

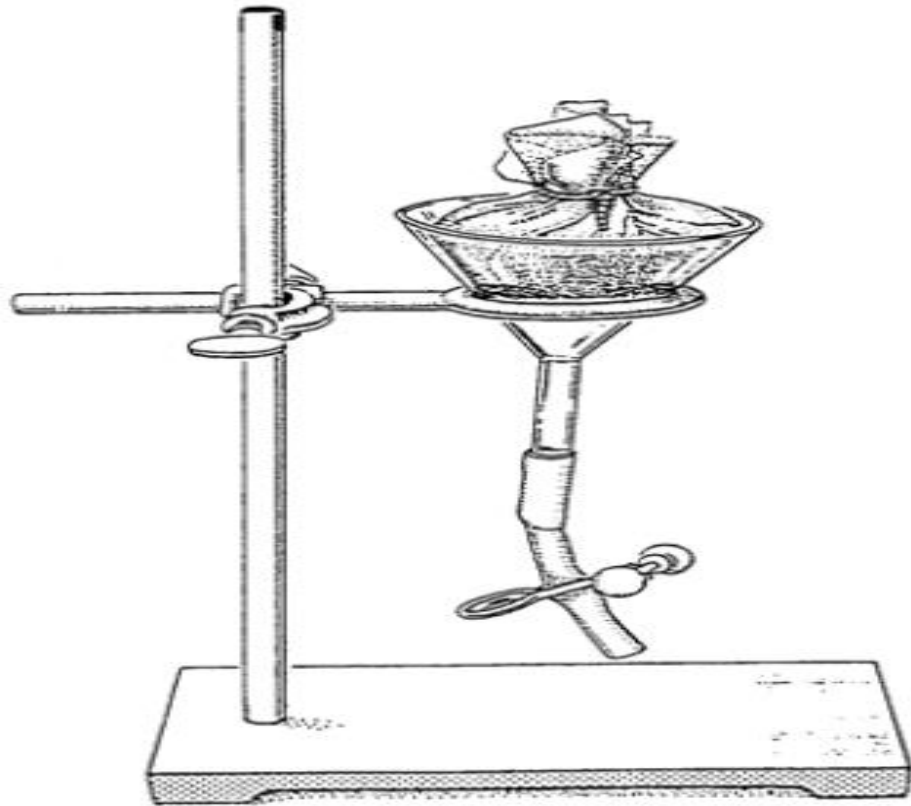
طرق عزل النيماتودا

تعزل النيماتودا الممرضة للنبات بصورة عامة من جذور النباتات التي تصيبها او من التربة المحيطة بالجذور والتي تتغذى عليها غير ان القليل من انواعها تهاجم الاجزاء النباتية فوق سطح التربة مثل دودة الورك في الاقحوان ودودة الحشيش وغيرها وهي تعزل من الاجزاء النباتية التي تصيبها . ويكون العزل كالاتي :

اولاً : العزل من التربة : ويتم بعدة طرق :

