قســـم : **أمراض النبات**	**الفرقة**: **الرابعة**	**برنامج**: **وقاية النبات**
المـــادة: **طرق تشخيص الأمراض النباتية**	**كود المقرر**: **ن ب ت ٤٠٥**	**درجة الامتحان**: **٦٠ درجة**
الفصل الدراسي الثاني	**للعام الجامعي ٢٠١٥/ ٢٠١٦**	**الزمن** : **ساعتان**

السؤال الأول:- (٢٠ درجة)

أ- أجب عن أثنين فقط مما يلي

١- عرف تشخيص المرض النباتي موضحاً أهمية تشخيص المرض وماهي الادوات اللازمة التي يجب ان تكون بحوزة مشخص أمراض النبات في الحقل؟

تشخيص المرض بأنه علم و مهارة التعرف علي وجود مرض و ذلك بناء علي الحس الدقيق و الإدراك الواعي لأعراضه و خصائصه ، و من ثم التعرف على المرض والمسبب.

أهمية تشخيص المرض

تعتبر عملية التشخيص هي الأساس الذي تعتمد عليه مكافحة المرض ،خاصة إذا تطلب الأمر علاجا كيماويا متاحا لهذا المرض وعلي ذلك فإن دقة التشخيص و سرعته أيضا سيكون لها بالغ الأثر في محاصرة الحالة ومنع أو تقليل الخسارة الاقتصادية علي عكس ذلك فإن التشخيص الخاطئ سيؤدي إلى عدم فعالية الإجراءات المتخذة و هذا يعني تفاقم المشكلة من ناحية و إلى مزيد من الخسائر من ناحية أخرى

الادوات اللازمة التي يجب ان تكون بحوزة مشخص أمراض النبات في الحقل

- آلة التصوير ، على أن تكون من نوع جيد و يمكنها تقريب الصور.
- عدسة يدوية لفحص الأعراض و العلامات بدقه .
- مديه صغيرة لشق النبات إذا تطلب البحث عن علامات داخليه.
- مقص تقليم لقص أفرع الأشجار و فحصها بدقه أو أخذ عينة منها.
- شقرف صغير لإزالة التربة حول الجذر و اقتلاعها لفحصها .
- أكياس ورقية و أخرى من البولي إثيلين لأخذ عينات نباتية أو عينات من التربة إلى المعمل إذا لزم الأمر.
- بطاقات تدوين بيانات و أقلام للكتابة على أكياس البولى إيثيلين .
- بطاقات بيانات تشخيص مرض لجمع كافة البيانات التي يستعين بها في التشخيص.

٢- هناك الكثير من الامور الهامة يجب علي المشخص مراعاتها عند زيارته للحقل وضح ذلك

يجب على المشخص عند الذهاب إلى حقل المشكلة أن يراعى الأتى .

١. أن يكون ملاحظا جيدا لتوزيع الحالة فى الحقل و الأعراض وكل ما يحيط بالمشكلة من ظروف مثل طبوغرافية الأرض و نوع التربة و نظام الرى
٢. أن يكون مستقصى جيد لكل ما يريد معرفته من الزراع فربما يكون فى تلك المعلومات مفتاح حل المشكلة أو استبعاد لاستنتاج مبدئى خاطئ. وفى هذا الشأن يجب أن تكون الأسئلة قصيرة وواضحة ويفضل أن تكون الإجابة عليها بنعم أو لا.
٣. إذا كانت الحالة ميئوس منها وهناك مجرد احتمال لجدوى إجراء معين فيجب عليك مصارحة المزارع بذلك حتى لا تكون مفاجأة له فى حالة عدم الحصول على نتيجة .
٤. ألا يخدع المزارع فإذا لم يكن واثقا تماما من تشخيصه فعليه إبلاغ المزارع بعدم توصله لتشخيص محدد و بأن الأمر يتطلب إجراء بعض الفحوص المعملية لا تمام عملية التشخيص فكلمة " لا اعرف " أفضل من

الخداع لأن الخداع يفقده ثقة المزارع، كما أن العميل قد يكون عرض المشكلة على مشخص آخر قبله أو سيعرضها على آخر بعده .

٥. على المشخص أن يتذكر أنه ضيف فإذا تطلب الأمر حفر التربة حول الأشجار لأخذ عينة من الجذور ، على سبيل المثال ، فعليه أن يستأذن فى ذلك .

