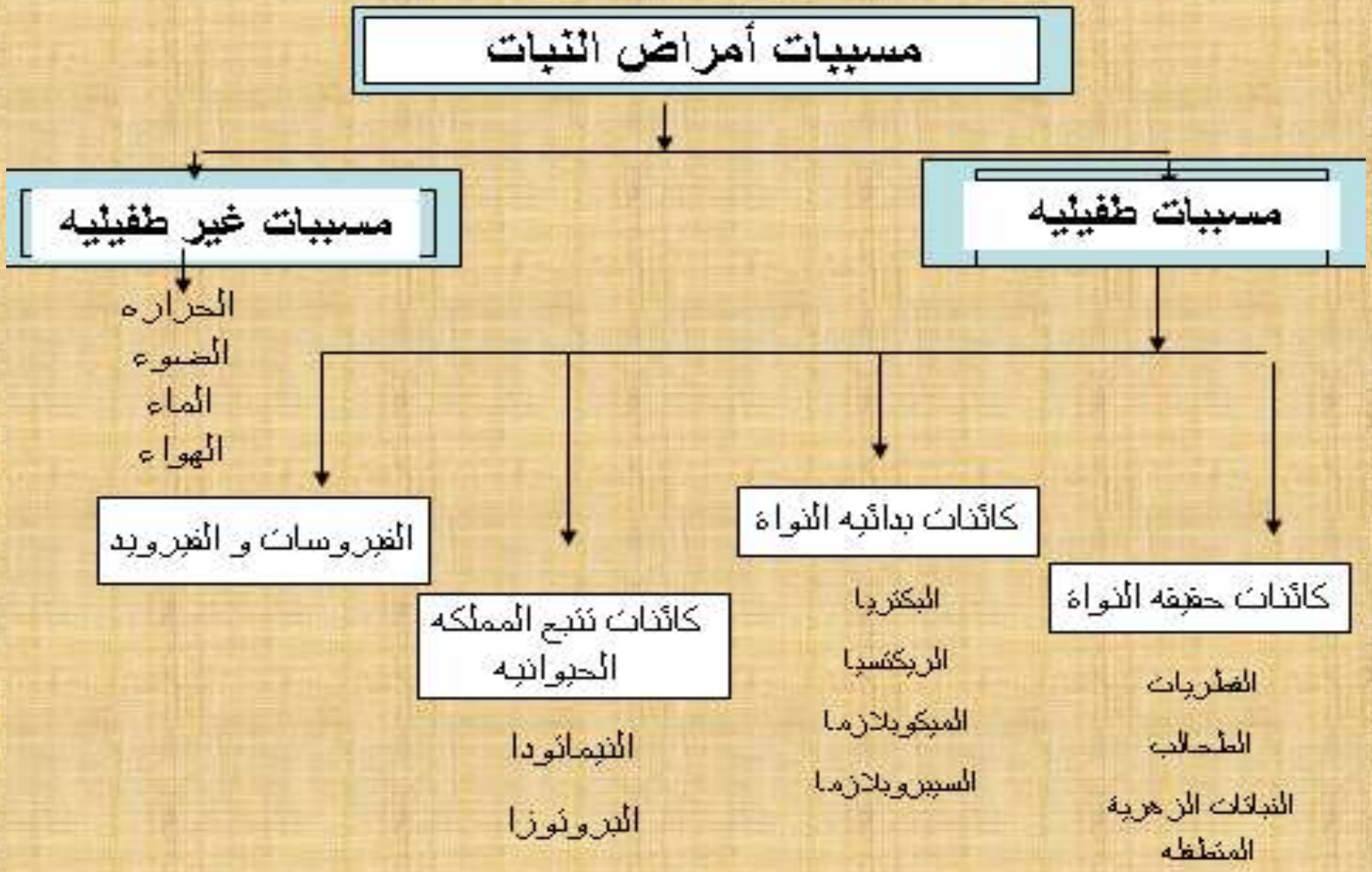
مسببات أمراض النبات


مسببات أمراض النبات
مسببات غير طفيليه
مسببات طفيليه
الحراره
الضوء
الماء
الهواء
الفيروسات و الفيرويد
كائنات تنتج المملكه الحيوانيه
النيماتودا
البروتوزا
كائنات بدائيه النواه
البكتريا
الريكتسيا
الميكوبلازما
السبيروبلازما
كائنات حقيقه النواه
الفطريات
الطحالب
النباتات الزهرية
المتطفله

أولا مسببات غير طفيلية
Non-Parasitic

وهى العوامل البيئية المحيطة بالنبات مثل:

1- الحرارةTemperature

2- الرطوبة Moisture

3- نقص الأكسجين .

4- الضوء Light

5- التلوث الهوائي Air pollution

6- نقص العناصر الغذائية

7- التسمم المعدني

8- حموضة أو قلوية التربة (PH)

9- سمية المبيدات

ثانيا : مسببات طفيلية Parasitic

1ـ كائنات نباتية حقيقية النواة Eucaryotes

أي تحتوى على نواة مميزه مثل :

أ ـ الفطريات Fungi

ب ـ الطحالب Algae

جـ ـ النباتات الزهرية المتطفلة Parasitic higher plants

2 ـ كائنات بدائية النواة Prokaryotes أي لا تحتوى على نواة محددة ومميزه مثل

أ ـ البكتريا. Bacteria

ب ـ الميكوبلازما Mycoplasma

جـ - السبيروبلازما. Spiro plasma

د ـ الريكتسيا Rickettsia

3 ـ الفيروسات Viruses والفيرودات.Viroids

4ـ كائنات حيوانية تتبع المملكة الحيوانية ومنها : ـ

أ ـ الديدان الثعبانية (النيماتودا) Nematodes

ب ـ البروتوزوا Protozoa أو السوطيات. Flagellates

الكائنات حقيقية النواة

تعريف الفطريات

تعرف الفطريات Fungi بأنها عبارة عن كائنات حقيقية النواة غير متحركة تتبع مملكة الفطريات

Kingdom : Mycetae (Fungi) تكون أجسامها من خيوط تختلف عن الطحالب وعن النباتات فى أنها خالية من الكلوروفيل الأخضر لذلك لا يمكنها أن تجهز غذائها بنفسها (غير ذاتية التغذية) Heterotrophic بل يجب أن تحصل عليه سواء عن طريق ترممها على المواد العضوية الميتة أو بتطفلها على كائنات حية نباتية أو حيوانية.

تعريف الطحالب

الطحالب هي مجموعة من النباتات اللازهرية الثالوسية والنباتات اللازهرية أي لا تكون أزهار .

أما الثالوسيه أي يتكون جسمها من ثالوس Thallusأي لا تتميز إلى جذور وسيقان وأوراق حقيقية

وتحتوي على صبغة الكلوروفيل وأصباغ أخرى.

تعريف النباتات الزهرية المتطفلة

- **النباتات الزهرية المتطفلة Flowering Parasitic Plant**

وهي احد أنواع المسببات المرضية التي تتطفل على النباتات الاقتصادية المختلفة إلا أنها تختلف عن بقية المسببات بكبر حجمها وسهولة التعرف عليها.

تتميز هذه النباتات ببعض الصفات العامة :

1- عدم امتلاكها مجموع جذري و اعتمادها على العائل النباتي في حصولها على الماء والعناصر الغذائية لاستمرارها بالنمو والبقاء.

