار البرتقال Washington navel و Eureka lemon فى المواسم المبكرة والمتأخرة ، بينما مكونات المغلف الحيوى الفعال كل لوحده (الخميرة *C.saitoana* ، ٠,٢ ٪ Glycolchitosan) كانت أكثر فعالية على الثمار فى الموسم المبكر. كذلك فإن المغلف الحيوى الفعال يخفض حدوث مرض عفن نهاية الساق فى الصنف Valencha أورانج ، ولكن المقاومة كانت أقل كفاءة من استعمال Imazalil .

ملاحظة : كانت تجرح الثمار بجروح ٣ ملم بعمق ٥ ملم . كان المغلف الحيوى الفعال يحتوى $١٠^{٨}$ وحدة تكوين مستعمرات من الخميرة وكان يستعمل بمعدل ١٥ مل/كيلو غرام ثمار . أما مركب الثيابندازول كان يستعمل بنسبة ٦٠٠ ميكروغرام لكل مل . أما مركب الميزاليل كان يستعمل بنسبة ٢ ملغ/مل . جدول (١٠٢ ، ١٠٣ ، ١٠٤) .

جدول رقم (١٠٢) : تأثير استعمال المغلف الحيوى الفعال على تحلل ثمار التفاح بعد فترات تخزين مختلفة على حرارة ١٨°م .

المعاملة	٪ تحلل ثمار			
	جولدن دليشص ٣٥ يوم	روم ٣٥ يوم	إمباير ٢٢ يوم	رد دليشص ٢٢ يوم
كنترول	٣٧	٢٢	٥٥	١٥
Glycolchitosan	٢٥	١٠	--	--
الخميرة لوحدها	٢١	١٢	--	--
المغلف الحيوى الفعال	١٢	٤	٢٨	٤
ثيابندازول	٢٢	٣	٥٨	٢٥

جدول رقم (١٠٣) : تأثير استعمال المغلف الحيوى الفعال على أصناف البرتقال على فترات تخزين مختلفة على حرارة ١٨ °م .

المعاملة	٪ أصابة بالفعن الأخضر للأنواع		
	Hamlin	Pine apple	Valencia
	تخزين ٢١ يوم	تخزين ٢٨ يوم	تخزين ٢١ يوم
كنترول	١٨	٢٢	١٠
المغلف الحيوى الفعال	٠٧	٠٨	٠٥
Imazalil	٠٦	٠٧	٠٤

جدول رقم (١٠٤) : تأثير استعمال المغلف الحيوى الفعال على الإصابة بعفن طرف الساق فى برتقال Valencia **بعد تخزين ٢٨ يوم على حرارة ١٨ °م .**

المعاملة	٪ عفن طرف الساق
كنترول	١٤
المغلف الحيوى الفعال	٠٧
Imazalil	٣

تحسين فعالية الخميرة *C.saitoana* بإضافة 2- Deoxy -D- Glucose

لقد درس تأثير اتحاد الخميرة *C.saitoana* مع ٠,٢ ٪ من مركب ٢ – دى أكسى دى غلوكوز على مقاومة تحلل ثمار التفاع والليمون والبرتقال . وجد أن نمو هذه الخميرة فى المعمل قد حدث له خفضاً بواسطة المركب السكرى المذكور . وعلى أية حال فإنه فى جروح ثمار التفاح ، فإن الخميرة تنمو أيضاً فى وجود المركب السكرى المذكور بالتساوى كما لو كان غير موجود .

عند إضافة المحلول السكرى إلى جروح الثمار قبل حقنها بالكائن الممرض ، فإن الاتحاد

obeikandl.com

بين الخميرة ونسبة ٠,٢ ٪ من المحلول السكرى يكون فعالاً فى مقاومة تحلل ثمار التفاح والبرتقال والليمون المتسبب عن كل من الفطريات الآتية : *Penicillium expansum* ، *Botrytis cinerea* ، *P. digitatum* ، أكثر من استعمال كل من الخميرة أو ٠,٢ من المحلول السكرى كل لوحده ، جدول رقم (١٠٥) وجد أن زيادة تركيز المحلول السكرى من ٠,٢ ٪ إلى ٠,٥ ٪ لم يؤدى إلـــى تحسين المقاومة معنوياً ، ولكن عند اتحاد الخميرة مع ٠,٢ ٪ من المحلول السكرى ، كان أيضاً فعالاً ضد الإصابات التى نشأت حتى ٢٤ ساعة قبل المعاملة . عند إضافة هذا المخلوط بعد ٢٤ ساعة من الحقن ، فإن هذا الخليط يكون فعالاً جداً فى مقاومة مرض العفن الأزرق على التفاح والعفن الأخضر على البرتقال والليمون. إن مستوى مقاومة العفن الأخضر كان مساوياً للمعاملة بالمبيد Imazalil . عندما استعمل أى من الخميرة أو ٠,٢ ٪ من المحلول السكرى المذكور سابقاً خلال ٢٤ ساعة بعد الحقن ، فإن أى منهما لم يؤثر على تكشف المرض فى التفاح أو الليمون ، وكذلك فإن حدوث التحلل كان مشابهاً لما هو فى الكنترول جدول رقم (١٠٦) .

جدول رقم (١٠٥) : تأثير الاتحادات بتراكيز مختلفة من 2-deoxy -D- glucose والخميرة *C.saitoana* على تحلل ثمار التفاح رد دليشص المتسبب عن الفطر *B.cinerea* و *P.expansum* .

المعاملة	٪ أصابة ثمار	
	B.cinerea	*P.expansum*
كنترول	١٠٠	١٠٠
٠,٢ ٪ 2-deoxy -D- Glucose	٧١	٦٥
٠,٦ ٪ 2- deoxy -D- Glucose	٤١	٤٧
الخميرة لوحدها	١٩	٢٥
الخميرة + ٠,٢ ٪ المحلول السكرى	٠٧	١٢
الخميرة + ٠,٦ ٪ المحلول السكرى	٠٥	٨

ملاحظات على الجدول :

كانت تعامل جروح التفاح بمعلق من خلايا الخميرة بتركيز 10^9 وحدة تكوين مستعمرات/مل محتوية ٠,٢ ٪ أو ٠,٦ ٪ من المحلول السكرى (وزن/حجم) . كانت تحقن الجروح ، بعد المعاملة

بالمحلول السكرى أو معلق الخميرة ، بكمية ٢٠ ميكرولتر معلق جراثيم الفطر الأول أو الثانى . كانت تقدر نسبة الأصابة بعد ١٤ يوم من تخزين الثمار على حرارة ٢٤°م .

جدول رقم (١٠٦) : التأثير العلاجى لاتحاد الخميرة *C.saitoana* مع 2- deoxy -D- glucose على تحلل كل من ثمار التفاح رد دليشص وبرتقال أبو سرة والليمون .

المعاملة	٪ ثمار مصابة		
	تفاح	برتقال	ليمون
كنترول	٩٨	١٠٠	٨٣
2-deoxy -D- glucose	٩٣	٨٧	٨١
الخميرة لوحدها	٨٨	٨٣	٧٧
الخميرة + المحلول السكرى	١٢	١٤	١١
المبيد الفطرى Imazalil	--	٩	٧

ملاحظات على الجدول :

كانت تحقن الثمار بمعلق جراثيم الفطر *P.expansum* على التفاح أو *P.digitatum* على الليمون والبرتقال بتركيز ١٠^٥ كونيدية/مل . بعد ٢٤ ساعة تعامل بمعلق خلايا الخميرة بتركيز ١٠^٩ وحدة تكوين مستعمرات/مل محتوية صفر أو ٠,٢ ٪ محلول سكرى (وزن/حجم) ، ٠,٢ ٪ (وزن/حجم) لوحده . كان المبيد الفطرى Imazalil بنسبة ١٠٠٠ ميكروغرام/مل وتعامل به ثمار البرتقال والليمون فقط بنسبة ألف ميكروغرام/مل . كانت تقدر نسبة تحلل الثمار بعد سبعة أيام من التخزين على حرارة ٢٠°م .

ثانيا : مقاومة العفن الازرق فى التفاح

باستعمال الخميرة Candida sake

مقدمـــــة

لقد نجحت المقاومة الحيوية للكائنات الممرضة التى تهاجم الثمار بعد الجمع نجاحاً كبيراً . هناك أعداداً من عوامل المقاومة الحيوية تحضر تجارياً ، ومتوفرة فى الأسواق وتستعمل لمقاومة أمراض مابعد الجمع ، منها الاسم التجارى Aspire وهو السلالة 182 من الخميرة *Candida oleophila* والسلالة Esc10 من البكتيريا *Pseudomonas syringae* تباع تحت اسم Bio-save-100 والسلالة Esc11 من نفس البكتيريا تباع تحت اسم Bio-save-110 .

أجريت في أسبانيا دراسات على الخميرة *Candida sake* السلالة CPA-1 وثبت بأنها فعالة فى مقاومة أهم الكائنات الممرضة لبعد الجمع ، على التفاحيات مثل *Penicillium expansum* ، *B.cinerea*. غالباً ما تكون إصابة الثمار بعد الجمع ، ناتجة عن الاصابة بالكائن الممرض فى الحقل قبل الجمع ، وبالتالى يكون من المفيد حتماً استعمال الكائنات الحية الدقيقة فى الحقل لمقاومة أمراض قبل الجمع وبالتالى تنخفض الاصابة الأولية بعد الجمع ، وتبقى فعالة وتثبط فعالية الكائنات الممرضة فى المخزن .

فى سنة ١٩٩٧ استعمل Leibinger *et al* خليط من الخمائر والبكتيريا ، لمقاومة أمراض ما بعد الجمع فى التفاح وحصل على مستوى عال من المقاومة ضد *P.expansum*، *B.cinerea* كانت مساوية لما يتم الحصول عليه من المعاملات بالمبيدات الفطرية . لكى يكون هذا الاجراء ناجحاً نحتاج إلى لقاح يكون محتملاً لضغوط الظروف البيئية ، خاصة إرتفاع درجة الحرارة ، انخفاض نسبة الرطوبة الفعالة low water activity (^{a}w) وانخفاض نسبة المغذيات وتحمل الاشعاع فوق البنفسجى . أجريت بعض الدراسات لتحسين كفاءة ، بقاء ونشاط عوامل المقاومة الحيوية ، هذه فى الحقل ، وذلك لتحسين كفاءتها فى مقاومة المرض .

أثبتت الدراسات الحديثة على فسيولوجية الخميرة السلالة CPA-1 *C. sake* ، أثبتت أنه يمكن تحوير ظروف نمو هذه الخميرة ، وبالتالى فإن المركبات المتخصصة الداخلية مثل تجمعات السكر ، الكحول و Trehalose فى الخلية ، يؤدى إلى تحسين قابليتها للحياة على

مدى واسع من الرطوبة ، مع الاحتفاظ بكفاءتها فى المقاومة الحيوية . إن تجمعات مركبات السكريات الكحولية ذات الجزيئات المنخفضة الوزن الجزيئى مثل (Glycerol and erythri-ol) أو ذات الوزن الجزيئى العال مثل (Mannitol ، arabitol) يحدث فى كثير من الفطريات النامية تحت ظروف بيئية قاسية . إن التجمعات بين الخلوية لهذه الـ Polyols يخفض كفاءة السيتوبلازم المائية (^{a}w) وتسهل للإنزيمات لأن تبقى فعالة خلال فترة نضوب الماء . كونيديات فطريات المقاومة الحيوية للكائنات الممرضة الحشرية مرتفعة التركيز من (Glycerol & erythritol) تتحمل نشاط الماء المنخفض وكانت أكثر شدة مرضية من الكونيديات غير المحورة . تكون اللقحات المعالجة فسيولوجياً فى عامل المقاومة الحيوية *Epi-coccum nigrum* محتوية تركيزات عالية من جليسرول والإيريثيرول يزودها بمقاومة فى الحقل أفضل ضد *Monilinia laxa* على الخوخ منه فى اللقاحات غير المحورة .

ذكرت بعض الدراسات أن Disaccharide trehalose يمكن أن يكون مهماً بسبب أنه يزيد تحمل الجفاف ويزيد حيوية وانبات الفطريات فى مستويات كفاءة الماء المنخفضة (^{a}w).

مقاومة مرض العفن الأزرق فى التفاح :

عند استعمال الخميرة *Candida sake* السلالة CPA-1 سواء المحورة لتحمل إنخفاض الماء أو غير المحورة بتركيز ٣ × ١٠^{٦} وحدة تكوين مستعمرات/مل فى كل معاملة بمدة يومين قبل الجمع فى الحقل على ثمار التفاح ، وذلك لمقاومة العفن الأزرق فى التفاح المتسبب عن الفطر *Penicillium expansum* تحت ظروف التخزين التجارية . وجد أن تجمعات الخميرة غير المحورة فى الحقل تبقى نسبياً دون تغير ، فى حين أن حجم تجمعات الخميرة المحورة لتحمل إنخفاض الرطوبة الفعالة (^{a}w) تزداد . خلال التخزين البارد ، فإن تجمعات كلا السلالتين يزداد من ١٠^{٣} إلى ١٠^{٥} وحدة تكوين مستعمرات/غرام من التفاح بعد ٣٠ يوم ، ثم بعد ذلك تنخفض إلى حوالى ٢,٥ × ١٠^{٤} وحدة تكوين مستعمرات/غرام تفاح . أثبتت الدراسات المعملية أن الخميرة المتحملة لانخفاض الرطوبة تعطى مقاومة حيوية أفضل معنوياً بالمقارنة مع الخلايا غير المحورة وتخفض إصابة الجروح وحجم البقع المتحللة حوالى ٧٥ ٪ ، ٩٠ ٪ بالترتيب بالمقارنة مع الكنترول . بعد ٤ شهور من التخزين فى المخزن المبرد ، فإن كلا السلالتين المحورة وغير المحورة كانت ذات تأثير متساوى ضد الفطر *P.expansum* على التفاح وكان الخفض أكبر من ٥٠ ٪ فى حجم البقع وأصابة الجروح .

ثالثا : استعمال أنواع مختلفة من الخميرة فى مقاومة أمراض ما بعد الجمع فى الكمثرى

مقدمـــة

تنشأ معظم أمراض مابعد الجمع فى الكمثرى عن طريق الجروح التى تحدث أثناء الجمع أو التعبئة . تحدث الأصابات اللاحقة عن طريق الجروح ، بواسطة واحد أو أكثر من عديد من الكائنات الممرضة مثل *P.expansum* و *B.cinerea* (مسببات مرض العفن الأزرق والرمادى) تكون بشكل عام ضارة كثيراً وسريعة النمو . أما *Phialophora malorum*، *Cladosporium herbarum* ، *Alternaria alternata* فهى كائنات ممرضة ، ولكنها أقل عنفاً من المجموعة الأولى (مسببة الأعفان الجانبية) والتى تخلق مشاكل فى الثمار المخزنة لفترات طويلة . إن كلاً من *Phialophora malorum* و *A.alternata* غير حساسة للمبيد الفطرى Thiabendazole (TBZ) ، أكثر المبيدات الفطرية استعمالاً لمقاومة أمراض مابعد الجمع لثمار الكمثرى . معظم سلالات *P.expansum* و *B.cinerea* تكون حساسة للمبيد TBZ مع أن هناك سلالات مقاومة تتواجد بالصدفة .

هناك بعض سلالات الخميرة منها *Cryptococcus infirmo - miniatus* YY6 والسلالة *Rhodotorula glutinis* HRB6 والسلالة *Cryptococcus laurentii* RR87-108 وهى تعزل أساساً من أسطح ثمار الكمثرى أو التفاح فى مناطق شمال غرب الباسفيك عندمـا تحقن هذه الخمائر فى الجروح على الكمثرى والتفاح بعد الجمع متحدة مع الكائنات المـمرضة ، فإنها تسبب مقاومة جيدة للأعفان المتسببة عن *B.cinerea* ، *P.expansum* و *Phialophora malorum* . أما الخميرة *Candida oleophila* سلالة I-182 ، فـقـد تبين أنهـــا فعالة فى تخفيض تحللات مابعد الجمع ، وهى المركب الفعال فــى المبيد الحيوى التجارى Aspire والذى سمح تداوله فى الأسواق ليستعمل على الكمثرى .

ذكرت عديد من الدراسات أنه للحصول على مقاومة جيدة لأمراض مابعد الجمع ، يجب أن تضاف عوامل المقاومة الحيوية ، بعد الجمع ، أكدت أبحاث قليلة ، أنه يجب استعمال عوامل المقاومة الحيوية على الثمار ، أثناء وجودها فى الحقل ، وذلك بغرض

مقاومة تحللات مابعد الجمع . لقد وجد Spott & Chand-Goyal سنة ١٩٩٧ أن الخميرة *C.infirmo-miniatus* و *C.laurentii* تخفض الأصابة بالعفن الأزرق عندما تضاف على جروح الكمثرى بعد ٢٤ ساعة من الحقن بالفطر *P.expansum* ، ولكن بعد ٧٢ ساعة ، فقد تسبب مقاومة عندما تتحد مع المبيدات الفطرية . هذا يدل على أهمية الإضافة الفورية لعوامل المقاومة الحيوية فى الحقل قبل حدوث الجروح أثناء الجمع . من أهم الاعتبارات التى يجب مراعاتها فى مقاومة أمراض مابعد الجمع ، هو مقدرة الكائنات الحية الدقيقة لأن تبقى حية بتجمعات كافية على سطح الثمرة ، بعد رشها عليه . يكون الطقس فى مناطق زراعة المكثرى بشكل عام حار جاف وقت الجمع ، والذى له تأثير محدد لتجمعات الخميرة ، كذلك فإن الخميرة يمكن أن تتأثر بالرش بمبيدات الآفات ، أو أثناء غسل الثمار أثناء المطر أو الرش . وعلى اية حال ، نظراً لأن هذه الخمائر تعزل أساساً من سطوح الثمار بعد أو أثناء الجمع ، فمن المحتمل أن تكون متحملة لهذه الظروف . بعض الخمائر يمكن أن تستعمر سطوح النبات أو الجروح لمدة زمنية طويلة تحت ظروف الجفاف ، وتنتج عديدات التسكر خارج الخلايا والذى يزيد مدة بقاءها وتخفض من المناطق المستعمرة من قبل الكائن الممرض .

مقاومة المرض :

لقد وجد أن الخمائر المذكورة سابقاً *Cryptococcus infirmo - miniatus* ، *C.laurentii* , *Rhodotorula glutinis* عند استعمالها على بعض أنواع الكمثرى فى الحقل على فترة ثلاثة أسابيع قبل الجمع ، تحافظ على مستويات عالية من التجمع أثناء الجمع ، بينما تجمعات الخميرة *Candida oleophila* تنخفض بعد أسبوع أو أسبوعين ، ولا يكون هناك فرق معنوى فى وقت الجمع عن مجموع التجمعات على الثمار غير المعاملة. عندما تستعمل الخمائر رشاً على الثمار كل لوحده بتركيز (١-٣) × ١٠^{٨} وحدة تكوين مستعمرات/مل بمعدل ٢ مل تقريباً لكل ثمرة ، فإن حجم التجمعات الأولى للأربعة أنواع يصل ٥ × ١٠^{٦} وحدة تكوين مستعمرات لكل ثمرة . وجد أن أفضل الخمائر فى مقاومة مرض تحلل الثمار ، هى الخميرة *C.infirmo - miniatus* وذلك عند رشها على الثمار قبل الجمع بمدة ثلاثة أسابيع ، وكذلك فإن هذه الخميرة والخميرة *R.glutinis* تسبب مقاومة معنوية للمرض فى نوع الكمثرى Bosc إذا رشت قبل الجمع بيوم واحد جدول رقم ١٠٧ .

جدول رقم (١٠٧) : مقاومة أمراض مابعد الجمع فى بعض أصناف الكمثرى بعد معاملتها فى الحقل ببعض الخمائر وذلك بحقنها عن طريق الجروح الصناعية .

نوع الخميرة ووقت الاستعمال	٪ أصابة جروح							
	الصنف Bosc				الصنف d'Anjou			
	عفن رمادى	عفن أزرق	عفن جانبى	عفن التحليل	عفن رمادى	عفن أزرق	عفن جانبى	عفن التحليل
٣ أسابيع قبل الجمع								
كنترول	١٣,١	٣,٩	١٤,٦	٣١,٧	٧,٠	١٠,٥	٨,١	٢٥,٦
R.glutinis	٥,٥	١,٣	١٤,٠	٢٠,٨	٥,٠	٢,٣	١,٣	٨,٦
C.inf-min	٤,٠	١,٠	١,٧	٦,٦	١,٠	١,٠	٤,٣	٦,٣
C.laurentii	٤,٠	١,٧	٢١,٧	٢٧,٤	٥,٣	صفر	٩,٧	١٥,٠
C.oleophila	١٦,٧	١,٧	٢٤,٥	٤٤,٩	١٥,٠	٥,٠	١,٣	٢١,٣
يوم واحد قبل الجمع								
كنترول	١٦,٠	١,٠	٢٥,٠	٤٢,٠	٢,٠	٣,٠	١١,٧	١٦,٧
R.glutinis	٣,٠	١,٣	١١,٣	١٥,٥	١,٠	٤,٠	١٣,٢	١٨,٢
C.inf-min	٣,٠	صفر	٨,٥	١١,٥	صفر	صفر	١٠,٠	١٠,٠
C.laurentii	٥,٠	صفر	١٤,٨	١٩,٨	١,٧	٦,٠	١٠,٠	١٧,٧
C.oleophila	٣,٠	١,٣	١٢,٥	١٦,٨	صفر	٥,٣	١٤,٧	١٩,٩

ملاحظات على الجدول :

كانت ترش الثمار بالمعلق البكتيرى المحتوى (١-١,٥) × ١٠ ^{٨} وحدة تكوين مستعمرات لكل مل ، بالنسبة لكل من الخمائر *R.glutinis* و *C.inf-min* . أما بالنسبة للخميرة *C.laurentic* فكانت تستعمل بتركيز (٢,٨-٣) × ١٠^{٨} وحدة تكوين مستعمرات/مل . أما الخميرة *C.oleophila* فكانت تستعمل بنسبة ١ × ١٠^{٨} وحدة تكوين مستعمرات/مل .

obeikandl.com

رابعاً : مقاومة مرض العفن البنى لما بعد الجمع فى اللوزيات

مقدمـــــة

يتسبب مرض العفن البنى فى اللوزيات Stone Fruits عن الفطر *Monilinia fructicola* وهو من أكثر الأمراض تحطيماً لثمار اللوزيات . يبدأ هذا المرض على شكل لفحة براعم، ثم يتقدم بعد ذلك إلى الأفرع الصغيرة ويسبب لفحة الفريعات ، ثم تقرح والذى يؤدى إلي إكثار اللقاح ويبقى كامناً لأصابة الثمار الخضراء . يتكشف من هذه الإصابات الكامنة مرض العفن البنى فى الثمار قبل الجمع وخلال التخزين وأثناء النقل إلى الأسواق . أحياناً فإن مرض العفن البنى أيضاً يهاجم الثمار فى مراحل تكوينها وأثناء دخول الثمار فى المصنع . تختلف شدة انتشار المرض قبل الجمع من سنة لأخرى ، وهذا يعتمد على الظروف الجوية . وبالمقابل فإن نسبة التحلل فى الثمار تزيد عن ٥٠ ٪ ويكون سبب ذلك الإصابة أثناء طور مابعد الجمع ، بغض النظر عن ابتداء حدوث المرض بعد الجمع .

هناك عديد من العوامل تؤثر على حدوث مرض تحلل الثمار فى اللوزيات المتسبب عن الفطر *M.fructicola* قد درس كل واحد منها لوحده . كلما زاد تركيز اللقاح ، كلما زادت سرعة وشدة مرض التحلل المتكشف على ثمار الخوخ والكرز المجروحة . إن الجروح بما فيها الكدمات والخدوش ، أيضاً ، لها تأثير كبير فى تسهيل حدوث المرض فى ثمار المشمش ، الخوخ والبرقوق .

هناك اقتراحين قد قدما لمقاومة مرض العفن البنى الحادث بعد الجمع : الاقتراح الأول ، يقول باستعمال المبيدات الفطرية قبل الجمع ، وذلك لمنع تنشيط الإصابات الكامنة و/أو لوقاية الثمار من الإصابات المستقبلية ، يعتمد نجاح هذه الخطة بشكل كبير على التنبؤ عن الإصابات الكامنة . أما الاقتراح الثانى : فيقول يجب الاعتماد على استعمال المعاملات بالمبيدات الفطرية بعد الجمع ، أساساً .

قبل سنة ١٩٩٦ كانت المبيدات الفطرية مثل البينومايل ، Iprodione ، Triforine ، مسجلة لاستعمالها بعد الجمع على ثمار اللوزيات لمقاومة مرض العفن البنى . بسبب ظهور سلالات مقاومة للمبيد الفطرى بينومايل، فإنه لم يستعمل مدة طويلة. أما الـ Iprodione ، فقد استغنى عنه اختيارياً بواسطة الشركة Rhone - Poulence Ag.Co. فى سنة ١٩٩٦ . ثم من بعد ذلك لم يتوفر مبيد فطرى مصرح باستعماله لمقاومة أمراض ثمار اللوزيات بعد

الجمع خاصة مرض العفن البنى . بعد ذلك اتجهت طرق مقاومة أمراض مابعد الجمع فى اللوزيات إلى :

١ - معاملة الثمار بماء ساخن ممزوجاً بالكحول بنسبة ١٠ ٪ .

٢ - تبخير الثمار بمركب ثانى أكسيد الكربون ، حمض الخل أو أى مركبات متطايرة أخرى من ثمار الخوخ .

٣ - معاملة الأجزاء النباتية بالأشعة الفوق بنفسجية .

٤ - استعمال أنواع معينة من أملاح الكالسيوم أو Sugar analogs .

٥ - المقاومة الحيوية .

٦ - استعمال خليط من الأجراءات المذكورة سابقاً .

اتجهت الأبحاث إلى المقاومة الحيوية ، وجد أن البكتيريا *Bacillus subtilis* ، تقاوم مرض العفن البنى فى الخوخ بعد الجمع فى محطات التجارب وفى الانتاج التجارى . أما البكتيريا *Pseudomonas corrugata* و *P.cepacia* ، فإنها أيضاً تخفض فعلياً حدوث المرض على الثمار المجروحة صناعياً فى النكترين والخوخ وتحسن صفات ثمار الخوخ المصنعة . زيادة على ذلك فإن بعض الخمائر إما أن تخفض حدوث مرض العفن البنى أو تخفض من مساحة البقعة المتكونة . وعلى أية حال فإن فعالية جنس الفطر *Trichoderma* (أكثر أنواع الفطريات شهرة فى المقاومة لمعظم أمراض النبات) ، قد أجريت عليه تجارب عديدة لمقاومة مرض العفن البنى فى اللوزيات .

مقاومة المرض :

استعملت فى مقاومة هذا المرض ثلاثة سلالات من الفطر *Trichoderma sp.* وسلالة أخرى من فطر آخر ، هذه السلالات هي :

١ - العزلة New من الفطر *T.atroviride* .

٢ - العزلة Ta 291 من نفس الفطر السابق .

٣ - العزلة 23-E-6 من الفطر *T.viride* .

٤ - عزلة BI-54 من *Rhodotorula sp.* .

كانت توضع الثمار فى مخزن حرارته ٢٠ °م ورطوبة نسبية ٩٥ ٪ . كان يلاحظ مرض العفن البنى كثيراً على ثمار النكترين ، الخوخ والبرقوق المجروحة والمحقونة بجرثومتين

من الفطر الممرض *M.fructicola* لكل جرح ، وأحياناً تحدث الأصابة بدون جروح ، على ثمار النكترين والخوخ بنفس العدد من الجراثيم . أما على البرقوق فلا تحدث إصابة بالفطر إلا بعد التجريح فقط . كذلك يحدث زيادة كبيرة فى قطر البقع المتكونة بسبب المرض على كل من النكترين والخوخ المجروحة والمحقونة بمعلق يحتوى عشرين جرثومة أو أقل من الفطر لكل جرح مقارنة بالثمار غير المعاملة .

عند استعمال معلق جرثومى تركيز ١٠^٧ و ١٠^٨ جرثومة/مل ، فإن جميع عزلات الفطر *Trichoderma* خفضت فعلياً مرض العفن البنى على الخوخ بنسبة ٦٣–٩٨ ٪ وبنسبة ٦٧–١٠٠ ٪ على البرقوق ، وذلك عندما حقنت الثمار بالفطر الممرض بعد حقنها بعامل المقاومة الحيوية . وبالمثل فإن تركيز ١٠^٨ جرثومة لكل مل من عزلة الخميرة BI-54 ، فإنها أيضاً ثبطت مرض العفن البنى على الخوخ كلية وعلى البرقوق بنسبة ٥٤ ٪ . كذلك أمكن الحصول على خفض معنوى فى حدوث مرض العفن البنى باستعمال العزلة (New) بتركيز ١٠^٨ جرثومة/مل ، حتى عندما كان عامل المقاومة الحيوية يستعمل بعد ١٢ ساعة من الحقن بالفطر الممرض وتحت ظروف مستمرة من الرطوبة النسبية ٩٥ ٪ .

كذلك فإن العزلتين Ta-291 و 23-E-6 أيضاً تخفض مرض العفن البنى معنوياً تحت ظروف جفاف و ٥٠ ٪ رطوبة نسبية . أعطت هذه العزلات أفضل مقاومة حيوية لمرض العفن البنى فى البرقوق عندما استعملت قبل الحقن بالكائن الممرض بمدة ١٢ ساعة . أما من ناحية اقتصادية ، فإن أفضل مقاومة أمكن الحصول عليها لهذا المرض على البرقوق عند حقنه بالكائن الممرض بتركيز ٨ × ١٠^٤ جرثومة/مل هو استعمال العزلة (New) بتركيز ١٠^٦ جرثومة/مل ، والعزلة Ta-291 بتركيز ١٠^٧ جرثومة/مل . كذلك فإن إجراءات منع حدوث جروح أو أضرار للثمار تساعد أيضاً فى خفض نسبة حدوث المرض على ثمار اللوزيات ، حتى عند وجود أية كمية من جراثيم الفطر الممرض على ثمار البرقوق ، ولكن على ثمار الخوخ يجب أن لا تزيد عن ٥٠ جرثومة/مل مربع من سطح الثمرة حتى لا تحدث أصابة عند عدم وجود جروح . أما بالنسبة للنكترين (حساس جداً للإصابة) يجب أن لا يزيد عدد جراثيم الفطر الممرض عن خمسة جراثيم لكل ملم مربع من سطح الثمرة .

يمكن القول بشكل عام أن السلالة New و Ta-291 من الفطر *T.atroviride* والعزلة 23-E-6 من الفطر *T.viride* والعزلة BI-54 هى عوامل مقاومة حيوية فعالة فى مقاومة مرض العفن البنى فى اللوزيات .

خامساً : مقاومة العفن البنى والعفن الأزرق

فى ثمار الكرز الحلو بعد الجمع

مقدمـــــة

هناك عديداً من أمراض ما بعد الجمع تهاجم الكرز الحلو Sweet cherry ، وتسبب خسائر كبيرة فى الانتاج ، من هذه الأمراض العفن الأزرق الذى يتسبب عن *Penicillium expansum* والعفن البنى الذى يتسبب عن *Monilinia fructicola* وعفن الترناريا المتسبب عن *Alternaria alternata* ، عفن رايزوبس المتسبب عن *Rhizopus stolonifer* والعفن الرمادى المتسبب عن *Botrytis cinerea* ، تسبب معظم هذه الفطريات تحلل وتعفن الثمار بعد الجمع .

ثبت فى الدراسات الحديثة التى أجريت على حصر انتشار هذه الأمراض ، أن مرض العفن الأزرق ، هو أكثر الأمراض أضراراً وتحطيماً للكرز الحلو ويسبب خسارة تقدر بحوالى ٣٥ ٪ فى الكرز أثناء نقله لمسافات طويلة فى أمريكا ، كلما طالت فترة التخزين كلما زادت شدة المرض .

اتجهت أنظار كثير من الباحثين إلى عوامل المقاومة الحيوية ، لمقاومة أمراض مابعد الجمع فى ثمار اللوزيات . وجد أن العفن البنى وعفن رايزوبس فى الخوخ قد نجحت مقاومتها باستعمال البكتيريا *B.subtilis* و *Enterobacter cloacae* بالترتيب . كذلك وجد أيضاً أن البكتيريا *B.subtilis* تقاوم أمراض مابعد الجمع ، مثل العفن البنى وعفن الترناريا فى الكرز الحلو . إن مقاومة مرض العفن البنى فى الخوخ والنكترين ، قد تم الحصول عليها باستعمال *Pseudomonas corrugate* و *P.capacia* ويستمر مفعولهما لمدة ١٢ ساعة بعد الحقن بالكائن الممرض . إن استعمال كل من *Aureobasidium pullulans* و *Epicoccum purpurascens* على براعم الكرز الحلو ، تخفض أعداد الإصابة المتأخرة بالعفن البنى فى الثمار الخضراء. أما الخميرة *Candida oleophila* ، فإنها تخفض مستوى الإصابة بالفطر *P.expansum* فى ثمار النكترين بعد الجمع . ولقد وجد أيضاً أن الخميرة *C.oleophila* فعالة فى الهواء وفى الجو المتحكم به فى المخزن عندما تتحد مع المبيد الفطرى Dichloran .

لقد وجد حديثاً أن هناك ثلاثة أنواع من الخميرة الرمية ، تتواجد طبيعياً ويمكن عزلها

من سطح ثمرة الكمثرى ، هذه الخمائر فعالة فى مقاومة خمسة أمراض من أمراض مابعد الجمع فى الثمار ، من أهمها العفن البنى فى ثمار الكرز الحلو . لقد تم الحصول على مقاومة للعفن البنى فى الكرز الحلو عندما كان هناك معاملة يتحد فيها كل من *Cryptococcus laurentii* أو *C.infirmo miniatus* مع جرعة منخفضة من المبيد Iprodione . كان هذا المبيد الفطرى يستعمل بكثرة فى مقاومة أمراض مابعد الجمع فى الكرز لغاية شهر مارس ١٩٩٦ ثم تقرر عدم استعماله على الكرز الحلو فى التخزين واستعماله قبل جمع الثمار بمدة سبعة أيام على الأقل .

مقاومة المرض :

قبل وقف استعمال المبيد الفطرى Iprodione، كان يستعمل بتركيز ١,١٣ كغم مادة فعالة /هكتار ، وكان يخفض مرض العفن البنى فى ثمار الكرز الحلو . ولقد تم الحصول على مقاومة معنوية أفضل لهذا المرض ، عندما كانت تعامل ثمار الكرز الحلو بعد الجمع بهذا المبيد ، ثم بعد ذلك تغمر الثمار فى معلق من جراثيم الخميرة *C. infirmo-miniatus* بتركيز (٠,٥–١,٥) × ١٠^٨ وحدة تكوين مستعمرات/مل . لقد تم خفض نسبة المرض من ٤١,٥ ٪ فى الكنترول إلى ٠,٤ ٪ فى المعاملة التى استعملت فيها الخميرة مقترنة مع المبيد الفطرى المذكور ، خاصة عندما يكون هناك تحسيناً فى طرق التخزين (جدول رقم ١٠٨) .

جدول رقم (١٠٨) : مقاومة مرض تحلل الثمار (العفن البنى) فى الكرز الحلو باستعمال المبيد الفطرى Iprodione قبل الجمع والخميرة *C.infirmo miniatus* بعد الجمع .

المعاملة	٪ تحلل الثمار الناتج عن	
	العفن الأزرق	العفن البنى
الخميرة لوحدها	٤	١٦
الخميرة + المبيد الفطرى قبل الجمع بخمسة أيام	صفر	٢,٤
الخميرة + المبيد الفطرى قبل الجمع ١٢ يوم	صفر	٣,٢
المبيد الفطرى لوحده قبل الجمع ٥ يوم	٢,٤	٦,٨
المبيد الفطرى لوحدة قبل الجمع ١٢ يوم	٤,٤	٨,٤
كنترول	١٩,٦	٢٠,٨

ملاحظات على الجدول :

كانت تستعمل الخميرة بتركيز ١,٤٥ × ١٠^٨ وحدة تكوين مستعمرات/مل . أما المبيد الفطرى يستعمل بتركيز ١,١٣ كغم مادة فعالة/هكتار . كان العفن الأزرق ينشأ من أصابة طبيعية . بالنسبة لمرض العفن البنى ، حتى يحدث كانت تلوث الثمار بجراثيم الكائن الممرض *M.fructicola* بنسبة ١٠^٤ جرثومة كونيدية/مل .

سادساً : مقاومة عفن رايزوبس فى النكترين

مقدمــــة

يتسبب مرض عفن رايزوبس فى النكترين عن الفطر *Rhizopus stolonifer* ، وهو من الأمراض الخطيرة والمدمرة للنكترين بعد الجمع ، وقد ذكر كثيراً فى بلاد الصين . إن جراثيم هذا الفطر شائعة الوجود فى كل مكان . تحدث الإصابة للثمار بشكل أساسى عن طريق الجروح خلال الجمع أو أثناء التعبئة .

مع أن المقاومة الحيوية لأمراض مابعد الجمع قد ذكرت ودرست كثيراً ، إلا أن مقاومة الفطر *R.stolonifer* لم تحصل على دراسة وافية . وجد أن الخمائر *Kloeckera apiculata* ، *Candida guilliermondii* و *Enterobacter cloacae* ، تقاوم جزئياً مرض عفن رايزوبس بعد الجمع فى ثمار الخوخ ، بينما الخميرة *Cryptococcus laurentii* و *Rhodotorula glutinis* أيضاً تخفض مرض العفن الرايزوبى فى التفاح ، عنب المائدة والفراولة . يبدو أن الخمائر تكون عوامل مقاومة حيوية فعالة فى مقاومة أمراض مابعد الجمع ، حيث أن انتاج المضادات الحيوية من المحتمل أن لا يكون داخلاً فى نشاطها .

لقد عزلت الخميرة *Pichia membranefaciens* من ثمار الخوخ واستعملت فى مقاومة مرض العفن الرايزوبى فى النكترين .

مقاومة المرض :

لقد وجد أن استعمال الخميرة المذكورة سابقاً بتركيز ٥ × ١٠^٨ وحدة تكوين مستعمرات/مل من المعلق الخلوى يثبط كلية العفن الرايزوبي فى النكترين المجروح صناعياً والمحقون بتركيز ٥ × ١٠^٤ جرثومة/مل على درجات الحرارة ٢٥ ، ١٥ و ٣ °م . إن راشح مزرعة الخميرة لم يكن له أى تأثير على هذا المرض . عند خلط الخميرة مع المبيد الفطرى

obeikandl.com

Iprodione بتركيز ١٠٠ ميكروغرام مادة فعالة/مل يعطى مقاومة أفضل للفطر *R.stolonifer* من استعمال كل منهما لوحدة . كذلك فإن استعمال محلول مكون من ٢٠ غرام كلوريد كالسيوم / لتر يزيد كفاءة الخميرة عند استعمالها بتركيز $١٠^{٧}$ – $١٠^{٨}$ وحدة تكوين مستعمرات / مل كمعلق مائي .

يلاحظ الاستعمار السريع للخميرة في الجروح خلال الثمانية والأربعين ساعة الأولى على حرارة ٢٥ ْم ، ١٥ ْم . لقد وجد أن الخميرة على تركيز ٥ × $١٠^{٨}$ وحدة تكوين مستعمرات/مل تكون فعالة عند استعمالها قبل الحقن بالفطر الممرض بمدة صفر إلى ٧٢ ساعة ، بينما على تركيز ١ × $١٠^{٨}$ وحدة تكوين مستعمرات/مل ، تكون فعاليتها أفضل عندما تستعمل قبل الحقن بالكائن الممرض بمدة ٢٤–٤٨ ساعة . وعلى أية حال فإن فعالية الخميرة كانت معنوية أيضاً فى خفض المرض عند استعمالها فى نفس الوقت مع الحقن بالكائن الممرض . جدول رقم (١٠٩) ، (١١٠) .

عند دراسة تأثير الخميرة على إنبات جراثيم الفطر ، وعلى استطالة أنبوبة الإنبات ، وجد أن الخميرة بتركيز ٥ × $١٠^{٦}$ وحدة تكوين مستعمرات/مل تثبط إنبات الجراثيم من ٩٧٪ إلى ٣٠٪ . أما تركيز ٥ × $١٠^{٧}$ وحدة تكوين مستعمرات/مل ثبطت نسبة الإنبات إلى ١٣ ٪ أما تركيز ٥ × $١٠^{٨}$ فقد ثبطت الإنبات إلى صفر . أما النسبة لاستطالة أنبوبة الإنبات ، فقد خفضت من ٢١٨ ميكروميتر فى الكنترول إلى ١٥,٤ ميكروميتر فى تركيز ٥ × $١٠^{٧}$ وحدة تكوين مستعمرات/مل وإلى صفر فى تركيز ٥ × $١٠^{٨}$ وحدة تكوين مستعمرات/مل

جدول رقم (١٠٩) : تأثير الخميرة *P.membranefaciens* والمعاملة الكيماوية بالمبيد الفطرى Iprodione ضد الفطر الممرض R.stolonifer على النكترين .

المعاملة	٪ جروح مصابة	قطر البقعة ملم
المبيد الفطرى لوحده قبل الجمع	٨٥	٦٠
الخميرة + المبيد الفطرى	٢٠	١٢,٥
الخميرة لوحدها	٤٥	٣٨
المبيد الفطرى قبل وبعد الجمع	صفر	صفر
كنترول	١٠٠	٧٥

obeikandl.com

ملاحظات على الجدول :

كانت تستعمل الخميرة بتركيز ٥ × ١٠^٦ وحدة تكوين مستعمرات/مل . أما المبيد الفطرى كان يستعمل بتركيز ١٠٠ ميكروغرام/مل .

جدول رقم (١١٠) : تأثير التجريح والمعاملة بالخميرة المذكورة فى الجدول السابق ، قبل حقن ثمار النكترين بالفطر الممرض *R.stolonifer* لمقاومة مرض العفن الرايزوبى .

الوقت بالساعات بين استعمال الخميرة والحقن بالكائن الممرض	٪ جروح مصابة		قطر البقع المتكشفة ملم	
	٥ × ١٠^٨ وحدة/مل	١٠^٨ وحدة/مل	٥ × ١٠^٨ وحدة/مل	١٠^٨ وحدة/مل
صفر	صفر	٦٠	صفر	٣٧
٤	صفر	٥	صفر	٢
٢٤	صفر	صفر	صفر	صفر
٤٨	صفر	صفر	صفر	صفر
٧٢	صفر	٧٠	صفر	٥
كنترول	١٠٠	١٠٠	٧٥	٧٥

obeikandl.com

الفصل العاشر

المقاومة الحيوية لبعض أمراض النبات

I المقاومة الحيوية لبعض أمراض بعض النجيليات

أولاً : القمح

١ - مقاومة مرض البقعة ذات اللون الأحوى فى القمح

Biological Control of Tan Spot Disease of Wheat

مقدمـــة

يتسبب مرض البقعة ذات اللون الأحوى فى القمح عن الفطر *Pyrenophora tritici-repentis* ، وهو مكون طبيعى لمكروفلورا حبوب القمح ، فى معظم أنحاء العالم ، وينتشر بشكل خاص فى البرازيل . يمكن أن ينتقل الفطر من الحبوب إلى البادر ات وبالتالى يمكن أن يسبب وباء البقعة ذات اللون الأحوى .

أجريت دراسات عديدة على الرايزوبكتيريا الواقية حيوياً والمشجعة لنمو النبات Plant-promoting and bioprotecting Rhizobacteria (PGPBR) فى البرازيل ، وقد ثبت فعاليتها وكفاءتها فى المقاومة الحيوية . كذلك وجد أن فطر المقاومة الحيوية *Trichoderma harzianum* و *T.virens* قد اختبرت وثبت نجاحها فى مقاومة أمراض كثير من المحاصيل .

مقاومة المرض :

لقد ثبت بأن معاملة الحبوب بعوامل المقاومة الحيوية ، مفيد فى زيادة الحالة الصحية لنبات القمح وكذلك لمقاومة الأمراض الكامنة فى التربة وتخفيض لقاح الفطر المسبب لمرض البقعة ذات اللون الأحوى . وجد أن كل من الكائنات Paenibacillus macerans و Pseudomonas putida تخفض نمو الكائن الممرض فى البيئة الغذائية ، وتمنعه من إصابة الحبوب وتخفض انتقاله إلى البادرات من ١٦ ٪ فى الكنترول إلى صفر ٪ فى المعاملة وهذا يكون مساوياً لفعل المبيد الفطري Thiram و Iprodione . فى حين أن سلالات الفطر تريكوديرما ليس لها تأثير على هذه القياسات .

obeikandl.com

وجد فى التجارب الحقلية أن معاملة الحبوب بكل من *Pseudomonas putida* والسلالة T-22 *T. harzianum* و *P.macerans* و *T.virens* السلالة G-41 ، يسبب زيادة معنوية فى ظهور البادرات فوق سطح التربة ويسبب زيادة فى انتاجية المحصول وأن هذه الزيادة تشابه ما يسببه المبيد الفطرى Iprodione والثيرام . وبالتالى يمكن وضع *Paeniba-cillus macerans* و *Pseudomonas putida* فى برامج الوقاية المستنيرة لمقاومة مرض البقعة ذات اللون الأحوى فى القمح . جدول رقم (١١١ ، ١١٢) .

جدول رقم (١١١) : تأثير عوامل الوقاية الحيوية على نمو الفطر الممرض فى البيئة الغذائية وإمكانية استرجاعه من الحبوب المصابة والنسبة المئوية للبذور المصابة بالفطر *P.tritici-repentis* .

المعاملة	النمو الاشعاعى للفطر سم	٪ حبوب محقونة صناعياً بالفطر الممرض	٪ حبوب مصابة: حبوب مصابة طبيعياً بالفطر الممرض مع ملوثات أخرى فى التربة P.t.r	F.gram	B.S.	٪ انتقال الفطر إلى البادرات عند حقن الحبوب بالفطر الممرض فقط
كنترول	٢,٥	٦٢	٢٢	١٦	١٠,٠	١٦
Paenibacillus macerans	صفر	صفر	صفر	٣	٤,٠	صفر
Pseudomonas putida biotypeB	٠,٢	صفر	صفر	١,٠	٣,٠	صفر
T.harzianum T-22	٢,٣	٥٦	١٨	١٠	٦١,٠	٤
T.virens G-41	٢,٢	٥٥	١٧	١٦	٩,٠	١٣
Iprodione + Thiram Rovrin WP.	---	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر

ملاحظات على الجدول :

P.t.r = *P. triticci repentis*

F. gram = *Fusarium graminearum*

B.S. = *Bipolaris Sorokiniana*

جدول رقم (١١٢) : تأثير استعمال عوامل المقاومة الحيوية على ظهور بادرات القمح والانتاجية فى الحقول الزراعية.

المعاملة	عدد البادرات فى خط طوله ٣ م	كمية انتاج الحبوب كغم / هكتار
كنترول	٣١١	١٦٦٦
Paenibacillus macerans	٣٢٦	٢٢٠١
P.putida biotype B	٣٣٦	٢١١٢
T.harzianum T-22	٣١٨	٢١٦٦
T.virens G-41	٣١٧	١٩٥٣
Iprodione + Thiram	٣٣٠	٢١١٠

٢ - مقاومة التفحم السائب فى القمح

Loose smut of Wheat

مقدمــــة

يتسبب مرض التفحم السائب فى القمح عن الفطر *Ustilago segetum tritici* . أجريت تجارب على السلالة المضادة للفطر للمرض وهي Tv-5 *Trichoderma viride* ، وأظهرت كفاءة عالية ضد الفطر الممرض ، إلا أنه وجد أن هذه السلالة غير متوافقة مع المبيدات الفطرية شائعة الاستعمال مثل Carboxin . وجد أن تحمل الفطر *T. viride* للكاربوكسين يجعله أكثر فائدة واستعمالاً فى برامج الوقاية ، خاصة التى تستعمل المبيدات الكيماوية مع عوامل المقاومة الحيوية . استعملت طرق كيماوية واشعاعية للحصول على طفرات من السلالة *T.viride* TV-5 مقاومة للمبيدات الفطرية ومقاومة لمرض التفحم السائب فى القمح .

أمكن الحصول على ثلاثة طفرات من السلالة Tv-5 تتصف بالآتى :

TV-5 الأم : عندها قدرة عالية على التجرثم وذات لون أصفر (صبغة صفراء فى الجراثيم) وميسيليوم هوائى .

obeikandl.com

TV5-1 : عندها قدرة عالية على التجرثم . لا يوجد لون أصفر فى الجراثيم ، تتكون الجراثيم بمستوى أعلى من حافة المزرعة .

TV5-2 : تكون المستعمرات الأولية ذات ميسيليوم مبيض ، مع وجود كمية قليلة من الجراثيم ، ولكنها تتجرثم بكثرة بعد أربعة أيام ويظهر اللون المصفر متأخراً .

TV5-3 : تكون مستعمرات عالية التجرثم ، لا يوجد فيها لون مصفر . يظهر منطقة خالية من الجراثيم على شكل حزام فى المستعمرة .

مقاومة المرض :

ثبت بالتجارب الحقلية المحدودة أن الطفرات الثلاثة المذكورة سابقاً ، متحملة للمبيدات الفطرية ومضادة للفطر *Ustilago segetum tritici* . أظهرت الطفرة TV5-2 مقدرة عالية على تضاد الفطر ، وكفاءة فى تخفيض نسبة إنبات الجراثيم الكلاميدية من ٩٤,٩ إلى ١٤,١ ٪ (جدول ١١٣) وخفضت الوزن الجاف لميسيليوم الكائن الممرض من ٨٧,٥ ملغ إلى ٤١,٥ ملغ وتستطيع أن تتحمل حتى ٥٠ ميكرو غرام / مل من الكاربوكسين ، وبالتالى يمكن تخفيض المرض نهائياً باستعمال نصف الجرعة المقررة من كاربوكسين (١ غرام / كيلو حبوب) مع استعمال جراثيم الطفرة بتركيز $١٠^{٨}$ جرثومة / مل .

جدول رقم (١١٣) : تأثير استعمال مركبات كيماوية مستخلصة من طفرات الفطر *T.viride* من السلالة TV-5 على الفطر مسبب مرض التفحم السائب فى القمح .

المعاملة	مركب A		مركب B	
	٪ إنبات جراثيم	وزن الميسيليوم ملغ/١٠٠مل	٪ إنبات جراثيم	وزن الميسيليوم ملغ/١٠٠مل
TV5-1	١٦,٦	٤٤,٧	١٣,٣	٤٤,٥
TV5-2	١٤,١	٤٤,٢	٩,٩	٤١,٥
TV5-3	١٦,٦	٤٥,٠	١١,٦	٤٣,٥
TV5-WT	١٨,٣	٤٦,٥	١٩,٩	٤٦,٥
كنترول	٩٤,٩	٨٧,٧	٩٤,٩	٨٧,٥

obeikandl.com

٣ - مقاومة مرض البقعة البثرية فى القمح

Spot blotch of Wheat

مقدمـــة

يتسبب مرض البقعة البثرية فى القمح عن الفطر *Drechslera sorokiniana* ، ينتشر هذا المرض فى مناطق عديدة من الهند ويسبب خسائر فى انتاج نبات القمح تصل من ٢,٧-٣٦,٢ ٪ . ولقد وجد أن رش النباتات بالمبيدات الفطرية مثل Triadimefon ، Fentin acetate ، Propiconazole وغيرها فعالة فى مقاومة هذا المرض . نظراً للأضرار التى تسببها المبيدات الفطرية للبيئة والأثر المتبقى الضار على صحة الإنسان والحيوان ، اتجهت الأبحاث إلى المقاومة الحيوية .

مقاومة المرض :

درس ستة عشر نوعاً من الفطريات المتطفلة على الكائن الممرض *D.sorokiniana* ، وجد أن أهم الفطريات التى تعطى نتائج جيدة فى التأثير على نمو الفطر الممرض فى المزرعة هى *Trichoderma pseudokoningii* ، حيث خفض معدل النمو الإشعاعى لميسيليوم الفطر الممرض من ٣١,٥ ملم فى الكنترول إلى ٩,٠ ملم ثم يليه *T.hamatum* خفض معدل النمو الإشعاعى للفطر الممرض إلى ٩,٢ ملم ، ثم بعد ذلك *T.roseum* خفض النمو إلى ١٠,٥ ملم . أما الجنس الآخر وهو *Chaetomium globosum* ، خفض معدل نمو الفطر الممرض إلى ١١,٧ ملم . كذلك فإن راشح مزارع هذه الفطريات تثبط نسبة إنبات الجراثيم الكونيدية للفطر الممرض من ٩١,٥ ٪ فى الكنترول إلى ٢٨,٣ ٪ ، ١٤,٢ ٪ ، ١٢,٢ ٪ ، ١٨,٦ ٪ بالترتيب جدول رقم ١١٥ .

أما معاملة التربة بهذه الفطريات المضادة ، فإنه خفض أصابة البادرات بأعراض التلون فى منطقة التاج المتسبب عن الفطر الممرض . جدول رقم (١١٤) . أما رش النباتات براشح المزارع للفطريات المضادة ، فإنه خفض عدد البقع البثرية على النباتات وحفظ المساحات الورقية الخضراء سليمة وغير جافة بسبب الإصابة . أما عند خلط الفطريات المضادة مع التربة أظهرت فوائد كبيرة لنمو النبات وسببت زيادة فى نمو المجموع الخضرى والجذرى . الشكل رقم (١٦) يبين طرق تطفل هذه الفطريات على الكائن الممرض .

جدول رقم (١١٥) : تأثير الفطريات المضادة على الفطر الممرض *D.sorokiniana* وعلى نمو نباتات القمح في تربة معاملة .

الفطريات المضادة	اصابة البادرات في منطقة التاج	٪ انبات جراثيم الفطر الممرض في راشح المزرعة	الجذر		الساق		٪ انبات حبوب القمح
			الطول سم	وزن رطب ملغ	الطول سم	وزن رطب ملغ	
Cheatomium globosum	++	١٨,٦	٩,٣	٨,٠	٣٨,٩	٩٠	١٠٠
Talaromyces flavus	+	١٧,٨	٧,٦	٧,٠	٣٢,١	٨٨	٩٥
Trichoderma hamatum	+	١٤,٢	٩,٢	٨,٠	٤٠,٩	٩٠	٩٠
T.pseudokoningii	++	٢٨,٢	٧,٠	٨,٠	٣٧,٧	٨٩	١٠٠
T.reesi	+	٦,٥	١٢,٦	٩,٠	٤٢,٥	٩٢	٩٥
T.roseum	++	١٢,٢	١١,٦	٨	٣٩,٢	٨٠	٧٥
Control	++++	٩١,٥	٥,٥	٢٥,٠	٢٠,٢	١٩	٣٥

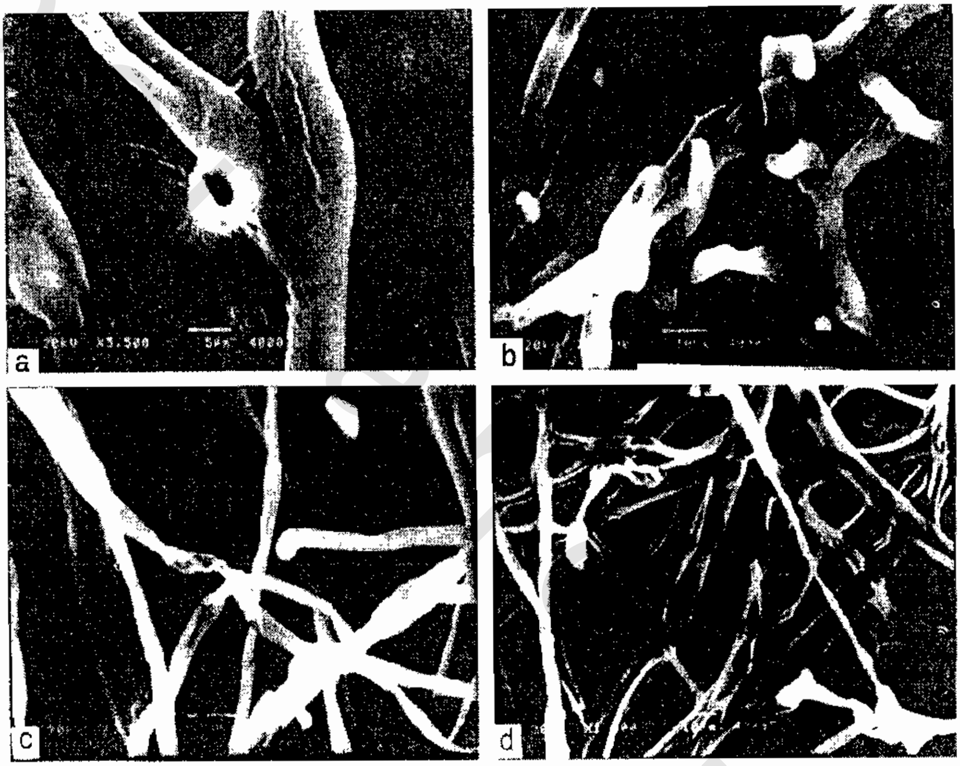
ملاحظات على الجدول :

+ = آثار ، ++ = متوسط ، +++ = فوق الوسط ، ++++ = شديد جداً .

