الفصل الرابع

التقييم لمقاومة الأمراض

يعد الملقح Inoculum اللازم لاختبارات التقييم – عادة – بزراعة المسبب المرضى من البكتيريا أو الفطريات غير الإجبارية التطفل على بيئات صناعية مناسبة . وتكفى مزرعة أنبوبة اختبار من المسبب المرضى لاختبارات التقييم الصغيرة التى تشتمل على عدد محدود من النباتات .

وتتطلب الاختبارات المحدودة فى البيوت المحمية عدة أطباق بترى ، أو عدة دوارق مخروطية من مزارع المسبب المرضى . ولتحضير الملقح .. إما أن يتم كشط النمو البكتيرى أو الفطرى ونقله إلى كمية مناسبة من الماء المعقم ، وإما أن تُضرب المزرعة البكتيرية أو الفطرية كلها فى خلاط مع قليل من الماء ، ثم تصفيتها خلال قطعة من الشاش للتخلص من الكتل الكبيرة، ثم إضافة مزيد من الماء للوصول بالملقح إلى التركيز المطلوب . وقد يحتاج الأمر إلى فصل البكتيريا عن البيئة بالطرد المركزى ، ثم عمل معلق مائى منها بالتركيز المطلوب .

أما الكميات الكبيرة من المسببات المرضية التى تلزم للاختبارات الحقلية الموسعة فإنها تحضر إما فى بيئة سائلة فى دوارق مخروطية كبيرة مع توفير التهوية اللازمة لها (خاصة بالنسبة للبكتيريا) ، وإما فى بيئة صلبة فى أوانٍ كبيرة أيضا على أن يكون سطحها المعرض كبيرا ، وإما على حبوب معقمة فى أحواض زراعية معقمة (بالنسبة للمزارع الفطرية) .

أ ما الفطريات الإجبارية التطفل اللازمة لإجراء اختبارات التقييم فإنها تجمع من العوائل المصابة بها وتخزن لحين استعمالها ؛ فمثلا .. يمكن تخزين الجراثيم اليوريدية للأصداء لمدة سنه على درجة صفر – ٣°م ، كما يمكن تخزين الأجسام الزقية لفطرات البياض الدقيقى (Cleistothecia) فى درجة حرارة الغرفة .

اختيار الجيرملازم المناسب للتقييم لمقاومة الأمراض

يتعين – عند البحث عن مصادر لمقاومة الأمراض – أن يتم ذلك حسب تسلسل معين حتى لا يضيع كثير من الوقت أو الجهد دونما داع ، وتكون هذه الخطوات كما يلى :

١ – عمل حصر شامل للبحوث السابقة للتعرف على مصادر المقاومة المتوفرة بالفعل التى سبق اكتشافها ، لأنها أولى بالاختبار من غيرها . وكثيرا ما تنشر قوائم بمصادر مقاومة الأمراض فى عديد من المحاصيل ، مثل :

المرجع	الموضوع
Walker (١٩٤١ ، ١٩٥٢ ، ١٩٦٥)	محاصيل الخضر : مصادر المقاومة وجهود التربية
Stevenson &Jones (١٩٥٣)	مصادر مقاومة الأمراض فى عديد من المحاصيل الحقلية والبستانية .
Alexander & Hoover (١٩٥٥)	الطماطم .
Alexander وآخرون (١٩٥٩)	الطماطم .
Shay وآخرون (١٩٦٢)	التفاح والكمثرى
Darrow (١٩٦٦)	الشليك .
Leppik (١٩٧٠)	مراكز نشوء النباتات وأهميتها فى الحصول على مصادر مقاومة الأمراض .
Sasser &Kirby (١٩٧٩)	قائمة بأكثر من ٢٣٥ صنفا من مختلف النباتات مقاومة لنوع واحد أو أكثر من نوع من نيماتودا تعقد الجذور .
Univ. Calif. (١٩٨٦)	مصادر المقاومة لعدد من الأمراض والعيوب الفسيولوجية فى بعض أصناف البطاطس الأمريكية الهامة .
Jones وآخرون (١٩٨٦)	مصادر المقاومة لعدد من الأمراض والحشرات والعيوب الفسيولوجية فى بعض أصناف البطاطا الأمريكية الهامة .
Coyne &Shuster (١٩٨٣)	حصر شامل لمصادر (ووراثة وطبيعة) المقاومة للأمراض البكتيرية فى محاصيل الخضر .
Dayton وآخرون (١٩٨٣)	الفاكهة

فإذا اتضح من الدراسات السابقة أنه لاتعرف أية مصادر لمقاومة المرض ، أو إذا اتضح عند اختبار تلك المصادر عدم مقاومتها للسلالات المحلية من المسبب المرضى .. يتعين – حنيئذ – اللجوء إلى الخطوة التالية .

٢ – جمع واختبار أكبر عدد ممكن من الأصناف التجارية الشائعة فى منطقة الإنتاج ، والأصناف المحسنة المزروعة فى أماكن أخرى من العالم ، فإذا كان أى منها مقاوما .. فإنه قد يستخدم مباشرة فى الزراعة المحلية إذا كان ناجحا فى الزراعة ، أو يستخدم كمصدر للمقاومة فى برامج التربية إن لم يكن له صفات حقلية أو بستانية مقبولة .

٣ – جمع وتقييم أكبر عدد من سلالات التربية كما فى الخطوة السابقة ، لأنها تكون محسنة إلى حد كبير ، ولايخشى من إدخالها لصفات رديئة غير مرغوبة فى برامج التربية ، علما بأنه تكتشف أحيانا مصادر جديدة لمقاومة الأمراض بين تلك السلالات ، مثل المقاومة للسلالة ٣ من الفطر المسبب للذبول الفيوزارى التى وجدت فى سلالة الطماطم US 638 ، والمقاومة للسلالة ٢ – من الفطر المسبب لذبول فيرتسيلليم التى وجدت كذلك فى سلالة الطماطم US 2668170G ، وكلاهما من برامج تربية منتهية (عن Kerr ١٩٨٣).

٤ – جمع وتقييم أكبر عدد ممكن من الأصناف البلدية والأصناف والسلالات غير المحسنة من المحصول ، فما كان منها مقاوما يمكن الاستفادة منه كمصدر للمقاومة فى برامج التربية ، لأنها تكون من نفس النوع المحصولى ، ولا يخشى – عند استعمالها – من المشاكل التى قد تنشأ عند اللجوء إلى الأنواع البرية .

٥ – اللجوء بعد ذلك إلى الأنواع البرية القريبة للبحث عن مصادر للمقاومة ، ويفضل البدء بالأنواع التى تتهجن بسهولة مع النوع المزروع ، ثم تلك التى تتهجن بصعوبة معه ، علما بأن تاريخ التربية لمقاومة الأمراض حافل بالأمثلة التى نقلت فيها صفات المقاومة إلى الأنواع المزروعة من الأنواع البرية القريبة لها .

٦ – البحث عن الطفرات المقاومة للمرض فى مزارع الأنسجة ، وخاصة مزارع الكالس ، علما بأن بعض الأمراض (وهى التى تظهر أعراضها بفعل سموم تفرزها مسبباتها) يسهل إجراء اختبارات المقاومة لها فى مزارع الأنسجة .

٧ – محاولة استحداث طفرات فى الأصناف المزروعة على أمل أن تكون إحدى الطفرات الناتجة مقاومة للمرض . وبرغم أنه توجد أمثلة ناجحة لحالات كهذه ، إلا أن الغالبية العظمى من الطفرات المستحدثة تكون عادة رديئة الصفات .

٨ – اللجوء فى نهاية الأمر إلى الأنواع المحصولية أو البرية القريبة التى لاتنجح تهجيناتها مع المحصول المراد تربيته ، مع محاولة نقل صفات المقاومة المتوفرة فيها بطرق أخرى غير جنسية مثل : دمج البروتوبلازم ، أو الهندسة الوراثية .

وأهم المصادر التى يمكن الحصول منها على الجيرملازم اللازم للتقييم ما يلى :

١ – مربو النباتات : تنشر منظمة الأغذية والزراعة التابعة للأمم المتحدة قوائم بأسماء وعناوين مربى النباتات والبحوث التى يقومون بإجرائها ، كما يمكن معرفة ذلك من بحوثهم المنشورة .

٢ – شركات البذور : يمكن استخدام كتالوجات بذور الأصناف التى تنتجها تلك الشركات فى التعرف على مصادر مقاومة الأمراض فى الأصناف التجارية .

٣ – محطات البحوث فى جميع أنحاء العالم .

٤ – تعاونيات الوراثة والتربية لمختلف المحاصيل .

٥ – معاهد البحوث الدولية المتخصصة ، ومحطات إدخال النباتات الإقليمية بالولايات المتحدة الأمريكية . ويمكن الاطلاع على تفاصيل تلك المعاهد ، ومحطات إدخال النباتات ، وتعاونيات المحاصيل فى حسن (١٩٩١) .

الشروط اللازمة لعملية التقييم

يلزم عند عدوى النباتات لاختبار مدى مقاومتها للأمراض توفر شروط معينة فى عملية التقييم ، من أهمها ما يلى :

١ – استعمال عزلات Isolates محددة من المسبب المرضى ، تكون ذات تركيب وراثى ثابت ومعروف .

٢ – تجنب استعمال خليط من سلالات المسبب المرضى عند إجراء اختبارات المقاومة ،

لأن ذلك قد يترتب عليه عدم العثور على أى مصدر للمقاومة ؛ فقد تكون بعض الأصناف أو السلالات المختبرة من العائل مقاومة لسلالة معينة من المسبب المرضى ، بينما يكون بعضها الآخر مقاوماً لسلالات أخرى ، ولكن اختبارها معا بمخلوط من السلالتين يترتب عليه ظهور أعراض الإصابة بالمرض على جميع السلالات المختبرة وضياع فرصة اكتشاف المقاومة .

٣ – ضرورة استعمال تركيز مناسب من الملقح المستعمل فى العدوى الصناعية . ويجب أن يتحدد هذا التركيز فى تجارب أولية ، وألا يكون اعتباطيا ، ذلك لأن التركيز إذا قل عن مستوى معين فإن بعض النباتات القابلة للإصابة قد تفلت من الإصابة ، فتبدو مقاومة ، بينما تؤدى زيادة التركيز على مستوى معين إلى تعرض بعض النباتات المقاومة للإصابة .

ويعتبر التركيز مثاليا عندما تحدث أعلى نسبة من الإصابة فى النباتات القابلة للإصابة مع أقل نسبة من الإصابة فى النباتات المقاومة . ومن الطبيعى أن يتوقف هذا التركيز على درجة ضراوة سلالة المسبب المرضى ، وحيوية أجزائه القادرة على إحداث الإصابة ، وعلى الظروف البيئية المحيطة بالنباتات قبل وبعد حقنها بالمسبب المرضى .

وقد تكون بعض جينات المقاومة قوية جدا إلى درجة يصعب معها إحداث الإصابة فى النباتات المقاومة ، بينما يحدث نفس التركيز المستخدم فى العدوى إصابة بنسبة حوالى ١٠٠ ٪ فى النباتات القابلة للإصابة . ففى الذبول الفيوزارى فى الطماطم .. وجد Alon وآخرون (١٩٧١) أن زيادة تركيز اللقاح المستخدم فى العدوى الصناعية أحدث زيادة فى نسبة الإصابة بين النباتات غير الحاملة للجين (I) المسئول عن المقاومة للفطر . وقد كان التركيز الذى أحدث ٩٦ ٪ إصابة فى النباتات القابلة للإصابة الأصيلة (ii) كافيا لإحداث ٤ ٪ إصابة فى النباتات الخليطة (Ii) ، بينما لم يحدث هذا التركيز أية إصابة فى النباتات المقاومة الأصيلة (II) .

وفى هذا الصدد .. وجد Berry وآخرون (١٩٨٩) أن بالإمكان التفريق بين مستويات المقاومة العالية والمتوسطة للبكتيرية Clavibacter michiganensis ssp. michiganensis فى الطماطم باستخدام تركيزات مختلفة من عزلات بكتيرية عالية الضراوة ، فقد تبين لدى اختبار ١٣ صنفا تعرف بمقاومتها للمرض أن صنفين منها كانا مقاومين – فقط – عند إجراء العدوى بالتركيز المخفف ٥ر٨× ١٠^{٢} خلية بكتيرية / نبات ، بينما كان الأحد عشر

صنفا الأخرى مقاومة عند إجراء العدوى بأى من التركيز المخفف السابق ، أو بالتركيز المرتفع ٥ر٨ × ١٠^٨ خلية بكتيرية / نبات .

٤ – يجب أن تكون الطريقة المستعملة سهلة وبسيطة ، بحيث يمكن استخدامها فى تقييم أكبر عدد من النباتات بسرعة ، وفى حيز صغير نسبيا ، ودون بذل جهد كبير ، لأن الأمر يتطلب أحيانا اختبار مئات النباتات .

٥ – يجب أن تدل الطريقة المستعملة على حقيقة حالة المقاومة ، وأن يمكن تكرارها والاعتماد عليها . فمثلا .. يكون إحداث الجروح ضروريا فى بعض الأحيان ، إلا أنه يفضل الاعتماد على منافذ الإصابة Infection Courts الطبيعية قدر الإمكان ، ليمكن الاعتماد على نتائج التقييم تحت الظروف الطبيعية .

٦ – أن يكون توزيع اللقاح Inoculum متجانسا بين النباتات المختبرة إلى أكبر درجة ممكنة .

٧ – أن تكون الظروف البيئية عند الحقن وأثناء فترة الحضانة مناسبة لحدوث الإصابة .

٨ – أن تكون النباتات المختبرة خالية من الإصابات الأخرى المرضية منها والحشرية ، وفى حالة فسيولوجية مناسبة لإجراء العدوى .

٩ – يتطلب إجراء اختبارات التقييم توفر شروط معينة أخرى – تتوقف تفاصيلها على المرض المعنى – ليمكن التمييز بين النباتات المقاومة والنباتات القابلة للإصابة . فمثلا .. يلزم توفر الشروط التالية عند إجراء اختبار المقاومة للفطر Aphanomyces euteches المسبب لمرض عفن الجذور فى البسلة (عن Walker ١٩٦٦) :

أ – الزراعة على عمق ٢ سم .

ب – عدوى البادرات عندما يبلغ طولها ٢–٥ سم ، أو عندما يصل عمرها إلى ٤–٦ أيام.

جـ – استعمال مزرعة من الفطر المسبب للمرض بعمر ٤ – ٥ أيام .

د – أن يكون معلق جراثيم الفطر المستخدم فى العدوى بتركيز حوالى ١٥٠ جرثومة سابحة zoospore لكل ملليمتر واحد .

هـ – أن تكون الجراثيم السابحة بعمر ٢ – ١٤ ساعة .

و – أن تكون العدوى بمعدل ١٠ مل من معلق جراثيم الفطر لكل ٥ر٢ سم من خط الزراعة .

ز– أن يضاف معلق الجراثيم بالقرب من خط الزراعة قدر الإمكان .

ح – إضافة الماء إلى الرمل المستخدم فى الزراعة – قبل العدوى – بمعدل ٨ر١ – ٧ر٢ لتراً لكل ٢ر١٦ كجم من الرمل .

ط – تشبيع الرمل بالماء مرة أخرى بعد العدوى بالفطر .

ى – حفظ درجة حرارة الرمل عند ٢٤°م .

كفاءة عملية التقييم والعوامل المؤثرة فيها

تتأثر كفاءة عملية التقييم لمقاومة الأمراض بعدد من العوامل التى تجب مراعاتها والاستفادة منها – إن وجدت – ليمكن تقييم أكبر عدد من البناتات فى أقصر وقت ممكن ، وبأسهل طريقة ممكنة ، ولتكون نتائج التقييم صحيحة ، ويمكن تكرارها والاعتماد عليها فى انتخاب النباتات المقاومة خلال مراحل برامج التربية .

ولن نتطرق حاليا إلى الجوانب التقنية المؤثرة فى كفاءة عملية التقييم ، فذلك موضوع العناوين التالية من هذا الفصل ، وإنما سيكون اهتمامنا بالخصائص النباتية المورفولوجية والوراثية ، والعوامل البيئية المؤثرة فى هذا المجال .

