البَاب الثالث العاشر

صحة البـــذور Seed Health
وإختبارات صحة البذور Seed Health Tests

أهمية صحة البذور :

تستعمل البذور والحبوب فى كثير من الأحيان كتقاوى ويجب أن تكون الحبوب أو البذور المستعملة فى ذلك الصدد سليمة وغير مصابة بأى أصابة مرضية بالإضافة إلى الصفات الأخرى والتى هى خارج موضوع دراسة أمراض النبات مثل حيوية البذور وأكتمال نضجها وأمتلاؤها إلى آخره.

تعتبر استعمال بذور أو حبوب سليمة غير مصابة هى البداية للحصول على نبات سليم وبالتالى محصول وفير حيث أن البذور المصابة ينتج عنها نباتات مصابة ومحصول منخفض. ومن أمثلة ذلك أنه وجد فى حالة فيروس موزايك الخس أن زراعة عينه من البذور نسبة إصابتها ١ و٪ نتج عنها نباتات مصابة فى الحقل بلغت ٢٣ ٪ حيث أن المرض يمكن أن ينتقل من النبات المصاب إلى النبات السليم عن طريق حشرات المن. ولكن عند إستخدام عينة من البذور خالية من الأصابة حتى ثلاثون ألف بذرة ٣٠ر٠٠٠ لم تحدث إصابة. وذلك يدل على أهمية صحة البذور وخلوها من الأصابة المرضية. كما وجد فى حالة مرض سبتوريا فى الكرفس المتسبب عن *Septoria apiicola* أن وجود عشرة بذور مصابة بجراثيم الفطر فى المشتل نتج عنها ما يزيد عن مليون جرثومة قبل نقل الشتلات إلى الحقل المستديم وذلك يدل على سرعة تكاثر الفطر وتكوين الجراثيم وبذلك يمكن أن تكون البذور الملوثة بالجراثيم سبب فى حدوث أصابة مرضية شديدة فى المحصول.

obeikandl.com

يمكن أن تحدث الأصابة للبذور والحبوب أثناء وجود النبات فى الحقل وتسمى أمراض الحقل Field diseases وقد تحدث الأصابة أثناء الجمع أو النقل أو التسويق أو التخزين وتسمى أمراض ما بعد الحصاد Post harvest diseases .

تتكون البذور والحبوب وتتكشف فى جو مشبع بالرطوبة داخل الثمار ويستمر الوضع كذلك حتى وقت النضج والجفاف. ولذلك فإن أى طفيل ممرض يمكنه الوصول إلى داخل الثمار فى هذا الجو المشبع بالرطوبة يصيب البذور ويؤثر على صحتها وسلامتها وقد يسبب موتها تماما. ومثل ذلك فطر *Asocchyta pisi* المسبب لمرض لفحة أسكوكيتا فى البسلة حيث يصيب الفطر القرون ثم يصيب البذور ونفس الحالة تحدث فى حالة مرض لفحة أسكوكيتافى الفول وأيضا فى أنثراكنوز الفاصوليا. وكما تؤثر الرطوبة فى إصابة البذور فإن لدرجة الحرارة دور فى ذلك أيضا ومثال ذلك مرض فيروس الموزايك العادى فى الفاصوليا حيث أن البذور تكون خالية من الأصابة فى حالة نمو النبات فى درجة حرارة حوالى ١٧° م بينما تحدث إصابة فى البذور عند نمو النبات فى درجة حرارة ٢٠° م وقد يحدث العكس كما فى فيروس الموزايك الجنوبى فى الفاصوليا حيث ينقل بنسبة ٩٥ ٪ فى بذور نباتات الفاصوليا النامية فى درجة حرارة ١٦ ـ ٢٠° م بينما تقل النسبة حتى تصل ٥٥ ٪ فى حالة النباتات النامية فى درجة حرارة تتراوح بين ٢٨ ـ ٣٠° م.

تعتبر أمراض ما بعد الحصاد ذات أهمية كبيرة للبذور وتوجد لذلك أمثلة كثيرة وتعتبر أيضا الرطوبة المرتفعة عامل هام فى حدوث الأصابة وأيضا درجة الحرارة. ومن أمثلة ذلك إصابة قرون وبذور الفول السودانى بالفطر *Aspergillus flavus*. حيث يتم إقتلاع نباتات الفول السودانى من التربة بعد نضج المحصول وتترك النباتات ومعها ثمار الفول السودانى (ثمرة الفول السودانى قرظه) معرضة للهواء فى الحقل لكى تجف الثمار. حيث أنه أثناء إقتلاع النباتات تكون الثمار بها كمية كبيرة من الماء. وفى أثناء هذه الفترة تحدث إصابة الثمار وبالتالى البذور بواسطة الفطر المذكور. تصبح البذور المصابة ملوثة بالفطر وبالتالى يؤثر على حيويتها وبالإضافة إلى ذلك فإن الفطر المذكور يفرز سموم الأفلاتوكسين وهى شديدة الضرر على الأنسان والحيوان وقد تابع المؤلف جميع هذه الخطوات وأثبت إصابة البذور وتلوثها بالأفلاتوكسين (أنظر باب السموم) . وبالإضافة إلى ذلك فإن إقتلاع النباتات يكون فى شهر

أكتوبر وحيث تكون درجة الحرارة ملائمة للأصابة بالفطر تحدث الأصابة فى هذه الحالة أثناء تجفيف المحصول. ومن الأمثلة الهامة الأخرى ما يحدث أثناء عملية نقل وتخزين الحبوب . حيث أن كثير من الدول العربية تستورد نوع أو أكثر من الحبوب وفى أثناء الأستيراد ونقل وتخزين الحبوب يجب أن تكون جافة تماما ولا تزيد نسبة الرطوبة فيها عن ١٢ ٪ حيث أن زيادة نسبة الرطوبة عن ذلك تسبب سهولة إصابتها بالفطريات الممرضة. ويجب أن تكون مخازن سفن النقل محكمة تماما حيث أن عدم إحكام غلق المخازن يسبب تسرب مياه الأمطار إلى الحبوب وتزداد رطوبتها وتصاب بالفطريات ونتيجة لذلك يزداد تنفس البذور وترتفع درجة الحرارة وتصبح الظروف مثلى لكى تنتشر الفطريات وتفسد الحبوب. وقد وجد المؤلف أثناء فحصه لبعض البواخر الحاملة لحبوب الذرة فى ميناء الأسكندرية والمستوردة من الولايات المتحدة إلى مصر أن أصابة حبوب الذرة الشامية كانت نسبتها منخفضة جدا بينما بعض البواخر إصابتها عالية جدا وذلك بأنواع من الفطر *Aspergillus* وأنواع من الفطر *Peni-cillium* والفطر *Fusarium* وأيضا فطر *Cladosporium* ومن أمثلة أنواع فطر *Aspergillus* المنتشرة هى، *A. niger*، *A. flavus*، *A. candidus*، وقد قام المؤلف بعمل الفحص والتفتيش فقد أتضح أن أبواب المخازن والتى تفتح أفقيا لم تكن محكمة الغلق وتسربت منها الأمطار أثناء رحلة البواخر من أمريكا إلى مصر. ومن هنا يتضح أن رطوبة الحبوب عامل فعال وجوهرى فى صحة الحبوب. وفى حالة المخازن فإن هناك أسباب عديدة ينتج عنها الأصابة فى أثناء التخزين. فإن وجود الحشرات التى تهاجم الحبوب مثل فراشات الحبوب المخزونة وسوس المخازن وسوسة القمح يكون سبب فى زيادة إنتشار الأصابة بالفطريات. ومن الأسباب الأخرى هى تغير درجة الحرارة حيث يحدث تغيير فى الرطوبة النسبية فى بعض أجزاء المخزن دون أجزاء أخرى ويسبب ذلك فساد للحبوب والبذور فى شهور قليلة. حيث تختلف درجة الحرارة فى جوانب المخزن وينتج عن ذلك زيادة الرطوبة وتكثف قطرات الماء على الحبوب فى الجانب البارد من المخزن وتزداد رطوبة الحبوب وتصاب بأنواع الفطريات المذكورة سابقا. ترتفع درجة الحرارة أساسا بعد ترطيب الحبوب نتيجة لزيادة سرعة عملية التنفس للحبوب ويعتبر ذلك عامل أيضا فى زيادة الأصابة. وعامة يفضل تخزين الحبوب على درجة حرارة تتراوح بين ٤ ـ ٨° م.

وعامة يجب عدم التأخير فى حصاد محصول البذرة وخاصة فى وجود الأمطار حيث قد يسبب ذلك إصابة البذور ببعض الفطريات. وبعد تمام حصاد المحصول يجب وضع البذور على رفوف فى طبقات رقيقة للتهوية والتجفيف ويمنع منعا باتا تجفيفها فى الحقل وخاصة فى وجود الأمطار أو الندى. ينبغى فى بعض الحالات غربلة البذور للتخلص من الحبوب المكسورة أو الضامرة حيث أن الحبوب الضامرة قد تكون مصابة وتصبح مصدر للعدوى. يلزم تنظيف البذور واستبعاد الأجسام الحجرية وثأليل النيماتودا وبذور الهالوك والحامول.