2- الكلوروفيل:تقسم من حيث احتوائها وعدم احتوائها عليه الى عديمة الكلوروفيل وفي هذه الحالة تعتمد كلياً على النبات المصاب في غذائا والحصول على الماء و العناصر الغذائية كما في الهالوك والحامول.والقسم الثاني منها يكون حاوياً على مادة الكلوروفيل لكنها تبقى محتاجه النبات العائل في الحصول على الماء العناصر الغذائية مثل نبات العدار (Striga)

الكائنات بدائية النواة

تعريف البكتريا Bacteria

البكتيريا كائنات صغيرة جدا ميكروسكوبية تتكون من خلية مفردة غير محدودة النواة تشتمل على العديد من الأنواع التى تسبب أمراضًا للنبات. وهذه الأنواع مختلفة في قدرتها المرضية ويحتوي كل نوع علي العديد من السلالات التي تختلف أيضاً في قدرتها المرضية وفي نوع النبات الذي تصيبه. ومعظم البكتريا الممرضة للنبات إختيارية الترمم ويمكن أن تنمو صناعيًا علي بيئات غذائية. وقد تكون البكتريا ذات شكل عصوي أو كروي أو خيطية أولولبية الشكل .

تعريف الريكتسيا

الريكتسيا : Ricketsia
خليه لها جدار خلوى صلب ولها غشاء بلازمى **و هى قريبة الشبه من البكتريا السالبة لجرام** تظهر كأجسام كرويه إلي عصويه الشكل بعضها له القدرة علي تغيير شكله ويصبح خيطي ولكنها إجباريه التطفل. تتكاثر بالانقسام الثنائي البسيط، تسمي هذه الكائنات المسببة لأمراض نبات الآن باسم fastidious vascular bacteria وهي بكتريا تعيش في لحاء خشب النبات ولا تسمي الآن ريكتسيا ولذلك لا تعتبر الريكتسيا من مسببات أمراض النبات.

تعريف الميكوبلازما
Mycoplasma

تعتبر هذه المجموعة أصغر الكائنات الحية الدقيقة التابعة لمجموعة بدائية النواة Procaryotes بل أصغر كائن خلوى معروف على الاطلاق تتكون من خلية ليس لها جدار خلوي وعلى هذا الأساس فهي مقاومة للبنسلين ومشتقاته ، ولكن تمتلك غشاء بلازمى وتتحلل بواسطةالمنظفات الصناعية ، والكحولات ، وتتميز الميكوبلازما أنها ذات اشكال مختلفة قد تكون كروية أو كمثرية الشكل وعاده غير متحركة ولكن بعض الأنواع تظهر حركه انزلاقية على الاسطح المائية.

- حتى سنة 1970 كان المعتقد أن الأمراض المعروفة بأمراض الاصفرار تتسبب عن فيروسات إلى أن أكتشف العالم اليابانى Doi و زملاؤه أن مسببها هو ما أطلقوا عليه فى ذلك الوقت الكائنات الشبيهة بالميكوبلازما Mycoplasma-like organisms ثم تحول الاسم سنة 1994 إلى فيتوبلازما تمييزا لها عن ميكوبلازما التى تسبب أمراض للحيوان .و هى تقطن اللحاء و يساعدها مرونة التركيب على المرور من خلال الأنابيب الغربالية . فى حالة الأشجار المصابة بها فإنها تنتقل عبر اللحاء إلى الجذور شتاء و إلى المجموع الخضرى فى الربيع .تنتقل الفيتوبلازما من النباتات المصابة إلى السليمة عن طريق ناقل حشرى و هو غالبا من نطاطات الأوراق .

تعريف الإسبيروبلازما
Spiroplasma

- الاسبيروبلازما اكتشفها Davis سنة 1972 فى لحاء نباتات الذرة المصابة بالتقزم ، و هى تختلف عن الفيتوبلازما فى أنها حلزونية الشكل و يمكن إنماؤها على البيئات الصناعية .منها أنواع متطفلة و أخرى تعيش رميا على سطح أوراق و أزهار النبات .تتضمن الأعراض المصاحبة لها التقزم و الشحوب و صغر حجم الثمار و الأوراق و الذبول . وهى تصيب اللحاء و يفترض أنها تسد الأنابيب الغربالية ، بالإضافة إلى إنتاجها لتوكسينات و حمض لكتيك سام للحاء النبات، كما أنها تحدث خللا فى منظمات النمو فى النبات

الكائنات التابعة للمملكة الحيوانية

تعريف النيماتودا
Nematode

النيماتودا حيوانات لا فقارية اسطوانية دودية الشكل وهى بصورة عامة حيوانات مائية و لابد أن يحيط جسمها غشاء رقيق من الماء فى التربة لتظل حية و نشطة و قد استقر الرأى على وضعها فى قبيلة مستقلة Phylum Nematoda التابعة للمملكة الحيوانية وتعتبر النيماتودا من المسببات المرضيه الهامة للنبات وهى إجبارية التطفل على النبات و هى إما متطفلات خارجية على أنسجة الجذور Ectoparasites تحصل على غذائها من الجذر أو متطفلات داخلية فى داخل الجذور Endoparasites أو تتطفل على المجموع الخضرى و تتميز النيماتودا غالبا بوجود رمح Stylet ضمن أجزاء الفم تخترق به أنسجة النبات و تحصل على ما يلزمها من الغذاء.

تعريف الفيروسات
Virus

الفيروسات مسببات مرضية إجبارية التطفل ، وهى تصيب الإنسان و الحيوان و النبات. يتكون الفيروس من حمض نووى RNAأو DNA. يغلف الحمض النووى بغلاف بروتينى يعرف بالكابسيد ، يتركب من تحت وحدات تعرف يالكابسوميرات . الفيروسات عادة صغيرة جدا وعلى ذلك يلزم لدراستها استخدام المجهر الإلكتروني ، و هى قد تكون ذات شكل كروى متعدد الأوجه (Polyhedral) أو عصوى. بعيدا عن خلايا العائل فإن جزيئات الفيروس ليس لها أى نشاط أما فى الخلايا الحية للعائل فإنها تحدث تأثيرها المرضى و تستغل الطاقة الكيماوية للعائل و البروتين و الأحماض النووية لتضاعف نفسها.

الفطريات

Fungi

تذكر الآتى:

1- تعريف الفطريات
2- تصنيف الفطريات.
3- تغذية الفطريات

مورفولوجيا الفطريات

يعرف جسم الفطر بالثالوث الفطري Fungal thallus ويتركب فى بعض الأنواع من خلية واحدة ولكنه في غالبية الفطريات يتركب من خيوط دقيقة تسمى الهيفات Hyphae ومفردها Hypha ومجموع هذه الخيوط تسمى بالمسيليوم mycelium وتكون هذه الخيوط متفرعة فى جميع الاتجاهات.

وأمكن باستخدام الميكروسكوب الألكترونى لبعض الفطريات معرفة التركيب الدقيق للخلايا الفطرية والذى يتضح فيما يلى:-

1- الجدار الخلوي Cell wall:

يغلف الجدار الخلوي الخلايا الفطرية من الخارج ويدخل في تركيبه في معظم الفطريات مادة الكيتين Chitin الا أن البعض الآخر من الفطريات مثل الفطريات البيضية وجد أن جدارها الخلوي يتكون أساساً من مادة السليولوز Cellulose ولقد وجد أن الجدار الخلوى يتكون من وحدات ألياف دقيقة microfibrs فى هيئة طبقة أو أكثر.

2- السيتوبلازم Cytoplasm:

يبطن السيتوبلازم الخلية من الداخل وتسمى الطبقة الخارجية منه والتى تبطن الجدار الخلوى بالغشاء البلازمي الخارجي Plasma membrane وتسمى الطبقة الداخلية منه بالسيتوبلازم أو الاندوبلازم endoplasm ويتكون من شبكة أندوبلازمية تكون ملساء أو محببة ويحتوى السيتوبلازم أجسام صغيرة تعرف بالريبوسومات ribosoms بالإضافة إلى المواد الغذائية التي تكون فى صورة نقط زيتية أو حبيبات من الجليكوجين ووجود هذه المواد بالسيتوبلازم هي التى تعطيه المظهر الحبيبي.