جدول رقم (١١٤) : تأثير استعمال راشح مزارع الفطريات المضادة رشاً على الأوراق ، على مرض البقعة البشرية والمساحات الخضراء في الورقة على نباتات القمح المزروعة في تربة ملوثة بالفطر الممرض .

الفطريات المضادة	عدد البقع المرضية / نبات	ملم مساحة الورقة الخضراء	٪ مساحة مصابة من الورقة
Cheatomium globosum	٦	٦٠	٩,٩
Talaromyces flavus	٥	٦٠	١٠,١
Trichoderma hamatum	٥	٦٠	١١,٠
T.pseudokoningii	٣	٦٢	٧,١
T.reesi	١,٠	٦٦	١,٣
T.roseum	٦	٥٩	١١,٤
Control	١٠	٢٨	٥٨,٤

obeikandl.com

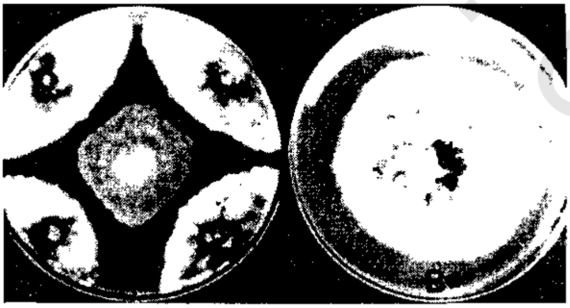


شكل رقم (١٦) : تصوير بالميكروسكوب الإلكترونى للتفاعل الهيفى بين *Drechslera sorokiniana* **(الكائن الممرض العائل) والفطر المضاد** *Chaetomium globosum* **مظهراً تشكيل الحفر فى شكل (a) . أما شكل (b) فهو يظهر التفاف الفطر** *T.hamatum* **حول سيسبليوم الفطر المتطفل عليه . (شكل c) يظهر تكوين أنبوبة الاختراق للفطر** *T.pseudokoningii* **. (أما شكل d) يظهر النمو الغزير للفطر** *T.roseum* **وتغطيته لجميع نموات الفطر الممرض .**

مقاومة المرض باستعمال الفطر Chaetomium globosum

عند دراسة التفاعل بين الفطر *C.globosum* والفطر *D.sorokiniana* ، تبين أن الفطر الأول يسبب منطقة تثبيط فى طبق بترى، تدل على أن ميكانيكية المقاومة الحيوية لهذا الفطر تكون عن طريق التضاد الحيوى ، حيث أن نمو الميسيليوم ينخفض بنسبة ٤٧,٢ ٪ بعد سبعة أيام من الحقن . عند استعمال راشح مستخلص المزرعة الفطرية للفطر المضاد ودراسة تأثيره على الفطر الممرض ، تبين أن له دوراً كبيراً فى تثبيط إنبات الكونيديات للفطر الممرض ، حيث ينخفض الإنبات من ٩٨,١ ٪ إلى ٤,٩ ٪ على تركيز ٥٠٠ جزء فى المليون . كذلك فإن استعمال راشح المزرعة على هذا التركيز ، لا يثبط فقط إنبات الجراثيم ، بل أيضاً يوقف نمو الميسيليوم ويشكل منطقة تثبيط فى طبق بترى بقطر ٥ سم شكل رقم ١٧ .

عند تحليل راشح مزرعة الفطر المضاد ، وجد فيها نوعين من نواتج التمثيل لهما دور كبير فى تثبيط نمو الكائن الممرض . عند رش راشح مزرعة الفطر المضاد على بادرات القمح قبل وبعد حقنها بالفطر الممرض ، تبين أن هناك خفض كبير فى تكوين البقع المرضية . وصل أقل عدد من البقع على الأوراق عند استعمال تركيز ٠,٢ ٪ من مستخلص راشح المزرعة واستعماله قبل حقن البادرات بالكائن الممرض . جدول رقم (١١٦ ، ١١٧) بالإضافة إلى تثبيط الإصابة وخفض عدد البقع ، فإن الفطر المضاد يزيد من المساحات الخضراء فى الورقة (غير مصابة) وكذلك فى أطوال سيقان النباتات وجذورها وكذلك فى وزن النبات . وبالتالى يمكن القول بأن الفطر *C.globosum* يمكن أن يستعمل بكفاءة لمقاومة مرض البقعة البثرية فى القمح فى الحقل وعلى مستوى تجارى .



شكل رقم (١٧) : المزرعة المشتركة للفطرين *D.sorokiniana* **والفطر المضاد** *C.globosum*
A : **طبق بترى يظهر فيه منطقة التثبيط بين الفطرين** B : **كنترول .**

جدول رقم (١١٦) : تأثير الفطر المضاد *C.globosum* على النمو الميسيليومى للفطر الممرض فى مزرعة مزدوجة فى طبق بترى .

فترة التحضين باليوم	سم قطر مستعمرة الفطر الممرض عند وجود		٪ خفض النمو
	الفطر الممرض لوحده	الفطر الممرض والمضاد معاً	
١	٠,٥	٠,٥	صفر
٢	١,٤	١,٤	صفر
٣	٢,٤	٢,٤	صفر
٤	٣,٦	٣,٠	١٧,٥
٥	٥,١	٣,٣	٣٥,٧
٦	٦,٠	٣,٤	٤٣,٠
٧	٦,٥	٣,٤	٤٧,٥

جدول رقم (١١٧) : تأثير مستخلص مزرعة *C.globosum* على تكشف الكائن الممرض وعلى المساحة الخضراء فى أوراق بادرات القمح .

المعاملة	٪ تركيز	دليل الإصابة		المساحة الخضراء فى الورقة
		بقعة / ورقة	٪ إصابة للورقة	
قبل الحقن بالكائن الممرض	٠,٢	٣,٨	١٢,١	٣,٥
قبل الحقن بالكائن الممرض	٠,١	٤,٥	٢٥,٦	٣,٢
بعد الحقن بالكائن الممرض	٠,٢	٥,١	١٩,٢	٣,٣
الفطر الممرض لوحده	--	١٠,٤	٥٦,٩	٢,٥
ماء مقطر	--	صفر	--	٣,١

٤ - المقاومة الحيوية للفطر Fusarium culmorum
على الحبوب فى القمح والشعير

مقدمـــــة

تكون المعاملة الكيماوية للحبوب فعالة فى مقاومة الأمراض الكامنة فى الحبوب ، ولكن نظراً للأضرار الكبيرة التى تسببها هذه الكيماويات ، فقد استبعدت إلى حد ما وأصبح الحصول على بديل لها من ضمن عوامل المقاومة الحيوية . تبين أن عامل المقاومة الحيوية *Pseudomonas chlororaphis* ، والمنتجات الحيوية Gliomix الناتجة من *Gliocladium* sp. ، قد حصل لها تحسن كبير فى السويد وفلندا . أما فى الدنمارك فإن العزلة المضادة IK 726 من الفطر *Clonostachys rosea* الذى كان يسمى سابقاً *Gliocladium roseum* قد عزلت من أراضى الحقول وأجريت عليها الاختبارات .

أظهرت النتائج أن معاملة الحبوب بجراثيم كونيدية حديثة من الفطر *C.rosea* تقاوم فطر *Fusarium culmorum* بكفاءة تشبه كفاءة المبيدات الفطرية التى تعامل بها الحبوب . وفى تجارب حقلية أخرى ، تبين أن العزلة IK 726 من نفس الفطر تقاوم المرض المتسبب عن *Bipolaris sorokiniana* .

تنبت الجراثيم الكونيدية الجافة من السلالة IK 726 ببطء أكثر من نمو الكونيديات المأخوذة حديثاً . هذا التأخير فى البطء ، يمكن أن يؤثر على كفاءتها فى مقاومة الفطر *F.culmorum* ، خاصة تحت الظروف البيئية غير المناسبة . كذلك فإن طول مدة التخزين يمكن أن تكون عامل أكثر أهمية في التأثير علي كفاءة الكونيديات .

لقد ذكر كثيراً ، بأن عوامل المقاومة الحيوية ، تكون أقل تأثيراً فى مقاومة الأمراض بالمقارنة مع المبيدات الفطرية تحت الظروف الحقلية . قد يكون ذلك راجعاً إلى الفشل الأولى فى توطيد وتثبيت نفسها على الحبوب أو فى منطقة الرايزوسفير وعلاقة ذلك مع ظروف التربة غير المناسبة مثل الحرارة ، الرطوبة وحموضة وتهوية التربة ، بالإضافة إلى المنافسات من الميكروبات المجاورة . وعلى أية حال فإن معاملة الحبوب بالبكتيريا *Pseudomonas chlororaphis* السلالة MA 342 تبقى ذات كفاءة ثابتة لعدة سنوات ، وتحت ظروف جوية مختلفة ضد عديد من الأمراض الكامنة فى الحبوب . إن عدم الثبات فى كفاءة المقاومة الحيوية تحت ظروف النمو الطبيعية يمكن أن يكون أيضاً راجعاً إلى سوء اختيار نوع

التركيبات التى تتواجد عليها عوامل المقاومة الحيوية سواء تحت الظروف الطبيعية أو الصناعية أو فى الصوبات الزجاجية .

مقاومة المرض :

إن معاملة الحبوب فى التجارب الحقلية بالسلالة IK 726 من الفطر *Clonostachys rosea* خفضت بشكل معنوى المرض المتسبب عن الفطر *Fusarium culmorum* . كانت هذه السلالة فعالة ضد الكائن الممرض على مدى واسع من درجات الحرارة وقت الزراعة من ٦,٢-١٢°م . فى كل من التجارب الحقلية وتجارب مراقد الرمال ، فإن الجراثيم الكونيدية الجافة والمخزنة من هذه السلالة تقاوم الفطر الممرض بنفس النسبة حتي لو كانت هذه الجراثيم حديثة . وجد علاقة عالية بين معدلات دليل المرض من التجارب الحقلية وتجارب المراقد الرملية . إن الجرعة الفعالة من هذه السلالة تزيد عن ٥ × ١٠^{٣} وحدة تكوين مستعمرات/حبة ، وهذه تسبب مقاومة للمرض تزيد عن ٨٠ ٪ ، كما هو واضح فى جدول رقم (١١٨) .

جدول رقم (١١٨) : تأثير معاملة الحبوب بجراثيم كونيدية مخزنة أو حديثة من الفطر *C.rosea* السلالة IK 726 ، على المرض الكامن فى الحبوب المتسبب عن الفطر *F.culmorum* (حبوب الشعير الربيعى) .

المعاملة	التركيز على كل حبة	دليل المرض	٪ مقاومة
كنترول (الفطر الممرض لوحده)	--	١,٢٤	--
الفطر الممرض + مادة لاصقه	--	١,٢٥	--
الفطر الممرض + جراثيم الحديثة للسلالة المقاومة	٩,٩ × ١٠^{٣}	٠,٦٢	٧٥
الفطر الممرض + جراثيم السلالة المقاومة عمر ٨ أسبوع	٧ × ١٠^{٣}	٠,٦٩	٦٥
الفطر الممرض + جراثيم السلالة المقاومة عمر ١٦ أسبوع	٣,٩ × ١٠^{٣}	٠,٧٨	٦٠
الفطر الممرض + جراثيم السلالة المقاومة عمر ٣٢ أسبوع	٤,٨ × ١٠^{٣}	٠,٦٦	٧٠
نباتات سليمة (حبوب مطهره سطحيا)	--	٠,٣٦	٨٠

obeikandl.com

ملاحظات على الجدول :

الحبوب مصابة طبيعياً بالفطر الممرض بنسبة ٣٠ ٪ ، حقنت بمعلق جراثيم الفطر الممرض بنسبة ١,٥ × ١٠^٦ جرثومة/مل . أضيفت المادة اللاصقة بنسبة ١ ٪ وزن/حجم . استعمل ٢٠ مل (لكل ١٠٠ غرام حبوب) . من معلق الجراثيم المجموعة حديثاً من السلالة المقاومة . ٢٠ مل / ١٠٠ غرام حبوب من معلق الكونيديات الجافة من السلالة المخزنة على حرارة ٤ °م . يؤخذ دليل المرض بعد أربعة أسابيع .

٥ - مقاومة مرض عفن التاج فى القمح

Biological Control of Crown Rot of Wheat

مقدمـــــة

يتسبب مرض عفن التاج فى القمح ، عن الفطر *Fusarium graminearum* . بسبب هذا المرض خفضاً فى انتاج الحبوب ، فى كثير من مناطق زراعة الحبوب فى أستراليا ومناطق أخرى . يهاجم الكائن الممرض نباتات القمح عن طريق غمد الفلقة Coleoptile وعن طريق السليمات السفلى من التاج وعن طريق التاج ، يتجرثم بسرعة ويستعمر منطقة التاج والساق . يتميز المرض بأنه يسبب تلون بنى فى الساق السفلية ويسبب نكروزز فى منطقة التاج والتى تؤدى إلى تكوين رأس بيضاء تحت ظروف معاناة نقص الماء أثناء تكوين وامتلاء الحبوب .

يبقى الفطر حياً بشكل أساسى على بقايا نباتات القمح المصاب ، بعد الحصاد . يؤدى حريق بقايا القمح إلى خفض شدة المرض ، ولكن هذا الإجراء غير سليم وذلك لأن الاحتفاظ ببقايا القمح ضرورياً للمحافظة على التربة والرطوبة . الدورة الزراعية غير فعالة فى مقاومة المرض وذلك لأن أقل فترة دورة زراعية ضرورية لخفض الإصابة بهذا المرض هى سنتين .

مقاومة المرض :

أثبتت الأبحاث أن أفضل طريقة لمقاومة المرض هو استعمال بكتيريا *Burkholderia (Pseudomonas) cepacia* وأن العزلة الفعالة هى *Rifampicin* (A3R) ، وجد أنها تخفض مرض عفن التاج فى القمح بنسبة معنوية فى تجارب الصوبا الزجاجية والتجارب الحقلية ، وتزيد انتاج الحبوب بشكل معنوى . وجد فى تجارب الصوبا الزجاجية أن استعمال

البكتيريا كمعاملة تربة وذلك بغمر التربة بالمعلق البكتيرى ٢,٥ × ١٠^٩ وحدة تكوين مستعمرات/غرام تربة ، كانت أكثر فعالية من استعمال البكتيريا على شكل تغليف للحبوب بنسبة ٣,٤ × ١٠^٧ وحدة تكوين مستعمرات/حية .

أما فى التجارب الحقلية عندما تستعمل البكتيريا على شكل غمر التربة بمعدل ١,٨ × ١٠^١٠ وحدة تكوين مستعمرات لكل متر من طول الخط ، فإن شدة المرض تنخفض . تكون نسبة الانخفاض أكثر فى التربة silt loam منه في تربة sandy loam حيث أن التربة الأولى تحتوى نسبة عالية من حبيبات الطين الدقيق (٥١,٧ ٪) والتى من الممكن أن تكون مناسبة لنشاط عامل المقاومة الحيوية وبقاءه حياً .

أما فى تجارب الصوبا الزجاجية فإن مقاومة المرض تكون معنوية جداً فى التربة اللومية السلتية منه فى التربة اللومية الرملية . يبدو أن التربة اللومية الرملية تناسب تكشف مرض عفن التاج ، ولا تساعد على بقاء البكتيريا المضادة حية . هذا ينعكس بواسطة التجمعات النسبية للبكتيريا المقاومة للمضاد الحيوى Rifampicin المعزولة ثانية من الأراضى المختلفة خلال فترة خمسة أسابيع بعد استعمال البكتيريا . تبين هذه الدراسة وتؤكد ، أن نوع التربة يؤثر على تجمعات عامل المقاومة الحيوية وعلى مستوى نشاطه فى مقاومة المرض ، جدول رقم (١١٩) .

جدول رقم (١١٩) : تأثير استعمال البكتيريا *B.cepacia* السلالة A3R على مقاومة مرض عفن التاج فى تجارب الصوبا الزجاجية .

المعاملة	شدة المرض على تركيزات مختلفة من الكائن الممرض			
	٠,١ ٪	٠,٢ ٪	٠,٥ ٪	١ ٪
كنترول	١	٣	٣,٧	٤
معاملة بذور	٠,٧	٢,٢	٣,٠	٣,٥
معاملة تربة	٠,٣	١,٥	١,٧	٣

ملاحظات على الجدول :

تزرع الحبوب فى أوعية بها تربة ممزوجة بالكائن الممرض بالنسب المذكورة فى الجدول. أما شدة المرض فهى من صفر إلى ٤ . حيث أن صفر بدون أعراض ، ١ = تلون بسيط على قواعد الفلقة ، ٢ = تلون بنى واضح ، ٣ = تلون على غلاف الورقة ، ٤ = ذبول أو موت البادرة .

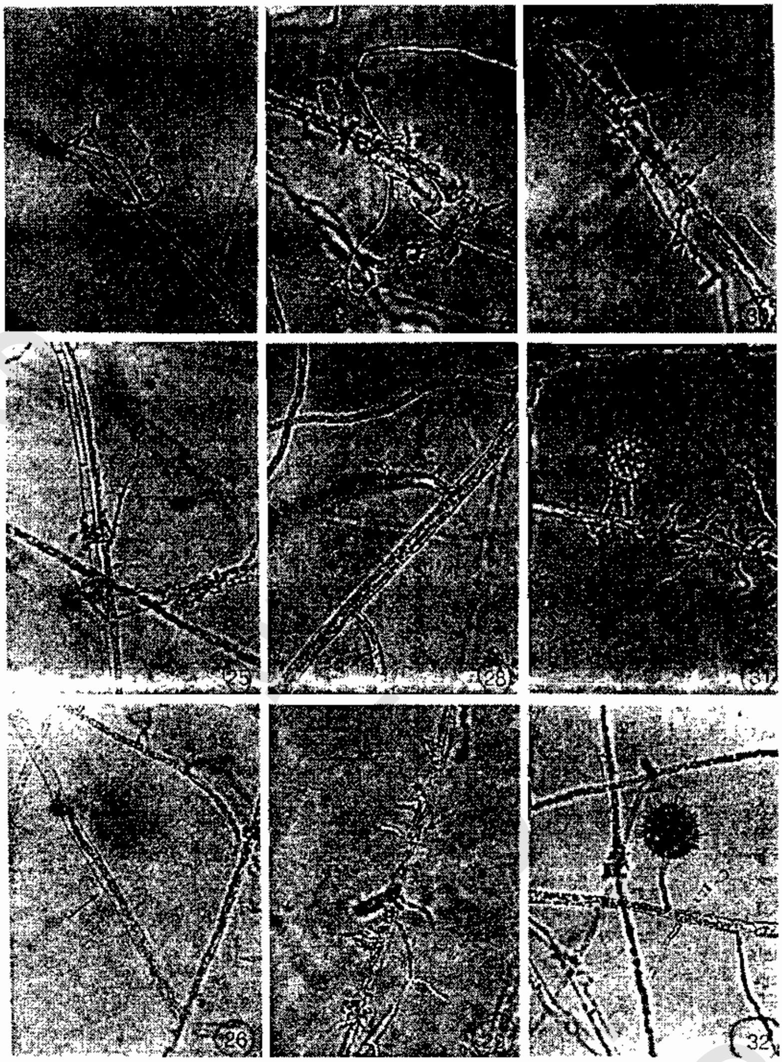
٦ - مقاومة مرض سقوط بادرات القمح المتسبب عن
Pythium ultimum

مقدمـــة

يتسبب الفطر *Pythium ultimum* var. *ultimum* فى خسائر كبيرة فى انتاج القمح تقدر بحوالى ٣٠ ٪ من الانتاج العالمى . يسبب هذا الفطر مرض سقوط البادرات فى القمح فى كل من أمريكا وبريطانيا وكندا . مع أن الجنس *Pythium* معروف جيداً بأنه جنس ممرض نباتـــى ، إلا أنه يحتوى أنواعاً متطفلة على الفطريات الممرضة مثل ، *P.oligandrum* . إن هذا الفطر من فطريات التربة قليل الانتشار ويتواجد تحت أنواع مختلفة من الأجواء ، وسط أفريقيا ، جنوب أستراليا ، هاواى والولايات المتحدة ، ألمانيا ، هولندا وفى اليابان حيث عزل من مناطق معينة هناك ، ولقد تم عزل هذا الفطر فى مصر . يتطفل هذا الفطر بشكل كبير على الفطر الممرض *P.ultimum* ويستعمل كعامل مقاومة حيوية له .

مقاومة المرض :

لقد تم عـــزل الفطر *P.oligandrum* بواسطة Hani *et al* سنة ١٩٩٧ مـــن الأراضى المصرية المزروعة بالبرسيم الحجازى لأول مرة ، ولقد تم وصفه بأنه يحمل أسبورنجيات مستديرة إلى كروية ، ووجد بأنه عامل مقاومة حيوية ضد الفطر الممرض *P.ultimum var. ultimum* مسبب سقوط البادرات فى القمح . تبين فى التجارب التى أجريت فى أطباق بترى أن الفطر المضاد *P.oligandrum* يتطفل على هيفات الفطر الممرض المذكور وذلك بمساعدة أعضاد التصاق رقيقة ومتفرعة أو أنابيب عدوى Infection pegs تؤدى إلى تحطيم العائل . شكل رقم (١٨) . عندما استعمل عامل المقاومة الحيوية ، سبب زيادة فى نسبة البادرات الظاهرة فوق سطح التربة من صفر فى الكنترول إلى ١٠٠ ٪ فى المعاملة .



شكل رقم (١٨) : يبين التضاد بين الفطر Pythium oligandrum E1-UOO2 والفطر *Pythium ultimum var. ultimum* .

٢٤ = تكوين أنابيب الإصابة (العدوى) للفطر المتطفل ، الأسهم تدل على هذه الأنابيب .
٢٥ = هيفات الفطر المتطفل تلتف حول هيفات الفطر المتطفل عليه .
٢٦ - ٣٠ = هيفات الفطر المتطفل داخل هيفات الفطر المتطفل عليه . الأسهم تبين ذلك .
٣١-٣٢ = تكوين أعضاء التأنيث للفطر المتطفل وتظهر من الفطر المتطفل عليه .

مقياس الرسم ٢٥ ميكروميتر .

٧ - مقاومة بعض الأمراض الكامنة فى الحبوب باستعمال السلالة MA 342 من البكتيريا

Pseudomonas chlororaphis

مقدمـــــة

إن استعمال عوامل المقاومة الحيوية أو مبيدات الآفات الحيوية Biopesticides ، لمقاومة أمراض النبات ، قد لا يكون بنفس الكفاءة التى تؤديها طرق المقاومة باستعمال المبيدات الكيماوية ، ولكن دائماً يشجع الباحثون استعمالها للمحافظة على نقاوة البيئة وصحة المستهلك . نتيجة الأبحاث المستمرة والجديدة ، ظهرت أنواع من عوامل المقاومة الحيوية تستعمل تجارياً على نطاق واسع فى مقاومة بعض الأمراض النباتية . معظم الأبحاث التى أجريت فى الدول الأسكندنافية كانت على الأمراض الكامنة فى الحبوب وطرق مقاومتها حيوياً . هذه الأمراض مهمه زراعياً وعادة ما كانت تقاوم بالمبيدات الفطرية .

لقد تم عزل عدة سلالات بكتيرية من الأراضى السويدية والتى أعطت مقاومة جيدة للأمراض الكامنة فى البذور ، عند إضافتها للبذور الملوثة بالكائنات الممرضة . من أهم هذه السلالات MA 342 من البكتيريا *P.chlororaphis* التى أعطت كفاءة عالية فى جميع التجارب الحقلية فى مقاومة الأمراض الكامنة فى الحبوب .

مقاومة الأمراض :

لقد اختبرت السلالة MA 342 من البكتيريا *P.chlororaphis* كعامل مقاومة حيوية ضد عدد من الأمراض الكامنة فى البذور فى حوالى ١٥٠ تجربة حقلية أجريت فى مناطق مختلفة فى السويد خلال السنوات ١٩٩١-١٩٩٦ . كانت تضاف المزرعة السائلة البكتيرية مباشرة على الحبوب الملوثة بالكائن الممرض (القمح ، الشعير ، الشوفان ، الراى) بدون أية اضافات ، بتركيز ١٠^{٧} وحدة تكوين مستعمرات/حبة ، هذا يتأتى من استعمال ٣٠٠ مل من مزرعة المرق البكتيرية لكل كيلو غرام /حبوب ، ثم بعد ذلك تجفف البذور وتزرع فى الحقول وتقارن النتائج مع البذور المعاملة بالمبيدات الفطرية . أظهرت النتائج أن الحبوب المعاملة بالبكتيريا تقاوم الأمراض الكامنة فى التربة المتسببة عن :

1 - Drechslera (Pyrenophora) graminis. *2 - D.teres.*

3 - D.avenae. *4 - Ustilago avenae.*

5 - U. hordei. *6 - Tilletia caries.*

كانت نتائج استعمال البكتيريا تشابه نتائج استعمال المبيد الفطري Imazalil بنسبة ١٠ غرام/لتر ومركب Guazatine بنسبة ١٥٠ غرام/لتر ، وأن هذه النتائج تستمر لعدة سنوات ولا تتأثر باختلاف الظروف الجوية .

أما الأمراض المتسببة عن الكائنات *U.nuda* (كامن فى التربة) *T.contraversa* لم يحدث لها مقاومة . وإن بكثرة الحبوب بعامل المقاومة الحيوية المذكور أعطت تأثير منخفضاً فـــى مقاومة *Microdochium* (Fusarium) *nivale* و *Bipolaris sorokiniana* (كـــان يسمى *Cochliobolus sativus*) . إن الحبوب المبكـــترة يمكن أن تخزن جافة لمدة سنتين على الأقل دون أن تفقد مقدرتها على كبح جماح المرض عندما تستعمل فى الحقل .

obeikandl.com

ثانيـا : الشـعير

مقاومة مرض لفحة الحبة القاعدية فى الشعير (قواعد السنابل)

Basel Kernel Blight of Barley

مقدمـــة

يتسبب مرض لفحة قواعد سنابل الشعير عن البكتيريا *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* . تكون الفترة الحرجة للإصابة ، ابتداء من الطور اللبني المتأخر إلى الطور العجينى الطرى من تكشف الحبة . تكون الرطوبة العالية ضرورية خلال هذه المدة لحدوث الإصابة وتكشف المرض ، يفقد الشعير المصاب بالمرض قيمته التسويقية وذلك لاختلاف لونه وخفة وزنه وانخفاض نوعيته ويمكن أن يستبعد من صناعة المشروبات الروحية إذا زادت نسبة الإصابة فى الحبوب عن ٤ ٪ فى كل ١٠٠ غرام حبوب .

نظراً لعدم وجود مبيدات بكتيرية تستعمل على الحبوب الصغيرة ، لمقاومة الأمراض البكتيرية ، فإن الإجراء الوحيد الذى يستعمل لغاية (٢٠٠٠) هو وقف عملية الرى خلال تكشف أكثر الأطوار قابلية للإصابة فى الحبة وهو الطور العجينى الطرى ، وكذلك استعمال أقل الأصناف قابلية للإصابة .

خلال السنوات الماضية تم اكتشاف نظام حيوى فعال لمقاومة هذا المرض ، مبنى على استعمال البكتيريا *Pantoea agglomerans* قبل حدوث الإصابة . إن هذه البكتيريا ذات اسم مرادف *Erwinia herbicola* والتى تستعمل كعامل مقاومة حيوية ضد عديد من الأمراض الفطرية والبكتيرية .

مقاومة المرض :

يقاوم هذا المرض باستعمال البكتيريا *Pantoea agglomerans* حيث أنها تثبط تكشف مرض لفحة قواعد السنابل فى الشعير ، عندما تضاف على السنابل قبل دخول البكتيريا الممرضة فى شقوق السنبلة ، حين تكون الحبة فى الطور العجينى الطرى . وجد فى بعض التجارب الحقلية أن هذه البكتيريا تخفض الإصابة بنسبة ٤٥–٧٤٪ ، بينما فى تجارب الصوبا الزجاجية فإنها تخفض الإصابة بنسبة ٥٠–١٠٠ ٪ معتمدة على العزلة المستعملة ونوع الشعير .

تتأثر كفاءة سلالات عامل المقاومة الحيوية بوقت ومعدل الاستعمال . تنخفض النسبة المئوية لإصابة الحبوب إنخفاضاً معنوياً ، عندما تستعمل البكتيريا المضادة قبل الحقن بالكائن المرض ولكن ليس عند حقنهما معاً . كذلك فإن استعمال البكتيريا المضادة قبل الحقن بالكائن الممرض بمدة ٣ أيام ، يكون كافياً للحصول على مقاومة حيث أن التجمعات تكون حوالى ١٠^{٧} وحدة تكوين مستعمرات/حبة ، وهذه الكمية تكون قد توطدت على الحبوب، بينما تجمعات الكائن الممرض تنخفض مائة ضعف وتصبح ٢ × ١٠^{٤} وحدة تكوين مستعمرات/حبة . إن إضافة البكتيريا المضادة على الورقة العلم (قبل التسنبل) أيضاً يخفض إصابة الحبوب تخفيضاً معنوياً . يزيد إنخفاض مرض اللفحة بزيادة تركيز البكتيريا المضادة من ١٠ ^{٣} إلى ١٠^{٧} وحدة تكوين مستعمرات/مل . وجد أن أفضل تركيز للحصول على أفضل مقاومة للمرض هو ١٠^{٧} وحدة تكوين مستعمرات/مل . تنخفض مدة بقاء البكتيريا المضادة حية من ١٠ إلى أقل من ١٠٠ ضعف فى مدة ١,٥ سنة . إن تخزين معظم تشكيلات البكتيريا المضادة على حرارة ٤ ْم هو أفضل تخزين ، حيث تبقى حية بنسبة ٩٠ إلى ٩٣ ٪ عـــنه عند تخزينها علـــى حرارة ٢٢ ْم (٧٣-٧٩ ٪ تبقى حية) . وعلى أية حال فإن إطالـــة مدة الحفظ ليس لها تأثير معاكس على كفاءة المقاومة الحيوية ، جدول رقم (١٢٠) .

جدول رقم (١٢٠) : النسبة المئوية لمرض لفحة حبوب الشعير ، فى الأصناف المختلفة باستعمال سلالات مختلفة من البكتيريا المضادة فى التجارب الحقلية .

نوع السلالة البكتيرية المضادة المستعملة	٪ خفض فى نسبة المرض فى الأصناف			
	B 2601	B 2912	B 1202	B 5133
Eh 236	٤٨,٩	٦٦,٥	٥٢,٨٦	٥١,١٦
Eh 239	٦٠,٣	٧٣,٨	٦٧,١٤	٤٨,٨٣
Eh 454	٦٨,٩	٦٤,٢	٦٨,٥٧	٦١,٣٩
Eh 460	٦٠,٣	٦٠,٠	٦٤,٣	٣٦,٧
مقتولة حرارياً Eh 236	٢٣,٩	صفر	٢٨,٦	١٢,١
مقتولة حرارياً Eh 239	صفر	صفر	١١,٤	٢٠,٥
مقتولة حرارياً Eh 454	صفر	٤٥,٦	٥٢,٩	١٨,١
مقتولة حرارياً Eh 460	صفر	١٣,٨	٣٨,٦	٢٦,٥
Eh 239 + 454	٤٨,٤	٤٠,٧	٦٤,٣	٣٣,٥
Eh 460 + 236	٤٤,٢	٤٦,٨	٣٤,٣	٥٨,١
Eh 239 + 460	٤٢,١	٢٦,٩	٤٢,٩	١٠,٧
Eh 236 + 239	٤٢,١	٢٥,٩	٦٢,٩	٢٠,٠
جميع السلالات	٤٥,٥	٥٢,٣	٤٥,٧	١٦,٣
حمض الترتريك	٢٦,٠	٢٠,٣	٣٥,٧	٢٠,٥

ثالثــاً : الأرز

١ - مقاومة مرض لفحة غمد ورقة الأرز

(أ) باستعمال الفطر تريكوديرما + البكتيريا باسلس

مقدمــــة

يتسبب مرض لفحة غمد ورقة الأرز عن الفطر *Rhizoctonia solani* . يحدث هذا المرض فى معظم مناطق زراعة الأرز فى العالم . ينخفض الانتاج بسبب هذا المرض بنسبة تتراوح ما بين ٥,٢–٥٠ ٪ فى اليابان ، فيتنام ، الصين ، تايوان . فى بعض مناطق الهند ينخفض الانتاج بنسبة ١٠–٣٦ ٪ وهذا يعتمد على الطور الذى يصاب فيه الأرز . يبقى الكائن الممرض حياً لمدة طويلة إما فى التربة أو فى بقايا الأرز أو على الحبوب ، وبالتالى يكون من الصعوبة بمكان أن يقاوم بواسطة العمليات الزراعية بالإضافة إلى الطرق الكيماوية. لقد تم الحصول على المقاومة الحيوية لهذا المرض باستعمال أنواع من البكتيريا *Bacillus* sp. وذلك عن طريق معاملة الحبوب . كذلك تم الحصول على مقاومة حيوية بنسبة عالية عند معاملة الحبوب بجراثيم الفطر *Trichoderma viride* وجراثيم البكتيريا *B.subtilis* ، وهذا أدى إلى خفض في نسبة مرض لفحة الغمد فى الأرز .

مقاومة المرض :

إن استعمال الفطر *T.viride* أو البكتيريا *B.subtilis* معاملة بذور ، أظهرت خفضاً فى الإصابة بالمرض . كلا العاملين يؤدى إلى خفض الإصابة المرضية وزيادة انتاج الحبوب فى الأرز ، عند معاملة الحبوب بأى منهما لوحده أو متحداً مع ٢ ٪ (وزن/حجم) ميثايل سليلوز ، أو ٢ ٪ (وزن/حجم) ميثايل سليلوز + ٠,١ مول كبريتات مغنسيوم . لقد وجد أن الفطر *T.viride* أكثر كفاءة من البكتيريا *B.subtilis* فى خفض الإصابة بمرض لفحة الغمد فى الأرز .

إن إصابة غمد الورقة وطول البقعة المرضية قد انخفضتا معنوياً عندما عوملت حبوب الأرز بالفطرين *T.viride* و *T.harzianum* كما فى جدول رقم ١٢١ ، ووجد أن الفطر الأخير أكثر كفاءة فى خفض المرض من الفطر الأول . كذلك وجد أن استعمال methyl cellulose ٢ ٪ (وزن/حجم) و/أو ٠,١ مول كبريتات مغنسيوم مع الفطرين المضادين

المذكورين سابقاً يؤدى إلى زيادة فى كفاءة كل منهما فى مقاومة المرض . وتسبب أيضاً زيادة فى انتاج الحبوب . وبالتالى يمكن القول بأن هذين الفطرين يمكن استعمالهما على مستوى تجارى فى مقاومة المرض .

جدول رقم (١٢١) : تأثير معاملة حبوب الأرز بالفطريات المضادة ، على الإصابة بمرض لفحة الغمد المتسبب عن الفطر *R.solani* .

المعاملة	٪ إصابة الغمد	سم طول البقعة	انتاج الحبوب غ/نبات	٪ زيادة انتاج عن الكنترول
نباتات غير محقونة (كنترول)	صفر	صفر	١٦,٥	٦٧
نباتات محقونة بالفطر الممرض فقط	٥٥,٦	٣٤,١	٩,٧	صفر
T.viride	٣٧,١	٢٧,٢	١٣,٧٥	٤١
T.viride + Methyl cellulose	٣٥,١	٢٤,٨	١٤,٦	٥٠
T.viride + Mg SO_4	٣٨,٤	٢٦,٥	١٣,٧٥	٤٢
T.viride + M.C + Mg SO_4	٣٥,٧٥	٢٤,١	١٤,٢	٤٢,٥
T.harzianum	٣١,٤	٢٠,٢	١٥,٧	٦٢,٣
T.harzianum + Methyl cellulose	٢٦,٢٣	١٧,٣	١٦,٥	٦٧,١
T.harzianum + $MgSO_4$	٣٢,٦	٢٠,٢	١٥,٧	٦٣,٢
T.harzianum + Mg SO_4 + M.C.	٢٨,٦	١٧,٧	١٦,١	٦٤,٦
Bavistin	٣٢,٢	٢١,٦٢	١٥,٥	٥٦,٦

ملاحظات على الجدول :

كانت تستعمل الكائنات المضادة بتركيز $١٠^{٦}$ جرثومة كونيدية/مل . .M.C ميثايل سليلوز يستعمل بنسبة ٢ ٪ (وزن/حجم) بنسبة ٢ ملغ/مل . أما كبريتات المغنيسيوم تستعمل بنسبة ٠,١ مول بتركيز ١,٢ غرام / ١٠٠ مل من المعلق الجرثومى . أما الفطر الممرض يستعمل بنسبة ٢ ٪ من التربة وزن/وزن .

obeikandl.com

(ب) مقاومة مرض لفحة غمد ورقة الأرز

باستعمال البكتيريا Pseudomonas putida

لقد أظهرت دراسات عديدة أجريت فى الهند أن البكتيريا *P. putida* PpV 14i تقاوم مرض لفحة غمد الأرز فى المعمل وفى الحقل . إن أفضل تركيب يجب أن تتوفر عليه البكتيريا هو ميثايل سليلوز : بودرة تلك بنسبة ١ : ٤ تستمر عليه البكتيريا حية لمدة عشرة شهور وتسبب خفضاً فى شدة المرض بنسبة ٦٠ ٪ فى الحقل ، زيادة على ذلك فإن هذا التركيب ليس له تأثير ضار على إنبات الحبوب (جدول رقم ١٢٢) .

جدول رقم (١٢٢) : المقاومة الحيوية لمرض لفحة غمد الأرز باستعمال البكتيريا *P. putida* PpV 14i **فى الحقل.**

المعاملة	٪ خفض المرض	٪ مقاومة المرض
البكتيريا		
معاملة بذور	٩٢,١	٧,٩
معاملة تربة + معاملة بذور	٧٣,٥	٢٦,٥
معاملة تربة + معاملة بذور + رشة على الأوراق	٥٣,٥	٤٦,٥
معاملة تربة + معاملة بذور + رشتين على الأوراق	٤٠,١	٥٩,٩
المبيد الفطرى فلدامايسين		
معاملة بذور	٩٣,٦	٦,٤
معاملة بذور + معاملة تربة	٧٧,٦	٢٢,٤
معاملة بذور + معاملة تربة + رشة واحدة	٥٧,٠	٤٣
معاملة بذور + معاملة تربة + رشتين	٦٠,٦	٤٩,٤

ملاحظات على الجدول :

٪ حدوث المرض = حجم البقع مقسوماً على حجم النبات × ١٠٠

٪ مقاومة المرض = ١٠٠ - معاملة الكنترول × ١٠٠

رابعـــاً : الذرة

١ - مقاومة مرض الورقة المخططة ولفحة الغمد

Biological Control of Banded Leaf and Sheat Blight of Maize

كان أول ظهور لهذا المرض سنة ١٩٢٧ فى سيرلانكا . يتسبب هذا المرض عن الفطر *Rhizoctonia solani* f. sp. *sasakii* . نال هذا المرض اهتماماً كبيراً نظراً لسعة انتشاره وأصبح مرضاً مهماً اقتصادياً فى معظم المناطق الاستوائية فى اسيا حيث تزرع الذرة . ظهر هذا المرض على شكل وباء فى الهند والبنغال سنة ١٩٧٠ . تبين أن المقاومة التقليدية لهذا المرض غير ذات جدوى ، إما لارتفاع التكلفة الاقتصادية أو لأنها غير عملية ، إلا أن الأصناف المنيعة لا تزال قائمة حيث أن الفطر لم يكسر هذه المناعة .

اتجهت الأنظار حديثاً إلى المقاومة الحيوية لهذا المرض ، وجد بعض عزلات البكتيريا *Pseudomonas fluorescens* PF-1 الموجودة فى منطقة الرايزوسفير ، تظهر تثبيط قوى ضد الكائن الممرض المذكور سابقاً . وجد أن أفضل الحوامل التى يجب أن تحمل عليها هذه البكتيريا أثناء تحضيرها وتشكيلها للاستعمال هى مادة البيت Peat وبودرة التلك ، حيث تكون البكتيريا بتركيز ١٩,٥ × ١٠^٧ و ١٨,٣ × ١٠^٧ وحدة تكوين مستعمرات/غرام من المنتج بالترتيب. تبقى هذه التركيبة فعالة لمدة ٤٠ يوم من التخزين جدول رقم (١٢٣).

جدول رقم (١٢٣) : مدة بقاء البكتيريا *P.fluorescens* PF-1 المحمولة على حوامل مختلفة حية ، والمخزنة على فترات مختلفة .

نوع الحامل	البكتيريا التى تبقى حية بعد فترة التخزين (× ١٠^٧) بالأيام					
	صفر	٢٠	٤٠	٨٠	١٦٠	٢٤٠
بودرة التلك	٣٥,٥	٣٦,٥	١٨,٣	١٥,٣	٥,٨	١,٨
قشور الحمص الأسود	٣١,٨	٣٢,٠	١٢,٣	٦,٨	٣,٣	١,٠
مسحوق ليف جوز الهند	٣٠,٣	٣٠,٥	١٠,٨	٨,٠	٣,٠	١,٠
البيت	٣٤,٠	٤١,٥	١٩,٥	١٦,٨	٦,٨	٣,٣
مسحوق أغلفة كيزان الذرة	٣٠,٨	٣١	١١,٥	٨,٨	٣,٨	١,٣

obeikandl.com

يقاوم المرض بفعالية تامة عن طريق معاملة الحبوب بمادة الـ Peat المحملة بالبكتيريا بنسبة ١٦ غرام/كيلو ، أو يستعمل على شكل معاملة تربة بنسبة ٢,٥ كيلو/هكتار أو عن طريق رش المجموع الخضرى بالمحلول المائى مرتين بتركيز ٥ غرام/ مل ماء . جدول رقم ١٢٤ .

جدول رقم (١٢٤) : تأثير استعمال البكتيريا المقاومة للكائن الممرض مسبب مرض لفحة الغمد والورقة المخططة في الذرة ، على شدة المرض وخفض نسبة الإصابة .

نتيجة المعاملات	معاملة بذور غ/كيلو غرام					معاملة تربة كيلو/هكتار					رشاً على المجموع الخضرى غ/لتر				
	٤	٨	١٢	١٦	كنترول	١	١,٥	٢	٣	كنترول	٢	٣	٤	٥	كنترول
معدل دليل المرض	٣,٥	٣,٢	٢,٥	٢,٥	٤,٣	٤	٣,٧	٣,٢	٢,٣	٤,٧	٣,٧	٤,٠	٣,٧	٢,٨	٤,٨
٪ خفض المرض	١٩	٢٦	٤٢	٥١	صفر	١٥	٢١	٣٢	٥١	صفر	٢٣	١٧	٢٣	٤٢	صفر

ملاحظات على الجدول :

دليل المرض يقسم من ١ إلى ٥ وذلك حسب ما ذكره payak و Ahuja سنة ١٩٨٣ .

٢ - مقاومة سقوط بادرات الذرة قبل وبعد ظهورها فوق سطح التربة

تهاجم بادرات الذرة ببعض الفطريات الكامنة فى التربة مثل فيوزاريوم وبثيم . هذه الفطريات غالباً ما تسبب سقوط البادرات قبل أو بعد ظهورها فوق سطح التربة .

اختبرت السلالة *Bukholderia cepacia* PHQM 100 بحيث استعملت تغليفاً للبذور لمقاومة كل من فيوزاريوم وبثيم . وجد أن البكتيريا تخفض الإصابة بأى من الفطرين وتسبب زيادة فى عدد البادرات النامية فوق سطح التربة ، جدول رقم ١٢٥ .

obeikandl.com

جدول رقم (١٢٥) : تأثير استعمال البكتيريا *B.cepacia* السلالة PHQM 100 على عفن الحبوب ، إصابة الجذور ، نكروزز المنطقة الوسطى فى بادرة الذرة المزروعة فى أنواع مختلفة من الأراضى المحقونة بالفطريات الممرضة بثيم وفيوزاريوم .

صنف الذرة المستعمل فى الدراسة	البكتيريا معاملة بذور	تربة ملوثة بالفطر بثيم Sandy clay loam		تربة ملوثة بالفطر فيوزاريوم Sandy loam	
		٪ عفن بذور	نكروزز الجذر سم/١٠ نباتات	نكروزز الجذر سم/١٠ نباتات	٪ إصابة وسط البادرة
متوسط المقاومة	كنترول	١٣	٧,٣	٣,٧	٢٥
متوسط المقاومة	مع بكتيريا	١١	٦,٩	١,٣	٥
متوسط القابلية للإصابة	كنترول	٥٠	١٢,٩	١١,٢	٣٠
متوسط القابلية للإصابة	مع بكتريا	٢٥	١٣,٣	٤,٨	١٠
قابل للإصابة	كنترول	٤٨	١٤,٤	١١,٦	١٢,٥
قابل للإصابة	مع بكتريا	٣٨	٢٠,٠	٩,٠	١٠

ملاحظات على الجدول :

كانت تعامل البذور بالبكتيريا بنسبة $١٠^{٧}$ وحدة تكوين مستعمرات/بذره .

obeikandi.com

II المقاومة الحيوية لبعض أمراض التفاح

١ - المقاومة الحيوية لمرض اللفحة النارية

مقدمـــة

منذ حوالى ستة وعشرون عاماً ، ذكر Schroth *et al* سنة ١٩٧٤ ، أن المقاومة الحيوية لمرض اللفحة النارية فى التفاح من الأمور المتوقعة ، لأنه لا يوجد أبحاث حقلية منشورة تذكر أن المترممات البكتيرية يمكن أن تتفاعل مع أو توقف تجمعات البكتيريا مسببة اللفحة النارية فى التفاح *Erwinia amylovora* . بعد ذلك الوقت نشرت أبحاثاً عديدة ذكرت أنه يمكن تثبيط مرض اللفحة النارية بالبكتيريا المضادة فى الحقل .

من أهم أنواع البكتيريا المضادة التى درست فى هذا المجال السلالة *Pseudomonas fluorescens* A 506 ، وهى متوفرة الآن وتباع تجارياً للمقاومة الحيوية ، وتباع تحت اسم Blight Ban A 506 . كما ذكر Lindow سنة ١٩٩٦ أن السلالة PfA 506 أيضاً تخفض أضرار التجمد والتلون الخمرى فى الثمار ، عن طريق تثبيط تجمعات الكائنات الحية الدقيقة المنتجة الأكسين والمنشطة لتكوين نواة الجليد . هناك بكتيريا مضادة أخرى للفحة النارية هى السلالة *Erwinia herbicola* C9-1 وقد أعيد تصنيفها على أساس أنها *Pantoea agglomerans* Eh C9-1 وقد حصلت على تصريح للاستعمال من وكالة الصحة الأمريكية .

يجب أن يكون معلوماً لدينا أن سطح الميسم فى الزهرة هو النسيج الأساسى الذى يجب أن تستعمره المضادات البكتيرية لكى تتفاعل بنجاح مع الكائن الممرض . من دراسة الاتحادات المختلفة لميكانزم هذه المضادات ، تبين أنها تستطيع أن تثبط كلاً من توطيد ونمو البكتيريا الممرضة على سطوح المياسم والذى يخفض احتمالية الإصابة الزهرية وانتشار الكائن الممرض إلى أزهار أخرى .

لكى تكون المقاومة الحيوية فعالة ، يجب أن تكون معظم سطوح مياسم الأزهار فى أشجار الحقل مستعمرة من قبل الكائنات المضادة ، ويجب أن يكون حجم هذه المضادات على المياسم ، مقترباً من كامل مقدرة التحمل لهذا النسيج ($١٠^{٥}$ إلى $١٠^{٦}$ وحدة تكوين مستعمرات/زهرة) . فى هذا المجال يصعب أن يقع التنافس بين الكائنات المضادة والبكتيريا

الممرضة (ربح معركة التنافس) ، بسبب تواجدها الكثيف السابق لتواجد البكتيرية الممرضة ، من المحتمل أن يكون هذا التنافس ، أكثر ميكانيكيات التضاد أهمية ، الذي بواسطته تستطيع الكائنات المضادة البكتيرية أن تصل إلى القدرة على وقف شدة الكائن الممرض . مثلاً السلالة PfA 506 تثبط نمو البكتيريا الممرضة على الأزهار عندما تضاف قبل الحقن بالكائن الممرض بمدة ٧٢ ساعة ، ولكنها لا تفعل ذلك عندما تضاف سوياً مع الكائن الممرض .

لقد ذكر Wilson & Lindow سنة ١٩٩٣ أن السلالة PfA 506 تحتمل نفس المواقع على المياسم التى تستعمر من قبل الكائن الممرض *E.amylovora* وتستعمل المغذيات الضرورية لنمو الكائن الممرض ، مع أن المركبات التى تثبط نمو الكائن الممرض لم يمكن اكتشافها فى مزارع PfA 506 ، هذا يدل على أنه يمكن أن يكون هناك ميكانزمز أخرى تتدخل فى تثبيط الكائن الممرض بواسطة السلالة PfA 506 .

لاحظ الباحثون المذكورون سابقاً أن أزهار الكمثرى hypanthia of comice pear المعاملة بالسلالة المذكورة يتكشف فيها لون محمر ، وبناء على هذه الملاحظة توقعوا أن β.glucosidase المفترض بأنه ينتج بواسطة السلالة PfA 506 يتفاعل مع الجلوكوسايد ، Arbutin أو فينولات أخرى فى أنسجة الكمثرى تؤدى إلى تثبيط عام للكائن الممرض . وجد فى مراقد البذور ، أن هذه السلالة أيضاً توقف إفراز الرحيق فى الأزهار والذى يخفض بكفاءة قدرة الضغط فى سطح الـ hypanthial إلى مستويات مثبطة لنمو البكتيريا .

لقد وجد أن معاملة الأزهار بالسلالة PfA 506 لا تؤثر على نسبة حدوث عقد الثمار أو على عدد مرات زيارة نحل العسل إليها ، والذى يدل على أن الغدد الرحيقية تبقى فى حالة سليمة ولا تؤثر عليها البكتيريا المضادة . يبدو واضحاً أن السلالة البكتيرية المذكورة تثبط نمو البكتيريا الممرضة *E.amylovora* على أنسجة المياسم خلال فترة تواجدهما معاً ، وهذا يكون كافياً لتعطيل عمليات المرضية ، بغض النظر عن الميكانزم المستعمل ، كذلك يمكن القول بأن السلالة المضادة يمكن أن تعمل تحويراً فى الـ hypanthium بحيث يكون ميكانزم ثانوى يشارك فى المقاومة .

أثبتت كثير من الأبحاث أن السلالات من البكتيريا *E.herbicola* تنتج مضادات حيوية والتى تكون مثبطة للكائن الممرض . مثلاً السلالة Eh C9-1 تنتج نوعين من المضادات الحيوية ، يسمى الأول (herbicolins O) والثانى (herbicolins I) ، والتى هى مثبطة

obeikandl.com

للسلالاة الممرضة . إن الإجيال الناتجة من طفرات تفتقر إلى هذه المضادات الحيوية من *E.herbicola* ، مثل السلالة 252 و 318 ، فإنها تساهم جزئياً فى التضاد الحيوى لتثبيط نمو البكتيريا الممرضة التى تتواجد فى أزهار التفاح والكمثرى . من المحتمل أن يكون التنافس على أماكن الإصابة والمواد المغذية المحددة للنمو ، أن تكون ميكانزم آخر الذى بواسطته تقوم البكتيريا *E.herbicola* بتثبيط نمو البكتيريا الممرضة على المياسم الزهرية .

التجمعات البكتيرية ودورها فى مقاومة اللفحة النارية

لقد وجد أن السلالة PfA 506 ، مستعمرة ممتازة لمياسم الأزهار ، فى الأجواء الباردة والتى عادة تكون نموذجية ، وتسود خلال فترة التزهير المبكر أو فى منتصف موسم التزهير لكل من التفاح والكمثرى ، وبهذا يمكن أن تصل نسبة استعمار المياسم إلى $١٠^{٥}$ أو $١٠^{٦}$ وحدة تكوين مستعمرات/زهرة ، إلا أن هناك ٥٠ ٪ إلى ٧٠ ٪ فقط من الأزهار التى على الأشجار التى تعامل بالبكتيريا تلتقط وتأوى هذه البكتيريا . يمكن القول بأن هناك على الأقل ٤٠–٦٠ ٪ خفضاً فى مرض اللفحة النارية ، يمكن الحصول عليه إذا ما رشت الأشجار فى الحقول بالسلالة PfA 506 مرتين . وبنفس الطريقة فإن السلالة Eh C9-1 تستعمر أزهار التفاح والكمثرى . وجد أن معاملة الأشجار بهذه السلالة يخفض حدوث الإصابة من ٥٠–٨٠ ٪ . وبالتالى فإن كفاءة Eh C9-1 فى مقاومة مرض اللفحة النارية فى التفاح ، تقارب كفاءة استعمال المضاد الحيوى ستربتومايسين ، وتزيد عن مستويات المقاومة باستعمال PfA 506 أو المضاد الحيوى Oxytetracycline . وجد فى التجارب الحقلية أن تجمعات Eh C9-1 على الأزهار تكون بنسبة $١٠^{٤}$ إلى $١٠^{٦}$ وحدة تكوين مستعمرات لكل زهرة . كما هو الحال فى السلالة PfA 506 فإن ٤٠ ٪ إلى ٧٠ ٪ فقط من الأزهار المعاملة فى الحقول تأوى هذه البكتيريا .

عند استعمال خليط من السلالتين PfA 506 و Eh C9-1 ، فإن ذلك يزيد من تجمعات البكتيريا المضادة على الأزهار المعاملة وتزيد نسبة الأزهار التي تؤي البكتيريا المضادة بحيث تصل ٨٠ أو ٩٠ ٪ من الأزهار المعاملة . لقد وجد أن كلا السلالتين تنتقل تدريجياً من الأشجار المعاملة إلى غير المعاملة . ويصل هذا الانتقال لمسافة أربعة خطوط بعيدة عن خط الأشجار الأول . زيادة على ذلك وجد أن البكتيريا الممرضة *E.amylovora* حتى تحدث المرض يجب أن تكون متواجدة بنسبة أكبر من $١٠^{٥}$ وحدة تكوين مستعمرات لكل زهرة وتزيد هذه النسبة فى الأشجار البعيدة عن الأشجار المعاملة بالبكتيريا المضادة .

