

استخدام طرق تشريحية للكشف عن الفايتوبلازما وتحديد انتشارها في بعض المحاصيل ونباتات الأدغال/الأعشاب في المنطقة الوسطى من العراق

فرقد عبد الرحيم الراوي، فضل عبد الحسين الفضل ورفقي عاكف العاني

قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، أبو غريب، بغداد، العراق

الملخص

الراوي، فرقد عبد الرحيم، فضل عبد الحسين الفضل ورفقي عاكف العاني. 2001. استخدام طرق تشريحية للكشف عن الفايتوبلازما وتحديد انتشارها في بعض المحاصيل ونباتات الأدغال/الأعشاب في المنطقة الوسطى من العراق. مجلة وقاية النبات العربية. 19: 3-11.

أجريت هذه الدراسة لاختبار كفاءة عدد من الطرق التشريحية المعمدة في الكشف عن الفايتوبلازما بغية تحديد أكثرها سهولة في التطبيق واعتمادها للتحري عن الفايتوبلازما ومتابعتها في النباتات المصابة. أظهرت النتائج أن المجهر الإلكتروني هو أكثر الطرق كفاءة ودقة في هذا المجال إذ أن مشاهدة خلايا الفايتوبلازما دليل لا يقبل الشك على وجودها مرفقة لأعراض الإصابة: إلا أنه أمكن، باستخدام صبغة داين والمجهر الضوئي واستخدام صبغة دابي (DAPI) والمجهر الإستشعاعي، التوصل إلى تشخيص دقيق، لا يقل كفاءة عن المجهر الإلكتروني، لهذه الكائنات. الأمر الذي جعل عملية التحري عن حالات الإصابة بالفايتوبلازما ومتابعتها دراسة انتشارها في الحقول أمرًا معكناً. سجلت أعلى نسبة إصابة بالفايتوبلازما على نباتات الطرطيع (*Suaeda baccata* Forssk.)، وشخصت الإصابة بالفايتوبلازما في أكثر من 25 نوعاً نباتياً تعود لـ 17 عائلة منتشرة في مناطق بغداد وديالى وبابل. وتراوحت النسبة المئوية للإصابة بين 30.5-32% في محصول السسم و 25% في محصول الطماطم/البندورة.

كلمات مفتاحية: المجهر الإلكتروني، طرطيع، فايتوبلازما، مجهر استشعاعي.

المقدمة

استخدام الفحص المباشر بدون استخدام صبغات (23). واستخدم المجهر الإلكتروني على نطاق واسع في تحديد وجود الفايتوبلازما في الأنسجة المصابة وتركيب الغشاء البلازمي لها ودراسة أشكالها عن طريق فحص مقاطع رقيقة منها (2، 7، 11، 14، 15، 17).

ونظراً لانتشار الكبير للأمراض التي تسببها الفايتوبلازما على العديد من نباتات الأدغال/الأعشاب فضلاً عن انتشارها على الكثير من المحاصيل والخضر واحتمال وجود العديد منها كامناً في نباتات الأدغال/الأعشاب، إذ تعمل هذه مصدرأً لها تنتقل إلى المحاصيل الاقتصادية، فقد أجريت هذه الدراسة بهدف وضع طريقة سهلة التطبيق وسريعة للكشف عن الفايتوبلازما وانتشارها في بعض حقول المنطقة الوسطى من العراق.

مواد البحث وطريقه

جمعت عينات من أوراق نباتات تظهر عليها أعراضًا مختلفة يشك في كونها متسبة عن فايتوبلازما ومن أخرى سليمة من مناطق متفرقة من المنطقة الوسطى من العراق (جدول 1). واستخدمت في الدراسة التشريحية للكشف عن احتمال وجود الفايتوبلازما فيها. عملت مقاطع عرضية سمك 75-100 ميكروناً في العرق الوسطى وحامل الورقة باستخدام المسراج تحت التجميد (Freezing Microtome) بالنسبة للنباتات صلدة القوام ويدويًا بواسطة شفرة حلقة من النباتات الفقية المصابة ومن أخرى سليمة. وأجريت على المقاطع الاختبارات التالية:

يعود أول تسجيل للفايتوبلازما لعام 1967، إذ لاحظ Doi وآخرون (11) وجود كائنات دقيقة في الأنابيب الغربالية لأنواع نباتية مصابة مثل اصفار الراتنج وتقزم التوت، أطلق عليها اسم كائنات مشابهة للمايكوبلازما في ذلك الوقت وأطلق لاحقاً اسم فايتوبلازما على هذه الكائنات من قبل فريق بحثي برئاسة Kirkpatrick على هامش المؤتمر العالمي للمايكوبلازما الذي انعقد في بوردو في فرنسا عام 1994 (21). وقد سجل أكثر من 300 مرض نباتي تسببه الفايتوبلازما على أنواع نباتية مختلفة وتعد من بين مسببات أمراض النبات المهمة في كثير من بلدان العالم لما تسببه من خسائر اقتصادية كبيرة على بعض المحاصيل (7، 8، 21، 25). وشخصت عدة حالات مرضية تسببها فايتوبلازما على عدد من نباتات الأدغال/الأعشاب والخضر والمحاصيل الاقتصادية في العراق (1، 2، 4، 13، 24، 26).