1- قمع بيرمان : Bearman funnel

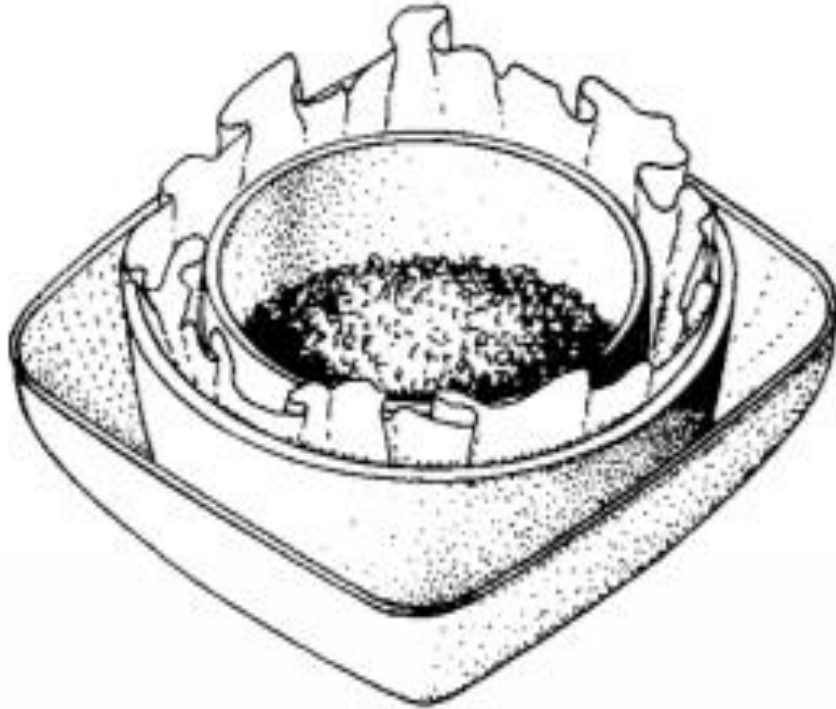
يتألف من قمع زجاجي واسع بما فيه الكفاية قطره (12- 15) سم مثبت من اسفله قطعة من انبوب مطاطي توضع في اسفلها سدادة تمنع نزول الماء يثبت هذا القمع على حامل ويملا بالماء ويوضع ورق مقاوم للرطوبة ونفاذ للماء (استخدام الشاش الطبي) لان الورق العادي يذوب في الماء ويوضع في بعض الاحيان منخل دائري داخل القمع . نضع كمية مناسبة من التربة داخل قطعة الشاش ونغلق قطعة الشاش وتشد او نحيطها بشريط لاصق ثم نضع داخل القمع الممتلى بالماء بحيث يكون كل قطعة الشاش داخل الماء . نترك العينة حتى اليوم الثاني . والذي يحدث هنا ان النيماتودا الحية تتحرك نحو الاسفل بفعل الجاذبية الارضية فيستخرج الماء النازل قرب السدادة وتفحص تحت المجهر .



قمع بيرمان

2- طريقة اطباق بيرمان Baermann trays

تعتبر هذه الطريقة تحويلاً لطريقة اقماع بيرمان وتعتمد نفس الاساس العلمي لاقماع بيرمان وفيها توضع التربة بكمية مناسبة على شاش او منديل ورقي فوق منخل من البلاستيك او معدني ومحمول على ارجل بارتفاع قليل توضع في اناء اكبر من المنخل ويضاف ماء الى الاناء بحيث تكون العينة كاملة تحت الماء. تغطى العينة بغطاء لتجنب تبخر الماء من الاناء. تترك العينات لمدة 3 ايام ويجمع الماء ويمرر من خلال منخل 26 مايكون وتفحص تحت المجهر.