3- النواة Nucleus:

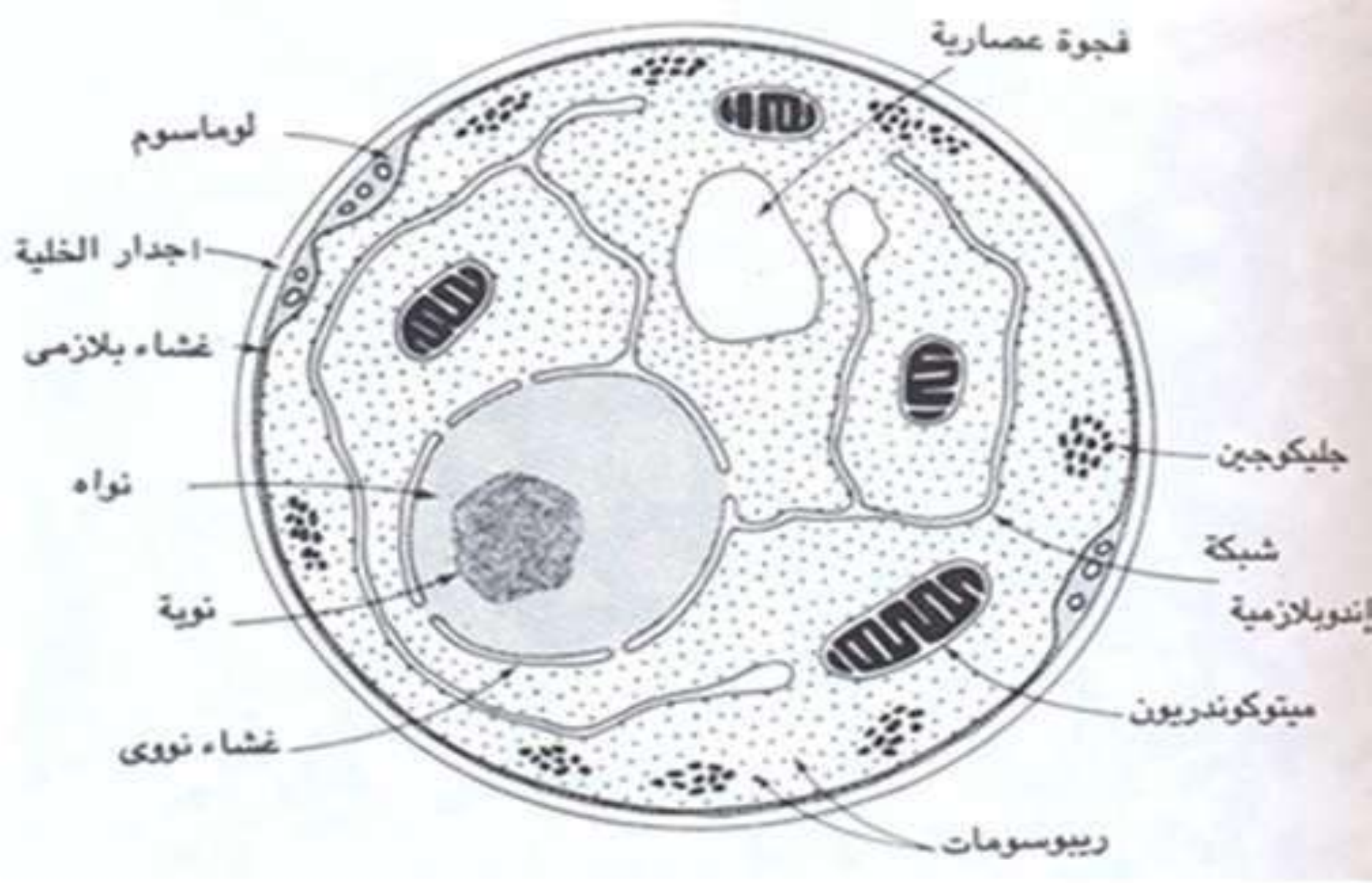
توجد فى الخلية الفطرية نواة واحدة أو أثنين أو عديد من الانوية على حسب نوع الفطر وحجم النواة عموماً فى الفطريات صغيرة جداً وتكون محاطة بغشاء نووي مزدوج يحتوى على ثقوب وقد أمكن تميز نويات nucleulus وكروموسومات داخل نواة خلية الفطر وأمكن فى كثير من الفطريات معرفة عددها.

4- الميتوكوندريا Mitochondria:

وهى أجسام صغيرة لها أهمية كبيرة فى عملية التمثيل الغذائي للخلية الفطرية وهى تشبه في الشكل الى حد كبير مثيلتها فى النباتات الراقية ولوحظ أنها تحاط بغشاء رقيق يشبه الغشاء النووى الا أنه لايحتوى على ثقوب كما أن طبقته الداخلية تمتد الى الداخل فى تفرعات عديدة ويختلف حجم وشكل الميتوكوندريات باختلاف نوع الفطريات عموماً والظروف البيئية المحيطة.

5- اللوماسومات Lomasomes:

وهى أجسام برتوبلازمية ذات أشكال مختلفة حوصلية أو أنبوبية تظهر بين جدار الخلية وبين الغشاء البلازمي الخارجي ويعتقد أن لها علاقة بتكوين الجدار الخلوي.



رسم تخطيطى لقطاع عرضى فى خلية فطرية بصفة عامة

البيئات المغذية للفطريات

يتحتم على الباحثين فى مجال الفطريات التعرف على ماهية البيئات المغذية المستخدمة فى عزل الفطريات المختلفة والتى تنقسم بشكل عام الى ثلاثة أنواع رئيسية وهى:

بيئات طبيعية Natural media

بيئات شبة مركبة Semi synthetic media

بيئة مركبة Synthetic media

اولا :ـ البيئات الطبيعيه:

هى البيئات التى تتكون من مواد طبيعيه معقده غير معروفة التركيب عباره عن مستخلصات نباتيه او حيوانيه وتحضر عادة اما من الانسجه النباتيه او البذور او الثمار او غيرها .. وهى تماثل تقريبا العوائل الطبيعيه التى تنمو عليها الفطريات، ومن امثلتها بيئة خلاصة المولت ، وبيئات الخبز والموز والببتون وغيرها ...

ومزايا هذه البيئات هى :

1- رخيصة الثمن 2- سهله التحضير 3- يسهل لكثير من الفطريات النمو عليها وانتاج جراثيم . سهوله الحصول على هذه المواد .وتستخدام هذه البيئات الطبيعيه فى التجارب العاديه وحفظ المزارع الفطرية والاختبارات الاولية والعزل .

ثانيا :ـ البيئات شبه المركبه

هى البيئات التى تحوى جزئيا بعض المواد الطبيعيه المعقده التركيب وتحضر مثل هذه البيئات باضافة مركبات معروفه التركيب الى واحد او اكثر من المواد الطبيعيه غير المعروف تركيبها مثل بيئة اجار البطاطس والدكستروز (PDA) Potato dextrose agar ومن المعروف ان الاجار مادة غير محدده التركـيب حـيث انه مادة مستخلصه من نباتات بـحريه.