استخدمت طرق عديدة للكشف عن الفايتوبلازما في النباتات المصابة، فاستخدمت صبغة داين (Diene's stain) والمجهر الضوئي (5، 10، 18)، وكذلك صبغة دابي (DAPI) (4,6-diamidino-2-phenyl Indol-2HCl) اللاصفة للكشف عن الفايتوبلازما في الأنسجة النباتية بوساطة المجهر الإستشعاعي (12، 20). ووظفت الطريقة بشكل روتيني للكشف عن الفايتوبلازما في المراحل الأولى من الإصابة (14). استخدمت أيضًا صبغة الأكريدين البرتقالية (acridin orange) والمجهر الإستشعاعي لنفس الغرض (6) أو صبغة الأنيلين الزرقاء مع المجهر الإستشعاعي (19)، فضلاً عن

1. صبغة داين (Diene's stain) والمجهر الضوئي

غمرت المقاطع في 0.2% من محلول الصبغة الأم مدة 10 دقائق (حضرت الصبغة الأم باذابة 2.5 غ من صبغة المثيلين الزرقاء، 1.25 غ من صبغة II Azure، 10 غ مالتونز و 0.25 غ كاربونات الصوديوم في 100 مل ماء مقطر ثم رش محلول عبر ورق نشاف (Whatman 1). سكبت الصبغة وغسلت المقاطع 3-4 مرات بالماء المقطر وحملت على شريحة زجاجية في قطرة ماء مقطر وغطيت بقطعة الشريحة وفحست بالمجهر الضوئي (18).

2. صبغة دايب (DAPI) والمجهر الإستشعاعي

غمرت المقاطع في 0.3 مل من مثبت كارنوفسكي في زجاجة ساعة قطر 18 مم مدة 20 دقيقة على درجة 4 °س (حضر المثبت بإذابة 2 غ بارافورمدهايد في 25 مل ماء مقطر مع التسخين والتحريك إلى درجة 60-70 °س. أضيف للمحلول بين 1-3 قطرات من هيدروكسيد الصوديوم عياري حتى أصبح محلول رائقًا. برد محلول وأضيف إليه 5 مل جلوترالدهايد 50%， وأكمل الحجم إلى 50 مل بمحلول منظم فوسفاتي تركيزه 0.1 جزيء درجة حموضته 7.6 ضبيط درجة حموضته على 7.2 وحفظ المثبت عند درجة حرارة 4 °س). سكب المثبت وغسلت المقاطع بالمحلول المنظم الفوسفاتي ثلاث مرات ثم غمرت في 0.5 مل من محلول صبغة دايب تركيز 1 ميكروغرام/مل في 0.1 جزيء محلول منظم فوسفاتي درجة حموضته 7.0 (9).

3. صبغة الأكردين البرتقالية والمجهر الإستشعاعي

ثبتت المقاطع في 5% جلوترالدهايد، في 0.1 جزيء محلول منظم فوسفاتي درجة حموضته 7.0، مدة 20 دقيقة بدرجة 4 °س. سحب المثبت وغسلت المقاطع بالمحلول المنظم الفوسفاتي ثلاث مرات وغمرت مدة 10 دقائق في محلول الصبغة، تركيز 0.001% في محلول المنظم نفسه، في زجاجة ساعة. حملت المقاطع على شريحة زجاجية في قطرة من محلول المنظم وفحست بالمجهر الإستشعاعي.

4. صبغة الأليلين الزرقاء والمجهر الإستشعاعي

ثبتت المقاطع في ماء مغلي مدة 3-4 دقائق ثم غمرت في محلول صبغة الأليلين الزرقاء تركيز 0.01% في 0.066 جزيء من فوسفات ثانوي البوتاسيوم (K_2HPO_4) درجة حموضة 8.0، مدة 20 دقيقة. حملت المقاطع على شريحة زجاجية في قطرة من الصبغة وفحست بالمجهر الإستشعاعي (19).

5. الفحص المباشر بالمجهر الإستشعاعي

عملت مقاطع عرضية سميكة 100-500 ميكرون في العرق الوسطي أو حامل الورقة، حملت على شريحة زجاجية في قطرة ماء مقطر أو قطرة من اللاكتوفينول ثم غطيت بقطعة الشريحة وفحست بالمجهر الإستشعاعي.

