

الحلقات العلمية

الحلقة العلمية الأولى: الأنواع الغازية من الآفات: تحديد هويتها وإمكانية المكافحة

الحلقة العلمية الثانية: السياسة ومسائل تنمية في وقاية النبات

الحلقة العلمية الثالثة: إدارة الآفات دون اللجوء لمبيدات الآفات الكيميائية المصنعة

الحلقة العلمية الرابعة: التشخيص الجزيئي لأنواع الآفات التي تصيب النباتات

الحلقة العلمية الأولى: الأنواع الغازية من الآفات: تحديد هويتها وإمكانية المكافحة

S 1

اتفاقية وقاية النبات الدولية واستراتيجيات منع انتشار الأنواع الغريبة الغازية. جيفري جونز، ضابط زراعي في خدمة وقاية النبات، منظمة الأغذية والزراعة، روما، إيطاليا، البريد الإلكتروني: Jeffrey.jones@fao.org
تكوّن إتفاقية وقاية النبات الدولية (IPPC) رابطة شرعية لمعاهدة دولية حققت حديثاً التكاملاً ما بين 157 جهة موقعة. وتكون مهامها العمل الفعال الواسع لمنع انتشار ودخول آفات النباتات وآفات المنتجات النباتية، وتشجيع الإجراءات المناسبة لمكافحتها. ويكون مجال هذه الإتفاقية المحاصيل التجارية، وأيضاً تغطي الكائنات التي تهدد التنوع الحيوي والبيئة، ويمكن أن يتوسع عملها ليشمل النباتات غير المزروعة. وأدرجت الأنواع الغريبة الغازية (IAS) والكائنات الحية المحورة (LMOs) تحت إطار هذه الإتفاقية، واتسع المقياس الدولي لإتفاقية وقاية النبات الدولية بصورة واضحة لأجل قياسات الصحة النباتية (ISPMs) على تحليل مخاطر الآفات الذي هو عبارة عن اجراءات يمكن تطبيقها لتحديد أيها يكون ضرورياً لضمان استيراد النباتات والمنتجات النباتية وغيرها من السلع الخاضعة للمراقبة. يمكن التقليل من المخاطر التي قد تظهر نتيجة تداول أو الإدخال غير المقصود العائد من الأنواع الغريبة الغازية (IAS) بفاعلية من خلال التعاون الدولي، وتبادل المعلومات وتطبيق خيارات الإدارة التقنية الصحيحة المستمدة من تحليل مخاطر الآفة المستهدفة. وتدعم الأجهزة الناطمة الوطنية بقوة بواسطة آليات إقليمية متخصصة مناسبة (منظمات وقاية النبات الإقليمية)، وتوفر المتطلبات الأساسية كاستراتيجية أوسع لمنع انتشار الأنواع الغريبة الغازية (IAS).

S 2

آفات النباتات المتغيرة الحدود، فرص جديدة لاستراتيجيات المكافحة المتكاملة للآفات من خلال شبكة اتصالات دولية. بيتر كينمور، رئيس ضابط المكافحة المتكاملة للآفات، خدمة وقاية النبات، منظمة الأغذية والزراعة، روما، إيطاليا، البريد الإلكتروني: Peter.kenmore@fao.org

لأكثر من ثلاثين عاماً كان اندلاع فوعات معظم الآفات الرئيسة للنباتات (الأمراض، الأعشاب والفقاريات) نتيجة تكثيف الإنتاج أو حركة الآفات العابرة للحدود. وقد وجهت أعداد كبيرة من برامج المكافحة المتكاملة للآفات ونفذت تجاه الكثير منها في بلدان عديدة بصورة فاقت الأعوام السابقة، وبخاصة تجاه الآفات العابرة الحدود. وخلقت تقانات المعلومات ولا سيما المعتمدة على الأنترنت إمكانية تطبيقية، وأسهمت في تعلم الدروس، وتحديد العوامل الحرجة وبالتالي إدارة وتقدير النتيجة البيئية للبرامج المتداولة. وقد حققت هذه البرامج نجاحاً في حماية الإنتاج المرتفع، وخفضت من أخطار المبيدات. وتعكس المعاهدات الدولية حول استخدام المبيدات والكائنات المدخلة كموامل المكافحة الحيوية اجماعاً عالمياً متتامياً ولا سيما حول صحة الانسان وحماية البيئة بصورة أفضل. طورت التقانات الحديثة تطبيقات الدواء الانساني والحيواني، وأمكن تطبيقها بصورة أوسع على الآفات النباتية. وتمثل دراسة استراتيجيات المكافحة المتكاملة للآفات العابرة للحدود بما فيها خنافس أوراق جوز الهند في آسيا والمحيط الباسيفيكي، وصدأ فول الصويا في أفريقيا وآسيا وأمريكا الجنوبية وأمريكا الشمالية، وأمراض الذبول البكتيري للموز في أمريكا اللاتينية وأفريقيا وآسيا، ونطاطات الرز في آسيا أمثلة رائدة في التحديد المبكر، وطرائق مساهمة المزارعين، وتحليل النظام البيئي، وتقدير تأثير البرامج. وستكتشف فائدة هذه الخبرات تجاه الآفات العابرة للحدود في الشرق الأوسط وشمال أفريقيا، مثل: سوسة النخيل الحمراء وفيروس التريستيزا على الحمضيات/الموالح.