اطباق بيرمان

3- طريقة المناخل (مناخل كوب) Gobbs sieving

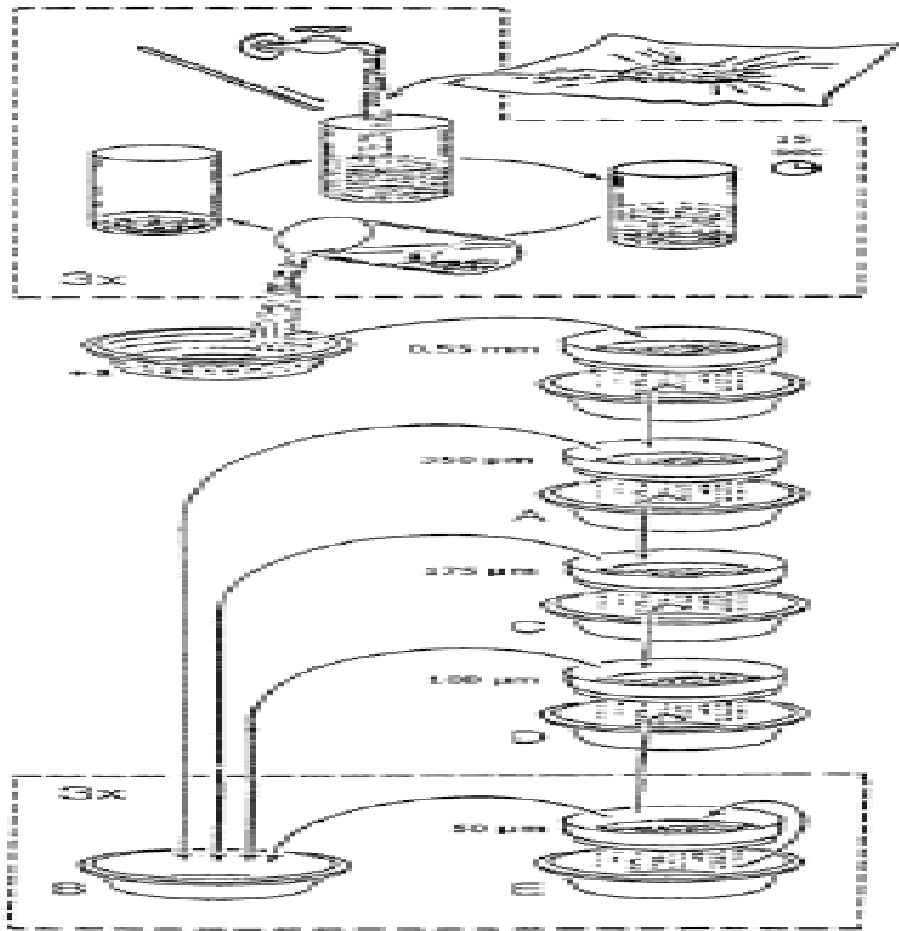
الادوات المستخدمة

- 1- اناءين كبيرين
- 2- مجموعة مناخل والتي تشمل (منخل 25 مش – منخل 100 مش – منخل 200 مش -352مش)
- 3- بيكرات وادوات زجاجية اخرى
- 4- اوكلات الصوديوم

طريقة العمل

- 1- نزن 500 غرام من التربة وتمزج جيداً ويؤخذ منها 100 غرام وتوضع في الاناء 1 ويضاف لها 1 غم من اوكزالات الصوديوم .
 - 2- يضاف 3-4 لتر من الماء الى الاناء ونبدأ بالخلط ثم يترك لمدة 10 ثواني حتى نسمح بالكتل الكبيرة بالترسيب ثم نصب المحتويات في الاناء 2 من خلال المنخل 25 مش .
 - 3- يخلط المحلول في الاناء 2 ثم يترك لمدة 10 ثواني ثم يصب في الاناء 1 من خلال من خلال المنخل 50 مش .
 - 4- تكرر العملية عبر بقية المناخل 100 مش و 200 مش و 325 مش .
 - 5- يؤخذ المتبقي في المناخل الاثنتين الاخيرة وتفحص تحت المجهر .
- ملاحظة / مش Mesh هو عدد الفتحات الموجودة في الانج المربع الواحد .

يتم ترطيب المناخل قبل الترشيح لان عملية الترشيح بالمناخل الجافة تقلل من كفاءة العملية وهذه الطريقة مهمة في تحديد كثافة النيما تودا وتعتمد على دقة الباحث .



مناخل كوب

4/ طريقة السكروز Soccrse method

المواد المستخدمة

(سكر السكروز , بيكر , ماء مقطر , عينة ترابية)

طريقة العمل

توضع العينة الترابية في البيكر ويخلط معها السكر والماء (تخلط بشكل جيد) .تترك العينة لمدة 10 دقائق نلاحظ تكون طبقتين السفلى داكنة تحتوي الاجزاء الكبيرة من التربة والطينة العليا تحتوي الاجزاء الشفافة من التربة والنيما تودا .تسكب الطبقة العليا في زجاجة ساعة او طبق يترى وتفحص تحت المجهر .