6. المجهر الإلكتروني النافذ
جمعـت عـينـات مـن أورـاق نـباتـات مـصـابـةـ وأـخـرى سـليمـةـ، غـسلـتـ جـيـداـ بـالـمـاءـ المـقـطـرـ، قـطـعـ العـرـقـ الـوـسـطـيـ لـلـأـوـرـاقـ وـحـواـمـلـهاـ بـطـولـ 1-3ـ مـمـ، ثـبـتـ فـيـ 3%ـ جـلـوتـرـالـدـهـاـيدـ عـنـ درـجـةـ حرـارـةـ 4°ـ سـ حتـىـ 1ـ سـيـوـمـ التـالـيـ. غـسلـتـ النـمـاذـجـ 10ـ مـرـاتـ عـلـىـ مـدىـ ساعـاتـينـ فـيـ مـحـلـولـ الـسـيـوـمـ فـوـسـفـاتـيـ 0.1ـ جـزـيءـ درـجـةـ حـمـوضـتـهـ 6.8ـ، ثـبـتـ ثـانـيـةـ فـيـ 2%ـ مـنـ رـابـعـ أـوكـسـيدـ الـأـوزـمـيـوـمـ (O₂O₄)ـ مـدـةـ ساعـاتـينـ. غـسلـتـ النـمـاذـجـ 5-6ـ مـرـاتـ عـلـىـ مـدىـ ساعـةـ وـنـصـفـ بـالـمـحـلـولـ الـمـنـظـمـ الـفـوـسـفـاتـيـ السـابـقـ ثـمـ جـفـفـتـ فـيـ تـرـاكـيزـ متـدـرـجـةـ مـنـ الأـسـيـتوـنـ 10ـ، 30ـ، 50ـ، 70ـ، 85ـ وـ 95ـ وـ 100ـ مـدـةـ 30ـ دقـيقـةـ فـيـ كـلـ تـرـاكـيزـ، ثـمـ بـالـأـسـيـتوـنـ الـلـامـانـيـ (يـضـافـ 20ـ غـ مـنـ Na₂SO₄ـ لـكـلـ 100ـ مـلـ مـنـ الأـسـيـتوـنـ)ـ حتـىـ الـيـوـمـ التـالـيـ. حـلـلتـ النـمـاذـجـ وـطـمـرـتـ فـيـ عـجـيـنةـ (Spurr's)ـ فـيـ قـوـالـبـ لـدـائـتـيـةـ ثـمـ شـبـتـ وـقـطـعـتـ إـلـىـ مـقـاطـعـ رـفـقـةـ سـمـكـ 70-80ـ مـيـكـرـونـ بـوـاسـطـةـ الـمـشـرـاحـ الـدـفـيقـ Ultramicrotomeـ. صـبـغـتـ المـقـاطـعـ بـخـلـاتـ الـيـورـانـيـلـ مـدـةـ 15ـ دقـيقـةـ ثـمـ بـوـاسـطـةـ سـيـترـاتـ (ليـمونـاتـ)ـ الرـصـاصـ مـدـةـ 10ـ دقـائقـ ثـمـ فـحـصـتـ بـالـمـجـهـرـ الـإـلـكـتـرـوـنـيـ النـافـذـ عـنـدـ القـوـةـ 80ـ كـيـلـوـفـولـتـ (3).

النتائج والمناقشة

أولاً: الكشف عن الفاييتوبلازما في النباتات

1. المجهر الضوئي باستخدام صبغة داين
أظهر الفحص بالمجهر الضوئي لمقاطع عرضية في حامل الورقة والعرق الرئيسي لها من نباتات مختلفة مصابة ومصبوغة بصبغة داين وجود مناطق ذات لون أزرق في منطقة اللحاء لم تلاحظ مثلها في مناطق مماثلة من نباتات سلية عمولت بالطريقة نفسها (شكل 1). إن تلون لحاء النباتات المصابة باللون الأزرق وغيابه في لحاء النباتات السلية دليل على وجود الفاييتوبلازما ويتفق هذا مع النتائج التي توصل إليها Deeley وآخرون (10). احتوت بعض المناطق على لحاء داخلي اكتسب الصبغة أيضاً كما في نباتات التوت الأبيض (شكل 1) وما تجدر الإشارة إليه هنا هو أن الصبغة سرعان ما تتحول بفعل البكتيريا والفطور في المقاطع التي لا تحتوي خلايا الفاييتوبلازما (10، 18). ولقد تم التأكد من وجود الفاييتوبلازما في النماذج التي أعطيت تفاعلاً موجباً بواسطة المجهر الإلكتروني.

