طرق الحقن (العدوى الصناعية) لتقييم المقاومة فى الصوبات

تختلف طرق العدوى الصناعية التى تتبع لأغراض التقييم لمقاومة الأمراض تحت ظروف البيوت المحمية – حسب المرض – كما يلى :

عدوى النموات الورقية

تحقن النموات الخضرية بمسببات الأمراض بعديد من الطرق ؛ منها : الرش ، والتجريح، والتعفير ، والحك ، واستخدام فرشاة ملوثة بالمسبب المرضى مع استعمال معلق جراثيم فطرية ، أو جراثيم جافة ، أو معلق بكتيرى ، أو مستخلصات لنباتات مصابة بالفيرس فى حالة اختبارات المقاومة للفيروسات .

ونذكر – فيما يلى – طرق الحقن المتبعة فى هذا الشأن سواء أكانت طرقا عامة ، أم خاصة بمسببات مرضية معينة .

١ – عدوى الأوراق الفلقية :

تتم أحيانا عدوى الأوراق الفلقية بالمسببات المرضية بهدف الانتهاء من اختبار التقييم فى أيام قليلة بعد الإنبات مباشرة ، وبذا .. يمكن تقييم أعداد كبيرة من النباتات فى وقت قصير ، وفى مساحة صغيرة . وتحب فى هذه الحالة مقارنة النتائج المتحصل عليها من اختبار عدوى الأوراق الفلقية بنتائج اختبار آخر تحقن فيه النباتات بطريقة تماثل الإصابة بالطريق الطبيعى ، حتى لا تكون نتائج الاختبار مضللة .

وأهم مايعيب العدوى بهذه الطريقة أن الأوراق الفلقية ربما لاتحتوى على المنافذ الطبيعية للإصابة بالمسبب المرضى ، ويترتب على ذلك تصنيف بعض النباتات أو الأصناف على أنها مقاومة ، بينما فى قابلة للإصابة ، أو العكس .

وقد اتبعت هذه الطريقة فى تقييم السبانخ لمقاومة فيرس الخيار رقم ١ Cucumber virus 1 (Webb ١٩٥٥) ، والطماطم لمقاومة البكتيريا Corynebacterium michiganense المسببة لمرض التسوس البكتيرى (Hassan وآخرون ١٩٦٨) ، والبرسيم الحجازى لمقاومة البكتيريا C. insidiosum المسببة للذبول (Kreitlow ١٩٦٣) .

٢ – عدوى الأوراق بالفطريات :

بالنسبة للأمراض الفطرية التى تصيب الأجزاء الهوائية للنبات فإن العدوى الصناعية قد تجرى بالرش بجراثيم أو هيفات الفطر ، وهى معلقة فى الماء ، أو فى زيت معدنى ، فتستخدم معلقات الفطر فى الماء فى حالة الفطريات الطحلبية ، و لكن الماء يكون ضارا لفطريات أخرى مثل فطريات البياض الدقيقى والأصداء ، ولذا .. فإنها تعلق عادة فى الزيوت المعدنية .

كما يمكن تعفير النباتات بالجراثيم الجافة للفطريات ، وقد تستخدم لذلك فرشاة طلاء ، أو أجهزة خاصة تحمل فيها الجراثيم مع تيار من الهواء لتتوزع بتجانس على النباتات التى يراد اختبارها وغالبا ما تخلط الجراثيم ببودرة التلك لتأمين تجانس توزيعها .

ويلزم فى كثير من الحالات إبقاء النباتات فى رطوبة نسبية عالية تقترب من ١٠٠ ٪ لمدة ١٢ – ٢٤ ساعة بعد العدوى لتحفيز الإصابة والتجرثم . ويتحقق ذلك – تحت ظروف الحقل – إما عن طريق الرى بالرش ، وإما بتنكيس نواقيس زجاجية على النباتات المعاملة ، التى يستفاد منها بعد ذلك فى انتشار الإصابة فى الحقل .

