تحفيز تجرثم الفطريات فى المزارع

يحتاج تجرثم المزارع الفطرية إلى ظروف خاصة غير تلك التى يحتاجها النمو الخضرى لذات الأنواع الفطرية، ومثال ذلك ما يلى:

١ — يحتاج التجرثم إلى مجال حرارى أضيق مما يكون مناسبًا للنمو الخضرى.

٢ — قد يؤدى التعريض للضوء إلى تحفيز التكاثر الجنسى فى معظم الفطريات، وعادة ما يفيد التعرض للأشعة فوق البنفسجية — أو تلك القريبة منها التى تكون موجاتها أقل من ٣٤٠ نانومتر طولاً — فى حث التجرثم، إلا أن زيادة فترة التعرض لتلك الأشعة قد يعطى نتائج عكسية. ويستخدم لتحقيق ذلك إما لمبات الأشعة فوق البنفسجية أو القريبة منها، أو مجرد التعريض لضوء الشمس.

٣ — التهوية:

قد تؤدى زيادة تركيز غاز ثانى أكسيد الكربون أو الأمونيا فى المزارع إلى تثبيط النمو والتجرثم فى بعض الأنواع الفطرية. وعادة ما تسمح مزارع أطباق بترى والأنابيب ذات السدادات القطنية بالتبادل الغازى بالقدر الكافى، بعكس أوعية البولى بروبلين.

٤ — عوامل أخرى:

من بين العوامل الأخرى التى تؤثر فى نمو وتجرثم المزارع: المواد المغذية، خاصة الكربونية والنيتروجينية، والرقم الإيدروجينى، ونوع البيئة، وتركيز الأكسجين وثانى أكسيد الكربون فى هواء البيئة (عن Dhingra & Sinclair ١٩٨٥).

طرق تقدير تركيز المعلق البكتيرى المستخدم فى العدوى الصناعية

تُستخدم لأجل تقدير المعلقات البكتيرية المستعملة فى العدوى الصناعية للنباتات طريقتان رئيسيتان، هما:

أولاً: طرق التقدير التى تعتمد على كثافة المعلق (Turbidimetric Measurements)

تتميز هذه الطريقة بسرعتها وبساطتها. ولكن يعاب عليها أنها تعطى تقديرًا لتركيز الخلايا البكتيرية الحية والميتة على حد سواء، مع ضرورة معايرة الجهاز المستخدم عند

قياس تركيز كل نوع من الأنواع البكتيرية. تعرف القياسات التى تسجل لتركيز المعلق البكتيرى باسم Photoelectric Measurements، ويستخدم فى قياسها جهاز الـ Densiometer، أو الـ Colorimeter، أو Spectrophotometer.

وتعتمد فكرة قياس التركيز فى هذه الأجهزة على وضع أنبوبة زجاجية تحتوى على المعلق البكتيرى فى طريق شعاع من الضوء، ثم قياس كمية الضوء التى تنفذ خلاله وتصل إلى خلية ضوئية، حيث يمكن الحصول على تقدير لعدد الخلايا البكتيرية فى كل ملليلتر من المعلق من العلاقة الخطية العكسية التى تربط بين عدد الخلايا، وشدة الضوء الذى ينفذ من المعلق، والتى يتم التوصل إليها من دراسات أولية تجرى لكل نوع بكتيرى على حدة. ويراعى دائمًا ضبط الجهاز على الصفر بوضع أنبوبة مملوءة بالماء أو بالبيئة السائلة قبل وضع الأنبوبة المحتوية على المعلق البكتيرى فى الماء، أو فى البيئة السائلة، على التوالى.

