

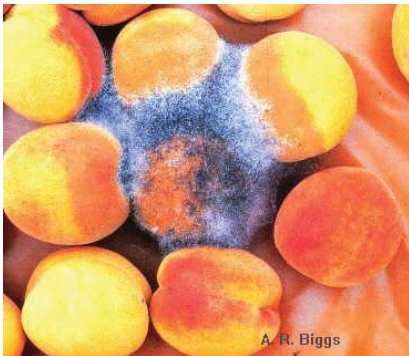
محاضرة عملي رقم ٣ - بيولوجيا الفطريات قسم علم الحياة - جامعة طرطوس

طرائق تشخيص الإصابة بالفطريات

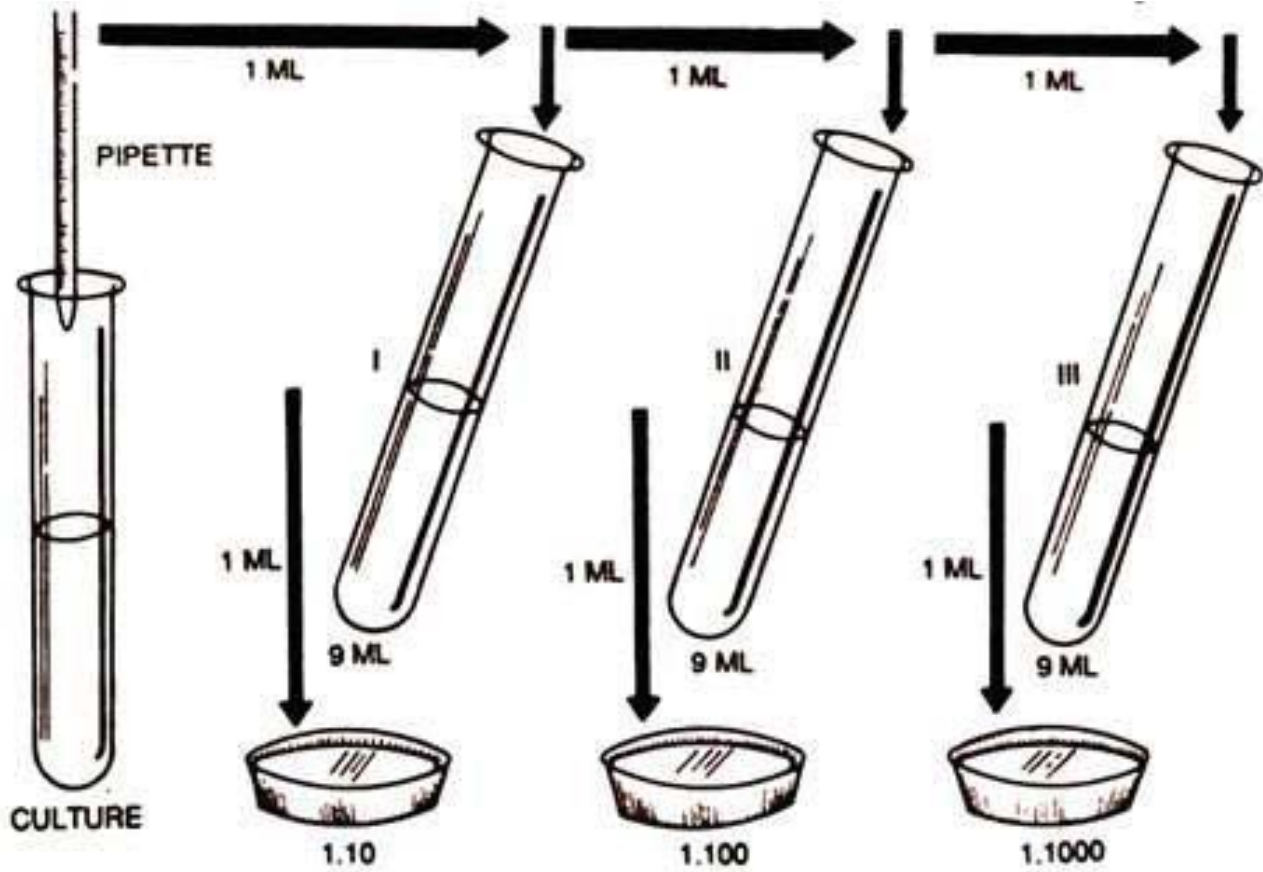
عزل المسبب المرضي وتنقيته



- أهم طرائق العزل ما يلي :
- ١ - العزل باستخدام الأبواغ :
 - أ - الخط المتعرج :
 - يؤخذ بإبرة لها حلقة طرفية معقمة بالكحول والذهب ، كمية من معلق الأبواغ ، ثم تمرر بشكل متعرج على البيئة المغذية .
 - ب - طريقة التخفيف :
 - وذلك بعمل تخفيفات عديدة في الماء المقطر المعقم ثم ينقل جزء من كل منها إلى أنبوب يحتوي على بيئة الأجار المائي ، ترج جيداً ثم يصب محتويات كل تخفيف في طبق بتري معقم.



