# بسم الله الرحمن الرحيم

"وَمَا مِنْ دَابَّةٍ فِي الأَرْضِ وَلا طَائِرٍ يَطِيرُ بِجَنَاحَيْهِ إِلاَّ أُمَمٌ أَمْثَالُكُمْ مَا فَرَّطْنَا مِنْ شَيْءٍ ثُمَّ إِلَى رَبِّهِمْ "فِي الْكِتَابِ يُحْشَرُونَ (38)

صدق الله العظيم

# النيماتودا الممرضة للنبات

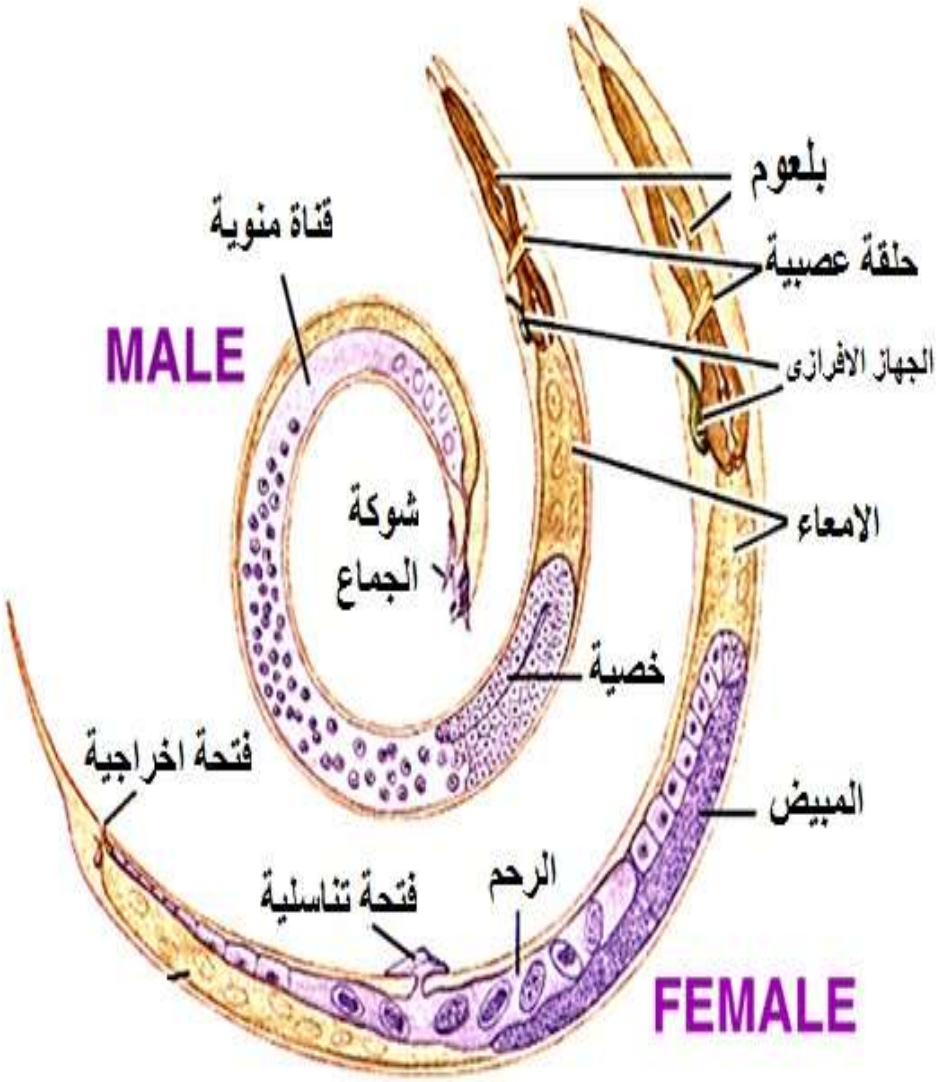
# المحتويات

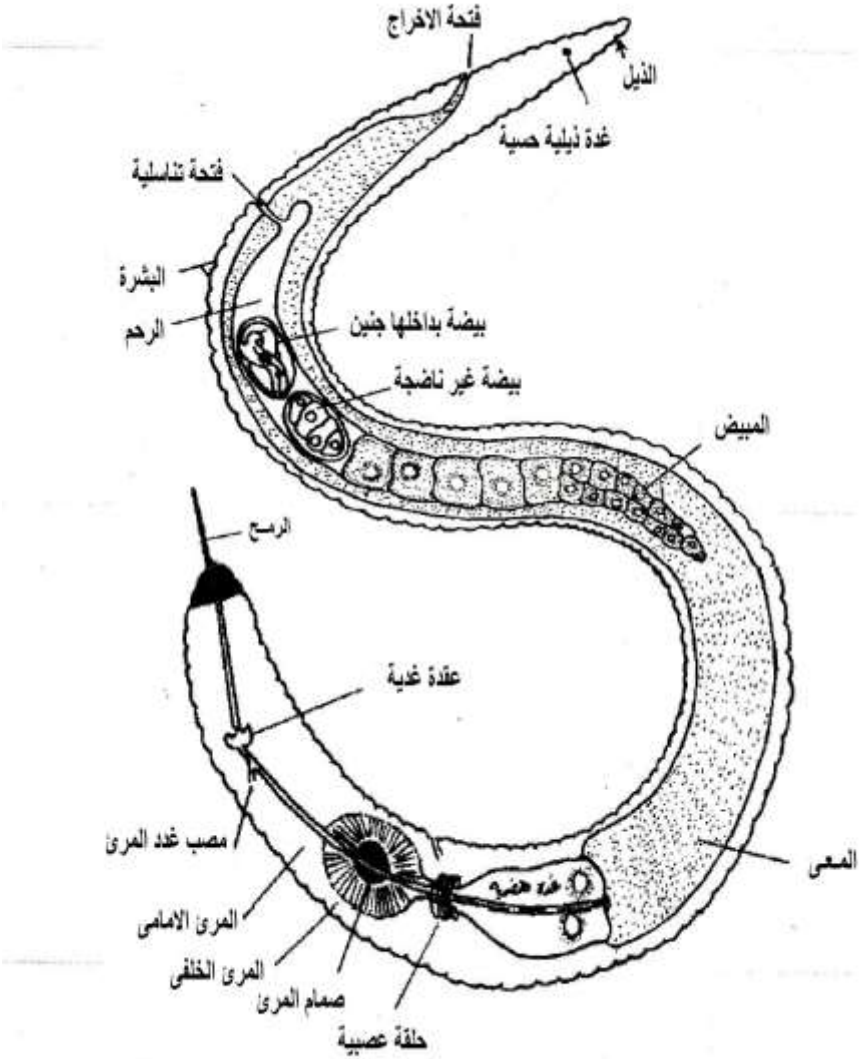
- تعريف النيماتودا .
- التركيب العام لجسم النيماتودا .
- البيئة والانتشار .
- أنواع التطفل .
- طرق التكاثر .
- أهم أجناس النيماتودا التي تصيب النبات .
- أشكالها .
- الأعراض المرضية الناتجة عن الإصابة بالنيماتودا .
- طرق استخلاصها .
- كيفية التعرف على أنواعها .
- كيفية عمل التحضيرات المجهرية .

# تعريف النيماتودا

النيماتودا حيوانات لا فقارية (بدائية) أسطوانية دودية, وتعتبر بصورة رئيسية حيوانات مائية تعيش في المياه المالحة أو العذبة, أو على الأقل يجب أن يغطى جسمها غشاء رقيق من الماء في التربة لكي تكون حية ونشطة حيث توجد النيماتودا في الماء الشعرى حول حبيبات التربة والنيماتودا واسعة الانتشار, حيث يمكن أن توجد في أي بيئة تتوافر فيها أسباب الحياة.

