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 .

وقد أمكن عدوى الأوراق الأولية للفاصوليا بأى من الفطرين Botrytis cinerea ، أو Sclerotinia sclerotiorum ، وذلك برش الأوراق المفصولة بمعلق لجراثيم الفطر بتركيز مليونَىْ جرثومة / مل من محلول فوسفات غير عضوى منظم (KH_2PO_4 بتركيز ٥ر٦٢ملى مول) (Leone & Tonneijck ١٩٩٠) .

التقييم بسموم المسببات المرضية

يمكن اتباع هذه الطريقة تحت ظروف الصوبات كذلك ، وفيها تستخدم السموم Toxins التى تفرزها المسببات المرضية أثناء نموها فى البيئات الصناعية فى تقييم النباتات لمقاومة الأمراض التى تحدثها تلك المسببات المرضية ، إذا أنها تتسبب – فى بعض الحالات – فى أحداث أعراض مماثلة للأعراض التى تحدثها الإصابة بالمسبب المرضى ذاته .

كان أول استخدام لهذه الطريقة فى التقييم للمقاومة للفطر Helminthosporium victoriae فى الشوفان كما يلى : نقعت بذور الشوفان لمدة نصف ساعة فى الماء ، ثم وضعت فى طبقة بسمك ١٢ مم داخل أحواض خشبية ، وحوفظ عليها مبتلة على حرارة ٢٧°م لمدة يومين ، ثم رشت بعد ذلك بمحلول سُم الفطر ، ثم أبقيت على نفس درجة الحرارة لمدة يومين آخرين . اختبر بهذه الطريقة أكثر من ١٠٠ بوشل من البذور (حوالى ٥ر٤ × ١٠^{٧} بذرة شوفان) خلال أربعة أيام . وقد ظهرت بادرات خالية من أعراض المرض بمعدل ٥٠ بادرة لكل بوشل من البذور ، وتبين من الاختبارات التالية بالفطر ذاته أن ٩٢ ٪ من هذه البادرات كانت مقاومة فعلا للمرض (Wheeler & Luke ١٩٥٥) .

وقد أوضحت الدراسات التالية لذلك أن هذا السم الفطرى – الذى أطلق عليه اسم Victorin – يسبب تلفاً كبيرا للأغشية الخلوية بالأصناف القابلة للإصابة ، بينما لم يكن له تأثير يذكر فى الأصناف المقاومة . كما تبين أن مقاومة النباتات لهذا السم الفطرى كانت بسيطة وسائدة .

كذلك وجد أن النواتج الأيضية لبيئة الفطر المسبب لمرض الذبول الفيوزارى فى الكرنب (السلالة ١) ، والفطر المسبب لذبول الفجل (السلالة ٢) تحدث أعراضاً مرضية شبيهة بالأعراض الأولى للمرض لدى إضافتها إلى مزارع رملية للنباتات القابلة للإصابة . وقد

أحدثت إفرازات السلالة (١) أعراض المرض فى كل من الكرنب والفجل ، بينما أحدثت إفرازات السلالة (٢) أعراض المرض فى الفجل فقط ، وهو ما يتمشى مع حقيقة أن السلالة (١) تصيب كلا من العائلين ، بينما تصيب السلالة (٢) الفجل فقط (عن Walker ١٩٦٥) .

ومن أهم الأمراض النباتية (الفطرية) التى تظهر أعراضها نتيجة لإفراز مسبباتها لسموم خاصة ما يلى (عن Daly & Knoche ١٩٨٢) :

الفطر المسبب للمرض	العائل
Alternaria kikuchiana	الكمثرى
A . mali	التفاح
A . citri	البرتقال – اليوسفى – الليمون المخرفش
A . alternata	الشليك
A. alternata f. sp. lycopersisci	الطماطم
Helminthosporium victoriae	الشوفان
H . carbonum	الذرة
H. maydis	الذرة
H. sacchari	قصب السكر
Periconia circinata	الذرة الرفيعة
Phyllosticta maydis	الذرة الشامية

وغالبا ما تكون المقاومة لسموم المسببات المرضية صفة وراثية بسيطة .