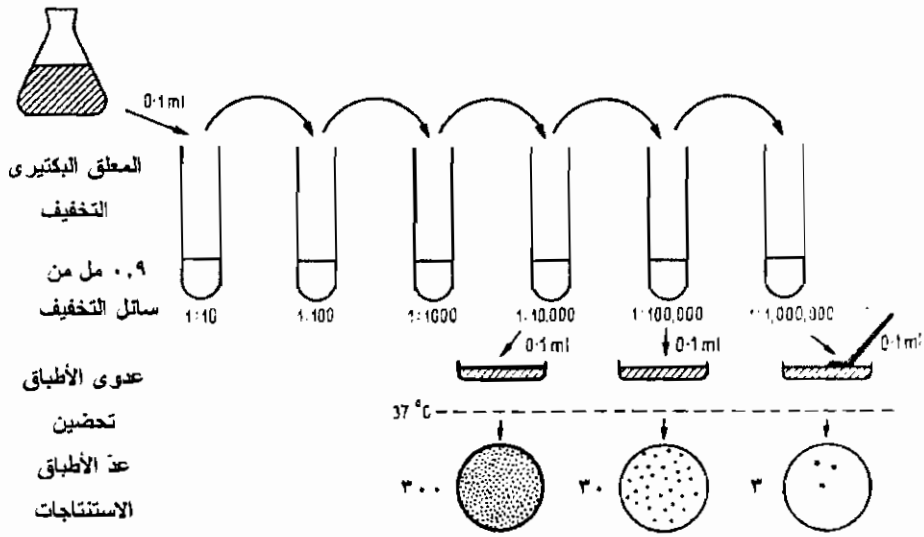
ثانياً: طريقة العد فى الأطباق Plate Count Techuique

يجرى تخفيف تركيز المعلق البكتيرى بسلسلة من التخفيفات كما هو مبين فى شكل (٢-٢). تؤخذ عينات معلومة الحجم من المعلق البكتيرى من التخفيفات الثلاثة الأخيرة، وتفرد على بيئة مناسبة فى طبق بترى، وتترك لتنمو فيها البكتيريا، حيث يمكن – من عدد المستعمرات البكتيرية النامية – التوصل إلى تركيز الخلايا البكتيرية فى المعلق الأصلى.

يراعى عند اتباع هذه الطريقة استخدام ماصات مختلفة عند إجراء التخفيفات المتتابعة، وعند نقل جزء من المعلقات المخففة إلى أطباق بترى، مع نشر المعلق على البيئة باستخدام قضيب زجاجى على شكل حرف L. يعقم القضيب الزجاجى أولاً بغمسه فى الكحول، ثم إشعال الكحول العالق به. ويمكن استخدام نفس القضيب الزجاجى إذا بدأ العمل بأكبر التخفيفات (أقل تركيز للخلايا البكتيرية)، ثم تقدم نحو التخفيفات الأقل منها (Kiraly وآخرون ١٩٧٤).

يعاب على هذه الطريقة أنها تحتاج إلى يومين على الأقل لتنفيذها، مع ما يتطلبه

ذلك من جهد. بالإضافة إلى أنها تعطى – بعد يومين من العدوى – تقديرًا لتركيز المعلق البكتيرى الذى استخدم بالفعل، وبذا .. لا يمكن استخدامها فى التحكم فى تركيز المعلق البكتيرى الذى يرغب فى استخدامه.



عدد المستعمرات × تخفيف العينة × ١٠ = عدد الخلايا البكتيرية/مل
٣٠ × ... × ١٠٠ × ١٠ = ٣ × ١٠^{٧} خلية/مل

شكل (٢-٢): طريقة عَد المستعمرات البكتيرية فى الأطباق لتقدير تركيز المعلقات البكتيرية.

تقدير أعداد البكتيريا فى الأنسجة النباتية المصابة

يلزم أحيانًا تتبع أعداد البكتيريا فى الأنسجة النباتية المصابة، ويجرى ذلك بطريقة العد فى الأطباق Plate Count Technique التى سبقت الإشارة إليها. ويوضح شكل (٢-٣) كيفية تحضير سلسلة من التخفيفات للبكتيريا التى يحصل عليها من النسيج النباتى المصاب. يراعى غسيل العضو النباتى المستعمل أولاً وتطهيره سطحيًا، ثم تؤخذ منه أقراص صغيرة باستعمال ثاقبة فلين. تهرس الأقراص فى هاون صينى، مع استعمال ٠,١ مل من الماء لكل قرص من الأنسجة الورقية، ويستمر الاختبار كما فى طريقة العد فى الأطباق.