الحلقة العلمية الثانية: السياسة ومسائل تنموية في وقاية النبات

S 3

أهمية بحوث الأمان الحيوي للمحاصيل والأغذية في منطقة الشرق الأدنى. ماريا لودوفيك غولينو، مركز الكفاءة للإبداع في القطاع الزراعي البيئي، جامعة تورنتو، 44 Via Leonardo da Vinci، 10095 Grugliasco، إيطاليا، البريد الإلكتروني: marialodovica.gullino@unito.it
تعد الزراعة والقطاعات المتصلة بها مهمة للاستقرار الاجتماعي، الاقتصادي والسياسي لأي بلد. وقد يؤدي الخلل في الأنشطة الزراعية إلى نتائج لقتصادية واسعة الانتشار في قطاع الغذاء والألياف. وفي أوروبا كما في العالم أيضاً، كُرس معظم الانتباه لأحداث الإرهاب الحيوي التي تستهدف صحة الإنسان، وتم تأسيس لجنة عمل في المفوضية الأوروبية للإرهاب الحيوي. ولا تزال الأنشطة البحثية المنفذة في مجال الإرهاب الزراعي محدودة جداً، ويتوقع حصول زيادة كبيرة بالاهتمام. فمن ناحية يتوقع أن يزيد الاتحاد الأوروبي، من خلال برنامج إطار العمل السابع، وغيره من الهيئات أيضاً من استثماراتها في بحوث الأمان الحيوي. ومن ناحية أخرى يزداد عدد العلماء المهتمين بموضوع الأمان الحيوي المحصولي. ويعتد التعاون، على

مجال كوني، مهماً وأساسياً للتصدي للمشكلة عالمياً، ذلك أن الممرضات والآفات تتجاوز الحدود ولا تعترف بها. وستتم مناقشة أهمية البحوث في هذا المجال في منطقة الشرق الأوسط، وعلاقة ذلك بتطوير سياسات فاعلة.

S 4

برنامج دعم التعاون البحثي كموديل للتنمية التقنية ونقلها في الدول العربية مع تركيز خاص على وقاية النباتات.
أ.أ. هنريشس، قسم الحشرات، جامعة نبراسكا، لنكولن، NE 68583-1816، الولايات المتحدة، البريد الإلكتروني: eheinric@vt.edu

يطور برنامج دعم التعاون البحثي في مجال مكافحة المتكاملة للآفات ويستخدم اتجاهات في مكافحة المتكاملة تسهم في رفع مستوى المعيشة وتحسن البيئة في الدول حول العالم. ويرتكز هذا البرنامج على (1) النهج التشاركي في مكافحة المتكاملة للآفات، (2) تأسيس شبكات الاتصال، (3) بناء القدرات/المؤسسات، (4) تطوير البحوث والتقني (5) نقل التقنيات. وتتصدى البرامج الإقليمية في آسيا الوسطى وشرق أفريقيا، وغرب إفريقيا، وأمريكا اللاتينية/الكاريبي، وأوروبا الشرقية، وجنوب آسيا وجنوب شرق آسيا للمشكلات الخاصة بالمنطقة والمواضيع العالمية، كالأصناف الغازية، تقنية المعلومات وقواعد البيانات المختبرات الإقليمية للتشخيص، الفيروسات المنقولة بالحشرات، وتقديرات التأثير. وينصب معظم التركيز على محاصيل الخضار وثمار الفاكهة.

S 5

تطوير وتقييم مخاطر المحاصيل المحورة وراثياً. مايكل باوم ومجدي مذكور، المركز الدولي للبحوث الزراعية في المناطق الجافة، ص.ب. 5466، حلب، سورية، البريد الإلكتروني: m.baum@cgiar.org
يعمل المركز الدولي للبحوث الزراعية في المناطق الجافة (إيكاردا) على استغلال إمكانية استخدام الهندسة الوراثية للحصول على نباتات محسنة متحملة للفطريات أو مقاومة للجفاف وللإجهادات غير الحيوية الأخرى. بدأ العمل بتحويل الحمص والعدس بالتعاون مع جامعة هانوفر (بألمانيا)، كما بدأ بالعمل في تحويل الحبوب (النجليات) بالتعاون مع معهد البحوث الزراعية في الهندسة الوراثية (AGERI) ومركز التقانات الحيوية (CBS) في صفاقس بتونس. بمجرد الحصول على المنتجات الأولى لعملية التحويل الوراثي يجب أن يتم تقييم المخاطر وتحديد آلية أو استراتيجية محددة لإدارتها (لإدارة المخاطر). تتوضع دول الهلال الخصيب في مركز التنوع الوراثي للعديد من محاصيلنا الزراعية (الشعير، القمح، العدس والحمص) والتي تتميز أغلبها بأنها ذاتية الإخصاب وإن نسبة التلقيح الذاتي فيها منخفضة (من 0-2%). تجري دراسات لتحديد القيمة الدقيقة لتدفق المورثات وذلك بهدف تطوير العلم المعتمد على آلية تقييم المخاطر. تتطلب عملية نشر المحاصيل المحورة إلى مناطق خارج مركز نشوء التنوع الوراثي (مثل شمال أفريقيا وجنوب آسيا) اتباع استراتيجية مختلفة. لهذا السبب، يتم تشجيع ودعم خطة عمل للأمان الحيوي ولشروط الأمان الحيوي التي تسمح باختبار المحاصيل المحورة وراثياً في دول خارج منطقة مركز نشوء التنوع الوراثي.

