

المبيدات

الحيوية الميكروبية



دكتور

محمود محمد عوض الله السواح

استاذ ورئيس قسم الميكروبيولوجيا

كلية الزراعة - جامعة المنصورة

دار الكتب العلمية

للنشر والتوزيع

القاهرة

الدار العلمية للنشر والتوزيع
٥٠ شارع الشيخ ريحان - عابدين - القاهرة
٢٧٩٥٤٢٢٩
www.sbh-egypt.com
e-mail : sbh@link.net
Scientific Book House

الدار العلمية للنشر والتوزيع
ميدان الشيخ ريحان عابدين القاهرة
٢٧٩٥٢٢٢٩
www.sbh-egypt.com
e-mail : sbh@link.net
Scientific Book House

المبيدات الحيوية الميكروبية

دكتـــــور

محمود محمد عوض الله السواح

أستاذ ورئيس قسم الميكروبيولوجيا - كلية الزارعة - جامعة المنصورة

بكالوريوس في العلوم الزراعية (مرتبة شرف) - جامعة المنصورة (١٩٨٠)

ماجستير في الميكروبيولوجيا - جامعة المنصورة (١٩٨٥)

دكتوراه الفلسفة في الميكروبيولوجيا - جامعة المنصورة (١٩٨٨)

الكتـــــــاب : **المبيدات الحيوية الميكروبية**

المؤلـــــــف : محمود محمد عوض الله

المقـــــــاس : ١٧×٢٤

عدد الصفحـات : ٤٨١

الطبعـــــــة : الأولى ٢٠١٠

رقم الإيـــداع : ٩٠٥٧/ ٢٠١٠

ردمـــــــك : ٢- ٩٥٥- ٢٨٧- ٩٧٧- ٩٧٨

الناشـــــــر : دار الكتب العلمية للنشر والتوزيع

© حقوق النشر والطبع والتوزيع محفوظة لدار الكتب العلمية للنشر والتوزيع – ٢٠١٠

لا يجوز نشر جزء من هذا الكتاب أو إعادة طبعه أو اختصاره بقصد الطباعـة أو اختـزان مادتـه العلميـة أو نقلـه بـأي طريقة سواء كانت إلكترونية أو ميكانيكية أو بالتصوير أو خلاف ذلك دون موافقة خطيه من الناشر مقدمًا.

دار الكتب العلمية للنشر والتوزيع

٥٠شارع الشيخ ريحان – عابدين – القاهرة

☎ ٢٧٩٤٨٦١٩ – ٢٧٩٥٤٢٢٩

فاكس: ٢٧٩٢٨٩٨٠

لمزيد من المعلومات يرجى زيارة موقعنا على الإنترنت

www.sbhegypt.org

e-mail: sbh@link.net

بسم الله الرحمن الرحيم



إهداء

إلى زوجتي

نبع الحب والعطاء

رمز الإخلاص والوفاء

مقدمة

الشكر لله سبحانه وتعالي الذي علمني كيف أشكره، " رَبِّ أَوْزِعْنِيٓ أَنْ أَشْكُرَ نِعْمَتَكَ ٱلَّتِيٓ أَنْعَمْتَ عَلَيَّ وَعَلَىٰ وَٰلِدَيَّ وَأَنْ أَعْمَلَ صَٰلِحًا تَرْضَىٰهُ وَأَدْخِلْنِي بِرَحْمَتِكَ فِي عِبَادِكَ ٱلصَّٰلِحِينَ " ربى لك الشكر والثناء كما ينبغى لجلال وجهك وعظيم سلطانك أن ألهمتني الصبر ومنحتني الطاقة لأكمل هذا العمل، والحمد لله رب العالمين والصلاة والسلام علي أفضل الأنبياء والمرسلين سيدنا محمد وعلى اله وصحبه وسلم أجمعين. عملاً بقول الرسول صلي الله عليه وسلم " إذا مات ابن آدم انقطع عمله إلا من ثلاث صدقة جارية أو علم ينتفع به أو ولد صالح يدعو له" أقدمت على إصدار هذا المؤلف راجياً أن يكون خالصًا لوجه الله الكريم.. لعله يكون علماً نافعا وشفيعا يوم الدين، أسأل الله أن يجعل هذا العمل المتواضع في سبيله ويجعله يسهم في رفعة عزة أمتنا العربية وأن يفيد به ويجعله لي في ميزان أعمالي.

يبلغ عمر الزراعة الآن نحو عشرة ألاف سنة، وقد كانت بمثابة أول تغير في تعامل الإنسان مع البيئة لإنتاج الغذاء، إلا أن الزراعة قد عانت في الآونة الأخيرة من تلوث منتجاتها وبيئاتها علي أثر الإفراط في استخدام الأسمدة المعدنية والمبيدات الكيميائية والهرمونات، ولذلك فهناك ضغط من رأي العام بالعودة إلى الطبيعة واستخدام المدخلات الطبيعية مثل الأسمدة الحيوية والمبيدات الحيوية كبدائل خضراء في الزراعة المستدامة، وتعتبر الكائنات الحية الدقيقة أكثر الأشكال الحية المستخدمة كلقاحات سمادية ومبيدات حيوية، وهي أكثر أشكال الحياة علي سطح الأرض مرونة أيضية، وأكثرها قدرة على التأقلم فهي تقطن كوكب الأرض منذ ٣٤٥٦ مليون سنة، ولهذا الكائنات دور هام في وصول كوكب الأرض لوضعه الحالي من خلال مشاركتها في المسارات الأيضية مثل عملية تثبيت النيتروجين التي مازالت قاصرة علي البكتيريا فقط.

وقد أحرزت البيوتكنولوجيا تطورًا كبيرًا في عزل الآلاف من الميكروبات، والحفاظ عليها في مزارع نقية، واستخدامها في صورة مستحضرات تجارية كأدوات للمكافحة

الحيوية، ومن المتوقع نمو سوق المبيدات الحيوية بمعدل ١٠٪ سنويًا في مقابل ١-٢ ٪ للمبيدات الكيميائية، والميكروبات في جعبتها - بلا شك- الكثير من الخير للبشرية، وقد غدت بعض المبيدات الحيوية تقف على قاعدة صلبة والبعض الآخر مازال يحتاج إلى مزيد من البحث.

يقع الكتاب في سبعة أبواب تناول مدى الحاجة إلى المبيدات الحيوية ومفاهيم وميكانيكيات المكافحة الحيوية، والمبيدات الحيوية من البكتيريا والفطريات والفيروسات المستخدمة في مكافحة الآفات المختلفة والميكروبات الممرضة، والمفاومة للمبيدات الحيوية وإستراتيجيات إدارة المقاومة، والمشاكل الصحية الناجمة عن التعرض للمبيدات الحيوية، وأخيرًا يعرض الكتاب الاتجاهات الجديدة في المبيدات الحيوية الميكروبية.

والكتاب محاولة لكشف غموض دور الكائنات الحية الدقيقة في إبادة الآفات والميكروبات الممرضة وفهمه بشكل عميق للاستفادة منه في الحفاظ علي صحة الإنسان وزيادة رفاهيته.

ومشروع هذا الكتاب قد نشأ من حاجة المكتبة العربية إلى هذا النوع من الكتب في مجال المكافحة الحيوية حيث زود بعدد وافر من المراجع المختلفة حتى يمكن الرجوع إليها للاستفادة منها في الدراسات الدقيقة.

وعند تقديمي لهذا الكتاب للمكتبة العربية لا أدعي فيه الكمال، كما أرحب بكل ملاحظة واقتراح أو نقد بناء، وأدعو الله أن يكون هذا الكتاب مصدرًا لمعلومات مفيدة، وأن يجد فيه القارئ مزيد من الإفادة والإستزادة.

أدعو الله أن أكون قد وفقت في عملي هذا وأن أكون قد قدمت إلى المكتبة العربية راجيًا من الله حسن القبول والثواب.

والله ولي التوفيق..

المؤلف

فهرس مختصر

• الباب الأول.....٢٥

المبيدات الكيميائية والبدائل الحيوية.....٢٥

الفصل الأول.....٢٧

الحاجة إلى المبيدات الحيوية.....٢٧

الفصل الثانى.....٣٩

مفاهيم المكافحة الحيوية.....٣٩

الفصل الثالث.....٤٩

ميكانيكيات المكافحة الحيوية.....٤٩

• البـاب الثانـى.....٦٩

المبيـدات الحيويـة البكتيريـة.....٦٩

الفصـل الأول.....٧١

البكتيريـا والمكافحـة الحيويـة.....٧١

الفصـل الثانى.....٨٥

المبيدات البكتيرية المستخدمة فى مكافحة الآفات الحشرية.....٨٥

الفصل الثالث.....١٢١

المبيدات البكتيرية المستخدمة فى مكافحة البكتيريا الممرضة للنبات.....١٢١

الفصل الرابع.....١٣١

المبيدات البكتيرية المستخدمة فى مكافحة الفطريات الممرضة للنبات ١٣١
الفصل الخامس ١٥١
المبيدات البكتيرية المستخدمة فى مكافحة الحشائش ١٥١
الفصل السادس ١٥٥
المبيدات البكتيرية المستخدمة فى مكافحة النيماتودا ١٥٥
• **البـاب الثالـث** ١٦٩
المبيـدات الحيويـة الفطريـة ١٦٩
الفصل الأول ١٧١
الفطريـات ومكافحـة الآفـات ١٧١
الفصل الثانى ١٩١
المبيدات الفطرية المستخدمة فى مكافحة الآفات الحشرية ١٩١
الفصل الثالث ٢١٩
المبيدات الفطرية المستخدمة فى مكافحة البكتيريا الممرضة ٢١٩
الفصل الرابع ٢٢١
المبيدات الفطرية المستخدمة فى مكافحة الفطريات الممرضة للنبات ٢٢١
الفصل الخامس ٢٤٣
المبيدات الفطرية المستخدمة فى مكافحة الحشائش ٢٤٣
الفصل السادس ٢٦١
المبيدات الفطرية المستخدمة فى مكافحة النيماتـودا ٢٦١
الفصل السابع ٢٨٣
المبيدات الفطرية المستخدمة فى مكافحة الحلم ٢٨٣

• **الباب الرابع** ٢٨٥
المبيدات الحيوية الفيروسية ٢٨٥
الفصل الأول ٢٨٧
الفيروسات ومكافحة الآفات ٢٨٧
الفصل الثانى ٢٩٣
المبيدات الفيروسية المستخدمة فى مكافحة الآفات الحشرية ٢٩٣
الفصل الثالث ٣٢١
المبيدات الفيروسية المستخدمة فى مكافحة الميكرويات والآفات الأخرى ٣٢١
• **الباب الخامس** ٣٢٧
المقاومة للمبيدات الحيوية واستراتيجيات إدارة المقاومة ٣٢٧
• **الباب السادس** ٣٢٩
المشاكل الصحية للتعرض للمبيدات الحيوية ٣٢٩
• **الباب السابع** ٣٦٧
اتجاهات جديدة فى المبيدات الحيوية الميكروبية ٣٦٧
الفصل الأول ٣٦٩
البدائل المتاحة ... نظرة حديثة ٣٦٩
الفصل الثانى ٣٧٥
آليات مكافحة الأمراض بالريزويكتيريا والريزوفطريات ٣٧٥
الفصل الثالث ٤٠٩
ميكروبات الاندوفايت ٤٠٩
الفصل الرابع ٤٢٧

فهرس مفصل

الباب الأول..... ٢٥
المبيدات الكيميائية والبدائل الحيوية..... ٢٥
الفصل الأول..... ٢٧
الحاجة إلى المبيدات الحيوية..... ٢٧
منظور تاريخى للمبيدات الكيميائية..... ٢٧
المشكلات الناجمة عن استخدام المبيدات الكيميائية..... ٢٧
لماذا نضع البدائل الحيوية فى الاعتبار ؟..... ٣٠
ماهية المبيدات الحيوية ؟..... ٣٢
أقسام المبيدات الحيوية..... ٣٣
١ - الكائنات الحية..... ٣٣
٢ - المواد البيوكيماوية..... ٣٥
٣- المواد ذات التأثير الإبادى المنتجة من النباتات المعدلة وراثياً..... ٣٥
الفصل الثانى..... ٣٩
مفاهيم المكافحة الحيوية..... ٣٩
مقـدمـة..... ٣٩
المكافحة الحيوية الكلاسيكية..... ٣٩
المكافحة الحيوية باللقاحات..... ٤٠
المكافحة الحيوية بالإغراق..... ٤٢
صـون المكافحـة الحيويـة..... ٤٣
الفصل الثالث..... ٤٩
ميكانيكيات المكافحة الحيوية..... ٤٩

التفاعلات المؤدية للمكافحة الحيوية.....٤٩
ميكانيكيات المكافحة الحيوية.....٥٠
التضاد الحيوى.....٥١
أولاً: المواد الطيارة.....٥٥
أ- الأمونيا.....٥٥
ب- الألكيل بيرون.....٥٥
ج- سيانيد الهيدروجين.....٥٦
د- ثانى أكسيد الكربون.....٥٦
ثانياً : الإنزيمات المحللة.....٥٦
ثالثاً : التطفل.....٥٧
رابعاً : التنافس.....٥٨
خامساً : ميكانيكيات أخرى.....٦١
١- المرضية المضاعفة.....٦١
٢- المقاومة المحثة.....٦١
٣- زيادة استجابة النمو.....٦٢
اعتبارات استخدام الميكروبات كعوامل مكافحة حيوية للميكروبات الممرضة.....٦٣
تأثير العوامل غير الحيوية والحيوية على عوامل المكافحة الميكروبية.....٦٣
الباب الثانى.....٦٩
المبيدات الحيوية البكتيرية.....٦٩
الفصل الأول.....٧١
البكتيريا والمكافحة الحيوية.....٧١
البكتيريا .. نظرة عامة.....٧١
موضع البكتيريا فى عالم الأحياء.....٧٤
البكتيريا الممرضة للآفات المختلفة.....٧٥
١- البكتيريا الممرضة للآفات الحشرية.....٧٥
٢- البكتيريا الممرضة للبكتيريا.....٧٧

٣- البكتيريا الممرضة للفطريـات.....٧٨
٤- البكتيريا الممرضة للحشائش.....٧٨
٥- البكتيريا الممرضة للنيماتودا.....٧٩
الآمان والتخصص والكفاءة للمبيدات البكتيرية.....٨١
حفظ الممرضات البكتيرية.....٨٢
العوامل المؤثرة على تطبيقات الممرضات البكتيرية فى مكافحة الآفات.....٨٢
أولاً : العوامل الحيوية.....٨٢
ثانياً : العوامل غير الحيوية.....٨٢
أ- الأشعة فوق البنفسجية.....٨٢
ب- درجة الحرارة.....٨٣
ج- الرطوبة.....٨٣
د- ظروف وسط الانتشار.....٨٣
الفصـل الثانى.....٨٥
المبيدات البكتيرية المستخدمة فى مكافحة الآفات الحشرية.....٨٥
أ- بكتيريا باسيلس ثورنجينسيس.....٨٥
الأجسام البلورية.....٨٧
الطـرز المرضيـة.....٨٨
ميكانيكية عمل سموم دلتا - اندوتوكسين وجينات البروتين البلورى.....٨٨
علاقة التركيب بالوظيفة فى البروتين البلورى.....٩٩
التنوع الجينى للبروتين البلورى.....١٠٣
التحسين الوراثى.....١٠٣
أ- المعالجة الانتقائية للبلازميد.....١٠٣
ب- نشأة سلالات جديدة بالتزاوج.....١٠٤
ج- نقل جينات البروتين البلورى للكائنات الأخرى.....١٠٥
الإنتاج التجارى.....١٠٥
١- السلالات.....١٠٥

٢- اللقـاح.....١٠٦
٣- وسط التخمير.....١٠٦
٤- الظروف المزرعية.....١٠٦
٤- الجراثيم والتوكسينات المنتجة.....١٠٦
٥- التوحيد القياسى للمنتج.....١٠٦
٦- نمط المستحضر التجارى النهائى.....١٠٦
٧- تطبيقات المكافحة.....١٠٧
الوضع الحالى للباسيلس ثورنجينسيس كمبيد حشرى.....١٠٩
ب- بكتيريا باسيلس سفريكسBacillus sphaericus Neide.....١١١
ج- بكتيريا بانيباسيلس بوبليا Paenibacillus popilliae.....١١٤
المنتجات التجارية المتاحة.....١١٦
الإنتاج الكمى.....١١٦
د- بكتيريا سيرتيا انتوموفيلا Seratia entomophila.....١١٧
الفصل الثالث.....١٢١
المبيدات البكتيرية المستخدمة فى مكافحة البكتيريا الممرضة للنبات.....١٢١
مقدمة.....١٢١
المبيدات البكتيرية.....١٢١
المنتجات التجارية.....١٢٤
الفصل الرابع.....١٣١
المبيدات البكتيرية المستخدمة فى مكافحة الفطريات الممرضة للنبات.....١٣١
مقدمة.....
الأنواع البكتيرية المستخدمة فى مكافحة الفطريات.....
الفصل الخامس.....١٥١
المبيدات البكتيرية المستخدمة فى مكافحة الحشائش ١٥١
مقدمة.....١٥١
المستحضرات التجارية.....١٥٢
الفصل السادس.....١٥٥
المبيدات البكتيرية المستخدمة فى مكافحة النيماتودا.....١٥٥

مقدمـة.....١٥٥
البكتيريا المستخدمة فى مكافحة النيماتودا.....١٥٨
دور الريزوبكتيريا فى مكافحة النيماتودا.....١٥٨
البـاب الثالـث ١٦٩
المبيـدات الحيويـة الفطريـة.....١٦٩
الفصل الأول.....١٧١
الفطريـات ومكافحـة الآفـات.....١٧١
مقـدمـة.....١٧١
خصائص الفطريات الممرضة للآفات.....١٧٣
موضع الفطريات فى عالم الأحياء.....١٧٥
العوامل البيئية المؤثرة على الفطريات الممرضة.....١٧٨
أ – العوامل الطبيعية.....١٧٨
١ – الرطوبة.....١٧٨
٢– درجة الحرارة.....١٧٩
٣– الريـاح.....١٨٠
٤– الضـوء.....١٨١
٥– التربـة.....١٨١
ب– الكيماويات.....١٨١
ج – العوامل الحيوية.....١٨٢
١ – الكائنات الحية الدقيقة.....١٨٢
٢– الكائنات الحية الكبيرة.....١٨٣
العوامل المؤثرة على حساسية الآفات للإصابة بالفطريات.....١٨٣
أ– المقاومة.....١٨٤
ب– العـادات.....١٨٤
ج– الموطـن.....١٨٤
د– الكثافة العددية.....١٨٤
إنتاج الفطريات المستخدمة فى المكافحة الحيوية.....١٨٥
المبيدات الفطرية.....١٨٥
ايجابيات وسلبيات المبيدات الحيوية الفطرية.....١٨٦

نواحى الأمان فى استخدام الفطريات فى المكافحة الحيوية.....١٨٨
الفصل الثانى.....١٩١
المبيدات الفطرية المستخدمة فى مكافحة الآفات الحشرية.....١٩١
الفطريات الممرضة للحشرات.....١٩١
طريقة تأثير الفطريات الممرضة للحشرات.....١٩١
١- استقرار والتصاق جراثيم وميسيليوم الفطر بكيوتكل الحشرة.....١٩٢
٢- إنبات الجراثيم والنمو الميسليومى.....١٩٣
٣- اختراق كيوتكل العائل.....١٩٤
٤- النمو الخضرى داخل العائل.....١٩٤
دور الفطريات فى مكافحة الآفات الحشرية.....١٩٥
إنتاج الفطريات الممرضة للآفات الحشرية.....١٩٦
الطريقة الأولى : عدوى الحشرات المجموعة فى المعامل.....١٩٧
الطريقة الثانية : عدوى العوائل.....١٩٧
الطريقة الثالثة : جمع المصادر الفطرية.....١٩٧
الطريقة الرابعة : إحداث وباء فطرى.....١٩٧
الإنتاج على البيئات الصناعية.....١٩٧
١) الزرع المغمور.....١٩٨
٢) الزرع الصلب.....١٩٨
الفطريات المستخدمة فى المكافحة الحيوية للحشرات.....١٩٨
المستحضرات الفطرية التجارية.....١٩٨
الفصل الثالث.....٢١٩
المبيدات الفطرية المستخدمة فى مكافحة البكتيريا الممرضة.....٢١٩
مقدمة.....٢١٩
المستحضرات التجارية.....٢١٩
الفصل الرابع.....٢٢١
المبيدات الفطرية المستخدمة فى مكافحة الفطريات الممرضة للنبات.....٢٢١

مقدمـة..... ٢٢١
المبيدات الفطرية..... ٢٢٢
دور الخمائر فى المكافحة الحيوية..... ٢٣٤
ميكانيكية الخميرة فى المكافحة الحيوية..... ٢٣٤
استخدام الخمائر فى مكافحة فطريات مابعد الحصاد..... ٢٣٤
دور الميكوريزا فى المكافحة الحيوبة..... ٢٣٦
الفصل الخامس..... ٢٤٣
المبيدات الفطرية المستخدمة فى مكافحة الحشائش..... ٢٤٣
وضع المكافحة بمبيدات الحشائش الفطرية..... ٢٤٣
تاريخ المكافحة بمبيدات الحشائش الفطرية..... ٢٤٣
تطوير مبيد حشائش فطرى..... ٢٤٥
تحسين مبيدات الحشائش الفطرية..... ٢٤٦
مبيدات الحشائش الفطرية..... ٢٤٦
تجهيز واستعمال الفطريات الممرضة للنبات فى مكافحة الحشائش..... ٢٥٢
المستحضرات التجارية..... ٢٥٤
الفصل السادس..... ٢٦١
المبيدات الفطرية المستخدمة فى مكافحة النيماتـودا..... ٢٦١
مقـدمـة..... ٢٦١
آليات الفطريات فى مكافحة النيماتودا..... ٢٦٢
الفطريات الهامة فى مكافحة النيماتودا..... ٢٦٣
١ – فطريـات داخليـة التطفـل..... ٢٦٤
٢ – فطريـات خارجية التطفل (مفترسة)..... ٢٦٧
التراكيب الصائدة للنيماتودا فى الفطريات..... ٢٧٠
١ – الهيفات اللاصقة..... ٢٧٠
٢ – الفروع اللاصقة..... ٢٧٠
٣ – الشباك اللاصقة..... ٢٧١
٤ – العقد اللاصقة..... ٢٧٢
٥ – الحلقات غير المنقبضة..... ٢٧٣

٦- الحلقات المنقبضة.....٢٧٤
الفطريات المتطفلة على بيض النيماتودا.....٢٧٧
المستحضرات التجارية.....٢٧٨
الفصل السابع.....٢٨٣
المبيدات الفطرية المستخدمة فى مكافحة الحلم.....٢٨٣
مقدمة.....٢٨٣
المبيدات الحيوية.....٢٨٣
الباب الرابع.....٢٨٥
المبيدات الحيوية الفيروسية.....٢٨٥
الفصل الأول.....٢٨٧
الفيروسات ومكافحة الآفات.....٢٨٧
مقدمة.....٢٨٧
ماهية الفيروسات؟.....٢٨٧
المبيدات الفيروسية للآفات.....٢٨٩
١- الفيروسات الحبيسة (المحتواه).....٢٨٩
٢- الفيروسات الحرة (غير الحبيسة أو السائبة).....٢٩١
الفصل الثانى.....٢٩٣
المبيدات الفيروسية المستخدمة فى مكافحة الآفات الحشرية.....٢٩٣
مقدمة.....٢٩٣
الفيروسات الممرضة للحشرات.....٢٩٧
دخول وتضاعف الفيروسات بالحشرات.....٢٩٨
تصنيف الفيروسات الحشرية.....٢٩٨
عزل الفيروسات.....٣١٣
القدرة المرضية للفيروسات المعزولة.....٣١٤
الإنتاج الكمى للفيروسات الحشرية.....٣١٤
المستحضرات الفيروسية التجارية ٣١٥
الفصل الثالث ٣٢١
المبيدات الفيروسية المستخدمة فى مكافحة الميكرويات والآفات الأخرى.....٣٢١

المبيدات الفيروسية المستخدمة فى مكافحة البكتيريا الممرضة للنبات.....٣٢١
المبيدات الفيروسية المستخدمة فى مكافحة الفطريات الممرضة للنبات.....٣٢١
المبيدات الفيروسية المستخدمة فى مكافحة النيماتودا.....٣٢٤
الباب الخامس.....٣٢٧
المقاومة للمبيدات الحيوية واستراتيجيات إدارة المقاومة.....٣٢٧
مقـدمـة.....٣٢٩
حـالات المقاومـة.....٣٢٩
البكتيريـا.....٣٣٠
الفطـريـات.....٣٣٥
الفيروسـات.....٣٣٧
خصائص الميكروبات الممرضة المؤثرة فى المقاومة.....٣٣٨
الكشف عن المقاومة.....٣٣٩
١ - التقدير الحيوى بغمس الورقة.....٣٣٩
٢- ٥٠LC والتركيز المقابل ٩٥٪ Cl.....٣٣٩
٣- استخدام الحامض النووى DNA.....٣٣٩
كيفية التعامل مع المقاومة.....٣٤٠
تقليل عدد مرات ومناطق المعاملة بالمبيد.....٣٤٠
الجرعات المرتفعة.....٣٤١
الجرعات المنخفضة.....٣٤٢
خصائص الآفات المؤثرة فى المقاومة.....٣٤٢
تجنب مخاليط المبيدات.....٣٤٢
تجنب مستحضرات المبيدات طويلة الأمد.....٣٤٣
استعمال مراحل الآفة الأكثر حساسية.....٣٤٤
الباب السادس.....٣٤٩
المشاكل الصحية للتعرض للمبيدات الحيوية.....٣٤٩
مقـدمـة.....٣٥١
مخاطر التعرض للمبيدات الحيوية.....٣٥٢

المشاكل الصحية الناجمة عن المبيدات الحيوية.....٣٥٤
طرق قياس التعرض.....٣٥٦
التعرض لعوامل المكافحة الحيوية من الفطريات.....٣٥٧
تقييم التعرض فى إنتاج عوامل المكافحة الحيوية من الفطريات.....٣٥٨
الباب السابع.....٣٦٧
اتجاهات جديدة فى المبيدات الحيوية الميكروبية.....٣٦٧
الفصل الأول.....٣٦٩
البدائل المتاحة ... نظرة حديثة.....٣٦٩
الفصل الثانى.....٣٧٥
آليات مكافحة الأمراض بالريزوبكتيريا والريزوفطريات.....٣٧٥
الريزوبكتيريا.....٣٧٥
آليات مكافحة المرض.....٣٧٧
١- المكافحة الحيوية.....٣٧٧
٢- آليات أخرى.....٣٧٩
الريزوبكتيريا فى المكافحة الحيوية.....٣٧٩
١- التأثيرات المباشرة للريزوبكتيريا.....٣٨٠
٢- التأثيرات غير المباشرة للريزوبكتيريا.....٣٨١
خصائص الريزوبكتيريا المستخدمة فى المكافحة الحيوية.....٣٨٢
خصائص مستحضر الريزوبكتيريا المثالى.....٣٨٣
الحوامل المستخدمة فى تجهيز مستحضرات الريزوبكتيريا.....٣٨٣
تطبيقات الريزوبكتيريا.....٣٨٤
كفاءة مستحضرات الريزوبكتيريا.....٣٩٦
١- تطوير المجموعات الميكروبية المتوافقة.....٣٩٧
٢- استخدام السلالات البكتيرية المحثة للتعبير التعاونى لجينات المكافحة الحيوية...٣٩٨
٣- استخدام المواد المساعدة والناشرة والصمغية.....٣٩٨
٤- تصميم سلالات الريزوبكتيريا.....٣٩٩
٥- استخدام المواد المشجعة لنمو النبات.....٣٩٩

الإنتـاج التجـارى.....٣٩٩
١- عزل وحصر عوامل المكافحة الحيوية.....٣٩٩
٢- اختبارات الصوب والكفاءة الحقلية.....٤٠٠
٣- الإنتاج الضخم وتجهيز المستحضرات.....٤٠٠
٤- طـرق التخمـر.....٤٠٠
١- التخمر السائل.....٤٠٠
٢- التخمر الصلب.....٢٠٠
٥- حيويـة المستحضـرات.....٤٠١
٦- السميـة.....٤٠١
٧- التصنيـع.....٤٠١
٨- مراقبـة الجـودة.....٤٠٢
الريزوفطريـات.....٤٠٣
الفصل الثالث.....٤٠٢
ميكروبات الاندوفايت.....٤٠٩
مقدمـة.....٤٠٩
ماهية ميكروبات الاندوفايت ؟.....٤٠٩
المصادر ومنافذ الدخول.....٤١١
أماكن التواجد بالنبات.....٤١٢
عزل ميكروبات الإندوفايت.....٤١٣
آليات ميكروبات الأندوفايت فى المكافحة الحيوية.....٤١٥
١- التضـاد الحيـوى.....٤١٧
٢- التنافـس.....٤١٧
٣- تحلل الجدر الخلوية.....٤١٧
٤- حـث آليـات دفاعـات النبـات.....٤١٨
٥- نمـو النبـات.....٤١٨
الاستخدامات التطبيقية لميكروبات الاندوفايت فى المكافحة الحيوية.....٤١٩
تحسين كفاءة ميكروبات الاندوفايت فى المكافحة الحيوية.....٤١٩

الفصل الرابع.....٤٢٧
اللقاحات السمادية.....٤٢٧
الأنظمة البيولوجية المثبتة لأزوت الهواء الجوى.....٤٢٩
الأنظمة البيولوجية الميسرة للبوتاسيوم.....٤٣٠
الأنظمة البيولوجية الميسرة للفوسفور.....٤٣٠
الميكوريـزا.....٤٣٤
الفصل الخامس.....٤٣٩
الكومبوست ومستخلصاته.....٤٣٩
ماهية الكومبوست؟.....٤٤١
ماهية مستخلص (شاى) الكومبوست؟.....٤٤٥

رباب والأرض

المبيدات الكيميائية والبدائل الحيوية

الفصل الأول
الحاجة إلى المبيدات الحيوية

❖منظور تاريخي للمبيدات الكيميائية:

لا يمكن لكتاب عن المبيدات الحيوية Biopesticides - مثل هذا الكتاب الذى بين أيدينا - أن يقلل بأى حال من الأحوال من الدور الذى قامت به المبيدات الكيميائية للآفات chemical pesticides على الرغم من سلبياتها الكثيرة ؛ فقيمة هذه المبيدات ليست موضع نقاش أو شك من قريب أو بعيد، والبشرية كلها مدينة - منذ تم إدخال مبيد DDT فى عام (١٩٤٥) والموجات التالية التى أعقبته - إلى هذه المركبات الكيميائية التخليقية بالفضل فى وقاية الإنسان ذاته والحفاظ على مزروعاته وحيواناته الاقتصادية من الأعداد الضخمة من الآفات والأمراض المختلفة، وذلك بفضل فعلها المباشر والسريع، وسهولة وصولها للآفات ومسببات الأمراض المختلفة، وكفاءتها العالية في إبادة الآفات والميكروبات الممرضة.

وعلى الرغم من أن عمر الزراعة يبلغ نحو عشرة آلاف سنة، إلا أن التطور الذى شهدته الزراعة خلال الخمسين عامًا الماضية فقط قد واكبه زيادة غير مسبوقة فى إنتاج مبيدات الآفات الكيميائية المختلفة، ومن المعتقد أن ذلك إنما يرجع إلى تصنيع الزراعة agriculture industrialization في معظم الدول الغربية، وتقدم الزراعة فى دول العالم الثالث منذ الثورة الخضراء لتأمين إمدادات العالم الغذائية.

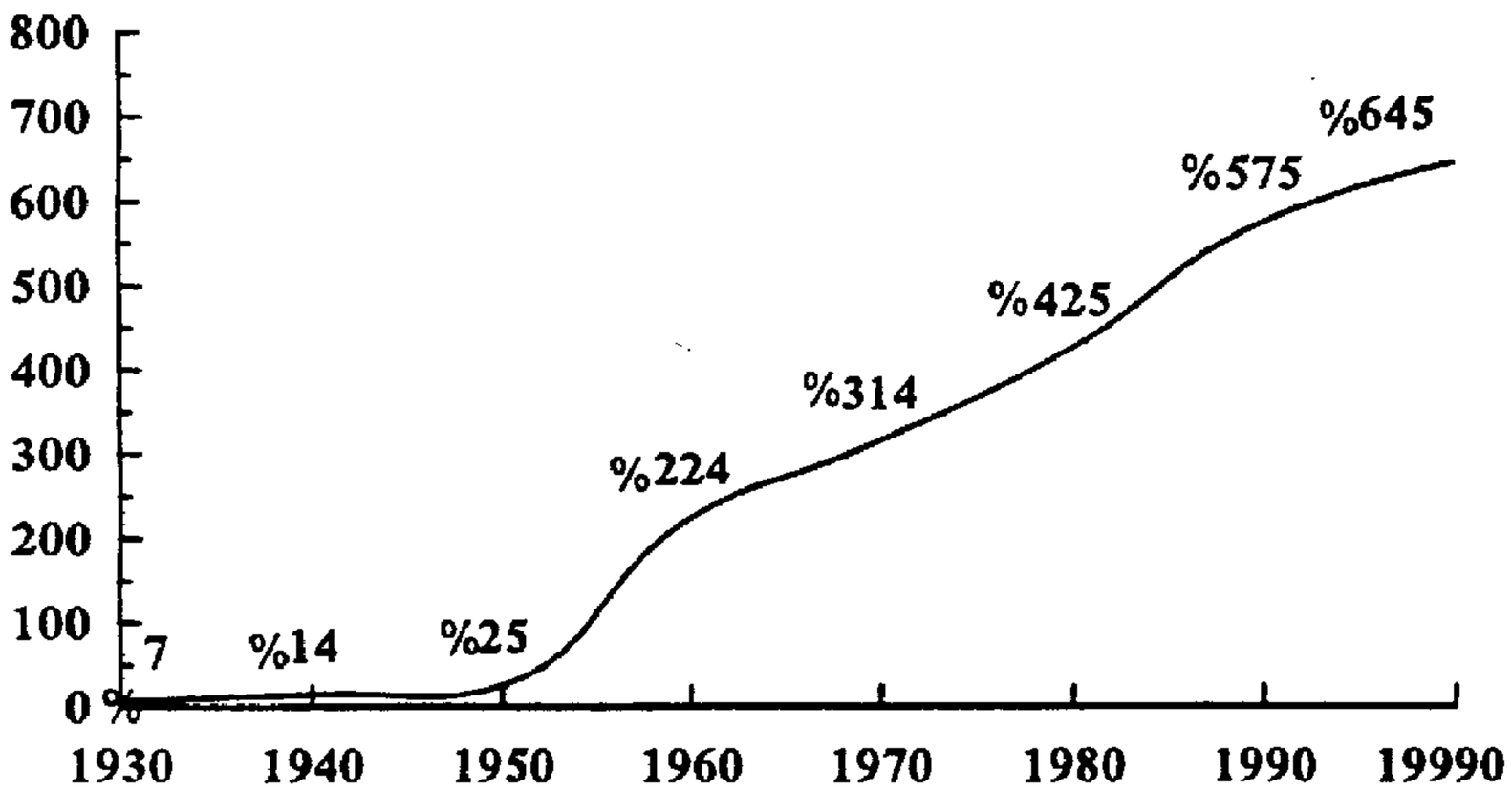
❖المشكلات الناجمة عن استخدام المبيدات الكيميائية:

لقد أدى الاستخدام المكثف والعشوائى لمبيدات الآفات الكيميائية فى الزراعة إلى العديد من المشاكل الخطيرة، فبجانب زيادة تكلفة الإنتاج ظهرت خاصية المقاومة resistance فى عدد من الآفات الهامة ومسببات الأمراض الميكروبية ضد بعض المبيدات الكيميائية، وكذلك وجود متبقيات المبيدات pesticide residues السامة فى المنتجات الزراعية مثل منتجات الألبان، وعودة ظهور الآفات والميكروبات الضارة، وارتفاع معدلات تكاثرها،

والقضاء على الكائنات الحية النافعة، إلى جانب التأثيرات البيئية الأخرى. وتشير الإحصاءات إلى أن هناك (٢٥) مليون شخص على مستوى العالم يعانون من التسمم بالمبيدات فى كل عام على أثر دخولها فى السلسلة الغذائية food chain، وفى الوقت الذى تستخدم فيه دول العالم الثالث حوالى (٢٠٪) فقط من الإنتاج العالمى للمبيدات فإن (٩٩٪) من وفيات المبيدات على مستوى العالم توجد فى دول العالم الثالث.

وقد بدأ ظهور صفة المقاومة فى كثير من الآفات الهامة للمبيدات الكيميائية مثل مبيد د.د.ت DDT ومشتقات الدايين الحلقية الكلورية HCH بشكل ملفت للنظر فى الستينيات من القرن الماضى، ثم تطورت خاصية مقاومة المبيد الكيميائى فى عدد كبير من الآفات المختلفة، وقد تطورت المقاومة فى أول الأمر فى الآفات الحشرية، ثم تلاها بعد ذلك آفات أخرى؛ ففى الستينيات كان عدد أنواع الآفات الحشرية المقاومة حوالى مائتين، إلا أنه بمرور الوقت زاد عدد آفات المن والذباب والحشرات القشرية والقراد المقاومة إلى جانب الميكروبات التى ظهرت فيها صفة المقاومة بشكل كبير منذ ذلك الحين، وتقدر الأنواع المقاومة من الحشرات والحلم بما يزيد على (٦٠٠) نوع تقاوم مبيد حشرى أو كثر، أما بين الحشائش فهناك (٢١٦) نوع من الحشائش تقاوم على الأقل أحد أقسام مبيدات الحشائش.

ويعنى نمو ظاهرة المقاومة فى الآفات الخطيرة ضد المبيدات الكيميائية (شكل ١-١) فقد جزء كبير من الإنتاج الزراعى، وتشير بعض التقديرات إلى أن هذا الفقد يصل إلى (٢٠ - ٥٠٪) من الإنتاج الكلى.



شكل (١-١) تطور المقاومة فى الحشرات والحلم لمبيدات الآفات الحشرية

وبصفة رئيسية تحدث ظاهرة المقاومة فى الآفات ضد المبيدات الكيميائية نتيجة الإفراط فى الاستخدام العشوائى لهذه المركبات وتعرض الآفة لمبيد معين بشكل متتابع، وقد ساهمت المبيدات ذات المواصفات غير القياسية فى ظهور صفة المقاومة فى حالات كثيرة بسبب تكرار تعرض الآفات لتركيزات منخفضة من المبيد، حيث يساهم ذلك فى تطور ظاهرة المقاومة دون القضاء على الآفة. تظهر الآفات المقاومة للمركبات الكيميائية على أثر سلوك خاص بالآفة يعوق المبيد الكيميائى من القيام بتأثيره مثل إغلاق الفوهات التنفسية بمجرد الإحساس بوجود المبيد وحتى تبدده من حولها، وسرعة إخراج جزيئات المبيد الكيميائى من أمعائها، والطيران قبل امتصاص جسمها الكمية الكافية لقتلها، وتحليل جزيئات المادة السامة، وإزالة مفعولها بشكل سريع، ويجب توقع أن الآفات تطور ميكانيكيات مقاومة ودفاعات فعالة لمعظم المبيدات الكيماوية التقليدية كجزء من استراتيجيتها فى البقاء، وتشمل هذه الميكانيكيات آليات مختلفة متخصصة مورفولوجية وسلوكية وفسيولوجية وبيوكيميائية وبيوتكنولوجية ووراثية، إلى جانب آليات غير متخصصة مثل المناعة.

أما المشكلة الهامة الثانية الناتجة عن الاستخدام المكثف وغير الملائم لمبيدات الآفات الكيميائية فهى وجود متبقيات هذه المبيدات السامة فى الغذاء، فالكثير من مبيدات الآفات المستخدمة تستطيع البقاء فى النباتات لمدة طويلة، وتدخل ضمن السلسلة الغذائية Food chain، وتوجد فى اللحوم ومنتجات الألبان، وتعتبر متبقيات المبيدات بمثابة تهديد خطير لصحة الإنسان وسلامة البيئة والحياة البرية والأسماك. وتكمن الخطورة الأساسية فى تراكم كميات ضئيلة من هذه المبيدات بالجسم بشكل مستمر مما يؤدى إلى تسمم مزمن لا يشعر به الفرد إلا عند وصول مستوى المبيد أو أثره إلى حد معين.

وهناك مشكلة ثالثة تنشأ من تأثير المبيد الكيميائى على النبات العائل وهى ارتفاع معدلات تكاثر الأنواع الضارة من الآفات المتطفلة على تلك النباتات، وترجع أسباب هذه المشكلة إلى أن المبيد يحدث تغيرات بيوكيميائية فى النبات العائل تؤدى إلى زيادة بعض العناصر الغذائية والأحماض الأمينية والسكريات والنظم الإنزيمية فى الأنسجة الورقية ويثير مثل هذا التأثير الغذائى عملية التكاثر فى الآفات.

ومن المشاكل الأخرى لاستخدام المبيدات الكيميائية القضاء على الكائنات غير المستهدفة

مثل الكائنات الحية النافعة مما يؤدى إلى حدوث نوع من الخلل فى الاتزان البيولوجى بالنظام البيئى، فالمبيدات الكيميائية تضر بالمجاميع الميكروبية المفيدة فى التربة مما يؤدى إلى نقص خصوبة التربة الزراعية، كما تضر المبيدات بالحشرات النافعة كنحل العسل وكذلك الأعداء الطبيعية natural enemies ذات الدور الهام فى حفظ التوازن البيئى.

وثمة مشكلة أخيرة وهى عودة ظهور الآفات الخطيرة إذ يؤدى استخدام المبيد الكيميائى فى مكافحة آفة معينة إلى القضاء على معظم أفرادها كما هو متوقع، ويؤدى ذلك إلى وضع البقية الباقية ضمن الشروط البيئية التى يكون فيها الكمون التكاثرى فى أقصى درجاته فتعود الآفة إلى نفس تعدادها - وربما تتجاوزه - إلى مستوى أعلى من ذلك الذى كانت عليه قبل استخدام المبيد، ومن ثم تكون هناك حاجة ماسة لاستعمال المبيد من جديد للقضاء على الأعداد الكبيرة العائدة.

وبجانب التأثير غير المستهدف والطبيعة الخطيرة لمبيدات الآفات الكيميائية فإن هذه المبيدات مكلفة كثيرًا فى الزراعة، وقد فقد بعضها تأثيره بسبب تطور السلالات المقاومة resistant strains، كما أن بعضها لا يتم تحليله مما يؤدى إلى تلوث النظم البيئية.

❖لماذا نضع البدائل الحيوية فى الاعتبار؟

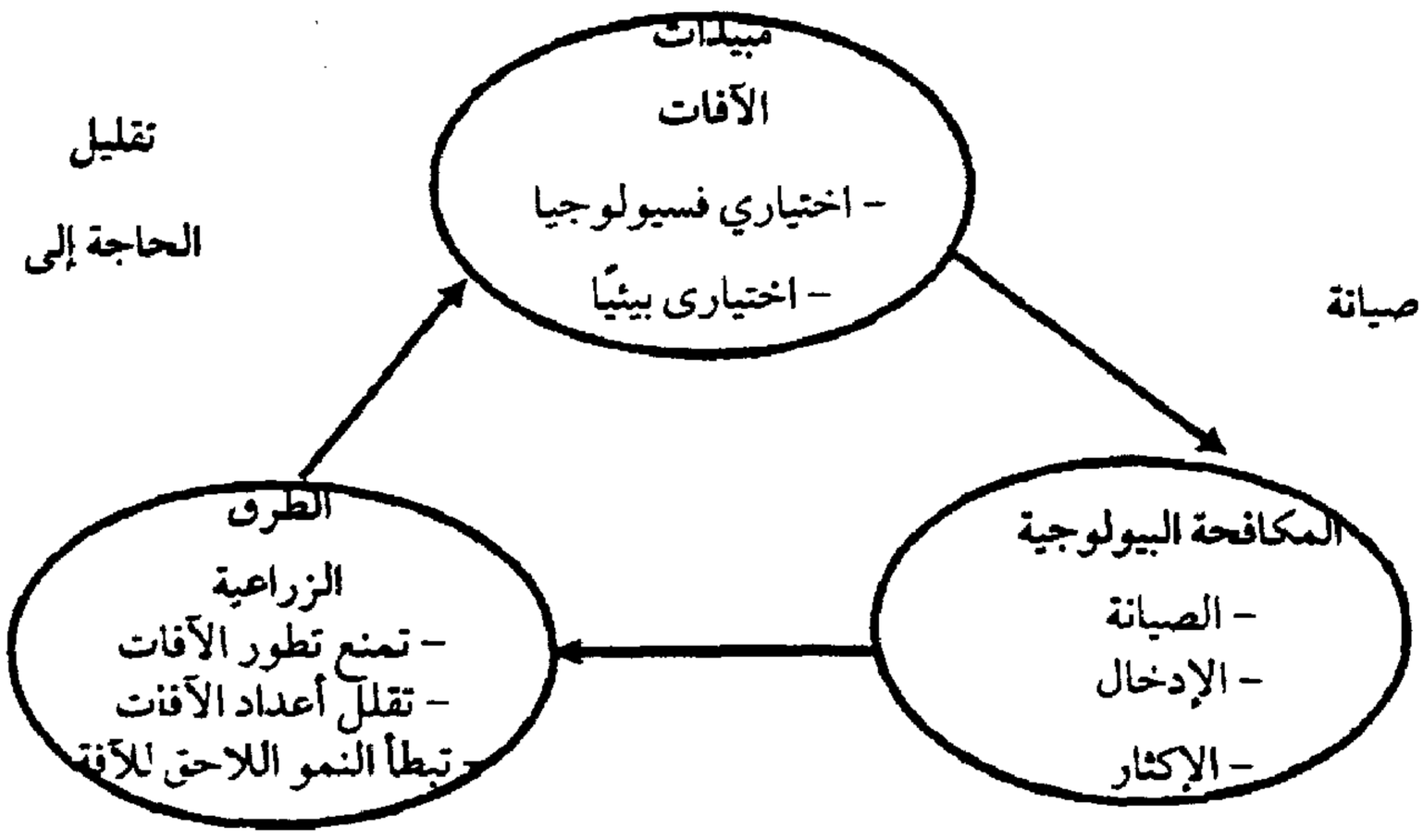
مازالت الآفات تسبب فقد فى المحاصيل الزراعية على الرغم من الاستخدام المكثف للمبيدات الكيميائية وذلك فى الوقت الذى يعانى فيه العالم من نقص الغذاء، وفى الحقيقة فإنه ليست هناك تقديرات فعلية لكمية الفقد فى هذه الحاصلات بسبب الآفات والأمراض والحشائش، وهناك اختلاف كبير بين التقديرات المتاحة، وعمومًا فبعض هذه التقديرات تشير إلى أن هذا الفقد يصل إلى (٣٥٪) من إجمالى الإنتاج (١٤٪) بسبب الحشرات والآفات الأخرى و (١١٪) بسبب الأمراض و (١٠٪) بسبب الحشائش، وتهاجم الآفات والأمراض النباتات بشكل مباشر بينما تنافس الحشائش النباتات على المكان والماء والغذاء.

ويعتبر الاتجاه نحو فلاحة نظيفة تنتج غذاء نظيف خالى من المبيدات الضارة من أهم متطلبات الإنسان فى الألفية الثالثة؛ لذلك يلاقى الاتجاه الحالى فى مكافحة الآفات بواسطة الوسائل الحيوية اهتمامًا كبيرًا، ويعتبر استخدام المبيدات الحيوية احد المداخل الآمنة والمتوافقة مع وسائل مكافحة الآفات فهى مبنية على إدارة المواد الطبيعية فى النظم البيئية،

فأغلب هذه المبيدات الحيوية لاتضر بالكائنات المفيدة مثل الأعداء الطبيعية والكائنات الحية الدقيقة النافعة وتصون الحياة البرية، وتوفر فى استهلاك المبيدات الكيميائية، وتتوافق مع منظومة الزراعة المستدامة sustainable agriculture.

وهناك جهود مبذولة فى بلدان كثيرة حول العالم لإنتاج واستخدام المبيدات الحيوية، إلا أن استخدام هذه المبيدات مازال محدودًا إلى حد كبير، مرجع ذلك – بالقطع – نقص المعرفة والخبرة بهذه النوعية البديلة من المبيدات الصديقة للبيئة.

وتعتبر المكافحة المتكاملة للآفات (IPM Integrated pest management) بمثابة طريقة فعالة وآمنة بيئيًا لمكافحة الآفات بطرق ميكانيكية أو طبيعية أو وراثية أو حيوية وكذلك كيميائية مع أقل الأضرار الممكنة للإنسان والبيئة، وقد أظهرت بعض حالات المكافحة المتكاملة للآفات نجاحات دون استخدام مبيدات الآفات الكيميائية، فعلى سبيل المثال أثبت استخدام الباكيلوفيروس Baculovirus فعالية كبيرة فى مكافحة الآفات على نباتات القطن عن مبيدات الآفات الكيميائية. والمكافحة المتكاملة للآفات هى بمثابة مدخل للمكافحة يدمج المكافحة الحيوية biological control والمكافحة المزرعية cultural control والبدائل الأخرى للمكافحة الكيميائية مع ترشيد استخدام مبيدات الآفات الكيميائية، وتستهدف المكافحة المتكاملة الحفاظ على مستوى الآفات تحت مستويات الضرر الاقتصادى مع تقليل التأثيرات الضارة على الإنسان والبيئة لأدنى مستوى ممكن (شكل ١-٢).



شكل (١-٢) نموذج لمفهوم المكافحة المتكاملة للآفات IPM
يوضح كيفية تكامل وسائل المكافحة فى نظام واحد

ولذلك يجب تقليص الاستخدام المكثف لمبيدات الآفات الكيميائية عن طريق التركيز على الزراعة المستدامة، واستخدام المكافحة المتكاملة فى تطويرها، وتطوير التدريب على المكافحة المتكاملة، والاهتمام بنوعية التدريب ومتابعة المتدربين، وتشجيع استخدام المبيدات الحيوية من قبل العاملين فى مجال الوقاية من الآفات والمكافحة المتكاملة.

❖ماهية المبيدات الحيوية؟ What are Biopesticides؟

لقد صيغ المصطلح الجديد « مبيدات حيوية Biopesticides » للإشارة إلى مبيدات الآفات التى تكون مادتها الفعالة كائن حى أو من أصل حى، كما يطلق على هذه المبيدات أيضًا اسم المبيدات البيولوجية Biological Pesticides، وهى عبارة عن أنواع معينة من مبيدات الآفات يتم الحصول عليها من المواد المتواجدة بشكل طبيعى والتى تقوم بدور هام فى مكافحة الآفات (مبيدات الآفات البيوكيماوية Biochemical Pesticides)، والكائنات الحية بعامة والدقيقة منها بخاصة والتى تكافح الآفات (والأخيرة تعرف بمبيدات الآفات الميكروبية Microbial Pesticides)، والمواد ذات التأثير الإبادى التى تنتجها النباتات المعدلة وراثيًا Plant - Incorporated - Protectants or PIPs.

وعلى الرغم من أن المعرفة بمبيدات الآفات الحيوية ترجع إلى مئات السنين إلا أن منتجاتها ومستحضراتها التجارية لم تتاح إلا خلال الربع قرن الأخير فقط، وقد بلغ عدد المبيدات الحيوية المسجلة فى بداية الألفية الثالثة حوالى (٢٠٠) مبيد تجارى، وهى الآن أكثر من ذلك بكثير وفى تزايد مستمر.

لماذا إذن نستخدم مبيدات الآفات الحيوية؟، هناك عدة أسباب لتطوير واستعمال المبيدات الحيوية إذ تتميز هذه المبيدات بأنها صديقة للبيئة، وغير سامة ولا يتخلف عنها بقايا سامة toxic residues مقارنة بالمبيدات الكيميائية التقليدية، وتؤثر مبيدات الآفات الحيوية بصفة عامة فى الآفة المستهدفة فقط والكائنات الحية القريبة الشبه جدًا وبآلية فعل متخصصة تمامًا host specificity، وذلك على عكس المدى الواسع لمبيدات الآفات الكيماوية التى تؤثر فى الكائنات الحية المختلفة كالحشرات والطيور والثدييات والإنسان ذاته، وتعتبر المبيدات الحيوية فعالة عند استخدامها بكميات صغيرة جدًا وغالبًا تتحلل بسرعة مما يقلل من فرص التعرض لها كما يجنب كثيرًا ظهور مشاكل التلوث البيئى التى تحدث عادة فى حالة مبيدات

استخدام المبيدات الحيوية ضمن برامج المكافحة المتكاملة بتوفير كبير فى استخدام المبيدات الكيميائية التقليدية دون تأثير على كمية المحصول، ومن المؤكد أنه يجب على مستخدمى المبيدات الحيوية المعرفة الجيدة بكيفية مكافحة الآفات للوصول باستخدام المبيدات الحيوية إلى أقصى كفاءة. وبالإضافة إلى ذلك تتميز المبيدات الحيوية بسهولة إنتاجها بكميات ضخمة فى مساحة صغيرة، وبتكلفة قليلة، وبعدم تطور آفات مقاومة لها، وإنتاج المبيدات الحيوية هو محاكاة للطبيعة بإطلاق عوامل المكافحة فى بيئة مفتوحة.

وعلى الرغم من هذه المميزات تصل مبيعات هذه المبيدات حوالى (٢٪) فقط من حجم السوق العالمى فى مجال الكيماويات الزراعية.

ويعاب على المبيدات الحيوية ضرورة أن يكون استخدامها وتطبيقها فى الوقت الملائم، كما أن تخصصها تجاه عوائلها يضيق مجالات استخدامها، وهناك صعوبة فى إنتاج بعضها على مستوى كبير، وتتطلب المبيدات الحيوية ظروف بيئية مفضلة حتى يمكن أن تقوم بدورها وتتكاثر وتحافظ على أعدادها.

❖أقسام المبيدات الحيوية:

○ تقع مبيدات الآفات الحيوية فى ثلاثة أقسام رئيسية هى:

١ - الكائنات الحية Living Organisms:

ويندرج تحت هذا القسم الأعداء الطبيعية natural enemies التى تشمل اللافقاريات invertebrates (مثل الطفيليات الحشرية parasitoides والمفترسات الحشرية predatory insects، والنيماتودا nematodes)، والكائنات الحية الدقيقة micro-organisms.

وتعرف مبيدات الآفات التى تدخل فيها الكائنات الحية الدقيقة باسم المبيدات الحيوية الميكروبية Microbial biopesticides حيث يتألف المكون النشط active ingredient بهذه المبيدات من الكائنات الحية الدقيقة كالبكتيريا والفطريات والفيروسات الممرضة للآفات ومسببات الأمراض الميكروبية، وتستخدم مبيدات الآفات الميكروبية فى مكافحة الكثير من أنواع الآفات المختلفة كالحشرات والحشائش إلى جانب الفطريات والبكتيريا التى تسبب أمراضًا للنباتات، وكل مكون نشط بهذه المبيدات متخصص نسبيًا لآفة معينة،

فبعض الفطريات تستخدم فى مكافحة نمو الحشائش weeds، والبعض يستخدم فى مكافحة آفات حشرية معينة، والبعض الآخر يصطاد النيماتودا.

ونظرًا لأن الكائنات الحية الدقيقة هى أكبر مجموعات الكائنات الحية على سطح الأرض سواء من ناحية العدد أو التنوع، فإن ذلك يعطى فرصة كبيرة لاستغلال هذا المصدر الضخم فى المكافحة الحيوية، وقد تم تطوير بعض عوامل مكافحة للآفات الزراعية من الأعداء الطبيعية الميكروبية من البكتيريا والفطريات والفيروسات الشائعة فى الطبيعة والتى تساهم فى التنظيم الطبيعى لعوائلها، لكن مازال أمام المتخصصين الكثير الذى يجب أن يفعلوه، مازال عليهم أن يسبروا الأغوار الأعمق للميكروبات، سواء من ناحية اكتشافها أو توصيفها أو فحص مقدرتها فى المكافحة الحيوية بشكل عملى تطبيقى، فعلى سبيل المثال هناك أكثر من (٧٥٠) نوع من الفطريات الممرضة للحشرات إلا أن (٢٠) نوع منها فقط هى التى نالت اهتمام حقيقى.

وتعتبر سلالات النوع البكتيرى باسيلس ثورنجينسيس Bacillus thuringiensis الذى يشار إليه اختصارًا باسم Bt أكثر أنواع المبيدات الميكروبية انتشارًا، وتنتج كل سلالة من هذا النوع أنواع مختلفة من البروتينات تتخصص فى قتل نوع من الحشرات أو بضعة أنواع قريبة من هذا النوع، وتقاوم بعض سلالات الباسيلس ثورنجينسيس B. thuringiensis يرقات الحشرات على النباتات، بينما تتخصص بعض سلالات هذا الميكروب على يرقات الذباب والبعوض، وتتحدد الآفة الحشرية المستهدفة بواسطة ما إذا كانت سلالة الباسيلس ثورنجينسيس B. thuringiensis تنتج بروتين يرتبط بمستقبل بمعى اليرقة، ومن ثم يتسبب فى موت اليرقات الحشرية.

وتتميز الكائنات الحية الدقيقة المستخدمة في المكافحة الحيوية بأنها لاتصيب الفقاريات فى الطبيعة، ومن ثم فهى آمنة على حياة الإنسان والأحياء البرية من الفقاريات، كما تتميز بقدرتها على الاستدامة الذاتية، وعدم تخلف بقايا سامة toxic residue عن استخدامها، وانخفاض تكلفة تطويرها وتسجيلها بشكل كبير عن المبيدات الكيميائية، وتطبيقها حقليًا بنفس أجهزة equipment المبيدات الكيميائية، وإعدادها بطرق مشابهة لإعداد المبيدات الكيميائية لتحسين كفاءتها، وارتفاع مستوى تخصصها بشكل ينافس الأعداء الطبيعية الأخرى.

٢- المواد البيوكيماوية Biochemical Pesticides:

عبارة عن مواد تتواجد بشكل طبيعى وتستخدم فى مكافحة الآفات بواسطة آليات غير سامة، وعلى النقيض من مبيدات الآفات التقليدية والتى هى بصفة عامة مواد كيميائية تقليدية تقتل بشكل مباشر أو تثبط الآفات، تشمل مبيدات الآفات البيوكيماوية موّاد تتداخل مع النمو growth أو التكاثر reproduction مثل مواد النمو النباتية أو المواد التى تطرد أو تجذب الآفات كالفرمونات الجنسية للحشرات insect sex pheromones، وأيضًا المستخلصات النباتية plant extracts، المختلفة التى تجذب الآفات الحشرية إلى المصائد traps، ونظرًا لأنه من الصعوبة بمكان فى بعض الأحيان تحديد ما إذا كانت مادة ما تتوفر فيها الخصائص التى على أساسها يمكن تصنيفها كمبيد آفات بيوكيميائى فإن بعض المواد يتم تشكيل لجان متخصصة لتحديد وجهتها التصنيفية.

٣- المواد ذات التأثير الإبادى المنتجة من النباتات المعدلة وراثيًا:

يسمح باستخدام هذه المواد فى بعض الدول، وهى عبارة عن مواد ذات تأثير إبادى للآفات ومسببات الأمراض تنتجها النباتات من المادة الوراثية التى يتم إيلاجها في هذه النباتات، فعلى سبيل المثال يؤخذ الجين الخاص ببروتين بكتيريا الباسيلس ثورنجينسيس B. thuringiensis ذات التأثير الإبادى ويتم إدخاله فى المادة الوراثية الخاصة بالنبات، ومن ثم يستطيع النبات بدون البكتيريا صنع المادة السامة التى تقضى على الآفات الضارة به.

❖المراجع

Alabouvette, C.; C. Olivain and C. Steinberg (2006). Biological control of plant diseases: the European situation. European J. Plant Pathol. 114 (3): 329- 341

Bargabus, R.L.; N.K. Zidack; J.W. Sherwood and B.J. Jacobsen (2004). Screening for the identification of potential biological control agents that induce systemic acquired resistance in sugar beet. Biological Contr. 30:342 - 350.

Chandlera, D., G. Davidsona, W.P. Grantb, J. Greavesb and G.M. Tatchellc (2008). Microbial biopesticides for integrated crop management: an assessment of environmental and regulatory sustainability. Trends Food Sci. Technol. 19: 275 - 283.

Chisholm, S.T.; G. Coaker; B. Day and B.J. Staskawicz (2006). Host-microbe interactions: shaping the evolution of the plant immune response. Cell 124:803 - 814.

De Weger, L.A., A.J. van der Bij, L.C. Dekkers, M. Simons, C.A. Wijffelman and B.J.J. Lugtenberg (1995). Colonization of the rhizosphere of crop plants by plant-beneficial pseudomonads. FEMS Microbiol. Ecol. 17: 221- 228.

Desai, S., M.S. Reddy and J.W. Kloepper (2002). Comprehensive testing of biocontrol agents. In: Gnanamanickam, S.S. (Ed.), Biological Control of Crop Diseases. Marcel-Dekker, New York, pp. 387– 420.

Gerhardson, B. (2002). Biological substitutes for pesticides. Trends Biotechnol. 20 (8):338 - 343

González - Coloma, A. (2007). Perspectives on natural biopesticides. Phytochemistry Reviews. Springer Netherlands.

Howell, C.R. (1982). Effect of Gliocladium virens on Pythium ultimum, Rhizoctonia solani, and damping-off of cotton seedlings. Phytopathol. 72: 496 – 498.

Howell, C.R., L.E. Hanson, R.D. Stipanovic and L.S. Puckhaber. (2000). Induction of terpenoid synthesis in cotton roots and control of Rhizoctonia solani by seed treatment with Trichoderma virens. Phytopathol. 90: 248 – 252.

Jumanah, F. (1994). Pesticide Policies in Developing Countries: Do they encourage excessive use? World Bank Discussion Papers 238, The World Bank, Washington DC.

Kageyama, K. and E.B. Nelson (2003). Differential inactiviation of seed exudates stimulation of Pythium ultimum sporangium germination by Enterobacter cloacae influences biological control efficacy on different plant species. Appl. Environ. Microbiol. 69:1114 - 1120

McSpadden Gardener, B.B. and D.R. Fravel (2002). Biological control of plant pathogens: Research, commercialization, and application in the USA. Online. Plant Health Progress doi:10.1094/PHP - 2002– 0510 – 01-RV.

Mensink, B.J.W.G. and J.W.A. Scheepmaker (2007). How to evaluate the environmental safety of microbial plant protection products: a proposal. Biocontrol Sci. Technol., 17: 3 - 20.

Pal, K.K. and B. McSpadden Gardener (2006). Biological Control of

Plant Pathogens. The Plant Health Instructor DOI: 10.1094/ PHI - A - 2006 - 1117- 02.

Postma, J., M. Montanari and P.H.J.F. van den Boogert (2003). Microbial enrichment to enhance the disease suppressive activity of compost. Eur. J. Soil Biol. 39:157- 163.

Weller, D.M., J.M. Raijmakers, B.B. McSpadden Gardene and L.S. Thomashow (2002). Microbial populations responsible for specific soil suppressiveness to plant pathogens. Annu. Rev. Phytopathol. 40: 309 – 348.

الفصل الثاني
مفاهيم المكافحة الحيوية

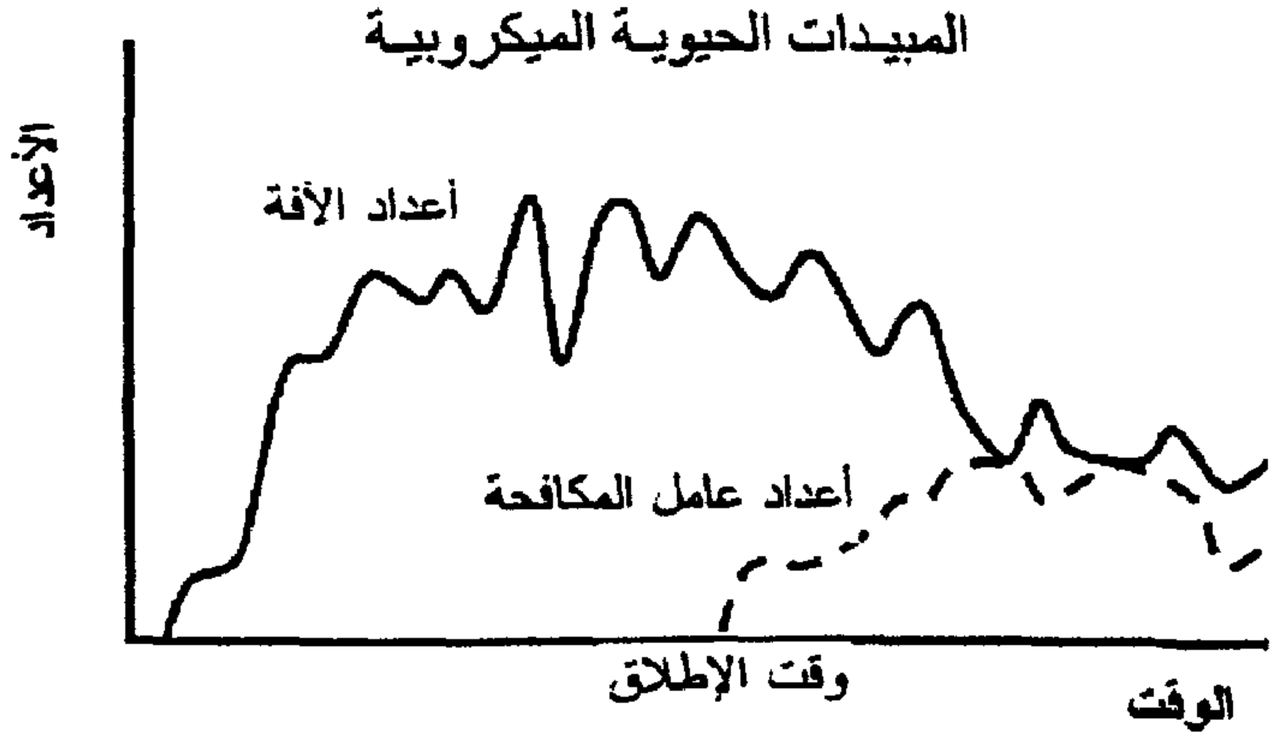
❖مقـدمـة:

تندرج المكافحة الحيوية ضمن الإستراتيجيات المستخدمة حاليًا فى مكافحة الآفات لتجنب الأضرار التى قد تحدث للمحاصيل الاقتصادية، ويقصد بالآفات هنا الحشرات والحلم والنيماتودا ومسببات الأمراض النباتية إلى جانب الحشائش.

وتعرف المكافحة الحيوية (biological control (or biocontrol بأنها استخدام الكائنات الحية لتثبيط كثافة الآفات، أو هى تأثير متخصص للكائن الحى على الآفة لتقليل أعدادها أو أضرارها عن ماهى عليه، وتضم الكائنات الحية المستخدمة البكتيريا والفطريات والخمائر والفيروسات والبروتوزوا والنيماتودا والطفيليات والمفترسات.

❖المكافحة الحيوية الكلاسيكية:

يمكن تعريف المكافحة الحيوية الكلاسيكية Classical biological control بأنها عملية إدخال متعمد لعامل مكافحة حيوية غريب an exotic عادة سبق تقييمه من أكثر من جهة بحيث يظل يستخدم بشكل دائم فى مكافحة الآفات ومسببات الأمراض من الميكروبات على المدى الطويل (شكل ١-٣)، بمعنى أنه فى المكافحة الحيوية الكلاسيكية يتم استيراد عوامل المكافحة الحيوية لإدخالها فى منطقة جديدة.



شكل (١-٣) المكافحة الحيوية الكلاسيكية

وعند إدخال كان حى عن عمد أو حتى دخوله بالصدفة عن غير عمد إلى منطقة ما لا يوجد بها هذا الكائن من قبل فإن أعداده تزداد فى بعض الأحيان إلى الدرجة التى يصبح فيها بمثابة آفة خطيرة، وفى الغالب ترجع هذه الزيادة إلى أن الآفة دخلت إلى هذه المنطقة بدون أعدائها الطبيعية من الكائنات الحية الدقيقة أو المفترسات والطفيليات.

وفى المكافحة الحيوية الكلاسيكية يُجمع واحد أو أكثر من هذه الأعداء الطبيعية من المنطقة الأصلية للآفة ويتم إطلاقها كعوامل مكافحة حيوية فى الموطن غير الأصلى للآفة، ويكون الهدف من وراء ذلك استيطان العدو الطبيعى وانتشاره لتقليل كثافة الآفة تحت مستوى الضرر الاقتصادى.

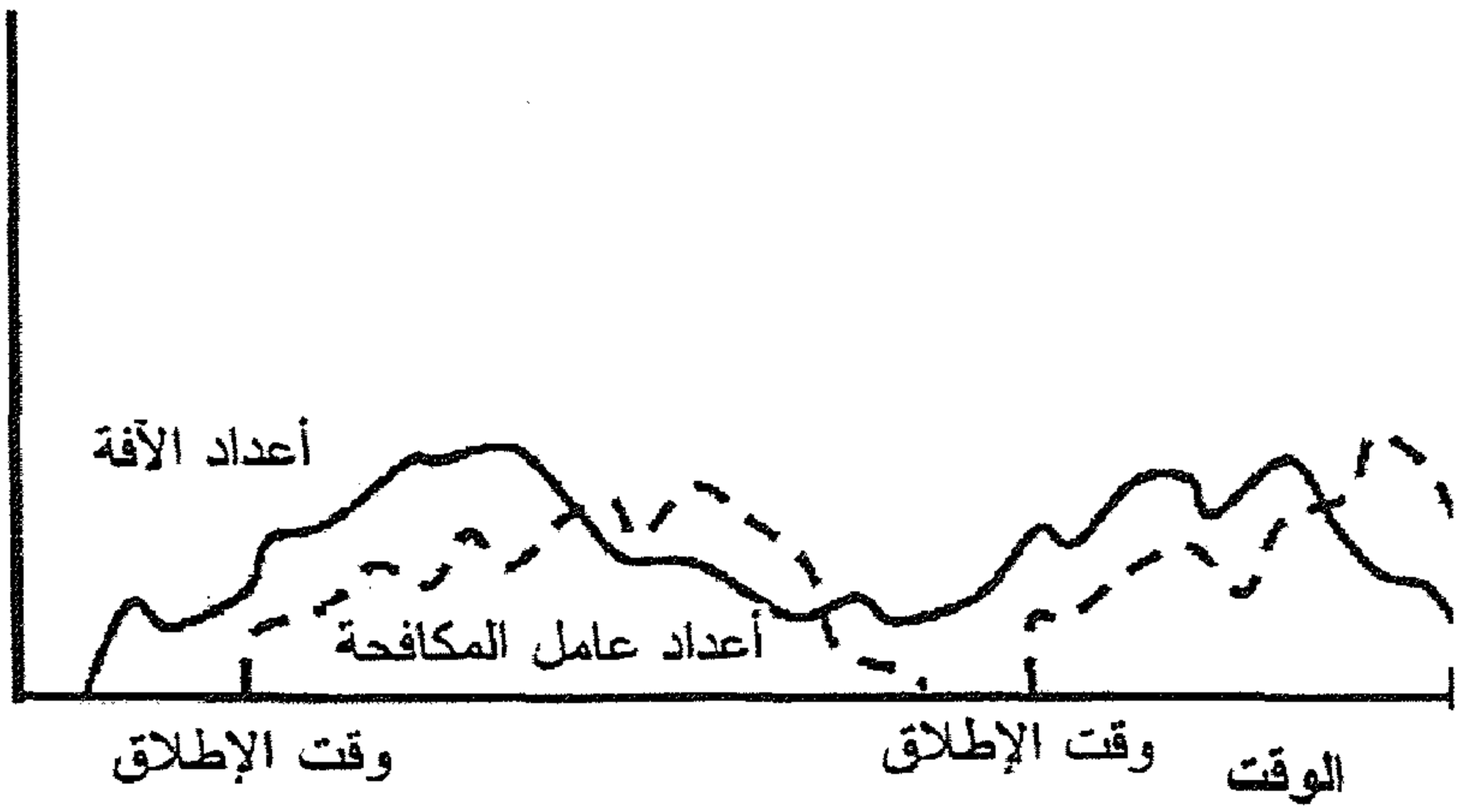
واستراتيجية المكافحة الحيوية الكلاسيكية بذات أهمية كبيرة فى مجال المكافحة الحيوية نظرًا للنجاحات الكبيرة التى حققتها فى مجال مكافحة بعض الآفات كالحشرات القشرية منذ عام (١٨٨٠) وقد عرفت بالكلاسيكية بسبب هذا النجاح المبكر.

ومن الأمثلة ربما الوحيدة الناجحة فى المكافحة الحيوية الكلاسيكية باستخدام الميكروبات الممرضة استخدام الفيروس البوليهيدرى النووى NPV فى أمريكا الشمالية فى مكافحة زنبور الصنوبر المنشارى Gilpinia hercyniae، وكذلك يعتبر فطر انتوموفثورا مياماجا Entomophthora miamiaga مثال آخر لعوامل المكافحة الحيوية الكلاسيكية الناجحة حتى الآن – على الأقل – فى مقاومة يرقات فراشة الحشرة القياسية Lymantria dispar فى الغابات فى الولايات المتحدة الأمريكية إلا أن الحكم النهائى عليه كإحدى حالات المكافحة الحيوية الكلاسيكية مازال يحتاج قرابة عقد آخر من الزمان.

المكافحة الحيوية باللقاحات:

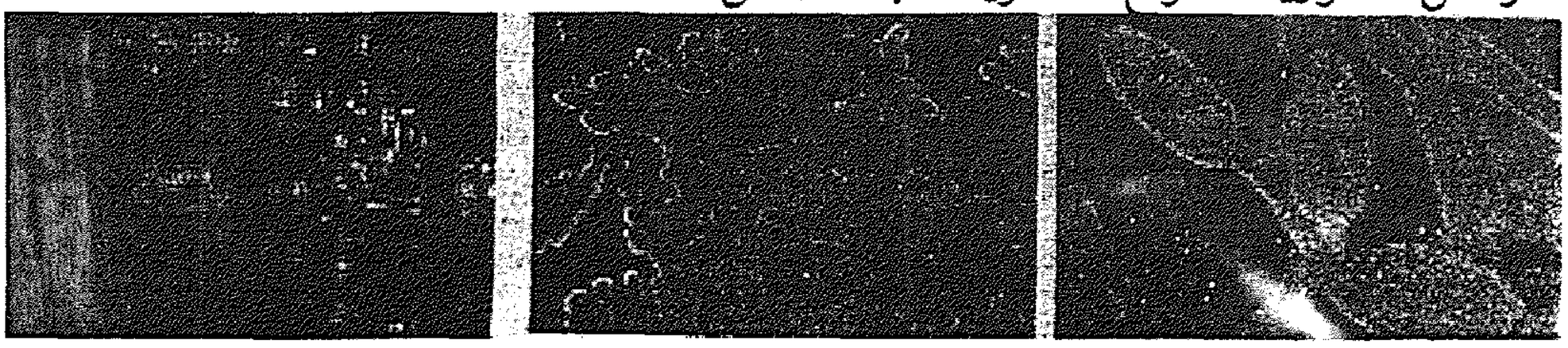
يمكن تعريف المكافحة الحيوية بالتلقيح بأنها الإطلاق المتعمد للكائن الحى كعامل مكافحة بيولوجية مع توقع تكاثره وقيامه بدوره فى مكافحة الآفة لفترة ممتدة وليست دائمة.

وعندما تزداد أعداد الآفة يتم التلقيح بعامل المكافحة الحيوية بأعداد صغيرة إلى متوسطة قبل وصول كثافتها إلى أقصاها، والهدف هو زيادة أعداد الأعداء الطبيعية ومكافحة الآفة فى خلال فترة زمنية (شكل ١-٤)، وعلى أى حال فإن كائنات المكافحة الحيوية الملقحة لن تظل بالكثافة العددية العالية والكافية بشكل دائم ولذلك تكون هناك حاجة إلى التدعيم بلقاحات جديدة، وغالبًا تقتصر المكافحة الحيوية بالتلقيح على موسم نباتى واحد قد يستغرق أسابيع أو شهور.



شكل (١-٤) المكافحة الحيوية بالتلقيح

وهكذا فإن المكافحة الحيوية بالتلقيح تشبه إلى حد كبير ممارسات التلقيح الشائعة، والعامل الرئيسى فيها هو توقع تكاثر عامل المكافحة الحيوية ولو بشكل مؤقت على الأقل، والفرق بين هذا النوع من المكافحة والمكافحة الحيوية الكلاسيكية هو أن المكافحة الحيوية باللقاحات تستخدم الكائنات التى توجد بالفعل فى منطقة التطبيق، ويتحقق فيها تأسيس مؤقت فقط، ومن الأمثلة فى هذا الصدد زيادة تلقيح التربة الزراعية بالفطر الأسكى الممرض للحشرات بوفاريا برونجنيارياى Beauveria brongniarii والمستخدم فى مكافحة كل المراحل التطورية للأنواع الحشرية التابعة لجنس Melolontha.



شكل (١- ٥) مراحل من نمو فطر بوفاريا برونجنيارياى B.brongniarii

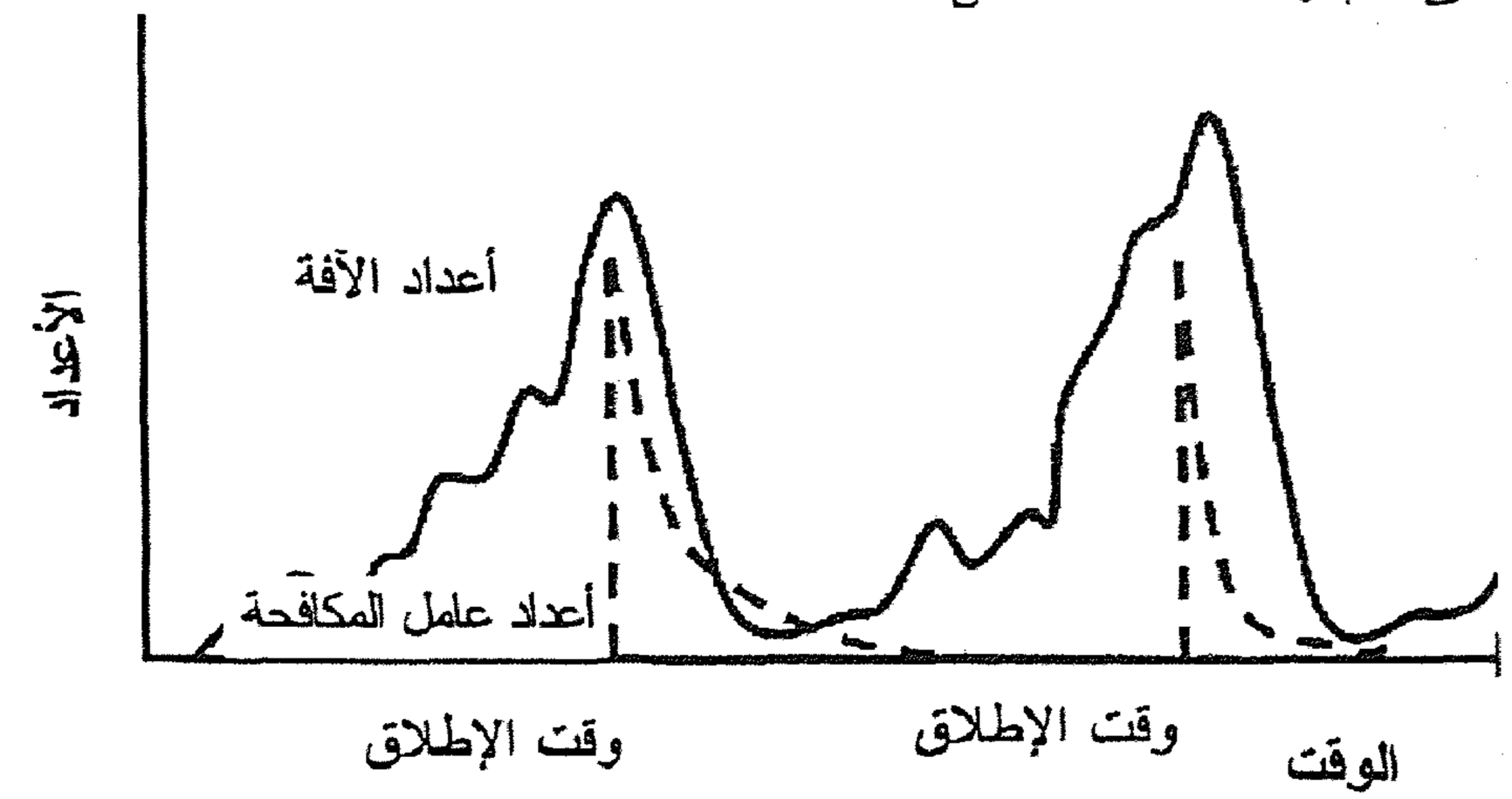
ومن المؤكد أن التلقيح بعوامل المكافحة الحيوية يعتبر بمثابة إعادة تأسيس للتوازن الطبيعي الذى اختل بشكل مؤقت نتيجة تدخل الإنسان، إذ من المعتاد فى الممارسات الزراعية الحالية – على سبيل المثال – تلقيح التربة بلقاح ميكروبى سمادى من كائن حى دقيق مثل فطريات الميكوريزا لتحسين النمو، ولقاح ميكروبى إبادى بعامل مكافحة حيوية بهدف الإسراع والوصول إلى العملية الطبيعية، ولذلك فإن عمليات التسميد الحيوى والمكافحة الحيوية هى مجرد محاكاة لما يحدث فى الطبيعة، ويجب التعرف على الآفة الموجودة بمكان التطبيق وكذلك تفاعلاتها مع عامل المكافحة الحيوية.

وعند استخدام عوامل المكافحة الحيوية على النباتات النامية تحت ظروف الصوب الزجاجية، يحتاج التلقيح الناجح لعوامل المكافحة الحيوية تشخيص دقيق للآفة الموجودة، وكذلك التلقيح بعامل المكافحة بالأعداد الكافية وفى الوقت المناسب ومراعاة للظروف المختلفة لنجاح نمو وتكاثر وفعالية مثل هذا اللقاح.

❖المكافحة الحيوية بالإغراق:

يمكن تعريفها بأنها استعمال الكائنات الحية لمكافحة الآفات حيث تقتصر المكافحة على الكائنات التى تم التلقيح بها نفسها.

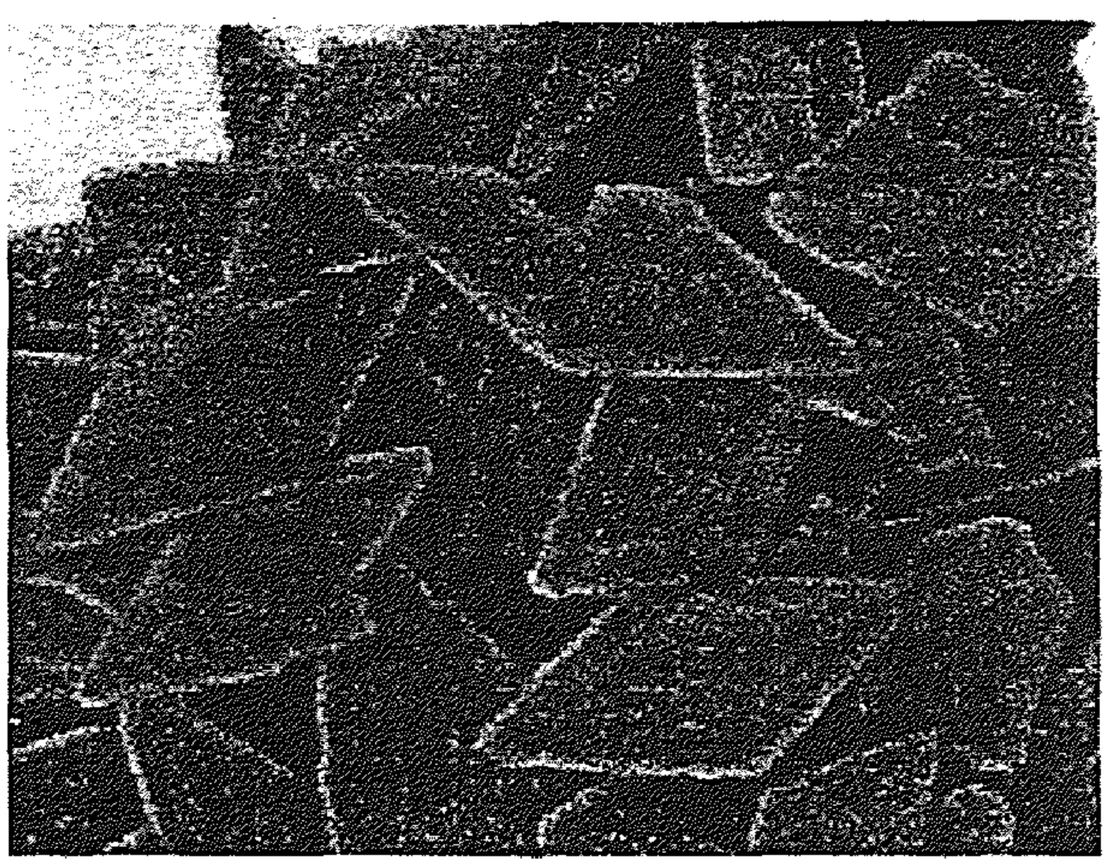
وفى هذا النوع من المكافحة الحيوية يتم الإسراع باستخدام عامل المكافحة الحيوية بكميات كبيرة (عملية إغراق) فى وقت تكون فيه أعداد الآفة قد ازدادت إلى ما فوق مستوى الضرر الاقتصادى، حيث تتناقص أعداد كل من الآفة وعامل المكافحة الحيوية بمرور الوقت، وبعد فترة من الوقت تزداد أعداد الآفة ثانية، ومن ثم تكون هناك حاجة ماسة لاستخدام عامل المكافحة الحيوية مرة أخرى، وغالبًا تقتصر المكافحة الحيوية بالإغراق على موسم نباتى واحد قد يستغرق أسابيع أو شهور (شكل ١-٦)، وأفضل مثال لهذا النوع من المكافحة هو الاستخدام الواسع لبكتيريا باسيلس ثورنجينسيس B. thuringiensis فى مكافحة الكثير من الحشرات من رتب ذات الجناحين وحرشفية الأجنحة حيث تكون هذه البكتيريا بلورات محتوية على سم لهذه الآفات (شكل ١-٧).



شكل (١-٦) المكافحة الحيوية بالإغراق

وفى الغالب يستخدم مصطلح مبيد حيوى biopesticide فى حالة المكافحة الحيوية

بالإغراق، وهو مفهوم وثيق باستخدام مبيدات الآفات الكيميائية، فالمكافحة الحيوية بالإغراق واستخدام مبيدات الآفات يتم استعمالهما عندما تصل أعداد الآفة فوق مستوى الضرر الاقتصادى أو حتى عندما يتوقع قرب وصولها إلى هذا المستوى، وفى كلتا الحالتين تستخدم جرعة كبيرة سواء من عامل المكافحة الحيوية أو المبيد الكيميائى، كذلك من المتوقع اختفاء كل من عامل المكافحة الحيوية أو المبيد الكيميائى بمرور الوقت.



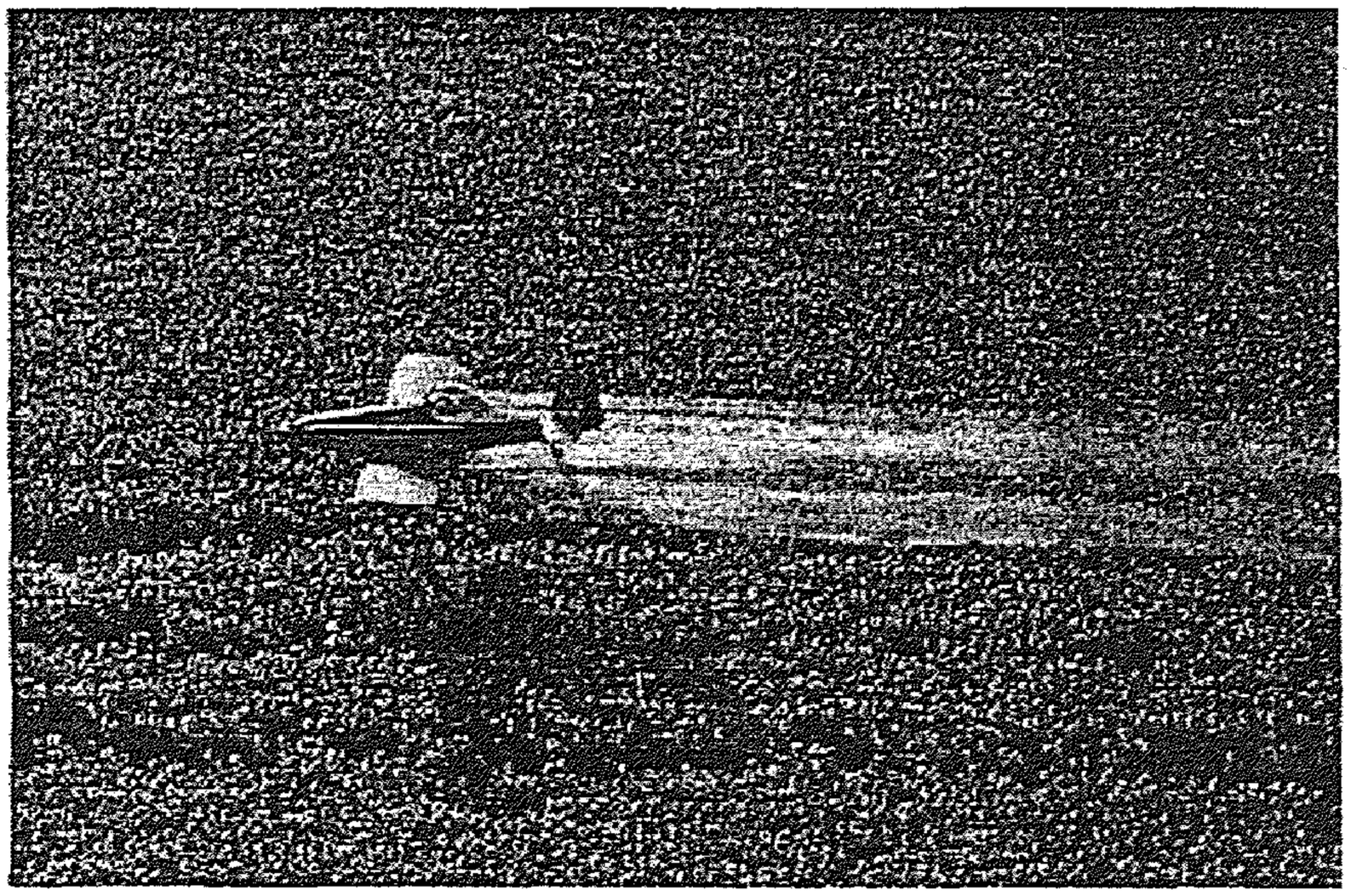
شكل (١-٧) بلورات بكتيريا باسيلس ثورنجينسيس **B. thuringiensis** المحتوية على سم لآفات الحشرات حرشفية وذات الجناحين وغمدية الأجنحة

وتنبنى المكافحة الحيوية بالإغراق على مدخل حى وليس مركب كيميائى، وقد أصبح مصطلح biopesticide غير مقصور على عوامل المكافحة الحيوية لكن يشير أيضًا إلى استخدام المركبات الكيميائية الطبيعية، ولذلك يفضل عدم الإشارة لعوامل المكافحة الحيوية بالمصطلح biopesticides.

وفى الغالب يطلق على المكافحة الحيوية بالإغراق والمكافحة الحيوية بالتلقيح معًا مصطلح augmentation، وهناك أسباب كثيرة ومنطقية لهذا المصطلح منها:

١- فى كلا نوعى المكافحة يتم إطلاق كائنات المكافحة الحيوية (شكل ١-٨) والمتوفرة بشكل تجارى فى الغالب على فترات بهدف زيادة أعداد عامل المكافحة الحيوية.

٢- صعوبة المعرفة بالضبط ما إذا كان التأثير الواقع على الآفة يرجع إلى الكائنات الحية التى تم إطلاقها ذاتها أو إلى الخلايا الناتجة عن عملية انقسامها.



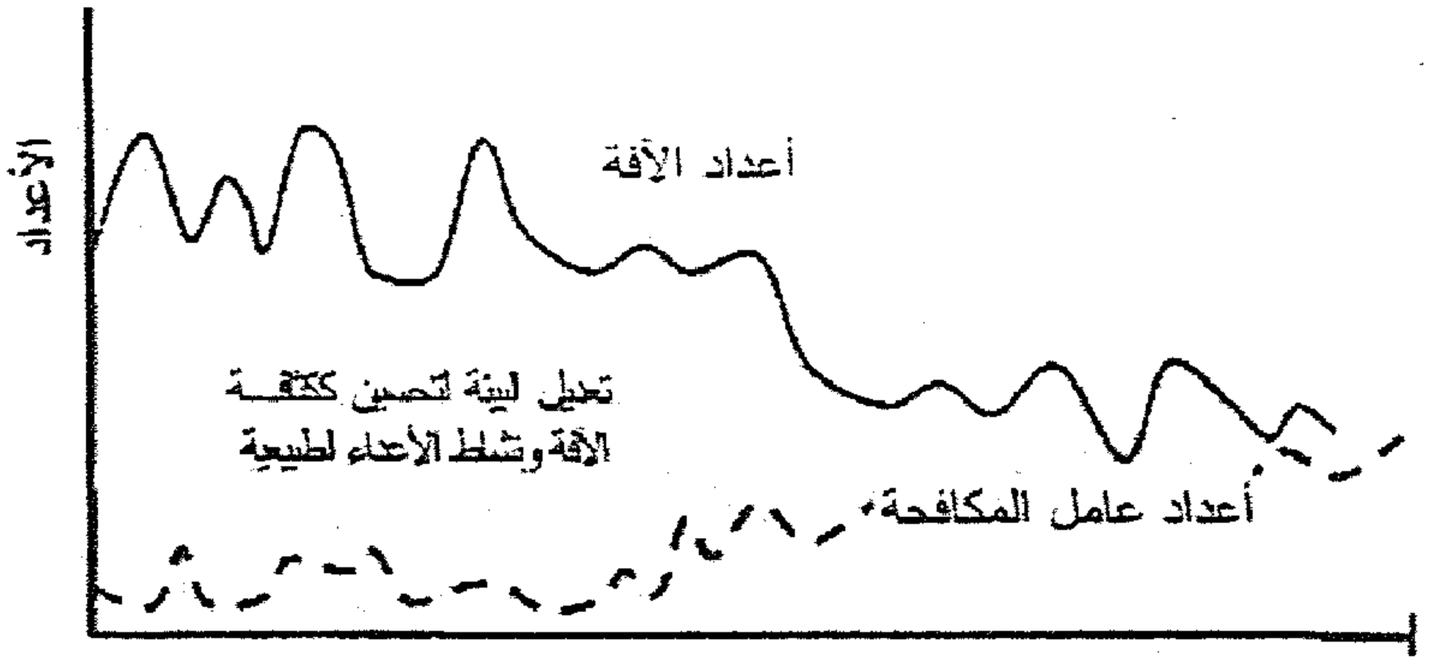
شكل (١ - ٨) إطلاق الكائنات الحية الدقيقة

وقد يقلل التشابه بين المكافحة الحيوية بالإغراق والمكافحة الكيميائية من طبيعية هذا النوع من المكافحة مقارنة بإستراتيجيات المكافحة الحيوية الأخرى، فكمية اللقاح المستخدم من عامل المكافحة الحيوية تكون كبيرة عن أعداد الميكروب الموجودة تحت الظروف الطبيعية.

صون المكافحة الحيوية:

يقصد بصون المكافحة الحيوية تعديل البيئة أو الممارسات القائمة لوقاية وتحسين كفاءة الأعداء الحيوية المتخصصة أو الكائنات الأخرى لتقليل تأثير كثير من الآفات الزراعية من خلال تنظيم أعدادها (شكل ١-٩).

وتتضمن مداخل صون عوامل المكافحة الحيوية تجنب الممارسات الضارة بعوامل المكافحة الحيوية، وتبني الممارسات المفيدة حيث تتطلب هذه العوامل الغذاء والماء والملجأ والوقاية من الظروف غير الملائمة. ولنجاح صون عوامل المكافحة الحيوية يجب الإلمام بالنواحى البيولوجية والإيكولوجية ومتطلبات عوامل المكافحة الحيوية.



شكل (١ - ٩) صون المكافحة الحيوية

ويرجع وجود الآفة بأعداد كبيرة إلى التأثيرات غير الكافية للأعداء الطبيعية، وتشمل الأعداء الطبيعية كل أنواع التنظيم البيولوجى من الكائنات الحية التى تكافح الحشرات والنيماتودا والحلم والحشائش ومسببات الأمراض النباتية، بما فيها الكائنات الحية الدقيقة المسئولة عن الطبيعة التثبيطية للتربة الزراعية.

ويتم تغيير الوسط البيئى أو الممارسات الزراعية بالشكل الذى يحفظ ويحسن التكاثر والبقاء وكفاءة الأعداء الطبيعية الموجودة بالفعل فى هذا الوسط البيئى، ويؤدى مثل هذا التغيير إلى زيادة أعداد الأعداء الطبيعية مما ينجم عنه خفض أعداد الآفة.

ويختلف صون المكافحة الحيوية عن استراتيجيات المكافحة الحيوية الأخرى حيث لايتم فيها إطلاق كائنات حية، ويتم فيها تحسين الميكروبات الموجودة بالفعل فقط لتجنب الضرر، سواء كانت عملية الصيانة passive أو نشطة.

ومن أمثلة الصيانة غير النشطة تجنب الممارسات الضارة بعوامل المكافحة الحيوية مثل رش مبيدات الآفات الكيميائية، حيث تؤثر هذه المبيدات على عوامل المكافحة الحيوية بشكل مباشر أو غير مباشر، وتشمل التأثيرات المباشرة القضاء على الميكروبات الحية، أما غير المباشرة فتتضمن تغيرات فى سلوك هذه العوامل واحتياجاتها الغذائية، وجدير بالذكر أن هناك بعض المحاولات لتطوير عوامل مكافحة حيوية مقاومة لمبيدات الآفات. كذلك تعتبر العمليات الزراعية وطبيعة التربة والعوامل المناخية والتى من شأنها أن تحافظ على هذه العوامل مهمة فى تكاثرها وبقائها.

أما الصيانة النشطة فتتضمن إجراءات فعلية لتدعيم الأعداء الطبيعية مثل إنشاء بنوك السلالات الميكروبية.

❖المراجع:

Barbosa, P. (ed.) (1998). Conservation biological control. Acad. Press, San Diego, California, 396 pp. Carson, R. (1962). Silent Spring. Hamish Hamilton, London.

Carruthers, R.I., M.E. Ramos, T.S. Larkin, D.L. Hostetter and R.S. Soper (1996). The Entomophaga grylli (Fresenius) Batko species complex: its biology, ecology, and use for biological control of pest grasshoppers. Mem. Entomol. Soc. Can. **171**: 329 – 353.

Copping, L.G. (ed.) (1998). The BioPesticide Manual. A World Compendium. British Crop Protection Council, Farnham, UK, 333 pp.

DeBach, P. (1974). Biological control by natural enemies. Cambridge University Press. Cambridge, 323 pp.

DeBach, P. (ed.) (1964). Biological control of insect pests and weeds. Chapman and Hall, London., 844 pp.

Driesche, R. van and T.S. Bellows (1996). Biological control. Chapman and Hall, New York, 539 pp.

Eilenberg, J. (2006). Concepts and visions of biological control. J. Eilenberg and H.M.T. Hokkanen (eds.) An Ecological and Societal Approach to Biological Control, 1–11. Springer.

Eilenberg, J., A. Hajek and C. Lomer (2001). Suggestions for unifying the terminology in biological control. BioControl **46**: 387- 400.

Enkerli, J.; F. Widmer and S. Keller (2004). Long-term field persistence of *Beauveria brongniartii* strains applied as biocontrol agents against European cockchafer larvae in Switzerland. Biological Control, **29**, 115 -123.

Gurr, G.M., N.D. Barlow, J. Memmott, S.D. Wratten and D.J. Greathead

(2000). A history of methodological, theoretical and empirical approaches to biological control. *In*: Gurr, G. and Wratten, S. (eds): Biological control: measures of success. Kluwer Academic Press, Dordrecth, 3 - 37.

Hajek, A. (2004). Natural Enemies. An Introduction to Biological Control. Cambridge University Press, Cambridge, 378 pp.

Hajek, A.E., M.L. McManus and I.D. Junior (2007). A review of introductions of pathogens and nematodes for classical biological control of insects and mites. Biological Control **41**: 1–13.

Hajek, A.E., M.L. McManus and Jr., I. Delalibera (2005). Catalogue of Introductions of Pathogens and Nematodes for Classical Biological Control of Insects and Mites. USDA, For. Serv. FHTET-2005 - 05.

Jetter, K. and Payne, T.D. (2004). Consumer preferences and willingness to pay for biological control in an urban landscape. Biological Control, **30**:312-322.

Landis, D.A.; S.D. Wratten and G.M. Gurr (2000). Habitat management to conserve natural enemies of arthropod pests in agriculture. Ann. Rev. Entomol., **45**:175 - 201.

Lenteren, J. van (2000). A greenhouse without pesticides: fact or fantasy? Crop Protection, **19**:375 - 384.

Letourneau, D.K. (1998). Conservation biology: lessons for conserving natural enemies. *In* Barbosa, P. (ed.): Conservation biological control, Academic Press, San Diego, 9 -38.

Malais, M.H. and W.J. Ravensberg (2003). Knowing and recognizing.

The Biology of Glasshouse Pests and their natural Enemies. Reed Business Information, Doetinchem, The Netherlands, 228 pp.

Perkins, J.H. and R. Garcia (1999). Social and economic factors affecting research and implementation of biological control. In Bellows, T.S. and Fisher, T.W (eds.): Handbook of Biological Control, Academic Press, San Diego, 993 -1009.

Pickett, C.H. and R.L. Bugg (eds.) (1998). Enhancing Biological Control. University of California Press, Berkeley, 422 pp.

Thomas, M.B. and A.M. Reid (2007). Are exotic natural enemies an effective way of controlling invasive plants? Trends in Ecol. and Evolution. 22(9): 447- 453.

الفصل الثالث
ميكانيكيات المكافحة الحيوية

❖التفاعلات المؤدية للمكافحة الحيوية:

يتمثل الهدف الرئيسى من المكافحة الحيوية فى وقاية المزروعات الاقتصادية من الآفات ومسببات الأمراض الميكروبية، ويحدث ذلك عن طريق اختزال أعداد هذه الكائنات الضارة أو نشاطها المؤدى للمرض، حيث تتفاعل بعض الكائنات مع النباتات فى علاقة تعاونية أو مع مسببات الأمراض فى علاقة تنافسية، وهى تفاعلات من شأنها أن تؤثر على صحة النبات، ومن أمثلة هذه التفاعلات التعاون mutualism أو protocooperation والتعايش commensalism والحياد neutralism والتنافس competition والاضرار amensalism والتطفل parasitism والافتراس predation.

والمكافحة الحيوية هى مجرد نتيجة إيجابية للتفاعلات المتخصصة وغير المتخصصة، ومن الأهمية بمكان تصنيف وتحديد المكونات المختلفة للنظم البيئية التى تساهم فى المكافحة الحيوية، فالعلاقة التعاونية mutualism هى بمثابة علاقة مفيدة لكائنين أو أكثر، وتفيد هذه العلاقة فى مجال المكافحة الحيوية بتوفير تغذية جيدة وبتنشيط دفاعات العائل، كذلك فإن علاقة التعاون protocooperation هى شكل آخر من أشكال العلاقة التعاونية إلا أن الميكروبات المتعاونة لاتعتمد فيه على بعضها من أجل البقاء، وفى علاقة التعايش commensalisms تكون المنفعة لطرف واحد فقط، وتصف علاقة الحياد neutralism التفاعلات الحيوية حال عدم وجود تأثير لكثافة مجتمع نوع ما على نوع آخر مطلقًا، وفى علاقة التنافس competition الحادثة داخل أو بين الأنواع فى نزاع على الغذاء أو الأكسجين أو المكان يسود نمو نوع على الآخر، وتحدث المكافحة الحيوية عندما يتنافس كائن غير ممرض مع كائن ممرض على المواد الغذائية فى وجود النبات العائل، وفى علاقة التطفل parasitism التى يهاجم فيها نوع ما نوع آخر بشكل مباشر فإن تنشيط العوامل التى تتطفل

على مسببات أمراض النبات ينتج عنه المكافحة الحيوية، وإصابة العائل بواسطة الميكروبات الممرضة ضعيفة المرضية نسبيًا يؤدى إلى المكافحة الحيوية للمسببات المرضية شديدة المرضية من خلال تنبيه نظم الدفاعات الخاصة بالعائل، وفى علاقة الافتراس predation التى يهاجم فيها نوع (كالفطر) نوع أخر (كالنيماتودا) أيضًا تحدث المكافحة البيولوجية بأسلوب مشابه.

وتحدث المكافحة الحيوية بدرجات متفاوتة من كل هذه التفاعلات وذلك اعتمادًا على الظروف البيئية التى تحدث فيها، ويمكن القول أن المكافحة الحيوية الفعالة تنشأ من تعديل العلاقات التعاونية بين الميكروبات وعوائلها النباتية أو من تعديل التضاد بين الميكروبات والمسببات المرضية.

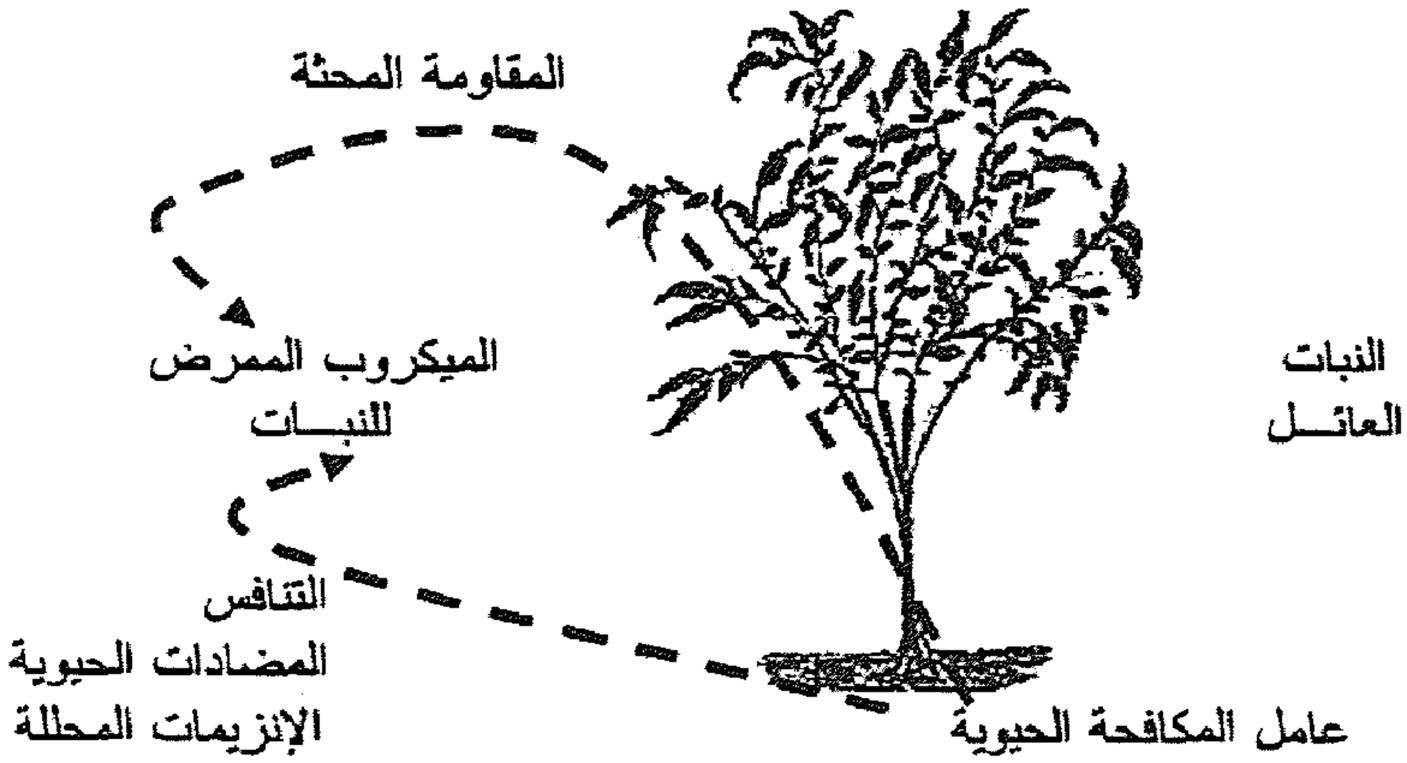
ميكانيكيات المكافحة الحيوية:

تنتج المقاومة الحيوية من التفاعلات الحادثة بين الكائنات الحية، ومن ثم فلابد من توصيف آليات المكافحة الحيوية فى الحالات المختلفة، وفى كل الحالات يحدث تضاد للكائنات الممرضة بواسطة أنشطة الكائنات الأخرى التى توجد معها.

وتتضمن المكافحة الحيوية للآفات مدخلين هما مدخل الصندوق الأسود black box وفيه يتم إدارة الكائنات القاطنة للمكان الذى تتم فيه عملية المكافحة الحيوية، ومدخل الرصاصة الفضية silver bullet وفيه يتم إدخال كائنات متخصصة للقضاء على المسببات المرضية.

وقد أدت صعوبة فهم التفاعلات المعقدة فى مدخل المكافحة الحيوية المعروف بمدخل الصندوق الأسود إلى استبداله بمدخل الرصاصة الفضية - أى إدخال سلالات ميكروبية مفردة كعوامل مكافحة حيوية biocontrol agents – وهو مدخل بسيط يقدم حلولًا عملية لمشاكل أمراض النبات ويوفر كثير من المستحضرات الحيوية فى السوق التجارى.

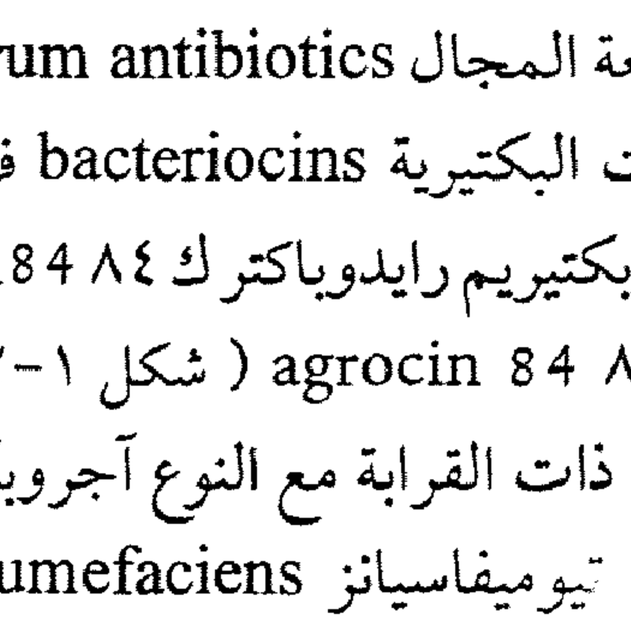
وهناك عدة آليات رئيسية توظفها العوامل الميكروبية المستخدمة فى المكافحة الحيوية ومنها إنتاج المضادات الحيوية والإنزيمات المحللة وحث المقاومة فى النبات العائل (شكل ١ - ١٠):



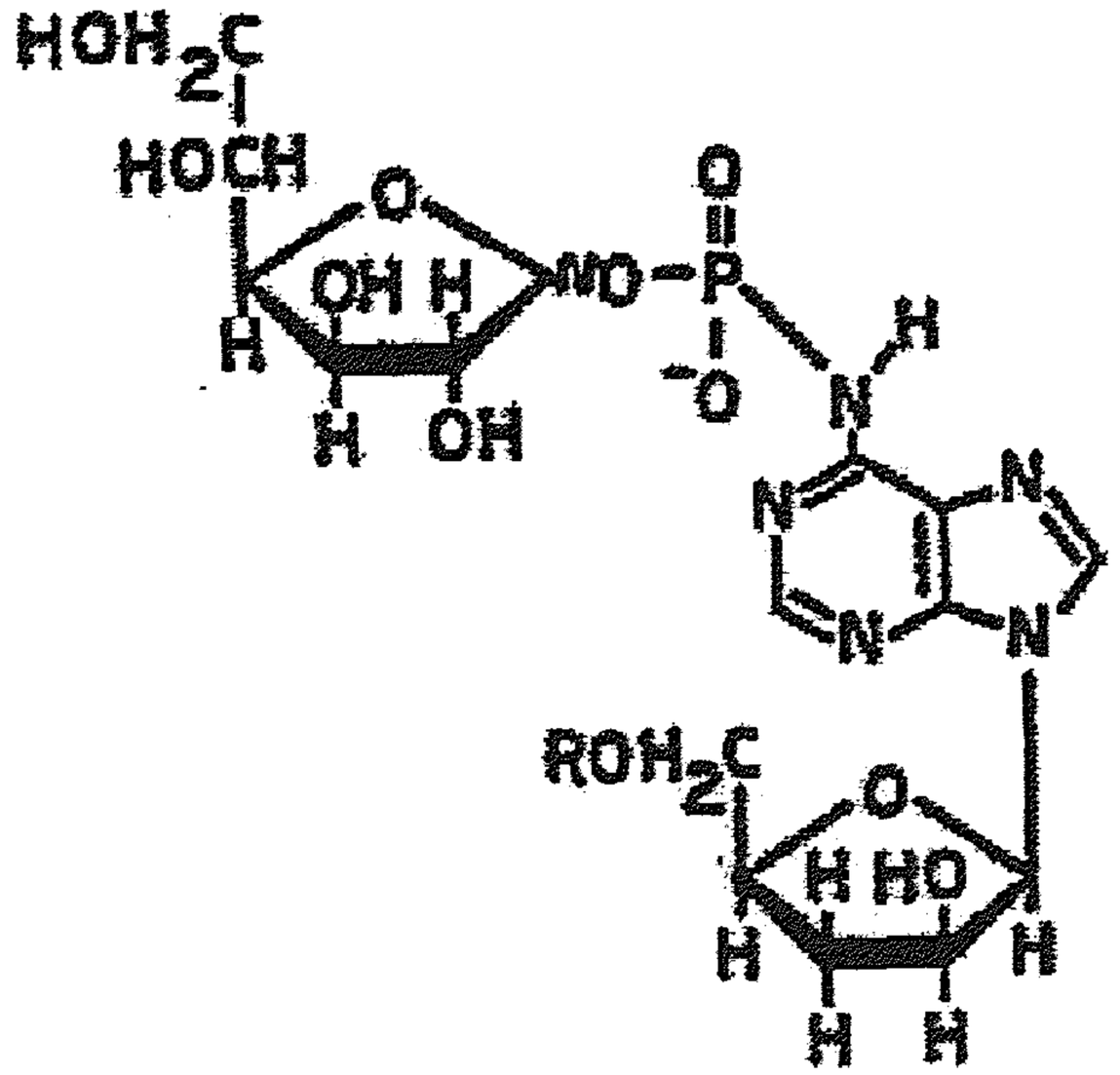
شكل (١-١٠) آليات المكافحة الحيوية للميكروبات الممرضة للنبات

التضاد الحيوى Antibiosis:

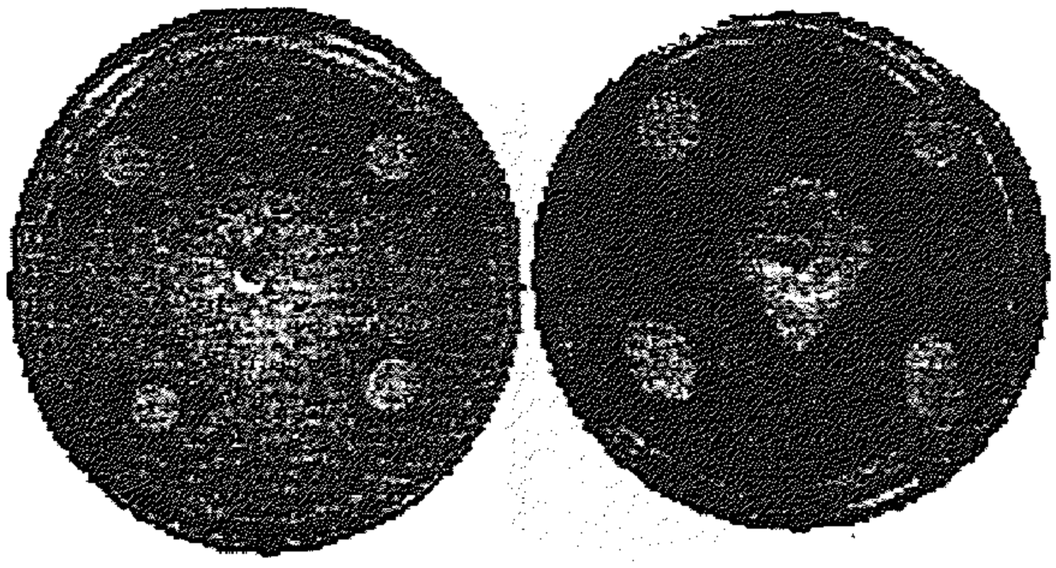
يعتبر التضاد الحيوى آلية هامة لتثبيط inhibition والقضاء على مسببات الأمراض النباتية (شكل ١-١١)، ويتم فى هذه الآلية تثبيط أو القضاء على نمو ميكروب بواسطة مادة أيضية metabolite ينتجها ميكروب آخر، وقد تكون المواد المنتجة مركبات مثبطة للنمو ذات فعالية شديدة تجاه عدد كبير من الميكروبات، ويشار لهذه المواد بالمضادات الحيوية واسعة المجال broad-spectrum antibiotics، وقد تكون بعض المواد الايضية مثل الترياقات البكتيرية bacteriocins فعالة تجاه مجموعة متخصصة من الميكروبات، فبكتريا آجروبكتيريم رايدوباكترك Agrobacterium radiobacter K84 ٨٤ تنتج مركب اجروسين agrocin 84 ٨٤ (شكل ١-١٢) وهو بكتيريوسين bacteriocin فعال فقط تجاه البكتريا ذات القرابة مع النوع آجروبكتيريم رايدوباكتر A. radiobacter مثل بكتريا أجروبكتيريم تيوميفاسيانز A. tumefaciens المسببة لمرض التدرن التاجى crown gall disease الذى يصيب أشجار التفاح والكمثرى وأشجار الفواكه ذات النواة الحجرية والأعناب بالأورام والتدرنات ويؤدى إلى ضعف نمو الأشجار المصابة وقلة محصولها.



شكل (١-١١) التضاد الحيوى ويلاحظ منطقة التثبيط .



وللميكروبات المنتجة للمضادات الحيوية ميزة تنافسية فى احتلال المكان وضمان الغذاء الذى تحتاج إليه إذ تساعدها مضاداتها الحيوية على منع نمو الميكروبات الأخرى، ويعتبر التضاد الحيوى بمثابة آلية فعالة لوقاية البذور، فالسلالة البكتيرية سيدوموناس فلوريسنس Pseudomonas fluorescens Q2- 87 المفرزة للمضاد الحيوى٢، ٤ داى أسيتيل فلوروجلوسينول diacetylphloroglucinol - 2,4 تقى جذور نبات القمح من الفطر الأسكى الممرض جايومانوميسس جراميئيز Gaeumannomyces graminis var. tritici المسبب لمرض take - all عندما يتم تغطية الحبوب بها (شكل ١-١٣)، وعندما تنبت الحبوب تتكاثر البكتريا فى منطقة المحيط الجذرى للنبات rhizosphere مستخدمة إفرازات الجذور كمصدر للغذاء.



شكل (١- ١٣) سلالة سيدوموناس فلوريسنس
P. fluorescens Q2 - 87 تنتج مضاد حيوى سام
لميكروب جايومانوميسس جرا مينيز
G. graminis var. tritici المسبب لمرض
take - all

ويختلف تأثير المضادات الحيوية فى التربة لأنها ترتبط بجزيئات الطين بما تحمله من شحنات، كما تتحلل بواسطة الكائنات الحية الدقيقة، أو يتم غسيلها من المحيط الجذرى بواسطة الماء.

والمضادات الحيوية عبارة عن سموم تنتجها بعض الميكروبات لتقتل الكائنات الحية الدقيقة الأخرى، ومعظم هذه المضادات فعالة ضد مسببات الأمراض النباتية (جدول ١-١).

وفى العادة لا تنتج الميكروبات الكثير من مضاداتها الحيوية لكى تستهدف كائن ممرض متخصص، كما أن الميكروب لاينتج نفس المضادات الحيوية تحت الظروف البيئية المتباينة، وتنتج بعض الميكروبات الكثير من المركبات النشطة حيويًا والفعالة ضد الميكروبات المختلفة الممرضة للنباتات، فالسلالة البكتيرية سيدوموناس فلوريسنس Pseudomonas fluorescens PF - S مثلًا تنتج الكثير من المضادات الحيوية الهامة مثل البيولوتيورين pyoluteorin والبيرولنيترين pyrrolnitrin و ٢، ٤ داى أسيتيل فلوروجلوسينول diacetylphloroglucinol - 2,4، ويثبط المضاد الحيوى بيولوتيورين pyoluteori.

جدول (١-١) بعض المضادات الحيوية المنتجة بواسطة عناصر المكافحة الحيوية

المضاد الحيوى	المصـــــدر	الميكروب الممرض المستهدف	المرض
2,4 - diacetyl-phloroglucinol	سيدوموناس فلوريسنس Pseudomonas fluorescens F113	أنواع بيثيوم Pythium spp	ذبول البادرات
Agrocin 84	اجروبكتيريم راديوباكتر Agrobacterium radiobacter	اجروبكتيريم تيوميفاسينس Agrobacterium tumefaciens	التدرن التاجى
Bacillomycin D	باسيلس ستلس Bacillus subtilis AU195	اسبرجلس فلافس Aspergillus flavus	التلوث بالأفلاتوكسين
Bacillomycin, fengycin	باسيلس اميلوليكويفاسينس B. amyloliquefaciens FZB42	فيوزاريوم اوكسيسبورم Fusarium oxysporum	الذبول

Xanthobaccin A	ليسوباكتر Lysobacter sp. strain SB-K88	افانوميسزكوكليوايدس Aphanomyces cochlioides	ذبول البادرات
Gliotoxin	ترايكودرمافيرنس Trichoderma virens	رايزوكتونياسولانى Rhizoctonia solani	أعفان الجذور
Herbicolin	بانتوياإجلوميرانس Pantoea agglomerans C91-	اروينياإميلوفورا Erwinia amylovora	اللفحة النارية
Iturin A	باسيلس ستلس B. subtilis QST713	بوترايتس سينيريا Botrytis cinerea رايزوكتونياسولانى R. solani	ذبول البادرات
Mycosubtilin	باسيلس ستلس B. subtilis BBG100	بيثيم افانيدرماتم Pythium aphanidermatum	ذبول البادرات
Phenazines	سيدوموناس فلوريسنس P. fluorescens 279- and 30 - 84	جايومانوميسيس جرامينيس Gaeumannomyces graminis var. tritici	Take - all
Pyoluteorin, pyrrolnitrin	سيدوموناس فلوريسنس P. fluorescens Pf-5	بيثيم التيمم Pythium ultimum رايزوكتونياسولانى R. solani	ذبول البادرات
Pyrrolnitrin, pseudane	بركهولدرياسيبسيا Burkholderia cepacia	رايزوكتونياسولانى R. solani بيريكيولاريا اوريزا Pyricularia oryzae	ذبول البادرات rice blast
Zwittermicin A	باسيلس سيريس B. cereus UW 85	فيتوفثورا ميديكاجينيس Phytophthora medicaginis فيتوفثورا افانيدرماتم P. aphanidermatum	ذبول البادرات

فطر بيثيوم التيموم Pythium ultimum المسبب لمرض البادرات فى القطن، إلا أنه ذو تأثيـر قليل على ممرضات البادرات الأخرى، كذلك يثبط المضاد الحيوى pyrrolnitrin فطر رايزوكتونيا سولانى R. solani المسبب لعفن الجذور، والفطر الأسكى ثايلافيوبسيس باسيكولا Thielaviopsis basicola المسبب لعفن الجذر الأسود فى القطن، وفطر فيرتسليم داهاليا Verticillium dahliae، إلا أنه غير فعال ضد فطر بيثيم التيموم P. ultimum، ومن أمثلة فطريات المكافحة الحيوية التى تنتج مضادات حيوية أفراد جنس ترايكودرما Trichoderma وجنس جلايوكلاديوم Gliocladium، أما عوامل المكافحة البيولوجية البكتيرية التى تنتج مضادات حيوية فأهمها بكتيريات جنس باسيلس Bacillus وسيدوموناس Pseudomonas وستربتوميسيس Streptomyces.

وإلى جانب المضادات الحيوية هناك مواد أخرى تسبب التضاد الحيوى كالمواد الطيارة والإنزيمات:

أولًا: المواد الطيارة Volatile compounds:

يلعب عدد من المواد الطيارة دورًا هامًا فى المكافحة الحيوية لمسببات الأمراض النباتية. ومن أمثلة المركبات الطيارة مايلى:

أ- الأمونيا ammonia:

تعتبر سلالات بكتيريا انتيروباكتر كلواكا Enterobacter cloacae المثبتة للنيتروجين الجوى من عوامل المكافحة الحيوية الفعالة لأمراض البادرات وأمراض مابعد الحصاد، وتنتج هذه البكتريا الأمونيا كجزء من آلية التثبيط التى تنتهجها ضد الأنواع الفطرية الممرضة مثل بيثيم التيموم P. ultimum المسبب لمرض ذبول البادرات المفاجئ قبل وبعد ظهور البادرات فوق سطح الأرض، وفطر رايزوكتونيا سولانى Rhizoctonia solani المسبب لعفن الجذور، وفطر فيرتسليم داهاليا V. dahliae الذى يهاجم مئات الأنواع من نباتات الخضروات ونباتات الأزهار ونباتات الزينة وأشجار الفاكهة ومحاصيل الحقل مسببًا لها ذبول وعائى وخسائر مختلفة، وتتفاوت حساسية هذه الفطريات الممرضة للنبات للأمونيا ففطر بيثيم Pythium أكثر حساسية للأمونيا عن فطر رايزوكتونيا Rhizoctonia.

ب- الألكيل بيرون alkyl pyrones:

تنتج بعض الميكروبات مثل أفراد جنس ترايكودرما Trichoderma الألكيل بيرون كأداة للمكافحة الحيوية، كما هو الحال فى فطر ترايكودرما هارزيانم Trichoderma harzianum

الذى ينتج هذه المادة الأيضية ليضاد بها فطر رايزوكتونيا سولانى Rhizoctonia solani.

ج- سيانيد الهيدروجين (HCN) hydrogen cyanide:

ينتج عدد قليل من البكتيريا سيانيد الهيدروجين كناتج أيضى ثانوى ضمن أدوات هذه البكتيريا فى المكافحة الحيوية للميكروبات الأخرى، ومن أمثلة الأنواع البكتيرية التى تنتج سيانيد الهيدروجين كل من سيدوموناس ايروجينوزا Pseudomonas aeruginosa وسيدوموناس فلوريسنس Pseudomonas fluorescens وكروموبكتيريم فيولاسم Chromobacterium violaceum.

وتطلق بكتيريا سيدوموناس فلوريسنس P. fluorescens سيانيد الهيدروجين كآلية لمكافحة الفطر الأسكى ثايلافيوبسيس باسيكولا Thielaviopsis basicola المسبب لمرض عفن الجذور الأسود فى معظم حقول القطن والخضروات، حيث يوقف سيانيد الهيدروجين مسار السيتوكروم أكسيديز cytochrome oxidase بالإضافة لسميته الشديدة للكائنات الحية الدقيقة الهوائية عند التركيزات الطفيفة.

د- ثانى أكسيد الكربون:

يعتبر ثانى أكسيد الكربون من المواد الهامة أيضًا فى مجال المكافحة الحيوية، إذ تطلقه بعض عوامل المكافحة الحيوية لتؤثر به على نمو الفطريات، وله تأثير قوى على التجرثم فى الفطريات الممرضة.

ثانيًا: الإنزيمات المحللة Lytic enzymes:

مع أن آلية المكافحة الحيوية بالتطفل تتضمن الكثير من الإنزيمات، إلا أنه توجد أيضًا إنزيمات فى عملية التضاد الحيوى فقط، فالسلالة الفطرية تالاروميسيز فلافس Talaromyces flavus Tf1 المستخدمة فى المكافحة البيولوجية فعالة ضد فطر فيرتسليم Verticillium المسبب للذبول فى الباذنجان، إذ تنتج هذه السلالة إنزيم الجلوكوز اوكسيديز حيث يتكون بيروكسيد الهيدروجين كناتج لنشاط هذا الإنزيم الذى يقتل الأجسام الحجرية الدقيقة microsclerotia للفيرتيسيليم Verticillium فى التربة، وجدير بالذكر أن الإنزيم بمفرده لايستطيع قتل الأجسام الحجرية الدقيقة.

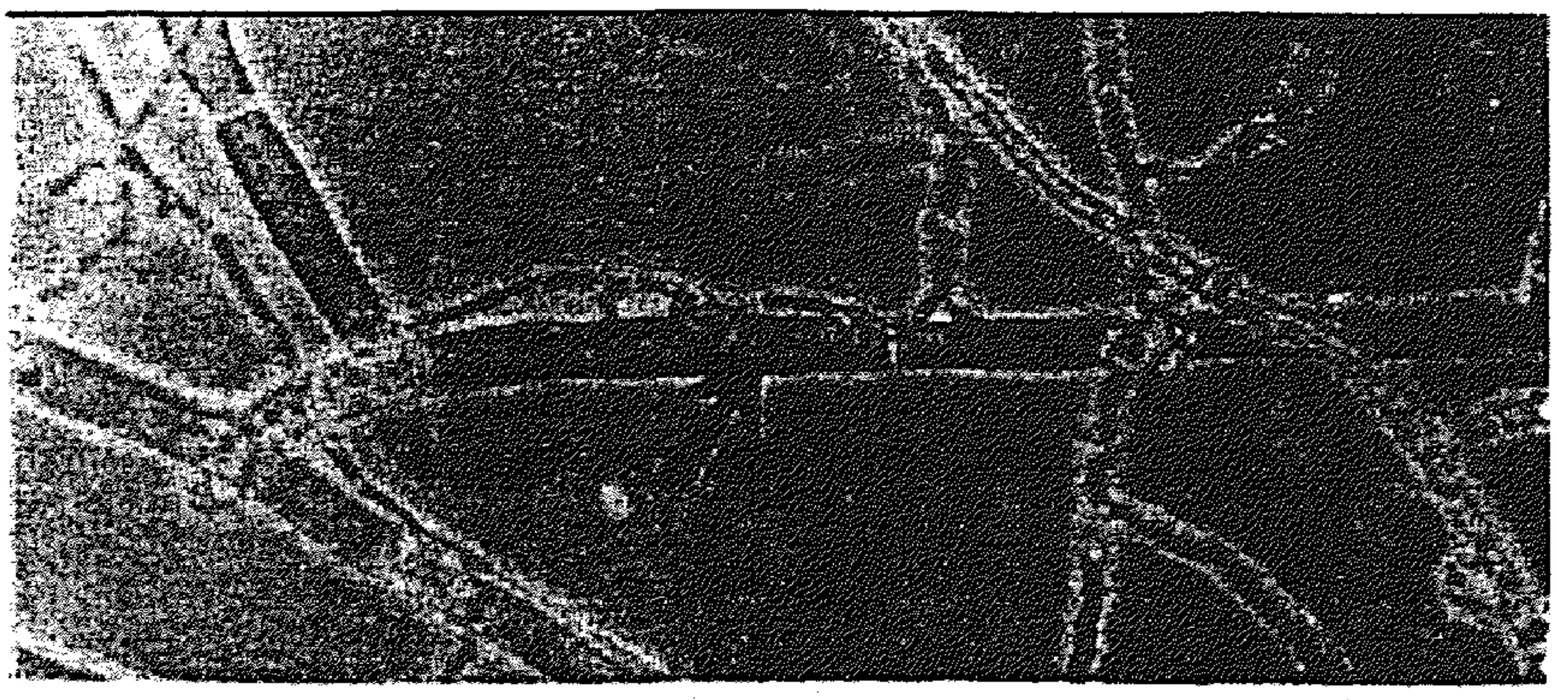
وتفرز عناصر المكافحة الحيوية الميكروبية عدد من الإنزيمات المحللة lytic enzymes

خارج خلاياها extracellular enzymes لتلعب دورًا هامًا فى المكافحة الحيوية بهدم جدر خلايا المسببات المرضية، ومنها إنزيمات الكيتينيز chitinases والجلوكانيز glucanases والبروتييز proteases التى تحلل عدد من البوليمرات مثل الكيتين والسليلوز والهيميسليلوز والبروتين والحامض النووى د.ن.أ DNA.

ثالثًا: التطفـل Parasitism:

يمثل التطفل آلية ثانية للمكافحة الحيوية، ويقصد بالتطفل حصول كائن حى (الطفيل parasite) على غذائه من كائن حى آخر (العائل host)، ويعتبر التطفل آلية هامة فى مجال المكافحة الحيوية، ويختزل التطفل بنجاح أعداد الفطريات المكونة للأجسام الحجرية sclerotia أو يمنع أمراض أعفان الجذور root rots، إلا أنه قـد يكون أقل فعالية فى وقاية البذور النابتة لأن نشأة علاقة تطفلية بين الميكروب المستخدم فى المكافحة الحيوية والميكروب الممرض قـد تحتاج لمزيد من الوقت عن الوقت اللازم لإصابة البذرة بالميكروب المسبب للمرض.

وفى حالة الطفيل الفطرى mycoparasite التريكودرما Trichoderma sp تبدأ خطوات التطفل بتحديد الهدف detection of target (العائل الفطرى) أى الفطر المسبب للمرض فى النبات، وتنمو هيفات فطر الترايكودرما تجـاه منبه كيماوى يكونه العائل Chemotactic growth، حيث يتعرف الفطـر على عائله Chemical and physical recognition of host، وتلامس هيفات الترايكودرما الفطر العائل وتلتف حول هيفاته (شكل ١ - ١٤)، ويفرز فطر الترايكودرما Trichoderma نظم إنزيمية تحلل الجدر الخلوية الفطرية Stimulation of extracellular enzymes، وقـد تعمل الإنزيمات المحللة والمضادات الحيوية معا فى عملية المكافحة الحيوية.



شكل (١-١٤) هيفات فطر ترايكودرما Trichoderma وقد اخترقت سطح هيفات فطر رايزوكتونيا سولانى R. solani

ومن أمثلة الطفيليات الفطرية أنواع جنس الترايكودرما كالأنواع تريكودرما هاماتم Trichoderma hamatum وتريكودرما هارزيانم T.harzianum وتريكودرما كونينجياى T. koningii وتريكودرما فيرنز T. virens وتريكودرما فيردى T. viride، إلى جانب أنواع جنس البيثيم كالنوع بيثيم مم Pythium mum وبيثيم اوليجاندرم P. oligandrum.

رابعًا: التنافس Competition:

تتضمن هذه الآلية التنافس بين عامل المكافحة الحيوية والمسبب المرضى على موارد الغذاء nutrient competition مثل الكربون والنيتروجين والأكسجين والحديد والأملاح المعدنية... إلخ، وعلى مكان المعيشة بالتربة، وتنجح بعض الكائنات الحية فى هذا التنافس حيث يتم استبعاد بعض الكائنات بسبب سرعة النمو والتكاثر والمرونة الأيضية أو الكفاءة العالية فى الحصول على الغذاء.

وهناك مثال للمكافحة الحيوية لعفن الجذور فى نباتات الصنوبر من خلال آلية التنافس للوقاية من هذا المرض النباتى، ويحدث عفن الجذور فى الصنوبر بواسطة الفطر البازيدى هيتروبازيديون آنوسم (Heterobasidion annosum (Fomes annosus = Polyporus annosum الذى يمكنه أن يبقى لعدة سنوات فى قواعد النباتات ويسبب ضرر كبير للنباتات فى الغابات، ولمقاومة هذا المرض تلقح النباتات بالفطر البازيدى فانيروكيتا جيجانتيا كمبيد Phanerochaete (=Peniophora, =Phlebia, =Phlebiopsis) gigantea حيوى يستخدم فى كثير من دول أوروبا منذ عام (١٩٧٠)حيث يمنع بشكل طبيعى ميسيليوم هذا الفطر فطر هيتروبازيديون آنوسم H. annosum من الانتشار على الجذوع stumps التى يستخدمها كغذاء أثناء مهاجمة أشجار الصنوبر.

ويكون النوع البكتيرى سيدوموناس فلوريسنس P. fluorescens مايسمى حوامل الحديد siderophores مثل السيدوباكتين(C42 H57N12O16Fe·13H2O) pseudobactin لتخلب عنصر الحديد فيحرم بدوره الكائنات الممرضة مثل الفطر الأسكى فيوزاريم اوكسيسبوروم Fusarium oxysporum (المسبب لمرض الذبول الفيوزاريومى Fusarium wilt disease فى أكثر من(١٠٠) نوع نباتى) من الحديد، وتتكون مركبات حوامل الحديد خارج الخلايا وتتميز بانخفاض وزنها الجزيئى وشدة جذبها لأيون

الحديديك، وفى المقابل تحتاج الجراثيم الكلاميدية لمصدر خارجى للحديد لكى تنبت، ومع أن فطر فيوزاريم اوكسيسبوروم F. oxysporum ينتج أيضًا حوامل الحديد فإن حوامل الحديد الخاصة ببكتيريا السيدوموناس Pseudomonas أكبر كفاءة فى ربط الحديد، وعندما تكون بكتيريا السيدوموناس نشطة فى التربة الزراعية فإن الجراثيم الكلاميدية لفطر الفيوزاريم تبقى ساكنة ولاتنبت بسبب ظروف عنصر الحديد المنخفضة.

وتلعب حوامل الحديد دورًا هامًا فى تغذية النبات وحث نموه ومكافحة الأمراض التى تصيبه، وعلى الرغم من أن عنصر الحديد يعتبر أحد العناصر الغذائية الصغرى الأساسية لنمو معظم الكائنات الحية الدقيقة فى التربة، إلا أن هذا العنصر غالبًا ما يوجد فى كميات محدودة جدًا بسبب انخفاض ذوبانه فى الأوساط المائية الهوائية، ولذلك تفرز الميكروبات حوامل الحديد لتوفر الحديد الذى تحتاجه فى أنشطتها الأيضية، ومن صفات عامل المكافحة الحيوية المثالى إفراز حوامل الحديد القوية التى تخلب عنصر الحديد فى منطقة المحيط الجذرى للنبات النامى بشكل تنافسى، كما تقلل من إتاحة الحديد للميكروبات الأخرى فى منطقة المحيط الجذرى للنبات.

وتحث بعض ميكروبات المكافحة الحيوية تغيرات معينة فى النبات مثل زيادة مقاومته للإصابة بالأمراض، وهى الظاهرة المعروفة باسم « المقاومة المحثة »، ويعتبر حث المقاومة للأمراض بمثابة عملية دفاعية نشطة يقوم بها النبات، ويتم تنشيط هذه العملية الدفاعية بواسطة كثير من عوامل الحث غبر الحيوية والحيوية والتى تعتمد على الموانع barriers الطبيعية أو الكيميائية للعائل، ومن هذه العوامل حوامل الحديد وحامض الساليسيليك الذان تنتجهما الريزوبكتيريا سيدوموناس ايروجينوزا Pseudomonas aeruginosa.

وثمة حقيقة مؤكدة تتمثل فى أن عنصر الحديد هو عامل فسيولوجى لاغنى عنه، إذ يؤدى غيابه إلى انخفاض المواد الأيضية المختلفة التى تنتجها الميكروبات كالمضادات الحيوية وسيانيد الهيدروجين، وتساعد حوامل الحديد فى إنتاج الحديد عن طريق جعل هذا العنصر متاحًا بالكمية المطلوبة.

ويعزى ضعف مكافحة مرض عفن الجذور الأسود black root rot فى نبات الطباق بواسطة طفرات سيدوموناس فلوريسنس Pseudomonas flourescens إلى نقص تخليق

سيانيد الهيدروجين بسبب عدم مقدرة الميكروب على تخليق حوامل الحديد ومن ثم الحرمان من الحديد، وتستخدم كثير من الميكروبات المنتجة لحوامل الحديد فى المكافحة الحيوية للكثير من الميكروبات الممرضة للنبات (جدول ١-٢).

وقد عرفت أهمية تكوين حوامل الحديد بواسطة كثير من السلالات الميكروبية كآلية للمكافحة الحيوية منذ عام (١٩٨٠)، بحيث أصبح دورها الآن .

جدول (١ - ٢) بعض الميكروبات المنتجة لحوامل الحديد والمستخدمة فى المكافحة الحيوية.

الميكروب المنتج لحوامل الحديد	المسبب المرضى موضع المقاومة	المرض النباتى
سيدوموناس فلوريسنس P. fluorescens	رايزوكتونياسولانى Rhizoctonia solani	لفحة الغلاف فى الأرز
سيدوموناس Pseudomonas sp.	كوللليتوتريكم ديماتيم Colletotrichum dematium، رايزوكتونيا سولانى Rhizoctonia solani، سكليروتيم رولفاسياى Sclerotium rolfsii	أمراض الذرة
سيدوموناس Pseudomonassp. EM85	ماكروفومينافاسيولينا Macrophomina phaseolina فيوزاريوم مونيليفورمى Fusarium moniliforme فيوزاريوم جرامينيارم Fusarium graminearum	أمراض الجذور فى الذرة
سيدوموناس ايروجينوزا P. aeruginosa	ماكروفومينافاسيولينا Macrophomina phaseolina فيوزاريوم اوكسيسبورم Fusarioum oxysporum	-
سسيدوموناس ايروجينيوزا P. aeruginosa	أسبيرجيللس نيجر Aspergillus niger، أسبرجللس فلافس A. flavus، أسبرجللس أوريزا A. oryzae، فيوزاريوم أوكسيسبورم Fusarium oxysporum، سكليروتيوم رولفسيايای Sclerotium rolfsii، الترناريا الترناتا Alternaia alternata	أمراض الفول السودانى

رايزوبيوم ميليلوتاى Rhizobium meliloti	ماكروفومينافاسولينا Macrophomina phaseolina	العفن الفحمى فى الفول السودانى
بروتيس Proteus sp.	فيوزاريوم أوكسيسبورم Fusarium oxysporum	الذبول فى لوبيا المنج
رودوتورولا Rhodotorula sp	بوترايتيس سيناريا Botrytis cinerea	العفن الرمادى على عدد كبير من العوائل النباتية من المحاصيل التجارية

مقبولًا فى توفير عنصر الحديد فى مجال التغذية والمكافحة الحيوية للأمراض، وتنبنى آلية المكافحة الحيوية المتضمنة استخدام حوامل الحديد على دورها فى التنافس على الحديد وحث المقاومة.

خامسًا: ميكانيكيات أخرى:

١ - المرضية المضعفة Hypovirulence:

تحدث المكافحة البيولوجية بهذه الآلية عندما تندمج سلالة فطر ضعيفة المرضية مع سلالة أخرى ممرضة لنفس الفطر وتنقل ظروف السلالة الضعيفة للسلالة الأخرى، وتعنى هذه الآلية التحام الهيفات anastomosis وهى نوع من التوافق الخضرى، وتحدث المرضية المضعفة على أثر إصابة الفطر الممرض بواحد أو أكثر من الحامض النووى مزدوج الخيط(dsRNA) Double - stranded RNA من أصل فيروسى.

ومثال ذلك المكافحة الحيوية لمرض اللفحة الكستنائية chestnut blight الذى يسببه الفطر الأسكى كرايفونيكتريا باراسيتيكا Cryphonectria parasitica (الذى كان يعرف سلفًا باسم اندوثيا باراسيتيكا Endothia parasitica) بواسطة سلالات مضعفة من نفس الفطر تم إصابتها بالفيروس، والآلية التى تتم بها المكافحة الحيوية هنا هى آلية المرضية المضعفة hypovirulance، وتعطى هذه الآلية للأشجار شكل من المرض أقل فاعلية مع فرصة للأشجار أن تقاتل من أجل البقاء فينحصر الفطر فى القلف الخارجى.

٢ - المقاومة المحثة Induced Systematic Resistance:

فى آلية المقاومة المحثة يتم دفع النبات لتكوين المواد المسئولة عن المقاومة قبل حدوث

الإصابة والتى يقع على عاتقها السرعة فى رد الفعل عند حدوث الإصابة بالفعل، وتتميز آلية حث المقاومة بأن تأثيرها يمتد طوال حياة النبات ولها مردود إيجابى على نمو النبات ومحصوله، كما أنها غير متخصصة إذ تقى من معظم الأمراض.

ويتم تنظيم المقاومة المكتسبة acquired resistance بواسطة حامض السليسيليك salicylic acid ذلك الحامض الذى ينتج عادة عقب حدوث الإصابة بالمسبب المرضى، وينجم عن إنتاجه إفراز بعض الإنزيمات التى تحفز تفاعلات تحلل الجدر الخلوية وتؤدى لموت خلايا المسبب المرضى، وبعض البروتينات التى تقوى الجدر الخلوية للعائل فى مواجهة الإصابة، أو تستحث الموت الموضعى لخلايا العائل.

ويؤدى تلقيح النبات بالبكتيريا المشجعة لنموه إلى حث دفاعات المقاومة بالنبات، وتعتبر المقاومة المحثة induced resistance بمثابة آلية للمكافحة الحيوية لايلتقى فيها عامل المكافحة الحيوية والميكروب الممرض معًا، وتحفز آلية المقاومة المحثة دفاعات النبات العائل لحمايته، وينظم حامض الجاسمونيك والإثيلين jasmonic acid (JA) and/or ethylene – المنتجة عقب تلقيح النباتات ببعض البكتيريات غير الممرضة – مستوى استجابة دفاعات العائل، ويحدث تضاد فى المسارات الدفاعية المعتمدة على حامض السليسيليك وحامض الجاسمونيك، وتستفيد بعض أنواع البكتيريا المرضية من هذه الميزة للتغلب على المقاومة المكتسبة. ومن المعروف أن معظم البكتيريا المحثة لنمو النبات تنتج مضادات حيوية أو حوامل تخلب الحديد أو نظم إنزيمية محللة، ولذلك فإن قدرتها على مكافحة المرض تتضمن أكثر من آلية، وهكذا فإن البكتيريا المشجعة لنمو النبات تنظم نمو النبات أو تقيه من الميكروبات الممرضة أو تلعب الدورين معًا، ويتوفر من البكتيريا المحثة لنمو النبات كثير من السلالات التجارية فى السنوات الأخيرة.

٣- زيادة استجابة النمو Increased Growth Response:

تعمل الميكروبات المستخدمة فى المكافحة الحيوية لمسببات الأمراض النباتية – سواء الميكروبات المشجعة لنمو النبات plant - growth - promoting rhizobacteria (PGPR) أو بعض عوامل المكافحة الحيوية من الفطريات – بالاشتراك لتحسين نمو النبات، وفى بعض الحالات يعزى زيادة نمو العائل النباتى إلى نقص الأعداد الحية من الميكروبات

الممرضة كأنواع جنس بيثيم Pythium التى تصيب جذور النباتات وتحدث نقص طفيف فى نمو أو محصول النبات، أو بمعنى آخر يعزى زيادة نمو النبات – فى غياب الميكروبات الممرضة بصفة خاصة – إلى المركبات ذات الأصل الميكروبى المشجعة لنمو النبات.

اعتبارات استخدام الميكروبات كعوامل مكافحة حيوية للميكروبات الممرضة:

ثمة عوامل كثيرة تؤثر فى فعالية العوامل الميكروبية، ويعتمد نجاح هذه العوامل فى المكافحة الحيوية على مدى كونها صديقة ومتوافقة مع النظم البيئية، وانتشارها بكفاءة، وتنافسها الحيوى، وكفاءتها فى البحث عن الآفات، وقدرتها على زيادة المحصول، ودورة حياتها المتزامنة مع الآفة، وكفاءتها التكاثرية، وعدم مرضيتها، وثباتها الوراثى، وتخصصها تجاه العائل، وثباتها فى البيئة لفترة طويلة، وسهولة إنتاجها بكميات ضخمة، وقدرتها على التنافس مع المبيدات الكيميائية، ومقدرتها على إنتاج مواد ضارة، وقدرتها على المقاومة resistance والبقاء survival والتطفل hyperparasitism والقضاء على مسببات الأمراض (جدول ١-٣).

تأثير العوامل غير الحيوية والحيوية على عوامل المكافحة الميكروبية:

ثمة عوامل بيئية كثيرة بعضها حيوى والآخر غير حيوى تؤثر فى مدى الضراوة المرضية لعوامل المكافحة الحيوية من الميكروبات وفى ثباتها وانتشارها وبقائها، وكذلك فى مقاومة وتأثر الآفة المستهدفة من عملية المكافحة، وأيضًا التفاعل بين عنصر المكافحة الحيوية والآفة.

وهناك عوامل بيئية كثيرة تؤثر على المبيدات الحيوية، فالرطوبة ودرجة الحرارة تؤثر فى مدى ضراوة الميكروب ومقدرته على إحداث الإصابة، ويعتبر ضوء الشمس أحد العوامل الفيزيائية التى قد تقضى على فعالية ونشاط عنصر المكافحة الحيوية، وقد تساعد الرياح والأمطار فى انتشار الميكروب إلا أنها فى المقابل قد تقلل من كثافته فى المنطقة المستهدفة للمقاومة.

وتؤثر الخصائص المظهرية للنباتات النامية وكثافة الغطاء الخضرى على البلل والالتصاق والتغطية للميكروب، فقد يؤدى النمو السريع للنباتات إلى تقليل أعداد الميكروب، كما أن

المواد التى تنتجها النباتات وتركيز الأس الهيدروجينى لسطح النبات قد يقضى على فعالية الميكروب، ويغير كل من القيمة الغذائية وتركيز الأس الهيدروجينى للنسيج النباتى والنواتج النباتية من حساسية الآفة المستهدفة للميكروب.

جدول (١-٣) العوامل المؤثرة فى نجاح عوامل المكافحة الحيوية فى مكافحة الميكروبات الممرضة للنبات.

١ – العوامل المؤثرة في بقائها لفترة طويلة.
أولاً: العوامل الحيوية.
١ . التنافس. ٢ .القدرة على الاستيطان. ٣. تركيبات البقاء. ٤. جينوم العائل. ٥. مقاومة الميكروب الممرض لعوامل المكافحة الحيوية.
ثانيًا: العوامل الفيزيائية.
١ .نوع التربة. ٢ .درجة الحرارة. ٣. تركيز الأس الهيدروجينى pH. ٤. الإمكانية المترية metric potential. ٥. مقاومة الميكروب الممرض لعوامل المكافحة الحيوية.
٢ – العوامل المؤثرة على سرعة التأثير.
أولاً: عوامل المكافحة الحيوية. ١. الإنبات ووقت الاستعادة. ٢. إطلاق المتسحضرات. ٣. سرعة النمو. ٤. الحركة لموقع الفعل.

ثانيًا: الميكروبات الممرضة.

١. معدل النمو.

٢. درجة وقاية المكان.

٣. إنتاج السموم.

وقد تتداخل المبيدات الحيوية أو تدعم المكافحة بواسطة الكائنات الأخرى مثل المفترسات والطفيليات والميكروبات الممرضة المتواجدة طبيعيًا، وفى المقابل تساهم الطفيليات والمفترسات فى توزيع وانتشار المبيدات الحيوية الميكروبية.

ويؤثر اختيار الكائن الحى الممرض وطريقة إكثاره وتركيب المستحضر الحيوى واستخدام عوامل الانتشار والبلل وغيرها فى فعالية العامل الميكروبى، ومن الصعوبة بمكان الوصول إلى المواصفات القياسية للمستحضرات التجارية المحتوية على الميكروبات الممرضة، كما أنه من الصعوبة تثبيت الفاعلية عند مستوى معين، كذلك تؤثر مبيدات الآفات الكيميائية على عناصر المكافحة الحيوية بشكل مباشر عند استخدامها فى آن واحد، وقد تؤثر بشكل غير مباشر إذا استخدم المبيد الكيماوى على المناطق المعاملة بالمبيد الحيوى.

❖ المراجـــع:

Adomas, A, F.O. Asiebu and J. Stenlid (2005). Conifer root and butt rot caused by Heterobasidion annosum (Fr.) Bref. s.l. Molecular Plant Pathol. 6(4):395 - 409.