طريقة التخفيف



٢ - عزل المسببات المرضية من الأنسجة النباتية المريضة (أوراق ، سيقان ، ثمار ، درنات) :



- إذا كان الفطر المسبب غير متجرت ثم وغير مرئي على سطح الورقة المصابة أو الجزء المصاب ، فتؤخذ أجزاء صغيرة تتراوح بين ٥ - ١٠ ملم من البقعة المصابة ، بحيث تشمل جزءاً مصاب وجزءاً سليم ، تعقم سطحياً بغمسها في محلول ٥% من الكلوراكس لمدة ٣ دقائق ، ثم تنقل بواسطة ملقط معقم إلى ماء مقطر معقم حتى يتم غسلها ومن ثم تنقل إلى ورق ترشيح لتجفيفها ، ثم تنقل إلى سطح البيئة المغذية في الطبق البتري وبمعدل ٥ قطع / طبق . يمكن التعقيم بكلور الزئبق تركيز ٠.٠٠١ ، وغسلها مرتين بالماء المقطر المعقم ، أو بالكحول الإيثيلي ٧٠% بدون غسل بل تترك لتجف ، ثم توضع بالطبق البتري فوق البيئة

خطوات العزل



كحول ٧٠%

ماء جافيل ٥%



٣ - عزل المسببات المرضية من الجذور :

- تتعرض جذور النباتات للإصابة بالفطريات المرضية المختلفة والتي تؤدي إلى موت أنسجتها مما يعرضها بعد ذلك للتلوث بالكائنات الممرضة فيلزم أولاً غسلها جيداً بالماء الجاري لاستبعاد حبيبات التربة وأنسجة النبات المهترئة التي تحتوي على معظم الفطور المترمة ، ثم يؤخذ أجزاء منه وتغمر في الكلوراكس (ماء جافيل) ٥% لمدة ثلاث دقائق ثم تنقل إلى الماء المقطر المعقم لغسلها من المعقم وبعدها إلى ورق ترشيح لتجف ، ومن ثم يقطع إلى أجزاء صغيرة وتوضع على سطح المستنبت الغذائي في أطباق بتري .