S 6

الإدارة المتكاملة للآفات والزراعة العضوية. محمد السعيد صالح الزميتي، قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة عين شمس، ص.ب. 68، حدائق شبرا، 11241 القاهرة، مصر، البريد الإلكتروني: mselzemaity@hotmail.com
تزايد الاهتمام بالزراعة العضوية وزاد انتشارها في السنوات الأخيرة ليس على المستوى العالمي فحسب، بل على المستوى العربي أيضاً. وهي نظام للانتاج تستخدم فيه العمليات أو المواد المعززة لحيوية التربة، لحياء وصحة النبات و الحيوان، و المستهلكين والمزارعين أيضاً. وترتكز مبادئ الزراعة العضوية على انتاج الغذاء بأسلوب مستدام لا تستخدم فيه الكيماويات سواء في مرحلة الإنتاج أو مابعد الحصاد. وتزايدت مبيعات المنتجات العضوية بصفة عامة وتزايد الطلب عليها بنسبة 20% في المتوسط منذ عام 1990. ويحكم انتاج المحاصيل العضوية و مكافحة آفاتاتها مقاييس صارمة وقواعد يفرضها الاتحاد الدولي لحركات الزراعة العضوية IFOAM والقوانين الوطنية. ولسوء الحظ فإن تعزيز جودة التربة والعمليات الزراعية لا تكون دائماً فعالة لمكافحة الآفات في الزراعات العضوية، ولذا فإن الإدارة المتكاملة للآفات IPM تعتبر أساسية في هذا المجال حيث أنها توفر إلي مدى بعيد تقنيات وعمليات تجنب أو تقلل الضرر الناشئ عن الآفات لأقل حد ممكن بدون التضحية بجودة التربة، المياه، أو الكائنات النافعة. وبالتالي، فإن الـ IPM ليست فقط استراتيجية لإدارة الآفات، ولكنها إنتاج مستدام للمحاصيل مبني علي التحليل والأسس البيئية. ومع ذلك، يعترض هذه التقنية بعض التحديات أو المعوقات التي ينبغي إدراكها، ومنها: (1) لاتزال الـ IPM غير مدركة أو مسلم بها بدرجة مناسبة كسياسة أو كحل لبعض المشاكل، كما أنها تحتاج لاهتمام أكبر علي المستوى الشخصي وخاصة في الدول النامية؛ (2) يتطلب تنفيذ النظام جهداً وعملاً مكثفاً قد لايتوافران علي النطاق الواسع؛ (3) قد يواجه المزارعون في بعض السنين بأضرار للنبات وانتاج أقل بصورة أكبر مما هو متوقع؛ (4) قد لا تتوفر طريقة أو مادة لمكافحة غير الكيماوية لبعض الآفات (الحشرية، العشبية، أو مسببات الأمراض)؛ و (5) محدودية

التمويل المالي للبحوث. ولاشك أن هناك حاجة للتغلب على مثل هذه المعوقات وتحسين فعالية برامج الـ IPM من خلال فهم أفضل للنظام البيئي للمحصول سواء فوق أو تحت سطح التربة، وذلك علاوة على الحاجة لإيجاد برامج محسنة جديدة للزراعة العضوية في بيئات المحاصيل المشجعة لتطور الآفات، والأخذ بميزة الفرص التسويقية للمنتجات الزراعية. كما أنه يلزم التأكيد على دور تدريب المزارعين العضويين أو مجموعات المزارعين كمقوم أساسي في تعلم وتنفيذ العمليات أو الإجراءات الجديدة.

