

REQUIREMENTS OF INFECTION ESTABLISHMENT IN PLANT PATHOLOGY

متطلبات إنشاء إصابة في الأمراض النباتية

M.A.AL-Hamdany

د. محمد عبد الخالق الحمداني

mohammed2472010@yahoo.com



يتطلب الحديث عن إنشاء مواقع إصابة أن نتعرف أولاً على خصوصية الممرض الذي سيكون أحد أطراف مثلث الإصابة أو مثلث المرض وقد توفر معرفة الممرض معلومات مهمة تتعلق بمواقع الإصابة التي يتعين علينا أن نوفر لها متطلبات محددة. وبشكل عام فإن العمل على إنشاء مواقع إصابة ناجحة في أي عائل نباتي وبواسطة أي كائن ممرض لا بد أن تركز على ثلاثة عناصر أساسية الوحدات اللقاحية للممرض أهي أبواغ (Spores) ، أو غزل فطري (Mycelium) ...أو خلايا بكتيرية (Bacterial Cells) أو بيوض أو يرقات نيماتودا النبات أو أي نوع من الوحدات اللقاحية. إن معرفتنا بنوع الوحدات اللقاحية للممرض معين سيمكننا من معرفة الأماكن التي يجب أن نتواجد فيها الوحدات اللقاحية ... أي الجزء النباتي

وبسبب معرفتنا بالمرض مسبقا... فإن الظروف البيئية أو ما يعرف بالبعد الثالث لمثلت الإصابة أو المرض لا بد وان يكون مناسباً لجميع مراحل إنشاء موقع إصابة بدأ من إنبات الوحدات اللقاحية وإختراق العائل. وإنتهاءا بتكشف أعراض الإصابة (Symptoms).

إن جميع ما تقدم غالباً ما مارسه أغلب العاملين بالأمراض النباتية لأنه يمثل بشكل مبسط جميع مراحل التلوّث الإصطناعي (Artificial Inoculation) في جميع أماكن العمل سواء في المختبر أو الحاضنات أو غرف النمو أو البيت الزجاجي أو الحقل. ولما كان التلوّث الإصطناعي سائداً في أغلب دراساتنا للأمراض النباتية لعدم وجود توليفة طبيعية مناسبة تجمع أركان مثلث الإصابة في أغلب دول وطننا العربي، فلا بد أن نولي الموضوع أهمية كبيرة. إن شيوع التلوّث الإصطناعي وأحياناً كثيرة الوبائية الإصطناعية (Artificial Epidemic) أو إنشاء ألواح حقلية ذات تربة ملوثة بوحدة لقاحية لأحد مسببات أمراض الذبول أو تعفن الجذور أو تعقد وإنسلاخ الجذور والمعروفة بالألواح المريضة (Sick Plots) في أغلب دراساتنا تمكن أي واحد من العاملين بالأمراض النباتية أن يبرر ذلك الجهد بالأسباب التالية:

1. تقييم السلوك المرضي (Disease Response) أو تفاعل العائل (Host Reaction) للأصناف المنزرعة في بلد ما تجاه ممرض ما
 2. غربلة وإنتخاب (Screening & Selection) نتائج برامج التربية والتحسين لمقاومة الأمراض النباتية
 3. إختبار القابلية المرضية (Pathogenicity Test) لعدد من العوامل الممرضة لتحديد المسبب الرئيسي.
 4. دراسات فترات الحضانة (Latent Periods) وحجوم مواقع الإصابة وإنتاج الوحدات اللقاحية (Spore Production) وفترة إنتاج الوحدات اللقاحية (Infectious Period)
 5. إن أبرز نتائج التلوّث الإصطناعي يكمن في أنها قد وضفت بشكل دقيق في دراسات تشخيص السلالات أو الطرز المرضية (Race or Pathotype Identification) لممرضات مهمة جداً....
 6. وأخيراً فإن التلوّث الإصطناعي غالباً ما يكون الحل الوحيد أمام الباحث العلمي لعدم وجود ضمان في توفر البعد البيئي في مثلث الإصابة، على الرغم من أن التطور الحاصل في التقانات الجزيئية وتوضيف ذلك في مختبرات الأمراض النباتية في عديد من الدول المتقدمة قد لا يحتاج إلا إلى نموذج صغير من الممرض ليوضفه في تحليلات على المستوى الجزيئي... ولكن أغلب مختبرات الأمراض النباتية في أغلب بلداننا العربية لازال يعمل أغلب الأوقات وفقاً للإمكانيات البسيطة المتوفرة لديهم....
- أقول قولتي هذا حتى لا يظن البعض بأننا نتحدث عن الماضي السحيق... وإنما في غفلة عن ما يجري حولنا... فعلى الرغم من بعض التقانات الجزيئية قد أمكن توضيفها في دراسات