وقد أوضح Tu & Poysa (١٩٩٠) أن عدوى أوراق نباتات الطماطم التى يراد اختبارها لمقاومة مرض تبقع الأوراق السبتورى بفرشاة سبق غمسها فى معلق لجراثيم الفطر Septoria lycopersici كان أفضل من غمس الأوراق فى المعلق أو رشها به مباشرة . استخدم فى العدوى معلق لجراثيم الفطر بتركيز مليون جرثومة بكل ملليلتر .

وقد استخدمت فرشاة من شعر الجمل فى عدوى الأوراق من السطحين . وأعقب ذلك وضع الأصص المحتوية على النباتات المحقونة فى (صوانٍ) بها طبقة رقيقة من الماء ، وتغطية النباتات بشريحة بلاستيكية ، ثم تركها فى صوبة على درجة حرارة ٢٤ ± ٢°م لمدة يومين . وقد ظهرت الاختلافات – فى شدة الإصابة – بين التراكيب الوراثية بعد ذلك بستة أيام أخرى ، وكانت الإصابة متجانسة بدرجة أفضل مما كانت عليه الحال فى أى من طريقتى غمس ، أو رش الأوراق فى معلق جراثيم الفطر .

٣ – عدوى الأوراق بالبكتيريا :

يجب دائما التمييز بين الأعراض الطبيعية typical ، وغير الطبيعية atypical عند عدوى الأنواع النباتية بمسببات الأمراض – خاصة البكتيرية منها – سواء أكانت الدراسة بهدف تحديد مدى العوائل ، أو التقييم للمقاومة .

إن الأعراض غير الطبيعية تظهر – غالبا – نتيجة لما يبديه النبات من مقاومة لهذه المسببات المرضية التى أدخلت فيه بوسائل صناعية خاطئة ، أو نتيجة لاستعمال تركيزات عالية ، وهى أعراض لا تظهر أبدا فى الظروف الطبيعية . ولذا .فإن اختيار طريقة العدوى وتركيز البكتيريا المناسبين أمران فى غاية الأهمية لتمييز النباتات المقاومة عن تلك القابلة للإصابة .

ويقدر أفضل تركيز للعدوى الصناعية ، بالبكتيريا المسببة للأمراض بنحو ٥× ٦١٠ خلية بكتيريا أو أكثر من ذلك / مل من المعلق البكترى ، فعند استعمال هذا التركيز تكون كل خلايا أنسجة النبات المحقونة على اتصال بالطفيل .

وتفيد كثيرا تهيئة الظروف التى تجعل ثغور الأوراق مفتوحة عند الحقن بالبكتيريا التى تُحدث بقعا ورقية ، ذلك لأن هذه البكتيريا تمر إلى المسافات التى توجد بين الخلايا من خلال الثغور المفتوحة . ولأجل هذا .. يمكن وضع النبات فى مكان رطب نصف مظلل ؛ كأن يوضع فوقه ناقوس زجاجى ، أو يترك فى غرفة نمو رطبة لمدة ٢٤ ساعة قبل العدوى الصناعية . ويمكن زيادة الرطوبة النسبية حول النبات بوضع ورق نشاف مبلل بالماء داخل الناقوس الزجاجى أو فى غرفة النمو .

يستخدم فى العدوى الصناعية بالبكتيريا مزارع بكتيرية حديثة يتراوح عمرها من ٢٤ – ٤٨ ساعة . تغسل هذه المزارع بماء معقم ، ويعدل تركيز المعلق البكتيرى حسب التركيز المطلوب الذى يتوقف على طريقة الحقن المتبعة ، كما يلى :

أ – رش المعلق البكتيرى على سطح النبات :

يعتبر رش المعلق البكتيرى على الأوراق النباتية أفضل طريقة للعدوى الصناعية بالبكتيريا المسببة لتبقعات الأوراق ؛ لأنها أقرب الطرق للعدوى الطبيعية . ويلزم فى هذه

الحالة وضع النباتات فى حجرة نمو رطبة لمدة ٢٤ ساعة قبل إجراء العدوى ، أو تعريضها للرش بالرذاذ mist لعدة ساعات قبل العدوى . وتتم العدوى برش السطح السفلى للأوراق – تحت ضغط منخفض – بمعلق بكتيرى يحتوى على أكثر من ٥ × ١٠^٦ خلية بكتيرية / مل . ولايخشى – فى هذه الحالة – من ظهور أعراض مرضية غير طبيعية لأن نسبة قليلة فقط من الخلايا البكتيرية التى توجد فى المعلق هى التى يمكنها المرور إلى المسافات البينية لخلايا النسيج الوسطى من خلال الثغور .