البذور وأمراض النبات:

يمكن أن تكون البذور عامل هام فى نقل مسببات أمراض النبات فقد يصاب جنين البذرة كما فى مرض الذبول فى القطن والطماطم وأيضا مرض التفحم السائب فى القمح والشعير. قد تصاب أغلفة البذور ويوجد بها ميسليوم ساكن أو أجسام ثمرية كما فى مرض إنثراكنوز الفاصوليا والبقعة البنية فى الأرز وفيروس مرض الموزايك (البترقش) العادى فى الفاصوليا قد توجد أجسام حجرية صغيرة microsclerotia للفطر *Verticillium dahliae* فى غلاف بذور عباد الشمس. يمكن أن تصاب الثمار فى العائلة المركبة ويكون النقل عن طريق أغلفة (جدر) الثمار كما فى مرض ذبول العصفر والفطر *Verticillium* فى أكينات عباد الشمس وقد توجد الهيفا فى أندوسبرم البذرة كما فى بذور الفلفل المصابة بالفطر *Rhizoctonia solani*. وفى حالة الفيروسات قد تكون إصابة البذور عن طريق النبات الأم خلال الحبل السرى كما فى مرض الموزايك العادى فى الفاصوليا bean common mosaic virus (BCMV) أو عن طريق إنتقال الفيرس من حبوب اللقاح إلى مبيض الزهرة والبويضات أثناء عمليتى التلقيح والأخصاب كما فى مرض الموزايك المخطط فى الشعير barley stripe mosaic virus (BSMV). يمكن أن يصيب الفيروس الأخير الخلايا فإنه يصيب الخلايا الأمية لحبوب اللقاح ويكون إنتقال جزيئات الفيرس من خلية إلى أخرى خلال الشرائط السيتوبلازمية (أنابيب سيتوبلازمية دقيقة) وبذلك تصبح حبوب اللقاح الناتجة حاملة للفيرس. وجدت جزيئات هذا الفيرس فى الأنوية الذكرية لحبوب اللقاح فى كل من النواه والسيتوبلازم لكل نواه ذكرية. فى أثناء عمليتى التلقيح والأخصاب ينتقل الفيرس إلى خلية البيضة وبالتالى إلى الزيجوت والجنين. يوجد هذا الفيرس علاوه على ذلك فى الأنسجة المرستيمية أثناء تكوين متاع

الزهرة ولذلك فقد وجد الفيرس فى نسيج البويضة والخلية الأمية للكيس الجنينى والكيس الجنينى وخلية البيضة. ولذلك فإن الفيروسات التى تنتقل عن طريق جنين البذور تكون عادة لها القدرة على إصابة المرستيم الأولى للعائل مبكرا أثناء تكشفه وقبل أن يتكون الجنين. حيث أن إذا تكون الجنين فإنه من الصعب أو من المستحيل إصابته بجزئيات الفيرس. حيث أنه توجد شرائط سيتوبلازمية (أنابيب سيتوبلازمية دقيقة cytoplasmic microtbules) بين النيوسيلة والكيس الجنينى فإنها تسمح بإنتقال الفيرس من النيوسيلة إلى الكيس الجنينى ولكن لا توجد شرائط سيتوبلازمية مباشرة بين النيوسيلة وخلية البيضة. يمكن أن تكون إصابة خلية البيضة بالفيرس عن طريق الفيرس الموجود بالكيس الجنينى وذلك قبل تكوين الجنين حيث أن خلايا الجنين لها جدر يصعب على الفيرس إختراقها. يستغرق تكشف خلية البيضة عادة فترة لا تتعدى يوما واحدا ولذلك فأن أى تأخير فى تحرك الفيرس إلى الأنسجة المرستيمة يحدد إصابة الجنين من عدمه. وتنطبق هذه القاعدة أيضا على الفيروسات التى تنتقل عن طريق الحبل السرى كما فى حالة فيروس الموزايك العادى فى الفاصوليا فكلما حدثت إصابة النبات الأم بالفيرس مبكرا كلما زادت فرصة النقل بالبذور.

قد يكون إنتقال الفيروسات عن طريق البذور قليل الحدوث ويرجع ذلك إلى الأسباب الآتية:

١ ـ وجود مركبات تسبب تثبيط الفيرس فى الأنسجة الجنينية.

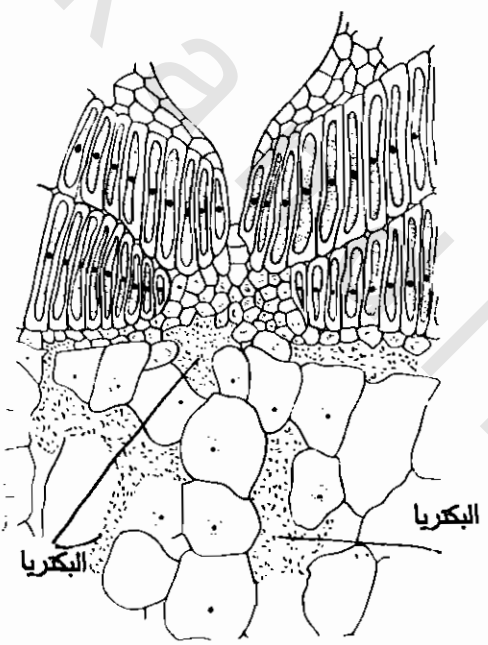
٢ ـ عدم وجود شرائط سيتوبلازمية (أنابيب سيتوبلازمية دقيقة) بين الجنين وأنسجة مبيض الزهرة ومنها نسيج النيوسيلة.

٣ ـ تأثير مضاد للفيرس على حدوث الأنقسام الأختزالى.

٤ ـ نقص الفوسفور فى الأنسجة سريعة الأنقسام مما يثبط أو يمنع تكاثر الفيرس.

تعتبر قدرة الأجنة المصابة على التكشف وتكوين الجنين الكامل القادر على تكملة دورة الحياة إحدى الصفات المميزة لنقل الفيروسات بالبذرة فكلما كان الجنين المصاب قادر على ذلك كلما كان للبذرة دور فعال فى إنتشار ونقل المرض. ومن المعروف أن بعض المسببات المرضية يموت أو يضعف نشاطه قبل أن تفقد البذور حيويتها ومثال ذلك فيروس موزايك

الفاصوليا الجنوبى bean southern mosaic virus حيث يفقد نشاطه فى البذور بعد مدة قصيرة نسبيا والعكس صحيح فى حالة فيروس الموزايك العادى فى الفاصوليا حيث يظل الفيرس محتفظ بحيويته داخل البذور لمدة تصل إلى ثلاثين عام. بعض الفيروسات الأخرى قد تصل إلى خمس سنوات كما فى فيروس البقعة الحلقية tobacco ring spot فى التبغ. تنطبق نفس القاعدة على الفطريات والبكتريا الموجودة داخل البذور فالبعض منها يفقد حيويته فى فترة وجيزه نسبيا والبعض الآخر يحتفظ بحيويته لمده طويلة ومن أمثلة الفطريات التى تفقد نشاطها قبل أن تفقد البذور حيويتها فطر *Cercospra beticola* فى البنجر وفطر *Septoria apiicola* مسبب مرض اللفحة المتأخرة فى الكرفس وفطر *Botrytis cinerea* فى بذور الكتان.



(شكل ٧٥) : إصابة أنسجة البذرة بالبكتريا المسببة لمرض اللفحة العادية فى الفاصوليا عن طريق أنسجة الحبل السرى.

قد يصاب الجنين بالبكتريا أو الفطر عن طريق النبات الأم ويكون ذلك عن طريق الحبل السرى وذلك كما فى البكتريا *Xanthomonas phaseoli* المسببة لمرض اللفحة (شكل ٧٥) العادية فى الفاصوليا وفى فطر *Fusarium* المسبب لذبول القطن والطماطم وقد تكون إصابة مباشرة للمبيض ثم تحدث إصابة للجنين كما فى مرض التفحم السائب فى القمح والشعير. يمكن للفطر والبكتريا أن تهاجم الجنين مباشرة وتفسده بينما لا يحدث ذلك فى الفيرس كما سبق ذكره.

يكون النقل عن طريق غلاف البذرة (القصرة) حيث أن القصرة تحتوى على أوعية ممتدة على هيئة أشرطة تتخلل نسيج القصرة وبذلك يسهل للطفيليات تخللها ومن أمثلة هذه البذور القرعيات والطماطم والفلفل والقطن والفاصوليا. ويمكن أن يلعب نسيج الرافى دور فى تسهيل تخلل الطفيليات للبذور وهذا النسيج هو عبارة عن منطقة إلتحام الحبل السرى بالبويضة المنعكسة. توجد أجزاء من الحبل السرى تحتوى على أنسجة وعائية تبقى عالقة بسره البذرة أو بنقطة إنفصالها وهذه أيضا تسهل إصابة غلاف البذرة. توجد فتحات طبيعية فى البذور يمكن أن تدخل الطفيليات خلالها. تكون فتحة النقير مغلقة أثناء نمو أنسجة البذرة ولذلك قليلا ما يحدث إصابة عن طريقها. توجد فتحات طبيعية كبيرة نسبيا فى أغلفة بعض البذور مثل الفلفل والباذنجان والطماطم. يمكن أن يحدث للبذور ضرر ميكانيكى يسبب تشقق فى قصرة البذور وبذلك يسهل للطفيليات إختراق القصرة عن طريق الشقوق.

قد يحدث نقل الطفيل عن طريق غلاف الثمرة لأن أغلفة الثمار تحتوى على أوعية كثيرة فى غلاف الثمرة بالمقارنة بالأوعية الموجودة فى قصرة البذرة.

يمكن أن يكون لعمر البذرةدور فى نقل الطفيل ففى بعض الحالات مثل حالة فيروس التخطيط فى البسلة نجد أن الفيرس قد ينقل فى غلاف البذرة فى البذور غير الناضجة ولكن يحدث تثبيط للفيرس عند نضج البذرة.