Bargabus, R.L.; N.K. Zidack; J.W. Sherwood and B.J. Jacobsen (2004). Screening for the identification of potential biological control agents that induce systemic acquired resistance in sugar beet. Biological Contr. 30:342 - 350

Benhamou, N. (2004). Potential of the mycoparasite, Verticillium lecanii, to protect citrus fruit against Penicillium digitatum, the causal agent of green mold: A comparison with the effect of chitosan. Phytopathol. 94:693 - 705.

Chandlera, D., G. Davidsona, W.P. Grantb, J. Greavesb and G.M. Tatchellc (2008). Microbial biopesticides for integrated crop management: an assessment of environmental and regulatory sustainability. Trends Food Sci. Technol. 19: 275 - 283.

Chisholm, S. T.; G. Coaker; B. Day and B. J. Staskawicz (2006). Host-microbe interactions: shaping the evolution of the plant immune response. Cell 124:803 - 814.

De Weger, L. A., A. J. van der Bij, L. C. Dekkers, M. Simons, C. A. Wijffelman and B. J. J. Lugtenberg (1995). Colonization of the rhizosphere of crop plants by plant-beneficial pseudomonads. FEMS Microbiol. Ecol. 17:221 - 228.

Desai, S., M.S. Reddy, and J.W. Kloepper (2002). Comprehensive testing of biocontrol agents. In: Gnanamanickam, S.S. (Ed.),

Biological Control of Crop Diseases. Marcel-Dekker, New York, pp. 387 – 420.

Howell, C.R. (1982). Effect of Gliocladium virens on Pythium ultimum, Rhizoctonia solani, and damping-off of cotton seedlings. Phytopathol. 72: 496 – 498.

Howell, C.R., L.E. Hanson, R.D. Stipanovic, and L.S. Puckhaber. (2000). Induction of terpenoid synthesis in cotton roots and control of Rhizoctonia solani by seed treatment with Trichoderma virens. Phytopathol. 90: 248 – 252.

Islam, T. M., Y. Hashidoko, A. Deora, T. Ito and S. Tahara (2005). Suppression of damping-off disease in host plants by the rhizoplane bacterium Lysobacter sp. strain SB-K88 is linked to plant colonization and antibiosis against soil borne peronosporomycetes. Appl. Environ. Microbiol. 71: 3786 - 3796.

Jumanah, F. (1994). Pesticide Policies in Developing Countries: Do they encourage excessive use? World Bank Discussion Papers 238, The World Bank, Washington DC.

Kageyama, K. and E.B. Nelson (2003). Differential inactiviation of seed exudates stimulation of Pythium ultimum sporangium germination by Enterobacter cloacae influences biological control efficacy on different plant species. Appl. Environ. Microbiol. 69:1114 -1120.

McSpadden Gardener, B.B. and D.R. Fravel (2002). Biological control of plant pathogens: Research, commercialization, and application in the USA. Online. Plant Health Progress doi:10.1094/PHP-2002 – 0510 – 01-RV.

Mensink, B.J.W.G. and J.W.A. Scheepmaker (2007). How to evaluate the environmental safety of microbial plant protection products: a proposal. Biocontrol Sci. Technol., 17:3 - 20.

Pal, K. K. and B. McSpadden Gardener (2006). Biological Control of Plant Pathogens. The Plant Health Instructor DOI: 10.1094/PHI-A-2006 -1117 - 02.

Raaijmakers, J.M., M. Vlami, and J.T. de Souza (2002). Antibiotic production by bacterial biocontrol agents. Antonie Leeuwenhoek 81:537 - 547.

Someya, N. and K. Akutsu (2005). Biocontrol Of Plant Diseases By Genetically Modified Microorganisms: Current Status And Future Prospects. Z.A. Siddiqui (ed.), PGPR: Biocontrol and Biofertilization, 297 – 312. Springer, the Netherlands.

Thomashow, L.S., R.F. Bonsall and D.M. Weller (2002). Antibiotic production by soil and rhizosphere microbes in situ. Pages 638 - 647 In: Manual of Environmental Microbiology (2nd ed.), ASM Press, Washington DC.

الباب الثاني

المبيدات الحيوية البكتيرية

الفصل الأول
البكتيريا والمكافحة الحيوية

❖البكتيريا.. نظرة عامة:

تندرج البكتيريا كعوامل للمكافحة الحيوية ضمن المجموعات الرئيسية للكائنات الحية الدقيقة (البكتيريا والفطريات والفيروسات)، وربما تعتبر البكتيريا أهم مجموعات هذه الكائنات الدقيقة على الإطلاق، مرجع ذلك تفوق أعدادها على أعداد المجموعات الأخرى مجتمعة فى كثير من الأوساط البيئية كالتربة، وتعرف البكتيريا بأنها – فى غالبيتها – عبارة عن كائنات وحيدة الخلية، وتمثل أبسط أنواع الكائنات الحية الدقيقة الخلوية، وهى ذات حجم دقيق، ولا يتجاوز طولها بضعة ميكرومترات إلا نادرًا، ومن ثم فهى لا تـرى بالعين المجردة، وتتكاثر البكتيريا عادة بالانقسام الثنائى البسيط binary fission فى سرعة مذهلة، والبكتيريا بدائية النواة procaryota فنواتها لا تحاط بغشاء نووى nuclear membrane، ولا تحتوى خلاياها على بلاستيدات خضراء حتى فى الأنواع التى تحتوى على كلوروفيل بكتيرى وهو كلوروفيل مختلف عن مثيله الذى تحتويه خلايا النباتات الخضراء، والجدار الخلوى للبكتيريا ذات تركيب فريد حيث يحتوى على مركب نادر يسمى الميورين murine ولا يوجد هذا المركب فى أى كائنات أخرى غير البكتيريا.

وتعتبر البكتيريا من أوسع الكائنات الحية الدقيقة انتشارًا فى الطبيعة فهى توجد فى كل مكان تقريبًا، وفى بيئات متناهية التباين، حيث تنتشر فى التربة والماء والهواء والغذاء، ولا يخلو من البكتيريا سوى الدم والأنسجة السليمة والأحماض والقلويات المركزة وفوهات البراكين النشطة والمواد والأدوات المعقمة.

وخلية البكتيريا ضئيلة الحجم، ووزنها فى منتهى الصغر، وهذا من شأنه أن يحد من المسافة التى تنتقل فيها المواد الغذائية بالخلية، ومن ثم لاتحتاج الخلية إلى حركة السيتوبلازم، أو بذل جهد أو طاقة كبيرة لدوران المواد الغذائية، ومن أهم ما يميز الخلية البكتيرية أن النسبة

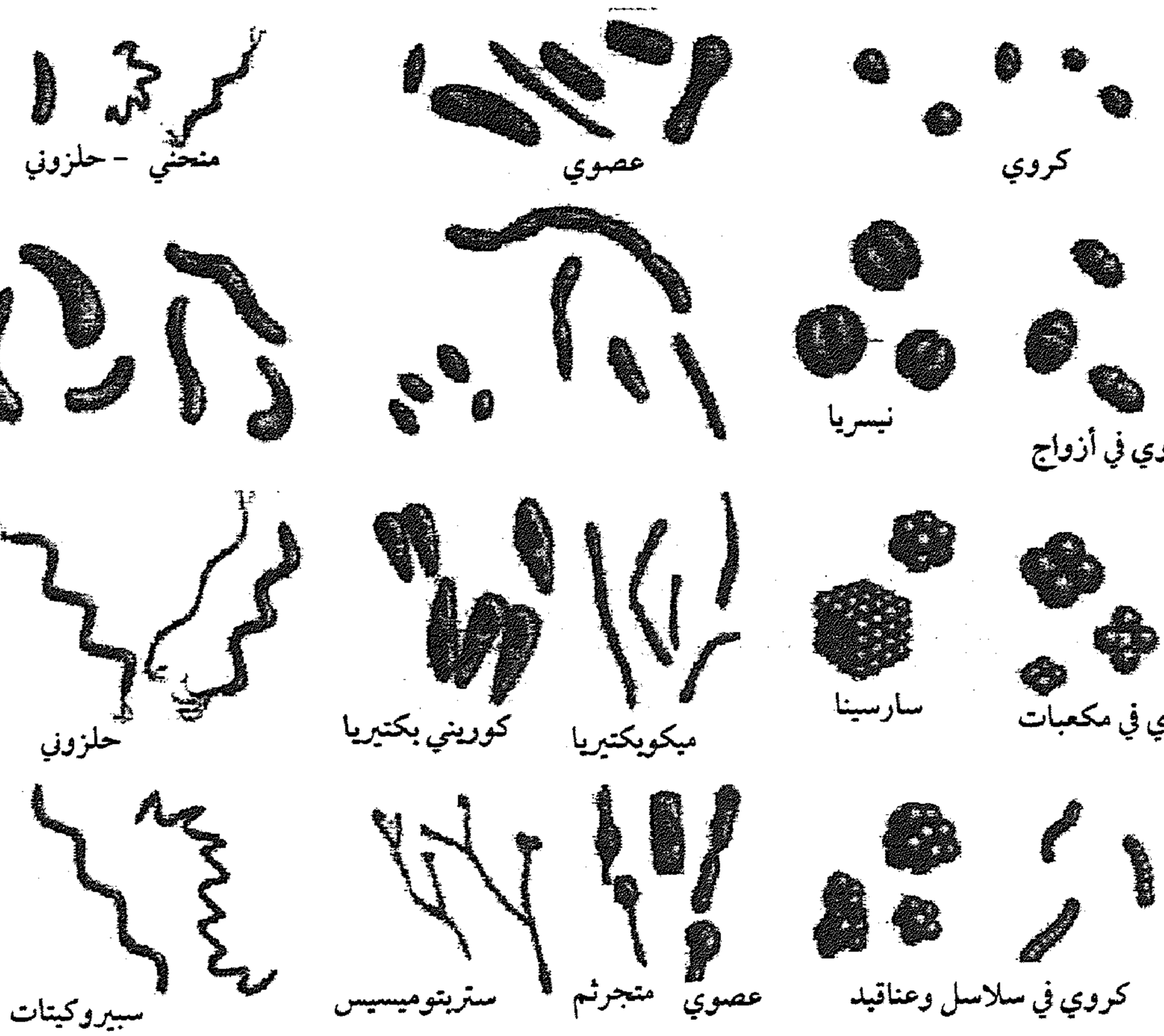
مابين سطح الخلية البكتيرية إلى وزنها تكون كبيرة جدًا مقارنة بمثيلتها فى الكائنات الأرقى، وهذه النسبة المتسعة تعطى الخلية البكتيرية ميزة من الناحية الأيضية فكلما زادت مساحة السطح كلما زاد نمو ونشاط البكتيريا، ولذلك تتناول البكتيريا كميات ضخمة من المواد الغذائية مقارنة بالأحياء الأخرى، وتغير فى أوساط نموها بشكل كبير وفى وقت وجيز.

وبصفة عامة للبكتيريا ثلاثة أشكال رئيسية هى الشكل الكروى spherical والعصوى rod والحلزونى spiral، كما توجد بعض أشكال أخرى مثل الشكل الخيطى filaments، وتتجمع خلايا البكتيريا عقب الانقسام وفق نظم معينة (شكل ٢-١).

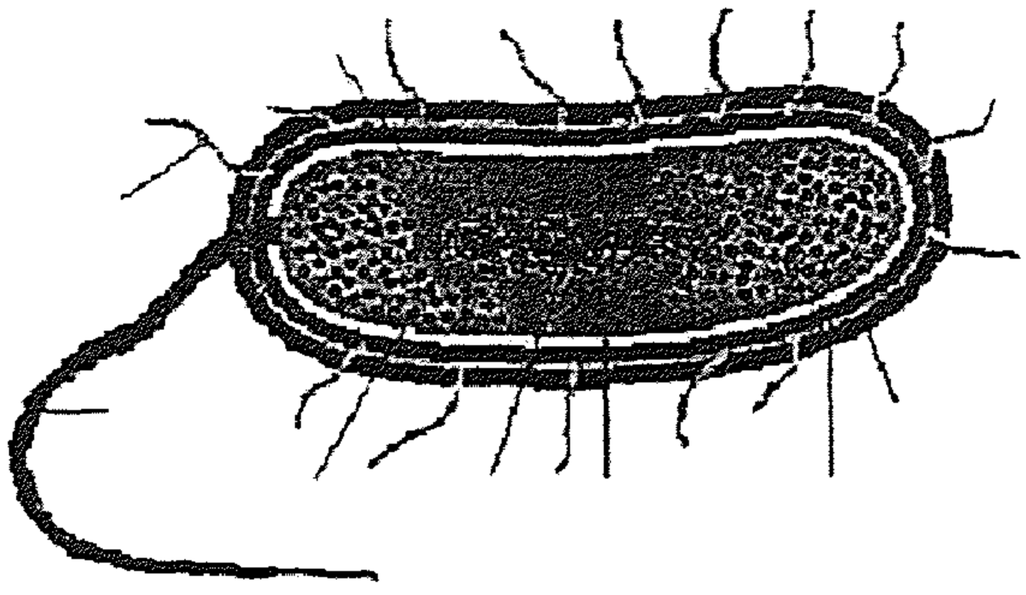
ويعطى الجدار الخلوى الصلب - الذى تتميز به أغلب الأنواع البكتيرية - للخلية شكلها المميز (شكل ٢-٢).

وعندما تنمو البكتيريا فى وسط نمو صلب أو نصف صلب فإنها تكون كتلة من ملايين الخلايا ذات شكل ومظهر وحجم ولون معين يطلق عليها مسمى مستعمرة colony، وتنشأ المستعمرة من خلية أو جرثومة بكتيرية مفردة، أو من مجموعة من الخلايا البكتيرية (شكل ٢-٣).

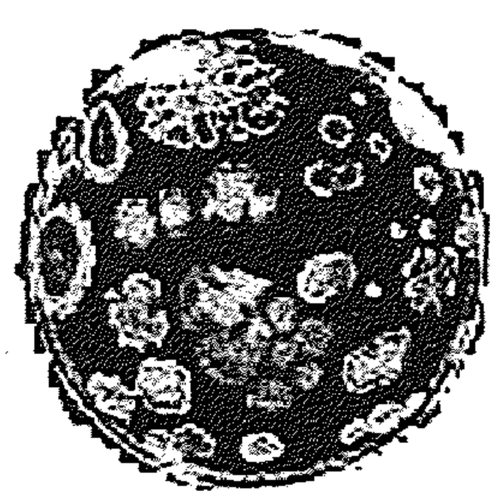
وبعض أنواع البكتيريا قادر على الحركة مثل معظم الأنواع العصوية والحلزونية، فى حين أن معظم الأنواع الكروية غير متحرك، وتتم الحركة فى البكتيريا بوسائل متعددة منها السباحة swimming بواسطة الأسواط flagella وبواسطة الحركة الزاحفة gliding motility والحركة اللولبية (البريمية) rotary motility وغيرها.



شكل (٢-١) أشكال البكتيريا



شكل (٢ - ٣) تركيب خلية البكتيريا



شكل (٢ - ٣) أشكال المستعمرات البكتيرية

وتتركب خلية البكتيريا من سطح خلوى وبروتوبلاست، ويتركب السطح الخلوى من طبقة لزجة (العلبة capsule) وجدار خلوى cell wall، وأسواط وشعيرات على السطح الخلوى (البيلى pili or fimbria)، أما البروتوبلاست protoplast فيقع بداخل الجدار الخلوى.

ويتركب البروتوبلاست من الغشاء السيتوبلازمى cytoplasmic membrane ومنطقة البريبلازم periplasmic space والسيتوبلازم cytoplasm والمادة النووية nuclear material والمواد المخزنة stored materials والحبيبات granules (مثل الميسوسومات mesosomes والريبوسومات ribosomes) وحوامل الصبغات chromatophores والفجوات vacuoles والجراثيم الداخلية endospores فى الأنواع البكتيرية المتجرثمة وهى أنواع تكون جراثيم أثناء فترة حياتها العادية، وتتميز الجراثيم الداخلية التى تكونها بعض أنواع البكتيريا بمقاومة درجة الحرارة المرتفعة، ومقاومة الجفاف لوقت طويل، والصمود للظروف البيئية غير الملائمة، وعندما تتوفر فى أوساط نمو الآفات ظروف بيئية ملائمة تنبت هذه الجراثيم مرة أخرى إلى خلايا خضرية تهاجم الآفات الضارة.

موضع البكتيريا فى عالم الأحياء:

تقع البكتيريا حاليًا داخل مملكة خاصة بها يطلق عليها مسمى مملكة البروكاريوتات Kingdom Procaryotae أى مملكة بدائيات النواة حيث تختلف المادة النووية فى البكتيريا عن الكائنات الحية الأخرى التى تقع فى المملكة النباتية أو المملكة الحيوانية، فالمادة النووية فى الخلية البكتيرية لاتحاط بغشاء نووى.

وتضم هذه المملكة العديد من المجاميع البكتيرية مثل الآركيا والبكتيريا غزيرة التفرع والبكتيريا ضوئية التغذية The Archaea, and the Deeply Branching and Phototrophic Bacteria، والبروتيوبكتيريا The Proteobacteria والبكتيريا الموجبة لجرام سواء المنخفضة أو المرتفعة فى نسبة القواعد النووية الجوانين والسيتوزين إلى جانب مجاميع بكتيريا أخرى كثيرة.

وهناك المئات من أنواع البكتيريا التى تسبب أمراضًا للعديد من الآفات المختلفة، مثل البكتيريا الممرضة للحشرات entomogenous bacteria وللحشائش وللميكرويات الأخرى والنيماتودا.

❖ البكتيريا الممرضة للآفات المختلفة:

تتميز البكتيريا بصفات عديدة تؤهل الكثير من أفرادها للاستخدام كأدوات مكافحة حيوية، فهى تنمو وتتكاثر بسرعة كبيرة، ويمكنها أن تستخدم أنواع مختلفة من المواد الغذائية، وبمقدورها أن تنمو فى غياب الأكسجين الجزيئى وهذا يتيح توظيفها فى المقاومة الحيوية فى الأوساط البيئية الخالية من الأكسجين مثل التربة الزراعية الغدقة، وتكون بعض أفراد البكتيريا - المستخدمة كمكونات فعالة فى المبيدات الحيوية - جراثيم داخلية endospores أكثر مقاومة - من خلاياها الخضرية - للظروف البيئية المغايرة مما ينعكس إيجابيًا على طول مدة مكث العوامل البكتيرية المستخدمة فى المكافحة بحالة حية، والكثير من عناصر المكافحة الحيوية من البكتيريا يتحرك باستخدام أسواط بدائية فى اتجاه المسببات المرضية التي يستهدفها فى فراغات التربة، وينتج عدد من البكتيريا مضادات حيوية تثبط أو تقتل الممرضات النباتية، وهناك ميزة أخرى لبعض أنواع البكتيريا المستخدمة فى المكافحة الحيوية وهى المعيشة داخل أنسجة العائل بأوعية الخشب مما يمنح العائل مقاومة ضد المسببات المرضية الفطرية المسببة لمرض الذبول الوعائى دون الإضرار بالعائل.

ويجب توفر صفات معينة فى عوامل المكافحة الحيوية من الميكروبات مثل غزارة النمو فى منطقة الإصابة لتقليل فرصة بقاء الطفيل وتوفير إمكانية للغزو السريع، وتحملها للظروف البيئية المغايرة فى الأوساط البيئية، وألا يكون لها تأثيرات ضارة على العائل، كما يجب أن تكون ثابتة وراثيًا، ومن صفات عامل المكافحة الحيوية المثالى إنتاج مضادات حيوية تضر بالمسببات المرضية دون الإضرار بالعائل أو عوامل المكافحة الأخرى. ولقد تم تسجيل عدد كبير من الممرضات البكتيرية يمكن استخدامها فى مكافحة الآفات المختلفة من الحشرات والحشائش والنيماتودا وحتى الميكروبات الأخرى من البكتيريا والفطريات.

١ - البكتيريا الممرضة للآفات الحشـرية:

يرتبط عدد كبير من أفراد البكتيريا بالحشرات، وتقع البكتيريا الممرضة للحشرات ضمن البكتيريا الحقيقية eubacteria، وتنتمى معظم هذه البكتيريا إلى جنسى سيدوموناس Pseudomonas وانتروباكتر Enterobacter وهما من البروتيوبكتيريا، وأجناس باسيلس Bacillus ولاكتوباسيلس Lactobacillus وميكروكوكس Micrococcus وهما من البكتيريا الموجبة لجرام المنخفضة فى نسبة الجوانين والسيتوزين (جدول ٢-١)، ويحتوى

جنس Bacillus – بصفة خاصة – على الأنواع البكتيرية الهامة الممرضة للحشرات، وقد تكون أفراد هذه الأجناس ممرضات إجبارية أو غير إجبارية بناءً على طبيعة تصاحبها للعائل فى الطبيعة، وبصفة عامة فإن الممرضات البكتيرية الإجبارية صعبة الإنماء وتقتصر على عائل متخصص أو مجموعة من العوائل، أما الممرضات البكتيرية غير الإجبارية فإنها تصاحب العائل الحشرى لفترة قصيرة فقط.

وهناك عدد كبير من أفراد البكتيريا الممرضة للحشرات يمكن استخدامها كمبيدات حيوية، إلا أن هناك ثلاثة أنواع بكتيرية فقط تنتمى لجنس باسيلس Bacillus تعتبر أهم البكتيريا الممرضة للحشرات على الإطلاق، وهذه الأنواع هى باسيلس ثورنجينسيس B.thuringiensis وبانيباسيلس بوبليا Paenibacillus (= Bacillus). popilliae وباسيلس لينتيموربس B.lentimorbus، وقد حقق استخدام بعض هذه الأنواع نجاحات حقيقية فى مقاومة يرقات الحشرات حرشفية الأجنحة، ولذلك تم إنتاج مستحضرات تجارية متطورة منها، ويؤدى ولوج هذه البكتيريا كما هو الحال فى النوع باسيلس ثورنجينسيس B. thuringiensis إلى جسم الآفة الحشرية بأى طريقة إلى تهتك أنسجتها الداخلية وشلل بالقناة الهضمية وأجزاء الفم فيما يعرف بالتسمم الدموى septicaemia، أو التوكسيميا toxaemia الناشئة من فعل السموم المفرزة، إلى جانب تغير لون الحشرات المريضة إلى ألوان أخرى تتوقف على نوع البكتيريا.

جدول (٢-١) بعض البكتيريا الممرضة للحشرات.

البكتيريا الممرضة	الحشرة المستهدفة
سيدوموناس سيبتيكا Pseudomonas septica	خنافس الجعال
سيدوموناس ايروجينوزا P. aeruginosa	نطاطات الحشائش
فبريو ليوناردياى Vibrio leonardii	دودة الشمع، حفار الذرة الأوروبى
اشيرشيا كولاى Escherichia coli	دودة الجبن
سيرراتيا مارسيسنس Serratia marcescens	العديد من الفراشات
ايروباكتر ايروجينيز Aerobacter aerogenes	نطاطات العشب
بروتيس فلاجاريز Proteus vulgaris	نطاطات العشب
بروتيس ميرابيليز Proteus mirabilis	نطاطات العشب
بروتيس ركتجراى Proteus rectgeri	نطاطات العشب
سالمونيلا تيفوسا Salmonella typhosa	دودة الشمع

سالمونيلا انتريتيدز Salmonella enteritidis	دودة الشمع
سالمونيلاسكوتميوالير اىS.schottmuellerivar.alvei	دودة الشمع، نحل العسل
شيجلا ديسنتاريا Shigella dysenteriae	دودة الشمع
أنواع دبلوكوكس .Diplococcus spp	دودة الحرير
أنواع ستريتوكوكس .Streptococcus spp	دودة الحرير
ستريتوكوكس فاكيليس S. faecalis	دودة الشمع
أنواع ميكروكوكس .Micrococcus spp	خنفساءيونيو،الذباب المنزلى،حفار الذرةالأوروبى.
باسيلس ثورنجينسيس Bacillus thuringiensis	دودة ورق القطن، الدودة القارضة، ديدان الورق، بعوض الكيولكس والانوفلس،الذبابة المنزلية،ذباب تسى تسى
باسيلس سيريس Bacillus cereus	لعديد من الفراشات
باسيلس بوبليا Bacillus popilliae	خنافس الجعل
باسيلس لنتيموربس Bacillus lentimorbus	خنافس الجعل
باسيلس سفريكس Bacillus sphaericus	البعوض
باسيلس لارفى Bacillus larvae	نحل العسل
كلوستريديم نوفياى Clostridium novyi	دودة الشمع
كلوستريديم برفرينجنس Clostridiumperfringens	دودة الشمع

٢- البكتيريا الممرضة للبكتيريا:

هناك حوالى (٢٠٠) نوع من البكتيريا تسبب أمراضًا للنباتات المختلفة، وبعض هذه البكتيريا الممرضة يمكن مكافحتها بواسطة بكتيريات أخرى، ومن التطبيقات الفعلية الناجحة التى يتم فيها توظيف بعض أفراد البكتيريا لمقاومة سلالات أخرى من البكتيريا أيضًا استخدام معلقات من بعض سلالات بكتيريا اجروبكتيريم راديوباكتر Agrobacterium radiobacter المنتجة لبكتيريوسين bacteriocin يسمى أجروسين ٨٤ Agrosin 84 لمكافحة بكتيريا اجروبكتيريم تيوميفاسينز A. tumefaciens المسببة لمرض التدرن التاجى crown gall الذى يصيب كثير من النباتات الاقتصادية الهامة كالعنب والفراولة والتفاحيات وغيرها من النباتات.

كذلك تستخدم مجهزات من سلالات معينة من بكتيريا بانتويا اجلوميرانس Pantoea agglomerans (synonym: Erwinia herbicola) فى مكافحة بكتيريا اروينيا اميلوفورا E. amylovora التى تسبب مرض اللفحة النارية فى الكمثرى والتفاح.

ويمكن مقاومة بكتيريا زانثوموناس ترانسليوسينز Xanthomonas translucens التى تسبب مرض تخطيط أوراق الأرز البكتيرى برش أوراق الأرز بمعلقات من سلالات بكتيريا من جنس سيدوموناس Pseudomonas وجنس اروينيا Erwinia.

٣- البكتيريا الممرضة للفطريـات:

هناك أكثر من (٨٠٠٠) فطر تسبب أمراضًا للنباتات، ويمكن القول أن الفطريات تهاجم جميع النباتات، وتؤثر بعض أنواع من البكتيريًا تأثيرًا ضارًا على بعض الفطريات الممرضة. وتستخدم البكتيريا آليات مختلفة فى مقاومة الفطريات مثل إفراز المواد المضادة ذات التأثير السام، والإنزيمات المحللة مثل إنزيم الكيتينيز chitinase وإنزيم اللامينارينيز laminarinase، وتؤدى معاملة التفاح بمعلق بكتيريا باسيلس ستلس Bacillus subtilis إلى تقليل إصابة ندب أوراق التفاح بالفطر الأسكى ناكتريا فروتيكولا Nactria fruticola، كما تؤدى نفس المعاملة لثمار المشمش والخوخ والبرقوق بعد حصادها إلى حمايتها من الإصابة بالعفن البنى الناجم عن فطر مونيلينا فروتيكولا Monilinia fruticola، ويتطفل كثير من أفراد البكتيريا من أجناس مثل سيدوموناس Pseudomonas وستريبتومايسيز Streptomyces على بعض مسببات الأمراض النباتية من الفطريات مثل الفطر البيضى بيثيم Pythium sp وهو أحد مجموعة الفطريات المسببة لمرض ذبول البادرات الحديثة، والفطر الأسكى جيومانومايسيز تريتيسای Gaeumannomyces tritici.

٤- البكتيريا الممرضة للحشائش:

تعتبر الحشائش من أكثر الآفات أهمية إذ تسبب نقص حاد فى إنتاج المحاصيل الزراعية يتراوح مابين (١٥-٢٠٪)، حيث تتميز الحشائش بقدرتها التنافسية العالية على مقومات الحياة من الماء والعناصر الغذائية والضوء والمكان، ناهيك عن كونها عوامل وسطية للآفات الحشرية ومسببات الأمراض النباتية، ولذلك فإن مكافحة الحشائش من الأهمية بمكان للحفاظ على خصوبة التربة الزراعية وقوة وإنتاجية النباتات الاقتصادية، وتلاشى الأضرار البيئية سواء التى تحدثها أو التى تنجم عن مكافحتها، ويتم مكافحة الحشائش باستخدام الطرق الزراعية، والطرق الكيميائية وتشكل مبيدات الحشائش الكيميائية حوالى (٤٥٪) من مبيعات المبيدات الكيميائية للآفات، إلى جانب المكافحة الحيوية باستخدام الأعداء الطبيعية من الحشرات أو مسببات الأمراض الفطرية والبكتيرية والفيروسية وذلك لتقليل كثافة الحشائش إلى مادون حد الضرر الاقتصادى للمحصول.

وتتميز المبيدات الحيوية بفعلها الأكثر انتقائية عن المبيدات الكيميائية التقليدية، إلى جانب تلاشى تطور أنواع من الحشائش المقاومة للمبيدات، والمكافحة الحيوية للحشائش هى إستراتيجية آمنة ومقبولة بيئيًا، وقد تم تسجيل العشرات من حالات النجاح فى المقاومة الحيوية للحشائش، ولضمان نجاح المكافحة الحيوية للحشائش لابد من توطين أو تواجد عناصر المكافحة الحيوية، وبناء مجتمع مؤثر من هذه العناصر الحيوية، وتوفير مكافحة حيوية فعالة للحشائش نتيجة فعل هذه العناصر، وفى الحقيقة فإن نجاح المكافحة الحيوية هو محصلة التفاعل الحادث بين عناصر المكافحة الحيوية المستخدمة والآفات من الحشائش والظروف البيئية السائدة، ويرتبط بجميع أنواع الحشائش عناصر مكافحة حيوية، إلا أن المكافحة الحيوية أو تداول عناصرها لمكافحة الحشائش محدود من الناحية العملية، ويجب أن يركز عنصر المكافحة الحيوية على الحشيشة المستهدفة دون الإضرار بالنباتات الاقتصادية، وعلى الرغم من استخدام عدد كبير من الأعداء الطبيعية الحشرية فى مكافحة الحشائش فى بعض الدول مثل استراليا ونيوزيلندا بصفة خاصة منذ فترة إلا أن المجال قد اتسع الآن ليشمل عدد من ممرضات النبات من البكتيريا والفطريات والفيروسات. وتستخدم بعض أنواع البكتيريا من أجناس مختلفة فى مقاومة الحشائش مثل النوع سيدوموناس سيرينجى تحت نوع تاباسى Pseudomonas syringae pv. tabaci وسيدوموناس فلوريسنس Pseudomonas fluorescens والكاليجينيز زيلوزاوكسيدانس Alcaligenes xylosoxidans، ويجب التأكيد على أن المكافحة الحيوية للحشائش تحتاج عادة إلى وقت طويل يمتد لعدة سنوات.

٥- البكتيريا الممرضة للنيماتودا:

تعتبر النيماتودا إحدى مجموعات المملكة الحيوانية، وتسمى النيماتودا أحيانًا الديدان الثعبانية إذ تشبه فى شكلها المظهرى الديدان، إلا أنها تختلف تمامًا من الوجهة التقسيمية عن الديدان الحقيقية، وتقطن النيماتودا المياه والتربة حيث تتغذى على النباتات والحيوانات الدقيقة، وتتطفل النيماتودا على الإنسان والحيوان والنباتات الحية، وتمثل النيماتودا المتطفلة على النباتات الاقتصادية مشكلة كبيرة فى الزراعة، حيث تؤدى إلى أضرار بالنباتات الاقتصادية تعادل (١٠٠) مليار دولار أمريكى سنويًا على مستوى العالم، فهى تصيب معظم النباتات الاقتصادية الهامة كالقمح والقطن وقصب السكر، وتظهر أعراض

الإصابة بالنيماتودا على الجذور وعلى أجزاء النبات الموجودة فوق سطح التربة على هيئة تعقدات وتدرنات وتقرحات وإضرار قمم الجذور، كما تؤدى الإصابة إلى التفاف وتشوه الأوراق والسيقان، وتكشف غير عادى للأجزاء الزهرية بالنبات وضعف نمو النبات واصفرار المجموع الخضرى، ومن ثم نقص الإنتاج وجودة المنتج ذاته.

والنيماتودا التى تتطفل على النباتات صغيرة الحجم مما يجعل هناك صعوبة فى رؤيتها بالعين المجردة، ولكن يمكن رؤيتها بسهولة تحت المجهر، حيث تبدو بشكل عام اسطوانية، وأجسامها غير مقسمة وناعمة وتخلو من الأرجل أو أى زوائد أخرى، وشفافة تقريبًا، وتغطى بكيوتكل شفاف، وتمكث غالبية النيماتودا الممرضة للنبات فى جزء من حياتها بالتربة على عمق قد يصل إلى (١٥) سنتيمتر حيث تعيش معيشة حرة، وتتغذى سطحيًا على جذر النبات وجزء الساق الموجود تحت سطح التربة، وتكثر أعداد النيماتودا فى أو حول جذور النباتات القابلة للإصابة، وقد تتبعها النيماتودا حتى عمق قد يصل إلى أكثر من متر ونصف، ويساعدها فى ذلك سرعة تكاثرها، ووفرة غذائها، وانجذابها للمواد التى تطلقها الجذور.

وتقاوم النيماتودا بطرق عديدة مثل العمليات الزراعية التى تتضمن غمر التربة بالماء عدة شهور وإتباع إجراءات صحية نظيفة وإتباع دورة زراعية للنباتات من غير العوائل، واستعمال العوامل الفيزيائية مثل المعاملة بالحرارة للتربة، واستعمال الكيماويات من مبيدات النيماتودا nematicides، إلى جانب المكافحة الحيوية.

وقد حظيت أفراد البكتيريا الممرضة لديدان النيماتودا باهتمام كبير فى السنوات الأخيرة، وفى الحقيقة فإن هذا الاهتمام ترجع بدايته إلى اكتشاف القدرة المرضية لبكتيريا باستيريا بنيترانس Pasteuria penetrans لبعض أنواع نيماتودا تعقد الجذور والتقرح، وفى العادة توجد البكتيريا الممرضة للنيماتودا فى التربة الزراعية حيث تلتصق جراثيمها بجدار جسم النيماتودا، وتنبت وتخترق الكيوتكل، وتكون أجسامًا مستديرة أو مستعمرات صغيرة وهذه تنقسم بدورها أكثر من مرة ليمتلئ بها تجويف جسم النيماتودا، مما يؤدى إلى هلاكها، وقد شهدت السنوات الأخيرة توفير مبيدات حيوية من أصل بكتيرى لمقاومة النيماتودا مثل النوع باسيلس سيركيولانس Bacillus circulans الذى يفرز انزيم الكيتينيز، والنوع ستربتوميسيس أفيرميتيليز Streptomyces avermitilis الذى يفرز مادة الأفيرمكتين avermactin.

❖الآمان والتخصص والكفاءة للمبيدات البكتيرية:

إن المنطق الأساسى الذى تقوم عليه صناعة المبيدات الحشرية البكتيرية هو ضرورة أن يكون العامل البكتيرى نشطًا ضد أنواع الآفات المستهدفة دون أى تأثير عكسى على الإنسان وحيواناته ومزروعاته الاقتصادية.

وهناك عدة أمور يجب أن تأخذ فى الاعتبار لمثل هذه المنتجات الحيوية منها التكامل مع المبيدات الحشرية الكيميائية التقليدية، وإمكانية التخزين، والملائمة للتطبيق من حيث كون المنتج على صورة بودر أو محلول أو طعم... إلخ، وسهولة الإنتاج، والمرضية، والآمان والشكل الجمالى المطلوب، والنواحى الاقتصادية.

وثمة عوامل عديدة يعتمد عليها نجاح المبيد الحشرى البكتيرى فى استهداف الآفات الحشرية والقضاء عليها منها الظروف البيئية والمناخية، والنبات أو المنتج المخزن موضع الوقاية، ووقت وطريقة الاستخدام، والآليات الدفاعية وسلوك وعادات الآفات الحشرية المستهدفة.

وتتميز بكتيريا باسيلس ثورنجينسيس B. thuringiensis وبانيباسيلس بوبيليا P. popilliae وباسيلس لنتيموربس B. lentimorbus بعدم تأثيرها على الكائنات التى تشكل المجتمع البيئى biocenosis وعدم تهديدها للإنسان والحيوانات والبيئة، وهذه البكتيريات غير ضارة بالفقاريات وغيرها من الأحياء غير المستهدفة.

وتتضاءل فرصة إصابة الإنسان بالممرضات البكتيرية التى تصيب اللافقاريات كالحشرات مثل بكتيريا باسيلس ثورنجينسيس B. thuringensis وبانيباسيلس بوبيليا P. popilliae وبانيباسيلس لانتيموربس P. lentimorbus فقد ثبت من خضوع هذه البكتيريا للاختبارات المفيدة فى تحديد درجة الآمان للفقاريات (مثل اختبارات السمية الدقيقة والمزمنة، ودرجة المرضية للحيوانات، والإثارة الأولية للعين أو الجلد، وإحداث الطفرات والأورام، وانتخاب الطفرات للمرضية الممكنة، وتخصص المرضية للفقاريات، والمرضية المحتملة للنباتات، والتقييم المعملى للتأثيرات) عدم وجود ضرر من هذه البكتيريات للفقاريات والكائنات غير المستهدفة الأخرى.

❖حفظ الممرضات البكتيرية:

تنتمى الممرضات البكتيرية للحشرات إما إلى أنواع متجرثمة spore former أو غير متجرثمة non spore former، وفى الحالة الأولى تنتج هذه الأنواع جراثيم بداخل الخلايا تتميز بمقاومة الظروف البيئية غير المناسبة، ومن ثم تحتفظ هذه الأنواع المتجرثمة بحيويتها لفترة طويلة بالتخزين فى مكان بارد جاف أو على درجة حرارة منخفضة، أما فى الحالة الأخيرة فيتم حفظ البكتيريا غير المتجرثمة على بيئات زرع بسيطة، أو تُجفد (التجفيف مع التجميد) (freeze - drying) lyophilized مما يتيح تخزينها لسنوات دون نقص ظاهر فى حيوية الخلايا.

❖العوامل المؤثرة على تطبيقات الممرضات البكتيرية فى مكافحة الآفات:

تستخدم الممرضات البكتيرية فى العديد من التطبيقات الناجحة لمقاومة الآفات الحشرية، وهناك الكثير من العوامل التى تؤثر على التطبيقات الحقلية للممرضات البكتيرية فى مجال مكافحة الآفات الحشرية.

أولا: العوامل الحيوية:

ثمة ظروف ضرورية يلزم توافرها لإتمام إصابة الحشرات بالممرضات البكتيرية، إذ ترتبط الإصابة ببكتيريا باسيلس ثورنجينسيس B. thuringiensis بالحشرات حرشفية الأجنحة، وبصفة خاصة الحشرات التى تتراوح درجة الأيون الأيدروجينى بقناتها الهضمية بين (٥ , ٩-١٠)، كذلك ترتبط الإصابة بالمرض اللبنى milky disease الذى تحدثه بعض أنواع جنس باسيلس Bacillus ببعض أنواع الحشرات من عائلة الجعال.

ثانيًا: العوامل غير الحيوية:

تؤثر بعض العوامل غير الحيوية على حيوية وفاعلية البكتيريا الممرضة المستخدمة، ومن العوامل غير الحيوية المؤثرة مايلى:

أ- الأشعة فوق البنفسجية ultra violet:

تضر الأشعة فوق البنفسجية (طول موجتها من ١٣٨ - ٣٩٠٠ أنجستروم) بالجراثيم والبلورات الخاصة ببكتيريا باسيلس ثورنجينسيس B. thuringiensis، ويرجع ذلك إلى أن هذه الأشعة ذات موجات قصيرة وذبذبة عالية تحتوى على قدر من الطاقة يكفى لإحداث

تفاعلات كيماوية، وتعتبر الموجة ذات الطول (٢٥٣٧) أشد موجات الأشعة فوق البنفسجية فتكًا حيث يحدث عندها أقصى امتصاص للأشعة فوق البنفسجية من قبل الحامض النووى د.ن.أ. DNA مما يؤدى إلى تلفه.

ب- درجة الحرارة Temperature:

تؤثر درجة الحرارة على حيوية المستحضرات البكتيرية، وهى من العوامل الهامة التى يجب مراعاتها فى عمليات تخزين المستحضرات البكتيرية المنتجة للمكافحة الحيوية، ومن ناحية أخرى يجب مراعاة أن نمو البكتيريا يعتمد على تفاعلات كيماوية يتم تحفيزها بواسطة النظم الإنزيمية بالخلية، ويتأثر معدل التفاعلات الكيماوية بدرجة الحرارة، وبصفة عامة يمكن القول أن درجة الحرارة تحدد جزئيًا معدل النمو البكتيرى، وتؤثر على العمليات الأيضية المختلفة.

ج- الرطوبة Moisture:

تؤثر الرطوبة على حيوية المستحضرات البكتيرية فكمية الرطوبة الحرة available moisture بالبيئة النامى بها الميكروب تحدد نموه ومستوى نشاطه، وتحتاج المستحضرات البكتيرية إلى كمية من الماء الحر أكبر من المستحضرات الفطرية.

د- ظروف وسط الانتشار:

هناك ظروف كثيرة تؤثر على حساسية الممرضات البكتيرية مثل الكثافة العددية للعائل، ودرجة الحرارة، والتجويع.

❖ المراجـع:

Cho, M.R., S.Y. Na and M.S. Yiem (2000). Biological Control of Meloidogyne arenaria by *Pasteuria penetrans*. J. Asia-Pacific Entomol. **3(2)**: 71-76.

Crump, N. S.; G.J. Ash and R.J. Fagan (1999). The development of an Australian Bioherbicide. Proceedings Twelfth Australian Weed Conference. 235-237.

Kloepper, J.W. (1993). Plant growth-promoting rhizobacteria as biological control agents. Pages 255-274 in: Soil Microbial Ecology: Applications in Agricultural and Environmental Management. F. B. Metting, Jr., ed. Marcel Dekker Inc., New York, USA.

Kremer, R.J. and A.C. Kennedy (1996). Rhizobacteria as Biocontrol Agents of Weeds. Weed Technol. **10**: 601-609.

Lacey, L.A. and J.P. Siegel (2000). Safety and ecotoxicology of entomopathogenic bacteria. *In*: Entomophathogenic Bacteria: From laboratory to field application, pp 253-273. Kluwer Academic, Dordrecht.

Mcfadyen, R.E.C. (2000). Successes in biological control of weeds. Proceedings of the X International Symposium on Biological Control of Weeds 4-14 July 1999, Montana State Univ., Bozeman, Montana, USA Neal R. Spencer [ed.]. pp. 3-14.

Madigan, M. and J. Martinko (editors) (2005). Brock Biology of Microorganisms (11th ed.). Prentice Hall. ISBN 0-1.

Sorensen, J., L.E. Jensen and O. Nybroe (2001). Soil and rhizosphere as habitats for *Pseudomonas* inoculants: New knowledge on distribution, activity and physiological state derived from micro-scale and single-cell studies. Plant Soil **232**:97-108.

Weller, D.M., J.M. Raaijmakers, B.B. McSpadden Gardener and L.S. Thomashow (2002). Microbial populations responsible for specific soil suppressiveness to plant pathogens. Ann. Rev. Phytopathol. **40**:309-348.

Zidack, Nina K. and P.C. Quimby Jr (2002). Formulation of bacteria for biological weed control using the stabileze method. Biocontrol Sci. Technol. **12(1)**: 67-74.

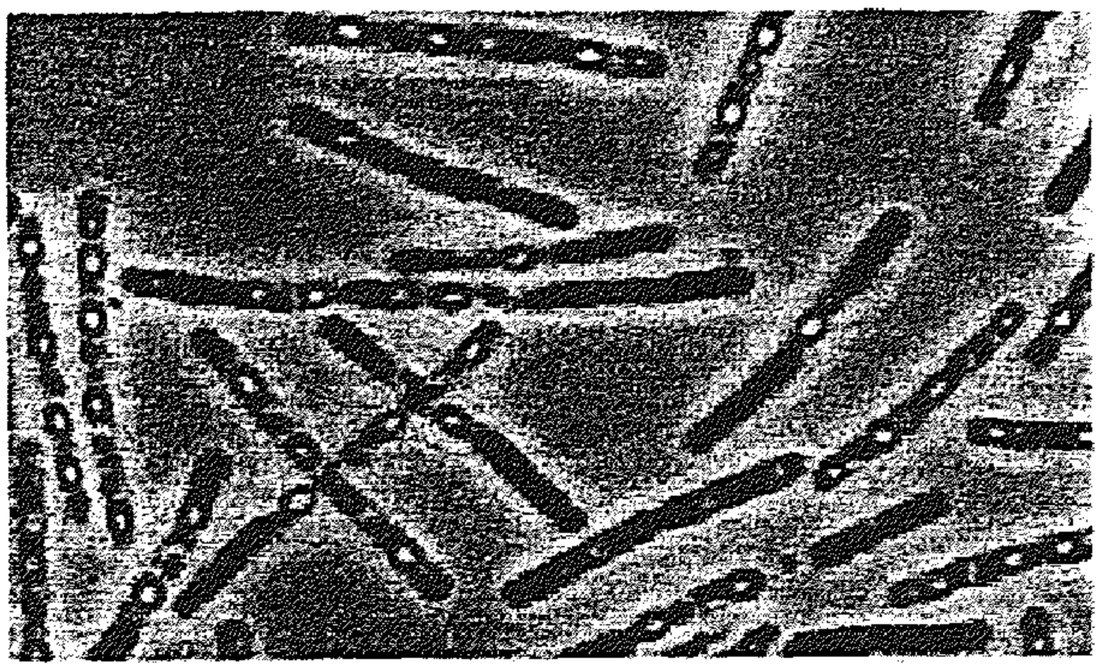
الفصل الثاني
المبيدات البكتيرية المستخدمة في مكافحة الآفات الحشرية

في عام (١٩٢٠) أطلقت فرنسا أول عامل مكافحة حيوية من البكتيريا، وكان هذا المنتج الحيوى عبارة عن مزرعة لبكتيريا باسيلس ثورنجينسيس Bacillus thuringiensis تم توظيفها للقضاء على يرقات من رتبة الحشرات حرشفية الأجنحة، وقد تقدمت المكافحة الحيوية للآفات الحشرية حتى الخمسينات من القرن الماضى وحققت إنجازات مثيرة. ويمكن حصر البكتيريا الممرضة للحشرات والتى يعول عليها فى الاستخدام كمبيدات حيوية لمكافحة الآفات الحشرية فيما يلى:

أ- بكتيريا باسيلس ثورنجينسيس Bacillus thuringiensis:

يعتبر ميكروب باسيلس ثورنجينسيس B. thuringiensis الرائد فى مجال مبيدات الآفات الحيوية المنتجة من الميكروبات، وقد اكتشفت هذه البكتيريا التى يعرفها الكثيرون الآن اختصارًا باسم Bt فى اليابان على يد S. Ishiwata الذى قـام فى العام (١٩٠١) بعزل الميكروب المسئول عن مرض الفلاشيرى flacheriae disease، ذلك المرض الذى يصيب يرقات دودة الحرير silkworm التوتية المعروفة باسم بومبيكس موري Bombyxmori، وقد أطلق Ishiwata على الميكروب المكتشف اسم باسيلس سوتو Bacillus sotto، لأن اليرقات الميتة نتيجة الإصابة بمرض الفلاشيرى تصبح طرية ورخوة وتأخذ فى النهاية لونًا أسود، وكلمة sotto هى كلمة يابانية تقابل كلمة limp فى اللغة الإنجليزية بمعنى رخو.

وفى عام (١٩١١) قام العالم Ernst Berliner بألمانيا بعزل ميكروب عصوى من يرقات مريضة من فراشة دقيق البحر الأبيض المتوسط Anagasta kiibniella، وقد أطلق Berliner على الميكروب المعزول مسمى Thurringen نسبة لمنطقة Thuringia بألمانيا والتى أكتشف بها، ومنذ ذلك الحين تم اكتشاف الكثيـر من سلالات بكتيريا باسيلس ثورنجينسيس B. thuringensis (شكل ٢-٤) لكل منها مدى مميز من التأثيرات المرضية على عوائله الحشرية.



شكل (٢-٤) جراثيم بكتيريا باسيلس ثورنجينسيس بداخل خلاياها العصوية.

وحتى عام (١٩٧٦) لم يكن معروفًا من سلالات بكتيريا باسيلس ثورنجينسيس سوى السلالات الممرضة لفراشات الحشرات حرشفية الأجنحة، حيث أظهرت هذه السلالات نشاط ابادى ضعيف ضد البعوض والخنافس والذباب الأسود، إلا أن البحث الدءوب عن سلالات فعالة تستخدم فى مقاومة الآفات الحشرية تمخض عن عزل سلالات أخرى لنفس النوع ممرضة للحشرات ذوات الجناحين من الذباب والبعوض، وللحشرات غمدية الأجنحة مثل الخنافس، كما أمكن عزل سلالات نشطة ضد النيماتودا والحلم والبروتوزوا أيضًا، ويجب التأكيد هنا على حقيقة هامة وهى أن السلالات الميكروبية الممرضة للآفات الحشرية ليست بالنادرة ولا بالصعبة العزل.

ولقد كانت الفجوة الطويلة التى امتدت بين اكتشاف السلالات البكتيرية الممرضة للحشرات حرشفية الأجنحة عام (١٩٠١) والسلالات الممرضة لذات الجناحين وغمدية الأجنحة عام (١٩٧٦) مرجعها عدم وجود حافز قوى للبحث، إلا أن هذا الحافز ظهر من خلال الحاجة الماسة للبحث عن أدوات بيولوجية جديدة لمكافحة الكثير من الآفات الحشرية المسببة للأمراض، حتى اكتشف Joel Margalit أول سلالة بكتيرية ممرضة للحشرات ذات الجناحين من النوع باسيلس ثورنجينسيس B. thuringiensis والتى تعرف فى الوقت الحالى باسم B. thuringiensis var. israelensis.

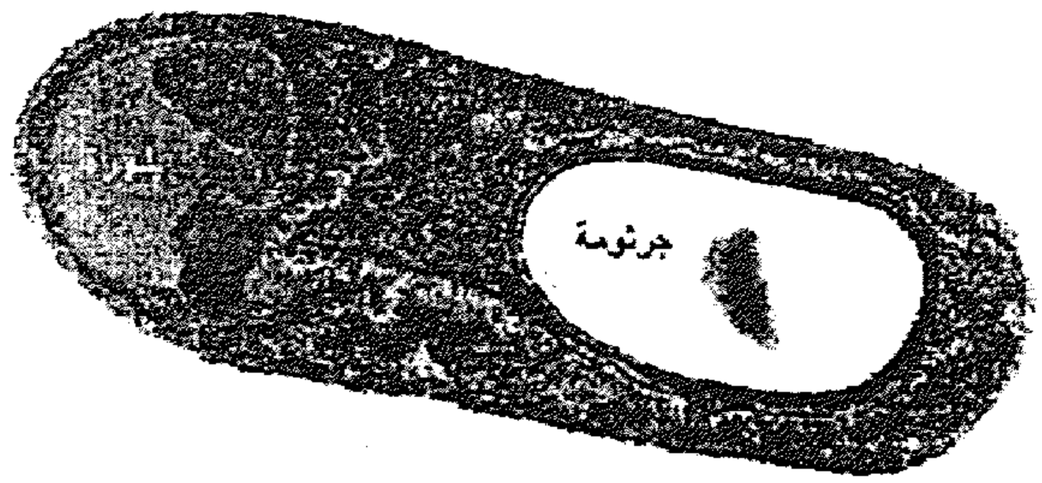
ولقد كان لاكتشاف السلالة B. thuringiensis var. israelensis فى أغسطس (١٩٧٦) بإسرائيل أهمية عملية وتطبيقية فورية، فمن المعروف أن الحشرات ذات الجناحين الماصة للدم مثل البعوض والذباب الأسود تنقل عدد كبير من الأمراض الحيوانية، وتشمل

الممرضات المحمولة فى الدم الفيروسات والبكتيريا والبروتوزوا والديدان، فالبعوض على سبيل المثال ناقل يساعد فى انتشار البروتوزوا التى تسبب الملاريا التى تصيب سنويًا (٢٠٠-٣٠٠) مليون فرد، وتستخدم فى الوقت الراهن مستحضرات المبيدات الحشرية من سلالات باسيلس ثورنجينسيس B. thuringiensis السامة للبعوض والذباب الأسود بنجاح كعوامل مكافحة حيوية فى كثير من دول العالم.

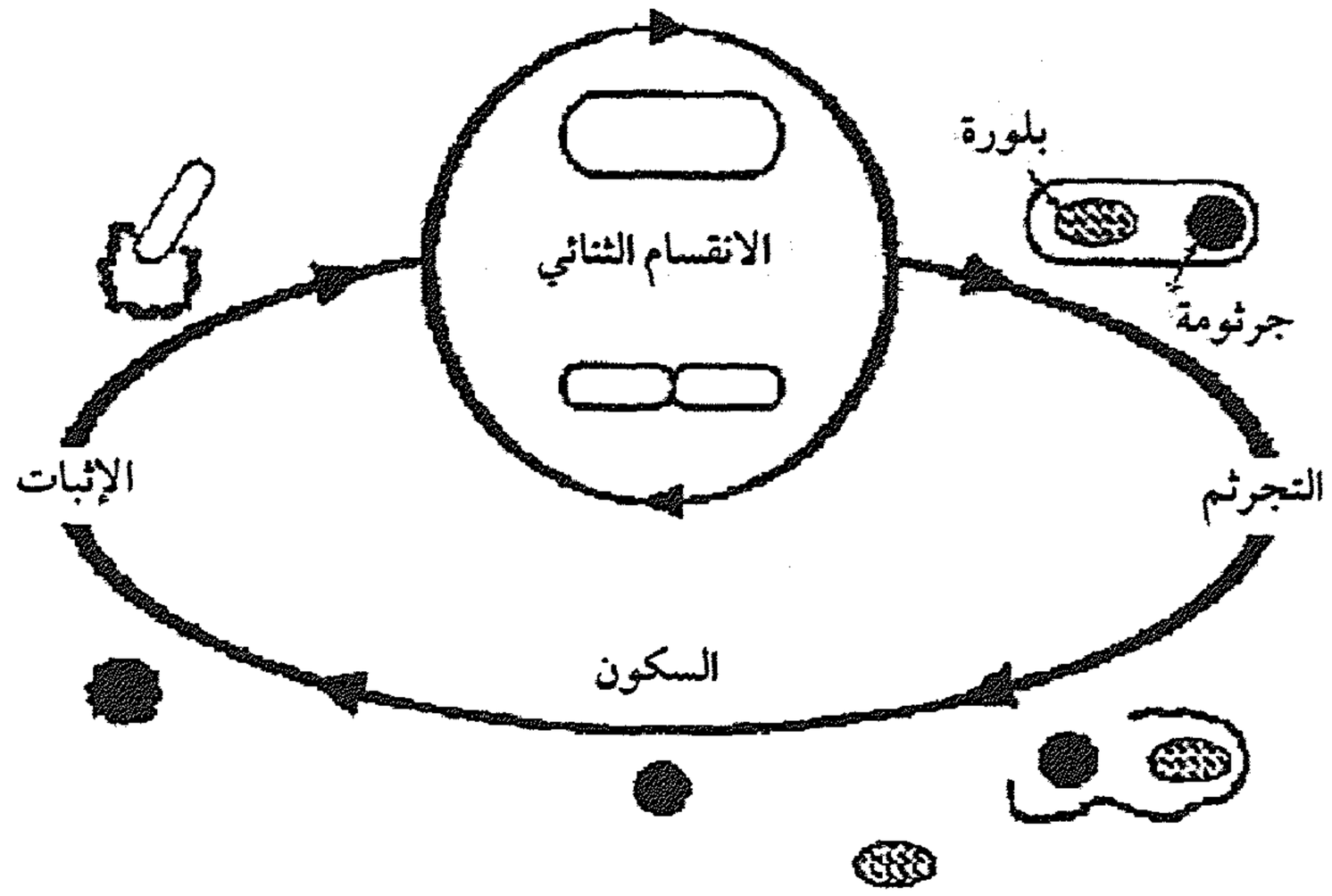
❖الأجسام البلورية:

تعتبر بكتيريا باسيلس ثورنجينسيس B. thuringiensis أحد أفضل الأمثلة المعروفة للبكتيريا المكونة للبلورات أى الكريستالات crystals (شكل ٢-٥)، وقد عرف عنها ذلك منذ العام (١٩١٥) أثناء الدراسات على مرض الفلاشيرى الذى يصيب ديدان الحرير؛ حيث وُجد أن السلالات المتجرثمة سامة ليرقات دودة الحرير، إلا أنه لسوء الحظ لم تحظ هذه النتيجة بأى اهتمام طوال مايربو على أربعين عامًا، وقد أصبح من المعلوم الآن أن العامل السام هو بعض أنواع الجزيئات المنتجة بصفة خاصة أثناء عملية التجرثم، والتى أصبح من السهل تعريفها على أنها أجسام بلورية، وتكون هذه البكتيريا البلورات أثناء طور النمو الثابت stationary phase من دورة نموها.

وعلى عكس كل أنواع جنس باسيلس Bacillus تقريبًا تنتج هذه البكتيريا أجسام بلورية أثناء التجرثم (شكل٢-٦)، وهى بلورات مرئية تحت المجهر.



شكل (٢- ٥) صورة بالمجهر الإلكترونى للجراثيم والأجسام البلورية لبكتيريا باسيلس ثورنجينسيس B. thuringiensis

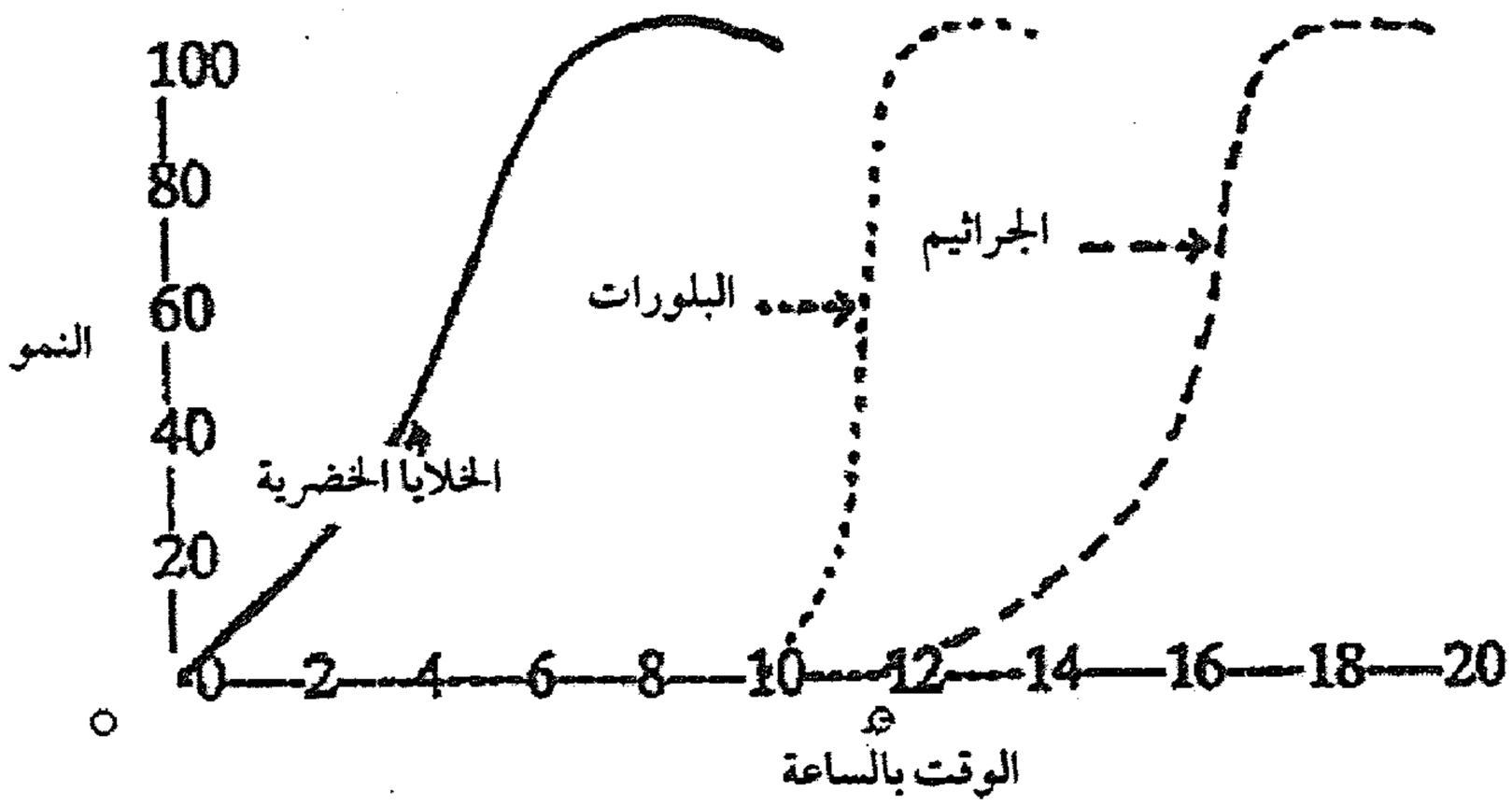


شكل (٢- ٦ أ) دورة النمو الخضرى والتجرثم لبكتيريا باسيلس ثورنجينسيس B. thuringiensis

الضوئى، ففى خلال عدة ساعات من التجرثم تتطور البلورات داخل الخلية الخضرية (شكل ٢-٧)، وتحتوى البلورات على تحت وحدات مفردة من الجليكوبروتين لها وزن جزيئى حوالى (٢ , ١ × ٥١٠)، وتتألف الكربوهيدرات من (٨ , ٣٪) جلوكوز و (٨ , ١٪) مانوز، ويتم تخليق تحت الوحدات ثم تركيبها لإنتاج بروتوكسين بلورى يتم تنشيطه بعد تناوله بواسطة الحشرات الحساسة للمكونات السامة.

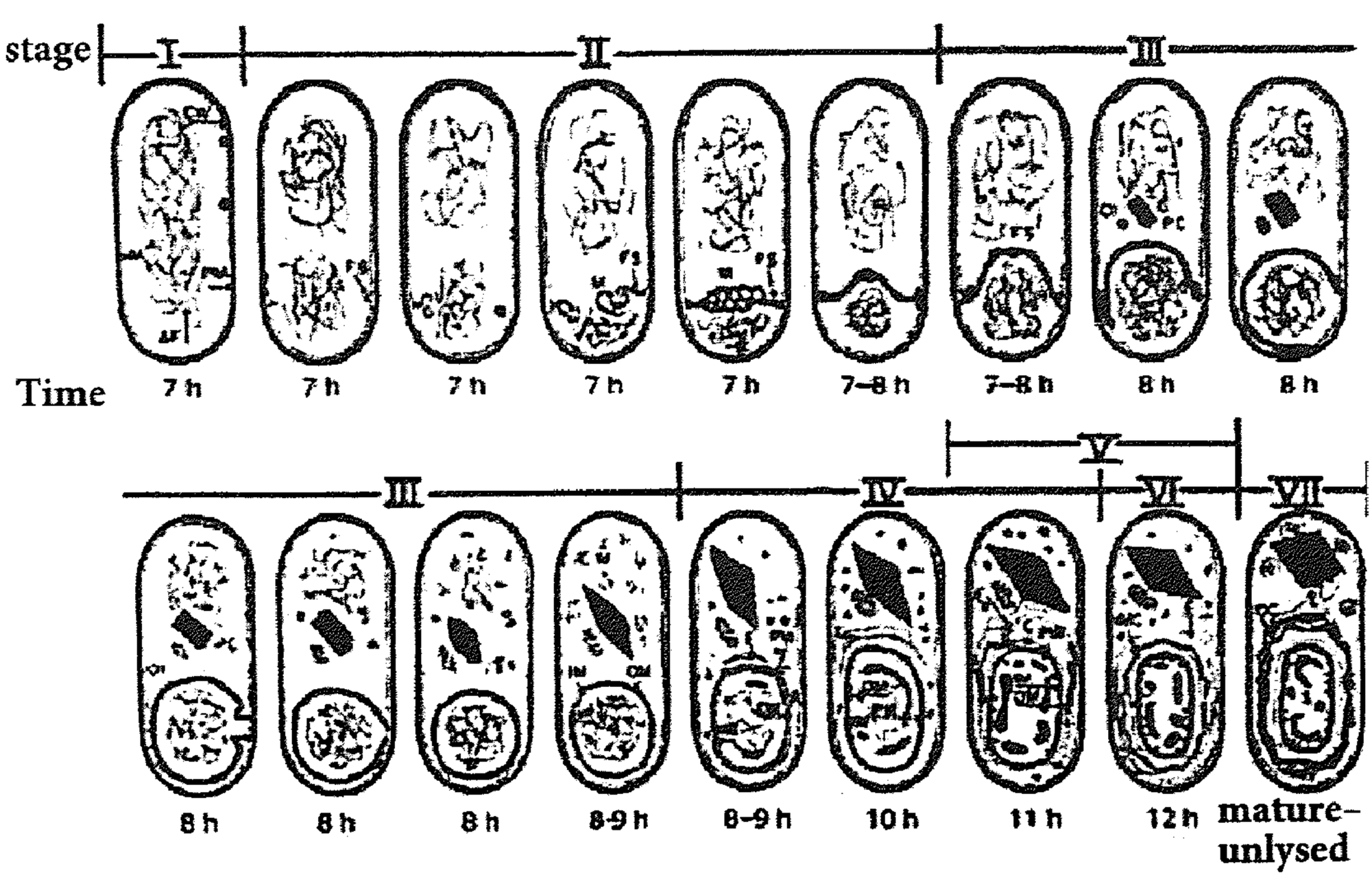
❖ الطـرز المرضيـة:

فى عام (١٩٨٣) تم وصف سلالة بكتيرية ممرضة ليرقات حشرات غمدية الأجنحة (الخنافس) من النـوع باسيلس ثورنجينسيس أطلق عليها اسم B. thuringiensis var. tenebrionis، وتصيب هذه السلالة خنفساء الكلورادو Colorado potato beetle، وهى حشرة تصل كثافتها العددية إلى عدة مئات على النبات الواحد، وقد تطورت صفة المقاومة resistance بهذه الخنفساء ضد عدد كبير من مبيدات الآفات الكيميائية الشائعة الاستخدام، ومن ثم فهناك صعوبة بالغة فى مقاومتها باستخدام مثل هذه المبيدات التقليدية.



شكل ٢-٦ ب دورة حياة الباسيلس ثورنجينسيس B. thuringiensis

شكل (٢- ٦ب) دورة حياة الباسيلس ثورنجينسيس B. thuringiensis.



شكل (٢-٧) مراحل تجرثم بكتيريا B. thuringiensis var. kurstaki.

وبكتيريا باسيلس ثورنجينسيس B. thuringiensis موجبة لصبغة جرام، تقطن التربة الزراعية وتراب غرف تربية ديدان الحرير والأراضى المحيطة بهذه الغرف، وتنمو

مترممة saprophytic تحلل المادة العضوية للكائنات الميتة، أو تنمو متطفلة parasitic على الحشرات الحية، ولهذا الميكروب قدرة ضعيفة على الانتشار من خلال الحشرات مما يعنى أنه يسلك سلوك مبيد ميكروبى أكثر منه عامل مرضى، ومن السهولة بمكان عزل هذه البكتيريا بواسطة المعاملة الحرارية بالبسترة pasteurization للقضاء على الخلايا الخضرية واستبقاء الجراثيم، وأحيانًا يمكن العزل من خلال خطوة إثراء بالأسيتات، أو بالعزل الانتقائى باستخدام المضادات الحيوية.

وقد ظل البعض ينظر إلى بكتيريا باسيلس ثورنجينسيس B. thuringiensis باعتبارها سلالة ممرضة للنوع باسيلس سيريس Bacillus cereus على الرغم من أن معظم الاختصاصيين بعلوم الميكروبيولوجيا وأمراض النبات يعتبرونها نوع بكتيرى حقيقى منفصل، وفى السنوات الأخيرة ومع التقدم الحادث فى طرق تعريف البكتيريا وبصفة خاصة على أساس وراثى أمكن تمييز النوع باسيلس سيريس B. cereus من النوع باسيلس ثورنجينسيس B. thuringiensis من خلال دراسة تركيب قواعد الحامض النووى د.ن.أ. DNA base composition، وتناظر الحامض النووى د.ن.أ. DNA homology، وجين 16 SrRNA cataloging، وتحليل الفوسفوليبيدات phospholipids analysis، والأحماض الدهنية fatty acids analysis، أما إنتاج البروتين البلورى وهى الخاصية المحددة لجودة بكتيريا باسيلس ثورنجينسيس B. thuringiensis فإنها معيار ضيق جدًا للاستخدام فى أغراض التصنيف البكتيرى، وهذه البكتيريا ممرضة لبعض حشرات حرشفية الأجنحة وغمدية الأجنحة، وتحتوى على العديد من تحت الأنواع (varieties (subspecies التى تختلف فى الصفات السيريولوجية على أساس الأنتيجينات الخاصة بالأسواط، وتصنيف سلالات هذه البكتيريا إلى طرز سيريولوجية بذات أهمية كبيرة فى تعريف سلالات معينة، إلا أنه ذات قيمة قليلة فى التنبؤ بتخصص وفعالية بروتينات المبيدات الحشرية المنتجة بواسطة سلالة معينة.

وعادة يتم تصنيف السلالات المختلفة للنوع البكتيرى باسيلس ثورنجينسيس B.thuringiensis إلى خمس طرز مرضية وذلك على أساس مداها الابادى للآفات الحشرية، وهذه الطرز الخمسة هى:

١- طراز متخصص للحشرات حرشفية الأجنحة:

مثل السلالة B. thuringiensis var. berliner التى تتخصص على رتبة الحشرات

حرشفية الأجنحة Lepidoptera (الفراشات وأبو دقيقات) مثل دودة ثمار الطماطم.

٢- طراز متخصص للحشرات ذات الجناحين:

مثل السلالة B. thuringiensis var. israelensis التى تتخصص على رتبة الحشرات ثنائية الأجنحة Diptera (الذباب والبعوض).

٣- طراز متخصص للحشرات غمدية الأجنحة:

مثل السلالة B. thuringiensis var. tenebrionis التى تتخصص على رتبة الحشرات غمدية الأجنحة Coleoptera (الخنافس والسوس).

٤- طراز نشط ضد كل من الحشرات حرشفية الأجنحة وذات الجناحين:

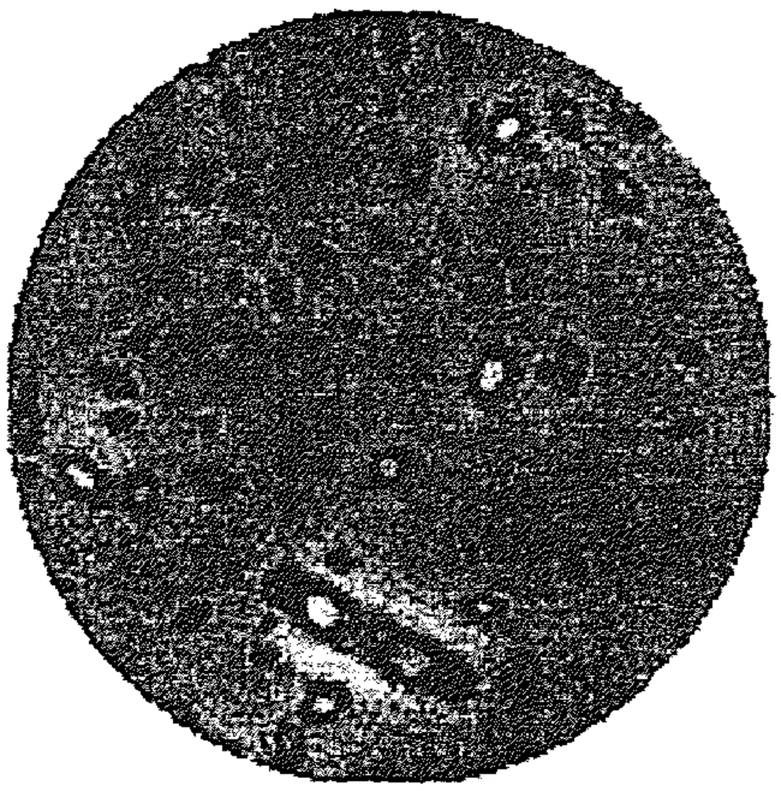
مثل السلالة B. thuringiensis var. aizawai التى تستخدم فى مكافحة يرقات فراشات الشمع وأنواع أخرى من الفراشات.

٥- طراز لم تعرف عنه سمية للحشرات:

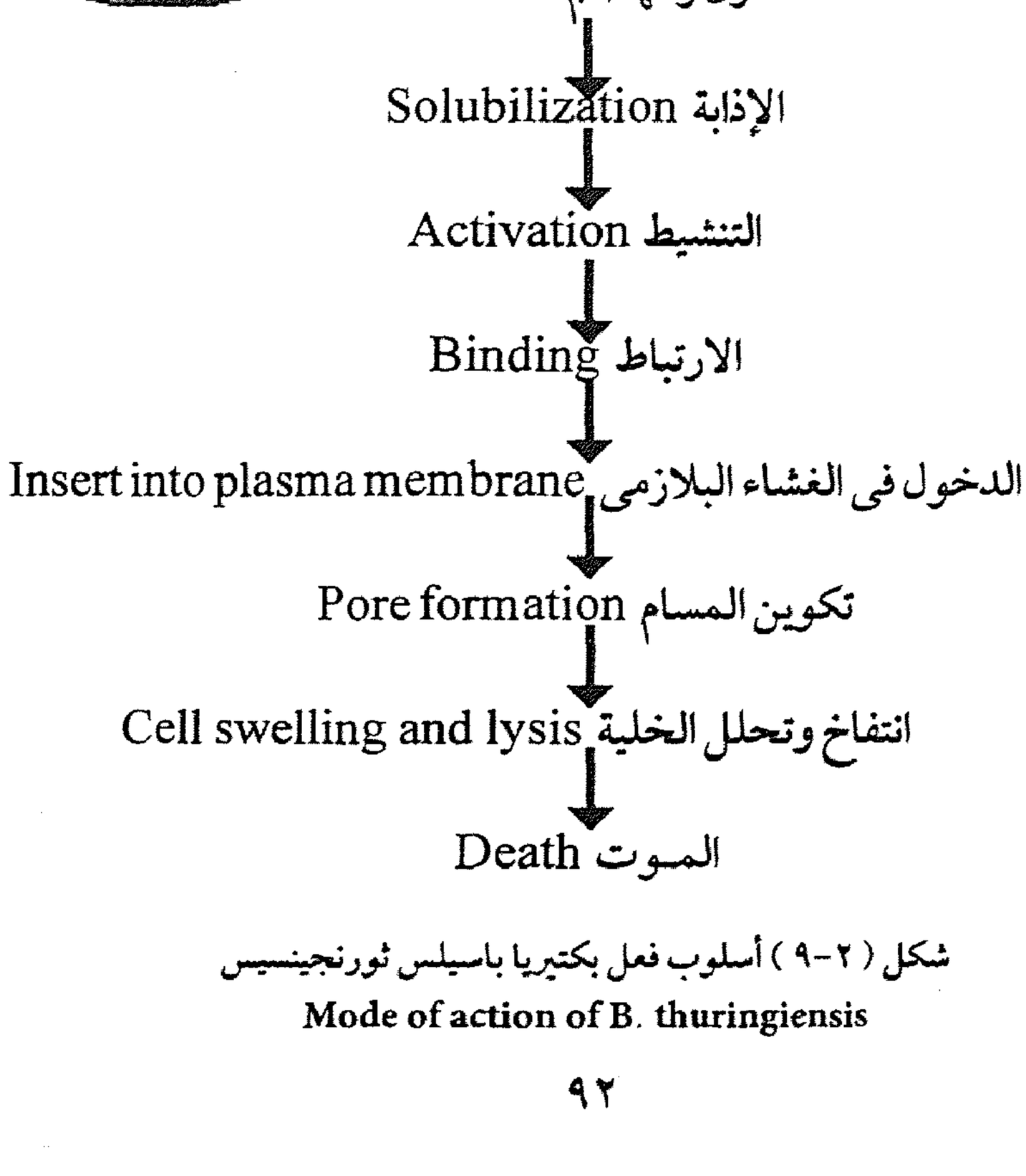
مثل السلالة B. thuringiensis var. dakota. ميكانيكية عمل سموم دلتا - اندوتوكسين وجينات البروتين البلورى:

تكون سلالات بكتيريا باسيلس ثورنجينسيس B. thuringiensis جراثيم داخلية endospores (شكل ٢- ٨) وأجسام بلورية crystals عبارة عن توكسين بروتينى ذات تأثير إبادى للحشرات؛ ولذلك تستعمل هذه البكتيريا بنجاح فى مجال المكافحة الحيوية للآفات الحشرية، وتموت الحشرات الحساسة على أثر تناولها لبلورات البروتين، وتتكون البلورات البروتينية من جزيئات بروتوكسين protoxin غير نشطة تعرف باسم دلتا - اندوتوكسين δ-endotoxins، وهذه تحتاج إلى تنشيط حتى يكون لها تأثير فعال، والبروتين البلورى غير ذائب بشكل كبير فى الظروف المعيشية العادية ومن ثم فهو آمن تمامًا تجاه الإنسان والحيوانات الراقية، وعندما تتناول بعض يرقات الحشرات هذه الجزيئات تذاب البلورات عند تركيزات الأس الهيدروجينى pH القلوية (فوق حوالى ٩,٥) التى تميز العصير الخلوى للمعى الأوسط لمعظم الحشرات من رتبة حرشفية الأجنحة، يعقب ذلك الذوبان انطلاق البروتوكسينات نتيجة فعل الإنزيمات المحللة للبروتين protease الخاصة بالمعى حيث تتولد سموم بروتينية نشطة (حوالى ٦٠ كيلو دالتون) تسمى دلتا - أندوتوكسين، وتشبه الإنزيمات البروتينية كل من التربسين trypsin والكيموتربسين chymotrypsin، وللسموم المنشطة وظيفتين الأولى الارتباط بالمستقبل والثانية تكوين قنوات أيونية، حيث

ترتبط السموم الناضجة بمستقبلات متخصصة على الغشاء البلازمى للخلايا الطلائية بالمعى الأوسط ليرقات الحشرات ومن ثم تدخل فى الغشاء لتكون به مسام pores كاتيونية ذات أقطار من (١٠-٢٠) أنجستروم تؤدى لتوازن فى الأيونات، وينجم عن تنشيط البروتوكسين والأنشطة الإنزيمية المحللة لبروتين السم توقف الحشرات عن التغذية، وانخفاض تركيز الأس الهيدروجينى pH بمعى الحشرة بواسطة التوازن مع pH الدم، ويُمكن هذا التركيز المنخفض للأس الهيدروجينى pH الجراثيم البكتيرية من الإنبات، وتستطيع البكتيريا حينئذ غزو العائل مسببة له تسمم دموى septicaemia مميت (شكل ٢-٩).



شكل (٢-٨) الخلايا الخضرية لبكتيريا
B. thuringiensis محتوية على الجراثيم الداخلية وبلورات دلتا اندوتوكسين ويلاحظ تحلل معظم الخلايا وتحرر الجراثيم وبلورات التوكسين (الشكل الثنائى الهرم).



شكل (٢-٩) أسلوب فعل بكتيريا باسيلس ثورنجينسيس
Mode of action of B. thuringiensis

ومن العيوب المرضية التى تظهر على الآفات الحشرية والتى تعزى إلى البلورات مايلى:

١- فصل الخلايا الطلائية على أثر إذابة المادة اللاحمة لهذه الخلايا، وفصل الغشاء السفلى الذى ترتكز عليه.

٢- تحسين النشاط الإفرازى للخلايا الطلائية للمعى.

٣- زيادة فى نفاذية جدار الأمعاء لأيونات الصوديوم مع معدل أبطأ فى الجلوكوز الممتص فى دم الحشرة.

٤- زيادة تركيز أيون البوتاسيوم فى دم الحشرة.

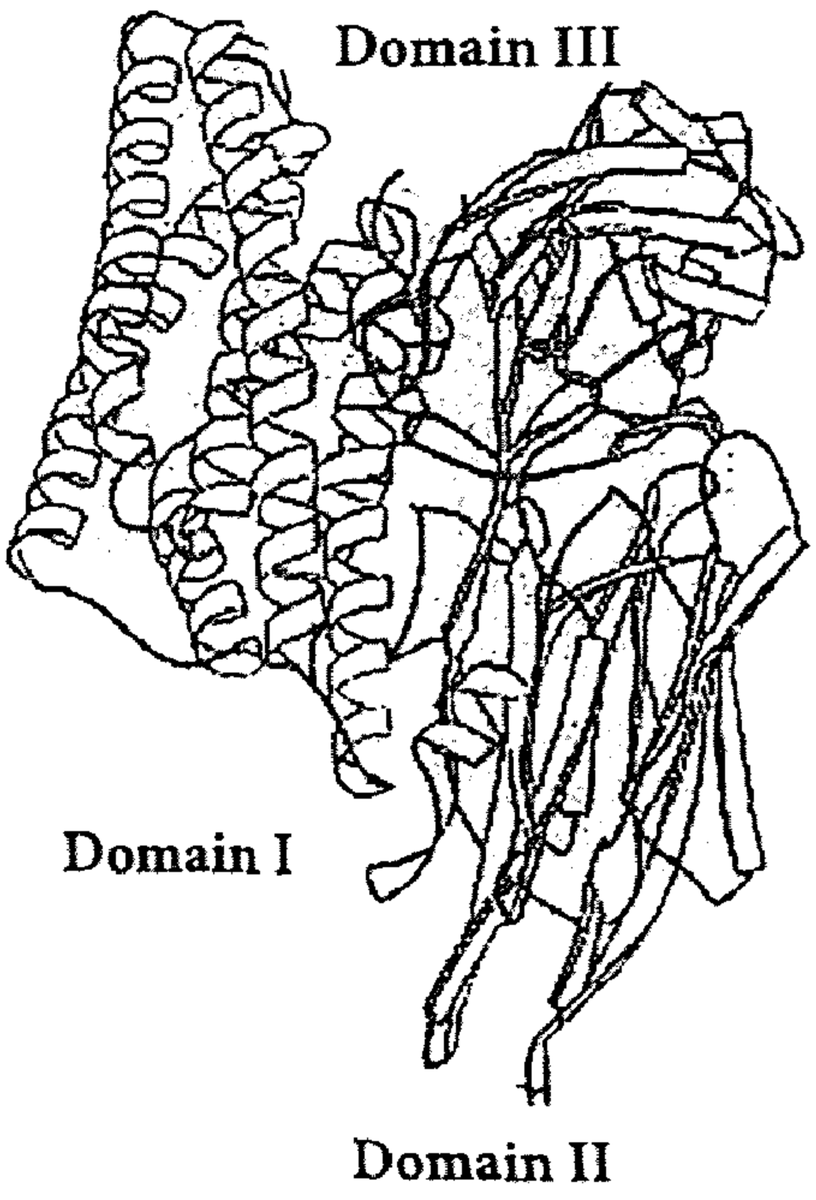
٥- شلل للمعى الأوسط وأحيانًا شلل عام للجسم يعقبه موت الحشرة فى خلال (١٢-١٨) ساعة.

ويتركب سم دلتا - اندوتوكسين من ثلاثة أجزاء domains (شكل ٢-١٠) هى:

الأول: عبارة عن حزمة من اللولب α-helices 7 والتى يدخل بعضها أو كلها فى الغشاء الخلوى لمعى الحشرة محدثًا به ثقوب تمر من خلالها الأيونات بحرية.

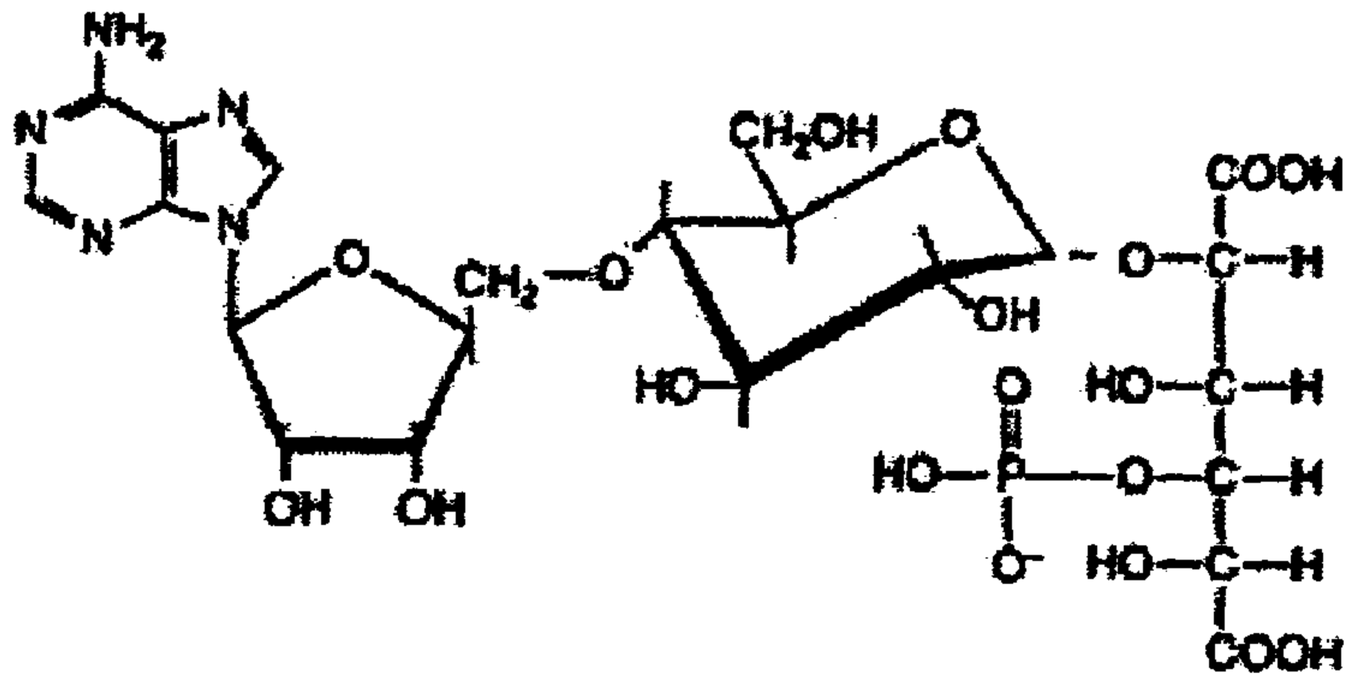
الثانى: عبارة عن ثلاثة صفائح غير متوازية antiparallel β-sheets مشابهة لمناطق ارتباط الأنتيجين بالجلوبيولينات المناعية immunoglobulins ويرتبط هذا الجزء بمستقبلات فى المعى.

الثالث: عبارة عن شطيرة β-sandwich مرتبطة بإحكام تحمى النهاية المكشوفة (النهاية C) للسم النشط من أى تحليل من قبل انزيمات البرتييز الخاصة بالمعى.



شكل (٢-١٠) دياجرام يوضح تركيب

ومن ناحية أخرى، تنتج بعض سلالات بكتيريا باسيلس ثورنجينسيس B. thuringiensis سم ثابت حراريًا وذات وزن جزيئى منخفض وله تركيب يشبه النيكلوتيد يعرف باسم بيتا-اكسوتوكسين β-exotoxin وذلك أثناء الطور النشط للنمو الخضرى لهذه السلالات (شكل ٢-١١)، ويثبط هذا التوكسين نشاط إنزيم DNA-dependent RNA polymerase فى خلايا البكتيريا والثدييات، وقد استخدم هذا التوكسين فى روسيا لبعض الوقت لمقاومة يرقات ذبابة الماشية.



شكل (٢-١١) التركيب الشبيه بالنيكلوتيد لسم بيتا - اكسوتوكسين.

وثمة عقبات كثيرة لم تشجع على استغلال البيتا اكسو توكسين كعامل مكافحة بيولوجية للآفات منها طبيعة تركيبه المناظر للنيكلوتيد، وتأثيراته المطفرة على الحشرات، إلى جانب سميته عند حقنه فى الثدييات، وكلها عقبات جعلت من استعماله فى مجال المكافحة الحيوية أمرًا محظورًا فى كثير من البلدان حول العالم.

ويتم تصنيف البروتينات البلورية من السلالات البكتيرية المختلفة على أساس درجة التشابه فى تتابع أحماضها النووية، وتخصصها الإبادى تجاه الحشرات، وشكل بلوراتها، وحجم البروتين، وتقع الجينات الرئيسية الخاصة بالبروتين البلورى لبكتيريا باسيلس ثورنجينسيس B. thuringiensis - والمسماة cry genes - فى أربعة صفوف على الأقل وذلك بناءً على درجة التشابه فى تتابع النيوكليوتيدات وعلى النشاط الابادى للحشرات المختلفة بواسطة البروتينات المنظمة (جدول ٢-٢). وتشمل الصفوف الأربعة للجينات الخاصة بالبروتين البلورى cry genes لبكتيريا باسيلس ثورنجينسيس B. thuringiensis مايلى:

١. جينات متخصصة لحشرات حرشفية الأجنحة (CryI).
٢. جينات متخصصة لحشرات حرشفية الأجنحة وذات الجناحين (CryII).
٣. جينات متخصصة لحشرات غمدية الأجنحة (CryIII).
٤. جينات متخصصة لحشرات ذات الجناحين (CryIV).

وتحتوى السلالة البكتيرية B. thuringiensis var. israelensis على مكون بلورى واحد عبارة عن بروتين صغير يرمز له بالرمز CryA، ويظهر هذا المكون نشاط خلوى ضد عدد من خلايا كل من الفقاريات واللافقاريات كالحشرات، ولاعلاقة له كلية فى التتابع بنواتج الجين cry.

جدول (٢-٢) خصائص جينات البروتين البلورى المبيد للحشرات لبكتيريا باسيلس ثورنجينسيس B. thuringiensis.

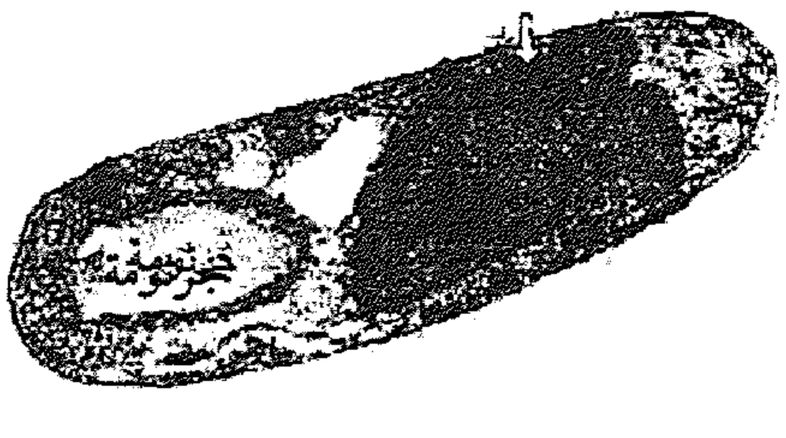
الطراز الجينى	عدد الأحماض الأمينية	الكتلة الجزيئية (كيلو دالتون)	المدى العوائلى
cryIA(a)	١١٧٦	١٣٣,٢	حرشفية الأجنحة
cryIA(b)	١١٥٥	١٣١,٠	حرشفية الأجنحة
cryIA(c)	١١٧٨	١٣٣,٣	حرشفية الأجنحة
cryIC	١١٨٩	١٣٤,٨	حرشفية الأجنحة
cryID	١١٦٥	١٣٢,٥	حرشفية الأجنحة
cryIIA	٦٣٣	٧٠,٩	حرشفية وثنائية الأجنحة
cryIIB	٦٣٣	٧٠,٨	حرشفية الأجنحة
cryIIIA	٦٤٤	٧٣,١	غمدية الأجنحة
cryIVA	١١٨٠	١٣٤,٤	ثنائية الأجنحة
cryIVB	١١٣٦	١٢٧,٨	ثنائية الأجنحة
cryIVC	٦٧٥	٧٧,٨	ثنائية الأجنحة
cryIVD	٦٤٣	٧٢,٤	ثنائية الأجنحة
crytA	٢٤٨	٢٧,٤	ثنائية الأجنحة / غمدية الأجنحة

وتنتج بعض سلالات بكتيريا باسيلس ثورنجينسيس B. thuringiensis نوع واحد من سم دلتا - اندوتوكسين، فى حين تطلق السلالات الأخرى العديد من أنواع هذا السم والتى تختلف

كثيرًا فى تخصصها الإبادى تجاه الآفات الحشرية، وتعتبر السلالة البكتيرية B. thuringiensis var. kurstaki strain HD-1 هى السلالة الأساسية المستخدمة فى معظم المستحضرات التجارية التى تباع حاليًا لوقاية المزروعات الاقتصادية من آفات يرقات حشرات رتبة حرشفية الأجنحة، وتنتج هذه السلالة البكتيرية مكونين بلوريين - واحد كبير على شكل هرمين bipyramidal والأخر صغير مكعب الشكل cuboidal - وعادة يوجد المكونان البلوريان فى أحد قمم البلورة ثنائية الهرم (شكل ٢-١٢ أ، ب)، وتحتوى البلورة ثنائية الهرم على ثلاثة بروتينات من البروتوكسين، واحد يزن(١٣٥) كيلو دالتون والأخريين (١٤٠) كيلو دالتون، ولهذه البروتوكسينات نشاط ابادى ضد الحشرات التابعة لرتبة حرشفية الأجنحة، وتحتوى البلورة ذات الشكل المكعب على بروتوكسين مفرد يرمز له باسم P2 protein وهو يزن (٦٥) كيلو دالتون ويظهر نشاط ضد كل من الحشرات حرشفية الأجنحة وذات الجناحين.

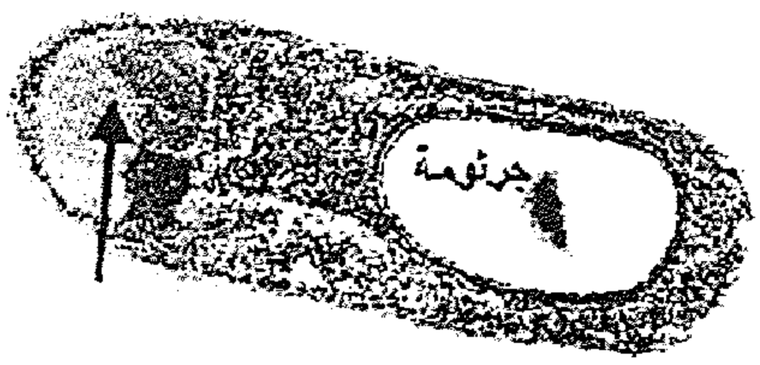
شكل (٢-١٢أ) خلية متجرثمة لبكتيريا

B. thuringiensis var. kurstaki

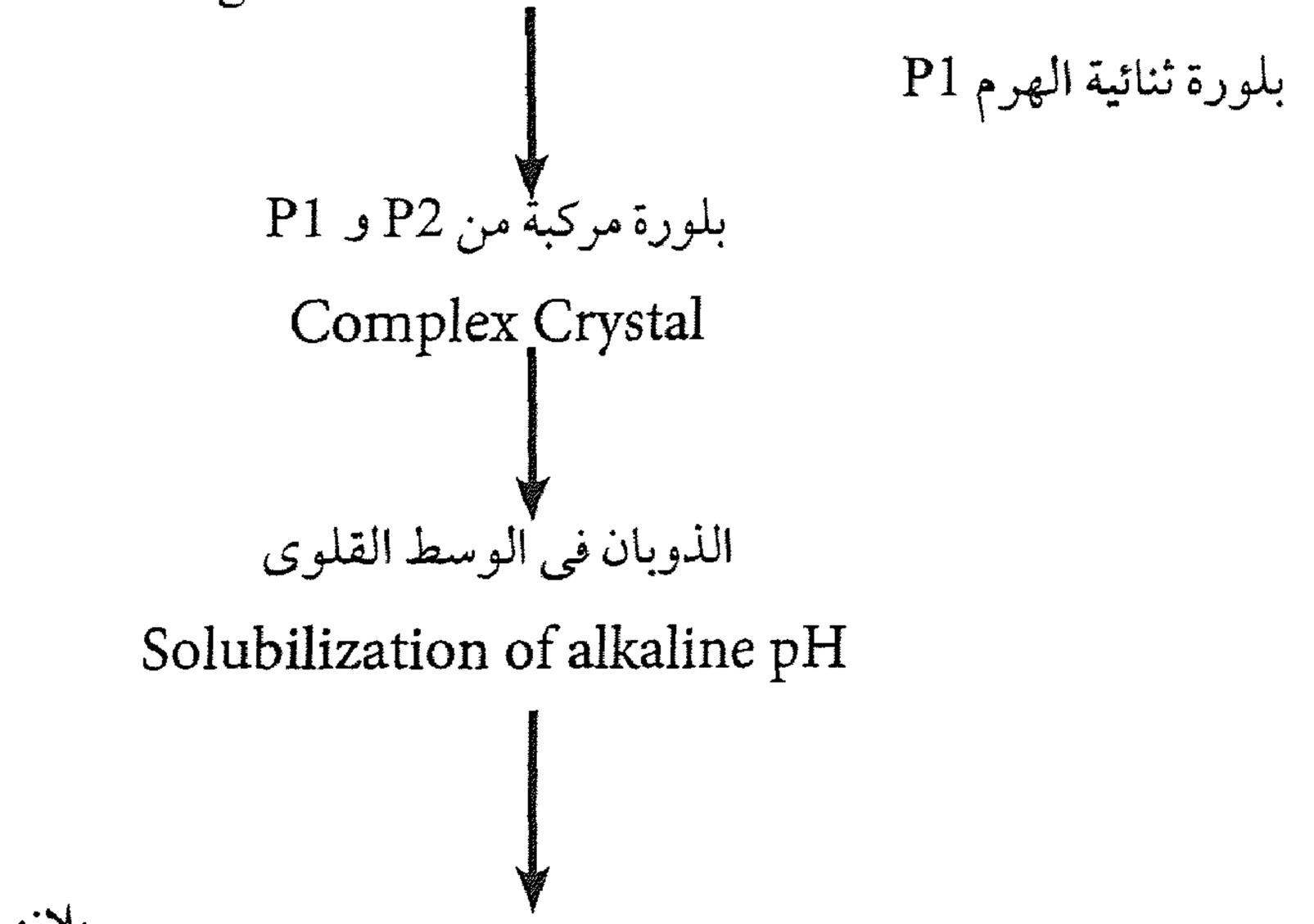


شكل (٢-١٢ب) خلية متجرثمة لبكتيريا

B. thuringiensis var. israelensis



ويتحكم فى البروتوكسينات ذات التأثير الإبادى للآفات الحشرية لسلالة البكتيريا HD-1 أربعة جينات هى جين خاص بالبروتين P1 ويبلغ وزنه (١٣٥) كيلو دالتون ويقع على بلازميد (٦٧) كيلو بايت، وجينان يتحكمان فى نوعين من بروتين (P1) متشابهين ويبلغان من الوزن (١٤٠) كيلو دالتون، وجين رابع يتحكم فى البروتين (P2) ويبلغ وزنه (٦٥) كيلو دالتون ويقع على بلازميد (١٧٤) كيلو بايت، وقد تم نقل البلازميد (٦٧)كيلو بايت بالفعل من سلالة البكتيريا HD -1 إلى عدد من السلالات الأخرى من بكتيريا باسيلس ثورنجينسيس B. thuringiensis (شكل ٢ -١٣).



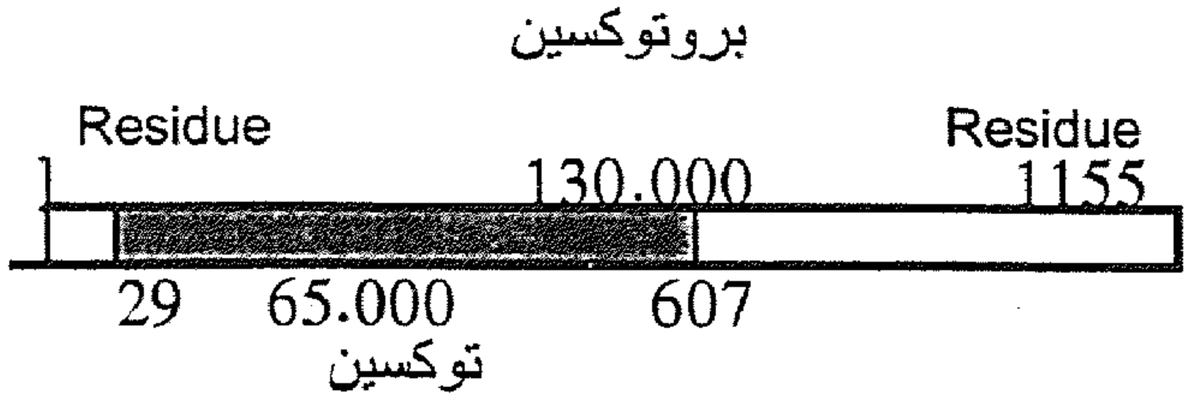
شكل (٢-١٣) جينات دلتا – اندوتوكسين والبروتينات البلورية المبيدة للحشرات

للسلالة B. thuringiensis var. kurstaki strain HD -1

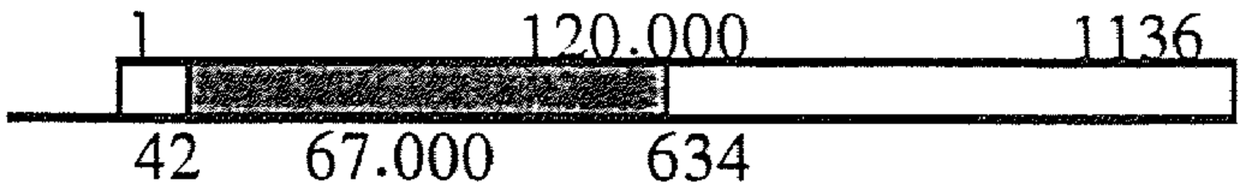
وبغض النظر عن الوزن الجزيئى للبروتوكسين أو تخصصه الإبادى النهائى للآفات الحشرية فإن عملية تحليل البروتين فى معى الحشرات ينتج عنها أجزاء سم نشطة وذات

أحجام متماثلة تتراوح ما بين (٦٠-٧٠) كيلو دالتون، ويقع السم الناضج داخل جزء من (٦٢-٧٠) كيلو دالتون للطرف الأمينى للبروتوكسين، وأحد الاستثناءات هو البروتين CryIVD الذى يكون فيه الجزء السام حوالى ٣٠ كيلو دالتون، واعتمادًا على بروتوكسين معين يتراوح الحد الطرفى الأمينى للجزء النشط من (٢٩-٣٩) وحافة الطرف الكربوكسيلى من (٦٠٧) إلى (٦٧٧) (شكل ٢-١٤)، وينظم جين cryIIIA البروتوكسين المتخصص لحشرات رتبة غمدية الأجنحة، ويوجه عملية التخليق للبروتين (٧٣) كيلو دالتون ويتحول هذا البروتين إلى توكسين بحجم (٦٦) كيلو دالتون بواسطة الإنزيمات التى تحفز تفاعلات تحليل البروتين والمصاحبة للجراثيم البكتيرية حيث تزيل بقايا الطرف الأمينى (٥٧)، ويناظر الجين cryIIIA المجموعة المتحكمة فى التوكسين من الجينات التى تتخصص للبروتوكسينات الأكبر من (١٣٠-١٤٥) كيلو دالتون، وينقصه المنطقة المطابقة للجزء 3 بهذه الجينات، ويؤدى قص الجين cryIIIA فى نهايته 3 إلى فقد النشاط السام. وتُظهر الأجزاء 3 - فى جينات البروتين البلورى المتحكمة فى جزء التتابع للبروتوكسين الذى يبدأ عند ٧٠٠ درجة عالية من تناظر التتابع، مما يعنى أن جزء الكربوكسيل الطرفى يلعب دورًا هامًا فى عملية تكوين البروتوكسين البلورى.

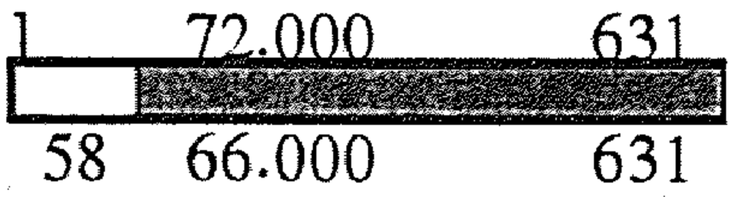
سم دلتا اندو - توكسين للسلالة B. thuringiensis var. berliner (حرشفية الأجنحة)



سم دلتا اندو-توكسين للسلالة B. thuringiensis var. israelensis (ذات الجناحين)



سم دلتا اندو-توكسين للسلالة B. thuringiensis var. tenebrionis (غمدية الأجنحة)



شكل(٢-١٤)النواحى التركيبية للبروتينات البلورية المبيدة للحشرات لبكتيرياباسيلس ثورنجينسيس B.thuringiensis

وهكذا فقد طورت سلالات بكتيريا باسيلس ثورنجينسيس B. thuringiensis عدد من الميكانيكيات الجزيئية لإنتاج قدر كبير من سمومها المبيدة للآفات الحشرية أثناء طور نموها الثابت، ويمكن للفرد توقع القيمة البيئية العالية لهذه البكتيريا من استخدام نظم عديدة لعمليات التعبير الجينى لجينات البروتين البلورى، ومن المحتمل حدوث زيادة فى المدى العوائلى لسلالة باسيلس ثورنجينسيس B. thuringiensis ما أو لمجتمع يتبادل جينات السم، كما أن هناك عمليات نقل للبلازميدات تتم بين السلالات المختلفة لبكتيريا باسيلس ثورنجينسيس B. thuringiensis أثناء النمو داخل آفة حشرية ما بسبب عمليات التعاون للسموم المتعددة.

❖ علاقة التركيب بالوظيفة فى البروتين البلورى:

ثمة محاولات متعددة تم أجراؤها لفحص تركيب بروتين سم دلتا-اندوتوكسين مفرد بقصد إنتاج تركيب بلورى له شكل ظاهرى مختلف عن ذلك التركيب الذى يشاهد فى سلالة بكتيريا باسيلس ثورنجينسيس B. thuringiensis، وتكون سلالة البكتيريا B. thuringiensis var. aizawai IPL7 نوعين من البروتوكسين الأول ذات حجم (١٣٠) كيلو دالتون والثانى بحجم (١٣٥) كيلو دالتون، ويختلف تتابع الأحماض الأمينية فى هذين النوعين من البروتينات بمقدار حوالى (١٠٪) من المواقع فى مجموعة تتألف من أكثر من (١١٠٠)، وعند نقلها فرديًا فى بكتيريا القولون النمطية ايشريشيا كولاى Escherichia coli يكون بمقدور كل بروتين ذات تأثير ابادى للآفات الحشرية تكوين بلورة لها شكل هرمين وبشكل عملى خالية من المكونات الأخرى ومن نفس الشكل الذى يلاحظ فى السلالة الأم للباسيلس ثورنجينسيس B. thuringiensis (شكل ٢-١٥).



شكل (٢- ١٥) خلية E. coli تنتج نفس بلورات البروتين المبيد للحشرات الذى تنتجه السلالة

B. thuringiensis subsp. aiawai IPL7

وللتعرف على مدى إظهار بلورة مفردة من سم دلتا – اندوتوكسين لنشاط إبادى للآفات الحشرية ذات فعالية وتخصص يبارى أنشطة البلورات السليمة المنقاة من سلالته الأم، تم نقل الجينات المشفرة لسم دلتا – اندوتوكسين من السلالات الممثلة لثلاثة طرز مرضية مختلفة لبكتيريا باسيلس ثورنجينسيس B.thuringiensis هى السلالة B. thuringiensis var. berliner المتخصصة لحشرات حرشفية الأجنحة، والسلالة B. thuringiensis var. israelensis المتخصصة لحشرات ذات الجناحين، والسلالة B. thuringiensis var. tenebrionis المتخصصة لحشرات غمدية الأجنحة إلى بكتيريا القولون النمطية إيشريشيا كولاى E. coli، وقد تميز البروتين البلورى للسلالة B. thuringiensis var. berliner بأنه عديد الببتيدات بحجم(١٣٠) كيلو دالتون كما هو الحال فى البروتين البلورى للسلالة B. thuringiensis var. israelensis، وقد تميز البروتين البلورى المعاد تركيبه والمتحصل عليه من السلالة البكتيرية B. thuringiensis var. tenebrionis بأنه عديد الببتيدات بحجم (٧٢) كيلو دالتون، ويتحلل هذا البروتين فى السلالة B. thuringiensis var. tenebrionis إلى بروتوكسين بحجم (٦٦) كيلو دالتون قبل تركيبه إلى بلورات، لكن تحلل البروتين فى بكتيريا القولون يكون غير كامل، وقد تم تنقية البروتينات المعاد تركيبها ومقارنة سميتها على أساس الوزن ببلورات السلالات الأم لبكتيريا باسيلس ثورنجينسيس B.thuringiensis، وبالنسبة لبروتينات الطرز المرضية الثلاثة فإن تخصص العائل للبروتين المعاد تركيبه تبارى مع المحتويات البلورية المنقاة من سلالة بكتيريا باسيلس ثورنجينسيس B. thuringiensis الأم، وتتشابه الأنشطة المتخصصة للبروتين المعاد تركيبه والبلورى المنقى بالنسبة للسلالة B. thuringiensis var. berliner والسلالة B. thuringiensis var. tenebrionis، وفى كل حالة فإن التخصص والفعالية فى إبادة اليرقات الحشرية تعتبر بمثابة صفات للبروتوكسين بحد ذاته، وليس من الضرورى أن تحدث الفعالية بواسطة المكونات الأخرى فى سلالات باسيلس ثورنجينسيس B.thuringiensis الأم، على أى حال فبالنسبة للسلالة B.thuringiensis var.israelensis يكون البروتين المعاد تركيبه ذات نشاط أقل بشكل كبير عن البلورات الخام (جدول ٢-٣).

جدول (٢-٣) مقارنة سمية بلورات الباسيلس ثورنجينسيس **B. thuringiensis** بالبروتينات البلورية النقية المعاد تركيبها.

سلالـة باسيلس ثورنجينسيس	الحشرة المستهدفة		
	دودة الطباق LD50 (ng/larva) الطور الأول	البعوضة المصرية LC_{50}(ng /ml) الطور الثالث	خنفساء الكلورادو LC_{50}(ng /cm²) الطور الأول
B. thuringiensis var. Berliner			
بلورة منقاة	7.5	-	-
بروتوكسين معاد تركيبه	6	-	-
B. thuringiensis var. israelensis			
بلورة منقاة	-	9	-
بروتوكسين معاد تركيبه	-	25	-
B. thuringiensis var. tenebrionis			
بلورة منقاة	-	-	13
بروتوكسين معاد تركيبه	-	-	20

وتحتوى السلالة البكتيرية B.thuringiensis var.israelensis على مكونات بلورية عبارة عن أربعة أنواع من البروتينات ذات خصائص مبيدة للآفات الحشرية هى نوع بحجم (٤ ,٢٧) كيلو دالتون، وآخر بحجم (٦٥) كيلو دالتون، واثنين بحجم (١٣٠) كيلو دالتون، ويختلف البروتين ذات الحجم (٤ ,٢٧) كيلو دالتون المنظم بواسطة الجين cytA تركيبيًا عن البروتينات ذات الحجم (١٣٠) كيلو دالتون أو البروتين ذات الحجم ٦٥ كيلو دالتون المنظمة بواسطة جينات البروتين البلورى cry، ويظهر البروتين ذات الحجم (٤ ,٢٧) كيلو دالتون نشاط متجانس تجاه كرات الدم الحمراء فى الثدييات وكذلك النشاط الخلوى تجاه عدد من الخطوط الخلوية للثدييات والحشرات ثنائية الأجنحة وغمدية الأجنحة، وبالإضافة إلى ذلك فله نشاط حقيقى إبادى للبعوض، إلا أنه ليس قويًا كما هـو الحال فى البروتينات (١٣٠) كيلو دالتون و (٦٥) كيلو دالتون، ويـدل النشـاط السـام المنخفض للبروتين البلورى (١٣٠) كيلو دالتون للسلالة البكتيرية B. thuringiensis var. israelensis المعاد تركيبها بالنسبة إلى البلورات السليمة أنه يوجد إما إضافة additivity أو تعاون synergism بين البروتينات البلورية الأربعة لهذه السلالة.

وقد تم فحص عملية ارتباط البروتوكسينات بمستقبلات شديدة الجاذبية أو متخصصة فى الخلايا الطلائية للمعى الأوسط لليرقات، ومدى تنافسها على نفس المستقبل، من خلال

تحليل ارتباط ثلاثة سموم متخصصة لبكتيريا باسيلس ثورنجينسيس B. thuringiensis هى السم Bt2 والسم Bt3 والسم Bt73 بأغشية المعى الوسطى ليرقة الدخان ذات القرن M. sexta (Linnaeus) ودودة براعم الدخان (Fabricius) H. virescens وهما من رتبة حرشفية الأجنحة. وتوجد مواقع ارتباط لتوكسين عالى الميل وقابل للتشبع لسم Bt2 وسم Bt3 وسم Bt73 على حويصلات غشاء حافة الريشة لحشرة يرقات الدخان ذات القرن M. sexta وحشرة دودة براعم الدخان H. virescens، ولاتوجد هذه المواقع على الحويصلات المطابقة من الحشرات غير المتأثرة، ولاترتبط سموم دلتا-اندوتوكسين δ-endotoxins من سلالات بكتيريا باسيلس ثورنجينسيس B. thuringiensis غير السامة لحشرة يرقات الدخان ذات القرن M. sexta بحويصلات غشاء الحافة للريشة من ذلك الكائن، وهكذا يوجد ارتباط بين السمية ووجود مستقبلات متخصصة.

وللسموم الثلاثة نشاط ابادى منشابه ضد يرقات الحشرات كما هو الحال فى يرقات الدخان ذات القرن M. sexta، وهناك اختلافات بين هذه السموم الثلاثة ضد حشرة دودة براعم الدخان H. virescens، وتبلغ قيمة الجرعة نصف المميتة LC50 لسم Bt3 حوالى ٢٠ مرة أقل فى النشاط عن سم Bt2 والتى تكون فى المقابل أقل فى النشاط حوالى ٣ مرات أقل عن سم Bt73، وقد أظهرت قياسات تركيز مواقع الارتباط binding site concentration على أغشية المعى الأوسط لكل هذه السموم اختلافات تتوازى مع الاختلافات فى السمية بداخل النظام الحى in vivo، وقد دلت تجارب الارتباط التنافسى بحويصلات يرقات براعم الدخان H. virescens على وجود ثلاثة طرز مختلفة على الأقل من مواقع الارتباط بالسم ذات جاذبية عالية، ويرتبط مجتمع ما بالسموم الثلاثة بنفس الميل، كما يرتبط مجتمع ثانى بسم Bt2 وسم Bt73 لكن لايرتبط بسم Bt3، ويكون المجتمع الثالث سهل المنال فقط لسم Bt73 الأكثر سمية بين سموم دلتا - اندوتوكسين الثلاثة.

وهناك عاملين محددين هامين لتأثير البروتين البلورى المبيد للآفات الحشرية المستهدفة وهما:

١. وجود المستقبلات الجاذبة المتخصصة للسم فى الخلايا الطلائية للمعى الوسطى لليرقات.
٢. كثافة مثل هذه المستقبلات.

وتظهر أهمية هذه العوامل بشكل جلى فى فحص الأساس العلمى لعملية المقاومة التى تبديها الآفات الحشرية لسموم معينة.

❖التنوع الجينى للبروتين البلورى:

تمتلك بكتيريا باسيلس ثورنجينسيس B.thuringiensis تنوع وراثى مميز، ومن المعتقد أن هذا التنوع مرجعه تأثير العوامل البيئية المختلفة، والبعد المكانى بين السلالات البكتيرية الناشئة من غزو المواطن المختلفة. ويتحدد الطراز المرضى لسلالات بكتيريا باسيليس ثورنجينسيس B. thuringiensis المتخصصة كنتيجة لإدراك السم الخاص به من قبل مستقبلات متخصصة على الطبقة الطلائية للمعى الوسطى للعوائل الحشرية، وتتفاوت سمية بروتين بلورى معين مبيد للحشرات ضد الآفات الحشرية المختلفة المنتمية إلى نفس الصف class بحوالى (١٠٠) ضعف وربما أكثر.

ولمهاجمة آفة حشرية بعينها يجب استخدام سلالة باسيلس ثورنجينسيس B.thuringiensis تنتج بروتينات بلورية مبيدة للحشرات بكمية كبيرة وذات جاذبية عالية للمستقبلات بالخلايا الطلائية للآفات الحشرية المستهدفة، وتوجد فى سلالات بكتيريا باسيلس ثورنجينسيس B. thuringiensis المتواجدة طبيعيًا المئات من جينات البروتين البلورى المبيد للحشرات والمتحكمة فى البروتوكسينات والتى تختلف عن بعضها البعض فى التخصص، ومع فهم طبيعة هذه الجينات إلى جانب التركيب والعلاقات الوظيفية فى السم وتفاعل المستقبل يكون من الممكن هندسة جينات جديدة تتحكم فى التوكسينات بجاذبية عالية للمستقبلات فى الآفات الحشرية المتخصصة.

❖التحسين الوراثى:

لقد أمكن فى السنوات الأخيرة استحداث وتصميم عدد كبير من السلالات الجديدة والمفيدة من بكتيريا باسيلس ثورنجينسيس B. thuringiensis عن طريق تقنيات الهندسة الوراثية دون استخدام لتقنية الحامض النووى د.ن.أ DNA المعاد تركيبه.

أ- المعالجة الانتقائية للبلازميد:

تحتوى خلايا الكثير من سلالات بكتيريا باسيلس ثورنجينسيس B. thuringiensis على العديد من العناصر الوراثية المعروفة باسم البلازميدات plasmids، ويحمل الكثير منها جين أو أكثر من جينات البروتين البلورى، ويتم قياس مستوى التعبير الجينى عن طريق تقدير كمية البروتين البلورى التى يتحكم فيها الجين فى خلية البكتيريا، ويتأثر مستوى التعبير لأى جين من جينات البروتين البلورى بالتعبير الحادث من جينات البروتين البلورى

الأخرى، وفى بعض الأحيان يتحكم أحد جينات البروتين البلورى فى البروتوكسين ويظهر ذلك على هيئة نشاط عالى ضد آفة حشرية متخصصة مستهدفة، بينما تتحكم جينات البروتين البلورى الأخرى فى البروتوكسينات مع نشاط منخفض ضد الآفات، وفى مثل هذه الحالات تكون هناك ميزة الحصول على بروتوكسين عالى النشاط الإبادى لكل خلية، ويتأتى ذلك من استبعاد الجينات التى تتحكم فى البروتوكسينات منخفضة النشاط.

وتحتوى السلالة البكتيرية B. thuringiensis var. kurstaki على بلازميد 67-kb يحمل جين يتحكم فى البروتين البلورى المتخصص لحشرات رتبة حرشفية الأجنحة من الفراشات وأبى دقيقات (حجم ١٣٥ كيلو دالتون)، ويحمل بلازميد 174-kb جينات تتحكم فى البروتينات البلورية الأخرى، وتستخدم عملية الحث المتعمد بواسطة الصدمة الحرارية أو النقل المتكرر للمزارع البكتيرية لعزل البلازميد أثناء عملية الانقسام الخلوى بقصد تكوين سلالات بكتيرية فاقدة لبعض أو كل بلازميداتها، وتعبر السلالة البكتيرية B. thuringiensis var. kurstaki strain HD-1 الفاقدة لبلازميدها 174-kb عـن جين البروتوكسين (حجم ١٣٥ كيلو دالتون) من البلازميد 67-kb بمعدل عالـى.

ب- نشأة سلالات جديدة بالتزاوج:

من المعروف أنه يحدث انتقال ذاتى لبعض البلازميدات بين سلالات بكتيريا باسيلس ثورنجينسيس B. thuringiensis، ويستفاد من مثل هذه البلازميدات المنقولة من سلالة لأخرى فى استحداث سلالات بكتيرية جديدة بواسطة عملية تشبه التزاوج conjugation-like process، وتتيح هذه الإمكانية تنوع السلالات البكتيرية بشكل كبير.

وتعتبر خنفساء البطاطس (Coleoptera) Colorado potato bettle من أكثر الآفات الحشرية المدمرة لمحصول البطاطس فى بعض مناطق العالم مثل شمال أمريكا، إلا أن هناك حشرات أخرى من رتبة الحشرات غمدية الأجنحة مثل حفار الذرة الأوروبى European corn borer ودودة درنات البطاطس potato tuber worm يمكنها أيضًا تدمير محصول البطاطس بشكل كبير، ولاتتوفر سلالة واحدة من بكتيريا باسيلس ثورنجينسيس B. thuringiensis ذات سمية لكل هذه الآفات الحشرية، إلا أنه قد تم استحداث سلالة واحدة سامة لكل هذه الآفات من تزاوج سلالة باسيلس ثورنجينسيس B. thuringiensis – نشطة ضد خنفساء بطاطس كولورادو ومحتوية على جينات البروتين

البلورى على بلازميد – مع سلالة مستقبلة من الباسيلس ثورنجينسيس نشطة ضد آفة حفار الذرة الأوروبى حيث تميزت السلالة الجديدة الناشئة بنشاط ضد هذه الآفات الحشرية.

ج- نقل جينات البروتين البلورى للكائنات الأخرى:

لقد أصبح من السهولة بمكان نقل جينات البروتين البلورى بأساليب الهندسة الوراثية من بكتيريا باسليس ثورنجينسيس B. thuringiensis إلى كائنات أخرى، وقد تم بالفعل نقل هذه الجينات إلى بكتيريات أخرى وحتى إلى بعض النباتات والسيانوبكتيريا، ومما لاشك فيه أن نقل هذه الجينات إلى أفراد من السيانوبكتيريا Cyanobacteria مثل أنواع جنس الأنبينا Anabena فى الأوساط المائية يعتبر بمثابة طريقة جيدة لحفظ مستويات عالية من السم فى الأوساط البيئية التى تقطنها حشرات البعوض.

❖الإنتاج التجارى:

تنتج بعض الممرضات البكتيرية المستخدمة فى المكافحة الميكروبية للآفات بداخل النظم الحية من عوائلها in vivo أو خارجها فى أوعية المختبرات in vitro، وفى الوقت الذى تنتج فيه بعض هذه الممرضات بشكل منفرد axenic culture تنتج ممرضات أخرى فى مزارع مختلطة mixed cultures، وتعتبر بكتيريا باسليس ثورنجينسيس B. thuringiensis مثال للممرضات الميكروبية التى تنتج بشكل منفرد، بينما ينتج النوعين بانيباسيلس بوبليا P. popillae وبانيباسيلس لنتيموربس P. lentimorbus معًا فى مزرعة مختلطة.

وتنتج المبيدات الحشرية المحتوية على مكون فعال من بكتيريا باسليس ثورنجينسيس B. thuringiensis فى كثير من بلدان العالم، وتحمل هذه المنتجات العدد من الأسماء التجارية، وقد تزايد إنتاج واستخدام المبيدات الحشرية المحتوية على هذه البكتيريا بشكل كبير منذ عام (١٩٧٥)، كما تزايد الوثوق بهذا المنتج على أثر اختيار سلالات أكثر سمية، وتطوير مستحضرات فعالة، وتجميع المعلومات المتعلقة بطرق التطبيق المثلى والثبات الحقلى، حيث تستخدم بكثرة لوقاية الخضروات ومحاصيل الحقل كالكرنب والبروكولى والطماطم والخس والبطيخ والطماطم والعنب وفول الصويا وغيرها.

ويعتمد نجاح الإنتاج الكمى الضخم على المستوى التجارى من بكتيريا باسليس ثورنجينسيس B. thuringiensis على توفير كثير من الاحتياجات منها مايلى:

١- السلالات Strains:

تستخدم سلالة منتخبة من بكتيريا باسيلس ثورنجينسيس B. thuringiensis لإنتاج

اللقاح المستخدم فى المكافحة ويراعى أن تكون السلالة المستخدمة سريعة النمو، وذات صفات ثابتة، ويجب الحفاظ على نشاط ونقاوة السلالة المستخدمة، وحفظها بطريقة ملائمة لتقليل احتمال التغيرات التى قد تحدث للسلالة مثل التطفر.

٢- اللقـاح Inoculum:

يستخدم لقاح حديث نقى من بكتيريا باسيلس ثورنجينسيس B. thuringiensis لتلقيح بيئة التخمير بنسبة (١-٢٪) من حجم البيئة، وتراعى الدقة الشديدة فى توفير اللقاح للحصول على لقاح نشط غير ملوث.

٣- وسط التخمير Mash:

يراعى فى البيئة الغذائية المستخدمة فى التخمير أن تكون ملائمة لنمو بكتيريا باسيلس ثورنجينسيس B. thuringiensis عن غيرها من الميكروبات الأخرى، وأن تحتوى على المواد اللازمة لنمو وتكاثر الميكروب وأن تفى باحتياجات البكتيريا من العناصر الغذائية وعوامل النمو growth factors بقصد الوصول بتكاثر الميكروب إلى الذروة بأقل تكلفة ممكنة.

٤- الظروف المزرعية Cultural conditions:

ينمى الميكروب تحت ظروف معقمة لتجنب حدوث تلوث للمزرعة وذلك لمدة (١-٢) يوم، مع مراعاة توفير التهوية اللازمة لهذه البكتيريا ذات الطبيعة الهوائية وذلك بالتقليب لوسط التخمير، وتوفير درجة الحرارة المثلى للنمو (٣٠مْ)، وتركيز الأس الأيدروجينى المتعادل.

٥- الجراثيم والتوكسينات المنتجة:

فى العادة يتم التخمير فى مخمرات ضخمة قد تصل سعتها إلى (٢٠٠٠٠٠) لتر، وفيها تتكون الجراثيم والتوكسينات مختلطة مع خلايا بكتيريا باسيلس ثورنجينسيس B. thuringiensis، ويتم حصاد الجراثيم والتوكسينات جزئيًا من المزرعة البكتيرية السائلة بواسطة عملية الطرد المركزى، ثم فى خطوة تالية يجرى تخفيف المتبقى المركز بواسطة عناصر موازنة، ويعبأ المنتج على صورة معلق، ويوضح شكل (٢- ١٦) كيفية استعادة بكتيريا باسيلس ثورنجينسيس B. thuringiensis باستخدام تكنيك اللاكتوز والأسيتون.

٦- التوحيد القياسى للمنتج Standardization:

يحتاج هذا الإجراء تقويم دقيق باستخدام التقديرات الحيوية لمقارنة المنتج بالمستحضر

القياسى لبكتيريا باسيلس ثورنجينسيس B. thuringiensis، وفى هذه العملية يخلط المنتج بالبيئة الغذائية الخاصة بحشرات التجربة، ثم تقسم الكمية التى نميت (٥٠٪) من الحشرات فى وقت معين على كمية المستحضر القياسى للبكتيريا التى تقضى على عدد مماثل من هذه الحشرات فى وقت مماثل، وتظهر النسبة (١: ١) لكلا المستحضرين تماثلًا فى الفعالية ضد الحشرات المستخدمة.

٧- نمط المستحضر التجارى النهائى:

عند إجراء التخمرات الميكروبية فى أوساط زرع نصف صلبة semisolid مثل الأوساط الغذائية التى قوامها النخالة، يتم تجهيز المستحضر التجارى على صورة مسحوق قابل للبلل أو مسحوق قابل للتعفير يحتوى على الجراثيم والبروتين البلورى. أما عند استخدام المزارع المغمورة submerged cultures فى التخمر فيكون المستحضر التجارى النهائى على صورة مركزات سائلة.

مرق التخمير (pH ٤ ,٨-٨ ,٧)

↓

ضبط الـ pH إلى ٧ بحامض الهيدروكلوريك

↓

طرد مركزى ← التخلص من الرائق

↓

الراسب

↓

يعلق فى ١/ ١٠ - ١/ ٢٠ حجم من المرق الأصلى

↓

يضاف ٤-٦٪ لاكتوز

↓

التقليب ٣٠ ق

↓

إضافة ٤ حجم أسيتون

↓

التقليب ٣٠ ق

↓

يترك لمدة ١٠ ق

↓

الترشيح باستخدام طلمبة

↓

استبعاد المترشح

↓

المتبقى

↓

التقليب فى حجم صغير من الأسيتون

↓

استبعاد المترشح

↓

المتبقى

↓

التقليب فى حجم صغير من الأسيتون

↓

الترشيح بواسطة طلمبة ← استبعاد المترشح

↓

المتبقى

↓

التجفيف (١٢ ساعة)

↓

منتج باسيلس ثورنجينسيس جاف لتجهيز المستحضر النهائى

شكل (٢ - ١٦) استعادة بكتيريا باسيلس ثورنجينسيس B. thuringiensis
باستخدام تكنيك الأسيتون واللاكتوز

❖تطبيقات المكافحة:

تستخدم بكتيريا باسليس ثورنجينسيس B. thuringiensis فى مكافحة العديد من الآفات الحشرية مثل حفار الذرة، حيث يتم استخدام مستحضراتها رشًا أو تعفيرًا ويمكنها الوصول إلى معدل موت حوالى (١٠٠٪) ويتم مكافحة بعض الآفات الحشرية التى تصيب نباتات العائلة الصليبية مثل دودة الكرنب والفراشة ذات المظهر الماسي وحفار ساق الكرنب والدودة نصف القياسية ذات البقعتين بواسطة المبيدات البكتيرية المحضرة من هذه البكتيريا.

وتستعمل سلالة البكتيريا الممرضة B. thuringiensis var. israelensis فى مقاومة يرقات بعوض الكيوليكس Culex pipiens.

ويستخدم مستحضر سلالة B. thuringiensis subsp kurstaki strain M-200 لمقاومة الآفات الحشرية لرتبة حرشفية الأجنحة (الفراشات وأبى دقيقات) على الكثير من نباتات الفواكه والخضروات ومحاصيل الحقل، ويرش المنتج الحيوى المعروف تجاريًا باسم Able على النباتات أو يضاف مع نظام الرى بالرش.

ويستخدم مستحضر سلالة B. thuringiensis subsp isistalensis strain EG2215 لمقاومة يرقات البعوض فى الأماكن المفتوحة بما فيها قنوات الرى والمجارى بجوار الطرق والبرك وأحواض الملاحات وحقول الأرز.

ويستخدم التوكسين Crylc لتحت النوع B. thuringiensis subsp aizawai فى مقاومة الفراشات وبصفة خاصة ديدان ورق القطن الصغرى والفراشة ذات المظهر الماسى.

وتستخدم التوكسينات غير المتخصصة لتحت النوع B. thuringiensis subspecies kurstaki تجاه بعض الفراشات ولتحت النوع B. thuringiensis subspecies San diago تجاه بعض الخنافس مثل خنفساء كلورادو.

ويستخدم مستحضر توكسينات تحت النوع B. thuringiensis subsp aizawai لمقاومة الكثير من يرقات الأنواع المختلفة من الفراشات على الكثير من الفواكه والخضروات ومحاصيل الحقل، وترش المادة الفعالة على النباتات أو تضاف مع نظم الرى.

❖الوضع الحالى للباسيلس ثورنجينسيس كمبيد حشرى:

ثمة آفات حشرية خطيرة ذات حساسية للمستحضرات المجهزة من سلالات بكتيريا

باسيلس ثورنجينسيس B. thuringiensis المتواجدة طبيعيًا فى النظم البيئية المختلفة (جدول ٢-٤)، إلا أنه لأسباب كثيرة فإن مستحضرات بكتيريا باسيلس ثورنجينسيس B. thuringiensis كمبيد حيوى للآفات الحشرية قد تطورت ببطء شديد، فمازالت التكلفة الإنتاجية لمبيدات الآفات الميكروبية عالية عن تكلفة الكثير من مبيدات الآفات الكيميائية خاصة وأنه نظرًا لندرة الإصابات الوبائية يضاف التوكسين بكميات كبيرة للمحاصيل للتأكد من وصول الجرعة المميتة لكل يرقة من الآفات الحشرية المستهدفة.

جـدول (٢-٤) بعض الحشرات المستهدفة لمستحضرات الباسيلس ثورينجنسيس B. thuringiensis

الحشـــرة	المحصول أو الناتج
دودة ورق الكرنب	الخضروات
أبى دقيق الكرنب	الخضروات
الفراشة ذات المظهر الماسى	الخضروات
الحشرة القياسة	الخضروات – فول الصويا – القطن
فراشة التبغ	القطن – فول الصويا – الطباق
دودة القطن	القطن – فول الصويا – الطباق
ثاقبة الذرة الأوروبية	الذرة
دودة الطباق	الطباق
خنفساء الكلورادو	البطاطس
الحشرة القياسية	الغابات
فراشة جريش الذرة	المنتجات المخزونة
فراشة دقيق البحر الأبيض المتوسط	المنتجات المخزونة

ويعتبر التخصص الوراثى لسلالات بكتيريا باسيلس ثورنجينسيس B. thuringiensis بمثابة موطن قوة وضعف فى آن واحد، إذ تمتلك غالبية مستحضرات بكتيريا باسيلس ثورنجينسيس B. thuringiensis المجهزة من السلالة B. thuringiensis var. kurstaki strain HD-1 نشاط عالى ضد بعض الآفات الحشرية مثل يرقات فراشة التفاحيات gypsy moth larvae وآفات الكرنب cabbage loopers فى حين يكون نشاطها ضعيف ضد آفات أخرى مثل دودة لوز القطن cotton boll worm، ويعتبر مستخدمو المبيدات الذين اعتادوا على المجال الواسع من السمية للكثير من مبيدات الآفات الكيميائية

أن المنتج ذات المدى الأضيق هو أقل تداولًا، ويساهم البطء الذى تقتل به المبيدات الحيوية آفاتها المستهدفة فى فهم أنها أقل فعالية عن عوامل المكافحة الكيميائية التقليدية.

وفى نفس الوقت فإن مستحضرات بكتيريا باسيلس ثورنجينسيس B. thuringiensis لها صفات مفضلة، فهى تحتفظ بثباتها stability لسنوات طويلة من التخزين، كما أن بلوراتها تقاوم التثبيط الحادث بواسطة الأشعة فوق البنفسجية الواصلة من الشمس، ولعل أهم مميزات هذه المبيدات الحيوية هو الآمان الذى تظهره مستحضرات بكتيريا باسيلس ثورنجينسيس B. thuringiensis - بصفة خاصة - منذ ما يقرب من نصف قـرن من الزمان من التطبيقات الحقلية.

ويبلغ حجم سوق مستحضرات باسيلس ثورنجينسيس B. thuringiensis (٩٠) مليون دولار أمريكى حسب تقديرات عام (١٩٩٥)، وهناك (٦٧) مستحضر تجارى مسجل منه فى جميع أنحاء العالم حسب تقدير عام (١٩٩٧)، وتمثل هذه المستحضرات (٨٠-٩٠٪) من كل مبيدات الآفات الحيوية، (٥-١٠٪) من سوق مبيدات الآفات على حسب تقدير عام (٢٠٠٠).

ب- بكتيريا باسيلس سفريكس(Bacillus sphaericus (Neide :

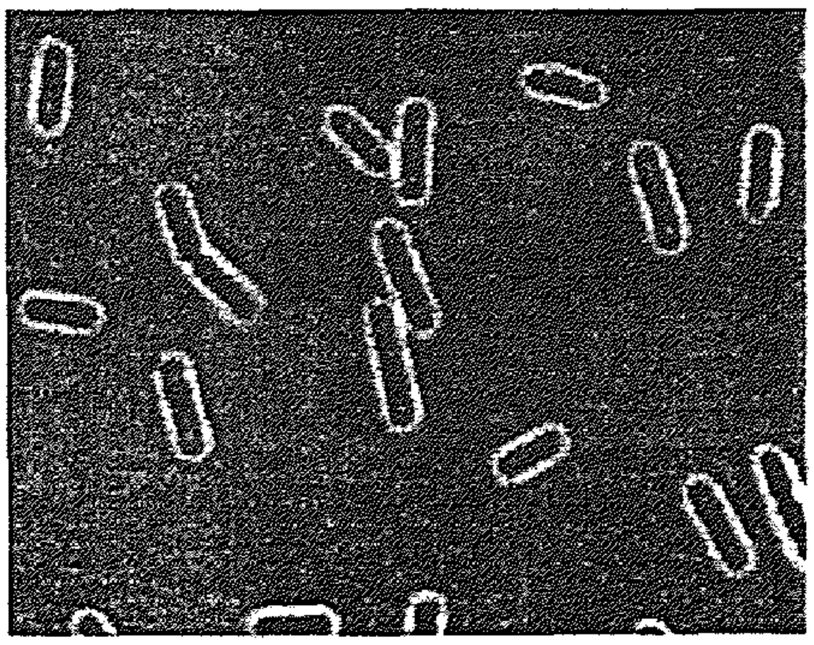
لقد عرف عن بكتيريا باسيلس سفريكس B. sphaericus منذ منتصف عام (١٩٦٠) سميتها لبعض أنواع البعوض، وقد تم عزل هذا النوع البكتيرى من التربة والأوساط المائية التى تقطنها هذه الحشرات، كما تم عزله من يرقات العمر الرابع لحشرة Culiseta incidens فى عام (١٩٦٥)، ولذلك تم تقييم الآلاف من عزلات هذا النوع خلال العقود الثلاثة الأخيرة لإمكانية استخدامها فى مكافحة البعوض وبصفة خاصة فى اندونيسيا وسيرلانكا ونيجيريا.

وتتميز هذه البكتيريا بأنها ذات نشاط سمى عالى تجاه يرقات العديد من أنواع البعوض mosquito مثل بعوض الكيولكس Culex والأنوفلس Anopheles، كما أن له سمية محدودة تجاه بعوض Aedes والذباب الأسود، ويبدو أن النشاط الابادى لسلالات هذه البكتيريا تجاه الآفات الحشرية قاصر فقط على يرقات البعوض، إذ أن هناك حشرات أخرى كثيرة لا تتأثر من الأساس بوجود هذا الميكروب.

وهذا النوع البكتيرى متباين لصبغ جرام، لاهوائى اختياريًا، متجرثـم، الجرثومة المتكونة مستديرة طرفية، والاسبورانجيا منتفخة فى الطرف حيث تبدو أشبه بعصا الطبلة drum -stick

(شكل ٢-١٧)، يقطن الأوساط البيئية الأرضية كالتربة الزراعية والمائية فى بلدان كثيرة حول العالم، ويظهر هذا النوع تخصص تجاه عدد من أنواع البعوض الهامة من الوجهة الطبية فى حين لايؤثر على الفقاريات واللافقاريات غير المستهدفة، ويجب الإشارة إلى أنه ليست كل سلالات هذا النوع ممرضات شديدة للحشرات، كما تختلف فعالية السلالة البكتيرية على حسب نوع البعوض، فبعوض جنس Aedes هو الأقل تأثرًا، أما أنواع جنس كيولكس Culex فهى الأكثر تأثرًا.

ولا ترتبط سمية هذا النوع البكتيرى بعملية التجرثم sporulation، فخلاياه الخضرية تقتل البعوض بكفاءة عالية، وعند ضبط معلق خلوى ذات عمر معين عند كثافة ضوئية معينة، فإن كمية المعلق المطلوبة لقتل (٥٠٪) من يرقات البعوض تتغير قليلًا أثناء دورة الخلية، كذلك فإن الخلايا غير المتجرثمة والطفرات المتجرثمة تكون سامة مثل السلالة الأم على الرغم من عـدم أو قلة التجرثم.



شكل (٢- ١٧) بكتيريا باسيلس سفريكس **B. sphaericus**

وتنمو بعض سلالات هذا الميكروب بتحليل المادة العضوية فى المياه الملوثة بشدة، مرجع ذلك - بالقطع - أن هذه المياه الملوثة هى بمثابة الموطن المفضل للعوائل الحشرية، وتقوم سلالات هذه البكتيريا بذلك سواء تواجد البعوض أم لا، وتؤدى معاملة البالوعات والمراحيض فى بعض الدول مثل تنزانيا بمستحضر عبارة عن مسحوق جاف من هذه السلالة البكتيرية بمعدل عشرة جرامات للمتر المربع إلى مقاومة يرقات البعوض لمدة تصل إلى (٦-١٠) أسابيع، وعلى عكس هذا الحال لا تستطيع بكتيريا باسيلس ثورنجينسيس أن تنمو مترممة فى هذه البيئة، كما أن بلوراتها وجراثيمها لا تقاوم طويلًا فى المياه الملوثة، وتشجع بعض الهيئات المعنية مثل منظمة الصحة الدولية (World Health Organization (WHO على تقييم وتطوير مبيدات ميكروبية تقاوم يرقات حشرات البعوض.

وكما هو الحال فى بكتيريا باسيلس ثورنجينسيس B. thuringiensis تنتج سلالات بكتيريا باسيلس سفريكس بروتين بلورى يؤدى فعله على يرقات البعوض بطريقة مشابهة لسموم بكتيريا باسيلس ثورنجينسيس، وتتألف المكونات الرئيسية لبلورة بكتيريا باسيلس سفريكس من مكونين من البروتين بحجم (٤ ,٥١) و (٩ ,٤١) كيلو دالتون، ولا يعتبر أى مكون بروتينى منهما سام بمفرده لليرقات إذ أن كلاهما مطلوبًا للسمية، ومن ثم يوصف هذا السم بالسم الثنائى Binary toxin، وعندما تتناول الآفات الحشرية الخلايا البكتيرية المتجرثمة المحتوية على بلورات هذه البكتيريا تذوب البلورات فى المعى الأوسط نتيجة قلوية المعى، كما يتم تحليل البروتينات حجم (٤ ,٥١) و (٩ ,٤١) كيلو دالتون إلى (٤٣)و (٣٩) كيلو دالتون بواسطة الإنزيمات المحللة للبروتين فى معى البعوض، وترتبط بروتينات التوكسين بالخلايا الطلائية للمعى الأوسط وهى المكان المستهدف لفعل السم، حيث ترتبط السموم بالـ microvilli محدثة تضخم hypertrophy وتحليل lysis الخلايا، ويؤدى هذا التفاعل إلى تثبيط التغذية، وفى النهاية إلى موت اليرقات، ويحدث السم تأثيره عن طريق عملية ADP-ribosylation للبروتينات المتخصصة فى خلايا اليرقات الحساسة، ومثل هذه الآلية للتسمم تم استنتاجها فى حالة توكسين ميكروب كلوستريديم بوتيولينم Clostridium botulinum C2 المسبب للتسمم الغذائى المعروف بالتسمم البوتيولينى، حيث يدخل أحد البروتينات فى عملية الارتباط بالغشاء الخلوى بينما يفرز البروتين الآخر تأثيرًا سامًا بواسطة ADP-ribosylation للفعل غير العضلى مما يؤدى إلى وقف عملية البلمرة ومن ثم تمزيق الشبكة الهيكلية الخلوية بداخل الخلية الحية.

وبالإضافة إلى السم الثنائى تنتج سموم أخرى (Mtx toxins) أثناء النمو الخضرى، إلا أن السم الثنائى هو الأكثر نشاطًا وأهمية فى نشاط المستحضرات الحيوية التجارية مثل مستحضر Vectolux.

وعلى الرغم من تطوير بعض المبيدات التجارية من بكتيريا باسيلس سفريكس B. sphaericus مثل المستحضر الحيوى Vectolux الذى أنتجته معامل أبوت Abbott إلا أن هذه البكتيريا لم تستغل بشكل كامل فى المكافحة الحيوية حتى الآن، ويرجع ذلك إلى التأثيرات السيئة للعوامل الحيوية وغير الحيوية على حيوية الجراثيم والنشاط المضاد لليرقات تحت الظروف الحقلية، ومن أهم العوامل غير الحيوية

التى تعوق التطوير التجارى لمبيدات أكثر من هذه البكتيريا الأشعة فوق البنفسجية فى المدى (UV-A (320 -400 nm) and UV-B (280 - 320 nm والتى تحلل المبيد وتبطل نشاطه، ويرجع تأثير الأشعة فوق البنفسجية على السموم الثنائية إلى تكوينها للـ peroxide radicals والتى تسبب عدم ثبات السم، ويتم التغلب على تأثير الإشعاع البنفسجى بحماية الجراثيم والسموم الثنائية باستخدام إضافات ومواد واقية للسم تزيد من ثباته تحت الظروف الحقلية.

ج- بكتيريا بانيباسيلس بوبليا Paenibacillus popilliae:

بكتيريا بانيباسيلس بوبليا Paenibacillus (= Bacillus) popilliae خلاياها ذات شكل عصوى، سالبة لجرام، متجرثمة (شكل ٢- ١٨)، وهى من البكتيريات صعبة النمو حيث تحتاج فى نموها إلى بيئة غذائية غنية تحتوى على مستخلص الخميرة أو الكازين أو أى مصدر يحتوى على أحماض أمينية وسكريات، ويحتاج هذا١ الميكروب فى نموه إلى العديد من الأحماض الأمينية والفيتامينات مثل فيتامين الثيامين Thiamine.



شكل (٢- ١٨) جراثيم بكتيريا بانيباسيلس بوبليا p.popilliae من دم يرقات الخنفساء اليابانية المصابة.

وقد تم عزل هذه البكتيريا من الخنفساء اليابانية Popillia japonica، وهى مثال آخر للبكتيريا المكونة للبلورات crystalliferous bacterium، إلا أنه من غير المعتقد أن هذه البلورات تلعب دورًا حقيقيًا فى الإصابة كما هو الحال فى بكتيريا باسيلس ثورنجينسيس، وبكتيريا باسيلس بوبليا ممرضة لخنافس الجعل المختلفة scarabaeid beetles، وعلى عكس بكتيريا باسيلس ثورنجينسيس وبكتيريا باسيلس سفريكس فإن هذا الميكروب لاينتج سمومًا، باستثناء بعد هضمه بواسطة اليرقات، وعندما تتناول يرقات الخنافس هذا الميكروب

فإنه يغزو فراغ الجسم haemocoel حيث تتضاعف لمدة نحو يومين مسببة الموت لليرقات، وتمر هذه البكتيريا من طور النمو الخضرى إلى طور التجرثم فى الحشرات الميتة حيث تنطلق كميات الجراثيم المتراكمة بعد موت الحشرات ومن ثم فإن هذه البكتيريا الممرضة تبقى فعالة جدًا لفترات طويلة من الزمن قد تصل لعدة سنوات فى التربة الزراعية.

وتموت الحشرات بسبب الجوع الفسيولوجى على أثر نمو خلايا البكتيريا فى دم الحشرة، ويلاحظ حدوث نقص شديد فى مخزون الدهن بالحشرات المريضة، وتلعب السموم دورًا فى موت الحشرات.

وتتميز هذه البكتيريا بضيق المدى العائلى الخاص بها بشكل كبير، وهى ميزة تجعلها مرغوبة من الناحية البيئية حيث لايخشى من تأثيرها على الحشرات النافعة، وهى آمنة تمامًا للإنسان والفقاريات حيث لاتنمو على٣٧مْ، كما تتميز بثباتها العالى - كما أسلفنا - مما يجعلها مؤثرة على الأمد الطويل، كذلك توافقها compatibility مع عوامل المكافحة الأخرى بما فيها المبيدات الكيميائية.

ويقدر عدد الجراثيم فى الحشرة الميتة بفعل هذا النوع البكتيرى بحوالى (١٠١٠) جرثومة، وتقاوم هذه الجراثيم ظروف التربة لفترة طويلة، وتتناول يرقات الخنافس حديثة الفقس هذه الجراثيم وبعد الإنبات والنمو فى الجهاز الهضمى تبدأ عملية العدوى ثانية، ويطلق على هذه الإصابة المرض اللبنى milky disease بسبب المظهر اللبنى لدم الحشرة المحتوية على جراثيم بكتيريا بانيباسيلس بوبليا P. popillliae، ومن الناحية النظرية تعتبر بكتيريا بانيباسيلس بوبليا P. popilliae بمثابة مبيد حشرى يتصف بالثبات على الرغم من أن هناك عوامل كثيرة تؤثر فى فعاليتها فى الطبيعة مثل الصفات الفيزيائية والكيميائية للتربة وظروف المناخ والممارسات الزراعية وكثافة أعداد اليرقات.

ومن ناحية أخرى، هناك معوقات تواجه استخدام بكتيريا بانيباسيلس بوبليا P. popilliae وهى تكلفة إنتاجيتها العالية فى النظم الحية in vivo إذ أن هذه البكتيريا ممرضة إجباريًا، ومن ثم فإن الوسيلة الوحيدة للحصول على الجراثيم للاستخدام التجارى هو تنمية البكتيريا على عوائلها من يرقات الخنفساء اليابانية، وتنتج الجراثيم تجاريًا بهذا الشكل على مستوى صغير لمقاومة حشرة الخنفساء اليابانية على النباتات الطبية والعطرية والمسطحات

الخضراء، وذلك على عكس بكتيريا باسيلس ثورنجينسيس التى يتم إنتاجها على البيئات الصناعية للإطلاق الضخم.

ويمكن إنتاج هذه البكتيريا على بيئات الزرع المعملية إلا أن تكلفة الإنتاج تكون عالية بسب طبيعة هذا الميكروب من حيث كونه صعب الإنماء A fastidious organism حيث ينمو على البيئات الغنية فقط المحتوية على مستخلص الخميرة والأحماض الأمينية والسكريات كالتريهالوز الموجود فى دم الحشرات وبعض الفيتامينات. ومن ناحية أخرى، يعاب على هذه البكتيريا معدل فعلها البطئ، وعدم تأثيرها على الخنافس البالغة التى تسبب الضرر الأكبر، إلى جانب عدم جاذبيتها نسبيًا لأصحاب الأراضى.

❖المنتجات التجارية المتاحة:

لقد عرف استخدام بكتيريا بانيباسيلس بوبليا P. popillae فى مكافحة الخنفساء اليابانية منذ العام (١٩٤٠)، ونظرًا لصعوبة إكثار هذه البكتيريا على بيئات زرع صناعية فقد استخدمت أفراد الخنفساء اليابانية كمصدر للبكتيريا الممرضة، حيث يتم خلط جراثيم البكتيريا الممرضة بمسحوق بودرة التلك (١٠٠ مليون جرثومة / جرام مسحوق بودرة تلك)، ثم يتم دفع المخلوط للتربة.

ويعتبر المنتج التجارى المسمى Doom أول مبيد حشرى ينتج تجاريًا ويحتوى على بكتيريا باسيلس بوبليا P. popilliae، وقد احتوى هذا المنتج التجارى على (١٠٠) مليون جرثومة حية من مزرعة مختلطة من بكتيريا بانيباسيلس بوبليا P. Popilliae وبكتيريا بانيباسيلس لنتيموربس P. lentimorbus للجرام الواحد من المسحوق الخامل المحملة عليه الجراثيم الميكروبية، ويستخدم هذا المبيد فى مكافحة الخنفساء اليابانية التى تصيب أكثر من (٢٧٥) نوع من نباتات المحاصيل الحقلية والفواكه والنباتات الطبية والعطرية مسببة خسائر فى هذه النباتات تصل إلى عدة ملايين من الدولارات.

وهناك منتجات تجارية أخرى كثيرة تحمل عدد من الأسماء التجارية مثل Grub Killer و Grub Attack و Milky spore.

❖الإنتاج الكمى:

يتم الإنتاج الكمى لبكتيريا بانيباسيلس بوبليا P. popilliae معمليًا in vitro على أوساط زرع صلبة تحتوى على مستخلص الخميرة وسكر التريهالوز والفوسفات. كما

تنتج الممرضات الإجبارية بانيباسيلس بوبليا P. popilliae وبانيباسيلس لنتيموربس P. lentimorbus فى كائن حى in vivo من خلال إحداث إصابة صناعية للطور اليرقى الثالث للخنفساء اليابانية وذلك بحقن (١٠٠٠٠٠) جرثومة من بكتيريا بانيباسيلس بوبليا P. popilliae فى دم يرقات سليمة، وتحضن اليرقات على ٢٨°م فى تربة تحتوى على بذور الراى rye وحشائش ملائمة أخرى مع توفير رطوبة ودرجة حرارة ٣٠°م، ثم تحصد اليرقات بعد ١٦-٢١ يوم عند ظهور أعراض مرئية لتطور المرض اللبنى milky disease، ويجرى طحن اليرقات المريضة، ويقدر عدد الجراثيم فى المسحوق، ويتبع ذلك التعقيم بمواد معقمة والتعبئة بخلط اليرقات المطحونة مع التـلك، ويتم توحيد مخلوط الجراثيم - التـلك قياسيًا ليحتوى على ١٠٠ مليون جرثومة لكل جرام من التراب، ثم يتم استخدامه فى التطبيقات الحقلية.