وقد اختبر Kuti & Ng (١٩٨٩) مقاومة الفطر Myrothecium roridum فى القاوون بعدوى الأوراق المفصولة ؛ إما بالفطر ذاته ، وإما بالمركب roridin E – وهو من إفرازات الفطر السامة لنبات القاوون – وتبين وجود اختلافات وراثية بين النباتات المختبرة فى تحملها لكل من الفطر وإفرازاته السامة ، وكان معامل الارتباط بينهما ٩٤ر٠ .

وترجع أهمية اختبارات المقاومة التى تجرى بهذه الطريقة إلى إمكان تقييم أعداد هائلة

من البنور والبادرات بيسر وسهولة خلال فترة زمنية وجيزة وفى مساحة صغيرة . ويفضل عند اتباع هذه الطريقة استخدام تركيزات منخفضة نسبيا من سموم المسببات المرضية فى البداية ؛ حتى لا يقضى على جميع التراكيب الوراثية التى قد تكون على درجات متوسطة من المقاومة ، ثم تعرض هذه النباتات – أو أنسالها – لتركيزات أعلى من السموم بعد ذلك (Durbin ١٩٨١) .

هذا .. إلا أنه يجب الحذر من أن استخدام إفرازات أو سموم المسببات المرضية فى تقييم المقاومة للأمراض قد يؤدى إلى نتائج خاطئة . فمثلا .. وجد أن الفطر Verticillium albo - atrum يصيب كلا من النباتات المقاومة والقابلة للإصابة ، ويمتد أعلى الساق ، لكن لا تظهر أعراض المرض إلا فى الأصناف القابلة للإصابة فقط ، وهى التى يفرز فيها الفطر سمومه التى تحدث الأعراض المشاهدة ؛ أى إن المقاومة ترجع إلى قدرة النباتات المقاومة على الحد من إفراز الفطر لسمومه فيها ؛ وبذا .. فإن استعمال سموم الفطر فى تقييم المقاومة فى حالات كهذه – يؤدى إلى نتائج خاطئة .

ولمزيد من التفاصيل عن سموم مسببات الأمراض النباتية واستخداماتها فى تقييم المقاومة .. يراجع Durbin (١٩٨١) ، و Daly & Knoche (١٩٨٢) .

استعمال مزارع الأنسجة فى اختبارات مقاومة الأمراض

تعددت محاولات استخدام مختلف أنواع مزارع الأنسجة من قبل مربى النبات لانتخاب سلالات مقاومة للأمراض ؛ فمثلا .. أمكن الاستفادة من مزارع الخلايا فى إنتاج سلالات دخان مقاومة لفيرس التبرقش . وقد تحقق ذلك بعدوى أوراق نبات دخان أحادى المجموعة الكروموسومية بشكل متجانس تماما بإحدى سلالات الفيرس ، ثم تعريضها لأشعة جاما . وأخذت بعد ذلك أجزاء من نسيج هذه الأوراق ، وزرعت فى بيئة مغذية ، تحتوى على تركيز مرتفع من السيتوكينين ، وعرضت لإضاءة قوية . وقد سمحت هذه الظروف بحدوث نمو غير متساو للخلايا المحتوية على الفيرس (القابلة للإصابة) والخالية منه (المقاومة التى حدثت بها الطفرات) ؛ بحيث أمكن التمييز بين الكالس الأصفر البطىء النمو (المصاب) ، والأخضر السريع النمو (المقاوم) . وأمكن من بين ٣٢١٠ Calli (جمع كالس) الحصول على سبعة نباتات كانت مقاومة للفيرس ، هذا .. بينما لم يحصل على أية نباتات مقاومة

للفيرس من الأوراق التى لم تعرض للأشعة . وقد استمرت المقاومة فى نسل هذه النباتات ، وظهرت على شكل نقص فى تركيز الفيرس ، وضعف حركته فى النبات ؛ مما أدى إلى تأخير ظهور الأعراض لمدة ٣ – ٨ أسابيع ، مقارنة بالنباتات غير المقاومة (عن Daub ١٩٨٤) .