أهمية بعض الكائنات الحية فى نقل أمراض البذور

توجد علاقة بين بعض الكائنات الحية وبين بعض الكائنات الحية الدقيقة وتكون هذه العلاقة لتشجيع أو تثبيط حدوث الأصابة للبذور وفيما يلى بعض الأمثلة لذلك :-

١ - العلاقة بين الحشرات والفطريات والفيروسات:

تنتقل الحشرات بعض مسببات أمراض البذور ففى حالة الفطريات توجد أمثلة كثيرة منها أن ثاقبات الذرة يمكن أن تقوم بنقل جراثيم فطر *Fusarium moniliforme* والذى يسبب مرض العفن الوردى فى حبوب الذرة الشامية. تعتبر حشرة حفار ساق الذرة الأوروبى من ثاقبات الذرة ولها دور هام فى إنتشار مرض العنق الوردى فى الذرة الشامية حيث أن الدودة يمكن أن تدخل إلى الكوز وتحدث ثقوب بالحبوب والكوز وبذلك فهى تنقل جراثيم الفطر وأيضا تساعد على حدوث جروح وهذه الجروح تساعد على زيادة نسبة الأصابة فى الحبوب. حيث أن نسبة الأصابة بالفطر تزداد فى وجود الجروح. وجد المؤلف أن هذا المرض منتشر فى جميع حقول الذرة الشامية وأن نسبة الأصابة به فى الحقول تتراوح بين ١ - ١٥ ٪ وأن نسبة الأصابة تقل بدرجة كبيرة فى عدم وجود ثاقبات الذرة.

تنقل الحشرات كثير من الأمراض الفيروسية وقد ينتقل الفيرس من النبات إلى البذور وتصبح البذور مصابة كما فى تبرقش الخس والذى ينتقل عن طريق المن وخاصة النوع *Myzus persicae* من الخوخ.

٢ - العلاقة بين البكتريا والفطريات والفيرس:

تسبب الأصابة بالبكتريا *Xanthomonas malvacearum* المسببة لمرض التبقع الزاوى فى القطن زيادة الأصابة بالفطر *Colletotrichum gossypii* المسبب لمرض إنثراكنوز القطن. وكلا من هذين المرضين يصيبان لوز القطن ويسببان له عفن كما أنه يمكن أن تصل الأصابة إلى البذور وبالتالى تزداد إصابة البذور فى وجود إصابة مشتركه بالطفيلين.

تزداد الأصابة بالبكتريا *Xanthomonas phaseoli* المسببة لمرض لفحة الفاصوليا فى وجود

فيروس الموزايك العادى.

٣ ـ العلاقة بين الفطريات:

يضاد الفطر *Gliocladium deliquescens* كل من الفطرين *Helminthosporium oryzae* المسبب لمرض البقعة البنية فى الأرز و *Piricularia oryzae* المسبب لمرض اللفحة فى الأرز وبذلك يقلل من إصابة حبوب الأرز بهذين المرضين. حيث أنه أمكن أثبات حالة التضاد على على حبوب الأرز.

الحجر الزراعى وإستعمال تقاوى خالية من الأمراض

فى حالة إستعمال تقاوى مستوردة فإن قوانين الحجر الزراعى تمنع دخول الحبوب والبذور المصابة ومثال لذلك فإن قوانين الحجر الزراعى فى مصر تمنع دخول حبوب القمح المصابة بمرض الأرجوت إلى مصر حيث أن هذا المرض غير موجود فى مصر ويتسبب عن الفطر *Claviceps purpurea*. يمكن أن يكون المرض موجود ولكن قوانين الحجر الزراعى تمنع دخول المرض خوفا من دخول سلالات جديدة للمرض كما فى مرض لفحة الأرز يتسبب عن الفطر *Piricularia oryzae* حيث أن المرض موجود فى مصر ولكن يمنع دخوله. يكون الفحص على البواخر بواسطة مهندسون زراعيون ذوى خبره كبيرة فى أعمال التفتيش على الصادرات والواردات وفى حالة رفض الشحنه تعدم أو يعاد إرسالها للمصدر. يلزم المصدر بإرسال شهادة صحية زراعية phytosanitary ومنها نوعين شهاده بكين أو شهاده روما Peking certificate or Roma certificate . ومن الأمثلة الهامة لأهمية الحجر الزراعى للبذور أن مرض التفحم المغطى فى القمح إنتقل من استراليا إلى كاليفورنيا عن طريق الحبوب فى منتصف القرن التاسع عشر.

الطرق المختلفة المستعملة فى فحص العينات النباتية :

توجد طرق مختلفة تستعمل فى فحص العينات النباتية للتعرف على السبب المرضى وأهمها ما يأتى :

١ـ اختبار البذور الجافة أو الأجزاء الخضرية الجافة أو العينات النباتية الجافة:

يمكن الكشف عن بعض الكائنات المسببة للأمراض بهذه الطريقة ويمكن أن يكون ذلك بالعين المجردة أو باستعمال عدسة مكبرة أو باستعمال مجهر مجسم للمرئيات ذو قوة تكبير محدوده تصل الى ٥٠ـ٦٠ مرة فى وجود ضوء كاف. ومن أمثلة الكائنات المسببه للأمراض التى يمكن اكتشافها بهذه الطريقة الأجسام الحجرية sclerotia لفطر *Claviceps purpurea* المسبب لمرض الأرجوت والبكنديات pycnidia مثل بكنيديا فطر *Septoria* المسبب لمرض تلطخ الأوراق والقنابع فى القمح والأجزاء النباتيه المتفحمة نتيجة لاصابتها بالفطريات العديدة المسببة لأمراض التفحم ومثال ذلك مرض التفحم المغطى فى القمح المتسبب عن الفطر *Tilletia* والتفحم العادى فى الذرة الشامية المتسبب عن الفطر *Ustilago maydis* والمرضين الأوليين غير موجودين فى مصر وممنوع دخولهما والمرض الأخير موجود فى مصر ولكن ممنوع دخوله أيضاً. يمكن أيضاً الكشف بهذه الطريقة على ثأليل ديدان النيماتود المختلطة مع حبوب القمح والتى تنتج عن النيماتود *Anguina tritici* المسببه لمرض التثأل فى القمح. وفيما يتعلق بالجراثيم الموجودة فى تجمعات خاصة مثل فطر *Fusarium* الذى يكون تجمعات من الجراثيم ذات صفات خاصة تسمى sporodochium وبسبب هذا الفطر مرض الجرب الفيوزاريومى scab فى القمح ويسبب الفطر *F. bulbigenum* مرض عفن القاعدة فى النرجس basal rot وهذين المرضين أيضاً من الأمراض الممنوع دخولها إلى مصر فانه يمكن تسهيل أخذ الملاحظات بوضع الأجزاء المصابة فى الماء أو اللاكتو فينول على شريحة زجاجية ثم فحص هذه الشريحة بالميكروسكوب العادى للتأكد من وجود هذا النوع من جراثيم الفطر. أحياناً تكون البذور المصابه ملونه نتيجة للاصابة كما فى مرض الصبغة البنفسجية فى بذور فول الصويا المتسبب عن *Cercospora kikuchii* وبذلك يسهل الحكم على وجود الاصابة كما يسهل حساب النسبه المئوية للإصابة وأيضا مرض العفن الوردى فى حبوب الذره الشاميةحيث تتلون الحبوب المصابة باللون الوردى.

يمكن استعمال الأشعة فوق البنفسجية لفحص البذور المصابة بالفطر أو البكتريا حيث تظهر ألوان معينة، ففى حالة بذرة البسله المصابه بالأسكوكيتا *Ascochyta* تظهر بلون أخضر مصفر

وفى حالة بذور الفاصوليا المصابه بفطر *Stemphylium botryosum* تظهر بلون برتقالى داكن وفى حالة اصابتها بالبكتريا *Xanthomonas phaseoli* تظهر بلون أزرق لامع.

٢- اختبار المزيج المعلق الناتج من غسيل البذور أو الأجزاء المصابة بواسطة الماء :

يتم الحصول على المزيج المعلق بهذه العينة النباتية الموجودة فى الماء فترة محددة من الوقت ويفضل أن يكون ذلك فى جهاز هزاز أتوماتيكى shaker لتسهيل طريقة اجراء العملية وتوحيدها. وقد يختبر المزيج المعلق مباشرة أو بعد تعريضه للطرد المركزى ثم تخفيفه بكمية محدودة من الماء أو السائل. وهذه العملية مناسبة لاكتشاف كثير من الأمراض مثل مرض التفحم المغطى فى القمح المتسبب عن *T. foetida* ، *Tilletia caries* ووجود الجراثيم قصيرة العمر مثل الجراثيم الكونيدية conidia للفطر *Piricularia oryzae* المسبب لمرض اللفحة فى الأرز وهذا المرض من الأمراض الممنوع دخولها الى مصر. وتستعمل هذه الطريقة فى البذور الخشنه مثل بذور الأسبرجس لتقدير تركيز الجراثيم الكونيديه والكلاميديه فى أنواع عديده من الفطر *Fusarium* . يمكن عمل عد للجراثيم بواسطة الشريحة المقسمه haemocytometer ثم يحسب عدد الجراثيم فى المليلتر من المعلق وبالتالى يمكن حساب عدد الجراثيم فى الجرام الواحد من الحبوب أو البذور المختبره.

يتم فحص البذور المصابه بالنيماتودا بهذه الطريقة. حيث يمكن أن تصاب بعض البذور بالنيماتودا كما فى حالة بذور البصل والثوم والتى تصاب بـ *Ditylenchus dipsaci* . ويوجد طرق عديدة لذلك ومنها طريقة الفحص المباشر وطريقة قمع برمان.