د- بكتيريا سيرراتيا انتوموفيلا Serratia entomophila:

تسبب بكتيريا سيرتيا انتوموفيلا S. entomophila المرض الكهرمانى amber لخنافس Costelystra zealandica وهى من الآفات الهامة التى تصيب pastures فى نيوزيلاندا، وقد تم تطوير هذه البكتيريا كمستحضر حيوى لمكافحة هذه الآفة الحشرية، حيث تلتصق هذه البكتيريا بالطبقة الكيتينية المبطنة للمعى الأمامى حيث تنمو بغزارة، وفى النهاية تتحول اليرقة إلى اللون الكهرمانى ثم تموت، وتنمو هذه البكتيريا بسهولة وتنتج كمية كبيرة من البيوماس على البيئات الصناعية حيث تصل أعدادها إلى ٤ × ١٠١٠ خلية / ملل، وقد أدى الإنتاج الناجح للبيوماس لهذا النوع إلى سرعة تسويقه، حيث يستخدم بشكل تجارى فى معاملة العشب المصاب بالحشرة بمعدل لتر لكل هكتار، وتستخدم المستحضرات السائلة من هذه البكتيريا حيث يتم رشها بآلات الرش السطحى.

ومن المستحضرات التجارية المعروفة لهذه البكتيريا مستحضر Bioshield المنتج فى نيوزيلندا.

المراجع:

Agaisse, H. and D. Lereclus (1995). How does *Bacillus thuringiensis* produce so much insecticidal crystal protein? J. Bacteriol. **177**, 6027– 6032.

Aly, N.A.H.; S.E.M. Abo-Aba and A.A.I. Ahmed (2006). Genetic transformation of *bacillus thuringiensis* insecticidal toxic genes to *e. coli* against *spodoptra littoralis* (boisd.) research. J. Agric. Biol. Sci., **2(6)**: 472-477.

Aronson, A.I. (1993). The two faces of *Bacillus thuringiensis:* Insecticidal proteins and post-exponential survival. Mol. Microbiol. **7:** 489–496.

Bauer, Leah S. Resistance: a threat to the insecticidal crystal proteins of *Bacillus thuringiensis*. Florida Entolomogist. **78(3)**: 414-443.

Bosch, D., B. Schipper, H. Van der Kleij, R.A. de Maagd and W.J. Stiekema (1994). Recombinant *Bacillus thuringiensis* crystal proteins with new properties: Possibilities for resistance management. Biol. Technol. **12:** 915 – 918.

Broderick, N.A., K.F. Raffa and J. Handelsman (2006). Midgut bacteria required for *Bacillus thuringiensis* insecticidal activity. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. **103(41)**:15196–15199.

Cahan, R., H. Friman and Y. Nitzan (2008). Antibacterial activity of Cyt1Aa from *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis*. Microbiol. **154**: 3529 - 3536.

Gonzalez - Cabrera, J., G.P. Farinos, S. Caccia, M. Diaz-Mendoza, P. Castanera, M.G. Leonardi, B. Giordana and J. Ferre (2006). Toxicity and Mode of Action of *Bacillus thuringiensis* Cry Proteins in the Mediterranean Corn Borer, *Sesamia nonagrioides* (Lefebvre). Appl. Environ. Microbiol. **72**: 2594 - 2600.

Hadapad, A.B., N. Vijayalakshmi, R.S. Hire and T.K. Dongre (2008). Effect of ultraviolet radiation on spore viability and mosquitocidal activity of an indigenous ISPC-8 *Bacillus sphaericus* Neide strain. Acta Trop. **107**: 113–116.

Hernandez-Rodriguez, C.S., A. Van Vliet, N. Bautsoens, J. Van Rie and J. Ferre

(2008). Specific binding of *Bacillus thuringiensis* Cry2A insecticidal proteins to a common site in the midgut of *Helicoverpa* species. Appl. Environ. Microbiol. **74**: 7654 - 7659.

Ibargutxi, M.A., A. Estela, J. Ferre and P. Caballero (2006). Use of *Bacillus thuringiensis* toxins for control of the cotton pest *Earias insulana* (Boisd.) (Lepidoptera: Noctuidae). Appl. Environ. Microbiol. **72**: 437- 442.

Jian, X., L. Qin, Y. Xiang-dong and Z. Shu-de (2006). A review of recent development of *Bacillus thuringiensis* ICP genetically engineered microbes. Entomological J. East China **15(1)**:53–58.

Lacey, L.A.; R. Frutos; H.K. Kaya and P. Vail (2001). Insect pathogens as biological control agents: do they have a future? Biol. Control **21:** 230 – 248.

Oeda, K., K Inouye, Y Ibuchi, K Oshie, M Shimizu, K Nakamura, R Nishioka, Y Takada, and H Ohkawa (1989). Formation of crystals of the insecticidal proteins of *Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai* IPL7 in *Escherichia coli*. J Bacteriol. **171(6)**: 3568–3571.

Pigott, C.R. and D.J. Ellar (2007). Role of receptors in *Bacillus thuringiensis* crystal toxin activity. Microbiol. Mol. Biol. Rev. **71**: 255-281.

Schnepf, E.; N. Crickmore, J. Van Rie, D. Lereclus, J. Baum, J. Feitelson; D.R. Zeigler and D.H. Dean (1998). *Bacillus thuringiensis* and its pesticidal crystal proteins. Microbiol Mol Biol Rev. **62(3)**:775-806.

Schnepf, E.; N. Crickmore; J. Van rie; D. Lereclus; J. Baum and J. Feitelson; D. R. Zeigler and D. H. Dean (1998). *Bacillus thuringiensis* and Its Pesticidal Crystal Proteins. Microbiol. and Molecular Biol. Reviews **62(3)**: 775-806.

Thomas, D.J.I., J.A.W. Morgan, J.M. Whipps and J.R. Saunders (2000). Plasmid transfer between the *Bacillus thuringiensis* subspecies *kurstaki* and *tenebrionis* in laboratory culture and soil and in Lepidopteran and

Coleopteran larvae. Appl. And Envier. Microbiol., **66**: 118-124.

Toledo, J., P. Liedo, T. Williams and J. Ibarra (1999). Toxicity of *Bacillus thuringiensis* β-exotoxin to Three Species of Fruit Flies (Diptera: Tephritidae) J. Econom. Entomol. **92(5)**:1052-1056.

Tu, Z., G. He, K.X. Li and X. Wu (2005). An improved system for competent cell preparation and high efficiency plasmid transformation using different *Escherichia coli* strains. J. Biotech. **8**: 113-120.

Vega, F.E., P.F. Dowd; L.A. Lacey; J.K. Pell; D.M. Jackson and M.G. Klein (2000). Dissemination of beneficial microbial agents by insects. *In* "Field Manual of Techniques in Invertebrate Pathology: Application and Evaluation of Pathogens for Control of Insects and Other Invertebrate Pests" (L. A. Lacey and H. K. Kaya, Eds.), pp. 152–177. Kluwer Academic, Dordrecht.

Vettori, C.; D. Paffetti; G. Stotzky and R. Giannini (2004). Genetic exchange between *Bacillus thuringensis* subsp. *kurstaki* and the indigenous microbiota in soils of sardinia. Proceedings of the XLVIII Italian Society of Agricultural Genetics – SIFV-SIGA Joint Meeting Lecce, Italy – 15/18 September, 2004

Wang, P.; J-Z. Zhao; A. Rodrigo-Simon; W. Kain; A. F. Janmaat; A. M. Shelton; J. Ferre and J. Myers (2007). Mechanism of resistance to *Bacillus thuringiensis* Toxin Cry1Ac in a Greenhouse Population of the Cabbage Looper, *Trichoplusia ni*. Appl. Environ. Microbiol. **73**: 1199-1207.

Warrior, P., K. Konduru and P. Vasudevan. (2002). Formulation of biological control agents for pest and disease management. *In*: Gnanamanickam, S.S. (Ed.), Biol. Control Crop Diseases. Marcel-Dekker, New York, pp. 421 – 441.

الفصل الثالث
المبيدات البكتيرية المستخدمة في مكافحة البكتيريا الممرضة للنبات

❖مقدمة:

عُرف استخدام البكتيريا فى مكافحة مسببات الأمراض البكتيرية للنبات منذ زمن بعيد، وذلك نظرًا للآليات التى تمتلكها البكتيريا مثل التطفل وإنتاج السموم والمضادات الحيوية والإنزيمات المحللة والتنافس على المواد الغذائية فى الوسط وحث مقاومة النبات وتنبيه صحة وقوة النبات، ففى الهند استخدمت بكتيريا مضادة فى المكافحة الحيوية لمرض الذبول البكتيرى bacterial wilt الحادث للنباتات العشبية بواسطة بكتيريا سيدوموناس سولانى Pseudomonas solani. وحاليًا تستخدم سلالات بكتيرية عديدة من أجناس متنوعة مثل باسيلس Bacillus وآجروباكتيريم Agrobacterium، وسيدوموناس Pseudomonas واروينيا Erwinia فى مكافحة الكثير من مسببات الأمراض البكتيرية (جدول ٢-٥).

❖المبيدات البكتيرية:

فى العام (١٩٥٥) عزل زيماير Zeumayer بعض أنواع من البكتيريا أدى إضافتها للتربة الزراعية إلى مكافحة أنواع من البكتيريا الممرضة للنبات مثل بكتيريا زانثوموناس كامبستريس فاسيولى[X. campestris pv. phaseoli [X. axonopodis pv. phaseoli المسببة لمرض اللفحة البكتيرية الشائعة فى الفاصوليا، وبكتيريا كرتوبكتريم فلاكمفاسينس (Curtobacterium flaccumfaciens pv. flaccumfaciens (= Corynebacterium flaccemfaciens التى تسبب الذبول والتبقع لبعض البقوليات كالفاصوليا وفول الصويا.

جدول (٢-٥) المكافحة الحيوية للبكتيريا الممرضة للنبات.

البكتيريا الممرضة والمرض	عامل المكافحة الحيوية
منطقة الفيلوسفير مرض اللفحة النارية اروينيا اميلوفورا Erwinia amylovora	

التفاح والكمثرى	بانتويا اجلوميرانس Pantoea agglomerans
النباتات العطرية	بانتويا اجلوميرانس Pantoea agglomerans
الذبول البكتيرى لحشيشة الراى زانثوموناس كامبستريز Xanthomonas campestris pv. graminis	سيدوموناس فلوريسنس Pseudomonas flourescens، بانتويا اجلوميرانس Pantoea agglomerans
التبقع البكتيرى على الطماطم سيدوموناس سيرنجى Pseudomonas syringe pv. papulans	سيدوموناس فلوريسنس Pseudomonas flourescens
منطقة الريزوسفير التدرن التاجى	
اجروباكتيريم تيوميفاسينس Agrobacterium tumifaciens	اجروباكتيريم راديوباكتر Agrobacterium radiobacter strain K84 and strain K1026
العفن الطرى فى البطاطس اروينيا كاروتوفورا تحت نوع كاروتوفرا E. carotovora subsp carotovora	اروينيا كاروتوفورا تحت نوع تترافاسكيولارم Erwinia carotovora subsp tetravasculorum
العفن الطرى والساق الأسود فى البطاطس اروينيا كاروتوفورا تحت نوع كاروتوفرا واتروسبيتيكا E. carotovora subsp carotovora & atroseptica	أفراد سيدوموناس الفلورسنتية سيدوموناس فلوريسنس Pseudomonas flourescens
الذبول البكتيرى فى الطماطم سيدوموناس سولانسيرم Pseudomonas solanacearum	طفرة غير ممرضة من Tn 5

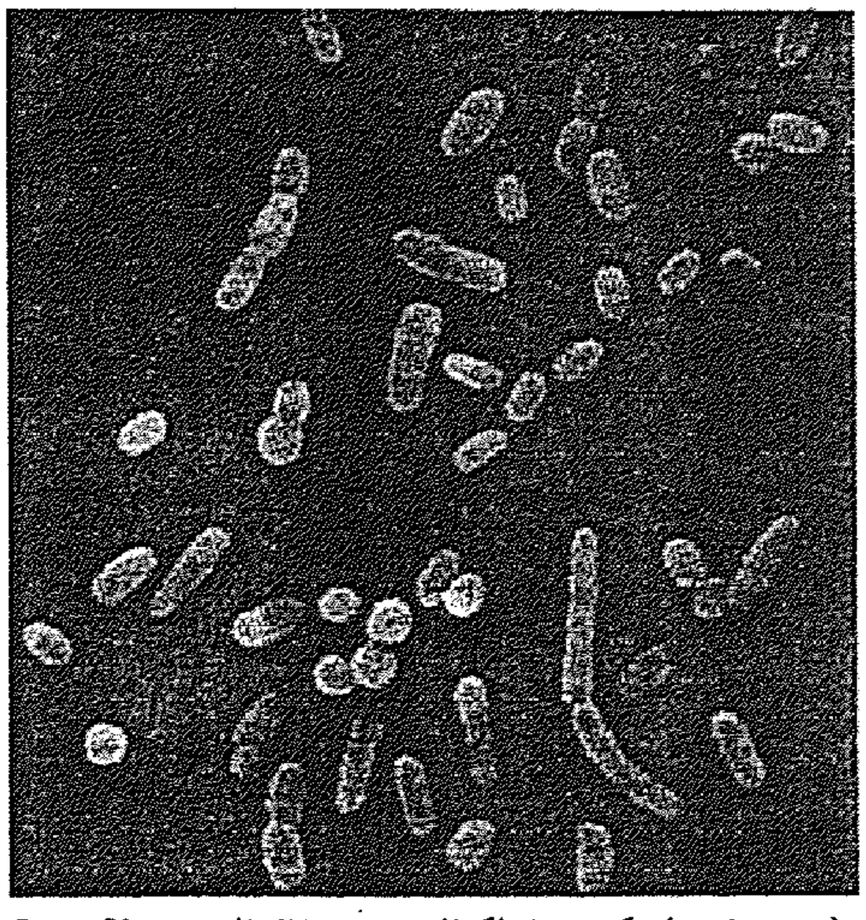
وتنتج بكتيريا بانتويا اجلوميرانس Pantoea agglomerans (التى كانت تعرف سلفًا باسم اروينيا هربيكولا Erwinia herbicola) مضادات حيوية تعرف باسم بانتوسينات pantocins (هربيكولينات herbicolins)، (جدول ٢ - ٦)، وهى تماثل المضادات الحيوية التى ينتجها جنس البكتيريا الشهير ستربتوميسيس Streptomyces.

جدول (٢-٦) إنتاج المضادات الحيوية بواسطة بكتيريا بانتويا اجلوميرانس.

المركب المضاد للميكروبات	الكائن الذى يتم تثبيطه
الأحماض العضوية	اروينيا اميلوفورا Erwinia amylovora
انزيم بيتا جلوكوسيديز β-glucosidase	اروينيا اميلوفورا Erwinia amylovora
بيتا لاكتام β-lactam (غير ثابت تمامًا)	عدد كبير من البكتيريا
هربيكولين صفر Herbicolin 0	عدد كبير من البكتيريا
هربيكولين I Herbicolin I 1	عدد محدود من البكتيريا
هربيكولين 112 واى Herbicolin 112Y (غير بروتينى)	عدد محدود من البكتيريا

ويؤدى إضافة لقاحات من بكتيريا باسيلس ستلس Bacillus subtilis للتربة إلى مكافحة بكتيريا زانثوموناس كامبيستربز Xanthomonas campestris التى تصيب بادرات الموالح مسببة مرض تقرح الموالح، ولميكروب باسيلس ستلس B. subtilis نشاط تثبيطى ضد أنواع عديدة من البكتيريا الممرضة للنبات حيث ينتج عديد من المواد المضادة والمواد السطحية القوية، كما ينتج هذا الميكروب عامل مخلبى للحديد (2,3 - dihydroxybenzoylglycine) 2,3-DHBG والذى يحرم الممرضات النباتية من الحديد، كذلك تنتج هذه البكتيريا كميات كبيرة من إنزيم البروتييز protease الذى يهاجم الجدر الخلوية للميكروبات الممرضة للنبات.

ولبكتيريا الكاليجينيز فاكاليس Alcaligenes facalis (شكل ٢-١٩)، وهى من البيتا بروتيوبكتيريا، مجال تثبيطى واسع ضد عدد كبير من الميكروبات الممرضة للنبات حيث تنتج هذه البكتيريا هيدروكسيل أمين hydroxylamine، وتكافح هذه البكتيريا مرض سقوط البادرات فى الطماطم.



شكل (٢- ١٩) بكتيريا الكاليجينيز فاكاليس A. facalis

وتتطفل البكتيريا الواوية الشكل إجباريًا على بكتيريات من جنس سيدوموناس Pseudomonas وجنس زانثوموناس anthomonas، حيث يلتصق طرف الخلية البكتيرية الواوية الشكل المتطفلة على سطح بكتيريات سيدوموناس وزانثوموناس المتطفل عليها.

❖المنتجات التجارية:

لاختبار وتطوير عامل مكافحة حيوية أو أكثر من العوامل المتواجدة طبيعيًا لمكافحة مسبب مرضى ما أو مرض معين مثل ميكروب اروينيا اميلوفورا Erwinia amylovora المسبب لمرض اللفحة النارية fire blight فى التفاح والكمثرى فإن ذلك يحتاج إلى عدة خطوات كما يلى:

١- يتم جمع عوامل المكافحة الحيوية المحتملة، أى عزل وزرع البكتيريا الموجودة على سطح النبات مثل النوع بانتويا اجلوميرانسPantoea agglomerans والنوع سيدوموناس سيرنجى Pseudomonas syringe.

٢- يتم توصيف الميكروبات المعزولة فى المعمل من خلال اختبارها لإنتاج المركبات المضادة للميكروبات الممرضة للنبات.

٣- يجرى اختبار أولى لعامل المكافحة الحيوية.

٤- تجرى اختبارات ثانوية تتضمن تجارب الصوبة الزجاجية على النباتات الصغيرة تحت ظروف متحكم فيها تمامًا.

٥- تجرى تجارب حقلية على مستوى صغير تحت ظروف المحصول فى وجود المسبب المرضى، وأخيرًا على مستوى كبير تحت ظروف المحصول المعرض لإصابة طبيعية،

وذلك للعزلات المختارة للمكافحة الحيوية لتحديد نشاطها فى ظروف المحصول.

٦ - يتم تطوير مستحضرات تجارية من عامل المكافحة الحيوية.

ويتوفر بالأسواق التجارية عدد محدود من المستحضرات الحيوية المحتوية على البكتيريا كمبيدات حيوية لمكافحة مسببات الأمراض من البكتيريات الأخرى، ومن هذه المستحضرات مايلى:

أ - اجروباكتيريم راديوباكتر Agrobacterium radiobacter:

يعرف من هذا النوع سلالتين هما:

١ - اجروباكتيريم راديوباكتر A. radiobacter strain K84:

توجد هذه السلالة البكتيرية فى كثير من الأوساط البيئية كالتربة الزراعية فى منطقة المحيط الجذرى للنباتات، وتستخدم مستحضراتها فى مكافحة مرض التدرن التاجى crown gall disease الذى تسببه بكتيريا أجروبكتيريم تيوميفاسينس A. tumefaciens وبكتيريا اجروباكتيريم رايزوجينيس A. rhizogenes، وينتشر هذا المرض فى كل دول العالم فى نباتات الخضروات كالطماطم (شكل ٢-٢٠) وفى الكثير من أشجار الفاكهة المعمرة مثل التفاح والكمثرى والأعناب وأشجار الفواكه ذات النواة الحجرية، ويؤدى المرض إلى نقص كبير فى المحصول.

ويعرف المستحضر التجارى لهذه السلالة باسم Galltrol - A، وهو عبارة عن لقاح من السلالة النقية يتم تحضيره على هيئة معلق فى الماء غير المحتوى على الكلور، ويعامل بهذا اللقاح البذور والبادرات والجذور والسيقان والعقل.



شكل (٢- ٢٠) التدرن التاجي في الطماطم

ويرجع التأثير التضادى لمستحضرات سلالة أجروباكتيريم راديوباكتر A. radiobacter strain K84 إلى إفرازها للمضاد الحيوى آجروسين Agrocin 84 84 (شكل ٢-٢١) الذى يثبط نمو العديد من السلالات البكتيرية المسببة لمرض التدرن التاجى.



شكل (٢-٢١) آلية المكافحة الحيوية بالتثبيط antibiosis
لميكروب ممرض باستخدام السلالة k84

٢- اجروباكتيريم راديوباكتر A. radiobacter strain K1026:

تم إنتاج هذه السلالة البكتيرية حديثًا على أثر تغيير وراثى بسيط للسلالة A. radiobacter K84؛ حيث يتم إزالة جزء صغير من الحامض النووى د.ن.أ. DNA من السلالة K84، ويساعد إزالة هذه المادة الوراثية على منع السلالة K1028 من نقل قطعة من الحامض النووى د.ن.أ. إلى البكتيريا التى تسبب مرض التدرن التاجى crown gall وتقلل من فرص المقاومة، ويكافح المركب السام المنتج بواسطة السلالة K1026 والسلالة K84 بعض أنواع جنس اجروباكتيريم Agrobacterium الأخرى التى تسبب مرض التدرن التاجى.

ويستخدم المبيد الحيوى المحتوى على السلالة البكتيرية اجروباكتيريم راديوباكتر A. radiobacter - والمعروف تجاريًا تحت اسم نوجال Nogall - بخلطه بالماء لتكوين محلول تنقع فيه البذور النابتة والسيقان والجذور والعقل لمكافحة البكتيريا المسببة لمرض التدرن التاجى من النوعين اجروباكتيريم تيوميفاسينس A. tumefaciens واجروباكتيريم رايزوجينيس A. rhizogenes، وتعامل بهذا المبيد الحيوى بذور اللوز والمشمش والكرز والخوخ والمانجو، وجذور وسيقان اللوز والمشمش والخوخ والمانجو، وعقل اللوز والمشمش والخوخ والمانجو والنباتات الطبية والعطرية والورد.

ولاينتج عن استخدام هذا المبيد الحيوى فى تطبيقات المكافحة البيولوجية أى تأثيرات ضارة على صحة الإنسان وسلامة النظم البيئية.

ب - سيدوموناس فلوريسنس Pseudomonas flourescens:

تستخدم بكتيريا سيدوموناس فلوريسنس P. flourescens فى مكافحة بكتيريا سيدوموناس تالاسى P. talassi على فطريات عيش الغراب mushrooms، وقد تم تسجيل مبيد تجارى منها يحمل اسم كونكيور Conquer فى أمريكا واستراليا.

وهناك سلالة ثانية من نفس هذا النوع البكتيرى تحمل رقم NCIB12089 تستخدم أيضًا فى مكافحة نفس النوع البكتيرى سيدوموناس تالاسى P. talassi المسبب لمرض اللطعة blotch على فطريات عيش الغراب mushroom، ويؤدى هذا المبيد البكتيرى فعله عن طريق التضاد antagonistic، ويوجد من هذه السلالة مستحضر تجارى يطلق عليه فيكتس Victus تم تسجيله بالولايات المتحدة الأمريكية، كما يوجد منها مستحضر تجارى آخر يعرف باسم « كونكيور Conquer » يستخدم رشًا لمكافحة السلالة سيدوموناس تالاسى P. talassi.

كما توجد سلالة ثالثة من هذه البكتيريا، يتم توظيفها لمكافحة بكتيريا اروينيا اميلوفورا Erwinia amylovora المسببة لمرض اللفحة النارية fire blight لكثير من نباتات الخضروات والفاكهة مثل الطماطم والبطاطس والفراولة والخوخ والكمثرى والتفاح والكريز واللوز وغيرها، ويعتبر مرض اللفحة النارية من الأمراض البكتيرية الخطيرة، وينتشر هذا المرض فى دول كثيرة من بينها مصر، وتحمل المستحضرات الحيوية التجارية لهذه السلالة مسميات مختلفة مثل Blight Ban و A506 وهى مستحضرات مسجلة بالولايات المتحدة الأمريكية.

ج - رالستونيا سولاناسيارم Ralstonia solanacearum:

تقطن بكتيريا رالستونيا سولاناسيارم R. solanacearum التربة الزراعية (كانت تعرف سلفًا باسم سيدوموناس سولاناسيارم Pseudomonas solanacearum)، وهى بكتيريا سالبة لجرام تسبب أمراض للنباتات، وتتجمع هذه البكتيريا بالأوعية الخشبية xylem مسببة الذبول البكتيرى لعدد كبير من العوائل النباتية التى تصل إلى حوالى (٢٠٠) عائل تندرج

تحت (٥٠) عائلة مثل الطباق حيث تسبب الذبول المعروف باسم Granville wilt وغيره من نباتات البطاطس والطماطم والباذنجان والفلفل والموز.

ويستخدم المبيد البكتيرى المحتوى على مكون فعال من سلالات غير ممرضة من هذه البكتيريا فى مكافحة سلالات معينة من نفس النوع رالستونيا سولاناسيارم R. solanacearum المسبب لمرض الذبول البكتيرى فى نباتات العائلة الباذنجانية إلى جانب المرض المعروف باسم موكو Moko فى نباتات الموز، وتنتج السلالات المستخدمة فى المكافحة الحيوية بكتريوسين bacteriocins. ويوجد من هذا النوع البكتيرى مستحضر تجارى فى الأسواق يحمل اسم PSSOL تم تسجيله بفرنسا.

❖المراجـع:

EPPO/CABI (1996) *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*. *In*: Quarantine pests for Europe. 2nd edition (Ed. by Smith, I.M.; McNamara, D.G.; Scott, P.R.; Holderness, M.). CAB International, Wallingford, UK.

Farrand, S.K. (1990). *Agrobacterium radiobacter* K84: a model biocontrol system pp. 679-691 *In*: New Directions in Biological Control: Alternatives for Suppressing Agricultural Pests And Diseases, Publ. Alan R. Liss Inc.

Kearns, L.P. and C.N. Hale (1996). Partial characterization of an inhibitory strain of *Erwinia herbicola* with potential as a biocontrol agent for *Erwinia amylovora*, the fire blight pathogen. J. Appl. Bacteriol. **81**:369–374.

Lemessa, F. and W. Zeller (2007). Screening rhizobacteria for biological control of *Ralstonia solanacearum* in Ethiopia. Biological Control **42(3)**:336-344.

Lwin, M. and S.L. Ranamukhaarachchi (2006). Development of biological control of *Ralstonia solanacearum* through antagonistic microbial populations. Int. J. Agric. Biol. **8(5)**:675 - 660.

Mensink, B.J.W.G. and J.W.A. Scheepmaker (2007). How to evaluate the environmental safety of microbial plant protection products: a proposal, Biocontrol Sci. and Technol. **17**: 3 – 20.

Toyota, K. and M. Kimura (2000). Suppresision of *Ralstonia solanacearum* in soil following colonization by other strains of *R. solanacearum*, Soil Sci. Plant Nutr. **46**:449 – 459.

Van Lenteren, J.C. (2000). A greenhouse without pesticides: fact or fantasy?, Crop Protection **19**:.375 – 384.

Van Loon, L.C.; P.A.H.M. Bakker and C.M.J. Pieterse (1988). Systematic resistance induced by rhizosphere bacteria. Annu. Rev. Phytopathol. **36**:453-483.

Völksch, B. (2006). Characterization of the inhibitory strain *Pantoea* sp. 48b/90 with potential as a biocontrol agent for bacterial plant pathogens. Mitt. Biol. Bundesanst. Land-Forstwirtsch. **408**:216 – 219.

Völksch, B. and U. Sammer (2008). Characterization of the Inhibitory Strain *Pantoea* sp. 48b/90 with Potential as a Biocontrol Agent for Bacterial Plant Pathogens. M'B. Fatmi *et al.* (eds.), *Pseudomonas syringae* Pathovars and Related Pathogens. *P.* 111 Springer Science + Business Media B.V.

Waage, J.K. (2001). Indirect ecological effects in biological control: the challenge and the opportunity. *In*: E. Wajnberg, J.K. Scott and P.C. Quimby, Editors, Evaluating indirect ecological effects of biological control, CABI Publishing, Wallingford, pp. 1 – 12.

Whipps, J.M. (2001). Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. J. Experimental Botany **52:**487 – 511.

Wilson, C.L. (1997). Biological control and plant diseases – a new paradigm. J. Ind. Microbiol. Biotechnol. **19:**158 – 159.

الفصل الرابع
المبيدات البكتيرية المستخدمة في مكافحة الفطريات الممرضة للنبات

❖مقدمة:

مما لاشك فيه أن هناك تنامى ملحوظ فى معرفة الكثير من العامة بالتأثيرات الضارة التى تنتج عن استخدام مبيدات الآفات الكيميائية على صحة الإنسان والحيوان، وقد أدى ذلك للبحث عن تقنيات مستدامة بيئيًا فى إنتاج الحاصلات الزراعية، وفى هذا المجال فقد أمكن توظيف البكتيريا على مستوى كبير وناجح فى مكافحة الكثير من مسببات أمراض النبات من الفطريات المختلفة، وتلعب البكتيريا دورًا فى تحسين نمو النبات أيضًا؛ ومن ثم تحث دفاعاته بشكل غير مباشر ضد غزو الفطريات الممرضة.

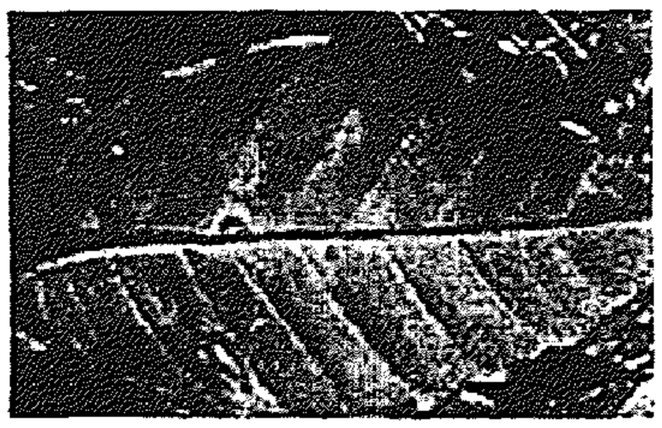
ويقى الكثير من أنواع البكتيريا النباتات من المسببات المرضية الفطرية عن طريق توظيف العديد من الميكانيكيات البكتيرية مثل التنافس على مكان المعيشة والمواد الغذائية، والتضاد الحيوى، وتحليل تركيبات العائل بواسطة العديد من النظم الإنزيمية كالكيتينيز وبيتا - (١، ٣) - جلوكانيز، والتطفل، وإنتاج سيانيد الهيدروجين، وإنتاج السموم، وحث استجابة النبات العائل للمقاومة، ومنع تكوين الحوافظ الجرثومية.

ومن هذا المنطلق تستخدم بكتيريا زانثوموناس جوجلاندیز Xanthomonas juglandis فى مكافحة الفطر الأسكى دورثيوريلا جريجاريس Dorthiorella gregaris الذى يسبب أمراض للنباتات مثل أشجار الجوز.

وتنتج بكتيريا سيرراتيا مارسيسنس Serratia marcescens العديد من إنزيماتها المحللة لبوليمر الكيتين بكلا نوعيها الخارجى والداخلى، وهذه الإنزيمات مفيدة فى تثبيط الفطريات الممرضة للنبات لاحتوائها على الكيتين كمكون رئيسى ضمن تركيبها، ويصل عدد إنزيمات الكيتينيز فى بعض السلالات إلى أربعة إنزيمات، كما تنتج هذه البكتيريا المضاد الحيوى بروديجيوسين prodigiosin وهو عامل مضاد للفطريات، كما تحث بعض السلالات مقاومة النبات العائل للأمراض المختلفة.

وتستخدم بكتيريا باسيلس ستلس Bacillus subtilis فى مكافحة الفطر البازيدى ثاناتيفورس كيوكيوميريز Thanatephorus cucumeris (رايزوكتونيا سولانى Rhizoctonia solani) الذى يسكن التربة الزراعية ويسبب كثير من الأمراض الخطيرة لعدد من العوائل النباتية من خلال تأثيره على الجذور والدرنات والكورمات والسيقان، ومن أمثلة النباتات التى يصيبها هذا الفطر نبات البنجر حيث يسبب له مرض الجذر الأسود. وتفيد بعض سلالات بكتيريا باسيلس ستلس B. subtilis فى مكافحة اللفحة head blight التى يسببها فطر فيوازريم جراميناروم Fusarium graminearum فى نباتات القمح والشعير، ومن المعروف عن بكتيريا باسيلس ستلس B. subtilis أنها تنتج العديد من المواد ذات الأنشطة القوية المثبطة للفطريات الممرضة للنبات مثل الببتيدات الدهنية lipopeptide واتيورين أ iturin A وبلياستاتن plipastatin والعديد من المواد السطحية الحيوية مثل المادة السطحية القوية جدًا سيرفكتين surfactin.

وتؤثر بعض أنواع من البكتيريا تأثيرًا ضارًا على فطريات الأصداء rusts، وذلك عن طريق إفراز بعض المواد الضارة ذات التأثير السام لهذه الفطريات، وبصفة خاصة إذا توافرت لها رطوبة عالية إلى جانب درجة حرارة عالية نسبيًا، كما هو الحال فى استخدام العديد من أنواع البكتيريا مثل بكتيريا باسيلس ثورينجينسيس B. thuringiensis وبكتيريا الأندوفايت فى مكافحة الفطر البازيدى هيميليا فاستاتريكس Hemileia vastatrix Berkeley & Bromme الذى يسبب مرض صدأ القهوة coffee rust (صدأ أوراق البـن Coffee leaf rust) فى نباتات البن Coffea arabica Linnaeus (شكل ٢-٢٢) فى مناطق كثيرة بأفريقيا وأسيا وأستراليا.



شكل (٢ -٢٢) أعراض صدأ أوراق البن الحادثة بواسطة فطر هيميليا فاستاتريكس H.vastatrix

وفى العام (١٩٧٨) استخدمت الأنواع البكتيرية التابعة لجنس سيدوموناس Pseudomonas spp فى مكافحة فطر الصدأ البازيدى باكسينيا ألياى Puccinia allii الذى يسبب مرض صدأ الكرات Allium porrum.

وتحلل بكتيريا باسيلس سيريس B. cereus كثير من فطريات التربة الزراعية نتيجة إفرازها لإنزيمات محللة مثل إنزيم الكيتينيز وإنزيم اللامينايز laminarinase، حيث تحفز هذه الإنزيمات تفاعلات فك بلمرة الكيتين بجدر خلايا كثير من مسببات الأمراض من الفطريات.

وتعتبر بعض أنواع البكتيريا المثبتة للنيتروجين الجزيئ diazotrophes - مثل أنواع جنس رايزوبيوم Rhizobium الذى تعيش أفراده معيشة تكافلية مع نباتات البقول كالفول والعدس والحلبة والحمص والترمس وغيرها، وجنس أزوتوباكتر Azotobacter الذى يعيش معيشة حرة فى التربة الزراعية - بذات أهمية كبيرة فى حقل المكافحة الحيوية للعديد من الفطريات التى تسبب أمراض للنباتات، ويشير ذلك إلى دور آخر هام للقاحات الميكروبية (الأسمدة الحيوية biofertilizers) فى المكافحة الحيوية لمسببات أمراض النبات من الميكروبات المختلفة.

❖الأنواع البكتيرية المستخدمة فى مكافحة الفطريات:

من أهم الأنواع البكتيرية المستخدمة كمبيدات حيوية لمقاومة مسببات الأمراض الفطرية بشكل تجارى فى كثير من الدول المتقدمة - بصفة خاصة - مايلى:

١- أنواع جنس ستربتوميسيس Streptomyces:

يتوفر بالأسواق التجارية فى الوقت الراهن عدد من العناصر الحيوية من جنس ستربتوميسيس Streptomyces (شكل ٢- ٢٣) - الذى يتبع مجموعة الأكتينوميسيتات Actinomycetes - المستخدمة فى وقاية النباتات من الأمراض الفطرية التى يحدثها المسبب المرضى رايزوكتونيا باتاتيكولا R.bataticola (سكليروتيم باتاتيكولا Sclerotium bataticola).



شكل (٢ -٢٣) بكتيريا streptomyces sp.

أ- ستربتوميسيس ليديكس S. lydicus strain WYEC108:

من الشائع وجود هذه السلالة بشكل طبيعى فى التربة الزراعية وغيرها من الأوساط البيئية الأخرى، ويؤدى هذا الميكروب دوره الابادى بالتجمع على حواف جذور النباتات النامية والتطفل على الفطريات التى تسبب أمراض الجذور - مثل أنواع جنس الفيوزاريم Fusarium والبيثيم Pythium والرايزوكتونيا Rhizoctonia والفيتوفثورا Phytophthora والفيتوماتوتريكم Phytomatotricum والأفانوميسيز Aphanomyces والمونوسبراسكس Monosprascus والأميلاريا Amillaria والسكليروتينيا Sclerotinia والبوستيا Postia والفيرتيسيليم Verticillium والجيوتريكم eotrichum.

وكذلك يفرز هذا الميكروب مضادات حيوية فى منطقة المحيط الجذرى rhizosphere للنبات تقوم بفعل مضاد لهذه الفطريات الممرضة، وكذلك تنتج هذه السلالة البكتيرية فى منطقة الريزوسفير مواد أيضية منشطة لنمو النبات فى غياب الفطريات التى تتضاد معها.

ومن المعتاد إضافة المبيد الحيوى الذى يحمل الاسم التجارى «أكتينوفيت Actinovate» والمحتوى على هذه السلالة إلى التربة الزراعية أو إلى الحشائش النامية بها. ويستخدم هذا المبيد فى مجال البساتين لضمان تطور نمو الجذور بشكل طبيعى وصحى، وزيادة قوة النباتات بصفة عامة، والقضاء على المسببات المرضية وجراثيمها فى التربة حول جذور النباتات النامية.

ومن المعتقد أن دور هذا الميكروب فى زيادة نمو وقوة النبات إنما يرجع إلى تيسيره لبعض العناصر الغذائية وبصفة خاصة عنصر الحديد المرتبط بالفيتات العضوية بسبب طبيعتها المخلبية. ويستخدم المبيد الحيوى أكتينوفيت Actinovate فى وقاية المزروعات من عدد كبير من فطريات تعفن الجذور، كذلك يستخدم فى وقاية نباتات الصوب الزجاجية من مرض البياض الدقيقى powdery mildew.

ولم يتم تسجيل أى أضرار للإنسان أو البيئة من جراء استخدام هذا المبيد الحيوى.

ب- ستربتوميسيس جريسيوفيرديس S. griseoviridis strain K6:

تنتشر هذه السلالة البكتيرية بالتربة، وتستخدم فى مكافحة الفطريات المسببة للأمراض من خلال تجمعها فى المحيط الجذرى بأعداد كبيرة قبل الفطريات المسببة للأمراض، حيث تنافسها

على الغذاء والمأوى، وتنتج هذه السلالة الكثير من المواد الكيميائية التى تهاجم الفطريات الضارة بالتربة مثل فطريات الفيوزاريم Fusarium والألترناريا Alternaria والرايزوكتونيا Rhizoctonia والبيثيوم Pythium والبوترايتس Botrytis والفيتوفيثورا Phytopthora والفوموبسيس Phomopsis والتى تسبب أمراض الذبول والعفن للبذور والجذور والسيقان. وتؤدى هذه السلالة البكتيرية فعلها الابادى من خلال آليات التنافس والتضاد.

وتباع هذه السلالة البكتيرية فى صورة مستحضر حيوى تحت نفس المسمى التجارى « ميكوستوب Mycostop »، وقد تم تسجيل هذا المستحضر فى أمريكا وفنلندا، ويستخدم هذا المبيد البكتيرى فى مكافحة أمراض التساقط وعفن الجذور والسيقان فى كثير من النباتات مثل الخضروات كالخيار والطماطم والفلفل والخس والنباتات الطبية والعطرية النامية فى الصوب، وتستهدف هذه السلالة بشكل أساسى فطر الفيوزاريم Fusarium، إلا أنها تكافح أيضًا فطريات الرايزوكتونيا Rhizoctonia والبيثيوم Pythium والبوترايتس Botrytis والفيتوفيثورا Phytophthora والفوموبسيس Phomopsis.

٢- أنواع جنس باسيلس Bacillus:

تحتل أنواع جنس باسيلس Bacillus مكانة خاصة فى مجال المكافحة الحيوية بسبب مقدرتها على البقاء survival لفترة طويلة تحت الظروف البيئية السيئة لتكوينها لجراثيم داخلية endospores تتحمل هذه الظروف، وحث العديد من أنواع الجنس للمقاومة systemic resistance لدى النباتات، وقيام الكثير من الأنواع بدور مزدوج سواء فى المكافحة الحيوية أو فى حث نمو النبات، بالإضافة إلى مقدرته التضادية antibiosis القوية ضد عدد كبير من الميكروبات الممرضة للنبات.

وتعتبر أفراد جنس باسيلس Bacillus عوامل مثالية فى مجال المكافحة الحيوية لمسببات أمراض النبات مقارنة بالكثير من البكتيريا الأخرى المستخدمة فى المكافحة الحيوية مرجع ذلك مقدرتها على تكوين الجراثيم الداخلية، والأخيرة طور من أطوار السكون يقاوم الجفاف والحرارة والعوامل المؤكسدة والأشعة فوق البنفسجية UV radiation وأشعة جاما gamma radiation، إلى جانب إمكانية حفظ مستحضراتها التجارية لفترة طويلة، وإنتاجها لمضادات حيوية ثابتة بشدة.

وأنواع جنس باسيلس Bacillus واسعة الانتشار فى الطبيعة حيث توجد بكثرة فى التربة لتقوم بدور هام فى إنتاج المضادات الحيوية والمكافحة الحيوية لعدد كبير من مسببات الأمراض النباتية المحمولة فى التربة، كما توجد أيضًا فى كل من الفيلوسفير phyllosphere والكاربوسفير carposphere والفريكتوسفير fructosphere.

وهناك الكثير من أنواع جنس باسيلس Bacillus تستخدم فى المكافحة الحيوية لكثير من الفطريات الممرضة للنبات، وذلك عن طريق إفرازها للسموم endotoxins والمضادات الحيوية.

ومن أهم أنواع جنس باسيلس Bacillus المستخدمة فى مجال المكافحة الحيوية مايلى:

١- النوع باسيلس بيوميلس B. pumilus:

تستخدم من هذا النوع عدة سلالات فى المكافحة الحيوية، ومن أهم سلالاته المستخدمة مايلى:

أ- السلالة B. pumilus GG34:

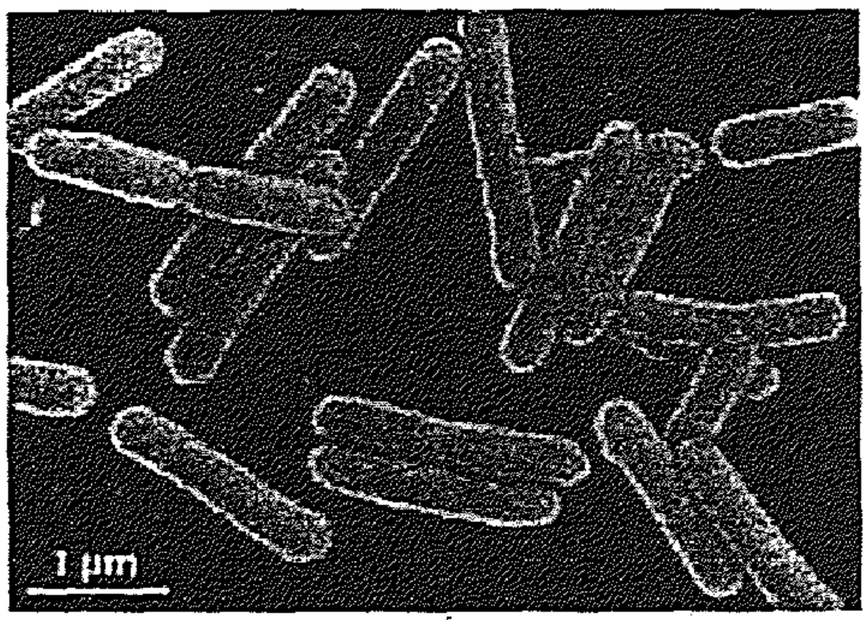
تنتشر هذه السلالة فى كثير من الأوساط البيئية مثل التربة الزراعية والمياه والهواء والأنسجة النباتية المتحللة، وفى العادة توجد على المجموع الجذرى النامى لنباتات فول الصويا بصفة خاصة، ولا يسبب هذا الميكروب أى أضرار لنباتات فول الصويا.

ويتم استخدام هذا المبيد الحيوى كمعلق مائى تعامل به بذور نباتات فول الصويا بواسطة آلات معاملة للبذرة، حيث يقى جذور هذه النباتات ضد فطريات معينة، إذا تمنع هذه السلالة إنبات جراثيم الفطريات المستهدفة التى تهاجم وتمنع تطور جذور فول الصويا مثل الرايزوكتونيا Rhizoctonia والفيوزاريم Fusarium وقد تنمو فيما بعد على جراثيم الفطر.

ولا تسبب هذه السلالة البكتيرية أى تأثيرات صحية ضارة بصحة الإنسان، كما لا تضر بسلامة البيئة.

ب- السلالة B. pumilus Q S T2808:

تعتبر هذه السلالة (شكل ٢-٢٤) من البكتيريات الشائعة الانتشار فى التربة الزراعية والمياه، وتستعمل على صورة مبيد حيوى لمكافحة الآفات الفطرية التى تسبب أمراض الأصداء rusts واللفحات blights والبياض mildews على كثير من الأشجار مثل البلوط oak حيث يمنع حدوث تطور للجراثيم الفطرية على النباتات.



شكل (٢-٤٢) بكتيريا باسيلس بوميليس B.pumilus

ويكون هذا المبيد الحيوى عائق طبيعى بين كل من أوراق النباتات النامية وجراثيم الفطر الممرض، كما تعمل هـذه السلالة - شأنها فى ذلـك شان بقيـة سلالات النوع باسيلس بوميليس B. pumilus - على تحفيز نظم المقاومة المتخصصة فى النباتات بحث المقاومة المكتسبة systemic acquired resistance.

ويتم استعمال هذا المبيد الحيوى رشًا أو على هيئة مسحوق لمقاومة المسببات المرضية الفطرية على أشجار البلوط oak، كما يستخدم فى المشاتل والصوب. ولايؤدى استخدام هذا المبيد الحيوى إلى أى تأثيرات صحية ضارة للإنسان أو البيئة.

ج- السلالة B. pumilus QST713:

تعتبر هذه السلالة البكتيرية من الميكروبات واسعة الانتشار فى البيئة، حيث توجد فى أوساط كثيرة مثل التربة الزراعية والمياه والهواء.

ويستخدم المبيد الحيوى المحتوى على هذه السلالة فى مكافحة نمو بعض البكتيريا والفطريات الضارة من خلال التنافس على الغذاء ومواقع النمو على النباتات وبالتجمع والارتباط بالممرضات الفطرية، وتكافح هذه البكتيريا الأمراض النباتية والممرضات الفطرية مثل أمراض اللفحة المتأخرة late blight والمبكرة early blight والجرب scab والعفن الرمادى gray mold والعديد من أنواع البياض mildew مثل الدقيقى powdery والزغبى downy والعفن الحامضى sour rot والتبقع الورقى المبكر early leaf spot والتبقع البكتيرى bacterial spot ومرض لفحـة الجـوز walnut blight disease.

ويباع مستحضر هذا المبيد الحيوى على هيئة مسحوق يخلط بالماء ويرش على أوراق النباتات بواسطة الرشاشات لمكافحة كثير من الأمراض والمسببات الممرضة فى عدد كبير من محاصيل الغذاء كالطماطم والبطاطس والفلفل والخيار والعنب والجوز. وليست هناك أى تأثيرات صحية ضارة من استخدام هذا المبيد الحيوى على الإنسان إذ أن هذا الميكروب

غير سام أو ممرض للإنسان إلا أن هذا المبيد قد يسبب احمرار أو التهاب بالجلد، وكذلك لا يضر استخدام هذا المبيد بالكائنات الحية الأخرى غير المستهدفة فى البيئة.

٢- النوع باسيلس ليشينيفورميز B. licheniformis:

تستخدم من هذا النوع السلالة B. licheniformis strain SB3068، وتعتبر هذه السلالة من الميكروبات الشائعة فى التربة الزراعية حيث تساهم بدور فعال فى كثير من دورات العناصر التى تحدث فى الطبيعة، كما أن لها نشاطا تضاديًا للفطريات، حيث تؤدى دورها ضد الفطريات من خلال إنتاج عامل تضاد حيوى قد يكون نظام إنزيمى مضاد للفطريات.

ويستخدم المبيد الحيوى المحتوى على هذه السلالة رشًا لمكافحة كثير من مسببات الأمراض الفطرية التى تسبب أمراض اللفحة blight والتبقع الورقى leaf spot للنباتات الطبية والعطرية وأشجار الصنوبر فى الأراضى الزراعية والمشاتل والصوب. والمبيد غير ضار بالإنسان أو حيوانات التجارب، كذلك ليس له تأثيرات سيئة على البيئة.

٣- النوع باسيلس ستلس B. subtilis:

يستخدم من هذا النوع فى المكافحة الحيوية سلالات كثيرة، مثل السلالة B. subtilis MB1600 التى تنتج على هيئة مسحوق جاف تحت المسمى التجارى كودياك Kodiak بالمملكة المتحدة، والسلالة B. subtilis GB03 التى تنتج بمفردها تحت المسمى التجارى HiStick N/T، أو تنتج مع أنواع أخرى من جنس باسيلس Bacillus مثل النوع باسيلس ميجاتريم B. megaterium والنوع باسيلس ليشينيفورميس B. licheniformis تحت مسمى Companion بالولايات المتحدة الأمريكية، كما ينتج من النوع باسيلس ستلس B. subtilus مبيد حيوى تجارى تحت اسم « ابيك Epic » لمكافحة الفطريات التى تهاجم جذور النباتات مثل فطر رايزوكتونيا سولانى Rhizoctonia solani وأنواع جنسى فيوزاريوم Fusarium spp وأسبرجلس Aspergillus spp وذلك على صورة مسحوق جاف تعامل به البذور، وهذه المبيدات التجارية غير ضارة بالإنسان وبيئته، وتستخدم ضد الفطريات التى تضر ببذور نباتات الأزهار والنباتات الطبية والعطرية وبذور محاصيل فول الصويا والقطن والفول السودانى والخضروات.

ويثبط هذا المبيد الحيوى المحتوى على مادة فعالة هى بكتيريا باسيلس ستلس B.subtilis أمراض النباتات والتى تحدثها بعض الفطريات مثل فطر الرايزوكتونيا Rhizoctonia والفيوزاريم Fusarium والألترناريا Alternaria والأسبرجلس Aspergillus وغيرها من الأنواع الفطرية الضارة التى تهاجم جذور النباتات وتسبب أعفان الجذور وأمراض البادرات وذلك من خلال إنتاج مضاد حيوى، فيؤدى معاملة حبوب الذرة ببكتيريا باسيلس ستلس B. subtilis إلى علاج لفحة الذرة والتى يسببها فطر فيوزاريم Fusarium graminearum , F. avenaceum, and F. culmorum (synonymous name for all three is F. roseum f. sp. cerealis)، ومكافحة صدأ الساق فى نباتات الكارانثيون الذى يسببه نفس الفطر.

ولبكتيريا باسيلس ستلس نشاط تضادى قوى تجاه فطر ماكروفومينا فاسيولينا Macrophomina phaesolina المسبب لعفن الجذور فى البسلة وفول الصويا، وفطر بوتريوديبلوديا سولانيتيبروساى Botryodiplodia solanituberosi الذى يسبب مرض العفن الفحمى فى البطاطا، وتؤدى المعاملة ببكتيريا باسيلس ستلس B. subtilis إلى مكافحة فطر ماكروفومينا فاسيولينا M. phaesolina فى الكثير من نباتات الخضروات بصفة عامة.

وميكروب باسيلس ستلس B. subtilis غير ضار، ويتميز بتكوين جراثيم مقاومة للظروف البيئية السيئة، ويؤدى هذا المبيد الحيوى فعله الإبادى نتيجة تكاثر البكتيريا المحتوى عليها المبيد الحيوى فى المحيط الجذرى للنبات للدرجة التى تصبح فيها أعدادها موضع تنافس فعلى مع الفطريات الممرضة للنبات ومن ثم يثبط المبيد الحيوى نمو هذه الفطريات، وتستمر هذه البكتيريا فى المعيشة بالمحيط الجذرى للنبات لتوفر له الحماية طوال موسم نموه، ومن سلالات الباسيلس ستلس B. subtilis المستخدمة السلالتين التاليتين:

أ- السلالة B. subtilis QST713:

تنتشر السلالة B. subtilis QST713 بكثرة فى أوساط التربة الزراعية والمياه والهواء، وتقاوم كل من البكتيريا والفطريات نتيجة التنافس الحادث على الغذاء وأماكن النمو على النباتات.

وتقاوم هذه السلالة البكتيرية مسببات أمراض البياض الدقيقى والعفن الحامضى وتبقع الأوراق واللفحة المبكرة والمتأخرة ولفحة الجوز، وقد سجلت هذه السلالة كمبيد حيوى منذ فترة فى الولايات المتحدة الأمريكية.

ب- السلالة B. subtilis var. amyloliquefaciens strain FZB24:

توجد هذه السلالة البكتيرية فى الأوساط البيئية الطبيعية حيث تقطن التربة وأوراق النباتات، ومن السهولة بمكان تنميتها بأعداد كبيرة، وفى الحقيقة فإن هذا المبيد الحيوى يؤدى دورا مزدوجا فهو يحسن من نمو النباتات كما يكافح بعض الأمراض الفطرية من خلال نظام إنزيمى تنتجه السلالة الفعالة للمبيد الحيوى.

ويتم تسويق هذا المبيد الحيوى على صورة حبيبات يتم تجهيزها على صورة معلق فى الماء قبل استخدامها فى مكافحة فطريات التربة مثل الرايزوكتونيا Rhizoctonia والفيوزاريم Fusarium المسببة لأمراض الأعفان والذبول فى النباتات، ومن شأن هذا المبيد أن يحسن ويقوى من نمو النبات كما يعمل على زيادة المحصول.

وليست هناك أى أضرار صحية للإنسان من جراء استخدام هذا المبيد الحيوى، كذلك ليست هناك مخاوف بيئية من استعماله فالمكون الفعال فى المبيد يقطن الكثير من أنواع التربة الزراعية، كما أن استخدامه يكون قاصرًا على الصوب والأوساط البيئية المغلقة.

٣- أنواع جنس سيدوموناس Pseudomonas:

يضم جنس سيدوموناس أنواع عديدة ومختلفة منذ أن أطلق عليه ميجيولا Migula اسمه فى العام (١٨٩٤)، وأفراد الجنس خلاياها عصوية قصيرة سالبة لصبغ جرام وهوائية إجبارًا ومتحركة بأسواط بأحد أقطاب الخلية. تقطن أنواع جنس سيدوموناس Pseudomonas منطقة المحيط الجذرى للنباتات المختلفة بكثافة شديدة، وتظهر أفراد كثيرة من أنواع جنس سيدوموناس Pseudomonas نشاط تضادى واسع تجاه مسببات الأمراض النباتية من الفطريات، ويتمثل هذا النشاط التضادى فى إنتاج مضادات حيوية (مثل البكتيريوسينات bacteriocins والفينازين phenazine) وغيرها من المركبات التى تثبط نمو الفطريات الممرضة مثل مركب 2,4-diacetylphloroglucinol وحامض phenazine-1-carboxylic acid ومركب pyrrolnitrin [3-chloro-4-(2'-nitro-3'-chlorophenyl)-pyrrole] ومركب 2,3-de-epoxy-2,3-didehydra-rhizoxin، وإنتاج حوامل الحديد، والتنافس على التغذية والمكان، وإلى جانب ذلك تنتج بعض أفراد جنس سيدوموناس Pseudomonas كميات من سيانيد الهيدروجين HCN السام لمسببات الأمراض النباتية من الفطريات، كما تنتج الإنزيمات المحللة للبروتين، وهذه الخصائص تجعل من أفراد جنس سيدوموناس

Pseudomonas التى تمتلكها أدوات جيدة للمكافحة الحيوية لمسببات أمراض النبات المحمولة فى التربة الزراعية من خلال استخدامها كلقاحات للبذرة أو معلقات تغمس فيه الجذور.

ويستخدم النوع سيدوموناس سيبسيا P. cepacia فى مكافحة الكثير من الفطريات الممرضة الموجودة بالأراضى الزراعية مثل الرايزوكتونيا Rhizoctonia والفيوزاريم Fusarium والبيثيوم Pythium، ويتوفر من هذا النوع بالأسواق مستحضر تجارى يعرف باسم Intercept تم تسجيله فى الولايات المتحدة الأمريكية.

وتثبط بكتيريا سيدوموناس فلوريسينس P. fluorescens الكثير من مسببات الأمراض الفطرية مثل الأنواع رايزوكتونيا سولانى Rhizoctonia solani وبيثيم افانيدرماتم Pythium aphanidermatum وفيتوفيثورا مجسبرما Phytophthora megsperma وسكليروتينيا سكليروتيورم Sclerotinia sclerotiorum وفيماتوتريكم امنيفورم Phymatotrichum amnivorum.

وتستخدم لقاحات مختلطة من أنواع بكتيريا سيدوموناس وآزوسبيريللم Pseudomonas sp + Azospirillum sp فى مكافحة الممرضات بالتربة والتى تسبب أمراض الرقعة البنية brown patch والتبقع dollar spot، ويؤدى هذا المبيد فعله بالتنافس التضادى، ويوجد من هذه البكتيريات مستحضر تجارى يعرف باسم بيوجت BioJet.

ومن الأنواع البكتيرية لجنس سيدوموناس Pseudomonas المستخدمة فى المكافحة الحيوية الميكروبية مايلى:

١ - سيدوموناس ايروجينوزا P. aeruginosa:

تستخدم من سلالات النوع سيدوموناس ايروجينوزا السلالة P.aeruginosa GRC2 التى تسبب ثقوب وتشوهات فى هيفات الفطر الأسكى ماكروفومينا فاسيولينا Macrophomina phaseolina، ويسبب هذا الفطر العفن الفحمى charcoal rot فى كثير من النباتات مثل الذرة الشامية Zea mays، وتنتج هذه السلالة البكتيرية حوامل الحديد وسيانيد الهيدروجين بالإضافة إلى كثير من النظم الإنزيمية المحللة.

وكذلك هناك سلالة أخرى من نفس النوع هى P. aeruginosa LRP7 تفرز إنزيم

الكيتينيز خارج خلاياها حيث يثبط نمو الفطر السابق تحت الظروف المعملية، ويحفز الإنزيم تفاعلات تحلل وتثقب الجدار الخلوى على أثر تحليله للكيتين.

٢- سيدوموناس كلوروررافيز P. chlororaphis strain 63-28:

تنتمى سلالة البكتيريا 28-63 إلى النوع سيدوموناس كلوروررافيز P. chlororaphis - الذى كان يعرف سلفًا باسم سيدوموناس ايروفاسينس P. aureofaciens -، وهى سلالة غير سامة أو ممرضة، وتنتشر هذه السلالة البكتيرية بكثرة فى العديد من الأوساط البيئية، وقد تم عزلها من نباتات الكانولا canola السليمة فى كندا فى العام (١٩٨٤).

ويستخدم المبيد الحيوى المتضمن هذه السلالة كمكون فعال active ingredient فى مكافحة عدد كبير من الفطريات الضارة مثل أنواع جنس بيثيم Pythium وفطر رايزوكتونيا سولانى R. solani وفطر فيوزاريم اوكسيسبوريم F. oxysporum الذى ينمو على أو قرب جذور المحاصيل ويسبب عفن الجذور والسيقان.

وتؤدى هذه السلالة البكتيرية فعلها الإبادى تجاه الفطريات الممرضة للنبات من خلال عدد من الآليات المختلفة منها:

١- إنتاج مواد النمو growth substances - مثل السيتوكينين - والتى تعين النباتات على القيام بدور هام فى الحد من الضرر الذى قد تسببه الفطريات الممرضة.

٢- إنتاج مضادات حيوية تؤثر بشكل مباشر على الفطريات الممرضة.

٣- احتواء هذه السلالة البكتيرية على بروتين خاص يربط الحديد الذى تحتاجه الفطريات فى نموها وتكاثرها، أى أن هذه السلالة تؤدى دورها من خلال تنافسها مع الفطريات على المكان والمصادر الأخرى فى التربة النامى بها النباتات.

ويضاف هذا المبيد الحيوى إلى التربة الزراعية لمكافحة فطريات معينة تهاجم جذور النباتات وتسبب أمراض الذبول wilt وأمراض أعفان الجذور والسيقان للنباتات الطبية والعطرية والخضروات المزروعة فى الصوب الزجاجية. ولا يسبب هذا المبيد الحيوى أية سمية أو أمراض للإنسان، كذلك ليست هناك أية مخاطر على البيئة من استعماله حيث يقتصر استخدام المبيد على الصوب الزجاجية بالإضافة إلى أن هذه السلالة تتواجد فى الطبيعة فى كثير من الأوساط البيئية.

ويوجد من هذه السلالة عدة مبيدات حيوية تحمل مسميات تجارية مختلفة منها مبيد سيدمون Cedmon الذى ينتج بالسويد لمعاملة بذور الغلال بهدف الوقاية من فطريات جنس الفيوزاريم Fusarium وكثير من الأمراض مثل تبقع وتخطيط الأوراق.

٣- سيدوموناس ايروفاسينس P. aureofaciens strain TX-1:

تنتشر هذه السلالة البكتيرية بكثرة فى التربة الزراعية وبصفة خاصة قرب جذور النباتات النامية، ويستخدم هذا المبيد الميكروبى فى مكافحة الأمراض الفطرية المختلفة التى تصيب بعض الأعشاب، ويتم تنمية كميات كبيرة من هذه السلالة فى تربة الحشائش والتى يتم توزيعها وانتشارها فى التربة مع نظام الرى، وفى العادة يتم استخدام هذا المبيد فى المساء أو فى الليل لتقليل فرص تعرض الإنسان والأحياء البرية له.

ويستخدم هذا المبيد الحيوى لمكافحة كثير من الفطريات الممرضة مثل فطر سكليروتينيا هومواليكاربا Sclerotinia homoecarpa المسبب لمرض التبقع dollar spot disease فى المسطحات الخضراء turfgrasses، والفطر الأسكى جلوميريلا جرامينيكولا (كوليكتوتريكم جرامينيكولا) Glomerella graminicola (Collectotrichum graminicolai) المسبب لمجموعة الأمراض المعروفة باسم الأنثراكنوز anthracnose فى الكثير من أوراق محاصيل الغلال كالقمح والذرة، وفطر بيثيوم افانادرماتم(Pythium aphanadermatum pythium) وفطر ميكرودوشيم نيفال (pink snow mold) Michrodochium nivale.

وقد اكتسبت هذه السلالة البكتيرية قدرتها التثبيطية والتنافسية للممرضات الفطرية للنبات من خلال إطلاقها لحامض فينازين(-1- كربوكسيليك phenazine-1-carboxylic acid (PCA، حيث يساعدها هذا الحامض على البقاء فى المحيط الجذرى للنبات لفترات طويلة، إذ يعمل الحامض كآلية للدفاع تمكن البكتيريا من الإحلال محل السلالات الأصلية بالمكان بما فيها الفطريات الممرضة، وتساعدها مركبات لاكتونات ن- هكسانويل هوموسرين N-hexanoyl-homoserine lactones على حث الجينات المنتجة لحامض الفينازين-1- كربوكسيليك.

ولا يتمخض عن استعمال هذه السلالة أية تأثيرات صحية ضارة على الإنسان فمن غير المعروف أن هذا الميكروب يسبب أى أمراض للإنسان، كما لا يضر هذا المبيد بالكائنات غير المستهدفة.

٤- سيدوموناس سيرنجى P. syringae strains ESC-10 & ESC-11:

تنتشر هذه السلالات البكتيرية غير الضارة بكثرة حول العالم على كثير من النباتات الاقتصادية الهامة كالتفاح، وتعامل بها بعض الفواكه مثل الكمثرى والتفاح والموالح قبل تخزينها لوقايتها من الأمراض الفطرية المختلفة، ويرجع فعلها الإبادى إلى التنافس التضادى مع الفطريات على المكان والغذاء على الثمار، وبالتالى تمنع حدوث العفن بثمار الفاكهة قبل استخدامها.

ومما لاشك فيه أن استخدام هذه السلالات فى المكافحة الحيوية على ثمار الفواكه يقلل من استخدام المبيدات الكيميائية، ويعود بالمنفعة الاقتصادية على المنتجين، ويقى صحة الإنسان والبيئة.

وقد تم بالولايات المتحدة الأمريكية تسجيل عدد من المستحضرات الحيوية التجارية من هذه السلالات تحت مسميات Bio-Save 10, 11, 100, 110, 1000.

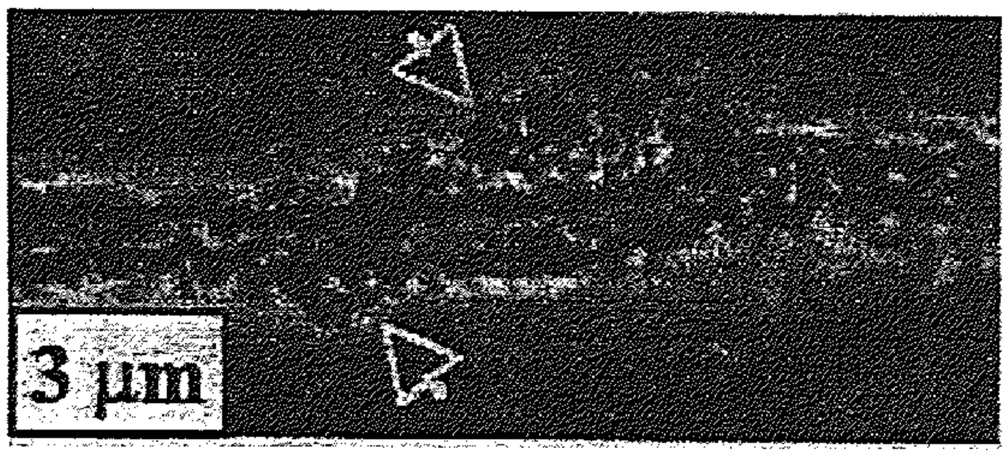
٥- سيدوموناس فلوريسنس P. fluorescens:

تحث السلالة P. fluorescens 4 - 92 المناعة الشاملة systemic resistance للنبات ضد مرض العفن الفحمى فى الحمص، وتعزى هذه المناعة إلى المستوى المحسن من الاستجابة للبروتينات الدفاعية pathogenesis-related (PR) proteins المنتجة مثل إنزيم الجلوكانيز glucanase فى نباتات الحمص. كما تثبط السلالة P. fluorescens 92-4 مرض الجذور take-all الذى يسببه الفطر Gaeumannomyces graminis var. tritici من خلال إنتاج المضاد الحيوى phenazine-1-carboxylate. وتثبط السلالة P. fluorescens Migula strain B5 (= Pf B5) فطر التساقط بثيوم التيمم Pythium ultimum var. ultimum Trow فى نبات بنجر السكر.

٦- أنواع جنس ليسوباكتر Lysobacter:

من أفراد هذا الجنس الهامة فى مجال المكافحة الميكروبية السلالة ليسوباكتر انزيموجينيز L. enzymogenes strain C3 (شكل ٢-٢٥)، وتنتمى هذه السلالة لعائلة Xanthomonadaceae ضمن مجموعة جاما بروتيوبكتيريا γ-proteobacteria، وتقطن هذه السلالة البكتيرية التربة الزراعية والمياه العذبة، وتعتبر من عوامل المكافحة الحيوية

الفعالة فى التطبيقات الحقلية، وتستخدم فى مكافحة مرض تبقع الأوراق leaf spot الذى يسببه فطر بايبولاريس سوروكينيانا Bipolaris sorokiniana (بإعاقة إنبات الجراثيم الكونيدية) ومرض الرقعة البنيـة brown patch الذى يسببه فطر رايزوكتونيا سولانى Rhizoctonia solani (بتثبيط نمو الهيفات) فى نبات Turf grass، ومرض الصدأ الذى يسببه فطر يروميسز ابنديكيولاتس Uromyces appendiculatus فى نباتات الفول.



شكل (٢- ٢٥) اتصال السلالة L.enzymogenes strain c3 الفطر Magnaporthe oryzae

وتوظف هذه السلالة آليتين للمكافحة الحيوية الأولى إنتاج إنزيمات محللة lytic enzymes مثل إنزيم الكيتينيز على سطح أوراق النبات والذى يثبط بدوره إنبات الجراثيم الكونيدية للمسبب المرضى، والثانية حث مقاومة العائل induced resistance كما هو الحال فى مقاومة مرض تبقع الأوراق leaf-spot الذى يسببه الفطر الأسكى Bipolaris sorokiniana وبموجب هذه الآلية يتم منع الجراثيم الكونيدية للفطر من الإنبات على سطح أوراق النبات ومن ثم الحد من شدة البقع على الأوراق.

وإضافة إلى الآليتين السابقتين تفرز هذه السلالة معقد من المضادات الحيوية عبارة عن dihydromaltophilin and structurally related macrocyclic lactams تستخدمه كأداة فى المكافحة الحيوية.

٧- أنواع جنس بركهولدريا Burkholderia:

تم فى السنوات الأخيرة عزل مركب ٢- هيدروكسى ميثيل كرومو-٤- ١ 2-Hydroxy methyl chromo-4-one المنتج من سلالة بركهولدريا Burkholderia sp. MSSP1، ولهذا المركب نشاط مضاد للفطريات حيث يثبط نمو الفطر الناقص ماكروفومينا فاسيولينا Macrophomina phaseolina تحت الظروف المعملية.

وهناك النوع بركهولدريا سيبسيا B. cepacia (شكل ٢-٢٦) الذى أكتشف بواسطة Walter Burkholder عام (١٩٤٩)، ويستخدم هذا النوع (الذى كان يعرف فيما سبق باسم

سيدوموناس سيبسيا P.cepacia) فى مكافحة كثير من الممرضات الفطرية بالتربة الزراعية مثل سلالات فطر الفيوزاريم Fusarium oxysporum f. sp. radicis-lycopersici (Forl) strains وفطر البيثيوم Pythium والرايزوكتونيا Rhizoctonia، ومن أهم آليات هذه البكتيريا فى المكافحة الحيوية إفرازها للمضادات الحيوية، وحثها للمناعة لدى النبات، وتنافسها مع الميكروبات الممرضة على الغذاء والمكان، ويوجد من هذه البكتيريا مستحضر تجارى يعرف باسم Intercept، كما يوجد منها مستحضر تجارى آخر يعرف باسم Deny (الذى كان يعرف من قبل باسم Blue circule. Precept)، ويوجد هذا المبيد الحيوى على صورة معلق مائى يستخدم مع ماء الرى أو تعامل به البادرات، أو على صورة بيوماس جاف من البنجر الناتج من عملية التخمير الصلب، وتعامل به البذور باستخدام مادة لاصقة. ويتميز هذا النوع بإنتاج مضادات حيوية غير معتادة مثل المضاد الحيوى المسمى AFC-BC11 وهو نشط تجاه عدد كبير من مسببات الأمراض الفطرية التى تتواجد بالتربة الزراعية، ويفرز هذا المضاد السلالة بركهولدريا سيبسيا B. cepacia BC-11 المستخدمة فى مكافحة فطر رايزوكتونيا سولانى Rhizoctonia solani المسبب لمرض ذبول البادرات فى نباتات القطن.



شكل (٢ - ٢٦) بكتيريا B. cepacia

ويستخدم النوع بركهولدريا سبينوزا Burkholderia spinosa فى مكافحة الكثير من أمراض بعد الحصاد فى الموز مثل مرض الأنثراكنوز anthracnose، ويجرى فى الوقت الراهن تطوير مبيد حيوى من هذه البكتيريا.

٨ جنس رايزوبيـوم Rhizobium:

تستخدم بعض أنواع جنس رايزوبيوم Rhizobium - الذى يكون عقد على جذور النباتات البقولية يتم فيها تثبيت النيتروجين الجوى - فى المكافحة الحيوية للفطريات

حيث تنتج المضاد الحيوى رايزوبيتوكسين rhizobitoxine الهام فى تثبيط الفطر الناقص ماكروفومينا فاسيولينا Macrophomina phaseolina الذى يسبب مرض العفن الفحمى charcoal rot فى الكثير من النباتات الاقتصادية مثل الذرة الشامية والصنوبر.

ومن المرجح أن بكتيريا رايزوبيوم تساعد فى وقاية النبات من مسببات الأمراض من خلال تقويته بالتغذية المحسنة وتحفيز دفاعاته.

٩- أنـواع أخـرى:

تستخدم كل من بكتيريا باسيلس فلوريسينس Bacillus fluoresence وبكتيريا باسيلس ميسينتريكس B. mesentricus فى مقاومة أمراض البادرات فى نبات الكتان flax والتى تسببها فطريات أسكية من جنس كولكتوتريكم Collectotrichum وجنس فيوزاريوم Fusarium.

❖المراجـع:

Ahmadzadeh M, H. Afsharmanesh, M. Javan-Nikkhah and A. Sharifi-Tehrani (2006). Identification of some molecular traits in fluorescent pseudomonads with antifungal activity, Iranian J. Biotechnol. 4:245 - 253.

Bull, C.T., D.M. Weller, and L.S. Thomashow (1991). Relationship between root colonization and suppression of *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* by *Pseudomonas fluorescens* strain 2 -79. Phytopathol. **81**:954 – 959.

Carruthers, F.L., T. Shum-Yhomas, A.J. Conner and H.K. Mahanty (1995). The significance of antibiotic production by *Pseudomonas aureofaciens* TX-1 PA147-2 for biological control of *Phytophthora megasperma* root rot of asparagus. Plant Soil **170**:339 – 344.

Chatterton, S., J.C. Sutton, and G.J. Boland (2004). Timing *Pseudomonas chlororaphis* applications to control *Pythium aphanidermatum*, *Pythium dissotocum*, and root rot in hydroponic peppers. Biol. Control **30**:360-373.

Chin-A-Woeng, T.F.C., J.E. Thomas-Oates, B.J.J. Lugtenberg, and G.V. Bloemberg (2001). Introduction of the *phzH* gene of *Pseudomonas chlororaphis* PCL1391 extends the range of biocontrol ability of phenazine-1- carboxylic acid-producing *Pseudomonas* spp. strains. Mol. Plant-Microbe Interact. **14**:1006 -1015.

Compant; S.; B. Duffy; J. Nowak; C. Clément; and E. A. Barka (2005). Use of plant growth-promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: principles, mechanisms of action, and future prospects. Appl Environ Microbiol. **71(9)**:4951–4959.

De Costa, D.M., A.R.F. Zahra, M.D. Kalpage and E.M.G. Rajapakse (2008). Effectiveness and molecular characterization of *Burkholderia spinosa*, a prospective biocontrol agent for controlling postharvest diseases of banana. Biological Control 47:257–267.

Howell, C.R. and R.D. Stipanovic (1979). Control of *Rhizoctonia solani* on cotton seedlings with *Pseudomonas fluorescens* and with an antibiotic produced by the bacterium. Phytopathol. **69**:480 – 482.

Howell, C.R. and R.D. Stipanovic (1980). Suppression of *Pythium ultimum*-induced damping-off of cotton seedlings by *Pseudomonas fluorescens* Pf-5 and its antibiotic, pyoluteorin. Phytopathol. **70**:712 – 715.

Imamura Y, J. Chandra, P.K. Mukherjee, A.A. Lattif, L.B. Szczotka-Flynn, E. Pearlman, J.H. Lass, K. O'Donnell and M.A. Ghannoum (2008). Fusarium and Candida albicans Biofilms on Soft Contact Lenses: Model Development, Influence of Lens Type, and Susceptibility to Lens Care Solutions. Antimicrob. Agents Chemother. **52(1)**:171–182.

Ligon J.M., D.S. Hill, P.E. Hammer, N.R. Torkewitz, D. Hofmann, H.J. Kempf, K.H. van Pée (2000). Natural products with antifungal activity from *Pseudomonas* biocontrol bacteria, Pest Management Sci. 56:688 – 695.

Lipuma J (2005). Update on the Burkholderia cepacia complex. Curr Opin Pulm Med **11**(6):528 - 33.

Lugtenberg, B.J., L.V. Kravchenko and M. Simons (1999). Tomato seed and root exudates sugars: composition, utilization by *Pseudomonas* biocontrol strains, and role in rhizosphere colonization. Environ. Microbiol. **1**:439 - 446.

McSpadden Gardener, B.B. and D.R. Fravel (2002). Biological control of plant pathogens: Research, commercialization, and application in the USA. Online. Plant Health Progress doi:10.1094/PHP-2002–0510–01-RV.

Nakkeeran, S.; K. Kavitha; G. Chandrasekar; P. Renukadevi and W.G. D. Fernando (2006). Induction of plant defense compounds by *Pseudomonas chlororaphis* PA23 and *Bacillus subtilis* BSCBE4 in controlling damping-off of hot pepper caused by *Pythium aphanidermatum*. Biocontrol Sci. Technol. **16(4)**:403 – 416.

Paulitzt; Nowak-thompsonb; Gamardp; Tsange and Loperj (2000). A novel antifungal furanone from *Pseudomonas aureofaciens*, a biocontrol agent of fungal plant pathogens. J. Chem. Ecol. **26 (6)**:1515 - 1524.

Raaijmakers, J.M.; M. Leeman, M.M.P. van Oorschot, I. van der Sluis, B. Schippers, and P.A.H.M. Bakker (1995). Dose-response relationship in biological control of *Fusarium* wilt of radish by *Pseudomonas* spp. Phytopathol. **85**:1075 – 1081.

Slininger, P.J.; D.A. Schisler; K.D. Burkhead and R.J. Bothast (2003). Post harvest biological control of potato sprouting by *Fusarium* dry rot suppressive bacteria. Biocontrol Sci. Technol. **13(6)**:477 - 494.

Srivastava, R. and Shalini (2005). Antifungal activity of *Pseudomonas fluorescens* against different plant pathogenic fungi. JEAFChe **7 (4)**:2789 - 2796.

Tokala, R.K.; J.L. Strap; C.M. Jung; D.L. Crawford; M.H. Salove; L.A. Deobald; J.F. Bailey and M.J. Morra (2002). Novel plant-microbe rhizosphere interaction involving *Streptomyces lydicus* WYEC108 and the pea plant (*Pisum sativum*). Appl Environ. Microbiol. 68(5):2161–2171.

Validov, S. (2007). Biological control of tomato foot and root rot by *Pseudomonas* bacteria in stonewool., Leiden University. Leiden. The Netherlands.

Validov, S.Z., F. Kamilova, S. Qi, D. Stephan, J.J. Wang , N. Makarova and B. Lugtenberg (2007). Selection of bacteria able to control *Fusarium oxysporum* f. sp *radicislycopersici* in stonewool substrate. J. Appli. Microbiol. 102:461– 471.

Walsh, U.F.; J.P. Morrissey and F.O'Gara (2001). *Pseudomonas* for biocontrol of phytopathogens: from functional genomics to commercial exploitation. Curr. Opin. Biotechnol. **12**:289 -295.

الفصل الخامس
المبيدات البكتيرية المستخدمة في مكافحة الحشائش

مقدمة:

لقد زاد الاهتمام بتوظيف الكائنات الحية الدقيقة الممرضة للنبات كمبيدات حشائش ميكروبية منذ عام (١٩٧٠)، وذلك لاعتبارات كثيرة منها زيادة تكلفة استخدام المبيدات الكيميائية والأضرار البيئية والصحية التى تحدثها، وتعتبر المكافحة الحيوية للحشائش بديل جذاب لاستخدام المبيدات التخليقية الكيميائية.

وهناك تطبيقات ناجحة لمكافحة الحشائش بالوسائل البيولوجية خلال العقود الأربعة الماضية، وتتميز أدوات المكافحة الميكروبية المستخدمة فى هذا المجال بالتعدد والتنوع إلى حد ما.

وبصفة عامة هناك مدخلين لاستخدام الممرضات النباتية فى استراتيجيات المكافحة البيولوجية الحشائش:

الأول: المدخل الكلاسيكى Classical tactic:

يعرف هذا المدخل أيضًا بالمدخل التقليدى traditional tactic، كما يشار إليه أحيانًابالمدخل التلقيحى inoculative tactic، ويتضمن هذا المدخل البحث عن وإدخال ممرضات خارجية exotic من مناطق الحشيشة الأصلية للمنطقة الموبوءة بالحشيشة والتى أصبحت الحشيشة تمثل بها مشكلة، ويتوقف نجاع النوع الميكروبى المستورد للمنطقة الجديدة على عدة عوامل منها مقدرته على التأقلم على الظروف المناخية للمنطقة الجديدة، وهذا يؤثر بدوره على عدة عوامل فى دورة المرض، والتقدم فى المدخل الكلاسيكى بطئ مقارنة بالمدخل الحديث.

الثانى: المدخل الحديث The Microbial Herbicides Tactic:

يتضمن المدخل الحديث استخدام الميكروبات الممرضة للنبات بأعداد ضخمة كمبيدات حشائش ميكروبية microbial herbicides، حيث تستخدم لقاحات من

مبيدات الحشائش الميكروبية لتلقيح الحشائش والقضاء عليها، ويتضمن المدخل الحديث تحديد وقت إطلاق الميكروبات الممرضة لتتزامن مع حساسية الحشيشة للعامل الحيوى، وتجهيز مستحضر من عامل المكافحة الحيوية يوفر هجوم سريع له على عائله أى الحشيشة المستهدفة من عملية المقاومة.

وبصفة عامة فإن عناصر المكافحة الحيوية للحشائش من البكتيريا تعتبر محدودة إلى حد كبير.

❖المستحضرات التجارية:

يتوفر بالأسواق التجارية عدد قليل من المستحضرات البكتيرية التجارية المستخدمة فى مكافحة الحشائش، وتشمل المكونات الفعالة فى هذه المبيدات الحيوية مايلى:

١ - سيدوموناس سيرينجى Pseudomonas syringae pv. tagetis:

تسبب بكتيريا سيدوموناس سيرينجى P. syringae pv. tagetis مرض اللون الأبيض white colour disease لحشيشة Cirsium arvense (Canada thistle)، إذ تتميز هذه البكتيريا بإنتاج مركب tagetitoxin وهو مركب سام للنبات phytotoxin يوقف تطور الكلوروبلاستات chloroplasts، وهذه الحشيشة ضارة تنتشر بحقول الغلال والمحاصيل الزيتية، وتسبب خسارة فى الإنتاج النباتى تصل إلى مئات الملايين من الدولارات، كما أن مقاومتها بمبيدات الحشائش تكلف عدة ملايين من الدولارات.

الحشائش المريضة على أثر الإصابة بهذه البكتيريا تكون ضعيفة ومعاقة النمو وذات فروع وأغصان قليلة ولا تكون أزهارًا، وفى حالة الإصابة الشديدة تموت النباتات.

٢- زانثوموناس كامبستريز(Xcp) Xanthomonas campestris pv. poannva:

تسبب بكتيريا زانثوموناس كامبستريز(Xcp) X. campestris pv. Poannva ذبول لحشيشة Poa annua على ملاعب الجولف golf turf، وهذه الحشيشة من الحشائش صعبة المكافحة على الملاعب الرياضية وبصفة خاصة ملاعب الجولف الخضراء، وعادة تستخدم مبيدات الحشائش فى مكافحة هذه الحشيشة، إلا أن هذه الوسيلة غير كافية للمكافحة، وتؤدى المعاملة بهذه البكتيريا إلى انخفاض سريع فى أعداد الحشائش.

❖المراجـــع:

Ciotola, M., A. DiTommaso and A.K. Watson (2000). Chlamydospore production, inoculation methods and pathogenicity of *Fusarium oxysporum* M12-4A, a biocontrol for *Striga hermonthica*, Biocontrol Sci. Tech. **10**:129 –145.

Neal, J.C.; N.D. Williams and E.B. Nelson (2003). Evaluating off-target movement of *Xanthomonas campestris* pv. *Poannua* following application as a biocontrol agent for *Poa annua* on golf turf. Proceedings of the XI International Symposium on Biological Control of Weeds. Canberra, Australia, 27 April–2 May 2003 P 301-304.

Robert, J.K. (2006). The role of allelopathic bacteria in weed management. Disease Management of Fruits and Vegetables 2: 143-155.

Thompson, B.M., M.M. Kirkpatrick, D.C. Sands, and A.L. Pilgeram (2008). *Pseudomonas syringae*: Prospects for Its Use as a Weed Biocontrol Agent. *In*: M'B. Fatmi *et al*. (eds.), *Pseudomonas syringae* Pathovars and Related Pathogens. Springer Science + Business Media B.V.

Tiourebaev, K.S., G.V. Semenchenko, M. Dolgovskaya, M.K. McCarthy, T.W. Anderson, L.D. Carsten, A.L. Pilgeram and D.C. Sands (2001). Biological control of infestations of ditchweed (*Cannabis sativa*) with *Fusarium oxysporum* f. sp. *cannabis* in Kazakhstan. Biocontrol Sci. Techn. **11**:535 – 540.

Vurro, M. and J. Gressel (2006). An integrated approach to biological control of plant diseases and weeds in Europe. Progress in Biological Control. Volume 2. An Ecological and Societal Approach to Biological Control. Pp. 257-274 Springer Netherlands.

Zhang, W. ; M. Sulz; T. Mykitiek; X. Li; L.J. Yanke; H. Kong; J.S. Buyer and J.A. Lydon (2003). Canadian strain of *Pseudomonas syringae* causes white-colour disease of *Cirsium arvense* (Canada thistle). Proceedings of the XI International Symposium on Biological Control of Weeds. Canberra, Australia, 27 April–2 May 2003 P 215-220.

Zidack, Nina K. and P.C. Quimby Jr (2002). Formulation of bacteria for biological weed control using the stabileze method. Biocontrol Sci. Technol., **12(1):**67-74.

الفصل السادس
المبيدات البكتيرية المستخدمة في مكافحة النيماتودا

❖مقدمة:

هناك حالات قليلة نسبيًا تم التعرف فيها على إصابة النيماتودا بعوامل المكافحة الحيوية من البكتيريا، إلا أنه من المعروف أنه توجد بكتيريا كثيرة فى فراغ جسم النيماتودا، وقد تم فى السنوات الأخيرة توفير بعض المنتجات الحيوية – المحتوية على البكتيريا كمكون فعال – لمكافحة النيماتودا bio-nematicide، وتظهر فاعلية عوامل المكافحة الحيوية للنيماتودا فى التربة بشكل واضح فى ظروف توفر الرطوبة والمادة العضوية المناسبة.

وفى العادة تتضمن البكتيريا المضادة للنيماتودا مجموعتين من الأنواع البكتيرية:

❖المجموعة الأولى:

أنواع إجبارية التطفل على النيماتودا مثل بعض أنواع جنس باستيريا Pasteuria.

❖المجموعة الثانية:

أنواع تقطن التربة الزراعية بمنطقة الريزوسفير تفرز مواد سامة للنيماتودا وتحمى جذور النباتات منها مثل بعض أنواع جنس سيدوموناس Pseudomonas وجنس باسيلس Bacillus.

ويؤثر عدد من الرايزوبكتيريا المشجعة لنمو النبات على النيماتودا، حيث تنتج هذه البكتيريا مواد أيضية وإنزيمات محللة ومضادات حيوية تحد من نمو النيماتودا، وهذه البكتيريا غير متطفلة وفى العادة تكون غير متخصصة على النيماتودا المتطفلة على النبات.

ويستطيع الكثير من بكتيريا التربة هدم البروتين والمركبات النيتروجينية مع إطلاق الأمونيا والنترات فى التربة والتى تقتل بدورها النيماتودا، كما ينتج بعض أنواع البكتيريا نظم إنزيمية ومضادات حيوية تحلل كيوتيكل النيماتودا وتقتلها، ونظرًا لوجود النيماتودا

المتطفلة الداخلية بداخل أنسجة الجذور النباتية فإنها تكون محمية من الاتصال المباشر بالمواد الأيضية فى التربة.

وهناك مجموعة كبيرة من البكتيريا لها تأثير مضاد للنيماتودا، وتوجد هذه المجموعة ضمن أنواع أجناس سيدوموناس Pseudomonas وباسيلس Bacillus وستربتوميسيز Streptomyces وسيرتيا Serratia وأجروبكتيريم Agrobacterium وباركهولدريا Burkholderia.

وقد بلغت نسبة الموت فى نيماتودا Panagrellus redivivus من (٩٠-١٠٠٪) من جراء استخدام بعض أنواع جنس أسينيتوبكتر Acinetobacter فى مكافحتها على مدار ٢٤ ساعة نمو فى أطباق بترى على (٢٢°م).

وتستطيع السلالة أجروبكتيريم راديوباكتر Agrobacterium radiobacter strain G12، وهى من أفراد الرايزوبكتيريا المشجعة لنمو النبات، أن تحث المقاومة systemic resistance فى نباتات البطاطس ضد النيماتودا الحوصلية Globodera pallida، مما يؤدى إلى تثبيط اختراق النيماتودا للجذر، وينعكس ذلك فى النهاية بشكل إيجابى فى زيادة محصول النبات.

ولبكتيريا باسيلس ثورينجينسيس Bacillus thuringensis تأثير إبادى للنيماتودا حرة المعيشة مثل النوع Caenorhabditis elegans وغيره كثير، ومن المعتقد أن السموم المفرزة خارج خلايا هذه البكتيريا هى التى تسبب موت النيماتودا.

وكذلك تثبط بكتيريا بركهولدريا سيبسيا Burkholderia cepacia عملية فقس بيض النيماتودا وحركة اليرقات وذلك من خلال آلية ربما تكون غير واضحة تمامًا حتى الآن.

أما بكتيريا إنتروباكتر كلواكى Enterobacter cloacae وهى من بكتريا الإندوفيت والبكتيريا المحثة لنمو النبات فى منطقة المحيط الجذرى فتشجع نمو نبات الطماطم فى الوقت الذى تثبط فيه من نمو نيماتودا تعقد الجذور مثل نيماتودا القطن Meloidogyne incognita.

وتؤثر كثير من أنواع جنس سيدوموناس Pseudomonas على الحيوية والمرضية لعدد كبير من أنواع النيماتودا، وقد نالت بكتيريا سيدوموناس فلوريسنس P. fluorescens اهتمام متزايد حيث يؤدى نموها إلى زيادة نمو النبات وتقليل الضرر الحادث بواسطة النيماتودا مثل

النيماتودا الحوصلية للبطاطس Globodera rostochiensis وأنواع Heterodera spp وغيرهما كثير، وتنتج بكتيريا سيدوموناس فلوريسنس عدد كبير من المواد الأيضية الثانوية وإنزيمات التحليل المائى والتى يعزى إليها النشاط المضاد للنيماتودا، فعلى سبيل المثال فإن سلالة بكتيريا سيدوموناس فلوريسنس المنتجة لمركب 2,4-diacetylphloroglucinol والإنزيمات المحللة تثبط فقس بيض النيماتودا الحوصلية للبطاطس G. rostochiensis.

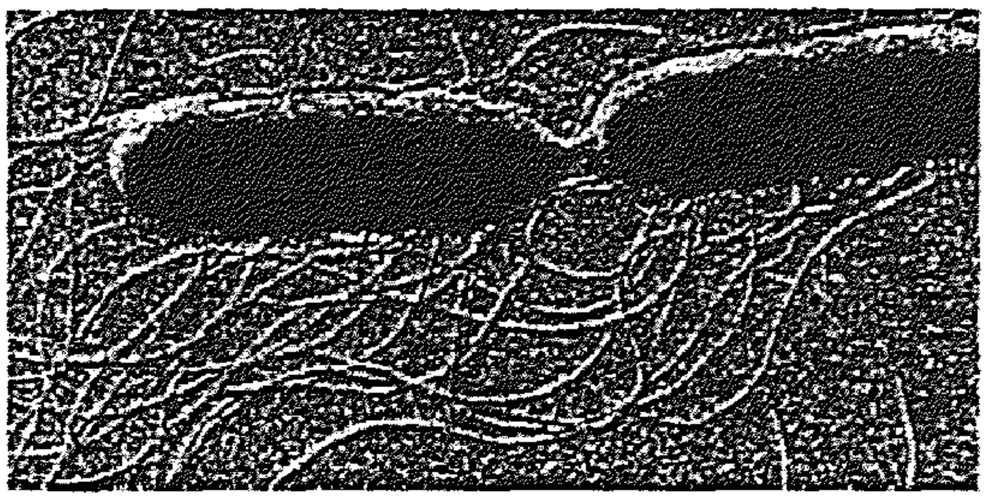
ويقلل النوع سيرراتيا مارسيسنس Serratia marcessens من أعدادا نيماتودا القطن M. incognita وتكوين التقرحات gall على نباتات العنب، كما يحسن من نمو النبات ويختزل أعداد النيماتودا بصورة واضحة عند استخدامه فى مخلوط مع المبيد الحشرى fenamiphos.

وتعتبر بكتيريا العقد الجذرية من عوامل المكافحة البيولوجية الواعدة فى مكافحة النيماتودا المتطفلة على النبات، حيث تثبط بكتيريا العقد الجذرية من جنس رايزوبيوم Rhizobium أنواع نيماتودا تعقد الجذور Meloidogyne spp وهو مثال للتنافس الحادث على المكان niche competition، وتختزل الرايزوبكتيريا المسماة رايزوبيوم اتلى ج 12 Rhizobium etli G12 بشكل كبير عملية اختراق الجذر بواسطة النيماتودا الحوصلية للبطاطس، فهذه البكتيريا سواء أكانت حية أو ميتة تحث صفة المقاومة systemic resistance فى نبات البطاطس، ويرجع الحث وتنظيم استجابة النبات إلى كربوهيدرات السطوح البكتيرية الثابتة حراريًا مثل السكريات العديدة الخارجية exopolysaccharides (EPS) بالكابسول والطبقة الهلامية والسكريات العديدة الدهنية lipopolysaccharides (LPS) وهى جزء مكمل للغشاء الخارجى للخلية.

وتعتبر آلية حث نمو النبات وآلية المقاومة systemic resistance واللتان يتم حثهما بواسطة بكتيريا الأندوفيت بمثابة آليات واعدة لمكافحة النيماتودا المتطفلة على النبات.

وتستخدم بكتيريا باسيلس سيركيولانس Bacilluc circulans (شكل ٢-٢٧) كمكون حيوى فعال فى بعض المنتجات الحيوية المستخدمة فى كل من التسميد الحيوى والمكافحة الحيوية، ففى التسميد الحيوى تطلق هذه البكتيريا عنصر البوتاسيوم غير الميسر من كثير من معادن التربة فى صورة متاحة للامتصاص بواسطة النباتات مما يؤدى إلى زيادة خصوبة التربة الزراعية، أما فى المكافحة الحيويـة فتفرز هذه البكتيريا إنزيم الكيتينيز كآلية لمكافحة النيماتودا.

وبصفة عامة يوجد تخصص بيولوجى بين البكتيريا المستخدمة فى المكافحة الحيوية ونوع النيماتودا المراد مقاومتها.



شكل (٢ – ٢٧) بكتيريا باسيلس سيركيولانس B. circulans

❖البكتيريا المستخدمة فى مكافحة النيماتودا:

من أمثلة البكتيريا المستخدمة فى مجال المكافحة الحيوية لآفات النيماتودا مايلى:

جنس باستيريا Pasteuria:

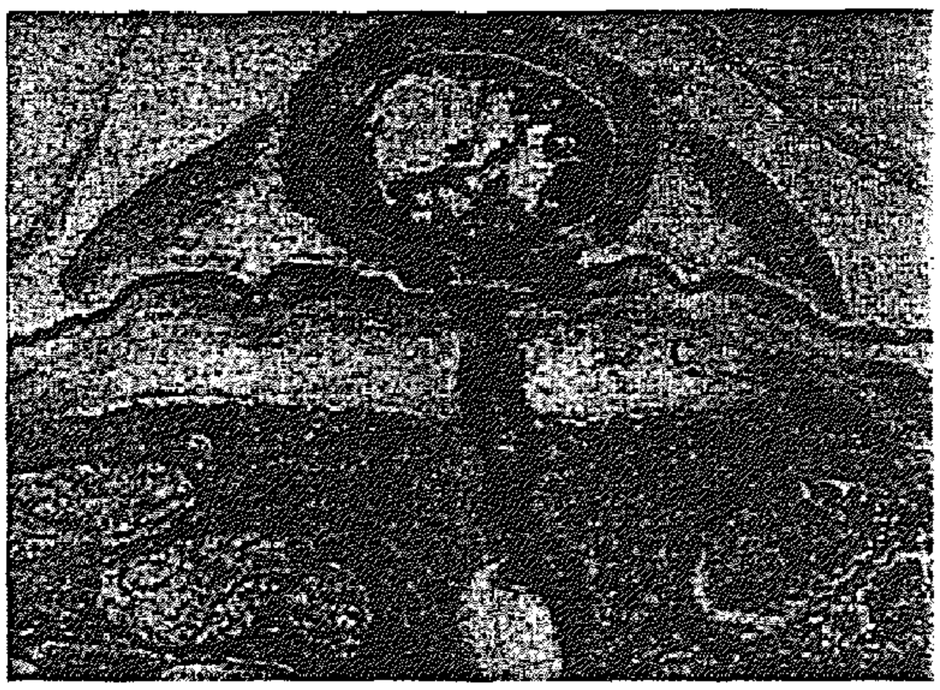
أنواع جنس باستيريا Pasteuria بكتيريا إجبارية التطفل، تكون ميسيليوم، موجبة لجرام، تكون جراثيم، وتتطفل على النيماتودا، وهناك أربعة أنواع من هذا الجنس ذات كفاءة فى مقاومة النيماتودا هى باستيريا راموزا P. ramosa، وباستيريا بينيترانس P. penetrans، وباستيريا ثورنى P. thornei، وباستيريا نيشيزاوا P. nishizawae. وقد لاقت بكتيريا باستيريا بينيترانس التى تتطفل على نيماتودا تعقد الجذور root-knot اهتمامًا خاصًا.

بكتيريا باستيريا بينترانس Pasteuria penetrans:

بكتيريا باستيريا بينترانس(P. penetrans (formerly known as Bacillus penetrans تنتشر بكثرة فى التربة المصرية، وهى موجبة لجرام، تكون جراثيم داخلية، تتبع الأكتينوميسيتات، وهى تقطن التربة الزراعية، وتتميز بالعديد من الصفات التى تؤهلها للاستخدام كعنصر مكافحة حيوية مفيد ضد الآفات الرئيسية للمحاصيل الاقتصادية كأنواع نيماتودا تعقد الجذور من جنس Meloidogyne إلى جانب أنواع أخرى من النيماتودا، وتتميز أفراد جنس Meloidogyne باتساع المدى العوائلى لها بشكل ملفت للنظر حيث يصل إلى أكثر من (٢٠٠٠) نبات، ولذلك فهى تسبب خسارة كبيرة فى الإنتاج النباتى تصل فى العام إلى نحو (٥٠) مليار دولار أمريكى فى العام.

وتتضمن ميكانيكية الإصابة التصاق جراثيم البكتيريا بمستقبلات على طبقة الكيوتكل الخارجى للنيماتودا، حيث يرتبط سطح الجرثومة البكتيرية بسطح طبقة الكيوتيكل

بالنيماتودا بواسطة ألياف تحيط بالجرثومة والتى تستجيب للالتصاق بسطح طبقة الكيوتيكل حيث تنبت الجراثيم وتبدأ تكوينها لأنبوبة اختراق لطبقة الكيوتكل، تخترق بدورها جسم النيماتودا (شكل ٢-٢٨)، وتتكاثر البكتيريا بداخل أنسجة النيماتودا مستخدمة الكيوتكل فى الوقاية، وتتكون ملايين الجراثيم بداخل جسم النيماتودا (حوالى ٢-٥ , ٢ مليون جرثومة)، وهذه الجراثيم تنطلق فى نهاية المطاف إلى التربة، وعلى الرغم من أن النيماتودا تبقى حية تتناول غذائها إلا أن تكاثرها ينخفض بشكل ملحوظ.



شكل (٢- ٢٨) أنبوبة الإنبات المتكونة من الجرثومة وقد اخترقت الكيوتكل.

وإلى جانب منع البكتيريا المتطفلة على نيماتودا تعقد الجذور لتكاثر النيماتودا فإنها تختزل القابلية للإصابة بالنيماتودا juvenile nematodes، وتقاوم جراثيم هذا النوع البكتيرى الظروف البيئية السيئة من حرارة وجفاف وتجميد ... إلخ بسبب طبيعة تركيبها، فهذه الجراثيم يمكن بقاؤها تحت ظروف التربة لفترات طويلة - وذلك على عكس الفطريات الصائدة للنيماتودا - دون فقد لقابليتها للإصابة، كما تتميز بمقاومتها الكبيرة لدرجة الحرارة العالية، إلى جانب حجمها الصغير نسبيًا ولذلك يمكن إعادة توزيعها بواسطة الماء الراشح، وهى ناحية مفيدة لأنه يمكن استخدام الجراثيم فى أو قرب سطح التربة الخشنة وتتحرك لأسفل خلال التربة حيث توجد النيماتودا، وتحد الطبيعة التطفلية الإجبارية لهذا النوع البكتيرى من فعاليته فى عملية المكافحة البيولوجية وتصل كثافة الجراثيم البكتيرية بالتربة إلى الدرجة التى تختزل فيها القابلية للإصابة للنيماتودا ونقص إنتاج الإناث المصابة ومن ثم انخفاض فى كثافة جراثيم البكتيريا.

بكتيريا كروموباكتيريم Chromobacterium sp:

تثبط بكتيريا كروموباكتريم Chromobacterium sp وهى بكتيريا عصوية سالبة لصبغة

جرام من عملية فقس بيض العديد من أنواع النيماتودا مثل النيماتودا الحوصلية Globodera rostochiensis التى تصيب نباتات البطاطس، وآلية البكتيريا فى هذا الصدد هو إفرازها لإنزيم الكيتينيز الذى يحلل بوليمر الكيتين.

❖ أنواع جنس باسيلس Bacillus:

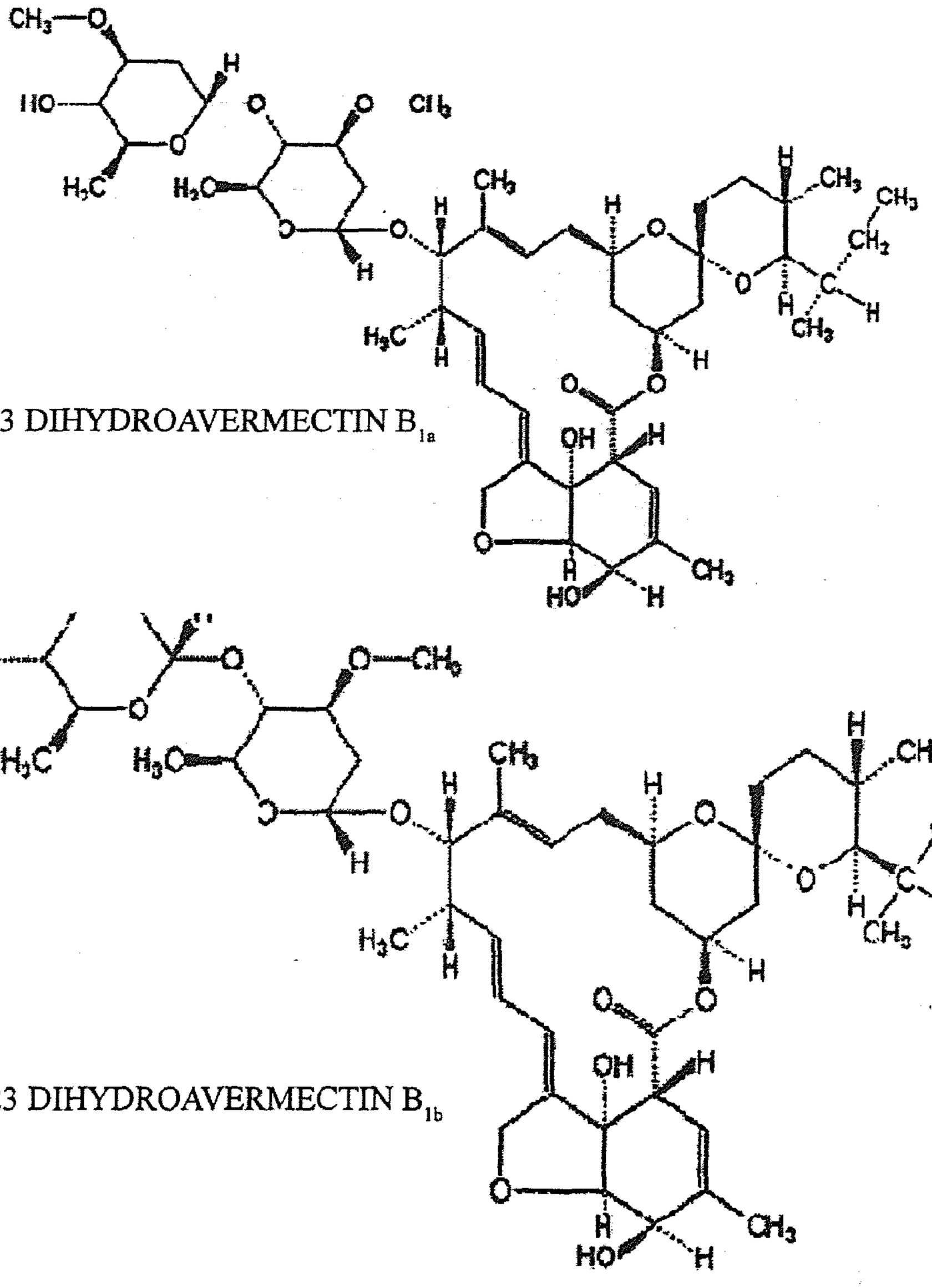
تؤثر بعض بروتينات بكتيريا باسيلس ثورينجينسيس B. thuringensis على النيماتودا التى تعيش معيشة حرة أو متطفلة على النبات، ويظهر تأثير هذه البروتينات بتكوين مسام فى غشاء الخلية الخاصة بالخلايا الطلائية للقناة الهضمية، ويؤدى تناول النيماتودا لهذه البلورات إلى إسالة قنواتها الهضمية حيث يظهر تأثيرها المباشر تجاه الخلايا الطلائية للمعى الوسطى بتكوين فجوات وثغرات وتجويفات وفى النهاية تحليل كلى للأمعاء. كذلك تلعب أنواع جنس الباسيلس الأخرى مثل النوع باسيلس سيريس B. cereus والنوع باسيلس ستلس B. subtilis دورًا هامًا فى تثبيط نشاط وتكاثر كل من نيماتودا تعقد الجذور Meloidogyne ونيماتودا التقرح Pratylenchus.

❖ أنواع جنس ستربتوميسز Streptomyces spp:

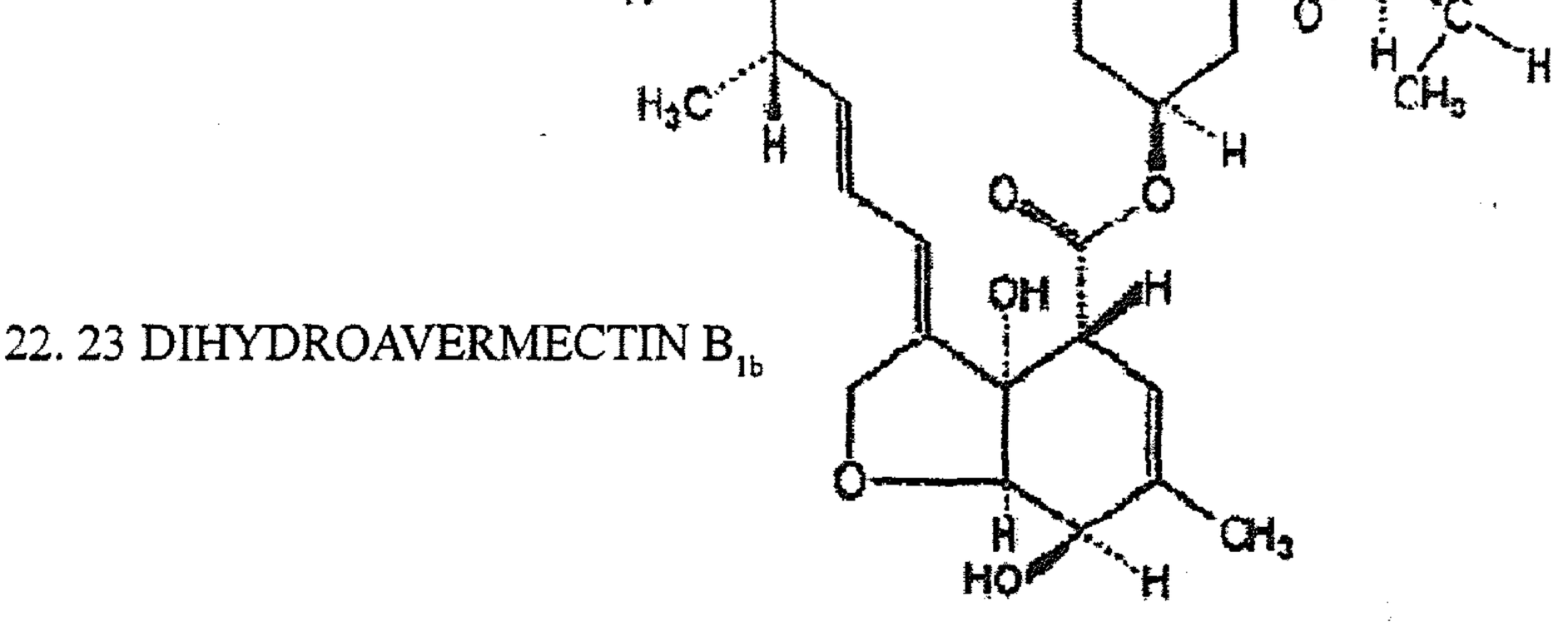
تمثل أنواع جنس ستربتوميسز مجموعة كبيرة من الأكتينوميسيتات والمعروفة بقدرتها على إنتاج المضادات الحيوية بأنواعها المختلفة، وتكافح بكتيريا Streptomyces castaricanus نيماتودا تعقد الجذور M. incognita ونيماتودا التقرح P. penetrans التى تصيب بعض النباتات، وتؤدى معاملة التربة الزراعية بهذا النوع إلى زيادة نمو ومحصول النباتات المعاملة.

❖ الأفيرميكتين:

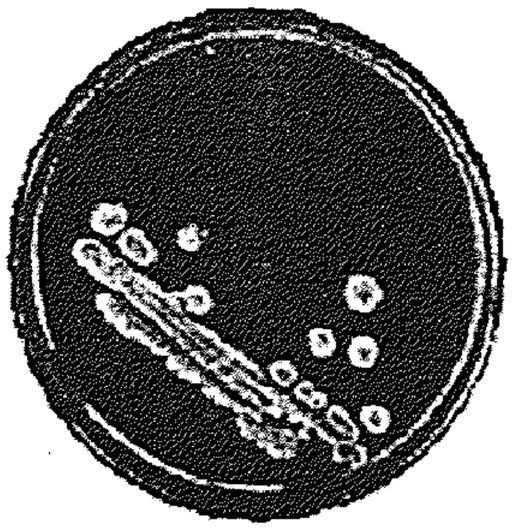
يرجع اكتشاف الأفيرميكتين avermectin 22,23-dihydroavermectin B1a + 22,23-dihydroavermectin B_{1b} (شكل ٢-٢٩) إلى عام ١٩٨٠، وذلك على أثر اكتشاف إنتاج بكتيريا ستربتومايسيس أفيرميتيلس Streptomyces avermitilis (شكل ٢-٣٠) - وهى من الكائنات الحية الدقيقة التى تقطن التربة الزراعية - لبعض العوامل المضادة لأنواع معينة من ديدان النيماتودا، وهى ديدان متطفلة تصيب أمعاء أى حيوان يتناول بيضها ويهضمه، ويتركز فعل هذه العوامل المضادة على اللافقاريات بتنبيه إفراز حامض جاما أمينوبيوتريك وهو ناقل عصبى مثبط ومن ثم زيادة ارتباطه بمستقبلاته على غشاء الخلية العضلية،



22. 23 DIHYDROAVERMECTIN B_{1a}



22. 23 DIHYDROAVERMECTIN B_{1b}



شكل (٢-٢٩) ترك يب الأفيرمكتين Ivermectin

شكل (٢-٣٠) نمو بكتيريا Streptomyces

ويؤدى ذلك إلى زيادة فى تدفق أيونات الكلوريد فى الخلية، مما ينجم عنه شلل لاشفاء منه وموت، وتتميز مركبات الأفيرميكتين بسميتها الاختيارية إذ أنها غير ضارة للفقاريات حيث لها هدف خلوى محدد تؤثر فيه، وإلى جانب ذلك تتميز هذه المواد بعدم بقائها فى التربة لفترة طويلة حتى مع تكرار استخدامها حيث تكون عرضة للتحليل الضوئى والميكروبى، ومن المتوقع أن يكون لهذه المواد شأن كبير عند تمام التعرف على تركيبها.

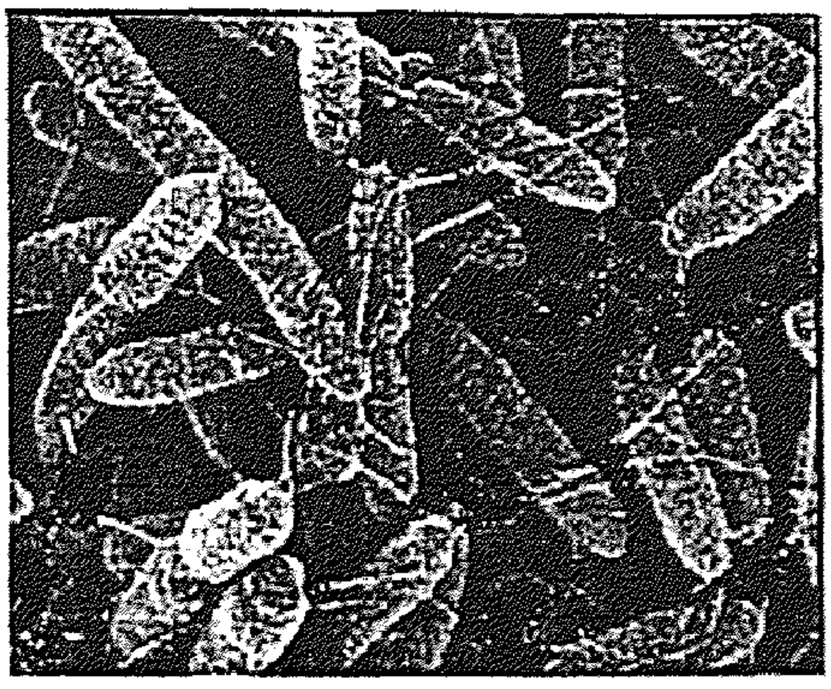
والأفيرمكتين عبارة من مجموعة من ثمانية مركبات تشبه اللاكتونات الحلقية الكبيرة وتتميز بنشاط تضادى عالى ضد أنواع النيماتودا الهامة من الناحية الاقتصادية، إلى جانب بعض الحشرات مثل دودة كيزان الأذرة corn earworm وأنواع ديدان Southern armyworm فى محاصيل الأذرة والبرسيم والكريزانثمم، والطفيليات الحيوانية، والأكاروس، والحلم.

وقد تم إنتاج عدة مبيدات حيوية لمقاومة الآفات الزراعية من الافيرمكتين ب١ Avermectin B1 المعروف باسم الأبامكتين abamectin بعضها للأكاروس acaricide والبعض الآخر للحشرات insecticide.

❖**بكتيريا ستينوتروفوموناس مالتوفيليا** Stenotrophomonas maltophilia:

بكتيريا ستينوتروفوموناس مالتوفيليا S. maltophilia بكتيريا هوائية سالبة لجرام، وهى النوع المثالى لجنس Stenotrophomonas منذ عام (١٩٩٣)، وقد كانت تعرف سلفًا باسم Pseudomonas maltophilia or Xanthomonas maltophilia (شكل ٢- ٣١).

ويثبط الكثير من سلالات هذا النوع البكتيرى من عملية فقس بيض النيماتودا الحوصلية التى تصيب نبات البطاطس Globodera restochiensis، ويتم عزل هذا الميكروب من الأراضى ذات الطبيعة التثبيطية للنيماتودا الحوصلية للبطاطس، ويعتبر إفراز إنزيم الكيتينيز هو الآلية الأساسية التى توظفها هذه البكتيريا لتثبيط عملية فقس بيض النيماتودا حيث يحلل الإنزيم الكيتين بقشرة البيضة.



شكل (٢- ٣١) بكتيريا Stenotrophomonas maltophilia

❖ دور الريزوبكتيريا فى مكافحة النيماتودا:

الريزوبكتيريا rhizobacteria هى بكتيريا تتواجد على جذور النباتات تتغذى على إفرازاتها وتشجع نموها ولذلك يطلق عليها مسمى البكتيريا المشجعة لنمو النبات plant growth-promoting rhizobacteria، وتعتبر بكتيريا المجال الجذرى هذه ضمن المقاومات البيولوجية للنيماتودا المتطفلة على النبات، وتتضمن هذه المجموعة المركبة عشرات الأجناس البكتيرية ذات التأثيرات المختلفة، ومن أهم البكتيريات المفيدة فى هذا المجال أفراد جنس باسيلس Bacillus وسيدوموناس Pseudomonas وسيرتيا Serratia وكثير من أنواع الأكتينوميسيتات.

وتضبط بكتيريا المجموع الجذرى سلوك النيماتودا فى التربة بتداخلها مع النبات عن طريق التنافس على الغذاء، وتشجيع نمو النبات، وحث النظام المناعى لدى النبات، أو بفعل التضاد المباشر عن طريق إنتاج الإنزيمات المختلفة والمضادات الحيوية وسيانيد الهيدروجين والسموم والمواد الأيضية، وتثبط هذه النواتج عملية التكاثر وفقس بيض يرقات النيماتودا كما تؤدى إلى موت النيماتودا.

وتثبط بكتيريا كورينيبكتريم بارروميتابولو Corynebacterium paurometabolu فقس بيض النيماتودا من خلال إنتاج مركب سيانيد الهيدروجين hydrogen cyanide وإنزيم الكيتينيز chitinase.

وتعتبر بكتيريا سيدوموناس فلوريسنس Pseudomonas fluorescens من عوامل مكافحة النيماتودا الهامة، حيث تتحكم فى يرقات النيماتودا عن طريق إنتاج مواد أيضية metabolites مثل مركب ٢،٤- داى أسيتيل فلوروجلوسينول-2,4 diacetylphloroglucinol والتى تقلل من فقس بيض النيماتودا، وتحث هذه البكتيريا النظام المناعى لدى النبات ضد النيماتودا من خلال تراكم حمض السلسيليك salicylic acid فى منطقة الريزوسفير، كما تقوم بتحليل إفرازات الجذور المتخصصة التى تحكم سلوك النيماتودا.

ومن الميكروبات الهامة زراعيًا بكتيريا بركهولدريا سينوسيبسيا Burkholderia cenocepacia formerly Burkholderia cepacia genomovar III, and before

that Pseudomonas cepacia، وتستخدم هذه البكتيريا فى مكافحة آفات النيماتودا النباتية، حيث تضاد النيماتودا المتطفلة باستثناء نيماتودا الحوصلات cyst nematodes، وقد تم تسجيل مبيد حيوى للنيماتودا nematicide من هذا النوع فى أمريكا.

وتستخدم الجراثيم المتكونة بواسطة بعض سلالات من بكتيريا باسيلس فيرمس Bacillus firmus بشكل تجارى لمقاومة أنواع نيماتودا تعقد الجذور Meloidogyne spp., RKN فى كثير من نباتات الخضروات والنباتات الطبية والعطرية، وهناك مستحضر تجارى من هذه البكتيريا يحمل مسمى BioNem WP يستخدم فى مكافحة العديد من أنواع النيماتودا التى تصيب الخضروات، ويستخدم هذا المستحضر قبل الزراعة لكن يمكن استخدامه أيضًا أثناء المراحل المختلفة لنمو المحصول.

ويتوفر فى الوقت الراهن بالأسواق التجارية منتج حيوى يستخدم فى مكافحة النيماتودا المتطفلة على بعض نباتات الخضروات يعرف باسم LS 213 or BioYield، ويحتوى المستحضر على نوعين من سلالات الريزوبكتيريا المشجعة لنمو النبات هما السلالة بانيباسيلس ماسيرنس Paenobacillus macerans GB122 والسلالة باسيلس اميلولكيويفاسينس Bacillus amyloliquefaciens GB99.

❖ المراجـــع:

Abd El Gafar, N.Y. and K.M. Abd El Kader (1997). Interaction between root-knot nematodes Meloidogyne incognita and Pseudomonas solanacearum on tomato. Annals Agric. Sci., Cairo, Egypt., 42(2): 607- 617.

Campbell, W.C. (ed.). (1989). Ivermectin and Abamectin. Springer-Verlag, New York.

Cangsang, Pan, Jing, Lin, Zimian and Ni;Shengyuan, Wan (1993). Study on the pathogenic bacteria parasitizing root-knot nematodes discovered in China and their application to biological control. Acta Microbiol-Sin., 33(4): 313- 316.

Chen, J., G.S Abawi and B.M Zuckerman (2000). Efficacy of Bacillus thuringiensis, leave space after comma Paecilomyces marquandii and Streptomyces costaricanus with and without organic amendments against Meloidogyne hepla infecting lettuce. Nematol., 32: 7077-.

Clark J.M.; J.G. Scott; F. Campos and J.R. Bloomquist (1995). Resistance to avermectins: extent, mechanisms, and management implications, Annu. Rev. Entomol., 40:1- 30.

Corbani Renato Z. and M. Dos Santos Jaime (2003). Patogenicidade de Arthrobotrys oligospora a Tylenchulus semipenetrans in vitro (Pathogenicity of Arthrobotrys oligospora to Tylenchulus semipenetrans in vitro). Summa phytopatológica. 29(1):43- 44.

Cronin D, Y. Moenne-Loccoz, C. Dunne and F. O'Gara (1997). Inhibition of egg hatch of the potato cyst nematode Globodera rostochiensis by chitinase-producing bacteria. European J. Plant Pathol.;103:433 – 440.

Dileep Kumar, B.S., I. Berggren and A.M. Martenssen (2001). Potential for improving pea production by co-inoculation with fluorescent

Pseudomonas and Rhizobium, Plant and Soil, 229: 25- 34.

Hallmann. J, A Quadt-Hallmann, WG Miller, R.A Sikora and S.E Lindow (2001). Endophytic colonization of plants by the biocontrol agent Rhizobium etli in relation to Meloidogyn incognita infection. Phytopathol. 91: 415- 420.

Hamid, M.; I.A. Siddiqui and S. Shahid Shaukat (2003). Improvement of Pseudomonas fluorescens CHA0 biocontrol activity against root-knot nematode by the addition of ammonium molybdate. Lett. Appli. Microbiol. 36: 239–244.

Hotson, I.K. (1982). The avermectins: A new family of antiparasitic agents, J S Afr Vet Assoc., 53(2):87- 90.

Huang; X., B. Tian; Q. Niu; J. Yang; L. Zhang and K. Zhang (2005). An extracellular protease from Brevibacillus laterosporus G4 without parasporal crystals can serve as a pathogenic factor in infection of nematodes.156 (5 - 6): 719 - 727.

Keren-Zur, M., J. Antonov, A. Bercovitz, K. Feldman, A. Husid, G. Kenan, N. Markov. and M. Rebhun (2000). Bacillus firmus formulations for the safe control of root-knot nematodes. In: Proceedings of the Brighton Crop Protection Conference on Pests and Diseases. 2A:47–52.

Lamberti, F. and C.E. Taylor (eds.) (1979). Root-knot nematodes (Meloidogyne species): systematics, biology and control Academic Press, New York.

Lasota, J.A. and R.A. Dybas (1991). Avermectins, a novel class of compounds: implications for use in arthropod pest control. Ann. Rev. Entomol. 36:91–117.

Mohamed, Zeinat K., S.A. El-Sayed, T.E.E. Radwan and Ghada S. Abd El-Wahab (2009). Potency evaluation of Serratia marcescens and

Pseudomonas fluorescens as Biocontrol Agents for Root-knot Nematodes in Egypt. J. Appl. Sci. Res., 4(1): 93- 102.

Montesinos, E. (2003). Development, registration and commercialization of microbial pesticides for plant protection. International Microbiol. 6(4):245- 252.

Mukerji, K.G. (2006). Disease management of fruits and vegetables. Biocontrol of nematode-borne diseases in vegetable crops. Fruit and Vegetable Diseases. 1: 397-450.

Nakkeeran, S.; W. G. Dilantha Fernando and Zaki A. Siddiqui (2006). Plant Growth Promoting Rhizobacteria Formulations and its Scope in Commercialization for the Management of Pests and Diseases. In: PGPR: Biocontrol and Biofertilization. 257-296 Springer Netherlands.

O'Quinn, A.L.; E.M. Wiegand and J.A. Jeddeloh (2001). Burkholderia pseudomallei kills the nematode Caenorhabditis elegans using an endotoxin-mediated paralysis. Cellular Microbiol. 3(6):381-393.

Reitz, M., K. Rudolph, I. Schröder, S. Hoffmann-Hergarten, J. Hallmann and R. A. Sikora (2000). Lipopolysaccharides of Rhizobium etli Strain G12 act in potato roots as an inducing agent of systemic resistance to infection by the cyst nematode Globodera pallida. Appl. Environ. Microbiol.; 66(8):3515 – 3518.

Santhi, A. and C.V. Sivakumar, 1995. Biocontrol potential of Pseudomonas fluorescens against rootknot nematodes Meloidogyne incognita (Kofoid and White, 1919) Chitwood,1949 on tomato. J. of Biological control, 9(2): 113- 115.

Shehata and A.A. Hanafi (2006). Effect of plant growth bioprotecting and promoting rhizobaceria and compost on the healthy and productivity of peanut crop in sandy soil. Minufiya J. Agric. Res., (Minufiya Univ., Egypt)., 31(5): 1323- 1348.

Siddiqui, I. A. and S. S. Shaukat (2003). Plant Species, Host Age and Host Genotype Effects on Meloidogyne incognita Biocontrol by Pseudomonas fluorescens Strain CHA0 and its Genetically-Modified Derivatives. J. Phytopathol. 151: 231–238.

Siddiqui, I.A. and S.S. Shaukat (2002). Rhizobacteria-mediated Induction of Systemic Resistance (ISR) in Tomato against Meloidogyne javanica. J. Phytopathol. 150: 469 – 473.

Steddom, K. and J.A Menge (2001). Continuous application technology for delivery of biocontrol agent Pseudomonas putida. Plant disease, 85: 387-391.

Toth, L.A.; C. Oberbeck; C.M. Straign; S. Frazier and J.E. Rehg (2000). Toxicity evaluation of prophylactic treatments for mites and pinworms in mice, Contemp Top. Lab. Anim. Sci., 39(2):18 - 21.

Trudgill, D.L.; G. Bala; V.C. Blok; A. Daudi; K.G. Davies; M. Fargette; S.R. Gowen; J.D. Madulu; T. Mateille; W. Mwageni; C. Netscher; M.S. Phillips; S. Abdoussalam; G.C. Trivino and E. Voyoulallou (2000). The importance of tropical root-knot nematodes (Meloidogyne spp.) and factors affecting the utility of Pasteuria penetrans as a biocontrol agent. Nematol. 2:823 - 845.

Viktorov, A.V. and V.A. Yurkiv (2003). Effect of ivermectin on function of liver macrophages. Bull. Exp. Biol. Med.; 136(6):569 - 571.

Zhang, Z., G.Y Yuen, G Sarath and A.R. Pentheiter (2000). Chitinase from the plant biocontrol agent Stenotrophomons maltophilia. Biological Control, 9: 204- 211.

الباب الثالث

المبيدات الحيوية الفطرية

الفصل الأول
الفطريات ومكافحة الآفات

❖مقـدمـة:

لقد بدأ الصراع بين الإنسان والآفات منذ فجر التاريخ، ومازال هذا الصراع مستمرًا حتى اليوم لوقاية الإنسان ذاته وتأمين غذائه من هذه الآفات، ويرجع سطو الآفات على المزروعات الاقتصادية إلى (١٠٠٠٠) سنة مضت هى عمر مهنة الزراعة، وتتفاوت نسبة الفقد فى المحاصيل الزراعية المختلفة بسبب الإصابات التى تحدثها الآفات المتنوعة.

ونظرًا لأضرار المبيدات الكيميائية التى استخدمت بإسراف فى الخمسين سنة الأخيرة بغرض مكافحة الآفات وما نتج عنها من تلوث للبيئة وقتل للأعداء الطبيعية للآفات والميكروبات النافعة فقد لاقى توظيف تقنيات المكافحة الصديقة للبيئة قبول عام فى الزراعة المستدامة، ويعتبر استخدام الفطريات الممرضة للآفات بذات أهمية فى المكافحة الميكروبية. وهناك أكثر من (٣٠٠٠) كائن حى دقيق تسبب أمراض للحشرات على سبيل المثال، إلا أنه من المعتقد أن ممرضات الحشرات من الأنواع الميكروبية أكبر من هذا العدد بكثير.

وتشير التسجيلات التاريخية إلى أنه تم التعرف على الأمراض التى تصيب نحل العسل منذ أيام أرسطو، ومن المعتقد أن أول تسجيل لفطر ممرض للحشرات يرجع للعام (١٧٢٦) حين سجل de Reaumur أحد الفطريات الأسكية من جنس كوردايسبس Cordyceps ممرض لفراشة من حرشفيات الأجنحة من عائلة Noctuidae، وبعدها بمائة عام لاحظ كل من Kirby , Spence الارتباط بين الفطريات والحشرات.

وفى عام (١٨٣٤) أوضح الإيطالى Aogostino Bassi de Lodi - الذى لقب فيما بعد بأب علم أمراض الحشرات - إصابة ديدان الحرير بفطر أسكى ذو لون أبيض عُرف فيما بعد باسم بوفاريا باسيانا Beauvaria bassiana المعروف باسم المسكردين الأبيض white muscurdine، وقد اشتق هذا الاسم من نوع خاص من الكوكيز المنتج فى إيطاليا والذى يغطى تمامًا بالسكر معطيًا مظهرًا أبيض يشبه مظهر الفطر عندما يغطى الآفة التى

يستهدفها، ويحدث مرض المسكردين أيضًا بواسطة فطر ميتاريزيم انيسوبليا Metarhizium anisopliae المعروف بفطر المسكردين الأخضر green muscurdine، والذى يرجع لونه الأخضر المميز إلى لون جراثيمه اللاجنسية أو الكونيديات ذات اللون الأخضر الغامق.

وبعدها بحوالى أربعين عام تمت المحاولات الأولى لاستخدام الميكروبات الممرضة للحشرات فى مكافحة الآفات عندما استخدم Metchnikoff فى روسيا فطر ميتاريزيم انيسوبليا M. anisopliae فى مكافحة الآفات التى تهاجم نبات القمح.

وقد درس العالم الفرنسى الشهير لويس باستير مرض المسكردين الأبيض فى ديدان الحرير لمدة عامين، واقترح فى العام (١٨٧٤) توظيف الميكروبات الممرضة للحشرات بشكل تطبيقى لمكافحة آفة الفيللوكسيرا Phylloxera وهى نوع من المن يصيب كروم العنب، بعد ذلك تم التعرف على عـدد كبير من الفطريات الممرضة للآفـات.

وقد جرت محاولات كبيرة فى كثير من الدول وبصفة خاصة فى أمريكا بنهاية القرن التاسع عشر لاستخدام الفطريات فى مكافحة الآفات.

وقد تأصل مفهوم المكافحة الميكروبية لآفات المحاصيل فى السنوات الأخيرة، واكتسبت مكافحة الآفات المختلفة باستخدام الفطريات أهمية كبيرة، كما شكلت جزء هام فى برنامج المكافحة البيولوجية فى كل دول العالم (جدول ٣-١).

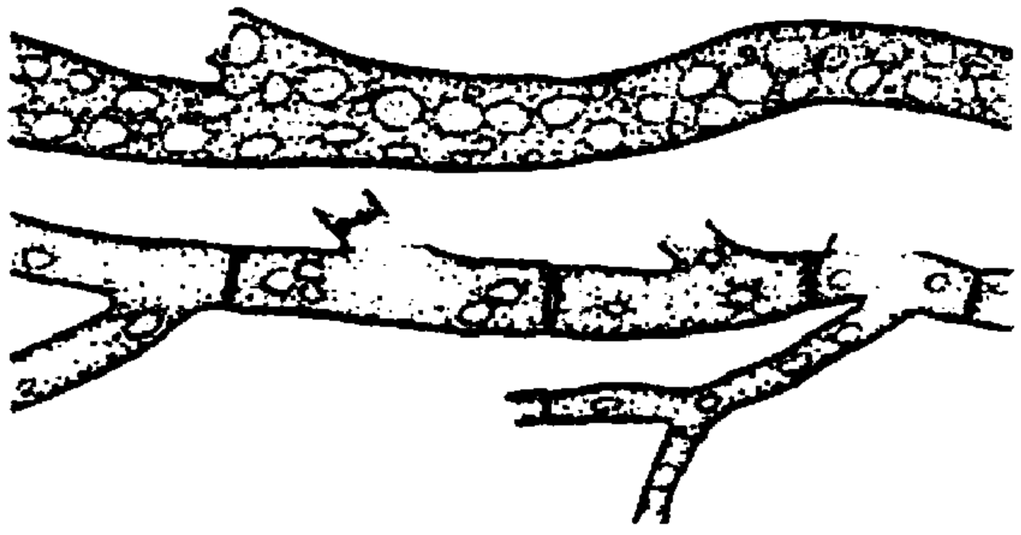
جدول (٣-١) المجاميع الرئيسية للفطريات الممرضة للحشرات entomopathogenic fungi.

شعبة	الرتبة	العائلة	مثال
Oomycota		Lagenidiaceae	Lagenidium
Chytridiomycota		Blastocladiaceae	Coelomomyces
Zygomycota			Entomophaga
	Mucorales	Mucoroceae	Sporodiniella
Ascomycota	Clavicipitales	Clavicipitaceae	Cordyceps
	Hypocreales	Hypocreaceae	Cordycepioideus
	Laboulbeniales	Laboulbenioceae	Many genera
	Pleosporales	Podonectriaceae	Podonectria
			Aspergillus
			Beauveria
			Metarhizium

Septobasidium	Septobasidiaceae	Septobasidiales	Basidiomcota
Verticillium			Hyphomycota
Sorosporella		Coelomycetes	

❖خصائص الفطريات الممرضة للآفات:

الفطريات كائنات حية دقيقة أقرب فى شكلها وصفاتها إلى النباتات عن الحيوانات على الرغم من خلوها من صبغة الكلوروفيل، وتتكون أجسامها من خلية واحدة صغيرة الحجم كالخمائر yeasts إلى عديد من الخلايا المميزة، وتحاط أجسام الفطريات بجدر خلوية محددة – عدا قلة منها –، وفى معظم الفطريات تحتوى هذه الجدر على السليلوز cellulose أو الكيتين chitin أو كلاهما معًا، وفى الغالب يتكون جسم الفطر من ميسيليوم (غزل فطرى mycelium) وهو عبارة عن خيوط فطرية تعرف باسم « هيفات hyphae » (مفردها هيفا hypha) عديدة متفرعة ومتداخلة ومتشابكة مع بعضها، وقد يكون الميسيليوم غير مقسم aseptate hyphae ومتعدد الأنوية (مدمج خلوى coenocytic hyphae)، أو يكون مقسم septate hyphae بجدر عرضية إلى خلايا ذات نواة واحدة أو نواتين، وتميز الهيفات المقسمة الفطريات الراقية (شكل ٣-١)، والهيفات إما أن تكون خضرية أو خصبة، والأخيرة هى الهيفات التى تحمل الجراثيم اللاجنسية والجنسية (شكل ٣-٢). تتميز الجراثيم اللاجنسية أو الكونيديات بألوانها الواضحة وبوفرتها وسعة انتشارها فى الطبيعة، بينما تتميز الجراثيم الجنسية بمحدودية انتشارها، ويعتمد بشكل أساسى على الصفات المظهرية للفطر مثل الشكل والحجم والتركيب إلى جانب الخواص المزرعية فى تصنيف الفطر إلى أجناس وأنواع.



شكل (٣ –١) هيفا خضرية. أ. جزء من هيفا غير مقسمة (مدمج خلوى). ب– جزء من هيفا مقسمة.

وتنمو الفطريات على هيئة هيفات خيطية فى الأوساط المحتوية على مواد غذائية صلبة، فى حين تنمو كخلايا متبرعمة أشبه بالخميرة تعرف باسم الجراثيم البلاستية blastospores (جراثيم منتجة بالتبرعم) عند نموها فى المزارع المغمورة، وهو أقرب للمظهر المشابه للتبرعم الذى يشاهد فى العوائل الحشرية المريضة، ويمكن إنتاج البلاستوسبورز بأعداد ضخمة فى المخمرات fermentors إلا أنه نظرًا لحساسيتها للجفاف فإنه يصعب توظيفها فى برامج المكافحة الميكروبية للآفات المختلفة.



شكل رقم (٣-٢) حوامل جرثومية كونيدية.

وتنتج الفطريات جراثيم لاجنسية بأعداد ضخمة - كما أسلفنا - فى مزارعها أو على عوائلها فى الأجواء الرطبة، وهذه الجراثيم هى الوحدات الأساسية التى تبدأ العدوى حيث تنتشر بواسطة الأمطار والرياح، وهذه الجراثيم تختلف عن جراثيم البكتيريا فى أن مقاومتها ضعيفة للظروف البيئية المغايرة، فهى حساسة للجفاف والأشعة فوق البنفسجية ولذلك فإن هناك مشاكل كثيرة فيما يتعلق بتخزين واستخدام والحفاظ على حيوية مثل هذه الجراثيم.

وتعتبر الفطريات كائنات غير ذاتية التغذية، ويساعدها فى معيشتها غير الذاتية إنتاجها لعدد كبير من الإنزيمات خارج خلاياها extracellular enzymes وبصفة خاصة إنزيمات التحليل المائى hydrolases والإنزيمات المؤكسدة oxidases، وتحلل الفطريات فى أوساط نموها الطبيعية مواد كثيرة مثل السليلوز والهيميسيليلوز والكيتين والنشا واللجنين والسكريات، وبعض الفطريات طفيليات parasites تعتمد فى توفير احتياجاتها الغذائية على مادة العائل الحية. وقد تم الاستفادة من نشاط الفطريات البيئى فى تحليل المركبات العضوية للحصول منها على طاقتها وعلى المواد الأولية التى تحتاجها فى نموها - فى استخدامها كأدوات فعالة فى المكافحة الحيوية.

وتعتبر الفطريات أكثر الكائنات التى تسبب أمراضًا للحشرات، وهناك عدد كبير من الأنواع الفطرية الممرضة للحشرات entomopathogenic fungi، وتتطفل هذه الفطريات على عدد كبير من العوائل الحشرية التى تقطن اليابسة والماء، وهناك بعض التقديرات بوجود أكثر من (٥٠٠) فطر ذات ارتباطات بالحشرات، ويسبب بعضها أمراضًا خطيرة لها، ويستخدم حاليًا عدد قليل منها كعناصر مكافحة.

ومن المعتقد أن التوسع فى استخدام الفطريات فى المكافحة البيولوجية غير مؤكد لأسباب كثيرة منها أن العدوى الفطرية تحدث بصفة أساسية خلال الهيكل الخارجى (الكيوتكل) للحشرة وليست خلال الجهاز الهضمى، ومن ثم فهى عرضة للتأثر بالظروف البيئية بشكل كبير، فمن المعروف عن الفطريات بصفة خاصة احتياجها إلى رطوبة عالية جدًا قد تصل إلى (١٠٠٪) فى المراحل الأولية من العدوى، ومن الصعوبة بمكان توفير مثل هذه الظروف الرطبة فى التطبيقات الحقلية.

وتفضل معظم الفطريات النمو على حرارة فى المدى (٢٠-٢٨°م) فى حين لا تنمو جيدًا على (٣٧°م)، ومن ثم لايكون لها تأثير ضار على الإنسان وحيواناته الاقتصادية باستثناء بعض الحساسية التى قد تسببها جراثيمها. وعلى الرغم من محدودية الاستخدام التجارى للفطريات فى المكافحة الحيوية وتوقع عدم وجود إمكانية للتوسع فى استخدامها مستقبلًا إلا أنها تستخدم أكثر فى دول الاتحاد السوفيتى السابق عن الدول الغربية، إذ تهتم هذه الدول بدورها فى مكافحة آفات المن والحشرات القشرية بسبب ندرة إصابة تلك الآفات بكائنات دقيقة أخرى إلى جانب تطور المقاومة resistance للمبيدات الكيميائية لآفات المن.

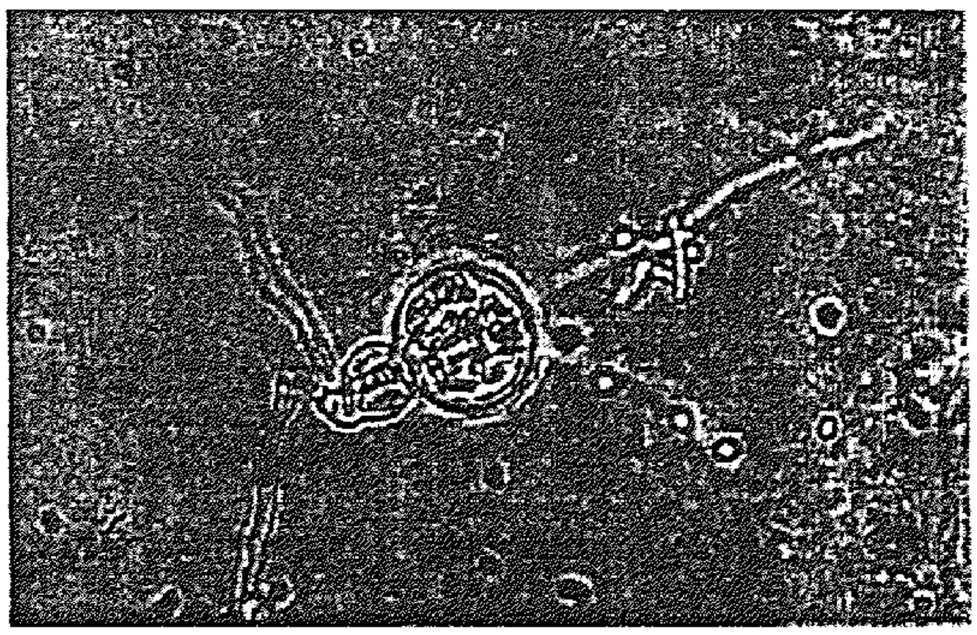
❖موضع الفطريات فى عالم الأحياء:

فى العام (١٨٨٦) وضع ايخلر Eichler الفطريات فى المملكة النباتية تحت قسم النباتات الثالوثية Subdivision Thallophyta الذى شمل الطحالب والفطريات على الرغم من اختلاف صفات الفطريات عن كل من الطحالب والنباتات. وقد وضعت الفطريات - تمتص أفرادها المواد الذائبة absorption من أوساط نموها - حاليًا فى مملكة مستقلة بها هى مملكة الفطريات Kingdom Myceteae، إلا أن ذلك لم يمنع التلازم القائم حتى اليوم بين الفطريات والنباتات إذ مازالت الفطريات تدرس كجزء من مقررات النبات. وقد ضمت

مملكة الفطريات قسمين رئيسين هما الفطريات المكونة للبلازموديوم plasmodium (الفطريات اللزجة Myxomycota) والفطريات المكونة للتراكيب الهيفية الخيطية الشكل (الفطريات الحقيقية Eumycota).

ويقصد بالفطريات غير الحقيقية primitive fungi الفطريات الهلامية slime molds، وتشمل الفطريات الهلامية البلازمودية والفطريات الأكرازية، وهى تختلف عن بقية الفطريات فى قدرتها على الحركة وفى أن جسمها عبارة عن بروتوبلاست عارى يسمى بلازموديوم خلال مراحل النمو الخضرى، وتتغذى هذه الفطريات بالالتهام phagotrophic nutrition.

وتتميز الفطريات الحقيقية true fungi عن الفطريات غير الحقيقية بوجود الجدار الخلوى، وبعض هذه الفطريات بدائية (سوطية flagellate) ذات تركيب بسيط، وتحمل أسواط تماثل تلك الموجودة فى الطحالب والحيوانات والنباتات الراقية، وتشمل الفطريات البدائية كل من الفطريات الكتيزيدية والبيضية. وتكون الفطريات الكيتريدية Chytridomycota جراثيم سوطية zoospores فى مرحلة من حياتها، وهى جراثيم تحمل سوط واحد أمامى أو خلفى، ويغلب وجود الكيتين والسكريات العديدة فى جدرها الخلوية. ومعظم الفطريات البيضية Oomycota (شكل ٣-٣) رمية، وهناك قلة منها تعيش معيشة تطفلية.



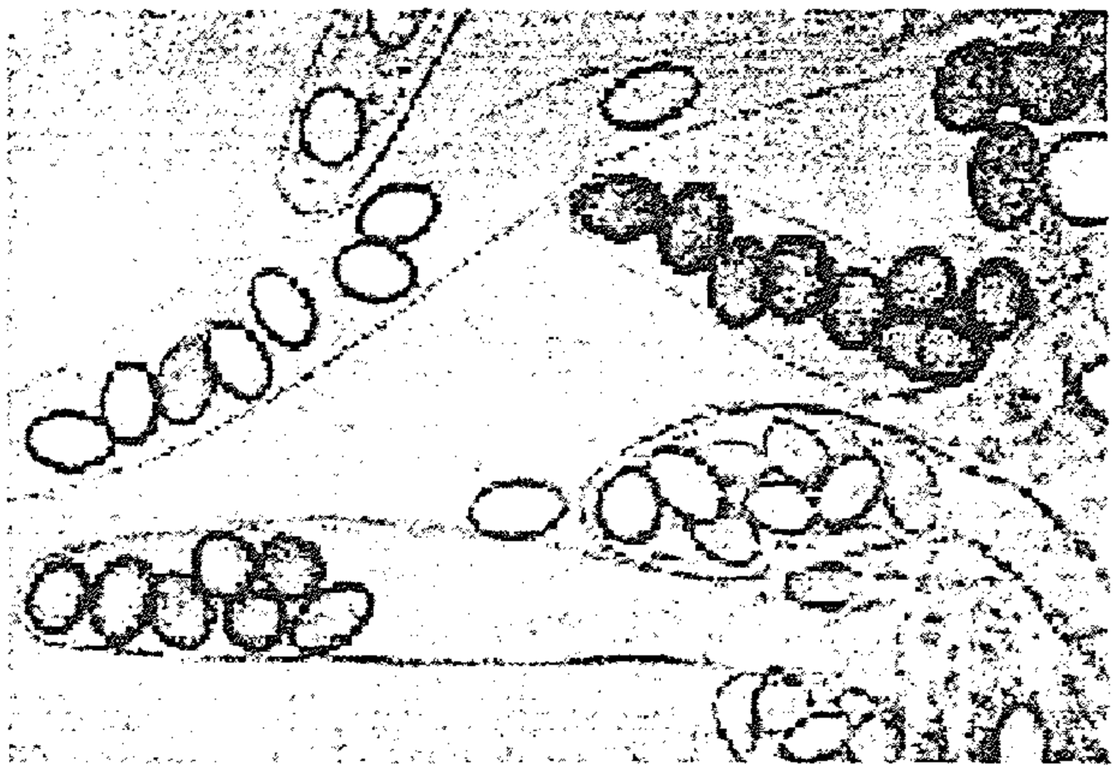
شكل (٣-٣) الجراثيم البيضية Oopores

والفطريات الزيجية Zygomycota لا تنتج خلايا ذات أسواط فى أى مرحلة من حياتها، وجسمها عبارة عن هيفات متفرعة غير مقسمة بجدر، وتكون جرثومة زيجية zygospore (شكل ٣- ٤) تنبت لتكون ميسيليوم أولى يحمل كيس أسبورانجى، يحتوى على جراثيم أسبورانجية إما موجبة (+) أو سالبة (-).



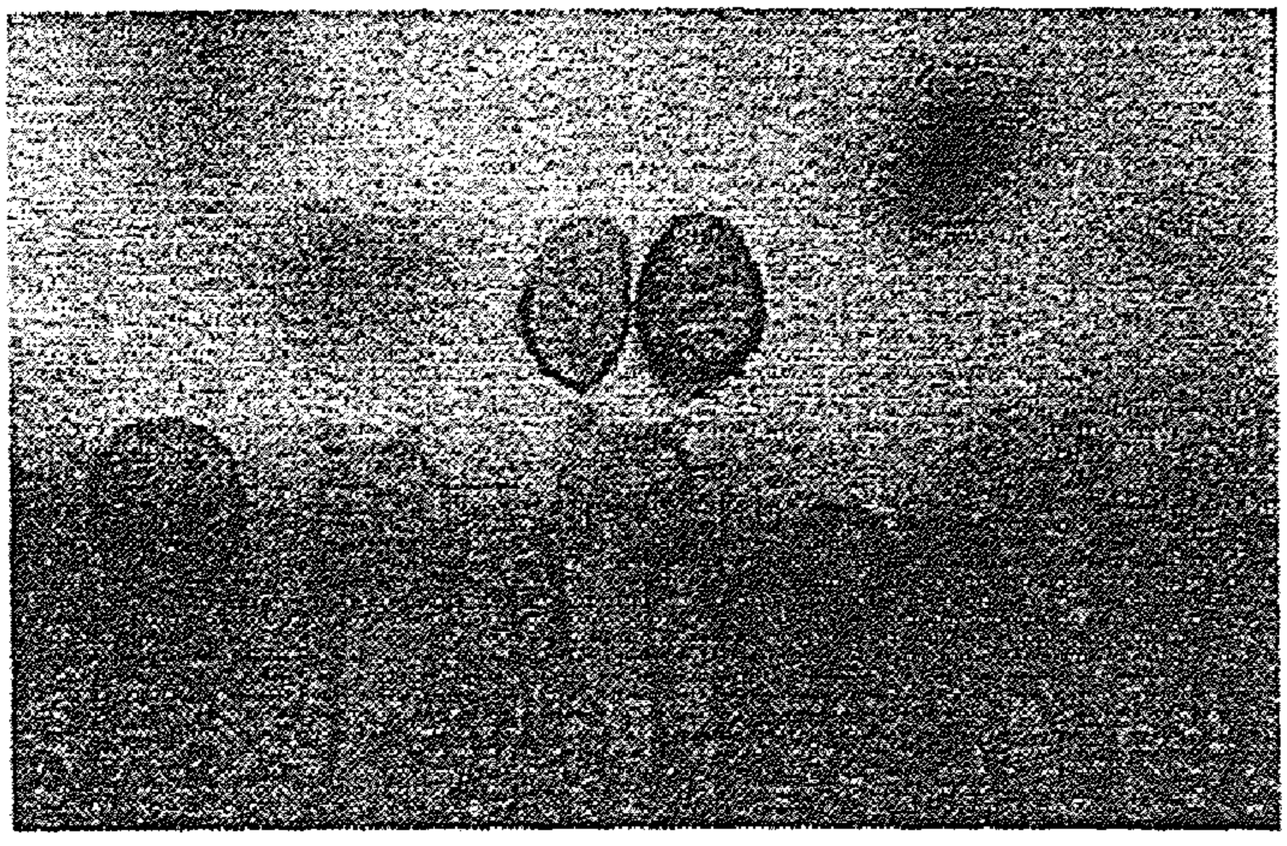
شكل (٣- ٤) الجراثيم الزيجية Zygospores

أما الفطريات الراقية higher fungi فتشمل كل من الفطريات الأسكية والبازيدية والناقصة، وهى أكثر الفطريات تعقيدًا من الناحية التقسيمية، والفطريات الأسكية Ascomycota التى تعتبر أكبر قسم من الفطريات كما أنها تضم الخمائر فهى تتميز بإنتاج أكياس أسكية asci (مفردها ascus) تحتوى على جراثيم جنسية تسمى الجراثيم الأسكية ascospores (شكل ٣- ٥)، والأكياس الأسكية قد تكون عارية أو توجد بداخل تركيب يحميها يسمى الجسم الثمرى الأسكى ascocarp أو ascothecium.



شكل (٣ - ٥) الجراثيم الأسكية Ascospores

أما الفطريات البازيدية (الفطريات الصولجانية) Basidiomycota فتتميز بتكوين جراثيمها الجنسية المسماة جراثيم بازيدية أو اسبوريدا Sporidia (شكل ٣-٦) على تركيب أو حامل وحيد الخلية يشبه الأنبوب أو يشبه الصولجان يسمى الحامل البازيدى basidium (جمعها حوامل بازيدية basidia)، وتضم الفطريات البازيدية الفطريات اللحمية كعيش الغراب، وفطريات الكرات النافخة، والفطريات الخيشومية أو الأنفية conks، والفطريات المحللة للخشب، وبعض الفطريات المسببة أعفان للجذور، والفطريات المسببة للأصداء والتفحمات فى النباتات.