S 7

الوضع الراهن للتطعيم الخضري كبديل لبروميد الميثيل. محمد البصري، معهد الحسن الثاني للزراعة والبيطرة، ص.ب. 6202، الرباط، المغرب، البريد الإلكتروني: m.besri@iav.ac.ma

يعد التطعيم واحداً من التقاني الواعدة المستخدمة كبديل لبروميد الميثيل. ويستخدم التطعيم أصولاً مقاومة لوقاية الخضراوات الحساسة من الفطور المنقولة مع التربة (*Verticillium dahliae*, *Pyrenochaeta lycopersici*, *Meloidogyne spp.*). وبالإضافة لمكافحة الممرضات المنقولة مع التربة، فإن للتطعيم الخضري أيضاً أعراض عديدة أخرى كتحفيز النمو وزيادة الغلة، وتحمل درجات الحرارة المنخفضة، وزيادة فترة النمو ونوعية الثمرة. وهذه التقنية، التي كانت تعتبر باهظة التكاليف، تستخدم حالياً تجارياً على نطاق واسع في عديد من الدول النامية والمتقدمة نظراً لانخفاض أسعار الشتول المطعمة، وانخفاض كثافة النباتات المطعمة/هكتار وزيادة الغلة كماً ونوعاً. وفي الزراعة المحمية للبندورة/الطماطم فإن الكثافة النباتية للشتول غير المطعمة والمطعمة في الهكتار الواحد هي في حدود 20,000 (ساق واحد/نبات) و 10,000 (ساقين/نبات). وعند استخدام النباتات المطعمة، يمكن الحصول على الغلة نفسها أو حتى على بكثافة نباتية تعادل النصف. كما أن النوعية معبر عنها بالنسبة المئوية للإنتاج المصدر تكون أعلى أيضاً. وفي العديد من الدول، نجد أن معظم إنتاج الخضراوات، وبخاصة في الزراعات المحمية هو من نباتات مطعمة إذ أن 100% من البطيخ الأحمر في إسبانيا هو من نباتات مطعمة، وبهذه التقنية أمكن استبعاد بروميد الميثيل. على أن الاستخدام التجاري الواسع للتطعيم قد يكون محدوداً بتوافر الأصول المتحملة للممرضات المحلية. كما أن مقاومة الأصل قد تكسر بظهور سلالات جديدة من الممرض، وتحت الظروف المناخية كدرجات الحرارة العالية والملوحة.

S 8

استعمال البدائل الكيميائية لمبيدات الآفات المصنعة للمحافظة على صحة النباتات في محاصيل البطاطا/البطاطس المكثرة بالطريقة الخضرية/ الكلونيات. إدوارد راد كليف، قسم الحشرات، جامعة منيسوتا، سانت بول، مينيسوتا، 55108-6125، الولايات المتحدة الأمريكية، البريد الإلكتروني: DADCL001@umn.edu

تعد الفيروسات المنقولة بحشرات المنّ السبب الرئيس لرفض لوطات بذور البطاطا/البطاطس أو خفض درجتها لإعادة التصديق. ويميل الزراع لاعتبار مبيدات الحشرات خط دفاعهم الأول ضد انتشار الموسم الحالي لفيروسات البطاطا/البطاطس في بذور البطاطا/البطاطس على أن استعمال هذه المبيدات لا يعطي الفائدة المرجوة في الحدّ من انتشار الفيروسات. وتستطيع مبيدات الحشرات منع انتشار فيروس النفاق أوراق البطاطا/البطاطس من مصادر ضمن الحقل نظراً لامتداد فترة سكون الاكتساب لهذا الفيروس المنقول بالطريقة المثابرة. على أن حشرات المنّ المصابة بالفيروس لا تقتل بالسرعة الكافية لمنع انتقال الفيروس المذكور حتى عند وجود بقايا المبيد القاتل للمنّ. وكافة فيروسات البطاطا/البطاطس الأخرى تنتقل أثناء بحث المن عن الغذاء خلال عدّة ثواني، الأمر الذي يجعل هذه المبيدات ذات أهمية ضعيفة. وتشمل البدائل غير الكيميائية لمكافحة الفيروسات سياسات لتخفيض التعرض للإصابة مثل تحديد جيل إكثار البذور، التفتيش الحقل الصيفي والاستئصال للحدّ من مصادر لقاح الفيروس ضمن الحقل، والإكثار خارج المواسم لتحت نماذج ممثلة من لوطات البذور وعدم تصديق تلك اللوطات التي يكون الفيروس فيها أعلى من الحد الحرج، والعزل الفراغي لإنتاج البذور بعيداً عن مصادر الفيروسات والضغط العالي للنقل، والاجتناب المؤقت للنواقل بما في ذلك القتل المبكر للعروش الخضرية المصابة والتحكم بالبيئة لخفض أعداد الناقل. ويمكن استعمال تغطية الخطوط لحماية الأجيال المبكرة من إكثار البذور. وزراعة شريط من المحصول بعرض 3م حول حقول الإكثار، كما أن الوصول إلى نمو متجانس ضمن الحقل يقلل من استعمار المنّ للمحصول. ويمكن باستخدام الزيوت الزراعية الحدّ من انتقال الفيروسات غير المثابرة كفيروس البطاطا Y، في حين أن استخدامات مبيد آفات على أطراف الحقل عند بدء عمليات الغزو قد تقلص كثيراً من استخدام المبيدات وتكلفتها، مع المحافظة على الأعداء الطبيعية.