تأثير عمر النبات فى مقاومته للأمراض

تتأثر المقاومة فى كثير من الأمراض بعمر النبات ، وهو أمر يجب وضعه فى الحسبان عند إجراء اختبارات التقييم ، ومن أمثلة ذلك ما يلى (عن Yarwood ١٩٥٩) :

١ – تكون النباتات عموما أكثر قابلية للإصابة بالذبول الطرى فى طور البادرات ، وبالأصداء فى عمر متوسط ، وبالفطر رايزوبس Rhizopus فى طور الشيخوخة .

٢ – تزداد مقاومة بعض الأمراض بتقدم النبات فى العمر ، كما فى مقاوم البكتيريا Erwinia فى الخس ، ومقاومة الفطر Phytopthora فى البطاطس .

٣ – تزداد القابلية للإصابة ببعض الأمراض بتقدم النبات فى العمر ، كما فى حالتى

البياض الزغبى (Pseudoperonospora) فى الخيار أو البياض الدقيقى (Erysiphe) فى الخس .

٤ – تزداد القابلية للإصابة بالمرض فى الأطور المبكرة والمتأخرة من النمو ، بينما تزداد المقاومة فى الأعمار المتوسطة كما فى حالة المقاومة لفطر الفيوزاريم فى البطاطس .

٥ – تزداد مقاومة المرض فى الأطوار المبكرة والمتأخرة ، بينما تزداد القابلية للإصابة فى الأعمار المتوسطة فى بعض الأمراض ، كما فى حالة مقاومة البطاطس للبكتيريا Erwinia ، ومقاومة الفاصوليا لكل من فطر الصدأ (Uromyces)، وفيرس موزايك الدخان.

وعموما .. يمكن – بشىء من التحفظ – القول بأن المقاومة للرميات الاختيارية Facultative Saprophytes تزيد بزيادة عمر أنسجة العائل ، بينما تنقص مقاومة الطفيليات الإجبارية Obligate Parasites بتقدم النبات فى العمر .

الارتباط بين مقاومة البادرات ومقاومة النباتات البالغة

يفضل دائما إجراء اختبارات المقاومة للأمراض فى طور البادرة ، حيث يمكن تقييم أعداد كبيرة من النباتات بسهولة ، خلال فترة قصيرة ، وفى مساحة صغيرة . ولا ضير فى ذلك إذا كان المرض من تلك التى تظهر على البادرات مثل الذبول الطرى ، أما فى حالة الأمراض الخاصة بالنباتات البالغة فإنه يلزم توفر ارتباط قوى بين مقاومة البادرات ومقاومة النباتات البالغة ، ليمكن إجراء التقييم فى طور البادرة . ومن أمثلة ذلك حالة المقاومة للفطر Phytophthora parasitica المسبب لمرض عفن الجذر والتاج الفيتوفثورى فى الطماطم، حيث قيم Blaker & Hewitt (١٩٨٧) النباتات بعدوى البادرات وهى فى مرحلة نمو الورقة الحقيقية الأولى ، وكان التقييم للمقاومة على أساس موت أو بقاء البادرات ، ووجدا أن هذا الاختبار يفيد فى التنبوء بمقاومة النباتات البالغة .

كذلك أوضحت دراسات Dickson & Hunter (١٩٨٧) أن سلالة الكرنبP.I.436606 تقاوم البكتيريا Xanthomonas campestris pv. campestris – المسببة لمرض العفن الأسود – فى كل من طورى البادرة والنبات البالغ ، وقد اكتشفا مقاومة هذه السلالة لدى اختبارهما لمعظم مجموعة أصناف وسلالات الكرنب العالمية التى تحتفظ بها وزارة الزراعة

الأمريكية.

وقد توصل Thomas وآخرون (١٩٨٧) إلى أن شدة الإصابة بالبياض الزغبى فى القاوون على الورقتين الحقيقيتين الأولى والثانية (معبرا عنها برقم زوجى تمثل فيه خانة الآحاد شدة الإصابة على الورقة الأولى، وتمثل خانة العشرات شدة الإصابة على الورقة الثانية) تحت ظروف الصوبة يمكن أن تستخدم فى التنبؤ بشدة الإصابة فى النباتات البالغة تحت ظروف الحقل. وقد أعطيت شدة الإصابة أرقاما من ١ - ٤، علما بأن ١ يمثل القابلية للإصابة، و٢ - ٤ تمثل درجات متزايدة من المقاومة يقل فيها إنتاج جراثيم الفطر تدريجيا.

ويذكر Lower & Edwards (١٩٨٦) أنه تجرى اختبارات - فى طور البادرة - لثمانية من المسببات المرضية فى الخيار، وهى:

نوع المسبب المرضى	المرض	المسبب المرضى
فطر	الأنثراكنوز	Colletotrichum lagenarium
فطر	البياض الزغبى	Pseudoperonospora cubensis
فطر	الذبول الفيوزارى	Fusarium oxysporum
فطر	الجرب	Cladosporium cucumerinum
فطر	البياض الدقيقى	Sphaerotheca fuliginea
بكتيريا	الذبول البكتيرى	Erwinia tracheiphila
بكتيريا	تبقع الأوراق الزاوى	Pseudomonas lachrymans
فيرس	تبرقش الخيار	Cucumber Mosaic Virus

يجرى الاختبار ضد الذبول الفيوزارى بزراعة البذور فى أحواض مملوءة بالرمل الملوث بالفطر المسبب للمرض، ويجرى التقييم ضد مرضى البياض الدقيقى والتبرقش فى مرحلة نمو الورقة الحقيقية الأولى أو الثانية، أما بقية المسببات المرضية .. فتجرى اختبارات التقييم لها فى مرحلة نمو الأوراق الفلقية.

هذا .. وقد لفت Rahe (١٩٨١) الانتباه إلى الحالات المرضية التى لا ترتبط فيها نتائج اختبارات المقاومة فى الحقل بنتائج الاختبارات المعملية .

وقد يُحدث المسبب المرضى الواحد مرضين مختلفين للمحصول الواحد ، ولا يشترط – فى هذه الحالة – أن تكون المقاومة الوراثية واحدة لكلا المرضين . ومن أمثلة ذلك الفطر Rhi-zoctona solani الذى يصيب نباتات الخيار بمرضين هما : الذبول الطرى ، وعفن الثمار الرايزكتونى (أو عفن وسط الثمرة Belly Rot) ، حيث وجد Booy وآخرون (١٩٨٧) تباينا كبيرا بين ٣٥ سلالة من الخيار فى شدة إصابتها بالذبول الطرى التى تراوحت من ١ر٥ – ٩ر٥ على مقياس من صفر (لا توجد أية إصابة) إلى ٩ (موت النباتات) ، بينما لم يجدوا أى ارتباط بين المقاومة لهذا المرض والمقاومة لعفن الثمار الرايزكتونى .

تقييم المقاومة على اساس انها مرتبطة بصفات نباتية اخرى ظاهرة

من أبرز الأمثلة على الارتباط بين صفة المقاومة وصفة نباتية ظاهرة مقاومة البصل لمرض التهبب أو الاسوداد ؛ حيث ترتبط المقاومة العالية بلون الأبصال الأحمر ، والمتوسطة بلون الأبصال الوردى ، بينما ترتبط القابلية للإصابة بلون الأبصال الكريمى والأبيض (عن Jones & Mann ١٩٦٣) ، وهو ما شرح بالتفصيل تحت موضوع وراثة المقاومة للأمراض. ومن الأمثلة الأخرى ما لاحظه Laterrot (١٩٨٥) من أن نباتات الطماطم الحاملة للجين Pto (المسئول عن مقاومة البكتيريا Pseudomonas solanacearum المسببة لمرض الذبول البكتيرى) بحالة أصيلة أو خليطة تكون حساسة للمبيد الحشرى Lebaycid (الذى يحتوى على المادة الفعالة Fenthion) ، حيث تظهر على أوراقها وأزهارها وثمارها بقع متحللة كثيرة بعد أربعة أيام من المعاملة . وقد كانت النباتات الأصيلة للجين Pto أكثر تأثرا بالمبيد . ويعيب هذه الحالة أن النباتات المقاومة – التى يؤمل انتخابها – تضار من المبيد .

تقييم المقاومة لاكثر من مرض على نبات واحد

يمكن فى حالة التربية لمقاومة عديد من الأمراض عدوى النبات الواحد بأكثر من مسبب مرضى ، فمثلا .. تمكن Frazier من عدوى نباتات الطماطم – فى تتابع – بكل من مسببات

أمراض الذبول الفيوزارى (فطر) ، والذبول المتبقع (فيرس) ، وتبقع أوراق استمفيليم (فطر) ، وتعقد الجذور (نيماتودا) (عن Andrus ١٩٥٣) . إلا أنه يجب توخى الحرص عند إجراء اختبارات كهذه ؛ إذ قد يوجد تنافس بين مختلف مسببات الأمراض ، وقد تؤدى الإصابة بأحد الأمراض إلى جعل النبات أكثر مقاومة ، أو أكثر قابلية للإصابة بأمراض أخرى . هذا .. ونلقى مزيدا من الضوء على . هذا الموضوع فى كل من الفصلين الخامس والثامن من هذا الكتاب .

تأثير العوامل البيئية فى مقاومة النباتات للأمراض

تتأثر مقاومة النباتات للأمراض بعديد من العوامل البيئية سواء أكانت جوية (مثل : الحرارة ، والرطوبة ، والضوء) أم أرضية (مثل : درجة حرارة التربة ، و الرطوبة الأرضية ، وقوام التربة ، والعناصر الغذائية) .كما يدخل موعد الزراعة ضمن العوامل البيئية المؤثرة فى المقاومة ، لما لموعد الزراعة من علاقة مباشرة بمختلف العوامل البيئية . ويلزم التمييز بين تأثير العوامل البيئية السابقة للعدوى والإصابة المرضية ، وتأثير العوامل أثناء حدوث الإصابة المرضية .

أولاً : تأثير العوامل البيئية السابقة للعدوى فى المقاومة

تؤثر الظروف البيئية السابقة للعدوى على قابلية النباتات للإصابة بالأمراض ، وهو ما يعرف باسم Predisposition ، كما يلى :

١ – درجة الحرارة :

تتأثر قابلية النباتات للإصابة بالأمراض كثيرا بدرجة الحرارة التى تتعرض لها النباتات قبل العدوى ، و من أمثلة ذلك ما يلى :

أ – يؤدى غمس جذور الطاطم فى الماء الساخن قبل العدوى بفطر الفيوزاريم إلى تقليل الإصابة بالذبول .

ب – يؤدى تعريض أوراق الفاصوليا لدرجة حرارة ٥٥°م لمدة ١٠ ثوان إلى خفض إصابتها بفيرس موزايك الدخان .

جـ – يؤدى تعريض نباتات الفول الرومى والخس للصقيع إلى زيادة أضرار الإصابة بفطر Botrytis .

د – وجد أن تعريض النباتات لدرجة حرارة ٣٦°م – لمدة تتراوح من يوم إلى يومين – يزيد من قابليتها للإصابة بالفيروسات التى تنتقل ميكانيكيا (Yarwood ١٩٥٩).

٢ – شدة الضوء والفترة الضوئية :

يؤدى تظليل النباتات ، أو تعريضها للظلام إلى زيادة قابليتها للإصابة بالفيروسات التى تنقل إليها بالطرق الميكانيكية . وبرغم أن التظليل يخفض سمك طبقة الأديم بخلايا البشرة ؛ مما يجعلها أكثر قابلية للتجريح والإصابة بالطرق الميكانيكية ، إلا أن الأمر ليس بهذه البساطة ؛ إذ إن التعريض للظلام لمدة يوم واحد يكون فعالا أيضا فى زيادة القابلية للإصابة، بينما لا تكفى تلك الفترة لإحداث تغيرات أساسية فى أنسجة الورقة .

كذلك وجد أن خفض شدة الإضاءة قبل العدوى يزيد من قابلية الطماطم للإصابة بالذبول الفيوزارى ، وقابلية الخس والطماطم للإصابة بالفطر Botrytis .

كما وجد أن تعريض نباتات الطماطم لنهار قصير قبل العدوى يزيد من قابليتها للإصابة بالذبول الفيوزارى .

٣ – العناصر السمادية :

تؤثر جميع العناصر الغذائية – سواء أكانت عناصر كبرى ، أم صغرى – فى قابلية النباتات للإصابة بالأمراض ، وأهمها عناصر النيتروجين ، والفوسفور ، والبوتاسيوم، التى يمكن إيجاز تأثيرها – السابق للعدوى – فيما يلى :

أ – تؤدى زيادة النيتروجين إلى زيادة القابلية للإصابة بالأمراض بصورة عامة ، إلا أنها تقلل القابلية للإصابة بأمراض معينة ؛ كما فى الذبول الفيوزارى فى الطماطم .

ب – تؤدى زيادة الفوسفور إلى زيادة القابلية للإصابة فى بعض الحالات ، مثل : فيرس موزايك الخيار فى الخيار ، وفيرس موزايك الدخان فى الفاصوليا ، كما أنها تؤدى إلى ضعف القابلية للإصابة فى حالات أخرى ؛ كما فى الذبول الفيوزارى فى الطماطم .

جـ – تؤدى زيادة البوتاسيوم إلى خفض القابلية للإصابة بالأمراض بصورة عامة ، إلا أنها تزيد القابلية للإصابة فى أمراض معينة ؛ كما فى الذبول الفيوزارى فى الطماطم .

ثانياً : تأثيرالعوامل البيئية السائدة أثناء وبعد العدوى فى المقاومة

من أهم العوامل البيئية المؤثرة فى المقاومة للأمراض فى النباتات ما يلى :

١ – درجة الحرارة :

لدرجة الحرارة تأثير كبير فى مقاومة الأمراض فى النباتات ، ومن أبرز الأمثلة على ذلك ما يلى :

أ – المقاومة للاصفرار (الذبول الفيوزارى) فى الكرنب :

يتوفر نوعان من المقاومة للفطر Fusarium oxysporum f . conglutinans المسبب لمرض الاصفرار فى الكرنب ؛ إحداهما كمية (طراز B) وتمثلها المقاومة التى توجد فى الصنف Wisconsin Hollander، والأخرى بسيطة (طراز A) ، وهى توجد – مصاحبة للمقاومة الكمية – فى الصنف Wisconsin All Seasons .

ويمكن التمييز بسهولة بين نوعى المقاومة بالتحكم فى درجة حرارة التربة أثناء اختبار المقاومة فى مرحلة نمو البادرة . ففى درجة حرارة ثابتة مقدارها ٢٤°م .. تصاب جميع النباتات القابلة للإصابة ، وكذلك جميع النباتات التى تحمل المقاومة الكمية ، بينما لا تصاب النباتات التى تحمل المقاومة البسيطة ، سواء أكانت أصيلة ، أم خليطة . وإذا ارتفعت درجة الحرارة إلى أكثر من ٢٨°م .. فإن جميع التراكيب الوراثية تصاب بالمرض ، بما فى ذلك النباتات الحاملة للمقاومة البسيطة ، ولا تكون المقاومة الكمية فعالة إذا ارتفعت درجة حرارة التربة عن ٢٢°م، بينما إذا انخفضت درجة الحرارة عن ٢٢°م .. فإنه لا تصاب سوى النباتات القابلة – وراثيا – للإصابة ؛ أى التى لاتحمل أيا من طرازى المقاومة . وإذا استمر انخفاض الحرارة إلى ١٨°م .. تتوقف إصابة النباتات القابلة للإصابة كذلك .

ويمكن التمييز بين النباتات القابلة للإصابة والنباتات ذات المقاومة الكمية بإجراء اختبار المقاومة فى درجة حرارة مقدارها ٢٤°م (عن Walker ١٩٧٩) .

وقد احتفظت أصناف الكرنب المقاومة (التى أنتجها J.C.Walker ومعاونوه) بمقاومتها لأكثر من ٧٠ عاما ، واستخدمت تلك الأصناف كمصدر لمقاومة المرض فى عديد من برامج التربية . ولكن اكتشفت مؤخرا سلالة جديدة من الفطرفى كاليفورنيا (السلالة رقم ٢)، كانت قادرة على إصابة النباتات الحاملة لطراز المقاومة البسيطة (طراز A) حتى عند انخفاض درجة حرارة التربة إلى ١٤°م ، بينما لم تكن السلالة الأولى قادرة على إحداث الإصابة فى تلك الظروف (Bosland & Williams) .

وقد درس Bosland وآخرون (١٩٨٨) تأثير درجة حرارة التربة – عندما تراوحت من ١٠ – ٢٤°م – على أعراض المرض، مع استخدام خمس سلالات فسيولوجية من الفطر المسبب للاصفرار . أجريت الدراسة فى أحواض زراعة حرارية خاصة Temperature Tanks Soil ، كما اختبرت عدة أصناف من الكرنب تحت الظروف الطبيعية فى كاليفورنيا فى حقول مصابة بالسلالة رقم ٢ من الفطر .