شكل (٣ - ٦) الجراثيم الباذيدية

Basisiospores

وتضم الفطريات الناقصة Hyphomycetes العديد من عناصر المكافحة الحيوية الهامة، وتعتبر معظم هذه الفطريات فطريات أسكية بالأساس، إلا أن طورها الجنسى لم يكتشف بعد تحت ظروف نموها، فى حين تنمو أطوارها غير الجنسية فقط، وتتميز الفطريات الناقصة بتكوينها لحواجز عرضية مقسمة للميسيلوم، وتحمل الجراثيم الكونيدية لهذه الفطريات على حوامل تعرف بحوامل الكونيديات، وتنتج الفطريات الناقصة أنماطًا وراثية جديدة عن طريق الطفرات أو تبادل الأنوية من خلال اتحاد بعض خلايا هيفاتها.

❖العوامل البيئية المؤثرة على الفطريات الممرضة:

تؤثر كثير من الظروف البيئية المحيطة كالحرارة، ونسبة الرطوبة، والضوء، والرياح على انتشار الفطريات المستخدمة ونشاطها الفسيولوجى فى عملية المكافحة الميكروبية إلى حد كبير، وتلعب هذه الظروف دور أساسى فى تحديد مقدرة الفطريات على بدء العدوى أو مقدرة الآفات على مقاومة المرض، وقد تحد العوامل البيئية بشدة من نمو الفطريات والآفات كما هو الحال فى ظروف الجفاف.

أ - العوامل الطبيعية:

تشمل العوامل الفيزيائية البيئية الحرارة والرطوبة والضوء والرياح، وهذه العوامل تلعب الدور الأساسى فى تحديد نجاح استخدام الفطريات كمبيدات حيوية.

١ - الرطوبة:

يعتبر الماء عامل ضرورى لإنبات جراثيم الفطريات ومن ثم انتشار الفطريات، وتختلف احتياجات الفطريات الممرضة للحشرات من الرطوبة، فقد تحتاج بعض الفطريات إلى حوالى(

١٠٠٪) رطوبة نسبية بينما يحتاج البعض الآخر إلى رطوبة أقل، ومن المعتقد أن الرطوبة النسبية تؤثر بدرجة أقل فى عملية العدوى بالفطريات إلا أن دورها أساسى فى إنبات ونمو جراثيم الفطريات والهيفات التكاثرية وإنتاج الجراثيم والتى قد تحتاج إلى (١٠٠٪) رطوبة نسبية.

وتنتشر فطريات الجنس الأسكى ميتاريزيم Metarhizium (الذى كان يعرف سلفًا باسم انتوموفثورا Entomophthora) فى مستوى الرطوبة المرتفع كما هو الحال فى النوع انتوموفثورا افيديس E. aphidius المستخدم فى مكافحة المن، ويمكن توفير المستويات الرطوبية العالية المطلوبة بوسيلة أو بأخرى عن طريق إحداث تحويرات فى عملية الرى الصناعى لتوفير ظروف رطبة كما هو الحال فى استعمال الرى بالرش.

ويمكن للفطر بوفاريا باسيانا B. bassiana إبادة معظم يرقات خنافس القلف Scolytus multistriatus فى حالة القلف الرطب للأشجار المظللة بينما يبيد عدد محدود من اليرقات فى حالة القلف الجاف.

وفى التطبيقات الحقلية المستخدم فيها فطر بوفاريا (سبيكاريا) ريلاى Beauveria rileyi (Spicaria) لمكافحة حشرة الكرنب القياسة يموت أقل من (٥٪) من اليرقات عند (٨٠٪) رطوبة نسبية، ويموت (٥٠٪) عند (٩٠٪) رطوبة نسبية بينما تصل نسبة موت اليرقات (١٠٠٪) عند (١٠٠٪) رطوبة نسبية.

ويتوقف الوقت الذى تأخذه جراثيم أفراد جنس ميتاريزيم Metarhizium فى السقوط على جسم الآفة الحشرية على عوامل كثيرة بعضها يتعلق بالجراثيم ذاتها مثل وزن وشكل وحجم الجرثومة وأيضًا سطحها المعرض، كما يتوقف على الرطوبة فالجراثيم الرطبة أو بالأحرى الموجودة فى جو رطب تكون أثقل من الجراثيم الجافة الخفيفة الوزن. وتساعد الأمطار فى انتشار جراثيم الفطريات الممرضة للآفات بواسطة النقل المائى، ومن ناحية أخرى قد تغسل الأمطار الفطريات الممرضة المستخدمة فى التطبيقات الحقلية.

٢ - درجة الحرارة:

تعتبر درجة الحرارة العامل البيئى الأكثر أهمية فى نجاح التطبيقات الحقلية للفطريات الممرضة للآفات الحشرية، وفى العادة تؤثر درجة الحرارة على اختراق هيفات الفطر لجسم الحشرة، وتطور النمو الفطرى بعد ذلك، وعلى إنبات الجراثيم.

وتختلف أنواع جنس ميتاريزيم Metarhizium فى المدى الحرارى (١- ٣٦°م) ودرجة الحرارة المثلى (٢٤-٣٧°م) لنمو الأنواع المختلفة،، أما الجراثيم الكونيدية للميتاريزيم فتموت على درجة حرارة (٢٠-٢٥°م)، وينمو النوع كونيديوبولس كورونـاتس Conidiobolus coronatus (Constantin) Batko (formerly Entomohphtora coronata) بشكل أمثل على درجة حرارة (١٨-٢٠°م) ومداه الحرارى (٨ -٣٤°م).

وتنمو أنواع جنس بافاريا Beauveria بشكل طبيعى فى المدى الحرارى بين صفر - (٤٠°م)، أما درجة الحرارة المثلى للنمو فتقع بين (٢٢-٢٦°م)، ويحتاج الفطر بوفاريا باسيانا B. bassiana إلى درجة حرارة (١٥-٢٥°م) لتكوين وإنبات جراثيمه ونمو هيفاته، وتبقى جراثيم هذا الفطر حية على (٤°م) لمدة قد تصل إلى حوالى ثلاث سنوات وعلى (٢٣°م) لمدة قد تصل إلى ثلاث شهور، وعلى (٣٨°م) لمدة قد تصل إلى حوالى شهرين.

وفى جنس ميتاريزيم Metarrhizium نجد أن النوع ميتاريزيم انيسوبليا M. anisopliae ينمو بشكل مثالى على (٢٥ - ٣٠°م) فى حين يقـل النمو على (١٠°م).

٣- الريـاح Wind:

يقصد بالرياح درجة حركة الهواء فى البيئة، وتؤثر الرياح بشكل مباشر على العوامل البيئية الأخرى مثل درجة الحرارة والرطوبة، وفى العادة تعمل حركة الرياح على تخفيض درجة الحرارة وتجفيف سطوح الآفات الحشرية وتخفيض الرطوبة النسبية، ويؤدى الانخفاض الحادث فى الرطوبة النسبية إلى الإضرار بنمو وتكاثر عناصر المكافحة الحيوية من الفطريات الممرضة للحشرات.

ومن ناحية أخرى فإنه من المؤكد أن لتيارات الرياح دورًا هامًا فى انتشار الجراثيم الفطرية إذ تحمل هذه الجراثيم لمسافات طويلة، وقد تتلف بعض الجراثيم أثناء نقلها بالرياح، ويؤدى هطول الأمطار إلى غسيل وإزالة جراثيم الفطريات من الهواء بشكل سريع، ولوجود مصدات الرياح أهمية كبيرة لأن وجودها يعتبر بمثابة بيئة مناخية مصغرة تساعد فى نمو وتكاثر وانتشار الفطريات الممرضة للآفات الحشرية، حيث تقلل هذه المصدات من شدة الرياح، إلى جانب توفير الظل، وتخفيض درجة الحرارة فى الأجواء الحارة، وكلها عوامل من شأنها توفير ظروف بيئية مثلى للنمو الفطرى وإصابة الآفات الحشرية.

٤ - الضـوء Light:

يؤثر الضوء على الفطريات الممرضة للآفات الحشرية بدرجة أقل من تأثير كل من درجة الحرارة والرطوبة، فتؤثر كثافة وفترة وطول موجة الضوء على هذه الفطريات، وتساهم أشعة الشمس فى رفع درجة الحرارة وفى خفض الرطوبة النسبية، وبسبب انتقال وانتشار جراثيم الفطريات بواسطة الرياح فقد تضر الجرعات الزائدة من الأشعة فوق البنفسجية بالجراثيم الفطرية. وتؤثر الجرعات تحت المميتة من الإشعاع فوق البنفسجى على نمو الفطريات كما قد تحدث طفرات لجراثيم الفطريات.

وتختلف سلالات الفطريات الممرضة للحشرات فى درجة المقاومة للجرعات العالية من الإشعاع، وتؤثر عوامل كثيرة مثل طول النهار، وساعات الظلام، والظل، وساعات التعريض المباشر لأشعة الشمس، وكثافة وطول الموجات الضوئية، على نوع وتكوين ونمو جراثيم الفطريات.

٥- التربـة:

تساعد التربة الغنية فى المادة العضوية القابلة للأكسدة فى انتشار العدوى بالفطريات الممرضة عن التربة الفقيرة فى المادة العضوية، ومن المعتقد أن ذلك يرجع إلى احتفاظ التربة العالية فى المحتوى العضوى بالرطوبة اللازمة للفطريات. وتعتبر التربة الغنية فى المادة العضوية النيتروجينية بمثابة بيئة ملائمة لنمو الكثير من الفطريات الممرضة للآفات الحشرية مثل النوع بوفاريا باسيانا B. bassiana والنوع ميتارهيزيم انيسوبليا M. anisopliae والنوع Torrubiella sp، كما تلائم هذه التربة نمو آفات حشرية معينة.

ويؤدى فطر ميتارهيزيم انيسوبليا M. anisopliae فعله فى إبادة سوسة البنجر Cleonus punctiventris بكفاءة فى التربة ذات الطبيعة الحامضية، فى حين يؤدى فطر سوروسبورلا يوفيلا Sorosporella uvella نفس الدور فى التربة القلوية. ويساعد استخدام أنواع معينة من الأسمدة المعدنية فى تعديل حموضة التربة الزراعية بما يوفر ظروف بيئية ملائمة لانتشار الفطريات الممرضة.

ب- الكيماويات Chemicals:

معظم المواد الكيماوية التى تؤثر على الفطريات هى مبيدات الآفات الكيميائية المستعملة

فى الممارسات الزراعية المختلفة، وفى الغالب تؤثر المواد الكيماوية تأثيرًا سلبيًا على الفطريات الممرضة للحشرات إلا أنه فى بعض الأحيان قد يكون التأثير إيجابيًا، ويتمثل التأثير السلبى فى الفعل السام للمواد الكيماوية على الفطريات الممرضة للحشرات والذى يؤدى إلى تثبيط نمو أو موت الفطريات، أما التأثير الإيجابى فيتمثل فى حدوث توافق نافع بين بعض الفطريات الممرضة للحشرات وبعض المواد الكيماوية على حسب تركيز المواد الكيماوية ونوعها.

ويتفاوت تأثير أنواع المبيدات الحشرية وتركيزاتها المختلفة على نمو الفطريات الممرضة للحشرات بين التثبيط الكامل للنمو الفطرى وتشجيع النمو، وتثبيط نمو الجراثيم، وانخفاض نسبة الإنبات.

وفى الوقت الذى يؤثر كثير من المبيدات الحشرية تأثيرًا سامًا على الطور الخضرى للفطريات فإنه لا يقتل الطور الجرثومى إنما يؤدى إلى تأخير إنبات تلك الجراثيم بشكل كبير.

أما بخصوص التأثير على الحشرة فإن استخدام مبيدات الآفات الفطرية بجرعات عالية يؤدى إلى تأخير ظهور الفطريات الممرضة للحشرات ومن ثم زيادة أعداد الآفات الحشرية، بينما يؤدى استخدام جرعات منخفضة من مبيدات الآفات مع الفطريات الممرضة للآفات الحشرية إلى زيادة حساسية الآفات للإصابة الفطرية.

وعندما يكون هناك توازن هش بين الفطر الممرض والآفة الحشرية فمن المعتقد أن فعل المادة الكيماوية على الحشرة يؤثر أيضًا على الفطر الممرض المستخدم فى النظام البيئى، ويؤدى النقص الحادث فى أعداد الحشرات بسبب استعمال مبيدات الآفات إلى تمكين دورة نمو الفطر الممرض أو الاستيطان الناجح للفطر.

ج – العوامل الحيوية:

تؤثر العوامل الحيوية على العلاقات المتبادلة بين الفطريات والآفات الحشرية، ويصعب قياس تأثير هذه العوامل بسبب شدة تعقيداتها نتيجة استجابتها للعوامل البيئية الأخرى.

١ – الكائنات الحية الدقيقة:

فى كثير من الأحيان تتطور الأمراض التى تحدثها الفطريات بشكل طبيعى دون تأثير بالعدوى الحادثة للحشرات من ميكروبات أخرى كالبكتيريا، ويرجع ذلك إلى إنتاج بعض

الفطريات كمضادات حيوية تثبط الميكروبات الأخرى أو إلى حدوث تعاون بين الفطريات والميكروبات الأخرى، وفى أحيان أخرى يحدث العكس.

ويقتل فطر ميتاريزيم انيسوبليا M. anisopliae أو بكتيريا سيرراتيا مارسيسنس Serratia marcescens يرقات الآفة الحشرية Cowpea curculio التى تصيب بعض نباتات البقول مثل اللوبيا والبسلة، إلا أن نسب موت هذه اليرقات يقل بشكل ملحوظ عند استخدام الفطر فى مكافحة اليرقات المصابة بهذه البكتيريا.

ومن المعروف عن تركيب الكيوتكل أنه يختلف بين أنواع الحشرات، كما يختلف فى الأماكن المختلفة على جسم نفس الحشرة، ويؤثر هذا الاختلاف على نمو الفطريات الممرضة للحشرات.

وتؤثر العوامل الغذائية على سطح الآفة الحشرية على اختراق هيفات الفطر لكيوتكل الحشرة، فبعض الفطريات بمقدورها تحليل الكيتين بعيدًا عن العائل in vitro إلا أن أنشطتها المحللة للكيتين تتوقف بجسم الحشرة in vivo عند توفر المواد الغذائية البديلة. وتنبه المواد العسلية المفرزة من آفات المن إنبات جراثيم الفطر Acrostalagmus aphidum واستطالة الأنابيب الجرثومية.

وتنتج الفطريات الممرضة للحشرات نوعين من السموم، نوع سام يحدث تأثيره على الحشرة عن طريق الحقن بعد اختراق الفطر لكيوتكل الحشرة، ويعتمد على هذا النوع فى الاستخدام لتفسير آلية تأثير الفطر الممرض، ونوع آخر سام عن طريق الابتلاع.

٢- الكائنات الحية الكبيرة:

توظف برامج المكافحة المتكاملة للآفات عدد من الأعداء الطبيعية مثل المفترسات والطفيليات والممرضات إلى جانب الممارسات الزراعية والمكافحة الكيماوية المرشدة، وقد تتنافس المفترسات والطفيليات الحشرية مع الفطريات على العائل الحشرى، وقد تكون هذه الكائنات بمثابة ناشر وناقل هام للفطريات وجراثيمها، وقد تلعب الحيوانات بعامة نفس الدور فى نقل الفطريات، وتنشر العوامل الحشرية عناصر المرض، وتؤثر العوامل النباتية المقاومة للآفات الحشرية على حساسية هذه الآفات للفطريات الممرضة.

العوامل المؤثرة على حساسية الآفات للإصابة بالفطريات:

فى العادة تبدأ العدوى بالفطر للآفة الحشرية من خلال خط دفاعها الأول وهو الكيوتكل،

وثمة عوامل كثيرة تساهم فى وجود مايمكن أن نطلق عليه فرص للإصابة أو بالأحرى حدوث العدوى infection بالفطريات، ومن هذه العوامل تركيب جسم الآفة المستهدفة، والتلامس المباشر بين أفراد المجموعة، والعلاقات المتبادلة المكانية، ووجود العوائل البديلة، وأنماط توزيع هذه العوائل، والظروف البيئية. وعند ثبات الظروف البيئية الملائمة لإصابة الآفات الحشرية بالممرضات الفطرية تكون هناك عوامل محددة بعضها يتعلق بالآفة مثل درجة مقاومتها وعادتها وموطنها وكثافتها العددية، وبعضها يتعلق بالفطر الممرض نفسه مثل نشاطه الإنزيمى وإفرازه للسموم والمواد الأيضية. ونذكر هنا العوامل المتعلقة بالآفة:

أ- المقاومة Resistance:

إذا كانت آليات الدفاع التى تمتلكها الآفات الحشرية أسرع فى القضاء على الفطر من معدل نموه فلاتحدث العدوى وهنا تكون الحشرة مقاومة للإصابة بالفطر، أما إذا كانت الآفة الحشرية تتميز بحساسيتها للإصابة بالفطر فإن الإصابة تحدث بمجرد وجود الحشرة فى بيئة مناسبة لنمو الفطر الممرض، وتختلف درجة حساسية الآفة الحشرية للعدوى بالفطريات على حسب الطور الحشرى، فقد تحدث العدوى لطور معين ولا تحدث لطور آخر، وقد تحدث العدوى أو تشتد عند عمر معين فقط، وقد تموت بعض الأطوار ولا تموت أطوار أخرى.

ب- العـادات Habits:

تستطيع الآفـات الحشرية التى من عادتها التجمع أو الميل للتجمع أو التى تتميز بالنشاط الزائد أكثر من غيرها نشر العدوى، كما أن الحشرات شرهة التغذية التى تلتهم بعضها البعض كتلك الأنواع التى تأكل نوعها cannibalistic species قد تلتهم آفات مريضة فتنشر العدوى والمرض بين الآفات المستهدفة.

ج- الموطـن Habitat:

من المعروف عن الفطريات أنها تنتشر بغزارة فى الأجواء الرطبة الدافئة، ومن ثم فالآفات الحشرية التى تقطن المواطن الدافئة الرطبة أكثر عرضة للإصابة بالفطريات عن مثيلتها التى تعيش فى المواطن الجافة.

د- الكثافة العددية:

من المؤكد أن تزاحم الآفات الحشرية يؤدى إلى انتشار العدوى بالفطريات.

وثمة عوامل أخرى معاكسة adverse force كثيرة تؤثر على الآفة الحشرية فتصبح أكثر عرضة للمرض، دعنا نطلق على هذه العوامل عوامل الإجهاد stress factors، وهى ليست عوامل هامة فى بدء المرض فى الآفات فقط، ولكنها هى ذاتها قد ينجم عن شدة تأثيرها أمراضًا غير معدية قد تغير من الأيض والوظائف الخلوية للآفة، إذن عامل الإجهاد قد يضعف مقاومة الآفة، أو ينبه الفطر الممرض، ومن أمثلة عوامل الإجهاد الحرارة والبرودة والرطوبة والجفاف والتغذية والجوع والازدحام والنشاط الزائد والمواد الكيماوية والإشعاع والأكسجين والضرر الفيزيائى والخلل الهرمونى.

❖ إنتاج الفطريات المستخدمة فى المكافحة الحيوية:

يتم إنتاج لقاحات بعض الأنواع الفطرية كميًا داخل عوائلها أو على بيئات صناعية سائلة أو شبه جافة تحتوى على النخالة أو بعض المخلفات الرخيصة، وقد يقتضى الأمر إنتاج اللقاح الأولى فى بيئة سائلة ثم تلقيح البيئات الصلبة به لإنتاج الجراثيم.

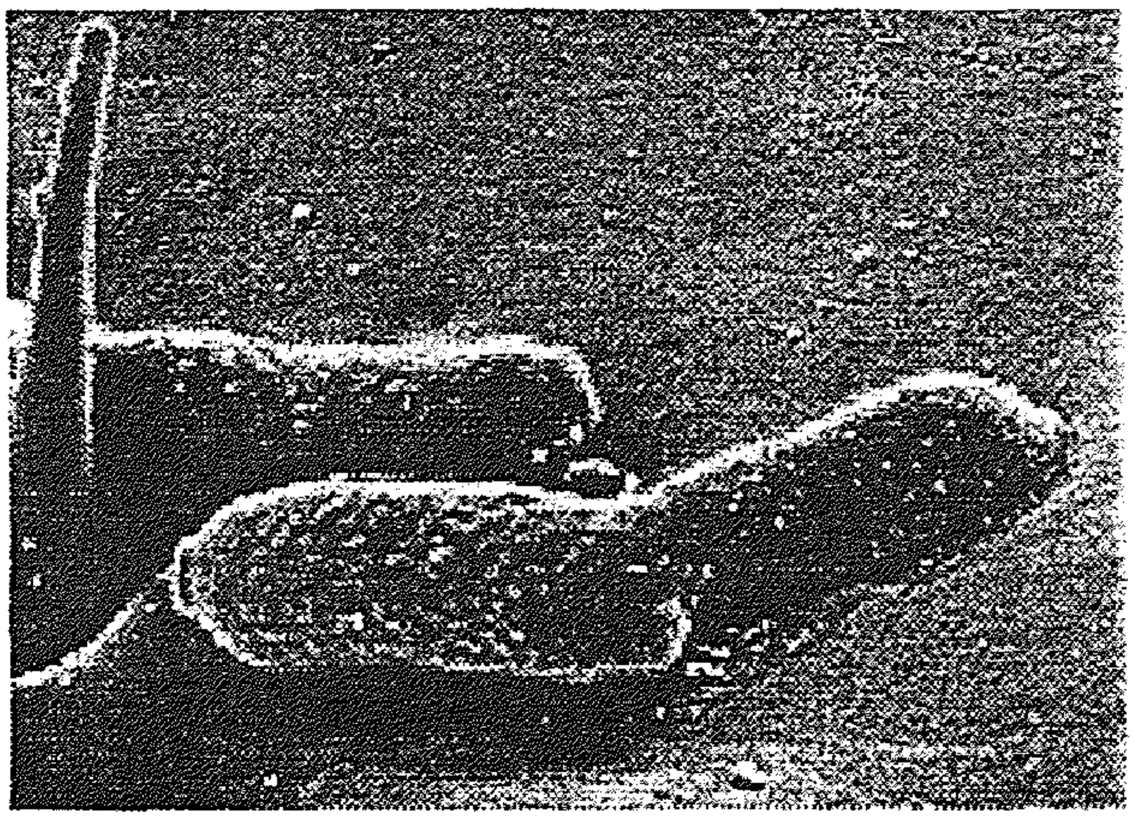
ويصعب إنتاج بعض الأنواع الفطرية الأخرى مثل أفراد جنس ميتاريزيم Metarhizium (انتوموفثورا Entomophthora) كميًا خارج عوائلها الحية، وقد أدى ذلك إلى الحد من استخدامها بدرجة كبيرة فى مجال المكافحة الميكروبية.

ويتم إنتاج اللقاحات الفطرية تحت ظروف التعقيم لضمان عدم تلوث اللقاح وما قد ينجم عنه من مشاكل جمة، ويشترط فى اللقاحات الفطرية المنتجة للاستخدام التجارى فى مجال المكافحة الحيوية للميكروبات الممرضة والآفات إمكانية إنتاجها بشكل ضخم، وبتكلفة إنتاج رخيصة، وأن تكون هناك قابلية لتخزين shelf-life مستحضراتها التجارية لفترة طويلة، مع ضرورة احتفاظ هذه المستحضرات الحيوية بثباتها وفعاليتها، وأن تكون قابلة للتداول handle-ability. ومن الأهمية بمكان مراعاة استخدام كمية كافية من المستحضر الفعال فى التوقيت الملائم وتحت الظروف المناسبة.

❖المبيدات الفطرية:

الفطريات هى أكثر الكائنات الحية الدقيقة الممرضة للآفات المختلفة انتشارًا، وفى العادة يتم إصابة الحشرات بالفطريات عن طريق جراثيمها التى تلتصق بجدار الجسم، حيث تنبت وتساعدها أدواتها الإنزيمية فى اختراق الجدر من مناطق الأغشية بين الحلقات بصفة

خاصة (شكل ٣-٧)، وبمجرد إتمام الاختراق ينتشر نمو الميسيليوم بالتجويف الدموى للحشرة من خلال النمو المتواصل للميسيليوم، أو من خلال انشطار الميسيليوم إلى أجزاء هيفية صغيرة تنتشر مع دورة الدم، وتؤدى الكتل الحبيبية المتكونة أو إفراز بعض السموم إلى هلاك الحشرة التى يبدأ الفطر ترممه عليها، ومع النمو يظهر الميسيليوم مرة أخرى خارج جسم الحشرة الميتة كما تظهر عليه أعضاء تكاثر أو جراثيم، ولقد تطورت فى السنوات الأخيرة تقنيات إنماء واستكثار الفطريات على البيئات الصناعية، وقد ساعد ذلك على مكافحة الكثير من الآفات، ومن أشهر الفطريات المستخدمة كمبيدات حيوية فطر بوفاريا باسيانا Beauveria bassina وفطر ميتاريزيم انيسوبليا Metarhizium anisopliae وفطر نوميرايا ريلياى Nomuraea rileyi وفطر فيرتسيليم ليكانياى Verticillium lecanii.

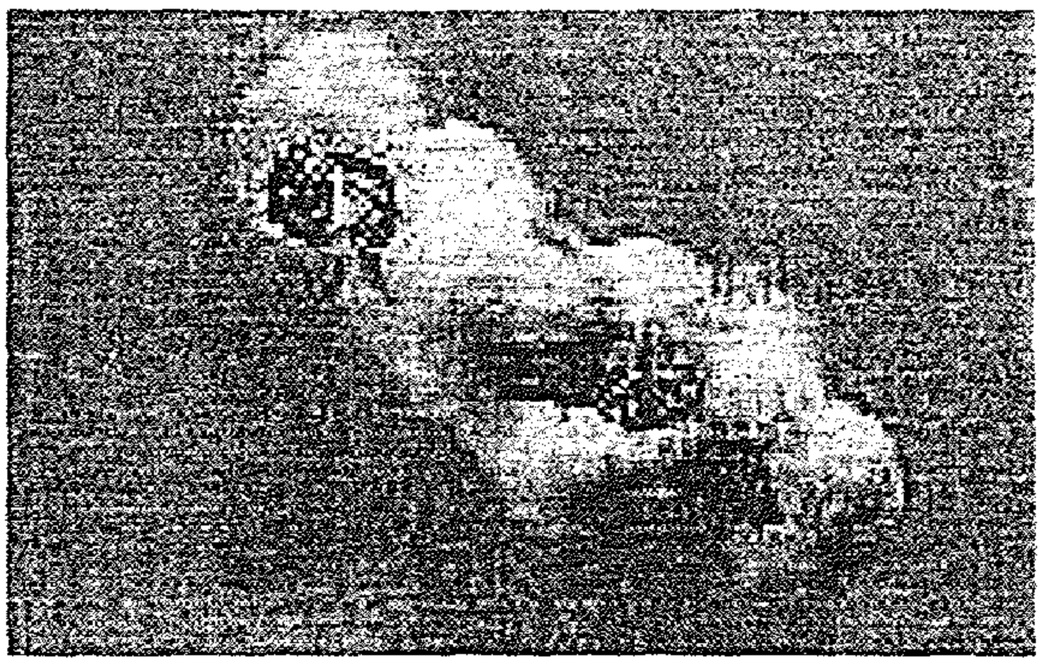


شكل (٣ - ٧) إنبات جرثومة فطرية ملتصقة بكيوتكل الحشرة.

❖ايجابيات وسلبيات المبيدات الحيوية الفطرية:

ثمة مميزات عديدة تكتنف استخدام الفطريات كمكونات فعالة فى المبيدات الحيوية للميكروبات الممرضة والآفات المختلفة كالحشرات، إذ يمكن القول أن الفطريات - بصفة عامة - غير ضارة بصحة الإنسان والفقاريات الأخرى، كما أنها غير ضارة بالميكروبات النافعة والأعداء الطبيعية natural enemies للآفات الحشرية.

ولعل أهم مميزات الفطريات والتى تجعلها كعنصر جذب فى المكافحة الميكروبية هو اتساع المدى العوائلى polyphagous بشكل ملفت للنظر لبعض هذه الممرضات، ويعتبر فطر بافاريا باسيانا B. bassiana مثال جيد للممرضات الفطرية للحشرات ذات الاستخدام الواسع لمكافحة عدد كبير من الآفات (شكل ٣ - ٨).



شكل (٣ - ٨) فطر بوفاريا باسيانا B. bassiana يجهز على إحدي اليرقات الحشرية.

وتتميز الفطريات الممرضة للحشرات بأنها تصيب كل أطوار النمو لعوائلها من الآفات الحشرية، وهذا من شأنه أن يتيح الفرصة فى استخدامها فى القضاء على أى طور حشرى، وتؤدى التطبيقات الحقلية للفطريات إلى القضاء على عوائلها فى وقت قصير، ثم يستتبع موت الحشرات تكوين جراثيم فطرية بغزارة شديدة، وليست هناك مبالغة فى القول أنه تحت الظروف البيئية المناسبة قد تسبب الفطريات الممرضة للحشرات أوبئة مدمرة للمجتمعات الحشرية المستهدفة.

ومن الثابت أن الكثير من الآفات الحشرية تصاب بفطر أو بآخر، وفى حالات بعينها قد تكون الفطريات بمثابة عناصر المكافحة الوحيدة الفعالة الممكن استخدامها فى هذا الصدد. وهناك ميزة أخرى فى استخدام الفطريات كأدوات فى مكافحة الآفات وهى أن الفطريات تتواءم مع مبيدات الحشرات الكيميائية chemical insecticides وربما تزيد من تأثيرها بشكل إيجابى.

ومن ناحية أخرى يكتنف استخدام الفطريات كعناصر حيوية فى مكافحة الآفات بعض من العيوب، لعل أهمها الصعوبة فى توفير أشكال كافية من اللقاحات الفطرية للاستخدامات التطبيقية تحت الظروف الحقلية، مرجع ذلك بالقطع حساسية جراثيم الفطريات لعوامل كثيرة منها الأشعة فوق البنفسجية والجفاف وغيرها.

وفى الوقت الذى لا تضار فيه الفطريات من استخدام المبيدات الحشرية - كما أسلفنا - فإن معظمها حساس لمبيدات الآفات الفطرية التى تستخدم عادة فى برامج مكافحة الأمراض الفطرية التى تصيب المحاصيل الزراعية، وهناك وسيلة للتغلب على هذه الحساسية بتعريض الفطريات الممرضة المزمع استخدامها فى مكافحة الآفات الحشرية لفعل المبيدات الفطرية

المستخدمة فى التطبيقات الحقلية وذلك تحت الظروف المعملية ثم اختيار السلالات الميكروبية والطفرات الناتجة المناسبة للتطبيقات الحقلية.

إن تخصص معظم الفطريات الممرضة للآفات الحشرية على الحشرات لايمنع أن بعض هذه الفطريات قد تصيب الإنسان وحيواناته الاقتصادية. ومما لاشك فيه أن بعض الحشرات المفيدة كنحل العسل وديدان القز تتأثر ببعض إصابات الفطريات الممرضة للحشرات، كذلك فإن بعض الأعداء الطبيعية النافعة قد تهاجمها بعض الممرضات الفطرية.

وقد أدت الأضرار الناجمة عن الحشائش فى النظم الزراعية مثل نقص محصول النبات النامى ومن ثم العائد الاقتصادى، إلى جانب إحلال النباتات الغريبة exotic plants محل النوع النباتى الأصلى native plant ومايترتب عليه من تأثير سلبى على الحيوانات التى تعتمد على هذه النباتات إلى استخدام مكثف لمبيدات الحشائش من الكيماويات خلال العقود القليلة الماضية، وعلى الرغم من الحاجة إلى هذه المبيدات إلا أنها أضرت بالنباتات غير المستهدفة، وسلامة البيئة، وصحة الإنسان، كما أدت إلى ظهور حشائش مقاومة للمبيدات، ولذلك فقد أصبح من المعتقد أن المكافحة الكيماوية غبر عملية وغير اقتصادية وبصفة خاصة فى أراضى الغابات والمراعى، وقد أدى ذلك إلى ضرورة استعمال مبيدات الحشائش الحيوية من الميكروبات فى المكافحة.

وقد وجد أن فطر باسيلوميسس فورنسيس Paecilomyces forinosus الذى يتطفل على حشرة الذبابة البيضاء الناقلة للفيروس ذات فعالية إبادية ضد فيروس موازيك الفول mung bean mosaic virus.

❖نواحى الأمان فى استخدام الفطريات فى المكافحة الحيوية:

ثمة فطريات تابعة لأجناس ميتاريزيم Metarhizium وبوفاريا Beauveria وباسيلوميسيتس Paecilomycetes تعتبر سامة للحيوانات الثديية، إلا أنه من حسن الحظ لا توجد تأثيرات سامة للأنواع الممرضة للحشرات فى أى من هذه الأجناس على الثدييات.

ويراعى فى المكافحة البيولوجية عدم استعمال أى مستحضرات فطرية تكون لها تأثيرات سامة أو تسبب حساسية للإنسان، ولذلك يجب عدم استخدام أنواع من جنس أسبرجليس Aspergillus والتى تكون سامة أو مسرطنة مثل النوع أسبرجلس فلافس A. flavus والنوع أسبرجلس باراسيتكس A. parasiticus والمعروفة بإنتاجها للسموم.

المراجـع:

Alexopoulos, C.J., C.W. Mims and M. Blackwell (١٩٩٦). Introductory Mycology, John Wiley and Sons.

Alexopoulos, C.J., C.W. Mims, M. Blackwell et al. (٢٠٠٤). Introductory Mycology, ٤th ed. (John Wiley and Sons, Hoboken NJ, ٢٠٠٤).

Burges, H.D) .ed .(١٩٩٨) (.Formulation of Microbial Biopesticides beneficial microorganisms, nematodes and seed treatments Publ .Kluwer Academic, Dordrecht ٤١٢ pp.

Cloyd, R.A. (١٩٩٩). The Entomopathogenic Fungus Metarhizium anisopliae. Midwest Biological Control News VI (٧).

Copping, L.G. (ed.) (٢٠٠٤). The Manual of Biocontrol Agents (formerly the Biopesticide Manual) ٣rd Edition. British Crop Production Council (BCPC), Farnham, Surrey UK.

Hawksworth, D.L. (٢٠٠٦). The fungal dimension of biodiversity: magnitude, significance, and conservation. Mycol. Res. ٦٥٥–٦٤١ :٩٥.

Lacey and H. Kaya (eds.) (٢٠٠٠). Field Manual of Techniques for the Evaluation of Entomopathogens Kluwer Academic, Dordrecht, NL, ٩١١ pp.

Madigan, M.T., J.M. Martinko, J. Parker and T.D. Brock (٢٠٠٣). Biology of Microorganisms, ١٠th edn. Prentice Hall, Upper Saddle River, NJ.

McNeil Jr., D.G. (٢٠٠٥). Fungus Fatal to Mosquito May Aid Global War on Malaria, The New York Times, ١٠ June ٢٠٠٥.

Meyling, N.V. and J. Eilenberg (٢٠٠٧). Ecology of the entomopathogenic fungi Beauveria bassiana and Metarhizium anisopliae in temperate agroecosystems: potential for conservation biological control. Biological Control, ١٠٥–٤٣:١٤٥.

Mueller G.M. and J.P. Schmit (٢٠٠٦). Fungal biodiversity: what do we know? What can we predict?. Biodivers Conserv. ٥ –١٦:١.

Purohit S.S. (٢٠٠٧). Microbiology Fundamentals and Applications. ٦th Edition Purohit India.

Roditakis E. (٢٠٠٠). Interactions between the peach aphid Myzus persicae and the entomopathogenic fungus Verticillium lecani. Ph.D. thesis University of Bath.

Shah F.A. C-S. Wang and T.M. Butt (٢٠٠٥). Nutrition influences growth and virulence of the insect–pathogenic fungus Metarhizium anisopliae. FEMS Microbiol. Lett. ٢٦٦ – ٢٥١:٢٥٩.

Shah P.A. and J.K. Pell (٢٠٠٣). Entomopathogenic fungi as biological control agents. Appl. Microbiol. Biotech. ٤٢٣ – ٦١:٤١٣.

Simon-Nobbe B U. Denk V. Pöll R. Rid and M. Breitenbach (٢٠٠٨). The spectrum of fungal allergy. Int. Arch. Allergy Immunol. ٨٦– ٥٨:(١)١٤٥.

Thomas M.B. and A.F. Read (٢٠٠٧). Can fungal biopesticides control malaria?. Nat Rev Microbiol. ٣٨٣ –٣٧٧ :٥.

الفصل الثاني
المبيدات الفطرية المستخدمة في مكافحة الآفات الحشرية

❖مقدمة:

يرجع تاريخ المكافحة الحيوية للحشرات باستعمال الفطريات كإحدى مجموعات الكائنات الحية الدقيقة إلى عام (١٧٢٦) حين استخدم فطر من جنس كوردايسبس Cordyceps فى مكافحة يرقات حشرات الفصيلة Noctuidae، وبعدها بأكثر من مائة عام نجح Bassi فى مكافحة يرقات نفس الفصيلة باستعمال فطر بيوفاريا باسيانا Beauveria bassiana.

وقد سجلت حالات نجاح فى مكافحة بعض الآفات مثل سوسة البنجر Cleomus punctiventris وخنفساء الحبوب Anisoplia austriaca باستعمال فطر ميتاريزيم انيسوبليا Metarhizium anisopliae، والحشرات القشرية باستعمال فطر سفيروستيبل ايورانتاييكولا Sphaerostible aurantiicola.

ومع بداية القرن العشرين توفرت بالأسواق التجارية لقاحات فطرية لمكافحة كثير من الآفات الحشرية مثل لقاحات فطر بيوفاريا Beauveria وفطر ميتاريزيم Metarhizium.

❖الفطريات الممرضة للحشرات:

تصيب كثير من الفطريات الحشرات بالأمراض، وفى العادة تخترق هيفات الفطريات الممرضة للحشرات جدر عوائلها الحشرية بالاختراق المباشر للكيوتكل أو من مناطق معينة مثل الأغشية بين الحلقات، وقد ترسل الفطريات هيفاتها من فتحات الجسم المختلفة كالفم، أو من جروح الجدر، حيث تنمو الهيفات بتجويف جسم العائل الحشرى عند نقطة الاختراق أسفل البشرة الداخلية ليموت العائل الحشرى نتيجة السمية أو غزو جراثيم الفطر اللاجنسية المعروفة بالجراثيم البلاستية blastspores.

❖طريقة تأثير الفطريات الممرضة للحشرات:

تختلف الفطريات عن غيرها من المجاميع الميكروبية الممرضة للآفات الحشرية -كالبكتيريا

والفيروس – فى طريقة غزوها للعائل، فالعوائل الحشرية لا تتناول ingestion الفطريات لكى تحدث الإصابة، إذ تصيب الفطريات الممرضة للحشرات عوائلها بغزوها بشكل مباشر عقب إنبات جراثيمها على الكيوتكل واختراقها للغلاف، كذلك تحدث الإصابة كثيرًا من خلال أجزاء الفم والجهاز الهضمى وفتحة الشرج والأعضاء التناسلية وغيرها.

وتمر الفطريات الممرضة للحشرات بدورة تطورية فى جسم العائل الحشرى in vivo تشمل أربعة خطوات متتالية (شكل ٣-٨):

١ – استقرار والتصاق جراثيم وميسيليوم الفطر بكيوتكل الحشرة:

يتركب كيوتيكل الحشرة من بروتين وكيتين، ويتكون بروتين الكيوتكل الحديث (يعرف بالأرثروبودين arthropodin) من أحماض أمينية قابلة للذوبان فى الماء، والكيوتكل الحديث رخو وطرى وقابل للتمدد ويتصلب بالتدريج من الأجزاء الخارجية وإلى الداخل على أثر تكوين روابط كيماوية بين جزيئات البروتين والبوليفينول (يعرف حينئذ بالسكليروتين sclerotin)، وفى العادة لايتصلب كل الكيوتكل المغطى لجسم الحشرة، إذ تظل به مساحات عرضية غشائية بين الصفائح المتصلبة تسمح بانثناء أو تمدد الجسم، أما الكيتين فيتكون من سكريات عديدة من ن – اسيتيل جلوكوز أمين وجلوكوز أمين. ويقع تحت الكيوتيكل طبقة سميكة مرنة تسمى طبقة تحت البشرة hypodermis وهى غلاف خارجى لجدار جسم الحشرة.

وتحتوى الطبقة الخارجية لجراثيم بعض الفطريات الممرضة للحشرات والمستخدمة فى المكافحة الميكروبية على مواد لزجة تتركب من سكريات عديدة polysaccharides تساعد فى التصاق موقع الإنبات الجرثومى propgulate وميسيلوم الفطر بجدار جسم العائل الحشرى، ولالتصاق مواقع إنبات جراثيم الفطر بكيوتيكل جدار جسم العائل الحشرى أهمية كبيرة فى تحديد القدرة المرضية للفطر، ويتوقف ذلك على بعض العوامل مثل نوع الآفة المستهدفة. ومن ناحية أخرى تلتصق بعض الفطريات الممرضة الأخرى بالجروح التى قد توجد على أجسام الآفات الحشرية فى حين لا تلتصق بجلد الآفات الحشرية السليمة والخالية من الجروح.

التصاق جراثيم الفطر على كيوتكل العائل

Adhesion of conidia to the host cuticle

↓

تكوين أنبوبة جرثومية

Germ tube formation

↓

اختراق كيوتكل العائل

Penetration of host cuticle

↓

مرحلة افراز التوكسينات السامة للحشرة

↓

النمو الخضرى بداخل العائل

Vegetable growth within host

↓

إنتاج الحوامل الجرثومية

Production of conidiophores

↓

موت العائل الحشرى

Death of the host insect

شكل (٣ - ٨) الدورة التطورية لفطر ممرض للحشرات

In vivo developmental cycle of entomopathogenic fungi

٢- إنبات الجراثيم والنمو الميسليومى:

يستخدم الفطر سطح جدار الحشرة كوسط غذائى يحصل منه على المغذيات المتواجدة على أو داخل كيوتكل الحشرة لإنبات جراثيمه وذلك بمساعدة العديد من النظم الإنزيمية المحللة للبروتينات proteolytic والدهون lipolytic - بصفة خاصة - إلى جانب الكيتين chitinolytic، والتى تفرزها الفطريات الحشرية لتحفز تفاعلات تحليل جدار العائل الحشرى وتيسير وحداته البنائية كغذاء للفطريات الحشرية، ولا يعتبر إنزيم الكيتينيز بذات

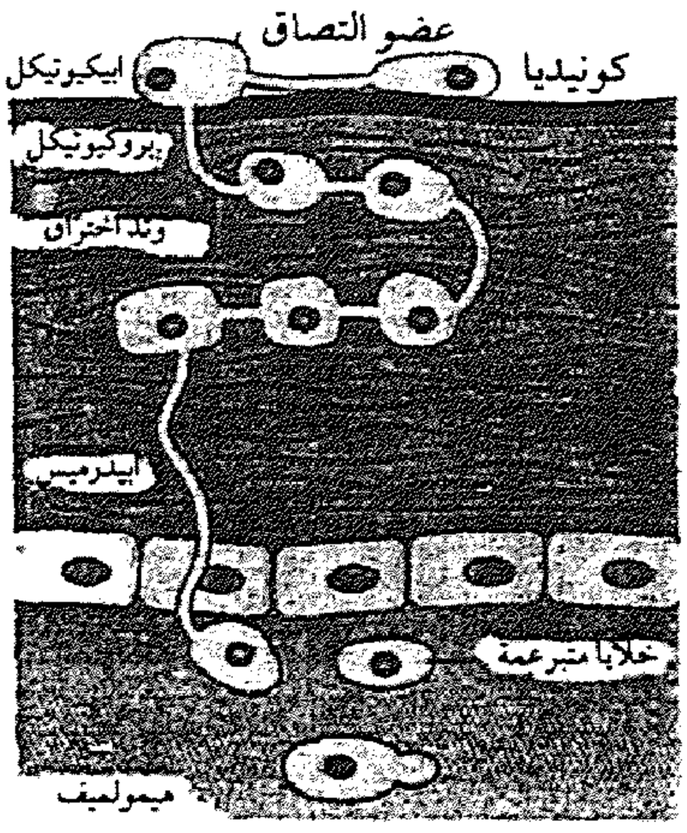
أهمية كبيرة فى الاختراق بسبب عدم مساهمة الكيتين فى التركيب الصلب للكيوتكل. ولايمكن لجراثيم بعض الفطريات الممرضة للحشرات الإنبات على الكيوتكل السليم بسبب التأثير المانع لبعض الأحماض الدهنية – كحامض الكابريليك – الموجودة على سطح الحشرة عند تركيز معين، ومن ناحية أخرى تنبت هذه الجراثيم بشكل عادى عندما تصل إلى مادة الجروح الموجودة بكيوتكل الحشرة.

٣- اختراق كيوتكل العائل:

بعد إنبات الجراثيم على كيوتكل الحشرة تعطى هيفات صغيرة تسمى الأنابيب الجرثومية germ tubes (أعضاء التصاق appressorium)، كذلك قد يؤدى تجمع هيفات الفطر على سطح الحشرة إلى تكوين أعضاء التصاق (وسادة لاصقة appressorial pad)، تتكون وتتجه أطراف الهيفات أعضاء الالتصاق لاختراق طبقات الكيوتكل على الفور تحت تأثير قوى كيميائية وفيزيائية تساعدها فى ذلك أدواتها من إنزيمات الليبيز والبروتييز والكيتينيز والإستريز والأمينوببتيديز وغيرها، وينتج الفطر إنزيم البروتييز أولًا لهدم البروتين قبل أن يقوم الفطر بهدم الكيتين، وهناك عوامل كثيرة تحدد أسلوب الاختراق منها خصائص الكيوتكل وسمكه ووجود المواد المضادة للفطريات إلى جانب مدى توفر المواد الغذائية، وتعتبر اليرقات أكثر عرضة للإصابة عقب الانسلاخ مباشرة وقبل تطور وتصلب الكيوتكل.

٤- النمو الخضرى داخل العائل:

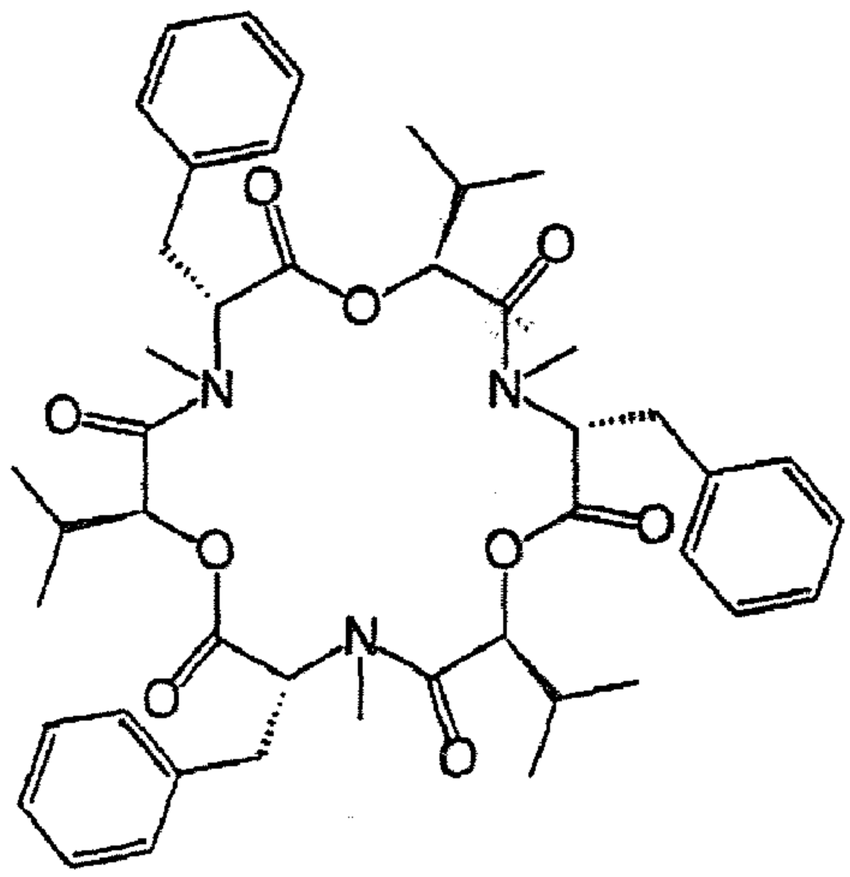
تنمو هيفات الفطر التى اخترقت الكيوتكل فى تجويف جسم العائل الحشرى حول نقطة الاختراق، ويقابل نمو الفطر بالعديد من الآليات الدفاعية للعائل الحشرى، وإذا استطاع الفطر التغلب على دفاعات العائل تتشكل الهيفات على هيئة قطع (أجسام) هيفية hyphal bodies تعرف بالجراثيم البلاستية blastospores، تعطى فيما بعد هيفات ثانوية تستعمر العائل الحشرى الذى يلقى حتفه (شكل ٣ - ٩).



شكل (٣ - ٩) إصابة الحشرات بالفطريات الممرضة

وتلعب السموم التى تفرزها الفطريات الحشرية دورًا هامًا فى المرض، حيث يموت العائل الحشرى فى مرحلة مبكرة من العدوى قبل أن ينمو الفطر الممرض للحشرة بغزارة داخل العائل، ونظرًا لأن لبعض السموم التى تفرزها الفطريات ذات نشاط تضادى للبكتيريا مثل سم بوفاريسيين beauvericin - تركيبه C45H57N3O9 شكل (٣-١٠) - الذى يفرزه فطر بوفاريا باسيانا Beauveria bassiana وفطريات أخرى كثيرة، ومع ذلك يعتقد أن هذه السموم تحد من نمو البكتيريا بالحشرات الميتة، ومن ثم تسمح بالنمو الرمى للفطر الممرض للحشرة، ويعتقد أن مرضية السلالات الفطرية لاترتبط دائمًا بقدرتها على إنتاج السموم فالفطر بوفاريا باسيانا B. bassiana ينمو بوفرة وقت موت العائل.

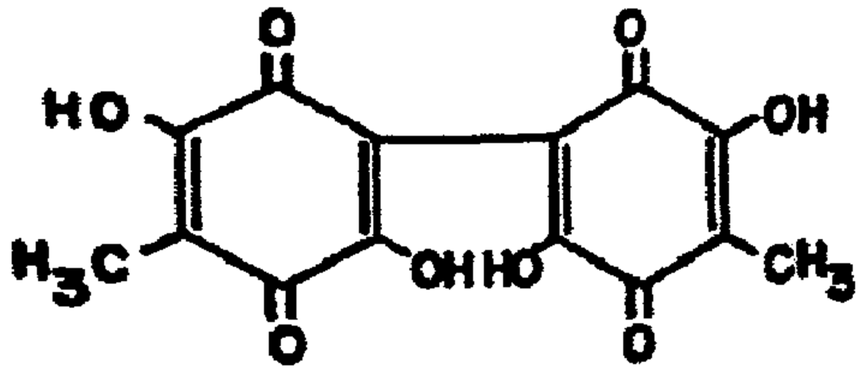
وتؤدى إصابة الحشرات بالجراثيم البرعمية للفطريات الممرضة إلى ردود فعل دموية مثل البلعمة الدموية phagocytosis وتكوين الأجسام الحبيبية والتكييس، كما يظهر الميسيليوم والجراثيم على سطح الحشرة المريضة التى تتوقف عن التغذية، وتقل حركتها، وتفقد توازنها، ثم تسكن الحشرة، وتدخل فى غيبوبة، ثم تموت.



شكل (٣-١٠) سم بوفاريسين

❖ دور الفطريات فى مكافحة الآفات الحشرية:

تلعب المواد الأيضية للفطريات الممرضة للحشرات دورًا فى عملية إصابة الحشرات، ويرجع تغير لون جسم الحشرة إلى مواد مثل باسيانين bassianin، والصبغة السامة ذات اللون الأصفر اللامع المعروفة بالاوسبرين oosprein (شكل ٣-١١) والتى عزلت لأول مرة من ميسيليوم فطر Oospora colorans، ثم عزلت بعد ذلك من العديد من الفطريات الخيطية.



شكل (٣-١١) التركيب الكيماوى للأوسبرين

وتنتج فطريات كثيرة سموم للحشرات مثل فطر بوفاريا باسيانا B. bassiana الذى ينتج سم بوفاريسيين Beauversin، وفطر ميتارهيزيم Metarhizium sp. المنتج لسموم ديستروكسينات أ و ب Destruxins A and B، وفطر فيرتيسيليم Verticillium sp. المنتج لسم باسيونوليد Bassionolide، إلا أنه لا تتوفر سموم فطرية يمكن استخدامها كمبيدات حشرية على المستوى التجارى فى الوقت الراهن.

وعلى الجانب الآخر هناك بعض المنتجات الفطرية التجارية مثل المستحضر التجارى 1020-B10 المنتج من فطر ميتاريزيم انيسوبليا M. anisopliae، ومستحضر Mycar المنتج من فطر هيرسوتيللا ثومبسونى Hirsutella thompsoni، ومستحضر Mycotrol المنتج من فطر بوفاريا باسيانا B. bassiana، تستخدم على نطاق واسع فى مقاومة بعض الآفات الحشرية مثل خنفساء جوز الهند Oryctes rhinoceros، وفراشة دودة ورق القطن Spodoptera litura، والحشرة القشرية الخضراء كوكس فيرديس Coccus viridis التى تصيب العديد من نباتات الفواكه والخضروات والنباتات الطبية والعطرية.

❖إنتاج الفطريات الممرضة للآفات الحشرية:

لقد تركزت محاولات الاختصاصين الأولى فى توفير مصادر العدوى بالفطريات على إدخال الآفات الحشرية المريضة أو الميتة إلى الأماكن المراد إدخال وتوطين الفطريات الممرضة بها، وفى الحقيقة فقد مثل توفير هذه المواد مشكلة، إلا أن توفير هذه الممرضات الفطرية قد أصبح الآن أيسر بكثير وأقل تكلفة، وقد تزامن ذلك مع الحاجة الماسة فى الوقت الراهن لتوفير الفطريات الممرضة للآفات لاستخدامها فى المكافحة مع زيادة التوسع الزراعى المقرون بزيادة السكان.

ويفضل إنتاج الفطريات الممرضة للحشرات بإنمائها على بيئات غذائية صناعية، وفى حالة صعوبة أو استحالة تنمية الطفيليات الإجبارية على البيئات الصناعية فإنه يتم اللجوء إلى تنمية الفطريات الممرضة على الحشرات الحية ذاتها.

وبصفة عامة توجد أربعة طرق توظف فيها الحشرات للإنتاج الضخم للفطريات الممرضة وهى:

الطريقة الأولى: عدوى الحشرات المجموعة فى المعامل:

تعتبر هذه الطريقة من أوائل الطرق التى استخدمت فى توفير الفطريات الممرضة لعملية المكافحة الميكروبية حيث يتم جمع الحشرات الحية من الحقول وإجراء عدوى لها بلقاح الفطر الممرض فى المختبرات، ويتم اللجوء لهذه الطريقة فى الحالات التى تكون فيها الحشرات صعبة التربية أو من غير الممكن تربيتها على بيئة غذائية صناعية.

الطريقة الثانية: عدوى العوائل:

تستخدم هذه الطريقة عند الرغبة فى إنتاج الفطريات الممرضة على نطاق واسع بسبب إمكانية توفير العوائل الحشرية فى الطور المطلوب وبأعداد كافية، وذلك من خلال عملية تربية ضخمة للعوائل الحشرية يعقبها عدوى لهذه العوائل فى المعمل بالفطريات، وتتميز العوائل الحشرية المستخدمة بهذه الطريقة بالخلو من الأمراض والتجانس الفسيولوجى. ويمكن الاكتفاء بعدوى النباتات التى تربى عليها العوائل الحشرية حيث يمكن الحصول على نفس النتيجة.

الطريقة الثالثة: جمع المصادر الفطرية:

استخدمت هذه الطريقة على نطاق واسع، وتتضمن جمع الحشرات الميتة (أو المريضة) نتيجة التعرض لأوبئة طبيعية أو صناعية، وهى طريقة غير مكلفة وموفرة للوقت حيث يستغرق الحصول على الفطر الممرض عدة أيام فقط.

الطريقة الرابعة: إحداث وباء فطرى:

تستخدم هذه الطريقة مع حشرات المن المعروفة باسم ماصات التفاح الأوروبية والتى تصاب بالمرض من جراء إصابتها بالفطر الممرض، وتنطوى هذه الطريقة على إحداث وباء بواسطة الفطر الممرض للتحكم فى أعداد الآفات الحشرية، وفى هذه الطريقة يتم تثقيب أوراق نباتات التفاح الحاملة للحشرات المريضة من سطحها السفلى وذلك مع بدء ظهور المرض الفطرى، او يتم جمع حشرات المن الكاملة المريضة وتنتقل إلى الأماكن التى لم يظهر بها المرض، أو يتم عدوى شتلات التفاح موضع الزراعة بالمن المريض.

الإنتاج على البيئات الصناعية:

يمكن إنتاج الكثير من الفطريات الممرضة للآفات الحشرية واللازمة للاستخدام فى

برامج المكافحة على بيئات الزرع الصناعية، ويجب مراعاة احتواء البيئة الغذائية على الاحتياجات الغذائية الضرورية اللازمة لنمو واستكثار الفطريات إلى جانب توفير احتياجاته من التهوية وتوفير الأس الهيدروجينى الملائم على بيئات الزرع الصناعية. ويتم استخدام الفطريات المنتجة على بيئات الزرع الصناعية على نطاق واسع فى المعامل وفى الحقول التى تمارس فيها إجراءات المكافحة الميكروبية بالتعفير للمساحيق الجافة أو الرش الآلى للمعلقات المائية، ويتم الزرع على البيئات الصناعية بطريقتين:

١) الزرع المغمور submerged culturing:

الزرع المغمور هو أحد أنواع التخمرات الميكروبية، وفيه ينمى الفطر مغمورًا تحت سطح بيئة الزرع فى أجهزة التخمير، ويتم توفير التهوية والرج الميكانيكى وعوامل الإنتاج الأخرى اللازمة، وقد كان يعتقد أن الفطريات يصعب تنميتها فى مزارع مغمورة تحت ظروف التهوية إلى أن استخدمت تقنية المزرعة المغمورة فى إنتاج البنسلين من فطر البينيسليم أبان الحرب العالمية الثانية.

وينتج عن الزرع المغمور للكثير من الفطريات جراثيم بلاستية blastospores، وهى جراثيم يصعب حفظها وتفقد حيويتها بسهولة كما فى فطـر بوفاريا باسيانا B. bassiana.

٢) الزرع الصلب Solid state culturing:

يتم فى الزرع الصلب رش لقاح سائل من الفطر المراد إنتاجه للاستخدام فى المكافحة البيولوجية على بيئة نصف صلبة مثل بيئة نخالة القمح الرطبة مع إضافة أملاح معدنية، وبيئات الإنتاج المستخدمة فى طرق الزرع الصلبة هى بمثابة صوانى تحتوى على البيئة الغذائية ويمكن تخزين الخليط لفترة لابأس بها فى غرف ذات درجة حرارة ثابتة، ويعتبر الإنتاج بهذه الطريقة بمثابة محاكاة لما يحدث فى الطبيعة.

❖الفطريات المستخدمة فى المكافحة الحيوية للحشرات:

من أهم الفطريات المستخدمة فى المكافحة الحيوية للحشرات مايلى:

❖الفطريات الكتيريدية:

من أمثلة الفطريات الكيتريدية Chytridiomycetes الممرضة للحشرات بعض أفراد جنس كوايلوميسيز Coelomyces، وتتميز هذه الأفراد بتكوين جراثيم وحيدة السوط أثناء التكاثر اللاجنسى، والهيفات عبارة عن مدمج خلوى coenocytic، أى عديدة الأنوية

وغير مقسمة aseptate، والهيفات الساكنة سميكة الجدار، ومن أهم أنواع هذا الجنس المستخدمة فى مجال مقاومة الآفات الحشرية كوايلوموميسيز دودجاى C. dodgei وكوايلوميسيز بسوروفورا C. psorophorae وكوايلوموميسيز بنكاتس C. puncatus، ويحتوى هذا الجنس على بعض الأفراد التى تحتاج لعائل إجبارى فى الغالب من القشريات المائية، وتتطفل الأنواع الثلاثة السابقة على يرقات البعوض حديثة الفقس، وقد تصيب الحشرات الكاملة أيضًا، كما تهاجم كثير من أنواع هذا الجنس يرقات الهاموش والذباب الأسود. ترسل جراثيم الفطر النابتة بعد فترة سكون قصيرة أنابيب الإنبات لتخترق جليد يرقات البعوض حيث تكون بداخلها ميسليوم غير مقسم.، يتحول فى مرحلة متقدمة إلى أكياس جرثومية عديدة الأنوية، يتكون فيها جراثيم سابحة تملأ فراغ جسم اليرقة التى تكتسب اللون البنى.

وفى عام (١٩٥٨) تم إطلاق النوع كوايلوموميسيز ستيجومايا C. stegomyiae لمكافحة بعوض الأيدس Aedes albopictus الناقل لمرض الملاريا، وذلك باستخدام لقاحات فطرية عبارة عن بعوض مصاب بالفطر، أو بعوض حى حامل للأكياس الجرثومية، وقد أدى الإطلاق إلى مستوى إصابة مرتفع للبعوض بلغ حوالى الثلث، وهناك صعوبة فى إنتاج هذا الفطر خارج العائل الحشرى.

وقد أعقب ذلك محاولات كثيرة لاستخدام بعض أنواع هذا الجنس فى مكافحة البعوض، مثل توظيف فطر كوايلوموميسيز بناكتس C. punctatus فى مكافحة بعوض الأنوفليس والأيدس، وفطر كوايلوموميسيز ابيفيكساى C. apifexi فى مكافحة البعوض، واستخدام فطر كوايلوموميسيز انديكس C. indicus فى إبادة بعوض الجامبيا فى زيمبابوى.

وفى الوقت الذى تتميز به فطريات هذا الجنس بسهولة زرعها على يرقات البعوض لإنتاج مستحضر تجارى، إلى جانب تخصصها الشديد تجاه عوائلها الحشرية، فإنه يعاب عليها عدم إمكانية زرعها فى المختبرات على بيئات الزرع الصناعية، ومهاجمة بعض أنواعها للأعداء الطبيعية natural enemies للحشرات الضارة، إلى جانب إحداث جراثيمها لحساسية للجهاز التنفسى للإنسان.

❖الفطريات البيضية:

تتطفل بعض أفراد الفطريات البيضية Oomycetes المائية أو الأرضية على الحشرات،

والهيفات بالفطريات البيضية متحدة الخلايا، ذات جدر سليلوزية، وجراثيم بيضية ثنائية الأسواط، تتطفل الأنواع الممرضة على يرقات البعوض، وفى الغالب تنقل الجراثيم البيضية الثانوية المتكونة بعد تكييس الجراثيم الأولية ثنائية الأسواط. ويتطفل فطر ليبتوليجنيا Leptolegnia sp الذى ينمو فى مياه البرك على يرقات البعوض، حيث ينمو الفطر بشكل غزير على يرقات حشرات البعوض المصابة.

ومن الفطريات البيضية المستخدمة فى المكافحة الحيوية للحشرات النوع لاجينيديم جيجانتيم Lagenidium giganteum الذى يتطفل على عدد كبير من يرقات بعوض الكيوليكس والأنوفيليس وحشرات أخرى كثيرة، وتتم العدوى بالجراثيم من القناة الهضمية وجدار جسم العائل، وتمثل الجراثيم السابحة الثنائية الأهداب الطور الممرض لهذا الفطر. وقد تم تسجيل الفطر المائى لاجينيديم الجانيكم L. alganicum لأول مرة لمقاومة البعوض فى كاليفورنيا (١٩٩١)، وينتج حاليًا تحت الاسم التجارى لاجينيكس laginex وهو طفيل اختيارى على أنواع البعوض.

❖ الفطريات الزيجية:

تضم الفطريات الزيجية عدد كبير من الممرضات الحشرية منها على سبيل المثال النوع اميبيديم باراسيتيكم Amoebidium parasiticum الذى يتطفل على يرقات البعوض، والنوع سميتيم موربوسم Smittium morbosum الذى يستخدم كذلك فى المكافحة الحيوية ليرقات البعوض، وهو يصيب الحشرات من خلال قناتها الهضمية، والنوع سبورودينيلا امبيلاتا Sporodinella umbellata الذى يصيب آفات النطاطات membracids الضارة بنباتات الكاكاو.

ويعتبر فطر ايرنيا نيوافيدس Erynia neoaphidis - الذى كان يعرف سلفًا باسم انتوموفثورا افيدس Entomophthora aphidis – أحد الفطريات الممرضة للمن، ويكون هذا الفطر أثناء نموه فى الأوساط الغذائية السائلة أجسام هيفية، إلا أنها لا تحتفظ بحيويتها لفترة طويلة، ويعوق ذلك من استخدامها فى برامج المكافحة الحيوية.

وتنتج لقاحات تجارية من فطر كونيديوبولس اوبسكيورس Conidiobolus obscurus – الذى كان يعرف سلفًا باسم انتوموفثورا ثاكستيريانا Entomophthora thaxteriana – لاستخدامها فى المكافحة الحيوية لحشرات المن، ويتم تنمية هذا الفطر فى أوساط

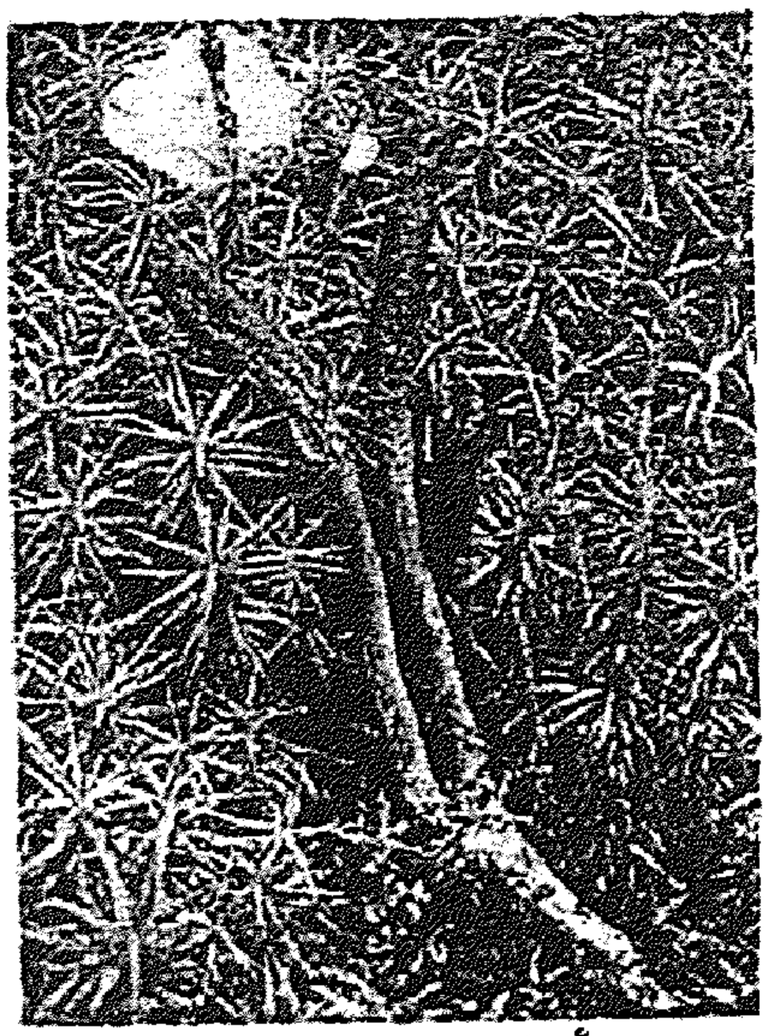
نمو صناعية سائلة، حيث تتكون فى المزرعة جراثيمه الساكنة عندما يقل مستوى الكربون أو النيتروجين فى وسط النمو، وهى جراثيم سميكة الجدر، يمكن تخزينها لحوالى ستة شهور دون فقد لحيويتها، وتحتاج هذه الجراثيم لفترة برودة قبل إنباتها.

❖ الفطريات الأسكية:

تضم الفطريات الأسكية بعض الأنواع من جنس كورديسبس Cordyceps وأجناس أخرى تستخدم فى المكافحة الحيوية.

❖ أفراد جنس كورديسبس Cordyceps spp:

يضم هذا الجنس أكثر من (١٥٠) نوعًا من الفطريات الممرضة للحشرات (شكل٣- ١٢)، تكون أفراده سيقان ثمرية طويلة، ويلاحظ فى فصل الخريف بروز أذرع ثمرية طويلة - ذات نهايات منتفخة ولها لون برتقالى - من سطح الأرض من أجسام يرقات وعذارى الحشرات من العديد من أجناس حرشفية وغشائية الأجنحة المدفونة فى الأرض.



شكل (٣-١٢) فطر **Cordyceps ophioglossoides**

وللأكياس الأسكية أغطية طرفية وتحتوى على ثمانية جراثيم أسكية رفيعة وطويلة والتى تتكسر بعد إطلاقها إلى العديد من القطع الصغيرة، وعندما تصل الجراثيم الأسكية إلى كيوتكل الحشرة تخترق أنابيبها الجرثومية جدار الجسم بمساعدة أنظمتها الإنزيمية المحللة للكيتين.

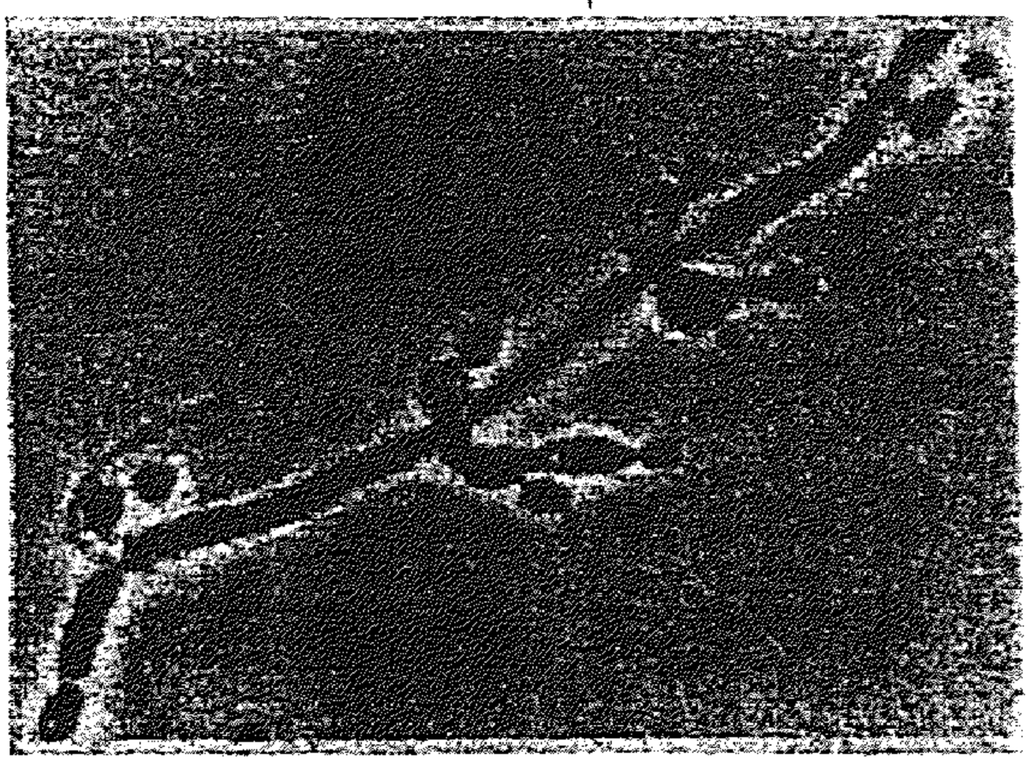
وتظهر بعد إصابة الحشرة أجسام هيفية اسطوانية الشكل فى الفراغ الدموى للحشرات، وتتكاثر هذه الأجسام بالبرعمة، تنمو الهيفات بغزارة ملحوظة، وتتحول الحشرة لجسم حجرى sclerotium تخرج منه الحشوة الحاملة للأجسام الثمرية.

ومن أمثلة فطريات هذا الجنس التى تصيب الحشرات فطر كوردايسبسس ميليتاريز C. militaris المعروف بفطر اليرقات حيث يصيب يرقات الحشرات حرشفية الأجنحة وبعض يرقات غشائية الأجنحة، فعندما تصل جراثيمه الأسكية إلى عذارى الحشرات القابلة للإصابة تنبت وتخترق أنابيب إنباتها جدر العذارى من خلال إفراز إنزيماتها المحللة للكيتين، وتنمو هيفاتها المتكونة فى التجويف الدموى للعذارى، حيث تتكاثر بالتبرعم لتملأ الخلايا البرعمية تجاويف القسم، حيث تموت العذارى.

ويصيب فطر كوردايسبس كاوكيسياى C. kawkesii وفطر كوردايسبس سيننسيز C. sinensis (Bark) يرقات بعض حشرات حرشفية الأجنحة، وكذلك يصيب فطر كوردايسبس سوبوليفرا C. sobolifera عذارى السيكادا Cicada pupa.

❖النـــوع نوميـوريـا ريلأى Nomuraea rileyi:

ينتمى هذا النوع (شكل ٣-١٣) للفطريات الأسكية، وقد تم وصفه لأول مرة منذ أكثر من قرن من الزمان، إلا أنه لم يكن يستخدم فى المكافحة الحيوية حتى عام (١٩٥٥)، وينتج هذا الفطر الآن بكميات ضخمة للاستخدام فى برامج المكافحة الحيوية لمقاومة يرقات الحشرات من رتبة حرشفية الأجنحة على نباتات الكرنب وفول الصويا والذرة السكرية والبرسيم وغيرها من النباتات الاقتصادية، ويسبب هذا النوع نمط مختلف من المسكاردين الأخضر لحشرات عائلة Noctuidae، ويرجع اللون الأخضر إلى الجراثيم الكونيدية، ويتميز هذا النوع بالتخصص العوائلى وهى خاصية تميزه فى الاستخدام فى المكافحة الحيوية.



شكل (٣- ١٣) فطر **Nomuraea rileyi**

ويعتبر هذا الفطر فعال إلى حد كبير فى مقاومة كثير من يرقات حشرات حرشفية الأجنحة التى تصيب نبات فول الصويا - بصفة خاصة - فى كثير من دول العالم، ويظهر تأثير هذا الفطر جيدًا عند توفر نسبة الرطوبة الكافية (حوالى ٧٠٪) والماء الحر حتى تتكون جراثيمه بالأعداد

الكافية التى تقضى على الآفات من يرقات حرشفية الأجنحة التى تصيب المحاصيل الهامة مثل فول الصويا والذرة والأرز، ويستخدم الفطر على مستوى تجارى محدود فى بعض المناطق.

ويمكن إنتاج أعداد كبيرة من الجراثيم الكونيدية لهذا الفطر بإنمائه على عدد من الأوساط الغذائية الصلبة إلا أن بعض هذه البيئات تعطى هيفات فطرية فقط دون الجراثيم الكونيدية، أما فى البيئات السائلة فيكون هذا الفطر جراثيم برعمية قليلة العدد.

وقد أدى إنتاج هذا الفطر فى البرازيل على يرقات فراشة The velvet bean caterpillar (VBC), Anticarsia gemmatalis فى المعمل، ومعاملة حقول الصويا به بمعدل (٥ × ١١١٠) جرثومة كونيدية / هكتار للوقاية من حشرة VBC إلى القضاء على حوالى (٨٠٪) من هذه الآفة، وعلى الرغم من ذلك لايستخدم هذا الفطر فى المكافحة الحيوية بسبب تكلفة الإنتاج المرتفعة، والإنتاج غير الثابت للجراثيم الكونيدية، وتغلب العائل على المرض، ولذلك لم يصل هذا الفطر إلى مرحلة الإنتاج التجارى بعد، ويتم إنتاجه حاليًا على المستوى المعملى فقط.

❖أنواع جنس باسيلوميسيس Paecilomyces spp:

يسبب العديد من أنواع هذا الجنس الأسكى مثل النوع باسيلوميسيس فيوموسوروسيس P. fumosoroseus والنوع باسيلوميسيس فارينوسيس P. farinosus أمراضًا لبعض الآفات الحشرية مثل الذبابة البيضاء بصفة خاصة، إلا أن أفراد هذا الجنس تستخدم فى المكافحة الحيوية للنيماتودا بالأساس nematophagous fungi حيث تقتل النيماتودا ولذلك تضاف مستحضرات فطريات هذا الجنس للتربة.

ويستخدم النوع باسيلوميسيس فيوموسوروسيس P. fumosoroseus فى مكافحة الكثير من الآفات الحشرية مثل الذباب الأبيض Bemisia spp والتربس والمن إلى جانب الحلم وذلك لمداه العائلى الواسع، ويعطى هذا الفطر نتائج جيدة فى المكافحة تحت الظروف الرطبة فى الصوب الزجاجية وبصفة خاصة مع نبات الخيار، وتستخدم السلالة باسيلوميسز فيوموسوروسيس P. fumosoroseus Apopka - 97 بشكل تجارى واسع فى دول أوروبا تحت اسم PreFeRal، وهى نفسها تنتج فى أمريكا تحت اسم PFR-97، وقد عزلت هذه السلالة أساسًا من البق الدقيقى.

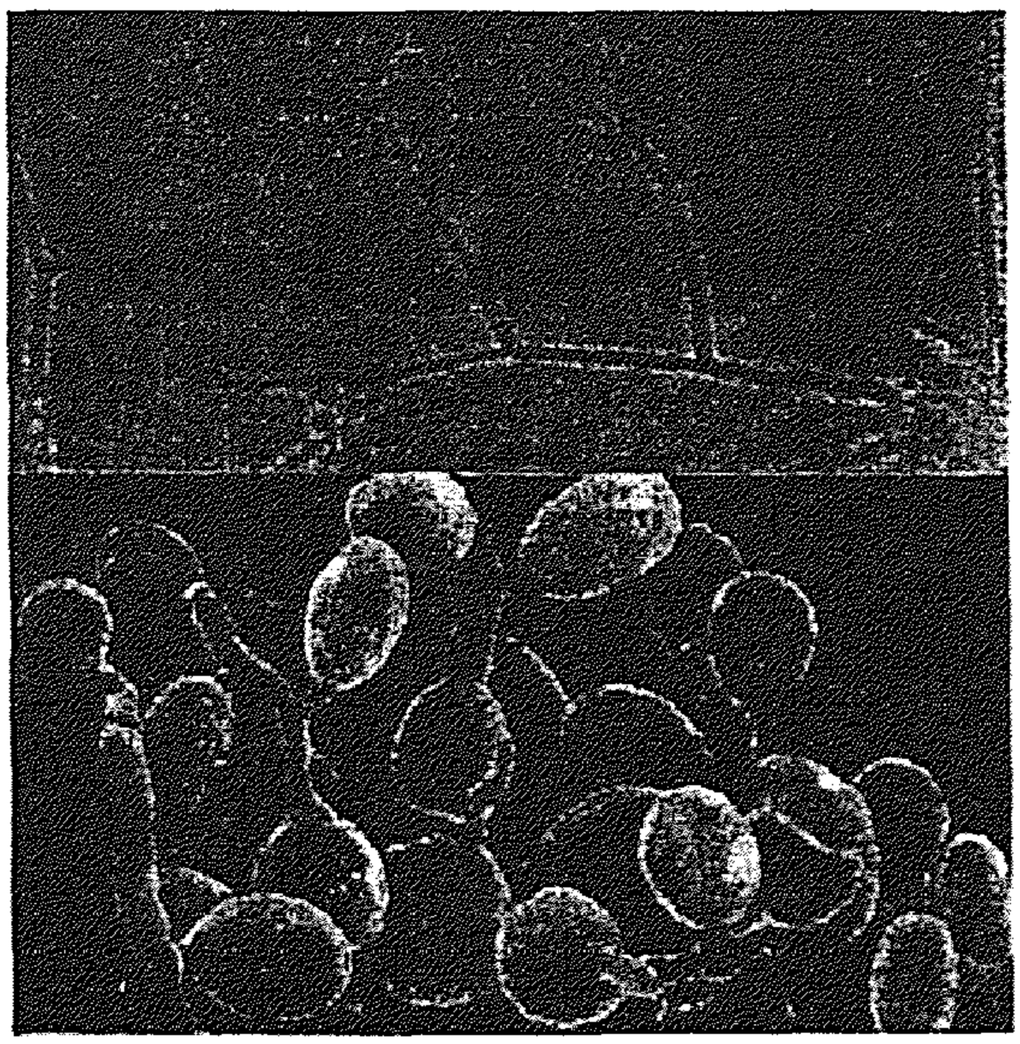
وبصفة عامة يحتاج فطر باسيلوميسيس فيوموسوروسيس P. fumosoroseus إلى رطوبة عالية لحث الإنبات والإصابة، وينمو بشكل مثالى على (٢٨°م) كما يظهر أعلى تجرثم على (٢٤°م)، وتقتل جراثيمه الكونيدية بسرعة بالإشعاع الشمسى وبصفة خاصة عند UV-B، ومن العوامل الأخرى التى تؤثر فى بقاؤه ونموه ونشاطه الإبادى للآفات طريقة تجهيز مستحضراته، وأعمار وأطوار الآفات، ونوع الوحدات التكاثرية للفطر مثل الجراثيم البلاستية blastospores والكونيدية، والعوائل النباتية المختلفة، وتأثير المواد الغذائية الخارجية على الإنبات.

❖أفراد جنس بوفاريا Beauveria:

تهاجم بعض أنواع هذا الجنس العديد من الآفات الحشرية، وتسبب أفراد جنس بوفاريا Beauveria مرض المسكاردين الأبيض white muscardine لعدد كبير من العوائل الحشرية، ومن أنواع هذا الجنس الهامة المستخدمة فى مجال المكافحة الحيوية النوع بوفاريا باسيانا B. bassiana والنوع بوفاريا برونجنيارتياى B. brongniartii.

أ- النوع بوفاريا باسيانا B. bassiana:

يوجد فطر بوفاريا باسيانا (شكل ٣-١٤) بشكل طبيعى فى الأراضى الزراعية فى معظم بلدان العالم حيث يتطفل على عدد كبير من الحشرات مسببًا لها أمراضًا خطيرة، وقد أطلق عليه هذا الاسم تكريمًا لمكتشفه عالم الحشرات الإيطالى الشهير أجوستينو باسى Agostino Bassi الذى اكتشفه فى عام (١٨٢٥) كمسبب لمرض المسكاردين muscardine فى ديدان الحرير.



شكل (٣- ١٤) هيفات وجراثيم فطر B. bassiana

ويستخدم هذا النوع فى المكافحة الحيوية لكثير من الآفات الحشرية الهامة مثل الذبابة البيضاء والنمل الأبيض والبق وغيرها من الآفات (جدول ٣-٢)، وهناك دراسات حالية لاستخدامه فى مكافحة البعوض الناقل لمرض الملاريا. كما يستخدم الفطر فى مكافحة يرقات الفراشة ذات الظهر الماسى Plutella xylostella L. وهى من حرشفية الأجنحة وتسبب فقد فى محصول الكرنب، وتنجح المكافحة الحيوية بهذا الفطر فى القضاء على اليرقات بنسبة قد تصل إلى (١٠٠٪).

ويتم إنتاج فطر بوفاريا باسيانا B. bassiana ليستخدم فى مكافحة نوع من البق يسمى chich bug، ويتم الإنتاج باستخدام أفراد من البق تم موتها نتيجة الإصابة بهذا النوع الفطرى حيث يتم إدخال الأفراد الميتة على أفراد حية وسليمة من هذا البق بنسبة (١ : ٢٠) وذلك فى أقفاص التربية، ثم يتم نشر الفطر بالحقل عن طريق إطلاق الحشرات الحية الحاملة للفطر.

جدول (٣ - ٢) التقييم الحقلى لفطر بوفاريا باسيانا B. bassiana فى مكافحة الأنواع الحشرية المختلفة.

الحشرة والنبات العائل	طريقة المكافحة	النتائـــج
فراشة الكودلنج / التفاح	استخدام مستحضر البوفرين ثلاث مرات.	نقص إصابة الفواكه كالتفاح حوالى(٩٠ ٪).
فراشة الكودلنج / التفاح	رش جراثيم الفطر (٦ × $١٠^{٩}$ جرثومة / شجرة) ضد العمر اليرقى الأخير.	٥٠٪ قتـل للعمر اليرقى الأخير.
ثاقبة الذرة الأوروبية / الذرة	رش البوفرين.	اختزال إصابة النباتات (٥٠٪).
ثاقبة الساق المنقطة / الذرة	ينقع لقاح محمل على حبوب أرز جافة فى الماء ويستخدم المعلق المائى المحتوى على الجراثيم.	زيادة المحصول.
البقة السوداء / الأرز	استخدام معلق الجراثيم أو المسيليوم الجاف للفطر	اختزال أعداد البق بشكل ملحوظ فى خلال ٩ أيام.
بعض النطاطات / الأرز	رش مبيد حشرى من معلق جرثومى للفطر(٤,٥ × $١٠^{١٢}$) جرثومة/ كتار.	موت الحشرات بنسبة ٦٣-٩٨٪ بعد ٣ أسابيع من المعاملة.
بعض النطاطات / الأرز	رش مبيد حشرى من معلق الفطر (٦,٥ × $١٠^{١٣}$ جرثومة / هكتار).	موت الحشرات بنسبة ٥٧,٩ ٪ بعد ١٠ أيام من المعاملة.
دودة لوز القطن / الحمص	رش معلق جراثيم الفطر.	اختزال حدوث ضرر (حوالى ٣٣٪).

سوسة الموز (ثاقبة جذور الموز) / الموز	معاملة مستحضر التربة التجارى بجراثيم الفطر (٢ × ١٠^٥ جرثومة / مجم)، واستخدامه بمعدل ٤-٦ جم / شجرة.	اختزال أعداد الآفات بنسبة ٦٧٪.
سوسة البطاطا الحلوة / البطاطس	رش جراثيم الفطر (١,٦ × ١٠^٤ جرثومة / مل أثناء الزراعة.	اختزال أعداد الآفات.
الذبابة البيضاء / القرعيات	استخدام مبيد حشرى من معلق الجراثيم على المحصول بمعدل ٥ × ١٠^١٣ جرثومة فى ١٨٠ لتر ماء / هكتار.	موت الحوريات بنسبة ٨٥٪ فى خلال ٤-٥ أيام.
من الخوخ / الكانولا	رش مبيد حشرى من الفطر مرتين ١٠^٨ جرثومة / مل.	موت الحشرات بنسبة ٧٢-٨٦٪ بعد ٦ أيام من الرش.
نطاط باكارد / الكساء الخضرى	رش مبيد حشرى من جراثيم الفطر الجافة المحملة على رجيعة القمح (٢ × ١٠^١٣ جرثومة / هكتار).	إصابة الحشرة بنسبة ٧٠٪ بعد يومين، إلا أن الإصابة تقل تدريجيًا.

كذلك تستخدم جراثيم الفطر كمبيد حيوى بالرش كمستحلب على المحاصيل الحقلية المصابة بالحشرات أو كمسحوق قابل للبلل. وحيث أن هذا الفطر يتطفل على عدد كبير جدًا من العوائل من آفات مفصليات الأرجل فإنه يعتبر مبيد حيوى غير اختيارى، ولذلك يجب مراعاة عدم استخدامه فى حالة النباتات الزهرية التى تزورها الحشرات الملقحة للأزهار.

ونادرًا ما يصيب هذا النوع الإنسان أو أى حيوانات ولذلك يعتبر هذا النوع آمن بصفة عامة فى الاستخدام كمبيد حيوى، وهناك مستحضر تجارى يتم إنتاجه بالفعل من فطر بوفاريا باسيانا B. bassiana يعرف باسم بوفيرين Boverin يستخدم فى برامج المكافحة الحيوية. وقد يسبب مستحضر بوفرين Boverin التجارى حالات من الحساسية للإنسان.

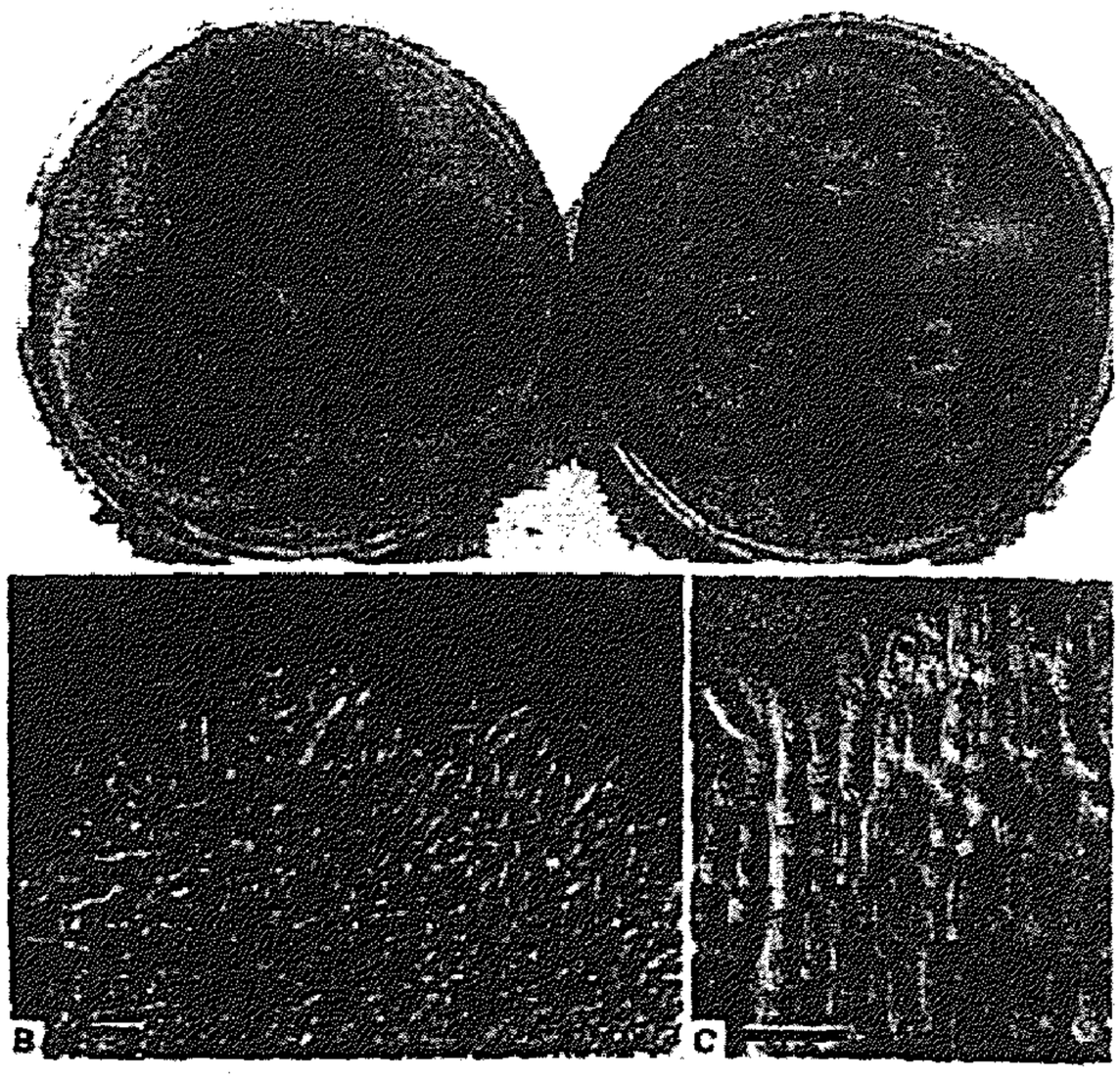
ومن المعتقد أن اللون المحمر ليرقات حشرات رتبة حرشفية الأجنحة المصابة بفطر بوفاريا Beauveria إنما يرجع إلى صبغة dibenzoquinone التى ينتجها الفطر، ويحول النوع بوفاريا برونجرى ارتياى B. brongriartii (٢٠٪) من المواد الصلبة الأصلية فى بيئة الزرع المحتوية على البيتون إلى حامض أكساليك، وهو نفس الحامض الذى تشاهد بلوراته على أسطح الحشرات الميتة بواسطة فطر بوفاريا باسيانا B. bassiana.

ب- النـوع بوفاريا تينيلا B tenella:

يستخدم النوع بوفاريا تينيلا B. tenella فى مقاومة يرقات الجعال Melolontha melolontha.

❖**أنواع جنس ميتاريزيم** Metarhizium spp:

تتسبب بعض أفراد جنس ميتاريزيم Metarhizium فى مرض المسكاردين الأخضر للعشرات من أنواع الحشرات، وتستخدم بعض أفراده فى برامج المكافحة للآفات التى تصيب نباتات قصب السكر فى البلاد التى تزرع هذا النبات بكثرة مثل البرازيل. وأفراده مسببات مرضية اختيارية مثل النوع ميتاريزيم انيسوبليا (=Entomophthora) M. anisopliae anisopliae (شكل ٣- ١٥) الذى ربما كان أول نوع فطرى يستخدم فى محاولات مكافحة الآفات بواسطة الفطريات، فقد أنتج Metchnikoff فى روسيا (١٨٧٩) كميات ضخمة من جراثيمه لمكافحة آفة القمح Anisopliae austriaca وهى من حشرات رتبة غمدية الأجنحة، وتهاجم سلالات هذا الفطر العديد من الحشرات، ومن الحشرات الحساسة له الديدان السلكية، والخنفساء الوحيدة القرن rhinoceros beetle، ويرقات الفراشة ذات الظهر الماسى Plutella xylostella L. والذبابة البيضاء التى تصيب نباتات العائلة الصليبية، وغالبية آفات النخيل، ونطاطات الأوراق العشبية بحقول قصب السكر.



شكل (٣ - ١٥) مستعمرات فطر M. anisopliae على بيئات مختلفة (أ)، تجمعات الجراثيم الكونيدية (ب)، سلاسل الجراثيم الكونيدية البيضاوية الشكل (ج).

ويخترق هذا الفطر جسم العائل بشكل مباشر من خلال طبقة الكيوتكل بمساعدة النظم الإنزيمية للعائل، وقد يحدث ضغط ميكانيكى من خلال الاختراق الأولى لقمم الهيفات، وعادة تكون الجرثومة الكونيدية للفطر أنبوبة واحدة، وتختلف الأنبوبة الجرثومية فى طولها قبل تكوين أعضاء الالتصاق appresoria، وهذه الأعضاء عبارة عن انتفاخات على الأنابيب الجرثومية وظيفتها الالتصاق فى المراحل الأولى لحدوث الإصابة بالفطر، وقد تغيب هذه الانتفاخات فى حالات حدوث الإصابة الفطرية من خلال دخول الأنابيب الجرثومية بشكل مباشر - دون الحاجة إلى أعضاء التصاق - فى فراغ جسم العائل الحشرى خلال الثغور التنفسية أو أعضاء الحس إذ أن أعضاء الحس ذات قنوات سهلة الاختراق. ويعتبر الراشح الخلوى لهذا الفطر سام لأفراد رتبة غمدية الأجنحة حيث يحدث العديد من التغيرات فى عضيات الخلية، كما أن مستخلص الميسيليوم سام للذبابة المنزلية.

وعادة فى معظم حالات الإصابة تبرز هيفا رفيعة من عضو الالتصاق يطلق عليها إبرة الاختراق penetration peg حيث تخترق الابيكيوتيكل وتدخل البروكيوتيكل، وتحفز الإنزيمات التى تفرزها إبرة الاختراق المنطقة المحيطة من البروكيوتيكل، تستمر إبرة الاختراق فى النمو، ويتكون عليها انتفاخ تنمو منه هيفات جانبية تتفرع وتكبر فى الحجم وممتدة داخل البروكيوتكل أو بين الابيكيوتكل والبروكيوتكل تنمو فى كل الاتجاهات، تنمو تفرعات الهيفات الجانبية لأسفل مخترقة بقية البروكيوتكل وفراغ جسم العائل الحشرى، وفى هذه المرحلة تتكون أجسام أصبعية أو نجمية، يعقبها تكون أجسام هيفية تنمو ضعيفة بدم الحشرة ربما لعدم مقدرة الفطر على اختراق أعضاء الحشرة الداخلية.

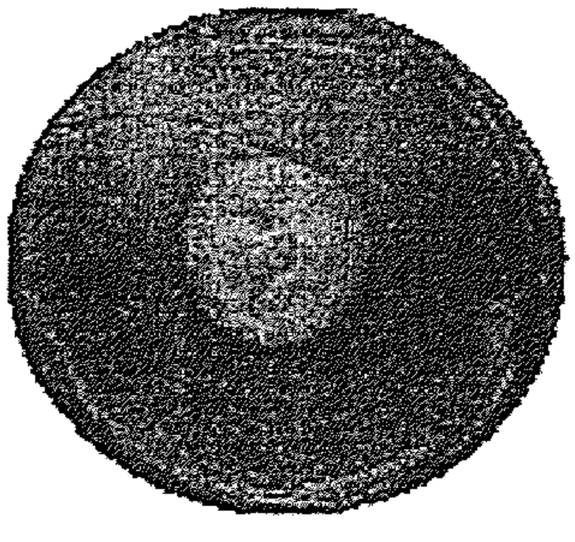
وسرعان ما ينتشر نمو الفطر فى الآفات الحشرية الهالكة عقب موتها، حيث تخترق هيفات الفطر كل جسم الحشرة إلا أنه يلاحظ عدم ظهور أى تحلل واضح وقد يعزى ذلك إلى إفراز الفطر لمواد مضادة لنمو البكتيريا، ولايستطيع الفطر اختراق أعضاء الحشرة بنفس الدرجة لذلك يلاحظ أنه يخترق الأجسام الدهنية أولًا، ثم الجهاز الهضمى وأنابيب مليبجى والجهاز العصبى وأخيرًا العضلات والقصبات الهوائية. وتنمو هيفات الفطر خارج جدار الجسم بعد موت الحشرة بنحو يومين، وتخرج الهيفات من المناطق الضعيفة بجدار الجسم كالأغشية الرابطة لمعاصم الأرجل ونقر أعضاء الحس، وتتكون الجراثيم الكونيدية فى خلال يوم من خروج هيفات الفطر.

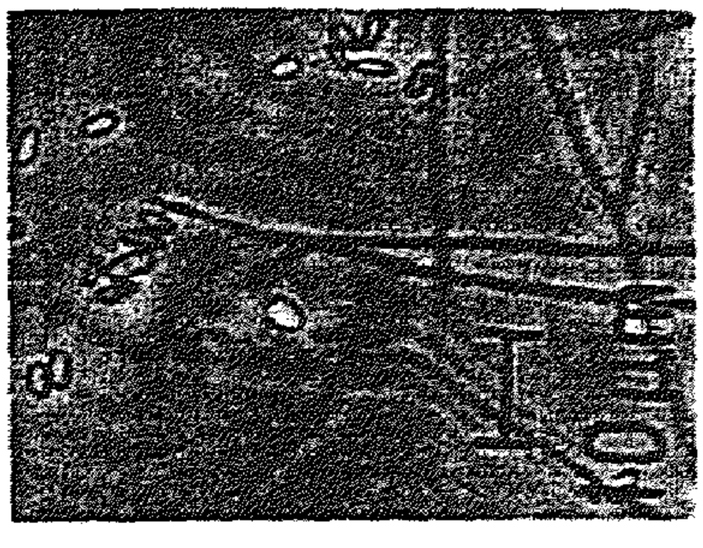
❖أنواع جنس ليكانيسيليم (Verticillium spp =) Lecanicillium spp:

تستخدم أنواع هذا الجنس الأسكى بشكل تجارى فى مكافحة الذبابة البيضاء فى زراعات الصوب، مثل النوع ليكانيسيليم مسكاريم L. muscarium الذى يباع تجاريًا تحت اسم Mycotal.

وكذلك النوع ليكانيسيليم ليكانياى L. lecanii - الذى تم وصفه لأول مرة فى عام (١٨٦١) - وعرف سلفًا باسم Cephalosporium lecanii Zimmermann and Verticillium lecanii (Zimmerman) Viegas (شكل ٣-١٦)، وينتشر الفطر على الحشرات فى جميع أنحاء العالم، والنوع غير صعب النمو إذ يمكنه النمو على كل البيئات التقليدية التى تزرع عليها الفطريات، ويصيب هذا النوع عدد كبير من الحشرات الماصة sucking insects بالمرض كالمن والجاسيد والتربس والذبابة البيضاء إلى جانب البق الدقيقى والحلم والنيماتودا، ويستخدم فى المكافحة البيولوجية لهذه الحشرات رشًا على النباتات التى تتغذى عليها الحشرات، تنمو الجراثيم ذات الطبيعة الصمغية وتغزو كيوتيكل الحشرة مسببة المرض والموت للحشرات فى النهاية، وفى هذا المجال تستخدم الجراثيم الكونيدية أو البلاستية المعلقة فى محلول منظم من الفوسفات يحتوى على (٠٢ , ٠٪) من مادة تريتون اكس (١٠٠) Triton X-100، وإنتاج الجراثيم الكونيدية على الآجار من العمليات المكلفة بشكل كبير ناهيك عن صعوبة ضمان نقاوة المزرعة، ويمكن إنتاج الجراثيم الكونيدية على مادة صلبة حبيبية رخيصة. ويعتبر هذا النوع من عوامل المكافحة البيولوجية الهامة فى مكافحة المن على نبات الكريزانثيم chrysenthemum فى البيوت المحمية، إلى جانب مكافحة الحشرات السابقة على الخضروات والفواكه والقطن، ومن أهم العوامل التى تؤثر فى نشاط هذا الفطر الإبادى تجاه الحشرات الرطوبة إذ يحتاج هذا الفطر إلى رطوبة مرتفعة (٨٥-٩٥٪ على الأقل) للإنبات والانتشار وحدوث الإصابة، كذلك تؤثر سلالة الفطر، وعمر وطور الآفة فى النتيجة المرجوة من المكافحة الحيوية.

وهناك اهتمام كبير ببروتينات هذا الفطر المعروفة باسم الهيدروفوبينات hydrophobins لدورها الهام فى البيوتكنولوجي وفى المكافحة البيولوجية للآفات الزراعية الهامة، والهيدروفوبينات عبارة عن بروتينات غنية فى السيستئين cysteine، ولها القدرة على تغطية الأشياء بغطاء كاره للماء، ويكون هذا النوع الفطرى أجسام قارورية تحتوى على الجراثيم إما منفردة أو فى أزواج أو دوائر على حوامل كونيدية ذات نمو ضعيف.





شكل (٣-١٦) مستعمرة (أ) والجراثيم الكونيدية (ب) لفطر V. lecanii

❖الفطريات الناقصة:

تضم الفطريات الناقصة العشرات من الأنواع الفطرية الممرضة للحشرات مثل أفراد جنس هيبوكريلا (Hypocrella Sacc. s. l.(anamorph Aschersonia Mont. s.l التى تتطفل على الذباب الأبيض. ومن أهم أنواع الفطريات الناقصة المستخدمة فى مجال المكافحة الحيوية ما يلى:

❖كيوليسينوميسيس كلافوسبورس Culicinomyces clavosporus:

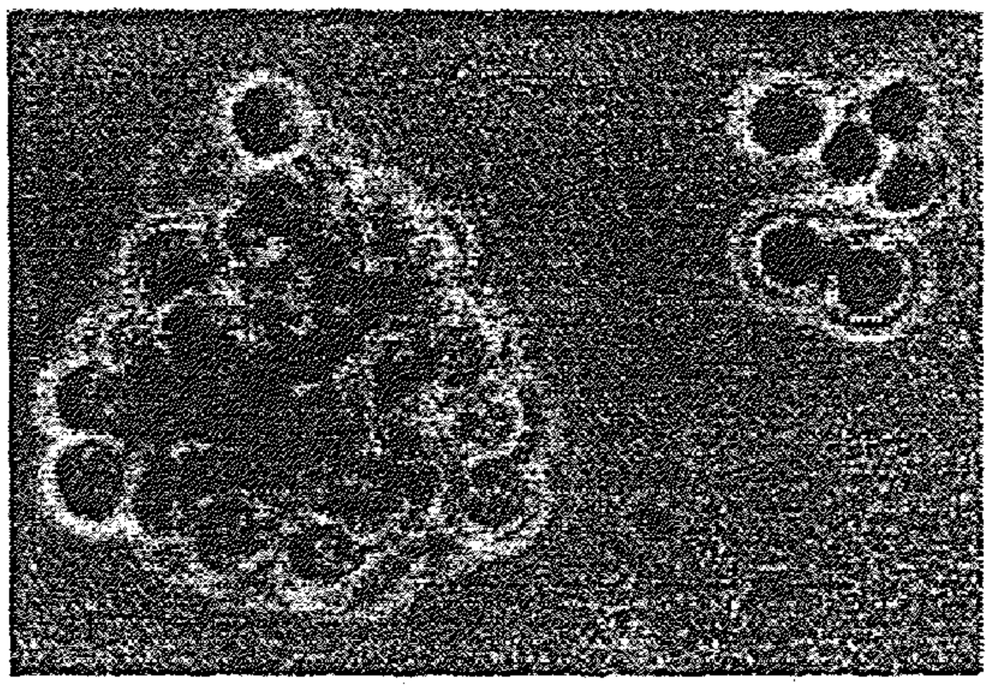
تصيب بعض سلالات فطر كيوليسينوميسيس كلافوسبورس C. clavosporus يرقات ذباب الأنوفيليس، ويعوض الكيولكس، فى بلدان كثيرة حول العالم. وينتج هذا الفطر أعداد ضخمة من الجراثيم الكونيدية أثناء نموه فى أوساط الزرع السائلة، وهذه الجراثيم ذات كفاءة عالية جدًا فى المكافحة الحيوية.

❖تولايبوكلاديوم سيليندروسبوريم Tolypocladium cylindrosporum:

يسبب النوع تولايبوكلاديوم سيليندروسبوريم T. cylindrosporum أمراضًا ليرقات البعوض والذبابة المنزلية، ويكون جراثيم كونيدية ذات رؤوس لزجة تنتجها حوامل قارورية.

❖النوع سوروسبوريلا يوفلا Sorosporella uvella:

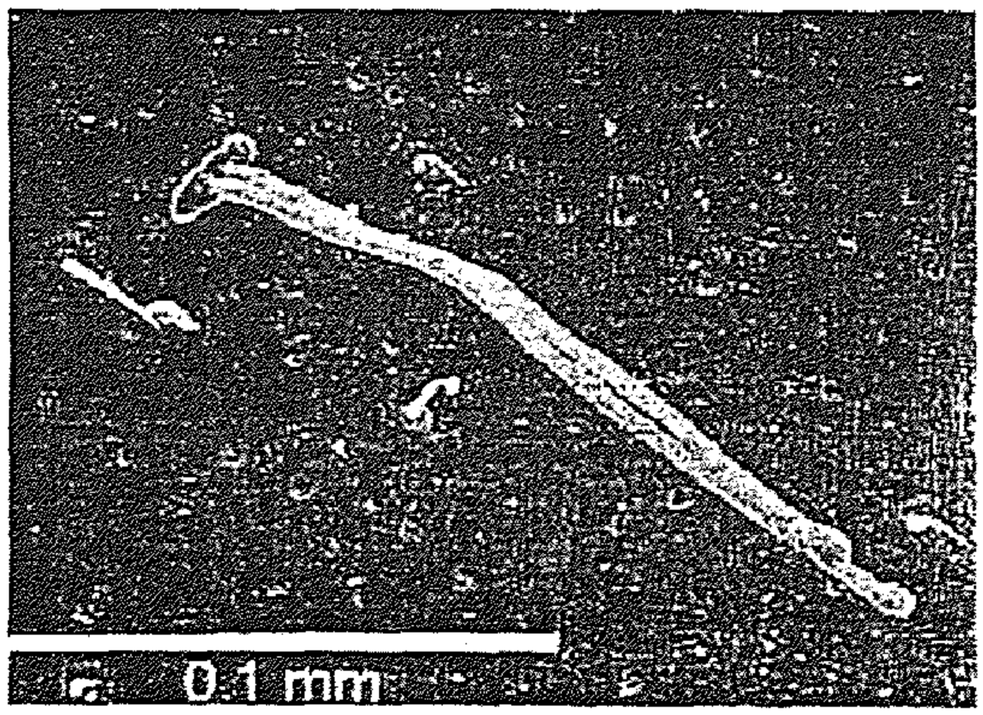
يعتبر النوع سوروسبوريلا يوفلا S. uvella ممرض لحشرات حرشفية وغمدية الأجنحة، حيث تخترق الأنابيب الجرثومية المنطلقة من الجراثيم الكونيدية (شكل ٣- ١٧) جدار جسم الآفة الحشرية وتتلف أنسجة الآفة الداخلية باكتمال نمو الفطر، والحشرات المريضة ذات أجسام مرنة، وتفقد شهيتها، وتبدى كسلًا فى الحركة فى بداية الإصابة، ثم تموت عادة فى خلال (٧-١٠) أيام من الإصابة، وتتلون الحشرات المريضة فى بداية الإصابة بلون أبيض كريمى يتحول لقرمزى عند الموت وهو لون جراثيم الفطر الحمراء اللون، وعند وصول الآفة لهذا اللون يصبح الكيوتكل هشًا سهل الكسر مما يسهل هروب الجراثيم الكونيدية خلال التمزقات.



شكل (٣- ١٧) جراثيم ساكنة لفطر **S. uvella**.

❖**فطر انتينوبسيس جلايكا** Antennopsis gallica:

ينتمى جنس انتينوبسيس Antennopsis إلى الفطريات الناقصة، ومن الأفراد الممرضة للحشرات بهذا الجنس النوع انتينوبسيس جاليكا A. gallica (شكل ٣-١٨).



شكل ٣- ١٨ . فطر A. gallica أثناء تطفله خارجيًا على أجسام الحشرات.

وتصيب أفراد هذا النوع النمل الأبيض، حيث ينمو الفطر على جدار جسم الحشرة من الخارج، وتبدو الحشرات المريضة كأنها مغطاة بشعور دقيقة، وينتشر هذا الفطر بواسطة التلامس المباشر للحشرات السليمة مع المريضة، أو عن طريق تلوث الحشرات السليمة بجراثيم الفطر.

❖**المستحضرات الفطرية التجارية:**

يوجد عدد قليل نسبيًا من المستحضرات الفطرية التجارية المستخدمة فى المكافحة البيولوجية للحشرات، ويراعى عند استخدام فطر ما فى المكافحة البيولوجية دراسة ماإذا كان الفطر المستخدم يسبب حساسية للإنسان أو يضر بالثدييات أو ذات تأثير سام أو مسرطن.

ومن المستحضرات الفطرية المعروفة تجاريًا مستحضرات ديستروكسين Destruxins وهى نواتج أيضية ذات تأثير إبادى للحشرات ينتجها فطر ميتاريزيم انيسوبليا Metarhizium anisopliae فى وسط نموه وهى تتبع فى تركيبها مجموعة a cyclic hexadepsipeptide، وهى مستحضرات ليست لها أى تأثير ضار بالثدييات، ومستحضر بيوفرين Beauverin والمنتج من فطر بوفاريا باسيانا Beauveria bassiana وهو كذلك ليس له أى تأثير ضار بالثدييات.

ويعتبر استعمال المبيدات الفطرية فى المكافحة الحيوية فى التوقيت المناسب وبالأعداد الكافية فى مرحلة مبكرة بذات أهمية كبيرة فى عملية مكافحة الآفات إلى مستويات تحت المستويات الاقتصادية خلال موسم المحصول، وللفطريات متطلبات محددة من الحرارة والرطوبة، فإذا ارتفعت الحرارة أو انخفضت الرطوبة فربما لا تتم عملية المكافحة برمتها أو قد تسير بشكل بطئ نتيجة فشل المبيد الحيوى المستخدم فى التأقلم وهذه واحدة من أهم معوقات استخدام المبيدات الحيوية.

❖ **السلالة ميتاريزيم انيسبوليا** M. anispoliae strain F52:

تصيب هذه السلالة الفطرية عدد كبير من الحشرات من رتب غشائية وغمدية ومتشابهة الأجنحة بالإضافة إلى رتبة ذات الجناحين، حيث تصيب يرقات الخنافس مثل الخنفساء الوحيدة القرن rhinoceros beetle والبعوض والذباب الأبيض ونطاطات الأرز البنية، وتصيب هذه السلالة الميكروبية اليرقات والحشرات البالغة لكثير من أنواع الحشرات، وقد تصيب يرقات الخنافس فقط بسبب الهيكل الخارجى القوى للحشرات البالغة.

وعندما تصل جراثيم الفطر إلى السطح الخارجى للحشرة تنبت وتبدأ النمو، وتخترق هيكلها الخارجى، وسرعان ما تنمو الهيفات بداخل الحشرة مما يؤدى إلى موتها، وتنتقل العدوى بين الحشرات على أثر تلامسها مع بعضها البعض.

وتعزل هذه السلالة فى كثير من المناطق حول العالم من الحشرات والنيماتودا والتربة الزراعية والمادة العضوية المتحللة ورواسب الأنهار، وتعتبر أول فطر تم إنتاجه على مستوى كبير. وعند تنمية هذا الفطر فى أوساط غذائية صلبة ينتج جراثيم كونيدية جافة بأعداد كبيرة، وتعتبر الجراثيم الكونيدية بمثابة التراكيب الفطرية المعتاد استعمالها من هذا الفطر فى

المكافحة الحيوية. وفى المقابل يؤخذ على الجراثيم البرعمية blastospores التى يكونها هذا الفطر أثناء نموه فى أوساط غذائية سائلة (مرحلة النمو المعروفة بطور الخميرة yeast phase) أنها جراثيم قصيرة العمر سريعة التحلل.

وينتج من هذا الفطر مستحضر تجارى بالبرازيل منذ أكثر من ثلاثة عقود وذلك بتنميته على أوساط غذائية من مخلفات الأرز، ثم تعبئة المنتج فى أكياس من السلوفان.

ويطلق على المنتج التجارى الذى طورته شركة باير من هذا الفطر مسمى « Bio-١٠٢٠»، ويستخدم هذا المنتج فى مقاومة الآفات الحشرية من رتبة غمدية الأجنحة على نباتات الزينة. ويستخدم هذا المبيد الحيوى على هيئة رذاذ فى مكافحة كثير من الحشرات كالخنافس المختلفة والذباب إلى جانب التربس لوقاية النباتات الطبية والعطرية فى المشاتل والصوب الزجاجية، ويجب عدم استخدامه حيث يوجد الماء حتى لا يلوث الماء. ولا يؤدى التعرض لهذا المبيد الحيوى إلى أى أضرار للإنسان، وكذلك لايؤثر هذا المبيد على الطيور والثدييات والنباتات والحشرات النافعة.

❖بوفاريا باسيانا Beaveria bassiana:

ينتمى فطر بوفاريا باسيانا B. bassiana إلى مجموعة من الفطريات تنتشر تقريبًا فى كل دول العالم، وتنتج جراثيمه الكونيدية تجاريًا على أوساط نمو شبه صلبة فى بعض الدول مثل روسيا والصين وأمريكا للمكافحة الحيوية لبعض الآفات الحشرية، وقد يتم الإنتاج فى مرحلتين di-phasic process، يتضمن الطور الأول إنماء الفطر فى وسط سائل لإنتاج اللقاح، ويتضمن الطور الثانى تلقيح أوساط نمو صلبة مثل ردة القمح والكومبوست ومسحوق المخلفات النباتية بهذا اللقاح المنتج للحصول على أعداد كبيرة من الجراثيم الكونيدية.

وتستخدم السلالة بوفاريا باسيانا B. bassiana strain 447 ٤٤٧ فى الإنتاج التجارى، وتنتج هذه السلالة كمبيد حيوى للحشرات فى محطات الطعم bait station لمكافحة بعض أنواع النمل، حيث تصيب جراثيم الفطر النمل الذى يموت على الفور، وتبدأ الإصابة بنمو جراثيم الفطر على الهيكل الخارجى للعائل الحشرى، ويجب استخدامه بحرص بعيدًا عن الأطعمة.

ويسوق هذا الفطر بشكل تجارى واسع فى العديد من دول العالم منذ نحو عام (١٩٩٠)، وتستخدم جراثيمه الكونيدية كمكون فعال فى المستحضرات التجارية مثل Mycontrol و BotaniGard و Naturalis لمقاومة حشرات نباتات العائلة الصليبية كالكرنب والبروكلى والقرعيات كالخيار فى الصوب والحقل، وللفطر تأثير إبادى متوسط تحت الظروف الحقلية، ويستخدم بكثرة لمكافحة الحشرات التى تصيب محاصيل الصوب، وفى السنوات الأخيرة تزايد استخدام مستحضراته مثل Mycontrol-O و Naturalis-O فى أمريكا فى المكافحة فى الزراعة العضوية.

ومن المستحضرات التجارية المعروفة لهذا الفطر مستحضر بوفيرين Boverin المستخدم فى مكافحة ثاقبات الذرة، وخنفساء الكلورودا Colorado beetle، وخنافس أشجار الصنوبر.

❖ليكانيسيليم (فيرتسيليم) ليكانياى Lecanicillium (= Verticillium) lecanii:

ينتج هذا الفطر بشكل تجارى فى بعض البلدان مثل المملكة المتحدة منذ فترة، وتحمل منتجاته التجارية أكثر من مسمى مثل مستحضر BioVL ومستحضر Vertelec، وتستخدم سلالات الفطر فى مكافحة الحشرات الثاقبة الماصة مثل الذبابة البيضاء والمن إلى جانب بعض الفراشات فى كثير من المحاصيل الاقتصادية مثل القطن والخضروات ومحاصيل البذور الزيتية، وذلك برش المستحضرات التجارية على الحشرات حيث تصيبها بمجرد تلامس الجراثيم الفطرية اللزجة sticky fungal spores والتى تنمو وتغزو الجسم مسببة له المرض وفى النهاية تموت الحشرة. ويسبب هذا الفطر أمراضًا وبائية فى الكثير من الآفات الحشرية الثاقبة الماصة، حيث يكون مصايد خاصة special traps تشبه الشباك الميسيليومية mycelium networks ويكون حلقات rings فى الحشرات المصابة.

وفى حالة الإنتاج التجارى ينمى النوع ليكانيسيليم ليكانياى L. lecanii بسهولة فى أوساط نمو سائلة يتم تلقيحها بجراثيم كونيدية أو جراثيم برعمية، وترج المزارع لتوفير التهوية المطلوبة، وينمو الفطر على هيئة ميسيليوم فى مرحلة النمو الأولى، وعند نقص الأكسجين أو زيادة ثانى أكسيد الكربون يتبرعم الفطر.

وهناك أكثر من مستحضر حيوى تجارى يتم إنتاجه من هذا الفطر للاستخدام فى المكافحة الحيوية للآفات الحشرية بالصوب الزجاجية مثل مستحضر مايكوتال Mycotal المستخدم

فى مكافحة الذبابة البيضاء على نباتات الخيار والطماطم، ومستحضر فيرتاليك Vertalec المستخدم فى مكافحة المن على نباتات جنس الأراولا Chrysanthemums، ويؤثر هذا المستحضر بفعالية أفضل فى أنواع المن الأكثر حركة مثل من الخوخ Myzus persicae، بسبب زيادة انتشار المرض بين مجتمع الحشرة الأكثر حركة، وتوجد هذه المستحضرات على هيئة مساحيق جافة قابلة للبلل تحتوى على (٢ × ٨١٠) جرثومة لكل جرام من المنتج ويمكن تخزينها لمدة عام على (٤°م).

وإلى جانب المن والذباب الأبيض وهما من الآفات التى تمثل مشكلة كبيرة فى الصوب الزجاجية يستخدم هذا الفطر فى المكافحة الحيوية لآفات حشرية كثيرة مثل الحشرات القشرية وخنفساء قلف شجر الدردار إلى جانب التربس وحلم العنكبوت الأحمر.

واستخدام هذا الفطر خارج الصوب الزجاجية محدود نسبيًا بسبب احتياجه إلى رطوبة نسبية بين (٩٥ - ١٠٠٪) لمدة (١٠- ١٢) ساعة على الأقل حتى تنبت الجراثيم بالعدد الكافى وحتى يمكن أن يستوطن الفطر الآفة الحشرية.

وتتضمن إجراءات مراقبة جودة المنتجات التجارية المعدة للبيع من هذا الفطر فحص ميكروبيولوجى للنقاوة، وحقن جرعة مقدارها (٥ × ٦١٠) جرثومة حية فى فئران التجارب.

❖**فطـر** Aschersonia aleyroidis:

تستخدم بعض سلالات هذا الفطر فى المكافحة الحيوية للحشرات القشرية، وتنتج لقاحات تجارية منها فى أوساط زرع سائلة للاستخدام فى عملية المكافحة الحيوية فى بعض الدول الشرقية.

وكذلك تعتبر بعض سلالاته مثالية فى المكافحة الحيوية للذبابة البيضاء تحت ظروف الصوب الزجاجية، وذلك بسبب تخصصه على بعض الحشرات، ويتوفر بالأسواق التجارية مستحضر حيوى من هذا الفطر تحت اسم بسيلومين Pecilomin.

ومن العوامل البيئية التى تؤثر فى معدلات الإصابة وانتشار هذا الفطر وبقاء الجراثيم الكونيدية فى الظروف المناخية المغايرة كل من نسبة الرطوبة، ودرجة الحرارة، والضباب، والرى، والمطر، وضوء الشمس، والرياح، وخصائص النبات، والتركيب المحصولى، والتفاعلات الميكروبية، وعمر وطور الآفة موضع المكافحة الحيوية.

❖المراجـع:

Alavo, T.B.C. and M. Accodji (2004). The entomopathogenic fungus Verticillium lecanii (Deuteromycetes, Moniliaceae). The proteins hydrophobins and the biological control of aphids (Homoptera, Aphididae): Literature review). Archives Phytopathol. Plant Protection, 37(3): 201- 204.

Arnold, A.E. and L.C. Lewis (2005). Ecology and evolution of fungal endophytes and their roles against insects. In: Insect-Fungal Associations: Ecology and Evolution (ed. by F.E. Vega and M. Blackwell), pp. 7496-. Oxford University Press.

Barbara, D.J. and E. Clewes (2003). "Plant pathogenic Verticillium species: how many of them are there?" Molecular Plant Pathology 4(4):.297-305. Blackwell Publishing.

Burges, D. (2007). Techniques for testing microbials for control of arthropod pests in greenhouses. In L.A. Lacey and H.K. Kaya, eds., Field Manual of Techniques in Invertebrate Pathology: Application and evaluation of pathogens for control of insects and other invertebrate pests, pp. 463 – 479. Springer, Dordrecht, The Netherlands.

Dolinski, C. and L.A. Lacey (2007). Microbial control of arthropod pests of tropical tree fruits. Neotropical Entomology 36: 161–179.

Donald, G. and Jr. McNeil (2005). Fungus Fatal to Mosquito May Aid Global War on Malaria, The New York Times, 10 June 2005.

Ekesi, S., P.A. Shah, S.J. Clark and J.K. Pell (2005). Conservation biological control with the fungal pathogen Pandora neoaphidis: implications of aphid species, host plant and predator foraging. Agr. For. Entomol. 7: 21- 30.

James, B., I. Godonou, C. Atcha and H. Baimey (2006). Summary of Activities and Achievements, 2003–2006, Healthy Vegetables Through Participatory IPM in Peri-urban Areas of Benin. International Institute of Tropical Agriculture (IITA), Cotonou, Benin, 134 pp

Kaya, H.K. and L.A. Lacey (2007). Introduction to microbial control.

In L.A. Lacey and H.K. Kaya, eds., Field Manual of Techniques in Invertebrate Pathology: Application and Evaluation of Pathogens for Control of Insects and Other Invertebrate Pests, pp. 3 – 7. Springer, Dordrecht, The Netherlands.

Lacey, L.A., S.P. Wraight and A.A. Kirk (2008). Entomopathogenic Fungi for Control of Bemisia tabaci Biotype B: Foreign Exploration, Research and Implementation. In: J. Gould et al. (eds.), Classical Biological Control of Bemisia tabaci in the United States. © Springer Science + Business Media B.V. 2008.

Li, Z. Z.; C. R. Li, B. Huang and M. Z. Fan (2001). "Discovery and demonstration of the teleomorph of Beauveria bassiana (Bals.) Vuill., an important entomogenous fungus". Chinese Science Bulletin 46: 751–753.

Lord, J.C. , J.F. Campbell, J.D. Sedlacek and P.V. Vail (2007). Application and evaluation of entomopathogens for managing insects in stored products. In: L.A. Lacey and H.K. Kaya (eds.), Field Manual of Techniques in Invertebrate Pathology, 677– 693. © 2007 Springer.

Luz, C.; L. F. Rocha; G. V. Nery; B. P. Magalhaes and M. S. Tigano (2004). Activity of oil-formulated Beauveria bassiana against Triatoma sordida in peridomestic areas in Central Brazil Mem Inst Oswaldo Cruz, 99(2):211- 8.

Matthew, B., Thomas and A. F. Read (2007). Can fungal biopesticides control malaria? Nature Reviews Microbiol. 5:377- 383.

Posada, F.; F.E. Vega; S.A. Rehner; M. Blackwell; D. Weber; S.-O. Suh, and R. A. Humber (2004). Syspastospora parasitica, a mycoparasite of the fungus Beauveria bassiana attacking the Colorado potato beetle Leptinotarsa decemlineata: A tritrophic association. J Insect Sci.; 4: 24.

Rehner, S.A. and E. Buckley (2005). "A Beauveria phylogeny inferred from nuclear ITS and EF1-{alpha} sequences: evidence for cryptic diversification and links to Cordyceps teleomorphs". Mycologia 97: 84 - 98.

Scholte, E.-J.; B. G.J. Knols; R. A. Samson and W. Takken1 (2004). Entomopathogenic fungi for mosquito control: A review. J. Insect Sci., 4(19): 1- 24.

Sosa-Gómez, D. R.; K. E. Delpin, F. Moscardi and M. De H. Nozaki (2003). The Impact of Fungicides on Nomuraea rileyi (Farlow) Samson Epizootics and on Populations of Anticarsia gemmatalis Hübner (Lepidoptera: Noctuidae), on Soybean. Neotropical Entomol. 32(2): 287- 291.

Tucker, D. L.; C. H. Beresford and L. Sigler (2004). Disseminated Beauveria bassiana Infection in a Patient with Acute Lymphoblastic Leukemia, J. Clinical Microbiol., 5412 - 5414.

Vandenberg, J.D., S.P. Wraight and A.M. Shelton (2007). Application and evaluation of entomopathogens in crucifers and cucurbits. In: L.A. Lacey and H.K. Kaya (eds.), Field Manual of Techniques in Invertebrate Pathology, 361– 374.

Wagner, B. L. and L. C. Lewis (2000). Colonization of corn, Zea mays, by the entomopathogenic fungus Beauveria bassiana. Appli. Environ. Microbiol. 66:3468- 3473.

Welling, M., B. Zelazny; R. Scherer and G. Zimmermann (1995). First record of the entomopathogenic fungus Sorosporella sp. (Deuteromycotina: Hyphomycetes) in Locusta migratoria (Orthoptera: Acrididae) from Madagascar: Symptoms, morphology and infectivity. Biocontr. Sci. Technol. 5: 465 – 474.

Wraight, S.P., G.D. Inglis and M.S. Goettel (2007). Fungi. In L.A. Lacey and H. K. Kaya, eds., Field Manual of Techniques in Invertebrate Pathology: Application and Evaluation of Pathogens for Control of Insects and Other Invertebrate Pests, pp. 223 – 248. Springer, Dordrecht, The Netherlands.

Zare, R. and W. Gams (2001). A revision of Verticillium sect. Prostrata. III. Generic classification. Nova Hedwigia. 72. 329- 337.

الفصل الثالث
المبيدات الفطرية المستخدمة في مكافحة البكتيريا الممرضة

❖مقدمـة:

منذ أن لاحظ الإنجليزى السير ألكسندر فلمنج Sir Alexander Fleming التضاد بين الفطر الأسكى بنيسيليم نوتاتم Penicillium notatum وبكتيريا الاستافيلوكوكس Staphylococcus عام (١٩٢٨) بسبب إنتاج الفطر للمضاد الحيوى البنسلين penicillin الذى يقتل ويوقف نمو البكتيريا فى جسم الإنسان اتجه البحث بشكل حثيث تجاه الفطريات التى يمكن استخدامها فى القضاء على البكتيريا الممرضة.

وقد أثمر البحث فى هذا الاتجاه عن اكتشاف بعض الفطريات التى تقاوم البكتيريا مثل فطـر مسكادور ألبس Muscodor albus الذى تقتل أفراده بعض الممرضات البكتيرية الهامة مثل بكتيريا الليستريا Listeria وبكتيريا السالمونيلا Salmonella.

وبصفة عامة توجد أعداد محدودة جدًا من الفطريات التى يمكن استخدامها فى عملية المكافحة البيولوجية للبكتيريا الممرضة للنبات، وذلك على عكس الحال مع البكتيريا التى توجد منها أنواع كثيرة يتم توظيفها بالفعل كعوامل مكافحة حيوية لمكافحة الكثير من الفطريات الممرضة للنبات.

ومن أمثلة الفطريات التى يمكن استخدامها فى المكافحة البيولوجية للبكتيريا فطر ابيكوكم بربراسنس Epicoccum purpurascens، ومن الشائع وجود هذا الفطر فى التربة الزراعية حيث يسبب بقع spots لأوراق النبات، ولهذا الفطر نشاط مضاد للبكتيريا.

وفى الحقيقة فإنه لا يتوفر بالأسواق مستحضرات تجارية من الفطريات للاستخدام فى مكافحة البكتيريا.

❖المراجـع:

Diggins, F. (2003). The true history of the discovery of penicillin by Alexander Fleming Biomedical Scientist, Insititute of Biomedical Sciences, London.

Harshberger, J.W. (1917). A Text-Book of Mycology and Plant Pathology. Churchill Livinstone.

الفصل الرابع
المبيدات الفطرية المستخدمة في مكافحة الفطريات الممرضة للنبات

❖مقدمة:

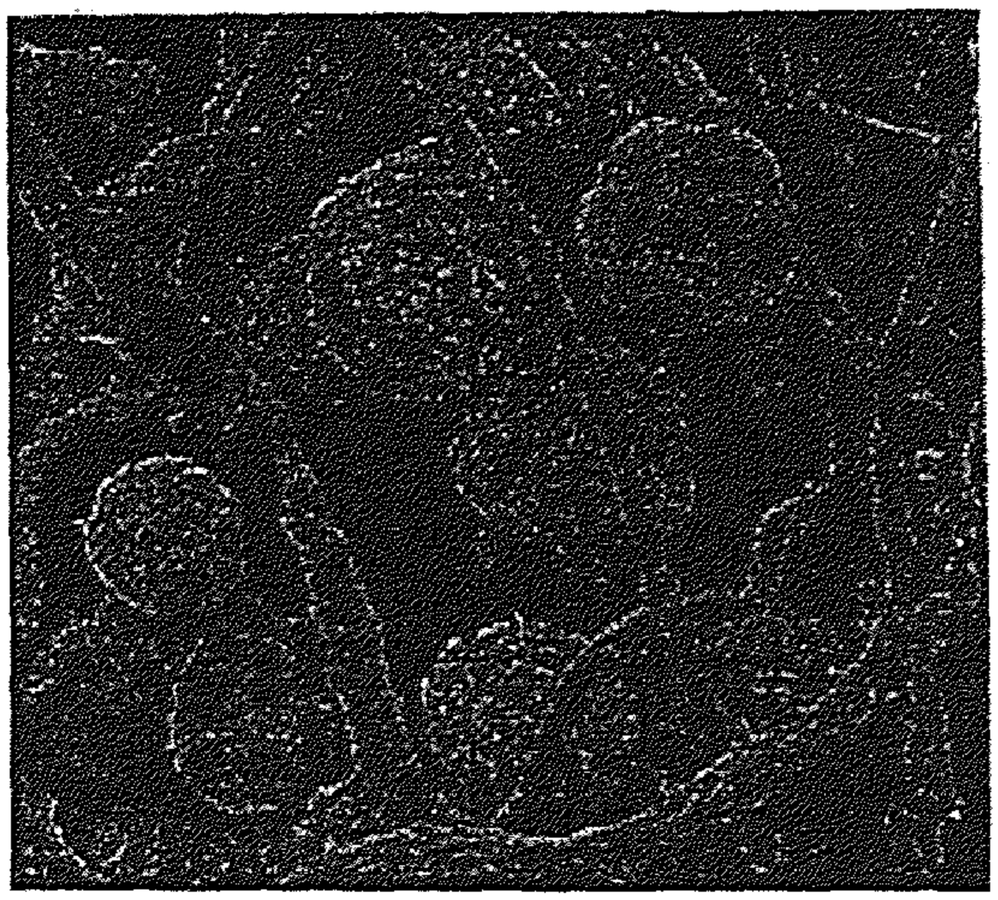
عرف منذ زمن بعيد عن بعض الفطريات مقدرتها على التطفل على فطريات أخرى، وإفراز مواد تثبط نمو غيرها من الفطريات، وقد تم الاستفادة من هذه الخصائص الهامة للفطريات بتوظيفها فى مكافحة بعض الفطريات الضارة مثل تلك الممرضة للنباتات الاقتصادية التى يعتمد عليها الإنسان فى حياته. ويطلق على الميكروبات التى تستطيع افراز مواد تثبط ميكروبات أخرى مسمى ميكروبات مضادة antagonists، ويمكن القول أن عملية التضاد antagonism هى بمثابة أداة هامة للتوازن فى الطبيعة، وتعمل هذه الأداة من خلال آليات كثيرة مثل التطفل والتنافس والتضاد الحيوى.

وقد استطاع يارووود فى العام (١٩٥٦) أن يمنع إصابة بعض النباتات الاقتصادية الهامة مثل الفاصوليا ودوار الشمس من الإصابة بأمراض الصدأ rust عن طريق تلقيح كل من هذه النباتات بجراثيم يوريدية uredospores لفطريات معينة بقصد القضاء على الفطر المسبب للصدأ فى كل نبات.

ومن عوامل المكافحة الحيوية المعروفة جيدًا أنواع من أجناس أسبرجلس Aspergillus وتريكودرما Trichoderma وجليوكلاديوم Gliocladium وبنيسيليم Penicillium، وكلها تنتج مضادات حيوية لمقاومة مسببات أمراض النبات من الفطريات.

ويضاد الكثير من أفراد الفطريات من أجناس أسبرجلس Aspergillus وتريكودرما Trichoderma وكلادوسبوريم Cladosporium الفطر الممرض ماكروفومينا فسيولينا Macrophomina pheseolina عن طريق إفراز مواد أيضية سامة له، وتثبيط نموه، وتجمع سيتوبلازمه، وفقد هيفاته لألوانها، وإذابة وتكسير هيفاته.

وكذلك يفرز الفطر الرمى الأسكى المسمى ابيكوكم بربيوريسنس Epicoccum purpurescens (= E. nigrum) (شكل ٣-١٩) - وهو فطر غير ممرض - مواد فينولية عبارة عن كرايسين chrysin وحامض هيدروكسى بنزويك p-hydroxybenzoic acid تضاد نمو بعض الفطريات الأخرى، كما يعمل هذا الفطر على تأخير تكوين الأجسام الحجرية sclerotia فى بعض الفطريات.



شكل (٣-١٩) هيفات وجراثيم فطر ايكوكم
بربيوريسنس E. purpurescens

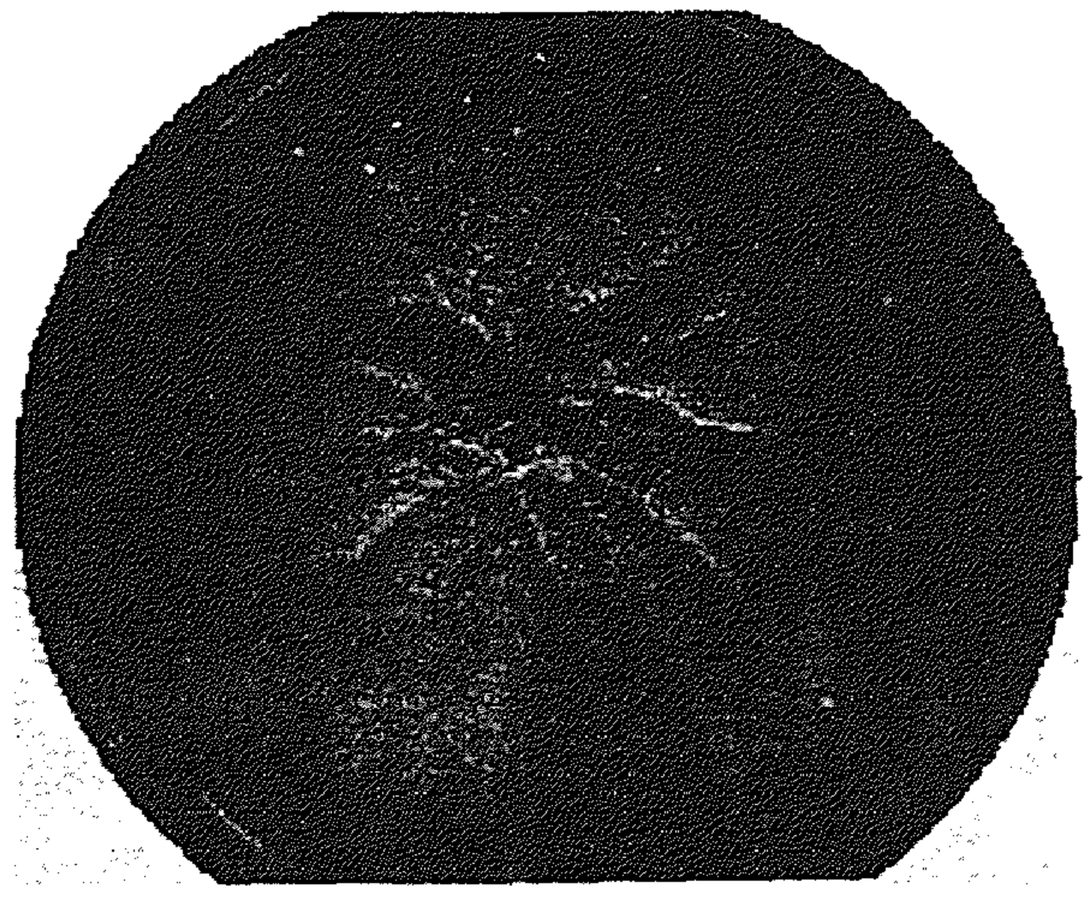
❖المبيدات الفطرية:

هناك أكثر من ميكانيكية تستخدمها الفطريات فى مكافحة فطريات أخرى ممرضة ومنها التضاد والاستيطان colonization والتطفل واستحثاث المقاومة وإفراز بعض المواد الأيضية.

ومن أمثلة الأسلحة الفطرية التى تم توظيفها فى السنوات الأخيرة كمبيدات حيوية لمكافحة الفطريات الممرضة للنبات مايلى:

١- مسكودور البس Muscodor albus QST20799:

يتواجد هذا الفطر الأسكى بشكل طبيعى فى بعض الأوساط البيئية، وقد تم عزله لأول مرة من قلف وأغصان أشجار القرفة Cinnamon فى غابات هندوراس. ينمو الفطر على صورة ميسيليوم عقيم ذات لون أبيض (شكل ٣-٢٠)، ولا يكون جراثيم لاجنسية أو جنسية أو أى تراكيب تكاثرية أخرى مثل الجراثيم الكلاميدية chlamydospores أو الأجسام الحجرية sclerotia، ولذلك لايستطيع هذا الفطر البقاء بعد استخدامه الغذاء المتاح لـه.



شكل (٣-٢٠) فطر مسكودور البس M. albus.

وعندما يتم جفاف هذا الفطر ينطلق عدد من المركبات العضوية الطيارة volatiles organic compounds - كالكحولات alcohols والأحماض acids والإسترات esters والكيتونات ketones والليبيدات lipids - والتى تثبط وتقتل بكتيريات معينة وكذلك البكتريا والفطريات المسئولة عن الأمراض المحمولة فى التربة الزراعية وأمراض بعد الحصاد، وكذلك يكافح فطر مسكودور البس النيماتودا التى تسبب أمراضًا لجذور النباتات، ويتم استخدام هذا المبيد الحيوى كبديل لبروميد الميثيل فى معاملة التربة الزراعية أو فى معاملات بعد الحصاد لكثير من المنتجات الزراعية الهامة.

وهناك عدة مستحضرات تجارية من هذا الفطر تحمل مسميات مختلفة مثل Arabesque و Andante و Glissade، وتستخدم هذه المبيدات الحيوية فى الحقل والصوب كما تعامل بها زهور القطف والحاصلات الزراعية المخزونة حيث ينطلق منها عدد من المواد الطيارة عند البلل، ولا يسبب استخدام هذه المبيدات أية أضرار للإنسان والبيئة حيث لا تبقى طويلا فى البيئة بعد نفـاذ الغـذاء.

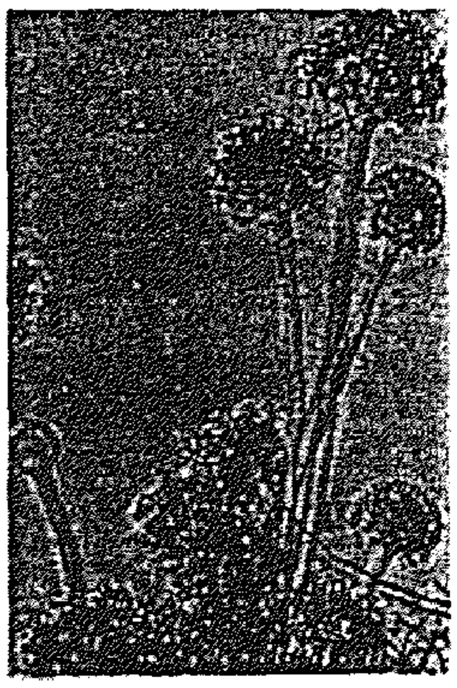
٢- أنواع جنس أسبرجلس Aspergillus:

يضم جنس أسبرجلس عدة أنواع تستخدم فى المكافحة من أهمها النوعين التاليين:

أ- اسبرجلس فلافس Aspergillus flavus NRRL 21882:

تعتبر هذه السلالة من الفطريات واسعة الانتشار فى الطبيعة، وقد تم عزلها فى ولاية جورجيا من الفول السودانى فى عام (١٩٩١)، وجدير بالذكر أن هذه السلالة لا تنتج سم الافلاتوكسين aflatoxin، تلك المادة الفطرية التى تسبب مرض سرطان الكبد فى الحيوانات، ومن ثم فهى مأمونة تمامًا فى الاستخدام والتداول.

ويستخدم المبيد الحيوى المحتوى على هذه السلالة كمكون فعال فى مكافحة سلالات فطر أسبرجلس فلافس A. flavus (شكل ٣-٢١) المنتجة لسم الافلاتوكسين، حيث يتم تسويق المبيد المحتوى عليها على صورة حبيبات محتوية على (٠١ , ٠٪) من هذه السلالة، ويضاف هذا المبيد للتربة الزراعية بمعدل حوالى (١) جرام مادة فعالة مرة واحدة كل عام وذلك بعد (٤٠-٨٠) يوم من زراعة الفول السودانى.



شكل (٣-٢١) فطر أسبرجلس فلافس

ويساعد استخدام هذه السلالة كمبيد حيوى فى زراعات الفول السودانى والذرة فى منع أو تقليل التأثيرات الصحية الضارة والخسائر الاقتصادية الهامة التى تحدث على أثر تلوث الفول السودانى وغيره من المحاصيل الأخرى بالفطر السام اسبرجلس فلافس A. flavus المنتج للأفلاتوكسين ؛ حيث يؤدى استخدام هذه السلالة إلى نوع من التنافس والإحلال مع الميكروبات المنتجة للأفلاتوكسين، ومن المستبعد أن تكتسب هذه السلالة الجينات الضرورية لإنتاج الأفلاتوكسين فى المستقبل لأنه لا يبدو أن هناك حدوث تبادل للمادة الوراثية مع سلالات الفطر المنتجة للأفلاتوكسين.

وليست هناك أى مخاوف من استخدام هذه السلالة على صحة الإنسان وسلالة البيئة لأسباب كثيرة منها استخدامه بمعدلات منخفضة، وعدم ميل الحبيبات للحركة بعيدًا عن أماكن الاستخدام، ووجود الميكروب أساسًا فى التربة الزراعية، وعدم وصوله إلى الماء.

ب- اسبرجلس فلافس Aspergillus flavus strain AF36:

تم عزل هذه السلالة فى البداية فى ولاية أريزونا كفطر غير منتج للأفلاتوكسين، ثم أعقب ذلك عزلها من أماكن أخرى كثيرة، وتستخدم هذه السلالة الفطرية غير المنتجة للأفلاتوكسين كمبيد حيوى فى حقول القطن للحد من الفطريات المنتجة للأفلاتوكسين، والهدف النهائى الحد من كمية الافلاتوكسين المنتجة والتى قد يتم التعرض لها من القطن ومنتجاته الملوثة بالافلاتوكسين.

ويباع المنتج التجارى من هذه السلالة منذ عام (٢٠٠٣) على هيئة حبوب قمح معقمة بالبخار - لقتل حيويتها وماقد تحتويه من بذور الحشائش أو النباتات الأخرى - وملقحة بهذه السلالة (٩٩,٩٩٢٪ حبوب قمح معقمة و ٠,٠٠٠٨٪ سلالة الفطر)، ويتم معاملة

التربة المزروعة بالقطن بهذا المنتج فى موسم النمو وذلك فى مرحلة ماقبل الإزهار، وذلك بالرش مرة واحدة فى العام حيث تنمو وتنتشر وتنافس السلالات المنتجة للأفلاتوكسين بشكل واضح، ومن ثم تكون المحصلة نقص أعداد الأفراد المنتجة للأفلاتوكسين.

٣- سيدوزيما فلوكيولوزا Pseudozyma flocculosa strain PF-A22UL:

تم عزل هذا السلالة الفطرية الشبيهة بالخميرة والتى تنتمى إلى الفطريات البازيدية لأول مرة فى عام (١٩٨٦) بكندا من أوراق نبات البرسيم الأحمر (Trifolium pretense) red clover, المصابة بفطر البياض الدقيقى اريسيف بوليجونای Erysiphe polygoni إلا أنها تنتشر فى كثير من دول العالم، ويستخدم هذا الفطر لمكافحة عدد من فطريات البياض الدقيقى مثل سيفروثيكا بانوزا Sphaerotheca pannosa var. rosae وسيفروثيكا فيوليجينيا Sphaerotheca fuliginea برش المبيد الحيوى المحتوى عليه على نباتات الورد والخيار فى الصوب الزجاجية، ولايخترق هذا الفطر عائله إذ يطلق فقط أحماض دهنية مشبعة C-17 سامة للفطريات حيث تحطم الأغشية البلازمية والعضيات السيتوبلازمية الفطرية فى خلال (٣٠) دقيقة من التعرض للمبيد، وهذه الأحماض الدهنية هى 9-heptadecenoic acid و 6-methyl-9-heptadecenoic acid، 4-methyl-7,11-heptadecadienoic acid بالإضافة إلى مادة an acyclic norterpene (2,6,10,14,18-pentamethyl-2, 6, 8, 10,12,14,17- nonadecaheptene-1,19-diol)، وتشمل الاستجابة لعملية التثبيط فقد فى البروتين والشحنات الكهربائية، وبعد (٢٤) ساعة تنهار خلايا العائل بسرعة وتموت نتيجة تأثير سموم الفطر على أغشية خلايا العائل والدهون، وترجع الحساسية للأحماض الدهنية الحرة C-17 غير المشبعة إلى الدرجة العالية من عدم التشبع للأحماض الدهنية الفوسفوليبيدية والنسبة المنخفضة من الستيرولات sterols، ويقوم المبيد الحيوى بفعله جيدًا عند توفر درجة رطوبة (٧٠٪) وليست هناك أية تأثيرات صحية ضارة بالإنسان من جراء استخدام هذا المبيد، كذلك فإن تطبيقاته لاتضر بالنظم البيئية المختلفة.

٤- كونيوثايريم مينيتانس Coniothyrium minitans CON/M/91-08:

تندرج هذه السلالة الفطرية ضمن الكائنات الحية الدقيقة التى تقطن التربة الزراعية بالأساس، وتنتشر فى كل أنحاء العالم، ويتم استخدامها كمبيد حيوى يباع فى معظم دول

أوروبا تحت الأسماء التجارية Contans®WG و Intercept®WG لمعاملة التربة الزراعية لمكافحة بعض الممرضات النباتية الشائعة، حيث تهاجم وتتطفل على تركيبات معينة مثل الأجسام الحجرية sclerotia لفطر سكليروتينيا سكليروتينيا Sclerotinia sclerotinia وفطر سكليروتينيا مينور Sclerotinia minor التى تسبب أمراض العفن الطرى المائى water soft rot والعفن الوردى pink rot والعفن الفطرى الأبيض white mold، ويعتمد نمو هذا السلالة على درجة الحرارة، ويحدث التجرثم المثالى لها على درجة حرارة (٢٥-٣٠°م).

وتدخل هذه السلالة إلى عوائلها من خلال المسام الصغيرة والجروح السطحية للكائن الحى المستهدف يساعدها فى ذلك نظامها الإنزيمى المحلل لبوليمر الكيتين، وبدخولها تخترق أجزاء الجسم مثل الأجسام الثمرية خلال عملية التكاثر اللاجنسى، وتؤدى الإصابة إلى انكماش الخلية بسبب إمكانية الأسموزية العالية وانفصال الغشاء وتحليله، وتعتبر هذه السلالة من العوامل المتخصصة جدًا التى تستهدف الأجسام الحجرية للفطريات الأسكية والناقصة السابقة، وتحتاج هذه السلالة أن يكون العائل فى مرحلة خضرية.

ولا يتسبب استخدام هذا المبيد الحيوى فى أى تأثيرات صحية ضارة للإنسان، كذلك ليست له أى تأثيرات ضارة بالبيئة.

٥- أنواع جنس ترايكودرما Trichoderma:

ثمة آليات عديدة توظفها أنواع جنس ترايكودرما فى المكافحة الحيوية لمسببات أمراض النبات مثل:

١- حدوث تضاد مباشر بالتطفل على الفطريات الأخرى الممرضة للنبات.

٢- حدوث تضاد من خلال مسارات متداخلة ومنها:

أ- إنتاج كثير من المضادات الحيوية مثل الليبوببتيدات الحلقية.

ب- إفراز العديد من الإنزيمات المحللة كالكيتينيز والجلوكانيز والبروتييز خارج خلاياها.

ج- إنتاج بعض المركبات كالأمونيا وثانى أكسيد الكربون وسيانيد الهيدروجين.

د- حدوث تداخلات فيزيائية / كيميائية مثل سد مسام التربة الزراعية.

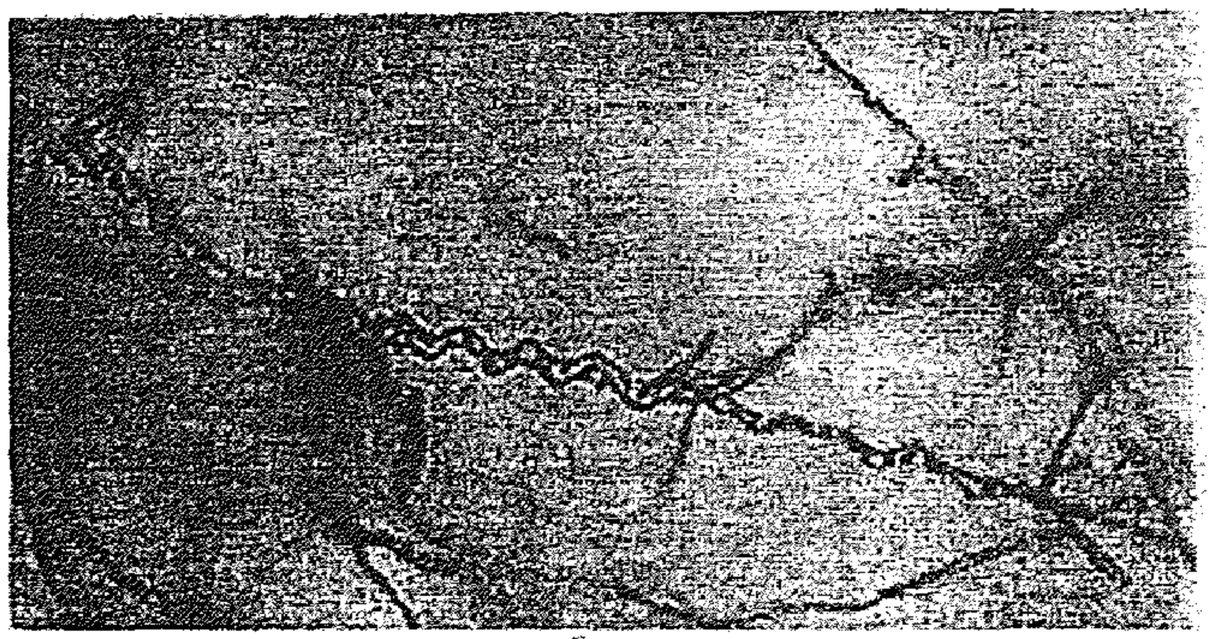
٣- وهناك تضاد غير مباشر مثل:

أ- التنافس من خلال استهلاك إفرازات الجذور وتكوين حوامل الحديد واستيطان المكان.