٦. إذا كان بالمزرعة نباتات أو أشجار مثمرة فلا تمتد يده لتناول ثمار إلا إذا دعى إلى ذلك

٧. أن يعتبر كل مشكلة يقوم بتشخيصها كأنها تحدى شخصى له .

٨. أن يسوده التفاؤل نحو حل المشكلة.

٩. إذا لم ينجح المشخص فى تشخيص الحالة فى الحقل و إعطاء التوصية المناسبة فعلية أن يأخذ عينة إلى المعمل لإجراء فحوص معملية دقيقة و مناقشة الحالة مع زملاءه إذا تطلب الأمر .

٣- وضح خطوات التشخيص الحقلي السليم موضحا ما يجب علي المشخص مراعاته عند فحص الاعراض؟

خطوات التشخيص الحقلى

١- ملاحظة توزيع المرض في الحقل
٢- ملاحظة توزيع الأعراض على النبات
٣- فحص الأعراض و العلامات بدقة علي النبات
٤- الحصول علي بعض المعلومات

ما يجب على المشخص مراعاته عند فحص الاعراض

١. بينما تكون بعض الأعراض مميزة ومرتبطة تماما بأمراض معينة حتي أنها تدخل في الاسم الشائع للمرض ، فهناك ممرضات تعطي أعراض شديدة التشابه بل أنها قد تتشابه مع أضرار بيئية .
٢. قد تختلف أعراض المرض الواحد باختلاف الظروف البيئية .
٣. قد يسبب ممرض ما أعراضا مختلفة علي نفس العائل باختلاف مراحل نموه.
٤. قد يصاحب الأنسجة المصابة وجود كائن حي دقيق أو أكثر و لكن ذلك ليس بالعلامات المرضية ولا هي بمسبب المرض إذ أن الكثير من الرميات لها القدرة علي النمو علي النسيج المصاب سريعا. وقد تكون الحالة متسببة عن أكثر من ممرض.
٥. قد تظهر أعراض المرض على المجموع الخضرى إلا أن الإصابة بالممرض تكون فى الجذور ، على سبيل المثال كما فى حالات إصابة جذر النبات بفطريات أعفان الجذور ونيماتودا الجذور و التى تظهر على المجموع الخضرى أعراض العطش و نقص العناصر وقد يصل الأمر إلى حدوث موت فى أنسجة الورقة بما يشبه تبقعات الأوراق .
٦. فى بعض الحالات تكون الإصابة مركبة بمعنى أن أنها ناتجة عن ممرضين أو أكثر ، مثل المرض المركب عفن الجذور و الذبول Root rot -wilt complex .من ناحية أخرى قد تظهر على النبات أعراض لمرض طفيلى مع أخرى ناتجة عن اضطرابات فسيولوجية ، و من أمثلة ذلك أن إصابة النبات بأمراض الذبول الوعائى و أعفان الجذور و الأمراض النيماتودية التى تصيب الجذور غالبا ما يصاحبها أعراض نقص مركب للعناصر لعدم حصول النبات على احتياجاته على نحو كاف عند الإصابة بمثل هذه الأمراض .
٧. قد يظهر على النبات إلى جانب المرض المسبب للمشكلة أحد الأمراض غير المؤثرة بدرجة كبيرة على ذلك المحصول فى مثل تلك الظروف ، ويجب على الشخص أن يراعى ذلك بدقة و لا يجتذب انتباهه المرض القليل الأهمية عن المرض المسؤول فعلا عن المشكلة .
٨. على المشخص المبتدئ أن يستعين بكتب أو كتيبات أمراض النبات ذات الصور الملونة ليطابق عليها ما يراه ، نظرا للتشابه الكبير بين أعراض أكثر من مرض على النبات الواحد .

علي المشخص أن يكون علي دراية تامة بالأعراض المختلفة

ب- اكتب المدلول العلمي للمصطلحات التالية خمسة فقط:-

١- الذبول Wilt:

هناك نوعان من الذبول : ذبول مؤقت ويحدث للنباتات نتيجة الحرارة الشديدة مع قلة الرطوبة ولا تلبث النباتات أن تسترجع حالتها الطبيعية بزوال الظروف الطارئة والنوع الأخر هو الذبول المرضي الدائم

٢-- موت الأنسجة Necrosis:

نتيجة للإصابة قد يحدث موت مفاجئ للأنسجة المصابة ويتحول لونها إلى اللون البني أو البرونزي أو الأحمر أو الأبيض وقد تكون هذه الحالة محدودة Local necrosis حيث يشمل الموت مجموعات محدودة من الخلايا كما في حالة مرض النقرة المرة في التفاح الذي يعرف بالـ Bitter pit وقد تكون الإصابة عامة Complete necrosis حيث يشمل الموت أيضاً أعضاءً نباتية وقد يشمل النبات بأكمله ويطلق على هذه الحالة إسم اللفحة وقد تشمل الأفرع ويطلق عليها لفحة الأفرع Twig blight.