ثالثا :ـ البيئات المركبه " محددة التركيب"

هى البيئات التى تتكون من مواد معروفه التركـيب الكيماوى ودرجــة تــركيزها ، وليس من الـضرورى ان تكون الـمواد المستعمله اصلا محضره كيمائيا ومن المهم ان تكون هذه المواد نقيه من ناحيه تركيبها الكيماوى ... المركبه قليله وخاصة فى التجارب التى يقصد بها دراسـة تغذيـه الـفطر . وفـى هذه التجارب الفسيولوجية الهامة لا تصلح سوى البيئات المركبه لمعرفة تأثير غذاء الفطر وانمائه وخاصة نقص او ازدياد عنصر ضرورى معين وتأثير ذلك على النمو .. واختيار الـبيئة يحتـاج الــى درايـة ودقــه حـيث يجـب مـراعاة احتوائـها علـى العناصـر الضروريه اللازم وجودها فى البيئة حتى ينمو الفطر.

ويوجد نوعين من البيئات (صورها) ....سائله .... وصلبه .

ثالثا :ـ البيئات المركبه " محددة التركيب"

هى البيئات التى تتكون من مواد معروفه التركيب الكيماوى ودرجة تركيزها ، وليس من الضرورى ان تكون المواد المستعمله اصلا محضره كيمائيا ومن المهم ان تكون هذه المواد نقيه من ناحيه تركيبها الكيماوى ... المركبه قليله وخاصة فى التجارب التى يقصد بها دراسة تغذيه الفطر . وفى هذه التجارب الفسيولوجية الهامة لا تصلح سوى البيئات المركبه لمعرفة تأثير غذاء الفطر وانمائه وخاصة نقص او ازدياد عنصر ضرورى معين وتأثير ذلك على النمو .. واختيار البيئة يحتاج الى دراية ودقه حيث يجب مراعاة احتوائها على العناصر الضروريه اللازم وجودها فى البيئة حتى ينمو الفطر. ويوجد نوعين من البيئات (صورها) ....سائله .... وصلبه . وتستخدم كل من البيئتين الصلبه والسائله فى انماء الفطريات وعادة ما يستعمل الاجار فى تماسك البيئات السائله وهناك بيئات صلبه اصلا مثل : الذرة والشعير

مزايا البيئات الصلبه :

1- سهوله استعمالها وخاصة نقلها من مكان الى اخر دون ان يسبب ذلك اضطراب الفطر كما يحدث عند اهتزاز البيئات السائله عند اختبارها .
2 - يمكن اجراء الاختبارات بسهوله وملاحظة وجود اى تلوث .
3- سهولة العزل بطريقة استخدام الجرثومه الفرديه Single spore او بطريقة طرف الهيفا Hyphal tip .
4- تستخدم فى حفظ الفطر لفترات طويله.
5- سهوله قياس النمو الطولي على فترات واختبار الفطر من حيث تكوين الجراثيم
6 - ينصح باستخدامها فى اجراء التجارب المبدئيه.

مزايا البيئات السائلة:

1- تستخدم فى حاله التجارب الدقيقه مع البيئات المركبه .
2- يمكن التحكم فيها بوزن الكيماويات المستعمله بكل دقه .
3- يمكن تهويتها بالرج او تمرير هواء معقم داخلها .
4- تفضل فى تجارب تأثير الغذاء او العناصر الضروريه او الفيتامينات .
5- يمكن حساب الوزن الجاف للميسليوم بكل دقه لتعطى صورة اوضح للنمو مما تفتقر اليه البيئة الصلبه .

التعقيم Sterilization

يقصد بهذه العملية الاجراءات المتبعة لجعل مادة ما او مكان ما خالى تماما من الكائنات الحية الدقيقة او وحداتها التكاثرية ويتحتم على الباحث فى مجال الفطريات التعرف على طرق التعقيم المثلى التى يجب اتباعها قبل البدء فى عملية العزل.

ومن أهم طرق التعقيم المتبعة فى معامل الفطريات ما يلى:

التعقيم بالحرارة (الجافة - المصحوبة برطوبة)

التعقيم بالمطهرات الكيماوية

التعقيم بالاشعاع

التعقيم بالترشيح

طرق عزل وانماء الفطريات
Isolation and cultivation of fungi

اولا: العزل من الاجزاء النباتية isolation from plant parts

1- النقل المباشر من الجزء المصاب

كثير من الفطريات التى تصيب الاوراق او السوق يمكن عزلها بسهولة بالنقل المباشر من الجزء المصاب وذلك اذا ما تميزالفطر بتكوين ميسليوم وجراثيم هوائية ويتم العزل بوضع الجزء النباتى المصاب فى جو رطب للسماح بخروج الهيفات والحوامل الجرثومية ثم بواسطة ابرة معقمة يتم النقل مباشرة الى الانابيب او الاطباق الحتوية على البيئة.

ويمكن وضع الجزء النباتى المراد العزل منه على ورقة ترشيح مبللة داخل طبق بترى للسماح بنمو الميسليوم خارجيا وربما تنمو الفطريات الرمية الموجودة على سطح الجزء النباتى اسرع من الفطر المراد عزلة وللتغلب على هذة المشكلة يمكن تعقيم الجزء النباتى سطحيا قبل اجراء عملية العزل بواسطة محلول هيبوكلوريت الصوديوم.

2- عزل الفطريات الممرضة من الأجزاء المتعفنة

مثل الثمار والتي غالبا ما تكون مصابة بالعديد من الكائنات فيمكن عز الفطريات بطريقة التخفيف أو التخطيط حيث يعمل معلق مائي من الجزء النباتي المتعفن ويخفف هذا المعلق عدة مرات ثم يؤخذ نقطة واحدة من اخر تخفيف بواسطة ابرة ذات قمة مستديرة ويخطط بها على بيئة الاجار – وتحضن الطباق لفترة مناسبة 3 - 7 أيام وتفحص وتفضل المستعمرات الأخيرة الناتجة من كل تخفيف وتزرع فى أنابيب ويتم التخطيط بطريقتين:-

طريقة الخط المتعرج zigzag

طريقة الخطوط المتوازية على ألا يزيد عدد الخطوط فى الطبق عن2- 3) خط ويراعى أن يتم تحضين الطباق الملقحة على درجة حرارة (22- 25م)

3- عزل الفطريات من الاجزاء النباتية المختلفة مثل الجذور او السوق اوالاوراق

1- يغسل الجزء النباتى جيدا بالماء العادى لازالة الاتربة والمواد العلقة بة ثم يقطع الى قطع صغير طول كل منها حوالى (1سم)

2- تغمر القطع فى محلول هيبوكلوريت الصوديوم 5. % لمدة (2- 3) دقيقة للتطهير السطحى حيث يعمل على قتل كل الكائنات الدقيقة المتعلقة على سطحة ويمكن الغمر فى محلول كلوريد الزئبقيقك (1- 2) فى الاف لمدة 1- 2 دقيقه

3- تنقل القطع النباتة الى ماء مقطر معقم لازالة الاثر الباقى لمحلول التعقيم على ان تكون عملية الغسيل عدة مرات.

4- تجفف القطع النباتية بين ورقتين معقمتين ثم تنقل بسرعة بواسطة ملقط معقم الى اطباق بترى تحتوى على البيئة المراد العزل عليها على الا يزيد عدد القطع فى كل طبق عن 4- 5 قطع.

5- تحضن الاطباق لمدة من(3- 7) ايام على درجة حرارة 22-25 م مع الفحص يوميا .

6- يجرى فحص ميكروسكوبى للفطريات الناميه على الاجزاء النباتيه ثم تنقل الى انابيب اختبار بها البيئة المناسبه.