لقد أجريت تجارب كثيرة على المقاومة الحيوية لمرض اللفحة النارية فى التفاح ، ووجد أن الخطوة الحرجة والمحددة لنجاح هذه المقاومة ، هو تمكن تجمعات البكتيريا المضادة من أن تستعمر الأزهار وتوطد نفسها فيها . إذا ما حدث وأن وطدت البكتيريا نفسها فى الأزهار ، يكون هناك فرصة كبيرة لتجمعات البكتيريا لأن تتحمل الضغوطات (المعاناة) البيئية ويمكن أن تصبح داعمة لنفسها عن طريق الانتشار من زهرة إلى أخرى .

تكون مقدرة البكتيريا المضادة للمرض ، على توطيد نفسها فى مياسم الأزهار ، ونسبة هذا التوطيد ، معتمدة على طرق تحضير اللقاح ، طرق استعماله ، طور التزهير ودرجة الحرارة أثناء الاستعمال . لقد وجد Stockwell *et al* سنة ١٩٩٨ أن اللقاح المحتوى على خليط من السلالتين PfA 506 و Eh C9-1 الذى قد حصل له تجفيف بالتجميد ثم أعيد إذابته فى الماء وتم رشه على الأزهار ، يكون عند أفراد هذه السلالات قدرة على توطيد أنفسها أفضل من المعلق البكتيرى المحضر من مزارع نشيطة صناعياً (صلبة) ، حيث أنه فى الحالة الأولى تكون نسبة توطيد البكتيريا فى الأزهار حوالى ٧٠ ٪ إلى ١٠٠ ٪ ، أما فى الحالة الثانية تكون نسبة التوطيد من ٧٠ – ٨٠ ٪ وتقل عن ذلك خاصة إذا كان الجو جافاً يسبب جفاف الأزهار . وبالتالى فإن التحضيرات التجارية من البكتيريا PfA 506 و Eh C9-1 يجب أن تكون مجهزة عن طريق التجفيف بالتجميد .

لقد وجد Johnson *et al* سنة ٢٠٠٠ أنه عند استعمال السلالة C9-1S من البكتيريا *Pantoea agglomerans* (المقاومة للبكتيريا الممرضة) والمقاومة للمضاد الحيوى ستربتومايسين ، أن توطيد نفسها ونموها على أزهار التفاح والكمثرى لا يتأثر بالمضاد الحيوى ستربتومايسين ولا بمنافسة البكتيريات الأخرى الموجودة على السطح النباتى ، وإنما يكون كما هو الحال فى البكتيريا الممرضة ، متأثراً بالحرارة ، حيث أن الحرارة هى العامل الهام والمحدد للانتشار الناجح لعوامل المقاومة الحيوية من زهرة إلى زهرة .

دور نحل العسل فى المقاومة الحيوية لمرض اللفحة النارية فى التفاح

يعتبر الدور الذى يقوم به نحل العسل، فى نقل عوامل المقاومة الحيوية المضادة للبكتيريا *E.amylovora* من الأدوار الهامة التى تحقق مقاومة حيوية لمرض اللفحة النارية بمستوى تجارى فى الحقول . يصبح نحل العسل عامل هام عندما تتواجد خلايا النحل فى البستان وتقوم النحلة بنقل كميات من البكتيريا المضادة المتواجدة على شكل محضر جاف من

ميسم زهرة إلى ميسم أخرى . لقد ذكر Johnson *et al* سنة ١٩٩٣ أن نحل العسل ليس له كفاءة عالية فى نقل البكتيريا المضادة من أزهار إلى أخرى ، وقد ذكر في بحثه أسباب عديدة تبين هذه الفرضية ، ثم علق على نتائجه بقوله : لكى يقوم النحل بدور ما فى نقل البكتيريا المضادة يجب أن تتوفر هذه البكتيريا بكميات كبيرة على مياسم الأزهار ، ومع أنه ليس لنحل العسل أهمية كبيرة فى نقل البكتيريا المضادة من زهرة إلى أخرى ، إلا أن الحشرات بشكل عام يمكن أن تقوم بدور الانتقال الثانوى للبكتيريا المضادة من الأزهار المستعمرة إلى غير المستعمرة، حيث أن هذا الانتقال الثانوى يثبط نمو البكتيريا الممرضة ويقلل حدوث المرض .

الاستعمال المناسب لعوامل المقاومة الحيوية ضد مرض اللفحة النارية

هناك عدة أمور يجب مراعاتها عند استعمال عوامل المقاومة الحيوية لمقاومة مرض اللفحة النارية فى التفاح وهى :

١ - طور تفتح الازهار

إن هذا الطور هو العامل المحدد لوقت استعمال عامل المقاومة الحيوية ، وذلك حتى يتسنى لهذه البكتيريا أن توطد نفسها على المياسم قبل وصول البكتيريا الممرضة إليها . لذا فإن الاستعمال المبكر لعامل المقاومة الحيوية يكون أفضل منه فى المراحل المتأخرة من تفتح الأزهار ، لأن التجمعات القليلة من الكائنات الحية الدقيقة المتواجدة طبيعياً على الأزهار المتفتحة لا تستطيع أن تمنع البكتيريا المضادة من أن توطد نفسها على المياسم . كذلك فإن الرش المتأخر لعوامل المقاومة الحيوية ، قد لا يوثر على التجمعات الكبيرة التى تكون قد حصلت من البكتيريا الممرضة .

٢ - درجات الحرارة المناسبة

إن بداية تفتح الأزهار ، عادة تكون مصحوبة بدرجات حرارة مناسبة للبكتيريا المضادة . ولقد أمكن الحصول على مقاومة حيوية معنوية عند استعمال عوامل المقاومة الحيوية فى الفترات الأولى من تفتح الأزهار ، نظراً لمناسبة درجة الحرارة لها ، هذا ما ذكر سابقاً من أهمية درجات الحرارة فى انتقال البكتيريا المضادة من زهرة إلى أخرى . عندما تكون درجات الحرارة أقل من ٦° م يومياً تكون غير مناسبة للرش . أما أفضل درجات الحرارة لاستعمال عامل المقاومة الحيوية هى ١١-١٦° م .

٣ - عدد الرشات

الرشات المتكررة من عوامل المقاومة الحيوية ، تعطى فرصة كبيرة لمقاومة أفضل للمرض يجب إجراء رشتين على الأقل فى الموسم ، وذلك للحصول على نسبة مقاومة عالية ، وذلك لأنه بزيادة عدد الرشات تزداد نسبة الأزهار التى تستعمرها البكتيريا المضادة ، وبالتالى تقلل فرصة حدوث المرض .

٤ - استعمال المضادات الحيوية

وجد أن تجمعات البكتيريا PfA 506 على أزهار الكمثرى تكون أكثر على الأشجار المعاملة بالمضاد الحيوى ستربتومايسين منها فى غير المعاملة ، ولكن التجمعات تنخفض جزئياً على أزهار الأشجار المعاملة بمادة oxytetracycline بنسبة ١٠٠ ميكروغرام/مل . تبين فى احدى التجارب أن مرض اللفحة النارية قد انخفض بنسبة ٥٠ ٪ عندما عوملت الأشجار بالسلالة PfA 506 وبنسبة ٤٠ ٪ عندما عوملت أسبوعياً بالمضادات الحيوية ، الستربتومايسين أو أوكسى تتراسيكلين ، وبنسبة ٧٠ ٪ عندما رشت الأشجار مرة واحدة بالبكتيريا PfA 506 ثم تبعها بعد ذلك الرش أسبوعياً بالمضادات الحيوية .

لقد وجد Stockwell *et al* سنة ١٩٩٦ أن استعمال المضاد الحيوى ستربتومايسين ممزوجاً مع عوامل المقاومة الحيوية بعد ٢–٧ أيام من الرش بالبكتيريا المضادة لم يخفض تجمعات البكتيريا PfA 506 أو Eh C9-1S (حيث أن هذه الأخيرة طفرة مقاومة ذاتياً للستربتومايسين) على أزهار التفاح . زيادة على ذلك فإنه فى بعض الحالات ، فإن استعمال الستربتومايسين يزيد من حجم تجمعات البكتيريا EhC9-1S على الأزهار . تكون هذه الزيادة راجعة إلى تثبيط المنافسة بين الكائنات المتواجدة طبيعياً والحساسة للمضاد الحيوى ستربتومايسين . أما بالنسبة للمضاد الحيوى أوكسى تتراسيكلين ، فإنه غير مناسب للاستعمال ولا يؤدى إلى فوائد عملية .

٢ - المقاومة الحيوية لجرب التفاح
Biological Control of Apple scab Disease

مقدمـــة

يتسبب مرض جرب التفاح عن الفطر *Venturia inaeqilis* ويعتبر من الأمراض الهامة التى تهاجم التفاح فى كثير من مناطق زراعته . إن الفشل فى مقاومة مرض جرب التفاح لا يؤدى إلى خسارة الانتاج فقط وإنما يؤدى أيضاً إلى فقد القيمة التسويقية لثمار التفاح الناضجة . الطريقة التقليدية لمقاومة هذا المرض هو استعمال المبيدات الفطرية رشاً لعدة مرات ، وكما هو معروف فإن استعمال المبيدات الكيماوية فى مقاومة الأمراض ، قد استبعدت أو فى طريقها للاستبعاد لأسباب ذكرت كثيراً فى هذا الكتاب .

يقضى الفطر الممرض فترة الشتاء فى المناطق الباردة على شكل ثمره أسكية غير ناضجة فى أوراق التفاح المتساقطة ، وأن الجراثيم الأسكية المنتجة فى الربيع تعتبر المصدر الأساسى للقاح الأولى . أجريت محاولات كثيرة لخفض كمية اللقح التى تبقى خلال فترة الشتاء وذلك عن طريق إزالة الأوراق المتساقطة فى الخريف . أعطت الكيماويات المختلفة من المبيدات الفطرية نتائج جيدة فى مقاومة هذا المرض (دانترو – ٥ – سيرول ، الزئبق ، أرسينات الرصاص) .

كان أول اقتراح لاستعمال المقاومة الحيوية ضد الطور المترم من الفطر *V.inaequlis* من قبل Simard *et al* سنة ١٩٥٧ . الأبحاث الأكثر حداثة ذكرت أنه يمكن استعمال الفطريات المضادة لخفض انتاج الجراثيم الأسكية فى المعمل . من بين نتائج هذه الدراسات وجد أن الفطر *Athelia bombacina* ذو كفاءة عالية كعامل مقاومة حيوية . وعلى أية حال فإن التثبيط الكامل للثمار الأسكية ، أمكن الحصول عليه فى التجارب الحقلية عند استعمال لقاح ذو جرعة عالية من الفطر المذكور ، في أكثر الظروف معاكسة للفطر المضاد فإن نسبة التثبيط لهذه الثمار تصل ٦٠-٧٠ ٪ فقط . من بين ٣٠٠ نوع فطرى عزلت من مزارع التفاح من مختلف أماكن زراعته ، وأجريت عليها تجارب لتثبيط انتاج الثمار الأسكية والجراثيم الأسكية ، تبين أن خمسة عزلات فقط لها كفاءة فى تثبيط انتاج الجراثيم الأسكية . هذه الفطريات هى :

1 - Microsphaeropsis sp. *2 - M.arundinis.* *3 - Ophiostoma sp*
4 - Diplodia sp. *5 - Trichoderma sp.*

لقد وجد *Benyagoub et al* سنة ١٩٩٨ فى دراسته على التفاعل بين السلالة P130A من الفطر *Microsphaeropsis* والفطر *V.inaequalis* ، أظهر أن الفطر الأول كان قادراً على اختراق خلايا الفطر الممرض ويسبب وقف النمو وموت الخلايا .

مقاومة المرض :

إن أكثر عوامل المقاومة الحيوية كفاءة فى مقاومة فطر مرض جرب التفاح هو الفطر *Microsphaeropsis* . عند استعمال هذا الفطر رشاً على الأشجار بعد جمع المحصول ، فإنه يخفض نسبة الجراثيم المحمولة بالهواء للفطر الممرض بنسبة ٧٦,٢ ٪ ، وبالتالى يمكن القول بأن هذا الفطر عامل مقاومة حيوية ناجح فى تقليل نسبة الجراثيم الأسكية للفطر الممرض .

٣ - المقاومة الحيوية لمرض عفن التاج والجذر فى التفاح

Biological Control of Crown and Root Rot of Apple Trees

مقدمـــــة

يتسبب مرض عفن التاج والجذر فى أشجار التفاح عن الفطر *Phytophthora cactorum* ، وهو واحداً من أكثر الأمراض خطورة بريطانيا وكندا . هناك أنواعاً أخرى من هذا الجنس ذكرت بأنها مسببة لهذا المرض فى أماكن أخرى من العالم .

لقد تم الحصول على مقاومة حيوية لهذا المرض عن طريق استعمال عامل المقاومة الحيوية *Enterobacter aerogenes* السلالة B8 ، يستعمل على شكل غمر الساق والتربة المحيطة بالتاج بالمعلق الجرثومى لعامل المقاومة الحيوية المذكور تحت ظروف الحقل . فى سنة ١٩٩٣ وضعت السلالة B8 تحت اسم جديد وهو *Enterobacter agglomerans* وذلك اعتماداً على صفات فسيولوجية مختلفة . وبعد سنة ١٩٩٣ أصبح هذا الاسم هو الشائع والمتداول .

مقاومة المرض :

لقد استعمل التحضير المجفف بالتجميد والمزارع الحديثة من البكتيريا *Enterobacter agglomerans* فى الربيع والخريف على جذع ساق الشجرة (أشجار تفاح ذات عمر ثلاثة

سنوات) وذلك كمعاملة تربة ومعاملة ساق ، بمعدل $١٠^{١٠}$ وحدة تكوين مستعمرات لكل شجرة لمقاومة الفطر الممرض *P.cactorum* . لقد تبين أن هذه البكتيريا تثبط معنوياً شدة المرض وتزيد من قوة الساق وسمكه وانتاج الثمار فى بعض أنواع التفاح المطعومة على أصول MM 106 مقارنة مع الأشجار غير المعاملة . لم يلاحظ أى فرق معنوى بين استعمال الجراثيم المحضرة حديثاً (طازجة) أو المحضرة على شكل مسحوق مجفف بالتجميد . انخفض دليل المرض من ٣,١٧ فى الكنترول إلى ٢,٣ و ٢,٥٣ بالنسبة للمعاملة البكتيرية الطازجة والمجففة بالتجميد بالترتيب . انخفضت إصابة الجذر والتاج من ٧٨,٤٤ ٪ فى الكنترول إلى ٣١ ٪ و ٣٨ ٪ بالنسبة للمعاملتين بالترتيب ، زاد انتاج الثمار بنسبة ٥٠ ٪ عنه فى الكنترول فى كلتا المعاملتين .

III المقاومة الحيوية لبعض أمراض القطن

١ - سقوط بادرات القطن

(أ) باستعمال البكتيريا

مقدمـــة

تكون بادرات القطن معرضة للمهاجمة من قبل عدد كبير من الكائنات الممرضة الكامنة فى التربة منها *R.solani* والفطر *Thielaviopsis basicola* . يعتبر هذا المرض من الأمراض الخطيرة فى الولايات المتحدة حيث يسبب خسائر تقدر بحوالى ٢,٢ ٪ من ناتج المحصول .

المقاومة الحيوية باستعمال الكائنات الدقيقة النافعة ، يبدو أن لها دوراً فى وقاية بادرات القطن من الإصابة بمرض السقوط المفاجئ . هناك عدداً من العزلات البكتيرية قد جمعت من منطقة رايزوسفير القطن ، كانت ذات كفاءة تساوى كفاءة المبيدات الفطرية التجارية فى مقاومة الكائنات الممرضة *R.solani* , *Pythium ultimum* على القطن فى الحقل . من بين عوامل المقاومة الحيوية التى لها تأثير على هذا المرض فى الحقل هى :

1 - Trichoderma sp. *2 - Gliocladium virens.*

أما فى الصوبا الزجاجية فهى :

1 - Bacillus cereus *2 - Pseudomonas fluorescens* *3 - G.virens*

هناك عزلة من البكتيريا *B.cepacia* عزلت من لوزات القطن فى ولاية أريزونا ، ثبت بأنها ذات فعالية كبيرة فى المقاومة الحيوية ضد الفطر *Aspergillus flavus* مسبب تحلل لوزات القطن فى الحقل وضد *R.solani* مسبب سقوط بادرات القطن فى الصوبا الزجاجية.

مقاومة المرض :

لقد ثبت بأن العزلة D1 من البكتيريا *Burkholderia (Pseudomonas) cepacia* عند استعمالها معاملة تربة بتركيز $١٠^{٩}$ وحدة تكوين مستعمرات/مل ماء ، وترش على خطوط الزراعة بعد الزراعة مباشرة ، بحيث يتعمق المعلق البكتيرى حوالى ٧ ملم ، خفضت نسبة أعداد النباتات المصابة حوالى ٥٠ ٪ فى حين أن المبيدات الفطرية خفضت أعداد النباتات المصابة بنسبة ٣٠ ٪ فقط .

(ب) باستعمال الفطر

إن السلالة Q التابعة لعامل المقاومة الحيوية الفطر *Trichoderma (Gliocladium) virens* فعالة كعامل مقاومة حيوية ضد الفطر *R.solani* فى كل من الحقل والصوبا الزجاجية . إن الميكانزم الداخل فى المقاومة الحيوية للفطر *R.solani* بواسطة السلالة Q لا يزال غامضاً (سنة ٢٠٠٠) .

بعد أن ثبتت كفاءة الفطر *T.virens* كعامل مقاومة حيوية ذو كفاءة عالية فى كبح شدة الفطر *R.solani* ، أجريت أبحاث كثيرة لمعرفة الميكانزم الذى يقوم به الفطر المقاوم فى كبح جماح الفطر الممرض . عند إجراء تحليل لإفرازات جذور نبات القطن والفلقات الناتجة من بذور كانت عوملت بالفطر *T.viride* تبين أن هناك زيادة فى بناء ونشاط الـ Terpenoid والبيروكسيديز فى جذور النباتات المعاملة ، ولكن ليس فى فلقات هذه النباتات أو فى نباتات الكنترول . عند إجراء اختبارات لمعرفة سمية الـ Terpenoid على *R.solani* تبين أت الممر الذى يتوسط فيه deoxyhemigossypol (dHG) و hemigossypol (HG) تثبطت بقوة فى الكائن الممرض ، بينما الناتج النهائى من الجسبول كان ساماً بتركيزات عالية فقط .

إن سلالات *T.virens* و *T.koningii* كانت أكثر مقاومة لـ HG من الفطر *R.solani* وبالتالى كانت تستعمر جذور القطن بكفاءة عالية . عند إجراء مقارنة بين كفاءة المقاومة الحيوية وتخليق الـ terpenoid المتكونة فى جذور القطن بواسطة السلالات من *T.virens* ، *T.koningii* ، *T.harzianum* يدل على أن هناك علاقة قوية بين هاتين الظاهرتين ، وبالتالى يمكن القول بأن عملية بناء الـ terpenoid فى جذور نبات القطن بواسطة عوامل المقاومة الحيوية يعتبر ميكانزم هام فى المقاومة الحيوية للفطر الممرض *R.solani* مسبب سقوط بادرات القطن .

٢ - المقاومة الحيوية للفحة البكتيرية فى القطن

Biological Control of Bacterial Blight of Cotton

مقدمـــة

يتسبب مرض اللفحة البكتيرية فى القطن عن البكتيريا *Xanthomonas axonopodis pv. malvacearum* وهو من أكثر الأمراض خطورة على القطن فى معظم أماكن زراعته فى العالم . يكون المرض أكثر خطورة فى المناطق التى تظهر فيها سلالات شديدة المرضية من الكائن الممرض ، كما ظهرت السلالة 32 فى الهند وهى قادرة على مهاجمة خمسة جينات مقاومة للفحة البكتيرية فى القطن .

اتجهت الأبحاث الحديثة إلى المقاومة الحيوية لهذا المرض ، وذلك عن طريق البحث فى منطقة الرايزوسفير عن مكروفلورا مضادة للكائن الممرض ولها قدرة تنافس عاليه .

مقاومة المرض :

من بين ٤٢ نوعاً من البكتيريا التى تعيش فى منطقة الرايزوسفير ، أختير خمسة فقط للدراسات المستفيضة على أساس كفاءتها التضادية فى المعمل ضد معظم السلالات الممرضة شديدة المرضية ، مثل السلالة 32 من البكتيريا المسببة للمرض . عرفت هذه العزلات الخمسة وحددت على أنها :

1 - *Pseudomonas fluorescens* (CRb-26).
2 - *P. fluorescens* (CRb-39).
3 - *P. putida* (CRb-17).
4 - *P. alcaligones* (CRb-9).
5 - *P. alcaligenes* (CRb-14).

وجد أن العزلة CRb-26 كانت الأكثر كفاءة فى تثبيط نمو الكائن الممرض . وجد أيضاً أن معاملة البذور بمعلق جرثومى تركيز $١٠^{٧}$ وحدة تكوين مستعمرات/مل سببت زيادة فى نسبة إنبات بذور القطن (الصنف Acala-44) بنسبة ١٢,٨٢ ٪ وحسنت تكشف ظهور البادرات الطبيعى بنسبة ٢٢,٦ ٪ . إن استعمال هذه السلالة على شكل معاملة بذور القطن بعد حقنها بالبكتيريا الممرضة أدى إلى تحسين الإنبات مع مصاحبة الخفض فى إصابة الفلقات بالمقارنة مع الكنترول . وجد أيضاً أن هذه العزلة تستعمر فلقات بادرات القطن بكثافة عالية وتسبب خفضاً كبيراً فى تجمعات البكتيريا الممرضة . وجد أيضاً أن استعمال السلالة CRb-26 رشاً على الأوراق يسبب أيضاً خفضاً معنوياً فى شدة المرض .

فى دراسة حديثة أجريت سنة ٢٠٠٠ ، تبين أن السلالة CRb-26 أكثر السلالات انتاجاً لمادة HCN والسايدروفور مجموعة Catecholate . كذلك وجد أن هذه العزلة تفرز أربعة مجموعات من المركبات الفينولية صنفت على أنها I ، II ، III ، IV ، وقد استخلصت من راشح مزارع هذه العزلة . وجد أن المركب الرابع الذى يفرز بكمية كبيرة متشابه تماماً مع المركب 2,4- diacetylphloro glucinol ، وكذلك فإن المركب الأول والرابع فلوروسنتيه ، أما الثانى والثالث فهى ليست كذلك . وجد أن المركب الثانى والرابع يثبطان كلية نمو البكتيريا الممرضة ، وخاصة السلالة شديدة المرضية R-32 بتركيز ٢٠٠ و ١٠٠ ميكروغرام لكل مل بالترتيب (فى المعمل) . كذلك فى التجارب الحقلية ، فإن معاملة نباتات القطن بهذه المركبات حفظتها من الإصابة بمرض اللفحة البكتيرية .

openkandil.com

IV المقاومة الحيوية لأمراض الخيار

١ - المقاومة الحيوية لذبول الفيوزاريوم فى الخيار

مقدمـــــة

اعتبرت الإنزيمات المحللة للشيتين Chitinolytic enzymes من الوسائل الهامة فى مقاومة الكائنات الممرضة الكامنة فى التربة ، وذلك بسبب قدرتها على تحطيم جدار الخلية الفطرية والذى يدخل فى تركيبه نسبة عالية من مادة الشيتين Chitin . من بين البكتيريا والفطريات العديدة المحللة للشيتين ، أنواع الفطر تريكوديرما وهو عامل مقاومة حيوية للكائنات الممرضة الكامنة فى التربة . لقد أثبتت الدراسات الحديثة أن تنقية وتعريف كل من الـ Chitinases و β-1,3- glucanases المنتجة بواسطة الجنس تريكوديرما والفطر *Talaromyces flavus* قد أكدت دورها فى التطفل الفطرى للكائنات الممرضة الكامنة فى التربة مثل *Sclerotium rolfsii* ، *R.solani* و *Fusarium sp* مع أن كثيراً من السلالات البكتيرية مثل *Aeromonas* ، *Enterobacter* ، *Chromobacterium* و *Serratia* قد ذكرت بأنها عوامل مقاومة حيوية فعالة ضد *S.rolfsii* و *R.solani* . وقد ثبت من عديد من التجارب أن استعمال خليط من البكتيريا المنتجة مضادات حيوية أو سلالة غير ممرضة من *F.oxysporum* مع بكتيريا فلوروسنتيه ، يزيد فى كفاءة عوامل المقاومة الحيوية ضد ذبول الفيوزاريوم ، أفضل من استعمال كل منهما لوحده .

لقد تبين أن *Paenibacillus* sp 300 و *Streptomyces* sp 385 ، قد أظهرتا كفاءة عالية فى مقاومة الفطر *F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum* وأن هاتين السلالتين تنتجان إنزيم شيتينيز مع المضادات الفطرية الأخرى التى تفرزها .

مقاومة المرض :

استعملت سلالتين من السلالات البكتيرية المعروفة بمقدرتها على تحليل الشيتين هى الأولى : *Paenibacillus* sp 300 والثانية *Streptomyces* sp 385 ، التى أثبتت التجارب السابقة بأنها تستطيع أن تثبط ذبول الفيوزاريوم فى الخيار المتسبب عن الفطر *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum* فى المزارع المائية ، استعملت بتركيز ٣ × ١٠^١١ وحدة تكوين مستعمرات/مل .

عندما استعمل خليط من السلالتين بنسبة ١ : ١ أو ٤ : ١ أعطت مقاومة معنوية للمرض بنسبة ٧٥ ٪ و ٧٠ ٪ بالترتيب . هذه النتيجة أفضل من استعمال كل منهما لوحده أو استعمالهما بنسب مختلفة أخرى . عندما استعملت تركيبات مختلفة داخل فى تركيبها Zeolite - based chitosan - amended formulation (ZAC) فإنها أعطت أعلى مقاومة ضد المرض . وجد أن أقل جرعة فعالة ضد المرض هى ٦ غرام من التشكيل/كيلو غرام تربة توضع فى وعاء التجربة . هذه الجرعة تعطى أعلى تركيز لتجمعات البكتيريا فى الرايزوسفير (محللة للشيتين) حيث تصل إلى $١٠^{٨}$ أو $١٠^{٩,٣}$ وحدة تكوين مستعمرات/غرام تربة جافة . هذا التركيز كاف للحصول على مقاومة جيدة لفطر ذبول الفيوزاريوم .

أفضل استعمال لتركيب ZAC ، ليعطى أفضل نتيجة فى مقاومة المرض ، عندما يضاف إلى البيئة الملوثة بالكائن الممرض قبل ١٥ يوم من زراعة بذور الخيار . كذلك فإن هذا التركيب يعطى مقاومة جيدة حتى عند تخزينه لمدة ٦ شهور على درجة حرارة الغرفة العادية أو على حرارة ٤ ْم . إن إنزيمات Chitinase و β-1,3- glucanase أنتجت عندما زرعت السلالات فى وجود Colloidal chitin كمصدر وحيد للكربون . إن تحضين الجدر الخلوية للفطر الممرض مع أجزاء من الإنزيم منتقاه جزئياً ، يؤدى إلى إنطلاق المركب (NAGA) N-acetyl -D- glucosamine . كانت كمية الـ NAGA أعلى عندما استعملت جزيئات الإنزيم المجمعة من *Paenibacillus* sp. وذلك لأنها تحتوى β -1,3- glucanase نشيط بالإضافة إلى نشاط الـ Chitinase . إن تثبيط مرض الذبول الفيوزاريومى فى الخيار عن طريق اتحاد هاتين السلالتين ، يمكن أن يتدخل فيه نشاط وفعل إنزيمات الـ hydrolytic .

٢ - المقاومة الحيوية لمرض سقوط بادرات الخيار المتسبب عن *Pythium ultimum*

بعد تجارب عديدة على السلالات البكتيرية ، فى مقاومة سقوط بادرات الخيار المتسبب عن الفطر *P.ultimum* ، تبين أن السلالة 501 R3 التابعة للبكتيريا *Enterobacter cloacae* والسلالة 517-R1 من البكتيريا *Escherichia coli* ، وهى طفرة مقاومة للمضاد الحيوى rifampicin من العزلة S17-1 من *E.coli* ، هما مقاومتان لمسبب المرض ،

وتخفض حدوث سقوط البادرات قبل أو بعد ظهورها فوق سطح التربة ، عندما تستعمل كمعاملة بذور بنسبة $١٠^{٧}$ وحدة تكوين مستعمرات / بذرة .

عند معاملة البذور بالسلالة 501R3 أو S17 R3 فإن النباتات السليمة الناتجة كانت بنسبة ٩٣ ٪ و ٩٢ ٪ بالترتيب بالمقارنة مع الكنترول ٣٠ ٪ ، عندما زرعت فى تربة ملوثة بالفطر الممرض . كما هو معروف فإن السلالة S17R1 لا تقدر على استعمار منطقة الرايزوسفير فى نباتات الخيار ولكنها تعطى ٩٧ ٪ نباتات سليمة . تزداد تجمعات هذه السلالة وتصل إلى ٦٥ ضعف بعد ٩٦ ساعة عندما تستعمل بتركيز $١٠^{٤}$ وحدة تكوين مستعمرات لكل بذرة بالمقابل فإن تجمعات السلالة 501-R3 تزداد إلى ٢٤ ألف ضعف فى نفس الفترة عندما تستعمل بتركيز $١٠^{٤}$ وحدة تكوين مستعمرات/بذرة . تكون تجمعات السلالة S17-R1 محدودة فى المنطقة الواقعة فوق جذور نباتات الخيار بمسافة ١ سم فى الأسبوع الأول . أما السلالة 501-R3 فإنها قادرة على الانتشار على طول جذور نبات الخيار وتصل إلى تركيز $١٠^{٨}$ وحدة تكوين مستعمرات/غرام من الجهاز الجذرى بعد ٤٢ يوم .

يتبين من كل ما سبق أن *E.coli* يمكن تسجيلها لأول مرة ، بأن طفرة من سلالاتها قادرة على الدخول فى المقاومة الحيوية لأمراض النبات ، وبالتالى فهى قادرة على تثبيط مرض سقوط بادرات الخيار المتسبب عن الفطر *P.ultimum* ، بالإضافة لذلك فإن التجمعات العالية للسلالة S17-R1 ليست ضرورية فى هذه المقاومة نظراً لأن الفترة التى تكون فيها بادرات الخيار قابلة للإصابة بالمرض فترة قصيرة فى حدود ٢٩ ساعة فقط .

فى تجارب أخرى استعملت فيها السلالة Bc-B من البكتيريا *Burkholderia cepacia* فى المقاومة الحيوية لسقوط بادرات الخيار ، تبين أنها تعطى كفاءة عالية فى مقاومة هذا المرض ، بالإضافة لمقاومة مرض ذبول الفيوزاريوم . عندما استعملت هذه السلالة مع S17-R1 أعطت نتائج أفضل من استعمال كل منهما لوحده كما فى جدول (١٢٦) .

جدول رقم (١٢٦) : المقاومة الحيوية لمرض سقوط بادرات الخيار المتسبب عن بثيم وفيوزاريوم باستعمال سلالات بكتيرية في تجارب حقلية .

السلالة المستعملة	دليل المرض للإصابة بالفطرين المذكورين سابقاً	الوزن الطازج للنبات بعد ٨ يوم غ	٪ إنبات بذور
S17-R1	٣,٩٤	٠,٦٢	٣٨,٠
501-R3	٣,٤٠	١,٠٣	٥٧,٠
Bc-B	٣,٢١	١,١٩	٦١,٦
S17-R1 + BcB	٢,٩٢	١,٤٥	٧٥,٠
501-R3 + BcB	٣,١٢	١,٢٤	٦٨,٦
كنترول	٣,٩١	٠,٦٧	٣٩,٠

ملاحظات على الجدول :

كان يضاف الفطر بثيم الممرض بتركيز $١٠^{٤}$ وحدة تكوين مستعمرات/مل . أما الفطر فيوزاريوم فكان يضاف بتركيز $١٠^{٣}$ وحدة تكوين مستعمرات/مل . كانت تعامل بذور الخيار بالبكتيريا المضادة بتركيز $١٠^{٨}$ إلى $١٠^{٩}$ وحدة تكوين مستعمرات/بذرة . دليل المرض يقسم من ١ إلى ٥ حيث أن ١ = ٢ ٪ مرض ، ٢ = ٣-٣٠ ٪ مرض ، ٣ = ٣١-٦٠ ٪ مرض ، ٤ = ٦١-٩٠ ٪ مرض ، ٥ = ١٠٠ ٪ مرض .

٣ - المقاومة الحيوية لعفن بوترايتس في الخيار

Biological Control of Grey Mold Disease

يتسبب مرض العفن الرمادى فى الخيار عن الفطر *Botrytis cinerea* (ذكر عنه فى الطماطم) . وجد أن السلالة T39 من الفطر *Trichoderma harzianum* التى تستعمل تجارياً لمقاومة أمراض بوترايتس وتباع تحت الاسم التجارى Trichodex ، تباع فى إسرائيل واليونان ودول أخرى يمكن استعمالها تجارياً في مقاومة هذا المرض . أجريت دراسة لمقارنة استعمال أعداد كبيرة من الفطريات والبكتيريا كعوامل مقاومة حيوية لهذا المرض ، تبين من الدراسة الآتى :

السلالة T39 تثبط تجرثم الفطر الممرض بنسبة ١٠٠ ٪ وتثبط حدوث المرض بنسبة ٨٢ ٪ .

الفطر *T.hamatum* يثبط تجرثم الفطر بنسبة ٩٦ ٪ ويثبط حدوث المرض بنسبة ٩٦ ٪ .

الفطر *Gliocladium catenulatum* يثبط تجرثم الفطر بنسبة ١٠٠ ٪ ويثبط حدوث المرض بنسبة ٩٥ ٪ .

الفطر *T.viride* يثبط تجرثم الفطر بنسبة ٩٥ ٪ ويثبط حدوث المرض بنسبة ٦٥ ٪ .

البكتيريا *Pseudomonas* sp (العزلة رقم ١) تثبط التجرثم بنسبة ٢٧ ٪ ويثبط حدوث المرض بنسبة ٥٤ ٪ .

obeikandl.com

V أمراض الطماطم

١ - المقاومة الحيوية لمرض اللفحة المبكرة فى الطماطم

Biological Control of Early Blight of Tomato

مقدمـــة

ينتشر مرض اللفحة المبكرة فى الطماطم ، فى كل مكان حيث تزرع الطماطم ، خاصة فى الأجواء الرطبة أو النصف جافة ، حيث أن الندى أو ماء الرى يؤديان إلى ظروف مناسبة لتكشف المرض .

يتسبب المرض عن الفطر *Alternaria solani* وهو من الفطريات المحمولة فى الهواء . يكون هذا الفطر جراثيم كونيدية داكنة اللون مكونة من عدة خلايا ، تنتشر بواسطة الهواء وطرطشة الماء Splashing . يخترق الكائن الممرض الأوراق القديمة والمجروحة مسبباً الأعراض النموذجية والتى هى عبارة عن حلقات متحدة المركز والتى تؤدى إلى أضرار كبيرة للمجموع الخضرى ، مؤدية إلى خفض الانتاج (عدد وحجم الثمار) . يقاوم هذا المرض بالمبيدات الكيماوية ، إلا أن هذه الطريقة استبعدت تماماً واتجهت الأبحاث إلى المقاومة الحيوية .

مقاومة المرض :

يقاوم هذا المرض باستعمال ما يسمى بمستخلص الكومبوست Compost extract . يحضر هذا المستخلص عن طريق خلط السماد الحيوانى التجارى بالماء بمعدل ١ : ٥ ، ثم يحضن لمدة ٧-١٤ يوم ، بعد ذلك يصفى المحلول ويؤخذ الراشح يستعمل فى التجارب .

ترش نباتات الطماطم بعد زراعتها فى الأراضى الدائمة بمدة ٣٠-٣٥ يوم براشح الكمبوست (عمره ١٤ يوم) ثم بعد عشرة أيام تحقن بالفطر الممرض *A.solani* عن طريق رش النباتات بالمعلق الجرثومى للفطر . عند دراسة المرض على النباتات تبين أن الكمبوست أحدث خفضاً معنوياً فى دليل المرض مشابهاً لما تحدثه المبيدات الفطرية كما فى جدول رقم (١٢٧) كذلك فإن الانتاج الكلى للنباتات المعاملة بالكمبوست قد ارتفع معنوياً كما هو الحال عند استعمال المبيدات الفطرية .

تبين هذه النتائج أن رش الكمبوست على المجموع الخضرى لنباتات الطماطم ، يخفض مرض اللفحة المبكرة وتزيد انتاج المحصول ، هذا قد يكون راجعاً إلى تثبيط نمو الكائن الممرض ووقف إنبات جراثيمه على أوراق نبات الطماطم .

جدول رقم (١٢٧) : تأثير استعمال مستخلص الكمبوست على دليل امرض اللفحة المبكرة وعلى انتاج نباتات الطماطم .

المعاملة	دليل المرض من صفر – خمسة	كمية الانتاج كغم/م٢
نباتات محقونة بالفطر الممرض فقط	٣,٣	١٨,١
نباتات غير محقونة بالفطر الممرض	٢,٤	٢٣,٧
نباتات محقونة بالفطر الممرض + مبيد نحاسى	٢,٩	٢٣,٤
نباتات محقونة بالفطر الممرض + كمبوست (عمر ٧ يوم)	٢,٣	٢٢,٨
نباتات محقونة بالفطر الممرض + كمبوست (عمر ١٤ يوم)	٢,٦	٢٣,١

٢ - المقاومة الحيوية لذبول الفيوزاريوم فى الطماطم

مقدمـــــة

تتسبب أمراض ذبول الفيوزاريوم عن عديد من forma speciales للفطر ساكن التربة *Fusarium oxysporum* . هذا الفطر يسبب خسائر كبيرة فى مدى واسع من المحاصيل النباتية . تهاجم الطماطم بشكلين من هذا الكان الممرض ، الأول يسبب ذبول وعائى وهو الفطـر *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* ، الثانى يسبب مرض عفن جذور ومنطقة التـــاج فـى الطماطـم وهـو الفطـر *F.oxysporum* f.sp. *radicis - lycopersici* يتواجد كلا النوعين من الكائن الممرض فى معظم أماكن زراعة الطماطم ويمكن أن تدمر المحصول تماماً .

مقاومة المرض :

وجد أن العزلات غير الممرضة من الفطر *F.oxysporum* و *F.solani* المجموعة من الأراضى الكابحة لذبول الفيوزاريوم ، كانت أكثر كفاءة وفعالية فى مقاومة المرض ، وأدت إلى خفض فى حدوث المرض يتراوح من ٥٠–٨٠ ٪ . ووجد أيضاً أن هذه العزلات فعالة

فى مقاومة أمراض ذبول الفيوزاريوم فى كثير من المحاصيل الأخرى مثل الشمام والبطيخ . أما الفطريات المضادة الأخرى مثل *G.virens* ، *T.hamatum* والبكتيريا *Burkholderia cepacia* أعطت خفضاً معنوياً فى ذبول الفيوزاريوم بنسبة من ٣٠-٦٥ ٪ ولكنها لم تكن فى كفاءة عزلات الفيوزاريوم . وجد أيضاً أن خلط عدة عوامل مقاومة حيوية مع بعضها ، تعطى خفضاً فى شدة المرض أكثر من استعمال كل واحد بمفرده ، جدول رقم (١٢٨) .

جدول رقم (١٢٨) : كفاءة عوامل المقاومة الحيوية ، فى خفض ذبول الفيوزاريوم ، فى الطماطم ، فى الأرض الملوثة بالفطر ، تجارب حقلية .

عوامل المقاومة الحيوية المستعملة	٪ معدل الخلط للتربة وزن/حجم	٪ ذبول	٪ خفض المرض
كنترول كائن ممرض فقط	—	٧٣,٤	صفر
المحضر التجارى Soil Gard	٠,٠٥	٦٤,٤	١٢
المحضر التجارى Soil Gard	٠,١	٤٧,٦	٣٩
المحضر التجارى Soil Gard	٠,٢	٢٣,٢	٦٨
المحضر التجارى Soil Gard	٠,٥	٢١,٤	٧١
المحضر التجارى Root Shield	٠,٠٥	٥٧,٠	٢٢
المحضر التجارى Root Shield	٠,١٠	٥٥,٠	٢٥
المحضر التجارى Root Shield	٠,٢٠	٢٨,٠	٦٢
المحضر التجارى Root Shield	٠,٥	٤٣,٠	٤١
سلالة CS-20 فيوزاريوم أوكسى سبوريوم	10^{6}/مل	٢٠,٠	٧٣
سلالة CS-1 فيوزاريوم سولانى	10^{6}/مل	١٦	٧٨

ملاحظات على الجدول :

Soil Gard هو تركيب الفطر *G.virens* أما Root shield فهو تركيب الفطر *T.harzianum* .

٣ - مقاومة ذبول فيوزاريوم الطماطم باستعمال

Penicillium oxalicum

لقد ذكر Decal *et al* سنة ١٩٩٧ أن الفطر *P.oxalicum* يخلق مقاومة فى نباتات الطماطم ضد فيوزاريوم الذبول ، وأن هذه المقاومة ليس لها علاقة فى تخفيض تجمعات الفطر الممرض *F.O.*f. sp. *lycopersici* ، حيث أن الكائن الممرض يكون موجوداً فى منطقة الرايزوسفير ولكنه لا يحدث أعراض مرضية شديدة . لقد لوحظت المقاومة المستحثة فى كثير من أصناف الطماطم سواء كانت حساسة للإصابة أو مقاومة . لقد لوحظ الخفض فى المرض عندما أضيف الفطر *P.oxalicum* قبل أو بعد الحقن بالكائن الممرض . ولقد وجد أن هذا الفطر يتحمل مدى واسع من درجات الحموضة .

لقد ذكر Decal *et al* سنة ١٩٩٩ فى تجاربه التى أجريت فى أسبانيا أن اضافة الفطر المضاد *P.oxalicum* إلى مراقد زراعة الطماطم بتركيز $١٠^{٤}$ مكروكونيدية/مل فى أماكن زراعة البذور يخفض حدوث المرض فى المشاتل بنسبة ٤٥-٤٩ ٪ ، أما فى الصوبات الزجاجية فتكون نسبة الخفض ٢٢-٦٩ ٪ وذلك بعد حقن النبات بالكائن الممرض بمدة ٦٠-١٠٠ يوم فى الصوبا الزجاجية . لا يلاحظ أى خفض للمرض إذا أضيف الفطر المضاد *P.oxalicum* على بذور الطماطم مباشرة قبل زراعتها .

٤ - المقاومة الحيوية للعفن الرمادي فى الطماطم

مقدمـــــة

يتسبب مرض العفن الرمادى فى كثير من النباتات عن الفطر *Botrytis cinerea* . يعتبر هذا الفطر من الكائنات الممرضة الهامة التى تسبب خسائر كبيرة فى الخضراوات المزروعة فى الصوبات الزجاجية . عند ارتفاع نسبة الرطوبة الجوية أو عند وجود ماء حر على سطح النبات ، فإن الكائن الممرض يمكنه أن يهاجم الأزهار ، الثمار ، الأوراق والسيقان . يمكن وقف أصابة الأزهار ، الثمار والأوراق فى الصوبات الزجاجية المتحكم بها وذلك عن طريق منع اتصال الكائن الممرض مع أجزاء النبات عن طريق اتخاذ الإجراءات المناسبة . بالنسبة لبقع الساق التى تحدث عن طريق جروح التقليم أو الجروح أو الخدوش التى تحدث أثناء الجمع ، فلها دور كبير وفعال فى خفض انتاجية المحصول نتيجة الإصابة بالفطر

obeikandi.com

الممرض . تكون أنسجة الجروح بيئة مناسبة لنمو الفطر حيث تزوده بالرطوبة والمواد الغذائية اللازمة لإنبات الجراثيم الكونيدية وإحداث الإصابة .

مقاومة المرض :

يقاوم مرض العفن الرمادى فى الطماطم المتسبب عن الفطر *B.cinerea* باستعمال المستحضر التجارى المسمى Trichodex . يتكون هذا المركب من السلالة T39 للفطر *Trichoderma harzianum* . يباع هذا المركب بتركيز $١٠^{١٠}$ جرثومة كونيدية/غرام من المحضر . عند استعمال هذا المركب فى التجارب وجد أنه يخفض المرض بنسبة ٩٥ ٪ ويثبط إنبات الجراثيم بنسبة ٩٨ ٪ .

هناك عوامل مقاومة حيوية أخرى تستعمل فى مقاومة هذا المرض منها :

١ - *Aureobasidium pullulans* يخفض المرض بنسبة ٩٤ ٪ ويخفض إنبات الجراثيم بنسبة ٩٦,٥ ٪ .

٢ - *Gliocladium catenulatum* يخفض المرض بنسبة ٩٣ ٪ ويخفض إنبات الجراثيم بنسبة ٩٨,٥ ٪ .

٣ - *Chaetomiun globosum* يخفض المرض بنسبة ٨٥ ٪ ويخفض إنبات الجراثيم بنسبة ٨٤ ٪ .

٥ - استعمال كائنين مضادين لمقاومة سقوط بادرات الطماطم المتسبب عن Pythium aphanidermatum

مقدمـــة

أجريت تجارب عديدة لمقاومة هذا المرض باستعمال عوامل المقاومة الحيوية *T.viride* والبكتيريا *Pseudomonas fluorescens* . أجريت التجارب فى أوعية . وضعت تربة معقمة فى هذه الأوعية . أضيف إلى هذه الأوعية الكائن الممرض الذى كان قد تكاثر على بيئة (رمل-ذرة) بنسبة ١ : ٢٠ (وزن/وزن) . خلطت هذه التربة بتركيبات محمولة على بودرة التلك من الفطر المضاد *T.viride* والبكتيريا *P.fluorescens* وذلك قبل زراعة الأوعية. استعملت تجربة مقارنة باستعمال أوكسى كلوريد النحاس (٢٥, ٪) أضيف بنسبة

٥٠٠ مل/وعاء . زرع كل وعاء بخمسين بذرة طماطم . سجلت أعراض الإصابة بالمرض (سقوط البادرات قبل وبعد ظهورها فوق سطح التربة) بعد ٨ ، ٢٠ يوم من الزراعة . كذلك درست تجمعات الفطر الممرض فى التربة .

١ - تأثير الكائنات المضادة على حدوث المرض :

وجد أن الفطر *T.viride* بمقدار غرام واحد + البكتيريا *P.fluorescens* بمقدار ١,٢٥ غرام لكل ٥ كغم تربة ، تسبب خفضاً فى المرض بنسبة ٩٢,٥ ٪ و ٩٠ ٪ (سقوط البادرات قبل وبعد ظهورها فوق سطح التربة) مقارنة مع الكنترول . أما تأثير مادة أوكسى كلوريد النحاس فكانت تخفض المرض بنفس النسبة تقريباً .

استعملت نسب خلط مختلفة بين الفطر *T.viride* والبكتيريا *P.fluorescens* منها ، ٠,٥ : ٢,٥ ، ٠,٥ : ١,٢٥ ، كانت تخفض المرض بنسبة (٨٧ ٪ ، ٨٥ ٪) و (٧٠ ٪ ، ٧٥ ٪) بالترتيب بالنسبة لسقوط البادرات قبل وبعد ظهورها فوق سطح التربة . يبين جدول رقم ١٢٩ تأثير هذه الخلطات على تجمعات الفطر الممرض ، حيث كانت فى البداية بنسبة ٨,٥ ، ٩ ، ٨,٨ ، ٩,٣ ، ٩,٨ ، ٩,٣ مضروبة فى $١٠^{٢}$ بالترتيب فى الخلطات التى فى الجدول .

٢ - تأثير الفطريات المضادة على نمو بادرات الطماطم :

لوحظ زيادة واضحة فى طول الساق (٣١,٦٧ ٪) وطول الجذر ٦٦,٨٧ ٪ وانتاج المادة الجافة ٣٣,٦ ٪ في النباتات بالنسبة للكنترول . أما نتائج الخلط فكانت كما هو فى جدول رقم (١٢٩) .

obeikandi.com

جدول رقم (١٢٩) : تأثير استعمال الفطريات المضادة (معاملة تربة) على نمو بادرات الطماطم بعد عشرة أيام من الزراعة .

المعاملـــــة	طول الساق سم	طول الجذر سم	الوزن الجاف للنبات غرام	تجمعات الفطر الممرض/وحدة تكوين مستعمرات/غرام تربة	
				١٠ يوم	٢٠ يوم
الفطر *T.viride* lg.	١٣,٦٢	٢,٦٥	٠,٩٥	٨,٣ × $١٠^{٢}$	٥,٣ × $١٠^{٢}$
البكتيريا *P. fluorescens* (2.5g)	١٤,٢	٢,٤٧	٠,٩٣	٨,٥ × $١٠^{٢}$	٥,٥ × $١٠^{٢}$
الفطر + البكتيريا بنسبة ١ : ١,٢٥ غرام	١٤,٥٥	٢,٨٧	٠,٩٩	٧,٨ × $١٠^{٢}$	٤,٣ × $١٠^{٢}$
الفطر + البكتيريا بنسبة ٠,٥ : ٢,٥ غرام	١٤,٠٢	٢,٦٥	٠,٩٥	٨ × $١٠^{٢}$	٤,٨ × $١٠^{٢}$
الفطر + البكتيريا بنسبة ٠,٥ : ١,٢٥ غرام	١٢,٦	٢,٤٥	٠,٩٣	٩,٥ × $١٠^{٢}$	٥,٨ × $١٠^{٢}$
أوكسى كلوريد النحاس	١٣,٧٥	٢,٦٧	٠,٩٣	٩ × $١٠^{٢}$	٦,٥ × $١٠^{٢}$
كنترول	١٥,٢	٣,٧	١,٢	--	--

opeikandl.com

VI أمراض البطاطس

١ - المقاومة الحيوية لمرض العفن القرنفلى فى البطاطس

Biological Control of Pink Rot of Potato

مقدمـــة

يتسبب مرض العفن القرنفلى فى البطاطس عن الفطر *Phytophthora erythroseptica* . كان أول ذكر لهذا المرض فى الولايات المتحدة سنة ١٩٧٤ وفى أوروبا سنة ١٩٨٠ وفى إيران سنة ١٩٦٧ وفى أستراليا سنة ١٩٦٧ تصبح نباتات البطاطس المصابة مصفرة وذابلة . درنات البطاطس المريضة تفقد لونها Dicoloured ، عندما تقطع الدرنة ، تتحول الأنسجة المكشوفة إلى اللون السلامونى القرنفلى وأخيراً إلى اللون الأسود . يكون هذا المرض شديد الوطأة فى الأراضى الغدقة ويتكشف سريعاً على حرارة ٢٠–٣٠ °م . تكون النباتات الكبيرة فى السن أكثر حساسية من الصغيرة ، كما وجد أن التجريح يسرع تكشف المرض . يسبب المرض خفضاً فى الانتاج بنسبة ٣٠ ٪ . يمكن أن يسبب خسائر كبيرة فى المخزن نتيجة للاصابات الثانوية بالبكتيريا . يمكن لمسبب المرض أن يكون مرافقاً لأمراض محاصيل أخرى مسبباً مرض عفن العين السوداء ، ذبول وتقزم الطماطم .

مقاومة المرض :

إن السلالة T39 من الفطر *T. harzianum* هى المادة الفعالة فى المحضر التجارى Tri-chodex الذى ذكر بأنه يقاوم مرض العفن الرمادى المتسبب عن *Botrytis* sp. فى كثير من النباتات باستثناء الحمص ، ويقام كذلك مرض العفن القرنفلى فى البطاطس .

أجريت دراسة لتقدير كفاءة كل من العزلة T39 من الفطر *T.harzianum* والعزلة DAR-74290 من الفطر *T.virens* لمقاومة مرض العفن القرنفلى فى البطاطس وعفن الساق والجذر فى الطماطم المتسبب عن الفطر *P.erythroseptica* . وجد أن نواتج التمثيل من العزلة DAR-74290 تثبط تماماً نمو الفطر الممرض فى المعمل ، ويكون فعلها مشابهاً لفعل المبيدات الفطرية . أما فى تجارب الصوبا الزجاجية وجد أن المحضر التجارى Trichodex والسلالة DAR-74290 سواء متحدين أم كل بمفرده فإنه يخفض شدة المرض فى الأفرع وفى جذور نباتات البطاطس بعد مرور عشرة أسابيع من الحقن بالكائن الممرض . كذلك فإن

obeikandl.com

انتاج البطاطس من النباتات التى عوملت بالفطر الممرض والسلالتين المذكورتين سابقاً كان أعلى معنوياً من الكنترول الذى حقن بالفطر الممرض فقط . وجد أن Trichodex يخفض شدة المرض بنسبة ٤٥ ٪ بعد خمسة أسابيع وتصل النسبة إلى ٦٦ ٪ بعد عشرة أسابيع من الزراعة . أما السلالة DAR-74290 تخفض الإصابة بنسبة ٤٧ ٪ بعد خمسة أسابيع وتصل إلى ٥٥ ٪ بعد عشرة أسابيع من الزراعة . عند خلط السلالتين معاً وجد أنهما يخفضان شدة المرض بنسبة ٤٢ ٪ بعد خمسة أسابيع وتصل النسبة حوالى ٦٥ ٪ بعد عشرة أسابيع من الزراعة .

يمكن القول باختصار أنه يمكن مقاومة مرض العفن القرنفلى فى البطاطس باستعمال السلالة T39 بتركيز ٧,٣ × ١٠^٤ وحدة تكوين مستعمرات/مل .

٢ - المقاومة الحيوية لذبول الفيرتسليم فى البطاطس

Biological Control of Verticillium wilt of Potato

مقدمــــة

يبقى الفطر *Verticillium dahliae* حياً من موسم لآخر على شكل مكروسكلوروشيا . يتكشف الكائن الممرض على أساس أنه أحادى الدورة . لا يحدث لقاح الفطر المنتج خلال موسم نمو واحد اصابات إضافية خلال نفس الموسم . وبالتالى فإن شدة الذبول المتسببة عن الفطر الممرض تكون متعلقة مع الحجم الأولى لتجمعات اللقاح . يمكن الحصول على مقاومة للمرض بطريقتين : الطريقة الأولى ، تعتمد على خفض كمية اللقاح التى تصل إلى التربة إلى أقل كمية ممكنة ، وذلك عن طريق تخفيض كفاءة تجمعات الأجسام الحجرية للفطر المتوطنة فى التربة . أما الطريقة الثانية تعتمد على خفض نسبة استعمار الجذر والساق وذلك عن طريق عوامل المقاومة الحيوية .

تلاقى المقاومة الحيوية للفطر *V.dahliae* صعوبة كبيرة، وذلك لأن العوائل النباتية تبقى قابلة للاصابة بهذا الفطر خلال جميع أطوار نموها . اتجهت معظم أبحاث المقاومة الحيوية لاستعمال الفطر *Talaromyces flavus* . يجب أن يكون هذا الفطر المضاد ذو كفاءة رايزوسفيرية عالية حتى يثبط تجمعات الكائن الممرض فى الجذور . عند إجراء اتحادات بين هذا الفطر المضاد وعوامل المقاومة الحيوية الأخرى نحصل على نتائج أفضل لمقاومة المرض .

مقاومة المرض :

يقاوم هذا المرض أساساً باستعمال الفطر *Talaromyces flavus* . وجد أن هذا الفطر المضاد يخفض حيوية الأجسام الحجرية الصغيرة للفطر الممرض على سيقان البطاطس الداخلة فى طور الشيخوخة والمجموعة من الحقول ، عندما يرش على شكل جراثيم أسكية محفوظة فى مادة كاربوكسى ميثايل سليلوز أو فى بودرة التلك . كذلك فإن خليط تحضيرات نخالة القمح Alginate من الفطر *T.flavus* فى التربة بمعدل ٠,٥ ٪ (وزن/وزن) كان متبوعاً بخفض أكبر من ٩٠ ٪ من تجمعات الفطر الممرض فى التربة على حرارة ١٥ و ٢٥ ْم .

