الباب الأول

الأمراض النباتية

تعريف المرض النباتى وأهميته:

يعرف المرض على أنه انحراف عن الحالة الطبيعية للنبات نتيجة للإختلال فى العمليات الفسيولوجية والكيموحيويه فى النبات تؤدى إلى ضعفه كلياً أو جزئياً أو موته مما يتسبب عنه خفض القيمة الإقتصادية للنبات المصاب من حيث الكم أو الجودة أو كليهما.

توجد حالة نادرة من أمراض النبات والتى تسبب زيادة فى قيمة النبات وهى مرض تقطع اللون فى نبات التيوليب tulip breaking . يتسبب هذا المرض عن فيرس يصيب النبات ولا يؤثر على أى جزء من النبات إلا الأزهار ويسبب زركشه فى لون الأزهار ومثال ذلك أن تصبح الزهرة الحمراء زهرة مزركشه باللون الأصفر البرتقالى وتصبح بذلك الزهرة أكثر جمالاً. قديما وفى العصور الوسطى لم يكن يعرف السبب فى ذلك ولكن الأزهار المصابه كانت أكثر تفضيلاً وجمالاً من الأزهار الغير مصابه ولذلك كان الطلب على شراؤها زائد. ولذلك فقد قام الرسام العالمى دانيال رابيل سنة ١٦٦٢ برسم لوحة رائعة عن أزهار التيوليب المصابه. صورة الغلاف توضح زهره سليمه وأخرى مصابه.

تسبب أمراض النبات قله فى المحصول وقد تسبب تشويه فى شكل الأوراق أو الثمار أو النبات وقد تسبب صغر فى حجم النبات أو حجم الأوراق أو الثمار. يمكن أن يكون الخشب ومنتجاته معرض للتلوين والتعفن. فقد يظهر على خشب الأثاث تلوين نتيجة الإصابة بفطريات ويقلل من قيمة الخشب. يختلف اللون بإختلاف الفطر والخشب وعادة يكون بنى اللون. بعض أمراض النبات تكون سموم ضاره أو قاتلة للإنسان والحيوان.

تشمل دراسة أمراض النبات Plant diseases طبيعة المسبب المرضى ودورة حياته وتأثيره على فسيولوجى ومورفولوجى النبات وطرق مقاومته أو الوقاية منه. تعتبر كيفية مقاومة الأمراض جزء هام من الدراسة حيث تعتبر هى الهدف وبذلك يصبح علم أمراض النبات ذو تأثير كبير فى زيادة إنتاجية الفدان وزيادة ربح المزارع وبالتالى زيادة الدخل القومى.

تؤدى الأمراض النباتية إلى فقد سنوى فى المحاصيل يقدر بحوالى ١٥ ٪ وذلك فى الدول الصناعية المتقدمة وحيث توجد برامج على درجة كبيرة من التقدم والتطور لوقاية النبات وفى غيرها من الدول فإن أمراض النبات غالباً ما تقضى على جزء كبير من المحصول. يقدر الفاقد فى الولايات المتحدة الأمريكية نتيجة للإصابة بالأمراض حوالى مائة بليون دولار عام ١٩٨٨. وفى الواقع أن قيمة تكاليف المقاومة وهى الأساس للحصول على محصول إقتصادى لا تدخل ضمن هذه القيمة ويلاحظ أنها باهظة التكاليف خاصة لإرتفاع سعر المبيدات المستعملة. ومن هنا يتضح أن لأمراض النبات دور كبير فى إقتصاديات الأمم.

تقدير خسائر أمراض النبات:

يلاحظ فى تقدير الخسائر الناتجة عن أمراض النبات أن تذكر النسبة المئوية للفقد فقد تكون ١٥ ٪ من المحصول ثم تقدر قيمة الفقد مادياً بالدولار أو الجنيه أو الريال أو الدينار وبذلك يوجد تقييم إقتصادى لدرجة الخسارة من المرض ومثال ذلك أنها تقدر فى الولايات المتحدة لكل مرض على حدة وأن مجموع الخسائر من الأمراض المختلفة هو مائة بليون دولار فى سنة ١٩٨٨. وفيما يلى شرح تفصيلى لذلك :

تقدير الخسارة الناتجة عن المرض النباتى disease assessment يتم أولاً بتقدير شدة المرض وذلك بتقدير مدى إنتشار المرض فى مساحة ما مضروبة فى شدة الإصابة على النباتات الفردية وتقدير كلا منها بقياسات فى صورة أرقام amount of disease = its prevalence x intensity in individual plants إذا كان عدد النباتات المصابة فى الحقل هو عشرة آلاف نبات وعدد النباتات الكلى هو خمسون ألف فإن مدى إنتشار المرض هو ٢٠ ٪ وإذا كانت عدد النباتات المصابة فى حقل آخر هو ألفان وخمسمائة ونفس العدد الكلى للنباتات فإن مدى إنتشار المرض هو ٥٪ وإذا كانت ٢٥ ٪ من أوراق

النباتات مصابة و٧٥٪ سليم فإن شدة الإصابة تأخذ رقم ٤ وفى حالة ١٨ ٪ من أوراق النباتات مصابه فإن شدة الإصابة تأخذ رقم ٣.

ومثال ذلك أنه عند تقدير درجة إنتشار المرض بدرجة ٢٠ ٪ وأن شدة الإصابة قدرت بعد القياس أو العد أنها ٤ فإن شدة المرض = ٢٠×٤=٨٠ تكون أكبر من شدة المرض فى الحالة الأخرى وهى =٥×٣ = ١٥ . أنظر الباب الثانى عشر.

وثانياً يقدر مدى تأثير المرض على الفقد فى المحصول crop loss وثالثاً يقدر تأثير الفقد مادياً على المحصول أى قيمة الخسائر المادية للمرض على المحصول crop economy . تعتبر درجة الخسارة لمرض ما دليل على أهميته فكلما زادت الخسارة كلما كان ذلك دليل على أهمية المرض ويلزم مقاومته. أنظر الباب الثانى عشر.

تقدر أولاً الخسارة للمرض الواحد ثم تجمع خسائر جميع الأمراض وبذلك يمكن تقدير الخسائر على المستوى القومى. أمكن تقدير ذلك فى بعض الدول ولكن لا يوجد مثل هذا التقدير فى الوطن العربى أو فى أى قطر من أقطاره.

نبذة تاريخية عن أمراض النبات :

يعتقد المؤرخون أن الأمراض النباتية نشأت مع نشأة النباتات على الأرض وذلك منذ عدة ملايين من السنين قبل ظهور الإنسان. وقد سجلت علامات مرضيه على حفريات نباتية متحجرة يقدر عمرها بحوالى مائتى مليون سنة.

ومن الحقائق الثابتة أن الأغريق والرومان والصينيين القدماء لاحظوا أمراض الصدأ والتفحم على الحبوب كما لاحظوا أمراض اللفحه والبياض على بعض المحاصيل الزراعية الأخرى وسجلوا الأضرار التى تسببها تلك الأمراض ولكنهم لم يعرفوا حقيقة نشأتها ومسبباتها. وقد كان الأغريق يعتقدون أن حدوث الأمراض نتيجة لتأثير النجوم أو تربة غير مناسبة أو عوامل جوية قاسية كما اعتبروا أيضاً أن غضب الآلهة أو عدم إرضائها من أهم العوامل وكانوا يعتقدون أن الإله أبولو Apollo وبعض الآلهة الأخرى مسئولة عن حدوث الأمراض فى الحقل ولذلك كانوا يقدمون القرابين ويقيمون الطقوس الدينية لإرضاء الآلهة. وقد كان

الرومان يعتقدون أن إله الصدأ Robigus هو المسئول عن إصابة محاصيل الغلال بالصدأ ولهذا كان الرومان يقيمون إحتفالات فى أوائل الربيع من كل عام يبتهلون فيها إلى إله الصدأ أن يحمى محاصيلهم من الإصابة بهذا المرض الخطير حينئذ.

وقد جاء أيضاً ذكر الأمراض النباتية، وما يتسبب عنها من دمار للمحاصيل أو نقص فى غلتها، فى بعض الكتب المقدسة، وذلك كوسيلة من وسائل التهديد والوعيد، إزاء عصيان الإنسان، ومخالفاته لتعاليم الدين وعدم سلوكه الطريق المستقيم. فقد ذكر فى التوراة مثلاً : «إذا صار فى الأرض جوع، إذا صار وبأ، إذا صار لفح أو يرقان، أو جراد جردم، أو إذا حاصره عدوه فى أرض مدنه، فى كل ضربة، وكل مرض». الملوك الأول ٨:٣٧ . «يضربك الرب بالسل والحمى والبرداء والالتهاب والجفاف واللفح والذبول فتتبعك حتى تفنيك». تثنية ٢٨:٢٢ . وتوضح هذه العبارات من التوراة مدى أهمية أمراض اللفحة والذبول فى تلك العهود. ونظراً لاعتقاد الحبريون فى أن الأمراض النباتية هى إحدى صور غضب الله على الإنسان، فكانوا يقيمون الصلاة، ويبتعدون عن معصية الله لانقاذ محاصيلهم من الأمراض.

ومن العلماء العرب بن العوام الذى عاش فى نهاية القرن الثانى عشر فى الأندلس وكتب «كتاب الفلاحة» باللغة العربية ثم ترجم إلى الأسبانية والفرنسية وقد شمل دراسات واسعة عن كثير من الأمراض النباتية وطرق علاجها، ومن الأمراض التى تعرض لها أعفان الجذور وتساقط الثمار المبكر وتدهور أشجار البرقوق.

وتتابع ظهور الخسائر التى تسببها الأمراض النباتية للإنسان فى صور مختلفة عبر القرون. فلقد انتشر مرض الأرجوت على الراى، وتسبب عن ذلك تسمم كثير من سكان أوربا. وقد عانت أوربا من هذا المرض الكثير وخاصة فى القرون الوسطى وقد لوحظ أن استعمال القمح فى الغذاء لا يسبب تسمم أو وفيات ولذلك تحولت أوربا من زراعة الراى إلى زراعة القمح وهكذا استمر الحال حتى الآن. حيث لوحظ أن اعتماد الأوروبيون على الراى فى غذائهم يسبب تسمم ووفيات ولكن إعتمادهم على القمح فى الغذاء لم تظهر هذه الأعراض ولذلك حدث التحول من زراعة الراى فى أوربا إلى القمح وبالرغم من هذه الملاحظة الهامة فى ذلك الوقت القديم إلا أنهم كانوا يجهلوا تماماً السبب فى ذلك. وبالطبع تعليل ذلك أن القمح

أقل إصابة أى مقاوم نسبياً للأرجوت وذلك بالمقارنة بالراى. وظلت تعليقات خرافية عن طبيعة الأمراض النباتية ومسبباتها وطرق مقاومتها منذ ذلك الحين حتى القرن الثامن عشر.

سبب مرض اللفحة المتأخرة فى غرب أوربا ما بين عام ١٨٤٠ إلى ١٨٤٥ ضعف فى إنتاجية البطاطس فى كثير من دول أوربا مثل ألمانيا وفرنسا وروسيا وقد أثر ذلك على دخل الفرد إلا أن تأثير ذلك كان مخيف فى إيرلنده حيث سبب هذا المرض مجاعة وقد نتج عنها موت حوالى ثلاثة أرباع مليون من السكان فى عام واحد سنة ١٨٤٥، كما أن مليوناً آخرين ماتوا نتيجة المجاعة وسوء التغذية خلال خمسة عشر عاماً تالية وفى خلال تلك الفترة هاجر ما يقرب من مليونى أيرلندى إلى الولايات المتحدة الأمريكية. كما سبب مرض البقعة البنيه فى الأرز فى البنغال فى سنة ١٩٤٣ حدوث مجاعة وموت كثير من سكانها كما وصف المراسلون أن كثير من السكان وخاصة الأطفال يعانون من نقص حاد فى التغذية وأنهم فى حالة ضعف تام وغير قادرين على الحركة وقد ينتهى الأمر بهم إلى الموت وذلك على جوانب الطرق.

نشأة وتطور علم أمراض النبات :

وهكذا ظل وجود الأمراض النباتية حقيقة واقعة على مر العصور وقد سببت خسائر جسيمة على مر السنين إلا أنه طوال تلك الفترة لم يتمكن أحد من معرفة مسبب أو مسببات الأمراض النباتية ولذلك ظلت إلى فترة طويلة تقاوم الأمراض النباتية بالخرافات والشعوذة واستمر الوضع السئ طوال هذه السنوات حتى مولد علم أمراض النبات سنة ١٨٥٣ حيث أن العلامه الألمانى أنتون دى بارى Anton De Bary هو أول من أثبت أن الفطريات يمكنها أن تسبب أمراض للنبات وهذه الأمراض هى الأصداء والتفحمات وفى سنة ١٨٦١ أثبت أن الفطر *Phytophthora infestans* هو المسبب لمرض اللفحه المتأخرة فى البطاطس. لذلك يعتبر أنتون دى بارى هو أبو أو رائد علم أمراض النبات father of plant pathalogy . كما أثبت أيضاً فى سنة ١٨٦٥ أن فطر صدأ الساق فى القمح يتم دورة حياته على عائلين مختلفين وهما القمح ونبات الباربرى.

يعتبر Burril سنة ١٨٨٠ أول من أثبت أن البكتريا تسبب أمراض للنبات وذلك فى مرض اللفحة الناريه فى التفاح والكمثرى.

اكتشف Mayer سنة ١٨٨٦ أن عصارة نباتات التبغ المصابه بمرض التبرقش ـ الموزايك ـ من الممكن أن تسبب نفس الأعراض إذا حقنت فى نباتات سليمة. وقد اكتشف Beijerinck سنة ١٨٩٨ أن مسبب المرض هو سائل حى معدى contagium vivum fluidum وليست كائن حى دقيق وقد سماه بالفيرس virus واتضح فيما بعد أن هذا السائل الحى المعدى هو عبارة عن الفيرس الموجود فى عصارة النبات وهو بالطبع كائن حى دقيق.

اكتشف Doi ومساعدوه سنة ١٩٦٧ وجود كائن حى دقيق وحيد الخلية عديم الجدار الخلوى فى لحاء أشجار التوت المصابه بمرض التقزم وكان ذلك أول إثبات على أن الكائنات الشبيهة بالميكوبلازما يمكنها أن تحدث أمراض للنبات.

أكتشف Diener عام ١٩٧١ أول مرة وجود viroid مسبب لمرض كما فى مرض الدرنه المغزلية فى البطاطس.

أكتشف Davis عام ١٩٧٢ أول مرة وجود spiroplasma مسببه لمرض كما فى تقزم الذره.

وهكذا تطور علم أمراض النبات تطور كبير منذ سنة ١٨٥٣ على أسس علمية سليمه كما تم إكتشاف كثير من المبيدات التى تستعمل فى مقاومة الأمراض النباتية المختلفة فقد تم تصنيع عدد هائل من المبيدات الفطرية وكثير من المبيدات التى تستعمل فى مقاومه الأمراض البكتيريه أو مقاومة النيماتود. وهكذا أصبح علم أمراض النبات علم أكاديمى وتطبيقى وله دور فعال فى زيادة إنتاجية الفدان وزيادة دخل المزارع وزيادة الدخل القومى.

أساسيات حدوث المرض:

لكى يتم حدوث المرض لابد من توافر ثلاث أسس وهى :

١ ـ النبات القابل للأصابة host أو suscept

٢ ـ مسبب المرض causal agent أو incitant وقد يكون كائن حىpathogen أو عامل بيئى.

٣ ـ الظروف البيئية environmental factors الملائمة.

يتضح أنه لابد من توافر النبات القابل للأصابة والمسبب وأما عن الظروف البيئية الملائمة فلها أيضا دور هام فى حدوث أو أختفاء المرض. ومن الأمثلة على ذلك مرض تعقد الزيتون

حيث يتسبب عن البكتريا *Pseudomonas savastanoi* وحيث يوجد أورام على سيقان وأفرع نبات الزيتون وتقوم حشرة ذبابة الزيتون *Dacus oleae* بنقل البكتريا من نبات إلى آخر. وقد تم أستيراد بعض شتلات الزيتون من أسبانيا إلى مصر فى أواخر السبعينات وقد كانت هذه الشتلات حاملة للمرض حيث ظهرت الأورام بشدة على هذه النباتات ولكن بعد مرور حوالى سنتين فقد إختفى المرض تماما وهو أصلا غير موجود فى مصر أو نادر الوجود ولذلك فإنه بالرغم من وجود النبات القابل للأصابة وهو الزيتون والمسبب وهو البكتريا وأيضا توجد ذبابة الزيتون منتشره فى مصر فإن المرض إختفى وذلك لعدم وجود الظروف البيئية الملائمة للمرض. ومن هنا يتضح أن للظروف البيئية دور كبير فى ظهور أو أختفاء المرض بالرغم من وجود النبات القابل للأصابة والمسبب. والعكس صحيح فى العراق فإن الظروف البيئية ملائمة للمرض ولذلك ينتشر هذا المرض فى هذا القطر.

فروض كوخ Koch's Postulates :

لابد من الفحص المكيروسكوبى للتأكد من وجود الطفيل المسبب للمرض. ولكن قد لايكفى الفحص الظاهرى والميكروسكوبى للتعرف على المرض. فلا يكفى وجود كائن ما مصاحبا للمرض للأستدلال على كونه المسبب فقد يكون كائن رمى أو طفيل ثانوى ليس له دور فى حدوث المرض. ولأثبات أن هذا الكائن هو المسبب الأصلى للمرض يجب إتباع فروض كوخ، وضع العلامه الألمانى روبرت كوخ هذه الفروض لأمراض الأنسان والحيوان سنة١٨٧٦ ولكنها تستعمل أيضا فى أمراض النبات. وتتلخص فى الآتى:

١ ـ يجب أن تكون أعراض المرض مصحوبة دائما بوجود طفيل معين.

٢ ـ يجب عزل الطفيل فى مزرعة نقية pure culture على بيئة مغذية. يكون ذلك بإستعمال طريقة عزل الجرثومه المفردة single spore isolation وتتلخص هذه الطريقة بتخفيف تركيز جراثيم الفطر فى ماء معقم وبحيث يصبح فى القطرة الواحدة من الماء عدد قليل من الجراثيم من واحدة إلى قليل من الجراثيم. توضع قطرات الماء كل قطرة على حدة فى طبق بترى به آجار مائى. تفحص قطرات الماء بالمجهر وعند وجود جرثومة واحدة بالقطره فإنها تأخذ بجزء من الآجار المائى وتنقل إلى بيئة آجار مناسبة مثل بيئة آجار البطاطس والدكستروزPDA. تنبت الجرثومه ويتكون منها مزرعة نقيه من الفطر.

يمكن أيضاً الحصول على مزرعة نقيه بإستخدام طريقة طرف الهيفا hypha tip . يمكن تنمية الفطر على بيئة آجار مائى فى طبق بترى. وتوضع حلقة زجاجيه قطرها حوالى ١سم على الآجار المائى وبحيث أن يكون الفطر فى مركز الحلقة. ينمو الفطر وتسبب الحلقة الزجاجية تفريد وبعثرة الهيفات الناميه على البيئة وبذلك يسهل قطع الجزء الطرفى من هيفا واحده فقط بجزء من بيئة الآجار المائى وذلك بواسطة مشرط معقم حاد. يتم نقل هذا الجزء إلى بيئة آجار مناسبة مثل بيئة PDA . تنمو الهيفا ويتكون منها مزرعة نقيه من الفطر. يمكن عمل مستعمرة نقيه من البكتريا بطريقة التخطيط على بيئة آجار مغذى.

٣- يستعمل الطفيل النامى على البيئة المغذية فى عدوى نباتات سليمة قابلة للإصابة ويجب الحصول على نفس الأعراض السابقة.

٤- يعاد عزل الطفيل من النباتات المصابة صناعياً أى النباتات فى الخطوه رقم ٣ ويجب أن يكون هذا الطفيل المعزول ثانية مطابقاً للطفيل الذى أحدث عدوى للنباتات فى رقم ٣.

لا تصلح فروض كوخ فى حالة الطفيليات الإجبارية لتعذر تنميتها على بيئات صناعية مثل فطريات البياض الزغبى والبياض الدقيقى وبعض الأصداء والتفحمات. وفى هذه الحالة يتم أيضاً تطبيق فروض كوخ ولكن بعدوى نباتات سليمة من نفس نوع وصنف عينة النبات القابل للإصابة بجراثيم أو نموات الفطر، تعتبر الفيروسات أيضاً إجبارية التطفل ولذلك تجرى العدوى بواسطة عصير نباتات مصابة أو بحشرات ناقلة للفيروس أو بواسطة التطعيم.

ولكن حديثاً وبعد تقدم علم مزارع الأنسجة فأنه أمكن نزع الورقة من النبات وتترك طافيه على سطح محلول من السيتوكينينات مثل محلول مركب الكينتين kinetin أو بنزيميدازول benzimedazole . يمكن للورقة المقطوعة أن تظل محتفظة بحيويتها لمدة شهر. يمكن تنمية الفطريات الإجبارية التطفل على هذه الأوراق فى المعمل وقد تم ذلك بنجاح فى فطريات الأصداء.

يتضح أن أهمية فروض كوخ هى فى إثبات العلاقة الحقيقية بصفة قاطعة بين المرض والكائن المسبب.

أسس تصنيف أمراض النبات :

يمكن تصنيف أمراض النبات تبعاً لأسس عديده وهى ما يأتى:

١- نوع النبات القابل للإصابة ومثال ذلك أمراض الحبوب وأمراض البقوليات وأمراض الخضر وأمراض الفاكهة وأمراض المحاصيل وأمراض الزهور ونباتات الزينة وأمراض الأشجار وأمراض الغابات. يمكن أن تصنف على أساس نبات واحد مثل أمراض القمح وأمراض البطاطس.

٢- نوع الجزء الذى يصاب من النبات ومثال ذلك أمراض الجذور وأمراض الثمار وأمرض المجموع الخضرى.

٣- توقيت إصابة النبات ومثال ذلك يمكن أن يصاب النبات فى أثناء نموه أو أثماره فى الحقل فتسمى بأمراض الحقل field diseases . تحدث الإصابة أثناء تجفيف الثمار كما فى الفول السودانى أو أثناء النقل أو التسويق أو التخزين أو الشحن وتسمى جميع هذه الحالات بأمراض ما بعد الحصاد post harvest diseases.

٤- نوع الأعراض التى يسببها المرض مثل أمراض الذبول وأمراض تبقع الأوراق وأمراض العفن وأمراض العفن الطرى وأمراض الأصداء وأمراض التفحم وأمراض عفن البذور وموت البادرات.

٥- نوع علامات المرض disease signs ومثال ذلك مرض العفن الأزرق أو الأخضر لثمار الموالح وأمراض البياض الدقيقى ومرض الرشح فى الفراوله والبطاطا والعنب ومرض إسكليروتينيا *Sclerotinia* فى الخضر.

٦- نوع المسبب المرضى ومثال ذلك أمراض فطريه وأمراض بكتيريه وأمراض فيروسيه وأمراض نيماتود وأمراض غير طفيليه.

٧- كيفية إنتقال وإنتشار المسبب المرضى فى موسم إصابة النبات ودرجة شدة الإصابة وأهميتها، ومثال ذلك أمراض وبائية وأمراض متوطنه وأمراض طارئة.

٨ ـ كيفية إنتشار المسبب المرضى من النبات المصاب إلى النبات السليم أثناء موسم نمو النبات ومثال ذلك أمراض ذات الريح البسيط وأمراض ذات الريح المركب.

٩ـ نوع النباتات وشدة الإصابة وطبيعتها وهو عبارة عن تصنيف وضعه العلامه ستاكمان Stakman. فى حالة الغابات يمكن أن تكون الحرائق مدمرة وينتج عنها أضرار كبيرة وأيضاً بعض الأمراض قد تكون مدمرة annihilating diseases كما حدث عند إصابة غابات القسطل الأمريكى (أبو فروه) *Castanea dentata* شرقى الولايات المتحدة الأمريكية فى عام ١٩٠٤ بمرض اللفحة الذى يسببه فطر *Endothia parasitica* الذى قضى خلال عشر سنوات على مساحات واسعة من تلك الغابات كانت تمتد ما بين ولاية Maine شمالاً وولاية شمال كارولينا North Carolina جنوباً، وحالات أخرى تؤدى الإصابة إلى منع زراعة المحصول وإستبداله بمحصول آخر لشدة وطأة هذا المرض وعدم إمكانية مقاومته وتسمى فى هذه الحالة بالأمراض المحددة limiting diseases ومثال ذلك كانت تشتهر جزيرة سيلان ـ سيريلانكا ـ بزراعة البن حتى أواخر القرن التاسع عشر ونتيجة لإصابة البن بمرض خطير يسبب خسائر فادحة فى المحصول ولم يمكن مقاومته فى تلك الفترة فقد تم التحول من زراعة البن فى أواخر القرن التاسع عشر إلى زراعة الشاى. وهذا المرض يوجد الآن فى مزارع البن فى اليمن وهو مرض صدأ البن والذى يتسبب عن الفطر *Hemileia vestatrix*. ومثال آخر من الأهمية بمكان وهو تحول سكان أوربا فى القرون الماضية من زراعة الراى إلى زراعة القمح. حيث أنهم لاحظوا تسمم وموت الكثير فى حالة الإعتماد على الراى فى التغذية والعكس صحيح عند الإعتماد على القمح حيث لم تلاحظ حالات تسمم أو وفيات وظلت زراعة القمح حتى الآن. وكان ذلك نتيجة للإصابة الشديدة للراى بمرض الأرجوت والمقاومة النسبية للقمح لهذا المرض. معظم الأمراض النباتية تعد أمراضاً مضعفة debilitating diseases تؤدى الإصابة بها إلى إضعاف المحصول وخفض إنتاجه مثل أمراض تبقع الأوراق مثل تبقع أوراق الفول السودانى والتبقع البنى فى الفول. ويمكن بمقاومة هذه الأمراض المضعفه الحصول على

محصول وفير ولذلك فإنها تزرع سنوياً ولا توقف زراعتها وهى على العكس تماماً من الأمراض المحددة التى تمنع زراعه المحصول تماما.

الأمراض الوبائية والمتوطنة والطارئة:

يمكن تصنيف أمراض النبات على أساس مدى انتشار المرض وشدته إلى أمراض وبائية وأمراض متوطنة وأمراض طارئة. وفى حالة المرض الوبائى epidemic حيث يظهر المرض فجأة وبسرعة ويكون شديد الوطأة وذو تأثير كبير على إنتاجية المحصول ويسبب خسائر كبيرة كماً أو نوعاً أو كليهما ويكون ذلك فى فترة معينه دون فترات أخرى وهى من الأمراض ذات الفائدة أو الربح المركب ومثال ذلك مرض اللفحه المتأخرة فى البطاطس والطماطم ومرض صدأ الساق الأسود فى القمح. ويعتقد البعض أن لفظ epidemic يستعمل فى أمراض الانسان ولذلك يفضل استعمال الكلمة epiphytotic فى حالة الأوبئة النباتية. ويفضل المؤلف فى الحقيقة الإصطلاح الثانى لأن الترجمة الحرفية باللغة اللاتينية epi أى على و demos أى الإنسان ولذلك فإن الترجمة الصحيحة للكلمة epidemic على الانسان أى ليس لها أى علاقة بالنبات والعكس صحيح فى الكلمة الثانية حيث epi أى على و phyton أى نبات أى على النبات ولذلك يفضل المؤلف الاصطلاح الثانى بالرغم من أن الاصطلاح الأول لازال هو الشائع الاستعمال فى الأمراض والأوبئة النباتية. وفى حالة المرض المتوطن endemic هو مرض يكون ذو تأثير ضار متوسط إلى شديد على النباتات كماً أو نوعاً أو كليهما ويكون غير فجائى وعادة يكون من الأمراض ذات الفائدة أو الربح البسيط مثل أمراض الذبول الناتجة عن الفطر *Fusarium* والفطر *Verticillium* وغيرها من فطريات الذبول وأيضاً بعض أمراض التفحم مثل التفحم المغطى فى القمح والشعير وتفحم الحبوب فى الذرة الرفيعة. والمرض الطارئ sporadic هو مرض قليل الانتشار يوجد فى حالات فردية ولا يؤثر تأثير فعال على المحصول وقد يوجد فى موسم دون آخر. ولذلك فإنه مرض قليل الأهمية وذلك كما فى مرض صدأ الذرة الشامية فى مصر. والمرض الوبائى الشامل (عام) pandemic هو عبارة

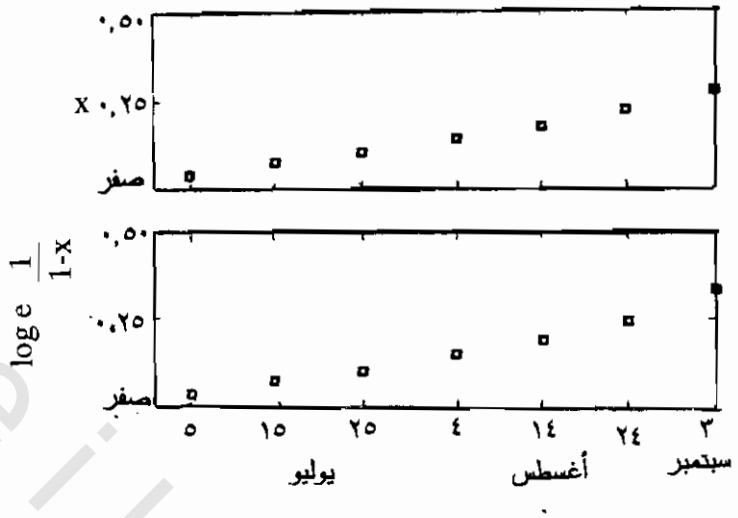
عن مرض وبائى ويوجد فى مناطق كثيرة من أنحاء العالم مختلفة ومتباعدة جغرافياً ومثال ذلك مرض اللفحة المتأخرة فى البطاطس والطماطم وصدأ الساق فى القمح.

يلاحظ أن التصنيف السابق خاص بمصر ويمكن أن يكون مرض وبائى فى قطر معين ولكنه طارئ فى قطر آخر وذلك يتوقف على الظروف البيئية. فمرض صدأ الذرة الشامية طارئ فى مصر ولكنه قد يكون فى قطر آخر وبائى. يعتبر مرض لفحة الأوراق الجنوبية فى الذرة الشامية والذى يسببه الفطر *Helminthosporium maydis* من الأمراض الطارئة فى مصر ولكنه من الأمراض الوبائية فى الولايات المتحدة الأمريكية وقد سبب خسارة فى المحصول ما بين ٥٠ إلى ٧٥٪ فى عام ١٩٧٠ فى كثير من المناطق.

الأمراض ذات الربح البسيط وذات الربح المركب:

يمكن تصنيف الأمراض على أساس عدد الأجيال التى يكونها مسبب المرض فى الموسم. فقد يكون المرض جيل واحد فى الموسم وذلك كما فى فطريات التربة التى تسبب مرض الذبول فى القطن والطماطم والفاصوليا والقرعيات والتى تتسبب عن الفطر *Fusarium oxysporum* أو الفطر *Verticillium albo-atrum* وأيضاً بعض الفطريات التى تسبب التفحم مثل مرض التفحم المغطى فى الشعير والقمح حيث تحدث الإصابة للبادره وتظهر الأعراض على النوره. وتسمى هذه بالمرض ذو الربح البسيط simple interest disease ويشبه ذلك حالة الربح البسيط فى النقود وحيث أن رأس المال ثابت ولا يزيد أثناء الموسم ويشبه ذلك الإصابة حيث أن عدد النباتات المصابة ثابت أثناء الموسم ولا يزيد كما فى رأس المال الثابت. وفى حالة الزيادة فى المرض ذو الربح البسيط فإن $\log_e \frac{1}{1-x}$ أى $\log [1/(1-x)]$ بالنسبة للزمن من شهر يوليو حتى سبتمبر حيث أن x هى نسبة النسيج المصاب فى زمن معين. proportion of diseased tissue

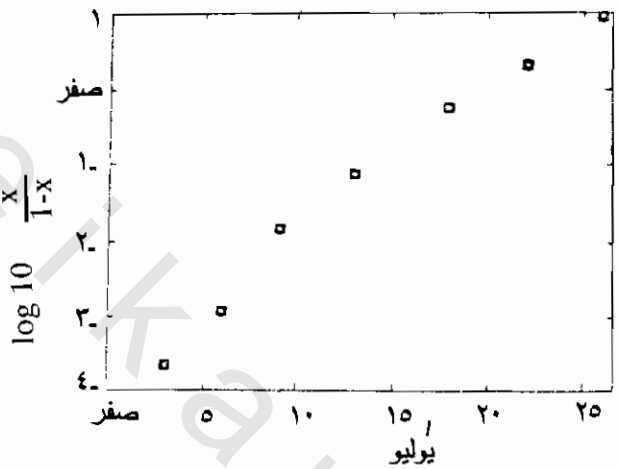
ويكون ذلك كما فى مرض ذبول القطن (شكل ١)



(شكل ١) : حدوث وتقدم مرض متوطن وهو ذبول القطن فى الأشهر المختلفة. فى الجزء العلوى يوضع × على المحور الصادى والزمن أى الأشهر على المحور السينى. وفى الجزء السفلى يوضع loge [١/(١-×)] على المحور الصادى والزمن على المحور السينى.

يلاحظ أن الإصابة الأوليه primary infection هى الأساس فى حدوث المرض ذو الربح البسيط.

أما فى حالة المرض ذو الربح المركب compound interest disease حيث أن رأس المال يزداد بإستمرار نتيجة للربح المستمر ويشابه ذلك المرض الذى يكون مسببه عدد من الأجيال فى موسم الإصابة وبذلك يزداد عدد النباتات المصابه بإستمرار أثناء الموسم وذلك على العكس من الحالة السابقة. أى أن عدد النباتات المصابة يزداد تبعاً لعدد أجيال الطفيل، يماثل ذلك تماماً زيادة رأس المال بنفس مقدار الربح. وعند وضع درجة المرض أى كمية المرض amount of disease بالنسبة للزمن لذلك فإنه يوضع log [×/١-×] أى $\log \frac{x}{1-x}$ بالنسبة للزمن. حيث أن × هى نسبة النسيج المصاب ولكن فى حالة الأمراض ذات الإصابة الجهازيه فإن × هى نسبة النباتات المصابة proportion of infected plants . وذلك كما فى مرض اللفحة المتأخرة فى البطاطس والطماطم وصدأ الساق فى القمح والبياض الدقيقى فى القمح (شكل ٢).



(شكل ٢) : حدوث وتقدم مرض صدأ الساق فى القمح وهو مرض وبائى.

حيث أنه بعد حدوث الإصابة يتكون الجيل الأول من الطفيل ويكون جراثيم. تنتشر الجراثيم وتصيب نباتات جديدة ثم يتكون جيل ثان من الطفيل يكون جراثيم وهذه تنتشر وتصيب نباتات أخرى جديدة وهكذا تكرر هذه الحالة فى أثناء الموسم ولذلك يزداد عدد النباتات المصابة بإستمرار فى أثناء الموسم كما فى الربح المركب.

يلاحظ أن الإصابة الثانوية secondary infection هى الأساس فى حدوث المرض ذو الربح المركب.

obeikandl.com

الباب الثانى

مسببات أمراض النبات

تنشأ أمراض النبات عن مسببات مختلفة ولا تدخل الحالات التى تظهر على النبات نتيجة لنشاط الحيوانات الراقية أو الحشرات أو الأكاروس فى نطاق علم أمراض النبات ومثال ذلك حشرة التريس حيث تسبب وجود بقع فضيه لامعه ثم بنيه على الأوراق وقد تسبب تجعد الأوراق ويسبب الأكاروس وجود بقع صدئيه أو بنيه اللون على الأجزاء المصابه وهذه أمثلة من الأعراض التى تدخل فى نطاق علم الحشرات.

تقسم الأمراض النباتية تبعاً لمسبباتها إلى أمراض طفيلية أى تنشأ عن كائن حىbiotic diseases وأمراض غير طفيليه أى تنشأ عن ظروف بيئيه غير ملائمه abiotic diseases.

١. الأمراض الطفيلية Parasitic Diseases

وهى أمراض تتسبب عن كائنات حية عادة دقيقة ويمكن تقسيم هذه الكائنات إلى :

أولاً: كائنات بدائية النواه Procaryotes

وهى كائنات تتميز بعدم وجود نواه مميزة محدده حيث توجد مادة نووية منتشرة ولكنها غير محاطه بجدار نووى كما لا يوجد نويه وقد يوجد كروموسوم واحد فقط وتتميز هذه الكائنات بأن السيتوبلازم خال من الميتوكوندريا وأجسام جولجى والشبكه الإندروبلازميه ولكنه ويحتوى على ريبوسومات. من المعروف أن جميع الكائنات الحية تحتوى على ميتوكوندريا حيث أن التنفس يحدث فى الميتوكوندريا ولكن تشذ هذه الكائنات فى أنها تتنفس بالرغم من عدم وجود الميتوكوندريا ويعتقد أن التنفس يحدث فى الغشاء البلازمى الذى يحيط بالخليه. قد

يتمدد هذا الغشاء إلى داخل الخليه فى بعض أجزائها ويحدث له إنطواء والتفاف ليتكون جزء تقريباً كروى الشكل يسمى mesosome يعتقد أنه له دور فعال فى تنفس البكتريا. يوجد الميسوسوم فى خلايا البكتريا فقط ولا يوجد فى الكائنات الأخرى الموجودة فى هذه المجموعة. ومن هذه الكائنات ما يأتى:

أ- الميكوبلازما Mycoplasma :

أصغر كائن خلوى معروف وأيضاً أبسط تركيب خلوى معروف فى الكائنات الحيه فهى تتكون من خليه عديمة الجدار الخلوى ولكن يوجد غشاء بلازمى يحيط بالخلية ويتكون البروتوبلازم من بروتينات ومواد كربوإيدراية ودهون وأحماض نوويه. أشكالها متغيرة فقد تكون كرويه أو كمثريه أو خيطيه أو غير منتظمة الشكل. تتكاثر بالإنقسام الثنائى البسيط. وهى حساسه للمضادات الحيوية من مجموعة chlorotetracycline ولا تتأثر بالبنسلين. يمكن عزل بعض منها على بيئات صناعية.

ب- السبيروبلازما Spiroplasma:

تشابه الميكوبلازما إلا أنها حلزونية الشكل.

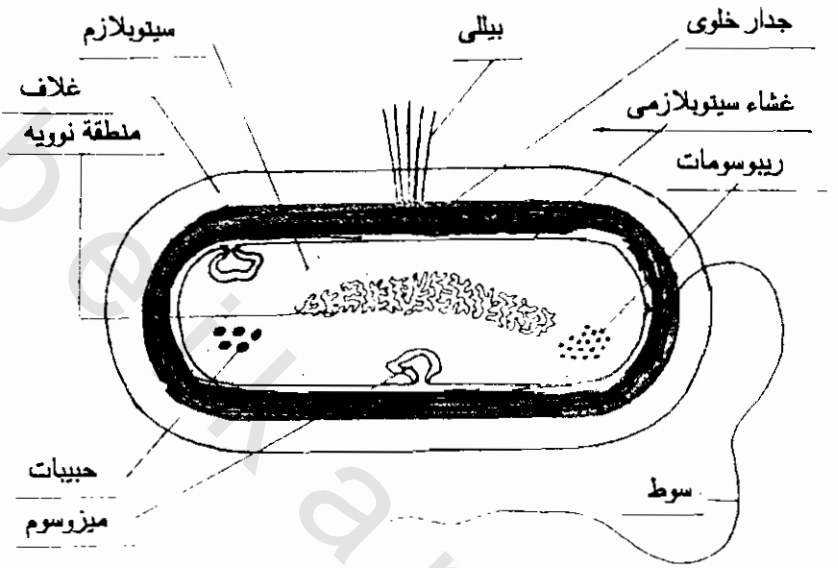
جـ- الريكيتسيا Rickettsia :

خلية لها جدار خلوى وبروتوبلازم قريبة الشبه من البكتريا العادية. تظهر كأجسام كروية إلى عصويه الشكل وبعضها له القدرة على تغيير شكله ويصبح خيطى ويصل طوله إلى ٤ ميكرون. إجباريه التطفل وسالبه لصبغة جرام. تتكاثر بالإنقسام الثنائى البسيط. تصنف الريكيتسيا مع البكتريا. تسمى هذه الكائنات المسببه لأمراض نبات الآن بإسم fastidious vascular bacteria وهى بكتريا خاصة تعيش فى لحاء وخشب النبات ولا تسمى الآن ريكيتسيا ولذلك لا تعتبر الريكيتسيا الآن من مسببات أمراض النبات.

د- البكتريا Bacteria :

خلايا البكتريا صغيرة الحجم أكبر من الفيروسات والميكوبلازما والريكيتسيا ولكنها أصغر من الطحالب والفطريات.

تختلف البكتريا فى الشكل فمنها الكروى والعصوى والحلزونى والخيطى. قد توجد الخلايا منفردة أو فى أزواج أو مجاميع. تتكون الخليه البكتريه من جدار خلوى صلب يتكون من مركبات معقده مثل ميوكوببتيدات mucopeptides وحمض ميوراميك muramic acid ودهون. يحاط الجدار الخلوى أحياناً بغلاف capsule هلامى يتكون من مواد كربوإيدراية أو بروتينيه. يوجد بداخل الجدار الخلوى البروتوبلازم والذى يتكون من سيتوبلازم ومادة نوويه مركزه نسبياً فى جزء من الخليه وفى بعض البكتريا توجد على هيئة خيط كثير التفرع يصل طوله الى ١ ملليمتر حلقى الشكل منDNA. يسمى فى بعض الحالات بالكروموسوم البكتيرى. يوجد أنواع مختلفة من المحتويات الحبيبيه فى الستوبلازم هى دهون أو جليكوجين أو فوليتين volutin . يقوم بعمل الميتوكوندريا الميسوسومات. يتكون الميسوسوم من أغشية متداخلة عديدة وهى تتكون من الغشاء البلازمى ثم تنفصل عنه ويكون شكله كروى الشكل تقريباً. يوجد بالسيتوبلازم ريبوسومات مبعثره كثيره. يعتقد أن الغشاء البلازمى المبطن لجدار الخليه من الداخل والميسوسوم لهما دور فى عملية التنفس. كثير من أنواع البكتريا وخاصة العصويه والحلزونيه يخرج منها زوائد طويله تعرف بالأسواط flagella تساعد البكتريا على الحركة فى السوائل. يختلف عدد وتوزيع الأسواط على جدار الخلية البكتريه فقد يكون واحد طرفى أو تحت طرفى أو سوط واحد على كل من طرفى الخلية وقد توجد مجموعة من الأسواط على أحد أطراف الخليه وقد تكون الأسواط موزعة على سطح الخلية. ليست الأسواط وحدها هى المسئولة عن الحركة فى البكتريا ولكن قد تتحرك بعض أنواع البكتريا حركة إنزلاقية بطيئة دون وجود أسواط. قد تكون بعض البكتريا جراثيم وهذه لا تعتبر وسيلة للتكاثر حيث أن الخليه الواحدة تعطى جرثومة واحدة وهذه تعتبر وسيلة لمقاومة الظروف البيئية غير الملائمة. تتكاثر البكتريا بالإنقسام الثنائى (الانفلاق) البسيط. بعض البكتريا تتزاوج جنسياً ويخرج منها أهداب رقيقة تسمى بيلى pili (شكل ٣).



(شكل ٣) : قطاع عرضى فى خليه بكتيريه يبين التراكيب الأساسية

هـ - طحالب خضراء مزرقه Blue green algae :

يتكون جسم الطحلب من خلية واحدة ولكن غالباً ما تتجمع الخلايا وتلتصق معاً فى مستعمرات مختلفة الشكل فقد تكون المستعمرة خيطية الشكل. والخلية لها جدار مميز ويبطن من الداخل بغشاء بلازمى لا يوجد فى البروتوبلاست بلاستيدات خضراء بل يوجد صبغات محموله على أغشية منها الصبغة الزرقاء فيكوسيانين phycocyanin والصبغات الخضراء مثل الكلوروفيل. ولذلك لا يوجد فى هذه الطحالب بلاستيدات لها تركيب مميز والعكس صحيح تماماً فى الطحالب الخضراء حيث يوجد بها بلاستيدات خضراء ذات تركيب مميز. تحاط خلايا المستعمرة بإفراز جيلاتينى لزج. تتكاثر بالإنقسام الثنائى البسيط. لا تسبب هذه

الطحالب أمراض للنبات ولكن تعيش بعض أنواعها معيشة تعاونيه مع بعض الفطريات مكونة أشنات. تسبب الأخيرة أمراض للنبات.

ثانياً : كائنات حقيقية النواه Eucaryotes

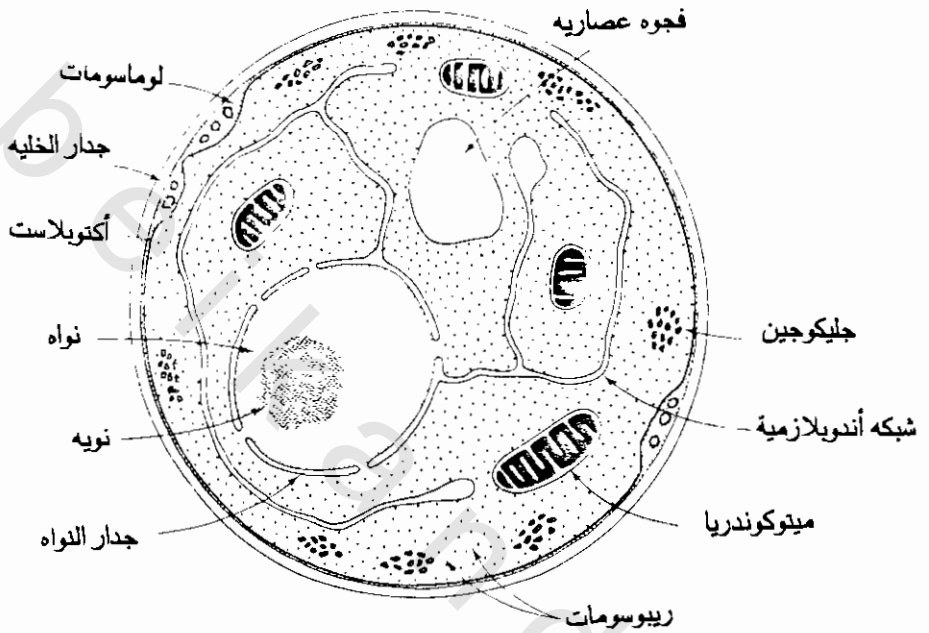
وهى كائنات تتميز بوجود نواه عادية وبها أكثر من كروموسوم وتتميز بأن السيتوبلازم يحتوى على الميتوكوندريا والشبكه الأندوبلازميه وعادة جهاز جولجى وريبوسومات أكبر فى حجمها من ريبوسومات الكائنات ذات النواه البدائية. أى أنها تتكون من خلية ذات تركيب عادى. ومن هذه الكائنات ما يتبع النبات ومنها ما يتبع الحيوان.

(١) كائنات نباتية :

ومنها الفطريات والطحالب الخضراء والنباتات الزهرية المتطفله.

أ ـ الفطريات Fungi:

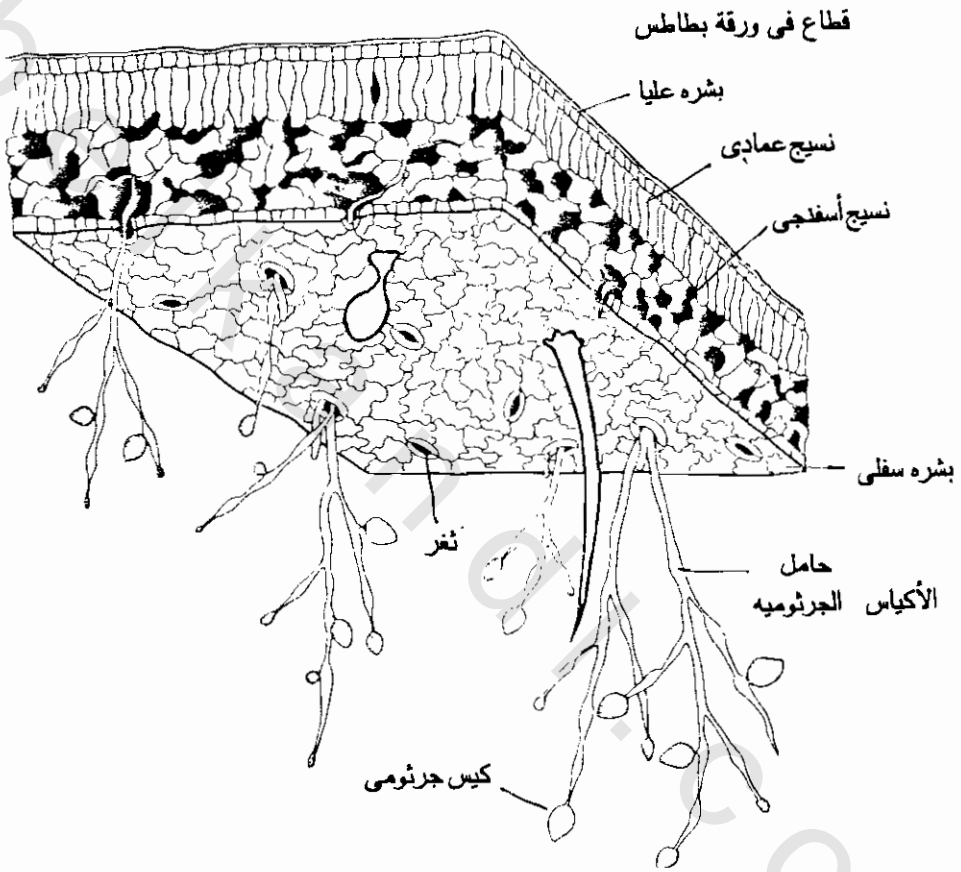
بعضها يتكون من خليه واحده ومعظمها عديد الخلايا منتظم فى خيوط تعرف بالهيفات hyphae والمفرد هيفا hypha ومجموع الهيفات يسمى ميلسيوم mycelium . خاليه من الكلوروفيل. يتكون الجدار من الشيتين chitin أو السليلوز تبعاً لنوع الفطر يبطن الجدار غشاء بلازمى ويتكون البروتوبلازم من نواه وسيتوبلازم به فجوه عصاريه وميتوكوندريا وشبكه إندوبلازميه وريبوسومات. تتكاثر بتكوين الجراثيم وقد تكون هذه الجراثيم غير متحركة أو متحركة بسوط أو سوطين تبعاً لنوع الفطر. يوجد بين الجدار والغشاء البلازمى فى بعض المناطق حبيبات صغيرة غير معروف وظيفتها تسمى لوماسومات lomasomes (شكل ٤).



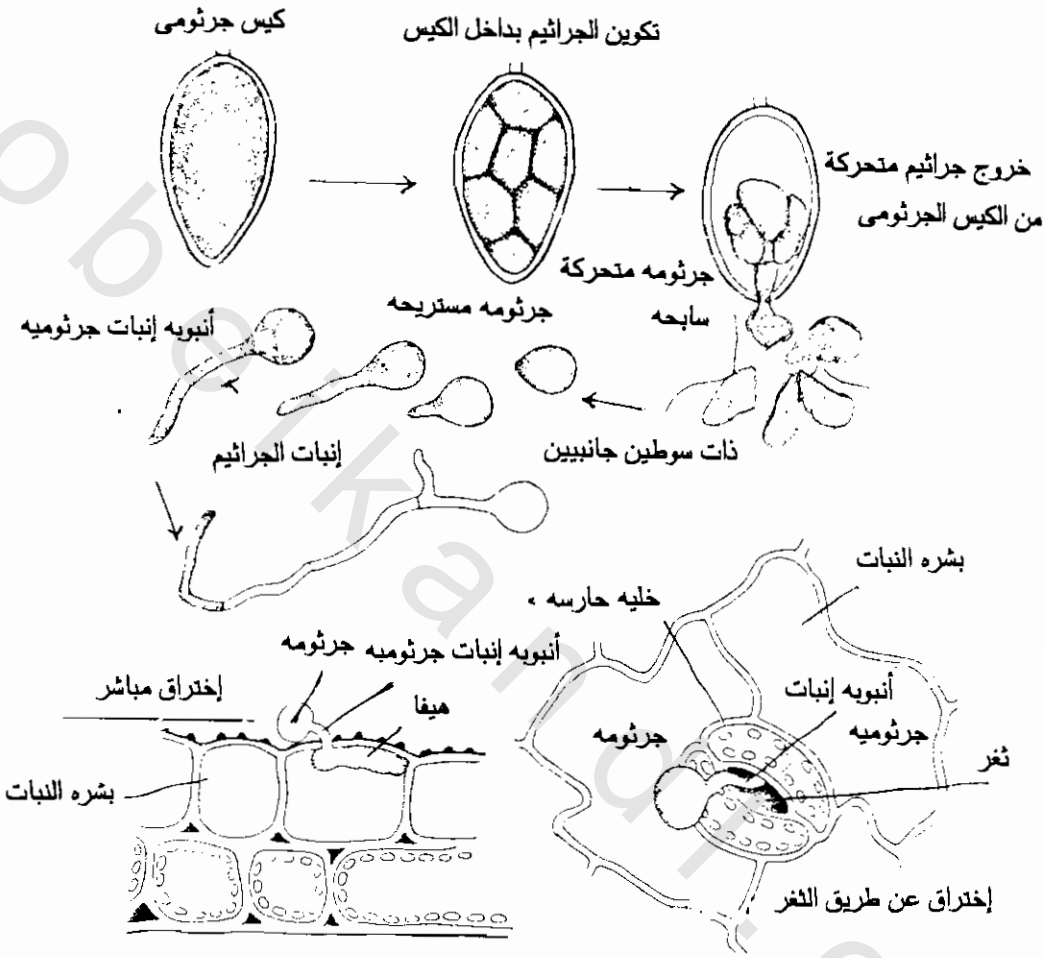
(شكل ٤) : قطاع عرضى فى هيفا

تكون هيفات الفطر غير مقسمة وتعتبر خليه واحده عديدة الأنويه كما فى الفطريات البيضيه والزيجويه وتكون هيفات الفطر مقسمة إلى خلايا وبكل خليه نواه واحده أو أكثر كما فى الفطريات الأسكيه والبازيديه والناقصه.

يحدث التكاثر اللاجنسى أما خضرياً بتجزء الهيفات وانفصالها ثم نمو كل منها إلى ميسليوم جديد. أو يحدث بتكوين جراثيم. قد تتكون الجراثيم داخل أكياس خاصة تعرف بالأكياس الجرثوميه sporangia وقد يتكون بداخل الكيس الجرثومى جراثيم متحركه بسوط أو سوطين (شكل ٥ و ٦).

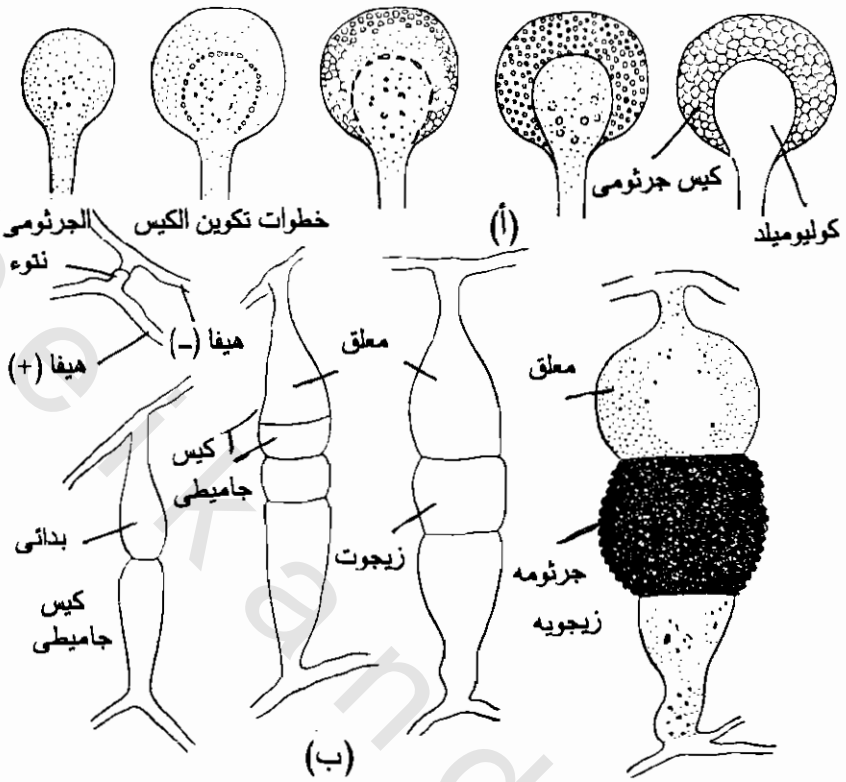


(شكل ٥) : حوامل أكياس جرثوميه تخرج من ثغور أوراق نبات البطاطس وذلك فى الفطر المسبب لمرض اللفحه المتأخره فى البطاطس والطماطم



(شكل ٦) : خطوات تكوين الكيس الجرثومى وخروج الجراثيم المتحركة السابحه وإنبات الجراثيم واختراق مباشر واختراق عن طريق الثغور فى الفطر المسبب لمرض اللفحه المتأخره فى البطاطس والطماطم.

ومن أمثلة ذلك الفطريات البيضيه وقد يتكون بداخله جراثيم غير متحركة كما فى الفطريه الزيجويه (شكل ٧) .



(شكل ٧) : تكاثر فطر ريزويس ستولونيفر

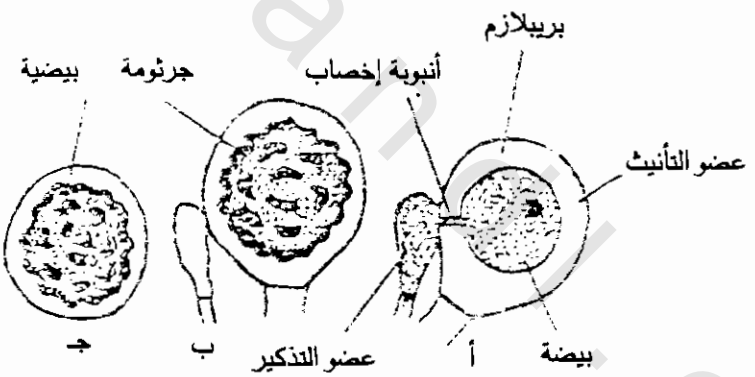
أ ـ خطوات تكوين الكيس الجرثومى

ب ـ خطوات تكوين جرثومه زيجويه

أو تتكون جراثيم كويندیه على حوامل كونيديه كما فى الفطريات الأسكيه والناقصه. أو تتكون جراثيم بالتبرعم وتسمى جراثيم برعمية أو تتكون من الهيفات مباشرة بأن تحيط الخليه نفسها بجدار سميك وتصبح جرثومه كلاميديه chlamydospore .

يحدث التكاثر الجنسى بطرق مختلفة وعلى أساسه تتميز صفوف أو أقسام الفطريات المختلفة. ففى حالة الفطريات البيضيه oomycetes يكون ناتج التكاثر جراثيم بيضيه oospores. يتكون عضو التأنيث oogonium كانتفاخ كروى عاده فى طرف أحد الهيفات وعند النضج

يتميز به بيضه واحده oosphere تحاط بطبقة محيطيه من السيتوبلازم تعرف بالبريبلازم periplasm . عضو التذكير antheridium صولجانى أو اسطوانى الشكل عادة وأصغر حجماً من عضو التأنيث. يكون عضوى التأنيث والتذكير متقاربين. وعند الاخصاب يمتد من عضو التذكير أنبوبه تعرف بأنبوبه الاخصاب تخترق جدار عضو التأنيث ثم طبقة البريبلازم ثم تنتقل أنوية عضو التذكير إلى عضو التأنيث ويحدث الاخصاب وذلك بأن تنجح نواه واحده فى إخصاب نواه البيضه ويتكون الزيجوت. يحيط الزيجوت نفسه بجدار سميك متحولاً إلى جرثومه ساكنه تعرف بالجرثومه البيضيه. تتحمل الجراثيم البيضيه الظروف (شكل ٨) البيئيه غير الملائمه وتظل ساكنه سنه أو أكثر. ومن هذه الفطريات *Phytophthora* ، *Pythium* .



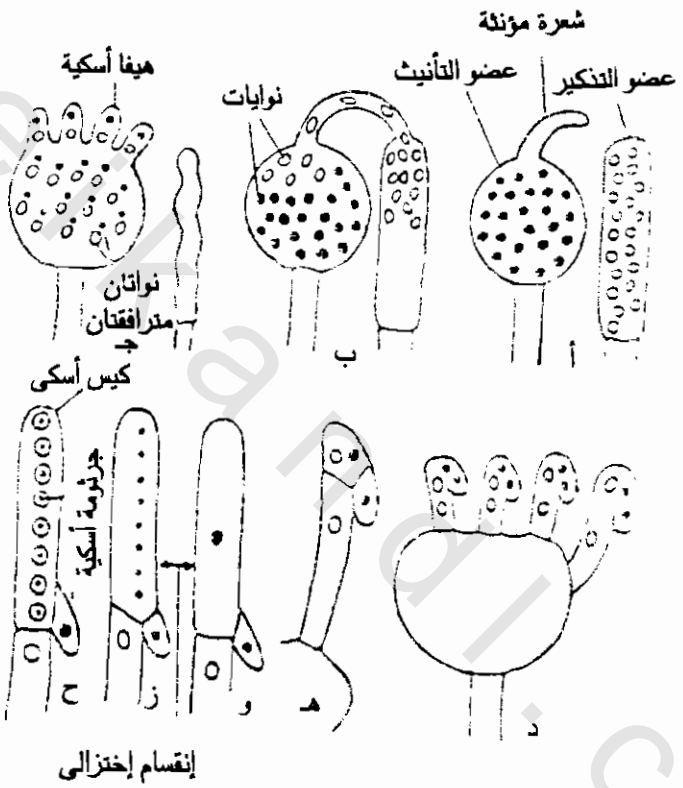
(شكل ٨) : خطوات تكوين الجرثومه البيضيه

فى حالة الفطريات الزيجويه zygomycetes يحدث تزاوج بين فرعين قصيرين من هيفتين متوازيتين متجاورتين متوافقتين أى أحدهما موجب (+) والآخر سالب (-) . يتضخم الفرعان اللذان يعتبر كل منهما بدائى كيس جاميطى. ينمو الفرعان فى اتجاه بعضهما حتى يتلاصقان. ثم يتكون جدار عرضى فى كل بدائى كيسى جاميطى يفصل فى كل منهما جزء

طرفى هو الكيس الجاميطى وهو عديد الأنوية وجزء قاعدى هو المعلق. يذوب الجدار الفاصل بين الكيسين الجاميطين ويمتزج البروتوبلاستان ثم تتحد كل نواه من كيس جاميطى مع نواه من كيس جاميطى آخر ويتكون بذلك زيجوت عديد الأنويه. يكبر الزيجوت ثم يحاط بجدار سميك متحولاً إلى جرثومه ساكنه تعرف بالجرثومه الزيجويه zygospore. تتحمل الجراثيم الزيجويه الظروف البيئيه غير الملائمه وتظل ساكنه سنة أو أكثر. ومن هذه الفطريات *Rhizopus stolonifer* (شكل ٧).

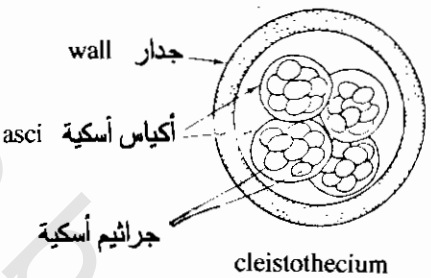
وفى حالة الفطريات الأسكيه ascomycetes يكون ناتج التكاثر الجنسى تكوين كيس أسكى ascus به ثمانية جراثيم أسكيه ascospores عاده.

يحدث التكاثر الجنسى بطرق عديده، أهمها تزاوج أعضاء جنسية متميزة. فيتكون عضو التأنيث ascogonium من انتفاخ كروى الشكل عادة، يخرج منه نمو خيطى يعرف بالشعرة المؤنثة trichogyne ويتكون عضو التذكير antheridium من خلية طرفيه اسطوانية الشكل. وعضو التذكير والتأنيث عديدا الأنوية. تلامس الشعرة المؤنثة عضو التذكير ويذوب الجدار الفاصل فى منطقة التلامس وتنتقل نوايات عضو التذكير خلال الشعرة المؤنثة إلى عضو التأنيث، تترافق النوايات فى أزواج بحيث يتكون الزوج من نواة من عضو التذكير وأخرى من عضو التأنيث. تبرز من قمة عضو التأنيث هيفات تصبح خطافية الشكل محدودة النمو وتسمى بالهيفات الأسكية ascogenous hyphae ، ينتقل الى كل منها نواتين مترافقتين، تنقسم كل منهما انقساماً غير مباشر ويتكون أربع نوايات، واذا تبقى أنوية فى عضو التأنيث فأنها تتحلل عادة. يتكون جدار يفصل عضو التأنيث عن الهيفا الاسكية، ثم يتكون جداران داخل كل هيفا أسكية فيتكون ثلاث خلايا، الطرفية تحتوى على نواة واحدة، والوسطية وتقع عند انحناء الهيفا وتحتوى على نواتين أحداهما ناتجة عن انقسام نواة مذكرة والأخرى ناتجة عن انقسام نواة مؤنثة، والخلية القاعدية تحتوى على نواة واحدة. تندمج نواتا الخلية الوسطية للهيفا الاسكية وتتكون نواة واحدة ثنائية الاساس الكروموسومى، تنقسم تلك النواة انقساما اختزالياً ثم انقساماً غير مباشر لتنتج ثمان نوايات تحيط كل منها نفسها بجزء من السيتوبلازم ثم تفرز حول نفسها جدار متحولة الى جرثومة أسكية ascospore . وفى هذه الأثناء تكبر الخلية الوسطى المحتوية على ثمانى جراثيم أسكية وتصبح كيسا أسكياً ascus (شكل ٩).

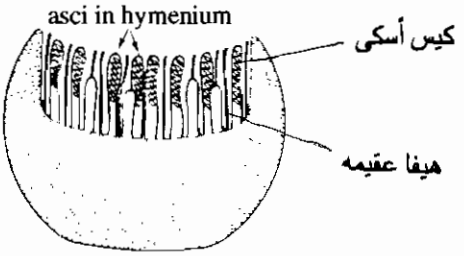


(شكل ٩) : خطوات تكوين الأكياس الأسكيه

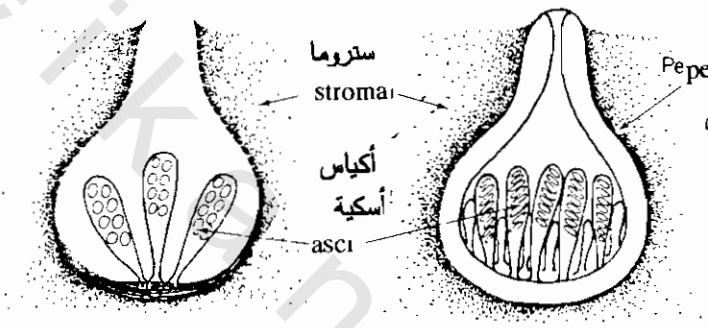
قد تكون الأكياس الأسكية عارية كما فى الخميرة ولكنها غالباً ما تتكون داخل أو على أجسام ثمرية أسكية ascocarps ، يوجد منها أربعة أنواع (شكل ١٠) كالآتى:



cleistothecium

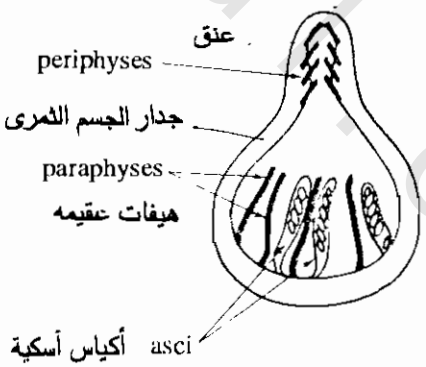


apothecium



ascostroma

perithecium فى سترومـا



perithecium بدون سترومـا

(شكل ١٠) : قطاعات طوليه فى أنواع مختلفة من الأجسام الثمريه الأسكية.

١ـ أجسام ثمرية مغلقة cleistothecia ، وهى عادة كروية الشكل ليس لها فتحة، وتوجد بها الأكياس الأسكية مبعثرة. تنتشر الأكياس الأسكية والجراثيم بتحلل جدار الجسم الثمرى أو بتمزقه. وتشاهد الأجسام الثمريه المغلقة فى فطريات البياض الدقيقى والأسبرجلس والبنسيليوم.

٢ـ أجسام ثمرية دورقية perithecia ، وهى عادة كروية إلى كمثرية إلى قارورية ولها عنق يسمى فوهة ostiole. وهى تنفتح عادة عند النضج بفتحة. يبطن العنق بهيفات عقيمة قصيرة periphyses. لهاجدار توجد بداخله الأكياس مرتبة بانتظام ومتوازية قد يوجد بين الأكياس الأسكية هيفات عقيمه paraphyses .

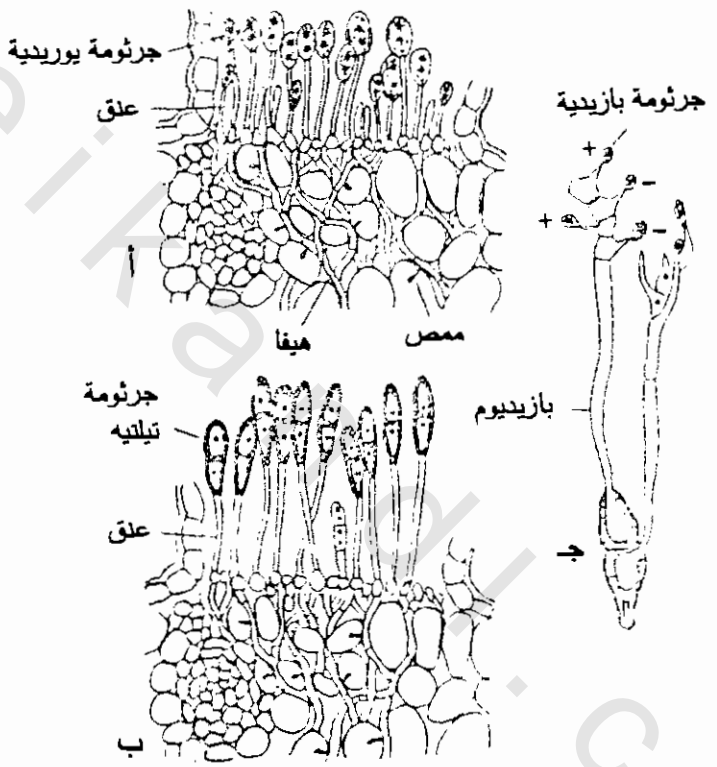
وقد توجد الأجسام الثمريه حرة وقد تكون مغمورة فى وساده من هيفات الفطر تسمى ستروما stroma . ومن أمثلة ذلك فطريات الأرجوت وجبريللا *Gibberella* أى الفيوزاريوم *Fusarium* .

٣ـ أجسام ثمرية مكشوفة apothecia ، وهى أجسام ثمرية قد تكون قرصية أو قمعية أو كأسية أو ذات قلنسوة. وتحمل الأكياس الأسكية مرتبة ومتوازية على سطحها عادة كما الفطر *Sclerotinia* .

٤ـ أجسام ثمرية ذات ستروما ascostroma ، وهى أجسام ثمريه ليس لها جدار محدد وهى كرويه إلى كمثريه إلى متطاوله لابد وأن تكون مدفونة فى ستروما أى وسادة من هيفات الفطر ومثال ذلك فطر جرب التفاح والكمثرى.

وفى الفطريات البازيديه تتكاثر لاجنسياً بتكوين جراثيم كونيديه كما فى بعض الفطريات مثل بعض فطريات التفحم أو بتكوين جراثيم يوريديه كما فى فطريات الأصداء. والجراثيم اليوريديه (شكل ١١) وحيدة الخليه معنقه وتتكون فى بثرة يوريديه على سطح النبات وتنتشر بالهواء وتكرر الاصابة فى أثناء الموسم فى فطريات الأصداء. يحدث التكاثر الجنسى بطرق مختلفة بتزاوج هيفتين خضريتين كما فى فطريات عيش الغراب والعرهونات وأرميللاريا *Armillaria* وفى الأصداء والتفحمات. بالاضافة الى ذلك تتكاثر فطريات الأصداء

جنسياً بواسطة طريقة التلقيح بالجراثيم الأسبرماشيه spermatization . نتيجة للتزاوج الجنسى تتكون فى الأصداء والتفحمات الجراثيم التيليه (شكل ١١) .

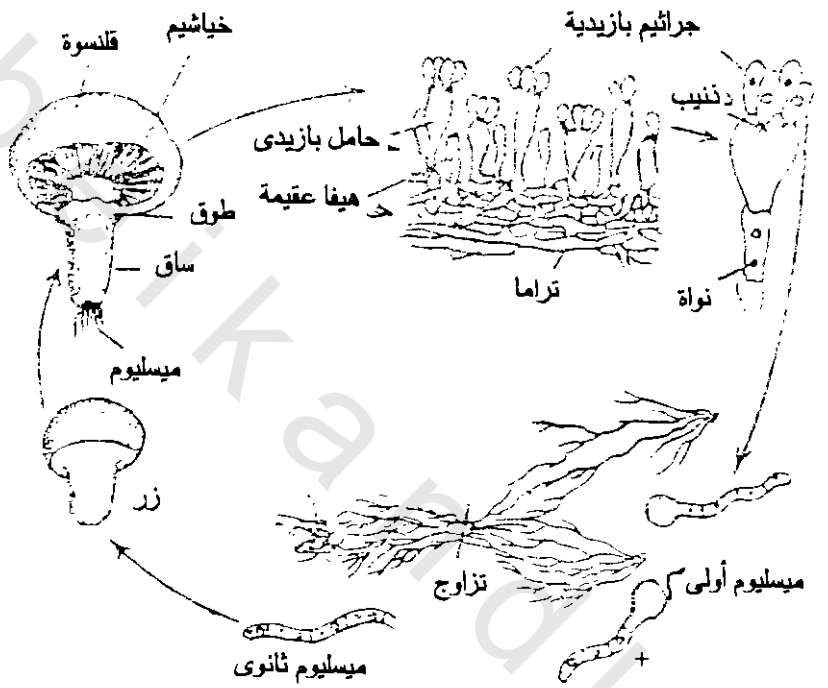


(شكل ١١) : صدأ الساق الأسود فى القمح

(أ) بثرة يوريدية. (ب) بثرة تيليتية.

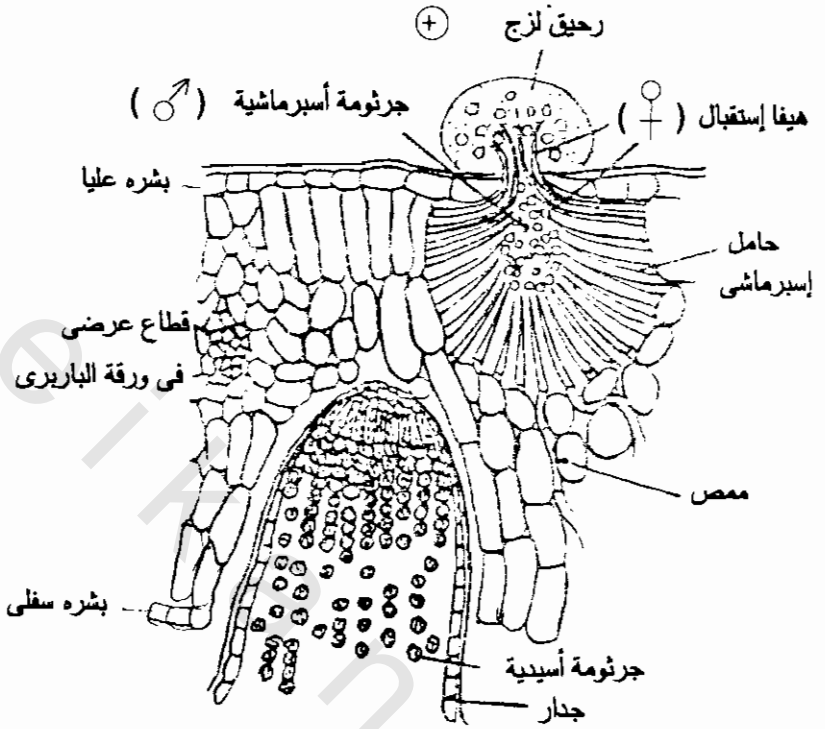
(جـ) إنبات جرثومة تيليتية

ونتيجة للتزاوج أيضاً تتكون حوامل بازيديه basidia تحمل خارجياً جراثيم بازيديه basidiospores . وقد تكون الحوامل البازيديه منفرده كما فى الأصداء والتفحمات أو تكون محموله على أجسام ثمريه كما فى عيش الغراب وفطر أرميللاريا (شكل ١٢)



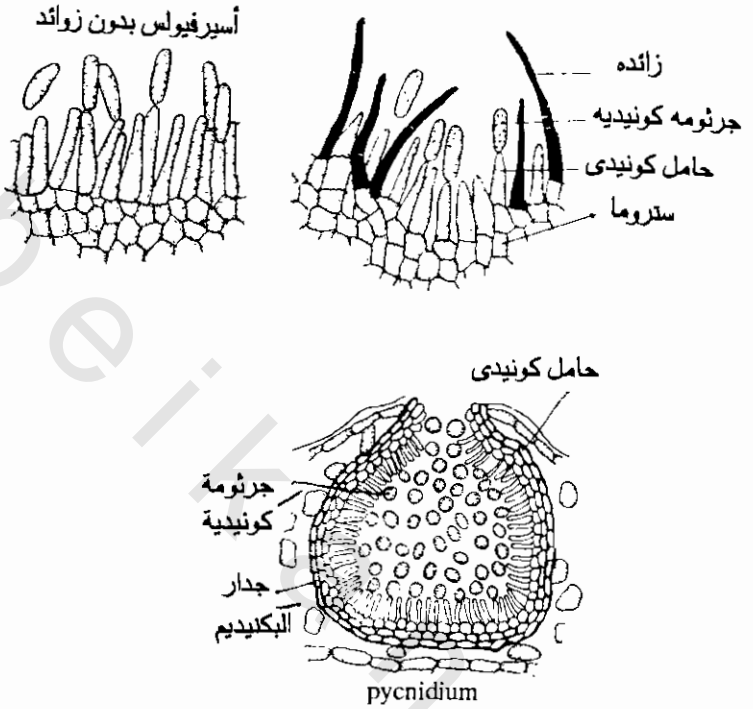
(شكل ١٢) : دورة حياة فطر عيش الغراب وهى تماثل دورة حياة فطر *Armillaria mellea* وفطر *Amanita* .

والعرهونات ومنها الفطر *Amanita* . تكون الحوامل البازيديه بسيطة غيرمقسمه وتحمل على سطحها أربعة جراثيم بازيديه قميه وقد تكون مقسمه وتحمل جانبياً أربعة جراثيم بازيديه . فى فطريات الأصداء يتكون على الجزء العلوى لورقة النبات أوعيه فطريه تسمى spermogonia ويتكون على الجزء السفلى من الورقة أوعية أسيديه aecidia (شكل ١٣) .



(شكل ١٣) : قطاع عرضى فى جزء من ورقة نبات الباريرى يبين الوعاءspermogonium (علوى) والوعاء الأسيدى (سفلى).

وفى الفطريات الناقصة لا يحدث تكاثر جنسى بل يحدث تكاثر لاجنسى فقط ويكون عادة بواسطة جراثيم كونيديه conidia تحمل على حوامل كونيديه لا توجد فى تجمعات مثل فطريات *Penicillium , Aspergillus , Alternaria , Botrytis , Piricularia , Helminthosporiun* وقد توجد هذه الحوامل الكونيديه فى تجمعات خاصة وتراكيب معينه (شكل ١٤) وأهمها البكنيديم pycnidium وهو عبارة عن تركيب كروى إلى كمثرى إلى متطاول الشكل وله جدار مكون من هيفات متداخله غليظه الجدر لتكون جدار سميك صلب وبداخله حوامل كونيديه تحمل جراثيم كونيديه كما فى كثير من الفطريات مثل *Diplodia* وقد تتكون الحوامل من



(شكل ١٤) : قطاع طولى فى أسيرفيولس ذو زوائد وآخر بدون زوائد وبكنيديم.

تركيب معين هو أسيرفيلس acervulus وهو عبارة عن هيفات متزاحمه على هيئة ستروما stroma يخرج منها حوامل كونيديه متراصه بجانب بعضها البعض وقد توجد تحت بشرة النبات ومثال ذلك الفطريات المسببه لمرض الأنثراكنوز. *Colletotrichum* و*Gloeosporium* . وقد تتكون هيفات متزاحمه يخرج منها حوامل كونيديه متلاصقه وتحمل جراثيم كونيديه وذلك كما فى التركيب المسمى sporodochium سبورودوكيوم وهو يميز فطريات الفيوزاريوم *Fusarium* والفطريات الأخرى التى تنتمى إلى عائلة فطر الفيوزاريوم.

وفى الفطريات الناقصة لايحدث تكاثر جنسى وأحياناً لا يحدث تكاثر لاجنسى أيضاً. حيث أن الفطر يكون هيفات فقط وحيث أن الهيفات رهيفه ولا تتحمل الظروف البيئية غير

الملائمة فإنه يكون أجسام حجريه فقط. أى أن الفطر لا يكون أى نوع من الجراثيم. والجسم الحجرى sclerotium عبارة عن هيفات متداخله ومتشابكه وخلاياها غليظة الجدر لتكون كتلة سميكة صلبه عادة تعرف بالجسم الحجرى. يختلف الجسم الحجرى فى شكله ولونه فقد يكون كروى إلى مستدير أو متطاول أو قرصى وقد يكون أسود أو بنى اللون وذلك تبعاً لنوع الفطر. يتحمل الجسم الحجرى الظروف البيئية غير الملائمة. ومن أمثلة ذلك أنواع فطر *Sclerotium* مثل *S. rolfsii* ، *S. cepivorum* .

ب ـ الطحالب الخضراء Green Algae : بعضها يتكون من خليه واحده والبعض الآخر يتكون من خلاياعديدة توجد على شكل مستعمره أو تنتظم فى شكل خيطى أو متورق. تحتوى على بلاستيدات خضراء ولها جدار من السليلوز يبطن بغشاء بلازمى ويتكون البروتوبلازم من نواه وسيتوبلازم به فجوه عصاريه وميتوكوندريا وشبكة إندوبلازميه وريبوسومات. تتكاثر بتكوين الجراثيم المتحركة أو الغير متحركة.

جـ ـ النباتات الزهريه المتطفله Parasitic Flowering Plants :

نباتات راقيه تكون أزهار تماثل فى تركيبها وتشريحها النباتات الزهريه العاديه إلا أنها ينقصها الجذور ولذلك تعتمد على النبات العائل لأخذ الغذاء اللازم. علاوه على ذلك فإن بعض منها يكون خال من الكلوروفيل. تكون كامله التطفل عندما ينقصها الكلوروفيل والجذوركما فى الهالوك والحامول وقد تكون ناقصه التطفل عندما ينقصها الجذور فقط كما فى العدار.

(٢) كائنات حيوانيه :

ومنها الحيوانات الأوليه مثل السوطيات ومنها النيماتود.

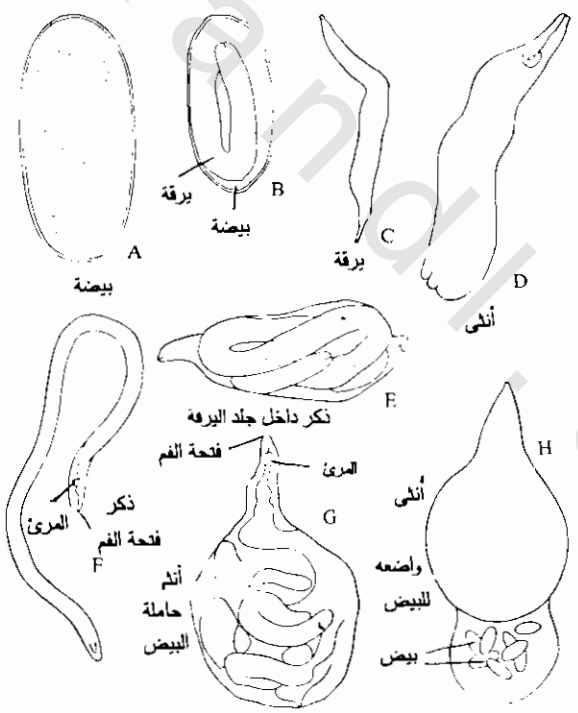
أ ـ السوطيات Flagellates :

تتميز بأنها حيوانات أوليه لها سوط أو أكثر flagella على الأقل فى بعض أطوار حياتها. يكون السوط طويل ومرن. يستعمل السوط للحركة والتقاط الغذاء food capture وربما عضو

احساس. الجسم طويل بيضاوى وقد يكون كروى ويحاط بغشاء رفيع مرن عاده. يحتوى الجسم على نواه وشبكة إندوبلازميه وميتوكوندريا وريبوسومات وفراغ منقبض وقليل منها يحتوى بلاستيدات خضراء. تتكاثر بالإنفلاق (الانقسام الثنائى البسيط) طولياً. بعضها مترمم والبعض الآخر متطفل على الحيوان أو الانسان أو النبات.

ب ـ النيماتود Nematodes :

شكلها أسطوانى عادة ولها فتحتى فم وإخراج ولها جهاز عصبى وهضمى وتناسلى. تتكاثر بتزاوج الذكر والأنثى وتضع الأخيره البيض والذى يخرج منه يرقات تكبر فى الحجم وتنسلخ عدة إنسلاخات لتتكون الديدان البالغة وهكذا تتكرر دورة الحياة (شكل ١٥). بعضها يعيش



(شكل ١٥) : دورة حياة نيماتود

معيشه رميه والبعض الآخر طفيلى. تتميز الديدان الثعبانيه التى تصيب النبات بوجود جزء متحور من المرئ يسمى الرمح stylet or speer وعن طريقه تتغذى الدودة من العائل النباتى.

ثالثاً: الفيروسات والفيرويدات:

الفيروسات

الفيروس virus كلمة لاتينية تعنى السم أو الجوهر المعدى. وتعتبر الفيروسات كيانات entities ممرضة متطفلة تطفلاً داخلياً أجبارياً، وليس لها تركيب خلوى، وغير قادرة على النمو والانقسام، لا تنشط ولا تتكاثر إلا فى جسم كائن حى آخر. وهى صغيرة الحجم لاترى إلا بالميكروسكوب الالكترونى. تحتوى على نوع واحد فقط من الأحماض النووية RNA أو DNA . وقد اعتبرت الفيروسات نباتات تبعاً لكتاب برجس سنة Bergeys ١٩٥٧ حيث تقع تحت الرتبة الفيروسية order virales التى تتبع قسم النباتات الأوليه protophyta . بعض العلماء يضع الفيروس فى مملكة خاصة وهى مملكة الفيروسات virus kingdom . يوضع الفيرس الآن فى تقسيم خاص به.

حجم وشكل الفيروسات:

الفيروسات هى أصغر الأحياء المعروفة بعد الفيرويدات viroids ، تمر من خلال المرشحات التى لا تسمح بمرور البكتريا عادة، طول الكبير منها يصل إلى ١٢٥٠ ملليميكرون كما فى فيروس اصفرار البنجر الخيطى الشكل، وقطر أصغرها يصل إلى ٢٠ ملليميكرون كما فى فيروس الحمى القلاعية food and mouth disease الكروى الشكل. ومن الفيروسات الوسطية فى الحجم فيروس الكلب rabies وقطره حوالى ١٢٥ ملليميكرون. وللمقارنة نجد أن خلية البكتريا ستافيلوكوكس قطرها ١٠٠٠ ملليميكرون وأن أبعاد جزئ البيومين البيض هو ١٠×٢,٥ ملليميكرون.

تحتاج الدراسة المورفولوجية للفيروسات الى استخدام الميكروسكوب الالكترونى، وذلك بعد عمل قطاعات رقيقة جداً من النسيج المصاب تصل فى السمك حوالى ٣٠ ملليميكرون،

وذلك بعد تثبيت القطاع وتحميله فى نوع خاص من البلاستيك، ويستخدم فى عمل القطاعات أمواس خاصة من الزجاج المشطوف أو من الماس المصقول.

والميكروسكوب الالكترونى يشبه الميكروسكوب الضوئى إلا أن ضبط الصورة يتم باستخدام مجالات مغناطيسية تحل محل العدسات العينية والشيئية والمكثف، وباستخدام أشعة الكترونية بدلاً من الأشعة الضوئية. وحيث أن الأشعة الالكترونية ذات موجات قصيرة جداً اذا ما قورنت بالأشعة الضوئية، فإن قدرة التمييز باستخدامها تزداد مما يمكن معه رؤية الأشياء التى تقل عن ملليميكرون. ويتم الفحص تحت تفريغ عال، وتظهر الصورة على شاشة خاصة أو تصور جهاز خاص.

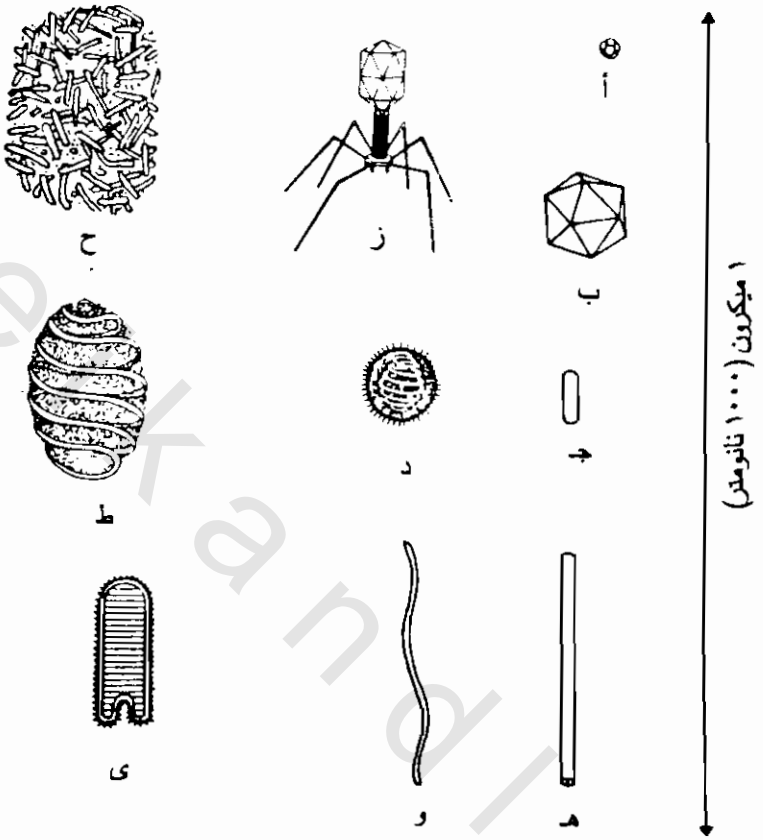
تختلف الفيروسات فى الشكل، وقد وجد أن كثيراً منها كروى الشكل كما فى فيروسات الحمى القلاعية والكلب والانفلونزا وتقزم نباتات الطماطم وقد تكون عصوية كما فى فيروس تبرقش الدخان TMV وأبعاده ٣٠٠×١٥ ملليميكرون وقد تكون مضلعة كما فى فيروس الفاكسين vaccinia وأبعاده ٢٦٠×٢١٠ ملليميكرون وقد تكون ذات رأس وذيل كما فى بعض البكتيريوفاجات bacteriophages والتى يطلق عليها عادة الفاجات phages وهى الفيروسات التى تهاجم البكتريا (شكل ١٦) . جميع الفيروسات الكروية مضلعة عاده أو حلزونية.

تصنيف وتسمية الفيروسات :

قسم هولمز سنة ١٩٤٨ الفيروسات الى ثلاث مجاميع هى:

فيروسات تصيب النبات	Phytophaginae
فيروسات تصيب الحيوان	Zoophaginae
فيروسات تصيب البكتريا	Phaginae

اقترح هولمز تسمية الفيروسات تسمية ثنائية مثل باقى الكائنات الحية، أى أن اسم الفيروس يتكون من اسم جنس واسم نوع. واعتمد هولمز فى تسميته للفيروسات على الاعراض المرضية التى يسببها الفيروس للكائن العائل. ولكن لم تنل التسمية الثنائية للفيروسات رواجاً بين علماء الفيروسات نظراً لقلة معلوماتنا الدقيقة عن الفيروسات ولعدم وجود أساس ثابت



(شكل ١٦) : رسم تخطيطى مبيناً الشكل والحجم التقريبى لبعض الفيروسات

(أ) الفاج ϕ x 174 (ب) اديدوفيرس

(جـ) فيروس موزايك البرسيم الحجازى. (د) فيروس الانفلونزا.

(هـ) فيروس موزايك الدخان. (و) فيرس x للبطاطس

(ز) باكتيريوفاج T-even . (ح) فيروس الجدرى (فاكسينا).

(ط) فيروس الجدرى (أورف). (ى) رابدوفيرس.

للتسمية الثنائية لهذا فتعتمد التسمية الحالية على اسم العائل ووصف العرض الذى يحدثه الفيروس، فالفيروس الذى يهاجم الدخان ويسبب له مرض التبرقش يسمى فيروس تبرقش الدخان TMV ، والفيروس الذى يصيب البطاطس ويسبب عرض التفاف الأوراق يسمى فيروس التفاف أوراق البطاطس والفيروس الذى يصيب الانسان وبعض الحيوانات مسبباً مرض الكلب يسمى فيروس الكلب والفيروس الذى يصيب الانسان ويسبب الانفلونزا يسمى فيروس الانفلونزا وهكذا.

وحديثاً تقسم الفيروسات على أساساً تماثلها symmetry إلى أربعة أقسام، عديدة الأوجه (ذات العشرين وجهاً) icosahedral وحلزونية helical ومختلط بين الشكلين السابقينmixed forms ومعقدة complex forms .

تركيب الفيروسات :

توجد الفيروسات فى طورين متبادلين: طور خارج الخلية الحية ويتكون من وحدات معدية تعرف بالفيريون virion وتتكون من نوع من الحمض النووى مغلف بغلاف بروتينى، وطور داخل الخلية ويتكون من الحمض النووى فقط.

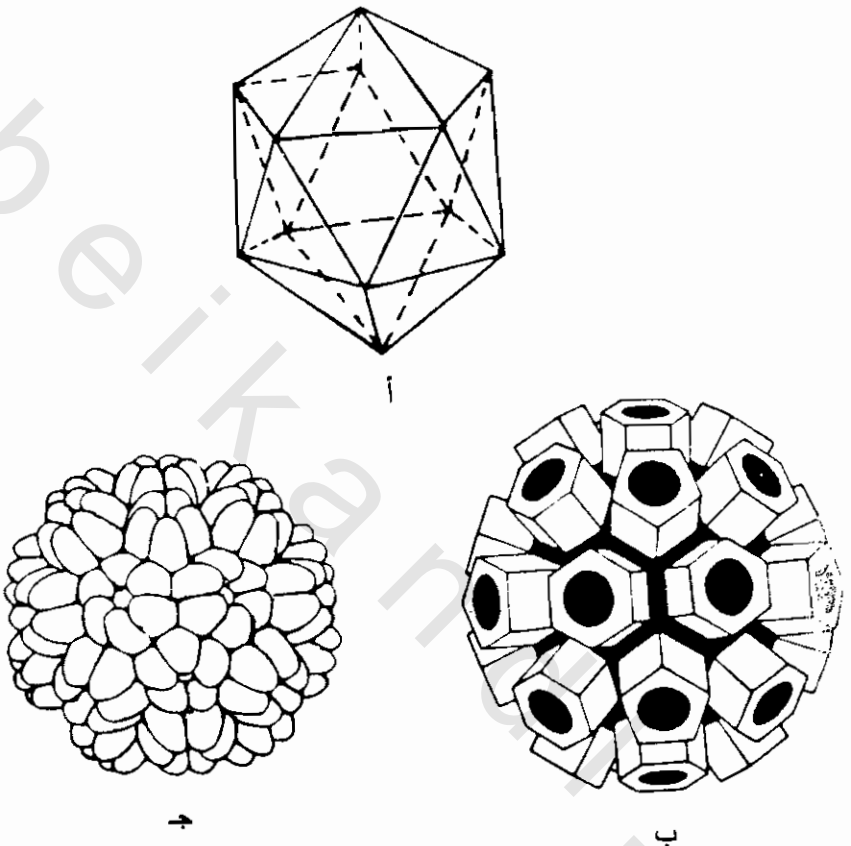
تتكون الفيروسات أساساً من أحماض نووية تحتوى على نوع واحد فقط من الأحماض النووية RNA أو DNA ، تكون عادة من نوع حمض الريبوز النووى الذى يرمز إليه بالرمزRNA فى معظم الفيروسات النباتية، وتكون من النوع الدى أكسى ريبوز النووى الذى يرمز إليه بالرمز DNA أو من حمض الريبوز النووى وهما يوجدان على انفراد كما فى الفيروسات الحيوانية، وتكون عادة من الحمض DNA فى الفيروسات البكتيرية. ويوجد مع الأحماض النووية مواد بروتينية تعمل كغلاف capsid يحيط بالحمض النووى المكون للفيروس وذلك فى معظم الفيروسات الصغيرة الحجم. وقد تحتوى الفيروسات المتوسطة والكبيرة الحجم بالإضافة إلى الأحماض النووية والبروتينات على مواددهنية وكربوايدراتية كما فى فيروس الانفلونزا.

يتركب الفيريون الواحد عادة من جزء وسطى يتكون من الحمض النووى فقط ويسمى القلب core ويحاط بغلاف يتكون من بروتين فقط أو بروتين مرتبط بمركبات أخرى حسب نوع الفيروس. ويوجد فى بعض الفيروسات غشاء يحيط بالفيروس ويعرف بالغطاء envelope.

يتكون الفيرون عديد الأضلع من حمض نووى أو حمض نووى بروتينى بشكل مضلع له عشرين ضلعاً (شكل ١٧) ومغلف بغلاف بروتين يسمى كابسيد capsid يتكون من وحدات مورفولوجية تسمى كابسومرات capsomers ، ويغلف البعض منها بغلاف غشائى envelope يشتق من غشاء خلية العائل الاختيارى النفاذية plasmalemma .

تظهر الكابسومرات فى الميكروسكوب الالكترونى بشكل منشورات مخمسة pentagonal أو مسدسة hexagonal (شكل ١٧ب) . وبتوضيح أكثر نجد أن كل كابسومر يتكون من خمسة أو ستة وحدات بروتينية (شكل ١٧جـ) . توجد الكابسومرات خماسية الأضلع على نقط تلاقى الأضلع، لهذا فعددها ثابت، فهى دائماً ١٢ . وتوجد الكابسومرات سداسية الأضلع على الأضلع وعددها عشرين ضلعاً أو على حواف الأضلع وعددها ثلاثون حافة، ولهذا فأعداد الكابسومرات السداسية عشرون أو ثلاثون أو مضاعفاتهما. وقد تكون الكابسو مرات السداسية غير موجودة كما فى حالة بعض أنواع البكتيريوفاج مثل الفاج Ø x174 (شكل ١٦ أ)، وأعدادها عشرون فى التبرقش الأصفر للفت ويصل العدد إلى ٢٤٠ فى أدينوفيروس Adenovirus (شكل ١٦ ب) .

ولوصف الفيروسات اقترح الرقم التثليثى triangulation number (T)، الذى يحسب بتقدير عدد الوحدات البروتينية الكلى الذى ينتج من ضرب عدد الكابسومرات من كل نوع فى عدد أوجهها ثم قسمة المجموع على عدد الوحدات البروتينية الخماسية، أى ١٢×٥=٦٠، وذلك كما هو موضح فى الجدول رقم ١ .



(شكل ١٧) : تركيب فيرون عديد الأضلع

(أ) شكل مضلع له عشرون ضلعاً (الحمض النووى)

(ب) كابسيد الفيرون مكون من ٣٢ كابسومر منها ١٢ خماسية الأضلع والباقى سداسية الأضلع.

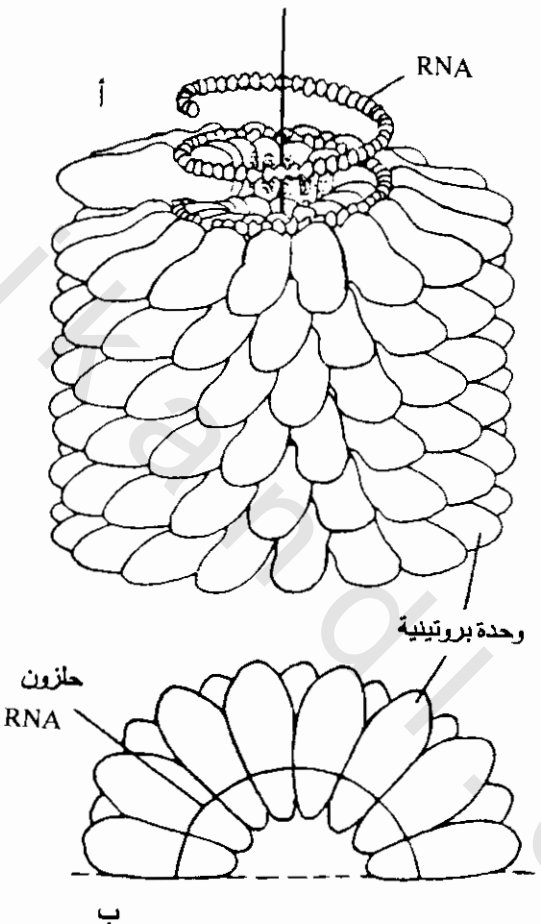
(جـ) الكابسيد السابق بدرجة توضيح أعلى تبين الوحدات البروتينية وعددها ١٨٠ وحدة فى ٣٢ مجموعة (كابسومر).

جدول رقم ١ : حساب الرقم الزاوى لبعض الفيروسات عديدة الأوجه

الفيـروس	القطر nm	عدد الكابسومرات الخماسية	عدد الكابسومرات السداسية	عدد وحدات البروتين	T
الـفـاج ϕ x174	٢٤	١٢		٦٠	$\frac{٦٠}{٦٠}$ = ١
الموزايك الاصفر للفت	٢٨	١٢	٢٠	١٢٠+٦٠	$\frac{١٨٠}{٦٠}$ = ٣
Nudaurelia capensis	٤٢	١٢	٣٠	١٨٠+٦٠	$\frac{٢٤٠}{٦٠}$ = ٤
رابيدوفيرس	٦٠	١٢	٨٠	٤٨٠+٦٠	$\frac{٥٤٠}{٦٠}$ = ٩
اديدوفيرس	٧٥	١٢	٢٤٠	١٤٤٠+٦٠	$\frac{١٥٠٠}{٦٠}$ = ٢٥

الفيروسات حلزونية التماثل تظهر عادة بشكل عصوى ويميزها الترتيب الحلزونى لوحدات البروتين حول الحمض النووى. ومن الفيروسات الحلزونية التى درست بتوسع فيروس تبرقش الدخان TMV، وهو فيروس عصوى مجوف أبعاده ٣٠٠×١٥ نانومتر، ويتكون من الحمض النووى RNA الحلزونى الشكل، ومرتب عليه وحدات بروتينية عددها حوالى ٢٢٠٠ وحدة مكونة الغلاف. ويحتوى المقطع على ١٦ وحدة بروتينية (شكل ١٨).

ومن الفيروسات الحلزونية فيروس الانفلونزا، وهو كروى الشكل مكون من قلب من RNA حلزونى يحاط بغلاف بروتين تخرج منها زوائد قطرية مرتبة حلزونياً (شكل ١٦) .

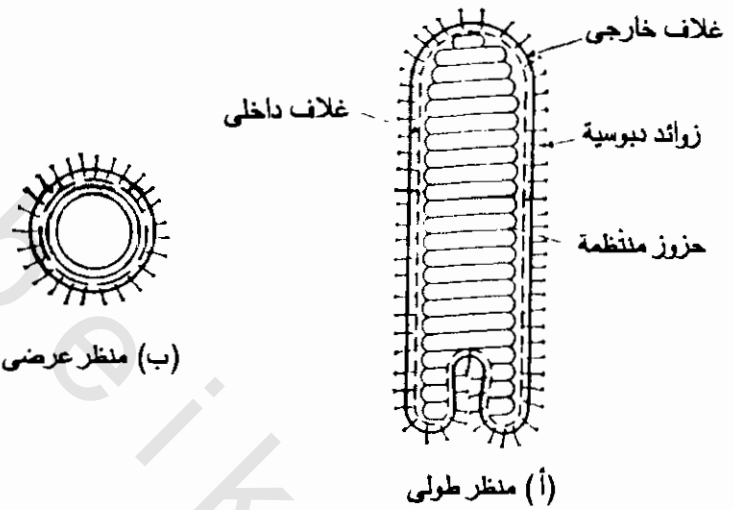


(شكل ١٨) : تركيب فيروس تبرقش الدخان
(أ) منظر مجسم لجزء من فيروس تبرقش الدخان
(ب) نصف طبقة من فيروس تبرقش الدخان

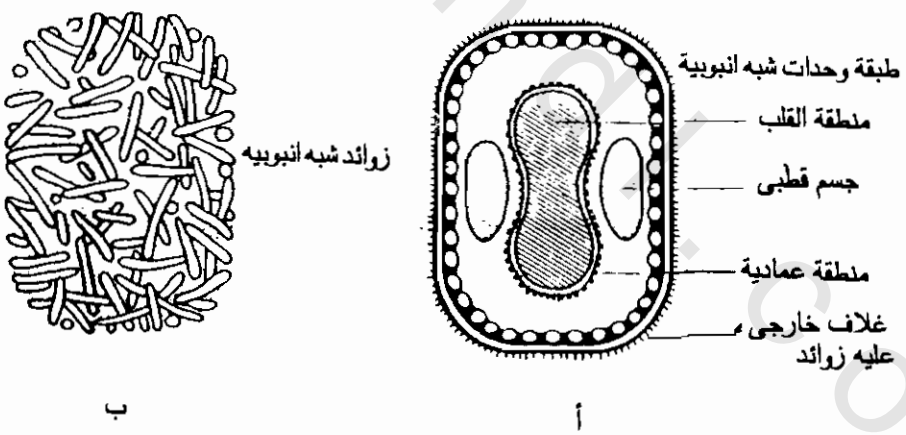
وفى المجموعة الثالثة يكون الفيروس خليط من النوعين عديد الأوجه والحلزونى كما فى نوع البكتيريوفاج ذو الرأس والذيل حيث يكون الرأس عديد الأوجه والذيل حلزونى (شكل ١٦ز). الرأس ذو قلب من الحمض النووى DNA ويحاط بغلاف بروتينى. يتصل الرأس بذيل tail مستقيم بروتينى، ويخرج من نهاية الذيل خيوط الذيل tail filaments.

المجموعة الرابعة وهى الفيروسات المعقده ومنها الفيروسات العصوية المعروفة باسم رابدوفيرس rhabdoviruses وفيروسات الجدرى المعروفة باسم بوكس فيرس poxviruses. يكون شكل الفيريون فى حالة رابدوفيرس عصوى أو عصوى بانبعاج داخلى فى قاعدته (شكل ١٦ى وشكل ١٩) ويتكون من غلاف خارجى envelope يليه للداخل الغلاف الداخلى cover الذى تخرج منه للخارج زوائد دبوسية الشكل spikes تخترق الغلاف الخارجى وتبرز للخارج، يلتف الغلاف الداخلى حول الجزيئ النووى البروتينى nucleocapsid الذى يتكون من RNA مع بروتين والذى يظهر على هيئة حزوز منتظمة striations . تصيب هذه الأنواع من الرابدوفيرس الحيوانات والحشرات والنباتات.

فيروسات الجدرى تتميز بأنها ذات شكلين مورفولوجين مختلفين هما شكل قوالب الطوب brick-shaped والشكل البيضاوى. تحتوى منطقة القلب فى الفيريون من أى من النوعين على الحمض النووى DNA، تحاط فى حالة فيريون فاكسينيا Vaccinia (شكل ١٦ح) وهو نوع من قالب الطوب بمنطقة عمادية palisaded region (شكل ١٩)، كما يوجد على جانبى المادة النووية جسمان قطبيان polar bodies ، ويبطن الغلاف الخارجى طبقة من وحدات شبه انبوبية. أما فى حالة فيريون أورف Orf (شكل ١٦ط) وهى من النوع البيضاوى فيتكون من غلاف خارجى عليه زوائد بداخله قلب من DNA ومكون شبه انبوبى يظهر بشكل حلزونى متقاطع criss-cross عند تصوير الجزء العلوى والسفلى للفيريون معا.



رسم تخطيطى لفيرون رابدوفيرس



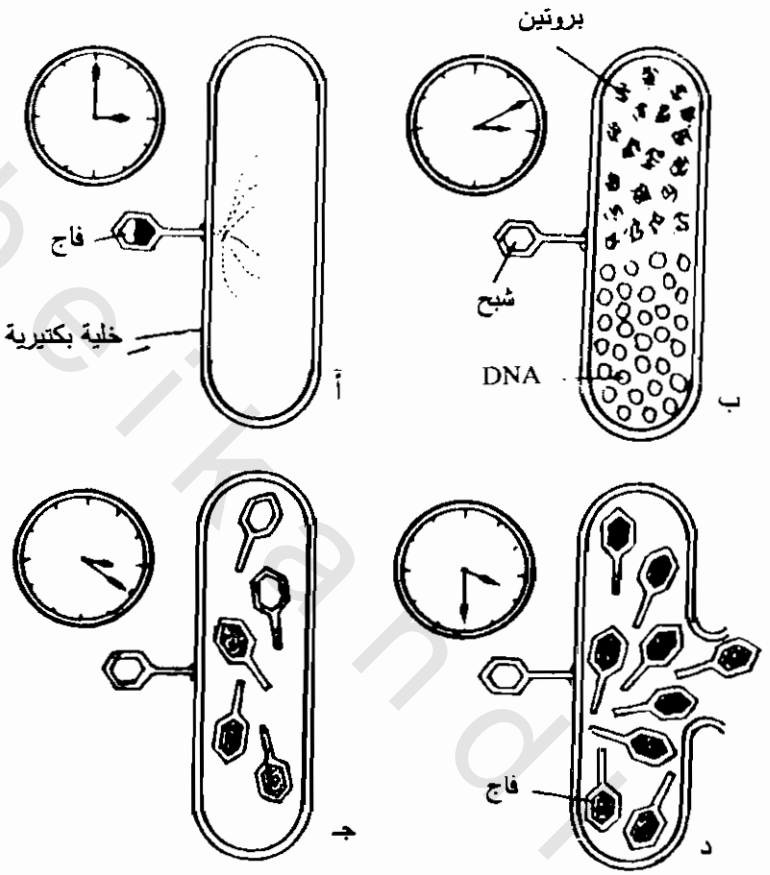
(شكل ١٩) : رسم تخطيطى لفيرون رابدوفيرس، ورسم يوضح تركيب فيروس الجدرى، فاكسينيا
(أ) قطاع عرضى. (ب) منظر سطحى للغلاف الخارجى يبين توزيع الزوائد شبه الانبوبية.

التكاثر فى الفيروسات:

تستطيع الفيروسات أن تنشط وتتكاثر داخل الخلايا الحية فقط. فيمكن تنمية كثير من الفيروسات مثل فيروسات الانفلونزا والغدة النكفية والجدرى فى الفيران البيضاء أو فى خنازير غينيا أو فى أجنة بيض الدجاج، كما ينمى فيروس مصل سالك المضاد لشلل الأطفال فى أنسجة كلية القرد، وتنمى الفيروسات التى تصيب النباتات على النباتات السليمة.

ومن أكثر الفيروسات دراسة من حيث النشاط والتكاثر، الفيروسات التى تهاجم البكتريا والتى تعرف بالبكتريوفاجات، فعندما يهاجم الفاج خلية بكتيرية فان ذيل الفاج يلتصق بجدار الخلية البكتيرية. وتثقب خيوط الذيل جدار الخلية البكتيرية مثبتة الفاج على سطح الخلية، قد تحلل الإنزيمات الموجودة فى الفاج جدار الخلية البكترية. ينقبض الذيل كله أو جزؤه العلوى المتصل بالرأس فيندفع الحمض النووى DNA الى داخل الخلية البكتيرية ويبقى الغلاف البروتينى فارغاً خارج الخلية البكتيرية، ويعرف الغلاف فى هذه الحالة بالشبحghost. يحدث بعد ذلك تداخل فى الحمض النووى DNA للفاج مع الأحماض النووية DNA للخلية البكتيرية مؤدياً الى اختلال العمليات الحيوية للخلية البكتيرية، ثم سيطرة الحمض النووى للفاج على سير العمليات الحيوية فى الخلية البكتيرية وتكون موجهة لانتاج الحمض النووى DNA والبروتين الخاصين بالفاج كل على حدة. تتجمع الأحماض النووية الناتجة مع البروتينات لتكون فاجات كثيرة جديدة. ويؤدى ذلك الى استهلاك محتويات الخلية البكتيرية وموتها وانفجار جدارها وخروج الفاجات. سرعة التكاثر فى الفيروسات كبيرة وقدرت فى حالة الفاج، فوجد أن فاج واحد يدخل خلية بكتيرية واحدة يمكنه أن يكون ١٠-٣٠٠ فاج جديد خلال ١٥-٣٠ دقيقة (شكل ٢٠).

مما سبق يتضح أن الفيروسات تختلف عن الكائنات الحية المتطفلة الأخرى فى أن الفيروس يتكاثر ويكون أجسام الفيروسات الجديدة الناتجة الأخرى من جزيئات مكونات خلايا العائل بعيداً عن جسم الفيروس، حيث أن الفيروس يستخدم ريبوسومات الخلايا أثناء تكاثره. أما الطفيليات الأخرى غير الفيروسية فانها تستمد غذاءها فقط من العائل وتحوله الى مكونات بروتوبلازمية وتنمو فى الحجم، ثم تكون من جسمها الأجزاء التكاثرية. ومما هو جدير بالذكر أن الفيروسات لا تنمو كما أنها لا تتكاثر بالانفاق.



(شكل ٢٠) : خطوات تكاثر الفاج فى خلية بكتيرية

ومن الجدير بالذكر أن المادة المعدية فى الفيروس والمسئولة عن التكاثر هى الحمض النووى. وقد وجد فى بعض الفيروسات مثل فيروس تبرقش الدخان أن الحمض النووى وحده اذا فصل عن الغلاف البروتينى وأدخل فى الخلية النباتية فانه يحدث العدوى ويكون فيروسات كاملة جديدة. واذا أدخلت فى خلية واحدة سلالتين مختلفتين من فيروس واحد فان المادتين النوويتين لكل من السلالتين تختلطان معاً وينتج عنهما فيروسات جديدة خليطة فى صفاتها بين السلالتين الأصليتين.

تسبب الفيروسات موت وتحلل خلايا الكائن الحى العائل عادة، وقد تسبب أوراما كما فى بعض فيروسات الحيوانات. وتحدث الفيروسات تغييراً فى محتويات الخلية المصابة، فبعض الفيروسات تكون داخل الخلايا أجساماً كبيرة يمكن رؤيتها بالميكروسكوب الضوئى تعرف بالاجسام المحتواه inclusion bodies، وتشاهد فى خلايا أوراق نبات الدخان المصابة بفيروس التبرقش. والاجسام المحتواه غير معروف طبيعتها بالضبط، فقد تنتج عن تجمع عدد كبير من الفيروسات، وتحاط كل مجموعة بغشاء، وقد تكون هذه الأجسام عبارة عن نواتج عرضية غير حية ناتجة عن نشاط الفيروس.

الفيروسات التى تصيب النبات:

تتميز الفيروسات المسببة أمراض للنبات بأن لها أشكال وأحجام مختلفة (شكل ٢١) ويمكن تقسيمها عرفياً وللسهولة الى فيروسات متطاولة elongated وفيروسات كرويه spherical. بعض الفيروسات المتطاوله عصويه قصيره ويكون طولها حوالى ضعف الى ضعفين عرضها كما فى مرض موزايك (تبرقش) البرسيم الحجازى وأبعاده ١٨×٥٨ نانومتر ومرض تخطيط تبرقش القمح striate mosaic virus وأبعاده ٧٨×١٧٦ نانومتر. بعض الفيروسات الأخرى عصويه طويله كما فى فيروس تبرقش التبغ TMV وأبعاده ١٥×٣٠٠ نانومتر. وفيروس تخطيط تبرقش الشعير stripe mosaic virus وأبعاده ٢٠×١٣٠ نانومتر. ولكن الكثير من الفيروسات المتطاولة تظهر على هيئة خيط أو شريط طويل رفيع مرن قابل للإلتواء وعادة يكون عرضها من ١٠-١٣ نانومتر وتتراوح أطوالها من ٤٨٠نانومتر فى فيروس موزايك (تبرقش) البرسيم الأبيض white clover mosaic virus الى ١٢٥٠ نانومتر كما فى فيروس اصفرار البنجر beet yellows virus وقد تكون وسط فى أطوالها كما فى فيروس X , Y فى البطاطس. عادة الفيروسات الكرويه عديدة الأوجه polyhedral تتراوح فى أقطارها من ١٧ نانومتر كما فى satellite virus الى ٦٠ نانومتر كما فى فيروس الورم الجرحىwound tumor virus. واكتشف حديثاً فيروس عديد الأوجه له ذيل طوله ١٤ نانومتر وهو فيروس يصيب الطحالب الخضراء المزرقه (LPP-I) . كما أن فيروس الذبول المبقع فى الطماطم tomato spotted wilt له ذيل أيضاً.

(شكل ٢١) : أشكال الفيروسات وأحجامها

بعض الفيروسات النباتيه بالإضافة إلى أنها تتكون عادة من RNA وبروتين فقد يكون لها غشاء يحيط بها outer envelope or membrane مثل فيروس التقزم الأصفر فى البطاطس potato yellow dwarf virus وفيروس الذبول المبقع فى الطماطم.

تعتبر الغالبية العظمى من الفيروسات التى تصيب النبات أنها تتكون من خيط مفرد من single stranded RNA - RNA (ssRNA) ولكن قليل منها يكون خلاف ذلك. فقد وجد أن فيروس تقزم الأرز rice dwarf وفيروس الورم الجرحى فى البرسيم clover wound tumor يتكون من خيطين (شريطين) من double stranded RNA - RNA (ds RNA) . أما فيروس تبرقش (موزايك) القنبيط cauliflower mosaic virus فإنه يتكون من خيطين من DNA (ds DNA) double stranded DNA virus . الفيروسات التى تحتوى على خيطين من DNA أوRNA يكون يكون كل خيط منهما حلزونى ويلتف كل منهما حول الآخر تماماً كما فى حلزونى جزيئ DNA . بعض الفيروسات تحاط بغلاف envelope كما فى الذبول المبقع فى الطماطم.

الفيرويدات

تعتبر الفيرويدات viroids أصغر الأحياء على الاطلاق، إجبارية التطفل، وهى عبارة عن جزئى من الحمض النووى RNA يتراوح وزنه الجزئى ما بين ٧٥٠٠٠ إلى ١٢٧٠٠٠ دالتون. تسبب الفيرويدات أمراضاً للنبات منها مرض الدرنة المغزلية فى البطاطس، وكذلك أمراضاً للحيوان.

ب. الأمراض غير الطفيليه Non- Parasitic Diseases

وهى أمراض تنشأ نتيجة لإختلال فى الظروف البيئية المحيطة بالنبات. فقد يكون لتلوث الماء water pollution أو تلوث الهواء air pollution أو تلوث التربه soil pollution. أو قد يكون لنقص أو زيادة العناصر المغذية للنبات فى التربة.

ويعتبر أيضاً ضرر الصقيع والذى يؤدى الى احتراق الأوراق أو حوافها والذى يؤدى الى ضعف النبات أو موته من هذه الأمراض. ومن المعروف أن زيادة تركيز غاز ثانى أكسيد الكبريت فى الجو والذى يوجد فى دخان كثير من المصانع يسبب تأثير ضار على النبات وقد

يسبب موته. يمكن أن يسبب تلوث الرشاشه أو موتورات الرش أو المياه أو التربه بالمبيدات وخاصة المبيدات التى لها نشاط هورمونى مثل مبيد 2,4-D تأثير ضار للنباتات. تعتبر جميع الحالات السابقة أمراض نبات غير طفيلية.

انواع المعيشه والتغذية فى مسببات امراض النبات

تعتبر الكائنات الحية التى تحتوى على الكلوروفيل وبالتالى يمكنها القيام بعملية البناء الضوئى بأنها ذاتية التغذية autotrophes والكائنات التى لا تحتوى على الكلوروفيل وبالتالى فإنه لا يمكنها القيام بعملية البناء الضوئى فإنها تعتبر معتمدة التغذية أى غير ذاتية التغذية heterotrophes ولذلك لابد أن تأخذ غذائها العضوى مجهز من مصدر آخر لأنها غير قادرة على تخليقه فى عملية البناء الضوئى ولذلك فإن هذه الكائنات قد تتطفل أن تترمم.

فى حالة التطفل Parasitism يستمد الطفيل غذائه من كائن حى وفى حالة الترمم Saprophytism يستمد الكائن الرمى Saprophyte غذائه من مركبات أو مواد عضوية أو كائنات ميتة. يعتبر الطفيل Parasite كائن حى يعيش على أو فى كائن حى آخر يختلف عنه فى المرتبة التقسيمية ليستمد منه غذائه ويمضى معه جزء أو جميع دوره حياته مع وجود علاقة بيولوجية بينهما. وفى هذا التعريف لابد من الأختلاف فى المرتبة التقسيمية وذلك لكى نستبعد من تعريف الطفيل الجنين فى بطن الأم أو البويضة فى مبيض الزهرة فكلاهما لا يعتبر طفيل لأنهما من نفس المرتبة التقسيمية للأم. تعتبر بكتريا العقد الجذرية *Rhizobium* طفيل حيث أنها تعيش فى جذور النباتات البقوليه ولا تسبب ضرر للنبات. ومثال آخر هو حالة الآشنات lichens حيث أن الطحلب الأخضر أو المزرق يعيش مع كائن آخر وهو الفطر معيشه تعاونيه يفيد كل منهما الآخر ولا يوجد ضرر لأى منهما على الآخر ويعتبر ذلك أيضاً نوع من التطفل ويسمى بالمعيشه التعاونيه Symbiosis ويسمى الطفيل Symbiont.

يمكن أن يكون الطفيل ممرض أى يسبب ضرر للنبات العائل وفى هذه الحاله يسمى Pathogen وذلك كما فى جميع الكائنات الحيه المسببه لأمراض النبات. ولذلك يسمى علم أمراض النبات Plant Pathology حيث أن المقطع patho معناه الطفيل الممرض والمقطع ology معناه علم. ولذلك فإن جميع pathogens طفيليات والعكس غير صحيح.

تعتبر جميع النباتات الخضراء ذاتية التغذية ولكن يشذ عن ذلك النباتات الزهريه المتطفله حيث أنها تكون خاليه من الجذور وأحياناً تكون علاوه على ذلك خاليه من الكلوروفيل ولذلك فإنها لابد أن تعتمد على كائن آخر لأخذ الغذاء. جميع الطحالب الخضراء والمزرقه حره ذاتية التغذية عدا النادر منها فهو طفيلى ويسبب أمراض للنبات. جميع الكائنات الأخرى وهى الميكوبلازما والسبيروبلازما والريكتسيا والبكتريا والفطر والسوطيات والنيماتود والفيرس والفيرويدات فإنها معتمدة التغذية وما يسبب منها أمراض للنبات فإنه طفيلى ومثال ذلك أنه ليس جميع أنواع البكتريا أو الفطر أو السوطيات أو ديدان النيماتود تسبب أمراض للنبات بل يوجد الكثير منها رمى أى يعيش معيشه رمية وليس له أى ضرر للنبات. ولكن يوجد منها أجناس أو أنواع تسبب أمراض للنبات ولذلك فإنها تكون من الطفيليات يشذ عن ذلك الفيروسات والفيرويدات فجميعها كائنات طفيلية ممرضه للنبات أو الحيوان.

يوجد أيضاً درجات للتطفل والترمم فى الكائنات المسببه لأمراض النبات وهى كما يلى:

١- كائنات إجبارية التطفل obligate parasites : كائنات تعيش على كائن حى ولا يمكنها المعيشه رمياً ومثال ذلك جميع الفيروسات والفيرويدات والنباتات الزهريه المتطفله. يتبع هذه المجموعة أيضاً جميع النيماتود والسوطيات المسببه لأمراض النبات وبعض الفطريات مثل فطريات البياض الدقيقى والبياض الزغبى والصدأ الأبيض وبعض التفحمات.

٢- كائنات إجبارية التطفل إيكولوجيا ecologically obligate parasites: وهى كائنات تعيش فى الطبيعة على النبات الحى ولاتعيش مترممه ولكن يمكن تنميتها على بيئات صناعية مثل فطر *Puccinia graminis* المسبب لمرض صدأ الساق فى القمح.

٣- كائنات إختيارية الترمم facultative saprophytes : وهى كائنات تعيش متطفله على النبات ولكن يمكنها المعيشه رمياً مثل فطر *Phytophthora* المسبب لمرض اللفحه المتأخرة فى البطاطس.

٤- كائنات اختيارية التطفل facultative parasites : وهى كائنات تعيش رميه ويمكن أن تعيش

متطفله على النبات مثل كثير من الفطريات ومنها المسبب لأمراض عفن الجذور مثل فطر *Fusarium* والبكتريا *Erwinia carotovora* المسببه لمرض العفن الطرى.

٥- كائنات إجبارية الترمم obligate saprophytes : وهى كائنات تعيش مترممه وليس لها دور فى أمراض النبات عدا النادر منها مثل فطر *Capnodium* المسبب لمرض التصويف الهبابى أو الأسود. حيث توجد هذه الفطريات مترممه على سطح الأوراق وتغطى الأوراق بطبقة سوداء وبذلك تمنع عنها الضوء وبذلك تتوقف عملية البناء الضوئى وتسبب ضعف أو موت للنبات. ولايوجد بين هذه الفطريات والأوراق أى علاقة بيولوجيه. ومن الأمثلة الأخرى فى هذا الصدد فطر *Periconia circinata* المسبب لمرض تعفن الجذور والمعروف باسم مرض ميلو milo disease وذلك فى بعض أصناف الذره الرفيعه حيث أن هذا الفطر يعيش رمياً فى التربه فى محيط جذور rhizosphere هذا النبات ويفرز سم يسمى periconin أوPC toxin يتكون من عديد الببتيد polypeptid . وهذا السم يسبب قتل خلايا الجذر وبالتالى حدوث عفن للجذور دون أن يصيب الفطر الجذور. يمكن للفطر أن يصيب الجذور ويحدث نفس النتيجة. أما عن ميكانيكية تأثير السم على خلايا النبات mode of action ترجع الى أن السم يزيد من سرعة تنفس خلايا النبات عن المعتاد وتقليل القدرة على استعمال الأحماض الأمينيه ويتداخل ويؤثر على وظائف الغشاء البلازمى الأكتوبلاست وينتج عن ذلك إختلال فى وظيفة الغشاء البلازمى وينتج عن ذلك فقد لمواد ومحتويات الخلية. تكون النتيجة النهائية لهذه التغيرات هى موت الخليه.

الباب الثالث

كيفية حدوث الاصابة وتكشف المرض وانتشاره

تحدث الإصابة ويتكشف المرض وينتشر ويحدث ذلك فى خطوات عديدة متتالية كما يلى:

اولاً : التلقيح (مرحلة ما قبل الاختراق)

تعنى كلمة التلقيح inoculation هو أن يصبح الطفيل ملامس للنبات ويسمى الجزء من الطفيل الذى يلامس النبات باللقاح inoculum . يختلف اللقاح بإختلاف الطفيل فيكون عبارة عن الهيفا أو الجراثيم أو الأجسام الحجريه فى حالة الفطريات ويكون الخليه فى حالة البكتريا والميكوبلازما والسبيروبلازما والسوطيات ويكون جزيئ الفيرس أو الفيرويد ويكون الدوده البالغه أو اليرقه أو البيضة فى حالة النيماتود ويكون البذور فى حالة النباتات الزهرية المتطفلة. تختلف عدد الوحدات فى اللقاح فقد يكون اللقاح خليه أو جرثومه أو يرقه أو أكثر. وقد يكون عدد الوحدات كبير جداً ومن أمثلة ذلك قطرة الماء الواحدة يمكن أن تحتوى على ملايين من الخلايا البكتيريه والتى تعتبر كلقاح. يختلف مصدر اللقاح باختلاف الطفيل ففى حالة أمراض الجذور يكون مصدر اللقاح هو التربة حيث يعيش الطفيل وينمو ويتكاثر. أما عن كيفية إنتقال اللقاح من مصدره الى النبات يكون بواسطة الهواء أو الحشرات أو الحيوان أو الانسان أو الماء تبعاً لنوع الطفيل. تحتاج جراثيم الفطريات وبذور النباتات الزهريه المتطفله الى الماء أو على الأقل رطوبه نسبية عاليه لكى تنبت ويكون مصدر الماء فى هذه الحالات الأمطار أو الندى أو ماء الرى.

يحدث فى هذه المرحلة أيضا أن تفرز جذور بعض النباتات مركبات تنتشر حول الجذور فى التربه قد تساعد على جذب الجراثيم المتحركة للفطريات أو النيماتود فى إتجاه الجذور ومثال ذلك إفرازات جذور بنجر السكر فإنها تجذب الجراثيم المتحركة للفطر *Aphanomyces cochlioides* مسبب مرض الجذر الأسود فى البنجر إلى اتجاه الجذور وتعرف هذه الحالة بالجذب الكيماوى chemotaxis للوحدات المتحركة. يمكن أن يفرز المجموع الخضرى أو الجذور إفرازات تنشط إنبات الجراثيم أو البذور ومن أمثلة ذلك أن بذور نبات الهالوك الموجودة فى التربة لاتنبت إلا فى وجود النبات العائل وقد اتضح أن جذور النبات تفرز إفرازات بها مركب أو مركبات لازمه لتنشيط إنبات بذور الهالوك ومن هذه المركبات هورمون الجبريللين.

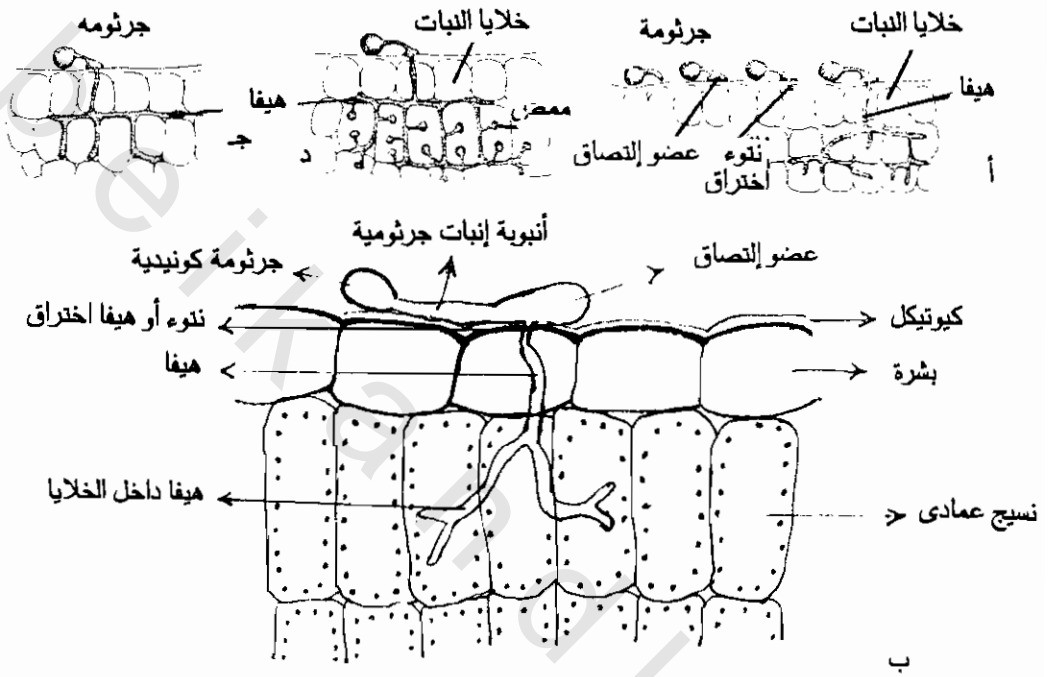
ثانياً : الاختراق:

تختلف كيفية حدوث اختراق الطفيل للنبات باختلاف العائل والطفيل. توجد طرق عديدة للاختراق penetration وهى كما يأتى:

١ـ اختراق مباشر direct penetration : يحدث اختراق مباشر لسطح النبات السليم بالطفيل وذلك كما فى بعض الفطريات والكثير من النيماتود وجميع النباتات الزهرية المتطفلة. يكون الاختراق المباشر لبشرة ساق أو أوراق أو أزهار النبات كما فى فطر *Botrytis fabae* المسبب لمرض التبقع البنى فى الفول أو للشعيرات الجذرية كما فى فطر *Fusarium oxysporum* f.sp. *lini* المسبب لمرض الذبول فى الكتان. قد يكون الميسليوم داخل الخلايا كما فى مرض التبقع البنى فى الفول أو يكون بين الخلايا كما فى مرض اللفحة المتأخرة فى البطاطس والطماطم (شكل٢٢).

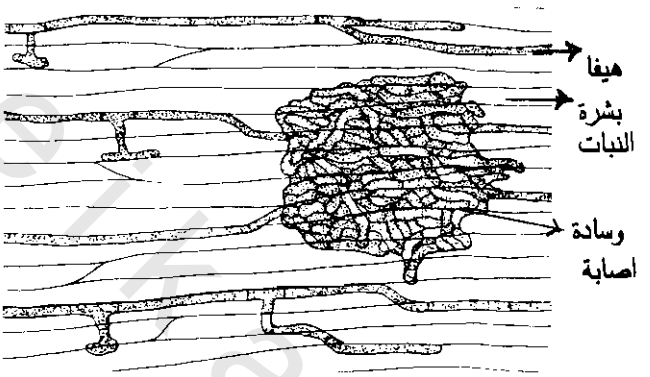
يحدث هذا النوع من الاختراق فى الفطريات بواسطة عضو التصاق أو وساده اصابة أو حبل ريزومورفى أو أنبوبة إنبات. وفى الحاله الأولى تنبت الجراثيم على بشرة النبات ويتكون من الجرثومة أنبوبة إنبات جرثوميه وعاده يفرز الجزء الطرفى منها طبقة هلاميه وظيفتها التثبيت على سطح العائل وفى أغلب الأحيان ينتفخ طرف الأنبوبة الجرثومية ليكون عضو إلتصاق appressorium ينمومنه من الجهة المقابلة لسطح النبات هيفا أو نتوء إختراق penetration peg تخترق طبقة الكيوتيكل والبشره إختراقاً ميكانيكياً نتيجة لضغط هذه الهيفا على البشره. وقد تفرز أنزيمات من الطفيل تحلل نسبياً جدار البشره فى منطقة الأختراق لتساعد الهيفا على

الاختراق ومثال ذلك فطر *Botrytis cinerea* المسبب لمرض التبقع البنى فى الفول حيث وجد المؤلف أن عضو الالتصاق فى هذه الحالة يختلف شكله كثيراً من الكروى الى الكمثرى الى البيضاوى أو الأسطوانى أو غير منتظم الشكل (شكل ٢٢).



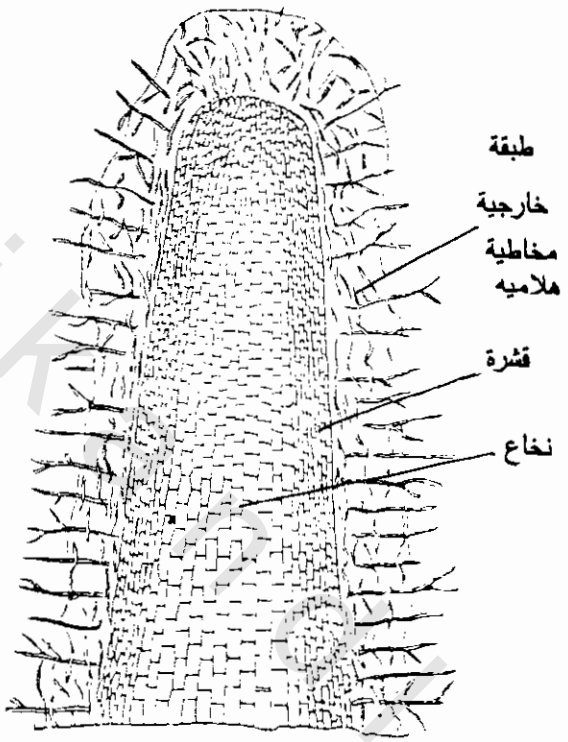
(شكل ٢٢) : إنبات جرثومه كونيديه للفطر المسبب لمرض التبقع البنى فى الفول وإختراق مباشر للنبات والميسليوم داخل الخلايا (أ، ب). إنبات جرثومه واختراق مباشر للنبات والميسليوم بين الخلايا عديم الممصات (جـ) أو ذو ممصات (د) كما فى مرض اللفحه المتأخرة فى البطاطس والطماطم.

وفى حالة حدوث الاختراق بوساده إصابة infection cushion يحدث أن يتجمع على بشرة النبات مجموعة من الهيفات تلتف على بعضها لتكون كتلة من الهيفا تسمى بوساده إصابة لأنه يخرج منها هيفات أو نتوءات إختراق penetration pegs أديم وبشره العائل مباشرة وذلك كما فى فطر *Rhizoctonia solani* (شكل ٢٣).



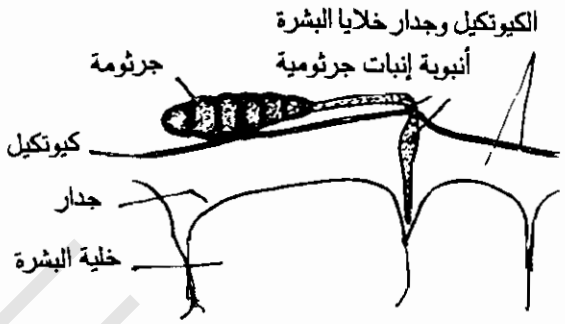
(شكل ٢٣) : وساده اصابة لفطر *Rhizoctonia solani* على بشرة نبات

يمكن أن تتجمع الهيفات على شكل حبل يسمى ريزومورف rhizomorph . يتركب الجزء الخارجى من الحبل من قشره سميكه صلبه خلاياها بارنشيميه كاذبه ذات جدر سميكه بنيه أما المنطقة الداخلية أى الوسطيه فتعرف بالنخاع وهى فاتحة اللون وتتكون من خيوط مرنه. يوجد الريزومورف تحت قلف الأشجار أو مدفون فى التربه. يمكن للفطريات التى تكون حبل ريزومورفى rhizomorph أن يخترق طرف الحبل سطح النبات السليم اختراقاً مباشراً بالضغط الميكانيكى وقد يفرز إنزيمات تساعد على تحليل جدر خلايا النبات نسبياً لتساعد فى سهولة الاختراق وذلك كما فى فطر *Armillaria mellea* المسبب لعفن الجذور فى الأشجار (شكل ٢٤).



(شكل ٢٤) : قطاع طولى فى ريزومورف

وفى بعض الفطريات يكون الاختراق عن طريق أنبوبة الانبات الجرثوميه مباشرة حيث أن الجزء الطرفى ينحنى ويخترق البشره السليمه وذلك كما فى الجرائيم الكونيديه للفطر *Clasterosporium carpophilum* المسبب لمرض تثقيب الأوراق فى الحلويات (شكل٢٥).



(شكل ٢٥) : اختراق مباشر لبشرة النبات العائل فى الفطر *Clasterosporium*

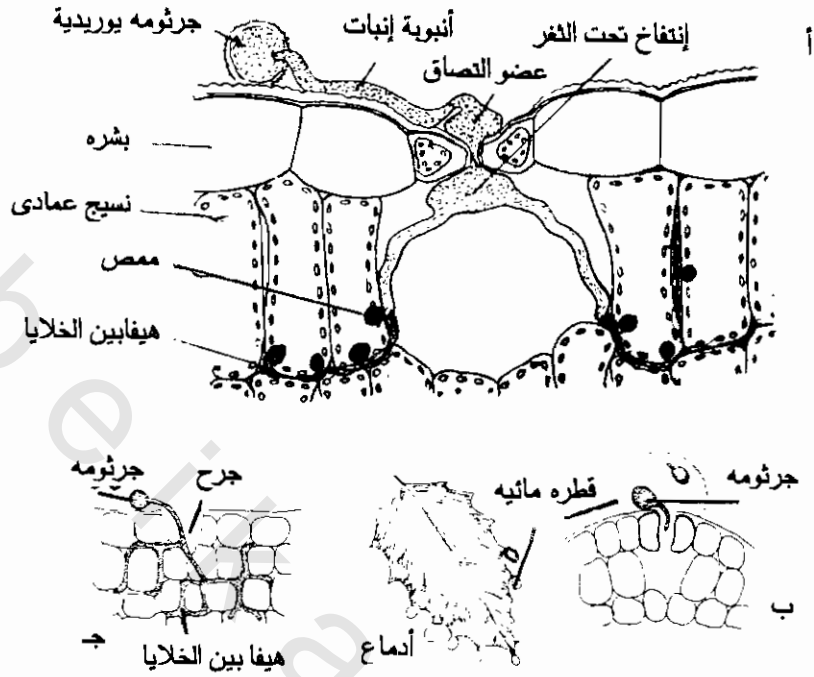
وفى حالة النيماتود فإنه يوجد جزئ متحور من المرئ يسمى الرمح وهو رمحى الشكل spear shaped ويمكن لهذا الرمح أن يسحب داخل جسم الدوده كما يمكن أن يبرز خارجها وأثناء اختراق الدوده للنبات فإنها تسحب وتبرز هذا الرمح مرات عديدة فتسبب بذلك ثقب النبات وتتغذى الدوده على النبات بواسطة الرمح عن طريق الثقب ويمكن أيضاً أن تدخل عن طريق هذا الثقب إلى داخل النبات. ولذلك فإن الغالبية العظمى من ديدان النيماتود تخترق النبات عن طريق ثقب تحدثه بواسطة الرمح فى الخلايا السليمه لسطح النبات.

وفى حالة النباتات الزهريه المتطفله مثل نبات الهالوك يحدث الاختراق عن طريق تكوين عضو التصاق كما فى الفطريات. حيث تنبت بذره النبات وتكون جذير رهيف أو أنبوبة إنبات يتكون فى نهايته إنتفاخ عبارة عن عضو التصاق يخرج منه ممص أو نتوء اختراق penetration peg يخترق سطح الجذر.

٢- اختراق عن طريق الجروح penetration by wounds : يحدث اختراق النبات عن طريق الجروح فى بعض الفطريات وقد تكون الجروح حديثه أو مسنه ومثال ذلك فطر *Rhizopus stolonifer* المسبب لمرض الرشح فى الشليك. جميع البكتريا يمكن أن تخترق النبات عن طريق الجروح الحديثه أو المسنه. جميع الفيروسات والفيرويدات والميكوبلازما والسبيروبلازما تحتاج الى جروح حديثه لكى يتم الاختراق وعادة تكون الجروح بواسطة الحشرات الناقله للطفيل. يجرى فى التجارب عمل الجروح صناعياً فى المعمل فى حالة الفيرس بواسطة حك سطح النبات بمسحوق الكاربورراندم حيث تسبب تجريح خلايا بشرة النبات. تحدث الجروح نتيجة للعمليات الزراعية مثل التقليم أو عن طريق الحيوان أو الانسان. (شكل٢٦، ٢٧).

٣- اختراق عن طريق الفتحات الطبيعية penetration by natural openings : تعتبر الثغور والعديسات والغدد الرحيقيه والثغور المائيه فتحات طبيعية توجد فى النبات وهى منافذ قد يدخل عن طريقها الطفيليات. يمكن لبعض الفطريات والبكتريا وديدان النيماتود أن تدخل عن طريق هذه الفتحات.

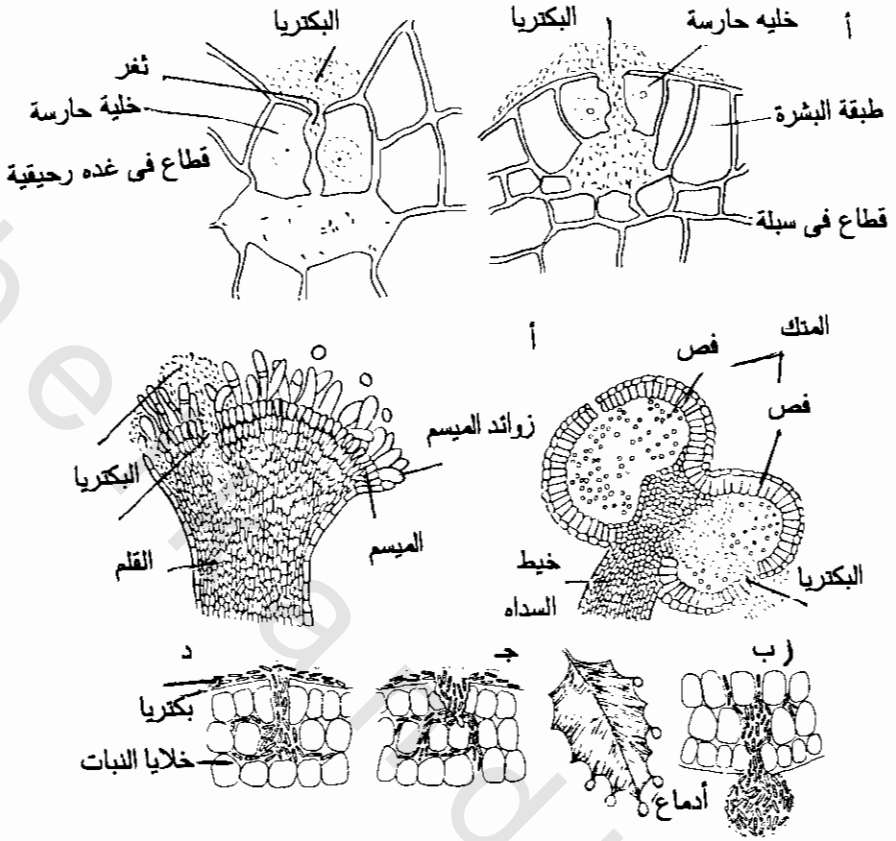
يمكن لأنبوبة إنبات بعض الفطريات أن يتجه الجزء الطرفى إلى الغرفه تحت الثغريه مباشرة عبر فتحة الثغر وذلك كما فطر البياض الزغبى فى القرعيات. وفى حالات أخرى ينتفخ الجزء الطرفى لأنبوبة الإنبات الجرثوميه عند وصولها فوق فتحة الثغر مكونة عضو إلتصاق appressorium يلتصق على سطح الخلايا الحارسه للثغر ثم تتكون هيفا عدوى رقيقه من الجزء السفلى لعضو الإلتصاق تخترق فتحة الثغر بين الخلايا الحارسه وتدخل الى داخل الغرفه تحت الثغريه ومنها الى الأنسجة الأخرى وقد يحدث إنتفاخ عند طرف أنبوبة العدوى بعض وصولها الى الغرفة تحت الثغريه ثم يخرج من هذا الإنتفاخ هيفات تنمو بين خلايا العائل وترسل ممصات إلى داخل هذه الخلايا ومثال ذلك إنبات الجرثومه اليوريديه لفطريات الأصداء كما فى فطر صدأ الساق فى القمح (شكل ٢٦). يمكن لبعض الفطريات أن تخترق النبات عن طريق الثغور المائية (شكل ٢٦).



(شكل ٢٦) : إنبات جرثومه يوريديه لفطر الصدأ وإختراق النبات خلال فتحة الثغر (أ)
إختراق الفطر للنبات عن طريق ثغر مائى (ب) أو الجروح (جـ) .

يمكن للبكتريا المسببه لمرض اللفحه النارية فى الكمثرى أن تخترق النبات عن طريق الثغور عند وجودها فى قطرة مائية فوق فتحة الثغر حيث أنها تسبح خلال فتحة الثغر وتصبح بداخل الغرفه تحت الثغريه حيث تتكاثر وبذلك تبدأ فى الاصابة وأيضاً تخترق الأجزاء الزهريه والغدد الرحيقيه (شكل ٢٧) . كما يمكن للبكتريا *Xanthomonas campestris* المسببه لمرض العفن الأسود فى الكرنب أن تخترق العائل عن طريق الثغور المائية حيث توجد البكتريا فى قطرات ماء الأدماع الموجودة على الثغور المائية وعند انخفاض الرطوبة النسبية فى الجو فإن قطرات الماء تمتص داخل النبات ويوضح ذلك طريقة اختراق البكتريا للنبات. وفى حالة البكتريا المسببه لمرض الجرب العادى فى البطاطس فإنها تخترق الدرنه عن طريق العديسات (شكل ٢٧) .