# التركيب العام لجسم النيماتودا



# التركيب العام لجسم النيماتودا

- جدار الجسم ويتكون من :

1) طبقة الكيوتيكل. 2)طبقة الهيبودرمس. 3)عضلات الجسم.

- الجهاز الهضمي فيتكون من:

1) فتحة الفم. 2) المرئ. 3) الأمعاء. 4)فتحة الشرج .

وينشأ من الفم عضو مجوف قابل للبروز يشبه الإبرة يسمى الرمح ويستخدم في ثقب خلايا النبات وامتصاص الغذاء منها وهو ما يميز النيماتودا الضارة بالنبات لأنه نادراً ما يوجد في أنواع النيماتودا الأخرى .

- الجهاز العصبي: 1) الحلمات الشفوية: توجد على الرأس .

. . . . . وتقوم بوظائف حسية مثل اللمس.

2)الامفيد: عبارة عن زوج من أعضاء الحس الكيماوي

. . . . . ويوجد في وضع جانبي على الرأس.

- الجهاز الافرازى (الاخراجى):وظيفته تجميع المواد التي يريد .

الجسم التخلص منها وإفرازها للخارج عن طريق فتحة إفرازية توجد في الناحية البطنية من النصف الامامى للنيماتودا.

- الجهاز التناسلي في الذكر يتألف من خصية ثم كيس منوي متصل بقناة قاذفة تنتهي بفتحة الشرج , أما الجهاز التناسلي الانثوى فيتكون من مبيض متصل بقناة المبيض التي تنتهي بالرحم ثم الفتحة التناسلية .

# البيئة و الانتشار

تعتبر التربة الرملية والخفيفة ملائمة لإنتشار اغلب أنواع النيماتودا , وتتكاثر النيماتودا بسرعة فائقة في التربة الجيدة التهوية ذات الرطوبة المعتدلة والحرارة الدافئة نوعاً ما .

**وما يسترعى الانتباه** أن جذور النباتات تتطلق مواد في التربة المحيطة تشجع على فقس البيض الساكن لأنواع معينة من النيماتودا بعد ذلك تنجذب اليرقات الفاقسة إلى الجذور وتأخذ في التغذية عليها والتكاثر السريع .

تتحرك النيماتودا في التربة ببطء شديد ولا تزيد المسافة التي تقطعها طيلة حياتها عن متر واحد ولهذا السبب فإنها لا تنتقل بنفسها إلى الحقول المجاورة السليمة إنما تنتقل مع مياه الري والصرف والأتربة الملتصقة بالآلات الزراعية وكذلك العواصف الترابية وأيضا عند نقل البذور والشتلات الملوثة بالنيماتودا من مكان لآخر.

# أنواع التطفل

جميع النيماتودا الضارة بالنبات هي طفيليات إجبارية ؟ بمعنى أنها لا تستطيع العيش والتكاثر ما لم تحصل على غذائها من عوائلها النباتية الحية , وتختلف النيماتودا في نوع تطفلها فإما أن تكون طفيليات :

**داخلية**

- تخترق النبات وتتغذى على أنسجته من الداخل .

**خارجية**

- لا تخترق النبات إنما تتغذى على السطح الخارجي للجذور أو الأجزاء النباتية الأخرى .

**نصف داخلية**

- تتطفل من الخارج في جزء من حياتها .

طرق التكاثر
توالد بكرى
إخصاب ذاتي
جنسي

❖**التكاثر الجنسي** : وهو الشائع في النيماتودا حيث تتزاوج الذكور مع الإناث لتقوم بوضع البيض , وعادة يقتصر دور الذكور في هذا النوع على إتمام عملية الإخصاب وغالباً تموت الذكور بعد أداء هذه المهمة .

❖**الإخصاب الذاتي (الخنثوي)**: وفيه تقوم الإناث عند غياب الذكور بإنتاج البويضات بالإضافة إلى الحيوانات المنوية الذكرية داخل جهازها التناسلي وتضع الإناث بيضاً لا يختلف في شئ عن البيض الناتج بالطريقة السابقة .

❖**التوالد البكري** : تتميز بعض أنواع النيماتودا بأن جميع أفرادها إناث وجميعها لا تضع بيض إنما تلد مباشرة يرقات صغيرة مشابهة لأمهاتها دون عملية تلقيح مع الذكر.

## س - كيف يمكن لديدان النيماتودا المتناهية في الصغر أن تؤذى النباتات ؟

الجواب هو في أننا نتصور أن أعداد هائلة من تلك الديدان تحيط بجذر النبات من كل جانب وتمتص منه بواسطة الرمح الموجود في فمها عصارة الجذر على نحو مستمر, لا شك أن النبات يضعف ويذبل بينما تكبر الديدان وتتكاثر.

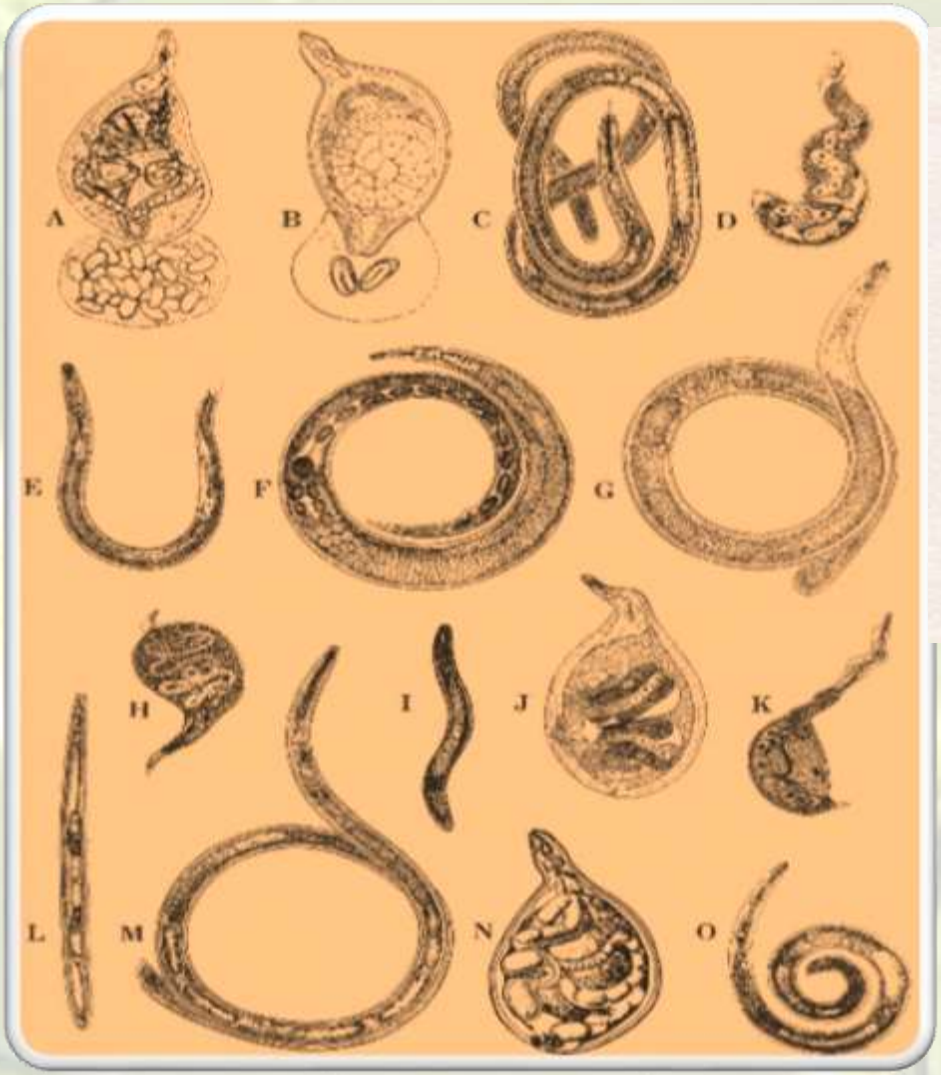
وكان الأمر يهون لو اقتصر الضرر على ما تستهلكه الديدان من عصارة النبات إنما معظم الضرر ينجم عن ما تفرزه الديدان من لعاب تحقنه في خلايا النبات بواسطة الرمح أثناء التغذية , ووظيفة هذا اللعاب انه يعمل على تمييع محتويات الخلايا النباتية لتصبح سهلة التناول .