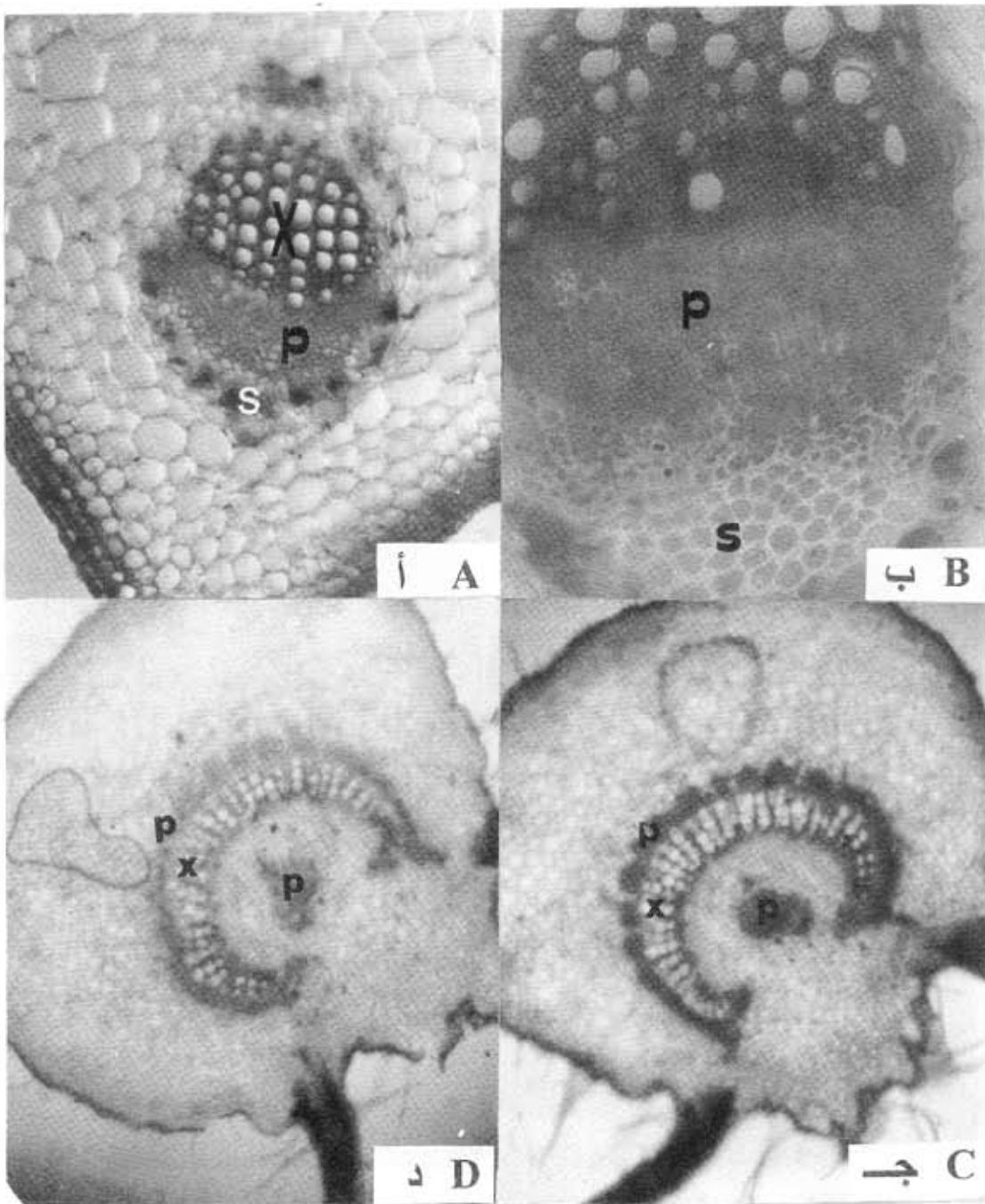
2. المجهر الإستشعاعي اللافص
أ. صبغة دايب

أظهرت نتائج الفحص بالمجهر الإستشعاعي لمقاطع عرضية في العرق الرئيسي وحامل الورقة لنباتات مصابة، من الأنواع ذاتها التي خضعت للفحص بالمجهر الضوئي، مصبوغة بصبغة دايب وجود أجسام لاصفة في منطقة اللحاء وغيابها في مقاطع مماثلة من نباتات سلية (شكل 2). وتشير هذه النتائج إلى وجود إصابة بالفاييتوبلازما إذ أن الصبغة تتفاعل بشكل مخصوص مع الحمض النووي (DNA) للفاييتوبلازما. وقد توصل عدد من الباحثين إلى نتائج مماثلة باستخدام هذه الصبغة (9، 18، 22). وقد جاءت نتائج هذا الاختبار مطابقة

لحاء النباتات المصابة لم تظهر في مقاطع مماثلة من نباتات سليمة (شكل 3). وقد جاءت نتائج هذا الاختبار مطابقة لنتائج الاختبارين السابقين ومما تجدر الإشارة إليه هنا أن صبغة الأكردين ترتبط بشكل متخصص بالحموض النووي DNA والـ RNA. وقد توصل (6) إلى نتائج مماثلة باستخدام هذه الصبغة.

لنتائج اختبارات المجهر الضوئي باستخدام صبغة داين والمجهر الإلكتروني.