(أ) طريقة الفحص المباشر Direct examination :

تجرى هذه الطريقة بأن توضع العينة فى طبق بترى (قطر ١٠سم) مع قليل من الماء، ويجرى الفحص المجهرى بواسطة مجهر التشريح Stereomicroscope ، ثم تلقط النيماتودا بابرة دقيقة وتنقل الى زجاجة ساعة بها قليل من الماء المقطر اذا كانت هناك رغبة فى الحصول

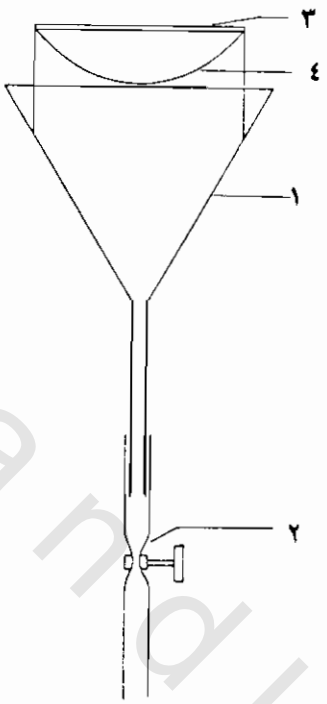
على النماذج الحيه، أو قليل من محلول القتل والتثبيت فى حالة استخدامها لعمل تحضيرات مجهرية.

(ب) طريقة قمع برمان Baermann funnel :

ويتركب هذا الجهاز من قمع زجاجى قطره ١٠سم تقريباً ومثبت على حامل من الحديد أو الخشب ويركب بساق القمع الزجاجى أنبوبة من المطاط يتراوح طولها بين ٦-٨ سم ويثبت فى نهاية الأنبوبة مشبك معدنى، يوضع فوق القمع شبكة من معدن لا يصدأ أو مصفاة سلك ذات ثقوب واسعة، وقطرها نحو ٨سم، يوضع فوق هذه المصفاة قطعة من قماش الموسلين (الشاش) أو المناديل الورق الخفيفة، يقفل المشبك المثبت فى نهاية الأنبوبة ثم يملأ القمع الزجاجى بماء مقطر درجة حرارته نحو ٤٠°م بحيث يعلو فوق مستوى ساق القمع بقليل. تنقع عينة البذور فى كأس زجاجى سعة ٢٥٠سم٣ فى قليل من الماء ثم تنقل الى القمع فوق قطعة القماش ثم تزود بالماء إلى أن يصل مستواه الى حوالى ١سم فوق المصفاة. يترك الجهاز فى مكان دافئ لمدة ٢٤ ساعة تستقبل بعدها محتويات ساق القمع الزجاجى فى زجاجة ساعة نظيفة وتفحص تحت المجهر (شكل ٧٦) .

والنظرية التى بنيت عليها هذه الطريقة هى تهيئة الظروف البيئية المناسبة لنشاط وحركة النيماتودا وتجميعها فى الجزء السفلى من الأنبوبة نتيجة لوزنها النوعى الذى يزيد قليلاً عن الوزن النوعى للماء. كما أن هذه الطريقة تفيد فى فصل النيماتودا الحية من النيماتودا الميتة.

هناك بعض التدعيلات التى أدخلت على هذه الطريقة حتى تصبح أكثر سهولة وذلك باستخدام مصفاة واسعة الثقوب توضع داخل طبق أوسع قليلاً من قطر المصفاة وبحيث لاتلامس قاعه ويوضع ورق الترشيح داخل المصفاة ثم تصب العينة فوقها. ويلاحظ أن لايزيد مستوى الماء فى الطبق عن الحد الذى يجعله يسيل منه. بعد ترك الجهاز المدة المطلوبة ترفع المصفاة ويؤخذ الطبق بما يحتويه من ماء معلق به النيماتودا ويفحص.



(شكل ٧٦) : قمع برمان لجمع ديدان الديماتود :

(١) قمع زجاجى (٢) أنبوبه مطاط ذات مشبك.

(٣) حلقة معدنية ذات حامل ترتكز على الجدار الداخلى للقمع.

(٤) مدخل من السلك المعدنى يلامس جزؤه السفلى سطح الماء فى القمع.

obeikandl.com

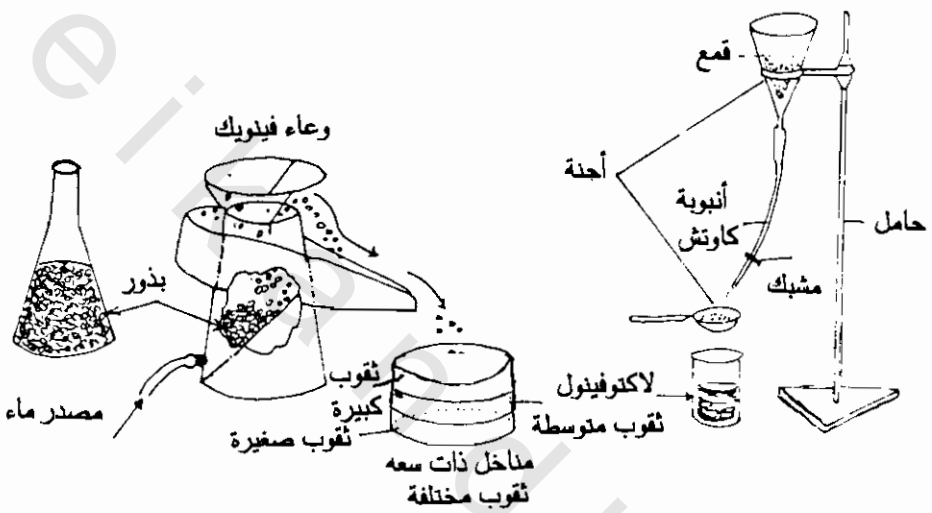
٣- طريقة إستخلاص الجنين :

تصلح هذه الطريقة لفحص الحبوب المصابة بمرض التفحم السائب فى كل من القمح والشعير. وتتلخص هذه الطريقة فى معاملة الحبوب بمادة كاوية مثل أيدروكسيد الصوديوم وذلك لتسهيل فصل الجنين عن أجزاء الحبة الأخرى ثم تفصل الأجنة ثم تجرى عمليتى الترويق والصبغ للأجنة ثم يتم فحصها بواسطة المجهر وفيما يلى ملخص لكيفية إجراء هذه الطريقة.

تنقع ١٢٠ جرام من حبوب القمح أو الشعير المراد إختبارها أو فحصها فى لتر من محلول أيدروكسيد الصوديوم تركيزه ٥٪ مضاف إليه ٠,١٥ جرام أزرق الأنيلين أو التريبان trypan blue ويحفظ عند درجة حرارة حوالى ٢٣° م وتستمر عملية النقع لمدة عشرون ساعة ثم تضاف نفس الكمية من محلول كلوريد الصوديوم بتركيز ٥٪ ويحرك المزيج جيدا ثم ينقل إلى منخلين ذات فتحات مختلفة أحدهما قطر ثقوبه ٢,٥ مم وذلك لجمع أغلفة الحبة والأندوسبرم والعصافات والآخر قطر ثقوبه ١ مم لجمع الأجنة. يوضع المنخلين تحت صنبور ماء فاتر متدفق باستمرار. يمكن إجراء عملية فصل الأجنة باستعمال وعاء فينويك Fenwick can حيث أنه بعد نقع البذور لمدة عشرون ساعة كما سبق ذكره توضع فى وعاء فينويك متصل به أنبوبة ماء جار وحيث يحرك هذا الماء الحبوب المتنوعة ويسمح للأجنة المفصولة الطفو لأعلى على الوعاء وتمر إلى الشفه مع تيار الماء إلى غرابيل مختلفة الفتحات كما سبق ذكره. تغسل الغرابيل بدقة حتى تتحرك الأجنة للمنخل السفلي. ثم يتم غسيل المنخل السفلى بكحول الأيثيل ٩٥٪ لمدة دقيقتين (شكل ٧٧).

فى كلا الطريقتين المذكورتين سابقا تأخذ الأجنة والتى قد تختلط بها عصافات أو أجزاء من الحبة أو أغلفة الحبوب وتوضع فى قمع متصل بأنبوبة مطاط. تغلق الأنبوبة المطاط قرب نهايتها بلمقط ضاغط (كلبس) تغطى الأجنة بالقمع بمخلوط من اللاكتوفينول والماء بنسبة ١:٣ وحيث أن الوزن النوعى للأجنة أقل من المخلوط فإن الأجنة تطفو على سطح المخلوط فى القمح بينما تسقط العصافات لأسفل ويمكن فصلها عن الأجنة بفتح الكلبس قليلا حيث تسقط العصافات. تنقل الأجنة إلى قمع آخر وتكرر هذه العملية لفصل الأجنة حوالى ستة

مرات إلى أن نحصل على أجنة نظيفة. تنقل الأجنة إلى كأس ويضاف إليها لاكتوفينول أزرق نقى وتغلى لمدة دقيقتين. يتم تحميل الأجنة المصبوغة فى لاكتوفينول وتفحص بالمجهر المجسم بتكبير حوالى ٢٠ مرة حيث تظهر هيفات الفطر مصبوغة باللون الأزرق فى فلقة الجنين المصاب. وبهذه الطريقة يمكن التأكد من مدى سلامة شحنات القمح كما يمكن حساب نسبة الأصابة فى الشحنات المختلفة.



(شكل ٧٧) : طريقة إستخلاص الأجنة لفحص الأصابة بالتفحم السائب.

٤ ـ اختبار التحضين Incubation test

كثير من الكائنات المسببة للأمراض يمكن اكتشافها عندما تتوافر الظروف الملائمة لنموها لفترة من الوقت وأهم وسائل اجراء هذه الطريقة هى اختبار الورق النشاف واختبار الآجار Agar. والاختبار على البادرات.