٣-التقزم Dwarfing :

فالتقزم أحد الحالات الناتجة عن قلة تركيز محتوى الخلايا من العوامل المنشطة للنمو المختلفة فتنتج سلاميات قصيرة عليها أوراق أو ثمار أو أزهار أصغر كثيرا من حجمها المعتاد كما يحدث في مرض الورقة الصغيرة في التفاح أو الثمرة الصغيرة في الخوخ وغير ذلك. وفي بعض الحالات قد يبدو النبات كله أقل من الحجم الطبيعي ومثالها مرض التقزم الأصفر في الزمير أو تورد القمة في الموز

٤- الزيادة في الحجم Hypertrophy:

وهو أيضاً من الأعراض المرضية التي تنتج عن اختلال توازن محتوي خلايا النبات من منظمات النمو وترجع الزيادة في حجم الأعضاء النباتية إلى زيادة في حجم خلايا

٥- التحنيط: Mummification

من الشائع أن تتحول بعض الثمار المصابة إلى تراكيب جافة مكرمشة Shriveled يطلق عليها مومياوات Mummies، وعادة ما تشاهد هذه الثمار عالقة على الأشجار عقب الإنتهاء من جمع المحصول. ففي العادة تتعفن الثمرة أولاً وفي نفس الوقت ينمو ميسيليوم الفطر بغزارة في النسيج الداخلي للثمرة ثم بعد ذلك تجف وتتكرمش

٦- تشوه النباتات Malformation:

تعتبر أعراض الجذر الشعري Hairy root ضمن هذه المجموعة من الأعراض وفيه تنمو بطريقة غير عادية عديد من الجذور العرضية الرفيعة والليفية المظهر وغالباً ما تتخذ شكل المفصلة المتماسكة.
هذا وقد تحدث بعض النموات الزائدة من نفس نسيج الورقة على سطح الأوراق في النباتات المصابة يطلق عليها Enations كما هو الحال في أوراق الكرنب عند إصابتها بالـ Cauliflower mosaic virus.
وتشمل التشوهات أيضاً ظهور الأورام Galls or tumors على أعضاء النبات.

٧- Acervulus الكويمة الكونيدية

عبارة عن أحد التراكيب التى تكونها بعض الفطريات المسببة لأمراض الإنثراكنوز (مثل الفطر كوليتوتريكوم) لإنتاج جراثيمها اللاجنسية وهو عادة ما يكون سطحيا ومغطى ببشرة العائل وأحيانا يتكون فوق طبقة كيوتيكل العائل وأحيانا أخرى تحتها وعند نضج الجراثيم تضغط على بشرة العائل وتمزقها مما يؤدى إلى انتثار وانتشار الجراثيم وأكثر ما يميز تلك التراكيب هو وجود ما يشبه الأشواك مختلطة بالحوامل والجراثيم التى يكونها الفطر وتعرف بالشعيرات العقيمة.

السؤال الثاني:- أجب عن أربعة فقط مما يلي **(٢٠ درجة)**

١- قارن بين Biotrophic Fungi و Necrotrophic Fungi

تعيش علي نسيج حى Biotrophic Fungi	تعيش على نسيج ميت Necrotrophic Fungi
يتخلل النبات من خلال الفتحات الطبيعية	يدخل النبات باختراق الأنسجة ميكانيكيا أو بالاستعانة بالإنزيمات المحللة
ترسل ممصات دقيقة لامتصاص الغذاء من الخلايا الحية	تهاجم الخلايا و تقتلها للحصول على الغذاء
خلايا العائل تبقى حية و لا تموت إلا فى مراحل متأخرة من المرض	خلايا العائل تموت سريعا
متخصصة على عوائلها فالنوع الواحد يصيب نوع نباتى واحد أو عدد محدود من العوائل من عائلة نباتية واحدة	غير مختصة ، فهى تصيب عدد كبير من العوائل تابعة لعائلات نباتية مختلفة .
لا تنتج أنزيمات محللة لجدر خلايا النبات , أو قد تنتجها بقلة	تنتج أنزيمات محللة لجدر خلايا النبات
لا تنتج توكسينات سامة للنبات ، أو قد تنتجها بقلة	يمكن أن تنتج توكسينات سامة للنبات
لا على البيئات المغذية الصناعية ، أو تنمو بصعوبة	تنمو بسهولة على البيئات المغذية الصناعية
غالبا ما يصيب النبات فى منتصف حياته	غالبا ما يصيب النبات مرحلق البادرة و الشيخوخة