عديدة هدفت بعض منها تشخيص المسبب الحقيقي بدون الحاجة إلى التلوين الإصطناعي.... إلا إن مثل هذه الدراسات غالباً ما يكون محصوراً في مختبرات أغلب الدول المتقدمة التي تمتلك كل مستلزمات التوضيف المناسب لها.... أما أغلب مختبرات الدول العربية فلا زالت بعيدة عن توضيف هذه التقنية بالشكل الذي يوفر الوقت والجهد لحل مشاكل كثيرة تأتي في مقدمتها التحري عن مواقع مورثات المقاومة لأمراض مهمة وتقنيات النباتات المحورة وراثياً بغض النظر عن سلامة نتاجها أو خطورتها..كما لازلنا بعيدين عن توضيف تقنية زراعة الأنسجة والبكتريا Agrobacterium التي أضحت منتشرة في معظم مختبرات زراعة الأنسجة المخصصة لإدخال مورثات مقاومة حيث يتم توضيفها في نقل ما يمكن نقله إلى كالس عائل نباتي معين...

يتطلب تحقيق مواقع إصابة لمرض معين على عائل محدد توفر عدد من العوامل التي قد يقود أي خلل في أحد منها إلى ظهور نتائج غير متوقعة . وحتى نتعرف على تلك العوامل لابد لنا من أن مراجعة العوامل التي تؤثر على عملية إنشاء مواقع إصابة ناجحة وفقاً للتسلسل التالي:

1. مستويات الوحدات اللقاحية (Inoculum Units): يعتقد بعض العاملين بالأمراض النباتية خطأ ، بأن الإكثار من الوحدات اللقاحية على الجزء النباتي المستهدف لإنشاء موقع إصابة سيزيد من فرص حصول إصابة . كما تستخدم في ظرف ما أعداد أو تراكيز واطئة جداً من الوحدات اللقاحية مما يؤثر سلباً على عملية إنشاء مواقع إصابة تعكس السلوك المرضي (Disease Response) للعائل المستخدم خاصة عندما نتعامل مع ممرض ذو طاقة لقاحية واطئة (Low Inoculum Potential) مثل: ممرضات تبقع الأوراق والذبول وتعفن الجذور ونيماتودا تعقد أو إنسلاخ الجذور بينما قد تحدث ظاهرة التثبيط الذاتي (Self Inhibition) عند زيادة أعداد الوحدات اللقاحية في ممرضات عديدة منها كمرضات التفحم والأصداء... مع إن استخدام تراكيز عالية من الأبواغ اليوريدية لأغلب ممرضات الأصداء التي تتصف بطاقة لقاحية عالية وممرضات البياض الدقيقي والبياض الزغبي عادة ما يسبب إختزال فترات الحضانة (Latent Period) ، أو قد يتسبب عن حدوث ما يماثل أعراض تفاعل فرط الحساسية (Hypersensitive Reaction) على نباتات غير العائل (No host) وبذلك يحدث نوع من الإرباك في القابلية الإراضية لذلك الممرض فيلصق المستخدم وصفا مختلقاً على كل من الممرض(العزلة) والعائل (الصنف).... إن الحالة الأخيرة قد تكون منتشرة عند العمل مع البكتريا . ومن الجدير بالذكر إن كثير من المتخصصين يتجنبون استخدام تراكيز عالية من الأبواغ عند التلوين الإصطناعي خوفاً من عدم التمكن من تشخيص المقاومة المعتدلة وحتى الحساسية المعتدلة في تراكيب وراثية عديدة. لذلك يفضل العديد استخدام تراكيز محددة يتم حسابها عند التلوين لتكون