S 9

المكافحة الميكروبية للآفات الحشرية: هل هي بديل فاعل وأمين بيئياً؟ منير الحسيني، مركز مكافحة البيولوجية/الأحيائية، كلية الزراعة، جامعة القاهرة، الجيزة، مصر، البريد الإلكتروني: biologicalcontrol@hotmail.com

تستخدم بعض الفيروسات والبكتيريا، والفطور المرضية للحشرات كبداية لمبيدات الآفات التقليدية في مكافحة الميكروبية للآفات الحشرية. ولا يجب تعميم استخدامها إذ لكل آفة حالتها الخاصة. وقد أثبتت حالات محددة نجاح وفعالية الفيروسات المرضية للحشرات في مكافحة بعض آفات أشجار الغابات من حرشيات وغشائيات الأجنحة في أوروبا والمدخلة منها إلى أمريكا وكندا، كذلك في مكافحة دودة ورق القطن، فراشة درنات البطاطس/البطاطا، ودودة الشمع الكبيرة. وهذه الفيروسات متخصصة على الحشرات المستهدفة ووجدت أمينة على الثدييات والبيئة وهذه. كذلك أثبتت البكتيريا *Bacillus popilliae* نجاحاً كبيراً في مكافحة الخنافس اليابانية بمعاملة واحدة للتربة إمتد تأثيرها لعشرة سنوات متتالية، ويختص كل من تحت الأنواع الرئيسية الثلاثة للبكتيريا *B. thuringiensis* في إصابة يرقات رتبة محددة حيث يختص *B.t. kurstaki* بحرشيات الأجنحة، *B.t. israelensis* بذات الجناحين، *B.t. tenebrionis* بغمديات الأجنحة. وتعتمد المستحضرات التجارية على الأنماط التي لا تنتج السم الخارجي exotoxin لأنه سم عام غير متخصص يهدد الإنسان وكافة الكائنات في التربة وبالتالي فهو غير آمن بيئياً. أما بالنسبة للفطور، فيقتصر استخدام بعضها تحت ظروف الرطوبة العالية والحرارة اللازمين لإنبات الأبواغ/الجراثيم الكونيدية والتي تتوافر في الزراعات المحمية تحت الفيئات الزجاجية لمكافحة المنّ والتربس والذباب الأبيض. كما ينجح استخدامها ضد الآفات الحشرية في المناطق المدارية وتحت المدارية كما في مكافحة آفات الكاكاو في البرزيل. وقد تسبب بعض الفطور حساسية للإنسان، ونظراً لعدم تخصصها فهي تصيب الحشرات غير المستهدفة من الحشرات، المتطفلات والمفترسات البالغة تحت ظروف التطبيق الحقلية، والفطور ذات تخصص ضعيف وقد تشكل خطراً للتنوع الحيوي.

S 10

الجاذبات واستراتيجية القتل: اتجاه أمين واعد لإدارة الآفات يمكنه الاستغناء عن استعمال مبيدات الآفات المصنعة. علي رسمي، قسم وقاية النبات، المركز القومي للبحوث، الدقي، القاهرة، مصر، البريد الإلكتروني: aly_rasmy@hotmail.com

يناقش الباحث النهج التستعمل محفزات الحشرات للتأثير في سلوك الآفات. ويلقي الباحث الضوء على الكيفية التي يتم فيها جمع محفزات الحشرات مع طرائق أخرى أمينة في استراتيجيات مكافحة متكاملة لزيادة فاعلية هذه الاتجاهات. إن المكونات الرئيسية لهذه الاستراتيجيات هي مراقبة الآفات، المماكبت الكيميائية، مقاومة النبات العائل، المحاصيل الصائدة والمبيدات الانتخائية و استراتيجية القتل أو عوامل مكافحة البيولوجية/الأحيائية. ويتم دمج هذه المكونات تحت مصطلح استراتيجية الجاذبات والقتل أو استراتيجية الدفع والسحب. وينبغي أن يستمر البحث لدراسة الكيفية التي تنتج الحشرات فيها بإنتاج الفيرومونات وكيف تقوم هذه الأخيرة بإحداث استجابة وتأثيرات هذه الاستجابات.