ب- حث مقاومة العائل بأكثر من طريقة مثل المناعة المكتسبة.

أ- تريكودرما فرينس T. vrens

يعتبر إنتاج المضادات الحيوية أحد الآليات الهامة التى تستخدمها الفطريات فى المكافحة الحيوية، كما هو الحال فى الفطر الأسكى تريكودرما فرينس T. vrens الذى يقطن معظ الأراضى الزراعية فى الكثير من بلدان العالم، ويستخدم فى مكافحة فطر ماكروفومينا فسيولينا Macrophomina pheseolina المسبب لمرض اللفحة المدخنة smoky blight فى نبات الصنوبر ومرض عفن الجذور فى الفراولة، وفطريات أخرى ضارة كثيرة مثل الفطر البازيدى الممرض رايزوكتونيا Rhizoctonia (شكل ٣-٢٢) بما ينتجه من مضادات حيوية تثبط نمو الفطر الممرض.



شكل (٣ -٢٢) حث استجابة هيفات فطر T. vrens للالتفاف حول هيفات فطر Rhizoctonia واختراقها.

ويحمى فطر تريكودرما فرينس T. vrens الكثير من المزروعات الاقتصادية من مسببات الأمراض، ويعتبر بمثابة نظام بيولوجى نموذجى لآليات المكافحة البيولوجية التى تتضمن فى هذه الحالة إفراز المضادات الحيوية التى تتفاعل بشكل مباشر مع المسببات المرضية، والتطفل الفطرى، والتمثيل الغذائى للمواد المنبهة لإنبات المسبب المرضى والتى تطلقها البذور، وحث مقاومة العائل النباتى، وزيادة المقاومة للإجهاد بتحسين نمو النبات، وتحسين نمو النبات يتم بشكل غير مباشر من خلال زيادة مقاومته للإجهاد.

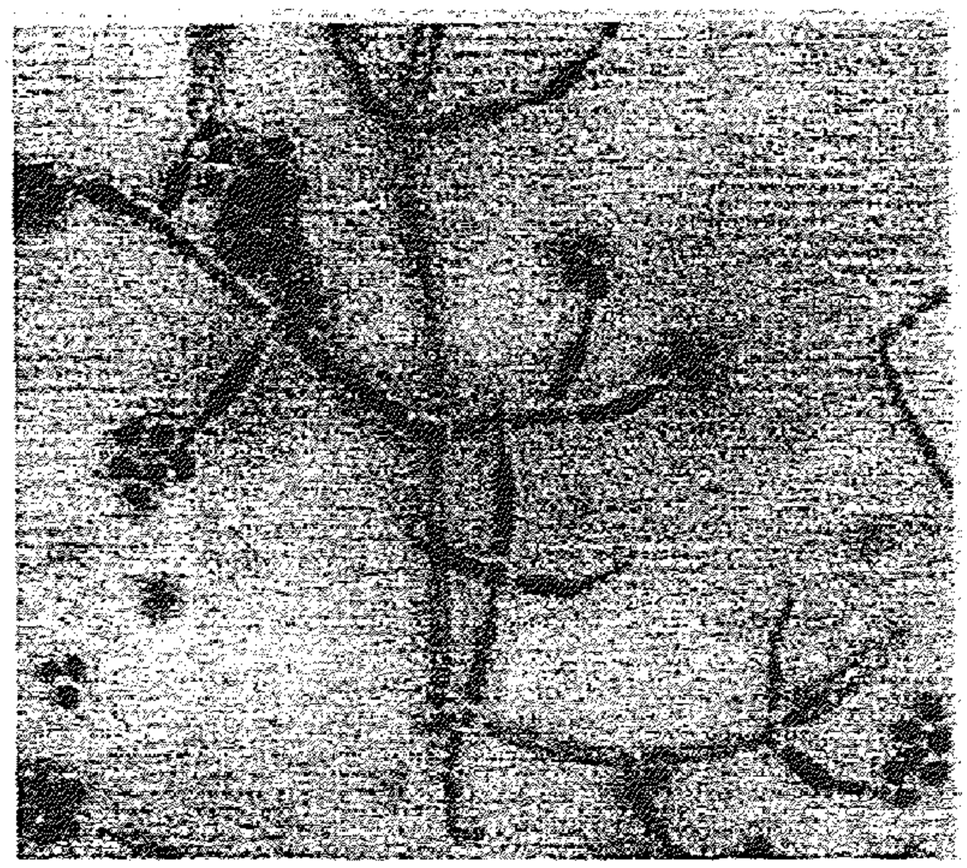
وثمة عدم مبالغة فى القول بأن فطر تريكودرما فرينس T. vrens يؤثر بشكل إيجابى فى الصحة البيئية وإنتاجية النظم البيئية المختلفة كالتربة الزراعية من خلال التفاعلات الحادثة مع مسببات الأمراض ومن خلال التغيرات المحثة فى كيمياء النبات والتى تؤثر فى النمو والتفاعلات مع الآفات الحشرية.

ويتفاعل فطر تريكودرما فرينس T. vrens بشكل ملفت للنظر مع النبات بمجرد ولوج إحدى هيفات الفطر بخلايا الابيدرمس بالجذر، وعلى الرغم من عدم تفرع وانتشار هذه الهيفا بخلايا الجذر الأخرى، إلا أن مقدرة الفطر السريعة على استيطان منطقة الجذر تحث آليات المقاومة resistance فى النباتات، وتحسن من نموه، ويتميز بمصاحبته للمتكافلات والممرضات على حد سواء. كما ينتج هذا الفطر مواد أيضية ثانوية جديدة بذات أهمية كبيرة فى مجال الزراعة ومجالات أخرى كالصيدلة، ويحلل هذا الفطر الكثير من المركبات الخطرة كمبيدات الآفات الكيميائية.

ب- ترايكودرما هارزيانم T. harzianum Rifai strain T-39:

يتواجد فطر ترايكودرما هارزيانم T. harzianum (شكل ٣-٢٣) بشكل طبيعى على بعض النباتات وفى التربة الزراعية فى كثير من بلدان العالم، ويستخدم المبيد الحيوى المحتوى على هذه السلالة الميكروبية لوقاية المزروعات من الفطر الرمادى الضار بوترايتيس سيناريا Botrytis cinerea (gray mold)، فهو كمبيد للآفات يحل محل الفطر الرمادى المسبب للمرض من النباتات إذا تم استخدامه فى وقت مبكر فى موسم النمو.

ويستخدم هذا الفطر بكثرة فى برامج المكافحة الحيوية للكثير من المسببات المرضية، حيث يرش المبيد الحيوى المحتوى على مكون فعال من الفطر على النباتات بواسطة الرشاشات، ويؤدى هذا المبيد دورة الابادى للفطر الرمادى بشكل أفضل عندما يصل إلى كل النباتات، حيث تعامل به معظم محاصيل الغذاء النامية فى الصوب الزجاجية والأراضى الزراعية، وفى الحقيقة فانه من غير الواضح عما إذا كان لهذه السلالة الفطرية تأثيرات عكسية على محاصيل معينة كما هو الحال مع بعض أنواع الترايكودرما الأخرى، ولذلك ينصح باستخدام المبيد المحتوى على السلالة مع معظم محاصيل الغذاء ماعدا القمح والأرز والأذرة والقطن والشعير وفول الصويا وقصب السكر والليمون والتفاح وعيش الغراب.



شكل(٣-٢٣) الزوائد الكونيدية Phialides

وكونيديات فطر T. harzianum

ومن أهم تطبيقات هذا الفطر كمبيد حيوى:

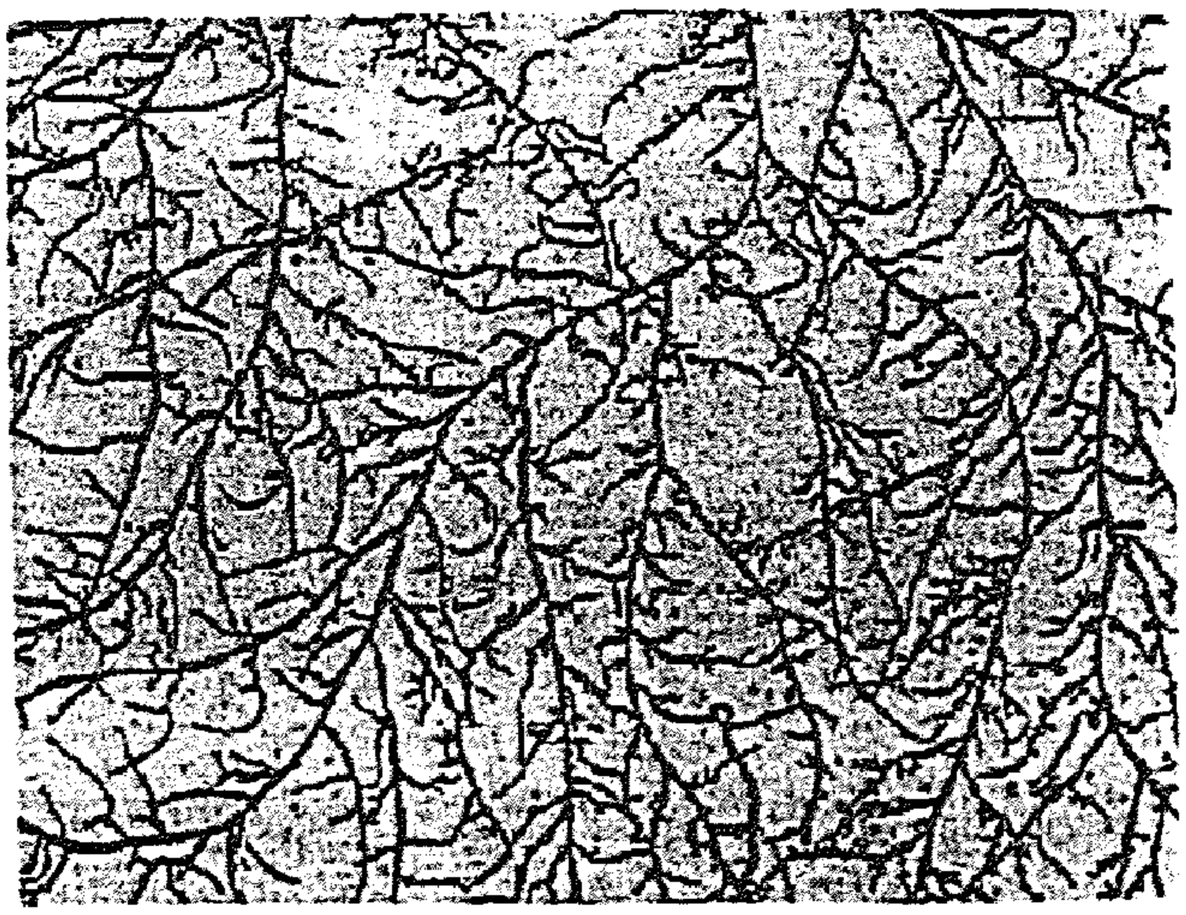
- يجهز من جراثيم هذا الفطر مبيد حيوى تعامل به كثير من التقاوى لمكافحة كثير من مسببات الأمراض الفطرية مثل فطر فيوزاريوم كلمورم Fusarium culmorum المسبب لمرض عفن جذور نباتات القمح، وفطر فيوزرايم اوكسيسبورم فازينفكتيم Fusarium oxysporum f. sp. vasinfectum المسبب لذبول نباتات القطن، وفطر فيوزاريوم أوكسيسبوروم ميلونيز Fusarium oxysporum f. sp. melonis المسبب لذبول الكنتالوب والبطيخ والشمام.
- يستخدم المبيد الحيوى المحتوى على معلق الجراثيم الكونيدية لنفس الفطر فى مكافحة فطر البيثيوم Pythium sp الذى يسبب ذبول بادرات بعض النباتات الاقتصادية، وتؤدى هذه المعاملة البيولوجية إلى القضاء على نسبة عالية من وحدات فطر البيثيوم قد تصل إلى (٩٠٪) فى حالة بعض نباتات الخضروات مثل الخيار والبسلة.
- كذلك يستعمل مبيد حيوى من هذا الفطر يحتوى على مزارعه المنماة على بيئة النخالة والبيت لمكافحة بعض الفطريات المميتة لبادرات الكثير من النباتات مثل فطر سكليروتيوم رولفسياى Sclerotium rolfsii وفطر رايزوكتونيا سولانى Rhizocotonia solani.
- قد أدى استخدم مبيد حيوى من هذا الفطر فى معاملة تقاوى النباتات أو تربة الزراعة إلى القضاء على نسبة عالية من أفراد جنس أسبرجلس Aspergillus spp التى تصيب نباتات الفول السودانى وتكون سموم الأفلاتوكسين aflatoxins.
- يستخدم مبيد حيوى من هذا الفطر فى مكافحة فطر رايزوكتونيا سولانى Rhizocotonia solani فى مشاتل الفراولة حيث يؤدى ذلك إلى خفض أعداد الفطر بنسبة تصل إلى (٥٠٪)، وهذا من شأنه أن يؤدى إلى زيادة المحصول بنسبة حوالى (٤٠٪).

- يستعمل مبيد حيوى من هذا الفطر فى مكافحة فطر سكليروتيوم رولفسياى Sclerotium rolfsii فى التربة المزروعة بنباتات الطماطم حيث يؤدى ذلك إلى خفض أعداد الفطر بنسبة تصل إلى (٢٠٪).
- يستخدم المبيد الحيوى لهذا الفطر فى مكافحة فطر سكليروتيوم رولفسياى S. rolfsii الذى يصيب الفول السودانى، وفى العادة تعامل التربة معاملة مزدوجة بهذا الفطر بالإضافة إلى مركب بنتا كلورونيتروبنزين PCNB بتركيز أقل من التركيز القاتل.
- كذلك يستخدم المبيد الحيوى لهذا الفطر فى مكافحة فطر رايزوكتونيا سولانى R. solani الذى يصيب نباتات الباذنجان، وفى العادة تعامل التربة الزراعية معاملة مزدوجة بهذا الفطر بالإضافة إلى مركب بنتا كلورونيتروبنزين PCNB بتركيز أقل من التركيز القاتل.

ومع مراعاة التوصيات السابقة فليست هناك خطورة صحية على الإنسان والبيئة من الاستخدام، فالفطر غير سام للثدييات والطيور والحياة البرية بصفة عامة.

ج- فطر ترايكودرما فيردى T. viride:

أمكن مكافحة فطر أرميللاريا ميلى Armillari mellea الذى يهاجم جذور كثير من النباتات الاقتصادية مسببًا لها أمراض تعرف بمرض أرميللاريا للجذور Armillaria root disease فى مناطق كثيرة حول العالم وذلك بواسطة فطر ترايكودرما فيردى T. viride (شكل ٣-٢٤)، وفى العادة تستخدم تركيزات منخفضة من مركب ثانى كبريتيد الكربون لتشجيع فطر ترايكودرما فيردى على تضاد الفطر الممرض.



شكل (٣ - ٢٤) شبكة هيفات ميسيليوم فطر ترايكودرما فيردى

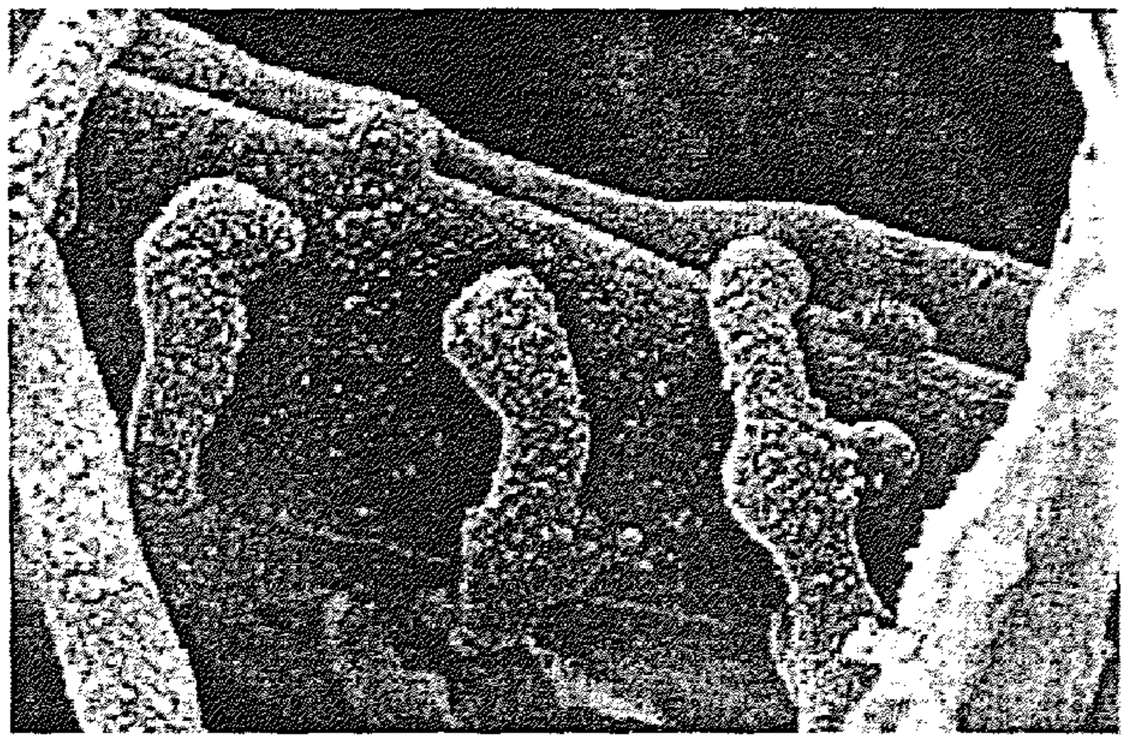
ويلعب فطر ترايكودرما فيردى T. viride دوره فى المكافحة الحيوية من خلال التنافس على المواد الغذائية، وإطلاق المواد الأيضية السامة والإنزيمات المحللة خارج الخلية، كما ينتج هذا الفطر مواد طيارة وغير طيارة مثبطة خارج الخلية.

ويثبط فطر ترايكودرما فيردى T. viride من نمو فطر فيوزاريم مونيليفورمى Fusarium moniliforme بما ينتجه من مواد طيارة مثبطة، كما يتطفل هذا الفطر على فطر رايزوكتونيا سولانى Rhizoctonia solani المسبب لأمراض البادرات فى القطن ويفرز مضادات حيوية تثبط نموه، كذلك يفرز هذا الفطر مادة التريكودرمين trichodermin وهى تثبط نمو الفطريات الممرضة عند تركيزاتها المنخفضة جدًا، ومادة الفيردين virdin وهى مادة مضادة توقف نمو الفطريات بشدة.

٦- جليوكلاديوم كاتنيولاتم Gliocladium catenulatum strain J1446:

تنتشر أنواع جنس جليوكلاديوم Gliocladium spp بكثرة فى التربة الزراعية والمواد النباتية المتحللة، وتستخدم فطرياته فى مكافحة الممرضات الفطرية بالتربة الزراعية والتى تسبب أمراض التساقط وعفن الجذور وبصفة خاصة النوع ريزوكتونيا سولانى Rhizoctonia solani وأنواع جنس البيثيوم Pythium، وجدير بالذكر أنه يوجد مستحضر تجارى من هذا الفطر يسمى جليوميكس Gliomix تم تسجيله فى بعض البلدان مثل أمريكا وفنلندا.

أما السلالة الفطرية J1446 فهى تقطن التربة الزراعية بأعداد كبيرة، كذلك تنمو جيدًا على البيئات المعملية، وقد عزلت لأول مرة من الأراضى الفنلندية، وهى تتغذى على المادة الميتة والمتحللة، ويستخدم المبيد الحيوى المحتوى على هذه السلالة فى مكافحة العديد من مسببات الأمراض الفطرية المختلفة المحمولة فى التربة المزروعة بمحاصيل الغذاء وغير الغذاء فى الأماكن المغلقة والمفتوحة، وتقتل هذه السلالة عوائلها من الممرضات الفطرية بالتلامس المباشر بين الهيفات دون اختراق بما يمكن أن نطلق عليه تطفل غير مباشر (شكل ٣-٢٥)، وعلى أى حال فتشير بعض الدراسات إلى اختراق أطراف هيقات هذه السلالة لفطر رايزوكتونيا سولانى R. solani، بالإضافة إلى إفراز بعض النظم الإنزيمية مثل الكيتينيز والسليوليز التى تحفز تفاعلات تحليل مكونات الجدر الخلوية فى الفطريات من الكيتين والسليلوز، ومن المعتقد أن هذا الفطر يفرز مادة كيميائية تثبط نمو الفطريات الأخرى، إلا أن هذه السلالة لاتنتج أى توكسينات أو مضادات حيوية.



شكل (٣ – ٢٥) تفاعل بين هيفات السلالة G. catenulatum J1446 وفطر رايزوكتونيا سولانى حيث تتصل التركيبات التى تشبه appressorium للسلالة بهيفات الفطر.

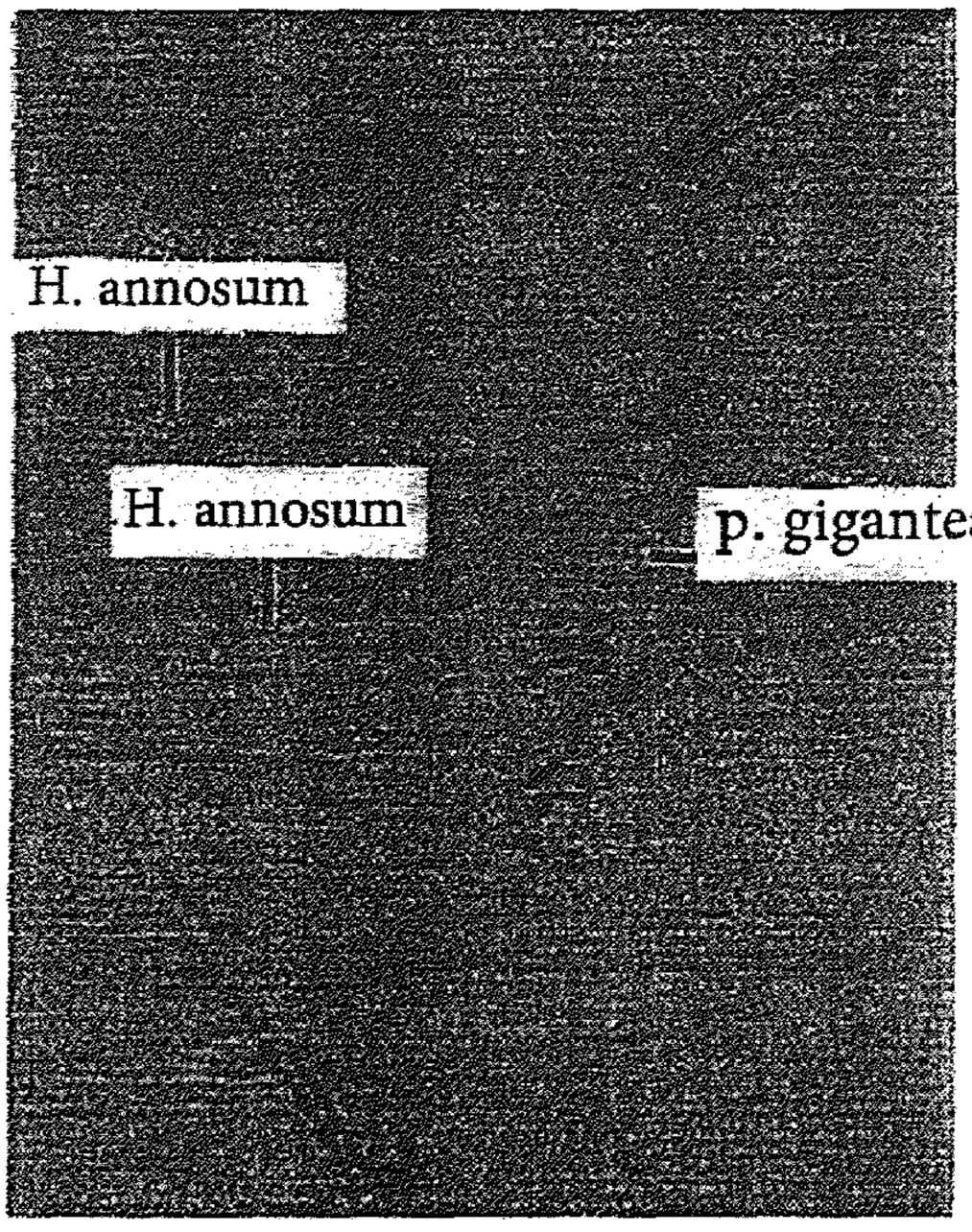
ويجهز المبيد الحيوى المحتوى على هذه السلالة كمكون فعال على صورة مسحوق يخلط مع التربة الزراعية، كما يخلط بالماء ويرش على الأوراق أو تنقع فيه العقل والأبصال، ويستخدم هذا المبيد فى وقت الزراعة ويعاد استخدامه فى خلال أسابيع قليلة من بزوغ النباتات، حيث يكافح الفطريات المسببة لأمراض ذبول البادرات وعفن البذور seed rot وعفن الجذور والسيقان root and stem rot وأمراض الذبول wilt diseases فى عدد كبير من الخضروات ونباتات التوابل والنباتات الطبية والعطرية وشتلات الأشجار والشجيرات. ولا ينجم عن استخدام هذه السلالة أى آثار صحية ضارة للإنسان فهذه السلالة غير سامة أو ممرضة للإنسان، كذلك ليست هناك أية مخاطر من استخدام هذه السلالة على البيئة.

٧- فيلبيوبسيس جيجانتى Phlebiopsis gigantean:

ينتمى هذا الفطر ضمن الفطريات البازيدية، وهو من الفطريات الشائعة فى التربة، ويعيش معيشة ترممية، وقد عرف هذا الفطر فيما سبق باسم (Phanerochaete, =Peniophora,=Phlebia, =Peniophora gigantea)، ويستخدم الفطر فى المكافحة الحيوية منذ عام (١٩٧٠) لفطر هيتروباسيديون انوسم. Heterobasidion (Fomes) annosum الذى يسبب الكثير من الضرر لأشجار المخروطيات كالصنوبر فى نصف الكرة الشمالى من خلال إحداثه عفن بجذورها، وهذا النوع متطفل ضعيف لا يمثل خطورة على الأشجار غير المصابة، ويؤدى هذا النوع فعله الإبادى من خلال التضاد الحادث بين هيفاته وهيفات الفطريات الأخرى المتلامسة معه وذلك فى ظاهرة تعرف باسم التداخل الهيفى hyphal interference (شكل ٣- ٢٦)،

فعند تتلامس هيفات هذا النوع H. annosum مع هيفات النوع P. gigantea تحدث بهيفات النوع الأول تمزق موضعى سريع كما يحدث ضرر للبروتوبلازم وأغشيته.

ويوجد فى الأسواق التجارية مستحضر حيوى من هذا الفطر يعرف باسم RotStop تم تسجيله فى العديد من الدول الأوروبية مثل سويسرا وفنلندا والمملكة المتحدة والسويد والنرويج، ويستخدم فى المقاومة الصيفية للصدأ الذى يسببه فطر هيتيروبازيديم انوسم H. annosum لأشجار الصنوبر وغيرها.



شكل (٣-٢٦) لتداخل الهيفى للنوع H. annosum مع النوع P. gigantea

٨- امبيلوميسيز كيوزكيواليز Ampelomyces quisqualis:

تم عزل هذا النوع لأول مرة من بعض النباتات المصابة بالبياض الدقيقى فى اسرائيل، وتستخدم بعض سلالات هذا النوع فى مكافحة فطريات البياض الدقيقى وهى من الآفات الأساسية على العنب، ويتم إنماء هذا الفطر فى أوساط بيئية سائلة، ثم يحصد الفطر، وتجفف الجراثيم وتخزن على هيئة مسحوق جاف، ويخلط المسحوق بالماء لإعادة تنشيط الجراثيم ثم تعامل به المحاصيل، ويؤدى هذا الفطر فعله عن طريق التضاد، ويوجد منه منتج تجارى يعرف باسم AQ-10، تم تسجيله فى أمريكا.

ويتواجد هذا النوع فى التربة، ويؤدى فعله بالتضاد مع الكثير من الممرضات الفطرية فى التربة والتى تسبب أمراض ذبول البادرات وعفن الجذور فى كثير من النباتات، ويتم تسويق

بعض المستحضرات التجارية حاليًا من هذا النوع الفطرى فى بعض البلدان مثل الولايات المتحدة لمكافحة البياض الدقيقى بصفة خاصة على الفواكه والخضروات والنباتات الطبية والعطرية فى الصوب الزجاجية والحقل.

❖دور الخمائر فى المكافحة الحيوية:

الخمائر yeasts مجموعة من الفطريات تم توصيف حوالى ١٥٠٠ نوع منها، وتوجد الخمائر بالأساس على صورة خلايا مفردة تتكاثر غالبيتها بالتبرعم budding فى حين تتكاثر قلة منها بالانقسام الثنائى fission، والخمائر إما متجرثمة sporogenous تكون جراثيم أسكية، أو غير متجرثمة asporogenous لاتنتج مثل هذه الجراثيم الأسكية، وقد حظيت الخمائر باهتمام فى الآونة الأخيرة لاستخدامها كأدوات فى مجال المكافحة الحيوية، ويبدو أن استخدام الخمائر فى المكافحة البيولوجية من الأمور الواعدة، على الرغم من عدم الإلمام الكافى بآليات المقاومة التى تنهجها هذه الفطريات.

❖ميكانيكية الخميرة فى المكافحة الحيوية:

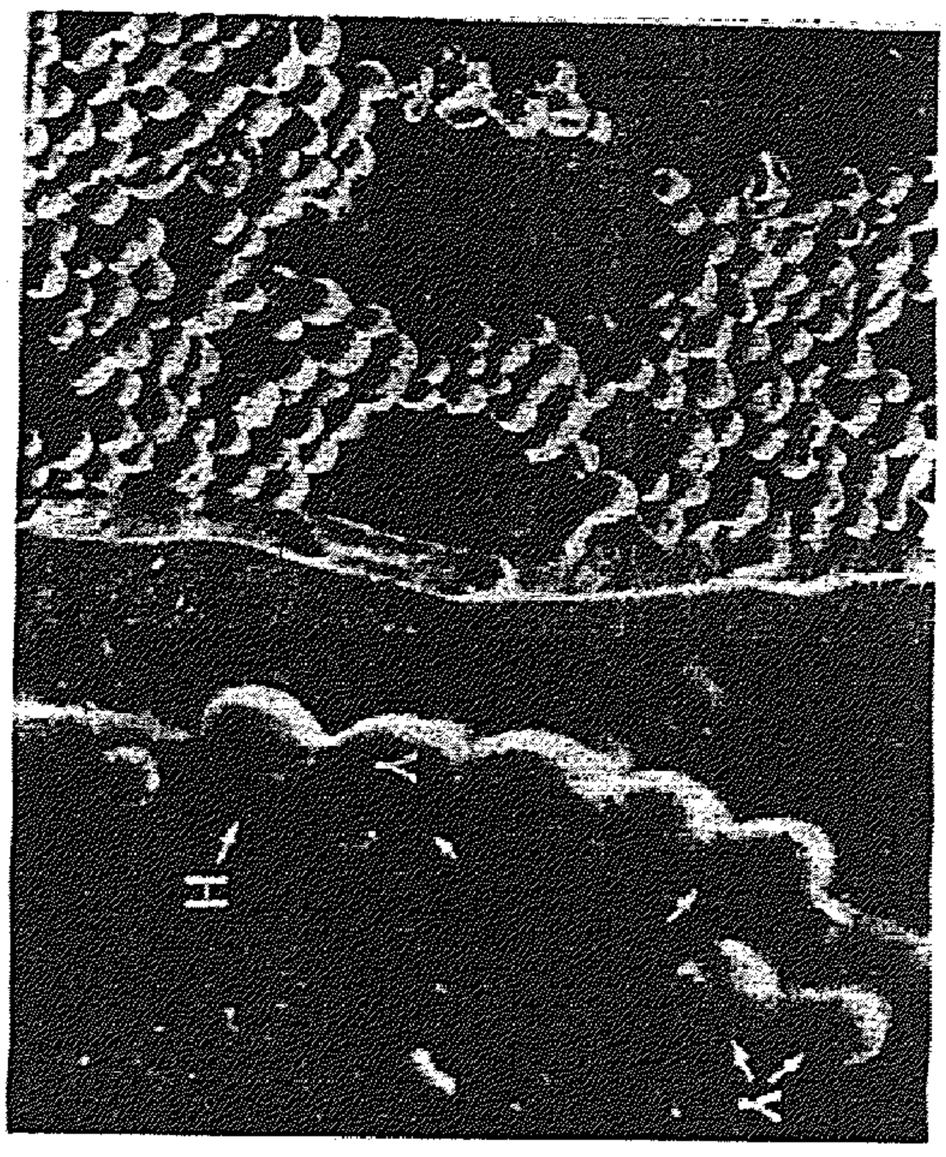
ويعزى نشاط الخمائر فى المكافحة الحيوية إلى عدد من الآليات المختلفة، وتشمل هذه الآليات التنافس على الغذاء والمكان من خلال النمو السريع لخلاياها ومن ثم سرعة استنزافها للمواد الغذائية كما هو الحال فى منافسة خميرة Pichia guilliermondii التى تضاد فطر بنيسيليوم ديجيتاتم Penicillium digitatum على المواد الغذائية، وإنتاجها للإنزيمات المحللة مثل إنزيم ١-٣ جلوكانيز glucanase 3-1 الذى يهاجم الجدر الخلوية للفطريات المستهدفة، وإنتاج بوليمرات خارج خلاياها لها نشاط تضادى للفطريات، والتطفل المباشر كما هو الحال فى استخدام سلالة الخميرة Pichia guilliermondii US-7 strain فى مكافحة فطر بنيسيليوم ديجيتاتم P. digitatum فى العنب وفطر بوترايتس سيناريا B. cinerea فى التفاح، وربما حث المقاومة فى العائل من خلال تراكم – phytoalexins like scoparone and scopoletin فى ثمار الموالح، وإنتاج الكيتينيز.

❖استخدام الخمائر فى مكافحة فطريات مابعد الحصاد:

من أهم الخمائر المستخدمة فى مجال المكافحة الحيوية خميرة كانديدا أوليوفيلا Candida oleophila، وتثبط هذه الخميرة نمو الفطريات الضارة مثل البوتريتس Botrytis والبنيسيليوم Penicillium عند استخدامها عقب عملية الحصاد للفواكه والخضروات وغيرها من الحاصلات الغذائية، كما تعامل بها نباتات الصوب والنباتات

الطبية والعطرية، وتؤدى هذه الخميرة دورها من خلال زيادة أعدادها على سطوح الثمار وبصفة خاصة الأنسجة المجروحة ومن ثم تثبط الميكروبات الأخرى، وليست هناك أى تأثيرات ضارة من استخدام هذا النوع بسبب استخدامه المعتاد فى المنازل إلى جانب أنه غير سام أو ممرض للحيوان، وهناك منتج تجارى تحت مسمى Aspire، مسجل فى الولايات المتحدة الأمريكية.

وتستخدم خميرة كانديدا سايتوانا Candida saitoana فى مكافحة فطر بوترايتس سيناريا Botrytis cinerea (شكل٣ -٢٧) وفطر بينيسيليوم اكسبانسم Penicillium expansum. حيث تقلل إصابة التفاح بهذه الفطريات أثناء التخزين، ويتم ذلك بتحفيز الخميرة لدفاعات العائل.



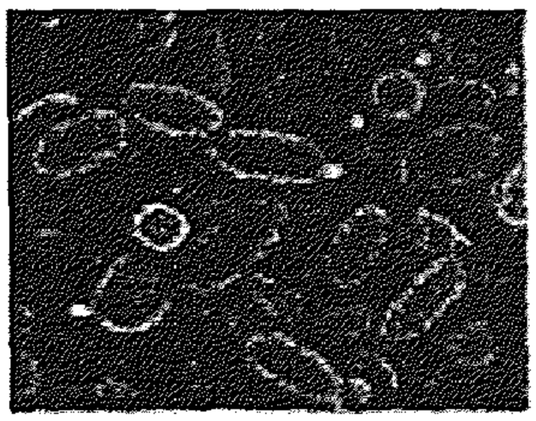
شكل (٣ - ٢٧) التصاق خلايا خميرة كانديدا سايتوانا C. saitoana بهيفات فطر بوترايتس سينيريا B. cinerea.

وتستخدم خمائر أخرى كثيرة فى المكافحة الحيوية كما هو الحال فى استخدام خميرة كريبتوكوكس لورنتياى Cryptococcus laurentii فى مكافحة فطر بنيسيليوم سيترينم Penicillium citrinum وفطر فرتيسيكلاديلا ابيلينا Verticicladiella abielina.

وتستخدم خميرة رودوتورولا جلوتينيز Rhodotorula glutinis (شكل ٣ - ٢٨) فى مكافحة فطر بينيسيليوم ديجيتاتم Penicillium digitatum الذى يسبب العفن الأخضر على البرتقال، كما تستخدم خميرة كانديدا فاماتا Candida famata (Torulopsis candida) فى مكافحة فطر بنيسيليم ديجيتاتم P. digitatum على نبات التين.

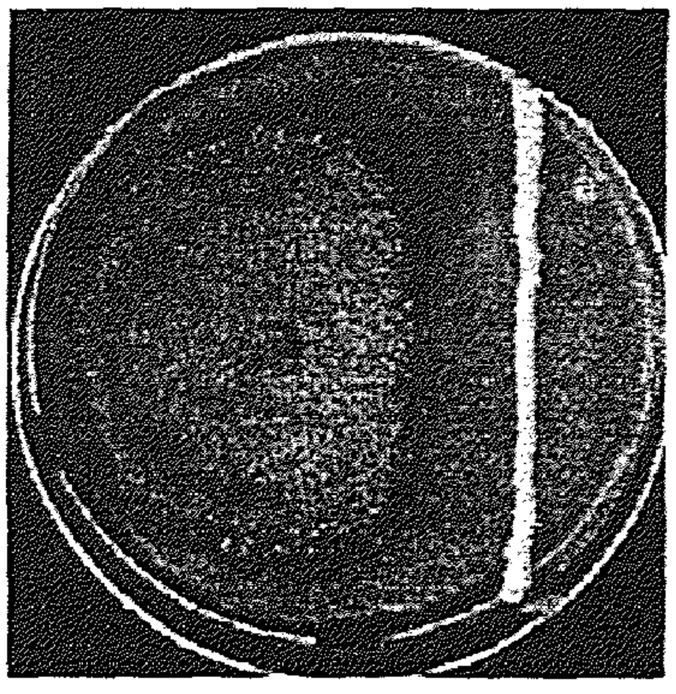
وتستخدم خميرة Candida (Pichia) guilliermondii أيضًا فى المكافحة البيولوجية

لمسببات أمراض مابعد الحصاد فى الكثير من الخضروات والفواكه، وفى الغالب تؤدى هذه الخميرة فعلها عن طريق حث المناعة systemic resistance فى الثمار الطازجة المعاملة بها ضد مسببات الأمراض والتى ترتبط بزيادة فى نشاط إنزيمى بيتا -١، ٣ - جلوكانيز والكيتينيز.



شكل (٣ - ٢٨) خميرة Rhodotorula glutinis.

وحاليًا تستخدم سلالات عديدة من خميرة Metschnikowia pulcherrima فى مكافحة أمراض العفن التى تحدثها بعض الفطريات مابعد الحصاد فى الفاكهة مثل التفاح بصفة خاصة، ومن فطريات الأعفان التى تكافحها هذه السلالة فطر بوتريتس سينيريا Botrytis cinerea وفطر بينيسيليم اكسبانسم Penicillium expansum وفطر مونيليا Monilia sp وفطر الترناريا Alternaria sp (شكل ٣-٢٩).



شكل (٣-٢٩) تثبيط الفطر المرض الترناريا Alternaria sp

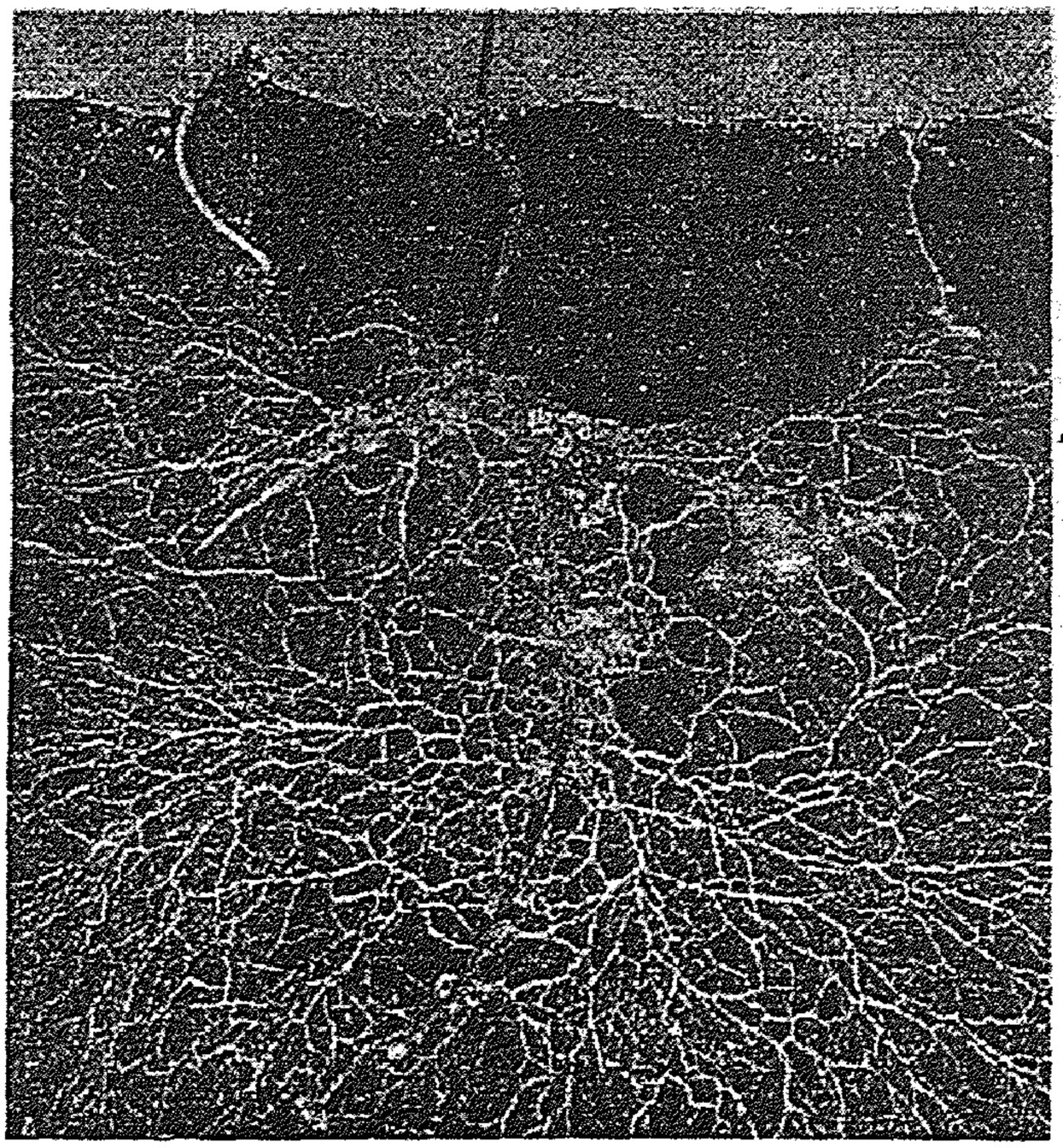
بواسطة خميرة M. pulcherrima.

❖ دور الميكوريزا فى المكافحة الحيوية:

ترتبط بعض الفطريات الموجودة فى التربة الزراعية وفى منطقة جذور النباتات بشكل لصيق بالجذور بحيث تكون طراز فريد من العلاقات التكافلية symbiosis مع الجذور، وقد عرفت هذه العلاقة الحادثة بين هيفات الفطر والجذور منذ النصف الأخير من القرن التاسع عشر، وقد اقترح فرانك Frank فى العام (١٨٨٥) لأول مرة مسمى الميكوريزا Mycorrhiza للعلاقة بين هيفات الفطر وجذور النبات (شكل ٣-٣٠)، وقد لوحظ فيما بعد تواجد هذه العلاقة التكافلية بشكل عادى فى المجموع الجذرى لمعظم النباتات الراقية فى الوقت الذى تغيب فيه عن قلة من النباتات.

وتلعب فطريات الميكوريزا دورًا هامًا فى تغذية النباتات حيث تزيد جهازية عنصر

الفوسفور للنباتات عن طريق إفراز الإنزيمات كالفوسفاتيز أو تشجيع جذور النبات على إفراز الأحماض وثانى أكسيد الكربون وكلها تزيد من ذوبان الفوسفات وبعض العناصر الأخرى، وفى المقابل تحصل فطريات الميكوريزا على احتياجاتها الغذائية المعقدة من الأحماض الأمينية والفيتامينات كفيتامين ب B من النباتات، ولا تنجح زراعة بعض فطريات الميكوريزا على الأوساط الغذائية الصناعية بسبب طبيعتها الغذائية المعقدة إذ أنها متكافلات إجبارية Obligate symbiont.



شكل (٣-٣٠) الميكوريزا على جذور النبات

وفى الحقيقة فإن فطريات الميكوريزا تؤدى وظائف أخرى غير دورها فى التغذية مثل وقاية الجذور والتأثير على دورة الكربون والتفاعل مع الميكروبات الأخرى وإمداد النبات بالماء.

وقد تبين فى السنوات الأخيرة أن فطريات الميكوريزا بذات أهمية كبيرة فى مجال المكافحة الحيوية لمسببات الأمراض النباتية وبصفة خاصة تلك المسببات المحمولة فى التربة الزراعية، وقد استغلت فطريات الميكوريزا فى كثير من التطبيقات العملية للمكافحة، وتوفر فطريات الميكوريزا الخارجية حاجز ميكانيكى يحول دون اختراق خلايا القشرة cortical cells من قبل الفطريات الممرضة ويمد هذا ببعض المقاومة، كما تحث بعض

فطريات الميكوريزا الخارجية خلايا القشرة على إنتاج مركبات طيارة وغير طيارة تعمل على تثبيط مسببات الأمراض أو تساعد فى نمو الميكروبات التى تقوم بعملية التضاد فى منطقة ريزوسفير النبات.

وهناك طرق عديدة تؤثر بها فطريات الميكوريزا على ممرضات الجذور منها تغيير النواحى الفسيولوجية للنبات العائل كما هو الحال فى تغيير كمية ونوع الإفرازات الجذرية التى تعتمد عليها الميكروبات الممرضة، وتوفير حاجز طبيعى physical barrier ضد الإصابة بالميكروبات الممرضة الغازية، والتنافس مع الميكروبات الممرضة على امتصاص المواد الغذائية الأساسية فى منطقة المحيط الجذرى rhizosphere وعلى سطح جذر النبات النامى، والتنافس على الموقع الفعلى actual site للتفاعلات فى وعلى الجذور، وانتخاب الميكروفلورا المفضلة بالتغيرات الحادثة فى النواتج الإفرازية root exudates products للجذر، وإنتاج المضادات الحيوية والمواد السامة أو المثبطة للميكروبات الممرضة، وتعويض الضرر الحادث بالجذر من جراء المرض بواسطة نظام امتصاص العناصر الغذائية حيث تزيد مقدرة الجذور على امتصاص العناصر الغذائية.

ومن المعتقد أن الميكانيكيات التى تستخدمها فطريات الميكوريزا لمقاومة مسببات الأمراض التى تصيب الجذور معقدة بما فيه الكفاية، وقد تستخدم الميكوريزا أكثر من آلية فى آن واحد لمقاومة مسببات الأمراض.

وتشير كثير من الدراسات الموثوق بها إلى أن لفطريات الميكوريزا دور مفيد فيما يتعلق بمقاومة مسببات أمراض الجذور، وتمتلك فطريات الميكوريزا وسائل كثيرة للمقاومة منها أنها تحسن الحالة الغذائية للنباتات كما هو الحال مع أشجار الموالح، كما تتكون كميات كبيرة من الأرجنين فى حالة نباتات الطباق وهذه بدورها تثبط الجراثيم الكلاميدية chlamydospores للفطريات الممرضة للنبات، كما تؤدى إلى زيادة سمك الجدر الخلوية لنباتات البصل، ويعزى الكثيرون محدودية نمو مسببات الأمراض فى منطقة جذور النباتات root environment إلى استخدام المواد التى تنتجها الجذور الموجود عليها فطريات الميكوريزا.

وتبدى النباتات المعاملة بلقاحات فطريات الميكوريزا مقاومة أكبر لكثير من أمراض

الجذور التى تحدثها الفطريات مثل الأعفان والذبول، فعلى سبيل المثال فإن البادرات الملقحة بلقاحات الميكوريزا تبدى مقاومة لفطر عفن الجذور فيتوفثورا سيناموى Phytophthora cinnamomi، وتحث إصابة النبات بفطريات الميكوريزا آلية المقاومة لدى النبات، وربما يفسر ذلك تقليل فرص حدوث إصابة للنبات بواسطة الفطريات الممرضة.

وهناك تطبيقات عملية ناجحة لاستخدام فطريات الميكوريزا فى مجال المقاومة الحيوية مثل استخدام النوع جلومس فاسيكيولاتم Glomus fasiculatum فى مقاومة فطريات عديدة مثل مقاومة فطر فيوزاريم مونوليفورم Fusarium monoliforme وفطر سيفالسوبوريم سكارى Cephalsoprium sacchari وهما من فطريات الذبول فى نباتات قصب السكر، ومقاومة فطر افانوميسيس اينتيشز Aphanomyces enteiches المسبب لعفن الجذور فى البسلة. كذلك فإن استخدام النوع Suilus brevipes يثبط الكثير من الفطريات الممرضة للجذور.

وجدير بالذكر أن ظروف التربة الزراعية المفضلة لنمو فطريات الميكوريزا بالكثافة المطلوبة ليست هى ذاتها المفضلة لنمو الميكروبات الممرضة المحمولة فى التربة الزراعية، ووجود الميكوريزا بالأعداد الكافية على جذور النباتات يمنحها وقاية ضد الإصابة بالفطريات الممرضة المحمولة بالتربة، وفى العادة يكون هذا مقرونًا بتحسن ملحوظ فى امتصاص عنصر الفوسفور بواسطة النباتات النامية بصفة خاصة فى الأراضى غير الخصبة.

❖المراجـع:

Bar-Shimon, M.; H. Yehuda; L. Cohen; B. Weiss; A. Kobeshnikov; A. Daus; M. Goldway; M. Wisniewski and S. Droby (2004). Characterization of extracellular lytic enzymes produced by the yeast biocontrol agent Candida oleophila. Current Genetics 45(3): 140- 148.

Bennie, C. and O. Viljoen (2006). Yeast Ecological Interactions. Yeast–Yeast, Yeast–Bacteria, Yeast – Fungi Interactions and Yeasts as Biocontrol Agents. In: The Yeast Handbook Amparo Querol, Graham H. Fleet (Eds.): Yeasts in Food and Beverages. Springer -Verlag Berlin Heidelberg.

Chanchaichaovivat, A., P. Ruenwongsa and B. Panijpan (2007). Screening and identification of yeast strains from fruits and vegetables: Potential for biological control of postharvest chilli anthracnose (Colletotrichum capsici). Biological Control 42(3): 326- 335.

Dorner, J.W.; R.J. Cole and D.T. Wicklow (1999). Aflatoxin reduction in corn through field application of competitive fungi. J. Food Protection 62(6): 650 - 656.

Ehrlich, K.C. and P.J. Cotty (2004). An isolate of Aspergillus flavus used to reduce aflatoxin contamination in cottonseed has a defective poyketide synthase gene. Appli. Microbiol. Biotechnol. 65: 473- 478.

Gracia-Garza, J.A., B.A. Bailey, T.C. Paulitz , R.D. Lumsden, R.D. Releder and D.P. Roberts (1997) Effect of sclerotial damage of Sclerotinia sclerotiorum on the mycoparasitic activity of Trichoderma hamatum. Biocontrol Sci. Technol. 7: 401- 413.

Lima, G.; S. Arru; F. De Curtis and G. Arras (1999). Influence of antagonist, host fruit and pathogen on the biological control of postharvest fungal diseases by yeasts. J. Industrial Microbiol. Biotechnol. 23(3): 223- 229.

Mathivanan, N., V.R. Prabavathy and V.R. Vijayanandraj (2008). The Effect of Fungal Secondary Metabolites on Bacterial and Fungal Pathogens. In: P. Karlovsky (ed.), Secondary Metabolites in Soil Ecology. Soil Biology 14. © Springer-Verlag Berlin Heidelberg.

Mathivanan, N., V.R. Prbavathy and K. Murugesan (2004). Biocontrol potential of microorganisms- an overview: focus on Trichoderma as biofungicide for the management of plant diseases. In: Mayee C.D., Manoharachary C., Tilak K.V.B.R., Mukadam K.S. Deshpande J. (eds.) Biotechnological approaches for the integrated management of crop diseases. Daya, Delhi, pp. 88 – 109.

Mertely J, T. Seijo and N. Peres (2005). First report of Macrophomina phaseolina causing a crown rot of strawberry in Florida. Plant Disease 89: 434.

Ross, E.W. and C.S. Hodges, Jr. (1981). Control of Heterobasidion annosum colonization in mechanically sheared slash pine stumps treated with Peniophora gigantea. Asheville, NC: U.S. Department of Agriculture Southeast For. Expt. Stn. Res. Paper SE - 229.

Szekeres A, B. Leitgeb, L. Kredics, Z. Antal, L. Hatvani, L. Manczinger and C. Vagvolgyi (2005). Peptaibols and related peptaibiotics of Trichoderma - a review. Acta Microbiol. Immunol. Hung. 52:137- 168.

Vinale F, R. Marra, F. Scala, E.L. Ghisalberti, M. Lorito and K. Sivasithamparam (2006) Major secondary metabolites produced by two commercial Trichoderma strains active against different phytopathogens. Lett. Appl. Microbiol. 43:143 –148.

Zachée, A., N. Bekolo, Bime, N. Dooh, M. Yalen and N. Godswill (2008). Effect of mycorrhizal inoculum and urea fertilizer on diseases development and yield of groundnut crops (Arachis hypogaea L.). African J. Biotechnol. 7(16): 2823- 2827.

Zhang, H.-Y., X.-D. Zheng and XI. Yu-fang (2005). Biological control of postharvest blue mold of oranges by Cryptococcus laurentii (Kufferath) Skinner. BioControl 50:331– 342.

Zveibil A. and S. Freeman (2005). First report of crown and root rot in strawberry caused by Macrophomina phaseolina in Israel. Plant Disease 89:1014.

الفصل الخامس
المبيدات الفطرية المستخدمة في مكافحة الحشائش

❖وضع المكافحة بمبيدات الحشائش الفطرية:

فى الغالب يعتبر توظيف الفطريات الممرضة للنبات فى مكافحة الأنواع النباتية غير المرغوبة مثل معظم الحشائش بمثابة عملية قيد الفحص بشكل مستمر، مرجع ذلك عدم ملاحظة تأثير الفطر الممرض على عائله النباتى فى منطقة نمو العائل، إذ أن توازن المجتمع النهائى هو الذى يتم ملاحظته فقط، وتسهل شدة المرض المعتدلة إلى جانب مقاومة العائل بقاء كل من الفطر الممرض والعائل، على أى حال فإن قلة من الفطريات الممرضة هى التى تستطيع تحطيم عوائلها بشكل كامل ومن ثم ينتهى دورها البيئى، وقد أدى تحطيم التوازن الهش على أثر تدمير أويئة مرضية نباتية إلى ظهور أمراض صدأ القهوة واللفحة الكستنائية واللفحة المبكرة فى البطاطس ومرض الالم الألمانى، وقد نتجت هذه الأمراض على أثر الدخول العرضى لفطر ممرض خارجى إلى المناطق التى زرع بها هذا النبات فى غياب ذلك الفطر الممرض، ففى غياب هذا الضغط الاختيارى تكون مقاومة العائل قليلة مما يؤدى إلى تطور شديد للمرض فى العائل، ومن ثم فإن التحدى الواقع على عاتق المكافحة البيولوجية هو تغيير التوازن البيئى لمصلحة الفطر الممرض من خلال إدخال سلالات جديدة، أو بواسطة زيادة الأعداد أو الضراوة المرضية للفطر الممرض المتأصل فى منطقة نمو الحشائش.

❖تاريخ المكافحة بمبيدات الحشائش الفطرية:

بدأ البحث فى استخدام الفطريات فى مكافحة الحشائش فى الزراعة والبيئة عام (١٩٤٠)، وقد اقتصرت التجارب الأولى فى هذا المجال على نقل الفطريات المتأصلة فى مواطنها indigenous fungi إلى مناطق نمو الحشائش المستهدفة من المقاومة، كما هو الحال فى توظيف فطر فيوزاريوم أوكسيسبوروم Fusarium oxysporum ضد حشيشة الصبار prickly pear cactus (Opuntia ficusindica) فى هاواى.

وفى عام (١٩٥٠) قام الروس بإنتاج ضخم لفطر الترناريا كسكيوتاسيدى Alternaria cuscutacidae حيث تم توظيفه فى مكافحة الحشائش من أفراد جنس dodder (Cuscata spp).

أما فى عام (١٩٦٣) فقد قام الصينيون بإنتاج ضخم لفطر آخر مختلف هو كوللليتوتريكوم جلويوسبوريويدس (Colletotrichum gloeosporioides f. sp. cuscutae) لمكافحة نفس الحشيشة، ويعرف المستحضر التجارى للفطر باسم «LuBao No 1»، ومازال هذا للمستحضر يستخدم حتى اليوم ولكن فى شكل مطور، حيث أدى استعماله إلى تقليل الفقد فى المحصول بنسبة (٣٠-٨٠٪)، ولقد تم تنفيذ العشرات من المشروعات البحثية حول العالم باستخدام مبيدات الحشائش الفطرية، إلا أن القليل فقط من هذه المشروعات هو الذى تمخض عن منتجات تجارية تم تسجيلها بالفعل.

وتمثل عملية تجهيز مستحضر فطرى ما إحدى العقبات فى مجال تطوير وإنتاج المبيدات الحيوية، وفى العادة تعطى المستحضرات الفطرية نتائج واعدة فى المختبرات إلا أن الأمر يختلف كثيرًا عند التطبيق الحقلى ففى الغالب تكون النتائج غير مرضية، كما أن عملية تسجيل مثل هذه المستحضرات تحتاج إلى عدة سنوات.

وهكذا يعتبر توظيف الفطريات الممرضة للنباتات - سواء أكانت متوطنة endemic أو غريبة exotic - فى قتل الآفات من الحشائش weeds بمثابة جهد سنوات طويلة للعاملين فى مجال المكافحة البيولوجية، واستخدام مبيدات الحشائش ذات الأصل الميكروبى هو إسهام طيب وواعد إذ أنه من المأمول أن تحل محل مبيدات الحشائش الكيميائية chemical weedicides التى طالما استخدمت بغزارة لمكافحة الحشائش.

ويشار لهذه المجموعة من المبيدات الحيوية أو بالأحرى المبيدات الميكروبية بمصطلح مبيدات الحشائش الفطرية Mycoherbicides (myco = fungus, herbicide = plant killer)، وهى عبارة عن مجهزات محتوية على جراثيم الفطريات الممرضة أو هيفاتها تم تطويرها لقتل الحشائش دون النباتات المصاحبة لها، ويتم استخدام مبيدات الحشائش الفطرية بأكثر من طريقة مثل الرش aerial sprays أو على هيئة مسحوق powder يضاف إلى التربة الزراعية.

ومن السهولة بمكان عزل الفطريات الممرضة المصاحبة بشكل طبيعى لآفات الحشائش المستهدفة فى عملية المكافحة الحيوية، وبصفة خاصة من المواطن الأصلية للحشائش،

حيث توجد السلالات الفطرية البرية التى تتطور أيضًا بتطور العائل النباتى، أو من المناطق التى تواجدت بها الحشائش لفترات زمنية طويلة حيث ترتبط بها وتتأقلم عليها بعض الممرضات الفطرية التى لاتوجد فى الموطن الأصلى.

❖تطوير مبيد حشائش فطرى:

تتضمن خطوات تطوير مبيد من الفطريات لمكافحة آفات الحشائش مايلى:

أولًا: البحث عن المسبب المرضى الملائم مالم يكن معروفًا من الأساس، ويمكن عزله من الحشائش المصابة، واختبار ضراوته المرضية تحت الظروف المعملية والحقلية.

ثانيًا: تعريف العزلات الفطرية شديدة المرضية التى لاتنتج سمومًا.

ثالثًا: تطوير طريقة للإنتاج الضخم mass production من الجراثيم على أن تتضمن ثبات الجراثيم وتخزينها دون فقد لحيويتها.

رابعًا: تحديد الظروف المثلى لتطور المرض وحدوث الإصابة، مع التأكيد على أن المسبب المرضى يمكن استخدامه دون حدوث أضرار جانبية للمحاصيل الاقتصادية غير المستهدفة.

خامسًا: تطوير مستحضر تجارى ملائم وكذلك تقنية تطبيق مناسبة، ويجرى التطبيق على المستوى الحقلى مع تحسين التطبيق إذا كانت ثمة ضرورة لذلك.

سادسًا: تسجيل المنتج التجارى، وفى الحقيقة فإنه على الرغم من كثرة مبيدات الحشائش الحيوية الفعالة فإن القليل منها فقط هو الذى تم تسجيله.

سابعًا: إنتاج المستحضر، وتسويقه، وتوزيعه.

ولا يتوقف نجاح تسويق المبيد الحيوى المنتج على مقدرته على القضاء على الحشيشة المستهدفة فقط، إنما يتوقف على عوامل أخرى كثيرة منها المدى العوائلى، وتوزيع الحشيشة المستهدفة، وهل إنتاج المبيد اقتصادى من عدمه، إلى جانب مدى خطورة المبيد على الأنظمة البيئية والنباتات الاقتصادية غير المستهدفة.

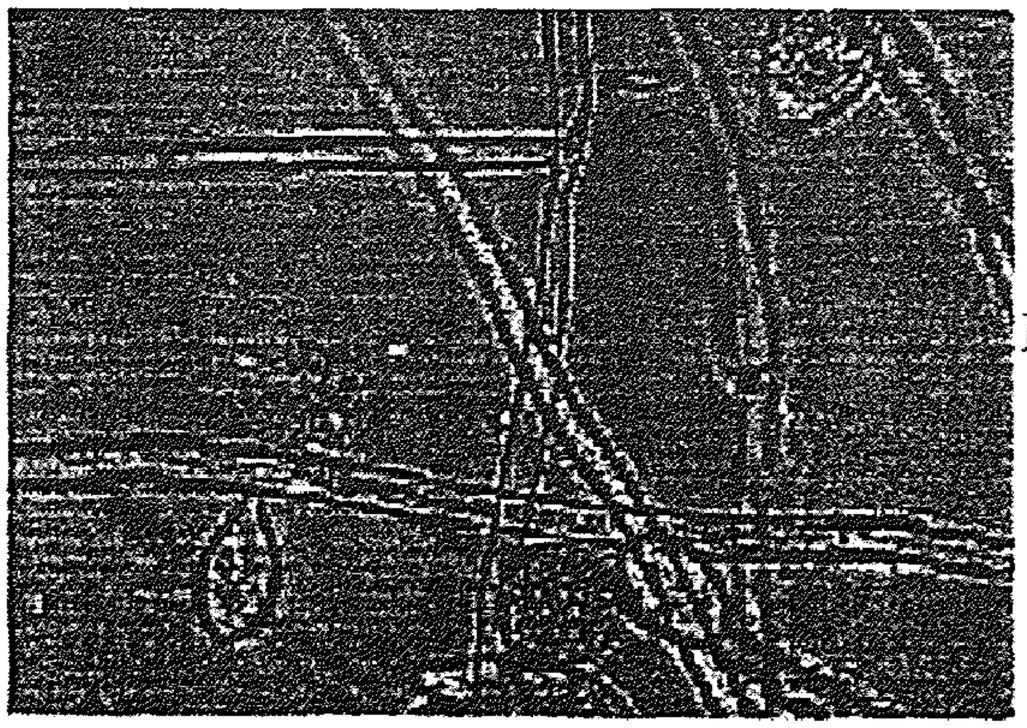
ويعتبر تخصص مبيد الحشائش الفطرى سلاح ذو حدين، فإذا كان المدى العوائلى للمبيد ضيق فإن التسويق سيكون مقصورًا على أماكن توزيع الحشيشة، إلا أنه فى المقابل تكون الخطورة على الأنواع النباتية الأخرى فى أقل درجاتها، أما إذا كان المدى العوائلى لعامل المكافحة البيولوجية متسعًا فإنه يمكن استخدام منتج واحد فى مكافحة عدد كبير من الحشائش غير المستهدفة، بما يعنى اتساع السوق التجارى.

❖تحسين مبيدات الحشائش الفطرية:

يمكن التغلب على ضعف الضراوة المرضية لبعض مبيدات الحشائش الفطرية باستعمال تركيزات عالية جدًا من اللقاحات الفطرية، إلا أنه يؤخذ على هذه الطريقة تكلفتها المرتفعة، ويمكن زيادة فعالية مبيد الحشائش الفطرى بتحسين درجة مرضية عامل المكافحة الحيوية، أو باستعمال كائنات ممرضة أخرى مع المبيد الحيوى، أو باستخدام تركيزات منخفضة من المبيدات الكيميائية. وجدير بالذكر أن الصورة التى يتم تجهيز المبيد عليها قد تحسن من أداء المبيد الحيوى تحت الظروف الحقلية.

❖مبيدات الحشائش الفطرية:

تنتمى معظم الفطريات المستخدمة فى المقاومة الحيوية إلى أقسام الفطريات الأسكية Ascomycota والفطريات البازيدية Basidiomycota والفطريات الناقصة Deuteromycota. وهناك بعض الفطريات البيضية مثل فطر فيتوفثورا سيتروفثورا Phytophthora citrophthora (شكل ٣-٣١) تستخدم فى مكافحة الحشائش مثل الحشيشة اللبنية أو خناق العنب مورينيا أودوراتا Morrenia odorata والتى تنمو فى بساتين الموالح بفلوريدا وتنافس أشجارها على ضوء الشمس والغذاء والماء، وتعوق أداء العمليات الزراعية المختلفة كالرى والحصاد.



شكل (٣-٣١) فطر P. citrophthora المستخدم فى عملية مكافحة الحشيشة اللبنية M. odorate

أولًا: الفطريات الأسكية:

على الرغم من عدم استخدام الأشكال الأسكية المكونة للجراثيم ascospore forms كأدوات للمكافحة الحيوية للحشائش إلا أن هناك محاولات جادة لتوظيف بعض أنواع فطريات جنس فيوزاريوم Fusarium وجنس كوللليتوتريكوم Colletotrichum كمبيدات حشائش فطرية.

١ - فطر الترناريا كيوسكيوتاسيدا Alternaria cuscutacidae:

يستخدم المبيد الفطرى المحتوى على الفطر الأسكى الترناريا كسكيوتاسيدا A.cuscutacidae فى إبادة أنواع حشيشة الحامول Cuscuta spp (dodder) التى تصيب نباتات كثيرة مثل البرسيم وبنجر السكر والبصل والكتان، وبصفة خاصة النوع Cuscuta campestris (شكل ٣-٣٢)، وهو من المبيدات الفعالة فى مجال المكافحة البيولوجية المستخدمة فى بعض الدول مثل روسيا.



شكل (٣-٣٢) حشيشة Cuscuta campestris

٢- فطر فيوزاريوم اوكسيسبوروم Fusarium oxysporum:

لقد بـدأ الاهتمام بالفطـر الأسكى فيوزاريوم اوكسيسبوروم F. oxysporum (شكل ٣- ٣٣) كمبيد حيوى للحشائش على أثر اكتشافه فى عام (١٩٦٠) كعامل تسبب فى تدمير أشجار الكوكا فى هاواى، حيث يسبب مرض الذبول لأكثر من مائة نوع نباتى، وقد ثار جدل كبير فى بعض البلدان بشأن استخدام هذا الفطر فى الحروب البيولوجية كسلاح فتاك لقتل النباتـات الاقتصادية.



شكل (٣ -٣٣) جراثيم فطر F. oxysporums المستخدمة كمبيد فطرى فعال لإبادة المارجوانا Cannabis.

وثمة محاولات علمية جادة منذ فترة لاستخدام فطـر فيوزاريوم اوكسيسبورم اورثوسيرسا F. oxysporum var. orthocersa فى مكافحة حشيشة الهالوك Orobanche spp.

الطفيلية حيث يقضى هذا الفطر على (٧٠٪) من البذور، ويوجد مبيد تجارى بالفعل من هذا الفطر يحمل الاسم التجارى Product F، وتصل فترة فعاليته إلى أكثر من شهرين.

٣- فطر سكليروتينيا سكليروتيورم Sclerotinia sclerotiorum:

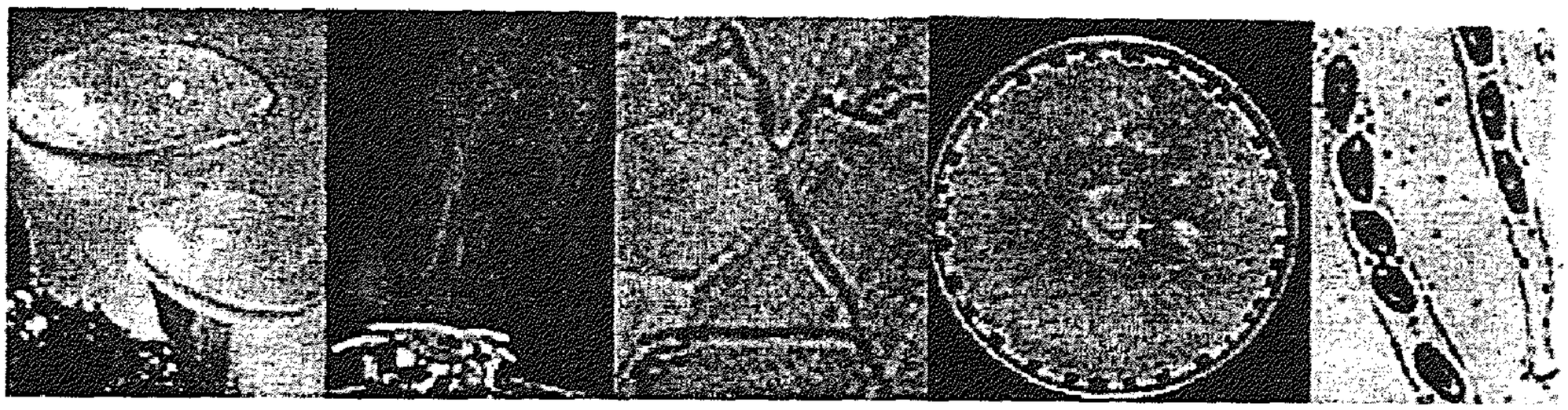
تم عزل الفطر الأسكى سكليروتينيا سكليروتيورم S. sclerotiorum الممرض للنبات فى أمريكا منذ نحو ربع قرن، ويستخدم هذا الفطر كمبيد حيوى لمقاومة الحشائش الشوكية مثل حشيشة كاليفورنيا وعدة حشائش أخرى وبصفة خاصة فى المراعى، وهذا الفطر ممرض أيضًا لبعض المحاصيل الاقتصادية، كما يقضى على الحشائش بدرجة عالية.

ويتميز هذا الفطر بسهولة إنمائه واستكثاره إذ يمكن بسهولة إنتاج هيفاته بكميات ضخمة مع الحفاظ على ضراوته المرضية، وفى العادة تجهز هيفات الفطر (الميسيليوم) فى طحين القمح kibbled wheat، ويرش المجهز على الحشيشة أثناء فصل الربيع، حيث يعمل على تخفيض الغطاء الخضرى لهذه الحشيشة بشكل واضح، كما يقضى الفطر على عدد كبير من فروع shoots النبات.

ويؤخذ على هذا الفطر الممرض مداه العوائلى الواسع، إذ يبلغ عدد عوائله النباتية أكثر من (٤٠٠) عائل، ومن ثم فإلى جانب تأثيره المرغوب على الحشائش، فإنه يؤثر على عدد من المحاصيل الاقتصادية الهامة، وهناك اتجاه للتغلب على هذه الخطورة بإعادة تصميم الفطر بالهندسة الوراثية ليصبح أكثر تخصصًا، وغير قادر سواء على الانتشار كجراثيم أسكية بعد موت الحشائش، أو على تكوين الأجسام الحجرية.

وهناك إمكانية لاستخدام طفرات آمنة من هذا الفطر الممرض كمبيد حيوى لمقاومة حشيشة كاليفورنيا وحشائش أخرى ذات أهمية اقتصادية، إذ يسبب هذا الفطر مرض العفن الطرى المائى watery soft-rot disease، والسبب فى استخدام طفرات من هذا الفطر أن سلالته البرية المستخدمة فى مكافحة الحشائش يتخلف عنها أجسام حجرية sclerotia، تسقط من الحشائش الميتة إلى التربة الزراعية حيث تبقى بها لعدة سنوات، وتطلق هذه الأجسام الحجرية خيوطًا فطرية فى فصل الربيع ـ تصيب نباتات المراعى pasture الحساسة، أو تنتج تراكيب جرثومية تسمى apothecia لها شكل قمعى تتكون بداخلها جراثيم أسكية ascospores، تنطلق فى الهواء الذى يحملها إلى المحاصيل الاقتصادية

فى المناطق المجاورة فتصيبها بمرض العفن الطرى المائى، ويؤدى ذلك إلى انتشار الفطر (شكل ٣-٣٤).



شكل (٣-٣٤) فطر سكليروتينيا سكليروتيورم

١- أجسام حجرية. ٣- خيوط فطرية. ٥- جسم ثمري قمعي.
٢- نمو الفطر علي طبق بتري. ٤- جراثيم أسكية منطلقة من جسم ثمري.

وفى الوقت الراهن يتم:

١- استخدام طفرات لاتكون أجسام حجرية إلا أن هذه الطفرات تتميز بسمية منخفضة، وهناك محاولات مستمرة وجادة لإنتاج طفرات من هذا الفطر عالية المرضية وثابتة وراثيًا.

٢- استخدام طفرات auxotrophic - أى تحتاج لمواد معينة فى تغذيتها لتقوم بوظيفتها - من تعريض جراثيم الفطر للأشعة فوق البنفسجية - عاجزة عن تخليق بعض الأحماض الأمينية لتنمو وتقتل الآفات من الحشائش، ومن ثم يتطلب هذا الفطر لتحضيره على صورة مبيد فطرى للحشائش إلى إمداده بهذه الأحماض الأمينية، ونظرًا لغياب هذه الأحماض الأمينية فى كثير من النباتات الاقتصادية فإنها تمتلك مناعة ضد طفرات الجراثيم الأسكية mutant ascospores.

ومن ناحية أخرى يؤخذ على هذه الطفرات مايلى:

أ- انخفاض تأثيرها المرضى، ويتم حاليًا خلط سلالات من نوع auxotrophs لتكوين أنوية مختلفة heterokaryons لها درجة مرضية تتشابه مع مرضية الفطر البرى.

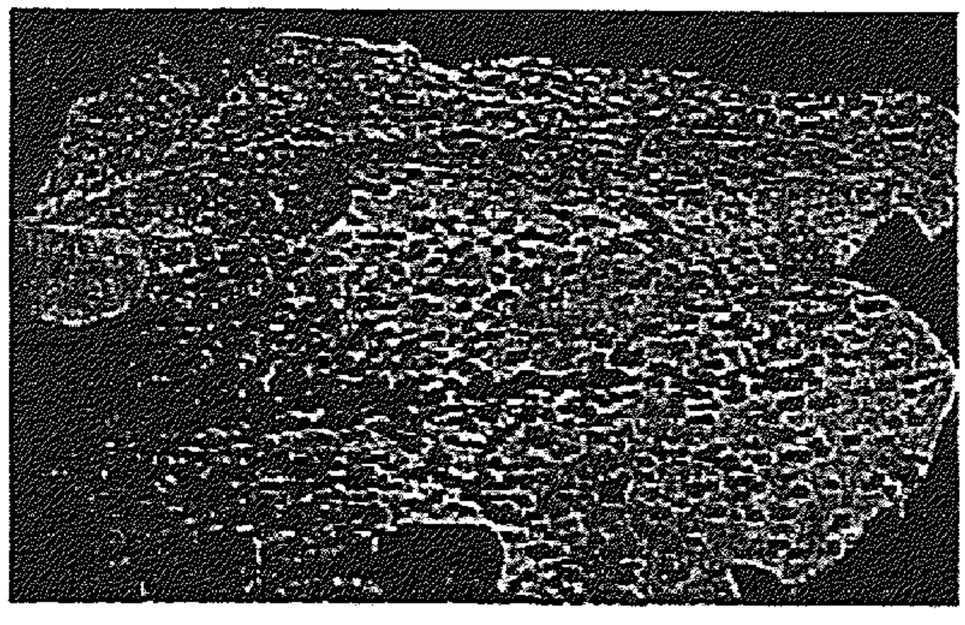
ب- احتواء بعض المحاصيل الاقتصادية الحساسة لهذا المبيد الفطرى على الأحماض الأمينية التى تغطى متطلبات الفطر اللازمة للنمو وإحداث الإصابة.

ثانيًا: الفطريات البازيدية:

تضم الفطريات البازيدية عدد من الفطريات المستخدمة فى مجهزات مبيدات الحشائش الفطرية مثل بعض فطريات الأصداء rusts من رتبة يوردينالز Uredinales، ورتبة يوستيجالينالز Ustigalinales.

أ- رتبة يوردينالز Uredinales:

تعتبر بعض فطريات الأصداء الممرضة للنبات من رتبة يوردينالز Uredinales والمتخصصة على النباتات الوعائية ضمن الإدخالات الفطرية الناجحة لمكافحة الحشائش، ولاتنمو هذه الأصداء على البيئات الغذائية الصناعية بسبب طبيعتها الطفيلية الإجبارية، ويتم إكثارها بتلقيحها فى العائل النباتى، ومن أهم فطريات الأصداء المستخدمة فى المكافحة البيولوجية فطر باكسينيا شوندريلينا Puccinia chondrillina (شكل ٣-٣٥) الذى يستخدم فى المكافحة البيولوجية للحشيشة الهيكلية Chondrilla juncea (skeleton weed) التى تهاجم نباتات القمح.

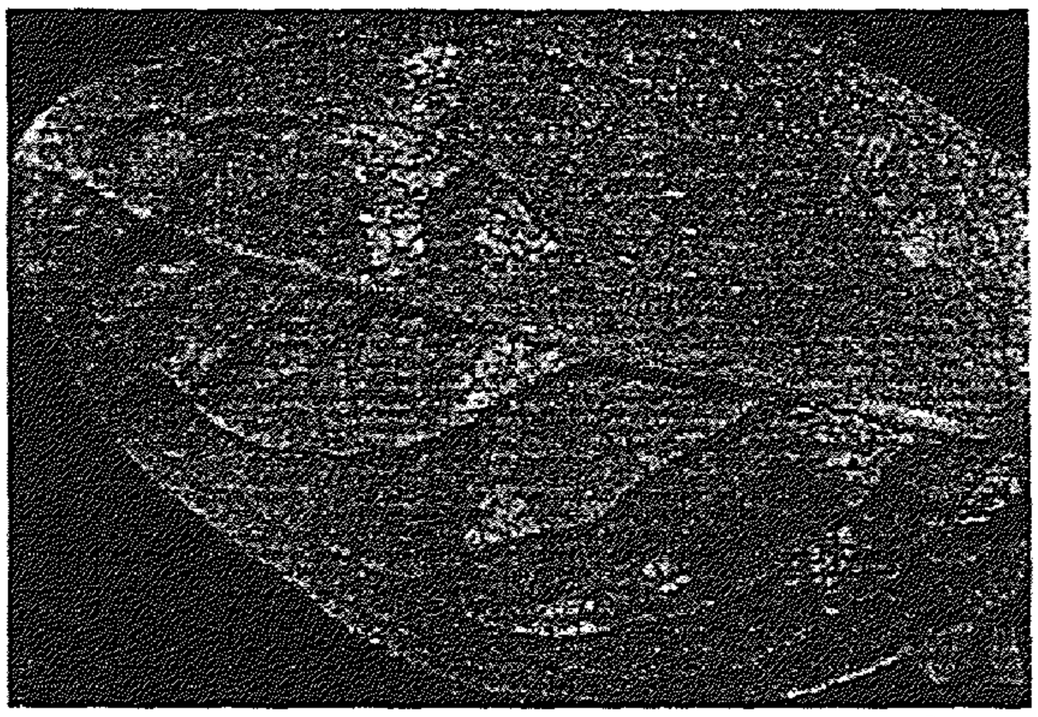


شكل(٣-٣٥) إصابة بفطر الصدأ **P. chondrillina** المستخدم كمبيد فطرى لمكافحة الحشيشة الهيكلية

وقد استخدمت سلالة لفطر الصدأ باكسينيا شوندريلينا P. chondrillina لمكافحة الحشيشة الهيكلية C. juncea التى تنتشر فى محاصيل الحبوب، وقد استطاعت هذه السلالة الإضرار بشكل من أشكال الحشيشة يتميز بورق ضيق، وخفض كثافته بشدة، إلا انه بعد حوالى خمسة عشرة عامًا لوحظ انتشار وزيادة الأشكال ذات الأوراق المتوسطة والعريضة من هذه الحشيشة بشكل ملفت للنظر تمامًا.

وفى عام (١٩٨٤) وجد أن فطر ميلامبسورا هايبريكورم Melampsora hypericorum (شكل٣-٣٦) بأستراليا والفطر الناقص كوللليتوتريكوم جلويوسبوريديس Colletotrichum gloeosprioides بكندا يقتل الحشيشة المستديمة Hypericum perforatum St. John's

wort من عائلة Clusiaceae، إلا أن الفطر الناقص يصيب نباتات الطماطم مما يمثل عائقًا فى مروره من الحجر الزراعى لاستخدامه فى أغراض المكافحة البيولوجية للحشائش.



شكل (٣ -٣٦) فطر M. hypericorum المستخدمة كمبيد فطرى.

وكذلك هناك محاولات لاستخدام فطر الصدأ باكسينيا ماريانا Puccinia mariana فى مكافحة الحشيشة الشوكية الملونة سيليبم ماريانام (variegated thistle) Silybum marianum المنتشرة فى كثير من بلدان العالم فى الأراضى الخصبة الغنية بالعناصر الغذائية، ومايترتب عليه من ضعف خصوبة هذه الأراضى.

ويستخدم فطر يوريدو ايكرونيا Uredo eichorniae وفطريات أخرى كثيرة فى مكافحة النباتات المائية مثل حشيشة ورد النيل Eichhornia crassipes التى حظيت فى السنوات الأخيرة بنصيب وافر من المكافحة البيولوجية فى كثير من البلدان التى تعانى من انتشارها الكثيف ومنها مصر.

ب- رتبة استيلاجينالز Ustigalinales:

تستخدم بعض الفطريات الممرضة إجبارية التطفل المتخصصة على بعض أفراد النباتات الوعائية من رتبة استيلاجينالز Ustigalinales التى تشمل السناج smuts وتهاجم الجهاز الوعائى للعائل النباتى من الحشائش.

ومن أمثلة أفراد هذه الفطريات المستخدمة فى مكافحة الحشائش فطر انتاى لوما اجراتينيا Entyloma ageratinae الذى استخدم فى مكافحة حشيشة الضباب Ageratina riparta فى هاواى، ينتج هذا الفطر أعداد ضخمة من الجراثيم فى وقت قصير عقب إصابته للحشائش المستهدفة (شكل ٣-٣٧)، وتنتشر هذه الجراثيم بواسطة الرياح، حيث تحدث بثرات تؤدى فى النهاية إلى قتل الحشائش، ويحتاج هذا الفطر إلى رطوبة فى نموه ولذلك فإن استخدامه قاصر على المناطق الرطبة.



شكل (٣ -٣٧) جراثيم فطر
E. ageratinae المستخدم كمبيد فطرى.

ثالثًا: الفطريات الناقصة:

تستخدم بعض الفطريات الناقصة فى مكافحة الحشائش، كما هو الحال فى فطر كوللليتوتريكوم جليوسبوريويديس Colletorichum gloeosporioides f.sp. clidemiae الذى تم إدخاله إلى هاواى لمكافحة حشيشة Clidemia hirta.

وكذلك تم استخدام فطر كوللليتوتريكوم جوليوسبوريويديس C. gloeosporioides f.sp.aeschynomene فى مقاومة الحشيشة البقولية المعروفة بالحمص الجبلى Aeschynomene virginica فى نباتات الأرز وفول الصويا فى الولايات المتحدة الأمريكية فى الفترة من (١٩٨٢) حتى (١٩٩٢) برش المستحضر التجارى من هذا الفطر والذى يعرف باسم Collego على أوراق النباتات، إلا أن إنتاجه قد توقف لصغر حجم السوق الخاصة به مقارنة بتكاليف إنتاجه، وقد تم إنتاجه مرة أخرى فى عام ١٩٩٧.

ويستعمل فطر كوللليتوتريكوم جوليوسبوريويديس C.truncatum (Schw) وهو من الفطريات الممرضة بشدة فى مكافحة حشيشة hemp sesbania (Sesbania exaltata) فى حقول القطن وفول الصويا. وكذلك يستخدم فطر سيركوسبورا رودمانياى (Cercospora piaropi (= C. rodmanii وفطريات أخرى كثيرة كمبيدات حيوية فى مكافحة حشيشة ورد النيل، ويتميز هذا الفطر بالتخصص الشديد بالتغذية على حشيشة ورد النيل.

❖ تجهيز واستعمال الفطريات الممرضة للنبات فى مكافحة الحشائش:

يحدد بيولوجى الحشيشة المستهدفة من عملية المقاومة الحيوية وكذلك موطنها صورة

المستحضر وكيفية استعماله، فيمكن فى حالة الحشائش الحولية رش المبيد الفطرى على الأوراق، أما فى حالة الحشائش المعمرة فيفضل تجهيز المستحضر على هيئة حبيبات تضاف للتربة الزراعية، وكذلك يؤثر موطن الحشيشة على الهيئة التى يجهز عليها المستحضر التجارى، وتبدى الحشائش النامية فى الأوساط الجافة تحديات مختلفة عن النباتات النامية فى الأوساط متوسطة الرطوبة أو المائية.

وإضافة إلى ماسبق يعتبر بيولوجى الفطر الممرض بذات أهمية كبيرة، ومن المرغوب أن يتجرثم الفطر فى مزارع مغمورة لأن المزارع السائلة تكون عملية واقتصادية عن الطرق الأخرى، أما طرق الزرع الصلب التى تم تطويرها فى حالة الكثير من الفطريات فهى صعبة ومكلفة، ويعاب على الجراثيم الكونيدية لبعض الفطريات عدم ثباتها فى المستحضرات الجافة.

ويتم تسكين immobilization عوامل المكافحة الحيوية المستخدمة فى حالة مكافحة الحشائش مثل الجراثيم الكونيدية لكثير من الفطريات فى ألجينات الصوديوم sodium alginate والطين caolin clay بقصد حمايتها من الظروف البيئية المغايرة، ويمكن تحسين إنتاج الجراثيم الكونيدية فى خرز ألجينات الصوديوم وكذلك كفاءتها الحقلية بإضافة المدعمات الغذائية اللازمة، فعلى سبيل المثال فإن إنتاج كونيديات فطر فيوزاريوم سولانى Fusarium solani f. sp. cucurbitae تزداد بشكل معنوى بإضافة (٢٪) من وجبة الشوفان ووجبة الذرة ودقيق الصويا.

وتستخدم مواد أخرى لتسكين عوامل المكافحة مثل تعليق الفطر الممرض فى محلول من السكروز وخلطه بالنشا الذائب فى الماء وزيت الذرة غير المكرر حيث تتكون عجينة لاصقة، يتم تحبيبها بالخلط مع السليكا، ثم التجفيف هوائيًا، ويحسن السكروز من بقاء survival عامل المكافحة الحيوية فى المستحضر، كما يثبت أغشية الكائن الحى أثناء عملية التجفيف باستبدال جزيئات الماء فى الغشاء الدهنى ذو الطبقتين.

وتؤدى بعض الإضافات كالسوربيتول sorbitol إلى لقاحات فطر كوللليتوتريكوم كوكوديس Colletotrichum coccodes المستخدم فى مكافحة حشيشة أوراق القطيفة velvetleaf إلى زيادة أعداد الجراثيم الحية المستعادة من الأوراق الملقحة بحوالى عشرين

ضعف، كذلك تؤدى إضافة مرق الدكستروز والبطاطس إلى تحسين إنبات كونيديات فطر الترناريا كازيا Alternaria cassiae المستخدم فى مكافحة الحشائش، كما تؤدى إضافة البكتين ومستخلصات بعض النباتات إلى المحاليل المستخدمة فى الرش لفطر الترناريا كراسا A. crassa إلى تغيير المدى العوائلى للفطر، كما يؤدى إضافة بعض المواد الهيجروسكوبية Humectants إلى زيادة معدلات الإصابة بالفطر الممرض على سطح الورقة كما هو الحال مع فطر الترناريا ايكهورنيا A. eichhornia الذى يصيب نبات ورد النيل باللفحات والتقرحات، وقد تم اختبار السلالة A. eichhornia (Ae 5) فى مكافحة ورد النيل فى مصر عام (١٩٩٤) وأعطت نتائج طيبة. ومن ناحية أخرى لا تؤدى هذه الإضافات إلى زيادة الإصابة بمبيد الحشائش المحتوى على فطر فوموبسيز كونفولفيولس Phomopsis convolvulus والمستخدم فى مكافحة حشيشة اللبلاب binweed فى الحقل.

وقد تم استحداث بعض المستحلبات مثل water-in-oil-invert emulsions للتغلب على احتياج الفطريات للندى لكى تتم الإصابة للنبات بواسطة الجراثيم الفطرية، فاستخدام مخلوط من زيت البرافين والليثيثين يقلل بشكل كبير من تبخير الماء من مستحضر المبيد، إلا أنه يضفى على المحلول لزوجة زائدة، مما يستدعى رش المستحلب باستخدام رشاشات مع دفعه بتيار قوى من الهواء، وقد استخدم هذا المستحلب فى حالة فطر الترناريا كازيا A. cassiae وفطر الترناريا كراسا A. crassa، ومن مميزات هذا المستحلب أنه يمكن استخدام جرعة منخفضة من اللقاح الفطرى لإصابة الحشائش.

❖المستحضرات التجارية:

يتوفر بالأسواق التجارية عدد من المستحضرات التجارية تستخدم فى مكافحة الحشائش مثل:

كوندروستريم بربيورم Chondrostereum purpureum:

يندرج النوع C. purpureum الذى كان يعرف سلفًا باسم Stereum purpureum Pers ضمن الفطريات البازيدية، ويستخدم من هذا النوع سلالتين هما السلالة كوندروستريم بربيورم C. purpureum strain HQ1، والسلالة كوندروستريم بربيورم C. purpureum strain PFC 2139. السلالة الأولى كوندروستريم بربيورم C. purpureum strain HQ1 تتواجد بشكل طبيعى، وتستخدم كمبيد فطرى لإبادة الحشائش حيث يمنع التوريق

وإعادة نمو الأشجار المقطوعة، حيث تعامل به الأشجار بعد القطع مباشرة، على صورة عجينة توضع على السطح، ويقتصر استخدامه على بعض أنواع أشجار الأخشاب الصلبة مثل شجر الحور. وتوجد هذا السلالة فقط فى أوعية خشب xylem الأشجار والشجيرات الحية ذات الأوراق العريضة أو التى قتلها حديثًا، يسبب الفطر مرض الورقة الفضية silver leaf الذى يحدث عندما يقوم الفطر بسد أوعية الخشب، وتقوم هذه الأوعية بتدعيم تركيب النبات، وتنقل العصير المحتوى على المواد الغذائية إلى الأوراق. ويوجد من هذا السلالة مستحضر تجارى بالأسواق التجارية، وتعتبر هذه السلالة غير سامة أو ممرضة للإنسان والأحياء البرية كذلك فإنها غير ضارة بالبيئة. أما السلالة الثانية كوندروستريم بربيورم C. purpureum strain PFC 2139 فتنتشر بكثرة فى الطبيعة فى كثير من بلدان العالم وبصفة خاصة فى المناطق المعتدلة على سطح كوكب الأرض، وهى إحدى الممرضات النباتية، وتوجد هذه السلالة فقط فى خشب الأشجار والشجيرات سواء الحية أو التى تم قطعها حديثا، حيث تسبب المرض الفطرى الشهير المعروف باسم الورقة الفضية silver leaf لكثير من المزروعات الاقتصادية مثل الخوخ والكمثرى والمشمش والتفاح، ويحدث المرض عندما يقوم الفطر بسد أوعية الخشب xylem vessels، حيث تقوم هذه الأوعية بتدعيم تركيب النبات وتنقل العصير المحتوى على المواد الغذائية لأعلى إلى الأوراق، كما تساهم إنزيمات البكتينيز التى يفرزها الفطر فى تطور أعراض مرض الأوراق الفضية، كذلك يفرز الفطر العديد من مركبات sterpuranes التى تحث أعراض سمية تؤدى إلى اصفرار أوراق النباتات موضع المكافحة. ويجهز المبيد الحيوى المحتوى على هذه السلالة فى هولندا تحت المسمى التجارى Biochon كمكون فعال على هيئة عجينة مغذية تحتوى على ميسيليوم وجراثيم الفطر، ويستخدم المبيد بشكل مباشر على الكثير من أشجار العشب الضارة كمبيد حشائش فطرى mycoherbicide لتثبيط نموات الجذوع stump sprouting فى الكرز الأسود black cherry (Prunus serotina) على سبيل المثال، ويمكن تخزين هذا المبيد الحيوى لفترة طويلة دون التأثير على حيويته، وليست هناك أضرار من استخدام هذا الفطر فى المكافحة الحيوية حيث يهاجم أشجار العشب الضارة فقط، كما تقاوم النباتات الأخرى هجومه.

الترناريا دبسترونس Alternaria destruens Strain 059:

تم عزل هذه السلالة الفطرية لأول مرة فى العام (١٩٨٦) من نبات wamp dodder (Cuscuta gronovii)، ولقد تم توصيفها بشكل تام حيث تتواجد بشكل طبيعى متطفلة على العديد من أنواع جنس Cuscuta المعروف بالـ dodder فى معظم مراحل النمو، وقد تم استخدام هذا الفطر كمكون فعال فى نوعين من مبيدات الحشائش الأول يستخدم رشا والثانى على صورة حبيبات.

ويؤدى هذا المبيد وظيفته بشكل فعال فى الأجواء البيئية الرطبة وذلك فى مدى حرارى واسع (٤-٣٥°م) حيث يستخدم فى أغراض المكافحة بالرش فى أراضى الفواكه والخضروات والنباتات الطبية والفطرية.

ويتغذى الفطر على الأنسجة النباتية الحية أو الميتة لنباتات dodder وينمو بشكل ضعيف جدا فى نبات هذا العائل. لا يضر هذا المبيد بالإنسان والبيئة ولا يصيب نباتات أخرى غير أنواع جنس Cuscuta spp.

باكسينيا ثلاسبيوز (Puccinia thlaspeos strain woad (dyer's woad rust:

أكتشفت السلالة الفطرية P. thlaspeos (strain woad) التى تعرف أيضًا باسم dyer's woad rust – وهى إحدى فطريات الأصداء rusts التابعة للفطريات الباذيدية Basidiomycota – فى عام (١٩٧٩)، وقد تم تسجيل هذه السلالة الفطرية كمبيد حشائش ميكروبى لمكافحة انتشار حشيشة dyer's woad (Isatis tinctoria) فى المناطق المفتوحة فى أمريكا فى عام (٢٠٠٢)، وهى حشيشة نقلها المهاجرون الأوربيون لأمريكا للصبغة الزرقاء الجميلة إلا أنها انتشرت بغزارة فى المناطق المفتوحة الجافة بثمانية من الولايات الجنوبية فى أمريكا، وفطريات الأصداء هى مجموعة من الفطريات تصيب النباتات فقط، وهى اختيارية تماما تجاه عوائلها، وتعتبر هذه الحشيشة بمثابة العائل الوحيد المعروف حتى الآن لهذا الفطر.

ويتم تجهيز مبيد حيوى من الفطر يسمى Woad Warrior، يحتوى المبيد الحيوى على مكون فعال من جراثيم هذا الفطر على مطحون وقطع من أوراق وسيقان النبات العائل، ويتم رش هذا المبيد مرة واحدة فى فصل الربيع سواء على صورة جافة أو معلق مائى، كما يضاف إلى التربة الزراعية على هيئة بودر، حيث ينتشر الفطر بشكل طبيعى ويؤدى فعله من خلال

إصابة النباتات المعاملة فى السنة الأولى، وفى السنة التالية يتداخل الفطر مع عملية تكوين الأزهار والبذور، ومن ثم فالنباتات التى يتم مقاومتها تصبح صفراء اللون ولاتكون أزهارًا بشكل طبيعى كذلك لاتكون بذورًا.

وليست هناك أية مخاطر صحية على الإنسان من استخدام هذا المبيد الحيوى، حيث أن هذا الفطر متخصص على عائله ولايصيب غيره، كما أنه لاينمو على درجة حرارة جسم الإنسان، ولنفس السبب فان الفطر غير ضار بالبيئة والحياة البرية والكائنات الأخرى غير المستهدفة.

بكسينيا كانالیكيولارتا Puccinia canalicularta (Schw.) Lagerh:

فى عام (١٩٩٢) تم تسجيل منتج تجارى من هذا النوع - وهو من فطريات الأصداء - تحت مسمى Dr. Biosedge لمكافحة حشيشة yellow nutsedge (Cyperus esculentus L) حيويًا فى الحقول الزراعية، ويثبط الفطر من عملية تزهير الحشيشة بنسبة تصل إلى حوالى (٥٠٪)، ويقضى على عدد كبير من الحشيشة النامية (حوالى ٧٠٪)، ويمنع تكوين الدرنات، ويبقى الإنتاج الضخم من هذا الفطر بمثابة مشكلة كبيرة بسبب طبيعته إذ أنه إجبارى التطفل، ويتم إنتاج اللقاح على النباتات الحية فقط.

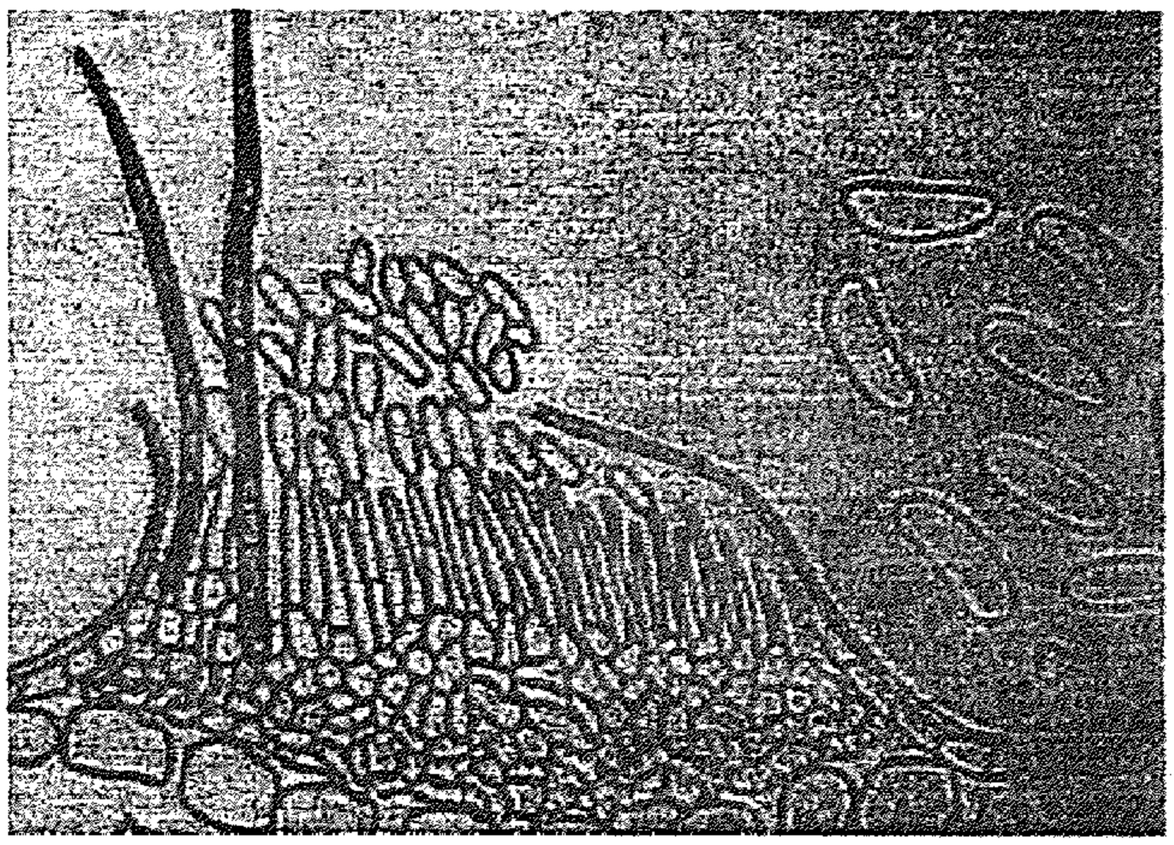
فيتوفثورا بالميفورا Phytophtora palmivora:

ينتمى هذا الفطر إلى الفطريات البيضية، وهو من الفطريات الممرضة للنبات، وينتج من هذا الفطر مستحضر تجارى يسمى DeVine منذ عام (١٩٨١) فى شيكاغو، وقد تم تسجيله لمكافحة حشيشة (Morrenia odorata) strangler vine فى بساتين الموالح بولاية فلوريدا.

كوللیتوتريكوم جوليوسبوريويديس C. gloeosporioides:

يستخدم من هذا النوع تحت نوعين فى المكافحة الحيوية هما: الأول كوللیتوتريكوم جوليوسبوريويديس C. gloeosporioides f. sp. aeschynomene (شكل ٣-٣٨)، وينتج من هذا الفطر مستحضر تجارى يسمى Collego، وقد تم تسجليه لمكافحة حشيشة (Aeschynomene virgini) northern jointvetch فى أركنساس رشًا على

الأوراق كما هو الحال فى مبيدات الحشائشِ الكيميائية، حيث يسبب مرض الأنثراكنوز anthracnose مما يؤدى للإضرار بالحشيشة، ويتميز هذا الفطر بإفراز بعض مواد النمو من الأكسينات auxins فى نفس الوقت والتى تؤثر إيجابيًا على الأرز وفول الصويا حيث تنمو هذه الحشيشة.



شكل (٣ - ٣٨) فطر **Colletotrichum gloeosporioides f.sp. aeschynomene** المستخدم كمبيد فطرى.

أما الثانى فهو كوللليتوتريكوم جوليوسبوريويديس C. gloeosporioides f. sp. malvae، وينتج من هذا الفطر مستحضر تجارى بكندا يسمى BioMal، وقد تم تسجليه لمكافحة حشيشة (round - laced mallow (Malva pusilla Sm. فى كندا والولايات المتحدة الأمريكية فى عام (١٩٩٢)، وهو أول مبيد للحشائش يتم تسجيله بكندا لمكافحة هذه الحشيشة فى (٨) محاصيل حقلية، والمستحضر يتميز بضراوته المرضية، ومداه العائلى الضيق.

ويلخص جدول ٣-٣ بعض المنتجات والممرضات الفطرية وآفات الحشائش التى تستهدفها.

جدول (٣ -٣) بعض المنتجات والممرضات الميكروبية والحشائش المستهدفة.

المنتج	الممرض الميكروبى	الحشيشة المستهدفة
Lubao	Colletotrichum gloeosporioides f. sp. cuscutae	Dodder (Cuscata spp.) in soybeans
DeVine	Phytophthora palmivora	Strangler vine (Morrenia odorata) in citrus orchards
Collego	Colletotrichum gloeosporioidesf. sp. aeschynomene	Northern joint vetch (Aeschynomene virginica) in rice and soybeans

Sickle pod & coffee senna (Cassiaspp.) in soybeans & peanuts	Alternaria cassiae	CASST
Yellow nutsedge (Cyperus esculentus) in soybeans, sugarcane, maize, potato and cotton	Puccinia canaliculata	Dr BioSedge
Round-leaved mallow (Malva pusilla) in wheat, lentils and flax	Colletotrichum gloeosporioidesf. sp. malvae	BioMal
Acacia species in native vegetation and water supplies	Cylindrobasidium leave	Stumpout
Woody weeds, e.g. black cherry (Prunus serotina) in plantation forests	Chondrostereum purpureum	Biochon
Turf grass (Poa annua) in golf courses	Xanthomonas campestris pv poae	Camperico:
Hakea gummosis and H. sericeain native vegetation	Colletotrichum acutatum	Hakatak:
Alders, aspen and other hard-woods in rights of way and forests	Chondrostereum purpureum	Chontrol = Ecoclear
Deciduous tree species in rights of way and forests	Chondrostereum purpureum	Myco - Tech
Dodder species: in agriculture, dry bogs and ornamental nurseries	Smolder: Alternaria destruens	
Persimmon (Diospyros virginiana) trees in rangelands	Acremonium diospyri	
Dyers woad (Isastis tinctoria) in farms, rangeland, waste areas, and roadsides	Woad Warrior: Puccinia thlaspeos	

❖المراجع:

Barton, J., S.V. Fowler, A.F. Gianotti, C.J. Winks, M. de Beurs, G.C. Arnold and G. Forrester (2007). Successful biological control of mist Xower (*Ageratina riparia*) in New Zealand: Agent establishment, impact and beneWts to the native Xora. Biological Control **40**: 370 – 385

Brown, J.F. and H.J. Ogle (1996). Plant parasitic fungi. Fungi of Australia. Vol. **1B**, pp 65 – 93.

Butt, T.M., C.W. Jackson and N. Magan (2001). Fungi as Biocontrol Agents. CABI.

Charudattan, R. (2001). Biological control of weeds by means of plant pathogens:

Significance for integrated weed management in modern agro-ecology. BioControl **46**: 229 – 260.

Connick, Jr., W.J., D.J. Daigle, A.B. Pepperman, K.P. Hebbar, R.D. Lumsden, T.W. Anderson and D.C. Sands (1998). Preparation of stable granular formulations containing *Fusarium oxysporum* pathogenic to narcotic plants, Biol. Control. **13**:79 – 84.

Daniel, J.T.; G.E. Templeton, R.J. Smith and W.T. Fox (1973). Biological control of northern jointvetch in rice with an endemic fungal disease. Weed Sci. **21**:303 – 307.

Frantzen, J., N.D. Paul and H. Müller-Schärer (2001). The system management approach of biological weed control: some theoretical considerations and aspects of application. BioControl **46(2)**: 139 – 155.

Hohn, T.M. (1997). Fungal Phytotoxins: Biosynthesis and Activity. *In*: The Mycota V: 129-144. (Eds.) G.C. Carroll and P. Tudzynski, Springer.

Morin, L., R.L. Hill and S. Matayoshi (1997). Hawaii's successful biological control strategy for mist flower (*Ageratina riparia*) -can it be transferred to New Zealand? BiocontrolNews and Information.**18(3)**: 77N–88N.

Praveena, R. and A. Naseema (2004). Fungi occurring on water hyacinth [*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms] in Kerala. J. Tropical Agric. **42(1-2)**: 21 - 23.

Robson, G.D., P. van West and G.M. Gadd (eds.) (2007). Exploitation of Fungi. CUP.

Rosskopf, E.N., R. Charudattan and J.B. Kadir (1999). Use of Plant Pathogens in Weed Control (1999). *In*: Handbook of Biological Control, Academic Press, San Diego, CA p. 891-918.

Setliff, E.C. (2002). The wound pathogen *Chondrostereum purpureum*, its history and incidence on trees in North America. Aust. J. Bot. **50**: 645–651.

TeBeest, D.O. (ed.) (1991). Microbial Control of Weeds. Chapman and Hall. New York. 284 p.

TeBeest, D.O. and G.E. Templeton (1986). Commercialization of Collego: an industrialist's view. Weed Sci. **34**:24 –25.

الفصل السادس
المبيدات الفطرية المستخدمة في مكافحة النيماتودا

❖مقدمة:

ثمة اهتمام شديد بالنيماتودا nematode – الديدان الشعبانية eelworms – التى تتطفل على النباتات الاقتصادية لما تسببه من أضرار وخسائر فادحة فى إنتاجية النباتات، وتعتبر مكافحة النيماتودا المتطفلة على النباتات الاقتصادية بيولوجيًا بمثابة مدخل بديل للمكافحة بالوسائل التقليدية ؛ حيث يقى من مخاطر التلوث الناشئ عن استخدام المكافحة الكيماوية، ويستعمل الكثير من الفطريات فى المكافحة البيولوجية للنيماتودا، ونظرًا لوجود الفطريات مصاحبة للنيماتودا فى منطقة جذور النباتات فإن الفطريات تقضى على كثير من النيماتودا بشكل مستمر.

ولقد عرف استخدام عناصر من الفطريات فى مكافحة النيماتودا منذ زمن بعيد، ففى عام (١٨٨٨) أشار الألمانى زويف Zopf إلى استخدام الفطر الناقص أرثروبوترايس أوليجوسبورا Arthrobotrys oligospora فى مكافحة ديدان النيماتودا، ويلعب هذا الفطر حاليًا دورًا حيويًا هامًا فى اصطياد النيماتودا مثل النيماتودا الممرضة للموالح بصفة خاصة.

كذلك فى عام (١٩٣٣) أوضح شيرباكوف Sherbakoff أن الفطر الناقص أنيولوسبوريم نيماتوجينم Annulosporium nematogenum يكون جراثيم كونيدية ذات شكل حلقى ، تنبت هذه الجراثيم إلى ميسيليوم يخترق ديدان النيماتودا مما يؤدى إلى القضاء عليها. بعد ذلك تم التعرف على عدة عشرات من الأنواع الفطرية تحصل على غذائها من الهجوم على ديدان النيماتودا وقتلها، كما هو الحال فى الفطر كاتيناريا أنجويللیلا Catenaria anguillulae، وهو أحد أفراد الفطريات الكتيريدية Chytridiomycota.

وفى عام (١٩٣٧) أجريت بهاواى محاولات عملية لاستخدام الفطريات المتطفلة فى مكافحة نيماتودا تعقد الجذور هيتيروديرا ماريونى Heterodera marioni فى الأناناس عن طريق التسميد الأخضر بأوراق الحشائش والذى يزيد أعداد النيماتودا ومن ثم تزداد

أعداد الفطريات المتطفلة عليها، وتقلل من أعدادها، ومن المعتقد أن التسميد الأخضر يحث نشاط الفطريات خارجية التطفل على النيماتودا، بالإضافة إلى أن استخدامه يحفظ كثير من التوازنات الطبيعية بين الكائنات الحية وبعضها البعض. وفى عام (١٩٣٩) أدى حقن التربة المزروعة بالأناناس أيضًا بفطر موناكروسبوريم اليبسوسبورم Monacrosporium ellipsosporum المتطفل على النيماتودا إلى الحد من أعداد النيماتودا هيتيروديرا ماريونى H. marioni بشكل كبير.

ومن المعروف عن الفطريات التى تهاجم ديدان النيماتودا لتتغذى عليها أنها تكثر فى الجزء العلوى من التربة الزراعية، ويعزى ذلك إلى كثرة المواد العضوية المتحللة، ومعظم هذه الفطريات تتبع الفطريات الناقصة من جنس داكتيليلا Dactylella وجنس أرثروبوترايس Arthrobotrys وهما من تحت رتبة المونيليات Moniliales.

ويستخدم فطر داكتيليلا اوفيباراسيتيكا D. oviparasitica فى المكافحة الحيوية حيث يتطفل على ويحلل بيض النيماتودا الممرضة Meloidogyne التى توجد على جذور شجيرات الخوخ.

وتستخدم الأنواع الفطرية ارثروبوترايس أوليجوسبورا A. oligospora وجليوكلاديم روزيم Gliocladium roseum وياسيلوميسز ليلاسينس Paecilomyces lilacinus وفيرتيسيليم كلاميدوسبوريم Verticillium chlamydosporium فى مكافحة بعض النيماتودا الممرضة لكثير من النبات من أجناس Heterodera و Meloidogyne.

ويستخدم فطر التربة تريكودرما هارزيانم Trichoderma harzianum فى عملية المكافحة الحيوية لنيماتودا تعقد الجذور على بعض الخضروات كالطماطم، كما يستخدم فطر التربة اكريمونيم ستريكتم Acremonium strictum فى مكافحة النيماتودا الكلوية Rotylenchulus reniformis.

❖آليات الفطريات فى مكافحة النيماتودا:

هناك عدة آليات توظفها الفطريات لمكافحة النيماتودا سواء بصورة مباشرة أو غير مباشرة وذلك على النحو التالى:

١ – تتغذى الفطريات على النيماتودا بشكل مباشر بالتطفل على أطوارها اليرقية المتحركة، وبعض هذه الفطريات متطفلات داخلية endozoic parasites، والبعض الآخر متطفلات خارجية ectoparasites (مفترسات predators)، وفى الفطريات داخلية التطفل لا تنمو هيفاتها خارج النيماتودا المصابة، وعندما تلتصق جراثيمها الكونيدية بكيوتكل النيماتودا، أو عندما تبتلعها النيماتودا، تنبت وتخترق الأنسجة وتحللها وتنمو الهيفات بداخل أحشائها، بينما تتكون الحوامل الكونيدية خارج جسمها، حاملة جراثيم كونيدية تصيب مزيد من النيماتودا، أما الفطريات خارجية التطفل فتكون نظام هيفى يحمل مصائد – مثل الهيفات والعقد والشباك اللاصقة والحلقات المنقبضة وغير المنقبضة – تقنص بها ضحاياها، ثم تخترقها هيفاتها، وتمطرها بإنزيماتها التى تحفز تفاعلات تحليلها.

٢ – تقتل بعض الفطريات ضحاياها من النيماتودا بإفراز السموم التى تشل بها حركة النيماتودا وتضعف مقاومتها ثم تهاجمها وتقضى عليها، وقد تؤثر بعض الفطريات على نشاط النيماتودا من خلال إفراز الأمونيا التى تفقدها القدرة على الحركة. ومن ناحية أخرى تفرز بعض الفطريات سواء داخلية أو خارجية التطفل مضادات حيوية تساعدها فى تثبيط نمو الميكروبات الموجودة داخل فرائسها من النيماتودا، وقد تنتشر هذه المضادات الحيوية إلى خارج كيوتكل النيماتودا لتثبط نمو الميكروبات الأخرى الموجودة حول جسمها.

٣– تتنافس الفطريات غير الممرضة للنبات مع النيماتودا فى منطقة المحيط الجذرى وتقلل من فرص تكاثرها وتزايدها ومعظم هذه الفطريات تستخدم كعوامل حيوية.

٤ – تدمير مواقع التغذية للنيماتودا المقيمة بالجذور.

٥ – تحسن الفطريات وخاصة فطريات الميكوريزا من نمو النباتات المصابة بالنيماتودا ومن ثم تؤثر على تطور النيماتودا.

❖ الفطريات الهامة فى مكافحة النيماتودا:

تصنف الفطريات ذات الأهمية فى المكافحة الحيوية لآفات النيماتودا التى تتطفل على النباتات إلى ما يلى:

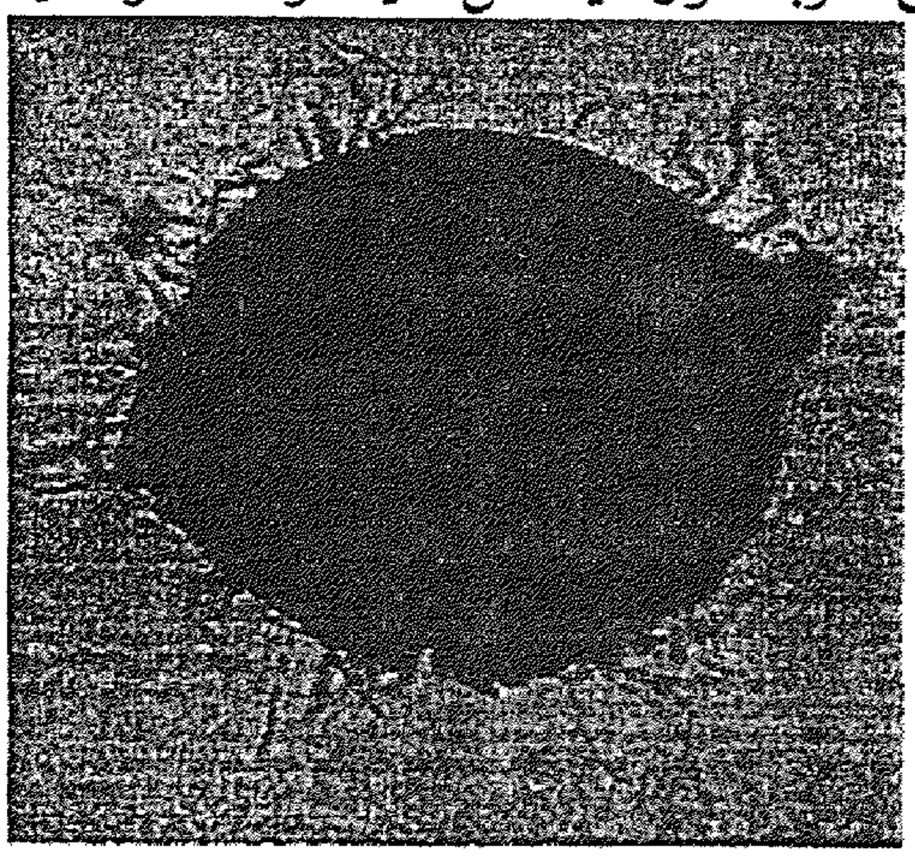
١ - فطريـات داخليـة التطفـل Endo-Parasitic Fungi:

توجد أفراد هذه المجموعة فى التربة الزراعية، إلا أن نموها بالتربة يكون محدودًا، وهى تكون جراثيم لزجة ساكنة، وتصيب هذه الفطريات ديدان النيماتودا من خلال التصاق جراثيمها الكونيدية بالكيوتكل لتتطفل داخليًا وبشكل إجبارى على النيماتودا، حيث تكون هيفات بداخل جسم النيماتودا، ولا تظهر هيفاتها خارج أجسام عوائلها من النيماتودا، ومن أمثلة هذه الفطريات فطريات جنس فيرتيسيليم Verticillium spp. وفطر هيرسيوتيلا رهوزسيلينسيز Hirsutella rhossiliensis وفطر دريشاميريا كونيوسبورا Drechmeria coniospora وهى من الفطريات الناقصة.

وقد تحدث الإصابة على أثر تناول النيماتودا للجراثيم الكونيدية للفطريات، كما هو الحال فى فطر هاربوسبوريم انجيواليوليا Harposporium anguillulae، حيث تنبت الكونيديات وتخترق أنبوبة الإنبات جدار القناة الهضمية، ثم تتكون هيفات تغذية تنمو بنسيج العائل، حيث تنطلق حوامل كونيدية خارج الجسم حاملة الجراثيم الكونيدية.

وقد تكون بعض الفطريات جراثيم هدبية سابحة zoospores، تنجذب للنيماتودا وتتكيس على سطحها، كما هو الحال فى أفراد جنس ميزوسيتيم Myzocytium spp. وأفراد جنس لاجينيديم Lagenidium spp. وهما من الفطريات البيضية، والنوع كاتيناريا انجيواليوليا Catenaria anguillulae وهو من الفطريات الكتيردية.

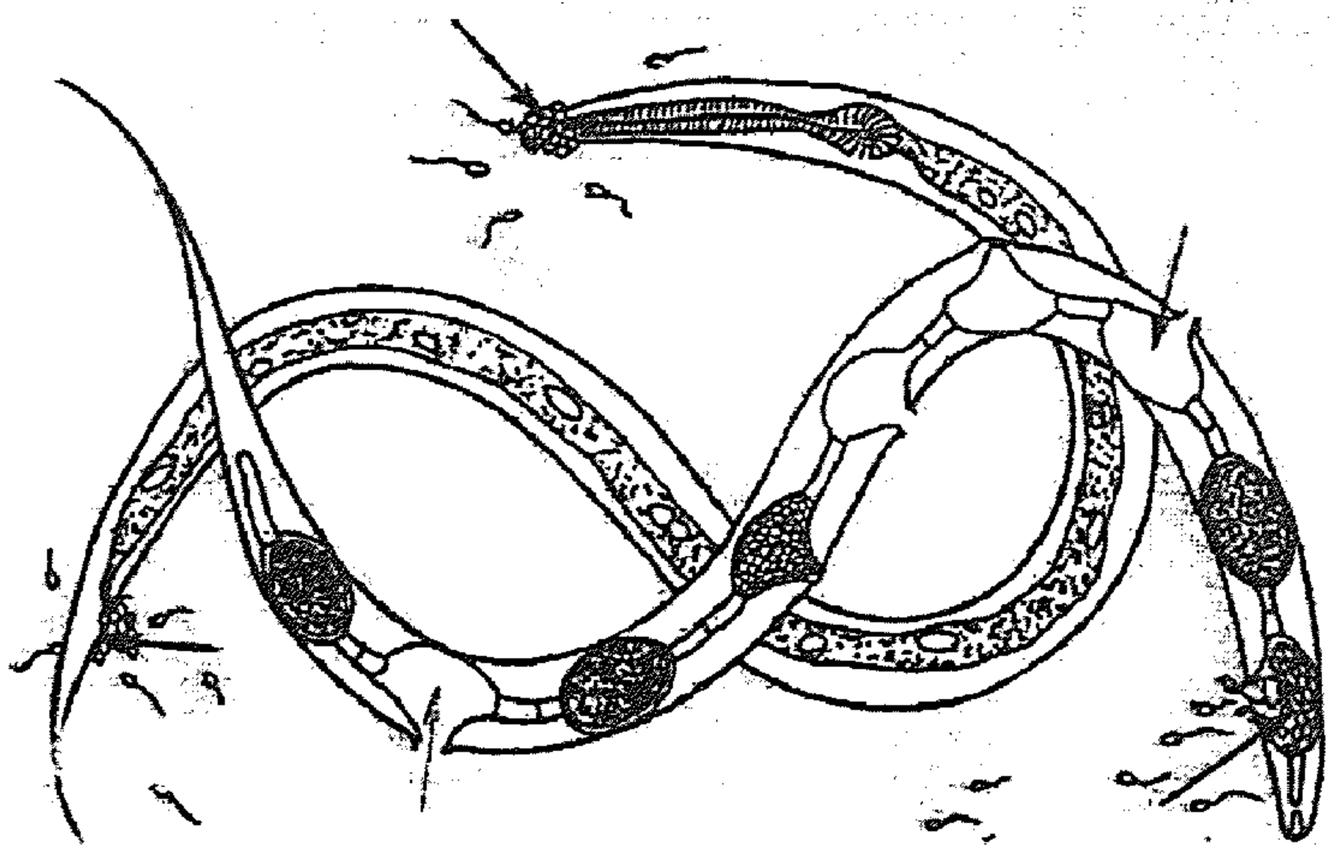
وتصيب بعض الفطريات كالفطر البيضى نيماتوفيثورا جينوفيلا Nematophthora gynophila (شكل ٣- ٣٩) النيماتودا القاطنة فى التربة الزراعية مثل النيماتودا الحوصلية التى تصيب نباتات الغلال عندما تصل إلى سطوح



شكل (٣- ٣٩) أنابيب فطر N. gynophila خارجة من حوصلة نيماتودا.

ويعتبر فطر كاتيناريا انجيواليوليا Catenaria anguilluilae أحد الفطريات الكيتريدية داخلية التطفل على النيماتودا، ويكون هذا الفطر جراثيم هدبية سابحة تسبح وراء النيماتودا (شكل٣-٤٠)، وتفقد هذه الجراثيم أهدابها بمجرد وصولها إلى كيوتكل النيماتودا، وتتحوصل بالقرب من فتحات العائل النيماتودى الطبيعية كالفم وفتحات الإخراج والتناسل، وتنبت الجراثيم وتطلق عضو اختراق لفتحات أو كيوتكل النيماتودا، حيث ينمو الفطر بداخل جسم النيماتودا محللًا أحشائها الداخلية التى يقوم بالتغذية عليها.

وتشمل الفطريات داخلية التطفل أعداد كبيرة من فطريات أخرى مثل أنواع الجنس البيضى ميزوسيتيوبسيس spp Myzocytiopsis (كالنوع ميزوسيتيوبسيس فرميكولا M. vermicola الذى وُصف كأول نـوع يتطفل على النيماتودا) والنوع ميريا كونيوسبورا Meria coniospora (وهو من الفطريات الناقصة).



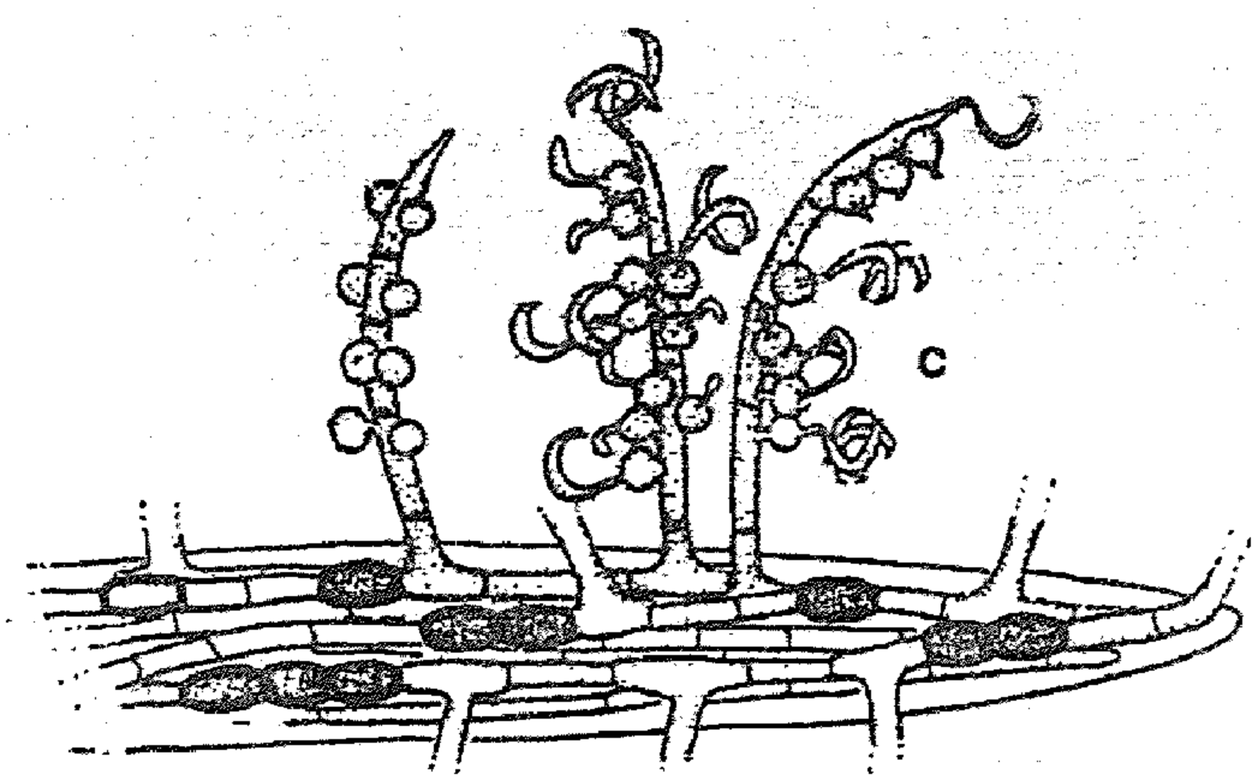
شكل (٣ - ٤٠) فطر C. angullulae المتطفل على النيماتودا

ومن أمثلة الفطريات داخلية التطفل على النيماتودا والتابعة للفطريات البيضية فطر ميزوسيتيم لنتيكالير Myzocytium lenticalare وفطر ميزوسيتيم انومالم M. anomalum وفطر ميزوسيتيم هيوميكولا M. humicola وهى فطريات تكون جراثيم هدبية سابحة تصل بها إلى آفات النيماتودا حيث تتطفل عليها.

ومن أهم الفطريات الزيجية داخلية التطفل على النيماتودا فطر ميريستاركم استروسبيرمم Meristacrum asterospermum، ويكون هذا الفطر جراثيم كونيدية تلتصق بكيوتيكل

النيماتودا، وتنبت هذه الجراثيم مرسلة هيفات اختراق دقيقة تنمو من خلال كيوتيكل العائل النيماتودى، وتنمو هذه الهيفات داخل أحشاء النيماتودا.

وتقسم الفطريات الناقصة الداخلية التطفل على النيماتودا إلى مجموعتين، المجموعة الأولى تكون جراثيم لاصقة adhesive spores تصيب بها النيماتودا مثل أجناس فيرتيسليم Verticillium وسيفالوسبوريم Cephalosporium وميريا Meria كالنوع ميريا كونيوسبورا M. coniospora، وعندما تلامس جراثيم هذا النوع منطقة الرأس تعلق بها وتخترق الكيوتكل من هذه المنطقة، وخاصة منطقة الفم التى تتحلل ومن ثم تتوقف النيماتودا عن التغذية، وما إن تخترق الكونيديات الكيوتكل تحدث العدوى وتموت النيماتودا (شكل ٣-٤١).



شكل (٣- ٤١) جوامل كونيدية لفطر Meria coniospora تخرج من كيوتكل النيماتودا المتمزقة

أما المجموعة الثانية فتكون جراثيم محللة ingested spores مثل فطر هاربوسبوريم انجيواليوليا Harposporium anguillulae الذى يكون جراثيم محللة تحلل أنسجة الأحشاء الداخلية للنيماتودا وتتغذى عليها، وتبتلع النيماتودا هذه الجراثيم المنتشرة فى المادة العضوية المتحللة وفى التربة الزراعية، وتخترق الجرثومة منطقة عضلات مرئ النيماتودا، ثم تنبت مرسلة أنبوب إنبات يخترق عضلة المرئ، وتنمو الهيفات داخل عضلات المرئ، ومنها لداخل فراغ جسم النيماتودا حيث تحلل الأحشاء الداخلية.

ويعتبر فطر نيماتوكتومس ليوسبورس Nematoctomus leiosporus أحد الفطريات البازيدية داخلية التطفل على النيماتودا، ويصطاد هذا الفطر النيماتودا الحرة بواسطة جراثيم لاصقة adhesive spores، تلتصق الجراثيم على كيوتيكل النيماتودا وتخترقه، حيث تنمو هيفات الفطر بداخل أحشاء العائل النيماتودى المصاب مخترقة الأنسجة.

واليرقات والإناث البالغة، وترجع فعالية هذه السلالة فى المكافحة الحيوية إلى قدرتها التنافسية العالية فى التربة فى الجو الدافئ، وإلى تحليلها للكيتين، إلى جانب إنتاجها الضخم من الجرائيم التى تستخدم كلقاح.

ويعتبر هذا الفطر غير سام أو ممرض للقوارض واللافقاريات، فعلى عكس معظم سلالات الفطر الأخرى لا تنتج هذه السلالة سمومًا تضر بالكائنات الحية الأخرى، كما تنمو هذه السلالة معمليا بشكل جيد على(٢١- ٢٧ °م)، ولاتتحمل هذه السلالة درجة حرارة الجسم البشرى، وهى غير ضارة بالإنسان والبيئة، ومن الطبيعى أن تعرض الإنسان لهذا المبيد الحيوى يكون فى أدناه بسبب استخدامه بشكل مباشر فى التربة الزراعية.

ويباع مستحضر تجارى من فطر P. lilacinus تحت مسمى بيوكون Biocon لمكافحة النيماتودا الحوصلية ونيماتودا تعقد الجذور فى الفلبين منذ عام ١٩٨٣، وهناك مستحضر آخر تحت مسمى Soybean Root Bio-Protectant يستعمل فى مكافحة النيماتودا الحوصلية بفول الصَويا H. glycines فى الصين، ويحتوى هذا المستحضر على فطر P. lilacinus ومود عضوية ومستخلص نباتى مضاد للنيماتودا وأسمدة معدنية، ويؤدى استخدامه إلى اختزال كثافة النيماتودا وزيادة المحصول، ومع أن هذا الفطر قد تم عزله من عيون الإنسان إلا أنه ليس هناك دليل على أن هذه النيماتودا ممرضة للإنسان.

جنس أرثروبوترايس Arthrobotrys:

تم تجهيز مستحضر من فطر أرثروبوترايس روبيستس Arthrobotrys robustus تحت المسمى التجارى Royale ٣٠٠، يستخدم هذا المستحضر فى مكافحة النيماتودا Ditylenchus myceliophagous التى تواجد فى مراقد فطر عيش الغراب.

كما يوجد من نفس الجنس مستحضر تجارى تحت مسمى Royale ٣٥٠، ويستخدم هذا المستحضر فى مكافحة نيماتودا Meloidogyne التى تصيب نباتات الطماطم.

ويلخص جدول (٣-٤) بعض التراكيب المسئولة عن الإصابة فى بعض الفطريات الصائدة للنيماتودا.

جدول (٣-٤) التراكيب المسئولة عن الإصابة فى بعض الفطريات الصائدة للنيماتودا.

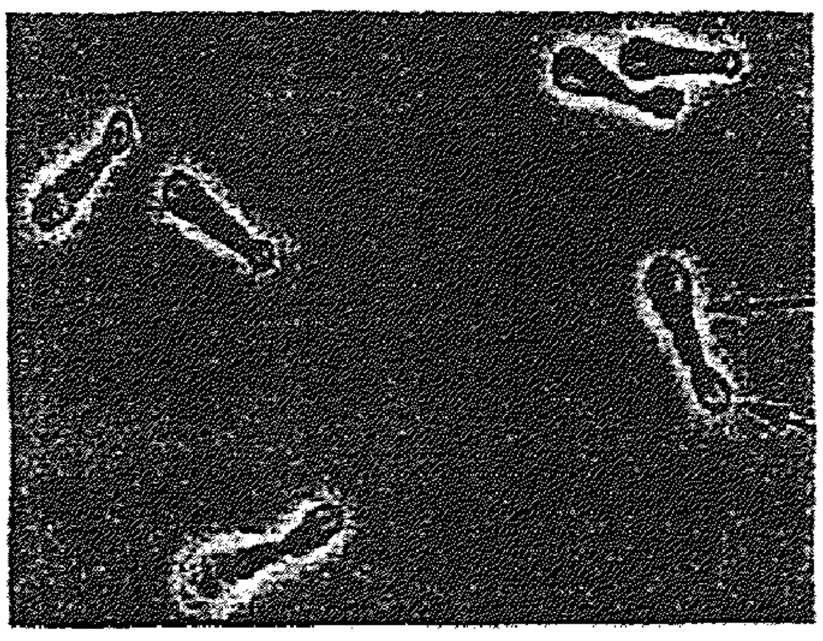
التركيب	النـــوع	القسم
الشباك اللاصقة	Arthrobotrys oligospora	الفطريات الناقصة
	Arthrobotrys conoides	

	Arthrobotrys musiformis	
	Arthrobotrys superba	
	Duddingtonia flagrans	
الفطريات الناقصة	Monacrosporium gephyropagum	الفروع اللاصقة
الفطريات الناقصة	Monacrosporium ellipsosporum	العقد اللاصقة
	Monacrosporium haptotylum	
الفطريات الناقصة	Arthrobotrys dactyloides	الحلقات الخانقة
	Arthrobotrys brochopaga	
الفطريات البازيدية	Nematoctonus concurrens	العقد والجراثيم اللاصقة
الفطريات البازيدية	Nematoctonus leiosporus	الجراثيم اللاصقة
الفطريات الناقصة	Drechmeria coniospora	
	Hirsutella rhossoliensis	
الفطريات الناقصة	Harposporium anguillulae	الجراثيم الهاضمة
الفطريات الكتيريدية	Catenaria anguillulae	الجراثيم المتحركة
الفطريات الزيجية	Stylopage hadra	الهيفات اللاصقة
	Cystopage cladospora	
الفطريات البازيدية	Pleurotus ostreatus	القطيرات السامة

كذلك يستخدم النوع الفطرى ارثروبوترايس سوبربا Arthrobotrys superba بشكل تجارى فى مكافحة نيماتودا تعقد الجذور فى الطماطم Meloidgyne.

النـوع دريشميريا كونيوسبورا Drechmeria coniospora:

يستخدم مستحضر تجارى من فطر دريشميريا كونيوسبورا Drechmeria coniospora فى مكافحة نيماتودا تعقد الجذور فى الطماطم Meloidgyne، حيث تلتصق المادة الفعالة وهى الجراثيم الكونيدية للفطر بالنيماتودا التى يتطفل عليها داخليًا (شكل ٣-٥٦).



جراثيم كونيدية

برعم لاصق

شكل (٣-٥٦) فطر دريشميريا كونيوسبورا D. coniospora

❖ المراجع:

Abiko, S.; M. Saikawa and Ratnawati (2005). Capture of mites and rotifers by four strains of *Dactylella gephyropaga* known as a nematophagous hyphomycete. Mycosci. **46(1)**: 22-26.

Ahman, J.; B. Ek; L. Rask and A. Tunlid (1996). Sequence analysis and regulation of a cuticle degrading serine protease from the nematophagous fungus *Arthrobotrys oligospora*. Microbiol. **142**: 1605–1616.

Ahre´n, D.; B.M. Ursing and A. Tunlid (1998). Phylogeny of nematodetrapping fungi based on 18S rDNA sequences. FEMS Microbiol. Lett. **158**: 179–184.

Anke, H.; M. Stadler; A. Mayer and O. Sterner (1995). Secondary metabolites with nematicidal and antimicrobial activity from nematophagous fungi and Ascomycetes. Canadian J. Botany **73** (supplement 1): S932–S939.

Atkins, S.D., L. Hidalgo-Diaz and I.M. Clark (2003). Approaches for monitoring the release of *Pochonia chlamydosporia*, a biocontrol agent of root-knot nematodes. Mycological Res., **107**: 206-212.

Atkins, S.D., T.H. Mauchine, B.R. Kerry and P.R. Hirsch (2004). Development of transformation for the nematophagous fungus *Pochonia chlamydosporia*. Mycological Res., **168**: 654-661.

Bae, Y.S and G.R Kundsen (2001). Influence of a fungus –feeding nematode on growth and biocontrol efficacy of *Trichoderma harzianum*, Biological control, **91**: 301-306.

Birchfield, W. (1960). A new species of catenaria parasitic on nematodes of sugarcane. Mycopathol., **13(4)**: 331-338.

Bonants, P. J. M., P. F. L. Fitters, H. Thijs, E. den Belder., C. Waalwijk and J. W.D.M. Henfling (1995). A basic serine protease from *Paecilomyces lilacinus* with biological activity against *Meloidogyne hapla* eggs. Microbiol., **141**:775- 784.

Dijksterhuis, J.; M. Veenhuis; W. Harder and B. Nordbring-Hertz (1994). Nematophagous fungi: physiological aspects and structure–function relationships. Advances in Microbial Physiol. **36**:111–143.

Gomes Carniero, R. M. D. and J. Cayrol (1991). Relationship between inoculum density of the nematophagous fungus *Paecilomyces lilacinus* and control of *Meloidogyne arenaria* on tomato. Revue Nématologique, **14(4)**, 629 - 634.

Jaffee, B.; R. Phillips; A. Muldoon and I. M. Mange (1992). Density-dependent host–pathogen dynamics in soil microcosms. Ecol. **73**: 495–506.

Jansson, H-B; A. Tunlid and B. Nordbring-Hertz (1997). Biological control: nematodes. *In*: Anke T (ed.) Fungal Biotechnology, pp. 38–50. Weinheim, Germany: Chapman and Hall.

Jatala, P. (1986). Biological control of plant-parasitic nematodes. Annual Revue of Phytopathol., **24**: 453 - 489.

Jatala, P., R. Kaltenbach and M. Bocangel (1979). Biological control of *Meloidogyne incognita* acrita and *Globodera pallida* on potatoes. J. Nematol., **11:** 303.

Kerry, B.R. and B. A. Jaffee (1997). Fungi as biological control agents for plant parasitic nematodes. in The Mycota K. Esser and P. A. Lemke, eds., **Vol. IV**, pp. 204-218. Springer, Verlag Berlin Heidelberg.

Khan, A., K.L. Williams and H.K.M. Nevalainen (2004). Effects of *Paecilomyces lilacinus* protease and chitinase on the eggshell structures and hatching of *Meloidogyne javanica* juveniles Biological Control **31**: 346–352.

Money, N.P. (1998). Mechanics of invasive fungal growth and the significance of turgor in plant infection. In: Molecular genetics of host-specific toxins in plant disease, Kohmoto K. and Yoder O. C. (Eds), Kluwer Academic Publishers, Netherlands. pp 261 - 271.

Nordbring-Hertz, B (1988). Ecology and recognition in the nematodenematophagous fungus system. *In*: Marshall KC (ed.) Advances in Microbial Ecol. **10**: 81–114.

Persmark, L and B. Nordbring-Hertz (1997). Conidial trap formation of nematode-trapping fungi in soil and soil extracts. FEMS Microbiol. Ecol. **22**: 313–324.

Persmark, L; A. Banck and H-B. Jansson (1996). Population dynamics of nematophagous fungi and nematodes in an arable soil: vertical and seasonal fluctuations. Soil Biol. Biochem. **28**: 1005–1014.

Rose´n S.; K. Sjollema; M. Veenhuis and A. Tunlid (1997). A cytoplasmic lectin produced by the fungus *Arthrobotrys oligospora* functions as a storage protein during saprophytic and parasitic growth. Microbiol. **143**: 2593–2604.

Rubner, A. (1996). Revision of predacious hyphomycetes in the *Dactylella-Monacrosporium* complex. Studies in Mycol. **39**:1–134.

Sharon, E., M. Bar Eyal, and I. Chet, 2001. Biological control of the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* by *Trichoderma harzianum*. Phytopathol., **91**: 687- 692.

Sikora, R.A. (1992). Management of the antagonistic potential in agricultural ecosystems for the biological control of plant parasitic nematodes. Annual Review of Phytopathol. **30**: 245- 247.

Stirling, G.R. (1991). Biological Control of Plant Parasitic Nematodes. CABI Publishing, UK. pp 282.

Stirling, G.R. and L.M. West (1991). Fungal parasites of root-knot nematode eggs from tropical and sub-tropical regions of Australia. Australasian Plant Pathol., **20**:149- 154.

Tunlid, A.; H-B Jansson and B. Nordbring-Hertz (1992). Fungal attachment to nematodes. Mycol. Res. **96**: 401–412.

Vizcaine, J.A, L Sanz, F Basillio-Vicente, M.R. Hermosa and E. Monte (2005). Screening of *Trichoderma* isolates representing three *Trichoderma sections*. Mycological Res., **109**: 1397-1406.

الفصل السابع
المبيدات الفطرية المستخدمة في مكافحة الحلم

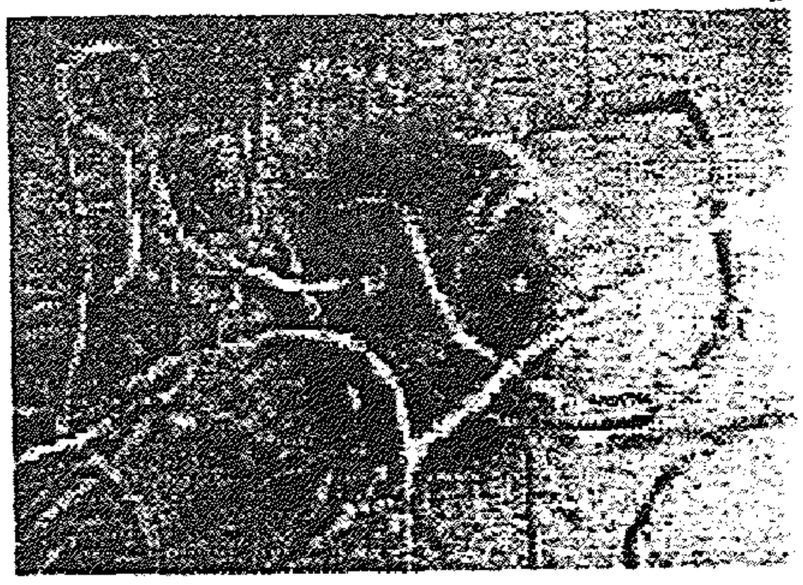
مقدمة:

لقد تركز الاهتمام فى السنوات الأخيرة على الحلم نظراً للأضرار التى يحدثها بالنباتات الاقتصادية، ومن ناحية أخرى فقد نجم عن استعمال المبيدات الكيميائية قتل وتقليل أعداد وأنواع الأعداء الحيوية مما أدى إلى زيادة الإصابة بالحلم. يتغذى الحلم على العصارة النباتية وهذا من شأنه أن يضعف النباتات ويشوه ثمارها ويقلل محصولها، وفى العادة تظهر على أوراق النباتات المصابة بالحلم بقع ذات لون بنى أو برونزى، وتتسع هذه البقع حتى تلتحم وتغطى الأوراق تماماً باللون البنى مما يؤدى إلى تساقطها، وهناك أعراض أخرى مثل تكوين الأورام والبثرات والأصداء. ولا يعرف من الفطريات المستخدمة فى مكافحة الحلم سوى أنواع قليلة وفى كثير من الحالات اقتصر استخدامها على الاختبارات التجريبية فى بلدان كثيرة حول العالم.

المبيدات الحيوية:

فطر هيرسيوتلا ثومبوسونياى Hirsutella thompsonii:

يتبع فطر هيرسيوتلا ثومبوسونياى H. thompsonii (شكل ٣-٥٧) الفطريات الناقصة، ويصيب هذا الفطر الحلم فقط بالمرض الذى يقضى عليه تماماً.

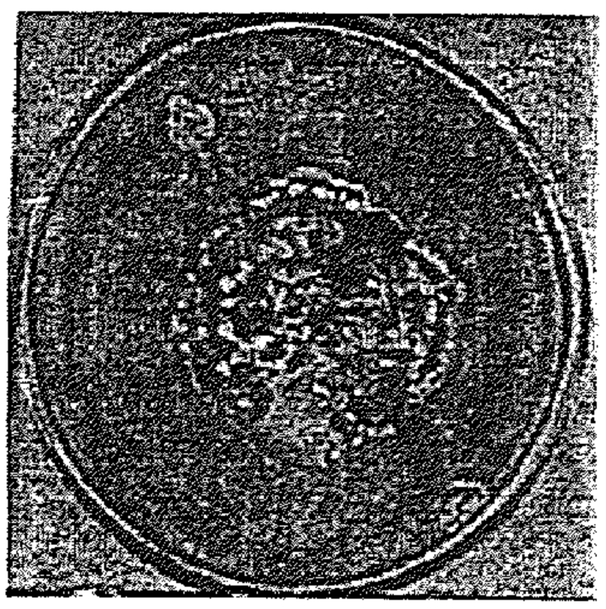


شكل ٣- ٥٧. فطر هيرسيوتلا ثومبوسونياى H. thompsonii.

وينتج الفطر بكميات كبيرة ليستخدم فى المكافحة الحيوية لعدد كبير من أنواع الحلم مثل حلم صدأ الموالح Phyllocoptruta oleivora (Fishmead)، وحلم براعم الموالح Eriophyes sheldone وحلم أزهار جوز الهند E. guerreronis.

ويعتبر هذا الفطر أداة جيدة للمكافحة الحيوية، ومعظم أفراده ممرضة للافقاريات، وقد أنتجت معامل أبوت Abbot فى أمريكا من هذا الفطر مستحضر تجارى يعرف باسم My car، وهو مستحضر يتميز بالثبات، وهو عبارة عن مسحوق من قطع هيفية وجراثيم كونيدية، وهو مسحوق قابل للبلل تعامل به سطوح أوراق النباتات.

ويكون هذا الفطر أعداد ضخمة من الجراثيم الكونيدية أثناء نموه على البيئات الصلبة (شكل ٣-٥٨)، وينتج لقاح هذا الفطر على مرحلتين، فى المرحلة الأولى يتم إنماء الفطر فى وسط نمو سائل، وفى المرحلة الثانية ينمى الفطر على أوساط نمو صلبة تحت الظروف الهوائية.



شكل ٣-٥٨. فطر H. thompsonii نامى فى طبق بترى.

وتستطيع بعض سلالات هذا الفطر النمو فى أوساط صناعية سائلة لإنتاج لقاح تجارى لمكافحة حلم جوز الهند، ولاشك أن ذلك سوف يسهل من الإنتاج التجارى للقاح بشكل كبير.

المراجع:

Maimala, S. (2004). Screening strains of Hirsutella thompsonii (FISHER) for mass production by solid state fermentation technology. Ph.D. Thesis, Kasetsart Univ., Bangkok.

Maimala, S., A. Tartar, D. Boucias and A. Chandrapatya (2002). Detection of the toxin Hirsutellin A from Hirsutella thompsonii. J. Invertebrate Pathol. 80:112- 126.

McCoy, C.W. (1981). Fungi: Pest control by Hirsutella thompsonii. In: Burges H.D. (ed.) Microbial Control of Insects, Mites and Plant Diseases. Academic Press, New York, pp 499- 512.

McCoy, C.W. (1996). Pathogens of eriophyoid mites. In: Lindquist E.E., Sabelis M.W. and Bruin J. (eds.) Eriophyoid Mites –Their Biology, Natural Enemies and Control. Elsevier Sci. B.V., Amsterdam, pp.

الباب الرابع

المبيدات الحيوية الفيروسية

الفصل الأول
الفيروسات ومكافحة الآفات

❖مقدمة:

اكتشفت جزيئات الفيروس فى عام ١٩٤٧، وقد عرف استخدامها تجاريًا فى مجال المكافحة الحيوية لدودة اللوز الأمريكية فى الولايات المتحدة الأمريكية منذ عام ١٩٧٥، وتعتبر الفيروسات كأدوات للمكافحة الحيوية ذات فاعلية كبيرة فى هذا المجال الحيوى الهام، وهى موضع ثقة الكثيرين من العاملين فى حقل المكافحة الحيوية بصفة خاصة عن بقية المجاميع الميكروبية الأخرى، إلا أن استخداماتها فى المجالات التطبيقية مازالت محدودة إلى حد كبير على الرغم من أنها أكثر المجموعات الميكروبية اهتمامًا لدى القائمين على أمر المكافحة الميكروبية للآفات.

وقد شهدت السنوات الأخيرة تقدمًا ملحوظًا بالفعل فى كثير من النواحى المتعلقة بعزل وتعريف ومرضية وإكثار واختبار آمان الفيروسات، كما أصبح من الممكن إنتاج الفيروسات بكميات ضخمة للتطبيقات الحقلية، حيث أمكن إنتاج العشرات من المبيدات الحيوية الفيروسية وتوفيرها بشكل تجارى.

❖ماهيـة الفيروسـات؟:

تقع الفيروسات ضمن أصغر الموجودات البيولوجية، حيث تبلغ أحجامها من (٢ - > ٤٠٠) نانومتر، والكثير من جسيمات الفيروسات يصغر عن خلايا معظم البكتيريا القياسية بحوالى (١٠-١٠٠) مرة، ولذلك يتعذر رؤيتها بالمجاهر الضوئية القياسية وقد اقترنت رؤيتها باختراع المجهر الإلكترونى، كما تنفذ من خلال ثقوب المرشحات البكتريولوجية القياسية filtrable التى تمنع مرور معظم البكتيريا، وأقطار ثقوب المرشحات البكتيرية من الصغر بحيث تمنع مرور أى نوع من البكتيريا حيث تصل أقطار الثقوب إلى ٠,٢٢ أو ٠,٢٤ ميكرومتر، ولذلك تستخدم هذه المرشحات عادة فى عمليات تعقيم السوائل، ولاتستطيع الفيروسات أن تنمو

مستقلة بذاتها على البيئات الغذائية الصناعية، إذ تنمو فقط فى خلايا الكائنات الحية الدقيقة وكذلك فى خلايا الحيوانات والنباتات، وتتكاثر الفيروسات فى خلايا مثل هذه الكائنات الحية بعملية التضاعف replication process، حيث يتم من خلال هذه العملية تخليق كثير من النسخ copies – أو المكررات replicates – من كل مكون فيروسى ثم تجميعها لإنتاج ذرية جديدة، ولذلك يشار إلى الفيروسات بأنها متطفلات إجبارية داخل الخلايا obligate intracellular parasites، ويرى البعض أنه طالما أن أدنى متطلبات الحياة لكائن ما أن يمتلك القدرة على مضاعفة نفسه ؛ فإن الفيروسات يمكن اعتبارها كائنات حية دقيقة.