4- عزل الفطر من التربة (الدروس العملية)
5- عزل الفطر من الهواء (الدروس العملية)
6- عزل الفطر من البكتريا (الدروس العملية)

النمو فى الفطريات Fungal growth

*** تعريف النمو:ـ**

يصعب تعريف النمو بدقه ، والتعريف المجازى للنمو بأنه الزيادة التى تحدث فى حجم او عدد الخلايا لفطر معين فى فترة زمنيه معينه .

*** مراحل النمو :ـ**

1- مرحلة بدون نمو ظاهر:No apperent growth

2 - مـــرحلـــة نمو ســـريع: Rapid growth

3 - مـــرحلـــة بـــدون نـمـو او(مرحلة التحلل الذاتي)

No apperent growth

1- مرحلة بدون نمو ظاهر No apperent growth

يحتمل وجود تفسيرين لهذه الظاهرة :

1- انه فى حالة استخدام الجراثيم كلقاح فانه تمضى فترة لا يبدأ فيها النمو تعرف بفترة الحضانه وهذه الفترة تختلف مدتها باختلاف الانواع الفطريه وطبيعه اللقاح من حيث العمر والقوة والظروف السائدة .

2- اما فى حاله اذا كان اللقاح جزء من ميسليوم فطرى فالغالب يحدث تحطيم لخلايا الهيفات عند نقلها ولذلك فانها تأخذ بعض الوقت قبل ان تبدأ الهيفات مرحلة النمو من جديد .

وابتدأ النمو فى الحالتين يكون بطئ او غير ملموس والوقت المحصور بين النمو البطئ والسريع يطلق عليه الزيادة الاولية . وهذه تمثل الشق الثاني من هذه المرحلة وهذه الظاهرة قد توضحها بعض الفطريات اكثر من غيرها وقد تختلف باختلاف الظروف البيئية السائدة حيث ان درجة الحرارة الاقل من المثلى تطيل هذه الفترة وبذلك يمكن تميزها بوضوح .

2- مرحلة النمو السريع Rapid growth

ونتيجتها زيادة فى الوزن الجاف او قطر المستعمرة بمرور الوقت ولفترة معينة شريطة توفر الاكسجين والمواد الغذائية، هذا وتشير القواعد المورفولوجية لنمو الميسليوم الى ان التقدم والزيادة فى النمو يرجع الى اطراف الهيفات اما الخلايا الداخلية لهيفات الفطر فانها تقوم بامداد اطراف الهيفات بالغذاء.

تحدث بعض التفاعلات الكمياوية خلال هذه الفترة من النمو السريع وتتضمن هذه التفاعلات استعمال الكربوهيدرات والنيتروجين والفوسفات وربما تظهر او لا تظهر نواتج التمثيل الغذائي (الهدم والبناء) فى البيئة فى هذا الوقت وتمتاز هذه المرحلة من النمو بان عملية التنفس تكون فى اوج نشاطها ، هذا وتظهر بعض الدراسات والمشاهدات القليلة العلاقة بين عملية التكاثر وهذه المرحله من النمو انه فى البيئات الثابته تتكون الجراثيم دائما فى نهاية مرحله النمو السريع وربما تظهر الجراثيم قبل ذلك.

3- مرحلة التحليل الذاتى ونقص الوزن Autolysis phase

ويميزها عادة نقص فى وزن الميسليوم وظهور النيتروجين والفوسفات فى البيئة والنقص فى الوزن ما بين نقص غير ملموس الى نقص كبير ، والسائد فى هذه الحالة حدوث نقص سريع فى الوزن فى فترة قصيرة لا يتبعه تغير فى الوزن ويرجع تحلل الميسليوم الى تحلل الكربوهيدرات والبروتين بواسطة انزيمات يفرزها الفطر وتظهر الخلايا فى نهاية فترة النمو هذه خالية من المحتويات ،....

ومن المعلومات المحددة يرجع توقف النمو الى عاملين :

أ- زيادة تركيز المواد الغذائية فى البيئة مما ينتج عن نواتج عملية الهدم والبناء فى البيئة وتعرف هذه النواتج بالمواد المانعه وهى تعيق النمو. وتعتبر الاحماض العضوية فى البيئة الغنية بالمواد الكربوهيدراتية او الامونيا فى البيئات الغنية بالنيتروجين هى المسئوله عن اعاقة النمو وتدهوره.

ب - فى البيئات المتوازنة يكون العامل الاساسي فى وقف النمو هو نفاذ المواد الكربوهيدراتية .

طرق تعريف الفطريات:

بعد الإنتهاء من عملية العزل والحصول على المزرعة يتم تعريف الفطريات المعزولة بشكل مبدأى من خلال الخصائص المورفولوجية والخصائص المجهرية للمزرعة الفطرية.

الخصائص المورفولوجية : يتم فحص مزرعة الفطر (على البيئة الصلبة) مورفولوجياً وتسجل الخصائص المورفولوجية المميزة مثل لون المزرعة ـ طبيعة نمو الفطرعلى بيئة الآجارـ كثافة النموـ شكل الحافة. ثم يراقب مدى تغير لون المزارع مع مرور الوقت من عدمه.

الخصائص المجهرية : حيث تحضر شرائح من النمو الفطرى وتصبغ بصبغة اللاكتوفينول وتفحص جيداً تحت المجهر ويتم تسجيل الخصائص المجهرية للمزرعة (شكل الهيفات ـ شكل الجراثيم ـ قياسات الجراثيم).

*** حفظ المزارع الفطريه :**

تتوقف مدة حفظ الفطر فى البيئة على عدة عوامل من اهمها :
طبيعه الفطر ونوع البيئة المستعمله درجة الحرارة والرطوبه .
فبعض الفطريات وخاصة تلك التى تكون اجسام حجريه مثل الفطر *Sclerotium cepivorum* تبقى حية عدة سنين حتى جفاف البيئة الناميه عليها ، وبوجه عام يمكن حفظ المزارع الفطريه على درجة 20م تقريبا لعدة اشهر .
وقد تتغير بعض الفطريات عند تكرار تجديدها فى المزارع الصناعيه وذلك لتكوين طفرات مما يؤدى الى تغيير لون الميسليوم وكمية الجراثيم المتكونه وغير ذلك ، وبعض الفطريات تفقد قدرتها على العدوى Virulence عند انمائها فى البيئات الصناعيه لمدة طويله.

الحفظ فى انابيب على درجة حرارة الغرفة :

وهى من اسهل الطرق وابسطها حيث تلقح انابيب الاجار المائل بالفطريات وتحفظ فى دولابها الخاص.

عيوبها: سرعة جفاف المزرعة مما يستدعى تجديدها باستمرار وعلى فترات متقاربة.

الحفظ فى الثلاجة او غرفة باردة (5-8م):

تشنة الطريقة السابقة ولكن الحفظ بهذة الطريقة يطيل فترة الحفظ . وتجدد المزرعة كل (3-4) شهور حيث ان جفاف المزرعة لا يحدث ال بعد فترة طويلة.ولتجنب جفاف المزرعة يمكن تطهير فوهة الانبوبة على اللهب ثم تضغط السدادة القطنية تماما فى الانبوبة وتغطى الفوهة بعد ذلك بسدادة معدنية او بلاستيك او شمع البرافين.

الحفظ تحت زيت معدنى :

حيث تغطى المزارع الفطرية النامية على اجار مائل فى انابيب بزيت معدنى معقم (فى الفرن على 150م° لمدة 3 ساعات) بعد ان يبرد الزيت يغطى بة سطح الاجار ويرتفع عنة بحوالى 1سم وتغطى الانابيب بسدادة فلينية ثم شمع برافين .