كانت كثافة التجمعات للفطر الممرض ذات علاقة سلبية مع تلك الخاصة بالفطر المضاد *T.flavus* . وعلى أية حال فإن تجمعات الفطر الممرض حصل لها تخفيض باستعمال Alginate نخالة القمح لوحدها . عندما يحدث الخلط فى التربة بين بودرة التلك المعاملة بها التقاوى ومحضر نخالة القمح ، فإن الفطر المضاد يخفض استعمار الجذور والإصابة المرضية .

المعاملات التى تم فيها الاتحادات بين *T.flavus* مع عوامل المقاومة الأخرى مثل *Ba-cillus subtilis* أو *Gliocladium roseum* ، المحتوية نصف اللقاح اللازم من كل منهما لوحده ، يعطى مقاومة لاستعمار الجذر والساق بواسطة الفطر الممرض ، مشابه لما يعطيه كل منهما بمفرده . هذا يدل على أن الاتحادات تكون متوافقة .

VII المقاومة الحيوية لبعض أمراض بعض البقوليات

١ - المقاومة الحيوية لمرض التبقع الشيكولاتى فى الفول

Biological Control of Chocolate Spot On Faba Beans

مقدمــــة

يتسبب مرض بقعة الشيكولاته فى الفول *Vicia faba* عن الإصابة بالفطر *Botrytis faba* أو *B.cinerea* . يسبب المرض خسائر كبيرة فى الانتاج . أهمية هذا المرض متعلقة بشدته . تؤدي الإصابة الشديدة إلى خفض الانتاج بنسبة تتراوح ما بين ٥٠ إلى ١٠٠ ٪ ، يمكن أن يتحطم المحصول فى زمن قياسى . حتى فى الأطوار الأولية من المرض حيث تكون البقع بلون بنى محمر ، يؤدى إلى خسارة فى الانتاج تقدر ٢٧ ٪ .

مقاومة المرض :

أجريت دراسات قليلة على المقاومة الحيوية لهذا المرض . أول بحث كان سنة ١٩٩٠ من قبل Arase *et al* ، الذى ذكر أنه يمكن مقاومة هذا المرض باستعمال عوامل مقاومة حيوية فطرية أو بكتيرية . بعد ذلك اتجهت الأبحاث على البكتيريا ، حيث أثبتت تجارب لاحقة أن بعض عزلات *Bacillus* يمكن أن تكون بديلاً عن المبيدات الكيماوية فى مقاومة المرض .

من بين ٢٧٠ عزلة بكتيرية من الجنس *Bucillus* وجد ٦,٥ ٪ من هذه العزلات قادر على تثبيط هذا المرض فى التجارب الحقلية ، كما أن جميع هذه العزلات تكون مضادة للفطر فى المعمل عن طريق التضاد الحيوى Antibiosis . بعد تجارب التصفية على هذه السلالات وجد أن السلالة *Bacillus macerans* BS-153 تعطى كفاءة عالية فى مقاومة المرض سواء فى الصوبا الزجاجية أو فى الحقل وذلك بعد أن ترش النباتات بالمعلق الجرثومى لهذه البكتيريا . أما السلالة BS-2924 فهى أقل كفاءة .

المأخذ الوحيد على هذه الطريقة هو أنها تحتاج إلى كميات كبيرة من البكتيريا ، حيث تحتاج إلى تركيز ٥ × ١٠^{١٨} وحدة تكوين مستعمرات/مل ماء . وبالتالى فإن هذه الطريقة غير عملية مالم يتم إجراء تحسينات عليها سواء عن طريق الهندسة الوراثية أو عن طريق تشكيلات مختلفة أو طرق رش معينة .

٢ - المقاومة الحيوية لمرض عفن الساق فى الحمص

Biological Control of Stem Rot of Chickpea

يتسبب مرض عفن الساق فى الحمص عن الفطر *Sclerotinia sclerotiorum* . ينتشر هذا المرض فى معظم مناطق زراعة الحمص ويسبب خسائر فى الانتاج تتراوح من ٢١,٢٥ ٪ إلى ٤٦,٧٥ ٪ .

أجريت دراسات عديدة على اختيار عامل مقاومة حيوية فعالة فى مقاومة هذا المرض . وجد أن الفطر *Trichoderma harzianum* والفطر المعزول من رايزوسفير نبات الزنجبيل *Absidia cylindrospora* ، هما أكثر كفاءة وفعالية فى تثبيط نمو الفطر الممرض وتخفيض نسبة الإصابة فى نبات الحمص . وجد أن معاملة بذور الحمص قبل زراعتها بمدة أسبوع بالفطر *T.harzianum* تخفض حدوث المرض فى الحقل ، أفضل منه عند معاملة البذور وزراعتها فوراً .

يسبب الفطر *T.harzianum* أكبر تثبيط لنمو الميسيليوم فى الفطر الممرض (٧٥ ٪) ثم يليه فى قوة التثبيط الفطر *A.cylindrospora* بنسبة تثبيط ٦٧ ٪ ثم بعد ذلك *T.viride* بنسبة تثبيط ٦٦ ٪ . عند دراسة التفاعل بين الكائن الممرض والكائن المضاد ، وجد أن الكائن المضاد يفرز منتجات ميتابولزم تحطم هيفات الفطر الممرض وانتفاخها . ولقد أظهر Lee & Wu سنة ١٩٨٤ أن الفطر *T.harzianum* يثبط نمو الميسيليوم الفطرى للفطر الممرض عن طريق إفراز مضادات حيوية تحدث انتفاخاً وبلزمة للخلايا .

وجد أن تغليف البذور بعوامل المقاومة الحيوية يخفض من حدوث الإصابة ، كذلك فإن معاملة التربة بتحضيرات ميسيليومية من الفطر *T.harzianum* قبل الزراعة يخفض حدوث المرض . وجد أيضاً أن تخفيض المرض يكون متبوعاً بزيادة الانتاج . كما فى جدول رقم (١٣٠) .

obeikandi.com

جدول رقم (١٣٠) : المقاومة الحيوية لمرض عفن الساق فى الحمص فى الحقل .

الفطر المستعمل فى المقاومة	استعمال عامل المقاومة الحيوية قبل الزراعة بمدة أسبوع		استعمال عامل المقاومة الحيوية وقت الزراعة	
	٪ حدوث مرض	الانتاج كيلو/هكتار	٪ حدوث مرض	الانتاج كيلو/هكتار
Trichoderma harzianum	٤,٣٥	١٥	٨,١٢	١٣,٥
T.viride	٥,٥	١٤,٢٥	٩,٦٥	١٢,٨٥
Gliocladium virens	٦,٤	١٢,٦	٩,٤	١٢,٣
Absidia cylindrospora	١٠,٧٥	١٢,٢٥	١٠,٢٥	١٢,٧
كنترول	٢٣,٢٥	١٠,٧٥	١٨,٠	١١,٢٥

٣ - المقاومة الحيوية لعفن الجذر فى الفاصوليا

Biological Control of Bean Root Rot

يتسبب مرض عفن الجذر فى الفاصوليا عن الفطر *Rhizoctonia solani* ، ينتشر فى مناطق كثيرة حيث تزرع الفاصوليا ويسبب خسائر كبيرة للمزارعين .

درس تأثير سبعة أنواع من عوامل المقاومة الحيوية على الفطر الممرض فى المعمل وفى الصوبا الزجاجية . وجد فى الدراسة المعملية أن الفطر المضاد *Trichoderma harzianum* يسبب أكبر تثبيط لنمو الفطر الممرض ٥٨,٣ ٪ ، ثم يتبعه *T.hamatum* بنسبة ٤٨,٣ ٪ ثم *T.viride* بنسبة ٤٦,١ ٪ ثم يليه *Gliocladium virens* بنسبة ٤٤,٩ ٪ . أما فى الدراسة فى الصوبا الزجاجية وجد أن الفطر *G.virens* يثبط نسبة الإصابة من ٣٦,٧ ٪ فى الكنترول إلى ٦,٧ ٪ في النباتات المعاملة . جدول رقم ١٣١ .

obeikandi.com

جدول رقم (١٣١) : تأثير عوامل المقاومة الحيوية المختلفة على مرض عفن الجذور فى الفاصوليا فى التجارب الحقلية .

الكائن المستعمل فى المقاومة	٪ خفض المرض قبل الظهور فوق سطح التربة		٪ خفض المرض بعد الظهور فوق سطح التربة	
	الحقن قبل الكائن الممرض	الحقن مع الكائن الممرض	الحقن قبل الكائن الممرض	الحقن مع الكائن الممرض
كنترول	٢٦,٧	٤٦,٧	٩١,٧	١٠٠
T. harzianum	١٣,٣	١٣,٣	٣٨,٣	٥٣,٣
T.virens	٦,٧	٦,٧	٤٣,٣	٥٨,٣
T viride	١٣,٣	٢٦,٧	٤٦,٧	٥٢,٨
T. hamatum	٣٦,٧	٢٦,٧	٤٧,٢	٦٩,٤

يتبين من الجدول السابق أن أفضل طريقة لمقاومة المرض هو حقن التربة بالكائن المضاد قبل زراعتها بالبذور، إن أفضل تركيز تحقن به التربة هو $١٠^{٦}$ وحدة تكوين مستعمرات/مل .

٤ - المقاومة الحيوية لمرض تفحم الورقة فى اللوبيا

Biological Control of Leaf Smut of Cowpea

مقدمـــة

يسمى مرض تفحم الأوراق فى اللوبيا باسم التفحم الكاذب false smut أو البقعة السوداء . كانت أول مشاهدة لهذا المرض فى نيجيريا سنة ١٩٧٥ وأصبح من المؤكد أن مسبب المرض هو *Protomycopsis phaseoli* . أصبح المرض واسع الانتشار وقد يصل إلى الوباء فى بعض مناطق أفريقيا .

تظهر أعراض المرض على شكل بقع دائرية على الورقة تصبح سوداء هبابية إلى رمادية مزرقة ، غالباً ما تلتحم مع بعضها لتكون بطش كبيرة بقياس ٣-١٠ ملم قطراً تكون محاطة بهالة باهتة ضيقة . يكون أول ظهور لهذا المرض ، عادة ، على الورقتين الأوليتين وأخيراً يدخل إلى الورقة الأولى والثانية من الأوراق الثلاثية المركبة .

الأوراق التى يظهر بها مساحة ٣٠-٤٠ ٪ من السطح مصابة ، سرعان ما تصبح مصفرة وتسقط . يسبب المرض خسارة تصل ٤٧ ٪ عندما يهاجم الأصناف القابلة للإصابة فى الأجواء المناسبة لانتشار المرض .

مقاومة المرض :

وجد فى التجارب المعملية أن البكتيريا *Bacillus* تثبط نمو الفطر الممرض فى أطباق بترى وتصل مسافة التثبيط إلى حوالى ٦ ملم بين البكتيريا والكائن الممرض نفسه بعد ثلاثة أسابيع من التحضين . كلما زادت فترة التحضين تزول جميع نموات الفطر من البيئة . أما البكتيريا *P.fluorescens* ليس لها أى دور فى هذا المجال .

كذلك وجد أن بعض أنواع الخميرة تثبط نمو الفطر الممرض فى أطباق بترى وتكون منطقة التثبيط inhibition zone حوالى ٧,٧ ملم . كذلك الفطر *T.harzianum* و *T.koningii* تثبط النمو الإشعاعي للفطر الممرض فى طبق بشرى . بعد أربعة أيام من التحضين على حرارة ٢٦ – ٢٨ ْم استطاع الفطر *T.harzianum* أن يغطى جميع سطح الطبق . أما بالنسبة للجراثيم الكلاميدية للفطر الممرض ، فإنها لا تنبت إذا ما تواجدت مع معلق جراثيم الفطر *T.harzianum* و *T.koningii* . قد يعود ذلك إلى انتاج بعض الأنزيمات التى تمنع إنبات الجراثيم الكلاميدية للفطر الممرض . كذلك فإن هذه الأنواع تثبط حدوث المرض إذا رشت جراثيمها على النبات . جدول رقم (١٣٢) .

جدول رقم (١٣٢) : مقاومة مرض التفحم الكاذب على نباتات اللوبيا المعاملة بالفطريات المضادة رشاً على الأوراق.

الفطريات المضادة	٪ نباتات مصابة فى الأوراق الأولية بعد ٧ يوم من الزراعة	٪ نباتات مصابة بعد ٢٨ يوم من الزراعة
Trichoderma harzianum	٨	١٣
T.koningii	٢٤	٢٨
T. sp	١٧	١٥
كنترول	٢٢	٤٧

يلاحظ من الجدول أن أفضل طريقة حيوية لمقاومة مرض التفحم الكاذب فى اللوبيا تكون باستعمال الفطر المضاد *T.harzianum* رشاً على الأوراق .

٥ - المقاومة الحيوية لعفن الساق فى الفول السودانى

Biological Control of Stem Rot of Groundunt

يتسبب هذا المرض عن الفطر *Sclerotium rolfsii* . هذا الفطر من الكائنات الممرضة الكامنة فى التربة ، ويسبب خسائر كبيرة فى مزارع الفول السودانى ، وله مجال عوائلى واسع ، لذلك من الصعوبة بمكان أن يتم القضاء عليه بعمليات المقاومة الكلاسيكية ، لذلك اتجهت الأبحاث إلى المقاومة الحيوية لهذا الفطر .

درس احدى عشر عزلة من الفطر *T.harzianum* فى المعمل فى البيئة ذات المزرعة المزدوجة ، ثلاثة عزلات هى T8 ، T10 ، T2 كانت فعالة فى تثبيط نمو الفطر الممرض *S.rolfsii* واستطاعت أن تستمر فى نموها فى الطبق وتغطى سطح الكائن الممرض ، كانت نسبة التغطية ٩٢ ٪ ، ٨٥ ٪ ، ٧٩ ٪ لهذه العزلات بالترتيب . كذلك فإن العزلتين T8 ، T10 استطاعتا تخفيض حدوث المرض معنوياً عندما استعملت على شكل معاملة بذور أو معاملة تربة فى الصويا الزجاجية . كانت النسبة المئوية لخفض المرض عن طريق معاملة البذور ٣٣٪ إلى ٥٠ ٪ بالمقارنة مع الكنترول . أما عن طريق معاملة التربة مباشرة ، كانت نسبة الخفض حوالى ٧٢ ٪ إلى ٨٣ ٪ . تكون جراثيم عزلات T8 و T10 ذات عمر أطول وتستطيع T8 أن تظهر تأثيرها بعد ١٣ أسبوع من التخزين ، إذا استعملت بتركيز ١,٣ × ١٠^{٣} وحدة تكوين مستعمرات / بذرة ، وتصل المدة إلى ١٥ أسبوع في حالة T10 إذا استعملت بتركيز ١ × ١٠^{٤} وحدة تكوين مستعمرات لكل بذرة .

عند معاملة التربة بالجراثيم ، تبين أن السلالة T8 المحمولة جراثيمها فى نخالة القمح تخفض المرض بنسبة ٧٢ ٪ بالنسبة للكنترول . عندما أضيف إلى نخالة القمح مخلوط رملى ارتفعت نسبة التخفيض إلى ٧٧,٨ ٪ من الكنترول . أما السلالة T10 عندما حملت جراثيمها مع نخالة القمح خفضت المرض بنسبة ٨٣,٣ ٪ من الكنترول ، أما عندما أضيف إليها مخلوط رملى انخفضت نسبة التخفيض إلى٧٥,٦ ٪ من الكنترول .

obeikandl.com

VIII مقاومة بعض أمراض الفلفل

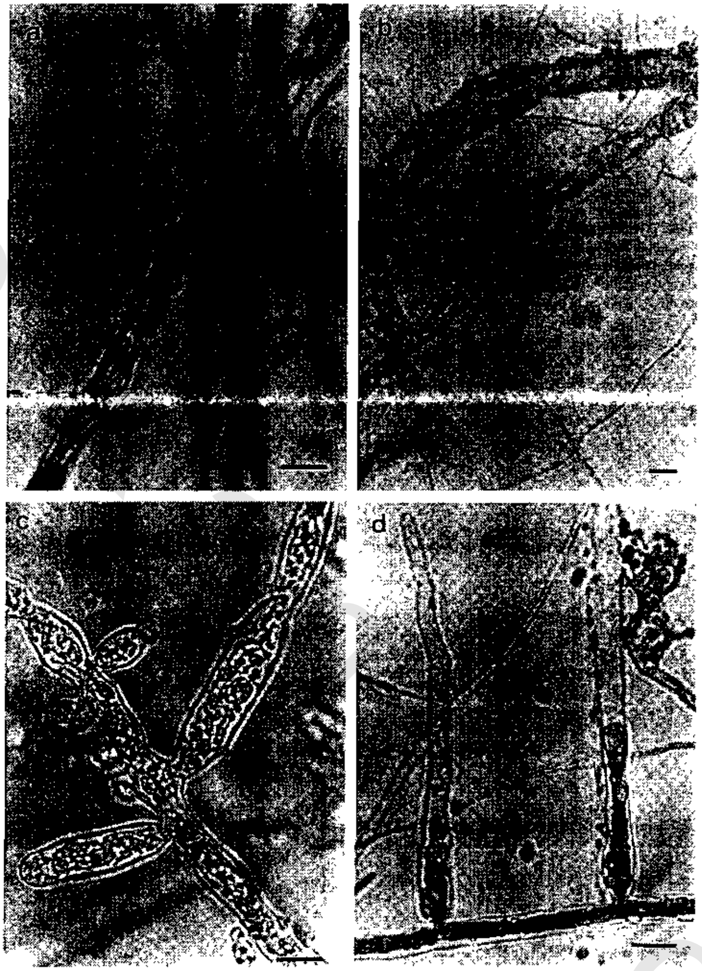
١ - المقاومة الحيوية لمرض عفن جذور الفلفل المتسبب عن الفطر Phytophthora capsici

مقدمــــة

يتسبب هذا المرض عن الفطر *Phytophthora capsici* . يهاجم هذا الفطر بالإضافة إلى الجذور ، الأجزاء الهوائية والتى تحت سطح التربة لكثير من النباتات ومن أهمها الفلفل *Capsicum annuum* والذى يسبب فيه خسائر اقتصادية كبيرة .

عند استبعاد الطرق الكلاسيكية لمقاومة هذا المرض ، اتجهت الأبحاث إلى عوامل المقاومة الحيوية . لقد استعمل الفطر المضاد *Trichoderma harzianum* لمقاومة أعفان الفلفل (الجذر - الساق - الأجزاء الهوائى) المتسببة عن الفطر الممرض المذكور سابقاً . أثبتت الدراسات المعملية أنه يمكن تثبيط الفطر الممرض باستعمال الفطر *T.harzianum* ، تختلف نسبة التثبيط حسب البيئة الغذائية النامى عليها وأفضلها بيئة شيبكس . كذلك وجد أن الفطر المضاد يخفض تجمعات الكائن الممرض فى الجذر (فى الدراسات الحقلية) ، مما يؤدى إلى خفض المرض بنسبة تتراوح ما بين ٢٤ و ٧٦ ٪ .

يبين شكل رقم (١٩) التفاعل الهيفى بين الفطرين ، الفطر الممرض *P.capsici* والفطر المضاد *T.harzianum* .



شكل رقم (١٩) : التفاعل الهيفى بين الفطرين ، الفطر الممرض *P.capsici* والفطر المضاد *T.harzianum* .

a : **التفاف هيفات الفطر المضاد حول هيفات الفطر الممرض .**

b : **تفكك هيفات الفطر الممرض .**

c : **تجويفات حاصلة فى هيفات الفطر الممرض .**

d : **تجويف خلايا الفطر الممرض تحت تأثير الفطر المضاد عند وجودهما فى بيئة (WA) .**

مقياس الرسم ١٠ ميكروميتر

٢ - المقاومة الحيوية لمرض نكروزز الساق فى الفلفل المتسبب عن الفطر P.capsici

مقدمـــة

تظهر أعراض النكروزز على سيقان الفلفل بواسطة نفس الفطر السابق . فى إحدى الدراسات الحديثة ذكر Yedidie *et al* سنة ١٩٩٩ أن السلالة T-203 من الفطر المضاد *T.harzianum* ، يمكن أن تحث على تخليق استجابة دفاعية فى بعض النباتات عن طريق زيادة فى نشاط البيروكسيديز والـ Chitinase . إن هذه الاستجابة الدفاعية فى الفلفل تكون متعلقة مع تغيرات فى نواتج الميتابولزم فى النبات . من بين هذه التغيرات هو انتاج فايتوالكسن يسمى Capsidiol . لاحظ كثير من الباحثين أن هناك علاقة بين تجمعات الكابسيدول ودرجة المقاومة فى أصناف مختلفة من نباتات الفلفل .

إن مادة الكابسيدول هى الفايتوالكسن الأساسى المصنع بواسطة نباتات الفلفل المعرضة للإصابة أو لتحطيم الأنسجة . إن تجمعات هذا الفايتوالكسن فى الأنسجة يمكن أن تثبط تكشف الإصابة بالفطر الممرض . وعلى أية حال فإن تجمعات هذا الفايتوالكسن فى الأنسجة المحقونة وعلاقته مع المقاومة المستحثة بواسطة عامل المقاومة الحيوية الفطرية لا يزال قيد الدراسة .

مقاومة المرض :

إن تأثير معاملة بذور وجذور الفلفل بجراثيم الفطر *T.harzianum* على نكروزز الساق المتسبب عن الفطر *P.capsici* وعلى كيفية تجمع الكابسيدول ، قد شرحت بوضوح فى كثير من الابحاث . نتائج هذه الأبحاث أدت إلى القول بأن معاملة البذور بالكائن المضاد تخفض معنوياً نكروزز الساق إلى النصف مقارنة مع الكنترول . كذلك فإن النكروزز قد انخفض فى النباتات التى غمرت جذورها فى جرعات مختلفة من جراثيم الفطر المضاد ، مع أن امتداد النكروزز لم يكن متعلقاً مع الجرعات المستعملة . المحاولات التى أجريت لعزل الفطر الممرض والفطر المضاد من المناطق المتلامسة مباشرة مع منطقة النكروزز أظهرت وجود الفطر الممرض ولم تظهر ،وجود الفطر المضاد ، هذا يدل على أنه لم يكن هناك اتصالاً مباشراً بينهما فى منطقة العزل والذى يعنى أنه لا يوجد تنافس بينهما على الغذاء . كذلك تدل

obeikandl.com

نتائج الدراسة على أن الفطر المضاد المدخل فى جزء النبات تحت سطح التربة يخلق (أو يحث على) استجابة دفاعية جهازية ضد الفطر الممرض فى الجزء العلوى من النبات .

أظهرت الدراسة التى أجريت على الكابسيدول فى سيقان النباتات المعاملة بالفطر المضاد والمحقونة بالفطر الممرض ، فى نهاية اليوم السادس بعد الحقن ، أن تركيزه كان أكثر بحوالى سبعة أضعاف منه فى النباتات غير المعاملة بالفطر المضاد والمحقونة بالفطر الممرض ، بينما بعد تسعة أيام فإن تركيز الكابسيدول ينخفض فى النباتات المعاملة والمحقونة ويزداد فى النباتات غير المعاملة والمحقونة . اكتشف أعلى تركيز للكابسيدول فى السيقان المحقونة والمعاملة بعد ستة أيام .

يمكن القول بأن الكابسيدول ، يمكن أن يكون واحداً من العوامل المشاركة ، ولكن ليس بالضرورة أن يكون العامل الرئيسى فى وقف تكشف النكروزز فى سيقان نبات الفلفل .

IX - المقاومة الحيوية لمرض جرب الحمضيات

المتسبب عن Elsinoe fawcettii

مقدمـــة

يتسبب مرض جرب الحمضيات عن الفطر *Elsinoe fawcettii* وهو من الأمراض المهمة جداً والمعروفة فى معظم مناطق زراعة الحمضيات خاصة فى أمريكا ، أستراليا ، نيوزلندا ، الأرجنتين ، الهند ، سيلان والباكستان . كان أول ذكر لهذا المرض سنة ١٨٦٧ فى بلاد الهند . يظهر المرض على الأوراق الفريعات الصغيرة والثمار ، والذى يؤدى إلى سقوط الأوراق والثمار قبل نضجها مؤدياً إلى خسارة كبيرة للمزراعين ، كذلك يؤدى إلى تشوه المجموع الخضرى وتقزم بعض الأصول . يسبب هذا المرض مشاكل كبيرة فى الحصول على شتلات سليمة من المشاتل .

مقاومة المرض :

هناك عدة طرق لمقاومة هذا المرض ، والذى يهمنا فى هذا المجال هو المقاومة الحيوية . تبين فى الدراسة المعملية أن الفطر *Trichoderma harzianum* يظهر تطفل فطرى عال ضد العزلة الشديدة المرضية من الفطر الممرض ، خاصة العزلة 20 . تتغطى مزرعة الفطر

الممرض بميسيليوم الفطر المضاد فى طبق بترى مزدوج المزرعة خلال سبعة أيام من التحضين وتحلل خلايا الفطر الممرض . أما الفطر المضاد *T.koningii* فقد أظهر كفاءة متوسطة فى تطفله على الكائن الممرض حيث أنه غطى ٦٠ ٪ من مستعمرات الفطر الممرض خلال نفس الفترة السابقة .

تحت الظروف الحقلية ، فإن أعلى مقاومة للمرض ٨٧,٨ ٪ قد تم الحصول عليها باستعمال الفطر *T.harzianum* يليه بعد ذلك *Epicoccum purpurascens* كانت المقاومة ٧٠ ٪ ثم بعد ذلك *T.koningii* كانت نسبة المقاومة ٦٨,١ ٪ .

كانت تستعمل الفطريات المضادة فى الحقل بنسبة $١٠^{٦}$ جراثيم كونيدية/مل بالنسبة لجنس تريكوديرما . أما بالنسبة للجنس *Epicoccum* فكانت تؤخذ الميسيليوم المتكون في دورق ويوضع فى لتر ماء . كانت تضاف مادة كاربوكسي ميثايل سليلوز بنسبة ١,٢ ٪ (وزن/حجم) ثم تضاف إلى لتر التحضير . كانت ترش هذه المحاليل على المجموع الخضرى قبل ٢٤ ساعة من الرش بالفطر الممرض حيث يكون الفطر المضاد قد وطد نفسه . كانت ترش الأشجار بمعلق جراثيم الفطر الممرض بنسبة ٢ × $١٠^{٤}$ جرثومة كونيدية/مل من سلالة شديدة المرضية . كانت تؤخذ النتائج بعد ٢٠ يوم من الرش .

obeikandl.com

المراجـــع

أبحاث سنة ٢٠٠٠ :

1. Ahmed, S.A., *et al.* 2000. Evaluation of Induction of Systemic Resistance in Pepper Plants to *Phytophthora capsici* Using *Trichoderma harzianum. European J. of Plant Pathology* 106 : 817-824.

2. Biswas, S.K., *et al.* 2000. Antagonism of *Chaetomium globosum* to *Drechslera sorokiniana*, the spot blotch pathogen of Wheat. *Indian Pathology* 53 (4) : 436-440.

3. Biswas, S.K. and Sen, R. 2000. Management of Stem Rot of Groundnut Caused by *Sclerotium rolfsii* through *Trichoderma harzianum. Indian Phytopathology* 53 (3) : 290-295.

4. Bolar, J.P., *et al.* 2000. Expression of Endochitinase from *Trichoderma harzianum* in Transgenic Apple Increases Resistance to Apple Scab and Reduces Vigor. *Phytopatholgy* 90 : 72-77.

5. Braun-Kiewnick, A., *et al.* 2000. Biological control of the causal Agent of Basal Kernel Blight of Barley, by Antagonistic *Pantoea agglomerans. Phytopathology* 90 : 368-375.

6. Carisse, O., *et al.* 2000. Effect of Fall Application of Fungal Antagonists on Spring Ascospore Production of the Apple Scab Pathogen, *Venturia inaequalis. Phytopathology* 90 : 31-37.

obeikandl.com

7. Das, B.C. and D.K. Hazarika. 2000. Biological Management of Sheat Blight of Rice. *Indian Phytopathology* 53 (4) : 433-435.

8. El-Ghaouth, A., *et al.* 2000. Application of *Candida saitoana* and Glycolchitosan for the Control of Post-harvest Diseases of Apple and Citrus Fruit. *Plant Disease* 84 : 243-248.

9. El-Ghaouth, A., *et al.* 2000. Improved Control of Apple and Citrus Fruit Decay with a Combination of *Candida saitoana* and 2-Deoxy-D-Glucose. *Plant Disease* 84 : 249-253.

10. Etebarian, H.R., E.S. Scott and T.J. Wicks. 2000. *Trichoderma harzianum* T39 and *T. virens* DAR74290 as Potential Biological Control Agents for *Phytophthora erythroseptica*. *European J. of Plant Pathology* 106 : 329-337.

11. Howell, C.R., *et al.* 2000. Induction of terpenoid sysnthesis in cotton roots and control of *R. solani* by seed treatment with *T. virens*. *Phytopathology* 90 : 248-252.

12. Harman, G.H. 2000. *Trichoderma harzianum* T-22. *Plant Disease* 84, 4 : 377-392.

13. Jensen, B., *et al.* 2000. Biological seed treatment of cereals with fresh and long-term stored formulations of *Clonostachys rosea*. *European J. of Plant Pathology* 106 : 233-242.

14. Johnson, K.B., *et al.* 2000. Assessment of environmental factors influencing growth and spread of *Pantoea agglomerans* on and among blossoms of pear and apple. *Phytopath.*, 90 : 1285-1294.

15. Manoranjitham, S.K., *et al.* 2000. Effect of two antagonists on damping off disease of tomato. *Indian phytopath.*, 53 (4) : 441-443.

16. Morandi, M.A.B., *et al.* 2000. Effects of host and microbial factors on development of *Clonostachys rosea* and control of *Botrytis cinerea* in rose. *European J. of Plant Pathology* 106 : 439-448.

17. Nolan, S. and B.M. Cooke. 2000. Control of *S. nodorum* and *Septoria tritici* in wheat by pre-treatment with *D. teres*, a non-host pathogen. *European J. of Plant Pathology* 106 : 203-207.

18. Penyalver, R., *et al.* 2000. Use of genetically engineered *Agrobacterium* strain K1026 for biological control of crown gall. *European J. of Plant Pathology*. 106 : 801-810.

19. Qing, F. and S. Tian. 2000. Postharvest biological control of *Rhizopus* Rot of nectarine fruits by *P. membranefaciens*. *Plant Disease* 84, 11 : 1212-1216.

20. SEN, B. 2000. Biological control. A success story. *Indian Phytopath.* 53 (3) : 243-249.

21. Sivakumar, G., R.C. Sharma and S.N. Rai. 2000. Biocontrol of banded leaf and sheath blight of maize by peat based *P. fluorescens* formulation. *Indian Phytopath.* 53 (2) 190-192.

22. Selvakumar, R., *et al.* 2000. Studies on development of *T. viride* mutants and their effect on *Ustilago segetum tritici*. *Indian Phytopath.*, 53 (2) : 185-189.

23. Singh, D., *et al.* 2000. Management of citrus scab caused by *Elsinoe fawcettii*. *Indian Phytopath.*, 53 (4) : 461-467.

obeikandl.com

ابحاث سنة ١٩٩٩ :

24. Adejumo, T.O., T. Ikotun and D.A. Florini. 1999. Biological control of *Protomycopsis phaseoli*, the causal agent of leaf smut of cowpea. *J. Phytopath.* 147 : 371-375.

25. Benbow, J.M. and D. Sugar. 1999. Fruit surface colonization and biological control of postharvest diseases of pear by preharvest yeast application. *Plant Disease* 83 : 839-844.

26. Chen, T.W. and W.S. Wu. 1999. Biological control of carrot black Rot. *J. Phytopath.* 147 : 99-104.

27. Desai, S. and E. Schlosser. 1999. Parasitism of *Sclerotium rolfsii* by *Trichoderma. Indian Phytopath.* 52 (1) : 47-50.

28. DeCal, A., *et al.* 1999. Effects of timing and method of application of *Penicillium oxalicum* on efficacy and duration of control of *Fusarium* wilt of tomato. *Plant Pathol.* 48 : 260-266.

29. Dik, A.J., G. Koning and J. Kohl. 1999. Evaluation of microbial antagonists for biological control of *Botrytis cinerea* stem infection in cucumber and tomato. *European J. of Plant Pathol.*, 105 : 115-122.

30. Elad, Y. and A. Kapat. 1999. The role of *Trichoderma harzianum* protease in the biocontrol of *Botrytis cinerea. European J. of Plant Pathol.*, 105 : 177-189.

31. Gupta, V.P., *et al.* 1999. Ultrastructure of mycoparasitism of *Trichoderam* , *Gliocladium* and *Leatisaria* species on *Botryodiplodia theobromae. J. Phytopath.*, 147 : 19-24.

32. Hoynes, C.D., *et al.* 1999. Biological control agents in combination with fertilization or fumigation to reduce sclerotial viability of *S. rolfsii* and disease of snap beans. *J. Phytopath.* 147 : 175-182.

obeikandl.com

33. Mandal, S., *et al.* 1999. Mycoparasitic action of some fungi on spot blotch pathogen of wheat. *Indian Phytopath.* 52 (1) : 39-43.

34. Moline, H., *et al.* 1999. Selective isolation of bacterial antagonists of *Botrytis cinerea. European J. of Plant Pathology* 105 : 95-101.

35. Sharma, S.K., B.R. Verma and B.K. Sharma. 1999. Biocontrol of *S. sclerotiorum* causing stem rot of chickpea. *Indian Phytopath.* 52 (1) : 44-46.

36. Sid-Ahmed, A., *et al.* 1999. Evaluation of *T. harzianum* for controlling root rot caused by *Phytophthora capsici* in pepper plants. *Plant Pathology.* 48 : 58-65.

37. Singh, P.P., *et al.* 1999. Biological control of *Fusarium* wilt of cucumber by chitinolytic bacteria. *Phytopathology* 89 : 92-99.

38. Tsror, L. 1999. Biological control of early blight in tomatoes. *Acta Hort.* 487 : 271-273.

ابحاث سنة ١٩٩٨ :

39. Abraham, K. and S.K. Gupta. 1998. Biological control or root rot of French bean caused by *R. solani. J. Mycol. Pl. pathol.* 28, 2 : 202-205.

40. Al-Rawahi, A.K. and J.G. Hancock. 1998. Parasitism and biological control of *V. dahliae* by *Pythium oligandrum. Plant Disease* 82, 10 : 1100-1106.

41. Bertagnolli, B.L., et al. 1998. Antimycotic compounds from *R. solani* and Its antagonist *T. harzianum. J. Phytopathology.* 146, 131-135.

obeikandi.com

42. Benitez, T., *et al.* 1998. Biofungicides : *Trichoderma* as a biocontrol agent against phytopathogenic fungi. *Recent Res. Devel.* in Microbiology 2 : 129-149.

43. Das, B.C., *et al.* 1998. Biological seed treatment for management of sheath blight of rice. *J. Mycol. Pl. Pathol.* 28, 1 : 45-47.

44. Daluz, W.C., *et al.* 1998. Seed-applied bioprotectants for control of seed borne *Pyrenophora tritici-repentis* and agronomic enhancement of wheat. *Can. J. of Plant Pathol.* 20 : 384-386.

45. Dunne, C., *et al.* 1998. Combining proteolytic and phloroglucinol – producing bacteria for improved biocontrol of *Pythium* – mediated damping – off of sugar beet. *Plant Pathology* 47 : 299-307.

46. Emma, F., and J. Schnurer. 1998. Antifungal activity of chitinolytic bacteria isolated from airtight stored cereal grain. *Can. J. Microbiol.* 44 ; 121-127.

47. Hebbar, K.P., *et al.* 1998. Suppression of pre-and post-emergence damping-off in corn by *Burkholderia cepacia* . *European J. of Plant Pathology* 104 : 29-36.

48. Holmes, K.A., *et al.* 1998. Factors affecting the control of *Pythium ultimum* damping-off of sugar beet by *Pythium oligandrum*. *Plant Pathology* 47 : 516-522.

49. Hong, C.X., *et al.* 1998. Effects of wounding, *inoculum* density, and biological control agents on post-harvest brown rot of stone fruits. *Plant Disease* 82, 11 : 1210-1216.

50. Huang, Y. and P.T.W. Wong. 1998. Effect of *Burkholderia* cepacia and soil type on the control of crown rot in wheat. *Plant and Soil* 203 : 103-108.

51. Johnson, L., *et al.* 1998. Performance of the *Pseudomonas chlororaphis* biocontrol agent MA 342 against cereal-borne diseases in field experiments. *European J. of Plant Pathology* 104 : 701-711.

52. Krish, K. and S.S. GNAN. 1998. Biocontrol of rice sheath blight with formulated *Pseudomonas putida*. *Indian Phytopath.* 51 (3) : 233-236.

53. Laha, G.S. and J.P. Verma. 1998. Role of fluorescent pseudomonads in the suppression of root rot and damping-off of cotton. *Indian Phytopath.* 51 (3) 275-278.

54. Larkin, R.P. and D.R. Fravel. 1998. Efficacy of various fungal and bacterial biocontrol organisms for control of *Fusarium* wilt of tomato. *Plant Disease* 82 : 1022-1028.

55. Nagtzaam, M.P.M., *et al.* 1998. Efficacy of *Talaromyces flavus* alone or in combination with other antagonists in controlling *Verticillium dahliae* in growth chamber experiments. *J. Phytopath.* 146 : 165-173.

56. Prasad, R.D., *et al.* 1998. Biological control of *Botrytis* grey mould of rose. *J. Mycol. Pathol.*, 28 (1) : 61-63.

57. Stockwell, V.O., *et al.* 1998. Establishment of bacterial antagonists of *Erwinia amylovora* on pear and apple blossoms as influenced by *inoculum* preparation. *Phytopathology* 88 : 506-513.

58. Spotts, R.A., *et al.* 1998. Control of brown rot and blue mold of sweet cherry with preharvest Improdione, Postharvest *Cryptococcus infirmominiatus*, and modified atmosphere packaging. *Plant Dis.* 82 : 1158-1160.

obeikandi.com

59. Teperi, E., *et al.* 1998. Screening for fungal antagonists of seed-borne *Fusarium culmorum* on wheat using *in vivo* tests. *European J. of Plant Pathology* 104 : 243-251.

60. Teixido, N., *et al.* 1998. Control of blue mold of apples by preharvest application of *Candida sake* grown in media with different water activity. *Phytopathology* 88 : 960-964.

61. Zaki, K., *et al.* 1998. Control of cotton seeding damping-off in the field by *Burkholderia (Pseudomonas) cepacia. Plant Disease.* 82 : 291-293.

ابحاث سنة ١٩٩٧ :

62. Boris, M.S. 1997. *Bacillus* isolates as potential biocontrol agents against chocolate spot on faba beans. *Can. J. Microbiol.* 43 : 915-924.

63. Elson, M.K., *et al.* 1997. Selection of microorganisms for biological control of silver scurf of potato tubers. *Plant Dis.*, 81 : 647-652.

64. Hani, M.N., *et al.* 1997. Isolation of *Pythium oligandrum* from Egyptian soil and its mycoparasitic effect on *Pythium ultimum* var. *ultimum* the damping-off microorganism of wheat. *Mycopathologia* 139 : 97-106.

65. Lo, C.T. and E.B. Harman. 1997. Improved biocontrol efficacy of *Trichoderma harzianum* 1295-22 for foliar phases of turf diseases by use of spray applications. *Plant Disease* 81, 10 : 1132-1138.

obeikandi.com

66. Roberts, P.D., *et al.* 1997. Use of a colonization – deficient strain of *E. coli* in strain combinations for enhanced biological control of cucumber seedling diseases. *J. Phytopathology* 145 : 461-463.

67. Roberts, P.D., *et al.* 1997. Biological control of damping-off of cucumber caused by *Pythium ultimum* with a root-colonization deficient strain of *E. coli*. *J. Phytopathology* 145 : 383-388.

68. Sailaja, R.R., *et al.* 1997. Biocontrol strain of *Bacillus subtilis* AF 1 rapidly induces lipoxygenase in groundnut compared to crown rot pathogen *Aspergillus niger*. *European J. of Plant Pathology* 104 : 125-132.

69. Utkhede, R.S. and E.M. Smith. 1997. Effectiveness of dry formulations of *Enterobacter agglomerans* for control of crown and root rot of apple trees. *Can. J. of Plant Pathol.* 19 : 397-401.

أهم المراجع المستعملة فى هذا الجزء من الكتاب هو :

كتاب : المقاومة الحيوية لأمراض النبات ، تأليف الدكتور محمود موسي أبو عرقوب ، الناشر : المكتبة الأكاديمية ، سنة ٢٠٠٠ ، الكتاب ٦٨٣ صفحة .

obeikandl.com

الفصل الحادى عشر

الميكروبات ودورها في إنتاج مضادات حيوية

أولاً : المركبات ذات الأصل الميكروبي المستعملة في وقاية النبات

Agroactive Compounds of Microbial Origin

مقدمة :

تعتبر مبيدات الآفات ، من أهم العوامل المساعدة للمزارع لزيادة إنتاج المحاصيل الزراعية ، وللمحافظة على جودة المحصول . فهي تحفظ المحاصيل النباتية من الاضرار الخارجية أو التحطيم الكلي للمحصول المتسبب عن الحشرات الضارة أو الحلم ، الاصابات الفطرية والبكتيرية والحشائش الضارة . بدون استعمال مبيدات آفات فإن إنتاج النبات ينخفض بحوالي ٢٠ - ٤٠٪ . تشمل هذه الخسائر ، الخفض في كمية المنتج أثناء الجمع ، بالإضافة إلى الفاقد أثناء التخزين والنقل . إن الكائنات الضارة لا حصر لها : قدرت اعداد الحشرات والحلم الضار للنبات بحوالي ٥٠٠٠ نوع ، والفطريات ٨٠٠٠ نوع على الأقل والبكتيريا ٧٠ نوع على الأقل والفيرويدات ٥٠ نوع على الأقل والفيروسات ١٠٠ مجموعة على الأقل . بالإضافة إلى ١٨٠٠ نوع من الحشائش الضارة ، منها ٢٠٠ نوع تشكل ٩٥٪ من الحشائش الضارة جداً .

تزداد السوق العالمية للمبيدات باستمرار ، فقد ازدادت قيمة المبيعات من ١٧,٩ مليون دولار فى سنة ١٩٨٦ إلى ٢٠,٤ مليون دولار سنة ١٩٨٨ . تشكل هذه المبيدات ٤٣,٦٪ مبيدات حشرية ، ٢٩,٧٪ مبيدات فطرية ، ٢٠,٥٪ مبيدات حشائش و ٦,١٪ مبيدات مختلفة .

كذلك فإن تطور اكتشاف مبيدات الافاق - لا يخلو من المصاعب والمشاكل . من أهم المشاكل التي تقابل استعمال المبيدات الكيماوية ، هى التأثير الضار على البيئة ، من حيث الماء والهواء ، حيث أن كثرة استعمال هذه المبيدات تؤدى إلى تلوث الجو وتلوث المياه الأرضية . كذلك فإن الأثر المتبقي فى المحاصيل سواء الثمار التي يتناولها الإنسان أو العلف الذي يتناوله الحيوان ، كل ذلك يؤثر على الناحية الصحية للانسان . إضافة إلى بقاء هذه المبيدات في التربة لمدة طويلة ، قد تصل في بعض الأحيان إلى عشرين سنة ، كما هو

obeikandi.com

الحال في المبيد د. د. ت . من أهم المشاكل الأخرى التي تقابل اكتشاف وتطور مبيدات الآفات ، هي ظهور سلالات مقاومة أو متحملة للمبيد الفطري أو الحشري .

جميع هذه الأسباب مشتركة ، جعلت الباحثين يتجهون إلى استعمال مبيدات آفات أقل خطراً وأكثر أماناً ، وهي منتجات تمثيل بعض الميكروبات Microbial Metabolites والتي تسمى Biocides . لقد وصف بعض الباحثين أن المزرعة الميكروبية عبارة عن صندوق أو كنز مقفل ، يجب التنقيب عنه لمعرفة اسراره ، حيث أنه من هذا الصندوق قد تم اكتشاف كثير من العقاقير أو الترياقات التي ساهمت كثير جداً في تخفيف آلام البشرية ، وقياساً على ذلك ، يمكن الاستفادة منها في الزراعة لمقاومة الآفات النباتية . أجريت تجارب كثيرة علي منتجات التمثيل الميكروبي ، فوجد أنها في كثير من الأحيان ذات تأثير مشابه لتأثير المبيدات الكيماوية ، ولذلك اتجهت الابحاث إلي تحضير هذه المنتجات صناعياً كما نجح تحضيرها صناعياً في الطب البشري . من أهم المميزات الحسنة في منتجات التمثيل الميكروبي والتي تجعلنا نفضلها عن مبيدات الآفات الكيماوية هي :

١- هذه المركبات متعددة الجوانب في التركيب والنشاط . إن التركيب المعقد لهذه المنتجات يجعل هناك امكانية للإستعمالات المختلفة لهذه المركبات ، بحيث من المحتمل أن تكون فعالة في اتجاه وغير فعالة في اتجاه آخر . هذا يعني أن فائدتها غير مقتصرة على نشاط محدد بل يمكن أن تكون ذات نشاطات متعددة الأوجه على عكس مبيدات الآفات الكيماوية .

٢- هذه المركبات قابلة لأن تتحطم حيوياً ولا يستمر وجودها لأكثر من شهر في التربة ، أو على النبات ، بعضها يتحطم خلال بضعة أيام عندما تتعرض لتربة كثيرة الأحياء الدقيقة (تربة عضوية) ، على عكس مبيدات الآفات الكيماوية ، التي تبقي شهوراً كثيرة في التربة .

لقد تم ادخال مبيدات الآفات ذات الأصل الميكروبي ، في الاستعمال في الحقول ، منذ اربعين عاماً (١٩٦٠) . كان من أهم تلك المواد المستعملة هي Blasticidis S ، Polyoxin ، Kasugamycin ، Validamycin ، Mildiomycin كمبيدات فطرية ، ومركب Tetranactin كمبيد للحلم Mite . ثم بعد ذلك تم اكتشاف Avermectin ، Milbemycin و Bialaphos . ثم بعد ذلك اكتشفت عشرات المركبات . إن سرعة اكتشاف هذه المواد يشجع القول بأن هناك مواد أخرى ، يمكن اكتشافها سريعاً وتطبيقها في الزراعة .

اكتشاف مبيدات الآفات ذات الأصل الميكروبى : (منتجات التمثيل الميكروبى) :

هناك استمرارية في اكتشاف مبيدات الآفات ذات الأصل الميكروبي . معظم هذه المركبات يمكن الحصول عليها من الجنس *Streptomyces* sp. . تأتي الزيادة المستمرة في اكتشاف هذه المركبات من النتائج المشجعة في المقاومة التي يتحصل عليها منها . والأهم من ذلك الحاجة المستمرة في الحصول على مبيدات آفات ممتازة . من ناحية عملية فان الزيادة في الاكتشاف تكون نتيجة للآتي :

١- اكتشاف وتحسن طرق التنقية :

أ - استغلال مجموعات ميكروبية جديدة ، كمصادر لانتاج مركبات فعالة ، مثل الفطريات البازيدية ، الأشنة الخضراء المزرقة ، المايكوبكتيريا ، تبين أنها مصادر غنية لمنتجات التمثيل هذه .

ب- استعمال تكنيك جديد متقدم في عمليات التخمير وتطبيقها في برامج التنقية .

جـ- ظهور طرق جديدة في إمكانية اكتشاف وجود هذه المواد في أي مكان في النبات ، أو امكانية افرازها من قبل الكائن الدقيق .

٢- استعمال طرق الهندسة الوراثية :

إن استعمال طرق الهندسة الوراثية الحديثة ، على الكائنات الدقيقة المنتجة لهذه المواد ، وتطبيقها على الطفرات ، وتربية هذه الطفرات ، واختبار السلالات الأفضل في إنتاج هذه المواد ادى إلي استمرارية اكتشاف هذه المواد واستعمالها .

٣- التقدم العلمى المستمر :

ادى التقدم العلمي المستمر في علوم الكيمياء العضوية ، كيمياء المبيدات والكيمياء الحيوية وتطبيقها في عمليات تصنيع وطرق تنقية هذه المواد . كل ذلك ادي إلي الاستمرارية في اكتشاف هذه المواد واستعمالها .

٤- القواعد الكيماوية للتفاعل بين الكائن الممرض والنبات :

إن الاهتمام بدراسة القواعد الكيماوية للتفاعل بين الكائن الممرض والنبات (فسيولوجيا التطفل) ، والتي قد تم معرفتها ، وأيضاً معرفة كثير من المركبات التي تدخل في هذا التفاعل ، ادي إلى الاستمرارية في اكتشاف واستعمال هذه المواد .

مصادر إنتاج مبيدات الآفات الميكروبية :

١- الجنس : Streptomyces sp

لقد ثبت وسيبقى مستمراً ، بأن هذا الجنس أفضل مصدر من الكائنات الحية الدقيقة ، التي تنتج معظم أنواع نواتج التمثيل ذات التأثير الحيوي ، من ضمنها المستعملة في الزراعة بالاضافة إلى الطب البشري . في الواقع هناك حوالي ٦٠٪ من المبيدات الحشرية الجديدة ومبيدات الأعشاب ، قد ذكرت في السنوات القليلة الماضية بأنها ذات أصل من الستربتومايسز وعلى كل حال فإن هذا الجنس أعطى اعداداً كثيرة من هذه المنتجات .

٢- بعض أجناس الاكتينومايستس :

لقد تم اكتشاف الجنس *Kitasatosporia* سنه ١٩٨٦ ، يتبع هذا الجنس لرتبة اكتينومايسيتالز Actinomycetales . ينتج هذا الجنس مركب Setamycin وهو مبيد حشري . يتميز هذا الجنس بأنه يكون ميسيليوم هوائي كثيف ، يدخل في تركيبه (في جدار الخلية) حمض أميني مفرد . جدر خلايا الجراثيم الهوائية والجراثيم المغمورة تحتوي حمض L-diaminopimelic . تنتج افراد هذا الجنس مركب Phosalacine وهو مبيد حشائش ثلاثي الببتايد . وكذلك تنتج مركب Cystargin وهو مضاد فطري ببتيدي . وكذلك تنتج مجموعة مختلفة من المضادات الحيوية . يمكن عزل سلالات هذا الجنس وأنواع أخرى من الاكتينومايستس والبكتيريا من التربة .

٣- الفطريات الخيطية والبازيدية :

لقد اهتم Anke & Steglich سنة ١٩٨٨ ، في دراسته على مزارع الفطريات البازيدية ، للحصول على نواتج التمثيل من المزرعة . استطاع أن يحدد سلاسلات من الفطريات البازيدية تنتج عديداً من عوامل المضادات الفطرية والتى تستعمل فى العمليات الزراعية مثل :

١- مركب Oudemansin الذي ينتج بواسطة سلالة من *Oudemansiella radicata* .

٢- مركب Aleurodiscal الذي ينتج بواسطة سلالة من الفطر *Aleurodiscus mirabilis* .

٣- مركب Strobilurin الذي ينتج بواسطة سلالة من الفطر *Strobilurus Spp.* .

٤- مركب Pilatin المنتج بواسطة سلالة من *Flagelloscypha pilatii* .

كذلك تم اكتشاف عوامل مبيدات اعشاب مثل :

١ – Pereniporin المنتج بواسطة السلالة من الفطر *Perenniporia madullaenpanis* .

٢ – المركب Xerulin و dihydroxerulin المنتجة بواسطة الفطر *Xerule melanotricha* .

هذه المركبات فريدة في تركيبها ونشاطها . تمتلك هذه المركبات ∝-β-unsaturated ɣ -lacton ، وتركيب متحول من poly - ene - yne moieties . لقد وجد أن مركب Xerulin يثبط البناء الحيوي للكولسترول في خلايا Hela . هذا ما أثبته Kuhnt *et al* سنة ١٩٩٠ .

٤- الأشنة الخضراء المزرقة :

درست أنواع عديدة من الأشنات ، لمعرفة مقدرتها على إنتاج مواد مضادة تستعمل في الزراعة . درست الأشنة الحمراء وكذلك الأشنة الخضراء المزرقة بتوسع . وجد أن :

١ – الجنس *Anabaena* sp. ينتج أنواعاً مختلفة من المركبات المضادة للفطريات .

٢ – الأشنة *Lyngya majuscula* تنتج مركب Malyngolide وهذا المركب يتكون من جاما لاكتون مع سلسلة alkyl طويلة .

٥- البكتيريا اللزجة :

لقد وجد أن سلالات البكتيريا اللزجة Myxobacterial تنتج مواد مضادة للفطريات والبكتيريا ، ومركبات Cytocidal، من بينها Phenoxan ، Ambruticin و Pyrrolnitrin . تظهر تضاد فطري كبير ، ضد كثير من الفطريات الممرضة النباتية .

٦- الأشنة الحمراء :

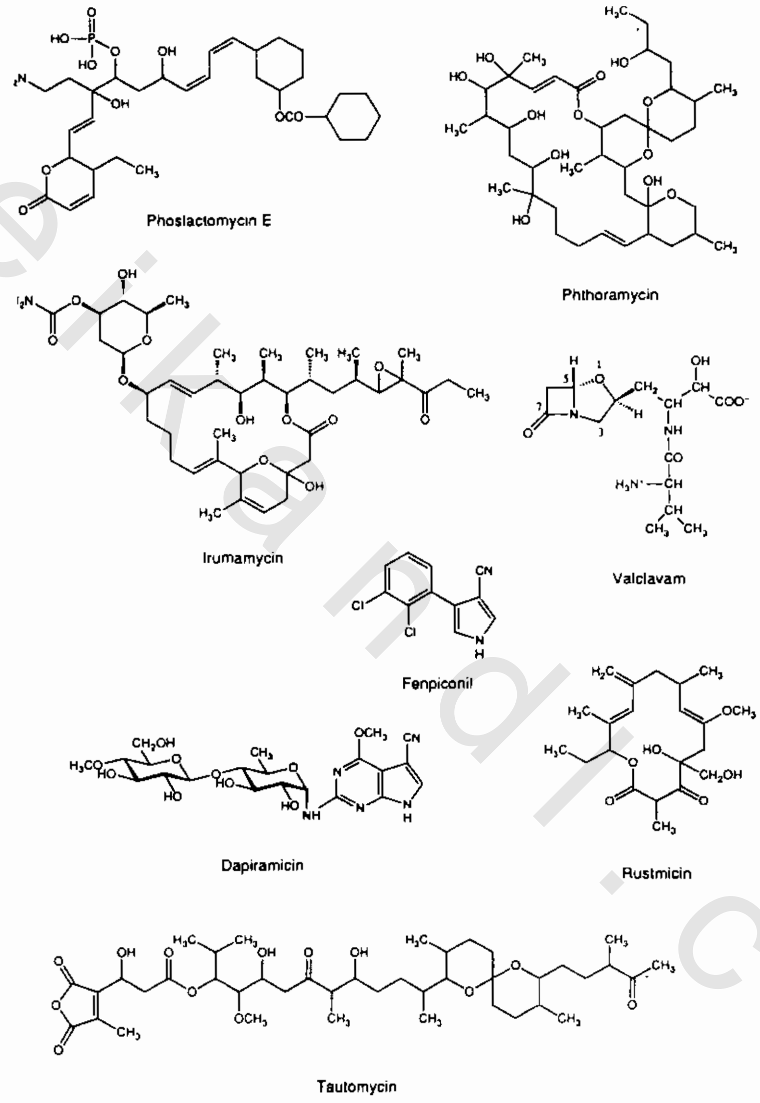
إن المستخلص الميثانولى للأشنة الحمراء *Laurencia nipponica* قد استعمل لفصل عائله من المبيدات الحشرية Z-leurentin ، Z-isoleurentin و deoxyprepaciferol .