وتفتقر الفيروسات إلى آليـة خلوية خاصة بها لتوليد الطاقة أو لتخليق البروتين للحصول على المواد الغذائية، فهى غير قادرة على القيام بأى ميتابوليزم مستقل، وهى تختلف فى ذلك عن المتطفلات الإجبارية داخل الخلايا من البكتيريات التى تصنف على أنها رايكتسيات Rickettsias وكلاميديات Chlamydias والتى ينقصها واحد أو اثنين فقط من القدرات الميتابوليزمية، ولذلك تعتمد الفيروسات على خلايا عائلها فى أداء مثل هذه الوظائف، إلا أن الفيروسات شأنها فى ذلك شأن خلايا العائل تمتلك المعلومات الوراثية اللازمة للتضاعف والسيطرة على نظم توليد الطاقة وتخليق البروتين بخلايا العائل.

والمادة الوراثية الفيروسية إما حمض د.ن.أ DNA أو حمض ر.ن.أ RNA، ولا تحتوى الفيروسات على كليهما مطلقًا وذلك على عكس خلايا العائل التى تحتوى على كل من حمض د.ن.أ وحمض ر.ن.أ فى آن واحد، يحاط الحامض النووى بغلاف من بروتين شديد التخصص ذات تصميمات مختلفة، يحمى الغلاف المادة الوراثية عندما يكون الفيروس خارج خلية العائل، كما يساعد فى دخول الفيروس فى خلية عائل متخصص آخر، يطلق على جسيم الفيروس الناضج الكامل تركيبيًا اسم الفيريون virion.

ومن الخصائص الأخرى التى تنفرد بها الفيروسات وتتعلق بطبيعتها أنها تسلك سلوك الجزيئات الكيماوية ؛ حيث يمكن تركيز الكثير من الفيروسات النقية فى بلورات crystals تشبه البلورات المتكونة بواسطة أى جزئ عالى التماثل إلا أن الفيروسات فى صورتها البلورية هذه تمتلك القدرة على إصابة الخلايا والتكاثر.

قد تسبب الفيروسات بعض الأمراض على كل أشكال الكائنات الحية أثناء التكاثر فى

خلايا العائل، مثل أمراض البرد والإنفلونزا وشلل الأطفال والجدرى والسرطان والسنط والكلب، وبشكل عام، تعتبر كل الفيروسات غير حساسة للعدد الكبير من المضادات الحيوية antibiotics المتاحة حاليًا مثل البنسلين والستربتوميسين.

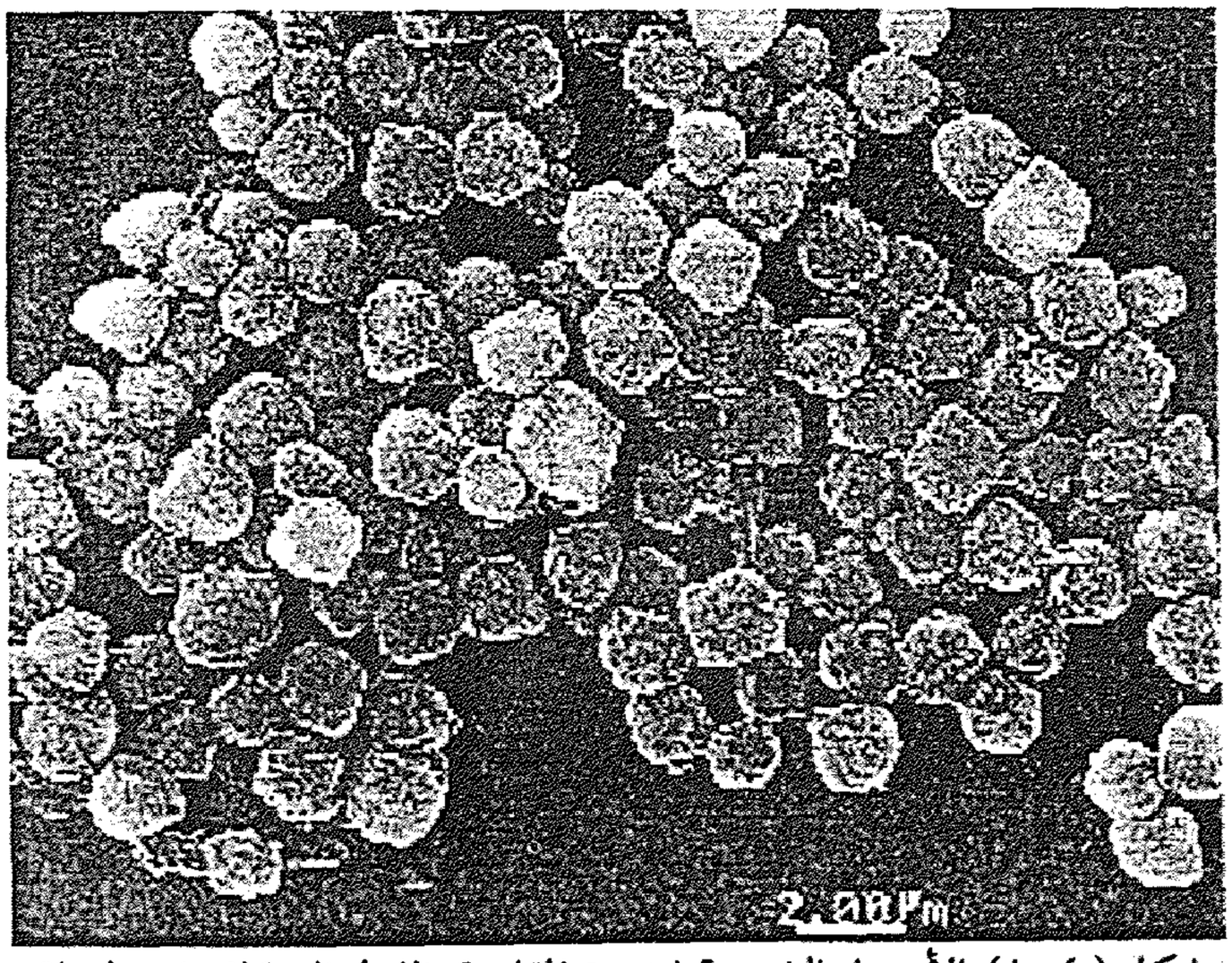
❖المبيدات الفيروسية للآفات:

هناك ما يربو على ٥٠٠ فيروس تم عزلها من مئات الأنواع الحشرية التى تنتمى إلى رتب تقسيمية مختلفة، ومن المعروف أن هناك ما يزيد عن ٧٠٠ نوع من الحشرات تم تسجيل إصابتها بالفيروس.

وبصفة عامة تنتمى الفيروسات الممرضة للحشرات إلى مجموعتين رئيسيتين وهى مجاميع غير تصنيفية:

١- الفيروسات الحبيسة (المحتواه) Occluded viruses:

تسمى كذلك لأنه بعد تكوينها فى الخلايا المصابة توجد جزيئاتها الناضجة (فريوناتها) حبيسة مطمورة بداخل كتل بروتينية لها شكل مميز بخلايا العوائل الحشرية يطلق عليها مسمى الأجسام الضمينة (أوالاحتوائية) inclusion or occlusion bodies تساهم فى ثبات الفيروسات فى البيئة، وتحتوى عند تمام تشكل المرض على الفيروسات، وتأخذ هذه الأجسام أشكالًا كروية أو محببة أو مسطحة، وتتواجد فى النواة (فيروسات نووية) أو فى السيتوبلازم (فيروسات سيتوبلازمية) (شكل ٤-١).



شكل (٤-١) الأجسام الضمينة شديدة المقاومة تظل فى البيئة لفترات طويلة

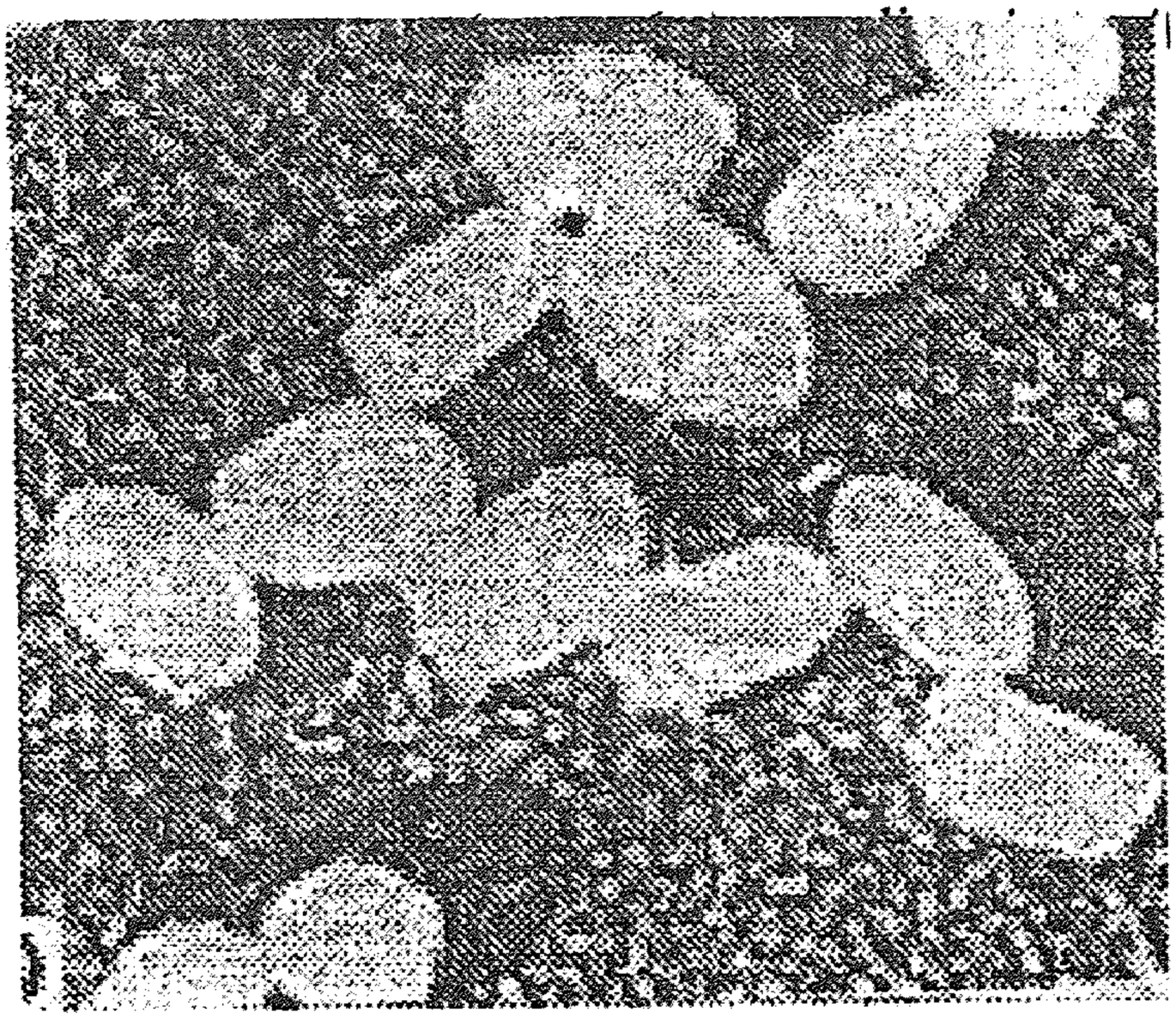
ومن أمثلة الفيروسات الحبيسة تلك الفيروسات التى تصيب يرقات الحشرات حرشفية الأجنحة، وتضم مجموعة الفيروسات الحبيسة الفيروسات العصوية (تحتوى على الحامض النووى د.ن.أ) مثل:

١ - فيروسات البولى هيدروسس النووية (NPV) Nuclear polyhedrosis virus:

وهذه الفيروسات يوجد فيها الكثير من جسيمات الفيروس بكل جسم ضمين، مكونة من بروتين يسمى بوليهيدرين polyhedrin.

٢ - الفيروسات المحببة (GVs) The granulosis viruses:

وهذه الفيروسات يوجد فيها جسيم فيروس واحد فى كل جسم ضمين، وتتكون من بروتين يسمى ا



شكل (٤-٢) فيروس حبيبى.

٣- الفيروسات البولى هيدرية السيتوبلازمية (CPV) Cytoplasmic polyhedrosis virus:

٤ - الفيروسات النقاطية الحشرية EPV:

وقد استخدمت مجموعة الفيروسات العصوية فى بعض التطبيقات، وتنتج هذه المجموعة تجاريًا على هيئة مساحيق محتوية على الأجسام الضمنية، تخلط بالماء، وترش، حيث تصل للحشرات مع طعامها، أو من خلال فتحاتها التنفسية.

٢- الفيروسات الحرة (غير الحبيسة أو السائبة) Free or non-occluded:

توجد فريوناتها حرة طليقة بكل من السيتوبلازم والنواة، مثل الفيروسات التى تصيب الحشرات من رتب ذات الجناحين وغمدية ومستقيمة الأجنحة.

وتضم هذه المجموعة:

١- الفيروسات القزحية IV.

٢- الفيروسات المكثفة DNV.

٣- البيكورنا فيروس PCV.

المراجـع:

Cook, R.J. (1993). Making Greater Use of Introduced Microorganisms for Biological Control of Plant Pathogens. Annual Review of Phytopathol. 31: 53- 80

Lacey, L.A., H.K. Kaya (2007). Field manual of techniques in invertebrate pathology. 2nd Ed. Springer. Dordrecht, The Netherlands.

Laceya, L.A., R. Frutosb, H. K. Kayac and P. Vaild (2001). Insect Pathogens as Biological Control Agents: Do They Have a Future? Biological Control 21(3):230- 248.

Mahr, D.L., P. Whitaker and N.M. Ridgway (2008). Biological control of insects and mites: An introduction to beneficial natural enemies and their use in pest management. University of Wisconsin Cooperative Extension, No. A3842.

Ogutu, W.O., G.I. Oduor, M. Panel, D.W. Mano, C.K.P.O. Ogol, D. Grywacz and J. Poole (2004). Evaluation of a naturally occurring baculovirus for the management of diamondback moth, Plutella xylostella (L.), in Kenya. In: Kirk, A.A., Bordat, D. (Eds.), Improving Biocontrol of Plutella xylostella, Proceedings of the International Symposium, Montpellier, France 21–24 October 2002, pp. 222–228.

الفصل الثاني
المبيدات الفيروسية المستخدمة فى مكافحة الآفات الحشرية

❖مقـدمـة:

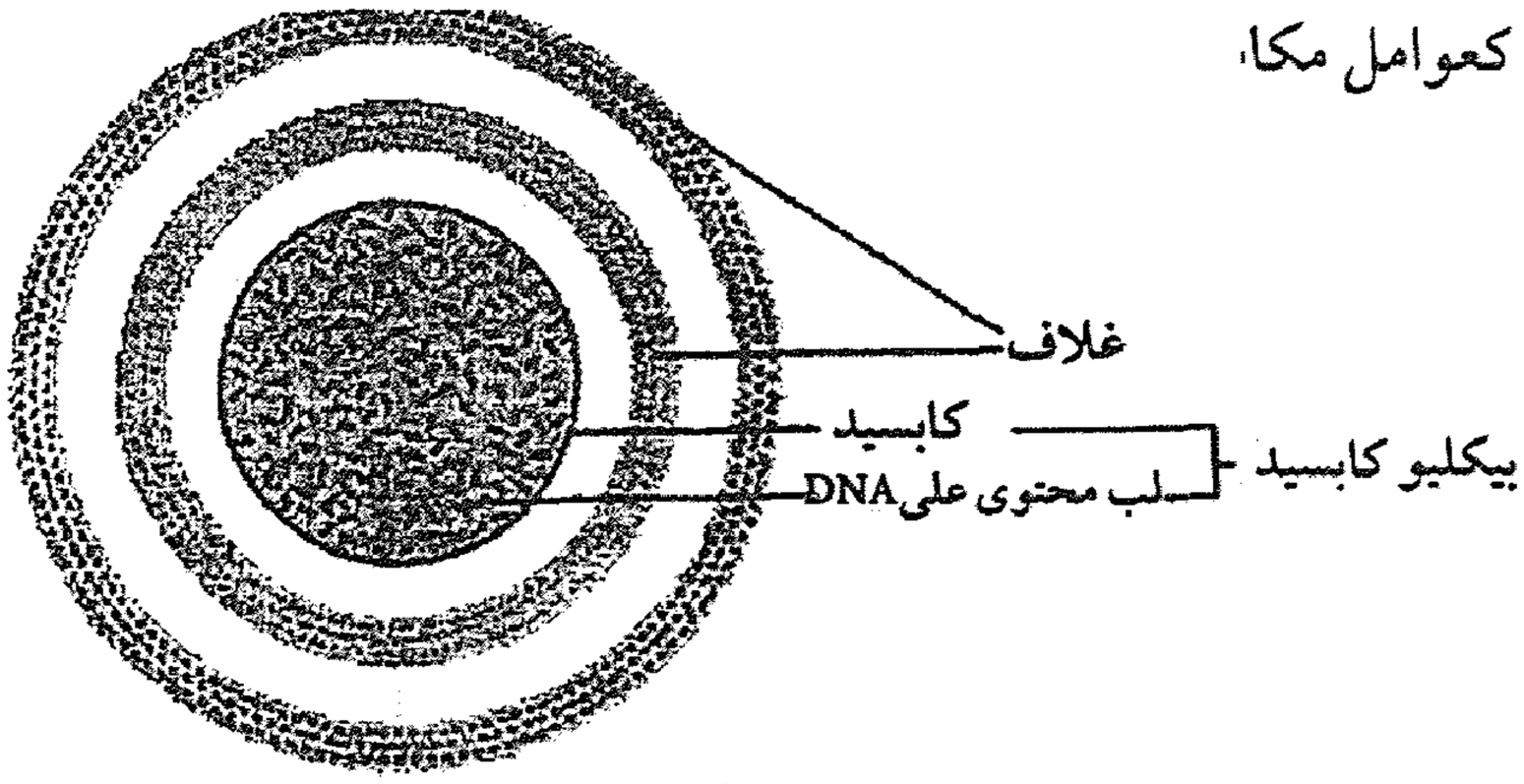
اكتسب توظيف الفيروسات فى مكافحة الآفات الحشرية اهتمامًا خاصًا، وقد استند ذلك على وجود حوالى ١٢٠٠ فيروس تسبب أمراض للحشرات المختلفة، وهناك أسباب أخرى كثيرة وجذابة لهذا الاهتمام بمثل هذه العوامل فى المكافحة الحيوية منها أن الفيروسات ذات طبيعة اختيارية عالية، وآمنة جدًا، إلى جانب أنها - شأنها فى ذلك شأن بقية المبيدات الحيوية الميكروبية - تقلل الاعتماد الحالى على مبيدات الآفات الكيميائية، وتكافح ظهور خاصية المقاومة resistance فى الآفات المختلفة، وتستخدم كبديل عملى فى الحالات التى يكون فيها استخدام المبيدات الفعالة محدودًا.

وكان استخدام الفيروسات - مثل الفيروسات العصوية الحبيبة The granulosis viruses GVs - محدود جدًا فى مكافحة الآفات الحشرية منذ اكتشافها فى عام ١٩٢٠، إذ اقتصر استخدامها على رشها على نباتات بعض التجارب البحثية فى عدد محدود من البلدان لوقاية هذه النباتات من بعض الآفات مثل دودة الكرنب التى تم تسجيل نسب موت عالية جدًا بها على أثر رش النباتات بالفيروسات.

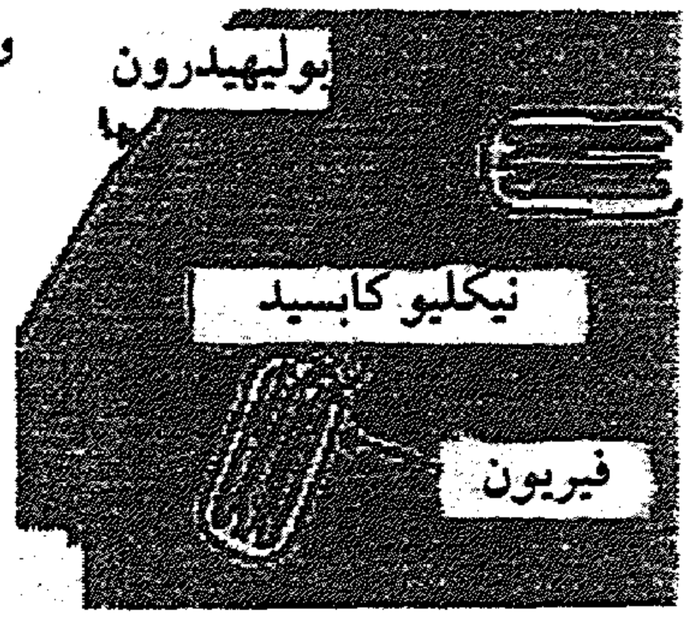
ولقد تم تسجيل أكثر من ١٥٠ نوع من الآفات الحشرية الهامة من رتبة حرشفية الأجنحة حساسة جدًا للفيروسات العصوية الحبيبية Baculovirus Granulovirus مثل فراشة Cydia pomonela وهى من الآفات الخطيرة التى تضر بالكمثرى والتفاح، وفراشة درنات البطاطس Phthorimaea operculella وهى آفة رئيسية على البطاطس فى معظم أنحاء العالم، وفراشة Plodia interpunctata التى تتغذى على الغلال ومنتجات الحبوب الجافة، ومن ناحية أخرى فقد تم تشخيص إصابة الحشرة القياسية Lymantria dispar (L) بالذبول تحت الظروف الحقلية إلى إصابتها بالفيروس البوليهيدرى النـووى The nuclear polyhedrosis viruses NPV

وتشير التسجيلات القديمة والتى ترجع إلى القرن السادس عشر إلى إصابة يرقات الحشرات المنتجة للحرير بالأمراض التى تحدثها عائلة الفيروسات العصوية (البكيلوفيروسات Baculoviruses)، ومنذ عام ١٩٤٠ تم فحص استخدام هذه الممرضات كمبيدات حيوية لمكافحة الحشرات فى حقول كثير من النباتات كالذرة.

وقد نالت البيكلوفيروسات اهتمام خاص فى المكافحة الحيوية للحشرات فمعظمها تم عزله من الحشرات، وبصفة خاصة حشرات رتبة حرشفية الأجنحة، وينتمى ٦٠٪ من الفيروسات التى تصيب الحشرات لهذه المجموعة. والبكيلوفيروسات - شأنها فى ذلك شأن الفيروسات التى تصيب الإنسان - عادة متناهية فى الصغر (٤٠-١١٠ نانومتر × ٢٠٠-٤٠٠ نانومتر)، وتحتوى على خيط مزدوج حلقى من الحامض النووى DNA (حتى ٢٠٠ كيلو بايت فى الطول)، يحتوى على الجينات اللازمة لتضاعف الفيروسات وإنتاج ذرية جديدة، ويوجد الجينوم بداخل نيكلوكابسيد عصوى الشكل (شكل ٤-٣ وشكل ٤-٤)، وتتكون هذه الفيروسات بصفة رئيسية فى نواة خلايا العائل، ونظرًا لسهولة تحطم المادة الوراثية للفيروس على أثر تعرضها للعوامل الطبيعية والكيميائية السيئة فى البيئة مثل ضوء الشمس أو للظروف السائدة فى معى العائل، فإن جزئ البكيلوفيروس المعدى (الفريون) يتم حمايته بواسطة غلاف بروتينى ذات طبقات سميكة يطلق عليه غالبًا مسمى بوليهيدرين polyhedron (جمعها polyhedra) لطبيعة شكله متعدد السطوح، وقد يكون الغلاف البروتينى بيضاوى الشكل، ويسمح هذا الغلاف للفيروس أن يبقى خارج خلية العائل ويمكن الفيروس من قتل عائله بسرعة، دون تعريض وجوده للخطر، وهكذا فإن وقاية جزيئات الفيروس بواسطة هذه الأجسام الضمينة occlusion bodies تعتبر ميزة كبرى لاستخدام هذه الفيروسات كعوامل مكا



شكل(٤-٤) وفيروس حبيس



شكل(٤-٤) دياجرام لقطاع عرضى فى البوليهيدرا يوضح النيكلوكابسيد العصوى الشكل

وعلى عكس الفيروسات الأخرى يمكن مشاهدة معظم الفيروسات العصوية بالميكروسكوب الضوئى، حيث تظهر البوليهيدرا كما لو كانت بلورات ملحية أو رملية واضحة.

أما فيما يتعلق بسلوك وبقاء الفيروسات العصوية فى البيئة بعد التطبيق الحقلى لها فى مكافحة الآفات فيلاحظ أنه عند إطلاق هذه الفيروسات يتراكم الفيروس فى الوسط البيئى بنفس الكثافة التى أطلق بها وربما يتناقص، وتعتبر الأشعة فوق البنفسجية بضوء الشمس أهم عامل بيئى يثبط هذه الفيروسات، وتبلغ فترة نصف العمر ١-٢ يوم للفيروسات غير المحمية، وتبقى هذه الفيروسات وقت أطول فى الشتاء عن الصيف.

وتوجد الفيروسات فى الطبقة السطحية للتربة الزراعية وحتى عمق حوالى ١٠ سنتيمترات محمية من ضوء الشمس بأعداد ضخمة نسبيًا تظل بالبيئة لسنوات عديدة، وكما هو معروف عن الفيروسات من حيث كونها إجبارية التطفل فهى لا تنمو على مادة التربة ولكن تنمو فى عوائل حشرية كمراكز لتمثيلها الغذائى، كما أن بروتيناتها غير معروف عنها سميتها لكائنات التربة، ومن ثم فهذه الأعداد الضخمة من الفيروسات لا تمثل خطورة على البيئة، وتعتبر هذه الفيروسات بمثابة مخزون بمستودع التربة وهى المصدر الرئيسى للإصابة بالأمراض الفيروسية فى الطبيعة، وتلتصق الفيروسات العصوية بقوة بحبيبات الرمل، ولذلك فهى تهاجر ببطئ شديد فى الطبقات الرملية بالأوساط المائية ولا يوجد منها خطورة لتلوث المياه الجوفية.

وتحدث الإصابة المرضية الطبيعية للحشرات على أثر تناولها لغذاء ملوث بالفيروس، وفى أمعاء العائل الحساس للفيروس يذاب بروتين الأجسام الضمينة وتنطلق الفيروسات، حيث تدخل الخلايا الطلائية للأمعاء، لتتضاعف وتنتشر فيما بعد فى الأنسجة الأخرى

للعائل، وتتميز البيكلوفيروسات بعدم إنتاج سموم لكن تضاعفها الضخم فى الأنسجة الهامة يؤدى فى النهاية إلى موت الحشرة عادة فى خلال أسبوع أو اثنين عقب حدوث الإصابة.

وتصنف الفيروسات العصوية على أساس الخصائص المظهرية للأجسام الضمينة والتركيب إلى ثلاثة مجموعات مختلفة هى:

مجموعة الفيروسات البوليهيدرية النووية nuclear polyhedrosis viruses (NPVs)، وتضم هذه المجموعة غالبية الفيروسات العصوية المستخدمة كعوامل مكافحة حيوية، وفيها توجد كثير من جزيئات الفيروس فى كل جسم ضمين، ويتركب الجسم الضمين من بروتين يسمى بوليهيدرين polyhedron protein، وقد أخذت هذه المجموعة اسمها من وجود البوليهيدرا polyhedra فى نواة الخلية المصابة.

مجموعة الفيروسات الحبيبية granulosis viruses (GVs)، وفيها يوجد جزئ فيروسى واحد فقط فى كل جسم ضمين، ويتركب الجسم الضمين من بروتين يسمى جرانيولين granulin protein، وتبدو على هيئة بلورات صغيرة (كبسولات capsules أو حبيبات granules)، ومن هنا جاء مصطلح حبيبى granulosis.

مجموعة الفيروسات العصوية غير الضمينة non-occluded baculoviruses، ولاتكون هذه المجموعة أجسام ضمينة، وتنتقل كجسيمات حرة free particles مثل فيروسات Oryctes-type viruses.

وتعتبر البوليهيدرا polyhedra والحبيبات granules بمثابة ناقل لنقل جزيئات الفيروس من حشرة لأخرى، ومن جيل لجيل آخر، وتسهيل بقاء الفيروس. ومن المجموعات التصنيفية الثلاثة السابقة تعتبر المجموعتين الأولى والثانية مثالية للاستخدام فى مجال المكافحة المتكاملة للآفات لكونها آمنة تمامًا للإنسان والبيئة والحشرات النافعة غير المستهدفة.

وتتوسط دورة الإصابة بالفيروسات العصوية جزيئات فيروسية مختلفة المظهر تشمل:

١- فريونات مشتقة من الأجسام الضمينة تبدأ الإصابة من المعى الوسطى، وهذه توجد بداخل الأجسام الضمينة البوليهيدرية، حيث يذيب العصير القلوى للمعى الوسطى بروتين الأجسام الضمينة البوليهيدرية فتتحرر الفريونات من الأجسام الضمينة وتصيب الخلايا الطلائية العمادية بالمعى الوسطى التى تنقل الإصابة لأنسجة اليرقة الأخرى، وتنقص حساسية كثير من الأنواع الحشرية للفيروسات العصوية فى العمر اليرقى بسبب مايسمى

مناعة البلوغ maturation immunity، بينما يزداد الوقت اللازم لموت العائل الحشرى المصاب.

٢- فريونات تنشر الإصابة فى العائل وتسمى budded virions، وهذه تنطلق من خلايا العائل المصاب فيما بعد أثناء الإصابة الثانوية secondary infection.

الفيروسات الممرضة للحشرات Entomopathogenic viruses:

تعتبر الأمراض الفيروسية من الأمراض الشائعة فى الآفات الحشرية، ولقد تم التعرف على أكثر من ١٦٠٠ عزلة فيروسية - تم جمعها فى أكثر من ١٠ عائلات على أساس خصائصها المظهرية والبيوكيميائية - تسبب أمراضًا لحوالى ١١٠٠ نوع من الحشرات والحلم، وأهم هذه العائلات هى عائلة الفيروسات العصوية(baculoviruses) Baculoviridae.
وتوجد جزيئات الفيروس (الفريونات) على صورتين:

١- صورة حرة غير حبيسة free or non-occluded:

كما هو الحال فى الفيروسات الحرة التى تصيب الحشرات من رتب غمدية الأجنحة ومستقيمة الأجنحة وذات الجناحين.

٢- صورة غير حرة occluded:

كما هو الحال فى الفيروسات التى تصيب يرقات رتبة حرشفية الأجنحة، حيث تكون مطمورة داخل كتلة بروتينية ذات شكل مميز تسمى الجسم الضمين inclusion body، ويستهلك الجسم الضمين جانبًا من بروتين الخلية المصابة، وليس له أى دور فى تكاثر الفيروس. ويظهر الجسم الضمين إما فى شكل متعدد الأسطح أو شكل بيضاوى.

أ- الشكل متعـدد الأسطح polyhedron:

يتشكل الجسم الضمين على هيئة متعددة الأسطح كما هو الحال فى الجسم الضمين الذى يتركب من مادة بروتينية يطلق عليها مسمى البوليهيدرين polyhedrin (كما فى حالة الفيروس البوليهيدرى النووى NPV أو السيتوبلازمى CPV).

ب- الشكل البيضـاوى:

يأخذ الجسم الضمين شكل بيضاوى، كما هو الحال فى الجسم الضمين الذى يتكون من مادة

تعرف باسم الجرانيولين granulin بها جزئ فيروسى واحد (كما فى حالة الفيروس الحبيبى).

دخول وتضاعف الفيروسات بالحشرات:

ثمة أكثر من وسيلة لولوج الفيروسات لأجسام الحشرات، فقد تحدث العدوى الفيروسية على أثر دخول الفيروس جسم الحشرة عن طريق فتحاتها التنفسية، أو من خلال فم الحشرة أثناء التغذية على المادة النباتية الملوثة بالفيروس، أو عند قرض الحشرة غير الكاملة - أثناء الفقس من البيضة - لغلاف البيضة الملوثة بفيروس مصابة به الأم أو آخر ملوث لمكان وضع البيض، كما تنقل المفترسات predators والطفيليات parasitoids الحشرية الفيروسات من الحشرات المصابة إلى الأخرى السليمة، فعندما تهاجم أنثى طفيل حشرى حشرة مصابة بالفيروس تتلوث آلة وضع البيض التى تنقل بدورها العدوى للحشرات السليمة التى تهاجمها.

وتعتبر المعدة بمثابة المكان الأساسى لعمل الفيروس حيث يلتصق الفيروس بجدار نواة الخلية الطلائية العمادية للمعدة، وينطلق الحامض النووى من الفيروس لداخل نواة الخلية الطلائية من خلال ثقوب جدار النواة nucleopores، وقد يندفع الفيروس كاملًا من نفس الثقوب لداخل النواة، وتتضخم النواة المصابة إلى الدرجة التى قد تشكل معظم الخلية الطلائية على أثر الدمج الحادث بين الحامض النووى للفيروس الغازى والحامض النووى للخلية الطلائية نتيجة تكوين النسيج الضام الفيروسى virogenic stroma (الفيرويلازم viroplasm)، ينفجر جدار النواة المتضخمة فتنطلق الفيروسات لتصيب خلايا العوائل الحشرية الحساسة للفيروس، حيث تصل إلى الدم، وتتكاثر، وتنطلق فى تجويف دم الحشرة ملايين من الأجسام الضمينة (البوليهيدرا)، حيث تتحلل الأنسجة، وينفجر جدار الجسم الذى يتميز بالرقة الشديدة، وتنطلق البوليهيدرا ملوثة الوسط الذى توجد به الحشرة المتحللة.

❖تصنيف الفيروسات الحشرية:

تختلف الجزيئات الفيروسية (الفريونات) فى نواحى كثيرة مثل نمط الحامض النووى أى نسبته وخيطيته ووزنه الجزيئى، وكذلك شكل وتماثل ومسطح الفريون. وتعتبر الإصابات الفيروسية من الأمور الشائعة بين الحشرات، وهناك حوالى ١٦٠٠ فيروس - تم تجميعها

فى أكثر من ١٠ عائلات على أساس خصائصها المظهرية والبيوكيماوية - تسبب أمراضًا فيروسية فى حوالى ١١٠٠ نوع من الحشرات والحلم، وتختلف طبيعة الأمراض الفيروسية من نواحى عديدة مثل موقع التكاثر الفيروسى بالعائل الحشرى، واختبارات المرضية، ودرجة الحساسية للمواد الكيميائية. ومن أهم عائلات الفيروسات الممرضة للحشرات مايلى:

❖عائلة الفيروسات العصوية Baculoviridae:

تقتصر عائلة الفيروسات العصوية Baculoviridae (baculoviruses) على مدى عائلى خاص بها من اللافقاريات وبصفة خاصة الحشرات، ويتمثل فى عدد من حشرات مفصليات الأرجل وبعض القشريات والحلم، وتشمل الحشرات العرضة للتأثير الكثير من الآفات الهامة (جدول ٤-١).

وفى مجموعة الفيروسات البوليهيدرية النووية NPVs ومجموعة الفيروسات الحبيبية GVs يكون الجينوم البروتين المعروف بالبوليهيدرين nirdehylop، والذى يكون تجمعات aggregates أو أجسام ضمينة occlusion bodies حول الفريونات virions (أشكال ٤-٥، ٤-٦، ٤-٧).

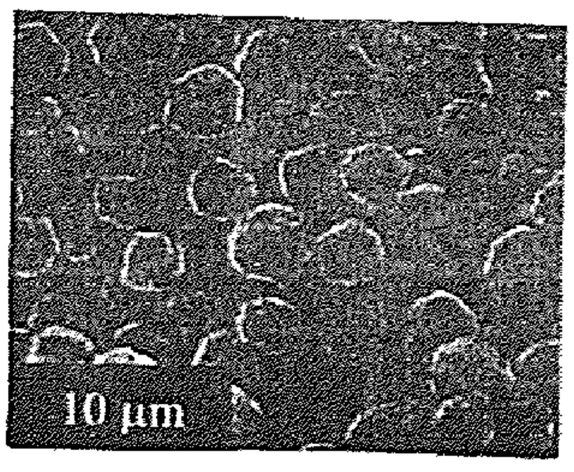
ويبلغ قطر الجسم الضمين ذات الشكل عديد الرؤوس polyhedral من ٠,٨ إلى ٥ ميكرون فى القطر فى الفيروسات البوليهيدرية النووية، ويحتفظ بالكثير من الفريونات، وبصفة عامة فإن شكل الجسم الضمين يكون بيضى فى الفيروسات الحبيبية وذات طول من ٠,٣ إلى ٠,٥ ميكرون، ولا تحتوى الفيروسات من طراز Oryctes-type على مثل هذا الجسم الضمين، وتصيب الفيروسات البوليهيدرية النووية والفيروسات الحبيبية اليرقات العائلة، أما الفيروسات من طراز Oryctes-type فهى فيروسات معدية للعوائل الحشرية فى مرحلتى اليرقة والحشرة البالغة.

جدول (٤-١) استخدام الفيروسات العصوية Baculovirus فى مكافحة الآفات الحشرية فى الحقول.

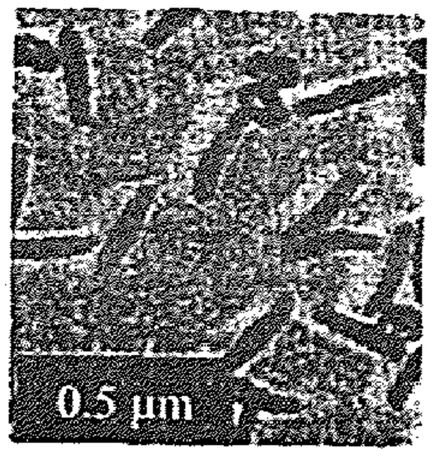
الفيروس	العائل المستهدف	المحصول
الفيروسات البوليهيدرية النووية:		
HaNPV	Helicioverpa armigera (Hub)	القطن

	Spodoptera litura (Fab)	SINPV
الحمص	Helicioverpa armigera (Hub)	HaNPV
الفول	Helicioverpa armigera (Hub)	HaNPV
الخضروات	Helicioverpa armigera (Hub)	HaNPV
البذور الزيتية	Helicioverpa armigera (Hub)	HaNPV
الفول السودانى	Spodoptera litura (Fab)	SINPV
النباتات الصليبية	Spodoptera litura (Fab)	SINPV
الكرنب	الحشرة القياسة Trichoplusia ni	TnNPV
الفيروسات الحبيبية:		
الحبوب المخزونة	فراشة جريش الذرة Plodia interpunctella	PiGV
الفيروسات العصوية الحرة:		
جوز الهند ونخيل البلح	خنفساء Oryctes rhinoceros	Oryctes rhinoceros virus

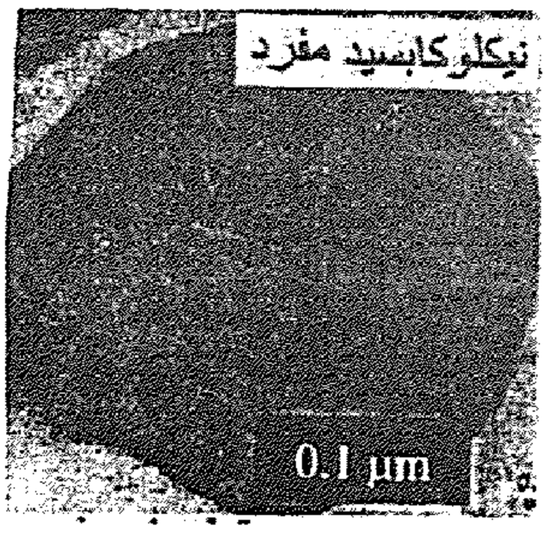
وتمر عملية إصابة يرقات الحشرات بالفيروس البوليهيدرى النووى NPV بعدة مسارات كما يلى (شكل ٤-٨):



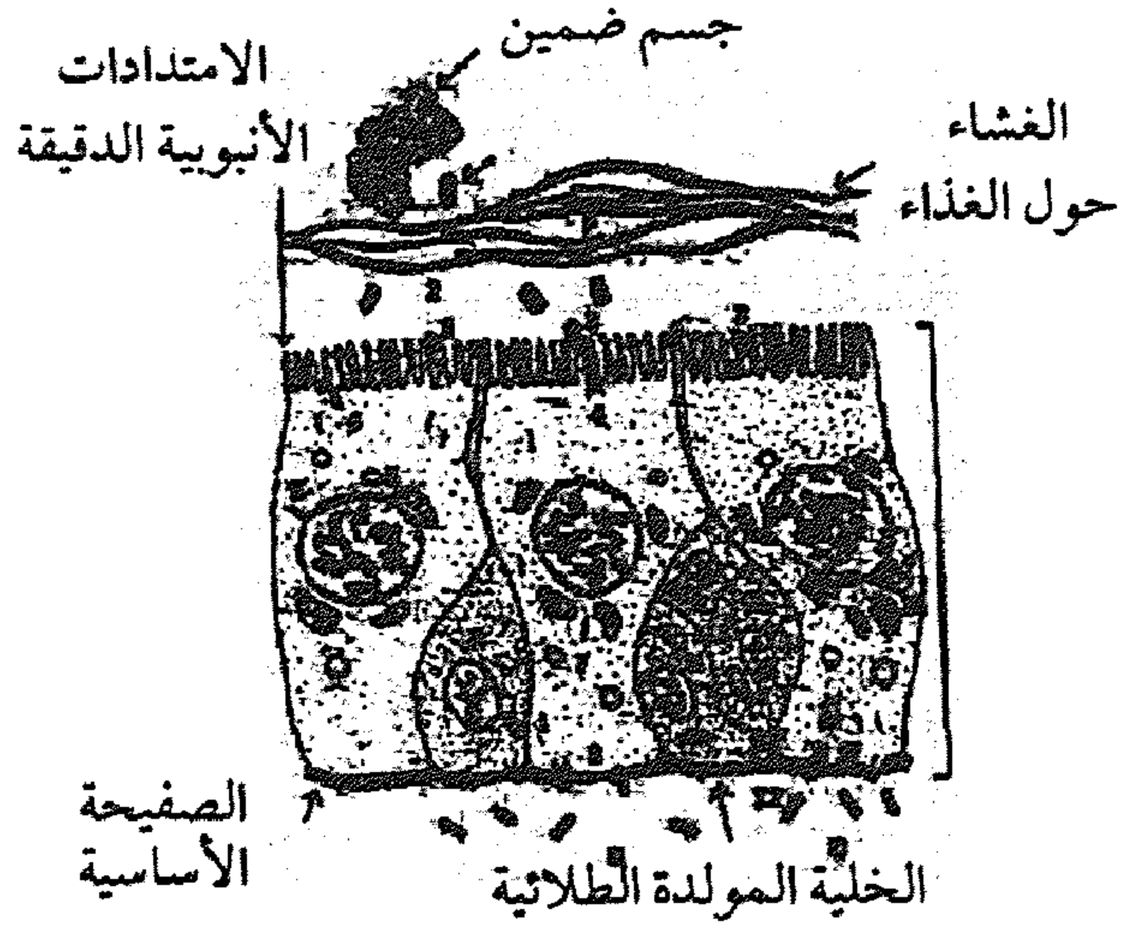
شكل (٤-٥) البوليهيدرا أو الأجسام الضمينة للفيروس البوليهيدرى النووى لدودة كيزان الذرة.



شكل(٤-٦) فريونات الفيروس البوليهيدرى النووى لدودة كيزان الذرة المنطلقة من الأجسام الفيروسية الضمينة فى ظروف قلوية.



شكل (٤-٧) قطاع فى الجسم الضمين لفيروس دودة كيزان الذرة المحتوى على الفيروسات البوليهيدرية النووية مطمورة فى بروتين بلورى



شكل (٤-٨) مسارات الإصابة بالفيروس البوليهيدرى النووى فى يرقات الحشرات

١- تذوب بروتينات الأجسام الضمينة الفيروسية التى تتناولها الحشرات فى عصير المعى الوسطى لليرقات الحشرية (درجة حموضة pH من ٩-٥, ١٠) مما يؤدى إلى تحرير وانطلاق الفريونات المطمورة فى هذه الأجسام.

٢- تمر الفيروسات المنطلقة خلال الغشاء حول الغذاء peritrophic membrane المبطن لتجويف المعى وترتبط مع الخلايا الطلائية العمادية لجدار المعى الوسطى لليرقة.

٣- تدخل الفريونات فى هذه الخلايا بالالتحام بالغشاء البلازمى للامتدادات الأنبوبية الدقيقة microvilli أو الأسطح الجانبية، وبمجرد دخول الفريونات إلى خلية الحشرة فإنها إما أن تبدأ التضاعف (خلية أ) أو تنقل للغشاء القاعدى (خلية ب).

٤- فى الخلية أ يتم نقل النيكلوكابسيدات خلال السيتوبلازم إلى النواة ربما عن طريق الأنابيب الدقيقة، وتدخل النيكلوكابسيدات النواة خلال ثقوبها، ولاتحدث تغطية للجينوم الفيروسى، وتبدأ عملية تضاعف الفيروس فى النواة.

٥- فى الخلية ب تمر بعض النيكلوكابسيدات من النواة، وتهاجر بشكل مباشر إلى الغشاء القاعدى للخلايا الطلائية العمادية، ويمكن للنيكلوكابسيدات أن تتحول للطراز المظهرى الناقل للإصابة خلال الغشاء القاعدى والتجاويف القاعدية فى دم الحشرة حيث يتكون غلاف مشتق من الغشاء الخلوى فى العملية.

٦- فى الخلية ج وبعد الخطوة ٥ يتكون نسيج ضام فيروسى virogenic stroma يعرف باسم الفيروبلازم viroplasm ينتشر فى الأنوية المصابة للخلايا الطلائية العمادية والتى تتركب فيها النيكلوكابسيدات، ولا تتكون أجسام ضمينة فيروسية فى الخلايا الطلائية العمادية.

٧- تغادر النيكلوكابسيدات النواة مكونة الطراز المظهرى الذى ينقل المرض خلال الغلاف النووى مكونة فجوات نقل.

٨- تفقد فجوات النقل أثناء عبور النيكلوكابسيدات للغشاء القاعدى حيث تتكون ذرية من الطراز الفيروسى الذى ينقل الإصابة للعائل من ذرية الفيروس.

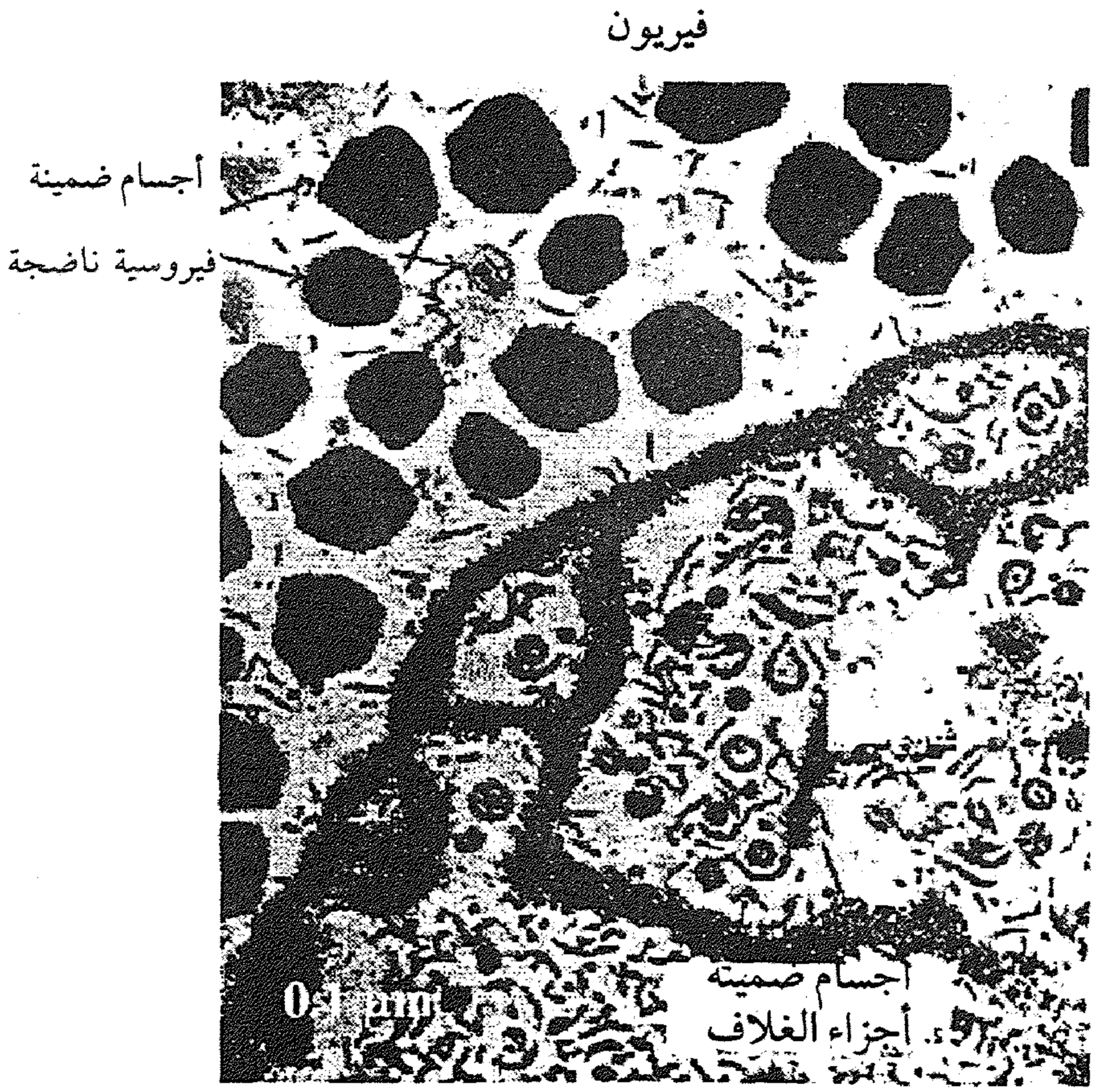
٩- تنقل الفيروسات الموجودة بدم الحشرة - خارج خلايا الحشرة - المرض إلى كل جسم اليرقة.

ويتطلب استخدام مبيدات الآفات عالية الاختيارية بما فيها الفيروسات العصوية فى مجال برامج المكافحة المتكاملة للآفات معرفة وثيقة ببيولوجى الفيروسات وبيولوجى الآفة المستهدفة ذاتها.

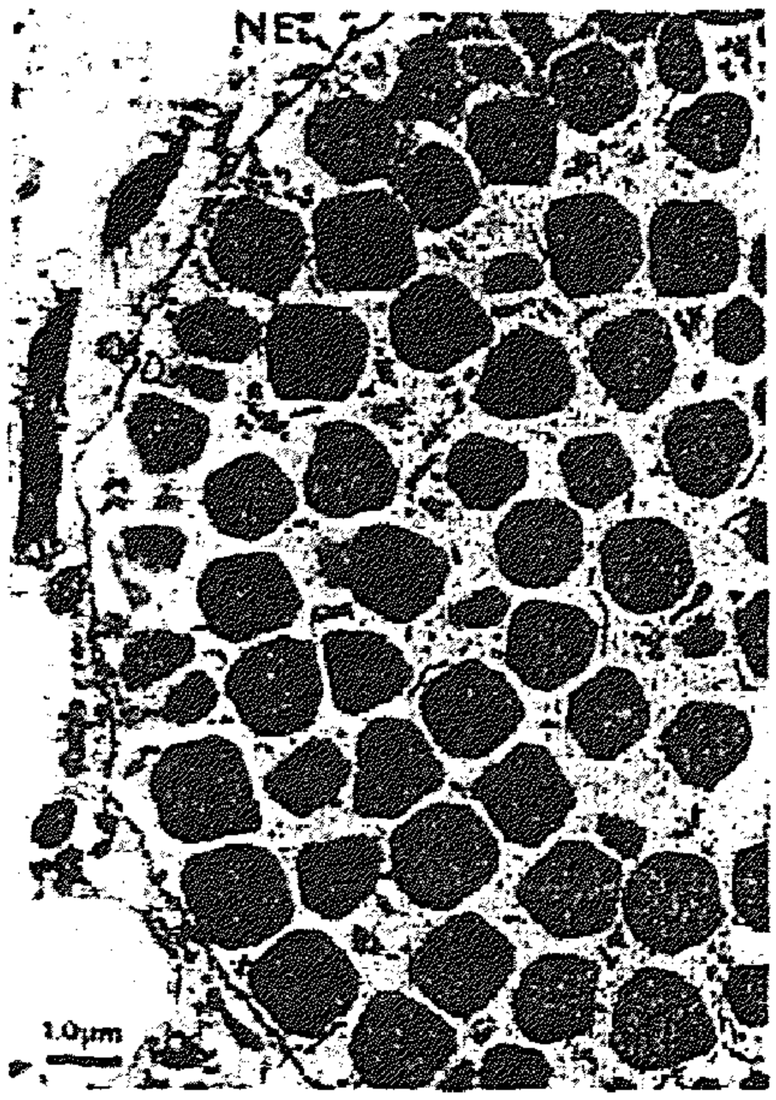
ومن الناحية البيولوجية تتفرد الفيروسات البوليهيدرية النووية NPVs دون غيرها من الفيروسات الأخرى بطرازين مظهريين phenotypes، هما الطراز الفيروسى الذى ينقل الإصابة للعائل والمسمى budded virus، والطراز الآخر هو الفريون الضمين occluded virion وذلك لكى تكمل دورة حياتها فى الطبيعة، ويمتلك كلا الطرازين المظهريين نيكلوكابسيدات nucleocapsids متماثلة، إلا أن أغشيتها تختلف فى تركيب البروتين، وتحدث إصابة اليرقات العرضة للتأثر عند تناولها غذاءً ملوثًا بأجسام فيروسية ضمينة، ويفقد الجسم الضمين تجمعه فى المحتويات ذات الطبيعة القلوية لمعى العائل اليرقى، ومن ثم تنطلق الجزيئات الفيروسية لتدخل الخلايا الطلائية للمعى بواسطة الالتحام fusion، ويزال الغلاف المحيط بالحامض النووى د.ن.أ الفيروسى فى الثقوب النووية أو فى النواة، وجزئ الحامض النووى د.ن.أ للفيروس العصوى المفرد عبارة عن خيط مزدوج ودائرى وملفوف ويبلغ طوله حوالى ١٣٠ كيلو بايت، ويتضاعف بعد حوالى ستة ساعات من دخول الخلية،

ثم ينطلق الطراز المظهرى الذى ينقل الإصابة للعائل (عملية الـ budding) من الخلية فى الدم بعد ذلك بحوالى ١٠ ساعات، وينقل هذا الفيروس الموجود خارج الخلية (الطراز الفيروسى budded virus) المرض إلى الأنسجة الأخرى للعائل، وتتكون أجسام ضمينة فيروسية قليلة جدًا فى الخلايا الطلائية العمادية إلا أن الإنتاج الضخم للأجسام الضمينة يحدث في خلايا الأنسجة المصابة الأخرى (شكل ٤-٩).

وفى الوقت الذى تصل فيه مستويات الفيروس خارج الخلايا أقصاها بعد حوالى يومين من الإصابة تستمر الأجسام الضمينة فى التراكم فى نواة الخلايا المصابة لمدة أربعة إلى ستة أيام حتى تتحلل الخلايا (شكل ٤-١٠).



شكل (٤-٩) مرحلة متأخرة فى تضاعف الفيروس فى الجسم الدهنى لحشرة Heliothis zea.



شكل (٤-١٠) مرحلة متأخرة فى الإصابة بفيروس Autographa californica NPV لخلية فى الجسم الدهنى لدودة ورق القطن الصغرى Spodoptera exigua.

وتستمر أفراد الحشرات المصابة بالفيروس فى تناولها لغذائها للنهاية، وحتى بعد إصابتها الفيروسية بيومين إلى ثلاثة أيام، وفى الوقت الذى تصاب فيه غالبية خلايا الحشرة فى الإبيدرميس وفى الجسم الدهنى يكون المعى الأوسط خالى من الفيروسات، ويفسر عدم الإصابة المؤقتة للمعى الأوسط للحشرة - على الأقل جزئيًا - بحقيقة أنه عندما تنسلخ اليرقات الحشرية فإن جزء كبير من خلاياها الطلائية للمعى الأوسط تنزع وتستبدل ومن ثم تكون الحشرة قادرة على التغذية حتى مرحلة متأخرة جدًا من إصابتها المرضية.

وعندما تموت العوائل الحشرية يكون لها مظهر زيتى لامع، وغالبًا تشاهد معلقة بشكلها الهزيل على النباتات، وتتحلل هذه الحشرات فى نهاية المطاف، وتحمى الأجسام الضمينة محتواها من الفريونات من أن تفقد قدرتها المرضية لفترات زمنية طويلة، فينتشر المرض بين الحشرات عندما يتم تناول الأجسام الضمينة بواسطة اليرقات الحشرية الأخرى.

❖ الفيروسات العصوية كمبيدات حشرية:

تعتبر البيكلوفيروسات مرغوبة كمبيدات حشرية لعدد من الأسباب لعل أهمها:

١. البيكلوفيروسات بصفة عامة متخصصة لعوائلها، ففى معظم الحالات تصيب البيكلوفيروسات أفراد من عائلة العائل فقط.

٢. من الناحية التركيبية لا تشبه فيروسات الفقاريات أو النباتات المعروفة.
٣. آمنة للكائنات غير المستهدفة.

وهناك ضرورة لتناول الآفات الحشرية للفيروسات لكى تكون فعالة فى المكافحة الحيوية، ونظرًا لبقاء الفيروسات فترة أقل عن المبيدات الكيميائية فمن الأهمية بمكان مراعاة وقت وكيفية رش هذه المبيدات الحيوية، وهى عملية شاقة إلى حد ما ومكلفة لمستخدمى هذه الفيروسات.

وفى الحقيقة فإن الكثير من المبيدات الفيروسية المنتجة تجاريًا مازال يستخدم على مستوى وأساس تجريبى، وهو أحد أسباب الارتفاع النسبى لأسعار هذه المبيدات الحيوية عن بدائلها الكيميائية، ولذلك يجب النظر إلى استخدام الفيروسات العصوية فى نطاق برامج المكافحة المتكاملة.

وتستعمل البيكلوفيروسات فى كل من روسيا والصين منذ سنوات طويلة، حيث تم استخدامها فى روسيا لمكافحة آفات الغابات، أما فى الصين فقد استخدمت لمكافحة الآفات الزراعية، وفى أوروبا قامت عدة شركات بتطوير مجموعة من مستحضرات البيكلوفيروسات مثل الفيروس الحبيبى لفراشة التفاح codling moth GV ومستحضر فيروس ذبابة الصنوبر المنشارية European pine saw fly NPV ومستحضر فيروس دودة البرسيم Beet army worm NPV ومستحضر فيروس لفاف البرسيم alfalfa looper NPV، وبسبب وفرة ورخص العمالة تم إدخال البيكلوفيروسات فى البلدان النامية.

❖ **فيروس آفة فول الصويا** Anticarsia gemmatalis NPV:

يستخدم البيكلوفيروس البوليهيدرى النووى Velvet bean caterpillar NPV على مستوى كبير فى البرازيل لوقاية فول الصويا من يرقات آفة Anticarsia gemmatalis، ففى عام ١٩٨٠ بدأت البرازيل برنامجها فى استخدام الفيروسات العصوية لمكافحة هذه الآفة الحشرية فى محصول فول الصويا وهو من أكثر البرامج الناجحة فى مجال المكافحة الحيوية، وفيه تستخدم مستحضرات فيروسية تحتوى على ١,٥ × ١١١٠ جسم ضمين للهكتار، وفى عام ٢٠٠٥ اتسع برنامج المكافحة ليشمل ٢ مليون هكتار، ومن ثم أصبح إنتاج الفيروس يتم فى حقول المزارعين أنفسهم بدلًا من المختبرات لعدم الجدوى الاقتصادية

بالمختبرات، وذلك برش حقول فول الصويا المصابة بالآفة بشكل طبيعى ثم تجمع اليرقات الميتة، وقد تم فتح معمل لإنتاج فيروس AgMNPV بكميات كبيرة فى عام ٢٠٠٤ تحت ظروف متحكم فيها تمامًا بإنتاجية مقدارها ٦٠٠ ٠٠٠ يرقة مصابة فى اليوم الواحد، وهى إنتاجية تكفى للمكافحة فى مساحة ١,٥ مليون هكتار فى العام، وقد تم توفير التسهيلات اللازمة لتطوير عملية إنتاج الفيروس ولتدريب الأفراد على عملية الإنتاج، وتتضمن عملية الإنتاج تصنيع اليرقات المصابة إلى مسحوق قابل للبلل من خلال طحن اليرقات المصابة وتجهيزهم فى مخلوط يحتوى على الكأولين، والأخير مركب من سليكات الألومينو، وقد أكتشف لأول مرة فى Kao-Lin بالصين ومنها أخذ اسمه، ويستخدم هذا المركب كمادة حاملة أو مالئة خاملة.

ومن الأسباب العملية لاختيار فيروس AgMNPV فى المكافحة الحيوية مايلى:

١. الفيروس شديد المرضية لآفة A. gemmatalis، ويحتاج للاستخدام مرة واحدة على عكس المبيدات الكيميائية التى تحتاج للإضافة مرتين، وعلاوة على ذلك فإن هذا الفيروس يفتقر إلى جينات الكيتينيز وبروتينات البروتييز cathepsin ومن ثم تموت الحشرات، ويمكن جمع الحشرات الميتة والاستفادة منها فى تجهيز المستحضر الفيروسى عن تركها تتحلل.
٢. تتحمل نباتات فول الصويا نزع أوراقها دون نقص محصولها، ويمكن نشر الفيروس أيضًا بواسطة المفترسات الحشرية، ويمكن أن يقاوم المرور خلال القناة الهضمية للخنافس ورتبة نصفية الأجنحة.

ويصفة عامة، فقد وجد أن استخدام هذا الفيروس أقل فى التكلفة عن المبيدات الكيميائية بحوالى الربع.

❖ **الفيروس الحبيبى لفراشة التفاح** Cydia pomonella granulosis virus (CpGV):

يكون هذا الفيروس أجسام صغيرة يشار لها بالحبيبات تحتوى على فريون واحد، ويصيب فراشة التفاح codling moth, Cydia pomonella بصفة خاصة وهى من حرشفية الأجنحة، وهى الحشرة التى عزل منها فى الأصل فى المكسيك عام ١٩٦٣، وضراوته المرضية شديدة، ولذلك يعرف بالفيروس الحبيبى السريع fast GV حيث يقتل عائله فى

نفس جيل الإصابة، ولذلك يستخدم كمبيدى حيوى فى بعض دول أمريكا الشمالية وأوروبا لمكافحة الحشرات على محاصيل الفاكهة مثل التفاح والكمثرى.

ويسبب تطور صفة المقاومة بحشرة فراشة التفاح C. pomonella للكثير من المبيدات الحشرية الكيميائية إلى جانب بعض الأسباب المتعلقة بالنواحى البيئية ونواحى الآمان فقد تزايد استخدام فيروس CpGV فى أوروبا وأمريكا الشمالية منذ عام ٢٠٠٠، ويستخدم هذا الفيروس فى مساحات شاسعة، ويتوفر فى الوقت الحالى مستحضرات تجارية من الفيروس مثل CYD-X و VirosoftCP4 (أمريكا الشمالية)، و Carpovirusine (فرنسا)، و Madex و Granupom (سويسرا)، و Granusal (ألمانيا)، و Virin-CyAP (روسيا).

والفيروس شديد المرضية لفراشة التفاح Codling moth التى تضع بيضها على أشجار الفاكهة، وبعد الفقس تتجول اليرقات على الأوراق قبل دخول الثمرة، وتحتاج اليرقات إلى التغذية بداخل الثمرة من أجل تطورها العادى مما ينتج عنه ضرر شديد، وتتم المعاملة بفيروس CpGV على الأقل مرة أسبوعيًا وستة مرات فى الموسم الواحد. وتبلغ التكاليف المباشرة لمكافحة آفة فراشة التفاح codling moth باستعمال الفيروس الحبيبى ضعف إلى ثلاثة أضعاف البدائل الكيميائية المستخدمة فى المكافحة.

❖فيروس دودة كيزان الذرة Helicoverpa zea (Boddie) NPV (HzNPV):

يعتبر الفيروس العصوى Helicoverpa zea (Boddie) NPV (HzNPV) أول فيروس تم إنتاجه وتسجيله وتسويقه بشكل تجارى من قبل شركة ساندوز Sandoz فى عام ١٩٧٥ بالصين تحت اسم الكار Elcar لمكافحة حشرة دودة كيزان الذرة H. armigera فى محاصيل القطن والأذرة وفول الصويا والطباق والسورجم والطماطم، وقد إنتج مستحضر الكار بنجاح وبكميات كبيرة باستخدام تكنيكات إنتاج نصف أتوماتيكية.

كما تم إنتاج فيروس HzNPV فى ملايين اليرقات لحشرة H. zea لمعاملة مساحات شاسعة.

❖فيروس ذبابة الصنوبر المنشارية Neodiprion sertifer NPV:

تستخدم المستحضرات التجارية للفيروس البوليهيدروسيس النووى Nuclear Polyhedrosis Virus NPV الممرض للحشرات فى مكافحة الكثير من الحشرات مثل

مستحضرات فيروس Neodiprion sertifer NPV لمقاومة ذبابة الصنوبر المنشارية، ومستحضر فيروس Mamestra brassicae NPV لمقاومة دودة الكرنب، ومستحضر فيروس Spodoptera exigua NPV لمقاومة دودة ورق القطن الخضراء أو الصغرى، وفيروس دودة لوز القطن Helicoverpa armigera NPV، وفيروس دودة ورق القطن Spodoptera litura NPV. وتعتبر دودة لوز القطن Helicoverpa armigera بمثابة آفة رئيسية على محصول القطن، ومع الاستخدام المكثف لمبيدات الحشرات الكيميائية تطورت بها صفة المقاومة فى أماكن كثيرة حول العالم، وأحد المداخل مجابهة هذه المقاومة هو استخدام الفيروسات العصوية لمكافحة هذه الحشرة، وقد إنتج فيروس HearNPV فى الصين للاستخدام فى مكافحة دودة لوز القطن، ففى عام ٢٠٠٥ تم إنتاج ١٦٠٠ طن من الحشرات المصابة بالفيروس بعد تصنيعها على صورة مستحضر حيوى فيروسى بواسطة العديد من الشركات الصناعية المتخصصة، وقد تم تنمية الحشرات على بيئة غذائية صناعية مكونة بصفة رئيسية من الذرة والقمح ثم تزال الليبيدات وتجهز على صورة مستحضرات من مساحيق قابلة للبلل أو مستحلبات، وتتضمن عملية المعاملة بالفيروس رش الحقول ٣-٥ مرات لكل موسم نمو لمكافحة جيلين من دودة لوز القطن، وقد استخدم مستحضر هذا الفيروس فى مساحات شاسعة مزروعة بالقطن فى عام ٢٠٠٥، وفى الهند على سبيل المثال تجمع الحشرات بهز نباتات البسلة على بطاطين، وينتج الفيروس بتغذية اليرقات على بذور حمص ملوثة بالفيروس.

ويستخدم فيروس خنفساء النخيل Oryctes rhinoceros بنجاح فى الكثير من البلدان فى منطقة الباسيفيك الجنوبية لمقاومة خنفساء النخيل Oryetes rhinoceros وهى آفة تصيب الفول السودانى ونخيل الزيت، وعلى الرغم من هذا النجاح فهناك عوامل كثيرة تحد من انتشار واستخدام الفيروسات العصوية كعوامل مكافحة للآفات.

وهناك أربعة استراتيجيات لاستخدام مبيدات الحشرات الفيروسية:

١ - انتشار الفيروسات من التطبيقات المحدودة، وتنظيم أعداد الآفات الحشرية بصفة دائمة خلال المكافحة الحيوية الكلاسيكية.

٢ - حدوث الانتشار خلال النقل الرأسى والأفقى، لكن التضاعف ضرورى لأن المكافحة ليست دائمة.

٣- صون وإعادة تنشيط اللقاح من خلال التعديل البيئى.

٤- استخدام التطبيقات المتكررة لمكافحة أعداد الحشرات لأنه لا يوجد نقل أفقى للفيروس - وهى الاستراتيجية المستخدمة بكثرة بسبب فعاليتها.

وتعتبر المبيدات الحيوية الفيروسية مكلفة كثيرًا عن المبيدات الكيميائية، والكثير من الفيروسات العصوية عالية التخصص لعوائلها الحشرية ولذلك فإن اختيارها فى المكافحة يعتبر أمرًا مثاليًا لمقاومة الآفات اختياريًا، ويتم مهاجمة معظم المحاصيل الزراعية فى ذات الوقت بآفات مختلفة ومتنوعة من رتبة غشائية الأجنحة، وتتوفر فى الوقت الراهن معلومات قليلة عن الإنتاج العالمى والتسويق للفيروسات المختلفة لكل نوع من أنواع هذه الآفات، وعلاوة على ذلك تقتل الإصابات الحادثة بواسطة الفيروسات العصوية ببطء جدًا لترضى معظم المزارعين.

وتنقضى أربعة إلى ستة أيام من وقت تناول الفيروس حتى موت العائل الحشرى، وتستمر اليرقات الحشرية فى التغذية على المحاصيل لفترة أكثر من ذلك، وبالإضافة إلى ذلك فعند رش الفيروسات العصوية على النباتات بالشكل التقليدى فإنها تثبط بسرعة بواسطة الأشعة فوق البنفسجية فى ضوء الشمس، وفى النهاية ففى معظم الحالات لا يؤدى استخدام الفيروسات العصوية إلى الاستبعاد الكلى أو المقاومة طويلة الأمد للآفات المستهدفة، وقد تم تحقيق درجة كافية من المقاومة فقط عند تكرار تطبيق واستخدام هذه الفيروسات.

وهناك عدد من العوامل تحد من الاستخدام الواسع للبيكلوفيروسات كعوامل مكافحة حيوية للآفات المختلفة منها:

١. مازالت مبيدات الآفات من الفيروسات أكثر تكلفة عن مبيدات الآفات الكيميائية، بسبب أن البيكلوفيروسات طفيليات إجبارية، يمكن تنميتها فى كائنات حية أو مزارع خلوية حشرية، وعليه فإن تكلفة مستحضرات البيكلوفيروسات سواء تم تعديل الفيروس بأساليب الهندسة الوراثية أم لا ليست موضع تنافس فى الوقت الراهن مع مبيدات الحشرات الكيميائية.

٢. حيث أن الكثير من البيكلوفيروسات شديدة التخصص لعوائلها، ومن ثم فإن اختيارها يعتبر مثالى فى مكافحة الآفات اختياريًا، لكن معظم المحاصيل يتم مهاجمتها بالعديد

من الآفات الحشرية المختلفة فى آن واحد، ومن الصعب إنتاج وتسويق فيروس مختلف لكل نوع من الآفات الحشرية.

٣. من المعروف عن البيكلوفيروسات أنها تقتل عوائلها ببطء شديد مما قد يتعارض مع فعاليتها فى مكافحة الحشرات التى تهاجم المحاصيل. وتنقضى فترة ٤-٦ أيام بين تناول الفيروس وموت العائل، وتستمر اليرقات الحشرية فى التغذية على المحصول فى ذلك الوقت.

٤. يتم استعمال البيكلوفيروسات على أسطح النباتات بطرق الرش المعتادة، ومن الملاحظ أنه يتم تثبيطها بشكل سريع بالأشعة فوق البنفسجية فى ضوء الشمس، وهى مشكلة كبيرة فيما يتعلق باستخدام البكيلوفيروسات الضمينة وهى بقائها persistency وحساسيتها الشديدة للتثبيط بالضوء فوق البنفسجى، فعلى سبيل المثال فإن ثبات فيروس HaNPV على أوراق نباتات الطماطم يظل لمدة أربعة أيام فقط، ومن الأهمية بمكان مراعاة المداخل المختلفة لتقليل حساسية الفيروسات تجاه الأشعة فوق البنفسجية مثل رش الفيروسات على الأسطح السفلى لأوراق النباتات، واستخدام نظم هندسة أكثر فعالية لإصلاح الحامض النووى د.ن.أ تجاه الضرر الذى تحثه الأشعة فوق البنفسجية، واستعمال مواد واقية لمجهزات المبيدات الفيروسية من الضوء فوق البنفسجى.

٥. لا يؤدى استخدام البيكلوفيروسات إلى استبعاد كلى أو مكافحة دائمة لمدة طويلة، وتتحقق المكافحة الكافية عند تكرار استخدام هذه المبيدات الفيروسية.

وتعتبر اليرقات بمثابة الطور الأضعف تجاه الفيروس فى دورة حياة الحشرة، وتصاب اليرقات بالفيروس بمجرد تناوله له، إذ يتحلل بروتين الجسم الضمين فى معى الحشرة ذات الطبيعة القلوية، وتنطلق الفريونات لتصيب الخلايا الإفرازية بالمعى الوسطى والأنسجة الأخرى.

ويجب التنويه على أنه فى برامج المكافحة المتكاملة للآفات لا يعتبر قتل الحشرة المستهدفة بشكل كلى هو العامل الأساسى فى المكافحة فالمساهمة الأولية للفيروسات العصوية هى تحطيم الأعداد التى تشمل الطفرات المقاومة لمبيدات الحشرات الكيميائية التى قد تنشأ كاستجابة لمبيدات الحشرات الكيميائية المستخدمة فى وقاية المحاصيل قبل أن تعطى زيادة فى الذرية.

أما بخصوص الإمكانيات المستقبلية للمبيدات الحشرية من الفيروسات العصوية، فإنه

يمكن التغلب على كل العقبات الرئيسية لزيادة استخدام الفيروسات العصوية كمبيدات حشرية، وكبداية فإنه من المتوقع أن زيادة استخدام الفيروسات العصوية ستؤدى إلى نقص تكاليف إنتاجها، وبالإضافة إلى ذلك فقد يصبح من الممكن بواسطة عملية التعديل الوراثى إنتاج سلالات يتم فيها زيادة المدى العوائلى ولا يعتبر المدى العوائلى العالى الاختيارية صفة غير متغيرة للفيروسات العصوية ففيروس حشرة شبه لفافة البرسيم Autographa californica وهو من الفيروسات البوليهيدرية النووية NPV له مدى معروف من ٤٣ نوع من حشرات حرشفية الأجنحة تقع فى ١١ عائلة الكثير منها آفات معروفة، وقد أمكن الحصول على طفرة من هذا الفيروس (Autographa californica NPV) تنتج مزيد من الأجسام الضمينة فى الخلايا المصابة وذات ضراوة مرضية للحشرات أشد عن السلالة الأم.

وقد تزيد تقنيات إعادة صياغة الحامض النووى د.ن.أ من سرعة الفيروسات العصوية فى الفتك بعوائلها، وزيادة ضراوة الفيروس، مرجع ذلك أنه يمكن إدخال الجينات الغريبة فى جينوم الفيروسات العصوية والتعبير عنها فى العوائل الحشرية، ويتم إيلاج جينات مشفرة للهرمون الذى يؤثر فى سلوك التغذية أو الببتيدات العصبية التى تشل اليرقات، كما يتم إيلاج جينات سامة متخصصة للحشرات عندما يتم التعبير عنها خلال دورة الإصابة بالفيروس تنتج سم للحشرة.

ومثل هذه الفيروسات المعاد صياغتها سوف تظل فى حاجة إلى النمو سواء فى مزارع الخلايا الحشرية أو فى اليرقات، وعليه فإن الفيروسات المراد صياغتها سوف تحتاج إلى أن تهندس وراثيًا بالطريقة التى لا يتم بها التعبير عن الجين السام أثناء الإنتاج التجارى للفيروسات، وأحد الطرق لتحقيق ذلك هو استحداث طفرات فيروسية ذات حساسية لدرجة الحرارة يمكن أن تعبر عن الجين السام تحت ظروف درجة الحرارة المتخصصة فقط.

❖عائلة الفيروسات المعادة Reoviridae:

اشتق اسم عائلة Reoviridae من respiratory enteric orphan viruses، وهى تضم الفيروسات البوليهيدرية السيتوبلازمية(cytoplasmic polyhedrosis viruses (CPV التى تصيب بعض الحشرات.

والفريون كروى الشكل، يتركب من خيط مزدوج من الحامض النووى ر.ن.أ، وقطره حوالى ٦٠ نانومتر، ويوجد مطمور فى جسم ضمين بوليهيدرى الشكل.

وتتكاثر هذه الفيروسات فى سيتوبلازم الخلايا الطلائية لمعدة العائل الحشرى، وتتسبب العدوى الفيروسية للعوائل الحشرية فى تثبيط نموها، ونقص خصوبتها.

❖عائلة الفيروسات النقاطية Poxviridae:

تم اكتشاف الفيروسات النقاطية التى تصيب الآفات الحشرية(Entomopox viruses (EPV فى العام ١٩٦٢، ومن المعتقد أن هذه الفيروسات تتطلب المزيد من اختبارات الأمان قبل الاستخدام فى الاختبارات التطبيقية لمكافحة الآفات الحشرية إذ ترتبط هذه الفيروسات بنظائر لها تصيب الحيوانات الفقارية بمرض الجدرى، وهناك تشابه فى النواحى الحيوية والكيماوية بين الفيروسات النقاطية التى تصيب الحشرات ونظائرها التى تصيب الفقاريات، إلا أنه يجب التأكيد على أنه لم تثبت حتى الآن عبورية لأى مجموعة منهما للمجموعة الأخرى.

ولفريونات الفيروسات النقاطية شكل بيضى أو شبه مكعب، حجمها ٢٠٥ × ٣٠٠ × ٢٠٠ نانومتر، وتحتوى على الحامض النووى د.ن.أ الثنائى الخيط، وتحتوى على أجسام ضمنية كبيرة ولها شكل بيضاوى أو غير منتظمة الشكل وقد تكون الأجسام الضمنية صغيرة وذات شكل مغزلى.

وتقسم الفيروسات النقاطية بناءً على تركيب وحجم فريوناتها إلى ثلاثة تحت مجموعات تصيب كل منها رتبة حشرية لا ترتبط بها الأخريات. تتميز الفيروسات النقاطية ببطء النمو بحيث لا تتواجد إلا فى جانب من الجسم الدهنى للعائل الحشرى، ثم تنتشر ببقية جسم الحشرة حيث تصيب السيتوبلازم ولاتتواجد بالأنوية.

أجسام الحشرات المصابة بهذه الفيروسات - والتى عادة ماتكون من رتب حرشفية الأجنحة، أو غمدية الأجنحة، أو مستقيمة الأجنحة، أو ذات الجناحين - ذات لون باهت وأكثر ليونة من الحشرات الأخرى.

❖عائلة الفيروسات المكثفة Parvoviridae:

من الفيروسات الهامة فى مجال وقاية النباتات والتى تنتمى إلى عائلة الفيروسات المكثفة فيروسات جنس(Densovirus (DNV المحتوية على الحامض النووى د.ن.أ أحادى الخيط، الفريون عبارة عن جزئ مستدير قطره ١٨-٢٢ نانومتر، غير مغلف.

وتوجد أفراد عائلة الفيروسات المكثفة داخل عوائل حشرية من رتبة الحشرات حرشفية الأجنحة مثل يرقات دودة الشمع الكبرى، تتضاعف الفيروسات المكثفة بداخل أنوية أنسجة العائل الحشرى مثل الجهاز العصبى، والغدد التناسلية الأولية، وغدد الانسلاخ، وغدتى الحرير، والقصبات الهوائية، وأنابيب ملبيجى، وطبقة البشرة الداخلية، والجسم الدهنى، وخلايا الدم، ويؤدى تضاعف هذه الفيروسات إلى امتلاء أنوية الخلايا بفريونات الفيروس مما يؤدى إلى تضخمها.

❖عائلة الفيروسات القزحية Iridoviridae:

تنتشر الفيروسات القزحية فى العديد من رتب الحشرات مثل غمدية الأجنحة وذات الجناحين وحرشفية الأجنحة ومستقيمة الأجنحة، وهى ذات شكل عديد الأوجه icosahedral، وتحتوى على حامض نووى د.ن.أ مزدوج الخيط، ويبلغ قطر جزئ الفيروس داخل عائله الحشرى من جنس Trpula ١٣٠ نانومتر.

ويطلق على أفراد هذه العائلة مسمى الفيروسات القزحية iridescent or iridoviruses بسبب اكتساب الحشرات المحتوية على بلورات الفيروس الخاصية القزحية اللون، وتتضاعف الفيروسات القزحية فى سيتوبلازم خلايا كل من الجسم الدهنى وأقراص النمو والبشرة الداخلية لجدار جسم الحشرة، وتنتشر هذه الفيروسات فى يرقات الحشرات المصابة (تصل إلى ٢٥٪ من الوزن الجاف لجسم اليرقات).

❖عائلة فيروسات البيكورنا Picornaviridae (PCV)

تتطفل فيروسات هذه العائلة على عوائل حشرية من رتب عديدة مثل غمدية وغشائية وحرشفية ونصفية ومتساوية ومستقيمة الأجنحة بالإضافة إلى رتبة ذات الجناحين، وتتضاعف هذه الفيروسات فى سيتوبلازم الخلايا الطلائية لمعدة الحشرة أو خلايا الجسم الدهنى، حيث يتحلل جدار الخلية ومحتوياتها من الميتوكوندريا. وجزئ الفيروس ذات شكل سداسى، غير مغلف، قطره ٣٢ نانومتر، تحتوى على حامض نووى ر.ن.أ أحادى الخيط.

❖عزل الفيروسات:

تختلف طريقة عزل الفيروسات على حسب نوعها بمعنى ما إذا كانت فيروسات حبيسة أو حرة.

أ- عزل الفيروسات الحبيسة:

تعزل الفيروسات الحبيسة عن طريق الحصول على أجسامها الضمينة من عوائلها الحشرية، ويتم ذلك بطحن العوائل المريضة فى محلول منظم ملائم، ويصفى المطحون أكثر من مرة، ثم يجرى طرد مركزى للراشح، يعقب ذلك تجهز أغشية من الكريات الناتجة لتحتوى على الأجسام الضمينة، ولاستخلاص الفيريونات من الأجسام الضمينة تذاب هذه الأجسام فى محلول قلوى، ثم يجرى طرد مركزى خلال محلول من السكروز ذات كثافة متدرجة، حيث تشكل جزيئات الفيروس بهذا المحلول حلقات عند تركيز معين، وتسحب منها جزيئات الفيروس التى يضاف لها كمية من الماء، ويجرى طرد مركزى للحصول على جزيئات الفيروس بصورة نقية من الكريات الناتجة، وتحفظ معلقات الأجسام الضمينة للفيروسات الحبيسة على درجة حرارة منخفضة.

ب- عزل الفيروسات الحرة:

تعزل الفيروسات الحرة عن طريق طحن العوائل الحشرية المريضة فى محلول منظم ملائم، ويصفى المطحون أكثر من مرة، ثم يجرى طرد مركزى للراشح أكثر من مرة، ويذاب الراسب الناتج فى محلول منظم، يعقب ذلك اختبار المحلول لمحتواه من جزيئات الفيروس بالفحص المجهرى، ثم يجرى طرد مركزى خلال محلول من السكروز ذات كثافة متدرجة، وبمساعدة المطياف للحصول على جزيئات الفيروس النقية، تغسل جزيئات الفيروس بمحلول منظم ملائم، ويجرى طرد مركزى لإعادة ترسيب جزيئات الفيروس، ثم يذاب الراسب فى محلول منظم حتى تمام التنقية.

❖القدرة المرضية للفيروسات المعزولة:

فى العادة تختبر الفيروسات المعزولة لقدرتها المرضية عن طريق تلويث غذاء الحشرة بمعلق الفيروس أو حقن المعلق فى فمها.

❖الإنتاج الكمى للفيروسات الحشرية:

يمكن الحصول على الفيروس السيتوبلازمى البوليهيدرى عن طريق إزالة القناة الهضمية الوسطية من يرقات حشرية مريضة حية لاحتوائها على أعداد كبيرة من البوليهيدرا.

ويمكن الحصول على الفيروس البوليهيدرى النووى ليرقات أنواع جنس Heliothis بإكثار الفيروس فى العوائل الحشرية الحية المرباة على بيئات نصف مخلقة.

وهناك طريقة بسيطة لتجيز اللقاح الفيروسى من خلال تغذية الحشرات السليمة على نباتات ملوثة بالفيروس، ثم تجمع الحشرات المصابة لإعداد معلقات مائية منها ترش بها النباتات العائلة للآفات الحشرية يوميًا، وبعد حوالى أسبوع تجمع اليرقات الحشرية المريضة والميتة التى تعتبر مصدر للفيروس، وتهرس بالماء وتترك لعدة أيام، ثم ترشح وتخزن على درجة حرارة منخفضة على يكون المحلول متعادل أو يميل الحموضة قليلًا لمنع تحلل الفيروسات، ينقى الراشح بالطرد المركزى.

❖المستحضرات الفيروسية التجارية:

تستخدم الفيروسات الممرضة للحشرات فى وقاية النباتات من الآفات فى الكثير من التطبيقات الحقلية فى بلدان متفرقة حول العالم، وهناك عدة مستحضرات تجارية تحتوى على الفيروسات تستخدم بالفعل فى مكافحة الآفات الزراعية، ويوضح جدول ٤-٢ النواحى التجارية للمبيدات الفيروسية ومدى قبول الصناعة لها.

جدول(٤-٢) النواحى التجارية للمبيدات الفيروسية ومدى قبول الصناعة لها.

	صناعة محلية صغيرة	شركات عالمية كبيرة
الإنتاج:		
التقنية بسيطة.	+	±
على مستوى صغير بسبب محدودية حجم السوق.	+	−
التسجيل:		
يحتاج خبرة فى التعامل مع السلطات الحكومية.	−	+
اقتناء معلومات الآمان يحتاج استثمارات مالية كبيرة.	−	+
التسويق:		
مبيعات صغيرة.	+	−
يستهدف غالبًا فئة مستهلكين صغيرة فى مجال الزراعات العضوية والحدائق المنزلية.	+	−

وهناك ١٢ نوع من الفيروسات مسموح باستخدامها على المستوى التجارى فى الصين منها ٨ من فيروسات(nucleopolyhedroviruses (NPVs، وثلاثة من فيروسات granuloviruses GVs، وفيروس من(cypovirus (CPV (جدول ٤- ٣).

كذلك هناك عدة مستحضرات فيروسية يتم تسويقها تجاريًا بالفعل فى أوروبا منذ عام ١٩٨٣ (جدول ٤- ٤).

ومن أمثلة المستحضرات الفيروسية المتداولة فى الأسواق التجارية للمبيدات الحيوية الميكروبية مايلى:

١- مستحضر الكار Elcar:

ينتج مستحضر الكار فى الولايات المتحدة الأمريكية، ويحتوى على فيروس Heliothis zea NPV، ويستخدم فى مكافحة آفة دودة كيزان الذرة H. zea التى تصيب نباتات الطماطم والقطن والذرة، وفى مكافحة آفة فراشة التبغ H. virescens التى تصيب نباتات الدخان، وفى مكافحة دودة لوز القطن Heliothis armigera، ويضاف هذا المستحضر بمعدل ٥٠٠ بوليهيدرا لكل ٠,٤ هكتار فى حالة الإصابات الحشرية الشديدة.

جدول (٤ - ٣) الفيروسات المصرح باستخدامها على المستوى التجارى فى الصين.

اسم الفيروس	الحشرات المستهدفة	المحصول
الفيروسات البوليهيدرية النووية:		
Helicoverpa armigeraNPV	Cotton boll worm	القطن والفلفل والطباق
Spodoptera litura NPV	Cotton leaf worm	الخضروات
Autographa californicaNPV	Alfalfa looper	الخضروات
Spodoptera exigua NPV	Beet armyworm	الخضروات
Gynaephora sp.NPV	Meadow caterpillar	المسطحات الخضراء
Buzura suppressariaNPV	Tung tree geometrid	الشاى
Ectropis oblique NPV	Apple geometrid	الشاى
الفيروسات الحبيبية:		
Plutella xylostellaGV	الفراشة ذات الظهر الماسى	الخضروات
Pseudaletis separateGV	Armyworm	القمح والأذرة
الفيروسات العصوية الحرة:		
Dendrolimus punctatusCPV	Masson pine moth	الصنوبر

جدول (٤ - ٤) المستحضرات الفيروسية المستخدمة على المستوى التجارى فى أوروبا.

اسم الفيروس	الحشرات المستهدفة	المنتج التجارى
الفيروسات البوليهيدرية النووية:		
Mamestra brassicae NPV	Mamestra brassicae	Mamestrin
Neodiprion sertifei NPV	Neodiprion sertifei	Moniskmovirus
		Virox
Spodoptera armigera NPV	Spodoptera armigera	Spodopterin

الفيروسات الحبيبية:		
Capex	Adoxophyes orana	Adoxophyes orana GV
Agrovir	Agrotis sogotum	Agrotis sogotum GV
Madex	Cydia pomonetta	Cydia pomonetta GV

٢- مستحضر Gypchek:

يحتوى هذا المستحضر على فيروس Lymantria dispar NPV، ويستخدم فى مقاومة الحشرة القياسية gypsy moth على نباتات الغابات، ويتم إنتاجه in vivo، ويضاف هذا المستحضر بالرش الأرضى (بمعدل ١٢٠ بوليهيدرا / ٤ , ٠ هكتار) أو الهوائى (بمعدل ٢٧٥ بوليهيدرا / ٤ , ٠ هكتار)، حيث يتم انخفاض كتل بيض الآفة إلى نحو ٩٠٪.

٣- مستحضر T.M.Biocontrol-1:

يحتوى هذا المستحضر على الفيروس البوليهيدرى النووى، ويستخدم فى مكافحة آفة Orgyia pseudotsudata فى الغابات، ويضاف هذا المستحضر رشًا بالطائرات بمعدل ٢٧٥ بوليهيدرا / ٤ , ٠ هكتار، حيث يتم انخفاض كتل بيض الآفة إلى نحو ٩٠٪.

٤- مستحضر Neochek-S:

يحتوى هذا المستحضر على فيروس Neodiprion sertifer NPV، ويستخدم فى مكافحة بعض آفات حرشفية الأجنحة مثل آفة ذبابة الصنوبر المنشارية N. sertifer European pine sawfly، ويتميز هذا المستحضر بكفاءة عالية على الرغم من تكلفة إنتاجه المرتفعة، ويضاف هذا المستحضر بمعدل ٢٤٥ بوليهيدرا لكل هكتار، حيث يتم انخفاض عدد بيض الآفة إلى أكثر من ٩٠٪.

٥- مستحضر Spodopterin:

يحتوى هذا المستحضر على الفيروس البوليهيدرى النووى Spodoptera littoralis NPV الذى يصيب دودة ورق القطن، ويستخدم فى مكافحة دودة ورق القطن الكبرى Spodoptera littoralis التى تصيب كثير من النباتات الهامة، وتؤدى معاملة حقول القطن المصابة بدودة ورق القطن بهذا المستحضر بتركيز ١٢٠ جسم ضمين / فدان إلى الحصول على نتائج تماثل عملية المكافحة الكيميائية.

٦- مستحضر Madex:

ينتج هذا المستحضر الفيروسى فى تشيكوسلوفكيا لمكافحة آفة Cydia pomonella.

٧- مستحضر Agrovir:

ينتج هذا المستحضر الفيروسى تجاريًا فى ألمانيا لمكافحة آفة Agrotis segetum.

٨- مستحضر VIROX:

ينتج هذا المستحضر الفيروسى تجاريًا فى أوروبا لمكافحة ذبابة الصنوبر المنشارية N. sertifer European pine sawfly، وهو مستحضر رخيص جدًا عن البدائل الكيميائية بسبب الحاجة إلى كمية قليلة من المنتج لكفاءته العالية.

❖المراجـع:

Black,B.C.;L.A.Brennan,P.M.DierksandI.E.Gard(1997).Commercialization of baculoviral insecticides. In: Miller, L.K., ed. The baculoviruses. New York: Plenum Press.

Cory, J.S. and D.H.L. Bishop (1997). Use of baculoviruses as biological insecticides. Molecular Biotechnology 7(3):303- 313.

Granados, R.R. and Federici, B.A. (eds) (1986). The biology of baculoviruses. CRC Press, Boca Raton, Florida.

Huber, J., Use of baculoviruses in pest management programs, in The biology of baculoviruses, R.R. Granados and B.A. Federici, Editors. 1986, CRC: Boca Raton. p. 181- 202.

Inceoglu A.B. Kamita S.G. Hammock B.D. Genetically modified baculoviruses: a historical overview and future outlook. Adv Virus Res 2006;68:323 – 60.

Jackson, T.A. (2009). The Use of Oryctes Virus for Control of Rhinoceros Beetle in the Pacific Islands. In: A.E. Hajek et al. (eds.), Use of Microbes for Control and Eradication of Invasive Arthropods, P. 133, C-Springer Science+Business Media B.V. 2009

Lacey, L. A.; R. Frutos; H. K. Kaya and P. Vail (2001). Insect Pathogens as Biological Control Agents: Do They Have a Future? Biological Control 21: 230 – 248.

Lackner A, Genta K et al. A bicistronic baculovirus vector for transient and stable protein expression in mammalian cells. Anal Biochem. 2008 Sep 1;380(1):146- 8. Epub 2008 May 22.

Miller, L.K. (ed) (1997). The Baculoviruses. Plenum Press. New York.

Moscardi F. Assessment of the application of baculovirus for control of lepidoptera. Ann. Rev. Entomol. 1999;44:257–289.

Reardon, R. , Podgwaite, J. P. and R. T. Zerillo.1996. GYPCHEK - The

gypsy moth nucleopolyhedrosis virus product. USDA Forest Service publication FHTET-96- 16.

Rohrmann, G.F. (2008).Baculovirus Molecular Biology. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US), NCBI; 2008.

Smits, P.H. and J. M. Vlak (1988). Selection of nuclear polyhedrosis viruses as biological control agents of Spodoptera exigua [Lep.: Noctuidae]. Biocontrol 33(3): 299- 308.

Szewczyk B. Baculoviruses — re-emerging biopesticides. Biotechnol. Adv. 2006;24:143 –160. [PubMed:

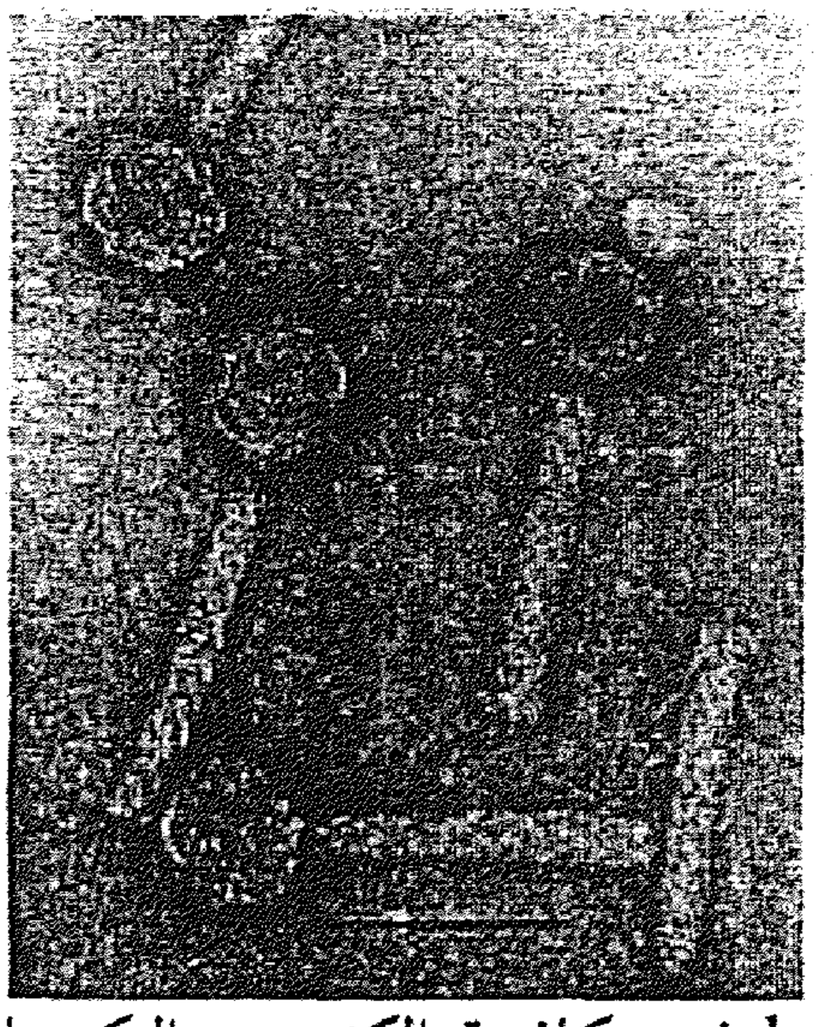
Xiu-lian, S.U.N. and P.E.N.G. Hui-Yin (2007). Recent advances in biological control of pest insects by using viruses in china. Virologica Sinica, 22(2):158- 162.

الفصل الثالث

المبيدات الفيروسية المستخدمة في مكافحة الميكروبات والآفات الأخرى

❖المبيدات الفيروسية المستخدمة في مكافحة البكتيريا المرضة للنبات:

يعرف الفيروس الذى يصيب البكتيريا باسم البكتيريوفاج bacteriophage، ويطلق عليه اختصارًا الفاج phage، والفاج هو فيروس يتطفل بشكل إجبارى على خلايا البكتيريا، ويتركب من حامض نووى وبروتين، ويصل طوله حتى ٢٠٠ نانومتر، وكل الفاجات لها تركيب ذات رأس head، والكثير منها وليس كلها له ذيل tail (شكل ٤-١١)، ويستخدم الفاج كأداة تشخيصية، كما يستخدم كأداة للتعريف والتصنيف.



شكل (٤- ١١) البكتيريوفاج

وتستخدم الفيروسات البكتيرية bacteriophages فى مكافحة الكثير من البكتيريا الممرضة للنبات كجزء من منظومة استراتيجية المكافحة المتكاملة، ويتميز الفاج ببقائه فى التربة لفترة طويلة، وتختلف الفاجات فى تخصصها، إذ يختص بعضها بسلالة بكتيرية ممرضة معينة، بينما يختص البعض بجنس معين، ويعتبر التخصص الشديد للفيروسات من أهم ما يميزها كعوامل مكافحة حيوية واعدة.

وعلى الرغم من أن هناك أسباب منطقية للتفكير فى استخدام الفاج فى المكافحة الحيوية

للبكتيريا الممرضة فإلى جانب أن كفاءة المبيدات البكتيرية منخفضة، فإن الفاج يتميز باستهدافه البكتيريا الضارة فقط بسبب تخصصه، ومقاومته للمبيدات البكتيرية مثل النحاس والمضادات الحيوية، إلا أنه فى المقابل فإن محدودية استعمال الفاج فى المكافحة الحيوية ترجع إلى قدرة الفاج على التطفر من فاج ممرض إلى فاج معتدل، وقدرتة على حمل جينات بكتيرية بما فيها جينات المرضية من خلية بكتيرية لأخرى، وحساسية مداه العوائلى، وتغير القدرة المرضية فى الظروف البيئية.

وهناك كثير من العوامل تؤثر فى بقاء وكفاءة الفاج فى المكافحة الحيوية مثل الأشعة فوق البنفسجية التى تؤثر فى بقاء الفاج على سطح أوراق النبات، كما تؤثر بشكل كبير على أعداد الفاج، إذ أن هناك ارتباط إيجابى قوى بين النقص فى أعداد الفاج وشدة الضوء فوق البنفسجى، ولذلك يفضل المعاملة بالفاج ليلًا، أو عندما تكون الأشعة فوق البنفسجية أقل من mW/Cm2، ومن العوامل الأخرى المؤثرة درجة الحرارة حيث يؤدى الفاج بشكل أفضل فى درجة الحرارة المنخفضة، والجفاف، ومبيدات البكتيريا كالنحاس.

ويمكن القول بصفة عامة أن تأثير وفعالية الفاج لا يعتمد فقط على حساسية البكتيريا المستهدفة ولكن تعتمد أيضًا على العوامل البيئية، وتجهيز الفيروس فى صورة مستحضر يحميه من النحاس.

وتستخدم بعض الفيروسات فى مكافحة بكتيريا سيدوموناس تاباسى Pseudomonas tabaci المسبب لمرض اللفحة النارية فى الدخان، وبكتيريا زانثوموناس برنى Xanthomonas pruni المسبب لمرض تقرح الخوخ، وبكتيريا زانثوموناس ترانسلوسنس Xanthomonas translucens المسبب لمرض القمح البكتيرى، وبكتيريا زانثوموناس مالفاسيرم Xanthomonas malvacearum المسبب لمرض التبقع الزاوى فى القطن.

ويستخدم فاج الزانثوموناس فى مكافحة التبقع البكتيرى bacterial spot على نباتات الطماطم والفلفل الذى تحدثه بكتيريا زانثوموناس كامبستريز Xanthomonas campestris var. vesicatonia.

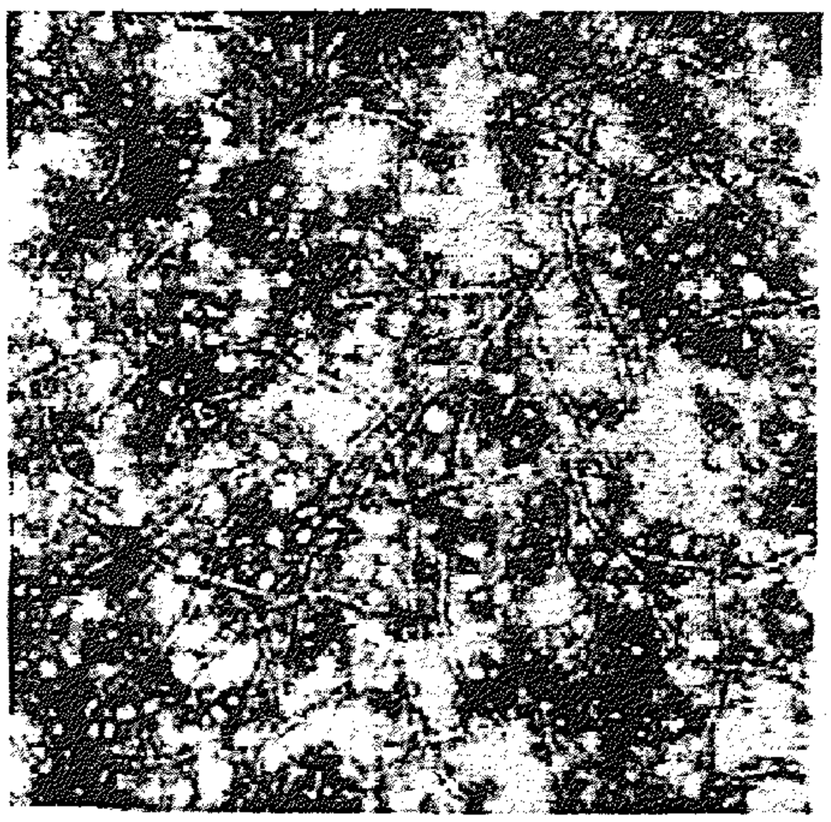
ويستخدم الفاج فى مكافحة مرض لفحة الأوراق على زراعات البصل فى الصوب والحقل والذى تسببه السلالة البكتيرية Xanthomonas axonopodis pv allii.

يستخدم فاج السيدوموناس فى مكافحة التبقع البكتيرى bacterial speck على نباتات الطماطم الذى تحدثه Pseudomonas syringae pv. tomato، بعد المعاملة يتضاعف القاح فى البكتريا المرضية، حيث يقضى على هذه البكتريا فى نهاية الأمر من خلال تفجير جدر الخلايا، وللاستعمالات التجارية يتم تنمية القاح فى مزرعة من عائلة البكتيرى، ويتوفر فى الأسواق التجارية مبيد حيوى عبارة عن مخلوط سائل من كلا الفاجين معا، تعامل النباتات والتربة بهذا المخلوط رشا أثناء موسم نمو النباتات.

ولا تؤدى المعاملة بهذا المخلوط إلى الضرر بالإنسان أو الحياة البرية أو البيئة وهو أمر متوقع يسبب الطبيعة التخصصية اللقاح الذى يهاجم فقط ممرضات نباتية معينة من البكتريا، وكذلك من الشائع وجود القاح فى كل مكان بالبيئة، إلى جانب تحلله بشكل طبيعى إلى مواد غير مؤذية خلال حوالى يومين فقط من المعاملة به.

المبيدات الفيروسية المستخدمة فى مكافحة الفطريات الممرضة للنبات

تستخدم فيروسات الفطريات mycoviruses أى الفيروسات التى تصيب الفطريات فى المكافحة الحيوية للفطريات الممرضة للنبات، وقد لوحظ أن هناك الكثير من الفيروسات التى توجد على فطر البوتريتس Botrytis (شكل ٤-١٢) وقد استنتج من ذلك إمكانية استخدام الفطريات فى المكافحة الحيوية.



شكل(٤-١٢) فيروس Botrytis virus X

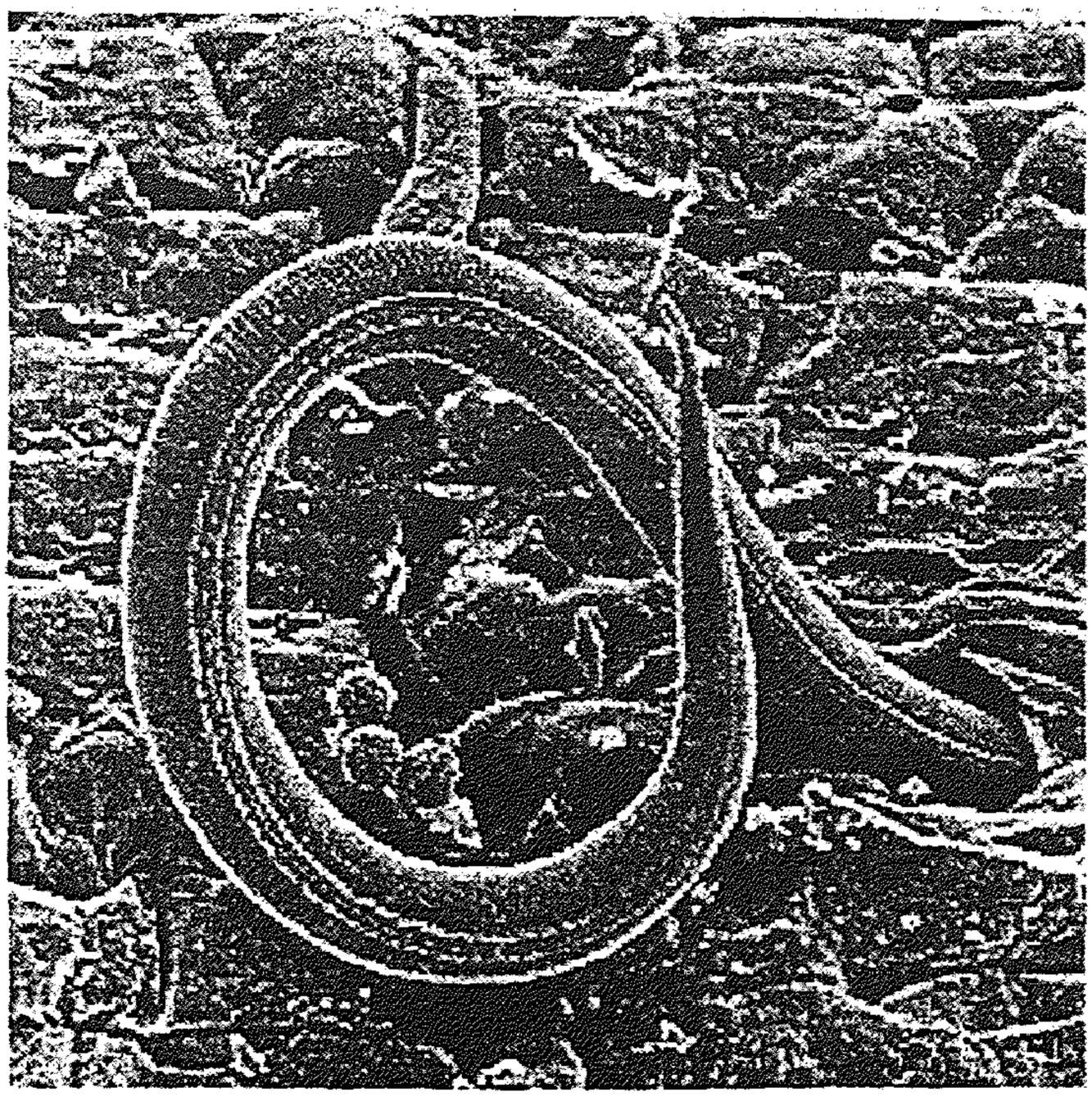
وتصاب الفطريات غير الراقية بفيروسات من النوع dsRNA أو النوع ssRNA، فى حين تصاب الفطريات الراقية بفيروسات من النوع dsRNA، وقد تم التعرف على بضعة أجناس من فيروسات الفطريات ذات جينوم dsRNA خطى.

وتشمل الفطريات الممرضة للنبات والعرضة للإصابة بالفيروس فطر هيلمينثوسبوريم فيكتوريا Helminthosporium victoriae المسبب للفحة فيكتوريا على نباتات الشيلم oats، وفطر جايومانوميسز جراميئيز Gaeumannomyces graminis المسبب لمرض ذبول البادرات فى نبات القمح.

❖المبيدات الفيروسية المستخدمة فى مكافحة النيماتودا:

على الرغم من النقص فى المعرفة بالفيروسات التى تصيب ديدان النيماتودا، إلا أنه من المؤكد أن هناك فيروسات كثيرة تتطفل على النيماتودا، لأنه من المعروف عن الفيروسات أنها تهاجم معظم إن لم يكن كل مجاميع الأحياء على سطح كوكب الأرض.

لقد عرف إصابة الفيروس للنيماتودا منذ نحو نصف قرن فقط، ففى العام ١٩٥٩ تم تسجيل إصابة الفيروس لديدان نيماتودا الجذور المعروفة باسم ميلويدوجينى إنكوجنيتا Meloidogyne incognita (شكل ٤-١٣).



شكل (٤-١٣) نيماتودا تعقد الجذور **Meloidogyne incognita**.

المراجـع:

Balogh, B. (2006). Characterization and use of bacteriophages associated with citrus bacterial pathogens for disease control. Ph. D. Thesis, University of Florida.

Balogh, B., J.B. Jones, M.T. Momol, S.M. Olson, A. Obradovic, P. King and L.E. Jackson (2003). Improved efficacy of newly formulated bacteriophages for management of bacterial spot on tomato. Plant Dis. 87:949- 954.

Keel, C., Z. Ucurum, P. Michaux, M. Adrian and D. Haas (2002). Deleterious impact of a virulent bacteriophage on survival and biocontrol activity of Pseudomonas fluorescens strain CHAO in natural soil. Mol. Plant-Microbe Interact. 15:567- 576.

Lamberti, F. and C.E. Taylor (eds.) (1979). Root-knot nematodes (Meloidogyne species): systematics, biology and control Academic Press, New York.

Lang, J.M., D.H. Gent and H.F. Schwartz (2007). Management of xanthomonas leaf blight of onion with bacteriophages and a plant activator. Plant Dis. 91:871- 878.

Leverentz, B., W.S. Conway, Z. Alavidze, W.J. Janisiewicz, Y. Fuchs, M.J. Camp, E. Chighladze and A. Sulakvelidze (2001). Examination of bacteriophage as a biocontrol method for salmonella on fresh-cut fruit: A model study. J. Food Prot. 64:1116- 1121.

Obradovic, A., J.B. Jones, M.T. Momol, B. Balogh and S.M. Olson (2004). Management of tomato bacterial spot in the field by foliar applications of bacteriophages and SAR inducers. Plant Dis. 88:736- 740.

Summers, W.C. (2001). Bacteriophage therapy. Ann. Rev. Microbiol. 55:437- 451.

Wagner, P.L. and M.K. Waldor (2002). Bacteriophage control of bacterial virulence. Infect. Immun. 70:3985- 3993.

Wiedenmann, R. (2000). Introduction to Biological Control. Midwest Institute for Biological Control. Illinois.

الباب الخامس

المقاومة للمبيدات الحيوية
وإستراتيجيات إدارة المقاومة

المقاومة للمبيدات الحيوية
وإستراتيجيات إدارة المقاومة

❖مقـدمـة:

كانت المقاومة resistance حدثًا نادرًا قبل إدخال مبيدات الآفات التخليقية الحديثة، إذ لم تتعدى بضعة حالات قبل عام ١٩٤٥، وقد ظهرت المقاومة كمشكلة شائعة فى الحشرات والحلم بعد إدخال مبيد د.د.ت DDT وما أعقبه من مبيدات كيميائية أنصب فعلها على مواقع معينة فى الجهاز العصبى، وبالمثل فإن المقاومة لمبيدات الحشائش كان غير شائع حتى تم إدخال المبيدات التى تنتمى لمجموعة الترايازين triazine التى تهاجم النظام الضوئى الثانى photosystem II، كما ظهرت المقاومة كمشكلة لمبيدات الفطريات مع مبيد بينوميل benomyl.

وقد أدى ظهور حالات مثيرة للقلق من المقاومة بين مئات من الميكروبات الممرضة والآفات المختلفة من جراء استعمال مبيدات الآفات الكيميائية إلى الاتجاه نحو برامج المكافحة المتكاملة IPM واعتمادها كإستراتيجية مثلى لمكافحة الآفات فى الوقت الراهن فى معظم أنحاء العالم.

ويقصد بالمقاومة تطور سلالات من الكائن الحى قادرة على مقاومة الجرعة المميتة للمبيد المستخدم فى المكافحة لغالبية أفراد المجتمع العادى، ويعتقد البعض أن المقاومة هى تغيرات وراثية فى السلوك - أكثر من النواحى الفسيولوجية - تؤثر على مقاومة الكائن الحى.

ومنذ أكثر من مائة عام بدأ التفكير فى الاستفادة من الكائنات الحية الدقيقة فى مكافحة الآفات والميكروبات الممرضة للنبات، إلا أنه حتى وقت قريب كان هناك اعتقاد جازم بأن ظهور مقاومة للميكروبات الممرضة المستخدمة فى المكافحة أمر غير محتمل بالمرة، وقد نشأ هذا الاعتقاد من كون المبيدات الحيوية الميكروبية مستحضرات طبيعية مكونها الفعال الميكروب ذاته، إلى جانب فترات بقائها persistance القصيرة فى البيئة، وتواجدها مع

الآفات كالحشرات منذ أزمنة بعيدة دون ظهور مقاومة، وفى الحقيقة فإنه ربما كانت هناك حالات مقاومة لكن لم يتم التعرف عليها حيث لم تنل هذه الجزئية الدراسات الكافية إلا فى العقود الأخيرة فقط.

وبالفعل ففى السنوات الأخيرة ثبت خطأ هذا الاعتقاد إذ لوحظ مقاومة بعض الآفات للمبيدات الحيوية الميكروبية المستخدمة، مثل مقاومة الخنفساء اليابانية Popilla japonica والخنفساء الشرقية Anomala (Exomala) orientalis لبكتيريا بانيباسيلس بوبليا Paenibacillus (=Bacillus) popilliae، وهناك أمثلة أخرى سوف يتم العرض لها فى سياق الباب الحالى.

ونظرًا للتواجد طويل الأمد بين كل من الآفات والميكروبات، ونظرًا أيضًا لوجود جينات المقاومة فى الميكروبات والآفات فإن تكرارها قبل الاستخدام التجارى الواسع للمبيدات الحيوية الميكروبية قد يكون مرتفعًا، ومن المتوقع أن الزيادة الحادثة حاليًا فى توظيف الكثير من الميكروبات الممرضة أو مستحضراتها التجارية فى المكافحة الحيوية سوف يتمخض عنه حالات مقاومة أكثر خلال السنوات القادمة.

حـالات المقاومـة:

❖البكتيريـا:

ثمة تهديد خطير يواجه عملية المكافحة الميكروبية للآفات الحشرية باستخدام بكتيريا باسيلس ثورنجينسيس Bacillus thuringensis، ويتمثل هذا التهديد فى ظهور مقاومة لدى بعض هذه الآفات الحشرية لسمية البروتين البلورى Cry proteins وذلك من جراء تعريضها بشكل متكرر لهذه البكتيريا الممرضة.

وتمتلك الآفات الحشرية المقاومة دفاعات خلوية أولية تظهر على هيئة تأقلم فسيولوجى ينتج عنه مقاومة للفعل الإبادى للآفات من قبل بكتيريا باسيلس ثورنجينسيس B. thuringensis، وتشمل آليات الدفاع الخلوية الاستجابات غير المتخصصة فى الحشرات والتى تحدث بسبب التفاعل مع الميكروب الممرض، وكذلك تشمل الدفاعات التغيرات فى نشاط الأسطح المخاطية التى تحسن إفراز الإنزيمات المحللة للبروتين proteolytic enzymes والجزيئات المضادة للميكروبات، وفى الغالب تعتمد الحشرات على الاستجابات الخلوية الأولية للدفاع عن نفسها ضد غزو الميكروبات وسمومها.

وتنشأ آلية المقاومة لدى الآفات الحشرية من حدوث تغير ما فى تطور المرضية بواسطة سموم بكتيريا باسيلس ثورنجينسيس B. thuringensis، مثل انخفاض ذوبان البروتين البلورى وهو العامل المحدد للسمية فى الحشرات، والتحليل المفرط لسموم بكتيريا باسيلس ثورنجينسيس B. thuringensis بإنزيم البروتييز للمعى الوسطى والذى يساهم فى انخفاض ضراوة سموم بكتيريا باسيلس ثورنجينسيس B. thuringensis مما ينجم عنه ظهور آفات مقاومة، والتنشيط غير الكافى لسموم بكتيريا باسيلس ثورنجينسيس B. thuringensis بواسطة إنزيمات سيرين بروتينيز للمعى الوسطى للحشرات، وحدوث تغيير فى أنشطة التربسين بالمعى الوسطى كما فى حالة فراشة جريش الذرة Plodia interpunctella وهى من آفات الحبوب المخزونة وثاقبة الذرة الأوروبية Ostrinia nubilalis وهى من آفات الحبوب وبصفة خاصة الذرة، وقد يكون للغشاء الذى يحيط بالغذاء peritrophic membrane للمعى الوسطى للحشرة دورًا فى عملية المقاومة لبكتيريا باسيلس ثورنجينسيس B. thuringensis لأنه من المعروف أن السموم النشطة لهذه البكتيريا تمر خلال هذا الغشاء لتصل إلى موقعها المستهدف وهو الخلايا الطلائية للمعى الوسطى للحشرة، وقد ينتج عن ضعف ارتباط سموم بكتيريا باسيلس ثورنجينسيس B. thuringensis بأغشية حافة فرشاة المعى الوسطى نقص فى نشاط السم وهى آلية لمقاومة بكتيريا باسيلس ثورنجينسيس B. thuringensis، ويعزى الكثيرون مقاومة العديد من الآفات الحشرية من رتبة حرشفية الأجنحة إلى حدوث طفرات أو إلى غياب التعبير الجينى المنظم لمستقبل سموم بكتيريا باسيلس ثورنجينسيس B. thuringensis فى المعى الوسطى.

ويحدث النشاط المرضى لبكتيريا باسيلس ثورنجينسيس B. thuringensis تجاه الآفات الحشرية نتيجة الفعل المتسلسل لسموم البروتين البلورى التى تناولتها يرقات الحشرات والتى تتضمن الذوبان فى عصير المعى الوسطى للحشرة، والتنشيط بفعل العمليات الإنزيمية، والتفاعل مع الخلايا الطلائية للمعى الوسطى للحشرات، وهدم التكامل التركيبى والوظيفى للخلايا الطلائية مما يؤدى إلى تحطيم النسيج كاملًا وموت الحشرة، وتعمل الاستجابات الأولية والتأقلمية - مثل التغيرات فى تكوين البروتين البلورى والحالة

الفسيولوجية للمعى الوسطى للحشرة - على وقف فعل السم، ومن ثم يصبح نسيج المعى مقاوم لسموم البروتين البلورى.

وكما أسلفنا يؤدى تكرار تعريض مجتمع حشرى بعينه لميكروب ما ممرض مثل بكتيريا باسيلس ثورنجينسيس B. thuringensis إلى إحداث نوع من الضغط الاختيارى الشديد الذى يتولد عنه طفرات مقاومة resistant mutants بهذا المجتمع، وقد تم بالفعل توليد مثل هذا الضغط الاختيارى أكثر من مرة فى المختبرات على كثير من الحشرات مثل فراشة جريش الذرة Plodia interpunctella وفراشة اللوز Cadra cautella وفراشة التبغ Heliothis virescens حيث أمكن تطوير سلالات حشرية ذات درجة حساسية أقل لبكتيريا باسيلس ثورنجينسيس B. thuringensis الممرضة لها.

ومنذ عام ١٩٨٥ بدأ التعرف على الآفات الحشرية المقاومة لفعل بكتيريا باسيلس ثورنجينسيس B.thuringensis، فقدلوحظآنذاكأنفراشاتجريشالذرةP.interpunctella فى مخازن حبوب القمح المعاملة بسلالة الباسيلس ثورنجينسيس B. thuringiensis var. kurstaki كانت أقل تأثرًا عن الحشرات المأخوذة من القمح غير المعامل، كما زادت الجرعة المميتة لسلالات فراشات جريش الذرة P. interpunctella المرباة فى المختبرات والمغذاة على طعام يحتوى على بكتيريا باسيلس ثورنجينسيس B. thuringensis إلى حوالى ٢٥٠ ضعف عن مثيلتها من السلالات الأم الحساسة (جدول ٥-١).

جدول (٥- ١) أمثلة للأنواع الحشرية المقاومة لسلالات بكتيريا باسيلس ثورنجينسيس B. thuringensis

حشرات مقاومة للسلالة البكتيرية B. thuringiensis K
فراشة جريش الذرة
الفراشة ذات المظهر الماسى
فراشة التبغ
دودة ورق القطن الصغرى
حشرات مقاومة للسلالة البكتيرية B. thuringiensis n
دودة ورق القطن
حشرات مقاومة للسلالة البكتيرية B. thuringiensis i
خنفساء الكلورادو
البعوضة المصرية
الذبابة المنزلية
ذبابة الخل

وتقاوم حشرة لف الأوراق فى نبات الكرنب Trichoplusia ni والسلالة ٣٤٣ من فراشة جريش الذرة P. interpunctella strain ٣٤٣ بشدة المستحضر الحيوى التجارى لبكتيريا باسيلس ثورنجينسيس B. thuringensis المعروف باسم دايبل Dipel، وهو عبارة عن مخلوط من بلورات البروتين والجراثيم للسلالة البكتيرية B. thuringiensis var. kurstaki، ويتم تنظيم هذه البروتينات من خلال جينات تنتمى إلى عائلة Cry1Ac لحشرات لـفافات الأوراق، وعائلـة cryIA وعائلة cryII لفراشة جريش الـذرة (جدول ٥- ٢).

وقد تم فى عام ١٩٩٠ دراسة آليـة مقاومة حشرة فراشة جريش الذرة P. interpunctella لسمية البروتينات البلورية من بكتيريا باسيلس ثورنجينسيس B. thuringiensis، حيث تم تقدير الجرعة المطلوبة من المستحضر الحيوى دايبل Dipel اللازمة لقتل نصف عدد أفراد الآفة الحشرية المختبرة - أى قيمة LD50 بالميكروجرام لكل يرقة - سواء فى حالة السلالة الحشرية المقاومة للدايبل أو السلالة الحشرية الأم الحساسة له وذلك لكل من البروتوكسين CryIA (b) المعاد تركيبه والتوكسين من السلالة البكتيرية B. thuringiensis var. berliner وكذلك للبروتوكسين CryIC المعاد تركيبه والتوكسين من السلالة B. thuringiensis var. entomocidus HD110، وقد استجابت السلالات الحشرية الحساسة والمقاومة بطريقة مشابهة للدايبل والبروتوكسين CryIA (b)، والذى يعزى إلى أحد البروتينات البلورية المبيدة للحشرات فى الدايبل، وتظهر السلالة الحشرية المقاومة مستوى من المقاومة مشابه للبروتوكسين CryIA(b) والتوكسين CryIA(b) المجهز منه بالتنشيط المعملى in vitro activation، ويدل ذلك على أن المقاومة لا تعزى إلى نقص التنشيط للإنزيمات المحللة للبروتين للبروتوكسين فى المعى الأوسط للسلالة الحشرية المقاومة، ولا تعزى إلى هدم الجزء السام الثابت بالتحليل بواسطة إنزيمات البروتييز فى السلالة المقاومة.

جدول (٥-٢) سمية البروتينات البلورية المبيدة للحشرات لبكتيريا باسيلس ثورنجينسيس B. thuringiensis تجاه السلالات الحساسة والمقاومة من دودة جريش الذرة P. interpunctella

بروتين بلورى مبيد للحشرات	الجرعة نصف المميتة LD50 لدودة جريش الذرة	
	حساسة	مقاومة
دايبل	1.21	30 <
بروتوكسين CrylA(b)	0.12	12.8 <

توكسين CrylA(b)	0.03	26.3
بروتوكسين CrylC	0.20	0.02
توكسين CrylC	0.11	0.03

ومن ناحية أخرى فقد أجريت دراسات مستفيضة حول ارتباط المستقبل مع توكسين الباسيلس ثورنجينسيس B. thuringiensis، وفى دراسة موثوق بها استخدم السم المعلم 125I-labeled CryIA(b) وذلك مع حواجز التنظيف لأغشية الحويصلات brush border membrane vesicles والمتحصل عليها من المعى الأوسط ليرقات السلالات الحشرية الحساسة والمقاومة للبروتينات البلورية، ومع أن عدد المستقبلات متشابه فى السلالات الحساسة والمقاومة، إلا أن الارتباط بالمستقبلات فى السلالات المقاومة كان أقل ٥٠ مرة عنه فى السلالات الحساسة بما قد يعنى أن المقاومة لتوكسين CryIA(b) ترجع إلى نقص فى عملية ارتباط السم بالمستقبل.

وجدير بالذكر أن السلالة الحشرية التى تتصف بخاصية المقاومة لاتبدى مقاومتها لمختلف البروتينات السامة ذات التأثير الإبادى للحشرات، فمثلًا لا تقاوم السلالة الحشرية المقاومة للبروتين البلورى CryIC ذات الخصائص الابادية للحشرات التوكسين CryIA(b) واللذان يختلفان عن بعضهما البعض فى الطبيعة التركيبية، ويرتبط السم CryIC بشكل أكثر تعقيدًا عن السم CryIA(b)، وقد تم تحديد نوعين من مواقع الارتباط الخاصة بالسم CryIC للسلالة الحشرية الحساسة مع تحديد قيم ثوابت الانفصال Kd1 بقيمة 0.31 nM و Kd2 بقيمة154 nM ، وفى السلالة الحشرية المقاومة تم توصيف موقع الارتباط فقط بواسطة تحديد قيمة Kd١، وقد أظهرت تجارب التنافس المقارنة لأنشطة البروتين البلورى CryIc والبروتين البلورى CryIA(b) فى السلالة الحشرية الحساسة أن كلا النوعين من البروتينات البلورية يتنافس على مواقع الارتباط التى توصف بواسطة Kd2 وأن هذه المواقع تتطابق مع مواقع الارتباط القوية للبروتين البلورى CryIA(b)، ولا ينافس البروتين البلورى CryIA(b) على مواقع الارتباط القوية للبروتين البلورى CryIC، وعلاوة على ذلك فإن ميل البروتين البلورى CryIC لمواقع ارتباطه القوية هى نفسها داخل الخطأ التجريبى فى السلالات الحشرية سواء الحساسة أو المقاومة.

إذن يمكن القول أن للخلايا الطلائية للمعى الأوسط لحشرة دودة جريش الذرة

P. interpunctella مراكز استقبال ترتبط بقوة بالبروتينات البلورية المبيدة للحشرات CryIA(b) و CryIC، ويرتبط التوكسين CryIA(b) بقوة بمستقبله الخاص وبدرجة أقل حوالى ٥٠ ضعف عن المستقبل CryIC، ويرتبط CryIA(b) بقوة بمستقبله الخاص فقط، ولوجود المستقبلات المختلفة على الخلايا الطلائية للمعى الأوسط المدركة بشكل متخصص بواسطة السموم المختلفة أهمية من الناحيتين العملية والتطبيقية، فمعاملة السلالة الحشرية المستهدفة بمخلوط من التوكسينات التى تتعرف على المستقبلات المختلفة يقلل كثيرًا من احتمال تطور صفة المقاومة فى الآفات الحشرية للسموم البكتيرية.

❖ الفطـريـات:

هناك أعداد محدودة من الفطريات يعتمد عليها فى المكافحة الحيوية الميكروبية من بين مئات الأنواع الفطرية الممرضة للآفات والميكروبات، وتتضمن استراتيجيات المكافحة الناجحة إدخال دائم وتأسيس وإطلاق ضخم وتعديل بيئى أو صون لعوامل المكافحة الحيوية.

وتستخدم معظم برامج المكافحة الحيوية الفطريات فى مكافحة الحشرات - بصفة خاصة - تحت ظروف الصوب والحقل، وهناك اهتمام باستخدامها فى مكافحة الذباب الأبيض whiteflies الذى يمثل مشكلة فى السنوات الأخيرة وبصفة خاصة فى الحالات المقاومة للمبيدات الحشرية.

وفى الصين استخدم فطر بوفاريا باسيانا Beauveria bassiana لمكافحة يرقات فراشة الصنوبر Dendrolimus punctatus على مساحة مليون هكتار، كما استخدم هذا الفطر لمكافحة ثاقبة الذرة الأوروبية Ostrinia furnacalis على مساحة ٣٠٠ ٠٠٠ هكتار مزروعة بالذرة.

أما فى أمريكا فإن فطر بوفاريا باسيانا B. bassiana من الفطريات المسجلة بالفعل لمكافحة الذباب الأبيض ونطاطات الأعشاب والتربس والمن على الكثير من المحاصيل الاقتصادية الهامة، وقد يساهم هذا الفطر فى القضاء على الأمراض التى يتم نقلها بالحشرات مثل الملاريا وحمى الدنج.

وتعتبر حالات المقاومة الحقيقية تجاه الفطريات غير معروفة لسببين هما:

١. الاستخدام المحدود نسبيًا حتى الآن.

٢. نقص الدراسات فى هذا المجال.

وهناك بعض الأمثلة الحقلية تدل على مقاومة فعلية ترجع إلى التغيرات الوراثية فى العائل، فقد ظهرت فى استراليا أنواع من المن مقاومة، وقد أعزى ذلك إلى التباين الوراثى فى حساسية العائل.

أما فى حالة الفطريات المستخدمة فى مكافحة الأمراض المحمولة بالبعوض، فلم تلاحظ حالات مقاومة، لكن قد تنشأ هذه الحالات فى المستقبل لأن برامج المكافحة الفعالة تتطلب تطبيقات متكررة أكثر منها معاملة واحدة خلال فترات تربية البعوض.

وتوجد آليات متعددة تقاوم بها الآفات الحشرية الفطريات الممرضة المستخدمة فى المكافحة الحيوية، فمن المعروف أن حدوث المرض فى حد ذاته هو عملية معقدة تنطوى على أكثر من خطوة من التفاعل بين كل من الفطر الممرض والعائل الحشرى، وأى تغير محتمل فى العائل الحشرى على طول دورة المرض يؤدى - بالقطع - إلى تغيرات قد ينجم عنها فى النهاية مقاومة المرض، فالكيوتكل - مثلًا - الذى يمثل حاجز متعدد الطبقات أمام الفطر قد يفشل الفطر فى اختراقه لسبب أو لآخر مثل احتوائه على مركبات مثبطة للفطر، وافتقاره إلى المواد الغذائية الملائمة، إلى جانب غياب عوامل الإدراك اللازمة، وبمجرد ولوج الفطر الممرض إلى جسم العائل الحشرى قد تموت الآفات الحشرية على أثر بعض الأضرار الميكانيكية الحادثة بواسطة الفطر الغازى، ونضوب المواد الغذائية الخاصة بالعائل الحشرى أو السموم المنتجة من قبل الفطر.

أما الميكروسبورديا microsporidia فهى توضع فى الوقت الراهن مع الفطريات، وتمثل إحدى قبائلها، وهى طفيليات وحيدة الخلية تكون جراثيم، ويتم نقل بعضها عن طريق تناول جراثيمها، أو بواسطة الطفيليات، وفى العادة ينتج عن الإصابة بها الحد من كثافة بعض الآفات عن طريق ضعف الخصوبة، وعلى الرغم من أن استخدامها فى مكافحة الآفات محدودًا، إلا أنه منها نوعين بذات أهمية فى المكافحة الميكروبية للآفات الحشرية وهما النوع بارانوزيما لوكوستيا Paranosema (=Nosema) locustae والنوع فاريمورفا نيكاتريكس Varimorpha necatrix، والأول مسجل كطعم لمكافحة نطاطات الأعشاب، عندما يكون الحد الاقتصادى الحرج مرتفع، وبسبب محدودية الكتلة الخلوية المنتجة منها وكفاءتها يمكن اعتبارها مفترسات أكثر منها مبيدات حيوية ميكروبية.

وعلى الرغم من أنه لا توجد حالات مقاومة معروفة للميكروسبوريديا، فهناك آليات ممكنة لحدوث مقاومة من الحشرات للفطريات الممرضة، وكما هو الحال فى الفطريات تبدو الإصابة بالميكروسبوريديا عملية معقدة من التفاعلات بين الفطر الممرض وعائله الحشرى.

❖ الفيروسات:

هناك عدد من الفيروسات تستخدم بنجاح لمكافحة الآفات الحشرية، وتعتبر الفيروسات العصوية (البيكلوفيروسات baculoviruses) أكثر المجموعات الفيروسية الممرضة للحشرات شيوعًا فى عملية مكافحة الآفات الحشرية، وتستخدم البيكلوفيروسات لمكافحة الآفات الحشرية من رتبة حرشفية الأجنحة.

وعلى الرغم من أن استخدام الفيروسات فى المكافحة الحيوية غير مكلف بالمقارنة بالمبيدات الكيماوية إلا أن مداها العوائلى الضيق ومعدلها البطئ نسبيًا فى قتل الحشرات يعتبر عيب فى استخدامها فى الكثير من المحاصيل عند الحد الحرج للضرر المنخفض، وتستخدم الفيروسات بنجاح فى بعض المحاصيل الحقلية ذات الحد الحرج الأعلى.

وقد تؤدى هندسة الفيروسات وراثيًا إلى التغلب على محدودية قدرات الفيروسات المتواجدة طبيعيًا، وآنذاك ستستخدم الفيروسات بكثرة وبشكل مكثف، وستصبح المقاومة لها مشكلة، وبالنظر إلى تاريخ المقاومة لمبيدات الآفات الحشرية الكيماوية، والتى تعمل بشكل هرمونى أو على الجهاز العصبى، بما فيها قناة الصوديوم، وقد تتطور المقاومة بشكل محدد إلى بعض الجينات التى يتم إدخالها إلى الفيروسات.

وتظهر بعض الحشرات مقاومة للإصابة بالبيكلوفيروسات بتقدمها فى العمر، وهذه ليست مقاومة حقيقية إنما هى مجرد تغيرات فى تطور الإصابة، وبعض هذه التغيرات كبيرة تصل إلى ٣٤ ٠٠٠ ضعف فى الاختلاف بين العمر اليرقى الأول والعمر اليرقى الخامس، وقد وجد فى بعض التجارب تحت الظروف المعملية أن الحشرات تصبح أقل تأثرًا بالفيروس بتقدم الأجيال.

وقد لوحظ مستوى عالى من المقاومة يصل إلى ١٤٠ ضعف فى فراشة درنات البطاطس Phthorimaea operculella تجاه الفيروس الحبيبى GV لمدة ستة أجيال.

ومن الآفات الزراعية الهامة الأخرى التى تطورت بها المقاومة للفيروسات تحت

الظروف المعملية الحشرة القياسة Trichoplusia ni وفراشة جريش الذرة Plodia interpunctella وآفـة Spodoptera frugiperda.

وقد أظهرت يرقات آفة فول الصويا Anticarsia gemmatalis مقاومة للفيروس A. gemmatalis multiple-embedded nucleopolyhedrovirus AgMNPV المستخدم فى مكافحتها لمستوى يصل إلى أكثر من ألف مرة.

وحديثًا هناك مقاومة للمنتج الحيوى المحتوى على الفيروس الحبيبى Cydia pomonella granulovirus CpGV على أثر استخدامه لسنوات عديدة فى بعض الدول الغربية مثل ألمانيا وفرنسا كمبيد حيوى لمكافحة يرقات آفة دودة التفاح التى تصيب بعض نباتات الفاكهة كالتفاح والكمثرى.

خصائص الميكروبات الممرضة المؤثرة فى المقاومة:

من الأمثلة المعروفة للمقاومة لعوامل المكافحة الحيوية من الميكروبات تحت الظروف الحقلية مقاومة الفراشة ذات الظهر الماسى Plutella xylostella لبكتيريا باسيلس ثورنجينسيس B. thuringiensis، ومن المعتقد أن هذه المقاومة لا ترجع إلى خصائص ملازمة لهذا النظام، لكن بالأحرى ترجع إلى الاستعمال المكثف للمستحضر الحيوى المنتج من هذه البكتيريا ضد هذه الآفة بصفة خاصة، وفى هذه الحالة بالذات فإن استعمال المستحضر البكتيرى كان فى تزايد لأن سياسات المكافحة الأخرى لاقت فشلًا آنذاك.

وفى حالة المقاومة الحيوية تحت ظروف الحقل فى حشرة فول الصويا A. gemmatalis للمستحضر الفيروسى AgMNPV فى البرازيل، فقد ظهرت المقاومة فقط بعد عدة سنوات من الاستعمال الواسع، لكن مثل هذا الاستخدام قد يرجع إلى أسباب اقتصادية وبيئية أكثر منها فشل فى السياسات الأخرى.

ويمكن توقع أن المرضية المعقدة يصاحبها ندرة فى ظهور المقاومة، فعندما تتلامس الجراثيم الكونيدية لفطر المكافحة الحيوية ميتاريزيم انيسوبليا Metarhizium anisopliae مع أحد عوائله الكثيرة فإنها تنبت مكونة أعضاء التصاق appressoria على الكيوتكل، تنمو منها نموات هيفية دقيقة تعرف بأوتاد العدوى infection pegs فى الايبيكيوتيكل، وهيفات تخترق الصفائح فى البروكيوتكل، وأجسام هيفية تشبه الخميرة فى داخل الفراغ الدموى،

والتى تؤدى فى النهاية إلى موت الحشرة، وفى هذه المراحل المختلفة تنشأ طفرات وراثية لها رد فعل يمانع الغزو الفطرى.

وهناك عوامل كثيرة تحكم عملية تطور المقاومة مثل عملية التطبيق ذاتها، ونمط الاستخدام، وتركيب المستحضر الحيوى، وطول فترة التعرض للمبيد، وفى الفترات التى زاد فيها استخدام بكتيريا باسيلس ثورنجينسيس B. thuringiensis بشكل ملفت للنظر عندما فشلت المنتجات الكيميائية التخليقية تطورت مستويات عالية من المقاومة تجاه سلالة بكتيريا B. thuringiensis kurstaki فى الفراشة ذات الظهر الماسى فى خلال فترة أربعة سنوات، وكقاعدة عامة فإن المبيد الحيوى الأكثر استخدامًا هو الأكثر احتمالًا أن تتطور المقاومة ضده.

❖الكشف عن المقاومة:

ليست كل الآفات بداخل مجتمعاتها عرضة للإصابة بكل الميكروبات الممرضة المستخدمة فى المكافحة الحيوية، وحتى الآفات العرضة للإصابة تختلف فيما بينها على حسب المرحلة، وهناك طرق تكشف عن المقاومة الحقيقية.

ويتم اختبار المقاومة للميكروبات بطريقة مشابهة للتعرض الذى يحدث للآفة تحت ظروف الحقل، وهناك أكثر من تكنيك لذلك مثل:

١ – التقدير الحيوى بغمس الورقة:

يستخدم هذا التكنيك بكثرة لتقدير مقاومة الفراشة ذات الظهر الماسى P. xylostella لبكتيريا باسيلس ثورينجينسيس B. thuringiensis.

٢ – LC50 and the corresponding 95% Cl:

يستخدم هذا التكنيك بكثرة لمقارنة حساسية مجتمعات الآفات ببعضها البعض، ويتم جمع الحشرات من الحقل وتربيتها فى المعمل لجيل أو أكثر للحصول على العدد الكافى.

٣- استخدام الحامض النووى DNA:

تستخدم هذه الطريقة فى السنوات الأخيرة فى الكشف عن التطفر الحادث فى الحامض النووى DNA بجينوم بعض الآفات.

❖كيفية التعامل مع المقاومة:

ثمة عوامل كثيرة تساهم فى ظهور صفة المقاومة فى الآفات التى يتم مكافحتها بالميكروبات الممرضة، وهناك استراتيجيتين لإدارة المقاومة هما استراتيجية أولية proactive وأخرى تفاعلية reactive، وتحبط الخطة الأولية من إمكانية المقاومة وتحاول تأخيرها قبل ظهورها، فى حين تستجيب الخطة التفاعلية لمشاكل المقاومة الموجودة بالفعل فى الحقل، وذلك بهدف مكافحة الآفات المقاومة فقط بواسطة بعض الوسائل مثل استخدام مخاليط من المبيدات واستخدام معدلات عالية، ونظرًا لأن تكرار المقاومة عالى بالفعل فإن إمكانيات هذه الوسائل قليلة فى إبطاء تطور المقاومة بشكل فعلى.

وعادة يوصى القائمون على إدارة المقاومة بتقليل استخدام مبيد معين واستعمال المكافحة المتكاملة، ومن الأهمية تقليل عدد ومناطق التطبيق من خلال برنامج مكافحة متكاملة، ويعتبر الاستخدام الدورى للمبيدات خلال أجيال الآفة أفضل من الدورات قصيرة المدى أو الموازيك فى استعمال المبيدات.

وتصيب كثير من الآفات مثل دودة لوز القطن Helicoverpa zea العديد من المحاصيل الاقتصادية كالقطن والذرة وفول الصويا والطماطم، وتحتاج المكافحة المتكاملة والمقاومة لهذه الآفة نظام محصولى موحد أكثر من التركيز على محاصيل متخصصة.

ومع التنوع فى المبيدات الحيوية يصعب إلى حد كبير وصف أى تفاصيل عن إستراتيجية إدارة كاملة للمقاومة لكل المنتجات وتحت كل الظروف، وبصفة عامة هناك عدة إستراتيجيات يجب مراعاتها للحد من ظهور المقاومة مثل تقليل عدد مرات ومناطق التطبيق، والجرعات المرتفعة، والجرعات المنخفضة، واستهداف المراحل الحياتية الأكثر حساسية للآفة، وتغطية الرش المحسنة، ودورات المبيد، ومخاليط المبيدات، والمنتجات ذات المجال الاختيارى وليس الواسع.

❖تقليل عدد مرات ومناطق المعاملة بالمبيد:

يفيد تقليل عدد مرات استخدام مبيدات الآفات وعدد المناطق المعاملة بالمبيدات فى مكافحة تطور المقاومة، وتؤثر نسبة أفراد الآفات التى تلوذ بنباتات المحاصيل وغيرها التى لم تعامل، وكذلك الأجزاء النباتية التى تحتمى بها الآفات لتقى نفسها من التعرض للمبيد

فى تطور المقاومة، ومن استراتيجيات التغلب على المقاومة توفير مثل هذه الملاجئ قدر الامكان، ويجب معرفة أنه ليست كل الحشرات العرضة للإصابة تقاوم المعاملة، ومن المعروف أن معاملة بقعة spot treatment يكفى غالبًا لمكافحة الآفات دون معاملة المجتمع ككل، ولذلك فأفضل طريقة هى تقليل نسب أعداد الآفة التى ترش بداخل المحصول، ويتفق ذلك مع المكافحة المتكاملة بداخل المحصول، فى تقليل عدد مرات الرش، أو تغطية جزء من المحصول. وفى الغالب تتركز خنفساء الكلورادو على سبيل المثال على حواف الحقل، وتعمل المناطق بداخل الحقل كملاجئ للحشرات والتى لا تكون كثيرة بالعدد الذى يسبب فقد ولكن يمكن أن تخفف المقاومة.

❖الجرعات المرتفعة:

يجب تجنب معدلات الاستخدام العالية للمبيدات، فعلى النقيض تمامًا مما يعتقد الكثيرون ليست هناك ميزة لاستعمال جرعات مرتفعة من مبيدات الآفات، وفى الحقيقة فإن الجرعات المرتفعة تثبط مكون المكافحة الحيوى فى برامج المكافحة المتكاملة لكل من الحشرات والحلم، وقد فشلت التجارب التى أجريت على مبيدات الفطريات فى إظهار ميزة واحدة لمعدلات استخدامها العالية، كما أظهرت أن المعدلات المنخفضة غالبًا ما تؤدى إلى إظهار مقاومة بطيئة.

وليست هناك ميزة فى استعمال معدلات مرتفعة من المبيدات فى عمليات رش المحاصيل سواء من الناحية التطبيقية أو حتى النظرية، وفى الحقيقة فقد تكون هناك ميزة للنباتات المعدلة وراثيًا أو للنظم المغلقة مثل مخازن الحبوب granaries، حيث يكون هناك تحكم تام ورقابة صارمة فى معدل استخدام المبيد حتى ولو كان التعرض للمبيد دائم فى مثل هذه الحالات.

وتبعد المكافحة الجيدة بشكل تام بعض الآفات التى تتغذى عليها الأعداء الطبيعية ومن ثم تجوع بدورها إذا لم تقتل بعملية الرش ذاتها والتى يكون لديها المقدرة على حث المقاومة المبيد والذى يزيد الاعتماد على الرش كما يزيد ظهور المقاومة بشكل أسرع، ومن ناحية أخرى لا يوجد دليل واضح أو نظرية تقر بأن المعدل الأقل فى استخدام المبيد يبطئ من ظهور المقاومة، على الأقل ليس داخل مدى المعدلات التى تظل تكافح الآفات، مع أن المعدلات المنخفضة قد تكون أكثر تكاملًا مع البقاء واستعمال الأعداء الطبيعية.

❖الجرعات المنخفضة:

يؤدى استخدام جرعات منخفضة من المبيد إلى مقاومة بطيئة عنها فى حالة استخدام المعدلات الكاملة الموصى بها، ويعتقد أن الجرعة المنخفضة التى تبقى على ٢٠٪ من الأفراد الحساسة تبطئ بدرجة طفيفة من تطور المقاومة، وينتج عنها مكافحة قصيرة المدى وفقيرة قد تسبب ضرر للآفة، وهى مقاومة غير مقبولة فى غياب الوسائل البديلة للمكافحة.

❖خصائص الآفات المؤثرة فى المقاومة:

تندرج نسبة المجتمع المعرض لعامل انتخابى بين العوامل الهامة التى تحكم تطور المقاومة، وتتطور المقاومة بشكل أكثر سرعة بين الآفات المتشابهة أو ذات القرابة، كما تتطور المقاومة بصورة أسرع عند تعرض نسبة كبيرة من المجتمع كل جيل.

ويلعب كثير من النواحى الأخرى فى بيولوجى الآفة دورًا هامًا فى معدل تطور المقاومة، فالآفات التى لها عدد أجيال كبير فى السنة لا تحدث بها المقاومة بشكل سريع، أما بعض الآفات التى لها عدد أجيال قليل فى السنة مثل خنفساء الكلورادو فتتطور بها المقاومة بشكل سريع جدًا، ويرجع ذلك إلى الانتخاب المكثف بداخل كل جيل. وتلعب جينات المقاومة نفسها دور هام فى معدل تطور المقاومة.

❖تجنب مخاليط المبيدات:

على عكس اعتقاد آخر سائد بصورة شبه عامة بين الكثيرين، ليس بالضرورة أن تؤخر مخاليط مبيدات الآفات من ظهور المقاومة، وليست هناك أى ميزة تذكر لاستخدام مخاليط المبيدات فى المكافحة عن استخدام نفس المبيدات المفردة المكونة للمخلوط بشكل دورى أو متتابع، وحتى من الناحية النظرية فإن مخاليط المبيدات تؤخر المقاومة بشكل حقيقى فقط فى حالة مواجهة ظروف عديدة، ولكى تكون عملية المكافحة فعالة بشكل أفضل يجب أن تحقق مخاليط المبيدات متطلبات عديدة وبصفة خاصة يجب أن يكون هناك معدل موت عالى من كل هذه المبيدات عند رشها بمفردها، وتقريبًا فإن كل الأفراد المقاومة والمعرضة لمبيد آفات واحد يجب أن تقتل بالمبيد الآخر لكى تكون المبيدات فعالة.

ومن النادر أن تحدث مثل هذه الظروف فى حالة العوامل الميكروبية المرشوشة، فعلى سبيل المثال، فإن التجارب فى حالة مخاليط بكتيريا باسيلس ثورنجينسيس

B. thuringiensis والمستخدمة بتركيزات غير عالية فى المكافحة تفشل عندما تستخدم منفردة فى تأخير المقاومة فى فراشة جريش الذرة.

وحتى فى حالة مخاليط مبيدات الفطريات ذات الفعالية الكبيرة فى تأخير المقاومة، فإن المخاليط الفعالة تستخدم خلطات من مبيدات الفطريات الواقية والتى يندر تطور المقاومة لها بشكل واضح (ويفترض أن ذلك بسبب المواقع المتعددة للفعل) مع مبيدات الفطريات والتى لها أكثر من فعل متخصص.

ولكى تكون مخاليط المبيدات أكثر فعالية فإنها تتطلب تكرارات أولية منخفضة من جينات المقاومة، وتقليل عدد مرات التطبيق والمناطق المعاملة، والموت العالى لكل واحد من المبيدات عندما يستخدم بمفرده، والارتباط المكانى المرتفع للبقايا (ذات معدلات تحليل غير متساوية) والافتقار إلى المقاومة المتقاطعة بين السموم، وباختصار يجب القضاء على كل الأفراد المقاومة والمعرضة للمبيد تقريبًا بالمبيد الآخر فى المخاليط لكى تكون فعالة.

❖ تجنب مستحضرات المبيدات طويلة الأمد:

فى العادة يفضل معظم مستخدمى مبيدات الآفات بقائها فعالة لمدة طويلة لضمان مكافحة الآفات المستهدفة، إلا أن بقاء مبيد الآفات فترة زائدة عن اللزوم يمكن أن يساهم فى ظهور صفة المقاومة بعد فترة من تثبيط الآفة تحت مستوى الضرر وذلك فى الأفراد التى حدث بها ضرر بفعل المبيد.

وفى الحقيقة فإن معظم مبيدات الآفات الحيوية لها فترة بقاء قصيرة، ويساعدها ذلك فى تجنب ظهور المقاومة لها، لكن من الناحية التقنية قد تستخدم أجهزة للإطلاق البطئ للمبيد الحيوى، وتساهم مثل هذه النظم على المدى البعيد فى نشأة ظروف الانتخاب للمقاومة. وهكذا ينصح بتجنب مبيدات الآفات ذات البقاء، وهى من الأمور المتعارف عليها قديمًا والمقبولة على نطاق كبير فى إدارة المقاومة ولها سند من الناحيتين العملية والنظرية.

استعمال الدورات بدلًا من الموازيك:

يمثل استخدام مبيدات الآفات فى دورات snoitator بمنطقة الزراعة ككل فيما يعرف باستراتيجية النافذة window strategy - وهى استراتيجية قائمة على أجندة موسمية seasonal calendar - سياسة مكافحة فعالة وناجحة.

ويعرف استخدام مركبات مختلفة فى آن واحد فى الحقول المجاورة بنموذج الموازيك mosaic فى المعاملة بمبيدات الآفات، ويمكن تجنبها فى حالة الدورات قصيرة المدى جدًا داخل جيل ما.

والمشكلة فى كلا النموذجين من نماذج معاملة المبيدات فى الاختيار فى آن واحد بين العديد من مبيدات الآفات أنه ينتج عنها قوة أقل بشكل واضح للمبيد موضع الاستخدام.

وقد أثبتت دورات المبيد التى تتراوح بين ١-٢٤ شهر نجاحًا فى مكافحة حشرات القطن والأكاروسات مثل مكافحة جشرة P. xylostella بواسطة ثلاثة مبيدات هى مبيد باسيلس ثورنيجينسيس ومبيد سبينوساد spinosad ومبيد أندوكساكارب indoxacarb بأسلوب الاستخدام فى دورات، مقارنة باستراتيجية الموازيك التى استخدمت فيها كل هذه المنتجات فى آن واحد، أثبت بعد تسعة أجيال من الانتخاب أن استخدام دورة من كل مبيد أفضل عن الموازيك فى مكافحة تطور المقاومة.

❖استهداف مراحل الآفة الأكثر حساسية:

حتى الآفات المقاومة يمكن أيضًا القضاء عليها فى مراحل حياتها التى تزداد فيها حساسيتها مثل الأعمار الصغيرة، ولذلك يراعى استخدام المبيد فى مرحلة الحياة الأكثر حساسية لتجنب التعرض للأفراد الأقل حساسية حيث تمد الجينات الخاصة بالمقاومة بميزة انتخابية.