يمكن لديدان النيماتود أن تخترق النبات عن طريق الثغور كما فى نيماتود المجموع الخضرى foliar nematode وهى النيماتودا *Aphelenchoides ritzema-bosi* .



(شكل ٢٧) : إختراق البكتريا المسببه لمرض اللفحه النارية فى الكمثرى للأجزاء المختلفة للزهره ـ ثغور السبلات والغدد الرحيقيه ـ الميسم ـ متك الأسديه (أ) .
اختراق البكتريا للثغور المائيه (ب) أو الجروح (جـ) أو الثغور (د)

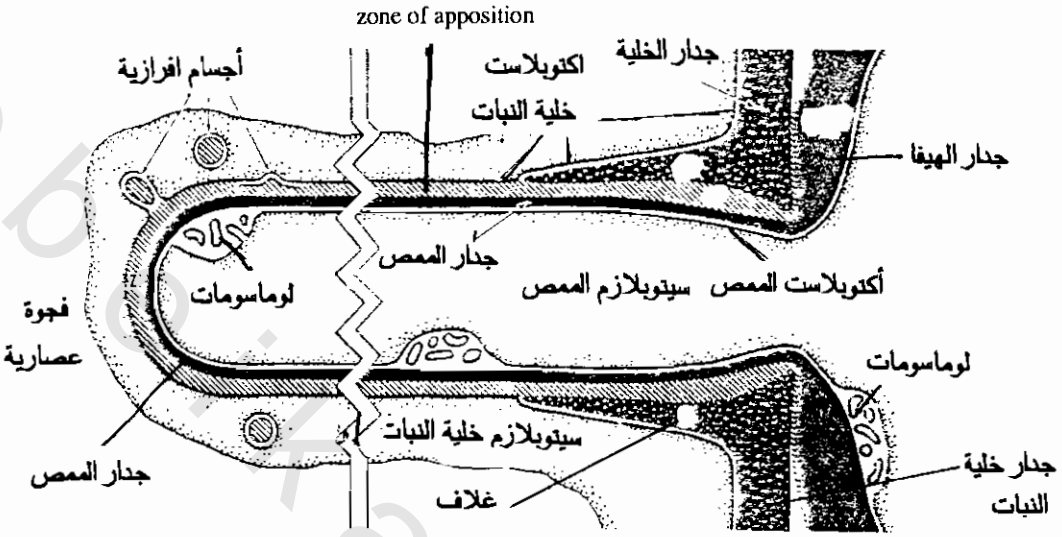
مما سبق يتضح أن الفيروسات والفيرويدات والميكوبلازما والسبيروبلازما تحتاج الى جروح لحدوث الاختراق وهو الطريق الوحيد لاختراق النبات لهذه الطفيليات. أما عن الفطريات فهى تختلف فى طريقة اختراقها فقد يكون الاختراق المباشر أو الجروح أو الفتحات الطبيعية وأما عن البكتريا فإنها تدخل عن طريق الجروح والفتحات الطبيعية وفى حالة ديدان النيماتود فإنها تدخل عن طريق الاختراق المباشر وأحياناً عن طريق الثغور وأما عن النباتات الزهرية المتطفلة فإنها تدخل عن طريق الاختراق المباشر.

ثالثاً : الإصابة (مرحلة ما بعد الاختراق)

قد تخترق بعض الطفيليات مثل الفطر أو البكتريا النبات ولكن لا تحدث له اصابة حيث أنه لايكون العائل المناسب للطفيل. ولكن فى المعتاد أن يلى الاختراق حدوث الاصابة infection. وهى تعرف بأنها ملامسه الطفيل لخلايا العائل وحدوث علاقة بيولوجية بينهما تمكن الطفيل من أخذ غذاؤه من خلايا العائل وقد ينتج عن ذلك ضرر للخلية. حيث أن اصابة البكتريا العقديه لخلايا جذور النباتات البقوليه لا ينتج عنها ضرر ولكن الاصابة فى حالة الطفيليات الممرضه لابد وأن يحدث لخلايا النبات العائل ضرر. ولذلك فإن الاصابة قد يليها ضرر للخليه أو عدم حدوث ضرر تبعاً لنوع حالة التطفل مرضية أو تعاونية.

يستمد الطفيل غذاؤه من خلايا حيه أو من خلايا يقتلها الطفيل وذلك يختلف بإختلاف الطفيل وفى أثناء ذلك قد يفرز الطفيل أنزيمات أو سموم أو منظمات نمو والتى تؤثر على تركيب الخلية (انظر الباب الخاص بذلك).

وفى حالة الفطريات فأنه يمكن تقسيمها الى biotrophic fungi وهى فطريات تتميز بأن هيفا الفطر intercellular mycelium تنمو بين خلايا النبات ولا تخترقها بل ترسل الى داخل الخلايا ممصات لأخذ الغذاء من العائل وتستمر علاقة بيولوجيه بين الفطر والخليه لفترة طويلة نسبياً وفى النهاية تموت الخليه بعد أن تكون قد استهلكت تماماً ويحافظ الفطر على الخلية حيه أطول مده ممكنه حيث أن فى حياة الخلية حياة للفطر. والفطريات التى تتبع هذه المجموعة هى الفطريات الإجبارية التطفل وأيضاً فطر *Phytophthora infestans* . وتختلف الممصات التى تكونها هذه الفطريات فى الشكل والحجم ولكنها تتميز جميعها بأن الممص يخترق جدار خلية النبات ولايخترق غشاء الأكتوبلاست بل يتمدد هذا الغشاء ويحيط بالممص ولا يتمزق هذا الغشاء نتيجة لوجود الممص وهذه علاقة بيولوجيه هامه حيث أن تمزق الأكتوبلاست يعقبه موت الخليه مباشرة وبالتالى موت الفطر لأنها فطريات إجبارية التطفل ولذلك فإن الفطر يساعد على بقاء الخلية حية أطول مدة ممكنه لأنه لايمكنه التغذية الا على خلايا حيه. ثم يتكون بين غشاء الأكتوبلاست وجدار الممص منطقة وسطيه تسمى zone of apposition أو encapsulation (شكل ٢٨)ويعتقد أن تنشأ نتيجة للتفاعل بين خلية العائل



(شكل ٢٨) : قطاع طولى فى ممص لفطر *Peronospora* يخترق خلية نبات فول الصويا.

وممص الفطر وفى بعض الحالات يوجد فى سيتوبلازم خلية النبات العائل أجسام افرازية secretory bodies تشارك فى تكوين المنطقة السابقة. والمجموعة الثانية من هذه الفطريات هى necrotrophic fungi وهى تتميز بأنها لاتكون ممصات وأن الهيفا تخترق خلايا النبات intracellular mycelium وتسبب موت الخلايا ويمكن للفطر أن يتغذى على خلايا ميتة مثل الكثير من الفطريات المسببه أمراض للنبات ومنها الفطر *Alternaria solani* المسبب لمرض اللفحة المبكرة فى البطاطس والطماطم. وتوجد مجموعة ثالثة وهى perthotrophic fungi وهى فطريات تسبب قتل خلايا النبات قبل إقتراب الهيفات منها ولذلك عند وصول الهيفات اليها تكون الخلايا ميته وتتغذى الهيفات من الخلايا الميته وقد يكون موت الخلايا السابق لوصول الهيفا نتيجة لافراز الفطر إنزيمات محلله للمركبات البكتينيه تسبب فصل الخلايا عن بعضها وموتها قبل وصول الهيفا كما فى فطر *Sclerotinia sclerotiorum* وقد يكون الموت نتيجة لمركبات سامه مثل حامض الأكساليك كما فى الفطر *Sclerotium rolfsii* .

تحدث الاصابة بالبكتريا بين الخلايا ولكن قد توجد داخل الخلايا وكذلك ديدان النيماتود ولكن فى الفيرس والفيرويدات والميكوبلازما والريكتسيا والسبيروبلازما فإنها توجد فى داخل الخلايا intracellular .

تنمو الفطريات فى أو على النسيج المصاب حيث تستطيل وتتفرع هيفات الفطر وكذلك فى النباتات الزهرية المتطفلة حيث ينمو الجزء المتطفل من النبات داخل النبات العائل أما جميع الكائنات الأخرى وهو البكتريا والفيروسات والفيرويدات والميكوبلازما والسبيروبلازما والسوطيات وديدان النيماتود فإنها قد تنمو بضعف ولكن تتكاثر بدرجة كبيرة ولذلك فإن تأثير الفطريات فى هذه المرحلة نتيجة لنموها أما تأثير الكائنات الأخرى فهو نتيجة لتكاثرها .

يمكن للفطريات والبكتريا وديدان النيماتود والنباتات الزهريه المتطفله والفيرس والفيروسات أن تصيب الأنواع المختلفة من الخلايا والأنسجة النباتية ولكن الميكوبلازما والسبيروبلازما والسوطيات تتكاثر فقط فى الأنابيب الغربالية لنسيج اللحاء وقد تتكاثر فى خلايا برانشيم اللحاء وفى fastidious vascular bacteria فإنها تتكاثر فى خلايا الأنابيب الغربالية لنسيج اللحاء أو الأوعيه الخشبيه لنسيج الخشب .

تنتقل الفيروسات والفيرويدات من خليه الى أخرى سلبياً عن طريق البلازموديزماتا التى تصل الخلايا ببعضها وأما عن الميكوبلازما والسبيروبلازما فإنها تنتشر سلبياً فى الأنابيب الغربالية وفى حالة fastidious vascular bacteria فإنها تنتشر سلبياً فى الأنابيب الغربالية والخشب . أما الكائنات الأخرى والتى لها القدرة على الحركة الذاتية مثل السوطيات وديدان النيماتود فإنها تنتقل بحركة ذاتية إيجابيه داخل أنسجة النبات . تختلف البكتريا فى هذا الصدد حيث أن بعض البكتريا عديمة الأسواط فإنها تنتشر سلبياً فى أنسجة النبات والبعض الآخر يكون ذو أسواط فيكون له القدرة على الحركة الإيجابية داخل أنسجة النبات .

تكون الاصابة جهازية systemic تشمل جميع النبات أو جزء كبير منه كما فى جميع الفيروسات والفيرويدات والميكوبلازما والسبيروبلازما والريكتسيا سابقا وقد تكون الاصابة موضعيه localized أى تحدث فى مكان الاختراق فقط وذلك كما فى كثير من الفطريات والبكتريا ولكن فى بعض الفطريات والبكتريا يمكن أن تكون الاصابة جهازيه كما فى مرض التفحم السائب فى القمح والشعير ويتسبب عن الفطر *Ustilago nuda* .

نتيجة لما يحدث من هذه الكائنات المختلفة على النبات فتظهر أعراض المرض. تسمى الفترة بين حدوث التلقيح بالطفيل وحتى ظهور الأعراض بفترة الحضانه incubation period وعادة تكون هذه الفترة حوالى ٣-١٠ أيام ولكن قد تطول لتصبح موسم كامل كما فى مرض التفحم المغطى فى القمح والشعير وقد تكون سنة كاملة كما فى مرض التفحم السائب فى القمح والشعير وقد تزيد عن سنة كما فى بعض أمراض الأشجار الفيروسية أو الميكوبلازميه أو بعض حالات التدرن التاجى.

رابعاً : الإنتشار

بعد حدوث الإصابة وظهور أعراض المرض تنتشر مسببات أمراض النبات من نبات الى آخر ومن حقل إلى آخر ومن دوله إلى أخرى. يوجد نوعين من الانتشار dissemination وهما الانتشار الكلى والانتشار الفعال. يعرف الانتشار الكلى total بأنه إنتقال اللقاح من مكان إلى آخر قريب أو بعيد فقد يكون النبات المجاور أو الحقل المجاور أو مكان بعيد قد يكون قطر آخر. يعرف الانتشار الفعال effective بأنه انتقال اللقاح من مكان إلى آخر وبشرط أن يسقط اللقاح على النبات القابل للإصابة وفى ظروف بيئية ملائمة لظهور وتكشف أعراض المرض.

قد يسبق مرحلة الانتشار فى بعض الفطريات والنباتات الزهريه المتطفله مرحلة الإنتشار discharge or liberation للجراثيم أو البذور. يعرف الإنتشار بأنه تحرر الجراثيم من التراكيب أو الأجزاء المنتجة لها وأن يكون لهذه الأجزاء دور ايجابى فى تحرر الجراثيم أو قذفها الى مسافة بعيدة نسبياً. وأيضاً ينطبق ذلك على البذور المقذوفة من الثمار. ومثال ذلك الفطر *Sclerotinia fructigena* المسبب لمرض العفن البنى فى الخوخ فأنه يكون جراثيم أسكيه بداخل أكياس أسكيه موجوده على سطح جسم ثمرى قمعى الشكل. تحدث تغيرات فى الضغط داخل الكيس الأسكى من شأنها حدوث تمزق للأكياس الأسكيه فى وقت واحد مما يسبب قذف الجراثيم الأسكيه دفعه واحده خارج الجسم الثمرى (نفخه) puffing على هيئة سحابه من الجراثيم تصل الى ارتفاع حوالى ١سم. يمكن أيضاً فى بعض النباتات الزهريه أن تقذف أى تنثر بذورها بقوه من الثمار لمسافة قد تصل عدة أمتار.

يوجد نوعين من الانتشار وهما الايجابى والسلبى. الانتشار الايجابى positive وهو أن

يكون الطفيل قادر على الحركة الذاتية كما فى ديدان النيماتود أو يكون له أسواط ويسبح فى الماء كما فى الجراثيم المتحركة للفطريات أو كثير من البكتريا. وتكون هذه الحركة محدودة ولمسافات قصيرة وليس لها أهمية كبيرة فى انتشار هذه الكائنات. أما فى الانتشار السلبى passive فإن لقاح الطفيل يحمل بوسائل معينة وتسبب هذه العوامل نقل الطفيل من مكان إلى آخر نتيجة لحركتها وليست نتيجة لحركة الطفيل وهذه العوامل منها الرياح والماء والحشرات والانسان الخ. ويعتبر الانتشار السلبى هو الأساس فى انتشار مسببات أمراض النبات لمسافات قصيرة أو طويلة.

توجد طرق عديدة للإنتشار السلبى لمسببات أمراض النبات وهى ما يأتى:

١- الهواء : يعتبر الهواء من أهم العوامل لانتشار مسببات أمراض النبات حيث ينتشر اللقاح بواسطة تيارات الهواء أو الرياح. فقد وجد أن الجراثيم اليوريديه للفطر المسبب لمرض صدأ الساق فى القمح تنتقل من المكسيك عبر الولايات المتحدة الى كندا وذلك لمسافة ٢٠٠٠ ميل فى خلال مدة شهرين. توجد أيضاً بعض جراثيم الفطريات على إرتفاع ١٠كيلومتر. يمكن التعرف على ذلك بإستعمال شرائح مدهونة بالجلسرين أو غروى بترولى petroleum jelly وتعريضها لطبقات الجو العليا فتلتصق الجراثيم بهذه الشرائح ويمكن فحصها والتعرف على أنواعها. يوجد أيضاً أجهزة مخصصة لذلك تسمى بمصائد الجراثيم spore trap حيث أنها أجهزة لاستقبال الجراثيم الموجودة فى الجو. تتميز الجراثيم التى تنتشر بالهواء بخفة وزنها وصغر حجمها وغزارة إنتاجها حيث أن الفاقد منها يكون كثيراً ومثال ذلك جراثيم أمراض البياض الدقيقى والبياض الزغبى والأصداء. تحمل الجراثيم الى طبقات الجو العليا بواسطة تيارات الهواء وعند سقوطها فأن سرعة السقوط تتأثر بعوامل عديدة ومنها وزن الجرثومه ودرجة الرطوبة النسبية ودرجة حرارة الجو. تتراوح سرعة السقوط بين ٠,٣ إلى ٢,٧٨ سم لكل ثانيه والمتوسط هو ١ سم لكل ثانيه. تختلف الجراثيم التى تنتشر بواسطة الهواء فى الاحتفاظ بحيويتها حيث تحتفظ الجراثيم اليوريدية لفطريات الأصداء بحيويتها لمدد طويلة نسبياً وهى عدة أسابيع أو بضع أشهر بينما تفقد الجراثيم الأسيدية حيويتها بعد ساعات قليلة.

٢- المـاء : يحمل الماء لقاح مسببات أمراض النبات ويسبب انتشارها من مكان الى آخر وذلك

أثناء إنحدار الماء من مرتفعات أو عند إندفاعها فى الأنهار وقنوات الرى أو أثناء تخلل الماء للتربه أو أثناء تناثر قطرات الأمطار ومثال ذلك جراثيم الفطر المسبب لمرض تصمغ الموالح حيث تنتقل عن طريق ماء الرى، يمكن أن تعمل الأمطار على إنتشار البكتريا المسببه لمرض اللفحه الناريه فى الكمثرى وغيرها من البكتريا وجراثيم بعض الفطريات.

٣ ـ الحيوانات والطيور: يمكن أن يكون للحيوانات والطيور دور فى إنتشار لقاح مسببات أمراض النبات حيث تحمل الجراثيم على أجزاء جسمها وقد توجد داخل جسمها فى القناه الهضميه. عند عمل حصر على ٣٦نوع من الطيور توجد على أشجار أبو فروه اتضح أن ١٩ من هذه الطيور تحمل على جسمها جراثيم فطر *Endothia parasitica* المسبب لمرض لفحة أبو فروه chestnut blight وبذلك تعمل على نشر هذا المرض عند إنتقالها من أشجار مصابه الى أشجار سليمه ومثال ذلك طائر نقار الخشب.

يمكن للحيوانات أن يكون لها دور فى نقل اللقاح كما فى الفيران وحيوانات المزرعة عند إنتقالها من حقل ملوث الى حقل سليم. أجرى حصر على ٧٢نوع من الحيوانات الغير راقيه مثل القواقع والديدان والحلم ووجد أن جميع هذه الأنواع عدا نوع واحد حامله لجراثيم الفطريات كما أنها قد توجد فى أجزاء القناه الهضميه والبراز. تحتفظ بعض هذه الجراثيم بحيويتها بالرغم من مرورها فى القناة الهضمية للحيوان وأن البعض الآخر من الجراثيم يفقد حيويته. تتوقف كفاءة الطيور والحيوانات فى إنتشار الجراثيم على المسافات التى تقطعها وعدد الجراثيم الحيه أثناء عملية الانتشار فكلما زادت المسافة وزاد عدد الجراثيم الحيه كلما زادت الكفاءة فى عملية الانتشار.

٤ـ البذور والحبوب : تعتبر البذور والحبوب من العوامل الهامة لانتشار مسببات أمراض النبات فقد يحمل الطفيل على سطح البذرة أو داخلها. فى حالة الأمراض الفطرية قد تحمل الجراثيم على سطح الحبوب أو البذور كما فى مرض التفحم المغطى فى القمح والشعير وقد تحمل هيفا الفطر فى داخل الحبة وذلك كما فى مرض التفحم السائب فى القمح والشعير. وفى حالة الأمراض البكتيريه يمكن أن تقوم حبوب الذرة بنشر سبعة أمراض بكتيريه وفى حالة الأمراض الفيروسية فإنه يمكن أن تنتقل بعض الفيروسات عن طريق البذور كما فى فيروس

تبرقش الفاصوليا. وفى حالة أمراض ديدان النيماتود فتعتبر بذور البصل والثوم مصدر رئيسى لانتشار النيماتود *Ditylenchus dipsaci*. وفى النباتات الزهريه المتطفله تكون بذور البرسيم مختلطه ببذور الحامول فينتج عن زراعتها نباتات برسيم مصابه بالحامول.

٥ ـ الأجزاء الخضريه التكاثريه : تعمل الأجزاء الخضريه التكاثريه على إنتشار مسببات أمراض النبات مثال ذلك الدرنات والعقل والأبصال والكورمات. درنات البطاطس تصاب بالفطر المسبب لمرض اللفحه المتأخره وتصاب بالبكتريا المسببه لمرض العفن البنى وتصاب بأمراض فيروسيه مثل فيروس التفاف الأوراق. وبذلك تكون الدرنات مصدر للإصابة بهذه الأمراض.

٦ـ الحامــول : نبات زهرى متطفل ليس له جذور ويلتف ساقه على النبات المصاب ويكون فروع تلتف على النباتات المجاوره وبذلك يمكن أن ينتشر فيروس تبرقش التبغ من النبات المصاب الى النبات السليم عبر فروع نبات الحامول.

٧ـ حبوب اللقاح : تقوم حبوب اللقاح بنقل بعض الأمراض الفيروسيه مثل فيروس موزايك (تبرقش) البرسيم الحجازى وفيروس الورقه المروحيه فى العنب. وجد أن النواتين الذكريتين يمكن أن تحملان الفيرس عبر أنبوبة التلقيح ويحدث الإخصاب المزدوج وينتج عن ذلك زيجوت وجنين ملوث بالفيرس وأيضاً إندوسبرم ملوث كما فى الفيروسات السابقة.

٨ـ الفطريات : علاوة على أن الفطريات تسبب أمراض للنبات فإن بعض الفطريات يمكن أن تنقل جزئيات الفيرس ومثال ذلك فطر *Olpidium* فإن جراثيمة المتحركة تقوم بنقل جزئيات فيروس العرق الكبير فى الخس من النبات المصاب الى النبات السليم.

٩ـ ديدان النيماتود : بعض أنواع ديدان النيماتود يمكنها أن تصيب النبات وتسبب لها أمراض فإنها علاوة على ذلك يمكنها أن تنقل بعض المسببات المرضيه الأخرى الأصغر منها حجماً مثل الفطريات والبكتريا والفيرس ومثال ذلك أن النيماتود *Xiphenema* تنقل فيروس الورقه المروحيه فى العنب fan leaf virus . يمكن أيضاً النيماتود *Meloidogyne incognita* أن تقوم بنقل وانتشار البكتريا المسببه لمرض التدرن التاجى.

١٠- الانسان : يمكن أن يكون الانسان سبب فى انتشار أمراض النبات من حقل الى حقل ومن قطر الى آخر بل من قاره الى أخرى والأمثله لذلك كثيره . تنتشر حشرة الفلوكسرا *Phylloxera* على العنب فى فرنسا وقد سببت ضرر كبير ولذلك فقد تم استيراد أصول عنب من أمريكا مقاومة لحشرة الفلوكسرا ولكنها كانت حامله لقاح الفطر *Plasmopara viticola* المسبب لمرض البياض الزغبى فى العنب حيث أن هذا المرض ينتشر فى أمريكا ولكنه لم يكن له أى وجود فى فرنسا وأوربا. نتيجة لزراعة هذه الأصول فى فرنسا فقد إنتشر مرض البياض الزغبى فيها بدرجة شديدة وسبب خسائر كبيرة فى محصول العنب وقد انتشر بعد ذلك المرض الى دول أوربا الأخرى وأصبح المرض شديد الخطورة وبحاله وبائيه فى أوربا. وأيضاً حاله مرض تعقد الزيتون وإنتقاله من أسبانيا الى مصر قد سبق ذكرها فى الباب الأول. يمكن للإنسان أيضاً أثناء عمليات الخدمه الزراعيه أن يعمل مصادفة على انتشار الأمراض ومن أمثلة ذلك عند تقليم أشجار الكمثرى فإن مقص التقليم يصبح ملوث بخلايا البكتريا المسببه لمرض اللفحه الناريه عند تقليم أفرع مصابه وعند تقليم نباتات سليمه فإنه يتم تلويثها عن طريق مقص التقليم.

تعتبر التربه مهد لكثير من الطفيليات ولذلك فإن نقل تربه ملوثه من مكان إلى آخر يتبعه إنتشار الطفيليات فى المكان الجديد ويمكن أيضاً أن يكون للسماد البلدى نفس الدور.

١١- الحشرات : تعتبر الحشرات من العوامل الرئيسية فى نقل مسببات أمراض النبات حيث تعلق على أجسامها لقاح الطفيليات وتنقلها الى النباتات السليمه ويمكن أيضاً أن تحقن لقاح الطفيل فى داخل النبات. يكون للحشرات دور فى نقل كثير من الأمراض وخاصة الأمراض الفيروسية والميكوبلازما والسبيروبلازما والريكتسيا والبروتوزوا حيث قد يحمل لقاح الطفيل على سطح الحشره وعلى أجزاء فمها أو قد يحمل داخلياً ويمر خلال القناه الهضميه للحشره.

فى حالة الفطريات قد تحمل الجراثيم سطحياً وذلك كما فى حالة ديدان اللوز فى القطن حيث تخترق الديدان اللوز ويسبب ذلك اصابة اللوز بأمراض عفن اللوز ويتسبب ذلك عن فطريات كثيرة منها *Aspergillus niger* و *Rhizopus stolonifer* وتكون هذه الفطريات جراثيم بغزاره وتسقط هذه الجراثيم على سطح الدوده وتلوث أجزاء فمها وعند انتقالها من لوزه

مصابه الى لوزه سليمه تسبب تلوثها بالجراثيم. ومثال آخر لهذه الحاله مرض أشجار الدردار الهولندى Dutch elm disease والذى يتسبب عن الفطر *Ceratocysts ulmi* . وهو أن حشرات خنافس اللحاء تقوم بنشر جراثيم الفطر. حيث تتجرثم هذه الفطريات فى الأنفاق التى تعدها هذه الحشرات للعذارى فى الأشجار الميته. عندما تخرج الحشرات الكامله للخنافس من هذه الأنفاق فى الربيع فإنها تكون ملوثه بالجراثيم. تستقر هذه الجراثيم فى الجروح التى تحدثها هذه الخنافس عند تغذيتها على لحاء الأشجار السليمه وتسبب حدوث المرض. وفى حالات أخرى تقوم الحشره بحمل الجراثيم بطريقتين وهى على جسمها وفى داخل جسمها كما فى مرض الأرجوت ergot والذى يصيب الراى والقمح والشعير ويتسبب عن الفطر *Claviceps purpurea* حيث تتجمع الجراثيم الكونيديه لهذا الفطر فى قطرات صغيره من محلول سكرى ذو رائحة كريهه يسمى عسل الندى honey dew فى مبيض الزهره المصابه. يجذب هذا المحلول السكرى الحشرات وتتلوث أسطح أجسامها بالجراثيم ومن هذه الحشرات حشره صغيرة الحجم وهى بعوضه الأرجوت حيث يمكنها أن تحمل الجراثيم خارجياً على أسطح جسمها وأجزاء فمها ويمكن أيضاً تمر الجراثيم خلال القناه الهضميه للحشره وتخرج مع براز الحشره دون أن يؤثر ذلك على حيوية الجراثيم. وهكذا فإن إنتقال الحشرات الملوثه من مكان الى آخر يسبب إنتشار الجراثيم.

وفى حالة البكتريا فإنه يمكن أن تنقل الحشرات مثل الذباب والنحل البكتريا المسببه لمرض اللفحه الناريه فى التفاح والكمثرى من الأزهار المصابه الى الأزهار السليمه وذلك عن طريق تلوث سطحى لجسمها وأجزاء فمها وذلك أثناء تغذية الحشرات على رحيق الأزهار. وفى حالات أخرى يمكن أن تحمل البكتريا داخلياً حيث تمر خلال القناه الهضميه للحشره. ومع وجود علاقة بيولوجيه بين البكتريا والحشره ومثال ذلك البكتريا *Pseudomonas savastanoi* المسببه لمرض تعقد الزيتون. تقوم حشرة ذبابة الزيتون *Dacus oleae* بالتغذية على الافراز اللزج الموجود على سطح العقده والحاوى لأعداد هائله من الخلايا البكتيريه وتمرر بعض الخلايا البكتيريه خلال القناه الهضميه للحشره. وعلاوة على ذلك فإن الخلايا البكتيريه تتكاثر داخل جسم الحشرة وتصبح الحشرة حاويه لأعداد هائلة من الخلايا البكتيريه. عند خروج البيض من داخل المبيض الى خارج الحشره فإنه يلوث سطحياً بالبكتيريا ويمكن

أيضاً لبعض الخلايا البكتيريه أن تدخل الى داخل البيض عن طريق فتحة نقير البيضه. عند حقن البيض فى داخل أنسجة نبات الزيتون بواسطة آلة وضع بيض الحشره والتى لها القدرة على إختراق نسيج النبات ووضع البيض بداخله فإن النبات يصبح ملوث بالبكتيريا. ينتج عن البيض الملوث داخلياً خروج يرقات ملوثه وبالتالى حشرات كامله ملوثه وهكذا تتكرر عملية انتشار هذه البكتريا بواسطة هذه الحشرات. ويعتبر ذلك مثل رائع لمدى وجود علاقة بيولوجيه بين البكتريا والحشره وعلى مدى تأقلم البكتريا لإنتشارها بواسطة الحشرات.

وفى حالة الأمراض الفيروسيه فإنه يوجد للحشرات دور كبير فى نقل كثير من هذه الأمراض وتسمى الحشره فى هذه الحالة vector . تنتقل غالبية هذه الفيروسات عن طريق الحشرات ذات الفم الثاقب الماص وينتقل القليل منها عن طريق الحشرات ذات الفم القارض مثل نطاطات الحشائش grass hoppers والخنافس. يعتبر التربس والمن والذباب الأبيض والجاسيدز Jassids (نطاطات الأوراق leaf hoppers) من أهم الحشرات ذات الفم الثاقب الماص والتى لها دور فعال فى نقل كثير من الأمراض الفيروسيه أما عن حشرات البق الدقيقى فإن لها دور فى ذلك حيث أن عدداً بسيطاً منها ينقل الأمراض الفيروسيه. تمتص هذه الحشرات العصاره النباتيه الملوثه بالفيرس إلى داخل جسمها أثناء تغذيتها على النبات المصاب ثم تحقن هذه الفيروسات مع جزء من اللعاب فى أنسجة نباتات أخرى سليمه أثناء امتصاص العصارة منها.

يمكن تقسيم الفيروسات الممرضه للنبات إلى مجموعتين بالنسبة لعلاقتها أو ارتباطها بالحشره الناقله. تشمل المجموعة الأكبر الفيروسات التى تحمل خارجياً على الحشرات أى التى تحمل على أجزاء فم الحشره stylet-borne viruses وفى هذه الحاله تسمى عملية نقل الحشره للفيرس بالنقل الميكانيكى mechanical transmission . أما عن المجموعة الأصغر وهى الفيروسات التى تحمل داخل جسم الحشره وتسمى الفيروسات الدوريه circulative viruses وتقسم هذه المجموعة إلى فيروسات متكاثرة أى تتكاثر داخل جسم الحشره propagative وفيروسات غير متكاثرة non propagative أى أنها توجد داخل الحشرة ولكن لا تتكاثر داخلها. يمكن أيضاً تسمية الفيروسات المحموله خارجياً بالفيروسات العابره non-persistent حيث أن الحشرة يمكن أن تنقل الفيرس بعد تغذيتها مباشرة على النبات المصاب الى النبات السليم كما

أنها تفقد قدرتها على نقل الفيرس بسرعة نسبياً حوالى بضع ساعات عادة. أما الفيروسات الدوريه يمكن تسميتها بالفيروسات الباقيه persistent حيث أن الحشرة تحتاج الى فترة زمنيه تسمى بفترة الحضانة وهى الفترة اللازمه لتصبح الحشرة قادره على إصابة النبات بالفيرس وذلك بعد تغذيتها على نبات مصاب. حيث أن الحشرة لايمكنها أن تحدث الاصابة مباشرة بعد تغذيتها على نبات مصاب كما فى الحالة الأولى ولابد من إنقضاء فترة زمنية تكون بضع ساعات إلى أيام قليلة وهذه تسمى بفترة الحضانة incubation period. تستمر الحشرة أيضاً قادرة على اصابة النباتات السليمه لمدد طويله بعكس الحالة السابقة وفى بعض الحالات قد تكون مده حياة الحشرة وفى بعض الحالات تضع الحشرة بيض ملوث بالفيرس ينتج عنه حشرات ملوثه بالفيروس وهكذا تستمر الحشره ملوثه لأجيال عديدة وفى جميع أطوار دورة حياتها. أما عن تفسير فترة الحضانة فإنه قد تكون فترة لازمه لتكاثر الفيروس داخل الحشره وحتى تصبح الحشرة بها أعداد هائلة من الفيرس وبذلك يوجد الفيرس فى الغدد اللعابية وينتقل الى النبات فى لعاب الحشره عند تغذيتها على النبات السليم. حيث أنه من المعروف أنه أثناء تغذية الحشرة على النبات فإنه تفرز جزء من لعابها إلى النبات وبذلك يكون مصدر للفيرس.

تكاثر الفيروسات فى عوائلها ليس هو التفسير الوحيد لفترة الحضانة حيث أمكن إثبات أن حشرة نطاط الأوراق (الجاسيدز) *Cicadulina mbila* الناقلة لفيروس تخطيط الذره لم تستطع عمل الاصابة بالفيرس لأنه جدر جهازها الهضمى غير منفذه. وأن الحشرة أصبحت قادرة على إحداث العدوى بعد وخز الأمعاء بإبر غاية فى الدقة. يعتقد أن الفيروس ينتشر عادة من القناه الهضمية الى الدم والغدد اللعابيه ومنها الى اللعاب وأن ذلك يحتاج الى وقت لإتمام هذه العملية وهو التفسير لفترة الحضانة فى هذه الحالة وفى الحالات التى لا يتكاثر فيها الفيرس داخل الحشرة.

يمكن للحشرات أن تنقل الميكوبلازما والسبيروبلازما. وجد أن الميكوبلازما يمكن أن تتكاثر بداخل حشرة نطاط الأوراق ذات الستة بقع *Macrosteles fascifrons* وتحتاج إلى فترة حضانة ١٠ أيام أو يزيد لكى تصبح الحشرة قادرة على إصابة النباتات السليمه ولا تنتقل الميكوبلازما عن طريق بيض الحشرة فى هذه الحالة ومثال ذلك مرض اصفرار الأستر.

١٢ـ الحلم ـ العنكبوتيات mites

بالرغم من أن الحلم أى الأكاروس ليست من الحشرات بل من العنكبوتيات فإنه يمكن أن يقوم بنقل الفيروسات ومثال ذلك الحلم أى الأكاروس *Eriophyses ribis* والذى يقوم بنقل أحد فيروسات العنب وأيضاً الأكاروس *Aceria tulipae* والذى ينقل فيروس موازيك التخطط فى القمح. كما وجد أنواع أخرى من الحلم تنقل مسبب مرض تبرقش التين ومرض تبرقش الخوخ.

خامساً: تمضية الشتاء وتمضية الصيف للطفيل

يقصد بتمضية الصيف oversummering للطفيل هو كيف يمضى الطفيل فترة الصيف فى غياب عائلة أو فى عدم ملائمة الظروف البيئية للطفيل. ومثال ذلك مرض أسكليروتينيا فى الخضر المتسبب عن الفطر *Sclerotinia sclerotiorum* حيث يحتاج الفطر الى درجة حرارة منخفضة وإلى أمطار الشتاء ولذلك فإنه يكون نشط فى هذا الفصل ويختفى فى فصل الصيف الحار الجاف ولذلك فإنه يصيب كثير من نباتات الخضر فى الشتاء. ويتكون فى أثناء ذلك أجسام حجريه بأعداد كبيرة تسقط فى التربة. تسكن هذه الأجسام الحجريه فى فصل الصيف لعدم ملائمة الظروف البيئية لها حيث أنها تحتاج الى ماء حر بإستمرار لكى تنبت وعلاوة على ذلك درجة حرارة منخفضة. عند حلول فصل الشتاء وفى وجود الماء الحر لوجود الأمطار فإن الأجسام الحجرية تنبت لتعطى أجسام ثمريه قمعيه الشكل تحمل أكياس أسكيه بها جراثيم أسكيه. بعد تمام نضج الأكياس الأسكيه فإنها تقذف الجراثيم الأسكيه وتسقط على النبات القابل للإصابة ولذلك تعتبر هذه الجراثيم الأسكيه لقاح ابتدائى primary inoculum للفطر أى أنه اللقاح الذى يسبب اصابة ابتدائية primary infection أى الاصابة التى تحدث فى بداية الموسم. بعد حدوث الاصابة وتكشف أعراض المرض فإن الفطر يكون ميسليوم وأجسام حجريه بكثره. تسقط هذه الأجسام الحجريه وفى وجود الماء تنبت وتكون هيفا تكون قادره على إصابة النبات وهكذا ينتشر المرض. تعتبر هذه الهيفا لقاح ثانوى secondary inoculum حيث أنه يسبب إصابة ثانوية secondary infection وهى التى تسبب إنتشار المرض أثناء الموسم من اصابات متتالية عديدة. وبذلك فإن هذا الفطر يمضى الصيف على هيئة أجسام حجريه

فى التربه. قام المؤلف بإثبات حدوث جميع خطوات دورة حياة الفطر والاصابة فى ظروف البيئة المصرية على نبات قرع الكوسه.

يقصد بتمضية الشتاء overwintering للطفيل هو كيف يمضى الطفيل فترة الشتاء فى غياب عائلة أو فى عدم ملائمة الظروف البيئية له. ومثال ذلك مرض اللفحه النارية فى الكمثرى المتسبب عن البكتريا *Erwinia amylovora* وحيث أن أشجار الكمثرى متساقطة الأوراق فإن البكتريا تبقى ساكنه فى التقرحات الموجودة على فروع النبات أثناء فصل الشتاء وعند حلول فصل الربيع تتفتح البراعم وتخرج الأوراق والأزهار وتنشط البكتريا الموجودة فى التقرحات وتتكاثر وتظهر على هيئة إفرازات على سطح التقرحات وتنتشر البكتريا من هذه الافرازات بواسطة الحشرات والأمطار وتصيب الأوراق والأزهار.

وبذلك فإن هذه البكتريا تمضى الشتاء فى التقرحات الموجودة على فروع أشجار الكمثرى. تمضى عامة مسببات أمراض النبات الشتاء أو الصيف فى حالة الأشجار والنباتات المعمره فى عوائلها من سيقان أو براعم أو أوراق أو جذور وفى حالة الأشجار المتساقطة الأوراق كما فى مرض جرب التفاح يمضى الفطر فترة الشتاء على هيئة أجسام ثمريه فى الأوراق المتساقطة أو على هيئة ميسليوم موجود فى الثمار المصابة الجافة المحنطه الساقطة فى التربة كما فى مرض العفن البنى فى الخوخ.

وفى حالة النباتات الحوليه فعادة يمضى الفطر الصيف أو الشتاء تبعاً لنوع الفطر والعائل فى التربة على هيئة جراثيم ساكنه أو أجسام حجريه أو فى بقايا النباتات على هيئة ميسليوم أو جراثيم أو فى أو على البذور أو الحبوب أو الدرنات أو الأبصال أو الأجزاء الخضريه الأخرى على هيئة ميسليوم ساكن أو هيفا ساكنه أو جراثيم. تشابه البكتريا الفطريات فى هذا الصدد لحد كبير حيث تعيش فى بقايا النباتات أو فى البذور أو الأجزاء الخضريه مثل الدرنات أو فى النباتات المصابه. تمضى الفيروسات والفيرويدات والميكوبلازما والسبيروبلازما والبروتوزوا فى البذور أو فى الأجزاء الخضريه مثل الدرنات أو العقل أو فى بعض العوائل الحوليه مثل الحشائش حيث تبادل من عائل إلى آخر ومن حشيشه إلى أخرى وقليل من الفيروسات والفيرويدات تعيش فى عوائلها الحشرية أو على الأدوات الزراعية أو فى بقايا النباتات. وعادة

تعيش ديدان النيماتود على هيئة بيض فى التربة أو فى بقايا النباتات وقليلاً ما توجد على هيئة يرقات أو ديدان بالغة فى البذور أو الأبصال أو قد توجد فى أجزاء خاصة تسمى ثآليل كما فى مرض القمح النيماتودى. وفى حالة النباتات الزهرية المتطفلة فإنها تمضى الشتاء أو الصيف على هيئة بذور فى التربة.

وهكذا تكتمل دورة المرض فهى تبدأ بالتلقيح بواسطة اللقاح الابتدائى أى الناتج بعد تمضية الطفيل الصيف أو الشتاء ويلى ذلك الخطوة التاليه وهى الاختراق ثم الخطوة الثالثة وهى الاصابة الابتدائية ثم الاصابة الثانوية وهى اللازمة لإنتشار المرض ثم الخطوة الرابعة وهى انتشار الطفيل لكى ينتشر المرض ثم الخطوة الخامسة وهى تمضية الطفيل للشتاء أو الصيف للحفاظ على نوعه وبقاؤه.

obeikandl.com

الباب الرابع

أعراض وعلامات المرض

تعرف أعراض المرض disease symptoms بأنها جميع التغيرات المرئية والغير مرئية فى الشكل والوظيفة التى تطرأ على النبات المصاب. تعرف مجموعة الأعراض التى يمكن منها تشخيص المرض بإسم disease syndrome ومثال ذلك مرض الذبول المتسبب عن الفطر *Fusarium* يمكن تشخيصه بمجموعة من الأعراض مثل حدوث انفراج الزاوية بين عنق الورقة والساق epinasty وعفن الجذور وتلون الأوعيه الخشبيه باللون البنى والذبول وقد يحدث إصفرار أو تبرقش على الأوراق. وعند دراسة مسبب المرض وطبيعته وعلاقته بالنبات العائل فإن ذلك يسمى disease aetiology . أما عن خطوات تطور المرض disease development فهى عبارة عن التغيرات المختلفة المتتابعة التى تحدث للنبات العائل من بدء الإصابة حتى تمام ظهور المرض. ودورة المرض disease cycle وهى عبارة عن خطوات تطور المرض وأيضاً دورة حياة الطفيل المسبب للمرض وأيضاً تأثير المرض على العائل.

يعرف المرض المركب disease complex بأنه مرض ينتج من أكثر من مسبب ومثال ذلك مرض عفن الساق stalk rot فى الذرة الشاميه والذى يتسبب عن الفطر *Cephalosporium maydis* والفطر *Fusarium* والبكتريا *Erwinia carotovora* وفطريات أخرى.

تعرف علامات المرض disease signs بأنها أجزاء من الطفيل المسبب للمرض توجد على الجزء المصاب ومن هذه الأجزاء الخاصة بالطفيل يمكن تشخيص المرض. يعتبر مرض أسكليروتينيا فى الخضر المتسبب عن الفطر *Sclerotinia sclerotiorum* مثل لهذه الحالة حيث يتكون دائماً على الجزء المصاب نمو فطرى أبيض كثيف قطنى المظهر واللون ويوجد على

سطح هذا النمو الفطرى أجسام حجريه سوداء متوسط قطرها حوالى ١/٢ سم ومن هذا النمو الفطرى والأجسام الحجريه يمكن التعرف على المرض.

تعتبر أعراض وعلامات المرض ذات أهمية كبيرة فى أمراض النبات حيث أنها تساعد فى تشخيص المرض disease diagnosis .

أعـراض المـرض

يمكن تقسيم أعراض المرض إلى سبعة مجاميع رئيسية وتشمل كل مجموعة عديد من الأعراض:

أولاً تغير اللون Discolouration

١- الإصفرار Yellowing : ينشأ غالباً عن تحلل الكلوروفيل أو البلاستيدات الخضراء وقد يكون موضعى فى جزء معين أو يعم أجزاء النبات ومثال ذلك مرض اصفرار الأستر. وجد فى بعض الحالات أن الطفيل يفرز إنزيم الكلوروفيللاز chlorophyllase والذى يحطم جزيئ الكلوروفيل إلى جزيئ كلوروفيلليد chlorophyllide وجزئ فيتول phytol. ينتج عن هذا المرض إختلال وضعف فى عملية البناء الضوئى للنبات أو فى الجزء المصاب.

٢- الأحمرار Reddening : وهى احمرار النسيج أو النبات المصاب وقد يكون موضعى أو عام. يكون الاحمرار موضعى فى الأوراق المصابة فقط كما فى مرض تجعد أوراق الخوخ، وقد يكون عام على أوراق وفروع النبات كما فى أحمرار القطن. وجد المؤلف أن احمرار القطن يحدث نتيجة لإختلال فى العمليات الحيويه للنبات وينتج عنها تكوين كميات كبيرة من صبغة الأنثوسيانين والمسؤوله عن اعطاء اللون الأحمر للنبات. ينتج عن المرض ضعف فى عملية البناء الضوئى.

٣- الاخضرار الباهت Chlorosis : يصبح اللون أخضر باهت وذلك كما فى مرض الشحوب الضوئى etiolation .يحدث الاخضرار الباهت نتيجة لقلة فى تركيز الكلوروفيل. وفى حالة مرض الشحوب يكون الضوء غير كاف لتخليق الكلوروفيل. يحتاج تخليق جزئى الكلوروفيل

الى الضوء ولذلك فإن الإخضرار الباهت فى هذه الحالة يكون نتيجة لضعف فى كفاءة تخليق الكلوروفيل وضعف فى عملية البناء الضوئى.

٤ـ التبرقش Mosaic : يظهر لون أخضر باهت أو أصفر متداخل مع اللون الأخضر فى الجزء المصاب ومثال ذلك مرض تبرقش التبغ حيث يحدث فى الأجزاء الغير خضراء قلة فى تركيز الكلوروفيل. تسمى حالات من التبرقش mottling .

٥ـ شفافية العروق Vein clearing وتحزم العروق Vein banding: تصبح العروق أو أجزاء منها شاحبة أو رائقة وذلك فى شفافية العروق كما فى مرض اصفرار الأستر. يمتد حزام عريض نسبياً بطول العروق ذو لون شاحب أو على العكس يبقى الحزام ذو لون أخضر طبيعى محاطاً بنسيج شاحب أو مصفر وذلك فى حالة تحزم العروق كما فى بعض الأمراض الفيروسيه أو الميكوبلازميه.

٦ـ ألبينو Albinism : تظهر بادرات النبات بيضاء اللون أو مصفره نوعاً نتيجة لعدم وجود الكلورفيل كما الذره والقطن والقرع. وتكون الثمار بيضاء وصغيرة فى مرض البينو الكريز cherry albino .

٧ـ إخضرار لون الأزهار Flowers virescence: يصبح لون الأزهار أخضر بدلاً من اللون أو الألوان العادية الجميلة الزاهية وذلك كما فى مرض إصفرار الأستر.

٨ـ تغير وتقطع اللون فى أجزاء من الزهرة Flower breaking : يحدث تغير فى لون بعض أجزاء الزهرة ومثال ذلك أزهار التيوليب الحمراء تصبح أجزاء منها حمراء وأجزاء برتقاليه ومثال ذلك مرض تقطع اللون فى التيوليب tulip breaking .

٩ـ اللون الفضى Silvery : يمكن أن يصبح لون الأوراق فضى كما فى مرض الورقه الفضيه فى البرقوق والتفاح المتسبب عن الفطر *Stereum purpureum* .

١٠ـ اللون البرونزى Bronzing : يمكن أن تأخذ الأجزاء المصابه اللون البرونزى وذلك كما فى مرض فيروس الذبول البقعى فى الطماطم حيث تأخذ الأوراق اللون البرونزى.

ثانياً: موت الخلايا والأنسجة Necrosis

ينتج عن موت الخلايا والأنسجة أعراض كثيرة وأهمها ما يأتى:

١ـ التبقع Spot : وجود مناطق صغيرة عاده ميته على أجزاء النبات المختلفة خاصة الأوراق والثمار. تختلف البقع فى الشكل والحجم فقد تكون مستديرة أو غير منتظمة أو بيضاويه الشكل كما فى مرض التبقع البنى فى الفول أو تكون زاوية كما فى مرض التبقع الزاوى فى القطن وقد تكون مغزليه كما فى مرض تبقع الأوراق فى الذره الشاميه وقد تكون مستطيله كما فى مرض الساق الأسود فى الكرنب كما تختلف فى اللون فتكون سوداء أو بنيه أو حمراء أو صفراء أو غير ذلك. قد تحاط البقعة بهاله لها لون مخالف halo كما فى مرض لفحة الهاله الصفراء فى الفاصوليا.

قد يظهر فى البقعة دوائر مركزيه متداخله بشكل لوحة التصويب target board symptom كما فى مرض اللفحه المبكره فى الطماطم. تنتج البقع نتيجة لموت الخلايا بعد مهاجمتها بالطفيل وفى بعض الحالات قد يفرز الطفل سم يكون المسئول عن حدوث التبقع كما فى حالة مرض wildfire فى التبغ.عادة تتكون البقعه من لون واحد كما فى مرض التبقع البنى أو الشيكولاتى فى الفول وقد تتكون البقعة من لونين فقد تكون البقعه لونها رمادى وحافة البقعة لونها بنى كما فى مرض لفحة الأرز. وقد تكون البقع مشبعه مائياًwater soaked lesions كما فى مرض التبقع الزاوى فى القطن البقعة تسمى أيضاً lesion .

٢ـ التلطخ Blotch : موت وتحلل الأنسجة عادة تكون غير محدوده صغيرة أو كبيرة وتوجد على الثمار أو الأوراق. تشابه الى حد كبير التبقع ولكنها عادة كبيرة نسبياً وغير منتظمة الشكل. يوجد تداخل بين البقع الكبيرة الحجم والتلطخ. ومثال ذلك مرض التلطخ الشبكى فى الشعير. فى بعض الحالات قد توجد على اللطخه هيفات وجراثيم الفطر كما فى مرض اللطخه القرمزيه فى البصل.

٣ـ اللفحة Blight (Blast) : وهى الموت المفاجئ السريع للبراعم والثمار الصغيرة والأزهار والأوراق والأفرخ الخضريه. قد تكون اللفحه على جزء من النبات أو جميع أجزاؤه.

ومثال ذلك مرض اللفحة النارية فى التفاح والكمثرى. فى بعض الحالات يفرز الطفيل سموم تساعد على حدوث المرض ومثال ذلك الفطر *Piricularia oryzae* المسبب لمرض لفحة الأرز blast ويفرز سم piricularin . حيث يسبب السم تأثير ضار على بعض العمليات الحيوية وأيضاً على بعض الأنزيمات مثل أنزيم الكاتاليز والسيتوكروم أو كسيديز وبالتالى فإنه يؤثر على سرعة التنفس فى الأجزاء المصابه ويسبب إختلالها.

٤ـ التخطيط Streak : عبارة عن بقع طويله وضيقه على الأوراق والساق كما فى مرض تخطيط القصب.

٥ـ التخطيط المتوازى Stripe : عبارة عن بقع ضيقة ومتوازية كما فى مرض تخطط أوراق الشعير.

٦ـ التثقيب Shot-hole : تتكون بقع ميته مستديره تقريباً على الأوراق ثم تسقط هذه الأجزاء الميته تاركة ثقوب صغيرة كما فى مرض تثقب أشجار الحلويات.

٧ـ البثره Sorus أو Pustule : هى عبارة عن بقعه يوجد بداخلها ثم على سطحها جراثيم الفطر.

وعادة يوجد الفطر بداخل نسيج النبات ثم يكون جراثيم أسفل بشرة الساق أو الورقه وقد تسبب هذه الجراثيم تمزق نسيج البشره كما فى فطريات الأصداء والتفحم اللوائى فى القمح والصدأ الأبيض. يستعمل هذا الأصطلاح لوصف هذه الأمراض عادة.

٨ـ موت الأطارف (الأطراف) Dieback : موت تدريجى للفروع يبدأ من القمه ويتجه إلى أسفل كما فى مرض موت الأطراف فى الموالح.

٩ـ المومياء Mummification : يظهر على الدرنات والثمار وغيرها عندما تفقد مائها ويصبح نسيجها صلب وتأخذ الشكل المجعد كما فى مرض العفن البنى فى ثمار الخوخ.

١٠ـ الحلقات Rings : تكون حلقات على الأجزاء المصابه وقد تكون أنسجة الحلقه ملونه أو ميته أو متآكله كما فى مرض الحلقه المتآكله فى القرنفل.

١١- التقرح Canker : يظهر هذا العرض نتيجة موت مناطق فى قشره أفرع وسيقان النباتات. يختلف شكل وحجم هذه المناطق كما قد تكون سطحيه أو عميقه تصل الى طبقة الكمبيوم. قد يكون العائل أنسجة فلينيه ليحد من إمتداد القرحه وتسمى قرحه مغلقه closed canker أما إذا كان نشاط الطفيل أعلى من قدرة العائل على تكوين أنسجة فلينيه فتسمى قرحه مفتوحه open canker ومن أمثلة ذلك مرض تقرح أشجار الكمثرى ومرض اللفحه النارية فى التفاح والكمثرى.

١٢- سقوط أو موت البادرات Damping-off : تموت أنسجة أو أجزاء على البادره وتسبب ضعف للبادره وموتها وسقوطها كما فى مرض سقوط البادرات فى الطماطم أو مرض خناق القطن.

١٣- التصمغ Gummosis : ظهور إفرازات صمغيه عادة على الساق والأفرع وقد يوجد على الثمار أو الجذور كما فى مرض تصمغ الموالح ومرض تصمغ الحلويات. تتكون الصموغ نتيجة لإختلال العمليات الحيويه فى النبات وينتج النبات الصموغ بكثرة وقد تفرز خارجه على هيئة قطرات من الصموغ. يحدث إختلال فى العمليات الحيويه لبعض الخلايا وتكون الصموغ.

١٤- التثقيب Pitting : تتكون ثقوب أو نقر نتيجة لموت الأنسجة كما فى مرض النقره المره فى التفاح.

١٥- العفن Rot : ينشأ عن تحليل أو إختلال فى تركيب الجدار الخلوى والبروتوبلازم للخليه النباتيه. يوجد فى أى جزء من النبات. يوجد نوعان وهما العفن الطرى soft rot مثل مرض العفن الطرى فى الخضر المتسبب عن البكتريا *Erwinia carotovora* والعفن الجاف dry rot مثل العفن الجاف فى درنات البطاطس. قد يخرج أثناء العفن محلول مائى بدرجة ملحوظه فيسمى مرض الرشح leak كما فى مرض الرشح فى الشليك. يحدث العفن الطرى نتيجة لنشاط الأنزيمات المحلله للمركبات البكتينيه. تسبب هذه الأنزيمات تحلل بكتات الكالسيوم، والمغنسيوم المكونه للصفيحه الوسطى التى تلحم الخلايا النباتيه ببعضها ونتيجة لذلك تنفصل الخلايا عن بعضها وينتج عرض العفن. يمكن أن يكون لأنزيم السيليوليز دور فى العفن.

أحياناً يخرج من مكان العفن افراز لزج slime exudate كما فى مرض العفن البنى فى البطاطس ومرض العفن الحلقى فى البطاطس. تسمى قطرات الأفراز اللزج ooses.

تسبب أمراض عفن الجذور ضعف فى إمتصاص الماءوالعناصر الذائبه وينتج عن ذلك ضعف للنبات وقد تظهر عليه أعراض نقص العناصر وذلك لقلة تركيز العناصر الضرورية الأساسية فى النبات عن المعتاد.

١٦- لسعة الشمس Sunscald : تؤثر أشعة الشمس القويه على أجزاء النبات وتسبب موت الأنسجة مثل مرض لسعة الشمس فى ثمار الطماطم.

١٧- الاحتراق Scorch : موت الأنسجة ويكون لونها عادة بين البنى المحمر أو الغامق أو البنفسجى أو الأسود. يوجد العرض على الأوراق وقد يوجد على الأجزاء الأخرى من النبات مثل مرض احتراق الأوراق فى النرجس أو الشليك.

١٨- التخشين Russeting : عبارة عن خشونة بنيه سطحيه لجلد الثمرة أو الدرنه أو غيرها والتى تكون فى الظروف العاديه ملساء يرجع ذلك عادة الى سوبره فى الأنسجه عقب الجروح الناتجه عن الطفيل كما فى مرض البياض الدقيقى فى ثمار العنب.

ثالثاً : الذبـــول Wilt

يحدث الذبول نتيجة وجود بعض الطفيليات فى الأوعيه الخشبيه فى نسيج الخشب للجذر أو الساق. ينتج الذبول نتيجة لمعيشة الطفيل فى هذه الأوعية فيسبب بطء فى إنسياب الماء من أسفل إلى أعلى وعادة تفرز هذه الطفيليات أنزيمات محلله للمركبات البكتينيه فتسبب تحليل للجدر وتحرر جزئيات كبيره من المواد الكربوإيدراتيه تأخذ التركيب الغروى الهلامى وبذلك تعوق إنسياب الماء. يمكن أيضاً للطفيل أن يكون مركبات هلاميه ويكون لها دور فى سد الأوعيه الخشبيه. يمكن لبعض الطفيليات أن تفرز سموم يكون لها دور فى الذبول. مما سبق يتضح أن عرض الذبول ينتج عن عوامل عديده منها ما يسبب سد الأوعيه الخشبيه جزئياً أو كلياً وبالتالى يقل إنسياب الماء من أسفل إلى أعلى ويحدث عرض الذبول. يعتبر مرض الذبول المتسبب عن الفطر *Fusarium oxysporum* ومرض الذبول المتسبب عن البكتريا

Pseudomonas solanacearum من أفضل الأمثلة لذلك. حيث أن الفطر السابق علاوة على إفرازه إنزيمات محلله للمركبات البكتينيه فإنه يفرز سم حامض الفيوزارك fusaric . عادة يصاحب هذا النوع من الذبول تلون نسيج الخشب باللون البنى ويمكن التعرف على ذلك بعمل شق طولى للجذر أو الساق إلى نصفين حيث يلاحظ خط أو خطين بنيين. يمكن أن تحدث أعراض الذبول مع عدم وجود تلون للأنسجة باللون البنى.

يحدث تكون تيلوزات ينتج منها مركبات هلاميه فى الأوعيه الخشبيه فى بعض أمراض الذبول من شأنها أيضا تقليل سرعة إنسياب الماء. ثبت أن سم حامض الفيوزارك المفرز بواسطة الطفيل يؤثر على نفاذيه الأكتوبلاست وعلى بروتوبلازم الخلايا فتصبح الخلايا أقل قدره على الاحتفاظ بالماء وبالتالى يزيد معدل النتح ولكن فى الأطوار المتأخرة من المرض وعند إنسداد الأوعيه الخشبيه جزئيا أو كلياً يقل النتح فى النبات.

رابعاً : التشوه Malformation

يحدث تشويه فى نمو النبات أو فى أجزاء منه. وقد يكون للهورمونات النباتيه مثل الأوكسينات والجبريللينات والسيتوكنينات دور فى ذلك. يوجد عديد من الأعراض تتبع هذه المجموعة (انظر باب دور منظمات النمو فى الأمراض) ومنها ما يأتى:

١- التقزم Dwarfing (Stunting) : يحدث قصر فى طول النبات أو فى جزء من أجزاؤه ومثال ذلك مرض تقزم الذره. يمكن مقاومة التقزم فى هذه الحاله برش النباتات المصابه بحامض الجبريلليك فتصبح عاديه الطول. يدل ذلك على أن التقزم فى هذه الحاله راجع إلى قلة فى استطالة الخلايا أى قصرها عن المعتاد وذلك لقلة تركيز الجبريللين.

٢- الطول الزائد Elongation : يزداد طول النبات أو البادره عن المعتاد وقد يكون بدرجة كبيرة. يعتبر مرض البادره الحمقاء فى الأرز من أفضل الأمثلة لذلك ويرجع الطول الزائد إلى أن الفطر المسبب للمرض يفرز كميات كبيرة من الجبريللين تسبب إستطالة النبات.

٣- التورد Rosetting : تقصر سلاميات الساق أو الفرع وتتقارب العقد وتتقارب أوراق الفرع وينتج عن ذلك شكل الورده. يفسر ذلك العرض بقلة فى تركيز الأوكسينات فى النبات المصاب ومثال ذلك مرض اصفرار الأستر.

٤- الأنثراكنوز Anthracnose : يستعمل لوصف نوعين مختلفين من الأعراض. العرض الأول هو عبارة عن بقعة من أنسجة ميته necrotic وينتج عن فطريات ذات جراثيم لزجه. والعرض الثانى هو محيط مرتفع للبقعه نتيجة لزيادة سرعة إنقسام الخلايا أى أنه عرض ناتج عن زيادة سرعة إنقسام الخلايا hyperplastic symptom فى محيط البقعه دون مركزها وذلك كما فى مرض بقعة عين الطائر bird's-eye spot فى العنب. يمكن أن يسمى العرض الأخير الأنثراكنوز البقعى spot anthracnose ليمكن تمييزه وفصله عن أمراض الأنثراكنوز ذات الجراثيم اللزجه slime spots .

٥- التفلطح Fasciation : ظهور أورام تكون مفلطحة الشكل على الساق وقد يخرج منها أوراق صغيرة الحجم مشوهه ومثال ذلك مرض التفلطح المتسبب عن البكتريا *Corynebacterium fasciens*. ثبت أن السيتوكنينيات لها دور فى حدوث إنقسام الخلايا الزائد وظهور الأورام.

٦- التضخم أعلى التحليق Sarcody : حدوث تضخم للجزء من النبات الملاصق للحافه العلويه من المنطقه التى بها تحليق girdling . شاهد المؤلف هذه الحالة فى نبات قطن مصابه بمرض خناق القطن وقد قاوم النبات المرض ولكن مع وجود تحليق على الساق عند سطح التربه وتكون جزء من الساق متضخم أعلى التحليق. يحدث التحليق مكان الأصابه.

٧- التجعد Curl : يظهر هذا العرض نتيجة زيادة سرعة إنقسام الخلايا عن المعتاد hyperplasia وزيادة كبر حجم الخلايا عن المعتاد hypertrophy فى أحد الجوانب دون الجانب الآخر فيحد ث نمو غير متكافئ على الجانبين فيحدث التجعد مثل مرض تجعد أوراق الخوخ. وفى بعض الأمراض الفيروسيه يخزن فى هذه الخلايا كميات كبيره من النشا.

٨- الجرب Scab : يظهر هذا العرض أساساً نتيجة زيادة سرعة إنقسام الخلايا عن المعتاد فى الجزء المصاب فتظهر بقع محدده مرتفعه خشنه على الأوراق أو الثمار أو الدرنات أو السوق ومثال ذلك مرض الجرب العادى فى البطاطس ومرض الجرب المسحوقى فى

البطاطس أيضاً.

٩- الأورام - التدرنات Tumors : إنتفاخات موضعيه وتنتج عن زيادة سرعة إنقسام الخلايا وزيادة حجم الخلايا ومنها التدرنات galls والثآليل warts والعقد knots والفقاقيق blisters والأوديما oedema تنتج هذه الأعراض نتيجة للنشاط الزائد لهورمون أو أكثر ومثال ذلك مرض التدرن التاجى فى الحلويات ومرض تعقد الجذور فى الطماطم حيث يوجد نشاط زائد لأندول حامض الخليك.

١٠- التورق Phyllody : حيث تصبح الأزهار متورقه أى يتكون بدلاً من البتلات الزاهية اللون أوراق خضراء اللون كما فى مرض التورق فى هيدرانجيا *Hydrangea* المتسبب عن ميكوبلازما.

١١- زوائد الأوراق Enations : زوائد تتكون على سطح الورقه وتنتج عن الاصابة ببعض الأمراض الفيروسيه مثل مرض تقزم النجيليات enanismo وأيضاً فيروس زوائد العرق فى الموالح.

١٢- الشكل المغزلى Spindlism : تأخذ بعض الأجزاء المصابه من النبات الشكل المغزلى مثل مرض الدرنه المغزليه فى البطاطس المتسبب عن فيرويد. تأخذ الدرنات المصابه شكل المغزل.

١٣- إلتفاف الأوراق Leaf rolling : يحدث إلتواء لحواف الأوراق إلى أعلى أو إلى أسفل يحدث إلتفاف حواف الأوراق إلى أعلى كما فى مرض فيروس إلتفاف الأوراق فى البطاطس.

١٤- الجيوب Pockets : ينتج زيادة كبيرة فى نمو الطبقة السطحية من الثمرة فى بعض المناطق مع وجود أجزاء فى مناطق أخرى عادية النمو مما ينتج عنه جيوب كما فى مرض جيوب البرقوق plum pockets . أو جيب على الساق مثل مرض قوباء الموالح.

١٥- مكنسه الساحره Witches broom: يحدث هذا العرض نتيجة لتأثير هورمونات مفرزه بالطفيل وتسبب تثبيط ظاهرة السيادة القمية apical dominance . من المعروف أن ظاهرة

السيادة القمية موجودة فى جميع النباتات ذوات الفلقتين. وملخص هذه الظاهرة أن البرعم الطرفى ينمو بنشاط بينما يمنع البراعم الابطية والموجودة أسفله لمسافة ما على النبات من النمو. ومن المعروف أن هذا راجع لوجود الأوكسينات بتركيز عالى فى البراعم الابطية أسفل البرعم الطرفى فيمنع نموها. حيث أن هذه البراعم تحتوى على الأوكسينات الخاصة بها وعلى أوكسينات اضافية منقولة اليها من البرعم الطرفى. ومن المعروف أن زيادة الأوكسين عن تركيز معين تمنع نمو البراعم. وقد وجد أنه فى حالة اصابة نبات الصفصاف willow بطفيل معين يسبب مرض للنبات معروف باسم مرض مكنسة الساحرة witches broom disease . حيث نجد فى هذه الحالة أن العُقد فى الساق متقاربة جداً والسلاميات قصيرة جداً ولذلك فان الأفرع الجانبية تكون متقاربة جداً وتأخذ شكل المكنسة ولايوجد أى وجود لظاهرة السيادة القمية. وقد وجد أن السبب فى ذلك هو أن هذا الطفيل الذى يصيب الأشجار يفرز مركب سيتوكينينى وهذا المركب يضاد فى عمله antagonise عمل الأوكسين ويبطل مفعوله فنجد أن البراعم الابطية تنمو بشدة وينتج عنها مرض شكل المكنسة. يعتبر ذلك صحيح أيضاً فى جميع الطفيليات التى تسبب هذا المرض، حيث يسبب الفطر*Taphrina cerasi* مرض مكنسه الشريره فى شجيرات الكريز. وهذا العرض منتشر فى بعض الأمراض الفيروسيه مثل مكنسه الشريره فى البطاطس والشليك.

١٦- تشوه الأوراق Leaf malformation : ويوجد منه حالات كثيرةوهى تحور شكل الورقة إلى شكل المروحه كما فى فيروس الورقة المروحية فى العنب أو يزداد العرق الوسطى لنصل الورقة فى الحجم بدرجة كبيرة وتصبح الورقة غير عاديه الشكل كما فى فيروس العرق الكبير فى الخس أو تصبح الورقه أو أجزاء منها خيطيه وتشبه هذه الأجزاء الخيطيه رباط الحذاء shoe string وقد تتشوه الورقه وتأخذ شكل أوراق النباتات السرخسيه fern leaf ويحدث هذين العرضين السابقين عند إصابة نباتات الطماطم بفيروسين مشتركين وهما فيروس موزايك (تبرقش) التبغ TMV وفيروس موزايك الخيارCMV أو تصبح الورقة لجانيه الشكل كما فى فيروس الورقه الصولجانيه فى نبات البرسيم.

١٧- تشوه شكل الثمار Fruit malformation: كثيرا من الاحيان تصبح الثمار صغيرة الحجم

نتيجة للأصابة وفى أحيان أخرى يحدث تشويه فى شكل الثمره كما فى مرض وجه القط cat face فى الشليك والطماطم.

١٨- عقم وتشوه الأزهار Flower sterility : حيث تصبح الأزهار عقيمة حيث أن حبوب اللقاح لا تتكون وقد يحدث تشويه فى شكل الزهرة كما فى مرض الصدأ الأبيض فى كيس الراعى وقد تكون النورات مشوهه كما فى مرض تشوه نورات المانجو.

١٩- الجذور الشعريه Hairy roots : يحدث تكون كميات كبيرة من جذور صغيرة رفيعة تخرج من الساق أو الجذر أو من إنتفاخات صلبة تتكون عادة فى أماكن التطعيم وذلك كما فى مرض الجذر الشعرى فى التفاح.

٢٠- الأوديما Oedema : أورام صغيرة تتكون عادة على السطح السفلى لأوراق بعض النباتات مثل الكرنب والطماطم والبلارجونيوم والبيجونيا والكاميليا. تحدث الأوديما نتيجة لإمتصاص الجذور للماء بكثرة وبسرعة تزيد بدرجة واضحة عن سرعة النتح ويسبب ضغط الماء كبر فى حجم خلايا الميزوفيل أى النسيج الوسطى للورقه وهذه الخلايا بدورها تبرز من خلال نسيج البشره السفلى. توجد هذه الظاهرة عادة فى النباتات المنزرعه فى الصوب. ومثال ذلك مرض الأنثراكنوز البقعى فى الكاميليا camellias .

خامساً: الحركات التأثيرية Paratonic movements

وهى الحركات التى تتم بفعل مؤثر محدد وأنواعها عديدة ومنها:

١- الحركه الزاوية Nastic movement : يحدث تغير فى زاوية وضع الأوراق على الساق نتيجة لتأثير الطفيل ومنها:

أ - إنفراج الزاويه بين عنق الورقه والساق Epinasty : عند إصابة النبات ببعض الطفيليات المرضية تسبب إنفراج الزاويه بين عنق الورقه والساق وذلك كما فى مرض ذبول الفيوزاريوم. يكون للأوكسينات وغاز الأثيلين دور فى إنفراج الزاويه.

ب - صغر الزاويه بين عنق الورقه والساق Hyponasty : شاهد المؤلف هذه الحاله فى

بعض الأمراض الفيروسيه والميكوبلازما وقد وجدها بوضوح فى مرض إصفرار الأستر فى الكرفس حيث تضيق الزاويه وتصبح الأوراق قائمة تقريباً.

٢ـ الحركة الانتحائية Tropic movement : وفيها يتحرك أحد أعضاء النبات بالنمو البطئ أو السريع ناحية مؤثر خارجى أو بعيداً عنه. فإذا كان إتجاه النمو نحو المؤثر الخارجى سميت الحركة إنتحاء موجب واذا كانت بعيداً عنه سميت إنتحاء سالب ومن أمثلة الانتحاء ما يأتى:

أ ـ *الإنتحاء المائى* Hydrotropism : فى حالة جفاف التربه وفى وجود الماء فى بؤرة معينه فإن الجذور يمكن أن تتجه فى نموها إلى هذه البؤره المائيه ويسمى ذلك إنتحاء مائى موجب.

ب ـ *الإنتحاء الضوئى* Phototropism : فى حالة ضعف الاضاءة فإنه يمكن للجزء العلوى من الساق أن ينحنى ويتجه ناحية مصدر الضوء يسمى انتحاء ضوئى موجب كما فى مرض الشحوب الضوئى etiolation. ولتفسير ذلك فإنه من الثابت أنه فى حالة وجود اضاءة منتظمة أو ظلام فإن نمو غمد الريشة أو الساق يكون نمو رأسى ولايوجد فيه أى انحناء. ولكن عند تعريض الأجزاء السابقة لمصدر ضوئى من جهة واحدةunilateral light نجد أن الغمد أو الساق ينحنى ويتجه فى نموه ناحية مصدر الضوء، وهذا ما يسمى بالانتحاء الضوئى الموجب positive phototropism ويحدث هذا الانتحاء نتيجة لاختلاف فى تركيز الأوكسينات على جانبى الساق فنجد أن جزء من الساق المواجه للضوء يحتوى على تركيز ضئيل من الأوكسينات بينما الجزء البعيد عن الضوء يحتوى على تركيز كبير وأمثل. من ناحية تركيز الأوكسين ونتيجة لذلك يحدث اختلاف فى سرعة نمو جزء من الساق أو الغمد حيث نجد أن سرعة نمو الجزء البعيد عن الضوء أسرع بكثير من سرعة نمو الجزء المواجه للضوء ونتيجة لذلك نجد حدوث الانحناء فى اتجاه مصدر الضوء. وقد تختلف التفسيرات لتفسير اختلاف تركيز الأوكسينات على جانب الساق أو الغمد فى حالة وجود المصدر الضوئى جانبى. وتوجد لذلك نظريات كثيرة ولكن من الثابت الآن أن أندول حامض الخليك وهو هورمون نباتى أى أكسين طبيعى ينتقل من الجزء القريب من الضوء إلى الجزء البعيد ونتيجة لذلك

يحدث ما سبق ويحدث الإنتحاء الضوئى الموجب.

جـ - عدم *الحساسية للجاذبية الأرضية:* وجد المؤلف أنـه فـى بعض عـزلات فطـر *Rhizoctonia solani* يمكنها أن تصيب بادرات الفاصوليا وتسبب لها قصر فى نمو الساق أى السويقه الجنينية السفلى وأيضاً غلظ السويقه الجنينيه بدرجه ملحوظه وأن السويقه تنمو مائله وأحياناً تنمو أيضاً موازية لسطح التربه أى تفقد السويقه الحساسيه للجاذبية الأرضية diageotropism . تسمى هذه الحالة بإسم الاستجابة الثلاثية triple response . ولشرح ذلك فإنه من الجدير بالذكر أن قياس تركيز الأثيلين قديماً كان بواسطة إختبار الاستجابة الثلاثية وذلك بتعريض بادرات البسله للأثيلين يسبب قصر فى نمو السويقه وأيضاً غلظ فى السويقه وأن السويقه تنمو أفقياً بدلاً من نموها رأسياً أى أنها تفقد الحساسية لتأثير الجاذبية الأرضية. وقد وجد أن غاز الأثيلين يسبب ذلك وأن تركيزات متدرجة من غاز الأثيلين تسبب تدريج فى ظهور الأعراض وذلك مما يثبت دور الأثيلين الهام فى هذه التأثيرات. ولذلك فإن نمو سويقة الفاصوليا أفقياً نتيجة للإصابة بالفطر قد أفقدها الحساسية للجاذبية الأرضية ويمكن أن يكون ذلك نتيجة لتأثير غاز الأثيلين وهو هورمون نباتى. وقد ثبت فعلاً أن عزلات من الفطر تنتج غاز الأثيلين وذلك بالإضافة إلى أن الجروح وتهتك الأنسجة فى بادرات النبات يسبب تكوين لغاز الأثيلين. ولذلك فإنه فى حالة بادرات الفاصوليا المصابة يكون تركيز الأثيلين زائد حيث أن تهتك أنسجة وجروح البادره نتيجة للفطر ينتج عنه تكوين غاز الأثيلين بالإضافة إلى الغاز المنتج طبيعياً أثناء الإنبات وبالإضافة إلى الغاز المنتج بواسطة الفطر وينتج عن ذلك فقد البادرة للحساسية للجاذبية الأرضية وتنمو السويقة أفقياً. ويصبح الانتحاء الأرضى السالب للسويقة الجنينيه غير واضح ويصبح إتجاه نمو السويقه غير ثابت. حيث يؤثر الأثيلين على تركيز الأوكسينات داخل السويقه مما يفقدها حساسيتها للجاذبية الأرضية.

سادساً : إرتفاع درجة الحرارة :

يندر أن ترتفع درجة حرارة النبات أو الجزء المصاب وذلك على العكس من الحيوان أو

الانسان حيث ترتفع درجة الحرارة فى كثير من الأمراض. يعتبر إرتفاع درجة حرارة النبات نتيجة للإصابة بالفطر وقبل موت النبات ما يشبه مايحدث فى الحمى فى الإنسان. وذلك مايحدث فى مرض تكساس لعفن الجذور المتسبب عن الفطر *Phymatotrichum omnivorum* من الأمثلة النادرة فى أمراض النبات. تعتبر هذه الحادة نادرة فى أمراض نبات والعكس صحيح تماماً فى أمراض الانسان والحيوان. ترتفع درجة الحرارة فى النباتات المصابة بالأصداء والبياض الدقيقى من ٠,٣ إلى ٠,٧ درجة مئوية.

سابعاً : سقوط الأوراق أو الأزهار المبكر أو التأخير فى الأزهار والأثمار:

يحدث فى بعض الأمراض أن تسقط الأوراق مبكراً عن المعتاد proleptic abscission وذلك لقلة إنسياب الأوكسينات من الأوراق إلى الساق عن تركيز معين وذلك كما فى مرض تقرح الكمثرى ومرض صدأ البن. وقد يكون التأخير فى نضج الثمار لمده حوالى شهر كما فى مرض مورافى الكريز cherry mora .

علامات المرض

تعرف علامات المرض بأنها أجزاء من الطفيل المسبب للمرض توجد على الجزء المصاب ومن هذه الأجزاء الخاصه يمكن تشخيص المرض ومنها ما يأتى:

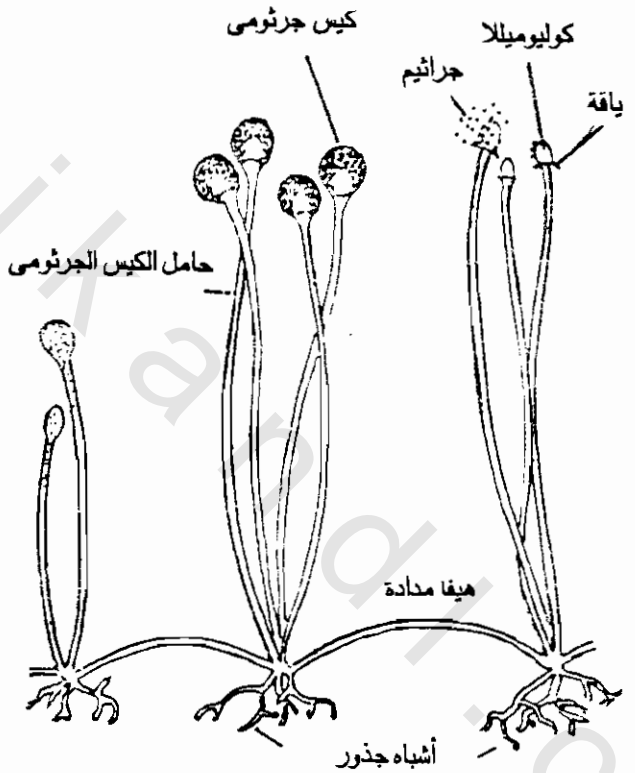
١- هيفات الفطر والأجسام الحجريه : يتكون على الجزء المصاب نمو فطرى أبيض كثيف ومغمور فيه الأجسام الحجريه السوداء فى مرض العفن الأبيض فى البصل ومرض أسكليروتينيا فى الخضر.

٢- هيفات الفطر والحوامل الجرثوميه : تكون هيفات الفطر والحوامل الجرثوميه العلامه المميزه للمرض ومثال ذلك أمراض البياض الدقيقى حيث يوجد على الأجزاء المصابه ألهيفات والحوامل الجرثوميه حامله الجرائيم وهى المسئولة عن اعطاء المظهر الدقيقى الأبيض للمرض.

٣- حبل الريزومورف والأجسام الثمريه : تكون بعض الفطريات خيط فطرى سميك يتراوح قطره حوالى ١ مم يسمى ريزومورف يخترق جذور النبات أو قاعدة الساق ثم يبرز من الأجزاء المصابه من النبات الأجسام الثمريه المظليه الشكل ومنها يمكن التعرف على المرض وهو عفن الجذور الأرميلارى المتسبب عن الفطر *Armillaria mellea* .

٤- الأكياس الأسكيه العاريه : تكون بعض الفطريات على سطح بشره النبات أكياس أسكيه عاريه متراصه بجانب بعضها البعض مكونه طبقه خصبه. تتكون هذه الأكياس على بشره أوراق نبات الخوخ وتأخذ الأوراق اللون الفضى silvery نتيجة لذلك كما فى مرض تجعد أوراق الخوخ.

٥- الهيفات المداده والحوامل والأكياس الجرثوميه : تتكون الهيفات المداده وحوامل الأكياس الجرثوميه والأكياس الجرثوميه على سطح الجزء المصاب كما فى مرض الرشح فى الشليك والعنب والبطاطا ويتسبب عن الفطر *Rhizopus stolonifer* (شكل ٢٩).



(شكل ٢٩) : التركيب الخضرى والتكاثر اللاجنسى فى فطر ريزوبس ستولونيفر.

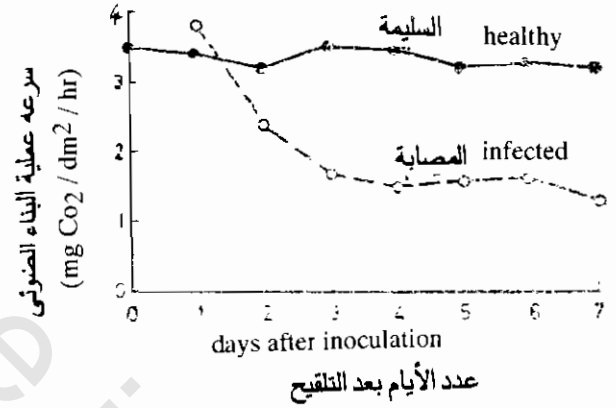
الباب الخامس

تأثير المرض على العمليات الحيويه في النبات

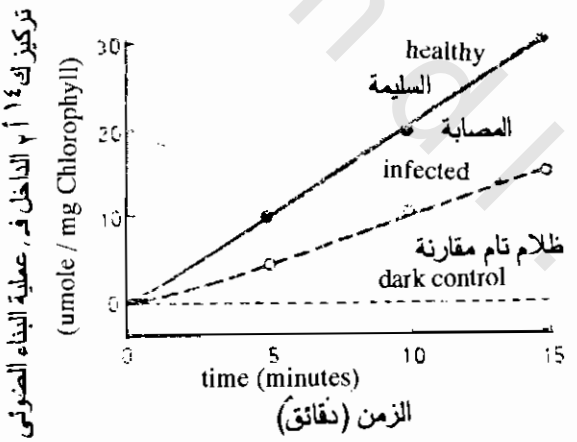
تؤثرالإصابة بالطفيليات على العمليات الحيوية للنبات المصاب وفيما يلى بعض الأمثلة لذلك:

١- البناء الضوئى: تؤثر الاصابة على عملية البناء الضوئى وعادة تقل سرعة وكفاءة عملية البناء الضوئى نتيجة للإصابة. ولكن أحياناً فى بعض الأمراض تزداد سرعة عملية البناء الضوئى فى بداية الاصابة ثم تقل بعد ذلك. وذلك كما فى حالة مرض البياض الدقيقى فى نبات البلوط المتسبب عن الفطر *Mycosphaerella* حيث تزداد سرعة عملية البناء الضوئى فى اليوم الأول بعد التلقيح أى فى بداية الاصابة ثم تقل بعد ذلك تدريجياً حتى تصبح سرعة العملية فى النبات المصاب أقل من سرعة العملية فى النبات السليم (شكل ٣٠). وجد أيضاً فى بعض الحالات خفض فى كفاءة تثبت ك أ ٢ فى الأوراق المصابة عن السليمة كما فى مرض البياض الدقيقى فى بنجر السكر (شكل ٣١).

أما عن أسباب خفض سرعة عملية البناء الضوئى فى النبات المصاب فيرجع ذلك الى سبب أو أكثر. فقد يكون هدم فى الكلوروفيل الموجود نتيجة لنشاط أنزيم الكلوروفللیز chlorophyllase والذى يحلل جزيئ الكلوروفيل إلى كلوروفيلليد chlorophyllide وفيتول phytol وذلك كما فى فيروس تبرقش التبغ فى الطماطم TMV وقد يكون السبب هو ضعف فى تخليق الكلوروفيل كما فى مرض wildfire فى التبغ. وجد أيضاً أن الجرانا grana والفريت fret فى البلاستيدات الخضراء فى الأوراق المصابه تصبح متهتكه وتزداد هذه الحاله بزيادة المرض كما فى مرض البياض الدقيقى فى الشعير.



(شكل ٣٠) : سرعة عملية البناء الضوئى فى أوراق البلوط السليمه والمصابه بالبياض الدقيقى.



(شكل ٣١) : سرعة عملية البناء الضوئى فى أوراق بنجر السكر السليمه والمصابه بفطر البياض الدقيقى.

يمكن أن تقل عدد البلاستيدات الخضراء بتقدم الاصابة كما فى بعض أمراض البياض الدقيقى والأصداء. يمكن أيضاً أن يقل تركيز RNA البلاستيدات الخضراء بتقدم الاصابة كما فى بعض أمراض الأصداء والبياض الدقيقى. وجد أن أنزيم ribulose-1,5 diphosphate carboxylase يقل نشاطه بعد ١٢ يوم من التلقيح فى أصداء القمح ومن المعروف أن هذا الأنزيم هو المسئول عن عمل أول خطوه فى عملية البناء الضوئى. وجد انخفاض فى تركيز ك أ٣ المشع فى حامض فوسفوجلسريك والسكريات المفسفره وزيادة فى تركيز ك أ٣ المشع فى فوسفوإينول حامض البيروفيك phosphoenol pyruvic acid والأحماض ذات أربعة ذرات كربون مثل الأوكسالأستيك والماليك وذلك فى النباتات المصابة بفيروس تبرقش التبغ TMV بالمقارنة بالنباتات السليمه. ومن المعروف فى النباتات العادية أن تكون حامض فوسفوجلسريك هو دليل على حدوث دوره كالفن وبنسون Calvin and Benson فى عملية البناء الضوئى أما عن وجو دمركب فوسفوإينول حامض البيروفيك فهو دليل على حدوث دوره خاصه إضافية لعملية البناء الضوئى هى دوره Hatch and Slack.

معنى ذلك أن الاصابة تؤثر فى درجة حدوث إحدى دورتى عملية البناء الضوئى بالنسبة للدورة الأخرى. أى أن الاصابة تزيد من معدل حدوث دوره هاتش وسلاك وتقلل من معدل حدوث دوره كالفن وبنسون.

يمكن أن تقل كفاءة حدوث تفاعل هيل Hill reaction وأيضاً عملية الفسفره الضوئيه photophosphorylation فى البلاستيدات الخضراء وذلك كما فى مرض تبرقش الدخان TMV.

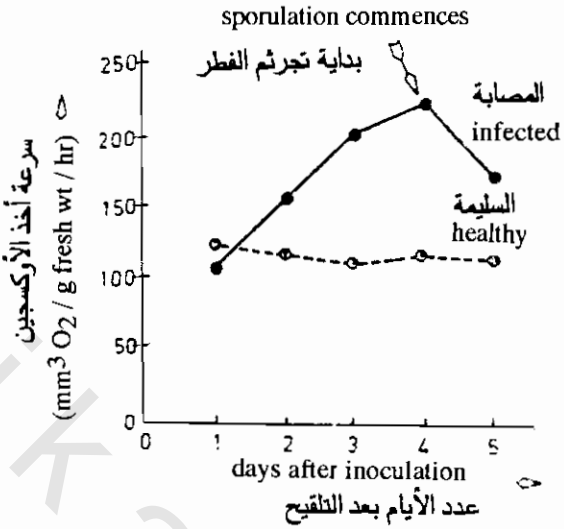
فى بعض الأمراض توجد حلقة خضراء تتوسط نسيج شاحب حول البثرة تسمى جزيره خضراء green island وهى ذات تركيز عادى من الكلوروفيل وذلك كما فى مرض صدأ الساق فى القمح ومرض صدأ الفاصوليا. تكون سرعة عملية البناء الضوئى فى الجزائر الخضراء عاديه عاده .تركيز النشا فى الأجزاء المصابه يختلف بإختلاف المرض والمسبب. فى كثير من الأحوال يكون الناتج النهائى هو قلة تركيز النشا فى الأجزاء المصابة ولكن قد يكون العكس صحيح فى بعض الأمراض مثل مرض إلتفاف أوراق البطاطس ومرض أصفرار بنجر السكر.

تسبب بعض السموم المفرزه بالفطريات تأثير على عملية البناء الضوئى وذلك بخفض تركيز الكلوروفيل مثل سم tentoxin والذى يفرزه الفطر *Alternaria alternata* مسبب مرض البقعة البنيه فى التبغ أو يسبب تثبيط فى عمليه الفسفره الضوئيه photophosphorylation ويكون أيضاً بواسطة سم tentoxin. أو يسبب تهتك البلاستيده الخضراء كما فى سم victorin أو يسبب تهتك لأغشية البلاستيده الخضراء فى سم HS toxin والذى يفرزه الفطر *Helminthosporium sacchari* مسبب مرض بقعة العين eye spot فى قصب السكر.

٢ـ التنفس : يحدث زيادة فى سرعة التنفس فى النبات المصاب كما قد يحدث تغيير فى دورة تحلل السكر.

أ ـ يحدث عادة زيادة فى سرعة التنفس للنبات المصاب وخاصة فى الفترة الأولى من المرض. تزداد سرعة التنفس فى الأوراق الفلقيه للكرنب عند إصابتها بالفطر *Peronospora parasitica* المسب للبياض الزغبى فى الكرنب وذلك بالمقارنة بالأوراق الفلقيه السليمه (شكل٣٢).

يعزى سبب زيادة سرعة التنفس الى أسباب عديدة ولكن حتى الآن لايوجد إثبات قاطع فى ذلك. يمكن أن تزداد سرعة التنفس نتيجة تثبيط الازدواج فى الفسفره التأكسديه uncoupling of oxidative phosphorylation حيث وجد أن أوراق نبات القمح المصابه بالصدأ لا تستجيب لفعل مركب داى نيتروفينول 2,4-dinitrophenol (DNP) وحيث تستجيب الأوراق العادية. يعتبر هذا المركب مثبط لعملية الازدواج فى الفسفره التأكسديه. يدل ذلك على أن الأوراق المصابة لايوجد بها عملية ازدواج فى الفسفره التأكسديه ولذلك فإنها لاتستجيب لهاذ المركب. أى أن الإصابة تثبط عملية إزدواج الفسفره التأكسدية. وجد أن هذه الأوراق المصابة لا تتأثر بوجود حامض المالونيك malonic acid . من المعروف أن هذا الحامض يثبط إنزيم سكسنيك ديهيدروجينيز succinic dehydrogenase وبذلك يمنع تحويل حامض السكسنيك إلى حامض الفيومارك وبذلك يثبط دوره كريس ويتوقف أو يقل التنفس الهوائى. يدل ذلك على أن الأوراق المصابه تقل فيها دوره كريس أى يقل التنفس الهوائى ولذلك فإنها لا تستجيب لحامض المالونيك. والعكس صحيح فى حالة الفلوريد فإن الأوراق المصابة تستجيب لهذه المادة السامة، تماماً كما هو الحال فى الأوراق السليمة. ومن المعروف



(شكل ٣٢) : سرعة تنفس الأوراق الفلقيه للكرنب السليمه والمصابه بالبياض الزغبى.

أن فلوريد الصوديوم أى الفلوريد يثبط إنزيمات الأكسدة المحتويه على معادنmetal containing oxidases واللازمه لدوره تحلل السكر glycolysis الخاصه بأمبدين مايرهوف بارناس(EMP) Embden-Meyerhof-Parnas . يتضح أن الأوراق المصابة يحدث بها تحلل للسكر بواسطة EMP كما هو الحال تماماً فى الأوراق السليمه.

ومما سبق يتضح أن الأوراق المصابة فى القمح يحدث بها تحلل للسكر بواسطة طريقة EMP ويثبط فيها دوره كربس وعملية الفسفره التأكسديه ونتيجة لذلك تزداد سرعة التنفس. أمكن إثبات ذلك فى نبات الشعير المصاب بالبياض الدقيقى وفى نبات التبغ المصاب بفيروس تبرقش الأوراق. ولكن لاتنطبق هذه القاعدة على نباتات وأمراض أخرى. أى أنها نتيجة غير عامه على جميع الأمراض.

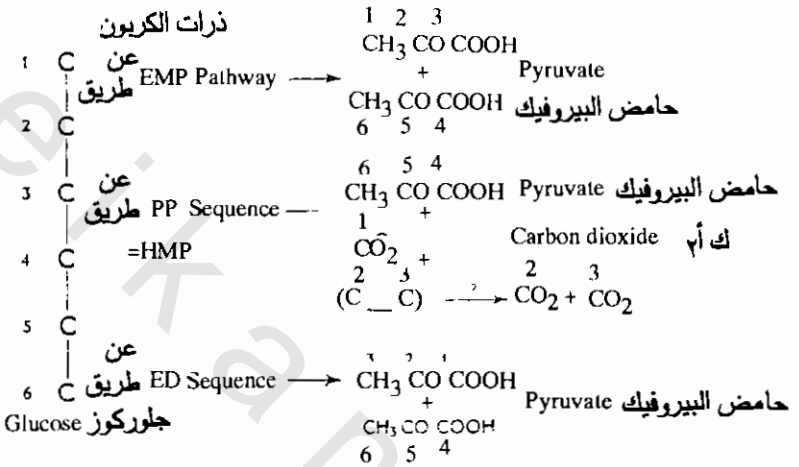
يمكن أن تكون زيادة سرعة التنفس نتيجة لزيادة استهلاك جزئيات ATP وتحولها الى ADP . يوجد مايثبت ذلك مثل زيادة سرعة نمو الخلايا فى نبات القرطم المصاب بالصدأ وزيادة سرعة الحركة الإنسيابيه فى السيتوبلازم فى نباتات البطاطس المصابه بمرض اللفحه المتأخره وإرتفاع درجة الحرارة فى النباتات المصابه بالأصداء والبياض الدقيقى من ٠,٣ إلى ٠,٧ درجة مئوية . جميع العمليات الحيويه السابقة تحتاج زيادة فى استهلاك ATP .

جميع العمليات السابقة وهى تثبيط الإزدواج فى الفسفره التأكسديه وينتج عنها تثبيط تكوين ATP وبالإضافة إلى ذلك جميع العمليات التى ينتج عنها زيادة فى استهلاك ATP وتكون المحصله النهائيه لجميع هذه العمليات هى قلة تركيز ATP وزيادة تركيز ADP والفوسفور الغير عضوى فى أنسجة النبات المصاب ونتيجة لذلك تزداد سرعة التنفس.

جميع العمليات المذكورة سابقاً تسبب إختلال فى تأثير باستير Pasteur effect . معنى تأثير باستير أن عملية التنفس اللاهوائى والتخمر يحدث لها تثبيط فى وجود أكسجين الهواء الجوى. ولكن فى جميع الأنسجة المصابة فى الحالات السابقة فإنه بالرغم من وجود أكسجين الهواء الجوى لايحدث الهدم الكامل لجزيئ السكر وبالتالى تستغل طاقة جزيئ السكر جزئياً وليست استغلال كامل كما هو الحال فى النبات السليم. وينتج عن عدم الهدم الكامل لجزيئ السكر تراكم مركبات وسطيه وهذه الأخيره تستخدم فى تكوين المركبات الفينوليه فى أنسجة النبات المصاب. أى أن إختلال تأثير باستير فى النسيج المصاب للنبات ينتج عنه تراكم مركبات وسطيه ولايحدث ذلك فى النبات السليم ولايحدث هدم كامل لجزيئ السكر ولذلك فإن الطاقة الناتجة منه تكون أقل من الطاقة الناتجة فى النسيج السليم أى أن كفاءة إستغلال الجلوكوز فى النسيج المصاب تكون أقل من كفاءة استغلال الجلوكوز فى النسيج السليم.

ب - يحدث فى بعض الحالات تغيير فى دوره تحلل الجلوكوز glycolysis ومثال ذلك يحدث تحول من دوره EMP إلى دوره hexose monophosphate pathway (HMP) فى النسيج المصاب فى حالة إصابة نبات الداتوره بفيروس تبرقش التبغ TMV وحالة مرض التدرن التاجى فى الطماطم والبياض الدقيقى والأصداء فى القمح ومرض اللفحه المتأخره فى درنات البطاطس وتقرح السويقه الجينينه السفلى فى الفاصوليا نتيجة للإصابة

بفطر *Rhizoctonia* . يمكن التعرف على حدوث الدوره بإستخدام جزئيات سكر جلوكوز بها اشعاع فى ذره الكربون رقم ١ أو ذره الكربون رقم ٦. وفى حالة دوره EMP فإن سكر الجلوكوز يكون جزيئين حامض بيروفيك ويكون ترتيب ذرات الكربون كما يأتى (شكل ٣٣).



(شكل ٣٣) : ترتيب ذرات الكربون فى حامض البيروفيك و ك أ٢ بالنسبة لذرات الكربون المختلفة الموجودة فى سكر الجلوكوز فى الطرق المختلفة وهى EMP ، Pen-tose Phosphate (PP) أى HMP ، Entner-Doudoroff (ED) .

أما فى حالة HMP فإنه يتكون جزيئ حامض بيروفيك ويخرج جزيئ ثانى أكسيد الكربون من ذره الكربون رقم ١ من جزيئ سكر الجلوكوز ويكون ترتيب ذرات الكربون كما يأتى (شكل٣٣) .

6 5 4

CH_3 CO COOH حامض بيروفيك

+

$^1CO_2$ + C^2 -- C^3

ولذلك فإنه يستخدم سكر جلوكوز به ذره كربون رقم ١ مشعه وسكر آخر به ذره كربون رقم ٦ مشعه وتقدر كمية ك أ٢ المشعه الناتجه فى كل حاله.

ولذلك فإنه فى الثوانى الأولى يخرج ك أ٢ مشع دليل أن الدوره HMP حيث أن ثانى أكسيد الكربون الخارج ينتج من ذره كربون السكر رقم ١ . ولكن ك أ٢ الناتج من EMP ينتج من ذره الكربون رقم ٣ ، ٤ وبالتالى لا يكون مشع. ولذلك فإن حساب نسبة كمية $\frac{ك٦}{ك١}$ الخارجه فى ك أ٢ يدل على نوع الدوره. فإذا كانت كمية ك أ٢ المشع حيث الاشعاع فى ذره الكربون رقم ١ كبيرة بالنسبة لكمية ثانى أكسيد الكربون المشع حيث الاشعاع فى ذره الكربون رقم ٦. أى أن نسبة $\frac{ك٦}{ك١}$ تقل كان ذلك دليل على أن النبات يستعمل دوره HMP وليست دوره EMP . أى أن سرعة خروج ك أ٢ المشع فى الثوان الأولى من التجربة فى حالة إستخدام سكر جلوكوز مشع فى ذره الكربون رقم ١ وأيضاً إنخفاض نسبة $\frac{ك٦}{ك١}$ يكون دليل على أن النسيج المصاب يستخدم دوره HMP .

يحدث فى بعض الحالات توقف دوره كربس وأمكن معرفة ذلك بإستخدام حامض المالونيك malonic والذى يثبط إنزيم succinic dehydrogenase . حيث وجد أن الأنسجة المصابة لا تتأثر بهذا الحامض أى أن هذا الأنزيم ليس له دور فى عملية التنفس. وحيث أن هذا الأنزيم أحد الأنزيمات الأساسية لإتمام دوره كربس فإن الأنسجه المصابه لايحدث بها دوره كربس.

فى حين أن الأنسجة السليمه يحدث بها دوره كربس. أمكن إثبات ذلك فى القمح المصاب بالبياض والأصداء وفى أوراق الفول السودانى المصابه بفطر *Cercospora*. أى مرض تبقع الأوراق.

بعض السموم المفرزه بواسطة الفطريات تؤثر على سرعة عملية التنفس كما فى حامض الفيوزارك و piricularin و HM - Ttoxin.

٣- النتح : بعض الأمراض التى تصيب الأوراق تزيد من سرعة النتح وقد يكون السبب فى ذلك هو تمزق نسيج البشره أو طبقة الكيوتيكل وذلك كما فى مرض جرب التفاح والكمثرى وبعض أمراض الأصداء. وقد يكون العكس صحيح حيث تقل سرعة النتح فى بعض الأمراض كما فى أمراض عفن الجذور وأمراض الذبول مثل ذبول الطماطم والبطاطس. بعض السموم المفرزه بواسطة الفطريات تزيد من سرعة النتح لأنها تسبب فتح الثغور كما فى سم fusicoccin والذى يفرزه الفطر *Fusicoccum amygdali* مسبب مرض تقرح الأغصان فى اللوز والخوخ وقد يكون العكس صحيح حيث تسبب السموم قلة النتح لأنها تسبب قفل الثغور مثل سم tentoxin والذى يفرزه الفطر *Alternaria alternata* مسبب مرض عفن ثمار الطماطم الجاف وتبقع أوراق القطن.

٤- إمتصاص الذائبات وإنتقالها وصعودها فى النبات : قد تؤثر الطفيليات على امتصاص الماء والذائبات وقد تؤثر على صعود العصاره أى صعود الماء والذائبات فى نسيج الخشب وخاصة فى الأوعية الخشبيه لنسيج الخشب.

أ- التأثير على إمتصاص الماء والذائبات: بعض من الطفيليات المسببه أمراض للنبات مثل فطريات عفن الجذور وبعض النيماتودا والبكتيريا والفيروسات تسبب تلفا لأنسجة المجموع الجذرى قبل ظهور أية أعراض مرضية على أجزاء النبات الموجودة فوق سطح التربه. هذا وتؤثر اصابة وتجريح الجذور بطريق مباشرة على عملية الإمتصاص حيث تقل كمية الماء الممتص وبها الذائبات بواسطة الجذور. وقد تؤدى بعض الاصابات الى منع تكوين الشعيرات الجذرية والتى تقلل بالتالى من معدل الامتصاص. كما قد تغير بعض الاصابات من معدل نفاذيه أغشية خلايا الجذور مما يؤثر أيضاً بطريقة مباشرة على انتقال الماء والأملاح من الجذور الى أعضاء النبات الأخرى.

ب ـ التأثير على صعود العصارة : تسبب بعض الطفيليات إختلال فى صعود العصاره . قد تصل الطفيليات المسببة لأمراض عفن الجذور وتقرحات الساق الى نسيج الخشب فى المناطق المصابة، وإذا كانت النباتات المصابة صغيرةفإنه قد يتسبب عنها موت النبات، والأوعية المصابة قد يمتلئ جزء منها ببعض إفرازات الطفيل أو التى قد يفرزها العائل نفسه نتيجة الإصابة كما قد تمتلئ بهيفات أو خلايا المسبب المرضى نفسه. وعلى العموم فإن الوعاء الخشبى المسدود أو المستهلك قد يقف عمله أو تقل كفاءته ويتسبب عن ذلك ضعف مرور الماء خلاله.

البكتيريا المسببة لمرض التدرن التاجى فى كثير من العوائل، تتسبب فى انتاج تورمات tumors على الساق أو الجذر أو هما معاً أو منطقة التاج وذلك نتيجة لتأثير الطفيل على النسيج المصاب قرب منطقة الخشب فيشجع زيادة حجم الخليه hypertrophy أو زيادة معدل انقسامها بطريقة شاذه hyperplasia مثل هذه التراكيب تولد ضغطاً على أوعية الخشب، مما قد يتسبب فى سحق أو تمزق الأوعية وعلى ذلك تصبح قليلة أو عديمة القيمة فى نقل الماء والأملاح.

ومن الأمثلة الواضحة لتأثير الطفيل على عملية انتقال الماء والأملاح فى نسيج الخشب مالوحظ فى أمراض الذبول التى تسببها أنواع من كل من جنسى الفطرين *Fusarium* و *Verticillium* وأيضاً بكتريا العفن البنى والعفن الحلقى فى البطاطس مثل هذه الطفيليات تهاجم أنسجة الخشب فى الجذور والساق وتتدخل بطريقة مباشرة فى انتقال الماء والأملاح إلى أعلى وبذلك ينخفض معدل انتقال الماء فى كثير من النباتات المصابة بهذه الطفيليات الى حد يصل حوالى ٤ ٪ مما كان عليه فى حالة النباتات السليمة، وعموماً فإن معدل الانتقال يتناسب عكسياً مع عدد الأوعية المسدودة سواء بنموات الطفيل أو بالمواد الناتجة عن تطفلها. هناك أكثر من عامل يؤثر على عملية الانتقال بالرغم من أن التطفل يعتبر العامل الأساسى فى التأثير على عملية الإنتقال فإن عوامل أخرى تنشأ نتيجة لفعل الطفيل قد تؤثر على تلك العملية فمثلاً تغير حجم الأوعية بعد الاصابة أو تكشف التركيبات المعروفة باسم تيلوزات tyloses فى الأوعية أو انتاج زائد من المواد ذات الوزن الجزيئى العالى مثل عديدات التسكر والتى تختلط بالماء فتزيد من لزوجته مما يؤثر على حركته خلال الأوعية الخشبية.

بعض السموم التى تفرز بواسطة الفطريات تسبب إختلال فى العلاقات المائيه فى النبات حيث يحدث إختلال فى التوازن المائى water balance مثل حامض الفيوزارك.

٥- النفاذية الاختيارية للخلايا : جميع أمراض النبات ينتج عنها إختلال فى النفاذية الاختيارية للغشاء البلازمى فى الخلية أى الأكتوبلاست. بل والجدير بالذكر أن إختلال نفاذية الغشاء البلازمى يعتبر أول عرض مرضى يظهر على النبات وقبل ظهور أى أعراض مرضيه أخرى. وفيما يلى أمثلة لأمراض النبات التى يحدث فيها هذه الحالة مع العلم بأن ذلك على سبيل المثال وليست على سبيل الحصر أمراض الأصداء والبياض الدقيقى والعفن الطرى والعفن الجاف واللفحه مثل لفحة الأرز واللفحة المتأخرة فى البطاطس والطماطم والذبول مثل ذبول القطن الناتج عن فطر الفيوزاريوم وفطر *Verticillium* .

من المعروف أن بعض السموم التى تفرز بواسطة الطفيليات تسبب إختلال فى نفاذية الغشاء البلازمى مثل سم T أى T toxin والذى يفرز بواسطة الفطر *Helminthosporium maydis* مسبب مرض اللفحه فى الذره الشاميه وسم فيكتورين victorin المفرز بواسطة الفطر *H. victoriae* مسبب مرض لفحه فيكتوريا فى الزمير وسم حامض الفيوزارك fusaric acid والذى يفرز بواسطة فطر *Fusarium* مسبب مرض الذبول.

وحتى الآن كيفية حدوث إختلال فى النفاذية الاختيارية للغشاء البلازمى فى الخليه نتيجة الاصابة غير معروف.

حاول البعض الربط بين إختلال نفاذية الغشاء البلازمى والقابلية للإصابة أو المقاومة للنبات ولكن اتضح أن العلاقة غير ثابتة.

٦- التنفس الضوئى : بعض النباتات تتنفس بالتنفس العادى بالإضافة إلى نوع آخر من التنفس يسمى بالتنفس الضوئى مثل القمح والأرز والتبغ والبسله وعباد الشمس والسبانخ. فقد وجد أن أنزيم glycolic acid oxidase هام فى دوره التنفس الضوئى وأى تثبيط لهذا الأنزيم يسبب تثبيط دوره التنفس الضوئى. وقد وجد ذلك فى بعض الأمراض حيث ينتج عن الإصابة تثبيط لهذا الأنزيم وبالتالى تثبيط لعملية التنفس الضوئى مثل مرض صدأ الساق فى القمح وذبول الطماطم الفيوزاريومى وفيرس تبرقش الخيار.

٧ـ انتقال المركبات العضويه المجهزه فى اللحاء : يتراكم النشا فى الأوراق فى بعض الأمراض الفيروسيه وخاصة أمراض إلتفاف الأوراق وبعض أمراض الأصفرار ومثال للحاله الأولى مرض إلتفاف أوراق البطاطس. وفى كثير من هذه الأمراض يتجمع النشا ويتراكم نتيجة لإصابة وتلف نسيج اللحاء. ولكن وجد فى بعض الأمراض يحدث تراكم فى النشا بالرغم من سلامة نسيج اللحاء ويكون ذلك نتيجة لتثبيط الفيرس للأنزيمات المحلله للنشا فى خلايا النبات وبالتالى لا يتحلل النشا إلى سكر الجلوكوز وبالتالى يصعب إنتقاله من خلية إلى أخرى ويظل متراكم بينما فى الخلايا السليمه يتحلل النشا إلى سكر ويقل تركيزه، وقد أمكن التعرف وإثبات ذلك أن الأجزاء السليمه من الورقه تحتوى على تركيز أعلى من النشا عن الأجزاء المصابه وذلك أثناء النهار ولكن يحدث العكس أثناء الليل.

تأثير المرض على المركبات الهامة فى النبات

قد يؤثر المرض على تركيز المركبات الأساسية الموجودة فى النبات مثل الأحماض النوويه والبروتين والدهون والنشا والفينولات.

١ـ الأحماض النوويه : وجد أن الأمراض التى ينتج عنها أورام سواء كان المسبب فطر أو بكتريا أو نيماتود يزداد تركيز الأحماض النوويه فى خلايا الأورام. وجد فى حالة مرض الجذر الصولجانى فى الكرنب وغيره من نباتات العائله الصليبية والمتسبب عن الفطر *Plasmodiophora brassicae* أن النوية يزداد حجمها بدرجة كبيرة فى الخلايا المصابه وقد تصل زيادة الحجم إلى ثلاثون ضعف. كما اتضح أن هذه الأنوية تحتوى على تركيز عال من RNA .

فى بعض الأمراض الأخرى التى لا ينتج عنها أورام يمكن أيضاً أن يزداد حجم النويه فى الخلايا المصابه ويزداد أيضاً تركيز RNA فى النويه وخاصة فى الفترة الأولى من الإصابة ومثال ذلك صدأ الساق فى القمح.

وجد فى بعض الأمراض أن النواه فى الخلايا المصابه يزداد حجمها فى الفترات الأولى من الإصابة ثم يحدث لها تحلل بعد ذلك مثل صدأ الساق فى القمح.

٢- البروتينات : يزداد التركيز الكلى للبروتينات فى خلايا النبات المصابه فى الفترات الأولى من الإصابة. وبتقدم الإصابة والمرض يقل تركيز البروتينات. تعتبر هذه قاعدة عامه فى كثير من الأمراض حيث أن بعض الأمراض لا تنطبق عليها هذه القاعدة. وقد وجد أن خلايا الأورام تحتوى على تركيز عال من البروتين بالمقارنة بالخلايا العاديه وذلك فى مرض التدرن التاجى الذى يصيب كثير من النباتات.

يمكن أن تتكون نتيجة للإصابة أنواع جديدة من البروتينيات ومثال ذلك إصابة نبات الكرنب بالفطر المسبب لمرض الذبول *Fusarium oxysporum* f.sp. *conglutinans* ينتج عنه ثلاثة أنواع جديدة من البروتينات وهى غير موجودة فى النبات السليم. وقد أمكن التعرف على ذلك بإستعمال الإختبارات السيريولوجيه حيث تكونت ثلاث أنتيجينات بروتينيه جديده new protein antigens .

يمكن فى بعض الحالات أن يزداد تركيز الأحماض الأمينيه والأميدات فى الأنسجة المصابة وذلك بالمقارنة بالأنسجة السليمه ومثال ذلك مرض صدأ الساق فى القمح.

٣- الفينولات : تتكون الفينولات من حلقه بنزين على الأقل وعليها مجموعة إيدروكسيد واحده أو اثنين أو ثلاثه. وأبسط المركبات الفينوليه هو مركب الفينول حيث يتكون من حلقه بنزين واحده ومجموعة أيدروكسيد واحده. واذا وجد على حلقه البنزين أكثر من مجموعة أيدروكسيد فيسمى عديد الفينول polyphenol . يمكن فى بعض الحالات أن يزداد تركيز المركبات الفينوليه فى الأنسجة المصابه بالمقارنة بالأنسجة السليمه كما فى مرض صدأ الساق فى القمح ومرض اللفحه المتأخرة فى البطاطس. وجد فى حالة صنف القمح Vernal أن الإصابة بفطر صدأ الساق تسبب زيادة فى تركيز المركبات الفينوليه فى منطقة الاصابة. وفى حالة إستعمال سلاله رقم ٢١ من الفطر مسببه للمرض يزداد تركيز المركبات الفينوليه وفى حالة إستعمال سلاله رقم ١٥B من الفطر قادره على الاصابة ولكن صنف القمح يقاومها فأن تركيز الفينولات يزداد أيضاً فى منطقة الاصابة. وفى حالات أخرى قد يحدث أكسده للمركبات الفينوليه وتتحول إلى مركبات الكينون وهذه المركبات الأخيره تكون أشد ضرراً على البكتريا والميكوبلازما والفطريات المسببه لأمراض النبات وذلك بالمقارنة بالفينولات.

ويتم تحويل الفينول إلى كينون بواسطة أنزيم فينول أكسيديز. ومن أمثلة الكينونات الطبيعية الموجودة فى النبات مركب Juglone الموجود فى نبات الجوز.

٤ـ النشا : عادة يقل تركيز النشا فى المناطق المصابه من النبات عدا بعض أمراض قليله حيث يزداد تركيز النشا فى المناطق المصابه مثل مرض إلتفاف أوراق البطاطس ومرض إصفرار بنجر السكر.

٥ـ الدهون : عادة يقل تركيز الدهون فى مناطق الإصابة. كما أن إصابة البذور الزيتيه يقلل من تركيز الزيت فى البذره. وجد أن إصابة بذور الفول السودانى والقطن بالفطر *Aspergillus flavus* تسبب قلة تركيز الزيت.

الباب السادس

تأثير العوامل البيئية على أمراض النبات

تؤثر البيئة على حدوث المرض بطرق عديدة. فإن العوامل البيئية تؤثر على تمضية الشتاء overwintering وتمضية الصيف oversummering للطفيل وعلى تكوين اللقاح الأولى واللقاح الثانوى وعلى إنتشار اللقاح وعلى إنبات الجراثيم وعلى إختراق العائل وعلى حدوث الإصابة. تؤثر العوامل البيئية أيضاً على نمو النبات وقد يكون لها تأثير على درجة قابلية النبات للإصابة أو للمقاومة. دراسة الظروف البيئية العامه أعلى النبات تعتبر دراسة عوامل مناخيه كبرى macroclimate ودراسة الظروف البيئية عند سطح النبات وعلى جوانبه وأسفله يعتبر دراسة عوامل مناخيه صغرى microclimate . وتختلف العوامل المناخيه الكبرى عن العوامل المناخيه الصغرى فعند زراعة النباتات متكاثفه فإن الرطوبة أسفل هذه النباتات تكون أكبر بدرجة ملحوظة عن الرطوبة العامة للجو العادى. ولذلك يجب دراسة وتحديد العوامل المناخيه الكبرى والصغرى وتأثيرها على حدوث المرض. تعتبر العوامل البيئية أحد الأسس الثلاثة فى حدوث المرض فإنه بالرغم من توافر مسبب المرض والنبات القابل للإصابة فإنه فى بعض الحالات لايحدث المرض لأن الظروف البيئية غير ملائمة لحدوث المرض. وفيما يلى شرح للعوامل البيئية التى تؤثر على حدوث المرض:

١- درجة الحرارة : تلعب درجة الحرارة دور رئيسى فى حدوث الأمراض حيث توجد أمراض تلائمها درجة الحرارة شديدة الإنخفاض حيث تكون من صفر الى ٥° درجة مئوية وذلك كما فى مرض عفن الجليد فى القمح وغيره من النباتات النجيليه والذى يسببه الفطر *Fusarium nivale* وأمراض أخرى تلائمها درجة الحرارة المنخفضة مثل مرض اللفحه المتأخرة فى البطاطس والطماطم حيث أن درجة الحرارة المثلى لحدوث المرض تتراوح بين

١٠-٢٠ درجة مئوية وأمراض أخرى تلائمها درجة الحرارة المتوسطة والمعتدلة مثل مرض ذبول القطن والذى يتسبب عن الفطر *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* حيث أن درجة الحرارة المثلى لحدوث المرض تتراوح بين ٢١-٣٠ درجة مئوية. وأمراض تلائمها درجة الحرارة المرتفعة مثل مرض كونيفورا فى ثمار القرع ويتسبب عن الفطر *Choanephora cucurbitarum* حيث أن درجة الحرارة المثلى لحدوث المرض حوالى ٣٣ درجة مئوية.

يمكن أن تلعب درجة حرارة التربة دور هام فى ذلك خاصة فى الطفيليات التى تعيش فى التربه ففى حالة مرض ذبول الكانتالوب والقاوون فإن درجة حرارة التربه المناسبه لحدوث المرض هى أقل من ٢٧درجة مئوية وأعلى من ذلك لايحدث المرض.

ليس من الضرورى أن تكون درجة الحرارة المناسبة للطفيل هى نفسها درجة الحرارة المناسبة لحدوث المرض حيث أن كثير من الحالات تكون خلاف ذلك ومثال ذلك مرض العفن الأسود لجذور التبغ المتسبب عن الفطر *Thielaviopsis basicola* وحيث أن الفطر يعيش فى التربة فإن درجة الحرارة المثلى للتربة لحدوث المرض تتراوح بين ١٧-٢٣ درجة مئوية بينما تكون للفطر هى ٢١-٣٠ درجة مئوية.

وجد أن درجة الحرارة تؤثر على فترة الحضانة للمرض ومثال ذلك أن فترة الحضانة لظهور البثرات اليوريديه لفطر صدأ الساق فى القمح هى ٨٥ يوم فى درجة صفر درجة مئوية وخمسة أيام فى ٢٤ درجة مئوية.

٢- الرطوبة : تؤثر الرطوبة النسبية على حدوث الأمراض. تحتاج كثير من الأمراض إلى رطوبة نسبية عالية مثل مرض اللفحه المتأخرة فى البطاطس والطماطم ومرض البياض الزغبى فى العنب. وتحتاج قليل من الأمراض رطوبه نسبيه معتدله أو منخفضة مثل مرض تفحم الذره الشاميه. وتعتبر فطريات البياض الدقيقى من الأمثله الفريدة فى ذلك ومثال ذلك فطر البياض الدقيقى للقرعيات *Erysiphe cichoracearum* حيث أن المرض يمكن أن يحدث فى الرطوبة العاليه ولكن وجد أنه أيضاً يمكن أن يحدث فى حالات الجفاف الشديدة حيث وجد أن إنبات الجراثيم الكونيديه لهذا الفطر يمكن أن تحدث فى رطوبة نسبيه ٠,١ ٪. ولذلك يمكن أن يوجد هذا المرض فى البيئات الشديدة الجفاف. وتفسير ذلك أن الجرثومه الكونيديه

بها حوالى ٧٠٪ من وزنها ماء ولذلك فإن الجرثومه لا تحتاج إلى ماء خارجى لكى يحدث لها الإنبات.

٣- المـاء الحـر : يؤثر الماء الحر على حدوث كثير من الأمراض. يوجد الماء الحر فى صورة أمطار ومياه رى وندى. تكون بعض الطفيليات جراثيم متحركة أى سابحه كما فى بعض الفطريات أو خلايا سابحه كما فى بعض البكتريا وهذه يلزم لها الماء الحر لتسبح هذه الجراثيم فى الماء الحر لفترة وجيزة ولمسافة قصيره ويمكنها بعد ذلك أن تصيب النبات القابل للإصابة. ولذلك يعتبر وجود الماء الحر أساس لحدوث المرض مثل أمراض البياض الزغبى ومرض اللفحه المتأخره فى البطاطس والطماطم.

تلعب رطوبة التربة دور هام فى حدوث الأمراض فإن الجراثيم التيلتية للفطر *Neovossia indica* المسبب لمرض التفحم المتقزم فى القمح لا تنبت إلا بعد نقعها فى مياه الأمطار لفترة. وأيضاً مرض اسكليروتينيا فى الخضر لايحدث إلا بعد نقع الأجسام الحجريه الموجودة فى التربه فى مياه الأمطار لكى تنبت هذه الأجسام الحجريه وتحدث الإصابة.

إرتفاع مستوى الماء الأرضى يسبب موت للجذور والنباتات كما أنه يسبب مرض إحمرار القطن ومرض تصمغ الحلويات.

تلعب رطوبة التربة دور هام فى حدوث الأمراض حيث أن وجود الماء الحر يسبب زيادة رطوبة التربه وبالتالى تشجع نمو وتكاثر وتجرثم الطفيليات حيث أن رطوبة التربه المرتفعه تساعد على تشجيع نمو فطر *Rhizoctonia solani* المسبب لمرض موت وسقوط البادرات.

تحتاج الأمراض البكتيريه عادة إلى وجود غشاء من الماء الحر على سطح النبات وتصل عن طريقه الى الثغور أو الثغور المائيه أو غيرها من الفتحات الطبيعية أو العديسات أو الجروح ومثال لذلك مرض اللفحه الناريه فى الكمثرى والتفاح.

يؤثر المحتوى الماء للنبات على الإصابة ففى حالة زيادة المحتوى المائى للنبات يجعل الأنسجة غضة وطريه وتكون أكثر قابليه للإصابة والعكس صحيح. ومن أحسن الأمثلة لذلك رطوبة الحبوب والبذور فإن البذور أو الحبوب الجافه لاتصاب بالطفيليات والعكس صحيح فى

حالة الحبوب والبذور الرطبه يجب أن يتم تخزين ونقل البذور بحيث تقل درجة رطوبتها عن ١٢٪. وفى حالة زيادة الرطوبة عن ١٢٪ فإنها عادة ماتصاب بفطريات الأسبرجلس والبنسليوم وغيرها. وكلما زادت درجة الرطوبة كلما زادت الإصابة وسرعة فساد البذور والحبوب.

٤- الضـوء : يؤثر الضوء على نمو النبات حيث أن قلة الإضاءة تسبب ضعف النبات كما تسبب مرض الشحوب الضوئى etiolation.

يؤثر الضوء على تجرثم بعض الفطريات ومنها المسببه أمراض للنبات فإن الضوء لازم لتكوين الجراثيم الكونيديه للفطر *Choanephora cucurbitarum* مسبب مرض عفن ثمار القرع وفى عدم وجود الضوء لا تتكون الجراثيم. وفى حالات أخرى فإن تعريض الفطر للضوء الأسود black light وهو ضوء قريب من الأشعة فوق البنفسجية ultraviolet حيث أن طول الموجه تتراوح بين ٣١٠ إلى ٤١٠ نانومتر يساعد على تجرثم الفطر وقد وجد المؤلف أن تعريض الفطر *Alternaria porri* لهذه الأشعة قد ساعد فى تكوين الجراثيم الكونيديه للفطر. يسبب هذا الفطر مرض اللفحه الأرجوانيه فى البصل والثوم.

وجد المؤلف أنه لابد من توفر الضوء لكى يتكون الجزء القرصى القمى للجسم الثمرى الأسكى للفطر *Sclerotinia sclerotiorum* مع العلم بأن هذا الجزء هو الذى يحمل الأكياس الأسكيه والجراثيم الأسكيه اللازمه لحدوث الإصابة وإنتشارها. وأنه فى عدم وجود الضوء لايتكون الجزء القمى القمعى الشكل ويتكون الساق فقط. كما وجد المؤلف أن الجسم الثمرى apothecium يظهر إنتحاء ضوئى موجب. يعتبر اللون الأزرق وجزء قريب من الأشعة فوق البنفسجية هو اللون الفعال الوحيد من ألوان الطيف الضوئى الذى يؤثر على تجرثم الفطريات وأما عن بقية الألوان الأخرى فليس لها تأثير فى ذلك الصدد. وبمعنى آخر فإن فاعلية الضوء على تجرثم الفطريات هى نتيجة لوجود الضوء الأزرق فى ألوان الطيف الضوئى.

يؤثر الضوء فى بعض الحالات على فترة حضانة المرض ففى حالة فطر صدأ الكتان *Melampsora lini* فإن البثرات اليوريديه ظهرت بعد ٩ أيام من التلقيح بالجراثيم

عندما عرضت النباتات لضوء عاد وقد ظهرت بعد ١٤ يوم عندما عرضت لضوء ضعيف. وفى حالة صدأ الساق فى القمح فإن شدة الإضاءة من ٥٠٠ إلى عشرة آلاف قدم شمعه foot candles تكون مناسبة لتكوين البثرات اليوريديه ولكن بزيادة شدة الإضاءة تقل فترة الحضانة للمرض ويزداد التجرثم. ولذلك عند إختبار وتعريف السلالات الفسيولوجيه لفطر صدأ الساق فى القمح يجب تثبيت درجة الحرارة وشدة الإضاءة.

تشجع الاضاءة الضعيفة الاصابة ببعض الفطريات والفيروسات فقد وجد أن الفطر *Cladosporium fulvum* يسبب مرض تصويف الأوراق فى الطماطم يشتد فى الصوب حيث أن شدة الاضاءة فى الصوب تكون أقل من شدة الاضاءة فى الجو العادى. وعامة فإن شدة الاضاءة المنخفضة تلائم الأمراض الفيروسيه وتزيد من قابلية النبات للإصابة بهذه الأمراض.

٥- التربـــة : تؤثر خواص التربة تأثيراً كبيراً فى حدوث الأمراض وخاصة التى تعيش مسبباتها فى التربة.

تؤثر طبيعة التربية soil physics فى حدوث الأمراض. فالخواص الطبيعية المختلفة للتربة تؤثر على الأمراض ومثال ذلك مسامية التربة أى حجم المسافات البينيه الموجودة بين حبيبات التربة حيث أن ديدان النيماتود تفضل التربه الخفيفه عن التربه الثقيله. يزداد مرض ذبول القطن فى الأمراض الطينيه .

تؤثر كيمياء التربه soil chemistry فى حدوث الأمراض. فمن المعروف أن الأراضى الملحيه تسبب أضرار للنبات والبادرات. فقد تنمو البادره بضعف وقد يوجد عليها بقع بنيه اللون نتيجة لتأثير الملوحه على أنسجة النبات. كما أن النباتات الضعيفة تكون أكثر قابلية للإصابة بالأمراض. وزيادة تركيز الكالسيوم فى التربة تسبب زيادة قلوية التربة وتلائم التربه القلويه بعض الأمراض حيث تزداد فيها وهى أمراض الذبول الناتجة عن الفطر*Verticillium albo-atrum* ومرض الجرب العادى فى البطاطس.

تؤثر خصوبة التربه soil fertility فى حدوث الأمراض. حيث أن النبات يكون قوى فى التربه الخصبه ويكون أكثر مقاومة للأمراض والعكس الصحيح فى التربه الضعيفة. فقد وجد

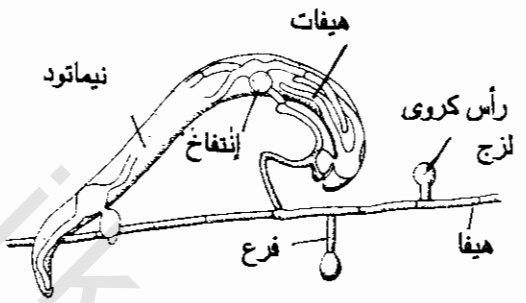
أن عنصر البوتاسيوم يؤثر فى تكوين جدر خلايا النبات ولذلك فإن النقص فى التسميد البوتاسى يسبب قابلية للإصابة فى حالة مرض ذبول القطن والطماطم ومرض صدأ الساق فى القمح وزيادة تركيز البوتاسيوم تساعد وتلائم مرض اللفحه فى الأرز. فى كثير من الحالات فإن زيادة التسميد الأزوتى تسبب زيادة فى النمو الخضرى وتصبح الأنسجة عصيريه وغضه والخلايا رقيقة الجدر مما يجعل النباتات أكثر قابلية للإصابة بالأمراض وذلك كما فى مرض اللفحه الناريه فى الكمثرى والعكس صحيح فى بعض الأمراض حيث أن قلة التسميد الأزوتى تساعد فى حدوث المرض مثل ذبول الطماطم. أهمية التمسيد الفوسفورى فى حدوث الأمراض ثابته ولكن فى بعض الأحوال وجوده يقلل من مرض الجرب العادى فى البطاطس ولكنه يساعد ظهور فيرس موزايك الخيار على السبانخ. وعامة فإنه يجب أن يكون البوتاسيوم والنيتروجين والفوسفور متوفره بالتربه والمهم أيضاً أن تكون بصورة متزنه. وإذا وجدت هذه العناصر الأساسية فى التربة ولكنها غير متزنه فإنه يمكن أن يحدث بعض الأمراض السابقة والمقصود بالاتزان أن تكون نسب تواجدها بالنسبة لبعضها فى التربه متوازنه. يدخل عنصر الكالسيوم فى تركيب الصفيحه الوسطى لجدر خلايا النبات ولذلك وجود الكالسيوم بتركيز مناسب يسبب مقاومة النبات مثل مرض التبقع البنى فى الفول وأمراض الذبول المتسببه عن الفطر فيوزاريوم. وفى بعض الحالات يزيد الكالسيوم من الاصابة بالأمراض كما فى مرض الجرب العادى فى البطاطس. أما عن دور العناصر الصغرى المغذيه للنبات فقد وجد أن الزنك والمنجنيز والبورون يزيد من مقاومة نبات بسله الحمام pigeon pea لمرض الذبول المتسبب عن *Fusarium udum* . وجد أن المنجنيز يقلل من الإصابة بمرض الجرب العادى فى البطاطس وجد أن الحديد يزيد من مقاومة نبات المانجو والفول السودانى لمرض الذبول الفرتسليومى وأيضاً الموليبدنم يقلل الاصابة بمرض اللفحه المتأخرة فى البطاطس. وجد أن نوع السماد الأزوتى يؤثر على المرض فإن السماد النتراتى يقلل من الإصابة بمرض اللفحه فى الأرز بينما السماد النوشادرى يساعد على الإصابة والعكس صحيح تماماً فى حالة مرض صدأ الساق فى القمح.

يؤثر pH التربه على حدوث الأمراض حيث أن بعض الأمراض تلائمها التربه القلويه وبعض الأمراض الأخرى تلائمها التربه الحامضيه. يلائم حدوث مرض الجرب العادى فى

البطاطس التربه القلويه ويلائم حدوث مرض ذبول القطن والطماطم ومرض الجرب المسحوقى فى البطاطس التربه الحامضيه.

تؤثر ميكروبيولوجيا التربه soil microbiology فى حدوث الأمراض. حيث أنه يوجد كثير من الكائنات الحيه الدقيقه فى التربه ويوجد بين هذه الكائنات علاقات متبادلة وقد تؤثر هذه العلاقات فى حدوث الأمراض. ومثال ذلك فإن بعض الفطريات والبكتريا تفرز مضادات حيويه تسبب تثبيط نمو الكائنات الحيه الدقيقه الأخرى حيث أن جنس *Streptomyces* به أنواع عديدة تعيش فى التربه وتفرز عديد من المضادات الحيويه ومثال ذلك الإستربترميسين وأورواميسين وتيراميسين وكلورامفينكول ويمكن أن تثبط هذه المضادات الحيويه البكتريا التى تعيش فى التربه. وجد أن الفطر *Trichoderma lignorum* يفرز سم هو gliotoxin يسبب تثبيط فطر *Rhizoctonia solani* المسبب لكثير من الأمراض مثل مرض القشره السوداء فى البطاطس ومرض موت وسقوط البادرات. يمكن أن يحدث التأثير بطريقة أخرى حيث أن الفطر لايفرز مضاد حيوى أو سم بل يتطفل على فطر آخر ويسبب موته ومثال ذلك الفطر *Trichoderma harzianum* حيث أنه يتطفل على الأجسام الحجريه وهيفات الفطر *Sclerotium cepivorum* مسبب مرض العفن الأبيض فى البصل ويتطفل أيضاً على هيفات الفطر *Rhizoctonia solani*. وفى كلتا الحالتين يسبب موت الهيفا وبالتالى يسبب عدم تكوين الأجسام الحجريه ويمكن أن يسبب فسادها وبذلك يقل إنتشار المرض. توجد أنواع عديدة من الفطريات يمكن أن تفترس ديدان النيماتود. يعنى الافتراس predation أن يكون للفطر القدرة على القبض وإقتناص capturing دوده النيماتود. ومثال ذلك فطر *Dactylella ellipsospora* يكون له تركيب معين يمكن به القبض على الفريسة. حيث أن هيفا الفطر لها فروع جانبيه قصيره وكل فرع قصير يحمل فى قمته جزء كروى سطحه لزج. تكون الهيفا مدفونه تحت سطح التربه. وعندما تلامس دوده النيماتود الرأس الكرويه اللزجه فإنها تلتصق بها ولذلك تحاول دوده النيماتود الحركه والتخلص منها وذلك ينشط الرؤوس الكرويه الأخرى للإلتصاق بدوده النيماتود وهكذا يتم القبض على دوده النيماتود ولا تتمكن من التحرر. وعندما تفقد دوده النيماتود القدره على الحركة وتصبح ساكنه فإنه يتكون من الرأس الكرويه اللزجه نتوء يخترق دوده النيماتود ويتكون من هذا النتوء إنتفاخ كروى داخل الدوده ويخرج من الانتفاخ

الكروى هيفات كثيره تملأ وتتخلل جسم دوده النيماتود وتتغذى هذه الهيفات من داخل جسم دوده النيماتود وفى النهاية تموت دوده النيماتود وتتحلل (شكل ٣٤) .



(شكل ٣٤) : فطر مفترس *Dactylella ellipsospora* للديدان الثعبانيه (النيماتود).

يمكن تصنيف التربة على أساس مدى دورها فى حدوث الأمراض إلى ثلاثة أنواع وهى:

١- تربة منشطة conducive : وهى عبارة عن تربه تلائم وتنشط حدوث مرض أو أمراض معينه. ومثال ذلك أن التربه فى محافظات المنيا وسوهاج تعتبر منشطه لمرض العفن الأبيض فى البصل وأن التربه المصريه عامة منشطه لأمراض ذبول الفيوزاريوم.

٢- تربة مثبطة suppressive : وهى عبارة عن تربة تثبط أو تمنع حدوث مرض معين أو أكثر ويوجد لذلك أمثله كثيره. ويعتبر مرض الدمار take-all فى القمح من أوائل الأمراض التى اكتشفت فيها حالة التربه المثبطة. حيث أن تكرار زراعة القمح على التوالى يسبب قلة فى حدوث هذا المرض المتسبب عن الفطر *Gaeumannomyces graminis* . تحدث هذه الحاله أيضاً عند تكرار زراعة البطاطس فى تربة ما ملوثه بالفطر المسبب لمرض الجرب العادى فى البطاطس وتصبح التربه مثبطه للمرض وتصبح درنات البطاطس خاليه من المرض ودون أى

نوع من أنواع المقاومة. تعتبر المقاومة الحيويه بين الكائنات الحيه الدقيقة الموجودة فى التربة هى السبب فى ذلك. حيث أن تكرار زراعة البطاطس شجع كائنات حيه دقيقه فى التربه على النمو أو التكاثر وأيضاً تضاد هذه الكائنات الفطر المسبب للمرض ويعتبر هذا أحد أنواع المقاومة الحيويه biological control .

٣- تربة متعادلة (متحمله) tolerant : أى أن التربه ليس لها تأثير مثبط أو مشجع للمرض أى أنها متعادلة التأثير.

يمكن أن تكون النباتات العاديه الزهريه مركبات تثبط نمو الكائنات الحيه الدقيقه والتى قد تسبب أمراض للنبات وفى هذه الحاله يسمى هذا المركب الذى يتكون بواسطة النبات فيتنوسيد phytoncide وأما عن المركب الذى يفرز بواسطة الكائنات الحية الدقيقة فيسمى مضاد حيوى antibiotic . وعادة يكون محيط جذور النبات rhizosphere ومحيط سطح الجذور rhizo plane بيئة صالحة لوجود هذين النوعين من المضادات الحيويه. فقد وجد أن الفطر *Trichoderma lignorum* الموجود فى التربة يفرز مضاد حيوى يمنع نمو الفطر *Mucor heterogamus* . ومن أمثلة الفيتنوسيد مركب أفيناسين avenacin وهو عبارة عن مركب جليكوسيدى فلورى fluorescent glucoside يتكون فى جذور وأوراق نبات الزمير ويسبب تثبيط نمو كثير من الفطريات مثل فطر *Ophiobolus graminis* الذى يعيش فى التربه ويسبب مرض الدمار take all فى القمح. يمكن أيضاً إعتبار الفيتوألكسينات أنها فيتنوسيدات.يمكن أيضاً أن يكون محيط سطح ورقة النبات phylloplane - بيئة صالحه لوجود هذين النوعين من المركبات الفيتنوسيدات والمضادات الحيوية.

الباب السابع

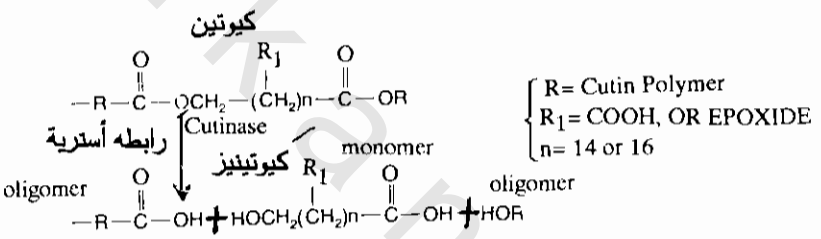
دور الأنزيمات والسموم ومنظمات النمو فى أمراض النبات

عند تعريف الاصابة infection ذكر أن الطفيل يستمد غذاؤه من خلايا النبات الحيه أو الميته وفى أثناء ذلك قد يفرز الطفيل أنزيمات تساعد فى تحليل المركبات المعقدة إلى مركبات بسيطة وبذلك يسهل على الطفيل استخدامها. وقد يفرز سموم تساعد فى موت الخلايا وقد يفرز منظمات للنمو تغير فى تكوين الخلايا والأنسجة. يفرز الطفيل هذه المركبات لتساعده فى عملية الاصابة والتطفل لأخذ الغذاء من العائل فى صورة مركبات بسيطة وبذلك يكون قادر على استعمالها بكفاءة عالية.

الأنزيمات Enzymes

تكون الطفيليات نوعين من الأنزيمات وهما إنزيمات داخل الخليه intracellular حيث تبقى هذه الأنزيمات داخل الخليه ولاتفرز خارجها ومثال ذلك الأنزيمات التى تقوم بعملية التنفس فإنها توجد فى داخل الميتوكوندريا أو فى الأغشيه أو الميسوسوم تبعاً لنوع الطفيل. وهذه المجموعة تشمل أنزيمات كثيرة وهى أساسيه لحياة الطفيل إلا أنها لاتؤدى دور فى أمراض النبات. أما المجموعة الثانية وهى إنزيمات خارج الخليه extracellular حيث تخلق داخل الطفيل ثم يفرزها خارج الخليه لتنتشر فى البيئة المحيطة وتقوم بتحليل المركبات المنتشرة فى بيئة الطفيل. وهذه المجموعة من الأنزيمات لها دور هام فى أمراض النبات وفيما يلى أمثلة من هذه الأنزيمات.

عند حدوث الاصابة قد يواجه الطفيل ببشره النبات والتى يوجد عليها طبقة من الكيوتيكل التى تتكون من مادة الكيوتين وقد يتداخل معها طبقة شمعيه. لا يوجد حتى الآن دليل على أن الطفيليات يمكنها أن تفرز أنزيمات تحلل الشموع ولكن يوجد دليل على أن قليل من الطفيليات يمكنها إفراز إنزيم كيوتينيز cutinase والذى يقوم بتحليل الكيوتين وذلك بتحليل وكسر الروابط الأستريه ester linkages بين وحدات الكيوتين وينتج عن ذلك جزئيات منفرده monomers وأيضاً جزئيات بها عدد محدود من وحدات جزئيات الكيوتين oligomers (شكل ٣٥) وذلك كما فى الفطر *Penicillium spinulosum*. وفى حالة الفطر *Fusarium* وجد



(شكل ٣٥) : تحليل الكيوتين بواسطة أنزيم Cutinase

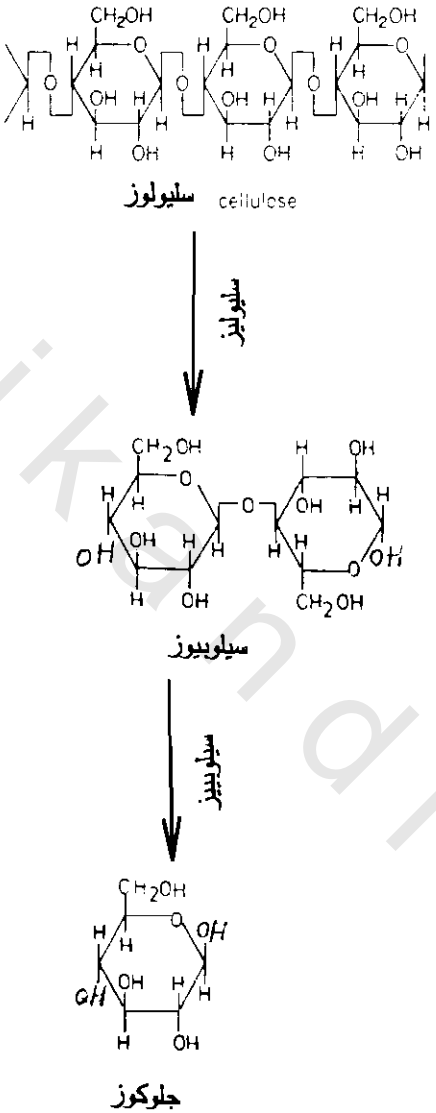
أن السلالات المرضيه تفرز تركيز أكبر من cutinase عنه فى السلالات الغير ممرضه لنفس الفطر. ومما هو جدير بالذكر أنه إذا أضيف أنزيم كيوتينيز نقى لجراثيم السلالات الغير ممرضه لهذا الفطر فإن هذه السلالات تصبح ممرضه للنبات وقادرة على الإصابة. يتكون الكيوتين من وحدات كثيرة مرتبطة ببعضها تسمى بوليميرات cutin polymers .

قد تحدث الاصابة عن طريق القلف أو الجذور وحيث يتكون الجزء الخارجى من الجذرأو القلف من نسيج ثانوى يتكون من خلايا مغلظه بالسيوبرين فقد أتضح أن الفطر *Armillaria mellea* والذى يكون حبل فطرى يسمى rhizomorphe قادر على الاختراق المباشر للجذور أو

القلف فإنه يسبب تناقص تركيز السيوبرين فى مكان الأصابة وذلك دليل على أنه يحلل السيوبرين ولكن حتى الآن لم يتم عزل هذا الأنزيم المحلل للسيوبرين ولكن يستدل على وجوده فقط.

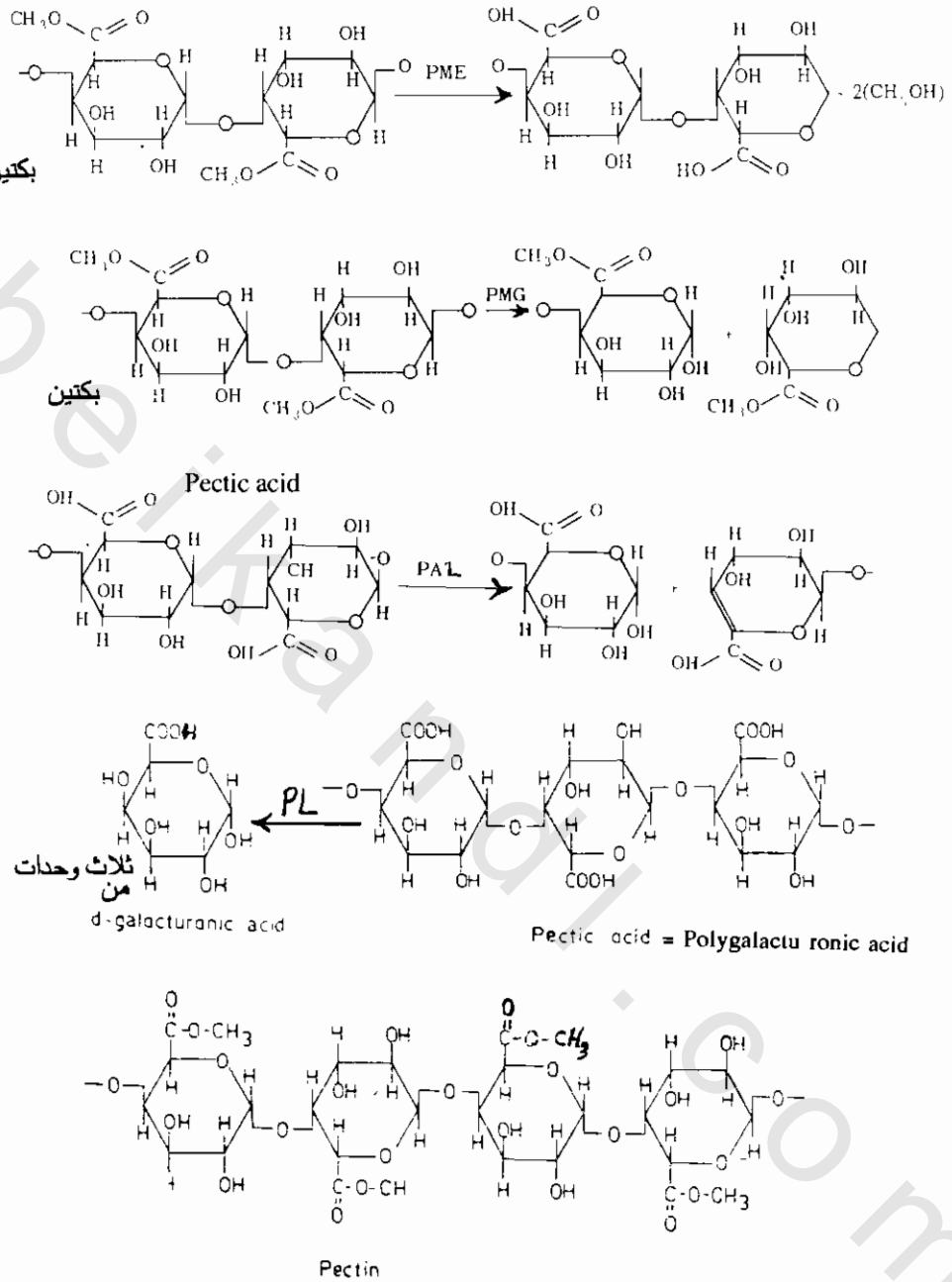
يواجه الطفيل بعد ذلك جدار الخليه النباتيه الذى يتكون أساساً من السيليلوز. يوجد كثير من الطفيليات تفرز أنزيم سليوليز cellulase وهو أنزيم يتكون من مجموعة من الأنزيمات تقوم بتحليل السليلوز إلى مركبات بسيطة وهى سيللوبيوز وهو سكر يتكون من إلتحام جزئين من سكر الجلوكوز. ثم تفرز الطفيليات أنزيم سيللوبييزcellobiase حيث يقوم بتحليل المركب الأخير إلى سكر الجلوكوز. توجد كثيرمن الفطريات والبكتريا تفرز هذه الأنزيمات ومثال ذلك البكتريا *Pseudomonas solanacearum* المسببه لمرض العفن البنى فى البطاطس ومرض الذبول فى الطماطم (شكل ٣٦).

تدخل المركبات البكتينيه فى تركيب جدارالخليه النباتيه ومنها بكتات الكالسيوم والمغنسيوم ويوجد كثيرمن الطفيليات تفرز أنزيمات محلله للمركبات البكتينيه pectolytic enzymes (شكل ٣٧) وبالتالى فإنها تكون قادرة على تحليل هذه المركبات المعقده إلى جزئيات صغيرة بسيطة التركيب مثل مركب galacturonic acid المشتق من سكر أحادى وهو الجالاكتوز. يوجد تسعة أنزيمات محلله لهذه المركبات ومنها أنزيم pectin methyl esterase (PME) والذى يقوم بفصل مجموعة الميثيل من البكتين ويتكون نتيجة لذلك كحول الميثيل وسلسلة طويله تتكون من وحدات كثيرة من galacturonic acid وتسمى هذه السلسلة polygalacturonic acid . يوجد أنزيم آخر يسمى polygalacturonase يقوم بتحليل المركب الأخير فى وجود الماء إلى وخدات منفصله مستقله من galacturonic acid . يوجد إنزيم ثالث polymethylgalacturonase (PMG) حيث يقوم بتحليل البكتين فى وجود الماء إلى وحدات من أسترميثيل حامض جالاكتويورنيك ester methyl galacturonic acid . يوجد إنزيم رابع وهوpectic acid lyase (PAL) حيث يحلل حامض polygalacturonic إلى سكر أحادى ولايدخل الماء فى التفاعل وذلك على العكس من جميع الحالات السابقة. يوجد أنزيم خامس وهوpectin lyase (PL) حيث يحلل البكتين إلى سكر أحادى ولا يدخل الماء فى التفاعل أيضاً. ويوجد للأربعة أنزيمات الأخيره نوعين أحدهما يعمل على الجزيئ من طرفه ويسمى exo والثانى يحلل الجزيئ من الوسط ويسمى endo . يسمى حامض polygalacturonic بإسم حامض البكتيك pectic acid (شكل ٣٨).



(شكل ٣٦) : خطوات تحليل السليلوز بالأنزيمات

obeikandl.com



(شكل ٣٧) : نشاط الأنزيمات المختلفة المحلله للمركبات البكتينيه PME ، PMG ، PAL ، PL وتركيب البكتين.