هناك منتجات ميكروبية تستعمل كمبيدات حشرية أو مبيدات فطرية أو مبيدات حشائش ، وسوف (إن شاء الله) نتناول في هذا الكتاب المبيدات الحيوية الفطرية والبكتيرية (المضادات الحيوية) . من الأمثلة على هذه المضادات (جدول رقم ١٣٣) وشكل ٢٠ .

جدول رقم ١٣٣ : المنتجات الميكروبية والأمراض الفطرية التي تقاومها

المرض الفطري	المبيد الكيماوي المستعمل لمقاومة المرض	المنتج الميكروبي المستعمل لمقاومة المرض
اللفحة المتأخرة في البطاطس والطماطم البياض الزغبي فطريات طحلبية	Fostyl Dithiocarbamates Bordeaux mixture	Phthoramycin Valclavam Valclavam
البياض الدقيقي ، العفن المر الجرب ، العفن البني فطريات اسكية	Benzimidazoles Triazoles Dicarboximides	Mildiomycin Mildiomycin Mildiomycin
أمراض الأصداء لفحة غمد الأوراق فطريات بازيدية	Triazoles Anilides Dithiocarbamates	Rustmicin Validamycin Dapiramicin
اللفحات المتسببة عن الفطريات الناقصة	Probenazole Tricyclazole Isoprothiolane	Blasticidin S Kasugamycin
الانثراكنوز العفن الرمادي عفن الأوراق تبقع الأوراق أمراض الذبول	Benzimidazoles Dithiocarbamates Bordeaux mixtures	Polyoxins

obeikandl.com



شكل رقم ٢٠ : يبين تركيب بعض المنتجات الميكروبية التي تستعمل في مقاومة بعض أمراض النبات

obeikandi.com

المنتجات الميكروبية كمبيدات فطرية :

كما هو معروف فإن أعداد الأمراض الفطرية التى تهاجم النباتات كثيرة جداً ، ونظراً لضيق المجال التطفلي لكل كائن ممرض ، فإن هذا يؤدي إلى الحاجة إلى كثير من المضادات الفطرية كمبيدات آفات لكل مرض بمفرده . كذلك فإن هناك أنواعاً كثيرة من المبيدات الفطرية متوفرة لمقاومة هذه الأمراض كما هو مذكور في جدول رقم ١٣٣ . وعلي أية حال فإن كفاءة عوامل المقاومة الفطرية تتغير ، بسبب ظهور سلالات من الفطريات مقاومة للمبيدات الفطرية ، وكذلك ضد نواتج التمثيل الميكروبي ، هذا يجعل اعداد هذه المواد المستعملة بكفاءه في المقاومة محدود إلي حد ما .

هناك أعداد كثيرة من منتجات التمثيل الميكروبي ، مضادة للفطريات ، قد عزلت من الكائنات الحية الدقيقة . كثير من هذه المواد قد درس بتوسع لأنه يدخل في المعالجة الطبية البشرية ، وبعضها يدخل في مقاومة أمراض النبات .

مركبات المضادات الفطرية ذات النشاط العملي والملائم:

إن مجموعة عوامل المضادات الفطرية المستعملة في مقاومة الأمراض الفطرية هي :

١- **فسفات إستر و Phoslactomycins** . عزل هذا المركب من *Streptomyces nigrescens* . تركيب هذا المركب يشابه المركب Phosphazomycins حيث أن له مراكز مختلفة على الحلقة الطرفية لمركب سايكلوهكسان .

إن مركب E من هذه المجموعة يظهر كفاءة عالية في المعمل (أقل تركيز مثبط كلياً ٠,٣ – ٣ ميكروغرام لكل مل) ضد الفطريات الآتية :

1- *Botrytis cinerea* 2- *Rhizoctonia solani* 3- *Alternaria kikuchiana*

كذلك فان هذا المركب يقاوم الاصابة الفطرية الناتجة عن الفطر *Botrytis* ، إذا استعمل بتركيز ١٠ جزء في المليون ، حيث أنه لا يحدث سمية للنبات في هذا التركيز (تجارب الصوبا الزجاجية) . بينما المشتقات الآخرى من هذه المجموعة تظهر بعض السمية على نبات القمح .

٢- **مركب Dapiramicin** . ينتج بواسطة أنواع من *Micromonospora* sp . أظهر تأثيراً ضعيفاً ضد الفطريات في المعمل خاصة الفطريات *Rhizoctonia* ، *Pyricularia*

و *Botrytis* ، إلا أن هذا المركب يثبط بكفاءة لفحة الأرز المتسببة عن *R. solani* حيث أن كفاءته تقارب كفاءة المضاد الحيوي Validamycin (يسبب ٩٥٪ وقاية عن استعماله بتركيز ٥٠ جزء في المليون) .

٣- **Irumamycin** . لقد تم اكتشاف هذا المركب سنة ١٩٨٤ وهو ينتج بواسطة سلالة من *Streptomyces flavus* sub sp. *irumaensis* . يظهر هذا المركب كفاءة عالية في المعمل وفي التجارب الحقلية ضد الفطريات *Pyricularia* و *Botrytis* ويتحمل التعرض للضوء لمدة طويلة .

طرق تأثير منتجات التمثيل الميكروبي على الفطريات :

يعتبر جدار الخلية الفطرية من الأهداف الأساسية التي تؤثر عليها هذه المركبات . إن مجموعة Polyoxins والتي هي أكثر المجموعات استعمالاً في الزراعة الحقلية، يقوم دورها الأساسي في المقاومة على تحطيم جدار خلية الفطر أو احداث خلل في بناء هذا الجدار . إن ظهور سلالات فطرية مقاومة لهذا المركب قد سبب في تحديد استعماله . وجد في مركبات أخرى أنها تثبط البناء الحيوي لمادة glycan في جدار الخلية أو تحدث إنتفاخات في جدار الخلايا الفطرية ، مما يسبب تشوهاً في الشكل الخارجي لهيفات الفطريات الممرضة النباتية المعملة بهذه المادة . وبالتالي لا تستمر هذه الهيفات في النمو والتكاثر مما يؤدي إلي موت الفطر .

أما مركب Asperfuran ، فقد ثبت بأنه يثبط بناء الشيتين في الفطريات التي يتعامل معها ، مما يؤثر على جدار الخلية الفطرية من حيث تشرب الماء والمواد الغذائية الأخرى .

أما المركب Valclavam. فقد أظهر فعالية عالية ضد الفطريات البيضية خاصة *Pythium* . تبين أن هذا المضاد يؤثر على بناء RNA ، خاصة في فطريات الخميرة *S. cerevsiae* ، إلا أنه يكون مضاد للمثيونين في كل من *E. coli* و *B. subtilis* .

أما كل من Neorustmicin و Rustmicin فقد تم عزلهما من *Micromonospore chalcea* ومركب Galbonolides فقد تم عزله من *Streptomyces galbus* وهو مشابه تماماً في فعله للمركب Rustmicins .

لقد ثبت بان هذه المجموعة من المركبات تثبط بكفاءة تكاثر فطر الصدأ (صدأ الساق في القمح) في الصويا الزجاجية ، ويعتبر هذا المركب أول مركب يظهر تأثيره على فطريات الاصداء في المعمل وفي الحقل .

يمكن تلخيص ذلك بالقول ، بأن منتجات التمثيل الميكروبي تؤثر علي الفطريات بواحدة من الطرق الآتية :

١- التأثير على جدار الخلية .

٢- التأثير على بناء الشيتين في الفطر .

٣- التأثير على بناء RNA في الخلية .

٤- تؤثر على بعض العمليات الفسيولوجية في الخلية ، مثل التمثيل الغذائي والتنفس .

obeikandl.com

ثانياً: تعريف واكتشاف المضادات الحيوية

تعريف المضادات الحيوية :

تعرف المضادات الحيوية بأنها مركبات كيماوية منتجة بواسطة كائنات حية دقيقة ، لها تأثيرات سامة إختيارية ضد كائنات حية دقيقة أخرى . في المجال التطبيقي العملي ، فإن المضادات الحيوية يقتصر اطلاقها على المواد الكيماوية المنتجة بواسطة الكائنات الحية الدقيقة والتي تمنع نمو وتكشف البكتيريا والفطريات . هناك مئات من المضادات الحيوية قد تم تعريفها وتحديد هويتها . نصف هذه المضادات تقريباً ، ينتج بواسطة الفطريات . يبدو واضحاً أن مثل هذه المواد المنتجة طبيعياً تلعب دوراً هاماً في المقاومة الحيوية لأمراض النبات الكامنة في التربة .

وعلى آية حال ، فان معظم المضادات الحيوية ذات تركيب معقد ، وهي بشكل عام غير ثابته وبالتالي فان استعمالها كمبيدات آفات محدود إلي حد ما . نظراً لأن معظم المضادات الحيوية قد اكتشفت لاستعمالها في معالجة الانسان ، فإن القليل منها يستعمل في مقاومة الأمراض النباتية .

معظم الأبحاث التي أجريت على المضادات الحيوية لاكتشافها وتطويرها واستعمالها في الزراعة كمبيدات فطرية ، كانت تجرى في اليابان أكثر من أي بلد آخر في العالم . معظم هذه المركبات قد وجهت ضد أمراض النبات التي هي هامة إقتصادياً بالنسبة لليابانيين . مثال ذلك مرض لفحة الأرز ، لفحة غمد ورقة الأرز . لقد تبين أن مثل هذه المضادات الحيوية المستعملة في اليابان ، يمكن أن تكون غير ذات فائدة في أقطار أخرى ، حيث أن زراعة الأرز فيها غير هامة كثيراً . من الغريب أن نلاحظ أن المضاد الحيوي Mildiomycin والذي هو فعال جداً في مقاومة مرض البياض الدقيقي في كثير من أشجار الفاكهة والخضراوات ، يكون مركب غير مهم فى اليابان . وبالتأكيد فان التقدم السريع في التكنولوجيا الحديثة وتأثيرات الهندسة الوراثية والتلاعب في الجينات ، سوف تسهل الحصول على الانتاج الكبير من المضادات الحيوية ، ويمكن أن يزيد معدل استعمالها وذلك لإنخفاض سعرها مستقبلاً .

إن الدراسة الدقيقة للمضادات الحيوية ، يجعل من السهل تخطي الصعوبات التي تعترض إنتاجها واستعمالها في مقاومة امراض النبات (مثل مقاومة الكائن الممرض ، ارتفاع السعر ، صعوبة الحصول على كميات كبيرة من المضاد الحيوي) . مثلاً المضاد الحيوي A25822-B والذي تم عزله من سلالة من الفطر *Geotrichum flavobrunneum*

السلالـــة MRRL 3862 (اجريت عليه دراسة كبيرة جداً) يكون فعال ضد أنواع من *Candida* و *Trichophyton* وضد الفطريات الممرضـــة النباتية ، مثل *Fusarium* , *Botrytis* وأنواع من *Verticillum* . ومن المعروف أيضاً بان هذا المضاد يثبط البناء الحيوي لـ Ergosterol والذي هو مركب ضروري في بناء أغشية خلايا كثير من الفطريات .

اكتشاف المضادات الحيوية :

كان أول وصف للجنس البكتيري *Micromonospora* سنة ١٩٢٣ بواسطة العالم Orskov . كذلك تم وصف أربعة أنواع لهذا الجنس بواسطة Jensen سنة ١٩٣٢ . ولقد ذكر هذا العالم أن هناك سبعة أنواع من البيئات الغذائية مناسبة لعزل هذا الجنس . في سنة ١٩٣٩ عزل العالم Kriss ثمانية سلالات من هذا الجنس على بيئات صناعية . في سنة ١٩٤٢ ذكر Welsch اكتشاف أول مضاد حيوي منتج من الجنس *Micromonospora* . وفي نفس السنة استطاع Waksman أن يزرع أنواعاً من هذا الجنس على بيئة غذائية تتكون من نشا – تربتون – اجار . عزل هذا العالم سلالة ذكر بأنها تنتج مضاد حيوي سمي هذا المضاد الحيوي Micromonosporin وذلك سنة ١٩٤٧ . في هذه الدراسة وجد أن الكائن الحي ينمو جيداً علي بيئة جلوكوز – نشا – آجار . ذكر Waksman *et al* سنة ١٩٥١ امكانية إنتاج اكتينومايسين من أنواع من الجنس المذكور النامي علي بيئة غذائية صناعية . أما في سنة ١٩٥٢ ذكر Taira & Fujii اكتشاف مضادات حيوية تسمي Microcin A و Microcin B ، منتجة بواسطة نفس الجنس عندما ينمو علي بيئة نشا – ببتون . اكتشاف Charles & Pfizer سنـــة ١٩٥٧ مضادات حيويـــة ستيرويدية وذلك عنـــد تنمية البكتيريا *M. chalcea* في بيئة محتوية N-Z-Amine ، ودكستروز ومستخلص الخميرة .

تمت جميع هذه الدراسات قبل اكتشاف المضاد الحيوي Gentamicin سنة ١٩٦٣ بواسطة Weinstein *et al* ومضادات حيوية أخرى من نفس الجنس . هذا يدل على أن هذا الجنس من الكائنات الحية الدقيقة سهل التداول من حيث الزراعة والنمو .

لقد اكتشف التأثير المضاد للبكتيريا باستعمال البنسلين بواسطة العالم Alexander Fleming سنة ١٩٢٩ . حيث ذكر أن مستعمرات فطرية قد نمت كملوثات على أطباق بترى ، مزروعة بالبكتيريا *Staphylococeus aureus* ، وأن المستعمرات البكتيرية حول هذا الفطر كانت شفافة بسبب تحلل خلاياها . سميت المادة المستخلصة من هذا الفطر بنسلين

وذلك لان الفطر الملوث للمزارع كان اسمه *Penicillium notatum* . ولقد وجد هذا العالم أن البنسلين فعال ضد كثير من البكتيريا موجبة الصبغة لغرام تحت الظروف المعملية ، ثم استعمله في مقاومة أمراض العيون . لم يستطع العالم فلمنج أن يقوم بتنقية هذا المركب حتى فترة الحرب العالمية الثانية ، حيث استطاع العلماء البريطانيون والصينيون العاملون في أمريكا ، تنقية هذا المضاد الحيوي ومعرفة تركيبه وإنتاجه صناعياً واستعماله عالمياً ، ولقد حصل هؤلاء العلماء على جائزة نوبل لهذا العمل .

إن النجاح الذي حدث في الحصول على البنسلين النقي ، قد شجع العلماء على دراسة الكائنات الحية الدقيقة الكامنة في التربة . في سنة ١٩٤٣ تم اكتشاف Streptomycin من الاكتينومايستس *Streptomyces griseus* . إن الاكتينومايستس عبارة عن بكتيريا تنتج تفرعات خيطية تشبه إلى حد ما الهيفات الفطرية ، لكنها لا تزيد عن واحد ميكروميتر ، في الفطر ، كذلك فإنها تنتج اعداد هائلة من الجراثيم المسحوقية الجافة من هيفاتها الهوائية .

كانت المضادات الحيوية المكتشفة تنتج من قبل الأربعة مجموعات الآتية :

أ - الجنس البكتيرى Bacillus ينتج كل من :

١- Bacitracin ٢- Polymyxins ٣- Colymycin ٤- Gramicidin

ب - الجنس البكتيرى Streptomyces: ينتج كل من

١- Streptomycin ٢- Tetracyclines ٣- Chloromycetin

٤- Neomycin ٥- Erythromycin ٦- Kanamycin

٧- Lincomycin

جـ - الجنس البكتيرى Micromonospora: ينتج كل من

١- Gentamicin ٢- Everninomicin ٣- Sisomicin

٤- Rosaramicin ٥- Verdamicin ٦- Megalomicin

٧- Microcin ٨- Micromonosporin

د - الجنس الفطري Penicillium: ينتج كل من

١- Penicillin ٢- Griseofulvin ٣- Fumagillin

بغض النظر عن المضادات الحيوية ، هناك أنواعاً مختلفة من المواد الكيماوية ، تستعمل حالياً في مقاومة إنتشار الكائنات الممرضة النباتية ، على أهم المحاصيل الزراعية الاقتصادية في العالم . ساعد استعمال هذه المواد في تحسين نوعية المنتجات النباتية المستعملة في الغذاء . معظم هذه المواد الكيماوية مركبات مصنعة تحضر بالاعتماد على نظريات الكيمياء العضوية ، ولكن قليل منها منتجات طبيعية ذات أصل ميكروبي . المنتجات الطبيعية ذات التأثير المضاد الفطري أو البكتيري ، أيضاً ، تنشأ من النباتات ، إما على شكل منتجات تمثيل ثانوية أو منتجات مستحثة من قبل الكائن الممرض (فايتو الكسنز) . إن هذه الفايتوالكسنز التي إختبرت على الكائنات الممرضة النباتية ، ليست ذات كفاءة تشبه كفاءة الكيماويات المصنعة حديثاً ، ومن غير المحتمل أن تستعمل كما في حالة المبيدات الفطرية التقليدية .

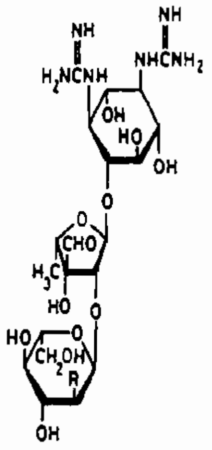
إبتداء استعمال المضادات الحيوية في مقاومة أمراض النبات :

كثيراً من المضادات الحيوية المكتشفة مبكراً والتي اكتشفت لأغراض طبية ، إختبرت لمعرفة كفاءتها ضد الكائنات الممرضة النباتية . من هذه المضادات مايلي :

١- Streptomycin

هذا المضاد الحيوي ، طبي ، ينتج بواسطة *Streptomyces griseus* . كان أول مضاد حيوي يستعمل ضد الأمراض النباتية . هذا المضاد الحيوي واحداً من مجموعة المركبات المعروفة باسم المضادات الحيوية التي تسمى Aminoglycoside . هذه المركبات تمتلك جزيئات كربوهيدراتية والتي تحوي واحدة أو أكثر من روابط جلايكوسايد وعديداً من مجموعات الـ hydrophilic ، محتوية مجموعة أمينو و/أو Guanidino . استعمل المضاد الحيوي ستربتومايسين في مقاومة مرض اللفحة النارية في التفاح والكمثرى عن طريق رشه على المجموع الخضري بتركيز ٢٠٠ جزء في المليون في الولايات المتحدة منذ سنة ١٩٥٤ . أما في اليابان فقد استعمل لمقاومة مرض اللفحة النارية في الدخان بتركيز ٢٠٠ جزء في المليون، وضد لفحة الأوراق البكتيرية في نباتات الارز بمعدل (٢٠٠ – ٥٠٠) جزء في المليون .

كذلك يستعمل الستربتومايسين ، معاملة بذور أو معاملة بادرات لكل من الكرفس والفلفل ، البطاطس ، الطماطم وكذلك الدخان ، في الصوبات الزجاجية و/أو في الحقل ، إذا استعمل بتركيز عال فإنه يسبب سمية للنباتات . لا يستعمل هذا المضاد حقناً وإنما يستعمل على السطح فقط (شكل ٢١) .



(1) R = NHMe

(شكل رقم ٢١) Streptomycin

يستعمل المضاد الحيوي ستربتومايسين في مقاومة البكتيريا الممرضة للنبات ، سواء كانت سالبة أو موجبة لصبغة غرام . عندما يستعمل هذا المضاد رشاً ، فإنه يظهر فعالية عالية ضد مجال واسع من الكائنات الممرضة النباتية منها :

١- مرض تقرح الحمضيات الذي يتسبب عن البكتيريا *Xanthomonas citri*

٢- مرض لفحة الجوز الذي يتسبب عن البكتيريا *Xanthomonas juglandis*

٣- مرض تبقع الأوراق في الطماطم والفلفل الذي يتسبب عن *Xanthomonas vesicatoria*

٤- مرض اللفحة الهالية في الفاصوليا الفرنسية الذي يتسبب عن *Pseudomonas phasioloculus*

٥- مرض اللفحة النارية في التفاح والكمثري الذي يتسبب عن *Erwinia amylovora*

لقد حصل Goodman سنة ١٩٥٣ على مقاومة بنسبة ١٠٠ ٪ لمرض اللفحة النارية عن طريق الرش بالمضاد الحيوي ستربتومايسين ، وحده أو مقترناً مع اوكسي تتراسيكلين بتركيز ١٠٠ – ٥٠٠ جزء في المليون .

٦- كذلك يستعمل هذا المضاد الحيوي لمقاومة عديد من أمراض الاعفان البكتيرية في البطاطس . وذلك عن طريق غمر قطع تقاوي البطاطس في محلول المضاد الحيوي .

٧- يستعمل لتطهير بذور كثير من النباتات من مسببات الأمراض البكتيرية التى تكون عالقة بها مثل بذور الفاصوليا ، القطن ، الصليبيات والكرفس .

٨- وجد أن هذا المضاد الحيوي يمكن أن يقاوم بعض الأمراض الفطرية ، خاصة المتسببة عن مجموعة الفطريات Phycomycetes .

٩- يمكن أن يستعمل هذا المضاد الحيوي لمقاومة مرض عفن القدم وعفن الورقة في نبات *Piper betle* المتسبب عن الفطر *Phytophthora parasitica var. piperina* . ولقد ذكر العالم Vyas سنة ١٩٧٦ أنه يمكن مقاومة هذا المرض وذلك عن طريق غمر العقل في محلول سلفات الستريتومايسين .

١٠- يمكن استعمال هذا المضاد الحيوي في مقاومة الاصابة المبكرة لمرض البياض الزغبى في حشيشة الدينار المتسبب عن الفطر *Pseudoperonospora humuli* . ولقد أثبتت التجارب إنتقال هـذا المضاد الحيوي فـي نبات حشيشة الدينار لأول مرة من قبل العالم Maier سنة ١٩٦٠ .

١١- كذلك وجد بان هذا المضاد الحيوي فعال إلى حد ما في مقاومة اللفحة المتأخرة في الطماطم والبطاطس حتى عند استعماله بتركيز منخفض يصل إلى ٤ ميكروغرام / مل من المحلول المغذي ، يكون كافياً لوقف الفطر *Phytophthora infestans* كلية على نباتات الطماطم .

١٢- لقد ثبت في تجارب الصوبات الزجاجية وفي الحقول الزراعية ، بأن هذا المضاد الحيوي يقاوم البكتيريا *Erwinia atroseptica* في درنات البطاطس بعد غمرها في محلول المضاد الحيوي .

١٣- وجد أن الخليط من الستربتومايسين وسلفات 8-hydroxyquinoline ، يقاوم بنجاح مرض القدم الأسود في نبات الجيرانيوم .

٢- مركبات Tetracyclines

إن مركبات التتراسيكلين ، عبارة عن مجموعة من المضادات الحيوية ، تنتج بواسطة

obeikandl.com

عدد من أنواع الـ *Streptomyces* . من هذه المركبات التي قد تم استعمالها في مقاومة أمراض النبات :

١- تترامايسين (اوكسي تتراسيكلين) .

٢- إيورومايسين (كلورو تتراسيكلين)

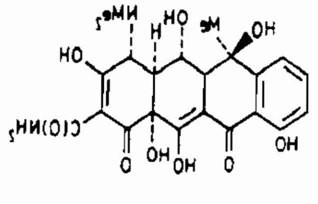
٣- اكتينومايسين (تتراسيكلين) .

لقد استعمل مركب اوكسي تتراكسيلين بطريقة غمر التربة ، أو غمر الجذور لمقاومة مرض التدرن التاجي . ولقد تم استعماله كذلك في مقاومة مرض اللفحة النارية في التفاح والكمثرى بطريقة تبادلية مع الستربتومايسين .

لقد وجد حديثاً أن مركب التتراسيكلين فعال ضد أمراض النبات المتسببة عن ميكوبلازما . إن حقن محلول مركز من التتراسيكلين أو اوكسي تتراسيكلين في جذوع الاشجار يعطيها امكانية مقاومة أو الشفاء من مرض تدهور الخوخ أو اصفرار نخيل جوز الهند ومرض إخضرار الحمضيات .

٣- مركبات Oxytetracycline

يسمي هذا المركب Terramycin . يمكن عزله من *Streptomyces rimosus* . عند خلط هذا المركب مع الستربتومايسين ، يمكن استعماله ضد التقرحات البكتيرية في أشجار الخوخ والحمضيات ، والاعفان الطرية في الخضراوات وأمراض بكيترية أخرى . يستعمل هذا المركب بدل الستربتومايسين عندما تتكشف سلالات مقاومة له . وهو المضاد الحيوي الوحيد الذي يستعمل حقناً في النبات ، حيث يحقن في سيقان النخيل والدردار ، وذلك لمقاتومة البلازما المرضة. كذلك يستعمل حقناً في النباتات ذات القيمة الاقتصادية العالية .

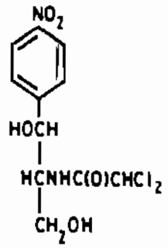


Oxytetracycline

(شكل رقم ٢٢)

٤- المضاد الحيوي Chloramphenicol

لقد تم عزل هذا المضاد الحيوي من مزرعة البكيتريا الكامنة في التربة *Streptomyces venezuelae* وقد تم استعماله لمقاومة لفحة الأوراق البكتيرية في الأرز في اليابان منذ سنة ١٩٦٤ . ينتج هذا المضاد الحيوي صناعياً عن طريق البناء الكيماوي . يكون الناتج عبارة عن مخلوط D , L ويستعمل في أغراض وقاية النبات .

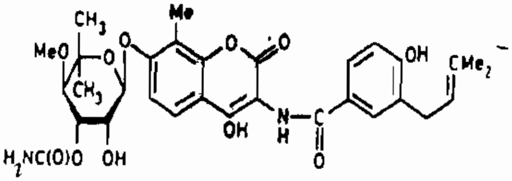


Chloramphenicol

(شكل رقم٢٣)

٥- المضاد الحيوي Novobiocin

يسمي هذا المركب Cathomycin ، ينتج بواسطة كل من *Streptomyces spheroides* و *S. niveus* . أمكن إنتاجه صناعياً سنة ١٩٦٤ وتم وضع تركيب معدل له سنة ١٩٧٦. لقد تم استعماله منذ سنة ١٩٦٨ لتخفيف حدوث التقرحات البكتيرية على الطماطم ، وذلك عن طريق غمر بادرات الطماطم في محلول مائى يحتوي ١٠٠ جزء في المليون من المضاد الحيوي .



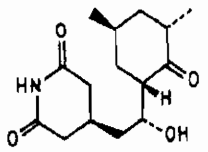
Novobiocin

(شكل رقم ٢٤)

٦- المضاد الحيوي Cycloheximide

يستعمل هذا المضاد الحيوي طبياً في العلاج البشري ، ضد الفطريات ، فهو يسمى أيضاً Actidione . لقد اكتشف بالصدفة أثناء إنتاج الستربتومايسين في البيئة الغذائية للفطر *S. griseus* . يتركب جزيء هذا المضاد من أربعة مراكز asymmetry على ذرة الكربون الثانية والرابعة والسادسة والثانية مكرر . وجد أن هناك مركبات قليلة stereoisomers لها علاقة مع بعضها البعض . كذلك وجد بأنها تنتج بواسطة أنواع *Streptomyces* تسمى أيزوسايكلوهكسامايد ، منها Naramycin B ومركب سايكوهكسامايد diastereoisomer .

تعمل مركبات سايكلوهكسامايد على تثبيط نمو كائنات ممرضة نباتية مختلفة (الكائنات الحية الدقيقة) ، على مستوى منخفض جداً من الجرعة ، ولكن استعمالها التجاري كمبيدات فطرية ، محدود، بسبب سميتها العالية للنبات . إن رش المجموع الخضري بالمحلول المحتوي ٢ جزء في المليون من المضاد الحيوي ، قد استعمل لمقاومة مرض البياض الزغبي على البصل في اليابان منذ سنة ١٩٥٩ ، وهو يستعمل أيضاً كمبيد فطري في الغابات حيث يكون فعال ضد لفحة الاغصان في أشجار لاركس في اليابان . يستعمل هذا المضاد الحيوي أيضاً في مقاومة أمراض البياض الدقيقي في كثير من المحاصيل . كذلك فإن الـ stereoi-somers والمشتقات التابعة له مثل Inactone من السايكلوهكسامايد أظهرت تأثيراً بسيطاً كمبيدات فطرية أقل من المركبات الأصلية يبين شكل ٢٥ التركيب الكيماوي للمركب .



Cycloheximide

(شكل رقم ٢٥)

الاسم الشائع لهذا المركب ، هو الاسم التجاري لشركة Upjohn Co. . يحصل عليه من مصانع المضاد الحيوي الستربتومايسين . يباع تحت اسم Actidione PM أو Actidione RZ ويباع أيضاً تحت اسم Actispray .

obeikandl.com

هذا المضاد الحيوي من مجموعة المضادات الحيوية Glutarimide . ينتج بواسطة أنواعاً مختلفة من *Streptomyces* من ضمنها *S. griseus* و *S. nouresi* .

لقد ذكر العالم Kerridge سنة ١٩٥٩ أن لهذا المضاد الحيوي فعالية كبيرة في تثبيط بناء البروتينات في فطر الخميرة *Saccharomyces carlsbergensis* . وكذلك ثبت بأن لهذا المركب تأثير مثبط لكثير من الفطريات والخمائر ، ولكنه غير قوي التأثير على البكتيريا . التركيب الكيماوي لهذا المركب هو : β- [2- (3,5 dimethyl - 2-oxcylohexyl - 2- hydroxyethyl glutarimide .

لقد ثبت بأن لهذا المضاد الحيوي تأثير في مقاومة الأمراض الآتية :

١- مقاومة مرض تبقع أوراق الكرز المتسبب عن *Coccomyces hiemalis* بتركيز ٢ جزء في المليون .

٢- مقاومة مرض البياض الزغبي في نبات اليوكه المتسبب عن الفطر *Erysiphe polygoni* .

٣- مقاومة مرض التفحم المغطى في الشوفان المتسبب عن الفطر *Ustilago hordei* .

٤- مقاومة مرض التفحم في القمح المتسبب عن الفطر *Tilletia sp.* .

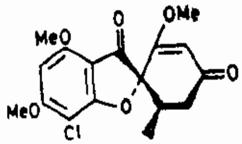
٥- مقاومة مرض العفن البني في الخوخ المتسبب عن الفطر *Sclerotinia fructicola* .

٦- مقاومة اعفان ما بعد الجمع المتسببة عن الفطر *Rhizopus* .

٧- مقاومة أعفان التخزين والنقل المتسببة عن الفطر *Botrytis* .

٧- المضاد الحيوي Griseofulvin

يستعمل هذا المضاد الحيوي أساساً ضد الفطريات . لقد تم عزله من مزرعة الفطر *Penicillium griseofulvum* سنة ١٩٣٩ ، واحتل مركزاً مرموقاً في مقاومة أمراض الانسان والحيوان ، ولكن لم يستعمل الا بشكل أولي في مقاومة امراض النبات . تم تحديد تركيب هذا المضاد سنة ١٩٥١ . ادخل هذا المضاد الحيوي في وقاية النبات لمقاومة مرض اللفحة المبكرة في الطماطم ، وضد عفن بوترايتس على الخس ، واستعمل في اليابان ضد لفحة البراعم والازهار في التفاح وضد تقرح البطيخ . هناك أكثر من ٣٠٠ نوع مشابه لهذا المركب ، قد تم تحضيرها واختبارها ، ولكن لم يستعمل أي منها تجارياً .



Griseofulvin

(شكل رقم ٢٦)

ينتج هذا المضاد بواسطة كل من :

1- *Penicillium griseofulvum* . 2- *P. patulum* .

3- *P. digricans* . 4- *P. jancyewski*

هذا المركب سام لعديد من الفطريات الممرضة للنبات ، مثل :

١ – فطريات البياض الدقيقي في كثير من النباتات .

٢ – الفطر *Botrytis fabae* .

٣ – الفطريات ذات الجدر الخلوية الشيتينة .

٤ – بعض فطريات الاصداء .

٥ – فطر *Alternaria solani* .

٦ – لقد تم استعمال هذا المضاد الحيوي بنجاح في مقاومة اللفحة في الزنبق المتسببة عن الفطر *Botrytis tulipae* .

ينجح هذا المضاد الحيوي في مقاومة الأمراض عند استعماله على الجذور . وجد أنه يقاوم بعض فطريات البياض الدقيقي وامراض بوترايتس وصدأ الفاصوليا المتسبب عن *Uromyces appendiculatus* . إن المقاومة الجهازية لعديد من فطريات البياض الدقيقي والتي تكون مقاومة إلى حد ما للمبيدات الفطرية ، فانه يمكن أن تتم هذه المقاومة باستعمال هذا المضاد الحيوي ، إلا أن هذا لا يكون بفعالية المبيدات الكيماوية . يمكن تفسير فعل هذا المضاد الحيوي ، بأنه يتدخل في البناء الحيوي لعناصر الشيتين الداخلة في تركيب جدر الخلايا الفطرية ، والذي يؤكد ذلك ، هو عدم سميته للحيوانات والنباتات الراقية . أثبتت الدراسات المستفيضة على هذا المضاد الحيوي ، بأنه لا يثبط بناء البروتين ، الشيتين والدهون

. كذلك فانه لا يغير معدلات التنفس، الجلايكولسز أو بناء جدر الخلية في الخلايا الفطرية. ولقد وجد ان استعمال هذا المضاد الحيوي بنسبة ٠,١ ٪ يكون فعالاً إذا استعمل رشاً لمقاومة مرض عفن التفاح المتسبب عن الفطر *Sclerotinia fructigena* . إن أمراض المونيليا على التفاح المتسببة عـن *S. mali* قد تم مقاومتها بنجاح فـي اليابان باستعمال هذا المضاد الحيوي .

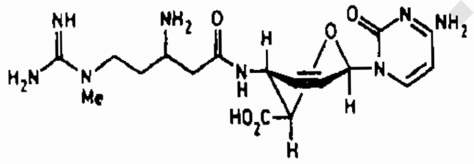
obeikandl.com

تطور استعمال المضادات الحيوية لمقاومة أمراض النبات

مع تقدم الابحاث ، اكتشفت مضادات حيوية جديدة واستعملت في مقاومة امراض النبات منها :

١- المضاد الحيوي Blasticidin S

عزل هذا المضاد الحيوي من راشح مزرعة *Streptomyces griseochromogenes* . كان أول مضاد حيوي ناجح يستعمل في الزراعة في اليابان حيث تم اكتشافه هناك . يدخل في تركيبه نيوكليوسايد، سايتوزنين ، حمض أمينيي وبلاستدك أسد. تركيبه الكيماوي معقد. أعطى هذا المركب كفاءة عالية ضد مرض لفحة الارز المتسبب عن الفطر *Pyricularia oryzae* وادخل فعلياً في مقاومة هذا المرض منذ سنة ١٩٦١ . يستعمل رشاً في الحقل لمقاومة لفحة الارز . التركيز الفعال لهذا المركب ، عادة ١٠- ٢٠ جزء في المليون . هناك ثلاثة مركبات من مجموعة هذا المركب تسمي Blasticidins A ، B و C قد تم عزلها أيضاً من مزرعة نفس الفطر السابق ، ولكنها أقل كفاءة في مقاومة المرض . إن مركب N-desmethyl blasticidins له كفاءة مساوية للمركب Blasticidins ولكن لم يتم تطويره واستعماله . أما النوع H والذي يوجد فيه رابطة مزدوجة بين الذرة الثانية والثالثة من الكربون هو أقل كفاءة حيوية . هذا المضاد الحيوي فعال ضد البكتيريا والفطريات إلا أن تأثيره على الفطريات إختيارياً .



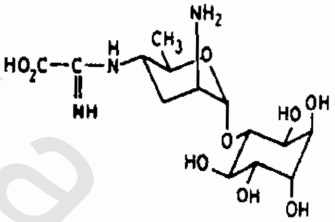
Blasticidin S

(شكل رقم ٢)

obeikandl.com

٢- المضاد الحيوى Kasugamycin

هذا المضاد الحيوي قابل للذوبان في الماء ، ينتج من مزرعة *streptomyces kasugaensis* احتل مكان المضاد الحيوي السابق ، بسرعة كمضاد حيوي زراعي لمقاومة مرض لفحة الأرز ، بسبب الفرق الكبير في مقدرته العلاجية والجرعة المسببة للسمية . لقد تم اكتشاف التركيب الكيماوي لهذا المركب سنة ١٩٦٦ . يقاوم هذا المركب مرض لفحة الارز بتركيز حوالي ٢٠ جزء في المليون وليس له أي سمية علي المحاصيل وسميته منخفضة جداً على الثدييات .

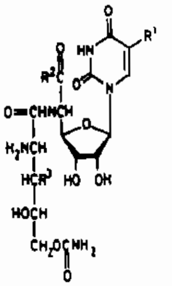


Kasugamycin

(شكل رقم ٢٨)

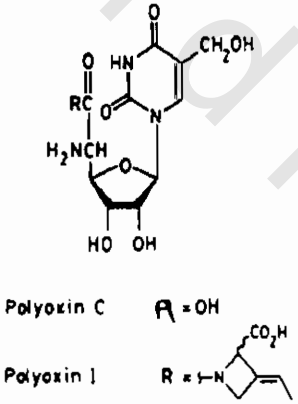
٣- مجموعة Polyoxins

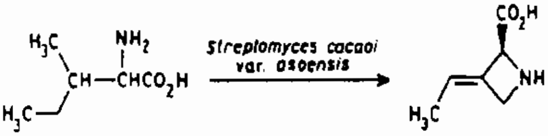
هذه المجموعة مشابهة تماماً لمجموعة Pyrimidine nucleoside peptide antibiotics . عزلت هذه المجموعة من مزارع *S. cacaoi var. asoensis* . بعض أفراد هذه المجموعة تشبه Peptidic nucleosides . تقسم أفراد هذه المجموعة إلى أفراد من A حتي M . جميع أفراد هـذه المجموعة باستثناء I , C تظهر نشاط إختياري ضد الفطريات الممرضة للنبات . المجموعة D هـي أكثر المجموعات فعالية في مقاومة مرض لفحة غمد الأرز المتسبب عن *Pellicularia sasakii* . في حين أن المجموعة L و B فعالة ضد فطر البقعة السوداء في البسلة ، وفطر البقعة الفلينية في التفاح بتركيز ٥٠ – ١٠٠ جزء في المليون . وهو يستعمل بشكل واسع في اليابان لمقاومة هذه الأمراض منذ سنة ١٩٦٧ .



	R¹	R²	R³
Polyoxin A(20a)	CH_2OH	z	OH
Polyoxin B(20b)	CH_2OH	HO	OH
Polyoxin D(20c)	CO_2H	HO	OH
Polyoxin E(20d)	CO_2H	HO	H
Polyoxin F(20e)	CO_2H	z	OH
Polyoxin G(20f)	CH_2OH	HO	H
Polyoxin H(20g)	Me	z	OH
Polyoxin J(20h)	Me	HO	OH
Polyoxin K(20i)	H	z	OH
Polyoxin L(20j)	H	HO	OH
Polyoxin M(20k)	H	HO	H

(شكل ٢٩) مجموعات Polyoxins



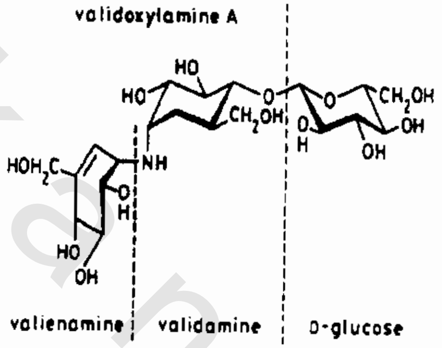


(شكل ٣٠) مجموعتين من Polyoxins هما C ، I

obeikandl.com

٤- المضاد الحيوى Validamycin A

يحتوي تركيب جزيء هذا المضاد الحيوي على نوعين من الهيدروكسي ميثايل الدائرية المتفرعة . يتكون هذا المركب من عدة مجموعات A, C, D, E, F . إن المركب Validamycin A هو المكون الرئيسي لمعقد الـ Validamycin ، وهو فعال بشكل خاص ضد بعض امراض النبات المتسببة عن أنواع من الرايزوكتونيا ، بالاضافة إلى لفحة غمد أوراق الارز . إن رشة واحدة من المحلول المحتوي ٣٠ جزء في المليون من Validamycin A يعطي مقاومة جيدة لمرض لفحة الغمد في الارز ويستعمل تجارياً لهذا الغرض منذ سنة ١٩٧٣ .

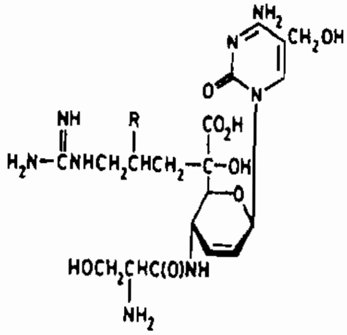


Validoxylamine A

(شكل رقم ٣١)

٥- المضاد الحيوى Mildiomycin

يعزل هـــذا المضاد الحيوي من مزرعة *Streptoverticillium rimafaciens* السلالة B-98891 . هذا المضاد الحيوي ذو فعالية جيدة في مقاومة مرض البياض الدقيقي على نباتات مختلفة . وهو ذو سمية منخفضة على الثدييات . تركيب هذا المضاد الحيوي يشبه تماماً تـــركيب المضاد الحيوي Blasticidis S والذي يحوي أيضاً حلقة ســكر فيها 2,5-dihydropyran . هـــذا المركب فعال ضـد مجال واسع من أمراض البياض الدقيقي ، على عوائل كثيرة تزيد عن خمسة عشر نوعاً نباتياً . وقد سجل للاستعمال التجاري فـــي اليابان سنة ١٩٨٢ . المركـــــب Mildiomycin D تنقـصه مجموعـة 8-hydroxyl مـــن الـ mildiomycin . أقـل كفاءة فـــي مقاومـــة الأمـــراض مـــن Mildiomycin .



R = OH

Mildiomycin

(شكل رقم ٣٢)

٦- المضاد الحيوى Cellocidin

ينتج هذا المضاد الحيوي من مستخلص مزرعة *Streptomyces chibaensis* وهو مركب من acetylenedicarboxamide يحتوي أربعة ذرات كربون فقط ، ومن السهل تصنيعه من حمض الفيومارك . لهذا المضاد الحيوي قوة ممتازة في مقاومة لفحة الأوراق البكتيرية في الارز ، عندما يرش على نباتات الارز بتركيز ١٠٠ - ٢٠٠ جزء في المليون ، وهو يستعمل عملياً في مقاومة هذا المرض منذ سنة ١٩٦٤ . ظهر له تأثير سام على النبات مما أدى إلى قلة استعماله .

$$H_2N-\overset{\overset{O}{\|}}{C}-C\equiv C-\overset{\overset{O}{\|}}{C}-NH_2$$

Cellocidin

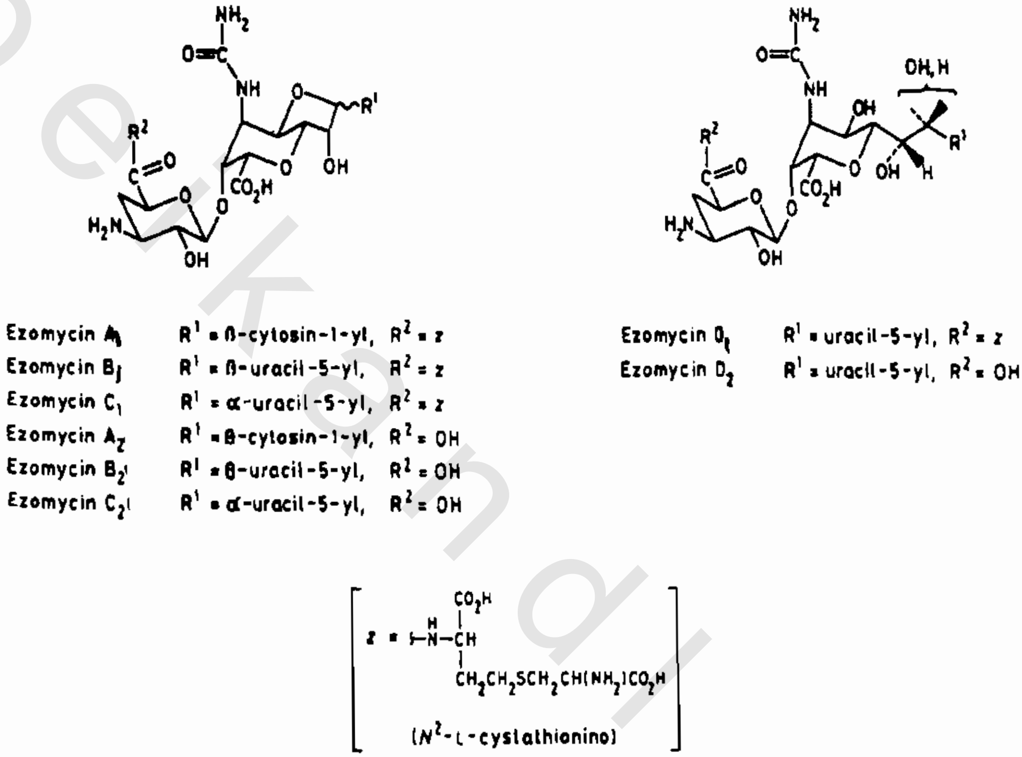
(شكل رقم ٣٣)

٧- Ezomycins

مجموعة من المضادات الحيوية ضد الفطريات تتبع مجموعة Polyene ، قد عزلت من مزرعة سلالة تابعة للجنس *Streptomycesendus* وهي مشابهة تماماً لـ *S. kitazawaensis* . هذه المجموعة تتكون من A, B, C, D . المجموعة A

obeikandl.com

ســجلت كمضاد حيوي ضد أمراض النبات منذ سنة ١٩٧٠ ، وذلك لمقاومة أمراض عفن الساق فـــي الفاصوليا ، إلا أن هذا المرض لا يكون مهم أحياناً . غير ســـام للنباتات الراقـــية . يستعمـــل في مقاومة صدأ الأوراق في القمح وعفن الثمار في الفراولة المتسبب عن *Botrytis cinerea* .



(شكل ٣٤) :

المجموعات المختلفة من Ezomycins

obeikandi.com

ثالثاً: مجموعات المضادات الحيوية

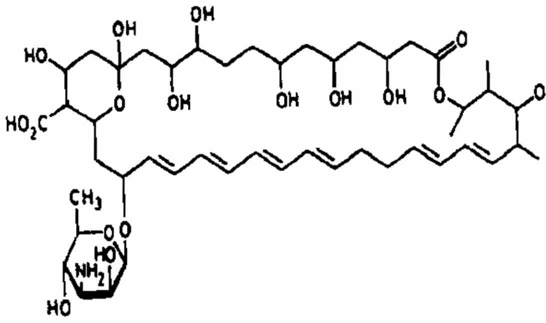
I- مجموعة Polyenes

هـــذه المجموعة هي Polyhydroxylated macrolides والذي يوصف فيها Polyene chromophore بأنه يتواجد في حلقة لاكتون دائرية كبيرة . أعطت هذه المجموعة اعداداً كبيرة من المضادات الحيوية المؤثرة على الفطريات ولها استعمال طبي واسع . كذلك فان افراد هذه المجموعة تظهر مستوى عال من الكفاءة في المعمل ضد مدى واسع من الكائنات الممرضة الفطرية (للنبات) ، وهي غير سامة للنباتات . بالرغم من هذه الصفات المرغوبة التي تتوفر في هذه المجموعة ، إلا أن هناك حالات قليلة استعملت فيها هذه المضادات الحيوية على نطاق واسع في مقاومة الأمراض النباتية ، وأثبتت كفاءة في مقاومة الأمراض الفطرية . العامل المهم المحدد لاستعمال أفراد هذه المجموعة غير واضح ، ولكن من الأمور الهامة التي تفسر ذلك هو عدم ثباتها تحت الاشعة الفوق بنفسجية وسرعة اكسدتها على سطوح النبات .

يمكن الحصول على الانتاج الكبير من هذه المجموعة بواسطة أنواع من *Streptomyces* . من أهم الأنواع التابعة لهذه المجموعة ، المضادات الحيوية الآتية :

١- المضاد الحيوى Nystatin

يعرف هذا المضاد الحيوي باسم آخر وهو Mycostatin أو Fungicidin أو (Tetraene) وهو مضاد حيوي ضد الفطريات . ينتج بواسطة *S. noursei* . يصنع هذا المضاد الحيوي ويباع تجارياً للمعالجة الطبية ، ولكن استعمل إلى حد ما في مقاومة بعض الأمراض الفطرية في النبات . تبين أن هذا المضاد الحيوي ذو فعالية عالية في مقاومة امراض الانثراكنوز على الفاصوليا والبياض الزغبي على الخيار ، يمكن استعماله كمعاملة بذور لمقاومة امراض التخطيط في الشعير . ذكر بعض الباحثين أنه يمكن استعمال هذا المضاد الحيوي في مقاومة امراض ما بعد الجمع ، وذلك عن طريق غمر ثمار الخوخ في محلول المضاد الحيوي لمقاومة مرض العفن البني في الخوخ ومرض الانثراكنوز في الموز ، يستعمل هذا المضاد الحيوي على مدى واسع في معالجة الأمراض الفطرية في الإنسان .

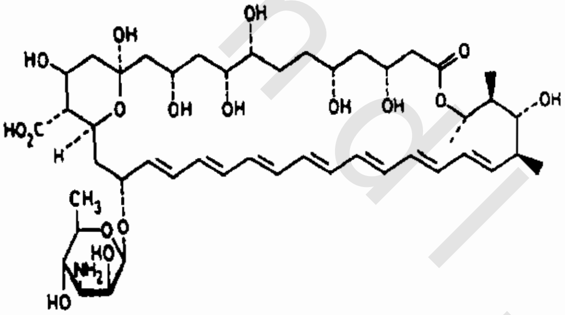


مركب Nastatin

(شكل رقم ٣٥)

٢- المضاد الحيوى Amphotericin B

هذا المضاد الحيوي واسع الاستعمال في مقاومة الأمراض الفطرية الطبية ، ولكن له تأثير بسيط ضد أمراض النبات الفطرية .



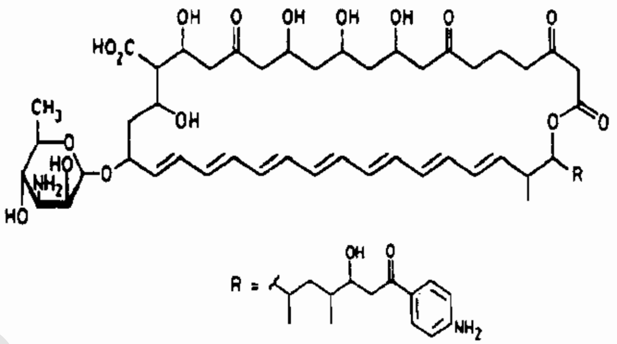
Amphotericin B

(شكل رقم ٣٦)

٣- المضاد الحيوى Candicidin D

المركب الاساسي في هذا المضاد هو Candicidin والذي ذكر بأنه يقاوم الفطر الممرض *Cladosporium fulvum* ، على الطماطم . كان أول استعمال له في مقاومة امراض النبات سنة ١٩٧٩ .

obeikandl.com

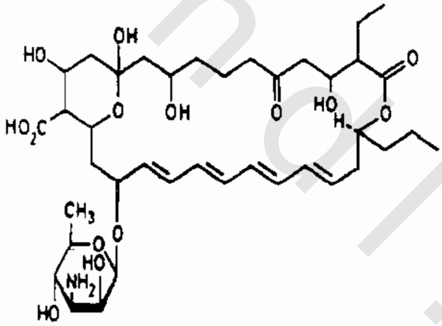


Candicidin D

(شكل رقم ٣٧)

٤- المضاد الحيوي Rimocidin

يستعمل هذا المضاد الحيوي في مقاومة أمراض النبات ، خاصة الاصابة الكبيرة لبذور البسلة بالفطر *Ascochyta pisi* .

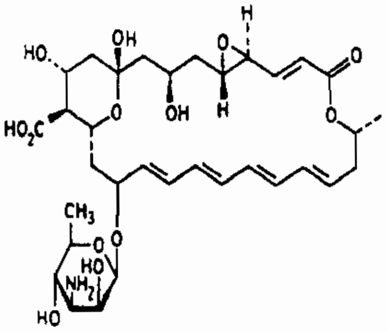


Rimocidin

(شكل رقم ٣٨)

٥- المضاد الحيوي Pimaricin

عرف تركيب هذا المضاد الحيوي سنة ١٩٧١ . يستعمل بكفاءة في مقاومة امراض بذور البقوليات وخاصة أمراض بذور البسلة المتسببة عن *A. pisi* .



Pimaricin

(شكل رقم ٣٩)

obeikandl.com

II- مجموعة Macrolides

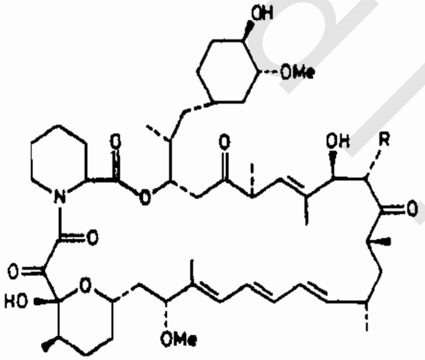
هنــاك أنــواع عــديدة مــن المضادات الحيــوية تشابه أفراد المجموعة الأولى إلا أنها تختلف إختــلافاً بسـيطاً في تركيبها ، ولا تــزال تختفظ بفعاليتها ضد الفطريات ، وبالتالــي وضعــت ضمن أفراد هذه المجموعة . من أفراد هذه المجموعــة المضادات الحيوية الآتية :

١- Rapamycin

لقد تم عزل هذا المضاد الحيوي من مزرعة *Streptomyces hygroscopicus* NRRL - 5491 وهو ذو فعالية عالية في مقاومة الكائنات الممرضة الفطرية علي الحيوانات ، ويمكن أن يكون بنفس الفعالية ضد الأمراض الفطرية النباتية .

٢- Demethoxyrapamycin

هذا المركب قريب الشبه مع المركب الأول والذي يحوي أيضاً جزئيات ثلاثية وقد تم الحصول عليه من نفس الكائن الحي السابق .



(شكل رقم ٤٠)

إذا كانت R = OMe فيكون

المضاد الحيوي Rapamycin

إذا كانت R = H فيكون المضاد الحيوي هو Demethoxyrapamycin

٣- Hygrolidin

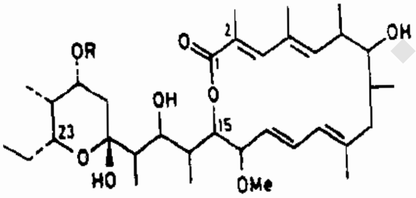
يتبع هذا المضاد الحيوي ، مجموعة جديدة من المضادات الحيوية المؤثرة على الفطريات ، والتي تحتوي على hygrolidins ، كلها تشترك في الذرات الستة عشر الشائعة في النواة غير المشبعة في الحلقة. يعزل هذا المركب من *S. hygroscopicus* D - 1166 ، ولقد اكتشف هذا المضاد الحيوي وذكرت أوصافه منذ مدة طويلة . ولقد ذكر بأنه فعال ومتخصص ضد الفطر *Valsa ceratosperma* مسبب مرض تقرح التفاح . يستعمل بتركيز ٥٠ ميكروغرام لكل ملم .