(أ) اختبار الورق النشاف :

يلائم هذا الاختبار البذور بدرجة كبيرة. تزرع البذور على ورق يتشرب الماء مثل ورق الترشيح أو النشاف حيث يظل الورق محتفظ برطوبته لمدة طويلة. يوضع الورق النشاف فى أطباق بترى أو أطباق مصنوعة من perspex وهو عبارة عن نوع من البلاستيك الشفاف أو أى أوعية أخرى مناسبة وتزرع البذور على مسافات واحدة تتناسب مع حجمها ثم تحضن الاطباق المزروعة لفترة محددة من الوقت غالبا تكون أسبوع على درجة حرارة ٢٠ ± ٢ درجة مئوية أو ٢٨ ± ٢ درجة مئوية وذلك تبعا لنوع البذور. ولتنشيط تجرثم الفطريات فقد اتبعت طريقة اضاءة قياسية قريبة من الأشعة فوق البنفسجية تسمى بالضوء الأسود Dark light والمتبع فى النظام القياسى العالمى هو وضع انبوبتين من المصابيح معلقتين افقيا بينهما مسافة ٢٠ سم وعلى ارتفاع ٤٠ سم فوق أطباق بترى المستعملة وإذا لم تكن مصابيح الضوء الأسود متاحة فان أنابيب الفلورسنت التى تبعث الضوء الابيض عديم الحرارة قد أثبتت صلاحيتها تماما ويستعمل فى الحالة الأولى.

Philips Black Light Lamps : TL 40 w/ 08

ويستعمل فى الحالة الثانية Philips TLF 40 w/34 De Luxe

ويمكن التحكم فى فترات الاضاءة باستعمال مجول اتوماتيكى موقوت. ويعتبر فترة التعريض للضوء لمدة ١٢ ساعة كل يوم هى الفترة القياسية المتبعة دوليا غير أنه يمكن تعديل فترة الاضاءة تبعا للحاجة. وفى حالة استعمال مصابيح قريبة من الاشعة فوق البنفسجية فانه يجب استعمال أطباق بترى من الأطباق المصنوعة من البلاستيك أو من pyrex حيث أنهم فقط يسمحوا بمرور الضوء القريب من الاشعة فوق البنفسجية. تفحص البذور أو الاجزاء النباتية المصابة بمجهر مجسم stereoscopic microscope ذو قوة تكبير محدوده تبلغ ٥٠ إلى ٦٠ مرة وبذلك يمكن تسجيل اعداد البذور المصابة بالعدوى وقد يمكن تحديد نوع الفطر. وبالنسبة لبعض أنواع البذور الملوثة بشدة بالفطريات والبكتيريا الرمية فقد يكون من الضرورى معاملة البذور قبل وضعها فى الأطباق بواسطة محلول السليمانى بتركيز ١ر٪ وذلك بغمرها فى المحلول حوالى دقيقة ثم غسيلها بماء معقم عدة مرات. ويمكن استعمال مركبات أخرى

مطهره مثل كلوروكس وهيبوكلوريد الصوديوم وهى مركبات يدخل فى تركيبها الكلور. وتستعمل هذه الطريقة لأنواع كثيرة من الحبوب والبذور مثل محاصيل الحقل والخضر ونباتات الزينة وأشجار الغابات والزينة. وهى مفيدة بطريقة خاصة للفطريات التى تنتج جراثيم كونيدية ويشمل ذلك الفطريات المسببة للأمراض التابعة للأجناس الآتية، *Alternaria, Botrytis, Fusarium , Colletotrichum, Drechslera, Ascochyta, Phoma.* مثل فطر *Helminthosporium turcicum* المسبب لمرض لفحة الأوراق فى الذرة الشامية والممنوع دخوله إلى مصر.

لا يكون فطر *Rhizoctonia solani* جراثيم أو أجسام ثمرية على البذور ولكن يمكن تمييزه عن طريق الهيفا البنية اللون مع العلم أن الهيفات لها درجات من اللون البنى وأيضا عن طريق طبيعة نمو هيفاته ويوجد هذا الفطر فى كثير من البذور مثل الفاصوليا وفول الصويا والذره والجوت.

يمكن استخدام طريقة التجميد حيث يسمح للبذور للإنبات على ورقة الترشيح فى درجة حرارة مناسبة تبعا لنوع البذور والحبوب وعادة تكون حوالى ٢٠°م وبعد تشجيع وبداية الأنبات وذلك يحتاج عدة أيام تبعا لنوع البذور أو الحبوب تنقل الأطباق إلى درجة حرارة منخفضة -٢٠°م freezer لمدة ١٢ ساعة وتعرض بعد ذلك للضوء الأسود لمدة ١٢ ساعة متبادلة مع الظلام لمدة ١٢ ساعة حتى تظهر المستعمرات الفطرية والبكتيرية. تقتل درجة الحرارة المنخفضة -٢٠° م البذور ولكنها لا تقتل البكتيريا (Seely and Von Demark, 1981) أو الفطر وبذلك تساعد على كفاءة ظهور الكائنات الحية الدقيقة مما يسهل فحصها والتعرف عليها. ومن المعروف أن الحبوب والبذور تنقل كثير من الأمراض الفطرية والبكتيرية ومثال ذلك أن حبوب الذرة الشامية تنقل ٧ أمراض بكتيرية. تستخدم هذه الطريقة بكفاءة عالية فى فحص بذور البصل الحاملة لفطر *Alternaria porri* وحبوب القمح الحاملة لفطر *Septoria* sp.

(ب) اختبار الآجار Agar test

توضع البذور أو أجزاء من العينات المصابة فى أطباق بترى بها بيئة آجار. توجد بيئات كثيرة ومن هذه البيئات بيئة بطاطس دكستروز آجار وبيئة تشابك Czapek وهما يستعملان بكثرة لعزل الفطريات وبيئة الآجار المغذى nutrient agar المستعملة بكثره فى عزل البكتيريا وبيئات خاصة لعزل *spiroplasma* . وإذا كانت الأجزاء النباتية المصابة ملوثة بدرجة كبيرة

فيفضل غسلها أو غمرها فى محلول سليمانى ١ر٪ أو كلوروكس لمدة دقيقة إلى ثلاثة دقائق تبعا لنوع الجزء النباتى المصاب ثم تغسل بماء معقم عدة مرات ثم توضع على بيئة الآجار فى ظروف معقمة. توضع الأطباق فى حضان درجة حرارته ٢٢م أو ٢٨م تبعا لنوع النسيج ونوع الفطر المحتمل عزله وعادة تكون فترة التحضين ٣ ـ ٧ أيام وقد تستعمل اضاءة قياسية قريبة من ضوء الاشعة فوق البنفسجية. تسجل الفطريات أو البكتيريا النامية وذلك بعد تعريف الفطريات بسرعة مسترشدا بصفات نموها فقط. قد يتطلب الأمر مراجعة بالاختبار المجهرى مما يستهلك وقتا اضافيا. وهذه من أحسن الطرق وأفضلها للتعرف على الفطريات والبكتيريا المسببة لأمراض النبات. ويمكن بهذه الطريقة التعرف على الغالبية العظمى للفطريات المسببة لأمراض النبات وأيضا البكتيريا. ومثال لذلك بكتيريات *Corynebacterium sepedonicum* المسببة لمرض العفن الحلقى فى البطاطس وبكتيريا *Xanthomonas citri* المسببة لمرض تقرح الموالح وكلا المرضين غير موجودين بمصر وممنوع دخولهما.

تعرض فى بعض الحالات المزارع الفطرية لمصابيح ضوء أسود أى ضوء قريب من الأشعة فوق البنفسجية near ultraviolet (nuv) يتراوح مدى طول الموجة فى هذه الأشعة بين ٣١٠ ـ ٤١٠ نانومتر. يستعمل هذا النوع من الضوء لأنه الجزء الوحيد من الطيف الضوئى الذى يؤثر على تجرثم الفطريات. يمكن استعمال مصابيح النيون أى الفلورسنت العادية إذا لم تتوفر مصابيح الضوء الأسود وحيث أن هذه المصابيح ينتج عنها كمية مناسبة من الأشعة قريبة من البنفسجية تستعمل أطباق بترى بيركس pyrex أو بلاستيك شفاف حيث أنها منفذة تماما لهذا النوع من الأشعة. يستعمل فى المعهد الدولى للفطريات بإنجلترا أطباق بترى مصنوعة من polystyreue وهى تنفذ ٧٠٪ من هذا النوع من الضوء وتعتبر هذه الكمية كافية لحدوث التجرثم. ينفذ الزجاج العادى هذه الأشعة بدرجة بسيطة ولذلك لاينصح إستعماله فى هذه الحالة أو حتى وضعه بين المصابيح وأطباق بترى.

يمكن تصنيف الفطريات إلى ثلاثة مجاميع تبعا لإحتياجها للضوء ففى المجموعة الأولى توجد فطريات تحتاج إلى الضوء لكى تكون الجراثيم ومثال ذلك ما وجده المؤلف أن الفطر *Choanephora cucurbitarum* يحتاج إلى الضوء لكى تتكون الجراثيم كما وجد المؤلف أنه لابد من حدوث تعاقب للضوء والظلام لكى يكون الفطر *Sclerotinia sclerotiorum* الأجسام الثمرية

والجراثيم الأسكية كما وجد المؤلف أيضا أن تعريض الفطر *Alternaria porri* للأشعة قريبة من فوق البنفسجية (nuv) تشجع الفطر على إنتاج الجراثيم. ولذلك تعرض المزارع الفطرية للضوء أو للأشعة قريبة من فوق البنفسجية وذلك بوضع مصابيح خاصة كما سبق ذكره فى إختبار الورق النشاف. وفى المجموعة الثانية فطريات يقل أو يمنع الضوء تجرثمها ومثال ذلك الفطر *Alternaria tomato* وفى المجموعة الثالثة فطريات لا تؤثر الأضاءة على تجرثمها مثل كثير من أنواع الفطر *Fusarium, Aspergillus, Penicillium* .