٢- قارن بين أعراض المرض وعلامات المرض مع ذكر مثالين لكل منها

العرض المرضى Disease Symptom هو عبارة عن تغيرات في شكل النبات وتركيبه ونمو أعضائه الى الدرجة التي تؤثر في مظهره أو أنه التعبير المظهري لرد الفعل الخارجي أو الداخلي لأنسجة العائل أو التحور في طبيعة نموه ونتيجة لمهاجمته بكائن مرضي معين أو تعرضه لظروف بيئية غير موافقة لنموه الطبيعي مثل الذبول والقزم والاحمرار والتبرقش وغيرها.

علامات المرض Disease Signs هي عبارة عن مشاهدة الكائن المسبب نفسه أو جزء منه أو تراكيبه مصاحبا للعرض المرضي الملاحظ على النبات المريض مثل الميسيليوم والأجسام الحجرية والأكياس والبثرات والأوعية البكنيدية والثمار الأسكية. وتتميز عن الأعراض بأنها دليل مباشر على وجود المرض. وغالبا ما يعتمد عليها للتعرف على الأمراض بدرجة أكثر من أعراض المرض.

٣- من أهم الأساليب المتبعة في تشخيص أمراض النبات تطبيق فروض كوخ. اشرح هذه الفروض، ثم اذكر مثالين للأمراض يستحيل معها تطبيق هذا الأسلوب.

وهى تستخدم في تشخيص معظم مسببات أمراض النباتات عموما ماعدا الفيروسات ويتم ذلك عن طريق تطبيق اقتراحات كوخ على النحو التالي.

أ- مصاحبة المسبب المرضى للحالة المرضية , وظهور أعراض واضحة.

ب- عزل المسبب المرضى بصورة نقية بعيدا عن العائل.

ج- ظهور نفس الأعراض عند إعادة عدوى عائل سليم بالمسبب المرضى.

د- إعادة عزل المسبب المرضى ومطابقته بالمعزول سابقا.

ولا يمكن تطبيقها في حالات نقص العناصر او في حالات الامراض الناتجة عن اشعة الشمس مثل لسعة الشمس او الاصفرار الناتج عن نقص النيتروجين او الامراض الناتجة عن حموضة او قلوية التربة

٤- تعد الاختبارات الفسيولوجية من الاختبارات الهامة التي تستخدم في تشخيص مسببات أمراض النبات في ضوء هذه العبارة اشرح الاساس العلمي التي تعتمد عليه الاختبارات الفسيولوجية ثم اشرح اختبار البيولوج.

الاساس العلمي التي تعتمد عليه الاختبارات الفسيولوجية

تعتمد على العمليات الحيوية المختلفة التي يقوم بها الميكروب أو بمعنى آخر قدرة الميكروب على تحليل مركبات معينة . ومن أهم هذه الاختبارات : البصمة التنفسية , تخمر السكريات , تحليل الدهون , تحليل النشا , تحليل الجيلاتين , اختزال النترات , إفراز التوكسينات , KOH وتكوين اللويفان.

اختبار البيولوج Biolog:

هو اختبار يستخدم في تعريف الكائنات الدقيقة (البكتريا , الفطريات , الخمائر) وهو يتكون من كمبيوتر وقاعدة بيانات لقراءة تضم أكثر من ١٩٠٠ نوع من الكائنات الدقيقة ويمكن تحديثها سنويا , كما أنه يمكن قراءة النتائج بالعين المجردة أو باستخدام قارئ أطباق مرفق بالنظام . وأيضا يمكن عمل رسوم ثنائية الأبعاد لتحديد صلة القرابة وحساب نسبة التشابه بين العزلات.

يسمى هذا النظام بالبصمة التنفسية Finger Print حيث أنه يعتمد على مقدرة الميكروب المراد تشخيصه على استهلاك مصادر مختلفة من الكربون والنيتروجين والليبيدات في أطباق شبيهة بأطباق الاليزا. وعموما استخدم هذا النظام بنجاح في مصر لتعريف العديد من المسببات المرضية المختلفة , ولكنة غير ملائم لتشخيص الفيروسات.