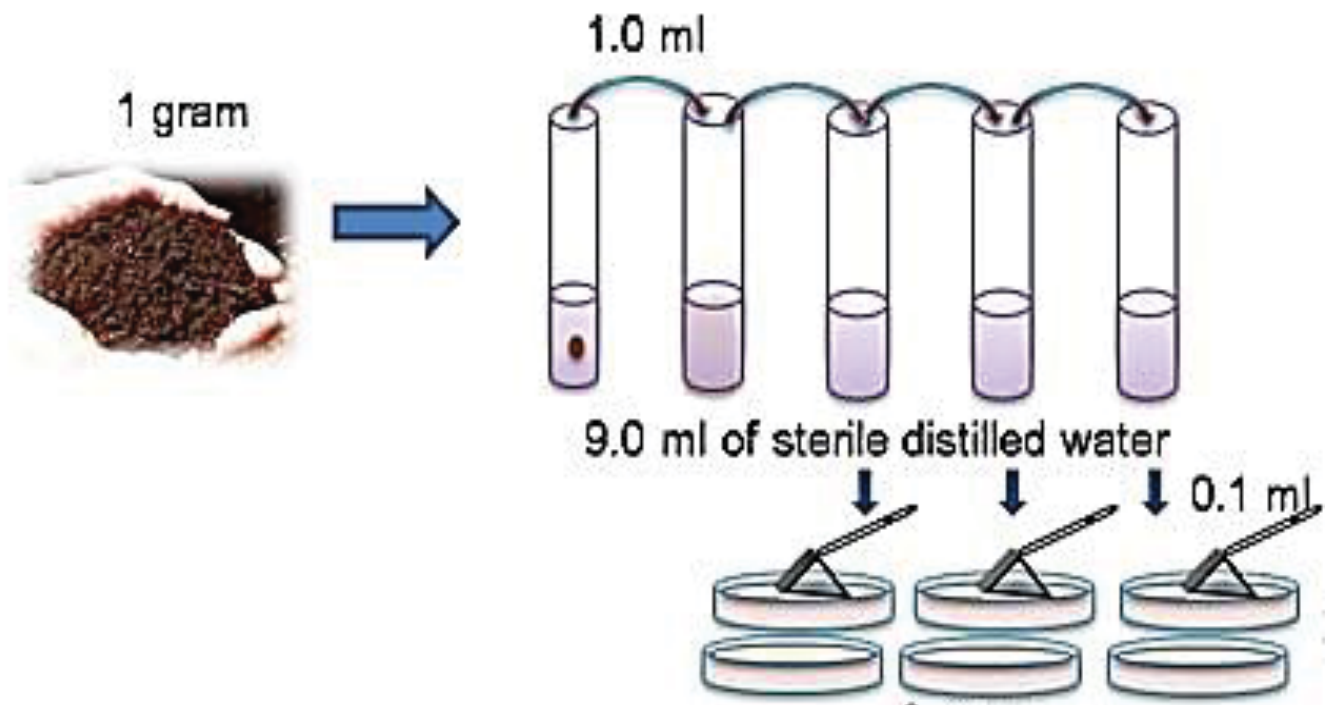


©A.F. Sherf

٤ - عزل الفطور من التربة

- تؤخذ عينات تربة من منطقة الجذور المصابة ومن مناطق قريبة منها بشكل عشوائي ، تخلط جيداً ثم تجفف على درجة ١٠٥ م لمدة ٢٤ ساعة أو تفرد على ورق جرائد في المخبر حتى تجف. تسحق التربة في هاون من البورسلان .
- وتستخدم طريقتان للعزل هما :
- أ - الطريقة الجافة : يذر مقدار قليل من التربة الجافة (١٠ - ١٥ ملغ) على سطح البيئة وتترك في الحاضنة لتنمو الفطور المسببة للمرض .
- ب- طريقة التخفيف :
- ويتبع فيها الخطوات التالية:
- يؤخذ مقدار ١٠ غ من التربة ويضاف إليها ٩٠ مل ماء مقطر معقم ، ترج جيداً لمدة نصف ساعة بشكل متقطع ، ثم تترك لترقد قليلاً .
- ٢ - ينقل ١ مل من التخفيف السابق إلى أنبوبة اختبار تحتوي على ٩ مل ماء مقطر معقم فنحصل على التخفيف ١/١٠٠ ونستمر هكذا حتى نحصل على عدة تخفيفات

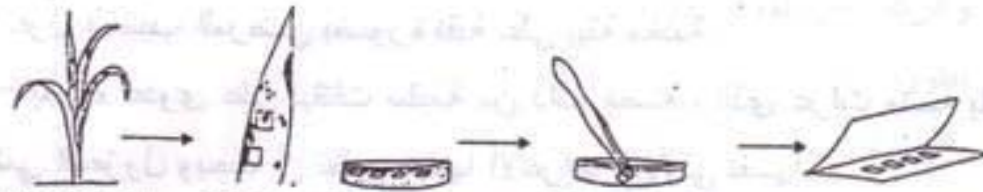
طريقة التخفيف



العزل من البذور



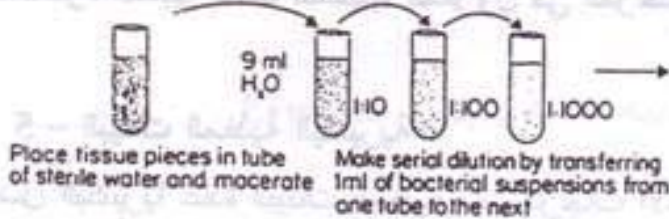
طرائق العزل المختلفة



Infected plant

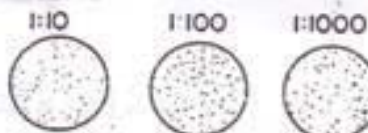
Cut out small infected areas or of margin of large one. Place in 10% clorax for different durations

With sterile forceps rinse tissue sections in distilled water and blot on sterile paper towel



Place tissue pieces in tube of sterile water and moderate

Make serial dilution by transferring 1ml of bocterial suspensions from one tube to the next!