وقد أوضحت هذه الدراسة أن جميع السلالات المستعملة زادت قدرتها على إحداث الإصابة جوهريا – فى عوائلها القابلة للإصابة – بارتفاع درجة حرارة التربة . وعند درجة ١٠°م .. أحدثت السلالة رقم ٢ من الفطر F. oxysporum f. conglutinans إصابة طفيفة فى صنف الكرنب Golden Acre ، وأحدث الفطر F.oxysporum f. raphani إصابة طفيفة كذلك فى صنف الفجل White Icicle . وكانت المقاومة البسيطة (طراز A) فى الكرنب عالية الكفاءة ضد السلالة رقم ١ من الفطر المسبب للاصفرار ، إلا أن كفاءة تلك المقاومة ضعفت ضد السلالة رقم ٢ ، مع ارتفاع درجة حرارة التربة من ١٤°م إلى ٢٠°م ، وفقدت المقاومة فاعليتها تماما فى حرارة٢٢°م ، و ٢٤°م . أما المقاومة الكمية (طراز B) .. فقد كانت عالية الكفاءة ضد السلالة رقم ١ من الفطر فى درجة حرارة ٢٠°م ، والأقل منها ، بينما لم تكن فعالة ضد السلالة رقم ٢ إلا فى درجتى ١٠ ، و ١٢ °م فقط .

ب – مقاومة نيماتودا تعقد الجذور فى الطماطم :

تعد السلالة P.I.128657 من L.peruvianum هى مصدر المقاومة الأصلى لكل من M.incognita ، و M.javanica ، و M.arenaria . وقد نقل منها الجين Mi الذى يتحكم فى المقاومة لهذه الأنواع إلى جميع أصناف الطماطم التجارية

المعروفة بمقاومتها للنيماتودا .

وقد أوضحت نتائج الدراسات التى قورنت فيها مقاومة هذه السلالة بمقاومة الصنف التجارى فى إف إن VFN8 أن مستوى تكاثر السلالة رقم ١ من M. incognita لم يختلف بينهما ، سواء أكان الاختبار على درجة ٢٥°م ، أم ٣٢°م ، مما يدل على أن الخلفية الوراثية للطماطم لم تؤثر فى المقاومة . كان كل من السلالة والصنف مقاوماً للنيماتودا فى درجة حرارة ٢٥°م ، ولكنهما كانا قابلين للإصابة فى درجةحرارة ٣٢°م .

أما السلالة رقم P.I.126443 من النوع L. glandulosum والسلالة رقم P.I.270435 من النوع L.peruvianum (وكلاهما مقاوم لكل من M.hapla ، وM.incognita) ، والسلالتان أرقام P.I.129152 ، و LA 2157 من L.peruvianum (وكلاهما مقاوم للنوع M.incognita فقط) فقد كانت جميعها على درجة عالية من المقاومة للسلالة رقم ١ من M.incognita فى كل من درجتى الحرارة ٢٥° و ٣٢°م . كما وجد أن سلالتين خضريتين (هما : 1-MH. و 5-MH) من السلالة P.I.126440 للنوع L.glandulosum (وكلاهما مقاوم للنوع M.hapla كانت متوسطتين فى قابليتهما للإصابة بالنوع M.javanica فى درجة ٢٥°م وشديدتى القابلية للإصابة فى درجة حرارة ٣٢°م . وتدل هذه النتائج على وجود جين أو جينات أخرى غير الجين Mi تعطى مقاومة فى درجات الحرارة المرتفعة (Ammati وآخرون ١٩٨٦).

جـ - المقاومة لفيرس موزايك الفاصوليا الأصفر فى البسلة :

يتحكم فى مقاومة فيرس موزايك الفاصوليا الأصفر Yellow Bean Mosaic Virus فى البسلة عامل وراثى واحد يتأثر كثيرا بدرجة الحرارة . فنعد اختبار نباتات الجيل الثانى فى درجة حرارة ١٨°م أو أقل .. تظهر أعراض المرض على النباتات الأصيلة القابلة للإصابة فقط ، وبذا .. تكون المقاومة سائدة . ولكن إذا اختبرت نباتات الجيل الثانى فى درجة حرارة ٢٧°م .. فإن أعراض المرض تظهر على جميع النباتات ما عدا النباتات الأصيلة فى صفة المقاومة فقط ، وبذا .. تكون المقاومة متنحية . أى إنه يمكن عن طريق التحكم فى درجة الحرارة التمييز بين النباتات الأصيلة والنباتات الخليطة فى صفة المقاومة (Walker ١٩٦٦) .

د - المقاومة لفيرس موزايك الخيار فى السبانخ :

تظهر على نباتات السبانخ المقاومة لفيرس موزايك الخيار فى درجة ١٦ - ٢٠°م أعراض جهازية للمرض فى درجة حرارة ٢٨°م (عن Kiraly وآخرين ١٩٧٤) .

٢ - الرطوبة الأرضية :

ترتبط المستويات المرتفعة من الرطوبة الأرضية عادة بزيادة شدة الإصابة بالأمراض ، وربما يرجع ذلك إلى أن توفر أغشية من الرطوبة يساعد على تحرك الجراثيم المتحركة . وبالنسبة لصفة المقاومة فإن التربة الغدقة تضعف المجموع الجذرى بالاختناق ، مما يضعف مقاومته للأمراض .

ولمزيد من التفاصيل عن تأثير العوامل البيئية على المقاومة للأمراض .. يراجع Yarwood (١٩٥٩) ، و Walker(١٩٦٥) ، و Colhoun (١٩٧٣) .

اختبارات التقييم الحقلية

يعتمد إجراء اختبارات التقييم الحقلية على انتشار المرض فى الحقل إما بصورة طبيعية ، وإما بعد إحداث عدوى صناعية بالمسبب المرضى .

الاعتماد على الأوبئة الطبيعية

تجرى اختبارات التقييم تحت الظروف الطبيعية فى المناطق والمواسم التى يتواجد فيها المرض بحالة وبائية ، ومن أمثلة ذلك ما يلى :

١ - تختبر سلالات بنجر السكر لمقاومة فيرس تجعد القمة فى الولايات المتحدة فى الحقول المجاورة للحبوب الصغيرة التى تتكاثر فيها نطاطات الأوراق الناقلة للفيرس ، وفى الربيع .. تنتقل النطاطات الحاملة للفيرس من الحشائش المصابة إلى حقول التقييم ؛ حيث تنقل إليها الفيرس ، وتتكاثر عليها .

٢ - تختبر سلالات البطاطس لمقاومة الندوة المتأخرة فى وادى تولكا Toluca بالمكسيك؛ حيث تتواجد عديد من سلالات الفطر المسبب للمرض فى المنطقة التى يسودها دائما جو مثالى لحدوث الإصابة (Russell ١٩٧٨) .

٣ – أمكن خلال موسمين من الإصابة الوبائية باللفحة النارية بولاية ميرلاند الأمريكية تقييم ٥٢٢ صنفا من الكمثرى لمقاومة المرض ، حيث أصيب ٨٨٪ منها بشدة ، بينما كانت ٢ ٪ منها متوسطة القابلية للإصابة ، و ٤ ٪ متوسطة المقاومة ، و ٥ ٪ عالية المقاومة ، و ٢ ٪ خالية تماما من أية أعراض للإصابة (Oitto وآخرون ١٩٧٠) .

٤ – أمكن تقييم أعداد كبيرة من أصناف وسلالات مزروعة وبرية بلغت ١٧٩٦ من جنس الطماطم Lycopersicon spp. ، و ٩٦٨ من نوع القاوون Cucumis melo ، و ٤٥٧ من جنس البطيخ Citrullus spp. لمقاومة فيرس تجعد أوراق الطماطم الأصفر ، وفيرس اصفرار وتقزم القرعيات تحت ظروف طبيعية تنتشر فيها الذبابة البيضاء الحاملة لهذين الفيروسين بصورة وبائية (Hassan وآخرون ١٩٩٠ ، و ١٩٩١ أ ، و ١٩٩١ب) .

ويعيب على اختبارات التقييم للمقاومة تحت الظروف الطبيعية ما يلى :

١ – يكون التقييم – دائما – لمقاومة خليط من سلالات المسبب المرضى ، وليس لسلالة معينة منه . إلا أن التقييم يكون ضد جميع السلالات الهامة على أية حال ، كما يمكن إجراء الاختبار فى مناطق معينة تنتشر فيها سلالات معينة من المسبب المرضى .

٢ – احتمال إفلات بعض النباتات من الإصابة .

٣ – احتمال زيادة أو نقص مستوى الإصابة بدرجة غير مقبولة .

٤ – عدم القدرة على التحكم فى العمر النباتى الذى تجرى عنده العدوى بالمسبب المرضى .

٥ – احتمال الإصابة بأمراض أخرى ، أو حشرات ، أو التعرض لظروف بيئية قاسية يمكن أن تخفى أو تغير استجابة النباتات للإصابة بالمسبب المرضى المطلوب .

الاعتماد على العدوى الصناعية

يفضل عند إجراء العدوى الصناعية تحت ظروف الحقل زراعة نباتات مصابة بالمرض بين النباتات المختبرة لتكون مصدرا دائما للعدوى ، ويجرى ذلك – على سبيل المثال – فى اختبارات مقاومة القمح للفطر Puccinia striformis المسبب لمرض الصدأ الأصفر ،

وينجر السكر للفطر Peronospora farinosa المسبب لمرض البياض الزغبى (عن Russell ١٩٧٨) .أما توصيل المسبب المرضى بشكل مباشر إلى جميع النباتات فى الحقل، فإنه يتطلب كميات كبيرة من اللقاح .

ويلزم – فى حالة الأمراض التى تصيب أجزاء النبات الهوائية – إجراء العدوى فى الصباح الباكر ، أوفى الأيام الملبدة بالغيوم . كذلك يحسن – فى حالة الجو الجاف – رش النباتات بالماء بعد العدوى (عن Kiraly وآخرين ١٩٧٤) .

وتتميز أمراض الجذور والحزم الوعائية بإمكان عدوى الحقل بالمسبب المرضى مرة واحدة ، ثم تكرار زراعته بنفس العائل سنويا لإجراء اختبارات التقييم فيه أثناء برنامج التربية . فمثلا .. قام Wallace & Wilkinson (١٩٦٥) بإجراء اختبارات التقييم للفطر Fusarium solani f. phaseoli – المسبب لمرض عفن الجذور الجاف فى الفاصوليا – فى حقل كان قد سبقت عدواه بالفطر فى عام ١٩١٨ ، وزرع بالفاصوليا سنويا منذ ذلك الحين .

وقد وجد Inglis وآخرون (١٩٨٨) أن استعمال اللقاح الجاف لحقن الفاصوليا بأى من الفطريين : Colletotrichum lindemuthianum المسبب للأنثراكنوز ، أو Phaeoisariopsis griseola المسبب لتبقع الأوراق الزاوى كان مناسباً لاختبارات التقييم تحت ظروف الحقل ، بدلا من الرش بجراثيم الفطر ، الذى يتطلب تحضير المعلق الفطرى قبل وقت قصير من إجراء العدوى الصناعية ، ويستلزم كميات كبيرة منه لعدوى المساحات الحقلية الكبيرة . وقد استعمل الباحثون إما أوراقا جافة لنباتات سبق عدواها بالفطر فى الصوية ، وإما مزارع مجففة للفطر على بيئة خاصة هى : Perlite – cornmeal V-8 juice agar . عُفِّرت النباتات فى الحقل بأى من مصدرى العدوى، وكان كلاهما بنفس كفاءة العدوى بمعلق جراثيم الفطر فيما يتعلق باختبارات المقاومة الحقلية .

هذا .. ويمكن الاستفادة من عديد من طرق الحقن (العدوى الصناعية) التى يأتى ذكرها فى الجزء التالى ، فى نشر الإصابة المرضية تحت ظروف الحقل لأغراض تقييم مقاومة الأمراض .

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 .

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

جزيئات الفيرس إلى داخل النسيج الورقى للنبات السليم .. يلزم تجريح سطح الورقة (طبقتا الأديم ، والبشرة) صناعيا . وعند ما يكون النبات المحقون بهذه الطريقة قابلا للإصابة .. فإنه قد يستجيب للعدوى بأى مما يلى :

١ – ظهور بقع موضعية (محلية) Local Lesions على الأوراق المعدية بالفيرس .

٢ – ظهور أعراض جهازية Systemic Symptoms كالتبرقش ، والموزايك ، وتشوهات الأوراق ، والبقع الموضعية المنتشرة فى كل أجزاء النبات .

٣ – عدم ظهور أية أعراض :

يلاحظ – فى هذه الحالة – أن الفيرس يتكاثر داخل النبات ، برغم عدم ظهور أية أعراض عليه ، ويرجع ذلك إما إلى أن العائل يتحمل الإصابة Tolerant بالفيرس ، وإما لتأثير العوامل البيئية التى قد تخفى أعراض الإصابة .

وبالمقارنة بالحالات السابقة التى يكون فيها العائل قابلا للإصابة .. فإن العدوى الميكانيكية لا يترتب عليها ظهور أية أعراض مرضية فى حالتين أخريين ؛ هما :

١ – حالة المقاومة Resistance :

وفيها ينجح الفيرس فى دخول النبات ولكن لايمكنه التكاثر فيه ، ولاينتقل إلى أجزاء أخرى منه .

٢ – حالة المناعة Immunity :

وفيها لايتمكن الفيرس من مجرد دخول النبات .

وتجدر الإشارة إلى أن الفيروسات لا تنتقل جميعها ميكانيكيا ، برغم شيوع تلك الوسيلة للانتقال بين الفيروسات النباتية ، فلا تنتقل – عادة ميكانيكيا – الفيروسات التى تنتقل بواسطة نطاطات الأوراق ، والذباب الأبيض ، وكذلك الفيروسات الباقية (المثابرة) Persistent وشبه الباقية (شبه المثابرة) Semipersistent التى تنتقل بواسطة المن .

ونتناول – فيما يلى – موضوع الانتقال الميكانيكى من الأوجه التالية :

أولاً:اختيار العوائل الدالة على الفيرس

تعطى العوائل الدالة على الفيرس Indicator Hosts أعراضا مميزة عند عدواها به . ويمكن – عند استخدام مجموعة منها – التمييز بين الفيروسات على أساس اختلاف تلك العوائل فى مقاومتها (مناعتها) وقابليتها للإصابة بمختلف الفيروسات . وأكثر النباتات الدالة استخداما هى :

Chenopodium amaranticolor (يصاب بأكثر من ٤٠ فيرسا)

Chenopodium quinoa

Cucumis sativus

Datura stramonium

Gomphrena globosa

Nicotiana benthamiana

Nicotiana glutinosa

Nicotiana tabacum " Xanthi "

Nicotiana tabacum " Samsun "

Phascolus vulgaris " Pinto "

Vicia faba

Vigna ungiculata

ويمكن الحصول على بذور الأنواع غير المتوفرة لدى الباحث من تلك العوائل الدالة من :

Plant Introduction

Germplasm Resources Laboratory

Agricultural Research Center

Beltsville, MD. 20705

U.S.A.

ويتعين عند إكثار بذور هذه الأنواع النباتية أن يجرى ذلك فى صوبة سلكية منيعة ضد الحشرات .

ومن المعروف أن خفض شدة الإضاءة يزيد من قابلية بعض النباتات للإصابة ببعض الفيروسات . ولذا يوصى بإبقاء نباتات العوائل الدالة فى الظلام لعدة ساعات ، أو ليوم أو يومين ، لأن ذلك قد يزيد من قابليتها للإصابة .

والتخلص من الطفيليات والفيروسات التى تعيش فى التربة .. يتعين تعقيم التربة – التى تزرع فيها النباتات – بالبخار على ١٠٠°م لمدة نصف ساعة .

كما يتعين عن إجراء الاختبار أن تكون الزراعة فى صوبة خالية من الحشرات ، أو فى صوبة سلكية منيعة ضد الحشرات ، وأن تعزل النباتات السليمة بمفردها فى حجرة منفصلة، لكى لايصل إليها الفيرس من النباتات المصابة ، وأن ترش جميع النباتات فى الصوبة دوريا بالمبيدات الحشرية المناسبة لمنع تكاثر الحشرات .