مميزاتها: رخص ثمنها, عدم تلوث المزارع بالحلم , لا تتطلب اجهزة مرتفعة التكاليف

الحفظ فى التربة :

توضع تربة فى انابيب اختبار الى نصف حجمها وتعقم فى الاوتوكلاف ويصب عليها معلق الجراثيم وتترك فى درجة حرارة الغرفة لمدة (7- 10) ايام ثم تحفظ فى الثلاجة لمدة طويلة دون تغير فى حيويتها تفيد هذة الطريقة فى حفظ مزارع فطر ال *Fusarium* ومعظم الفطريات التى تحفظ بهذة الطريقة تحتفظ بحيويتها لمدة طويلة .

الحفظ فى درجة تجمد منخفضة (-20م):

وفى هذة الطريقة يمكن ان تعيش الفطريات فترة طويلة دون تلوث.

الحفظ بالتجفيد:

والحفظ بالتجفيد يكون بوضع المزارع الفطرية او معلق الجراثيم فى لبن خال من الدهن – ويجفف على درجة (-25م) , وذلك بسحب بخار الماء تحت ضغط منخفض – ثم تصهر فوهة الانبوبة لتصبح كالانبولة وبذلك يمنع تلوثها

وهى طريقة عالية التكاليف وتستطيع الفطريات ان تعيش (5- 10) سنوات ولا تستخدم هذة الطريقة لحفظ Pythium, Phytophthora حيث انها لا تتحمل هذة المعاملة.

الحفظ باستخدام النيتروجين السائل :

حيث تحفظ فى جلسرين 10 % فى انبولات زجاجية وتجمد على حرارة منخفضة (-96م) باسخدام النيتروجين السائل.

أمثلة للأمراض الفطرية

تفحم الحبوب فى الذرة الرفيعة

Grain Smut of Sorghum

المسبب :-

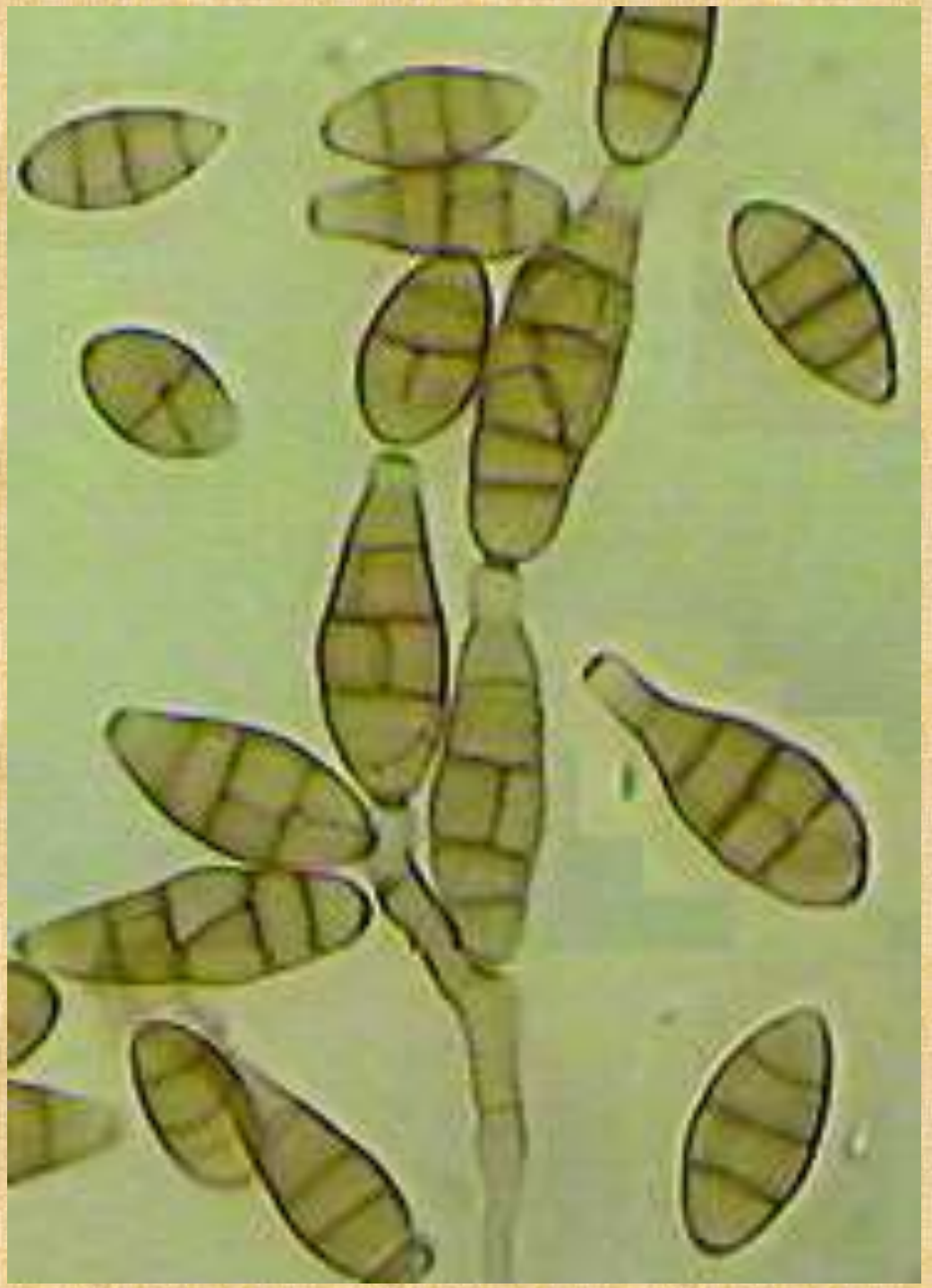
الفطر *Sphacelotheca sorghi*

اللفحة المبكره فى الطماطم والبطاطس

Early Blight of Tomato and Potato

المسبب :-

الفطر *Alternaria solani*



الأعراض على البطاطس :

البكتيريا Bacteria

هي كائنات حية وحيدة الخلية ،مجهرية لا ترى بالعين المجردة ، لا تحتوي على نواة حقيقية ولا على غلاف نووي وانما تحتوي على مادة نووية هي عبارة عن شريط من حامض نووي DNA .يتراوح طولها بين 0.5 – 5 ميكرون وقطرها من 0.5 – 1 ميكرون . وهناك أشكال مختلفة من البكتيريا فقد تكون كروية Coccus او عصوية Bacillus او حلزونية Spirillum. وتتكاثر البكتيريا بالانشطار الخلوي وقد تكون غير متحركة او متحركة بواسطة اسواط .