Place 0.5ml of each dilution into separate petri dishes. Add melted but cool agar, stir gently and let solidify



In a few days single colonies appear at one or more of the plates

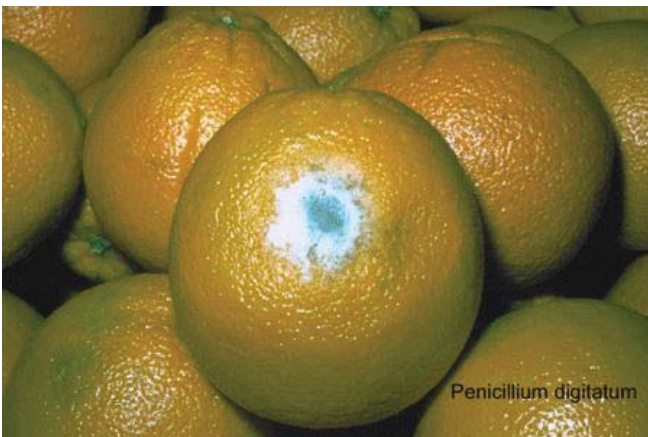


Single colonies are subcultured and the properties of their bocteria compared

نماذج عن مستعمرات فطرية

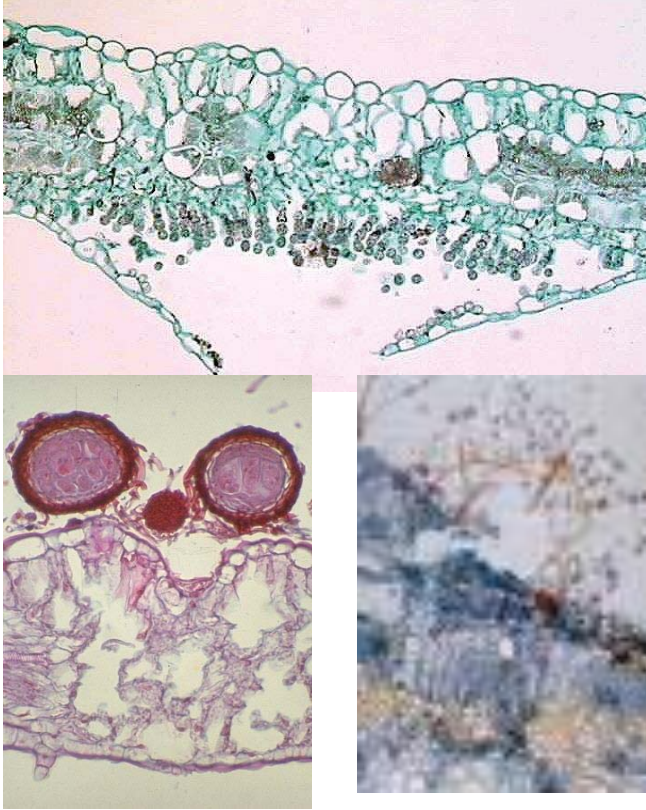


التعرف على المسببات المرضية - مجهرياً



- ١- الكشط: ونقصد به إزالة النمو الخارجي للطفيل عن سطح العائل دون التعرض لأنسجة النبات العائل ويتم ذلك بواسطة مشرط أو إبرة تلقيح . والغرض منه فحص الهيفات والحوامل البوغية والأبواغ الموجودة على سطح النبات المصاب للتعرف على الفطر المسبب، مثل أمراض البياض الدقيقي، وحوامل أمراض البياض الزغبي. وأحياناً لتسهيل الكشط يوضع النبات في جو رطب لمدة يوم أو يومين قبل فحصه حتى ينمو ميسليوم الفطر .

التعرف على المسببات المرضية- مجهرياً



- ٢- القطع : يستخدم لعمل القطاعات موس التشريح أو شفرة حلاقة حادة ، وفي حالة الأنسجة الرهيفة يوضع النموذج داخل نخاع البيلسان أو قطع من جذر الجزر ثم يقطع . وكلما كانت المقاطع رقيقة ، ظهرت التفاصيل أكثر وضوحاً تحت المجهر لذا يعمل عدة مقاطع ويختار منها الأكثر رقة للفحص . تفيد هذه الطريقة في تحديد كيفية نمو وتوغل الميسيليوم في أنسجة العائل ، وكذلك دراسة الممصات في الأنسجة الداخلية .

الفحص المجهرى

- تفحص المحضرات بعد وضعها بشكل جيد على المجهر بالعدسة الشيئية (X١٠) أو أصغر عدسة.
- وبعد الفحص والتأكد بان المحضر جيد يتم وضع الجزء المهم والمراد فحصه في مركز العدسة ثم يفحص بالعدسات الشيئية الأخرى
- يرسم مكونات الفطر المدروس (ميسليوم، حوامل ، أبواغ أو الاثمارات الفطرية).