الصورة واضحة عند قراءة النتائج المتحصل عليها... . ومن الجدير بالذكر إن تأثير هذا العامل يكون كبيرا عندما نتعامل مع أمراض الدورة البسيطة أو بالأحرى مع ممرضات الدورة البسيطة (Simple Cycle Pathogens) لأن مستويات الإصابة عادة ما تعتمد على كمية الوحدات اللقاحية الموجودة في التربة عند زراعة العوائل النباتية فيها.

2. حيوية الوحدات اللقاحية (Viability of Inoculum Units) : يقوم البعض من العاملين باستخدام مباشر لوحدات لقاحية مخزونة لفترة طويلة سواء على شكل أبواغ جافة في مواقع الإصابة أو من مستعمرات نامية منذ فترة طويلة على أوساط زرعية من خلال الزرع المتكرر... إن استخدام مثل هذه الوحدات اللقاحية لابد أن يؤثر سلبا على كفاءتها في الإنبات أولا وعلى قابليتها على إحداث الإصابة (Infectivity) ثانيا . لقد ثبت بشكل لاخلاف حوله بين المختصين في الأمراض النباتية على حصول ضعف في القابلية الإراضية لكثير من الممرضات ذات التطفل أو الترمم الإختياري (Facultative Pathogens) نتيجة لتكرار زراعتها على أوساط زرعية بهدف إدامتها في أغلب مختبرات الأمراض النباتية ، لذلك فقد يتم تقييم إراضية تلك العزلات وتفاعل العائل تجاهها بشكل خاطيء. تكثر مثل هذه الحالات لدى نسبة كبيرة من طلبة الدراسات العليا اللذين يستخدمون وحدات لقاحية مخزونة منذ فترة طويلة عند بعض المشرفين. لذلك يتطلب تنشيط حيوية الوحدات اللقاحية من خلال إعادة عزلها من مواقع إصابة جديدة

3. طاقة إحداث الإصابة (Infectivity Potential) : قد يعتقد الكثيرون بأن إنبات الأبواغ أو بالأحرى إرتفاع نسبة إنبات الأبواغ دليل على أمور أخرى وتحديدًا كفاءتها بإحداث الإصابة .. وهو غير ذلك...من جهة أخرى لاينكر أحدا إن من مسلمات توفر طاقة عالية لأحداث الإصابة توفر وحدات لقاحية ذات حيوية عالية ... لكن كفاءة إحداث الإصابة تتعلق بقدرة الفطر المحدد على إنشاء مواقع إصابة عند استخدام معلق مائي للأبواغ كما يحدث في أغلب تجارب التلوين الإصطناعي... فقد سجل وجود طاقة عالية في إحداث الإصابة عندما عمل معلق الأبواغ مع محلول يحتوي على السكر أو عمل المعلق مع 1% من عصير البرتقال.... بينما كانت القدرة على إنشاء مواقع إصابة ضعيفة عند استخدام ماء مقطر فقط ولنفس عزلة الفطر *Botrytis cinerea* على أوراق الفاصولياء...كما إن هناك حالات كثيرة قد لا تكون شاملة ولكنها تؤثر نوعا من الخطأ الذي يمكن تلافيه... فعلى سبيل المثال إستخدام معلق أبواغ الفطر *Fusarium nivale* مع الماء المقطر ومع المعلق المائي مضافا إليه مادة Polypeptone بما يكون تركيزه في الماء 1% في تلوين نباتات الرز... وكانت النتيجة حصول تحسن واضح في تكشف الأعراض المرضية مصحوبة بزيادة إنبات الأبواغ عند استخدام المادة المضافة ... وقد يؤدي إضافة بعض المركبات للماء المستخدم في تكوين معلق الأبواغ إلى تحسن نسب