٤- Hygrolidin amide

يمكن الحصول على هذا المضاد الحيوي، من راشح مزرعة الفطر *S. hygroscopicus* ، وذلك بالتصفية للمكونات الدقيقة لمخلوط المضادات الحيوية المنتجة من قبل هذا الفطر . يتواجد المضاد الحيوي بكمية قليلة جداً .

٥- Defumaryl hygrolidin

يستخلص هذا المضاد الحيوي مع المضاد الحيوي السابق ، من نفس مزرعة الفطر ، هذا المضاد والذي قبله متشابهان إلى حد كبير ، وكلاهما له فعالية إختيارية ضد الفطريات الممرضة ، خاصة الفطر *V. ceratosperma* مسبب تقرح التفاح ، إلا أن تأثيرهما على الفطر الممرض أقل من تأثير المضاد الحيوي Hygrolidin .



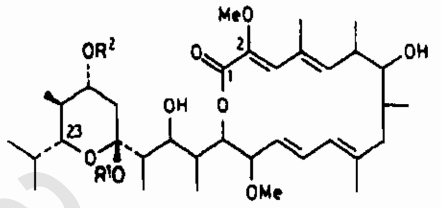
مضاد رقم ٣ $R = C(O)CH = CHCO_2H$
مضاد رقم ٤ $R = C(O)CH = CHC(O)NH_2$
مضاد رقم ٥ $R = H$

(شكل رقم ٤١)

المضادات الحيوية الثلاثة (٣ ، ٤ ، ٥) المذكورة سابقاً

٦- Bafilomycins AL

لقد تم عزل هذا المضاد الحيوي من مزرعة *S. griseus* subsp. *sulphurus* (Tu 1922) وهـو مشابه تمـاماً للمضاد الحيـوي Hygrolidins ، إلا أنه يختلف عنه في موقع الكربون رقم ٢ ورقم ٢٣ ، بالإضافة إلى تعديل في حلقة التتراهيدروبايران. يتكون هذا المضاد الحيوي مـن أربعـة متشابهات C_1 , A_1 , B_1 وهـي منتجات طبيعيـة ، بينما ketals هـذا المضـاد A_2 , B_2 , C_2 تتكون خلال عزل البادئ . افـراد مجموعة هـذا المضاد الحيـوي الطبيعي (Bafilomycins) A_1 , B_1 , C_1 تظهر كفاءة متساوية ضد الفطر *Botrytis cinerea* في إختبارات الإنتشار .



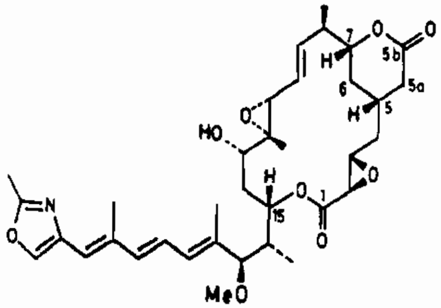
Bafilomycin A_1	$R^1 = R^2 = H$
Bafilomycin A_2	$R^1 = Me$, $R^2 = H$
Bafilomycin B_1	$R^1 = H$, $R^2 = C(O)CH{=}CHC(O)HN-$ (2-hydroxy-5-oxocyclopentenyl)
Bafilomycin B_2	$R^1 = Me$, $R^2 = C(O)CH{=}CHC(O)HN-$ (2-hydroxy-5-oxocyclopentenyl)
Bafilomycin C_1	$R^1 = H$, $R^2 = C(O)CH{=}CHCO_2H$
Bafilomycin C_2	$R^1 = Me$, $R^2 = C(O)CH{=}CHCO_2H$

مجموعات **Bafilomycins**

(شكل رقم ٤٢)

٧- Rhizoxin

لـقد تـم عزل هـذا المضاد الحيوي كمادة سامة ، منتجة بواسـطة الفطر *Rhizopus chinensis* . هذا الفطر هو العامل المسبب لمرض لفحة بادرات الارز . يظهر هذا المضاد الحيـوي نشاط فـعال ضـــد كثـــير مـــن الفطريات المـــرضة للنباتات مـن ضمنها *Pyricularia oryzae* و *R. solani* .



(شكل رقم ٤٣)

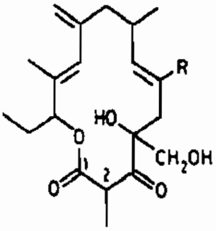
Rhizoxin

٨- Rustmicin

ينتج هذا المضاد الحيوي من قبل البكتريا *Micromonospora narashinoensis* 980 - MC1 يظهر هذا المضاد الحيوي فعالية قوية ضد فطر صدأ الساق في القمح .

٩- Neorustmicin A

ينتج هذا المضاد الحيوي من قبل البكتيريا *M. chalcea* 1302 AV2 . يظهر هذا المضـاد الحيوي فعالية عـالية ضد فطر صدأ الساق في القمح وضد كائنات ممرضة فطرية أخرى . وقد وصفت مشتقات أخرى لهذا المضاد الحيوي Neorustmicins B, C, D قد وصفت جيداً .



(شكل رقم ٤٤)

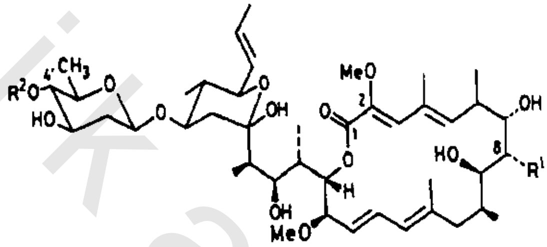
أذا كانت R = OMe يكون المركب Rustmicin

إذا كانت R = Me يكون المركب Neorustmicin A

١٠- Concanamycin A

لهـذا المضاد الحيوي متشابهات C , B . تعـزل هذه المضادات الحيوية مـن ميسيليوم *S. diastatochromogenes* S - 45 . تختلف هذه المركبات الثلاثة عن بعضها البعض في مجموعة Alkyl على ذرة الكربون رقم ٨ وموقع الاكسجين على ذرة الكربون رقم ٤ .

هذه المركبات الثلاثة ذات تأثير متكافئ في الفعالية ضد *Pyricularia oryzae* مسبب مـرض لفحة الارز . أقل تركيز ممكن أن يؤدي إلى فعالية ضد هذا الفطر هو ٢٥٠ ميكروغرام / مل في مزرعة على آجار وعلى جلوكوز .

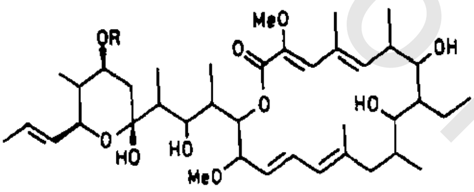


(شكل رقم ٤٥)

Concanamycin A = R_1 = Et, R_2 = C (O) NH_2
Concanamycin B = R_1 = Me, R_2 = C (O) NH_2
Concanamycin C = R_1 = Et, R_2 = H

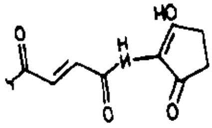
١١- Virustomycin A

ينتج هذا المضاد الحيوي بواسطة السلالة AM-2604 من *Streptomyces* . تركيبه يشبه تركيب المضاد الحيوي Concanamycin A ، حيث أنه يحتوي على حلقة Flaven-somycinoyl مرتبطة مع أجليكون المضاد Concanamyin A . هذا يسهل في تحديد تركيبه . هذا المضاد الحيوي ضعيف التأثير بشكل عام ، إلا أنه ذو كفاءة عالية ضد لفحة الأرز المتسببة عن *Pyricularia oryzae* بتركيز ١٢٥ ميكروغرام / مل .



(شكل رقم ٤٦)

Virustomycin A



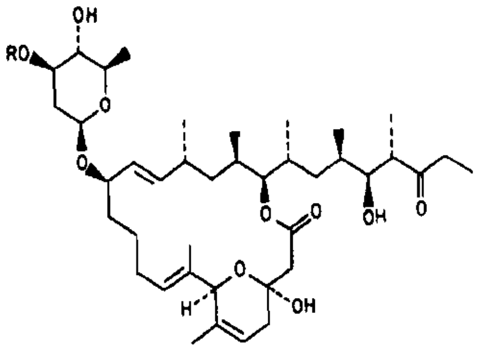
(شكل رقم ٤٧)

يمثل هذا الشكل قيمة R في شكل ٤٦

obeikandi.com

١٢- Venturicidins

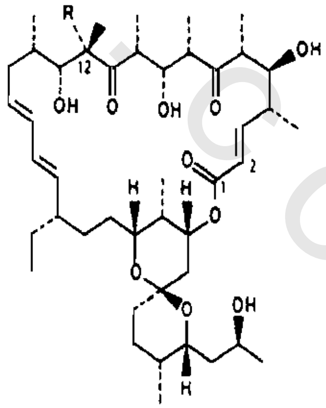
هذا المركب يشمل مجموعة مضادات حيوية مؤثرة على الفطريات ، يمكن عزلها من مزارع سلالات من الكائن *S. aureofaciens* وهومكون من مجموعتين A , B . ولقد ذكر انهما يعملان بكفاءة ضد أنواع مختلفة من الكائنات الممرضة النباتية ، من ضمنها *Botrytis cinerea* والفطر *Venturia inaequalis* .



(شكل رقم ٤٨)
عندما تكون $R = NH_2C(O)$ يكون المركب مجموعة A . أما عندما تكون R=H فإن المركب يكون مجموعة B من المركب Venturicidins

١٣- Botrycidin

يعزل هذا المضاد الحيوي من نفس الفطر السابق ، وهو مشابه للمضاد الحيوي السابق ويتطابق مع Rutamycin ، وهو فعال أيضاً ضد الفطر *B. cinerea* . هذا المضاد يشابه في تركيبه Rutamycin B المأخوذ من *S. griseus* . بالفحص بالأشعة السينية ، تبين أنه يتكون من شكلين A و B .



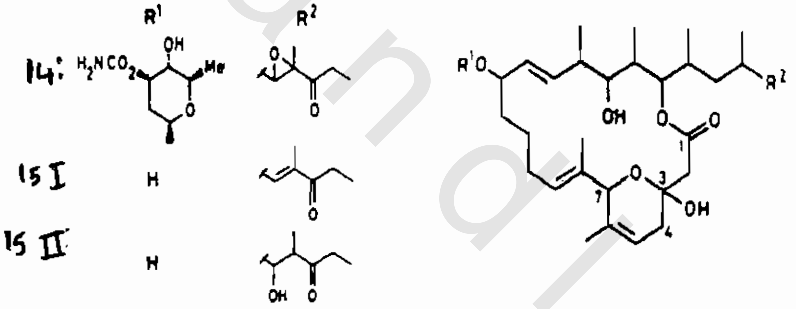
(شكل رقم ٤٩)
إذا كانت R = OH يكون المركب Botrycidin
إذا كانت R = H يكون المركب $Rutamycin\ B_1$

١٤- Irumamycin

يعزل هذا المضاد الحيوي من بيئة المرق المغذي للسلالة .S. *subflavus* sub. sp *irumaensis* AM-3603 تركـــيبه العام يشبه تركيب Venturicidins . هـــذا المضاد فعال ضد كثير من الفطريات الممرضة للنبات خاصة *P. oryzae* ، *Sclerotinia cinerea* و *B. cinerea* .

١٥- Irumanolide رقم I ورقم II

عزلت هذه المضادات الحيوية من طفرة احدى سلالات *Streptomyces* أثناء الدراسة على البناء الحيوي للمضاد الحيوي Irumamycin . تدل هذه النتائج على أن هذا المركب الأخير ، يصنع حيوياً من المركب Irumanolide II عن طريق Irumanolide I ، يتبع ذلك ارتباطه مع حلقة سكر و Epoxidation . هذه المضادات الحيوية لها تأثير ضعيف ضد *Sclerotinia cinerea* وضد *P. oryzae* في اختبارات الاجار .

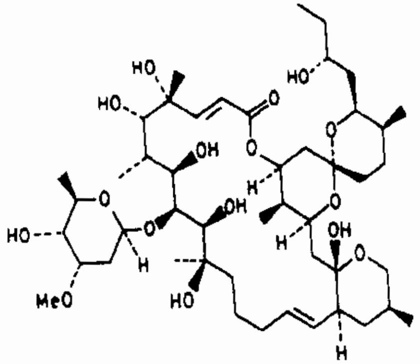


(شكل رقم ٥٠)
النواة الاساسية للمضادات الحيوية رقم (١٤ ، ١٥)

(شكل رقم ٥١)
يبين قيمة R_1 ، R_2 ويحدد نوع المركب رقم ١٤ أو ١٥ بنوعيه

١٦- Cytovaricin

يعتبر هذا المضاد الحيوي من المركبات الطبيعية وقـــد تم عزله مـــن مزارع *Streptomyces* H-230 ، هذا المضاد فعال ضد *Pyricularia oryzae* بتركيز ٥ ملغرام/مل .



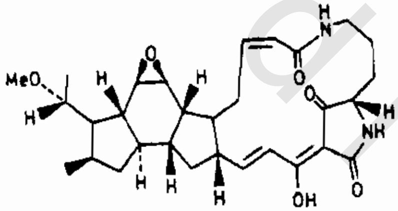
(شكل رقم ٥٢)

Cytovaricin

١٧- Capsimycin

يستخلص هذا المضاد الحيوى من مزرعة السلالة 87 - *Streptomyces* C49 . يحتوي هذا المضاد الحيوي على نواه حمض التتريك . يظهر كفاءة عالية في مقاومة الفطر -*Phy tophthora capsici* مسبب لفحة أوراق الخيار ، وضـــد الفطر *Pythium* خاصة النوع *debaryanum* على بادرات الخيار .

(62)

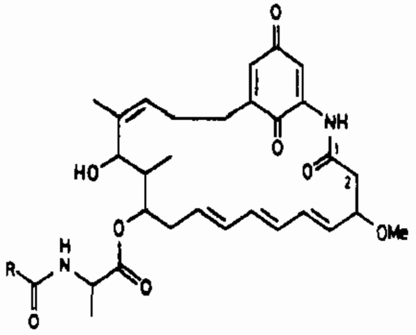


(شكل رقم ٥٣)

Capsimycin

١٨- Ansatrienins

ينتج هذا المضاد الحيوي من السلالة Tu من *Streptomyces collinus* sub. sp. *collinus*. يتكون هذا المضاد من مجموعتين A , B . تعتبر مجموعة B عبارة هيدروكينون مجموعة A . إن مجموعة A مشابهة تماماً للمضاد الحيوي Mycotrienin . إن هذه المجموعة تنقسم إلى A_2 و A_3 . هذه المجموعة من المضادات الحيوية تظهر فعالية ضد الفطر *Botrytis cinerea* .

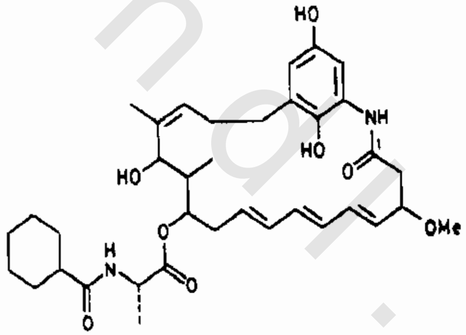


1 = R = cyclohexyl
2 = R = Bu^S
3 = R = Bu^t

(شكل رقم ٥٤)

Ansatrienins A_2 = 2 Ansatrienins A = 1

Ansatrienins A_3 = 3



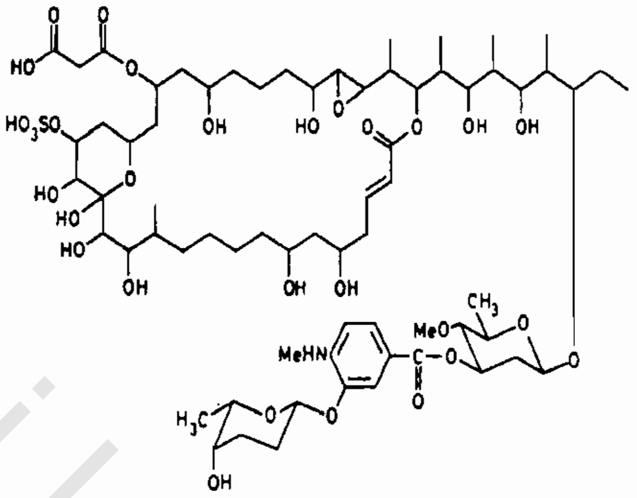
(شكل رقم ٥٥)

Ansatrienins B

١٩- Notonesomycin A

هذا المضاد الحيوي عبارة عن معقد ماكرولايد ، وقد تم عزلة من ميسيليوم سلالة 647 Av_1 - من *S. aminophilus* subsp *notonesogenes* . لقد وجد بأنه فعال في مقاومة امراض الارز ، خاصة مرض لفحة الارز في تجارب الصوبا الزجاجية .

obeikandl.com



(شكل رقم ٥٦)

Notonesomycin A

obeikandl.com

III- مجموعة Nucleosides

من أهم أفراد هذه المجموعة :

١- Polyoxins

لقد ذكرنا نبذة عن هذه المضادات الحيوية في الصفحات السابقة وقد أخـذت شكل ٢٩ ، ٣٠ . وهي تذكر هنا وذلك حسب التصنيف الطبيعي بين المضادات الحيوية .

يعتبر هذا المضاد الحيوي مضاد فطري ، يستعمل على نطاق واسع كمبيد فطري . يستعمل ضد مرض لفحة غمد ورقة الارز ، مرض البقعة السوداء على الكمثرى ، ومرض تبقع ورقة التفاح المتسبب عن الفطر الترناريا . بجانب استعمالاته الكثيرة في الزراعة فانه فعال ضد بعض أنواع الذباب *Holcothorax lestuceipes* . ولقد ذكر بعض الباحثين أنه يؤثر على فيرس موزايك الدخان (هذا ما ذكره TaeGyu & Tokuzo سنة ١٩٦٨) . ليس لهذا المضاد الحيوي أي تأثير على الثدييات أو الخلايا الحيوانية .

كـان أول عزل لمجموعة البـولي أوكـسنز من المرق المختمر لمزرعـة سلالة NRC-19 من *S. cacaoi* var *asoensis* بواسطة Isono *et al* سنة ١٩٦٥ . هذه المجموعة تتكـون من خمسة عشر مركباً علـى الأقـل ، تتبع للمضادات الحيوية ذات التركيب N-glycoside ، هذا ما ذكره Berdy سنة ١٩٧٨ .

تبين أن لمركبات الـ Polyoxins تأثير ضد بعض الكائنات الحية الدقيقة . وجد أن لهذه المجموعة كفاءة في مقاومة الفطر الترناريا على الفول . وجد أن أقل تركيز للتثبيط الكلي من هذه المجموعة ضد الفطريات *A. alternate* و *F. oxysporum* كان أقل من ٥ ميكروغرام / مل . أما أقل تركيز للتثبيط الكلي من مركب A ومركب B من هذه المجموعة ضد البكتيريا السالبة والموجبة لصبغة غرام ، الخمائر والفطريات كان أكبر من ٧٥ ميكروغرام / مل . ومن ناحية أخرى وجد أن أفراد هذه المجموعة المعزولة سواء نقية أو غير نقية فانها تستعمل كعامل منشط للكائن *Micromonospora calci* جدول رقم ١٣٤ .

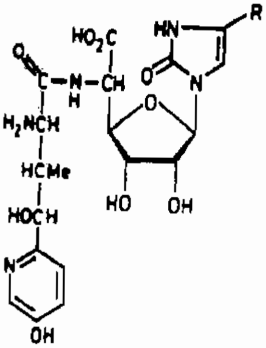
جدول رقم ١٣٤ : أقل تركيز مثبط كلي من مجموعة المضادات الحيوية Polyoxins ضد الكائنات الدقيقة المذكورة :

الكائن الحي	منطقة التثبيط ملم / او ملم من المرق المختمر على بيئة باكتو آجار	أقل تركيز للتثبيط الكلي للكائن
B. subtilis NRR - B - 543	١٤	٧٥
Candida tropicalse	١١	٢٥٠
S. Cerevisiae	صفر	٢٥٠
Aspergillus niger	صفر	٢٥٠
Alternaria alternata	٣٦	٥, –
Alternaria sp.	٣٢, –	٧, –
Fusarium solani	صفر	٢٠٠
F. Oxysporum	٢٢	٢٠, –
Mucor spp.	صفر	٢٠٠

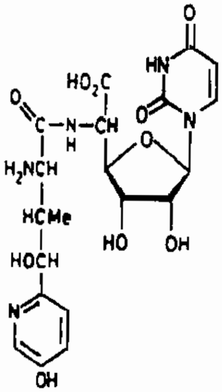
٢- Neopolyoxins

يتكون هـــذا المضاد الحيوي من ثلاثة مركبات .C, B, A وكلها عزلت مـــن *S. cacaoi* subsp. *asoensis* وهو شبيه بال polyoxins ، حيث وجد أنه يثبط أنزيمات الشيتين والتركيب الكيماوي كما هو واضح في الشكل . والفرق بين الثلاثة مركبات واضـــح من حيث قاعدة الوراسيل ، حيث أنها توجد في مركب C وحلقة إيماد وزولاين فـــي المركبين B , A . تظهر هذه المركبات كفاءة عالية في تثبيط الفطريات الممـــرضة للنبات مـثل *Pyricularia oryzae* , *R. solani* و *Botrytis cinerea* بتركيزات ٥-٥٠٠ ميكروغرام/ مل .

obeikandi.com



(A) R = CHO
(A₁) R = CO_2H



B

(شكل رقم ٥٧)

Neopolyoxins A = A , Neopolyoxins B = A_1

Neopolyoxins B = B

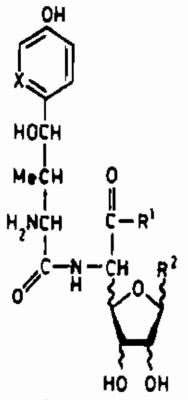
٣- Nikkomycins X

يعزل هذا المضاد الحيوي من مزرعة *S. tendae* . يبدو أن له علاقة مع Neopolyoxins C , A . وجد أن حلقة السكر ، ليست مماثلة كما هو في الـ Polyoxins . الدراسات المستفيضة باستعمال الاشعة السينية والتحاليل المختلفة ، أثبتت الترتيب المطلق والوضع النسبي للسلسلة الجانبية للحمض الأميني في هذه المجموعة .

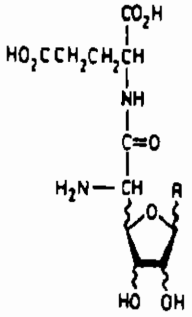
٤- Nikkomycins Z

هذا المركب مشابه للذي سبقه والاختلاف في التركيب واضح في الشكل . هناك أشكال أخرى لهذا المركب منها ، الشكل B و I و J ، M ، N ، كل هذه الأشكال عزلت وحدد تركيبها كما في الشكل ودرست صفاتها البيولوجية ، إلا أن استعمالها في مقاومة امراض النبات لا يزال غير واضح .

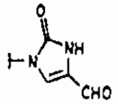
obeikandi.com



(72) X = N, R^1 = OH, R^2 = uracil-1-yl
(73) X = N, R^1 = OH, R^2 = a
(74) X = CH, R^1 = OH, R^2 = a
(75) X = N, R^1 = $NHCH(CO_2H)CH_2CH_2CO_2H$, R^2 = a
(76) X = N, R^1 = $NHCH(CO_2H)CH_2CH_2CO_2H$, R^2 = uracil-1-yl



(77) R = a
(78) R = uracil-1-yl

a = 

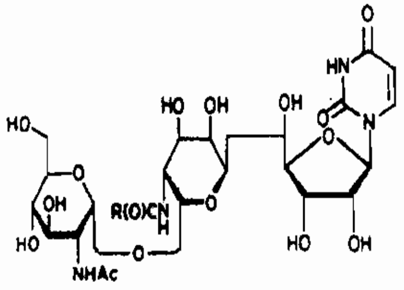
(شكل رقم ٥٨) : يبين الآتي

مركب ٧٢ Nikkomycins Z
مركب ٧٣ Nikkomycins X
مركب ٧٤ Nikkomycins B
مركب ٧٥ = Nikkomycins I
مركب ٧٦ = Nikkomycins J
مركب ٧٧ = Nikkomycins M
مركب ٧٨ = Nikkomycins N

obeikandl.com

٥- Tunicamycin

لهذا المركب عشرة مشابهات كما في الشكل ، وقد عزلت هذه الأشكال وعرفت .



a; R = CH=CH(CH$_2$)$_7$CHMe$_2$
b; R = CH=CH(CH$_2$)$_8$CHMe$_2$
c; R = CH=CH(CH$_2$)$_{10}$Me
d; R = CH=CH(CH$_2$)$_{11}$Me
e; R = CH=CH(CH$_2$)$_9$CHMe$_2$
f; R = CH$_2$CH$_2$(CH$_2$)$_9$CHMe$_2$
g; R = CH=CH(CH$_2$)$_{10}$CHMe$_2$
h; R = CH=CH(CH$_2$)$_{12}$Me
i; R CH=CH(CH$_2$)$_{13}$Me
j; R = CH=CH(CH$_2$)$_{11}$CHMe$_2$

(شكل رقم ٥٩) : أشكال

المضاد الحيوي Tunicamycin

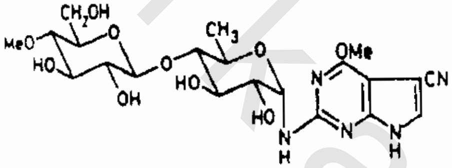
٦- Tunicaminyluracil

هذا المضاد الحيوي هو المنتج الشائع للمركب السابق . اكدت الابحاث أن هذا المركب يثبط نمو مسبب مرض لفحة الارز *P. oryzae* .

٧- Dapiramicin A

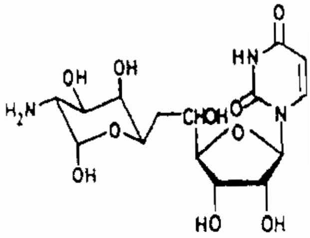
عزل هذا المركب من بيئة المرق المختمر للسلالة *Micromonospora* SF - 1917 وهو يتبع مجموعة Disaccharide nucleosides وقد حدد تركيبها على أساس ذرة الهيدروجين الأولى وذرة الكربون الثالثة عشر . عند معاملة هذا المركب بحمض معتدل فانه يتبلمر ويتحول إلى Epidapiramicin A . أما الشكل B من هذا المركب ، فقد تم عزله أيضاً

من أنواع نفس الجنس البكتيري المذكور سابقاً . أثبتت التجارب أن هذا المركب يظهر فعالية قوية في الحقل ضد مرض لفحة الغمد في نباتات الارز المتسببة عن الفطر *R. solani* . ولقد ثبت أيضاً أن فعالية هذا المضاد تشابه فعالية المضاد الحيوي Validamycin المذكور في مقدمة هذا الجزء من الكتاب . في التجارب المتحكم بها كان هذا المضاد أقل فعالية منه في الظروف الحقلية . أما الشكلين A و B للمركب Dapiramicin فهى أقل كفاءه من المركب نفسه في مقاومة المرض . هذا يدل على أن الاختلاف فى ترتيب الرابطة الموضحة في الشكل له تأثير على الفعالية البيولوجية للمركب .



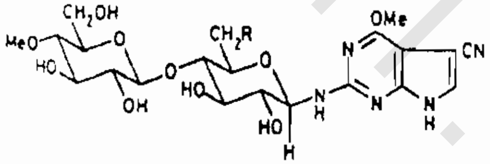
(شكل رقم ٦١)

Dapiramicin A



(شكل رقم ٦٠)

Tunicaminyluracil



A = R = H
B = R = OH

(شكل رقم ٦٢)

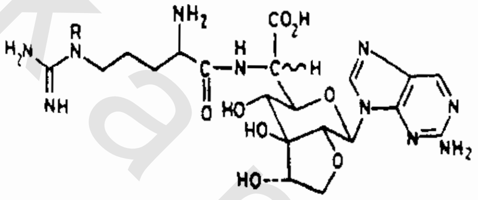
Epidapiramicin A = A

Epidapiramicin B = B

opeikandl.com

٨- Miharamycins

هذا المركب له شكلين A و B وهي مضادات حيوية تنتج بواسطة *S. miharaensis* SF - 489 وهي فعالة ضد مرض لفحة الارز . مع أن هذه المركبات قد عزلت منذ حوالي عشرة سنوات ، إلا أن تركيبها بقي غير واضح ، وذلك لأن الوسائل المناسبة للتحليل كان من الصعب تحضيرها . بعد التقدم التكنولوجي الكبير الذي حدث في الكيمياء الحيوية ، امكـــن التعرف على التركيب التام لها ووضع لها الصيغة الكيماوية . هذه المركبات مضـــادات حيوية ضد كثير من الفطريات . إلا أن استعمالها فـــي الحقول لا يزال تحـت التجارب .



(84) R = OH
(85) R = H

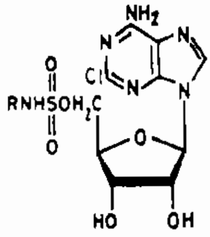
(شكل رقم ٦٣) رقم ٨٤ يعني المركب A رقم ٨٥ يعني المركب B
التابعة لـ Miharamycins

٩- Ascamycin

لقد تم عزل هذا المضاد الحيوي من أنواع من *Streptomyces* . لقد ثبت بان هذا المضاد الحيوي فعال ضد كثير من أمراض الارز ، خاصة لفحة الارز المتسببة عن *Xanthomonas oryzae* .

١٠- Ascanycin

هذا المركب هو الاساس الذي أخذ منه تركيب وشكل Ascamycin وله نفس الخصائص والصفات .



(86) R = $H_2NCHC(O)$ (Me)

(87) R = H

(شكل رقم ٦٤) يبين رقم ٨٦ المركب **Ascamycin**

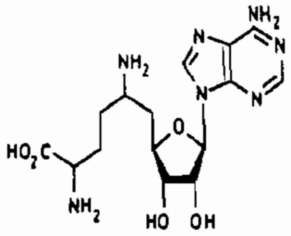
يبين رقم ٨٧ المركب **Ascanycin**

١١- Sinefungin

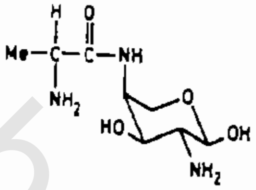
عزل هذا المضاد الحيوي من مزرعة السلالة NRRL - 3739 *Streptomyces griseolus* يظهر هذا المضاد الحيوي فعالية ضد بعض فطريات المجموع الخضري الهامة والتي تسبب امراضاً خطيرة ، مثل البياض الدقيقي المتسبب عن الفطر *Erysiphe polygoni* وصدأ الفاصوليا المتسبب عن *Uromyces phaseoli* .

١٢- Aminoglycoside prumycin

عزل هذا المضاد الحيوي من المرق المغذي النامية فيه السلالة F-1028 من *Streptomyces* ، وهو مضاد حيوي فعال ضد بعض امراض النبات ويؤثر كثيراً في كل من *Botrytis Cinerea* و *Sclerotinia cinerea* .



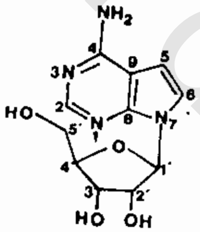
(شكل رقم ٦٥)
المضاد الحيوي Sinefungin



(شكل رقم ٦٦)
Aminoglycoside prumycin

١٣- Tubercidin

عزل هذا المضاد الحيوي من مزرعة المرق المغذي لـ *S. tubecidicus* أو من الكائن *Tolypothrix byssoidea* . وهو يستعمل بشكل خاص ضد الفطر الممرض *Phytophthora capsici* .



(شكل رقم ٦٧)
المضاد الحيوي Tubercidin

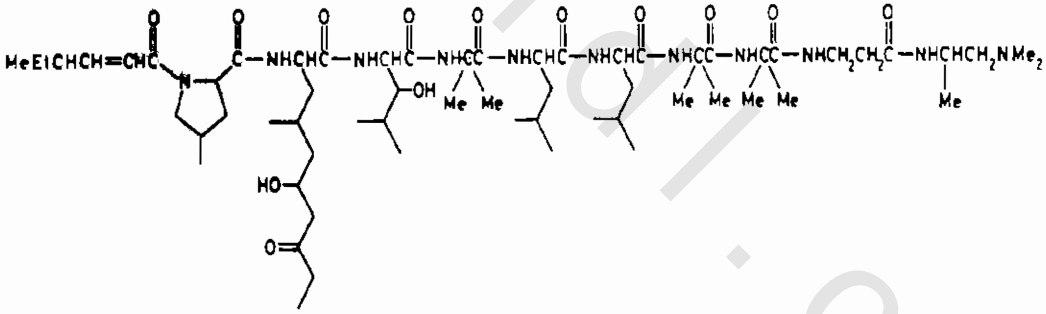
obeikandl.com

IV- مجموعة Peptides

تنتمي جميع أفراد هذه المجموعة ، إلى المضادات الحيوية الببتيدية الطبيعية والتي تنتج بواسطة البكتيريا ، الاكتينومايستس والفطريات . معظم أفراد هذه المجموعة لها تأثيرات فعالة ضد الفطريات والبكتيريا . اما استعمالها ضد أمراض النبات لا يزال غير منتشر ومحدود ، ولكن من الممكن أن يكون لها استعمالات كبيرة مستقبلاً بعد التجارب العلمية المعملية عليها . ومن أهم أفراد هذه المجموعة .

١- P-168

هذا المركب مضاد حيوي ببتيدي ، ينتج بواسطة *Paecilomyces lilacinus* . كما يبدو في شكل ٦٨ ، فإن تحديد تكوين هذا المركب معقد من الناحية الكيماوية . يظهر هذا المضاد الحيوي تأثيرات فعالة في المعمل ضد *Pyricularia oryzae* وضد الفطر *Botrytis cinerea* بتركيز ١٠٠ جزء في المليون . هناك أمثلة عديدة للمركبات ذات الحلقات الببتيدية التي لها صفات المبيدات الفطرية .



(شكل رقم ٦٨) المضاد الحيوي P-168

٢- Lipopeptin A

يعزل هذا المضاد الحيوي من مزرعة السلالة *Streptomyces* AC-69 وهو فعال ضد الكائن الممرض مسبب لفحة الارز *P. oryzae* بتركيز منخفض حوالي ١٥٠٠ ميكروغرام/مل . في التحليل الحمضي لهذا المركب وجد أنه يعطي ثمانية أحماض أمينية وحمض دهني . ترتيب هذه الأحماض في شكل ٦٩ .

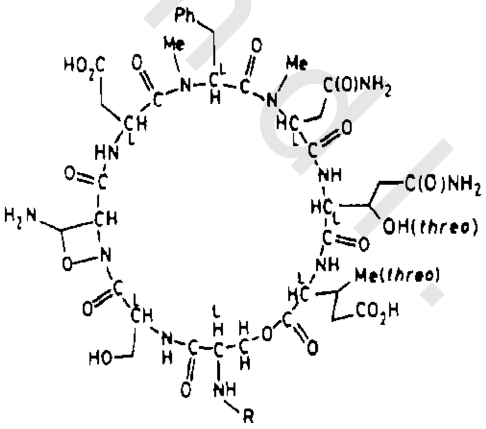
MeEtCH[CH_2]$_{10}$ C(O)-L- Thr-L-Asp-L- Ser -L-Ser-L-MeAsn-L-MePhe-L-Hygln-L-Glu

Hygin - *threo -B-hydroxyglutamine*

(شكل رقم ٦٩) المضاد الحيوي Lipopeptin A

Neopeptins -٣

يتكون هذا المضاد الحيوي من مركبين A و B . أثناء إجراء برامج الكشف عن المضادات الحيوية أو المثبطات الحيوية التي تؤثر على جدر خلايا الميكروب ، عزل مركب A ومركب B من المرق المختمر الذي تنموفيه السلالة K 710 من *Streptomyces* . اعطى التحليل الحمضي لهذا المركب سبعة أحماض أمينية وحمض دهني واحد . لقد حدد شكل هـــذا المركب كما هو واضح في شكل رقم ٧٠ . يظـهـر هذا الشكل تشابـــه كبير جداً مع المركب Lipopeptin A . هناك مركب معقد مشابه لهذا المركب قد تم عزله وأعطي رقم C وهوذو صفات وتركيب معقد كما هو واضح في شكل رقم ٧٠ .



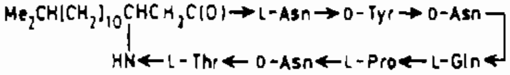
(A) R = C(O) $(CH_2)_{10}$CHMe$_2$
(B) R = C(O) $(CH_2)_{10}$CHMeEt
(C) R = C(O) $(CH_2)_9$ CHMe$_2$

(شكل رقم ٧٠) أشكال مركبات المضاد الحيوي C ، B، A لـ Neopeptins

obeikandl.com

Bacillomycin -٤

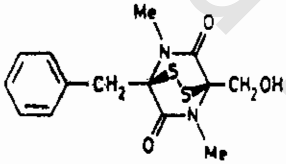
تنتج البكتيريا *Bacillus subtilis* عدة مجموعات من المضادات الفطرية ذات حلقة peptidolipids ، وقد سجل ترخيص باستعمالها في مقاومة عديد من الفطريات الممرضة النباتية المختلفة . من أهم هذه المركبات هو المضاد الحيوي Bacillomycin .



(شكل رقم ٧١) المضاد الحيوي Bacillomycin

Hyalodendrin -٥

هذا المضاد الحيوي من مركبات الداي ببتايد الدائرية والذي يحوي حلقة Piperazine ثنائية الكيتو وجسر ثنائي الكبريت . يتميز هذا المضاد الحيوي بكفاءة في مقاومة الفطريات . لقد تم الحصول على هذا المركب من أنواع Hyalodendron . لقد وجد أن هذا المضاد الحيوي يمنع إنبات الجراثيم الاسبورانجية للفطر *Phytophthora infestans* .

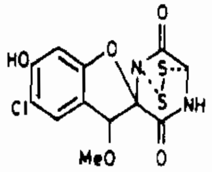


(شكل رقم ٧٢) المضاد الحيوي Hyalodendrin

Aspirochlorine -٦

عـــزل هذا المضاد الحيوي من مزرعة الفطر *Aspergillus tamarii* . تركيبه واضح في شكــل ٧٣ . يثبط هذا المضاد الحيوي نمو الميسيليوم لأنـــواع كثيرة مـــن الفطر فايتوفثورا .

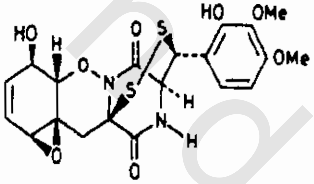
obeikandl.com



(شكل رقم ٧٣) المضاد الحيوي Aspirochlorine

Gliovirin -٧

ينتج هذا المضاد الحيوي بواسطة الفطر *Gliocladium virens* . تركيبه واضح كما في الشكل . له تأثير إختياري ضد بعض الفطريات البيضية مثل *Pythium ultimum* .



(شكل رقم ٧٤) المضاد الحيوي Gliovirin

Bulbiformin -٨

يعتبر هذا المضاد الحيوي من المضادات التي تستعمل ضد الفطريات . يتبع هذا المركب مجموعة Polypiptide . ينتج بواسطة البكتيريا *Bacillus subtilis* . يكثر وجود هذا المضاد الحيوي في الأراضي التي يكثر فيها المواد العضوية مثل المولاس ، وبقايا صناعة الفول السوداني وجذور البرسيم الحلو . إن حقن التربة الغنية بالمواد العضوية المذكورة بالبكتيريا *B. subtilis* يؤدي إلي مقاومة امراض الذبول المتسببة عن الفطر *Fusarium oxysporum f.sp. udum* في البسلة الهندية pigeon pea . يمتص هذا المضاد الحيوي جهازياً ، وبالتالي فإنه يقاوم امراض الذبول الوعائى .

obeikandi.com

V- مجموعة Polyethers

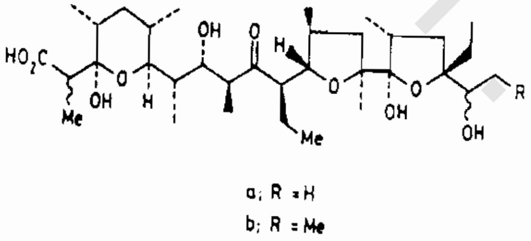
تسمى هذه المجموعة من المضادات الحيوية Ionophorous antibiotics . تنتج بواسطة أنواع من *Streptomyces* . الشكل النموذجي لها ، عبارة عن سلسلة طويلة مستقيمة فيها حمض كربوكسلك احادي . تحتوي حلقة Furan أو Tetrahydro - pyran والتي تحمل مجموعة فعالة من الاكسجين والـ alkyl . لهذه المجموعة فعالية كبيرة ضد البكتيريا موجبة الصبغة لجرام ، وكذلك ضد بعض أنواع البروتوزوا . معظم أفراد هذه المجموعة تستعمل طبياً خاصة في الطب البيطري . هناك نوعين فقط يستعملان في أمراض النبات هما .

١- Ferensimycins

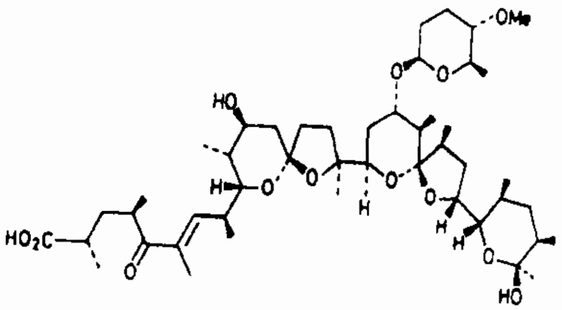
يحتوي هذا المركب على نوعين من الأشكال A ، B . هذين المركبين قد تم عزلهما من مزرعة السلالة 5057 *Streptomyces* (شكل ٧٥) .

٢- Leuseramycin

عزل هذا المضاد الحيوي من السلالة TM-531 *Streptomyces hygroscopicus* . هذا المضاد الحيوي فعال ضد عديد من الفطريات الممرضة النباتية . (شكل ٧٦) .



Ferensimycins A + B (شكل رقم ٧٥)



(شكل رقم ٧٦) Leuseramycin

obeikandl.com

VI- مجموعة المركبات العطرية

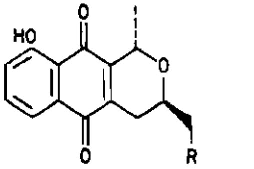
Aromatic Compounds

لقد اكتشف كثير من المضادات الحيوية ، المضادة للفطريات ، تحتوي حلقات عطرية . بعض هذه المضادات quinone . من أفراد هذه المجموعة ما يلي :

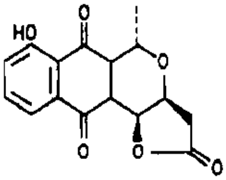
١- Nanaomycins

يشمل هذا المضاد الحيوي عدة مركبات أعطيت اسماء A , B , C , D و E . عزلت هذه المركبات من مزارع المرق المغذي الخاصة بالكائن الدقيق *Streptomyces rosa* var. *notoasis* ، عرفت هذه المركبات في أوائل السبعينيات . في الدراسة المستمرة للحصول على مضادات حيوية خاصة بالميكوبلازما ، وجد أن السلالة OM-173 والتي قد عزلت من التربة تنتج خمسة أنواع أخرى من الـ Nanaomycins سميت هذه المركبات باسم الفا A ، بيتا A ، الفا B ، الفا E و بيتا E . وقــد حدد بناء هذه المركبات كما هــو في الشكل . D → A → E → B . إن مركبات المضادات الحيوية المأخوذة من السلالة OM-173 من المتوقع أن تكون ذات تركيب معقد جداً . تظهر هذه المضادات الحيوية خاصة A مستوى عال من الكفاءة ضد الفطر *Pyricularia oryzae* بتركيز ٤ ميكروغرام/مل . اما الأنواع الأخرى فهي أقل كفاءة .

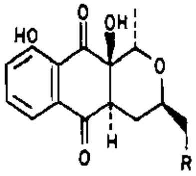
obeikandl.com



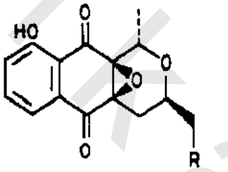
Nanaomycin A = R CO_2H
Nanaomycin C = R $C(O)NH_2$
Nanaomycin αA = R CO_2Me
Nanaomycin βA = R CH_2OH



Nanaomycin D



Nanaomycin B = R = CO_2H
Nanaomycin αB = R = CO_2Me



Nanaomycin E = R = CO_2H
Nanaomycin αE = R = CO_2Me
Nanaomycin βE = R = CH_2OH

(شكل رقم ٧٧) أشكال المضاد الحيوي Nanaomycin

٢- Carbazomycins

لهذا المركب عدة أشكال منها A , B ، وقد عزلت من مزرعة Ehimense . يظهر كلا المركبين فعالية ضد الفطريات الممرضة النباتية من أهمها *Pyricularia oryzae* (شكل ٧٨) .

٣- Strobilurin A

يسمى هذا المركب ، أيضاً ، Mucidin وهو من المضادات الحيوية الفطرية العديدة التأثير ، والتي لها تركيب Eryltriene وهو من المبيدات الفطرية المنتجة طبيعياً والذي وجد في الفطريات البازيدية خاصة *Oudemansiella mucida* و *Strobilurus tenacellus* . وقد ذكر أن لهذا المركب تأثير كبير ضد عديد من الفطريات في المعمل . (شكل ٧٩) .

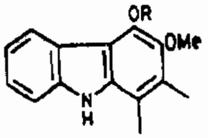
أما الأشكال من هذا المضاد الحيوي التي أطلق عليها B , C فقد تم عزلها من

obeikandi.com

الميسيليوم السطحي لمزارع *Xerula longipes* . ثبت بان هذين المركبين لهما مجال واسع في تثبيط الكائنات الممرضة الفطرية على تركيزات منخفضة جداً . تؤثر هذه المضادات الحيوية على عملية التنفس في الكائنات الدقيقة الممرضة . (شكل ٧٩) .

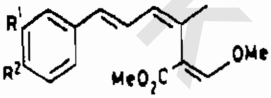
٤- مركب Oudemansin A

لقد تم عزل هذا المضادالحيوي من مزرعة *Oudemansiella mucida* أما مركب B فقد تم الحصول عليه من سطح مزرعة *Xerula longipes* و *X. melanotricha* . كلا المركبين يثبطان نمو مدى واسع من الكائنات الممرضة الفطرية .



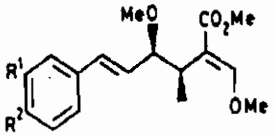
(A) R = Me
(B) R = H

(شكل رقم ٧٨) Carbazomycin B + A



(A) $R^1 = R^2 = H$
(B) $R^1 = MeO,\ R^2 = Cl$
(C) $R^1 =$ [structure], R = H

(شكل رقم ٧٩) strobilurin A, B, C



(A) $R^1 = R^2 = H$
(B) $R^1 = MeO,\ R^2 = Cl$

(شكل رقم ٨٠) المضاد الحيوي Oudemansin بنوعية A , B

VII- مضادات حيوية مختلفة

١- Aureofungin

هذا المركب مضاد حيوي ، له تأثير على مجال واسع من الفطريات ، يستخلص من مزرعة *Streptoverticillium cinnamomeum* var. *terricola* . تدل صفاته الكيماوية على أنه يتبع مجموعة المضادات الحيوية ذات الحلقة العطرية الهيبتانز . من مميزاته الشائعة أنه سهل الامتصاص عندما يستعمل رشاً على المجموعة الخضري أو عندما يستعمل على الجذور ، يمكن أن ينتقل ويكتشف وجوده في أجزاء النبات الاخرى .

من أكثر الصفات فائدة لهذا المركب ، هي كفاءته العالية في مقاومة عدد كبير من الكائنات الممرضة النباتية ، وامتصاصه وإنتقاله في أجزاء النبات الحية .

من أهم الأمراض التي يمكن مقاومتها باستعمال هذا المضاد الحيوي ، هي :

١- أمراض تصمغ الحمضيات التي تتسبب عن أنواع مختلفة من الفطر فايتوفثورا ، من أهمها *P. citrophthora* والذي هو مرض خطير جداً في كثير من مناطق زراعة الحمضيات .

٢- كذلك يمكن استعماله في مقاومة مرض البياض الدقيقي على التفاح المتسبب عن الفطر *Podosphaera leucotricha* والذي يقاوم بشكل تام عن طريق رش المضاد الحيوي بتركيز ١٠٠ جزء في المليون ، على الأجزاء الخضرية في النبات .

٣- يمكن أن يستعمل في مقاومة مرض الدردار الهولندي Dutch elm Disease ، وذلك لأن هذا المضاد الحيوي ينتقل جهازياً داخل النبات .

٤- يمكن مقاومة معظم أمراض البياض الزغبي (بهذا المركب) خاصة في العنب .

٥- يمكن مقاومة معظم امراض البياض الدقيقي (بهذا المركب) خاصة في العنب .

٦- يمكن استعماله في مقاومة امراض الانثراكنوز في العنب .

٧- يمكن استعماله معاملة بذور ، خاصة حبوب الارز ، حيث أنه يقاوم بكفاءة كل من *Helminthosporium oryzae* و *Pyricularia oryzae* .

٨- يمكن استعماله في مقاومة مرض عفن الدبلوديا في المانجو وعفن الترناريا في الطماطم وعفن بنسليوم في التفاح وعفن سكلورتينا في الخوخ ، عفن بثيم في القرعيات . جميع هذه الاعفان تمت مقاومتها بكفاءة باستعمال هذا المضاد الحيوي .

٩- كذلك يمكن مقاومة امراض التخطيط في الشعير المتسببة عن الفطر *H. gramineum* .

وجد أن هذا المضاد الحيوي يساعد في تشجيع نمو النبات وتقويته .

٢- Agrimycin - 100

يتركب هذا المضاد الحيوي من ١٥٪ كبريتات الستربتومايسين و ١-٥٪ ترامسين . اما المركب اجرومايسين ٥٠٠ ، فهو يتركب من ١,٧٥٪ كبريتات الستربتومايسين ، ٠,١٨٪ تراميسين و ٤٢,٤٪ نحاس معدني .

لقد تم استعمال هذا المضاد الحيوي في مقاومة الأمراض البكتيرية في النبات مثل :

(١) *Erwinia amylovora* ، (٢) ومرض اللفحة الهالية في الفاصوليا المتسبب عن *Pseudomonas phoseolicola* ، (٣) كذلك مرض تقرح الحمضيات المتسبب عن *Xanthomonas citri* ، (٤) كذلك لفحة البادرات وتبقع الأوراق ومرض الذراع الأسود في القطن المتسبب عن *Xanthomonas malvacearum* . (٥) والعفن الطري والقدم السوداء في البطاطس المتسبب عن البكتيريا *Erwinia carotovora* .

٣- Antimycin

يعتبر هذا المضاد الحيوي من مجموعة المضادات الحيوية التي تسمى Macrolactone . ينتج بواسطة عديد من أنواع الجنس *Streptomyces* منها *S. kitasawensis* و *S. griseus* . هـذا المضاد الحيوي متخصص للفطريات فقـــط . ولقد وجد بأنه يقاوم الأمراض الآتية :

١- مرض اللفحة المكبرة في الطماطم .

٢- مرض لفحة البادرات في الشوفان المتسببة عن الجنس *Helminthosporium* .

٣- مرض لفحة الارز المتسببة عن *Pyricularia oryzae* .

هذا المضاد الحيوي يسبب سمية للنبات إذا زاد تركيزه عن الحد الموصي به .

٤- Thiolutin

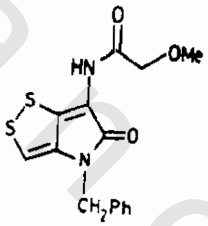
هـذا المضـاد الحيـوي تابـع لمجموعة Pyrothin وهـو قابل للذوبان في الماء ، يمكن الحصـول عليه مـن مزارع *S. albus* . هذا المركب ومثيلاته مثل Holomycin ، Aureothricin ، وجد أن لها تأثير كبير على الفطريات الآتية :

1- *Puccinia recondita* . 2- *Venturia inaequalis*

3- *Pyricularia oryzae* . 4-*Cercospora arachidicola* .

5- *Plasmopara viticola.*

وجد أنه يقاوم مرض اللفحة المتأخرة في البطاطس ومرض البياض الزغبي في نبات البروكلي المتسبب عن الفطر *Peronospora parasitica* .



(شكل رقم ٨١) المضاد الحيوي Thiolutin

٥- Pentaene G-8

كان أول اكتشاف لهذا المضاد الحيوي سنة ١٩٦٦ ، وهو مضاد متخصص ضد الفطريات ويستخلص من مزرعة *S. anandii* وهو يتبع مجموعة Eurocidin group of pentaene . من أهم الفطريات التي يقاومها هذا المضاد الحيوي هي :

1- *Colletotrichum* sp. 2- *Helminthosporium* sp.

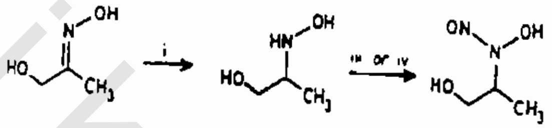
3- *Puccinia* sp.

obeikandl.com

يسبب هذا المضاد الحيوي تثبيطاً كاملاً للفطريات الكامنة في بذور فلفل الشطة .

٦- Propanosine

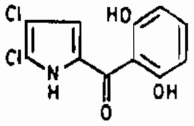
يسمى هذا المضاد الحيوي Nitrosofungin ، يمكن عزله من مزارع مخلوطة من *S.* plicatus UC 8272 ، والجنس البكتيري (UC 9152) *Alcaligenes* بالإضافة لراشح *Micromonospora chalcea* (671 - AV_2) . لهذا المضاد الحيوي تأثير عال ضد الفطر *Valsa ceratosperma* الذي يسبب مرض تقرح التفاح .



(شكل رقم ٨٢) المضاد الحيوي Propanosine

٧- Pyoluteorin

يعزل هذا المضاد الحيوي من مزرعة T-35q *Pseudomonas aeruginosa* . وهو فعال ضد الفطر *Phytophthora infestans* بتركيز ١٠ جزء في المليون (شكل ٨٣) .



(شكل رقم ٨٣) المضاد الحيوي Pyoluteorin

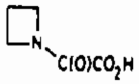
٨- SF - 2185

هذا المضاد الحيوي بديل للمضاد الحيوي Azetidine يعزل من مزارع الاكتينومايستس المعروف باسم *Dactylosporangium aurantiacum* subsp. *gifuense* هذا المضاد الحيوي فعال ضد الكائنات الممرضة النباتية خاصة الفطر المسبب للبياض الزغبي في الخيار ومسبب لفحة الارز (شكل ٨٤) .

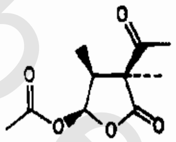
openkandil.com

٩- Acetomycin

ينتج هذا المضاد الحيوي بواسطة السلالة (Tu34) *Streptomyces ramulosus* . فعال ضد كل من *Botrytis cinerea* و *Pyricularia oryzae* .