ثانيا : تحضير اللقاح Preparation of Inoculum

إن اللقاح هو العصير الخلوى الذى يستخلص من النباتات المصابة . ويتعين – عند اختيار الأوراق المصابة التى يستخلص منها الفيرس – أن تؤخذ الأمور التالية فى الحسبان:

١ – ليس من الضرورى أن يكون محتوى الأوراق من الفيرس مرتبطا – دائما – بشدة الأعراض التى تظهر عليها .

٢ – توجد التركيزات العالية من الفيرس – غالبا – فى الأنسجة الحديثة .

٣ – لايمكن انتقال بعض الفيروسات إلا فى أوقات معينة من السنة .

ولاستخلاص العصير الخلوى .. تسحق الأوراق المصابة فى هاون صينى مع محلول منظم مناسب بنسبة جزء من الأوراق : ٢ – ٥ أجزاء من المنظم . وأكثر المحاليل المنظمة استخداما منظم الفوسفات بتركيز ٠,١ مولار و pH = ٧,٠ .

ويحضر منظم الفوسفات بتحضير محلولين كما يلى :

محلول (أ) : ١,٣٦ جم KH_2PO_4 فى ١٠٠٠ مل ماء .

محلول (ب) : ١٫٧٨ جم $Na_2 HPO_4 . 2H_2O$ فى ١٠٠٠ مل ماء .

يخلط ٥١٫٠ مل من محلول (ب) مع ٤٩٫٠ مل من محلول (أ) لنحصل على ١٠٠ مل من منظم الفوسفات بتركيز ٠٫١ مولار ، و pH = ٧٫٠ .

وتفيد كثيرا إضافة مادة محدثة للجروح Abrasive إما إلى سطح الأوراق قبل عدواها بالفيرس ، وإما إلى اللقاح ذاته ، لإحداث الجروح التى يدخل من خلالها الفيرس إلى النبات.

وبعد الكربورندم Carborandum أكثر المواد استخداما فى هذا الشأن ، وهو عبارة عن مسحوق كربيدالسيليكون Silicon Carbide (٤٠٠ - ٦٠٠مش Mesh .. أى تنفذ جيباته من غرابيل دقيقة تحتوى على ٤٠٠ - ٦٠٠ ثقب بكل بوصة طولية) مع السيليت Celite . ويستخدم الكاربورندم - فى حالة إضافته إلى اللقاح - بنسبة ٠٫٥ - ١٫٠ ٪ (حجم / مل) .

وتحتوى عديد من النباتات على مركبات يؤدى وجودها فى العصير الخلوى المستخلص من النباتات المصابة إلى تثبيط نشاط الفيروسات ، أو تقليل فاعليتها فى إحداث الإصابة ، أو الحد من كفاءة انتقالها . ويمكن تجنب تأثير هذه المركبات باستعمال ما يعرف بالإضافات المثبتة Stabilizing Additives ؛ وهى مواد تعمل - عند إضافتها إلى اللقاح - على تثبيت فاعلية الفيروسات حتى مع وجود المركبات المثبتة لها فى العصير الخلوى . ومن المركبات المستخدمة فى هذا المجال ما يلى :

المركب	التركيز
Ethylenediamine tetraacetic acid trisodium salt (EDTA)	٠٫٠٠٥ - ٠٫١ مولاراً
Thioglycollic acid (TGA)	٠٫٠١ - ٠٫١ مولاراً
2- mercaptoethanol (MCE)	٠٫٠١٥ - ٠٫١٥ مولاراً
Sodium diethyldithiocarbamate (DIECA)	٠٫٠١ - ٠٫١ مولاراً
Ascorbic acid (Vitamin C)	٠٫٠٢ - ٠٫١٧ مولاراً
Sodium sulfite ($Na_2 SO_3$)	٠٫٠٢ - ٠٫٠٥ مولاراً
Bovine serum albumine	٠٫١ ٪

تضاف أى من المركبات السابقة فى حدود مجال التركيز الموضح قرين كل منها . ويتوقف اختيار المركب والتركيز على كل من الفيرس والعائل المستخلص منه .

ثالثاً : طريقة التلقيح (العدوى) الميكانيكية

تجرى الطريقة الروتينية للعدوى الميكانيكية بالفيرس كما يلى : يسحق نحو ٣ جم من الأوراق المصابة بالفيرس مع ١٠ – ٢٠ مل من محلول منظم الفوسفات (pH = ٧٫٠) فى هاون صينى معقم .يضاف EDTA ، أو DIECA كمادة مثبتة . يحك المعلق بلطف على سطح الأوراق السليمة للعوائل الدالة بعد نثر قليل من الكربورندم على سطحها ، ويلى ذلك غسيل الأوراق المعدية بالماء .

ويجب أن تؤخذ الأمور التالية فى الحسبان عند إجراء العدوى الميكانيكية :

١ – يعدى نباتان – على الأقل – من كل من العوائل الدالة ، مع الاحتفاظ بنبات آخر سليم من كل منها لمقارنة النمو الطبيعى بما قد يظهر من أعراض على النباتات المعدية .

٢ – قد يساعد إبقاء نباتات العوائل الدالة فى الظلام (لعدة ساعات ، أو ليوم أو يومين قبل عدواها بالفيرس) على زيادة قابليتها للإصابة .

٣ – تكون النباتات الصغيرة – بوجهٍ عام – أكثر قابلية للإصابة بالفيروسات من النباتات الكبيرة العمر .

٤ – تكون النباتات – بوجهٍ عام – أكثر قابلية للإصابة بعد الظهر .

٥ – تجرى العدوى على السطح العلوى للأوراق ، وتختلف الورقة المناسبة باختلاف العائل ، فهى الأوراق الأولية فى البسلة والفاصوليا ، والفلقات فى الخيار ، و الأوراق الرابعة إلى الثامنة فى الـ Chenopodium ، وأية ورقة على النبات فى مرحلتى نمو الورقتين الحقيقيتين الثالثة والرابعة فى التبغ ، و عند تكوين زوج الأوراق الأول والثانى فى الداتورة.

٦ – يجب أن تكون الزجاجيات المستخدمة فى عملية العدوى معقمة ، ويجرى التعقيم فى الأتوكليف على درجة ١٢٠°م لمدة ٣٠ دقيقة ، أو بوضع الزجاجيات فى ماء يغلى لمدة ثلاث ساعات .

٧ – إما أن ينثر الكربورندم على سطح الأوراق قبل عدواها بالفيرس ، وإما أن يضاف إلى اللقاح ذاته .

٨ – تجرى عملية العدوى بحك اللقاح على سطح الورقة برفق ، مع استعمال قطعة من القطن ، أو قطعة ذات عدة طبقات من الشاش ، أو قضيب زجاجى ذى نهاية مبطّطة .

٩ – يجب غسيل الأوراق بالماء بعد العدوى مباشرة ، إذ يعتقد أن ذلك يساعد على التخلص من السموم الطبيعية التى قد توجد فى اللقاح وتعيق الإصابة الفيروسية ، كما يفيد فى تقليل الأضرار التى قد تحدثها المركبات الكيميائية التى تضاف إلى اللقاح ، و تساعد على وضوح أعراض الإصابة فيما بعد .

١٠ – يؤدى وضع النباتات فى الظلام لعدة ساعات – بعد عدواها بالفيرس – إلى جعلها أكثر قابلية للإصابة ، وأسرع فى ظهور الأعراض عليها .

١١ – يجب تجفيف الأوراق سريعا بعد غسيلها ، ويجرى ذلك إما باستعمال تيار هوائى من رشاشة يدوية صغيرة atomizer ، وإما باستعمال ورق نشاف .

رابعاً : ظهور وتسجيل أعراض الإصابة

يجب ملاحظة النباتات يوميا لعدة أسابيع ، وتمتد الفترة لعدة شهور فى حالة النباتات الخشبية ، مع مقارنة الأعراض المشاهدة بمظهر النباتات السليمة النامية تحت نفس الظروف . تظهر على كثير من النباتات بقع موضعية ، إلا أن أعراضا أخرى قد تظهر كذلك. ويجب التمييز بين الأعراض المحلية التى تظهر على الأوراق التى تمت عداوها بالفيرس ، والأعراض الجهازية التى تظهر على أجزاء النبات الأخرى .

ونذكر – فيما يلى – أكثر الأعراض ظهورا ، و الرموز التى تستخدم فى الإشارة إليها .

الأعراض	الرمز
بقع موضعية (أو محلية) Local lesions	LL
بقع موضعية متحللة necrotic local lesions	nLL
بقع موضعية مصفرة chlorotic local lesions	cLL
شفافية العروق vein clearing	Vc
موزايك mosaic	M
تبرقش mottle	Mo
تحلل جهازى systemic necrosis	N
تشوه malformation	Mal
بقع حلقية ringspot	RS

خامساً : اختبار النقط الموضعية

يستخدم اختبار النقط الموضعية Local Lesion Assay فى قياس تركيز الفيروسات النباتية كميا . ويبنى هذا الاختبار على أساس أن بعض العوائل تستجيب للعدوى ببعض الفيروسات بتكوين بقع محلية متحللة منفردة . وقد يستمر الوضع المحلى المنفرد لهذه البقع، أو تتجمع وتلتحم معا ، أو تصبح الإصابة جهازية ، ويتوقف ذلك على الفيرس والعائل . وعند استخدام المجال المناسب من تركيز الفيرس ، فإن اختبار النقط الموضعية يعطى دليلا قويا على تركيزه فى المصدر الأصلى (اللقاح أو العصير الخلوى للنبات المصاب)

ومن أهم العوامل التى يتعين أخذها فى الحسبان عند إجراء هذا الاختبار ما يلى :

١ – أن تكون جميع النباتات المستخدمة فى الاختبار بعمر واحد ، وحجم واحد ، ولون واحد ، وحصلت على معاملات سمادية واحدة .

٢ – تقليل عدد أوراق النبات – بالتقليم – إلى أربع أوراق أو خمس فقط ، مع إزالة القمة النامية فى حالة استعمال N. glutinosa .

٣ – قد يكون من المفضل إجراء المقارنات بين أنصاف الأوراق المتقابلة ، لأن النتائج تكون أكثر دقة ، لأن الاختبار يلزمه – فى هذه الحالة – عدد أقل من النباتات . والأفضل من

ذلك اختيار أحد تحضيرات الفيرس ليكون قياسياً واستعماله فى عدوى أنصاف الأوراق ، بينما تعدى الأنصاف المقابلة لها بالتحضيرات الأخرى ، وبذا .. يمكن مقارنة كل تحضير بالتحضير القياسى ، ومقارنة مختلف التحضيرات ببعضها البعض بطريقة غير مباشرة من خلال نتائج التحضير القياسى .

٤ – يمكن استعمال تصميم المربع اللاتينى دونما حاجة إلى تكراراستعمال التحضير القياسى .. فإذا كان لدينا خمسة تحضيرات للفيرس ، فإنها تستخدم فى عدوى خمس أوراق بكل من خمسة نباتات (خمس مكررات) ، بحيث يختلف ترتيب الأوراق المستخدمة فى العدوى بكل من التحضيرات الخمسة حسب شروط المربع اللاتينى .

٥ – يحسن فى حالة استعمال أنصاف الأوراق أن يعدى بالتحضير الواحد النصف الأيسر لإحدى الأوراق ، و النصف الأيمن لورقة أخرى ؛ لمعادلة حالة عدم التوازن التى قد تنشأ نتيجة لعدم تداول النصفين بنفس الكيفية .

٦ – يلزم الحرص الشديد عند استعمال الكربورندم حتى لاتُضارّ الأوراق .

٧ – التزام الحرص عند حك الأوراق ، مع مراعاة تجانس عملية الحك .

٨ – غسل الأوراق أو أنصاف الأوراق بالماء بعد الحقن مباشرة ، على ألا تزيد فترة الغسيل على ٢ – ٣ ثوان .

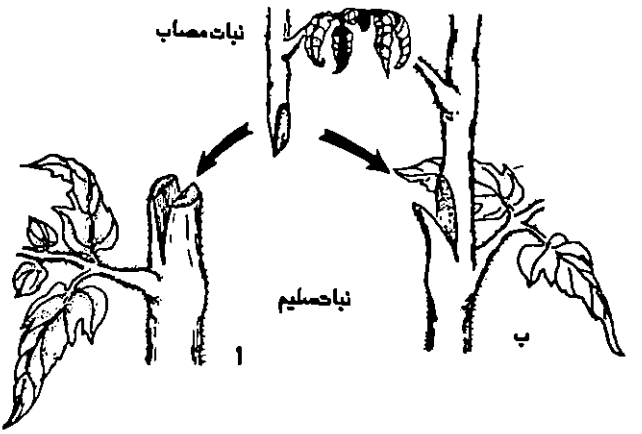
٩ – اختيار العائل المناسب للاختبار بعناية ، فمثلا تستخدم الفاصوليا ، و N. gluti-nosa مع فيرس موزايك الدخان ، و Gomphrena globosa مع فيرس × البطاطس (Smith ١٩٧٧)

الانتقال بالتطعيم Transmission by Grafting

تنتقل كل الفيروسات بواسطة التطعيم . وتجرى عملية التطعيم باستخدام شفرة حلاقة حادة (للأنسجة الحديثة) ، أو مشرط حاد (للأنسجة الخشبية) ، و شريط بلاستيكى بعرض حوالى سنتيمترين . ويجب تطهير الشفرة أو المشرط باللهب قبل استعمالها .

ونذكر – فيما يلى – أهم طرق التطعيم المستخدمة فى الدراسات الفيروسية .

١ – التطعيم بالشق Cleft Grafts .. ويوجد منه نوعان (شكل ٤ – ٣) .



شكل (٤ -٣) : التطعيم بالشق : (أ) القمى ، (ب) الجانبى .

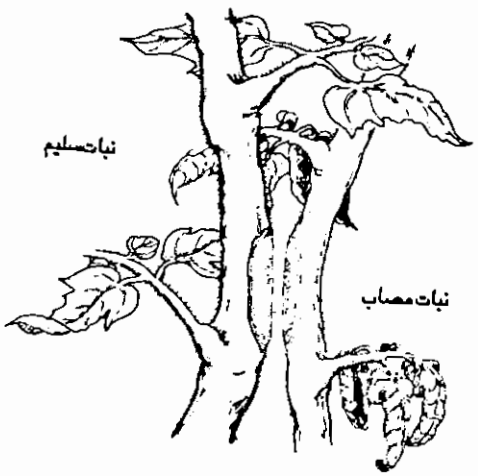
أ – التطعيم بالشق القمى Top Cleft Grafting . يعرف كذلك باسم Clelt Graft-ing. وهذه الطريقة شائعة الاستعمال مع كل من النباتات العشبية والخشبية ، وهى تجرى بقطع قمة النبات المصاب ، ثم عمل شق يمر بمركز الساق لعمق ٢ – ٣ سم . ويلى ذلك قطع قاعدة الطعم (الذى يؤخذ من نبات سليم) على شكل وتد بطول يتناسب مع عمق الشق ، وتثبيته بإحكام فى الشق ، ثم لف منطقة الاتصال بالشريط البلاستيكى . تلاحظ أعراض الإصابة بعد ذلك فى النموات الجديدة التى تظهر على الطعم ، ويفيد قطع قمة النمو فى الطعم – بعد نجاح التطعيم –فى تكوين نموات جانبية جديدة تكون أعراض الإصابة عليها أكثر وضوحا .

ب – التطعيم بالشق الجانبى Side Cleft Grafting .. ويجرى بعمل شق جانبى مائل فى ساق النبات المصاب (الأصل) تثبت فيه بإحكام قطعة من ساق النبات السليم (الطعم) تكون قد جهزت قاعدتها على شكل وتد ، ثم تلف منطقة الاتصال بشريط بلاستيكى .

٢ – التطعيم باللصق Approach Graft :

يجرى التطعيم باللصق بقطع جزأين طوايين متقابلين ومتساويين من ساقى النباتين

المصاب والسليم ، مع مراعاة تساوى الساقين فى السمك ، ووصول القطع فى كل منهما إلى الكامبيوم . يلى ذلك ضم الساقين معا عند منطقة القطع ، و لف منطقة الاتصال بشريط بلاستيكى (شكل ٤ -٤) . ولتشجيع تكوين نموات جانبية حديثة على النبات السليم (حيث يكون ظهور الأعراض عليها أكثر وضوحا) .. تقطع قمته النامية .



شكل (٤ - ٤) : التطعيم باللصق .