الإنبات وزيادة مديات الظروف البيئية المناسبة لحدوث وتطور الإصابة كما في العلاقة بين الفطر *Phoma medicaginis* على الجت عندما إضيفت مركبات مثل Asparagin أو كلوكوز أو وسط البطاطا- دكستروز السائل (PD Broth) بتركيز 1% مع الماء المقطر . إن هذه الإضافات ليس لها علاقة بالطاقة اللقاحية العالية أو الواطئة ، فقد وجد بأن معلق المولاس Molasses بتركيز 5% مع أبواغ أي فطر ممرض عادة ما تكون نتائجه أفضل من المعلق المائي . كما لوحظ عند عمل معلق أبواغ الفطر *Cladosporium cucumerinum* في 1% من الوسط الزراعي السائل جابكس (Czapek-Dox Broth) . ولم يقتصر تأثير ذلك على فطريات ممرضة قد تكون ذات طاقات للاحية واطئة ، لكن حدث أن وجد في معلق مائي لأبواغ الفطر المسبب لمرض صداً ساق الحنطة مضافا إليه 0.01 إلى 0.001 مول من مركب Calcium Pentothenate قد أدى إلى حصول زيادة في معدل تطور الإصابة (Infection Rate) مع عدم تغير أنواع الإصابة (Infection Types) ... لذلك ومنعا لحصول أي إرباك في النتائج المستحصلة .. فعلى القائمين بالتلوين الإصطناعي التحري عن افضل الطرائق المتعلقة بتهيئة الوسط الذي سيستخدم في إنشاء معلق الأبواغ.

4. الوسط الزراعي المستخدم لتكثير الوحدات اللقاحية (Growth Medium Used for Spore Production): هناك عرف عام لدى أغلب المختصين بالأمراض النباتية وخاصة اللذين يتعاملون مع التلوين الإصطناعي مفاده بأن الأبواغ المكثرة في وسط زرع غني (Rich Growth Medium) عادة ما تكون أكثر نظارة في الشكل من تلك الناتجة من أوساط فقيرة فعلى سبيل المثال ... فإن أبواغ الفطر *Drechslera sativus* المنتجة في آكر مائي أو على بذور معقمة تحدث إصابة ضعيفة أو قد لاتحدث أي إصابة على الشعير عند تلوين التربة بها.... بينما إن لوثت التربة بأبواغ ناتجة من وسط زرع يحوي على Maize Meal ... فإن نتائج الإصابة تكون أفضل

5. العمر الفسلجي لأنسجة النبات (Physiological Age of Host Tissues): قد تكون هناك مراحل تطورية في نمو العائل ذات إستجابات مختلفة تجاه ممرض معين... فقد عرف بأن حساسية نبات التبغ للفطر *Alternaria longipes* تزداد مع عمر الأوراق ... بينما تكون إصابة عرائص الذرة الصفراء أكثر شدة عندما تلوث العرائص بالفطر *Rhizoctonia solani* في بداية خروج الخيوط السلكية بالمقارنة مع التلوين في المراحل اللاحقة... أما علاقة الفطر *Drechslera heterostrophus* والذرة الصفراء فهي تتأثر بمواعيد التلوين... حيث وجد بأن الإصابة تكون أكثر شدة عندما يتم التلوين بعد 10-20 يوم بعد التزهير ... بالمقارنة مع المواعيد اللاحقة... كما وجد في العلاقة بين ممرض الأنتراكنوز في الجت ، من إن أفضل مستويات