ثم إن ديدان النيماتودا بإضعافها للنبات وفتحها الثغرات في الجذور تهيئ بيئة مناسبة لدخول الأمراض النباتية , كما أن أنواع من النيماتودا تحمل الفيروسات المرضية في جهازها الهضمي وتنقلها للنبات عن طريق لعابها .

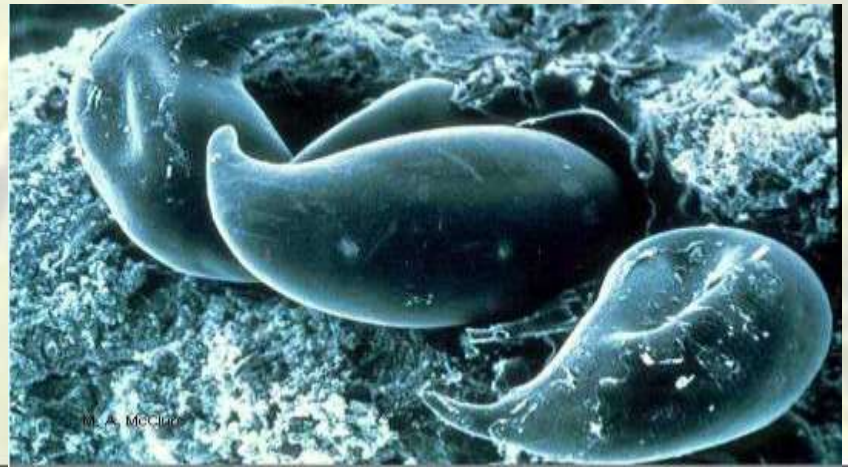
# أهم الآفات النيماتودية التي تصيب النبات

| | |
|---|---|
| ✓ نيماتودا تعقد الجذور | Meloidogyne |
| ✓ نيماتودا تقرح الجذور | Pratylenchus |
| ✓ نيماتودا تقصف الجذور | Trichodorus |
| ✓ النيماتودا المتحوصلة | Heterodera |
| ✓ النيماتودا الرمحية | Hoplolaimus |
| ✓ النيماتودا الإبرية | Longidorus |
| ✓ النيماتودا الكلوية | Rotylenchulus |
| ✓ النيماتودا الخنجرية | Xiphinema |
| ✓ نيماتودا الساق والأبصال | Ditylenchus |
| ✓ نيماتودا التدهور البطئ في الموالح | Tylenchulus |

# الأشكال المختلفة للنيماتودا



شكل (٣). الأشكال المتضمنة التي تتخذها إناث بعض أجناس النيماتودا.
(أ) الشكل الكمثري لنيماتودا تعقد الجذور. (ب) الليموني لنيماتودا الخوصيلات.
(جـ) الكلوي للنيماتودا الكلوية. (د) الكروي تقريبًا مع امتداد منطقة العنق لنيماتودا الموالح.



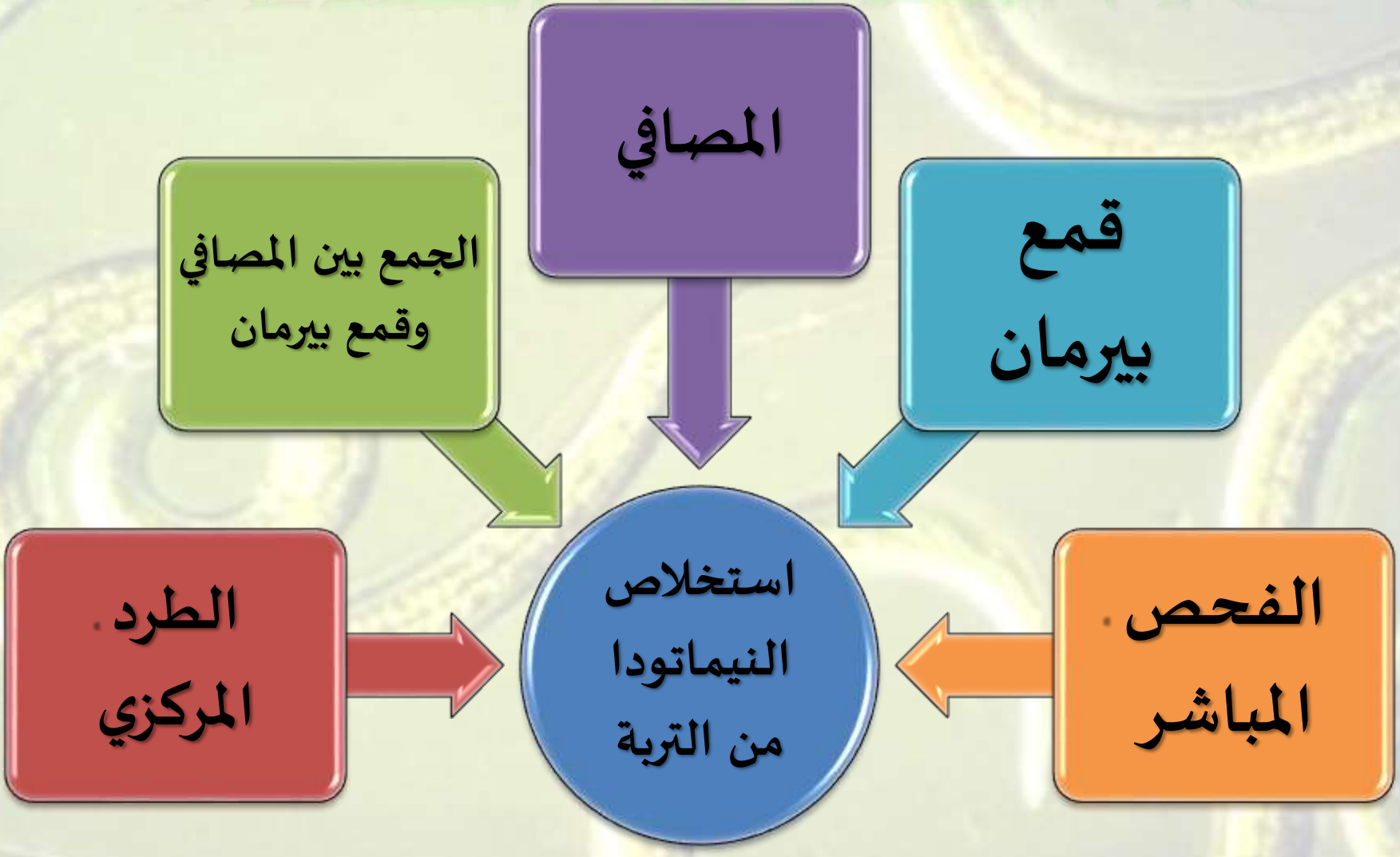
# الأعراض المرضية التي تسببها النيماتودا

- أعراض على المجموع الجذري :
  - تعقد الجذور
  - تقزم الجذور
  - تعفن الجذور
  - تقرح الجذور
  - تغير لون الجذور
  - زيادة التفرع الجذري
  - تلف القمة النامية للجذور

# الأعراض المرضية التي تسببها النيماتودا

- أعراض على المجموع الخضري:
  - موت البراعم
  - تقرح الأوراق
  - تشوه الحبوب
  - تبقع الساق والأوراق
  - عقد على الأوراق والسيقان
  - تجعد والتواء الأوراق والسيقان

# طرق استخلاص النيماتودا



# طريقة الفحص المباشر

تستخدم هذه الطريقة في استخلاص النيماتودا من عينات التربة الصغيرة .