ب. صبغة الأكردين البرتقالية
أوضحت نتائج الفحص بالمجهر الاستشعاعي لمقاطع عرضية مصابة مصبوغة بصبغة الأكردين البرتقالية وجود مناطق لاصفة في



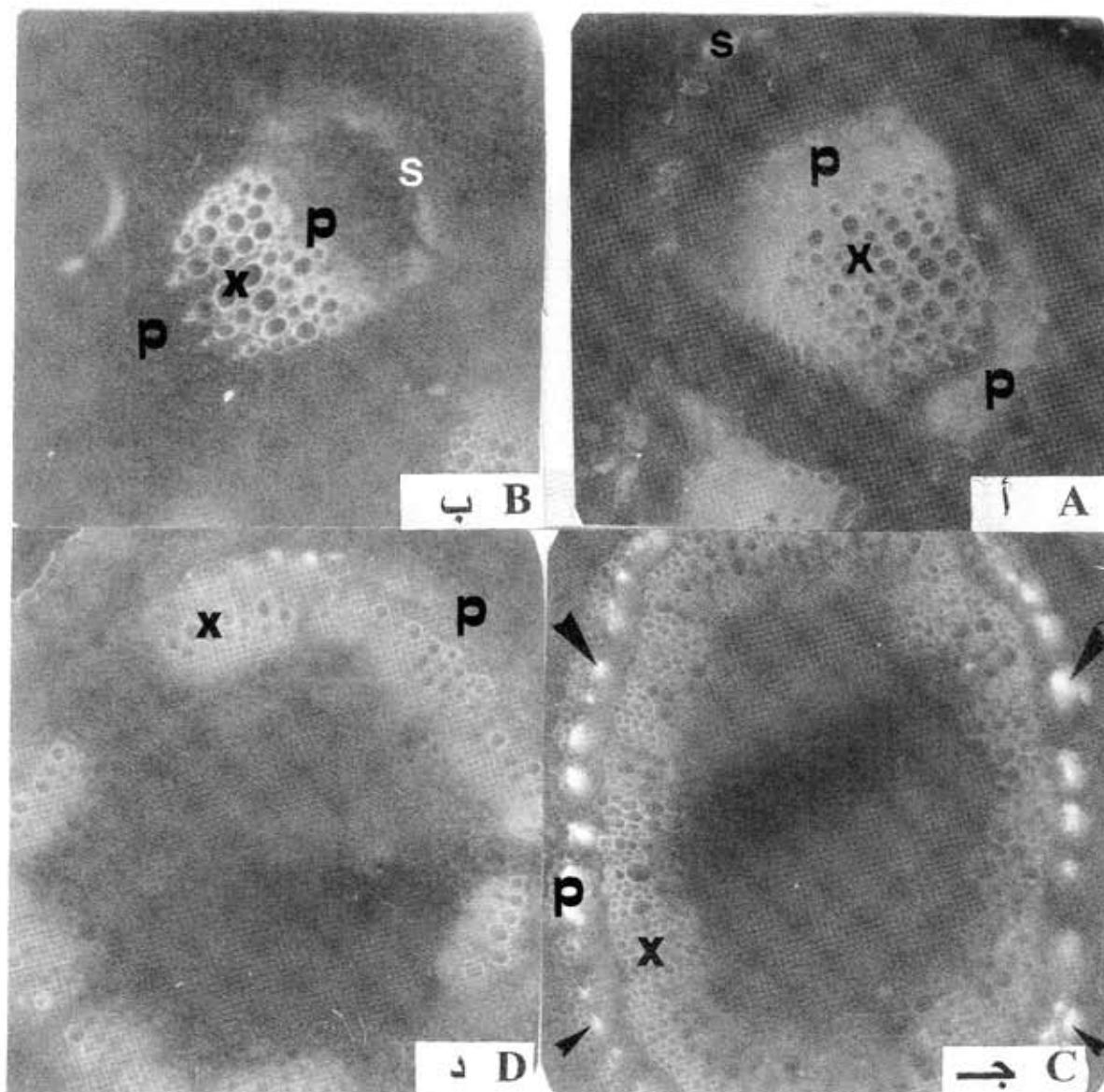
شكل 1. مقطع عرضي في العرق الرئيسي لورقة الخس البري تظير عليها أعراض تورق الأزهار (أ) ($62.5\times$) وفي حامل الورقة نبات توت أبيض تظهر عليه أعراض تقلط (ج) ($25\times$) وفي مقطع من نبات غير مصاب (ب) ($156.25\times$) و (د) ($25\times$) معاملة بصبغة داين كما تظير في المجهر الضوئي لاحظ التلوث الأزرق الغامق في لحاء المقاطع المصابة.

Figure 1. A cross section through the leaf main vein of wild lettuce showing phyllody (A) ($62.5\times$) and the leaf petiole of mulberry showing fasciation (C) ($25\times$) as compared to non-infected ones (B) ($156.25\times$) and (D) ($25\times$), treated with Diene's stain viewed by light microscopy. Note the dark blue stained phloem (P) in infected sections. (X = Xylem, S = Sclerenchyma)

متخصص. وما ينطوي على هذه الطريقة ينطوي على طريقة الفحص المباشر للمقاطع بالمجهر الإشعاعي. إذ لم تتنس الطريقة بسهولة تطبيقها فضلاً عن أنها لم تظهر الدقة التي ظهرت بها الطرق الثلاث السابقة على الرغم من الحصول على بعض النتائج الجيدة من بعض المناطق وربما يعود السبب إلى أن الكلاس والذي تعتمد عليه هذه الطريقة هو أحد المكونات الطبيعية للأذابيب الغربالية مما قد يؤدي إلى تفسيرات خاطئة في هذا المجال.