ونجد فى حالة عدم التوافق بين البكتيريا والنوع النباتى المستخدم أن البكتيريا تظهر نشاطها حول الثغور ، حيث تظهر الأعراض غير الطبيعية فى مساحات ميكرسكوبية لاتُرى بالعين المجردة . أما فى حالة التوافق .. فإن الإصابة يمكن أن تنتشر بدرجة كبيرة إلى أن تظهر الأعراض المميزة للمرض .

وبعد العدوى بالبكتيريا .. يمكن وضع النباتات مرة أخرى فى حجرة النمو الرطبة التى يجب أن تقترب رطوبتها من ١٠٠ ٪ ؛ فعلى سبيل المثال .. لم تظهر على أوراق الخيار التى حقنت بالبكتيريا P. lachrymans – المسببة لمرض تبقع الأوراق الزاوى – أية أعراض للإصابة عندما كانت الرطوبة النسبية ٨٠ – ٩٠ ٪ بعد العدوى ، بينما ظهرت أعراض المرض الطبيعية عندما كانت الرطوبة النسبية ٩٥ – ١٠٠ ٪ . تترك النباتات المعدية فى الرطوبة العالية لمدة ٦ – ١٨ ساعة بعد العدوى الصناعية بالمسبب المرضى ، ثم تنقل إلى بيت محمى بعد ذلك .

وإذا ما رشت البكتيريا على السطح السفلى للأوراق تحت ضغط – من جهاز لضغط الهواء – فإن هذا الضغط يجب ألا يزيد على ٥ر١ كجم / سم٢ . ونجد كنتيجة للضغط – فى هذه الحالة – أن البكتيريا تجبر على المرور إلى المسافات البينية لخلايا نسيج الميزوفيل من خلال الثغور . ولذا .. فإن تركيز المعلق البكتيرى يجب ألا يزيد على ٥ × ١٠^٦ خلية / مل ، وإلا ظهرت أعراض غير طبيعية على النباتات فى حالات عدم التوافق . كذلك يجب عدم استخدام ضغط يزيد على ٥ر١ كجم / سم٢ وإلا حدثت أضرار بخلايا بشرة الأوراق ، مما يؤدى إلى ظهور أعراض غير طبيعية كذلك .

ب – حقن المعلق البكتيرى فى المسافات بين الخلايا :

تتم العدوى فى هذه الطريقة بحقن المعلق البكتيرى فى المسافات البينية لخلايا الورقة باستعمال حقنة طبية يسمح ذلك بإدخال عدد معلوم من الخلايا البكتيرية بتجانس تام فى المسافات البينية دون إحداث ضرر لنسيج الورقة . يجرى الحقن من السطح السفلى للورقة . وتزداد سهولة حقن الأوراق مع زيادتها فى العمر . ومن الضرورى أن يكون الجزء المائل من سن الإبرة – الذى توجد به الفتحة – إلى أسفل (أى تحت خلايا البشرة السفلى مباشرة) عند الحقن ، وأن يكون الحقن بين عروق الورقة . وتسمح هذه الطريقة باختبار عدة سلالات بكتيرية على نفس الورقة أو على أوراق مختلفة من نفس النبات .

جـ – حك الأوراق :

يمكن إحداث العدوى للنباتات التى تكون أوراقها مغطاة بطبقة شمعية بحك سطح الورقة بعد نثر قليل من الكربورندم عليها ، ثم نشر المعلق البكتيرى عليها؛ إما بالأصبع أو بفرشاة.

٤ – عدوى الأوراق بالفيروسات بطريقة الرش تحت ضغط :

تتعدد طرق الحقن بالفيروسات النباتية حسب طرق انتقالها ، وهو ما نتناوله بالتفصيل فى وضع آخر من هذا الفصل ، ونقصر حديثنا الآن على طريقة الرش تحت ضغط للحقن بالفيروسات .