حيث توضع عينة التربة في طبق بتري مع قليل من الماء ويجرى فحص مجهري للكشف عن النيماتودا المتطفلة في وقت قصير .

# طريقة قمع بيرمان

- يستخدم قمع زجاجي أو بلاستيك مناسب الحجم ويثبت في نهاية ساق القمع خرطوم من المطاط (10-20سم) ثم يوضع مشبك في نهاية الخرطوم .
- يوضع القمع على حامل أقماع ويملأ جزئيا بالماء .
- يوضع داخل القمع شبكة من السلك ويوضع فوق شبكة السلك عدة طبقات من الشاش أو مناديل ورق خفيفة .
- توضع عينة التربة (50-100سم) فوق الشاش ,
ثم تضاف كمية من الماء لتغطى الجزء السفلى من عينة التربة .
- يترك القمع 24 ساعة تقريبا ثم تسحب كمية قليلة من الماء من الخرطوم المطاط
ثم تفحص تحت الميكروسكوب .

# طريقة المصافي

- يؤخذ حجم معين من التربة (250-500سم3) ويوضع في إناء ويضاف إليه 2-3 لتر ماء .
- تخلط التربة جيداً بالماء وتترك لمدة 10 ثوان حتى تترسب حبيبات التربة ثم يمرر المعلق خلال مصفاة 60 mesh ونتلقى الراشح في إناء آخر ونتخلص من الراسب.
- يخلط الراشح جيداً ثم يترك ليرسب لمدة دقيقة ثم يمرر في مصفاة 100mesh (لفصل النيماتودا الكبيرة الحجم) ويستقبل الراشح في إناء .
- يخلط الراشح جيداً ويترك دقيقة ثم يمرر في مصفاة 200 meshثم يتم نقل الراسب الموجود على سطح المصفاة إلى كأس زجاجي .
- يخلط الراشح الناتج من المصفاة السابقة ويترك دقيقة ثم يمرر في مص... اليرقات والنيماتودا صغيرة الحجم) ثم يتم نقل الراسب الموجود على س...
- يتم فحص الكأسين لمعرفة عدد ونوع النيماتودا .

# Stap 1:

Giet het sediment in de maatbeker

# الجمع بين المصافي وقمع برمان

وفى هذه الطريقة يتم إجراء الخطوات السابقة في طريقة المصافي ثم يوضع الراسب في أقماع بيرمان وذلك حتى يمكن فحص النيماتودا في معلق رائق.

# طريقة الطرد المركزي

خطوات الاستخلاص

١. بعد التأكد من سلامة إجراءات أخذ العينة وأيضًا طريقة الحفظ يتم خلط العينة خلطًا جيدًا.

٢. يؤخذ حوالي ٥٠ سم٣ من التربة.

٣. يحضر دورق يوضع عليه مصفاه صغيرة.

٤. توضع عينة التربة في المصفاه.

٥ . تغسل العينة بالماء .

٦ . تترك العينة لمدة ٣٠ ثانية حتي تترسب حبيبات التربة الكبيرة .

٧ . تصفي محتويات الدورق في مصفاه ذات ثقوب ٣٢٥ فى البوصة الطولية .

٨ . شكل المصفاه وعليه متبقيات التربة التى تحتوى على النيماتودا .

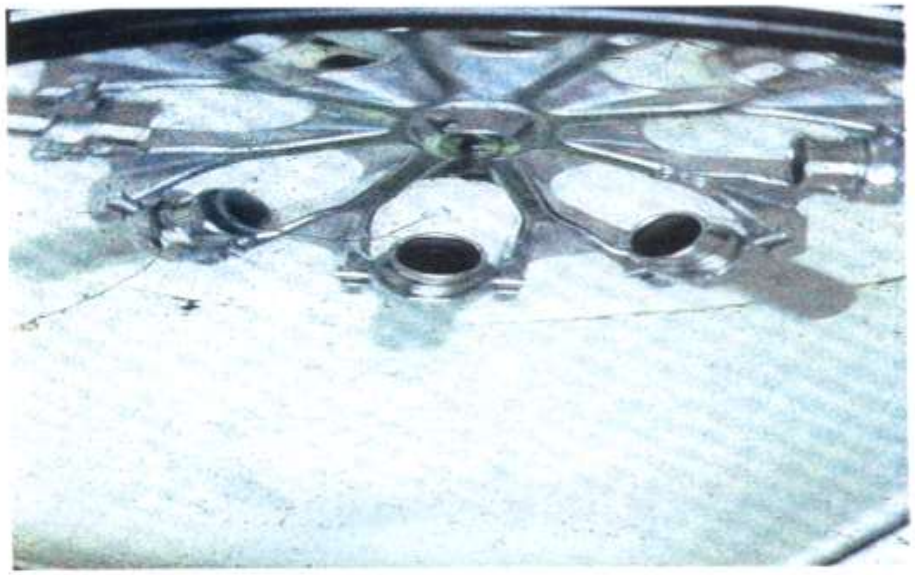
٩ . تغسل المصفاه من الخلف بواسطة رشاش ماء ضعيف حتى تتركز العينة فى أحد جوانب المصفاه.

١٠ . صورة للمصفاه بها العينة مركزة فى الجانب السفلي.

١١ . توضع العينة فى أحد أنابيب جهاز الطرد المركزى.

١٢ . التأكد تمامًا من أن المصفاه خالية من أى محتوى من محتويات التربة.

١٣ . شكل لأنبوبة جهاز الطرد المركزى وبها العينة وترقم الأنبوبة برقم العينة ويتم تكرار الخطوات السابقة، حتي يصل إلى ثمانى عينات وهم عدد أنابيب الطرد المركزى فى الدورة الواحدة.



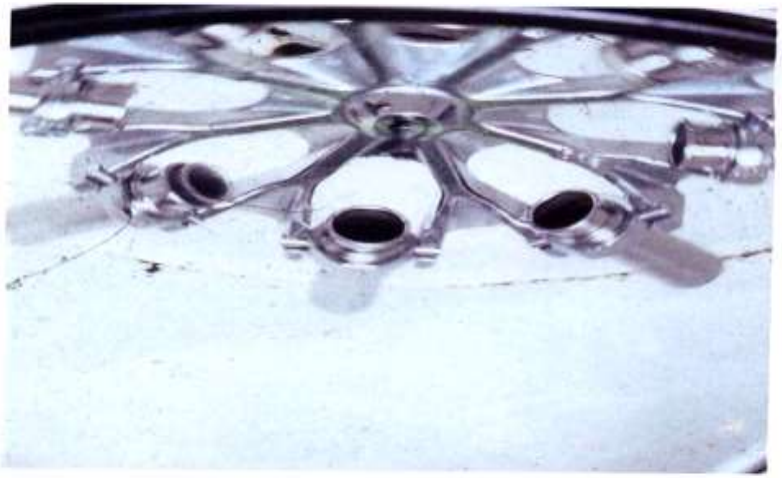
١٤ . يتم تشغيل جهاز الطرد المركزي لمدة ٤ دقائق على سرعة ٣٦٠٠ دورة في الدقيقة.

١٥ . يتم استخراج العينات من جهاز الطرد المركزى ويتم التخلص من الجزء العلوى من العينة بمنتهى الدقه.