استخدمت كذلك سموم المسببات المرضية فى انتخاب سلالات خلايا Cell Lines مقاومة لهذه المسببات . وتتميز هذه الطريقة بسهولتها ، وبأن جميع الخلايا تعرض لمستوى واحد من سموم المسببات المرضية ، ولكن يعيبها أن نسبة بسيطة فقط من المسببات المرضية هى التى تنتج سموما ، وأن قليلا من هذه السموم هو الذى أمكن عزله وتنقيته ، لاستخدامه فى الانتخاب للمقاومة ، كما أن بعض السموم تكون خاصة بعوائل معينة host- specific وتحدث بها نفس الأعراض التى تحدثها المسببات المرضية ذاتها ، بينما تكون سموم أخرى ذات تأثير عام non - host – speceific على عدد كبير من الأنواع النباتية ، ويكون دورها فى إحداث الأعراض المرضية أقل من سابقتها . ومن أمثلة سلالات الخلايا التى انتخبت لمقاومتها لسموم المسببات المرضية أو راشح بيئاتها Culture Filtrates ، والتى تميزت منها نباتات كاملة ما يلى :

١ – مقاومة البكتيريا Pseudomonas syringe فى الدخان .

٢ – مقاومة فطرى Phytopthora infestans ، و Fusarium oxysporum فى البطاطس .

٣ – مقاومة فطر Phoma lingam فى Brassica napus (عن Daub ١٩٨٤) .

٤ – أمكن كذلك عزل سلالات من الذرة ، تحتوى على صفة العقم الذكرى السيتوبلازمى مع مقاومة سموم السلالة T من الفطر Helminthosporium maydis المسبب لمرض لفحة الأوراق الجنوبية ، بواسطة تعريض مزارع أنسجة من سلالات ذرة – تحمل سيتوبلازم تكساس الخاص بالعقم الذكرى – لسموم الفطر ، ووجد أن صفة المقاومة هذه تورث عن طريق السيتوبلازم ، وأن النباتات المنتخبة كانت مقاومة لدى اختبارها تحت ظروف الحقل .

وجدير بالذكر ، أن جميع أصناف الذرة التى تحتوى على سيتوبلازم تكاس العقيم الذكر Texas Male Sterile Cytoplasm تصاب بهذا الفطر بدرجة أكبر بكثير من الأصناف الأخرى. ويبدو أن سم هذا الفطر يؤثر فى الميتوكوندريا (عن Cooking &Riley

.(١٩٨١)

كذلك يمكن الاستفادة من مزارع حبوب اللقاح فى إنتاج - نباتات أحادية يؤدى اختبارها بالطرق العادية إلى الكشف عن الجينات المتنحية المسئولة عن المقاومة ، والتى قد توجد مستترة وراء أليلات أخرى سائدة تتحكم فى القابلية للإصابة . وتزداد أهمية هذه الطريقة بالنسبة للنباتات المتضاعفة .

ولمزيد من التفاصيل عن دور مزارع الأنسجة فى الانتخاب لمقاومة الأمراض .. يراجع Callow & Dow (١٩٨٠) ، و Earle & Gracen (١٩٨١) ، و Daub (١٩٨٤) .

استخدام الاختبارات الهستولوجية فى تقييم المقاومة

ترتبط الاختبارات الهستولوجية بطبيعة مقاومة بعض الأمراض ، ويستفاد من ذلك فى إجراء اختبارات سريعة للمقاومة . ومن أمثلة ذلك ما وجد من علاقة بين المقاومة لذبول فيرتسيليم فى البطاطس واختبار هستولوجى للفينولات ؛ فباستعمال كلوريد الحديديك وأحمر المثيل - تحت ظروف الحقل - ارتبطت التغيرات فى شدة اللون بالمقاومة ، حيث أظهرت الأصناف القابلة للإصابة تلونا أقل ، ونقص فيها اللون بسرعة أكبر مما فى الأصناف المقاومة (McLean وآخرون ١٩٥٦).

استخدام النشاط الإنزيمى فى تقييم المقاومة

يرتبط نشاط إنزيمات معينة فى النبات بمقاومته لبعض الأمراض ، لعلاقة ذلك بطبيعة المقاومة لتلك الأمراض ، و من أمثلة ذلك إمكان الاختبار للمقاومة الأفقية للندوة المتأخرة فى البطاطس ؛ بتقدير نشاط إنزيم البيروكسيديز فى النباتات البالغة ، علما بأن هذا الارتباط بين المقاومة ونشاط الإنزيم لا يتوفر فى حالة المقاومة الرأسية ، أو فى المراحل المبكرة من النمو فى حالة المقاومة الأفقية . كذلك يوجد ارتباط آخر بين نفس المقاومة ونشاط إنزيم البولى فينول أوكسيديز . وتستخدم لهذه الاختبارات الورقة الخامسة أو السادسة من القمة النامية للنبات (Kiraly وآخرون ١٩٧٤) .