الانتقال بواسطة الحامول Dodder Transmission

ينتمى الحامول إلى الجنس Cuscuta ، وهو من النباتات المتطفلة التى تعتمد فى غذائها على غيرها من النباتات ، حيث تلتصق بها ، ثم ترسل بداخلها ممصات Haustor-ia جذرية الشكل . وتوجد عدة أنواع من الجنس Cuscuta تعرف بقدرتها على نقل الفيروسات من النباتات المصابة إلى السليمة ، وأكثرها شيوعا كل من C. campestris، و C. subinclusa .

ولإجراء اختبار نقل فيرس ما .. تنمى نباتات حامول من البذرة لضمان خلوها من الفيرس ، ثم يوضع الحامول مجاورا وملامسا للنبات المصاب بالفيرس ، حيث يلف الحامول ساقه حول ساق وأوراق النبات المصاب بالفيرس ، ويرسل بداخله الممصات التى يعتمد

عليها فى الحصول على غذائه منه . ويعنى ذلك انتقال العصير الخلوى من النبات المصاب بالفيرس إلى الحامول . وعندما يتم التأكد من حدوث الاتصال البيولوجى بين النباتين .. توجه ساق الحامول نحو النبات السليم ، حيث يتصل به بيولوجيا كذلك ، ويتبع ذلك انتقال الفيرس إليه إذا كان من الفيروسات التى تنتقل خلال الحامول .

الانتقال بواسطة الحشرات Insect Transmission

أولاً : الأمور العامة

١ – التجهيزات والأدوات اللازمة :

تحتاج اختبارات الانتقال الحشرى للفيروسات إلى تجهيزات وأدوات معينة لتداول الحشرات ، من أهمها ما يلى :

أ – حجيرات أو أقفاص خاصة Cages :

الـ Cage هو أى حيز محدود ومجهز بطريقة تسمح بالإبقاء على كائنات حية بداخله ، وتستخدم عدة أنواع منها فى دراسات الانتقال الحشرى للفيروسات ، نذكر منها مايلى :

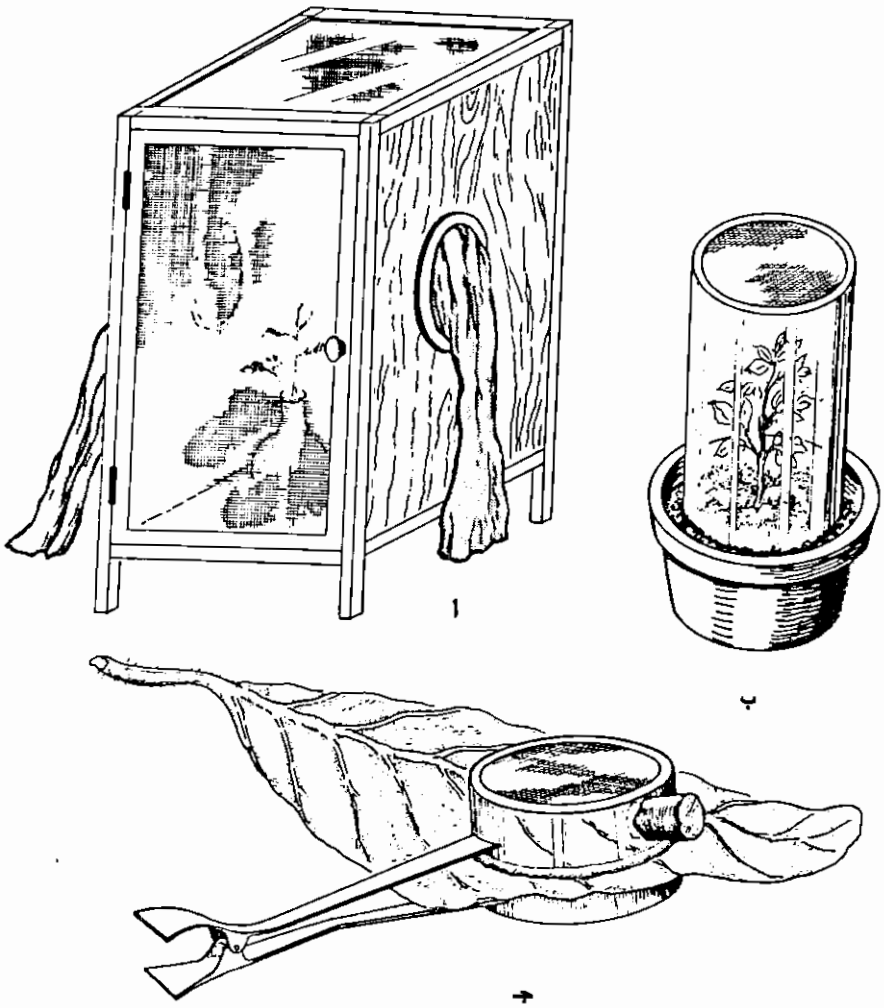
(١) الحجيرات الخشبية Wooden Plant Cages :

تكون أبعاد الحجيرة حوالى ٣٥ × ٣٥ × ٥٠ سم ، وتغطى جوانبها إما بشبكة سلكية دقيقة ، وإما بالقماش الحرير ، مع استعمال غطاء زجاجى لكل من قمة الحجيرة ، وجانبها الذى يتم تداول النباتات والحشرات من خلاله . وبالنسبة للذبابة البيضاء .. تستخدم حجيرات ذات جانبين خشبيين بكل منهما فتحة دائرية بقطر ١٨ سم تسمح بدخول اليد من خلالها . وتمنع النبابة البيضاء من الهروب من الحجيرة أثناء العمل فيها بتغطية كل من الفتحتين بأنبوبة قماشية سوداء تغلق من طرفها البعيد برباط مطاطى (شكل ٤ – ٥ أ) .

(٢) الحجيرات البلاستيكية الأسطوانية Plastic Cylinder Whole Plant Cage :

تغطى بالشاش قمة أسطوانة بلاستيكية شفافة بقطر ٣٢ سم ، مع تثبيت قاعدتها فى

إصيص ينمو فيه النبات المستخدم فى الدراسة . ويمكن أن توضع داخل الأسطوانة أوراق طازجة تغمر قواعد أعناقها فى أنابيب بها ماء (شكل ٤ – ٥ ب) .



شكل (٤–٥) : أشكال الحجيرات Cages المستخدمة فى اختبارات الانتقال الحشرى للفيروسات : (أ) حجيرات خشبية ، و (ب) حجيرات بلاستيكية اسطوانية ، و (جـ) حجيرات الأوراق .

(٣) حجيرات الأوراق الأسطوانية البلاستيكية Plastic Cylinder Leaf Cage .

يستخدم هذا النوع من الحجيرات لاختبارات الانتقال الحشرى التى يستعمل فيها عدد محدود من الحشرات . يصنع الـ cage من جزأين من أنابيب بلاستيكية يبلغ قطرها حوالى ٣ سم ، وطولها ٥ ر١ سم . وتغطى الأنبوبة من أحد جانبيها بقماش من النيلون ، وتنتقل الحشرات إلى داخلها من خلال فتحة صغيرة تعمل فى جانب الأنبوبة وتُغْلَق بسدادة فلينية . يثبت جانبى الحجيرة (الأنبوبتان) حول الأوراق باستعمال مشبك شعر عادى ، مع تثبيت نهايتى المشبك الحرتين فى جزأى الأنبوبة بتسخينهما ، ثم دفعهما فى الجدار البلاستيكى (شكل ٤ – ٥ جـ).

(٤) أوعية بلاستيكية أو زجاجية Plastic or Glass Containers :

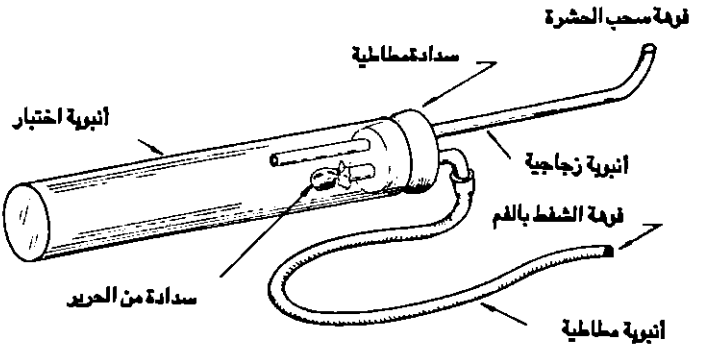
تستخدم هذه الأوعية لنقل الحشرات التى تجمع من الحقل ، ويشترط فيها أن يكون غطاؤها شبكيا ، وأن تكون واسعة بالقدر الذى يسمح بالتهوية .

ب – فرشاة رسم .. وتستخدم خاصة لتداول المن ، ويلزم بلّ طرفها لكى تلتصق بها الحشرة .

جـ – جهاز شفط Aspirator :

يستخدم جهاز الشفط مع الحشرات النشطة الحركة ؛ مثل نطاطات الأوراق ، والذباب الأبيض ، وهو يتكون من أنبوبة اختبار صغيرة مغلقة بسدادة مطاطية ذات فتحتين وتمر من إحداها أنبوبة زجاجية صغيرة مستقيمة يتصل طرفها الخارجى بأنبوبة مطاطية تستعمل للشفط ، بينما يغطى طرفها الداخلى بسدادة من الحرير أو النيلون تسمح بسحب الهواء بحرية ، ولكنها تمنع مرور الحشرات . أما الفتحة الأخرى للسدادة المطاطية فيمر من خلالها أنبوبة زجاجية أطول قليلا ، طرفها الخارجى ملتو قليلا ليسمح بالتقاط الحشرات – عند الشفط – بكفاءة أكبر(شكل ٤ – ٦) .

د – تستخدم شعرات مفردة – تربط فى أعواد خشبية صغيرة (مثل المستخدمة فى تنظيف الأسنان) – فى التقاط الحشرات الصغيرة كالمن والتربس .



شكل (٤-٦) : جهاز سحب الحشرات بالشفط أو بالتفريغ Aspirator .

٢ - جمع الحشرات من الحقل :

يمكن جمع الحشرات من الحقل بعدة طرق كما يلى :

أ - باستخدام شبكة لجمع الحشرات تمرر فوق النموات الخضرية .

ب - بالطرق على النباتات وجمع الحشرات التى تسقط منها على مفرش يوضع أسفل النباتات .

جـ - جمع حشرات مفردة باستخدام فرشاة رسم .

د - جمع عينات نباتية توجد بها الحشرات .

هـ - اصطياد الحشرات .. وتوجد أنواع مختلفة من المصائد كما يلى :

(١) المصائد اللونية ... فيمكن صيد المن والذباب الأبيض في وعاء أصفر اللون مملوء بالماء .

(٢) المصائد الضوئية .. حيث تنجذب معظم الحشرات للأشعة الزرقاء وفوق البنفسجية .

(٣) مصائد الشفط .. حيث تشفط الحشرات بتيار من الهواء .

(٤) المصائد اللاصقة .. حيث تجذب الحشرات إلى أسطح ملونة مغطاة بمادة لاصقة .

٣ - المحافظة على الحشرات و إدامتها :

إن الظروف التى تناسب نمو عائل الحشرة تكون – غالباً مناسبة لنمو وتكاثر الحشرة ذاتها . ولذا .. تستخدم عوائل الحشرة لهذا الغرض ، وقد تستخدم أوراق النباتات فى تغذية الحشرات .

٤ – المحافظة على مزارع حشرات خالية من الفيروسات :

يلزم أولا معرفة ما إذا كانت الحشرات المجموعة من الحقل حاملة للفيرس ، أم غير حاملة له ، ويتم ذلك بوضعها على عوائل دالة (قابلة للإصابة بالفيرس) . وبعد التأكد من خلو الحشرات من الفيرس فإنها تربى على عوائل غير قابلة للإصابة بهذا الفيرس . أما إذا وجد أن الحشرات المجموعة من الحقل حاملة للفيرس .. فإنه يلزم الانتظار حتى تضع هذه الحشرات بيضها على عوائل غير قابلة للإصابة بالفيرس ، علما بأن ذلك لايفيد فى حالات الفيروسات التى تنتقل خلال بيض الحشرات إلى نسلها ، حيث يلزم – فى هذه الحالة – الحصول على حشرات خالية من الفيرس من البداية ، أو تربيتها لأجيال قليلة على عوائل لاتصاب بالفيرس .

٥ – عدوى (حقن) النباتات بالفيرس بواسطة الحشرات :

تنقل أولا حشرات خالية من الفيرس للتغذية على نبات مصاب به ، وتترك عليه لحين اكتسابها الفيرس ، وهى العملية التى تعرف باسم تغذية الاكتساب Acquisition feeding وتتراوح الفترة اللازمة لذلك – حسب الفيرس – من ثوان قليلة إلى ساعات قليلة . ويلى ذلك مباشرة نقل الحشرات التى اكتسبت الفيرس للتغذية على النبات السليم الذى يراد نقل الفيرس إليه ، وهى العملية التى تعرف باسم تغذية الانتقال Transmission Feeding ، و تغذية الحقن Inoculation Feeding . وبينما نجد أن بعض الحشرات يمكنها نقل الفيرس إلى النبات السليم فى الحال (أى بعد اكتسابها الفيرس مباشرة) ، نجد أن بعضها الآخر لا يمكنها نقل الفيرس إلا بعد فترة كمون Latent Period ، تتراوح من ساعات قليلة إلى عدة أسابيع . ويمكن تحديد هذه الفترة بنقل الحشرات الحاملة للفيرس للتغذية على النباتات السليمة على فترات منتظمة بعد اكتسابها للفيرس .

وبينما لايمكن لبعض الحشرات – كالمن الذى يحمل الفيرس على القليم Stylet – أن تحتفظ بقدرتها على نقل الفيرس لأكثر من نصف ساعة .. فإن حشرات أخرى – كمعظم نطاطات الأوراق وبعض أنواع المن التى تحمل الفيرس فى جهازها الهضمى – تحتفظ بقدرتها على نقل الفيرس طوال حياتها.

كذلك يمكن لأنواع المن التى تحمل الفيرس فى جهازها الدورى haemolymph أن تنقل الفيرس طوال حياتها حتى بعد انسلاخها .

وبعد فترة التغذية اللازمة لنقل الفيرس .. يتم – عادة – التخلص من الحشرات بالرش بالمبيدات ، أو بالتبخير ، ثم تلاحظ النباتات المحقونة – لمدة ١ – ٣ أشهر – لحين ظهور الأعراض عليها.

٦ – نباتات وحشرات المقارنة :

للتأكد من أن مجرد تغذية الحشرات على النباتات لاتحدث أعراضا شبيهة بأعراض الإصابة الفيروسية .. يتم نقل حشرات خالية من الفيرس للتغذية على نباتات سليمة ، ثم تلاحظ الأضرار التى تحدثها التغذية . ويجب التأكد من أن الحشرات التى تنقل من الحقل تكون خالية من الفيرس . كذلك يجب الاحتفاظ بنباتات غير معدية بالفيرس فى نفس الصوبة لملاحظة الانتشار غير المتحكم فيه للفيرس ، وللتأكد من أن النباتات المختبرة لم تكن حاملة للفيرس قبل عدواها به .

ثانياً : الانتقال بواسطة المن Aphid Transmission

يعرف أكثر من ١٩٠ نوعا من المن بقدرتها على نقل الفيروسات إلى النباتات ، ومن أهم هذه الأنواع ما يلى :

Aphis sp.	Myzus sp.
Brevicoryne sp.	Rophalosiphum sp.
Macrosiphum sp.	Toxoptera sp.

وتعد الأنواع المختلفة من المن مسئولة عن نقل أكثر من ١٦٠ فيروسا نباتيا ، يحدث معظمها أعراض الموزايك ، إلا أن بعضها يحدث أعراض الاصفرار أيضا .

وجدير بالذكر أن الفيروسات التى ينقلها المن نادرا ما تنقل خلال بيض الحشرة (transovarially) ، ولذا .. فإن حشرات المن الحديثة الفقس تكون – دائما تقريبا خالية من الفيرس .

وتقسم الفيروسات التى ينقلها المن إلى ثلاث مجاميع : غير مثابرة non – persistent (أى لاتمر فى الدورة الدموية للحشرة non- circulative ، وشبه مثابرة semipersistent ، ومثابرة persistent (أو circulative) .

وبينما تقع معظم الفيروسات التى ينقلها المن فى المجموعة الأولى ، نجد أن بعضها لايدخل ضمن أى من هذه المجاميع ، حيث تكتسب الفيرس بعد فترتى اكتساب ؛ أولاهما قصيرة ، والأخرى طويلة ، ولا تكون قادرة على نقل الفيرس بينهما ، ويعرف ذلك باسم bimodal – transmission.