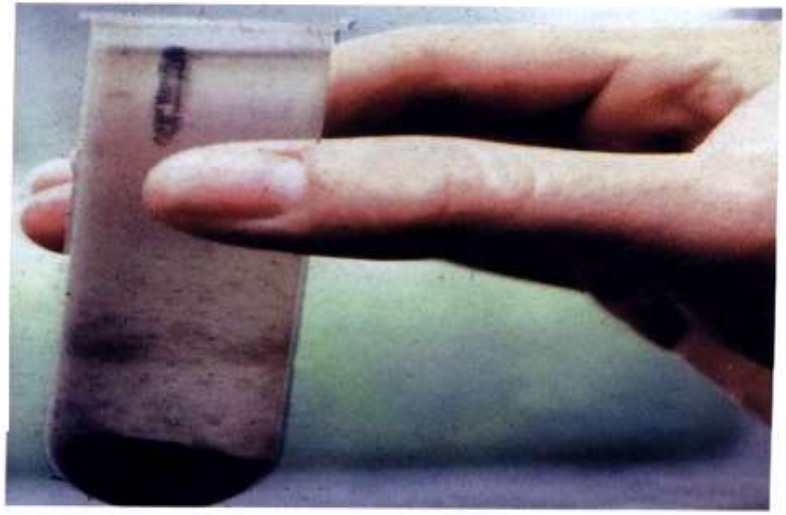
١٦ . يتم الاحتفاظ بالتربة الراكدة فى قاع الأنبوبة.

١٧ . يضاف المحلول السكري (بتركيز ٥٠٠ جرام من السكر لكل لتر ماء) إلى أنبوبة الطرد المركزى التى تحتوى على التربة.

١٨ . ترج الأنبوبة جيداً وذلك لخلط المحلول السكرى مع التربة.



١٩ . يتم اعادة نفس الخطوة مع جميع العينات وتوضع العينات فى جهاز الطرد المركزى وذلك لمدة ٤ دقائق ٣٦٠٠ لفة فى الدقيقة.



٢٠ . تأخذ العينة من جهاز الطرد المركزى لنجد طبقتين طبقة الماء العلوية وهى التى تحتوى على النيماتودا عالقة فى المحلول السكرى.

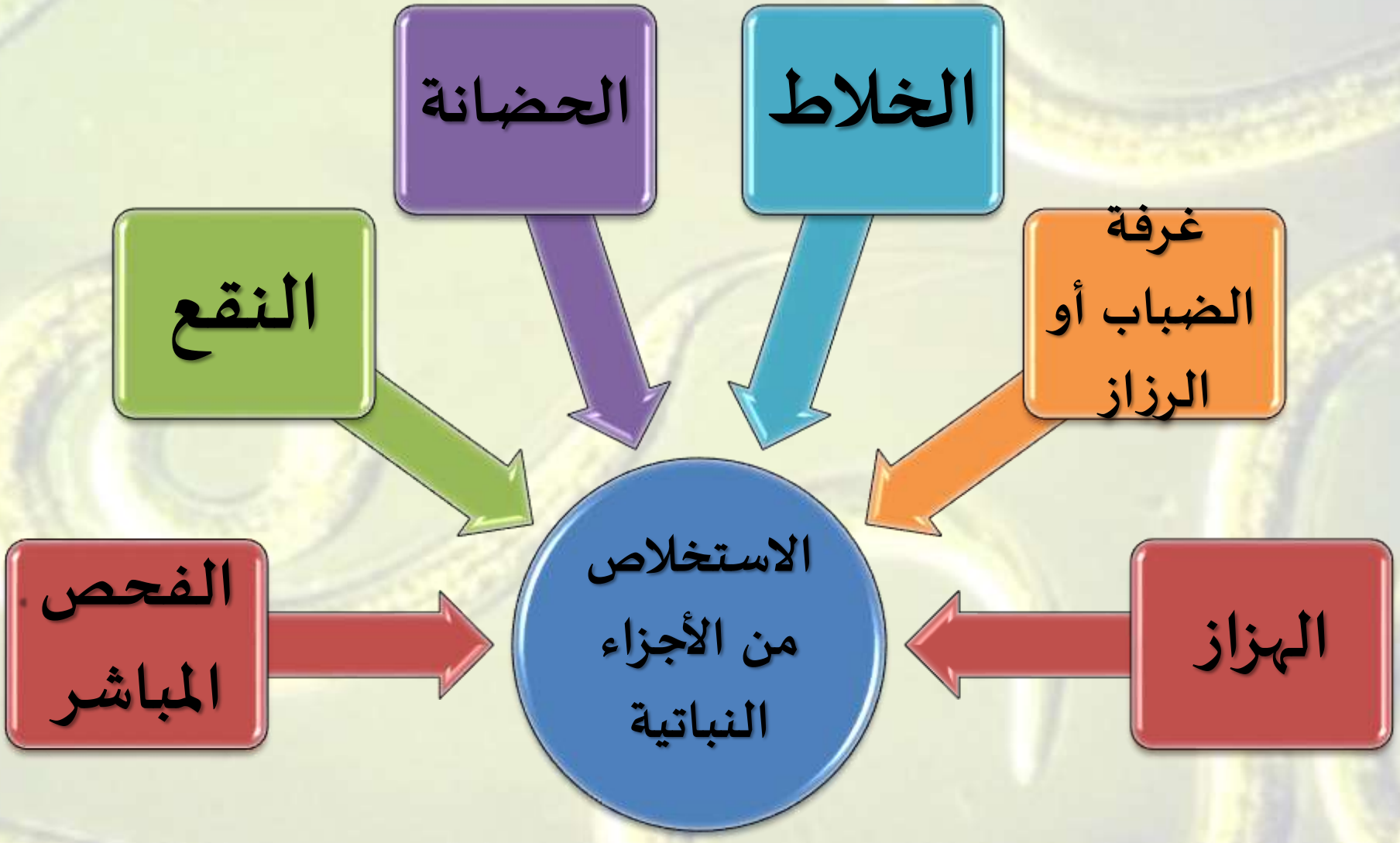
٢١ . يتم إضافة محتوي الأنبوبة في منخل النيماتودا الضيق «٥٠٠ ثقب فى البوصة الطولية».

٢٢ . تغسل العينة وتضاف إلى طبق تبرى لعدها لتحديد الأعداد وأيضًا تحديد نوع النيماتودا.

العينه جاهزه الآن للفحص الميكروسكوبى

الفحص الميكروسكوبى لتحديد أنواع النيماتودا

# استخلاص النيماتودا من الأجزاء النباتية



# طريقة الفحص المباشر

وهى طريقة سهلة وسريعة وفيها يتم فحص النسيج مباشرة , حيث يوضع الجزء النباتي المراد فحصه في طبق بتري مع قليل من الماء ويتم تمزيق النسيج بواسطة إبرة تشريح وذلك تحت مجهر التشريح .

# طريقة النقع

تقطع الأجزاء النباتية المصابة إلى قطع صغيرة (0,5- 1سم ) في طبق بتري مع قليل من الماء يكفى لتشبع الإناء بالرطوبة ولا تغمر الأجزاء النباتية بالماء ويزود بورق ترشيح مبلل وتحفظ في درجة 30 درجة مئوية وتترك 24 ساعة .

تؤخذ كمية الماء المحتوية على النيماتودا للفحص الميكروسكوبي ، وتعتمد هذه الطريقة على خروج النيماتودا المتطفلة داخلياً عند تهيئة الظروف الملائمة .

# طريقة الحضانة

توضع الأجزاء النباتية المصابة في دورق زجاجي مع قليل من الماء وتترك في مكان دافئ لمدة 3 أيام تنشط خلالها النيماتودا الداخلية المتحركة إلى الخارج .

تؤخذ كمية الماء المحتوية على النيماتودا وتوضع في مجموعة المصافي 60 و 325 mesh مع الغسيل بالماء .

تنقل محتويات المصفاة الأخيرة إلى طبق بتري للفحص الميكروسكوبي .