PECTIN SPLITTING ENZYMES

Pectinmethylgalacturonases (PMG)	Pectin-trans-eliminases (PTE) = Pectin Lyase (PL)
1. Endo-PMG	3. Endo-PTE =PL
2. Exo-PMG	4. Exo-PTE =PL

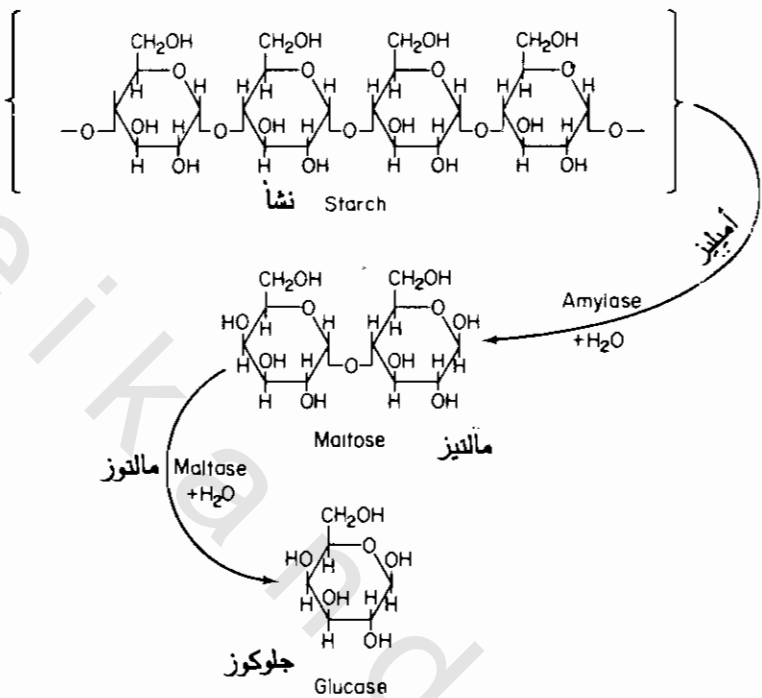
PECTIC ACID SPLITTING ENZYMES

Polygalacturonases (PG)	Pectic Acid-trans-eliminases (PATE) = Pectic Acid Lyase (PAL)
5. Endo-PG	7. Endo-PATE =PAL
6. Exo-PG	8. Exo-PATE =PAL

(شكل ٣٨) : أنواع الأنزيمات التى تقلل من طول سلسلة المركبات البكتينيه .

وجد المؤلف أن فطر *Botrytis cinerea* المسبب للعفن الرمادى فى الفاصوليا وكثير من الخضر ونباتات الزهور قادر على إفراز هذه الأنزيمات وينتج عن هذه الأنزيمات تحليل للصفيحه الوسطى لخلايا النبات والتى تتكون من بكتات الكالسيوم أو المغنسيوم وتعتبر الصفيحه الوسطى هى الماده اللاصقة التى تربط خلايا النبات ببعضها ونتيجة لتحلل هذه المركبات تفقد خلايا النبات ترابطها وينتج عن ذلك طراوة فى النسيج المصاب وعادة يحدث نتيجة لذلك عفن طرى soft rot . يمكن للطفيليات أن تستخدم حامض galacturonic فى تغذيتها كمصدر للكربون.

تفرز كثير من الطفيليات مجموعة أنزيمات تحلل النشا إلى سكر مالتوز وتسمى هذه الأنزيمات فى مجموعها أنزيم الأميليزamylase (شكل ٣٩) . ثم تفرز إنزيم الماليتز ليحلل المركب الأخير إلى سكر الجلوكوز. يعتبر تحليل النشا إلى سكر جلوكوز هو طريق سهل بالنسبة للطفيليات للحصول على الجلوكوز حيث تمتصه داخل خلاياها وتستفيد منه كمصدر للكربون



(شكل ٣٩) : خطوات تحليل النشا

للقيام بوظائفها الحيويه. تفضل الغالبية العظمى من الطفيليات إن لم يكن جميعها مع وجود بعض الاستثناءات سكر الجلوكوز كمصدر للكربون وللتغذيه. وحيث أن النشا هو المركب الأساسى المختزن فى النبات وحيث أن الطفيل غير قادر على إمتصاص النشا لكبر حجم الجزئ فإنه يفرز إنزيم الأميليز والمالتيز لينتج سكر الجلوكوز وهو الهدف المفضل لجميع

الطفيليات بإستثناء بعض الحالات النادرة. قام المؤلف بإختبار ١٥نوع من فطر *Fusarium* ووجد أن جميع هذه الفطريات تفرز أنزيم الأميليز. ووجد ذلك أيضاً بالنسبة لأنواع الفطر *Aspergillus* وأيضاً فطر *Botrytis cinerea* وقد وجد أيضاً أن الفطر الأخير يفرز إنزيم المالتيز. يعتقد البعض أن الطفيليات تقوم بالتطفل وإصابة النبات وإختراق جدار الخليه النباتيه للوصول إلى غذائها المفضل وهو سكر الجلوكوز الناتج من تحليل النشا بواسطة أنزيم الأميليز. يعضد هذا الرأى أن خلايا النبات يوجد بها عامة كمية هائلة نسبياً أو معتدله من النشا ينتج عنها تحرر كميات كبيرة من سكر الجلوكوز وهو الغذاء المفضل وبذلك يجد الطفيل وفره من غذائه المفضل وبذلك يمكنه أن ينمو أو يتكاثر بكفاءة عاليه. أى أن إختراقه لجدار الخليه هو وسيلة وليست هدف فى كثير من الطفيليات، ولكن يعتقد البعض عكس ذلك حيث أن الفطر يقوم بتحليل الجدار وغيره من أجزاء الخليه للحصول على غذائه من سكر الجلوكوز الناتج من تحليل جدار خلية النبات وأيضاً من نواتج تحليل المركبات البكتينيه.

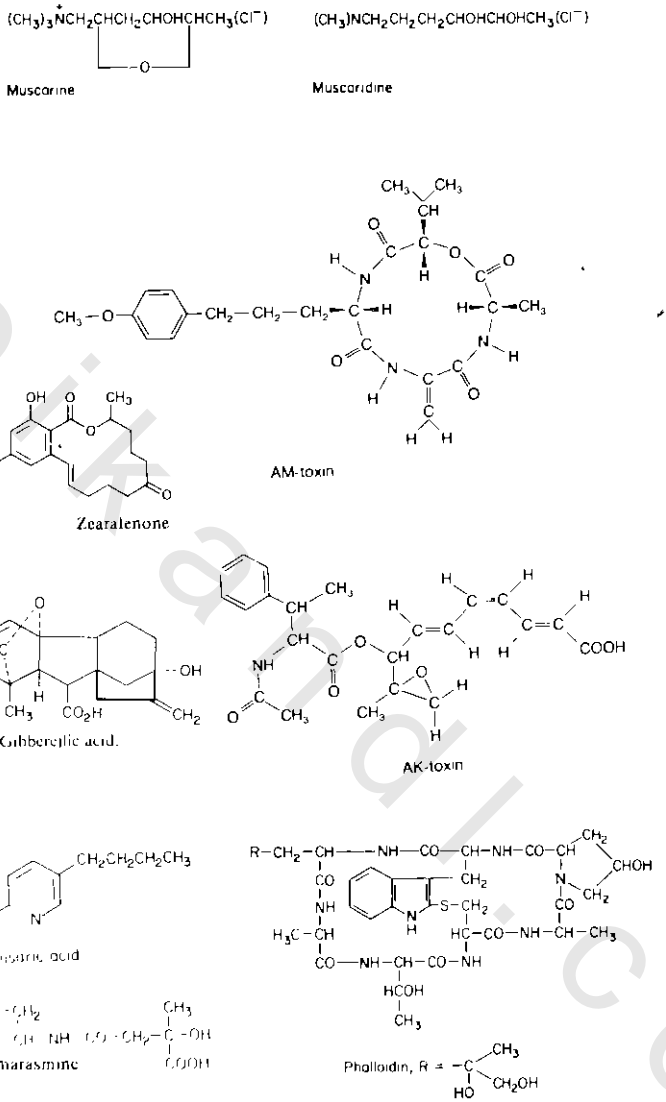
يقوم النبات بتجهيز غذاؤه العضوى وذلك عن طريق عملية البناء الضوئى فى الأجزاء الخضراء ثم ينتقل هذا الغذاء العضوى فى صورة سكروز عاده من المجموع الخضرى إلى المجموع الجذرى عبر نسيج اللحاء ليتم تغذية الجذر بالغذاء العضوى المجهز والغير قادر الجذر على تجهيزه لخلوه من البلاستيدات الخضراء. تفرز بعض الطفيليات أنزيم سكريز sucrase لتحليل السكروز إلى جلوكوز وفركتوز وكلاهما يستخدم بسهولة بواسطة الطفيليات. تعيش وتتكاثر البكتريا *Erwinia amylovora* المسببه لمرض اللفحه الناريه فى التفاح والكمثرى فى رحيق أزهار التفاح والكمثرى والذى يحتوى على تركيز مناسب من السكروز.

يبطن جدار الخليه من الداخل الغشاء البلازمى الأكتوبلاست وهو يتكون أساساً من الدهون الفوسفوريه والبروتينات ولذلك فإن بعض الطفيليات يكون لها القدرة على إفراز الأنزيمات المحلله للدهون أو الدهون الفوسفوريه ومثال ذلك إنزيم فوسفوليبيز phospholipase ويفرز بواسطة الفطر *Sclerotium rolfsii* المسبب لمرض اللفحه الجنوبيه فى كثير من النباتات. يمكن

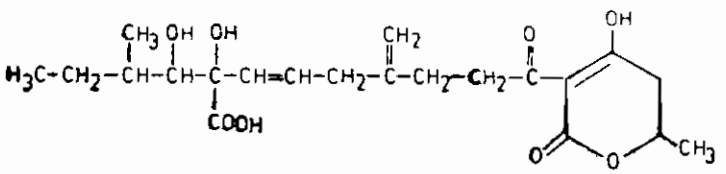
أيضاً للطفيليات أن تفرز الأنزيمات المحلله للبروتين وبذلك تهاجم بروتين الخليه أو بروتين الغشاء البلازمى ومثال ذلك إنزيم بروتييز protease والذى يفرز بواسطة الفطر *Piricularia oryzae* المسبب لمرض اللفحه فى الأرز. ثبت أيضاً إفراز أنزيمات تؤكسد الأحماض الأمينيه amino acid oxidase فى الفطر السابق. ولذلك فإن هذه الأنزيمات المحلله للدهون أو البروتينيات والمؤكسده للأحماض الأمينيه تساعد الطفيل على الإصابة وقد يتغذى أو يستفيد الطفيل من نواتج التحلل لهذه المركبات.

مما سبق يتضح أن الطفيليات تهاجم وتصيب النبات للحصول على غذائها المناسب ولذلك فإنها تقوم بإفراز أنزيمات تحلل المركبات المعقده إلى مركبات بسيطه ليسهل عليها إمتصاصها ثم الإستفادة منها فى عملياتها الحيويه المختلفه.

يمكن تصنيف الأنزيمات تبعاً لوجود أو غياب مادة التفاعل إلى أنزيمات أصليه constitutive enzymes وأنزيمات تأقلميه adaptive enzymes وعندما يكون الطفيل الأنزيم فى وجود مادة التفاعل أو فى غيابها يعتبر أنزيم أصلى ومثال ذلك أنزيم سيليوليز المفرز بواسطة البكتريا *Pseudomonas solanacearum* حيث تكون البكتريا هذا الأنزيم فى وجود أو غياب السيليلوز. عندما يكون الطفيل الأنزيم فقط فى وجود مادة التفاعل فإنه يعتبر إنزيم تأقلمى وقد وجد المؤلف هذه الحالة فى ثلاثة أنواع من الفطر *Fusarium* حيث وجد أن أنزيم الأميليز لايفرز بواسطة الفطر إلا فى وجود النشا فى البيئة وفى حالة خلو البيئة من النشا فإن هذه الفطريات تكون غير قادرة على إفراز الأنزيم.

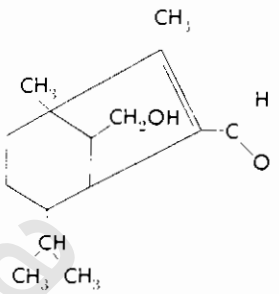


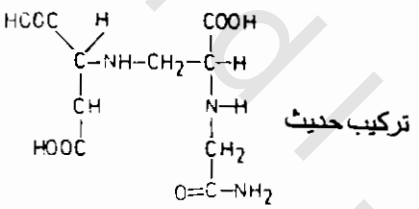
(شكل ٤٠) : أنواع مختلفة من السموم تفرز بواسطة الفطريات وأيضاً منظم النمو حامض الجبريلليك.



Alternaric acid

helminthosporol.

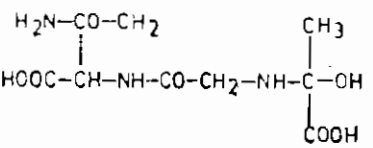




تركيب حديث

Lycomarasmine

تركيب خاطئ



(شكل ٤١) : التركيب الجزئيى لبعض سموم الفطريات ومنظم للنمو helminthosporol.

obeikandl.com

السمـوم Toxins

تفرز مسببات أمراض النبات مجموعتين من السموم وهما السموم النباتية phytotoxins والسموم الفطرية mycotoxins (شكل ٤٠ و ٤١).

السموم النباتية: هى سموم تفرز عادة بواسطة الفطريات والبكتريا وتسبب ضرر لخلايا النبات. يفضل البعض تقسيم هذه السموم إلى ثلاثة أنواع وهى :

أ ـ Pathotoxins وهى سموم تسبب ظهور أعراض المرض على النبات القابل للإصابة وذلك فى غياب الطفيل. أى أنه عند حقن السم فى النبات يحدث أعراض المرض تماماً كما يحدثها الطفيل. علاوة على ذلك فإن السم يظهر الأعراض على النباتات القابله للإصابة فقط بالطفيل ولاتظهر الأعراض على النباتات الأخرى similar host specificity . إختلاف سلالات الطفيل فى قدرتها على إحداث المرض تتناسب طردياً مع قدرتها على إفراز السم فكلما زادت قدرة السلالة على إفراز السم كلما زادت قدرة السلاله على إحداث المرض. يعتبر سم فيكتورين victorin أحد الأمثلة لهذا النوع من السموم. ينتج هذا السم بواسطة*Helminthosporium victoriae* المسبب لمرض لفحه فيكتوريا فى الزمير. اتضح أن سلالات الفطر القادرة على إحداث المرض تفرز هذا السم بتركيز عال أما سلالات الفطر الغير قادرة على إحداث المرض فإنها لا تفرز هذا السم. اتضح انه بعد حقن أصناف الزمير القابلة للإصابة بالسم فإن سرعة التنفس تزداد بينما تستمر سرعة التنفس ثابته فى الأصناف المقاومة. تتميز الأصناف المقاومة بقدرتها على معادلة أو منع تأثير السم. يسبب السم فى الأصناف القابلة للإصابة تأثير على تركيب الجدار الخلوى والغشاء البلازمى الأكتوبلاست وينتج عن ذلك زيادة فى نفاذية الغشاء البلازمى وبالتالى تزداد سرعة التنفس نتيجة لذلك وليست لتأثيرها المباشر على الميتوكوندريا. حيث وجد أن الميتوكوندريا الحره المعزوله من النبات لا تتأثر بهذا السم. تزداد سرعة التنفس طردياً مع زيادة تركيز السم. يعتبر سم periconia الناتج من فطر-*Periconia cinata* المسبب لمرض ميلو milo فى الذره الرفيعه من هذا النوع. وسم AK وسم AM وكلاهما يفرزان بالفطر *Alternaria alternata* المسبب لمرض لطخة ألترناريا فى التفاح ومرض بقعة الورقه السوداء فى الكمثرى اليابانيه من هذا النوع.

ب ـ Vivotoxins وهى سموم لها دور جزئى فى ظهور أعراض المرض وعادة تكون سموم غير متخصصه فى سميتها ويمكن عزلها من النبات المصاب دون السليم ومنها fusaric acid و piricularin . يفرز حامض الفيوزارك بواسطة الفطر *Fusarium oxysporum* المسبب لمرض الذبول. هذا السم له دور فى اظهار بعض أعراض المرض ويسبب خفض سرعة التنفس فى النبات المصاب ويعتقد أن ذلك يحدث لأنه يرتبط أى يخلب بمعادن ثقيله ويسبب هذا المركب تثبيط إنزيمات الأوكسيديز الداخله فى عملية التنفس. يسبب هذا السم أيضاً زيادة فى نفاذية الغشاء البلازمى الأكتوبلاست. ينتج piricularin بواسطة فطر *Piricularia oryzae* المسبب لمرض اللفحه فى الأرز وله دور فى ظهور بعض أعراض المرض. يسبب حقن السم فى النبات زيادة سرعة التنفس. يثبط السم أنزيمات عديده منها الكاتاليز والبيروكسيديز والسيتوكروم أوكسيديز.

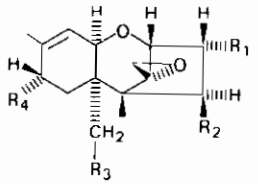
جـ ـ Phytotoxins هى سموم ليس لها دور فى حدوث أعراض المرض وقد يكون لها دور ضعيف وهى غير متخصصه فى سميتها. لايوجد علاقة بين إنتاج السم وقدرة الطفيل على الإصابة فقد ينتج الطفيل تركيز قليل من السم ولكنه يكون شديد القدرة المرضية ويمكن أن يكون العكس صحيح. يعتبر حامض ألترنارك alternaric acid والذى ينتج من الفطر *Alternaria solani* المسبب لمرض اللفحه المبكره فى الطماطم و lycomarasmine والذى ينتج بواسطة الفطر *Fusarium oxysporum* المسبب لمرض الذبول من أمثلة هذه السموم. يسبب السم الأخير زيادة فى سرعة نتح النبات وذلك بعد إرتباطه أى خلبه لذرة الحديد.

السموم الفطريه Mycotoxins : هى أى سموم فطريه تسبب ضرر للإنسان أو الحيوان أو كليهما. تعرف حديثاً السموم الفطرية بأنها سموم تفرز بواسطة الفطر خارجياً extracellular وتسبب تأثير ضار على الإنسان أو الحيوان أو كليهما. ترجع أهمية هذه السموم إلى أن الفطر قد يتطفل أو يترمم على النبات ويفرز سموم خارجية تنتشر داخل النبات أو أى جزء من أجزاؤه. عند إستهلاك الإنسان أو الحيوان لهذا الجزء النباتى يحدث له ضرر نتيجة لهذه السموم بالرغم من عدم وجود الفطر المسبب وهذه الحالة المرضية تسمى mycotoxicosis . يوجد لذلك أمثلة كثيرة مثل سم aflatoxin والذى ينتج من فطر *Aspergillus flavus* ويسبب مرض aflatoxicosis . يسبب هذا السم ضرر للإنسان والحيوان حيث يسبب ضعف الكبد وضرر لخلايا القنوات المراريه ويسبب التركيز المرتفع موت الحيوان وعلاوة على ذلك فإنه

يمكن أن يسبب السرطان فى أجزاء مختلفة من الجسم مثل الكبد والمرارة. يوجد أكثر من مركب أفلاتوكسين ومنها B_1 وB_2 و G_1 وG_2 وتشترك جميع هذه المركبات فى تركيب حلقى أساسى وتختلف عن بعضها نتيجة الإختلاف فى مجاميع على الجزيئ. تتميز الأفلاتوكسين B_1 وB_2 بأنها تشع ضوء أزرق عند تعريضها فى جو مظلم للأشعة فوق البنفسجية ولذلك تسمىB نتيجة لإشعاع ضوء أزرق Blue وفى حالة G فإنها تشع ضوء أخضرGreen . تصاب كثير من البذور بالفطر وتصبح ملوثه بالسم مثل بذور الفول السودانى والقطن والقمح والذره. وجد المؤلف أن أصناف الفول السودانى والذره الشاميه المختلفه تختلف فى درجة تلوثها بالسم وعادة يوجد نوع أو أكثر من هذا السم فى البذور. يمكن أن يوجد السم فى الألبان ومنتجاتها مثل الجبن. يتأثر السم بدرجة الحرارة المرتفعة ويفقد كله أو جزء كبير منه. تشترط بعض الدول خلو البذور أو الحبوب المستوردة من السم أو وجود تزكيز منخفض جداً. يعتبر B_1 أكثر أنواع الأفلاتوكسين انتشاراً.

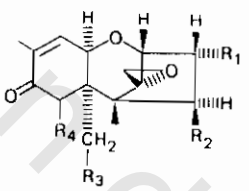
توجد أنواع أخرى كثيرة من هذه السموم ويكتشف بإستمرار أنواع جديدة من هذه السموم تفرز بواسطة فطريات مختلفة حيث أن هذه السموم عادة توجد بتركيزات صغيره جداً. تفرز أنواع الجنس *Penicillium* أنواع مختلفة من السموم وتفرز أيضاً أنواع الجنس *Fusarium* وبعض الفطريات الأخرى مجموعة من السموم تسمى trichothecens (شكل ٤٢) . يفرز سمzearalenone بواسطة الفطر *Fusarium graminearum* ويصيب هذا الفطر نبات القمح ويسبب مرض الجرب كما أنه يصيب أو يترمم على الحبوب مثل القمح والذره والشعير والأرز. ولذلك فإن الحبوب قد تحتوى هذا السم. يسبب السم مرض للإنسان والحيوان. يسبب للإناث فى الإنسان وخاصة صغار السن تضخم فى فتحة التناسل vulva وترهل فى المهبل وضمور فى المبيض وينتج عن ذلك كثير من حالات العقم. يحدث فى الذكور تضخم فى أحد أجزاء عضو التناسل prepuce وقد يكون شديد مما ينتج عنه إحتباس فى البول. تسمى الأمراض الناتجه عن سموم الفيوزاريوم fusariotoxicosis .

بعض الفطريات تكون السموم ولكنها لاتفرز خارجها بل تظل موجودة فى خلايا الفطر وذلك على العكس من الحالات السابقة حيث أن السموم تفرز خارج الفطر ومنها الفطر *Claviceps purpurea* المسبب لمرض الأرجوت فى الراى والقمح والشعير والمسبب لمرض الإرجوتزم فى الانسان والحيوان هذا المرض اللعين الذى قاست منه البشرية كثيراً على مر العصور (انظر باب الأوبئة النباتية). تكون بعض الفطريات أجسام ثمريه كبيرة

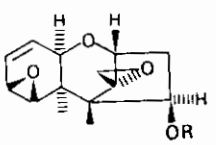


مركبات الـ trichothecens	R_1	R_2	R_3	R_4	تفرز بواسطة
Trichodermol (= roridin C)	H	OH	H	H	*Trichoderma*
Trichodermin	H	$OCO.CH_3$	H	H	*Trichoderma*
Diacetoxyscirpenol	OH	$OCO.CH_3$	$OCO.CH_3$	H	*Fusarium scirpi* *Fusarium tricinctum*
T_2-toxin	OH	$OCO.CH_3$	$OCO.CH_3$	X	*Fusarium nivale* *Fusarium tricinctum*
Verrucarol	H	OH	OH	H	*Myrothecium verrucaria*

$X = OCO.CH_2.CH.(CH_3)_2$



مركبات الـ trichothecens	R_1	R_2	R_3	R_4	تفرز بواسطة
Trichothecin	H	$OCO.CH{=}CH.CH_3$	H	H	*Trichothecium roseum*
Trichothecolone	H	OH	H	H	*Trichothecium roseum*
Toxic diacetate	OH	$OCO.CH_3$	$OCO\ CH_3$	OH	*Fusarium equiseti* *Fusarium scirpi*
Nivalenol	OH	OH	OH	OH	*Fusarium nivale*
Fusarenone	OH	$OCO.CH_3$	OH	OH	*Fusarium nivale*



Crotocin	$R = CO.CH{=}CH.CH_3$	تفرز بواسطة
Crotocol	R = H	*Cephalosporium*

(شكل ٤٢) : التركيب الجزيئى لمركبات عديده من سموم trichothecens تفرز بواسطة فطريات مختلفة.

obeikandl.com

الحجم macrofungi يمكن رؤيتها بسهولة بالعين المجرده. بعض أنواع هذه الفطريات تستخدم كغذاء للإنسان كما فى فطريات عيش الغراب mushrooms ولكن بعض أجناس وأنواع هذه الفطريات تكون سامه أو شديدة السميه وتكون قريبة فى شكلها من فطريات عيش الغراب ولذلك يجب الحذر الشديد من استعمال الأخيرة فى الطعام ولاتؤخذ إلا من مصادر موثوق بها. يعتبر الفطر *Amanita* وهو يكون جسم ثمرى مظلى الشكل يشبه فطر عيش الغراب من أشد الأجناس سميه. يوجد فى الفطر أنواع عديدة أشدها سميه هو *A. phalloides* . ينتج هذا الفطر سم phalloidine فى الهيفات والأجسام الثمريه وهو يقاوم للحرارة والجفاف وتأثير العصارة المعديه. لا يظهر تأثير هذا السم إلا بعد ٦-١٥ ساعة من التغذية على الأجسام الثمرية ويكون فى هذا الوقت قد امتص بواسطة الجسم ونادراً فى هذه الحالة ما يستجيب المريض للعلاج. نسبة الموت بهذا السم تتراوح بين ٥٠ ـ ٩٠٪. يمكن استخلاص ١ جم من هذا السم على هيئة بلوريه نقيه من كل ٤٠كيلوجرام أجسام ثمريه. وجد أن التركيز السام للفأر الأبيض هو ٥٠ميكروجرام حيث يسبب الموت بعد ١-٢ يوم. يفرز الفطر أيضاً سم آخر يسمى فالين phallin يسبب موت كرات الدم الحمراء وتحللها. تظهر أعراض التسمم بآلام فى البطن ودوار وقيئ وإسهال. يصبح المريض متعب ومجهد وقد يحدث إضطراب عقلى وهلوسه. تصبح خلايا كرات الدم الحمراء هشه ثم يحدث الموت نتيجة لهبوط فى القلب. يعالج المريض بسرعة كلما أمكن ذلك وذلك بعمل غسيل للجهاز الهضمى وخاصة المعدة والأمعاء والتغذية بمحلول الجلوكوز وتعاطى منشطات cardiac .

يوجد نوع آخر وهو *A. muscaria* حيث ينتج مركبين ساميين وهما muscarine وmuscaridine . تظهر أعراض السم على الإنسان سريعاً بعد ١-٦ ساعات وهى عبارة عن دوار وقيئ وآلام فى البطن وعطش. تزداد سرعة التنفس ثم تنخفض. يؤثر السم على الجهاز العصبى ويتسبب عنه حالة جنون وهلوسه كما يحدث إختلال فى السمع والبصر قد يحدث الموت نتيجة للإختناق وتوقف التنفس. يعالج المريض بسرعة بواسطة غسيل للمعدة والأمعاء. يتضح أيضاً إختلاف فى ميكانيكية تأثير السموم mode of action فبعضها يحلل كرات الدم الحمراء والبعض الآخر يؤثر على الجهاز العصبى.

منظمات النمو Growth regulators

تتكون منظمات النمو من مجاميع من المركبات وهى الأوكسينات والجبريللينات والسيتوكينينات والأثيلين وحامض الأبسيسك ومثبطات النمو وكلها تلعب دور هام فى تنظيم نمو النبات. وجود الطفيل يسبب إختلال فى النظام الهورمونى فى النبات وينتج عن ذلك أعراض مرضيه مثل تقزم النبات أو التورد أو النمو الزائد والتضخم. منظمات النمو التى تخلق طبيعياً فى النبات تسمى هورمونات نباتيه.

تتميز الأوكسينات بأنها مركبات تسبب إستطالة خلايا النبات أى أنها تسبب إستطالة النبات ويمكن أن يكون لها تأثيرات أخرى. يعتبر هورمون إندول حامض الخليك من أهم الأوكسينات الموجودة فى النبات. يمكن تحطيم جزيئ إندول حامض الخليك بواسطة إنزيم إندول حامض الخليك أوكسيديز وبذلك يقل تركيز هذا الهورمون فى النبات. يزداد تركيز هذا الهورمون فى النباتات المصابة ببعض الفطريات أو الفيروسات أو البكتريا أو الميكوبلازما أو ديدان النيماتود. وفى بعض الحالات قد يحدث العكس أى يقل هذا الهورمون فى النبات بعد الاصابة. وجد فى حالة مرض تفحم الذره المتسبب عن الفطر *Ustilago maydis* ومرض تعقد الجذور المتسبب عن النيماتود *Meloidogyne* يتسبب زيادة فى تركيز هذا الهورمون فى أنسجة النبات لأن هذه الطفيليات تفرز هذا الهورمون كما أنها تنبه تنشيط النبات لإنتاج زيادة من هذا الهورمون. وفى بعض الأمراض يكون زيادة تركيز الهورمون راجع لتثبيط نشاط إنزيم أوكسيديز إندول حامض الخليك كما فى مرض تفحم الذره. ينتج عن ذلك زيادة فى حجم الخلايا فى المناطق المصابه ويمكن أن يحدث زيادة فى عدد الخلايا وينتج عن ذلك أورام على النبات كما فى مرض تفحم الذره ومرض تعقد الجذور. وجد المؤلف أن فطر *Peronospora parasitica* يسب أورام صغيرة على نبات فجل الجمل وتتكون هذه الأورام نتيجة لزيادة عدد الخلايا hyperplasia عن المعتاد وأيضاً نتيجة لزيادة حجم الخلايا بها hypertrophy عن المعتاد فى مكان الاصابة حيث تتكون خلايا متضخمه giant cells . وجد أن البكتريا *Pseudomonas solanacearum* المسببه لمرض الذبول البكتيرى فى الطماطم والبطاطس تسبب زيادة فى تركيز الهورمون مائة مرة فى النبات المصاب عنه فى النبات السليم.

وجد أن البكتريا *Agrobacterium tumefaciens* المسببه لمرض التدرن التاجى فى كثير من النباتات مثل عباد الشمس تسبب زيادة فى تركيز إندول حامض الخليك والسيتوكينين فى خلايا التدرن وينتج عن ذلك زيادة كبيرة فى سرعة انقسام الخلايا عن المعتاد فيزداد التدرن فى الحجم. ولكن وجد أنه عند معاملة الخلايا السليمه بتركيز عال من إندول حامض الخليك فإنها لا تتأثر فى سرعة إنقسامها وتستمر عاديه طبيعيه. ولذلك يسمى العامل المسبب لإنقسام الخلايا وتكوين الورم بإسم الأساس المنتج للورم tumor-inducing principle وإختصاره TIP . (انظر مرض التدرن التاجى فى آخر باب فى هذا الكتاب).

تتميز الجبريللينات بأنها تسبب استطالة الساق وذلك نتيجة لاستطالة خلاياه. كما أنها تسبب تأثيرات أخرى على النبات. ومما هو جدير بالذكر أن اكتشاف الجبريللينات راجع إلى أمراض النبات. حيث لاحظ مزارعو الأرز فى اليابان أن بعض بادرات ونباتات الأرز تكون طويله عن المعتاد وتموت قبل أن تعطى أزهار وقد تعطى أزهار ولكنها لاتكون حبوب. سمى هذا المرض باسم مرض البادره الحمقاء foolish seedling disease أو مرض بكانى Bakanae dis-ease . تمكن الباحثون اليابانيون سنة ١٩٢٦ من إثبات أن هذا المرض يتسبب عن الفطر *Gib-berella fujikuroi* وهو الطور الكامل للفطر *Fusarium moniliforme*. عند تنمية الفطر على بيئة صناعية فإنه يتكون فى البيئة مركب الجبريللين. عند معامله النبات براشح الفطر فإنه يحد نفس الأعراض المرضيه حيث يسبب إستطالة الساق. وقد تمكن العلماء بعد ذلك من عزل المركبات المسئولة عن إستطالة النبات فى صورة نقيه والتعرف على تركيبها وسميت بإسم جبريللين١، جبريللين٢ وهكذا. توجد حالياً مركبات كثيرة من الجبريللينات ولكن أهمها وأكثرها شيوعاً هو جبريللين٣ والمعروف بإسم حامض الجبريلليك gibberellic acid . تستخدم الجبريللينات بكثره فى إنتاج الخضر والفاكهة على نطاق إقتصادى وذلك لتحسين خواصها. وهكذا كان هذا المرض النباتى هو السبب فى اكتشاف الجبريللينات (شكل ٤٠ و ٤١) . وجد أيضاً بعض المركبات تشابه فى تأثيرها الجبريللينات ومن هذه المركبات مركب كحولى helminthosporol أو ومركب حامضى helminthosporic acid . تنتج هذه المركبات بواسطة الفطر *Helminthosporium sativum* المسبب لمرض لفحه الهلمنثوسبوريوم فى الأرز. تأثير هذه المركبات يشابه الى حد كبير تأثير مركبات الجبريللين على النبات كما تشابه نشاط

الجبريللين gibberellin-like activity . بالرغم من أن هذه المركبات تختلف فى تركيبها الجزيئى تماماً عن الجبريللين إلا أن لها نفس النشاط.

وفى حالة النباتات المصابة بالفيرس أو الميكوبلازما أو السبيروبلازما لايحدث أى تغيير فى تركيز الجبريلينات بالمقارنة بالنباتات السليمه. ولكن بعض الأعراض المرضيه لهذه المسببات يمكن شفاؤها recovery عند رشها بحامض الجبريلليك ومثال ذلك مرض تقزم الذرة المتسبب عن ميكوبلازما تقزم الذرة يمكن مقاومة التقزم برش النباتات المصابة بحامض الجبريلليك فتصبح عادية الطول.

تتميز السيتوكينينات بأنها تسبب إنقسام الخلايا كما أنها تسبب تأثيرات أخرى على النبات. ومن الستيوكينينات التركيبيه مركب الكينتين ولايوجد طبيعياً فى النبات ولكن يعتبر زياتين zeatin من السيتوكينينات الطبيعية ويوجد طبيعياً فى النبات. يزداد تركيز هذه المركبات فى حالة مرض التدرن التاجى كما سبق ذكره وأيضاً فى مرض الجذر الصولجانى فى الكرنب حيث تتضخم الجذور بدرجة كبيرة نتيجة لزيادة سرعة إنقسام الخلايا عن المعتاد وتأخذ الشكل الصولجانى ويتسبب هذا المرض عن الفطر *Plasmodiophora brassicae*. فى بعض الحالات يقل تركيز السيتوكينين فى النباتات المصابه وذلك بالمقارنة فى النباتات السليمه ومثال ذلك فى مرض الذبول فى القطن المتسبب عن الفطر *Verticillium albo-atrum*.

يعتبر غاز الأثيلين هورمون نباتى وله تأثيرات عديده مختلفه على النبات. يزداد تركيز الأثيلين عند إصابة النبات ببعض الطفيليات فقد وجد المؤلف أن ثمار التفاح المصابه بفطر *Botryodiplodia theobromae* والمسبب لمرض العفن الطرى البنى لثمار التفاح تنتج كميات كبيرة من الأثيلين وذلك بالمقارنة بالثمار السليمه. يمكن أن يكون للأثيلين دور فى حالة إنفراج الزاويه بين عنق الورقه والساق epinasty وذلك فى أمراض الذبول الوعائى أى الناتجة عن طفيليات تعيش فى الأوعيه الخشبيه لنسيج الخشب مثل فطر *Fusarium oxysporum* والبكتريا *Pseudomonas solanacearum* . أيضاً تحدث نفس الحالة عند إصابة نبات *Physalis floridana* بفيروس البطاطس potato virus Y-Y .

يزداد تركيز حامض الأبسيسيك فى النباتات المصابة بفيروس تبرقش الخيار وفطر Verticillium المسبب لمرض ذبول الطماطم ويعتقد أن لهذا الحامض دور فى حدوث هذين المرضين.

سم الأفلاتوكسين Aflatoxins

كثير من الفطريات الأسكيه والناقصه وقليل من الفطريات الزيجويه تفرز سموم فطريه mycotoxins. يعتبر الأفلاتوكسين من أوائل السموم الفطرية المكتشفة وأكثرها ذيوعاً وانتشاراً. يفرز الأفلاتوكسين بواسطة نوعين من الفطريات *Aspergillus flavus* و *A. parasiticus*.

مقدمة تاريخية عن اكتشاف الأفلاتوكسين: اكتشف الأفلاتوكسين لأول مرة عام ١٩٦١ بعد تتبع الحالة الوبائية التى حدثت عام ١٩٦٠ فى إنجلترا وأدت إلى موت مائة ألف من صغار الديوك الرومى خلال شهور قليلة. وقد اتضح أن السبب فى ذلك هو تغذية هذه الحيوانات على غذاء ملوث بالفطر *A. flavus* وأن هذا الفطر يفرز مركب سمى بالأفلاتوكسين هو المسئول عن موت الدجاج الرومى.

طرق الإصابة بالفطر: يمكن أن يصيب الفطر الحريره أى أقلام ومياسم كوز الذره وينتقل منها إلى المبيض وبالتالى إلى الحبوب وخاصة إذا كانت درجة الحرارة مرتفعة من ٣٢-٣٨م ورطوبة أعلى من ٨٥٪. تحدث الاصابة بالفطر لثمار الفول السودانى بعد إقتلاع النباتات وأثناء التجفيف. تساعد الجروح على الإصابة بالفطر. تساعد جروح فطريات التربة مثل *Rhizoctonia solani* ، *Sclerotium rolfsii* على إصابة فطر *A. flavus* لثمار الفول السودانى.

أهمية الأفلاتوكسين ومدى إنتشاره: يوجد الفطر فى التربة وفى الحقول وفى المدن أى أنه عام الإنتشار. يوجد الفطر فى مصر وجميع الدول العربية وفى كثير من دول العالم إن لم يكن جميعها. أى أنه عالمى وواسع الإنتشار. ينتشر الفطر على كثير من الحبوب والبذور ومنها القمح والذره والأرز والشعير والقطن وفول السودانى وفول الصويا كما يوجد أيضاً فى الدقيق الناتج من القمح أو الذره. يمكن أن يصيب الفطر الجبن ومنتجات الألبان واللحوم وبذلك

تصبح ملوثه بالأفلاتوكسين. عند تغذية الحيوان على عليقه ملوثه بالفطر فإن السم ينتقل إلى لبن الحيوان ويصبح اللبن ملوث وأيضاً الجبن الناتج منه ملوث. يدخل الفطر إلى الحبوب أو البذور عن طريق قاعدة المبيض إلى البويضة أو عن طريق الجروح أو نتيجة لضرر الحشرات.

الظروف البيئية وأثرها فى إنتشار السم: تعتبر الرطوبة العالية والماء الحر من أهم العوامل التى تساعد على إصابة الحبوب أو البذور بالفطر وبالتالى إنتشار السم. ومثال ذلك أنه عند جمع الفول السودانى من الحقل وذلك بإقتلاع النباتات فإن الثمار والبذور تحتوى على الماء بنسبة ٣٠-٦٠ ٪. وبعد ذلك تجفف الثمار فتنخفض نسبة الماء إلى ١٠ ٪ أو أقل. ومن المعروف أنه فى وجود نسبة الماء بالحبوب والبذور ٩ ٪ أو أقل تمنع تماماً نمو الفطر وبالتالى تمنع إصابة الحبوب أو البذور بالفطر. ولذلك فإن معظم حالات الإصابة فى الفول السودانى تحدث أثناء تقليع النباتات وتجفيفها. حيث تترك النباتات فى الحقل بعد تقليعها لكى تجف تحت أشعة الشمس. حيث تنخفض نسبة وتركيز الماء تدريجياً وتكون عادة أثناء التجفيف من ١٥-٢٥ ٪ ولذلك يجب أن يكون التجفيف سريع بدرجة كبيرة لكى تقل فرص الإصابة.

درجة الحرارة العالية نسبياً أثناء التجفيف تساعد على الإصابة والعكس صحيح حيث أن درجة الحرارة المنخفضة أثناء التجفيف تقلل من الإصابة.

درجة الرطوبة النسبية للجو تؤثر على الإصابة فقد وجد فى درجة حرارة ٣٢°م ورطوبة نسبية ٨٥ ٪ ينمو الفطر ويتكون السم وفى درجة حرارة ٣٢°م ورطوبة نسبية ٥٠ ٪ تكون البذور سليمه وفى درجة حرارة ٢١°م ورطوبة نسبية ٥ ٪ تكون البذور سليمه. ولذلك يتضح أن خفض الرطوبة النسبية من شأنه تقليل أو منع الإصابة.

تختلف أصناف الفول السودانى فى مقاومتها للفطر ويعتبر الصنفان Spanish 205 وSamara 38 أقل قابلية للإصابة من الأصناف الأخرى وبعض الأصناف الحديثة الأمريكية مقاومة تماماً.

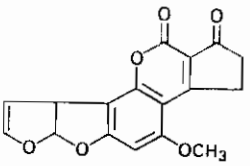
وبأخذ عينات من الفول السودانى وجد أن ٣,٣٪ من القرون شديدة السميه وتحتوى على أكثر من ٠,٢٥ ملليجرام أفلاتوكسينB_1 لكل كيلوجرام و٢١,٧٪ متوسط السميه و٧٥٪ غير سام. وفى مطحون الفول السودانى وجد أن ٤٢٪ من العينات شديدة السميه و٤٩,٣٪ متوسط السميه و٨,٧٪ غير سام. ولذلك يمكن أن تكون زبدة الفول السودانى ملوثه.

أنواع الأفلاتوكسين: توجد أنواع عديدة من الأفلاتوكسين وأهمها هى B_1، B_2، G_1، G_2 ولكن أكثرها انتشاراً هو النوع B_1 . وتوجد أنواع مكتشفه حديثاً نسبياً ومنها M_1، M_2، P_1 وهى عامة أقل انتشاراً من الأنواع السابقة.

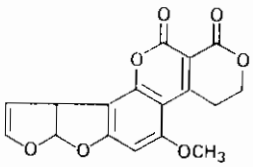
يتميز السم B بأنه يحول الأشعه فوق البنفسجيه إلى اللون الأزرق blue وتسمى هذه العملية بالفلوره. وأما السمG فإنه تحدث عملية فلوره للأشعة فوق البنفسجيه ويتكون لون أخضرgreen (شكل ٤٣) . يحدث ذلك فى الظلام التام فى وجود الأشعة فوق البنفسجية.

تركيب الفطر: يكون الفطر هيفات مقسمه الى خلايا. يتكون نتوء رأسى من بعض خلايا الهيفا وتسمى كل خليه فى هذه الحاله خلية قدم. ينمو النتوء رأسياً ليكون حامل كونيدى قائم غير مقسم ينتهى بإنتفاخ شبه كروى يخرج منه زوائد قصيره تسمى ذنيبات أوليه وقد تسمى متيولاً يخرج من الذنيب الأولى فروع قصيره تسمى ذنيبات ثانويه أوفياليدات. وكل ذنيب ثانوى يحمل سلسله من الجراثيم الكونيديه الكروية الشكل الخضراء المصفره اللون (شكل ٤٤) .

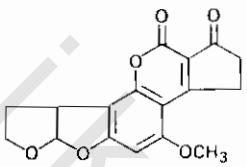
إختلاف سميه عزلات الفطر: يوجد للفطر عزلات وسلالات كثيره وتختلف فيما بينها فى درجة السميه. وتختلف سمية العزلات بإختلاف المحصول والدوله وعامة ٦٠٪ من العزلات تفرز السم و٤٠٪ غير سامه. تختلف درجة السميه عادة من ١٠٠إلى ألفان ملليجرام لكل كيلوجرام ولكن من الحالات النادرة أنه وجد تركيز السم فى جوز الهند ٨جم/كيلوجرام. يعتبرB أكثرهم إنتشاراً ثم يليهG_1 ثم B_2، G_2 . بعض عزلات الفطر تنتج جميع هذه الأنواع



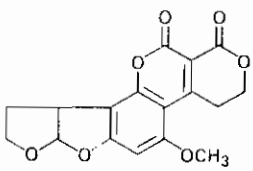
Aflatoxin B_1



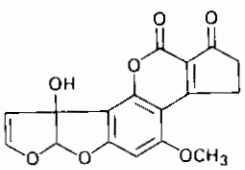
Aflatoxin G_1



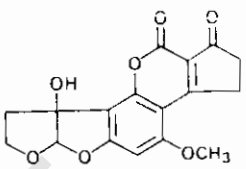
Aflatoxin B_2



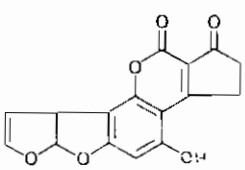
Aflatoxin G_2



Aflatoxin M_1



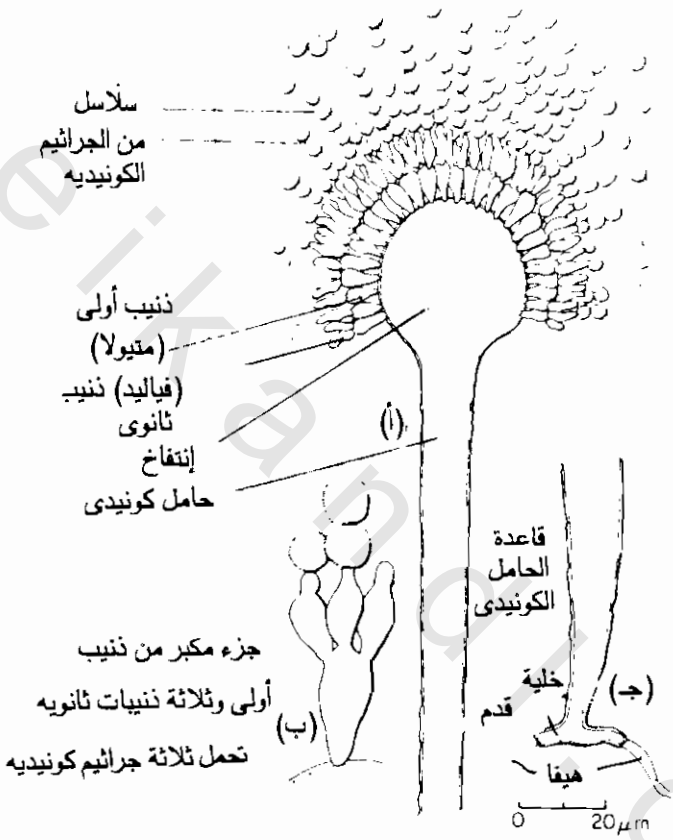
Aflatoxin M_2



Aflatoxin P_1

(شكل ٤٣) : التركيب الجزيئى لمركبات الأفلاتوكسين المختلفة.

obeikandl.com



(شكل ٤٤) : الفطر Aspergillus flavus

أ ـ حامل كونيدى يحمل جراثيم كونيدية على ذنيبات ثانويه . قمة الحامل تنتهى بإنتفاخ .

ب ـ جزء مكبر لذنيب أولى وثلاث ذنيبات ثانويه تحمل ثلاثة جراثيم كونيديه .

جـ ـ هيفا بها خلية قدم وتستطيل خلية القدم لتكون الحامل الكونيدى .

من الأفلاتوكسين والبعض الآخر ينتج سم واحد أو أكثر. يصعب التمييز بين العزلات السامه والغير سامه فلاتوجد بينهما فروق ظاهريه فى الشكل الظاهرى حتى بإستعمال المجهر وأيضاً لاتوجد فروق بيولوجيه. وعامة العزلات السامه تكون لها رؤوس خضراء فى المزارع المسنه وتكون الحوامل كونيديه خشنه. بعض العزلات تفقد قدرتها على إنتاج السم عند نقلها عدة مرات على بيئات صناعية وقد يحدث العكس أن تجدد قدرة العزلات على إنتاج السم عند نقلها عدة مرات على أنسجه حيه. وجد أن العزلات التى تنمو على بذور القطن والفول السودانى تكون أكثر سميه من العزلات التى تنمو على الحبوب عادة. وجد أن العزلات التى تعزل من اللحوم والخبز والجبن تكون عديمة أو قليلة السميه عادة. ولايمكن تعميم ذلك حيث يمكن أن تنمو بعض العزلات الغير سامه على الفول السودانى. وقد وجد أن بعض العزلات السامه عند تنميتها على بعض أصناف الفول السودانى مثل صنف US 26 لاتنتج أفلاتوكسين ولايوجد تفسير لهذه الظاهرة. يقل أو يختفى التأثير السام للفطر على الحبوب أو البذور وذلك نتيجة لوجود فطريات أو بكتريا مصاحبه للبذور وموجوده على سطحها وهى التى تسبب تثبيط تكوين الأفلاتوكسين أو تحوله إلى مركبات أقل فى سميتها. يزداد تركيز السم بزيادة نمو الهيفات حتى الحد الأمثل وعندما تقل سرعة النمو أو تتوقف نتيجة لكبر الفطر فى السن أو نتيجة لشيخوخة staling الفطر فإن تركيز السم وسرعة تكوينه تقل وقد تتوقف. تزداد سرعة تخليق السم وتصل للحد الأمثل عند الزمن الأمثل لتكوين الجراثيم الكونيديه للفطر.

مصير الأفلاتوكسين داخل جسم الإنسان : عند تغذية الإنسان على زبده فول سودانى بها أفلاتوكسين فإن السم يظهر فى بول الانسان وأيضاً فى لبن الأمهات وينتقل إلى الأطفال الرضع. يظهر السم أيضاً فى بول وبراز ولبن ودم الحيوانات. تختلف الحيوانات فى حساسيتها للسم فالخنازير أكثرها تأثراً يليها البقر ثم الحصان. وفى مجموعة أخرى فإن البط أكثرها تأثراً يليها الديوك الرومى ثم الأوز ثم الدواجن وقد وجد أن الأغنام مقاومة للأفلاتوكسين.

يسبب الأفلاتوكسين حدوث طفرات فى جسم الإنسان أو الحيوان كما أن له دور فى حدوث بعض حالات السرطان mutagenic and carcenogenic .

يسبب الأفلاتوكسين نوعين من الأعراض على الإنسان والحيوان وهما أعراض حاده acute وفيها يحدث موت سريع للحيوان وبعد زمن قليل من حدوث الاصابة. يتوقف الزمن على مدى تركيز السم وحساسية الحيوان. يلاحظ فى هذه الحالة تضخم الكبد بدرجة كبيرة مع وجود بقع باهته عليه. كما تحدث تقرحات لبعض أنواع خلايا الكبد فى الخنازير الصغيرة والبط الصغير والديوك الرومى. وقد تكون أعراض مزمنه chronic وفيها لاتحدث الوفاه فى خلال أسبوع وتدخل تحت الأعراض المزمنه أعراض حدوث الطفرات mutagenicity وأعراض السرطان وتظهر أيضاً تقرحات وأورام على الكبد. وفى دول جنوب أفريقيا وحيث يتم استعمال غذاء ملوث بالفطر تزداد حالات سرطان الكبد فمثلاً وجد أن حالات سرطان الكبد فى موزمبيق هى ٥٨ ضعف حالات سرطان الكبد فى الولايات المتحدة. سبب هذا السم بعض الوفيات فى بعض الدول الأفريقية والدول النامية فى أمريكا الجنوبية وآسيا مثل الفلبين. ومن الثابت أنه فى غينيا البريطانيه أن بعض المشعوذين يضعون فول سودانى مصاب بالفطريات فى شراب الأشخاص المحكوم عليهم بالإعدام وذلك لقتلهم بالسموم الفطرية. وفى هذه الدولة قتل أحد رجال الدين بهذه الطريقة سنة ١٩٦٤ وبعد معاناته من آلام كثيرة فى الكبد.

وجد أن جرعه يومية ٠,١٥ ميكروجرام لكل فأر أبيض لمدد طويله تسبب سرطان الكبد. كما وجد أن أقل من ٧ملليجرام أفلاتوكسين لكل كيلوجرام وزن للفأر الأبيض تسبب مرض إلتهاب الكبد للكبد hepatites وقد يعقب ذلك موت الفأر. كما وجد أن امتصاص ٢,٥ ملليجرام أفلاتوكسين على مدى ٨٩ يوم فى جسم الفأر الأبيض سبب حدوث سرطان الكبد.

إزالة السميه فى الغذاء الملوث بالأفلاتوكسين: يوجد لذلك طرق عديدة وأهمها ما يأتى:

١- الفرز لإنتقاء الحبوب السليمه واستبعاد المصابه فمثلاً تكون الحبوب المصابه كثافتها منخفضه وعلى العكس من الحبوب السليمه فكثافتها عاليه. يمكن وضع الحبوب فى محلول ملحى فالحبوب أو البذور الطافيه على سطح الملحول تستبعد.

٢- التجفيف السريع للحبوب والبذور يمنع الفطر.

٣- ظروف التخزين فقد وجد أن ٧٦٪ رطوبة نسبية ودرجة حرارة ١٧°م وتركيز ٢٠٪ك أ٢ أو ٢٥°م وتركيز ٤٠٪ك أ٢ يمنع تكوين السم.

٤- تسخين بذور الفول السودانى على درجة حرارة ١٥٠°م لمدة نصف ساعة يسبب خفض تركيزه الأفلاتوكسين B_1 بنسبة ٨٠٪ وفى B_2 بنسبة ٦٠٪. وفى حالة الدقيق والذى يحتوى على ٠,٢ ملليجرام لكل كيلوجرام دقيق وعند عمل الخبز والتسخين فى الفرن أصبح تركيزه ٠,٠٤٤ ملليجرام لكل كيلوجرام. وهنا يكون للتسخين دور فى ذلك.

٥- إستخلاص الأفلاتوكسين بمذيبات عضويه مثل كحول الأيثيل وذلك أثناء استخلاص الزيوت مثل زيت الفول السودانى أو زيت القطن. وقد وجد أن استخدام كحول الإيثيل فى الاستخلاص من شأنه تقليل تركيز الأفلاتوكسين بدرجة كبيرة تصل إلى ٩٣-٩٦٪ فى بذور القطن و٩٦-٩٨٪ فى بذور الفول السودانى وذلك على درجة حرارة ٢٤°م.

٦- تغير فى تركيب جزيئ الأفلاتوكسين وبذلك يفقد الجزيئ سميته. يحدث ذلك فى الحيوانات المقاومة للأفلاتوكسين. ووجد أن هذه المركبات كثيرة ومنها methylamine و ethanolamine و trimethylamine chloride . ومثال ذلك عندما يحتوى الخبز أو الغذاء على ٤ ملليجرام أفلاتوكسين لكل كيلوجرام وعند ضبط المحتوى المائى عند ١٥٪ وعند معاملته بواسطة methylamine ساخن تركيزه ١,٢٥٪ فإن تركيز الأفلاتوكسين ينخفض إلى ٠,٠٦٥ ملليجرام لكل كيلوجرام.

٧- التحويل الحيوى لتركيب الجزيئ bioconversion . يتم تحويل السم إلى مركب عديم السميه بواسطة كائنات حيه دقيقة أخرى. فقد وجد أن الفطر *Aspergillus niger* أو البكتريا *Flavobacterium aurantiacum* قادرة على تحليل الأفلاتوكسين وتحويله إلى مركب غير سام.

كيفية الإستدلال على وجود الأفلاتوكسين:

يتم أولاً أستخلاص السم من الحبوب أو البذور ثم يتم تنقيته وللتعرف على وجوده بصفه مؤكده يكون ذلك بإستخدام التحليل الكروماتوجرافى الورقى paper chromatography أو التحليل الكروماتوجرافى ذو الطبقة الرقيقة thin layer chromatography .

وللتأكد من سمية الأفلاتوكسين فتجرى إختبارات بيولوجية كثيرة وفيها يستعمل البط الصغير عمره يوم واحد أو فيران بيضاء أو خنازير غينيا ويمكن أيضاً إستعمال بيض الدجاج أو نوع ما يشبه الجمبرى الصغير brine shrimp . وفيما يلى شرح لذلك :

١- إختبار صغار البط عمر يوم واحد one-day-old ducklings test : يتم إدخال السم المستخلص فى معدة البط الصغير بواسطة أنبوبة بلاستيك. ويتم حقن البط يومياً بتركيزات متزايدة. وفى حالة موت البط فى الأسبوع الأول من بداية التجربة فيكون ذلك دليل على التركيز الزائد للسم. وبعد أسبوع يفحص البط وذلك بفحص الكبد للتعرف على مدى وجود بثرات على الكبد hepatoxic lesions وأيضاً حدوث تمدد وتضخم لقنوات المرارة bile ducts . يستخدم البط لأنه شديد الحساسيه للأفلاتوكسين.

٢- إختبار جنين الكتكوت chick embryo test : يستخدم بكثره بعد الإختبار السابق أى فى التفضيل. وفيه يتم حقن مستخلص السم فى كيس الهواء air sac أو كيس المح yolk sac فى بيض دجاج اللجهورن الأبيض. ثم يوضع البيض فى الحضان لمده خمسة أيام. يموت جنين الكتكوت فى مدى يومين فى حالة وجود تركيز مناسب من السم.

٣- إختبار الفيران البيضاء أو خنازير غينيا: يتم حقن المستخلص فى الحيوانات فى البطن فى أماكن معينه ويجب أن يكون القائم بها مدرب على ذلك. تموت الحيوانات فى ظرف أسبوع إلى أسبوعين تبعاً لتركيز السم. وفى الحيوانات التى لم تموت يمكن التأكد من وجود تأثير السم وذلك بفحص الكبد حيث يحدث فيه تضخم وقد تتكون بثرات أو تقرحات.

٤- إختبار يرقات brine shrimp larvae test : يأخذ البيض ويوضع فى حضان درجة حرارته ٢٧°م فيفقس فى أقل من يوم فى ماءِ saline أى saline water . ومن السهل إختيار اليرقات ذات الحيويه العاليه عند تعريض الماء لإضاءة من جانب واحد فتتحرك اليرقات من الظلام إلى الضوء وتأخذ اليرقات ذات الحيويه العاليه. تختار وتنقل من ٣٠-٥٠ يرقه فى ١/٢ مل ماء فى زجاجة ساعه يحتوى على مستخلص السم المختبر. تترك لمدة يوم فى حضان درجة حرارته ٣٧.٥°م. تعد اليرقات الميته وتحسب النسبة المئوية. ومن المعروف أن ١/٢ ميكروجرام من الأفلاتوكسين B_1 لكل مل يسبب ٦٠٪ موت لليرقات. وأن ضعف هذا التركيز يسبب موت ٩٠٪ من اليرقات.

سم زيرالينون Zearalenone

ينتج هذا السم بواسطة عدد من الفطريات وأهمها فطر *Fusarium graminearum* المسبب لمرض الجرب فى القمح. يصيب هذا الفطر كثير من الحبوب فى أثناء النقل والتخزين مثل الذره الشاميه والقمح والأرز ويفرز هذا السم (شكل٤٠) فى الحبوب المصابه. يمكن الحصول على كمية مناسبة من السم عند تنمية الفطر على حبوب ذره شاميه أو أرز تحتوى على ٤٥٪ ماء على درجة حرارة ١٢°م. لاينتج السم على درجة حرارة ٢٥°م. ويختلف تركيز السم الناتج على البيئات الصناعية فى المعمل بإختلاف نوع البيئة. عند حقن السم فى نوعين من الحشرات تعيش على الدقيق وهما *Tribolium confusum* و *Alphitobius diaperinus* فإن هذا السم يظل محتفظ بتركيبه وفاعليته أثناء خطوات التطور المختلفة للحشرة فى أثناء دورة حياتها ولكنه لا يؤثر على البيض الناتج من هذه الحشرات. يظهر المركب فلوره للأشعه فوق البنفسجيه ويعطى لون أزرق. وجد أن هذا السم بتركيزات مناسبه يسبب تنبيه وتنشيط تكوين

الأجسام الثمريه الأسكيه لبعض الفطريات الأسكيه ومنها أيضاً فطر *F. graminearum* والتركيزات العاليه من هذا السم تثبط تكوين هذه الأجسام الثمريه الأسكيه perithecia . يسبب سم زيرالينون حدوث تضخمات فى الجهاز التناسلى للحيوان فقد يتضخم الرحم ويحدث به تقرحات أو ترهلات. كما يحدث ضمور فى المبيض وخصى الذكور الصغيرة فينتج عن ذلك الإجهاض أو العقم.

obeikandl.com

الباب الثامن

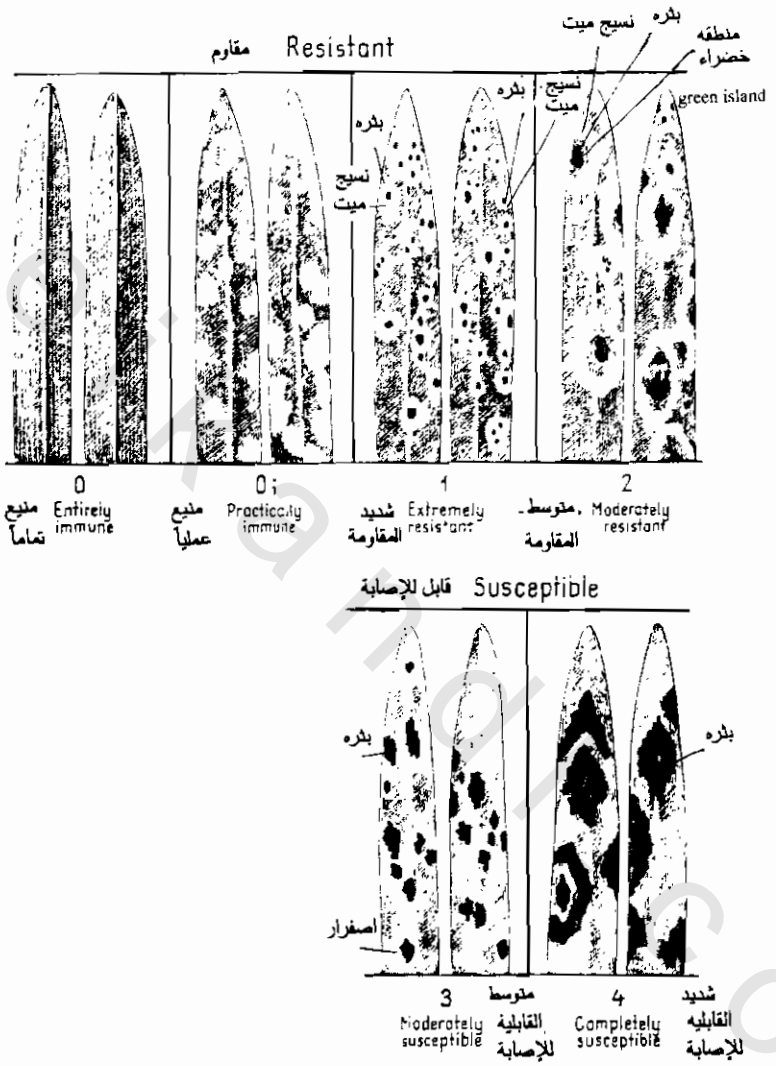
أنواع المقاومة فى النبات

يعتبر إصابة الطفيل للنبات فعل وحيث أن لكل فعل رد فعل فإن رد فعل النبات plant reaction قد يكون قوى ويحد ويمنع من إنتشار الطفيل فى مكان الإصابة ولذلك تصبح الإصابة محدودة ويعتبر النبات مقاوم resistant . أو يكون رد فعل النبات ضعيف ويكون غير قادر على الحد من إنتشار الطفيل وتزداد الإصابة ولذلك يعتبر النبات قابل للإصابة susceptible . تعتبر حالة المقاومة resistance والقابليه للإصابة susceptibility مقياس لرد فعل النبات. إذا كان فعل النبات سريع وقوى وتصبح الإصابة محدوده بدرجة كبيرة يسمى عال أو شديد المقاومة highly resistance واذا كان رد فعل النبات متوسط وتصبح الإصابة محدودة بدرجة متوسطة يسمى النبات متوسط المقاومة moderately resistant .

تعتبر المقاومة صفة من صفات النبات وحيث أن ظهور الصفه هو نتيجة تفاعل بين العوامل الوراثيه والعوامل البيئية. فإنه يمكن أن يكون للبيئة دور كبير فى صفة المقاومة حيث يمكن أن تزيد أو تقلل من المقاومة إلى حد ما. فمن المعروف أن تغذية النبات لها دور هام فى صفة المقاومة فإن التغذية المتزنه للنبات بالعناصر الضروريه يكون لها دور هام فى مقاومة النبات والعكس صحيح فالنبات الضعيف يكون قابل للإصابة عنه فى النبات القوى. يمكن التأثير على صفة المقاومة عن طريق تغذية النبات فمن المعروف أن السماد الأزوتى الزائد يساعد إصابة نبات الكمثرى بمرض اللفحه الناريه وأن التسميد المتوازن بين السماد الأزوتى والسماد البوتاسى يساعد على مقاومة النبات لمرض الذبول.

يذكر أحياناً فى بعض الأمراض أن النبات منيع immune . يعنى ذلك أنه لاتحدث إصابة للنبات أو لايحدث إختراق الطفيل للنبات أو يحدث إختراق فقط ولا يتمكن الطفيل من عمل علاقه بيولوجيه تطفليه مع النبات وبذلك لاتحدث الإصابة ولاتظهر أى أعراض للمرض. تختلف بذلك المناعه immunity عن المقاومة حيث أنه فى المناعه لاتظهر أعراض ولكن فى المقاومة عادة تظهر أعراض ولكن بدرجة محدودة. يعتبر مرض صدأ الساق فى القمح من الأمراض التى يوجد فيها الحالات المختلفه (شكل ٤٥) فيوجد الصنف المنيع حيث لا يظهر على الأوراق أى بقع أو بثرات والصنف شديد المقاومة وتظهر عليه بثرات يوريديه صغيرة الحجم جداً لاتزيد عن رأس الدبوس ومحاطه بمنطقه ذات لون بنى تمثل الأنسجه الميته حول البثره والصنف متوسط المقاومة ويظهر عليه بثرات يوريديه صغيرة أو متوسطة الحجم تحاط بمنطقة باهته حيه من نسيج الورقه chlorosis يحدها من الخارج منطقة من أنسجة ميته وبنية اللون. يتميز الصنف القابل للإصابة بعدم وجود أنسجه ميته تحيط بالبثره ولكن قد تحاط البثره بأنسجه باهتة اللون حيه chlorosis ولذلك فى هذه الحالة يلاحظ وجود بثرات يوريديه متوسطة إلى كبيرة المساحة وقد تحاط بأنسجة باهتة اللون حيه. من ذلك يتضح أن وجود نسيج ميت حول البثره necrosis يدل على أن الصنف مقاوم أما فى الأصناف القابله للإصابة فأنه لايوجد نسيج ميت حول البثره ولكن قد تحاط البثره بنسيج حى باهت اللون chlorosis . ويعتبر ذلك صحيح فى حالة الأصداء حيث أن موت النسيج يحد من إنتشار الفطر. ولكن فى الفطريات غير إجبارية التطفل ليس من الضرورى أن يكون موت الأنسجة دليل على المقاومة.

تحدث المناعه فى الإنسان والحيوانات الثدييه نتيجة لوجود الدم حيث تتكون فى سيرم الدم أجسام مضاده antibodies تتكون من بروتين الجلوبيولين globulin . تهاجم الأجسام المضاده الأجزاء الغريبه الداخله إلى الجسم ومنها الطفيليات وتمنع تأثيرها الضار على جسم الإنسان أو الحيوان. يسمى أى جزء أو تركيب يسبب إنتاج الأجسام المضاده فى دم الإنسان أو الحيوان بألانتجين antigen . يوجد للأنتجن صفات كثيرة ومنها أنه لابد أن يكون غريب عن جسم الإنسان أو الحيوان وعادة يتكون من البروتين وقليلاً ما يتكون من مركبات كربوإيدراتيه عديدة التسكر polysaccharides . ومثال ذلك أنه عند تشريط فيروس الجدرى الواهن فى جسم



(شكل ٤٥) : درجات المقاومه والقابليه للإصابة فى فطر صدأ الساق فى القمح.

الإنسان فإن يعتبر أنتجن ويسبب تكوين أجسام مضادة فى الانسان تهاجم الفيروس وتمنع تأثيره. ولذلك يصبح الإنسان مقاوم لمرض الجدرى عند إصابته بالفيروس العادى القوى لمرض الجدرى حيث أن الأجسام المضادة موجودة فى جسمه وتسمى هذه الحالة بالمناعه المكتسبه acquired immunity . اذا لم يحدث تطعيم الإنسان عن طريق التشريط بهذا الفيروس الواهن فإن الإنسان يصبح قابل للإصابة بالمرض نفس الشئ يحدث فى حالة استعمال مصل شلل الأطفال حيث لابد من اعطاء الأطفال جرعات من هذا المصل على فترات متباعدة حيث يسبب ذلك تكوين أجسام مضادة فى جسم الطفل وهى تهاجم فيروس شلل الأطفال عند إصابة الطفل به. ولذلك فإن الأطفال التى لاتأخذ هذا المصل تصبح عرضه للإصابة بمرض شلل الأطفال. يكون الفيرس فى فاكسين vaccine الجدرى حى واهن وفى شلل الأطفال يكون ميت.

يوجد ما يشابه ذلك فى النبات ولكن يجب ملاحظة أن النبات لايوجد به جهاز دورى يحتوى على الدم كما فى الانسان والحيوان ولذلك فإن لفظ المناعه المستخدم فى أمراض النبات يختلف تماماً عن أمراض الإنسان والحيوان. حيث أن لفظ المناعه يدل على المقاومة العاليه للنبات أو الانسان أو الحيوان ولكن ميكانيكية حدوث ذلك تختلف تماماً فى النبات عنه فى الحيوان والانسان حيث أنه توجد أجسام مضاده فى دم الحيوان أو الانسان أما النبات فلايوجد به أجسام مضاده لأنها تتكون دائماً فى الدم. يوجد ما يشابه المناعه المكتسبه فى النبات فقد وجد أن تلقيح النبات بسلاله ضعيفة من الطفيل يمكن أن تقى النبات من الإصابة بسلالة قويه يوجد أمثله لذلك فى قليل من الفطريات مثل مرض اللفحه المتأخره فى البطاطس وفى البكتريا مرض التدرن التاجى وفى كثير من الفيروسات مثل مرض تبرقش الطاطم. حيث وجد أن تلقيح نباتات الطماطم بسلالة ضعيفه من هذا الفيرس تسبب مقاومة نباتات الطماطم للسلالات القويه من الفيرس cross protection تستعمل هذه الحالة فى نباتات الطماطم فى الزراعه المحميه لمقاومة المرض.

يوجد اصطلاح آخر لايدل على مقاومة النبات للطفيل بل يدل على أن النبات يمكن أن يتأقلم ويتعايش مع الطفيل وبحيث أن يكون ضرر الطفيل على النبات ضعيف أو غير ملموس وبحيث أن إنتاج النبات لا يتأثر كثيراً وهو التحمل tolerance . يعتبر النبات الذى لايتأثر كثيراً

بالطفيل متحمل tolerant . توجد حالة النبات الحامل symptomless carrier وهو النبات الذى يحتوى الطفيل ولايظهر عليه أعراض المرض. يعتبر نبات البطاطا حامل للفطر المسبب لذبول الطماطم والقطن والفاصوليا *Fusarium oxysporum* . توجد هذه الحالة فى الأنسان أيضا.

توجد أنواع عديدة من المقاومة فى النبات يمكن تصنيفها تبعاً لعمر النبات أو تبعاً لعدد أو نوع العوامل الوراثيه الموجودة فى النبات أو تبعاً لطبيعة المقاومة فى النبات طبيعية أو كيموحيويه.

يمكن تصنيف المقاومة تبعاً لعمر النبات إلى مقاومة البادره seedling resistance حيث تختبر المقاومة فى طور البادرة ومقاومة النبات البالغ adult or mature plant resistance حيث تختبر المقاومة أثناء أطوار البلوغ فى النبات مثل مرحلة النمو الخضرى أو مرحلة الأزهار والأثمار. يوجد أمثلة لذلك فى مرض صدأ الساق فى القمح ومرض التفحم فى الذره الشاميه أحياناً لايوجد إرتباط بين مقاومة البادره ومقاومة النبات البالغ بمعنى أنه يمكن أن تكون البادره مقاومة والنبات البالغ قابل للإصابة. أختبر المؤلف هذين النوعين من المقاومة فى مرض الصدأ البرتقالى فى القمح ومرض التفحم فى الذره الشاميه ووجد أن بعض الأصناف أو السلالات تكون مقاومة للمرض دون الأصناف أو السلالات الأخرى.

عند تصنيف المقاومة تبعاً لعدد العوامل الوراثيه فقد تكون المقاومة نتيجة لوجود جين واحد monogenic أى زوج من العوامل الوراثيه كما فى مرض أصفرار الكرنب وقد تكون نتيجة لوجود قليل من العوامل الوراثيه oligogenic أى ثلاثة أزواج من العوامل الوراثيه كما فى مرض اسوداد البصل وقد تكون نتيجة لوجود عدد كبير من العوامل الوراثيه polygenic كما فى مرض أنثراكنوز الفاصوليا.

يمكن تصنيف المقاومة إلى مقاومة مورفولوجيه morphological resistance حيث تتسبب المقاومة عن وجود أجزاء فى الشكل الظاهرى للنبات مسئوله عن المقاومة مثل ضيق فتحة الثغر أو وجود زغب على النبات أو سمك طبقة الكيوتين وإلى مقاومة كيماوية chemical resistance حيث تتسبب المقاومة عن وجود مركبات كيماويه فى النبات سامه للطفيل وإلى مقاومة وظيفية functional resistance حيث تحدث المقاومة نتيجة لتغيرات فى تركيب أجزاء

النبات مثل موعد فتح الثغور فى النبات يمكن أن يكون له دور فى مقاومة مرض صدأ الساق فى القمح.

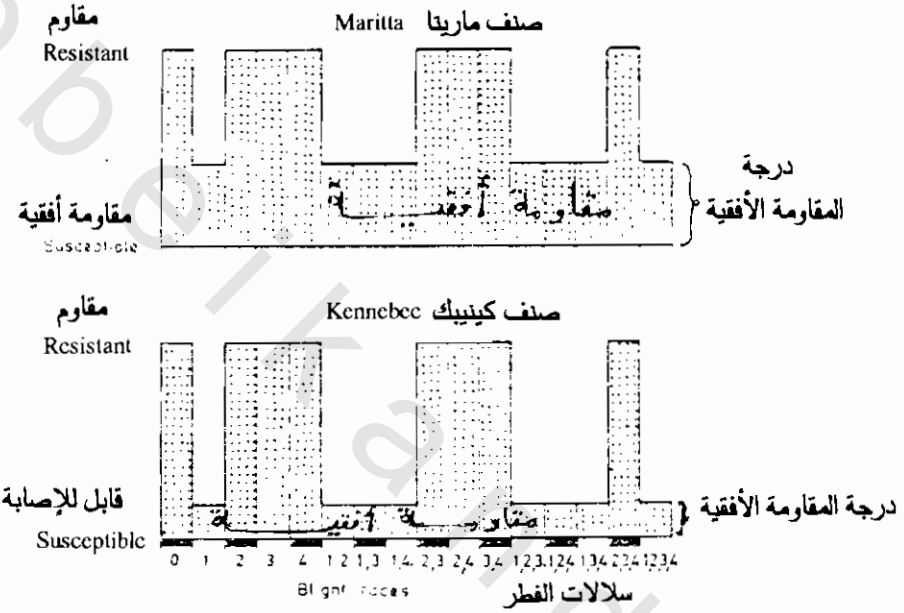
تصنف المقاومة إلى مقاومة ظاهرية apparent resistance وهى مقاومة نتيجة لهروب النبات من الإصابة disease escape حيث تنجو النباتات من الاصابة لعدم توفر الظروف البيئية التى تعمل على حدوث الإصابة ولذلك فإن التبكير أو التأخير فى الزراعة يكون له دور فى مقاومة المرض، ومثال ذلك أن زراعة البصل فى الموعد المناسب حيث درجة حرارة التربة تزيد عن ٢٨°م ينجو من الاصابة من مرض التفحم. ومقاومة حقيقيه true resistance حيث تشمل الحالات التى تعزى فيها المقاومة إلى صفات تركيبيه أو فسيولوجيه أو كيمو حيويه أو وراثيه.

يمكن تصنيف المقاومة إلى مقاومة الحقل field resistance ومقاومة ديميسم demissum resistance وذلك فى مرض اللفحه المتأخرة فى البطاطس. ترجع حالة مقاومة الحقل إلى إلى وجود عديد من minor genes ولذلك تسمى minor gene resistance أومقاومة جزئية partial resistance . ويتميز هذا النوع من المقاومة بأنه مقاوم لجميع سلالات الفطر وتكون المقاومة جزئية حيث أنه فى حالات الإصابة الضعيفة يكون النبات مقاوم ولكن فى حالات الاصابة الشديدة يصبح النبات قابل للإصابة ولمقاومة المرض فى هذه الحالة لابد من رش النبات بالمبيدات الفطرية. يعزى هذا النوع من المقاومة إلى بطء اختراق الطفيل لأنسجة النبات وبطء فى تكوين البقع وضعف تجرثم الطفيل وجميع هذه العوامل تسبب ظهور صفة مقاومة الحقل. مصدر هذا النوع من المقاومة هو نوع البطاطس *Solanum tuberosum* وأنواع أخرى بريه منها النوع *Solanum andigenum* . أما فى حالة مقاومة *demissum* فإنها تكون مقاومة كاملة لبعض السلالات من الفطر دون السلالات الأخرى. وفى هذه الحالة تكون المقاومة كاملة ولاتحتاج إلى الرش بالمبيدات. يتحكم فى هذه المقاومة العوامل الوراثيه R وهى تسمى R. genes . تختلف طبيعة المقاومة فى هذه الحالة عن الحالة السابقة حيث أن المقاومة فى هذه الحالة نتيجة للحساسيه الزائدة للنبات والتى ينتج عنها موت سريع لأنسجة النبات فى مكان الإصابة وبذلك تصبح الإصابة محدودة والنبات مقاوم. مصدر هذا النوع من المقاومة فى أنواع بريه من البطاطس منها النوع *Solanum demissum* . توجد عدد من العوامل الوراثية فى هذه الحالة وهى R_4 و R_3 و R_2 و R_1 .

يوجد نوعين هامين من المقاومة وهما المقاومة الأفقيه horizontal resistance والمقاومة الرأسية vertical resistance . تعتبر المقاومة الأفقية هى مقاومة جزئية حيث أنها تكون مقاومة عامه لجميع أو معظم سلالات الفطر ولكنها غير شديدة حيث أنه فى حالات الإصابة الضعيفة يظهر النبات مقاوم ولكن فى حالات الإصابة الشديدة يصبح النبات قابل للإصابة ويلزم فى هذه الحالة رش النباتات بالمبيدات الفطريه لمقاومة المرض. أما عن المقاومة الرأسيه فإنها تكون لبعض سلالات الطفيل دون سلالات أخرى وتكون كاملة أى النبات يكون مقاوم لسلالة أو سلالات معينة من الطفيل حتى فى أقصى درجات من شدة الإصابة وبالطبع لا يحتاج إلى مقاومة كيماويه رشاً بالمبيدات الفطريه. توجد هذه الحالة فى بعض الأمراض مثل صدأ الساق فى القمح واللفحه المتأخرة فى البطاطس. يتضح مما سبق أن مقاومة الحقل فى مرض اللفحه هى المقاومة الأفقيه ومقاومة *demissum* هى المقاومة الرأسية ومن أمثلة أصناف البطاطس التى يوجد فيها هذين النوعين من المقاومة Maritta و Kennebec أما الصنف Capella يوجد فيه المقاومة الأفقية فقط. يلاحظ أن المقاومة الرأسية متماثلة فى الصنفين ماريتا وكينيبك ولكن المقاومة الأفقية فى الصنف ماريتا أعلى منها فى الصنف كينيبك (شكل ٤٦). أما فى مرض صدأ الساق فى القمح فتسمى المقاومة الأفقية أيضاً بالمقاومة العامة generalized resistance وتسمى المقاومة الرأسية بالمقاومة المتخصصةspecific resistance . يوجد الآن إهتمام لدراسة هذين النوعين من المقاومة وخاصة عند دراسة الأوبئة النباتية حيث أن هذين النوعين من المقاومة لهما دور كبير فى مقاومة الأوبئة النباتية.

المقاومة التركيبية والمقاومة الكيموحيوية

يمكن تقسيم أنواع المقاومة فى النبات إلى نوعين رئيسيين وهما المقاومة التركيبية والمقاومة الكيموحيوية. تعتبر المقاومة نتيجة لوجود تراكيب معينة فى النبات تساعد على منع أو تقليل الإصابة بالطفيل بأنها مقاومة تركيبية structural resistance . تعتبر المقاومة نتيجة لوجود مركبات كيماويه تمنع أو تقلل من إصابة النبات بأنها مقاومة كيوحيوية biochemical resistance . وفى كل نوع من هاتين المقاومتين يوجد مقاومة طبيعية natural resistance ومقاومة مكتسبة acquired resistance . فى حالة المقاومة الطبيعية



(شكل ٤٦) : المقاومة الرأسية والمقاومة الأفقية
المقاومة الرأسية متماثله فى الصنفين ماريتا وكينيبك ولنفس سلالات الفطر ولكن المقاومة الأفقية أعلى وأشد فى الصنف ماريتا عنها فى الصنف كينيبك.

يوجد فى النبات تراكيب أو مركبات كيماوية طبيعية موجودة فى النبات السليم وتقلل أو تقاوم الإصابة. أما فى حالة المقاومة المكتسبة فإنه يتكون فى النبات فى أثناء الإصابة تركيبات معينة أو مركبات كيماويه خاصة نتيجة للإصابة وفى منطقة قريبة منها. تسمى المقاومة الطبيعية بالمقاومة السلبية static or passive resistance بينما تسمى المقاومه المكتسبه بالمقاومة الإيجابية dynamic or active resistance .

المقاومة التركيبية

ومنها المقاومة الطبيعية والمقاومة المكتسبة

أولاً : المقاومه الطبيعية :

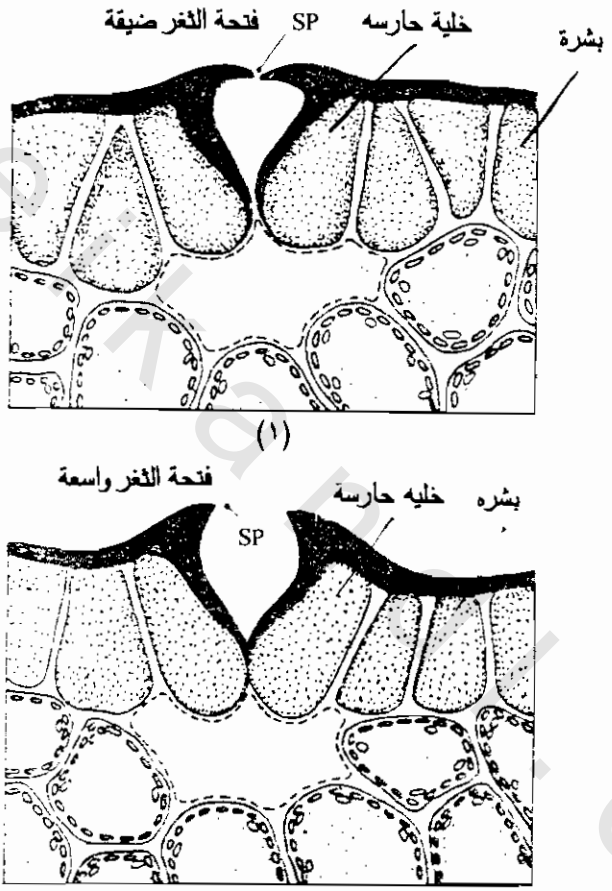
حيث توجد أنسجة أو تراكيب فى النبات تسبب المقاومة ومنها حالات كثيرة منها ما يأتى:

١ـ موعد فتح الثغور: يعتبر موعد فتح الثغور له دور فى مقاومة بعض الأمراض ومثال ذلك مرض صدأ الساق فى القمح. حيث أن أول صنف قمح اكتشفت فيه صفة المقاومة لهذا المرض الخطير وكان له دور كبير فى الحد من خطورة هذا المرض هو الصنف Hope . ترجع المقاومة فى هذا الصنف إلى تأخر موعد فتح الثغور فى الصباح. لكى تحدث الإصابة فى هذا المرض لابد من توافر الماء الحر فى أثناء إنبات الجراثيم اليوريديه للفطر حيث أنها لا تنبت إلا فى وجود الماء الحر. نتيجة لإنبات هذه الجراثيم يتم إختراق الثغر المفتوح بواسطة أنبوبة إنبات الجرثومه. تعتبر فترة الصباح أفضل الفترات لذلك حيث توجد قطرات الندى. أما فى حالة الأصناف المقاومة فإن الثغور تفتح متأخراً فى أثناء النهار وحيث يحدث تبخر للماء الحر أو الندى نتيجة لأشعة الشمس. نتيجة لعدم توفر الماء الحر فإن أنابيب الإنبات الجرثوميه تموت ولايحدث إختراق للثغر بواسطة الفطر ويظل النبات سليم ومقاوم.

٢ـ اتساع فتحة الثغر: يمكن أن تكون ضيق فتحة الثغر من أسباب المقاومة فى النبات. يعتبر مرض تقرح الموالح المتسبب عن البكتريا *Xanthomonas citri* من أمثلة هذه الحالة. حى وجد أن صنف اليوسفى Szinkum مقاوم لهذا المرض حيث يوجد نتوء من طبقة الكيوتيكل يمتد فى فتحة الثغر وبذلك يقلل من إتساعها ويحد من دخول الطفيل أما الأصناف القابلة للإصابة فلايوجد هذا النتوء من الكيوتيكل ولذا تكون فتحة الثغر متسعة (شكل ٤٧) .

٣ـ كفاءة فتح الثغور: يصاب نبات بنجر السكر بالفطر *Cercospora beticola* مسبب مرض تبقع الأوراق السركسبورى فى البنجر وذلك فى الأوراق المكتملة النمو والتكوين ولاتصاب الأوراق الصغيرة أو كبيرة السن. وجد أن كفاءة فتح الثغور فى الأوراق الصغيرة والكبيرة السن غير نشطه وغير تامه. وحيث أن الإصابة بهذا الفطر تحدث عن طريق الثغور المفتوحه

ولذلك يتضح سبب مقاومة الأوراق الصغيرة والكبيرة السن. ويعرف هذا النوع من المقاومة بإسم الهروب من الإصابة أو المرض disease escape .



(شكل ٤٧) : صنف يوسفى مقاوم حيث أن فتحة الثغر ضيقة (١) وآخر قابل للإصابة حيث أن فتحة الثغر واسعة (٢) .

٤ ـ سمك طبقة الكيوتيكل: زيادة سمك الأديم يكون له دور فى مقاومة بعض الأمراض ومثال ذلك مرض صدأ الكتان والبياض الدقيقى فى الشليك فكلما زاد سمك طبقة الكيوتيكل كلما زادت مقاومة النبات. وجد أن غياب الشمع المختلط مع الكيوتين فى الأديم قد يكون سبب فى ضعف مقاومة النبات ويصبح النبات قابل للإصابة كما فى مرض الصدأ الأبيض فى كرنب بروكسل.

٥ ـ سمك وصلابة الجدار الخارجى لخلايا البشره: كلما زاد سمك وصلابة الجدار الخارجى للبشرة كلما زادت المقاومة فى بعض الحالات. وجود اللجنين فى الجدار الخارجى لخلايا البشره فى نبات الأرز يحد من الإصابة بمرض اللفحه. وجد أيضاً أن الطفيل يخترق خلايا الحركة motor cells فى أوراق النبات التى تتكون جدرها من البكتين فقط مع عدم وجود اللجنين عنه فى الخلايا الملجننه.

٦ ـ سمك طبقة الأكسودرمس: تحاط الجذور بطبقة من الأكسودرمس وهى عبارة عن خلايا مغلظه بمادة السيوبرين. تقوم هذه الطبقة بعمل غلاف واقى للجذر ويحميه من كثير من أمراض الجذور. كلما زاد سمك هذه الطبقة كلما إزدادت فاعليتها فى المقاومة كما فى مرض الذبول المتأخر فى الذره الشاميه.

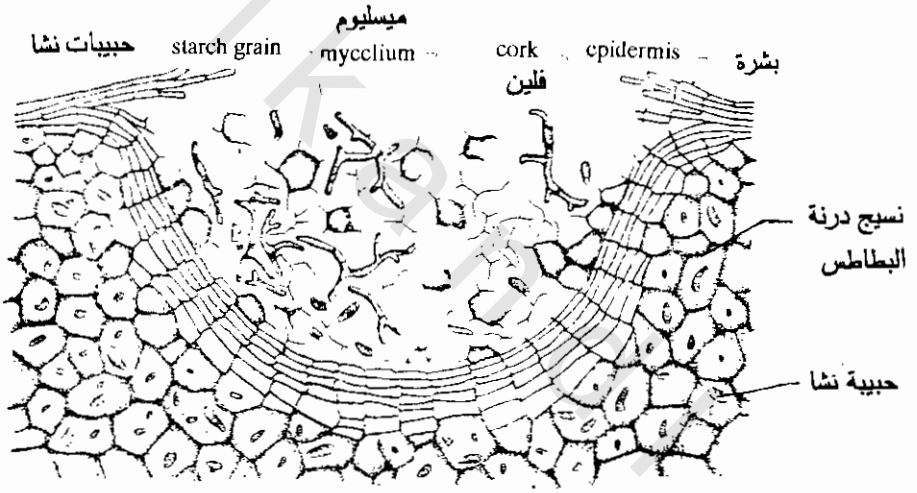
٧ ـ كمية الخلايا الأسكلارنشيميه: كلما زادت كمية الخلايا الأسكلارنشيميه الموجوده فى ساق النبات كلما زادت مقاومة النبات كما فى بعض أمراض أصداء القمح.

٨ ـ زوائد البشره والشعيرات: وجود زوائد البشره أو الشعيرات قد يكون له دور فى مقاومة النبات. وجد أن أصناف البطاطس أو الطماطم والتى تتميز بوجود شعيرات كثيفة على الأوراق والمجموع الخضرى عامة تكون أكثر مقاومة عن الأصناف قليلة الشعيرات وذلك فى حالة مرض اللفحه المتأخرة.

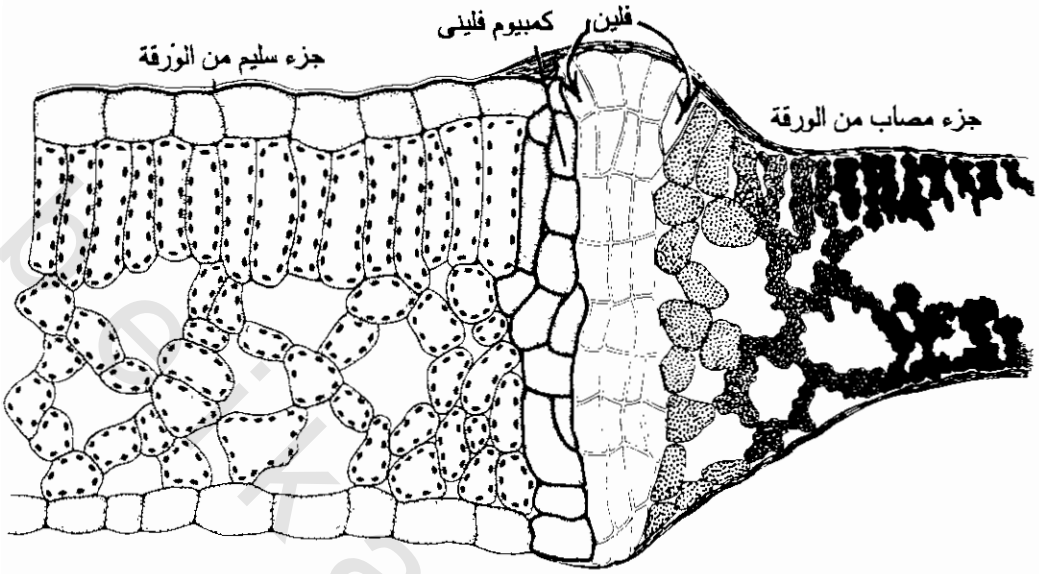
ثانياً : المقاومة المكتسبة :

حيث تتكون أنسجة أو إفرازات نتيجة للإصابة ومنها حالات عديدة كما يلى:

١- تكوين نسيج من الفلين: يتكون نسيج من الفلين يحيط بالطفيل فى مكان الإصابة ويحد بذلك من نشاط وإنتشار الطفيل داخل النبات ويصبح النبات مقاوم كما فى مرض الجرب العادى ومرض القشرة السوداء فى البطاطس (شكل ٤٨) قد يحدث تكوين الفلين فى الأوراق (شكل ٤٩) .



(شكل ٤٨) : قطاع عرضى فى جزء من درنة بطاطس يوضح تكوين طبقة من نسيج الفلين لمقاومة الفطر المسبب لمرض القشره السوداء فى البطاطس.



(شكل ٤٩) : قطاع عرضى فى جزء من ورقة نبات مصابة بأحد الطفيليات توضح تكوين منطقة عازله من نسيج الفلين بين الجزء المريض والجزء السليم من الورقة وبذلك تحد من نشاط الطفيل فى الجزء المريض.

ان عدوى النبات بالفطريات أو البكتيريا أو حتى بعض الفيروسات والنيماتودا عادة ما تؤدى إلى تكوين طبقة من الخلايا الفلينية تحت وحول منطقة الاصابة قد يكون ذلك راجع الى تنشيط خلايا العائل بمواد أفرزها الطفيل. وتكوين طبقة الفلين شائع حول مناطق العدوى فى السيقان والجذور والثمار الصغيرة وهذه الطبقة المتكونة لاتعمل فقط على الحد من إنتشار الطفيل بل أيضاً تمنع تسرب أى سموم قد يفرزها الطفيل إلى مناطق أخرى أبعد من مكان الإصابة كما أنها لا تسمح بمرور الماء والمواد الغذائية من الأنسجة السليمة إلى المناطق المصابة حيث يوجد الطفيل وبالتالى يتوقف إنتشار الطفيل من موضع الإصابة وقد يموت. تتميز خلايا الفلين بأنها غير منفذه للماء والأملاح والمركبات العضوية وأيضاً الغازات ولذلك فإنها تحاصر الطفيل وتمنع عنه الغذاء وتقى الأنسجة السليمة من سموم الطفيل.

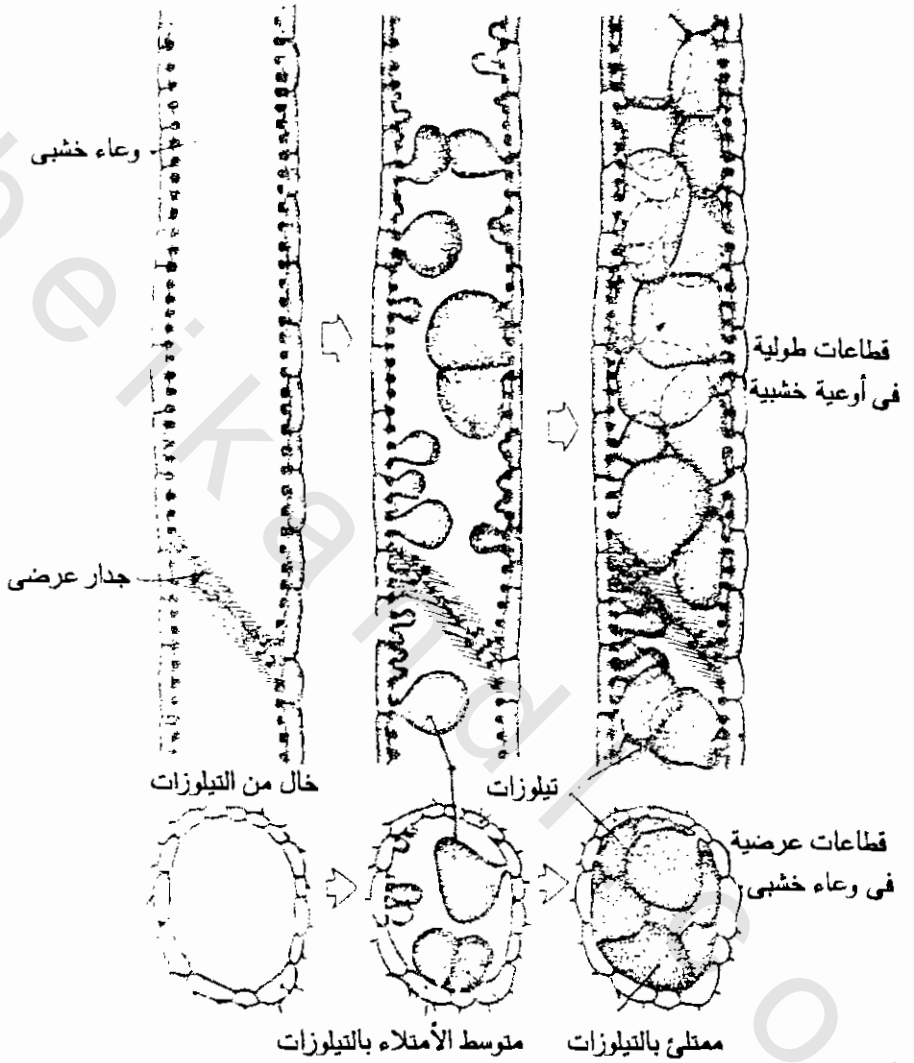
٢- التيلوزات tyloses: تتكون التيلوزات فى داخل الأوعيه الخشبية وهى عبارة إنتفاخات نتيجة تمدد غشاء الخلايا البارنشيميه المجاورة للوعاء الخشبى وذلك عبر النقر ويصبح جدار التيلوزسيليلوزى. سرعة تكوين وكمية التيلوزات المتكونه أساس المقاومة. تكوين كميات كبيرة من التيلوزات وبسرعة تسد الوعاء الخشبى نسبياً وتمنع إنتشار الطفيل داخل هذه الأوعية ويصبح مقاوم كما فى مرض ذبول البطاطا ومرض ذبول الطماطم (شكل ٥٠) . والعكس صحيح فى حالة تكوين كميات قليلة من التيلوزات وببطء فإن الطفيل ينتشر ويصبح النبات قابل للإصابة.

٣- تكوين طبقة إنفصال abscission layer: أثناء حدوث الاصابة فى الأوراق يتكون حول مكان الإصابة خلايا ذات جدار رقيق ويحدث تحليل للمركبات البكتينية المكونه للصفيحه الوسطى والتى تلحم الخلايا ببعضها وينتج عن ذلك طبقة إنفصال. تحيط طبقة الإنفصال بالجزء المصاب ويسقط تاركاً ثقب فى الورقه وبذلك يتخلص النبات من الأجزاء المصابه كما فى مرض تثقيب الأوراق فى الحلويات. يتكون فى منطقة الإنفصال أنسجة ملجننة (شكل ٥١).

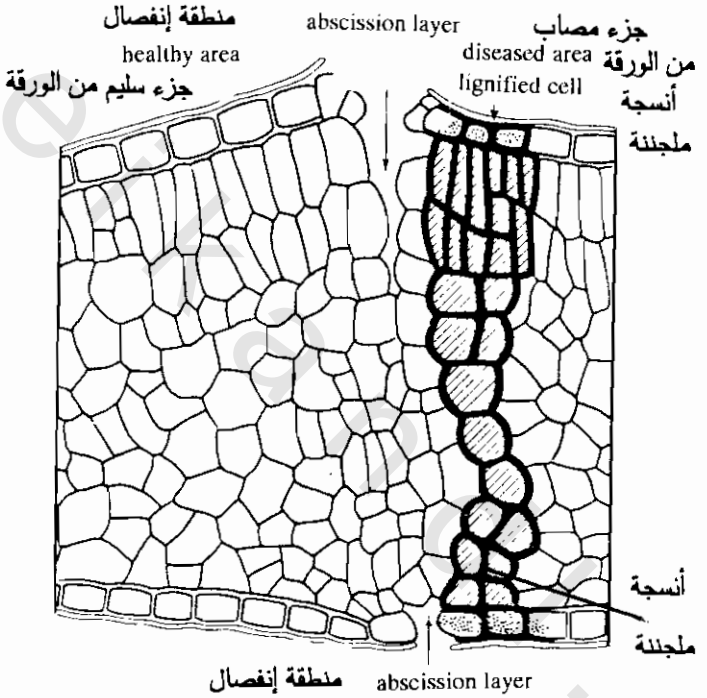
٤- ترسيب الصموغ gum deposition : يحدث ترسيب للصموغ حول المنطقة المصابه وبذلك تمنع إنتشار الطفيل داخل أنسجة النبات وذلك كما فى مرض البقعة البنيه فى الأرز. يتميز صنف الأرز Shoemed بمقاومته العاليه للمرض نتيجة لترسيب الصموغ وأيضاً أفرع نبات التفاح فى الأصناف المقاومة لمرض تقرح أفرع التفاح (شكل ٥٢).

دور الصموغ كوسائل دفاعية حيث تترسب بسرعة فى المسافات بين الخلايا وبداخل الخلايا المحيطة بمنطقة الإصابة وبذلك تعمل كحاجز غير منفذ لايخترقه الطفيل. ويصبح الطفيل محاصر ولايصل إليه الغذاء وفى النهاية يموت.

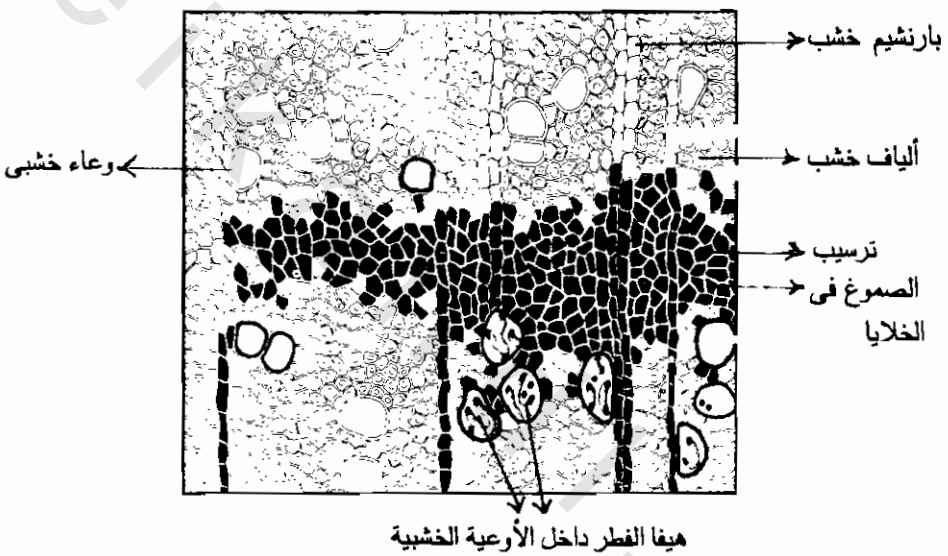
٥- تغليف الهيفا sheathing of hypha : يحدث فى بعض الحالات أثناء إختراق الهيفا للخلية فإن جدار الخليه يتمدد ويحيط بالهيفا ويكون حولها غلاف وبذلك يمنع إنتشار الطفيل داخل الخلية. غير معروف بالضبط المركبات التى تدخل فى تركيب الغلاف ومنها السيليلوز والكالوس. أحياناً يتكون الغلاف من السيتوبلازم وليست من الجدار الخلوى. أحياناً يتكون اللجنين ويحيط بالهيفا أثناء إختراقها للخلية (شكل ٥٣).



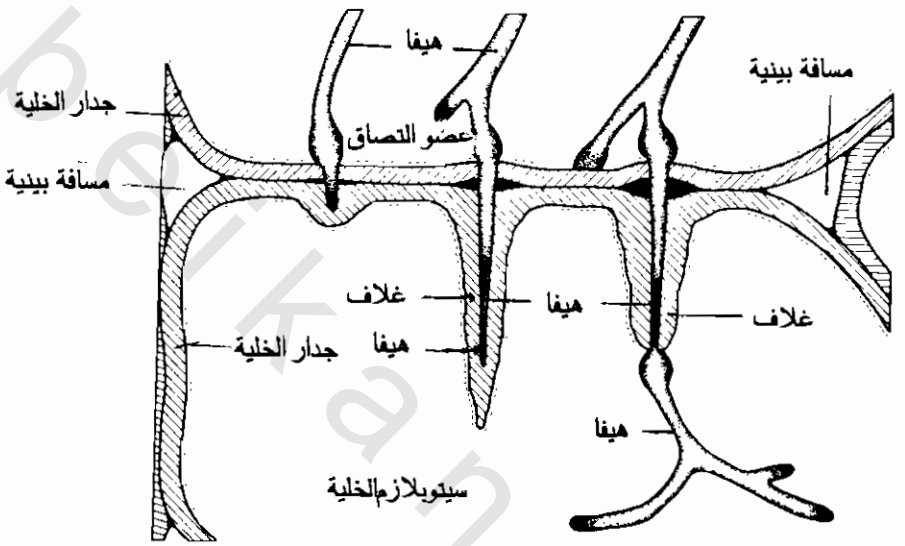
(شكل ٥٠) : قطاعات طولية وعرضيه فى أوعية خشبية توضح تكوين التيلوزات فيها وذلك فى نبات البطاطا.



(شكل ٥١) : جزء من قطاع عرضى فى ورقة برقوق يوضح تكوين خلايا وأنسجة ملجننة تحيط بالأنسجة المصابة وينتج عن ذلك منطقة إنفصال تسبب إنفصال الجزء المصاب عن السليم وذلك كما فى مرض تثقيب الحلويات.



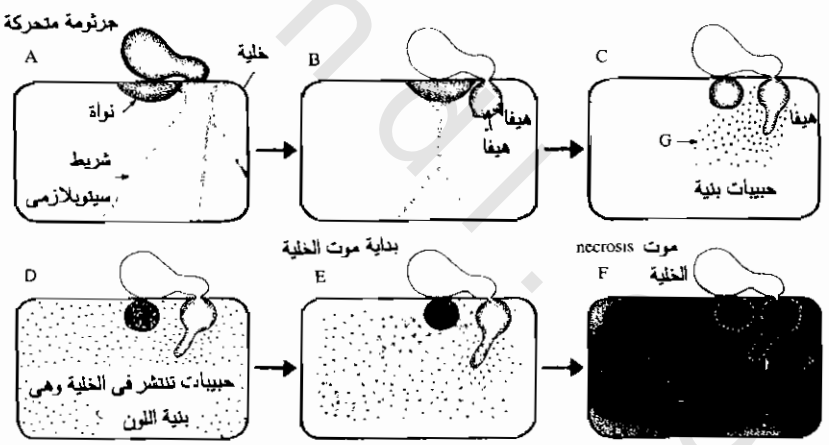
(شكل ٥٢) : قطاع عرضى فى ساق نبات التفاح يوضح تكوين الصموغ فى الخلايا لمقاومة الفطر المسبب لمرض تقرح أفرع التفاح *Physalospora cydoniae* .



(شكل ٥٣) : قطاع عرضى فى خلية نباتية يوضح إختراق هيفا الفطر لها وتكوين الغلاف.

٦- مقاومة سيتوبلازمية : فى حالة الفطريات ضعيفة التطفل يحيط السيتوبلازم بالهيفا وتتمدد النواة وتنقسم إلى نواتين. ولذلك فإنه بعد أن يتمكن الطفيل من اختراقه للموانع الخارجية ويصل إلى داخل الخلية فإن سيتوبلازم الخلية يتفاعل بطرق عديدة قد تجعل منه خطاً دفاعياً ثانياً ضد تقدم الطفيل. فعندما تهاجم الخلايا تتضخم أنويتها ويزداد حجم السيتوبلازم ويصبح السيتوبلازم حبيبى كثيف وتظهر فيه حبيبات وتكوينات مختلفة. وفى النهاية يعقب ذلك تحلل ميسليوم الفطر وتتوف الإصابة.

٧ـ موت الأنسجة أى الحساسيه المفرطه hypersensitivity : فى بعض الحالات وبعد إختراق هيفا الطفيل جدار الخليه وعندما تلامس البروتوبلاست فإن النواه تنتقل مباشرة إلى الهيفا ثم تتحلل. ثم تتكون حبيبات بنيه شبه راتنجية resinlike فى السيتوبلازم حول هيفا الطفيل ثم تعم جميع سيتوبلازم الخليه. وبزيادة واستمرار تلون سيتوبلازم الخليه باللون البنى وتبدأ الخليه فى الموت تبدأ أيضاً هيفا الطفيل فى الضعف والتحلل. وغالباً لاتنتشر الهيفا خارج هذه الخليه وتموت وبالتالى يتوقف إنتشار الطفيل داخل خلايا جديدة للنبات. ومثال ذلك مقاومة نبات البطاطس لمرض اللفحه المتأخرة (شكل ٥٤).



(شكل ٥٤) : خطوات حدوث موت الخلية necrotic defense reaction أى الحساسيه المفرطه hypersensitivity فى خلية نبات بطاطس مقاوم لفطر اللفحه المتأخرة.

وفى حالة إصابة الأوراق بالبكتريا فإنه ينتج عن الحساسيه المفرطه فساد جميع أغشية الخلية الملامسه للخليه البكتيريه ويتبع ذلك جفاف وموت خلايا وأنسجة الورقة.

تعتبر موت الأنسجة والحساسية المفرطة شائعة الحدوث وخاصة فى الفطريات إجبارية التطفل وأيضاً فى الفيروسات وديدان النيماتود. يعتقد أن الأنسجة الميتة تفصل الطفيل الإجبارى عن الأنسجة السليمة وبذلك يتوقف مد الطفيل بالغذاء اللازم وينتج عن ذلك ضعفه ثم موته. كلما زادت سرعة موت الخلايا والأنسجة كلما كان ذلك دليل على أن النبات أو الصنف عال أو شديد المقاومة.

المقاومة الكيموحيوية

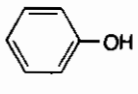
وهى مقاومة تحدث نتيجة لوجود أو تكون مركبات كيماويه ومنها نوعان مقاومه طبيعيه ومقاومه مكتسبه.

أولاً : المقاومة الطبيعية :

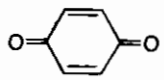
حيث توجد مركبات كيماويه فى النبات تقلل أو تمنع إصابته.

١- مركبات موجوده فى طبقة الكيوتيكل: وجود حامض سيليسيك silicic فى أديم بشره نبات الأرز يعطى النبات مقاومة. عند إستعمال صنفين متساويين فى سمك الأديم أحدهما يحتوى على حامض سيليسيك والآخر لايحتوى على هذا الحامض فأن الأول يكون مقاوم وذلك كما فى مرض اللفحه فى الأرز.

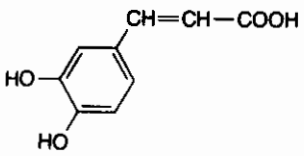
٢- إفراز مركبات سامه: وجد فى كثير من الحالات أن الأجزاء المختلفة من النبات مثل الأوراق أو السيقان أو الجذورأو الأبصال تفرز على سطحها إفرازات تحتوى على مركبات كيماويه كثيره ومختلفه ويمكن أن يكون بعض هذه المركبات سام للطفيل وبذلك يمنع إنبات جراثيمه أو يحد من نموه أو يقتله. ومن أمثلة الأبصال حالة مرض الأسوداد فى البصلonion smudge المتسبب عن الفطر *Colletotrichum ciricnans* . تعتبر الأبصال الملونه الحمراء مقاومة للمرض حيث أن الأوراق الحمراء تفرز خلاياها على السطح بعض المركبات الفينوليه التى تمنع إنبات جراثيم الفطر وهذه المركبات منها كاتيكول catechol وحامضprotocatechuic. بينما الأبصال الغير ملونه قابلة للإصابة لعدم قدرتها على تخليق هذه المركبات (شكل ٥٥).



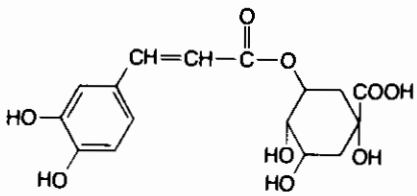
Phenol



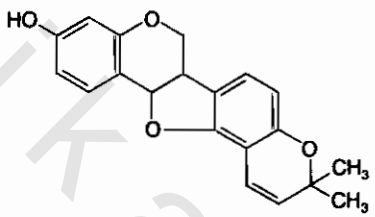
Quinone



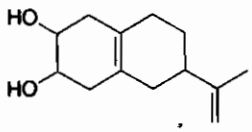
Caffeic acid



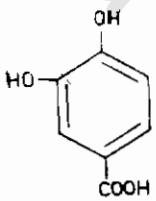
Chlorogenic acid



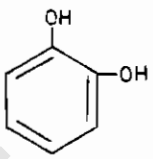
Phaseolin



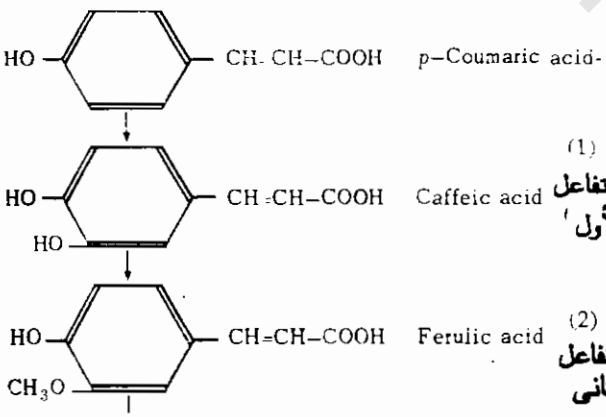
Rishitin



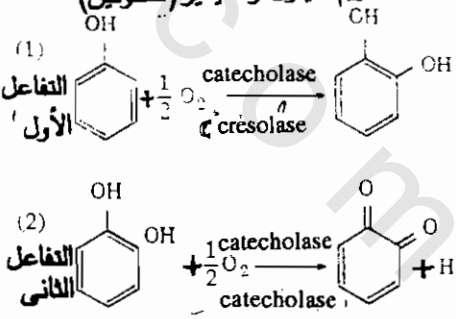
Protocatechuic acid



Catechol



نشاط أنزيم الفينول أوكسيديز (خطوتين)



(شكل ٥٥) : مركبات لها دور فى مقاومة النبات ونشاط أنزيم الفينول أوكسيديز.

ومن أمثلة الجذور حالة مرض الذبول فى الكتان حيث تفرز جذور النبات المقاوم مركبات ينتج عنها غاز حامض الإيدروسيانيك H C N فى التربة أو مشتقاته. يتخلل هذا الغاز الشديد السميه التربه حول الجذور ويقتل الفطر المسبب. أما الأصناف الغيرمقاومة من الكتان فإنه لا يتكون من المركبات المفرزه من الجذور هذا الحامض وتصبح قابلة للإصابة بجراثيم الفطر. حيث تصيب أنبوبة الأنبات الجرثوميه جذور النبات عن طريق إختراقها للشعيرات الجذريه ثم تنمو هيفات الفطر داخل خلية الشعيرة الجذرية ومنها تغزو الجذر.

٣- مركبات سامه موجوده داخل خلايا النبات: يكون النبات مركبات سامه للطفيليات وبذلك يصبح مقاوم ومن أكثر هذه المركبات شيوعاً المركبات الفينوليه. تتكون المركبات الفينوليه من حلقة بنزين على الأقل وعليها مجموعة أيدروكسيد أو أكثر. وجد أن أصناف البطاطس التى تحتوى على تركيز عال نسبياً من المركب الفينولى حامض كلوروجينك chlorogenic acid فى درناتها تكون مقاومة لمرض الجرب العادى والعكس صحيح. نفس الحالة توجد فى مرض اللفحة فى الأرز.

يمكن أن يكون لنشاط الأنزيمات دور فى المقاومة حيث أنها تحلل مركبات غير سامه إلى مركبات سامه للطفيل ومثال ذلك حالة مرض اللفحه النارية فى الكمثرى. يوجد أربيوتين arbutin فى أشجار الكمثرى ومنتشر بالتساوى فى الأنسجة المختلفة وهذا المركب فينولى وغير سام. تكون أشجار الكمثرى طبيعياً إنزيم بيتاجلوكوسيديز B-glucosidase والذى يحلل أربيوتين إلى جلوكوز ومركب آخر مضاد للطفيليات antimicrobial يسمى شبه الكينون semiquinone . يعتبر المركب الأخير سام للبكتريا المسببه لمرض اللفحه النارية. يوجد بعض أجزاء من شجرة الكمثرى تكون مقاومة وأجزاء أخرى فى نفس الشجرة قابلة للإصابة بشدة مثل الغدد الرحيقيه ويعلل ذلك بأن هذا الأنزيم عال فى الأجزاء المقاومة والعكس صحيح حيث أن نشاطه منخفض فى أنسجة الغدد الرحيقيه.

يكون أيضاً النبات مركبات الأسيترولات sterols وهى مركبات حلقيه تتكون من أربعة حلقات. يمكن لبعض منها أن يكون له دور فى مقاومة الطفيليات مثل ألفاسولانين &-solanin وألفاشاكونين &-chaconine والتى توجد فى قشرة درنات البطاطس وتسبب تثبيط نمو

الفطر *Helminthosporium carbonum* . يوجد مركب آخر وهو توماتين tomatine يوجد فى نباتات العائلة الباذنجانية وسام لبعض أنواع فطر *Septoria* . تؤثر مركبات الأسيترولات السامه على الغشاء البلازمى للفطريات وتسبب إختلال فى نفاذية الفطر ويؤدى ذلك إلى موته.

يكون لأنزيم فينول أوكسيديز نوعين من التفاعلات. التفاعل الأول يتم تحويل الفينول وحيد الإيدروكسيد monophenol إلى فينول ثنائى الإيدروكسيد أى أورثوداى فينول O-diphenol وذلك فى وجود الأوكسجين ويسمى هذا التفاعل cresolase activity وفى التفاعل الثانى يتم تحويل (شكل ٥٥) مركب أورثوداى فينول إلى كينون وذلك فى وجود الأوكسجين ويسمى هذا التفاعل catecholase activity ويتم خروج الماء. يتم حدوث هذين التفاعلين سوياً وفى آن واحد. يتم تثبيط هذين التفاعلين وبنفس الدرجة بواسطة مركبات خالبة أى ترتبط بالمعادن metal-binding reagents . ويتأثر كلا التفاعلين بوجود أيون النحاس فى الوسط حيث تزداد سرعة التفاعل بزيادة تركيز النحاس. يتوقف نشاط الأنزيم تماماً فى عدم وجود أيون النحاس وعند اضافة النحاس يستعيد الأنزيم نشاطه. تعتبر مركبات الكينون quinone أشد ضرراً على الفطريات من كثير من المركبات الفينوليه. ويعتبر تكوين الكينونات من المركبات الفينوليه أحد التفاعلات الهامة والتى تسبب مقاومة بعض النباتات لبعض الأمراض وحيث أن الكينونات سامه للإنسان فإن هذه النباتات التى لها هذه الميكانيكية من المقاومة يمكن أن تحتوى على تركيزات عالية نسبياً من الكينونات وبذلك قد تصبح ضاره للإنسان فقد تؤثر تأثير ضار على صحة الإنسان.

يمكن أن يكون لأنزيم فينول أوكسيديز phenol oxidase دور فى مقاومة الأمراض حيث أن هذا الأنزيم يقوم بتحويل المركبات الفينوليه إلى مركبات الكينون quinone وهذه المركبات الأخيرة يمكن أن تكون فى بعض الحالات أكثر سميه من الفينولات. يتميز مركب الكينون بأنه يتكون من حلقة بنزين على الأقل وعليها ذرة أوكسجين مرتبطه بالحلقه برابطة مزدوجة. وجد أن مركب مثبط لأنزيم الفينول أوكسيديز خفض التأثير السام لمركب الكاتيكول على الفطر *Cochliobolus miyabeanus* المسبب لمرض لفحة الأوراق فى الأرز. يعتقد أن ذلك راجع لمنع تحول الكاتيكول إلى مركب الكينون الأكثر سميه.

يوجد كثيرمن المركبات الفينوليه لها دور فى مقاومة النبات وأهمها حامض الكافيكcaffeic acid وحامض فريولك ferulic acid وحامض كلوروجينك (شكل ٥٥) chlorogenic acid والفلورتين phloretin .

يعتبر أنزيم phenylalanine ammonia lyase من الأنزيمات الهامه فى هذه الحالة حيث أنه يحول الحامض الأمينى فينيل ألانين إلى حامض سيناميك cinnamic acid ويعتبر هذا الحامض هو مركب أساسى تتكون منه كثير من المركبات الفينولية مثل حامض الكافيك وحامض كوماريك والتى لها دور فى مقاومه النبات. أنزيم tyrosine ammonialyase له نفس الدور (شكل٥٦).

يوجد مركبات أخرى فى النبات يكون لها دور فى مقاومة الأمراض حيث تتجمع فى أماكن الإصابة وحولها لتحد من إنتشار الطفيل مثل بعض مركبات الأنثوسيانين anthocyanins والأحماض الأمينيه العطريه aromatic amino acids ومشتقات مركب كومارين coumarin .

٤- غياب بعض المركبات اللازمة للطفيل: يمد النبات الطفيل بجميع المركبات اللازمة له والغير قادر على تخليقها وفى حالة غياب أحد هذه المركبات من النبات فأن الطفيل لاينمو ويصبح النبات مقاوم. وجد بعض سلالات من الفطر *Venturia inaequalis* غير قادرة على تخليق فيتامين الكولين والريبوفلافين. عند تعذر حصول هذه السلالات لهذين المركبين من النبات المصاب فيتوقف نمو الطفيل ويصبح النبات مقاوم لمرض الجرب فى التفاح.

يمكن أيضاً أن يكون تركيز المركبات له دور فى ذلك فقد وجد أن أشجار البرقوق والخوخ القابلة للإصابة بالفطر *Stereum purpureum* المسبب لمرض الورقه الفضيه تحتوى عصارة نسيج الخشب فيها على تركيز عال من النيتروجين والموادالكربوايدراتيه عنه فى حالة الأصناف المقاومة.

٥- درجة حموضة خلايا النبات: يمكن أن يكون لدرجة حموضة الخلايا دورفى مقاومة المرض. وجد المؤلف أن الثمار الغير ناضجة فى العنب تكون مقاومة لمرض العفن الرمادى المتسبب عن الفطر *Botrytis cinerea* أما الثمار الناضجة فإنها تصاب بشدة. يرجع ذلك إلى أن الثمار الغير ناضجة ذات حموضة عاليه نسبياً ورقمها الإيدروجينى من pH ٢,٤ - ٢,٦ وهذا لايلائم نمو الفطر المسبب للمرض.

٦- الضغط الأسموزى لخلايا النبات: عادة يكون الضغط الأسموزى للفطريات الممرضة أعلى من الضغط الأسموزى للنبات ليسهل على الطفيل أخذ الماء من العائل. وجد أن خلايا

الأصناف المقاومة من الخس لمرض البياض الدقيقى ذات ضغط أسموزى عال والعكس صحيح فى الأصناف القابلة للإصابة.

٧- نوع البروتين الموجود فى النبات: تعتبر نظرية الجين للجين gene for gene theory من أفضل الأمثلة لذلك.

وقد اقترح هذه النظرية فلور Flor عام ١٩٥٥، وقد افترض فيها أن الطفيل وعائله قد تطورا معاً فأصبح كل جين فى التركيب الوراثى للطفيل المعين، خاص بقدرة الطفيل على إحداث المرض، يقابله جين مناظر فى تركيب النبات العائل يعمل على إظهار رد فعل من قبل النبات العائل ضد الفعل الممرض للطفيل. وحيث أن قدرة الطفيل الممرضة يتحكم فيها عدد من الجينات، لذلك افترض فلور أن الجينات المناظرة لها، التى توجد فى تركيب النبات العائل تشترك جميعها فى صفة مقاومة العائل إزاء هذا الطفيل. وقياساً على ذلك علل فلور سلوك الأصناف المختلفة من الكتان إزاء السلالات المختلفة من الفطر المسبب للصدأ، ميلا مبسورا لينى *Melampsora lini* على أن وجود أنتجينات الجلوبيولين فى بعض الأصناف يجعلها قابلة للإصابة، فى حين أن عدم وجود هذه الأنتيجينات فى أصناف أخرى يجعلها مقاومة للإصابة، أصبحت هذه النظرية صحيحه فى بعض الأمراض.

٨- اللكتينز lectins : هى عبارة عن مركبات بروتينيه مرتبطه بالسكريات أو جليكوبروتين glycoprotein فى النبات لها دور فى مقاومة الأمراض كما فى مرض اللفحه المتأخرة فى البطاطس والطماطم. أحياناً توجد مكونات من جدار خلية الفطر تسمى elicitors وقد تتكون من glycans أو glycoproteins وعند إرتباطها باللكتينز تخلق الفيتوألكسينات وتحدث موت سريع للخلايا نتيجة للحساسية المفرطة hypersensitive response .

ثانياً : المقاومة المكتسبة :

يحدث هذا النوع من المقاومة حيث تتكون مركبات كيماويه نتيجة لحدوث الإصابة..

١- مركبات الفيتوألكسينات phytoalexins : عبارة عن مركبات يكونها النبات نتيجة للإصابة بالطفيليات وقد تتكون نتيجة للضغوط أو العوامل الغير طبيعية التى يتعرض لها

النبات. تعتبر كثير من هذه المركبات (شكل ٥٥) من المركبات الفينوليه مثل البساتين pisatin في البسله والفاسيولين phaseolin في الفاصوليا وريشتين rishitin في البطاطس والبعض الآخر غير فينولى مثل wyerone acid في الفول. يرجع أهمية هذه المركبات أنها سامه للفطريات fungitoxic وبذلك يمكن أن تسبب مقاومة النبات.

عند إختبار أصناف من البسلة قابلة للإصابة بسلاله واحدة من الفطر *Ascochyta pisi* المسبب لمرض لفحة الأسكوكيتا فى البسله. وجد أن كمية البساتين pisatin المتكونه تختلف بإختلاف الصنف فوجدت فى بعض الأصناف بتركيز عال وفى البعض الآخر بتركيزات منخفضة أو متوسطة. وعند إختبار عديد من سلالات الفطر على صنف واحد من البسله اتضح أيضاً إختلاف فى تركيز البساتين المتكون تبعاً لنوع السلاله.

وجد أن الأصناف المقاومة من البسله تنتج كمية عاليه من البساتين والعكس صحيح فى الأصناف القابلة للإصابة. كما وجد أن السلالات من الفطر القويه فى اصابتها يقابلها تركيز منخفض من البساتين فى النبات العائل والعكس صحيح فى سلالات الفطر الضعيفة حيث ينتج النبات العائل كمية عاليه من البساتين. يمكن تبعاً لذلك تعليل المقاومة فى النبات بأن الفطر ينشط النبات لتخليق تركيزات عاليه نسبياً من الفيتوألكسين قادرة على تثبيط الفطر والعكس صحيح فى حالة القابلية للإصابة حيث لا يتكون الفيتوألكسين أو يتكون بتركيزات منخفضة غير مؤثره على الفطر.

وجد فى بعض الحالات أن اتحاد lectins مع elicitors يكون له دور فى تخليق الفيتوألكسينات. وجد أن عزل elicitors وهى عبارة عن مكونات فى الجدار الخلوى للفطريات وعند ارتباطها باللكتينز يكون لها دور فى تخليق الفيتوألكسينات. أمكن عزل elicitors من الجدار الخلوى لفطر *Phytophthora infestans* وفطر *Cladosporium fulvum* والفطر الأخير مسبب لمرض تصويف الأوراق فى الطماطم. وجد أن elicitor فى *Cladosporium* عبارة عن glycoprotein وحيث أن lectius شائعة الوجود طبيعيا فى النبات فعند إضافته لخلايا الطماطم تنتج الفيتوألكسين rishitin وعند إضافته لخلايا البسلة تنتج البساتين pisatin وعند إضافته لخلايا الفاصوليا تنتج الفاسيولين phaseolin . حيث يحدث إرتباط بين elicitor وlectins

على سطح النبات ويتكون الفيتوألكسينات ويحدث حاله حساسيه مفرطه hypersensitive response حيث يحدث موت سريع لخلايا النبات العائل تحد من إصابة وإنتشار الطفيل.

٢- تخليق بروتينات وأنزيمات: يمكن أن يتكون نتيجة للإصابة بروتينات فى النبات يكون لها دور فى مقاومة النبات. من المعروف أن جزء كبير من تركيب الأنزيم يتكون من بروتين. وأن بعض الأنزيمات لها مشابهات كثيره isoenzymes مثل إنزيم البيروكسيديز peroxidase . تعرف مشابهات الأنزيم بأنها تقوم بنفس تفاعل الأنزيم ولكنها تختلف فى الوزن الجزيئى وعدد ونوع الشحنات للبروتين. وجد المؤلف والمتينى أن الإصابة تزيد من عدد مشابهات أنزيم البيروكسيديز فى حالة مرض التفحم العادى فى الذره الشاميه ومرض الذبول الطرى وسقوط البادرات فى الفاصوليا. علاوة على ذلك وجد المؤلف والمتينى أن مشابهات أنزيم البيروكسيديز لها دور فى مقاومة مرض الصدأ البرتقالى فى القمح حيث أن المقاومة مرتبطة بوجود أحد مشابهات الأنزيم. يمكن فصل مشابهات الأنزيم والتعرف عليها وذلك بواسطة الهجره فى وسط غروى فى مجال كهربائى electrophoresis .

٣- تكوين مركبات تثبيط عمل أنزيمات الطفيل: يمكن أن تتكون مركبات فى العائل تثبط عمل إنزيمات الطفيل. حيث وجد أن ثمار التفاح المصابه بالفطر *Sclerotinia fructigena* المسبب لمرض العفن البنى والتى يمكنها أن تقاوم الفطر يحدث بها أكسده للمركبات الفينوليه. ينتج عن الأكسدة مركبات تثبط عمل الأنزيمات المحلله للمركبات البكتينيه والتى تسبب حدوث المرض. وجد أن المركبات الفينوليه الموجوده فى عصارة النبات للصنف المقاوم لا تؤثر على نمو الفطر ولكنها تثبط أنزيم polygalacturonase . لايحدث فى النبات أو الصنف القابل للإصابة هذه الحالة. تسبب هذه الأنزيمات فصل الخلايا عن بعضها وحدوث عفن طرى.

٤- تكوين مركبات تقاوم فعل الأنزيم: يمكن أن تتكون مركبات فى النبات العائل معقدة التركيب يصعب على الأنزيمات تحليلها. حيث يتكون فى ثمار التفاح الصغيرة الخضراء المصابه مركبات معقده تتكون من بروتينات متحده مع مركبات بكتينيه وكاتيونات عديدة التكافؤ مثل الكالسيوم pectin-protein-polyvalent cation وتصبح هذه الثمار مقاومة لكثير من الفطريات حيث لايمكن للأنزيمات المحلله للمركبات البكتينيه تحليل هذه المركبات. يوجد

نفس الحاله عند إصابة الفاصوليا بفطر *Rhizoctonia* ففى الأصناف المقاومة يتكون مركب بكتينى عديد الكالسيوم يصعب تحليله بأنزيمات الفطر فلايحدث المرض نتيجة لتوقف عمل هذه الأنزيمات. فى الأصناف القابلة للإصابة يحدث العكس.

٥- معادلة سموم الطفيل : يمكن للنبات أن يعادل أو يبطل تأثير سموم الطفيل detoxification. وجد فى نباتات الطماطم والقطن المقاومة لمرض الذبول أنه يمكنها معادلة تأثير سم حامض الفيوزارك fusaric acid بسرعة نسبياً حيث يتكون مركب غير سام وهو N-methylfusaric acid amide . يوجد حالة أخرى فى مرض اللفحه فى الأرز حيث يعادل النبات المقاوم التأثير السام لكلا من piricularin و picolinic المفرزان بواسطة الفطر. حيث يتحول جزء كبير من picolinic acid إلى مركبين غير سامين وهما picolinic acid methyl ester و N-methyl picolinic. يمكن أن يؤكسد النبات المقاوم المركبات الفينوليه مثل حامض الكلورجينك chlorogenic أو حامض فريولك ferulic وهذه تعادل سمية البيريكيولارين piricularin.

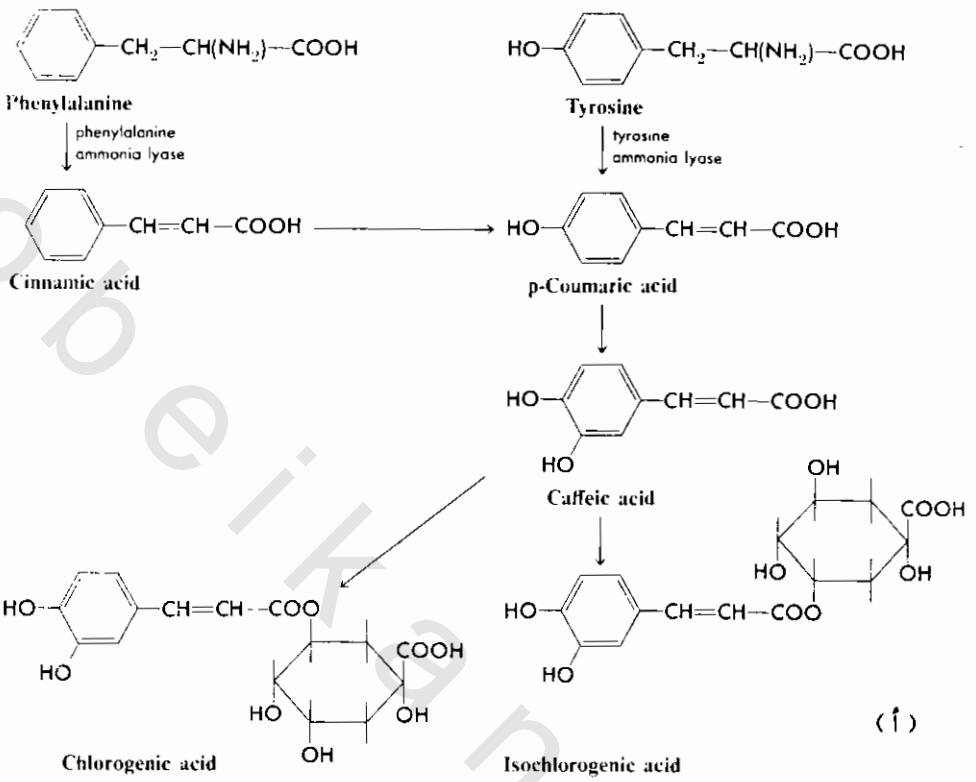
٦- حساسية النبات للطفيل: فى بعض الحالات عند حدوث الإصابة تموت بسرعة خلايا النبات المحيطه بالطفيل hypersensitive reaction وتمنع إنتشاره فى النبات ويصبح النبات مقاوم نتيجة لحساسيته المفرطه للإصابة. يكون العكس صحيح فى النباتات القابلة للإصابة حيث لايتمتع النبات بالحساسيه المذكورة ولا تموت الخلايا حول الطفيل نتيجة للإصابة. يوجد أمثلة كثيرة لذلك منها مرض صدأ الساق فى القمح ومرض اللفحه المتأخره فى البطاطس والطماطم. تفسير حالة الحساسيه الزائدة للنبات أنها نتيجة لإختلال فى عمليات الأكسدة والإختزال فى خلايا النبات العائل ينتج عنها زيادة كبيرة فى أكسدة المركبات الفينوليه وينتج عن المركبات الفينوليه المؤكسده الزائدة إختلال فى تركيب الخليه ثم موتها.

وجد فى بعض الحالات أن اتحاد lectins مع elicitors يكون لها دور فى تخليق الفيتوألكسينات وحدوث hypersensitive response كما فى مرض اللفحه المتأخره فى البطاطس والطماطم. وجد المؤلف أن قرون الفاصوليا يمكن أن تظهر حالة الحساسية المفرطه عند إصابتها بسلالات ضعيفة للفطر *Botrytis cinerea* .

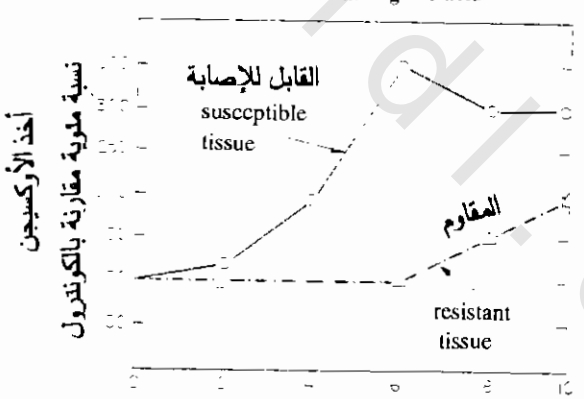
التنفس ومقاومة النبات

تعتبر العلاقة بين سرعة التنفس فى النبات والمقاومة غير ثابتة. ولكن عادة وليست فى جميع الحالات تزداد سرعة التنفس فى النبات المقاوم أثناء الإصابة عنه فى النبات القابل للإصابة. وجد أيضاً أن معاملة النبات بالمركبات المخدرة narcotics والتى تقلل من سرعة التنفس تقلل من درجة مقاومة النبات وتجعله أكثر قابلية للإصابة. يعتقد أن سرعة أخذ الأكسجين من الجو وزيادة سرعة التنفس لها دور فى مقاومة النبات. وجد أيضاً أنه فى حالات تفاعلات الحساسيه المفرطه hypersensitive reactions زيادة فى أخذ الأكسجين من الجو ويعتقد أن ذلك لازم لأكسدة المركبات الفينوليه الموجودة فى النبات وهى أيضاً لازمة لنشاط أنزيم الفينول أوكسيديز. وجد فى صدأ القمح أن الصنف المقاوم تزداد فيه سرعة التنفس بسرعة ثم تقل بسرعة بينما الصنف القابل للإصابة تزداد فيه سرعة التنفس تدريجياً وذلك فى حالة حدوث إصابة. نفس الحالة توجد فى أصناف البطاطس المقاومة والقابلة للإصابة فى حالة مرض اللفحه المتأخرة وأيضاً أصناف الفول السودانى فى حالة مرض تيكا.

ومن الحالات العكسية زيادة سرعة التنفس فى النبات المصاب عنه فى النبات المقاوم كما فى مرض ذبول التبغ المتسبب عن البكتريا *Pseudomonas solanacearum* (شكل ٥٦).



(أ)



(ب)

(شكل ٥٦) : (أ) تحول التيروسين والفينيل ألانين إلى مركبات فينوليه نتيجة إصابة الجذور الدرنيه للبطاطا بواسطة فطر والتى تصبح مقاومه نتيجة لذلك.

(ب) سرعة التنفس فى صنف مقاوم وهو Coker 139 وصنف قابل للإصابة وهوBottom Special لمرض الذبول فى التبغ.

الباب التاسع

نشوء سلالات الطفيليات الممرضة للنبات

يعتبر نشوء السلالات الجديدة فى الطفيليات ذات أهمية كبيرة فى أمراض النبات. يمكن أن تتكون سلالات جديدة من الطفيل تكون أكثر قدرة على إصابة النبات وبالتالى يمكن أن تصيب النباتات المقاومة. وهكذا يصبح النبات المقاوم قابل للإصابة ويفقد أهميته.

يعرف الطرز biotype بأنه مجموعة من الوحدات متماثلة وراثياً فى تركيبها ومثال ذلك النسل الناتج من جرثومة يوريديه فى فطريات الأصداء أو من جرثومه أو من خليه بكتيريه واحدة.

تعتبر السلاله race أو strain عبارة عن طرز أو مجموعة من الطرز متشابهه وراثياً إلى حد كبير.

تعرف السلاله الفسيولوجيه physiologic race بأنها عبارة عن طرز أو مجموعة من الطرز متشابهة وراثياً ولايمكن تمييز سلاله فسيولوجيه عن أخرى عن طريق الشكل الظاهرى ولكن الطريقه الوحيده لتعريف السلاله عن طريق إصابة أصناف من النبات العائل دون أصناف أخرى. ولذلك يكون تعريف السلالات وتمييزها عن بعضها نتيجة لإختلافها فى إصابة أصناف من العائل. تسمى أصناف النبات العائل التى تستخدم فى تعريف السلالات الفسيولوجيه بالأصناف المفرقه differential varietes . يوجد لذلك أمثلة كثيرة كما فى السلالات الفسيولوجيه لفطريات الأصداء والتفحم والبياض الدقيقى والذبول.

تعرف الفورمه الخاصه forma specialis بأنها سلاله أو مجموعة من السلالات تشترك فى صفة خاصة وهى إصابتها لعائل دون عوائل أخرى وتكون هى الطريقة الوحيدة لتعريف الفورمة الخاصة. يوجد أمثلة فى بعض الفطريات مثل فطر*Puccinia graminis* المسبب لصدأ النجيليات وفطر *Fusarium oxysporum* المسبب لمرض الذبول. فى حالة الفورمه التى تصيب القمح تسمى *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* ولاتصيب الزمير أو بوا. وفى حالة الفورمة التى تصيب الزمير ولاتصيب القمح أوبوا *P. g.* f. sp. *avenae* . وفى حالة الفورمة التى تصيب بوا ولاتصيب القمح أو الزمير *P. g.* f. sp. *poae* .

يوجد فى داخل كل فورمة خاصة عادة سلالات فسيولوجية كما فى أصداء القمح والبياض الدقيقى فى القمح والشعير. يوجد لجميع السلالات الفسيولوجية للطفيليات النباتيه جداول خاصة معترف بها عالمياً وتتداول فى جميع أنحاء العالم للتعرف على هذه السلالات. يحتوى الجدول على الأصناف المفرقه من النبات العائل ورقم السلاله الفسيولوجيه ونوع التفاعل بين السلاله والصنف المفرق من حيث المقاومة أو القابلية للإصابة. وفيما يلى الجدول الخاص بفورمة خاصة للفطر*Puccinia recondita* f. sp. *tritici* المسبب لمرض الصدأ البرتقالى أى صدأ الورقة فى القمح. يشمل الجدول ثمانية أصناف مفرقة وخمسة عشر سلاله فسيولوجيه للفطر (شكل ٥٧أ) يرمز الحرف R إلى المقاومة resistance ويرمز الحرف S إلى القابلية للإصابة susceptibility . تسمى السلاله القادرة على الإصابة virulent والغير قادرة على الإصابة avirulent .

صنف القمح / رقم السلاله	Malakoff	Carina	Brevit	Webster	Loros	Mediter-ranean	Hussar	Demòcrat
1	R	R	R	R	R	R	R	R
2	R	R	R	R	R	S	S	S
3	R	R	R	R	I	S	R	S
4	R	S	S	R	S	S	R	R
5	S	R	R	R	R	S	R	S
6	S	R	S	R	S	S	S	S
7	S	R	R	S	R	S	R	S
8	S	R	S	S	S	S	R	R
9	S	R	R	S	S	R	R	R
10	S	S	S	S	S	R	R	R
11	R	R	S	R	S	R	R	R
12	R	S	S	R	S	S	S	S
13	S	S	R	S	S	R	S	R
14	R	R	S	R	S	R	S	R
15	R	R	R	R	R	S	R	S

(شكل ٥٧ أ) : جزء من الجدول اللازم للتعرف على سلالات فطر صدأ القمح البرتقالى (صدأ الورقة).

وأيضاً جزء من الجدول الخاص بالتعرف على سلالات فطر صدأ الساق فى القمح (شكل ٥٧ب).

obeikandl.com

سلالة	صنف القمح من الأصناف المفرقة											
الفطر	Little Club	Marquis	Reliance	Kota	Arnautka	Mindum	Spelmar	Kubanka	Acme	Einkorn	Vernal	Khapli
1	4	4 –	0	3+	1=	1	1=	3+	3+ +	3	0;	1=
2	4	2=	2=	2=	1	1	1=	1+	3+ +	3+	1 –	0;
3	4	4	4=	3 +	1=	1=	1 -	1+	3+ +	3+	1=	0;
4	4+	2 -	1	2=	4=	3+	3+ +	2	3+ +	3+ +	1=	1=
5	4	4	0;	3	4=	3+ +	3+ +	1+ +	3+	3	0;	0;
6	4	2	1 =	0;	3+	2=	2=	1	3+	3	0;	0;
7	4	2=	3+	1=	1=	1+ +	1	1	3+ +	3 -	1	1 –
8	4	4	0;	4 -	4=	3+ +	4=	0;	3	3	4	0;
9	4	4	0	3+ +	4	4=	4=	4=	3+ +	3+	4±	1 –
10	4+	2 –	3+ +	2	4	4	4	3+ +	4 -	3+	1=	1=
11	4	4=	3+ +	3+	4=	4=	4=	3+ +	3+ +	3	1=	1=
12	4+	4	4=	3+	4=	1	1+ +	1+ +	3+ +	3+ +	1=	0;
13	4	4 –	3+ +	3+ +	4=	3+ +	3+ +	2 -	3+ +	3	1	1=
14	4+	2 -	1	1+ +	3+ +	3+ +	3+ +	3+ +	3+ +	3	1=	0;
15	4	4	4=	3+ +	4=	4=	4=	3+ +	3+ +	3+ +	4±	1=
16	4	2=	0	1	3+ +	3+	3+ +	3+	4=	1=	1=	1
17	4	4	0;	3+	4=	4=	4=	3+ +	3+ +	3	1=	1=
18	4	4 -	4=	3+ +	1	1=	1 -	3+ +	3+ +	3+	1 –	1±
19	4	2	0;	3	4=	4=	4=	3+ +	3+ +	3	0;	1=
20	4	4=	4=	4=	1+ +	1 –	1+ +	3+ +	1+ +	3+	1=	1 -
21	4	4	0	3+ +	4 –	4 –	4 -	4=	3+ +	1=	0;	1=
22	4+	4+	4	3	1	4	4 -	0;	3+	3	1 –	0;
23	4	2	1	1=	1	1=	1 -	3+	3+ +	3	0;	0;
24	4	4 –	0;	2=	4=	4=	4=	3+ +	3+	3+	1=	0;
25	4	4	3+	3	1 -	3	1=	3	3+ +	3	1=	1
26	4	4	0;	3	4 -	1=	3+ +	1=	4=	3	1 -	1+
27	4=	2	0	0;	1=	1	1 -	4=	3+ +	1=	4±	1+ +
28	4	2	0;	3	4 –	1	4=	3	3	3	1=	0;
29	4	4	0	3	X+ +	X±	X+	X	X+	3	1 –	1 -
30	4	4	0;	3+ +	X+ +	X±	X+	X±	X+ +	3+	4=	1

(شكل ٥٧ ب) : جدول يوضح إستخدام الأصناف المفرقة من القمح للتعرف على سلالات فطر صدأ الساق الأسود فى القمح.

0 أو 0.; = منيع 1= عال أو شديد المقاومة

2= متوسط المقاومة 3= قابل للإصابة 4= شديد القابلية للإصابة

+ أو + = الحاله وسطيه بين الرقم والذى يسبقه.

ـ أو ـ = الحاله وسطيه بين الرقم والذى يليه.

الطرق المختلفة لتغيير التركيب الوراثى للطفيليات

تحدث تغييرات فى التركيب الوراثى لكثير من الطفيليات. تختلف الطرق التى تحدث بها التغيير فى التركيب الوراثى بإختلاف الطفيل. يحدث فى الفطريات تغيير فى التركيب الوراثى بطرق مختلفة عنه فى الفيروسات والبكتريا. يوجد أيضاً للبكتريا طرق خاصة بها. تعتبر الطفرات احدى الطرق التى توجد فى جميع الطفيليات الممرضه للنبات مثل الفطريات والبكتريا والفيرس والميكوبلازما والريكتسيا والنباتات الزهريه المتطفله.

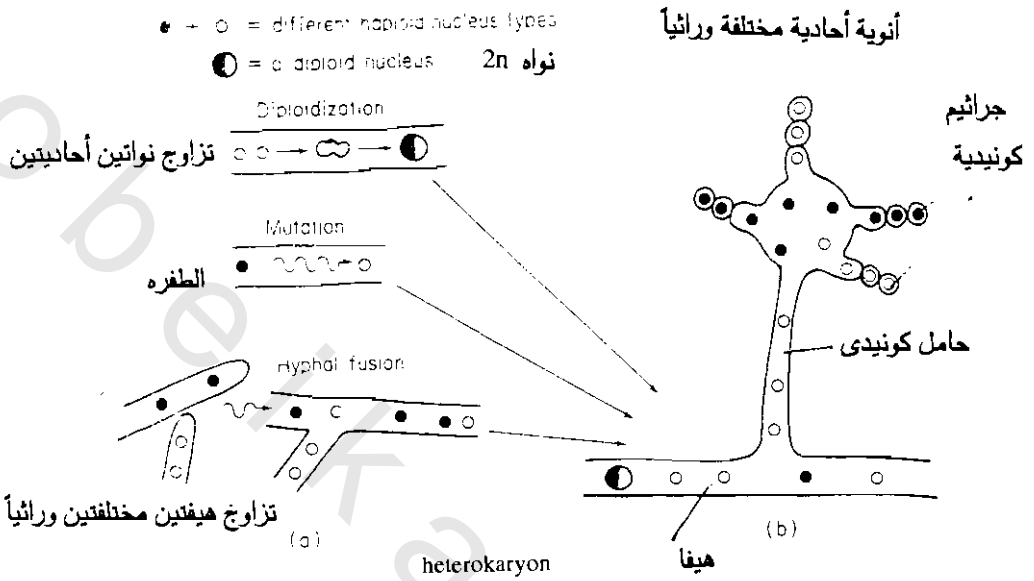
أولاً : الفطريات

توجد طرق كثيرة يمكن أن تغير من التركيب الوراثى للفطريات وقد ينشأ عنها سلالات جديدة ومنها ما يأتى:

١ـ ظاهرة إختلاف الأنويه Heterokaryosis : هى عبارة عن وجود نواتين أو أكثر مختلفة وراثياً فى نفس الهيفا أو نفس الجرثومة. توجد نواه فى خلية ونواه أخرى مختلفة فى خليه أخرى فى نفس الهيفا أو توجد فى نفس الخلية أكثر من نواه.