طرق عزل البكتيريا الممرضة للنبات

قبل اجراء عملية العزل يجب مراعاة الآتى:

- من الثابت أن استخدام عينات تمثل الأعراض المبكرة للإصابة أفضل بكثير من استخدام عينات تُظهر الأعراض المتأخرة وذلك لتسهيل عملية العزل ومنع فرصة عزل مسببات أخرى ثانوية.
- العزل من العينات المصابة مباشرة بعد جمعها من الحقل حيث قد يؤدى طول فترة النقل والتخزين إلى فشل عمليات العزل. يلاحظ أنه إذا كانت العينات المعزول منها عينات طازجة وحالتها جيدة فإن نتيجة التخطيط على البيئات الصلبة هو ظهور المستعمرات سائدة فى الطبق دون تلوث بالرميات.
- التعقيم السطحى للاجزاء النباتية بالمطهرات غير مطلوب فى عزل البكتيريا إلا فى حالات نادرة. والسبب فى ذلك هو أن المواد الداخلة فى التعقيم تمتص بسرعة فائقة فى الأنسجة النباتية وتقتل البكتيريا الموجودة بها. أهم المواد المستخدمة فى التعقيم هى هيبوكلوريت الصوديوم ويستخدم بنسبة 0.5% لمدة دقيقتين ثم الشطف بالماء المعقم عدة مرات.
- من الضرورى جداً أن يكون سطح البيئة جاف وإلا فإن البكتيريا ستسبح على السطح المبلل وتتكون نموات ممتزجة ولا يمكن الحصول على مستعمرات فردية . ولتنفيذ ذلك تبرد البيئة إلى 45 درجة مئوية قبل صبها وتترك الأطباق المصبوبة علي درجة حرارة الغرفة لمدة 24-48 ساعة . ويمكن اختصار الوقت إذا ما ترك الطبق مفتوحاً فى Laminar Flow لمدة 15 دقيقة مع ملاحظة أن يكون الفلتر الخاص بالتهوية صالح للاستعمال .
- إذا تركت الأجزاء النباتية مبللة عقب جمعها فإنها ستحمل العديد من البكتيريا الرمية التى تفوق سرعة نموها البكتيريا الممرضة وفى هذه الحالة يحتاج العزل إلى بيئات شبه اختيارية أو تحضير سلسلة من التخفيفات العالية

أولاً: عزل البكتيريا من الأنسجة النباتية:

يتم ذلك بعد اجراء عملية التعقيم السطحى للجزء النباتى (جذر – ساق – ورقة) حيث يتم تقطيعه الى قطع صغيرة تنقل بواسطة ملقط معقم الى هون صينى معقم حيث يتم هرس النسيج النباتى بشكل كامل ويتم استخدام العصير الناتج من عملية الهرس لاجراء عملية التخطيط على البيئة الصلبة.

ثانياً: عزل البكتيريا من التربة :

ويتم ذلك بطريقتين :

أ -طريقة ووركب Woorcap technique

1- نأخذ عدة أطباق بتري ونضع في كل منها 20مل من البيئة المسالة ثم نوزن 0.1 جرام من التربة وننشرها على سطح البيئة وذلك في كل طبق من الأطباق قبل تصلب الوسط الغذائي فيه.

2- نقوم بتحريك الأطباق بشكل دائري مع عقارب الساعة ثم عكس عقارب الساعة عدة مرات لخلط البيئة مع التربة.

3- حضن الأطباق كما في الخطوة السابقة ثم لاحظ النمو.

ب -طريقة التخفيف: Dilution technique

1 -نعمل تخفيفات للتربة وذلك باستخدام خمسة أنابيب معقمة ومحتوية على 9مل من الماء المقطر المعقم نضع 1 جم من التربة في الأنبوب الأول لعمل تخفيف للتربة ويكون التخفيف هنا 1/10.

2 -نأخذ باستخدام ماصة معقمة 1 مل من الأنبوب الأول ونضيفه إلى الأنبوب الثاني فيصبح به 10 مل ويكون تركيزه 1/100.

3 -نكرر العملية مع الأنبوب الثالث فيصبح تركيزه 1/1000.

4 -نكرر العملية مع الأنبوب الرابع فيصبح تركيزه 1/10000.

5 -نكرر العملية مع الأنبوب الخامس فيصبح تركيزه 1/100000.

6 -نأخذ من الأنابيب الثلاثة الأخيرة 0.1 مل من كل أنبوب ونضعها في ثلاثة أطباق ونقوم بفردها على سطح البيئة باستخدام ساق زجاجية معقوفة معقمة أو نكرر ما فعلناه في طريقة ووركب.

7 -حضن الأطباق كما سبق ثم لاحظ النمو على الأطباق.

ثالثاً: العزل من الافرازات البكتيرية Ooze

عند التأكد من وجود الـ Ooze فإن الخطوة التالية هو قطع جزء من العينة المصابة باستخدام أدوات تشريح معقمة ثم تعلق فى 2-3 مم ماء معقم أو Phosphate Buffer معقم أو بيئة سائلة معقمة حتى تنتشر البكتيريا فى السائل .

تترك العينة لمدة 20-30 دقيقة على درجة حرارة الغرفة ثم تغمس الإبرة البكتيرية من المعلق وتخطط على البيئة الصلبة المناسبة وتكرر في عدة أطباق .

بعد التخطيط تحضن الأطباق على درجة حرارة 25-30م لكل المسببات البكتيرية باستثناء البكتيريا Clavibacterium لأن درجة الحرارة المثلى لنموها تتراوح بين 23-25م . ويجب متابعة فحص الأطباق يومياً للكشف عن ظهور المستعمرات .

رابعاً: العزل بالبيئات الاختيارية Selective media

تعتبر عملية العزل من التربة أو من الأجزاء النباتية المتحللة عملية صعبة نظراً لوجود خليط من المترممات والمتطفلات والأولى أسرع فى نموها ولحل هذه المشكلة نلجأ إلى البيئات الاختيارية. والفكرة منها هى تنشيط ظهور الأعداد القليلة من المسببات المرضية المخلوطة بأعداد كبيرة من الكائنات الأخرى الموجودة فى التربة

وهناك عدة ثغرات فى استخدام هذه البيئات

1 ـ معقدة - مرتفعة التكاليف – صعبة التحضير .

2 ـ قد تعطى نتائج غير حقيقية عن تعداد البكتيريا المعزولة وذلك لوجود المواد المثبطة فى البيئة.

إلا أنها ذات فوائد عديدة خاصة فى حالة الدراسات الكمية لحياة البكتيريا الممرضة والرمية فى منطقة الريزوسفير Rhizosphere وفى منطقة الـ Phyllosphere وأيضاً على البذور والأجزاء النباتية. وتعتمد هذه البيئات على التحكم في مصادر الكربون في البيئات المختلفة ذات التركيب المعقد . وأيضاً فى التداخل Inclusion للصبغات والمضادات الحيوية أو المضادات الحيوية المحببة للمسبب .

خامساً: العزل من التدرنات البكتيرية Bacterial galls

تعريف البكتيريا الممرضة للنبات

أهم الأسس المستخدمة في تعريف وتصنيف البكتيريا هي:

1- الصفات الظاهرية النظرية Macroscopic morphology

ومنها: الشكل العام للمستعمرة البكتيرية (الحجم – القوام- الصبغات- سرعة وطبيعة النمو في البيئة).

2- الصفات الظاهرية المجهرية Microscopic morphology

ومنها – الشكل العام للخلية البكتيرية (عصوية، كروية، حلزونية...الخ) – صبغة جرام.بالإضافة الى وجود الأسواط وموضعها، الأهداب، سمك الجدار (عن طريق الـ .E.M).

3- الخصائص البيوكيميائية والفسيولوجية:

وتشمل الخصائص الإنزيمية مثل:

- تحليل السكريات
- القدرة على تحليل بعض المركبات الكيميائية و البروتينات.
- الإستجابة لتأثير المضادات الحيوية (حساسة، مقاومة).

4- التحليل الكيميائي: كتحليل مكونات الجدار الخلوي والغشاء الخلوي.

5- التحليل السيرولوجي: التفاعل بين الأجسام المضادة Antibodies والأنتجين Antigens لتعريف الأنواع البكتيرية.

6- تحليل الحمض النووي: دراسة تعاقب وترتيب النيوكليوتيدات في الحمض النووي.

1. صبغة جرام (الصبغة التفريقية)

اهم طرق الصبغ المركب او التفريقي واول من استعملها (كريستيان جرام1884م) لذلك تعرف باسمه. عند اتباع هذة الطريقة نجد ان البكتريا تنقسم الى مجموعتين

1.بكتريا تصبغ بالصبغة القاعدية الاساسية(الكريستال البفسجي) في وجود اليود بدرجة لايمكن معها ازالة الصبغة من الخلايا بالغسيل بالكحول او الاسيتون . وتصبغ خلايا البكتريا باللون البفسجي (البكتريا الموجبة لجرام) gram positive.