# طريقة الخلاط

١ . يتم تجهيز العينة الخاصة بالجذور وتحديد كل المعلومات الخاصة بالعينة

٢ . يتم الاكتفاء بحوالى ٢ جرام فقط من كل عينة ويفضل الجذور الرقيقة الرفيعة

٣ . يتم وزن العينة

٤ . يتم تحضير طبق بلاستيك عميق وأيضًا شبكة سلك

٥ . يضاف الشبكة السلك الى الطبق

٦ . توضع ورقة الكلينكس على الشبكه والطبق

٧ . يضلف ماء الى ورقة الكلينكس كما هو موضح بالصوره

٨ . توضع العينة في خلاط منزل ويضاف إليها ٣/١ من حجم زجاجة الخلاط بالماء ويتم تشغيل الخلاط لمدة ٢ دقيقة

٩ . يتم التخلص من العينة وذلك عن طريق صب هذه العينة فى المنخل المعد

١٠ . يتم غسيل الخلاط من الداخل جيداً للتخلص من بقايا الجذور

١١ . يتمّ الغسيل مرة ثانية وتضاف إلى المنخل المناسب

١٢ . يتم تجميع العينة فى أحد أركان المنخل.

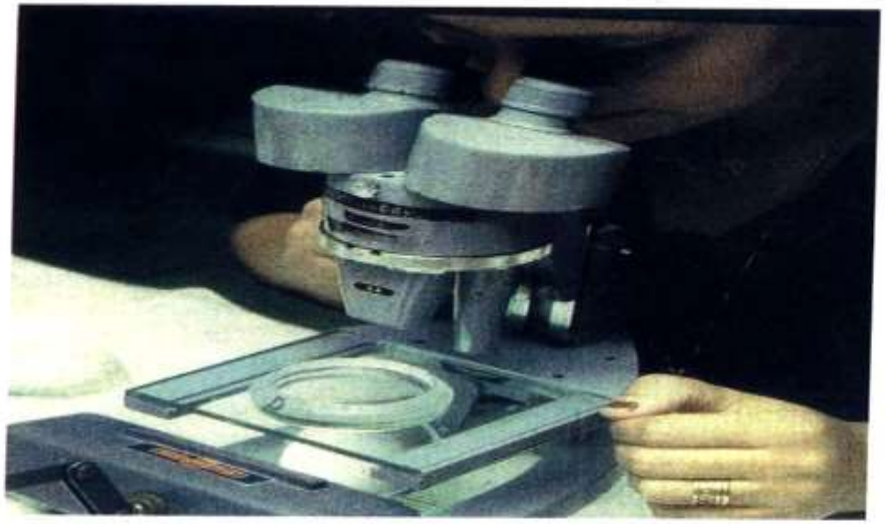
١٣ . تضاف محتويات المنخل فى الطبق الذى تم إعداده سابقًا .

١٤ . لابد من التأكد أن الكمية كلها تم تصفيتها فى الطبق المعد لذلك

١٥ . يتم التأكد من أن العينة النباتية مغطاه تماما بالماء.

١٦ . يتم إغلاق ورقة الكلينكس على العينة ويضاف رقم العينه وتترك لمدة ٢٤- ٤٨ ساعه فى المعمل بعد ذلك يتم التخلص من ورقة الكلنيكس وعليها الجذور وتصب محتويات الطبق فى المنخل ثم الى طبق بترى

١٧ . العينه فى طبق بترى تمهيداً للفحص الميكرسكوبى.



١٨ . يمكن استخدام **Compound** ميكروسكوب للتأكد من اسم النيماتودا وأيضًا يمكن التقاط صور عن طريق الميكروسكوب.

# طريقة غرفة الضباب أو الرزاز

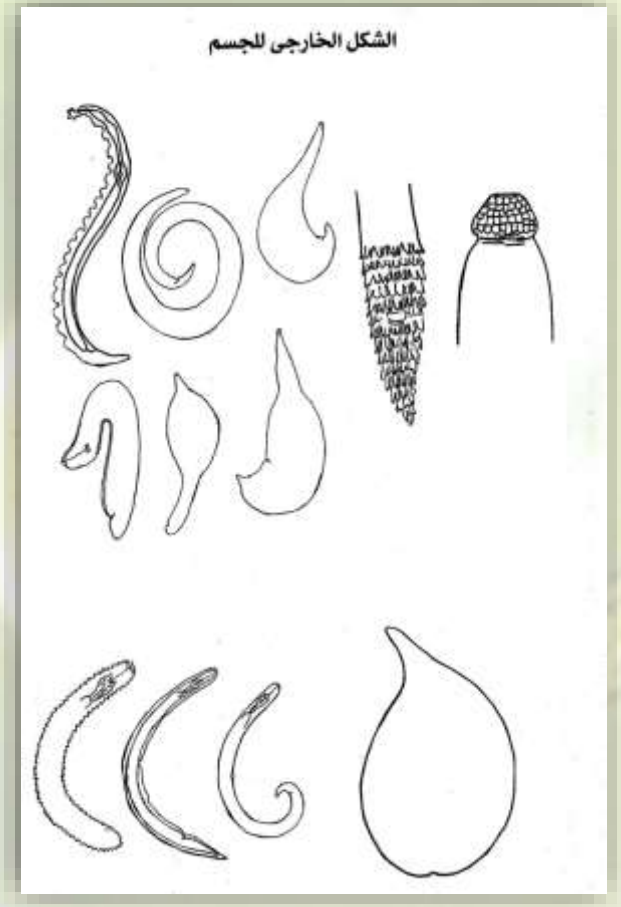
وهى عبارة عن صندوق ويتم تسليط تيار من رزاز الماء بواسطة جهاز خاص على الأجزاء النباتية وذلك لفترة معينة ويتم استقبال الماء الناتج لفحصه لمعرفة أطوار النيماتودا المتواجدة في النسيج .

# طريقة الهزاز

- تغسل الأنسجة النباتية وتقطع إلى قطع صغيرة بطول 1 سم .
- توزع القطع النباتية في دوارق زجاجية سعة 125 مل وتغطى بمحلول مكون من 10 ملجم آريتان Aretan , 50 ملجم كبريتات الستربتومايسين في لتر ماء .
- توضع الدوارق على الهزاز ويدار بسرعة 100 دورة / دقيقة لمدة 48 ساعة عند درجة حرارة المعمل (25-30 درجة مئوية).
- يمرر المعلق من خلال مصفاة 325 أو 500 mesh .
- تجمع النيماتودا من على المصفاة في كأس زجاجي وتفحص تحت المجهر.