إنشاء مواقع الإصابة يتحقق عندما تلوث بادرات بعمر إسبوعين بالمقارنة مع أربع أو ستة أسابيع.... ولقد أصبح من البديهييات في الأمراض التي تسببها ممرضات ذات تطفل إجباري كمرضات الأصداء والبياض الدقيقي والبياض الزغبي ، من إن الأوراق الفتية النظرة عادة ما تكون أكثر تقبلا للإصابة وإحتضان مواقع الإصابة من الأوراق المتقدمة بالعمر..وعلى العكس من ذلك... علاقة الفطر المعروف *Macrophomina phaseolina* مع عوائله الواسعة الإنتشار ، حيث يبقى ساكنا بجانب العائل حتى تحين فرصة إنقضاؤه عندما تبدو على العائل بوادر الضعف والشيخوخة.....

6. الظروف البيئية قبل التلوّث (Pre-Inoculation Conditions): كثيرا ما تتأثر عملية إنشاء مواقع إصابة بالظروف البيئية المحيطة بالعائل النباتي قبل التلوّث ، حيث تشكل بعض الظروف حافزا لزيادة إستعداد إنسجته لإحتضان الممرض أو عدم تقبله في أحيان أخرى..... فقد وجد على سبيل المثال بأن تعرض النباتات المهينة للتلوّث بأبواغ ممرضات البياض الدقيقي في أغلب العوائل النجيلية لفترة إضاءة طويلة (16 ساعة/يوم) يجعل النباتات أقل حساسية من تلك التي كانت متواجدة تحت فترة إضاءة قصيرة (8 ساعة/يوم).... وبسبب أهمية عامل الظروف البيئية قبل التلوّث على مستويات تقبل العائل لإنشاء مواقع إصابة، فقد يلجأ بعض العاملين الذين يتحرون عن المقاومة تعريض العوائل النباتية لظرف بيئي قبل أن يلوث بممرض محدد .. كما هو الحال في تعريض بادرات الدردار (Elm) للظلام لفترة لاتقل عن 5 يوم قبل أن تلوث بأي من ممرضات الذبول **لأن المقاومة المنتخبة بعد هذا الإختبار ستكون ذا قيمة عالية في حماية هذه الأشجار من ممرضات الذبول المقيمة في التربة.....** كما أصبح معروفا.... بأن تعريض النباتات لظروف الشد المائي... أو إلى درجات حرارة عالية سوف يجعلها أكثر إستعدادا للإصابة كما هو الحال في العلاقة بين البطاطا وألفظن مع الفطر *Macrophomina phaseolina* وبين البصل والفطر *Fusarium oxysorum* وهناك إشارات عديدة تبين أهمية الظروف البيئية قبل التلوّث.... وعلى العكس من الشد المائي ، فإن توفر أنسجة غضة ممتلئة بالماء يمثل أحد أهم محفزات إنشاء مواقع إصابة للبكتريا والممرضات المسببة لمرض التعفن الطري...(Soft Rots).

7. ظروف الحضانة بعد التلوّث (Post-Inoculation Conditions): يتفق غالبية بل جميع العاملين بالأمراض النباتية على أهمية فترة الحضانة .. التي تلي عملية وضع الوحدات اللقاحية على سطح العائل النباتي..... ويتفق الجميع على وجوب أن تكون الظروف البيئية التي تلي التلوّث مناسبة جدا لإنبات الأبواغ وإنتاج أنابيب الإنبات والتراكيب الفطرية الأخرى كاللواصق (Appresoria) في بعض الممرضات ...وقد تدخل بعض الممرضات أنسجة العائل عن طريق