❖المراجع:

Bravo, A., I. Gomez, J. Conde, C. Munoz-Garay, J. Sanchez, R. Miranda, M. Zhuang, S.S. Gill and M. Soberon (2004). Oligomerization triggers binding of a Bacillus thuringiensis Cry1Ab pore-forming toxin to aminopeptidase N receptor leading to insertion into membrane microdomains. Biochem. Biophys. Acta. 1667:38 – 46.

Candas, M., O. Loseva, B. Oppert, P. Kosaraju and L.A.Jr. Bulla (2003). Insect resistance to Bacillus thuringiensis, alterations in the Indian meal moth larval gut proteome. Mol. Cell. Prot. 2:19 – 28.

Carrieré, Y., C. Ellers-Kirk, Y.-B. Liu, M.A. Sims, A.L. Patin, T.J. Dennehy and B.E. Tabashnik (2001b). Fitness costs and maternal effects

associated with resistance to transgenic cotton in the pink bollworm (Lepidoptera: Gelechiidae) J. Econ. Entomol. 94:1571–1576.

Carrieré, Y., C. Ellers-Kirk, A.L. Patin, M.A. Sims, S. Meyer, Y.-B. Liu, T. Dennehy and B.E. Tabashnik (2001a). Overwintering cost associated with resistance to transgenic cotton in the pink bollworm (Lepidoptera: Gelechiidae). J. Econ. Entomol. 94:935 – 941.

Eberle, K.E. and J.A. Jehle (2006). Field resistance of codling moth against Cydia pomonella granulovirus (CpGV) is autosomal and incompletely dominant inherited. J. Invertebr. Pathol. 93:201–206.

Faria, M. and S.P. Wraight (2001). Biological control of Bemisia tabaci with fungi. Crop Protection 20: 767–778.

Ferré, J. and J. Van Rie (2002). Biochemistry and genetics of insect resistance to Bacillus thuringiensis. Annu. Rev. Entomol. 47:501–533.

Gahan, L.J., F. Gould and D.G. Heckel (2001). Identification of a gene associated with Bt resistance in Heliothis virescens. Science 293:857–860.

Griffitts, J. S. and R.V. Aroian (2005). Many roads to resistance: how invertebrates adapt to Bt toxins. BioEssays 27:614 – 624.

Griffitts, J.S., S.M. Haslam, T. Yang, S.F. Garczynski, B. Mulloy, H. Morris, P.S. Cremer, A. Dell, M.J. Adang and R.V. Aroian (2005). Glycolipids as receptors for Bacillus thuringiensis crystal toxin. Science 307:922–925.

Gunning, R.V., H.T. Dang, F.C. Kemp, I.C. Nicholson and G.D. Moores (2005). New resistance mechanism in Helicoverpa armigera threatens transgenic crops expressing Bacillus thuringiensis Cry1Ac toxin. Appl. Environ. Microbiol. 71:2558 – 2563.

Hayakawa, T., Y. Shitomi, K. Miyamoto and H. Hori (2004). GalNAc pretreatment inhibits trapping of Bacillus thuringiensis Cry1Ac on the peritrophic membrane of Bombyx mori. FEBS Lett. 576:331–335.

Herrero, S., T. Gechev, P.L. Bakker, W.J. Moar and R. A. de Maagd (2005). Bacillus thuringiensis Cry1Caresistant Spodoptera exigua lacks expression of one of four aminopeptidase N genes. BMC Genomics 6:96.

Hossain, D.M., Y. Shitomi, K. Moriyama, M. Higuchi, T. Hayakawa, T. Mitsui, R. Sato and H. Hori (2004). Characterization of a novel plasma membrane protein, expressed in the midgut epithelia of Bombyx mori, that binds to Cry1A toxins. Appl. Environ. Microbiol. 70:4604 – 4612.

Janmaat, A.F. and J. Myers (2003). Rapid evolution and the cost of resistance to Bacillus thuringiensis in greenhouse populations of cabbage loopers, Trichoplusia ni. Proc. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci. 270:2263 – 2270.

Janmaat, A.F. and J.H. Myers (2005). The cost of resistance to Bacillus thuringiensis varies with the host plant of Trichoplusia ni. Proc Biol. Sci. 272:1031–1038.

Janmaat, A.F., P. Wang, W. Kain, J.-Z. Zhao and J. Myers (2004). Inheritance of resistance to Bacillus thuringiensis subsp. kurstaki in Trichoplusia ni. Appl. Environ. Microbiol. 70:5859 –5867.

Jenkins, J.L. and D.H. Dean (2001). Binding specificity of Bacillus thuringiensis Cry1Aa for purified, native Bombyx mori aminopeptidase N and cadherin-like receptors. BMC Biochem. 2:12.

Jurat-Fuentes, J. L. and M.J. Adang (2004). Characterization of a Cry1Ac-receptor alkaline phosphatase in susceptible and resistant Heliothis virescens larvae. Eur. J. Biochem. 271: 3127– 3135.

Kain, W.C., J.-Z. Zhao, A.F. Janmaat, J. Myers, A.M. Shelton and P. Wang (2004). Inheritance of resistance to Bacillus thuringiensis Cry1Ac toxin in a greenhouse-derived strain of cabbage looper (Lepidoptera: Noctuidae). J. Econ. Entomol. 97:2073 – 2078.

Li, H., B. Oppert, R.A. Higgins, F. Huang, K.Y. Zhu and L.L. Buschman (2004). Comparative analysis of proteinase activities of Bacillus thuringiensis-resistant and -susceptible Ostrinia nubilalis (Lepidoptera: Crambidae). Insect Biochem. Mol. Biol. 34:753 – 762.

Ma, G., H. Roberts, M. Sarjan, N. Featherstone, J. Lahnstein, R. Akhurst and O. Schmidt (2005). Is the mature endotoxin Cry1Ac from Bacillus thuringiensis inactivated by a coagulation reaction in the gut lumen

of resistant Helicoverpa armigera larvae? Insect Biochem. Mol. Biol. 35:729 – 739.

Milks, M.L. and Theilmann (2000). Serial selection for resistance to a wild-type and a genetically modified nucleopolyhedrosis virus in Trichoplusia ni. Biol. Control 19:283 – 289.

Morales, L., F. Moscardi, D.R. Sosa-Goméz, F.E. Paro and I. Soldorio (2001). Fluorescent brightners improve Anticarsia gemmatalis nucleopolyhedrosis (AgMNPV) activity on AgMNPV-susceptible and resistant strains of the insect. Biol. Control 20: 247–253.

Morin, S., R.W. Biggs, M.S. Sisterson, L. Shriver, C. Ellers-Kirk, D. Higginson, D. Holley, L.J. Gahan, D.G. Heckel, Y. Carrieré, J.K. Brown and B.E. Tabashnik (2003). Three cadherin alleles associated with resistance to Bacillus thuringiensis in pink bollworm. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 100:5004 – 5009.

Morin, S., S. Henderson, J.A. Fabrick, Y. Carrieré, T.J. Dennehy, J.K. Brown and B.E. Tabashnik (2004). DNA-based detection of Bt resistance alleles in pink bollworm. Insect Biochem Mol Biol. 34:1225–1233.

Paul, A., L.C. Harrington, L. Zhang and J.G. Scott (2005). Insecticide resistance in Culex pipiens from New York. J. Am. Mosquito Control Assoc. 21:305 – 309.

Rahman, M.M., H.L. Roberts, M. Sarjan, S. Asgari and O. Schmidt (2004). Induction and transmission of Bacillus thuringiensis tolerance in the flour moth Ephestia kuehniella. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 101:2696 – 2699.

Rees, J.S., P. Jarrett and D.J. Ellar (2002). The peritrophic membrane plays an additional role in protecting lepidopteran insects from Bacillus thuringiensis Cry-endotoxins. J. Insect Sci. 2:47– 48.

Scholte, E.J., B.G.J. Knols, R.A. Samson and W. Takken (2004). Entomopathogenic fungi for mosquito control: a review. J. Insect Sci. 4(٬9):1– 24.

Shohei, O., J. Takatsuka, M. Nakai, S. Ototake, A. Masui and Y. Kunimi (2003).

Viral-enhancing activity of various stilbene-derived brighteners for a Spodoptera litura nucleopolyhedrovirus. Biol. Control. 26, 146 –152.

Tabashnik, B.E., T.J. Dennehy and Y. Carrieré (2005). Delayed resistance to transgenic cotton in pink bollworm. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102:15389 – 15393.

Tang, J.D., H.L. Collins, T.D. Metz, E.D. Earle, J.Z. Zhao, R.T. Roush, and A.M. Shelton (2001). Greenhouse tests on resistance management of Bt transgenic plants using refuge strategies. J. Econ. Entomol. 94:240 –247.

Wang, P. and R.R. Granados (2000). Calcofluor disrupts the midgut defense system in insects Insect Biochem. Mol. Biol. 30:135 –143.

Xu, X., L. Yu and Y. Wu (2005). Disruption of a cadherin gene associated with resistance to Cry1Ac-endotoxin of Bacillus thuringiensis in Helicoverpa armigera. Appl. Environ. Microbiol. 71:948 – 954.

Zhang, X., M. Candas, N.B. Griko, L. Rose-Young and L.A.Jr. Bulla (2005). Cytotoxicity of Bacillus thuringiensis Cry1Ab toxin depends on specific binding of the toxin to the cadherin receptor BTR1 expressed in insect cells. Cell Death Differ. 12: 1407–1416.

Zhao J.-Z, Y.X. Li, H.L. Collins and A.M. Shelton (2002). Examination of the F2 screen for rare resistance alleles to Bacillus thuringiensis toxins in the diamondback Moth. J. Econ. Entomol. 95:14 – 21.

Zhao, J.-Z., B.A. Bishop and E. Grafius (2000). Inheritance and synergism of resistance to imidacloprid in the Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae). J. Econ. Entomol. 93:1508 –1514.

Zhao, J.-Z., Y.X. Li Cao, H.L. Collins, R.T. Roush, E.D. Earle and A.M. Shelton (2003). Transgenic plants expressing two Bacillus thuringiensis toxins delay insect resistance evolution. Nature Biotechnol. 21:1493 – 1497.

الباب السادس

المشاكل الصحية للتعرض للمبيدات الحيوية

المشاكل الصحية للتعرض للمبيدات الحيوية

❖مقدمة:

ثمة مشاكل صحية قد تنشأ من جراء التعرض للمبيدات الحيوية الميكروبية أثناء تداولها واستخدامها فى كل من المختبرات والصوب الزجاجية والحقول الزراعية، ولقد تم تطوير عدد من المبيدات الحيوية الميكروبية التجارية إلا أن القليل هو الذى تم إنفاقه على تطوير هذه المنتجات الحيوية مقارنة بمثيلتها الكيميائية، وربما يمثل ذلك نوع من التناقض فى ضروريات التسجيل الناجح لهذه المنتجات الخضراء لكى تقابل النواحى القياسية للأمان الكافي للمبيدات الحيوية، وهناك حوالى ٣٠٠ مكون نشط فقط على حسب الإحصاءات الأخيرة، أما عدد المنتجات من الكائنات الحية الدقيقة والكبيرة والمنتجات الطبيعية ومركبات semiochemicals والجينات فيفوق الألف منتج، وتنتج معظم المبيدات الحيوية بواسطة شركات صغيرة سواء فى عدد موظفيها أو فى رأس مالها، ولذلك لا تستطيع مثل هذه الشركات المحدودة تحمل تكاليف عملية التسجيل الناجحة.

وتعتبر إجراءات تقدير خطورة المبيدات الحيوية الميكروبية ضرورية حتى يتم إدخالها واستعمالها فى منطقة معينة، ولذلك فقد وضعت الإجراءات التنظيمية اللازمة لاستخدام المبيدات الحيوية الميكروبية بأنواعها المختلفة منذ وقت طويل بواسطة الاختصاصيين، ومن المعتقد أنه ليست هناك حاجة ماسة لتقدير الخطورة على الإنسان أو البيئة فى حالة المبيدات الحيوية الميكروبية المحتوية على الكائنات الحية الدقيقة أو الفيروسات بسبب الاحتياجات البيئية المتخصصة.

وبنهاية عام ٢٠٠٤ تم تقييم خمسة مبيدات حيوية ميكروبية فقط من حيث خطورتها على الإنسان والبيئة، وهى المبيد الحشرى التجارى PreFeRal المحضر من فطر باسيلوميسز فوموسوروسيس Paecilomyces fumosoroseus كمكون فعال والمستخدم فى مكافحة حشرات الذباب الأبيض فى البيوتات المحمية إلى جانب التربس والمن والحلم وذلك بالرش على أوراق النباتات.

أما المبيدات الأربعة الأخرى فهى مبيدات فطرية - أى تستخدم فى مكافحة الفطريات - وتشمل ما يلى:

المبيد الحيوى Contans المحضر من جراثيم فطر كونيوثايرم مينيتانس Coniothyrium minitans على هيئة حبيبات قابلة للبلل، والمستخدم فى مكافحة كل من فطر سكليروتينيا سكليروتيورم Sclerotinia sclerotiorum وفطر سكليروتينيا مينور S. minor وهما من الفطريات الأسكية الممرضة للنبات الشائعة، وذلك فى التربة بصرف النظر عن نوع النبات النامى، وآلية هذا المبيد الحيوى فى المكافحة هو إفراز إنزيم الكيتينيز وإنزيم ١، ٣ جلوكانيز حيث تحفز تفاعلات الفطر الممرض فى الدخول، والذى تتكون أجسامه الثمرية من خلال التكاثر اللاجنسى، وتنكمش خلاياه بسبب إمكانية الأسموزية العالية، وتتحلل أغشيته.

المبيد الحيوى Cedomon المحضر من بكتيريا سيدوموناس كلوروررافيس Pseudomonas chlororaphis والمستخدم فى مكافحة أمراض الفطريات المحمولة على البذور، ويعمل هذه المبيد ضد الفطريات الممرضة للنبات من خلال إفراز مضاداته الحيوية من نوع فينازين phenazine antibiotics type.

المبيد الحيوى Prestop المحضر من فطر جلايوكلاديوم كاتينيولاتم Gliocladium catenulatum والمستخدم فى مكافحة ذبول البادرات الذى يحدثه فطر البيثيم Pythium، ويعمل هذا المبيد الحيوى من خلال آلية إنزيمية.

المبيد الحيوى AQ10 المحضر من فطر اميلوميسيز كيوزكيوليز Ampelomyces quisqualis والمستخدم فى مكافحة مرض البياض الدقيقى فى بعض النباتات كالورد، ويعمل المكون الفعال بهذا المبيد من خلال التطفل على فطريات البياض الدقيقى والحد كثيرًا من نموها وقتلها فى نهاية المطاف.

❖مخاطر التعرض للمبيدات الحيوية:

لقد أصبحت قيم الحدود الحرجة المتعلقة بالمواد السامة أو المواد المطفرة للإنسان والمطلوبة لوقاية صحة العاملين فى مجالات تداول المبيدات الحيوية من الأمور المحددة والمعروفة تمامًا، إلا أن قيمة الحد الحرج threshold limit value أو القيمة الحيوية biological value لقدرة العاملين على المقاومة لم يتم تحديدها بعد فى حالة عوامل

المكافحة الحيوية الميكروبية، وقد وضعت الهيئات المتخصصة فى هذا المجال مجموعة من القواعد بهدف وقاية العاملين من مخاطر التعرض المهنى للعوامل الحيوية الميكروبية فى المختبرات، وتشمل العوامل الحيوية الميكروبية كل من البكتيريا والفطريات والفيروسات والكائنات الحية الدقيقة المهندسة وراثيًا والتى قد تسبب فى بعض الأحيان إصابات مرضية وحساسية وتسمم.

وتدخل الميكروبات الممرضة جسم الإنسان عن طريق اختراق جروح جلده. وتتوقف عملية حدوث الإصابة بها على عدد من العوامل هى:

١- الجرعة الممرضة.

٢- خصائص العوامل الحيوية الميكروبية.

٣- حساسية العائل للميكروب الممرض.

وتصنف العوامل الحيوية إلى أربعة مجموعات بناءً على مستوى خطورة المرض:

المجموعة الأولى: العوامل الحيوية التى قد لا تسبب أمراض للإنسان.

المجموعة الثانية: العوامل الحيوية التى يمكن أن تسبب أمراض للإنسان والتى ربما تكون خطرة على العاملين، وهى أمراض من غير المتوقع أن تنتشر بالمجتمع ولها علاج.

المجموعة الثالثة: العوامل الحيوية التى يمكن أن تسبب أمراض شديدة للإنسان وتمثل خطورة شديدة على العاملين، وهناك خطورة من انتشارها بالمجتمع، لكن علاجها متوفر.

المجموعة الرابعة: العوامل البيولوجية التى تسبب أمراض شديدة للإنسان، وتمثل خطورة شديدة على العاملين، وهناك خطورة شديدة من انتشارها بالمجتمع، وليس لها علاج متوفر.

وباستثناء سلالات البكتيريا المعوية بانتويا اجلوميرانس Pantoea agglomerans Enterobacter agglomerans المستخدمة فى مكافحة مرض اللفحة فى التفاح والكمثرى والتى تندرج ضمن المجموعة الخطرة الثانية، فلا يوجد أى ميكروب من ميكروبات المكافحة الحيوية فى المجاميع الخطرة من المجموعة الثانية حتى المجموعة الرابعة.

وتسبب العوامل الحيوية من الفطريات وبعض البكتيريا حساسية عند تعرض الأفراد لمستويات عالية منها لفترات طويلة، ومن المعتقد أن كثرة التلامس مع خلايا الفطريات وبعض البكتيريا أو مكوناتها الخلوية مثل الإنزيمات ينجم عنه حساسية.

ويؤدى التعرض للعوامل الحيوية إلى ظهور عدة أنواع من الحساسية هى:

أعراض حساسية من الطراز الأول تظهر فى خلال بضعة دقائق بمجرد لمس الشخص للمادة المسببة للحساسية، ومن أمثلة هذا النوع من الحساسية حمى القش hay fever، وهى حمى موسمية توجد عادة فى الربيع وتسببها الفطريات إلى جانب كل من حبوب اللقاح والأعشاب.

أعراض حساسية من الطراز الكلاسيكى الثالث، وتحدث من تكرار التعرض للمستويات العالية جدًا من مواد الرش الحيوية، وأعراضها هى الصداع وألم المفاصل والحمى الذاتية والسعال المزمن ومشاكل التنفس.

حساسية من الطراز الرابع وتشمل حساسية للجلد من النوع المتأخر على أثر تلامس الجلد أو تعريضه للمواد الحيوية الميكروبية.

وإلى جانب الحساسية قد تسبب عوامل المكافحة الحيوية الميكروبية بعض التأثيرات السامة، وميكانيكية السمية غير معروفة تمامًا إلا أن السموم الداخلية والجراثيم الفطرية أو السموم الفطرية تلعب دورًا هامًا.

وفى الحقيقة فإنه يمكن القول بصفة عامة أن كل عوامل المكافحة الحيوية التى يتم استخدامها لمكافحة الآفات الضارة والكائنات الحية الدقيقة الممرضة تحدث قليل من الخطورة أو ربما لا تسبب خطورة على الإطلاق للإنسان والبيئة.

وتؤثر المركبات العضوية الطيارة الميكروبية على صحة الإنسان إلا أن كثير من هذه المواد وبصفة خاصة التى تنتجها الفطريات لم ينل حتى الآن قسط وافر من الدراسة، وهذه المركبات تنتجها الميكروبات كالفطريات حيث تتطاير وتنطلق مباشرة فى الهواء الجوى، وهذه المواد ذات رائحة قوية وغير مستحبة، وقد تكون هى مصدر الروائح المرتبطة بالفطريات، ويؤدى التعرض لها إلى بعض المشاكل الصحية مثل الصداع والإعياء والغثيان والدوخة وتهيج الأنف وغيرها.

❖المشاكل الصحية الناجمة عن المبيدات الحيوية:

يمكن القول بصفة عامة أن كل عوامل المكافحة الحيوية من الكائنات الحية الدقيقة التى تم تسجيلها قد تشكل خطورة قليلة أو منعدمة على الإنسان والبيئة.

وتتخصص عوامل المكافحة الحيوية الفيروسية بشكل تام لعوائلها وليس لها تأثير ضار

بصحة الإنسان أو حيواناته الاقتصادية، وقد أثبتت اختبارات السمية التى أجريت على البيكلوفيروسات أنها لا تمثل أى خطورة على الإنسان والبيئة، وقد توجد مشاكل تتعلق بنوع المستحضرات المجهزة تجاريًا، ويمكن التنبؤ بتفاعلات حساسية وبصفة خاصة للتلوث ببروتينات الحشرات الباقية من عملية الإنتاج إذا تم تعريض الأفراد لعوامل المكافحة الحيوية من الفيروسات وذلك لفترة طويلة، ولذلك ينصح بارتداء الأفراد لملابس واقية لمنع الإثارة irritation الممكنة من عمليات تداول واستخدام عوامل المكافحة الحيوية الفيروسية.

ومنذ اكتشاف النشاط الإبادى للحشرات بواسطة بكتيريا باسيلس ثورنجينسيس Bacillus thuringiensis فى بداية القرن العشرين زاد استخدام هذه البكتيريا بشكل ملفت للنظر ضد الآفات الحشرية المختلفة، وعلى الرغم من الاستخدام المكثف لمنتجات الباسيلس ثورنجينسيس B. thuringiensis فهناك تقارير بحالات طبية محدودة جدًا، وهذه الحالات قد تنطبق على الأنواع البكتيرية الأخرى المستخدمة فى المكافحة الحيوية.

وقد تم وصف وجود بعض البكتيريا من عوامل المكافحة الحيوية فى الدم Bacteremia مثل بكتيريا اجروبكتيريم راديوباكتر Agrobacterium radiobacter وباسيلس سفيركس B. sphaericus وبركهولدريا سيبسيا Burkholderia cepacia وبركهولدريا جلاديولاى Burkholderia gladioli وذلك فى بعض المرضى. كذلك أشارت بعض التقارير إلى إصابة مرضى التليف الخلوى ببكتيريا باسيلس سيبسيا B.cepsia بسبب ظروف عامة ضعيفة للمرضى أنفسهم.

ويتوفر فى الوقت الراهن القليل من المعلومات عن تفاعلات الحساسية الناشئة عن البكتيريا المستخدمة فى المكافحة الحيوية، وقد يؤدى التعرض لمستحضرات بكتيريا باسيلس ثورنجينسيس B. thuringiensis إلى حساسية بالجلد.

وتسبب مجموعة محدودة فقط من أفراد الفطريات عدد من الأمراض لدى بعض الأشخاص الذين لديهم مشاكل صحية فى المناعة، ويمكن القول بصفة عامة أن خطورة اكتساب المرض من هذه الفطريات الممرضة منخفضة جدًا فى بعض الظروف، وهناك حالات من المرض حدثت بعد التلوث بالفطريات، فحالات التهاب العين تحدثها

فطريات مثل بوفاريا باسينا Beauveria bassiana وكوليتوتريكم جلويسبورويدس Colletotrichum gloesporoides وميتاريزيم انيسوبليا Metarhizium anisopliae وياسيلوميسز ليلاسينس Paecilomyces lilacinus وهى كلها عوامل مكافحة حيوية، وهناك حالة مرضية مسجلة لفطر باسيلوميسز ليلاسينس P. lilacinus.

وإلى جانب كل من حبوب اللقاح من النباتات الزهرية، والأعشاب، والحشائش، تعتبر جراثيم الفطريات ومنها عوامل المكافحة الحيوية مسبب هام لأمراض الحساسية. وتفاعلات الحساسية معروفة تقريبًا فى كل أنواع الفطريات المستخدمة كعوامل مكافحة حيوية.

وهناك عدد كبير من المبيدات الحيوية التى تم تطويرها حتى الآن للاستخدام فى حقل المكافحة الحيوية، ويبلغ عدد المبيدات الحيوية الميكروبية بضعة مئات من المواد الفعالة، أما المبيدات الحيوية ككل فتتعدى الألف كما أسلفنا، ويقتضى تسجيل هذه المنتجات درجات قياسية من الآمان الصحى، وفى العادة يتم إنتاج وتوزيع الكثير من المبيدات الحيوية الميكروبية عن طريق شركات صناعية صغيرة لا يتعدى عدد موظفيها بضعة عشرات ولا يتجاوز رأس مالها كذلك عدة ملايين، وربحها صغير وربما معدوم، ولذلك لا يقوم معظمها بإجراءات التسجيل الناجح والمطلوب.

وهناك ضرورة لإجراءات تحديد الخطورة من جراء إدخال واستخدام المبيدات الحيوية الميكروبية، وفى الحقيقة فإن هذه الإجراءات متبعة منذ التسعينيات فى كثير من الدول المتقدمة. وحتى أكتوبر ٢٠٠٤ هناك خمسة ميكروبات فقط تم تقييمها من ناحية خطورتها على الإنسان والبيئة.

❖طرق قياس التعرض:

تكتسب الملوثات الميكروبية المحمولة فى الهواء أهمية متزايدة من ناحية خطورتها الصحية على العاملين والمستهلكين بسبب انبعاث الوحدات التكاثرية والنواتج الأيضية فى المواد والأدوات المستخدمة فى الإنتاج وخارج أماكن العمل، كما تؤثر المركبات العضوية الطيارة الميكروبية على صحة الإنسان، إلا أن صلتها الوثيقة ببيئة العمل لم يتم دراستها بما فيه الكفاية، وعلى أى حال لا تتوفر الطرق القياسية لأخذ العينات والتقدير الكمى للملوثات والمركبات العضوية الطيارة الميكروبية والمحمولة فى الهواء، ولذلك يتم استخدام طرق متخصصة لتحليل الهواء لمحتواه من المادة الفعالة أو المواد الأيضية وثيقة الصلة المتكونة أثناء أو بعد التطبيق بفترة قصيرة.

وتوفر عملية أخذ العينات من الهواء المعلومات عن تركيب الايرسول الحيوى، أى البكتيريا والفطريات والفيروسات وغيرها، وذلك فى الهواء المحيط، وتتضمن الطرق القياسية جمع العينات الحجمية والترشيح، وتستخدم أجهزة معينة فى أخذ هذه العينات مثل أجهزة silt and sieve impactors الشائعة الاستخدام فى هذا المجال الهام.

وقد تكون أجهزة أخذ العينات بمثابة مصائد لجراثيم الفطريات ذات رؤوس تأخذ العينات لمدة يوم أو اسبوع وهو وقت كافى لأخذ عينات الايرسولات الحيوية.

وترسب المناخل من ثقوبها الكثيرة العينات خلال ثقوب متعددة فى طبق بترى محتوى على بيئة زرع صناعية ملائمة، وعلاوة على ذلك يمكن عـد الميكروبات الحية من عينات الترشيح، حيث تستخدم مرشحات أغشية الجيلاتين لمراقبة الميكرويات، وبعد أخذ العينة يوضع مرشح الغشاء الجيلاتينى مباشرة على طبق الآجار المغذى، ويذوب الجيلاتين على السطح الرطب حيث تتصل الميكروبات بشكل مباشر بالمواد المغذية.

ويمكن أن تستخدم هذه الأجهزة الخاصة بأخذ العينات لقياس الوحدات التكاثرية للبكتيريا أو الفطر المحمولة فى الهواء الطلق والداخلى، وعقب أخذ العينة، يتم تحضين مزارع الأطباق، ثم تعد المستعمرات النامية، ويتم تعريفها، والتعبير عن أعدادها كوحدات مكونة للمستعمرات Colony Forming Unit (CFU) لكل متر مكعب من الهواء.

وتحتاج عملية المراقبة لعوامل مكافحة حيوية معينة سواء من البكتيريا أو الفطر استخدام أوساط زرع غذائية لها طبيعة انتخابية، وما عدا ذلك فإن النمو الزائد للكائنات الحية الدقيقة المحمولة فى الهواء والمتواجدة طبيعيًا على الأوساط الكاملة يؤدى إلى إقرار أعداد عوامل المكافحة الحيوية.

وعلى الرغم من الحقيقة الثابتة بأن تحليل العينات عن طريق استخدام كل من الفحص المجهرى والزرع تعتبر بمثابة المداخل الأكثر أهمية، فقد أصبحت الطرق الجزيئية مثل تفاعل البوليمريز المتسلسل PCR وجين 16SrRNA من الطرق الشائعة جدًا والأساسية فى تحليل العينات وتصنيفها فى الوقت الراهن.

❖التعرض لعوامل المكافحة الحيوية من الفطريات:

تعتبر الفطريات ضارة إلى حد ما للإنسان عند تعرضه لجراثيمها، ويمكن أن تسبب

عوامل المكافحة الحيوية من الفطريات حساسية للإنسان، كما قد تنتج مواد ضارة عند زيادة مستوى جرعتها التى تصل للإنسان، ولا تتوفر طرق قياسية لأخذ العينات وتقدير أعداد الفطريات المحمولة فى الهواء، وقد استخدمت الفطريات لسنوات طويلة مثل أنواع جنس بوفاريا Beauvaria spp وميتاريزيم انيسوبليا M. anisopliae وفطر الهالة البيضاء ذات الميسيليوم الأبيض ليكانيسيليم ليكانياى Lecanicillium = Verticillium Cephalosporum lecanii = دون استعمال ملابس واقية منها، على الرغم من التعرض الشديد للجراثيم الكونيدية سواء فى عمليات الإنتاج أو الاستخدامات التطبيقية، أى أنه يمكن القول أن هناك تاريخ طويل من تعرض الإنسان لمثل هذه الفطريات، إلا أنه بصفة عامة هناك فقر فى المعلومات المتعلقة بتعرض الأفراد أثناء الإنتاج والتطبيق لهذه الفطريات.

وفى العادة لا تتم عملية مراقبة التعرض للميكروبات من المجموعة الأولى على أساس عدم ضرورة قياس التلوث لهذه المجموعة، إلا أن هناك بعض الإرشادات التى يأخذها القائمون على عملية إنتاج بيوماس هذه الفطريات لتقليل فرص تعرض العاملين للحساسية الناشئة عن الجراثيم الكونيية من الفطريات مثل:

١- إغلاق غرف نمو الفطريات بعد التلقيح لتقليل خطورة التلوث حال حدوثه ولتجنب إمكانية تعرض العاملين للجراثيم الكونيدية.

٢- تشجيع العاملين على ارتداء قفازات باليدين وأقنعة على الوجه فى منطقة الإنتاج.

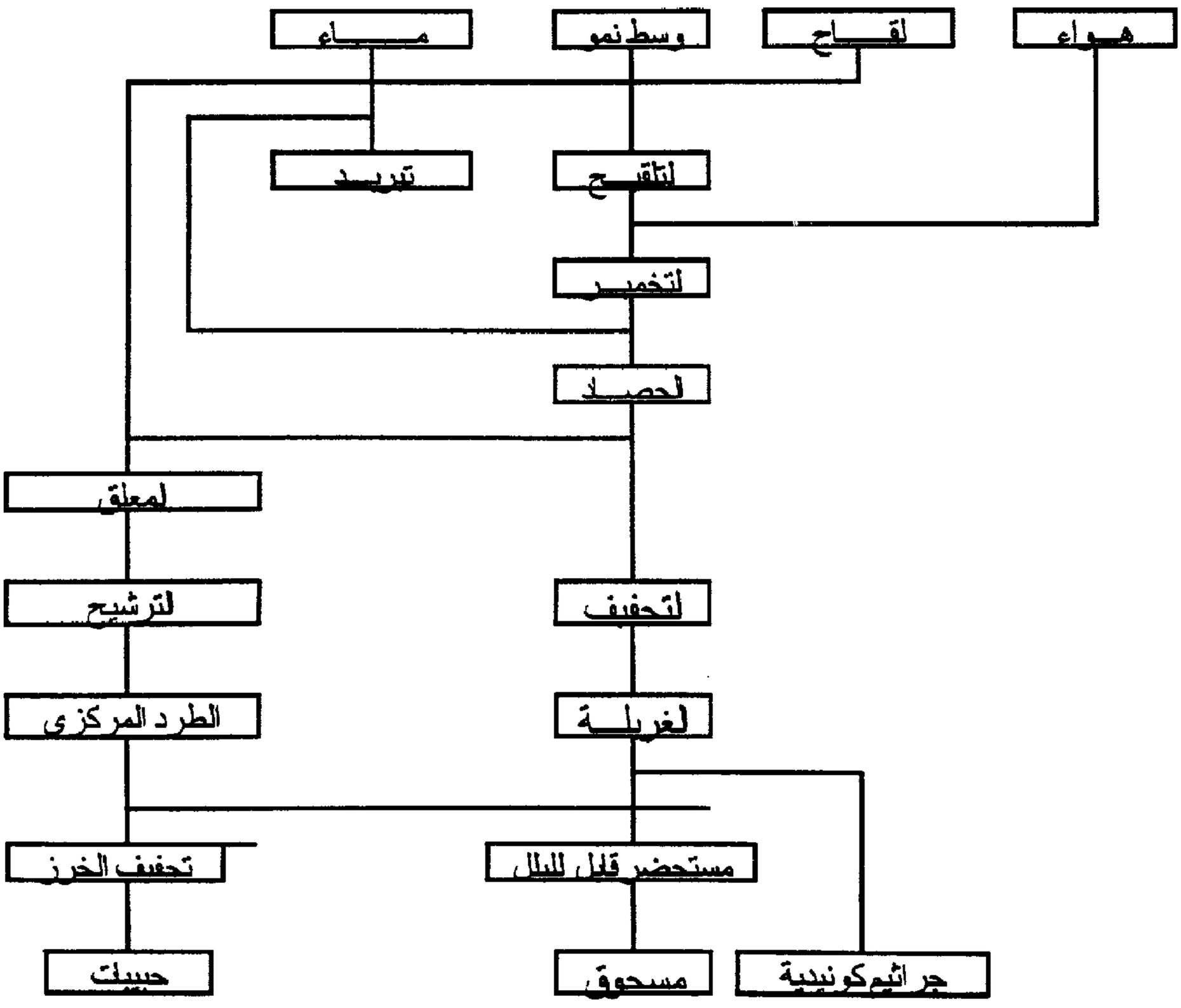
٣- تعبئة المادة الفعالة فى أكياس بولى إيثيلين أو حقائب مشابهة.

❖تقييم التعرض فى إنتاج عوامل المكافحة الحيوية من الفطريات:

يندر توفر تقارير موثوق بها عن المشاكل الصحية بين العاملين فى مجال إنتاج عوامل المكافحة الحيوية، مرجع ذلك أن إنتاج هذه العوامل يتطلب منع انتشارها والتلوث بها والذى لا يؤمن فقط نقاء المنتج لكن أيضًا يضمن الآمان البيئى، ويسمح منع الانتشار بوقاية العاملين خلال عمليات تداول الميكروبات، ويتعرض العاملين للميكروبات المنتجة أو مكوناتها خاصة وأن العملية تمر بعدة مراحل متسلسلة من الطرد المركزى وتركيز المنتج وتداول المخلف (شكل ٧-١).

وبصفة عامة، ليست هناك أى مشاكل صحية للعاملين والمستخدمين للمبيدات الحيوية فى مختبرات الإنتاج من انبعاث النواتج الأيضية للفطريات، وقد تم التيقن من ذلك من دراسات

كثيرة على بعض المبيدات الحيوية مثل المستحضر الفطرى المستخدم فى إبادة الحشرات Melocont Pilzgerste المنتج من فطر بوفاريا برونجنيارتياى Beauveria brongniartii فى تخمرات ميكروبية من طورين. وعلى الرغم من استخدام فطر بوفاريا Beauveria كعامل مكافحة حيوية منذ سنوات طويلة ترجع إلى عام ١٩٧١ فلم تسجل فى حالته أى مشاكل صحية سوى بعض حالات حساسية فى حالة النوع بوفاريا باسيانا B. bassiana، وقد سجلت بعض حالات التهاب فى الأنف بين العمال الصينيين فى إنتاج فطر بوفاريا باسيانا B. bassiana، ومن المعتقد أن تفاعلات الحساسية تجاه جراثيم فطر بوفاريا ترجع إلى تداول المنتج بتركيزات عالية بدون أى احتياطات لسنوات طويلة، وقد لجأت كثير من شركات الإنتاج إلى تدريب العاملين على كيفية التعامل مع المنتج فى الإنتاج والاستخدام.



شكل (٧-١) إنتاج عوامل حة الحيوية من الفطريات

وإذا قارنا المخاطر والمنافع من وراء إطلاق عوامل المكافحة الحيوية أو استخدام

المبيدات الكيميائية فى مكافحة الآفات فمن المتوقع أن المكافحة الكيميائية يمكن أن تتمخض عن نواتج كثيرة تضر بالإنسان والبيئة، وفى الحقيقة فإن غالبية عوامل المكافحة الحيوية المستخدمة لا تؤدى إلى مشاكل صحية كبيرة خاصة عند التعرض لها أثناء تداول واستخدام المنتج الحيوى.

وعلى الرغم من الجهود البحثية الضخمة التى تمت على عوامل المكافحة الحيوية أثناء العقود الثلاثة الأخيرة، فإن عدد المنتجات الحيوية فى الأسواق الأوروبية على سبيل المثال مازالت متدنية إلى حد كبير مقارنة بمثيلتها فى أسواق أمريكا وكندا، ويرجع ذلك إلى التشريعات الأوروبية الصارمة فى إنتاج المبيدات الحيوية، إذ يتطلب تسجيل المنتج الحيوى تقييم قاسى بخصوص البيئة وأخطار الصحة والسلامة، ويجب أن تتوفر المعلومات ليس فقط فيما يتعلق بالمادة الفعالة أى الميكروب ذاته ولكن أيضًا فيما يتعلق بالنواتج الأيضية الخاصة به وسمومه، وكذلك العوامل المساعدة المستخدمة فى تحميل المنتج وأصل السلالة، وطبيعة انتشارها، وطرق تكاثرها، وثباتها الوراثى تحت الظروف البيئية فى مناطق الاستخدام، وفى حالة ما إذا كان عامل المكافحة الحيوية ينتج مادة أيضية سامة أو لها تأثير ضار على البيئة أو حتى إذا كان هناك ميكروب من نفس جنسه ينتج هذه المادة السامة فيجب توفر بعض المعلومات اللازمة للتقييم مثل عينات من المادة الفعالة كما تم تصنيعها، والنواحى القياسية التحليلية للمادة الفعالة فى صورتها النقية، إلى جانب النواحى القياسية للنواتج الأيضية المعنية وكل المكونات الأخرى الداخلة فى تعريف المتبقيات.

وفى الحقيقة فإن هناك اهتمام شديد بوضع المبيدات الحيوية فى الأسواق التجارية، والحفاظ على جاذبية منتجاتها للمستهلكين من خلال انخفاض أسعارها، والحفاظ على مستوى الأمان لكل من المنتج والمستخدم، وهناك اهتمام شديد بالنواحى البيئية، وتراكم المادة الفعالة أى الميكروب أو النواتج الأيضية فى الغذاء، كذلك هناك اهتمام بالتأثيرات غير المستهدفة والتى تسبب ضرر للنظم البيئية.

❖ المراجـــع:

Abendstein, D. and H. Strasser (2000). Considerations on toxic metabolites produced by Beauveria brongniartii. IOBC wprs Bulletin, 23:99- 105.

Amaya, R.A. and M.S. Edwards (2003). Agrobacterium radiobacter bacteremia in pediatric patients: case report and review. Pediatric Infectious Disease J., 22:183- 186.

Anderson, K.L., S.M. Mitra, R. Salouti, T.-A. Pham and H.R. Ylor (2004). Fungal keratitis caused by Paecilomyces lilacinus associated with a retained intracorneal hair. Cornea, 23:516- 521.

Bernstein, I.L., J.A. Bernstein, M. Miller, S. Tierzieva, D.L. Bernstein, Z. Lummus, M.J.K. Selgrade, D.L. Doerfler and V.L. Seligy (1999). Immune responses in farm workers after exposure to Bacillus thuringiensis pesticides. Environmental Health Perspectives, 107:575- 582.

Blum, B., R.U. Ehlers, S. Haukeland-Salinas, H. Hokkanen, K. Jung, U. Kuhlmann, I. Menzler-Hokkanen, W. Ravensberg, H. Strasser, P. Warrior and M. Wilson (2003). Letter to the editors-Biological control agents: Safety and regulatory policy. BioControl, 48:474- 487.

Butt, T.M., J.G. Harris and K.A. Powell (1999). Microbial Biopesticides, In: F.R. Hall and J.J. Menn (eds.). Methods in Biotechnology. Humana Press Inc., 23 – 44.

Castagnola, E., F. Fioredda, M.A. Barretta, L. Pescetto, A. Garaventa, E. Lanino, C. Micalizzi, R. Giacchino and G. Dini (2001). Bacillus spaericus bacteraemia in children with cancer: case reports with literature review. J. Hospital Infection 48: 142- 145.

Cepero de Garca, M.C., M.L. Arboleda, F. Barraquer and E. Grose (1997). Fungal keratitis caused by Metarhizium anisopliae var anisopliae. J. Medical Veterinary Mycol., 7: 43- 46.

Cook, R.J., W.L. Bruckart, J.R. Coulson, M.S. Goettel, R.A. Humber, R.D. Lumsden, J.V. Maddox, M.L. McManus, L. Moore, S. Meyer, P.C. Quimby JR., J.P. Stack and J.L. Vaughn (1996). Commentary - Safety of Microorganisms intended for pest and plant disease Control: A framework for scientific evaluation. Biological Control, 7: 333 –351.

Copping, L.G. (2001). The BioPesticide Manual. In L.G. Copping (ed.). A World Compendium - The BioPesticide Manual. British Crop Protection Council, 1- 528.

Damgaard, P.H., P.E. Granum, J. Bresciani, M.V. Torregrossa, J. Eilenberg and L. Valentino (1997). Characterisation of Bacillus thuringiensis isolated from infections in burn wounds. FEMS Immunol. Medical Microbiol., 18: 47- 53.

Doekes, G., P. Larsen, T. Sigsgaard and J. Baelum (2004). IgE sensitization to bacterial and fungal biopesticides in a cohort of Danish greenhouse workers: The BIOGART study. Am. J. Industrial Medicine, 46: 404- 407.

Feng, M.G., T.J. Poprawski and G.G. Khachatourians (1994). Production, formulation and application of the entomopathogenic fungus Beauveria bassiana for insect control: Current status. Biocontrol Sci. Technol., 4: 3- 34.

Fischer, G. and W. Dott (2003) Relevance of airborne fungi and their secondary metabolites for environmental, occupational and indoor hygiene. Archives of Microbiol., 179:75- 82.

Hall, V.C., S. Goyal, M.D.P. Davis and J.S. Walsh (2004). Cutaneous hyalohyphomycosis caused by Paecilomyces lilacinus: report of three cases and review of the literature. Int. J. Dermatol., 43:648- 653.

Hussey, N.W. and T.W. Tinsley (1981). Impressions of insect pathology in the People's Republic of China. In: H.D. Burges (ed.). Microbial Control of Pests and Plant Diseases 19701980-. Academic Press, 785- 795.

Kisla, T.A., A. Cu-Unjieng, L. Sigler and J. Sugar (2000). Medical management of Beauveria bassiana keratitis. Cornea, 19:405- 406.

Kratz, A., D. Greenberg, Y. Barki, E. Cohen and M. Lifshitz (2003). Pantoea agglomerans as a cause of septic arthritis after palm tree thorn injury; case report and literature review. Archives of Disease in Childhood, 88:542- 544.

Melnikova, E.A. and V.I. Murza (1980). Investigations of the safety of industrial strains of microorganisms and microbial insecticides. Journal of Hygiene, Epidemiology, Microbiol. Immunol., 24:425- 431.

Raïner, J., U. Peintner and R. Pder (2000). Biodiversity and concentration of airborne fungi in a hospital environment. Mycopathologia, 149: 87- 97.

Rainer, J., M. Kirchmair and H. Strasser (2003). Evaluation of the exposure to fungal BCA's. In A.M. Madsen, J. Eilenberg, A. Enkegaard, N.B. Hendriksen, D.F. Jensen, J.B. Jespersen & J. Larsen (eds.). Conference on Occupational Health Risks of Producing and Handling Organisms for Biological Control of Pests in Agriculture at AMI. Danish Centre for Biological Control. Abstract Book, 17.

Ray, J.N. and H.L. Pence (2004). Ladybug hypersensitivity: Report of a case and review of literature. Allergy and Asthma Proceedings, 25:133- 136.

Renz, H. and U. Herz (2002). The bidirectional capacity of bacterial antigens to modulate allergy and asthma. Eur. Respiratory J., 19:158- 171.

Rogers, G.B., C.A. Hart, J.R. Mason, M. Hughes, M.J. Walshaw and K.D. Bruce (2003). Bacterial diversity in cases of lung infection in cystic fibrosis patients: 16S ribosomal DNA (rDNA) length heterogeneity PCR and 16S rDNA terminal restriction fragment length polymorphism profiling. J. Clinical Microbiol., 41:3548- 3558.

Saik, J.E., L.A. Lacey and C.M. Lacey (1990). Safety of microbial insecticides to vertebrates – domestic animal and wildlife. In M. Laird, L.A. Lacey & E.W. Davidson (eds.). Safety of Microbial Insecticides. CRC Press, 115- 134.

Samples, J.R. and H. Buettner (1983). Ocular infection by a biological pesticide. J. of Infectious Diseases, 148(3): 614.

Seger, C., S. Sturm, T. Lngle, W. Wimmer, H. Stuppner and H. Strasser (2005a). Development of a sensitive High-Performance Liquid Chromatography-Diode Array for the detection and quantification of the Beauveria metabolite oosporein from submerged culture broth and biocontrol formulations. J. Agric. Food Chem., 53: 1364- 1369.

Seger, C., D. Erlebach, H. Stuppner, U.J. Griesser and H. Strasser (2005b). Physico-chemical properties of oosporein, a major metabolite of the entomopathogenic fungus Beauveria brongniartii. Helvetica Chimica Acta, 88. 802- 810.

Shin, J.H., S.H. Kim, M.G. Shin, S.P. Suh, D.W. Ryang and M.H. Jeong (1997). Bacteremia due to Burkholderia gladioli: case report. Clinical Infectious Diseases, 25: 1264- 1265.

Siegel, J.P. (2001). Minireview: The mammalian safety of Bacillus thuringiensis–based insecticides. J. Invertebrate Pathol., 77:13- 21.

Strasser, H. and B. Pernfuss (2005b). What have BIPESCO and RAFBCA achieved that could help with risk assessment and registration. IOBC wprs Bulletin, 28: 189- 192.

Strasser, H., A. Vey and T.M. Butt (2000a). Are there any risks in using entomopathogenic fungi for pest control, with particular reference to the bioactive metabolites of Metarhizium, Tolypocladium and Beauveria species? Biocontrol Sci. Technol., 10: 717- 735.

Strasser, H., D. Abendstein, H. Stuppner and T.M. Butt (2000b). Monitoring the distribution of secondary metabolites produced by the entomopathogenous fungus Beauveria brongniartii with particular reference to oosporein. Mycological Res., 10:1227- 1233.

Tanser, S.J., M.E. Hodson and D.M. Geddes (2000). Case reports of death during pregnancy in patients with cystic fibrosis-three out of four patients were colonized with Burkholderia cepacia. Respiratory Medicine, 94: 1004- 1006.

Teng, L.J., P.R. Hsueh, H.J. Pan, S.W. Ho and K.T. Luh (2001). Persistent bacteraemia caused by a single clone of Burkholderia cepacia with unusual phenotype. J. of Infection, 42: 202- 205.

Van Lenteren, J.C., D. Babendreier, F. Bigler, G. Burgio, H.M.T. Hokkanen, S. Kuske, A.J.M. Loomans, I. Menzler-Hokkanen, P.C.J. van Rijn, M.B. Thomas, M.G. Tommasini and Q.-Q. Zeng (2003). Environmental risk assessment of exotic natural enemies used in inundative biological control. BioControl, 48: 3- 38.

Vey, A., R.E. Hoagland and T.M. Butt (2001). Toxic metabolites of fungal biocontrol agents. In T.M. Butt, C. Jackson & N. Magan (eds.). Fungal Biocontrol Agents: Progress, Problems & Potential. CABI, 311- 346.

Ward, M.D.W., D.M. Sailstad and M.K. Selgrade (1998). Allergic responses to the biopesticide Metarhizium anisopliae in Balb/c mice. Toxicological Sci., 45: 195- 203.

Ward, M.D.W., S.L. Madison, D.M. Sailstad, S.H. Gavett and M.K. Selgrade (2000a). Allergen-triggered airway hyperresponsiveness and lung pathology in mice sensitized with the biopesticide Metarhizium anisopliae. Toxicology, 143:141- 154.

Ward, M.D.W., S.L. Madison, D.L. Andrews, D.M. Sailstad, S.H. Gavett and M.J.K. Selgrade (2000b). Comparison of respiratory responses to Metarhizium anisopliae extract using two different sensitization protocols. Toxicology, 147: 133- 145.

Yamamoto, N., T. Matsumoto and Y. Ishibashi (2001). Fungal keratitis caused by Colletotrichum gloeosporioides. Cornea, 20: 902- 903.

Zimmermann, O. (2004). The use of beneficials for biological control in Germany - Notes on the present status. Gesunde Pflanzen, 56:151–156.

Cruz, A.T., A.C. Cazacu and C.H. Allen (2007). Pantoea agglomerans, a plant pathogen causing human disease. J. Clinical Microbiol., 45(6): 1989- 1992.

الباب السابع

اتجاهات جديدة في المبيدات الحيوية الميكروبية

الفصل الأول
البدائل المتاحة....نظرة حديثة

على الرغم من جهود ومحاولات الإنسان المستمرة فى الاستفادة من كل الوسائل المتاحة لوقاية مزروعاته الاقتصادية من الآفات المختلفة، فمازالت الآفات والأمراض تهلك حوالى ثلث حاصلاته الزراعية، وتسبب أمراض النبات وحدها فقد فى الإنتاج النباتى العالمى مقداره حوالى ١٣٪، ومن المؤكد أن هذا الفقد يؤثر بشكل كبير فى إنتاج الغذاء فى عالم يعانى حاليًامن نقص كبير فى الطعام فى كثير من الدول النامية، وتصاب النباتات بالعديد من الأمراض والتى تصل فى مجموعها إلى ١١ ٠٠٠ مرض، وتنشأ هذه الأمراض عن ١٢٠ جنس من الفطريات، وثمانية أجناس من البكتيريا، وثلاثة طرز من الفيروسات، وتتسبب الفطريات فى الكثير من أمراض النبات وذلك على عكس الحال مع الحيوان الذى تمثل أمراضه الفطرية قلة، وحيث أن الوضع الطبيعى للنباتات أن تكون سليمة وخالية من الأمراض فإن حدوث المرض يتطلب أن يكون العائل النباتى سريع التأثر، والمسبب الميكروبى للمرض شديد الضراوة، والظروف البيئية مواتية لحدوث المرض.

وقد ساهمت مبيدات الآفات الكيماوية فى زيادة إنتاج الغذاء نتيجة استخدامها فى وقاية النبات من الآفات ومسببات الأمراض المختلفة، إلا أن زيادة استخدام هذه الكيماويات خلال العقود الثلاثة الأخيرة أدى إلى تفاقم مشاكل بيئية جمة، ومخاطر صحية كثيرة، لذلك فقد تحول الانتباه فى السنوات الأخيرة تجاه بعض البدائل الخضراء مثل استغلال إمكانيات الميكروبات المفيدة فى وقاية النباتات، إذ تساعد عوامل المكافحة الحيوية الميكروبية التى تحدثنا عنها فى الأبواب السابقة فى تحسين نمو النبات، وتنشيط آلية المقاومة فى العائل النباتى، وتزيد من نمو وإنتاجية المحاصيل، وتؤدى عوامل المكافحة الحيوية عملها من خلال آليات متعددة ومتباينة مثل التضاد الحيوى antibiosis، وإفراز المواد الأيضية السامة الطيارة، وتكوين النظم الإنزيمية التى تحفز تفاعلات تحليل كثير من المكونات فى خلايا الميكروبات الممرضة، والتطفل، والتنافس على كل من المكان والغذاء.

وتمتلك البكتيريا والفطريات بما فيها فطريات الميكوريزا كثير من الإستراتيجيات التى تمكنها من التأقلم مع بيئة النبات، وهذه تتضمن عدد من التفاعلات المفيدة التى ينجم عنها الوقاية ومكافحة كثير من الأمراض التى تصيب النباتات، ومن المعروف عن النباتات أنها تمثل نظام بيئى مثالى للميكروبات، وفى هذا النظام تتباين الظروف البيئية بشكل كبير بين المجموع الخضرى للنبات الموجود بالهواء الطلق ومجموعه الجذرى الثابت فى التربة الزراعية، وتتفاعل الميكروبات مع خلايا وأنسجة النبات بدرجات متفاوتة، ومن الملفت للنظر أن هناك تفاعلات متخصصة مفيدة للنبات تنشأ بين كل من الميكروبات – النباتات – الميكروبات الممرضة، وتصاب النباتات بالأمراض شأنها فى ذلك شأن البشر والحيوانات، لكنها بمقدورها تطوير دفاعاتها تجاه الميكروبات الممرضة، وتعتمد النباتات فى ذلك على الاستجابة الأصلية والاستجابة المحثة، وهذه الاستجابة قد تكون موضعية أو تنتشر خلال أنسجة وأعضاء النبات، وتتضمن الاستجابة الدفاعية عديد من الجزيئات التى تحمل رسائل تنشط جينات الاستجابة لدى الميكروب الممرض، وتنظم هذه الجينات الإنزيمات أو المواد المضادة للميكروبات، كما تنتج مركبات أكثر تخصصًاعن الجلوبيولينات المناعية immunoglobulins الموجودة فى الحيوانات، وتكشف هذه الاستجابة التخصصية عن نوع من البروتين بين الخلايا النباتية خاص بالميكروب الممرض يعتمد على جين لنظام إدراك التفاعل الجينى، والهجوم البيوكيماوى المحث، وموت الخلايا المبرمج، وهناك العديد من التضمينات لمكافحة الأمراض النباتية مبنية على المعرفة بأسس التخصص لتفاعلات النبات – الميكروب، وقد تم بالفعل تطوير منتجات بيوتكنولوجية جديدة لتحفيز الاستجابة الدفاعية لدى النبات واستخدام الميكروبات المفيدة للنبات فى المكافحة الحيوية للأمراض النباتية (المبيدات الحيوية) ولحث نمو النبات (الأسمدة الحيوية).

ومن المعروف عن بعض العوامل الميكروبية وثيقة الصلة بالميكروبات الممرضة – مثل السلالات الميكروبية غير الممرضة، والسلالات شديدة المرضية dsRNA-infect hypovirulent strains، وميكروبات الابيفايت epiphytes الموجودة على سطوح النباتات، وميكروبات الإندوفايت endophytes العائشة بداخل النبات – أنها تساهم فى جعل التربة الزراعية بمثابة نظام بيئى بمقدوره التغلب على الأمراض بشكل طبيعى، ويتم تشجيع نمو مثل هذه العوامل الميكروبية المرغوبة عن طريق إضافة بعض المواد العضوية

إلى التربة مثل سماد الكومبوست compost ومستخلصاته، وتعمل مثل هذه الإضافة على زيادة الطبيعة التثبيطية للتربة الزراعية لمسببات الأمراض النباتية.

وهناك أكثر من استراتيجية تسهل عمليات إثراء وحفظ وإدارة الميكروبات سواء القاطنة للتربة أو المتعايشة مع النبات مثل تنشيط التثبيط الطبيعى للممرضات المحمولة فى التربة، واستبعاد الممرضات النباتية المحمولة فى التربة الزراعية، وتحسين التضاد الحيوى بكل الوسائل الممكنة مثل التعقيم الشمسى للتربة والتبخير والتدخين تحت الحد المميت.

وتتضمن عملية تثبيط الميكروبات الممرضة للنبات المحمولة فى التربة الزراعية عدد من الآليات تعتمد على إدخال كائنات حية دقيقة نافعة، وجعل التربة بمثابة نظام بيئى يثبط بشكل طبيعى الميكروبات الممرضة، ومن هذه الآليات مايلى:

١. التضاد الحيوى أى إنتاج المضادات الحيوية مثل pyrrolnitrin و phenazines و pyoluteorin و 2,4-diacetylphloroglucinol.

٢. التنافس على الحديد.

٣. حث مقاومة النبات.

٤. إنتاج سيانيد الهيدروجين.

٥. تكوين مشتقات السكريات العديـدة الدهنية Lipopolysaccharides (LPS).

٦. استخدام ميكروبات الإندوفايت كعوامل مكافحة حيوية.

٧. استخدام سماد الكومبوست ومستخلصاته فى مكافحة بعض الفطريات مثل فطر الريزوكتونيا سولانى Rhizoctonia solani والفيوزاريوم أوكسيسبورم Fusarium oxysporum والفيتوفثورا Phytophthora والبيثيوم Pythium.

وتعتبر المكافحة الحيوية بواسطة الريزوبكتيريا والريزوفطريات وبكتيريا الإندوفايت واللقاحات السمادية والكومبوست ومستخلصات الكومبوست بمثابة مداخل خضراء جديدة ومقبولة فى مجال المكافحة الحيوية لمسببات أمراض النباتات.

ولذلك يتم فى الوقت الراهن استخدام الطرق الجديدة المبنية على المعرفة بالتفاعلات بين الميكروبات – النباتات فى وقاية النباتات من الأمراض، كما هو الحال فى توظيف

المعرفة بالأساس الجزيئى لتفاعلات الميكروب – النبات بقصد البحث عن طرق مقبولة لوقاية النبات تعتمد على استعمال الميكروبات النافعة وتحفيز الاستجابة الدفاعية فى النبات.

وتعيش الميكروبات معيشة تكافلية مع النبات أو تعيش كأبيفيت epiphytes أو اندوفيت endophyte وذلك فى علاقة غير ملحوظة مع النبات، وتشمل بكتيريا النبات النافعة اللاتكافلية الريزوبكتيريا المشجعة لنمو النبات plant growth-promoting rhizobacteria PGPR، وتمنح بعض الميكروبات المتفاعلة مع النبات العائل ميزات مفيدة إلا أنها تكون غير قادرة على غزو الأنسجة والإصابة.

❖المراجـــع:

Agrawal, A.A., S. Tuzun and E. Bent (eds) (1999). Inducible plant defenses against pathogens and herbivores. Biochemistry, ecology and agriculture. American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota.

Bayman, P. (2007). Fungal Endophytes. In: Environmental and Microbial Relationships, P 2132 ,227-nd Edition The Mycota IV C.P. Kubicek and I. S. Druzhinina (Eds.) © Springer-Verlag Berlin Heidelberg.

Berg, G. and J. Hallmann (2006). Control of plant pathogenic fungi with bacterial endophytes. In: Soil Biology, Vol. 9. Microbial Root Endophytes. B. Schulz, C. Boyle, T. N. Sieber (Eds.). ©Springer-Verlag Berlin Heidelberg.

Hoitink, H.A.J., A.G. Stone and D.Y. Han (1997) Suppression of diseases by composts. HortScience 32: 184 –187.

Litterick, A.M., L. Harrier, P. Wallace, C. A. Watson and M. Wood (2004). The role of uncomposted materials, composts, manures, and compost extracts in reducing pest and disease incidence and severity in sustainable temperate agricultural and horticultural crop production—a review Critical Reviews in Plant Sci. 23(6):453 – 479.

Montesinos, E., A. Bonaterra, E. Badosa, J. France's, J. Alemany, I. Llorente and C. Moragrega (2002). Plant-microbe interactions and the new biotechnological methods of plant disease control. Int. Microbiol. 5: 169 - 175.

Nakkeeran, S., W. G. Dilantha fernando and Z. A. Siddiqui (2005). Plant

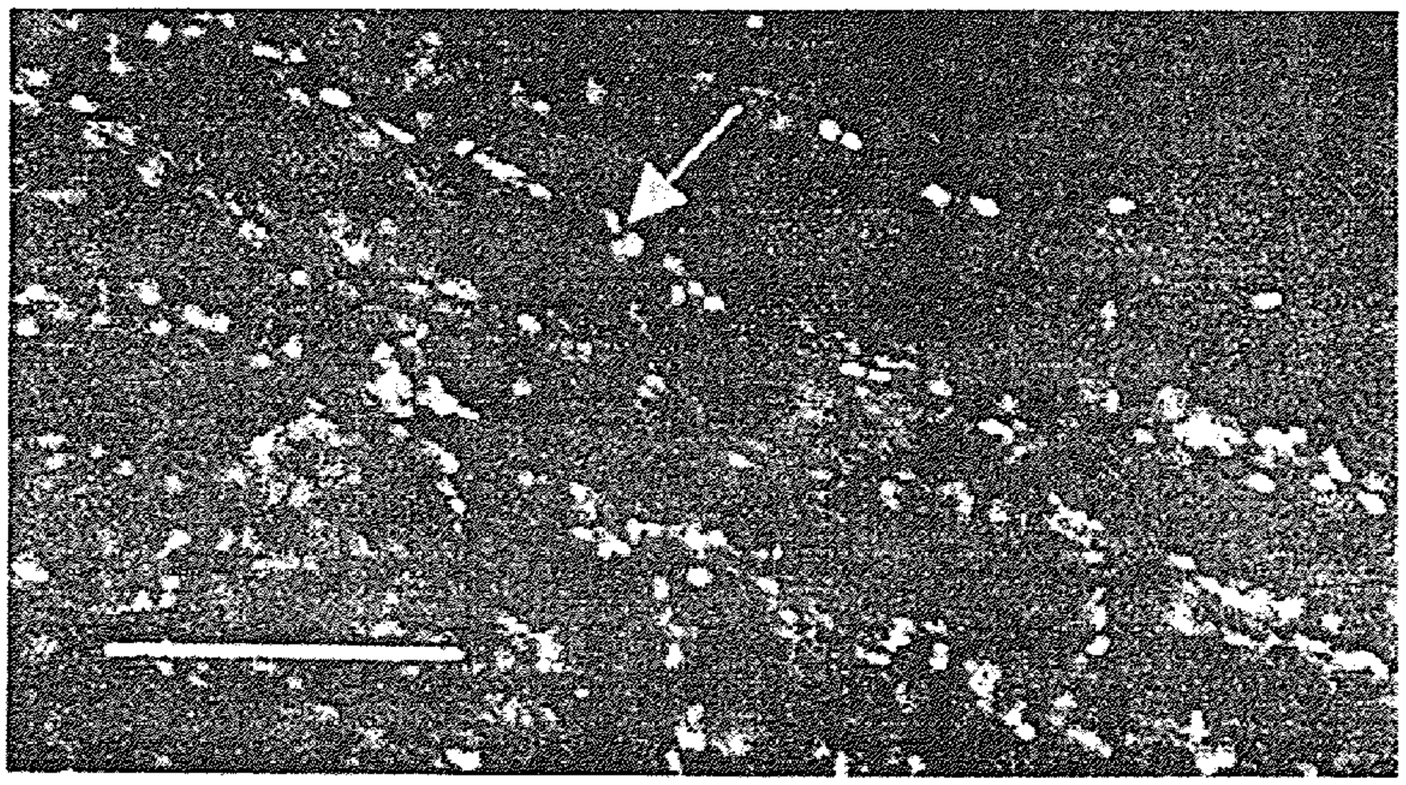
growth promoting rhizobacteria formulations and its scope in commercialization for the management of pests and diseases. Z. A. Siddiqui (ed.), PGPR: Biocontrol and Biofertilization, 257 – 296.

Shahidi Bonjar, G.H. (2004). New approaches in screening for antibacterials in plants. Asian J. Plant Sci., 3: 55- 60.

الفصل الثاني
آليات مكافحة الأمراض بالريزوبكتيريا والريزوفطريات

❖ الريزوبكتيريا:

يشير مصطلح « الريزوبكتيريا rhizobacteria » إلى البكتيريا التى تميل إلى النمو على الجذر نفسه أو فى منطقة جذور النباتات (منطقة المحيط الجذرى rhizosphere) (شكل ٧-١)، ويصف مصطلح « الريزوبكتيريا المشجعة لنمو النبات plant growth-promoting rhizobacteria PGPR » بكتيريا الجذور غير الممرضة التى تحث نمو النبات.



شكل (٧-١) تجمع السلالة 8-Pseudomonas putida strain 6 على جذر بادرة نبات كانولا

ومصطلح الريزوبكتيريا المشجعة لنمو النبات PGPR هو مصطلح عملى وذو علاقة بعمل الريزوبكتيريا أكثر منه مصطلح مطلق، حيث يصف تأثير ميكروب ما على عدد من العوائل النباتية فى مدى من الظروف البيئية فقط.

ويختلف تصنيف الريزوبكتيريا كثيرًا فهى تتضمن مايلى على سبيل المثال:

بكتيريا موجبة لجرام

رتبة الأكتينوميسيتات Actinomycetales

- فرانكيا Frankia
- ستربتوميسس Streptomyces

العصويات

- باسيلس Bacillus
- بانيباسيلس Paenibacillus

بكتيريا سالبة لجرام

تحت قسم البروتيوبكتيريا Proteobacteria

- الألفا بروتيوباكتيريا
  - عائلة الرايزوبيوم Rhizobiaceae
    - ريزوبيوم Rhizobium
    - برادى ريزوبيوم Bradyrhizobium
  - عائلة Rhodospirillaceae
    - آزوسبيريلم Azospirillum
  - عائلة الأسيتوباكتر Acetobacteraceae
    - أسيتوباكتر Acetobacter
- البيتابروتيوبكتيريا
  - مجموعة بركهولدريا Burkholderia
    - بركهولدريا Burkholderia
- الجاما بروتيوبكتيريا
  - عائلة البكتيريا المعوية Enterobacteriaceae
    - انتيروباكتر Enterobacter
    - بانتويا Pantoea
    - سيرتيا Serratia
  - عائلة السيدوموناس Pseudomonaceae
    - سيدوموناس Pseudomonas
    - فلافيموناس Flavimonas

وتلعب الريزوبكتيريا المحثة لنمو النبات دورًاهامًافى تيسير وامتصاص العناصر الغذائية، والإمداد بمواد النمو growth substances للنبات، كما تحث هذه البكتيريا عملية المكافحة الحيوية من خلال آلية المقاومة المحثة induced systemic resistance ISR، وهى عملية المقاومة النشطة المعتمدة على الحواجز الفيزيائية والكيميائية للنبات العائل والمنشطة بواسطة العوامل المحثة سواء الحيوية أو غير الحيوية، وعندما تؤدى المقاومة المحثة وظائفها يؤدى استعمال عوامل المكافحة البيولوجية على جزء من النبات إلى الوقاية من عدد كبير من الممرضات كالفطريات والبكتيريا والفيروسات والنيماتودا على جزء آخر من النبات.

ويشار إلى الأحياء الدقيقة من البكتيريا والفطريات غير المتطفلة والتى تتجمع بمنطقة جذور النباتات باسم « ميكروبات الريزوسفير الضارة deleterious rhizosphere microorganisms DRMO »، وتشمل الأضرار الحادثة عن هذه الميكروبات تغيرات فى الإمداد بالماء والأيونات المعدنية ومواد النمو التى تغير وظائف الجذر أو تحد النمو.

وفى المقابل تحسن الريزوبكتيريا المحثة لنمو النبات من قوة نموه عن طريق التجمع فى المنطقة المحيطة بمجموعه الجذرى ومنع انتشار ميكروبات الريزوسفير الضارة على وحول الجذور.

ومن أمثلة أنواع الريزوبكتيريا التى تعيش فى المجموع الجذرى للنباتات والتى يتم استعمالها لمعاملة البذور ووقاية النباتات من الأمراض التى تصيبه كل من بكتيريات سيدوموناس فلوريسنس Pseudomonas fluorescens وسيدوموناس بوتيدا P. putida وياسيلس بوميلس Bacillus pumilus وسيرتيا مارسيسنس Serratia marcescens وغيرها كثير.

❖آليـات مكافحـة المـرض:

تتضمن آليات الريزوبكتيريا فى مكافحة المرض النباتى المكافحة الحيوية إلى جانب آليات أخرى مثل الآليات التركيبية والبيوكيماوية والجزيئية.

١ - المكافحة الحيوية:

تحسن بكتيريا الجذور من نمو النبات بشكل غير مباشر من خلال تثبيط مسببات الأمراض

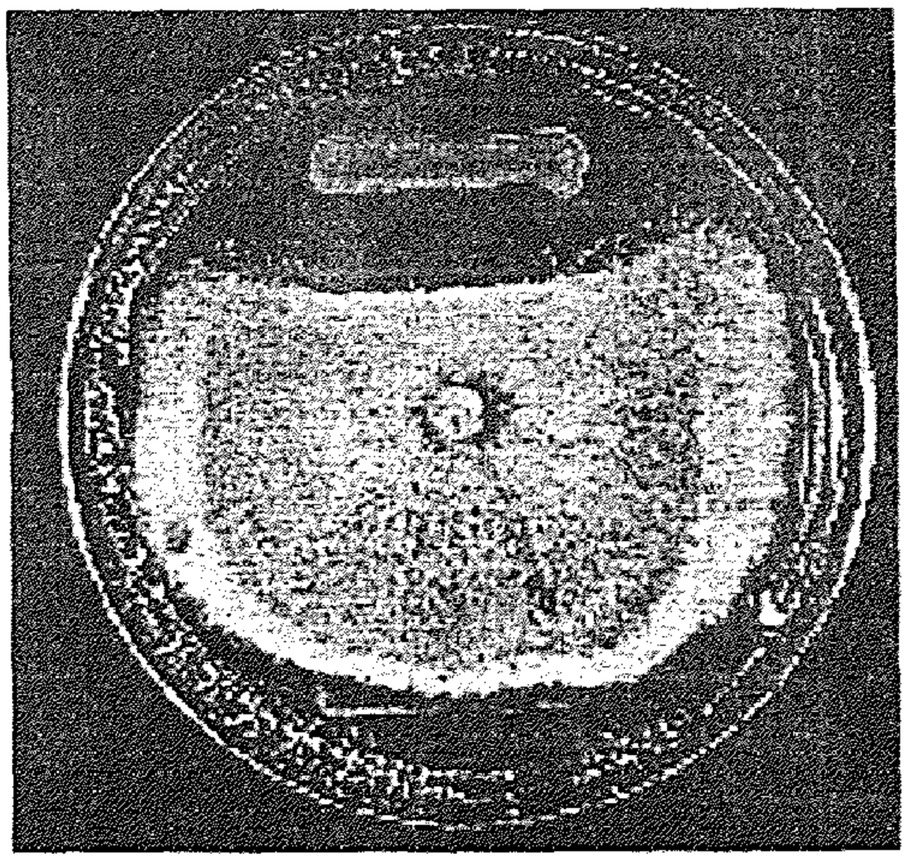
النباتية من الفطريات والبكتيريا والفيروسات بواسطة عدد من الآليات المختلفة منها:

إنتاج روابط ligands متخصصة للحديد +Fe3 لها وزن جزيئى منخفض تسمى حوامل الحديد siderophores تحت ظروف إتاحة الحديد المنخفضة التى قد تنشأ بمنطقة الريزوسفير، حيث تحجز عنصر الحديد الموجود فى وسط النمو عن طريق الخلب، ثم تتناول الخلايا الميكروبية هذه الحوامل بعد إدراك بروتينات الغشاء لها، ومن ثم تحرم الميكروبات الممرضة المحمولة بالتربة الزراعية من الحديد فتمنعها من التكاثر والانتشار فى وسط نموها وإصابة النباتات بالأمراض. ومن ناحية أخرى يساعد إنتاج بعض حوامل الحديد على حث المقاومة فى النبات.

إنتاج المواد الأيضية المثبطة لنمو المسببات المرضية مثل المضادات الحيوية (شكل ٧-٢) وعدد من الجزيئات الصغيرة.

تكوين النظم الإنزيمية المختلفة المحللة لمكونات الجدر الخلوية والتى تستهدف المسببات المرضية.

تكوين سيانيد الهيدروجين الذى يثبط نمو الميكروبات الممرضة، وحث المقاومة لدى النبات العائل.



شكل (٧-٢) تثبيط البكتيريا لنمو فطر الريزوكتونيا وهو من الفطريات المرضة للنباتات البقولية المحمولة فى التربة.

وتحفز الريزوبكتيريا أيضًامن إنتاج المركبات البيوكيماوية المرتبطة بآلية الدفاع لدى العائل النباتى، ويعزى تحسين المقاومة لدى النبات إلى التراكم الهائل لمركبات الالكسينات النباتية phytoalexins والمركبات الفينولية، والزيادة فى أنشطة البروتينات PR-proteins وإنزيمات وعوامل النسخ الخاصة بالدفاع، وتحسين عمليـة التلجنن lignification.

٢- آليـات أخـرى:

تتضمن الآليات الأخرى عدة آليات مثل الآليات تركيبية، وفيها تحث الريزوبكتيريا التغيرات التركيبية فى النبات العائل، والتى تؤدى إلى زيادة كبيرة فى إضافات الكالوس callose للجدار الخلوى، والتى تترسب على السطح الداخلى للجدار الخلوى فى الابيدرمس epidermis والقشرة الخارجية outer cortex، ومن التغيرات التركيبية أيضًاترسيب الكالوس والتلجنن، وتنشط بعض سلالات الريزوبكتيريا التابعة للنوع سيدوموناس فلوريسنسP. fluorescens مقاومة النبات للأمراض بحث تخليق الكالوس وزيادة محتوى اللجنين فى النباتات.

وهناك آليات بيوكيماوية توظفها الريزوبكتيريا فى مكافحة المرض فهى تنتج العديد من المضادات الحيوية والمواد الأيضية المضادة للفطريات والإنزيمات والمركبات الفينولية وغيرها من المركبات الأخرى المحددة للدفاع فى النبات كاستجابة لهجوم الميكروبات الممرضة له، فعلى سبيل المثال تنشط عملية استيطان الريزوسفير بسلالة السيدوموناس ايروجينوزا P. aeruginosa 7NSK2 والنوع سيدوموناس فلوريسنس P. fluorescens انزيم فينيل ألانين أمونيا لايـز phenylalanine ammonia lyase فى النبات وتؤدى لزيادة مستوى حامض السلسليك فى الأوراق، كما يؤدى استيطان الريزوسفير بالبكتيريا إلى حث نشاط إنزيم البيروكسيديز فى جذور النباتات، كذلك يؤدى رش النباتات بالريزوبكتيريا مثل سيدوموناس فلوريسنس إلى زيادة أنشطة الإنزيمات كالكيتينيز والجلوكانيز وزيادة محتواها من بروتينات PR-proteins وزيادة التلجنن والمركبات الفينولية، وتعتبر المركبات الفينولية سامة للممرضات فى الطبيعة، وتزيد القوة الميكانيكية للجدر الخلوية للنبات العائل.

وتعتبر الآليات الجزيئية أيضًاضمن الآليات التى يتم توظيفها فى الريزوبكتيريا لحث المقاومة فى النبات، وقد تم توظيف الآلية الجزيئية فى الريزوبكتيريا لإنتاج حامض السلسليك الذى يحث المقاومة فى النباتات.

❖ الريزوبكتيريا فى المكافحة الحيوية:

تعمل الريزوبكتيريا كعوامل مكافحة بشكل مباشر عن طريق التنافس على المواد الغذائية، والتطفل، وإنتاج مركبات مضادة للميكروبات الممرضة مثل المضادات الحيوية.

وإلى جانب التفاعلات المباشرة مع الميكروبات الممرضة المحمولة فى التربة الزراعية، تستطيع الريزوبكتيريا تنشيط دفاعات النبات ضد الممرضات التى تصيب المجموع الخضرى وهو ما يطلق عليه المقاومة المحثة.

١ – التأثيرات المباشرة للريزوبكتيريا:

تنافس الريزوبكتيريا الميكروبات الممرضة للنبات بشكل مباشر على كل من الغذاء ومكان المعيشة، كما تضاد الريزوبكتيريا الميكروبات الممرضة للنبات بما تفرزه من مواد أيضية وإنزيمات خارجية محللة، وتستطيع الريزوبكتيريا تحليل وتثبيط تخليق عوامل المرضية وتحليل نظم الاتصال بين الخلية – الخلية فى الميكروبات الممرضة إلى جانب تحليل عوامل التأثر فى النبات، وتزيد الريزوبكتيريا من تعرض الميكروبات الممرضة لعوامل الإجهاد.

وتنتج الريزوبكتيريا سواء من الأنواع المتأصلة فى التربة indigenous أو الأنواع الدخيلة على التربة invaders مثل بعض أنواع جنس سيدوموناس Pseudomonas عدد كبير من النواتج الأيضية الثانوية والتى تؤثر سلبيًاعلى النمو والنشاط الأيضى للميكروبات الممرضة للنباتات.

وتتمثل آليات المكافحة الحيوية فى بكتيريا مثل النوع سيدوموناس فلوريسنس P. fluorescens فى إنتاج سيانيد الهيدروجين HCN، ويلعب سيانيد الهيدروجين دورًاهامًافى المكافحة الحيوية للميكروبات الممرضة من خلال تثبيط عملية نقل الإلكترون، وإعاقة إمداد الطاقة للخلايا، ومن ثم موت الميكروب الممرض فى نهاية المطاف.

وإلى جانب تشجيعها لنمو النبات من خلال تثبيت نيتروجين الهواء الجوى وإذابة الفوسفات تكافح بكتيريا بانيباسيلس بوليميكسا Paenibacillus polymyxa مسببات الأمراض النباتية، ويكافح هذا النوع مسببات الأمراض النباتية من الميكروبات من خلال إفراز نواتج أيضية ثانوية ذات تأثير تضادى للميكروبات الممرضة، وتشمل هذه المواد الأيضية سيانيد الهيدروجين، وحوامل الحديد، والمضادات الحيوية، والتنافس المباشر على المواد الغذائية، إلى جانب حث مقاومة النباتات.

كما تنتج سلالات كثيرة من أنواع جنس سيدوموناس Pseudomonas عدد من

المضادات الحيوية مثل السلالة سيدوموناس كلوروررافيسP. chlororaphis PCL ١٣٩١التى تكافح عفن الجذور فى الطماطم الذى يسببه فطر فيوزاريم اوكسيسبورم Fusarium oxysporum f. sp. radicis-lycopersici عن طريق إنتاج المضاد الحيوى phenazine-1-carboxyamide oxychlororaphin، وتنتج السلالة سيدوموناس فلوريسنس P. fluorescens 2-79 والسلالة سيدوموناس ايروفاسينس P. aureofaciens 30-84 المضاد الحيوى phenazine-1-carboxylic acid PCA، وتلعب هذه السلالات دور هام فى مكافحة مرض take-all فى القمح الذى يسببه فطر جيومانوميسيس جرامينيس Gaeumannomyces graminis var. tritici.

٢- التأثيرات غير المباشرة للريزوبكتيريا:

بشكل غير مباشر تلعب الريزوبكتيريا دورًاهامًافى المكافحة الحيوية من خلال الميكانيكيات التالية:

- حث المقاومة لدى النبات والتى يتمخض عنها تقوية جدره الخلوية بالمواد اللجنينية والكالوس والمركبات الفينولية.
- إنتاج المواد المضادة للميكروبات الممرضة مثل البروتينات المتعلقة بالمرضية والألكسينات النباتية phytoalexins.
- تعديل التفاعلات البيوكيميائية والفسيولوجية فى خلايا النبات.

وتعمل المقاومة المحثة على تراكم اللجنين فى الجدر الخلوية للنبات، ويلعب اللجنين دور هام فى دفاع النبات ضد الميكروبات الممرضة، فاللجنين عبارة عن مركبات فينولية وأحماض دهنية تساهم فى تقوية الجدر الخلوية، وتزيد مقاومتها لهجوم الميكروبات، كما تمنع نفاذية الماء إلى معقد البروتين - السكريات العديدة للجدار الخلوى للنبات، ويمثل اللجنين أول عائق فيزيائى ضد هجوم الميكروبات الممرضة كالفطريات بصفة خاصة.

ويقى كثير من الريزوبكتيريا مثل أفراد النوع سيدوموناس فلوريسنس P. fluorescens النباتات من الميكروبات الممرضة عن طريق تنشيط جينات الدفاع المنظمة لبروتينات PR proteins، أى إنزيم الكيتينيز وإنزيم بيتا - ١، ٣ - جلوكانيز والبروتينات الشبيهة بالثيوماتين thaumatin like proteins (TLP) وإنزيم البيراوكسيديز وإنزيم فينيل أمونيا لايز

phenylalanine ammonia-lyase (PAL) والإنزيمات الأخرى التى تحفز تفاعلات تخليق الألكسينات النباتية، ونظرًالأن إنزيم PAL هو الإنزيم الأول فى مسار الفينيل بروبانويد phenylpropanoid المنتج للألكسين النباتى والمواد الفينولية التى تؤدى لإنتاج اللجنين بمساعدة إنزيمات البيروكسيديز فإن حث تخليقه مبكرًابذات أهمية كبيرة.

وتستطيع النباتات أن تدافع عن نفسها بواسطة مجموعة من التراكيب والتفاعلات المحثة والتى تحدث أثناء حث مقاومتها وتؤدى لإنتاج بعض البروتينات المتعلقة بالمرضية مثل الكيتينيز وبيتا - ١، ٣ - جلوكانيز والتى تثبط الإصابة بالميكروبات الممرضة من خلال تحليل الكيتين والجلوكان فى الجدر الخلوية للفطريات الممرضة.

وتستطيع سلالات من أنواع جنس سيدوموناس Pseudomonas حث مقاومة واسعة المجال للأمراض النباتية من خلال إنتاج حامض السلسليك الذى ينظم العمليات الفسيولوجية مثل دفاع النبات ضد الميكروبات الضارة.

وثمة آلية حديثة للتفاعل بين الريزوبكتيريا - النبات وهى إنتاج الريزوبكتيريا لمركبات عضوية طيارة مثل مركب ٢، ٣ بيوتانيديول 2,3-butanediol ومركب الأسيتيون acetoin، ولهذه المركبات دور هام فى بدء حث عملية تشجيع نمو النبات ومقاومته للأمراض، ومن أمثلة البكتيريا المنتجة للمركبات العضوية الطيارة بعض السلالات من أفراد جنس باسيلس مثل سلالة النوع الباسيلس ستلس Bacillus subtilis GB03 والنوع باسيلس اميلوليكويفاسينس B. amyloliquefaciens.

❖خصائص الريزوبكتيريا المستخدمة فى المكافحة الحيوية:

لتطوير مستحضر تجارى من الريزوبكتيريا للاستخدام فى المكافحة الحيوية ؛ يجب أن تتصف الريزوبكتيريا المستخدمة فى المكافحة الحيوية بالصفات التالية:

١. القدرة التنافسية العالية فى منطقة محيط جذور النباتات والمعروفة بالريزوسفير.
٢. القدرة الترممية العالية التنافسية.
٣. تحسين نمو النبات.
٤. المجال الواسع لفعلها التضادى.
٥. القدرة على المكافحة الحيوية بدرجة موثوق بها.

٦. المقاومة لدرجة الحرارة والجفاف والعوامل المؤكسدة والإشعاع فوق البنفسجى.
٧. سهولة الإنتاج الضخم.
٨. الأمان من الناحية البيئية.

ولطالما استخدمت المعلقات الخلوية للريزوبكتيريا فى معاملة البذور بشكل مباشر بقصد المكافحة الحيوية، ونظرًالصعوبة استخدام المعلقات الخلوية تحت الظروف الحقلية، فإنه يتم تسكين immobilization الريزوبكتيريا فى بعض الحوامل carriers، وتجهز كمستحضرات يسهل تداولها وتخزينها وتسويقها واستعمالها على المستوى الحقلى.

❖خصائص مستحضر الريزوبكتيريا المثالى:

من أهم الخصائص التى يجب توفرها فى المستحضر المثالى للريزوبكتيريا المستخدمة فى المكافحة الحيوية مايلى:

١. غير سام للنبات.
٢. يذوب جيدًافى الماء لتنطلق منه الريزوبكتيريا.
٣. يقاوم الظروف البيئية المغايرة.
٤. موضع ثقة فى مكافحة مسببات الأمراض النباتية.
٥. موضع تنافس مع مبيدات الآفات الكيميائية الأخرى المستخدمة فى هذا المجال.
٦. المواد الحاملة للمبيد الحيوى رخيصة ومتاحة بالفعل.
٧. فترة حفظه وتخزينه طويلة.
٨. تكلفة إنتاجه معقولة.

❖الحوامل المستخدمة فى تجهيز مستحضرات الريزوبكتيريا:

يؤدى استخدام المستحضرات التجارية للريزوبكتيريا إلى تحسين نمو النبات ومقاومة الأمراض، ويراعى فى تجهيز هذه المستحضرات استخدام حوامل مناسبة تحفظ للبكتيريا حياتها لأطول وقت ممكن، وأن تكون هذه الحوامل اقتصادية ومتوفرة.

ومن أمثلة الحوامل العضوية وغير العضوية الشائعة الاستخدام البيت peat والألجينات alginate ونشارة الخشب sawdust والكاؤولينيت kaolinite والفيرميكيوليت vermiculite وغيرها كثير، وتزيد مثل هذه الحوامل من معدل بقاء الريزوبكتيريا حية

بحماية الخلايا من الجفاف والموت، وتتوقف فترة احتفاظ البكتيريا بحيويتها على كثير من العوامل مثل نوع البكتيريا والحوامل المستخدمة وحجم جزيئاتها (جدول ٧-١)، ويساعد استخدام الحوامل ذات أحجام الجزيئات الأصغر فى زيادة المساحة السطحية surface area والتى تزيد بدورها المقاومة لحدوث جفاف للبكتيريا نتيجة عملية تغطية coverage الخلايا البكتيرية.

جدول (٧-١) فترات تخزين الريزوبكتيريا على الحوامل المختلفة والحمل الميكروبى فى نهاية فترات التخزين.

الحامـــــل	البكتيريـــــــا	فتـرة التخزيـن والحمل الميكروبى فى نهاية الفترة
البـيت:		
	P. chlororaphis (PA23) and B. subtilis CBE4	6 شهور (x 108cfu/g 1<).
	P. fluorescens (Pf1)	8 شهور (x 106 cfu/g 7.0).
بـودرة التلـك:		
	الريزوبكتيريا	شهرين
	B. subtilis	45 يوم (x 106 cfu/g 1.0).
	P. putida	45 يوم (x 103 cfu/g 1.0).
	P. fluorescens (P7NF, TL3)	12 شهر (Log cfu/g 8.4).
	P. fluorescens (Pf1)	8 شهور (x 107 cfu/g 1.3).
بيت مدعم بالكيتين	B. subtilis	6 شهور (x 109 cfu/g 1<).
الليجنيت	P. fluorescens (Pf1)	4 شهور (x 106 cfu/g 2.8).
الكؤولينيت	P. fluorescens (Pf1)	4 شهور (x 106cfu/g 2.8).
الفيرميكيوليت		
	P. fluorescens (Pf1)	8 شهور (x 106 cfu/g 1.0).
	B. subtilis	45 يوم (x 106 cfu/g 1.0<).
	P. putida	45 يوم (x 103 cfu/g 1.0<).
السباخ البلدى	P. fluorescens (Pf1)	8 شهور (x 106cfu/g 1.0).

❖تطبيقات الريزوبكتيريا:

لقد بدأ استخدام الريزوبكتيريا فى تشجيع نمو النبات وزيادة المحصول منذ عام ١٩٥٠ فى الاتحاد السوفيتى والدول الشرقية، وقد فتح ذلك المجال لاستخدام الريزويكتيريا كبديل لمبيدات الآفات من الكيماويات فى مكافحة مسببات الأمراض المحمولة فى

التربة الزراعية، كذلك تستخدم الريزوبكتيريا فى الوقت الراهن فى مجال العلاج البيئى bioremediation.

ومن مميزات معاملة البذور بالريزوبكتيريا فى نظم المكافحة الحيوية الطبيعة الغذائية الترممية للريزوبكتيريا والتى تمكن من إنتاجها على النطاق التجارى، وسهولة وبساطة استخدامها، والحاجة إلى كميات صغيرة من اللقاح، وعدم اعتمادها على مصادر الطاقة للبقاء، وانتشارها على طول سطح المجموع الجذرى للنبات النامى، ووجود نشاط تضادى على سطح المجموع الجذرى أثناء الطور الهام اقتصاديًاللإصابة المبكرة للجذر بواسطة الميكروبات الممرضة.

وترجع ملائمة الريزوبكتيريا لتلقيح البذرة إلى مرونتها الأيضية، ونموها السريع، وحركتها النشطة، وقدرتها على استيطان سطح المجموع الجذرى. وتساعد معاملة البذرة بالريزوبكتيريا فى وقايتها فى مرحلة مبكرة مقارنة بالرش الورقى.

وتستخدم مستحضرات الريزوبكتيريا المشجعة لنمو النبات فى معاملة البذور والتربة والأوراق والريزومات. وقد تحتوى مستحضرات الريزوبكتيريا على سلالة بكتيرية مفردة أو مخلوط من السلالات البكتيرية. وقد استخدمت سلالات مفردة axenic من الريزوبكتيريا فى المكافحة الحيوية كما هو الحال فى استخدام بكتيريا سيدوموناس فلوريسنس P.fluorescens فى وقاية البقوليات من مرض الذبول الذى يسببه فطر فيوزاريم أوكسيسبورم Fusarium oxysporum f.sp. ciceris، كما استخدمت سلالات من النوع باسيلس ستلس Bacillus subtilis فى مكافحة أمراض العفن التاجى فى الفول السودانى والذبول فى البسلة، كذلك استخدمت بعض سلالات من النوع سيدوموناس ايروجينوزا مثل السلالة P. aeruginosa strain 78 فى مكافحة نيماتودا تعقد الجذور التابعة للنوع Meloidogyne javanica تحت الظروف الحقلية، كما استخدمت سلالات النوع سيدوموناس بوتيدا P.putida strain 30 and 180 فى مكافحة الذبول فى نباتات البطيخ.

ومن ناحية أخرى يؤخذ على سلالات الريزوبكتيريا المفردة المستخدمة فى المكافحة الحيوية تناقص كفاءتها تحت الظروف الحقلية إذ ينخفض أداء هذه السلالات بمرور الوقت وتغير الظروف البيئية مثل اختلاف نوع التربة، وكذلك قد لا تستطيع السلالات المفردة

استيطان المكان بأعداد كافية، كما لا تستطيع تحمل الظروف البيئية المغايرة مثل الرطوبة ودرجة الحرارة وتركيز الأس الهيدروجينى إلى جانب التذبذب فى إنتاجها للمواد المضادة للميكروبات الممرضة.

ويتم التغلب على نقاط الضعف الناتجة عن استخدام سلالات مفردة من الريزوبكتيريا فى المكافحة الحيوية باستعمال سلالات مختلطة mixed، وتعتبر هذه الإستراتيجية بمثابة محاكاة لما يحدث فى الوضع الطبيعى، ويحسن توظيف كوكتيل من السلالات الميكروبية المتوافقة من كفاءة عملية المكافحة الحيوية نظرًاللتعاون الحادث بين السلالات وبعضها البعض والذى يؤدى بدوره إلى زيادة إنتاج المضادات الحيوية، ومن ثم تثبيط مسببات الأمراض الميكروبية المختلفة، ومن مميزات استخدام السلالات الميكروبية المختلطة فى المكافحة الحيوية توسيع مجال الفعل الميكروبى، وتحسين كفاءة السلالات ودرجة الوثوق بها، وتحقيق الهدف بتجميع الميزات المختلفة بدون استخدام تقنيات الهندسة الوراثية، ويضمن استخدام مخلوط من عدة سلالات ميكروبية تشغيل إحدى ميكانيكيات المكافحة الحيوية على الأقل فى الظروف المغايرة التى قد تعترض عوامل المكافحة الحيوية تحت الظروف الحقلية.

وتتضمن إستراتيجيات تكوين مخاليط من الريزوبكتيريا أن تحتوى هذه المخاليط على عوامل مكافحة حيوية متباينة تصنيفيًا، وتكافح المسببات المرضية المختلفة، وذات آليات متباينة فى تثبيط الأمراض، ولها أنماط استيطانية مختلفة للنبات، وأن تختلف فى الدرجات المثلى للحرارة وتركيز الأس الهيدروجينى pH واحتياجات الرطوبة والتى تلزمها لكى تستوطن النبات.

ومن أمثلة اللقاحات الميكروبية المختلطة المستخدمة فى المكافحة الحيوية مايلى:

- يؤدى استخدام سلالة بكتيريا سيدوموناس بوتيدا P. putida WCS358 مع السلالة غير الممرضة من فطر فيوزاريم اوكسيسبورم F. oxysporum strain Fo47 فى تحسين عملية تثبيط فطر الفيوزاريم المسبب للذبول فى نباتات الكتان والقرنفل، ويتم ذلك عن طريق تشغيل آليتين تعملان على تثبيط المرض فى آن واحد، حيث تنتج سلالة البكتيريا حامل الحديد المعروف باسم سيدويكتين pseudobactin والذى يزيد من شدة تضاد

سلالة الفطر غير الممرض ضد الفطر الممرض فيوزاريم اوكسيسبورم F. oxysporum بجعل الفطر الممرض أكثر حساسية لعملية التنافس على المواد الكربوهيدراتية مع السلالة غير الممرضة.

- وتتحسن كفاءة الأفراد البكتيرية من جنس سيدوموناس Pseudomonas بشكل كبير فى المكافحة الحيوية لأمراض النبات عند استخدام لقاحات مختلطة من سلالاتها تكمل بعضها البعض، كما هو الحال فى استخدام لقاح مختلط من السلالة P. fluorescens CHA0 والسلالة P. fluorescens Q2-87، فكلتا السلالتين تنتج مركب 2,4-DAPG ذات التأثير التضادى والهام فى تثبيط تطور أمراض الجذور، ويوجد هذا المركب بداخل الخلية حيث يحث الجينات الخاصة بتخليقه الحيوى، وتستطيع كل سلالة أن تنشط السلالة الأخرى أثناء النمو فى الريزوسفير - تواجد الميكروب الممرض - فى إنتاج مركب 2,4-DAPG ذات التأثير التضادى والهام فى مجال المكافحة الحيوية.
- تستخدم المزرعة المختلطة المحتوية على فطر الخميرة الأسكى بيشيا جويليرموندباى Pichia guillermondii وسلالة بكتيريا باسيلس ميكويدس Bacillus mycoides (B16) لمكافحة إصابة الكثير من الفواكه بالفطر الأسكى بوترايتس سينيريا Botrytis cinerea، ويؤدى المخلوط دوره فى المكافحة الحيوية بكفاءة أعلى بكثير عن استخدام كل سلالة بمفردها، حيث يعمل فطر المكافحة الحيوية على تثبيط إنبات الجراثيم الكونيدية للفطر الممرض وينافسه على مصادر الغذاء، وذلك فى تكامل مع البكتيريا التى تعمل على تحطيم وتكسير الجراثيم الكونيدية للفطر الممرض.
- يكافح مخلوط سلالات بكتيريا سيدوموناس فلوريسنس P. fluorescens strains Pf1 and FP7 بعض مسببات الأمراض فى الأرز بكفاءة أفضل عن السلالات المفردة.
- يحسن استخدام لقاح مختلط من البكتيريا المنتجة للفلوروجلوسين phloroglucin والبكتيريا المحللة للبروتين من عملية المكافحة الحيوية لمرض الذبول لبادرات بنجر السكر.

ولا يمكن إرجاع التحسن الحادث فى المكافحة الحيوية للأمراض إلى استخدام فقط لقاحات مختلطة ذات آليات متباينة لتثبيط المرض، فقد ينتج التحسن أيضًا من التفاعل بين

سلالات الريزوبكتيريا المستخدمة، والذى يعود بدوره بالفائدة على نمو هذه السلالات ونشاطها وتزايد أعدادها بمنطقة المحيط الجذرى للنباتات النامية. ومن ناحية أخرى فليس بالضرورة أن يؤدى استعمال اللقاحات المختلطة إلى تحسين المكافحة الحيوية ففى حالات قليلة يؤدى التنافس على الحديد فى حالة الميكروبات المنتجة لحوامل الحديد وكذلك التنافس على المواد الغذائية إلى الحد من أعداد ونشاط سلالات المكافحة الحيوية التى تم إدخالها إلى التربة.

لقد بدأ استخدام الريزويكتيريا فى مكافحة مسببات الأمراض البكتيريا مبكرًافى روسيا والصين والدول الشرقية منذ نحو ٦٠ عامًا، وقد ظهر أول منتج تجارى من الريزويكتيريا بالأسواق الأمريكية منذ نحو ربع قرن حيت أحتوى على سلالة من بكتيريا باسيلس ستلس B. subtilis، وقد أعقب ذلك ظهور عدة منتجات تجارية من الريزويكتيريا مثل المنتج كوانتم Quantum المحتوى على سلالة باسيلس ستلس أ-١٣ B. subtilis A-13، والمنتج كودياك Kodiak المحتوى على سلالة أخرى من باسيلس ستلس B. subtilis GB03، والمنتج إبيك Epic المحتوى على سلالة لنفس النوع B. subtilis GB07، ويفضل استعمال سلالات من جنس باسيلس فى المكافحة الحيوية بسبب تكوينها للجراثيم الداخلية endospores التى تقاوم الظروف البيئية غير الملائمة، ولذلك يتوفر بالأسواق التجارية عشرات الأنواع من المنتجات التجارية لسلالات بكتيريا باسيلس.

وفيما يلى بعض منتجات الريزويكتيريا والميكروبات الممرضة التى تستهدفها على المحاصيل المختلفة (جدول ٧-٢).

جدول (٧-٢) بعض منتجات الريزويكتيريا والميكروبات التى تستهدفها على المحاصيل المختلفة.

المنتج	الممرضات / المرض المستهدف	المحصول الموصى به
Bio-Save 10, 11, 100, 110, 1000TM– P. syringae ESC-100	Botrytis cinerea, Penicillium spp, Mucor pyroformis, Geotrichum candidum	التفاح (Biosave 100) والموالح (Biosave 1000)
Blight Ban A506 – P. fluorescens A 506	Erwinia amylovora and russet - inducing bacteria	التفاح والخوخ والبطاطس والطماطم والمشمش والتوت والكمثرى والفراولة

المحاصيل البستانية والمسطحات الخضراء	Rhizoctonia, Pythium, Fusarium and Phytophthora	Campanion – B. subtilis GB03
المسطحات الخضراء	Dollar spot, Anthracnose and P. aphanidermatum	BioJect Spot – less – P. aureofaciens
المسطحات الخضراء	Brown batch and Dollar spot disease	BioJetTM– Pseudomonas sp + Azospirillum
الغلال	تخطيط الورقة، وتبقع الورقة، net blotch, Fusarium sp, spot .blotch	CedomonTM– P. chloroaphis
القمح والشعير والسورجم والقطن والبسلة والفول والبرسيم والخضروات	Rhizoctonia, Pythium, Fusarium and diseases caused by lesion, spiral, lance, and sting nematodes.	Deny - Burkholderia cepacia (Pseudomonas cepacia)
الخضروات والقطن والذرة	Rhizoctonia solani, Fusarium sp., Pythium sp.	Intercept TM- P. cepacia
الخضروات والقطن والذرة	Rhizoctonia solani, Fusarium sp., Pythium sp.	Intercept TM- P. cepacia
البقوليات والقطن	Rhizoctonia solani, Fusarium spp, Alternaria spp, and Aspergillus spp	KodiakTM, Kodiak HBTM, EpicTM , Concentrate TM , Quantum 4000 and System 3 TM – B. subtilisGB03
الطماطم والخيار والفلفل والطباق	مجال فعل واسع ضد مسببات الأمراض بالصوب.	Bio Yield – Combination of B. subtilis and B. amyloliquefaciens
نباتات الصوب والنباتات الطبية والعطرية	R. solani, Fusarium spp., Alternaria spp., Sclerotinia and Verticillium.	Rhizo-Plus – B. subtilis strain FZB24

Serenade – B. subtilis strain QWT713. Available as wettable powder.	البياض الزغبى والدقيقى واللفحة المبكرة والمتأخرة والنارية وتبقع الورقة والعفن البنى وغيرها.	الفول السودانى والخضروات والتفاح والفواكه ذات النواة الحجرية
Rhapsody – B. subtilis strain QST713. Aqueous suspension formulation	البياض الزغبى والدقيقى والعفن الحامضى والتبقع المبكر للأوراق واللفحة المبكرة واللفحة المتأخرة والتبقع البكتيرى ولفحة الجوز.	العنب والخضروات الورقية والبطاطس والفلفل والطماطم
Subtilex -B. subtilis MB1600	Fusarium spp., Rhizoctonia spp. and Pythium spp.	الخضروات والنباتات العطرية
AtEze P. chlororaphis strain 6328-	Pythium spp., Rhizoctonia solani, Fusarium oxysporum	الخضروات والنباتات العطرية
GB 34 Concentrate Biological Fungicide - B. pumilus	الريزوكتونيا Rhizoctonia والفيوزاريوم Fusarium التى تهاجم جذور فول الصويا أثناء تطورها.	فول الصويا
SonataTM ASO B. pumilus strain QST 2808	الآفات الفطرية مثل فطريات البياض واللفحات والأصداء	نباتات الصوب والمشاتل والمسطحات الخضراء
System 3 - Bacillus subtilis GB03 and chemical pesticides	ممرض للبادرات	الأرز والشعير والقطن والفول السودانى وفول الصويا والبسلة
Pix plus plant regulator, B. cereus BPO1 technical, -B. cereus strain UW85	يستخدم كمنظم للنمو	القطن
Bio-save 10LP, 110 – P. syringae	Botrytis cinerea, Penicillium spp., Geotrichum candidum	البطاطس والتفاح والموالح
Conquer TM- P. fluorescens VictusTM–P. fluorescens	P. tolassii	عيش الغراب

وتساعد معاملة البذرة بمعلقات الريزوبكتيريا المشجعة لنمو النبات إلى وقاية النبات

من كثير من الأمراض، فغمس البذور فى معلقات السلالة سيراتيا مارسيسنس Serratia marcescens strain 90 -166 أو معاملة التربة بهذه السلالة يكافح مرض الذبول البكتيرى فى الخضروات كالخيار ويزيد المحصول، كذلك تؤدى معاملة بذور الطماطم بمزرعة مختلطة من الريزوبكتيريا تحتوى على النوعين باسيلس ستلس B. subtilis وباسيلس بوميلس B. pumilus إلى الحد من الإصابة بفيروس Tomato mottle virus ToMoV وزيادة محصول الطماطم، كذلك تستعمل سلالة سيدوموناس فلوريسنس Pseudomonas fluorescens Pf1 فى تغليف بذور البقوليات لمنع أمراض الذبول. وتؤدى معاملة بذور نبات الخيار بمخلوط من سلالات بكتيريا باسيلس بوميلس B. pumilus-INR7 وباسيلس ستلس B. subtilis GB03 وكرتوبكتيريم فلاكمفاسينس Curtobacterium flaccumfaciens–ME1 إلى منع تبقع الأوراق، كما تؤدى معاملة هذه البذور بمزرعة سيدوموناس بوتيدا P. putida إلى منع عفن الجذور الذى يحدثه فطر الفيوازريم وإلى زيادة النمو والمحصول.

ويؤدى وجود الريزوبكتيريا المشجعة لنمو النبات بالأعداد الكافية فى التربة الزراعية إلى زيادة إنبات بذور البقوليات وتحسين ثبات البادرات فى التربة، وتساعد عناصر المكافحة الحيوية فى بدء العملية الفسيولوجية للإنبات، ويساعد بدء هذه العملية فى وجود وتكاثر الريزوبكتيريا المشجعة لنمو النبات. كذلك تؤدى معاملة بذور نباتات الخس بالسلالة P. fluorescens Pf CHAO إلى نفس النتيجة المتحصل عليها مع البقوليات.

ويعتبر مرض لفحة الغلاف sheath blight فى نباتات الأرز الحادث بواسطة فطر ريزوكتونيا سولانى Rhizoctonia solani بمثابة عائق لإنتاج الأرز، وهذا الفطر من المسببات المرضية المحمولة فى التربة الزراعية، ويدخل هذا الفطر إلى النبات من خلال الجذر، ولذلك فإن حماية منطقة الجذور بالاستيطان المسبق بالريزوبكتيريا المشجعة لنمو النبات يمنع إصابة النبات، ويؤدى غمس بادرات الأرز فى محاليل محتوية على سلالات من بكتيريا سيدوموناس فلوريسنس P. fluorescens لمدة ساعتين قبل الشتل إلى منع الإصابة بلفحة الغلاف.

وينتج عن معاملة التربة الزراعية بسلالة البكتيريا سيدوموناس فلوريسنس P.fluorescens Pf1 تضاعف أعدادها بمنطقة الريزوسفير إلى الدرجة الكافية لمنع الذبول الذى يحدثه فطر الفيوازريم Fusarium oxysporum f.sp. ciceris فى نباتات

البقوليات، وتقلل معاملة بادرات الأرز بسلالات بكتيريا سيدوموناس فلوريسنس P. fluorescens Pf1 and Pf7 من إصابة الغلاف باللفحة، كما تزيد المحصول فى النباتات النامية تحت الظروف الحقلية، كذلك تؤدى معاملة التربة بالمستحضر الحيوى LS254 المحتوى على النوعين بانوباسيلس ماسرانس Paenibacillus macerans وباسيلس بيوميلس B. pumilus والمستحضر الحيوى LS255 المحتوى على النوعين بانيباسيلس ماسرانس P. macerans وباسيلس ستلس B. subtilis إلى مكافحة مرض البياض الزغبى وتحسين النمو الخضرى وزيادة المحصول.

وتتأثر كفاءة عناصر المكافحة الحيوية من الميكروبات المستخدمة فى الوقاية من الأمراض بالتذبذب الحادث فى المناخ، فالميكروبات التى توجد على سطح أوراق النبات مثلاتتعرض لتغيرات الرطوبة النسبية والندى والمطر ودرجة الحرارة والرياح والإشعاع، ولذلك فإن توفر الماء للميكروبات المتواجدة على سطح الورقة يختلف بشكل كبير بين الأوراق المعرضة والمحمية، وترتفع الرطوبة النسبية فى المناطق الكثيفة الظليلة عن مناطق الأوراق الخارجية، ويتكون الندى بكثرة فى مركز ومحيط النبات، كذلك يختلف تركيز الأحماض الأمينية والعضوية والسكريات على الأوراق، وهى تؤثر فى كفاءة وبقاء عناصر المكافحة الحيوية على سطح الأوراق، فعند وصول أفراد من جنس سيدوموناس Pseudomonas إلى سطح أوراق نبات كالبنجر يحدث تنافس على الأحماض الأمينية، ومن ثم يتم تثبيط جراثيم فطريات مثل بوترايتس سيناريا Botrytis cinerea وكلادوسبوريم هيربارم Cladosporium herbarum وفوما بيتيا Phoma betae، كما تؤدى معاملة أوراق نبات الفول بيكتيريا باسيلس ستلس B. subtilis إلى منع إصابة الفول بالصدأ إلى حد كبير، ومثل هذه المعاملة تغنى عن المعاملة الأسبوعية بمبيد الفطريات المانكوزب mancozeb، وتؤدى معاملة الأوراق بيكتيريا سيدوموناس فلوريسنس P. fluorescens بمعدل ١ كجم فى التلك / هكتار على فترات لمدة ٣ شهور إلى وقاية حقول الفول السودانى من التبقعات والأصداء التى تصيب الأوراق، ويؤدى استعمال بكتيريا سيدوموناس فلوريسنس P. fluorescens على أوراق أشجار المانجو قبل الحصاد إلى حث عملية التزهير وإلى تقليل الإصابة المتأخرة بفطر كوليتوتريكم جلويوسبوريويديس Colletotrichum gloeosporioides وزيادة محصول نباتات الفاكهة وجودته.

وترش بكتيريا سيدوموناس سيرنجى P. syringae (١٠٪ مسحوق قابل للبلل) على

ثمار التفاح لوقايتها من كل من العفن الأزرق والرمادى Blue and grey mold، حيث تزداد أعداد هذه البكتيريا فى الجروح إلى أضعاف أعدادها الأساسية خلال فترة التخزين.

ومن المعروف أن نحل العسل والنحل الطنان يساعد فى انتشار عناصر المكافحة الحيوية الميكروبية المستخدمة فى مكافحة الأمراض التى تصيب الزهور ونباتات الزينة، ويتم ربط مستحضرات الريزوبكتيريا وغيرها من عناصر المكافحة الحيوية المرغوبة بخلايا النحل ليحملها النحل أثناء طيرانه للحصول على الرحيق، وتسبب بكتيريا اروينيا اميلوفورا Erwinia amylovora اللفحة النارية fire blight فى التفاح من خلال إصابة الزهور، وإحداث استيطان لعوامل المكافحة الحيوية هام لمنع الإصابة، ونظرًالعدم تفتح الزهور فى آن واحد فيجب تكرار استعمال عامل المكافحة الحيوية مثل بكتيريا سيدوموناس فلوريسنس P. fluorescens لحماية مياسم الأزهار، ويتم استخدام النحل لنشر عامل المكافحة الحيوية على الأزهار لمكافحة بعض الممرضات مثل الفطر الرمادى الذى يصيب نباتات الفراولة.

وتلعب الريزوبكتيريا المشجعة لنمو النبات دورًاحيويًافى مكافحة مسببات الأمراض المحمولة فى التربة الزراعية فى حالة المحاصيل التى تتكاثر خضريًامثل قصب السكر، ويختلف نوع الريزوبكتيريا المشجعة لنمو النبات والمستخدمة فى المكافحة الحيوية على حسب نوع النبات، ويتم غمس فكوك suckers نبات الموز فى مجهزات من التلك المحتوى على بكتيريا سيدوموناس فلوريسنس (١٠ جرام من المنتج الحيوى فى ١ لتر ماء) لمدة عشرة دقائق بعد التزاوج، ثم يعامل الكابسول (٥٠ جرام سيدوموناس فلوريسنس P. fluorescens لكل كابسول) فى الشهر الثالث والخامس عقب الزراعة، وتؤدى هذه المعاملة إلى وقاية الموز من أمراض الذبول بدرجة كبيرة.

وتستخدم الريزوبكتيريا فى مكافحة مرض العفن الأحمر red rot فى نباتات قصب السكر، وهو من الأمراض الضارة بإنتاج قصب السكر، وفى العادة تستخدم سلالات سيدوموناس فلوريسنس P. fluorescens لمكافحة المرض تحت ظروف الحقل، حيث تعامل بها الـ setts بنقعها فى مجهزات من التلك تحتوى على بكتيريا سيدوموناس فلوريسنس P. fluorescens (٢٠ جرام / لتر) لمدة ساعة ثم تحضينها لمدة ١٨ ساعة قبل زراعتها، ومن فوائد مثل هذه المعاملة الحيوية بالسيدوموناس فلوريسنس أن تحسن نمو نبات قصب السكر وتقلل من الإصابة بالعفن الأحمر.

جدول(٧-٣) كفاءة مستحضرات الريزوبكتيريا ضد أمراض النبات وتشجيع النمو.

المستحضر	المحصول	النتائج
بكتيريا P. fluorescens محملة فى التلك.	القمح والبطاطس	تشجيع نمو النبات.
	القطن	تقليل أمراض البادرات.
	البسلة Chickpea	يقاوم ذبول الفيوزاريم تحت الظروف الحقلية ويزيد المحصول.
	البسلة Pigeonpea	يقاوم ذبول البسلة ويزيد المحصول.
	الأرز	يقلل من الإصابة بلفحة الغلاف تحت ظروف الحقل.
	الموز	تقليل الذبول فى الموز.
	الفول السودانى	تقليل التبقع الورقى والصدأ فى الفول السوداني.
	الأرز	يختزل لفحة الغلاف فى الأرز ويزيد المحصول.
بكتيريا P. putida محملة فى الفيرميكيوليت.	الخيار	يقلل عفن الجذر الذى يحدثه فطر Fusarium oxysporum .f. sp. cucurbitacearum
سلالة (Pf١ P. fluorescens) فى التلك.	البقول والسمسم	تشجيع النمو وتقليل عفن الجذر الذى يسببه M. phaseolina.
سلالات من بكتيريا P. fluorescens محملة فى التلك.	الأرز	يشجع نمو النبات ويقلل الإصابة بلفحة الغلاف.
بكتيريا P. fluorescens محملة فى الميثيل سليلوز والتلك.	الأرز	تقليل rice blast تحت ظروف المشتل والحقل.
سلالات من بكتيريا P. fluorescens CHAO and Pf1 محملة فى التلك.	قصب السكر	زيادة إنبات بذور قصب السكر ونمو النبات وتثبيط أمراض التساقط.

بكتيريا P. fluorescens محملة فى الفيرميكيوليت.	بنجر السكر	يقاوم أمراض التساقط.
بكتيريا P. aeruginosastrain 78 محملة فى التلك.	لوبيا المنج	يقلل من الإصابة بتعقد الجذور ومن كثافة Meloidogyne javanica تحت الظروف الحقلية.
بكتيريا P. fluorescens محملة فى التلك.	قصب السكر	يزيد الإنبات ويحسن من نمو النبات، ويقلل من الإصابة بالعفن الأحمر.
سلالة P. fluorescensFP7 فى التلك المدعم بالكيتين.	المانجو	تقليل الإصابة بالـ anthracnose وزيادة محصول وجودة المانجو.
بكتيريا B. pumilus محملة فى الكيتوزان.	الطماطم	حث المقاومة ضد F. oxysporum.
سيدوموناس بوتيدا P. putida محمل فى التلك	الشمام	مكافحة الذبول الذى يحدثه فطر Fusarium oxysporumf. sp. melonis.
مستحضر تجارى من السلالة B. subtilis strain LS213.	البطيخ والشمام	زيادة نمو ومحصول النبات.
بكتيريا B. subtilis.	الخضروات مثل الخيار والبطيخ والكوسة والطباق والفلفل	حث المقاومة ضد المسببات المرضية المختلفة.
منتج تجارى من B. subtilis strain LS213 محمل فى الكيتوزان.	الطماطم والطباق والخيار والفلفل	يقلل الإصابة بالتبقع البكتيرى واللفحة المتأخرة فى الطماطم وتبقع أوراق الخيار والعفن الأزرق فى الطباق.
بكتيريا B. subtilis محملة فى الفيرميكيوليت والكاأولين.	الخس	يزيد محصول الخس ويثبط عفن الجذور الذى يحدثه P. aphanidermatum.

تابع جدول (٧-٣)

المستحضر	المحصول	النتائج
بكتيريا based B. subtilis محملة فى البيت المدعم بالكيتين.	الفول السودانى والبسلة	مقاومة عفن الجذور فى الفول السودانى والبسلة.
مزرعة مختلطة من Paenobacillus maceransand B. subtilis LS255 فى الكيتوزان.	الأرز	زيادة نمو ومحصول الأرز.
مزرعة مختلطة من B. subtilisstrain GB03+B. pumilus strain INR7 (LS256) and B. subtilisstrain GB03+B. subtilis strain IN937b محملة فى الكيتين.	الطماطم والفلفل	زيادة محصول الفلفل والطماطم.
بكتيريا B. subtilis and P. chlororaphis PA23 محملة فى التلك.	الطماطم	يشجع نمو النبات ويقلل أمراض التساقط.
مزرعة مختلطة من of B. subtilisstrain GB03+B. pumilus strain INR7 (LS256) and B. subtilisstrain GB03+B. pumilus (strain T4 (LS257 محملة فى الكيتين.	Pearl millet	يقلل من البياض الزغبى ويشجع نمو النبات.
سلالات من B. subtilis(BSCBE4) and (P.chlororaphis (PA23 فى التلك.	الكركم	تقليل عفن الريزوم وزيادة محصول الريزومات.
سلالات من B. subtilis (BSCBE4), P. chlororaphis (PA23) and P. fluorescens ENPF1 فى التلك.	Phyllanthus amarus	يقلل من الإصابة بلفحة الساق التى يحدثها Corynespora cassicola تحت ظروف الحقل.

❖كفاءة مستحضرات الريزوبكتيريا:

تتصف المستحضرات التجارية للريزوبكتيريا المستخدمة فى المكافحة الحيوية بحساسية شديدة تجاه التقلبات الحادثة فى الظروف البيئية المحيطة مما يؤثر على كفاءتها، ويمكن

تحسين كفاءة هذه المستحضرات بوسائل شتى، وحيث أن هذه المستحضرات تحتوى على ملايين الميكروبات المفيدة فمن الأهمية أن يكون هناك توافق بين هذه الميكروبات ففى ذلك زيادة فى كفاءتها فى المكافحة الحيوية.

وتتضمن استراتيجيات تحسين كفاءة مستحضرات الريزوبكتيريا المستخدمة فى المكافحة الحيوية مايلى:

١ - تطوير المجموعات الميكروبية المتوافقة:

تتم المكافحة الحيوية لمسببات أمراض النبات المحمولة فى التربة الزراعية نتيجة وجود أنواع عديدة من الميكروبات ذات التأثير التضادى، ولذلك فمن المفضل استخدام أنواع كثيرة متوافقة من الريزوبكتيريا إذ أن فى ذلك محاكاة لما يحدث فى الطبيعة، وتوسيع مجال المكافحة الحيوية لمسببات أمراض النبات الميكروبية، ويتم زيادة كفاءة الريزوبكتيريا فى المكافحة الحيوية باستخدام أنواع بكتيرية عديدة متوافقة.

وهناك عدة معايير يتم وضعها فى الاعتبار تتمثل فى استعمال مزارع مختلطة من سلالات بكتيرية مختلفة فى عدة نواحى مثل مجال الفعل التضادى الواسع ضد مسببات أمراض النبات، وأنماط الفعل، ونمط استيطان colonization الميكروب للنبات، والتركيب الوراثى المختلف الذى يمكنها من أداء دورها المنوطة به فى ظروف بيئية متباينة.

فعلى سبيل المثال فإن استخدام سلالات من جنس سيدوموناس Pseudomonas التى تخلب عنصر الحديد مع سلالات أخرى محثة لمقاومة النبات يفيد كثيرًافى تثبيط الذبول الذى يسببه فطر فيوزاريم Fusarium فى نبات الفجل وذلك مقارنة باستخدام سلالات ميكروبية مفردة، كذلك يؤدى استخدام السلالة P. fluorescens F113 المنتجة لمركب فلوروجلوسينول phloroglucinol مع سلالات من الريزوبكتيريا المحللة للبروتين يمنع حدوث أمراض ذبول البادرات فى نبات بنجر السكر، ويساعد استخدام السلالة سيدوموناس فلوريسنس P. fluorescens PF1 الهامة فى مجال المكافحة الحيوية مع البكتيريا المثبتة لنيتروجين الهواء الجوى فى زيادة نمو النبات وكمية المحصول، وتتميز سلالة السيدوموناس هذه بعدم تثبيطها للبكتيريا المثبتة للنيتروجين مثل أنواع جنس الريزوبيوم Rhizobium وجنس الآزوسبيريللم Azospirillum.

٢- استخدام السلالات البكتيرية المحثة للتعبير التعاونى لجينات المكافحة الحيوية:

تساعد مستحضرات الريزوبكتيريا المحتوية على سلالات من ذلك النوع الذى يحث التعبير التعاونى لجينات المكافحة الحيوية فى زيادة الكفاءة الحيوية لسلالات الريزوبكتيريا المستخدمة فى المكافحة الحيوية، ويؤدى استخدام سلالة سيدوموناس فلوريسنس P. fluorescence رقم CHAO ورقم Q287 فى تحسين عملية التعبير الجينى للجينات التى تنظم المركب داى اسيتيل فلوروجلوسينول diacetylphloroglucinol، وهذا بدوره يؤدى إلى زيادة تركيز هذا المركب فى منطقة المحيط الجذرى للنبات ومن ثم يثبط الميكروبات المسببة للأمراض.

٣- استخدام المواد المساعدة والناشرة والصمغية:

من الملاحظ عادة حدوث تذبذب فى كفاءة مستحضرات الريزوبكتيريا المستعملة فى مكافحة مسببات أمراض النبات، ونظرًالأن القضاء على المرض النباتى هو محصلة للتفاعل الحادث بين كل من الريزوبكتيريا المستخدمة فى المكافحة الحيوية، ومسببات الأمراض الميكروبية، والنباتات، والبيئة، فإن أى تذبذبات فى مواسم نمو النباتات والتغيرات البيئية وضغط اللقاح المرتفع يعدل من كفاءة المستحضرات المستخدمة فى المكافحة الحيوية، ويؤدى التكامل فى استخدام مستحضرات المكافحة الحيوية مع الاستراتيجيات الأخرى التى تستهدف زيادة إنتاجية المحاصيل إلى تحسين كفاءة المستحضرات.

ويزداد أداء الريزوبكتيريا المستخدمة فى مجال المكافحة الحيوية بإدخال المواد المساعدة adjuvant الذائبة فى الماء، والزيوت، والمواد اللاصقة، والمستحلبات، حيث يؤدى ذلك إلى زيادة كفاءة الريزوبكتيريا المستعملة فى المكافحة الحيوية عن طريق الإمداد بالمواد الغذائية وعن طريق حماية الميكروبات من الجفاف والموت، كما يفيد إدخال مادة الكربوكسى ميثيل سليلوز Carboxymethyl cellulose (CMC) فى مستحضرات الريزوبكتيريا كمادة لاصقة فى تغطية البذرة بالميكروبات بشكل موحد، وهكذا تزيد المواد المساعدة والمواد اللاصقة من كفاءة المستحضرات الحيوية، ويعمل المطر والندى الثقيل على تخفيف تركيز المواد المساعدة والمواد اللاصقة مما يفيد من كفاءة المستحضرات بتقليل فرص استيطان الريزوبكتيريا فى مكان حدوث المرض، ويجب أن لا تكون المستحضرات المحتوية على زيت ومستحلبات سامة للنبات.

٤- تصميم سلالات الريزوبكتيريا:

قد تؤدى عملية هندسة سلالات الريزوبكتيريا - المتواجدة طبيعيًا- وراثيًابجينات مفيدة للنبات النامى إلى إنتاج نواتج تزيد من هجوم الآفات وضراوة المرض، ويسهل هذا الأمر إدخال سلالة بكتيرية مفردة ذات آليات مكافحة متعددة لوقاية النبات النامى.

٥- استخدام المواد المشجعة لنمو النبات:

يساعد استخدام مستويات منخفضة جدًامن المواد المحثة لنمو النبات ذات الأصل الكيميائى فى حث المقاومة ضد الآفات والأمراض مثل مركب بنزوثياديازول benzothiadiazole، ويساعد استخدام سلالات الريزوبكتيريا المتوافقة مع المحثات الكيماوية فى توفير فعل تعاونى ضد الآفات والأمراض النباتية.

❖الإنتاج التجارى:

تتضمن مراحل الإنتاج التجارى عدة مراحل متتالية تبدأ بعزل الميكروبات ذات التأثير التضادى للآفات ومسببات الأمراض، وفحص وتصفية الميكروبات المعزولة لاختيار أكفأها فى المكافحة الحيوية، واختبار كفاءتها أولًافى الأصص ثم تحت ظروف الحقل، وإنتاج أكفأها بشكل ضخم، وتجهيز المستحضرات التجارية باستخدام طرق التخمير الملائمة، والحفاظ على حيوية المستحضرات، واختبار سميتها تجاه الإنسان، وأخيرًامراقبة الجودة الصناعية للمنتج الحيوى.

١- عزل وحصر عوامل المكافحة الحيوية:

يعتبر عزل سلالات فعالة من الريزوبكتيريا خطوة أساسية فى المكافحة البيولوجية، وفى العادة يتم العزل من التربة الزراعية المعروفة بتأثيرها التضادى لمسببات الأمراض النباتية، ويتم العزل فى العادة باستخدام طريقة الأطباق.

ويتم التأكد من مرضية والتأثير التضادى للريزوبكتيريا المعزولة من أراضى مزروعة بمحاصيل متنوعة إذ أن ذلك هو الأساس فى الإنتاج، ولذلك يجرى حصر معملى لتحديد مدى كفاءة الريزوبكتيريا المعزولة، ويحدد هذه الكفاءة عدة عوامل منها المستوى العالى من القدرة الترممية التنافسية، والتضاد الحيوى، وإفراز الإنزيمات المحللة للجدر الخلوية مثل الكيتينيز والجلوكانيز والبروتييز، وحث نمو النبات، وإفراز المضادات الحيوية.

وفى العادة يعطى كل عامل من العوامل السابقة وزن نسبى معين بناءً على دوره فى مكافحة المرض، حيث يؤدى هذا الحصر إلى التعرف على سلالة الريزوبكتيريا الفعالة التى تلائم الإنتاج التجارى، إذ تختار السلالة الفعالة التى تحصل على أعلى درجات لاختبارها تحت ظروف الصوبة.

٢- اختبارات الصوب والكفاءة الحقلية:

يتم تعريض كل من النبات والمسبب المرضى والميكروب المطلوب اختبار قدرته التضادية تحت ظروف بيئية متحكم فيها، وتؤثر عملية تعريض العائل النباتى للقاح كثيف من المسبب المرضى مع عامل التضاد الحيوى المعلومات البيئية لأداء عامل المكافحة الحيوية تحت ظروف بيئية متحكم فيها، وبناءً على ذلك يختار عامل المكافحة الحيوية لاختباره تحت ظروف الحقل فى وجود مبيدات الفطريات الموصى بها.

ونظرًالوجود اختلاف فى الظروف البيئية فى الحقل من شأنه أن يؤثر على أداء عامل المكافحة الحيوية فإن تجارب اختبار الكفاءة الحقلية يجب أن تجرى فى العديد من المواقع (تقدر بحوالى ١٨ موقع) وذلك تحت ظروف بيئية مختلفة لاختيار عامل المكافحة الأكثر كفاءة للإنتاج وتجهيز المستحضرات التجارية.

٣- الإنتاج الضخم وتجهيز المستحضرات:

تتضمن هذه الخطوة تنمية عامل المكافحة الحيوية للحصول على النمو الكافى منه، وقد تمثل الظروف البيئية والاحتياجات الغذائية لعوامل المكافحة الحيوية صعوبة فى إنتاج البيوماس الميكروبى فى هذه المرحلة، ويتم الإنتاج الضخم من خلال تكنيكات التخمر السائل وشبه الصلب والصلب.

ويتطلب النجاح التجارى لعوامل المكافحة الحيوية وجود سوق اقتصادى وحيوى للمنتج، ومجال فعل متسع، وأن يكون المنتج آمن وثابت، وذات فترة حفظ طويلة، وأن تكون تكاليف رأس المال منخفضة، مع وفرة المواد الحاملة اللازمة لتجهيز المستحضرات.

٤- طـرق التخمـر:

تستخدم طرق التخمر السائل والتخمر الصلب للإنتاج الضخم من الريزوبكتيريا.

١- التخمر السائل:

يستخدم نظام التخمر السائل لإنتاج عوامل المكافحة الحيوية من البكتيريا والفطريات،

ويراعى أن تكون البيئات الغذائية المستخدمة فى الإنتاج الضخم رخيصة الثمن، ومتاحة، ومتوازنة غذائيًامثل بيئة المرق المغذى nutrient broth التى تستخدم فى إنتاج أنواع جنس باسيلس Bacillus وسيدوموناس Pseudomonas بواسطة تقنية التخمر السائل.

٢- التخمر الصلب:

يستعمل عدد كبير من المواد العضوية مثل القش ونشارة الخشب ومصاصة القصب الرطبة وحبوب السورجم وقشر الأرز والسماد البلدى وغيرها فى التخمر الصلب للإنتاج الضخم للفاحات الريزوبكتيريا، ويجرى التخمر الصلب على حوامل خاملة inert carriers من مواد غذائية لإنتاج عوامل المكافحة الحيوية، ويؤدى إدخال الريزوبكتيريا ذات التأثير التضادى فى الأسمدة العضوية وتحضينها على ٣٥°م نحو ١٠ أيام مع التقليب والترطيب فى وسط معقم إلى تكاثر الريزوبكتيريا، ويمكن استخدام هذا السماد العضوى فى مكافحة النيماتودا وتشجيع نمو النبات.

٥- حيوية المستحضرات:

تعتمد عملية التسويق التجارى لمستحضرات الريزوبكتيريا إلى حد كبير على إمكانية تخزينها لفترات طويلة دون فقد لحيويتها، ولذلك فمن الأهمية تطوير السلالات البكتيرية ذات الكفاءة التى يمكن تخزينها لفترات طويلة، واستخدام المواد العضوية التى تدعم أقصى فترة حفظ وتخزين لمستحضرات المكافحة الحيوية، ويراعى فى تجهيز المستحضرات التجارية المحافظة على الطبيعة الحية للمنتج أثناء فترة تخزينه، ولكى تتم عملية تصنيع المنتج الحيوى يجب أن يتحمل المستحضر فترة تخزين لا تقل عن الحد الأدنى (٨-١٢ شهر)، ويراعى أيضًاأن لا تؤثر المواد الحاملة المستخدمة فى تجهيز المستحضرات على طبيعتها الحيوية.

٦- السمية:

يراعى فى الترخيص للمنتج الحيوى توفر نواحى الأمان والاعتبارات البيئية، ولذلك تجرى اختبارات دقيقة لسمية المنتج، وهى اختبارات مكلفة إلى حد كبير، وتجرى هذه الاختبارات لكل عامل مكافحة على حدة، وتشمل هذه الاختبارات توفير معلومات عن عامل المكافحة الحيوية فيما يتعلق بدرجة الأمان فى استخدامه تجاه الإنسان والحيوان والنبات والبيئة والحياة البرية.

٧- التصنيـع:

بعد عزل الكائنات الحية الدقيقة ذات الكفاءة العالية فى المكافحة الحيوية، وحصرها لاختيار الأكفأ منها، يتم دراسة الآليات المختلفة التى توظفها السلالات ذات الكفاءة فى المكافحة الحيوية، والكفاءة تحت الظروف الحقلية، يعقب ذلك تطوير مستحضرات تجارية، ويحتاج الإنتاج على نطاق تجارى واسع إلى إجراء اختبارات السمية، والاختبار الحقلى على نطاق واسع، ويعقب ذلك إجراءات التسجيل والتسويق، وتحتاج عملية التسويق على نطاق كبير إلى التعاون مع الشركات الصناعية المتخصصة فى هذا المجال.

٨- مراقبـة الجـودة:

يراعى مراقبة جودة quality control المستحضر الحيوى لضمان متابعة استمرارية كفاءة عامل المكافحة الحيوية، وتؤثر أعداد الكائنات الحية الدقيقة بالمستحضر الحيوى على طول فترة حفظه وتخزينه، ويحدد الحمل الميكروبى من عوامل المكافحة الحيوية المستوى الأدنى المطلوب للوصول إلى مكافحة حيوية فعالة لمسببات الأمراض النباتية، ويختلف الحمل الميكروبى ومستوى الرطوبة بمستحضرات المبيدات الحيوية الميكروبية بناءً على نوع الكائن الحى الدقيق (بكتيريا أو فطر) وتجهيز المستحضر.

❖ الريزوفطريـات:

يشبه تعريف الفطريات المشجعة لنمو النبات plant growth-promoting fungi PGPF تعريف البكتيريا المشجعة لنمو النبات PGPR باستثناء أن الكائنات المشجعة لنمو النبات فى الحالة الأولى هى الفطريات (الفطريات الحقيقية true fungi والفطريات البيضية oomycetes) وفى الحالة الثانية هى البكتيريا، ويقصد بالفطريات المشجعة لنمو النبات الفطريات المترممة حرة المعيشة فى منطقة الريزوسفير أو على سطح جذور النبات إلى جانب فطريات الميكوريزا.

وتشمل الفطريات التى تم تصنيفها على أنها مشجعة لنمو النبات عدد كبير من الفطريات من أهمها مايلى:

فطريات أسكية

- التريكودرما Trichoderma

- البينيسيليم Penicillium
- الفيوزاريم Fusarium
- الفوما Phoma
- الجليوكلاديوم Gliocladium

فطريات بيضية

- البيثيم Pythium
- الفيثوفثورا Phythophthora

وتستخدم الفطريات المشجعة لنمو النبات عدد من الآليات المتنوعة فى مكافحة المسببات المرضية من الميكروبات منها احتلال المكان والتضاد الحيوى والافتراس والتطفل على الفطريات وحث المقاومة.

وتكافح الفطريات المعروفة بشدتها المرضية والمحتوية على RNA مزدوج الميكروبات الأشد مرضية من خلال الـ anastomosis التى يتم فيها نقل شدة المرض الممنوحة بواسطة dsRNA إلى الميكروب الممرض.

وقد توظف الريزوفطريات أكثر من آلية للمكافحة فى آن واحد، فالسلالة الفطرية غير الممرضة فيوزاريم اوكسيسبورم Fusarium oxysporum تكافح الفطر الممرض بيثيم التيمم Pythium ultimum من خلال ثلاث آليات تتضمن حث المقاومة والتضاد الحيوى والتطفل، ومن المعروف عن فطريات التريكودرما Trichoderma كعامل مكافحة حيوية أنها تؤدى دورها ضد الممرضات بشكل مباشر، وبمقدور أفراد التريكودرما أيضًا حث مقاومة النباتات.

ونظرًا لأن الكثير من الريزوفطريات تنتج الأكسينات أو مسبقاتها الأولية فإن الريزوفطريات تحث دفاعات النبات كما هو الحال فى فطر البينيسيليم Penicillium janczewskii الذى يحث المقاومة لتغيير تطور الجذر فى نبات مثل القطن.

ويتضمن جدول ٧-٤ بعض الفطريات المشجعة لنمو النبات المحثة للمقاومة فى النباتات.

جدول (٧-٤) الفطريات المشجعة لنمو النبات المحثة للمقاومة فى النباتات.

الريزوفطريات	النبات العائل	الميكروب المستهدف	الاستجابة الدفاعية فى النبات
الترناريا كيوكيومارينا Alternaria cucumarina كلادوسبوريم فلفيوم Cladosporium fulvum غير الممرضة	الخيار	سفيروثيكا فليجينيا Sphaerotheca fuliginea	
تريكودرما 2-Trichoderma GT3 فيوزاريوم 3-Fusarium GF18 بينيسيليم 2-Penicillium GP17 فوما 2-Phoma GS8	الخيار	كوللليتوتريكوم اوربيكيولارى Colletotrichum orbiculare فيوزاريوم اوكسيسبوروم Fusarium oxysporum f. sp. cucumerinum سيدوموناس سيرنجى Pseudomonas syringae pv. lachrymans	إنتاج السوبر أوكسيد وحث التلجنن
فوما 2-Phoma GS8	الخيار	كوللليتوتريكوم اوربيكيولارى C. orbiculare	
السلالة فيوزاريوم أوكسيسبوروم Fusarium oxysporum Fo47 غير الممرضة	الخيار	بيثيوم التيموم Pythium ultimum	إنتاج عوائق طبيعية للإصابة، وإنتاج مركبات مضادة للميكروبات
سلالات من فطر فيوزاريوم أوكسيسبوروم F. oxysporum غير ممرضة	البطيخ والطماطم	فيوزاريوم أوكسيسبوروم F. oxysporum f. sp. Niveum فيوزاريوم أوكسيسبوروم F. oxysporum f. sp. lycopersici	

فطر رايزوكتونيا غير ممرض ثنائى النواة Nonpathogenid binucleate .Rhizoctonia sp	الفاصوليا	رايزوكتونيا سولانى Rhizoctonia solani كوللليتوتريكوم لينديموثيانوم Colletotrichum lindemuthianum	زيادة فى بروتينات PR، تراكم المواد الفينولية، زيادة التلجنن.

تابع جدول (٧-٤) الفطريات المشجعة لنمو النبات المحثة للمقاومة فى النباتات.

الريزوفطريات	النبات العائل	الميكروب المستهدف	الاستجابة الدفاعية فى النبات
فطر فيتوفثورا كريبتوجيا Phytophthora cryptogea غير الممرض	الطماطم	فيوزاريوم أوكسيسبوروم ف ليكوبيرسكى F. oxysporum f. sp. lycopersici	
ترايكودرما هارزينم Trichoderma harizanum T39	الطماطم والخس والفلفل والفاصوليا	بوترايتيس سيناريا Botrytis cinerea	
بينيسلليم Penicillium janczewskii	القطن والبطيخ	رايزوكتونيا سولانى Rhizoctonia solani	استجابة عالية الحساسية وزيادة نشاط البروتينات الدفاعية وزيادة نشاط إنزيم البير أوكيديز.
سلالات غير ممرضة من فطر .F. oxysporum	الأسبراجس	فيوزاريوم أوكسيسبوروم Fusarium oxysporum f. sp. asparagi	استجابة عالية الحساسية، التلجنن، زيادة إنتاج البروتينات الدفاعية، إنتاج مواد أيضية مضادة للفطريات

❖المراجـع:

Benhamou, N., C. Garand and A. Goulet (2002). Ability of nonpathogenic Fusarium oxysporum strain Fo47 to induce resistance against Pythium ultimum infection in cucumber. Appl. Environ. Microbiol. 68:4044 – 4060.

Bora, T., H. Ozaktan, E. Gore and E. Aslan (2004). Biological control of Fusarium oxysporum f. sp. melonis by wettable powder formulations of the two strains of Pseudomonas putida. J. Phytopathology 152: 471- 475.

Burelle, K., C.S. Vavrina, E.N. Rosskopf and R.A. Shelby (2002). Field evaluation of plant growth promoting rhizobacteria amended transplant mixes and soil solarization for tomato and pepper production in Florida. Plant Soil 238: 257- 266.

Collins, D.P. and R.J. Jacobsen (2003). Optimizing a Bacillus subtilis isolate for biologicalm control of sugarbeet cercospora leaf spot. Biol. Cont. 26:153- 161.

de Boer, M., P. Bom, F. Kindt, J.J.B. Keurentjes, I. van der Sluis, L.C. vanLoon and P.A.H.M. Bakker (2003). Control of Fusarium wilt of radish by combining Pseudomonas putida strains that have different disease-suppressive mechanisms. Phytopatho. 93:626 – 632.

de Meyer, G., J. Bigirimana, Y. Elad and M. Hofte (1998). Induced systemic resistance in Trichoderma harizanum T39 biocontrol of Botrytis cinerea. Eur. J. Plant Pathol. 104:279 – 286.

Kavitha, K., S. Nakkeeran, G. Chandrasekar, W.G.D. Fernando, S. Mathiyazhagan, P. Renukadevi and A.S. Krishnamoorthy (2003). Role of Antifungal Antibiotics, Siderophores and IAA production in biocontrol of Pythium aphanidermatum inciting damping off in tomato by Pseudomonas chlororaphis and Bacillus subtilis. In Proceedings of the 6th International Workshop on PGPR, Organised by IISR, Calicut 510- October , 2003. pp 493-497.

Kevan, P.G., M.S. Al-Mazrawi, J.C. Sutton, L.B. Tam, G. Boland, B. Broadbent, S.V. Thompson and G.J. Brewer (2003). Using pollinators to deliver biological control agents against crop pests. In: Pesticide Formulations and Delivery Systems: Meeting the Challenges of the Current Crop Protection Industry (Downer, R.A., Mueninghoff, J.C. & Volgas, G.C., Eds.). Amer. Soc. Testing and Materials Internat., West Conshohocken, PA.

Koike, N., M. Hyakumachi., K. Kageyama, S. Tsuyumu and N. Doke (2001). Induction of systemic resistance in cucumber against several diseases by plant growth-promoting fungi: lignification and superoxide generation. Eur. J. Plant Pathol. 107:523 – 533.

Lucy, M., E. Reed and R.B. Glick (2004). Applications of free living plant growth promoting rhizobacteria. Antonie van Leeuwenhoek 86:1–25.

Meena, B., R. Radhajeyalakshmi, T. Marimuthu, P. Vidhyasekaran and R. Velazhahan (2002). Biological control of groundnut late leaf spot and rust by seed and foliar applications of a powder formulation of Pseudomonas fluorescens. Biocont. Sci. Technol., 12: 195- 204.

Nakkeeran, S., K. Kavitha, S. Mathiyazhagan, W.G.D. Fernando, G. Chandrasekar and P. Renukadevi (2004). Induced systemic resistance and plant growth promotion by Pseudomonas chlororaphis strain PA-23 and Bacillus subtilis strain CBE4 against rhizome rot of turmeric (Curcuma longa L.). Can. J. Plant Pathol. 26:417- 418.

Niranjan Raj, S., S.A. Deepak, P. Basavaraju, H.S. Shetty, M.S., Reddy and J.W. Kloepper (2003). Comparative performance of formulations of plant growth promoting rhizobacteria in growth promotion and suppression of downy mildew in pearl millet. Crop Protect. 22:579- 588.

Otsu, Y., Y. Matsuda, H. Mori, H. Ueki, T. Nakajima, K. Fujiwara, M. Matsumoto, N. Azuma, K. Kakutani, T. Nonomura, Y. Sakuratani, T.

Shinogi, Y. Tosa, S. Mayama and H. Toyoda (2004). Stable phylloplane colonization by entomopathogenic bacterium Pseudomonas fluorescens KPM-018P and biological control of phytophagous ladybird beetles Epilacna vigitioctopunctata (Coleoptera: Coccinellidae). Biocont. Sci. Technol. 14:427- 439.

Radja Commare, R., R. Nandakumar, A. Kandan, S. Suresh, M. Bharathi, T. Raguchander and R. Samiyappan (2002). Pseudomonas fluorescens based bioformulation for the management of sheath blight disease and leaffolder insect in rice. Crop Protect. 21:671- 677.

Sabitha Doraisamy, S. Nakkeeran and G. Chandrasekar (2001). Trichoderma – bioarsenal in plant disease management and its scope for commercialization. In proceedings of Indian Phytopathological Society, Southern Zone Meeting, 1012- Dec. 2001., Indian Institute of Spice Research, Calicut, kerala.Pp.43- 55.

Vasudevan, P., M.S. Reddy, S. Kavitha, P. Velusamy, R.S. avid PaulRaj, S.M. Purushothaman, V. Brindha Priyadarsini, S. Bharathkumar, J.W. Kloepper and S.S. Gnanamanickam (2002). Role of biological preparations in enhancement of rice seedling growth and grain yield. Current Science, 83: 1140- 1144.

Viswanathan, R. and R. Samiyappan (2002). Induced systemic resistance by fluorescent pseudomonads against red rot disease of sugarcane caused by Colletotrichum falcatum. Crop Protect. 21:1- 10.

Xue, L., P.M. Charest and S.H. Jabaji-Hare (1998). Systemic induction of peroxidases, 1,3-β-glucanases, chitinases and resistance in bean plants by binucleate Rhizoctonia species. Phytopathol. 88:359 – 365.

Zhender, G.W., J.F. Murphy, J.E. Sikora and J.W. Kloepper (2001). Application of rhizobacteria for induced resistance. Eur. J. Plant Pathol. 107:39- 50.

الفصل الثالث
ميكروبات الاندوفايت

❖مقدمة:

ازداد الاهتمام منذ بداية الألفية الثالثة باستخدام الطرق المستدامة لمكافحة الآفات والأمراض - مثل برامج المكافحة البيولوجية - بشكل ملفت للنظر، وقد تمثل هذا الاهتمام المتزايد فى البحث عن بدائل حيوية لمبيدات الآفات الكيميائية والتى فقد كثير منها فعالياته على أثر ظهور أجيال من الآفات والميكروبات الممرضة المقاومة للمبيدات الكيميائية، إلى جانب الضغط الدائم للرأى العام لتطوير نظم إنتاج زراعية صديقة للبيئة، حيث أدى دخول مبيدات الآفات الكيميائية فى السلسلة الغذائية food chain إلى ظهور العديد من المخاطر للكائنات الحية فى النظم البيئية المختلفة ومنها الإضرار بصحة الإنسان والحيوانات.

وفى السنوات الماضية زاد الاهتمام باستخدام الريزوبكتيريا والريزوفطريات فى المكافحة الحيوية للميكروبات الممرضة كما أسلفنا، إلا أن الدراسات أظهرت أيضًاأن الكائنات داخلية المعيشة بالنباتات الحية والتى يطلق عليها مسمى « الاندوفايت endophytes » - والتى اكتشفت لأول مرة عام ١٩٢٦ - تحسن من نمو وصحة النبات وتلعب دورًاهامًافى المكافحة الحيوية لكثير من الميكروبات الممرضة للنبات، ولذلك تعتبر بكتيريات وفطريات الاندوفايت إلى جانب أشكال أخرى تشبه الفيروسات أحد البدائل الخضراء الهامة بيئيًافى الوقت الراهن فى وقاية النباتات من كثير من الميكروبات المسببة للأمراض، ويزداد استخدامها حاليًافى تلقيح كثير من النباتات الاقتصادية لوقايتها من كثير من الميكروبات الممرضة للنبات.

ويبلغ عدد أنواع النباتات على سطح الأرض حوالى ٣٠٠ ٠٠٠ نوع، ويمثل كل نوع بمفرده عائل واحد أو أكثر من ميكروبات الإندوفايت، ومعظم ميكروبات الإندوفايت المعزولة عبارة عن فطريات، ويقدر عدد فطريات الإندوفايت وحدها بحوالى مليون نوع، وقد تم عزلها من جميع النباتات الوعائية التى تم فحصها.

❖ماهية ميكروبات الاندوفايت؟

تعنى كلمة « اندوفايت endophyte » بشكلها الحرفى « فى النبات in the plant »، وقد تم إدخال هذا المصطلح بواسطة De Bary منذ فترة طويلة، ويستعمل هذا المصطلح بشكل أوسع ليشمل البكتيريا والفطريات وغيرها من الكائنات داخلية المعيشة بالنباتات، وهى أنواع ميكروبية غير ضارة تعيش بداخل أنسجة النبات فترة كبيرة من دورة حياتها دون أن تضره أو تسبب له أى مرض، وبعض ميكروبات الاندوفايت اجبارى المعيشة الداخلية بالنبات إذ لايستطيع النمو بالتربة خارج النبات، والبعض الآخر اختيارى المعيشة الداخلية بالنبات حيث يتواجد وينمو بداخل النبات العائل أو بالتربة.

ويعيش الكثير من أنواع البكتيريا السالبة والموجبة لصبغ جرام، والمتجرثمة وغير المتجرثمة فى أنسجة الكثير من النباتات وبصفة رئيسية في الفراغات بين خلايا النبات وبداخل الأنسجة الوعائية دون الإضرار بالنبات مع الإمداد بالمنفعة للقاطنات الميكروبية الأخرى.

وكذلك يعيش كثير من الفطريات بداخل خلايا الأنسجة النباتية كما هو الحال فى الفطريات التى تعيش بسيقان وأوراق وجذور عوائلها النباتية بشكل مكثف حيث تنتج كثير من المواد الطبيعية ذات التأثير التضادى للبكتيريا والفطريات، وتعيش هذه الفطريات تقريبًافى كل أنواع النباتات الراقية والطحالب التى تم دراستها دون إظهار لأعراض إصابة يمكن رؤيتها (شكل ٧-٣).



شكل (٧-٣) أحد فطريات الاندوفايت نامى على ورقة نبات.

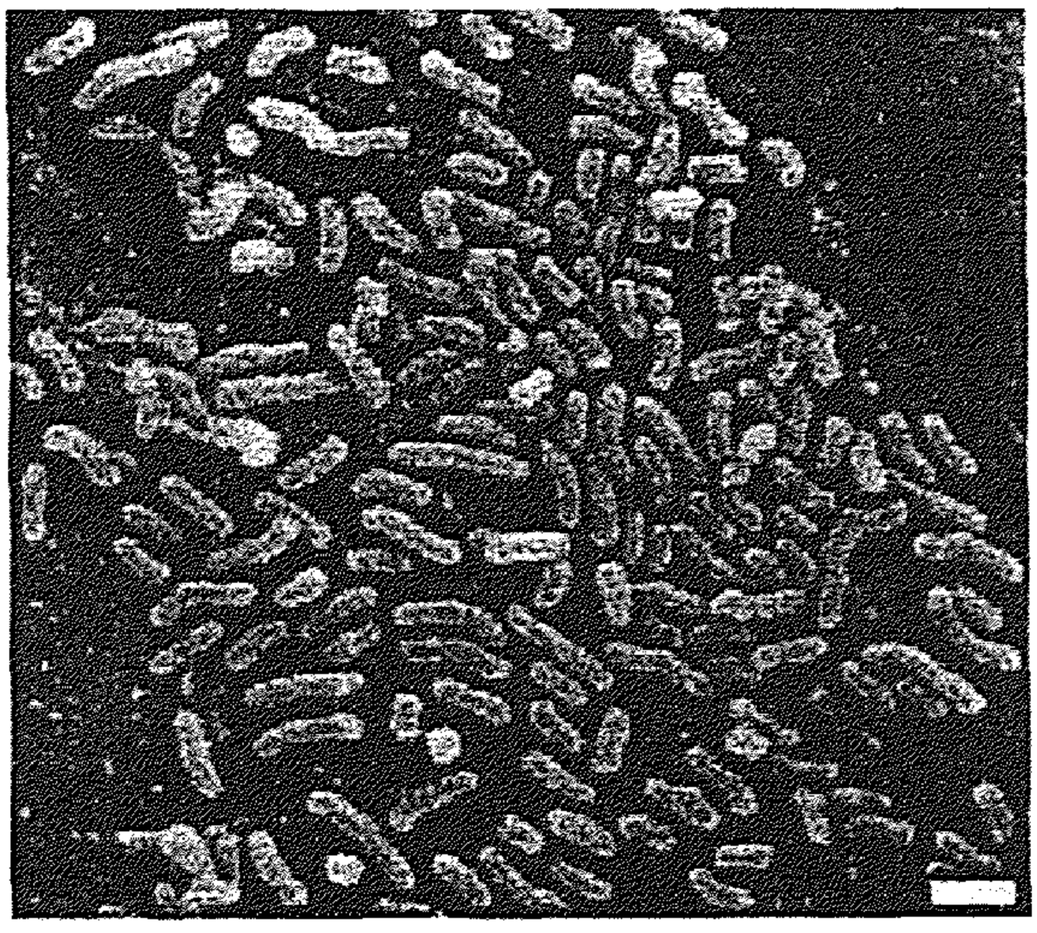
وتمثل العلاقة بين الميكروبات داخلية المعيشة بالنبات والنبات العائل حالة تعايش مفيدة لكلا الطرفين، إذ يمد النبات ميكروبات الاندوفايت بالمواد الغذائية ويقيها من الظروف البيئية بالإضافة إلى ميزات أخرى كالتكاثر والاستيطان وفى المقابل تلعب ميكروبات الاندوفايت أدوارًاهامة فى تغذية النبات العائل بمواد النمو التى تفرزها مثل اندول حامض الخليك والنيتروجين الذى تثبتـه أفرادها مثل عائلة الرايزوبيوم Rhizobiaceae وجنس هرباسبيريلم Herbaspirillum وجنس آزواركس Azoarcus والنيتروجين الذى تزيد من امتصاصه فى الأراضى الفقيرة فى النيتروجين، وفى هدم الملوثات (مثل جنس سيدوموناس Pseudomonas)، والاستجابة الدفاعية، وغزو الممرضات، وإنتاج المواد الأيضية المضادة للميكروبات الممرضة للنبات، وتقليل إصابة النباتات بالنيماتودا، وإنتاج مركبات الألكالويدات alkaloids السامة للحشرات.

❖المصادر ومنافذ الدخول:

هناك مصادر متعددة لميكروبات الاندوفايت أهمها على الإطلاق تربة منطقة المحيط الجذرى للنباتات، كما تعتبر الأجزاء التكاثرية النباتية كحبوب الغلال وبذور المحاصيل المختلفة ودرنات البطاطس وثمار الخضروات وجذور وسيقان النباتات مصدر لهذه البكتيريا.

وتصل ميكروبات الاندوفايت إلى الأنسجة الداخلية للنباتات من أكثر من منفذ أهمها الجروح المعتادة الحدوث بالنباتات بسبب استطالة الجذور واختراق التربة، وعمليات الخدمة التقليدية، والإصابات الفطرية وغيرها، كما تنفذ هذه البكتيريا إلى الأنسجة الداخلية للنبات من الثغور والعديسات ومناطق نمو الشعيرات الجذرية الجانبية، وتفرز بعض ميكروبات الاندوفايت نظم إنزيمية محللة للجدر الخلوية مثل السليوليز والهيميسليوليز والبكتينيز.

وتبدأ مراحل تطور التفاعل بين ميكروبات الاندوفايت والنبات بالاتصال والارتباط بسطح النبات، ثم العدوى والاحتلال، والاستيطان بداخل أنسجة النبات، والتكاثر (بما فيه التجرثم)، وظهور الخصائص المظهرية المختلفة، وأخيرًاالانتشار إلى الأفراد النباتية الأخرى (شكل ٧-٤).



شكل (٧-٤) الارتباط والاستيطان المبكر لسلالة الأندوفايت Pseudomonas putida WCS358 بسط جذر نبات الطماطم.

❖أماكن التواجد بالنبات:

تستوطن ميكروبات الاندوفايت بعض الأماكن بداخل النبات مثل المسافات البينية بين خلايا البشرة والقشرة (شكل ٧-٥) فى الجذور والسيقان، والأوعية الناقلة فى جذور النبات، ويتحدد مكان الاستيطان على حسب النوع النباتى، ويحمل العصير النباتى بكتيريا الاندوفايت من الجذور إلى السيقان أو بالعكس.