١ – الفيروسات غير المثابرة (أو غير الدائمة) Non – Persistent Viruses :

تعرف هذه المجموعة من الفيروسات أيضا باسم المحمولة على القليم Stylet – borne ، وفيها تكتسب الحشرة الفيرس أثناء تغذيتها بمجرد ملامسة أجزاء فمها لخلايا نباتية مصابة . يحمل الفيرس على قليم الحشرة ، ولا يصل عادة إلى جهازها الهضمى ، وتحتفظ به الحشرة لمدة تقل عن ساعة .

يكون اكتساب الحشرة للفيرس خلال فترة تتراوح من ثوان قليلة إلى دقائق معدودة ، وتؤدى إطالة فترة الاكتساب إلى أيام قليلة إلى إضعاف فاعلية الحشرة فى نقل الفيرس إلى النباتات السليمة بعد ذلك . ولاتوجد فى هذه المجموعة الفيروسية فترة كمون ؛ حيث يمكن للحشرة نقل الفيرس إلى النبات السليم بمجرد تغذيتها عليه ، ويتم ذلك خلال فترة تغذية تتراوح من ثوان قليلة إلى دقائق قليلة . وجدير بالذكر أن تصويم الحشرات عن التغذية قبل تغذية الاكتساب يجعلها أكثر قدرة على نقل الفيرس للنباتات السليمة .

وتتميز الفيروسات غير المثابرة بأنها تنقل كذلك بواسطة العصير الخلوى ، وبأن لها مدى واسعا من العوائل ، ومن أمثلة هذه الفيروسات ما يلى :

فيـــرس موزايك الفاصوليا العادى Bean common mosaic virus .
فيـــرس موزايك الفاصوليا الأصفر Bean yellow mosaic virus .
فيرس موزايك اللوبيا الذى ينتقل بالمن Cowpea aphid borne mosaic virus .
فيـــرس مـــوزايـــك الخـــيـــار Cucumber mosaic virus .
فيـــرس مـــوزايـــك الخـــس Lettuce mosaic virus .
فيـــرس تـقـزم البصـل الأصـفر Onion yellow dwarf virus .
فيـــرس تبـقـع البابـاظ الحلـقى Papaya ringspot virus .
فيـــرس تبرقش الفول السـودانى Peanut mottle virus .
فيـــرس تـبـرقـــش الـفـلـفـــل Pepper mottle virus .
فيـــرس Y البـطـاطـــــس Potato virus Y .
فيـــرس مـــوزايـك فـــول الصـويا Soybean mosaic virus .
فيـــرس مـــوزايـك الـقـــصـب Sugarcane mosaic virus .
فيـــرس تـبـرقـش الـلـفـــت Tobacco etch virus .
فيـــرس تـبـرقـش البطيـــخ Turnip mosaic virus.
Watermelon mosaicvirus .

٢- الفيروسات شبه المثابره Semipersistent Viruses :

تصل هذه الفيروسات إلى القناة الهضمية للحشرة ، وتكون فترة التغذية التى تلزم الحشرة لاكتساب الفيرس أطول قليلا مما فى مجموعة الفيروسات غير المثابرة ، حيث تتراوح من عدة دقائق إلى ساعة واحدة أو ساعتين ، غير أن قدرة الحشرة على نقل الفيرس تتحسن بزيادة فترة تغذية الإكتساب .

وكما فى الفيروسات غير المثابرة .. فإن هذه الفيروسات لاتمر - هى الأخرى - بفترة كمون فى الحشرات الناقلة لها ، حيث يمكنها نقل الفيرس للنباتات السليمة بمجرد اكتسابها له . وعلى خلاف الفيروسات غير المثابرة .. فإن الفترة التى تلزم الحشرة لنقل الفيرس Inoculation Feeding فى هذه المجموعة تكون أطول ؛ حيث تتراوح من عدة دقائق إلى عدة ساعات ، كما أن الحشرات تحتفظ بالفيرس لفترة أطول ؛ حيث تتراوح من ١٢ - ٢٤ ساعة ، وتصل - أحيانا - إلى عدة أيام . ولاتنتقل هذه الفيروسات عن طريق العصير الخلوى (ميكانيكا) إلا بصعوبة بالغة .

ومن أمثلة الفيروسات شبه المثابرة ما يلى :

فيرس اصفرار البنجر Beet Yellows Virus .

فيرس ترستيزا الحمضيات Citrus Tristeza Virus .

فيرس اصفرار البرسيم Clover Yellows Virus .

٢ – الفيروسات المثابرة (الدائمة) Persistent Viruses .

تعرف هذه المجموعة من الفيروسات أيضا باسم Circulative Viruses ؛ نظرا لأنها تصل إلى الجهاز الدورى ، كما توجد فى الجهاز الهضمى للحشرة ، وفى غددها اللعابية .

تتراوح فترة تغذية الاكتساب فى هذه المجموعة من ٣٠ دقيقة إلى عدة ساعات ، وتلزم لها فترة كمون قبل أن تصبح الحشرة – التى اكتسبت الفيرس – قادرة على نقله إلى نبات سليم .

وتتوقف كفاءة الحشرة على نقل الفيرس على أعداد الفيرس التى اكتسبتها أثناء تغذيتها على النبات المصاب ، ولكنها – أى الحشرة الحاملة للفيرس – لا يمكنها نقل الفيرس إلى النبات السليم إلا بعد ساعات قليلة من التغذية عليه ، وليس لتصويم الحشرات عن الغذاء – فى هذه المجموعة – أى تأثير فى نقلها للفيرس .

هذا .. وتحتفظ الحشرات الناقلة للفيروسات المثابرة بالفيرس فى أجسامها طوال حياتها بما فى ذلك مراحل انسلاخها . ويمكن لهذه الفيروسات – غالبا – التكاثر فى الحشرات الناقلة لها ، ولكن توجد شواذ لهذه القاعدة ؛ مثل فيرس تقزم الشعير الأصفر(Barley Yellow Dwarf Virus) .

تتميز الفيروسات المثابرة بمحدودية عوائلها ، وقد تكون متخصصة للغاية على عائل أو عوائل قليلة جدا . وتتميز كذلك بأنها لاتنتقل عن طريق العصير الخلوى (ميكانيكا) ، ولكن توجد شواذ لهذه القاعدة مثل فيرس Pea Enation Mosaic .

ومن أمثلة الفيروسات المثابرة مايلى :

فيرس اصفرار الشعير المتقزم Barley Yellow Dwarf Virus .

فيرس تبرقش الجزر Carrot Mottle Virus .

فيرس اصفرار الخس المتحلل Lettuce Necrotic Yellow Virus .

فيرس موزايك الذرة Maize Mosaic Virus .

فيرس Pea Enation Mosaic .

فيرس التفاف أوراق البطاطس Potato Leafroll Virus .

فيرس اصفرار وتقزم البطاطس Potato Yellow Dwarf Virus .

٤ – الفيروسات الثنائية الانتقال Bimodally Transmitted Viruses :

تنتقل فيروسات هذه المجموعة بعد فترتى تغذية اكتساب ؛ الأولى منهما قصيرة ، والثانية طويلة ، ولكنها لاتكتسب بسهولة بين هاتين المرحلتين ، ومن أمثلة هذه الفيروسات مايلى :

فيرس ذبول الفول الرومى Broadbean Wilt Virus .

فيرس موزايك القنبيط Cauliflower Mosaic Virus .

فيرس موزايك الدالیا Dahlia Mosaic Virus .

فيرس موزايك الفول السودانى Groundnut Mosaic Virus .

فيرس موزايك البسلة الذى ينتقل بالبذور Pea Seedborne Mosaic Virus .

فيرس تخطيط البسلة Pea Streak Virus .

فيرس A البطاطا Sweepotato Virus A .

ثالثاً : الانتقال بواسطة الذبابة البيضاء Whitefly Transmission

من أهم أعراض الإصابة بالفيروسات التى تنقلها الذبابة البيضاء : الاصفرار ، وتجعد الأوراق ، و بعض الموزايك ، وتوجد هذه الفيروسات – غالبا – فى المناطق الاستوائية وتحت الاستوائية .

تتميز هذه الفيروسات بأنها مثابرة غالبا ، إلا أن لهذه القاعدة شواذ ؛ مثل : فيرس اصفرار عروق الخيار Cucumber Vein Yellowing Virus . وتصل الفيروسات التى تنقلها الذبابة البيضاء إلى الدورة الدموية للحشرة . وتتراوح فترة تغذية الاكتساب اللازمة فى معظم هذه الفيروسات من ٢٤ – ٤٨ ساعة ، ويمر الفيرس بفترة كمون فى جسم الحشرة

تتراوح من ٤ – ٢٠ ساعة ، وبعدها تصبح الحشرة قادرة على نقل الفيرس ، وتحتفظ بتلك الخاصية لفترة تتراوح من أيام قليلة إلى ٣٥ يوما .

هذا .. ويمكن ليرقات الذبابة البيضاء اكتساب الفيرس ، ويظل الفيرس فى جسم الحشرة خلال جميع مراحل تطورها إلى أن تصبح حشرة كاملة ، حيث تكون قادرة على نقل الفيرس إلى النباتات السليمة بمجرد بدء نشاطها فى التغذية . ولكن لاتوجد أدلة على انتقال الفيرس إلى نسل الحشرات الحاملة له من خلال بيضها .

تتغذى حشرة الذبابة البيضاء على نسيج اللحاء ، وتفضل التغذية على الأنسجة الحديثة، وعلى السطح السفلى للأوراق . وتحمل بواسطة الرياح ، ولذا .. فإنها يمكن أن تساعد على نشر الفيرس لمسافات بعيدة .

وبصورة عامة .. فإن الفيروسات التى تنقلها الذبابة البيضاء لاتنتقل ميكانيا ، ولكن لهذه القاعدة شواذ ؛ مثل : فيرس موزايك الفاصوليا الذهبىBean Golden Mosaic Virus، وفيرس موزايك الطماطم الأصفر الذهبى Tomato Golden Yellow Mosaic Virus.

ومن أمثلة الفيروسات التى تنقلها الذبابة البيضاء (أنواع مختلفة من الذباب الأبيض) ما يأتى :

فيرس تغضن الفاصوليا Bean Crumpling Virus .

فيرس موزايك الفاصوليا الذهبى Bean Golden Mosaic Virus .

فيرس موزيك اليقطين Bottle Gourd Mosaic Virus .

فيرس موزيك الكاسافا Cassava Mosaic Virus .

فيرس تجعد أوراق الفلفل الحار Chili Leafcurl Virus .

فيرس تجعد أوراق القطن Cotton Leafcurl Virus .

فيرس اصفرار عروق الخيار Cucmber Vein Yellowing Virus .

فيرس موزيك فاصوليا المنج الأصفر Mungbean Yellow Mosaic Virus .

فيرس بى البطاطا Sweet Potato Virus B .

فيرس تبرقش البطاطا المعتدل Sweet Potato Mild Mottle Virus .

فيرس تقزم البطاطا Sweet Potato Stunt Virus .

فيرس شفافية عروق البطاطا Sweet PotatoVein Clearing Virus .

فيرس تجعد أوراق التبغ Tobacco Leafcurl Virus .

فيرس موزايك الطماطم الذهبى Tomato Golden Mosaic Virus .

فيرس تجعد أوراق الطماطم الأصفر Tomato Yellow Leafcurl Virus .

فيرس موزايك الطماطم الأصفر Tomat Yellow Mosaic Virus .

فيرس تقزم الطماطم الأصفر Tomato Yellow Dwavf Virus .

رابعاً : الانتقال بواسطة نطاطات الأوراق Leafhoppers ونطاطات النباتات Planthoppers!

تنتقل بعض الفيروسات النباتية بعدد كبير من نطاطات الأوراق ونطاطات النباتات ، من أهمها ما يلى :

Agallia sp .	Empoasca sp.
Austroagallia sp .	Eutettix sp.
Cicadulina sp .	Javesella sp.
Circulifer sp .	Macrosteles sp .
Dalbulus sp .	Nephotettix sp .

وتتخصص النطاطات فى نقل الفيروسات التى تتواجد فى نسيج اللحاء ، وهو النسيج الذى تحصل منه على غذائها . وتعد هذه المجموعة من الفيروسات المثابرة (الدائمة) ، وتتراوح فترة تغذية الاكتساب للنطاطات الناقلة لها من ٣٠ دقيقة إلى عدة ساعات . ولايمكن للحشرات التى اكتسبت الفيرس أن تنقله للنباتات السليمة إلا بعد مرور فترة كمون ، ثم التغذية على النبات السليم لعدة ساعات .

تصل فيروسات هذه المجموعة للجهازين الهضمى والدورى للنطاطات ، وتبقى فيها طوال حياتها . وتتكاثر هذه الفيروسات فى جسم الحشرة ، ولكن توجد استثناءات لهذه القاعدة ، كما فى فيرس تجعد قمة البنجر Beet Curly Top Virus . وتنتقل بعض هذه الفيروسات عن طريق بيض الحشرة .

وتتميز فيروسات هذه المجموعة بأنها متخصصة إلى حد كبير فيما يتعلق بنوع النطاطات

الذى ينقلها ، وأن لكل فيرس منها مدى محدودا من العوائل . وتحدث هذه الفيروسات غالبا أعراض الاصفرار ، أو أعراض الـ Wtche's broom فى النباتات التى تصيبها ، وهى لاتنتقل بواسطة العصير الخلوى باستثناء فيرس تقزم البطاطس الأصفرPotato Yellow Dwarf Virus . ومن الفيروسات التى تنقلها نطاطات الأوراق ما يلى :

فيرس تجعد أوراق البنجر Beet Curly Top Virus .

فيرس تخطيط الذرة Maize Streak Virus .

فيرس تقزم البطاطس الأصفر Potato Yellow Dwarf Virus .

فيرس تقزم الأرز Rice Dwarf Virus .

فيرس تورد فول الصويا Soybean Rosette Virus .

ومن الفيروسات التى تنقلها نطاطات النباتات مايلى :

فيرس موزايك الذرة Maize Mosaic Virus .

فيرس تقزم الذرة الخشن Maize Rough Dwarf Virus .

خامساً : الانتقال بواسطة الخنافس Beetle Transmission

من أهم أنواع الخنافس الناقلة للفيروسات ما يلى :

الخنافس البرغوثية Phyllotreta spp. .

خنافس المسترد Phaedon spp. .

خنافس الخيار Acalymma sp. ، و Diabrotica sp.

تبلغ فترة تغذية الاكتساب فى هذه المجموعة من الفيروسات نحو خمس دقائق فقط ، تحتفظ بعدها الحشرة بقدرتها على نقل الفيرس لمدة يوم واحد على الأقل ، ولكن الفترة تزيد غالبا على ذلك . يحمل الفيرس عادة فى الجهاز الورى للحشرة .

تتميز هذه المجموعة من الفيروسات بثباتها ، وبإمكان انتقالها ميكانيكيا بسهولة ، كما يمكن إحداث الإصابة بواسطة السوائل التى يحصل عليها بعد سحق الحشرات الحاملة للفيرس . ومن أمثلة هذه الفيروسات ما يلى :

فيرس تبرقش قرون الفاصوليا Bean Pod Mottle Virus .

فيرس تبرقش الفول الرومى Broad Bean Mottle Virus .

فيرس صبغ الفول الرومى Broad Bean Stain Virus .

فيرس موزايك اللوبيا Cowpea Mosaic Virus .

فيرس موزايك الباذنجان Eggplant Mosaic Virus .

فيرس موزايك البامية Okra Mosaic Virus .

فيرس موزايك الفجل Radish Mosaic Virus .

فيرس تبرقش الأرز الأصفر Rice Yellow Mottle Virus .

فيرس موازيك الفاطوليا الجنوبى Southern Bean Mosaic Virus .

فيرس موزايك الكوسة Squash Mosaic Virus .

فيرس موزايك اللفت الأصفر Turnip Yellow Mosaic .

خامساً:الانتقال بواسطة الحنفاء المُقْبِرَة Mealy-bug Transmission

إن من أهم الخنافس المغبرة التى تنقل الفيروسات ما يلى :

Planococcus sp.

Pseudococcus sp .

Dysmicoccus sp .

تُخْدَم الخنافس المغبرة غالبا بواسطة النمل ؛ فإذا ما كوفح النمل .. فإن الخنفساء تكافح تلقائيا وتتغذى هذه الخنافس بامتصاص العصارة النباتية من نسيج اللحاء مباشرة .