الثغور.... لذلك فإن ثغور الأوراق لا بد وان تكون مفتوحة خلال فترة الحضانة... وعلى العكس من أغلب الممرضات التي تحتاج إلى توفر مستوى عالي من الرطوبة أو الفلم المائي... فإن التعامل مع الوحدات اللقاحية لممرضات أمراض البياض الدقيقي... يتطلب منا أن تكون هناك ظروف جفاف على سطح العائل الذي إستقبل الأبواغ الكونيدية... أي تحاشي تواجد رطوبة أو فلم مائي... أما الممرضات التي تحتاج إلى توفر فلم مائي كأحد شروط إنبات الأبواغ... فإن علينا توفير هذا الظرف لمدة 24 ساعة وعلى درجة حرارة غالبا ما تنحصر بين 20 و 25 م°... وقد يسبب إطالة فترة الترطيب نتائج عكسية كما لوحظ عند زيادة فترة الترطيب عند التعامل مع ممرضات الأصداء... وعلى العكس من هذه المتطلبات، يلاحظ بأن إدخال الوحدات اللقاحية بطريقة الحقن (Injection) داخل أنسجة العائل عادة ما يسفر عن نتائج جيدة لتوفر جميع الشروط المتعلقة بإنجاح تأسيس موقع إصابة.

ومن الأمور المهمة التي يكثر حدوثها في تجارب التلويث الإصطناعي ... هي عدم توفير ظرف بيئي مناسب في مهاد البذور الملوثة... كما تم الحديث عنه عن ظاهرة الهروب من الإصابة بممرضات البنط الشائع في مقالة سابقة... حيث يكمن السبب الرئيسي لحدوث الهروب في إنحياز القائمين بالتجربة للعائل وليس لإنجاح مواقع إصابة وبدون قصد متعمد وإنما قصور في فهم متطلبات إنشاء مواقع إصابة ناجحة.....

8. فترة الإضاءة (Photoperiod) : تعتبر الفترة الضوئية أحد أبرز مكونات أو مفردات البعد الثالث لمثلث الإصابة أو المرض النباتي.... وتعتبر الفترة 12 ساعة/يوم فترة ضوئية مناسبة لنجاح أغلب التداخلات الحاصلة بين الممرضات والعوائل النباتية ... يجب أن تبدأ الفترة الضوئية مباشرة بعد فترة الترطيب اللازمة لإنبات الأبواغ وتشكيل أنابيب الإنبات...

9. إستخدام المواد الكيميائية على العائل قبل التلويث (Pre-Chemical treatments) : قد يلجأ بعض العاملين بتجارب التلويث الإصطناعي إستخدام بعض المركبات الكيميائية على أوراق العائل لغرض معين قبل التلويث ، كما يحصل في إستخدام أملاح Diethanolamine salt لمادة Malic Hydrazide على أوراق الحنطة رشا بهدف وقف نمو البادرات المزروعة في السنادين أو عند إستخدامه في مكافحة الأدغال ... حيث ينتج عنها زيادة واضحة في هجوم بثرات ممرضات الأصداء... وقد تسبب البعض الآخر تثبيط تطور الأعراض المرضية لإي أصناف معينة أو زيادة الحساسية للبعض الآخر ... لذلك يفترض بالعاملين على ذلك تجنب معاملة النباتات بأي مواد كيميائية قبل التلويث إلا لابعد التأكد من أنها لن تؤثر سلبا أو إيجابا على

أنواع الإصابة لأن أنواع الإصابة تبدو على غير حقيقتها ولا تعكس التداخل الحقيقي بين العائل والممرض.

10. تغذية العائل (Host Nutrition) : يقصد بتغذية العائل ظروف التسميد التي نمت تحت ظروفها العائل النباتي... فمن المعروف بأن زيادة التسميد الفوسفاتي أي زيادة النيتروجين في التربة غالباً ما يزيد من حساسية الحنطة والنجيليات لمرضات الأصداء... كما إن توفر التسميد البوتاسي له أثر إيجابي في إختزال مستويات الإصابة بمرضات عديدة... وقد تتأثر مستويات الإصابة ببعض الممرضات المقيمة في التربة عندما تكون التربة المزروعة بالفاصولياء أو فول الصويا ذات نقص بالكالسيوم... لأن ذلك يناسب ممرضات الأنتراكنوز في فول الصويا والفطر *Rhizoctonia solani* على الفاصولياء....