# الصفات المورفولوجية والتشريحية التي تساعد على التعرف على أنواع النيماتودا

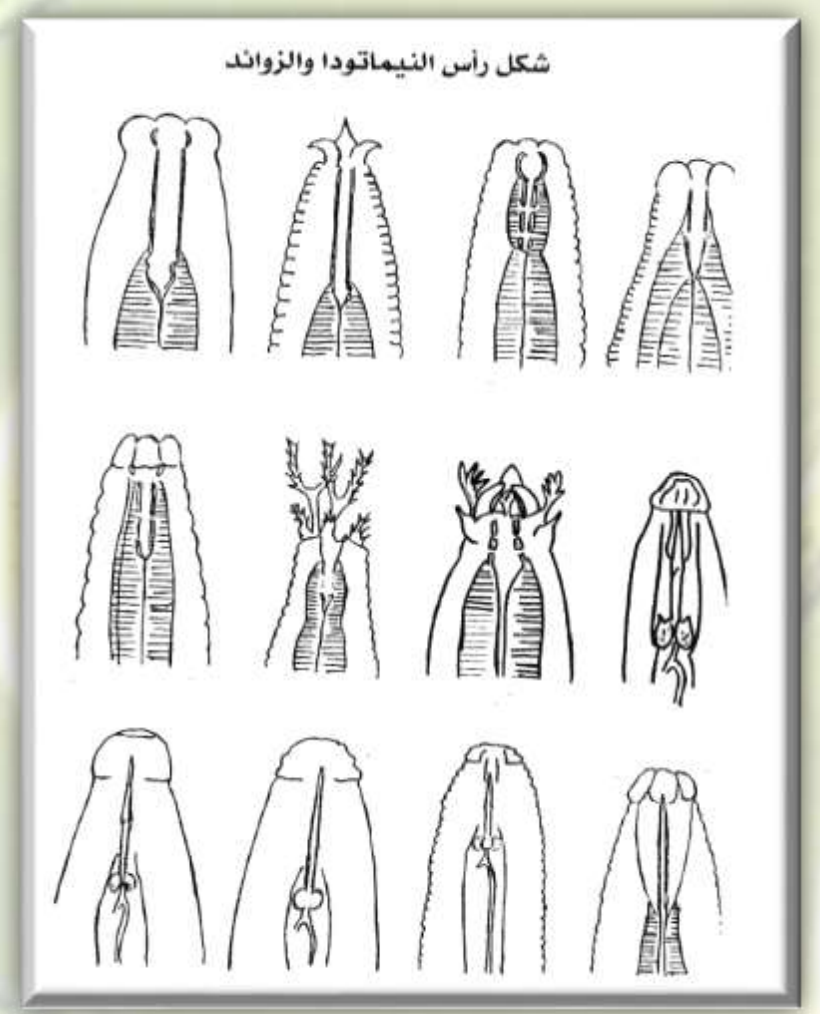
# الشكل الخارجي للجسم




- اختلاف الشكل الخارجي للجسم يحدد نوع النيماتودا إلى حد كبير والشكل يختلف من الشكل الدودي أو الليموني أو المستدير أو الكلوي أو الكمثرى .

- أيضا شكل طبقة الكيوتيكل من الخارج ووجود تحزيزات على الطبقة الخارجية للجلد.

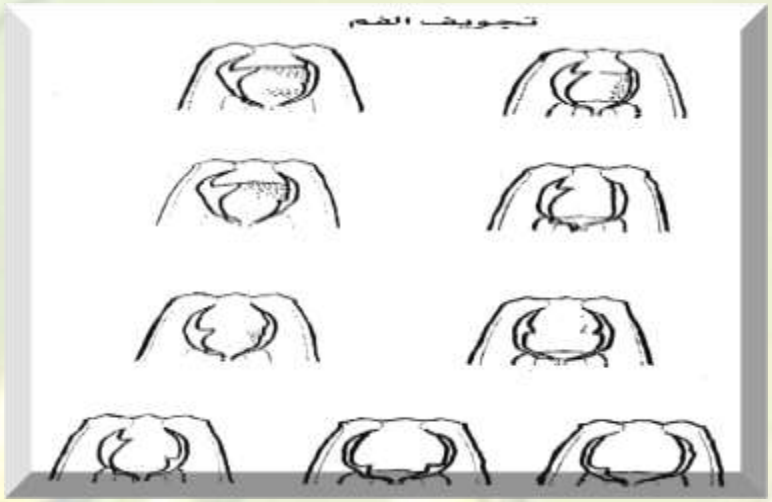
# شكل رأس النيماتودا

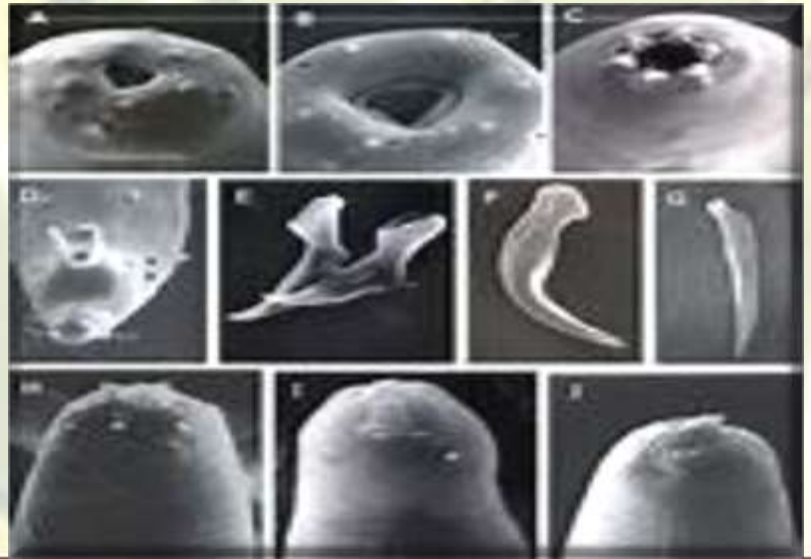



- يعتبر شكل الرأس من المحددات الرئيسية لنوع النيماتودا , ويستخدم شكل فتحة الفم في التعرف على نوع النيماتودا سواء كانت أجزاء فم على شكل اسطواني أو بها أسنان أو رمح .

- كما أن وجود زوائد على الرأس من عدمه يعتبر عامل هام في تحديد نوع النيماتودا .

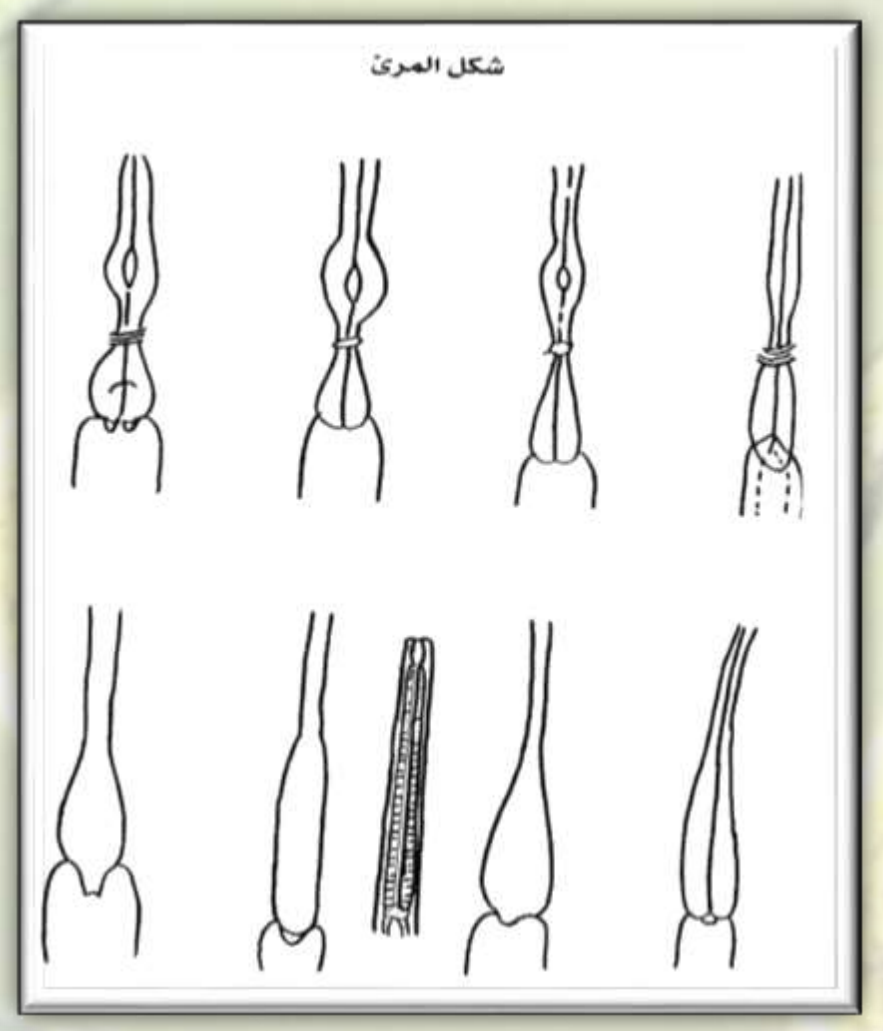
# تجويف الفم في النيماتودا المفترسة



وهى النيماتودا التي يحتوى فيها الفم على أسنان ويطلق عليها نيماتودا مفترسة . حيث أنها تتغذى على الكائنات الحية الدقيقة الموجودة في التربة , ويختلف عدد الأسنان وترتيبها وحجمها من نوع لآخر وتساعد هذه المعلومات في التوصل إلى نوع النيماتودا .