تقييم المقاومة عن طريق دراسة الايزو إنزيمات

حدث تقدم كبير فى طريقة التقييم لنيماتودا تعقد الجذور فى الطماطم بعد أن قام Rick & Fobes عام ١٩٧٤ بدراسة الإنزيمات المتشابهة isoenzymes التى توجد فى الطماطم ، و فصلها بطريقة الـ starch gel electrophoresis ، وقد تبين لهما أن صنف الطماطم VFN8 ، وخمسة أصناف أخرى – مقاومة لنيماتودا تعقد الجذور – تختلف عن باقى الأصناف المختبرة – التى كانت قابلة للإصابة بالنيماتودا – فى الأيزوإنزيمات الخاصة بالـ acid phosphate ، فكانت الأصناف القابلة للإصابة تحمل الآليل $Aps-1^+$، بينما احتوت الأصناف المقاومة على الآليل $Aps-1^1$. هذا .. مع العلم بأن الآليل الأخير لم يكن معروفا قبل ذلك إلا فى النوع البرى L.peruvianum .

وبتلقيح نبات مقاوم للنيماتودا ذى تركيب وراثى $Aps-1^1$ $Aps-1^1$ مع نبات آخر قابل للإصابة ذى تركيب وراثى $Aps-1^+$ $Aps-1^+$ انعزل الجيل الثانى إلى ++ ، و +1 ، و 11 بنسبة ١٦ : ١٩ : ١٠ على التوالى ، وكانت النباتات ذات التركيب الوراثى ++ وحدها هى القابلة للإصابة بالنيماتودا . ولذا .. افترض وجود علاقة بين الآليل $Aps-1^1$ والمقاومة مردّها إما إلى وجود تأثير متعدد للجين ، وإما إلى وجود ارتباط وثيق بين هذا الجين والجين المسئول عن المقاومة ، لكن الاحتمال الأول استبعد بعد اكتشاف وجود الآليل $Aps-1^+$ فى بعض النباتات المقاومة . وبذا .. تأكد أن العلاقة ليست سوى ارتباط وثيق بين الجين $Aps-1^1$ والجين Mi المسئول عن المقاومة للنيماتودا .

وتدل المشاهدات على أن هذا الارتباط لابد وأن يكون وثيقا لأن الجينين انتقلا معا من النوع البرى L.peruvianum إلى الصنف VFN8 ، ثم إلى الأصناف الأخرى المقاومة للنيماتودا بعده، بالرغم من إجراء عديد من التلقيحات الرجعية.إلا أن الجين $Aps-1^1$ لايوجد إلا فى الأصناف التى حصلت على مقاومتها من الصنف VFN8 ، بينما يوجد الجين $Aps-1^+$ فى الصنف المقاوم Anahu وجميع الأصناف التى حصلت على مقاومتها منه ، مما يدل على أن العبور حدث فى الأجيال المبكرة أثناء إنتاج الصنف Anahu . وعندما لقح الصنفان المقاومان Short Red Cherry (وتركيبه الوراثى $Aps-1^1$ $Aps-1^1$) مع الصنف Nematex (وتركيبه الوراثى $Aps-1^+$ Aps^{1+}) كانت جميع نباتات الجيل

الثانى مقاومة للنيماتودا ، بينما انعزلت بالنسبة للموقع الجينى Aps–1 ؛ الأمر الذى يفيد اشتراكهما فى نفس جين المقاومة .

ولكى يمكن الاستفادة من هذا الارتباط الشديد بين جين مقاومة النيماتودا Mi ، والجين Aps–1 .. فإن النباتات التى تستخدم كمصدر للمقاومة يجب أن يكون تركيبها الوراثى $Aps\ 1^1\ Aps\ 1^1$.