تحدث هذه الظاهرة باحدى ثلاث طرق رئيسية وهى حدوث تزاوج بين أنبوتين انبات جرثوميه مختلفتين وراثياً أو بين هيفتين مختلفتين وراثياً anastomosis . وفى الطريقة الثانيه حدوث طفره فى نواه أو أكثر فى الهيفا. وفى الطريقة الثالثة حدوث تزاوج بين أنوية أحاديه haploid لتتكون نواه ثنائيه diploid (شكل ٥٨). لاحظ المؤلف الطريقة الأولى فى فطر *Botrytis cinerea* المسبب لمرض التبقع البنى فى الفول ومرض العفن الرمادى فى كثير من الخضر والفاكهة والزهور.

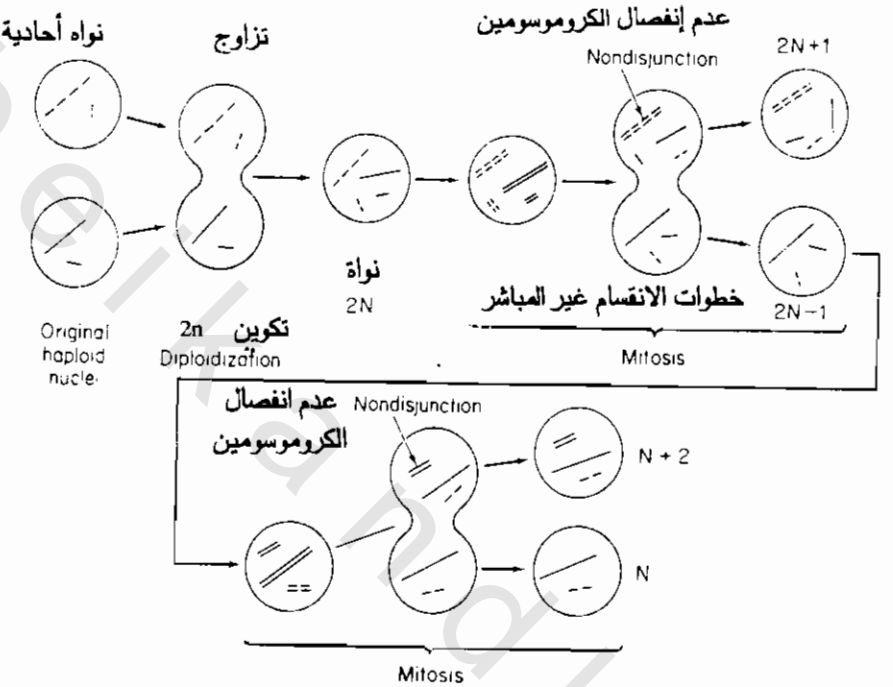
وجد أن تزاوج هيفى فى حالة الجراثيم الكونيديه للفطر المسبب لمرض الذبول فى البسله *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi* ينتج عنها سلالات من الفطر شديدة القدرة على الاصابة وذلك بالمقارنة بالسلالات الأصليه. يحدث أيضاً تزاوج بين أنابيب الانبات للجراثيم اليوريديه لفطر صدأ الساق فى القمح على سطح العائل وينتج عنه ميسليوم مختلف الأنويه heterokaryon أحياناً يكون شديد فى قدرته على الاصابة.



(شكل ٥٨) : الحالات المختلفة لتكوين الميسليوم heterokaryon

٢- الوراثه السيتوبلازميه Heteroplasmons : يكون الاختلاف فى هذه الحالة فى السيتوبلازم وليس فى النواه كما فى الحالة السابقة. يكون الاختلاف فى أحد مكونات أو محتويات الخليه السيتوبلازميه مثل الميتوكوندريا. يمكن أن تحمل الميتوكوندريا عوامل وراثيه سيتوبلازميه plasmon character حيث أنها تحتوى على الحامض النووى D N A . تعتبر صفة التزاوج الجنسى فى فطر *Aspergillus nidulans* المسبب لمرض تصويف الحبوب والبذور صفة وراثيه سيتوبلازميه. تعتبر خميرة yeast الخباز من أحسن الأمثلة لذلك حيث توجد مستعمرات من الخميرة على البيئة تكون مساحتها صغيرة وتسمى المستعمرة الصغيرةpetit colony . تتميز خلايا هذه المستعمرات بخلوها من بعض أنزيمات التنفس مثل سيتوكروم أوكسيديز. تعتبر وراثة هذه الصفة سيتوبلازميه. يكون حجم الخلية صغير أيضا.

٣ـ الدورة شبه الجنسيه Parasexual cycle : تحدث هذه الدوره فى خطوات محدده متتابعة (شكل ٥٩) .



(شكل ٥٩) : خطوات الدوره شبه الجنسيه Parasexual cycle

أ ـ تكوين ميسليوم مختلف الأنويه heterokaryon نتيجة لتزاوج الهيفات أو أنابيب الأنبات.

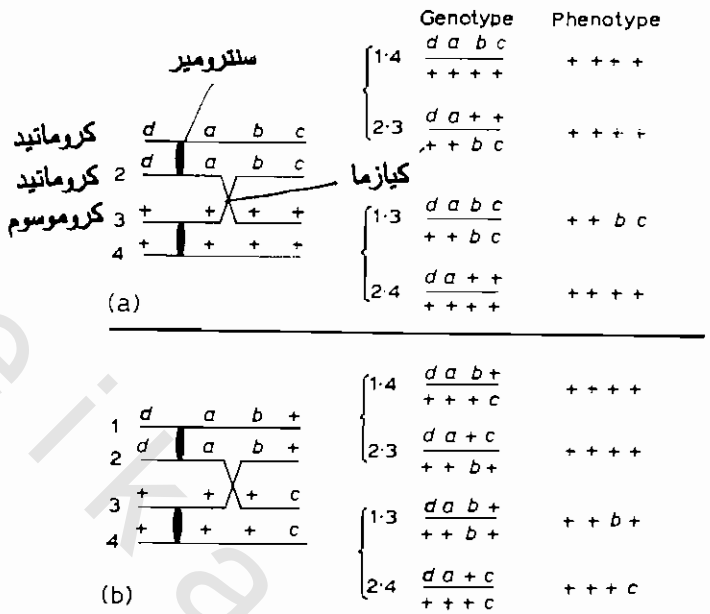
ب ـ تزاوج الأنويه داخل الميسليوم بين الأنويه المتماثله أو المختلفة وراثياً. وينتج عن ذلك أنواع عديده من الأنويه.

جـ ـ إنقسام جميع الأنويه داخل الهيفا وتزايد عددها.

د ـ حدوث العبور فى الانقسام غير المباشر mitotic crossing-over ويحدث نتيجة لذلك تكوينات وراثيه جديدة. تعتبر هذه الخطوه فريده من نوعها وخاصة بالفطريات حيث أن العبور الوراثى يحدث فى الانقسام الاختزالى فى جميع الكائنات الحيه ولايحدث مطلقاً فى الانقسام الغير مباشر إلا فى الفطريات التى تحدث فيها هذه الدوره. يعتبر حدوث العبور الوراثى نادر نسبياً فى هذه الخطوه بالمقارنة بالعبور فى الانقسام الاختزالى. ولمقارنة إحتمال العبور الوراثى لصفة ما فى الانقسام الاختزالى والانقسام غير المباشر وجد أن حدوث عبورها يكون أكثر بحوالى مائة مره فى الانقسام الاختزالى عنه فى الانقسام غير المباشر. وجد أيضاً فى الانقسام غير المباشر أنه تتكون كيازما chiasma واحدة فقط عادة وهى الأثر السيتولوجى لحدوث العبور الوراثى وذلك بالمقارنة فى الانقسام الاختزالى حيث يتكون على الكروموسوم عادة أكثر من كيازما. نتيجة لذلك يحدث تكون كروموسومات مختلفة وقد يظهر عليها بعض الصفات الجديدة كما فى الشكل. حيث يحدث بعد إنشقاق السنترومير تكون أربعة كرموسومات ناتجة عن أربعة كروماتيدات. ويحدث توزيع إعتباطى للكروموسومات فيوجد بالنواه كرموسوم ٤,١ أو ٣,٢ أو ٣,١ أو ٤,٢ . يحدث ظهور صفات جديدة متنحية لم تكن موجودة فى الخليه الأم مثل bc أو b أوc. يرمز للعامل السائد بالرمز + والعامل المتنحى بحرف صغير (شكل ٦٠) .

هـ ـ تتكون من الهيفات جراثيم بها أنويه ثنائيه (٢ن) وبذلك تتكون سلالات من الفطر (٢ن) تحتوى على صفات جديدة مثل bc .

و ـ تكوين الأنويه أحادية الأساس الكرموسومى من الأنويه ثنائية الأساس الكروموسومى haploidization . يحدث إنقسام للأنويه ثنائية الأساس الكروموسومى حيث يكون عدد الكروموسومات فى الفطر *Aspergillus* هو ١٦ كروموسوم. يحدث أحياناً تلكؤ laging للكروموسومات أثناء انقسام الأنويه الثنائيه وينتج عن ذلك نواتين أحدهما به ٢ ن ـ ١ أى ١٥ كرموسوم والأخرى بها ٢ن + ١ أى ١٧ كرموسوم. وهكذا تنقسم النواه ٢ ن ـ ١ وتنقص كرموسوم وتصبح ٢ن ـ ٢ ثم ٢ ن ـ ٣ ثم ٢ ن ـ ٤ وهكذا حتى ٢ ن ـ ٨ أى ثمان كروموسومات أى العدد الأحادى (١ن). وفى هذه الطريقة أيضاً يتم إختزال



(شكل ٦٠) : شكل يوضح العبور الوراثى أثناء الانقسام غير المباشر.

الكروموسومات بطريقة فريدة من نوعها كما سبق ذكره وذلك دون الكائنات الحيه الأخرى وحيث أن الطريقة الوحيدة لإختزال الكروموسومات هى الانقسام الاختزالى.

ز ـ تكوين سلالات من الفطر أحادية قد تتكون فى بعض منها صفات لم تكن ظاهره فى الأبوين أى أنها ذات صفات جديدة نتيجة لحدوث العبور الوراثى.

تتميز هذه الدوره بحدوث عبور وراثى فى الانقسام غير المباشر وأيضاً إختزال عدد الكروموسومات إلى النصف بدون حدوث الانقسام الاختزالى. لايحدث ذلك فى أى من الكائنات الحيه جميعها عدا هذه الفطريات.

يوجد كثير من الفطريات يحدث بها هذه الدوره مثل فطر صدأ الساق فى القمح وفطر

التفحم العادى فى الذره الشاميه وفطرى الذبول *Verticillium albo-atrum* و *Fusarium oxysporum* وبعض أنواع من *Aspergillus* والبنسليوم.

٤ ـ تباين الثالوس Heterothallism : تعنى هذه الظاهرة أنه لابد من وجود هيفتان مختلفتان وراثياً لكى يحدث التزاوج الجنسى. تعتبر فى هذه الحالة هاتان الهيفتان متوافقتان compatible حيث ينتج منها بعد التزاوج الجراثيم الجنسيه للفطر. يمكن أن يكون الفطرأعضاء جنسيه ذكريه وأنثويه من هيفا واحد ولكن لا يحدث تزاوج بين الذكر والأنثى حيث أنهما متماثلان وراثياً ولابد أن يكون عضو التأنيث من هيفا وعضو التذكير من هيفا أخرى مختلفة وراثياً عن الأولى ومتوافقة معها ومن أمثلة ذلك فطر صدأ الساق فى القمح. أحياناً لا يكون الفطر أعضاء جنسيه ويحدث التزاوج بين هيفات متوافقة ومختلفة وراثياً لتتكون الأجسام الثمريه أو الجراثيم الجنسيه مثل فطر تفحم الذره الشاميه *Ustilago maydis*.

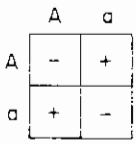
يوجد أنواع من تباين الثالوس وهى (شكل ٦١) :

أ ـ تباين الثالوس ذو السلالتين Bipolar heterothallism :

تحدث نتيجة للإختلاف فى زوج من العوامل الوراثية موجود فى مكان واحد على الكروموسوم one locus ويكون العامل الوراثى A_1 أو A_2 ولذلك فإنه تتكون سلالتين وهما سلالة الفطر A_1 وسلالة الفطر A_2 . ولحدوث التزاوج الجنسى لابد من تزاوج سلالتين مختلفتين وراثياً أى بين A_1 ، A_2 . أما التزاوج بين سلالة A_1 وأخرى A_1 لا يحدث ونفس الشئ بالنسبة للسلالة A_2 . ومثال ذلك فطر صدأ الساق فى القمح وفطر عفن الخبز *Rhizopus stolonifer* . وجد المؤلف هذه الحالة في فطر *Choanephora infundibulifera* المسبب لمرض كونيفورا فى أزهار وثمار القطن.

ب ـ تباين الثالوس ذو الأربعة سلالات Tetrapolar heterothallism:

تحدث نتيجة للاختلافات فى زوجين من العوامل الوراثيه الموجودة على كروموسومين مختلفين أو على نفس الكروموسوم فى مكانين two loci على مسافة بعيدة تسمح بحدوث عبور وراثى.



(أ)

FL = flat + = compatible cross
B = barrage − = incompatible cross

	A_1B_1	A_1B_2	A_2B_1	A_2B_2
A_1B_1	−	FL	B	+
A_1B_2	FL	−	+	B
A_2B_1	B	+	−	FL
A_2B_2	+	B	FL	−

(ب)

+ = compatible cross
− = incompatible cross

	A_1	A_2	A_3	A_4
A_1	−	−	+	+
A_2	−	−	+	+
A_3	+	−	−	+
A_4	+	−	+	−

(جـ)

(شكل ٦١) : ظاهرة تباين الثالوس

أ ـ bipolar heterothallism

ب ـ tetrapolar heterothallism

جـ ـ bipolar multiple allele heterothallism

ينتج عن ذلك أربعة سلالات للفطر وتحمل كل سلاله عاملين مختلفين وهما A1B2، A1B1، A2B1، A2B2 . يحدث التزاوج وتكوين الجراثيم الجنسية بين سلالتين مختلفتين وراثياً أى متوافقتان وينتج عن هذا التزاوج التركيب A1A2B1B 2 . لايحدث التزاوج بين السلاله A1B1 والسلالة A_1B_1 ولايحدث أيضاً بين السلالة $A2B_2$ والسلالة A2B2 وتسمى سلالات غير متوافقة incompatible . يوجد أمثلة كثيرة لهذه الحالة منها فطر التفحم فى الذرة الشامية. قد يكون التزاوج جزئى ولا تتكون جراثيم جنسية بل يتكون ميسليوم مختلف الأنويه heterokaryon

ويكون هذا الميسليوم نموه ضعيف ويحدث ذلك فى حالة إختلاف B وتماثل A مثل A1B2، A1B1 ويسمى فى هذه الحالة هذا التزاوج الجزئى بالتفاعل المسطح flat reaction ويرمز لهFL

وفى الحالة العكسية فى حالة إختلاف A وتماثل B يسمى هذا التزاوج الجزئى بالتفاعل القنطره barrage reaction ويرمز له B وحيث يتكون جزء خال بدرجة كبيرة من الهيفات عند تقابل المستعمرتين المتزاوجتين.

جـ - تباين الثالوس ذو السلالات العديدة Multiple allele heterothallism :

تحدث هذه الحالة فى النوعين السابقين حيث يمكن أن يوجد للعامل أكثر من عدد اثنين أليل فقد يصل العدد إلى مائة أليل. زيادة عدد الأليلات يساعد على زيادة إحتمالات التزاوج وبذلك يكون فرصه لنشوء سلالات جديدة. يعتبر فطر التفحم فى الذرة الشاميه من أمثلة هذه الحالة حيث يوجد أربعة سلالات رئيسية ويوجد أليلات عديدة لكل عامل وراثى ولذلك يعتبر تباين الثالوث فى هذا الفطر tetrapolar mutiple allele heterothallism . وجد المؤلف سلالات متوافقة عديدة لهذا الفطر.

ملحوظة : يذكر فى تباين الثالوس العامل A ، a وهذا خطأ حيث أنه لايوجد سيادة وتنحى فى تباين الثالوس وأحياناً يذكر + ، - وهذا خطأ أيضاً لأنه لايعنى ذكر وأنثى. تذكر كثير من المراجع ذلك وهذا خطأ لأن تباين الثالوث هو نتيجة لوجود أليلات مختلفة لعامل وراثى أو عاملين وراثيين وليست للسيادة أو التنحى.

٥- التهجين Hybridization : يحدث التزاوج الجنسى بين الأفراد المختلفة وراثياً وينتج عن ذلك ظهور سلالات جديدة نتيجة لانعزال وإعادة توزيع العوامل الوراثية.

تزداد هذه الحالة عند حدوث التهجين حيث يكون الاختلاف فى التركيب الوراثى أوسع genetic make-up . يعتبر التهجين من العوامل الهامة لنشوء السلالات فقد يكون بين الطرز أو السلالات أو الفورمات الخاصة أو الأنواع أو الأجناس. فى حالة التهجين بين السلالتين ٩، ٣٦ فى الفطر *Puccinia graminis* f.sp. *tritici* ينتج عنها السلالة رقم ١٧ . تزداد عدد طرز وسلالات الفطر فى المناطق التى يوجد بها نبات الباربرى نتيجة لعمليات التهجين

بين الطرز والسلالات المختلفة على هذا النبات. يعتبر ازالة نبات الباربرى من الطرق الفعالة لتقليل أضرار هذا المرض حيث يقل عدد الطرز والسلالات الموجودة فى المنطقة. ومن أمثلة ذلك فى ولاية بنسلفانيا بالولايات المتحدة الأمريكية أن المناطق التى يوجد بها نبات الباربرى يوجد بها عدد ٤٣ طراز وسلالة من هذا الفطر وقد وجد ٥ سلالات فقط من هذا الفطر فى المناطق الخاليه من نبات الباربرى. وجد أن إزالة ٢/١ بليون نبات فى الولايات المتحدة قلل من إنتشار المرض.

يمكن أيضاً التهجين بين الفورمات الخاصة ومثال ذلك التهجين بين *P.g.* f.sp. *tritici* وبين الفورمه الخاصة *P.g.* f. sp. *secalis* . حيث أن الفورمة الخاصة الأولى تصيب القمح والشعير ونباتات أخرى والفورمة الخاصة الثانية تصيب نبات الراى والشعير ونباتات أخرى. أمكن التهجين بين هاتين الفورمتين ونتج عنهما سلالات كثيرة تختلف فى خواصها ووجد منها أحد السلالات تصيب الشعير فقط ولاتصيب القمح أو الراى ولذلك سميت فورمة خاصة بالشعير *Puccinia graminis* f.sp. *hordei*.

يمكن التهجين بين الأنواع ومثال ذلك التهجين بين فطر *Ustilago hordei* المسبب لمرض التفحم المغطى فى الشعير وفطر *Ustilago nigra* المسبب لمرض التفحم السائب الكاذب فى الشعير. ينتج عن التهجين ظهور سلالات بها صفات جديدة.

يندر حدوث التهجين بين الأجناس ومن أمثلة ذلك بعض الفطريات المسببه لأمراض التفحم. يحدث التهجين بين *Sphacelotheca destruens* وبين *Sorosporium cenchri* .

٦ـ التضاعف Polyploidy : كثير من سلالات الفطريات أحادية haploid ولكن توجد أيضاً سلالات ثنائية الأساس الكرموسومى diploid وقد توجد سلالات ثلاثية أو رباعية tetraploid . يوجد فى الفطر *Aspergillus nidulans* سلالات أحادية وسلالات ثنائية. تتميز السلالات الثنائية بكبر حجم جراثيمها بمقدار ١,٣ عن حجم جراثيم السلالات الأحادية. توجد أيضاً سلالات أحادية وثنائية فى الفطر *Verticillium albo-atrum* المسبب لمرض الذبول فى القطن. اتضح أن السلالات الأحادية ممرضه للنبات والعكس صحيح فى السلالات الثنائية.

٧ـ الطفرة Mutation : تعرف الطفرة بأنه تغير فجائى فى التركيب الوراثى للفطر وينتقل إلى الأجيال التالية أى أنها لابد أن تورث.

يوجد أنواع عديدة من الطفرات ومنها التغير الفجائى فى تركيب الجين ويسمى gene mutation أو point mutation . وقد يكون التغير فى تركيب الكروموسوم ويكون ذلك بفقد جزء من الكروموسوم deletion أو زيادة على الكروموسوم duplication أو إنقلاب قطعة من الكروموسوم ١٨٠° inversion أو إنتقال جزء من الكروموسوم إلى كروموسوم آخر translocation وتشمل هذه الحالة أيضاً زيادة أو نقص كروموسوم بأكمله أو أكثر.

يمكن أيضاً تصنيف الطفرات إلى طفرات مورفولوجيه morphological وطفرات كيموحيويه biochemical . يظهر تأثير التغير فى التركيب الوراثى على الشكل الظاهرى للفطر مثل اللون وذلك فى حالة الطفرات المورفولوجيه. أحياناً لايظهر تأثير التغير فى التركيب الوراثى على الشكل الظاهرى للفطر بل يظهر فى صورة صفات فسيولوجيه خاصة بالفطر وتسمى هذه الحالة بالطفرات الكيموحيويه ومثال ذلك طفره نقص فيتامين الثيامين فى فطر *Neurospora* .

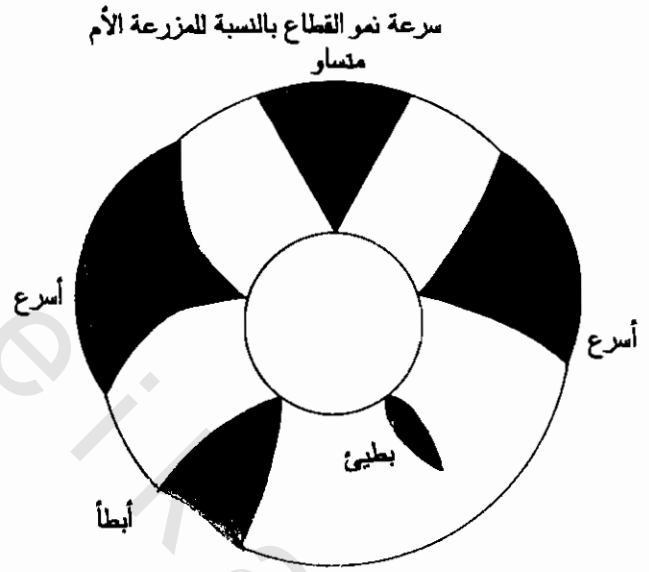
تحدث الطفرات ذاتياً أى تلقائياً spontaneous mutation أى طبيعياً ويعزى ذلك إلى وجود أنواع من الأشعة الموجودة فى الجو منها الأشعة فوق البنفسجية وأيضاً بعض من الأشعة الكونية cosmic rays وبعض مكونات الخليه مثل فوق الأكسيد peroxides وحامض النيتروز والفورمالدهيد ومشابهات البيورين. يمكن إحداث هذه الطفرات صناعياً artificial mutation وذلك بتعريض الفطر لبعض المركبات الكيماويه مثل acriflavine أو للاشعاع radiation ومن أمثلة ذلك أشعة أكس والأشعة فوق البنفسجية وأشعة جاما أو الغازات مثل غاز النيتروز nitrous acid وغاز الخردل mustard gas .

تختلف درجة حدوث الطفرات بإختلاف الفطر، فهى تحدث فى الفطر المسبب لمرض اللفحه المتأخرة فى البطاطس والطماطم وفطر صدأ الساق فى القمح. يعتبر معدل

التطفر mutation rate عال فى الفطر *Ustilago maydis* . يمكن استعمال الأشعة فوق البنفسجية لعمل طفرات كثيرة فى الفطر *Neurospora* وكثير منها طفرات كيموحيويه ومنها طفرات ينقصها تخليق فيتامينات مثل الثيامين وفى هذه الحالة لابد أن يضاف هذا الفيتامين إلى البيئة التى ينمو عليها الفطر لأن هذه الطفرة فقدت القدرة على تخليق الفيتامين ذاتياً. يستعمل هذا الفطر بكثرة فى الدراسات الوراثية وله خرائط كروموسومية.

يمكن أن تسبب الطفرات زيادة أو قله فى القدرة المرضية للفطر كما يمكن أن تسبب فقد القدرة المرضية تماماً.

٨ ـ تكوين القطاعات Sectoring or Saltation or Dissociation : هى عبارة عن ظهور قطاعات مورفولوجية sectors أو saltants مميزه مختلفة عن بقية مستعمرة الفطر ومن أهم هذه الصفات المورفولوجيه الاختلاف فى اللون أو كثافة التجرثم أو سرعة النمو أو درجة كثافة الهيفات إلى آخره من الصفات المورفولوجيه. يمكن أيضاً أن تكون هذه القطاعات مختلفة فى قدرتها على إصابة النبات فقد تكون بعض القطاعات ضعيفة أو عديمة القدرة المرضية وقد تكون قطاعات أخرى شديدة القدرة المرضية. تظهر هذه القطاعات شكل المروحه fan . عندما تتساوى سرعة نمو القطاع مع نمو مستعمره الفطر فإن حافة القطاع تكون متطابقة مع حافة المستعمرة. قد تزيد سرعة نمو القطاع عن سرعة نمو المستعمرة فتصبح حافة القطاع محدبه للخارج بالنسبة لحافة المستعمرة والعكس صحيح فى حالة بطء سرعة نمو القطاع حيث تصبح حافة القطاع مقعره للداخل بالنسبة لحافة المستعمرة. قد يظهر القطاع على هيئة عدسة محدبة الوجهين عندما تقل سرعة نمو القطاع بدرجة كبيرة جداً عنه فى المستعمرة الأم (شكل ٦٢).



(شكل ٦٢) : مستعمرة لفطر توضح الحالات والأنواع المختلفة للقطاعات.

ظهور هذه القطاعات قد يكون نتيجة لواحد أو أكثر من العوامل السابقة مثل ظاهرة إختلاف الأنويه أو الوراثه السيتوبلازميه أو الطفرات أو غيرها من العوامل الأخرى فقد يكون تكوين القطاع نتيجة للظروف البيئية.

يمكن أن ينتج عن هذه القطاعات إختلاف فى القدرة المرضية عن المستعمرة الأم. وجد فى حالة القطاعات المتكونة فى الفطر *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* المسبب لمرض الذبول فى الفاصوليا أن المزرعة الأم قادرة على اصابة الفاصوليا ولكن بعض هذه القطاعات عديم أو ضعيف القدرة المرضيه.

وجد المؤلف كثير من هذه القطاعات فى فطر *Ustilago maydis* المسبب لمرض التفحم فى الذرة الشاميه وقد إختلفت القطاعات فى سرعة النمو كما إختلفت فى اللون فقد كان لون القطاعات أبيض أو بنى أو سمنى أو مصفر واختلفت أيضاً فى نوع وشكل السطح.

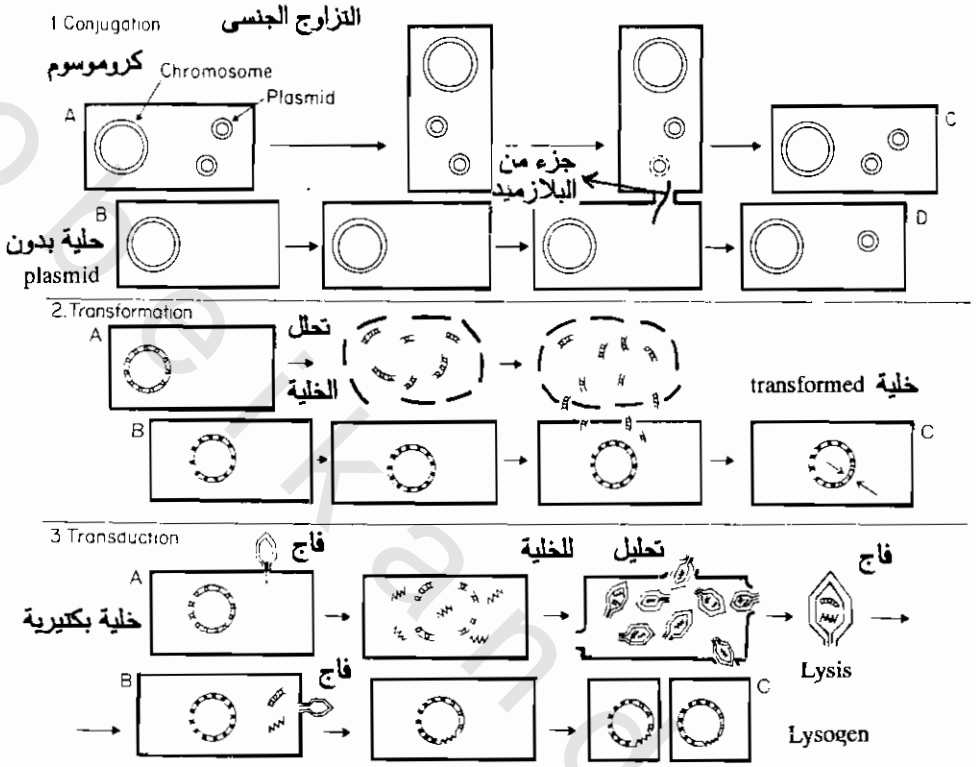
ثانياً : البكتريا

توجد طرق كثيرة يمكن أن تغير من التركيب الوراثى للبكتريا ويمكن أن ينشأ عن ذلك سلالات كثيرة وقد يكون بعض منها جديد.

١ـ الطفرة Mutation : تحدث الطفرات فى البكتريا بمعدل أكبر من الفطريات عادة.

تحدث الطفرات التلقائية فى البكتريا بمعدل يتراوح بين ١×١٠-٤ إلى ١×١٠-١٠ وهذا يعنى أن خلية بكتيريه واحده لكل عشرة آلاف خليه إلى خليه واحدة لكل عشرة بلايين خليه يحدث بها طفرة ومن أمثلة ذلك *Erwinia carotovora* المسببه لمرض العفن الطرى فى البطاطس وخضروات أخرى.

٢ـ التحول Transformation : هى عبارة عن إكتساب خلايا البكتريا لوحدات وراثية أو عوامل وراثية تصل إليها عن طريق البيئة النامية عليها. وبذلك تغير هذه العوامل من التركيب الوراثى وعادة تظهر صفات جديدة للخلايا البكتيريه. اكتشفت هذه الحالة فى البكتريا *Diplococcus pneumoniae* حيث تتميز هذه البكتريا بوجود سلالات ملساء smooth لها غلاف capsule وذات قدرة مرضية شديدة للانسان والحيوان وسلالات أخرى عديمة الغلاف خشنه rough عديمة القدرة المرضيه. تتحول السلالات الأخيرة إلى سلالات لها غلاف ملساء ذات قدرة مرضية عاليه للحيوان والانسان عند تنميتها على بيئة تحتوى على خلايا ميتة للسلالة عديمة الغلاف الخشنه. وجد بعد ذلك أنه يمكن وضع الحامض النووى DNA النقى المأخوذ من السلاله الخشنه فى البيئة ويحدث نفس التأثير على السلالة الملساء. وهكذا تتحول السلاله الخشنه إلى سلالة ملساء ممرضه وذلك عند طريق إنتقال المادة النوويه من سلالة إلى أخرى عن طريق البيئة وليست عن طريق التزاوج. وجدت هذه الظاهرة فى البكتريا الممرضه للنبات مثل *Xanthomonas phaseoli* المسببه لمرض لفحة الفاصوليا البكتيريه وفى البكتريا *Agrobacterium tumefaciens* المسببه لمرض التدرن التاجى (شكل ٦٣).



(شكل ٦٣) : كيفية حدوث الإختلافات الوراثية variability فى خلايا البكتيريا بالطرق المختلفة للتزاوج شبه الجنسيه sexual - like .

٣- التحول عن طريق الفيرس البكتيرى Transduction : يمكن للفيرس البكتيرى phage أو bacteriophage أن يعيش داخل الخليه البكتيريه ويكتسب بعض أجزاء الحامض النووى DNA الخاص بالخليه البكتيريه والمسئول عن بعض صفات الخليه البكتيريه. يتحرر الفيرس البكتيرى أى الفاج من الخليه البكتريه بعد موتها أو تحللها ويصيب خليه بكتيريه أخرى ويحقن مادته النووية فى الخليه البكتيريه الجديدة. تصبح المادة النوويه المحقونه متداخلة مع المادة

الدووية للخلية البكتيرية وبذلك تكتسب هذه الخلية صفات جديدة. يتضح أن الصفات تنقل من خليه بكتيريه إلى أخرى عن طريق الفاج وذلك عن طريق نقله للجينات أى العوامل الوراثيه الموجودة فى DNA . وجدت هذه الحالة فى البكتريا الممرضه للنبات مثل *Pseudomonas solanacearum* المسببه لمرض العفن البنى فى البطاطس ومرض الذبول فى الطماطم والتبغ (شكل ٦٣).

٤- التكاثر الجنسى : يحدث التكاثر الجنسى بقله فى البكتريا حيث يحدث فى بعض الأنواع مثل *Escherichia coli* . حيث وجد أن لها سلالتين تختلفان جنسياً. يحدث تزاوج جنسى إذا وضعت خلايا السلالتين مع بعضها. عند إقتراب خليتان مختلفتان جنسياً من بعضهما يعتقد البعض فى تكون تزاوج عن طريق زوائد تسمى بيلى pili أو عن طريق قنطرة تزاوج سيتوبلازميه تصل بين الخليتين ولكن من الثابت حتى الآن أنه غير معروف بالضبط تفاصيل إنتقال جزء من DNA من خلية إلى أخرى. ينتقل جزء من مركب الحامض النووى DNA من أحد الخليتين وهى الخليه الواهبه donor إلى الخلية الأخرى وهى الخلية المستقبلة acceptor . تموت الخلية الواهبه وتتحول الخليه المستقبله إلى الزيجوت ويسمى merozygote . يلى ذلك حدوث إنقسام شبيه بالانقسام الاختزالى غير معروف طريقة حدوثه بالضبط منتجاً خلايا بكتيريه جديدة تحمل عادة صفات خليطه من كل من الخليتين الواهبه والمستقبلة. يلاحظ دائماً أن أحد السلالتين المتزاوجتين خلاياها دائماً واهبه وعليها هدبيات pili وأن السلاله الأخرى خلاياها دائماً مستقبله وعديمة الهدبيات. تعتبر السلالة الواهبه ذكر بينما تعتبر السلاله المستقبله أنثى (شكل ٦٣).

ثالثاً : الفيروس

تعتبر الطفرات أهم عامل فى حدوث تغيرات وراثية ونشوء سلالات جديدة فى الفيروسات.

الطفرة Mutation : تعتبر الطفرات عامل هام فى نشوء السلالات فى الفيروسات. معدل حدوث الطفرات فى الفيروسات عال بدرجة كبيرة ويفوق مثيله فى الفطريات والبكتريا. وجد أن معدل حدوث الطفرات فى فيروس تبرقش التبغ TMV يتراوح بين ٢/١-٢٪. وفى بعض أنواع الفاج يتراوح المعدل من واحد فى الألف إلى واحد فى البليون.

تحدث الطفرات نتيجة تغير فى تركيب الجين نتيجة لتغير فى تركيب القواعد النووية مثل السيتوسين واليوراسيل والأدنين والجوانين. وجد عند معاملة الأحماض النوويه للفيرس بحامض النيتروز يد ن أ أو نيتريت الصوديوم بتركيز اجزيئى فى درجة حموضه pH ٤,٢ لمدة عشرون دقيقة فإن القواعد النووية تتحول من واحدة إلى أخرى بواسطة عملية نزع مجموعة الأمين de-amination ومثال ذلك تحول السيتوسين إلى اليوراسيل. كما وجد أن معاملة سلالة من فيروس تبرقش التبغ تحدث تبرقش للنبات بواسطة حامض النيتروز نتج عن ذلك طفره وأصبحت هذه السلاله تحدث بقع ميته على النبات والتى لم تحدثها السلاله الأصليه.

obeikandl.com

الباب العاشر

طرق مقاومة أمراض النبات

يمكن حصر حالات وطرق مقاومة أمراض النبات فى أربعة أسس وهى إستبعاد مسبب المرض والوقاية من الطفيل وإبادة الطفيل واستعمال نباتات مقاومة.

أولا : الاستبعاد Exclusion

يمنع دخول طفيل إلى منطقة جديدة غير موجود بها وقد تكون هذه المنطقة دوله أو مقاطعه أو ولايه فى إحدى الدول. أحياناً يمنع دخول الطفيل إلى مكان ما بالرغم من وجود الطفيل فى هذا المكان وذلك إجراء إحتياطى لمنع دخول سلالات جديدة من الطفيل والتى قد تكون أكثر شراسة aggressive فى حدوث أمراض النبات .

تعتبر أهم طرق الاستبعاد هى الحجر الزراعى plant quarantine . معنى الحجر الزراعى هو عزل النبات وأن يكون تحت الملاحظة والرعاية حتى يتم التأكد من خلوه من الأمراض المحظوره. ولكن أصبح الآن المعنى أعم وأشمل حيث يشمل جميع الاجراءات المتبعة والتشريعات والقوانين التى تنظم إنتقال النباتات أو أجزائها من دولة إلى أخرى أو من مكان إلى آخر.

تختلف قوانين الحجر الزراعى من دولة إلى أخرى ولكنها تشترك فى منع أو الحد من دخول ما يأتى :

١- منع دخول أو استيراد الكائنات المسببه لأمراض النبات مثل الفطريات والبكتريا والميكوبلازما.

٢ـ الحذر فى استيراد النباتات ويجب التأكد من أنها خاليه من الأمراض.

٣ـ منع دخول أى نوع من التربة ملوثه بالطفيليات الممرضة للنبات.

٤ـ منع دخول أى منتجات غذائية نباتيه food stuffs حامله طفيليات ممرضة للنبات.

٥ـ فحص ومنع دخول الحاويات container مثل العلب والصناديق والأسبته وخاصة التى لها أصل نباتى والتى تحمل طفيليات ممرضة للنبات.

ولذلك توضع قوانين لكى يتم تطبيق ذلك بدقة وبسهولة وبحيث لا تتعارض أو تعرقل التجارة والتصدير والاستيراد بين الدول.

عند استيراد نباتات يجب أن يراعى ما يأتى :

١ـ استيراد نباتات من دول غير موجود بها المرض. يوجد فى كثير من الدول قائمة بالأمراض الموجودة بها. يوجد فى مصر حصر لذلك وكان المؤلف أحد المشتركين فى عمل هذا الحصر. يوجد هذا الحصر فى بعض الدول العربية مثل العراق والأردن.

٢ـ الاستيراد من دول بها حجر زراعى ذو كفاءة عاليه. تتوقف كفاءة الحجر الزراعى فى هذه الحالة على دقة التفتيش وأن معاملة النباتات تحت التصدير يحدث بكفاءة عالية.

٣ـ التعامل مع مصادر معتمدة وذات سمعه ممتازة فى تصدير النبات فى الدوله المختارة.

٤ـ الحصول على شهادة رسميه من المصدر تدل على خلو الشحنه من المرض أو معاملة الشحنة قبل تصديرها للتأكد من خلوها من الأمراض. يتم تسجيل ذلك كله فى الشهادة.

٥ـ مجرد وصول الشحنة إلى ميناء الأستيراد يجب فحصها على الباخرة أو الطائرة قبل نزولها. تبعاً لذلك يسمح بدخول الشحنة أو ترفض أو تعامل إن أمكن. تكون المعاملة بالمطهرات التى تسبب قتل الطفيليات. تجرى للرسائل عملية التدخين ببعض الغازات وأهمها غاز بروميد الميثيل وهو غاز غير قابل للاشتعال وعديم اللون والرائحة. يتم تداوله تجارياً على صورة سائلة تحت ضغط فى اسطوانات أو عبوات معدنيه. يعتبر الغاز فعال ضد

الاصابات الحشريه والفطريه والبكتيريه وديدان النيماتود ولذلك يعبتر من أكثر المدخنات إستعمالاً فى الحجر الزراعى. يمكن استخدام الغاز فى جرعات عالية بصورة فعالة فى قتل النيماتود المتحوصله. ينفذ الغاز بسرعة إلى داخل الرسائل النباتيه وهو شديد الفاعلية فى نطاق واسع من درجات الحرارة. لا تتأثر الرسائل النباتيه بالغاز وإن كانت تتفاوت فيما بينها فى درجة تحملها للغاز طبقاً للنوع والصنف وعمر النبات ولذلك يجب استخدام الجداول المحدده لذلك. يمكن تحديد مقدار الغاز المتسرب من الحيز الذى يتم تدخينه بواسطة جهاز التعرف على تسرب الهالوجين. يمكن تقدير تركيز الغاز داخل حيز التدخين بطريقة سهلة بإستخدام جهاز تحليل الغازات أو وحدة تقدير معامل التوصيل الحرارى. ينتشر بروميد الميثيل لأسفل لأنه أثقل من الهواء بثلاثة أضعاف مما يستلزم استخدام وسائل تضمن تحرك الهواء خلال الحيز المعالج لضمان المساعدة فى تجانس إنتشار الغاز. لذلك يجب أن تزود حجرات التدخين بهذا الغاز بالمراوح التى تضمن دوران الهواء فى الحيز المعالج مرةكل ٣ دقائق خاصة عند علاج النباتات والرسائل النباتية الحية والتى تستخدم كتقاوى. يستخدم هذا الغاز لهذا الغرض فى الحجر الزراعى فى مصر.

٦- استيراد الأجزاء النباتيه الأكثر ضماناً لخلوها من الأمراض والأسهل فى معاملتها. تعتبر البذور أكثر ضماناً من الأجزاء الخضريه والعقل العاديه أكثر ضماناً من الشتلات.

لتطبيق ذلك يوجد مختصون فى أعمال الفحص والتفتيش فى الموانئ والموانئ الجوية ومنافذ الدخول البرية فى أقطار الوطن العربى لحماية الانتاج الزراعى من الأمراض الدخيلة.

يوجد نوعين من الحجر الزراعى وهما الحجر الزراعى الخارجى وهو الذى يتعامل مع الواردات من الدول الأخرى والحجر الزراعى الداخلى domestic plant quarantine وهو الذى يمنع انتقال الرسائل النباتيه من منطقة إلى أخرى فى داخل الدوله الواحدة. يوجد أمثلة كثيرة للحجر الداخلى وهو ماحدث فى ولاية فلوريدا بالولايات المتحدة الأمريكية حيث منع دخول أى شتلات موالح مصابه بمرض تقرح الموالح إلى هذه الولايه وبذلك أصبحت هذه الولايه خاليه من المرض بعد أن عانت منه الكثير. يوجد أيضاً أمثلة لذلك فى مصر حيث يوجد

حجر زراعى داخلى على نباتات الموز لمقاومة مرض تورد القمه حيث صدر فى عام ١٩٥٤ قرار وزارى بمنع نقل نباتات الموز وأوراقه وفسائله من أية جهة إلى أخرى إلا بترخيص من وزارة الزراعة. يوجد أيضاً فى مصر حجر زراعى داخلى على البصل لمقاومة مرض العفن الأبيض. يوجد المرض منتشر بدرجة كبيرة فى بعض محافظات الوجه القبلى وهى بنى سويف وسوهاج والمنيا وقنا.

يمنع الحجر الزراعى الخارجى دخول كثير من الأمراض إلى الدولة ومثال ذلك فى مصر يمنع دخول شتلات الموالح المصابه بمرض تقرح الموالح حيث أن المرض غير موجود فى مصر وكذلك مرض العفن الأسود فى العنب والأرجوت فى القمح. يمكن أن يمنع الحجر الزراعى دخول عينات نباتية مصابة بمرض موجود بالدولة المعنيه خوفاً من دخول سلالات جديدة من الطفيل ومثال ذلك مرض اللفحة فى الأرز والتفحم فى الذرة الشاميه فى الحجر الزراعى المصرى. يمكن أن يسمح بدخول عينات نباتيه مريضه ولكن تكون نسبة الاصابة منخفضة حيث يسمح فى مصر دخول رسائل درنات البطاطس المصابه بمرض الجرب العادى بنسبة لاتزيد عن ٣٪.

ثانياً : الإبادة

تعتبر إبادة الطفيل من الطرق الهامة لمقاومة أمراض النبات ويكون ذلك بطرق عديدة ومنها ما يأتى:

١- إتباع دورة زراعية Crop rotation مناسبة : تعتبر زراعة المحصول بإستمرار فى منطقة معينة عامل مناسب لتركيز الطفيل الممرض للنبات فى هذه المنطقة. يزداد تبعاً لذلك تركيز الطفيل فى هذه المنطقة ويصبح ضرره شديد على النبات. إتباع دوره زراعيه وعدم زراعة المحصول عدة سنوات يسبب موت بعض الطفيليات الممرضة للنبات ومثال ذلك الطفيليات الغازيه للتربة soil invaders ومنها الفطريات *Colletotrichum lindemuthianum* المسبب لمرض إنثراكنوز الفاصوليا و *Urocystis cepulae* المسبب لمرض تفحم البصل والبكتريا*Xanthomonas campestris* المسببه لمرض العفن الأسود فى الكرنب. لاتصلح هذه الطريقة لمقاومة الطفيليات القاطنه للتربة soil inhabitants حيث أن هذه الطفيليات يمكن أن تعيش رميا فى

التربه فى غياب عوائلها لمدد تزيد عن خمسة سنوات دون أن تتأثر ومثال ذلك فطر *Rhizoctonia solani* المسبب لكثير من الأمراض مثل مرض القشره السوداء فى البطاطس وأنواع فطر *Fusarium* المسببه لعفن الجذور. تعتبر الدوره الزراعيه لمدة ٣ أو أربعة سنوات مناسبة لمقاومة الأمراض التى تصلح مقاومتها بهذه الطريقة.

٢ـ الاجراءات الصحية Sanitation : توجد اجراءات وطرق صحية sanitary measures يمكن بها ابادة الطفيل فى كثير من الأمراض. يمكن أن تصاب الطماطم فى الزراعة المحميه بفيروس تبرقش الطماطم أى تبرقش التبغ. ينتشر هذا الفيرس أثناء عمليات التقليم والربطtying لنباتات الطماطم. تعتبر الاجراءات الصحية هامه لمقاومة المرض وهى أن يقوم المسئول عن عمليات التقليم والربط بغسل الأيدى بإستمرار بالماء والصابون وأن يقوم بتطهير أدوات التقليم بمطهر مثل الديتول أو البيتادين. يجب عدم التدخين قبل أو أثناء القيام بهذه العمليات حيث يمكن أن يكون الفيرس موجود فى التبغ فى السجائر وينتقل إلى أيدى العمال ومنها ينتقل إلى النباتات. ينصح العامل بغسيل الأيدى بعد التدخين فى قليل من اللبن. يعتبر اللبن فعال فى تأثيره على الفيرس فى هذه الحالة.

٣ـ ازالة العوائل الأخرى Elimination of overwintering or oversummering hosts : يمكن أن يمضى الطفيل الفترة فى عدم وجود العائل على عوائل أخرى وأحياناً تكون هذه العوائل عبارة عن الحشائش. تعتبر إبادة الحشائش فى هذه الحالة هى إبادة للطفيل كما فى مرض العفن الأسود فى الكرنب.

٤ـ إزالة العائل والطفيل Elimination of host and pathogen : يمكن أن يزال العائل المصاب وتعتبر هذه الطريقة فعالة فى المقاومة. يعتبر مرض تقرح الموالح المتسبب عن البكتريا *Xanthomonas citri* من أفضل الأمثلة لهذه الحالة. تم إزالة أكثر من ١٣ مليون شجرة موالح وحرقها فى ولاية فلوريدا بالولايات المتحدة الأمريكية فى المدة من سنة ١٩١٥ حتى سنة ١٩٤٠ وبذلك أصبحت هذه الولاية خالية تماماً من المرض. وقد استمر الحال كذلك فى هذه الولاية بعد هذه الفترة حيث طبقت قوانين الحجر الزراعى بكفاءة عالية حيث منع دخول أشجار الموالح إلى هذه الولاية أو السماح بدخولها بعد التأكد من خلوها من المرض.

وهكذا استمرت هذه الولاية خالية من المرض. يتبع ذلك أيضاً فى بعض الأمراض الفيروسيه ومثال ذلك مرض تورد القمة فى الموز حيث يجرى اقتلاع النباتات المصابه وحرقها للتخلص من المرض.

٥- ازالة العائل المتبادل Elimination of alternate host : تحتاج بعض فطريات الأصداء إلى عائلين لتكمل دورة حياتها. يسمى العائل الذى يتكون عليه الطور التيليتى بالعائل الأولى primary host ويسمى العائل الآخر بالعائل المتبادل alternate host . يعتبر مرض صدأ الساق فى القمح من أفضل الأمثلة لذلك حيث يعتبر القمح هو العائل الأولى ويعتبر نبات الباربرى *Berberis vulgaris* هو العائل المتبادل. تعتبر إبادة نبات الباربرى بازالته وحرقه عامل فعال وهام فى مقاومة مرض صدأ الساق فى القمح ومثال ذلك ماحدث فى فرنسا وفى الولايات المتحدة الأمريكية. وجد أن ازالة نصف بليون نبات باربرى من ١٨ ولايه فى الولايات المتحدة الأمريكية قلل الخسائر فى القمح من ٤٠ مليون بوشل إلى أقل من ١٥ مليون بوشل سنوياً.

٦- إزالة الأجزاء النباتيه المصابه فى الأشجار - جراحة الأشجار Tree surgery : إزالة الأجزاء المصابه من الأشجار والأجزاء المحيطة بها ثم تطهير مكان القطع يعتبر من الطرق الفعالة فى إبادة الطفيل. يعتبر مرض التدرن التاجى المتسبب عن البكتريا-*Agrobacterium tu mefaciens* من أفضل الأمثلة. يتم ازالة أو كشط الورم مع الأجزاء المحيطة به ثم دهان مكان القطع بواسطة محلول elgetol-methanol . يتكون المحلول من جزء واحد من-sodium dinitroc resol إلى أربعة أجزاء wood alcohol . تعتبر عمليات تقليم الفروع المصابة فى الأشجار من أمثلة ذلك أيضاً ومثال ذلك تقليم الأفرع المصابه فى أشجار الكمثرى المصابه بمرض اللفحه النارية.

٧- إتباع الطرق الزراعية السليمة Tillage : يوجد أمثلة كثيرة لذلك منها أجراء العزيق والحرث الجيد العميق. إجراء العزيق على فترات منتظمة يؤدى إلى ازالة الحشائش والتى تعتبر مأوى لكثير من الطفيليات الممرضة للنبات. يساعد الحرث العميق على تهوية التربة وتعريضها لأشعة الشمس والتى تسبب موت بعض الطفيليات.

٨ ـ تغطية التربة بالبولى أثيلين وتعريضها لأشعة الشمس Soil=Solarization pasteurization : تعتبر أشعة الشمس القوية ذات تأثير ضار على الكائنات الحيه الدقيقة بالتربة وقد تسبب موتها. تستعمل هذه الحقيقة علمياً بطريقة أكثر دقة حيث تغطى التربة بغطاء من البولى أثيلين وذلك فى وجود أشعة الشمس القوية فيسبب ذلك رفع درجة حرارة التربة إلى حد كبير يزيد عن درجة حرارة ٥٠°م. ينتج عن ذلك موت كثير من الكائنات الحيه الدقيقة الممرضه وغير الممرضه ومثال ذلك ذبول الطماطم والفستق المتسبب عن الفطر *Verticillium dahliae* . تستمر تغطية التربة فترة طويلة أسبوعين أو تزيد.

٩ـ زراعة النباتات الصائدة Trap crops = Decoy : عبارة عن نباتات غير عائله للطفيل أى غير قابلة للإصابة بالطفيل ولكنها تسبب إجهاض القدرة المرضية للطفيل waste it infection potential . يحدث ذلك بتنشيط جراثيم الفطريات ودفعها للأنبات وفى عدم وجود العائل فإنها تموت وأيضاً نفس الشئ فى بذور النباتات الزهريه المتطفلة ويرقات ديدان النيماتود. ينتج عن ذلك تقليل تركيز هذه الوحدات الممرضه فى التربة وعند زراعة العائل المناسب بعد ازالة النبات الصائد يصبح أقل عرضه للاصابة. يوجد أمثلة كثيرة لذلك ومنها فى حالة مرض ذبول الزيتون المتسبب عن الفطر *Verticillium albo-atrum* يعتبر النبات الصائد هو *Tagetes minuta* . يعتبر النبات الصائد هو الكتان فى حالة هالوك الطماطم والتبغ كما يعتبر النبات الصائد *Tagetes patula* فى حالة مرض تعقد جذور الطماطم النيماتودى.

١٠ـ تغيير درجة حموضة التربة : يمكن تغيير درجة حموضة التربة لقتل أو منع نشاط الطفيل. يعتبر مرض الجرب العادى فى البطاطس المتسبب عن *Streptomyces scabies* من أمثلة ذلك. ينتشر المرض فى درجة حموضة pH من ٥,٢ إلى ٨ ويقل المرض فى pH التربة أقل من ذلك. يضاف للتربة كبريت زراعى حوالى ١٥٠ إلى ١٠٠٠ كيلو للفدان وذلك لخفض pH التربة أى لزيادة حموضة التربة.

١١ـ تغيير التركيب الكيماوى للتربة : يمكن أن يكون لبعض المركبات الموجودة فى التربة تأثير على الطفيل. وجد أن نقص النيتروجين فى التربة يسبب موت سريع للفطر *Ophiobolus graminis* المسبب لمرض الدمار take-all disease فى النجيليات. تتبع هذه الطريقة حديثا فى أمريكا لمقاومة الفطريات والنيماتود لتلافى ضرر المبيدات بنقص الحديد.

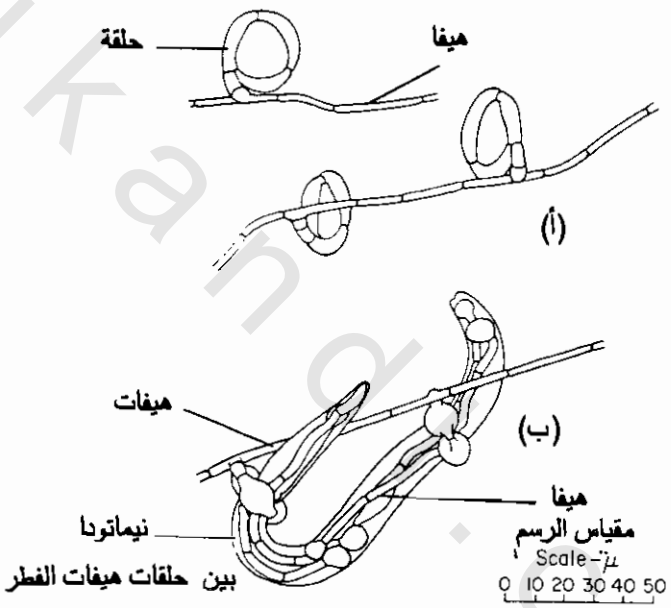
١٢- تغيير الصفات الطبيعية للتربة : وجد أن اضافة طين من نوع المونتموريللنيت montmorillonite clay يؤثر على الخواص الطبيعية للتربة ويحد من نشاط بعض الطفيليات مثل فطر *Fusarium oxysporum* المسبب لمرض الذبول فى الطماطم والفاصوليا والكتان والبطيخ والخيار والقرنفل وأيضاً البكتريا *Pseudomonas solanacearum* المسببه لمرض العفن البنى فى البطاطس والذبول فى الطماطم والتبغ.

استعملت ١٥نوع مختلفة من التربة لدراسة تأثيرها على انتشار أنواع الفطر *Pythium* وجد أن فى بعض أنواع التربة يزداد لقاح الفطر وتسمى تربه مثبطه conducive soils وأنواع أخرى يبقى فيها لقاح الفطر ثابت دون زيادة أو نقص وتسمى تربه متحملة tolerant soils ومجموعة ثالثة من أنواع التربة يقل فيها لقاح الفطر وتسمى تربه مثبطه suppressive soils وفى هذه الحالة يكون تثبيط نمو الفطر راجع إلى عدم نمو الفطر أو أن الأنواع الطفيلية من الفطر تموت وتبقى الأنواع الغير طفيليه والغير ممرضه للنبات. إستعمال التربه المثبطه يسبب هلاك الأنواع الممرضة وتصبح بيئة صالحة لنمو النبات.

١٣- غمر التربة بالماء Flooding : غمر التربة بالماء بضع أسابيع قد يسبب موت الطفيل. أمكن إبادة فطر مرض الذبول فى الموز *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* المسبب لمرض بناما Panama disease فى الموز بواسطة غمر التربة بالماء لفترة طويلة. يمكن أن يقاوم مرض Sclerotinia بنفس الطريقة وهو يتسبب عن الفطر *Sclerotinia sclerotiorum*.

١٤- تغيير الصفات الحيويه للتربة : يمكن أن تضاف للتربة بعض الكائنات الحية وخاصة الدقيقه منها فتسبب موت أو وقف نشاط الطفيل الممرض. وجد أن اضافة الفطر *Trichoderma lignorum* إلى التربة يسبب موت كثير من فطريات التربة الممرضة للنبات مثل الفطر *Rhizoctonia solani* . وجد أن أنواع من الفطر *Pythium* يمكن أن تهاجم بعضها ومثال ذلك النوع *P. oligandrum* تهاجم أنواع عديدة منها *P. debaryanum* المسبب لمرض عفن البذور وذبول وموت البادرات وذلك بأن تلتف هيفا الفطر الأول على هيفا الفطر الثانى ويمكن أن تخترقها وتسبب موتها. مما سبق يتضح أنه يمكن لبعض الفطريات الغير ممرضه للنبات أن تسبب هلاك الفطريات الممرضة للنبات.

يمكن لبعض الفطريات الغير ممرضه للنبات والقاطنة فى التربة أن تقبض على ديدان النيماتود وتدخل فروع من الهيفا إلى داخل النيماتود لتستمد منها الغذاء وتقتلها. تسمى هذه الحالة بالافتراس predation ويعتبر الفطر مفترس لأنه له القدرة على اصطياد الفريسة المتحركة وهى دوده النيماتود والقبض عليها والتغذية عليها وقتلها. يوجد أمثلة عديدة لهذه الفطريات ومنها الفطر *Arthrobotrys dactyloides* والذى يكون أفرع من الهيفا على هيئة حلقات (شكل ٦٤).



(شكل ٦٤) : فطر *Arthrobotrys dactyloides* يكون هيفات يخرج منها فروع على هيئة حلقات (أ) عند مرور دوده النيماتود داخل هذه الحلقات فإنها تنتفخ وتقبض على النيماتود(ب).

عند دخول دودة النيماتود خلال الحلقة تنتفخ خلايا الحلقة وتقبض على النيماتود وتمنعها من الحركة. يخرج من الحلقات هيفات تخترق النيماتود وتتخلل أجزائها وتتغذى عليها وتسبب موتها. يمكن أن يكون تأثير الفطر على فطر آخر ممرض عن طريق إفراز مركبات سامة وقد تكون مضادات حيويه وليست نتيجة ملامسته أو الالتفاف حوله وتسمى هذه الحالة بالتضاد. يمكن للفطر *Trichoderma viridi* أن يقتل بعض الفطريات الممرضة للنبات دون ملامستها وذلك نتيجة لافراز مركبات سامه مثل viridin و gliotoxin . يتأثر فطر *Rhizoctonia solani* بهذه السموم ويمكن مقاومته بهذه الطريقة. تعتبر الأنواع الرميه من *Streptomyces* من أكثر الكائنات افرازاً للمضادات الحيويه وتطهير التربه. وجد أن التسميد الأخضر green manuring أى حرث نبات البرسيم فى التربة أو ما شابه ذلك يسبب تكوين مادة عضوية. قد يسبب ذلك نشاط الكائنات الحيه الدقيقة الرميه الموجودة فى التربة وبذلك يمكن أن تضاد وتنافس الطفيليات الممرضه للنبات وتوقف أو تقلل تكاثرها. يمكن بذلك أن يكون التسميد الأخضر أو اضافة المادة العضوية عامل هام فى الحد من نشاط الطفيليات الممرضه فى التربة.

١٥- هلاك أو قتل الطفيل برفع درجة الحرارة Disinfestation and Thermotherapy : يمكن قتل الطفيل فى التربة وذلك برفع درجة حرارة التربة بواسطة أنابيب ماء ساخن أو تعقيم التربة فى الأوتوكلاف. يمكن مقاومة الطفيل على سطح الحبوب أو البذور أود اخلها وذلك بوضعها فى ماء ساخن لاتزيد درجة حرارته عن ٥٤° مئوية ومثال ذلك مرض التفحم السائب فى القمح والشعير. تعتبر هذه الطريقة فعالة فى مقاومة بعض الأمراض الفيروسية حيث تغمر عقل القصب قبل زراعتها فى ماء ساخن درجة حرارته ٥٠°م لمدة ساعتين لعلاجها من مرض تقزم الخلفة ratoon stunt disease . يسمى قتل الطفيل فى التربة disinfestation ويسمى هلاك الطفيل على أو فى داخل النبات thermotherapy .

١٦- هلاك أو قتل الطفيل بالمركبات الكيماوية Disinfestation and chemotherapy : يمكن قتل الكائنات الحيه الدقيقة فى التربة بواسطة المركبات الكيماويه chemical disinfestation ومثال ذلك معاملة التربة بمبيد النيماتود تميك temik يسبب موت النيماتود الموجودة بالتربة.

يمكن قتل جميع الكائنات الحيه الدقيقة من فطريات وبكتريا ونيماتود ممرضه أو رميه وأيضاً بذور الحشائش والحشرات والحيوانات بحقن غاز بروميد الميثيل فى التربة.

يمكن قتل أو وقف نشاط الكائنات الممرضة على النبات باستعمال المبيدات المتخصصة لذلك chemotherapy . يعتبر المبيد فى هذه الحالة علاجى eradicant . تقاوم أمراض البياض الدقيقى فى النبات باستعمال المبيد الفطرى بنليت benlate حيث يقتل هذا المبيد الفطر المتطفل على النبات. انظر باب المقاومة الكيماويه لأمراض النبات.

١٧- التعريض للاشعاع Radiation : يمكن استعمال أشعة X أو أشعة جاما أو الأشعة فوق البنفسجية فى قتل مسببات أمراض مابعد الحصاد فى الخضر والفاكهة ولكنها فى كثير من الأحوال تضر أيضاً أنسجة النبات ولذلك فإن هذه الطريقة لا تستعمل فى المقاومة.

ثالثاً : الوقاية Protection

تعتبر الوقاية عبارة عن وضع حائل أو حاجز barrier بين النبات والطفيل وبذلك نقى النبات من الاصابة.

يتلخص ذلك أساساً فى طريقتين وهى زراعة النباتات داخل صوب محكمة وبذلك يوجد حائل زجاجى أو بولى إيثلين بين النبات والطفيل ولاتحدث الاصابة وتعتبر هذه الطريقة فعالة لمقاومة الأمراض الفيروسية وخاصة التى تنتقل عن طريق الحشرات حيث تكون الصوب محكمة الغلق وتقاوم بداخلها الحشرات تماماً. ينتج عن ذلك نباتات خالية من الأمراض الفيروسية مثل مرض تبرقش البطاطس.

أما عن الطريقة الثانية فهى رش أو تعفير النبات بالمبيدات وبذلك تتكون طبقة على النبات من مركبات كيماوية تسبب قتل الطفيل عند ملامسته للنبات وبذلك تقى النبات شر الاصابة. يعتبر المبيد فى هذه الحالة وقائى protectant . يعتبر مبيد دايثين م - ٤٥ dithane M-45 من أمثلة المبيدات التى تقاوم كثير من الأمراض الفطرية مثل مرض اللفحة المتأخرة فى البطاطس والطماطم وأيضاً مرض اللفحه المبكرة فيهما.

انظر باب المقاومة الكيماوية لأمراض النبات.

رابعاً : النباتات المقاومه Disease Resistance والتحصين Immunization

تعتبر المقاومة فى هذه الحالة مشابهة إلى حد كبير للمقاومة فى الانسان. حيث أن الانسان عند ولادته وعندما يكون تركيبه الوراثى قوى فإنه يقاوم الأمراض ويعيش أما الطفل الضعيف وراثياً فعادة لايقاوم الأمراض ويموت. يماثل النبات الانسان فى هذا الصدد فانتاج نباتات قوية مقاومة وراثياً للأمراض ينتج عنها محصول وفير. تعتبر تربية أصناف من النباتات مقاومة للأمراض من الطرق المفضله لدى المزارعون. حيث أنها توفر تكاليف المقاومة الكيماوية وتقلل من المجهود المبذول لانجاز هذا النوع من المقاومة. وعموماً فإن إنتاج سلالات مقاومه أو منيعه تحتاج من المربى ومن المشتغلين بأمراض النبات الى جهد شاق وطويل حتى يمكن الوصول إلى الهدف المرغوب.

يعتبر أورتون Orton أول من بدأ برامج لتربية النباتات المقاومة للأمراض breeding for disease resistance فى سنة ١٩٠٠ وكان ذلك لأمراض ذبول القطن والبطيخ واللوبيا. قام بعمل الانتخاب selection بين النباتات فى حالة القطن وأمكنه عن طريق الانتخاب الحصول على نباتات مقاومة لمرض الذبول. وجد فى حالة البطيخ أن جميع الأصناف قابلة للاصابة بشدة ولم يمكنه الانتخاب فى هذه الحالة وقد لجأ إلى التهجين بين صنف بطيخ عادى قابل للاصابة ونبات يسمى african citron يتبع نفس نوع البطيخ ومقاوم للمرض. نتج عن التهجين hybridization صنف من البطيخ يسمى القاهر Conqueror . اكتشف فى حالة الفاصوليا صنف مقاوم طبيعياً ودون اللجوء إلى الانتخاب أو التهجين ويسمى أيرن Iron .

يعتبر مرض صدأ الساق فى القمح من الأمراض الهامة والتى عانت منه البشرية كثيراً وكان لزاماً إيجاد أصناف مقاومة. وجد أن جميع الأصناف المنزرعة قابلة للإصابة بشدة ولذلك تم اللجوء إلى الأصناف البرية من القمح وقد وجد أن بعض منها مقاوم طبيعياً للمرض. تم عمل التهجين بين صنف قمح برى مصدره وسط أفريقيا وأصناف قمح أخرى

لنقل صفة المقاومة إليها. بعد تهجينات عديدة تمكن ماك فادن Mc Faden من الحصول على أول صنف مقاوم من القمح لمرض صدأ الساق وكان ذلك هو أمل جميع المشتغلين بأمراض النبات وتربية النبات وخاصة تربية القمح والمزارعون أيضاً ولذلك سمى الصنف الأمل Hope . أنقذ هذا الصنف المزارعون من ضرر مرض صدأ الساق والذى يسبب خسارة فادحة فى المحصول.

عانت مصر الكثير من مرض ذبول القطن قديماً . لجأ المختصون إلى عمل الانتخاب بإستمرار فى صنف السكلاريدس لانتاج سلالات مقاومة لمرض الذبول. ولكن بعد فترة منى محصول القطن فى مصر بخسائر فادحة حيث أصبح صنف السكلاريدس قابل للإصابة بشدة ولم يجدى الانتخاب فى ذلك. لحسن الحظ اتضح أن بعض الأصناف المنزرعة فى مصر قصيرة التيله مقاومة للمرض مثل الصنف أشمونى والصنف دندره. تم عمل التهجين بين صنف قطن السكلاريدس طويل التيله والقابل للاصابة بالذبول وصنف الأشمونى قصير التيله والمقاوم للمرض وذلك لنقل صفة المقاومة من الأشمونى إلى الصنف طويل التيله. نتيجة لهذا التهجين أمكن الحصول على صنف طويل التيله ومقاوم للمرض. وهكذا بعد ذلك أمكن إنتاج أصناف قطن طويلة التيله مقاومه للمرض. تعتبر الآن جميع أصناف القطن المنزرعة فى مصر مقاومة للمرض. حيث يجرى إختبار للصنف للتعرف على مدى مقاومته لمرض الذبول قبل توزيعه وتعميم زراعته.

ولما كانت الطفيليات الممرضه دائمة التغيير فهى تكون سلالات فسيولوجيه مختلفة باستمرار. لذلك فالصنف الذى ينتخب أو ينتج باعتباره منيعاً أو مقاوماً ضد سلالة أو سلالات معينه قد لا يقاوم السلالات الأخرى. لذا كان من الواجب أن تختبر الأصناف الجديدة المنتجة دورياً ضد السلالات المهمه والخطيرة فى المنطقة التى يزرع فيها المحصول. وأن يستمر هذا الاختبار بصفة دائمة تقريباً لإدماج ماقد يكون نشأ من سلالات جديدة غير معروفه بالمنطقة والتى قد تكون أكثر شراسه وتسبب إصابة الصنف المقاوم.

يعتبر التطعيم أيضاً وسيلة للحصول على نباتات مقاومة حيث يكون الأصل مقاوم للأمراض والطعم ذو صفات جيدة وغير مقاوم للأمراض. ومثال ذلك تطعيم البرتقال على أصل مقاوم لمرض التصمغ فى الموالح مثل الدارنج.

مرة أخرى فإن الطفل أو الانسان الضعيف يمكن تقويته بإعطاءه مقويات مثل الفيتامينات وبعض العناصر اللازمة مثل الحديد والكالسيوم والفوسفور والبوتاسيوم وبعض الأحماض الأمينيه وبذلك يصبح أكثر قدره على مقاومة المرض. يشابه النبات الانسان فى ذلك الصدد فقد وجد أن تغذية النبات بالعناصر الضرورية فى صورة متزنه يسبب زيادة مقاومة النبات للمرض وذلك بالمقارنة بالنبات الضعيف والذى يكون قابل للإصابة. ومن المعروف الآن أن للعناصر الضرورية دور هام فى زيادة مقاومة النبات للأمراض. توفر عنصر البوتاسيوم فى التربة يزيد من مقاومة النبات ضد الاصابة بالنيماتود وأيضاً ضد الاصابة بمرض الذبول فى القطن والطماطم.

مرة ثالثة فإن الإنسان يمكن أن يحصن ضد الاصابة بمرض معين وذلك بإعطاءه جرعات أو حقنة بسلالات ضعيفة من الطفيل أو أجزاء غير حيه منه. يسبب ذلك تنشيط تكوين الأجسام المضادة فى جسم الانسان والتى تهاجم الطفيل عند اصابته للإنسان وتمنع تأثيره الضار ويصبح الانسان معاف سليم يسمى ذلك بالتحصين immunization. تتكون الأجسام المضادة فى دم الانسان وهى تتكون من بروتين الجلوبيولين.

يشابه النبات الانسان فى ذلك إلا أن النبات لايكون أجسام مضادة على الإطلاق لأنها تتكون فقط فى الدم. فقد وجد أن تلقيح الدرنات بسلاله ضعيفة من الفطر المسبب لمرض اللفحة المتأخرة فى البطاطس يقى الدرنات من الاصابة بسلالة قويه. توجد نفس الحالة أيضاً فى البكتريا المسببه لمرض التدرن التاجى. توجد هذه الظاهرة فى كثير من الفيروسات فقد وجد أن تلقيح نباتات الطماطم بسلالة ضعيفة من فيروس تبرقش الطماطم تسبب مقاومة النبات للسلالات القوية الشرسة من هذا الفيرس. تسمى هذه الحالة فى الفيروسات بالوقاية أو الحماية cross protection وهى تنتج عن تلقيح متبادل بسلالتين مختلفتين أحدهما ضعيفة

والأخرى قوية وهو ما يعرف بالتلقيح المتبادل cross inoculation . يمكن أن تسمى جميع هذه الحالات فى الفطر أو البكتريا أو الفيرس بالتحصين لأنه يشابه مايحدث فى الانسان. ولكن يجب الأخذ فى الاعتبار أن ميكانيكية حدوث التحصين فى الانسان والحيوان تختلف تماماً عن ميكانيكية حدوث التحصين فى النبات.

راجع المقاومة الحيوية فى باب المقاومة حيث توجد أمثلة أخرى لحالة التحصين فى النبات ومنها إستعمال الميكوريزا لمقاومة مرض الذبول فى بعض النباتات مثل ذبول الطماطم المتسبب عن الفطر فيوزاريوم *Fusarium* .

obeikandl.com

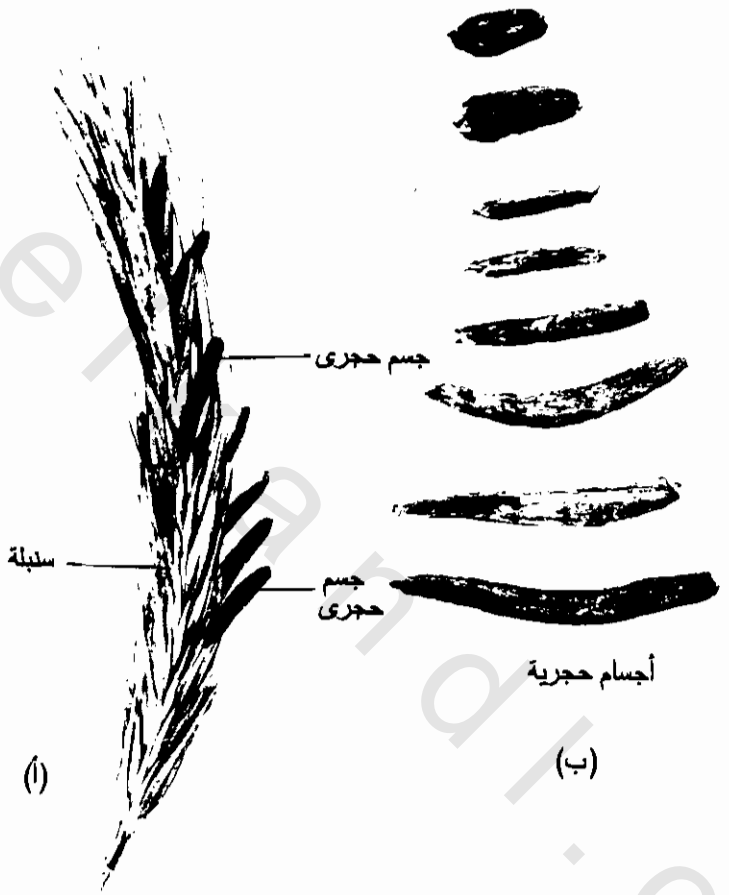
الباب الحادى العاشر

الأوبئة النباتية

نبذة تاريخية عن الأوبئة النباتية :

لقد سببت الأوبئة النباتية أضرار جسيمة للبشرية على مر السنين ويوجد أمثلة كثيرة لذلك وفيما يلى بعض منها.

يعتبر مرض الأرجوت ergot فى الراى من الأوبئة النباتيه الخطيرة فى القرون الوسطى حيث أن الفطر *Claviceps purpurea* المسبب للمرض يكون فى مكان الحبة جسم حجرى (شكل ٦٥) sclerotium غامق اللون يحتوى على مركبات القلويدات alkaloids وهى شديدة السميه للانسان والحيوان ومنها مركب ergotamine ومركب ergometrine . وقد سبب هذا المرض عذاباً أليماً للجنس البشرى فعند صناعة الخبز من حبوب الراى يختلط معها الأجسام الحجريه وبذلك يصبح الخبز ملوث بالمركبات السامه فعند تغذية الانسان على هذا الخبز يصاب بمرض ergotism الأرجوتزم. وأعراض هذا المرض فى الانسان هى فساد وتحلل الأنسجة العصبية وينتج عنها الشلل وضعف الدورة الدموية بدرجة شديدة مما ينتج عنه حدوث الغرغرينا لأصابع اليدين والقدمين وتموت وتسقط وقد يسقط الذراع كله وقد يصبح الانسان كسيح وقد يؤدى ذلك إلى موت الانسان والحيوان. وشكراً لله لأن هذا الوباء الرهيب الذى كان منتشراً فى القرون الوسطى أصبح نادر الحدوث الآن بعد تقدم علم أمراض النبات ومعرفة دورة حياة مسبب المرض وبالتالى أمكن تلافى ضرره ومقاومته. ومما هو جدير بالذكر أن هذا المرض كان سبب مباشر فى هزيمة الروس أمام الأتراك سنة ١٧٧٢ فقد تقدم الجيس الروسى صوب الجنوب لإحتلال مضيق الدردنيل لإجبار الأتراك للسماح للروس



(شكل ٦٥) : مرض الأرجوت

(أ) سنبلة نبات راى مصابه بمرض الأرجوت وبها أجسام حجرية.

(ب) أجسام حجرية مختلفة الأشكال والأحجام.

للمرور عبر المضيق والخروج إلى البحر الأبيض المتوسط وفى أثناء مرور الجيش الروسى فى دلتا نهر الفولجا عند استراخان فقد قام الجنود بصنع الخبز من الراى النامى فى هذه المنطقة ولسوء الحظ كان الراى مصاب بمرض الأرجوت وعند تغذية الجنود على هذا الخبز حدث للكثير منهم مرض الأرجوتزم وعند تغذية الجياد على قش الراى المصاب فقد أصيبت ونفق كثير من الجياد وبذلك تأثر الجيش كما ساد روح اليأس والهزيمة فى أفراد الجيش الغير المصابون الأصحاء وهكذا خسر بيتر Peter الكبير قائد الجيش الروسى المعركة فى ربيع سنة ١٧٧٢ وذلك نتيجة لجهل أفراد الجيش بهذا المرض وتقهقر الجيش الروسى إلى قواعده وفشل فى إحتلال الدردنيل.

يعتبر مرض اللفحة المتأخرة فى البطاطس من الأمراض الوبائية الهامة فقد أثر كثيراً فى دخل الفرد فى دول أوربا مثل فرنسا وايطاليا والنمسا والمجر وذلك فى السنوات من ١٨٤٠ حتى ١٨٤٥ إلا أن تأثير ذلك كان مخيف فى إيرلنده حيث سبب هذا المرض المجاعه الشهيره وقد نتج عنها موت حوالى ٣/٤ مليون مواطن إيرلندى فى سنة ١٨٤٥ كما أن مليونا آخرين ماتوا نتيجة المجاعة وسوء التغذية خلال خمسة عشر عاماً تالية وفى خلال تلك الفترة هاجر ما يقرب من مليونى إيرلندى إلى الولايات المتحدة الأمريكية. وفى روسيا أثر المرض كثيراً على دخل المواطنين وزاد من فقرهم وبؤسهم وكان له دور فى تشجيع ظهور أنظمة وأفكار جديدة للحكم فقد كان ذلك بيئة مناسبه لظهور وتشجيع إنجلز Engels وكارل ماركس. وسبب ذلك الوضع الاقتصادى المتدهور سقوط لويس فيليب فى فرنسا وتشكيل حكومات جديدة فى كل من ايطاليا والنمسا والمجر وذلك فى سنة واحدة ١٨٤٨.

وفى العصر الحديث يعتبر مرض البقعة البنية فى الأرز من الأمراض الوبائية التى سببت مجاعة البنغال سنة ١٩٤٣ وموت سكانها. فقد وصف المراسلون أن كثير من السكان ومنهم الأطفال يعانون من نقص حاد فى التغذية وأنهم فى حالة ضعف تام وغير قادرين على الحركة وقد ينتهى الأمر بهم إلى الموت وذلك على جوانب الطرقات ولم يمكن إنقاذهم من المجاعة حيث أن ذلك كان أثناء الحرب العالمية الثانية ولم يمكن إمدادهم عن طريق بورما لأنها كانت تحت سيطرة الجيش اليابانى. كما أن الجيش الانجليزى كان يحارب وخلفه سور

الصين العظيم لذلك كان التموين الغذائى صعب أو متوقف وذلك مما ساعد فى زيادة عدد الضحايا. إلا أنه لحسن الحظ لم تتعد المجاعة سنة ١٩٤٣ حيث أن الظروف الجوية فى سنة ١٩٤٤ لم تكن ملائمة لحدوث المرض وكان إنتاج الأرز وفير فى سنة ١٩٤٤ وبذلك فقد أنقذ شعب البنغال من المجاعة فى هذه السنة نتيجة للظروف البيئية الغير ملائمة للمرض.

حركيات إنتشار الجراثيم فى الهواء Kinetics of spore dispersal by air :

تنتشر الغالبية العظمى من جراثيم الفطريات بالهواء. تفيد دراسة حركيات إنتشار هذه الجراثيم فى دراسة الأوبئة النباتيه. تحتوى بعض عينات من الهواء على مائة ألف جرثومه لكل متر مكعب وأحياناً يكون عدد الجراثيم مائتى ألف جرثومه لكل متر مكعب. يتذبذب عدد الجراثيم فى الهواء تبعاً للظروف البيئية ولكن عادة يكون كبير بعد سقوط الأمطار.

يمكن عد وفحص الجراثيم فى الهواء بواسطة استعمال مصيدة هيرست للجراثيم Hirst automatic volumetric suction trap . يمكن عن طريقها شفط كمية ذات حجم معلوم من الهواء ويمرر على شريحة زجاجية مغطاه بطبقة لزجه من الجلسرين أو جيلى بترولىpetroleum jelly . تلتصق الجراثيم على الشريحة وتفحص وتعد بإستعمال الميكروسكوب. يمكن استعمال طرق أخرى أقل دقة وذلك بتعريض شريحة زجاجية مغطاه بماده لزجه للهواء لمدة معينه قد تكون يوم كامل ثم تفحص وتعد الجراثيم بإستعمال الميكروسكوب. وفى طريقه أخرى يمكن استعمال طبق بترى مكشوف به بيئة مغذية وبعد فترة يمكن فحص الطبق وعد الجراثيم أو المستعمرات الفطرية الناتجة. تعتبر الطريقتين الأخيرتين غير دقيقتين حيث يجرى عد الجراثيم الساقطة فقط وليست الجراثيم الموجودة فى حيز معين.

تسقط الجرثومه من أعلى إلى أسفل فى حالة الهواء الساكن تماماً still air تحت تأثير الجاذبية الأرضية. يمكن حساب سرعة سقوط الجرثومة بواسطة قانون ستوكس Stokes'law وهو يستعمل لحساب سرعة سقوط الأجسام الكروية الصغيرة فى سائل لزج. وفيما يلى شرح لقانون ستوكس.

$$V = \frac{2}{9} \cdot \frac{o - P}{u} \cdot gr^2$$

V= سرعة السقوط سم لكل ثانيه.

o = الكثافة وهى عبارة جم لكل سم٣ وهى ١ للماء وتعتبر تقريباً ككثافة الجراثيم هى ١ .

P = كثافة الوسط أى الهواء وهى ١,٢٧ × ١٠-٣ جم/سم٣.

g = قوة الجاذبية الأرضية وهى ٩٨١سم/ثانية٢ .

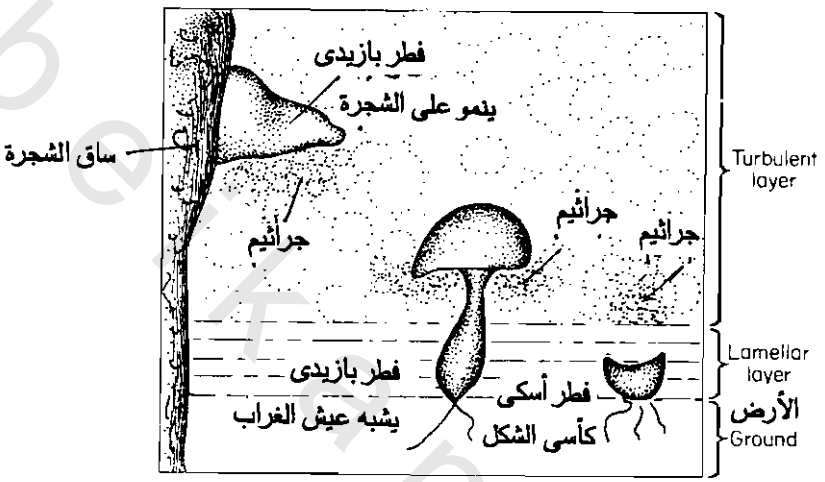
u = لزوجه الوسط أى الهواء وهى ١,٨ × ١٠-٤ جرام/سم٢ فى درجة حرارة ١٨° مئوية.

r = طول نصف القطر للجرثومه بالسم.

وجد أن سرعة سقوط الجراثيم تتراوح بين ٣, إلى ٢,٧٨ سم لكل ثانية وعادة تكون حوالى ١سم لكل ثانيه. تؤثر خشونة سطح الجرثومة وعدم تماثلها فى الشكل ووزنها ورطوبة الجو النسبية على سرعة السقوط.

يعتبر وجود طبقة من الهواء الساكن تماماً still air غير موجود فى الطبيعة ولكن يمكن أن توجد طبقة رفيعة جداً منه على سطح التربة. يوجد أعلى هذه الطبقة طبقة أخرى من الهواء سمكها حوالى ١مم وهى متحركة وموازية فى حركتها لسطح التربه وتسمى بالطبقة المسطحة lamellar layer . يمكن أن يتغير سمك هذه الطبقة تبعاً لسرعة الهواء وطبوغرافية سطح التربة فتكون رفيعة فى حالة زيادة سرعة الهواء وتكون سميكه فى الهواء الهادئ. يوجد طبقة الهواء المتحرك turbulent layer أعلى الطبقة السابقة وهى طبقة متحركة غير مستقرة ويمكن أن تكون حركتها فى إتجاهات عديدة أو مختلفة وهى تشمل الطبقة الرئيسية من الهواء (شكل ٦٦) .

سرعة السقوط الحقيقية للجراثيم وسرعة إنتقالها من مكان إلى آخر يتوقف على مدى ودرجة تأثير الجاذبية الأرضية عليها وعلى سرعة واتجاه الهواء أو الريح. تتوقف سرعة سقوط الجرثومة من أعلى إلى أسفل فى الطبقة المسطحة من الهواء على مقدار الجاذبية الأرضية ولكن تتوقف سرعة إنتقالها من مكان إلى آخر على سرعة سقوطها وسرعة هواء الطبقة المسطحة. يمكن أن تحمل الجرثومة إلى أعلى وجانبياً وذلك بواسطة تيارات الهواء فى طبقة الهواء المتحرك يمكن أن تبقى الجرثومة معلقة فى هذه الطبقة لمدد كبيرة أو إلى الأبد.



(شكل ٦٦) : إنتشار وانتشار جراثيم الفطريات المختلفة فى طبقات الهواء المختلفة .

إنتشار الجرثومة فى الهواء المتحرك قد يستمر ساعات أو أيام أو سنين ويمكن أن تتحرك لمسافات كبيرة قد تصل إلى مئات الأميال . وجد فى دراسة على إنتشار مرض صدأ القمح فى أمريكا أنه قد تتجمع سحابه من جراثيم يوريديه للفطر المسبب للمرض فوق حقول قمح مصابه فى جنوب المسكيك فتحملها الرياح شمالاً فإذا سقطت أثناء ذلك على نباتات قمح قابلة للإصابة فإنها تحدث عدوى وينتج عن ذلك تضاعف لأعداد الجراثيم وتنتقل هذه الجراثيم

بواسطة الرياح شمالاً ويتكرر ذلك أثناء الموسم حتى تصل الجراثيم اليوريديه إلى مناطق زراعة القمح فى كندا فتصيبها بمرض الصدأ. وجد أن هذه الرحلة من جنوب المكسيك إلى كندا ومسافتها حوالى ثلاث آلاف كيلو متر تستغرق ما يقرب من شهرين. تحدث هذه الحالة سنوياً بواسطة الرياح وينتج عنها إصابة محصول القمح ونقص محصوله فى جميع أنحاء القارة الأمريكية. وجدت أيضاً جراثيم صدأ الساق على إرتفاع ١٤ ألف قدم فى الحقول المصابة. وجدت جراثيم فطريات أخرى على إرتفاع كبير فوق سطح البحر على مسافة ٦٠٠ ميل من الشاطئ. وقد أجريت دراسة فى هذا الصدد فى مصر خلال شهر مارس فوجد أن الجراثيم اليوريديه للصدأ توجد بكثرة فى منطقة الوجه البحرى على إرتفاع يزيد على ألف قدم. تستخدم الطائرات المزودة بشرائح زجاجيه عليها مادة لزجه أو بمصائد للجراثيم لتحديد مدى إنتشار الجراثيم فى الارتفاعات المختلفة.

وفى عائلة الإصداء pucciniaccae فإن الجراثيم الأسيدية تتبادل مع خلايا عادية فاصلة تتكون فى ترتيب دقيق فى سلاسل داخل الوعاء الأسيدى وبعد تحلل الخلايا الفاصلة فإن الجراثيم الأسيدية تصبح متصلة معاً بواسطة البقايا اللزجه. وتكون الجراثيم معبأة فى زحام شديد وكل منها تكون مضلعه نظراً لتعرضها للضغط نتيجة التزاحم. وفى الجو الرطب تمتص الجراثيم الماء وتصبح بيضاوية خصوصاً فى الأجزاء الخارجية من الوعاء الأسيدى وهذه الجراثيم تصبح كروية فجأة وتقذف خارج الوعاء الأسيدى فرادى أو فى مجموعات ومن ثم تنتشر بواسطة الرياح التى هى العامل المحلى لنشر الجراثيم الأسيدية لفطريات الإصداء والتى تتكون على العائل المتبادل من نباتات ذات الفلقتين وفى النهاية تنتقل لتحدث العدوى لنباتات القمح الصغيرة.

تنتشر الجراثيم اليوريدية الناضجة للفطر بكسينيا جراميئيس *Puccinia graminis* بواسطة الرياح التى تعمل على نشرها محلياً مثلها فى ذلك مثل أنواع أخرى من جراثيم الفطريات الممرضة للنباتات وكما سنبين فيما بعد فأن الظروف البيئية تكون ملائمة فى أمريكا حيث تنتشر الجراثيم اليوريدية إلى مسافة ٦٠٠ ميلاً بواسطة الرياح.

وقد درست المسافة التى تقطعها الجراثيم اليوريدية للفطر بكسينيا جرامينيس بواسطة العالمين ستاكمان وهرار عام ١٩٥٧ . وقد أثبتا أن اللقاح المعدى للإصابة الأولية لمرض صدأ الساق فى القمح قد يكون عبارة عن جراثيم يوريدية بقيت حية بعد قضاء فترة الشتاء أو جراثيم أسيدية من أشجار نباتات الباربرى القريبة. ويكون الفطر جراثيمه التيليتية فى بعض الأماكن القريبة من كندا ويتبع ذلك أن بعض نباتات الباربرى تكون اصابتها ضعيفة وينتج عنها كميات ضئيلة نسبياً من الجراثيم الأسيدية. وفى مناطق عديدة من نطاق زراعة القمح فى شمال أمريكا وحيث تم القضاء تقريباً على نباتات الباربرى يكون هناك عدداً بسيطاً نسبياً من الجراثيم اليوريدية التى يمكنها أن تقاوم انخفاض حرارة الشتاء فى المناطق الشمالية ولذلك يظهر بوضوح أهمية الجراثيم اليوريدية التى تأتى من المناطق الجنوبية لنطاق زراعة القمح حيث يظهر أنها هى المصدر الرئيسى للقاح المعدى وهذه النظرية صحيحة ومؤيدة بالأدلة القوية. ففى عام ١٩٣٤، ١٩٣٥ ظهر التأثير الواضح والأهمية الكبرى لدور الرياح كعامل مهم فى انتشار مرض صدأ الساق فى القمح. وقد عزى الانتشار الفجائى الوبائى للمرض عام ١٩٣٥ إلى تحركات من الشمال إلى الجنوب للجراثيم اليوريدية فى فصل الخريف فى عام ١٩٣٤ وحيث أن الجراثيم اليوريدية شديدة الحساسية للحرارة والجفاف فى فصل الصيف فى مكسيكو وتكساس فقد تحدث إصابة بسيطة للقمح الشتوى فى الخريف ولكن أحياناً كما حدث فى عام ١٩٣٤ فإن الرياح الآتية من الشمال حملت اللقاح المعدى من الجراثيم اليوريدية إلى تكساس ومكسيكو حيث أصيبت نباتات القمح الشتوى الصغيرة السن ثم حدث سقوط للأمطار غير عادى فى شهر مايو ١٩٣٥ فى تكساس أدى إلى تأخر فى نضج المحصول وإلى إصابة غير عادية من الصدأ، وفى يومى ١١، ١٢ مايو ١٩٣٥ تحركت كتلة هائلة من الهواء شمالاً من جنوب تكساس ويوم ١٣ مايو كانت هناك تحركات لكتل هوائية فى الاتجاه الشمالى الشرقى من غرب تكساس إلى ميسورى وفى اليوم التالى أمكن الحصول على الجراثيم فى مصائد الجراثيم (شرائح زجاجية مغطاة بالفازلين) فى نبراسكا. وأوضح ظهور وتقدم الإصابة بالمرض بعد ذلك أن الجراثيم سقطت فى ذلك الوقت تقريباً فى كل من أوكلاهوما وكانساس. ومن يوم ٢٤ مايو إلى ٢٦ مايو كانت هناك تحركات لكتل الهواء الضخمة من تكساس إلى الشمال وأمكن اصطياد الجراثيم فى ذلك الوقت فى north داكوتا

على بعد ألف ميل من مناطق عديدة من شمال ووسط الولايات المتحدة مما أتاح لمرض صدأ الساق بالإنتشار والنمو السريع كنتيجة لوجود لقاح معدى إما محليا أو آتياً من مسافات بعيدة محمولة بواسطة الرياح.

وانتقال الجراثيم اليوريدية المحمولة بواسطة الرياح من الشمال إلى الجنوب فى فصل الخريف ومن الجنوب للشمال فى فصل الربيع والصيف التاليين كان هو مصدر الإصابة الأولية لمرض صدأ الساق فى القمح. وكانت التحركات غير العادية للهواء بالإضافة إلى ظروف الرطوبة والبرودة سبباً فى تأخر نضج المحصول ساعدت على الظهور الوبائى المفاجئ للمرض فى عام ١٩٣٥ فى الولايات المتحدة. وفى جمهورية مصر العربية حيث لاتوجد نباتات الباربرى وبالرغم من ذلك تتجدد الإصابة بمرض صدأ الساق فى القمح إذن لابد أن الجراثيم الأسيدية أو اليوريدية تصل إلى مصر بواسطة الرياح من المناطق الشمالية كتركيا وقبرص وسوريا أو من الجنوب كالحبشة وكينيا والصومال والدليل على صحة ذلك هو أن السلالات الفسيولوجية للفطر واحدة فى المناطق المذكورة وإذا حدث وباء من إحداها يظهر فى كل هذه المناطق.

يتضح أن فطريات التربة والتى تنتشر جراثيمها بالهواء تكون مدعمه بطرق أو ميكانيكيه معينة لقذف الجراثيم إلى طبقة الهواء المتحرك لكى يحدث إنتشار الجراثيم بطريقة فعالة.

يمكن أن تستقر الجراثيم على السطوح نتيجة لاصطدامها بالأشجار والنباتات أو نتيجة لسقوطها للتجاذب الألكتروستاتيكى حيث يمكن أن تكون الجراثيم ذات شحنات موجبه أو سالبه ويحدث تجاذب بينها وبين الوسط المخالف فى نوع الشحنه.

تقدير إنتشار المرض حسابياً :

يمكن تقدير انتشار حالات الأمراض المختلفة بإستعمال بعض المعادلات والتى تفيد أيضاً فى قياس حالات الأوبئة النباتيه ومثال ذلك المعادلة الآتية :

$$X = X_o^{ert}$$

وحيث أن :

X= نسبة المرض فى وقت معين

X_o= كمية اللقاح المسببة للمرض

r= سرعة إنتشار المرض

t= الوقت اللازم لحدوث الإصابة

e= عبارة عن قاعدة أو أو أصل اللوغاريتم الطبيعى

يتضح من المعادلة السابقة أن العامل المحدد للفائدة أو الربح هوr. يعطى العامل r فكرة عن سرعة حدوث الأوبئة النباتيه. يمكن إستعمال العامل r لمقارنة الأوبئة النباتيه للمرض الواحد فى مناطق مختلفة أو أصناف مختلفة. يمكن إستعمال r للمقارنة بأخذ اللوغاريتم فى المعادلة السابقة.

$$\log e^{X} = \log e^{X}o + rt$$

$$rt = \log e^{X} - \log e^{X}o$$

$$r = \frac{1}{t} \log e \frac{x}{x_o}$$

يمكن تقدير قيمة r فى أى وقت أثناء حدوث الأوبئة. ولتقدير قيمة r فى هذه المعادلة لابد من وجود قيمتين أو تقديرين assessments للمرض فى زمنين متتاليين وذلك لحساب سرعة حدوث المرض فى هذه الفترة. ولذلك فإن التقدير أو القياس الأول للمرض هى x_1 والزمن t_1 والتقدير الثانى للمرض x_2 والزمن t_2 . تبعا لذلك يحسب متوسط سرعة حدوث الاصابة بالمعادلة التالية :

$$r= \frac{1}{t_2-t_1} \log e \frac{x_2}{x_1}$$

يمكن تطبيق ذلك على مرض البياض الدقيقى فى القمح أو الشعير. قدرت درجة المرض فى المحصول بعد ٤٥ يوم من الزراعة بالنسبة ٥,٠٪ وقدرت بعد ٥٥ يوم من الزراعة بالنسبة ٣,٥٪.

ولذلك x_1 = ٠٠٥,

و x_2 = ٠٣٥,

و $t_1 - t_2 = ١٠$

ولذلك $r = \frac{1}{10} \log e \frac{٠٣٥,}{٠٠٥,} = ١٩٤,$

ولذلك، متوسط حدوث الاصابة فى العشرة أيام المذكوره هو ١٩٤, وحده.

شدة الاصابة بالمرض:

يمكن قياس شدة الاصابة بالمرض disease severity فى حالات الأوبئة النباتيه بالمعادلة الآتية:

شدة الاصابة بالمرض = كمية اللقاح الفعال × درجة الاصابة بالمرض

disease potential x inoculum potential = disease severity

شدة الاصابة بالمرض = (تركيز اللقاح × درجة الفاعلية للقاح) × (مدى توفر الظروف المشجعة لحدوث المرض × درجة قابلية النبات للاصابة بالمرض)

شدة الاصابة بالمرض = (susceptibility x proneness) x (capacity x inoculum density)

تعتبر كمية اللقاح الفعال من أهم العوامل فى إنتشار المرض وحدوث الأوبئة. تعتبر كمية اللقاح فقط غير مؤثرة فى حدوث الأوبئة بل يلزم أيضاً تقدير مدى حيوية اللقاح أى درجة فاعليته بمعنى أن عدد الجراثيم فى الفطر المطلق غير مؤثر حيث يمكن أن يتكون اللقاح من

obeikandl.com

عدد كبير من الجراثيم ولكن كلها أو جزء كبير غير حيوى أو غير مكتمل النضج أو تأثر بظروف بيئية غير مناسبة ففقد حيويته بينما لقاح به عدد قليل من الجراثيم ولكنها ذات حيوية عاليه فيكون هذا اللقاح أكثر فاعلية. يمكن أيضاً إستعمال حالة الديماتود لتفسير ذلك فاليرقات الحديثة الناتجة من فقس البيض تكون أكثر كفاءة فى حدوث العدوى عنه فى حالة اليرقات التى أمضت وقت كبير فى التربة وفقدت كثير من طاقتها المختزنة حيث أثناء حركة اليرقات فى التربة لمدة طويلة للبحث عن النبات العائل تستهلك اليرقة الدهون المختزنة ومصدر الطاقة ويحدث لها ضعف ويمكن أن تفقد قدرتها على دفع الرمح داخل النبات ولذلك فإنه فى هذه الحالة فإنه يمكن أن يكون عدد اليرقات كبير ولكن كفاءته أو قدرته فى حدوث العدوى منخفضة. يلزم لحدوث الأوبئة النباتيه توفير تركيز عال من اللقاح وأيضاً حيوية وفاعلية مرتفعة لوحدات اللقاح.

تعتبر درجة الإصابة بالمرض نتيجة لعاملين أحدهما مدى توفر الظروف المشجعة لحدوث المرض مثل وجود ظروف بيئيه غير مناسبه للنبات مثل وجود تربة فقيره فى العناصر الغذائية أو عدم الاهتمام باعطاء جرعات مناسبة من الأسمدة ووجود طور النبات القابل للإصابة إلى آخره من العوامل. يعتبر العامل الثانى المحدد لذلك هو درجة القابلية للإصابة وهى محدده بواسطة العوامل الوراثيه للنبات حيث يكون النبات خال من جينات المقاومة ويحتوى جينات القابلية للإصابة. ولذلك لحدوث الأوبئة النباتيه يجب توفر هذين العاملين حيث يمكن أن تتوفر كل العوامل السابقة ولكن يكون النبات فى طور غير قابل للإصابة فلا تحدث الحالة الوبائية للمرض.

تتحكم العوامل السابقة فى حدوث الأوبئة فعند توفرها تحدث الحالة الوبائيه للمرض ولكن عند عدم توفر عامل أو أكثر فيسبب ذلك خفض فى شدة الاصابة ولاتحدث الحالة الوبائية للمرض.

تحليل الأوبئة النباتيه Analysis of epidemics :

يحدث المرض نتيجة للتفاعل بين العائل والطفيل والظروف البيئية فى مدة زمنية. يعتبر عامل الزمن هام فى تحليل الأوبئة النباتيه حيث أن الظروف الجويه مثل درجة الحرارة والرطوبة والضوء تتغير فى اليوم الواحد. تعتبر الظروف الجويه ملائمة أو غير ملائمة لحدوث المرض وهى تتغير من فترة إلى أخرى وفى كل فترة يكون لها تأثير مناسب أو غير مناسب أو متوسط فى حدوث المرض. ولذلك عد تحليل أهمية الظروف الجويه فى حدوث الأوبئة يجب تقسيم مدة حدوث الوباء إلى فترات معينة كل فترة ٣ ساعات 3-hour slices وبذلك يمكن تقسيم اليوم الواحد إلى ثمان فترات. وفى حالة حدوث الأوبئة يمكن أن يكون لمدة مائة يوم ولذلك يكون لدينا ٨٠٠ فترة 800 segments of time . يدرس فى كل فترة حالة الجو ولذلك يوجد ٨٠٠ قياس لحالة الجو خاصة بدرجة الحرارة و٨٠٠ قياس لحالة الجو خاصة بالرطوبة النسبية و٨٠٠ قياس خاصة بالأمطار و٨٠٠ قياس خاصة بالضغط الجوى و٨٠٠ قياس خاصة بسرعة الرياح واتجاهها إلى آخره.

يمكن تطبيق ذلك على الطفيل ويلزم لذلك أيضاً تجزئة دورة حياة الطفيل والمتعلقة مباشرة بالأوبئة النباتيه ومثال ذلك إنتشار وسقوط الجراثيم أو اصطدامها بسطح النبات العائل ونسبة إنبات الجراثيم ودرجة تكون عضو الإلتصاق إن وجدت وكيفية وتعداد إختراق الطفيل للنبات وسرعة تكون البثرات وكفاءة التجرثم وتكوين الحوامل الكونيديه أو الجرثوميه على سطح العائل. يمكن القول أنه يوجد على الأقل ٨ متغيرات متعلقة بالطفيل وثمان متغيرات متعلقة بالظروف الجوية على مدى مائة يوم مجزئة إلى فترات لمدة ثلاث ساعات ولذلك يكون عدد التفاعلات interactions بين هذه المتغيرات هى ٨ × ٨ × ٨٠٠ = ٥١٢٠٠. ينتج من تحليل هذه التفاعلات وجود ٥١٢٠٠ رقم. لايمكن تحليل هذه المتغيرات إلا باستعمال الحاسب الإليكترونى computer . حيث يمكنه تحليل هذه التفاعلات بدون أى أخطاء without error ويتم ترتيبهم على أساس درجة الفاعلية ويتم رسم منحنى للوباء للمرض فى فترة الدراسة.

يعتبر إستعمال الحاسب الآلى سريع ودقيق ورخيص. حيث يتم تجميع البيانات وتبسيطها وتوضع فى صورة ثقوب على كروت punch cards حيث توضع البيانات الخاصة بالظروف الجوية فى الحاسب الألكترونى fed to the copmuter on punch cards ثم توضع البيانات الخاصة بالطفيل على كروت مثقوبة ويتم وضعها فى الحاسب الألكترونى تبعاً لبرنامج الحاسب الألكترونى programming . تبعاً لذلك يمكن سؤال الحاسب الألكترونى أسئلة خاصة ويقوم بالإجابة عليها the computer can be commanded to answer any question متعلقة بالحالة الوبائية للمرض. وضع المتخصصون فى أمراض النبات برامج للحاسب الآلىmathematical models لتحليل حدوث الأوبئة النباتيه ومثال ذلك البروجرام والموديل الحسابى EPIDEM .

يعتبر الحاسب الآلى أداة حاسبة فقط ويحتاج إلى خبرة كبيرة من الشخص القائم بتشغيله والقائم بوضع البرامج programming . فإذا كان البرنامج مصمم بطريقة سليمة فإن الجهاز سيعطى بيانات سليمة ومفيدة فى الموضوع تحت الدراسة ولكن فى حالة نقص المعلومات أو عدم دقتها أو عدم وضعها فى برنامج بطريقة سليمة فإن إجابات الحاسب الآلى ستكون غير مفيدة أو غير سليمة. يجب أيضاً الأخذ فى الاعتبار أن طريقة وضع السؤال تحتاج إلى كفاءة حيث يتوقف عليها مدى الحصول على اجابة سليمة.

الاستشعار عن بعد Remote Sensing :

يعتبر التصوير من طبقات الجو العليا aerial photography ذو فائدة كبيرة لتصوير مساحات كبيرة وللتعرف على نشوء ومدى سرعة إنتشار الأوبئة. إتضح أن إستعمال التصوير بالألوان panchromatic colour وخاصة التصوير الجوى بإستعمال الأشعة تحت الحمراءinfrared aerial photography ذو فائدة كبيرة للتعرض على الاصابة ببعض الأمراض النباتيه مثل أصداء وفيروسات القمح والشعير واللفحه المتأخرة فى البطاطس وبعض أمراض الموالح. يعتبر الاستشعار عن بعد بواسطة إستعمال التصوير الجوى ذو فائدة كبيرة فى حصر كثير من الأمراض النباتيه.

يفيد إستعمال درجات مختلفة متوافقة من الأفلام والمرشحات Film / Filter combinations . يستعمل فى بعض الأحيان فى آن واحد اثنان أو أكثر من هذه التوافيق لعمل التصوير الجوى multiband photography or multispectral remote sensing تكون الأفلام المستعملة فى التصوير panchromatic, infrafed, normal colour وتفضل الأفلام تحت الحمراء لحساسيتها الزائدة للضوء المنظور وللضوء القريب من الأشعة تحت الحمراء حيث يتراوح طول الموجه بين ٧٠٠ إلى ٩٠٠ نانومتر. تعتبر الأفلام colour infrared or Ektachrome Aero infrared (Camouflage Detection Film) مفضلة لحساسيتها فى التمييز بين مجاميع النباتات المصابة والنباتات السليمة لونيا. حيث أن النباتات السليمه تعكس أشعة الضوء ذات طول الموجه من ٧٠٠-٩٠٠ نانومتر وتظهر بلون محمر والعكس فى النباتات المصابة فإنها تعكس أشعة الضوء بضعف ولا يأخذ اللون المحمر فى الصورة.

يلائم الاستشعار عن بعد وجود الأمراض بصورة وبائية أو فى صورة شديدة فى مساحات واسعة منزرعة بمحصول واحد ويمكن إستعمالها بفكاءة فى الولايات المتحدة أو الاتحاد السوفيتى وبعض الدول الأخرى وحيث تزرع مساحات كبيرة شاسعة بمحصول واحد. إمكانية إستخدام الاستشعار عن بعد فى دول الوطن العربى تكون محدوده حيث أن المساحة المنزرعة لكل محصول محدودة ولايوجد تكثيف فى الزراعة حيث توجد محاصيل مختلفة فى مساحات محدودة. ولكن بالطبع يمكن أن يستعمل فى مجالات أخرى مثل حصر أنواع الأراضى والمساحة geodsy الخ.

بعض المعادلات المستعملة فى حساب الأوبئة النباتيه :

١- يمكن حساب كمية اللقاح فى بيئة ما أو على النبات كما فى المعادلة الآتية :

$$x = \ln x_o + rt$$

حيث أن x كمية اللقاح، x_o كمية اللقاح عند بداية القياس أى زمن صفر، t الزمن من بداية التجربة حتى وقت القياس، r سرعة التجرثم النسبية. ومن ذلك يتضح أنه كلما زاد الزمن وزادت سرعة التجرثم كلما زادت كمية اللقاح.

٢- يمكن تقدير كمية اللقاح فى فطريات وأيضاً طفيليات التربة الأخرى soil borne pathogens ويكون ذلك كما فى المعادلات الآتية :

$$S = K (x)^m$$

حيث أن s عدد الاصابات، x كثافة أو كمية اللقاح، m إنحدار منحنى كمية اللقاح بالنسبة للاصابة، K رقم ناتج من تقدير بعض القياسات كما فى المعادلة التالية :

$$K = (vnf)^m$$

v شدة اصابة (شراسة) الطفيل، n تغذية وحدات الاصابة propagules ، f تأثير البيئة على إنبات هذه الوحدات وأيضاً تأثير البيئة على قدرة هذه الوحدات على الإختراق.

عند دمج هذه العوامل مع بعضها لإيجاد علاقة خطيه لطفيليات التربة الممرضة ولذلك فإن كمية اللقاح تكون كما فى المعادلة.

$$\log s = m (\log x + \log v + \log n + \log f).$$

وفى حالة حساب كمية المرض للوحدة أى y يجب إستعمال معامل التصحيح للإصابة المتعددة multiple infection correction

وهو $s = 1n \frac{1}{1-y}$

ولحساب المعادلة للقيمة y كدليل على كمية اللقاح تصبح

$$y = 1 - e^{-s}$$

أو $y = 1 - e^{-(xvnf)^m}$

وهنا أى قيمة لكمية اللقاح تنتج المرض فى الوحدة تكون ملسوبة إلى الرقم1.

٣- إنتشار الجراثيم المحمولة بالهواء يمكن أن يحسب بالمعادلتين الآتيتين :

$$C(\acute{x}, t) = Q(t)\, T(\acute{x}, t)$$

$$D(\acute{x}, t) = R(\acute{x}, t)\, C(\acute{x}, t)$$

حيث Q هى سرعة إنتشار الجراثيم فى وحدة زمن معينه

T هى منحدر الإنتشار للجو. حيث فرق الكثافة لطبقات الجو تسبب منحدر لإنتقال وإنتشار الجراثيم. يتوقف منحدر الإنتشار على كثافة طبقات الجو المختلفة والوحدة ثانية لكل متر مكعب.

D هى سرعة سقوط الجراثيم إلى أسفل. وهى عبارة عن عدد الجراثيم الساقطة على وحدة المساحة من ورقة النبات فى وحدة الزمن على بعد مسافة من مصدر معين وهى $\acute{x}$ وذلك فى زمن معين t . يمكن التعرف على ذلك عند معرفة تركيز الجراثيم فى الهواء فى منطقة القياس وهو عبارة عن عدد الجراثيم فى المتر المكعب ويرمز له بالرمز C وأيضاً معرفة سرعة سقوط الجراثيم متر لكل ثانيه ويرمز لها بالرمز R .

٤- إرتطام impaction الجراثيم الساقطة من الهواء بسطح النبات. يتحكم فى إرتطام الجراثيم عوامل عديدة وهى وزن الجرثومة وسرعتها وحركة الهواء فى الحقل حول النبات أو أوراقه. كفاءة الارتطام يعبر عنها بالرمز P وتحسب من المعادلة الآتية :

$$P = \frac{(Ui\ Vs)}{(gL)}$$

حيث g سرعة السقوط نتيجة للجاذبية الأرضية

L طول أو مسافة أو بعد dimension لورقة النبات أو ساق النبات الخ

Ui السرعة الإبتدائية للجرثومة قبل دخولها مجال حركة الهواء المحددة للنبات

Vs سرعة الجرثومة النهائية بعد دخولها مجال حركة الهواء. عادة تتراوح هذه السرعة بين أقل من ١, إلى ٣سم لكل ثانيه.

تعتبر القيمة الصغيرة لـP نتيجة لجرثومة صغيرة خفيفة وورقة نبات كبيرة أو مجموع خضرى كبير أو من سرعة هواء منخفضة. وتعتبر القيمة الكبيرة لـP هى العكس لما سبق تماماً وفى هذه الحالة سيكون الإرتطام كبير. impaction efficiency ويرمز له بالرمز Ei أى كفاءة الإرتطام كما يرمز له بالرمز السابق P . كفاءة الإرتطام Ei تكون كبيرة فى الحالة الثانية.

التنبؤ بحدوث الأوبئة النباتية

التنبؤ forcasting هو توقع حدوث فعل معين فى المستقبل. ولذلك فإن التنبؤ بحدوث الأوبئة النباتيه هو التوقع لحدوث هذه الأوبئة مبكراً وقبل حدوثها بفترة مناسبة. تكون هذه الفترة حاسمه حيث يمكن فيها إتخاذ اللازم لمقاومة المرض. وبالتالى نتلافى الخسارة الفادحة الناتجة عن الوباء. وبعبارة أخرى فإن التنبؤ بالأوبئة النباتية يوضح للمزارعين فى منطقة معينة بأن الظروف مناسبة بدرجة كافية للإصابة بالمرض وحدوث الوباء وأن استخدام الوسائل الفعالة فى مقاومة المرض سوف يؤدى إلى نجاة المحصول من الإصابة وبالتالى سيؤدى ذلك إلى ربح كبير للمزارع والعكس صحيح وبنفس الدرجة من الأهمية للمزارع ولربحه فإن التنبؤ بأن الظروف غير مناسبة لحدوث المرض والوباء وبالتالى على المزارعين ألا يضيعوا الوقت والجهد والمال فى عمليات المقاومة. يتطلب نشر ذلك على المزارعون وجود خدمة للتحذير المبكر ويكون ذلك عن طريق الارسال الاذاعى أو التلفازى.

خدمات الإنذار المبكر لأمراض النبات Plant-disease warning services :

يتعامل علم أمراض النبات مع مسبب المرض وتقدم الإصابة فى نبات واحد أو عديد من النباتات كما يتعامل أيضاً مع حدوث المرض على نطاق واسع فى أعداد عظيمة من النباتات أى حدوث المرض بحاله وبائية وحيث يكون له تأثير فعال على إقتصاديات المحصول.

ولذلك فإن خدمات الإنذار المبكر لها دور فعال فى ذلك. تجرى هذه الخدمات لأمراض عديدة فى محاصيل مختلفة ومنها ما يأتى:

١- *البياض الزغبى فى العنب* : بدأت خدمات الانذار المبكر فى أوربا منذ زمن طويل بالنسبة لمحصول العنب الذى يتعرض لخسائر كبيرة نتيجة الإصابة بالفطر المسبب لهذا المرض. وهذه الخدمات لاتقدم الإنذار عن موعد الرش فحسب ولكنها تحدد بكل دقة متى يمكن الاستغناء عن الرش بدون حدوث خطورة على المحصول. وهكذا فإن هذه الخدمات تساعد فى مقاومة المرض عندما يكون هناك تهديد بحدوث وباء كما أنها تساعد المزارعين على توفير تكاليف المقاومة وذلك بالتوقف عن استعمال المبيدات الفطرية. تقدم هذه الخدمات أيضاً موعد إجراء الرشات الوقائية من المبيدات الفطرية المناسبة التى يجب إجراؤها لمنع حدوث المرض.

٢- *الندوة المتأخرة فى البطاطس والطماطم:* لقد نال مرض الندوة المتأخرة فى البطاطس عناية كبيرة من دارسى علم الأوبئة عن أى مرض آخر وذلك لما أحدثه من مجاعة فى ايرلندا فى عام ١٩٤٥ والسنوات التالية لها. ولكن بعيداً عن ذلك فإن مرض الندوة المتأخرة فى البطاطس على وجه الخصوص من الأمراض السهل التنبؤ بحدوثها ووضع نظام خدمات الإنذار لها وأكثر من ذلك لأنه مرض خطير يهدد أحد أهم محاصيلنا الغذائية. وإذا تصورنا توافر أو إنتشار لقاح معدى شرس وعدد كبير من النباتات القابلة للإصابة فى المنطقة فإن مرض الندوة المتأخرة سوف يتحول إلى وباء إذا أصبحت درجات الحرارة والرطوبة مناسبتين بحيث تكون درجة الحرارة خلال الشهرين الأخيرين من موسم نموها فى المدى الملائم بين ١٦°م - ٢١°م وفى هذه المناطق فإن تتابع حدوث الأوبئة فى السنوات التى تحدث فيها الندوة يتوقف على درجة الرطوبة. وكقاعدة عامة فإن شدة حدوث المرض لا تتوقف على متوسط تساقط المطر لفترة زمنية طويلة ولكنها مرتبطة ارتباطاً وثيقاً مع الرطوبة على أسطح الأوراق وعلى ذلك فإن الندوة المتأخرة تحدث كثيراً فى المناطق الساحلية القريبة من البحر وكذلك فى المناطق الموجودة على ارتفاع كبير فى المناطق الإستوائية حيث توجد كمية كبيرة من السحب والضباب والندى، وكمثل لذلك فإنه

يتوقع حدوث إصابة شديدة بالندوة المتأخرة ثمانية مرات تقريباً من كل عشر سنوات فى منطقة بنزانس بجنوب غرب انجلترا ولكن نتوقع فقط ٣ مرات من عشر سنوات ملائمة للمرض فى منطقة وارسو ويسقط على كل منها ٣ بوصات من المطر تقريباً خلال الشهرين الأخيرين من موسم نمو البطاطس ويرجع الاختلاف إلى أن منطقة بنزانس ساحلية وقريبة من البحر وجوها به نسبة عالية من الرطوبة مما يؤدى إلى تواجد ساعات أكثر من الرطوبة النسبية العالية خلافاً لما يحدث فى المناطق الأقل رطوبة داخل القارة مثل منطقة وارسو. وخدمات الإنذار المبكر للندوة المتأخرة قد تكونت بسرعة بعد حصر القواعد التى تم وضعها للتنبؤ بالإنتشار المفاجئ للمرض وهى :

١- يجب أن يكون هناك ندى خلال أربع ساعات على الأقل أثناء الليل.

٢- الحد الأدنى لدرجة الحرارة يجب أن يكون ١٠°م أو أعلا.

٣- متوسط السحاب فى اليوم التالى يجب أن يكون ٠,٨ أو أكثر.

٤- المطر المتساقط خلال الأربعة والعشرين ساعة التالية يجب أن يكون ٠,١سم أو أكثر.

٥- تصل الرطوبة النسبية ٧٥٪ أو أكثر.

٣- *الندوة المبكرة فى الكرفس* : اتضح أن عدد الجراثيم التى يمكن إصطيادها من الجو للفطر *Cercospora apii* المسبب للمرض وأيضاً تتبع الظروف الجويه يسمح بالتنبؤ بكل دقة عن حدوث المرض. وقد تم وضع توصيات لاجراء عمليات الرش فى الوقت المناسب تماماً لاجراء عمليات المقاومة.

٤- *لفحة أوراق الذرة الشماليه* : التنبؤ فى هذه الحالة كما فى المرض السابق فإن معرفة عدد الجراثيم المنتشرة فى الهواء للفطر *Helminthosporium turcicum* المسبب للمرض وكذلك تتبع الظروف الجوية يسمح بدقة التنبؤ عن حدوث المرض. وجد أن رش مبيد مانكوزيب أى دايثين م-٤٥ فى الأيام التى تنتشر فيها الجراثيم بأعداد كبيرة تكون ذات فعالية كبيرة فى مقاومة المرض والعكس صحيح إذا حدث الرش قبل أو بعد ذلك بيوم واحد أو أكثر.

إستخدام الحاسب الألكترونى فى التنبؤ بالأوبئة النباتيه :

يستخدم الحاسب الألكترونى فى التنبؤ ببعض الأوبئة النباتيه مثل مرض اللفحة المتأخرة فى البطاطس والطماطم. يوجد نظام للحاسب الألكترونى فى الولايات المتحدة الأمريكية يسمى Blitecast . يتوقف هذا النظام على البيانات الخاصه بالعوامل المؤثرة فى مرض اللفحه وهى درجة الحرارة ودرجة الرطوبة النسبية ودرجة سقوط الأمطار. يعطى المزارع المعلومات الأتية إلى محطة Blitecast تليفونياً وهى :

١ـ درجة الحرارة الصغرى والعظمى فى اليوم.

٢ـ عدد الساعات التى تزيد فيها الرطوبة النسبية عن ٩٠ ٪ فى اليوم.

٣ـ درجة الحرارة الصغرى والعظمى فى الفترة التى تزيد فيها الرطوبة النسبية عن ٩٠ ٪.

٤ـ كمية الأمطار الساقطة فى اليوم إلى أقرب ١, سم.

يمكن للمزارع قياس درجة الحرارة والرطوبة وذلك بوساطة جهاز hygrothermograph يتم وضعه بين الخطوط أسفل نباتات البطاطس المنزرعة.

يأخذ المختص فى محطة Blitecast هذه المعلومات ويصيغها على هيئة بيانات صالحة لتغذية بروجرام الحاسب الألكترونى وفى جزء من الثانيه يعطى الحاسب الألكترونى البيانات اللازمة وهى التنبؤ بحدوث الوباء أو عدم حدوثه. وفى حالة حدوث الوباء فإنه يعطى التوصية اللازمة للرش بالمبيدات الفطرية المناسبة وموعد الرش. يأخذ المختص هذه المعلومات وينقلها تليفونياً إلى المزارع. تستغرق هذه العملية ٣ دقائق. يوجد فى هذا النظام فترة من ٥ـ٧ أيام بين موعد التنبؤ وبين حدوث الوباء. تعتبر هذه الفترة كافية لكى يحدث فى أثنائها الرش بالمبيدات الفطرية لوقاية النباتات من المرض.

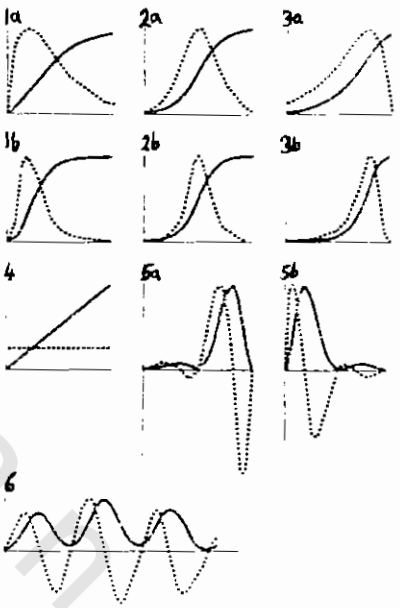
يوجد أيضاً نظام باهظ التكاليف للتنبؤ بحدوث المرض حيث يوجد وحدات متكاملة مستقلة مزودة بالحاسب الآلى لتحديد حدوث وباء مرض اللفحه المتأخرة فى البطاطس وتوضع هذه

الوحدات فى الحقل لقياس التغيرات فى الظروف الجوية وعند حلول الفترة الحرجة وهى الفترة التى تتوافر فيها شروط حدوث الحالة الوبائية للمرض فإنه يحدث تحذير بواسطة الجهاز.

طرز الأوبئة النباتية Patterns of epidemics :

من المعروف أن منحنيات النمو لجميع النباتات تأخذ شكل حرف S ولذلك تسمى S-shaped curves أى sigmoid curves . نفس الشئ أيضاً يحدث عند رسم منحنيات الأوبئة النباتيه فإنها تأخذ شكل حرف S فى الكثير من الأمراض (شكل ٦٧) وخاصة اللفحة المتأخرة فى البطاطس وصدأ الساق فى القمح. حيث يزداد الوباء مع الزمن حيث يوضع على المحور السينى الزمن وعلى المحور الصادى شدة المرض. وفى الجزء الأول من المنحنى يزداد الوباء ببطء ثم يزداد بسرعة ثم تقل تدريجياً سرعة الزيادة حتى تتوقف. وفى بعض الأوبئة قد تكون العلاقة على هيئة خط مستقيم كما فى المنحنى رقم ٤أى تكون الزيادة فى الوباء بسرعة ثابتة.

ويمكن حساب الزيادة فى شدة المرض مع الزمن فينتج عن ذلك منحنيات ناقوسية الشكل وهى منقطه فى الرسم. يختلف شكل الناقوس ودرجة التماثل له وموقعه على المنحنى بإختلاف سرعات تقدم شدة المرض. ومن هذه المنحنيات الأخيرة يمكن تحديد ثلاثة طرز من الأوبئة. ففى حالة المنحنى الناقوسى الشكل المتماثل (شكل 2a ، 2b) يعتبر الوباء متماثل symmetrical ويعتبر ذلك الطراز أو النوع الأول من الأوبئة. والطراز الثانى يكون المنحنى غير ناقوسى الشكل أى غير متماثل (شكل 1a ، 1b ، 3a ، 3b) ويعتبر الوباء غير متماثل asymmetrical وفيه حالتين يكون طراز غير متماثل موجب الميل حيث تكون قمة المنحنى ناحية اليسار بالمقارنة بالمنحنى العادى فى شكل 2b ، 2a ويعتبر هذا النوع من الوباء غير متماثل موجب الميل asymmetrical positive skewness كما فى المنحنى 1a ، 1b وهو الطراز الثانى من الأوبئة. وفى الطراز الثالث يكون المنحنى غير متماثل سالب الميل حيث أن قمة المنحنى تكون ناحية اليمين بالمقارنة بالمنحنى العادى فى شكلى 2b ، 2a ويعتبر الوباء



(شكل ٦٧) : أنواع الأوبئة النباتية

أولاً : المنحنيات ذات الخط المستمر عبارة عن sigmoid curve للأوبئة (جميع الأشكال ٢.١) ويكون خلاف ذلك (أشكال ٤، ٥، ٦) .

ثانياً : المنحنيات المنقطة :

symmetrical	2a ، b
asymmetrical positive skewness	1a ، b
asymmetrical negative skewness	3a ، b
bimodal	5a ، b
multimodal	6

obeikandl.com

غير متماثل سالب الميل asymmetrical negative skewness وذلك كما فى المنحنى 3a، 3b . يمكن للمنحنيات أن تكون ثنائية الطراز (شكل 5a و 5b) bimodal حيث يوجد ذروتين وثلاثة قواعد للمنحنى وأن تكون عديدة الطراز multimodal أى متذبذبة على هيئة أمواج (oscillating) حيث يوجد أكثر من ذروتين للمنحنى وذلك كما فى المنحنى رقم ٦ وعامة فإن المنحنيات عديدة الطراز تبين دورة حياة المرض ودرجة عدم الاستمرارية فى الاصابة والاختلاف فى فترة الحضانة للمرض والتغيرات فى قابلية النبات للإصابة نتيجة لتغير حالة النبات ومثال ذلك أنه نتيجة للنمو يتحول النبات من صغير السن إلى متوسط أو كبير السن ويدرس خلاف ذلك عوامل كثيرة أخرى. ولذلك فإن الأوبئة ذات المنحنى متعدد الطرز تسمى أوبئة متعددة الأجيال multiple-wave epidemics . وهذا النوع الأخير من الأوبئة يتميز بوضوح فترات محددة معينة لكل فترة من عمر النبات وعلاقة كل فترة بالمرض. ومثال ذلك مرض لفحة الأرز قد يحدث الوباء على البادره ثم الأوراق ثم عنق النوره ثم النوره ومثال آخر إصابة نبات المطاط *Hevea* بفطر *Phytophthora* حيث يحدث المرض على الثمار ثم الأوراق ثم السيقان. وفى حالة مرض اللفحة المتأخرة فى البطاطس والطماطم فإن الفطر يصيب البطاطس ثم ينتقل من البطاطس إلى الطماطم وتسمى فى هذه الحالة وباء مستقل غير متجانس independent heterogenous epidemic .

قواعد زادوكس Zadoks Rules (فروض كوخ للأوبئة) :

وضع زادوكس هذه القواعد سنة ١٩٧٢ لتطبيق مدى كفاءة الدراسات الكمية فى التعرف على الأوبئة. وهى تشابه فروض كوخ للتعرف على المسبب المرضى. وهذه القواعد كما يأتى :

١- يجب تحديد المصدر أو المصادر التى يبدأ منها الوباء وتقدير كمى للطفيل فى هذا المصدر أو هذه المصادر.

٢- تأثير العوامل البيئية على نشوء وإنتشار الوباء يكون مدروس لإيجاد العلاقة بين متغيرات مستقلة (عادة عوامل ومتغيرات غير حيه) ومتغيرات معتمده (عادة عوامل حيه) كمياً.

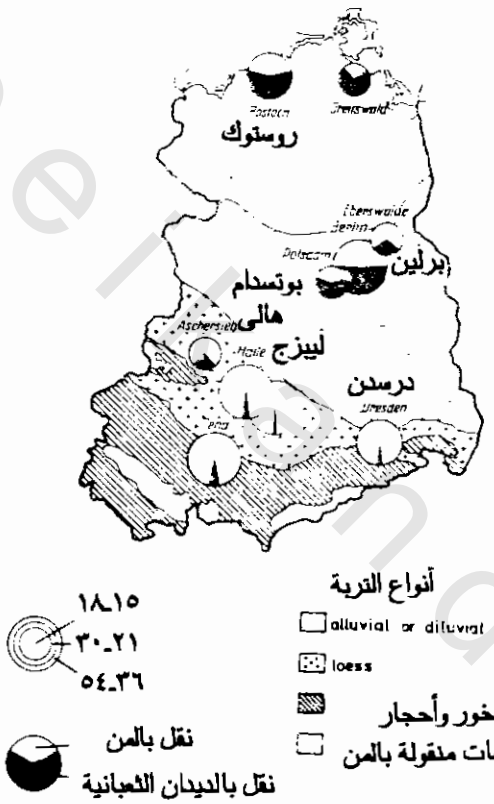
٣- تحسب سرعة تقدم وإنتشار الوباء تحت هذه الظروف.

٤- تحسب المستويات أى الدرجات المختلفة المتتابعة من الوباء من كمية الطفيل الممرض الموجودة فى المصدر أو المصادر ومن ذلك يتم حساب سرعات تقدم وإنتشار الوباء.

٥- يكون المستوى (الدرجة) النهائى terminal level والمستويات (الدرجات) المتوسطة المحسوبة للوباء مساوية تماماً للمستوى النهائى والمستويات المتوسطة المنظورة observed (التى تم رصدها وقياسها).

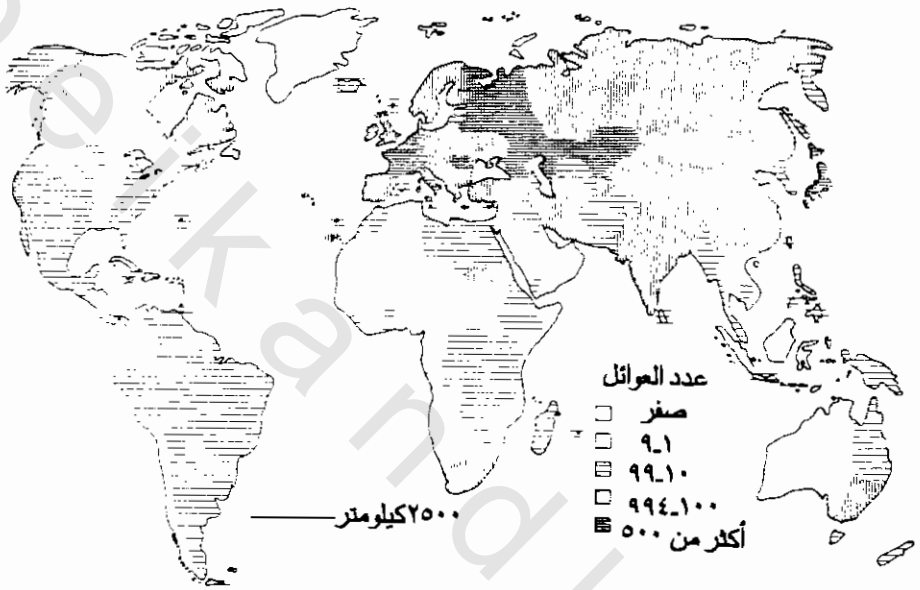
إستخدام الخرائط فى دراسة الأوبئة النباتية :

يمكن تصنيف الخرائط المستخدمة فى دراسة الأوبئة النباتيه إلى خرائط توضح حالة معينة thematic maps وعادة تكون غالبية خرائط أمراض النبات من هذا النوع. ولكن يوجد نوع ثان وهو الخرائط التركيبية synthetic maps وفيه كل خريطة توضح حالات وظواهر متعددة . ويمكن أن يستخلص منها حقائق لم تكن معروفة. يعتبر دراسة إنتقال الفيروسات المختلفة بالمن أو بالنيماتودا فى شرق ألمانيا (ألمانيا الشرقية) فى نباتات عائلة الكرنب brassicaceae فى أنواع مختلفة من التربة هام. يوجد فى الخريطة مدى إنتشار (شكل ٦٨) هذه الفيروسات فى المناطق المختلفة وفى حالة الدائرة الصغيرة يكون مدى انتشارها من ١٥-١٨ وفى الدائرة المتوسطة من ٢١-٣٠ وفى الدائرة الكبيرة من ٣٦-٥٤ يمثل الجزء الأسود فى الدائرة نسبة الفيروسات المنقولة بالنيماتودا ويمثل الجزء الأبيض فى الدائرة نسبة الفيروسات المنقولة بالمن. كما توجد أنواع مختلفة من التربة وهى alluvial و loess وتربة مشتقة من صخور أو أحجار. والأجزاء البيضاء من الخريطة هى مناطق خالية من الفيروسات المنقولة بالمن. يتضح من الخريطة أن نسبة إنتشار الفيرس المنقول بالمن أو النيماتودا على هذه النباتات فى برلين متساو. وأن أعلى نسبة لإنتشار الفيروسات المنقولة بالنيماتودا فى روستوك وأن أعلى نسبة لإنتشار الفيروسات المنقولة بالمن فى ليبزج ودرسدن وهالى تعتبر هذه الخريطة تركيبة.



(شكل ٦٨) : درجة إنتشار الفيروسات المنقولة بالمن أو الديماتود فى أنواع مختلفة من التربة فى نباتات عائلة الكرنب فى ألمانيا الشرقية ـ شرق ألمانيا.

توجد خريطة توضح توزيع وإنتشار مرض البياض الدقيقى فى أنحاء العالم (شكل ٦٩) تم رصد هذا المرض على عدد من العوائل يتراوح من صفر إلى خمسمائة عائل أو أكثر.

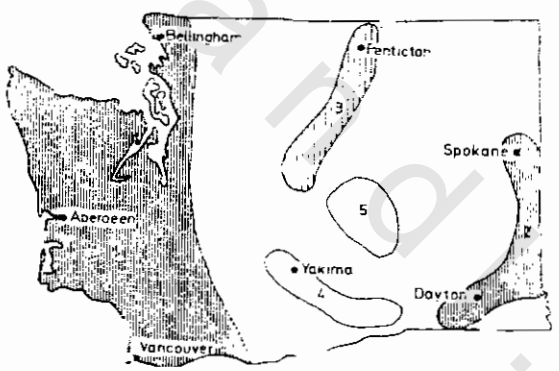


(شكل ٦٩) : خريطة تبين توزيع وإنتشار مرض البياض الدقيقى فى العالم.

وهى تعتبر خريطة توضح حالة معينة أى أنها من نوع thematic map . يتضح من الخريطة أنه توجد مناطق يكون فيها معدل إنتشار البياض الدقيقى عال أى أنه موجود على عوائل كثيرة حوالى ٥٠٠ وذلك فى إيطاليا وأسبانيا وألمانيا وهولنده واليابان وكاليفورنيا وفرنسا وجزء من الاتحاد السوفيتى.

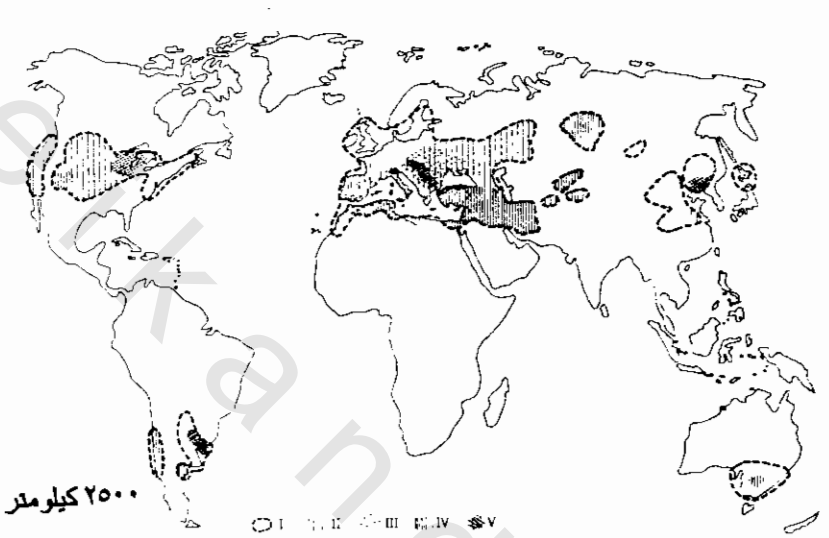
يوجد فى أمراض البياض الدقيقى أنواع وأجناس عديدة من الفطريات تصيب عوائل عديدة يصل عددها ٥٠٠ أو يزيد. يعتبر عدد العوائل التى تصيبها الفطريات مقياس لدرجة إنتشار البياض الدقيقى فى هذه الخريطة. والعكس صحيح فى مناطق كثيرة من أفريقيا وآسيا حيث يوجد عدد قليل من العوائل كما فى تونس والجزائر والسعودية ووسط أفريقيا.

توجد أيضاً خريطة تبين مدى إنتشار مرض الجرب فى التفاح فى ولاية واشنطن بأمريكا حيث أن المناطق فى الدائرة البيضاء يكون فيها المرض طارئ sporadic والمناطق ذات التخطيط الثقيل يكون فيها المرض شديد وفى المناطق ذات التخطيط الخفيف يكون المرض متوسط. وتعتبر هذه الخريطة من النوع thematic (شكل ٧٠).



(شكل ٧٠) : خريطة تبين مدى إنتشار مرض الجرب فى التفاح فى ولاية وشنجطن بالولايات المتحدة الأمريكية.

توجد خريطة تبين توزيع وأهمية مرض البياض الدقيقى (يتسبب عن الفطر *Erysiphe betae*) وتبقع الأوراق السركسبورى (يتسبب عن *Cercospora beticola*) فى مناطق زراعة بنجر السكر فى العالم (شكل ٧١). حيث أن الدائرة داخلها جزء أبيض تعتبر مناطق فيها



(شكل ٧١) : خريطة تبين توزيع وأهمية مرض البياض الدقيقى ومرض تبقع الأوراق السركسبورى فى مناطق زراعة بنجر السكر فى العالم.

I الإصابة بالمرضين طارئة.

II مرض البياض الدقيقى وبائى على فترات متباعدة.

III مرض تبقع الأوراق وبائى على فترات متباعدة.

IV مرض البياض الدقيقى وبائى وعلى فترات متقاربة.

V مرض تبقع الأوراق وبائى وعلى فترات متقاربة.

obeikandl.com

الإصابة بالمرضين طارئه وفى داخل الدائرة مناطق ذات تخطيط واسع تعتبر مناطق يحدث فيها مرض البياض الدقيقى وبائى على فترات متباعدة وفى داخل الدائرة ذات التنقيط مناطق يحدث فيها مرض تبقع الأوراق وبائى على فترات متباعدة وفى داخل الدائرة ذات التخطيط الكثيف مناطق يكون فيها مرض البياض الدقيقى وبائى وبإستمرار وفى الدائرة ذات الخطوط المتقاطعة مناطق يكون فيها مرض تبقع الأوراق وبائى وبإستمرار. ولذلك فإن أشد المناطق بوباء مرض تبقع الأوراق هى جزء من الأرجنتين وشمال تركيا ويوجوسلافيا وشمال إيطاليا. وأشد المناطق الموبوءة بمرض البياض الدقيقى هى إيران والعراق وسوريا وتركيا والأردن ولبنان وشمال مصر وتونس والجزائر والمغرب وجزء من روسيا. تعتبر هذه الخريطة من النوع thematic .

الأجهزة والأدوات المستخدمة فى القياسات اللازمة للأوبئة النباتيه:

تستخدم أجهزة وأدوات عديدة لقياس درجة الحرارة والرطوبة وسرعة حركة الهواء ودرجة الاشعاع وبعض البيانات الأخرى التى نحتاجها فى الأرصاد الجوية.

١- قياس درجة الحرارة : تقاس بأنواع عديدة من الترمومترات ومنها ترمومتر سائل فى زجاج liquid in glass thermometer . وهو من أكثر الأنواع إستعمالاً حيث أنه بسيط وقليل التكاليف أى رخيص ويمكن أن يقيس حتى دقة + أو- ٠٥, أى ± ٠٥, درجة مئوية. يكون السائل المستعمل هو الزئبق حيث يوضع فى قاعدة وعمود معين زجاجى داخل زجاج الترمومتر.

تستعمل أنواع أخرى من الترمومترات مثل الترمومتر ثنائى المعدنbimetallic thermometer يعتبر العامل الفعال للحساسيه لدرجة الحرارة هو ربط نوعين من المعدن لكل منهما درجة تمدد بالحرارة مختلفة thermal coefficients of expansion . وحيث أنه يحتاج وقت طويل للوصول إلى درجة الحرارة المطلوب قياسها ولذلك فإنه لايصلح لرصد التغيرات السريعة فى البيئة ولذلك فإن استعماله محدود. يمكن إستخدامه فى الحجرات أو الصوب المغلقةcontrolled

environment chamber وأيضاً فى الأجهزة المستخدمة لرصد وتسجيل درجة الحرارة thermograph type recorders .

يستعمل ترمومتر حاوى التجهيز filled system thermometer وهو يتكون من أجزاء معدنية حيث يتكون من إنتفاخ وأنبوبه شعريه وأنبوبه بوردون Bourdon tube تحتوى على جزء حساس للحرارة. حيث أن الفكرة فى الترمومتر أن تغير درجة الحرارة يتم رصده بواسطة دائرة كهربائية عادة. يعتبر إستعمال هذا الترمومتر محدود أيضاً ويستخدم فى بيئات متحكم فى درجة حرارتها. وقليلاً ما يستعمل فى قياس درجة حرارة التربة فى وجود جهاز رصد درجة الحرارة thermograph .

يتكون الترمومتر مزدوج الحرارية thermocouple thermometer من موصلات كهربائية ووحدة لقياس التيار أو الفولت وجزء حساس لدرجة الحرارة sensor وهو عبارة عن نوعين من المعدن تم لحم طرفيهما. يمكن قياس درجة الحرارة نتيجة لإختلاف درجة الحرارة فى طرفى المعدنين الملتحمين عن الطرفين السائبين ويتولد عن ذلك تيار كهربائى يمكن قياسه بواسطة جلفانومتر. يستخدم نوعين من المعدن هما النحاس وكونستانتان constantan عادة وهما الأكثر تفضيلاً حيث أن لهما خواص طبيعيه وكيماويه متميزة لهذا الغرض. يستعمل هذا الترمومتر بكثرة فى دراسة البيئة الصغرى microclimate للنبات وعلاقتها بالنبات والطفيل. تسمى هذه الوصله المعدنيه type T . يمكن الحصول تجارياً على type T sensor على هيئة سلك قطره صغير ٠,٠٢٥٤ ملليمتر. يمكن للسلك أن ينتج تيار شدته ٤٠ ميكرو فولت لكل درجة حرارة مئوية. يمكن أن تكون حساسية قياس درجة الحرارة_+ درجة مئوية. لاستعماله فى قياس درجة حرارة التربة يستعمل (سنسور) sensor ٥١٠٦, مم مع تغطيته بعازل من مادة بوليفنيل polyvinyl . وفى قياس درجة حرارة الهواء فى الحقل والمعمل يمكن سلك دقيق ٢٥٤٦,مم عار غير معزول على هيئة حلقه معقودة loop-shaped . تقلل هذه المواصفات أخطاء تداخل الاشعاع فى القياس.

يوجد نوعين من ترمومترات المقاومة resistance thermometers . يستخدم فى هذا النوع العلاقة بين مقاومة المعدن ودرجة الحرارة. حيث أن درجة مقاومة المعدن تختلف مباشرة بإختلاف درجة الحرارة. يستخدم فيه المعادن التى يكون لها مكافئ عال جداً للمقاومةvery high coefficient resistance أى أنها تكون شديدة الحساسية ومن أمثلة ذلك البلاتين والنيكل والتنجستن. ولذلك يتكون الجزء الحساس sensor من سلك رقيق من أحد المعادن السابقة ملفوف حلزونياً على اسطوانة mandrel تتكون من ماده عازلة للكهرباء. تتوقف درجة الحساسية على مدى محيط اللف الحلزونى وطول الأسطوانه فعندما يكون طول اللف الحلزونى يتراوح من نصف إلى ٦سم فإنه يمكنه قياس درجة الحرارة فى محيط واسع وأيضاً سرعة قياس درجة الحرارة تكون أفضل من الترمومترات مزدوجة الحرارة. تتميز هذه المعادن بحساسية من ٢, إلى ١٠ أوم ohm لكل درجة حرارة مئوية ohms/c° ويمكن أن يعطى تيار كهربائى يتراوح من واحد إلى ستة فولت. يسمى النوع السابق من الترمومترات بإسم نوع أو طراز المقاومة resistor type . وأما النوع الثانى من هذه الترمومترات فيسمى نوع أو طراز حرارى المقاومة thermistor type . حيث أن الجزء الحساس للحرارة sensor يتكون من مخلوط من أكاسيد المعادن. يتميز هذا النوع عن النوع السابق بأنه ذو مكافئ له شحنه سالبه مرتفعة مع وجود مقاومة غير خطيه non linear للحرارة. ولذلك فإن التغيرات الكثيرة فى المقاومة نتيجة لإرتفاع المكافئ ووجود المقاومة غير الخطيه فإنها تفوق الترمومتر حرارى المقاومة والترمومتر مزدوج الحراريه حيث أن تقيس فروق فى درجة الحرارة حساسيتها خمسة من عشرة آلاف ٠٠٠٥, درجة مئوية. تصنع هذه الترمومترات بأحجام وأشكال مختلفة لتلائم جميع الظروف البيئية والاستعمالات. عامة يفضل هذين النوعين من الترمومترات أى ترمومترات المقاومة حيث أن لهما درجة حساسية ± ٠١, درجة مئوية (واحد من مائة درجة مئوية) أو أكثر عن الترمومتر مزدوج الحراريه له حساسية ± واحد درجة مئوية.

تختلف ترمومترات الاشعاع radiation thermometers عن الترمومترات السابقة بإنها يمكن أن تقيس درجة الحرارة دون أن تلتصق بالبيئة المطلوب قياس درجة حرارتها. والفكرة فى

هذه الترمومترات نشأت عن قانون ستيفين بولتزمان Stefen-Boltzman والذى يعرف أو يحدد الطاقة المنبعثة من شئ فى درجة حرارة معينه. أى أنه بإختلاف درجة الحرارة تختلف الطاقة المنبعثة. يكون ذلك بإستخدام نسبة أى ratio pyrometer . حيث يتم قياس الاشعاع على طولى موجه مختلفين. يكون النسبه بين هذين القياسين مرتبطة أو متعلقة functiom بدرجة الحرارة. أى أنه لكل نسبة معينه درجة حرارة معينة. يتكون هذا الترمومتر من عدسه و/ أو مرآه وجزء حساس لقياس الاشعاع حيث يقارن هذا الجزء بين الاشعاع الداخل واشعاع آخر للمقارنه ومسجل. يعتبر هذا الجهاز كبير الحجم وثقيل الوزن ولكنه دقيق وحساس delicate وله قدره حساسيه sensitivity ودقة عالية accuracy مع قدرة سريعة واستجابة سريعة لقياس التغيرات السريعة فى درجة الحرارة.