(شكل رقم ٨٤)
المضاد الحيوي SF - 2185



(شكل رقم ٨٥)
المضاد الحيوي Acetomycin

obeikandl.com

مجموعة Butyrolactones الجديدة

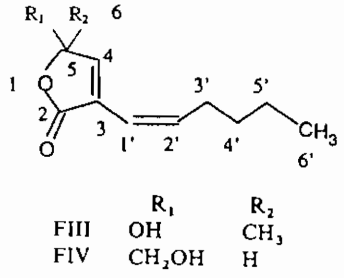
المضادات الحيوية المنتجة بواسطة بكتيريا التربة الجنس *Pseudomonas* ، تعتبر من أهم الدعائم التي يعتمد عليها هذا الجنس في المقاومة الحيوية ، لكثير من الأمراض المتسببة عن فطريات كامنة في التربة . هناك سلالة واحدة من هذا الجنس يمكن أن تنتج عدة مضادات حيوية مختلفة . وبالمثل هناك أعداداً كثيرة من المضادات الحيوية قد عرفت وحددت بأنها تفرز من قبل سلالات مختلفة من هذا الجنس . إن السلالة CHAO و Pf-5 من البكتيريا *P. fluorescens* تفرز بعض المركبات الكيماوية مثل 2 , 4-diacetyl phloroglucinol والمركب Pyoluteorin وسيانيد الهيدروجين . ولقد وجد Keel *et al* سنة ١٩٩٦ أن البناء الحيوي للمركب الأول واسع الإنتشار بين أفراد هذا الجنس . هناك أنواع أخري من المضادات الحيوية تنتج بواسطة هذا الجني منها Pyrrolni , Phenazines و Oomycin A . لقد إختبرت السلالة 28 - 63 من البكتيريا *Pseudomonas aureofaciens* كعامل مقاومة حيوية فعال ، لوقاية وتحسين إنتاج الحاصلات النباتية في الصوبا الزجاجية ، خاصة الطماطم . عندما تنمو هذه البكتيريا في البيئة الغذائية ، فإنها تثبط نمو كل من *Pythium ultimum* ، *Phytophthora cryptogea* و *Cladosporium herbarum* ولا تؤثر على *R. solani* .

هناك نوعين جديدين من المضادات الحيوية تفرزهما السلالة 28 - 63 *P. aureofaciens* هذه المضادات هي :

1- Z-4- hydroxy-4-methyl-2- (1-hexenyl)-2- butenolide.

2- Z-4- hydroxymethyl-2- (1-hexenyl)-2- butenolide.

يطلق على الأول FIII ويطلق على الثاني FIV والصيغة الكيميائية المجملة لهذين المركبين هي $C_{11}H16O_3$. وكان أول من حدد تركيبهما Gamard *et al* سنة ١٩٩٧ .



(شكل رقم ٨٦) تركيب المضادين FIII FIV

جدول رقم ١٣٥ تأثير استعمال المضادين FIII و FIV على نمو بعض الفطريات في المعمل . مساحة التثبيط ملم

P. cryptogea	*R. solani*	*P. ultimum*	المضاد الحيوي
٩	صفر	٧, −	F. III
٧	صفر	٨, −	F. IV

أما بالنسبة لاستعمال هذين المضادين خارج المعمل ، لا تزال قيد الدراسة ولم نحصل على أي أبحاث أخرى ، تقرر استعمالها لا في الصوبا الزجاجية ولا في المعمل .

الفصل الثاني عشر
دراسة موسعة لبعض المضادات الحيوية
أولاً: Agri - Mycin 17

الصفات الكيميائية :

ينتج هذا المضاد الحيوى تحت اسم Agri - Mycin 17 Agricultural streptomycin ويأخذ رقم منتج صناعى A-10445 A . تبلغ نسبة المادة الفعالة فيه ٢٢,٤٪ كبريتات الستربتومايسين .

الاسم الكيميائى :

O - 2 - deoxy - 2 - methylamino - alpha - L - glucopyranosyl - (1- >2) - O - deoxy - 3 - C - formyl - alpha - L - lyxofuranosyl - (1->4) - N3 , N3 - diamidino - D - streptamine - sulfate (2 : 3)

صفات المركب :

أولاً:

مضاد حيوي يستعمل في الزراعة ، لمقاومة الأمراض البكتيرية ، في النباتات . إذا تناوله الإنسان عن طريق الفم ، لا يؤخذ له مضاد للسم ولكن يمكن غسل المعدة ، وذلك عن طريق اعطاء المريض مادة مقيئة ، وإذا فقد المريض وعية ، يمكن استمرار اعطاءه ماءً حتى تفرغ معدته . إذا دخل هذا المركب العين ، تغرق العين بالماء عدة مرات ولا يستعمل أي مواد طبية فى العين . إذا حدث تلوث للجلد يغسل الجلد عدة مرات بالماء والصابون ، بحيث يتخلل الغسيل تحت الشعر وتحت الأظافر ولا يستعمل أي مادة طبية ، يجب استبعاد الملابس التي تلوثت بالمضاد الحيوي .

ثانيا: صفات اخري :

١- اللون : أحوى Tan

٢- الرائحة : تشبه رائحة المواد المختمرة .

٣- نقطة الانصهار : لم تحدد بدقة لغاية ١٩٩٩ .

٤- نقطة الغليان : لم تحدد .

٥- الكثافة النوعية : ١ غرام / مل .

٦- درجة الحموضة : pH 4.67

٧- قابليته للذوبان في الماء : لم تحدد درجة قابليته للذوبان فى الماء .

٨- سرعة التحول : ثابت .

٩- مدة التخزين : يجب أن يخزن في أوعية مقفلة بعيداً عن الرطوبة وبعيداً عن الأحماض القوية والقواعد القوية .

١٠- السمية : غير سام للإنسان ولا للحيوان حتى بعد تناوله وهضمه .

١١- الجرعة المميتة ٥٠٪ : بالنسبة للفئران أكبر من خمسة غرام / كيلو غرام وزن .

١٢- الاضرار على الجلد : قليل السمية على الجلد .

١٣- الجرعة ٥٠٪ السامة للجلد : ٢ غرام / كيلو وزن بالنسبة للفئران .

١٤- تناوله عن طريق الاستنشاق : سام قليلاً .

١٥- السمية ٥٠٪ عن طريق الاستنشاق = أكبر من ٢,٧٢ ملغ / كيلو في مكان محكم لمدة ٤ ساعات .

١٦- سميته للعين : يسبب تهيج كبير للعين عند ملامستها ، وتهيج بسيط عن ملامسته الجفون .

١٧- الاحتياطات اللازمة عند الاستعمال : لا يضاف هذا المركب ضمن أى نظام ري ولا يستعمل بأى طريقة يكون بها ملامساً لأيدى العمال أو المراقبين بطريقة مباشرة أو غير مباشرة . يمكن وقاية الايدي أثناء العمليات الزراعية بحيث تغطي الأيدي بلباس مطاطي . يجب أن يكون الرش بعيداً عن العامل مسافة ١٧٠ سم على الأقل . يجب عدم دخول أي شخص إلى البستان الذى قد تم رشه لمدة ١٢ ساعة على الأقل .

طريقة التحضير :

١- للحصول على محضر بتركيز ٥٠ جزء في المليون ، يضاف ٢ أونس في ٥٠ جالون ماء أو ٤ أونس في ١٠٠ جالون ماء أو ٢٠ أونس في ٥٠٠ جالون ماء .

٢- للحصول على محضر بتركيز ٦٠ جزء في المليون ، يضاف ٢,٤ أونس في ٥٠ جالون ماء أو ٤,٨ أونس في ١٠٠ جالون ماء أو $\frac{١}{٢}$ ١ ليبره في ٥٠٠ جالون ماء .

٣- للحصول على محضر بتركيز ١٠٠ جزء في المليون ، يضاف ٤ أونس في ٥٠ جالون ماء ، أو $\frac{١}{٢}$ ليبرة في ١٠٠ جالون ماء أو ٢,٥ ليبرة في ٥٠٠ جالون ماء .

٤- للحصول على محضر تركيز ٢٠٠ جزء في المليون يضاف ٠,٥ ليبرة في ٥٠ جالون ماء أو واحد ليبرة في ١٠٠ جالون ماء أو ٥ ليبرة في ٥٠٠ جالون ماء .

استعمال المركب في العمليات الزراعية :

يبين جدول رقم ١٣٥ العمليات التي يستعمل فيها هذا المركب .

جدول رقم ١٣٨ : يبين استعمال المضاد الحيوي ستربتومايسين يستعمل تجارياً تحت اسم Novartis أو Maxim ، يجب أخذ الاحتياطات اللازمة عند الرش كما هو الحال عند استعمال أي مبيد فطري .

اسم المرض والنبات	التركيز الموصى به	طريقة الاستعمال
١- اللفحة البكيترية في الكرفس	٢٠٠ جزء في المليون	ترش النباتات أول مرة عندما تكون البادرات تحمل ورقتين ، أو عندما تظهر الأوراق الحقيقية الأولى . بعد ٤ - ٥ أيام ترش النباتات ثانية وتكرر الرشاشات بعد خمسة أيام حتى تنقل النباتات إلى الحقل .
٢- عفن الورقة البكتيري في الـ Philodendron	٢٠٠ جزء في المليون	يبدأ الرش عند ظهور أول أعراض البقع المائية على سطح الورقة ، ثم يكرر الرش كل ٤ - ٥ أيام حتى نهاية النضج . أما للمعالجة يجب إزالة جميع الأوراق المتعفنة عن النبات ، ثم يرش النبات كل ٤ أيام مرة .

٣- التبقع البكتيري في الطماطم والفلفل .	٢٠٠ جزء في المليون	تكون الرشة الأولى عندما تصبح البادرات في الطور الورقي الثاني أو عندما تبدأ الأوراق الحقيقية في الظهور ، ثم بعد ذلك ترش البادرات كل ٤ - ٥ أيام مرة ويستمر ذلك حتى تنقل النباتات إلى الحقل .
٤- تعفن الساق البكتيري في عقل Dieffenbac-hia	٢٠٠ جزء في المليون	تنقع العقل في محلول المضاد الحيوي ستربتومايسين لمدة ٢٠ دقيقة ثم توضع العقل في مراقد ذات بيئة معقمة للتجذير .
	١٠٠ جزء في المليون	يستعمل لوقف إنتشار عفن الساق في نباتات الأصل . يستعمل هذا التركيز رشاً كل ٥ - ٧ أيام .
٥- الذبول البكتيري في الأقحوان	٥٠ جزء في المليون	تنقع العقل النباتية في هذا المحلول لمدة ٤ ساعات ثم تزرع كالمعتاد .
٦- التدرن التاجى في الورد .	٢٠٠ جزء في المليون	أولاً تستبعد النباتات المصابة . تقطع أنسجة التدرن ، ينقع الجهاز الجذري للنبات والسطوح المقطوعة من المناطق المصابة في محلول الستربتومايسين لمدة ١٥ دقيقة . يعاد زراعة الورد في الأراضي الخالية من مسبب المرض .
	٥٠ جزء في المليون	يستعمل هذا المحلول في ماء الري وفي الرش علي المجموع الخضري أسبوعياً ويبدأ بعد الزراعة باسبوع ، وذلك كاجراء مساعد لهذه العملية .
٧- اللفحة النارية في الكمثرى بشكل عام .	٢٤ - ٤٨ أونس لكل أكار في المعاملة الواحدة	ترش الأشجار عند ظهور ٢٠ - ٣٠٪ من الأزهار . ترش الأشجار بعد ذلك كل ٤ أيام خلال فترة التزهير . بعد سقوط بتلات الأزهار كلية ترش الأشجار كل ١٢ يوم مرة وذلك لمنع اصابة الفريعات الصغيرة . هذا يعني أننا نحتاج من ٦ - ٨ رشات بعد تمام سقوط بتلات الأزهار . يجب التوقف عن الرش قبل جمع الثمار بمدة ٣٠ يوم على الأقل .

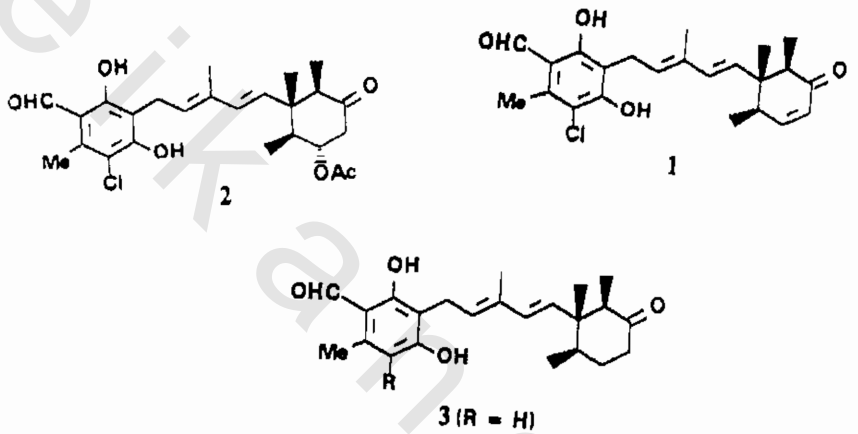
٨- اللفحة النارية في أفراد أخري من العائلة الوردية .	١٠٠ جزء في المليون	يستعمل محلول الستربتومايسين رشاً على المجموع الخضري والازهار ، تبدأ الرشة الأولى عند إبتداء فترة التزهير . يستمر الرش كل ٤ أيام خلال فترة التزهير . تجرى رشات مكملة بمعدل رشة كل ٦ أيام بعد تمام فترة التزهير، عندما يكون الطقس ملائماً لانتشار مرض اللفحة النارية . يجب التوقف عن الرش بعد تمام تكون الثمار ووصولها إلى المرحلة الثانية من النمو .
٩- اللفحة النارية في الكمثرى في المناطق الباردة .	٢٨,٨ أونس لكل أكار في الرشة الواحدة	يبدأ الرش عند ظهور ١٠٪ من الازهار ، يكرر الرش على فترات كل ٥ أيام مرة حتى ينتهي الأزهار تماماً . هذا يعنى أننا نحتاج إلى ١٣ رشة . ثم بعد ذلك يستمر الرش بمعدل رشة كل أسبوع وذلك لمقاومة أصابة الفروع الصغيرة والثمار . يجب التوقف عن الرش قبل جمع الثمار بمدة ٣٠ يوم على الأقل .
١٠- اللفحة النارية في التفاح في المناطق الباردة .	٢٨,٨ أونس لكل أكار في الرشة الواحدة	تبدأ الرشة الأولى بعد تمام التزهير ، ثم بعد ذلك ترش الأزهار بعد سقوط البتلات ، ثم رشه أخرى في الطور المتأخر من التزهير ، يستمر الرش بعذ ذلك كل ٦ أيام للمحافظة على مقاومة المرض ، يجب التوقف عن الرش قبل جمع الثمار بمدة خمسون يوماً .
١١- اللفحة النارية في التفاح في المناطق المعتدلة .	٢٤-٤٨ أونس لكل أكار في الرشة الواحدة	ترش الأشجار بعد ظهور الأزهار بنسبة ٢٠ - ٣٠٪ ثم بعد ذلك ترش الأشجار كل ٤ أيام خلال فترة التزهير . بعد سقوط بتلات الازهار ترش الأشجار كل ١٠ - ١٤ يوم مرة وذلك لمقاومة اصابة الفروع الصغيرة . هذا يعني أننا نحتاج ٦ - ٨ رشات في الموسم (بعد تمام الأزهار) . يجب التوقف عن الرش قبل جمع المحصول بمدة ٥٠ يوم على الأقل .

obeikandl.com

١٢- العفن الطري والقدم السوداء في البطاطس .	١٠٠ جزء في المليون	تنقع قطع تقاوي البطاطس في محلول الستربتومايسين لعدة دقائق ثم تزرع كالمعتاد . يمكن استعمال المبيد الفطري المناسب مثل ماكسم أو الكابتان وذلك لوقاية تقاوي البطاطس . تعتبر هذه المعاملة مكملة لمعاملة استعمال المضاد الحيوي وذلك لمقاومة الأمراض الفطرية المرافقة لقطع تقاوي البطاطس .
١٣- اللفحة النارية والعفن الأزرق في الدخان .	١٠٠ جزء في المليون معاملة منع ٢٠٠ جزء في المليون للمعالجة	ترش النباتات بتركيز ١٠٠ جزء في المليون وذلك اجراء وقائى . تبدأ الرشة الأولى عندما تكون النباتات في الطور الورقي الثاني أو عندما تكون فى طول ١٠ سم ، أو عندما يبدأ ظهور العفن الازرق في المنطقة . يكرر الرش على فترات ٥ - ٧ أيام حتى تستقر النباتات في الحقل . يمكن أن يكون هناك وقاية اضافية يمكن الحصول عليها عن طريق رش النباتات في الحقل بمحلول المضاد الحيوي تركيز ١٠٠ جزء في المليون أسبوعياً في المناطق التي تكون فيها اللفحة النارية في الدخان تسبب مشكلة ، في بعض السنوات الأخيرة ، أو عندما يتأخر الرش بالمضاد الحيوي حتى ظهور المرض . يجب استعمال محلول المضاد الحيوي بتركيز ٢٠٠ جزء في المليون . يستمر الرش اسبوعياً حتى يختفى المرض تماماً .

ثانياً : المضاد الحيوى Ilicicolins

يعزل هذا المضاد الحيوي من مزرعة المرق المختمر للفطر .*Nectria* sp السلالة -HILY 903333 . يعـزل هذا الفطر من التربة وتجرى عليه عمليات الانبات والتنمية في المرق المختمر . ثم تجرى عمليات التحليل . ولقد تم فصل هذا المضاد الحيوي وعرف تركيبه الكيماوي بالتفصيل ويظهر كما هو في (شكل ٨٧) ، حيث أن له أربعة أشكال وذلك حسب قيمة الجذر R .



شكل رقم ٨٧ : الأوضاع الأربعة للمضاد الحيوي Ilicicolins

أجريت تجارب لمعرفة تأثير هذا المضاد على اصابة نباتات الطماطم بالفطر -*Phytophtho ra infestans* . رشت نباتات الطماطم بالمادة المختمرة الذائبة (ماء + ميثانول بنسبة ١/١ بالجم) مضافاً إليها مادة مبللة Tween 20 بنسبة ٢٥ غرام / لتر . بعد الرش بمدة ٢٤ ساعة حقنت نباتات الطماطم بالجراثيم الاسبورانجية للفطر الممرض . وضعت النباتات المحقونة فى الظلام لمدة ٢٤ ساعة على حرارة ١٧ – ١٨°م ورطوبة نسبية ١٠٠٪ ، ثم بعد ذلك نقلت إلى الصوبا الزجاجية على نفس درجة الحرارة ، ولكن خفضت الرطوبة النسبية إلى ٩٠٪ واضاءة ١٢ ساعة يومياً . قدرت شدة المرض بعد ٦ أيام من الحقن . استعمل مقياس كفاءة المضاد الحيوي من ١–٣ حيث أن رقم ١ ضعيف الكفاءة ورقم ٣ جيد الكفاءة . اعراض المرض تراوحت من تجعد في الأوراق إلى بقع نكروتك على الأوراق والساق .

أجريت تجارب على سبعة كائنات ممرضة نباتية باستعمال نفس المحلول ، إلا أنه في حالة الفطرين *B. cinerea* و *Plasmopara viticola* . استعمل تركيز بنسبة (٦ + ٤) ماء وايثانول ، ودرست النتائج .

أظهرت النتائج كما في جدول رقم ١٣٦ بأن هذا المضاد الحيوي ، أعطى كفاءة عالية في التأثير على فطر اللفحة المتأخرة ، وفي تجارب أخرى أظهر أن له تأثير على الفطريات البيضية لكثير من مسببات امراض النبات .

جدول رقم ١٣٦ : كفاءة المضاد الحيوي Ilicicolins بأشكاله الثلاثة ضد الفطر الممرض ***P. infestans***

الجرعة غرام / لتر	كفاءة المضاد الحيوي بأشكاله الثلاثة		
	E_1	F_2	D_4
٥	٣	٣	٣
٢,٥	٣	٣	٣
١,٢٥	٣	٣	٣

ملاحظات على الجدول : تقدر كفاءة المضاد الحيوي على أساس ثلاثة درجات ١ = ضعيف ٢ = متوسط ، ٣ = جيد .

جدول رقم ١٣٧ : كفاءة نوعين من مركب Ilicicolins على فطريات مختلفة

الكائن الممرض	العائل	الجرعة غرام/لتر	المضاد الحيوي E	المضاد الحيوي F
Phytophthora infestans	طماطم	٥, –	٢	٣
Phytophthora infestans	طماطم	٠,٥	٢	٣
Plasmopara viticola	عنب	٥, –	٣	٣
Plasmopara viticola	عنب	٠,٥	٣	٢
E. graminis f. sp. *tritici*	قمح	٥, –	١	١
E. graminis f. sp. *tritici*	قمح	٠,٥	١	١
Magnaporthe grisea	ارز	٥, –	٢	٢
Magnaporthe grisea	ارز	٠,٥	١	١

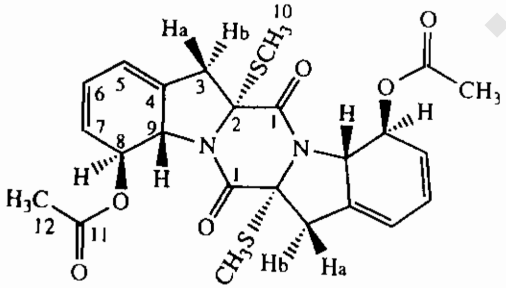
obeikandi.com

تابع جدول رقم ١٤٠

Pellicularia sasakii	ارز	٥, –	٢	١
Pellicularia sasakii	ارز	٠,٥	١	١
Botrytis cinerea	طماطم	٥, –	١	١
Botrytis cinerea	طماطم	٠,٥	١	١
Stagonospora nodorum	قمح	٥, –	٢	٢
Stagonospora nodorum	قمح	– ٠,٥	١	١

ثالثا : Haematocin

يعزل هذا المضاد الحيوي من المزرعة المختمرة للفطر *Nectria haematococca* . هذا الفطر يسبب مرض لفحة بادرات بعض نباتات الزينة . العزلة المتخصصة من هذا الفطر هي (1- a 880701) . هذا المضاد الحيوي مضاد للفطريات وهو ذو تركيب كيماوي معقد كما (في شكل ٨٨) . ويتميز بالصفات الآتية : هو مسحوق أبيض اللون ينصهر على حرارة ٩٧,٥ – ١٠١,٢°م . تركيبه الكيماوي $C_{24}\ H_{26}\ O_6\ N_2\ S_2$ وهو عبارة عن جزئ متناظر جانبياً . عند إجراء الاختبارات لمعرفة تأثير هذا المضاد الحيوي على الفطر *Pyricularia oryzae* ، تبين أن هذا المضاد يثبط إثبات الجراثيم وكذلك يثبط استطالة أنبوبة الإنبات في الجراثيم بنسبة عالية . كذلك وجد بأنه يوقف اصابة بادرات الكرنب الصيني والارز بكثير من الأمراض وذلك في التجارب المعملية .



شكل ٨٨ : **Haematocin**

رابعاً : تايمنتين Timentin

لقد استخدم هذا المضاد الحيوي بشكل واسع في معالجة الإنسان والحيوان ، وذلك لتثبيط أنواع مختلفة من البكتيريا السالبة والموجبة لصبغة غرام . وهو عبارة عن خليط من حمض Ticarcillin و Clavulanic . يستعمل عادة بمعدل (٥٠ : ١) جم / جم من الحمض الأول والحمض الثاني ، يعتبر المركب Ticarcillin مركب نصف مصنع من البنسلين، وهو يشبه البنسلين من حيث حساسيته . يصبح غير فعال بواسطة B-lactamases المنتج بواسطة أنواع كثيرة من البكتيريا . يمكن تخطي هذه المشكلة عن طريق اضافة حمض Clavulanic ، حيث أن لهذا الحمض كفاءة عالية في تثبيط فعل B-lactamase . أثبتت التجارب العديدة على الانسان والحيوان أن الاتحاد بين كلا الحمضين Ticarcillin و Clavulanic acid فعال وتأثيره آمن ويستعمل ضد مجال واسع من الاصابة البكتيرية .

أما في النباتات ، فقد استعمل كل من الـ Ticarcillin والتايمنتين لتثبيط نمو البكتيريا الجهازية في مزارع النسج ، ويثبط الجنس البكتيري أجروبكتيريم المحول وراثياً .

كما هو معروف فإن التايمنتين هو خليط من حمض Ticarcillin و Clavulanic . لقد وجد أنه على تركيز ٢٠٠ - ٥٠٠ ملغ / لتر بمعدل ٥٠ : ١ و ١٠٠ : ١ من هذين المركبين (Cla : Tic) فان له تأثيراً قليلاً على اعادة توليد الأفرع في الدخان أو الدردار . إن كفاءة التايمنتين في تثبيط *A. tumefaciens* كما هو الحال في كفاءه كل من Carbenicillin و Cefatoxime بتركيزات شائعة .

إن السلالة البكتيرية LBA 4404 المحولة وراثياً والمنزوع منها جين القدرة المرضة من البكتيريا *A. tumefaciens* والموجودة في نسيج ورقة الدخان المحقونة ، أصبحت غير موجودة بعد ثلاثة مرات من معاملتها بالمضاد الحيوي تايمنتين بمعدل ٥٠٠ ملغ/لتر أو تايمنتين ٣٠٠ ملغ/لتر أو ٢٥٠ ملغ/لتر Carbenicillin .

يبقى المضاد الحيوي تايمنتين موجوداً وثابتاً في بيئة الاجار الصلب ويبقى فعال على الأقل لمدة ٧٠ يوم . يصبح هذا المركب غير ثابت إذا ما خزن كمزيج محلول أو على شكل Ticarcillin و Clavulanic acid منفصلين على حرارة (- ٢٠ْم) أو (- ٨ْ) لمدة ٤ أسابيع .

يمكن القول بان المضاد الحيوي تايمنتين مضاد حيوي بديل لتثبيط بكتيريا التدرن التاجي *A. tumefaciens* المحولة وراثياً .

obeikandl.com

خامساً : Gopalamicin

هذا المركب مضاد حيوي ضد الفطريات ، يعزل من بيئة المرق المغذي المختمر للسلالتين MSU-616 و MSU-625 ، للكائن الكامن في التربة *Streptomyces hygroscopicus* . الصيغة الكيميائية لهذا المضاد الحيوي هي : $C_{54} H_{88} O_{18}$ 2 MeOH . درجة الانصهار ١٥٦ – ١٥٧°م .

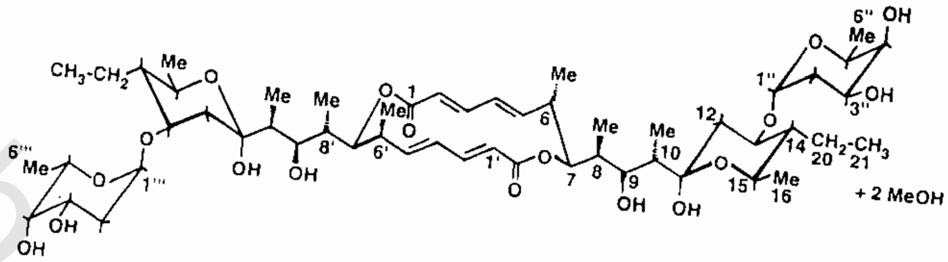
درس تأثير هذا المضاد الحيوي ضد كثير من الفطريات ، في المعمل وفي الصوبا الزجاجية . بالنسبة لتجارب المعمل وجد أن ١٦ ميكروغرام/مل من هذا المضاد الحيوي هو أقل تركيز يثبط كلية الفطريات الآتية (في البيئة الغذائية) :

1- *Aspergillus fumigatus* .
2- *A. flavus* .
3- *A. niger* .
4- *Candida albicans* .
5- *Alternaria solani* .
6- *Fusarium oxysporum* .
7- *Fusarium moniliforme* .

أما الفطريات الآتية فكان أقل تركيز لتثبيطها كلية هو ١٢ ميكروغرام/مل . هذه الفطريات هي :

1- *Pythium ultimum* .
2- *Phialophora graminicola* .
3- *Leptosphaeria korrae* .

أما بالنسبة لتجارب الصوبا الزجاجية ، يبين (جدول رقم ١٣٨) أن أفضل كفاءة لهذا المضاد الحيوي ، هي مقاومة مرض البياض الزغبي في عنب الخمور المتسبب عن الفطر *Plasmopara vitlcola* على تركيز ٥٠٠ جزء فى المليون رشاً على الأوراق . اما على تركيز ٢٥٠ و ١٦ جزء في المليون فكان يحسب معدل الاصابة (٦ و ٣) على الترتيب . وبالمثل بالنسبة للفطر *Pyricularia oryzae* فقد تم تثبيط هذا الفطر بهذا المضاد الحيوي بتركيز ٥٠٠ و ١٦ جزء في المليون بمعدل ٥ ، ٤ بالترتيب رشاً .



شكل ٨٩ : المضاد الحيوي Gopalamicin

كانت تعامل النباتات بالمضاد الحيوي قبل أو بعد الحقن بالفطر الممرض . ثم بعد ثمانية أيام من الرش بالمضاد الحيوي ، كانت تحقن النباتات بالفطر الممرض ، وذلك عن طريق رشها بمعلق الجراثيم الهدبية بتركيز $١٠^{٣}$ وحدة تكوين مستعمرات/مل ، ثم بعد ذلك توضع النباتات في الصوبا الزجاجية لمدة يومين على حرارة ٢٠ - ٢٣°م ورطوبة نسبية ٨٥٪ . بعد ثمانية أيام كانت تحسب درجة الاصابة (تقدر درجة الاصابة على مقياس من صفر - ٨) . حيث أن صفر اصابة كاملة اما ٨ بدون اصابة .

جدول رقم : ١٣٨ تأثير استعمال المضاد الحيوي جوبلامايسين بتركيز ألف جزء في المليون علي بعض أمراض النبات

اسم الكائن الممرض	اسم المرض	المحصول	نوع المعاملة	درجة تأثير المضاد الحيوي
Botrytis cinerea	العفن الرمادي	الفلفل	وقاية	٢
Erysiphe cichoracearum	البياض الدقيقي	الخيار	معالجة	٢
E. graminis tritici	البياض الدقيقي	القمح	وقاية	٥
Fusarium culmorum	العفن الفحمي	القمح	وقاية	٢
Plasmopara viticola	البياض الزغبي	العنب	وقاية	٧
Puccinia recondita	الصدأ البني	القمح	معالجة	٢
Pyricularia oryzae	لفحة الارز	الارز	وقاية	٥
Pyrenophora teres	البقعة الشبكية	الشعير	وقاية	٢

obeikandl.com

ملاحظات على الجدول : درجة تأثير المضاد الحيوي من صفر إلى ٨ حيث أن :

٨ = بدون اصابة كفاءة عالية جداً ، ٧ = كفاءة جيدة جداً حيث أن الاصابة ٥٪

٦ = اصابة ١٥٪ والكفاءة جيدة ، ٥ = الاصابة ٢٠٪ وكفاءة متوسطة ، ٤ = اصابة ٣٠٪ كفاءة منخفضة ، ٣ = اصابة ٥٠٪ كفاءة متوسطة ، ٢ = اصابة ٧٠٪ وكفاءة منخفضة جداً ١= اصابة ٨٠٪ كفاءة ضعيفة . صفر = اصابة ١٠٠٪ كاملة بدون كفاءة .

obeikandl.com

سادساً : المضاد الحيوى Ao 58 A

Glutarimide Antibiotic Streptimidone

مقدمة :

يعزل هذا المضاد الحيوي من بيئة المرق المختمر ، للسلالة *Micromonospora coerulea Ao 58* . اعتبر هذا الجنس من بداية التسعينيات بأنه واحداً من أهم المصادر في إنتاج المضادات الفطرية . هذا الجنس واسع الإنتشار في التربة في مختلف المناطق الجغرافية ، إلا أنه يبقى من أقل التجمعات التي تمثل الاكتينومايستس . كان أول اكتشاف بان هذا الجنس يكون مضادات حيوية سنة ١٩٦٤ ، حيث أثبت العلماء Weinstein *et al* ، أنه يمكن استخلاص المضاد الحيوى البكتيرى Gentamicin من كل من *M. echinospora,* *M. purpurea* . بعد ذلك استمرت الدراسة على هذا الجنس كمصدر للمضادات الحيوية . بعد ذلك اكتشف أن المضاد الحيوي Neomycin B ينتج بواسطة هذا الجنس وأنواع من الجنس *Streptomyces* .

يعتبر المضاد الحيوي Ao 58 A من مجموعة Glutarimide . تتميز هذه المجموعة بوجود حلقة Glutarimide حاملة سلسلة مفردة على الموقع رقم ٤ . حتى الآن لقد تم عزل حوالي عشرين مضاد حيوي من هذه المجموعة ، تابعة لأنواع مختلفة من الجنس *Streptomyces* . في معظم هذه الأفراد ، فان السلسلة الجانبية تنتهي بحلقة كاربوكسيل ، عادة تكون سايكلوهكسايل أو فينايل ، باستثناء المضاد الحيوي Streptimidone ، حيث أن سلسلته الجانبية تنتهى بـ Acyclic .

لقد ذكر بان هذه المجموعة فعالة ضد الفطريات ، حيث أنها تثبط بناء البروتين في مجال واسع من خلايا كثير من كائنات Eukaryotic ، لكنها لا تؤثر على أي من الـ Prokaryotes ولا الميتوكوندريا ولا الكلوروبلاست (من حيث بناء البروتين) . أكثر أفراد هذه المجموعة معرفة هو Cycloheximide ، الذي له تأثير كبير ضد الخمائر ، والفطريات الخيطية ، ويعطي فعالية كبيرة في مقاومة بعض أمراض النبات ، الا أن تأثيره السام على النبات (عند ارتفاع كمية الجرعة) قلل من استعماله كعامل معالج للأمراض النباتية . عزل المضاد الحيوي Ao 58 A من سلالة الاكتينومايستس Ao 58 ، من الأراضى الغدقة في

كوريا سنة ١٩٩٧ وتبين أن هذا المضاد الحيوي فعال مثل المضاد الحيوي Ao 58 ، المعزول سنة ١٩٨٤ من الأراضي الزراعية الطبعيية (شكل ٩١) .

المضاد الحيوى :

التركيب الكيماوي لهذا المضاد الحيوي كما هو في (شكل ٩٠) ويكتب باختصار $C_{16}H_{23}NO_4$ أما الاسم الكيماوي له فهو 4- (2 - hydroxy - 5,7 - dimethyl - 4 - oxo - 6 , 8 - nonadi - enyl) - 2,6 - piperidinedione . أقل تركيز من هذا المضاد الحيوي يثبط كلية (هذا الاصطلاح Minimum Inhibitory Concentration ويكتب باختصار MIC) كما هو في جدول رقم ١٣٩ .

يتبين أن نمو الميسيلوم للفطريات الخيطية المختبرة ، باستثناء :

1- *Fusarium f.sp. cucumerinum* . 2- *Colletotrichum destructans.*

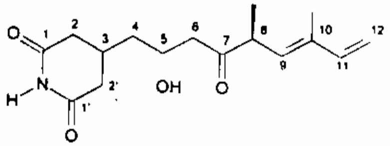
كان يثبط بشكل كبير جداً عند استعمال هذا المضاد الحيوي . بشكل خاص فان هذا المضاد الحيوي فعال جداً في تثبيط نمو الفطريات الآتية :

1- *B. cinerea* . 2- *D. bryoniae* . 3- *M. grisea* . 4- *P. capsici.*

أما الفطر *S. cerevisiae* فقد ثبط نموه على تركيزات منخفضة تصل ٣ ميكوغرام/مل . لقد وجد أن هذا المضاد الحيوي ليس له تأثير على كل من الكائنات الدقيقة الآتية (حتى على تركيز ٥٠٠ ميكروغرام/مل) .

1- *C. albicans* . 2- *B. subtilis* . 3- *P. solanacearum* .

4- *E. carotovora pv. carotovora* . 5- *X. campestris pv. vesicatoria.*



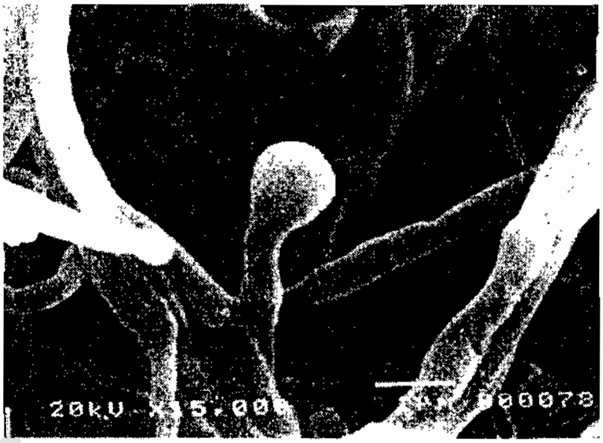
تركيب المضاد الحيوي Ao 58 A

شكل رقم ٩٠

جدول رقم ١٣٩ : أقل تركيز مثبط ، للكائنات الدقيقة المختلفة ، من المضاد الحيوي Ao 58 A بعد التحضين لمدة ٣ – ٥ أيام . يحسب التركيز المثبط ميكروغرام / مل .

الكائن الدقيق	التركيز المثبط
Alternaria mali	٥٠٠
Botrytis cinerea	١٠٠
Cladosporium cucumerinum	٣٠٠
Colletotrichum gloeosporioides	٥٠٠
F. oxysporum f. sp. cucumerinum	٥٠٠
Magnaporthe grisea	٥٠
Phytophthora capsici	٣٠
Rhizoctonia solani	٥٠
S. cerevisiae	٣, –

obeikandl.com



شكل رقم ٩١ : صورة بالميكروسكوب الالكتروني للشكل الخارجي لجراثيم السلالة Ao 58 المزروعة على بيئة آجار شوفان لمدة ٢١ يوم مقياس الرسم (١) ميكرومتر

عند مقارنة تأثير المضاد الحيوي **Ao 58 A** مع المبيدات الفطرية التجارية مثل Metalaxyl على مقاومة لفحة الفايتوفثورا في نباتات الفلفل ، تحت ظروف الصوبا الزجاجية . وجد أن المعاملة بتركيز ٥٠٠ ميكروغرام/مل من المركبين ، يثبط تكشف المرض علي نباتات الفلفل ، مقارنة مع نباتات الكنترول . وجد أن معاملة نباتات الفلفل بتركيز ٥ ملغرام/مل من كلا المركبين لم يظهر أية اعراض للمرض على سيقان النبات . إن كفاءة مقاومة مرض الفايتوفثورا على نبات الفلفل باستعمال المضاد الحيوي Ao 58 A ، بشكل عالم كان مقارباً إلى حد ما من كفاءة المبيد الفطري Metalaxyl . كذلك فإن المضاد الحيوي المذكور لم يسبب أية أعراض تسمم على نباتات الفلفل حتى عندما يستعمل بتركيز ٥ ملغرام/مل .

فى الدراسة الحقلية على المضاد الحيوي Ao 58 A والمبيد الفطري Vinclozolin لمقاومة الفطر *B. cinerea* على نباتات الخيار ، تبين أن كلا المركبين يظهر وقاية ضد الاصابة بالفطر الممرض على تركيز ٥٠٠ ميكروغرام/مل . أما عند المعاملة بتركيز ١٠٠٠ ميكروغرام/مل ، فإن كلا المركبين خفضا الاصابة بمرض العفن الرمادي (المتسبب عن الفطر *B.cinerea*) خفضاً معنوياً بالقياس إلى معاملة الكنترول . لقد وجد أن نسبة الاصابة على أوراق الخيار قد إنخفضت من ١٠٠٪ في الكنترول إلى ٢٠٪ في المعاملة . لم يظهر أية اعراض على أوراق الخيار المعاملة بتركيز ٥٠٠٠ ميكروغرام/مل في كل من المركبين .

obeikandl.com

أما بالنسبة لمقدرة هذا المضاد الحيوي في تثبيط تكشف مرض لفحة أوراق الارز . تبين أن الأعراض النموذجية لهذا المرض ، تبدأ في الظهور على أوراق الارز بعد ثلاثة أيام من حقنها بالكائن الممرض . عند استعمال المضاد الحيوي والمبيد الفطري Tricyclazole كل علـى إنفراد ، تبين أن كل منهما يثبط نمو الفطر الممرض *M. grisea* ويخفض اصابة الارز . إن استعمال كل من المركبين بتركيز ٥٠٠ ميكروغرام لكل مل ، كل لوحدة ، فانه يخفض بقع اللفحة على أوراق الارز ، الا أن التثبيط كان بنسبة اعلى في المعاملة بالمضاد الحيوي . لم يظهر أى أثر لاعراض المرض عند استعمال كل من المركبين (كل على حده) بتركيز ٥٠٠٠ ميكروغرام/مل . كما سبق وذكرنا فان المضاد الحيوي لم يسبب أية اعراض سامة للنبات .

من هذه النتائج ، نستطيع أن نستخلص ، أن المضاد الحيوي Ao 58 A يعطي كفاءة جيدة في مقاومة بعض أمراض النبات ، خاصة امراض الارز ، وهو لا يقل كفاءة عن بعض المبيدات الفطرية . لذا ينصح باستعماله مباشرة في الحقل .

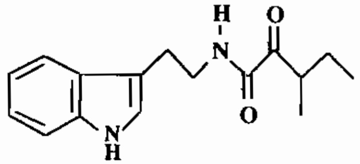
obeikandl.com

سابعاً : نيماتوفين Nematophin

يعزل هذا المضاد الحيوي من السلالة BC1 *Xenorhabdus nematophilus* . كذلك فانه يعزل من جميع سلالات *X.nematophilus* . يعتبر هذا الجنس البكتيري من ساكنات التربة ويعيش بطريقة تبادل منفعة ، مع جنس النيماتودا *Steinernema* . تنتج هذه البكتيريا مدى واسع من نواتج التمثيل التي لها تأثير ضد الميكروبات ، هذا ما ذكره Forst & Nealson سنة ١٩٩٦ ، عندما تتطفل على الحشرات والبيئة في المعمل .

هذه المضادات الميكروبية مجموعتين : الأولى تشمل إندولات ، Xenorhabdins والمركب Xenocoumacins . أما المجموعة الثانية فتشمل الشيتينيز والمركب Xenorhabdicin . المجموعة الأولى لها تأثير عال الفعالية ضد البكتيريا موجبة صبغة غرام وقليلة الفعالية ضد البكتيريا سالبة لصبغة غرام ، وبعضها يكون فعال أيضاً ضد الفطريات . أما المجموعة الثانية Xenorhabdicin عندها الخاصية الاختيارية ضد البكتيريا القريبة الشبه بالأنواع *Xenorhabdus* sp. . أما مركب chitinase فهو فعال ضد الفطريات .

يتركب هذا المضاد الحيوي من 3 - indoleethyl (3 - methyl - 2 - oxo) pentanamide كما في شكل رقم ٩٢ . ويتميز هذا المضاد الآتي .



شكل رقم ٩٢ . المضاد الحيوي

Nematophin

تركيب الجزئ C16 H20 N2 O2 . مظهره عبارة عن مسحوق أبيض إلى بني فاتح . يذوب في $CHCl_3$, $EtOA_c$, Me_2CO , Me OH ولا يذوب في الماء . له صفات أخرى فيزيائية وكيميائية كثيرة لا داعي لذكرها هنا . لهذا المضاد الحيوي تأثير قوي على الكائنات

الدقيقة في المعمل ولغاية ١٩٩٩ لم تجرى عليه تجارب في الحقل لمقاومة امراض النبات . (جدول رقم ١٤٠) .

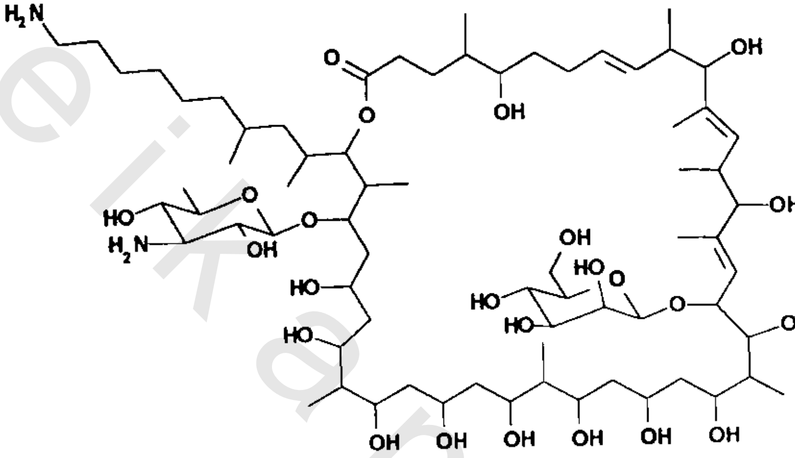
جدول رقم ١٤٠ : أقل تركيز مثبط كلية ، لبعض الكائنات الحية الدقيقة ، من المضاد الفطري نيماتوفين في المعمل ، يحسب التركيز ميكوغرام / مل .

الكائن الحي	أقل تركيز من المضاد الحيوي لازم للتثبيط الكلي
Bacillus subtilis	١٢
Staphy lococcus aureus 0012	١,٥
Aspergillus fumigatus ATCC 13073	أكبر من ١٠٠
A. flavus .	أكبر من ١٠٠
Botrytis cinerea	١٢
Phytophthora infestans	١٢
Candida tropicalis CBS 94	أكبر من ١٠٠
Micrococcus luteus	أكبر من ١٠٠

obeikandl.com

ثامناً : مايثمايسن Mathemycin A

يعزل هذا المضاد الحيوي من أنواع الاكتينومايستس HIL/Y-862059 . التركيب الكيماوي كما في شكل ٩٣ . المضاد الحيوي ذو لون أبيض ، صلب ، يذوب في الماء ، هيدروكسيد المنغنير وDMSO . درجة الانصهار ١٢٩ - ١٣١°م ، الوزن الجزيئي ١٣٩٦ (FAB - MS) الصيغة الكيميائية $C_{71}H_{132}N_2O_{24}$.



(1)

شكل رقم ٩٣ . المضاد الحيوي

Mathemycin A

درس تأثير هذا المضاد الحيوي على بعض الفطريات فى المعمل . وجد أن لهذا المضاد الحيوي درجة كفاءة عالية في تثبيط نمو كثير من الفطريات الممرضة النباتية ، كما هو في جدول رقم ١٤١ . تتراوح أقل قيمة لازمة للتثبيط الكلي للكائن الدقيق من ٧,٨ - ٦٢,٥ ملغ/لتر . وجد أن تأثيره على الفطر الممرض *Phytophthora infestans* يكون بتركيز ٧,٨ ملغ/لتر ، وبذلك يكون تأثيره أفضل من المبيد الفطري مانيب حيث أن هذا الأخير يستعمل بتركيز ١٢٥ ملغ/لتر ، والمانكوزب بنسبة ٦٢,٥/لتر . عند استعمال هذا المضاد الحيوي رشاً على نباتات الطماطم في الصوبا الزجاجية ، وجد أنه ذو فعالية عالية في مقاومة هذا المرض عند استعماله بتركيز ٥٠٠ جزء في المليون ، ويقارب مفعول المبيدات الفطرية المذكورة . يجب اجراء تجارب أخرى على هذا المركب لمعرفة امكانية استعماله في مقاومة أمراض النبات بشكل تجاري .

جـــدول رقم ١٤١ : تأثيـــر المضاد الحيـــوي مايتمايسن A ، في المعمل ، على بعض الكائنات الحية الدقيقة .

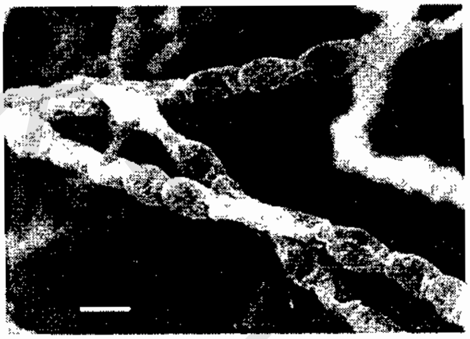
الكائن الحي المختبر	ملغ/لتر أقل تركيز يثبط نمو الكائن الممرض كلية
Fusarium culmorum	٣١,٢٥
Alternaria mali	١٥,٦٠
Botrytis cinerea	١٥,٦
Pellicularia sasakii	١٥,٦
Leptosphaeria nodorum	٣١,٢٥
Pyricularia oryzae	٣١,٢٥
Pseudocercosporella herpotrichoides	٦٢,٥
Phytophthora infestans	٧,٨

ملاحظـــات على الجدول : كانت تجرى التجارب على أساس استعمال قرص من الـــورق قطره ٦ ملم ويغرق في ٢٠ ميكولتر من محلول الاختبار ويجفف ويوضع فـــي البيئة الغذائيـــة . يظهر منطقة تثبيط بمقـــدار ١٠ ملم على الاجار . هـــذه طريقة قياس MAC .

obeikandl.com

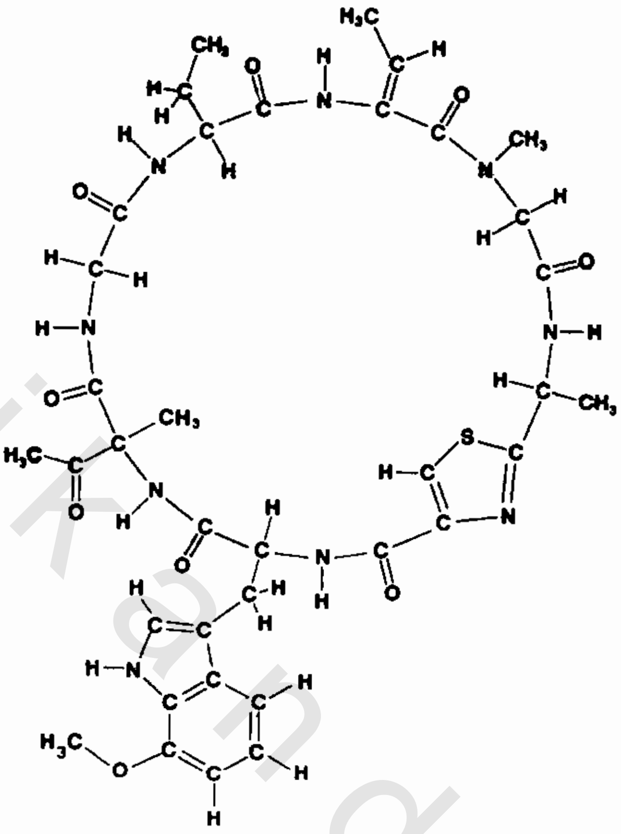
تاسعاً : زلكوفامايسين Zelkovamycin

يعزل هذا المضاد الحيوي من مزرعة المرق المختمر للسلالة (K96 - 0670) من الجنس *Streptomyces* . تركيب هذا المضاد الحيوي يشبه تركيب المضاد الحيوي CP - 21.635 المعزول من مزرعة الكائن *S. olivaceus* ، وهو يتكون من حلقة ببتيدية تحتوي ثيازول وتربتوفان محور . (الشكل رقم ٩٤) يبين سلسلة من جراثيم السلالة K96 - 0670 . أما شكل ٩٥ يبين تركيب المضاد الحيوي زلكوفامايسين .



شكل رقم ٩٤ . صورة بالميكروسكوب لسلسلة جراثيم السلالة K96 - 0670 النامية على بيئة غير عضوية من الاملاح ونشا وآجار لمدة ١٤ يوم . مسطرة القياس ١ ميكروميتر

obeikandi.com



شكل رقم ٩٥ . التركيب الكيماوي للمضاد الحيوي زلكوفامايسين

يظهر هذا المضاد الحيوي فعالية ضد بعض الكائنات الحية الدقيقة مثل *Xanthomonas oryzae* حيث أن منطقة التثبيط Inhibition Zone تساوي ٢٦ ملم . أما في *Acholepasma laidlawii* السلالة PG8 ، كانت منطقة التثبيط ١٩ ملم . أما في *Staphylococcus aureus* (FDA 209 P) كانت منطقة التثبيط ١٦ ملم . لم يكن هناك تأثير مضاد على كل من (جدول ١٤٢) .

1- *Pyricularia oryzae* . 2- *Micrococcus luteus* . 3- *B. subtilis* .
4- *E. coli*. 5- *Mycobacterium smegmatis* .
6- *S. cerevisiae*. 7- *Aspergillus niger*.
8- *Candida albicans* . 9- *Pseudomonas aeruginosa*.
10- *Mucor racemosus*.

obeikandl.com

وجد أن المضاد الحيوي يثبط بناء البروتينات في البكتيريا الموجبة لصبغة غرام .

جدول رقم ١٤٢ : يبين تأثير المضاد الحيوي على نمو بعض الكائنات الحية الدقيقة .

تركيز المضاد الحيوي ميكروغرام/ مل	٪ نسبة النمو مقاسة للكنترول في كل من الكائنات الحية			
	X. oryzae	*P. oryzae*	*S. aureus*	*A. laidlawii*
٠,٠١	٩٩	٩٨	٩٠	١٠٠
٠,١	٨٠	٩٠	٩٥	١٠٠
١, –	٥٠	٧٨	١٠٠	٩٠
١٠, –	٢	١٠	٣٠	--
١٠٠	١	٢	٢٠	--
٣٠٠	صفر	صفر	--	--

obeikandl.com

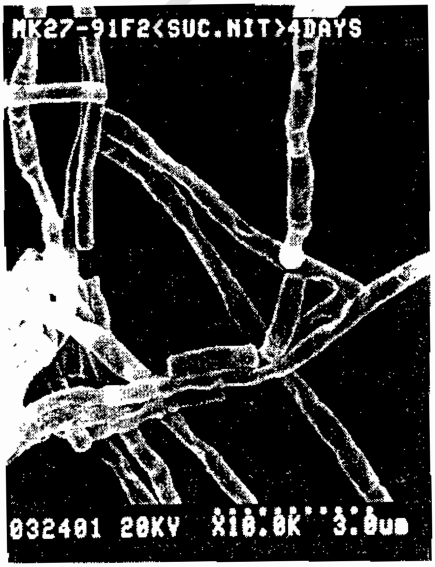
عاشراً : فورماميسين Formamicin

يعزل هذا المضاد الحيوي من المرق المختمر لمزرعة السلالة MK 27 - 91 F2 من الجنس *Saccharothrix* . يلاحظ نموها كما في (شكل ٩٦) . لها هيفات هوائية بيضاء إلى بنية أما ميسيليومات التكاثر فهي صفراء باهتة إلى صفراء بنية . لها جراثيم مستديرة ناعمة السطح ذات قياسات (٠,٣ – ٠,٥) × (١,١ – ١,٩) ميكروميتر .

التركيب الكيماوي للمضاد الحيوي $C_{44}\,H_{72}\,O_{13}$ وهو كما في (شكل ٩٧) . المركب لونه مصفر إلى باهت . درجة الانصهار ٢٠١ – ٢٠٢°م .

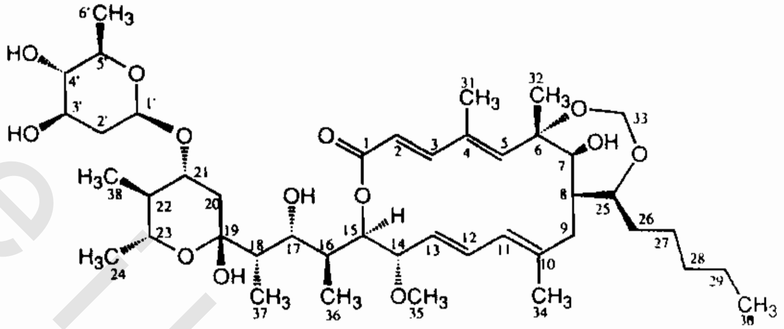
عند دراسة التأثير المضاد لهذا المضاد الحيوي ضد الكائنات الحية الدقيقة . يتبين من جدول رقم ١٤٣ تأثير هذا المضاد على البكتيريا ومن جدول رقم ١٤٤ يتبين تأثير هذا المضاد على الفطريات ومن جدول رقم ١٤٥ تأثيره على أنواع مختلفة من الخلايا .

يظهر هذا المركب فعالية عالية ضد مجال واسع من الفطريات الممرضة للنبات ولكن تأثيره متوسط على البكتيريا الموجبة لصبغة غرام . كذلك فإن هذا المضاد يؤثر على تكوين الاورام في النبات وهو يصنف ضمن مجموعة Bafilomycin - concanamycin . تتميز هذه المجموعة من المضادات الحيوية بأنها تؤثر على ATP ase الفجوة العصارية .