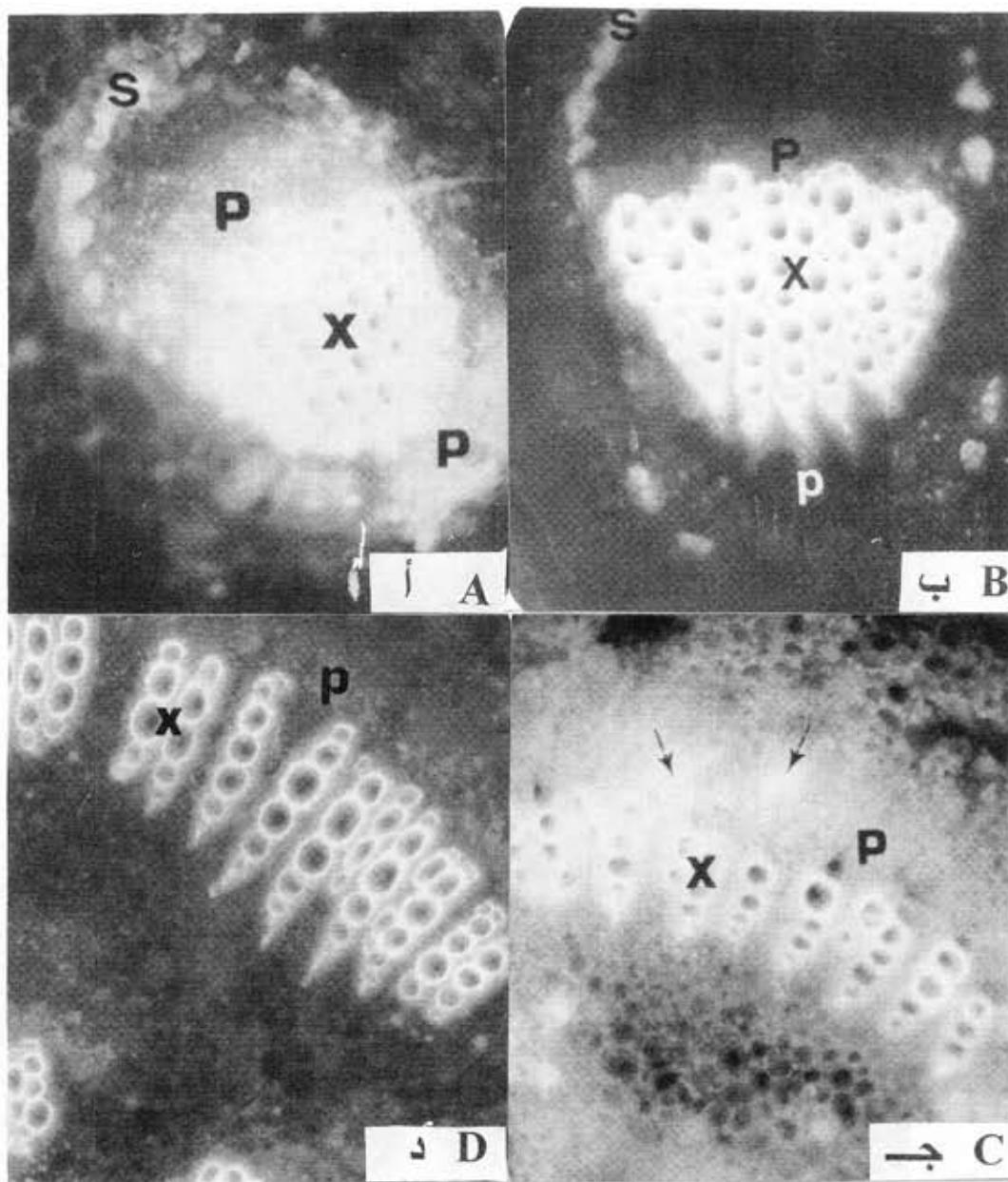
جـ. صبغة الأثيلين الزرقاء

أوضحت النتائج التي تم الحصول عليها من فحص مقاطع لأنسجة مصابة بالفايتوبلازما ومصبوغة بصبغة الأثيلين الزرقاء، أن هذه الطريقة أقل دقة من الطرق السابقة إذ تعتمد على تراكم الكلاس المتكون في خلايا اللحاء من جراء الإصابة بالفايتوبلازما وتعتمد كفاءتها على الدقة والسرعة في عمل المقاطع وتنبيتها تفاديًا لتكون الكلاس شفاء عملية للتطبيع مما يؤدي إلى حدوث لصنف غير



شكل 2. مقطع عرضي في العرق الرئيسي لورقة نبات الخس البري يظهر أعراض تورق الأزهار (أ) ($62.5\times$) وفي العرق الرئيسي لورقة نبات سمس يظهر أعراض تورق الأزهار (ج) ($62.5\times$) ومقاطع غير مصابة (ب) ($62.5\times$) و (د) ($62.5\times$) معالمة بصبغة دايلي (DAPI) كما تظهر في المجهر الإشعاعي. لاحظ الأجسام اللاصفة في منطقة اللحاء (P) (سهم).