لإختبار حبوب القمح المصابة بفطر *Septoria* تستخدم بيئة PDA آجار البطاطس والدكستروز مضاف إليها مركب oxgall بتركيز ٢ جرام لكل لتر من البيئة. كما تستخدم هذه البيئة فى الحبوب أو البذور المصابة بفطر *Fusarium*. يمكن أن تستخدم بيئة peptone PCNB agar فى عزل فطريات معينة مثل *Cephalosporium, Fusarium* . تستخدم مادة oxgall أو PCNB فى البيئات السابقة وذلك كمركبات محددة لنمو الفطريات حيث أنه فى كثير من الأحيان يكون نمو الفطريات سريع ويصعب ملاحظة الفطريات بطيئة النمو مثل *Septoria* و *Cephalosporium* .

(جـ) اختبار البادرات seedlings test

فى هذه الطريقة يتم اختبار الاعراض على البادرات وتشمل هذه الطريقة تهيئة ظروف طبيعية أكثر ملائمة لنمو البادرات والكائنات المسببة لأمراضها. حيث تزرع البذور فى بيئة من التربة أو vermiculite أو البيت موس أو الرمل أو أى بيئة مشابهة مناسبة ويفضل أن تكون التربة معقمة وتوضع هذه المهاد المختلفة فى أصص أو أكياس من النايلون المثقوب. حيث تزرع البذور فى هذه التربة وتروى بإعتدال وتوضع فى درجة حرارة مناسبة حيث يتسنى للبادرات المصابة بمرض أن تظهر عليها الاعراض بالصورة التى تحدث فى ظروف الحقل الطبيعية. تستخدم هذه الطريقة فى التعرف على كثير من الأمراض مثل مرض عفن الثلج فى الشيلم المتسبب عن الفطر *Fusarium nivale* وذلك باستعمال درجات حرارة منخفضة حوالى ١٠ ـ ١٢م اثناء الاختبار.

وباستعمال الطريقة نفسها فى درجة حرارة مرتفعة نسبيا قدرها حوالى ٢٠م يمكن تهيئة الظروف لظهور أعراض أنواع من فطر *Septoria* وفطر *Helminthosporium* والفطر *Alternar-ia brassicae* والذى يصيب بعض النباتات مثل الكرنب والقنبيط.

٥ ـ اختبار النمو للنبات البالغ :

تزرع البذور أو الأجزاء الخضرية فى أصص بها تربة معقمة وتلاحظ النباتات الناتجة اثناء نموها لاكتشاف الكائنات المسببة للأمراض التى تهاجم أجزاء النبات البالغ وبصفة خاصة أمراض البياض الزغبى والبياض الدقيقى والذبول وخاصة ذبول الفيوزاريوم والفرتسيليم *Verticillium*. ولذلك فمن الضرورى توفير صوبة نباتية زجاجية أو غرف نمو يمكن التحكم فى ظروفها البيئية وخاصة درجة الحرارة. يمكن أيضا فى هذه الطريقة اكتشاف بعض الأمراض الفيروسية والفيرويدية. يستخدم فى فحص النخيل ومنها نخيل الزينة والذى يصاب بالفطر *Armillaria mellea*. ومثل آخر شتلات الكمثرى المستورده والكشف عن مرض اللفحة النارية.

٦ـ الاختبارات السيربولوجية serological tests:

يوجد علم خاص يسمي serology وهو عباره عن العلم الذى يدرس serum سيرم الدم ـ ومن الأسس الهامة لدراسة هذا العلم الأنتجن antigen والأجسام المضاده antibodies . يعرف الأنتجن بأنه أي مركب أو ماده أو جزء يحقن فى أنسجة حيوان من الثدييات ينشط تكوين أجسام مضاده فى دم هذا الحيوان.

يعرف الجسم المضاد بأنه عباره عن بروتين الجلوبيولين globulin والذى ينتج نتيجة لحقن الأنتجن فى جسم الحيوان والذى يمكن أن يتفاعل مع الأنتجن بطرق عديده.

لكى تحدث التفاعلات العديدة بين الأنتجين والأجسام المضاده فلابد أن يرتبطا ببعضهما أولا ويكون ذلك فى مواقع أرتباط combining sites محدده على كل من الأنتجين والجسم المضاد. عاده تكون مواقع الأرتباط على الجسم المضاد إثنين وتكون عديده على الأنتجين وكلما كبر حجم الأنتجين كلما زاد عدد مواقع الأرتباط. بعد حدوث الأرتباط تحدث أحد الحالات الآتية ويتوقف ذلك علي طبيعه كل من الأنتجين والجسم المضاد وهى الترسيب precipitation والتجمع agglutination والتحلل lysis ومعادله تأثير السم toxin neutralization وتسهيل مهاجمه وقتل الخلايا الغريبة opsonization. وفي حالة الترسيب يحدث تكون راسب يمكن رؤيته بالعين المجرده وذلك عند خلط الأنتجين بالسيرم المضاد antiserum المحتوى على الأجسام المضاده. يمكن قياس الراسب كمياً بجهاز مثل Libby photronreflectometer . وفى

حالة التجمع يحدث تجمع للأنتجن فى مجاميع وفى حالة التحلل يحدث قتل أو تحلل لخلايا البكتريا وفى حالة معادلة السموم تتفاعل الأجسام المضادة مع السم الموجود فى الجسم وبحيث تمنع تأثيره السام وذلك قد يكون بالتأثير على المجاميع السامه فى جزئ السم وتصبح غير سامه أو غير مؤثره وذلك بتحوير أو بتغيير تركيب هذه المجاميع السامه أو الأرتباط بها. وفى حالة opsonization أنه عند ارتباط أجسام مضادة أو جسم مضاد بسطح خلية بكتيريه فإن هذه الخلية البكتيريه تصبح قابلة لأن تهاجم وتقتل بواسطة خلايا phagocytes وفى عدم وجود الأجسام المضاده تصبح هذه الخليه البكتيريه مقاومه فلا يمكن لخلايا phagocytes أن تهاجمها أو تهاجمها بصعوبة أى أن الأجسام المضادة تسهل عملية الهجوم. توجد أنواع عديدة من خلايا phagocytes فى جسم الحيوان والانسان تستطيع أن تهاجم وتقتل وتحلل البكتيريا الغريبه عن الجسم ومثال ذلك بعض خلايا الكبد وبعض الخلايا الطلائيه وبعض خلايا العقد الليمفاويه lymph nodes .

الأنتجين عادة يكون بروتين وقد يكون مركب عديد التسكر أو دهون معقده أو مركبات أخرى مرتبطه بالبروتين. ويتميز الأنتجين بميزه أخرى هامه وهو لابد أن يكون غريب عن جسم الحيوان والانسان كما يتميز أيضاً بأن يكون وزنه الجزيئى كبير نسبياً فمثلاً كحول الميثيل أو الأيثيل غريب عن الجسم ولكن لأن وزنه الجزيئى منخفض لايعتبر أنتجن. وقد ثبت أن كثيراً من الأنتيجينات تتكون من أكثر من جزء وأن الجزء المسئول عن تخصص الأنتجين يمكن أن ينفصل عن الجزء الخاص بالقدره على تنبيه تكوين الأجسام المضاده وعلى ذلك فإن الأنتيجينات التى تمتلك الجزء الخاص المسئول عن تخصص الأنتيجين وكذلك الجزء الخاص بالقدره على تنبيه إنتاج الأجسام المضاده يسمى أنتيجين كامل complete antigen وهى غالباً مركبات تحتوى على تركيب كيماوى معقد ذو وزن جزيئى مرتفع غالباً يكون أكثر من ١٠٠٠٠دالتون وبعضها حوالى ٦ ملايين دالتون. ومثل هذه المركبات يمكن أن تنشق وأن الجزء المسئول عن التخصص فى تفاعل الأجسام المضاده المتخصصه المتكونه عند حقن الأنتيجين الكامل فى داخل جسم الحيوان لا يستطيع تنبيه إنتاج الأجسام المضاده مثل هذا الجزء يسمى أنتيجين جزئى partial antigen أو هابتن hapten وهو غالباً ذو وزن جزيئى أقل من الأنتجين الكامل الذى اشتق منه. قد تحتوى الخلايا البكتيريه على مكون أنتيجين فى

الجدار الخلوى وآخر فى جسم الخلية وثالث فى الأسواط ورابع فى الغلاف. تعتبر الأنتيجينات فى سطح خلايا بكتيريا *Salmonella* أنتيجينات جسميه somatic يطلق عليها O antigens فى حين أنتيجنيات الأسواط هى H antigens .

أهم ما يميز الأجسام المضادة أنها متخصصه فى تفاعلها مع الأنتيجينات أى أن لها صفة التخصص specificity الشديدة. ومعنى ذلك أن الأجسام المضادة الخاصة بفيروس الجدرى لا تتفاعل مع الآنتيجينات البكتيريه ولاحتى مع الأنتيجينات الفيروسيه الأخرى حيث لا تتفاعل مع فيروس الأنفلونزا أو فيروس الكلب أو فيروس موزايك الدخان ولكنها تتفاعل فقط مع فيروس الجدرى. يمكن أيضاً للأجسام المضادة أن تتفاعل مع السلالات القريبة من الأنتجين الخاص به فإذا وجدت سلالات مشابهه لسلالات فيروس الجدرى فإنها تتفاعل معها ولكن بدرجة أقل. ولذلك يمكن أن تستخدم درجة التفاعل بين الأجسام المضاده والأنتجين فى تقدير درجة القرابه بين سلالات الأنتيجين المختلفة ويمكن تقدير درجة القرابه فى حالة تفاعل الترسيب بكمية الراسب المتكون أو سرعة تكوينه فكلما زادت سرعة تكوين الراسب أو زادت كميته كلما كان ذلك دليل على شدة القرابه بين سلالة الأنتجين المختبره والسلاله الأصليه والعكس صحيح فكلما قلت سرعة تكوين الراسب أو قلت كميته كان ذلك دليل على عدم تقارب السلالات وعدم تكوين راسب دليل على عدم وجود قرابة.