٥- وضح ماهي مميزات العينة الجيدة

مميزات العينة الجيدة :

١ - يجب أن تتضمن عينة النباتات المصابة نباتات كاملة فى حالة النباتات الحولية والشتلات وأن تتضمن فروعا وأجزاء من الجذور فى حالة الأشجار .

٢ - يجب حفر التربة للحصول على الجذور سليمة لأن جذب النبات يؤدى إلى تمزيق الجذور.

٣ - يجب أن تتضمن العينة ما لا يقل عن ٦ نباتات تعبر عن درجات مختلفة من الأعراض.

٤- يوضع كل نبات مصاب فى كيس ورقى وتوضع نباتات العينة مجتمعة فى كيس من البولى إثيلين.

٥- تجمع عينات النباتات المصابة فى الصباح و يجب أن تصل إلى مقر العيادة فيما لا يزيد عن أربعة ساعات حتى لا تتدهور فتصبح غير صالحة لأعمال الفحص و فى حالة نقل العينة من مسافة بعيدة أو فى الجو الحار تنقل العينة داخل صندوق مبرد.

٦- يجب تجنب تلويث المجموع الخضرى للنبات بحبيبات التربة ، أما الجذور فتغسل بحرص لإزالة حبيبات التربة من على سطحها مع تجنب كشط سطح الجذر أثناء الغسيل فتزيل جزءا هاما لعملية التشخيص.

السؤال الثالث:- (٢٠ درجة)

أ- أجب عن اثنين فقط مما يلي

١- وضح الاساس العلمي للاختبارات السيرولوجية ولماذا لا تستخدم في تعريف الفيرويد موضحاً كذلك مميزات الاختبارات اللونية

وهى الطرق التي تعتمد على تحليل البروتين وهى تصلح مع معظم الكائنات الدقيقة ماعدا الفيرويد ولا تصلح في تعريف الفيرويد حيث أنه لا يحتوي علي غلاف بروتيني

مميزات الاختبارات اللونية

١. أكثر حساسية من اختبارات الترسيب.
٢. استخدام كميات قليلة جدا من الانتيجين والانتيبدى مقارنة بالاختبارات الأخرى.
٣. تعطى فكرة واضحة عن تركيز الفيروس في العينات.
٤. إمكانية الكشف عن عدد كبير من العينات في نفس الوقت.

٢- اشرح خطوات استخلاص ال DNA ووضح الأساس العلمي لتفاعل PCR وأوصف مراحل هذا التفاعل

وضح خطوات استخلاص DNA من الخلايا الحية

١- عمل فصل لها بواسطة جهاز الطرد المركزيrpm١٢٠٠٠-٣٠٠٠ لمدة ١٥ دقيقة.
٢- وذلك بإضافة محلول تكسير وتحليل الخلايا (Lysis Solution) .
٣- توضع العينات على جهاز (الهزاز) لمدة ١٠ دقائق .
٤- نسكب الرائق ونحتفظ بالراسب مع قليل من الرائق ثم نعمل لها رج (vortex) لمدة ٤٠ ثانية .
٥- نضيف محلول تكسير محتويات الخلية (Cell Lysis Solution) .مع انزيم RANase الذي يحلل هذا الحامض النووي
٦- نضيف كحول الإيزوبوبانول مع الرج باليد يظهر DNA على شكل خيوط ثم يضاف الايثانول بتركيز ٧٠% ويحفظ به .

٧- يتم الكشف عن DNA باستعمال الترحيل الكهربائي على هلام agarose gel تركيزه 0.8%

الأساس العلمي لتفاعل PCR

تضخيم جزيئات قليلة من الحمض النووي DNA، بعد استخلاصه من خلايا أو سوائل الجسم وبالتالي الحصول على كميات كبيرة منه يمكن إجراء التحليل عليه. يمكن اعتبار تقنية PCR ترجمة مبسطة لعملية انتساخ الحمض النووي DNA أثناء الانقسام الخلوي