تعرف هذه الطريقة باسم Spray Gun Method ، وهى شديدة الفاعلية مع بعض الفيروسات مثل فيرس موزايك التبغ . ويلزم عند اتباعها إضافة الكاربورندم إلى العصير الخلوى المستخدم فى العدوى الصناعية بنسبة ٥ ٪ بالحجم . ترش النباتات بقوة من على مسافة ٨ – ١٠ سم تحت ضغط ٤ – ٧ كجم / سم٢ . ويمكن بهذه الطريقة عدوى مئات النباتات الصغيرة فى دقائق معدودة (عن Greenleaf ١٩٨٦) .

عدوى السيقان والجذور وأعضاء التخزين المتشحمة

١ – العدوى بالبكتيريا بطريقة الوخز Pricking

يمكن عدوى السيقان أو الأجزاء اللحمية للنباتات بالبكتيريا بوخزها بإبرة أو تجريحها بمشرط سبق غمسه فى معلق للبكتيريا التى يُراد استخدامها فى العدوى ، و هى أفضل

الطرق للعدوى بأمراض الذبول البكتيرية وأعفان أعضاء التخزين . وتظهر أعراض الذبول الطبيعية عند اتباع هذه الطريقة أيا كان تركيز البكتيريا فى المعلق المستخدم .

ولعدوى أعداد كبيرة من النباتات بطريقة الوخز .. تثبت الإبرة وسط فرشاة بحيث يكون سن الإبرة دون مستوى أطراف شعر الفرشاة بقليل . ويغمس الفرشاة فى المعلق البكتيرى .. يمكن ضمان تلوث الإبرة بالبكتيريا بالقدر المناسب أثناء عدة وخزات متتالية . ويتم وخز النباتات الصغيرة – فى حالات أمراض الذبول – فى المنطقة التى تقع مابين الأوراق الفلقية والورقة الأولى .

وقد استخدم Hassan وآخرون (١٩٦٨) هذه الطريقة فى تقييم الطماطم لمقاومة البكتيريا C. michiganense المسببة لمرض التسوس البكتيرى (شكل٤ –١) .

٢ – العدوى بالبكتيريا عن طريق الأسطح المقطوعة

تجرى العدوى بأمراض الذبول البكتيرية بقطع نحو ١ – ٢ سم من الجذور ، ثم غمرها – بعد ذلك مباشرة – فى المعلق البكتيرى المناسب لمدة ساعتين ، ثم تشتل النباتات فى التربة .

كماقد تجرى العدوى فى حالة أمراض الذبول أيضا بطريقة أخرى تكسر فيها أعناق بعض الأوراق الصغيرة ، أو بعض الفروع الصغيرة ، ثم يوضع المعلق البكتيرى على مكان القطع ؛ بواسطة فرشاة أو ماصة .

وتجرى العدوى فى حالات أمراض الأعفان الطرية بعمل قطع فى عضو التخزين (الثمرة أو الجذور ، أو الدرنة ...إلخ) بمشرط أو نصل سكين معقم ، ثم يوضع المعلق البكتيرى على مكان القطع . وتوضع الأعضاء النباتية المحقونة بهذه الطريقة فى مكان رطب لمدة ٤٨ ساعة بعد الحقن (Kiraly وآخرون ١٩٧٤) .

٣ – العدوى بمسببات أمراض الجذور والحزم الوعائية

تحدث الإصابة الطبيعية والصناعية بهذه الأمراض عن طريق التربة ، ولكن العدوى الصناعية بأمراض الحزم الوعائية يمكن إحداثها عن طريق كل من الجذور والسيقان على حدٍّ سواء ، كما يلى :

شكل (٤-١) : أعراض الإصابة بمرض التسوس البكتيرى فى الطماطم عقب العدوى بالبكتيريا Corynebacterium michiganense المسببة للمرض بطريقة الوخز فى قاعدة الساق (Hassan ١٩٦٦).

أ - تجرى العدوى الصناعيةعن طريق التربة فى حالات الأمراض التى تحدث الإصابة الطبيعية فيها عن طريق الجذور ، وتعيش مسبباتها فى التربة ، مثل أمراض الذبول ، وأعفان الجذور ، وتثآلل الجذور فى الصليبيات ، وتثآلل البطاطس ... إلخ . تجرى العدوى الصناعية لتربة الحقل ، أو الصوبة بالمسبب المرضى ، ويحافظ على اللقاح فيها باستمرار زراعة صنف قابل للإصابة بهذا المسبب المرضى سنويا .