ملاحظة / تعتمد مبدأ هذه الطريقة على اساس الكثافة حيث ان النيما تودا ذات كثافة قليلة فترتفع نحو الاعلى بينما تكون بقية الاجزاء ذات كثافة عالية فتتوزل الى الاسفل .

5/ طريقة الطرد المركزي مع الطفو

تعتمد هذه الطريقة على الكثافة وتتلخص بالخطوات التالية :

توضع عينة بحجم 100 غرام في بيكر حجم 1 لتر ويضاف لها الماء ليصل الى 800 مل .

تخلط العينة بخلاط كهربائي 1600 دورة / د لمدة 20 ثانية ثم يترك المعلق ليستقر لمدة دقيقة واحدة لتترسب الجزيئات الكبيرة من التربة الى قاع الاناء .

ينقل المعلق الى منخل 40 مش موضوع فوق منخل 400 مش (38 مايكرون) وغالباً ماتوضع المناخل بزواوية مائلة لتقليل فرصة النيما تودا الصغيرة بالخروج .

ينقل المتجمع في المنخل 38 مايكرون الى انابيب الطرد المركزي وتوضع الانابيب بصورة متوازنة في جهاز الطرد المركزي وشغل الجهاز على قوة 420 دورة لمدة 5 دقائق .حيث تلتصق دقائق الطين مع النيما تودا وتنزل الى اسفل الانبوبة في حين تطفو المواد العضوية الى اعلى الانابيب .

يرمى الرائق ويحضر محلول سكري 45% ويضاف الى انابيب الطرد المركزي وتخلط الانابيب جيداً وتعاد الانابيب مرة اخرى الى جهاز الطرد المركزي حيث تبقى النيما تودا معلقة في المحلول السكري بينما بقية الاجزاء تنزل اسفل الانبوبة يصب الرائق في منخل 38 مايكرون وتغسل جيداً للتخلص من اثار المحلول السكري .وتفحص تحت المجهر .