Figure 2. A cross section through the leaf main vein of wild lettuce showing phyllody (A) ($62.5\times$) and sesamoidine (C) ($62.5\times$) and non-infected ones (B) ($62.5\times$) and (D) ($62.5\times$), treated with DAPI stain as seen in fluorescence microscopy. Note the fluorescent bodies in phloem (P) (flesh). (X = Xylem, S = Sclerenchyma)



شكل 3. مقطع عرضي في العرق الرئيسي لورقة نبات الخس البري يظهر أعراض تورق الأزهار (أ) وفي حامل الورقة لنبات التوت الأبيض يظهر أعراض تقلط (جـ) وفي مقاطع من نباتات غير مصابة (ب) (د) (62.5 \times)، معاملة بصبغة الأكريدين البرتقالية كما تظهر في المجهر الاستشعاعي. لاحظ الأجسام اللاصفة في اللحاء (P) (سهم).

Figure 3. A cross section through the leaf main vein of wild lettuce showing phyllody (A) (62.5x) and mulberry showing fasciation symptoms (C) (62.5x) and non-infected ones (B) (62.5x) and (D) (62.5x), treated with acridine orange, as seen in fluorescence microscopy. Note the fluorescent bodies in phloem (P) (flesh). (X = Xylem, S = Sclerenchyma)

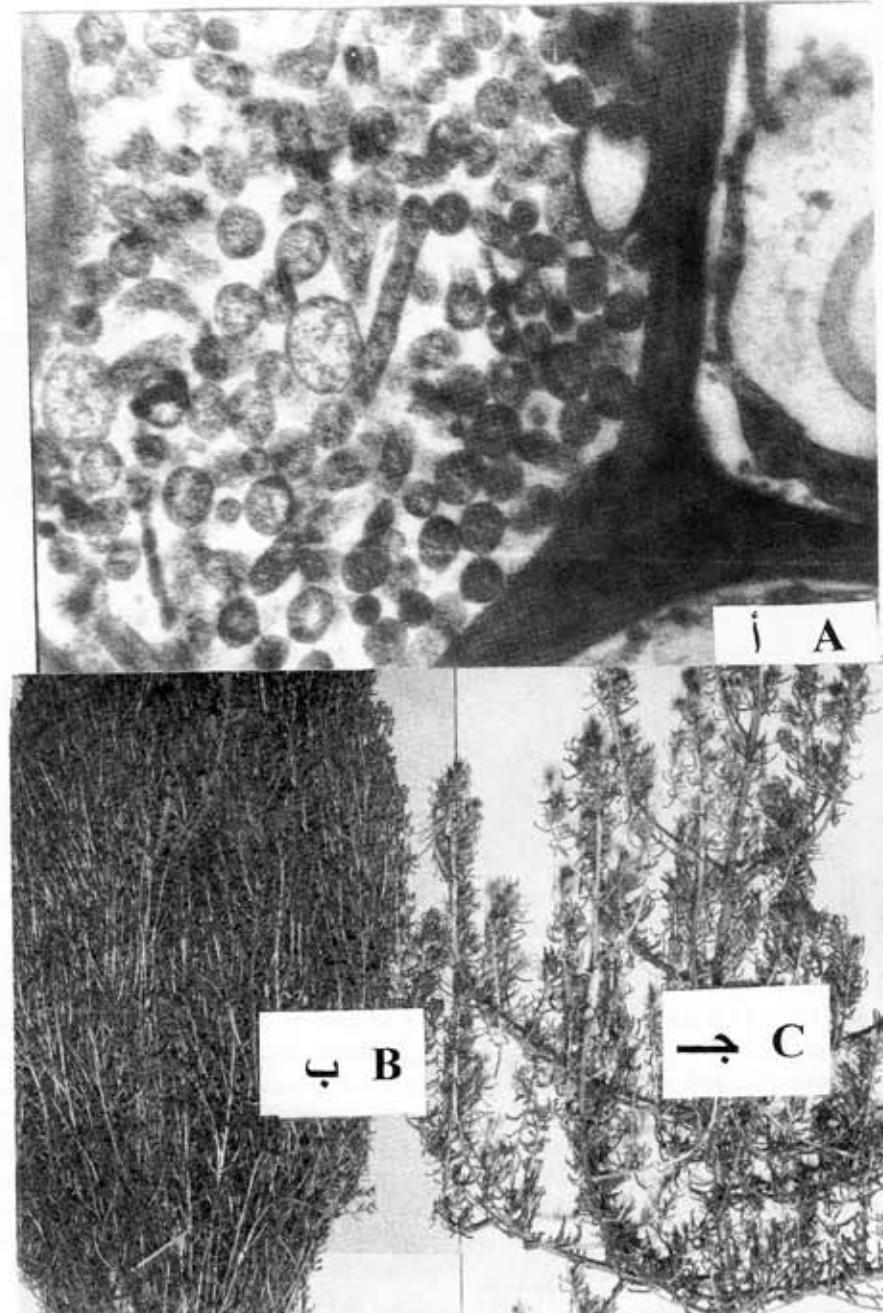
وجودها في مقاطع مماثلة من نباتات سليمة وهذه الخلايا مشابهة لخلايا تم توصيفها في دراسات سابقة من قبل عدد من الباحثين على محاصيل ونباتات أدغال/أشجار مختلفة (2, 4, 17). لوحظ تجمع خلايا للفايتوبلازم بالقرب من الصفيحة الوسطية مما يشير إلى إمكانية انتقالها عبر هذه التقويب. إن وجود هذه الكائنات مرافق للأعراض التي