ب - لا يلزم فى معظم أمراض الذبول تقطيع الجذور لكى تحدث الإصابة ، إلا أنه ينصح بهذا الإجراء أحيانا لزيادة تجانس الإصابة (Walker ١٩٦٦)، كما يكون التجريح ضروريا

ضروريا فى حالات أخرى كما فى الذبول الفيوزارى فى البطاطا حيث يوصى – عند إجراء اختبار التقييم للمقاومة – بغمر قواعد العقل الطرفية لسيقان البطاطا فى معلق لجراثيم الفطر ، مع هرس تلك القواعد بآلة حادة (Hanna وآخرون ١٩٦١) .

جـ – بينما يسهل عدوى المجموع الجذرى للنباتات التى تشتل – مثل الطماطم والفلفل – حيث يغمر المجموع الجذرى فى معلق للمسبب المرضى قبل الشتل ، فإنه قد يستحيل إجراء ذلك بالنسبة للمحاصيل التى يصعب شتلها مثل الفاصوليا . وقد تغلب Wallace & Wilkinson (١٩٦٥) على هذه المشكلة عند تقييمهما الفاصوليا لمقاومة الفطر F. solani f . phaseoli المسبب لمرض عفن الجذور الجاف بإجراء اختبارات التقييم فى أصص بقطر ١٥سم مثبت فى قمتها حلقة ورقية (مبطنة بالبوليثيلين) بارتفاع ٦ سم ، وتملأ بالفيرميكيوليت (شكل ٤–٢). تزرع البذور على سطح التربة فى الأصيص ، ثم يضاف الفيرميكيوليت . بعد الإنبات .. تجرى العدوى بإضافة معلق جراثيم الفطر إلى الفيرميكيوليت . وعند تقييم النباتات .. تزال الحلقة الورقية وما بداخلها من فيرميكيوليت ، ثم تقدر درجة الإصابة فى السويقة الجنينية العليا للنباتات ، حيث يمكن – حينئذ – التخلص من النباتات القابلة للإصابة والإبقاء على النباتات المقاومة . وقد اتبعت هذه الطريقة فى دراسة المقاومة لكل من مرضى العفن الجاف والعفن الأسود فى الفاصوليا (Hassan وآخرون ١٩٧١ أ ، ب) .

٤ – تزداد المشكلة تعقيدا بالنسبة للنباتات الصعبة الشتل – كالفاصوليا – حينما لا يكون هناك مناص من فحص الجذور لتقدير شدة الإصابة ، حيث يتعذر حينئذٍ الاستفادة من النباتات المقاومة بعد تقليعها – لفحص جذورها – خاصة وأن عملية التقييم لا يمكن إجراؤها قبل مضى شهر أو شهر ونصف من زراعة البذور .

وقد توصل Wyatt & Fassuliotis (١٩٧٩) إلى طريقة تسمح بالاستفادة من النباتات المرغوب فيها المنتجة ، والمحافظة عليها ، ليمكن تهجينها ، أو تركها لتلقح ذاتيا . وتتلخص تلك الطريقة فى عدوى تربة "البنشات" فى الصوبة ، وزراعة الفاصوليا فى أصص من البيت موس أو الفخار مملوءة بتربة غير معدية بالنيماتودا ، ثم دفن هذه الأصص فى تربة (البنش) . تنمو – نتيجة لذلك – بعض الجذور من الثقوب التى توجد بأسفل الأصيص ،

حيث تتعرض للإصابة بالنيماتودا ، وبذا .. يمكن تقييمها مع الإبقاء على النباتات المقاومة التى تحتفظ بجذورها فى الأصص .

شكل (٤-٢) : خطوات اختبار تقييم الفاصوليا للفطر Fusarium oxysporum f. phaseoli المسبب لمرض عفن الجذور الجاف باستخدام طريقة الحلقة الورقية حول السويقة الجنينية السفلى . يراجع المتن لتفاصيل الاختبار (Hassan ١٩٧٠) .