ويتوفر هذا التركيب الوراثى فى الصنف VFN8 والأصناف الأخرى التى حصلت على مقاومتها منه . ويجرى التقييم بسهولة كبيرة بالاستعانة بطريقة الفصل الكهربائى Electrophoresis التى يمكن بواسطتها تمييز التراكيب الوراثية $Aps-1^1\ \ Aps-1^1$ ، و $Aps-1^1\ Aps-1^+$ ، و $Aps1^+\ Aps1^+$ عن بعضها البعض ، وهى التى تكون – على التوالى – مقاومة أصيلة ، ومقاومة خليطة ، وقابلة للإصابة أصيلة بسبب الارتباط الشديد بين الجين Mi ، و Aps-1 .

يستخدم للاختبار – أى جزء من أنسجة النباتات المختبرة ، و إن كان التقييم يجرى – عادة – على بادرات عمرها ثلاثة أسابيع . يعمل الفصل الكهربائى على تمييز الأيزوإنزيمات isoenzymes التى يتحكم فى إنتاجها الأليلان $Aps-1^1$ ، و $Aps-1^+$.

وتتميز طريقة التقييم هذه لمقاومة نيماتودا تعقد الجذور بما يلى :

١ – التوفير فى الوقت والجهد .

٢ – لا يلزم إجراء اختبار النسل للتميز بين النباتات المقاومة الأصيلة والمقاومة الخليطة ، لأن اختبار التقييم يميز بينهما مباشرة .

٣ – يمكن انتخاب النباتات المقاومة فى طور البادرة ، ثم شتلها فى الحقل ؛ لتقييم الصفات البستانية ، وهو ما يصعب تحقيقه عند إجراء تقييم المقاومة بالطريقة العادية .

٤ – يمكن تقييم النباتات للمقاومة فى أى وقت ، و فى أية مرحلة للنمو من بداية الإنبات حتى الحصاد . كما يمكن إجراء التقييم على عينات الأوراق المجمدة ، وعلى المتوك الجافة للنباتات التى تؤخذ منها البذور .

٥ – يمكن إجراء الاختبار بسرعة على نباتات يبلغ عمرها ثلاثة أسابيع مع الحصول على نتائج مؤكدة ، بينما يلزم مرور من ٦ – ١٠ أسابيع ليمكن إجراء الاختبار بالطريقة العادية ، مع احتمال فقدان بعض النباتات بسبب الإصابة بالذبول الطرى ، وإفلات البعض الآخر من الإصابة بالنيماتودا .

٦ – يمكن لشخص واحد تقييم نحو ١٤٠ نباتا يوميا .

٧ – يمكن التعاون بين موقعين بحثيين بإجراء اختبار المقاومة بهذه الطريقة فى أحدهما ، و تقييم النباتات المنتخبة للصفات البستانية فى الموقع الآخر .

هذا .. ويعطى Medina Filho & Stevens (١٩٨٠) التفاصيل العملية لتقييم المقاومة للنيماتودا بهذه الطريقة باستعمال الـ Starch Gel Electrophoresis .

طرق انتقال الفيروسات النباتية Transmission of Plant Viruses

تتنوع كثيرا الطرق التى تنتقل بها الفيروسات النباتية ، ولكن كل فيرس منها يتميز بأن له طريقة أو طرقا معينة ينتقل بها لايمكنه الانتقال بغيرها . وتفيد دراسة تلك الطرق فيمايلى :

١ – التعرف على أفضل الطرق لمكافحة الفيرس ، وهى التى تعتمد على منع انتقال الإصابة أصلا .

٢ – تمكين الباحثين من إجراء كافة الدراسات التى تعتمد على العدوى الصناعية بالفيرس ؛ بما فى ذلك دراسات التربية لمقاومة الفيرس .

٣ – تعد وسيلة – أو وسائل – انتقال الفيرس من الخصائص المميزة التى تفيد فى تحديد هوية الفيرس .

ونقدم – فيما يلى – شرحا للطرق التى تنتقل بها الفيروسات النباتية .

الانتقال الميكانيكى Mechanical Transmission بالعصير الخلوى

إن الانتقال بالعصير الخلوى (SapTransmission) يجرى بإضافة المستخلص النباتى المحتوى على الفيرس (اللقاح Inoculum) على سطح أوراق نباتات سليمة . ولأجل نفاذ