# شكل المرئ




يساعد شكل المرئ في

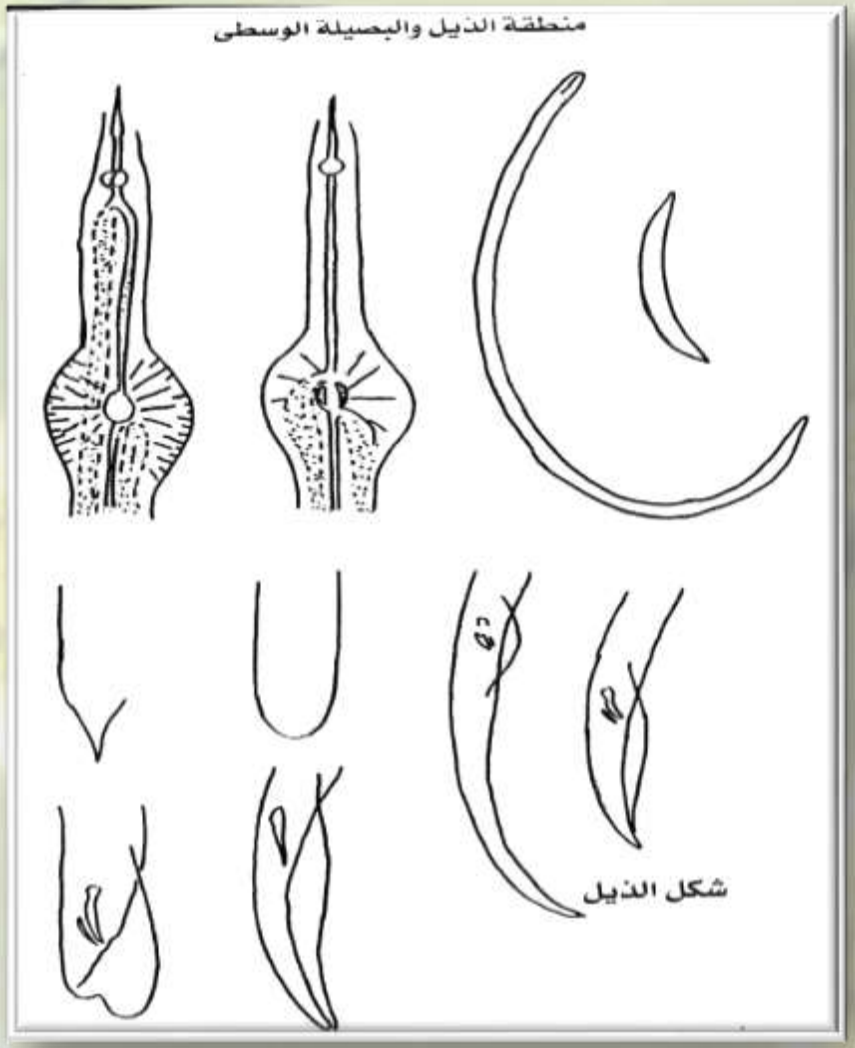
التعرف على نوع النيماتودا

فهناك المرئ الذي يتكون من

جزء واحد أو جزئين أو ثلاثة

وهذا يتوقف على نوع النيماتودا .

# منطقة البصيلة الوسطية و الذيل




من الصفات التي تساعد على التعرف على نوع النيماتودا منطقة البصيلة الوسطية حيث أنها قد تكون مستديرة تماما أو مربعة أو قد تكون مستطيلة .

كما أن شكل الذيل يحدد بشكل كبير نوع النيماتودا الذي يختلف من المستدير إلى المستدق , وكذلك شكل شوكتا الجماع يساعد في التعرف على نوع النيماتودا .

شبه
مستديمة
مستديمة
مؤقتة
التحضيرات .
المجهرية .
للنيماتودا

# التحضيرات المؤقتة

هذا النوع من ابسط وأسرع طرق التحضيرات المجهرية ويجب أن تفحص العينة مباشرة أو خلال ساعات قليلة وتستخدم هذه الطريقة لدراسة بعض التركيبات مثل الرمح – منطقة الرأس – التجويف الفمى – المرئ .

## الخطوات :

- ✓ تستخدم شرائح زجاجية وبواسطة فرشاة دقيقة نضع في وسط الشريحة حلقة خفيفة من مادة Zut (glyceel) وإذا لم تتوافر هذه المادة يمكن استعمال طلاء الأظافر.
- ✓ توضع قطرة صغيرة من الماء المقطر وسط الحلقة .
- ✓ توضع النيماتودا المراد تحميلها في زجاجة ساعة .
- ✓ تلاحظ العينة تحت مجهر التشريح وتلتقط بعض الأفراد من النيماتودا وتوضع في نقطة الماء في الشريحة .

- ✓ تتم عملية رفع النيماتودا بواسطة إبرة دقيقة أو فرشاة تحتوى على شعرة واحدة من وبر الجمال أو من حاجب العين أو من فرشاة أسنان .
- ✓ تقتل النيماتودا بعد نقلها إلى الشريحة بإمرارها على لهب هادئ أو بإشعال عود ثقاب تحت الشريحة مع الحذر من تدمير النيماتودا إذا زادت درجة حرارة الشريحة .
- ✓ يوضع غطاء زجاجي على قطرة الماء .
- ✓ تقفل أطراف الغطاء بمادة Zut أو طلاء الأظافر.
- ✓ تفحص العينة تحت المجهر.

# التحضيرات شبه المستديمة

تتميز بأن فترة حفظها تمتد لعدة أسابيع ولا تختلف التحضيرات شبه المستديمة في طريقة عملها عن تلك المؤقتة السابق شرحها إلا أنها تتطلب قتل النيماتودا ثم تحميلها على الشريحة في محلول فورمالين 2% أو الجلسرين بدلاً من الماء .

# التحضيرات المستديمة

تتميز هذه التحضيرات بأن فترة حفظها تطول لأكثر من 25 عاما , ومن ابسط وأسرع هذه الطرق طريقة سينهورست السريعة .

وتتلخص هذه الطريقة في الاتى :

- قتل النيماتودا .
- التثبيت .
- التحميل .

# الخطوات

- يتم التقاط النيماتودا من معلق النيماتودا وتنقل إلى زجاجة ساعة وبها كمية قليلة جداً من الماء المقطر.
- يضاف إلى زجاجة الساعة محلول التثبيت (F.A.4:1) الساخن وذلك بغرض قتل النيماتودا وتثبيتها ويتكون محلول التثبيت من 10مل فورمالين +1مل حمض خليك ثلجي + 89مل ماء مقطر.
- تترك النيماتودا في محلول التثبيت الساخن لمدة 12 ساعة .
- تنقل النيماتودا إلى زجاجة ساعة أخرى بها محلول مكون من :

20جزء ايثانول 96%.

1جزء من جلسرين .

79جزء ماء مقطر.

- يوضع في مجفف (وعاء زجاجي مقفل يحتوى على ايثانول 96%) لمدة 12 ساعة على درجة حرارة 35-40 درجة مئوية وهذه الخطوة لازمة لكي يتم التخلص من الماء الموجود بالعينة .
- يوضع في زجاجة الساعة محلول مكون من 5 جزء من الجلسرين , 95جزء ايثانول 96% ويترك للتجفيف ليسمح بالتبخر البطئ للكحول لمدة 3 ساعات على درجة حرارة 40مئوية في الحضان حتى تصبح النيماتودا في جلسرين نقى .
- ينقل الطبق إلى مجفف ويترك به لمدة 2-3 أيام .
- بعد ذلك تصبح النيماتودا صالحة للتحميل على الشرائح الزجاجية وذلك في قطرة من الجلسرين الغير مائي ويوضع غطاء على الشريحة ثم يقفل بواسطة مادة Zut أو طلاء الأظافر.

حفلة تخرج

اسعدتوني
بحضوركم