كلية الزراعة - جامعة واسط

قسم وقاية النبات

المرحلة الثالثة

امراض نبات عملي

المختبر الثالث **.أ.م. نور كاظم كريم الزبيدي**

تشخيص المرض النباتي وعزل مسببات الامراض

تشخيص المرض النباتي :

تعد عملية تشخيص المسبب المرضي أو هوية المرض الخطوة الاولى في معرفة الكيفية التي يتم بها معالجة المرض ويعتمد ذلك على استخدام الخبرة البحثية لان عملية التشخيص هي فن تحديد العوامل الاولية المسببة للمرض .

وهناك بعض الاسس التي يجب اخذها بنظر الاعتبار قبل اجراء عملية التشخيص للاستدلال بها لمعرفة هوية المرض ، وهي :

١-الاطلاع على كيفية توزيع الاعراض على النباتات المصابة في الحقل ان كانت ظاهرة على عدد من النباتات أوكلها .

٢-ملاحظة ومعرفة الحشرات التي تكثر في الحقل للتأكد من هوية ناقلات المرض .

٣-تحديد الامراض الشائعة التي تصيب العائل النباتي التي تظهر نفس الاعراض .

٤-مراقبة تطور المرض ومراحل نمو النبات والظروف البيئية والفترة التي يظهر بها المرض من السنة .

٥-معرفة كاملة عن النبات السليم من ناحية مظهره ووظائفه قبل حدوث المرض .

٦-دراسة خواص التربة الفيزياوية والكيمياوية التي زرع فيها النبات قبل الاصابة .

وإن بامكان المختصين بالامراض النباتية ونتيجة الخبرة الحقلية والمختبرية تحديد المسبب الممرض إذا كان معروف سابقاً من خلال الاعراض التي تسببها بعض الامراض النباتية على العائل ، إلا ان هناك بعض عوامل الاختلاف في هذا المجال ، إذ توجد عدد من الامراض تصاحبها اعراض مربكة مثل التشقق والتعفن الطري والاصفرار وقد تكون متسببة باكثر من نوع من العوامل المرضية الحيوية وغير الحيوية (ظروف بيئية). كما تفيد العلامات (signs) في التشخيص والتي هي عبارة عن تراكيب تخص المسبب المرضي كظهور الزغب في امراض البياض الزغبي أو المسحوق الابيض المسببة لامراض البياض الدقيقي .

<u>-فرضيات كوخ :</u>

عندما يكون المرض مشخص مسبقاً وعند حدوثه بنفس المنطقة أو منطقة اخرى للمرة الثانية ، فإنه يتم الاستناد في تحديد المسبب طبقاً لصفاته أو اعراضه التي تم تسجيلها ونشرها .

أما إذا كان مسبب المرض غير معروف مسبقا وبعد التأكد من أنه عامل غير بيئي ولاتوجد معلومات منشورة عنه ففي هذه الحالة يمكن الاستناد الى الخطوات المعروفة باسم فرضيات كوخ لتثبيت هويته وكما يلي :

١-وجود المسبب المرضي في نباتات العائل المصاب .

٢-الفحص المجهري للنسيج النباتي المريض وعزل المسبب على بيئة غذائية .

٣-بعد تنمية المسبب المرضي بشكل نقي يجيب تلقيح نباتات سليمة من نفس نوع العائل الاصلي أو الصنف المصاب لغرض الحصول على نفس الاعراض التي ظهرت على النبات الاصلي في الحقل .

٤-واعادة عزل المسبب مرة اخرى ومقارنة صفاته بذلك الذي تم عزله بالخطوة (٢) .

لقد وجد بأن فرضيات كوخ قابلة للتطبيق على اكثر المسببات المرضية مثل البكتريا والفطريات والنباتات الزهرية المتطفلة (مثل الهالوك) والديدان الثعبانية وبعض الفيروسات .

طرق عزل المسببات المرضيه النباتيه :

يشترط في الكائن الحي المشتبه به كمسبب مرضي ان تتوفر فيه فرضيات كوخ نسبة الى مكتشفها العالم كوخ عام ١٨٨٢.

١- عزل مسببات الامراض من الاجزاء النباتيه المصابه

لاجل عزل الامراض النباتيه من الاجزاء النباتيه المصابه يجب ان تتوفر لدينا عينات من النباتات المصابهبامراض نباتيه وان تتوفر لدينا اوساط غذائيه مناسبه وكذلك موادمعقمه حيث نقوم بقطع بعض الانسجه المصابه بمساحه صغيره ولتكن ١ سم مربع على ان تشمل الجزء المصاب مع الجزء المجاور السليم بحيث لايتعدى ذلك المساحه المعلومه ثم نقوم بغسل هذه الاجزار تحت ماء جار او معقم ولمرات عديده لازالة الاوساخ والاتربه العالقه بعد ذلك نقوم بتعقيمالاجزاء النباتيه تعقيما سطحياقبل اجراء عملية العزل باستخدام احد المحاليلالمعقمه الاتيه :

١- كلوريد الزئبقيك ١%

٢-الفاست ٦%

٣-الفورمالين ٥%

٤-الكحول ٧٠%

٥-ماء الاوكسجين ٣%

٦-برمنكنات البوتاسيوم ٢%

تغمر فيها الاجزاء المصابه لمدة معينه حسب المحلول والجزء المصاب ونوعية النبات ثم يجب بعد التعقيم غسل الاجزاء النباتيه بالماء المعقم المقطر عدة مرات للتخلص تماما من اثار المواد المعقمه الذي سبق استعمالها للتعقيم . وتحت ظروف التعقيم تنقل الاجزاء التي تم تحضيرها على الوسط الزرعي الخاص بالكائن المراد عزله ثم تسجيل المعلومات اللازمه على الاطباق الحاويه على الاوساط الزرعيه ونقلها الى الحاضنه وحسب ظروف الكائن الحي المراد عزله ووضعها بصورة مقلوبه ولفتره زمنيه مناسبه والمراقبه لحين ظهور النموات حيث يعزل الكائن ذو المواصفات المطلوبه وحسب الدراسه.