2–بكتريا تزال منها الصبغة البنفسجية بعد الغسل بالكحول بسهولة لذلك (لذلك تصبح الخلايا شفافة بعد الغسل بالكحول) ولتسهيل رؤية خلاياها تصبغ بصبغ احمر مثل (الصفرانين) وتسمى بالصبغة العكسية حيث تصبغ خلايا البكتريا باللون الاحمر وتسمى البكتريا السالبة لجرام gram negative .

ميكانيكية عمل صبغة جرام

اختلفت التفسيرات والآراء حول سبب اختلاف استجابة خلايا البكتيريا لصبغة جرام، مع أنها أجمعت على أن سبب الاختلاف عائد أساسا إلى اختلاف التركيب الكيميائى لجدار الخلية البكتيرية ومن هذة التفسيرات:-

جدار البكتيريا السالبة يحتوى على نسبة أعلى من الليبيدات Lipids والمواد الدهنية مقارنة بالبكتيريا الموجبة، كما أن جدار البكتيريا السالبة يكون أقل سمكًا من الموجبة.

جدار البكتيريا الموجبة تحتوي على طبقات سميكة من مادة Peptidoglycan مقارنة بالبكتيريا السالبة.

احتواء جدار البكتيريا الموجبة على مادة معقدة من الماغنسيوم + الحمض النووي RNA بكميات كبيرة .

البكتريا السالبة لجرام تظل باستمرار سالبة .اما الموجبة لجرام يمكن ان تفقد ايجابيتها فى الحالات الآتية:

1- عندما تتقدم خلايا البكتريا الموجبة لجرام تصبح سالبة لصبغة جرام.

2- عند ارتفاع الحموضة في البيئة

3- اذا عوملت مع انزيم ribonuclase الذي يذيب حمض الريبو نيوكليك او املاحة من سطح الخلية.

4- اذا سحقت خلايا البكتريا الموجبة لجرام مع برادة الزجاج او الالمونيوم فتتكسر جدرها الخلوية وتفقد ايجابيتها للصبغة.

3. فحص حركة البكتيريا Motility of Bacteria

تقسم البكتيريا من حيث قدرتها على الحركة إلى بكتيريا متحركة (motile)وغير متحركة (nonmotile) ونظرا لوجود أعضاء حركية للبكتيريا المتحركة والتي تسمى الأسواط (flagella)فإن هذه الأنواع البكتيرية تكون متحركة حركة حيوية (vital movement)أو تسمى حركة حقيقية، ويمكن دراسة هذه الأعضاء الحركية بواسطة تحضير القطرة المعلقة * (Hanging Drop Preparation)

ملاحظة :يجب استخدام مزارع بكتيرية حديثة الزرع، لا يتجاوز عمرها 18 ساعة لأن البكتيريا تفقد قدرتها على الحركة بتقدم العمر.

الطرق البيوكيميائية منها:

1. التحلل المائي للنشا Starch hydrolysis
2. اسالة الجيلاتين Gelatin Liquefaction
3. تحلل الكازين Casein hydrolysis
4. تحلل الدهون Lipid hydrolysis
5. تحلل الاحماض الامينية Amino Acids Hydrolysis
6. تحلل الاحماض الامينية الحلقية (التربتوفان)
7. الاكسدة البيولوجية Biooxidations
8. اختبار الكاتاليز Catalase production test
9. اختبار احمر الميثيل Methyl Red (MR) Test

طرق حفظ المزارع البكتيرية

Maintenance of bacterial strain

أولا: طرق الحفظ لفترات قصيرة:

- 1) طريقة الحفظ باستخدام أنابيب الآجار المائل (Agar Slant)

مميزات الحفظ في أنابيب الآجار المائل

2)الحفظ باستخدام الماء Water

3)الحفظ باستخدام الجلسرولGlycerol

4) الحفظ تحت طبقة من الزيت على أنابيب الآجار المائل

ثانيا: طرق الحفظ لفترات طويلة :

1) الحفظ باستخدام التجفيد Lypholization
2) الحفظ باستخدام التجميد Freezed:
3) الحفظ باستخدام النيتروجين السائلLiquid nitrogen (التجميد العميق Deep freezed)
4) الحفظ باستخدام التربة المعقمةSterilized soil :

أمثلة لبعض الأمراض البكتيري

أمراض التدرنات البكتيريه

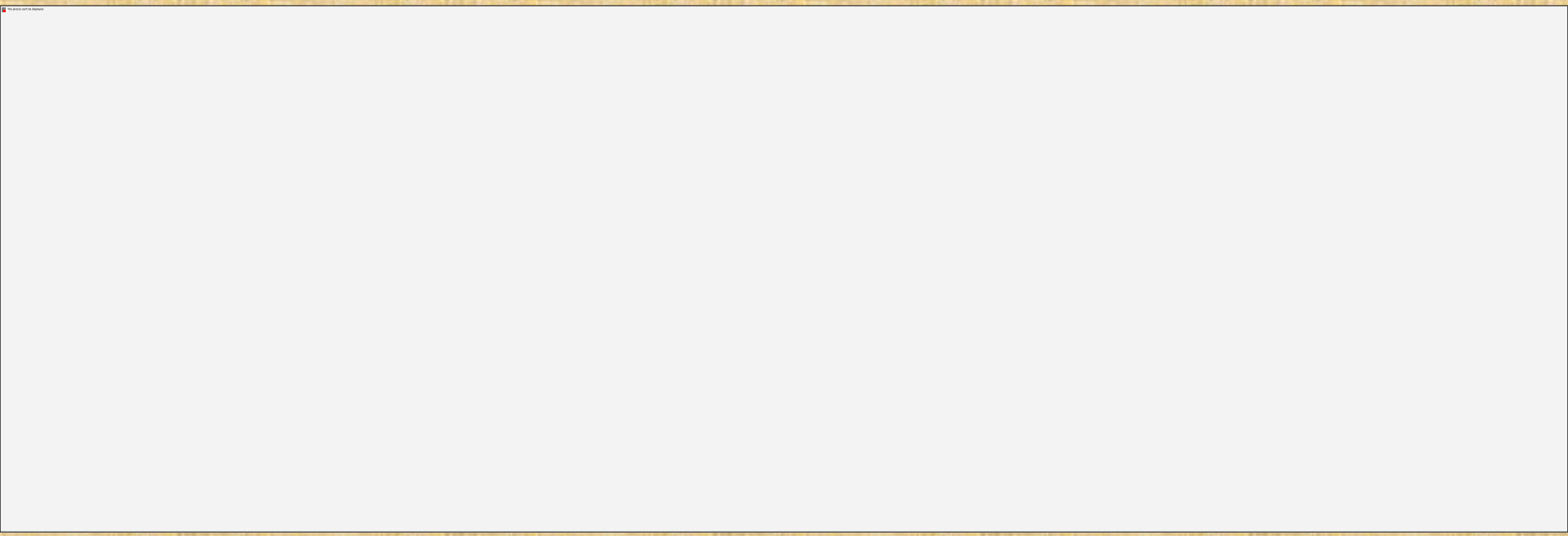
Barterial galls diseases

مرض التدرن التاجى

Crown gall disease

المسبب :-

Agrobacterium tumifaciens


The picture can't be displayed.

العفن البنى فى البطاطس أو الذبول البكتيرى

Brown rot of potatoes-bacterial wilt

المسبب :-

Pseudomonas solanacearum