تستخدم الترمومترات مزدوجة الحرارية وحرارى المقاومة وسائل فى زجاج لتقدير درجة الحرارة السطحيه للبيئات والأجزاء المختلفة. حيث يتم ربط الجزء الحساس sensor أو ادخاله فى أجزاء النبات لقياس درجة حرارته وأيضاً قياس درجة حرارة الأجزاء المصابه وأيضاً الأجزاء السليمه. تسبب هذه المعامله وهى إدخال الجزء الحساس فى داخل أجزاء النبات إلى تأثر أنسجة النبات وتغيير فى الظروف البيئية للنبات ولذلك فى حالة النبات يفضل إستعمال جزء حساس غير ملتصق بالجزء المراد قياس درجة حرارته non contact temperature sensors وهى ترمومترات الاشعاع.

٢- قياس الرطوبة humidity : تصنف الأجهزة التى تقيس الرطوبة إلى أجهزة تقيس الرطوبة المطلقة وأجهزة تقيس الرطوبة النسبية وأجهزة من نوع نقطة الندى dewpoint type.

تقاس الرطوبة المطلقة absolute humidity بواسطة إمرار تيار من الهواء بحجم معين على ماده كيماوية تمتص الماء. ثم تقاس الزيادة فى وزن المادة الكيماوية. وهذه الطريقة جيدة ويمكن أن تكون دقتها إلى ±٠,٢٪ وذلك فى مدى من الرطوبة ٠,١٪ إلى ١٠٠٪ . يمكن إستعمالها بكفاءة فى المعامل. ولكن من عيوب هذه الطريقة عدم الاستمرارية حيث أنه لابد من وقف القياس لوزن المادة الكيماويه ولذلك لابد من إيجاد طرق أخرى أقل فى دقتها من هذه الطريقة وتتلافى عدم الاستمرارية، كما أنها غير سهلة وغير سريعة.

تقاس الرطوبة النسبية relative humidity بعديد من الأجهزة ومنها هيجرومتر يستخدم قاعده الحرارة الديناميكيه thermodynamic approach hygrometer ويكون الجهاز عبارة عن ترمومترين من نوع سائل فى زجاج أى زئبق فى زجاج وأحدهما له قاعدة منتفخة تغطى بقماش موسلين مبلل توضع هذه القاعدة فى تيار من الهواء سرعته على الأقل ٢,٥ متر فى الثانية. تسبب الطاقة التى تبخر الماء من الموسلين خفض درجة حرارة القاعدة المنتفخة حتى نصل لحالة الإتزان بالمقارنة بالقاعدة المنتفخة الجافة للترمومتر الآخر الغير مغطاه. ولو أنه لاتوجد قاعدة واضحة تفسر علاقة ذلك بالرطوبة النسبية ولكن جميع البيانات المأخوذة بهذه الطريقة وهى درجة حرارة القاعدة المنتفخة المبللة ودرجة حرارة القاعدة الجافة يمكن تحويلهما إلى رطوبة نسبية ورطوبة مطلقة ودرجة حرارة نقطة الندى. والنوع الثانى هو الهيجرومتر الشعرى hair hygrometer يتوقف ذلك على وجود مادة حساسة للرطوبة أى تمدد بزيادة الرطوبة وتنكمش بقلتها. ومن أحسن الأمثلة لذلك شعره الانسان حيث أن كمية الماء الممتص بالشعره أو المفقوده من الشعره تكون دليل على كمية الرطوبة النسبية. يستخدم شعره لها طول معين يزداد هذا الطول بمقدار ٢,٥ ٪ عندما تزداد الرطوبة النسبية من صفر إلى ١٠٠ ٪ يحتاج دائماً هذا النوع إلى معايرة وضبط فى درجة حرارة ثابتة ورطوبة ثابته وعامة فهو يلائم جو المعمل بعد ضبطه ومعايرته. أما استعماله فى الحقل لابد من إختبار حساسيته. فلابد من عمل معايره ومقارنة له بإستمرار بواسطة نوع من الهيجرومتر أسمان Assmann-type . يستعمل هذا النوع بكفاءة عالية فى الجو الملبد بالغيوم حيث تكون درجة الحرارة ثابته تقريباً. وعامة لايفضل هذا النوع فى الظروف البيئية السريعة التغير والمتقلبه حيث أنه يحتاج إلى وقت لرصد درجة الرطوبة.

يستخدم نوع من الهيجرومترات مقاومة للكهرباء ويسمى هيجرومتر مقاوم للكهرباء electrical resistance hygrometers . تستخدم مقاومة الكهرباء كدليل على الرطوبة وذلك فى الجزء الحساس sensor من الهيجرومتر. وبمعنى أوضح أنه يستخدم العلاقة بين التغيرات فى الخواص الكهربائية لمادة هيجروسكوبيه والتغيرات فى المحتوى الرطوبى. يتكون الجزء الحساس من كلوريد ليثيوم على هيئة غشاء رقيق على إلكترودات electrodes

وذلك على سطح قاعدة مسطحة أو اسطوانيه تتكون من بولى ستيرين polystyrene . يمتص كلوريد الليثيوم الرطوبة ويفقدها وهكذا تتكون حتى نصل حالة الاتزان ويمكن قياس ذلك بواسطة دائرة كهربائية. يمكن ضبط الجهاز فى مدى ٥ إلى ٩٥٪ رطوبة نسبيه مع درجة حساسية ± ٣٪. يتميز هذا الجهاز أنه لايحتاج إلى تيار قوى من الهواء بل يرصد حتى الهواء الساكن نسبياً. وذلك على العكس من هيجرومتر الديناميكا الحراريه فإنه يحتاج إلى هواء مدفوع أو تيار هواء بسرعة معينة وقد يسبب ذلك تغيير أو تأثير فى النتائج. ولذلك يستخدم هذا النوع بسهولة فى دراسة الأوبئة النباتيه.

يوجد أيضاً هيجرومتر نقطة الندى dewpoint type hygrometer ويوجد منه نوعين النوع الأول نوع التكثيف condensation . قياس درجة حرارة تكثيف الندى بواسطة قياس درجة حرارة سطح مرآه والتى يتم تبريدها الى درجة تكثيف الندى. والعلاقة بين درجة حرارة الندى وضغط بخار الماء vapor pressure يمكن الحصول عليها من جداول خاصة بذلك. يستخدم فى هذا النوع من الهيجرومتر جزء حساس ضوئى optical sensor لرصد تكون الندى ويتصل هذا بجهاز حرارى كهربائى thermoelecticc قادر على التبريد والتسخين. يستخدم هذا الجهاز فى أثناء دراسة الأوبئة النباتيه. والنوع الثانى هو نوع كلوريد الليثيوم المشبعsaturated lithium chloride . يستخدم جزء حساس sensor كهربائى بدلاً من المرآه فى النوع السابق ويمكن بذلك للجزء الكهربائى أن يتأثر بتغير الرطوبة. يتكون الجزء الحساس من سلك مزدوج يلف على تركيب أنبوبى الشكل مشبع بكلوريد الليثيوم. يوجد مسافة بين كل من السلكين فى حالة السلك المزدوج. عند مرور تيار كهربائى خلال كلوريد الليثيوم والذى يغطى ويصل المسافة بين سلكى السلك المزدوج فإن الدائرة الكهربائية تكون مصممه بحيث أنها تسخن كلوريد الليثيوم لدرجة معينة لكى تحافظ على الاتزان فى الضغط البخارى بين كلوريد الليثيوم ورطوبة الجو. عند حدوث الاتزان فإن درجة حرارة كلوريد الليثيوم تكون علاقة على هيئة خط مستقيم مع درجة الحرارة اللازمة لتكون الندى فى الجو. يعتبر الجزء الحساس sensor ذو دقة ± درجة مئوية ويعتبر هذا الجزء الحساس أقل دقة من نوع التكثيف فى وجود مرآة أى النوع السابق ذكره من الهيجرومترات. يقيس هذا النوع الرطوبة النسبية فى الهواء أعلى

من ٣٥٪ ولايقيس فى درجة أقل من ذلك. ولكن هذه الدرجة تكون مناسبة فى كثير من حالات أمراض النبات والأوبئة النباتيه وحيث تكون الرطوبة النسبية مرتفعة. يمكن أن يستخدم هذا النوع فى الحقل ولكن أحد عيوبه أنه يمكن أن يلوث بالأتربة وغيرها من ظروف الحقل كما أنه يكون غير ثابت عندما يوجد تغير سريع فى الرطوبة. ولذلك يفضل إستعماله فى الصوب أو الحجرات المغلقة المتحكم فى جوها وظروفها البيئيةcontrolled environmental studies .

٣- قياس تحركات الهواء Air movement :

تعريف الريح wind هو حركة الهواء الأفقية بالنسبة لسطح الأرض وسرعة الحركة للهواء تسمى سرعة الرياح wind speed . ومن المهم أيضاً رصد إتجاه الريح بالإضافة إلى سرعة الريح. يفيد ذلك فى التعرف على كيفية إنتقال الجراثيم إلى الهواء take off وكيفية إنتقالها flight وسقوطها landing وذلك بالنسبة لجراثيم الطفيليات النباتيه التى تحمل بالهواء.

أ - سرعة الرياح : يمكن قياسها بواسطة أنيموميتر كأسى cup anemometer أو أنيموميتر ساخن السلك hot wire anemometer . وفى حالة أنيموميتر الكأس فإنه يكون له القدرة على الدوران rotating cup anemometer يتكون الجهاز من ثلاثة أو أربعة أجزاء أو كئوس cups مخروطية أو مستديرة الشكل ملتصقة قطرياً بمحور حر الحركة. سرعة حركة المحور تساوى سرعة حركة الرياح. وفى حالة رصد سرعة الهواء المنخفضة نحتاج إلى جهاز ذو كئوس خفيفه ومحور سهل الحركة. وحساسية هذه الأجهزة المتداولة تجارياً تبدأ بسرعة ١٠سم لكل ثانيه ومتصله بجزء يعمل كهربائياً ليدير العداد counter أو المسجل recorder . وفى حالة رصد سرعة الهواء المنخفضة يجب تنظيف الجهاز وتشحيمه بإستمرار. ويستعمل هذا النوع لرصد الرياح أعلى النباتات أى يصلح فى حالة macroclimate ولا يفضل لقياس الرياح بين النباتات أو أسفل النباتات أى لا يفضل فى حالة microclimate .

وفى حالة أنيموميتر ساخن السلك يكون الجزء الحساس sensor لقياس سرعة الهواء هو عبارة عن جزء حساس للحرارة. وتتلخص فكرة الجهاز فى تبريد سلك ساخن بواسطة تيار

الهواء. يتكون الجزء الحساس أى السلك من بلاتين أو نيكل أو تنجستن وعادة يوصل بدائرة كهربائية ليظل على درجة حرارة ثابته أو ذو تيار ثابت. وتكون سرعة الهواء المار على السلك متناسبة function مع درجة الحرارة وتيار الكهرباء فى الدائرة. يستخدم هذا النوع بكفاءة عالية فى رصد سرعة الرياح المنخفضة وذلك لحساسيته الزائدة. يعتبر صغر حجم الجهاز وسرعته إستجابته لرصد سرعة الهواء المنخفضه من المميزات الهامه والتى يمكن بها قياس سرعة الهواء فى الأنفاق وبين النباتات وأسفل النبات وبالقرب من سطح الأوراق أى أنه يعتبر مثالى لعمل القياسات فى microclimate . يمكن استعماله أيضاً لقياسات المعامل.

ب ـ *إتجاه الرياح* : يمكن أن قياس إتجاه الريح بطرق عديدة ومنها ما يأتى :

إستعمال حساس كهربائى electrical sensor وهو عبارة عن جزء متطاول إنسيابى الشكل يتصل أفقياً بمحور رأسى سهل الحركة. ويوضع هذا الجزء على تركيب آخر يوضح الأربعة إتجاهات الرئيسية cardinal directions . يمكن أن يوصل الجزء vane الحساس لحركة الهواء بجهاز كهربائى هو عبارة عن مقياس للجهد potentiometer . يكون إتجاه الرياح فى هذه الحالة دليل أو له علاقة function بمقاومة الدائرة الكهربائية. وفى أنواع أخرى يتصل الجزء الحساس لحركة الهواء vane بموتور وعن طريق الموتور ينقل إشارة الإتجاه إلى مسجل.

وفى حالة إستعمال حساس بيڤان Bivane sensor فإنه عبارة عن جزء قياس لإتجاه الهواء vane خفيف الوزن وذو اتجاهين وعن طريقه يمكن قياس الزوايا الأفقيه والرأسيه لتيارات الهواء. يتصل هذا الجهاز بمقياسين للجهد الكهربائى potentiometers وبذلك يمكن رصد وتسجيل إتجاه الريح ذاتياً بالجهاز. يرصد هذا الجهاز قياسات وبيانات نسبية عن حركة الهواء الأفقيه والرأسية.

يمكن إستعمال طرق الانتشار dispersion techniques وهى عبارة عن إطلاق غاز مرئى أو له لون أو دخان من نقطة معينة ومن اتجاه إنتشار الدخان أو الغاز يمكن الاستدلال على إتجاه الريح. أو عمل عمود من الدخان فى اتجاه رأسى وإتجاه إنتشار هذا الدخان يدل على إتجاه الريح. تعتبر إختبارات معبره ومفيده ولكنها غير دقيقه. ويمكن عملها أيضاً فوق سطح

النباتات فى الغابات والحقول. يمكن تصوير تناثر السحب وتشتتها على فترات منتظمة من الوقت وذلك يعطى فكرة عن إتجاه الريح.

٤- قياس الاشعاع measuring irradiance : قد يكون للضوء تأثير على الأمراض كما أن للضوء تأثير هام على تجرثم بعض الفطريات. يمكن قياس الضوء بنوعين من القياسات ضوئية photometry واشعاعية radiometry .

القياس الضوئى photometry هو قياس الضوء المنظور لعين الانسان ويتراوح طول موجته بين ٤٠٠ - ٧٠٠ نانومتر ويكون ذلك بواسطة جهاز لقياس شدة الاضاءة photometry . يتكون الجهاز من جزء حساس للضوء sensor عبارة أنبوبه ضوئية phototube وخليه ضوئية photocell أو أنبوبه لتكبير الضوء photomultiplier tube ومرشح filter . يعطى الجهاز قراءة مباشرة تكون الوحدة فيها قدم شمعه foot candles أو شمعه candles أو قدم لامبرت foot lamberts .

القياس الاشعاعى radiometry هو قياس للضوء المنظور بالإضافة للأشعة فوق البنفسجية وتحت الحمراء والوحدة تكون وات عادة. وتصنف الأجهزة التى تقيس الاشعاع إلى radiometer-sensors وهى التى تقيس كمية الاشعاع الكلية الساقطة على سطح ما. و pyrheliometers-sensors وهى التى تقيس شدة ضوء الشمس المباشر فقط. و-pyronometers sensor وهى التى تقيس شدة ضوء الشمس المباشر والضوء المنتشر فى السماءdiffuse sky radiation . والفكرة فى هذه الأجهزة أنه يوجد سطح أملس مسطح معامل معامله خاصه والذى يمتص الضوء الساقط عليه ووحده حرارية thermopile ومرشح شبه مستدير. تسبب الأشعة الساقطة إرتفاع درجة حرارة الجزء الحساس بالمقارنة بدرجة حرارة سطح معرض للهواء العادى. ينتج عن ذلك فرق فى درجة الحرارة بين الجزئين وينتج عن ذلك تيار كهربائى حرارى thermoelectric . تتناسب شدة التيار مع شدة الاشعاع الساقط. يقيس الجزء الحساس sensor فى حالة إستعمال عنصر أو معدن عار غير مغطى أو يكون مغطى بطبقة رقيقة من البولى إيثلين الأشعة ذات طول الموجه الطويله وأيضاً ذات طول الموجه القصيرة.

وفى حالة وجود فلتر شبه مستدير فإنه يمكن الباحث من الحصول على طول موجه معين أى أنه يتحكم فى طول موجه الضوء المطلوب قياس شدتها. يمكن لهذا النوع من الأجهزة قياس شدة الضوء الكلى أو الضوء قصير الموجه والضوء المنتشر فى السماء sky radiation . عامة يوجد علاقة شبه خط مستقيم بين شدة الاشعاع وشدة التيار فى حساسية تتراوح بين ٥ إلى ١٠ ملليفولت لكل كالورى لكل سم٢ لكل دقيقة فى زمن إستجابة قدرة من عشرة ثوان إلى دقيقتين ودقة من ٢ إلى ١٠٪. يوجد نوع آخر يستعمل خليه حساسه للضوء photocell أو أنابيب لتكبير الضوء photo-multiplier كجزء حساس. حساسيه هذه الأجهزة تختلف تبعاً لطول الموجه. ولذلك عند القياس لابد من عمل ضبط للجزء الحساس sensor عند طول موجه معين وذلك قبل بدء القياس. وعند تغيير أو قياس طول موجه آخر لابد من عمل ضبط للجزء الحساس لطول الموجه الجديد قبل بدء القياس. حديثاً أمكن عمل أجهزة صغيرة الحجم خفيفة الوزن يمكن حملها بسهولة وهى portable spectroradiometers . تتميز هذه الأجهزة بقياس اشعاع ذو طول موجه معين حيث أنها مزوده بمقياس لقياس الحزمه أو الأشعه الضوئية monochrometer وبالتالى يمكن قياس شدة الاشعاع لضوء معين أو حزمه ضوئية معينه تبعاً لحاجة الباحث. تزود هذه الأجهزة أيضاً بمجسات ضوئيه خيطيه fiberoptic probes وأجزاء تيليسكوبيه إضافية telescopic accessories . وبذلك يمكن أن تستخدم بنجاح فى قياس شدة الاشعاع فى بيئة العائل والطفيل host-pathogen environment كما أنها تقيس شدة أنواع الاشعة المختلفة فى بيئة العائل والطفيل والتى تحتاجها دراسة أمراض النبات والأوبئة النباتيه.

٥- قياس شدة سقوط الأمطار ورطوبة التربه وكمية للماء على أوراق النبات (leaf wetness) :

يتضح مما سبق أن كثير من القياسات تحول إلى صورة تيار كهربائى وبذلك يمكن قياسها بدقة ونفس القاعدة تنطبق على أجهزة قياس شدة سقوط الأمطار ورطوبة التربة وبلوله الورقه leaf wetness حيث تستعمل أجزاء حساسه sensors لقياس كل حالة وتحويل ذلك إلى صورة تيار كهربائى وبذلك يمكن قياسها بدقة. توجد أجهزة كثيرة لذلك يمكن أن تأخذ

بياناتها وقراءتها وهى تعمل يدوياً. ولكن لم تعد هذه الأجهزة الآن ذات فائدة بعد وجود أجهزة فيها الجزء الحساس ووحدات فحص وكلها تعمل بالحاسب الألكترونى computer. ووجود أجهزة تعمل بالكمبيوتر فيه توفير للوقت والمجهود وتحلل بيانات أحجامها هائلة فى وقت قصير مع دقة فى التحليل لعدم وجود الخطأ الشخصى. ولبدء أى تحليل بالكمبيوتر خاص بهذه القياسات لابد أن نسأل هذه الأسئلة وتكون الإجابة عنها هى أساس عملية التحليل وهى :

أ ـ ما هى نوع البيانات التى يمكن قياسها لتكون معبرة وحاسمه وتعطى برهان واضح وتكون مصداقيتها القياسية مائة فى المائة. فمثلاً فى حالة سقوط الأمطار قياس إرتفاع الماء على تربة معينة فى زمن معين أحد القياسات الهامه للحكم على شدة سقوط الأمطار.

ب ـ ما هى أنواع الأجزاء الحساسة sensors التى تصلح لعملية القياس. فالجزء الحساس الذى يستخدم لقياس إرتفاع الماء فى شدة سقوط الأمطار يختلف عن الجزء الحساس الذى يستخدم لقياس شدة تبليل الورقه. ونوع الجهاز بالطبع مختلف.

جـ ـ ما هو المكان الذى توضع فيه الأجزاء الحساسه لضمان دقة القياس. فمثلاً فى حالة شدة تبليل الورقة ستوضع على الأوراق فى حالة رطوبة التربه ستوضع فى أو على التربة.

د ـ ما هى درجة السماح فى الخطأ وكلما قلت الدرجة كلما كان ذلك دليل على كفاءة القياس.

هـ ـ ما هى مدة زمن القياس وتوقيت زمن القياس.

و ـ كيف تحلل القياسات والبيانات للحصول على أدق البيانات المعبرة.

النظام المركزى فى تسجيل البيانات:

يوجد الآن نظام مركزى فى تسجيل البيانات الخاصة بالأمراض والأوبئة حيث يستخدم أعداد كبيرة من الأجهزة والأجزاء الحساسه والتى تنتشر وتغطى مساحات كبيرة. ومن مزايا النظام المركزى centralized systems أنه يمكن عمل مراجعة دوريه مستمرة للأجهزة المختلفة

وفى حالة وجود خطأ فى أحدها يستبعد أو يعدل. يمكن أيضاً لهذا النظام أن يستمر لمدد وفترات طويلة وبذلك يمكن دراسة الظروف البيئية الملائمة للمرض وبذلك يمكن دراسة تقدم وتطور المرض disease development . وبعد دراسة وتحديد الظروف البيئية الملائمة للمرض. يمكن عمل قياسات أو أسس تفيد للتنبوء بحدوث المرض أو الأوبئة. وبالتالى يمكن التوصيه بعمل برنامج للرش أو عدمه. يقوم الكمبيوتر بدور أساسى فى هذه الخطوات.

يستخدم الحاسب الألكترونى الآن فى التنبؤ بالأوبئة النباتية مع وصف العلاج الأمثل com-puter simulation of epidemics . يسمى البروجرام program الخاص بذلك فى حالة مرض اللفحة المبكرة فى البطاطس والطماطم بإسم EPIDEM وفى حالة مرض جرب التفاح يسمى EPIVEN وفى حالة الصدأ المخطط أى الصدأ الأصفر فى القمح يسمى EPIDEMIC وفى حالة مرض لفحة الأوراق الجنوبية فى الذرة الشامية يسمى EPICORN وفى حالة مرض لفحة الكريزانثيمم المتسبب عن الفطر *Mycosphaerella* يسمى MYCOS . وما سبق ذكره يكون على سبيل المثال حيث يوجد الآن بروجرامات للكمبيوتر- الحاسب الآلى - لكثير من أمراض النبات الوبائية وغير الوبائية. وتكون هذه البروجرامات ذات فائدة كبيرة لرجال أمراض النبات والمزارعين على السواء.

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 *Penicillium* 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.

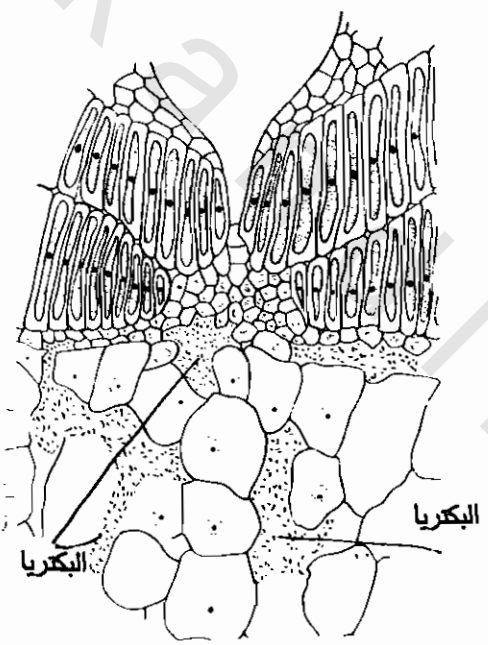
٢ ـ عدم وجود شرائط سيتوبلازمية (أنابيب سيتوبلازمية دقيقة) بين الجنين وأنسجة مبيض الزهرة ومنها نسيج النيوسيلة.

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 ـ 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 ـ 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 ـ 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

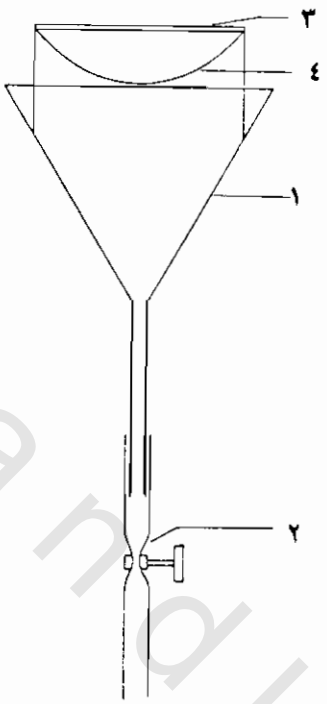
على النماذج الحيه، أو قليل من محلول القتل والتثبيت فى حالة استخدامها لعمل تحضيرات مجهرية.

(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

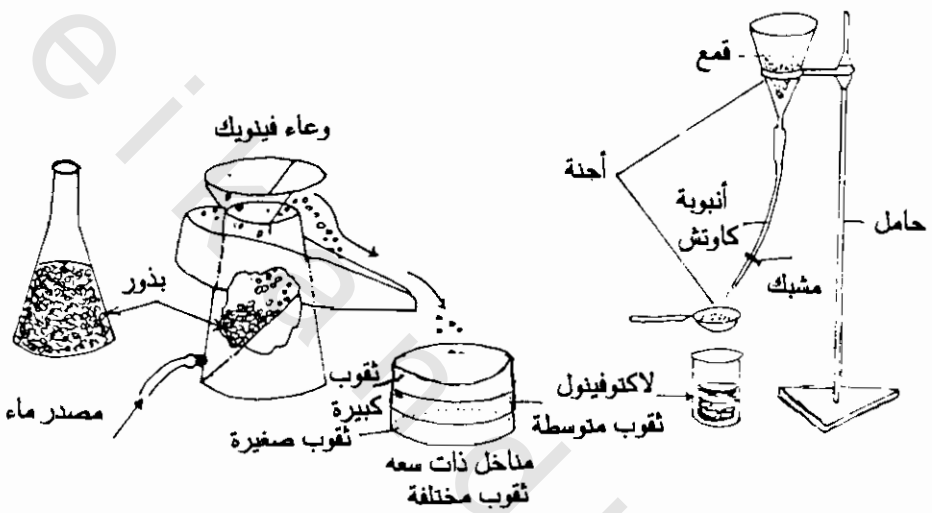
٣- طريقة إستخلاص الجنين :

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 ١/٢ـ١ 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.

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 التيلتيه 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.

٢- 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.

٣- 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.

الباب الرابع العاشر

المقاومة الكيماوية لأمراض النبات

تعنى المقاومة الكيماوية chemical control إستعمال مركبات كيماويه لها دور فعال فى مقاومة الأمراض. قد تكون هذا المركبات لها استعمالات أخرى ويمكن أن تستعمل كمبيدات مسببات أمراض النبات مثل كبريتات النحاس. وقد تصنع هذه المركبات خصيصا لهذا الغرض وتسمى بالمبيدات الفطريه fungicides فى حالة مقاومتها للفطريات وتسمى مبيدات بكتيرية bactericides فى حالة مقاومتها للبكتيريا وتسمى مبيدات النيماتودا nematocides فى حالة مقاومتها لديدان النيماتود وهكذا. يمكن تصنيف المبيدات السابقة تبعاً لتأثيرها على الطفيل الى قاتلة للطفيل مثل الفطر أو البكتريا fungicidal or bactericidal وقد تسبب وقف نشاط الطفيل فقط دون قتله fungistatic or bacteristatic . يمكن تصنيف المبيدات إلى وقائيةpreventive or protectant أى تقى النبات من الاصابة مثل دايثين م ـ ٤٥ dithane M-45 وعلاجيهcurative or eradicant أى تقاوم الطفيل الموجود فى أو على النبات كما فى المضاد الحيوى أكتديون acti-dione وقد تكون وقائية علاجيه كما فى كثير من المبيدات مثل فيتافكس كابتان vitavax captan أو ريدوميل مانكوزيب. قد يكون المبيد غير جهازى non systemic أى لايتخلل أنسجة النبات ويكون طبقة على سطح النبات مثل الكبريت الميكرونى ودايثين م ـ ٤٥ وقد يكون جهازى أى يتخلل أنسجة النبات مثل بنليت benlante . وقد يتكون المبيد من شقين أحدهما غير جهازى والآخر جهازى مثل ريدوميل مانكوزيب حيث أن ريدوميل مركب جهازى ومانكوزيب mancozeb أى دايثين م ـ ٤٥ مركب غير جهازى. قد يتكون المبيد من شق واحد فعال فقط ويكون أيضاً وقائى وعلاجى كما فى بنليت. يوجد أيضاً نفس الشئ فى مبيدات تستعمل لمعاملة البذور seed treatment فقد يكون المبيد غير جهازى كما فى أورثوسيد

٧٥ أى كابتان وقد يكون جهازى كما فى فيتافكس وقد يتكون من شقين أحدهما جهازى والآخر غير جهازى كما فى فيتافكس كابتان أو هومای homai . يوجد مبيدات تخلط بالتربه soil treatment لمقاومة طفيليات التربه ولا تستعمل رشاً على النباتات كما فى temik . جميع المبيدات متخصصة فمنها ما يستعمل لمقاومة الفطر دون النيماتودا أو البكتريا والعكس صحيح وأيضاً حتى المبيد الفطرى الواحد لايقاوم جميع الأمراض الفطرية بل يقاوم مجموعة دون الأخرى ومثال ذلك المبيد هينوزان يستعمل فى مقاومة بعض أمراض المجموع الخضرى فى الأرز دون أى استعمال آخر وهو يعتبر أحد الأمثلة القليلة الشديدة التخصص حيث أنه فى المعتاد أن المبيدات الفطرية تقاوم عدد كبير أو مناسب من الأمراض. يندر وجود مبيد يقاوم كثير من الطفيليات أو جميعها ومثال ذلك بروميد الميثيل حيث يستعمل فى صورة غازيه ويتخلل التربه ويقتل الفطريات والبكتريا والنيماتود وبذور الحشائش والحيوانات الموجودة فى التربة. بعض المبيدات الفطرية لاتؤثر على نمو الفطر ولكنها تمنع التجرثم antisporulant or genestatic compounds .

فى حالة إستعمال كبريتات النحاس لمقاومة بعض الأمراض الفطرية فهى تعتبر مبيد فطرى وتستعمل أيضاً فى مقاومة مرض بكتيرى هام هو مرض اللفحه الناريه فى التفاح والكمثرى فتعتبر مبيد بكتيرى كما تستعمل فى مقاومة مرض ريم الأرز المتسبب عن طحالب خضراء عادة ومنها الأسبيروجيرا ويعتبر فى هذه الحالة مبيد طحلبى وبالإضافة إلى ذلك تستخدم كبريتات النحاس استخدامات أخرى كيماوية كثيرة.

تركيب المبيدات الفطرية والبكتيريه والنيماتوديه

يتركب المبيد أساساً من مادة فعالة active ingredient وهى المادة المؤثرة على الطفيل. يختلف تركيب هذه المادة باختلاف المبيد وهى عبارة عن مركب أو أكثر يكون سام للطفيل. توجد مركبات كثيرة سيلى ذكر بعض منها والمبيدات المختلفة التى تتبعها فى الجزء الأخير من هذا الباب.

يضاف للمادة الفعاله مركبات أخرى ومنها :

١ـ الملطف safner : هو عبارة عن مركب كيماوى يضاف للمبيد ليقلل من تأثيره السام على النبات reduces phytotoxicity . ومثال ذلك اضافة الجير فى مخلوط بوردو ليقلل من التأثير السام للنحاس على النبات. يعتبر الجير فى هذه الحالة ملطف.

٢ـ المواد الناشرة spreaders : عبارة عن ماده أو مركب تضاف للمبيد لتزيد من إنتشاره وملامسته لسطح النبات. يعتبر الكازين والكحولات الكبريتيه sulfated alcohols وحامض السلفونيك البترولى petroleum sulfonic acid من أمثلة ذلك. تقلل هذه المواد الجذب السطحى للسوائل.

٣ـ المركبات اللاصقة stikers : عبارة عن ماده أو مركب تضاف للمبيد لتزيد من التصاقه بسطح النبات. يمكن أن تكون المادة أو المركب هى ناشرة لاصقة. يعتبر الصمغ العربى والنشا من هذه المركبات. يوجد أيضاً مركب ترايتون ب ١٩٥٦ triton B 1956 ومركب أجرال ل Agral L ومركب بيوفيلم biofilm وتستعمل عادة بنسبة ١ـ٢ فى الألف.

٤ـ المواد المستحلبه emulsifiers : هى مواد أو مركبات تستعمل فى حالة المبيدات السائلة أى التى تباع على هيئة محاليل حيث تستعمل للمساعدة على امتزاج المادة الفعاله والمركبات الأخرى مع الماء أو الطور السائل. لتوضيح ذلك فأن الزيت لايمتزج مع الماء ولكن بإضافة ماده مستحلبه يمكن مزج الماء والزيت فى محلول مستحلب متجانس ثابت. يعتبر التوين tween ماده مستحلبه.

٥ـ المواد المبلله wetting agents : تغطى بشره النبات بالكيوتين أو بالشمع ويلزم إضافة مواد مبلله للمبيد لكى لا يسقط من سطح النبات ومثال ذلك أسترات الأحماض الدهنيه.

٦ـ المواد الخامله inert material : هى مواد أو مركبات ليس لها أى نشاط وتوضع لزيادة كمية المبيد وتسمى فى هذه الحالة مواد حامله carriers .

٧ـ المعلقات deflocculating agents : مواد تضاف الى معلق المبيد وذلك لتأخير تجمع وترسيب المبيد ومنها الجيلاتين والصموغ والغراء.

٨ـ المواد الحافظة preservatives : هى مواد أو مركبات تساعد على حفظ المبيد وثباته.

المواصفات الواجب توافرها فى المبيد

يجب أن يتوفر فى المبيد ما يأتى :

١ـ أن يكون فعال فى مقاومة الطفيليات.

٢ـ أن تكون سميته أقل ما يمكن للنبات low phytotoxicity . تعتبر كبريتات النحاس شديدة السميه للنبات ولذلك يمنع رشها على الأوراق.

٣ـ أن تكون سميته للإنسان أو الحيوان معدومه أو ضعيفة جداً. توجد بعض المركبات تعتبر مأمونه safe مثل مركبات thiabendazole و benomyl و carbindazim .

٤ـ أن يستمر مفعوله مده كبيره كلما أمكن ذلك. ولا يتحلل أو يتغير تركيبه متأثراً بالظروف الجويه weathering .

٥ـ أن يكون إنتشاره على النبات تام. وأن يكون ذو قوة التصاق كبيره على النبات ليقاوم تأثير الظروف الجويه والأمطار والتى تساعد على ازالته من على سطح النبات.

٦ـ أن يكون سعره مناسب. تعتبر المضادات الحيوية باهظة التكاليف ولذلك فإستعمالها محدود.

طرق إستعمال المبيدات

يوجد طرق عديدة لاستعمال المبيدات وهى:

١ـ التعفير Dusting : ينثر مسحوق المبيد على النبات ليكون طبقة على هيئة الغبار الجاف. ينثر يدوياً بإستعمال قطعة شاش وعليها المبيد وهزها فوق النبات أو استعمال عفاره duster . تستعمل هذه الطريقة فى كبريت التعفير. يوجد أيضاً موتور التعفير.

٢ـ الرش Spraying : عبارة عن رش المبيد بعد تخفيفه بالماء على النبات وعند جفاف

الماء يتبقى غشاء رقيق من المبيد على سطح النبات. يستعمل فى ذلك رشاشات يدويه منزليه أو رشاشات تحمل على الظهر أو رشاشات تحمل على الظهر ذات موتور. يمكن إستعمال الموتور فى الرش كما يمكن إستعمال الطائرات ذات الجناحين أو الهليكوبتر. يوجد أنواع كثيره من الرشاشات اليدويه منها ذات الضغط الثابت وذات الضغط المتغير. يجرى الرش بثلاثة طرق:

(أ) طريقة الرش بالحجم الكبير high volume spray : تخفف كمية المبيد اللازمة للفدان الواحد فى كمية كبيرة من الماء تبلغ فى المتوسط حوالى ٦٠٠ لتر وذلك تبعا لحجم النباتات المراد رشها. يمكن بهذه الكمية الكبيرة من الماء تغطية النباتات تغطية كاملة مع وصول سائل الرش إلى كل أجزاء النبات. تستخدم هذه الطريقة فى حالة موتور الرش.

(ب) طريقة الرش بالحجم الصغير low volume spray : تخفف كمية المبيد اللازمة للفدان الواحد فى كمية من الماء حوالى ١٥٠ ـ ٢٠٠ لتر. تصبح المبيدات فى هذه الحالة أكثر تركيزا من الحالة السابقة. تجرى عملية الرش باستعمال بشابير خاصة لتجزئة السائل إلى رذاذ دقيق وبذا يمكن توزيع كمية معينة محدودة من السائل فى حيز أوسع.

(جـ) طريقة الرش بالطيران: تستخدم الحجم الكبير (HV) فى المبيدات غير الجهازية حيث يخفف المبيد بالماء فى المتوسط ٢٥ لتر لكل فدان. وذلك للحصول على كثافة للقطرات ٧٠ قطره لكل سم٢ من سطح النبات. تستخدم الحجم الصغير (LV) فى المبيدات الجهازية حيث يخفف المبيد بالماء فى المتوسط ٨ لتر لكل فدان. وذلك للحصول على كثافة للقطرات ٢٠ قطرة لكل سم٢ من سطح النبات. تكفى هذه الكثافة من القطرات فى حالة المبيدات الجهازية. يمكن حساب معدل تدفق المبيد من الطائرة من المعادلة.

$$\text{معدل التدفق} = \frac{\text{سرعة الطائره} \times \text{عرض المسار (بالمتر)} \times \text{الحجم المضاف (لتر/ فدان)}}{\text{عامل التحويل K}}$$

عامل التحويل K = سرعة الطيران ميل بالساعة = ٣٧٣

عامل التحويل K = سرعة الطيران كيلو متر بالساعة = ٦٠٠

$$\text{معدل التدفق} = \frac{\text{٩٠ ميل فى الساعة} \times \text{٢٠} \times \text{٢٥}}{\text{٣٧٣}} = \text{١٢١ لتر لكل دقيقة.}$$

يستخدم الطيران فى مصر لمقاومة الأمراض الفطرية فى المساحات الشاسعة من العنب وأيضا فى أستعمال مبيد هينوزان لمقاومة مرض اللفحة فى الأرز.

يلاحظ فى الرش بالطيران أن معلق أو محلول المبيد يتم تجزئته إلى رذاذ زائد الدقة بواسطة بشابير خاصة حيث أن محلول أو معلق الرش كميته قليلة جدا.

٣ ـ معاملة البذور Seed treatment : يخلط مسحوق المبيد بالبذور أو الحبوب الجافة أو بعد ترطيبها وعادة يكون ٣ جم مبيد لكل كيلو جرام بذره. يجب أن تغطى أسطح الحبوب أو البذور تغطية كاملة بالمبيد. يستخدم فى ذلك مبيدات فيتافكس كابتان وهومای ومونسرين وريزولكس. تجرى عملية الخلط فى براميل خاصة أو فى أكياس بلاستيك يجرى الزراعة مباشرة بعد المعاملة فى البذور الرطبة.

٤ ـ معاملة التربة Soil treatment : يوضع المبيد على الخطوط أو فى الجور أو حول الأشجار كما فى التميك لمقاومة ديدان النيماتود ويغطى بجزء من التربة ثم تجرى عملية الرى. يمكن أن ينثر المبيد فى التربة كما فى كيتازين لمقاومة مرض لفحة الأرز. يمكن أن يجفف مسحوق المبيد بالماء ويستخدم فى ترطيب وتبليل التربة Soil drench كما فى بنليت لمقاومة عفن الجذور.

٥ ـ الغمر Dipping : يخفف المبيد بالماء ثم تغمر فيه الدرنات أو البادرات أو الشتلات. يستخدم المضاد الحيوى ستربتوميسين كمحلول مائى تغمر فيه درنات البطاطس لمقاومة أمراض العفن الطرى والبنى والحلقى البكتيرية. تغمر فيه الشتلات أيضا لمقاومة مرض التدرن التاجى.

٦ ـ الحقن Injection : تحقن بعض المضادات الحيوية فى سيقان أشجار الفاكهة وغيرها لمقاومة أمراض الميكوبلازما والسبيرويلازما والريكتسيا. يستخدم أوروميسين فى حقن أشجار الموالح لمقاومة مرض العنيد. حيث يتم ساق النبات بمحقن بطريقة خاصة. قام المؤلف وآخرون بحقن الساق الرئيسية لأشجار المانجو بمركب كلوروتتراسيكلين chlorotetracyline لتشخيص إصابتها بالميكوبلازما. أستعمل طريقة فعالة وأكيده لحقن المضاد الحيوى فى الأشجار.

٧ ـ معاملة ماء الرى Treatment of irrigation : وهى طريقة نادرة الأستعمال وهى خاصة بمقاومة مرض ريم الأرز. حيث توضع كبريتات النحاس فى أكياس صغيره من الخيش أو الشاش تعلق على عصا صغيره عند فتحات الرى فتذيب مياه الرى كبريتات النحاس التى تصل إلى الريم وتقضى عليه.

٨ ـ الدهان أو الطلاء Painting : تستخدم عجينة بوردو أو ما يشابها فى طلاء الجروح ووقاية الأنسجة المعرضة وخاصة فى جذوع الأشجار. تستخدم قطعة من القطن مبللة بالستربتوميسين فى دهان منطقة التاج فى الأشجار لوقايتها من مرض التدرن التاجى. يمكن أن تدهن الأورام بواسطة elgetol methanol فى مرض التدرن التاجى فى الخوخ واللوزويسبب ذلك شفاء الأشجار. تستخدم قطعة من القطن المبلل بالستربتوميسين وتوضع على الورم فى مرض التدرن التاجى.

٩ ـ التدخين Fumigation : ينتشر المبيد على هيئة غاز ليتخلل الأجزاء النباتية المراد تعقيمها أو يستعمل لتعقيم التربة قبل الزراعة. يستعمل بروميد الميثيل لتدخين الرسائل النباتية فى الحجر الزراعى كما يستخدم لتعقيم التربة وخاصة فى الصوب. يمكن أن يستخدم لتعقيم تربة الحقول ولكن يحتاج ذلك إلى تكاليف باهظة. يمكن أن يكون الغاز المستعمل على هيئة سائل محفوظ فى أوان محكمه وعند تعريض هذا السائل للهواء يتبخر على هيئة غاز أحيانا يحقن المبيد فى التربة بمحقق يدوى أو يحقن ميكانيكيا.

١٠ ـ الأنتشار Diffusion : توضع أقراص من المبيد فى الصوبة وفى وجود درجة الحراره المناسبة يحدث إنتشار المبيد فى جو الصوبة ومثال ذلك أقراص المبيد termil والذى يقاوم بعض أمراض الطماطم مثل اللفحة وتصويف الأوراق.

١١ ـ تغليف الثمار : تغلف الثمار مثل ثمار الموالح بورق جاف سبق غمره فى محلول فينيل الفنيول phenyl phenol ويستعمل فى وقاية الثمار من الفطريات التى قد تصيبها أثناء التسويق والشحن والتصدير.

أنواع سوائل الرش للمبيدات

تستخدم المبيدات رشا على النبات وهى تكون أحد الصور الآتية :

١ ـ محاليل Solutions : حيث يذوب المبيد فى الماء تماما ويكون محلول حقيقى كما فى كبريتات النحاس.

٢ ـ معلقات Suspensions : حيث لا يذوب المبيد فى الماء ويكون فى صورة معلق وذلك بعد خلط مسحوق المبيد مع الماء وقد يرسب. ولذلك يخلط مع المبيد مادة مانعة الترسيب deflocculating agent . دائما يكون المبيد فى حالة تقليب مستمر فى الموتورات لمنع ترسيبه ومثال ذلك دايثين م ـ ٤٥ وبنليت.

٣ ـ مستحلبات Emulsions : يكون المبيد فى صورة سائلة ويخلط مع الماء ليكون مستحلب. يحتوى هذا النوع من المبيدات على مركبات مستحلبه لتساعد إمتزاج المبيد مع الماء ومثال ذلك روبيجان أوكاراثين مستحلب.

أنواع المبيدات المستخدمة فى مقاومة أمراض النبات

يمكن إستخدام كثير من المبيدات فى مقاومة أمراض النبات الكثير منها عضوى والقليل غير عضوى.

أولا : المبيدات غير العضوية

يمكن إستخدام كثير من المبيدات غير العضوية فى مقاومة أمراض النبات وهى تتبع مجاميع مختلفة منها ما يأتى:

١ ـ عنصر الكبريت sulphur:

يستعمل الكبريت فى مقاومة كثير من الأمراض الفطرية وتوجد منه أنواع مختلفة :

(أ) كبريت التعفير dusting sulphur : يستعمل مسحوق الكبريت نثرا على النبات وتكون عملية النثر يدويا أو بأستعمال شاش أو بإستخدام عفاره duster . يستعمل فى مقاومة أمراض البياض الدقيقى وبعض أمراض الأصداء مثل صدأ الساق فى القمح وخاصة فى الشتاء ولا يفضل إستعماله صيفا وحيث درجة الحرارة مرتفعة وشدة الأضاءة عالية حيث قد يسبب تأثيرا ضار على النبات ويسبب موت بعض الأنسجة أو الأجزاء. لا يفضل أستعماله على الزهور لأنه قد يسبب تأثير ضار على التبلات أو التبلات.

(ب) كبريت قابل للبلل wettable sulphur : يخلط مسحوق الكبريت بالماء وعادة يكون التركيز ١ ٪ أى كيلو جرام كبريت لكل ١٠٠ لتر ماء. يستعمل رشا على النبات بأستعمال رشاشة أو باستعمال الموتور. يقوم كثير من أمراض البياضى الدقيقى كما يستخدم فى مقاومة بعض الأصداء.

(جـ) كبريت ميكرونى micronized sulphur : يخلط مسحوق الكبريت بالماء وعاده يكون التركيز ٢٥ر٪ أى ٢٥٠ جرام كبريت لكل ١٠٠ لتر ماء. يتميز هذا النوع بصغر حجم حبيباته ودقتها وذلك بالمقارنة بحبيبات النوع السابق. يقاوم كثير من أمراض البياض الدقيقى كما يقاوم بعض أمراض الأصداء.

يلاحظ أن أصناف بعض النباتات تكون حساسة للكبريت فى صوره المختلفة ويؤثر عليها تأثير ضار ويسبب موت لبعض الأنسجة وهى تسمى أصناف حساسة للكبريت sulphur shy varieties ومثال ذلك بعض أصناف التفاح والقرعيات والخرشوف.

(د) **كبريت الجير** lime sulphur : يحضر بغلى الجير المطفئ مع الكبريت فى الماء ويترك المخلوط ليرسب عدة أيام ثم يستعمل السائل الرائق كمطهر فطرى. يسمى هذا المخلوط بإسم ماء جريسون Eau Grison. يستعمل فى مقاومة كثير من الأمراض مثل جرب التفاح والكمثرى ومرض تجعد أوراق الخوخ والأنثراكنوز والعفن البنى فى الفاكهه ذات النواه الحجرية.

٢ ـ **مركبات النحاس** copper compounds :

يوجد مركبات نحاسية عديدة تسعمل فى مقاومة أمراض النبات ومنها:

(أ) **كبريتات النحاس** : تستعمل فى مقاومة بعض أمراض النبات. تستخدم للرش على النباتات شتاءا وخاصة المتساقطة الأوراق حيث أنها شديدة الضرر عند رشها على المجموع الخضرى. تستخدم عاده بتركيز ١ ٪ فى مقاومة بعض الأمراض مثل صدأ الورد بعد تقليم الشجيرات شتاء. يمكن أن ترش بها أشجار الكمثرى والتفاح شتاء لمقاومة مرض اللفحة النارية.

يمكن أن تستخدم فى حالات خاصة مثل مقاومة مرض ريم الأرز بمعدل ٥ر١ ـ ٢ كجم للفدان.

(ب) **أيدروكسيد النحاسيك**: يباع تجاريا تحت اسم كوسيد kocide ويقاوم بعض الأمراض البكتيرية والفطرية مثل البياض الزغبى واللفحة.

(جـ) **أكسيد النحاسوز** : يباع تجاريا تحت أسماء عديده منها كوبروسيد وكوبر وسان يستخدم بتركيز ٢٥٠ جم لكل ١٠٠ لتر ماء. يستخدم فى مقاومةأمراض البياض الزغبى واللفحة المتأخره فى البطاطس والطماطم.

(د) **أوكسى كلورور النحاس**: يباع بهذا الاسم أو بأسماء تجارية عديده منها ملتوكس تستخدم بتركيز يتراوح بين ٠,٣ إلى ٠,٥ ٪. يستخدم فى مقاومة أمراض البياض الزغبى والندوه المتأخره فى البطاطس والطماطم والآشنات.

obeikandl.com

(هـ) مزيج أو مخلوط بوردو Bordeaux mixture : يعتبر من أهم المركبات التى استخدمت فى مقاومة أمراض النبات قديما. يستعمل أيضا حاليا فى بعض الحالات. يتميز بكفاءته العالية فى مقاومة كثير من الأمراض ولكنه يحتاج إلى تحضيره قبل إستعماله مباشره وهذا ما يقلل من أستعماله.

لاحظ Millardet سنة ١٨٨٢ أن شجيرات العنب المرشوشة بخليط من كبريتات النحاس والجير لا تصاب بمرض البياض الزغبى. سبب هذا المرض خسائر فادحة فى محصول العنب. من الجدير بالذكر أن المزارعون الفرنسيون كانوا يقومون برش المزيج على نباتات العنب لتكسبها منظر منفر سيئ وبذلك تمنع المارة من سرقة عناقيد العنب وليست الهدف مقاومة المرض. كانت هذه الملاحظة سببا فى أكتشاف أهمية هذا المخلوط كمطهر ومبيد فطرى وسمى باسم مقاطعة Bordeaux فى فرنسا وحيث أكتشف ميلاردیت هذه الظاهرة .

يحضر المخلوط بالنسب الآتية وهى ١كجم كبريتات نحاس و١ كجم جير حى و١٠٠ لتر ماء وتختصر كتابة المخلوط فى هذه الحالة إلى ١ : ١ : ١٠٠ . تذاب كبريتات النحاس فى ١٠ لتر ماء وقد يحتاج الأمر إلى تسخين الماء للمساعدة فى ذوبان كبريتات النحاس. يطفئ الجير فى ١٠ لتر ماء ثم يصفى بقطعة شاش للتخلص من الشوائب. يضاف إلى لبن الجير بعد تصفيته كمية الماء الباقية وهى ٨٠ لتر ماء مع التقليب. يضاف محلول كبريتات النحاس إلى محلول الجير ببطء مع التقليب المستمر أثناء الأضافة. يستعمل المحلول مباشرة بعد تحضيره لأن خواصه تفسد بسرعة. يجب أن يكون المزيج متعادلا ويعرف ذلك بوضع مسمار لامع من الحديد فى المزيج فإذا تكون عليه راسب بنى دل على وجود نحاس زائد فتضاف كمية من الجير ويعاد الأختبار.

يوجد لمخلوط بوردو مزايا وعيوب. فمن مزاياه قوة إلتصاقه الجيدة بالنباتات مما يجعله شديد التأثير كمطهر فطرى علاوه على رخص ثمنه. ومن عيوبه أن يحتاج إلى دقة فى التحضير وأنه يفسد بالتخزين كما أنه قد يضر بالثمار ويظهر عليها عرض التخشين والأوراق ويسبب إحتراقها وموتها. أحيانا لا ينصح بأستعماله فى بعض نباتات الزينة. يعتبر النحاس هو

الجزء الفعال السام للطفيليات بينما يعتبر الجير ملطف safner من ضرر النحاس على أنسجة النبات حيث يسبب النحاس موت أنسجة النبات phytotoxicity . ويستعمل فى مقاومة أمراض البياض الزغبى والآشنات واللفحة المتأخرة والمبكرة فى البطاطس والطماطم واللفحة النارية فى التفاح والكمثرى وجرب التفاح والكمثرى.

(و) **عجينة بوردو** Bordeaux Paste : تتركب من ١ كجم كبريتات نحاس و٢ كجم جير حى و١٠ ـ ١٥ لتر ماء. تذاب كبريتات النحاس فى جزء مناسب من الماء ويطفأ الجير الحى بالجزء الباقى من الماء ثم يخلطا جيدا حتى تتكون عجينة متجانسة. تسعمل عجينة بوردو فى طلاء الجروح وأماكن الكشط على جذوع الأشجار.

يوجد أيضا نفس الشيئ فى النحاس حيث توجد بعد أصناف من النبات تكون حساسة للمركبات النحاسية copper shy varieties .

٣ ـ مركبات الزئبق Mercury compounds :

كانت تستخدم مركبات زئبقية فى معاملة البذور مثل السريسان والأجروسان ولكن أتضح أن بقايا أو آثار من الزئبق يمكن أن تبقى فى الأنسجة النباتية وتسبب ضرر بليغ للإنسان والحيوان ولذلك منع استعمال هذه المركبات منعا باتا لخطورتها على صحة الإنسان.

يستعمل كلوريد الزئبقيك ويعرف باسم السليمانى فى مقاومة أمراض درنات البطاطس مثل مرض الجرب العادى والجرب المسحوقى والقشرة السوداء وذلك بغمر الدرنات فى محلول تركيزه واحد فى الألف. يمنع أيضا استعمال هذا النوع من المقاومة لخطورته على صحه الإنسان. يستعمل أيضا هذا المركب فى تطهير الأجزاء النباتية عند القيام بعمليات عزل الكائنات من الأنسجة أو البذور ويلزم بعد ذلك غسيل الأجزاء المعقمه فى ماء معقم لمرات عديدة للتخلص من أى آثار للزئبق.

ثانيا : المبيدات العضوية

توجد مركبات كثيرة تتبع هذه المجموعة ويمكن تصنيفها إلى مجموعتين وهى المبيدات الجهازية systemic وغير الجهازية non sytemic (شكل ٧٨ و٧٩) . تعتبر المبيدات الجهازية هى التى تمتص بواسطة النبات وتسرى فى داخله متخلله الأنسجة المختلفة أما المبيدات غير الجهازية فهى لا تمتص بواسطة النبات وتبقى على سطحه مكونه طبقة.

(أ) المبيدات غير الجهازية

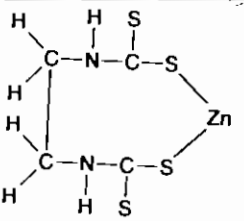
توجد مركبات كثيرة تتبع هذه المجموعة ومنها ما يأتى:

١ ـ مركبات داى ثيوكربامیت Dithiocarbamates : كان لأكتشاف مركبات الداى ثيوكاربامیت أهمية بالغة حيث أنها تمثل مجموعة من المركبات تستخدم على نطاق واسع فى مقاومة كثير من الأمراض. تشترك هذه المركبات فى التركيب الكيمائى العام وتختلف فيما بينها فى المجاميع أو الذرات الجانبية ومنها ما يأتى :

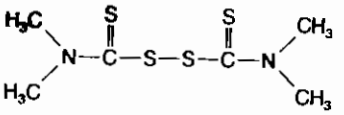
ـ زينب Zineb : وهو مركب عضوى ويحتوى الجزيئ على ذره زنك. يباع تجاريا تحت أسماء كثيرة منها دايثين ز ـ ٧٨ dithane Z-78 أو أنتراكول antracol أو لوناكول lonacol . يستخدم عادة بتركيز ٢٥ ر٪ أى بتركيز ٢٥٠ جم لكل ١٠٠ لتر ماء رشا على النبات. يفيد فى مقاومة كثير من الأمراض مثل البياض الزغبى واللفحة المتأخرة والمبكرة فى البطاطس.

ـ مانيب Maneb : وهو مركب عضوى يحتوى الجزئى على ذره منجنيز. يباع تجاريا تحت أسماء عديدة منها دايثين م ـ ٢٢ أو مانزيت manzate . يستخدم عادة بتركيز ٠,٢٥ ٪ رشا على النبات. فعال فى مقاومة مرض اللفحة المتأخرة والمبكرة فى البطاطس والطماطم والبياض الزغبى.

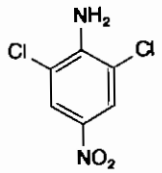
ـ مانكوزيب Mancozeb : وهو مركب عضوى ويحتوى الجزيئ على ذرتى زنك ومنجنيز. يستخدم عادة بتركيز ٢٥ ر٪ رشا على النبات. يباع تجاريا تحت أسماء كثيرة منها دايثين م ـ٤٥ dithane M-45 . يفيد فى مقاومة أمراض البياض الزغبى واللفحة المتأخره فى البطاطس



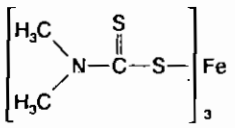
Zineb



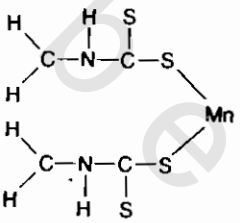
Thiram



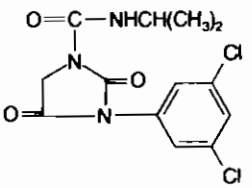
Dichloran



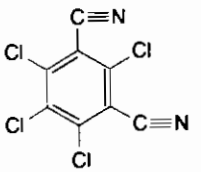
Ferbam



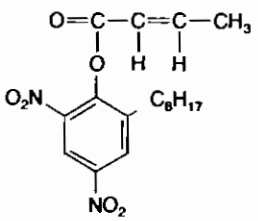
Maneb



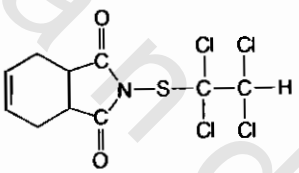
Iprodione



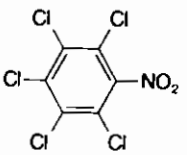
Chlorothalonil



Dinocap

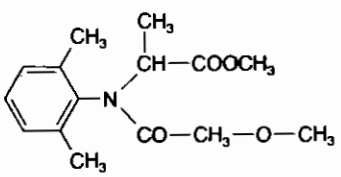


Captafol

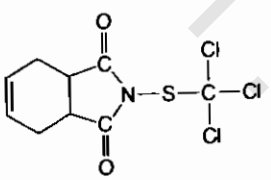


Pentachloro-
nitrobenzene

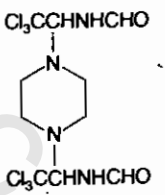
PCNB



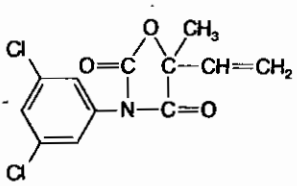
Metalaxyl



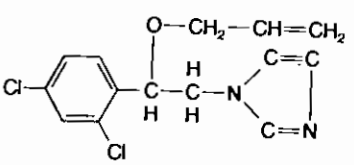
Captan



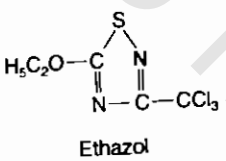
Triforine



Vinclozolin



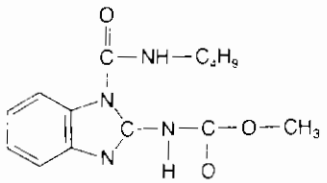
Imazalil



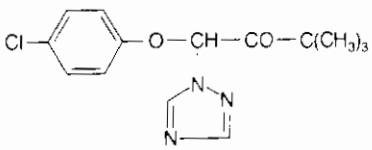
Ethazol

(شكل ٧٨) : التركيب الجزيئى لبعض المواد الفعالة فى المبيدات الفطرية .

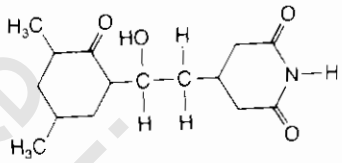
obeikandl.com



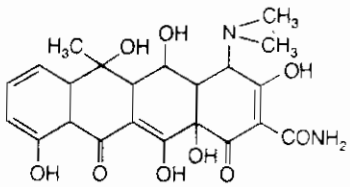
Benomyl



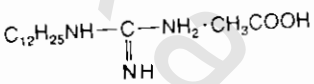
Triadimefon



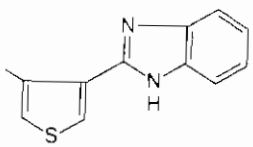
Cycloheximide



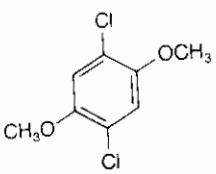
Oxytetracycline



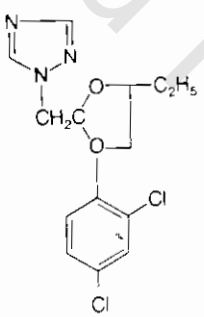
Dodine



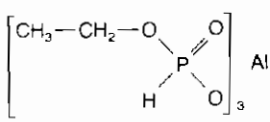
Thiabendazole



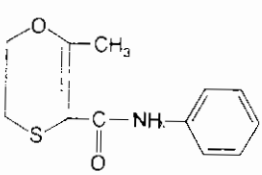
Chloroneb



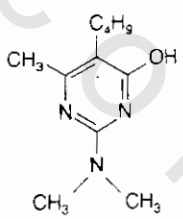
Etaconazole



Fosetyl-Al



Carboxin



Dimethirimol

(شكل ٧٩) : التركيب الجزيئى لبعض المواد الفعالة فى المبيدات الفطرية والبكتيرية .

والطماطم والتبقع البنى فى الفول. وجد أن إضافة أيون الزنك للمانيب تزيد من كفاءته فى مقاومة أمراض النبات كما تقلل من سميته للنبات phytotoxicity .

- ثيرام Thiram : مركب عضوى ولا يوجد بالجزيئ ذرات من الزنك أو المنجنيز أو الحديد. يستعمل فى معاملة البذور والأبصال والدرنات. كما يستعمل أيضا بعد خلطه بالماء فى إضافة للتربة soil drench لمقاومة مرض عفن البذور وموت وذبول البادرات. يباع تحت أسماء تجارية منها أراسان وتيرسان.

- فربام Ferbam : مركب عضوى يحتوى الجزئى على ذرة حديد. يستخدم بتركيز ٢ر٪ رشا على النبات لمقاومة بعض الأمراض الفطرية مثل مرض اللفحة المبكرة فى الطماطم وبعض أمراض الأنثراكنوز. قد يستخدم كمسحوق تعفير لمقاومة بعض الأمراض.

٢ - **الكينونات** Quinones : هى عبارة عن مركبات تنتج من أكسدة المركبات الفينولية وهى يمكن أن توجد طبيعيا فى بعض النباتات وتسبب زيادة المقاومة الطبيعية innate resistance للنبات ضد بعض الطفيليات الممرضه. يوجد من هذه المجموعة مركبين فقط وهما :

- كلورانيل Chloranil : يستخدم أساسا فى معاملة البذور والأبصال والدرنات والكورمات. يمكن أن يستعمل بعد خلطه بالماء فى إضافته للتربة soil drench . يمكن أن يستعمل بعد خلطه بالماء لغمر الدرنات أو الأبصال أو الكورمات. يمكن أن يستعمل رشا أو تعفير على النبات لمقاومة بعض أمراض البياض الزغبى. يباع تجاريا تحت اسم spergon .

- دايكلون Dichlone : يستخدم أساسا فى معاملة البذور لمقاومة أمراض عفن البذور وموت البادرات وعفن الجذور. يمكن أن يستخدم رشا على النبات لمقاومة بعض أمراض عفن الثمار أو التقرحات. يباع تجاريا تحت اسم phygon فيجون.

٣ - **مركبات ذات حلقة البنزين** Benzene compounds : هى عبارة عن مركبات تختلف فى تركيبها كثيرا ولكن تشترك جميعها فى أن تركيز الجزيئ له حلقة بنزين.

- داى نيتروكريزول Dinitro -O- cresol : يدخل هذا المركب فى تركيب بعض المبيدات والتى تستخدم رشا على النباتات شتاء أثناء طور السكون وخاصة على الأشجار والشجيرات. يدخل فى تركيب إلجيتول elgetol والذى يستعمل كدهان لجروح وكشط الأشجار.

- بنتاكلورونيتروبنزين Pentachloronitrobenzene : يستخدم لمعاملة التربة. يباع تجاريا تحت أسماء عديدة منها PCNB أو تيراكلور terrachlor . يستخدم فى مقاومة بعض فطريات التربة مثل *Rhizoctonia* ، *Sclerotinia* ، *Plasmodiophora* ، *Fusarium* ولكنه غير فعال فى مقاومة الفطر *Pythium* .

- داى كلوران Dichloran : يستخدم فى مقاومة الطفيليات التى تكون أجسام حجرية مثل أنواع الفطر *Botrytis* كما يستعمل فى مقاومة فطريات أخرى مثل *Penicillium* ، *Rhizopus* . يستخدم رشا على النبات أو يخلط بالتربة أو يستعمل كمبيد تغمر فيه الأجزاء النباتية للوقاية من أمراض ما بعد الحصاد postharvest dip . يباع تحت أسماء تجارية منها بوتران botran .

- دينوكاب Dinocap : يستخدم أساسا فى مقاومة أمراض البياض الدقيقى. يستعمل بتركيز ١ر٪ رشا على النبات. يوجد فى صوره مسحوق أو مستحلب أى سائل. يباع تجاريا تحت اسم كاراثين karathane . له دور أيضا فى مقاومة بعض أنواع العنكبوت وهو الحلم mite .

- ديازوبن Diazoben : يستعمل فى معاملة التربة أساسا وقد يستعمل فى معاملة البذور. يقاوم أساسا أجناس معينة من فطريات التربة وهى *Pythium* ، *Phytophthora* ، *Aphanomyces*. يباع تجاريا تحت اسم ديكسون dexon .

- كلوروثالونيل Chlorothalonil : يستخدم فى مقاومة كثير من الأمراض مثل تبقع الأوراق والبياض الزغبى واللفحة ولفحة الساق الصمغية وعفن الثمار والجرب والأنثراكنوز. يباع تجاريا تحت اسم برافو bravo أو داكونيل ٢٧٨٧ daconil 2787 .

يوجد تحضير على هيئة أقراص tablet formulation . توضع الأقراص فى الصوب فى الزراعة المحمية وفى وجود درجة الحرارة المتوسطة أو المرتفعة ينتشر المبيد فى أجواء

الصوبة. يقاوم أساسا فطر *Botrytis* وبعض أمراض الطماطم مثل اللفحة وتصويف الأوراق. يباع تجاريا تحت اسم تيرمل termil .

٤ ـ **مركبات ذات الحلقتين المختلفتين** Heterocyclic compounds : هى عبارة عن مركبات تختلف فى تركيبها الجزيئى كثيرا. ولكنها تشترك فى أن جزيئها يتكون من حلقتين غير متشابهتان:

ـ كابتان Captan : يستخدم فى مقاومة كثير من الأمراض ويوجد منه صور مختلفة. يمكن أن يستعمل رشا على النبات بتركيز ٢٥ر٪ لمقاومة بعض أمراض تبقع الأوراق واللفحة والبياض الزغبى وعفن الثمار ويعرف تجاريا باسم أورثوسيد ٥٠ orthocide 50 . يوجد على هيئة مسحوق تعامل به البذور لمقاومة أمراض عفن البذور وسقوط وذبول الباردات وعفن الجذور ويباع تجاريا تحت اسم أورثوسيد ٧٥. يمكن أن يستعمل لغمر الثمار أو الدرنات الخ لمقاومة أمراض ما بعد الحصاد postharvest dip . يمكن خلط كابتان مع بوتران ويباع تجاريا باسم بوتيك botec ويستعمل لمعاملة البذور.

ـ فولبيت Folpet : يشابه المبيد السابق فى تأثيره ويستعمل علاوه على ذلك فى مقاومة أمراض البياض الدقيقى. يباع تجاريا تحت اسم فولبيت أو فالتان يمكن أن يخلط مع ألومونيوم ويباع كمبيد جهازى باسم ميكال mikal لمقاومة أمراض البياض الزغبى.

ـ كابتافول Captafol : يشابه المبيدان السابقان إلا أنه يقاوم بشدة تأثير الظروف الجوية weathering ولذلك يستمر تأثيره الفعال على النبات مدة طويلة. علاوه على ذلك فإنه يفوق المركبين السابقين فى ضعف سميته للنبات low phytotoxicity . يتضح أنه يفوق المركبين السابقين للخاصيتين المذكورتين. يقاوم علاوه على ما سبق مرض الجرب فى التفاح والكمثرى وجرب وميلانوز الموالح وكثير من أمراض المجموع الخضرى للطماطم. يباع تجاريا باسماء عديده منها ديفولتان difoltan .

- جليودين Glyodin : يستخدم رشا فى مقاومة مرض جرب التفاح وبعض أمراض المجموع الخضرى فى أشجار الفاكهه ونباتات الزينة. يباع تجاريا بنفس الاسم . يخلط أحيانا مع دودين dodine ويباع تجاريا باسم جليودكس glyodex .

- ديرين Dyrene : يستخدم رشا على المجموع الخضرى لنباتات الخضر والزينة. يباع تجاريا تحت نفس الاسم.

- إبروديون Iprodione : يمنع إنبات الجراثيم ونمو الفطريات *Botrytis, Sclerotinia* ويباع تجاريا باسم rovral .

- فينكلوزولين Vinclozolin يؤثر على نفس فطريات المبيد السابق يباع تجاريا باسم ronilan , ornalin

٥ - **مركبات عضوية فوسفورية** Organophosphorus Compounds : وهى مركبات عضوية تحتوى على الفوسفور ومنها :

- إيدى فينفوس Ediphenphos: يستعمل فى مقاومه بعض أمراض المجموع الخضرى للأرز مثل مرض اللفحة ومرض البقعه البنيه وبعض تبقعات الأوراق الأخرى. يستخدم رشا على النبات . يباع تجاريا تحت اسم هينوزان hinosan .

٦ - دودين Dodine : يقاوم جرب التفاح بكفاءة عالية كما يقاوم بعض أمراض المجموع الخضرى للبيكان والكريز والشليك والورد. يستخدم رشا على النبات. يعتبر مبيد وقائى وعلاجى. له تأثير جهازى محدود فى الأوراق. يباع تجاريا باسم سيبركس cyprex .

(ب) المبيدات الجهازية

هى عبارة عن مركبات تمتص بواسطة النبات أو البذور أثناء أنباتها أو البادرات. تمتص عن طريق الجذور والمجموع الخضرى. تنتشر بعد ذلك فى داخل النبات فى أنسجة مختلفة . تنتقل فى داخل النبات عادة من أسفل إلى أعلى مع تيار النتح فى نسيج الخشب ونادرا ما

obeikandi.com

تنتقل من أعلى إلى أسفل فى نسيج اللحاء. ولا ينتقل المبيد فى النموات الجديدة التى تكونت بعد موعد الرش. توجد مركبات كثيرة ومنها ما يأتى:

١ ـ **أوكسانثينز** Oxanthiins : وهى مركبات أهمها ما يأتى :

ـ كاربوكسين Carboxin : يستخدم فى معاملة البذور. يقاوم أمراض عفن البذور وذبول وموت البادرات وعفن الجذور. يخلط بنسبة ٢ ـ ٣ جرام لكل كيلو جرام بذره. أكتشف أساسا لمقاومة مرض التفحم السائب فى القمح والشعير ويعتبر أول مبيد فعال فى مقاومة هذا المرض حيث كانت الطريقة الوحيدة لمقاومة هذا المرض هى المعاملة بالماء الساخن. يباع تجاريا تحت اسم فيتافكس vitavax . يستخدم لمقاومة أمراض التفحم فى الحبوب عدا التفحم فى الذرة الشامية.

ـ أوكسى كاربوكسين Oxycarboxin : يمكن أن يستخدم رشا على النبات لمقاومة بعض أمراض الأصداء مثل صدأ الورد وبعض البقوليات. يمكن أن يستخدم لمعاملة البذور. يباع تجاريا تحت اسم بلانتفاكس plantvax .

٢ ـ **بنزيميدازولز** Benzimidazoles : تحتوى على مجاميع هامة من المبيدات الجهازية. تصنف هذه المبيدات إلى ثلاثة مجاميع وهى carbindazim و thiabendazole و benomyl .

ـ بينوميل Benomyl : يقاوم مجموعة كبيرة من الأمراض وخاصة أمراض البياض الدقيقى. يقاوم بعض تبقعات الأوراق كما فى الفول السودانى واللفحة وجرب التفاح والكمثرى والخوخ والبيكان والعفن البنى فى الفاكهه ذات النواه الحجرية. يستعمل لذلك رشا بتركيز ٦. ر٪ أى ٦٠ جرام لكل ١٠٠ لتر ماء. يمكن أن يخلط بالتربة أو تعامل به البذور ليقاوم أمراض عفن البذور وذبول وموت البادرات وعفن الجذور. يستعمل بكثره لمعاملة الثمار لمقاومة أمراض ما بعد الحصاد. من عيوبه أن تم حصر كثير من سلالات الفطريات يمكنها أن تكتسب مناعة ضده ويصبح غير فعال فى مقاومة هذه السلالات وهذه هى أحد العوامل التى ستقلل من أستعمال هذا المبيد. يباع تجاريا تحت اسم بنليت benlate .

- ثيابندازول Thiabendazole : يقاوم مجموعة كبيرة من الأمراض مثل تبقع الأوراق وأمراض الدرنات والكورمات. يعتبر مبيد غير ضار على صحة الإنسان safe وهذه صفة يتصف بها المبيد السابق أيضا. لذلك يستعمل بكثرة فى معاملة الثمار والدرنات للوقاية من أمراض ما بعد الحصاد ومثال ذلك ثمار البرتقال والتفاح والكمثرى والموز والقرع ودرنات البطاطس. يباع تجاريا باسماء عديدة منها تكتو tecto وتوباز tobaz ومرتكت mertect .

- كاربيندازيم Carbendazim : يقاوم مجموعة كبيرة من الأمراض. يعتبر مبيد غير سام لأنسجة النبات كما أنه غير ضار safe على صحة الإنسان والحيوان. يقاوم عفن الثمار مثل عفن ثمار العنب المتسبب عن الفطرين *Botrytis cinerea* ، *Aspergillus niger* . يستعمل رشا على النبات أو لتبليل التربة أو فى معاملة البذور أو لغمر البادرات قبل الزراعة أو معاملة الثمار للوقاية من أمراض ما بعد الحصاد. يباع تحت اسماء تجارية منها بافستين bavistin ودروسال derosal .

٣ - **ثيوفانيت** Thiophanate : يوجد منه ميثيل ثيوفانيت methyl وإيثيل ثيوفانيت. يباع إيثيل ثيوفانيت تحت اسماء تجارية منها توبسين topsin وسركوبين cercobin لمقاومة بعض أمراض الجذور والمجموع الخضرى.

يباع ميثيل ثيوفانيت تحت أسماء تجارية عديدة مثل توبسين M وسركوبين M . يقاوم كثير من الأمراض كما فى المبيد السابق كما أنه يقاوم علاوه على ذلك أمراض البياض الزغبى وأمراض البياض الدقيقى. يقاوم أيضا الأمراض الناتجة عن الفطر *Botrytis* . كما يقاوم تبقع الأوراق والثمار وأمراض الجرب والعفن. يمكن إستعماله رشا على النبات أو تخلط بالتربة لمقاومة فطريات التربة الممرضة. يخلط بمبيد الثيرام ويباع تجاريا باسم هومای homai وهو يستعمل لمعاملة البذور.

٤ - **مركبات عضوية فوسفورية** Organophosphorus Compounds : وهى مركبات عضوية تحتوى على الفوسفور ومنها :

- بنزيل ثيوفوسفات Benzyl - thiophosphate : يستعمل فى مقاومة بعض أمراض الأرز مثل مرض اللفحة ومرض البقعة البنية. يستخدم فى صوره حبيبات granules . يباع تجاريا تحت أسماء كيتازين kitazin وكيتازين - p .

- فوسيتيل ألومونيوم Fosetyl - Al : يقاوم أمراض البياض الزغبى وأمراض *Pythium* و *Phytophthora* كما أن هذا المركب يشجع تكوين الفيتو ألكسنيات ضد الفطريات السابقة. يباع تجاريا باسم aliette .

- بيرازوفوس Pyrazophos : يقاوم أمراض البياض الدقيقى و *Helminthosporium* . يباع تجاريا باسم أفيوجان afugan .

٥ - **مشتقات الفينول** Phenol derivatives : وهى مركبات مشتقة من الفينول وهى بذلك تحتوى حلقة بنزين ومنها :

- كلورونيب Chloroneb : يقاوم أمراض عفن البذور وموت البادرات وعفن الجذور. يستعمل لمعاملة البذور أو يخلط بالتربة. يباع تجاريا تحت أسماء عديدة منها ترسان tersan وديموسان demosan .

٦ - **ثياديازول** Thiadiazole : يقاوم أمراض عفن البذور وموت البادرات وعفن الجذور وخاصة *Pythium* و *Phytophthora* . يستعمل لمعاملة البذور أو يخلط بالتربة. يباع تجاريا تحت أسماء عديده منها تروبان truban وتيرازول terrazole . يمكن خلطه مع PCNB ويكون له فاعلية أوسع حيث يشمل أيضا فطريات *Rhizoctonia* و *Fusarium* وأيضا فطريات التفحم. يباع تجاريا تحت اسم تيراكوت terra - coat .

٧ - **أكيل ألانين** Acylalanine : أهم مركب فى هذه المجموعة هو ميتالكسيل metalaxyl . وهو فعال لمقاومة البياض الزغبى و *Pythium* و *Phytophthora* يباع تجاريا باسم ريدوميل ridomil للرش على المجموع الخضرى. يمكن أن يستخدم خلط مع التربة ومعاملة البذور مثل apron . يذوب بسهولة فى الماء. ظهرت الآن سلالات فطرية مقاومة له.

٨ ـ **ترای أزول** Triazole : توجد مركبات عديدة تتبع هذه المجموعة منها triadimefon ويباع تجاريا باسم (bayleton) و triadimenol ويباع تجاريا باسم (baytan) و bitertanol ويباع تجاريا باسم (baycor) و boutrizol ويباع تجاريا باسم (indar) و propiconazole ويباع تجاريا اسم (tilt) و etaconazole ويباع تجاريا باسم (vangard) . وهى لها تأثير وقائى وعلاجى لكثير من أمراض المجموع الخضرى والجذور والبادرات مثل تبقعات الأوراق واللفحة والبياض الدقيقى والأصداء والتفحمات وغيرها. تستخدم للرش على المجموع الخضرى ولمعاملة البذور والتربة.

٩ ـ **مورفولينس** Morpholines : يقاوم أمراض البياض الدقيقى وتبقعات الأوراق يباع تجاريا باسم meltatox, calixin .

١٠ ـ **بينالاكسيل** Benalxyl : يقاوم البياض الزغبى واللفحة المبكرة والمتأخرة فى البطاطس والطماطم والتبقع البنى فى الفول. قد يخلط بأوكسى كلورور النحاس ويباع تجاريا تحت اسم جالبين نحاس galben copper . يستخدم رشا بتركيز ١٥ر٪.

١١ ـ **تريفورين** Triforine : يقاوم البياض الدقيقى وبعض الفطريات الأسكية مثل جرب التفاح والكمثرى وبعض الفطريات الناقصة وأمراض تبقع الأوراق وعفن الثمار والأنثراكنوز وبعض الأصداء. تستخدم رشا على المجموع الخضرى. يباع تجاريا باسم سيلا cela وسابرول saprol وفنجينكس funginex .

١٢ ـ **بيريميدينز** Pyrimidines : تشمل مركبات عديدة منها dimethirimol ويباع تجاريا باسم (milcurb) ميلكرب و ethirimol ويباع تجاريا (milstem) و bupirimate ويباع تجاريا باسم (nimrod) وكليهما لمقاومة البياض الدقيقى ومنها fenarimol ويباع تجاريا باسم (rubigan) ومنها nuarimol ويباع تجاريا باسم (trimidal) وهى فعالة لمقاومة البياض الدقيقى وأيضا بعض تبقعات الأوراق والأصداء والتفحمات . تستخدم رشا على المجموع الخضرى.

١٣ ـ **إيثازول** Ethazol : يخلط بالتربة وتعامل به البذور يقاوم أمراض *Pythium* و

Phytophthora مثل موت البادرات وعفن الجذور يباع تجاريا باسم تيرازول terrazole أوتروبان truban أو كوبان koban . وقد يخلط مع PCNB أو مع thiophanate methyl ليعطى مدى أوسع لمقاومة عدد أكبر من الفطريات وخاصة *Rhizoctonia* و *Fusarium* .

١٤ - **إمازاليل** Imazalil : يقاوم الفطريات الأسكية والناقصة المسببة لأمراض البياض الدقيقى وتبقعات الأوراق وعفن الثمار والذبول الوعائى. يستعمل رشا أو تعامل به البذور. يباع تجاريا باسم fungaflor .

(جـ) المضادات الحيوية

يعرف المضاد الحيوى antibiotic بأنه مركب ينتج بواسطة كائن حى دقيق ويكون سام لكائن أو لكائنات حية دقيقة أخرى. تظهر المضادات الحيوية خاصية هامة وهى أمتصاصها وإنتقالها داخل النبات أى أنها جهازية. يوجد مضادات حيوية هامة فى مقاومة أمراض النبات وهى :

١ - **ستربتوميسين** Streptomycin : ينتج بواسطة البكتيريا *Streptomyces griseus* . يقاوم كثير من الأمراض البكتيرية مثل مرض اللفحة النارية فى التفاح والكمثرى. ويستعمل فى هذه الحالة رشا على النبات. يستعمل لتبليل وترطيب التربة فى حالة مرض عفن القاعدة فى البلارجونيوم. يستخدم على هيئة سائل وتغمر فيه درنات البطاطس المصابة بالعفن الطرى والبنى والحلقى. يقاوم أيضا بعض الأمراض الفطرية مثل بعض أمراض البياض الزغبى.

٢ - **تتراسيكلين** Tetracyclines : تنتج بأنواع عديدة من البكتيريا *Streptomyces* . توجد مركبات كثيرة تتبع هذه المجموعة. يوجد فى مجموعة oxytetracycline المضاد الحيوى تيراميسين terramycin والذى يخلط مع ستربتوميسين ويباع تجاريا تحت اسم أجريميسين ١٠٠ agrimycin-100 ويستعمل بكفاءه عالية فى مقاومة مرض اللفحة النارية فى التفاح والكمثرى والبقعة البكتيرية فى الطماطم واللفحة هالية الشكل فى الفاصوليا وعفن الساق والأوراق فى *Dieffenbachia* . يوجد فى مجموعة chlorotetracycline المضاد الحيوى

أوريميسين aureomycin والذى يستخدم بنجاح فى مقاومة أمراض الميكوبلازما والسبيروبلازما والريكتسيا مثل مرض أصفرار الأستر ومرض العنيد فى الموالح.

٣ - **سيكلوهيكسيميد** Cycloheximide : ينتج بواسطة البكتيريا *Streptomyces griseus* . يقاوم كثير من الأمراض الفطرية مثل البياض الدقيقى. يحد من إستعماله سميته الزائدة للنبات. يباع تجاريا تحت اسم أكتيديون actidione .

(د) منظمات النمو

تعتبر منظمات النمو growth regulators مركبات تؤثر على إنقسام وأستطاله خلايا النبات كما تؤثر على نموه ونمو أجزاؤه. يوجد منها مركبات كثيرة لها دور فى مقاومة أمراض النبات فى التجارب العلمية والنادر منها يستعمل فى مقاومة أمراض النبات على نطاق تجارى ومنها استعمال حامض الجبريلليك رشا على النبات لمقاومة المرض الفيرسى أصفرار الكريز المر sour cherry yellows على الكريز.

(هـ) المدخنات

تعتبر المدخنات Fumigants مبيدات فى صورة غازية تنتشر ذاتيا فى التربة. تتوقف كفاءة عملية التدخين على نوع ورطوبة ودرجة حرارة التربة. ونوع بقايا النباتات الموجودة بها ومدى خدمة التربة. فالتربة الخالية من القلاقيل المفككة السهلة النفاذية تعطى نتائج جيدة. معظم المدخنات سامة للنبات ولذلك يكون إستخدامها قبل زراعة الأرض بوقت كاف ثم تهويتها قبل الزراعة. يوجد عدد من المدخنات ومنها ما يأتى:

١ - **بروميد الميثيل** methyl bromide : يستخدم بكثره فى الحجر الزراعى لتدخين وتعقيم الرسائل النباتية. يستخدم أيضا بكثره لتعقيم التربة وهو فعال فى مقاومة الكائنات الحية الدقيقة مثل الفطريات والبكتيريا وديدان النيماتودا والطحالب كما أنه فعال فى مقاومة حشرات التربة وبذور الحشائش. يستخدم فى مقاومة التربة فى الصوب بكثره. يعتبر غاز عديم اللون والرائحة وهو أثقل من الهواء حوالى ٣ مرات ولذلك فإنه ينتشر إلى أسفل ويتخلل

التربة ولذلك لا يحتاج إلى عملية حقنه فى التربة. يعتبر سريع التطاير فيجب تغطية السطح المراد تعقيمه بغطاء متين قبل إجراء عملية التدخين. شديد السمية للإنسان وخطورته أنه عديم الرائحة ولذلك فإنه يخلط تجاريا بغاز آخر له رائحة للتحذير من أخطاره مثل الغاز المسيل للدموع tearing gas وهو غاز الكلوروبكرين ويكون الخلط بنسبة ٢٪. يباع بأسماء تجارية كثيرة منها بدفيوم bedfume ودوفيوم dowfume .

٢ - **ثانى بروميد الأثيلين** ethylene dibromide : سائل عديم اللون ثقيل متطاير فى صورة غازية وهو مبيد جيد ضد النيماتودا والحشرات ولكنه ضعيف ضد الفطريات.

٣ - **الكلوروبكرين** chloropicrin : غاز غير قابل للأشتعال مسيل للدموع شديد الفاعلية ضد كثير من آفات التربة الفطرية والنيماتوديه والبكتيرية والحشرية. نظر الشده سميته للنباتات يجب تهوية التربة منه جيدا قبل الزراعة.

٤ - **كلوريد البروبان ثنائى البروم** dibromochloropropane : سائل ثقيل لونه أصفر باهت متطاير فى صوره غازية وقد يباع فى صوره محببه. يعتبر هذا المبيد ذو سمية عالية ضد النيماتودا وسمية ضعيفة للنبات ولذلك يمكن إستخدامه فى وجود النباتات وخاصة أشجار الفاكهه مثل الموالح والعنب. يباع تجاريا تحت اسم نيماجون nemagon وفيومازون fumazone وهى مؤثرة تماما فى مقاومة النيماتودا وأستعملت لفترة طويلة ولكنها منعت تماما لخطورتها على صحة الإنسان حيث أنها قد تسبب مرض السرطان للإنسان carcinogenic .

٥ - **الفورمالين** formalin : يوجد على هيئة محلول عباره عن ٤٠٪ من غاز الفورمالدهيد فى الماء ويستعمل فى تطهير التربة ويقاوم الفطريات بكفاءه عالية وتأثيره على النيماتودا متوسط. يستعمل فى تعقيم التربة وذلك بعد تخفيفه بالماء بنسبة ١:٥٠ بالحجم بمعدل ٢٠ لتر لكل متر مربع مع تغطية التربة. عدم زراعة النباتات إلا بعد زوال رائحته. قد يسبب مرض السرطان للإنسان.

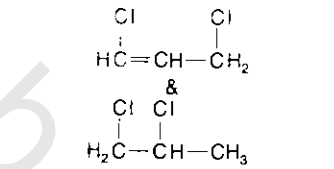
مبيدات النيماتودا Nematicides

تعتبر الغالبية العظمى من هذه المبيدات متطايره لتدخين التربة وعادة يكون لها فاعلية أيضا ضد الحشرات والفطريات والبكتيريا وبذور الحشائش. وبعض المركبات الحديثة تكون على هيئة حبيبيه أو سائلة. توجد أربعة مجاميع رئيسية للمركبات وهى كما يأتى: (شكل ٨٠)

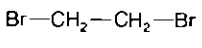
١ ـ الإيدروكربونات الهالوجينية Halogenated hydrocarbons : ومنها مركبات عديدة تشمل مخلوط D-D أى dichloropropene - dichloropropane وثانى بروميد الأثيلين ethy-(EDB) lene dibromide وداى بروموكلوروبروبان dibromochloropropane-(DBCP) وبروميد الميثيل methyl bromide (MB) . حيث أن هذه المركبات شديدة السمية وتلوث الماء والأرض وحيث أن DBCP يسبب عقم فى العمال الذكور فى المصنع الذى يصنع هذا المبيد ولذلك فإن إستعمال وتصنيع هذه المبيدات قد توقف فى الولايات المتحدة. يخلط غاز الكلوروبكرين بهذه المركبات بنسبة ١ـ٢ ٪ للتحذير حيث أنها عديمة الرائحة واللون مثل غاز بروميد الميثيل. تستعمل بأن تحقن فى التربة قبل الزراعة بأسبوعين على الأقل. هذه المركبات تقتل النيماتودا والحشرات فى تركيزات عالية كما أنها تقتل طفيليات التربة وبذور الحشائش. يستخدم بروميد الميثيل بكفاءه عالية فى تدخين التربة وأيضا فى تدخين حشرات termites للخشب وأيضا تدخين المنتجات الزراعية. يستعمل هذا الغاز فى الحجر الزراعى فى مصر لتدخين المنتجات الزراعية فى الموانئ.

تؤثر هذه المركبات على أغشية الخلايا حيث أنها تذوب فى الدهون كما أنها تؤثر على الجهاز العصبى فى الكائنات الحية.

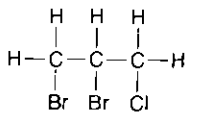
٢ ـ المركبات الفوسفورية العضوية Organophosphates : ومنها مركبات عديدة تشمل prorate يباع تجاريا باسم thimet وداى سلفوتون disulfoton ويباع تجاريا باسم disyston وإيثوبروب ethoprop يباع تجاريا باسم mocap وفيناميفوس fenamiphos ويباع تجاريا باسم nemacur . تباع فى صورة حبيبات أو سوائل قابلة للذوبان فى الماء ولها درجة منخفضة من التطاير. تستعمل قبل أو أثناء أو بعد الزراعة. هذه المجموعة من المركبات تثبط إنزيم كولين



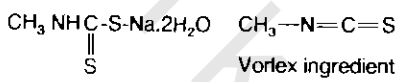
Dichloropropene – dichloropropane mixture



Ethylene dibromide

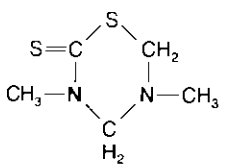


Dibromochloropropane



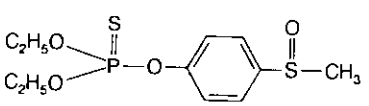
Metam-sodium

Vorlex ingredient

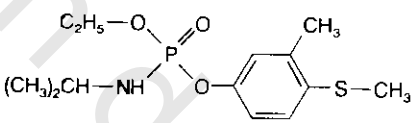


Dazomet

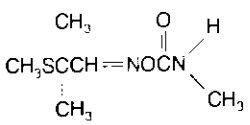
Methyl bromide



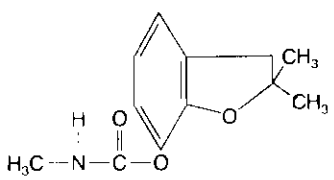
Fensulfothion



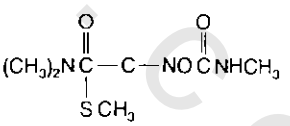
Fenamiphos



Aldicarb



Carbofuran



Oxamyl

(شكل ٨٠) : التركيب الجزيئى لبعض المواد الفعالة فى مبيدات النيماتودا.

أستيريز الخاص بالأعصاب وهو يعتبر nerve transmitter ولذلك يسبب شلل وموت النيماتود.

٣ ـ **أيزوثيوسيانيت** Isothiocyanates : ومنها مركبات ميتام صوديوم metam -sodium يباع تجاريا باسم vapam وفورلكس vorlex ويباع تجاريا باسم vorlex أيضا ودازومت dazomet ويباع تجاريا باسم ميلون mylone . وهى فعاله ضد النيماتود وحشرات التربة والحشائش وكثير من فطريات التربة. تحقن بها التربة قبل الزراعة بأسبوعين. تأثيرها على الكائنات الحية نتيجة لتحرر مركب ميتام صوديوم أو methylisothiocyanate حيث أنها تثبط مجموعة SH فى الأنزيمات.

٤ ـ **كارباميت** Carbamates : ومنها مركبات الديكارب aldicarb ويباع تجاريا باسم تميك temik وكاربوفيوران carbofuran ويباع تجاريا باسم فيورادان furadan وأوكساميل oxamyl ويباع تجاريا باسم فايديت vydate وكاربوسلفان carbosulfan ويباع تجاريا باسم أدفانتاج advantage . وهى فعالة ضد النيماتود وحشرات التربة وبعض حشرات المجموع الخضرى . توجد فى صورة حبيبات أو سائلة ولها درجة منخفضة من التطاير. وهى سهلة الذوبان فى الماء جهازية. وهى تنثر على التربة أو توضع تكبيش حول النبات. وهى تثبط إنزيم كولين أستيريز وتسبب شلل وموت النيماتود والحشرات.

٥ ـ **مركبات أخرى ذات تركيبات مختلفة** : ومنها الغاز المسيل للدموع tear gas أى كلورويكرين ($Cl_3 CN O_2$) وهو سريع التطاير وفعال ضد النيماتودا والحشرات والفطريات وبذور الحشائش.

ومنها أفرميكتينز avermectins وهى عبارة عن مجموعة من المركبات تتكون طبيعيا كنواتج تخمر البكتيريا *Streptomyces avermitilis* ولها فاعلية فى مقاومة النيماتود ولكنها لا زالت فى دور التجارب حتى الآن.

ميكانيكية تأثير المبيد على مسببات أمراض النبات

كيفية تأثير المبيدات على مسببات أمراض النبات غير معروفة فى كثير من الحالات. تؤثر الغالبية العظمى من المبيدات تأثير سام مباشر على الطفيل وتعمل كمركبات واقية عند مناطق دخول الطفيليات إلى داخل النبات وهذه المركبات تثبط قدره الطفيل على تخليق بعض مركبات الجدار الخلوى بالعمل كمذيبات أو أنها تفسد أغشية الخلايا الطفيليات أو أنها تثبط المرافقات الأنزيمية لبعض الأنزيمات الهامة فى الطفيل أو أنها تثبط الأنزيمات فى الطفيل وتسبب ترسيب بروتينات الطفيل. ومن أمثلة ذلك فإن الكبريت يتداخل مع عمليات نقل الألكترونات فى سيتوكرومات الفطريات كما أن الكبريت يختزل إلى مركب كبريتيد الإيدروجين hydrogen sulfide (H_2S) وهذا المركب سام لكثير من بروتينات الخلية. أيون النحاسوز سام لجميع الخلايا لأنه يتفاعل مع مجموعة سلفهيدريل SH لبعض الأحماض الأمينية ويسبب فساد denaturation للبروتينات والأنزيمات. أيضا عديد من المبيدات العضوية تقتل الطفيليات لأنها تتفاعل مع مجموعة SH لبعض الأحماض الأمينية وتسبب فساد البروتين وتثبط الأنزيمات كما فى حالة أيون النحاسوز تماما ومن أمثلة ذلك مركبات داى ثيوكربامايت والإيثازول عند دخولها داخل خلايا الفطريات فإنها تسبب تحرير لمركبات ثيوكاربونيل thiocarbonyl (-N=C-S) والتى تثبط مجموعة SH . وأيضا المركبات العطرية التى تحتوى ذرات كلور chlorinated aromatic والمركبات ذات الحلقات المختلفة heterocyclic مثل PCNB و chlorothalonil و chloroneb و captan و vinclozolin تتفاعل مع مجموعة NH_2 و SH وتثبطالأنزيمات التى تحتوى هذه المجاميع. أيضا بعض مبيدات النيماتود مثل الإيدروكربونات الهالوجينية فإنها تسبب إختلال فى وظائف الأغشية الخلوية وأيضا الجهاز العصبى.

بينما البعض الآخر مثل المركبات الفسفورية العضوية فإنها تثبط إنزيم الكولين أستريز المسبب لنقل الأحساس والأشارات العصبية nerve - transmitter وينتج عن ذلك الشلل والموت.

تمتص المبيدات الجهازية والمضادات الحيوية بواسطة النبات وتنتقل وتنتشر فى داخل

النبات قبل وبعد حدوث الأصابة إلى جميع أجزاء النبات ومنها أماكن الأصابة فى النبات. تعتبر الكيماويات التى تشفى cure النبات من الأصابة مبيدات علاجية chemotherapeutants وتعتبر هذه الحالة مقاومة للطفيل والمرض وتسمى علاج كيماوى chemotherapy . وهذه الكيماويات والمبيدات العلاجية عند ملامستها للطفيل تؤثر بأحدى الطرق العديدة السابق ذكرها وذلك بالنسبة للمبيدات الغير جهازية أما فى حالة المبيدات الجهازية فإنها تكون أكثر تخصص فى تأثيرها على الطفيل حيث تؤثر على وظيفة واحدة فى الطفيل ولا تؤثر على عديد منها ومثال ذلك أن oxanthins تثبط إنزيم سكسنيك ديهيدروجنيز succinic dehydrogenase وهو هام لعملية التنفس والتى تحدث بالطبع فى الميتوكوندريا بينما بنزيميدازول benzimida-zoles يتداخل فى إنقسام الخلية ويفسدها حيث أنه يرتبط بتحت وحدات subunits البروتين المكونه للأنابيب الدقيقة microtubules المكونه لخيوط المغزل. وجد أيضا أن المضاد الحيوى الفطرى polyoxin وأيضا المركبات الفوسفورية العضوية مثل كيتازين و edifenphos تثبط تخليق الكيتين فى الطفيليات. ونتيجة لذلك فإنه تتكون سلاله أو أكثر جديده من الطفيل تكون مقاومة للمبيد الجهازى.

وجد أن كثير من المبيدات الجهازية تثبط تخليق مركب ergosterol وتسمى مثبطات الأرجوستيرول ومنها bitertanol و fenapanil و imazalil و prochloraz و triadimefou و triarimol و triforine و etaconazole . يعتبر الأرجوستيرول مركب هام فى تركيب ووظيفة أغشية كثير من الفطريات ولذلك فإن الكيماويات التى تثبط تكوين الأرجوستيرول تعتبر مبيدات فطرية فعالة. تخترق هذه المبيدات كيوتيكل الأوراق بسهولة كبيرة ولذلك فإنها تصبح مبيدات علاجية حيث أنها تقاوم الفطر الموجود فعلا فى أنسجة النبات.

بعض المبيدات تزيد من مقاومة النبات العائل للطفيل مثل fosetyl - Al حيث أنها تغير من تركيب الجدار الخلوى للنبات أو تغير فى التحول الغذائى فى النبات لزيادة مقاومة النبات وتحد من نشاط الطفيل.

مقاومة الطفيليات للمبيدات

يمكن أن لا يستجيب الإنسان للعلاج عند إستعمال المضادات الحيوية حيث أنه عند أكتشاف المضاد الحيوى يكون فعال وبعد أستعماله لفترة فإنه تتكون سلالات من الطفيل مقاومة للمضاد الحيوى ويصبح تعاطى الإنسان لهذا المضاد غير فعال. ولذلك يتم إستعمال مضاد حيوى آخر يكون له فاعلية وهكذا ومن أمثلة ذلك المضاد الحيوى أمبسيللين ampicillin حيث قلت فاعليته لتكون سلالات من البكتيريا مقاومة له. تنطبق نفس القاعدة على مبيدات الحشرات والأكاروس حيث يصبح المبيد غير فعال بعد أستعماله لفترة معينة ومثال ذلك مركب التوكسافين فقد أصبح غير فعال فى مقاومة دوده ورقه القطن فى حين أنه عند إكتشافه كان له عظيم الأثر فى ذلك.

نفس القاعده تنطبق على كثير من المبيدات الفطرية والبكتيرية حيث تتكون سلالات من الطفيل مقاومة للمبيد. ومن الناحية التاريخية فى هذا الصدد فإنه عند إستعمال المبيدات الفطرية الغير جهازية وهى بالطبع قد أكتشفت وأستعملت لسنوات عديدة قبل إكتشاف المبيدات الجهازية لم تلاحظ ظاهره مقاومة الفطريات للمبيدات. ومن المركبات الغير جهازية المكتشفة قديما والتى تعتبر مبيدات وقائية protectant fungicides وهى thiram و captan و maneb و zineb فقد أستعملت لسنوات عديدة فى الخمسينيات والستينيات وأحتفظت بفاعليتها لسنوات عديدة منها ما يستعمل حتى الآن مثل mancozeb أى dithane M-45 ولم يلاحظ تكون سلالات فطرية مقاومة لهذه المبيدات ويعتقد أن ذلك راجع إلى أن هذه المبيدات تؤثر على وظائف عديده فى الفطريات وبالتالى تحتاج إلى تغيير تركيب جينات عديده فى الفطريات. بدأت حالة ظهور سلالات فطرية مقاومة للمبيدات فى أواخر السيتنيات حيث ظهرت سلالات من فطر *Penicillium* مقاومة لمركب داى فينيل diphenyl وأيضا من فطر Tilletia مقاومة لمركب هكسا كلوروبنزين وأيضا من فطر *Rhizoctonia* مقاومة لمركب PCNB . وجميع المركبات السابقة تحتوى على حلقة البنزين. وقد سبب ظهور هذه السلالات التى نشأت طبيعيا مشاكل كثيرة. وبعد ذلك ظهرت سلالات من الفطر المسبب لمرض جرب التفاح *Venturia inaequalis* مقاومة لمبيد dodine . ظهرت أيضا سلالات من البكتيريا *Erwinia*

amylovora المسببه لمرض اللفحة النارية للكمثرى مقاومة للمضاد الحيوى ستربتوميسين والذى يستعمل بكثرة فى مقاومة هذه البكتيريا. وعند ظهور المبيدات الجهازية وكثره إستعمالها فقد ظهرت سلالات كثيره مقاومة للمبيدات ومثال ذلك مبيد البنليت حيث تكونت سلالات من فطر *Botrytis cinerea* وغيرها من الفطريات مقاومة لمبيد البنليت benlate . وأصبح من المعروف الآن أن كثير من الفطريات مثل *Fusarium* و *Colletotrichum* و *Cercospora* و *Botrytis* و *Ustilago* و *Penicillium* و *Aspergillus* و *Sphaerotheca* و *Verticillium* نشأت منها سلالات مقاومة لمبيد أو أكثر جهازى ومن المنتظر أيضا ظهور سلالات أخرى لفطريات أخرى فى المستقبل. يعتقد أن السبب فى كثرة ظهور سلالات مقاومة للمبيدات الجهازية بالذات وعلى وجه الخصوص هو أن هذه المبيدات متخصصة فى تأثيرها specific in their action . حيث أنها تؤثر فى خطوه أو خطوتين من عمليات التحول الغذائى metabolism للطفيل ويتحكم فى هذه الخطوه جين واحد عادة وكذلك فإن حدوث طفره مفرده single mutation يسبب تغيير تركيب سلاله الفطر وتصبح مقاومة للمبيد حيث أن فرصه حدوث الطفرات المفرده كبيره وذلك بالمقارنه بالمبيدات غير الجهازية أو نتيجة للأنتخاب السريع فى سلالات الفطريات.

توجد طرق عديدة يمكن للسلاله المقاومة من الطفيل أن تتميز بها وهى خفض درجة نفاذية أغشية الطفيل للمبيدات وبذلك يصعب نفاذية جزيئات المبيد إلى داخل الطفيل أو معادلة التأثير السام للمبيد عن طريق تحوير تركيبة أو إرتباطه بمحتويات الخلية أو خفض درجة تحول جزيئ المبيد إلى مركب سام أو حتى إيقاف التحول تماما أو خفض درجة القابلية بين جزئى المبيد والأجزاء الفعالة فى الخلية ومثال ذلك خفض درجة القابلية بين جزء مبيد البنليت وتحت وحدات بروتين خيوط المغزل أو تغير مسار خطوة أو خطوات تفاعل معين by-passing من خطوات التحول الغذائى وبذلك يضاد ويمنع حدوث توقف تفاعل معين قد توقف blocked فى سلالات الطفيل العادية. أى أنه يمكن القول عمل قنطرة حول التفاعل المتوقف لتسير الخطوات التالية فى تتابع مستمر عاد وبذلك يتلاشى تماما تأثير التوقف blocking فى السلالات العادية ولا يتأثر الطفيل بالمبيد أو تعويض تأثير التثبيط بأنتاج كميات كبيرة من الطفيل تنتج تركيزات عالية من الأنزيم تفوق الكميات المثبطة من الأنزيم.

يمكن تلافى عدم فاعلية المبيدات الجهازية أو غير الجهازية فى مقاومة الطفيليات نتيجة لنشوء سلالات جديدة من الطفيليات بأستعمال مخلوط من مبيد جهازى وآخر غير جهازى ومثال ذلك خلط مبيد البنليت الجهازى مع مبيد غير جهازى مثل كابتان أو داى كلوران dichloran أو إبروديون iprodione لمقاومة فطر *Botrytis cinerea* أو *Sclerotinia*. ومثال آخر خلط مبيد metalaxyl الجهازى مع maneb أو mancozeb أو zineb لمقاومة أمراض البياض الزغبى ومرض اللفحة المتأخرة فى البطاطس والطماطم. يمكن عمل ذلك بطريقة أخرى وهى رش مبيد جهازى فى النصف الأول من الموسم ثم رش مبيد وقائى غير جهازى protectant فى النصف الثانى من الموسم. والفكرة فى هذه البرامج أن المبيد الجهازى يقوم بالثقل وبالدور الكبير فى مقاومة سلالات الطفيل وقد يتبقى منها بعض السلالات المقاومة وهذه الأخيرة تقاوم بالمبيد الثانى الغير جهازى nonsystemic أى الغير متخصص nonspecific أى الوقائى protectant .

الأحتياطات الخاصة بإستعمال المبيدات

بالرغم من أن مبيدات أمراض النبات أقل سمية للإنسان والحيوان من كثير من المبيدات الحشرية ألا أنها سامة وتحتاج إلى أحتياطات فى أستعمالها وأن بعض مبيدات أمراض النبات وخاصة مبيدات النيماتود شديدة السمية. وأن بعض هذه المبيدات له تأثير على وراثة الإنسان والحيوان حيث أن بعض منها يسبب حدوث طفرات فى خلايا الكائنات الحية الدقيقة أو النبات أو الحيوان والإنسان وبذلك يغير من التركيب الوراثى للخلايا. وأن بعض من هذه المبيدات يكون منبه لحدوث مرض السرطان carcinogenic . وعامة فإنه كثير من المركبات المسببة للطفرات mutagemic تكون أيضا مسببة للسرطان. يعتبر مبيد التميك temik ذو تأثيرضار كبير على الإنسان. يعتبر كل من مبيد النيماجون nemagon وأيضا فيومازون fumazon مسببين للسرطان. ولذلك توضع إحتياطات عند تسجيل وأعتماد المبيدات وعامة فإنه عادة ينجح مبيد واحد فى الإختبار من كل عشرة آلاف مركب كيماوى مختبر. وللحصول على هذا المبيد الناجح يحتاج إلى فترة من العمل المتواصل من سبعة إلى تسعة سنوات ويحتاج إلى تكاليف تتراوح بين ١٥ إلى ٢٥ مليون دولار. حيث يجرى على هذا المبيد إختبارات بيولوجية مضنية

وإختبارات حقلية وإختبارات للسمية toxicological tests وإختبارات بيئية. وبعد هذه الأختبارات يسمح بالتصريح لأستعمال المبيد. وينص القانون على أستعماله كمبيد تعامل به النباتات والمحاصيل الغذائية أو مبيد تعامل به المحاصيل غير الغذائية specific food or nonfood crops. وينص على طريقة أستعمال المبيد للرش أو معاملة بذور أو معاملة التربة. بعد الموافقة على المبيد ينص القانون على تحديد عدد الأيام اللازمة بعد آخر رشة للمبيد قبل الحصاد أو قبل إستعماله للأستهلاك الآدمى. يختلف عدد الأيام باختلاف المبيد ففى حالة البنليت يحتاج أسبوع فى حالة التفاح والكمثرى والعنب ولا يحتاج وقت إطلاقا أى جمعة بعد الرش مباشرة كما فى المشمش والخوخ والشليك والكريز. وفى حالة المبيد بوتران botran يحتاج إلى يوم واحد فقط فى الكريز والعنب والخوخ. وفى حالة المبيد سيبركس cyprex (dodine) يحتاج أسبوع فى الكمثرى والتفاح وأسبوعين فى الشليك. ينص القانون أيضا على ذكر التركيز اللازم لكل فدان أو أكر acre وأن لا يزيد التركيز عن ذلك الحد حيث يسبب بعد ذلك ضرر للإنسان. وعامة لابد من مراعاة هذين العاملين عند إستعمال المبيدات وجمع المحصول وهما عدد الأيام اللازمة بعد آخر رشة قبل جمع المحصول وتركيز المبيد للفدان. فى حالة عدم مراعاة هذين العاملين فإن المحصول يكون ضار بصحة الإنسان ويجب وقفه ومنع إستعماله وخاصة فى حالة الخضر والفاكهه حيث تحتوى على تركيز عال من المبيد أكثر من المسموح به.

المقاومة الحيوية Biological Control

تعتبر المقاومة الحيوية عباره عن أستعمال كائن أو كائنات حية دقيقة لمقاومة طفيل لمنع حدوث المرض أو خفضه كلما أمكن ذلك ويقاوم الطفيل قبل حدوث الأصابة أو بعدها. وفيما يلى بعض الأمثلة للأمراض التى يمكن أن تقاوم حيويا:

١ - الأمراض الفطرية: يوجد فى هذه الحالة بعض الأمثلة وهى ما يأتى

(أ) مرض عفن جذور المخروطات conifers وهو يتسبب عن الفطر *Heterobasidium (Fomes) annosum* . يصيب الفطر أجزاء الساق المقطوعة ثم ينتقل إلى الجذور. ثم ينتقل عن

هذه الجذور إلى جذور الأشجار السليمة المجاورة حيث يحدث فى التربة تلامس وتشابك بين جذور الساق المقطوعة وجذور الأشجار السليمة. يسبب الفطر موت الأشجار المصابة. يتم تلقيح سطح الساق المقطوع بالفطر *Peniophora gigantea* وذلك بواسطة الجراثيم oidia الأوئيدية لهذا الفطر حيث ترش على هيئة معلق من الماء على سطح الساق المقطوع أو ترش على هيئة مسحوق أو أنها تضاف إلى زيت التشحيم المخلوط بنشاره الخشب حيث يتم دهان السطح المقطوع بهذا الزيت. ونتيجة لذلك تنبت الجراثيم الأوئيدية وينتج عن ذلك هيفات تتخلل أجزاء الساق المقطوع وأيضا تتخلل جذوره وتنافس الفطر المسبب للمرض وبذلك فإنها تستبعده أو تحل محله excludes or replaces وبذلك تقى الأشجار السليمة المجاورة.

(ب) مرض لفحة أبو فروه ويتسبب عن الفطر *Endothia parasitica* . يتم تلقيح التقرحات بواسطة سلالات من الفطر ضعيفة فى قدرتها المرضية. تحمل هذه السلالات الضعيفة hypo-virulent strains أجزاء dsRNA شبيهه بالفيرس viruslike double- stranded (ds) RNA والتى تسبب ضعف فى قدرتها المرضية. تنتقل هذه الأجزاء من dsRNA عن طريق التزاوج بين الهيفات anastomosis من السلالات الضعيفة إلى السلالات من الفطر الشديدة القدرة على الأصابة وبذلك تصبح الأخيرة ضعيفة فى قدرتها المرضية ونتيجة لذلك فإنه يقل تكوين التقرحات أو تتوقف وبذلك يقل حدوث المرض. أمكن عمل ذلك بنجاح فى الطبيعة فى إيطاليا وأيضا تم إجراء التجارب عليها فى فرنسا والولايات المتحدة ولكن هذه الحالة من المقاومة لازالت محدودة فى طور التجارب.

(جـ) مرض ذبول البطاطا ويتسبب عن الفطر *Fusarium oxysporum f.sp. batatas* . أمكن مقاومته حديثا وذلك بمعاملة عقل البطاطا بسلالات غير مرضية من الفطر وذلك بتلقيحها بجراثيم الفطر وهيفاته وتصبح هذه العقل مقاومة لسلالات الفطر الشديدة القدرة على الأصابة. عزلت هذه السلالة من نسيج الخشب لعقل بطاطا سليمة وذات نمو جيد حيث وجد أن هذه السلالة بالرغم من وجودها داخل نسيج خشب العقل فإنها لا تسبب أى أعراض مرضية وينتج نبات سليم ولكن جميع العقل الأخرى أصيبت وتم موتها وتعفنها وذلك نتيجة لأصابتها بسلالات شديدة القدرة على الأصابة.

(د) مرض العفن الرمادى لثمار الطماطم ويتسبب عن الفطر *Botrytis cinerea* . يتم رش أزهار الطماطم الذابلة فى مرحلة ما بعد الأزهار بواسطة الجراثيم الكونيديه للفطر *Cladosporium herbarum* أو أنواع من فطر البنسليوم فإنها تقى ثمار الطماطم الأصابة بهذا المرض.

(هـ) مرض العفن الأبيض فى البصل ويتسبب عن الفطر *Sclerotium cepivorum* . أمكن أستعمال الفطر *Trichoderma harzianum* فى مقاومة هذا المرض جزئيا فى مصر. حيث يتم خلط الجراثيم الكونيدية للفطر بالتربة وتنبت هذه الجراثيم وبعد ذلك ينتج عنها هيفات تكون قادره على مهاجمة الفطر المسبب لمرض العفن الأبيض فى البصل وتسبب موتها وبذلك يقل إنتشار المرض. يستعمل هذا النوع من المقاومة فى بعض محافظات الصعيد فى مصر فى مناطق زراعة البصل حيث أن النتائج المعملية ونتائج التجارب الحقلية جيده وفعالة ولكن التطبيق العملى فى الطبيعة فى الحقول على نطاق واسع يحتاج الكثير.

توجد أمثلة كثيرة فى مقاومة الفطريات التى تصيب النباتات وتسبب أمراض للمجموع الخضرى أو الثمار ولكن جميعها لم يمكن تطبيقها طبيعيا فى الحقول ولكن نتائجها المبشرة معمليا فقط وفى حيز التجارب أيضا وليست على نطاق واسع.

(و) أمراض ما بعد الحصاد ومنها أمراض عديدة يمكن مقاومتها حيويا. يمكن عملها برش الثمار بمعلق من جراثيم الفطر أو غمر الثمار فى هذا المعلق. ومثال ذلك يمكن مقاومة مرض عفن ثمار الموالح الأخضر المتسبب عن الفطر *Penicillium digitatum* بواسطة معامله الثمار بالفطر المضاد antagonist وهو *Trichoderma* .

(ى) أمراض الجذور والميكوريزا Mycorrhizae: تعيش فطريات الميكوريزا فى وعلى جذور النباتات الراقية وتكون المعيشة تعاونية حيث أن الفطر يأخذ من النبات الغذاء اللازم له وأن الفطر يساعد النبات فى إمتصاص الأملاح والعناصر الذائبة من التربة وفى بعض الأحيان تحمى النبات من الأصابة بالفطريات الممرضة وغيرها من طفيليات التربة. يوجد أمثلة كثيرة لذلك منها أن فطريات الميكوريزا تحمى يادرات الطماطم من فطر *Fusarium* والقطن من فطر *Verticillium* . يوجد بعض التحضيرات التجارية لبعض فطريات

الميكورهيزا والتى تستخدم فى مقاومة بعض أمراض الجذور. ولكن توجد صعوبات فى إنتاج ودرجةتخصص هذه الفطريات وأيضا كفاءه أستعمالها وتطبيقها. حيث أن تطبيقها على مجال واسع لازال موضع البحث.

٢ ـ **الأمراض البكتيرية** : يوجد فى هذه الحالة بعض الأمثلة وهى ما يأتى:

(أ) مرض التدرن التاجى : أنظر مقاومة مرض التدرن التاجى فى باب التقنية الحيوية.

(ب) أمراض الجذور والبكتره seed bacterization : معاملة بذور وحبوب بعض النباتات قبل الزراعة بواسطة مسحوق أو معلق من السلالة A_{13} للبكتيريا *Bacillus subtilis* أو البكتيريا *Streptomyces* فإنها تقى هذه النباتات من أمراض الجذور وتسبب نمو ومحصول جيد لهذه النباتات. ومن هذه النباتات الذجيليات والذرة السكرية والجزر.

(جـ) أمراض الدرنات والبكتره bacterization : معاملة درنات البطاطس المستعملة كتقاوى قبل الزراعة بواسطة أنواع من جنس البكتيريا *Pseudomonas* التى تصاحب الجذور rhizobacteria ومنها *P. fluorescens* و *P. putida* ويكون ذلك فى صورة مسحوق أو معلق يسبب تقليل معدل حدوث العفن الطرى للدرنات ويسبب نمو ومحصول جيد لهذه النباتات. حيث سبب ذلك زيادة فى محصول الدرنات من ٥ إلى ٣٣ ٪.

(د) أمراض ما بعد الحصاد: عند معاملة ثمار عديد من أنواع الفاكهه ذات النواه الحجرية مثل الخوخ والنكتارين والمشمش والبرقوق بعد الجمع بمعلق من البكتيريا المضادة *antagonist* وهى *Bacillus subtilis* فإنها تقى هذه الثمار لمدة عشرة أيام على الأقل من الفطر المسبب لمرض العفن البنى وهو *Monilinia fructicola* .

(هـ) أمراض المجموع الخضرى: يمكن على سبيل المثال مقاومة مرض اللفحة النارية جزئيا فى التفاح والكمثرى وذلك برش النباتات بالبكتريا *Erwinia herbicola* . يمكن أيضا أستعمال سلالات من البكتيريا *Erwinia amylovora* غير ممرضة أو ضعيفة فى قدرتها

المرضية ورشها على النبات وبذلك تقى النبات من الأصابة بالسلالات الشديدة القدرة المرضية. وعامة لا يوجد إستعمال تطبيقى على نطاق واسع لأى حالة من حالات المقاومة الحيوية لأمراض المجموع الخضرى حيث أنها كلها تجارب معملية مشجعة وأيضا تجارب حقلية على نطاق ضيق ولكن عند إستعمالها على نطاق واسع لا تحقق النتائج المرجوه.

(و) ضرر الصقيع Frost injury : يعتبر ضرر الصقيع من أمراض النبات. تتأثر النباتات الحساسة للصقيع عندما تقل درجة الحرارة عن صفر درجة مئوية حيث يتكون الثلج فى أنسجة هذه النباتات. تكون كثير من النباتات حساسة للصقيع مثل الموز والطماطم والقرعيات وغيرها كثير. يمكن أن تتكون كميات قليلة من الماء فى أنسجة النبات والتى تنخفض درجة حرارتها إلى - ١٠م ناقص عشر درجات مئوية أو أكثر ودون تكوين للثلج حيث أنه لا يوجد نواه تكوين الثلج ice nucleation . وجد أن بعض أنواع البكتريا والتى توجد رمية على سطح النبات مثل *P. fluorescens* و *Pseudomonas syringae* و *Erwinia herbicola* يمكن أن تعمل كمنشط لتكوين نواه الثلج فى درجات حراره مرتفعة نسبيا بالنسبة لحدوث الصقيع وهى ناقص درجة مئوية - ١م. تكون أنواع البكتيريا السابق ذكرها من ٠,١ إلى ١٠٪ من كمية البكتيريا الموجودة على سطح الأوراق. يمكن عزل سلالات من هذه البكتيريا السابق ذكرها لا تعمل على تنشيط تكوين نواه الثلج non-ice - nucleation active bacteria وبالتالى إكثار هذه السلالات وإنتاج كميات كبيرة منها ثم رشها على النباتات فإنها بذلك تضاد سلالات البكتيريا المنشطة لتكوين نواه الثلج وبذلك لا يتكون الثلج فى أنسجة النبات وبذلك تقى النبات ضرر الصقيع. يعتبر الأساس فى ضرر الصقيع هو تكوين ثلج فى أنسجة النبات ويسبب الثلج ضرر لخلايا النبات فقد يسبب تمزقها وموتها. حيث أن وجود الثلج قد يسبب تمزيق الخلايا وقد يسبب الصقيع موت لأجزاء من النبات أو حتى أجزاء من الأوراق وقد يسبب موت كامل للنبات. تقى المعاملة السابقة النباتات الحساسة للصقيع وبذلك لا تتأثر بالصقيع والعكس صحيح فى النباتات الغير معاملة حيث أنها تتأثر بشدة بضرر الصقيع وحتى فى درجات الحرارة المرتفعة نسبيا لضرر للصقيع وهى - ١م ناقص درجة مئوية.

أهمية الفيروسات فى المقاومة الحيوية :

جميع مسببات أمراض النبات الرئيسية مثل الفطريات والبكتيريا والميكوبلازما والنيماتود تصاب ببعض الفيروسات. يمكن أن تستخدم هذه الفيروسات كأساس لمقاومة الطفيليات السابقة. حتى الآن لا توجد دراسات متكاملة فى هذا الشأن إلا فى حالة الفيروسات البكتيرية أى البكتريوفاجات والمفرد بكتريوفاج bacteriophage وللأختصار يطلق عليها الفاجات والمفرد الفاج phage. وعامة فإن الفاجات توجد فى الطبيعة بكثرة لكثير من البكتريا المسببة أمراض للنبات. أمكن مقاومة كثير من البكتيريا المسببة لأمراض النبات فى حيز التجارب المعملية والحقلية المحدودة وذلك بخلط البكتيريا المسببة للمرض والفاج الخاص بها ثم تلقيح النبات بهذا المخلوط أو أن يرش الفاج على النبات أولا ثم يرش معلق البكتيريا ويمكن معاملة البذور بالفاج. ولكن حتى الآن فى الطبيعة وحتى على نطاق التجارب الموسعة لم يمكن مقاومة أى مرض للنبات بكتيرى بواسطة الفاج. حيث أن النتائج المبشرة كلها معملية أو على نطاق حقلى محدود جدا. ومما جدير بالذكر أيضا أنه حتى الآن لم يمكن علاج cure أى مرض بكتيرى للنبات بواسطة الفاج. أى أن بعد حدوث المرض وإنتشاره على النباتات لم يمكن مقاومته بالفاج حتى فى نطاق التجارب المعملية أو الحقلية المحدودة. ومعنى ذلك أنه حتى الآن يمكن إستعمال الفاج لوقاية النبات وحمايته من المرض البكتيرى ولكن لا يمكن إستعماله فى علاج النبات وذلك فى نطاق التجارب المعملية أو الحقلية المحدودة.

المقاومة المتكاملة لأمراض النبات

Integrated Control of Plant Diseases

تستخدم المقاومة المتكاملة لمقاومة أمراض النبات حيث تقاوم جميع أمراض محصول معين بجميع الوسائل المتاحة والممكنه. يمكن أن تستخدم المقاومة المتكاملة لمقاومة مرض معين هام فى محصول معين مثل مرض اللفحة المتأخره فى البطاطس والطماطم ومرض جرب التفاح والكمثرى. وفيما يلى شرح للمقاومة المتكاملة فى محصول حولى مثل البطاطس.

يجب البداية بشراء وأستعمال درنات تقاوى من مصادر معتمدة حيث تكون التقاوى خالية من الأمراض. حيث أن تقاوى البطاطس يمكن أن تحمل عديد من الفيروسات وفطر اللفحة المتأخرة وبكتريا العفن البنى والعفن الحلقى بالأضافة إلى فطريات وبكتيريا أخرى وأيضا نيماتود. وأستعمال تقاوى بطاطس من مصادر معتمدة تكون خالية من هذه الأمراض لأنها تنتج تحت ظروف تفتيش ورقابة حقلية شديدة وإجرءات حجر زراعى صارمة وحديثا تنتج هذه التقاوى عن طريق مزارع الأنسجة. ثم تزرع هذه الدرنات فى حقول خالية من درنات أو بقايا درنات من مخلفات المحصول السابق حيث أن هذه الدرنات يمكن أن تحتوى بعض الأمراض السابق ذكرها وتصبح مصدر إصابة للتقاوى المزروعة حديثا. كما أنه يجب أن تكون التربة خالية من فطر *Fusarium* وفطر *Verticillium* والنيماتود كلما أمكن ذلك. يفضل أيضا أن لا يعقب محصول البطاطس محصول آخر من البطاطس بل يفضل عمل دوره زراعية فيها بقوليات وذرة شامية ومحاصيل أخرى غير قريبة من البطاطس حيث يسبب ذلك خفض تركيز الطفيليات المسببة لأمراض البطاطس فى التربة. يجب التخلص من أى أكوام للبطاطس متبقية من محصول سابق وقد تكون موجودة فى الحقل أو المخازن أو النوالات حيث أنها تكون مصدر للأكياس الجرثومية لفطر اللفحة المتأخرة وتكون ذات ضرر لمحصول البطاطس المزروعة ويكون ذلك بإبادتها أو حرقها أو رشها بمبيد مناسب فعال. عند تقطيع درنات البطاطس قبل الزراعة إلى أجزاء حيث يحدث ذلك فى بعض الأحيان حيث أنه عاده تزرع الدرنه صحيحة دون تجزيئ فيكون التجزيئ بواسطة سكين معقمة وذلك بغمرها فى مخلوط من مبيد فطرى وبكتيرى وحشرى وأن تغمر السكين فى هذا المخلوط من المبيدات بعد تقطيع كل درنة وذلك لمنع إنتقال الطفيل من درنة مصابة إلى درنة سليمة عن طريق السكين وخاصة بكتريا العفن البنى وبكتريا العفن الحلقى. يفضل أيضا إستخدام أحد المدخنات المناسبة مثل بروميد الميثيل فى تعقيم التربة المبوءة بالفيوزاريوم والفرتسيليوم ونيماتود تعقد الجذور أو أى نيماتود أخرى قبل الزراعة. يجب أن تكون الزراعة فى موعد مناسب لسرعة خروج وظهور المجموع الخضرى فوق سطح التربة حيث أن تأخير ظهور المجموع الخضرى فوق سطح التربة يجعلها عرضة للأصابة بفطر *Rhizoctonia solani* . يجب أن تكون التربة ذات حرث جيد وعديمة القلاقيل وأيضا تنعيم التربة يساعد على سرعة وسهولة ظهور

المجموع الخضرى فوق سطح التربة. جوده الصرف هامة لعدم حدوث عفن للتقاوى أو عفن الجذور . وعند ظهور المجموع الخضرى فوق سطح التربة يجب مقاومة أمراض المجموع الخضرى وخاصة اللفحة المتأخرة واللفحة المبكرة بالمبيدات المناسبة. يجب أستعمال برنامج رش فعال ومناسب. يجب أيضا أستخدام أصناف مقاومة كلما أمكن ذلك. يجب عمل برنامج رش بالمبيدات الحشرية أيضا لمقاومة الأمراض الفيروسية حيث يكون للحشرات دور هام فى نقل بعض أو كثير من الأمراض الفيروسية. يجب أيضا إستخدام التنبوء الجوى لمعرفة الموعد المناسب للرش بالمبيدات فى فطر اللفحة المتأخرة ويمكن بذلك تقليل عدد الرشات. قبل جمع المحصول يجب رش النباتات بالمبيدات لقتل فطر اللفحة المتأخرة تماما لمنع إصابة الدرنات عند إقتلاعها أو حتى سقوط لقاح الأكياس الجرثومية على الدرنات أثناء إقتلاعها أو جمعها أو تعبئتها أو نقلها أو تخزينها. يجب إقتلاع وجمع الدرنات بحذر وتقليل الجروح كلما أمكن ذلك حيث أن الجروح تسهل حدوث الأصابة بواسطة فطريات التخزين مثل فيوزاريوم و *Pythium* وأيضا بكتريا العفن الطرى. يجب فرز الدرنات وأستبعاد المصابة أو المجروحة قبل التعبئة والنقل. يجب تخزين البطاطس فى درجة حراره حوالى ١٥ درجة مئوية ليحدث أندمال وألتئام للجروح ثم يتم تخزينها على درجة حرارة حوالى درجتين مئوتين لمنع زيادة إصابة الدرنات بفطريات التخزين حيث أن درجة الحرارة المنخفضة تحد من نشاط الطفيل وبالتالى تمنع تقدم الأصابة. يجب تنظيف وغسل وتعقيم حجرات التخزين والمخازن قبل تخزين الدرنات. يجب التخلص من أكوام بقايا الدرنات المصابة والمجروحة والضامرة مباشرة بحرقها وأن تكون هذه الأكوام بعيده عن الحقل كلما أمكن ذلك.

ولذلك فى المقاومة المتكاملة للأمراض النباتية لمحصول معين أو لمرض معين تستخدم أنواع مختلفة من طرق المقاومة وفى هذه الحالة يجرى التفتيش على المحصول الخاص لإنتاج التقاوى دوريا مع إتباع إجراءات وقائية شديدة. يمكن أيضا فى محصول التقاوى إنتاجة بواسطة مزارع الأنسجة لضمان خلو التقاوى من الأمراض وخاصة الفيروسية. ومن طرق المقاومة أيضا إتباع الطرق الزراعية السليمة cultural practices ومنها الحرث الجيد وتنعيم التربة وجوده الصرف وإتباع دوره زراعية مناسبة وتطهير الأدوات المستعملة وأيضا

أستخدام أصناف مقاومة كلما أمكن ذلك وأيضا مقاومة طبيعية physical control مثل معاملة الدرنات على درجات حرارة مختلفة لإندمال الجروح وتثبيط نمو الطفيليات وأيضا مقاومة كيماوية مثل تعقيم التربة ورش النبات بالمبيدات المناسبة وتعقيم المخازن وأيضا إستخدام التنبؤ الجوى لتوقيت الموعد السليم للرش وأيضا تقليل أو إختصار عدد مرات الرش. بإتباع المقاومة المتكاملة للأمراض النباتية ينتج عن ذلك محصول إقتصادى مربح.

obeikandl.com

الباب الخامس عشر

أستعمال التكنولوجيا الحيوية فى أمراض النبات

Applications Of Biotechnology In Plant Pathology

يعتبر التعريف الحديث للتكنولوجيا الحيوية biotechnology هو عباره عن التعامل بكفاءة وبسهولة manipulation فى التحوير الوراثى للجينات والمادة الوراثية وبالأضافة إلى ذلك تكاثر الكائنات الحيه وأن يكون ذلك بطرق تكنولوجيه حديثة novel technologies . يعتبر هذا هو الأساس الحديث فى التعريف ولكن أصبح هذا التعريف أعم وأشمل. ومثال لذلك مزارع الأنسجه tissue culture والهندسه الوراثيه genetic engineering والتى ينتج عنها كائنات حيه محسنه ويمكن أيضا أن ينتج عنها مركبات مرغوبه. ويمكن إستعمال هذه الكائنات الحيه والمركبات الناتجة إستعمالات متعددة مفيده وإقتصاديه ولرفاهيه الإنسان. يوجد أمثله كثيره لذلك فى فروع العلوم المختلفة ومنها على سبيل المثال وليس الحصر ما يأتى. إزاله البيض الزائد من رحم أنثى الأبقار ذات السلالات المتميزه بأنتاج عال من اللبن ثم يتم تلقيح البيض فى المعمل فى أنابيب الأختبار فى عدم وجود الأنثى أو الذكر أى *in vitro* بواسطة حيوانات منوية من ذكر الأبقار ويكون ذو تركيب وراثى متميز وأن تحمل حيواناته المنويه صفات متميزه وقد يكون لها علاقه بإدرار اللبن. يأخذ البيض الملقح ويوضع أى يزرع Implanted فى الجزء المخصص له من الجهاز التناسلى لأنثى أبقار من سلالات تتميز بأنها ذات إدرار لبن منخفض. تكون النتيجة أن هذه الأناث الأخيره تلد أبقار يمكن أن تكون ذات أدرار عال من اللبن. وننتقل إلى مثال آخر خاص بالأنسان والبكتريا وحيث أمكن نقل جين من الأنسان خاص بأنتاج الأنسولين إلى خلايا البكتيريا الغير مرضيه ونتيجه لتكاثر البكتيريا فإنها تنتج بلايين من الخلايا والتى يمكنها إنتاج الأنسولين بكميات كبيره وبسهولة كبيرة وفى وقت بسيط. والأهم من ذلك أنه قبل ذلك كان الأنسولين يأخذ من الحيوانات وقد كان يسبب

حساسيه لكثير من مرضى السكر ويسبب لهم مضاعفات مرضيه لأنه أنسولين حيوانى. وفى بعض الحالات ولأنه غريب عن جسم الأنسان فإنه يتكون فى جسم الأنسان المريض بالسكر أجسام مضاده لهذا الأنسولين وينتج عن ذلك مضاعفات وأضرار لمرضى السكر. ولكن الآن وحيث أن الجين المنتج للأنسولين بواسطة البكتيريا أصله من الإنسان فإن الأنسولين الناتج لا يسبب أى أضرار لمرضى السكر وذلك بالأضافه إلى رخص الأنسولين المنتج بهذه الطريقة. وبعد الحديث عن الحيوان والإنسان ننتقل إلى النبات فإنه يمكن الآن زراعه متك النبات أو بدائى تكوين حبوب اللقاح على بيئه مغذيه فى المعمل فينتج عن ذلك أعددا كبيره من نباتات أحاديه haploid . وهذه يمكن أن تعامل معاملات خاصة مثل إضافة مركب الكولشسين حيث ينتج نباتات متماثلة ثنائيه homozygous diploid وعن طريق مزارع الأنسجه فإن ينتج ملايين من النباتات المتماثلة وراثيا فى غضون بضع أشهر وحيث يكون لهذه النباتات تركيب وراثى وصفات وراثيه مرغوبه مثل إنتاجيتها العالية أو مقاومتها للأمراض .

تفيد التكنولوجيا الحيويه فى النبات plant biotechnology على فهم البيولوجيه الجزيئيه للنبات plant molecular biology ويستعمل فى ذلك طرق مزارع الأنسجة المختلفة وأيضا الهندسه الوراثيه. حيث يتم تعريف وعزل ونقل الجين أو الجينات المرغوبة من نبات إلى آخر أو إلى كائن حى آخر. تسبب التكنولوجيا الحيويه فى النبات سهوله وسرعة التكاثر الخضرى للنبات وتسرع من برامج تربيه النبات كما أنها تزيد من إنتاجيه نواتج صناعيه للنبات عن طريق مزارع الأنسجه.

يمكن تلخيص أهمية أستعمال التكنولوجيا الحيويه فى أمراض النبات فيما يأتى:

١ ـ إنتاج سريع للنباتات الخاليه من الطفيليات الممرضه أى الخاليه من الأمراض وذلك عن طريق التكاثر الخضرى السريع وبالتالى بالنسل الناتج من هذه النباتات يكون خال من الأمراض. ولكن يجب حمايه هذا النسل من الأصابة بالطفيليات لفترات حيث أن أنتاج هذه النباتات عن طريق مزارع الأنسجة وحيث أنها تكون متزاحمه أثناء إنتاجها كما أنها شديده وعاليه التجانس الوراثى وأيضا تعريضها لفترات طويله لظروف بيئيه وظروف تغذيه معينه أثناء إنتاجها بواسطة مزارع الأنسجة يمكن أن يجعل هذه النباتات فجأة قابله للأصابه بموجه

مفاجأه outbreak من طفيل ممرض شديد القدره على الأصابة وينتج عن ذلك كارثه مرضيه.

٢ ـ أحيانا تكون الأصناف الجديده الناتجة عن الهندسه الوراثيه نتيجه نقل جين أو أكثر إليها غير قابله للتأقلم مع التغييرات المفاجئة فى الظروف البيئية أو حتى مع الكائنات الحيه الدقيقة وخاصة النباتية منها الموجوده فى البيئه. وتصبح هذه الأصناف متأثره بذلك وقد يقل إنتاجها أو تفقد بعض أو كل مواصفاتها المتميزه.

٣ ـ يمكن أن يكون فى المستقبل الحامل والناقل الرئيسى للجين vector من نبات معطى donor إلى نبات مستقبل recipient هى مسببات أمراض النبات مثل البكتيريا*Agrobacterium tumefaciens* المسببه لمرض التدرن التاجى فى كثير من العوائل النباتية وفيروس موزايك (تبرقش) القنبيط cauliflower mosaic virus وأيضا فيروسات أخرى.

٤ ـ دراسه الجينات المسببة لمقاومه النبات للمرض أو الأمراض وأيضا دراسة الجينات الموجوده فى الطفيل والتى تسبب قدره الطفيل على أصابه طفيليات أخرى مسببه أمراض للنبات وذلك عن طريق الهندسه الوراثيه سيكون له دور كبير فى المستقبل فى مقاومه أمراض النبات ومنها المقاومه الحيوية. ويكون ذلك بإضافة جين أو جينات مقاومه للأمراض لأصناف النبات القابل للأصابة وذلك بواسطه الهندسه الوراثيه فتصبح هذه الأصناف مقاومه للأمراض وفى هذه الحالة يكون التعامل مع النبات. والعكس صحيح فيمكن أن يكون التعامل مع الطفيل حيث يمكن أن ينقل إليه جين أو جينات بواسطه الهندسه الوراثيه وبذلك يحدث تغيير فى التركيب الوراثى للطفيل ويمكن لهذا الطفيل أن يضاد طفيل آخر ممرض للنبات وشديد القدره فى إصابته للنبات وبذلك يقى النبات من الإصابه ويسمى هذا النوع من المقاومه بالمقاومه الحيويه biological control .

مزارع الأنسجة وأمراض النبات

تعرف مزارع الأنسجه tissue cultures بأنها زراعه أى جزء من النبات فى ظروف بيئيه معقمه على بيئات صناعيه وهذه الأجزاء هى الجذر والساق والأوراق والمبيض والبويضات والمتك والأنسجة وحبوب اللقاح والخلايا المفرده والبروتوبلاست.

أستعملت مزارع الأنسجة كثيرا فى المحاصيل البستانيه لأنتاج نباتات ذات صفات مرغوبه وقد أستعملت أيضا فى أمراض النبات لأنتاج نباتات خاليه من الأمراض أو مقاومه لها.

يعتبر العالم الفرنسى Morel موريل أول من تنبه إلى أهميه أستعمال القمم الناميه للساق فى إنتاج سيقان ونباتات خاليه من الفيرس وقد طبق فكرته هذه على نباتات الداليا المصابه بأحد الأمراض الفيروسيه. زرع القمم الناميه للنبات المصاب على بيئه معقمه فى المعمل وعاده تحتوى القمم الناميه على جزء قصير جدا يحمل ورقه أو ورقتين صغيرتين جدا. تتكون البيئه من بعض الأملاح مثل فوسفات بوتاسيوم ونترات الأمونيوم وكبريتات المغنسيوم وأحد السكريات مثل السكروز وبعض الفيتامينات مثل فيتامين الثيامين وبعض منظمات النمو مثل الجبريللين والكينتين kinetin وبعض الأحماض الأمينيه مثل الجليسين والآجار. تنمو القمم الناميه على البيئة وتكون ساق عاديه خاليه من الفيروس تأخذ هذه الساق وتزرع فى بيئه خاليه من الحشرات والفيروسات فينتج منها نباتات داليا خاليه من الأمراض الفيروسيه. تباع درنات الداليا الناتجه من هذه الطريقة ويكون الأقبال عليها شديدا لخلوها من الفيروس.

أمكن بعد ذلك تطبيق هذه الطريقة على كثير من النباتات بطريقة إقتصاديه لأنتاج نباتات خاليه من الفيروس مثل القرنفل والبطاطس وقصب السكر والشليك والموز. فى حالة نباتات القرنفل توضع النباتات فى بيئه يمكن التحكم فى درجه حرارتها وترفع درجة الحرارة تدريجيا لمده أسبوعين حتى تصل إلى ٣٨° مع وجود رطوبه نسبيه ٩٠٪. وتترك النباتات تحت هذه الظروف لمدة شهرين ثم تؤخذ القمم الناميه وتزرع على بيئات معقمه صناعيه وتعطى هذه القمم سيقان ونباتات خاليه من الفيروس. تطبق هذه الطريقه أيضا فى نبات قصب السكر.

أنتاج نباتات خاليه من الفيروسات أو الفطريات

تطبق طريقه القمم الناميه بنجاح كبير فى نبات البطاطس لأنتاج تقاوى أى درنات خاليه من الفيرس على نطاق تجارى وتوجد شركات متخصصه الآن فى كثير من الدول لهذا الغرض. ترجع أهميه ذلك إلى أن نبات البطاطس نبات إقتصادى عالمى يزرع عاده فى كثير من دول العالم إن لم يكن جميعها مع بعض الأستثناءات وتعتبر الأمراض الفيروسيه

التى تصيب البطاطس مثل مرض إلتفاف الأوراق ومرض بترقش البطاطس عامل محدد فى زراعه وإنتاج البطاطس. زراعه درنات مصابه بالفيروس ينتج عنها نباتات ضعيفه غير قادره على تكوين درنات البطاطس وبذلك تقل إنتاجيه النباتات أو تصبح معدومه. ولذلك بادئ ذى بدأ أن تكون الدرنات المستعمله للزراعة خاليه من الفيرس ولذلك فإنه توجد شركات متخصصه لذلك وتحقق ربح كبير عن طريق إنتاجها لدرنات خاليه من الفيرس من مزارع الأنسجه.

تتلخص فكره إنتاج البطاطس بهذه الطريقة فى أن القمم النامية للبراعم الموجوده فى عيون درنات البطاطس تعتبر خاليه من الفيرس. حيث وجد أن الفيرس يعيش فى داخل خلايا النبات ولكنه لا يعيش فى الجزء الطرفى من القمم الناميه والذى يشمل منطقة تسمى الغلاف أو الغطاء tunica والبدن corpus وهى عباره عن أنسجه مرستيمية وجزء من المرستيم المحيطى peripheral meristem والمرستيم العمودى rib meristem. أى أن الفيرس لا يعيش عاده فى الأنسجه المرستيميه الموجوده فى الجزء القمى من القمم الناميه وهذه هى الحقيقة التى إستفاد منها موريل Morel لإنتاج نباتات داليا خاليه من الفيرس. عند قطع هذا الجزء من القمم الناميه الخالى من الفيرس وتنميته على البيئة الصناعية ينتج ساق خال من الفيرس. يستعمل ذلك فى إنتاج درنات البطاطس حيث يتم فصل الجزء القمى من القمم النامية والذى يحتوى عاده على بدائيات ورقتين خضريتين. يتم زراعة هذا الجزء على بيئة معقمه صناعية تحتوى على أملاح وسكروز وبعض الفيتامينات ومنظمات النمو والأحماض الأمينية والآجار. تنمو القمم النامية وتنتج ساق عاديه ومنها نباتات عاديه. تزرع هذه النباتات فى الصوب الخاليه من الحشرات وتكون تحت مراقبه مستمره للتأكد من خلوها من الفيروسات تقاوم الحشرات بكفاءه عاليه لأنها يمكن أن تكون عامل فى نقل الأمراض الفيروسيه. تزرع هذه الدرنات فى مساحات كبيرة بعد ذلك لإنتاج كميات كبيره من درنات البطاطس ويجب أن تكون مقاومة الحشرات بكفاءه عاليه.

يمكن أن تتبع نفس الطريقة للحصول على نباتات خاليه من فطريات الذبول وهى *Fusarium oxysporum* و *Verticillium albo - atrum*.

إنتاج نباتات مقاومه للأمراض

يمكن بإستعمال مزارع حبوب اللقاح إنتاج نباتات مقاومه للأمراض. تجرى فى هذه الطريقة زراعه المتك أو أجزاء منه أو حبوب اللقاح على بيئه صناعية فى المعمل تتكون هذه البيئة من بعض الأملاح المعدنية وبعض الفيتامينات وبعض منظمات النمو والأحماض الأمينية والسكروز والآجار. يحدث نمو فى داخل حبه اللقاح وتتكون عده خلايا داخل حبه اللقاح ثم تنقسم هذه الخلايا لتكون كميه كبيره من الخلايا تضغط على الجدار وتمزقه. يتكون من هذا النمو بعد تحرره من جدار حبه اللقاح شكل كروى ثم قلبى ثم طوربيدى torpedo ومن الأخير يتكون النبات الصغير على البيئه. يلاحظ أن النباتات المتكونه بهذه الطريقة تكون أحاديه (١ن) لأنها ناتجه من حبوب اللقاح. تعتبر النباتات العاديه ثنائية (٢ن) ولذلك فإنه أثناء تكوين هذه النباتات الأحاديه من حبوب اللقاح تعامل البيئة أو النموات بمركب الكولشيسين والذى يسبب تضاعف فى عدد الكرموسومات فتصبح النباتات الناتجه (٢ن) بدلا من (١ن) . أهميه هذه الطريقة فى أمراض النبات أنه يمكن عن طريقها إنتاج نباتات مقاومه للأمراض. أمكن فى اليابان إنتاج نباتات تبغ مقاومه لمرض الذبول بهذه الطريقه. وجد فى التبغ صنف مقاوم لسلاله معينه من الطفيل المسبب للمرض وتركيب النبات فى هذه الحالة AA ووجد صنف آخر مقاوم لسلاله أو سلالات أخرى من الطفيل وتركيب النبات فى هذه الحالة BB. وجد أن الصنف الأول قابل للأصابة بالسلاله الثانية من الطفيل ولذلك فتركيبه الوراثى AAbb ووجد أن الصنف الثانى من نبات التبغ عكس الصنف الأول ولذلك فتركيبه الوراثى BBbb . عند تهجين هذين الصنفين ينتج فى الجيل الأول نبات تركيبه الوراثى Aa Bb. عند أخذ حبوب اللقاح من هذا النبات وزراعتها على البيئة المحتويه على الكولشسين ينتج نباتات ثنائية بتركيبها الوراثى AAbb، AABB ، aaBB، aabb، ناتجه من حبوب اللقاح تركيبها Ab و AB و aB و ab . عند زراعة هذه النباتات فى بيئه ملوثه بسلالات الطفيل فإن جميع هذه النباتات تموت عدا النباتات ذات التركيب الوراثى AABB حيث تكون مقاومه للمرض وأيضا أصيله فى هذه الصفه. يلاحظ أيضا أن نسبه النباتات المقاومه الأصيله فى هذه الصفة تكون نسبتها ٢٥ ٪. تفضل هذه الطريقة حيث أن نسبه

النباتات المقاومه مرتفعه وهى ٢٥٪ كما أن النباتات تكون أصيله فى مقاومتها. أما فى الطريقة العاديه وهى الحصول على الجيل الثانى F2 من النبات السابق فإن نسبه النباتات المقاومة الأصيله ١/١٦ وأن بعض النباتات الأخرى الغير أصيلة فى مقاومتها تكون نسبتها ٨/١٦ (شكل ٨١) ويفضل عنها بالطبع النباتات الأصيلة. يسهل أيضا فى طريقة زراعة

AAbb × aaBB — تركيب الأبوين

AaBb F_1 *hybrid*

تركيب حبوب اللقاح / تركيب خلية البيضة	AB	aB	Ab	ab
AB	AABB	AaBB	AABb	AaBb
aB	AaBB	aaBB	AaBb	aaBb
Ab	AABb	AaBb	AAbb	Aabb
ab	AaBb	aaBb	Aabb	aabb

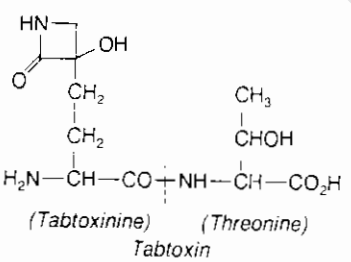
(شكل٨١) : التركيب الوراثى لنسل الجيل الثانى وبه تركيب واحد فقط مرغوب نسبته ١ إلى ١٦ .

الأنسجة فصل النباتات المقاومه الأصليه حيث أنها تستمر فى النمو فى الحقل الملوث بسلالات الطفيل وتموت النباتات القابله للأصابه أما فى الطريقه العاديه فلا يمكن التمييز بين النباتات الأصليه فى مقاومتها وغير الأصليه حيث أنه يستمر فى النمو فى الحقل الملوث بسلالات الطفيل هذه التراكيب الوراثيه المختلفة. وقد أمكن بذلك الحصول على نباتات تبغ من مزارع الأنسجه تجمع بين صفات المقاومه للذبول ووفره المحصول والصفات المرغوبه للأوراق لأستعماله فى السجائر والسيجار. ويحتاج هذا البرنامج إلى سنتين فقط بطريقة مزارع الأنسجة بينما يحتاج إلى سته سنوات بالطرق العاديه.