وقد تمت عدوى تربة (البنشات) فى الطريقة السابقة بمعلق من بيض النيماتودا M. incognita فى قاع حُفَرَ عمق الحفرة ١٠ سم ، وقطرها ٨ سم كل ٢٠ سم فى صفوف تبعد عن بعضها البعض بمقدار ٣٠ سم ، بحيث يصل إلى كل حفرة نحو ١٢٠٠ بيضة من النيماتودا . وكانت أصص البيت المستخدمة فى الزراعة بقطر ٧ر٦ سم ، وثُقِّبت من القاع بقطر ٢ر٢ . وضعت هذه الأصص فى الحفر التى أضيف إليها اللقاح فى تربة (البنشات) .

وزرع بكل أصيص ثلاث بذور ، ثم أجريت عملية الخف على نبات واحد بعد الإنبات . وقد سجلت شدة الإصابة على الجذور التى نمت من قاع الأصص بعد ٣٥، و ٤٥ ، و ٥٥ يوما من زراعة البذور .

كذلك استخدمت أصص فخارية زرعت فيها بذور سبق استنباتها على مهاد ورقية إلى أن وصل طول النمو الجذرى فيها إلى ٦ – ٨ سم ، مع إبراز طرف الجذير من قاع الأصيص قبل تغطية البادرة بالتربة . وقد كانت تلك الطريقة أفضل من طريقة أصص البيت ؛ لأن الجذور كانت نافذة من قاع الأصص منذ البداية ، وكان التقييم – فى جميع النباتات – على الجذر الرئيسى ، وبذا .. فإنه كان متجانسا .

وكان من أبرز عيوب تلك الطريقة ما يلى :

١ – اعتمد التقييم – فى الحالات التى لم ينم فيها الجذر الرئيسى من قاع الأصيص – على إصابة الجذور الرفيعة التى نفذت من القاع ، الأمر الذى يجعل التقييم دقيقا .

٢ – نادرا ما أصيبت الجذور التى نفذت من جوانب الأصص بالنيماتودا ، حيث لم يتوفر لها الوقت الكافى لذلك .

٣ – لم تتحمل أصص البيت تأخير عملية التقييم إلى ٤٥أو ٥٥ يوما من الزراعة ؛ حيث كان من الصعب تداول الأصص آنذاك ، وغالبا ما أضير المجموع الجذرى للنباتات عندما نزعت الأصص من مكانها فى تلك المرحلة حيث ذبلت النباتات ، إلا أنها عادت إلى حالتها الطبيعية خلال يوم أو يومين عندما كان الفحص بعد ٣٥ – ٤٥ يوما من الزراعة .

ويلجأ البعض إلى تقييم نباتات الفاصوليا لمقاومة نيماتودا تعقد الجذور عندما يبلغ عمرها خمسين يوما ، وذلك عندما تكون القرون ناضجة جزئيا ، ولكن يعيب على تلك الطريقة ما يلى :

١ – تكون البذور التى تنتجها تلك النباتات ضعيفة ، وتعطى بادرات بطيئة النمو ، مقارنة بالبذور المكتملة النمو .

٢ – لا تسمح هذه الطريقة بتلقيح النباتات المنتخبة رجعيا ، أو مع نباتات أخرى مرغوب

فيها .

٣ – قد تتعرض جذور البناتات المنتجة – فى تلك المرحلة المتأخرة من النمو – للإصابة ببعض الفطريات المسببة للعفن ، مما يحدث تلفا فى قشرة الجذور يصعب معه التقييم للمقاومة .

ومن الطرق الأخرى التى استخدمت لتقييم نباتات الفاصوليا لنيماتودا تعقد الجذور إجراء الزراعة والعدوى الصناعية فى أحواض زجاجية شفافة ؛ كتلك التى تستخدم فى دراسات نمو الجذور ، وبذا .. يمكن ملاحظة تكوين الثآليل مباشرة .