شكل رقم ٩٦ : صورة بالميكروسكوب للسلالة Saccharothrix sp. MK 27-91F2 النامية على بيئة سكروز – نتريت – آجار لمدة ٤ أيام على حرارة ٢٧°م

obeikan.com



شكل رقم ٩٧

Sructure of formamicin

جدول رقم ١٤٣ : يبين تأثير المضاد الحيوي فورماميسين على أنواع مختلفة من البكتيريا .

Test organisms	MIC (µg/ml)
Staphylococcus aureus FDA 209P	6.25
S. *aureus* Smith	12.5
S. *aureus* MS 9610	12.5
S. *aureus* MS 1626 (MRSA)	25
S. *aureus* TY-04282 (MRSA)	12.5
Micrococcus luteus IFO 3333	12.5
M. luteus PCI 1001	12.5
Bacillus subtilis NRRL B-558	50
B. cereus ATCC 10702	6.25
Corynebacterium bovis 1810	25
Escherichia coli NIHJ	> 100
Shigella dysenteriae JS 11910	> 100
Salmonella enteritidis	> 100
Proteus mirabilis IFM OM-9	> 100
Providencia rettgeri GN 466	> 100
Serratia marcescens	> 100
Pseudomonas aeruginoa A3	> 100
Klebsiella pneumoniae PCI 602	> 100
Mycobacterium smegmatis ATCC 607[a]	> 100

Mueller Hinton agarr, 37°C, 18 hours.
a 37°C, 42 hours.

جدول رقم ١٤٤ : يبين تأثير المضاد الحيوي فورماميسين علي أنواع مختلفة من الفطريات .

Test organisms	MIC (µg/ml)
Alternaria kikuchiana	12.5
Cochliobolus miyabeanus C-8	< 0.39
Diaporthe citri	< 0.39
Fusarium oxysporum IFO 9761	> 100
Gibberella fujikuroi	1.56
Pyricularia oryzae P-2	< 0.39
Rhizoctonia solani	1.56
Penicillium digitatum P-7	1.56
Cercospora beticola	3.13
Botrytis cinera B-22	25
Colletotrichum lagenarium	< 0.39
Ustilago maydis	< 0.39
Candida tropicalis F-1[a]	> 100
C. pseudotropicalis F-2[a]	100
C. albicans 3147[a]	100
C. YU - 1200[a]	100
C. krusei F-5[a]	6.25
Saccharomyces cerevisiae F-7[a]	0.2
Cryptococcus neoformans F-10[a]	0.39
Trichoplyton asteroides 429[a]	> 100
T. mentagrophytes F-15 (833)[a]	> 100
Aspergillus niger F-16[a]	100
A. fumigatus F-181[a]	100

ملاحظات علي الجدول :

١ – كانت تزرع الفطريات علي بيئة بطاطس–سكروز (–) آجار علي درجة حرار ٢٧° لمدة أربعة أيام.

٢ – العلامة a تعني أن البيئة عبارة عن آجار مغذي + ١ ٪ جلوكوز علي درجة حرارة ٢٧° لمدة ٤٢ ساعة .

جدول رقم ١٤٥ : التأثير السام للمضاد الحيوي فورماميسين على أنواع مختلفة من الخلايا

مجموعة الخلايا	IC50 ميكروغرام / مل
L 1210 leukemia	٠,٠٠٠١٥
EL4 leukemia	٠,٠٠٠١٣
P 388 leukemia	٠,٠٠٠١٣
IMC carcinoma	٠,٠٠٠٢٩
S 180 sarcoma	٠,٠٠٣٤٥
B 16 melanoma	٢٠,٧
FS3 fibrosarcoma	١٢,٥
Hela	٣,٦٢

الفصل الثالث عشر

أولاً: تطبيقات عملية لاستعمال المضادات الحيوية فى مقاومة أمراض النبات

١- مقاومة مرض اللفحة النارية فى التفاح والكمثرى

مقدمة:

يتسبب مرض اللفحة النارية في الكمثرى والتفاح ، عن البكتيريا *Erwinia amylovora* . منذ أوائل السبعينيات أصبح هذا الكائن الممرض المسبب للفحة النارية متوطناً في أكثر من عشرين بلداً من بلدان العالم ، معظمها في أوروبا والشرق الأوسط . بعد أن أصبح استعمال المبيدات الكيماوية في مقاومة الأمراض محظوراً ، اتجهت الابحاث إلي المقاومة الحيوية او استعمال المضادات الحيوية .

يظهر مرض اللفحة النارية على عدة أشكال ، منها لفحة الازهار ، لفحة الأفرع الصغيرة ولفحة السيقان . كل نوع من هذه الأعراض اشتق اسمه من اسم النسيج الذي يهاجمه الكائن الممرض ويسبب موته ، بالاضافة إلى لفحة الجروح Trauma blight التى يمكن أن تحدث على الفروع الصغيرة وعلى الثمار نتيجة سقوط البَرَدْ أو احتكاك الاغصان بواسطة الرياح القوية . إن طور لفحة الازهار هو أفضل الاطوار مناسبة لكى يقاوم باستعمال المضادات الحيوية (هذا ما وجده Van der Zwet & Beer سنة ١٩٩٢). لكي نفهم استراتيجية مقاومة اللفحة النارية ، يجب معرفة أسباب وكيفية حدوث هذا المرض . يقضي الكائن الممرض مسبب المرض *E. amylovora* ، فترة الشتاء في التقرحات أو الشقوق أو الأنسجة المصابة من الموسم السابق . عندما ترتفع درجة الحرارة في أواخر الشتاء ، يتكاثر الكائن الممرض في هذه الشقوق ومنها ينطلق أو ينتشر إلى الأزهار الجديدة . عندما تزيد درجة الحرارة عن ١٥ْم ، فإن الكائن الممرض يتكاثر بسرعة كبيرة جداً على مياسم الازهار . بعد أن يصل حجم تجمعات الكائن الممرض إلى مليون خلية أو أكثر لكل زهرة على الميسم، تحدث اصابة الازهار . ينمو الكائن الممرض بعد الاصابة ، داخلياً في النبات مسبباً موت الخلية ، والذي يظهر على شكل ذبول وإسوداد الأنسجة المصابة . إذا ما حصل وأن أصبحت هذه الأعراض مرئية ، لا يكون هناك نتائج فعالة من استعمال المبيدات الكيماوية في مقاومة المرض .

obeikandi.com

مقاومة المرض :

تعتمد مقاومة مرض اللفحة النارية في التفاح والكمثرى على عدة أمور منها :

١- استعمال المضادات الحيوية ، ولقد ذكر كل من Zwet & Beer سنة ١٩٩١ و Stockwell سنة ١٩٩٨ ، أنه يمكن الاعتماد على المضادات الحيوية لوحدها في مقاومة هذا المرض ، إلا أن كثرة الرشات المستعملة والتكاليف الاقتصادية ، تجعل المضادات الحيوية عاملاً مساعداً في مقاومة المرض ، ولكن إذا أمكن التغلب على هذين العاملين يصبح استعمال المضادات الحيوية من الأمور الفعالة والمفضلة في مقاومة هذا المرض .

٢- الاجراءات الصحية ، وهي إزالة الاجزاء المصابة والأنسجة التي ظهر عليها المرض . هذه الطريقة من أهم الطرق العملية لمنع إبتداء إنتشار المرض.

٣- رش الأشجار قبل التزهير بمركبات النحاس ، هذا يمكن أن يقلل من تجمعات الكائن الممرض في حواف التقرحات والشقوق ، ولكن مركبات النحاس هذه ، يجب عدم استعمالها أبداً بعد ظهور الازهار وذلك لسميتها التي تؤدي إلى سقوط الثمار .

٤- استعمال اصول التفاح المقاومة لهذا الممرض ، إلا أن معظم أضاف التفاح المفضلة من قبل المستهلك ، كلها حساسة وقابلة للاصابة بالكائن الممرض .

استعمال المضادات الحيوية :

تكون المضادات الحيوية فعالة في مقاومة هذا المرض ، وذلك عند استعمالها أثناء طور تكاثر البكتيريا على سطوح مياسم الازهار وقبل حدوث الاصابة . إن المضاد الحيوي ستربتومايسين ، قد ثبت بواسطة كثير من التجارب التى امتدت حوالي عشر سنوات أنه أفضل المضادات الحيوية المستعملة زراعياً ، خاصة في مقاومة مرض اللفحة النارية في التفاح. يعتبر هذا المضاد الحيوي بأنه مطهر بكتيري (Bactericidal) يقضي على تجمعات البكتيريا . اما المضاد الحيوي Oxytetracycline فانه يوقف نمو وتكاثر الكائن الممرض ، إلا أنه لا يقتل تجمعات الكائن الممرض الموجودة (مثبط للبكتيريا Bacteristatic) وهو أقل فعالية من الستربتومايسين ، هذا ما أثبته كل من McManus & Jones سنة ١٩٩٤ .

تختلف المدة التي يبقي خلالها المضاد الحيوي فعالاً على سطوح مياسم الازهار ،

باختلاف الظروف الجوية وطريقة تحضير المركب . ولكن بشكل عام فان الستربتومايسين يبقى فعالاً لمدة ثلاثة أيام . أما الاوكسى تتراسيكلين يبقى تأثيره يوماً واحداً فقط ، بعد تمام الرش . إن توقيت الرش بالمضاد الحيوي عامل مهم جداً وحرج في مقاومة المرض ، وذلك حتى نتجنب الرشات الزائدة التي تكلف اقتصادياً ، ولا تؤدي إلى مفعول في مقاومة المرض . وكذلك العكس لعدم توفير رشة أو رشتين يكون استعمالها ضرورياً لوقف أو القضاء على نمو وتكاثر الكائن المرض .

لكى نحصل على أفضل مقاومة للمرض ، يجب أن يبدأ استعمال المضاد الحيوي في مقاومة مرض اللفحة النارية في التفاح ، عند إبتداء عملية التزهير أو خلال الفترة الأولى من التزهير ، ويكون ذلك رشاً بتركيز ٢٠٠ ميكروغرام/مل ويستمر الرش كل ٣ – ٥ أيام مرة ، حتى قبل جمع المحصول بمدة ثلاثون يوماً . هذه الأجراء يحتاج إلى ١٥ رشة بالمضاد الستربتومايسين ، أما إذا استعمل المضاد الحيوي أوكسي تتراسيكلين ، فان الرش يبدأ عند إبتداء عملية التزهير ويستمر كل ٧ أيام مرة حتى قبل جمع المحصول بمدة ثلاثون يوماً وهذا يحتاج إلى ١٠ رشات . إذا رشت أشجار الكمثرى في مساحة اكار واحد بأعلى جرعة من المضاد الحيوي الستربتومايسيبن ، فإننا نحتاج إلى ٢٦٤٨١٠ باوند . أما من المضاد الحيوي أوكسي تتراسيكلين فنحتاج إلى ٨٨٢٧٠ باوند سنوياً . أما بالنسبة لأشجار التفاح المزروعة في أكار واحد فإنها تحتاج ٨٠٢٤٥٥ باوند من المضاد الحيوي الستربتومايسين في السنة ، وتحتاج ٤٠٠٢٢١ باوند من المضاد الحيوي اوكسي تتراسيكلين . يجب ملاحظة أن استعمال المضاد الحيوي اوكسي تتراسيكلين ، يكون عندما يصبح الكائن الممرض مقاوماً للمضاد الحيوي ستربتومايسين ، عندئذ يستعمل المضاد الحيوي اوكسي تتراسيكلين لوحده أو مخلوطاً مع الستربتومايسين .

عند مقاومة مرض اللفحة النارية في التفاح في الحدائق الصغيرة ، يحضر محلول المضاد الحيوي بنسبة ٥٠ – ٢٠٠ جزء في المليون ويوجه إلى الشجرة بقوة ضغط عالية مدفوعة من الات الضغط المجرورة في المزرعة .

مقاومة المرض باستعمال المضادات الحيوية مع الكائنات المضادة :

إن معاملة ازهار الكمثرى بالمعلق البكتيري المضاد للكائن الممرض *Pseudomonas fluorescens* أو *Erwinia herbicola* ، يخفض من تجمعات البكتيريا الممرضة ، ويقلل من تواجدها على أجزاء الزهرة أو على نسيج المياسم . بعض العديد من التجارب التي

استمرت لسنوات طويلة ، والتى تم فيها استعمال مزيج من السلالة *P. fluorescens* A 506 والسلالة *E. herbicola* C9-1 . تبين أن هذا الخليط ، يخفض حدوث المرض في الأشجار (التي حقنت بالكائن الممرض صناعيا) بنسبة ٦٠٪ . ونظراً لأن درجة المقاومة لمرض اللفحة النارية المتحصل عليها باستعمال المقاومة الحيوية تكون أقل من ١٠٠٪ ، إتجهت الابحاث لادخال المضادات الحيوية مع المقاومة الحيوية فى مقاومة هذا المرض . يتطلب هذا الاجراء استعمال عوامل المقاومة الحيوية المقاومة للمضادات الحيوية المستعملة . هذا يعني أن عوامل المقاومة الحيوية ، عند استعمالها ، توطد نفسها في أنسجة الزهرة وتمنع الكائن الممرض من الوصول لسطح الميسم ، وبالتالي عند استعمال المضادات الحيوية ، فإن هذا يساعد في بقاء عوامل المقاومة الحيوية ، ويقضي على البقية المتبقية من الكائن الممرض ، حيث أن الكائن الممرض في هذه الحالة يواجه عدوين بأسلحتهما المختلفة ، العدو الأول عامل المقاومة الحيوية ، والعدو الثاني المضاد الحيوي المستعمل .

استعمل في التجارب الحقلية ، نوعين من عوامل المقاومة الحيوية التي تثبط مرض اللفحة النارية . النوع الأول ، السلالة A 506 من البكتيريا *P. fluorescens* ، والنوع الثاني السلالة المتحملة (المضادة) للمضاد الحيوي ستربتومايسين (C 9-15) وهى طفرة ناتجة من البكتيريا *E. herbicola* . هذه الكائنات ، كانت قد رشت على أشجار التفاح التي تم فيهـا الازهار بنسبة ٣٠٪ ، كذلك فإن المحلول المائي لكبريتات الستربتومايسين أو الاوكسي تتراسيكلين ، قد رشت على أشجار التفاح بعد ٢–٧ أيام من رش عوامل المقاومة الحيوية ، وذلك لتحديد تأثير هـذه الكيماويات على تجمعات عاملي المقاومة الحيوية المستعملين أثناء فترة التزهير . وجد أن حجم تجمعات هذين العاملين على مياسم الازهار ، لم يتأثر نهائياً باستعمال المضاد الحيوي ستربتومايسين ، كان حجم هذه التجمعات حوالي $١٠^{٤}$ – $١٠^{٦}$ وحـدة تكوين مستعمرات / زهرة من عاملي المقاومة الحيوية . تبين من ذلك أن المضاد الحيوي الستربتومايسين لم يؤثر علي وجود أو تكاثر عوامل المقاومة الحيوية عـلى الازهار ، وكانت نتيجة مقاومة المرض بنسبة ٩٩٪ .

أما بالنسبة للمضاد الحيوي الاخر وهو اوكسي تتراسيكلين ، عند رشه بعد ٢ – ٥ أيام من رش عوامل المقاومة الحيوية المذكورة ، فانه خفض من حجم تجمعات عوامل المقاومة الحيوية بنسبة ١٠٪ وكانت نسبة مقاومة المرض ٨٥٪ ، وبالمقابل فانه عند استعمال هذا المضاد الحيوي على فترات متباعدة (٧ أيام) فانه يؤثر تأثيراً قليلاً على حجم تجمعات عوامل المقاومة الحيوية المستعملة ، ويكون استعماله في السليم ، وكانت نسبة مقاومة المرض ٩٢٪ .

يمكن القول باختصار ، أن استعمال عوامل المقاومة الحيوية المذكورة سابقاً ، مع المضاد الحيوي ستربتومايسين ، يعطي كفاءة عالية جداً في مقاومة مرض اللفحة النارية في التفاح والكمثرى . أما عند استعمال المضاد الحيوي اوكسي تتراسيكلين ، لكي نحصل على كفاءة عالية جداً في مقاومة المرض يجب رشه بعد عشرة أيام من رش عوامل المقاومة الحيوية وذلك ليتسنى لهذه الكائنات الدقيقة أن توطد نفسها في مياسم الازهار وتتكاثر بسرعة بحيث تغطي نسبة الـ ١٠٪ التي تخسرها عند الرش بالمضاد الحيوي المذكور .

٢- مقاوم مرضة لفحة الفلفل باستعمال المضاد الحيوى Tubercidin

يبقى الجنس *Streptomyces* واجناساً أخرى من الاكتينومايستس ، هي أفضل المصادر للحصول على المضادات الحيوية ، أو نواتج التمثيل المضادة للفطريات ، ومقاومة الأمراض الفطرية في المحاصيل النباتية . تعزل معظم هذه الأنواع من التربة . من أهم السلالات المعزولة هي السلالة A 50 والتي عرفت بأنها تنتمي إلى *S. violaceoniger* وهي أكثر السلالات التي تنتج مضادات حيوية ضد *Magnaporthe grisea* المرادف للاسم *Pyricularia grisea* والفطر الممرض *Phytophthora capsici* .

هناك ثلاثة مضادات حيوية ، تثبط بشكل كبير نمو الفطر *P. capsici* و *M. grisea* قد عزلت من المرق المغذي للسلالة A 50 التابعة لـ *S. violaceoniger* . إن المضاد الحيوي النقي SF2A ، قد تم الحصول عليه وتنقيته باستعمال الطريقة الكيماوية الحيوية في الفصل والتي تسمى HPLC . لقد تم تعريف هذا المضاد على أساس أنه Pyrrolo [2,3-d] pyrimidine nucleoside tubercidin (لقد ذكر بالتفصيل في أول هذا الفصل) . لقد سمي وثبتت تسميته بأنه المضاد الحيوي Tubercidin . إن هذا المضاد الحيوي عال الفعالية ضد الفطريات الممرضة وأهمها :

1- *Phytophthora capsici* .

2- *Rhizoctonia solani.*

3- *Botryosphaeria dothidea* .

لقد تم عزل المضاد الحيوي Tubercidin من المرق المغذى لمزرعة *Streptomyces tubercidicus* و *Tolyporthix byssoidea* . يعتبر هذا المضاد الحيوي من المضادات السامة للخلية ، وهو مشابه في ذلك المضادات الحيوية التى تتدخل في عمليات التمثيل الخلوية ، مثل التنفس عن طريق الميتوكوندريا ، ويتدخل في بناء البيورين ، عمليات r RNA وكذلك عملية الميثيليشن لـ t RNA والبروتين وبناء الأحماض النووية . كذلك فانه يظهر كفاءة عالية ضد الاورام في النبات والنشاطات الفيروسية في الحيوان . أثبتت الدراسات المعملية أن هـــذا المضاد الحيوي ذو تأثير قـــــوي على نمــــــو *Candida albicans* و *Mycobacterium tuberculosis* ، ولكن تأثيـره متوسط على تثبيط نمو الكائنات الدقيقة الاخـــرى ، مثـــل *Alternaria solani* , *C. gloeosporioides* , *M. grisea* و *Mycosphaerella melonis* .

عند مقارنة هذا المضاد الحيوي ، مع المبيدات الفطرية الجهازية مثل Metalaxyl ، تبين ان لهذا المضاد الحيوي تأثيراً مشابهاً أو أكثر إلى حد ما ، من تأثير المبيد الفطري في تثبيط النمو الميسيليومي للفطر *P. capsici* . عندما أضيف هذا المضاد الحيوي إلى سيقان نبات الفلفل وجد أن تأثيره يشابه تأثير المبيد الفطري الجهازي *Metalaxyl* في مقاومة لفحة الفايتوفثورا على نباتات الفلفل بغض النظر عن وقت الاستعمال أو التركيز .

عند استعمال المضاد الحيوي بتركيز ١٠٠٠٠ ميكروغرام/مل ، فإنه يسبب اعراض تسمم لنبات الفلفل . أما عند استعمال على التربة ، فانه لم يسبب أية مقاومة لمرض الفايتوفتورا في الفلفل . عند استعمال هذا المضاد الحيوي بتركيز ٥٠٠٠ ميكروغرام/مل ، فانه يحفظ نباتات الفلفل كلية من المرض في الأطوار الأولى من نمو النبات وذلك لغاية مدة طولها أربعة أيام بعد رش المضاد الحيوي ، ثم يبدأ ينخفض تأثيره تدريجياً حتى يصبح صفر بعد ثمانية أيام من الرش . جدول رقم ١٤٥ .

يتبين مما سبق أن المضاد الحيوي Tubercidin ، يقاوم مرض لفحة الفلفل المتسببة عن الفطر *P. capsici* عند استعماله بتركيز ٥٠٠٠ ميكروغرام/مل ويكرر الرش كل خمسة أيام حتي ينجو النبات من الاصابة . (جداول ١٤٦ ، ١٤٧ ، ١٤٨) .

جدول رقم ١٤٥ : تأثير المضاد الحيوي تيوبرسيدين على تثبيط نمو بعض الفطريات في المعمل .

ميكروغرام / مل تركيز المضاد الحيوي	٪ تثبيط نمو ميسيليوم الفطريات											
	P. capsici				*M. grisea*				*C. gloeo.*			
	ط١	ط٢	ط٣	ط٤	ط١	ط٢	ط٣	ط٤	ط١	ط٢	ط٣	ط٤
٠,١	–	صفر	–	صفر	–	–	صفر	–	–	–	–	–
١	صفر	صفر	صفر	١٢	صفر	صفر	صفر	١٠	١٠	٣٠	٣٠	١٠
١٠	١٨	٥٠	صفر	٢٥	١٠	٥٠	صفر	٢٨	٢٠	٧٠	١٠	٨
١٠٠	٦٠	٩٢	٣٠	٤٠	٣٠	٨٠	٢٥	٣٠	٣٠	٨٠	٢٠	١٢
١٠٠٠	١٠٠	–	٤٨	–	٨٠	–	٤٥	–	٦٠	–	٣٠	٢٠

ملاحظات على الجدول : gloco. = *gloeosporioides*

ط١ = بيئة اجار سائل .　　　　ط٢ = طريقة الأقراص الورقية .

ط٣ = طريقة الإنتشار الأسطوانى .　　　　ط٤ = الاختبار الحيوي على أطباق TLC .

جدول رقم ١٤٦ : مقارنة بين تأثير المضاد الحيوي تيوبرسيدين والمبيد الفطري Metalaxyl على الفطر *P. capsici* على تثبيط نمو الميسيليوم وعلى مساحة التثبيط ملم٢ .

المعاملة التركيز ميكروغرام/مل	٪ تثبيط نمو ميسيليوم				مساحة التثبيط ملم٢			
	ط١	ط٢	ط٣	ط٤	ط١	ط٢	ط٣	ط٤
المضاد الحيوي بتركيز								
١	صفر	–	–	١٥	١٠	–	–	–
١٠	١٨	٥٨	–	٢٢	٢٥	٢٢	١٨	١٥
١٠٠	٦٥	٩٠	٢٨	٣٨	٣٨	٢٨	٢٢	٢٢
١٠٠٠	١٠٠	–	٤٨	–	٤٥	–	–	–
المبيد الفطري								
١	٢٥	–	–	٢٠	١٠	–	–	–
١٠	٥٨	٦٥	–	٣٥	٢٢	١٢	٢٢	٨
١٠٠	٦٢	٧٨	٢٥	٣٨	٣٥	٣٨	٤٠	٢٠
١٠٠	٩٠	–	٤٢	–	٤٠	–	–	–

ملاحظات الجدول مثل الجدول السابق .

obeikandl.com

جدول رقم ١٤٧ : تأثير المضاد الحيوي تيوبرسيدين والمبيد الفطري ميثاليكسايل على شدة مرض اللفحة في الفلفل في الصوبا الزجاجية .

المعاملة. ميكروغرام/مل	شدة المرض عند الاستعمال حسب المعاملات الآتية		
	بعد يوم واحد من الحقن بالكائن الممرض	فوراً بعد الحقن بالكائن الممرض	قبل الحقن بيوم واحد
المضاد الحيوي بتركيز			
١٠	٤	٤	٤
١٠٠	٣,٨	٤,١	٤
١٠٠٠	٢,٢	٣,٨	٣,٩
٥٠٠٠	٠,٢	٢,٢	٣, –
المبيد الفطري			
١٠	–	–	٤
١٠٠	٤	٤	٤
١٠٠٠	٣	٣,٨	٣,٣
٥٠٠٠	١,٢	١,٢	٣

ملاحظات على الجدول :

كانت تؤخذ النتائج بعد ثمانية أيام من حقن الساق بالفطر الممرض . شدة المرض تقسم من صفر إلى خمسة ، حيث أن صفر = لا يوجد أعراض ظاهرة ، ١ = تبدأ الأوراق في الذبول ، ٢ = ٣٠ – ٥٠٪ من أوراق النبات تصاب ، ٣ = ٥٠ – ٧٠٪ من النبات مصاب ، ٤ = ٧٠ – ٩٠٪ من النبات مصاب ، ٥ = يموت النبات .

كان يذاب المضاد الحيوي في الميثانول . أما المبيد الفطري كان يذاب في الأسيتون .

جدول رقم ١٤٨ : تأثير المضاد الحيوي تيوبرسيدين والمبيد الفطري ميثاليكسايل بتركيز ٥٠٠٠ ميكروغرام/مل على شدة مرض لفحة الفلفل بعد الرش بأيام مختلفة .

المعاملة	شدة المرض بعد رش المبيد أو المضاد بفترة مقدرة بالأيام						
	٢	٤	٦	٨	١٠	١٢	١٤
المضاد الحيوي	صفر	٠,٣	٣,٨	٤	٤,٢٠	٤,٢٥	٤,٣
المبيد الفطري	صفر	صفر	٠,٤	١	١,٢	٢,٢	٣

شدة المرض كما في الجدول السابق .

obeikandl.com

ثانياً : ظهور سلالات مقاومة للمضادات الحيوية

طرق تأثير المضادات الحيوية

من الأسباب الرئيسية التي تؤدي إلي الابتعاد عن استعمال المضادات الحيوية ، في مقاومة أمراض النبات ، هو ظهور سلالات من الكائن الممرض ، مقاومة لهذه المضادات الحيوية بعد فترة قصيرة من استمرار استعمال هذه المضادات الحيوية .

لكي تظهر سلالات جديدة مقاومة للمضاد الحيوي ، يجب أن يتوفر شرطين اساسيين :

١- يجب أن يصبح الكائن الحى متلاصقاً أو متصلاً مع المضاد الحيوي . عندئذ تتكشف المقاومة ضد هذا المضاد ، وذلك لاستمرارية حدوث تغيرات في الأجيال المتتالية من الكائن . هذه التغيرات تكون في استجابة الجينات أو في تركيب الجينات الحساسة لهذا المضاد الحيوي أو نتيجة حدوث إنفصال أو اتصال أثناء التكاثر وانقسام الانوية بين الأجيال العديدة المتكونة بطرق جنسية أو غير جنسية من الكائن الحي الدقيق .

٢- حدوث تغيرات في ميكانزم تأثير المضاد الحيوي ، لأي سبب من الأسباب ، أو حدوث تغيرات في ميكانزم المقاومة الموجودة في الكائن الحي وإنتقال هذا الميكانزم إلي الأجيال التالية .

يعمل كل مضاد حيوي باتجاه معين ، وعلي مناطق معينة في الكائن الحي الدقيق . بعض المضادات الحيوية تتجه في عملها :

(١) إلى جدار الخلية كما في المضادات Bacitracin ، Cephalosporins ، Penicillins .

(٢) بينما أنواع أخري من المضادات الحيوية تتجه في عملها إلي أغشية الخلية (مثل المضاد Ionophores والمضاد الحيوي Polymyxins) .

(٣) أو تتجه إلى مركبات الخلية المسئولة عن بناء البروتينات مثل المضادات الحيوية tetracycline ، Chloramphenicol ، Aminoglycosides) .

(٤) البعض الآخر من المضادات الحيوية يتجه في تأثيره إلى RNA في الكائن الدقيق (مثل المضاد الحيوي Rifamycins) .

(٥) هناك أنواعاً من المضادات الحيوية تعمل على تثبيط عمل وبناء الـ DNA (مثل المضادات الحيوية Quinolones ، Nalidixic acid) .

(٦) بعـــض المضادات الحيوية تعمل بشكل خاص على الممرات البيوكيميائية ، مثل بناء الـ Folate مثل المضادات الحيوية Sulfonamides ، Methotrexate .

وبالتالي عندما تنشأ المقاومة في الكائنات الدقيقة ، فإن هذه المقاومة تكون متخصصة إلي مجموعة أو أفراد معينة من المضادات الحيوية . من المستبعد كثيراً أن ينشأ مقاومة في الكائن الدقيق ضد عديد من المضادات الحيوية ذات التأثير المختلف .

ينشأ في البكتيريا ميكانزمز متعددة لنقل صفة المقاومة إلي الأفراد الأخري ، ضمن أنواعها ، أو في الأنواع الأخرى ، القريبة منها ، نظراً لأن الصفات الوراثية لمقاومة المضادات الحيوية يشفر لها في مكانين في الخلية البكتيرية هي الكروموزومات والعناصر الكروموزومية الخارجية .

يمكن لبعض الطفرات أن تجعل الجينات الكروموزومية (التي عادة ما تشفر للحساسية للمضادات الحيوية) أن تبدأ بالتشفير للمقاومة . يمكن أن تحدث مثل هذه الطفرات بمعدل واحد في المليون لو حتى في البليون من الخلايا البكتيرية . أما العناصر الكروموزومية الخارجية (مثل البلازمدز والترانسبوسونز) فهي عبارة عن قطع صغيرة من DNA الدائري ، كل واحدة منها تعادل في حجمها حوالي ١ ٪ من الكروموسوم . تكون البلازميدز اما nonconjugative أو Conjugative . الأخيرة هذه يمكن أن تتحرك من بكتيرية إلى أخرى . وبالتالي فإن التبادل الوراثي ، هو ميكانزم آخر والذي بواسطته يمكن لبلازمدز المقاومة للمضاد الحيوي أن يتحرك بين البكتيريات . يمكن اعتبار بعض البكتيريات بأنها مختلطة في هذه الناحية ، وذلك بسبب ، لو أنه حدث وأن اكتسبت بلازمدز مقاومة للمضاد الحيوي ، بين أو خارج الأنواع ، فإن نقل المقاومة يحدث ، بغض النظر عن الظروف المحيطة (سواء كانت المضادات الحيوية موجودة أو غير موجودة) .

إن الانتقال غير العادي لـ DNA المقاوم للمضادات الحيوية ، التسلسلي بين الأنواع البكتيرية والبيئة الملائمة (بين الإنسان والحيوان) قد ذكر في مجالات أخرى غير موضوعنا هذا . مثلاً البكتيريا *Staphylococcus aureus* ، موجبة غرام ، فإن الجين الكروموسومي للمقاومة للمضاد الحيوي Methicillin ينشأ مثل الجين البكتيري lactamas وأجزاء مرتبطة

من البنسلين ناشئة من جين بكتيرية معطية غير معروفة ، قد يكون *E. coli* بكتيريا السالبة لصبغة غرام .

في بعض الأحيان يكون ميكانزم المقاومة غير واضح ، وذلك لأن بعض الأنواع البكتيرية تكون صفة المقاومة للمضادات الحيوية فيها طبيعية أو متوارثة ، حيث تكون حساسة لبعض الأنواع وغير حساسة لأنواع أخرى .

تتطلب الحساسية للمضاد الحيوي ثلاثة أمور :

أولاً : وجود هدف للتفاعل .

ثانياً : ميكانزم لانتقال المقاومة إلى الخلية قبل أن يحدث المضاد الحيوي فعله فيها .

ثالثاً : عدم وجود الأنزيمات التي يمكنها تثبيط أو تحوير في عمل المضاد الحيوي . إن التغير في أي من هذه المتطلبات ، يمكن أن يجعل البكتيريا الحساسة للمضاد الحيوي ، مقاومة له . مثلاً طفرة واحدة أو أكثر يمكن أن يحدث فيها ذلك التغير أو أن هدف التفاعل يمكن أن يتغير (حيث يحدث تغير في التفاعل الواقع بين البكتيريا والمضاد الحيوي) عند تغير صفة الحساسية إلي المقاومة في البكتيريا .

ظهور سلالات مقاومة للمضادات الحيوية من بكتيريا اللفحة النارية فى التفاح :

مع أن الكمية المستعملة من المضادات الحيوية على النباتات ، قليلة ، إذا ما قيست مع الكمية التى يستعملها الانسان أو الحيوان ، إلا أن سرعة ظهور السلالات المقاومة في النبات أسرع بكثير منها في الإنسان والحيوان ، يعود هذا إلى الميكانزم المختلف في إظهار صفة المقاومة بين الكائنات الممرضة النباتية والاخرى الحيوانية . هذا الميكانزم في الكائنات الممرضة النباتية غير معقد وسهل الظهور ، عكس ما هو في الكائنات الممرض الحيوانية أو للإنسان . هذا هو السبب الرئيسي في الابتعاد عن استعمال المضادات الحيوية على نطاق واسع في مقاومة الأمراض النباتية في الحقول .

ظهرت سلالات من البكتيريا *E. amylovora* مقاومة للمضاد الحيوي ستربتومايسين (جدول رقم ١٤٩) . إن كثيرا ، إن لم يكن معظم عمليات الحصر للبكتيريا المذكورة حين دراستها لمعرفة ظهور سلالات مقاومة للمضادات الحيوية خاصة ستربتومايسين كانت النتائج سلبية ولكن هناك بعض النتائج الإيجابية . أما بالنسبة للمضاد الحيوي اوكسي تتراسيكلين فإن عمليات الحصر كانت قليلة . إن الدراسات التي تمت سنة ١٩٩٩ بواسطة Palmer

Jones & قد حددت وعرفت جين المقاومة للتتراسيكلين في البكتيريا غير الممرضة في حقول التفاح .

جدول رقم ١٤٩ : البكتيريا الممرضة النباتية التي ظهرت فيها سلالات مقاومة للمضاد الحيوي ستربتومايسين .

الكائن الممرض	العائل النباتي للكائن الممرض	المناطق التي ظهرت فيها السلالات المقاومة
Erwinia amylovora	التفاح والكمثرى	معظم ولايات أمريكا الجنوبية الغربية بالاضافة إلى إسرائيل.
Pseudomonas cichorii	الكرفس	ولاية فلوريدا
Pseudomonas syringae	التفاح ، الكمثرى النباتات العطرية والأشجار المعمرة	معظم مناطق أمريكا الوسطى والجنوبية
Xanthomonas campestris	الطماطم والفلفل	الأرجنتين ، البرازيل ومعظم ولايات أمريكا

بالنسبة لبكتيريا اللفحة النارية في التفاح والكمثرى ، أثبتت الدرسات الوراثية ، أن هناك نوعين مختلفين وراثياً لمقاومة المضاد الحيوي ستربتومايسين موجودة في هذا الجنس (جدول رقم ١٥٠). النوع الأول عبارة عن سلالة ظهرت نتيجة حدوث طفرة في rpsL chromosomal gene والذي يمنع المضاد الحيوي ستربتومايسين من أن يرتبط مع هدفه الـ Ribosalmd . أما النوع الثاني فهو عبارة عن سلالة ، عندها القدرة على تثبيط المضاد الحيوي بواسطة Phosphotransferase المشفر له بواسطة strB و strA . يحدث هذا الميكانزم في الكروموسوم طبيعياً في تجمعات بكتيريا اللفحة النارية بمعدل ١ في كل ١٠ بليون خلية . إن جينات strA و strB تكون عادة محمولة على أجزاء من DNA التي يمكن أن تنتقل بين البكتيريا . إن مستوى المقاومة (أقل تركيز يلزم للتثبيط الكلي للكائن الممرض) الموجودة في البكتيريا تكون أكبر في طفرة الكروموسومال ، والتى تجعل الخلية غير حساسة للمضاد الحيوي منه في تلك الطفرة المتكونة من إنتاج Phosphotransferase الذي يثبط الستربتومايسين (هذا ما ذكره Shaw *et al* سنة ١٩٩٣) . يجب معرفة أن مستوى المقاومة الناتجة من الانزيم تجعل كمية المضاد الحيوي المستعملة في الحقل خمسة أضعاف التركيز العادي .

جدول ١٥٠ : ميكانزمز مقاومة المضاد الحيوي الستربتومايسين في بكتيريا اللفحة النارية في التفاح والكمثري.

الميكانزم الوراثي	التأثير	أقل تركيز يحدث تثبيط كلي للكائن المرض	حدوثة في البكتيريا *E. amylovora*
طفرة في الجين البكتيري rpsL والذي يشفر لوحدات صغيرة من الرايبوسوم البكتيري	لا يستطيع المضاد الحيوي أن يرتبط مع رايبوسوم الطفرة	أكبر من ٢٠٠٠ جزء في المليون	الطفرة الكروموسومالية سائدة في غرب الولايات المتحدة ، إسرائيل ، نيوزلندا ومتشجن .
strA - strB	تشفر الأنزيم ناقل الفسفات الذي يثبط المضاد الحيوي	٥٠٠ – ٧٥٠ جزء في المليون	عادة تكون مرتبطة مع Transposon Tn 5393 على البلازمد – سائدة في متشجن .

تكون مقاومة الستربتومايسين في معظم عزلات البكتيريا *E. amylovora* ، تعزى إلى الطفرة الكروموزومية ، نظراً لأن معظم العزلات المقاومة قد حصل عليها من مناطق مختلفة ، وهي لا تمتلك strA - strB . أظهرت الدراسة الجزيئية أن ميكانزم Chromosomal للمقاومة قد ظهر مستقلاً في البكتيريا *E. amylovora* في مرات متكررة .

إن جينات strA و strB تقع عادة على Transposons محمولة على البلازمدز ، الاجزاء المتنقلة من DNA والتي تكون عادة غير مطلوبة للوظائف البكتيرية الأساسية ، ولكنها تحمل باستمرار جينات مقاومة المضاد الحيوي .

إن Transposon Tn 5393 تحمل strA و strB في السلالات المقاومة للمضاد الحيوي ستربتومايسين في كل من الأجناس *Xanthomonas* , *Pseudomonas* , *Erwinia* على النباتات . لقد تم تعريف وتحديد StrA و strB ، على الأقل في ١٧ نوع من البكتيريا الطبية وغير الطبية ، إلا أن البكتيريا الطبية تختلف بيئيا ، وفي معظم الحالات فإن الجينات تكون على البلازمدز . أما في البكتيريا المرافقة للحيوانات ، فان البلازمدز الحاملة لجينات مقاومة الستربتومايسين تكون عادة صغيرة (أقل من 10 kb) وعندها المقدرة على أن تتواجد في مجال واسع من الأنواع البكتيرية . هذه البلازمدز الصغيرة لا تمتلك الجينات

obeikandl.com

الضرورية للتحرك من خلية إلى أخرى . وعلى أية حال يمكنها أن تنتقل بمساعدة من منتجات الجين البكتيري الآخر . وعلى العكس من ذلك فان البلازمدز المقاومة في البكتيريا المرافقة للنبات تكون عادة كبيرة ((أكبر من 30 kb) . وهي متخصصة نسبياً لبعض أنواع العوائل البكتيرية الخاصة ، وعندها القدرة على أن تكمل الانتقال الخاص بها من خلية إلى أخرى . في الحقيقة فان معظم بلازمد المقاومة الشائعة في البكتيريا *E. amylovora* متطابق مع بلازمد المقاومة الموجود في البكتيريا *P. agglomerans* (كانت تسمى سابقاً باسم *E. herbicola*) وأنواع بكتيرية غير ممرضة والتي هي شائعة الوجود في بساتين التفاح وعلى الأشجار والاعشاب . هذا ادى إلى الافتراض بان البكتيريا *E. amylovora* تكتسب جينات المقاومة strA و strB من مجموعتها غير الممرضة . يمكن أن يحدث هذا خلال إنتقال البلازمد بين بكتيريتين مختلفتين تعيشان متلازمتان وقريبتان من بعضهما البعض على سطوح النبات . هناك استثناء للقاعدة ، بان بلازمدز المقاومة ، والكبيرة نسبياً في البكتيريا المرافقة للنبات ، يكون باكتشاف بلازمد صغير مشابهاً للمدى العوائلي الواسع لبلازمد RSF 1010 في قليل من عزلات *E. amylovora* .

بغض النظر عن الميكانزمز لمقاومة الستربتومايسين ، يبدو أن هذه المقاومة تكون صفة ثابتة في البكتيريا الممرضة للنبات . في عمليات حصر تمت على نبات الكرفس في فلوريدا في أوائل التسعينيات ، تبين اكتشاف مقاومة كبيرة للمضاد الحيوي ستربتومايسين بين عزلات البكتيريا *Pseudomonas cichorii* العامل المسبب لمرض اللفحة البكتيرية ، حتى مع أن هذا المضاد الحيوي لم يستعمل تجارياً لمقاومة المرض منذ أواخر الستينيات . استمر اكتشاف العزلة المقاومة للمضاد الحيوي ستربتومايسين ، في حقول التفاح في كاليفورنيا لمدة عشر سنوات ، بعد أن توقف استعمال المضاد الحيوي . وبالمثل فإن السلالات المقاومة للمضاد الحيوي ستربتومايسين من البكتيريا *E. amylovora* بقيت واسعة الانتشار في ولاية واشنجتن حتي عند خفض استعمال المضاد الحيوي في اوائل التسعينيات ، بعد أن تبين أن ٨٨٪ من حقول التفاح تحوي السلالة المقاومة .

هناك ظاهرة تسمى Compensatory mutations (الطفرات التعويضية) . ظاهرة اكتشفت حديثا في البكتيريا *E. coli* المقاومة للستربتومايسين (هذه ما ذكر Levin *et al* سنة ٢٠٠٠) ذكرت لثبات مقاومة تجمعات الكائنات الممرضة النباتية للستربتومايسين في غياب حالة الحدوث الطبيعي .

obeikandi.com

في هذا السيناريو فإن الطفرات الكروموسومالية لمقاومة المضاد الحيوي توجه عبء مناسب للبكتيرية . وعلى أية حال فإن يسبب نشوء البكتيرية في غياب الاختيار ، فإنها تخضع لطفرات والتي تؤدي إلى تحسين في حالتها . وكنتيجة لهذه الطفرات التعويضية فانه يتم بقاء السلالات المقاومة للمضاد الحيوي ستريتومايسين .

تم بحمد الله وتوفيقه

«وآخر دعواهم أن الحمد لله رب العالمين»

obeikandl.com

المراجـــع

REFERENCES

1. Agrios, G.N. 1997. *Plant Pathology*, *4th Edition*, Academic Press, San Diego.

2. Burr, T.J., J.L. Norelli, B. Katz, W.F. Wilcox, and S.A. Hoying. 1998. Streptomycin resistance of *Pseudomonas syringae* pv. *papulans* in apple orchards and its association with a conjugative plasmid. *Phytopathology* 78 : 410-413.

3. Byung, K.H. and B.S. Kim. 1995. In-vivo Efficacy and in-vitro Activity of Tubercidin, an Antibiotic Nucleoside, for control of *Phytophthora capsici* blight in *Capsicum annuum*. *Pestic. Sci.* 44, 255-260.

4. Calzolari, A., F. Finelli, and G.L. Mazzoli. 1999. A severe unforeseen outbreak of fire blight in the Emilia-Romagna region. *Acta Hort*. 489 : 171-176.

5. Chiou, C.-S., and A.L. Jones. 1993. Nucleotide sequence analysis of a transposon (Tn5393) carrying streptomycin resistance genes in *Erwinia amylovora* and other gram-negative bacteria. *J. Bacteriol*. 175 : 732-740.

6. Chiou, C.-S., and A.L. Jones. 1995a. Expression and identification of the *strA-strB* gene pair from streptomycin-resistant *Erwinia amylovora*. *Gene* 152 : 47-51.

7. Chiou, C.-S., and A.L. Jones. 1995b. Molecular analysis of high-level streptomycin resistance in *Erwinia amylovora*. *Phytopathology* 85 : 324-328.

obeikandl.com

8. Cheng, Z.M., J.A. Schnurr and J.A. Kapaum. 1998. Timentin as an alternative antibiotic for suppression of *Agrobacterium tumefaciens* in genetic transformation. *Plant Cell Reports* 17 : 646-649.

9. Coyier, D.L., and R.P. Covey. 1975. Tolerance of *Erwinia amylovora* to streptomycin sulfate in Oregon and Washington. *Plant Dis. Rep.* 59 : 849-852.

10. Cvjetkovic, B., E. Halupecki, and J. Spoljaric. 1999. The occurrence and control of fire blight in Croatia. *Acta Hort.* 489 : 71-73.

11. Eckhard, T., F. Eilbert and H. Anke. 1997. Glisoprenins C, D and E. New Inhibitors of Appressorium Formation in *Magnaporthe grisea* from cultures of *Gliocladium roseum*. *The Journal of Antibiotics* 51, 2 : 117-122.

12. El-Shahed, K.Y.I. 1994. Production of Antifungal Antibiotics Polyoxins by *Streptomyces cacaoi* var. *asoensis*. *Egypt J. Microbiology* 29, 3 : 315-328.

13. Gerald, H.W. 1980. Antibiotics from Micromonospora. *Ann. Rev. Microbiology* 34 : 537-557.

14. Gamard, P., *et al.* 1997. Novel Butyrolactoner with Antifungal Activity Produced by *Pseudomonas aureofaciens* strain 63-28. *The Journal of Antibiotics* 50, 9 : 742-749.

15. Goodman, R.N. 1995. The influence of antibiotics on plants and plant disease control. Pages 322-448. In : *Antibiotics : their chemistry and non-medical uses*. H.S. Goldberg, ed. D. Van Nostrand and Company, Inc. Princeton, NJ.

16. Igarashi, M., *et al.* 1997. Formamicin, a Novel Antifungal Antibiotic produced by a strain of *Saccharothrix* sp. *The Journal of Antibiotics* 50, 11 : 926-931.

obeikandl.com

17. Jianxiong, Lio., *et al.*, 1997. Nematophin, a novel antimicrobial substances produced by *Xenorhabdus nematophilus. Cand. J. Micr.* 43 : 770-773.

18. Johnson, K.B., and V.O. Stockwell. 1998. Management of fire blight : A case study in microbial ecology. *Annu. Rev. Phytopathol.* 36 : 227-248.

19. Jones, A.L., J.L. Norelli, and G.R. Ehret. 1991. Detection of streptomycin–resistant *Pseudomonas syringae* pv. *papulans* in Michigan apple orchards. *Plant Dis.* 75 : 529-531.

20. Kearns, L.P. and H.K. Mahanty. 1998. Antibiotic Production by *Erwinia herbicola* Eh 1087 : Its Role in Inhibition of *Erwinia amylovora* and Partial characterization of Antibiotic Biosynthesis Genes. *Applied and Environmental Microbiology* 64 : 1837-1844.

21. Kim, S.K., *et al.* 1999. Isolation, Antifungal Activity, and Structure Elucidation of the Glutarimide Antibiotic, Streptimidone, Produced by *Micromonospora coerulea. J. Agric. Food Chem.* 47, 8 : 3372-3380.

22. Levin, B.R., V. Perrot, and N. Walker, 2000. Compensatory mutations, antibiotic resistance and the population genetics of adaptive evolution in bacteria. *Genetics* 154 : 985-997.

23. Levy, S.B. 1992. *The Antibiotic Paradox : How Miracle Drugs are Destroying the Miracle*. Plenum Press, New York.

24. Lieberman, P.B., and M.G. Wootan. 1998. Protecting the Crown Jewels of Medicine. Center for Science in the Public Interest Newsletter.

obeikandi.com

25. Lindow, S.E., G. McGourty, and R. Elkins. 1996. Interactions of antibiotics with *Pseudomonas fluorescens* strain A506 in the control of fire blight and frost injury of pear. *Phytopathology* 86 : 841-848.

26. Loper, J.E., M.D. Henkels, R.G. Roberts, G.G. Grove, M.J. Willett, and T.J. Smith. 1991. Evaluation of streptomycin, oxytetracycline, and copper resistance of *Erwinia amylovora* isolated from pear orchards in Washington State. *Plant Dis.* 75 : 287-290.

27. Manulis, S., D. Zutra, F. Kleitman, I. David, and M. Zilberstaine. 1999. Streptomycin resistance of *Erwinia amylovora* in Israel and occurrence of fire blight in pear orchards in the autumn. *Acta Hort.* 489 : 85-87.

28. Manulis, S., D. Zutra, F. Kleitman, O. Dror, M. Zilberstaine, and E. Shabi. 1998. Distribution of streptomycin-resistant strains of *Erwinia amylovora* in Israel and occurrence of blossom blight in the autumn. *Phytoparasitica* 26 : 223-230.

29. McManus, P.S., and A.L. Jones. 1994. Epidemiology and genetic analysis of streptomycin-resistant *Erwinia amylovora* from Michigan and evaluation of oxytetracycline for control. Phytopathology 84 : 627-633.

30. McManus, P.S., and A.L. Jones, 1995. Genetic fingerprinting of *Erwinia amylovora* and *Rubus* spp. *Phytopathology* 85 : 1547-1553.

31. Masayuki, I., *et al.* 1997. Formamicin, a Novel Antifungal Antibiotic produced by a strain of *Saccharothrix* sp. *The Journal of Antibiotic* 50, 11 : 932-936.

obeikandi.com

32. Minsavage, V.G., B.I. Canteros, and R.E. Stall. 1990. Plasmid-mediated resistance to streptomycin in *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. *Phytopathology* 80 : 719-723.

33. Moller, W.J., M.N. Schroth, and S.V. Thomson. 1981. The scenario of fire blight and streptomycin resistance. *Plant Dis*. 65 : 563-568.

34. Muraleedharan, G.H., *et al.* 1994. Gopalamicin, an Antifungal Macrodiolide produced by soil Actinomycetes. *J. Agric. Food. Chem*. 42 : 2308-2310.

35. National Agricultural Statistics Service. 1997. Agricultural Chemical Usage, 1995, Fruits Summary. No. 96172. U.S. Dept. Agriculture.

36. Nadkarni, S.R., *et al.* 1998. Mathemycin A, a New Antifungal Macrolactone from *Actinomycete* sp. *The Journal of Antibiotics* 51, 6 : 579-581.

37. Ng, K.K. and J.M. Webster. 1997. Antimycotic activity of *Xenorhabdus bovienii* metabolites against *Phytophthora infestans* of potato plants. *Cand. J. of Plant Pathol*. 19 : 125-132.

38. Omura, S., *et al.* 1999. Isolation and structure of a New Antibiotic Viridomycin Produced by *Streptomyces* sp. K96 – 0188. *The Journal of Antibiotics* 52, 1 : 61-64.

39. Palmer, E.L., and A.L. Jones. 1999. Distribution of tetracycline resistance genes and transposons among phylloplane bacteria in Michigan apple orchards. *Appl. Environ. Microbiol*. 65 : 4898-4907.

obeikandi.com

40. Palmer, E.L., B.L. Teviotdale, and A.L. Jones. 1997. A relative of the broad-host-range plasmid RSF1010 detected in *Erwinia amylovora*. *Appl. Environ. Microbiol.* 63 : 4604-4607.

41. Perombelon, M.C. and A. Kelman. 1980. Ecology of the soft rot erwinias. *Ann. Rev. Phytopathol.* 18 : 361-387.

42. Pohronezny, K., M.L. Sommerfeld, and R.N. Raid. 1994. Streptomycin resistance and copper tolerance among strains of *Pseudomonas cichorii* in celery seedbeds. *Plant Dis.* 78 : 150-153.

43. Scheck, H.J., J.W. Pscheidt, and L.W. Moore. 1996. Copper and streptomycin resistance in strains of *Pseudomonas syringae* from Pacific Northwest Nurseries. *Plant Dis.* 80 : 1034-1039.

44. Severin, V., F. Constantinescu, and F. Jianu. 1999. Appearance, expansion, and chemical control of fire blight (*Erwinia amylovora*) in Romania. *Acta Hort.* 489 : 79-84.

45. Shaffer, W.H., and R.N. Goodman. 1985. Appearance of streptomycin-resistant *Erwinia amylovora* in Missouri apple orchards. *Phytopathology* 75 : 1281.

46. Shaw, K.J., P.N. Rather, R.S. Hare, and G.H. Miller. 1993. Molecular genetics of aminoglycoside resistance genes and familial relationships of the aminoglycoside-modifying enzymes. *Microbiol. Rev.* 57 : 138-163.

47. Stall, R.E., and P.L. Thayer. 1962. Streptomycin resistance of the bacterial spot pathogen and control with streptomycin. *Plant Dis. Rep.* 46 : 389-392.

48. Sterner, O. 1998. Glisoprenins C, D and E. New Inhibitors of Appressorium Formation in *Magnaporthe grisea* from cultures of *Gliocladium roseum*. *The Journal of Antibiotics* 51, 2 : 228-233.

49. Stockwell, V.O., K.B. Johnson, and J.E. Loper. 1996a. Compatibility of bacterial antagonists of *Erwinia amylovora* with antibiotics used for fire blight control. *Phytopathology* 86 : 834-840

50. Stockwell, V.O., D. Sugar, R. Spotts, K.B. Johnson, and J.E. Loper. 1996b. Recovery of streptomycin-resistant isolates of *Erwinia amylovora* from Oregon orchards. *Phytopathology* 86 : 660 (Abst).

51. Sundin, G.W., and C.L. Bender. 1996a. Dissemination of the *strA-strB* streptomycin resistance genes among commensal and pathogenic bacteria from humans, animals, and plants. *Mol. Ecol.* 5 : 133-143.

52. Sundin, G.W., and C.L. Bender. 1996b. Molecular genetics and ecology of transposon-encoded streptomycin resistance in plant pathogenic bacteria. In : Molecular Genetics and Evolution of Pesticide Resistance. T.M. Brown, ed. American Chemical Society, Washington D.C.

53. Tember, S.B., *et al.* 1999. Activity of the ilicicolins against plant pathogenic fungi. *Pestic Sci.*, 55 : 633-675.

54. Thomson, S.V., S.C. Gouk, J.L. Vanneste, C.N. Hale, and R. Clark. 1993. The presence of streptomycin resistant strains of *Erwinia amylovora* in New Zealand. *Acta. Hortic.* 338 : 223-225.

55. Triptikumar, M., *et al.* 1998. Methemycin, a New Antifungal Macrolactine from *Actenomycetes* sp. *The J. of Anti.* 51, 6 : 582-585.

56. Van der Zwet and S.V. Beer 1991. Fire Blight : Its nature, prevention, and control-A practical guide to integrated disease management. U.S. Dep. Agric., *Agric. Inform. Bull.* No. 631, 34 pp.

57. Yoshitake, T. and S. Omara. 1993. Agroactive compounds of Microbial origin. *Ann. Rev. Microbiol.* 47 : 57-87.

58. Yoshikatsu, *et al.* 2000. Haematocin, a New Antifungal Diketo-piperazine Produced by *Nectria haematococca* causing *Nectria* Blight Disease on ornamental plants. *The J. of Anti.*, 53, 1 : 45-49.

59. Zhang, H., et al. 1999. Zelkovamycin, a new cyclic Peptide Antibiotic from *Streptomyces* sp. K96-0670. *The J. of Anti.* 52, 1 : 29-33.

هذه المراجع بالإضافة إلى معظم أعداد مجلة المضادات الحيوية منذ ١٩٥٢ – ٢٠٠١ . وقد اكتفيت بكتابة بعض المراجع فقط لأهميتها .

◆ The Journal of Antibiotics

مراجع مأخوذة من الإنترنت :

1. http : //www.drreddy.com/antibx.html.

2. http : //www.agro.agriumn.edu / plant-tc./ listserv / 1997 log 9707/ msg 00070.html.

3. http : //www.cma.ca / cmaj / vol – 159 / issue-9 / 1129.htm.

4. http : //www.pharminfo.com.

obeikandi.com