تعتبر الفيروسات التى تنقلها هذه الخنافس شبه مثابرة ، وقد تحمل على قليم الحشرة . وتزيد قدرة الحشرة على نقل الفيرس بزيادة فترة تغذية الاكتساب إلى ٢٤ ساعة ، ولكن الحد الأدنى لفترة تغذية العدوى (الحقن) Inoculation Feeding هو ١٥ دقيقة . هذا .. وليس لتصويم الحشرة عن الغذاء أى تأثير على كفاءتها فى اكتساب الفيرس أو نقله ، كما لاتوجد فترة كمون . ويمكن للفيروسات التى تنقلها هذه الخنافس أن تنتقل ميكانيكيا كذلك .

ومن أهم الأمثلة على الفيروسات التى تنقلها الخنافس المغبرة ما يلى :

فيرس الأناناس الكامن Pineapple Latent Virus .

فيرس تورم نموات الكاكاو Cacao Swollen Shoot Vieus ، وهو لا ينتقل إلا بواسطة إناث الحشرة .

سادساً : الانتقال بواسطة حشرة الـ Psyllid

إن أهم الـ Psyllids التى تنقل الفيروسات النباتية تنتمى إلى الأجناس التالية :

Trioza sp.

Diaphorina sp.

Psylla sp.

يحمل الفيرس فى الجهاز الدورى للحشرة ، ومن الفيروسات التى تنتقل بها مايلى :

فيرس تبرقش ورقة البسلة الأحمر Pea Red Leaf Mottle Virus .

فيرس تجعد أوراق الكمثرى Pear Leafcurl Virus .

سابعاً:الفيروسات التى ينقلها التربس Thrips Transmission

إن أهم أنواع التربس التى تنقل الفيروسات تنتمى إلى الجنسين الآتيين :

Thrips sp.

Prankliniella sp.

ينقل التربس فيرس ذبول الطماطم المتبقع Tomato Spotted Witt Virus حيث لايكتسب الفيرس إلا بواسطة اليرقة ، ولا ينتقل للنباتات السليمة إلاّ بواسطة الحشرة الكاملة ، وهو من الفيروسات المثابرة persistent غير الثابتة unstable ، وينتقل أيضاً ميكانيكياً . والفيرس مدى واسع من العوائل يشمل مالا يقل عن ١٦٦ نوعاً نباتياً موزعة على ٣٦ عائلة من نوات الفلقة الواحدة ونوات الفلقتين (عن Green ١٩٨٤) .

الانتقال بواسطة الاكاروسات Mite Transmission

إن أهم الأكاروسات التى تنقل الفيروسات النباتية تنتمى إلى الأجناس الآتية :

Aceria sp.

Brevipalpus sp.

Eryophyes sp.

يحمل الفيرس فى القناة الهضمية للأكاروس ، ويبقى معه بعد الانسلاخ ، ولكنه لا ينتقل إلى النسل من خلال البيض .

تزيد كفاءة الأكاروس فى نقل الفيرس بزيادة فترة تغذية الاكتساب . ومن أهم الفيروسات التى ينقلها الأكاروس مايلى :

فيرس تبقع البن الحلقى Cofee Ringspot Virus .

فيرس موزايك التين Fig Mosaic Virus .

فيرس موزايك الخوخ Peach Mosaic Virus .

فيرس موزايك وتخطيط القمح Wheat Str... Mosaic Virus .

الانتقال بواسطة النيماتودا Nematode Transmisson

إن أجناس النيماتودا التى تعرف بقدرتها على نقل الفيروسات إلى النباتات هى :

Trichodorus sp.

Xiphinema sp.

Longidorus sp.

تنتقل الفيروسات التى تنقلها النيماتودا كذلك ميكانيكياً ، وهى متخصصة على عوائل معينة . ويفقد الفيرس أثناء انسلاخ النيماتودا . وتحتفظ النيماتودا بالفيرس لمدة تتراوح من أسبوعين كما فى Trichodorus sp. ، و Longidorus sp. إلى ثمانية أشهر كما فى Xiphinema sp. .

تزيد كفاءة النيماتودا فى نقل الفيرس بزيادة فترة تغذية الاكتساب إلى ٤٨ ساعة . ومن أهم الفيروسات التى تنقلها النيماتودا مايلى :

١ – ينقل الجنس Trichodous sp. ما يلى :

فيرس تلون البسلة البنى المبكر Pea Early Browning Virus .

فيرس خشخشة التبغ Tobacco Rattle Virus.

٢ – ينقل الجنس Longidorus sp . ما يلى :

فيرس حلقة الطماطم السوداء Tomato Black Ring Virus .

فيرس تبقع الراسبرى الحلقى Raspberry Ringspot Virus

٣ – ينقل الجنس Xiphinema spp. مايلى :

فيرس التفاف أوراق الكرز Cherry Leaf Roll Virus .

فيرس ورقة العنب المروحية Grape Fanleaf Virus .

فيرس موزايك وتورد الخوخ Peach Rosette Mosaic Virus .

فيرس تبقع الشليك الحلقى الكامن Strawberry Latent Ringspot Virus .

فيرس تبقع الطماطم الحلقى Tomato Ringspot Virus .

فيرس تبقع التبغ الحلقى Tobacco Ringspot Virus .

الانتقال بوسائل أخرى

تنتقل بعض الفيروسات بوسائل أخرى نذكرها – هنا – باختصار ، نظرا لمحدودية فائدتها بالنسبة لعملية تقييم المقاومة للأمراض . ومن هذه الوسائل ما يلى :

١ – الانتقال بواسطة البذور :

تنتقل بعض الفيروسات بالبذور ، مثل : موزايك الفاصوليا العادى ، و موزايك الخس وبرغم أن نسبة الانتقال بالبذور تكون عادة منخفضة ، إلا أن النباتات الناتجة من زراعة بذور مصابة تكفى عادة لنشر الفيرس فى الحقل بوسائل الانتقال الأخرى .

٢ – الانتقال بأعضاء التكاثر الخضرية :

تنتقل جميع الفيروسات بطرق التكاثر الخضرى المختلفة ، مثل : الدرنات ، والفسائل ، والجذور ، و الأبصال ... إلخ .

٣ – الانتقال بواسطة حبوب اللقاح :

يقتصر الانتقال بواسطة حبوب اللقاح على عدد محدود جدا من الفيروسات .

هذا .. ويعطى جدول (٤–١) مقارنة بين بعض الفيروسات التى يتخصص فى نقلها كائنات Vectors مختلفة من حيث خصائص عملية الانتقال ذاتها .

جدول (٤ -١) : خصائص انتقال بعض الفيروسات النباتية (عن Gibbs & Harrison ١٩٧٦).

الفيرس	الناقل vector	أقل فترة تلزم لاكتساب الفيرس	فترة الكمون (الحد الأدنى)	فترة تغذية الحقن (الحد الأدنى)	الحد الأقصى لاحتفاظ الحشرة بالفيرس	تكاثر الفيرس فى الحشرة
Y البطاطس	Myzus persicae	١٠ ثوان	لاتوجد	١٥ ثانية	ساعتان	لايحدث
اصفرار البنجر	M. Persicae	٥ دقائق	لاتوجد	٥ دقائق	٣ أيام	لايحدث
اصفرار عروق التفاف Sowthistle	Hyperomyzus lactucae	ساعتان	٨ أيام	أقل من ساعة	أسابيع	لايحدث
تورم نموات الكاكاو	Planococcides Njalensis	ساعة	—	١٥ دقيقة	٤ أيام	غير محتمل
تجعد أوراق الطماطم الأصفر	Bemisia tabaci	٣٠ دقيقة	٢١ ساعة	٣٠ دقيقة	٢٠ يوماً	—
اصفرار عروق الخيار	B. tabaci	٢٠ دقيقة	لاتوجد	١٠ دقائق	٦ ساعات	لايحدث
تنجرد الأرز	Nephotettix impicticeps	٣٠ دقيقة	لاتوجد	١٥ دقيقة	٦ أيام	غير محتمل
تجعد قمة البنجر	Circulifer tenellus	دقيقة	٤ ساعات	دقيقة	أسابيع	غير محتمل
سرطان الجروح Wound Tumor	Agallia constricta	أقل من ساعة	١٢ يوماً	أقل من ساعة	أسابيع	يحدث
موزايك الكوسة	Acalymma trivittata	٥ دقائق	أقل من ١٠ ساعات	دقائق قليلة	أسابيع	—
ذبول الطماطم المتبقع	Thrips tabaci	٣٠ دقيقة	٥ أيام	٥ دقائق	أسابيع	محتمل
موزايك القمح المخطط	Aceria tulipae	١٥ دقيقة	—	١٥ دقيقة	٩ أيام	—
ورقة العنب المروحية	Xiphinema index	١٥ دقيقة	—	١٥ دقيقة	أسابيع	لايحدث
تحلل التبغ	Olpidium brassicae	دقيقتان	لاتوجد	ساعتان	—	غير محتمل
موزايك القمح	Polymyxa graminis	أيام قليلة	—	٤ ساعات	عدة أيام	محتمل

ولمزيد من التفاصيل عن وسائل انتقال الفيروسات النباتية .. يراجع ما يلى :

المرجع	وسيلة الانتقال
١٩٦٧ Yarwood & Fulton	ميكانيكا
١٩٦٧ Swenson	بالحشرات
١٩٧٦ Costa	بالنبابة البيضاء
١٩٦٧ Raski & Hewitt	بالنيماتودا
١٩٧٢ Taylor	بالنيماتودا
١٩٦٧ Slykhuis ، ١٩٧٢	بالأكاروس
١٩٦٧ Teakle، ١٩٧٢	بالفطريات
١٩٦٧ Bennett	بالحامول
١٩٦٧ Bos	بالتطعيم
١٩٧٢ Whitcomb	بالـ Auchenorrhynchous Homoptera
١٩٧٢ Shepherd	بالبذور وحبوب اللقاح
١٩٧٢ Watson	بالمن

طرق تقدير شدة الإصابة أو المقاومة فى اختبارات التقييم

يجب عند اختيار الطريقة المثلى لتقدير شدة الإصابة أو المقاومة للأمراض أن يكون الباحث ملماً بأعراض المرض من كافة جوانبه ، وبمدى تأثير الإصابة فى النمو النباتى ، ليتسنى وضع الأسس السليمة لتقدير المرض . فمثلا .. وجد Madamba وآخرون (١٩٦٥) أن إصابة العوائل غير المناسبة Uusuitablc Hosts بنيماتودا تعقد الجذور يتبعه نقص فى قوة النمو ، إلا أنه قد تحدث زيادة فى قوة النمو فى أحيان أخرى .

ويحدث النقص فى قوة النمو عند استعمال تركيز عال من اللقاح Inoculum ، بينما تحدث الزيادة فى قوة النمو عند استعمال تركيز منخفض ، أو متوسط منه ، ويتوقف ذلك على المحصول المُعْدِى . وقد تبين أن النباتات التى تزيد فيها قوة النمو يتكون فيها عدد كبير من الجذور الجانبية ، ومرد ذلك إلى أنه – فى حالة التركيز المنخفض للعدوى – تصيب يرقات النيماتودا الجذور الأولى للنبات ؛ الأمر الذى يؤدى إلى تكوين جذور جديدة كثيرة ، فتزداد قدرة النباتات على امتصاص الماء والعناصر الغذائية ، وتزيد قوة نموها تبعا لذلك .

أما عندما يكون تركيز الملح مرتفعا .. فإن جميع الجذور الأولى والتالية فى التكوين تصاب ببرقات النيماتودا ؛ وبذا .. يستنفذ النبات مخزونه من المواد الغذائية فى تكوين الجذور الجديدة ، مما يؤدى إلى نقص قوة نموه . ونقدم فيما يلى عرضا لأهم الطرق المستخدمة فى تقدير شدة الإصابة ، أو المقاومة للأمراض :

١ – حساب نسبة أو عدد النباتات المصابة :

يكون من السهل حساب نسبة أو عدد النباتات المصابة حينما يمكن تقسيم النباتات إلى مصابة وسليمة فقط ، مثلما يحدث عندما يموت النبات كله ، أو عندما تكون إصابة النباتات بنفس الدرجة .

٢ – حساب شدة الإصابة على مقياس للمرض Disease Scale :

تقدر شدة الإصابة فى هذه الحالة بحصر عدد النباتات أو الأعضاء النباتية التى تقع فى أقسام معينة لمقياس لشدة الإصابة يتم اختياره بعناية ، ثم يحصل على رقم واحد لشدة الإصابة بالمعادلة التالية :

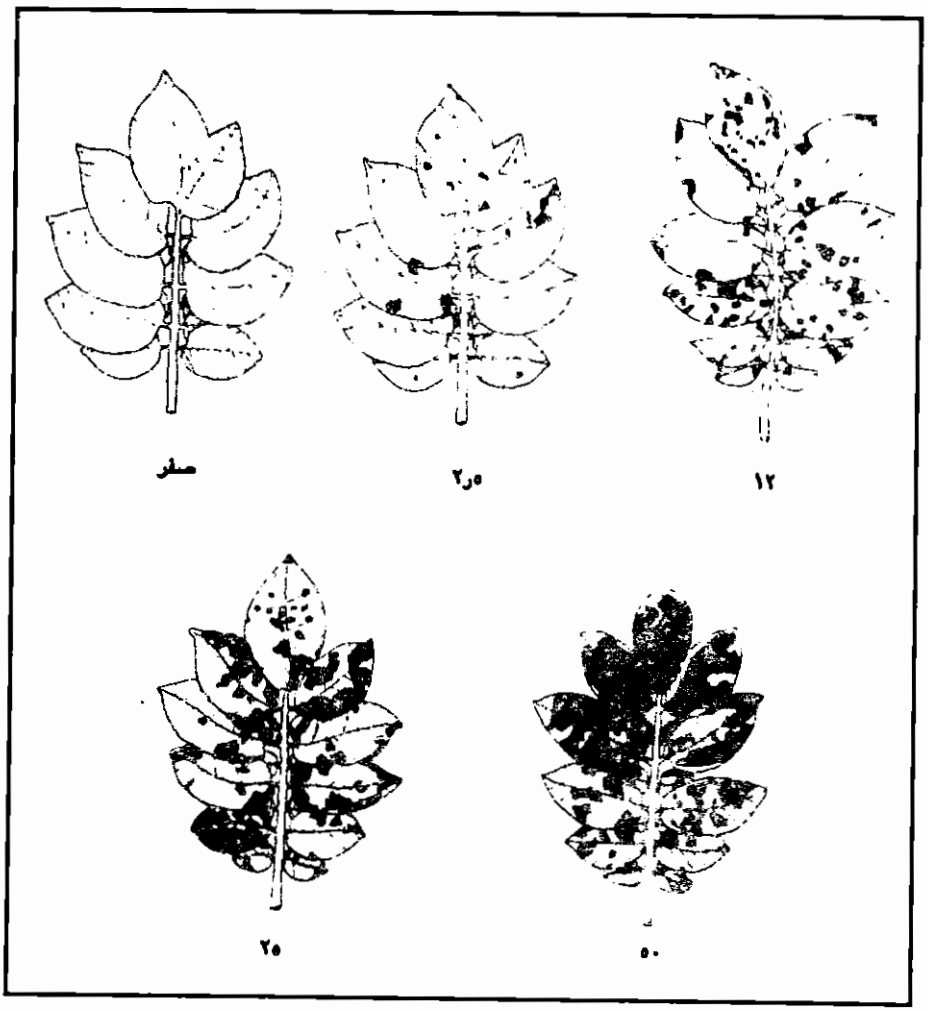
$$\text{شدة الإصابة} = \frac{\text{مجموع (عدد النباتات فى كل قسم من مقياس المرض مضروبا فى رقم القسم)}}{\text{المجموع الكلى للنباتات المختبرة}}$$

ومن أمثلة المقاييس المرضية التى تستخدم فى هذا المجال ما يلى :

أ – اعتماد المقياس على توزيعات متساوية لنسبة الأعضاء أو الأنسجة النباتية المصابة مثل صفر – ١٠ ٪ ، و ١٠ر١ – ٢٠ ٪ ... وهكذا إلى ٩٠ر١ – ١٠٠ ٪ ، أو صفر – ٢٥ ٪ ، و ٢٥ر١ – ٥٠ ٪ ، و ٥٠ر١ – ٧٥ ٪ ، و ٧٥ر١ – ١٠٠ ٪ ... إلخ من التوزيعات المتساوية ، ثم يختصر ذلك كله فى صورة أرقام عددية تمثل شدة الإصابة ، فيكون المقياسان السابقان – مثلا – من ١ إلى ١٠ ، ومن ١ إلى ٤ على التوالى .