في بعض الاحيانلا يمكننا اجراء عملية التعقيم السطحي خاصة في العينات التي ينمو فيها المسبب المرضي سطحيا ففي هذه الحاله تقطع الاجزاء المصابه بمشرط وتؤخذ منها قطع صغيره بملقط معقم وتوضع كل قطعه على وسط اكار الماء ويضاف الى الوسط كميه قليله من حامض عضوي مثل حامض اللاكتيك او مادة الروز بنكال ٥ ملغم / لترلمنع كائن معين من النمو دون اخر يراد انماؤه.

عزل وتقدير فطريات التربه :

ان فطريات التربه تلعب دورا كبيرا في التوازن الاحيائيفي التربهكما وان لها دور كبير في تفسخ وتحلل المواد العضويه اما الجزء الاهم بالنسبه للمشتغلين بالامراض فهو الفطريات التي تسبب امراضا نباتيه مثل امراض موت البادرات والذبول وتعفن الجذور لهذا لابد من دراسة هذه الفطريات وتقدير كثافتها العدديه وتوزيعها

وفيمايلي اهم الطرق لعزل الفطريات من التربه :

ا- عزل الفطريات من التربه بصوره مباشره :

يؤخذ قليل من التربه الزراعيه على راس المشرط المعقم يوضع في طبق يحتوي على وسط غذائي P.D.A ثم تترك الاطباق في الحاضنه وحسب الظرف الملائم والمده الملائمه لنمو الكائن المراد عزله وتراقب الاطباق الموضوعه بصورة مقلوبه لحين ظهور النموات بعدها يؤخذ من المايسيليوم النامي على شريحه يوجد عليها قطره من صبغة الفطريات الخاصه اللاكتوفينول الزرقاء وتنقل تحت المجهر .

ب - عزل فطريات التربه باستخدام الاجزاء (الطعوم) النباتيه :

تؤخذ ثمار صلبه او خضراء ويعمل فيها ثقوب بعمق ١سم بواسطة ثاقب الفلين وبعد وضع قليل من التربه في الثقب يغلق بشريط لاصق تحضن الثمار بعد وضعها باكياس البولي اثيلين المثقبه بالحاضنه تحت درجه حراره ووقت مناسبين وحسب الكائن تقطع الثقوب طوليا بحيث تظهر حافة نسيج الثمار والتي تحول لونها الى البني ثم ينقل جزء من النسيج المصاب بواسطة ابرة معقمه لزراعته على الوسط الغذائي للمده والظروف الملائمه وكما مر سابقا .

ج - عزل فطريات التربه بواسطة التراكيز المخففه :

تؤخذ عدة مكررات من عينات التربة وبصوره عشوائيه او تؤخذ عينات من الرايزوسفيرلجذور النبات المراد دراسته ثم نتبع الخطوات التاليه :

١. تخلط عينات التربة جيدا ثم تقدر الرطوبة النسبيه فيها وتؤخذ عينه معلومة الوزن فيها بدقه تجفف على ١٠٥ مئويهلمدة ٢٤ ساعه وتوزن مره اخرى ثم تجفف وتوزن مره ثالثه وحتى يثبت الوزن ثم نحسب الرطوبه النسبيه فيها لان تقدير الفطريات يحسب على اساس الوزن الجاف.

٢. عمل عدة تخافيف وبمكررات وحسب التجربه .

٣. تحضير الوسط الغذائي وليكن P.D.A مضاف له احد المضادات الحياتيه لمنع نمو البكتريا .

٤. اخذ ١ مل من كل تخفيف ويضاف اما فوق الوسط بنشره بواسطة قضيب زجاجي على شكل حرف L او يوضع في الطبق ويصب فوقه الوسط اللازم وبالمكررات المطلوبه وتحضن جميع الاطباق في الحاضنه بصورة مقلوبه بعد تعليمها بالمعلومات اللازمه. على الوقت والظروف المناسبه .

تفحص الاطباق بعد المراقبه وانتهاء مدة التحضين وتسجل المعلومات الاتيه:

١. عدد المستعمرات الفطريه مع الوصف المزرعي

٢. عمل شرائح للوصف المجهري

٣. المقارنه بين الكائنات

يمكن معرفة عدد المستعمرات الفطريه من على الطبق وضرب العدد * مقلوب التخفيف للحصول على عدد الخلايا الفطريه في العينه الماخوذه اصلا وهي ١ غم من التربه ويمكن ايضا استخدام هذه الطريقه لتقدير العدد الكلي للبكتريا الموجوده في ١ غم تربه على اساس الوزن الجاف بعد اختيار الوسط الغذائي اللازم