الحلقة العلمية الرابعة: التشخيص الجزيئي لأنواع الآفات التي تصيب النباتات

S 11

التشخيص الجزيئي للممرضات الفطرية. إ.إ. بابوماتس، مختبر أمراض النبات، جامعة أثينا الزراعية، 11855 أثينا، اليونان، البريد الإلكتروني: epaplom@aua.gr

ساهمت التطورات الحديثة في البيولوجيا الجزيئية في تشخيص الممرضات الفطرية في النباتات من خلال إيجاد طرائق جديدة متقدمة تسمح بالكشف السريع وبالتحديد الكمي والنوعي للكائنات الموجودة. وعلى الرغم من تطبيق التشخيص الجزيئي واستخدامه على فطور من بيئات متنوعة إلا أن تطبيقه على الممرضات من الأنظمة البيئية الأرضية كان محدوداً وذلك بسبب تعقيد الظروف البيئية المحيطة بهم وخاصة بالنسبة للممرضات المنقولة بالهواء. لقد تم خلال السنوات الماضية تطوير العديد من الآليات (الطرق) التقليدية المتباينة في درجة كفاءتها وذلك بهدف كشف للممرضات الفطرية التي تنتقل عن طريق التربة وتعريفها وتوصيفها. تعتبر طريقة تنمية الكائنات على بيئات انتخائية متخصصة من أكثر الطرق استخداماً في هذا المجال فهي تهدف لاستبعاد أغلب كائنات التربة والاحتفاظ بالفطور المرغوبة فقط. ولكن على الرغم من ذلك، فقد كان التعامل مع فطور التربة يمثل دائماً تحدياً كبيراً بسبب تعقيد الظروف البيئية التي توجد فيها هذه الكائنات. لقد ثبت في كثير من الحالات بأن الحصول على الكائنات (الفطور) من أوساط انتخائية ليست مستقلة أي أنها تتأثر بعوامل متعددة، فعلى سبيل المثال قد يستبعد الكائن المستهدف أو يمنع من النمو بسبب وجود منافس أفضل منه على البيئة الإنتخائية، كما أن الموصفات الشكلية للكائنات يمكن أن تكون مشتركة ما بين عدة أنواع بالإضافة إلى أن تحيز الباحث هو عامل مهم في هذا النوع من التجارب وبالتالي فإن مجموع هذه العوامل تؤثر في النتائج المستخلصة من هذه الدراسة. بناءً على ما تقدم، كان لا بد من اللجوء للتقنيات الجزيئية بهدف تشخيص فطور التربة. لقد انتشرت تقنيات الـDNA لتطال الكشف (التعرف) عن الممرضات

الفطرية التي تعيش في بيئات متنوعة مثل: داخل (ضمن) الأنسجة النباتية، على سطح الأوراق، في البذور، في مياه الري وقد تم دعمها بدراسة بعض الخصائص النوعية مثل السمومية والمقاومة للمبيدات، بالإضافة إلى أنه قد تم استخدام تقنيات التشخيص الجزيئي في كشف أنواع عديدة من الفطور في الحجر الفطري. كانت الايزوزيمات ومسابر الـDNA من أوائل المؤشرات الجزيئية التي استخدمت في الكشف والتمييز ما بين الأنواع الفطرية المختلفة، ومن ثم أتى التشخيص الجزيئي المعتمد على التفاعل التسلسلي للبوليميراز ليسرع عملية التمييز من خلال إيجاد طرائق للكشف أكثر سرعة وأكثر حساسية. يمكن التمييز ما بين الفطريات على مستوى الأنواع من خلال تصميم بادئات تتعرف على مناطق مختارة تتصف بأنها مقاطع من الـDNA (محفوظة-متشابهة) ما بين الأنواع مثل وحدات المورثات المسؤولة عن الـrRNA ومن ثم تستكمل العملية بتوصيف قطعة الـDNA التي تتم مكائرتها بتلك البادئات. لقد أصبحت وحدات المورثات المسؤولة عن الـrRNA معروفة ومستخدمة جداً وذلك لعدة أسباب، فهي توجد بعدد من النسخ يصل لعدة مئات في المجين (الجينوم)، كما أنها مكونة من مناطق محفوظة جداً ومناطق مختلفة. لقد تم استخدام المقاطع المأخوذة من تحت الـrRNA في عمليات التصنيف وفي الدراسات الوراثية، في حين استخدمت المناطق المحفوظة سواء من المنطقة الداخلية المنسوخة (ITS) أو المنطقة الفاصلة بين المورثات (IGS) كهدف للكشف عن الفطور. لقد تم تطوير تقنيات البصمة الوراثية المعتمدة على الـPCR مثل (AFLP، SSR، RAPD) ذات الحساسية والدقة العالية في عملية التشخيص. حديثاً تم تطوير تقنية مصفوفات الـDNA المعروفة أيضاً بالشريحة (الرقيقة) أو رقيقة الـDNA وهي تهدف لمسح كامل المجين والتعرف عليه على رقيقة أو شريحة واحدة، وقد أصبحت هذه التقنية متاحة وقابلة للتطبيق في مجال التشخيص الجزيئي للفطور. يتم تصنيع رقائيق الـDNA بطريقة آلية سريعة جداً، وعادة تكون من الزجاج، وتتم عليها عملية تهجين جزيئي ما بين مسابر متخصصة ومقاطع الـDNA الهدف المكتملة لها. بهذه الطريقة، يتم بشكل متواز كشف وتحديد عدد كبير من المورثات في عدة أنواع من الكائنات الدقيقة. إن التجارب مع شريحة أو رقيقة واحدة من الـDNA يمكن أن يزودنا بمعطيات ومعلومات هائلة عن عدد كبير من المورثات بشكل متزامن. تسلط هذه المحاضرة المرجعية الضوء على تطبيق عدة تقنيات بهدف التشخيص الجزيئي للممرضات الفطرية، وهي تعتمد أساساً على المعلومات التي وجدت في المقالات بالإضافة إلى معطيات البحث الشخصي للكاتب.