مراحل التفاعل

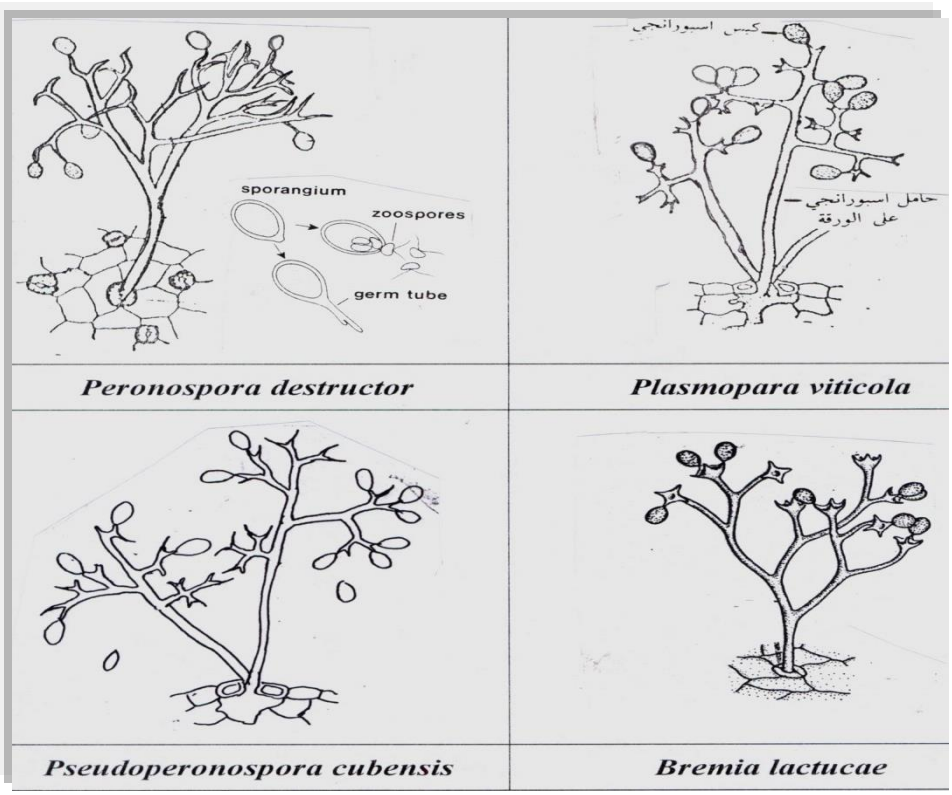
١-مرحلة المسخ الحراري Thermal denaturation لجزيء DNAالهدف، أي فصل الشريط المزدوج DNAإلى شريطين منفصلين ويتم. ذلك من خلال تحطيم الروابط الهيدروجنية التي تربط بين القواعد النايتروجنية بين الشريطين وتتم هذه المرحلة عند درجة حرارة ٩٤ م.
٢-مرحلة ربط Primers annealing أي ارتباط كلا primers مع الشريطن المنفصلين عند درجة حرارة ٥٥ مْ
٣-الاستطالة Annealed primers extension بمساعدة انزيم Taq Polymerase وذلك بإضافة dNTPs ابتداء منprimer باتجاه ٣← ٥،تتم هذه المرحلة عند درجة حرارة ٧٢ مْ.

٣- وضح دور الإستشعار عن بعد فى التنبؤ بحدوث الأمراض النباتية

يعتبر التصوير من طبقات الجو العليا من الوسائل الهامة ذات الفائدة الكبيرة للتعرف على نشوء ومدى سرعة إنتشار الأوبئة. وقد أمكن بإستخدام التصوير الجوى بإستعمال الأشعة اللونية تحت الحمراء للتعرف على الإصابة ببعض الأمراض النباتية مثل أصداء القمح واللفحة المتأخرة في البطاطس والطماطم وبعض الأمراض الفيروسية وبعض أمراض الموالح. ويلائم الإستشعار عن بعد وجود الأمراض بصورة وبائية أو في صورة شديدة في مساحات واسعة منزرعة بمحصول واحد وتستعمل بكثرة في كل من الولايات المتحدة الأمريكية وروسيا وأوروبا، وهناك إمكانية الآن لاستخدامها في الوطن العربى مع تطبيق السياسات الزراعية الحديثة وتوسيع نطاق الملكية الزراعية.

ب- أجب عن اثنين فقط مما يلي

١- فرق بين الاجناس المسببة لأمراض البياض الزغبي بالرسم فقط



Peronospora destructor	*Plasmopara viticola*
Pseudoperonospora cubensis	*Bremia lactucae*

٢- بالرسم فقط فرق بين الاجناس المسببة لأمراض الاصداء

Phragmedium	***Puccinia***	***Uromyces***

٣- فرق بين الاجناس المسببة لأمراض البياض الدقيقي بالرسم فقط