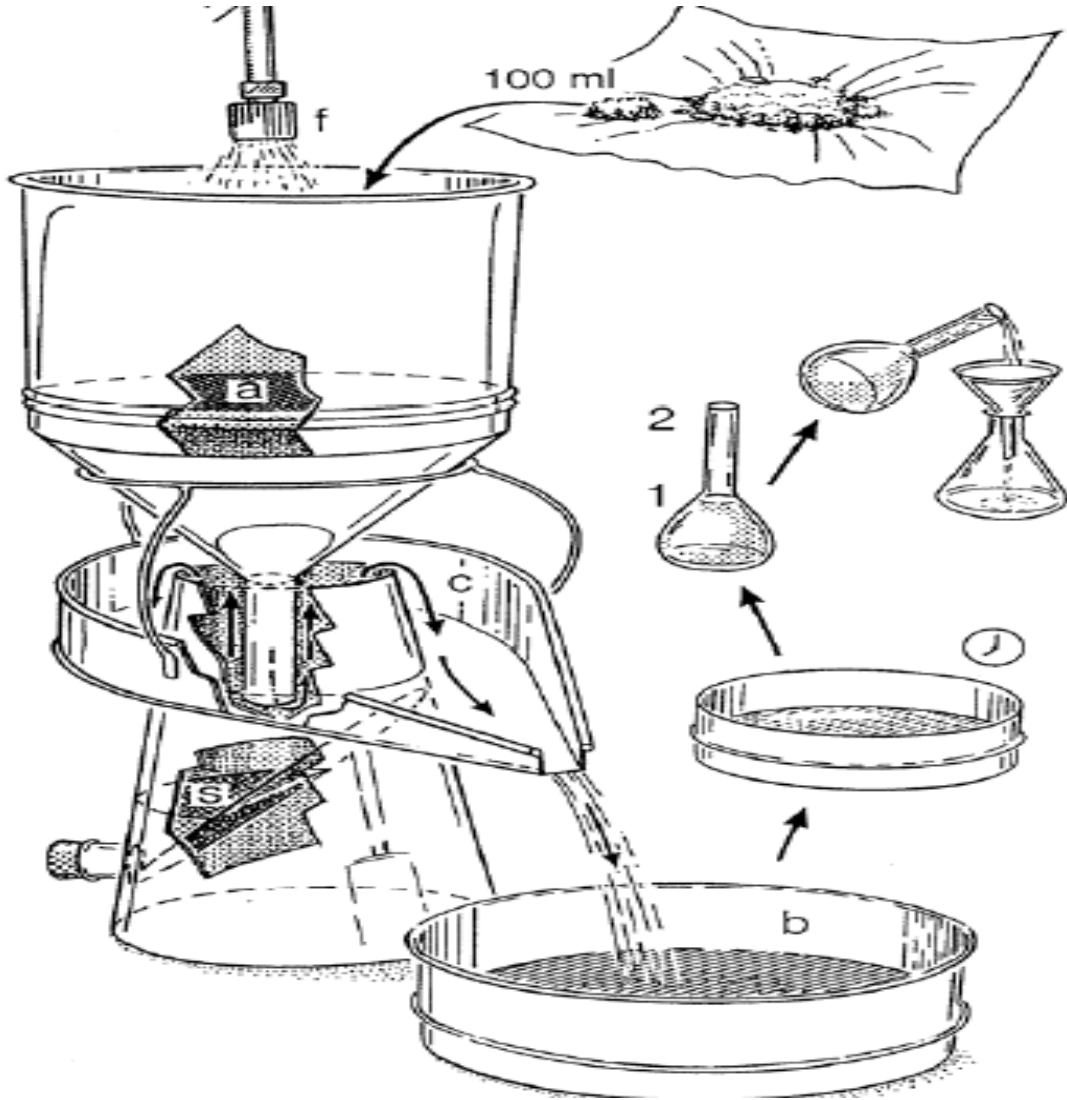
6/ طريقة فانويك Fenwick – can method

هذه الطريقة تستخدم لاستخلاص النيماتودا المتحوصلة Heterodera sp

طريقة العمل :

يملا جهاز فانويك بالماء الى ان يصل الى فوهته العليا وينسكب منه .

نأخذ 100 غرام من التربة المراد استخلاص النيماتودا المتحوصلة منها بحيث تكون التربة جافة وتوضع في القمع العلوي للجهاز . يفتح النازل العلوي ويسمح بدخول الماء وتبدء عملية الغسل التربة وفي اثناء عملية الغسل تزل التربة الى اسفل الجهاز ام الاكياس وبقايا النباتات الصغيرة تطفوا على سطح الماء وتجمع على المنخل الموجود بجانب الجهاز . يجمع المتبقي في المنخل ويفحص تحت المجهر .



جهاز فانويك لعزل النيماتودا المتحوصلة

ثانياً : العزل من النبات : وتتم بعده طرق

1/ الاستخلاص المباشر

ويتم بأخذ الجزء النباتي المصاب ووضعه في طبق بتري مفتوح الغطاء او زجاجة ساعة ويقطع النسيج وتستخرج النيماتودا بواسطة ابرة العزل وتفحص تحت المجهر .

2/ طريقة بيرمان / وهي تستخدم الاجزاء النباتية بدل من التربة وكما في خطوات طريقة العزل من التربة.

3/ طريقة تحضين الجذور: وهي تستخدم في حالة النيماتودا داخلية التطفل وتعتمد على هجرة النيماتودا من الداخل الى خارج الجزء النباتي . وتتم كالآتي : تؤخذ الجذور وتغسل جيداً من الاتربة وتقطع الى قطع صغيرة بحجم (5-10) سم واذا كانت سميكة تقطع طولياً لمساعدة النيماتودا على الخروج . تغرس الجذور بكمية مناسبة من الماء وتوضع في مكان مغلق ويضاف مضاد حيوي لتجنب التعفن وتترك لمدة اسبوع .

ملاحظة / نستخدم غالباً الاوعية البلاستيكية مع النيماتودا لان البلاستيك لايتأثر بدرجة حرارة المحيط