يسمى سيرم الدم blood serum المحتوى على أجسام مضاده باسم السيرم المضاد antiserum والأجسام المضاده تتكون أساساً من بروتين جاماجلوبيولين gamma globulin وقد توجد نسبة من بيتاجلوبيولين beta globulin ووزنهاالجزيئى يكون حوالى ١٦٠,٠٠٠ دالتون. يمكن الحصول على السيرم المضاد وذلك بحقن الأنتجين فى أحد حيوانات التجارب مثل الفيران البيضاء فيران التجارب أو خنازير غينيا أو الأرانب . يتم الحقن فى حالة الفيران البيضاء وخنازير غينيا فى جزء معين فى بطن الحيوان أما فى حالة الأرانب يتم الحقن فى عروق الأذن حيث أن الأذن كبيرة وعروقها واضحة مما يسهل حقنها لعدة مرات كما يسهل أخذ الدم منها. وبعد عدة أسابيع يتم سحب الدم من الحيوان المحقون ثم يترك الدم لفترة فى أنابيب اختبار أو ما يشابهها فيحدث ترسيب لكرات الدم الحمراء ويبقى على السطح سائل شفاف هو عبارة عن سيرم serum الدم والذى يحتوى على أجسام مضادة ويسمى السيرم

المضاد antiserum . فى بعض الحالات قد يحتاج الأمر إلى تعريض الدم المسحوب من الحيوان إلى قوة طرد مركزية لفصل السيرم عن كرات الدم الحمراء وحيث تستقر الأخيره فى قاع الأنبوبه ويوجد السيرم فى الجزء العلوى من الأنبوبه وبذلك يسهل سحبه من الأنبوبه بواسطة ماصه أو ماصه دقيقه دون أن يختلط بكرات الدم الحمراء ويلاحظ أن استعمال قوة طرد مركزية يزيد من سرعة وكفاءة فصل السيرم عن كرات الدم الحمراء إلا أن لهذه الطريقة ضرر كبير حيث أن قوة الطرد المركزية قد تسبب تكسير لكرات الدم الحمراء وتختلط مكوناتها بسيرم الدم وتكون النتيجة عكسية. ولذلك يفضل عدم استعمال قوة طارده مركزية إلا فى الحالات التى تستدعى ذلك. يسمى السيرم المضاد أيضا المصل المضاد.

هذه الاختبارات المستعملة على نطاق واسع فى علم أمراض الانسان والحيوان قد طبقت لتعريف الكائنات المسببه للأمراض النباتيه وخاصة الفيروس والبكتيريا. ويجرى لذلك اختبارات عديدة منها ما يأتى للتعرف على نوع الفيرس المصاب به العينه النباتيه :

أ ـ المخلوط البسيط simple mixture test :

يجرى هذا الاختبار فى أنابيب صغيرة حيث يوضع ٢/١ـ١ سم٣ من التحضير الفيروسى ثم يضاف اليها نفس الحجم من المصل المضاد ويخلطان جيداً وتترك الأنابيب فى حمام مائى على درجة ٣٧ـ٥٠م حسب الفيروس المختبر. تكون راسب دليل على أن التفاعل ايجابى.

ب ـ اختبار الترسيب الحلقى Ring precipitatiou test :

يجرى هذا الاختبار فى أنابيب صغيرة ذات قطر ٢ـ٣ ملليمتر ويوضع بها المصل المضاد ثم يضاف للمصل المضاد نفس الحجم من التحضير الفيروسى بتخفيفات مختلفة وذلك بحذر شديد حتى لا يختلط التحضير الفيروسى بالمصل المضاد. لو كان للأنتجين وزن نوعى أكبر من الوزن النوعى للمصل المضاد فيجب عمل العكس اذ يوضع أولاً الأنتجين ثم يضاف اليه المصل المضاد. بالقرب من سطح تلامس المحلولين فان الأجسام المضاده تنتشر خلال التحضير الفيروسى وكذلك فان الجزئيات الفيروسيه تنتشر أيضاً خلال طبقة المصل المضاد فى مكان ما داخل حدود تلك المنطقة الضيقة. فان نسب مكونات الخليط مبكراً أو مؤخراً

سوف تكون ملائمة لتكوين راسب فى تلك الحالة على السطح الفاصل بين التحضير الفيروسى والمصل المضاد أو بالقرب منه تظهر حلقة أو قرص من الراسب. يجرى هذا التفاعل فى العادة تحت ظروف درجة حرارة الغرفة.

يمكن تقدير كمية الراسب المكون للحلقة كميا بإستخدام جهاز Libby photronreflectometer.

جـ ـ اختبار الترسيب الدقيقى Microprecipitation :

يستخدم فى هذا الاختبار أطباق بترى جافة يغطى قاعها بمادة غير محبة للماء وهى غالباً تكون مركب أو ماده formvar وذلك عن طريق وضع كمية منها فى قاع الطبق ثم تفرغ تاركة طبقة رقيقة تترك لتجف عدة ساعات فتكون غشاء فى قاع الطبق. توضع أطباق بترى على ورقة مربعات ٨ × ٨ سم ثم توضع نقطة من المصل المضاد فى كل مربع من المربعات ويضاف اليها نقط مماثلة من التحضير الفيروسى. طبقة الفورمفار تعمل على منع انتشار النقطة الموجودة بمربع الى مربع آخر. بعد وضع نقط من التحضير الفيروسى على نقط المصل وخلطهم يصب زيت البرافين فى الطبق بحيث يغطى جميع النقط. يلاحظ تكوين الراسب الممكن مشاهدته بواسطة عدسه يدويه أو تحت القوة الصغرى للمجهر الضوئى.

د ـ تفاعل الترسيب فى الآجار – اختبار أوكترلونى Immunodiffusion = ouchterlony test:

توجد عدة طرق للانتشار أو الترسيب فى الآجار نذكر منها الانتشار الثنائى بطريقة أوكترلونى agar double diffusion test . يصب الآجار فى أطباق بترى بسمك ٢ـ٣سم وبعد أن يتجمد. يتم فيه عمل ثقوب بواسطة ثاقبات خاصة مثل ثاقب الفلين cork borer ـ ويستعمل مقاس٢ size 2 عادة ـ يحدد عددها حسب الاختبارات المطلوبة.

يوضع فى الثقوب الوسطية المصل المضاد للفيرس أما فى الثقوب المحيطه فيوضع التحضير الفيروسى، ينتشر الفيروس والأجسام المضاده خلال طبقة الآجار فى اتجاهين متضادين، فى منطقة التقابل والتى تكون فيها نسبة كل منهما إلى الآخر ملائمة يتكون شريط من الراسب. اذا كانت أحد التحضيرات المستخدمة لاتحتوى على الفيروس أو تحتوى على

فيروس مختلف عن الفيروس الذى حضر له المصل المضاد فان شريط الراسب فى المنطقة الفاصلة والمقابلة لذلك الثقب الذى لايحتوى على الفيروس أو تحتوى على الفيروس المختلف لن يظهر. اذا احتوت التحضيرات على أنتجين واحد فان أشرطة الترسيب تتحد مكونة كونتور متصل. واذا كانت أنتجينات مختلفة فإن خطوط الترسيب تكون متقاطعة واذا كانت أنتيجينات متقاربة جزئياً فإن أحد خطى الترسيب يكون متقاطع.

يستعمل هذه الاختبار فى بذور الفاصوليا المصابه بالبكتريا *Pseudomonas phaseolicola* وأيضاً فى بذور الطماطم المصابه بفيروس موزايك التبغ وحبوب الشعير المصابه بفيروس الموزايك المختلط.

هـ - اختبار ELISA :

يستخدم فى هذه الطريقة microtiter plates أطباق بلاستيك بها عديد من الانخفاضات (تجاويف) wells.

يتم تغطية coating سطح التجاويف بالجسم المضاد وهو عبارة عن gamma globulin متخصص لفيرس معين ثم يغسل السطح بالماء حيث أن الغسيل بالماء يسبب ازالة الزائد !!غير مدمص من الأجسام المضاده. يوجد لكل فيرس خاص جسم مضاد خاص. يضاف الفيرس المراد اختباره على المسطح ثم الغسيل بالماء وفى حالة وجود علاقة بين الفيرس والجسم المضاد سيلتصق الفيرس بالسطح واذا لم توجد علاقة سيتم غسيل الفيرس من على السطح تماماً بالماء ثم يضاف أنزيمات مرتبطه بالجسم المضاد enzyme-linked antibody الى السطح وهذه سترتبط بالفيرس على السطح ثم تزال الكمية الزائدة وذلك بالغسيل بالماء. اضافة مواد أو مادة التفاعل للأنزيم substrate على السطح. يقوم الأنزيم بتحليل مادة التفاعل وينتج عن ذلك لون أصفر. تعتبر درجة التركيز وشدة اللون الأصفر دليل على تركيز الفيرس فى العينة sample المختبرة. تستخدم هذه الطريقة فى التعرف على كثير أو جميع الأمراض الفيروسيه والفيرويديه. يمكن أيضاً أن تستخدم فى أمراض الميكوبلازما السبيروبلازما.

obeikandi.com

و- اختبار اللاتكس Latex test :

تستخلص عصارة الجزء النباتى مثل الأوراق. يمكن عمل ذلك بواسطة مستخلص عصارة أتوماتيكى automatic sap extractor. يوضع العصير فى انبوبة اختبار وبواسطة حقنه يأخذ العصير من الأنبوبة. يستعمل طبق بترى بلاستيك تخطط قاعدته إلى مربعات. وينقط فى طبق بترى نقطة فى كل مربع ثم تغسل الحقنه ليتم استعمالها لعينة أخرى من عصير مصاب وهكذا لابد من غسيل الحقنه بين كل عينه مصابة. يجرى تخفيف العينه بمحلول منظم Tris-buffer حيث أن العينه المركزه يكون تفاعلها غير واضح. تستخدم حقنة أخرى لوضع نقطة من محلول اللاتكس على كل نقطة عصير. يتكون اللاتكس من كرات polystrene قطرها ٨١٠ نانومتر. وفى بداية التحضير يتم خلط اللاتكس بالأجسام المضاده لفيرس معين.