S 12

التشخيص الجزيئي للبكتيريا الممرضة للنبات. سيمون وولر، جون إيفنستون، نيل باركينسون وريتشارد ثوابيس، مخبر العلوم المركزي، Sand Hutton، York، Y041 1LZ، المملكة المتحدة، البريد الإلكتروني: s.weller@csl.gov.uk
لقد أعطت تجارب التفاعل التسلسلي للبوليميراز PCR المعتمدة على تحليل مخطط الزمن الحقيقي وبوجود (صبغات أو ملونات) متوهجة وعوداً كبيرة لتشخيص البكتيريا الممرضة للعديد من النباتات. تؤدي عملية تكرار دورات التفاعل التسلسلي للبوليميراز في هذا النوع من التجارب لمكائثة نواتج هذا التفاعل (والتي هي الـDNA) بشكل كبير يترجم بزيادة كثافة التوهج ومن ثم يتم التقدير الكمي لقطعة الـDNA المتخصصة (النوعية) والتي هي الهدف من خلال تحليل مخطط الزمن الحقيقي لمراحل التفاعل. يسمح هذا النوع من التحاليل بغرلة وتحليل عدد كبير من العينات وذلك بسبب عدم الحاجة لخطوات تتبع عملية الـPCR (مثل استخدام الهلامات في عملية الرحلان الكهربائي). تم تطوير التجارب التي أجريت على *Ralstonia solanacearum*، *Agrobacterium spp.* و *Xanthomonas fragariae* في مخبر العلوم المركزي (CSL)، في حين طوّرت التجارب المتعلقة بـ *Clavibacter michignensis ssp. sepedonicus* و *Erwinia amylovora* في مكان آخر. إن الخطوة الأساسية (المفتاحية) في تطوير أي اختبار هي الاختيار المناسب لمقطع الـDNA الذي سيستخدم كهدف وكذلك تطوير تقنية مناسبة لاستخلاص الـDNA من المادة النباتية مباشرة. لقد تم حديثاً في CSL تصميم تجربة التفاعل التسلسلي للبوليميراز بالزمن الحقيقي التي سمحت بكشف وتحديد بكتيريا التبقع الزاوي على أوراق الفريز *Xanthomonas fragariae* (xf) ذلك باستخدام معطيات لمقاطع DNA مأخوذة من المورثة *gyrase B*. على الرغم من وجود هذه المورثة في جميع أنواع البكتيريا، إلا أن الدراسة التي أجريت لمقارنة مقاطع من هذه المورثة في أنواع بكتيرية قريبة من بعضها البعض قد سمحت بالعثور على مقاطع معينة يمكن استخدامها كمسابر نوعية أو كبادئات PCR متخصصة بالبكتيريا *Xf*. لقد سمحت عملية الجمع ما بين هذه التقنية RT-PCR والطريقة السريعة والحساسة في استخلاص الـDNA بكشف الكائن الممرض عند وجوده بمعدل 10^3 خلية في وسط التفاعل - على مستوى مجتمع بمرحلة كمون العدوى بالبكتيريا *Xanthomonas fragariae*.

S 13

التشخيص الجزيئي للفيتوبلازما. كريستينا مارشازي، معهد الفيروسات النباتية، المركز الوطني للبحوث، سترادا دلا كاكسي، 73، تورينو، إيطاليا، البريد الإلكتروني: marzachi@ivv.cnr.it
الفيتوبلازما كائنات لا يمكن زراعتها، وهي ممرضات تفتقر إلى جدار خلوي ومحدودة على اللحاء، وتنتقل بالطريقة المثابرة بواسطة نطاطات الأوراق ونطاطات النباتات (رتبة غشائيات الأجنحة وفصيلة Auchenorrhyncha) وأنواع البسيلا (رتبة غشائيات الأجنحة وفصيلة Sternorrhyncha) وتترافق هذه الكائنات مع أمراض تصيب عديداً من الأنواع النباتية البرية