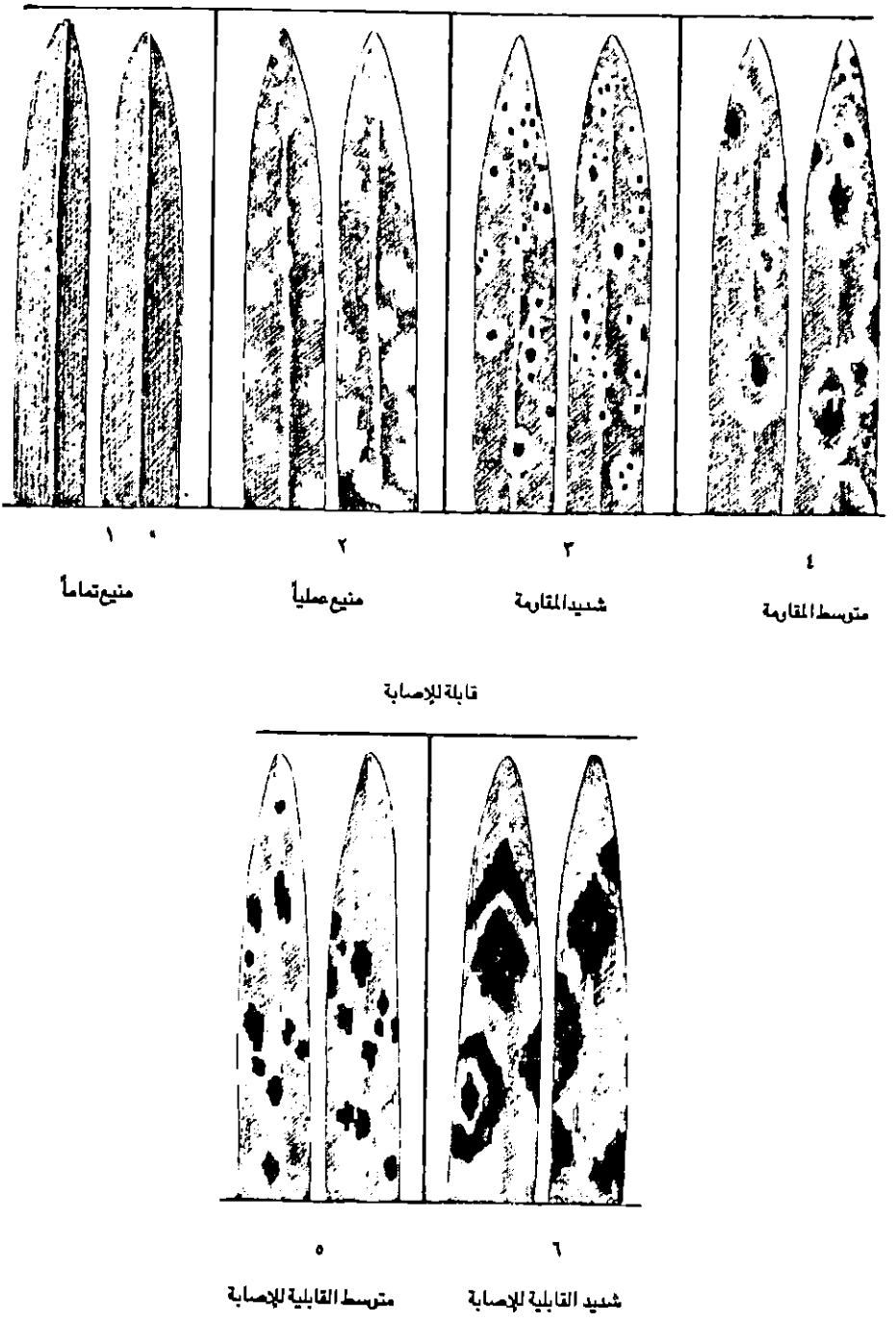
ب – أوضح Horsfall أهمية تصميم مقياس للمرض يعتمد على قدرة الإنسان على التفرقة بين الاختلافات ؛ كأن تكون شدة الإصابة – كنسبة مئوية كمايلى : صفر – ٣ ، و ٣ – ٦ ، و ٦ – ١٢ ، و ١٢– ٢٥ ، و ٢٥ – ٥٠ ، و ٥٠ – ٧٥ ، و ٧٥ – ٨٧ ، و٨٧ – ٩٤ ، و ٩٤ – ٩٧ ، و٩٧ – ١٠٠ ٪ ، ثم توزيع هذه الدرجات على مقياس من ١ إلى ١٠ . ويعتمد على نسبة الجزء المصاب حتى ٥٠٪ اصابة ، ثم على نسبة الجزء السليم بعد ذلك (شكل ٤–٧) .

جـ – استعمال مقاييس وصفية Descriptive Scales لشدة الإصابة مثل : قليلة ، ومتوسطة ، وشديدة (شكل ٤–٨) أو أية درجات أخرى (شكل (٤–٩) ، وتحذف أحيانا الكلمة التى تصف شدة الإصابة ، ويوضع مكانها رقم أو رمز . ويراعى عند استعمال المقاييس الوصفية مايلى :



شكل (٤–٧) : مقياس لشدة الإصابة بمرض اللفحة المبكرة فى البطاطس يعتمد على قدرة العين على التفرقة بين الاختلافات (عن Reifschneider وآخرين ١٩٨٤) .

شكل (٤–٨) : مقياس وصفى من ثلاث درجات لشدة الإصابة بمرض البياض الزغبى فى البروكلى (عن Laemmlen & Mayberry ١٩٨٤) .



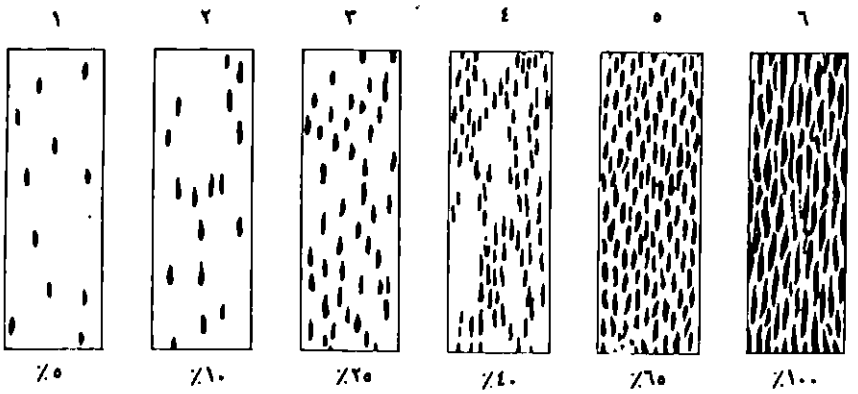
شكل (٤-٩) : مقياس وصفى من ست درجات تمثل مستويات المقاومة للفطر Puccinia graminis f . sp. tritici فى القمح

(١) أن يرافقها صورة فوتوغرافية (شكل ٤-١٠) أو أشكال تخطيطية (شكل ٤-١١)، توضح مختلف الدرجات الإصابة .

(٢) أن يمثل أكبر رقم فى المقياس أعلى درجات المقاومة ؛ لأن المربى يعمل غالبا على تحسين عدة صفات فى وقت واحد ، الأمر الذى يتطلب توحيد المقاييس المستخدمة ؛ لتكون الأرقام الأعلى دالة على الصفات الأحسن لتسهيل عملية الانتخاب .

(٣) يفضل استعمال مقياس من ١-٩ بدلا من ١-٣ ، أو ١-٥ (اللذين ربما لايتوفر بهما درجات تمثل كل حالات شدة الإصابة) ، أو ١-١٠ (الذى لا يوجد به درجة وسطية لتمثيل الدرجة المتوسطة من الإصابة) ، أو صفر -١٠ (لأن الصفر غير مفضل فى التحليلات الإحصائية) .

شكل (٤-١٠) : مقياس وصفى لمستويات المقاومة والقابلية للإصابة بفطر Fusarium solani f. phaseali فى الفاصوليا (Hassan ١٩٧٠) .



(شكل ٤-١١) : مقياس وصفى يمثل شدة الإصابة بالصدأ فى النجيليات تحت ظروف الحقل .

ويستفاد من مقاييس شدة الإصابة الوصفية فى تقييم أعداد كبيرة من النباتات خلال فترة وجيزة ، وخاصة بعد أن تستقر مختلف درجات شدة الإصابة فى ذهن القائم بعملية التقييم . ويمكن إسراع عملية تقييم الأعداد الكبيرة من النباتات تحت ظروف الحقل ؛ بتسجيل القراءات على جهاز تسجيل صغير أثناء المرور فى الحقل ، ثم تفريغها فى الورق بعد العودة إلى المختبر .

ومن أمثلة المقاييس الوصفية التى استعملت لتقدير شدة الإصابات بنيماتودا تعقد الجذور مقياس Zeck (١٩٧١) الذى يأخذ فى الحسبان عدد الثآليل وحجمها ، وتأثير الإصابة فى قوة النمو الجذرى ، ومدى التبكير فى الإصابة (شكل ٤-١٢) . ويؤثر العامل الأخير فى سرعة تحلل المجموع الجذرى وموت النبات ، وفى حجم الثآليل ؛ حيث تكون كبيرة فى الإصابات المبكرة ، وصغيرة فى الإصابات المتأخرة ، إلا أنها تبدأ فى التحلل ، ويموت جزء كبير من المجموع الجذرى ، وتصبح صغيرة فى الأصابات المبكرة جدا ، علما بأن القراءة تؤخذ فى وقت واحد ، فيشاهد فى الحقل الواحد نباتات ذات نمو خضرى قوى، بينما جذورها مليئة بالثآليل الضخمة ، ونباتات أخرى ذات نمو خضرى ضعيف جدا ، بينما جذورها شبه متحللة وضعيفة . وتلك الأخيرة تمثل أشد حالات الإصابة ، بالرغم من أن ثآليلها تكون أقل حجما من غيرها .

ويتدرج مقياس الإصابة ، من صفر (لا توجد أية ثآليل) إلى ١-٣ (يتزايد عدد الثآليل

تدريجيا) ، و٤-٥ (يزداد حجم الثآليل) ، و ٦-٧ (تصبح الثآليل كبيرة الحجم ، ولكن يستمر وجود أجزاء غير مصابة من النمو الجذرى ، و٨-١٠ (تنتشر الثآليل فى كل المجموع الجذرى ، مع استمرار صغره فى الحجم تدريجيا إلى أن يصل إلى أصغر حجم له فى درجة إصابة ١٠) .

وقد استخدمت مقاييس أخرى لتقدير شدة الإصابة بالنمياتودا ، من أبسطها مقياس من صفر إلى ٥ ، حيث صفر - لا توجد ثآليل ظاهرة ، و ١ - الثآليل قليلة جدا وصغيرة الحجم، و ٢ - الثآليل متناثرة وصغيرة إلى متوسطة الحجم ، و ٣ - توجد ثآليل صغيرة كثيرة العدد، وأخرى متوسطة الحجم قليلة العدد ، و ٤- توجد ثآليل متوسطة الحجم كثيرة العدد ، وثآليل كبيرة الحجم وكثيرة الحجم وكثيرة أيضا ، و ٥ - توجد ثآليل كبيرة بكل الجذور تقريبا .

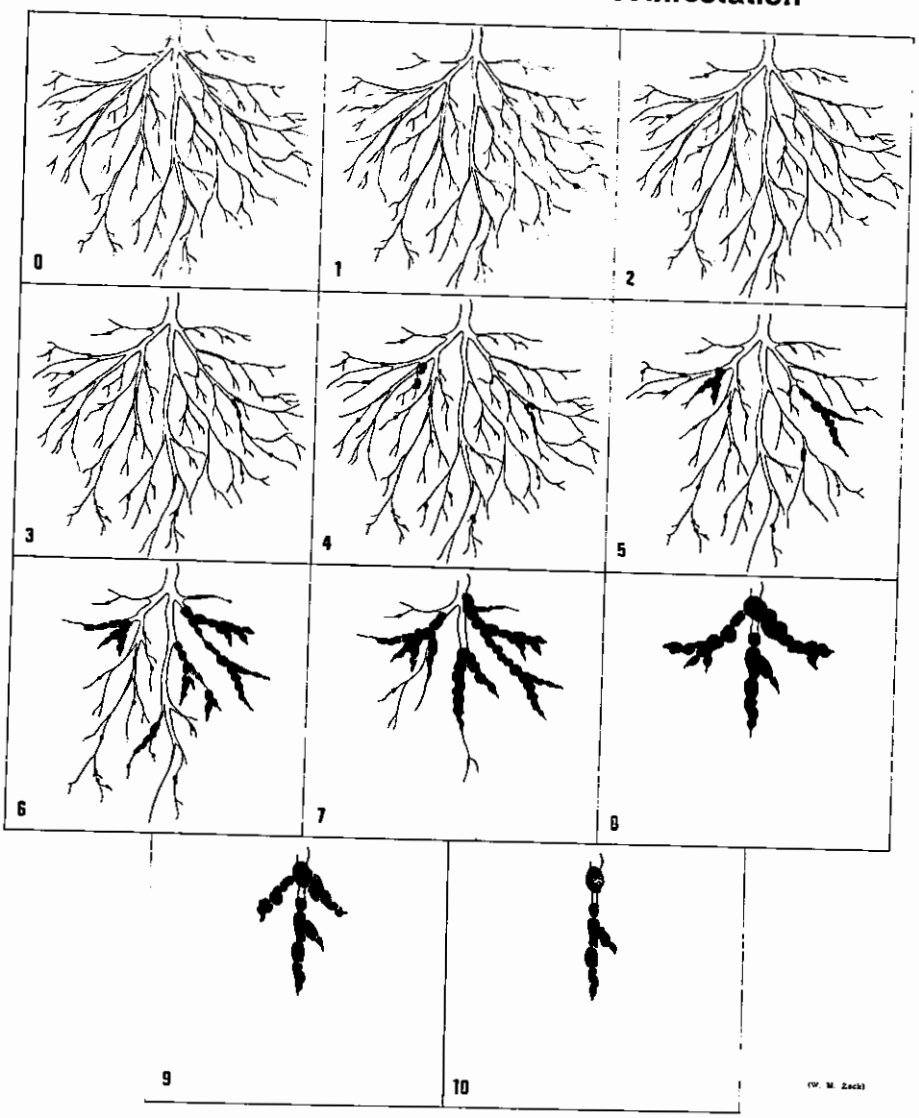
٣ - قياس مدى قدرة المسبب المرضى على النمو والتكاثر على النباتات التى يراد تقييمها للمقاومة ، مقارنة بنموه وتكاثره على صنف قياسى قابل للإصابة . فمثلا .. قسم Taylor & Sasser (١٩٧٨) الأصناف والأنواع النباتية من حيث مقاومتها أو قابليتها للإصابة بنيماتودا تعقد الجذور إلى :

أ - مقاومة بدرجة عالية : وهى التى تبلغ درجة تكاثر النيماتودا عليها أقل من ٢٪ من تكاثرها على النباتات القابلة للإصابة .

ب - مقاومة بدرجة متوسطة : وهى التى تبلغ درجة تكاثر النيماتودا عليها من ١٠-٢٠٪ من تكاثرها على النباتات القابلة للإصابة .

جـ - مقاومة بدرجة بسيطة : وهى التى تبلغ درجة تكاثر النيماتودا عليها من ٢٠-٥٠٪ من تكاثرها على النباتات القابلة للإصابة .

وقد تمكن Omwega وآخرون (١٩٨٨) من حساب عدد كتل البيض Egg Masses لنيماتودا تعقد الجذور فى جذور الفاصوليا بعد ٢٨ يوما من العدوى ، وذلك برى النباتات يوميا خلال الأسبوع الأخير بصبغة الـ Erioglaucine التى صبغت المادة الجيلاتينية المحيطة بكتل البيض ، ولذا .. فقد أمكن عدها بسهولة ، ووجد الباحثون ارتباطا قويا (r = ٠ر٨٥) بين عدد كتل البيض ، وعدد البيض ذاته ، بينما كان الارتباط ضعيفا (r = ٠ر٤٥) بين دليل الثآليل gall index وعدد البيض .



شكل (٤-١٢) : مقياس Zeck (١٩٧١) لشدة الإصابة بنيماتودا تعقد الجذور .