تمكن كارلسون Carlson من إنتاج طفرات فى حبوب لقاح نبات التبغ وذلك بخلط البيئة التى تنمو عليها حبوب اللقاح بمركب يسبب حاله التطفر وهو إيثيل ميثان سلفونات ethyl methane - sulphonate ينتج عن ذلك حبوب لقاح لها طفرات ينقصها تخليق بعض الفيتامينات مثل البيوتين والأحماض الأمينيه مثل الأرجنين والبرولين والليسين. نتيجه لذلك ينتج طفرات لبعض حبوب اللقاح وتكون مختلطه مع حبوب اللقاح العاديه. يوضع مخلوط حبوب اللقاح

oberkanan.com

المتطفره والعاديه على بيئات صناعيه ينقصها وجود مركبات البيوتين والأرجنين والبرولين والليسين وذلك فى وجود مركب برمو أوكس 5- bromodeoxyuridine . يسبب المركب الأخير موت للخلايا المنقسمه ولا يؤثر على الخلايا الغير منقسمه وذلك عند تعريضها للضوء. حيث يتداخل المركب الأخير فى تركيب الحمض النووى للخلايا المنقسمه ويسبب موتها لوجود البروم. يتم التخلص من جميع حبوب اللقاح العادية حيث تموت جميعها لنموها على البيئة أما حبوب اللقاح المتطفره فإنها لا تنقسم لأحتياجها لبعض الفيتامينات أو الأحماض الأمينيه الغير موجوده فى البيئة وبذلك تظل حيه. تنقل حبوب اللقاح إلى البيئة السابقة الخاليه من المركب السام مع إحتوائها على فيتامين البيوتين فتنقسم حبوب اللقاح المتطفرة والتى ينقصها فيتامين البيوتين. وهكذا تستعمل هذه البيئة مع إضافه الحامض الأمينى اليسين فتنقسم حبوب اللقاح المتطفره والتى ينقصها الحامض الأمينى اليسين وهكذا بالنسبة للأحماض الأمينية الأخرى. أمكن كارلسون إستغلال ذلك إقتصاديا وذلك بوضع سم بكتيرى tabotoxin فى البيئة فإن حبوب اللقاح الناميه تكون مقاومه للسم. وبذلك أنتج نباتات تبغ مقاومه للسم البكتيرى وهو المسئول عن حدوث كثير من أعراض مرض ويلدفير wildfire فى التبغ المتسبب عن البكتريا *Pseudomonas tabaci* والتى تفرز هذا السم tabotoxin (شكل ٨٢) . ولذلك تكون هذه النباتات مقاومه للمرض.



(شكل ٨٢) : تركيب السم البكتيرى الذى يفرز بالبكتيريا *Pseudomonas tabaci* .

الأنواع المختلفة لمزارع الأنسجه وأهميتها فى أمراض النبات:

توجد أنوع عديده من مزارع الأنسجه وهى كما يلى. ومع ذكر أهمية كل نوع من هذه المزارع فى أمراض النبات.

١ ـ مزارع قمه الجذور أو السيقان Root or shoot tips cultures : بإستعمال هذه القمم وزراعتها على بيئه مناسبه يتم تكوين نباتات منها ويمكن أن تكون هذه النباتات خاليه من الأمراض الفيروسيه كما سبق ذكره فى إنتاج تقاوى البطاطس.

٢ ـ مزارع الكالس والخليه المفرده Callus and single - cell cultures : يعتبر الكالس عباره عن كتله من الخلايارقيقه الجدر غير مرتبه فى نظام معين disorganized undifferentiated وتكون الخلايا عاده غير كامل التشكل أو التمييز ويكون بها نسبه كبيره من الخلايا المرستيميه. يمكن تكوين الكالس والخلايا المنفرده للأنسجه وللأجزاء النباتيه على بيئات خاصه وبمعاملات خاصه. يستعمل الكالس فى تنميه ودراسه الفطريات الأجباريه التطفل مثل البياض الدقيقى والبياض الزغبى والأصداء وأيضا الفطريات غير إجباريه التطفل كما يستعمل أيضا فى إكثار وتنميه الفيروسات والنيماتود والبكتريا. كما تستعمل هذه المزارع فى دراسه فسيولوجى التطفل للطفيليات المختلفة ودراسة تأثير السموم فى ذلك كما تستعمل أيضا فى دراسة الدور الذى تقوم به phytoalexins فى مقاومه النبات. تستخدم هذه المزارع فى إختبار أهميه ودور المبيدات الفطرية والبكتيريه والفيروسيه والميكوبلازميه فى مقاومه هذه الطفيليات. أحيانا تكون العلاقه بين هذه المزارع والخلايا مع الطفيل مماثلة لعلاقه النبات العادى مع الطفيل ولكن فى أحيان كثيره تكون العلاقه بين هذه المزارع والطفيل غير مماثله لعلاقة النبات العادى مع الطفيل ولذلك يجب أن تؤخذ هذه النتائج بحذر.

٣ ـ مزارع بروتوبلاست النبات Plant protoplasts cultures : يمكن الحصول على هذه المزارع بواسطه معامله أنسجه النبات وخاصه الأوراق بإنزيمات محلله لجدر خلايا النبات وهى عبارة عن خليط من أنزيم السليوليز وأنزيمات محلله للمركبات البكتينية. ينتج عن ذلك تحليل جدر الخلايا ويصبح البروتوبلاست حر. تستخدم هذه المزارع أستعمالات عديده فى أمراض النبات كما يأتى:

أ ـ عمل التلقيح بالفيرس ودراسه فسيولوجيا وتكاثر الفيرس: يتم تلقيح البروتوبلاست بفيرس أو أكثر. يحدث ذلك بخلط البروتوبلاست مع تحضير نقى من الفيرس وأيضا مركب fusagen والأخير تركيبه poly-L- ornithine أو polyethylene glycol . يتم رج المخلوط لمده ١٠ إلى عشرون دقيقه فى درجة حراره الغرفه ثم يتم غسل مخلوط البروتوبلاست بالمانيتول أو محلول مغذى أو بمخلوط منهما وذلك لإزاله الزياده من الفيرس والفيوساجين. تختلف نسبه إصابه البروتوبلاست بالفيرس تبعا لنوع الفيرس والبروتوبلاست لكنها قد تصل أحيانا من ٧٠ إلى ٩٥ ٪ يتم دوره تكاثر الفيرس فى البروتوبلاست كل ٢٤ إلى ٣٦ ساعه بعد التلقيح. يمكن التعرف على سرعه تكاثر الفيرس فى البروتوبلاست بإستعمال المجهر الإلكترونى أو الأختبار على عائل مناسب يصاب بالفيرس ويظهر عليه أعراض عباره عن بقع موضعيه local lesion on host أو بالإختبارات السيريولوجيه ومنها الأن إختبار ELISA وتكون هذه الإختبارات على فترات مختلفه بعد عمليه التلقيح.

يمكن التعرف على البروتوبلاست المصاب وعدها بمعامله البروتوبلاست بأجسام مضاده مشعه للفيرس ويكون ذلك بمعامله الأجسام المضاده بمركب يسبب فلوره ومثال ذلك مركب FITC ثم فحص البروتوبلاست بواسطة مجهر أشعه فوق بنفسجيه.

ب ـ تلقيح البروتوبلاست بحامل لماده نوويه مهندسه وراثيا: يسمى الحامل فى هذه الحاله vector . يوجد نوعين من vectors يستعملان بكفاءه عاليه لسهوله إختراقها خلايا النبات العادى وحيث يحملان ماده نوويه مهندسه وراثيا. وهذين النوعين هما البكتريا *Agrobacterium tumefaciens* أو Ti - Plasmid الخاص به والنوع الثانى هو فيروس DNA ثنائى الخيط أو الشريط double - stranded DNA لفيروس موزايك القنبيط. توجد أنواع أخرى من الفيرس مثل فيروسات DNA وحيده الخيط أو الشريط single - stranded من النوع geminivirusis والفيرويدات والكروموسومات وبروتوبلاست البكتريا *E. coli* المهندسه وراثيا تحت الدراسه والتجارب لتستعمل vectors ويمكن إدخالها خلايا النبات بسهوله.

يمكن إدخال الماده الوراثيه مثل الماده النوويه والبلازميد و DNA أو RNA الفيرس إلى البروتوبلاست بأستعمال fusagen أو بوضع هذه الماده الوراثيه فى حوصلات دهنيه صناعيه

صغيره تسمى liposomes . بوضع هذه الليبوسومات مع البروتوبلاست وحفظ هذا المخلوط لفتره فى حضان فى درجه حراره مناسبه فإن البروتوبلاست يمكن أن يحتوى هذه الليبوسومات فى داخله وتصبح الماده الوراثيه الموجوده داخل الليبوسومات موجوده داخل بروتوبلاست النبات.

يعتبر إدخال جين أو جينات المقاومه لمرض نباتى معين إلى داخل البروتوبلاست بالطرق السابقة حيث يصبح البروتوبلاست مصدر لمقاومه المرض النباتى ويمكن أن ينتج نبات مقاوم من أهم الطرق وأكثرها تفضيلا لأستعمال الهندسه الوراثيه ومزارع الأنسجه فى إنتاج نباتات مقاومه للأمراض.

جـ - إنتخاب بروتوبلاست مقاومه للطفيليات أو مقاومه لسموم الطفيليات أو غيرها من السموم: فى حاله أستعمال مزارع الأنسجه من نوع مزارع الكالس أو مزارع الخلايا المنفرده أو مزارع البروتوبلاست فإن بعض الخلايا أو البروتوبلاست الناتج من هذه المزارع يكون مختلف وراثيا فى صفة أو أكثر عن خلايا النبات الأم. أى أنه يحدث تغيير وإختلاف فى التركيب الوراثى ويسمى ذلك somaclonal variation. وأحد هذه الصفات التى يحدث فيها اختلاف قد يكون المقاومه للأمراض أو السموم وتستخدم هذه الحاله فى إنتاج النباتات المقاومه للأمراض. فقد يكون النبات الأم قابل للأصابه بمرض معين ولكن الخلايا الناتجه من مزارع الأنسجه لهذا النبات يكون فيها إختلاف فى الصفات الوراثية عن النبات الأم ويكون بعض هذه الخلايا مقاوم لمرض معين. يمكن الأستدلال على هذه الخلايا وعزلها وتنميتها حيث ينتج عنها نباتات مقاومه للأمراض بالرغم من أن النبات الأم قابل للأصابة. أنظر شرح تفصيلى لذلك فى الجزء السابق الخاص بإنتاج نباتات تبغ مقاومه لمرض wildfire .

د - تقييم المركبات المضاده (المثبطه) للفيرس antiviral عن طريق إستعمال بروتوبلاست مصاب بالفيرس: يجرى حاليا تجارب كثيره للحصول على مركبات مقاومه للفيرس ولا تسبب ضرر لخلايا النبات حيث يمكن عن طريق هذه المركبات مقاومه الأمراض الفيروسيه. تستخدم الآن مزارع البروتوبلاست المصابة بالفيرس فى إختبار هذه المركبات حيث أن المركب الذى يمنع أو يحد من تكاثر الفيرس داخل البروتوبلاست يكون فعال فى مقاومه

الفيرس. يمكن التعرف على ذلك بإستخدام إختبار ELISA للتعرف على سرعه ودرجه تكاثر الفيرس. والأهم من ذلك أن يكون هذا المركب غير ضار على البروتوبلاست وبالتالى غير ضار على النبات. تجرى التجارب بعمل مزارع البروتوبلاست وإضافه تركيزات مختلفة من المركب المراد إختباره إلى هذه المزارع المصابه بالفيرس المراد إختباره ويجرى تقدير سرعة تكاثر الفيرس من كل تركيز.

هـ - تزاوج البروتوبلاست لنقل جينات المقاومه إلى عوائل غير متوافقه أى أن التهجين بينها فاشل: يصعب أو يتعذر فى كثير من الأحيان عمل تهجين بين أنواع متقاربه أو أجناس متقاربه. ولذلك يمكن إستعمال تزاوج بين البروتوبلاست لأدخال صفه أو أكثر مرغوبه فى بروتوبلاست معين إلى بروتوبلاست نبات آخر من نوع مقارب أو جنس مقارب عن طريق تزاوج البروتوبلاست ويتعذر التهجين العادى بينهما. حيث يصبح البروتوبلاست الناتج عن التزاوج يحمل الصفه المرغوبه. يمكن تشجيع عمليه التزاوج بين البروتوبلاست وذلك بوضع ماده fusagen مع مخلوط البروتوبلاست، أو أستعمال صدمات كهربائيه لفتره قصيره ناتجه عن تيار كهربائى مباشر فإن ذلك يشجع عمليه التزاوج أيضاً.

من أمثله ذلك أن التهجين بين نوعين من جنس الفول صعب وهما *Vicia narobensis* ونوع الفول العادى *Vicia faba* وحيث أن النوعfaba قابل للأصابة بمرض التبقع البنى أو الشيكولاتى فى الفول والذى يتسبب عن الفطر *Botrytis cinerea* ، وأيضا *Botrytis fabae* . وحيث أن النوع narobensis يكون مقاوم لهذا المرض ويحتوى على جينات المقاومه فإنه يمكن عمل تهجين بين بروتوبلاست النوعين للحصول على بروتوبلاست به صفه المقاومه للمرض. يحدث التهجين بين البروتوبلاست بسهولة فى المعمل. يسبب هذا المرض خسائر فادحه فى محصول الفول فى مصر فى بعض السنوات. وأيضا مثال آخر حيث أمكن نقل صفه مقاومه مرض التفاف أوراق البطاطس المتسبب عن فيرس إلتفاف أوراق البطاطس وذلك بتزاوج نوعين من البروتوبلاست أحدهما خاص بأنوع بطاطس بريه لا تنتج درنات وتحمل جين أو جينات المقاومه والنوع الآخر من البروتوبلاست خاص بأصناف البطاطس العاديه القابله للأصابه.

و - إستخدام بروتوبلاست أحادى haploid للدراسات الوراثيه ومقاومه الأمراض والسموم:

يمكن الحصول على بروتوبلاست أحادى haploid وذلك من مزارع المتك حيث ينتج خلايا أحاديه يمكن أن يتكون منها كالس أحادى ويمكن معامله هذه الخلايا أو خلايا الكالس للحصول على بروتوبلاست أحادى. من مميزات البروتوبلاست الأحادى أن الجينات توجد بصوره منفرده وليست فى أزواج وبذلك يمكن التعرف على الصفات المختلفة للجينات ومنها المتنحية وأيضا minor genes . وفى حالة وجود صفه مرغوبه أو مقاومه لمرض معين فإنه يمكن مضاعفه البروتوبلاست بإستخدام مركبات كيماويه منها الكولشسين. تصبح صفه المقاومه موجوده بحاله أصيله. سبق شرح ذلك بالتفصيل فى حالة إستعمال مزارع المتك لإنتاج حبوب لقاح يمكن منها إنتاج نباتات مقاومه للأمراض مثل مقاومة نبات التبغ لمرض الذبول.

يمكن إستعمال مزارع البروتوبلاست الأحادى لتحديد موقع جينات المقاومة وعددها حتى لو كانت minor genes يمكن عن طريق هذه المزارع دراسه علاقه جينات المقاومه بالسلالات المختلفة للفطريات أو البكتريا أو الفيروسات المسببه لأمراض النبات.

أساسيات الهندسة الوراثيه

بعض الأجزاء الهامة فى الخلية النباتية:

الأغشية البلازمية أغشية حية إختيارية النفاذية selective permeable أى لها القدرة على التحكم فى دخول الذائبات والمذيبات، كما أنها تحتوى على أنزيمات وحاملات أيونات وجزيئات تساعد على مرور أيونات وجزيئات خاصة فى اتجاه عكسى بالنسبة للاتجاه الطبيعى لمنحدر التركيز. وذلك تبعا لاحتياجات الخلية. وهذا يعرف بالنقل النشط active transport عادة يوجد اختلاف فى النفاذية الاختيارية لكل من الغشاء البلازمى الخارجى والغشاء البلازمى الفجوى فمثلا نجد فى الطحلب الأخضر *Valonia* أن الغشاء البلازمى الخارجى ينفذ المغنسيوم، بينما لا ينفذه الغشاء البلازمى الفجوى، لهذا نجد المغنسيوم موجود فى البلازم الاساسى ولا يوجد فى الفجوة العصارية لهذا الطحلب.

الشبكة الاندوبلازمية endoplasmic reticulum عبارة عن أنابيب وحويصلات دقيقة متشابكة منغمسة فى البلازم الاساسى وجدرها تماثل فى تركيبها الغشاء البلازمى. الشبكة

الإندوبلازمية قد تكون ملساء أو خشنة ويرجع خشونة النوع الأخير إلى أنها تحمل على سطوحها أجسام دقيقة تعرف بالريبوسومات. تتصل الشبكة الإندوبلازمية بالغشاء البلازمى الخارجى وبالغلاف النووى، كذلك قد تتصل بجهاز جولجى. يعتقد أن وظيفة الشبكة الإندوبلازمية هى سهولة تمرير المواد داخل الخلية أو تخزينها وخاصة المركبات البروتينية. فالبروتين الذى يتكون على الريبوسومات يمر إلى تجاويف الشبكة الإندوبلازمية ويتجمع فيها وقد ينتقل بعد ذلك إلى جهاز جولجى أو يرشح إلى السيتوبلازم. ومن المعروف أن الشبكة الإندوبلازمية يحدث لها تبرعم وتنفصل منها حويصلات تحتوى على البروتين وتتحرك عبر السيتوبلازم لتلتحم بالغشاء البلازمى وتفرغ محتوياتها خارجه أو تلتحم بأغشية جهاز جولجى لتفرغ محتوياتها بداخله وبذلك تنتقل محتويات الشبكة الإندوبلازمية إلى جهاز جولجى.

النواه nucleus جسم كروى أو بيضاوى. تختلف أحجامها كثيراً حسب نوع الخلية ونوع النبات فهى كبيرة نسبياً وتتوسط عادة الخلية المرستيمية، وصغيرة نسبياً وتوجد عادة جانبياً فى الخلايا البالغة. تحتوى الخلية للنباتات والحيوانات الراقية على نواة واحدة عادة إلا أنه فى بعض الحالات كما فى الأنابيب اللبنية latix tubes فى النبات نجد أن الخلية الواحدة تحتوى على عديد من الأنوية. ومن المعروف أن الخلية تموت إذا فصلت منها النواة، إلا أن الأنابيب الغربالية الناضجة تستمر حية برغم خلوها من النواة. ويقال أن نواه الأنبوبة الغربالية الناضجة توجد فى حالة إنتشار فى سيتوبلازم الخلية. ويرى البعض أن الأنبوبة الغربالية تكون دائماً على صلة وثيقة بخلية مرافقة أو أكثر، كل خلية مرافقة لها نواتها التى تخدمها وتخدم الأنبوبة الغربالية المجاورة.

تختلف النواة عن السيتوبلازم فى زيادة لزوجة السائل النووى عن السيتوبلازم وفى زيادة نسبة الأحماض النووية فى النواة عن السيتوبلازم.

يوجد بالنواة نوعان رئيسيان من الأحماض النووية هما حمض الدى أوكسى ريبوز النووى deoxyribonucleic acid الذى يرمز له بالرمز DNA وحمض الريبوز النووىribonucleic acid الذى يرمز له بالرمز RNA . يتركب كل من الحمضين النوويين من وحدات تسمى نيوكليوتيدات nucleotides، وتتكون كل وحدة من هذه الوحدات من جزىء من السكر

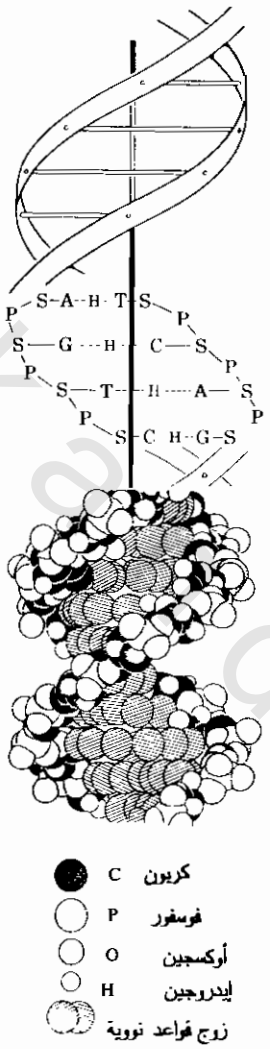
الخماسى دى اكسى ريبوز فى حالة الحمض RNA أو سكر ريبوز فى حالة الحمض RNA يرتبط مع السكر جزيء فوسفات من ناحية وقاعدة نيتروجينية من ناحية أخرى. تتكون القاعدة النيتروجينية من أدينين adenine، وجوانين guanine وسيتوسين cytosine، يضاف إليهم ثيمين thymine فى حالة الحمض DNA ويوراسيل uracil فى حالة الحمض RNA. القواعد النيتروجينية جزيئاتها حلقية فهى تتكون من حلقة واحدة سداسية كما فى سيتوسين وثيمين ويوراسيل وتعرف بالبيريميدينات pyrimidines أو تتكون من حلقتين خماسية وسداسية كما فى أدنين وجوانين وتعرف بالبيوريدات purines.

الحامض النووى DNA عبارة عن سلسلتين حلزونيتين من النيوكليوتيدات تلتفان حول بعضهما ويربط بين بعض القواعد فى السلسلتين روابط إيدروجينية. وهذه الروابط تربط بين أدينين فى سلسلة وثيمين فى السلسلة الأخرى وأيضاً نفس الشيء بالنسبة لجوانين وسيتوسين (شكل ٨٣ ـ ٨٦).

يوجد بين الثيمين والأدينين رابطتين إيدروجينية ولكن يربط بين جزئى السيتوسين والجوانين ثلاث روابط إيدروجينيه.

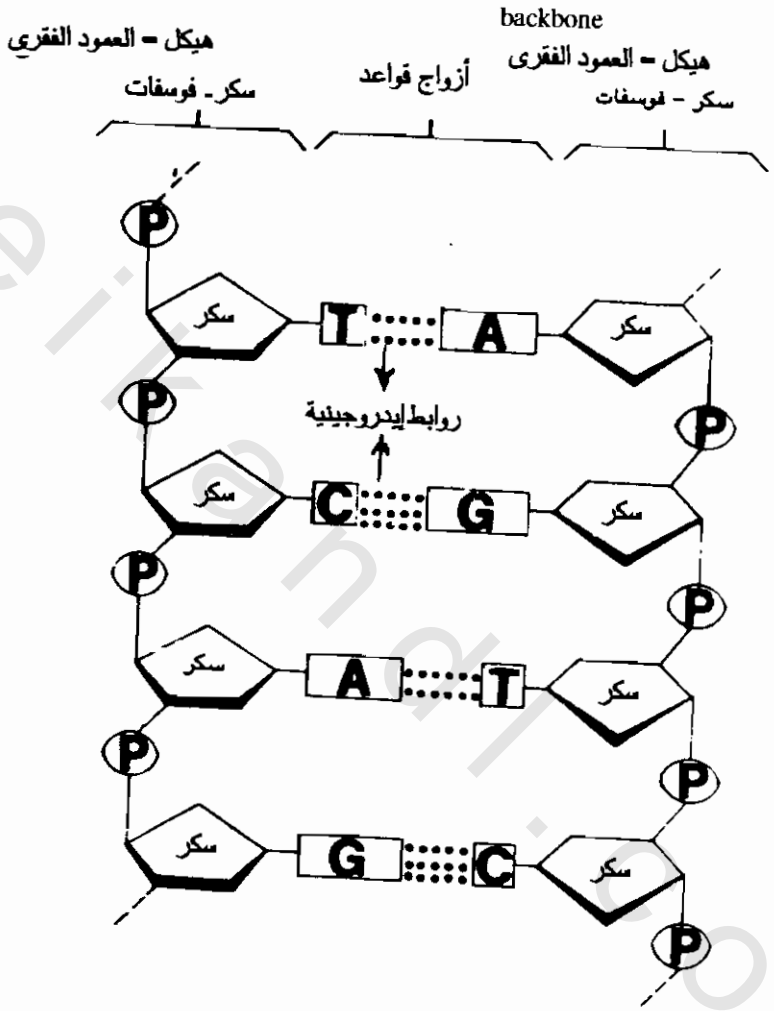
تحتوى الخلية الجسدية للإنسان على ٤٦ كروموسوم. فإذا تصورنا أنه أمكن فك اللولب المزدوج لجزئ DNA فى كل صبغى ووضعت هذه الجزيئات على امتداد بعضها البعض لوصل طولها إلى ٢ متر، والهستونات وغيرها من البروتينات هى المسئولة عن ضم هذه الجزئيات الطويلة لتقع فى حيز نواة الخلية والتى يتراوح قطرها من ٢ ـ ٣ ميكرون، ولقد أوضح التحليل البيوكيميائى وصور المجهر الإلكترونى أن جزئ DNA فى الصبغى يلتف حول مجموعات من الهستون مكونا حلقات من النيوكليوسومات nucleosomes (شكل ٨٧) مما يؤدى إلى تقصير طول جزيئ DNA عشر مرات، إلا أنه يتعين أن يضم الجزيئ ويقصر حوالى ١٠٠ر٠٠٠ مرة حتى تستوعبه النواة، ولهذا فإن حلقات النيوكليوسومات تلتف مرة أخرى لتنضم مع بعضها ومع ذلك فإن كل ما سبق ليس بكاف لتقصير جزئ DNA إلى الطول الملاحظ، وأشرطة النيوكليوسومات الملتفة بشدة ترتب على شكل حلقة كبيرة بواسطة البروتينات التركيبية غير الهستونية للكروماتين. والكروماتين الملتف والمكدس بشكل كبير يشار إليه على أنه مكثف، وعندما يكون جزئ DNA على هذه الحالة لا تستطيع الإنزيمات

أن تصل إليه، ويتعين فك هذا الالتفاف والتكدس على الأقل إلى مستوى شريط من النيوكليوسومات قبل أن يعمل DNA كقالب لبناء DNA أو RNA .

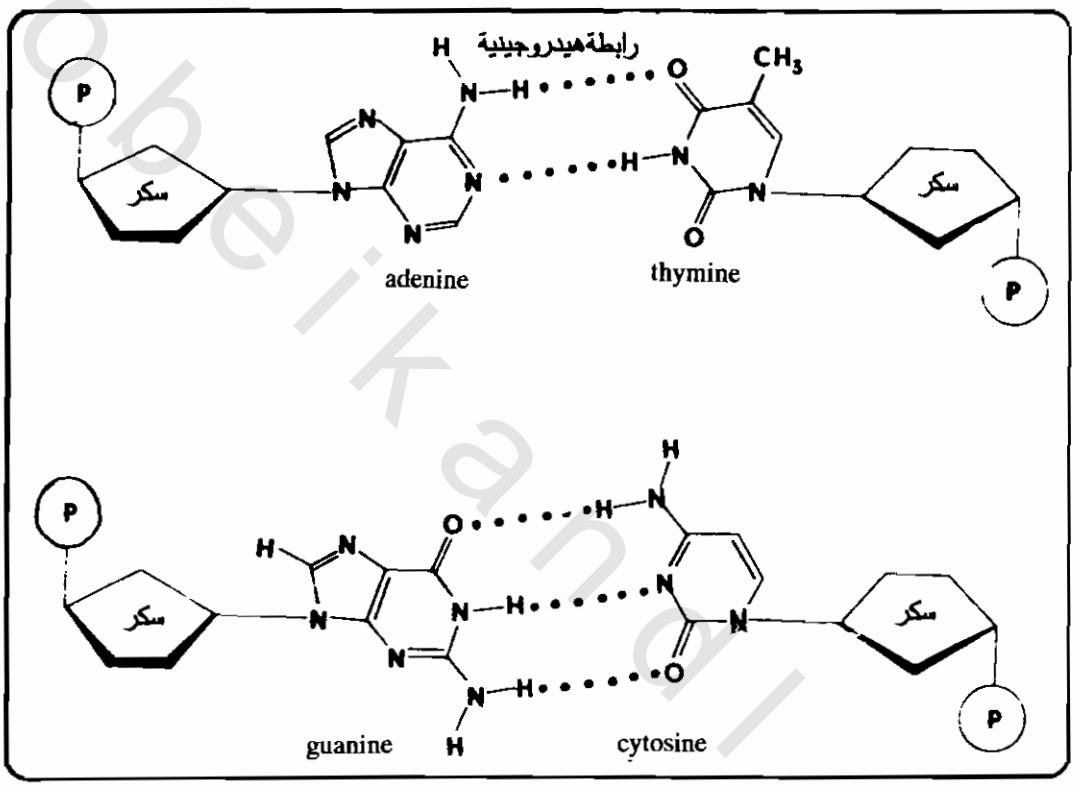


(شكل ٨٣) : تركيب جزيئ DNA

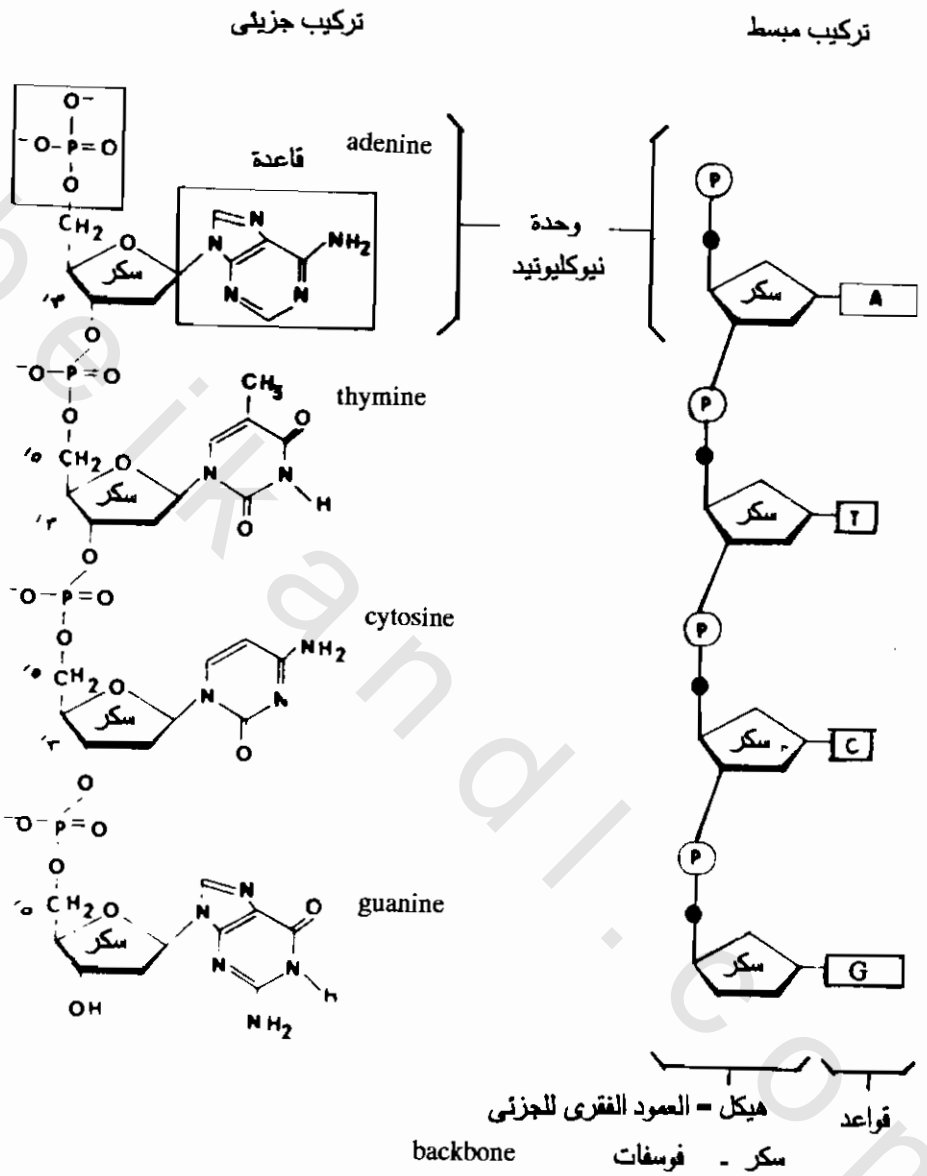
obeikandl.com



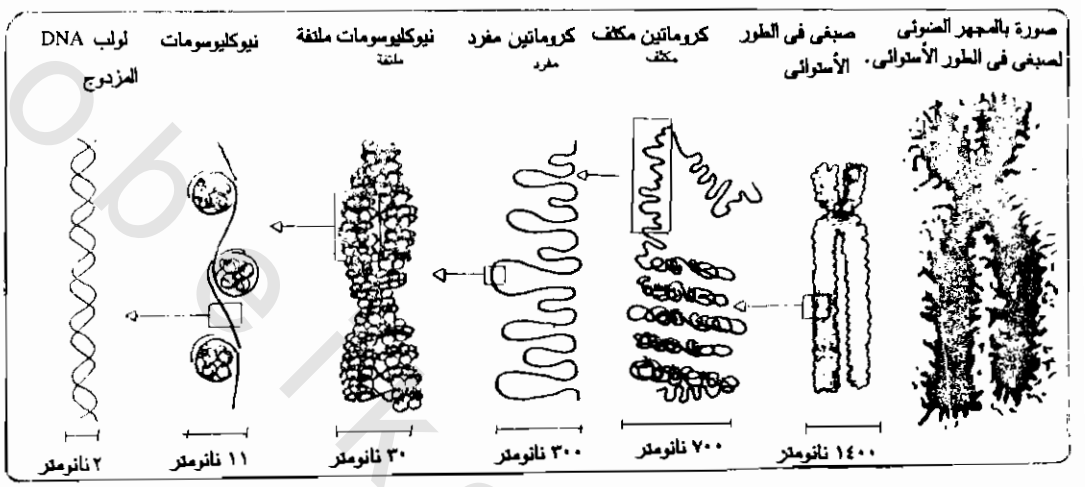
(شكل ٨٤) : شريطان من DNA يربط بينهما روابط إيدروجينية.



(شكل ٨٥) : أزدواج القواعد فى DNA وتكوين الروابط الإيدروجينية.



(شكل ٨٦) : قطعه من DNA تركيب مبسط وتركيب جزيئى.



(شكل ٨٧) : الطريقة التى يغلف بها DNA فى الكروماتين.

تضاعف DNA

DNA Replication

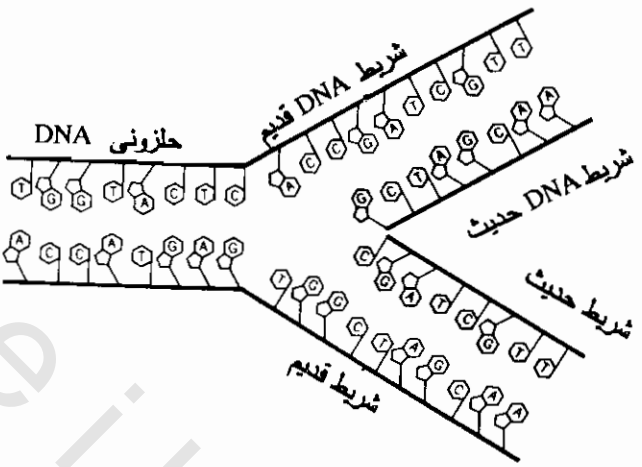
قبل أن تبدأ الخلية فى الانقسام تتضاعف كمية DNA بها حتى تستقبل كل خلية جديدة نسخة طبق الأصل من المعلومات الوراثية الخاصة بالخلية الأم، ويحدث ذلك أثناء الطور البينى interphase فى أثناء خطوات إنقسام الخليه، ولقد أشار كل من واطسن وكريك إلى أن تركيب الشريط المزدوج ذى القواعد المتزاوجة لجزئ DNA يحتوى على وسيلة يمكن بها مضاعفة المعلومات الوراثية بدقة. فحيث إن الشريطين يحتويان على قواعد متكاملة، فإن تتابع الديوكليوتيدات فى كل شريط يوفر المعلومات اللازمة لانتاج الشريط المقابل فمثلا اذا كان تتابع القواعد النيتروجينية فى جزء من الشريط هو (5'A-A-T-C-C3') فإن قطعة الشريط

التى تتكامل معها يكون ترتيب قواعدها النيتروجينية (3'T-T-A-G-C5') فاذا ما تم فصل شريطى DNA عن بعضهما البعض فإن أيا منهما يمكن أن يعمل كقالب لانتاج شريط يتكامل معه. ولقد قام العلماء بإجراء العديد من التجارب للتأكد من ذلك.

وباستخدام سلسلة من التجارب تمكن كل من ميسلسون Meselson وستال Stahl من أثبات طريقة تضاعف DNA وملخصها أن شريطى DNA ينفصلان عن بعضهما بكسر الراوبط الإيدروجينيه التى تربط القواعد المتزاوجة ويعمل كل شريط من الشريطين كقالب لبناء شريط جديد ثم يتم تكوين روابط إيدروجينيه بين القواعد المتزاوجه للربط بين شريطين أحدهما جديد والآخر قديم. وعند إنقسام الخلية ترث كل خلية جديدة جزيئ DNA هجين أى يتكون من شريط قديم وآخر جديد. ولقد أجرى ميسلسون وستال تجاربهما على البكتريا إلا أنه من الواضح الآن أن DNA فى كل الكائنات الحيه يتضاعف بنفس الطريقة. ومما هو جدير بالذكر فإن العلماء قد تمكنوا عمل عمليه تضاعف DNA فى أنوبه الأختبار من المعمل وذلك فى وجود بعض المركبات النقيه ومنها البروتينات والأنزيمات. ولذلك أمكن فهم ميكانيكيه وكيفيه حدوث تضاعف DNA بالتفصيل كما سيلى شرحه (شكل ٨٨ ، ٨٩)

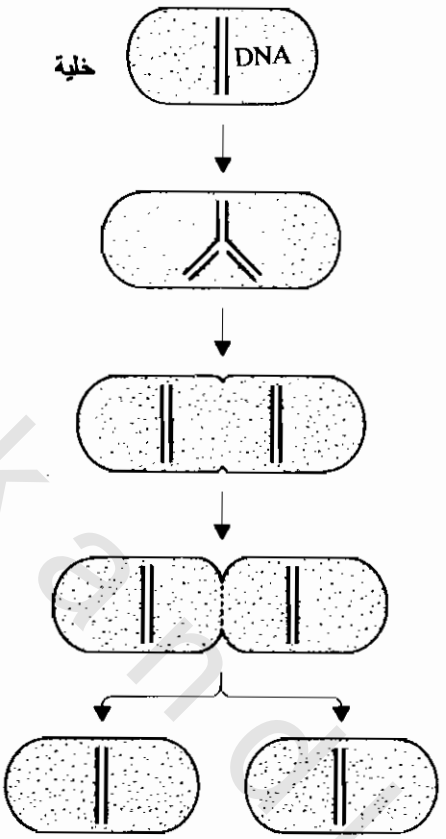
تبدأ العملية بأن يرتبط بروتين معين بحلزونى DNA وهذا البروتين هو عباره عن أنزيمات فك حلزونى DNA وتسمى DNA - helicases. تتحرك هذه الأنزيمات على جزيئ DNA من أحد الأطراف إلى الطرف الآخر مسببه فك وفصل حلزونى DNA وينفصل الشريطان عن بعضهما ويبتعد كل منهما عن الآخر. يمكن تشبيه ذلك بأن الأنزيم هو أبزيم السوسته وعند شد الأبزيم تنفتح السوسته وينفصل شريطى السوسته عن بعضهماthe unzipping zipper.

أما البناء الفعلى لحلزونى DNA الجديدان فتقوم بها أحد أنزيمات البلمره وهىDNA Polymerases والتى تساعد على إضافه النيوكليوتيدات واحده بعد الأخرى وتتميز هذه الأنزيمات بأنها تعمل فى إتجاه واحد فقط unidirectional والتى تساعد على إضافة



(شكل ٨٨) : تضاعف الـ DNA ـ أى تضاعف شريطين أى حلزونى الـ DNA .

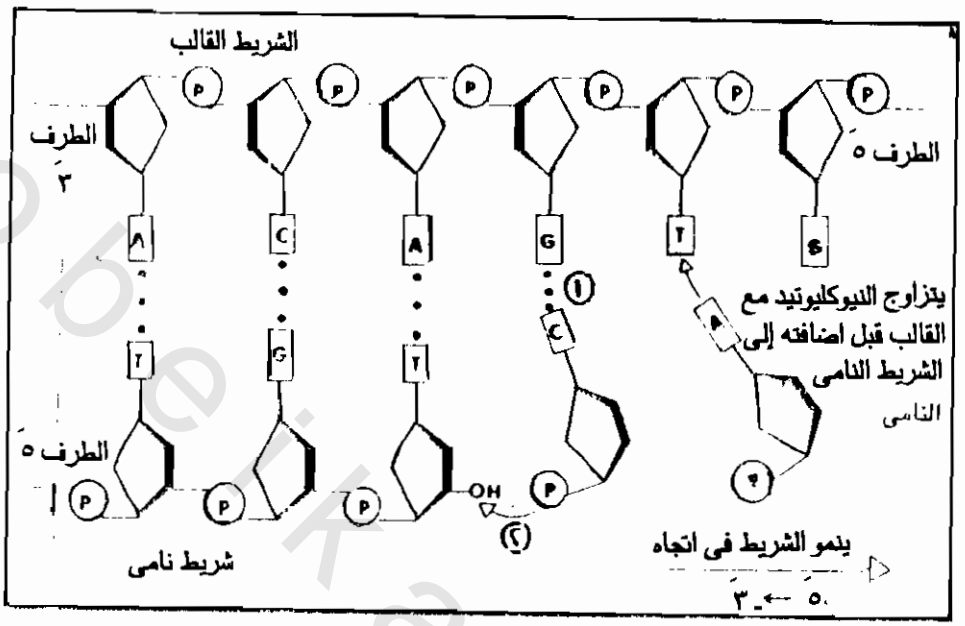
النيوكليويتدات واحده بعد الأخرى إلى النهاية ٣ لشريط DNA الجديد ولكى يتم إضافة النيوكليوتيده إلى الشريط الجديد لابد أن تتزاوج القاعده النيتروجينيه فى النيوكليوتيده مع القاعدة النيتروجينيه الموجوده على شريط القالب (شكل ٩٠) وهكذا يتكرر ذلك فى جميع الحالات وعامه ومن المعروف أن أنزيم البلمرة يعمل فى اتجاه واحد فقط من الطرف٥َ فى اتجاه٣َ للشريط الجديد الذى يجرى بناؤه. ولقد سبق أن ذكرنا أن شريطى لولب DNA المزدوج متوازيان عكسيا، أى أن أحدهما يكون فى اتجاه ٥َ إلى ٣َ بينما الشريط المتزاوج معه يتوجه فى الاتجاه المعاكس أى فى اتجاه ٣َ إلى ٥َ . وعلى ذلك فعندما يعمل أنزيم فك الحلزون على فصل شريطى جزئ DNA يتم ذلك فى اتجاه النهاية ٣َ لأحد الشريطين والنهاية ٥َ للشريط الآخر. وبالنسبة للشريط القالب ٣َ ـ ٥َ ليست هناك مشكلة حيث أن أنزيم البلمرة يتبع أنزيم فك الحلزون مباشرة مضيفا نيوكليوتيدات جديدة إلى النهاية ٣َ. إلا أن ذلك لا يحدث بالنسبة للشريط الآخر المعاكس، وذلك لأن أنزيم البلمرة لا يعمل فى اتجاه ٣َ ـ ٥َ ولذا فإن هذا الشريط يتم بناؤه



(شكل٨٩) : خطوات إنقسام خليه إلى خليتين وتضاعف جزيئ DNA .

على شكل قطع صغيرة فى اتجاه ٥َ ـ ٣َ بواسطة إنزيم بلمرة آخر Polymerase B (شكل ٩١) ثم ترتبط هذه القطع الصغيرة مع بعضها البعض بواسطة أنزيم الربط DNA-ligase .

أما فى أوليات النواة فإن جزئ DNA يوجد على شكل حلزونى مزدوج إلا أن نهاياته تلتحم بعضها مع بعض مكونه شكل حلقى وهذا الجزئ يتصل بالغشاء البلازمى للخلية عند نقطة واحدة يبدأ عندها نسخ جزئ DNA .



(شكل ٩٠) : الطريقة التى يعمل بها إنزيم DNA-Polymerase فى مضاعفة أحد أشرطة DNA.

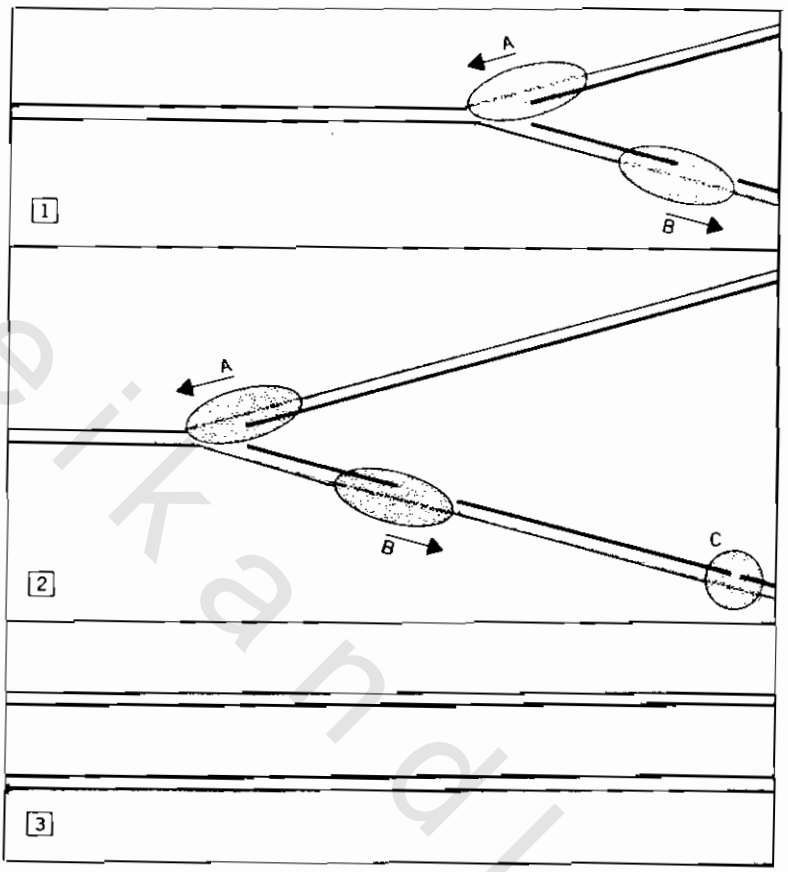
١ـ تتزاوج القواعد النيتروجينية مع المتكامل معها على الشريط القالب.

٢ ـ يقوم DNA - polymerase بربط النيوكليوتيدات المتزاوجة فى الشريط النامى.

الشفرة الوراثية The Genetic Code

من المعروف أنه توجد أحماض أمينيه كثيره ولكن يوجد منها أحماض أمينيه أساسيه essential amino acids وهى الأحماض التى تدخل فى تركيب البروتينات وأما الأحماض الأمينيه الأخرى الغير أساسيه فإنها لا تدخل فى تركيب البروتينات. ومن المعروف أنه يوجد عشرون حامض أمينى أساسى وسيتناول شرح الشفره الوراثية هذه الأحماض الأمينيه الأساسيه دون غيرها.

من المعروف أن هناك عشرين حمضا أمينيا مختلفا تدخل فى بناء البروتينات وأن هناك أربع قواعد نيتروجينيه ـ نيوكليوتيدات ـ فقط تدخل فى بناء كل من DNA و RNA وعلى ذلك



(شكل ٩١) : إنزيم DNA Polymerase منه النوع A الذى يخلق شريط متكامل من DNA فى أتجاه فرع الشوكه ولكن النوع B من هذا الأنزيم لا يخلق شريط متكامل من DNA بل يخلق أجزاء متقطعه من شريط DNAفى الأتجاه العكسى على الشريط الآخر من DNA ثم تربط هذه الأجزاء بواسطة إنزيم الربط DNA ligase ويرمز له بالرمز C وفى النهاية يتكون شريطين جديدين متكاملين من DNA (3) .

«فاللغة» الوراثية تحتوى على أربعة «حروف أبجدية» وهذه الحروف الأربعة من القواعد النيتروجينية يجب أن تشكل عشرين «كلمة» تدل كل منها على حمض أميني معين، ولا يمكن أن تتكون كل كلمة من حرف واحد لأن ذلك يعنى وجود أربع كلمات فقط على صورة شفرة

هى A,G,C,U والبروتينات بذلك تحتوى على أربعة أحماض أمينية فقط وبالمثل فإن الكلمات لا يمكن أن تتكون من حرفين (نيوكليوتيدتين) وذلك لأن القواعد النيتروجينيه الأربعة اذا رتبت فى كل الاحتمالات الممكنة لاثنين معا تعطى $٤^{٢}$-١٦ كلمة شفرة codon مختلفة وهذا مازال غير كاف للعشرين حمضا أمينيا التى تدخل فى بناء البروتين، أما اذا رتبت الأربع حروف (قواعد نيتروجينه - نيوكليوتيدات) على شكل ثلاثيات فإنها ستنتج $٤^{٣}$-٦٤ كلمة شفرة وهذا أكثر من الحاجة لتكوين كلمة شفرة لكل حمض أمينى، وعلى ذلك فأصغر حجم نظرى لكلمة شفرة DNA هو ثلاث نيوكليوتيدات أى ثلاثه قواعد نيتروجينيه. الأختلاف الوحيد بين النيوكليوتيدات فى القواعد النيتروجينيه. تم فى عام ١٩٦٥ الوصول إلى الشفرات الخاصة بكل حمض أمينى والتى يطلق عليها اسم كودونات. وهذه الكودونات موجودة فى جدول (رقم ٢) مع ملاحظة أن الكودونات فى هذا الجدول هى الكودونات التى توجد فى mRNA، أما ثلاثيات شفرة DNA فهى النيوكليوتيدات التى تتكامل قواعدها مع تلك الموجودة فى الجدول. كما يتضح من الجدول أن هناك أكثر من شفرة لكل حمض أمينى، كما أن هناك كودونا لبدء البروتين وهو AUG وثلاثة كودونات (UGA, UAA, UAG) توقف بناء البروتين أى أنها تعطى إشارة عن النقطة التى يجب أن تقف عندها آلية بناء البروتين وتنتهى سلسلة عديد الببتيد.

والشفرة الوراثية عامة universal - بمعنى أن نفس الكودونات تمثل شفرات لنفس الأحماض الأمينية فى كل الكائنات الحية مثل الفيروسات والميكوبلازما والبكتيريا والنباتات والحيوانات والأنسان والفطريات التى تمت دراستها حتى الآن وهذا دليل قوى على أن كل الكائنات الحية الموجودة الآن على وجه الأرض تعتبر contiuum قد نشأت عن أسلاف مشتركة، ولقد كان للمجموعات الرئيسية من الكائنات الحية تاريخ تطورى منفصل لمئات الملايين من السنين، وعلى ذلك يظهر أن الشفرة قد تكونت بعد فترة قصيرة من بدء الحياة واستمرت بدون تغير تقريبا لبلايين السنين منذ ذلك الوقت ونتيجة لذلك حدث التطور فى المملكة الحيوانية حتى الأكثر رقيا وهو الإنسان وحدث التطور فى المملكة النباتية حتى الأكثر رقيا وهى النباتات الزهريه وأكثر النباتات الزهرية تطورا هى نباتات العائلة (الفصيله) المركبه.

القاعدة الأولى	القاعدة الثانية				القاعدة الثالثة
	U	C	A	G	
U	UUU Phenylalanine	UCU Serine	UAU Tyrosine	UGU Cysteine	U
	UUC Phenylalanine	UCC Serine	UAC Tyrosine	UGC Cysteine	C
	UUA Leucine	UCA Serine	UAA *STOP*	UGA *STOP*	A
	UUG Leucine	UCG Serine	UAG *STOP*	UGG Tryptophan	G
C	CUU Leucine	CCU Proline	CAU Histidine	CGU Arginine	U
	CUC Leucine	CCC Proline	CAC Histidine	CGC Arginine	C
	CUA Leucine	CCA Proline	CAA Glutamine	CGA Arginine	A
	CUG Leucine	CCG Proline	CAG Glutamine	CGG Arginine	G
A	AUU Isoleucine	ACU Threonine	AAU Asparagine	AGU Serine	U
	AUC Isoleucine	ACC Threonine	AAC Asparagine	AGC Serine	C
	AUA Isoleucine	ACA Threonine	AAA Lysine	AGA Arginine	A
	AUG *(START)* Methionine	ACG Threonine	AAG Lysine	AGG Arginine	G
G	GUU Valine	GCU Alanine	GAU Asparagine	GGU Glycine	U
	GUC Valine	GCC Alanine	GAC Asparagine	GGC Glycine	C
	GUA Valine	GCA Alanine	GAA Glutamic acid	GGA Glycine	A
	GUG Valine	GCG Alanine	GAG Glutamic acid	GGG Glycine	G

(جدول ٢): الكودونات كما توجد فى mRNA

تخليق البروتينات Protein Synthesis

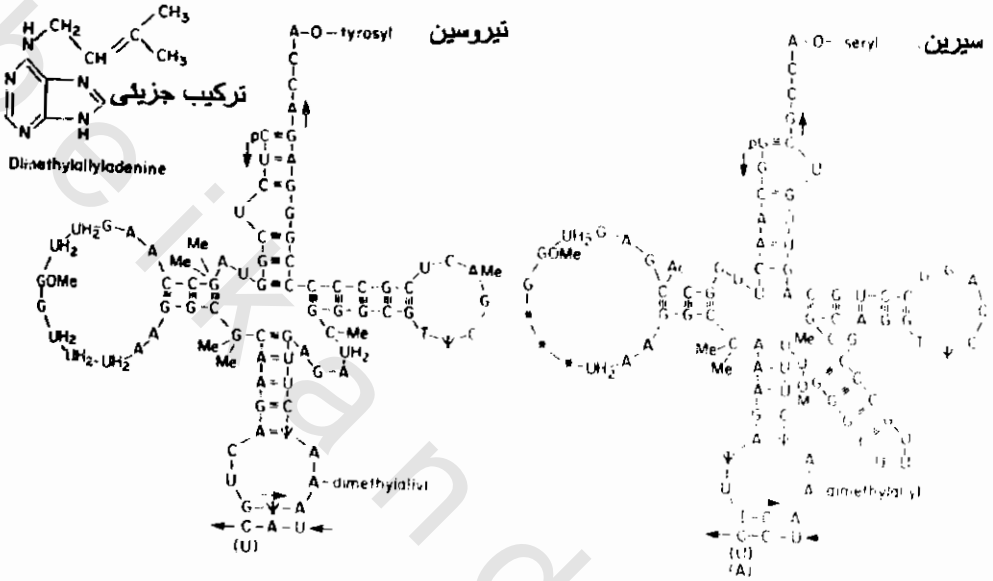
تخليق البروتين يحتاج تواجد أحماض أمينية حره بالخليه ويحتاج أيضا بعض من الأنزيمات ولابد أيضا من تواجد الريبوسومات بالخليه. كما يقوم RNA بدور رئيسى فى هذه العمليه. يوجد ثلاثة أنواع من RNA تسهم فى بناء البروتين وهى

١ ـ حمض RNA الرسول Messenger RNA (mRNA) وهو عباره عن خيط رفيع ويمكن رؤيته بالمجهر الألكترونى وهو غير ثابت ويتغير وزنه الجزيئى تبعا لنوع الخليه وتبعا لنوع البروتين الذى يقوم ببناء فقد نجده قصير كما فى نوع يسمى leader RNA أى RNA القائد وقد يكون طوله عادى فى كثير من الأحوال. يتراوح وزنه الجزيئى من خمسون ألف إلى ٥ مليون دالتون. وهو الذى يحمل الشفرة التى تحدد تتابع الأحماض الأمينيه الداخله فى تركيب البروتين.

٢ ـ حمض RNA الريبوسومى Ribosomal RNA (rRNA) ـ يدخل فى بناء الريبوسومات (أماكن بناء البروتين) عدة أنواع من RNA الريبوسومى وحوالى ٧٠ نوعا من عديد الببتيد، ويتم بناء الريبوسومات فى حقيقيات النواة فى منطقة من النواة تسمى النوية، يتم بها بناء الالاف من الريبوسومات فى الساعة، ومما يجعل هذا المعدل السريع ممكنا هو أن DNA فى خلايا حقيقيات النواة يحتوى على ما يزيد على ٦٠٠ نسخة من جينات RNA الريبوسومى التى ينسخ منها rRNA، وهناك أربعة أنواع مختلفة من rRNA تدخل مع البروتين فى بناء الريبوسومات. وهو مكون رئيسى للريبوسومات وإن كان الدور الذى يلعبه فى بناء البروتين مازال غير معروف حتى الآن.

٣ ـ حمض RNA الناقل Transfer RNA (tRNA) ـ تلتف أجزاء من الجزيئ لتكون حلقات وبذلك يصبح الجزيئ عباره عن قدم وساق وفروع تنتهى بحلقات. يختلف عدد الفروع والحلقات بإختلاف الجزئى وعاده تكون الفروع إثنان أو ثلاثة وكذلك الحلقات. وهو يتكون من نيوكليوتيدات عديده وعاده عددها حوالى ثمانون. توجد روابط إيدروجينيه تصل أدنين ويوراسيل وبين سيتوسين وجوانين فى كل من الساق والفروع أما القاعدة والحلقات فلا يوجد بها قواعد إيدروجينيه.

وقد وجد فى النباتات الزهرية أن بعض الأحماض الأمينيه يحتاج إلى مركب سيتوكينين والبعض الآخر لا يحتاج. فمثلا فى حالة للحامض الامينى سيرين والحامض الامينى تيروسين والحامض الامينى ايزولوسين تحتاج إلى مركب سيتوكينين وهو مركب (شكل ٩٢)



(شكل ٩٢) : جزيئ t RNA ناقل للحامض الأمينى سيرين وآخر ناقل للحامض الأمينى تيروسين مع وجود مركب dimethylallyl adenine (DMAA) بالقرب من anticodon

الداى ميثيل الايل أدينين DMAA. وفى حالة tRNA للحامض الأمينى أرجينين وفالين وجليسين وفينيل ألانين لا يتكون ولا يحتاج إلى مركب سيتوكينينى. أما أهمية المركب السيتوكينينى لـ tRNA فإنه لابد من وجوده لكى يحدث ارتباط بين مقابل الكودون anticodon فى tRNA والجزء المخصص له على كودون mRNA.

وهناك موقعان هامان على جزىء RNA لهما دخل ببناء البروتين، الموقع الأول يوجد فى قمه الجزيئ هو الذى يتحد فيه الجزيئ بالحمض الأمينى الخاص به، ويتكون هذا الموقع من الثلاث قواعد CCA أما الموقع الآخر هو السطح السفلى للقاعده مقابل الكودون anticodon

الذى تتزاوج قواعده مع كودونات mRNA المناسبة عند مركب mRNA والريبوسوم حيث يحدث ارتباط مؤقت بين tRNA و mRNA يسمح للحمض الأمينى المحمول على tRNA أن يدخل فى سلسلة عديد الببتيد فى المكان المحدد. ولهذا النوع دور هام ورئيسى فى بناء البروتين حيث أنه يقوم بحمله الأحماض الأمينية إلى الريبوسومات، ولكل حمض أمينى نوع خاص من RNA يتعرف على الحمض الأمينى وينقله (الأحماض الأمينية التى لها أكثر من شفرة يكون لها أكثر من tRNA)، وينسخ tRNA من جينات tRNA التى توجد عادة على شكل تجمعات من ٧ ـ ٨ جينات على نفس الجزء من جزئ DNA.

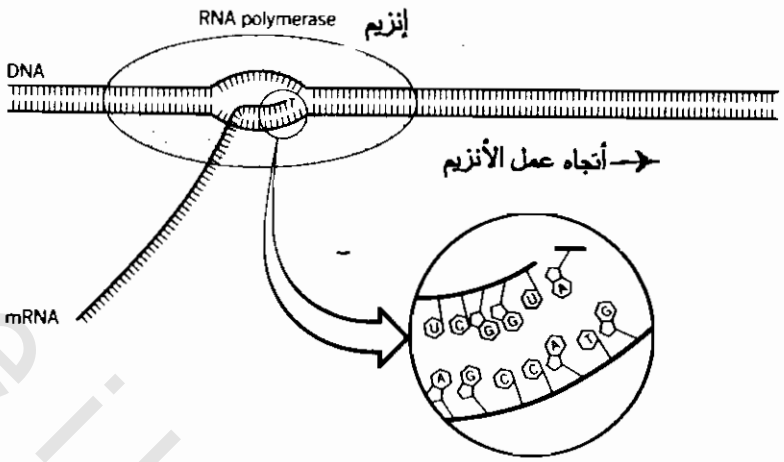
خطوات تخليق البروتين

تحدث خطوات عديده متعاقبه فى بناء البروتين وهى ما يأتى:

١ ـ النسخ Transcription

وهى عبارة عن عمليه نسخ DNA ألى RNA أى أن يصبح RNA متوازن ومتكامل فى تركيبه مع شريط DNA الناتج منه. ويحدث ذلك بواسطة أنزيم آخر من أنزيمات البلمره وهو RNA - Polymerase . يبدأ هذا الأنزيم فى العمل على جزيئ DNA ويسبب فك وإبتعاد شريطى DNA عن بعضهما فى مسافه قصيره وهى تتراوح بين عشره إلى عشرون نيكليوتيد ثم يقوم بوضع النيكليوتيدات المكملة لشريط DNA فى هذه المنطقة ويتم ربطها وهكذا يتحرك الأنزيم عبر جزئى DNA ليكون سلسلة من النيوكليوتيدات والتى يتكون منها mRNA يلاحظ أن النيوكليوتيدات التى يتكون منها تكون حره فى الخليه وأن الأنزيم يضعها فى مكانها المناسب على شريط DNA ويقوم بربطها (شكل ٩٣).

وبذلك يتكون mRNA مكمل فى تركيبه لشريط DNA ومشابه له ويختلف عن DNA فى إحتوائه على قاعده يوراسيل بدلا من الثيمين وأيضا فى وجود سكر الريبوز بدلا من سكر دى أكسى ريبوز. يتوقف عمل الأنزيم عندما يصل إلى شفرة stop ولذلك تتحرر سلسلة mRNA ولا ترتبط بشريط DNA وتصبح حره فى الخليه.

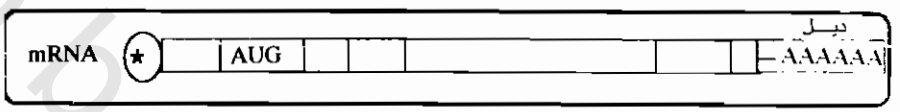


(شكل ٩٣) : فك شريطى DNA عن بعضهما فى مكان عمل الأنزيم RNA polymerase وتكوين شريط جديد من mRNA أى عمليه النسخ.

٢ ـ الترجمة Translation

يتكون الريبوسوم من تحت وحدتين احداهما كبيرة والأخرى أصغر، وعندما لا يكون الريبوسوم قائما بعمله فى إنتاج البروتين فإن تحت الوحدتين تنفصلان عن بعضهما وتتحرك كل منهما بحرية، وقد يرتبط كل منهما بتحت وحدة أخرى من النوع المقابل عندما تبدأ عمليه بناء البروتين مرة أخرى. توجد الريبوسومات حره فى سيتوبلازم الخليه أو توجد ملتصقة بسطح الشبكة الأندوبلازميه ويتكون نتيجة لذلك الشبكه الأندوبلازميه الخشنه. تبدأ عمليه الترجمه بإرتباط mRNA بالريبوسوم وغير معروف التفاصيل الدقيقة لعمليه الربط. ولكن من المعروف أنه لكل mRNA موقع إرتباط بالريبوسوم وهو عباره عن تتابع للنيوكلوتيدات يرتبط بالريبوسوم وأول ثلاثه نيوكليوتيدات ترتبط بالريبوسوم تسمى كودون البداية start codon ويمكن شرح ذلك فى حاله أوليات النواه حيث يرتبط mRNA بالريبوسوم وبحيث يصبح أول كودون أى كودون البدايه متجها إلى أعلى أى أن العمود الفقرى back bone للجزئ يكون لأسفل والقواعد النيتروجيه لأعلى وهو الوضع الصحيح للترجمه. يكون هذا الكودون (شكل

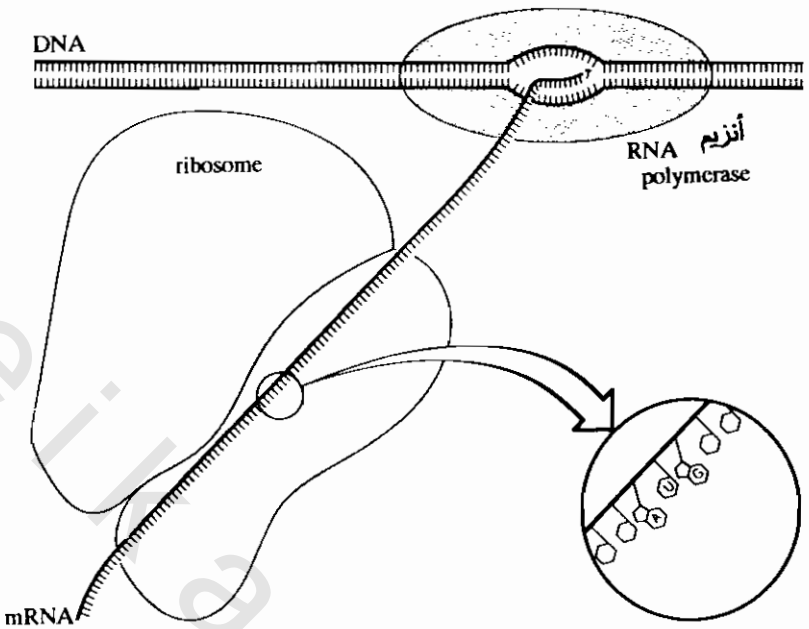
٩٤) هو AUG كما فى الجدول إما فى الطرف الآخر من mRNA فيوجد ذيل مكون من حوالى مائتين أدنين A يعتقد أن هذا الذيل يحمى mRNA من التحليل بواسطة الأنزيمات الموجودة فى السيتوبلازم.



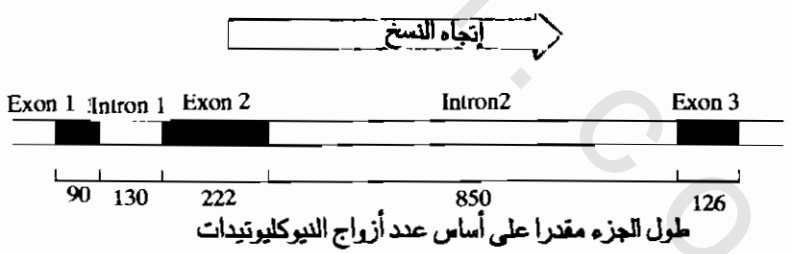
(شكل ٩٤) : شكل تخطيطى لجزىء mRNA يظهر به موقع الارتباط بالريبوسوم (*) وذيل عديد الأدينين ويتجه أول كودون به إلى أعلى

تختلف أوليات النواه عن حقيقيات النواه فى هذه الحاله فقد وجد فى البكتريا أن الريبوسومات ترتبط ببداية mRNA وتبدأ حدوث الترجمة وتخليق البروتين بينما يكون الطرف الآخر للجزئ mRNA مازال فى مرحلة البناء على شريط DNA (شكل ٩٥) أما فى حقيقيات النواه فإن mRNA ينفصل تماما عن شريط DNA ويصبح حر قبل إرتباطه بالريبوسوم ويحدث ذلك فى الأنسان. يتداخل mRNA فى جميع الحالات مع تحت الوحده الصغيره من الريبوسوم وليست مع تحت الوحده الكبيره.

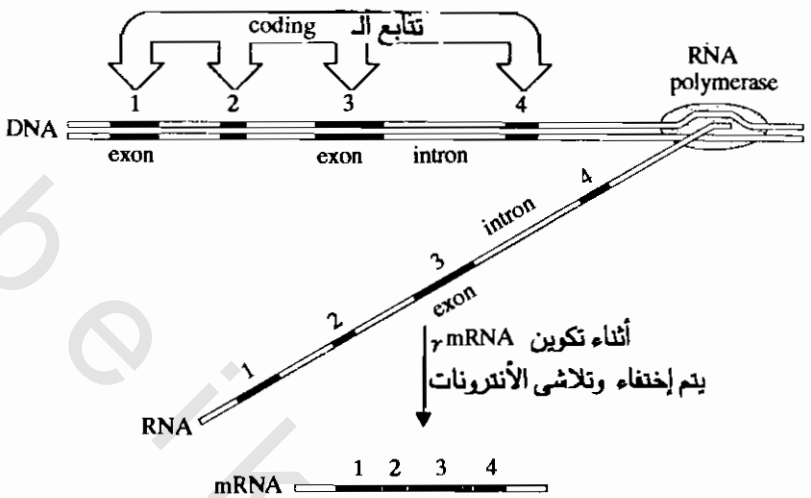
تختلف أوليات النواه عن حقيقيات النواه فى فرق آخر جوهرى وهو أن الجين فى حقيقيات النواه يتكون من أجزاء فعاله من الديوكليوتيدات أى أجزاء لها شفره coding regions وتدخل فى بناء البروتين وتسمى أكسونات exons ويفصل بين هذه الأجزاء الفعاله أجزاء غير فعاله من النيوكليوتيدات أى أجزاء ليس لها شفره moncoding regions ولا تدخل فى بناء البروتين وتسمى إنترونات introns ومثال لذلك الجين الموجود فى الأنسان والخاص بتكوين بروتين B - globin فإن يتكون من ثلاث exons وإثنين introns . يعتبر B - globin أحد مكونات هيموجلوبين الدم (شكل ٩٦، ٩٧).



(شكل ٩٥) : تكوين mRNA من جزيئ DNA وإرتباطه بالريبوسوم فى كائنات أوليات النواه



(شكل ٩٦) : تركيب جين B - globin فى الأنسان يتكون من Exons و Introns وعدد أزواج النيوكليوتيدات فى كل جزء.



(شكل ٩٧) : إختفاء الأنترونات أثناء تكوين mRNA . جزء من جين يوجد به ٤ أكسونات وأيضا أنترونات. وأثناء تخليق RNA يوجد به أيضا أكسونات وأنترونات ولكن عند تمام تكوين mRNA تختفى الأنترونات ولا توجد إلا الأكسونات.

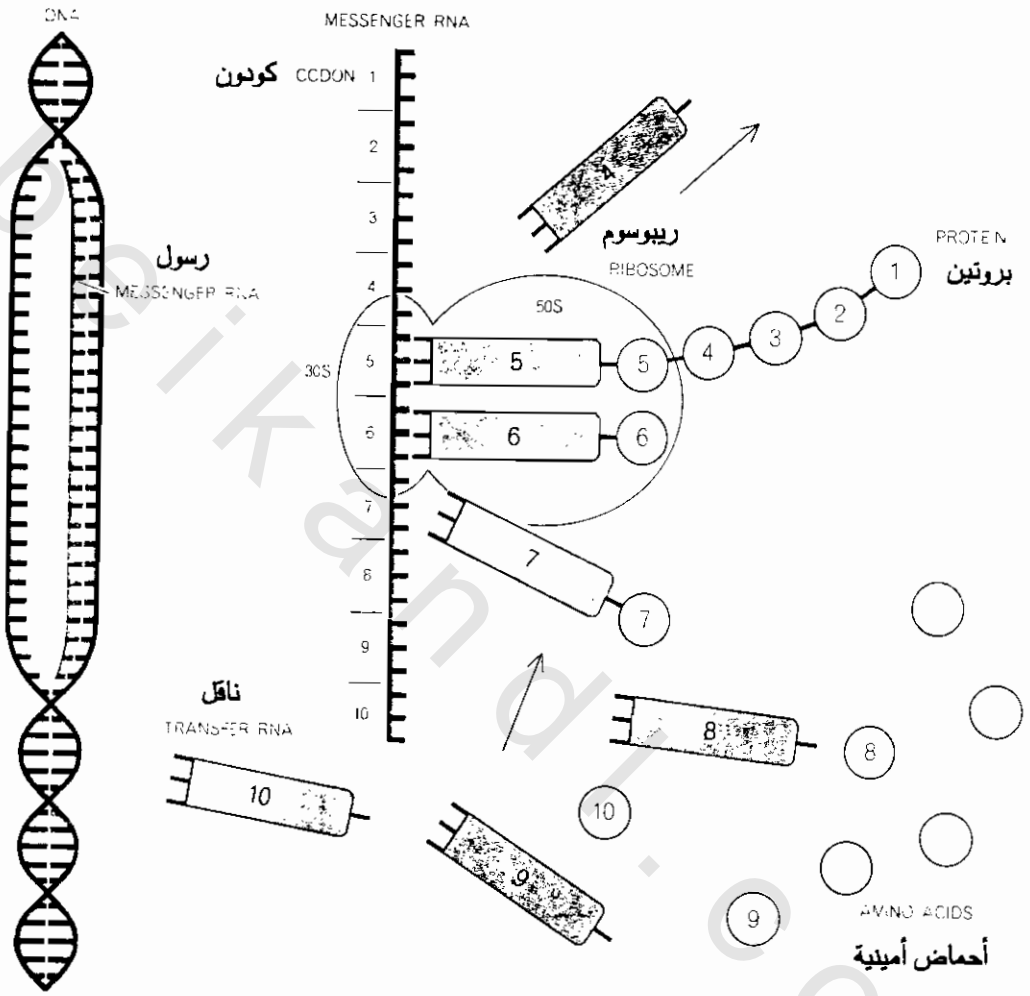
تختلف هذه الأجزاء فى عدد النيكليوتيدات ففى أكسون رقم ١ يتكون من تسعون زوج وفى أكسون رقم ٢ يتكون من ٢٢٢ زوج وفى أكسون رقم ٣ يتكون من ١٢٦ زوج وفى أنترون رقم ١ يتكون من ١٣٠ زوج وفى أنترون رقم ٢ يتكون من ٨٥٠ زوج. وفى أنواع أخرى من الجينات قد يكون فى الجين الواحد أكثر من خمسون أنترون. ولكن فى أوليات النواه الأمر يختلف حيث أن الجين فى خلايا البكتريا لا يحتوى إطلاقا على إنترونات. ولذلك فإن mRNA فى حقيقيات النواه يتكون من مناطق تقابل الأكسونات ومناطق تقابل الأنترونات وذلك فى أثناء تكوينه ولكن عندما يكون قابل للالتحام بالريبوسوم فإن يصبح خال من الأنترونات ويصبح قصير. ويتضح أن الخليه لها نظام معين يمكن عن طريقه قطع الأنترونات وفصلها من mRNA ولذلك يصبح mRNA فى النهاية خال منها وعباره عن أكسونات ملتصقه ببعضها ولذلك يصبح قصير الطول. أما عن كيفيه حدوث ذلك فى الخليه

فهو غير معروف. أما فى بدائيات النواه مثل البكتريا فإن mRNA لا يحتوى على مناطق أنترونات فى أثناء تكوينه ولذلك فإن طوله لا يقصر عند إرتباطه بالريبوسوم يعتقد أن البكتريا كانت تكون mRNA به أنترونات ولكن أثناء التطور عبر ملايين السنين فقدت البكتريا هذه الصفه وأصبح الآن mRNA البكتيرى خال من الأنترونات.

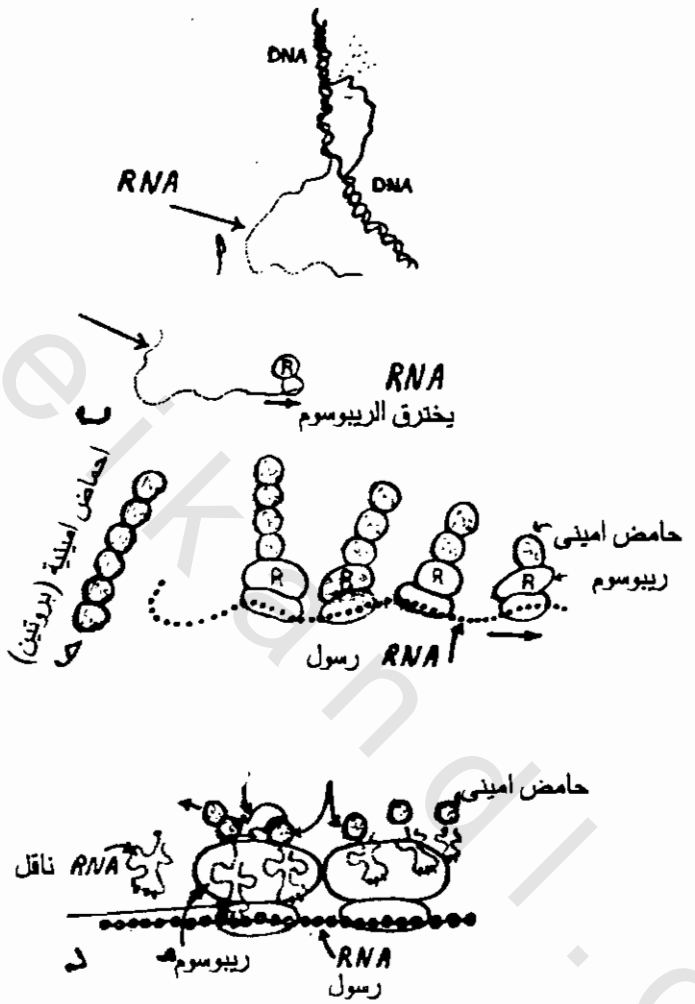
يوجد على الريبوسوم موقعان يمكن أن ترتبط بهما جزيئات tRNA . الموقع p على الريبوسوم يسمى موقع الببتيديل peptidyl والموقع A الذى يليه يسمى موقع أمينوأسيل aminoacyl. ولذلك فإن فى البدايه يكون كودون البدء AUG عند موقع الببتيديل. لكل حامض أمينى tRNAخاص به ويرتبط الحامض الأمينى فى قمم tRNA الخاص به بواسطه أنزيم aminoacyl tRNA synthetase. وحيث أنه يوجد عشرون حامض أمينى فإنه يوجد عشرون tRNA وعلى الأقل عشرون نوع من إنزيم tRNA synthetase حيث أنه على الأقل يوجد إنزيم خاص لكل حامض أمينى. وكل إنزيم قادر على التعرف على نوع tRNA الخاص به ويلتصق به ويقوم بربط الحامض الأمينى الخاص به بـ tRNA . الأحماض الأمينيه المختلفة توجد حره فى الخليه وذلك قبل إرتباطها بـ tRNA . وبعد ربط الحامض الأمينى بـ tRNA الخاص به فإن الأنزيم يتحرر ويصبح حر ويكرر عمليه الربط مره أخرى. يتداخل tRNA بما يحمله من حامض أمينى مع الريبوسوم وغير معروف حتى الآن كيفيه حدوث وطبيعه التداخل. ولكن يوجد عده تفسيرات لكيفيه حدوث العمليه ومنها أن tRNA المرتبط بالحامض الأمينى يتحرك ويستقر على المنطقة المخصصه له على mRNA المتداخل مع تحت الوحده الصغرى من الريبوسوم وهى موقع أمينوأسيل فى الريبوسوم وبعد ذلك ترتبط تحت الوحده الكبرى الحره بتحت الوحده الصغرى السابقه لتتكون وحده الريبوسوم الكامله. ولكى تحدث الخطوات ويتكامل الريبوسوم يحتاج إلى أنواع خاصه من البروتين وتسمى بعوامل البداية (البدء) initiation factors (IF) وهى IF_1, IF_2 و IF_3 . أول كودون فى mRNA هو AUG وتكون القواعد النيتروجينيه متجهه لأعلى ثم تتزاوج بواسطة الروابط الإيدروجينية قواعد مقابل الكودون UAC لجزيئ tRNA الخاص بالميثيونين مع كودون AUG وذلك فى موقع الببتيديل وبذلك يصبح الحامض الأمينى مثيونين methionine أول حامض أمينى فى سلسله عديد الببتيد التى ستبنى. وأما عن عمليه ربط ثان الأحماض الأمينية فى سلسلة عديد الببتيد فإن tRNA الثانى والذى يرتبط بحامض أمينى معين يرتبط مقابل الكودون الخاص به بالكودون التالى على جزيئ mRNA وبالتالى يصبح الحامض الأمينى

الذى يحمله جزئى tRNA الحامض الأمينى الثانى فى السلسلة. يحدث بعد ذلك تفاعل خاص لربطه الحامضين الأمينين ببعضهما بواسطه رابطه ببتيديه ويسمى تفاعل نقل الببتيديل peptidyl transferase reaction والأنزيم الخاص بهذا التفاعل عباره عن جزء من تحت وحده الريبوسوم الكبيره. بذلك يرتبط الحامض الأمينى الأول فى السلسلة وهو الميثيونين بالحامض الأمينى الثانى فى السلسلة على tRNA الثانى ولذلك يصبح tRNA الأول والذى كان يحمل الحامض الأمينى ميثونين فارغ. وفى هذه الأثناء يتحرك tRNA الثانى إلى موقع الببتيديل ويطلق عليه أيضا موقع p,p . site وفى نفس هذه اللحظة يتحرك mRNA نفس المسافة. يوجد رأى آخر أن الريبوسوم يتحرك فى عكس إتجاه mRNA وفى كلا الحالتين يصبح الموقع أمينوأسيل ويطلق عليه أيضا موقع A ، Site A فارغ ومستعد لأستقبال tRNA ثالث يحمل حامض أمينى ثالث ونتيجه لذلك يصبح tRNA الأول والذى كان يحمل الحامض الأمينى ميثيونين فارغ وحر ويترك الريبوسوم وهكذا تتكرر العمليه وتزداد سلسلة الأحماض الأمينية فى الطول (الأحماض الأمينيه المرتبطه ببعضها على هيئه سلسلة بروابط ببتيديه تسمى عديد الببتيد polypeptide) وهكذا تستمر العمليه حتى نصل إلى أحد كودونات التوقف Stop وهى UGA و UAA و UAG وفى هذه الحالة تتوقف العملية ويتحرر عديد الببتيد من الريبوسوم. وتحتاج عمليه تحرر عديد الببتيد إلى نوع من البروتين يسمى عامل التحرير حيث يرتبط بروتين عامل التحرير release factor (RF) بكودون التوقف فى المكانamino acyl (A) على الريبوسوم.

وبعد ذلك ينفصل تحت وحدتين الريبوسوم الصغيره والكبيره عن بعضهما وعن mRNA وذلك فى وجود نوع خاص من البروتين يسمى عامل البداية initiation factor (IF_3). توجد أعداد كبيره من الريبوسومات متصله بجزئى واحد من mRNA وتعمل فى آن واحد ويسمى ذلك التركيب بعديد الريبوسومات polysomes أو polyribosomes حيث أنه عند بروز طرف mRNA من الريبوسوم ترتبط بتحت وحده ريبوسوم أخرى صغيره تبدأ بدورها بناء عديد الببتيد وهكذا تتكرر العملية والأرتباط بالريبوسوم حتى يلتصق عدد كبير من الريبوسومات قد يصل مائه (شكل ٩٨ ـ ١٠١). كان يعتقد أن mRNA يخترق تحت الوحدة الصغرى من الريبوسوم ولكن الآن يفضل الرأى أن mRNA يوجد بين تحت الوحدتين الملتصقتين ببعضهما.



(شكل ٩٨) : خطوات تخليق البروتين. يلاحظ أن RNA الناقل مستطيل الشكل للسهولة ولكنه يتكون من ساق ورأسين أو ثلاثة وقاعده.



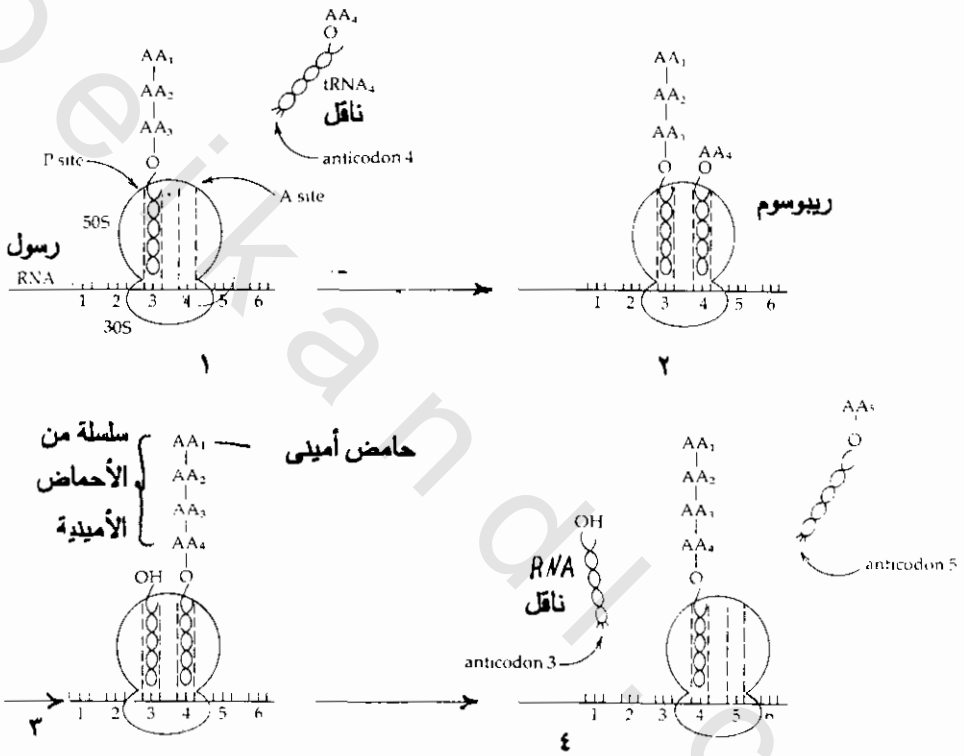
(شكل ٩٩) : خطوات تكوين بروتين الخلية

(أ) تكوين RNA رسول من DNA .

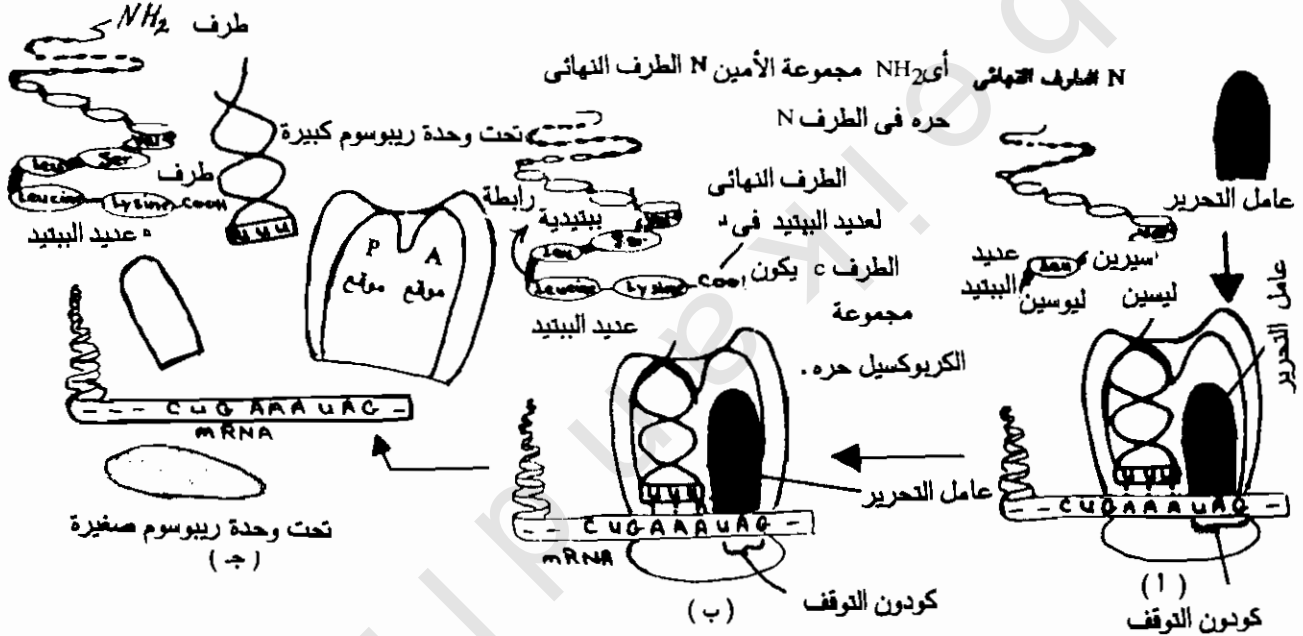
(ب) اختراق RNA رسول للريبوسوم.

(جـ) عديد الريبوسومات يكون البروتين .

(د) منظر تفصيلى لعديد الريبوسومات وتكوين البروتين.



(شكل ١٠٠) : خطوات تخليق البروتين. يرسم tRNA حلزونى للسهولة .



(شكل ١٠١) : إنهاء تكون سلسلة عديد الببتيد.

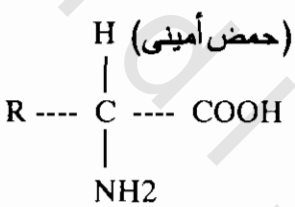
(أ) عندما يصل كودون إيقاف عند الموقع A يرتبط به عامل التحرير.

(ب) ينتهى بناء عديد الببتيد ويتحرر.

(جـ) تستقل تحت وحدات الريبوسوم عن mRNA .

خطوات تكوين البروتين

هناك خطة مشتركة لتكوين آلاف الأنواع من البروتينات التى توجد فى الأنظمة الحية، فهناك عشرون نوعا من الوحدات البنائية للبروتين هى الأحماض الأمينية، وللأحماض الأمينية العشرين تركيب أساسى واحد حيث يحتوى كل حمض أمينى على مجموعة كربوكسيلية COOH ومجموعة أمينية NH_2 يرتبطان بأول ذرة كربون، كما توجد ذرة هيدروجين تعتبر المجموعة الثالثة التى ترتبط بنفس ذرة الكربون، وفيما عدا الحمض الأمينى جلايسين glycine الذى يحتوى على ذرة هيدروجين أخرى مرتبطة بذرة الكربون الأولى فإن الأحماض الأمينية التسعة عشر الباقية تحتوى على مجموعة رابعة (R) تختلف باختلاف الحمض الأمينى، وترتبط الأحماض الأمينية مع بعضها فى وجود الإنزيمات الخاصة فى تفاعل نازع للماء بروابط ببتيدية peptide bonds لتكوين حامضين أمينيين مرتبطين ببعضهما ويسمى ثنائى الببتيد dipeptide ثم يرتبط حامض أمينى ثالث فيسمى ثلاثى الببتيد tripeptide ثم يرتبط حامض أمينى رابع فيسمى رباعى الببتيد وهكذا حتى تصبح السلسلة مكونة من أحماض أمينية عديدة فتسمى عديد الببتيدات polypeptide ويعتبر عديد الببتيدات بوليمر polymer .

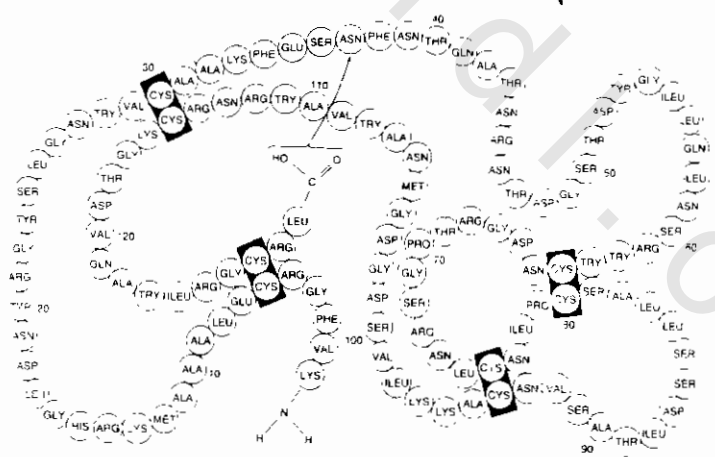


يوجد عديد الببتيد على هيئة شريط ويسمى التركيب الأولى primary structure ويكون فى هذه الحالة وهو لايزال متصل بالريبوسوم ثم يحدث بعد ذلك أن بعض أجزاء الشريط تلتف حلزونيا ويسمى هذا التركيب & - helix ويعتبر فى هذه الحالة أنه التركيب الثانوى secondary structure للبروتين. يمكن أن يحدث ذلك ولازال عديد الببتيد متصل بالريبوسوم. ثم يحدث بعد ذلك التركيب الثالثى للبروتين tertiary structure حيث نجد أن جميع أجزاء الجزيئ بما فيها & - helix تلتف على بعضها لتكون بروتين له شكل ذو ثلاث أبعاد three dimensional

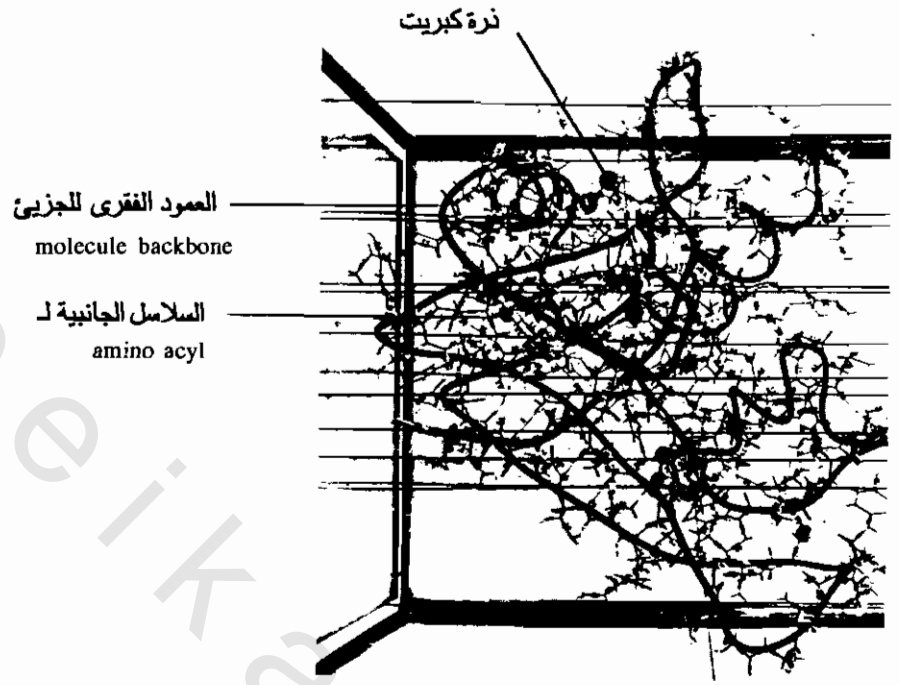
shape وقد أمكن معرفة هذا التركيب بواسطة أشعة x . فى التركيب الثالثى وبعد حدوث الألتفاف تتكون أنواع كثيرة من الروابط وأهمها disulfide bridges والروابط الكارهه للماء hydrophobic bonds والروابط الإيدروجينية hydrogen bonds . وتعمل هذه الروابط على الحفاظ على الألتفاف وشكل البروتين حيث أنه فى عدم وجود هذه الروابط يمكن أن ينفك الإلتفاف فى جزيئ البروتين المميز للتركيب الثالثى. ومما هو جدير بالذكر أن التركيب الثانوى والثالثى للبروتين يتحكم فيه التركيب الأولى both the secondary and tertiary configuration of a protein are determined solely by its primary structure.

يمكن أن يتكون التركيب الرباعى للبروتين the quaternary structure of a protein وذلك بأتحاد أكثر من عديد الببتيد أى يكون أثنين أو ثلاثة أو أكثر ويكون لكل عديد الببتيد على حده التركيب الإبتدائى والثانوى والثالثى الخاص به ومثال ذلك بروتين أنزيم جلوتاميك ديهيدروجينيز.

تختلف البروتينات فى ترتيب ونوع وعدد الأحماض الأمينية الداخلة فى التركيب الأولى وأن التركيب الأولى هو الذى يحدد مواصفات التركيب الثانوى والثالثى وأيضا الرباعى إن وجد. يتضح أن الجينات تتحكم فى التركيب الأولى ولذلك فإن الجنيات تتحكم فى تركيب البروتين (شكل ١٠٢، ١٠٣).



(شكل ١٠٢) : التركيب الإبتدائى لبروتين ليزوزيم lysozyme بياض بيض الدجاج يوضح أربعة روابط disulfide bridges بين المستئين cysteine . أسماء الأحماض الأمينية مختصرة بالحروف الأولى من كل حامض.



(شكل ١٠٣): جزيئ بروتين ذو ثلاث أبعاد وهو عبارة عن أنزيم ribonuclease . العمود الفقرى للجزيئ وهو سلسلة عديد الببتيدات polypeptide عبارة الخط الأسود الثقيل وأما عن السلاسل الجانبية لـ amino acyl عبارة عن الخطوط الرفيعة وذرات الكبريت عبارة عن شكل كروى تكون أربعة disulfide bridges .

توجد أنواع كثيرة من البروتين فى الكائنات الحية ويمكن تصنيفها إلى مجموعتين كما يأتى :

١ ـ البروتينات التركيبية Structural Proteins :

أى التى تدخل فى تراكيب محددة فى الكائن الحى مثل الأكتين والميوسين اللذين يدخلان فى تركيب العضلات وغيرها من أعضاء الحركة، والكولاجين الذى يدخل فى تركيب الأنسجة الضامة، والكيراتين الذي يكون الأغطية الواقية كالجلد والشعر والحوافر والقرون والريش وغيرها.

أما البروتينات الهستونية فهى مجموعة محددة من البروتينات التركيبية توجد فى النواه، والهستونات بروتينات صغيرة تحتوى على قدر كبير من الحمضين الأمينيين القاعديين أرجلين Arginine وليسين Lysine ، وتحمل المجموعة الجانبية (R) لهذين الحمضين الأمينيين عند الأس الهيدروجينى (pH) للخلية شحنات موجبة. وعلى ذلك فهى ترتبط بقوة بمجموعات الفوسفات الموجودة فى جزئ DNA والتى تحتوى على شحنات سالبة، وتوجد الهستونات بكميات ضخمة فى كروماتين أى خلية.

٢ ـ البروتينات التنظيمية Regulatory Proteins :

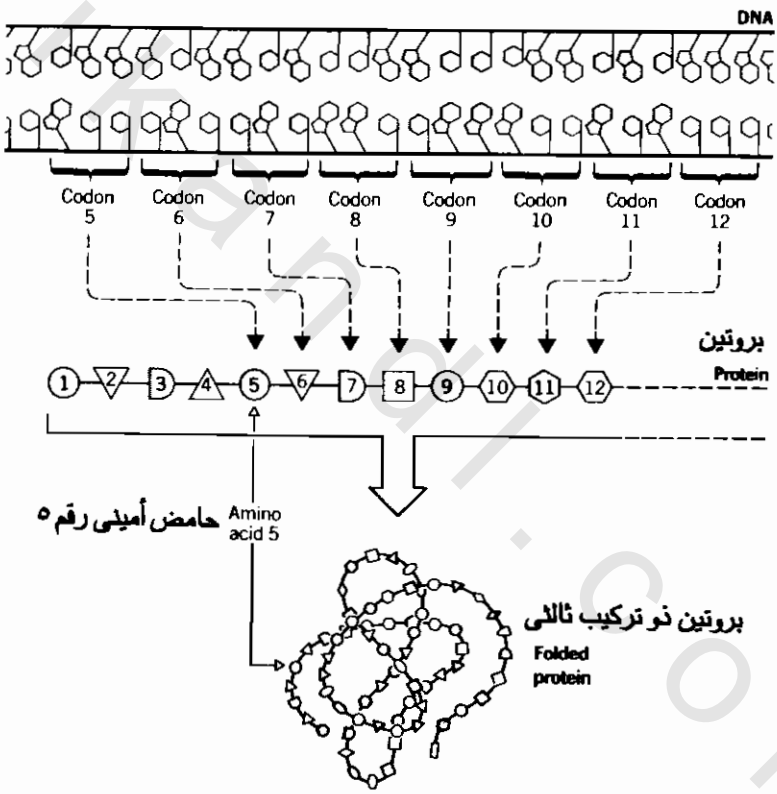
أى التى تنظم العديد من عمليات وأنشطة الكائن الحى، وهى تشمل الإنزيمات التى تعدل التفاعلات الكيميائية بالكائنات الحية والأجسام المضادة التى تعطى الجسم مناعة ضد الأجسام الغريبة والهرمونات وغير ذلك من المواد التى تمكن الكائنات الحية من الاستجابة للتغير المستمر فى البيئة الداخلية والخارجية.

وتعزى الفروق بين البروتينات المختلفة إلى الفروق فى أعداد وأنواع وترتيب الأحماض الأمينية فى عدد الببتيدات، كما تعزى إلى عدد عديد الببتيدات التى تدخل فى بناء البروتين بالإضافة إلى الروابط الايدروجينية الضعيفة التى قد تعطى للجزئ شكله المميز، وعملية تخليق البروتين عملية معقدة تتضمن تداخل العديد من الأنواع المختلفة من الجزيئات وخاصة الأنزيمات.

ملخص لعملية تخليق البروتين

لتخليق أى بروتين يتم نسخ الشفرة الوراثية له والموجودة على جزئ DNA إلى جزئ RNA الرسول messenger RNA (mRNA) الذى يحمل تلك الشفرة إلى الريبوسومات حيث يتم بناء هذا البروتين. وتحدد الشفرة الوراثية الموجودة على جزئ DNA وبالتالى على جزئ mRNA ترتيب الأحماض الأمينية التى ستكون عديد الببتيد، إلا أن «كلمات الشفرة» فى mRNA لا تتعرف بشكل مباشر على الحمض الأمينى المقابل ولكنها تحتاج إلى جزئ موصل adaptor هو transfer RNA (tRNA) . وهناك جزئ RNA خاص بكل حمض أمينى، ويرتبط

أحد طرفى هذا الجزيئ بالحمض الأمينى الخاص به، كما يوجد على جزء من tRNA تتابع للنيوكليوتيدات أى مقابل الكودون يتعرف على ويتزاوج مع تتابع للنيوكليوتيدات (كودون) على mRNA وعند قرءاة شفرة mRNA من على الريبوسوم فإن جزيئات tRNA تصل بالتتابع وتعطى أحماضها الأمينية إلى سلسلة عديد الببتيد النامية. وتستخدم جزيئات tRNA المرة بعد الأخرى فى نقل الأحماض الأمينية، كما أن جزيئات mRNA يمكن أن تترجم أكثر من مرة لتعطى العديد من نسخ عديد الببتيد الذى تحمل شفرته . ثم يتكون من عديد الببتيد جزئ البروتين. ولذلك يتضح أن الجين أو الجينات تتحكم فى تخليق البروتين (شكل ١٠٤) .



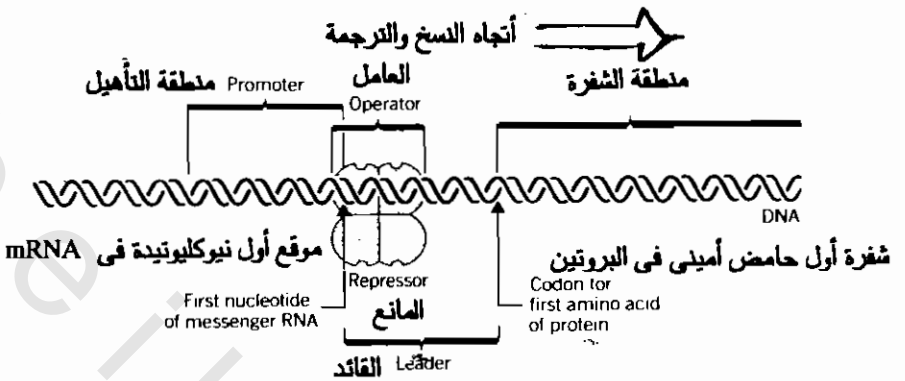
(شكل ١٠٤) : خطوات تخليق البروتين من DNA .

التثبيط والتوهين

لكى يتمكن مهندس الوراثة genetic engineer من تنظيم عملية إنتاج RNA يجب أن يتحكم فى كيفية البدء والإنتهاء فى عملية الإنتاج حيث أنه إذا لم يمكنه كيف ومن أين يبتدأ فستكون عملية إنتاج RNA مختلفة وأيضا إذا لم يمكنه كيف ومتى ينتهى من العملية فسيحدث إختلال فى إنتاج RNA . يمكن التحكم فى ذلك بواسطة طريقتين وهما المنع أو التثبيط repression والتوهين attenuation وقد تم دراسة هاتين الطريقتين بالتفصيل فى البكتيريا.

دراسة تحكم الجين فى الصفة عن طريق إستخدام الموانع أو المثبطات repressors أجريت على بعض الحالات ولكنها درست بكثرة فى حالة الأنزيمات المحللة للمركبات الغذائية التى تتكون داخل الخلية البكتيرية. تتميز هذه الأنزيمات المدروسة بأنها لا تنتج داخل الخلية البكتيرية إلا فى حالة وجود المركب الغذائى الذى تحلله substrate فى داخل الخلية البكتيرية. بمعنى أنه فى حالة عدم وجود المركب داخل الخلية البكتيرية لا يتكون الأنزيم. ومثال ذلك إنزيم لاكتيز داخل البكتيريا *E. coli* . وقد وجد أن الجين أو الجينات التى تتحكم فى الأنزيم تتوقف عن عملها وبالتالى لا ينتج الإنزيم فى حالة وجود نوع معين متخصص من البروتين يسمى المانع repressor والذى يرتبط بحلزونى DNA فى منطقة ملاصقة لبداية المنطقة الخاصة بالجين وبالتالى يمنع الجين من إظهار تأثيره. حيث أن وجود المانع يمنع إنزيم RNA polymerase من إداء عمله وبالتالى لا تتكون رسالة من الجين أى لا يتكون mRNA خاص بهذا الجين والعكس صحيح عند توفر سكر اللاكتوز داخل الخلية البكتيرية فإن المانع يترك مكانه على الجين ويلتصق بالسكر ولذلك يصبح الجين قادر على عمل رسالة message ويصبح إنزيم RNA polymerase قادر على العمل فى منطقة الجين ودائما يرتبط الأنزيم بالـ DNA فى منطقة قريبة من الجين تسمى منطقة التأهيل promoter . يتحرك الأنزيم من منطقة التأهيل إلى منطقة الجين ويتكون فى هذه المنطقة mRNA قصير يسمى القائد leader أى leader mRNA ثم يلى ذلك تكوين mRNA الخاص بمنطقة الجين والمكون لشفرات الجين ثم يلتصق mRNA بالريبوسومات لتكوين البروتين المكون لأنزيم اللاكتيز نتيجة لتكوين الأنزيم يتم تحليل سكر اللاكتوز. بعد تمام تحليل سكر اللاكتوز لا يجد المانع السكر ليلتصق به فينتقل ويرتبط مرة أخرى بالجين فى منطقة تسمى العامل operator وبذلك يمنع الجين من أظهار

تأثيره (شكل ١٠٥) أى أنه يمنع تكون الرسالة الخاصة بتكوين أنزيم اللاكتيز وبمعنى آخر

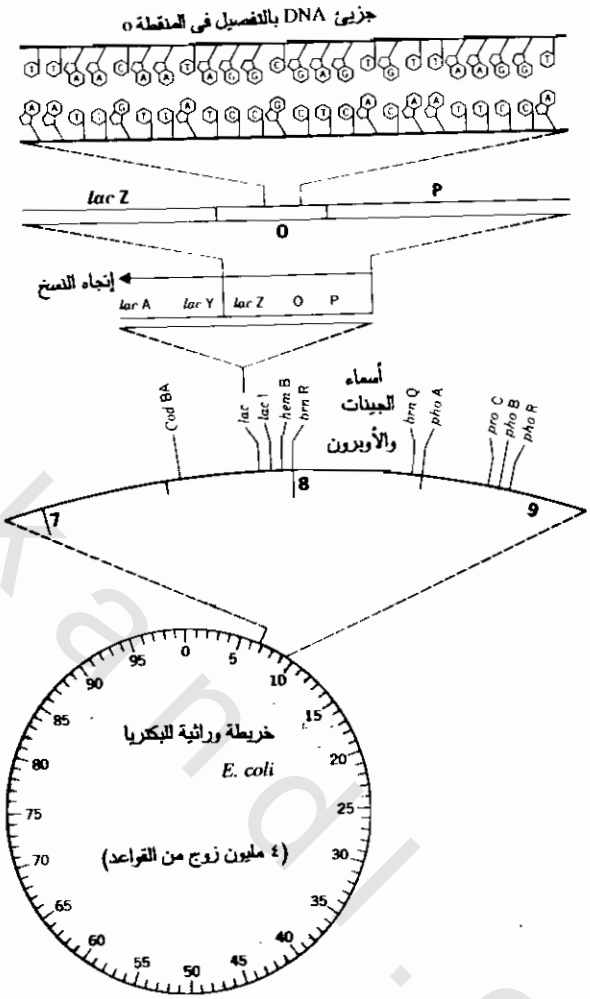


(شكل ١٠٥) : التحكم فى إبراز صفة الجين بواسطة gene expression repressor

يمنع تكوين mRNA الخاص بأنزيم اللاكتيز. ومما هو جدير بالذكر أن لكل جين مانع خاص به وأيضا منطقة تأهيل خاصة به. ولهذا النظام فائدة عظمى للخلية حيث أنه يوفر الطاقة اللازمة لإنتاج الأنزيمات فى عدم وجود مادة التفاعل substrate وحيث يكون إنتاج الأنزيمات غير مفيد للخلية. هذه الأنزيمات التى تتميز بأنها تتكون فقط فى وجود مادة التفاعل تسمى بالأنزيمات التأقلمية adaptive enzymes ويوجد منها الكثير فى الكائنات الحية الدقيقة مثل البكتيريا والفطريات والميكوبلازما. أحيانا تمنع مجموعة من الجينات قريبة من بعضها من أظهار تأثيرها بواسطة مانع واحد فقط فتسمى هذه المجموعة من الجينات أو بيرون operon . ومن أحسن الأمثلة لذلك حالة سكر اللاكتوز فى خلية البكتيريا حيث أنه يوجد ٣ جينات متقاربة هى التى تتحكم فى التحول الغذائى لسكر اللاكتوز وتخليق إنزيم اللاكتيز ويسمى الـoperon فى هذه الحالة باسم lac . والجينات الثلاثة هى lac Z ، lac Y ، lac A متراصه بجانب بعضها على الكروموسوم البكتيرى بالقرب من الموقع ٨ للخريطة الكورموسومية near map position 8 . يبدأ عمل إنزيم RNA Polymerase من المكان P ويتجه ويستمر فى عمله

حتى نهاية الجين lacA . أى أن الأنزيم يتوقف عمله تماما بعد إتمام مروره على الجين lac A . وعندما يرتبط مانع أوبيرون lac فى منطقة الجين lac 1 مع lac operator وهو المنطقة O فإن عملية نسخ mRNA تتوقف تماما بالنسبة لهذه الثلاث جينات. ومما هو جدير بالذكر أن تتابع الـ nucleotides فى هذه المنطقة من الكروموسوم البكتيرى معروف تماما كما أن تتابع nucleotides فى هذا المانع معروف كما هو فى الشكل (شكل ١٠٦) .

أما فى حالة التوهين attenuation فأنه يتكون شريط قصير من mRNA . درست هذه الحالة دراسة مستفيضة على الجينات التى تقوم بتخليق الأحماض الأمينية. حيث أنه من المعروف أنه لابد من وجود توازن فى كمية الأحماض الأمينية فى الخلية وعددها عشرون وعند وجود حامض أمينى بتركيز عال فى الخلية فإن الخلية توقف إنتاج هذا الحامض لفترة وبذلك فإنها تدخر وتحفظ الطاقة اللازمة لإنتاج هذا الحامض الأمينى الزائد عن حاجة الخلية. أى أنه يوجد حفظ وتنظيم لطاقة الخلية المستعملة فى إنتاج الأحماض الأمينية. يحدث ذلك فى الخلية عن طريق عملية التوهين. ومثال ذلك حالة التوهين فى جينات الحامض الأمينى تريتوفان. حيث أن أنزيم RNA polymerase يبتدأ فى عمل mRNA على بعد مسافة محدودة من بداية أول جين فى الرسالة. ينتج عن ذلك ما يسمى RNA القائد leader RNA وهذا الأخير يتكون منه بروتين قصير قائد a short leader protein . ويوجد على RNA القائد كودونات تحتم وجود التريتوفان فى البروتين القائد. وفى منطقة القائد leader region (وهى الجزء من DNA الذى يبدأ بمنطقة نشاط RNA polymerase وينتهى عند بداية أول جين فى الرسالة) يوجد أشارة وقوف فعاله active stop signal تسمى الموهن attenuator . عند وجود تركيز عال من التريتوفان فإن الريبوسومات تكون قادره على تخليق البروتين القائد ونتيجة لذلك فإن منطقة موهن الـ attenuator region of RNA - RNA تنطوى وتلتوى بطريقة معينة وتمنع وتوقف نشاط إنزيم RNA polymerase . وبذلك يتوقف تكوين البروتين الخاص بتكوين وتخليق التريتوفان. ولكن فى وجود ندره فى تركيز التريتوفان. فإن حركة الريبوسوم تتأخر أو تتوقف عندما يصل إلى منطقة كودونات التريتوفان فى RNA القائد اللازم لتكوين البروتين القائد. تأخير أو توقف الريبوسوم يمنع الموهن من تأثيره على وقف نشاط إنزيم RNA polymerase ولذلك ينشط هذا الأنزيم ويستمر فى عمله على جزيئ DNA ليكون رسالة



(شكل ١٠٦) : operons على الكروموسوم البكتيرى للبكتيريا *E. coli* . الكرموسوم البكتيرى أى DNA يكون حلقى ويقسم إلى ١٠٠ وحده. تكبير جزء من DNA عدد الوحدة رقم ٨ يوضح مكان lac operon. يوجد جينات lac Z و lac Y و lac A تتحكم فى تخليق سكر اللاكتوز. يتم نسخ هذه الثلاث جينات فى mRNA واحد.

P أى pormoter وهى المنطقة التى فيها بإنزيم RNA polymerase يرتبط بجزيئ DNA أما عن O أى operator وهى المنطقة التى فيها يرتبط repressor بالجزيئ. Lac Z هى عبارة عن الجين المسئول عن تكوين الأنزيم الذى يحلل اللاكتوز. ترتيب النيوكليوتيدات فى DNA فى الجين الخاص بسكر اللاكتوز معروف تماما. أعلى الرسم جزيئ تفصيلى لمنطقة O على الكروموسوم البكتيرى.

كاملة entire message . ويتكون mRNA كامل يحمل كل مواصفات الجينات الداخلة فى تخليق البروتين اللازم لتكوين الأنزيمات اللازمة لتخليق التربتوفان. كل واحد من هذه الجينات له موقعه الخاص على mRNA وله مكان للبداية start site للربط بالريبوسومات خاص به. وهكذا فإن تركيز التربتوفان فى الخلية يتحكم وينظم تخليق التربتوفان.

مما سبق يتضح أن المنع والتوهين هما طريقتان هامتان لكى تتحكم الخلية فى إنتاج مركبات لازمة لها وتمنع تكوين مركبات غير لازمة. ومثال لذلك فى الأنسان أو الحيوان أو النبات فإن الخلية تحتوى على جينات كثيرة بعض هذه الجينات يحتاجها الكائن الحى فى فترة من فترات حياته فقط لأنها تتحكم فى إنتاج مركبات معينة مطلوبة فى فترة معينة بينما تكون هذه المركبات غير مطلوبة فى فترة أخرى من الحياة. ولذلك يجب منع الجينات عن إنتاج هذه المركبات ويكون ذلك بالمنع أو التوهين أو كليهما. ومن أمثلة ذلك الإنسان يمكن أن تنطبق عليه هذه القاعدة ففى مرحلة مرحلة البلوغ تتكون مركبات أو وحدات لا يكونها فى مرحلة الطفولة قد تكون هذه هورمونات معينة أو أنزيمات أو مركبات معينة أو مركبات معينة ففى مرحلة البلوغ فى الذكور تتكون الحيوانات المنوية التى لا تتكون بالطبع فى مرحلة الطفولة أو الصبى.

يعتبر نقل جينات وصفة تخليق الأنسولين من الإنسان إلى البكتيريا من الأنجازات العظيمة للهندسة الوراثية. ولكن بعد نقل هذه الجينات إلى البكتيريا كيف تتحكم فى تنشيط أو منع هذه الجينات من أداء وظيفتها. حيث أنه بعد نقل هذه الجينات إلى البكتيريا فإننا نحتاج أولا أن نمنع البكتيريا من إنتاج الأنسولين لكى تتكاثر بكفاءة عالية وتنتج أعداد هائلة من الخلايا البكتيرية وبعد ذلك ننشط هذه الأعداد الهائلة من الخلايا البكتيرية لإنتاج بروتين الأنسولين وبذلك يمكن الحصول على كميات كبيرة من الأنسولين وتصبح الطريقة إقتصادية. يمكن التحكم فى ذلك بواسطة المنع. حيث يوضع الجين أو الجينات الخاصة بإنتاج الأنسولين فى DNA البكتيرى مباشرة بعد منطقة المانع. وعن طريق إزالة المانع أو وضعه فى مكانه يمكن التحكم فى إنتاج الأنسولين أو وقفه وهكذا يمكن التحكم فى إنتاج الأنسولين أو وقفه فى الخلية البكتيرية تبعا للحاجة وتشابه هذه الحالة تحليل المركبات الغذائية المتوفرة أو الغير متوفرة داخل الخلية البكتيرية والتى تتحكم فى أزالة أو ربط المانع.

الأنزيمات والهندسة الوراثية

تستعمل الأنزيمات كأداه هامة فى تجارب الهندسة الوراثية وتحتاج الأنزيمات إلى عزلها وفصلها من خلايا أو أنسجة العائل ثم يتم تنقيتها قبل إستعمالها فى التجارب، ومثال لذلك أنزيم DNA polymerase . يمكن خلط الخلايا البكتيرية المحتوية على هذا الأنزيم بكرات زجاجية صغيرة الحجم ثم سحق هذا المخلوط المتكون من الكرات والخلايا فى خلاط. يجب أستعمال كمية كبيرة من الخلايا البكتيرية حوالى نصف كيلو وأن تخلط الخلايا البكتيرية بالمحلول المنظم قبل العمل. وفى أثناء أستعمال الخلاط تسبب كرات الزجاج تجريح وكسر جدار الخلايا البكتيرية وبذلك تختلط محتويات الخلايا البكتيرية ببعضها وتسمى مستخلص الخلايا cell extract . ثم يتم عزل وفصل هذا الأنزيم من مستخلص الخلايا فى خطوات عديدة كما يلى. تختلف المحتويات المختلفة للخلية والعضيات organells والأنزيمات فى خواصها الكيماوية والطبيعية وأحجامها ووزنها الجزيئى ولذلك يمكن فصلها عن بعضها بواسطة القوة الطاردة المركزية. يمكن أستعمال قوه طاردة مركزية بسرعات مختلفة. توجد محتويات الخلايا الكبيرة وذات الوزن الجزيئى الكبير مترسبة فى قاع أنبوبة جهاز الطرد المركزى وتوجد الأنزيمات فى السائل supernatant الموجود فى الأنبوبة.

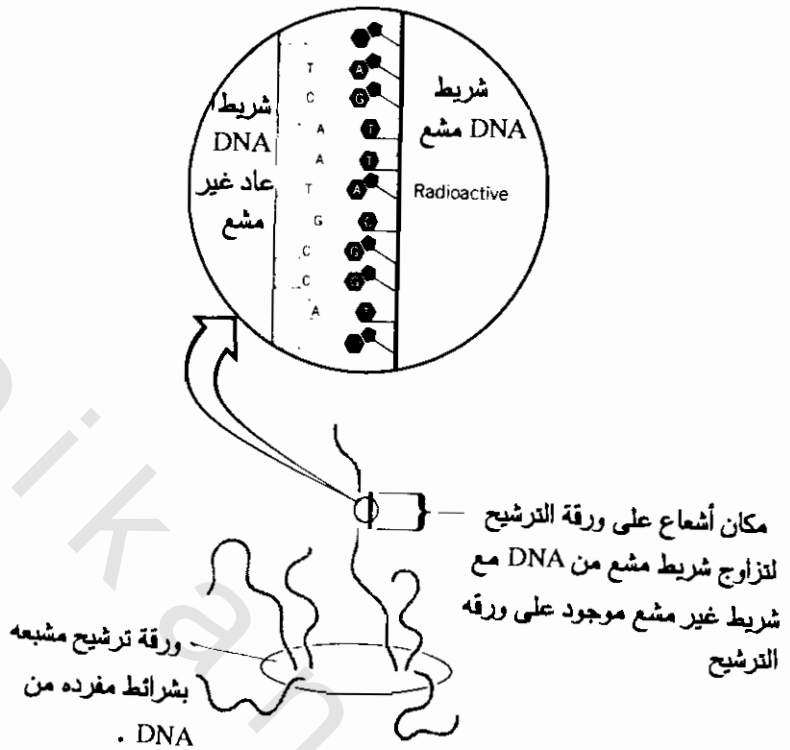
بعد عملية الإستخلاص يجب تنقية الأنزيم ويكون ذلك عادة بواسطة طريقة العمود للتحليل الكروماتوجرافى column chromatography . حيث توجد أنبوبة زجاجية رأسية مفتوحة من أسفل ممتلئة بمواد صلبة معينة فقد تكون نوع معين من سليكا جل silica gel أو مسحوق الورق ground - up paper المعامل كيماويا آلخ. ثم يصب السائل الناتج من الطرد المركزى من أعلى الأنبوبة ويمر السائل خلال مادة العمود وبعض مكونات السائل ستلتصق بماده العمود والأخرى ستمر خلال العمود وتمر خلال فتحة العمود السفلية وتجمع فى أنبوبة إختبار. يصب من أعلى محلول ملحى مخفف أو أى محلول مناسب فإن بعض المكونات الملتصقة بمادة العمود تنتقل إلى المحلول الملحى ويجمع المحلول الملحى من أسفل فى أنبوبة إختبار. ثم يصب محلول ملحى أكثر تركيز وهكذا تكرر العملية مرات عديدة. نحصل فى النهاية على أنابيب أختبار بها محاليل عديده. وبذلك يتم فصل وتنقية الأنزيمات من مستخلص الخلايا.

يجب الكشف عن وجود الأنزيم فى أنابيب الأختبار المختلفة ويكون ذلك بخلط الأنزيم مع مادة التفاعل. وفى حالة حدوث التفاعل يكون ذلك دليل على وجود الأنزيم. ولذلك يخلط السائل الموجود فى أنبوبة الأختبار مع شريط مفرد من DNA single - stranded DNA مع نيكليوتيدات حره مختلفة ويكون فيها أحد القواعد معلم أى مشع وليكن ثيمين T . يتم وضع المخلوط فى حضان درجة حرارته ٣٧م وذلك لتوفير درجة حرارة ملائمة لنشاط الأنزيم وذلك لمدة ساعة. ثم يضاف حامض مبرد cold acid إلى المخلوط فيحدث تجمع لجزئيات DNA مع بعضها لتكون راسب أبيض فى أنبوبة الإختبار. ثم يرشح المخلوط السابق خلال ورقة ترشيح ويمر الراشح عبر ورقة الترشيح ويبقى على ورقة الترشيح راسب عبارة عن DNA . تعتبر النيوكليوتيدات الحرة قصيرة وصغيرة وتكون معلقة فى وجود الحامض ولا ترسب فى قاع أنبوبة الأختبار وعند إجراء عملية الترشيح فإنها تنفذ مع الراشح ولا تترسب على ورقة الترشيح. ولذلك يترسب فقط على ورقة الترشيح DNA الذى تكون من النيوكليوتيدات الحرة نتيجة لنشاط الأنزيم. ولذلك فقياس درجة الأشعاع على ورقة الترشيح هو دليل على وجود الأنزيم ودرجة نشاطه. وكلما زادت درجة الأشعاع على ورقة الترشيح كان ذلك دليل على كفاءة ونشاط الأنزيم. معنى ذلك أن درجة الأشعاع هى مقياس لعدد النيوكليوتيدات المشعة الموجودة فى DNA وهى مقياس لدرجة نشاط الأنزيم (شكل ١٠٧) .

يمكن عمل الترشيح كل دقيقة من مخلوط التفاعل وقياس درجة الأشعاع على ورقة الترشيح كل دقيقة وبذلك يمكن الحكم على سرعة التفاعل ودرجة نشاط الأنزيم فى مستخلص الخلايا. وبذلك يمكن التأكد من وجود أو عدم وجود الأنزيم فى مستخلص الخلايا. لكل أنزيم طريقة خاصة لعزله وفصله وتنقيته والتعرف عليه.

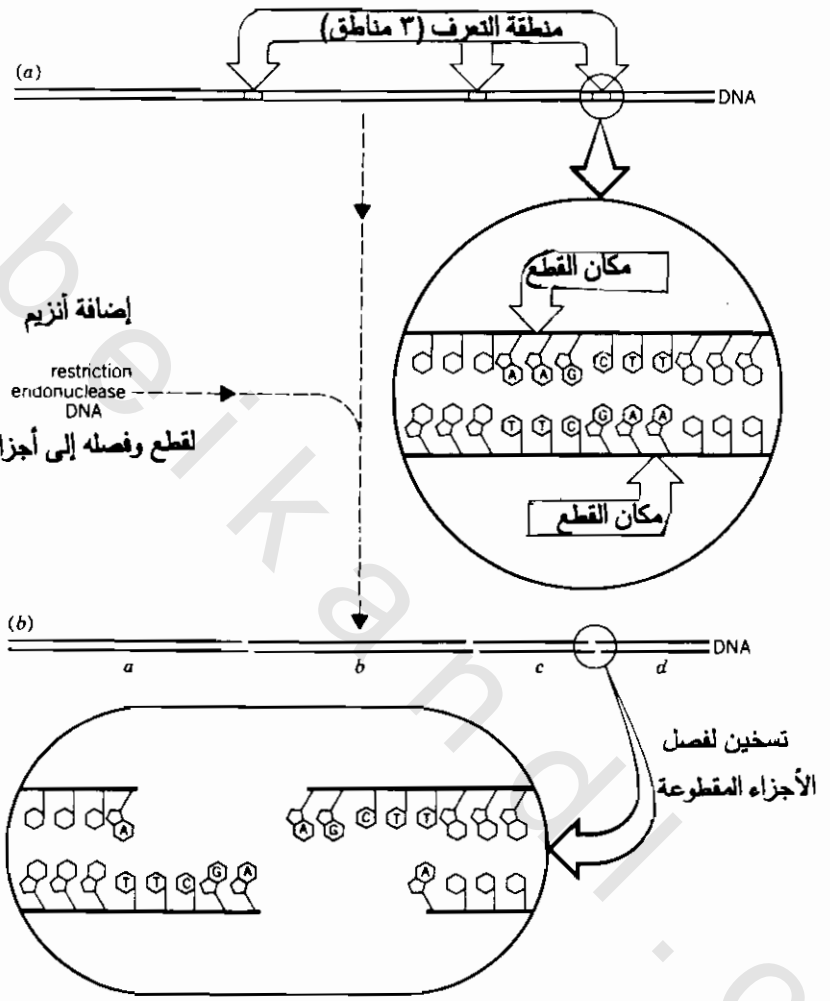
أنزيمات القطع (التجزيئ) Restriction Endonucleases

عبارة عن مجموعة من الأنزيمات تقوم بقطع DNA فى مناطق معينة. وهذه الأنزيمات يمكنها أن تتعرف على تتابع النيوكليوتيدات فى DNA وبعد كل أربعة أزواج أو ستة أزواج عادة من القواعد (النيوكليوتيدات) فإنها تقوم بقطع شريطى DNA وتسمى منطقة عمل الأنزيم على DNA فى هذه الحالة بمنطقة التعرف recognition site . والتى تشمل تتابع معين



(شكل ١٠٧) : التهجين بين DNA . وتزواج بين شريط مشع من DNA مع شريط (حلزون) آخر غير مشع. يصبح مكان التزاوج على ورقة الترشيح مشع. يستدل بالأشعاع على حدوث التزاوج.

من النيوكليوتيدات معروف لدى الأنزيم recognition sequences وتسمى النقطة التى يقطع عندها الأنزيم جزيئ DNA بمكان القطع cut site . يمكن أن يكون مكان القطع على شريطى DNA متقابلين ويمكن أن يكون غير متقابل ولذلك يكون القطع مائل ونقطتى القطع غير متقابلين staggered (شكل ١٠٨) وفى كلتا الحالتين فى القطع المتقابل والغير متقابل يكون مكان القطع هو العمود الفقرى backbone لجزئ DNA أى فى السلسلة المكونة من سكر دى أوكسى ريبوز وفوسفات ويظل شريطى DNA المقطوعين مرتبطين ببعضهما بواسطة الروابط الإيدروجينية للقواعد النيتروجينة ولذلك يجرى عملية تسخين هين لجزيئ DNA ينتج عنه فك الروابط الإيدروجينية ويصبح كل جزء مقطوع من شريطى DNA حر وغير



(شكل ١٠٨) : كيفية عمل إنزيمات القطع restriction endonuclease وحدوث قطع فى DNA غير متقابل staggered .

مرتبط مع ما يقابله من الشريط الآخر. أى أن الأنزيم يقطع السلسلة ولكن يلزم التسخين الهين لفك الروابط الإيدروجينية بين القواعد الإيدروجينية المتقابلة. إذا حدث القطع بواسطة الأنزيم فى ثلاثة مناطق فى جزيئ الـ DNA فينتج عن ذلك أربعة أجزاء من DNA أى أربعة قطع فى حالة التسخين الهين لهذه الأربع قطع من DNA تصبح ثمانية خيوط منفردة من DNA .

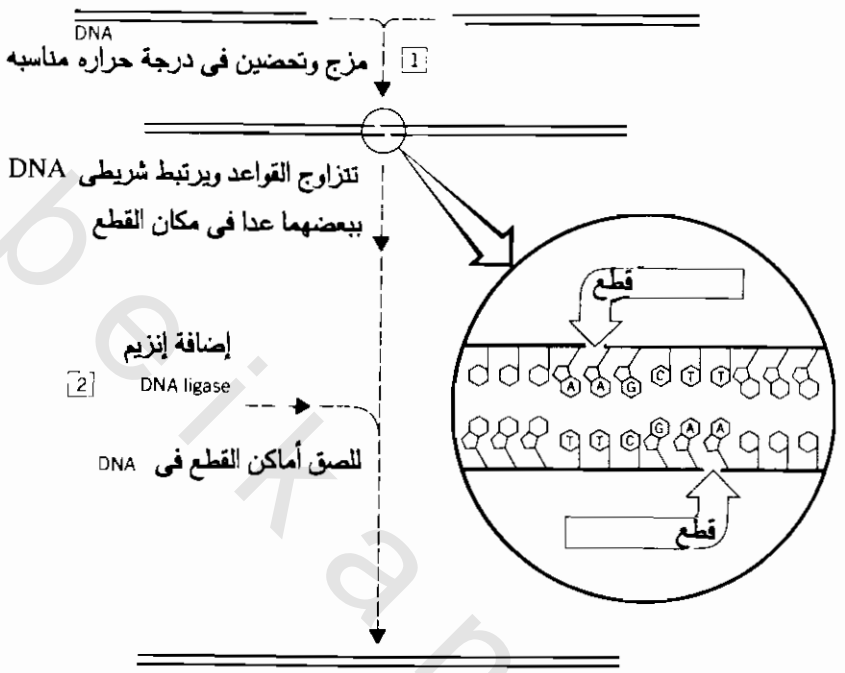
توجد أنواع عديدة من هذه الأنزيمات ـ أى أنزيمات قطع الـ DNA ـ والتى تختلف فيما بينها فى نوع تتابع النيوكليوتيدات الذى تعمل عليه recognition sequences . حيث أن كل أنزيم يعمل على نوع من التتابع معين ويساعد ذلك فى قطع جزيئ DNA إلى أجزاء عديدة وفى مناطق كثيرة تبعا لنوع الأنزيمات المستعملة وبذلك يمكن التحكم فى مكان القطع. تباع هذه الأنزيمات على نطاق تجارى.

إنزيمات الربط (الألتحام) Ligases

عندما يكون قطع جزيئ DNA بواسطة إنزيم القطع (التجزيئ) فى نقطتين غير متقابلتين فإنه ينتج أحد شريطى (خيطين) DNA به نيوكليوتيدات زائدة فى طرف من مكان القطع ونيوكليوتيدات أقل فى الطرف الآخر. أما عن الشريط الآخر فيكون العكس صحيح حيث أن الطرف الأول به نيوكليوتيدات أقل من الطرف الآخر. ولذلك تسمى الأطراف المقطوعة بالأطراف اللزجة sticky ends . تكون النيوكليوتيدات الموجودة فى أحد الشريطين ولتكن أربعة مكملة للنيوكليوتيدات فى الشريط الآخر فى مكان القطع. ولذلك عند وضع هذه الأشرطة مع بعضها فى درجة حرارة مناسبة فإن الأطراف اللزجة تلتحم نتيجة لتوافق وإرتباط القواعد النيتروجينية على كلا الشريطين ويرتبط الشريطين ببعضهما ولا يوجد أى أثر لمكان القطع. يمكن أيضا (شكل ١٠٩) عمل الألتحام بين الأطراف اللزجة بواسطة إنزيم الربط (الألتحام) DNA ligase . ومما هو جدير بالذكر فإنه يوجد أيضا أنزيمات الربط DNA ligases يمكنها عمل إلتحام الأطراف المستوية blunt ends وهذه الأطراف لا تعتبرأطراف لزجة ولا يمكنها أن تلتحم إلا فى وجود أنزيم الربط وذلك على العكس فى حالة وجود الأطراف اللزجة التى يمكن أيضا أن تلتحم فى عدم وجود الأنزيم. تنتج الأطراف المستوية نتيجة لعمل إنزيم القطع فى نقطتين متقابلتين تماما على شريطى (خيطين) جزئى DNA .

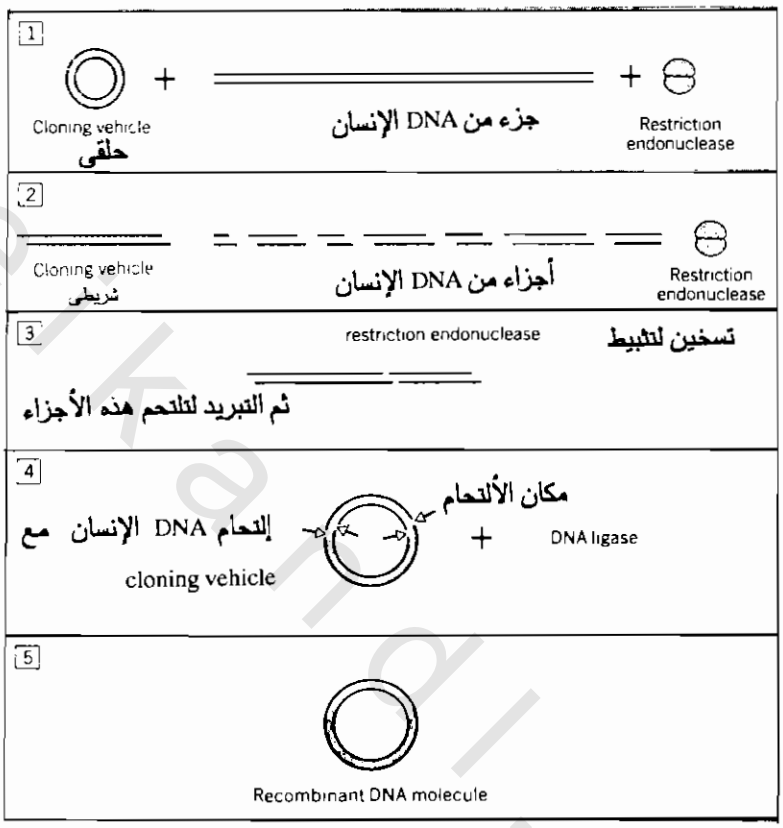
القطع والإلتحام Cutting and Splicing

بمعنى آخر قص ولزق. حيث يستعمل ذلك عند نقل صفة من كائن معين إلى حاملات وناقلات الجينات أى عربات إحتواء الجينات cloning vehicle مثل البلازميدات. فعند نقل صفة من الإنسان فأنه يتم خلط عربات إحتواء الجينات (البلازميدات) مع DNA الإنسان مع إنزيم



(شكل ١٠٩) : إلتحام جزيئات شريطى DNA مع بعضهما. يلاحظ أن جزيئات الشريطين لهما أطراف لزجة sticky ends .

القطع (r. e.) . ينتج عن ذلك قطع عرية إحتواء الجينات (البلازميدات) الدائرية وتصبح مستقيمة كما يتم تقطيع DNA الإنسان إلى أجزاء مستقلة عديدة ولتكن سبعة أجزاء نتيجة لعمل أنزيم القطع (r. e.) . يمكن أن تكون الأطراف لزجة. يمكن لجزء من DNA الإنسان أن يلتحم مع عريه إحتواء الجينات المستقيمة وخاصة بعد تسخين معتدل لوقف نشاط الأنزيم (r. e.) ثم التبريد حيث يساعد التبريد على إلتصاق الأطراف اللزجة. ثم يضاف إنزيم الربط (الألتحام) ligase ليتم إلتصاق وألتحام جزء من DNA الإنسان إلتحام كامل بعرية إحتواء الجينات والتى تصبح دائرية مرة أخرى ولكنها تحتوى على جزء من DNA الإنسان. يتم بذلك نقل الصفة من الإنسان إلى عريات إحتواء الجينات (شكل ١١٠) .



(شكل ١١٠) : تكوين recombinant جزيئ DNA .

١ ـ جزء من DNA الإنسان و cloning vehicle وأنزيم R. E. .

٢ ـ قطع فى cloning vehicle ليصبح شريطى وتجزيئ DNA الإنسان إلى أجزاء كثيرة فى وجود إنزيم R. E. وجميع هذه الأجزاء لها أطراف لزجة.

٣ ـ التسخين الهين والتبريد يمكن أن تلتقى وتلتصق أجزاء من DNA الإنسان مع cloning vehicle .

٤ ـ إلتحام DNA و cloning vehicle تماما فى وجود DNA ligase فى أماكن الأطراف اللزجة.

٥ ـ تكوين جزيئ حلقى من cloning vehicle و DNA الإنسان أى recombinant.

المجسات The Probes

يتم قطع DNA فى مناطق معينة بواسطة إنزيم القطع restriction endonuclease نقى وينتج عن ذلك قطع أو أجزاء عديدة من DNA . يتم وضع هذه الأجزاء فى عربات أحتواء الجينات cloning vehicles بواسطة إنزيم الربط DNA ligase نقى. توجد هذه الأنزيمات متوفرة وتباع تجاريا نقيه. تنقل هذه العربات c. v. إلى داخل العائل host أو vector ويكون فى هذه الحالة البكتيريا إيشيريشيا كولاى E.coli . ثم يتم تنمية هذه البكتيريا على بيئة الآجار المغذى أو أى بيئة آجار أخرى مناسبة. بعد تماما نمو البكتيريا على بيئة الآجار وتكوينها مستعمرات colonies بكتيرية تؤخذ هذه الخلايا البكتيرية ويتم كسر جدارها ويتم التعامل مع DNA البكتيرى وتحويله من DNA ثنائى الشريط double stranded DNA إلى DNA أحادى الشريط single stranded DNA وهكذا يصبح DNA أحادى الشريط قابل للتزاوج أى أن القواعد النيتروجينية على هذا الشريط قابلة للتزاوج مع قواعد نيتروجينية أخرى متوافقة the bases available for base - pair-ing ليتكون شريط آخر مشابه من RNA أو DNA تبعا للطلب. ثم يعامل DNA أحادى الشريط بواسطة مجس مشع radioactive probe . المجس the probe عبارة عن DNA أو RNA مكمل complementary للجين تحت الدراسة ويتحسس المجس هذا الجين المطلوب ويتكامل معه ليكون جزء متكامل من DNA أو RNA لهذا الجين. يتحسس المجس الجين المطلوب ولا يتكامل إلا مع الجين المطلوب. ومن ذلك يتضح أن لابد أن يكون الجين تحت الدراسة معروف تركيبه بالتفصل لكى يمكن عمل المجس الخاص به. يمكن بعد ذلك التعرف على المستعمرات البكتيرية المشعة وهى التى تحتوى الجين المطلوب وأما المستعمرات البكتيرية الغير مشعة فإنها لا تحتوى الجين المطلوب وتستبعد.

كيفية الحصول على المجس the probe يكون بعديد من الطرق. أولا يمكن عزل mRNA من الجين المطلوب. حيث يتم ذلك بتنمية الخلايا البكتيرية فى وجود قواعد نيتروجينية مشعة وهذه الطريقة غير عملية حيث أنه للحصول على mRNA مشع طبيعى وبه درجة مناسبة من الأشعاع لابد من تعريض الخلايا لكميات كبيرة وتركيزات كبيرة من هذه القواعد النيتروجينية المشعة والتى تسبب عادة موت الخلايا البكتيرية. وعند الحصول على mRNA مشع يمكن إستعمال إنزيم النسخ العكسى reverse transcriptase لتخليق DNA . يمكن الحصول

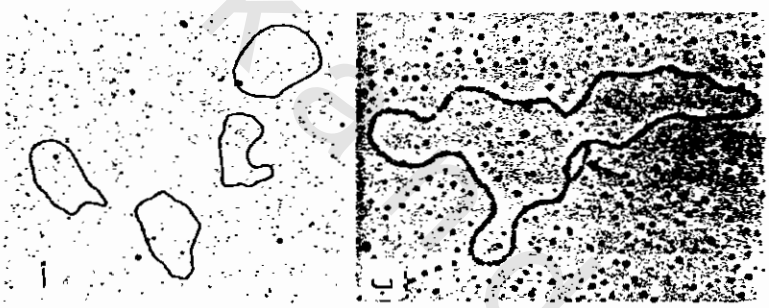
على هذا الأنزيم بتنقية فيروسات RNA مسببة الأورام RNA tumor viruses . ينتج عن ذلك الأنزيم خيط واحد من DNA ثم يعامل الأخير بأنزيم البلمرة DNA polymerase فينتج الخيط الآخر لجزيئ DNA . وحيث أن DNA الناتج بهذه الطريقة يمكن الحصول عليه عمليا من تجارب فى أنبوبة الإختبار والذى يسمى DNA تكميلى complementary DNA (c DNA) فإنه يمكن الحصول عليه مشع بإستخدام قواعد نيتروجينية مشعة.

والطريقة الثانية للحصول على المجس probe وهى الأكثر تفضيلا فهى تشمل تنقية البروتين الناتج من الجين المطلوب تحت الدراسة. يمكن معرفة تتابع الأحماض الأمينية فى هذا البروتين بطرق تحليل كيماوى خاصة. وحيث أن كل حامض أمينى له كودون على DNA الجين المطلوب. وبذلك يمكن التكهن بترتيب وتتابع الديوكليوتيدات فى الجين المطلوب من دراسة تتابع الأحماض الأمينية فى البروتين تحت الدراسة. يقال هنا التكهن prediction وليست بالتأكيد لأنه من المعروف أن كثير من الأحماض الأمينية لها أكثر من كودون. بعد ذلك يتم تخليق DNA تركيبى كيماويا ويكون قصير الطول وأن يتم تركيبه بإضافة قاعدة نيتروجينية واحدة (نيوكليوتيد واحد) واحدة تلو الأخرى one base at a time وذلك ليتكون DNA المتكهن بتركيبة أو المطلوب تركيبه حسب الطلب. ومما هو جدير بالذكر أنه توجد أجهزه الآن قادرة على أكتشاف تتابع الأحماض الأمينية فى البروتين وأن تخلق أيضا DNA قصير تركيبى synthesized . يوجد إنزيم kinase كينيز نقى يستعمل لإضافة فوسفور مشع إلى جزيئ DNA التركيبى وبذلك يصبح هذا الجزيئ من DNA مجس ذو درجة عالية من الأشعاع highly radioactive probe .

البلازميدات Plasmids

تعتبر البلازميدات جزيئات صغيرة حلقية وذات زوج من خيطى (شريطى) double DNA stranded DNA . يوجد عليها جزء خاص من DNA يسمى منشأ مكان التضاعف origin of replication . تتكون البلازميدات طبيعيا فى الخلايا البكتيرية. منشأ مكان التضاعف يعتبر إشارة بدء start signal لبدء نشاط إنزيم البلمره DNA (DNA polymerase) ولتضاعف DNA فى داخل الخلية البكتيرية. توجد أنواع عديدة من البلازميدات وهى تختلف فى طولها أى

أتساع وقطر الحلقة وعدد الجينات التى تحتويها. بعض البلازميدات الصغيرة تتكون من ٥٠٠٠ نيوكليوتيد (زوج) ـ خمسة آلاف ـ وهى كافية لتكوين خمسة أنواع من البروتين متوسطة الحجم. يستعمل ويفضل هذا البلازميد الصغير فى الهندسة الوراثية وفى نقل الجينات. يتضح صغر حجم هذا البلازميد بالمقارنة بالكروموسوم البكتيرى فى E. coli حيث أن DNA هذه البكتيريا يتكون من أربعة مليون زوج من النيوكليوتيدات وقد يزيد قليلا وأما فى جسم الإنسان فإنه توجد أربعة بلايين زوج من النيوكليوتيدات فى نواه الخلية. توجد بلازميدات كبيرة الحجم وهى قابلة للإنتقال من خلية بكتيرية إلى أخرى ولكنها غير مفضلة للعمل بها فى الهندسة الوراثية ونقل الجينات لصعوبة التعامل معها وذلك طبعا لكبر حجمها (شكل١١١).



(شكل١١١) :البلازميدات

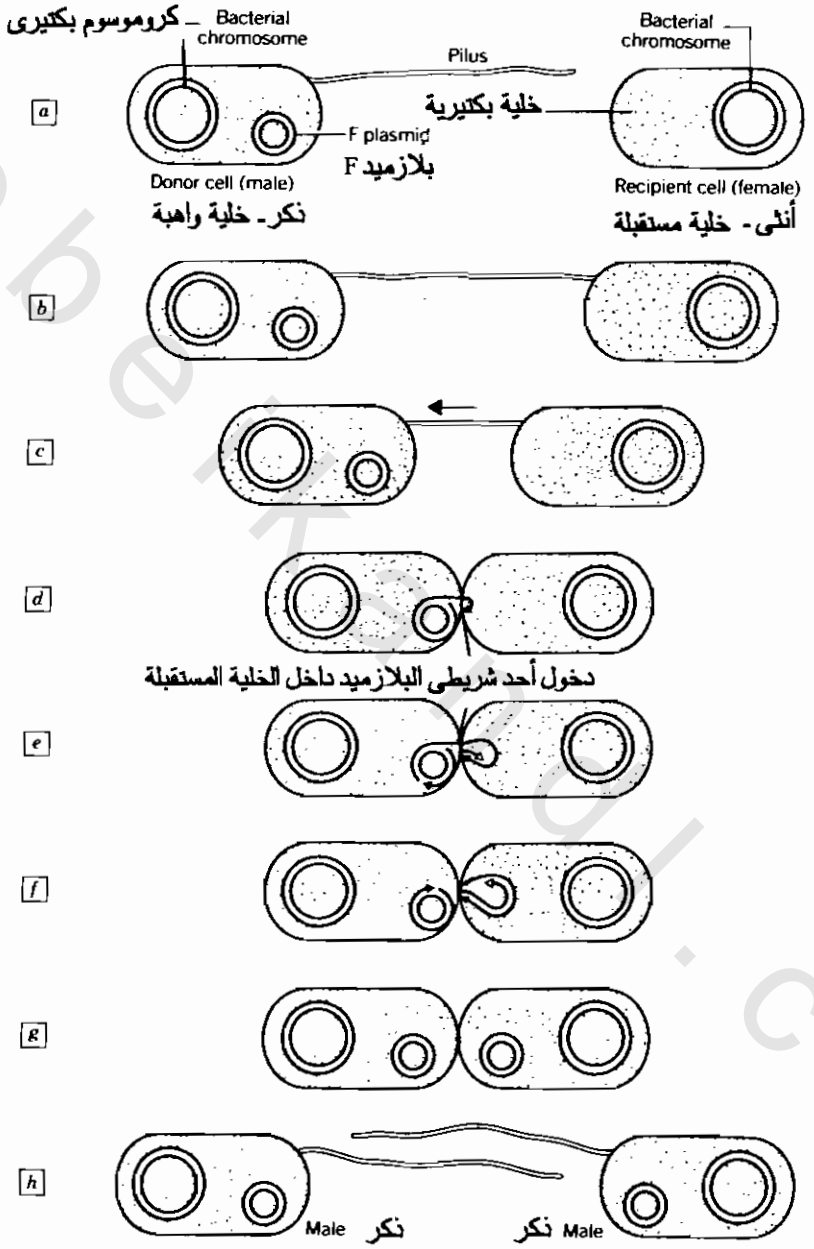
أ ـ أربعة بلازميدات.