والمنزوعة، التي تنتمي لفصائل مختلفة، محدثة أوبئة اقتصادية مهمة في أصقاع العالم. ويتوقف استعمار الفيتوبلازما للنبات على الفصل، العضو، ونوع العائل والممرض، وتؤدي إلى أعراض مختلفة نظراً لتداخلات معقدة مع فيزيولوجية العائل. ويعدّ التشخيص الدقيق لهذه الممرضات مهماً لإدارة الأمراض المرافقة للفيتوبلازما. والفيتوبلازما صعبة الكشف نظراً لتركيزها المنخفض، وبخاصة في العوائل الخشبية، وتوزّعها غير المنتظم في النباتات المصابة. ويمكن حالياً تشخيص هذه الكائنات بصورة روتينية بنقاني مرتكزة على الحمض النووي، وبخاصة تقنية PCR. ويمكن الحصول على مستحضرات الحمض النووي DNA الكلي من نوعية جيّدة والغني بـ DNA من الفيتوبلازما بتضمين خطوة إغناء بالفيتوبلازما تتطلب وقتاً كبيراً، علماً أنه تم تطوير بروتوكولات أبسط باستخدام أعمدة ميكروسين تجارية. ويمكن الوصول إلى كشف الفيتوبلازما بنجاح في النواقل الحشرية بإجراءات استخلاص أسرع للـ DNA الكلي، وقد يكون ذلك عائداً إلى معدل عالٍ من البكتيريا في جسم الحشرة. وقد تم تحديد بادئات عامة متخصصة بالفيتوبلازما مثل 16SrRNA و 16S-23S للفيتوبلازما المنتمة إلى مجاميع سلالات مختلفة. وتعدّ البادئات المرتكزة على تنالي الريبوزومات الأكثر استخداماً في التشخيص الروتيني للفيتوبلازما. كما تم أيضاً استهداف بادئات شائعة وأخرى خاصة بمجموعة معينة لتتالي مورثات أخرى، ولتتالي بدون أي وظيفة ولتتالي البلازميدات الموجودة في الفيتوبلازما. ويتضمن التشخيص الروتيني عادة استخدام PCR العشي. كما تم حديثاً اقتراح تقنيات أخرى مثل RT-PCR, real time PCR, PCR-ELISA وغيرها.

S 14

التشخيص الجزيئي للفيروسات النباتية. خالد مكوك و صفاء قمري، المركز الدولي للبحوث الزراعية في المناطق الجافة (إيكاردا)، ص.ب. 5466، حلب، سورية، البريد الإلكتروني: k.makkouk@cgiar.org

يعتبر التشخيص الدقيق للفيروسات الأساس لاجاد الحلول العملية المناسبة لإدارة الأمراض الفيروسية النباتية. أسهمت التطورات الحديثة في مجال علوم التقنيات الحيوية والبيولوجيا الجزيئية بدور فاعل في تطوير اختبارات تشخيصية سريعة وذات حساسية عالية. يعد اكتشاف اختبار اليزا (ELISA)، الذي يعتمد على استخدام الأجسام المضادة وحيدة أو عديدة الكون، خطوة فاعلة في زيادة الدقة والحساسية عند تشخيص الفيروسات. كما أن تطوير اختبار بصمة النسيج النباتي (TBIA)، وهو أحد تحويلات اختبار اليزا، أدى إلى تسهيل عملية التشخيص وتقليل تكلفته، وسمح استخدامه بالكشف عن الفيروسات في الأماكن التي تكون فيها الإمكانات قليلة أو معدومة. وسرّع اختبار الكروماتوغرافيا المناعي (ICA) - وهو تحويل آخر لإختبار اليزا - عملية تشخيص الفيروسات، حيث يمكن الحصول على النتيجة خلال 10-15 دقيقة مقارنة بـ 2-3 ساعات لإختبار بصمة النسيج النباتي؛ إلا أن تكلفة اختبار الكروماتوغرافيا المناعي أعلى بكثير من تكلفة اختبار بصمة النسيج النباتي. وقد شكل تطوير الاختبارات التي تعتمد على الحمض النووي بعداً آخر في مجال تشخيص الفيروسات، ومن أكثرها شيوعاً إختبارات تهجين الحمض النووي المكمل (cDNA hybridization) والتفاعل المتسلسل للبوليمراز (PCR) اللذين أديا إلى الكشف عن تركيزات منخفضة جداً من الفيروسات. بالإضافة لذلك، وجد بأنه يمكن استخدام التفاعل المتسلسل للبوليمراز لتأكيد نتائج اختبار بصمة النسيج النباتي، وذلك عن طريق إعادة قص مقاطع النباتات المفحوصة باختبار بصمة النسيج النباتي ومن ثم فحصها مرة أخرى بالتفاعل المتسلسل للبوليمراز. هذا، وقد نجحت هذه الطريقة في تشخيص الفيروسات ذات الحمض النووي من النوع RNA أو من النوع DNA. علاوة على ذلك، فقد تم عزل الأحماض النووية للفيروسات (DNA و RNA) من مقاطع النباتات المطبوعة على أغشية النيتروسيليلوز، وكانت تمثل عينة جيدة لتضاعف الحمض النووي للفيروس عن طريق التفاعل المتسلسل للبوليمراز متبوعاً بعمليات الكلونة ومن ثم دراسة تسلسل القواعد النيتروجينية للحمض النووي فيما بعد. وتعتبر هذه الطريقة مفيدة جداً لتحديد هوية فيروسات أو سلالات فيروسية جديدة.