ولذلك فان اللاتكس المضاف يوجد على سطح حبيباته الاجسام المضاده. يتم تغطيه الطبق بغطاءه ويوضع على هزاز لمدة ساعة ذو ١٣٠ لفه فى الدقيقة وهذه الخطوة هامة لاظهار التفاعل الموجب. اذا ان استعمال هزاز دائرى ضرورى لاظهار التفاعل الموجب. فى حالة التفاعل الايجابى يوجد تجمعات لجزئيات اللاتكس يمكن رؤيتها بالعين المجردة وفى حالة التفاعل السالب يكون المخلوط متجانس لبنى اللون والقوام. يمكن استعمال هذا الاختبار بنجاح للفيروسات والفيرويدات. إستعملت فى الكشف عن موزايك فول الصويا والموزايك المخطط فى الشعير.

فى حالة الاختبارات السيريولوجية وعند وجود الامكانيات لتحضير أمصال مضاده للعديد من الفيروسات المختلفة فانه يمكن بالطرق السيريولوجية التعرف بسهولة وسرعة على الفيرس فى فترة وجيزة لاتتعدى الدقيقة وذلك فى حالة توفر الأمصال المضادة. بعكس الطرق البيولوجية التى تحتاج إلى وقت طويل ومجهود كبير وأدوات خاصة. ولهذا تنتشر طريقة التشخيص السيريولوجية انتشاراً كبيراً كما يمكن بواسطتها الكشف عن الاصابات الكامنة.

أمراض تنتقل بواسطة البذور فى بعض المحاصيل الهامة :

تعتبر محاصيل الحبوب ومحاصيل البقوليات الغذائية من بين المحاصيل التى تصاب بعدد كبير من الأمراض. وفى محصول القمح يوجد مايزيد عن ٨٠ فى حين يوجد فى الشعير ٤٣ وفى الفول ٢٩ . وفيما يلى بعض الأمثلة للأمراض التى تنتقل بواسطة البذور.

١ـ القمح :

تعتبر فطريات التفحم smut والذبول wilt ، والتبقع السبتورى *Septoria* والتبقع الهلمنثوسبورى *Helminthosporium sativum* ونيماتودا الثأليل *Anguina* من أهم الكائنات المرضية التى تنتقل بواسطة البذور. ويسود فطر التفحم المغطى *Tilletia foetida* و *T. caries* منطقة شمال افريقيا وأجزاء أخرى من العالم. أما فطر التفحم المتقزم *T. contraversa* فيحتاج إلى درجات حرارة منخفضة لحدوث الاصابة ولذا ينتشر بصورة رئيسية فى القمح الشتوى فى المناطق التى يكسوها الجليد فى الشتاء. أما فطر التفحم الجزئى *T. indica* فيحتاج لأنبات الجراثيم التيليتيه الى المياه الحره خلال مرحلة الازهار ويؤدى ذلك إلى انحصار الاصابة به فى بعض مناطق الهند وباكستان وأفغانستان والمكسيك. وقد تسبب الاصابة بمرض التفحم السائب الذى يصيب القمح والذى يسببه فطر *Ustilago nuda* خسارة كبيرة فى الانتاجية وبصورة خاصة عند عدم معاملة البذور بالمطهرات البذرية اللازمة. كما يعتبر مرض التفحم اللوائى *Urocystis tritici* على درجة من الأهمية فى بعض المناطق. وتسبب العديد من أمراض الذبول المتسببه عن الفطر *Fusarium* أضراراً لمحصول القمح، وتنتقل هذه الأمراض بواسطة البذور، كما تعتمد الأنواع التى تنتشر فيها الاصابة بصورة كبيرة على الظروف المناخية السائدة، ففى أجزاء شاسعة من أوروبا يسبب فطر *Fusarium nivale* خسارة كبيرة فى الانتاجية فى المناطق التى تكسوها الجليد فى الشتاء بينما ينتشر مرض الجرب أو لفحة السنابل الناتج عن الفطر *F. graminearum* ومرض تعفن الجذور الناتج عن الفطر *F. culmorum* فى شمال أفريقيا ودول أخرى كثيرة. أما الأنواع الفطرية الهامة للهلمنثوسبوريوم *Helminthosporium* فهى *H. Sativum* الذى يسبب مرض التبقع الهلمنثوسبورى و *H. tritici -repentis* الذى يسبب مرض تبقع الأوراق الأصفر. أما نيماتودا القمح-*Anguina tri tici* الذى يسبب مرض التثألل ear cockle فهو واسع الانتشار فى بعض مناطق زراعة القمح، إلا أنه نادراً ما يسبب خسارة هامة فى الانتاجية. وهو عامة قليل الوجود فى مصر الآن.

٢ـ الشعير :

من أهم الأمراض التى تنتقل بواسطة البذور فى الشعير أمراض التفحم و *Drechslera* أى التبقع الهلمنثوسبورى *Helminthosporium* والذبول *Fusarium* واللسعه Scald *Rhynchosporium* وفيروس موزايك الشعير المخطط BSMV . يشبه مرض التفحم السائب فى الشعير *Ustilago nuda* مرض التفحم السائب الذى يصيب القمح *Ustilago nuda* ، ولكن تختلف أعراضه عن أعراض مرض التفحم المغطى فى الشعير المتسبب عن الفطر *Ustilago hordei* كما تختلف طريقة الاصابة والأعراض الظاهرية لكل فطر، وهذين المرضين منتشرين فى الشعير فى مصر. كما تحدث خسارة عالية نسبياً فى الانتاجية نتيجة الاصابة بمرض تخطط الشعير الناتج عن الفطر *Helminthosporium* وأهمها مرض تخطط الشعير *H. gramineum* ومرض التبقع الشبكى *H. teres* ومرض التبقع الهلمنثوسبورى *H. sativum* ، وغالباً ما تتشابه أنواع *Fusarium spp.* التى تصيب الشعير مع تلك التى تصيب القمح وتحدث نفس الأمراض. ويسبب فطر *Rhynchosporium secalis* الأعراض التى يتميز بها مرض اللسعه وينتقل هذا الكائن المرضى عن طريق البذور بدرجة منخفضة نسبياً. ويرجح ويمكن أن يكون فيروس الموزايك المخطط فى الشعير BSMV هو فيروس محاصيل الحبوب الوحيد الذى ينتقل بواسطة البذور، وتنخفض أهمية هذا المرض نسبياً بالمقارنة مع بعض الأمراض الفيروسية الأخرى التى تصيب الشعير مثل فيروس اصفرار وتقزم الشعير. ونظراً لعدم انتشاره فى جميع مناطق زراعة الشعير يعتبر تطبيق الحجر الزراعى بالنسبة لهذا المرض من الأمور الهامة والضرورية.

٣ـ العـدس :

يعتبر العدس أقل المحاصيل البقولية اصابة بالأمراض نسبياً. ومن بين الأمراض الهامة التى تنتقل عن طريق البذور مرض التبقع الاسكوكايتى *Ascochyta lentis* ومرض الذبول *Fusarium* spp. اضافة الى بعض الفيروسات الأخرى.

٤ـ الحمص :

من الأمراض الرئيسية التى تصيب محصول الحمص مرض التبقع الاسكوكايتى *Ascochyta* spp ومرض الذبول الفيوزارمى *Fusarium* spp ومرض تعفن الجذور. ويمكن لهذه الكائنات أن تنتقل بواسطة بقايا المحصول وأيضاً عن طريق البذور بالإضافة إلى بعض الوسائل الأخرى. وفى حدود معينة، يمكن أن تعتبر الديدان الثعبانية (النيماتودا) على درجة من الأهمية وخاصة نيماتودا تعقد الجذور *Meloidogyne* spp. والنيماتودا المتحوصلة *Heterodera* spp. حيث ينتقل هذان النوعان من النيماتودا بواسطة البذور عند خلطها مع التربة الملوثة.

٥ـ الفـول :

يعتبر الفول من المحاصيل البقولية الكثيرة الاصابة بالأمراض. وتنتقل بعض هذه الكائنات الممرضة والتى من بينها الفيروسات بواسطة البذور. يعتبر مرض التبقع الاسكوكايتى *Ascochyta fabae* , *A.pinodella* والذبول من أهم الأمراض النباتيه التى تصيب الفول اضافة إلى مرض التبقع البنى *Botrytis fabae* و *B.cinerea* ، وفيروس موزاييك الفاصوليا الأصفر BYMV، وفيروس تلون بذور الفول BBSV، وفيروس موزاييك الفول الحقيقى BBTMV. وفيروس موزاييك البسله الذى ينتقل بواسطة البذور PSBMV ونيماتودا الساق *Ditylenchus dipsaci* وبعض الأمراض الأخرى. مثل تبقع الأوراق الألترنارى *Alternaria*.

٦ـ البسلـه :

تصاب البسلة بمرض التبقع الاسكوكايتي بأنواعه *Ascochyta pisi* , *A.pinodella*, *A.pinodes* وبأنواع مختلفة من أمراض الذبول الفيوزرامى *Fusarium* spp. كما يمكن أن تؤدى الإصابة بالتبقع البكتيرى *Pseudomonas pisi* تحت بعض الظروف البيئية المعينة إلى القضاء التام على المحصول.