ب ـ بلازميد مكبر ويشير السهم إلى منطقة قصيرة يكون فيها الـ DNA وحيد الشريط single - stranded .

أتضح أن العامل F يوجد فى خلية الذكر فى السيتوبلازم وقد سمى F particle ويتبع فى وراثته الوراثة السيتوبلازمية وينقسم مستقلا عن الكروموسوم. وفى بعض الأحيان القليلة قد يوجد بالكروموسوم ويسمى F factor العامل F ويعتبر كجزء مكمل للكروموسوم وتبعا لذلك ينقسم تبعا لانقسام الكروموسوم . وقد وجد أن ألتحام العامل F بالكروموسوم وإنفصاله ليصبح موجود بالسيتوبلازم وغير مرتبط بالكروموسوم يحدث عكسيا فى مناطق عديدة من الكروموسوم. أحيانا نجد أن المستعمرات الناتجة من خلية واحدة فيها F particle موجود فى

الستيوبلازم فى بعض الخلايا وأنه قد يلتحم بالكروموسوم ويصبح F factor وذلك فى بعض الخلايا الأخرى. توجد صفات أخرى فى البكتيريا غير الصفة F توجد على هيئة حالتين متبادلتين كروموسومية وسيتوبلازمية وهذه العوامل المتحكمة فى هذه الصفات تسمى episomes . أتضح بعد ذلك وهو الصحيح والثابت الآن أن F particle هى عبارة عن بلازميد F فى خليه *E. coli* ولذلك يسمى الآن بلازميد F plasmid F وهو عبارة عن عامل خصوبة Fertility factor . يسمى بعامل الخصوبة لأنه يتحكم فى تكوين زوائد مجوفة أنبوبية طويلة تتكون من البروتين تكون موزعة على سطح الخلية البكتيرية الذكرية وتسمى هذه الزوائد البيلى pili والمفرد بيلس pilus يمكن أن تسمى باللغة العربية الهديبيات حيث أنها زوائد دقيقة. وكل هديب يكون خيطى الشكل. يعتقد أن هذه الهديبيات لها دور حيوى فى الإلتصاق بسطح الخلايا المؤنثة أو قد يكون لها دور فى جذب الخلايا المذكرة فى إتجاه الخلايا المؤنثة. أما الخلايا المؤنثة فإنها لا تحتوى بلازميد F ولذلك فإن سطحها يكون خال من الهديبيات. وعندما تتقارب الخلايا المذكره والمؤنثة ويعتقد أنه قد يكون نتيجة لجذب أحد الهديبيات حيث أن هذا الهديب يلامس الخلية المؤنثة وينقبض ويقصر فى الطول ويسبب جذب كلا من الخلية المذكرة والخلية المؤنثة فى إتجاه بعضهما أى فى إتجاه كلا منهما الآخر حتى يتلامسا. ثم يحدث قطع فى البلازميد F فى أحد خيطى DNA . وينفك من حلزون DNA ويخترق خلية الأنثى. عند تواجد خيط DNA فى داخل الخلية المؤنثة فإنه فى الحال ينشط إنزيم البلمره DNA ويكون خيط أو شريط آخر مكمل وهكذا يصبح بالخلية المؤنثة بلازميد F. وفى هذه الأثناء أيضا ينشط أنزيم البلمرة DNA فى الخلية الذكرية ليكون خيط أو شريط آخر من DNA بدلا من الشريط أو الخيط المنتقل إلى الخلية المؤنثة. وهكذا يصبح بالخلية المؤنثة بلازميد F وكذلك فإنها تكون هديبيات وتصبح خلية مذكره. يلاحظ فى البداية وجود تزاوج بين خلية مذكرة وخلية مؤنثة وفى النهاية تصبح الخليتين ذكريتين. تسمى الخلية الذكرية دائما بالخلية الواهبة donor cell والخلية الأنثوية recipient cell بالخلية المستقبلة تنفصل بعد ذلك الخلايا عن بعضها وتصبح كل خلية مستقلة بذاتها (شكل ١١٢).

وفى بعض الحالات النادرة يمكن أن يلتحم البلازميد مع الكروموسوم البكتيرى ليتكون كروموسوم أى حلقة كبيرة giant circle وفى هذه الحالة يمكن أن ينتقل الكروموسوم البكتيرى من خلية إلى أخرى عن طريق البلازميد. يعتبر هذا التزاوج البكتيرى بين الذكر والأنثى نوع بدائى من أنواع الجنس primitive form of sex .



(شكل ١١٢) : خطوات تزاوج خليتين بكتيريتين أحدهما مذكره والأخرى مؤنثة.

تعتبر البلازميدات القابلة للإنتقال transmissible plasmids غير مفضلة كحاملات وناقلات للجنيات cloning vehicles لأنها يمكن أن تؤدى إلى حوادث أو أضرار للإنسان. حيث أن سلالات البكتيريا *E. coli* المستعملة فى المعاملة تكون أداه جيده للدراسة الوراثية لأنها تحتوى على طفرات تجعلها ينقصها حامض أمينى أو أكثر أو فيتامين أو أكثر ولذلك فإن هذه السلالات تكون ضعيفة. ونتيجةلذلك فإن هذه السلالات لا يمكنها المعيشة طبيعيا خارج المعمل. وعامة سلالات المعمل من هذه البكتيريا تكون غير قادرة على عمل إصابة للإنسان حيث أنه توجد سلالات عادية من هذه البكتريا يمكن أن تسبب ضرر للإنسان فى الجهاز الهضمى. تسمى السلالات العادية دائما بالسلالات البرية wild strains . ليست كل السلالات العادية ممرضة للإنسان بل بعض منها فقط.

وعند إستخدام بلازميدات قابلة للإنتقال لنقل بعض الصفات للخلايا البكتيرية. وتصبح هذه الخلايا البكتيرية حاملة لصفات جديدة لم تكن بها أصلا ويكون النقل عن طريق البلازميدات فإن هذه الخلايا تسمى بكتيريا مهندسه وراثيا engineered bacteria . وعلى سبيل الخطأ أو عدم الحرص يمكن لهذه السلالات البكتيرية المهندسة وراثيا أن تتواجد خارج المعمل. ولذلك يمكن لهذه السلالات الأخيرة أن تتزاوج مع بكتيريا عادية (برية). تكون البكتيريا العادية دائما قوية وذلك بالإضافة إلى الصفات التى قد تنتقل إليها عن طريق التزاوج مع بكتيريا مهندسة وراثيا. يمكن أن تكون هذه الصفات المنقولة ضارة كما أن هذه البكتيريا العادية لها قدرة كبيرة وفرصة كبيرة للدخول إلى القناة الهضمية للإنسان بما تحملة من صفات ضارة وعادة تكون سلالات المعمل من هذه البكتيريا ضعيفة وغير قادرة وليست لها الفرصة أن تدخل إلى القناة الهضمية للإنسان. وعند دخول هذه البكتيريا العادية والتى تحمل صفات ضارة وجينات ضارة يسبب ذلك ضرر للإنسان. ولحسن الحظ فإنه يوجد عدد كبير من البلازميدات غير قابلة للإنتقال nontransmissible plasmids ذات أحجام مختلفة ودرجات مختلفة من التعقيد فى التركيب ولذلك يفضل ويجب إستعمال بلازميدات غير قابلة للإنتقال فى الهندسة الوراثية ونقل الجنيات. ولذلك فإنه ليس من الضرورى إستعمال بلازميدات قابلة للأنتقال لهذا الغرض.

أستخدام البلازميدات فى الهندسة الوراثية ونقل الصفات الوراثية :

تتميز البلازميدات بأنها تحتوى على جينات مقاومة للمضادات الحيوية ولذلك تجعل الخلايا البكتيرية الحاملة لها مقاومة لتأثير المضادات الحيوية القاتل على الخلايا البكتيرية. وهذه الخلايا المقاومة تستعمل بكثرة كأداه جيدة فى الهندسة الوراثية. عندما يحتاج مهندس الوراثة نقل صفة معينة من الإنسان إلى سلالة بكتيرية لا يوجد بها هذه الصفة فإنه يستعمل خلايا بكتيرية بها بلازميد به جين أو أكثر مقاوم لمضاد حيوى معين مثل البنسلين. حيث يقوم بلصق جزء من DNA المحتوى على الجين المطلوب الخاص بالإنسان. فى البلازميد المقاوم للبنسلين. ثم يستخلص DNA البلازميد من الخلايا البكتيرية ويضاف إلى مزرعة خلايا بكتيرية حساسة للبنسلين. يمكن أن ينتقل DNA البلازميد إلى بعض الخلايا البكتيرية الحساسة للبنسلين والنامية على البيئة وتسمى هذه الخطوة بالتحول الوراثى transformation. عند دخول DNA إلى الخلايا البكتيرية يتكاثر بها ويحدث له تكاثر أيضا فى أثناء تكاثر الخلية البكتيرية. ثم تأخذ البكتيريا الموجودة على البيئة وتخطط على بيئة آجار مغذى أو أى بيئة مشابهه وأن تحتوى هذه البيئة على البنسلين أيضا. ثم توضع الأطباق فى الحضان لمدة يومين فى درجة حرارة مناسبة. تموت الغالبية العظمى من الخلايا البكتيرية لأنها حساسة للبنسلين. ولكن النادر فى هذه الخلايا والمحتوى على البلازميد ينمو على البيئة لأنه مقاوم للبنسلين . ولذلك فإن المستعمرات البكتيرية النامية على البيئة فى أطباق بترى تحتوى على أجزاء من DNA البلازميد والذى قد يحمل الصفة المطلوبة. ولذلك نستخدم صفة المقاومة للمضاد الحيوى لتسهيل فحص عدد قليل نسبيا من الخلايا البكتيرية بدلا من فحص ملايين الخلايا البكتيرية والتى لا تحتوى على أى جزء من DNA البلازميد المطلوب نقله وبالتالى لا تحتوى على الصفة المطلوب نقلها. أما الخلايا المقاومة للبنسلين فقد تحتوى على الصفة المطلوب نقلها. حيث أنه ليس من الضرورى أن تكون جميع الخلايا المقاومة للبنسلين تحتوى على هذا الجين ولكن عادة بعض منها. أى أنه مما سبق يتضح أنه توجد أربعة حالات للبكتيريا *E. coli* كمايأتى:

١ ـ خلايا بكتيرية لا تحتوى على أى بلازميد.

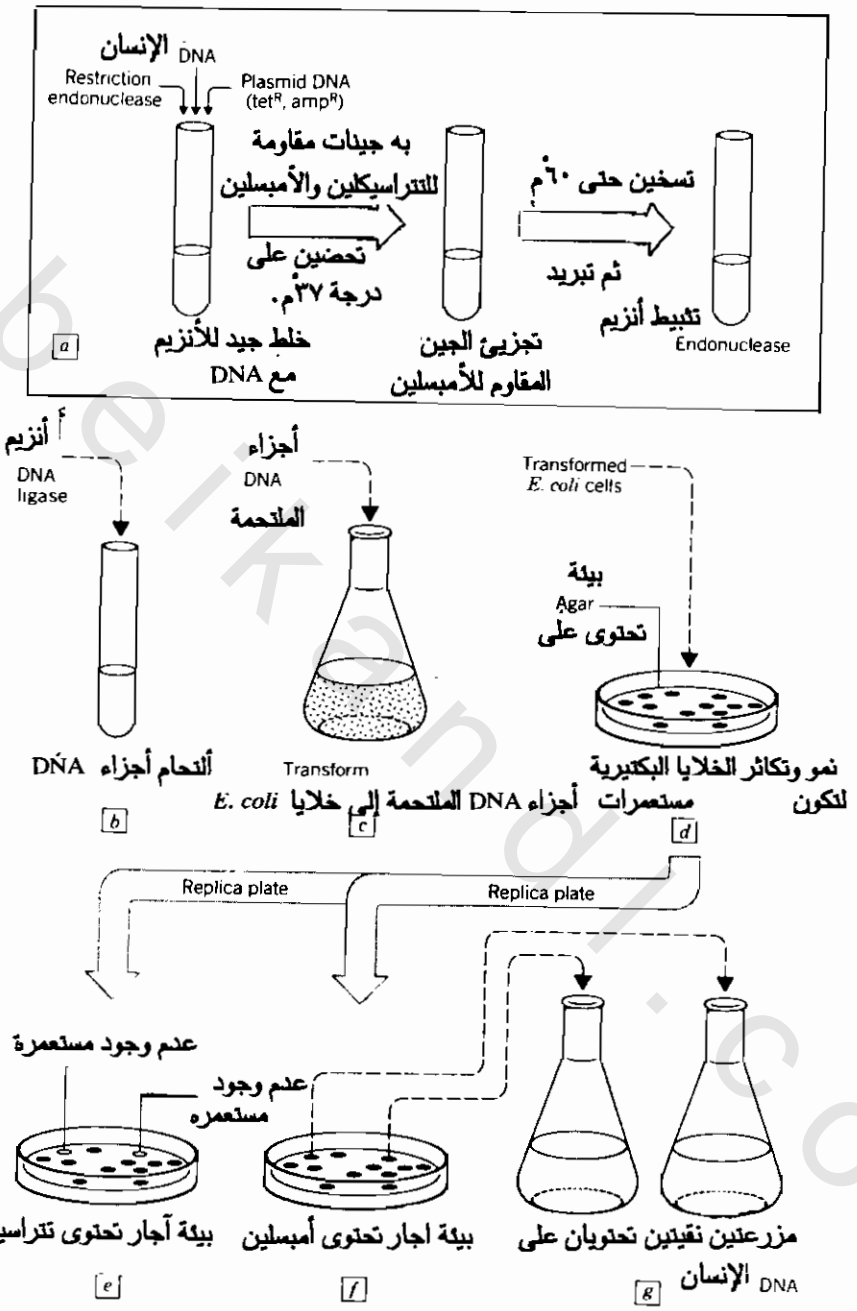
٢ ـ خلايا بكتيرية تحتوى على DNA بلازميد وهذا الأخير لا يحتوى على DNA من الإنسان.

٣ ـ خلايا بكتيرية تحتوى على DNA بلازميد وهذا الأخير يحتوى على جزء من DNA الإنسان ولكنه لا يحتوى على الجين المطلوب.

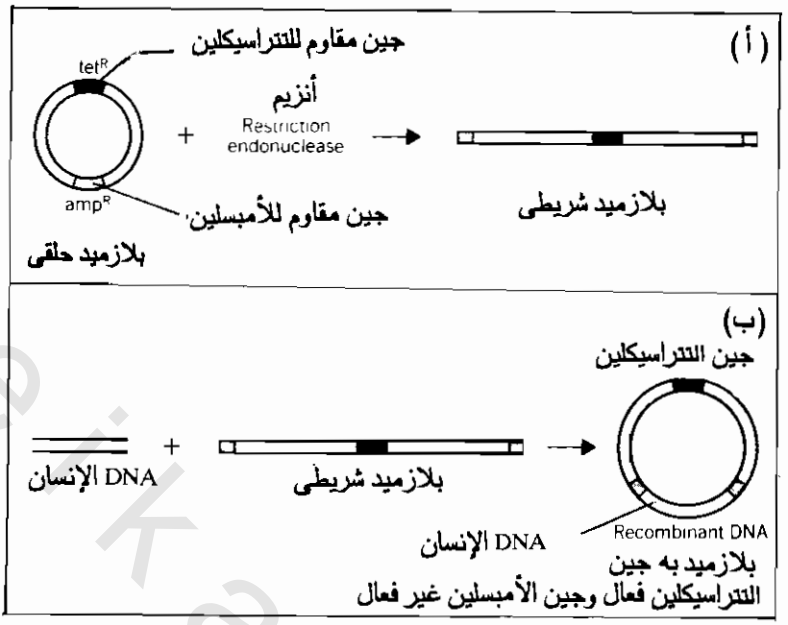
٤ ـ خلايا بكتيرية تحتوى على DNA بلازميد وهذا الأخير يحتوى DNA الإنسان كما يحتوى الجين المطلوب.

تعتبر المجموعة الرابعة من الخلايا البكتيرية هى المطلوبة. تعتبر هذه الخلايا نادرة وقد تكون بنسبة خلية واحدة فى البليون خلية. إستعمال خلايا بلازميد به صفة المقاومة للمضاد الحيوى مثل البنسلين أو تتراسيكلين أو ستريتومسين وكما سبق ذكره سيستبعد المجموعة الأولى من الخلايا ويتبقى لدينا الثلاث مجاميع الأخرى من الخلايا (شكل ١١٣).

ولذلك فإنه يجب إستعمال بلازميد به جينين وليس جين واحد خاصين بمقاومة المضادات الحيوية وليكن أحدهما خاص بمضاد حيوى من مجموعة البنسيلينات وهو أمبسيللين (amp^R) ampicillin والآخر خاص بمقاومة التتراسيكلين tetracylin (tet^R) . يستعمل إنزيم القطع restriction endonuclease متخصص فى قطع البلازميد فى منتصف جين المقاومة للأمبسيللين ولذلك يصبح البلازميد شريطى وليست حلقى. توجد أنواع عديدة من إنزيمات القطع فيختار الأنزيم الذى يمكنه قطع البلازميد فى منتصف جين مقاومة أمبسيللين. عند أضافة جزء من DNA الإنسان إلى البلازميد فإنه يلتصق بأحد طرفى البلازميد الشريطى. ثم التسخين لدرجة حرارة ٦٠°م لتثبيط الأنزيم ثم يضاف أنزيم DNA ligase بواسطته يتم إلتحام أجزاء DNA ولصق طرفى البلازميد مرة أخرى ليصبح مستدير. يصبح جين المقاومة للأمبسيللين غير فعال حيث أنه ينفصل إلى جزئين نتيجة لوجود جزء من DNA الإنسان (شكل ١١٤). يصبح البلازميد فعال فقط فى مقاومة التتراسيكلين. يتم أدخال أجزاء DNA الملتحمة والبلازميد داخل خلايا بكتيرية لنوع البكتيريا *E. coli* وذلك عن طريق عملية transformation. حيث توضع البلازميدات فى بيئة سائلة تحتوى على البكتيريا *E. coli* . وفى هذه الحالة فإن البكتريا التى تحتوى على بلازميد غير محتوى على أى جزء من DNA الإنسان تكون مقاومة لكل من أمبسيللين والتتراسيكلين. تفحص جميع المستعمرات البكتيرية النامية على بيئة بها تتراسيكلين لإختبار المستعمرات الحساسة للأمبسيللين أى المستعمرات الغير قادرة على



(شكل ١١٣) : طريقة للحصول على مزارع نقية من البكتريا تحتوى على DNA الإنسان cloned human DNA

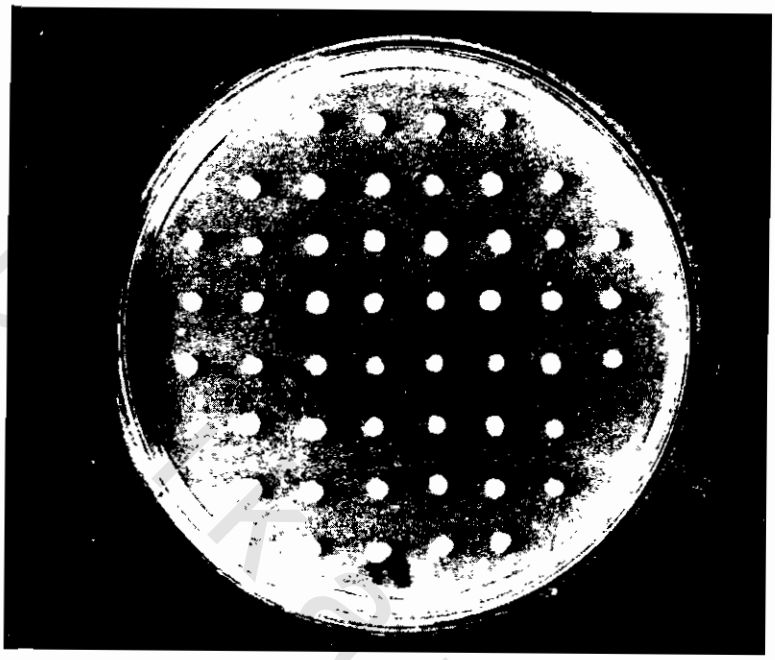


(شكل ١١٤) : تثبيط الجين

أ ـ بلازميد حلقى به جين مقاوم للتتراسيكلين وجين مقاومة للأمبسيلين. وفى وجود أنزيم R. E. يصبح البلازميد شريطى.

ب ـ جزء من DNA الإنسان إلتحم بالبلازميد فى منتصف منطقة الجين المقاومة للأمبسلين وسبب ذلك فصل منطقة الجين إلى جزئين وبذلك يصبح الجين مثبط وغير فعال فى أظهار الصفة.

النمو والتكاثر على بيئة بها أمبسيللين. ثم توضع قطعة من الحرير أو القطيفة معقمة لتلامس سطح المستعمرات البكتيرية النامية على بيئة الآجار (شكل ١١٥) المحتوية على التتراسيكلين. بعض الخلايا البكتيرية من كل مستعمرة سوف تلتصق إلى قطعة الحرير. تزال قطعة الحرير ثم توضع فى طبق بترى به بيئة آجار مغذى nutrient agar مخلوط بالأمبسيللين توضع قطعة الحرير بحيث أنها تلامس سطح البيئة وبالطبع يكون هذا الطبق نظيف خال من أى مستعمرات بكتيرية. تلتصق الخلايا البكتيرية من كل مستعمرة بكتيرية بسطح البيئة. تنمو فقط الخلايا إلى مستعمرات على البيئة فى حالة مقاومتها للأمبسيللين. يسمى هذا الإختبار بإسم صورة طبق الأصل لتنمية المستعمرات البكتيرية على البيئة replica plating . سيتم توزيع الخلايا وبالتالى



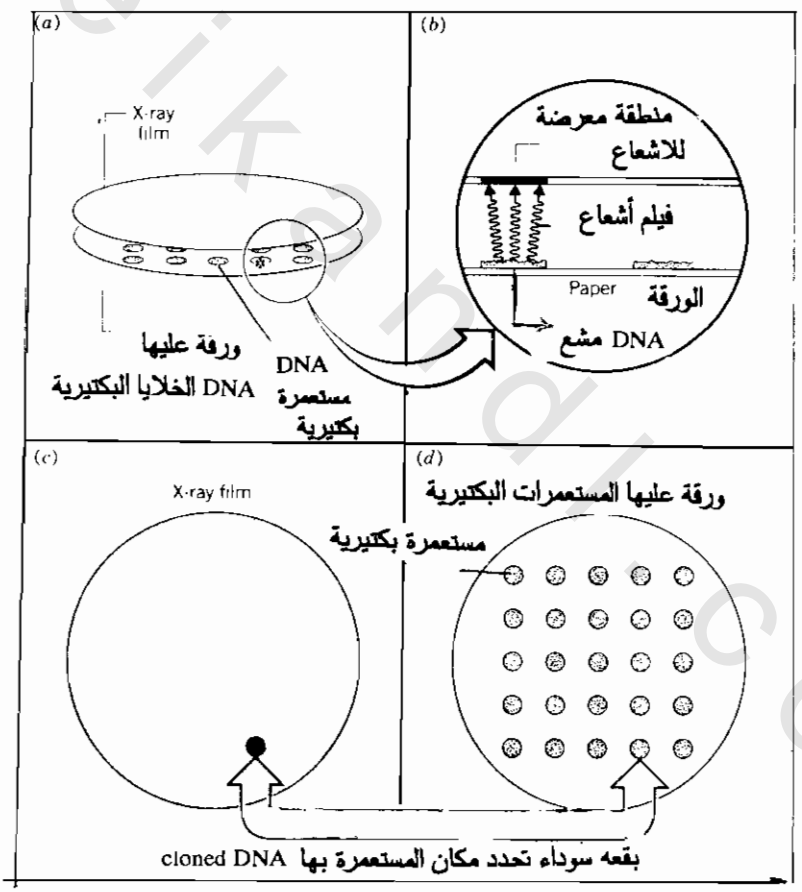
(شكل ١١٥) : طبق بترى يحتوى على بيئة آجار عليها مستعمرات بكتيرية مرتبة فى صفوف grid pattern.

المستعمرات فى الأطباق بنفس التوزيع السابق فى الطبق الأول الأصل. سيتم مقارنة توزيع المستعمرات البكتيرية فى الطبق الثانى بالطبق الأول وفى حالة مكان المستعمرات الخالية فى الطبق الثانى تعتبر هى المستعمرات المطلوبة وهى الحساسة للأمبسيللين. وفى الشكل يتضح أنه توجد مستعمرتين فقط حساسة للأمبسيللين. يتم نقل لقاح من كل مستعمرة على حده بواسطة إبره التلقيح البكتيرية إلى دوارق مخروطية تحتوى على بيئة المرق المغذى nutrient broth . تنمو هذه الخلايا فى البيئة وتنتج أعداد هائلة من الخلايا البكتيرية التى تحتوى على جزء من DNA الإنسان. وبهذا الأختبار يتم تضيق الخناق وتستبعد الخلايا البكتيرية الموجودة فى رقم ٢ وتصبح لدينا خلايا بكتيرية تشمل المجموعة رقم ٣ والمجموعة رقم ٤ . ولكن حتى هذه الخطوه لا يمكن التكهن بتركيب DNA الإنسان الداخل فى تركيب البلازميد وهل يحتوى هذا الجزء من DNA على الجين المطلوب أو يحتوى أجزاء أخرى لا تحتوى الجين المطلوب.

والحقيقة أن فرصة الحصول على بلازميد به الجين المطلوب تكون نادره. ولذلك يجب تكرار طريقة replica plating لمرات كثيرة للحصول على عدد من الخلايا البكتيرية يحتمل أن يوجد به الجين المطلوب. وإختبار replica plating سهل ويمكن إستعمال خلايا بكتيرية مقاومة لأنواع كثيرة من العقاقير والمضادات الحيوية ويمكن الكشف عنها بمقارنة شكل توزيع المستعمرات على البيئة فى الطبق الأول والطبق الثانى ويمكن بذلك الحصول على آلاف من المستعمرات البكتيرية المطلوبة. وعندما يتم الحصول على عدة آلاف من المستعمرات البكتيرية المطلوبة نبدأ فى عمل الخطوات التالية وذلك للحصول على الخلايا البكتيرية المحتوية على جين الإنسان المطلوب.

يؤخذ من كل مزرعة بكتيرية (مستعمرة) عينة وذلك بواسطة إبره التلقيح وتوضع على سطح بيئة آجار مغذى أو أى بيئة آجار أخرى مناسبة فى طبق بترى. يتم تخطيط قاع طبق بترى بقلم شمع إلى مربعات يكون عددها عادة خمسون أو يتم عمل خمسون مربع على ورقة ووضع هذه الورقة تحت طبق بترى. توضع عينة واحدة بكتيرية فى منتصف كل مربع وبذلك يحتوى طبق بترى الواحد على خمسون عينة تنمو لتكوين خمسون مستعمرة. وبعد تمام نمو الخلايا البكتيرية وتكوين المستعمرات توضع ورقة معقمة على سطح المستعمرات سيلتصق جزء من المستعمرات بسطح الورقة ويصبح توزيع المستعمرات على الورقة يماثل تماما توزيعها فى الطبق. توضع الورقة فى محلول صودا كاوية مخفف. تسبب الصودا الكاوية تكسير خلايا البكتيريا ويتبقى ملتصق بالورقة بشدة بعض أجزاء من بقايا الخلايا وأيضا DNA . تسبب الصودا الكاوية أيضا فصل حلزونى DNA ويصبح خيطين منفصلين. ولذلك فإن DNA يوجد فى بقع على الورقة. يمكن أن تكون الورقة المستعملة مقسمة إلى مربعات لها نفس عدد ومساحة مربعات الورقة. وبذلك يمكن لمهندس الوراثة أن يحدد DNA الموجود على الورقة والمستعمرة الخاصة به الموجودة فى الطبق. ثم تعادل الصودا الكاوية على الورقة بواسطة حامض ثم توضع الورقة فى طبق بترى به مجس معلم أى مشع radioactive probe . يعتبر المجس عبارة DNA مكمل للجين المطلوب وقد تم تخليقه وتركيبه من RNA رسول خاص بالجين المطلوب. يعتبر المجس خيط فردى من DNA وأيضا DNA الموجود على الورقة خيط فردى كذلك. ولذلك فى هذا الحالة سيلتصق بشدة المجس مع DNA الورقة المتوافق معه أى الخاص بالجين المطلوب.

ولن يلتصق المجس مع أى DNA غير متكامل معه. ولذلك فإن DNA الجين المطلوب على الورقة سيصبح مشع. وبإختبار الأماكن المشعه على الورقة تكون هى الخاصة بالجين المطلوب. ولتقدير أماكن الأشعاع على الورقة تزال الورقة من الطبق المحتوى على المجس المشع وتغسل بشدة بالماء لأزالة أى بقايا للمجس المشع الغير ملتصقة بـDNA وبالطبع المجس المشع الملتصق بالـ DNA للجين المطلوب لا يغسل بالماء ويظل ملتصق بالورقة. تعرض الورقة لفيلم أشعة x وفى الأماكن التى يوجد بها أشعاع أى يوجد بها DNA الجين المطلوب تظهر على هيئة بقعة سوداء. ولذلك فإن البقع السوداء تحدد مكان الجين المطلوب (شكل ١١٦).



(شكل ١١٦): تحديد مكان والتعرف على المستعمرة البكتيرية التى تحتوى خلاياها عى DNA جين الإنسان.

ومكان وجود هذه البقع على الورقة يحدد مكان DNA المطلوب وعن طريق DNA يحدد مكان المستعمرة فى الطبق والتى تحتوى على خلايا بكتيرية تحتوى بلازميد حامل لجين الإنسان المطلوب. ومن هذه المستعمرة يمكن الحصول على أعداد لا نهائية من الخلايا البكتيرية الحاملة لجين الإنسان. وقد يكون هذا الجين هو الجين اللازم لتخليق الأنسولين وبذلك يمكن إنتاج الأنسولين بواسطة خلايا البكتيريا.

تخليق الأنسولين بواسطة البكتريا:

يعتبر الأنسولين نوع من البروتين الوظيفى أى بروتين له دور معين فى الخلية. يوجد فى الإنسان العادى جين خاص بإنتاج الأنسولين ولكن مرضى السكر ينقصهم تكوين الأنسولين بتركيزات عالية نسبيا ولذلك يحتاج مريض السكر إلى أنسولين إضافى ويؤخذ هذا الأنسولين عن طريق الحقن، يؤثر الأنسولين على إحتراق السكر فى الجسم. يحتاج الجسم إلى كميات من الأنسولين لإتمام عملية أحتراق أى تحليل السكر. ومريض السكر يكون غير قادر على إتمام هذه العملية على الوجه الأكمل ولذلك بالرغم من وجود السكر فى جسمه إلا أنه يطلب المزيد من السكر وذلك لنقص إحتراق أى تحليل السكر فى الجسم نتيجة لنقص الأنسولين ولذلك يتم حقنه بالأنسولين. ينتج الأنسولين قبل إكتشاف طرق الهندسة الوراثية عن طريق إستخلاصه من بنكرياس الخنازيز أو ما يشابهها وكانت عملية إنتاجه مكلفة. ولكن الإنسان عن طريق الهندسة الوراثية أمكنه نقل جين إنتاج الأنسولين من الإنسان إلى البكتريا. طريقة عمل ذلك هى الطريقة المذكورة فى الجزء السابق مباشرة. يتضح أن هذه الطريقة أسهل وأرخص فى إنتاج الأنسولين وذلك بالمقارنة من إنتاج الأنسولين من بنكرياس الحيوان. فى بعض الحالات يمكن أن يسبب أنسولين بنكرياس الحيوان حساسية للإنسان وبذلك تصبح الأمور أكثر تعقيدا ولكن لحسن الحظ فإن الأنسولين المنتج بواسطة البكتريا لا يسبب هذه الحالة من الحساسية.

كيفية فصل DNA البلازميد والجين المنقول :

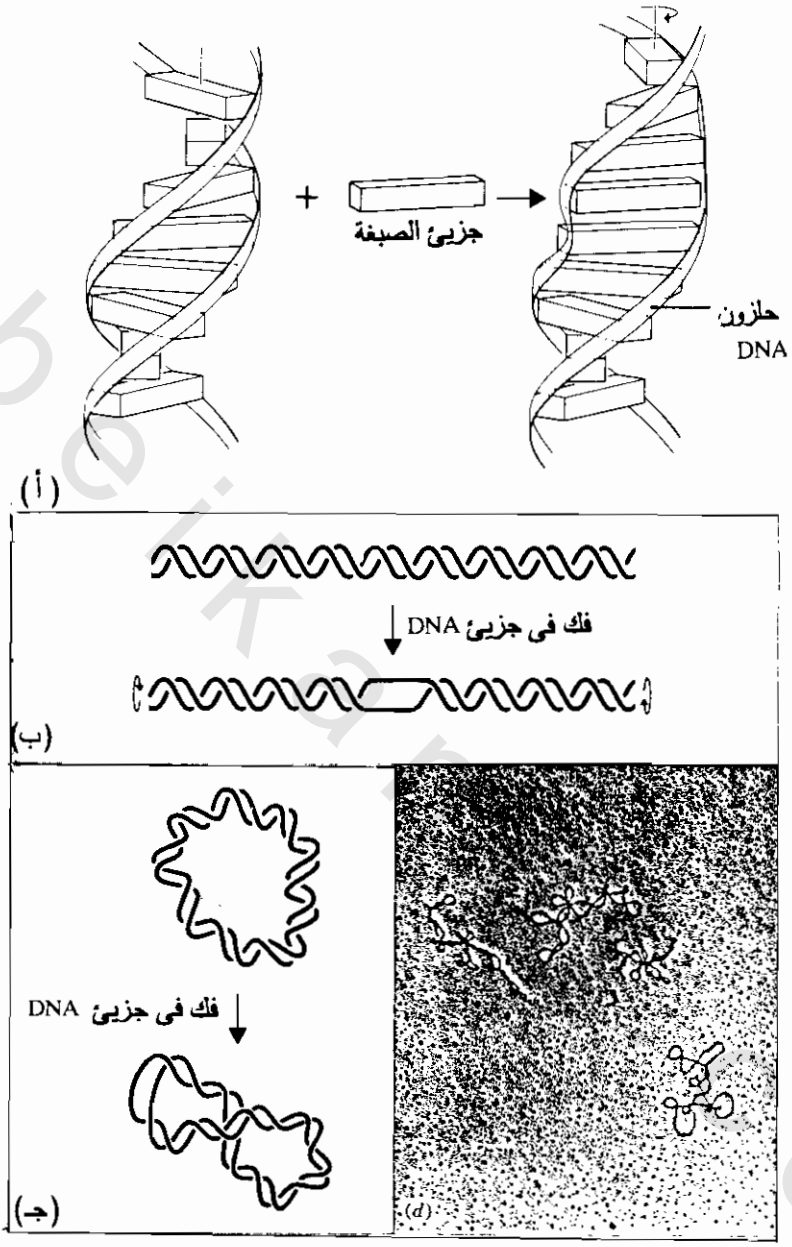
فى التجربة السابقة وبعد الحصول على بلايين من الخلايا البكترية التى تحتوى جين الإنسان والنامية على بيئة سائلة broth فإنه يمكن فصل DNA البلازميد عن DNA الجين

المنقول من الإنسان والحصول على كل منهما منفردا وذلك فى خطوات عديدة كما يلى :

يأخذ معلق البكتريا السابقة ويعرض لقوة طارده مركزية بواسطة جهاز الطرد المركزى centrifuge فترسب الخلايا البكتيرية فى قاع أنابيب الجهاز ويبقى محلول البيئة أعلى الراسب فى الأنبوبة. يسكب محلول البيئة من الأنبوبة ثم يضاف قليل من الماء وبهز الأنبوبة تكون الخلايا البكتيرية معلق فى وجود الماء. يضاف للمعلق أنزيمات ومركبات تشبه الصابون detergent تسبب تحليل جدر الخلايا البكتيرية ويتحرر DNA الخلايا البكتيرية و DNA البلازميدات من الخلايا ويسمى ذلك الخليط الموجود فى الأنبوبة باسم ناتج تحلل الخلايا cell lysate. يتم فصل DNA الخلية البكتيرية عن DNA البلازميد وحيث أن الأول أطول بدرجة كبيره جدا عن الثانى فقد يكون طوله ألف مرة أو أكثر. ولذلك فأن أحدى الطرق هى تعريض DNA لقوة طاردة مركزية فسيرسب DNA البكتيرى فى القاع ويبقى البلازميد فى أعلى. ولكن فى كثير من الحالات لا تصلح هذه الطريقة لأن كمية DNA البكتيرى تكون كبيرة جدا بالمقارنة بالبلازميدات ولذلك لا يكون الفصل كامل بينهما.

وفى الطريقة الثانية يتم تكسير DNA الخلية البكتيرية بسهولة نتيجة لطوله. وذلك عن طريق إمتصاص محلول منه بواسطة ماصة لمرات عديدة. يسبب ذلك تكسير DNA الخلية البكتيرية إلى أجزاء خيطية الشكل ولا تسبب هذه المعاملة تكسير البلازميد ويبقى مستدير كما هو. يمكن فصل أجزاء DNA الخلية عن البلازميد بسهولة نتيجة لإختلافهما فى الكثافة النسبية relative density والقدرة على الطفو buoyancy . قدرة الإنسان على الطفو أو العوم يمكن التحكم فيها بطريقتين فعند إسترخاء الإنسان مع عدم الحركة يمكن أن يطفو على سطح الماء وعند ربط حله النجاه life jachet بالإنسان فإنها تسبب تقليل الكثافة النسبية وبذلك تساعد الإنسان على الطفو إلى أعلى وسهولة الطفو وأيضا العوم والعكس صحيح فإذا ربط الإنسان بقطع صخرية كبيرة الحجم فإنها تزيد من الكثافة النسبية وتسبب جذبه إلى أسفل وصعوبة الطفو والعوم وإذا كانت زائدة الحجم فإنها تسبب غرقه. ولذلك فان الكثافة النسبية لها تأثير واضح على درجة الطفو . وبالإضافة إلى ذلك فإن الكثافة النسبية للماء تؤثر على الطفو أيضا فكلما زاد تركيز الملح فى الماء كلما زادت الكثافة النسبية وكلما زادت سهولة الطفو والعوم للإنسان. ولذلك فإن الطفو والعوم فى البحر الميت ذو التركيز العالى من الملح يكون أسهل

بدرجة كبيرة من العوم فى البحار العادية لإرتفاع تركيز الملح فى الأول بالنسبة لتركيزه فى البحار العادية. وهذه القاعدة الخاصة بطفو الإنسان هى ذاتها الخاصة بطفو الجزئيات وغيرها من أنابيب الأختبار فى المعمل ويعتبر ذلك مثال لتوضيح كيف أن الجزئيات تطفو فى المحاليل. يمكن ملئ أنابيب الأختبار بمحلول ملحى ولذلك فإن تركيز الملح يزيد فى الإتجاه من أعلى إلى أسفل ويسمى التغيير التدريجى فى التركيز concentration gradient وينتج عن ذلك تغير تدريجى فى الكثافة density gradient . نتيجة لذلك يمكن أن نتحكم فى تركيز الملح فى أنبوبة الإختبار بحيث يكون DNA معلق فى محلول الملح حيث أنه عند وضع جزيئ DNA فإنه يسقط إلى أسفل فى المحلول ويتوقف عن السقوط ويصبح معلق عندما تتساوى كثافة DNA مع كثافة محلول الملح. درجة سقوط DNA فى المحلول يتحدد بكثافة جزئى DNA وكثافة المحلول. يمكن التحكم فى طفو DNA البكتيرى حيث يضاف له حله الحياة life jacket وهى عبارة عن جزيئات صبغه ethidium أو مايشابهها فتقلل من كثافة الجزيئ وتساعده على الحركة إلى أعلى المحلول. يحدث ذلك بشراهة لجزيئ DNA الخيطى ولا يحدث لـ DNA البلازميد أى الحلقى والسبب فى ذلك أنه عند دخول جزيئ الصبغة بين حلزونى DNA الشريطى فإن الحلزونى ينفك ويأخذ جزئيات صبغة أكثر ويزداد الفك وذلك لأن طرفى DNA الشريطى سائبين وتحدث هذه العملية بسهولة فى DNA الشريطى أما DNA المستدير فأطرافه ملتحمة ولا توجد أطراف حرة ولذلك لا ينفك الحلزون بسهولة ويكون إتحاده بجزئيات الصبغة محدود (شكل ١١٧). ولذلك يمكن فصل DNA الشريطى للكروموسوم عن DNA الحلقى للبلازميد بعد معاملتهما بالصبغة وتركهما فى أنبوبة إختبار بها محلول ملحى مركز نسبيا ونتيجة للجاذبية الأرضية سيحدث الفصل بينهما ولكن يحتاج ذلك إلى وقت طويل. ولذلك يمكن إختصار الوقت بخلط نوعى DNA مع الصبغة مع المحلول الملحى وتعريضهم لقوة طرد مركزى فى جهاز الطرد المركزى والذى يلف بسرعة كبيرة نسبيا ونتيجة لذلك يحدث الفصل بسرعة تزيد عن مائة ألف مرة قدر الجاذبية الأرضية. قد يحتاج الأمر إلى عمل الطرد المركزى لمدة يوم أو أكثر. وفى هذه التجارب تكون الصبغة عادة بروميد الأثيديم ethidium bromide والمحلول الملحى يكون من الأملاح الثقيلة مثل كلوريد السيزيوم cesium chloride وتخلط فى أنبوبة بلاستيك وتعرض لقوة طرد مركزية سرعتها خمسة وثلاثون ألف فى الدقيقة (r p m) لمدة يومين. وقبل تشغيل الجهاز يوضع فى الأنبوبة زيت معدنى



(شكل ١١٧) : تداخل الصبغة فى داخل حلزونين DNA .

أ- دخول الصبغة بين الحلزونين.
ب- فك حلزونى DNA الشريطى نتيجة لدخول الصبغة.
جـ- فك حلزونين DNA الحلقى نتيجة لدخول الصبغة.

ليملأ فراغ الأنبوبة ويمنع إنبعاجها أثناء سرعة عملية الطرد المركزى. يتم فحص الأنبوبة بعد عملية الطرد المركزى بواسطة الأشعة الفوق بنفسجية أو جزء قريب من فوق الأشعة البنفسجية يسمى الضوء الأسود black light . نتيجة لوجود الصبغة فى جزيئات DNA فإنها تمتص الأشعة فوق البنفسجية ويحدث للضوء عملية فلوره ويحدث تكون أى أشعاع ضوء برتقالى لامع فى أجزاء الأنبوبة المحتوية على DNA . يدل هذا الأشعاع البرتقالى على مكان DNA فى الأنبوبة ونتيجة لذلك يوجد حزمتين ضوئيتين الحزمة الضوئية العليا تدل على مكان DNA الكروموسوم والحزمة الضوئية السفلية تدل على مكان وجود DNA البلازميد. يمكن سحب DNA البلازميد من الأنبوبة بواسطة ماصة مناسبة وبذلك يوجد لدينا DNA بلازميد نقى. يمكن بعد ذلك فصل جين أو جينات الإنسان من البلازميد ويكون أولا بقطع DNA البلازميد إلى أجزاء بواسطة إنزيمات القطع (r. e.) . ينتج عن ذلك تكون أجزاء خيطية (شريطية) صغيرة من البلازميد (راجع عمل إنزيمات القطع) . يمكن فصل هذه الأجزاء عن بعضها بواسطة الفصل نتيجة للهجرة فى وسط غروى فى مجال كهربائى gel electrophoresis . ولابد من التعرف على مكان عمل إنزيمات القطع المستعملة أى أماكن القطع المختلفة على البلازميد ويحتاج ذلك إلى عمل ما يسمى بالخرائط mapping أى عمل خرائط لجزئ DNA البلازميد لتحديد أماكن القطع بواسطة أنزيمات القطع (r. e.) .

الفاج البكتيرى Bacteriophages

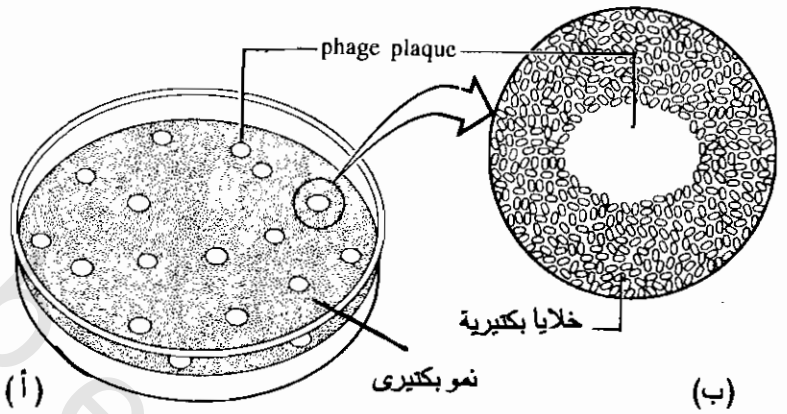
تعتبر البكتيريوفاجات فيروسات تصيب البكتيريا وتسمى أيضا بالفاج phages . يحتوى DNA الفاج على جينات تتحكم فى بناء البروتين والذى يكون غلاف يحيط بـ DNA . وبالرغم من إحتواء الفاج على بروتين إلا أنه غير قادر على تخليقه ذاتيا حيث لا يوجد بالفاج الأجزاء اللازمة لبناء البروتين ومثال ذلك الريبوسومات ولذلك فإنه يحتاج إلى خلية البكتيريا لكى يؤثر على التحول الغذائى فيها لصالحه وذلك بأن تكون الخلية البكتيرية البروتين الخاص بالفاج. الفاج حقنة صغيرة تحت الجلد miniature hypodermic syringe حيث أنه يقوم بحقن DNA داخل الخلية البكتيرية ويشبه بذلك الحقنة. عند دخول DNA الفاج إلى الخلية البكتيرية فإنه يتحكم فى تفاعلات الخلية البكتيرية. حيث أن بعض جينات الفاج تنسخ بواسطة إنزيم البلمرة RNA الخاص بالخلية البكتيرية وأن يتكون m RNA يتكون منه بروتين الفاج

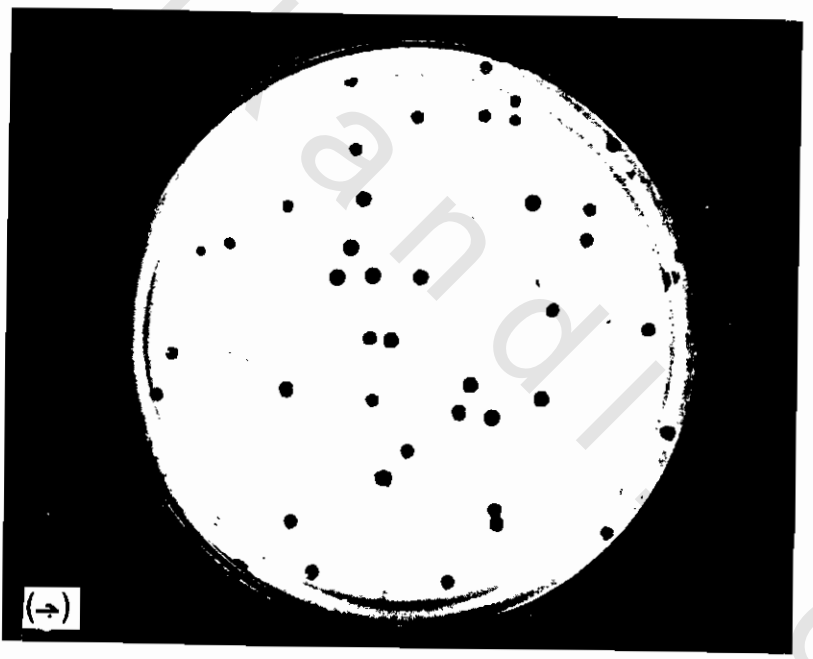
وذلك بإستعمال ريبوسومات الخلية البكتيرية. بعض أنواع الفاج وفى المراحل الأولى بعد إصابة الخلية البكتيرية فإنها تكون أنواع من البروتينات تسبب تحطيم DNA الخلية البكتيرية وتجزئته إلى أجزاء صغيرة. ولذلك تموت الخلايا البكتيرية. بعض أنواع الفاج بها جينات خاصة بها ويمكنها أن تكون إنزيم بلمرة RNA (RNA polymerase) خاص بها ولذلك فإنها لا تحتاج إلى هذا الأنزيم الخاص بالخلية البكتيرية. أيضا بعض أنواع الفاج لها جينات خاصة بها تتحكم فى تخليق الـ DNA الخاص بها ولذلك فإنه فى حالة وجود DNA الفاج داخل الخلية البكتيرية وفى حالة تحرر بعض النيوكليوتيدات من DNA البكتيرى فإنه يمكن أن يتكون من هذه النيوكليوتيدات DNA الفاج وتتم هذه العملية من مكونات الفاج ما عدا النيوكليوتيدات حيث يأخذها الفاج من البكتيريا. أى أن الفاج له فى هذه الحالة ميكانيكية لمضاعفة DNA replication machinary DNA خاصة به. تنتج كميات كبيرة من DNA الفاج وفى دقائق قليلة فإن جينات أخرى تبدأ فى العمل لإنتاج كميات كبيرة من البروتين اللازمة لعمل الرأس والذيل. تتجمع جزئيات البروتين لتكون الرأس ثم يعبأ بداخله DNA ثم يلتصق الذيل بعد ذلك بالرأس ليتكون الفاج الكامل. تكوين الفاج داخل الخلية البكتيرية يتكون تلقائيا. وأن الوقت من حقن DNA إلى أنتاج جزيئات فاج جديدة قد يستغرق أقل من عشرون دقيقة. وتصبح الخلية البكتيرية مجرد غلاف يحتوى على مئات من جزيئات الفاج. ثم تنتج جزيئات الفاج إنزيم يسبب تحطيم جدار الخلية البكتيرية لتحرر جزيئات الفاج وتصيب خلايا بكتيرية جديدة.

ينتج جزيئ فاج واحد داخل الخلية البكتيرية الواحدة مئات من الفاج. وكل فاج من المائة يصيب خلية بكتيريةويكون مئات وعند تكرار هذه الحالة أربعة مرات فقط فإن فاج واحد يؤدى إلى موت ما يزيد عن بليون خلية بكتيرية. أما عند إضافه عدد قليل من الفاج إلى مزرعة بكتيرية كثيفة وقبل إنفجار أى خلية بكتيرية نتيجة للأصابة بالفاج فإن يتم توزيع ونشر خلايا هذه المزرعة على سطح بيئة آجار مغذى. وفى خلال عشرون إلى ثلاثون دقيقة فإن الخلية البكتيرية الأولى المصابة تنفجر وتتحرر جزئيات الفاج وهذه تصيب خلايا أخرى وهكذا تكرر العملية ولذلك فإنه تتكون تدريجيا حلقات من الخلايا الميتة حول أول خلية بكتيرية وهكذا تتسع الحلقات وفى هذه الأثناء أيضا تتكاثر الخلايا البكتيرية غير المصابة وحيث أن عدد هذه الخلايا كبير بالنسبة لعدد الخلايا المصابة فإن الخلايا السليمة تكون طبقة

وتغطى سطح الآجار. وبعد أن يغطى سطح البيئة تماما بالخلايا البكتيرية تتوقف الخلايا عن التكاثر وأيضا يتوقف الفاج عن التكاثر لأنه معتمد على الخلايا البكتيرية. وفى النهاية توجد بعض الحفر holes المستديرة فى سطح النمو البكتيرى وهذه تحتوى على خلايا ميتة نتيجة لتأثير الفاج وتسمى plaques . يعتبر كل plaque ناتج من فاج واحد عادة. يكون قطر plaque حوالى ٣ ـ ٤مم. يمكن تعريب كلمة plaque أى مكان وجود الفاج وموت الخلايا البكتيرية (شكل ١١٨).

عند أدخال جزء من DNA إلى DNA الفاج ثم يلتحم هذا DNA مع DNA الفاج دون أى تأثير ضار على DNA الفاج فإن هذا الـ DNA سيتكاثر مع DNA الفاج عادى. يمكن لمهندس الوراثة أن يحدد الـ plaque المحتوى على DNA المنقول وذلك بإستخدام مجس معلم وذلك بإستخدام توافق القواعد النيتروجينية المكملة لبعضها فى المجس والـ DNA المنقول أو الجين تحت الدراسة. وبعد التعرف على plaque المطلوب يتم غمس أبره التلقيح البكتيرية ذات العقدة فى plaque وينتج عن ذلك إلتصاق بعض الفاج بالأبره ثم يتم غمس عقده الأبرة فى المزرعة البكتيرية وينتج إنتقال جزئيات الفاج إلى خلايا المزرعة البكتيرية. يصيب الفاج خلايا البكتيريا وهكذا تتكون أعداد هائلة من الفاج نتيجة لتكاثر الخلايا البكتيرية وتكوين ملايين من الخلايا. ولذلك فإن الجين تحت الدراسة يتواجد بداخل الفاج وبكميات هائلة حيث أن الفاج يتكون بكميات هائلة. يمكن بعد ذلك فصل وتنقية DNA الفاج عن بروتين الفاج وعن بقايا الخلايا البكتيرية وذلك بطريقة الكثافة النسبية مع قوة الطرد المركزى density gradient centrifugation كما سبق ذكره تماما فى فصل البلازميدات. ولا نحتاج فى هذه الحالة إلى أى نوع من الصبغات حيث أن الكثافة النسبية للبروتين، DNA للفاج مختلفة تماما. يتم وضع الفاج فى أنبوبة بها ملح ثقيل heavy salt مثل كلوريد السيزيوم وتوضع فى جهاز الطرد المركزى حيث يتم عمل عملية الطرد المركزى لمدة يوم على سرعة ٢٥٫٠٠٠ لفة فى الدقيقة وبعد إنتهاء عملية الطرد المركزى يمكن فصل الفاج عن DNA البكتيريا وعن مكونات الخلايا البكتيرية الأخرى حيث يظهر الفاج (شكل ١١٩) عند تعريض الأنبوبة للأشعة فوق البنفسجية على هيئة حزمة أى خط فى الأنبوبة بلون متعدد opalescent نتيجة لعملية فلوره الضوء. يمكن سحب هذه الحزمة band بواسطة ماصة. ثم يجرى إعادة عملية الطرد المركزى بسرعات مختلفة لفصل بروتين ، DNA عن بعضها. وفى أثناء عملية الطرد المركزى تجرى ملئ الجزء العلوى من الأنبوبة بواسطة زيت معدنى وذلك لعدم تحطيم أو أنبعاج الأنبوبة البلاستيك أثناء عملية الطرد المركزى.



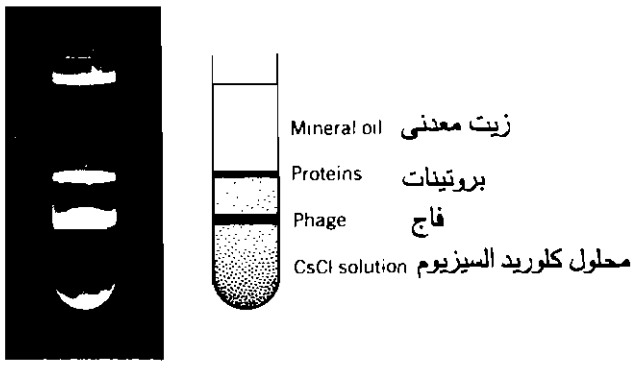


(شكل ١١٨) : Phage plaques

أ- طبق بترى به نمو بكتيرى على بيئة وبه plaques .

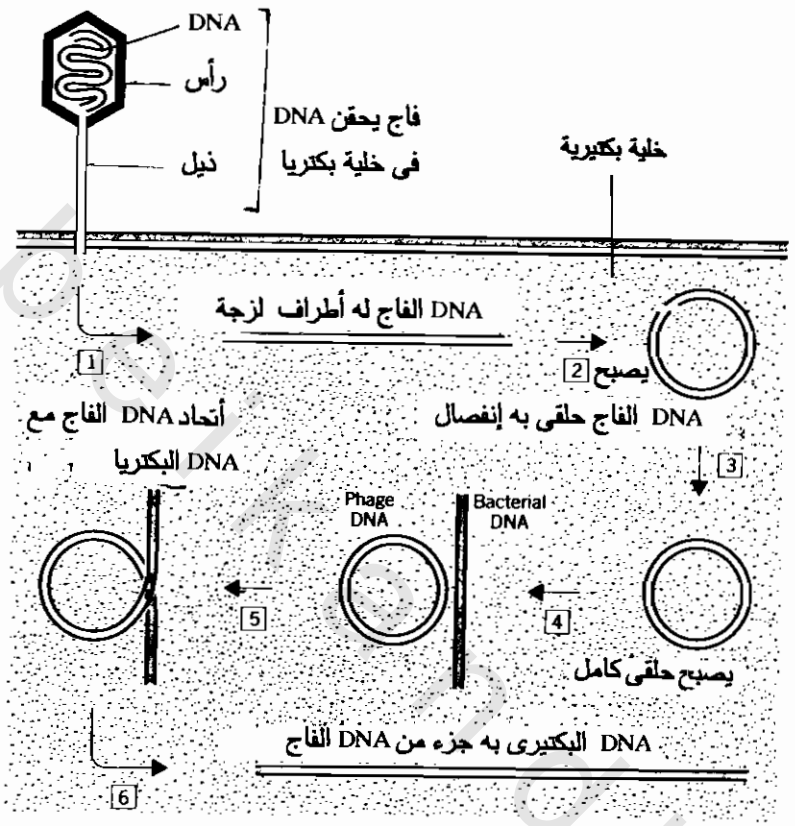
ب- plaque مكبر.

جـ- طبق بترى به نمو بكتيرى على بيئة و plaques غامقة.



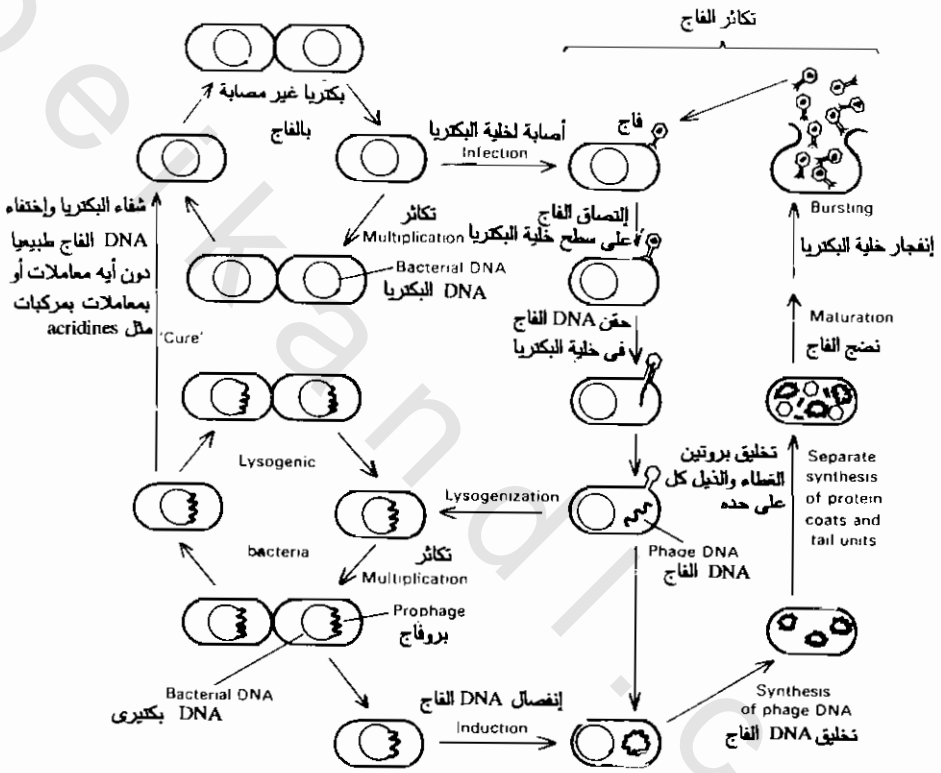
(شكل ١١٩) : المحتويات المختلفة بعد عملية الطرد المركزى فى أنبوبة طرد مركزى لمخلوط من الفاج والبروتينات ومحلول كلوريد السيزيوم وزيت معدنى.

توجد حالة أخرى من الفيرس ويسمى الفيرس المعتدل tempertate ويسمى أيضا لامبدا lambda . حيث أنه عند حقن DNA الفاج داخل الخلية البكتيرية فإنه له الخيار فإما أن يسبب تحطيم الخلية البكتيرية lysis وتسمى أيضا إصابة lytic infection وأما أن يصبح جزء من DNA الخلية البكتيرية ولا يسبب لها تحطيم أوتحلل وتسمى هذه الخلايا البكتيرية فى هذه الحالة الحاملة دون تحطيم للخلية lysogen . ولذلك يصبح DNA الفاج فى هذه الحالة جزء من DNA الخلية ويتكاثر معها طبيعيا كأنه جزء عادى من DNA البكتيريا أو الكروموسوم البكتيرى (شكل ١٢٠) . ولذلك فى حالة lysogen فإن جين أو جينات الفاج تنتج بروتين مانع repressor يمنع جينات الفاج من تكوين بروتين يسبب تحطيم أو قتل الخلية البكتيرية. حيث أنه فى حالة التحلل lysis فإن جينات الفاج تنتج بروتين يسبب تحطيم وقتل الخلية البكتيرية. أى أنه فى حالة lysogen فإن جينات الفاج التى تنتج بروتين يسبب قتل الخلية البكتيرية توقفت نتيجة لوجود المانع turned off by a repressor protein . تتميز الخلايا lysogen بأنه عند إصابتها بـ DNA فاج جديد فإن البروتين المانع يحيط بـ DNA الفاج الجديد ويمنع تأثيره. ولذلك فإن الخلايا lysogen تكون مقاومة لأى إصابة بـ DNA فاجات جديدة ولا تتأثر بها. ولذلك توجد الخلايا البكتيرية lysogen على هيئة نمو بكتيرى فى مركز plaque . ولذلك عندما يحمل lysogen جين جديد منقول إليه بواسطة الفاج يصبح الحال مماثل لحالة البلازميد ويمكن



(شكل ١٢٠): تكوين lysogen بين DNA الفاج والخلية البكترية.

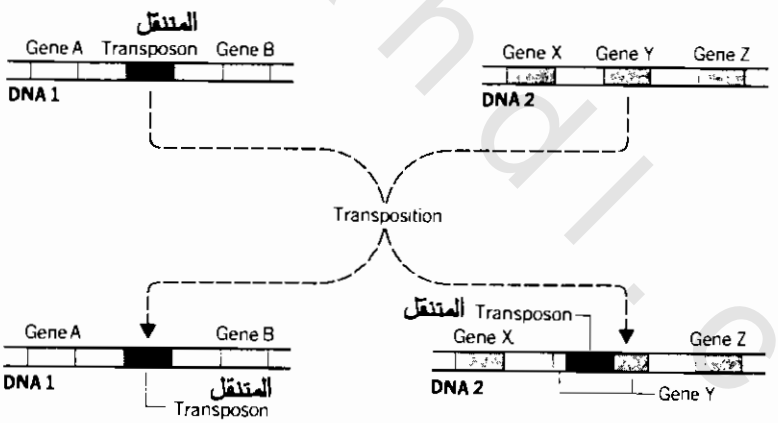
أكثار خلية lysogen للحصول على أعداد هائلة فلكية من خلايا البكتريا lysogen الحاملة للجين الجديد. وعند عمل مناطق منظمة regulatory regions على الجين الجديد أى أنها مناطق من DNA يمكن بها التحكم فى بدء نشاط الجين وإظهار تأثيره turn on وأيضا يمكن بها التحكم فى توقف نشاطه turn off. يمكن عمل ذلك بكفاءة عالية بواسطة الهندسة الوراثية. ويمكن الحصول على DNA الفاج وأيضا الجين المطلوب من داخل الخلية البكتيرية له بواسطة طرق تنقية DNA المذكوره سابقا. بلعب بروتين الخلية البكتيرية وبروتين الفاج دور هام فى لصق وإلتحام DNA الفاج بالكروموسوم البكتيرى أى DNA البكتيرى (شكل ١٢١).



(شكل ١٢١) : خطوات تكاثر الفاج و Lysogenization

المتنقلات Transposons

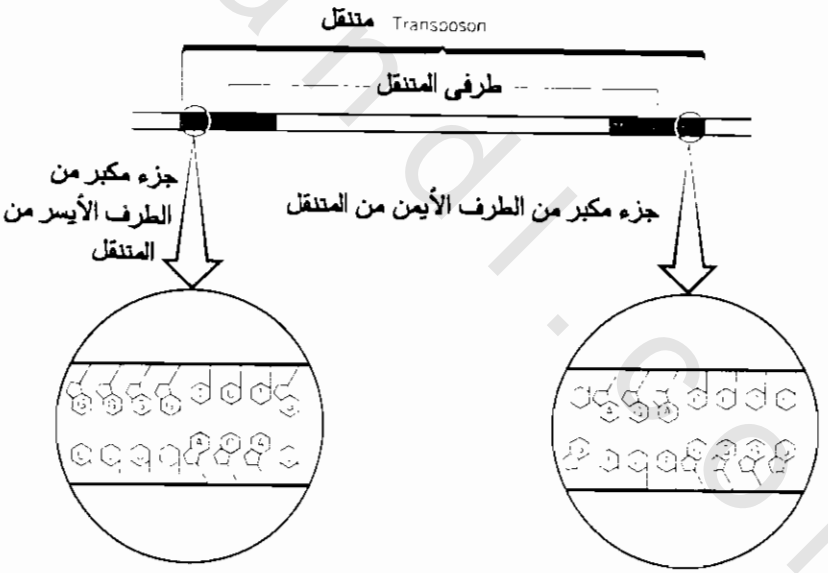
يمكن لمهندس الوراثة نقل جين أو جينات أو DNA من مكان إلى مكان آخر على جزيئ DNA آخر. يمكن أن يحدث ذلك طبيعيا فى جينات خلايا الكائنات الحية. حيث توجد أجزاء متصلة من DNA يمكن أن تضاعف نفسها وأن هذه الأجزاء الجديدة المكررة من DNA يمكن أن تنتقل وتلتصق بجزئى DNA آخر. يسمى هذا الجزء المنتقل من DNA والذى يتكون من تتابع عديد من النيوكلوتيدات باسم المتنقل tranposon وتسمى عملية نقل المكان transposition . يمكن أن تتكون أجزاء عديدة غير متصلة من DNA على الكروموسوم تسمى بالمتنقلات transposons . تختلف نتيجة عملية نقل المكان تبعا للموقع المنتقل إليه المتنقلات فإذا أنتقل بين تتابع نيوكليوتيدات الجين فإنه يسبب توقف عمل الجين (شكل ١٢٢) . ويكون الجين غير قادر على إظهار وظيفته أى على إنتاج البروتين الخاص به. يمكن أن يكون العكس عندما تدخل المتنقلات على الجزيئ الجديد بالقرب من الجين فإنها تسبب تنشيطه activates a gene .



(شكل ١٢٢) : عملية إنتقال المتنقلات. إنتقال متنقل.

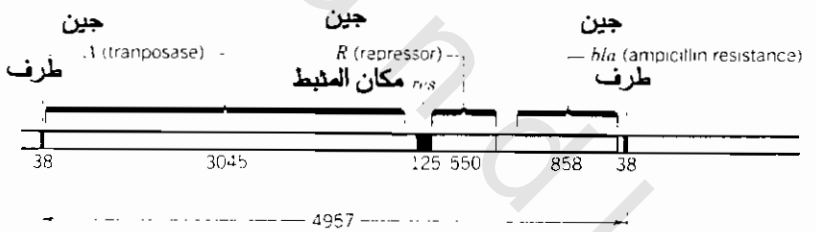
توجد المتنقلات فى مجموعات كبيرة من الكائنات الحية ويمكن القول أن جميع الكائنات الحية تحتوى المتنقلات. تتميز هذه المتنقلات فى جميع الكائنات الحية المختلفة بثلاث

خصائص. أولا تعتبر المتنقلات أجزاء متقطعة أى غير متصلة من DNA وكل جزء يتكون من عديد من النيوكليوتيدات كما أن كل متنقل له مكان محدد ثابت على جزيئ DNA المنتقل إليه. ثانيا تحتوى المتنقلات على نيوكليوتيدات يتكون منها مركب أو أكثر وهذه الأخيرة تكون المسئولة عن نقل المتنقلات من مكان إلى آخر. وجد أن هذه المركبات عبارة عن بروتين فى غالبية الحالات. ولذلك فإن المتنقلات تحتوى على جينات مسئولة عن إنتقالها من مكان إلى آخر. ثالثا يتكون كلا من طرفى المتنقل من عديد من النيوكليوتيدات المتتابعة. يعتبر هذا التتابع للنيوكليوتيدات عبارة عن موقع أو مكان التعرف recogition site . أى مكان للتعرف هو عبارة عن منطقة أو جزء من المتنقل تستخدم مع عوامل أخرى أو أجزاء أخرى من المكونات factors فى حركة ونقل المتنقل. يكون تتابع النيوكليوتيدات فى مكان التعرف مقلوب أو معكوس inverted (شكل ١٢٣) حيث يوجد فى طرف تتابع معين وفى الطرف الآخر تتابع مقلوب أى عكسى.



(شكل ١٢٣) : المتنقل وتركيب طرفيه

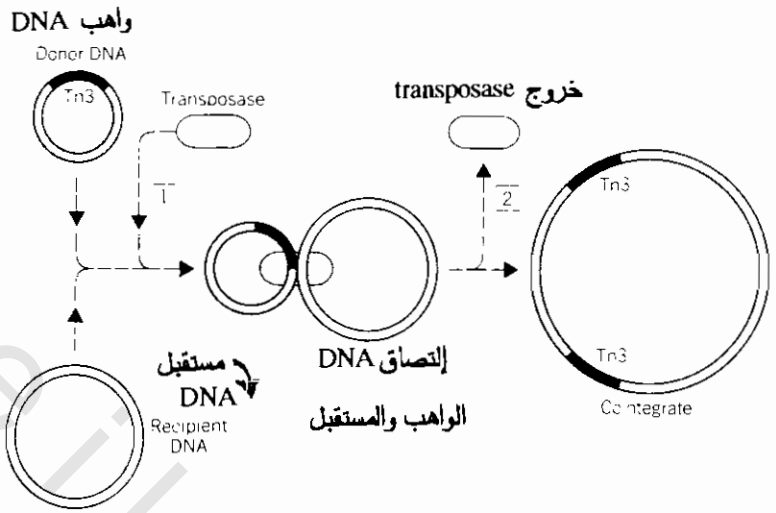
تختلف عملية نقل المكان transposition للمتنقلات فهى تختلف فى التفاصيل الجزيئية من متنقل إلى آخر. سيتم وصف هذه العملية فى أحد المتنقلات وهو Tn 3 . يوجد هذا المتنقل فى خلايا البكتيريا ويحتوى على ثلاث جينات وهى A و R و bla (شكل ١٢٤) وبالأضافة إلى ذلك يوجد ثمانية وثلاثون زوج من القواعد النووية فى أحد الطرفين ويوجد نفس العدد فى الطرف الآخر ولكن مرتبة بطريقة عكسية أى مقلوبة بالنسبة للطرف الآخر. يكون الجين bla بروتين يفسد الأمبسيللين ولذلك فإن أى خلية بكتيرية تحتوى Tn 3 تكون مقاومة للأمبسيللين. يكون الجين A بروتين يسمى transposase وهو مسئول عن إنتقال وحركة Tn 3 . عند إزالة الجين A فإن Tn 3 تكون غير قادرة على الحركة. يكون الجين R مثبط والذى يرتبط بالجين A ويمنعه من تكوين transposase ويسمى المثبط repressor . ولذلك فإن المثبط والذى يتكون من البروتين يؤثر على حركة المتنقلات ويقلل إلى حد ما من درجة حدوثها. عند منع نشاط جين R وذلك نتيجة لحدوث طفرة فى هذا الجين فإن الخطوة الأولى فى حدوث عملية نقل المكان للمتنقل Tn 3 تزداد كثيرا.



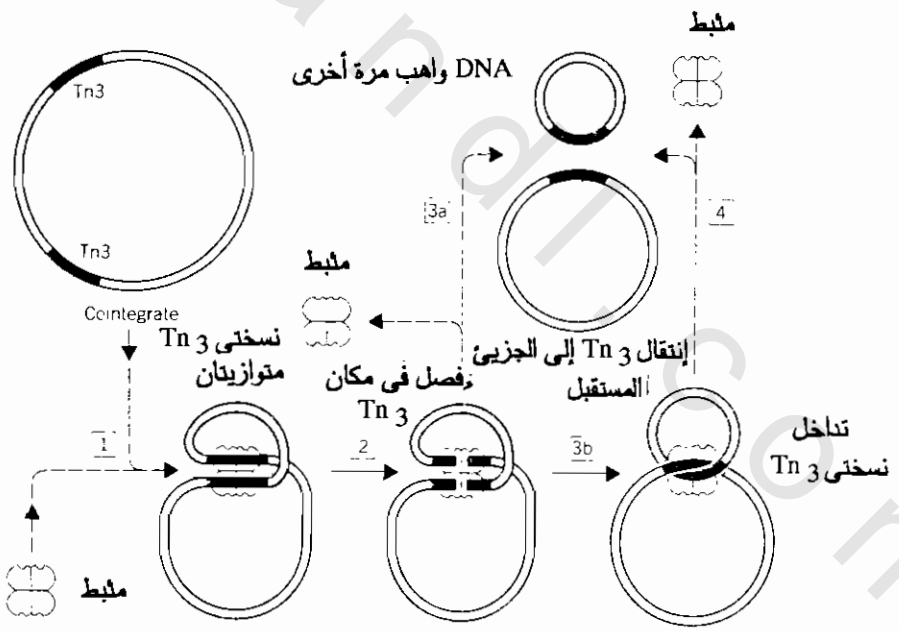
(شكل ١٢٤) : تركيب المتنقل

يحتوى Tn 3 على ثلاث جينات ومكان res هو مكان إلتصاق المثبط بالمتنقل. توضح الأرقام عدد الديوكليوتيدات فى كل جزء.

تحدث عملية نقل المكان فى المتنقل فى خطوتين (شكل ١٢٥، ١٢٦). وفى الخطوة الأولى تحدث عملية إلتصاق أو ألتحام بين جزيئ DNA المحتوى على المتنقل Tn 3 وبين جزيئ DNA آخر لا يحتوى على Tn 3 . يسمى الجزيئ المعطى للمتنقل بالـ DNA الواهب donor ويسمى الجزيئ المستقبل للمتنقل باسم DNA المستقبل recipient . يتوسط هذه الخطوة وجود بروتين transposase . ثم يتضاعف أى يتكرر جزيئ Tn 3 بواسطة أنزيم DNA polymerase ويتم إلتحام طرفى الجزيئ الواهب بطرفى الجزيئ المستقبل لتتكون حلقة كبيرة تسمى



(شكل ١٢٥) : خطوات تكوين cointegrate



(شكل ١٢٦) : خطوات حدوث recombination من الـ cointegrate

cointegrate وبعد تمام أكتمال تكوين cointegrate فإن البروتين الداخل فى العملية والذى يسمى transposase ينفصل عن جزيئ الـ DNA . وفى الخطوة الثانية ينفصل الـ cointegrate إلى حلقتين . يلعب المثبط repressor المنتج بواسطة الجين R دور كبير فى هذه الخطوة حيث أنه يرتبط بالـ cointegrate ويسبب إلتواء DNA ليصبحا الـ Tn 3 فى مواجهة بعضهما وموازيان لبعضهما. ثم يحدث كسر فى نسختى Tn 3 فى المكان res . ثم يحدث توزيع بين DNA جزيئين recombination Tn 3 بطريقتين وفى الطريقة الأولى يحدث إلتحام بين طرفى DNA فى المستقبل وفى الواهب دون تداخل كما فى الشكل 3 a وحيث ينفصل المثبط. وفى الطريقة الثانية يحدث تداخل بين حلقتى interlocked DNA وحيث يوجد إنزيم يقوم بفصل الحلقتين وهو topiomerase ويصبحا حلقتين منفصلتين مع إنفصال المثبط كما فى الشكل 4. وفى كلا الحالتين يتكون جزيئ DNA واهب وجزيئ مستقبل به المنتقل Tn 3 . وبذلك يكون قد تم إنتقال المتنقل. يقوم المثبط بوظيفتين حيث أنه يقلل معدل حدوث الأنتقال للمتنقل والوظيفة الثانية أنه يجعل جزئين Tn 3 متقابلين ويقوم بعملية الكسر أى الفصل فى منتصفيهما كما يقوم بأعادة إلتحام مكان الفصل بعد حدوث عملية recombination . ولذلك فإن المثبط يتحكم فى مدى تكرارية حدوث عملية إنتقال المتنقلات ولذلك فإن عملية النقل متحكم فيها ومنظمة تماما.

تعتبر المتنقلات من أهم أدوات أو وسائل الدراسات الوراثية لما يأتى. أولا يمكن إستعمال المتنقلات كـ cloning vehicles . حيث يمكن إدخال الجين المطلوب بين تتابع النيوكليوتيدات فى المتنقل. يمكن الحصول على أعداد كبيرة جدا من هذا المتنقل المحتوى على الجين المطلوب وذلك بإدخال هذا المتنقل إلى الخلية البكتيرية. يمكن الحصول على هذا المتنقل المحتوى على الجين المطلوب كما يمكن أيضا الحصول على البلازميد من خلايا البكتريا الحاملة لها وذلك بفصلها وعزلها وتنقيتها من خلايا البكتريا كما تم شرحه فى جزء البلازميد. يمكن حقن المتنقل بما يحمله أى الجين المطلوب فى الحيوانات وبذلك ينتقل المتنقل المطلوب إلى كروموسوم الكائن ويتحد معه. وقد تم عمل ذلك تماما لتغيير لون العين فى حشرة ذبابة الفاكهة. ثانيا تحدث بعض الأمراض الوراثية نتيجة لتثبيط بعض الجينات بواسطة المتنقلات. ولذلك فإن إزالة المتنقلات تسبب الشفاء من المرض. يمكن أن يكون العكس صحيح حيث أن النشاط الزائد لبعض الجينات overactive genes يسبب بعض الأمراض الوراثية ولذلك فإن

إضافة المتنقلات تقلل إلى حد ما من هذا النشاط الزائد للجينات ويتم الشفاء من المرض الوراثى.

يكون تركيب بعض الفيروسات المسببة لحدوث الأورام مشابة لتركيب المتنقلات أى أن تتابع النيوكليوتيدات فى كل منهما متماثل إلى حد كبير. ولذلك فإن دراسة إنتقال المتنقلات والتعرف على ميكانيكية حدوثها يمكن أن يؤدى إلى علاج بعض أنواع مرض السرطان.

الأستدلال على نقل الجينات (DNA) بالعين : Visualization of cloned DNA

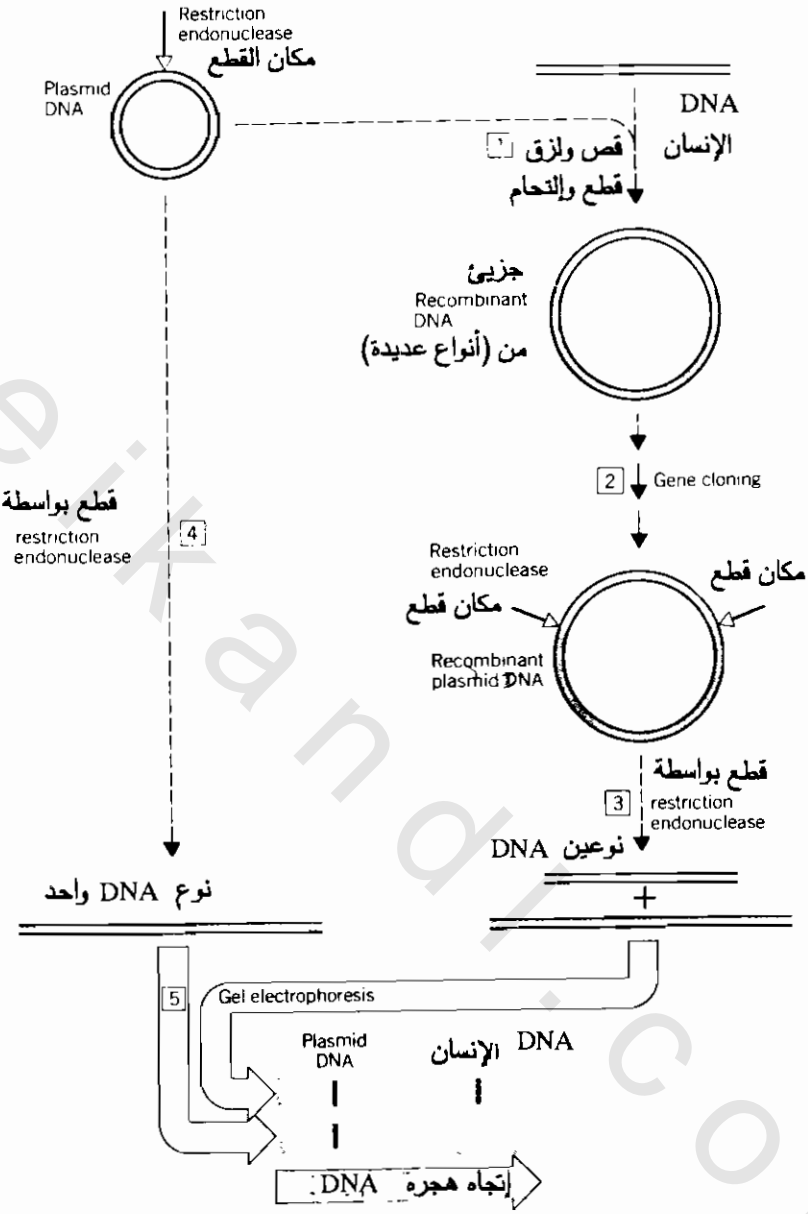
بعد نقل الجين المطلوب إلى البلازميد أو الفاج فإنه من الصعب على مهندس الوراثة معرفة ذلك وقد أمكن معرفة ذلك بالطرق الكيموحيوية وبالأختبارات الوراثية ولكن من الأفضل هو التأكد من ذلك برؤية ذلك بواسطة العين المجردة وسيكون ذلك خير دليل. يكون ذلك بإحدى طريقتين.

فى الطريقة الأولى : يتم قطع البلازميد فى مكان معين بواسطة إنزيم القطع (r. e.) وهذا نوع معين من الإنزيم متخصص لقطع البلازميد فى هذا المكان ويتم أيضا قطع جزء من DNA الإنسان عبارة جين أو عدة جينات ويكون ذلك بواسطة نفس أنزيم القطع restriction endonuclease . يتم خلط البلازميد مع الجزء الشريطى المقطوع لـ DNA الإنسان ويحدث إلتحام للجزء المقطوع من DNA الإنسان مع البلازميد فى مكان القطع. يحدث تكون بلازميد عادى به DNA الإنسان ولكن يوجد حالات عديدة حيث أن DNA الإنسان المقطوع يمكن أن يحتوى الجين المطلوب وقد لا يحتويه حيث أنه لا يمكن معرفة ذلك بدقة كافية. وكذلك قطع البلازميد يكون فى مكان واحد ويمكن أن يكون ليست بالتحديد نفس المكان بالضبط فى جميع البلازميدات. ولذلك ينتج بلازميدات عادية بها DNA الإنسان ولكنها أنواع أو طرز عديدة لأنها متشابهه وليست متماثلة تماما فى تركيبها. يمكن إدخال هذه البلازميدات إلى داخل خلايا بكتيرية ثم يتم تنمية هذه الخلايا البكتيرية على البيئة لتتكون أعداد هائلة من هذه الخلايا. ثم يتم عزل الخلايا البكتيرية التى تحتوى الجين المطلوب وأيضا عزل البلازميد المحتوى على هذا الجين المطلوب من هذه الخلايا البكتيرية وذلك كما سبق شرحه (أنظر

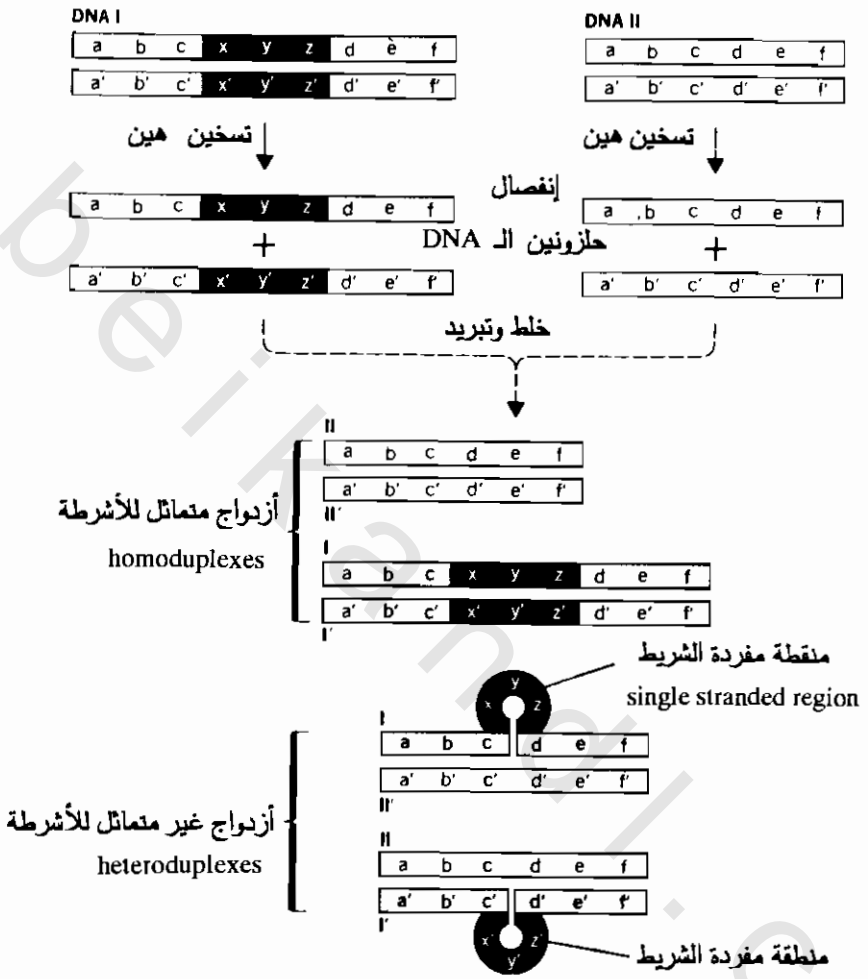
جزء البلازميدات) . تحتوى البلازميدات المعزولة على DNA الجين المطلوب ويستخدم مرة أخرى أنزيمات القطع (r. e.) متخصصة حيث يتم قطع البلازميد فى نقطتين أى مكانين وينتج عن ذلك جزء خيطى (شريطى) للبلازميد وأيضا جزء خيطى (شريطى) لـDNA الإنسان. أما فى حالة البلازميد العادى فإن له نقطة أو مكان قطع واحد بواسطة إنزيم قطع متخصص ويصبح شريطى كما سبق ذكره فى أول التجربة. ولذلك بإستخدام طريقة الهجرة فى وسط غروى فى مجال كهربائى electrophoresis فإنه يمكن فصل البلازميد العادى فى حزمة واحدة أما البلازميد المحتوى على DNA الإنسان فإنه سيكون حزمتين. تكون الحزمة البعيدة عن بداية مكان الفصل هى حزمة DNA الإنسان والحزمة القريبة من بداية مكان الفصل هى حزمة البلازميد. وبذلك يمكن الحصول على DNA فى صورة نقية (شكل ١٢٧) .

وفى الطريقة الثانية يستخدم المجهر الإلكترونى وعمل تهجين بين DNA وتسمى هذه الطريقة عمل خرائط التزاوج غير المتماثل heteroduplex mapping . والفكرة فى عمل هذه الخرائط بسيطة حيث أنه عند تزاوج خيطين مختلفين نسبيا من DNA حيث أنه توجد أجزاء متشابهه ومتماثلة فى ترتيب النيوكليوتيدات وأجزاء أخرى غير متماثلة ولذلك عند عمل التهجين بين هذين الخيطين (الشريطين) فإنه سيحدث تماثل وتوافق فى الأجزاء المتوافقة ويحدث تقارب وتزاوج وبذلك تتكون أجزاء عبارة عن خيطين من DNA double stranded DNA بينما توجد أجزاء أخرى من الخيطين غير متماثلة وغير متوافقة فلا تتقارب أو تتزاوج مع بعضها ولذلك ينتج فى بعض المناطق خيط مفرد single stranded DNA . وهذه المناطق ذات الخيط المفرد تكون حلقة loop يمكن رؤيتها بسهولة فى صور المجهر الإلكترونى. وفيما شرح تفصيلى لهذه الطريقة :

يوجد نوعين من جزئيات DNA أحدهما أطول من الآخر لأنه يحتوى على جينات زائدة وهى X ، Y ، Z ثم بالتسخين الهين يتم فصل شريطى DNA ثم يتم خلطهما والتبريد فيحدث تزاوج مرة أخرى وقد يكون بين شريطين متماثلين كما فى الأصل homoduplexes وقد يحدث بين شريطين مختلفين ونتيجة لإختلاف الطول يحدث تكون حلقة loop فى مكان X ، Y ، Z وهذه يمكن رؤيتها بالمجهر الألكترونى. مكان الحلقة عبارة عن single strand وتعتبر هذه الحالة heteroduplexes (شكل ١٢٨) .



(شكل ١٢٧): الأستدلال على مكونات recombinant DNA بواسطة gel electrophoresis . قطع البلازميد ينتج عنه نوع واحد من DNA ولكن قطع والتحام البلازميد مع DNA الإنسان ينتج عنه بلازميد recombinant حلقى. ثم تجزيئ هذا البلازميد الأخير ينتج عنه نوعين من DNA يمكن الأستدلال على ذلك بواسطة الهجرة فى مجال كهربائى فى وسط غروى gel electrophoresis .



(شكل ١٢٨): تزاوج شريطين الـ DNA وتكوين منطقة مفردة الشريط single - stranded . تسخين هين لفصل حلزونين الـ DNA ثم خلط نوعى الـ DNA ثم التبريد فيحدث أزدواج متماثل للشريطين homoduplexes أو أزدواج غير متماثل للشريطين فتوجد منطقة بها الجينات X و Y و Z ولا يقابلها منطقة متماثلة فيحدث تكوين منطقة مفردة الشريط بها الجينات X و Y و Z حلقية الشكل .

عزل ونقل الجين Gene Cloning

يعتبر ذلك أحد الأمثلة لتطبيق الدراسات السابقة بطريقة عملية وهو نقل الجينات المتحكمه فى بناء الهيموجلوبين. يعتبر الهيموجلوبين بروتين مسئول عن نقل الأوكسجين من الرئة إلى أنسجة الجسم. وأحد الأمراض الناتجة عن إختلال فى وظيفة الهيموجلوبين هو نوع من الأنيميا sickle - cell anemia . يتحكم فى بناء وتكوين هيموجلوبين الدم جينات عديدة. ومما هو جدير بالذكر أنه تتكون أنواع مختلفة من الهيموجلوبين فى جسم الإنسان أثناء مراحل نموه ومثال ذلك أن نوع الهيموجلوبين المتكون فى المولود بعد الولادة مباشرة يختلف عن نوع الهيموجلوبين الموجود فى الإنسان البالغ. ويعتبر ذلك أحد الأمثلة الرائعة للتعرف على ميكانيكية عمل الجين حيث أن الجين ممكن أن يعمل فى فترة معينة switch on ثم يتوقف عن العمل بعد ذلك switch off . أى أن الجين يأخذ أشارة بدء العمل لإنتاج نوع معين من بروتين الهيموجلوبين فى المولود وبعد ستة أشهر من الولاده يتوقف هذا الجين عن العمل ويبدأ جين أو جينات أخرى فى العمل لتكون بروتين الهيموجلوبين الخاص بالإنسان البالغ. ولذلك فإن وجود هذه الجينات الخاصة بتخليق بروتين الهيموجلوبين معزولة ومعدة للأختبار والدراسة cloned تكون ذات فائدة كبيرة لمهندس الوراثة حيث أنها ستفيد فى عمل تجارب لإكتشاف كيفية بدأ الأشارة لعمل الجين وميكانيكية الأشارة التى يتوقف بها عمل الجين.

وتتلخص طريقة عزل ونقل والإحتفاظ بالجين gene cloning فيما يأتى :-

١ - تحديد مصدر مناسب أى كائن حى مناسب للحصول على الجين DNA .

٢ - فصل DNA المطلوب عن DNA الكائن الحى.

٣ - مزج الـ DNA المفصول مع DNA الفاج.

٤ - الحصول على مجس معلم.

ا - قول الآية الكريمة { ويخلق الحى من الميت} :

١ - تحديد مصدر مناسب للحصول على الجين المطلوب:

تستعمل جينات مأخوذة من الأرانب وحيث تتحكم هذه الجينات فى تخليق بروتين هيموجلوبين الأرانب. جميع خلايا الأرنب بها هذه الجينات. وحيث أن الفاج يحتوى على

DNA يحمل معلومات وراثية ودون أن يكون هذا DNA جزء من كائن حى. ولذلك فإن جينات الهيموجلوبين يمكن الحصول عليها من كائن حى أو ميت ويمكن تخزينها فى ظروف مناسبة أى فى درجة حرارة منخفضة مناسبة لعملية التجمد ويمكن حفظها بذلك إلى زمن لانهائى. ولذلك يمكن أن يكون الميت مصدر للحياه. ويمكن أن يكون ذلك تفسير للآية القرآنية ويخلق الحى من الميت والتى إحتار فيها مفسرو القرآن كثيرا.

٢ ـ فصل DNA المطلوب عن DNA الكائن الحى:

تجمد كبد الأرنب ثم يأخذ ويوضع فى خلاط وهكذا حتى يتم تحطيم الخلايا. ثم يوضع محلول مركب شبيه بالصابون detergent وأيضا محلول أنزيم يعمل لتحليل البروتين. يفيد مخلوط محلول detergent مع الأنزيم فى فصل وإزالة البروتينات المرتبطة بالـ DNA وأيضا تفيد فى تثبيط الإنزيمات التى تحلل الأحماض النووية nucleases . يحفظ ذلك المخلوط cell lysate لعدة ساعات فى حضان فى درجة حرارة مناسبة ويخلط أيضا فى هذه الفترة بمحلول الفينول والذى يسبب إزالة البروتين المتبقى والذى لم يهضم بالأنزيمات المحللة للبروتين. ثم يأخذ المخلوط ويجرى له عملية طرد مركزى وذلك فى وجود محلول معين لعمل تدرج فى الكثافة كما سبق ذكره centrifuged in a density gradient وذلك لفصل وتنقية الـ DNA . تتكون حزمة band واحدة فى أنبوبة جهاز الطرد المركزى ويمكن سحب هذه الحزمة بواسطة حقنة حيث أن هذه الحزمة تحتوى على DNA . يتم وضع هذه الحزمة فى أنبوبة إختبار. تحتوى أنبوبة الأختبار على ملايين من الجينات وبعض منها خاص بالهيموجلوبين.

٣ ـ مزج الـ DNA المفصول مع DNA الفاج :

يتم تنقية فاج من النوع لامدا lambda كما سبق ذكره. ثم يتم إستخلاص DNA الفاج وحيث أنه زائد الطول فإنه يعامل بأنزيم قطع مناسب restriction endonuclease . يتم تجزيئ DNA الأرنب بواسطة أنزيم قطع مناسب إلى أجزاء طويلة نسبيا. يتم خلط DNA الفاج مع DNA الأرنب ثم يضاف إنزيم الربط (الإلتحام) ligase وذلك لكى يحدث إلتحام بين DNA الفاج وDNA الأرنب. ثم يكون DNA الناتج من الألتحام البروتين الخاص بالفاج. وبذلك يعبأ DNA

ناتج الألتحامrecombinant DNA داخل بروتين الفاج. وبذلك يمكن حقن هذا DNA فى داخل الخلية البكتيرية بواسطة الفاج. ومن ذلك يتضح أن يتم تخليق الفاج فى أنبوبة الإختبار فى المعمل وينقل إلى مزرعة بكتيرية *E. coli* حيث يتم إصابة خلايا البكتيريا. ثم يتم فرد خلايا المستعمرة البكتيرية على بيئة آجار مناسبة وينتج عن ذلك ظهور plaques . يحتوى كل plaque على ملايين من جزيئات الفاج. وقليل من جزيئات الفاج تحتوى على جينات الهيموجلوبين.

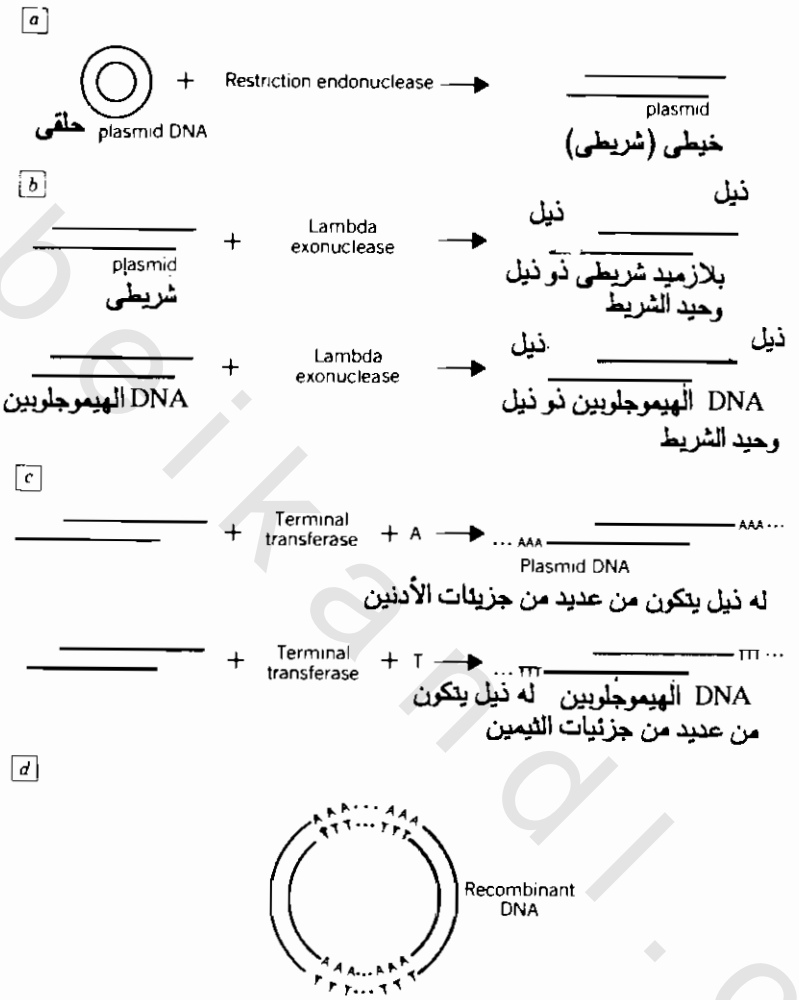
٤ ـ الحصول على مجس معلم:

لكى نتعرف على الجين أو الجينات الخاصة بالهيموجلوبين فى كل plaque نستعمل مجس معلم يتوافق فى تركيبه مع تركيب الجينات تحت الدراسة. ولذلك لابد من الحصول على ترتيب وتتابع النيوكليويتدات فى RNA أو DNA جين الهيموجلوبين. تكون الخطوة الأولى هى عزل وتنقية m RNA الخاص بالهيموجلوبين. من الصعب عزل m RNA خاص بجين معين خاصة وأن الخلية الواحدة تخلق كثير من أنواع m RNA وأنها متماثلة إلى حد كبير كيماويا وطبيعيا physically . تختلف حالة m RNA فى الهيموجلوبين حيث أن خلايا كرات الدم الحمراء تنتج هيموجلوبين ولذلك فإن الغالبية العظمى من m RNA فى هذه الخلايا هو الخاص بالهيموجلوبين .

يتم فصل كرات الدم الحمراء من الدم وذلك بتعريضه لقوة طاردة مركزية حيث تترسب كرات الدم الحمراء فى قاع أنبوبة جهاز الطرد. يتم سكب السائل الناتج من الأنبوبة ويضاف قليل من محلول ملحى للأنبوبة ويعاد تعليق كرات الدم فى الماء resuspended يضاف مركب شبيه بالصابون وهو detergent يسبب تكسير الخلايا. يضاف بعد ذلك محلول الفينول وذلك لإزالة البروتين ثم يضاف كحول. يسبب الكحول تكوين راسب أبيض من RNA والذى يمكن فصله بسهولة بواسطة قوة طاردة مركزية. حتى هذه الخطوة يصبح RNA نقى ولكنه خليط من r RNA ، t RNA ، m RNA . تتميز كثير من أنواع m RNA بأن نهاية الجزيئ تحتوى على مئات النيوكليوتيدات من نوع أدينين مرتبطة ببعضها. تستغل هذه الظاهره فى فصل

m RNA بطريقة العمود للفصل الكروماتوجرافى. حيث يتم ملأ العمود بواسطة سيليلوز مرتبط بشدة بـ DNA ذو خيط واحد single - stranded DNA يتكون من نيوكليوتيدات بها قاعدة واحدة فقط هى الثيمين. ويكون إلتصاق الثيمين بالسيليوز شديد. يمرر خليط RNA المعزول على هذا العمود فيلتصق بشدة m RNA لوجود كميات كبيرة من الأدينين فى طرفه بالثيمين الملتصق بشدة بالسيليلوز. يبقى m RNA مرتبط بالثيمين والسيليلوز ولا ينساب إلى أسفل العمود. والعكس صحيح فى أنواع RNA الأخرى حيث أنها لا ترتبط بالثيمين وتنساب إلى أسفل العمود ويتم سحبها من أسفل العمود . وهكذا تم فصل m RNA عن الأنواع الأخرى من RNA. يتم بعد ذلك فصل m RNA من العمود بسهولة وذلك بواسطة تدفئه مناسبة أى تسخين خفيف حيث يسبب ذلك فصل الإرتباط بين الثيمين والأدينين ويصبح m RNA حر ويسهل فصله. ثم يتم عمل مجس معلم وذلك بخلط m RNA مع قواعد نيتروجينية معلمة مع أنزيم النسخ العكس reverse transcriptase حيث أن هذا الأنزيم يقوم بعمل DNA معلم من نيوكليوتيدات حرة معلمة من جزيئ m RNA . يسمى DNA المتكون فى هذه الحالة بالـ DNA المكمل (c DNA) complementary DNA . يستخرج الأنزيم السابق من أورام متسببة عن فيرس يمكن بإستعمال المجس المعلم تحديد plaque المحتوية على الجين المطلوب. ولكن نحتاج فى هذه الحالة إلى فحص أعداد هائلة من plaques وعادة يصل عددها إلى مئات الآلاف. ولذلك لابد من توفر كميات كبيرة من c DNA . ولذلك فإن c DNA يتم تحويله إلى DNA ثنائى الخيط double - stranded باستعمال إنزيم البلمرة DNA polymerase - DNA . ثم يتم وضع ذلك DNA فى بلازميد ثم يتم نقل البلازميد إلى الخلية البكتيرية *E. coli* . تتكاثر هذه الخلية وبذلك نحصل على كميات كبيرة من الخلايا البكتيرية التى تحتوى على DNA المطلوب وبالتالى نحصل على أعداد كبيرة من المستعمرات البكتيرية والتى تحتوى على DNA المطلوب. يمكن التعرف على هذه المستعمرات بإستعمال m RNA مشع خاص بتخليق الهيموجلوبين. وفيما يلى شرح لذلك. يتم قطع البلازميد بواسطة أنزيم القطع restriction endonuclease فى مكان واحد ولذلك يصبح خيطى شريطى بدلا من أن يكون دائرى. يمكن تحويل البلازميد الشريطى إلى بلازميد شريطى له ذيول طويلة حيث أن كل خيط له ذيل طويل وذلك فى وجود إنزيم لامدا النووى lambda exonuclease . يمكن أيضا تحويل DNA الخاص بالهيموجلوبين بحيث أن

يكون كل خيط له ذيل طويل وذلك بنفس الأنزيم السابق. يستخدم إنزيم لربط مائة نيوكليوتيد بها قاعدة نيتروجينية واحدة هى الثيمين فى نهاية أى فى ذيل DNA الهيموجلوبين وأيضا يستخدم نفس الأنزيم لربط مائة نيوكليوتيد بها قاعدة نيتروجينية واحدة هى الأدينين وذلك فى نهاية خيوط البلازميد. يسمى هذا الأنزيم باسم إنزيم النقل الطرفى terminal transferase . يتم خلط DNA الهيموجلوبين مع DNA البلازميد فيحدث تقابل وتوافق بين الأدينين والثيمين ويكمل كل منهما الآخر وذلك بالأرتباط بروابط إيدروجينية وينتج عن ذلك تكوين بلازميد حلقى به جزء من DNA خاص بالهيموجلوبين ويسمى هذا البلازميد recombinant DNA (شكل ١٢٩). توضع هذه البلازميدات فى مزارع بكتيرية *E. coli*. بعض هذه البلازميدات يمكن أن تخترق الخلايا البكتيرية وتسكن بداخلها. يوجد فى البلازميد المستعمل جين خاص بمقاومة مضاد حيوى معين ولذلك فإن وضع الخلايا البكتيرية على بيئة آجار مناسبة بها مضاد حيوى معين فإن الخلايا البكتيرية الغير محتوية على البلازميد لن تتكاثر أما البكتريا التى تحتوى على البلازميد فإنها تتكاثر وتكون مستعمرات بكتيرية. وبذلك نحصل على كميات كبيرة من الخلايا البكتيرية بها البلازميد الناقل لـ DNA الهيموجلوبين. تختبر هذه المستعمرات البكتيرية لوجود DNA الهيموجلوبين بواسطة طريقة التهجين بين DNA والتى سبق شرحها فى الجزء الخاص بالبلازميد يمكن أن نجد أن ٨٠٪ من المستعمرات البكتيرية تحتوى على DNA الهيموجلوبين. تصبح هذه المستعمرات أيضا مصدر رئيسى للحصول على فاجات بها DNA الهيموجلوبين. يستعمل البلازميد الحامل لـ DNA الهيموجلوبين والذى يسمى DNA recombinant وأيضا يسمى c DNA plasmids وبه درجة من الأشعاع وذلك بإستعمال إنزيم خاص قادر على إضافة فوسفور مشع فى نهاية DNA . يستعمل ذلك فى إختبار سبعمائة وخمسون ألف ٧٥٠ر٠٠٠ plaques لإكتشاف plaques محتوية على DNA الهيموجلوبين. فى أثناء الأختبار يجرى عملية تهجين بين DNA وتستعمل طريقة سبق شرحها فى البلازميد. يمكن أن نتعرف على وجود plaques بها DNA الهيموجلوبين. يمكن التعرف على تتابع وترتيب النيوكليوتيدات فى DNA أى فى جينات الهيموجلوبين.

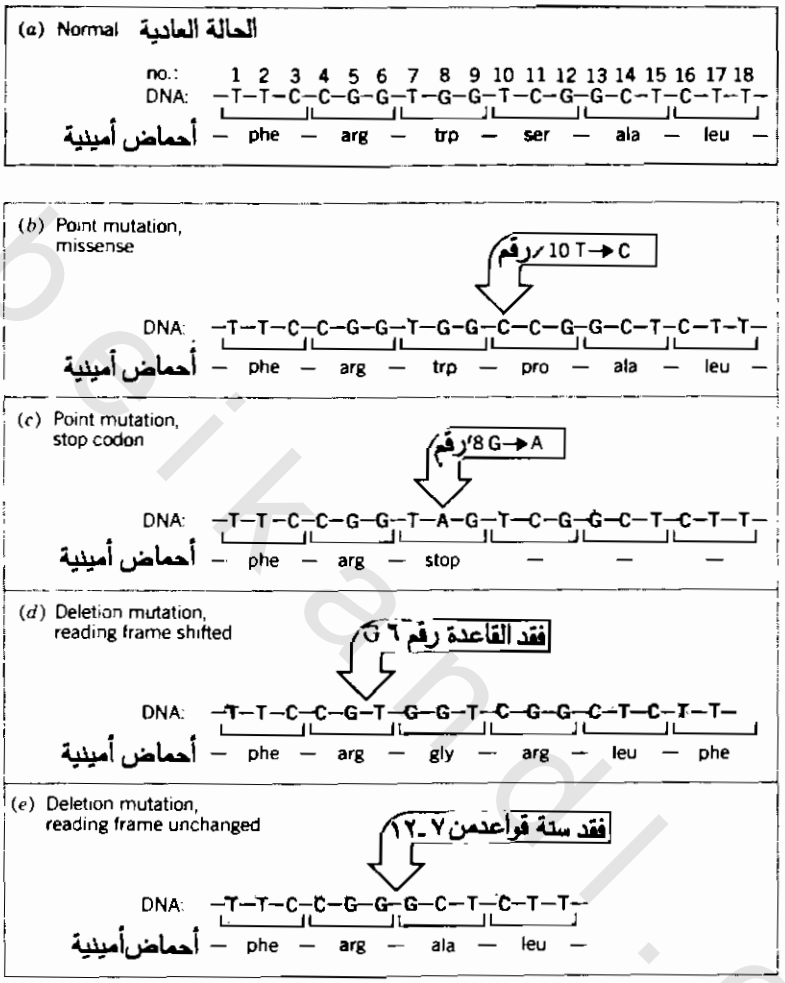


(شكل ١٢٩) : لصق أو إلتحام DNA الهيموجلوبين فى بلازميد حلقى. تحويل البلازميد الحلقى إلى شريطى بواسطة إنزيم R. E. . تكون ذيل وحيد الشريط single stranded tail فى حالة البلازميد وحالة الهيموجلوبين بأستعمال أنزيم lambda exonuclease .

إضافة نيكليوتيدات إضافية فى حالة البلازميد تتكون من عديد من الأدنين وفى حالة الهيموجلوبين تتكون من عديد من الثيمين مكونة فى كلتا الحالتين ذيل طويل. يتم إلتحام A مع T ويتكون recombinant DNA .

الطفرات Mutations

تعتبر الطفرات عبارة عن أخطاء تحدث فى تركيب DNA أثناء التضاعف وتنتقل إلى الأجيال التاليه أى أنها تورث عند وجود تغيير فى زوج واحد من النيوكليوتيدات الداخله فى تركيب الجين ومثال ذلك أن يتغير AT إلى TA. ولذلك فإن RNA polymerase إنزيم البلمره يقوم بعمل عمليه النسخ دون أى أكتشاف للخطأ ولذلك فإن يتكون mRNA به يوراسيل بدلا من أدنين. أى أن mRNA العادى يوجد به فى مكان الطفره الأدنين ولكن mRNA الطفره يوجد فى نفس المكان يوراسيل بدلا من الأدنين. ونتيجة لذلك يتغير الكودون علىmRNA الطفره ويصبح GUG بدلا من GAG. نتيجة لذلك يتكون الحامض الأمينى فالين بدلا من الحامض الأمينى جلوتاميك وبذلك يتغير تركيب البروتين نتيجة لحدوث الطفره. وقد وجدت هذه الحالة فى الأشخاص التى تعانى من الأنيميا Sickle - cell anemia حيث أن الشخص العادى يكون الجلوتاميك بينما الذى يعانى من الأنيميا فإن يكون فالين بدلا من الجلوتاميك. وفى بعض الحالات يتغير T إلى C فى DNA وينتج عن ذلك الحامض الأمينى برولين بدلا من سيرين وحيث أن ذلك لا يؤثر على ترتيب الأحماض الأمينية المرتبطة ببعضها فتسمى طفره مفتقده الحاسه missense mutation. وفى بعض الحالات قد يكون التغير فى تركيب البروتين جوهرى. نتج لحدوث الطفره ويتحول البروتين الذى يؤدى وظيفة هامة إلى بروتين خامل وفى بعض الحالات ينتج عن ذلك موت الكائن الحى وتسمى هذه بالطفره المميته lethal mutation يمكن أن تحدث الطفره فيتغير تركيب الكودون ويتحول إلى كودون التوقف stop (وتسمى كودونات التوقف أيضا بـ nonsense codon)ولذلك ميكانيكيه تخليق البروتين تتوقف مبكرا ولا يصبح البروتين كامل. وإذا حدثت الطفره فى بدايه الجين فإن جزء بسيط جدا من البروتين سيتكون ويكون له تأثير ضار بالكائن الحى (شكل ١٣٠ ـ ١٣٣). يمكن أن تحدث أنواع أخرى من الطفرات وذلك بأن يفقد أو يضاف حرف أى قاعده نيتروجينية أى نيوكليوتيد. ولذلك فإن mRNA يفقد أو يزيد هذا الحرف وينتج عن ذلك تغيير فى شفره الكودونات وتنتج أحماض أمينيه فى ترتيب مختلف فى البروتين ويختلف عن البروتين الأصلى. تسمى هذه الحاله بطفره تغيير الإطار frameshift mutation أحيانا يحدث هذا النوع من الطفرات ولكن يزيد أو يفقد أكثر من حرف وقد يكون إثنين أو أربعه أو خسمه



(شكل ١٣٠) : أنواع الطفرات

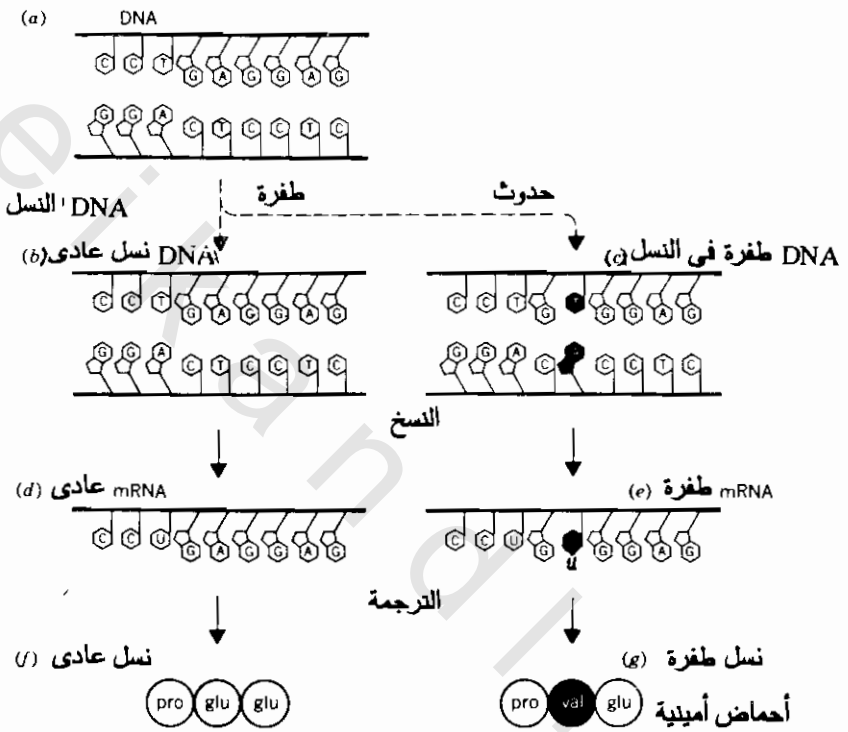
a- حالة عاديه

b- تحويل القاعده T إلى القاعده C وحدوث طفره missense .

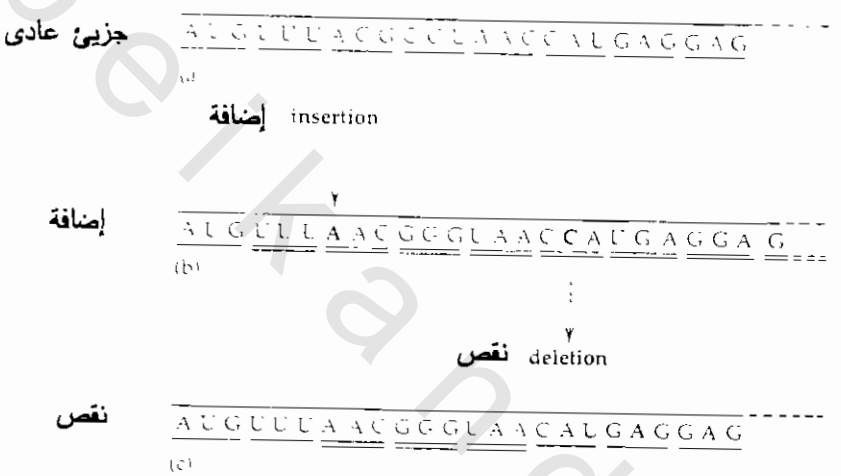
c- تحويل القاعده G إلى القاعده A وحدوث توقف لتخليق البروتين stop codon .

d- فقد القاعده G وحدوث طفره deletion من نوع frame shifted .

e- فقد سته قواعد وحدوث طفره deletion من نوع frame unchanged .

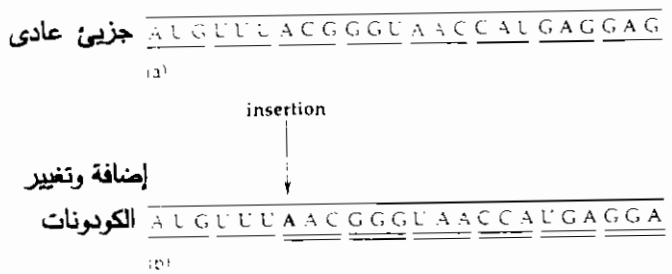


(شكل ١٣١) : حدوث طفرة فى DNA ويصبح T بدلا من A . ولذلك يتكون فى m RNA يوراسيل بدلا من الأدنين فى حالة الطفرة. ولكن فى النسل العادى يتكون الأدنين. ولذلك يختلف نوع البروتين فى النسل العادى عنه فى الطفره إذ يتكون فى الطفره الحامض الأمينى فالين بدلا من جلوتاميك. فى النسل العادى الكودون G - A - G يعطى حامض الجلوتاميك وفى الطفرة يكون الكودون G - U - G يعطى الحامض الأمينى فالين.



(شكل ١٣٢) : طفره تغيير الأطار نتيجة إضافة جزيئ أديدين ثم نقص جزيئى سيتوسين. يكون نتيجة ذلك حدوث تغيير فى تركيب ثلاث كودونات أسفلهم خطين. ثم يصبح تتابع الكودونات عادى. الكودونات الموجود أسفلها خط واحد عادية الكودونات الموجود أسفلها خطين تكون مختلفة نتيجة لحدوث طفره تغيير الأطار frameshift .

obeikandl.com



(شكل ١٣٣) : طفره تغيير الأطار نتيجه إضافه insertion جزيئ أدنين. a جزيئ عادى، b جزيئ به إضافه أدينين ونتيجه لذلك تغيرت الكودونات. إبتداء من الكودونات التى أسفلها خطين.

أو جزء كبير نسبيا من DNA. وفى حالة إزاله أو إضافه ثلاثه أو سته أو مضاعفتها فإن الطفره تسبب إزاله أو أضافه حامض أميني أو أكثر ولا تعتبر طفره تغيير الإطار لأنها لا تسبب تغيير شفره الكودونات. لحسن الحظ لا تحدث الطفرات تلقائيا إلا نادرا ولابد من وجود عامل خارجى مؤثر قد يكون الأشعاع أو المركبات الكيماويه. ويسمى هذا المؤثر الذى يسبب حدوث الطفرات بإسم المطفر mutagen والجمع المطفرات mutagens. فى حالة نقص قاعده نيتروجينيه أو أكثر تسمى طفره نقص فى القواعد deletion mutation وفى هذه الحالة قد تكون بين نوع طفره تغيير الأطار إذا كان النقص واحد أو أثنين أو أربعة أو خمسة ولكن قد يكون النقص فى ثلاثة أو ستة أو تسعة قواعد ولكن لا يسبب تغيير الأطار frame unchanged .

أهمية الهندسة الوراثيه فى أمراض النبات

تستخدم الهندسة الوراثيه الآن فى كثير من مجالات الزراعه وخاصة أمراض النبات ومما هو جدير بالذكر أن بعض مسببات أمراض النبات يكون لها دور أساسى وحيوى لدى خبير وممارس الهندسة الوراثيه حيث تعتبر بعض مسببات أمراض النبات هى أداه رئيسيه للهندسه الوراثيه فى النبات ومن هذه المسببات البكتريا *Agrobacterium tumefaciens* المسببه لمرض التدرن التاجى فى كثير من النباتات مثل العنب والتفاح وعباد الشمس وأيضا فيروس تبرقش

القنبيط cauliflower mosaic virus وأيضا بعض الكائنات الحيه الدقيقه الأخرى والتى لا تسبب أمراض للنبات مثل البكتريا *E. coli* أى *Escherichia* coli والخميره .

البيولوجية الجزيئية للنبات Plant molecular biology :

تحتوى الخلايا النباتيه على DNA ثنائى الشريط أو الخيط double - stranded DNA (ds DNA) فى ثلاثه أماكن رئيسيه بالخليه وهى النواه والميتوكوندريا والبلاستيدات الخضراء. كل مجموعه من هذه ds DNA تكون جينوم genome. يتكون الجينوم النووى من عديد من الكروموسومات وهو أكبر جينوم موجود فى الخليه أى أنه أكبر من جينوم الميتوكوندريا وأيضا جينوم البلاستيدات الخضراء حيث يتراوح فى حجمه من ٠,٢×10^{9} إلى أكثر من ٤٠×10^{9} زوج من القواعد النوويه أى النيتروجينية. يكون الإختلاف فى الحجم تبعا لنوع النبات. وفى حالة جينوم الميتوكوندريا فإنه يتكون من DNA حلقى عاده ولكن أحيانا يكون شريطى أى خيطى linear ويحتوى الجينوم على أكثر من جزيئ وقد يحتوى بالإضافه إلى ذلك على جزيئات DNA صغيره الحجم تشبه جزيئات البلازميد plasmidlike وعامه يتراوح حجم الجينوم فى الميتوكوندريا من ٠,٢×10^{6} إلى ٢,٥×10^{6} زوج من القواعد النوويه. وفى حاله جينوم البلاستيدات الخضراء يتكون من جزئى DNA حلقى وعامه يتراوح حجمه بين ٠,١٢×10^{6} إلى ٠,١٩×10^{6} زوج من القواعد النوويه. تحتوى كل بلاستيده خضراء على عدد يتراوح بين ٣٠ إلى مائتين نسخه من الجينوم copies of its genome . يحدث تكرار للـ DNA الخاص بالجينوم وقد يكون التكرار فى جزء من DNA أو جميع DNA الجينوم. وينتقل الجزء المتكرر إلى الخليه الناتجه من الأنقسام أو يبقى فى نفس الخليه. يتم نسخ DNA الجينوم إلى RNA ومنه الريبوسومى والرسول والناقل. كل جزء من الـ DNA يمكن نسخه ليقوم بوظيفه معينه يسمى جين. يعتبر mRNA هو الوحيد الذى يترجم لبناء البروتين. تتابع الشفرات الوراثيه لكثير من mRNA يتأثر نتيجه لتداخل الأنترونات introns أثناء تخليقه ولكن تزال الأنترونات قبل أن يصبح mRNA صالح للنسخ لتخليق البروتين. ولذلك فإن RNA فى الخليه يصنع ويعدل processed تركيبه بواسطه الخليه قبل أن يصبح ناضج mature أى قابل لنسخ البروتين.

يجب معرفه أن DNA و mRNA والريبوسومات الخاصة بالنواه أى النوويه تعتبر لها

صفات ومميزات الكائنات حقيقية النواه تماما. وأما هذه الأجزاء فى الميتوكوندريا تكون لها جزئيا صفات ومميزات الكائنات حقيقية النواه وجزئيا صفات ومميزات الكائنات بدائيه النواه أى أنها وسطيه فى صفاتها ومميزاتها بين الكائنات حقيقيه الدواه والكائنات بدائيه النواه. تكون هذه الأجزاء فى البلاستيدات الخضراء لها صفات ومميزات الكائنات بدائيه النواه أساسيا حيث أن لها mRNA يماثل mRNA البكتيرى حيث أنه ينقصه تتابع جزئيات الأدنين العديده الطرفيه terminal polyadenylated وينقصه وجود الأنترونات وأيضا فإن عمليه النسخ أو التعبير expression يمكن تثبيطها بواسطه المضادات الحيويه التى تسبب تثبيط mRNA البكتيرى. ومما هو جدير بالذكر أن الريبوسومات فى البلاستيدات الخضراء تكون أصغر فى حجمها من ريبوسومات السيتوبلازم وتماثل فى حجمها ريبوسومات البكتريا بينما حجم ريبوسومات الميتوكوندريا يكون وسطى بين النوعين السابقين ولكن أقرب فى حجمه من ريبوسومات السيتوبلازم. علاوه على ذلك فإن الميتوكوندريا تستعمل شفره وراثيه مختلفه قليلا عن الشفره الوراثيه العامه universal genetic code حيث أن شفرتين أى أثنين من ثلاثيات النيوكليوتيدات two nucleotide triplets تختلفان فى تكوين حامضين أمينيين مختلفين فى الميتوكوندريا عنه فى أجزاء الخليه الأخرى وحيث يوجد فيها النظام العام للشفره الوراثيه.

يعرف الجين بأنه أنجز تعبيره expressed عندما يتم نسخه transcriped لتكوين mRNA. يترجم mRNA translated ليكون البروتين والأخير ينتقل إلى المكان المناسب فى الخليه وحيث يقوم بالوظيفه المخصصه له بالخليه. توقيت وفتره وسرعه تعبير expression الجين يتحكم فيها عوامل داخليه وخارجيه. ومن هذه العوامل وجود الجينات المنظمه regulatory genes الأخرى وأيضا مناطق المحفز promoter regions الموجوده فى مقدمه الجين وأيضا علامات أو أشارات البدايه والنهاية initiation and termination signals على DNA و m RNA ومنظمات النمو الموجوده فى مراحل معينه من تكوين الخلايا والنبات والعوامل البيئيه المختلفه مثل الضوء والتغذيه ألخ.

البيولوجيه الجزيئيه لمسببات أمراض النبات:

يتشابه التركيب أو النظام الوراثى فى مسببات أمراض النبات سواء حقيقيه النواه مثل

الفطريات والنيماتود والنباتات الزهريه المتطفله والحيوانات الأوليه السوطيه أو بدائيه النواه مثل البكتريا والميكوبلازما والسبيروبلازما والطحالب الخضراء المزرقه وأيضا المجموعة الثالثه وهى الفيروسات ولكنها تختلف أيضا فى بعض من النظام الوراثى genetic system أى أنها تتشابه فى بعض صفات النظام الوراثى كما أنها تختلف فى بعض الصفات الأخرى. حيث أن الأنظمه الوراثيه للطفيليات حقيقيه النواه مثل الفطريات والنباتات الزهريه المتطفله تماثل الأنظمة الوراثيه فى النبات وأيضا الأنظمة الوراثيه فى النيماتود والحيوانات الأوليه السوطيه تماثل الأنظمة الوراثيه فى الحيوان وأيضا الأنظمة الوراثيه فى البكتريا المسببه لأمراض النبات والميكوبلازما تماثل الأنظمة الوراثيه فى البكتريا ولكن الأنظمة الوراثيه فى الفيرس تختلف عن الأنظمة الوراثيه فى الكائنات حقيقيه النواه والكائنات بدائيه النواه حيث أنها تعتمد تماما على العلاقه بين الماده النوويه للفيرس RNA أو DNA مع جينومات خليه النبات العائل.

وقد حازت الوراثه الجزيئيه لكثير من مسببات أمراض النبات إهتمام كبير حديثا حيث بدأ الأهتمام بها فى أواخر السبعينيات ويزداد الأهتمام بها عاما بعد عام لأنه وجد أن بعض هذه الطفيليات النباتيه مثل بكتريا *Agrobacterium tumefaciens* وفيروس موزايك القنبيط تستعمل vehicles لماده وراثيه غريبه يمكن إدخالها فى جيلوم النبات العائل حيث يمكن أن تكون هذه الماده الوراثيه لكائن آخر ولذلك سميت غريبه foreign. وبذلك يمكن لهذه الماده الوراثيه أن تغير وتحور فى تركيب النبات العائل. ومن الأهمية بمكان أيضا أنه أمكن إثبات إمكانيه تغييروتحوير التركيب الوراثى فى الطفيليات المسببه أمراض للنبات وأيضا تحوير التركيب الوراثى للكائنات الحيه الدقيقه والمضاده لها حيويا وحيث يكون لذلك أهميه كبيره فى المقاومه الحيويه للطفيل ولأمراض النبات.

عزل الجين وإدخاله فى كائن حى آخر دقيق لعمل أعداد كبيره منه Gene Cloning. يعرف gene cloning بأنه عزل جين أو عدد من الجينات المتقاربه التى لها دور معين gene sequence ثم إدخاله فى خليه بكتريا أو خميره حيث يمكن إكثارها بسرعه وبذلك يمكن عمل أعداد هائله من هذا الجين. يمكن أيضا إنتاج أعداد كبيره من mRNA الخاص بهذا الجين وبذلك يمكن دراسه تركيب الجين والتعرف عليه وأيضا يمكن معرفه التتابع فى الجين والذى ينظم تعبير الجين expression حيث يمكن بذلك إعادة تركيب أو تخليق الجين resynthesize أو تحويره modify. وأيضا يمكن إضافه الجين إلى كائن حى آخر لأظهار تأثير هذا الجين فى

الكائن الحى الجديد. تعتبر الطرق المستعمله فى gene cloning غير بسيطه وأنها الأساس فى الهندسه الوراثيه. وفيما يلى ذكر ذلك بإختصار:-

أ - تكوين DNA تكميلى من RNA رسول: Cloning Complimentary DNA from mRNA

يتم إستخلاص mRNA من الخلايا حيث تكون الخليه فى مرحله يكون فيها الجين فعال ومثال ذلك أن الجين ينتج إنزيم أوسم أو أن جين النبات العائل ينتج فيتوألكسين. يعرض mRNA لأنزيم النسخ العكسى reverse transcriptase حيث يقوم بتخليق DNA وحيد الخيط أو الشريط single stranded DNA ويكون مكمل complementary mDNA ويرمز له بالرمز cDNA. ثم يتم تعريض cDNA إلى أنزيم آخر وهو DNA polymerase حيث يكون cDNA ثنائى الخيط double stranded cDNA. وهذا الأخير يتم إدخاله فى بلازميد خليه بكتيريه. يحمل البلازميد المستعمل جينات لمقاومه إثنين من المضادات الحيويه وهى أمبسللين ampicillin وتتراسيكلين tetracycline. ثم يتم إدخال cDNA داخل الجين المقاوم للأمبسللين أى يتخلل أو يتوسط النيوكليوتيدات المكونه للجين وبذلك يفشل الجين المقاوم للأمبسللين فى أظهار تأثيره وتصبح الخليه المحتويه على هذا البلازميد غير مقاومه للأمبسللين وتموت من تأثيره. ولذلك فإنه يتم إدخال هذا البلازميد فى خلايا بكتريا *E.coli* وتصبح الخليه محتويه على هذا البلازميد أى transformed ليست من الضرورى أن تكون كل الخلايا البكتيريه محتويه على البلازميد فبعضها يحتوى هذا البلازميد والبعض الآخر لا يحتوى على هذا البلازميد الذى يحتوى المقاومه للتتراسيكلين. وعند وضع البكتريا *E.coli* على بيئه آجار مغذى تحتوى على التتراسيكلين فإن البكتريا المحتوية على البلازميد المحتوى على جين المقاومه للتتراسيكلين هى التى تعيش فقط. تأخذ هذه البكتريا وتكاثر على بيئه آجار مغذى أو بيئه سائله مثل بيئه المرق المغذى وينتج عن ذلك ملايين من الخلايا البكتريه التى تحتوى على البلازميد المحتوى على c DNA وأيضا جين المقاومه للتتراسيكلين. وللتعرف على المستعمره المحتويه على الجين المختبر المطلوب يحتاج ذلك إلى أختبارات أخرى سيريولوجيه أو أنزيميه serological or immunological techniques لبروتين خاص coded بالجين ويمكن إستخدام طريقه أخرى وهى طريقه المجس المشع radioactive probe. وعند

الحصول على المستعمره البكتيريه المحتويه على الجين فإنه يتم إكثار هذه البكتريا للحصول على كميه كافيه من DNA الجين أو حتى البروتين الذى ينتجه هذا الجين. تستعمل هذه المستعمرات البكتيرية لدراسات تاليه منها عزل الجين وكيفيه التعامل معه ونقله.

ب - عزل ونقل وأدخال جينات من الجينوم إلى كائن حى دقيق: Cloning genes from genome DNA

يخلو mRNA المكتمل أو الناضج من الأنترونات وأيضا يخلو من تتابع النيكليوتيدات المحيط بـ DNA الجين فى الجينوم ولذلك من الضرورى عمل genomic clones أى عمل clones للأجزاء المختلفه من الجينوم. تفيد genomic clones فى دراسه تركيب وتوزيع وترتيب الجينات فى الجينوم وأيضا تتابع النيكليوتيدات الملاصقه للجين أى المحيط بـه. يتم عمل genomic clones وذلك بعزل جينومات النواه والبلاستيدات الخضراء والميتوكوندريا كل على حده وتنقيتها . يهضم DNA جزئيا أى يتم تجزئيه بواسطه أنزيمات التجزئة أو القطع restriction enzyme لتعطى أجزاء صغيره من DNA كل جزء يتكون من حوالى عشرون ألف زوج من القواعد النوويه. تخلط الأجزاء الصغيره من DNA مع بلازميدات البكتريا وعاده تخلط مع جينوم محور modified genome للفاج لا مدا lambda phage . تؤخذ أجزاء DNA وتدخل فى تركيب DNA البلازميد أو الفاج. ثم يتم إستعمال هذه البلازميدات أو الفاج فى إدخال DNA فى خلايا البكتريا *E.coli* ثم يتم أكثار هذه البكتريا على بيئات مناسبه وبذلك نحصل على كميات هائله من الماده الوراثيه DNA المطلوبة والموجوده فى داخل بلايين من خلايا البكتريا *E.coli* . يتم تحديد الجينات المطلوبه بالطرق السابق شرحها فى الجزء السابق. يتم عمل cDNA cloning قبل عمل genome cloning عاده حيث أنه يتم عمل مجسات متخصصة specific probes لعديد من الجينات المطلوب دراستها. وتستعمل هذه المجسات فى التعرف على الجينات المطلوبة ويتم عزلها أثناء خطوات genomic cloning .

جـ - تعبير الجينات المعزوله المنقوله: Expression of cloned genes

يكون لعمليات التعرف detection وعزل isolation ونقل cloning الجينات دور كبير فى إمداد مهندس الوراثه بالمعلومات المفيده وتفيد أيضا فى إنجاز الهدف المنشود من الهندسه

الوراثيه وهو إمكانيه التعبير السليم والمنشود للجين المنقول gene cloning فى كائن حى جديد وفى بيئة مختلفه. حيث أنه دائما يكون الجين المنقول ذو فائده كبيره بل وعظيمة للكائن الحى المنقول إليه. ومما هو جدير بالذكر فى هذا الصدد أنه لا يكفى نقل الجين المطلوب إلى كائن حى جديد بل وأن يكون هذا الجين فعال active أى نشط والفاعليه والنشاط فى هذه الحاله معناها أن يكون الجين قادر على إظهار تأثيره أى التعبير عن وجوده expression وذلك بإظهار وإنجاز التفاعل أو التفاعلات الكيموحيويه فى الكائن الحى الجديد والتى عاده يكون لها فائده عظيمه للكائن الحى المنقول إليه. تعبير الجينات المنقوله من النبات (كائن حى حقيقى النواه) إلى البكتريا (كائن بدائى النواه) يكون غير ممكن فى بعض الأحوال وذلك لأختلاف محفزات الجينات different promoter genes وأيضا لعدم قدره جينومات البكتريا على إزالة الإنترونات من mRNA أثناء تكوينه أو نضجه وأيضا قد يكون لعدم قدرة البكتريا على تحوير البروتين الإبتدائى إلى بروتين ناضج قادر على أداء وظيفته functional proteins. ولكن بالرغم من ذلك فإن كثير من جينات النواه والبلاستيدات الخضراء والميتوكوندريا قد عزلت ونقلت cloned إلى البكتريا وقد كانت قادره على التعبير عن وجودها expression وذلك بإستعمال DNA تكميلى cDNA تم تركيبه والحصول عليه من هذه الجينات. تم حديثا أكتشاف طرق وفيها يستخدم vectors لبلازميدات أو فيروسات والتى يمكن عن طريقها أن تعبر جينات النبات عن وظائفها وهى فى داخل الخلايا البكتيريه. يمكن أيضا عزل ونقل cloning بعض جينات من النباتات الزهريه والفطريات (كائنات حقيقيه النواه) إلى كائنات حيه دقيقة حقيقيه النواه مثل الخميره وقد تم ذلك حديثا نسبيا ويمكن أن يكون لذلك أهميه عظمى فى المستقبل حيث أن خلايا الخميره بعكس خلايا البكتريا قادره على تحويل البروتين الإبتدائى إلى بروتين كامل ناضج وظيفى أى قادر على أداء وظيفته بكفاءه عاليهfunctional mature protein. وحديثا جدا أمكن نقل جينات نبات cloned genes إلى نباتات أخرى تختلف فى النوع أو الجنس وبذلك يمكن أن يفتح ذلك مجال عظيم فى الهندسه الوراثيه وذلك بإستعمال جينات مدروسه وقادره على تخليق أنواع مختلفه من البروتينات وذات وظائف مختلفه وحيث أن أحد هذه الوظائف هى قدرتها على مقاومه أمراض النبات فإنه بذلك يكون للهندسة الوراثيه دور هام فى أمراض النبات. حيث أن الهدف المنشود لعلماء أمراض النبات هو

الحصول على أصناف مقاومه من النباتات المختلفة. حيث أن الأصناف المقاومه لا تحتاج إلى مقاومه كيماويه أو خلافه من طرق المقاومه الأخرى. ومما هو جدير بالذكر أن المقاومه الكيماويه الآن أصبحت مرفوضه حيث أن المبيدات المستعمله تلوث البيئة وضررها بليغ على الإنسان والحيوان وذلك بالإضافه إلى إرتفاع أسعارها وأنها تحتاج إلى مجهود كبير لعمل رش دورى لضمان فاعليه عمليه المقاومه.

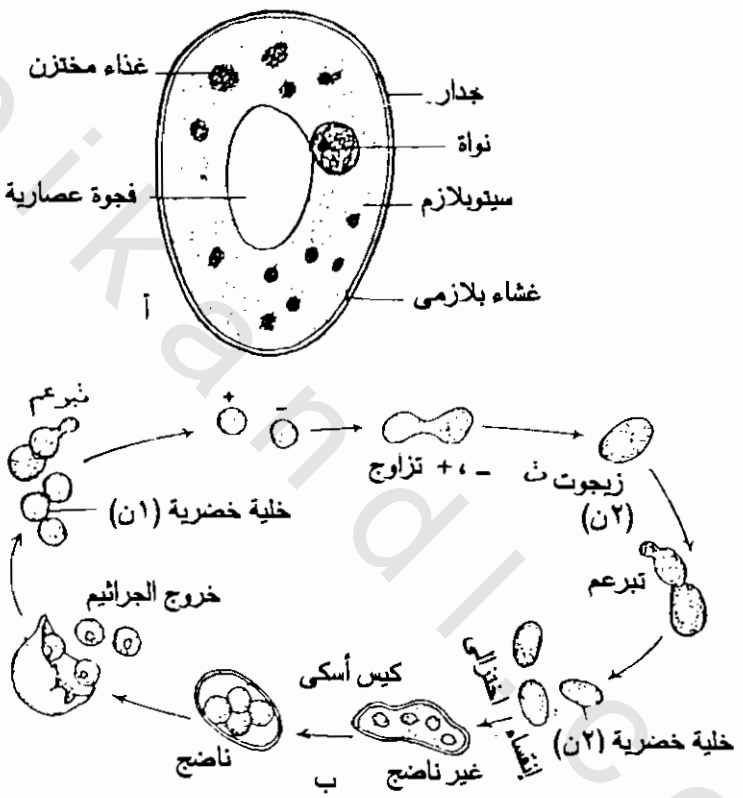
نبذه عن فطر الخميرة:

هى فطريات أسكية تتكون من خليه واحدة كروية أو بيضاوية أو مستطيلة أو مضلعة، شفافة أو ملونة، ولها جدار خلوى واضح به نسبة من الكيتين ويبطنه غشاء بلازمى، وبها فجوة عصارية واضحة. النواة واضحة مميزة، ويحتوى السيتوبلازم على ميتوكوندريات وبه غذاء مخزن فى صورة جليكوجين وحبيبات زيت (شكل ١٣٤).

التكاثر اللاجنسى يحدث بطريقتين، الانقسام المباشر والتبرعم. فى الانقسام المباشر، تستطيل الخليه الام وتنقسم نواتها إلى قسمين ثم يتكون جدار فاصل يفصل النواتين وتتكون خليتان. فى التبرعم يظهر نتوء بالخلية الأم، وتنقسم نواة الخليه الام إلى نواتين، تنتقل نواة منهما إلى النتوء الذى ينفصل من الام بالانقباض أو بتكوين جدار. تكبر الخلية الجديدة فى الحجم قبل أن تنفصل من الخلية الام، وقد تبقى متصلة وتتبرعم هى بالتالى قبل تمام نموها. ويكون نتيجة ذلك ظهور خلايا الخميرة متصلة بشكل سلاسل وذلك كما فى خميرة البيرة *Saccharomyces cerevisiae*.

التكاثر الجنسى يختلف باختلاف الاجناس ففى خميرة البيرة، حيث تتضح فى دورة الحياة ظاهرة تبادل الاجيال. فيحدث بتزاوج خليتين خضرتين متوافقتين (+ و ـ) أحاديتا الأساس الكروموسومى. وذلك بأن تتقارب الخليتان ويمتد من كل منهما فى اتجاه الآخر نتوء صغير يعرف بأنبوبة التزاوج copulation tube، يتلاصقان من طرفيهما ويذوب الجدار الفاصل بينهما ثم يحدث أتحاد البروتوبلاستين وتنتج عن ذلك خلية ثنائية الاساس الكروموسومى هى الزيجوت، وهذه تتكاثر بالتبرعم مكونة خلايا خضرية ثنائية الاساس الكروموسومى. بعد فترة من التكاثر الخضرى تدخل الخلايا دور سكون ثم تنقسم نواة كل منها انقساما اختزاليا

متحولة بذلك إلى اكياس أسكية تحتوى كل منها على أربعة جراثيم أسكية. يتمزق الكيس الاسكى وتتحرر الجراثيم الأسكية، وتتكاثر بالتبرعم مكونة خلايا خضرية أحادية الاساس الكروموسومى تعيد دورة الحياة(شكل ١٣٤).



(شكل ١٣٤) : فطر الخميره

أ- تركيب الخليه

ب- دوره الحياه

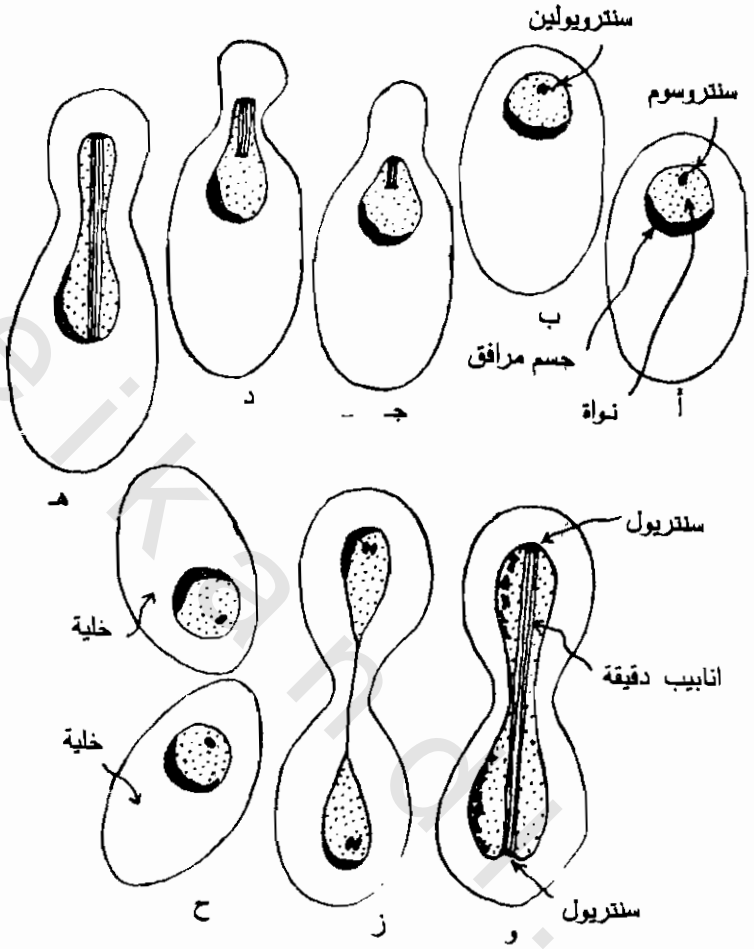
الإنقسام المباشر amitosis يعرف أيضاً، بالإنقسام البسيط، ويحدث عادة فى بعض النباتات الدنيئة وحيدة الخلية كالبكتريا والخمائر. وفى فطر الخميرة تتكون نواة الخلية من جزئين أحدهما كروى موجب لصبغة فولجين feulgen والآخر هلالى الشكل سالب لصبغة فولجين ويسمى بالجسم المرافق companion body. ويوجد بداخل النواة أو ملاصقا لغلافها جسم مركزى centrosome. فى أثناء الإنقسام يستطيل الجزء الكروى ثم يضيق من الوسط ثم ينفصل إلى جزئين متساويين يكونا النواتين الجديدتين. وفى هذه الأثناء فان الجسم المرافق يستطيل ويستدق ويتجزء إلى أجزاء صغيرة حبيبية الشكل تتوزع بالتساوى تقريبا بين النواتين الجديدتين. كما أن السنتروسوم ينقسم أثناء الانقسام إلى سنتريولين centrioles ويتجه كل سنتريول إلى أحد طرفى النواة ويتحد بغلاف النواة ويصل بين السنترويولين أنابيب سيتوبلازمية دقيقة microtubules تشابه خيوط المغزل (شكل ١٣٥). يلاحظ أنه لا تتميز كروموسومات واضحه أثناء هذا الأنقسام وبالرغم أن الخميره لها كروموسومات محدده ومعروفه بل وأمكن تخليق كروموسوم الخميره وذلك بواسطة الهندسة الوراثيه.

نبذه عن البكتريا *Agrobacterium tumefaciens*:

تسبب هذه البكتريا مرض هام فى النبات وهو التدرن التاجى crown gall ينتشر هذا المرض فى جميع أنحاء العالم. تصيب البكتريا عوائل خشبيه وعشبيه كثيره تشمل مائه وأربعون جنس تتبع ستون عائله. توجد على وجه الخصوص على التفاح والفاكهه ذات النواه الحجريه والعنب.