وتؤثر بعض العوامل الحيوية وغير الحيوية على كفاءة بكتيريا الاندوفايت فى الولوج إلى النبات والتواجد بداخله، وتعتبر الكائنات الحية الدقيقة المتعايشة مع النبات وما ينشأ بينها من علاقات من أهم العوامل الحيوية المؤثرة إذ تلعب دورًاهامًافى تشجيع أو عدم تشجيع بكتيريا الاندوفايت على الدخول إلى النبات واستيطانه، كذلكً تساعد إصابة النبات بالنيماتودا على توفير منافذ لدخول بكتيريا الإندوفايت إلى النبات من خلال الثقوب النباتية الناتجة عن الإصابة بالنيماتودا ومن ثم تؤدى إلى زيادة أعداد بكتيريا الاندوفايت.



شكل (٧-٥) قطاع عرضى فى خلايا قشرة جذر ابتائى يوضح نمو الهيفات فى الفراغات بين الخلايا

ومن ناحية أخرى تشمل العوامل غير الحيوية خصائص التربة الفيزيائية والكيميائية والتى تؤثر بدورها على بكتيريا التربة ومنها بكتيريا المحيط الجذرى، ومن ثم تحديد أنواع البكتيريا التى تلج إلى النبات العائل وتقطنه.

وتعتمد نسبة الميكروبات داخلية المعيشة بالنباتات ذات التأثير التضادى على عدة عوامل منها الموطن، والنوع النباتى، والإصابة بالميكروبات الممرضة، وفترة النمو الخضرى.

ويؤثر كثير من العوامل الحيوية على مجتمع ميكروبات الاندوفايت ونسبة الميكروبات ذات التأثير الهام فى مجال المكافحة الحيوية، ومن هذه العوامل:

١. النبات نفسه حيث يؤثر الطراز الوراثى للنبات على تنوع ميكروبات الاندوفايت.

٢. حالة النبات النامى أى ما إذا كان النبات ينمو بحالة ضعيفة أو جيدة.

٣. ضغط الميكروب الممرض.

أما التذبذب فى المجتمعات الميكروبية الداخلية المعيشة بالنباتات ذات التأثير التضادى والنامية بجذور النبات فقد ينشأ عن عوامل غير حيوية مثل سقوط الأمطار ودرجة الحرارة والممارسات الزراعية والإضافات التى تتم للتربة والتى يمكن أن تعدل فى الأنواع البكتيرية فى التربة وفى الجذور كما يمكنها أن تحسن كفاءة عوامل المكافحة الحيوية.

ويوضح جدول (٥-٥) أهم أنواع البكتيريا داخلية المعيشة بالنباتات ذات التأثير التضادى للفطريات الممرضة للنبات والتى تم تعريفها بنبات البطاطس من خلال العديد من الدراسات.

ومن أمثلة فطريات الإندوفايت جنس كوليتوتريكم Colletotrichum وجنس فوموبسيس Phomopsis وجنس فيلوستيكتا Phyllosticta والنوع اكريمونيم ستريكتم Acremonium strictum والنوع فيوزاريم أوكسيسبورم Fusarium oxysporum.

❖ عـزل ميـكـروبات الإنـدوفـايـت:

يتم عزل ميكروبات الإندوفايت بغرض توصيفها لاستخدامها فى أغراض كثيرة كالمكافحة الحيوية، ويجب أن تكون طريقة العزل دقيقة وحساسة بما فيه الكفاية لضمان نجاحها، ومن الناحية العملية يلاحظ أن عزل ميكروبات الإندوفايت من الصعوبة بمكان نظرًالطبيعة تواجدها، ويتم عزل بكتيريا وفطريات الإندوفايت من النبات العائل بعدة طرق، وذلك بعد إجراء التعقيم السطحى surface للجزء النباتى المطلوب العزل منه، وذلك

باستخدام الكثير من المواد الكيميائية الشائعة مثل هيبوكلوريت الصوديوم والكحول وبيروكسيد الهيدروجين، ثم غسيله عدة مرات بماء معقم.

ومن أكثر الطرق المستخدمة شيوعًاهى طحن الجزء النباتى السابق تعقيمه سطحيًافى هاون مع ماء معقم، وزرع النسيج أو سائل الجزء النباتى المعقم على وسط مغذى، كما قد يتم عزل بكتيريا الإندوفايت من الأوعية الناقلة بالنبات، باستخلاص السائل الموجود بتلك الأوعية، بالتفريغ أو بالضغط، ثم يخفف السائل الناتج، وينمى على بيئات الزرع الملائمة لإجراء العزل والتنقية والتعريف والتطبيق.

جدول(٧-٥) بعض أنواع بكتيريا الأندوفايت ذات التأثير التضادى للفطريات المعزولة من نبات البطاطس.

Agrobacterium tumefaciens	P. migulae
Arthrobacter ilicis	P. orientalis
Amycolatopsis meditarranei	P. putida
Bacillus aquamarinus	P. rhodesiae
B. cereus	P. reactans
B. megaterium	P. synthaxa
Clavibacter michigenensis	P. syringae
Curtobacterium albidum	P. tolaasii
C. flaccumfaciens	P. veronii
C. luteum	Psychrobacter immobilis
Erwinia persicinus	Ralstonia paucula
Flavobacterium sp.	Rhizobium meliloti
Frateuria aurantia	Rhizomonas suberifaciens
Frigoribacterium sp.	Sphigobacterium thalophilum
Kingella kingae	Sphingomonas adhaesiva
Kitasatosporia cystargenia	Stenotrophomonas maltophilia
Methylobacterium sp.	Streptomyces turgidiscabies
Micrococcus varians	S. bottropensis
Paenibacillus sp.	S. diastatochromogenes
Pantoaea agglomerans	S. galilaeus
P. anantis	S. griseus
Pseudomonas cichorii	S. lavendulae
P. corrugate	S. setonii
P. fluorescens	Xanthomonas campestris
P. graminis	X. oryzae

❖آليات ميكروبات الأندوفايت فى المكافحة الحيوية:

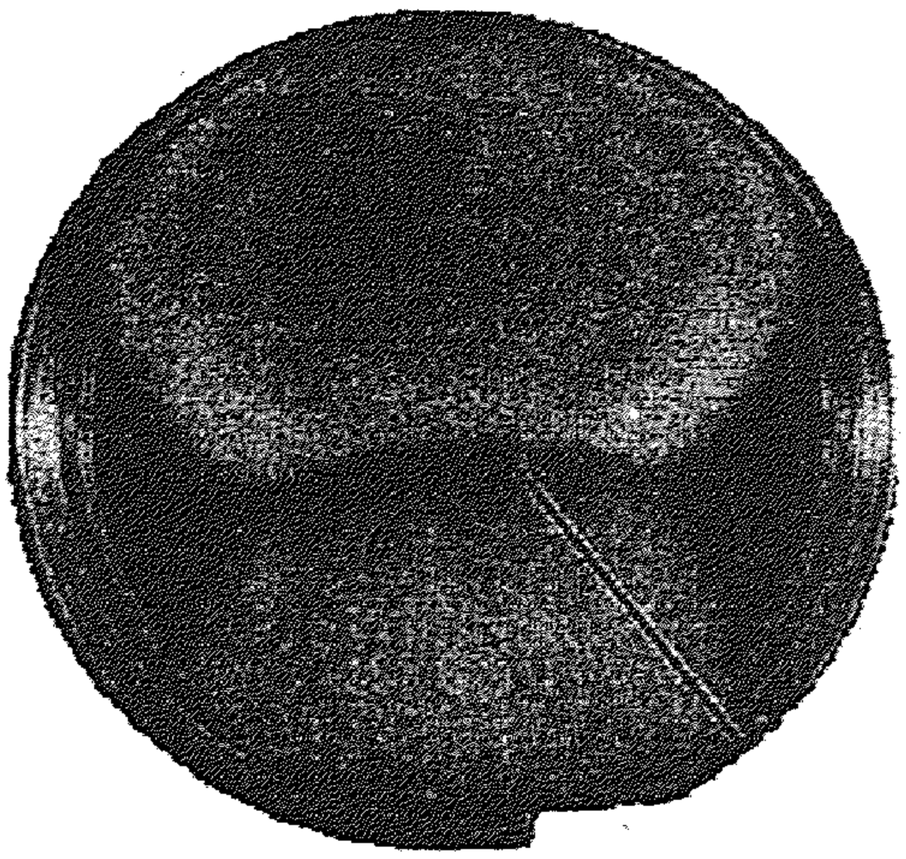
تلعب الميكروبات داخلية المعيشة بالنباتات دورًاهامًافى المكافحة الحيوية لكثير من الأمراض النباتية كما هو الحال فى مرض العفن الفحمى فى فول الصويا الذى يسببه فطر ريزوكتونيا باتاتيكولا Rhizoctonia bataticola (Taub) Butler، ومرض الذبول فى القطن الحادث بواسطة فطر الفيوزاريم اوكسيسبورم Fusarium oxysporum f. sp. vasinfectum.

وتمتلك كثير من بكتيريا الأندوفايت نشاط تضادى لكثير من الفطريات الممرضة مثل فطر فيرتسليم داهليا Verticillium dahliae، وفطر ريزوكتونيا سولانى Rhizoctonia solani فى البطاطس، وفطر سكليروتيم رولفسياى Sclerotium rolfsii فى الفول وغيرها كثير، فإلى جانب ما تنتجه هذه البكتيريا من مواد النمو growth substances للنبات والتى تعتبر أساسية فى تطوير البريوفيت bryophyte، وما تثبته من النيتروجين الجزيئى، وما تزيده من إتاحة للعناصر الغذائية الهامة، فإنها تفرز مواد مضادة لكثير من مسببات أمراض النبات.

ويقاوم فطر الاندوفايت البازيدى الذى يشبه الميكوريزا بيريفورموسبورا انديكا Piriformospora indica كثير من الفطريات الممرضة مثل فطر الترناريا سولانى Alternaria solani (شكل ٧-٦)، ولهذا الفطر أهمية كبيرة فهو أحد نظم التسميد الحيوى، كما أنه بمثابة واقى للنباتات، ومحث لنمو النبات، ومبيد حيوى للحشائش.

وتكافح كثير من ميكروبات الإندوفايت كالفطريات النيماتودا المتطفلة على النباتات (جدول ٧-٦) و شكل ٧-٧).

ومن الآليات المستخدمة بواسطة ميكروبات الاندوفايت فى المكافحة الحيوية حث المقاومة لدى النباتات، والتضاد الحيوى، والتنافس، والتحليل، وهى آليات مشابهة لتلك التى تستخدمها الريزوبكتيريا.

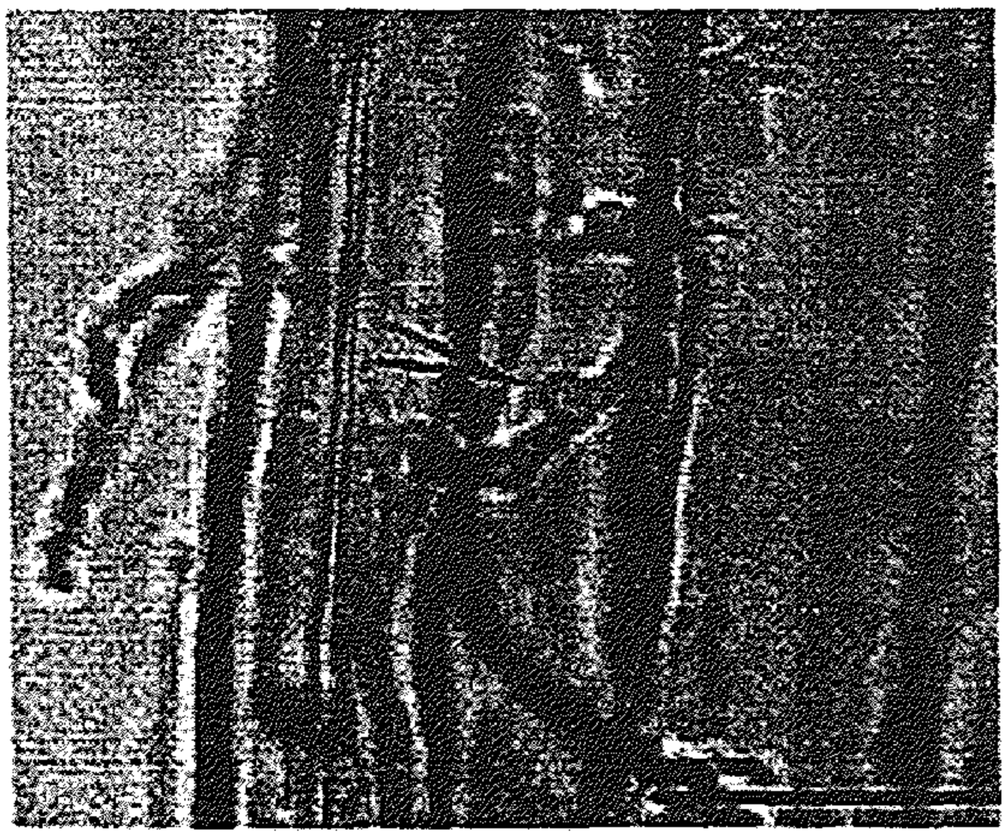


شكل (٧-٦) تفاعل فطر الاندوفايت **Piriformospora. indica**

مع فطر الترناريا سولانى **Alternaria solani**

جدول (٧-٦) بعض فطريات الاندوفايت المستخدمة فى المكافحة الحيوية للنيماتودا على المحاصيل.

فطريات صائدة النيماتودا:	
	Arthrobotrys oligospora
	Arthrobotrys dactyloides
	Nematoctonus robustus
طفيليات داخلية:	
	Nematoctonus pachysporus
	Hirsutella rhossiliensis
طفيل بيض:	
	Pochonia chlamydosporia
منتج للسم:	
	Pleurotus djamor



شكل (٧-٧) الفطر البازيدى صائد النيماتودا

Nematoctonus robustus

على جذور الشعير ويلاحظ

clamp-connection (arrow)

١ - التضـاد الحيـوى:

يقصد به قدرة ميكروبات الاندوفايت على تثبيط نمو الميكروبات الممرضة بما تنتجه من مضادات حيوية أو سموم، وفى الحقيقة فإن معظم أفراد ميكروبات الاندوفايت له نشاط مضاد للميكروبات الممرضة فى الاختبارات المعملية in vitro، إلا أن أهمية التضاد الحيوى للكائنات الممرضة بداخل نسيج الجذر مازال يكتنفه كثير من الغموض، ومن أمثلة المواد المضادة التى تطلقها بكتيريا الاندوفايت مادة اتيورين أ iturin A التى تنتجها بكتيريا باسيلس ستلس Bacillus subtilis ومادة بيرورولنيترين pyrorolnitrin التى تنتجها بكتيريا سيرتيا بلايميوثيكا Serratia plymuthica.

وتختلف استجابة الميكروبات الممرضة لآلية التضاد الحيوى، وتشمل الاستجابة مقاومة المضادات الحيوية، والتدفق النشيط للمضادات الحيوية، وإبطال السمية، وقمع جينات تخليق البروتينات المشاركة فى عملية المكافحة الحيوية.

٢ - التنافـس:

يعتبر التنافس آلية هامة توظفها ميكروبات الاندوفايت فى مكافحة الميكروبات الممرضة، مرجع ذلك أن كلا من ميكروبات الاندوفايت والميكروبات الممرضة تقطن نفس المكان، وتستعمل نفس المواد الغذائية، وفى الظروف التى يكون فيها عنصر الحديد محدوداًتنتج بكتيريا الريزوسفير حوامل الحديد siderophores التى تجتذب الحديديك حيث تحرم منه الفطريات الممرضة ومن ثم تحد من نموها، كما تنتج بكتيريا الاندوفايت الـ derophores مما يدل على حدوث آليات مشابهة فى الاندوريزا endorhiza.

ومن أمثلة فطريات الإندوفايت التى تستخدم آلية التنافس فطر فيالوفورا جراميكولا Phialophora graminicola الذى يتنافس مع الفطر الممرض جايومانوميسيس جراميس Gaeumanomyces graminis على المكان والمواد الغذائية ومن ثم يقلل من فرصة نمو الفطر الأخير، كذلك يقلل هذا الفطر من الكربون المتاح للفطر الممرض، كما يكون عوائق ميكانيكية تنتج من زيادة سمك الاندودرمس الذى يثبط استيطان الفطر الممرض.

٣- تحلل الجدر الخلوية:

تستخدم ميكروبات الاندوفايت آلية تحلل الجدر الخلوية لمكافحة الميكروبات

الممرضة، وتفرز بكتيريا الاندوفايت إنزيمات محللة مثل السليولیز والكيتينيز والجلوكانيز، فمثلاتفرز بكتيريا الاندوفايت اكتينوبلانيز ميسوريينسى Actinoplanes missouriensie انزيم الكيتينيز الذى يثبط فطر بلكتوسبوريم تاباسينم Plectosporium tabacinum فى الترمس، كذلك تساعد سلالات بكتيريا باسيلس ستلس Bacillus subtilis المنتجة لإنزيم الكيتينيز فى تقليل الإصابة بفطر فيرتيسيليم داهليا Verticillium dahliae فى كثير من النباتات.

٤- حث آليات دفاعات النبات:

تحث ميكروبات الاندوفايت آليات الدفاع لدى النبات، وذلك بتكوين حواجز ميكانيكية، وزيادة سمك الجدر الخلوية، وتلعب عملية الحث هذه دورًارئيسيًافى تثبيط الميكروبات الممرضة للنبات.

ومن السلالات البكتيرية التى درست بكثرة ولها تأثير كبير فى حث دفاعات النباتات مايلى:

Bacillus amyloliquefaciens IN937a.

B. subtilis IN937b.

B. pumilus SE34.

B. pumilus INR7.

Pseudomonas fluorescens 89B-61.

P. fluorescens CHA0.

Serratia marcescens 90- 166.

٥- نمو النبات:

يساهم النمو الجيد للنبات بشكل غير مباشر فى دفاعاته، فالنباتات ذات النمو القوى بمقدورها مقاومة الأمراض كالبياض الدقيقى، ولذلك فإن تشجيع نمو النبات بواسطة بكتيريا الاندوفايت يؤثر بشكل غير مباشر على مرضية الميكروبات، وتشجع بكتيريا الاندوفايت من إنبات البذور عن طريق إفراز مواد النمو النباتية مثل الأكسينات auxins والسيتوكينينات cytokinins، وتخليق حوامل الحديد، وتثبيت النيتروجين الجوى، وإذابة الفوسفات، أو من خلال الأنشطة الإنزيمية مثل تثبيط الاثيلين بواسطة إنزيم 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase.

❖الاستخدامات التطبيقية لميكروبات الاندوفايت فى المكافحة الحيوية:

يستطيع عدد كبير من ميكروبات الاندوفيت مكافحة الميكروبات الممرضة للنباتات الأخرى، وتشمل بكتيريا الاندوفايت أنواع عديدة من جنس سيدوموناس Pseudomonas وجنس باسيلس Bacillus وجنس بانيباسيلس Paenibacillus إلى جانب أنواع من أجناس أخرى مثل سيراتيا بلايميوثيكا Serratia plymuthica وسفينجوموناس توروبيرى Sphingomonas trueperi وفيلوبكتيريم Phyllobacterium وبركهولديريا سولاناسيرم Burkholderia solanacearum.

وتستخدم لقاحات الاندوفايت فى تلقيح الكثير من النباتات لتحسين نمو وصحة هذه النباتات ووقايتها من كثير من الميكروبات الممرضة لها، حيث تحث ميكروبات الاندوفايت آليات الدفاع لدى النبات، وتلعب عملية الحث هذه دورًا رئيسيًا فى تثبيط الميكروبات الممرضة للنبات.

وتستعمل سلالة بكتيريا الاندوفايت Pseudomonas trivialis 3 Re207 فى مكافحة الإصابة بفطر رايزوكتونيا سولانى Rhizoctonia solani فى بعض النباتات مثل بنجر السكر والخس.

ويستخدم كثير من اكتينوميسيتات الاندوفايت من أجناس ستربتوميسيس Streptomyces وميكروبايسبورا Microbispora ونوكارديوايدس Nocardioides فى المكافحة الحيوية، فعلى سبيل المثال يستخدم النوع اكتينوبلانس ميسويورينسيس Actinoplanes missouriensis فى مكافحة بليكتوسبوريم تاباسينم Plectosporium tabacinum المسبب المرضى لعفن الجذور فى الترمس.

❖تحسين كفاءة ميكروبات الاندوفايت فى المكافحة الحيوية:

يساعد تحسين كفاءة ميكروبات الاندوفايت على نجاحها كأدوات للمكافحة الحيوية، وفيما يلى الاستراتيجيات الحالية لتحسين كفاءة عوامل المكافحة الحيوية:

١- استخدام تقنيات مثالية لتجهيز المستحضرات وتطبيقها.

٢- استراتيجيات المكافحة الحيوية المتكاملة.

٣- المكافحة الحيوية بميكروبات الاندوفايت التى تقطن النباتات indigenous.

٤- الهندسة الوراثية.

ويفضل نوعين من المستحضرات فى حالة ميكروبات الاندوفايت هما المنتجات الجافة dry products والمعلقات السائلة liquid suspensions، ويتوفر بالأسواق مستحضرات جافة يمكن تخزينها لفترة طويلة من بكتيريا الاندوفايت الموجبة لجرام، إلا أن الأمر يختلف فى حالة البكتيريا السالبة لجرام بسبب عدم تكوينها للجراثيم التى يمكن تخزينها بثبات فى المستحضرات، ومستحضر ميكروبات الاندوفايت المثالى هو الذى يضمن بقاء الميكروبات به حية، ويساعد النشاط الميكروبى عند استخدامه بشكل تطبيقى.

وهناك العديد من الطرق لاستخدام لقاحات ميكروبات الاندوفايت مثل:

- تلقيح السيقان.
- نقع البذرة فى المعلقات.
- إضافة جرعة للتربة الزراعية.
- تغليف البذور بالميثيل سليلوز.
- الرش الورقى.
- تسكين الميكروبات على صورة خرز.
- غمس الجذور فى المعلقات.

ويتحكم فى عملية المكافحة الحيوية عن طريق استخدام الميكروبات داخلية المعيشة بالنبات والمتواجدة طبيعيًابعض العوامل الحيوية وغير الحيوية والتى يؤدى تغييرها إلى التحكم فى عملية المكافحة الحيوية، فاستخدام الكيتين يزيد أعداد بكتيريا بركهولدريا سيبسيا Burkholderia cepacia ويحسن من مكافحة بكتيريا الاندوفايت من النوعين باسيلس ستلس Bacillus subtilis وباسيلس ليشينيفورميس B. licheniformis لمرض عفن الجذور فى نباتات الفلفل، كما يحسن استخدام بوليمر الكيتوزان فى حالة بكتيريا الاندوفايت باسيلس بيوميلس B. pumilus من مقاومة النباتات كالطماطم تجاه ذبول الفيوزاريم Fusarium، ويعمل كل من الكيتين والكيتوزان على تنشيط الميكروبات المحللة للكيتين بالجدر الخلوية للفطريات الممرضة.

ومن ناحية أخرى، يتم تطوير كفاءة المكافحة الحيوية بتربية نباتات تدعم مستوى عالى من ميكروبات الاندوفايت الهامة فى مجال المكافحة الحيوية، ومن أهداف المكافحة الحيوية الهندسة الوراثية للعوامل المنظمة للجين بميكروبات الاندوفايت مثل طريقة عملها، والقدرة الاستيطانية، والبقاء، والملائمة، والتأقلم مع الظروف البيئية، وبالفعل فقد أجرى البعض تعديلًا وراثيًا لبعض بكتيريا الاندوفايت كالنوع سيدوموناس فلوريسنس Pseudomonas fluorescens بنقل الجين الخاص بإنتاج إنزيم الكيتينيز إليه من بكتيريا سيرتيا مارسيسنس Serratia marcescens.

المراجـع:

Adhikari, T.B., C.M. Joseph, G. Yang, D.A. Phillips and L.M. Nelson (2001). Evaluation of bacteria isolated from rice for plant growth promotion and biological control of seedling disease of rice. Can. J. Microbiol. 47:916 – 924

Ahmed, A.S., M. Ezziyyani, C. Pérez Sنnchez and M.E. Candela (2003). Effect of chitin on biological control activity of Bacillus spp. and Trichoderma harzianum against root rot disease in pepper (Capsicum annuum) plants. Eur. J. Plant Pathol. 109:633 – 637.

Berg, G. (2000). Diversity of antifungal and plant-associated Serratia strains. J. Appl. Microbiol. 88:952 – 960.

Berg, G. and J. Hallmann (2006). Control of plant pathogenic fungi with bacterial endophytes. In: Soil Biology, Vol. 9. Microbial Root Endophytes. B. Schulz, C. Boyle, T. N. Sieber (Eds.). ©Springer-Verlag Berlin Heidelberg.

Berg, G., A. Krechel, M. Ditz, A. Faupel, R.A. Sikora, A. Ulrich and J. Hallmann (2005). Endophytic and ectophytic potato-associated bacterial communities differ in structure and antagonistic function against plant pathogenic fungi. FEMS Microbiol. Ecol. 51:215 – 229.

Berg, G., N. Roskot, A. Steidle, L. Eberl, A. Zock and K. Smalla (2002). Plant-dependent genotypic and phenotypic diversity of antagonistic rhizobacteria isolated from different Verticillium host plants. Appl. Environ. Microbiol. 68:3328 – 3338.

Bloemberg, G.V. and B.J.J. Lugtenberg (2001). Molecular basis of plant growth promotion and biocontrol by rhizobacteria. Curr. Opin. Plant Biol. 4:343 – 350.

Chernin, L. and I. Chet (2002). Microbial enzymes in biocontrol of plant pathogens and pests. In: Burns R, Dick R (eds.) Enzymes in the environment: activity, ecology, and applications. Dekker, New York, pp 171 – 225.

Chin-A-Woeng, T.F.C., W. de Priester, A.G. van der Bij and B.J.J. Lugtenberg (1997) Description of the colonisation of a gnotobiotic tomato rhizosphere by Pseudomonas fluorescens biocontrol strain WCS365, using scanning electron microscopy. Mol. Plant-Microbe Interact. 10:79 – 86.

Cho, S.J., W.J. Lim, S.Y. Hong, S.R. Park and H.D. Yun (2002). Endophytic colonization of balloon flower by antifungal strain Bacillus sp. CY22. Biosci. Biotech. Biochem. 67:2132 – 2138.

Coombs JT, Michelson PP, Franco CMM (2004) Evaluation of endophytic actinobacteria as antagonists of Gaeumannomyces graminis var. tritici in wheat. Biol Control 29:359 – 366

De Souza JT, Raaijmakers JM (2003) Polymorphisms within the prnD and pltC genes from pyrrolnitrin and pyoluteorin-producing Pseudomonas and Burkholderia spp. FEMS Microbiol Ecol 43:21 – 34

Duffy B, Schouten A, Raaijmakers JM (2003) Pathogen self-defense:

mechanisms to counteract microbial antagonism. Annu Rev Phytopathol 41:501– 538

El-Tarabily KA (2003) An endophytic chitinase-producing isolate of Actinoplanes missouriences, with potential for biological control of root rot of lupin caused by Plectosporium tabacinum. Aust J Bot 51:257 – 266

Estrada P, Mavingui P, Cournoyer B, Fontaine F, Balandreau J, Caballero-Mellado J (2002) A N2-fixing endophytic Burkholderia sp. associated with maize plants cultivated in Mexico. Can J Microbiol 48:285–294

Faltin F, Lottmann J, Grosch R, Berg G (2004) Strategy to select and assess antagonistic bacteria for biological control of Rhizoctonia solani Kühn. Can J Microbiol 50:811– 820

Garbeva P, van Overbeek LS, van Vuurde JWL, van Elsas JD (2001) Analysis of endophytic bacterial communities of potato by plating and denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) of 16S rDNA based PCR fragments. Microb Ecol 413:69 – 383

Graner G, Persson P, Meijer J, Alstrom S (2003) A study on microbial diversity in different cultivars of Brassica napus in relation to its wilt pathogen, Verticillium longisporum. FEMS Microbiol Lett 29:269 – 276

Hornschuh, M, R. Grotha and U Kutschera (2002). Epiphytic bacteria associated with the bryophyte Funaria hygrometrica: effects of Methylobacterium strains on protonema development. Plant Biol. 4:682 – 687.

Hurek, T. and B. Reinhold-Hurek (2003). Azoarcus sp. strain BH72 as a model for nitrogen-fixing grass endophytes. J. Biotechnol. 106:169 – 178.

Krechel, A., A. Faupel, J. Hallmann, A. Ulrich and G. Berg (2002). Potato-associated bacteria and their antagonistic potential towards plant-pathogenic fungi and the plant-parasitic nematode Meloidogyne incognita (Kofoid & White) Chitwood. Can. J. Microbiol. 48:772 – 786.

Kurze, S., R. Dahl, H. Bahl and G. Berg (2001). Biological control of fungal strawberry diseases by Serratia HRO-C48. Plant Dis. 85:529 – 534.

Liu, C.H., W.X. Zou, H. Lu and R.X. Tan (2001) Antifungal activity of Artemisia annua endophyte cultures against phytopathogenic fungi. J Biotechnol 88:277 – 282

Liu, J.Y., Y.C. Song, Z. Zhang, L. Wang, Z.J. Guo and RX Tan (2004). Aspergillus fumigatus, CY018, an endophytic fungus in Cynodon dactylon as a versatile producer of new and bioactive metabolites. J. Biotechnol. 114:279 – 287.

Mocali, S., E. Bertelli, F. Di Cello, A. Mengoni, A. Sfalanga, F. Viliani, A. Caciotti, S. Tegli, G. Surico and R. Fani (2003). Fluctuation of bacteria isolated from elm tissues during different seasons and from different plant organs. Res. Microbiol. 154:105 – 114.

Nejad, P. and P.A. Johnson (2000). Endophytic bacteria induce growth promotion and wilt disease suppression in oilseed rape and tomato. Biol. Control. 18:208 – 215.

Reiter, B., U. Pfeifer, H. Schwab and A. Sessitsch (2002). Response of endophytic bacterial communities in potato plants to infection with Erwinia carotovora subsp. atroseptica. Appl. Environ. Microbiol. 68:2261– 2268.

Salles, J.F., F.A. De Souza and J.D. van Elsas (2001). Molecular method to assess the diversity of Burkholderia species in environmental samples. Appl. Environ. Microbiol. 68:1595 – 1603.

Senthilkumar, M., K. Swarnalakshmi, V. Govindasamy, Young Keun Lee and K. Annapurna (2009). Biocontrol potential of soybean bacterial endophytes against charcoal rot fungus, Rhizoctonia bataticola Curr. Microbiol. 58:288 – 293.

Sessitsch, A, B. Reiter, U. Pfeifer and E. Wilhelm (2002). Cultivation-independent population analysis of bacterial endophytes in three potato varieties based on eubacterial and Actinomycetes-specific PCR of 16S rRNA genes. FEMS Microbiol. Ecol 39:23 – 32.

Sessitsch, A., B. Reiter and G. Berg (2004). Endophytic bacterial communities of field-grown potato plants and their plant growth-promoting abilities. Can. J. Microbiol. 50:239 – 249.

Siciliano, D.S., N. Forin, A. Mihoc, G. Wisse, S. Labell, D. Beaumier, D. Ouellette, R. Roy, L.G. Whyte, M.K. Banks, P. Schwab, K. Lee, and C.W. Greer (2001). Selection of specific endophytic bacterial genotypes by plants in response to soil contamination. Appl. Environ. Microbiol. 67:2469 – 2475.

Smalla, K. (2004). Culture-independent microbiology. In: Bull AT (ed) Microbial diversity and bioprospecting. ASM, Washington DC, pp 88 – 99.

Sturz, A.V., B.R. Christie and J. Nowak (2000). Bacterial endophytes: potential role in developing sustainable systems of crop production. Crit. Rev. Plant Sci. 19:1– 30.

Tjamos, C., D.I. Tsitsigiannis, S.E. Tjamos, P. Antoniou, P. Katinakis (2004). Selection and screening of endorhizosphere bacteria from solarised soils as biocontrol agents against Verticillium dahliae of solanaceous hosts. Eur. J. Plant Pathol. 10:35 – 44.

Wang, F.W., R. H. Jiao, A. B. Cheng, S. H. Tan and Y. C. Song (2007). Antimicrobial potentials of endophytic fungi residing in Quercus variabilis and brefeldin A obtained from Cladosporium sp. World J. Microbiol. Biotechnol. 23:79 – 83.

Whipps, J. (2001). Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. J. Exp. Bot. 52:487 – 511.

Zinniel, D.K., P. Lambrecht, N.B. Harris, Z. Feng, D. Kuczmarski, P. Higley, C.A. Ishimaru, A. Arunakumari, R.G. Barletta and A.K. Vidaver (2002) Isolation and characterization of endophytic colonizing bacteria from agronomic crops and prairie plants. Appl. Environ. Microbiol. 68:2198 – 2208.

الفصل الرابع
اللقاحات السمادية

تستخدم الأسمدة الحيوية فى الزراعة الحديثة لتوفير العناصر السمادية المطلوبة لمقابلة احتياجات النباتات الاقتصادية وذلك بقصد تقليل الاعتماد على الأسمدة الكيماوية لأقصى درجة ممكنة لتكلفتها العالية من ناحية ولأضرارها من ناحية أخرى، وترجع عملية تسميد – أو بالأحرى – تلقيح النباتات الاقتصادية بالكائنات الحية الدقيقة المفيدة – كالبكتيريا بصفة خاصة – إلى عدة قرون مضت، فعلى الرغم من أن البكتيريا لم تكن قد عرفت حتى عام ١٦٨٣ حين اكتشف الهولندى أنتونى فان ليفنهوك Antony van Leeuwenhoek هذه الكائنات الدقيقة تحت عدسات مجاهره البدائية، فإن استخدامها فى الزراعة فى توفير عناصر النيتروجين والفوسفور والبوتاسيوم والحديد والكبريت وغيرها من الموارد الأساسية المطلوبة لمقابلة احتياجات النباتات يرجع إلى الأزمنة القديمة، ولقد تم تطوير أول مستحضر للقاح سمادى من بكتيريا الريزوبيا المعروفة ببكتيريا العقد الجذرية – وهى بكتيريا تثبت نيتروجين الهواء الجوى، أى تجعل النيتروجين الخامل الموجود بوفرة فى الغلاف الجوى يتحد إما مع الأكسجين (فى صورة نترات) أو مع الهيدروجين (فى صورة أمونيا) – للاستخدام فى الزراعة فى عام ١٨٩٠ وهو المستحضر الذى عرف باسم نيتراجين Nitragin، ويساعد مثل هذه المستحضر فى تدفق النيتروجين المثبت من الجو إلى مستودع التربة.

ويعتبر استيطان colonization الميكروبات المفيدة للمجموع الجذرى للنبات بمثابة الخطوة الأولى لكل التفاعلات بين النباتات والميكروبات المحمولة فى التربة، حيث تقوم الميكروبات بتثبيت نيتروجين الهواء الجوى، وإتاحة بعض العناصر الغذائية الأساسية اللازمة لنمو النبات مثل الفوسفور والبوتاسيوم والكبريت والحديد من خلال إذابة الفوسفات غير الذائبة، وتحليل السليكات، وتيسير العناصر الأخرى اللازمة للنبات، وللتفاعلات البيئية فى منطقة الجذر أهمية كبيرة، وقد أطلق Hiltner عام ١٩٠٤ على هذه المنطقة المحيطة بجذور النبات والمتأثرة بالجذور مسمى الريزوسفير rhizosphere.

السماد الحيوى biofertilizer أو اللقاح الميكروبى السمادى إذن عبارة عن كائنات حية دقيقة لها قدرات إنزيمية خاصة كما تفرز بعض المواد والنواتج الأيضية التى من شأنها أن تحسن استخدام مواد التربة المغذية فحين تلقح بها البذور أو أسطح النباتات أو التربة تزداد أعدادها بمنطقة المحيط الجذرى للنبات وتحث نموه بزيادة أوزانه وأعداده أو إتاحة العناصر الغذائية للنبات العائل، وهكذا تؤدى هذه الأسمدة دورها من خلال زيادة خصوبة التربة عن طريق تثبيت النيتروجين الجوى أو جعل العناصر الغذائية فى صورة أكثر إتاحة بإذابة الفوسفات وتحليل السليكات حيث تنطلق أو تنفرد الصورة الصالحة للاستخدام بواسطة النبات، وتزيد الأسمدة الحيوية من المستودع النباتى من العناصر الغذائية الأساسية بزيادة مساحة سطح الجذر.

وتتضمن تكنولوجيا إنتاج اللقاحات السمادية من الميكروبات عدة مراحل متسلسلة ابتداءً من اختيار الميكروب الملائم ثم إكثاره ونقل نموه إلى حامل carrier مناسب وانتهاءً بحفظه تحت ظروف تخزين جيدة لحين استخدامه فى تلقيح البذور أو التربة أو أسطح النباتات.

وتستطيع كثير من اللقاحات السمادية أن تحمى النباتات من الكائنات الممرضة، ومثل هذه اللقاحات تعتبر بمثابة مبيدات حيوية Biopesticides، وتعتبر الحماية من المسببات المرضية للنباتات بمثابة إحدى الميكانيكيات المختلفة التى تؤثر بها اللقاحات السمادية على عوائلها، وهى إحدى الميكانيكيات المرتبطة بالإصابة بفطريات الميكوريزا الداخلية بصفة خاصة، أو التسميد باللقاحات البكتيرية المثبتة للنيتروجين بحالة حرة، أو اللقاحات البكتيرية المذيبة للفوسفات، وتظهر ميكانيكية الحماية من المسببات المرضية فى أوضح صورها فى حالة فطريات الميكوريزا mycorrhiza.

وتستطيع فطريات الميكوريزا مساعدة النباتات على مقاومة الأمراض بأكثر من وسيلة منها:

١- زيادة سمك الجدر الخلوية لمنطقة القشرة بجذور النبات.

٢- تغيير تركيب إفرازات جذور النباتات وبصفة خاصة بزيادة محتواها من الحامض الأمينى الأرجنين.

٣- تعويض الأضرار التى قد تحدث بالمجموع الجذرى من جراء الإصابة بالكائنات الممرضة عن طريق إمداد المجموع الجذرى بالعناصر الغذائية.

❖الأنظمة البيولوجية المثبتة لأزوت الهواء الجوى:

يمثل التنافس على العناصر التى يتم إفرادها oligo-elements والمواد الغذائية مثل إفرازات النبات فى منطقة الريزوسفير - وهى أحد أهم الموارد الغذائية لميكروبات التربة - أحد آليات التفاعل بين الميكروبات المثبتة لنيتروجين الهواء الجوى ومسببات الأمراض النباتية من الميكروبات المحمولة فى التربة.

وتحد بكتيريا الأزوتوباكتر Azotobacter والأزوسبيريللم Azospirillum والكلبسيلا Klebsiella المثبتة للنيتروجين من تطور العديد من الميكروبات الممرضة للنبات المحمولة فى التربة الزراعية مثل فطر فيوزاريم اوكسيسبورم Fusarium oxysporum وفطر ريزوكتونيا سولانى Rhizoctonia solani وفطر بيثيم Pythium sp وفطر سكيلروتينيا Sclerotinia التى تصيب بعض الخضروات كالخيار عن طريق التنافس على الغذاء وتحسين نمو النبات.

كما تحرم الميكروبات المثبتة للنيتروجين مثل الأزوتوباكتر Azotobacter والأزوسبيريللم Azospirillum والسيدوموناس Pseudomonas الميكروبات الممرضة من عنصر الحديد، وهو عنصر أساسى يدخل فى عدد من الوظائف، ويشتد عليه التنافس فى منطقة الريزوسفير بصفة خاصة عن بقية التربة، ويتحول الحديد فى الأوساط الهوائية إلى بوليمرات أوكسى هيدروكسيد ونتيجة عدم الذوبان النسبى لهذه البوليمرات فإن حركة الحديد تتطلب عوامل مخلبية متخصصة مثل حوامل الحديد وهى جزيئات تكنس الحديد، ومن المعروف عن البكتيريا أزوسبيريللم ليبوفيرم A. lipoferum وأزوسبيريللم برازيلنس A. brasilense وأزوتوباكتر فينلانديای Azotobacter vinelandii المثبتة للنيتروجين أنها تنشط الريزوسفير بقوة من خلال إنتاج حوامل الحديد التى تحرم الميكروبات الممرضة منه، وعليه تعتبر هذه الأنواع المثبتة للنيتروجين من عوامل المكافحة الحيوية ذات الكفاءة.

ويتم القضاء على بكتيريا سيدوموناس سيرنجى Pseudomonas syringae pv. tomato التى تصيب نباتات الطماطم عن طريق التلقيح بالبكتيريا المثبتة للنيتروجين أزوسبيريللم برازيلينس A. brasilense مع إضافة سلفات الستربتوميسين ومعاملة البذرة معاملة كيماوية - حرارية.

وينتج الكثير من أفراد الميكروبات المثبتة لنيتروجين الجو من أجناس الأزوتوباكتر Azotobacter والأزوسبيريللم Azospirillum وبركهولدريا Burkholderia وبانيباسيلس Paenibacillus مواد أيضية مضادة للفطريات، كما تنتج مضادات حيوية تثبط الميكروبات الممرضة المصاحبة للنبات، فعلى سبيل المثال تنتج بكتيريا الأزوتوباكتر مواد أيضية تثبط تكوين الجراثيم الكونيدية لفطر بوترايتس Botrytis، كما تنتج بكتيريا بانيباسيلس بوليميكسا P. polymyxa المضاد الحيوى البوليمكسين polymyxine وهو نشط ضد العديد من البكتيريا والفطريات الممرضة للنبات.

وينتج الكثير من البكتيريا المثبتة للنيتروجين بما فيها تلك التى تعيش معيشة حرة بالتربة الزراعية عدد من النظم الإنزيمية المحللة مثل الكيتينيز والبروتييز والتى تساعدها فى العمل بشكل مباشر على الفطريات الممرضة للنبات.

وتفرز بكتيريا بانيباسيلس اجلوميرانس P. agglomerans المثبتة للنيتروجين فى ريزوسفير بعض الغلال كالقمح إنزيم الكيتينيز وبعض المواد المضادة للفطريات التى تصيب نباتات القمح مثل فطر جيومانوميسيس جرامينيس G. graminis var. tritici.

ومن بين أفراد البكتيريا المثبتة للنيتروجين الجوى يعتبر النوع أزوسبيريللم برازيلينس A. brasilense L4 أفضل مثال لعوامل المكافحة الحيوية للطفيليات النباتية مثل طفيليات Striga spp – وهى حشيشة تتطفل بشكل إجبارى على الغلال بمنع إنبات البذور نتيجة إفراز مركبات صغيرة ذائبة فى الدهون.

وتذيب بكتيريا الريزوبيا Rhizobium – وهى من اللقاحات السمادية المثبتة لنيتروجين الهواء الجوى – مركب فوسفات ثلاثى الكالسيوم tricalcium phosphate وتنتج أندول -٣- حمض الخليك وحوامل الحديد، وهذه المركبات لها دور هام فى المكافحة الحيوية.

❖الأنظمة البيولوجية الميسرة للبوتاسيوم:

تساهم بكتيريا باسيلس سيركيولانس Bacillus circulans – وهى من اللقاحات السمادية الميسرة لعنصر البوتاسيوم الهام فى تغذية النبات – بدور فى عملية المكافحة الحيوية للفطريات المسببة لأمراض الذبول وعفن الجذور فى النبات.

كذلك تساهم بعض أنواع البكتيريا التابعة لجنس سيدوموناس Pseudomonas وبعض

أنواع الأكتينوميسيتات - والقادرة على تحليل سليكات الألومنيوم فى معادن الطين ومن ثم انفراد البوتاسيوم - بدور هام فى المكافحة الحيوية.

كما تساهم فطريات من أجناس الأسبرجلس Aspergillus والبنيسيليم Penicillium والمحللة لسليكات الألومنيوم فى معادن الطين بدور هام فى عملية المكافحة الحيوية.

الأنظمة البيولوجية الميسرة للفوسفور:

تنتج الأنظمة البيولوجية المسئولة عن تيسير عنصر الفوسفور بعض النواتج الأيضية الهامة مثل أندول -٣- حمض الخليك Indole-3-Acetic Acid IAA وحوامل الحديد siderophores، وتقوم هذه النواتج الأيضية بوظائف هامة فى مجال المكافحة الحيوية.

وتلعب الأوكسينات دور هام فى التفاعلات الحادثة بين الطفيل - العائل وبصفة خاصة أندول -٣- حمض الخليك الذى يدخل فى التفاعلات بين المسبب المرضى للنبات وعائله، وتتمثل آليات فعل المكافحة الحيوية لأندول -٣- حمض الخليك فى دخوله مع إنزيم الجلوتاثيون ترانسفيريز فى تفاعلات النبات المتعلقة بالدفاع، وفى تثبيطه لإنبات الجراثيم ونمو ميسيليوم الفطريات الممرضة المختلفة، كما هو الحال فى الحد من شدة مرض لفحة البطاطس الذى يسببه الفطر البيضى فيتوفثورا انفيستانس Phytophthora infestans.

أما حوامل الحديد التى تخلقها الميكروبات المذيبة للفوسفات فهى ذات وزن جزيئى منخفض، وتخلب عنصر الحديد، ومن ثم تساعد هذه الحوامل على تنافس الميكروبات المذيبة للفوسفات مع الميكروبات الأخرى على الحديد الميسر، ويحسن هذا من نمو الميكروبات المذيبة للفوسفات بينما تعوق محدودية إتاحة الحديد من نمو الميكروبات المنافسة، ومن ناحية أخرى تعتبر حوامل الحديد مفيدة للنبات عن طريق ذوبان الحديد غير المتاح للنبات.

وتثبط كثير من البكتيريا المذيبة للفوسفات غير العضوية نمو فطر سكليروتيم رولفسياى Sclerotium rolfsii وفطر سكليروتينيا سكليروتيورم Sclerotinia sclerotiorum، ففى الوقت الذى تذيب فيه بعض السلالات البكتيرية من جنس سيدوموناس Pseudomonas الفوسفات غير العضوية عن طريق إنتاجها للأحماض وتغيير تركيز الأس الهيدروجينى pH فى الاتجاه الحامضى، فإنها تنتج أندول -٣- حمض الخليك وحوامل الحديد وتثبط بعض الفطريات الممرضة مثل الفيوزاريم Fusarium.

وإلى جانب تكوين كل من أندول -٣- حمض الخليك وحوامل الحديد ينتج الكثير من أفراد الريزوبكتيريا - المستخدمة كلقاحات سمادية - الأمونيا، ويذيب الفوسفات غير العضوية، ويثبط الفطريات الممرضة المحمولة فى التربة الزراعية مثل فطر سكليروتيم رولفسياى Sclerotium rolfsii.

وتحسن بكتيريا سيدوموناس فلوريسنس Pseudomonas fluorescens من محصول نبات الفول السودانى، وامتصاصه لعنصر الفوسفور، إلى جانب تقليل الإصابة بالميكروبات الممرضة فى ذات الوقت. وينتج كثير من سلالات بكتيريا سيدوموناس فلوريسنس P. fluorescens وبعض أفراد جنس باسيلس Bacillus التى تذيب فوسفات ثلاثى الكالسيوم - بما تفرزه من أحماض - حوامل الحديد الهامة فى تغذية الحديد.

ويساهم إنتاج الهرمونات النباتية من قبل الميكروبات المذيبة للفوسفات فى تشجيع نمو النباتات، وتنتج هذه المواد بواسطة أفراد عديدة من أجناس بكتيرية متنوعة مثل سيدوموناس Pseudomonas وباسيلس Bacillus وأسينتوبكتر Acinetobacter.

وإلى جانب دورها الهام والرائد فى مجال المكافحة الحيوية للآفات الحشرية، تستطيع بكتيريا باسيلس ثورينجينسيس Bacillus thuringiensis إذابة الفوسفات المعدنية غير الذائبة، وتنتج هذه البكتيريا فى ذات الوقت أندول -٣- حمض الخليك، ويؤدى تلقيح التربة الزراعية بهذه البكتيريا إلى تشجيع نمو النباتات النامية وامتصاص عنصر الفوسفور وتنشيط نمو فطريات الميكوريزا فى التربة الزراعية كما هو الحال فى النوع جلومس ديزيرتيكولا Glomus deserticola. ويعتبر استخدام بكتيريا باسيلس ثورينجينسيس B. thuringiensis مع فطريات الميكوريزا AM كلقاح مركب للتربة الزراعية من البدائل الجيدة المطروحة لتقليل الضرر البيئى الناشئ عن استخدام الوسائل الكيماوية للتسميد الفوسفاتى ومكافحة الميكروبات الممرضة.

ويساعد استخدام طرق تسكين immobilization الميكروبات فى تحسين خصائص ميكروبات المكافحة الحيوية المذيبة للفوسفات مثل سهولة التداول والتطبيق ووقاية الخلايا الميكروبية من عوامل الإجهاد الحيوية وغير الحيوية وزيادة الكفاءة فى التربة الزراعية.

ويفيد غمس جذور نباتات الطماطم فى معلقات بكتيريا باسيلس ستلس Bacillus

subtilis وسيدوموناس فلوريسنس Pseudomonas fluorescens فى خفض أعداد فطر الفيوازريم اوكسيسبورم Fusarium oxisporum f.sp. lycopersici; Fol فى منطقة المحيط الجذرى للنبات وتحسين المحصول بدرجة كبيرة بما تنتجه هذه الفطريات من أحماض، ويعتقد أن الأحماض العضوية التى تنتجها هذه البكتيريا إلى جانب بعض المواد الأيضية ذات الطبيعة التضادية مثل بلبايفورمين bulbiformin وفينازين phenazin تثبط الإصابة الفطرية للنبات.

ومن المعروف أن الميكروبات المذيبة للفوسفات هى تلك الكائنات التى تمتلك المقدرة على إنتاج الأحماض العضوية أو البروتونات، أى هى تلك الكائنات التى تقلل تركيز الأس الهيدروجينى pH للوسط البيئى المحيط، ومن المقبول أن للأحماض العضوية خصائص عوامل المكافحة الحيوية من خلال وظائفها التى تشبه حوامل الحديد، ومن الثابت علميًاأن بعض الميكروبات تطلق أحماضًاعضوية استجابة لنقص الحديد فى وسط نموها كما هو الحال فى بكتيريا تثبيت النيتروجين برادى ريزوبيوم جابونيكم Bradyrhizobium japonicum.

وتظهر الفطريات الخيطية مثل بعض أنواع جنس ترايكودرما Trichoderma – والتى تدخل ضمن عوامل المكافحة الحيوية – تشجيعًالنمو كثير من النباتات الهامة، فالسلالة ترايكودرما هارزيانم T. harzianum T-22 تذيب صخر الفوسفات بآليات أخرى غير إفراز الأحماض العضوية مثل العمليات الاختزالية reduction وعمليات الخلب chelation كما تلعب دورًاهامًافى المكافحة الحيوية للميكروبات الممرضة للنبات، كذلك تظهر كثير من الفطريات الخيطية المذيبة للفوسفات نشاطًاتضاديًاتجاه فطر فيوازريم اوكسيسبورم Fusarium oxisporum f.sp. lycopersici; Fol المسبب لذبول wilt نباتات الطماطم.

ويؤدى غمس جذور شتلات الطماطم فى معلقات فطريات مثل أسبرجلس اوامورای Aspergillus awamori وأسبرجلس نيجر A. niger وبينيسيليم ديجتاتم Penicillium digtatum إلى خفض أعداد فطر فيوزاريم اوكسيسبورم F. oxisporum f.sp. Lycopersici; Fol فى منطقة المحيط الجذرى للنبات، وتحسين محصول النبات بدرجة كبيرة بما تنتجه هذه الفطريات من أحماض.

ويساعد تدعيم التربة الزراعية بمخلفات بنجر السكر المزودة بصخر الفوسفات والتى تم تخميرها بأسلوب التخمر الصلب solid-state fermentation بواسطة سلالة أسبرجلس نيجر Aspergillus niger منتجة للأحماض العضوية وحوامل الحديد فى تشجيع نمو النباتات وتثبيط فطر فيوزاريم اوكسيسبورم F. oxisporum f.sp. Lycopersici; Fol، وبصفة خاصة عند التلقيح بفطريات الميكوريزا مثل فطر جلومس ديزرتيكولا G. deserticola.

وينتج فطر بينيسيليم فاريابل Penicilium variable عدد من المواد ذات النشاط التضادى للميكروبات، كما يذيب الفوسفات غير العضوية، وينتج إنزيم الجلوكوز أوكسيديز فى وجود السكريات العديدة ذات الأصل النباتى، والتى تعمل كمنشطات للنظم الدفاعية فى الفطر الخيطى، ويلعب إنزيم الجلوكوز أوكسيديز دور هام فى عملية التضاد الحيوى فى التربة الزراعية.

وتلعب بعض الفطريات المذيبة لصخر الفوسفات من خلال إطلاقها لمواد أيضية تخلب المعدن دورًاهامًافى المكافحة الحيوية، كما هو الحال فى تثبيط فطريات فانيروكيتا كريزوسبوريم Phanerochaete chrysosporium وبانس تيجرينس Panus tigrinus لفطر فيوزاريم اوكسيسبورم Fusarium oxysporum.

وتفرز الفطريات الخيطية المذيبة للفوسفات عدد من الإنزيمات المحللة للجدر الخلوية للفطريات الممرضة مثل إنزيمات بيتا – ١، ٣ – جلوكانيز والسليوليز والبروتييز والكيتينيز، وقد لفت إنزيم الكيتينيز الميكروبى الاهتمام فى مكافحة الفطريات الممرضة للنبات والآفات الحشرية.

❖الميكوريـزا:

تتعاون فطريات الميكوريزا مع جذور النباتات الراقية، فتقوم هذه الفطريات بعمل الشعيرات الجذرية على الجذور إذ تساعد النبات على امتصاص الغذاء والماء، وتنال فطريات الميكوريزا قبولًاخاصًابين ميكروبات المكافحة الحيوية حيث تقوى من المقاومة ضد الميكروبات الممرضة المسببة للذبول وعفن الجذور عن طريق تحسين الحالة الغذائية للنبات العائل وإطلاق بعض المواد غير المتخصصة، وتستخدم فطريات الميكوريزا فى مكافحة مسببات الأمراض المحمولة فى التربة الزراعية.

ومن المعروف عن فطريات الميكوريزا أنها تنشأ بينها وبين معظم النباتات علاقة مفيدة، حيث تفيد فى تغذية النبات بتسهيل امتصاص عنصر الفوسفور بواسطة النباتات من خلال هيفات الميكوريزا والتى تخترق التربة الزراعية إلى حوالى ١٠ سنتيمتر، وتذيب فطريات الميكوريزا الفوسفات المعدنية غير الذائبة، وتؤثر فطريات الميكوريزا على الميكروبات الممرضة بشكل غير مباشر وذلك من خلال التغذية المحسنة أو الفسيولوجى المعدل للعائـل.

ويعتبر تزايـد أيض الفينـول فى جذور النباتات جزء من الميكانيكية الداخلة فى النباتات المصابة بفطريات الميكوريزا من النوع arbuscular mycorrhizal (AM) fungi، وتسبب فطريات الميكوريزا AM تراكم الفيتوالكسينات والفلافونيدات والأيزوفلافونيدات فى جذور النبات العائل، بالترافق مع تلجنن الأندودرمس وتحسين مقاومة النباتات المصابة بالميكوريزا لهجوم الميكروبات الممرضة، ومن ناحية أخرى، قد يرجع الأداء الفقير للممرضات إلى التنافس بين الممرضات وفطريات الميكوريزا AM على المواد الأيضية للنبات، ومواقع الإصابة، ومع أن المسببات المرضية من الفطريات تقلل من فرص استيطان فطريات الميكوريزا AM للجذور، فإن فطريات الميكوريزا تقى النبات عن طرق إفراز الإنزيمات المحللة التى تدخل بشكل مباشر فى تنظيم عملية التكافل.

وتتفاعل فطريات الميكوريزا مع البكتيريا والفطريات وغيرها من الكائنات الحية المتعايشة مع النبات، كما تؤثر فى التفاعلات الحادثة بين العائل وهذه الميكروبات، وينتج عن التصاحب المتوافق بين العائل وفطريات الميكوريزا AMF تحسين إنتاجية المحاصيل من خلال تيسير عنصر الفوسفور، ومنع أو مكافحة الأمراض التى تصيب النباتات والحادثة بواسطة الميكروبات الممرضة المحمولة فى التربة الزراعية، ويساعد تلقيح التربة بفطريات ميكوريزا AMF نشطة ومتنوعة فى مكافحة الميكروبات الممرضة للنبات بتحسين قوة النبات.

وتتراوح المكافحة الناجحة للأمراض بواسطة فطريات الميكوريزا AMF بين حدوث تثبيط أو استبعاد للمرض أو مقاومة المرض بواسطة العائل النباتى.

وتقاوم فطريات الميكوريزا AMF الإصابة بفطر فيوزاريم اوكسيسبورم Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici، ويرجع تقليل فطريات الميكوريزا للإصابة بأمراض

الذبول إلى زيادة ترسيب اللجنين فى جدر الخلايا النباتية كنتيجة لاستيطان colonization الميكوريزا والذى يحد من انتشار الميكروبات الممرضة.

ويعتبر استعمال لقاح ميكروبى مختلط من فطر الميكوريزا جلومس فاسيكيولاتم G. fasciculatum وفطر تريكودرما هارزيانم T. harzianum فعال بدرجة كبيرة فى مكافحة مرض ذبول البادرات الحادث بواسطة فطر بيثيم افانيدرماتم Pythium aphanidermatum فى نباتات الطباق، ومرض الساق الأسود الذى يسببه فطر فيتوفثورا باراسيتيكا Phytophthora parasitica var. nicotianae فى نفس النبات.

وتقضى فطريات جلومس فاسيكيولاتم G. fasciculatum وجيجاسبورا مارجاريتا Gigaspora margarita واكايلوسبورا لافيز Acaulospora laevis وسكليروسيستيز دسياى Sclerocystis dussii على فطر سكليروتيم رولفسياى Sclerotium rolfsii فى نباتات الفول السودانى.

وهناك علاقة عكسية بين عملية استيطان فطر الميكوريزا جلومس اتيونيكاتم G. etunicatum لأصناف نباتات البيجونيا وشدة مرض البياض الدقيقى الذى يسببه الفطر الأسكى اويديم بيجونيا Oidium begoniae.

ويؤدى تلقيح نباتات الفراولة بلقاحات فطر الميكوريزا جلومس فاسيكيولاتم G. fasciculatum أو فطر جلومس موسيا G. mosseae مع إضافة 60-90 كيلو جرام فوسفور للهكتار فى السنة إلى تقليل الإصابة بمرض اللفحة البكتيرية الذى تسببه بكتيريا سيدوموناس سيرنجى Pseudomonas syringae pv. mori، ويمنع فطر جلومس موسيا G. mosseae إصابة بكتيريا سيدوموناس سيرنجى P. syringae لنبات فول الصويا، كما يقلل فطر جلومس ماكروكاريم G. macrocarpum من إصابة بكتيريا سيدوموناس لاكرايمانس P. lacrymans لبعض الخضروات مثل الباذنجان والخيار دون تأثير إيجابى على نمو ومحصول هذه النباتات بما يشير إلى مقاومتها لهذه البكتيريا الممرضة كآلية محتملة للمقاومة الحيوية.

وهناك عوامل إضافية تؤثر فى أنشطة فطريات الميكوريزا فى مجال المكافحة الحيوية، وتشمل هذه العوامل الإنتاج الضخم من لقاحات الميكوريزا للاستخدامات الحقلى، وتكنولوجيا التلقيح، وتنافس فطريات الميكوريزا الخارجية.

ومن الممكن تحسين فعالية فطريات الميكوريزا كعناصر للمكافحة الحيوية بأخذ

العوامل المؤثرة فى كفاءتها وتنافسها وبقاءها فى الاعتبار، ويمثل تنوع فطريات الميكوريزا أهم العوامل المؤثرة فى أداء فطريات الميكوريزا المتواجدة بشكل طبيعى تحت الظروف الحقلية لوظيفتها فى مجال المكافحة الحيوية للميكروبات الممرضة للنبات، ويتأثر أداء فطريات الميكوريزا لوظائفها والوصول إلى الفائدة المرجوة منها بنوع العائل ودورة المحصول واستخدام الأسمدة ومبيدات الآفات الكيماوية والميكروبات المتعايشة معها.

❖المراجـع:

Braun-Kiewnick, A., B.J. Jacobsen D.C. Sands (2000). Biological control of Pseudomonas syringae pv. syringae, the causal agent of basal kernel blight of barley, by antagonistic Pantoea agglomerans. Phytopathology, 90: 368- 375.

Dey, R., K.K. Pal, D.M. Bhatt and S.M. Chauhan (2004). Growth promotion and yield enhancement of peanut (Arachis hypogaea L.) by application of plant growth-promoting rhizobacteria. Microbiol. Res. 159:371– 394.

Fenice, M., L. Selbmann, F. Federici and N. Vassilev (2000). Application of encapsulated Penicillium variabile P16 in solubilization of rock phosphate. Biores. Technol. 73:157–162.

Gerhardson, B. (2002). Biological substitutes for pesticides. Trends Biotechnol. 20:338 – 343.

Jeffries, P., S. Gianinazzi, S. Perotto and K. Turnau (2003). The contribution of arbuscular mycorrhizal fungi in sustainable maintenance of plant health and soil fertility. Biol. Fertil. Soils 37:1–16.

Johansson, J., L.R. Paul and R.D. Finlay (2004). Microbial interactions in the mycorrhizosphere and their significance for sustainable agriculture. FEMS Microbiol. Ecol. 1:1–13.

Khan, M.R. and S.M. Khan (2001). Biomanagement of Fusarium wilt of tomato by the soil application of certain phosphate-solubilizing microorganisms. Int. J. Pest Manag. 47:227 – 231.

Khan, M.R. and S.M. Khan (2002). Effect of root-dip treatment with certain phosphate-solubilizing microorganisms on the Fusarium wilt of tomato. Biores. Technol. 85:213 – 215.

Krause, M.S., T.J.J. DeCeuster, S.M. Tiquia, F.C. Jr. Michel, L.V. Madden and H.A.J. Hoitink (2003). Isolation and characterization of rhizobacteria from composts that suppress the severity of bacterial leaf spot of radish. Phytopathology 93: 1292 – 1300.

Kulkarni, S.A., S. Kulkarni, M.N. Sreenivas and S. Lulkarni (1997). Interaction between vesiculararbuscular (VA) mycorrhizae and Sclerotium rolfsii Sacc. in groundnut. Karnataka J. Agric. Sci. 10:919 – 912.

Li, S.L., S.J. Zhao, I.Z. Zhao, S.L. Li, S.J. Zhao and L.Z. Zhao (1997). Effects of VA mycorrhizae on the growth of eggplant and cucumber and control of diseases. Acta Phytophylact. Sin. 24:117 – 120.

Montesinos, E., A. Bonaterra, E. Badosa, J. France´s, J. Alemany, I. Llorente and C. Moragrega (2002). Plant-microbe interactions and the new biotechnological methods of plant disease control. Int. Microbiol. 5: 169 – 175.

Vassilev, N., I. Nikolaeva and M. Vassileva (2005). Biocontrol properties of microbially-treated sugar beet wastes in presence of rock phosphate. J. Biotechnol. 118S1:S177.

Vassilev, N.; M. Vassileva and I. Nikolaeva (2006). Simultaneous P-solubilizing and biocontrol activity of microorganisms: potentials and future trends. Appl. Microbiol. Biotechnol. 71: 137 – 144.

Woo, S., V. Fogliano, F. Scala and M. Lorito (2002). Synergism between fungal enzymes and bacterial antibiotics may enhance biocontrol. Antonie Van Leeuwenhoek, 81: 353- 356.

الفصل الخامس
الكومبوست ومستخلصاته

ثمة ضغوط زائدة فى كل أنحاء العالم تقريبًالترشيد استخدام مبيدات الآفات الكيماوية إلى أدنى مستوى ممكن بعد أن أدرك عالم اليوم الأضرار الجمة لاستخدام هذه الكيماويات والتى تتمثل فى ظهور ميكروبات وآفات ممرضة مقاومة لها، والتلوث البيئى الناشئ عنها، وهدمها لكثير من التوازنات الطبيعية، إلا أنه فى المقابل هناك ضرورة ملحة للحفاظ على كمية المحصول لتوفير احتياجات السكان المتزايدة من الغذاء والكساء، إلى جانب الحفاظ على جودة المحصول من أجل المنافسة فى الأسواق المحلية والعالمية.

وفى الوقت الراهن هناك حاجة ماسة لإيجاد مداخل مستدامة لمكافحة أمراض النبات فى الزراعة العضوية والزراعة التقليدية، ويعتبر استخدام الكومبوست compost (السماد العضوى الصناعى) ومستخلص الكومبوست compost extract وشاى الكومبوست compost tea أحد هذه المداخل حيث يعمل على تثبيط الأمراض، وفى الوقت الذى لا يعتبر مستوى التثبيط للأمراض النباتية كافى تحت ظروف الزراعة التقليدية، ففى الزراعة العضوية حيث خيارات المكافحة محدودة تعتبر مكافحة الأمراض جزئيًاتطور هام. ويساعد استخدام الكومبوست ومستخلصاته فى تحسين خصائص وصحة التربة الزراعية من خلال إثراؤها بالعناصر السمادية والمكافحة للآفات والمسببات المرضية المختلفة.

وهناك أدلة فى حالات قليلة على أن استعمال الكومبوست ومستخلصاته كأدوات للمكافحة الحيوية قد يعادل وربما يكون أفضل من استخدام مبيدات الآفات الكيماوية ذاتها، كما هو الحال فى مكافحة الأمراض المحمولة فى التربة الزراعية مثل أعفان الجذور التى تسببها أفراد من جنس بيثيم Pythium وجنس فيتوفثورا Phytophthora ومرض الذبول الذى يسببه فطر ريزوكتونيا Rhizoctonia، ويتم فى كثير من الحالات إثراء الكومبوست بعوامل للمكافحة الحيوية إضافة إلى ما يحتويه أصلًامن ميكروبات مفيدة، ومن الميكروبات المعتاد إضافتها أنواع جنس التريكودرما Trichoderma spp والنوع

باسيلس ستلس Bacillus subtilis ، ويتم ذلك أثناء أو على الفور بعد بلوغ الحرارة ذروتها في الكومة السمادية لكى تتكاثر وتنتشر الميكروبات المحبة لدرجات الحرارة المتوسطة الأخرى، ويؤدى التعرض للحرارة أثناء مرحلة الحرارة المرتفعة من تصنيع الكومبوست إلى قتل الميكروبات الممرضة والمفيدة أيضًاوالتى لا تستطيع مقاومة الحرارة المرتفعة، ولكى يمكن استخدام الكومبوست فى المكافحة الحيوية ورفع تأثيره فى هذا الخصوص يجب إعادة إثراؤه بميكروبات مفيدة معينة سواء من البكتيريا أو الفطريات بقصد الوصول إلى مستويات تثبيط معقولة للميكروبات الممرضة عند إضافة الكومبوست إلى التربة، على أى حال ففى معظم الحالات المستخدم فيها الكومبوست ومستخلصاته فى مكافحة الآفات والأمراض تكون النتيجة أقل من تلك التى يطمح فيها المزارعون فى المكافحة الحيوية.

ميكانيكيات المكافحة الحيوية باستخدام الكومبوست ومستخلصاته:

تتضمن آلية تثبيط الأمراض باستخدام الكومبوست ومستخلصاته حث للمقاومة فى النبات، وتظهر أهمية هذه الآلية فى مكافحة الأمراض التى تصيب المجموع الخضرى للنبات بصفة خاصة، إذ تقل شدة مرض البياض الدقيقى على سبيل المثال للحصر فى محاصيل الغلال الهامة كالقمح فى الأراضى الزراعية المسمدة بالكومبوست، كذلك يحث الكومبوست المقاومة فى الخضروات كالخيار ضد مرض عفن الجذور الذى يسببه البيثيم Pythium والأنثراكنوز anthracnose الذى يسببه فطر كوليتوتريكم اوربيكيولير Colletotrichum orbiculare. ويحد رش مستخلص الكومبوست من أعراض مرض التبقع البكتيرى ومن أعداد بكتيريا سيدوموناس سيرينجى Pseudomonas syringae pv. maculicola فى نبات Arabidopsis thaliana.

وقد يرجع تأثير الكومبوست أو مستخلصاته إلى التأثير التضادى المباشر للميكروبات الممرضة حيث تتنافس ميكروبات الكومبوست المفيدة مع الميكروبات الممرضة للجذر على الطاقة والمواد الغذائية أو المكان ومن ثم تقلل من فرص بقاء الميكروبات الممرضة، كما تتطفل على الميكروبات الممرضة للجذر.

وهناك تثبيط متخصص يحدث عند إفراز بعض المواد الأيضية السامة للممرضات أو عندما تتطفل ميكروبات متخصصة على الممرضات، كما تفرز كثير من ميكروبات الكومبوست من

أفراد أجناس سيدوموناس Pseudomonas وجليوكلاديوم Gliocladium وتريكودرما Trichoderma وستربتوميسيتس Streptomycetes إنزيمات قادرة على تحطيم هذه المركبات وقتل الممرضات فى العملية، وهذه الميكروبات المتخصصة توجد بصورة طبيعية فى الكومبوست أو تضاف كما أسلفنا.

ويتحسن نشاط إنزيم بيتا-١و٣- جلوكانيز β-1,3-glucanase فى نباتات الخضروات كالخيار النامى فى تربة مدعمة بكومبوست والمحتوية على فطر Colletotrichum orbiculare المسبب لمرض الأنثراكنوز.

ويعتمد تأثير الكومبوست ومستخلصاته فى المكافحة البيولوجية للممرضات على عدد من العوامل لعل أهمها مايلى:

١- كمية الكومبوست المستخدمة.

٢- شدة المرض.

٣- خصائص العائل.

❖ماهية الكومبوست؟

تعنى كلمة كومبوست السماد العضوى الصناعى المحضر بالتخمير الميكروبى لبعض المخلفات الصلبة النباتية أو الحيوانية، وإنتاج الكومبوست عملية ميكروبيولوجية بالدرجة الأولى حيث تلعب الكائنات الحية الدقيقة الدور الرئيسى فى إنتاجه، من خلال تحليل وتحويل المخلفات الداخلة فى تجهيز الكومبوست لصورة ثابتة ونظيفة وشبه دبالية وذات حجم مختزل وهى الصورة المنتج عليها الكومبوست وهى صورة مأمونة يمكن إدخالها إلى النظم البيئية مرة أخرى.

وتنطوى عملية تصنيع سماد الكومبوست على نشاط ميكروبى مكثف مؤداه تحليل معظم المواد القابلة للتحليل، وعملية تصنيع الكومبوست هى عملية ميكروبيولوجية بالأساس تتضمن تحليل كامل أو جزئى لعدد من المركبات الكيميائية بواسطة مجموعة من الميكروبات، ويحتاج إنتاج الكومبوست إلى تنوع ميكروبى كبير، حيث يدخل فى عملية إنتاجه ميكروبات هوائية متعددة من الميكروبات المحبة لدرجات الحرارة المتوسطة، والمحبة لدرجات الحرارة المرتفعة، والمقاومة لدرجات الحرارة المرتفعة، وتشمل هذه الميكروبات البكتيريا والأكتينوميسيتات والفطريات والخمائر.

ويؤدى دخول الكومبوست إلى التربة الزراعية إلى زيادة خصوبتها بما تثبته هذه الميكروبات من نيتروجين وبما تذيبه من فوسفات وبما تؤكسده من كبريت، كما تحسن تركيب التربة بما تفرزه من سكريات عديدة، ويساعد تعريف وتوصيف الميكروبات السائدة فى الكومبوست فى فهم الآلية التى يثبط بها سماد الكومبوست الميكروبات الممرضة للنبات.

وتحتاج المكافحة الحيوية إلى مصادر من المواد الغذائية العضوية لاستدامة أنشطة عوامل المكافحة البيولوجية من الميكروبات، ويساعد استخدام الأوساط المدعمة بالكومبوست فى تحقيق مكافحة بيولوجية مستدامة للفطريات الممرضة فى التربة مثل البيثيم Pythium والفيتوفثورا Phytophthora والريزوكتونيا Rhizoctonia والفيوزاريم Fusarium، ويتم إنتاج الكثير من نباتات الخضروات والزينة والنباتات الطبية والعطرية بنجاح فى الأوساط المدعمة بالكومبوست كآلية مستحدثة للمبيدات الحيوية biocides. ولا يحتوى الكومبوست على التنوع المطلوب من عوامل المكافحة الحيوية واللازم لتثبيط مدى كبير من الكائنات الممرضة، ولذلك فمن المهم إثراء الكومبوست بميكروبات المكافحة الحيوية.

وتوجد ثلاثة أنواع من التخصص للمكافحة البيولوجية فى المواد المدعمة بالكومبوست وهى:

تحدث عملية التثبيط بصفة عامة لأنواع الفطريات من جنسى بيثيم Pythium وفيتوفثورا Phytophthora بواسطة أنواع كثيرة من عوامل المكافحة البيولوجية - وبصفة خاصة - السلالات البكتيرية التابعة لأنواع أجناس سيدوموناس Pseudomonas وبانتويا Pantoea وباسيلس Bacillus.

يعتبر التثبيط المتخصص هام فى المكافحة البيولوجية لفطر ريزوكتونيا سولانى Rhizoctonia solani وفطر سكليروتيم رولفسياى Sclerotium rolfsii من خلال إضافة العوامل المتخصصة بعد ذروة التسخين بمرحلة الحرارة المرتفعة فى عملية الكمر الهوائى، وقبل زيادة أعداد الميكروبات المحبة لدرجات الحرارة المتوسطة.

ترتبط المقاومة المحثة induced systemic resistance (ISR) بالميكروبات فى الكومبوست المضاف إلى مناطق الجذور والذى يحث المقاومة للأمراض التى تصيب الأوراق، وتستطيع أنواع عديدة من ميكروبات الريزوسفير مثل أنواع فطر التريكودرما Trichoderma والنوع بانتويا اجلوميرانس Pantoea agglomerans أن تحث المقاومة، لكن أقل من ١٠٪ من إضافات الكومبوست ينتج عنها مقاومة محثة.

وللمكونات العضوية مثل الكومبوست ثلاثة أطوار لنشاط المكافحة البيولوجية وهى:

الطـور الأول:

لا يؤدى التدعيم بكومبوست غير ناضج أو غير ثابت إلى توفير غذاء لعناصر المكافحة الحيوية فحسب بل أنه يدعم أيضًامسببات أمراض النبات ذات المقدرة الترممية أو التنافسية العالية وقد يؤدى إلى زيادة فى المرض.

الطـور الثانى:

يتميز استخدام الكومبوست بتثبيط المرض لأن المكون العضوى يحتوى على أعداد كبيرة من ميكروبات التربة والتى لا تستطيع الميكروبات الممرضة أن تتنافس معها بفعالية على الغذاء.

الطـور الثالث:

يحدث فقد لنشاط المكافحة البيولوجية عندما تبدأ المادة العضوية فى أن تصبح دبالية وعندما تصبح المواد الغذائية العضوية بالتربة محدودة لعناصر المكافحة الـ يويه.

ويوضح جدول (٧-٧) أمثلة لبعض الأمراض الهامة والميكروبات المسببة لها فى بعض المحاصيل والتى يتم تثبيطها إلى حد ما عقب إضافة الكومبوست إلى التربة الزراعية.

جدول(٧-٧) تثبيط بعض الأمراض التى تصيب النباتات عقب إضافة الكومبوست.

المرض والميكروب الممرض المستهدف	المحصول	المادة الأساسية بالكومبوست
الأعفان:		
Fusarium solani f. sp. phaseoli	الفول	مخلفات مصانع البيرة
Phytophthora cinnamomi	الترمس الأبيض	سماد الدواجن
Phytophthora nicotianae var. nicotianae	الطماطم	سماد الماشية
Mycosphaerella pinodes	البسلة	مخلفات المطابخ والحدائق
Pythium macrosporum	Iris xyphium	مخلفات نباتية
Pythium graminicola	Creeping bentgrass	القش وأوراق الأشجار
Rhizoctonia solani	الفول	حمأة المجارى ونشارة الخشب
Pythium ultimum	الفول	مخلفات مصانع البيرة والقمامة المنزلية
Rhizoctonia solani	البسلة	مخلفات عش الغراب
Thielaviopsis basicola	الفول	مخلفات مصانع البيرة

Aphanomyces euteiches	البسلة	حمأة المجارى ونشارة الخشب

تابع جدول(٧-٧)

المرض والميكروب الممرض المستهدف	المحصول	المادة الأساسية بالكومبوست
Fusarium oxysporum f. sp. radicis-cucumerinum	الخيار	مخلفات ماشية اللبن
Macrophomina phaseolina	clusterbean	مخلفات نباتية وروث البقر
Macrophomina phaseolina	الفول	مخلفات عيش الغراب
Phytophthora capsici	الفلفل	حمأة المجارى ونشارة الخشب
Rhizoctonia solani	بنجر السكر	مخلفات نباتية
Sclerotium cepivorum	البصل	مخلفات البصل
الأنثراكنوز:		
Colletotrichum coccodes	الطماطم	مخلفات معامل التعليب
Colletotrichum orbiculare	الخيار	قلف أشجار الصنوبر
الذبول:		
Fusarium oxysporum f. sp. dianthi	Dianthus caryophyllus	مخلفات نباتية
Fusarium oxysporum f. sp. lini	الكتان	مخلفات عيش الغراب
Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici	الطماطم	مخلفات نباتية وروث الحيوانات
Fusarium oxysporum f. sp. melonis	البطيخ	حمأة المجارى ونشارة الخشب
clubroot		
Plasmodiophora brassicae	الكرنب	سماد الماشية
البقعة البكتيرية:		
Pseudomonas syringae pv. maculicola	arabidopsis	قلف الصنوبر
التساقط:		
Pythium aphanidermatum	الخيار	حمأة المجارى ونشارة الخشب
Pythium irregulare	الخيار	أوراق الأشجار
Pythium irregulare	الخيار	حمأة المجارى ونشارة الخشب
Pythium myriotylum	الخيار	سماد الماشية ونشارة الخشب
Pythium ultimum	البسلة	حمأة المجارى
Pythium ultimum	البنجر	سماد الماشية وقلف الأشجار
Pythium ultimum	الخيار	مخلفات الأسماك والبيتموس ونشارة الخشب
Pythium ultimum	الخيار	حمأة المجارى ونشارة الخشب

تابع جدول (-٧)

المرض والميكروب الممرض المستهدف	المحصول	المادة الأساسية بالكومبوست
Rhizoctonia solani	الفجل	مخلفات المجارى ونشارة الخشب
Rhizoctonia solani	القطن	حمأة المجارى ونشارة الخشب
Rhizoctonia solani	الخيار	القمامة المنزلية ومخلفات المجارى
القشرة السوداء		
Rhizoctonia solani	البطاطس	مخلفات الماشية
Lettuce drop		
Sclerotinia minor	الخس	مخلفات المجارى ونشارة الخشب
اللفحة:		
Sclerotium rolfsii	الطماطم	مخلفات محالج القطن
البياض:		
Sphaerotheca fuliginea	الخيار	سماد الخيول والقش
Erysiphe graminis f. sp. Hordei	الشعير	القش وسماد الخيل
الذبول الوعائى:		
Verticillium dahliae	البطاطس	مخلفات زراعة عيش الغراب

❖ماهية مستخلص وشاى الكومبوست؟

يحضر شاى الكومبوست بنقع سماد كومبوست ذات جودة عالية فى الماء لفترة معينة تحت ظروف تهوية جيدة، ويعرف الراشح بشاى الكومبوست، أو شاى الكومبوست المهوى، وإذا تم الاستخلاص بدون تهوية فيعرف الناتج حينئذ بمستخلص الكومبوست أو الشاى العضوى، أو مستخلص الكومبوست المائى المخمر، أو المستخلصات المدعمة، أو منقوع الكومبوست.

ويستعمل شاى الكومبوست رشًاعلى النباتات على هيئة رذاذ ورقى، وقد تضاف جرعات منه إلى التربة على حسب طبيعة المشاكل التى يعانى منها النبات النامى، واستخدام شاى الكومبوست يزيد الاستفادة من منافع الكومبوست لأقصى درجة ممكنة.

ويؤدى رش مستخلص الكومبوست على النباتات النامية إلى زيادة كمية العناصر الغذائية المتاحة للنبات فى التربة الزراعية، وزيادة نمو النبات وأعداد وأنواع الميكروبات النافعة بالتربة، وتثبيط مسببات الأمراض النباتية مثل الكثير من الأعفان الفطرية، وطرد ومقاومة

بعض الآفات الحشرية والحد من أضرارها، والإسراع من هدم السموم، ومن ناحية أخرى يفيد استخدام مستخلص الكومبوست فى زيادة الجودة الغذائية، وتحسين نكهة الخضروات والفواكه.

ويساعد مستخلص الكومبوست فى منع أو مكافحة عدد كبير من الأمراض التى تصيب أوراق النباتات سواء فى الزراعات المحمية أو فى الحقل من المحاصيل التى يأكلها الإنسان أو النباتات الطبية والعطرية، وهناك تركيز خاص فى الزراعة العضوية فى مكافحة عدد كبير من الأمراض بهذه الطريقة مثل تبقعات الأوراق واللفحات البكتيرية والفطرية والعفن الرمادى وجرب التفاح وأمراض البياض الزغبى والدقيقى.

ويحتوى مستخلص الكومبوست على مجتمع ميكروبى غاية فى التنوع، وتعمل الميكروبات المفيدة الموجودة بهذا المستخلص ضد الميكروبات الممرضة للنبات من خلال عدة ميكانيكيات مختلفة تشمل حث مقاومة النبات النامى للأمراض، واستهلاك الميكروبات الضارة، وإنتاج المواد الأيضية المثبطة لها، والتنافس معها على الغذاء والمكان، وتحليل جراثيم الفطريات الممرضة كالفيوزاريم Fusarium.

ويحث مستخلص الكومبوست تفاعلات الاستجابة الدفاعية للنبات، ويظهر ذلك فى زيادة تكوين الـ papillae والتلجنن وتفاعلات الموت الموضعى necrotic.

وتساعد آلية التضاد الحيوى فى تثبيط إنبات جراثيم الفطريات الممرضة، وقد يكون مصدر بعض المواد الأيضية بشاى الكومبوست والمفيدة فى المكافحة الحيوية – الكومبوست ذاته.

ويعتبر المجتمع الميكروبى بشاى الكومبوست من أهم العوامل أهمية فى تثبيط أمراض النبات، وذلك من حيث تركيب هذا المجتمع بشاى الكومبوست وكيف تقاوم ميكروباته على سطوح النباتات النامية.

ويؤثر العديد من خطوات تصنيع شاى الكومبوست على قدرة الشاى على تثبيط الأمراض النباتية مثل الكومبوست المستخدم والتهوية ونسبة الماء إلى الكومبوست ووقت التخمير والمواد الغذائية المضافة ودرجة الحرارة وتركيز الأس الهيدروجينى pH وغيرها.

ويؤثر الكومبوست المستخدم فى تحضير شاى الكومبوست من حيث نوعية المخلفات الداخلة فى تصنيعه ومدى نضجه على قدرته على تثبيط المسببات المرضية، ويجب أن يخلو

شاى الكومبوست من الميكروبات الممرضة للإنسان ومن بقايا مبيدات الحشائش، ويعتبر ثبات الكومبوست المستخدم فى تصنيع الشاى بذات أهمية فى هذا المجال.

وتؤثر نسبة الكومبوست إلى الماء على قدرة شاى الكومبوست التثبيطية، وبصفة عامة يفضا تخفيف المستخلص الجاهز للرش بنسبة ١: ١٠ عن تخفيف ونسبة التخمير الأولى لأن النسبة الأولية تؤثر على معدل استنزاف الأكسجين أثناء التخمير.

وتتباين القدرة التثبيطية لشاى الكومبوست بشكل كبير على أساس وقت تخميره، ويتراوح هذا الوقت بين يوم واحد إلى أكثر من أسبوعين، وبصفة عامة تزداد عملية تثبيط الأمراض بزيادة وقت التخمير، وعمومًايجب تقدير وقت التخمير المثالى لكل نظام بمفرده (العائل النباتى – الميكروب الممرض – الكومبوست).

وفى العادة تضاف بعض المواد الغذائية كالمولاس والمواد العضوية والأملاح فى بداية عملية التخمير. ويؤثر تركيز الأس الهيدروجينى pH لمستخلص الكومبوست على نمو وتنوع المجتمع الميكروبى به ومن ثم يؤثر على كفاءته التثبيطية للأمراض، ومن المعروف عن البكتيريا أنها تنمو فى الأوساط المتعادلة أما الفطريات والخمائر فتنمو فى الأوساط الحامضية، ومن الممكن تعديل تركيز الأس الهيدروجينى لشاى الكومبوست أثناء إنتاجه عند تعريف الميكروب المستخدم فى المكافحة الحيوية حيث يساعد ذلك على إثراؤه بالميكروبات وإطالة فترة بقائها.

وتؤثر درجة حرارة التخمير على القدرة التثبيطية لشاى الكومبوست، وعادة تكون درجة حرارة التخمير بين ١٥–٢١°م، ومن الأفضل مجاراة درجة حرارة الوسط البيئى المستهدف إذ يقلل ذلك من الإجهاد الواقع على السلالات المستخدمة.

وتؤثر تقنيات التطبيق ووقت الاستخدام على كفاءة مستخلص الكومبوست فى تثبيط الأمراض النباتية.

ويوضح جدول (٧ – ٨) أمثلة لبعض الأمراض الهامة والميكروبات المسببة لهذه الأمراض فى بعض المحاصيل والتى تم تثبيطها إلى حد ما عقب إضافة مستخلص إلى التربة الزراعية.

جدول(٧-٨) تثبيط بعض الأمراض التى تصيب النباتات عقب إضافة مستخلص الكومبوست.

الميكروب الممرض المستهدف	المحصول	المادة الأساسية للكومبوست
اللفحة المبكرة		
Alternaria solani	الطماطم	روث الماشية
اللفحة الشمالية:		
Cochliobolus carbonum	الذرة	مخلفات عيش الغراب
اللفحة المتأخرة:		
Phytophthora infestans	البطاطس والطماطم	القش وسماد الخيل
لفحة الأوراق:		
Pseudopeziza tracheiphila	العنب	القش وسماد الخيل
لفحة الساق:		
Sphaeropsis sapinea	الصنوبر	مخلفات عيش الغراب
العفن الرمادى:		
Botrytis cinerea	الفول والخس والطماطم والفلفل والعنب والفراولة	مخلفات نباتية
التبقع الأسود:		
Diplocarpon rosae	الورد	مخلفات أشجار الفاكهة
البياض الدقيقى:		
Erysiphe betae	بنجر السكر	مخلفات عضوية
Erysiphe graminis f.sp. hordei	الشعير	القش وسماد الخيل
Leveillula taurica	الطماطم	مخلفات الماشية وتفل العنب
Sphaerotheca fuliginea	الخيار	القش ومخلفات الحيوانات
Sphaerotheca pannosa var. rosae	الورد	زرق الطيور
Uncinula necator	العنب	القش وسماد الخيل
البياض الزغبى:		
Plasmopara viticola	العنب	القش ومخلفات الحيوانات
Redcore:		
Phytophthora fragariae var. rubi	الفراولة	مخلفات نباتية
البقع البكتيرية:		
Xanthomonas vesicatoria	الطماطم	سماد الماشية ونشارة الخشب

Pseudomonas syringae pv. maculicola	Arabidopsis	قلف الصنوبر
الجرب:		
Venturia inaequalis	التفاح	القش وزرق الدواجن
Venturia inaequalis	التفاح	مخلفات عيش الغراب

❖المراجع:

Abbasi, P. A., J. Al-Dahmani, F. Sahin, H.A.J. Hoitink and S.A. Miller (2002). Effect of compost amendments on disease severity and yield of tomato in conventional and organic production systems. Plant Dis. 86(2): 156 – 161.

Al-Dahmani, J. H., P.A. Abbasi, S.A., Miller and H.A.J. Hoitink (2003). Suppression of bacterial spot of tomato with foliar sprays of compost extracts under greenhouse and field conditions. Plant Dis. 87(8): 913 – 919.

Aldahmani, J.H., P.A. Abbasi, F. Sahin, H.A.J. Hoitink and S.A. Miller (2005). Reduction of bacterial leaf spot severity on radish, lettuce, and tomato plants grown in compost-amended potting mixes. Can. J. Plant. Pathol. 27:186 –193.

Aryantha, I.P., R. Cross and D.I. Guest (2000). Suppression of Phytophthora cinnamomi in potting mixes amended with uncomposted and composted animal manures. Phytopathology 90(7): 775 – 782.

Borrero, C., J. Ordovas, N.I. Trillas and M. Aviles (2006). Tomato Fusarium wilt suppressiveness. The relationship between the organic plant growth media and their microbial communities as characterized by Biolog (R). Soil Biol. Biochem. 38:1631–1637.

Hoitink, H.A.J., M.S. Kraus and D.Y. Han (2001). Spectrum and mechanisms of plant disease control with composts. In: Stoffela PJ, Kahn BA (eds) Compost utilization in horticultural cropping systems. Lewis, Boca Raton, FL, pp 263 – 273.

Kannangara, T., R.S. Utkhede, J.W. Paul and Z.K. Punja (2000). Effects of mesophilic and thermophilic composts on suppression of Fusarium root and stem rot of greenhouse cucumber. Can. J. Microbiol. 46: 1021–1028.

Labrie, C., P. Leclerc, N. C^ot´e, S. Roy, R. Brzezinski, R. Hogue and C. Beaulieu (2001). Effect of chitin waste-based composts produced by twophase composting on two oomycete plant pathogens. Plant Soil 235: 27– 34.

Lievens, B., K. Vaes, J. Coosemans and J. Ryckeboer (2001). Systemic resistance induced in cucumber against Pythium root rot by source separated householdwaste and yard trimmings composts. Compost Sci. Utilization 9(3): 221 – 229.

Litterick, A.M., L. Harrier, P. Wallace, C. A. Watson and M. Wood (2004). The role of uncomposted materials, composts, manures, and compost extracts in reducing pest and disease incidence and severity in sustainable temperate agricultural and horticultural crop production—a review. Critical Reviews in Plant Sci., 23(6):453 – 479.

Lodha, S., S.K. Sharma and R.K. Aggarwal (2002). Inactivation of Macrophomina phaseolina propagules during composting and effect of composts on dry root-rot severity and on seed yield of clusterbean. Eur. J. Plant Pathol. 108: 253 – 261.

Noble, R. and E. Coventry (2005). Suppression of soil-borne plant diseases with composts: a review. Biocontrol Sci. Technol. 15:3 – 20.

Ntougias, S., K.K. Papadopoulou, G.I. Zervakis, N. Kavroulakis and C. Ehaliotis (2008). Suppression of soil-borne pathogens of tomato by composts derived from agro-industrial wastes abundant in Mediterranean regions. Biol. Fertil. Soils. 44:1081–1090.

Paplomatas, E.J., A.A. Malandrakis and P.A. Nektarios (2004). Compost management of brown patch disease in turfgrass. In: Nektarios PA (ed) Proceedings of the First International Conference on Turfgrass Management and Science for Sports Fields. Acta Horticulturae 661: 521–523.

Paplomatas, E.J., S.E. Tjamos, A.A. Malandrakis, A.L. Kafka and S.V. Zouvelou (2005). Evaluation of compost amendments for suppressiveness against Verticillium wilt of eggplant and study of mode of action using a novel Arabidopsis pathosystem. European J. Plant Pathol. 112: 183 – 189.

Postma, J., M. Montanari and P.H.J.F. van der Boogert (2003). Microbial enrichment to enhance the disease suppressive activity of compost. Eur J Soil Biol 39:157–163.

Scheuerell, S.J. (2002). Compost teas and compost-amended container media for plant disease control. Ph.D. Thesis. Oregon State University.

Scheuerell, S.J. and W.F. Mahaffee (2000). Assessing aerated and non-aerated watery fermented compost and Trichoderma harzianum T-22 for control of powdery mildew (Sphaerotheca pannosa var. rosae) of rose in the Willamette Valley, Oregon (abstract). Phytopathology 90(6S): 69.

Scheuerell, S.J. and W.F. Mahaffee (2002). Compost tea: Principles and prospects for plant disease control. Compost Sci. Utilization 10: 313 – 338.

Termorshuizen, A.J., E. van Rijn, D.J. van der Gaag, C. Alabouvette, Y. Chen, J. Lagerlof, A.A. Malandrakis, E.J. Paplomatas, B. Ramert, J. Ryckeboer, C. Steinberg and S. Zmora-Nahum (2006) Suppressiveness of 18 composts against 17 pathosystems: variability in pathogen response. Soil Biol. Biochem. 38:2461– 2477.

Vallad, G., L. Cooperb and R.M. Goodman (2003). Plant foliar disease suppression mediated by composted forms of paper mill residuals exhibits molecular features of induced resistance. Physiological and Molecular Plant Pathol. 63: 65 – 77.

Yogev, A., M. Raviv, Y. Hadar, R. Cohen and Katan (2006). Plant waste based composts suppressive to diseases caused by pathogenic Fusarium oxysporum. Eur. J. Plant Pathol. 116:267 – 278.

Zhang, W., W.A. Dick and H.A.J. Hoitink (1996). Compost-induced systemic acquired resistance in cucumber to Pythium root rot and anthracnose. Phytopathology 86:1066 – 1070.

Zhang, W., D.Y. Han, W.A. Dick, K.R. Davis and H.A.J. Hoitink (1998). Compost and compost water extract-induced systemic acquired resistance in cucumber and Arabidopsis. Phytopathology 88:450 – 455.

Zinati, G.M. (2005). Compost in the 20th century: a tool to control plant diseases in nursery and vegetable crops. HortTechnology 15: 61– 66.

كشف الأسماء العلمية للبكتيريا والفطريات

A

Acaulospora laevis 473
Acetobacter 410
Acetobacteraceae 410
Acinetobacter 164, 469
Acremonium strictum 285, 450
Acrostalagmus aphidum 193
Actinoplanes missouriensie 455, 457
Actinomycetales 410
Aerobacter aerogenes 77
Alcaligenes xylosoxidans 80
Agrobacterium 127, 133, 164
A. radiobacter 52, 54, 78, 131, 133, 388
A. radiobacter K84
A. radiobacter strain 1048 133
A. radiobacter strain G12 164
A. radiobacter strain K 1046 128, 132
A. rhizogenes 131, 133
A. tumefaciens 52, 54, 78, 128, 131, 133, 451
Alternaria 141, 146, 254, 424
A. cassiae 273, 274
A. crassa 273, 274
A. cucumarina 440
A. cuscutacidae 262, 265
A. destruens strain 059 275
A. eichhornia 273
A. eichhornia (Ae 5) 273
A. solani 452, 487
Amycolatopsis meditarranei 451
Anabena 109
Annulosporium nematogenum 283
Antennopsis 224
A. gallica 224
Aphanomyces 140
A. cochlioides
A. enteiches 257, 483
Arabidopsis thaliana 479
Armillaria
Armillari mellea 248
Arthrobotrys 284, 303
A. anchonia 297, 299
A. brochopaga 298, 303
A. conoides 290, 293, 303
A. dactyloides 299, 303, 453
A. ilicis 451
A. musiformis 294, 303
A. oligospora 283, 284, 291, 292, 294, 295, 303, 453
A. robustus 303
A. superba 303, 304
Aschersonia
Aschersonia aleyroidis 229
Aschersonia Mont. s. l. 223
Ascomycota 186, 265
Aspergillus 146, 181, 199, 237, 238, 240, 247, 424, 467
A. awamori 470

Amillaria 140
A. mellea 248
Amoebidium
A. parasiticum 212
Ampelomyces
A. quisqualis 251, 385
A. flavus 54, 199, 240, 241
A. flavus NRRL 22282 240
A. flavus strain AF36 241
A. niger 470, 471
A. parasiticus 199
Aureobasidium pullulans 441
A. brasilense LA 467
A. lipoferum 466
Azotobacter 139, 465, 466
A. vinelandii 466
B
B. pumilus 143, 411, 425, 426, 429, 458
B. pumilus GG34 143
B. pumilus QST2808 143, 144, 425
B. pumilus QST713 144
B. pumilus SE34 455
B. pumilus-INR7 426, 455
B. putida
B. putida strain 30 419
B. putida strain 82 419
B. sotto 87
B. sphaericus 77, 116, 117, 118, 388
B. subtilis 78, 129, 138, 145, 146, 147, 169, 419, 420, 423, 427, 429, 454, 455, 458, 469, 478
B. subtilis A13 423
B. subtilis AU195 54
B. subtilis BBG100 54
B. subtilis CBE4 419
B. subtilis GB03 145, 417, 423, 424, 425, 426
B. subtilis GB07 423
B. subtilis IN937b 455
B. subtilis LS213 429
B. subtilis MB1600 145, 425
B. subtilis QST713 54, 147, 425
Bacillus 76, 83, 89, 142, 143, 145, 146, 163, 164, 169, 172, 410, 436, 456, 469, 481
B. amyloliquefaciens 417
B. amyloliquefaciens FZB42 54
B. amyloliquefaciens GB99 173
B. amyloliquefaciens IN937a 455
B. aquamarinus 451
B. cepsia 388
B. cereus 77, 92, 169, 451
B. cereus UW85 54, 425
B. cereus BPO1 425
B. circulans 81, 166, 467
B. firmus 173
B. fluorescence 155
B. larvae 77
B. lentimorbus 76, 77
B. licheniformis 145, 146, 458
B. licheniformis strain SB3068 145
B. megaterium 146, 451
B. mesentricus 155
B. mycoides B16 422
B. penetrans 167
B. popilliae 360

Basidiomycota 181, 265, 276
Beauveria 181, 189, 199, 201, 216, 219, 391, 392
B. bassiana 180, 188, 189, 191, 196, 197, 201, 205, 206, 207, 209, 216, 217, 218, 219, 225, 226, 366, 388, 392, 393
B. bassiana strain 447 227
B. brongriartii 42, 216, 219, 392
B. rileyi 188
B. tenella 219
Bipolaris
B. sorokiniana 153
Blastocladiaceae 181
Botrytis 141, 142, 354, 466
B. cinerea 54, 245, 252, 253, 254, 422, 424, 425, 427, 441, 487
Botryodiplodia
B. solanituberosi 146
Bradyrhizobium 410
B. japonicum 470
Burkholderia 154, 164, 410, 466
B. cenocepacia 173
B. cepacia 54, 154, 155, 165, 388, 424, 458
B. cepacia genomovar III 173
B. gladioli 388
B. solanacearum 456
B. sp. MSSP1 154
B. spinosa 155
B. subtilis var. amyloliquefaciens strain FZB24 147, 424
B. tenella 219
B. thuringiensis 35-36, 43, 76, 82-82, 87-97, 102—113, 117, 138, 164, 169, 360, 361, 362, 363, 364, 365, 369, 370, 371, 375, 388, 469
B. thuringiensis var. aizawai 93, 102
B. thuringiensis var. aizawai IPL7 102
B. thuringiensis var. berliner 93, 101, 103, 104, 364
B. thuringiensis var. Dakota 93
B. thuringiensis var. entomocidus HD110 364
B. thuringiensis var. isistalensis strain EG 2255 113
B. thuringiensis var. israelensi 89, 93, 99, 101, 103, 104, 113
B. thuringiensis var. kurstaki 91, 99, 107, 113, 362, 363, 370
B. thuringiensis var. kurstaki strain HD-1 98, 100, 107, 115
B. thuringiensis var. kurstaki strain M 113
B. thuringiensis var. San diago 113
B. thuringiensis var. tenebrionis 91, 93, 98, 101, 103, 104

C

Candida
C. famata 254
C. guilliermondii 254
C. oleophila 252
C. saitoana 253
Catenaria
C. anguillulae 284, 287, 303
Cephalosporium 288

C. lecanii Zimmermann 222, 391
C. sacchari 257
Cercospora
C. piaropi 272
C. rodmanii 272
Chondrostereum
C. purpureum 274
C. purpureum strain HQ1 274
C. purpureum strain PFC 2179 274, 275
Chromobacterium 168
C. violaceum56.
Chytridiomycetes 210
Chytridomycota 284
Cladosporium 238
C. fulvum 440
C. herbarum 427
Clavibacter michigenensis 451
Clavicipitaceae 181
Clavicipitales 181
Clostridium
C. flaccemfaciens 128
C. paurometabolu 172
Cryphonectaria
C.flaccemfaciens 128
C.parasitica 62
C. kawkesii 214
C. militaris 213
C. ophioglossoides 213
C. sinensis (Bark) 214
C. sobolifera 214
Coniothyrium
C. minitans 384
C. minitans CON/M/91-08 242
Cordycepioideus 181
Cordyceps 179, 181, 201, 212, 213
Corynebacterium
Cl. botulinum Cz 118
Cl. novyi 77
Cl. perfringens 77
Cochliobolus carbonum 487
Coelomyces 181, 210
C. apifexi 211
C. indicus 211
C. dodgei 210
C. psorophorae 210
C. puncatus 210
C. stegomyiae 210
Coelomycetes
Collectotrichum 155
C. gloeosprioides 270, 388
C. gloeosporioides f. sp. aeschynomene 272
C. gloeosporioides f. sp. clidemiae 271
C. gloeosporioides f. sp. cuscutae 263
C. graminicolai 151
C. truncatum (Schw) 272
Colletotrichum 265, 450
C. coccodes 273, 483
C. gloeosporioides 277, 427
C. gloeosporioides f. sp. aeschynomene 277, 278
C. gloeosporioides f. sp. malvae 278
C. lindemuthianum 440
C. orbiculare 440, 478, 479, 483
Conidiobolus
C. coronatus (Constantin) Batko 189
C. obscurus 212
Cryptococcus laurentii 253
Culicinomyces clavosporus 223
Curtobacterium
C. albidum 451

C. flaccumfaciens 451
C. flaccumfaciens pv. fbccumfaciens 127
C. flaccumfaciens–ME1 426
C. luteum 451
Cystopage
C. cladospora 303

D

Dactylaria
D. brochopaga 297, 300
D. candida 290, 292, 296, 297
Dactylella 284, 294
D. cionapaga 290, 294
D. gephyropaga288 , 294
D. leptospora 291
D. oviparasitica 284, 301
Deuteromycota 265
Diplocarpon rosae 487
Diplococcus 77
Dorthiorella gregaris 137
Drechmeria
D. coniospora 286, 303, 304
Duddingtonia flagrans 303

E

Endothia parasitica 62
Enterobacter 76, 410
E. agglomerans 386
E. cloacae 55, 165
Enterobacteriaceae 410
Entomophaga 181
Entomophthora 181, 188, 189, 195
E. anisopliae 219
E. aphidis 188, 212
E. coronata 189
E. miamiaga 40
E. thaxteriana 212
Entyloma
E. ageratinae 271
Epicoccum
E. purpurascens 229, 238
E. nigrum 238
Erwinia 78, 127,
E. amylovora 54, 78, 128, 130, 134, 424, 428
E. herbicola 78, 129
E. persicinus 451
Erynia neoaphidis 212
Erysiphe
E. betae 487
E. graminis f. sp. hordei 484, 487
E. polygoni 242
Escherichia coli 77, 102
Eumycota 184

F

Flavobacterium 451
Flavimonas 410
Fomes
F. annosus 59, 250
Frankia 410
Frateuria aurantia 451
Frigoribacterium 451
Fusarium 140, 141, 142, 143, 146, 147, 148, 151, 155, 265, 424, 425, 432, 458, 468, 480, 485
Fusarium GF18-3 440
F. avenaceum 146

F. culmorum 146, 246
F. graminearum 138, 146
F. moniliforme 248, 257
F. oxysporum 54, 59, 150, 262, 266, 406, 422, 425, 440, 450, 471
F. oxysporum Fo47 440
F. oxysporum strain Fo47 422
Fusarium oxysporum f. sp. asparagi 441
F. oxysporum f. sp. ciceris 420, 426
F. oxysporum f. sp. cucumerinum 440
F. oxysporum f. sp. dianthi 483
F. oxysporum f. sp. lini 483
F. oxysporum f. sp. lycopersici 440, 441, 470, 471, 473, 483
F. oxysporum f. sp. melonis 246, 483
F. oxysporum f. sp. niveum 440
F. oxysporum f. sp. radicis-lycopersici (Forl) strains 154
F. oxysporum f. sp. radicis-lycopersici 415
F. oxysporum f. sp. vasinfectum 246, 452
F. oxysporum var. orthocersa 266
Fusarium oxysporum f. sp. radicis-cucumerinum 483
F. roseum f. sp. cerealis 146
F. solani
F. solani f. sp. cucurbitae 273
F. solani f. sp. phaseoli 483

G

Gaeumannomyces
G. graminis 354, 454
G. graminis var. tritici 53, 152, 417, 466
G. tritici 79
Geotrichum 140
G. candidum 424, 425
Gigaspora margarita 473
Gliocladium 55, 237, 249, 479
G. catenulatum 384
G. catenulatum strain J1446 249
G. roseum 284
Glomerella
G. graminicola 151
Glomus
G. deserticola 469, 471
G. etunicatum 473
G. fasiculatum 257, 473, 474
G. macrocarpum 474
G. mosseae 474

H

Harposporium 290
H. anguillulae 286, 289, 303
Helminthosporium victoriae 354
Hemileia
H. vastatrix Berkeley & Bromme 138, 139
Herbaspirillum 447
Heterobasidion
H. annosum 59, 250, 251
Hirsutella
H. rhossiliensis 286, 303, 453
H. thompsoni 207
H. thompsonii 303, 304
Hohenbuhelia (N90) 295, 296
Hyphomycetes 187
Hypocreaceae 181
Hypocreales 181
Hypocrella Sacc. s. l. 223

K
Kingella kingae 451
Kitasatosporia cystargenia 451
Klebsiella 465
L
Laboulbeniales 181
Laboulbenioceae 181
Lactobacillus 76
Lagenidiaceae 181
Lagenidium 181, 287
L. alganicum 212
L. giganteum 211
Lecanicillium 221
L. lecanii 222, 227, 228
L. muscarium 221
Leptolegnia 211
Leveillula taurica 487, 488
Lysobacter 153
Lysobacter sp. strain SB-K88 54
L. enzymogenes strain C3 153
M
Macrophomina
M. phaesolina 146, 147, 154, 155, 238, 244, 483
Magnaporthe
M. oryzae 153
Melampsora
M. hypericorum 270
Meria 288
M. coniospora 287, 288, 289
Meristacrum asterospermum 288
Metarhizium 181, 188, 189, 195, 199, 201, 206, 207, 219
M. anisopliae 180, 189, 191, 192, 196, 219, 220, 225, 370, 388
M. anispoliae strain F52 225
Methylobacterium 451
M. pulcherrima 254
Michrodochium
Michrodochium nivale 151
Microbispora 457
Micrococcus 76
M. varians 451
Micrococcus spp. 77
Monacrosporium 290, 294
M. cionopagum 294
M. ellipsosporum 284, 303
M. gephyropagum 294, 303
M. haptotylum 303
Monosprascus 140
Monilia 254
Moniliales 284
Monilinia fruticola 79
Mucor pyroformis 424
Mucorales 181
Mucoroceae 181
Muscodor
M. albus 229
M. albus QST20799 239
Myceteae 180
Mycosphaerella pinodes 482
Myxomycota 184
Myzocytiopsis 287
M. vermicola 287
Myzocytium 287
M. anomalum 288
M. humicola 288
M. lenticalare 288
N
Nactria fruticola 78
Nematoctanus 290
Nematoctomus 295
N. concurrens 303
N. leiosporus 289, 303
N. robustus 453

N. pachysporus 453
Nematophthora 290
N. gynophila 287, 301
Nocardioides 457
Nomuraea rileyi 196, 214
Nosema locustae 367
O
Oidium begoniae 473
Oomycetes 211
Oomycota 181, 185
P
Paecilomyces 199, 215, 290
P. farinosus 199, 215
P. fumosoroseus 215, 216, 384
P. lilacinus 284, 301, 388
P. lilacinus strain 255 302
Paenibacillus 410, 451, 456, 466
P. agglomerans 466
P. macerans 426, 427
P. macerans GB122 173
P. polymyxa 415, 466
P. popilliae 76, 77, 82, 109, 119, 120, 121, 122, 360
Pantoea 410, 481
P. agglomerans 78, 128, -128, 386, 451, 481
P. agglomerans C9-1
P. anantis 451
Panus tigrinus 471
Paranosema locustae 367
Pasteuria 163, 167
P. penetrans 81, 167
P. ramose 167
p. thornei 167
P. nishizawae 167
Penicillium 237, 253, 424, 425, 467
P. citrinum 253
P. digitatum 252, 254, 470
P. expansum 253, 254, 441
P. janczewskii 441
P. variable 471
Penicillium GP17-2 440
Peniophora 59, 250
P. gigantean 250, 251
Phanerochaete 250
P. gigantea 59
P. chrysosporium 471
Phialophora graminicola 454
Phlebia 250
Phlebia gigantea 59
Phlebiopsis
P. gigantean 250
Phoma
P. betae 427
P. GS8-2 440
Phomopsis 141, 142, 450
P. convolvulus 274
Phyllobacterium 456
Phyllosticta 450
Phymatotrichum
P. amnivorum 147
Phytophthora 141, 142, 406, 424, 478, 480
P. capsici 483
P. cinnamomi 257, 482
P. citrophthora 265
P. cryptogea 441
P. fragariae var. rubi 488
P. infestans 468, 487
P. medicaginis
P. megsperma 147
P. nicotianae var. nicotianae 482
P. palmivora 277
P. parasitica var. nicotianae 473
Pichia

P. guilliermondii 252, 254, 422
P. guilliermondii US-7 strain 252
Plasmodiophora brassicae 483
Plasmopara viticola 488
Plectosporium tabacinum 455, 457
Pleosporales 181
Pleurotus
P. ostreatus 303
P. djamor 453
Pochonia chlamydosporia 453
Podonectria 181
Podonectriaceae 181
Polyporus annosum 59
Postia 140
Piriformospora indica 452
Proteobacteria 410
Proteus 61
P. mirabilis 77
P. rectgeri 77
P. vulgaris 77
Pseudomonas 55, 59, 61, 76, 78, 127, 130, 148, 147, 152, 163, 164, 165, 172, 410, 414, 417, 422, 424, 427, 432, 436, 447, 456, 467, 468, 469, 479, 481
P. aureofaciens 30-84 417
P. aeruginosa 56, 60, 61, 77, 147
P. aeruginosa GRC$_2$ 147
P. aeruginosa LRP7 147
P. aeruginosa 7NSK2 413
P. aeruginosa strain 80 420
P. aureofaciens 150, 424
P. aureofaciens strain TX-1 151
P. cepacia 148, 154, 173, 424
P. chlororaphis 150, 384, 424
P. chlororaphis PA23 419
P. chlororaphis strain 63-28 150, 425
P. cichorii 451
P. corrugate 451
P. fluorescens 4, 56, 60, 80, 94, 128, 133, 147, 152, 165, 173, 411, 413, 415, 417, 420, 425, 426, 427, 428, 429, 451, 458, 469
P. fluorescens A-506 424
P. fluorescens 91B-61 455
P. fluorescens CHA0 422, 426, 429, 433, 455
P. fluorescens F113 54, 432
P. fluorescens Migula strain B5 (= Pf B5) 153
P. fluorescens NC18 12289 133
P. fluorescens P7NF 417
P. fluorescens Pf1 417, 423, 425, 426, 429, 432
P. fluorescens Pf7 423, 426
P. fluorescens PF-S 53
P. fluorescens TL3 417
P. fluorescens 2-79 415
P. fluorescens Q2-87 422, 433
P. graminis 451
P. lacrymans 474
P. maltophilia 171
P. migulae 451
P. orientalis 451
P. putida 411, 426, 451
P. putida strain 30 and 184 420
P. putida strain 6-8 409
P. putida WCS358 422
P. reactans 451
P. rhodesiae 451
P. solanacearum 134
P. solani 154

P. sp EM 8761
P. synthaxa 451
P. syringae 425, 427, 451, 474
P. syringae pv. lachrymans 440
P. syringae pv. maculicola 479, 483
P. syringae pv. mori 474
P. syringae pv. populans 128
P. syringae pv. tabaci 80
P. syringae pv. tagetis 160
P. syringae pv. tomato 353, 466
P. syringae strain ESC-10 152
P. syringae strain ESC-11 152
P. syringae strain ESC-100 424
P. tabaci 353
P. tolassii 425, 451
P. trivialis 3 Re207 456
P. veronii 451
Pseudomonaceae 410
Pseudozyma flocculosa strain PF-A22UL 242
Psychrobacter immobilis 451
Puccinia
P. allii 139
P. canaliculata (Schw.) Lagerh. 277
P. chondrillina 269, 270
P. mariana 270
P. thlaspeos strain woad 276
Pyricularia oryzae 54
Pythium 54, 56, 64, 79, 140, 141, 142, 148, 150, 154, 246, 249, 385, 406, 424, 425, 465, 478, 480, 481
P. aphanidermatum 54, 147, 151, 424, 473, 483
P. graminicola 482
P. irregulare 483
P. macrosporum 482
P. mum 58
P. myriotylum 483
P. ultimum 54, 440, 482, 483
P. ultimum var. ultimum Trow 153

R
Ralstonia
R. paucula 451
R. solanacearum 134
Rhizobiaceae 410, 447
Rhizobium 139, 155, 165, 410, 432, 467
R. meliloti 451
R. etli G12 165
Rhizoctonia 56, 140, 142, 143, 147, 148, 154, 244, 424, 440, 478
R. solani 54, 55, 56, 58, 138, 146, 147, 150, 153, 155, 247, 248, 249, 406, 424, 426, 440, 441, 451, 456, 465, 480, 481, 483, 484
R. bataticola 140, 452
Rhizomonas suberifaciens 451
Rhodotorula 61
R. glutinis 254
Rhopalomyces elegans 300, 301
S
Salmonella
S. enteritidis 77
S. schottmuelleri var. alvei 77
S. typhosa 77
Sclerocystis dussii 473

Sclerotinia 424, 465
S. homoecarpa 151
S. minor 243, 384, 484
S. sclerotinia 243
S. sclerotiorum 147, 266, 384, 468
Sclerotium
S. rolfsii 247, 452, 468, 473, 481, 484
Septobasidiaceae 181,
Septobasidiales 181,
Septobasidium 181,
Serratia 164, 172, 410
S. marcescens 165, 192, 411, 458
S. marcescens strain 92-166 425, 455
S. plymuthica 454, 456
Shigella
Shigella dysenteriae 77
Smittium
S. morbosum 212
Sorosporella 181
S. uvella 191, 223, 224
Sphaerostible aurantiicola 201
Sphaerotheca
S. fuliginea 242, 440, 488
S. pannosa var. rosae 242, 488
Sphingomonas
S. adhaesiva 451
S. trueperi 456
Sphigobacterium thalophilum 451
Spicaria
Spicaria rileyi 188
Sporodiniella 181
S. umbellata 212
Myzocytiopsis 287
Stenotrophomonas 171
S. maltophilia 171, 172, 451
Stereum purpureum Pers 274
Streptococcus 77
S. faecalis 77
Streptomyces 55, 79, 129, 140, 164, 169, 410
S. avermitilis 169, 170
S. bottropensis 451
S. castaricanus 169
S. diastatochromogenes 451
S. galilaeus 451
S. griseoviridis strain K6 141
S. griseus 451
S. lavendulae 451
S. lydicus strain WYEC 110 140
S. setonii 451
S. turgidiscabies 451
Streptomycetes 479
Stylopage hadra 290, 293, 303
T
Talaromyces
T. flavus Tf1 57
Thanatephorus
T. cucumeris 138
Thielaviopsis
T. basicola 55, 56, 482
Tolypocladium
T. cylindrosporum 223
Torrubiella 191
Torulopsis
T. candida 254
Trichoderma 55, 56, 58, 237, 238, 243, 470, 478, 481
T. cylindrosporum
T. harzianum 58, 246, 285, 441, 473
T. harzianum Rifai strain T-39 245
T. harzianum T-22 470
T. koningii 58,

T. viride 58, 248
T. vrens 58, 244, 245
Trichoderma GT3-2 440
U
Uncinula necator 488
Uromyces
U. appendiculatus 153
Uredinales 256
Uredo eichorniae 270
Ustigalinales 256, 271

V
Varimorpha necatrix 367
Venturia inaequalis 488
Verticicladiella
V. abielina 253
Verticillium 207, 221, 286, 288, 290, 424
V. chlamydosporium 284, 301
V. dahliae 452, 455, 484
V. lecanii 196, 223, 227
V. lecanii (Zimmerman) Viegas 222
Vibrio
Vibrio leonardii 77
X
Xanthomonadaceae 153
Xanthomonas
X. axonopodis pv. allii 353
X. campestris 451
X. campestris pv. poannva (Xcp), 161
X. campestris var. vesicatonia 353
X. juglandis 137
X. maltophilia, 171
X. malvacearum 353
X. oryza 451
X. pruni 353
X. translucens 353
X. vesicatoria 488
Z
Zygomycetes, 181, 293
Zygomycota, 181, 185

السيرة الذاتية للمؤلف

دكتور محمود محمد عوض الله السواح

- من مواليد المنصورة عام (١٩٥٨).
- حصل على بكالوريوس فى العلوم الزراعية من جامعة المنصورة فى مجال الإنتاج النباتى بتقدير ممتاز مع مرتبة الشرف عام (١٩٨٠).
- حصل على درجة الماجستير فى الميكروبيولوجيا عام (١٩٨٥) من جامعة المنصورة.
- حصل على درجة الدكتوراه فى الميكروبيولوجيا عام (١٩٨٨) من جامعة المنصورة.
- تدرج فى وظائف هيئة التدريس بالجامعة ؛ حيث كلف معيدًا (١٩٨٠) - مدرسًا مساعدًا (١٩٨٥) - مدرسًا (١٩٨٨) - أستاذًا مساعدًا (١٩٩٣) - أستاذًا (٢٠٠٠) - رئيسًا لقسم الميكروبيولوجيا بكلية الزراعة جامعة المنصورة (٢٠٠٤).
- عمل محاضرًا فى الجامعات المصرية والعربية.
- شارك فى الإشراف على أكثر من (٢٥) رسالة ماجستير ودكتوراه.
- له حوالى (٨٠) بحثًا منشورًا فى مجالات الميكروبيولوجيا المختلفة.
- عضو فى عدة جمعيات علمية وأكاديمية.
- مدير وحدة عيش الغراب بمركز التجارب والبحوث الزراعية بجامعة المنصورة (١٩٩٩).
- مدير مركز التجارب والبحوث الزراعية بجامعة المنصورة (٢٠٠٥).
- مدير وحدة الأنشطة الميكروبيولوجية بمركز التجارب والبحوث الزراعية بجامعة المنصورة (٢٠٠٨).
- مدير مشروع « تطوير المقررات العملية لرفع كفاءة خريجى كلية الزراعة بما يتواءم مع متطلبات السوق الخارجى » (٢٠٠٥) لصندوق خدمة مشروعات تطوير التعليم العالى.

- عضو الفريق البحثى للعديد من المشروعات البحثية المتعلقة باستخدام الكائنات الحية الدقيقة.
- أثرى المكتبة بعدد من الكتب العلمية المؤلفة فى مجال الميكروبيولوجيا.
- حصل على جائـزة جامعة المنصورة التشجيعية فى العلوم الزراعية عام (١٩٩٣).
- متزوج وله ابن وبنتان.

❖أبحاث وكتب للمؤلف:

أولًا : بحوث منشورة فى مجلات علمية محلية وعالمية:

Shady, M.A.M.; Ibrahim, I.I.; El-Hawary, Fatma I. and El-Sawah, M.M.A. (1986). Studies on Xylan-Decomposing Bacteria. 1- Isolation and identification of xylanolytic bacteria. J. Agric. Res. Tanta Univ. 12(3): 626 - 634.

Ibrahim, I.I.; Shady, M.A M.; El-Hawary, Fatma I. and El-Sawah, M.M.A. (1986). Studies on Xylan-Decomposing Bacteria. 11. Factors affecting xylanase production. J. Agric. Res. Tanta Univ. 12(3): 635-642.

El-Sawah, M.M.A.; Hauka, F.I.A.; Selim, A.E.I. and Sherief, A.A. (1989). Isolation and identification of a cellulolytic and xylanolytic enzymes producing fungus. J. Agric. Sci., Mansoura Univ. 14(3): 2075-2084.

El-Sawah, M.M.A.; Selim, A.E.I.; Hauka, F.I.A. and Shady, M.A.M. (1989). Factors influencing the production of cellulolytic and xylanolytic enzymes by Aspergillus terreus. J. Agric. Sci., Mansoura Univ. 14(3): 2085-2092.

El-Sawah, M.M.A.; Sherief, A.A. and Bayoumy, Samia M. (1990). Quantitative changes in the microbial population of pea plants rhizosphere as a result of certain herbicide treatments. J. Environ. Sci., Mansoura Univ. Vol.1:83 - 97.

Hauka, F.I.A.; El-Sawah, M.M.A. and El-Hamdi, Kh.H. (1990). Effect of

phosphate-solubilizing bacteria on growth and p-uptake by barley and tomatoes plants in soils amended with rock- or tricalcium phosphate. J. Agric. Sci. Mansoura Univ. 15(3): 450 - 459.

Hauka, F.I.A.; Shady, M.A.M.; Selim, A.E.I. and El-Sawah, M.M.A. (1990). Effect of carbon and nitrogen sources on cellulase and hemicellulase production by some fungi. J. Agric. Sci., Mansoura Univ. 15(4): 492- 498.

Hauka, F.I.A.; Shady, M.A.M.; El-Sawah, M.M.A. and Selim, A.E.I. (1990). Effect of certain environmental factors on cellulase and hemicellulase production by some fungi. J. Agric. Sci., Mansoura Univ. 15(3): 499-505.

Abd El-Naby, M.A.; Sherief, A.A.; Hashem, Amal M. and El-Sawah, M.M.A. (1990). A study on the cellulases and cellobiases produced by mixed cultures of Penicillium funiculosum WD7 and four Trichoderma ressei strains. Egypt J. Appl. Sci., 5(8): 291-303.

Hauka, F.I.A.; El-Sawah, M.M.A. and Ismail, I.I. (1991). Factors influencing lipase activity and production in Aspergillus fumigatus. J. Agric. Sci. Mansoura Univ. 16(1): 74-82.

Sherief, A.A., El-Sawah, M.M.A. and Abd El-Naby, M.A. (1991). Some properties of chitinase produced by a potent Aspergillus carneus strain. Appl. Microbiol. Biotechnol.522-524. (Chem. Abst. 115:69895f page 638 vol. 115 No. 7, 1991).

Sherief, A.A.; Abd El-Naby, M.A., Mansour, F.A. and El-Sawah, M.M.A. (1991). On the Egyptian mushrooms. Biochem. Vol. 24 (No. 1.2).

Sherief, A.A, Abd ElNaby, M.A., Mansour F.A., El-Sawah, M.A. (١٩٩٣). .On the Egyptian mushrooms. Pakistan Journal of Biochemistry ٢٦: ٧٥_٦٩.

El-Sawah, M.M.A.; Bayoumy, Samia M. and Selim, A.E.I. (1991). Effect of five common herbicides on the production and activity of certain enzymes by

Aspergillus terreus. J. Environ. Sci., Mansoura Univ. Vol.3:43-57. (Chem. Abst. 116:209409y page 245 vol. 116 No. 21, 1992).

El-Sawah, M.M.A.; Selim, A.E.I., Bayoumy, Samia.M.and Affify, Aida H. (1991). Production of xylanase and β-xylosidase from Streptomyces flavogriseus. J. Agric. Sci., Mansoura Univ. 16(10): 2307-2315.

El-Sawah, M.M.A. (1991). Separation and some properties of an endo-1, 4-β-D-xylanase produced by Streptomyces flavogriseus. Egypt. J. Appl. Sci. 6(11): 458 - 468.

Kassem, M.M.; El-Sawah, M.M.A.; Ismail, I.I. and El-Hoseny, M.A. (1991). Optimization of β-galactosidase production by yeasts. 1- Selection of yeast species and growth media. J. Agric. Sci. Mansoura Univ. 16(12):2859-2865.

El-Sawah, M.M.A.; Kassem, M.M.; Ismail, I.I. and El-Hoseny, M.A. (1991). Optimization of β-galactosidase production by yeasts. 2- Selection of whey supplements and growth conditions. J. Agric. Sci. Mansoura Univ. 16(12): 2866 - 2872.

Ismail, I.I.; Kassem, M.M.; El-Sawah, M.M.A. and El-Hoseny, M.A. (1991). Production of β-galactosidase by mutants of Kluyveromyces fragilis.. J. Agric. Sci. Mansoura Univ. 16(12): 2873 - 2878.

El-Sawah, M.M.A.; El-Hawary, Fatma I.; Ismail, I.I. and Ali, Abear A. (1992). Screening of fungi for the production of phytase. J. Agric. Sci. Mansoura Univ. 17(2): 312 - 317.

El-Hawary, Fatma I.; El-Sawah, M.M.A.; Ismail, I.I. and Ali, Abear A. (1992). Production of fungal phytase. J. Agric. Sci. Mansoura Univ. 17(2): 328 - 334.

Kassem, M.M.; El-Sawah, M.M.A.; Selim, A.E.I. and Bayoumy, Samia M. (1992). Pectolytic enzymes of Rhizoctonia solani. J. Agric. Sci. Mansoura Univ. 17(3): 502 - 508.

Zaied, Kh.A.; El-Sawah, M.M.A. and Kash, Kaother S. (1992). Genotoxic

effect of polluted water on the regulation of invertase synthesis in Saccharomyces cerevisiae. Egypt. J. Appl. Sci. 7(4): 494 - 514.

Selim, A.E.I.; El-Sawah, M.M.A.; Kassem, M.M. and Bayoumy, Samia M. (1992). Production of α-amylase by Aspergillus oryzae on rice flour medium. J. Agric. Sci. Mansoura Univ. 17(4): 810 - 821.

Bayoumy, Samia. M.; El-Sawah, M.M.A.; Selim, A.E.I. and Ismail, I.I. (1993). Control of pollutive effect of linuron on N-transformations organisms and N-availability using N-fertilizers. J. Environ. Sci. , Mansoura Univ. 5:335-344. (Chem. Abst. 120:48006e page 341 vol.120 No. 5, 1994).

Ashour, A.Z.A.; Afify, Aida H.; Abu El-Naga, S.A. and El-Sawah, M.M.A. (1993). Effect of free living N-fixing bacteria and urea on chemical composition of cotton and controlling red leaf disease. J. Agric. Sci. Mansoura Univ. 18(4): 1022-1034.

El-Sawah, M.M.A. and Sherief, A.A. (1993). Isolation and identification of an active pectinolytic bacterium and factors influencing its pectinolytic enzymes production. J. Agric. Sci. Mansoura Univ. 18(7): 1959-1968.

El-Sawah, M.M.A.; Selim, A.E.I. and El-Hawary, Fatma I. (1993). Reduction of phytate content in foods and feeds by Bacillus subtilis phytase produced on surplus rice. J. Agric. Sci. Mansoura Univ. 18(8): 2315-2322.

El-Sawah, M.M.A. and Sherief, A.A. (1993). Separation and some properties of pectinolytic enzymes produced by Bacillus circulans PB-5. J. Agric. Sci. Mansoura Univ. 18(9): 2552-2561.

El-Sawah, M.M.A.; Hauka, F.I.A. and El-Rafey, H.H. (1993). Study on some enzymes cleaving phosphorus from organic substrates in soil. J. Agric. Sci. Mansoura Univ. 18(9): 2775-2785.

El-Sawah, M.M.A.; Hauka, F.I.A. and El-Hamdi, Kh. H. (1995). Role of bacterial phytate fertilizers on increasing soil fertility and crop production. Egypt. J. Soil Sci. 35(3): 311-323.

El-Sawah, M.M.A.; Sherief, A.A. and Bayoumy, Samia M. (1995). Enzymatic properties of lipase and characteristics production by Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus. Antonie van Leeuwenhoek 67:357-362. (Chem. Abst. 123:138245y page 701 Vol. 123 No.11, 1995).

Meshref, H.; Hauka, F.I.A.; Selim, A.E.I.; El-Sawah, M.M.A. and El-Hamake, H. (1995). Some microbiological aspects of Damietta's city refuse compost. J. Environ. Sci. Mansoura Univ. 10(2): 1-12.

El-Sawah, M.M.A.; Selim, A.E.I. and Ismail, I.I. (1995). Response of organic phosphates-decomposing bacteria in soil to common herbicide treatments. J. Environ. Sci. Mansoura Univ. 10(2): 223-233.

Hauka, F.I.A.; El-Sawah, M.M.A. and Selim, A.E.I. (1996). Role of phosphate- and silicate-solubilizing bacteria in transformation of some macro- and micro-nutrients and their associative effect with Azotobacter on growth and nutrients uptake by plants. Proc. 7th Conf. Agronomy, Univ. Mansoura, Fac. Agric., 9-10 Sept., 1996, 239-252.

Abdelhamid, M.A.; El-Hawary, Fatma I.; El-Sawah, M.M.A. and Saber, W.I.A. (1996). Benefits of dietary supplemental microbial-phytase in the broilers production. Food-borne contamination and Egyptian's health Conf., Univ. Mansoura, Fac. Agric., Anim., 26-27 Nov., 1996, 345-353.

El-Sawah, M.M.A. (1997). Evaluation of different xylanolytic systems in thermophilic Bacillus spp. with special reference to B. stearothermophilus. J. Agric. Sci. Mansoura Univ. 22(5):1541-1556.

El-Sawah, M.M.A. (1997). Removal of antinutritional factors in soybean using Rhizopus oligosporus. J. Agric. Sci. Mansoura Univ. 22(6):1931- 1943.

El-Sawah, M.M.A. and Ashour, Eman H. (1997). Some reservoirs and biocontrol of Listeria in the agricultural environment. J. Environ Sci. Mansoura Univ. 14 : 1-15.

Zin El-Din, M. and El-Sawah, M.M.A. (1997). Evaluation of yoghurt manufactured and consumed in Mansoura city. J. Agric. Sci. Mansoura Univ. 22(12): 4427- 4442.

Shady, T.S.M.; El-Sawah, M.M.A. and Zin El-Din, M. (1997). Improvement of quality of domiati cheese by β-galactosidase produced by Kluyveromyces marxianus grown in whey. J. Agric. Sci. Mansoura Univ. 22(12): 4539 - 4553.

El-Sawah, M.M.A.; Hauka, F.I.A. and Ashour, Eman H. (1998). Enzymatic saccharification of pretreated water hyacinth and sugarcane bagasse with crude cellulase of potent strain of Aspergillus terreus. Egypt. J. Microbiol. 33(3): 499 - 511.

El-Sawah, M.M.A. and Afify, Aida H. (1998). Application immobilized phytase of baker's yeast for reduction of phytic acid content in soybean milk. J. of Home Econ. Menoufia Univ., 8(3): 7-21.

El-Sawah, M.M.A.; Ashour, Eman H. and Shady T.S.M. (1999). Characteristics of Streptomyces flavogriseus β–xylosidase and its use in xylan hydrolysis. Pakistan J. Biol. Sci. 2(3): 1010 -1016.

El-Sawah, M.M.A. and Ashour, Eman H. (1999). Xanthan production from whey treated with immobilized lactase. Pakistan J. Biol. Sci. 2(4): 1240 -1244.

El-Sawah, M.M.A. (1999). Can immobilization of Penibacillus pabuli cells or its chitinase provide an effective method to its potential application in chitin degradation? Annals Agric. Sci., Ain-Shams Univ., Cairo 44(1): 83-99.

El-Sawah, M.M.A. (1999). Inhibition of food-borne pathogens by lactic acid bacteria. Annals Agric. Sci., Ain-Shams Univ., Cairo 44(1): 139-150.

El-Sawah, M.M.A. and Shady, T. S. M. (1999). Evaluation of Penicillium citrinum pectinase enzymes with special reference to production and characterization. 2nd, Int. Conf. On Contemporary Pest Control

Practices In Relation to Environmental Safety, Mansoura Univ., Egypt, 6-8 Sept., 1999, pp 436 - 444.

Shady, T.S.M.; Hauka, F.I.A. and El-Sawah, M.M.A. (2000). Inulin hydrolysis by Kluyveromyces marxianus inulase produced on some agricultural wastes. Egypt. J. Microbiol. 35(2): 139-154.

El-Sawah, M.M.A. (2000). Impact of composed inoculation with N2-fixing-, phosphate-solubilizing bacteria and vesicular-arbuscular mycorrhiza on growth and nutrition of maize plants in a calcareous soil. J. Agric. Sci. Mansoura Univ. 25(4): 2339 - 2350.

El-Sawah, M.M.A. and Zin El-Din, M. (2000). Production and properties of thermostable alkaline protease from Bacillus licheniformis and its importance in domiati cheese ripening. Annals Agric. Sci., Ain-Shams Univ., Cairo 45(1): 113 - 127.

El-Sawah, M.M.A. (2000). Tanase production by Aspergillus species and some properties of immobilized tannase from a potent Aspergillus carenus strain. Annals Agric. Sci., Ain-Shams Univ., Cairo 45(1): 129-143.

Shady, T.S.M.; El-Sawah, M.M.A. and Demerdash, M.A. (2000). Some properties and factors affecting chitinase production by Bacillus licheniformis and its use as antifungal agent. J. Agric. Sci. Mansoura Univ. 25(8): 5195 - 5209.

El-Sawah, M.M.A.; Kassem, M.M.; Afify, Aida H.; Ismail, I.I. and Menshawy, Azza S.A. (2000). Studies on the production of microbial β-galactosidase. 1. Optimization of β-galactosidase extraction from Kluyveromyces fragilis and Streptococcus salivarius subsp. thermophilus. 1st Mansoura Conf. Of Food Sci. and Dairy Tech., 17-19 October, 2000, Mansoura Univ. pp 32- 46.

Hauka, F.I.A.; Ashour, Eman H.; El-Sawah, M.M.A.; Kassem, M.M. and Saber, W. I. A. (2000). Production and properties of xanthan gum by

Xanthomonas campestris 1st Mansoura Conf. of Food Sci. and Dairy Tech., 17-19 October, 2000, Mansoura Univ. pp 47- 66.

El-Sawah, M.M.A.; Afify, Aida H.; Kassem, M.M.; Ismail, I.I. and Menshawy, Azza S.A. (2000). Studies on the production of microbial β-galactosidase. 2. Optimization of β-galactosidase production by Kluyveromyces fragilis using whey. 7th International Conference 8-11 Nov., 2000, Mansoura Univ., J. Union Arab Biol. 9B: 177-194.

Ashour, Eman H.; Saber, W.I.A.; El-Sawah, M.M.A.; Hauka, F.I.A. and Kassem, M.M. (2000). Optimization of fermentation conditions for xanthan production by Xanthomonas campestris NRRL B-1459. 7th International Conference 8-11 Nov., 2000, Mansoura Univ., J. Union Arab Biol. 9B: 211-228.

Shady, T.S.M.; El-Sawah, M.M.A. and Bayoumy, Samia M. (2001). Reduction of phytic acid content in soybean protein with Rhizopus oligosporus phytase. J. Agric. Sci. Mansoura Univ. 26(5): 3143-3156.

El-Sawah, M. M. A.; El-Rafey, H. H. and Saber, W. I. A. A. (2001). Reduction of phytic acid content in soy bean by A. niger phytase immobilized into gelatin film by cross-linking. J. Agric. Sci. Mansoura Univ. 26(8): 5165-5176.

El-Sawah, M.M.A.; Ashour, Eman H. and Rafei, H.A. (2001). Production and some properties of Streptomyces flavogriseus galactanase and its application. J. Agric. Sci. Mansoura Univ. 26(9): 5871-5879.

Hauka, F. I. A.; El-Sawah, M.M.A.; Kassem, M. M. and El-Nagar, M. M. (2001). Evaluation of compost of Mansoura city wastes and sewage sludge in relation to pathogenic microbes, animal parasites and heavy metals. J. Environ. Sci. Mansoura Univ. 22: 145-155.

Shady, T.S.M.; Ali, Nadia A.A.; Hauka, F.I.A. and El-Sawah, M.M.A. (2002). Preparation and properties of xylanase production by Aspergillus achuleatus DST 63261 and its uses for some hemicellulosic substances degradation. J. Agric. Sci. Mansoura Univ. 27(3): 1657-1674.

Atta, Marouah I.; A.M. Abd El-Hameed and El-Sawah, M.M.A. (2003). Response of faba bean yield to inoculation with rhizobium under different salinity levels and nitrogenous and phosphorus fertilization. J. Product. & Develop. Zagazig Univ. 8(2): 407- 422.

El-Sawah, M.M.A.; Ashour, M. M. A.; Hauka, F.I.A.; Kassem, M.M. and Saber, W.I.A. (2004). Improvement of microbial gum production. International Conf. on Microbiol. And Biotechnol. In Favour of Man and Environment in Africa and Arab Region, 27th till 29th April 2004, P. 341-373.

Hauka, F.I.A.; El-Sawah, M.M.A.; Kassem, M.M. and El-Kady, Sh. M. (2004). Factors controlling citric acid production by some of Aspergillus niger strains. International Conf. on Microbiol. And Biotechnol. In Favour of Man and Environment in Africa and Arab Region, 27th till 29th April 2004, P. 421-437.

Shady, T.S.M.; El-Sawah, M.M.A.; Zin-El-Din, M. and Saber, W.I.A. (2005). Antimicrobial activity of free and encapsulated bifidobacteria against some microbes and their survival in simuled gastrointestinal conditions. The 2nd Arab Mansoura Conf. on Food and Dairy Sci. & Technol., 22-24 March 2005, Mansoura, Egypt., P. 23-32.

Hauka, F.I.A.; El-Sawah, M.M.A.; Kassem, M.M. and El-Kady, Sh. M. (2005). Some factors affecting citric acid production from sugar cane molasses by Aspergillus niger. The 2nd Arab Mansoura Conf. on Food and Dairy Sci. & Technol., 22-24 March 2005, Mansoura, Egypt., P. 83-97.

Ashour, Eman H.; El-Sawah, M.M.A.; Bayoumy, Samia M.M.; and Shady, Samah A. (2005). Degradation of Thiobencarbamate Herbicide, Thiobencarb, by Pure Cultures of Soil Microorganisms. 8TH International Conference On Chemistry and Its Role in Development (ICCRD'8), Mansoura & Sharm El-Sheikh, Egypt. April 11-14. Poster No. PE-23.

Ashour, Eman H.; Bayoumy, Samia M.M.; El-Sawah, M.M.A. and Shady, Samah A. (2005). Biodegradation of certain herbicides by Arthrobacter and the use of this isolate in bioremediation of contaminated soil. New Egyptian J. Microbiology, 12:184-199.

Shady, T.S.M.; Hauka, F.I.A.; El-Sawah, M.M.A. and Hassan, M.I.M. (2006). Fortification of Egyptian balady bread with Saccharomyces cerevisiae organically bound selenium. The 3rd Arab Mansoura Conf. On Food and Dairy Sci. & Technol., P. 185- 191, 20-23 November 2006, Mansoura, El-Kardaka, Egypt.

El-Sawah, M.M.A.; Hauka, F.I.A.; Shady, T.S.M. and Hassan, M.I.M. (2006). Factors controlling the fortification of Saccharomyces cerevisiae with organically bound selenium. The 3rd Arab Mansoura Conf. On Food and Dairy Sci. & Technol., P 169-183, 20-23 November 2006, Mansoura, El-Kardaka, Egypt.

El-Sawah, M.M.A. (2006). How to cultivate mushroom?. The 2nd Conf. for Appl. Univ. Search Marketing., 5-6 December 2006 (Poster), Mansoura, Egypt.

Bayoumy, Samia M. M.; Ashour, Eman H.; El-Sawah, M.M.A. and Shady, Samah A. (2007). Biodegradation of certain herbicides by Arthrobacter and use of this isolate in bioremediation of contaminated soil. The National Conference for the Environment between Protection and Pollution, 18-20 March, 2007, Fac. Of Science, Al-Kaseim, Saudia Arabia.

Ashour, Eman H.; Bayoumy, Samia M. M.; El-Sawah, M.M.A. and Shady, Samah A. (2007). The critical role of microorganisms in cleansing the environment from xenobiotics. The National Conference for the Environment between Protection and Pollution, 18-20 March, 2007, Fac. Of Science, Al-Kaseim, Saudia Arabia.

Kassem, M. M.; El-Sawah, M.M.A. and Hauka, F.I. (2007). Composting of

Mansoura City refuse and sludge for safety organic fertilizers. The National Conference for the Environment between Protection and Pollution, 18-20 March, 2007, Fac. Of Science, Al-Kaseim, Saudia Arabia.

Selim, A. E. I.; El-Sawah, M. M. A.; Hauka, F. I. A.; El-Hamidi, Kh. H. and Khafagy, H. A. (2007). Effect of microbial inoculation, compost garbages, N Fertilization and their interactions on growth and yield of wheat plants grown in sandy soil, P. 13. The 1st International Conference on Desert Cultivation 27-29 march 2007 Minia Univ., Future of Desert Cultivation, Problem and Solutions, El.Minia Egypt.

Meshref, H.A.; El-Sawah, M. M. A.; El-Ghamry, A. M. and El-Agamy, M. A. (2007). Usage of some types of inocula as activators of decomposition process of compost. Arab. Conf. of Soil and Water Management for Sustainable Agricultural Development 10-11 April 2007, Mansoura, Egypt.

El-Sawah, M.M.A., M.M. Kassem, A.E.I. Selim, Eman H. Ashour and Sh. M. El-Kadi (2008). Production of some biogegradable polymers by some bacterial isolates. J. Agric. Sci. Mansoura Univ., 33(8): 6053-6064.

El-Sawah, M.M.A., M.M.Kassem, Samia M. Bayoumy and Dina F.I. Ali (2008). Production of pullulan polymer by Auerobasidium pullulans. J. Agric. Sci. Mansoura Univ., 33(10): 7437-7454.

❖أوراق عمل:

محمود محمد عوض الله السواح وفتحى إسماعيل على حوقه ومحمد منصور قاسم (١٩٩٩). مدى مساهمة الأسمدة الحيوية فى زيادة إنتاجية المحاصيل وتلاشى تلوث البيئة. المؤتمر الخامس للإرشاد الزراعى والتنمية الريفية - دور الإرشاد الجامعى فى إدارة وتوجيه الموارد البيئية المحلية، (٨-١٠) نوفمبر (١٩٩٩) - البرنامج الإقليمى لمتطلبات التنمية والإستثمار للأراضى الجديدة فى محافظة الدقهلية - منطقة قلابشو وزيان (ص ١٤٧-١٥٩).

فتحى إسماعبل على حوقه ومحمود محمد عوض الله السواح (٢٠٠١). منظومة التقنيات الحديثة

لحماية التربة الزراعية من التلوث والمحافظة على خصوبتها – المؤتمر الدولى الثانى عشر « حماية البيئة ضرورة من ضروريات الحياة » – مؤسسة العلميين الدوليين – الإسكندرية – مصر.

فتحى إسماعبل على حوقه ومحمود محمد عوض الله السواح (٢٠٠٢). تراكم المخلفات الزراعية فى البيئة – المشكلة والحل. ندوة « دور الهندسة الزراعية فى الإستفادة من المخلفات الزراعية والمحافظة على البيئة » ١٧ ديسمبر ٢٠٠٢ جامعة المنصورة – مصر ، المجلة المصرية للهندسة الزراعية ،(ص ٨٢-٩٨).

فتحى إسماعبل على حوقه ومحمود محمد عوض الله السواح وعلى السعيد شريف (٢٠٠٤). وسائل الإستفادة من المخلفات الزراعية بتحويلها إلى منتجات إقتصادية صديقة للبيئة. المؤتمر البيئى الدولى السنوى الثانى « البيئة والأمان الصحى » ٦-٨ إبريل ٢٠٠٤ جامعة المنصورة.

❖ مقالات:

محمود محمد عوض الله السواح (١٩٩٩). عودة أشهر قاتل فى التاريخ. مجلة العربى – الكويت – العدد ٤٩٢ – نوفمبر ١٩٩٩.

محمود محمد عوض الله السواح (٢٠٠٣). إنتاج عيش الغراب على قش الأرز. زراعات لا تتخلف عنها مخلفات. مجلة جامعة المنصورة فى خدمة المجتمع وتنمية البيئة ، العدد الثانى ص ٩٥-٩٧ ، يوليو ٢٠٠٣.

❖ نشـرات:

محمود محمد عوض الله السواح زراعة عيش الغراب. مشروع تطوير المقررات العملية لرفع كفاءة خريجي كلية الزراعة بما يتواءم مع متطلبات السوق الخارجى – كلية الزراعة جامعة المنصورة – صندوق مشروع تطوير التعليم العالى (٢٠٠٦).

محمود محمد عوض الله السواح وفتحى إسماعيل على حوقه إنتاج الأعلاف البديلة من المخلفات الزراعية. مشروع تطوير المقررات العملية لرفع كفاءة خريجى كلية الزراعة بما يتواءم مع متطلبات السوق الخارجى – كلية الزراعة جامعة المنصورة – صندوق مشروع تطوير التعليم العالى (٢٠٠٦).

محمود محمد عوض الله السواح وفتحى إسماعيل على حوقه إنتاج السماد العضوى الصناعى (الكومبوست). مشروع تطوير المقررات العملية لرفع كفاءة خريجى كلية الزراعة بما يتواءم مع متطلبات السوق الخارجى – كلية الزراعة جامعة المنصورة – صندوق مشروع تطوير التعليم العالى (٢٠٠٦).

محمود محمد عوض الله السواح وفتحى إسماعيل على حوقه إنتاج الغاز الحيوى (البيوجاز). مشروع تطوير المقررات العملية لرفع كفاءة خريجى كلية الزراعة بما يتواءم مع متطلبات السوق الخارجى

- كلية الزراعة جامعة المنصورة - صندوق مشروع تطوير التعليم العالى (٢٠٠٦).

محمود محمد عوض الله السواح وفتحى إسماعيل على حوقه إنتاج الأسمدة الحيوية. مشروع تطوير المقررات العملية لرفع كفاءة خريجى كلية الزراعة بما يتواءم مع متطلبات السوق الخارجى - كلية الزراعة جامعة المنصورة - صندوق مشروع تطوير التعليم العالى (٢٠٠٦).

❖أفلام علمية:

زراعة عيش الغراب. برنامج التعليم عن بعد. قسم الإرشاد الزراعى والتنمية الريفية - كلية الزراعة جامعة المنصورة - جامعة جويلف الكندية (٢٠٠٢).

❖كتب:

محمود محمد عوض الله السواح كيف تزرع.. المشروم (الشامبنيون - عيش الغراب). الطبعة الأولى - دار النيل للطباعة والنشر - المنصورة (٢٠٠٠).

محمود محمد عوض الله السواح الإنزيمات الميكروبية. الطبعة الأولى - المكتبة العصرية - المنصورة - مصر (٢٠٠٢).

محمود محمد عوض الله السواح وإيمان حسين عاشور يوسف الميكروبيولوجيا العامة الطبعة الأولى - المكتبة العصرية - المنصورة - مصر (٢٠٠٢).

محمود محمد عوض الله السواح وآخرون الميكروبيولوجيا العامة العملية الطبعة الأولى - المكتبة العصرية - المنصورة - مصر (٢٠٠٢).

محمود محمد عوض الله السواح استراتيجيات التحولات الحيوية. الطبعة الأولى - المكتبة العصرية - المنصورة - مصر (٢٠٠٣).

محمود محمد عوض الله السواح البيوتكنولوجيا والميكروبات. الطبعة الأولى - المكتبة العصرية - المنصورة - مصر (٢٠٠٤).

محمود محمد عوض الله السواح استراتيجيات جديدة فى التحولات الميكروبية. الطبعة الأولى - المكتبة العصرية - المنصورة - مصر (٢٠٠٦).

محمود محمد عوض الله السواح العلاج الميكروبى للبيئة. الطبعة الأولى - المكتبة العصرية - المنصورة - مصر (٢٠٠٦).

❖مذكرات:

أعضاء هيئة التدريس بقسم الميكروبيولوجيا كلية الزراعة جامعة المنصورة الميكروبيولوجيا العامة

العملية مشروع تطوير المقررات العملية لرفع كفاءة خريجى كلية الزراعة بما يتواءم مع متطلبات السوق الخارجى – كلية الزراعة جامعة المنصورة – صندوق مشروع تطوير التعليم العالى (٢٠٠٦).

أعضاء هيئة التدريس بقسم الميكروبيولوجيا كلية الزراعة جامعة المنصورة ميكروبيولوجيا الأراضى العملية مشروع تطوير المقررات العملية لرفع كفاءة خريجى كلية الزراعة بما يتواءم مع متطلبات السوق الخارجى – كلية الزراعة جامعة المنصورة – صندوق مشروع تطوير التعليم العالى (٢٠٠٦).

Thesis Supervised

1. A study on the production of lactase from yeasts, by Mahmoud Ahmed El-Hoseny, 1992.
2. A study on the factors affecting phytase production from certain fungal species, by Abear Abd El-Wahab Ali, 1993.
3. Studies on the factors affecting invertase production from baker's yeast Saccharomyces cerevisiae, by Abeer Mohamed Fathy El-Baz, 1993.
4. Microbial production and application of some hydrolytic enzymes, by Yasser Sabry Mohamed Mostafa, 1995.
5. Production of phytase by bacteria and reduction of phytic acid content in certain diets, by Wesam El-Din Ismail Ali Ali Saber, 1995.
6. Microbial studies on some biofertilizers, by Ahlam Ali Mostafa Mehasen, 1996.
7. Studies on the production of microbial β-galactosidase, by Azza Said Abd El-Kafy Menchawy
8. The occurrence of Listeria spp in some dairy products, By Sahar Shafek El-Mahdy Mohamed, 1997.
9. Studies on xanthan production from bacteria, By Wesam El-Din Ismail Ali Ali Saber, 1999.
10. The effect of grilled meat consumption on health, by Eman Mohammed Bassiouny Abd El-Rahman, 1999.
11. Studies on some microbial cleansings for the environment, by Samah Abdallah Shady, 2003.
12. Role of biofertilizers and organic matter in the improvement of plant

growth and soil fertility in some newly reclaimed soils, by Hamdy Abd El-Moneim Khafagy, 2003.

13. Studies on the microbial production of citric acid, by Sherif Mohamed El-Kady, 2003.

14. Studies on thermostable microbes producing for lipase, by Ehsan Mohamed Mohamed Rashad, 2003.

15. Saccharification of some industrial and agricultural wastes by fungal enzymes, by Abeer Mohamed Fathy El-Baz, 2003.

16. Treating paddy field with N_2-biofertilization and its effect on growth nutrients uptake and yield of sequent crop, by Ibrahim Said Mohamed Mosaad, 2005.

17. Evaluation of some plant residues as organic fertilizers, by Moustafa Abd El-Rahman El-Agamy, 2006.

18. Some alterations in microbiological and chemical properties of flooded soils inoculated with dinitrogen fixing cyanobacteria, by Abd El-Gawad Y. Abd El-Gawad, 2006.

19. The role of some natural enemies in the control of pink and spiny by bollworms, by Mohamed Moustafa El-Barbary, 2006.

20. Studies on the production of baker's yeast with high selenium content for bread enrichment, by Mohamed Ibrahim Mahmoud Hassan, 2006.

21. Role of cellulose-and pectin-decomposing microbes and their enzymes in root nodules formation in some legumes, by Nagi Ibrahim Saleh El-Azony, 2006.

22. Studies on certain microbial polymers, by Sherif Mohamed Lotfy El-Kady, 2008.

23. Studies on microbial production of pullulan, by Dina Fathi Ismail Ali, 2008.

24. Studies on mushroom fungi, by Rasha Yousef Yousef, 2009.

2.5 Further studies on some microbial cleansings for the environment, by Samah Abdallah Shady, 2009.

المكتب العلمية للنشر والتوزيع
٥٠ شارع الشيخ ريحان - عابدين - القاهرة
٢٧٩٥٤٢٢٩
www.sbh-egypt.com
e-mail : sbh@link.net
Scientific Book House

الدار العلمية للنشر والتوزيع
٥٠ شارع الشيخ ريحان - عابدين - القاهرة
٢٧٩٥٤٢٢٩
www.sbh-egypt.com
e-mail : sbh@link.net
Scientific Book House



Bibliotheca Alexandrina
0743174

ISBN 978-977-287-955-2
9 789772 879552

دار الكتب العلمية للنشر والتوزيع
٥٠ شارع الشيخ ريحان - عابدين- القاهرة
☎ ٢٧٩٥٤٢٢٩
www.sbhegypt.org
e-mail:sbh@link.net