عدوى البذور

يمكن عدوى البذور صناعيا بجراثيم الفطر الجافة المسحوقية ، أو بأى جزء آخر من المسبب المرضى . وقد تجرى العدوى بغمر البذور لفترة قصيرة فى معلق لجراثيم الفطر. ويراعى – فى كل الحالات – عدم زيادة أعداد الجراثيم – التى تصل إلى البذور على الحد المناسب .

وحقيقة الأمر أن ما يحدث فى هذه الطريقة هو تلويث للبذور بالمسبب المرضى (وليس إصابتها به) ؛ بحيث يكون الطفيل قريبا من العائل منذ المراحل الأولى لإنبات البذور . وتجرى هذه الطريقة خاصة عند العدوى بفطريات التفحم المغطى فى النجيليات . فمثلا .. تعدى بذور الشعير بالفطر Ustilago nigra بنقعها فى معلق لجراثيم الفطر لمدة ١٥ دقيقة، ثم يصفى الماء الزائد وتحضن البذور فى حضان رطب لمدة ٢٤ ساعة على درجة ٢٠°م ، ثم تزرع بعد ذلك .

عدوى الأزهار

تتبع طريقة عدوى الأزهار – أساسا – فى حالات التفحم السائب ، وفى مرض الإرجوت فى الشيلم . تعدى الأزهار بجراثيم الفطر بالرش ، أو بالتعفير ، أو بالحقن ، حيث ينتقل الفطر منها إلى الأجنة التى تتكون بعد الإخصاب (Kiraly وآخرون ١٩٧٤) . فمثلا .. تستعمل الرشاشات الحقلية لعدوى الشيلم فى الحقل بالفطر Claviceps المسبب لمرض الإرجوت ، وتحقن جراثيم التفحم السائب فى نورة نبات القمح ؛ باستعمال محقنة تحت

جلدية ، وتعدى نورات القمح والشعير بجراثيم التفحم السائب تحت تفريغ .

عدوى الثمار

لا تفضل عدوى الثمار إذا أمكن تقييم النباتات عن طريق الأجزاء النباتية الأخرى فى طور مبكر من النمو ، لأن عدوى الثمار يتطلب الانتظار وقتا طويلا إلى أن تثمر النباتات ، كما أن وصول النباتات إلى هذه المرحلة المتقدمة من النمو يتطلب مساحات أكبر من الوحدات التجريبية لإجراء عملية التقييم . وبالرغم من ذلك .. فإنه يلزم عدوى الثمار ذاتها فى بعض الأحيان ، كما فى مرض الأنثر اكنوز فى الطماطم .

وقد حصل Robbins وآخرون (١٩٧١) على ٩٥ ٪ إصابة بالأنثراكنوز فى ثمار صنف الطماطم Heinz 1350 بوضع نقطة صغيرة من معلق جراثيم الفطر على سطح الثمرة بواسطة محقنة ، ثم ثقب بشرة الثمرة تحت نقطة المعلق بإبرة المحقنة . وقد ظهرت أعراض المرض فى حرارة الغرفة وفى الرطوبة الجوية العادية ، وبذا .. لم تكن هناك حاجة إلى التحكم فى درجات الحرارة أو الرطوبة الجوية .

الطرق المختبرية (المعملية) لتقييم مقاومة النباتات للأمراض

تتعدد الطرق المختبرية المستخدمة فى تقييم مقاومة النباتات للأمراض ، ومن أمثلتها ما يلى :

عدوى الأوراق المفصولة

تتبع طريقة عدوى الأوراق المفصولة عن النبات (detached leaves) مع كثير من المسببات المرضية الفطرية ، مثل فطريات الأصداء ، والبياض الزغبى ، والبياض الدقيقى ، وتبقع الأوراق السركسبورى . ولاتباع هذه الطريقة تُعَوم الأوراق على محلول سكروزبتركيز ١ – ٣ ٪ فى ماء معقم ، و تجرى العدوى برش جراثيم الفطر ، أو نثرها جافة على سطح الورقة التى تعرض لإضاءة شدتها ١٠٠ قدم – شمعة لمدة ١٢ – ٢٤ ساعة ، مع درجة حرارة ٢٠ – ٢٤ °م . ويمكن – إضافة ٥٠ جزءاً فى المليون من الـ benzimidazole ؛ لتثبيط نمو الكائنات المترممة .