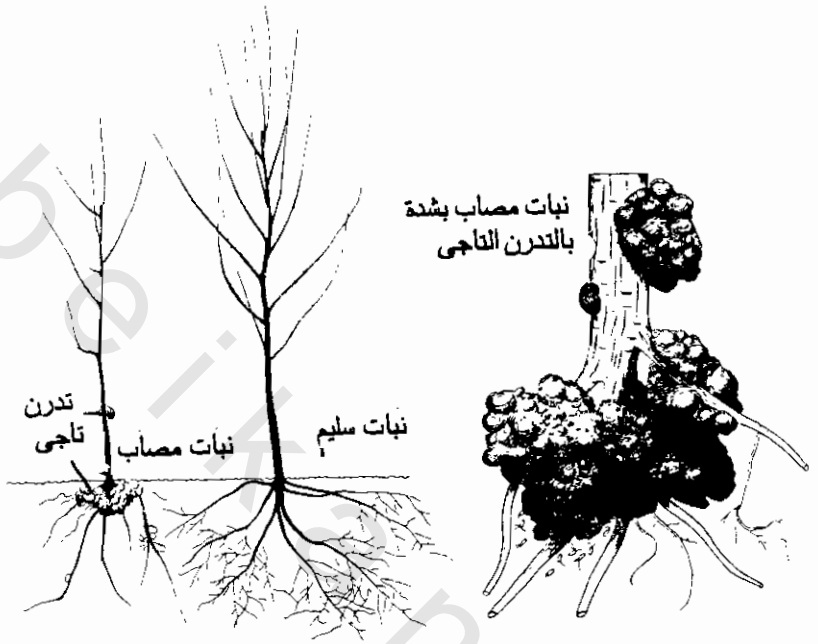
يتميز المرض بتكوين تدرنات أى أورام ذات أشكال وأحجام مختلفة وتتكون عاده تحت سطح التربه مباشرة وهى الجزء من ساق النبات الذى يعرف بالتاج crown ومنه أشتق أسم المرض. يمكن أن تظهر أعراض المرض على الجذور الرئيسية. يقل محصول النبات المصاب وقد يموت. يشابه المرض سرطان الإنسان والحيوان ولذلك فإن كيفيه حدوثه تمت دراستها بالتفصيل ولكن أيضا توجد إختلافات جوهريه فى الحالتين (شكل ١٣٦).

حديثا ونتيجه للدراسات المكثفه على هذه البكتريا وهذا المرض. فقد أمكن إثبات أن البكتريا تغير فى تركيب أى تحور الماده الوراثيه لخلايا النبات العائل حيث أنه يوجد جزء من بلازميد هذه البكتريا ويعرف هذا البلازميد بإسم Ti Plasmid DNA ويعرف هذا الجزء بإسم



(شكل ١٣٥) : الانقسام المباشر. خطوات الانقسام المباشر فى الخميرة .

T-DNA ويمكن لهذا الجزء أن ينتقل ويلتحم فى DNA الخليه ويصبح جزء من الماده الوراثيه للخليه ويمكن أن يعبر express عن وظيفته أو وظائفه بكفاءه عاليه فى خليه النبات. ولذلك فإن من الممكن إستخلاص البلازميد Ti وإدخال جينات جديده إليه من نبات الفاصوليا يتم إلتحام هذه الجينات أى أجزاء من DNA الفاصوليا مع البلازميد ثم يتم إدخال البلازميد فى خلايا البكتريا *A.tumefaciens* ثم يتم عمل تلقيح بهذه البكتريا فى نبات آخر مثل عباد الشمس



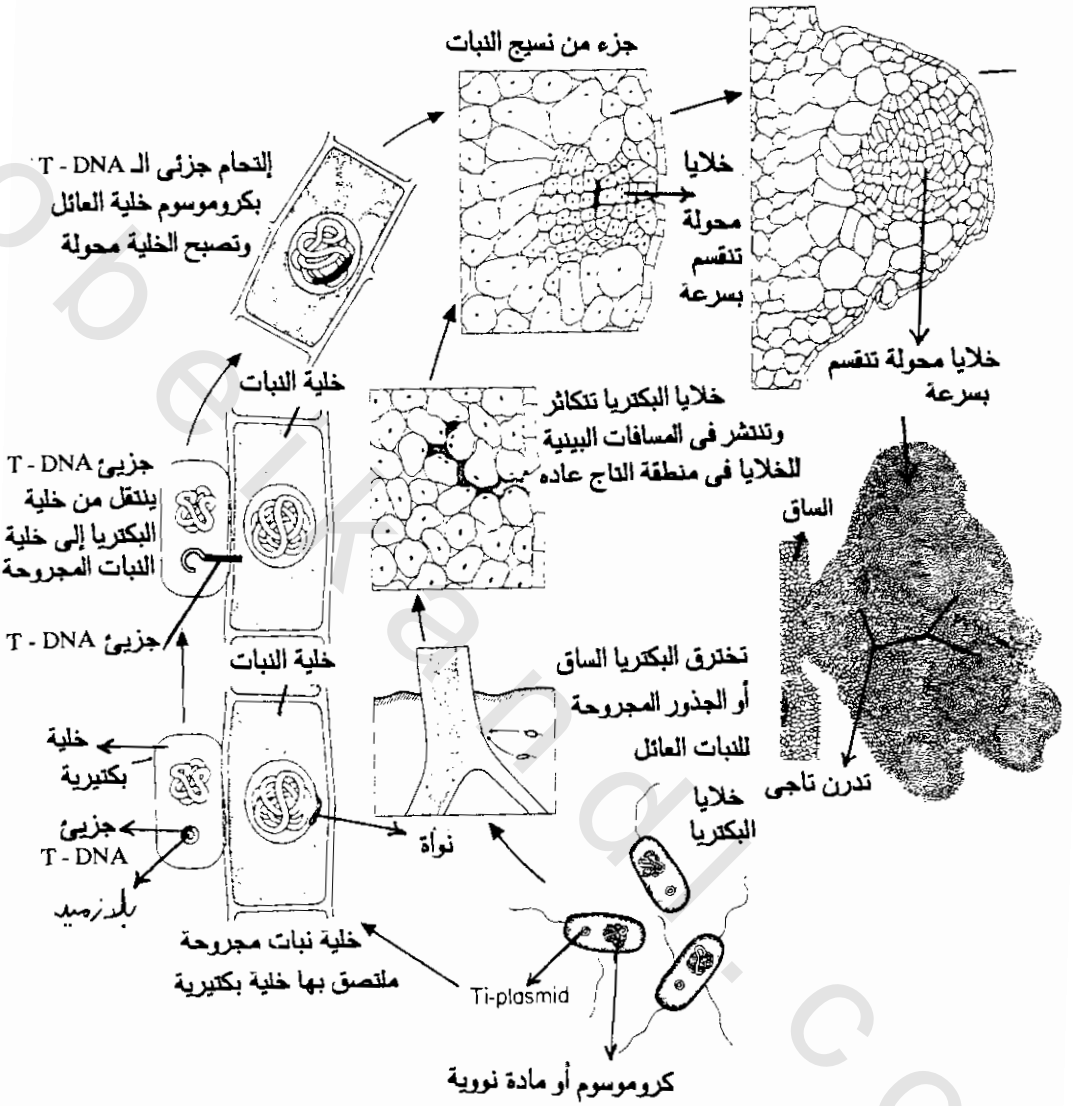
(شكل ١٣٦) :أعراض مرض التدرن التاجى.

وبذلك يمكن أن تنتقل جينات الفاصوليا إلى كروموسومات عباد الشمس وتصبح جزء من الماده الوراثيه لنبات عباد الشمس. تستعمل هذه الطريقة بكثره فى نقل جينات من نبات إلى آخر عن طريق هذه البكتريا ويعتبر DNA عباد الشمس المحتوى على جينات من الفاصوليا أنه recombinant DNA. حديثا يمكن تلقيح بروتوبلاست النبات العائل مباشرة بواسطة بلازميدات عاديه أو مهندسه وراثيا وذلك فى عدم وجود البكتريا. يمكن الآن إزاله أجزاء من البلازميد Ti المسئول عن تكوين الأورام فى النبات وتظل الأجزاء الأخرى من البلازميد فعاله وقادره على إظهار تأثيرها ولذلك فأنه يحدث تأثير عاد لهذه البلازميدات إلا أن خلايا البكتريا تكون غير قادره على أنتاج أورام فى النبات. تعتبر هذه البكتريا مهندس وراثه طبيعى natural genetic engineer قادر على تحوير الماده الوراثيه للنبات العائل وذلك بإدخال

جزء من الماده الوراثيه لهذه البكتريا إلى كروموسومات النبات العائل. والآن تستخدم هذه البكتريا على نطاق واسع لنقل جميع أنواع الجينات بين نباتات مختلفه متقاربه ومتباعده وراثيا related and unrelated plants وأيضا بين كائنات حيه متباعده بين الحشرات أو الفيروسات والنبات أى أنه يمكن نقل صفه من حشره معينه إلى النبات عن طريق هذه البكتريا (شكل ١٣٧).

الأعراض المرضيه لهذه البكتريا على النبات: تظهر أورام صغيره على الساق أو الجذور بالقرب من سطح التربه فى البدايه. وفى الأطوار الأولى تكون الأورام تقريبا كرويه الشكل بيضاء أو لحميه اللون وطريه. وحيث أنه لكى تحدث الأصابه لابد من وجود جروح أى أن التدرن أو الورم ينتج فى منطقة الجرح فإنه فى البداية لا يمكن تمييزه عن نسيج الكالس callus ولكن سرعة تكوين الورم تكون أكثر بكثير من سرعة تكوين الكالس. يكبر التدرن فى الحجم ويصبح سطحه ملتو ومتعرج. وفى النهاية تصبح الأنسجه الخارجيه للتدرن بنيه سوداء أو سوداء نتيجه لموت وتحلل الأنسجه السطحيه للورم. أحيانا لا يوجد خط فاصل واضح بين نسيج الورم وأنسجه النبات حيث يظهر الورم نتيجه لإنتفاخ غير منتظم الشكل فى الأنسجه ويحيط بالساق أو الجذر. عاده يكون الأنتفاخ خارجى وملاصق للجذر أو الساق عن طريق عنق ضيق من الأنسجه. وأحيانا يكون الورم أسفنجى القوام ويمكن أن ينفصل بسهوله عن الساق أو الجذر أو يتحلل أو ينفصل إلى أجزاء تسقط أو تتحلل. أحيانا أخرى يصبح الورم خشبى صلب ويصبح درنى الشكل ويصل قطره إلى ٣٠ سم أو أكثر. بعض الأورام يمكن أن تتعفن جزئيا أو كليا ويبدأ العفن من السطح ويتجه إلى داخل التدرن وذلك فى الخريف أو الشتاء ويتكون مرة أخرى فى نفس المكان فى الموسم التالى فى الربيع أو الصيف أى فى موسم النمو. أحيانا تتعفن أجزاء من الورم أو التدرن وتتحلل وتتكون أورام أخرى على الأجزاء المتبقيه من الورم.

تتكون الأورام على الجذور والسيقان عاده وعند سطح التربه ولكنها قد تتكون على بعد قد يصل متر ونصف من منطقة التاج للنبات وذلك فى بعض النباتات الزاحفه أو العشبية وقد تتكون على أفرع الأشجار أو بتلات الأزهار أو عروق الأوراق. عاده يكون ورم أو تدرن واحد فقط ولكن يمكن أن يزيد ويصبح عديد من الأورام متصله على الجذر أو الساق أو كليهما أو على الفروع.



(شكل ١٣٧) : دوره حياة البكتريا المسببه لمرض التدرن التاجى.

قد لا يؤثر المرض تأثير ضار واضح على النبات ولكن قد يسبب قصر النبات وقد ينتج أوراق صغيره ذات لون أخضر باهت ويكون النبات قابل للتأثر بالظروف البيئيه غير الملائمه والتى تؤثر على نموه وإنتاجيته مثل ضرر الشتاء winter injury .

صفات البكتريا: عصويه الشكل ذات عدد قليل من الأسواط محيطى peritrichous . يوجد بداخل خلايا البكتريا للسلالات الممرضه بلازميد أو أكثر. يتكون البلازميد من DNA ثنائى الشريط أو الخيط حلقى الشكل ووزنه الجزيئى يتراوح بين مائه إلى مائه وأربعون مليون دالتون. يحمل أحد هذه البلازميدات جينات خاصة بتكوين التدرن أى الأورام ويسمىTi Plasmid وهى إختصار لكلمتين وهما منتج الأورام tumor-inducing. خلو البكتريا من البلازميد Ti يجعلها غير ممرضه للنبات. كما أن المعامله الحراريه للخلايا البكتريه المحتويه على بلازميد Ti تفقدها هذا البلازميد ويصبح غير فعال وتصبح البكتريا غير ممرضه للنبات أى تفقد القدره على إصابه النبات. يحمل البلازميد Ti الجينات التى تحدد نوع العوائل النباتيه التى يمكن أن تصيبها الخلايا البكتيريه الحامله لهذا البلازميد وأيضا تحدد نوع الأصابه على النبات العائل حيث أنه توجد أنواع وحالات مختلفه من الأصابه سبق ذكرها وأهم خاصيه لهذه السلالات من البكتريا أنها قادره على نقل جزء من DNA هذا البلازميد بسرعه وبكفاءه عاليه إلى الماده الوراثيه لخلايا النبات ولذلك تتحول خلايا النبات العاديه إلى خلايا أورام ينتج عنها التدرن وذلك فتره وجيزه. عندما يكتمل تحول بعض خلايا النبات العاديه إلى خلايا نشطه فى عمل الأورام فإن هذه الخلايا الأخيره تنقسم وتنمو بطريقه غير طبيعيه لتزيد أو تكون الأورام ويكون ذلك حتى فى عدم وجود البكتريا حيث يصبح الأنقسام غير مرتبط بالبكتريا. عند نقل جزء من هذه الأورام والذى يحتوى على خلايا نشطه فى الأنقسام إلى بيئه مغذيه وقد تكون بيئه سائله أو بيئه آجار فإن هذه الخلايا تكون نشطه فى الأنقسام فى عدم وجود هورمونات معينه تحتاجها الخلايا العاديه على نفس هذه البيئه لكى تصبح قادره على الأنقسام. أى أن الخلايا العاديه تحتاج إلى وجود هورمونات معينه فى البيئه لكى تنقسم ومن هذه الهورمونات إندول حامض الخليك ولكن خلايا التدرن لا تحتاج إلى هذه الهورمونات على نفس البيئه. تخلق خلايا النبات المكونه للورم أى المحتويه على جزء من DNA بلازميد Ti مركبات كيماويه خاصه تسمى opines والتى يمكن أن تستعمل فقط بواسطه البكتريا المحتويه على بلازميد Ti مناسب بينما الخلايا العاديه غير قادره على تخليق هذه المركبات وحتى أستعمالها. وهذه حاله طفيل وراثى genetic parasite حيث أن جزء من DNA بلازميد البكتريا ينتقل إلى الماده الوراثيه لخليه النبات العائل وبذلك ينبه ويشجع الخلايا على تكوين مركبات معينه لازمه للبكتريا وغير لازمه لخلايا النبات العائل ولايكونها

أصلا أى أنه يحدث تغيير فى عمليات التحول الغذائى فى خلايا النبات لصالح البكتريا وحيث تستفيد البكتريا فى غذائها بهذه المركبات.

حدوث المرض: تعيش البكتريا فى الشتاء فى التربه وحيث يمكنها أن تعيش كذلك لعده سنوات ويكون نوع المعيشه رميه. عند نمو النبات العائل فى هذه التربه الملوثه بالبكتريا فإنها تخترق الجذور أو السيقان بالقرب من سطح التربه ولابد من وجود جروح حديثه نسبيا لكى تحدث عمليه الأختراق وبالتالى إصابه النبات. تتكون هذه الجروح نتيجه للعمليات الزراعيه والتطعيم والحشرات إلخ. توجد البكتريا فى بدايه الإصابه فى المسافات البينيه بين خلايا النبات وتنشط الخلايا المحيطه بها لكى تنقسم. يتكون نتيجه لذلك حلقات من الخلايا التى لها قدره فائقه على الأنقسام بالمقارنه بالخلايا العاديه وتظهر هذه الحلقات من الخلايا فى نسيج القشره أو الكمبيوم تبعا لدرجه عمق الجروح. تحتوى هذه الخلايا على نواه أو أكثر. تنقسم هذه الخلايا بسرعه فائقه وتسمى هذه الحاله hyperplasia وتكون خلايا غير متشكله وغير متميزه فى تركيبها التشريحى وبعد حوالى عشره أيام إلى أسبوعين بعد التلقيح يظهر الورم ويمكن رؤيته بالعين المجرده. أمكن للمؤلف عدوى نباتات صغيره من عباد الشمس وظهر الورم بعد أربعة أيام. حيث أن الأنقسام السريع العشوائى للخلايا hyperplasia وأيضا كبر حجم الخلايا بطريقه غير منتظمه فإن التدرن أو الورم يزداد فى الحجم تدريجيا ويكون تدرن صغير. عاده تكون البكتريا غير موجوده فى مركز التدرن أى أن هذا الجزء من الأنسجه خال من خلايا البكتريا إلا أن الطبقة أو الجزء السطحى من التدرن يحتوى على خلايا بكتيريه فى المسافات البينيه للخلايا. فى هذه المرحله تتميز بعض خلايا التدرن إلى أوعيه خشبيه وقصيبات ولكنها تكون غير متصله بنسيج الخشب للنبات أو يكون إتصالها فى مناطق قليله محدوده بنسيج الخشب للنبات. عند كبر الورم فى الحجم فإنه يضغط على الأنسجه المحيطه به وأيضا الأنسجه أسفله والتى تسبب سحق وتمزق لهذه الأنسجه فى النبات العائل. قد يحدث سحق لأوعيه الخشب بواسطه التدرن وقد يسبب ذلك ضعف إنسياب الماء إلى أعلى فى الأوعيه الخشبيه وبذلك يقل إنسياب الماء إلى المجموع الخضرى وقد يصل ذلك إلى ٢٠ ٪ فقط من الماء المنساب إلى المجموع الخضرى فى الحاله العاديه.

لا تغطى التدرنات الملساء الصغيره بنسيج البشره ولذلك فإنها تهاجم بالحشرات أو الكائنات

الحيه الدقيقه الرميه. هذه الكائنات الأخيره تسبب تلون الجزء السطحى من الورم باللون البنى أو الأسود كما قد تسبب تحلله. تحلل أو تمزق الجزء السطحى من الورم يسبب تحرر البكتريا وسقوطها فى التربه والتى قد تحمل بمياه الرى أو الأمطار لتصيب نباتات جديده.

عند كبر الأورام تصبح أحيانا خشبيه وصلبه. تكوين الحزم الوعائيه الغير كامل والغير مرتب فى الورم يكون غير فعال فى تأديه وظيفته ونتيجه لذلك فى بعض الحالات تكون الأورام غير قادره على الحصول على الماء أو التغذية بدرجه كافيه ولذلك يتوقف كبر التدرن فى الحجم ويحدث تحلل لبعض أجزاؤه ويحدث موت لبعض الأجزاء ثم تتحلل وتتلاشى هذه الأجزاء الميته. فى بعض الحالات يضمر التدرن ولا يظهر تدرن جديد ولكن عاده يتبقى جزء حى من التدرن ويتكون منه أورام أخرى فى نفس الموسم أو فى الموسم التالى.

عند أصابه الأنسجه الغير بالغه والصغيره السن وأيضا الأنسجه التى لها درجه كبيره من الأستطاله فإنه يتكون فى منطقة الأصابه primary tumor ورم إبتدائى وقد يتكون أسفل هذا الورم ولكن عاده يتكون أعلاه ورم آخر يسمى بالورم الثانوى أو التدرن الثانوى secondary tumor ويمكن أن يبعد هذا الورم أو التدرن الثانوى عن الورم الإبتدائى لمسافه صغيره أو متوسطه أو كبيره حيث يمكن أن يظهر الورم أو التدرن الثانوى على فرع النبات. أحيانا تظهر الأورام الثانويه على ندب الأوراق المتساقطه أو فى مكان الجروح الناتجه عن عوامل مختلفه أو حتى على أجزاء من الساق غير مجروحه ظاهريا أو على أعناق الأوراق وعلى العروق الوسطيه أو العروق الكبيره للأوراق. تبعد هذه الأوراق المصابه عن الورم أو التدرن الإبتدائى عده سلاميات. بدايه تكوين التدرن الثانوى تكون من نسيج خشب الحزم الوعائيه. وهذه الأورام أو التدرنات الثانويه تكون دائما خاليه من البكتريا المسببه للمرض. حيث أنه عند قطع هذه الأورام وتعقيمها ووضعها على بيئه مغذيه مناسبه فإنه لم يمكن عزل هذه البكتريا وذلك دليل على أن هذه الأورام الثانويه خاليه من البكتريا. عند أخذ جزء من الورم أو التدرن الثانوى وتطعيمه على نبات سليم فإنه يسبب تكون أورام على النبات السليم وتكوين هذه الأورام خاليه من البكتريا أيضا ولكنها تشبه الأورام الإبتدائيه فى شكلها ومظهرها وتركيبها. يثبت ذلك أن البكتريا لها أهميه كبيره فى بدايه المرض فقط حيث أنها تسبب تأثير مهيج للخلايا والأنسجه irritant effect فى النبات المصاب. وبعد حدوث الأضطراب والهياج فى

الخلايا فإنها لا تحتاج إلى البكتريا لحدوث إنقسام الخلايا الغير منتظم والمسبب لتكوين التدرن حيث أن هذه الخلايا تصبح قادره ذاتيا على إنتاج وحدوث العامل المؤثر والذى يحدث هياج للخلايا لتصبح قادره على الأنقسام بسرعه فائقه وبطريقه غير منتظمة وأيضا بطريقه غير متحكم فيها uncontrolled. ولذلك فإن البكتريا لها أهميتها فقط فى بداية حدوث الورم ولكن بعد ذلك يمكن للخلايا المكونه للورم أن تسبب هياج خلايا أخرى وأنقسامها إنقسام زائد فى عدم وجود البكتريا. بالرغم من وجود دراسات مكثفه لمعرفه طبيعه المسبب لهياج irritant خلايا النبات وميكانيكيه تحول الخلايا العاديه إلى خلايا أورام فإن المعلومات فى هذين الموضوعين لازالت غير متكامله وغير حاسمه. عامه فإن كميه كبيره من هذه المعلومات قد عرفت خلال العشر سنوات الماضيه وهى أن خلايا البكتريا للسلالات الممرضه للنبات تحمل بلازميد من نوع معين يسمى بلازميد Ti وأن عدم وجود هذا البلازميد يفقد البكتريا قدرتها على أصابه النبات ولابد أن تكون الأصابه بالقرب من جرح حديث. تدخل هذه البكتريا جزء من البلازميد يسمى T-DNA فى الماده الوراثيه لخلايا النبات المصابه بالقرب من الجروح وحيث تصبح خلايا النبات فى هذه المنطقة قابله لإستقبال هذا الجزء أى T-DNA . أى أن خلايا النبات تأخذ أعداد من T-DNA فى هذه المنطقة. ولذلك فإن خلايا النبات فى هذه المنطقة تتحور لكى تصبح قابله لأستقبال T-DNA وأما عن كيفيه هذا التحور وكيفيه حدوثه فهو غير معروف. تصبح أجزاء T-DNA ملتحمه بكروموسومات خلايا النبات فى أماكن عديده. تصبح هذه الخلايا النباتيه قادره على أظهار الصفات الموجوده فى T-DNA وتسمى هذه الخلايا بأنها محوله transformed. هذه الخلايا المحوله تنتج opines والتى تستخدم وتستعمل فقط بواسطه خلايا البكتريا التى تحتوى على بلازميد Ti المحتوى على جزء T-DNA . يزداد تركيز مركبات أخرى فى هذه الخلايا النباتيه المحوله ومنها الهورمونات النباتيه مثل أندول حامض الخليك وأيضا بعض السيتوكينينات cytokinins وبعض الأنزيمات. حتى الآن غير معروف كيف يتم زياده تركيز الهورمونات والأنزيم وكيفيه تخليق opines وما هى علاقتها بالخلايا المحوله وهل يوجد علاقه بين هذه التغيرات وبعضها أو لا توجد بالمره وما هو علاقه ذلك بجزء T-DNA وما هو علاقه ذلك كله بأنقسام وكبر الخلايا المحوله فى النبات والتى ينتج عنها نمو غير محكوم uncontrollable لتكوين الأورام.

مقاومه المرض: تبدأ مقاومه المرض بالمرور والتفتيش على الأشجار والشجيرات فى المشاتل nursery ورفض المصاب منها وإستبعاده وإبادته. فيمنع زراعه الأشجار والشجيرات القابله للإصابه فى حقول ذات تربه ملوثه بالبكتريا المسببه للمرض. تزرع الذره الشامية أو أحد محاصيل الحبوب الأخرى لعده سنوات متتاليه فى الحقول ذات التربه الملوثه بالبكتريا وقبل زراعتها بالشتلات أو الشجيرات القابله للإصابه. حيث أن البكتريا تخترق النبات عن طريق الجروح الحديثه فيجب الحذر التام والعناية فى عدم تجريح جذور أو ساق النبات أثناء الزراعه يجب أيضا مقاومه الحشرات القارضه للجذور مقاومه تامه فى المشاتل لتقليل حدوث الإصابه كلما أمكن ذلك. يجب إستعمال التطعيم بالبرعم budding وعند إستعمال التطعيم بالقلم أى بعده براعم حيث أن درجه إنتشار مرض التدرن التاجى فى الحالة الأولى أقل بكثير من درجه إنتشاره فى حاله التطعيم بالقلم أى بعده براعم grafting.

يجب شراء وزراعه نباتات خاليه من الأصابه. يمكن مقاومه المرض وذلك بكشط التدرن مع مساحه حوله وأسفله ويتم دهان هذا الجزء بواسطه محلول elgetol-methanol ويكون ذلك بواسطه الفرشه. يتكون هذا المحلول من جزء واحد sodium dinitrocresol إلى أربعه أجزاء wood alcohol. يمكن دهان المكان بعجينه بوردو.

يمكن مقاومه المرض بدهان مكان الورم بمخلوط من مركبات هيدروكربونيه عطريه aromatic hydrocarbons يباع تجاريا ويكون هذا المخلوط إختيارى التأثير أى أنه يقتل خلايا وأنسجه التدرن دون أن يقتل الخلايا والأنسجه العاديه المجاوره ولكن لا يستعمل ذلك عمليا على نطاق واسع.

يمكن عمل مقاومه حيويه لهذا المرض وذلك بنقع البذور أثناء الأنبات أو غمر بادرات المشتل أو الأصول المستعمله كجذور فى معلق من سلاله خاصه من سلالات البكتيريا *Agrobacterium radiobacter* وهى رقم ٨٤ (strain No 84). تضاد هذه السلاله من البكتيريا كثير من سلالات البكتيريا المسببه لمرض التدرن التاجى وبذلك تقى النبات من الإصابه. يمكن أيضا معامله البذور العاديه الغير نابته بهذه السلاله كما يمكن أيضا رش وغمر التربه فى مكان النبات بمعلق من خلايا البكتيريا لهذه السلاله. يعتقد أن هذه السلاله ٨٤ من البكتيريا توجد على سطح العائل وتفرز مركب bacteriocin agrocin. يعتبر هذا المركب مثبط

لكثير من السلالات الممرضه للبكتريا المسببه لمرض التدرن التاجى وبذلك تقى النبات من الإصابه ومن حدوث التدرن. ولكن لسوء الحظ بعض سلالات بكتيريا التدرن التاجى الممرضه يمكنها أن تقاوم مركب agrocin 84 . ولذلك فإن هذه السلاله البكتيريه فقدت قدرتها على مقاومه المرض فى بعض المناطق.

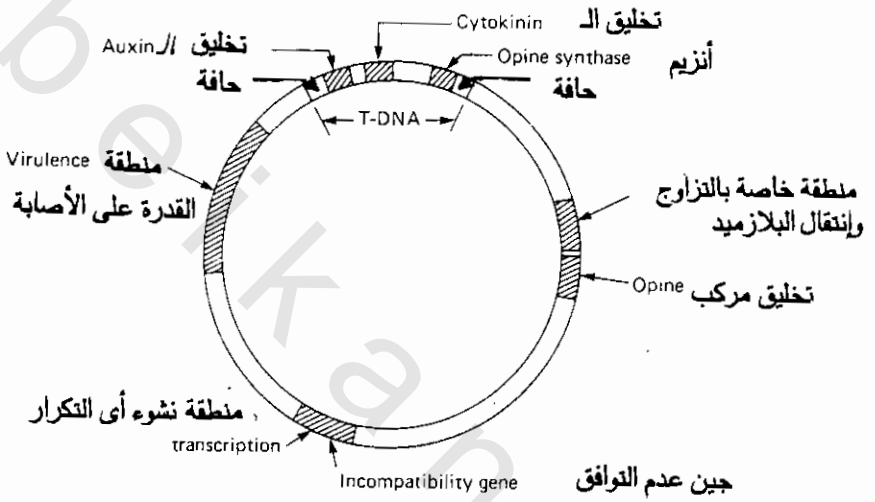
المتحركات المستعمله فى عزل ونقل الجينات

Cloning Vehicles Used For Gene Cloning In Plants

تعتبر Vectors أو Cloning Vechiles كائنات حيه دقيقه عاده أو أجزاء منها agent والتى تنقل الماده الوراثيه من كائن حى يسمى الواهب donor إلى كائن حى آخر يسمى المستقبل recipientوبحيث أن هذه الماده الوراثيه المنقوله يمكن أن تعبر عن نفسها وذلك بأظهار الصفه أو الصفات الخاصه بها فى الكائن المستقبل أو فى الخليه المستقبله recipient cell ومثال ذلك البلازميدات والفيروسات البكتيريه أى البكتريوفاج bacteriophage والتى تسمى أيضا للأختصار بالفاج phage وذلك فى حاله البكتريا وأيضا الفيروس SV40 لخلايا الحيوان. تعتبر الكوزميدز cosmids أيضا كذلك وهى عباره عن نوع خاص من البلازميدات المهندسه وراثيا مشتقه من نوع خاص من الفاج وهو الفاج لامدا bacteriophage lambdaوهذه البلازميدات والفاج و SV40 و cosmids تستعمل لأنها cloning vehicles أو vectors للماده الوراثيه المنقوله إلى البكتريا والخميره والحيوانات. يستعمل البلازميد الخاص بالبكتريا*Agrobacterium tumefaciens* وأيضا فيروس موزايك أى تبرقش القنبيط وهو عباره عن DNA ثنائى الشريط double stranded DNA أى ds DNA فى نقل الماده الوراثيه إلى النبات. بالإضافه إلى ذلك فإنه توجد فيروسات وحيده الخيط أو الشريط ss-DNA وتسمى geminiviruses وأيضا فيروسات RNA وحيده الشريط أو الخيط single stranded RNA (ss-RNA) وهى فيروس موزايك أى تبرقش التبغ tobacco mosaic virus (TMV) وبعض الفيروسات الأخرى وأيضا أجزاء transposon تستعمل فى نقل الماده الوراثيه فى النبات. وفيما يلى شرح لأهم cloning vehicles أو vectors المستعمله فى نقل الماده الوراثيه فى النبات:-

١ ـ بلازميد Tiللبكتريا *Agrobacterium tumefaciens*: يستعمل هذا البلازميد بكثره فى نقل صفات إلى خلايا النبات كما سبق ذكره فى الجزء السابق. يحتوى هذا البلازميد على عديد من الجينات وقد تم التعرف على بعضها وتحديد وظائفها. يحتوى الجزء من هذا البلازميد المسمى T-DNA على عديد من الجينات منها. الجين الأول والذى يخلق أنزيمopine synthetase والذى يقوم بتخليق opines وهى مركبات تنتج فقط بواسطه خلايا النبات العائل المحوله transformed بواسطه هذه البكتريا. هذه المركبات وهىopines يمكن أن تستخدم كمصدر للكربون والأزوت بواسطه خلايا البكتريا التى تحتوى على بلازميد Ti. خلايا البكتريا الخاليه من بلازميد Ti غير قادره على أستعمال opines فى التغذية كمصدر للكربون والأزوت. كما أن خلايا البكتريا يجب أن تحتوى على جين خاص بتخليق opines. الجين الثانى أو مجموعة أخرى من الجينات تتحكم فى تخليق السيتوكينينات. حيث أن تثبيط تكوين السيتوكينينيات فى النبات ينتج عنه تكوين أورام الجذور. الجين الثالث أو مجموعة الجينات والتى تتحكم فى تخليق الأوكسينات. حيث أن تثبيط تكوين إندول حامض الخليك فى النبات ينتج عنه تكوين أورام الساق. والجين الرابع أو مجموعه الجينات وهى عباره عن حافتى الجزء T-DNA من الناحيه اليمنى والناحيه اليسرى وتتكون كل من الحافه اليمنى والحافه اليسرى من ٢٥ زوج من القواعد النوويه وهى التى تتحكم فى عمليه نقل جزء T-DNA من البلازميد إلى الماده الوراثيه لخليه النبات العائل حيث وجد أن إزاله ٢٥ زوج من القواعد النوويه أى الحافة اليمنى لجزئى T-DNA من البلازميد منع إنتقال هذا الجزء إلى الماده الوراثيه لخليه النبات العائل. وأيضا تؤثر على قدره البكتريا على الإصابه وتصبح غير فعاله فى إصابه النبات. تتأثر هاتين الحالتين وهما إنتقال جزئى T-DNA إلى خلايا النبات العائل وقدره الطفيل أى البكتريا على الإصابه virulence بجزء آخر من البلازميد فى مكان آخر منه ويسمى هذا الجزء من البلازميد بمنطقه قدره البكتريا على إصابه النبات أى virulence regionوهى بعيده عن منطقة T-DNA. تتكون المنطقة الأخيره من عديد من الجينات. توجد جينات أخرى على البلازميد تتحكم فى عمليات حيويه أخرى مثل التزاوج الجنسى بين البكتريا ونقل بلازميد Ti من البكتريا الممرضه إلى البكتريا الغير ممرضه وأيضا جين أو جينات أخرى تتحكم فى تخليق مركب opine فى خلايا النبات العائل بعد أن تنتقل هذه الجينات من البلازميد Ti إلى كروموسومات النبات العائل. وأيضا جين أو جينات تتحكم فى

عدم التوافق بين بعض البلازميدات وبعض سلالات من بكتريا التدرن التاجى وأيضا جين أو جينات أخرى تتحكم فى تحديد مكان أصل وبدايه إنقسام ونسخ وتضاعف البلازميد origin of transcription و replication (شكل ١٣٨).



(شكل ١٣٨) : البلازميد Ti وموقع بعض الجينات التى تقوم بعمل بعض الوظائف الهامه.

يعتبر البلازميد Ti فعال فى نقل DNA الخليه البكتيريه إلى الماده الوراثيه فى النبات ولكن له بعض العيوب حيث أن أستعماله فى نقل ماده وراثيه غريبه foreign أى غير موجوده به صعب حيث أن البلازميد كبير الحجم ومن الصعب التعامل معه وراثياmanipulate genetically والأهم من ذلك أن الخليه للنبات العائل تتحول من خليه عاديه إلى خليه محوله تنقسم بسرعه كبيره وتدخل فى تكوين الأورام أو التدرنات ولذلك من الصعب إعاده تكوين نبات عادى من هذه الخلايا المحوله transformed . أتضح أيضا أن الجينات الموجوده فى T - DNA عدا جينات الحواف (الحافة اليمنى والحافه اليسرى) ليس لها دور فى نقل جزء T - DNA من البكتريا إلى خلايا النبات العائل أو التحامه بكروموسوماته. ومما هو جدير بالذكر أن أدخال جينات أو أجزاء DNA من خلايا الحيوان أو البكتريا أو النباتات الزهرية التى ليس لها علاقه بالنبات

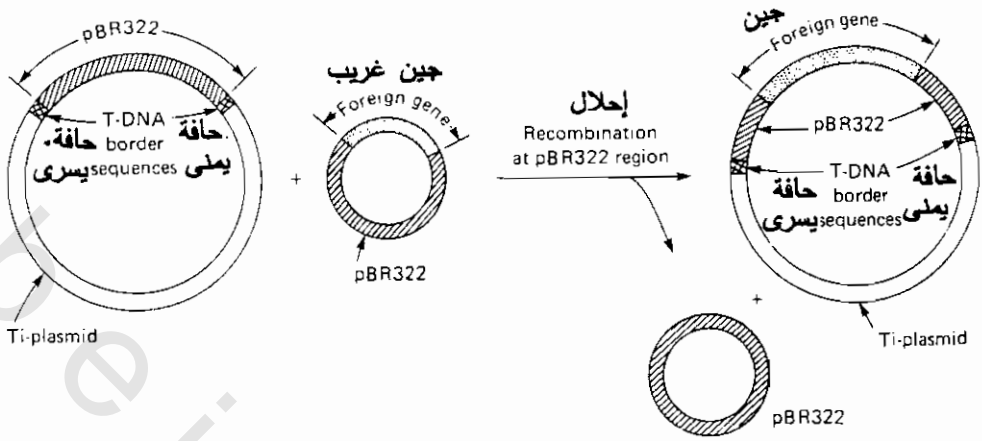
العائل إلى T - DNA البلازميد حيث توجد هذه الجينات فى داخل T-DNA فإن هذه الجينات يمكن نقلها إلى الماده الوراثيه فى النبات العائل وتصبح جزء منها ولكنها تكون خامله أى غير قادره على التعبير عن وجودها فى النبات العائل وأظهار صفاتها ولكن فى بعض الحالات وعند إضافه جين غريب ثم يضاف إليه الجزء المحفز أو المهيئ promoter region لجين أنزيم opine synthetase فأن هذا الجين يسمى جين كيميرى chimaeric gene وبذلك يمكن لبعض الجينات المنقوله أن تصبح نشطه أى قادره على أظهار صفاتها فى خلايا النبات العائل وذلك نتيجه لنشاط بعض الأنزيمات الخاصه بها.

يمكن إزاله الجزء الخاص بتكوين التدرن أو الورم من البلازميد Ti وهو عباره عن الجزء المحتوى على الجينات الخاصه بتخليق الأوكسينات والسيتوكينينات فقط من T-DNA دون إزاله الحافتين اليمنى واليسرى واللتين تتحكمان فى نقل T-DNA إلى خلايا العائل. يسمى الجزء الخاص من البلازميد Ti الذى يتحكم فى تكوين الورم tumor inducing بأسم منطقة أونكوجينك oncogenic region. وهى الجزء الذى يحتوى على جينات تخليق الأوكسينات والسيتوكينينات. يتم نقل هذا البلازميد إلى خلايا النبات العائل وتصبح خلايا النبات العائل المحتوية على هذا البلازميد فاقده للقدره على الهياج وأيضا فاقده القدره على عدم التأثر بأوكسينات وسيتوكينينات خلايا النبات العائل أو بمعنى آخر فإن الخلايا المحوله تصبح محكومه وتحت تأثير أوكسنيات وسيتوكينينات خلايا النبات العاديه ولذلك فإن هذه الخلايا المحوله تكون فاقده القدره على الإنقسام السريع وتكوين الورم أو التدرن بالرغم من إحتوائها على البلازميد كما يمكن لهذه الخلايا المحوله والتى تحتوى على عوائل وراثيه جديده أن تنقسم إنقساما عاديا وبسرعه عاديه لتكون نبات محول كامل جديد به عوامل وراثيه جديده. أى أنه بذلك تصبح الخلايا المحوله خلايا عاديه بها ماده وراثيه أو عوامل وراثيه جديده وبالطبع تفقد هذه الخلايا المحوله قدرتها على الهياج. يمكن شغل الأماكن الخاليه فى بلازميد Ti فى هذه الحاله وهى أماكن جينات الأوكسنيات والسيتوكينينات فى جزء T-DNA بواسطه جينات كيميريه خاصه بمقاومه بعض المضادات الحيوية شديده السميه مثل كاناميسين kanamycin وميثوتريكسيت methotrexate. يمكن وضع هذين المضادين الحيويين فى البيئه وبذلك تصبح بيئه إنتخابيه حيث ينمو عليها فقط الخلايا المحوله والتى تحتوى على

جينات المقاومه لهذين المضادين الحيويين وأيضا تنمو عليها النباتات المحوله فقط والتى لها صفه المقاومه لهذين المضادين الحيويين. وبذلك يسهل عزل الخلايا المحوله من الخلايا الأخرى.

يعتبر كبر حجم بلازميد Ti غير مرغوب حيث يصعب نقله والعمل به والتعامل معه. يمكن التغلب على هذه الصعوبه وذلك بإزاله الجزء الأساسى فى T-DNA مع ترك الحافتين (الحافه اليمنى والحافه اليسرى) أى أزاله الجزء المحتوى على جينات تخليق الأوكسينات والسيتوكينينات. يتم شغل هذا المكان الفارغ من البلازميد بواسطه بلازميد آخر صغير ومدروس وراثيا تماما أى معروف فيه تتباع الجينات المختلفة وهذا البلازميد يكون أحد بلازميدات البكتريا *E.coli* ومثال ذلك البلازميد pBR_{322} يتم أيضا وضع الجين المطلوب فى بلازميد آخر من نفس النوع أى pBR_{322} أى عمل cloning للجين فى البلازميد.

يسمح للبكتريا *A.tumefaciens* بأخذ هذين النوعين من البلازميد وهو النوع الحامل للجين المطلوب إدخاله فى الماده الوراثيه والنوع الآخر هو الغير حامل للجين. يحدث homologous recombination بين البلازميدات pBR_{322} فى بعض خلايا البكتريا وتكون النتيجة نقل الجين المطلوب فى الجزء المخصص له فى جزء T-DNA أى بين الحافتين وبين جزيئين من بلازميد *E.coli* وهو pBR_{322} وذلك لبلازميد الخليه البكتريه المسببه لمرض التدرن التاجى أى بلازميد Ti (شكل ١٣٩) عند إضافه هذه الخليه البكتيريه للنبات فإنها تنقل إلى كروموسومات خليه النبات جميع جزء DNA الموجود بين حافتين جزء T-DNA أى أنها تنقل إلى الماده الوراثيه لخليه النبات العائل بلازميد *E.coli* أى pBR_{322} بما يحمله من الجين المطلوب نقله. ولقد أستعملت هذه البلازميدات بنجاح وبكفاءه عاليه فى نقل الجينات المطلوبه إلى كروموسومات خليه أو خلايا النبات العائل ثم ينتج من هذه الخلايا نبات كامل خصب عادى يحتوى على الجينات المنقوله وتصبح هذه الجينات كجزء عادى من كروموسومات النبات وتنتقل أيضا إلى نسل هذا النبات عن طريق حبوب اللقاح وخليه البيضة وبالطبع يسبق تكوين هذه الأجزاء الأنقسام الأختزالى والذى ينقسم فيه الجين المنقول بطريقه عاديه كما فى جينات النباتات الأخرى.



(شكل ١٣٩) : نقل جين غريب إلى البلازميد Ti بإستعمال بلازميد آخر صغير.

توجد طريقه أخرى تستعمل للتغلب على كبر حجم البلازميد Ti وهى نقل أى جين مطلوب أو جينات مطلوبه بين حافتى جزء T-DNA ثم نقل هذا الجزء وهو الحافتين والجين أو الجينات المطلوب نقلها إلى بلازميد صغير وبذلك يصبح هذا البلازميد الصغير محتوى على الحافتين لجزء T-DNA والجين أو الجينات المطلوب نقلها. يتم نقل المنطقة أو الجزء من بلازميد Ti الخاص بقدره الطفيل على إصابه النبات virulence region من هذا البلازميد إلى بلازميدات أخرى صغيره . أى من هذين النوعين من البلازميدات الصغيره غير قادر على إصابه النبات على إنفراد. وعند السماح بخلط هذين النوعين من البلازميدات بالبكتريا المسببه لمرض التدرن التاجى فإنها تنتقل إلى داخلها وتصبح خلايا هذه البكتريا قادره على إصابه النبات لأحتوائها على جين أو جينات الإصابه كما أن حافتى جزء T-DNA والجين أو الجينات المطلوبه تنتقل إلى كروموسومات خليه النبات العائل وتصبح جزء منها. وبذلك يتم نقل الجين أو الجينات إلى النبات العائل بكفاءه عاليه.

تزداد الآن المعلومات الخاصه بأستعمال بلازميد Ti فى نقل الجينات أى أستعماله cloning vehicle أو vector وكلها فى صالح هذا البلازميد حيث أنه يحدث تقدم ملحوظ فى إستعماله مع وجود طريق جديده بإستمرار لتسهيل أستعماله وزياده كفاءه أستعماله فى حالات متعدده

لم يكن يستعمل فيها أصلا. ولذلك فإن نقل جينات من البكتريا أو النبات أو الحيوان إلى خلايا النبات أصبح فى الأمكان وأمكن أنجازه. ولكن مدى وكيفيه تعبير هذه الجينات عن وظائفها فى خلايا النبات العائل الجديد regulatory controls of expression of genes غير معروفه أو معروف عنها القليل. تصيب بكتريا التدرن التاجى النباتات ذات الفلقتين فقط ولا تصيب النباتات ذوات الفلقه الواحده وبالرغم من أن كثير محاصيل الغذاء مثل القمح والذره والأرز وقصب السكر تتبع نباتات ذوات الفلقه الواحده. وأيضا نفس الشىء بالنسبه للبلازميد Ti. ولكن أمكن الآن تلقيح بروتوبلاست خلايا نباتات ذوات فلقتين مباشره بواسطه بلازميد Ti أو ببروتوبلاست خلايا بكتيريه ويسمى البروتوبلاست الملقح بهذه الأجزاء sphaeroplasts ويمكن إنتاج نباتات كامله بعد ذلك من هذه sphaeroplasts. وأمكن الآن أيضا تلقيح بروتوبلاست خلايا نباتات ذوات الفلقة بواسطه بلازميد Ti ولكن حتى الآن لم يمكن إنتاج نباتات ذوات فلقه كامله من البروتوبلاست وذلك على العكس من ذوات الفلقتين.

زياده الدراسات والمعلومات عن بلازميد Ti لا تزيد فقط من معلوماتنا عن طبيعه الطفيل المرضيه أى طبيعه بكتريا التدرن التاجى بل أيضا تزيد من كفاءه نقل جينات مقاومه لأمراض النبات من نبات إلى آخر ويمكن أن يكون هذا النبات الأخير من جنس مختلف أو حتى من عائله مختلفه ومن مميزات هذه الطريقه أنها تنقل الجين المطلوب إلى خليه النبات العائل دون زياده فى جينات غير مرغوبه ودون حدوث نقص فى جينات مرغوبه ومن مميزاتها أيضا أنها سريعه ولا تحتاج إلى وقت لعمل التهجين بين النباتات crosses وأيضا لعمل التهجينات الرجعيه backcrosses . تعتبر العقبه الرئيسيه فى أستعمال بلازميد Ti فى أمراض النبات هى نقص المعلومات عن مكان وجود جينات المقاومه فى النبات فى جينومات النباتات المختلفة وأيضا كيفيه تعبير هذه الجينات عن وظائفها فى النباتات الجديدة المنقوله إليها.

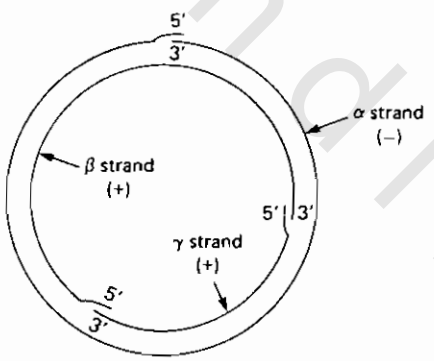
٢ ـ الفيروسات النباتيه plant viruses: تعتبر الفيروسات عامل هام فى حمل ونقل الماده الوراثيه الخاصه بالبكتريا والحيوان. عامه فإن بلازميد Ti يعتبر أفضل وسيله أى حامل cloning vehicle وناقل لجينات النبات. ولكن بالدراسات المكثفه على الفيروسات النباتيه كحامله وناقله لجينات النبات cloning vehicles أو vectors فإنه فى القريب العاجل يمكن أستعمال بعض الفيروسات النباتيه بكفاءه عاليه فى هذا الصدد.

يجب الإشارة هنا إلى وجود إختلاف بين الفيروسات الناقله لجينات النبات plant viral vectors وبين البلازميد Ti . حيث يعتبر البلازميد Ti ناقل وحامل للجين من النوع أو الطراز المكمل أو المتكامل integration-type vector . ولا تعتبر الفيروسات الحامله والناقله للجين من هذا النوع. يدخل الفيرس الجين المطلوب نقله إلى داخل النبات حيث أن الفيرس يصيب خليه النبات ويخترقها حاملا معه الجين المطلوب. يتضاعف الجين فى خلايا النبات بلايين المرات نتيجة لتكاثر الفيرس داخل خلايا النبات بلايين المرات حيث يعتبر الجين أحد جينات جزيئات الفيرس. ونتيجة لذلك ينتقل الفيرس فى جميع أجزاء النبات وبالتالى ينتشر الجين فى جميع أجزاء النبات أى يكون إنتشاره جهازيا systemically. إدخال الجينات المرغوبه إلى داخل النبات وذلك فى النباتات الحوليه أو المعمره والتى تتكاثر خضريا بواسطة الفيرس أو فى النباتات التى تتكاثر بالبذور وذلك عن طريق حمل البذور للفيرس ويكون نتيجة لذلك تواجد الجين فى النبات نتيجة لوجود الفيرس كما أن درجة تكرار الجين فى النبات تكون مرتبطه تماما بسرعه تكاثر الفيرس ودرجة إنتشاره فى خلايا وأنسجة النبات المختلفة. يمكن أيضا أدخال الجين إلى خلايا النبات ومنها النباتات الحوليه بواسطة التلقيح الميكانيكى mechanical inoculation حيث يمكن إدخال الفيرس إلى داخل النبات بهذه الطريقة ويمكن إدخال الجين بواسطة الفيرس فى النباتات المعمره بواسطة التطعيم grafting. وفى هذه الحالات فإن الجين المنقول إلى النبات عن طريق الفيرس يمكن أن يسبب أو يظهر مقاومه جهازيه ضد أنواع أو سلالات أخرى من الطفيل شديده القدره على إصابه النبات وبذلك يقى النبات شر الإصابه. طبيعه نوع المقاومه التى يظهرها الجين ليقى النبات من الإصابه غير معروفه ولكن يعتقد أنها نوع من الحماية المختلطة أى الوقاية المتضاده ومن الصعب ترجمة الأصطلاح الدال على هذه الحالة باللغة العربية ولذلك يفضل أستعمال المصطلح الأنجليزى وهو cross protection ومعناه أن وجود الجين بأعداد كثيره فى داخل خلية النبات يمنع سلاله أخرى من الفيرس شديده القدره المرضيه على مهاجمه الخليه. يحدث ذلك بالنسبة لجميع خلايا النبات المحتويه على هذه الجينات وبالتالى تقى هذه الجينات المنقوله بالفيرس خلايا النبات وبالتالى من الإصابه بالسلالة الشديدة القدره المرضيه. يمكن أيضا أن تكون طبيعية المقاومة فى هذه الحالة نتيجة للمقاومه الجهازيه systemic resistance ولذلك فإنه يعتقد قبل نهاية القرن الحالى أن تستعمل الفيروسات التى تصيب النبات كحاملات وناقلات للجين المطلوب vectors وأنها

تختار وتنتخب بحيث أنها تكون قادره على إختراق النبات وتتكاثر بداخله دون أن تسبب له أضرار أو نقص فى المحصول وتكون مهندسه وراثيا بحيث أن ما تحمله من جين أو جينات تسبب وقاية خلايا النبات من السلاله المرضية للطفيل. وفيما يلى وصف لبعض الفيروسات النباتية التى يمكن أن تقوم بهذا الدور:

أ ـ Caulimoviruses وهى عباره عن فيروسات متساويه الأقطار isometric وقطرها حوالى خمسون نانومتر وتحتوى على DNA ثنائى الشريط أو الخيط حلقى يتكون من حوالى ثمانيه آلاف زوج من القواعد النوويه. كل خيط أو شريط منهما غير متصل أى متقطع حيث يوجد طرف من خيط على طرف آخر overlaps ويتكرر ذلك فى بعض المناطق وطول الجزء الذى يحدث فيه overlaps حوالى ٦ ـ ١٨ زوج من القواعد النوويه.

يعتبر فيروس تبرقش القنبيط cauliflower mosaic virus (CaMV) (شكل ١٤٠) أكثر فيروسات هذه المجموعة دراسه كناقل vector للجين. ينقل الفيرس بسهوله نقل ميكانيكى



(شكل١٤٠) : تركيب DNA فيروس موزايك القنبيط

وذلك بحكه على الأوراق وأيضا ينقل بواسطه حشرات المن وذلك فى نباتات العائله الصليبية. كلا من الفيروس و DNA الفيرس المعزول يسبب الإصابه وتكون إصابه جهازيه وتحتوى كل خليه من خلايا العائل نصف مليون جزيئ فيرس. ينسخ DNA الفيرس فى نواه

خليه النبات العائل وأما عن mRNA المنسوخ فى النواه فإنه ينتقل إلى السيتوبلازم ويتكون منه الشريط السالب (-) من DNA وذلك بواسطه عمليه نسخ عكسى reverse transcription ثم يتكون من الشريط السالب شريط آخر موجب (+) من DNA ومنهما يتكون DNA الثنائى الشريط أو الخيط. أو أن mRNA يستخدم فى تخليق أنواع مختلفه من البروتين من سته إلى ثمانية أنواع ومنها البروتين الخاص بغلاف الفيرس viral coat protein لا يدخل DNA الفيرس فى تركيب الماده الوراثيه للنبات العائل ولا ينقل عن طريق البذور. وبالرغم من إمكانيه نقل ولصق DNA فى بلازميد *E.coli* أى عمل cloning لـ DNA الفيرس وأن DNA الفيرس يمكن عزله مره أخرى من خلايا هذه البكتريا ويكون قادر على إصابه النبات. ولكن حتى الآن لا يمكن أستعمال هذا الفيرس CaMV كحامل وناقل vector للجين أو الجينات حيث توجد عقبات فى ذلك. وأحد هذه العقبات أن غالبيه جينوم الفيرس يجب أن يعبأ مع مناطق الكودcoding regions التى يحتاجها الفيرس لتخليقه وحيث أن أى نقص ملحوظ deletion فى هذه الأجزاء يفقد قابليه الفيرس على الإصابه وبالتالى يصبح عديم الفاعلية فى عملية نقل الجينات. أحد مناطق الكود الخاص بالفيرس تتكون من ٤٠٠ زوج من القواعد النوويه. يمكن التغلب على صعوبه الحد من حجم الفيرس ومناطق الكود الخاص به بإستعمال نظام فيرس مساعدhelper virus system وفيه يتم إزاله جزء من جينوم الفيرس ويتم إحلال مكانه بواسطه DNA غريب foreign . ويمكن التغلب على صعوبه عدم قدره الفيرس على الإصابه وذلك بتلقيح وإصابه نفس خليه النبات المحتويه على الحاله السابقة بـ DNA للفيرس أو بواسطة DNA فيرس ثم إزاله DNA الخاص بالكود منه وأن هذا الكود خاص بعديد من الوظائف. يجب لذلك الآن عمل هذه الخطوات بكفاءه عاليه وبنجاح كبير ليمكن أستعمال هذا الفيرس CaMV والفيروسات الأخرى فى هذه المجموعة من الفيروسات كناقلات وحاملات vectors لجين وجينات النبات.

ب ـ Geminiviruses عباره عن زوج paired (أى gemini) من جزئيات الفيرس وكل جزيئ يتراوح طول أحد قطريه ١٨ ـ ٢٠ نانومتر وطول القطر الآخر ٣٠ نانومتر. كل زوج من جزيئات الفيرس يحتوى جزيئ DNA مفرد حلقى ومفرد الشريط أى الخيط (ssDNA) single stranded DNA ويتكون الخيط أى الشريط الواحد من ٢٥٠٠ قاعده نوويه. ولكن عديد من فيروسات هذه المجموعة له جينوم ينقسم إلى جزئين من DNA متساويين فى الحجم

ولكنهما يختلفان فى شفرتيهما ويكونان مكونات مختلفه coding for different things يبدو أن كل فيرس من فيروسات هذه المجموعة يحتوى على نوعين مختلفين من الجزيئات two populations أى عشيرتين مختلفتين حيث أن العشيرتين تتماثلان فى نوع بروتين الغلاف أو الغطاء coat ولكنهما يختلفان فى تتابع النيكليوتيدات فى DNA . تدخل هذه المجموعة من الفيروسات إلى داخل نواه خلية النبات العائل وتتكاثر بداخلها. تنقل هذه الفيروسات فى الطبيعة بواسطه نطاطات الأوراق أو الذباب الأبيض وتكون من النوع والحاله persistent يمكن أن يصعب أو يستحيل نقلها ميكانيكيا. يعرف القليل عن عدد ونوع وموقع جينات هذه الفيروسات وأيضا تركيب المحفزات أى المهيأت promoters الخاصه بها. وبالرغم من أن هذه الفيروسات تكون DNA وحيد الشريط أى الخيط فأنها تكون فى مرحله وسطيه فى النواه لخلايا النبات العائل DNA ثنائى الشريط أى الخيط ds DNA أمكن عزل هذا النوع الأخير من DNA ويمكن أن يصيب بروتوبلاست خلايا النبات ويمكن أيضا إدخاله كجزء من بلازميدات خلايا البكتريا. تصيب الفيروسات التى تتبع هذه المجموعة نباتات ذوات الفلقه وذوات الفلقتين. يوجد أيضا صعوبات تواجه أستعمال هذه الفيروسات كحاملات وناقلات لجينات النبات vectors ومنها أنها تحتوى على جينومات صغيره الحجم وأيضا صعوبه نقلها ميكانيكيا بواسطه عصير الخليه cell sap . وعامه تبذل مجهودات كبيره لتسهيل إمكانيه أستخدام هذه الفيروسات كناقلات وحاملات لجينات النبات vectors .

جـ - فيروسات RNA (RNA Viruses) يمكن أن تكون مهمه فى المستقبل وخاصه الفيروسات عديده المكونات multicomponent viruses وهى تتكون من ثلاث مكونات وتحتوى مجاميع مختلفه ومنها مجموعة بروموفيرس bromovirus ومنها فيروس موزايك البروم brome mosaic virus ومجموعة الفيروسات التابعه satellite viruses وهى فيروسات تلتصق وترتبط بفيروسات أخرى وتسبب الفيروسات التابعة خفض سرعة تكاثر الفيرس المرتبطه به كما أنها تقلل من قدرته على أصابه النبات. وقد أمكن فى حاله فيروس موزايك البروم إحلال RNA أو cDNA محل RNA بروتين الغطاء أو الغلاف coat وذلك فى أصغر جزيئ من جزئياته الثلاثه ودون تأثير على قدره الفيرس على الأصابة. وفى حالة الفيروسات ذات النوابع وفيروسات RNA والتى تتراوح أحجامها من ٢٧٠ إلى ١٥٠٠ زوج من القواعد النوويه فإن

هذه الفيروسات لا تحتاج RNA ويمكن إحلاله بـ RNA غريب foreign أو حتى بـ cDNA وبالتالى يمكن إدخال هذه الأجزاء الغريبه عن الفيرس إلى داخل خليه النبات العائل عن طريق إصابتها بجزيئات الفيرس. تركيب هذه الفيروسات وأستعمالها كحاملات وناقلات vectors لجينات النبات تحت الدراسة مع وجود إحتمالات كبيره لأنجازها.

٣ ـ الفيرويدات Viroids تعتبر جزئيات RNA عاريه صغيره الحجم حلقيه وحيده الشريط أى الخيط ssRNA وتتكون من عدد من الوحدات يتراوح بين ٣٠٠ ـ ٤٠٠ قاعده نوويه. تنقل الفيرويدات ميكانيكيا وتتكاثر في نواه خليه العائل وإصابه النبات العائل فيها جهازيه. خواص الفيرويدات مشجعه جدا لأن تكون ناقله وحامله vectors لجينات النبات وبالرغم من ذلك فإنه حتى الآن لا يوجد أى فرد منها يقوم بذلك.

٤ـ مكونات جينومات النبات Plant genomic components:

يمكن لبعض أجزاء من الكروموسومات أو أجزاء DNA أخرى خارج الكروموسومات extrachromosomal elements فى خليه النبات أن تقوم بعمليه نقل الجينات vector من خليه إلى أخرى أو من نبات إلى آخر. ومن هذه الأجزاء ما يأتى :ـ

أ ـ أجزاء قابله وسهله الأنتقال Transposable elements: وهى عباره عن أجزاء من DNA الخليه توجد عاده كجزء من الماده الوراثيه للخليه ولكنها تتميز بأنها تمضى فتره ملتحمه بالماده الوراثيه للخليه أى جينومات الخليه ولكنها فى فتره أو فترات أخرى تنفصل عنها وتصبح حره متحركه ومتنقله لكى تلتصق مره أخرى فى مكان آخر بالماده الوراثيه للخليه. ومثال ذلك أنها يمكن أن تكون جزء من كروموسومات خليه النبات ولكن فى فتره من الفترات تنفصل عن الكروموسوم وتتحرك حره لمسافه ما ويمكن أن تلتحم بالكروموسوم فى مكان آخر أو فى أماكن أخرى من نفس الكروموسوم أو كروموسومات أخرى. عند إلتحام هذا الجزء القابل للأنتقال t.e. بين النيكليوتيدات المكونه للجين فإنه يؤثر على تعبير هذا الجين ex-pression ويغير من هذا التعبير وتحدث نتيجة لذلك الطفره. يعتبر وجود هذه الأجزاء القابله للأنتقال t.e شائع فى جينومات خلايا جميع أنواع الكائنات الحيه حيوانيه أو نباتيه دقيقه أو عاديه. يختلف حجم هذه الأجزاء القابله للأنتقال t.e. من ٤٠٠ إلى عشرون ألف زوج من القواعد. يمكن عزل هذه الأجزاء القابله للأنتقال ويمكن إدخال جين غريب بين النيكليوتيدات

المكونه لهذا الجزء القابل للأنتقال ويصبح جزء قابل للأنتقال هجين hybrid transposable element ويمكن إدخال هذا الأخير فى خليه نبات أو فى بروتوبلاست خليه نبات ويصبح جزء مكمل لجينوم خليه النبات. عمليه أدخال جزء قابل للإنتقال هجين إلى خلايا الكائن الحى بنجاح وتصبح ذات قيمه إقتصاديه قد تم إنجازه بكفاءه عاليه فى حشره ذبابه الفاكهه ولكن لم يتم إنجازه حتى الآن فى خلايا النبات. تعتبر هذه الأجزاء القابله للإنتقال أفضل من بلازميد Ti فى حاله إستعمالها كناقل للجين vector حيث يمكن إستعمالها فى نباتات ذوات الفلقه وأيضا ذوات الفلقتين أما فى حاله بلازميد Ti فلا يمكن إستعماله إلا فى حاله نباتات ذوات الفلقتين فقط.

ب - أجزاء خارج الكروموسومات Extrachromosomal elements : وهى أجزاء خيطيه أو حلقيه من DNA تتكاثر وتتضاعف ذاتيا وتوجد فى السيتوبلازم. تتراوح فى حجمها من ألف إلى سته آلاف زوج من القواعد. قدرتها على أستعمالها كناقل للجين فى النبات غير معروف حتى الآن.

جـ - أجزاء الكروموسومات Chromosomal elements: تبذل محاولات لأستعمال أجزاء من الكروموسومات كناقل وحامل للجين vector وبذلك يمكن إضافه ماده وراثيه جديده أو غريبه إلى جينوم خليه العائل. حتى الآن لم يتم إنجاز ذلك فى النباتات الراقية أى الزهريه ولكن أمكن عمل ذلك بنجاح فى فطر الخميره. وعلاوه على ذلك فإنه أمكن عمل ذلك فى الخميره بأجزاء من الكروموسوم وأيضا بأجزاء من سنترومير الكروموسوم. يحدث فى سنترومير الكروموسوم تكرار وتضاعف ذاتى تلقائى لتتابع النيوكليوتيدات فى DNA ويعتبر الأساس والأصل فى تضاعف DNA الكروموسومات. حدث تقدم هائل فى هذا الشأن فى فطر الخميره حيث أمكن تخليق كروموسوم صناعى لفطر الخميره بواسطه الهندسه الوراثيه. حتى الآن غير معروف إمكانيه نقل جينوم الخميره إلى جينوم النباتات الزهريه أو أجزاء منها وذلك بالرغم من وجود بحوث كثيره فى هذا الصدد. يعتبر إستعمال الخميره كناقل للجين ذو فاعليه ومن المتوقع فى القريب العاجل أن نجد إمكانيه أستخدام الخميره فى دراسه الجينات الخاصه بقدره الطفيل على الإصابه وأيضا الجينات الخاصه بعدم قدره الطفيل على الإصابه avirulence وذلك فى حاله الفطريات المسببه أمراض للنبات. وأيضا عن طريقها

يمكن دراسه جينات الفطريات التى تستخدم فى المقاومه الحيويه antagonistic fungi للفطريات المسببه أمراض للنبات.

النقل الميكانيكى والكيماوى لـ DNA فى خلايا النبات mechanical and chemical delivery systems of DNA into cells حاملات وناقلات الجين الطبيعية natural vectors وهى البكتريا أو الفيرس أو أجزاء من جينومات النبات تستخدم فى نقل الجينات إلى خلايا النبات العائل دون إحتياج للأنزيمات. ولكن بعض النباتات الزهريه لا يوجد لها حامل وناقل للجين وفى بعض الحالات الأخرى يكون للنبات حاملات وناقلات للجين ولكنها تنقل إليه ماده وراثيه أو جينات غير مرغوبه ومن هذه الحوامل الفيروسات وبلازميد Ti. ولذلك يستعمل فى هذه الحالات نظم أو طرق أخرى بديله لأنجاز إمكانيه إدخال جينات معينه إلى الماده الوراثيه لخلايا النبات العائل. ومن هذه الأنظمه والطرق ما يأتى:

١ ـ إدخال أجزاء من DNA من أجزاء كروموسومات chromosome fragments أو من البلازميدات أو حتى إدخال كروموسومات كامله إلى داخل بروتوبلاست خلايا النبات وذلك بخلط أحد الأجزاء السابقه مع عدد كبير من البروتوبلاست أى خلط الأحماض النوويه الخاصه بها مع البروتوبلاست فى وجود كاتيونات مناسبه مثل بولى إل أورنيثين poly-L-ornithine أو بولى إيثلين جليكول polyethylene glycol يتم عمل مزارع البروتوبلاست وذلك بمعامله خلايا النبات المرغوبه بمخلوط من أنزيمات محلله للمركبات البكتينيه والسيليلوز.

٢ ـ التثقيب الكهربائى أو التحول الكهربائى Electroporation or electrotransformation وفيه يتم تعريض خليط من بروتوبلاست النبات و DNA غريب لصدمات كهربائيه قصيره الفتره والتى تسبب تثقيب غشاء الأكتوبلاست أى غشاء الخليه وبذلك تسمح بدخول DNA الغريب إلى داخل البروتوبلاست ويمكن لهذا DNA الغريب أن يعبر عن نفسه بعد أن يصبح جزء من الماده الوراثيه للبروتوبلاست. يمكن بعد ذلك زراعه البروتوبلاست عن طريق مزارع الأنسجه وتكوين نبات جديد يحمل صفات وراثيه منقوله إليه بهذه الطريقه ويمكن أن يسمى ذلك نبات محول transformed. يمكن للنباتات ذوات الفلقه وذوات الفلقتين أن يتم تحويلها بهذه الطريقه.

٣ ـ الحقن المباشر microinjection للأحماض النوويه فى خلايا النبات.

٤ ـ إدخال DNA أو RNA فى الليبوسومات liposomes. حيث يمكن خلط أجزاء من DNA المراد إدخالها داخل الليبوسوم مع حويصلات صناعيه صغيره مكونه من الدهون وهذه الحويصلات يمكن أن تلتف حول الجزيئ وتحتويه بداخلها. هذه الحويصلات الصناعيه تسمى ليبوسومات وتستعمل فى إحتواء RNA أو DNA بداخلها enclosure of DNA or RNA. ثم يتم خلط هذه الليبوسومات مع بروتوبلاست النبات حيث يتم إتحاد بين هذه الليبوسومات وبروتوبلاست النبات وبذلك ينقل DNA إلى الماده الوراثيه لبروتوبلاست النبات. ومن هذا البروتوبلاست يمكن عمل نبات كامل.

٥ ـ إتحاد مباشر بين بروتوبلاست النبات مع البكتريا المحوله transformed bacteria أو sphaeroplasts بكتيريه. والأخيره عباره عن بروتوبلاست خلايا بكتيريه تحتوى بلازميد Ti يحمل جينات غريبه مرغوبه مطلوب نقلها.

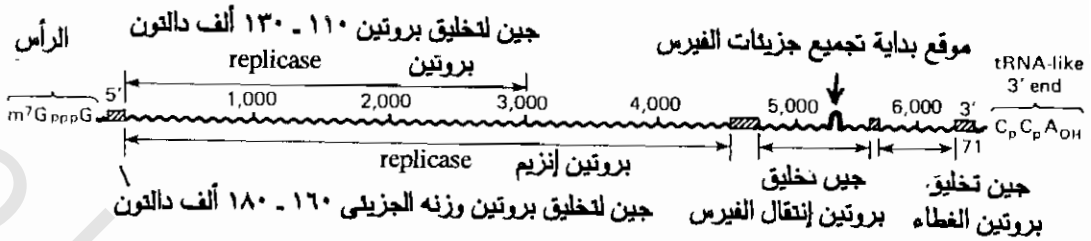
البيولوجيا الجزيئية لفيروس تبرقش التبغ (TMV)

يوجد لكل جزئيات الفيرس غطاء من البروتين ووظيفته الرئيسية هى حماية المادة النووية للفيرس. يعتبر البروتين خامل من الوجهه المرضية حيث أنه منفردا غير قابل على إصابة الخلية والعكس صحيح للمادة النووية التى يتكون منها الفيرس فهى قادرة بمفردها وبدون وجود البروتين على إصابة الخلية وحدوث المرض وتنطبق القاعدة على كل من RNA أو DNA . ولكن وجود البروتين فى جزيئ الفيرس يساعد على كفاءة الأصابة بالمادة النووية ولكنه يعتبر عامل غير محدد فى الأصابة. حيث أن الأصابة متوقفة تماما على المادة النووية. ولذلك يمكن أن تعتبر هذه وظيفة أخرى للبروتين. وبالتالى فإن بروتين الفيرس ليس له أى دور فى تضاعف المادة النووية فى داخل الخلية المصابة وأيضا ليس له دور فى تكوين المادة النووية وبروتين جزيئ الفيرس فى الخلية المصابة وأن الأساس فى ذلك هو بالطبع المادة النووية للفيرس الموجودة بداخل الخلية المصابة. بعض الفيروسات يوجد فى تركيبها بروتين إنزيم RNA transcriptase وهو لازم للأصابة ولتكاثر الفيرس. ولذلك فإن المادة النووية للفيرس تحمل جينات وهى تتكون من تتابع للنيوكليوتيدات فى مناطق معينة محددة ويسمى تتابع النيوكليوتيدات فى منطقة معينة محددة بالسسترون cistron . تحدد هذه الجينات خواص بروتين والأحماض النووية المكونة للفيرس وذلك عن طريق الشفرة وهى تماثل الشفرة فى النبات والحيوان.

تحدد كمية RNA الموجودة فى الفيرس عدد النيوكليوتيدات المكونة للمادة النووية وبالتالى فإنها تحدد طول جزيئ RNA . وبالتالى فإن هذه النيوكليوتيدات تحدد عدد الشفرات فى جزيئ RNA الفيرسى وبالتالى تحدد هذه الشفرات عدد الأحماض الأمينية الداخلة فى تركيب بروتين الفيروس. وحيث أن تحت وحده البروتين protein subunit فى الفيرس تحتوى على عدد قليل من الأحماض الأمينية وهى ١٥٨ حامض أمينى فى فيروس موزايك التبغ ولذلك فإن عدد الكودونات codons المستعملة فى تخليق هذا البروتين جزء من مجموع الكودونات الكلى. ولذلك فإنها فى فيروس تبرقش (موزايك) الدخان هى ١٥٨ كودون من المجموع الكلى وهو ٢١٣٠ كودون. ولذلك فإن بقية الكودونات تستخدم إفتراضا فى تخليق أنواع أخرى من البروتين ومنها البروتين التركيبى والأنزيمات وأحد هذه الأنزيمات هو RNA

polymerase ويسمى أيضا بأسماء أخرى وهى RNA synthetase و RNA replicase وهو المسئول عن تضاعف RNA الفيرس. وبالطبع فإن المادة النووية للفيرس الموجودة فى خلية العائل تتحكم فى التفاعلات الحيوية فى الخلية وتسخرها لصالح تكوين بروتين والمادة النووية للفيرس. ومما هو جدير بالذكر أن التركيب الجزيئى وتتابع الأحماض الأمينية فى بروتين غلاف جزيئ فيروس بترقش التبغ قد عرف بالتفصيل على مستوى البيولوجيا الجزيئية molecular biology فى النصف الثانى من السبعينيات.

يتكون جينوم genome فيروس تبرقش التبغ من ستة آلاف وأربعمائة نيوكليوتيد. يوجد أربعة جينات تنتج ٤ أنواع مختلفة من البروتين حيث أنها تختلف فى وزنها الجزيئى وأحد هذه الجينات ينتج بروتينات تتراوح أوزانها الجزيئية بين مائة وعشر ألف ومائة وثلاثون ألف دالتون. والجين الثانى ينتج بروتين يتراوح وزنه الجزيئى من مائة وستون ألف إلى مائة وثمانون ألف دالتون والجين الثالث ينتج بروتين وزنه الجزيئى ثلاثون ألف دالتون والجين الرابع ينتج بروتين وزنه الجزيئى سبعة عشر ألف دالتون. يستعمل البروتين الأول والثانى وهما ذات أوزان جزيئية مرتفعة فى عمل إنزيم أو أنزيمات الفيرس viral replicase (s) . ويعتقد أن البروتين الثالث يسهل إنتقال جزيئ الفيرس من خلية نبات إلى الخلية المجاورة وهكذا ويكون ذلك عبر خيوط البلازموديزم ماتا والتى تصل الخلايا النباتية الحية ببعضها. يكون البروتين الرابع الغلاف أو الغطاء coat البروتينى للفيرس. يوجد على الجينوم أجزاء غير معروف وظيفتها حتى الآن وهى أربعة أجزاء قصيرة ويعتقد أنها تشتمل على إشارات لبدء عملية التخليق signals for initiation وأيضا للتهيؤ promotion وأيضا لخاتمة عملية الترجمة termination of translation . موضع الجينوم وحيث يحدث عنده تجميع للبروتين assembly المكون للغطاء أو الغلاف وينتج عن ذلك جزيئ فيرس متكامل هو الموقع 5 وهو القمة cap والموقع 3 وهو النهاية ويسمى tRNA - like 3` end . كما أن موقع بداية تجميع جزيئات الفيرس موجوده على الجزيئ (شكل ١٤١).



(شكل ١٤١) : جزيئ RNA فيروس تبرقش التبغ. يتميز إلى أربعة جينات وكل جين يكون نوع معين من البروتين له وزن جزيئى معين ويوجد أربعة أجزاء قصيرة (مخططة) لا تشترك فى تكوين البروتين وغير معروف وظيفتها بالضبط ويعتقد أن لها دور فى بداية وتهيئة التخليق وأيضا فى نهاية وخاتمة عملية التخليق. الموقع 5 هو الرأس ومكان لتجميع بروتين غلاف الفيرس وهو cap أما الموقع 3 فهو لتجميع بروتين الفيرس ويسمى الموقع tRNA - like 3` end . الأرقام من ألف إلى ستة آلاف هى عدد النيوكليوتيدات.

أمراض النبات والتكنولوجيا الحيوية : البداية

Biotechnolgy and Plant Pathology : The Beginning

تم الآن إستعمال بلازميد Ti و T - DNA ثم فيروس تبرقش القنبيط وفيروسات آخرى وكائنات شبيهه بالفيرس فى هذا المجال. توجد بحوث كثيرة ومعامل كثيرة فى أنحاء العالم تقوم بدراسة ونقل وعمل خرائط للجينات على المادة الوراثية فى الكثير من البكتيريا المسببة أمراض للنبات. توجد دراسات مشابهه للكشف عن عدد وأنواع والقدرة على عمل تفاعلات معينة لجينات كثير من الفيروسات المسببة لأمراض النبات. ولكن بالنسبة للفطريات فقد إبتدأ الآن فقط العمل فى نقل cloning جينات الفطريات المسببة لأمراض النبات وذلك لدراسة تركيبها وقدرتها على عمل التفاعلات الحيوية وأنواعها وقدرتها على تنظيم هذه التفاعلات. وعند التعرف على جينات الطفيل وعزلها ونقلها والتعامل معها معمليا بكفاءة عالية manipulate them فإنه يمكن تحويرها وتغيير تركيبها ونقلها إلى النبات العائل ودراسة طبيعة العلاقة بين

هذه الجينات المنقولة والمحورة وجينات العائل وبالتالى تثبيط هذه الجينات أو معادلتها لوقاية النبات من أضرارها أو تستعمل فى وقاية النبات من سلالات الطفيل شديدة القدرة على الأصابة. يمكن أن يكون ذلك بإستعمال سلالات الكائنات الحية الدقيقة والمنقولة إليها جينات مثبطة بنثرها على سطح النبات وبذلك فإنها تضاد السلالات الممرضة وذلك عن طريق التضاد antagonism وبذلك تقى النبات من الأصابة وتكون هذه إحدى حالات المقاومة الحيوية biological control لمسببات أمراض النبات.

ومن وجهه النظر الأخرى بعيدا عن مسببات أمراض النبات فإن الدراسة تنصب على العائل للتعرف على طبيعة المقاومة فى النبات العائل وكيف أن جينات النبات العائل تعبر express عن ذلك أى ميكانيكية عمل الجين أو الجينات والتفاعلات الحيوية المختلفة الخاصة بهذه الجينات لكى يصبح النبات مقاوم. وبذلك تصبح للتكنولوجيا الحيوية دور رائع فى ذلك أى فى مجال مقاومة أمراض النبات. وغير معروف بالضبط ما هو نتيجة هذه الدراسات ولكن الأمل كبير فى ذلك.

توجد علاقة كبيرة بين التكنولوجيا الحيوية والهندسة الوراثية فى مجال أمراض النبات ولذلك أمثلة كثيرة وأهمها ما يأتى. نقل جين المقاومة لمرض التدرن التاجى إلى نبات التبغ. نقل الجين الخاص ببروتين غطاء أو غلاف coat protien جزيئ الفيرس المسبب لمرض موزايك التبغ إلى نبات التبغ وبذلك تصبح هذه النباتات مقاومة لهذا الفيرس وطبيعية مقاومة النبات العائل فى هذه الحالة غير معروفة ولكن يعتقد أنها نوع من cross protection أى المقاومة نتيجة التلقيح بسلالات مختلفة من الطفيل. أمكن نقل مقاومة مرض ألتفاف أوراق البطاطس وذلك بواسطة تزاوج البروتوبلاست protoplast fusion وذلك نتيجة للتزاوج بين بروتوبلاست أنواع بطاطس برية لاتنتج درنات بطاطس وتحمل جين أو جينات المقاومة وبروتوبلاست أصناف البطاطس العادية القابلة للأصابة. يستعمل فيروس موزايك البروم brome mosaic virus فى نقل DNA غريب عن النبات فى بروتوبلاست نبات الشعير وبذلك أمكن لـ DNA المنقول أن يعبر عن وجوده express فى بروتوبلاست الشعير أى أنه نشط فى عمل التفاعلات الكيموحيوية الخاصة به والتى تظهر الصفة أو الصفات الخاصة به. وبذلك أصبح هذا الفيرس وهذا البروتوبلاست عامل نقل فعال powerful vehicle لنقل الجينات إلى

نباتات ذوات الفلقة ونباتات ذوات الفلقتين. يمكن للنباتات المهندسة وراثيا أن تصبح مقاومة للمضادات الحيوية التى تقاوم بعض مسببات أمراض النبات ولذلك فإنها لا تتأثر تأثير ضار عند أستعمال هذه المضادات الحيوية فى مقاومة أمراض النبات. ترش بعض البكتيريا المهندسة وراثيا وأيضا بعض الفاج والفيروسات المهندسة وراثيا على النباتات لتمنع ضرر الصقيع. تباع تجاريا الآن أجسام مضاده monoclonal antibodies لكثير من البكتيريا والفيروسات المسببة أمراض للنبات وذلك للتعرف بسهولة وبسرعة على هذه الطفيليات. تستخدم إختبارات التهجين بين الأحماض النووية nucleic acid hybridization للتعرف على الفيرويدات وأيضا تشخيص أمراضها ويوجد لذلك أيضا تجهيزات لذلك تباع تجاريا test kits للتعرف على الفيرويدات وتشخيص أمراضها بسهولة وبسرعة.

هذه هى بعض الأنجازات فى مجال التكنولوجيا الحيوية ولا زلنا فى إنتظار إنجازات الغد.

obeikandl.com

ملخص تاريخى عن التقنية الحيوية وأمراض النبات

كانت البكتيريا ديبلوكوكس نيومونى *Diplococcus pneumoniae* موضع دراسة مستفيضة قام بها العالم البكتريولوجى جريفث Griffith عام ١٩٢٨ . توجد من هذه البكتيريا التى تسبب مرض الالتهاب الرئوى فى كثير من الحيوانات سلالات قادرة على إحداث إصابة، يطلق عليها سلالات نشطة virulent وأخرى خاملة avirulent لا تحدث إصابة، تختلف السلالة النشطة عن الخاملة فى صفة مورفولوجية ظاهرة هى أن بكتيريات السلالة النشطة مغطاه بغلاف capsule ذو سطح ناعم، لذلك يطلق عليها ملساء smooth ، ويرمز إليها بحرف (S) ، فى حين أن السلالة الخاملة عديمة الغلاف خشنة السطح rough ويرمز إليها بحرف (R) . توجد من البكتيريات الملساء (S) (النشطة) طرز كثيرة من بينها الطرزان S_{11} و S_{111} ويختلفان عن بعضهما فى التركيب الكيماوى للمركب عديد السكريات الذى يتكون منه الغلاف. كما يوجد كذلك من السلالة الخشنة طرز يعرف R_{11} . تنتقل الصفات الخاصة بكل طرز من S_{11} و S_{111} وR_{11} إلى نسله بحالة نقية بالتكاثر الخضرى، مما يدل على أنها صفات وراثية ترجع إلى التركيب الخاص بكل طرز. تظهر أحيانا فى هذه الطرز طفرات تحولها من طرز إلى آخر منها أو إلى غيرها، طفرة فى كل نحو 10^7 أفراد، فالطرز S_{11} مثلا يطفر إلى S_{111} أو R_{11} وهكذا، مما يشير إلى أن هذه الصفات الليلية متبادلة لمكانlocus وراثى واحد. فإذا حقن فأر مثلا باحد السلالات النشطة ظهرت عليه أعراض الإصابة بالالتهاب الرئوى، أما السلالات الخاملة فلا تسبب إصابة بهذا المرض. غير أنه قد وجد أنه إذا حقن فأر بسلالة خاملة مع بكتيريات نشطة غير حية، بعد قتلها بالتسخين، تظهر على الحيوان أعراض المرض، وبفحص البكتيريات فيه وجد أنها تحتوى على سلالات نشطة.

يستنتج من ذلك أن اختلاط السلالتين فى جسم حيوان عائل أدى إلى تحول احدهما تحولا وراثيا من صفة إلى اليلتها، من صفة الخمول إلى النشاط، أو صفة سلالة خشنه إلى ملساء حتى لو كانت السلالة الواهبة - وهى هنا البكتيريات النشطة - بكتيريات ميته (شكل ١٤٢) .

(شكل ١٤٢) : التحول الوراثى فى *Pneumococci*

بعد نحو ١٦ عاما من دراسة جريفث، أى فى عام ١٩٤٤ ، أعاد أفيرى Avery وزملاؤه ماكلويد، وماك كارتى Macleod & McCarty التجربة السابقة، ولكن كان اختلاط السلالة الخاملة الحية بالسلالة النشطة الميتة فى بيئة medium خارج جسم الحيوان العائل، فتحولت بعض البكتيريات غير النشطة R_{11} إلى بكتيريات نشطة بإختلاطها بالطرز S_{111} النشط. كان هذا دليلا على أن السلالة غير النشطة ينقصها مركب خاص حتى تتحول من الطرز الخامل إلى الطرز النشط، فتحولت من الخمول إلى النشاط بعد حصولها عليه من الخلايا النشطة المقتولة. وقد تأيد هذا الاستنتاج عندما وجد أن إضافة «ح د ن» مستخلص من الطرز الثلاثة السابقة إلى مزرعة ينمو فيها طرز آخر، يحدث التحول الوراثى تماما كما حدث فى حالة الجمع بين البكتيريات نفسها. ويكون التحول وفق طرز البكتيريا التى استخلص منها «ح د ن» المضاف إلى البيئة. كذلك امتدت التجربة إلى إحداث التحول الوراثى بين الطرزين S_{11} و S_{111} ، اللذين يختلفان عن بعضهما فى نوع المركب الكربوإيدراتى عديد السكريات الموجود فى الغلاف، مما يشير إلى أن نوع المركب عديد السكريات يرجع إلى عامل وراثى، أى إلى جين مكون من «ح د ن» وأن نوعى المركب عديد السكريات صفتان الليليتان مثل الصفتين S_{11} و S_{111} . مما يؤيد أن «ح د ن» هو المادة التى تحدث التحول الوراثى، هو أنه إذا عومل بإنزيم ديزوكسى ريبونيوكلييز قبل إضافته إلى البيئة فإنه لا يحدث التحول فى البكتيريات النامية فيها، لأن الإنزيم يحلل « ح د ن» ويعطل تأثيره كما أن إضافة البروتين الموجود فى البكتيريا الواهبة، بدلا من «ح د ن» لايحدث تحولا وراثيا. وكان ذلك أول دليل علمى على أن DNA يحمل معلومات أو صفات وراثية.

قام هيرشى وشيس Hershey and Chase عام ١٩٥٢ بإقامة الدليل على أن ما يدخل البكتيريا العائل من جسم الفيروس هو رأسه المكون من «ح د ن» وأن الذنب المكون من البروتين يبقى فى الخارج، وذلك باستعمال عناصر مشعة مميزة لكل من «ح د ن» يحتوى على فوسفور ولا يشمل الكبريت فى حين أن جزئ البروتين الموجود فى الفيروس يشمل الكبريت ولا يشمل الفوسفور. فإذا نما فيروس على مزرعة بكتيرية تحتوى على كب^{35} كان ذيل الفيروس مشعا. فإذا أصاب هذا الفيروس بكتيريات غير مشعة تبين أن ذيل الفيروس المشع يبقى خارج البكتيريات المصابة ولا يدخلها. إذا أجريت مثل هذه التجربة باستعمال

فوسفور مشع فو^{32} تبين أن المادة المشعة هى التى تدخل البكتيريا العائل. وهو ما يدل على أن «ح د ن» وحده هو الذى ينتقل كما هو من جيل إلى آخر.

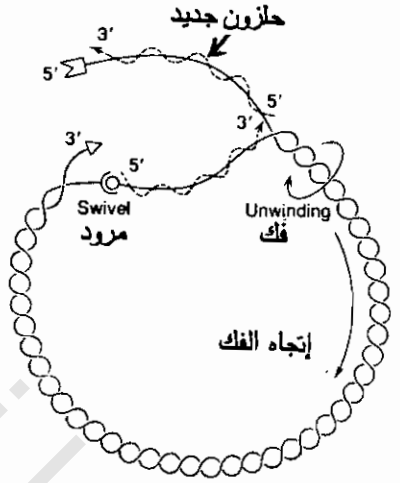
غير أن الفيروسات التى تصيب النباتات تحتوى على حامض ريبونيوكلييك، بدلا من ديزوكسى ريبونيوكلييك، مثل فيروس تبرقش التبغ tobacco mosaic virus ، وهو مكون من جزيئ «ح ر ن» حلزونى الشكل ويحاط بمركب البروتين. أمكن فصل هذين المركبين عن بعضهما بحالة نقية، واختبار مقدرة كل منهما على إحداث عدوى فى نبات تبغ سليم، فتبين أن «ح ر ن» وحده هو الذى يحدث الإصابة، ويتكاثر داخل النبات العائل مكونا فيروسات جديدة تحتوى على «ح ر ن» وبروتينات، وتحمل الفيروسات الجديدة صفات الفيروس الأصلى وتحدث نفس الأعراض إذا أصابت نباتا عائلا.

يوجد فى البكتيرياد. نيومونى سلالتان أخريتان، إحداهما مقاومة للمضاد الحيوى ستربتومايسين streptomycin - وهو مضاد لنمو بعض البكتيريا - فيطلق عليها «مقاومة للستربتومايسين» streptomycin resistant (SR) ، (م . س) والأخرى حساسة له ويطلق عليها «حساسة للستربتومايسين» (ح . س) streptomyicn sensitive (SS) . تنتقل هذه الصفة من البكتيريا إلى نسلها كصفة وراثية. إذا أضيف «ح د ن» مستخلص من بكتيريا مقاومة ستربتومايسين (م . س)، إلى بيئة بكتيريا حساسة (ح . س). تحولت بعض البكتيريا الناتجة فى المزرعة إلى مقاومة. أجريت دراسة التحول الوراثى فى أنواع أخرى من البكتيريا، من بينها البكتيريا باسيلوس سابتيليس *Bacillus subtilis* . تستطيع سلالة منها أن تنمو فى مزرعة تحتوى على الحامض الأمينى تريبتوفان ، ويطلق عليها ذاتية التريبتوفان tryptophan independent ، فى حين توجد سلالة أخرى يتحم وجوده فى غذائها فيطلق عليها ناقصة التريبتوفان tryptophan dependent . فالأولى يمكنها بناء هذا الحامض فى خلاياها، أما الثانية فلا يمكنها بناؤه وتعتمد فى حصولها عليه من مصدر خارجى من البيئة. هاتان الصفتان وراثيتان الليليتان. وقد تبين أن إضافة «ح د ن» مستخلص من السلالة الذاتية التريبتوفان إلى مزرعة من السلالة الناقصة إليه، تحول كثيراً من بكتيريا هذه المزرعة إلى بكتيريا ذاتية التريبتوفان.

استعمل الفوسفور المشع فو٣٢ فى تتبع انتقال «ح د ن» من البكتيريا الواهبة التى تحدث التحول، إلى البكتيريا المستقبلة التى يحدث فيها التحول، وذلك بإضافته إلى المزرعة الواهبة واستخلاص «ح د ن» المشع منها ثم إضافته إلى مزرعة مستقبلة فانتقل الفوسفور المشع إليها وحدث التحول الوراثى إلى صفة البكتيريا الواهبة. قد يتبادر إلى الذهن أن جزئيات «ح د ن» التى تحدث التحول الوراثى تعمل كحافز على ظهور طفرة فى البكتيريا المستقبلة recipient . لكن الدليل على أن ما يحدث هو تحول وراثى حقا، وليس طفرة، هو أولا، أن التحول يحدث نتيجة دخول «ح د ن» جديد من البكتيريا الواهبة، كما يتبين بوضوح من تجربة الفوسفور المشع، وثانياً، أن التحول يكون فقط إلى الصفة التى تأتى من الواهب، وليس إلى أى طفرة جديدة.

أما عن طريق إنقسام الكروموسوم البكتيرى فى البكتريا *E.coli* فقد تمكن كيرنس Cairns عام ١٩٦٣ من وضع أسس إنقسام هذا الكروموسوم. حيث أن تضاعف الكروموسوم يبدأ عند منطقة معينة فى محيط الكروموسوم ثم يحدث فك لحلزونى الكروموسوم تدريجيا ويحدث فى نفس الوقت تضاعف لكل شريط وهكذا تحدث عملية الفك والتضاعف تدريجيا حتى يتم تضاعف الكروموسوم تماما. وملخص هذه العملية أنه يحدث كسر فى أحد حلزونى DNA عند منطقة معينة تسمى منطقة البداية initiation site ثم يحدث فك لحلزونى DNA تدريجيا وفى نفس الوقت يتضاعف DNA (شكل ١٤٣).

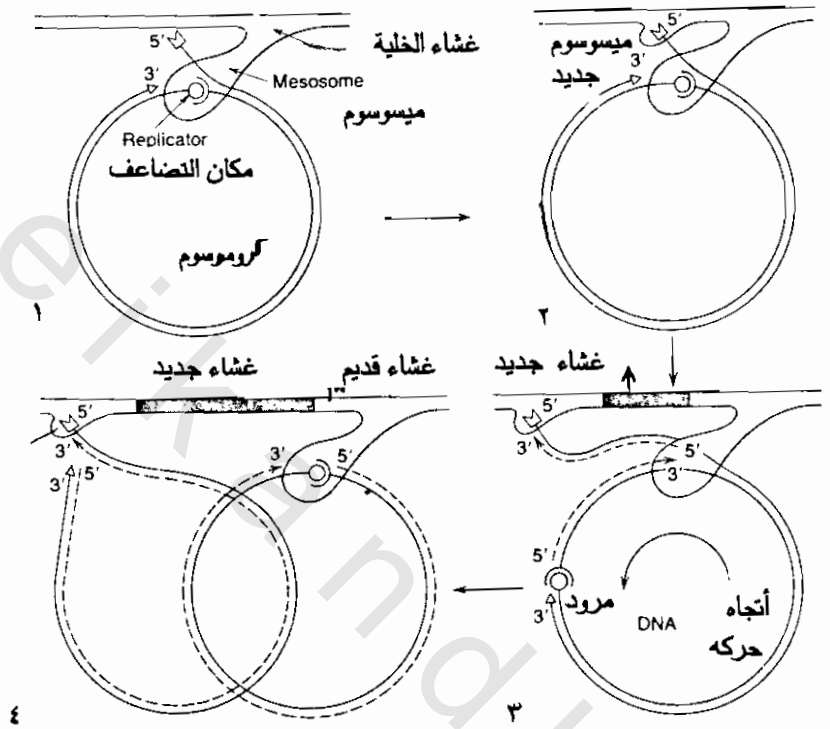
أثناء نمو المستعمرة البكتيرية أى أثناء أنقسام الخلايا تنفصل الأنويه المنقسمه أى المادة النووية عن بعضها أى تبتعد عن بعضها. يلاحظ عدم وجود أى جهاز فى الخلية البكتيرية مسئول عن ذلك وذلك بالمقارنة بخلايا النبات أو الحيوان العادية eucaryotes . حيث أن أنفصال الكروموسوم فى خلايا النبات العادية أثناء الأنقسام يحدث نتيجة لأتصال سنترومين الكروموسوم ببعض خيوط المغزل وهى عباره عن أنابيب صغيرة دقيقة microtubules ثم تنكمش هذه الخيوط أو الأنابيب فى أتجاه أحد قطبى الخلية وبذلك تبتعد الكروموسومات عن بعضها متحركة فى أتجاه أحد قطبى الخلية أثناء الطور الأنفصالى. هذه الخيوط وهذه الأنابيب غير موجودة فى الخلية البكتيرية فكيف يحدث الأنفصال بين الكرموسومين فى الخلية البكتيرية؟. وللإجابة على هذا السؤال وضع يعقوب وبرينر وكوزين Jacob و Brenner و Cuzin



(شكل ١٤٣) : تضاعف DNA حلقى
الخط العادى حلزون DNA قديم
الخط المتقطع حلزون DNA جديد

عام ١٩٦٣ نظرية التضاعف replicon hypothesis للكروموسوم البكتيرى (شكل ١٤٤) وهى كما يلى :

١ ـ عندما يبدأ تضاعف الكروموسوم البكتيرى فإن منطقة معينة specific site على محيط الكروموسوم ترتبط بمنطقة معينه على الميسوسوم mesosome تسمى منطقة التضاعف replicator site . يتكون الميسوسوم نتيجة لأنبعاج غشاء الخلية المبطن للجدار للداخل cell membrane كما أنه يتداخل مع بعضه مرات عديده ليكون كتله من الأغشية تسمى الميسوسوم. وفى منطقة التضاعف تنشط الأنزيمات المسئولة عن كسر وتضاعف حلزونى DNA مثل إنزيم بلمره الـ DNA polymerase DNA . وفى هذه الأثناء ينكسر أحد حلزونى DNA عند الموقع 5′ إلى 3′ وتعمل منطقة التضاعف replicator site على فك حلزونى DNA مبتدئا من مكان الكسر أو القطع ويزداد تدريجيا على طول الكروموسوم. تعمل منطقة التضاعف فى هذه الحالة كمرود swivel .



(شكل ١٤٤) : تضاعف الكروموسوم البكتيرى

١ ـ إتصال الكروموسوم بغشاء الخلية ومكان التضاعف وكسر أحد حلزونى الـ DNA .

٢ ـ إتصال أحد طرفى الحلزون المقطوع 5´ بغشاء الخلية فى منطقة ميسوسوم جديده .

٣ ـ فك حلزونى DNA وحركة الكروموسوم فى إتجاه عكس عقرب الساعة وبناء حلزونين جديدين. الحلزون القديم بخط عادى والحلزون الجديد بخط متقطع. كبر مساحة سطح الغشاء وهى منطقة غامقه.

٤ ـ تكوين كروموسومين جديدين مع كبر مساحة سطح الغشاء وبذلك تزداد المسافة بين الكروموسومين (منطقة غامقة).

٢ ـ بعد قطع أحد حلزونى DNA فإن أحد طرفى الحلزون المقطوع 5´ يتصل بمنطقة تضاعف أخرى مجاورة لمنطقة التضاعف الأولى وذلك قبل حدوث تضاعف لحلزونى DNA. أى يحدث الألتحام بين الطرف المقطوع ومنطقة التضاعف قبل بدء حدوث التضاعف.

٣ ـ تحدث بداية فك حلزونى DNA فى منطقة التضاعف. وأن التفاعل المسئول عن فك حلزونى DNA يبدأ من منطقة التضاعف وأيضا الأنزيمات المسئولة عن تضاعف حلزونى DNA أثناء الأنفصال تبدأ من منطقة التضاعف replication fork . وأثناء عملية فك وتضاعف DNA يتحرك الكروموسوم حركة دائرية فى عكس أتجاه عقارب الساعة. وتتحرك أيضا منطقة التضاعف والتى تعمل كمرود ويتضاعف الكروموسوم.

٤ ـ ينفصل الكروموسومين عن بعضهما نتيجة لتخليق أجزاء فى الغشاء بين موضع الألتصاق الأول وموضع الألتصاق الثانى الجديد. أى أن الغشاء يستطيل بين موضعى الألتصاق. ونتيجة لتخليق مركبات جديدة ونتيجة لزيادة فى طول الغشاء تزداد المسافة بين موضعى الألتصاق ويتباعد الكروموسومان الجديدان عن بعضهما.

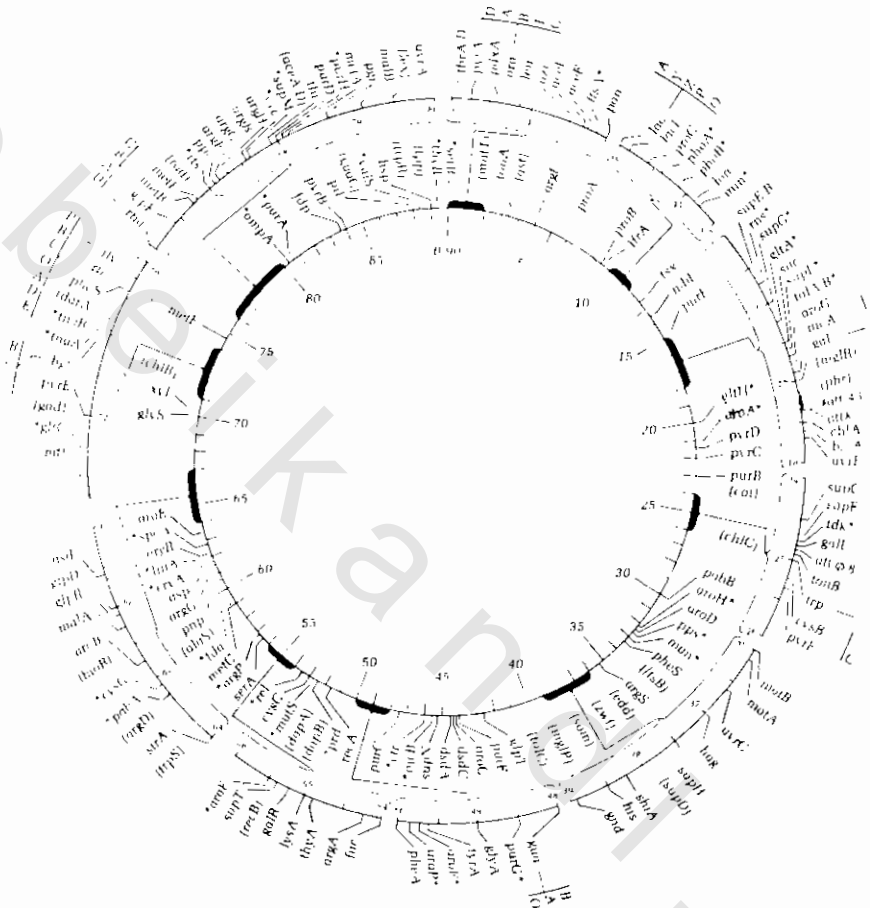
أمكن إثبات كثير من خطوات هذه النظرية فيما بعد. حيث أمكن بواسطة المجهر الألكترونى إثبات إلتصاق منطقة معينة على الكروموسوم بغشاء خلية البكتريا. أمكن أثبات أيضا وجود إرتباط كبير بين غشاء خلية البكتريا و DNA المخلق الجديد وذلك بإستعمال DNA مشع حيث يتم تعليم الثيميدين tritiated thymidine . وجد أيضا أن أنزيم بلمره DNA أى DNA polymerase مرتبط بأغشية خلية البكتيريا.

أما عن طريقة عمل الخرائط الكروموسومية فى خلايا البكتريا فإنه يمكن وصف ذلك فى البكتيريا إيشيرشياكولاى *E.coli* . عندما يوجد فى الخلية الذكرية العامل F أى F factor ملتصق بالكروموسوم فإن التزاوج يحدث وينتقل جزء من الكروموسوم من الخلية المذكره إلى الخلية المؤنثة. يكون إنتقال الكروموسوم من الخلية المذكرة إلى الخلية المؤنثة بطيئ. وفى الظروف العادية ينتقل جزء فقط من الكروموسوم ولا ينتقل الكروموسوم كله إلى الخلية المؤنثة. يظهر فى النسل الصفات الذكرية المنقولة فقط. يكون النسل الناتج عادة مؤنث لأنه نـادرا ما ينتقل

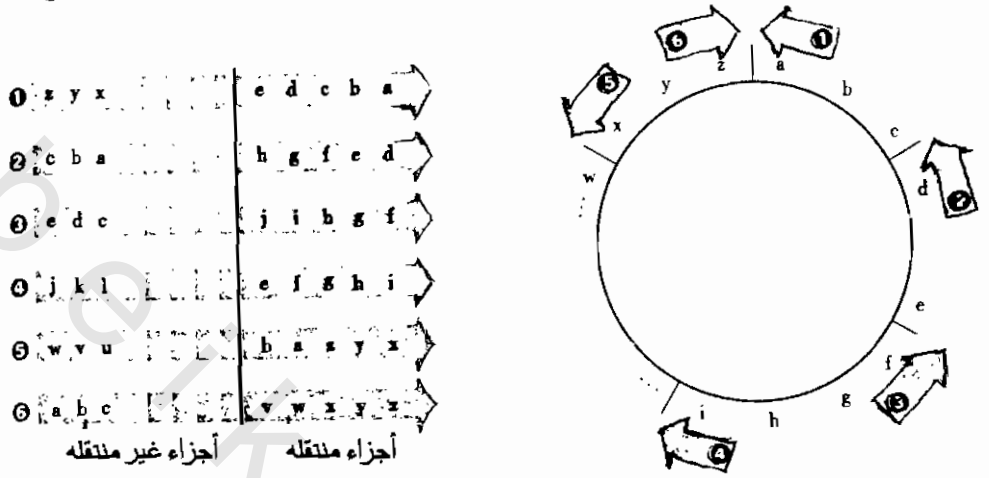
F factor إلى الخلية المؤنثة وهو فى حالة كروموسوميه. يمكن منع إنتقال الكروموسوم أثناء التزاوج بواسطة الرج الشديد. ولو أجرى الرج مبكرا فإن جينات ذكرية قليلة ستنتقل للأنثى وكلما تأخرت عملية الرج كلما إنتقلت جينات أكثر وهكذا. توجد سلالات ذكرية كثيرة وكل سلالة ذكرية لها كروموسوم واحد وأول جين موجود على الكروموسوم يكون واحد كما أن ترتيب الجينات على الكروموسوم واحد. وأول جين موجود على الكروموسوم هو أول جين ينتقل إلى الخلية المونثة. تختلف السلالات الذكرية فيما بينها حيث أن أول جين على الكروموسوم غير متماثل أو ترتيب الجينات غير متماثل أو كلاهما. ولذلك عند وجود مجموعة من السلالات فإن الصفات التى ستنتقل ستختلف. بفحص هذه الصفات وتحديدها يمكن تحديد صفات الكروموسوم فى كل سلاله.

يحمل الكروموسوم البكتيرى جينات (شكل ١٤٥) وسيرمز لهذه الصفات للسهوله بالحروف الأبجديه من A إلى Z (شكل ١٤٦) . عند قطع الكروموسوم فى المكان 1 فإن العوامل الوراثية أى الجينات المنتقلة هى بالترتيب a ثم b ثم c ثم d ثم e وبذلك يكون الأنتقال فى عكس إتجاه عقارب الساعة وإذا كان القطع فى المكان 6 فإن الجينات المنتقلة تكون z ثم y ثم x ثم w ثم v أى يكون الأنتقال فى إتجاه عقارب الساعة وفى حالة القطع فى المكان رقم 2 فإن الجينات المنتقلة تكون d ثم e ثم f ثم g ثم h وفى حالة القطع فى المكان رقم 3 فإن الجينات المنتقلة تكون f ثم g ثم h ثم i ثم j وهكذا. عادة يحدث إنتقال لعدد قليل من الجينات يتراوح بين ثلاثة إلى خمسة جينات. وبذلك يمكن تحديد صفات الكروموسوم البكتيرى فى السلالات المختلفة.

يعتبر DNA جزيئ يكرر نفسه ذاتيا self - replicating ويوجد فى صوره جزيئ طويل يحتوى ملايين من أزواج النيوكليوتيدات فى الكروموسوم وقد يوجد فى صوره أصغر حيث يحتوى على آلاف أو مئات الآلاف من أزواج النيوكليوتيدات فى البلازميدات. يمكن أن تنتقل بعض البلازميدات فى داخل الخلية وتلتحم بالكروموسوم وتصبح جزء منه وذلك فى نفس الخلية ونفس العائل ويمكن أن يكون أكثر من ذلك أنها يمكن أن تلتحم بكروموسومات أى صبغيات عائل آخر. تحتوى الفيروسات على DNA أو RNA ويمكن أن تعبر عنexpression



(شكل ١٤٥) : خريطة كروموسومية للبكتريا *E.coli* K_{12}. توجد فى الحلقة الداخلية وحدات أى أرقام هى عباره عن الزمن النسبى اللازم لدخول الجينات المعروفة المعلمه markers أثناء التزاوج الجنسى بين البكتريا على درجة حراره ٣٧م. تم إفتراض منطقة الصفر عند الجين thr D . الأجزاء السوداء على الخريطة موضحه بالتفصيل داخل قوس وفيها الجينات محدده فى أماكنها تقريبا والزمن اللازم أيضا مدون لها وأما عن الجينات ذات الدجمه فهى معلمه ومحدده أماكنها بدقه على الخريطة. توضح الأسهم إتجاه نسخ mRNA بالنسبة لكل جين.



(شكل ١٤٦) : كروموسوم بكتيرى والتزاوج

كروموسوم بكتيرى مبسط وأماكن قطع مختلفه على الكروموسوم من رقم ١ إلى رقم ٦ ويرمز للجينات المختلفة على الكروموسوم البكتيرى بالحروف الأبجديه وذلك للتبسيط.

تركيبها الجينى بواسطة mRNA خاص بكل جين. أكتشف هاملتون Hamilton عام ١٩٧٠ أول أنزيم قطع لجزيئ DNA restriction nuclease وهو أنزيم يقوم بقطع جزيئ DNA فى أماكن معينه بعد تتابع نيوكليوتيدات معينه. تمكن كل من بوير وكوهين Cohen و Boyer عام ١٩٧٣ من أدخال جينات غريبة إلى البلازميد ثم أدخال البلازميد فى خلايا البكتريا وهذه الخلايا الأخيره بدورها تتكاثر ونتيجة لذلك يتكاثر أيضا الجين الغريب الذى يحمله البلازميد وهذه الخطوات المختلفه تسمى gene cloning . أمكن إدخال جين من الثدييات فى DNA الفاج وذلك لأول مره عام ١٩٧٥. وفى نفس العام أمكن الحصول على خليه هجين a hybrid cell بين خليه طحال spleen cell قادره على تكوين أجسام مضاده antibody - producing spleen cell وخليه ورم سرطانى tumor cell تنقسم تلقائيا بدرجة ملحوظه. تسمى الخليه الهجين الناتجة hybridoma وهذه الخليه تكون نوع واحد من الأجسام المضاده monoclonal بإستمرار. وأمكن التعرف على تتابع أزواج النيوكليوتيدات فى جزيئ DNA هذه الخليه الهجين بواسطة أنزيمات

القطع restriction enzymes . تمكن Sanger ومساعدوه عام ١٩٧٧ من معرفه تركيب وتتابع ٥٣٨٦ زوج من النيوكليوتيدات فى DNA الفاج المعروف باسم ø X 174 . وفى نفس العام أيضا أكتشف أن جزيئ DNA فى النواه توجد فيه أجزاء عباره جينات وأجزاء أخرى ليست جينات ولذلك فإن الجينات المختلفة لا تكون مستمره على جزيئ DNA بل تنفصل إلى أجزاء نتيجة لوجود أجزاء DNA غير جينية non gene DNA . وفى نفس السنة أيضا أكتشف لأول مره تتابع كامل للنيوكليوتيدات لأحد جينات الثدييات وهو جين خاص بالجلوبين globin . ولأول مره فى عام ١٩٧٩ أمكن إدخال DNA غريب فى DNA خليه كائن حقيقى النواه وهى خليه فطر الخميره. ولأول مره فى عام ١٩٨٠ أمكن إدخال جينات غريبة فى نواه خلايا الثدييات وذلك فى الفيران وأيضا أظهرت هذه الجينات خواصها expressed فى خلايا الفيران.

يعتبر ما سبق إضافات فى علم الهندسة الوراثية ويوجد أيضا إضافات فى علم مزارع الأنسجة وفيما يلى موجز لذلك. يعتبر عام ١٩٣٤ هو بداية علم مزارع الأنسجة عندما تمكن هوايت White من فصل القمة النامية لجذور الطماطم وتنميتها على بيئة سائلة ونتج عن ذلك جذور عادية. تمكن هوايت وآخرون عام ١٩٣٩ من الحصول على مزارع صناعية لنسيج الكالس من نخاع ساق الدخان وأيضا من جذور الجزر. تمكن بول Ball عام ١٩٤٦ من قطع القمة النامية للساق وزراعتها على بيئة صناعية وأنتج منها نبات كامل. أمكن إثبات عام ١٩٥١ أن قطع القمة النامية للساق بطول ١٠٠ إلى ٢٥٠ ميكرون وتحمل بدائيات ورقتين خضريتين فقط يمكن أن يتكون منها نبات كامل. تمكن مويرMuir عام١٩٥٣ من فصل خلايا مفرده من نسيج الكالس وأمكن تنميه هذه الخلايا المنفرده. أثبت ستيورات Stewart عام ١٩٥٨ أن معلق خلايا الجزر carrot suspension cultures يمكن أن يزرع على بيئات صناعية وينتج منه أشباه أجنة embryoid أى أنه لأول يمكن إنتاج أجنه من خلايا خضريه غير تناسليه. تمكن كوكنج Cocking عام ١٩٦٠ من الحصول على بروتوبلاست خلايا النبات وذلك نتيجة لمعامله جدر الخلايا بأنزيمات هاضمه أى محلله لجدر الخلايا. تمكن تاكيبا Takeba ومساعدوه عام ١٩٧١ من أنتاج نبات كامل من بروتوبلاست خلايا النسيج الوسطى أى الميزوفيل لنبات التبغ. تمكن جوها Guha عام ١٩٦٦ من الحصول على نبات أحادى haploid من حبوب اللقاح.

وفى مجال التطبيق للهندسة الوراثة ومزارع الأنسجة بالنسبة لأمراض النبات تستعمل البكتريا *Agrobacterium tumefaciens* المسببة لمرض التدرن التاجى فى كثير من النباتات. يعتبر كلا من هوايت وبروان Braun و White عام ١٩٤٢ أول من تمكنا من الحصول على ورم لهذه البكتريا خال من البكتريا قادر على النموذاتيا autonomously growing . أستخدمت أيضا مزارع الأنسجة للقمة النامية للساق للحصول على نباتات خالية من الأصابة بالفيروس. أستخدمت مزارع البروتوبلاست فى دراسة عمليه الأصابة بالفيروسات وأيضا دراسة تكاثر الفيروسات ودراسة تأثير سموم الطفيليات النباتية على النبات. أستخدم التزاوج بين البروتوبلاست للحصول على هجين مقاوم للأمراض. أستخدمت الهندسة الوراثية فى التعرف على طبيعه مسبب تكوين الأورام nature of the tumor - inducing principal فى حالة بكتريا التدرن التاجى كما أستخدمت الهندسة الوراثية أيضا فى التعرف على التركيب الوراثى للبكتريا والفيروس.

يعتبر إستخدام البكتريا *Agrobacterium* وبعض الفيروسات النباتية كمستقبل وحامل وناقل لجينات غريبة ثم نقل هذه الجينات الغريبة إلى النبات سيفتح مجال كبير فى عمل تحوير فى التركيب الوراثى للنبات genetic transformations of plants وبذلك يتم عمل ثوره فى التركيب الوراثى للنبات غير معروف مداه ودرجة الأستفاده منه فى الوقت الحاضر.

يمكن إستخدام التقنيه الحيويه فى إنتاج نباتات مقاومة للأمراض حيث يتم نقل الجين المرغوب فيه من نبات إلى آخر بواسطة طرق التقنيه الحيويه المختلفه وفيما يلى أمثله لذلك:

١ ـ أستخدام مزارع الأنسجة فى أنتاج أعداد كبيره من النباتات مقاومة للأمراض

Tissue culture of diseae resistant plants

يمكن أستخدام مزارع الأنسجة فى أنتاج أعداد كبيره جدا من نباتات لها نفس التركيب الوراثى ومقاومة للأمراض مثل الشليك والتفاح والموز وقصب السكر والبطاطس والكاسافا cassava . حيث يمكن أكثار النبات المقاوم عن طريق مزارع القمة النامية للساق أو مزارع حبوب اللقاح أو مزارع البروتوبلاست وبذلك يمكن إنتاج كميات هائلة من هذا النبات ذات تركيب وراثى متماثل مرغوب ومقاوم للأمراض.

٢ ـ عزل طفرات مقاومة للأمراض من مزارع الأنسجة

Isolation of disease resistant mutants from plant cell cultures

عند أستعمال نبات فى مزارع الأنسجة وذلك للحصول على خلايا منفرده أو نسيج كالس أو بروتوبلاست فإن الخلايا المنفرده أو البروتوبلاست تظهر إختلاف واضح فى تركيبها بالرغم من أنها مأخوذه من نبات واحد وتسمى هذه بالأختلافات الجسدية أو الخضرية somaclonal variation . يكون كثير من هذه الأختلافات غير مفيد أوضار ولكن النادر أو القليل منها مفيد. ومثال ذلك نبات البطاطس القابل للأصابة بفطر *Alternaria solani* وفطر *Phytophthora infestans* حيث وجد أن مزارع البروتوبلاست للأوراق أن حوالى خمسة بروتوبلاست لكل ٥٠٠مقاوم للفطر الأول وحوالى عشرون بروتوبلاست لكل ٨٠٠ مقاوم للفطر الثانى. وجدت أيضا نتيجة مشابهه فى حاله قصب السكر حيث أمكن الحصول على نباتات ذات مقاومه ملحوظة للفطريات *Helminthosporium* و *Ustilago* .

٣ ـ إنتاج نباتات ثنائية dihaploids من نباتات أحادية haploids مقاومة

Production of resistant dihaploids from haploid plants

يمكن إنتاج نباتات أحادية من حبوب لقاح غير تامه النضج immature وأحيانا قليلة يمكن إنتاج هذه النباتات من جرثومة كبيره megaspore أى الخليه التى يتكون منها الكيس الجنينى. وفى هذه الحالة فإن أليل allele لكل جين يعبر عن الصفة بوضوح حيث أن النبات أحادى وبذلك يمكن إكتشاف الصفات بسهوله. ولذلك فإنه يمكن إنتخاب النباتات الأحادية المقاومة للأمراض بسهوله. ثم تجرى مضاعفة لهذا النبات بواسطه الكولشسين فيصبح ثنائى متماثل تماما فى جميع الصفات dihaploid بما فيها صفة المقاومة وحيث توجد بحالة أصيلة homozygous وهذه ميزه أخرى بالمقارنه عندما تكون صفة المقاومة غير أصيلة أى خليط heterozygous

٤ ـ زيادة درجة مقاومه المرض بواسطة تزاوج البروتوبلاست

Increasing disease resistance by protoplast fusion

يحدث تزاوج بين بروتوبلاست النباتات المتقاربة وراثيا. حيث أن البروتوبلاست المعزول يمكن أن يتزاوج طبيعيا أو فى وجود مركبات تساعد على ذلك مثل بولى إيثيلين جليكول ويسمى فيوزاجين fusagen . عند حدوث تزاوج بين البروتوبلاست فيحدث تزاوج سيتوبلازمى ونووى فتسمى الخلية فى هذه الحالة خليه هجين hybrid cell حيث توجد نواه واحده فى البروتوبلاست المتزاوج وقد يحدث تزاوج سيتوبلازمى دون تزاوج نووى ويسمى البروتوبلاست الناتج فى هذه الحالة cybrid cell . يحدث عاده عقم للبروتوبلاست المتزاوج وقد ينتج عنه كالس ولا ينتج منه نباتات إطلاقا. بعد حدوث تزاوج للبروتوبلاست يحدث له إنقسام وأثناء الأنقسام يحدث حالة تلكؤ lagging لكروموسوم أو أكثر ونتيجة لذلك فإن البروتوبلاست المنقسم ينتج عنه خلايا ناقصة كروموسوم أو أكثر وخلايا أخرى زائده كروموسوم أو أكثر ولذلك تنتج صفات جديده نتيجة لوجود هذه الخلايا. يفيد تزاوج البروتوبلاست بين بروتوبلاستين أحاديين من نفس النوع أو الصنف كلا منهما عال المقاومة لمرض معين حيث ينتج عن ذلك بروتوبلاست ثنائى ينتج منه نبات ثنائى diploid شديد المقاومة للمرض.

٥ ـ تكوين خلايا محوره transformed cells مقاومه للأمراض

Genetic transformation of plant cells for disease resistance

يمكن أدخال DNA أى الماده الوراثية فى بروتوبلاست أو خلايا النبات بطرق عديده. ومن هذه الطرق أن يأخذ البروتوبلاست DNA مباشره direct DNA uptake أو حقن DNA فى الخليه أو البروتوبلاست microinjection of DNA أو بواسطه ليبوسومات liposomes والليبوسوم عباره عن حوصله دهنيه lipid vesicle وتعتبر الليبوسومات وسيط فى دخول DNA إلى البروتوبلاست أو الخلايا أو بواسطه كروموسومات صغيره minichromosomes وتسمى أيضا هذه الكروموسومات الصغيرة باسم بلازميدات سنتروميريه centromer plasmids أو بواسطه الفيروسات أو بواسطه النظام الجينى الطبيعى للبكتريا *Agrobcterium tumefaciens* . وفى جميع

هذه الحالات يتم أدخال أجزاء صغيره أو كبيره من DNA إلى داخل الخلايا أو البروتوبلاست وقد يصبح أو لا يصبح هذا الـ DNA جزء من DNA كروموسوم النبات. عندما يحتوى DNA المنقول إلى خليه النبات جينات منظمه regulatory genes أو يلتحم بالكروموسوم بالقرب من جينات منظمة فيكون DNA قادر على التعبير عن نفسه DNA is expressed حيث يتم نسخه إلى mRNA ويتكون من الأخير البروتين.

توجد حاله أستعملت فيها البكتريا *A. tumefaciens* بنجاح لنقل جين من نبات إلى آخر. حيث أمكن نقل جين خاص ببروتين البذور من نبات الفاصوليا إلى مكان مناسب على البلازميد Ti للبكتريا *A. tumefaciens* ثم عدوى نبات آخر بهذه البكتريا مثل نبات عباد الشمس. وبعد حدوث الأصابة إنتقل عشر DNA البلازميد والذى يحتوى على جينات جديده وهى بالطبع جينات الفاصوليا إلى جينوم النبات العائل. وأصبحت هذه الجينات المنقوله موجوده طبيعيا فى تركيب النبات العائل الجديد ينتقل طبيعيا فى الخلايا المنقسمه كما أنها تعبر عن نفسها فى النبات العائل الجديد أى أن الأنتقال كامل وصحيح وطبيعى وفعال. حيث أصبحت الجينات جزء من تركيب العائل الجديد.

أما عن الطريقه أو الطرق التى يمكن بها لجينات النبات أن تقاوم المرض فهى غير معروفه ولكن يفترض أن صفه المقاومه كأى صفه عاديه فى النبات ولها نفس ميكانيكيه الصفات الأخرى مثل تخليق البروتين. أى أن الجين أو الجينات المقاومه تنتج mRNA خاص بها وهذا ينتقل ليرتبط بالريبوسومات ليتكون من ذلك عديد الريبوسومات. يستعمل الأخير فى تخليق نوع خاص من البروتين قد يدخل فى تركيب الأنزيمات أو يكون بروتين تركيبى. يكون للأنزيم المتكون نشاط معين ينتج عنه مركبات تسبب تحوير فى تركيب النبات أو تسبب تكوين مركبات خاصه مما ينتج عنه مقاومه النبات. تعتبر الجينات التى تحدد نوع وخواص البروتين المتكون أنها جينات تركيبيه structural genes . يتحكم فى نشاط الجينات السابقه وذلك بتنشيطها وتحديد مده عملها أو وقف عملها أى بتنشيط تخليق البروتين أو تثبيطه جينات أخرى تسمى جينات منظمه regulatory genes . يبدأ تخليق mRNA عند مواقع معينه على DNA تسمى هذه المواقع أو المناطق مواقع بدء التخليق (بدء العمل) operators . يتحكم موقع بدء التخليق operator فى نسخ mRNA لجين واحد أو أكثر من جين يشترك فى عمل عمليه حيويه

واحده ومثال ذلك تكوين مركب فينولى سام للفطريات أو تكوين مركب يعادل سميه الطفيل. تسمى مجموعه الجينات التى يتحكم فيها operator واحد باسم أوبيرون operon . يمكن شرح مثال لذلك فى حاله إصابة النبات بطفيل معين فإنه ينشط تكوين مركب سام أو أنزيم وفى هذه الحاله فإن الطفيل يفرز منشط stimulant or inducer يسبب تثبيط مركب أو جزيئ مانع repressor molecule وينتج الأخير بواسطه جين منظم فى النبات العائل. وظيفة المركب أو الجزيئ المانع هو الأرتباط بموقع معين مخصص لذلك على موقع بدء التخليق لجزيئ DNA أى على operator . نتيجة لهذا الأرتباط فى هذا الموقع فإن عمليه نسخ mRNA بواسطه الأوبيرون تتوقف. نتيجة لذلك يتوقف تخليق هذا البروتين الخاص بهذا الأوبيرون فى غياب الطفيل أى فى عدم وجود الأصابه. والعكس صحيح تماما فى حاله الأصابه بطفيل معين حيث يحدث تثبيط للمركب أو الجزيئ المانع repressor بواسطه مركب منشط والأخير يفرز بالطفيل pothogenic stimulant . نتيجة لذلك يكون الأوبيرون mRNA وبالتالى يتم تخليق البروتين الخاص به وقد يكون هذا البروتين أنزيم معين وقد يكون مركب سام أو أن الأنزيم يدخل فى تفاعل ينتج عنه تكوين مركب سام. عندما يكون هذا المركب سام للطفيل فإن الأصابه تتوقف ويصبح النبات مقاوم. والحاله العكسيه عندما تحدث فى هذا الطفيل طفره تسبب عدم تكوين أو أفراز للمنشط stimulant or inducer وبالتالى لا يحدث تثبيط للجزيئ المانع فإن النبات يفقد قدرته على المقاومه وبالتالى فإن الطفيل ينمو ويتخلل أنسجة العائل وتحدث الأصابه وتظهر أعراض المرض ويعتبر النبات قابل للأصابه. وتفسر الحاله الأخيره بأنها كسر مقاومه النبات disease resistance is broken ولكنها فى الحقيقة ليست كذلك بل حدثت عمليه تخطى للمقاومه bypassed . توضح العباره الآتيه ذلك بالتفصيل

the resistance of the host is actually bypassed by the pathogen rather than broken down.

ولكن فى حالات أخرى يمكن أن تحدث طفره فى الطفيل تسبب كسر مقاومه النبات breakdown the resistance of the host وفى هذه الحاله يفرز الطفيل الطفره مركب يعادل سميه المركب السام الناتج بواسطه النبات وبعباره أخرى يلغى الطفيل التأثير السام للنبات الضار به. أو أن تحدث طفره فى الطفيل تسبب سد أو غلق blocking مكان الأستقبال receptor site على الطفيل والذى عن طريقه يتصل المركب المنتج بواسطه العائل والمسبب لمقاومه

الطفيل وبذلك يصبح هذا المركب الأخير غير فعال وغير مؤثر على الطفيل. حيث أنه فى الحاله الأخيره لكى يصبح النبات مقاوم للطفيل لابد أن يرتبط أولا المركب المسبب لمقاومه العائل بالطفيل وفى حاله عدم الأرتباط يصبح الطفيل فعال ويفقد النبات صفه المقاومه ويصبح قابل للأصابه. تسمى الحالات الأخيره بكسر مقاومه النبات العائل حيث أن الطفيل كسر فاعليه المركبات المسببه لمقاومه النبات.

توجد حاله يمكن أن تحدث فى النبات تسمى بالمقاومه المستحثه المكتسبه induced resistance وهى عباره عن مقاومه غير طبيعيه فى النبات بل تنتج نتيجة تلقيح النبات بكائن حى دقيق أو نتيجة معامله كيماويه أو طبيعيه. تعتبر حاله التلقيح المتبادل المختلط فى الفيروسات cross inoculation والتى ينتج عنها مقاومه cross protection للنبات الملقح inoculated أحدى حالات المقاومه المستحثه المكتسبه. يوجد هذا النوع من المقاومه فى كثير من النباتات لمقاومه الفطريات والفيرس والبكتريا وحتى الحشرات. يكون عاده هذا النوع من المقاومه غير متخصص nonspecific لطفيل معين بل يكون لعدد من الطفيليات ومن أمثله ذلك حاله أصناف نبات التبغ الزائده الحساسية hypersensitive لفيروس تبرقش التبغ TMV فإنها تصبح مقاومه لهذا الفيروس وعلاوه على ذلك فيروسات أخرى وفطر *Phytophthora* وبكتريا *Pseudomonas tabaci* والمن. والعكس صحيح أيضا فإن إصابه نبات التبغ بواسطه فطر تقرح الجذور *Chalara = Thielaviopsis* أو ببكتريا تبقع الأوراق *Pseudomomas syringae* يسبب مقاومه جهازيه systemic resistance أى مقاومه فى كثير من أجزاء النبات لفيروس تبرقش التبغ. يمكن عمل حاله المقاومه المستحثه المكتسبه فى النبات بتلقيحه بسلاله ضعيفه أو غير متوافقه incompatible من الطفيل أو بتلقيحه بواسطه بكتريا أو جراثيم فطريات قتلت بالحراره العاليه أو بتلقيحه بسلاله ممرضه عاديه من الطفيل وهو صغير السن وغير قابل للأصابه بالطفيل. تظهر حاله المقاومه المستحثه المكتسبه فى مكان الأصابه وتسمى موضعيه local induced resistance ولكن بعد ذلك بعده أيام فإن المقاومه تظهر فى أماكن أخرى على الأوراق الملقحة بالطفيل وأيضا الأوراق غير الملقحة أى تصبح مقاومه جهازيه systemic induced resistance . تظهر أعراض هذا النوع من المقاومه فى صوره تكوين بثرات صغيره أو مقاومه تامه لنفس الطفيل أو أيضا بعض طفيليات أخرى. توجد فتره بين حدوث الأصابه

وظهور حاله المقاومه تسمى فتره نشوء المقاومه lag period وهى الفتره اللازمه لتخليق مركب أو أكثر وأنتقاله جهازيا فى النبات من المناطق الملقحه إلى المناطق الغير ملقحه من النبات. يمكن عمل هذا النوع من المقاومه أيضا بمعامله النبات ببروتين غلاف الفيروس أو ببروتين الفطر أو البكتريا أو بروتينات دهنيه أو مركبات عديده التسكر أو RNA الخميره أو بواسطه مركبات كيماويه بحته تخلق صناعيا مثل حامض بولى أكريلك polyacrylic acid أو حامض السيلسيلك salicylic acid (الأسبرين) أو 2 - chloroethylphosphonic acid . تعمل هذه المركبات على عمل مقاومه موضعيه local resistance للنبات عند رشها أو حقنها ولكنها تسبب مقاومه جهازيه systemic resistance عند أمتصاصها بواسطه الجذور أو أعناق الأوراق. وعامه كلما زاد تركيز المركبات السابقه كلما زادت سرعه ودرجه المقاومه للنبات العائل. تحتاج فتره نشوء المقاومه أى الفتره من حدوث التلقيح الإبتدائى وحتى حدوث المقاومه يومين أو ثلاثه أيام فى حاله المقاومه الموضعيه بينما تحتاج المقاومه الجهازيه إن وجدت أسبوع أو أكثر. تستمر المقاومه الجهازيه فى النبات مده تتراوح بين ثلاثه إلى خمسه أسابيع وبعدها يفقد النبات هذا النوع من المقاومه. يمكن التحكم فى المقاومه المستحثه المكتسبه ومنع حدوثها وذلك بمعامله النبات بالمضاد الحيوى actinomycin D حيث يسبب ذلك المركب تثبيط عمليه نسخ mRNA من DNA وبالتالى لا تتكون بروتينات جديده والتى قد تدخل فى تركيب الأنزيمات. يمكن تفسير ميكانيكية هذا النوع من المقاومه بأنه لابد من تخليق أنزيمات جديده بواسطه خلايا النبات لكى تحدث حاله المقاومه أى أن العامل المنشأ للمقاومه inducer of resistance ينشط بعض جينات خاصه فى التركيب الوراثى للنبات مسئوله عن ميكانيكية المقاومه للنبات عن طريق البروتينات ومنها الأنزيمات. تعتمد المقاومه المستحثة المكتسبه على تفاعل الحساسيه المفرطه (الزائده) hypersensitive reaction أو تليها. وعامه فإن كلا من المقاومه المستحثة المكتسبه وتفاعل الحساسيه المفرطه ينتج عنهما تكوين بروتينات جديده ذائبه new soluble host protein بواسطه خلايا النبات العائل تسمى b - proteins . يتم تثبيط إنتاج b - proteins ومنع حدوث المقاومه المستحثة المكتسبه وأيضا منع تفاعل الحساسيه المفرطه نتيجة معامله النبات بالمضاد الحيوى actinomycin D . كما أن تعريض النبات لدرجة حرارة من ٣٠ إلى٣٥°م تسبب تثبيط جميع التفاعلات السابقه. حتى الآن غير معروف إذا كان لمركبات b - proteins أو تفاعلات الحساسيه المفرطه علاقه بالمقاومه المستحثة

المكتسبه أو لا. وجد فى بعض حالات المقاومه المستحثة المكتسبه زياده فى نشاط أنزيم البيروكسيديز وأنزيم فينيل ألانين أمونيالييز phenylalanine ammonia lyase وزياده تركيز الفيتوألكسينات وتركيز لجنين الخلايا وتركيز عديدات التسكر المثبطه لأنزيم بروتينيز ويعتقد أن هذه التغيرات لها دور فى حدوث هذا النوع من المقاومه. يعتقد أن جذور خلايا النبات تحتوى على bound elicitors أى elicitors مرتبطه، تكون elicitors الفيتوألكسينات، وأيضا منشئات المقاومه inducers of resistance . نتيجة للتلقيح والأصابه تتحرر elicitors وتصبح حره غير مرتبطه وتصبح فعاله موضعيا أى فى مكان الأصابه ولمده قصيره نسبيا وترجع فاعليه elicitors إلى أنها تنتج مركبات فيتوألكسينات بتركيزات فعاله. يمكن لبعض elicitors أخرى أن تنتقل جهازيا فى النبات وتنتج مركبات خاصه مثل b - proteins وأنزيم البيروكسيديز ومثبطات إنزيم البروتينيز وهى مسئوله فى مجموعها عن حدوث المقاومه المستحثة المكتسبه. كما يمكن لبعض elicitors أخرى أن تنشط بدء حدوث سلسله من التفاعلات فى أجزاء النبات المختلفه ينتج عنها تخليق مركبات معينه هى المسئوله عن مقاومه النبات.

وجد أن بعض الطفيليات المسببه لأمراض النبات يمكن أن تؤثر على نسخ transcription mRNA من DNA وأيضا على ترجمه translation مركب mRNA إلى بروتين. وجد أن بعض الفيروسات وبعض الفطريات الأجباريه التطفل مثل البياض الدقيقى والصدأ تؤثر على عمليه النسخ. فى بعض الحالات تؤثر الطفيليات على عمليه النسخ وذلك بتغيير تركيب أو وظيفه الكروماتين المرتبط بجزيئ DNA فى الخليه المصابه. وفى بعض الأمراض وخاصه الفيروسيه فإن الطفيل بواسطه أنزيماته أو بواسطه أنزيمات العائل المحوره بواسطه الطفيل وخاصه أنزيم RNA polymerase فإنه يمكن للطفيل أن يسخر خليه النبات فى تخليق RNA الخاص به وليست RNA الخاص بالنبات العائل ويكون ذلك بإستعمال نيوكليوتيدات النبات العائل. وجد فى بعض الأمراض زياده فى نشاط أنزيمات ribonucleases فى النبات المصاب وقد يكون ذلك راجع لتكوين أنزيمات جديده من هذا النوع من الأنزيمات فى النبات المصاب وعدم تكونها فى النبات السليم. وجد أيضا أن تركيز RNA يزيد فى بعض الأحيان فى الخلايا المصابه وخاصه فى النباتات المقاومه وعلى وجه الخصوص فى الفتره الأولى من الأصابه. يعتقد أن زياده تركيز RNA نتيجة لزياده عمليه النسخ فى الخليه فى النبات المصاب وذلك

يدل على أن النبات ينشط فى تكوين مركبات لها دور فى عمليه المقاومه. وجد زياده فى سرعه نشاط بعض الأنزيمات وخاصه أنزيمات التنفس فى الأنسجة المصابه وأيضا قد يحدث زياده فى نشاط الأنزيمات المنتجه أو المؤكسدة للمركبات الفينوليه. بعض هذه المركبات الفينوليه لها دور فى مقاومه النبات. بالرغم من وجود الأنزيمات السابقه أثناء الأصابه إلا أن كميات منها تنتج من جديد *de novo* حيث أن ذلك ضرورى لزياده سرعه عمليه النسخ وأيضا ضرورى لزياده نشاط أنزيم RNA polymerase . لوحظ أيضا زياده سرعه تخليق البروتين فى الأنسجة المصابه للأصناف المقاومه فى الفتره ما بين ساعتين إلى عشرون ساعه بعد حدوث التلقيح أى فى الفترات الأولى من الأصابه. ومما يثبت علاقه تركيز البروتين بعمليه المقاومه فى النبات أن معامله أنسجة النبات المقاوم قبل أو أثناء الأصابه بمركبات مثبطه لتخليق البروتين يسبب نقص درجه مقاومه النبات العائل. يوضح ذلك أن زياده تخليق البروتين فى النبات المصاب راجع إلى زياده فى أنتاج الأنزيمات والبروتينات والتى لها دور فى مقاومه النبات.

obeikandl.com

بعض المراجع العربيه المختاره

١ ـ أبصال الزينه وأمراضها وآفاتها وطرق المقاومه

عماد الدين وصفى ومحمود خطاب ـ منشأه المعارف بالأسكندريه ـ ١٩٨٩ .

٢ ـ الأطلس النباتى

حسين العروسى وسمير ميخائيل وعماد الدين وصفى ـ دار المعارف الحديثه ـ الأسكندريه ـ١٩٨٩ .

٣ ـ المملكه النباتية

حسين العروسى وعماد الدين وصفى ـ دار المعارف الحديثه ـ الأسكندريه ـ ١٩٨٩ .

٤ ـ أمراض النبات

عباس فتحى الهلالى ـ دار المعارف ـ القاهرة ـ ١٩٦٦ .

٥ ـ أمراض النبات

حسين العروسى وسمير ميخائيل ومحمد عبد الرحيم ـ منشأه المعارف بالأسكندريه ١٩٩٢ .

٦ ـ أمراض البذور

سمير ميخائيل وتركى بيدر ـ جامعة الموصل ـ العراق ـ ١٩٨١ .

٧ ـ أمراض أشجار الفاكهه وطرق مقاومتها

محمد وجدى السواح ـ دار المعارف ـ القاهرة ـ ١٩٦٦ .

٨ ـ زهور القطف وأمراضها وآفاتها وطرق المقاومه

عماد الدين وصفى ومحمود خطاب ـ منشأه المعارف بالأسكندريه ـ ١٩٨٩ .

٩ ـ علم أمراض النبات

كمال على ثابت ومحمود ماهر رجب وعبدالله الشهيدى ومصطفى فهيم ـ ١٩٦٦ .

١٠ ـ مورفولوجيا وتشريح النبات

عماد الدين وصفى وحسين العروسى ـ دار المعارف الحديثه ـ الأسكندريه ـ ١٩٩٠ .

obeikandl.com

obeikandl.com

بعض المراجع الأجنبية المختاره

Agrios, G.N. 1988. Plant Patholagy. Acad. Press, N.Y. and London.

Alexopoulos, C. J. 1964. Introductory Mycology. John Wiley, N.Y.

Barnes, E. H. 1978. Atlas and Manual of Plant Pathology. Prenum Press, N. Y.

Dickson, J. G. 1956. Diseases of Field Crops. McGraw Hill, N. Y.

Heald, F. D. 1933. Manual of Plant Diseases. McGraw Hill, N. Y.

Horsfall, J. G. and E. B. Cowling. 1977. Plant Disease. An Advanced Treatise. Acad. Press, N. Y.

Leach, J. G. 1940. Insect Transmission of Plant Diseases. McGraw Hill, N.Y.

Marlin, H. C. 1973. The Scientific Principles of Crop Protection. Arnold, London.

Mehrotra R. S. 1980. Plant Pathology. Tata McGraw-Hill, New Delhi.

Roberts, D. A. and C.W. Boothroyd. 1972. Fundamentals of Plant Pathology. W. H. Freeman and Co, San Francisco.

Roberts, D. A. 1978. Fundamentals of Plant-Pest Control. W. H. Freeman and Co., San Francisco.

Siegel, M. R. and H. D. Sisler. 1977. Antifugal Compounds. Marcel Dekker, N. Y.

Stakman, E. C. and J. G. Harrar. 1957. Principles of Plant Pathology. Ronald Press, N. Y.

Stapp, C. 1961. Bacterial Plant Pathogens. Oxford Univ. Press, London.

Stevens, R. B. 1974. Plant Disease. Ronald Press, N. Y.

Streets, R. B. 1972. The Diagnosis of Plant Diseases. Univ. Arizona Press, Tucson.

Strobel, G. A. and D. E. Mathre. 1970. Outlines of Plant Pathology. Van Nostrand Reinhold, N. Y.

Thorne, G. 1961. Principles of Nematology. McGraw Hill, N. Y.

Walker, J. C. 1952. Diseases of Vegetable Crops. McGraw Hill, N. Y.

Walker, J. C. 1969. Plant Pathology. McGraw Hill, N. Y.

Wallace, H. R. 1964. The Biology of Plant-Parasitic Nematodes. St. Martin's Press, N. Y.

Wallace, T. 1961. The Diagnosis of Mineral Deficiencies in Plants. Chemical Publishing, N. Y.

Westcott, C. and R. K. Horst. 1979. Plant Disease Handbook. Van Nostrand, N. Y.

Wheeler, B. E. J. 1969. An Introduction to Plant Diseases. John Wiley, N. Y.

Wood, R. K. S. 1967 Physiological Plant Pathology. Blackwell, Oxford and Edinburgh.

بعض المجلات العلميه المختاره

American Journal of Botany-*Amer. J. Bot.*

American Potato Journal-*Amer. Potato. J.*

Annals of Applied Biology-*Ann. Appl. Biol.*

Annals of Botany-*Ann. Bot.*

Annals of the Missouri Botanical Garden-*Ann. Mo. Bot. Gard.*

obeikandi.com

Australian Journal of Agricultural Research-*Aust. J. Agr. Res.*

Australian Journal of Biological Sciences-*Aust. J. Biol. Sci.*

Australian Journal of Botany-*Aust. J. Bot.*

Botanical Gazette-*Bot. Gaz.*

Canadian Journal of Botany-*Can. J. Bot.* [continuation of *Can. J. Res.* (C)]

Canadian Journal of Research. Section C-*Can. J. Res.* (C) [continued as *Can. J. Bot.*]

Contributions of the Boyce Thompson Institute for Plant research-*Contrib Boyce Thompson Inst. Plant Res.*

Journal of Agricultural Research-*J. Agr. Res.* [terminated in 1949]

Journal of General Microbiology-*J. Gen.* Microbiol.

Journal of Helminthology-*J. Helminthol.*

Mycologia-not abbreviated

Nature-not abbreviated

Netherlands Journal of Plant Pathology-*Neth. J. Plant Pathol.* [continuation of *Tijdschr. Plantenziekten]*

Physiological Plant Pathology-*Physiol. Plant Pathol.*

Phytopathologische Zeitschrift-*Phytopathol. Z.*

Phytopathology-not abbreviated

Plant Disease-*Plant Dis.* [continuation of the *Plant Dis. Reporter*]

Plant Pathology-*Plant Pathol.*

obeikandl.com

بعض المجلات الناشره للمقالات العلميه

Advances in Plant Pathology-*Advan. Plant Pathol.*

Advances in Virus Research-*Advan. Virus Res.*

Annual Review of Microbiology-*Annu. Rev. Microbiol.*

Annual Review of Phytopathology-*Annu. Rev. Phytopathol.*

Annual Review of Plant Physiology-*Annu. Rev. Plant Physiol.*

Bacteriological Reviews-*Bacteriol. Rev.*

Biological Review (Cambridge)-*Biol. Rev. (Cambridge)*

Botanical Review-*Bot. Rev.*

Quarterly Review of Biology-*Quart. Rev. Biol.*

obeikandl.com

تم بحمد الله تعالى

obeikandl.com

obeikandl.com

تعريف بالمؤلف

الأسم: عماد الدين حسين وصفى (مصرى ـ مواليد القاهرة)

الدرجات العلمية: حاصل على بكالوريوس فى العلوم الزراعية من كلية الزراعة جامعة الأسكندرية بتقدير جيد جدا وسنه تسعة عشر عاما.

ـ حاصل على الماچستير والدكتوراه فى أمراض النبات من كلية الزراعة جامعة الأسكندرية وسنه ثمانية وعشرون عاما إلا قليل.

الجوائـز : حاصل على جائزة جامعة الأسكندرية التشجيعية عام ١٩٧٨. (تمنح الجائزة لأفضل البحوث المقدمة من المدرسين والأساتذة المساعدون).

الوظائف : عين معيدا بقسم النبات الزراعى (أمراض نبات) كلية الزراعة جامعة الأسكندرية ثم مدرس ثم أستاذ مساعد ثم أستاذ ثم رئيساً للقسم.

البحـوث : له أكثر من خمسون بحث منشور فى مجلات عالمية متخصصة والكثير منها منشور فى أفضل المجلات الأمريكية والأنجليزية والألمانية الغربة والنمساوية والهولندية والإيطالية والمجرية والسعودية وبالطبع أيضا مصر.

المهمات العلمية: سافر مرات عديدة إلى الخارج (إلى أنجلترا والولايات المتحدة الأمريكية) حيث قام بعمل بحوث مشتركة وأيضا القاء محاضرات عن بحوثه ـ عضو مجموعة Wolfson College جامعة أكسفورد.

التقدير على المستوى القومى : أختير من مجموعة البارزين على المستوى القومى ـ حيث تقوم ـ هيئة الاستعلامات المصرية بعمل دليل عن الأفراد ذو الأنشطة المرموقة على مستوى مصر.

أنشطة علمية أخرى:

١ ـ عضو هيئة تحرير مجلة بحوث كلية الزراعة جامعة الأسكندرية.

٢ ـ يشترك فى كثير من المجلات والهيئات العالمية والمحلية ومنها Transactions of British Mycological Society و Plant Pathology ومجلة أمراض النبات المصرية.

٣ ـ أختير كثيراً فى لجان الحكم على رسائل الماچستير والدكتوراه فى جامعات الأسكندرية وعين شمس وطنطا.

openkandil.com

obeikandl.com

تصويب الأخطاء المطبعية

رقم الصفحة	رقم السطر	الخطـــأ	الصواب
١٣٩	٤	PL	PG
١٣٩	قبل الأخير	PL	PG
١٨٥	التفاعل الأول	eatecholase → cresolase	→ cresolase
١٩٤	شكل ٥٦ ب		
	الأحدائى السينى	سقطت سهوا	عدد الأيام بعد التلقيح
	الأحدائى الصادى	50 ثم 00 ثم 50 ثم 200	50 ثم 100 ثم 150 ثم 200
٢٢٦	الأخير	برى مصدره وسط أفريقيا وأصناف	برى وأصناف
٢٣١	الأول	الباب الحادى العاشر	الباب الحادى عشر
٢٥٩	على الخريطة	٢٥٠٠ كيلو متر	٢٥٠٠ كيلومتر لكل سم على الخريطة
٢٧٣	الأول	الباب الثانى العاشر	الباب الثانى عشر
٢٨١	الأول	الباب الثالث العاشر	الباب الثالث عشر
٣١١	الأول	البابا الرابع العاشر	الباب الرابع عشر
٣٦٢	١١و١٤	tabotoxin	tabtoxin
تعريف بالمؤلف	١١	الألمانيه الغربه	الألمانية الغربية
الصفحة الثانية	١و٢	العالميه الدائم	العلمية الدائمة

obeikandl.com

٤ ـ عضو اللجنة العالمية الدائم لوظائف الأساتذة المساعدون وبعد ذلك أصبح عضو اللجنة العالمية الدائم لوظائف الأساتذة لعلوم النبات الزراعى وأمراض النبات.

٥ ـ أختير فى لجان كثيرة كعضو فى لجان فحص الانتاج العلمى لأعضاء هيئة التدريس فى الجامعات العربية ومنها جامعة الملك سعود (الرياض) والجامعة الأردنية.

٦ ـ عمل فى كثير من المشاريع العلمية كرئيس للمشروع أو مساعد رئيس المشروع ومنها مشاريع الترابط بين الجامعات الأمريكية والمصرية وأيضا مشروع مصر ـ كاليفورنيا. وقد ألقى محاضرات عن بحوثه فى جامعات ومعاهد عديدة منها تنسى Tennessee State University وأيضا لويزيانا وأيضا International Mycological Institute. وأيضا فى دورة الزراعة المحمية المتعددة بتونس تحت أشراف الفاو العربية.

٧ ـ قام بتحكيم كثير من البحوث فى المجالات المختلفة كما عنه يقوم بتحكيم كثير من المشاريع المقدمة للمجلس الأعلى للجامعات وأيضا لجامعة الأسكندرية.

٨ ـ أشترك فى كثير من المؤتمرات العلمية فى الخارج وفى مصر أيضا. كما شارك فى الأعداد لبعض المؤتمرات.

٩ ـ أختير كأستشارى لأمراض الزراعة المحمية. كما أختير عضو فى لجنة وقاية النبات بوزارة الزراعة المصرية.

المؤلفات : قام بتأليف سبعة كتب حتى الآن وهى ١ ـ مورفولوچيا وتشريح النبات ٢ ـ المملكة النباتية ٣ ـ الأطلس النباتى ٤ ـ زهور القطف وأمراضها وآفاتها وطرق المقاومة ٥ ـ أبصال الزينة وأمراضها وآفاتها وطرق المقاومة ٦ ـ فسيولوجيا النبات العملى ٧ ـ أساسيات أمراض النبات والتقنية الحيوية ثم كتاب منظمات النمو والأزهار وتطبيقها فى الزراعة.

الأنشطة الأخرى: أنتخب أربعة مرات كل فترة أربعة سنوات كعضو ممثل لمحافظتى الأسكندرية ومرسى مطروح لنقابة المهن الزراعية فى النقابة العامة بالقاهرة. وأختير أيضا مفوضا على فرع النقابة بالأسكندرية عام ١٩٩١.

رقم الإيداع

٩٣/٧٥٥٦

obeikandi.com