3. المجهر الإلكتروني
أظهر الفحص بالمجهر الإلكتروني لمقاطع رقيقة في حامل الورقة أو العرق الرئيسي لها أخذت من نباتات مصابة وجود خلايا للفايتوبلازم في الأنابيب الغربالية لأوعية اللحاء لكل من نباتات: الطرطيع، الكسوب الأصفر، الطماطم/البنور، البطاطا/البطاطس، الخيار، التوت الأبيض، الكاردينيا، التفاح والسمسم (شكل 4)، وعدم

دائماً سهلة المنال فضلاً عن أنها تحتاج إلى بعض التقنيات والمواد التي يصعب الحصول عليها لذلك استمر البحث بهدف إيجاد طرائق أخرى بديلة أكثر سهولة في التطبيق ولا تحتاج إلى مواد معقدة فضلاً عن دقتها. وأمكن باستخدام بعض الصبغات المتخصصة والفحص بالمجهر الضوئي والمجهر الإستشعاعي التوصل إلى طرائق تشريحية لا تقل كفاءة ودقة عن المجهر الإلكتروني إلا أنها غير مباشرة في الكشف عن الفاييتوبلازما بعضها يعتمد على مكونات الفاييتوبلازما من الحمض النووي وبعضها الآخر على النواتج الأيضية لهذه الكائنات في النباتات المصابة وبالتحديد استخدام صبغة دابي والمجهر الإستشعاعي.

تم توصيفها في جدول (1) دليل على أن هذه الحالات المرضية تعود للإصابة بالفاييتوبلازما.

لقد بقى التوصل إلى طريقة سريعة وسهلة للكشف عن الفاييتوبلازما محور بحوث ودراسات العديد من الباحثين في مختبرات عديدة في العالم وشغلهم الشاغل. وانصح من مجلد النتائج التي تم الحصول عليها من هذه الدراسة وتلك التي سجلت من قبل آخرين في العالم أن المجهر الإلكتروني أكثر الطرق دقة في هذا المجال حيث أن مشاهدة خلايا الفاييتوبلازما بشكل مباشر في خلايا اللحاء للنباتات المصابة دليل لا يقبل الشك على الإصابة بها، إلا أن هذه الوسيلة ليست



شكل 4. (أ) صورة بالمجهر الإلكتروني لخلايا الفاييتوبلازما في لحاء نبات الطيطيع (*Suaeda baccata*) قوة تكبير 34000 مرة، تظهر عليه أعراض مكستة الساحرة (ب) ونبات طيطيع سليم (ج).

Figure 4. (A) Electron micrograph (34000x) of phytoplasma cells (flesh) in sieve elements of *Suaeda baccata* plants showing witch's broom symptoms (B) and healthy one (C).

جدول 1. انتشار الأمراض التي تسببها الفايتو بلازما في عدد من النباتات الاقتصادية ونباتات الأدغال/ الأعشاب وطبيعة أعراضها المرضية واستجابتها للصبغات المختلفة.

Table 1. Spread of the diseases caused by phytoplasmas and their symptoms on many economic and weed plants and their reaction to different stains.

الاستجابة للصبغة Stain reaction				العائل النباتي Host plant		
الأكردين Acridine orange	دابي DAPI	دين Dien	طبيعة الأعراض المرضية Symptoms	الفصيلة Family	الاسم العلمي Scientific name	الاسم العربي Arabic name
+	+	+	تقطيع الساق Fasciation	Amaranthaceae	<i>Amaranthus caudatus</i> L.	عرف الديك
+	+	+	تورق الأزهار، العناد (الحرن) Phyllody & Stubborn	Apocynaceae	<i>Catharanthus roseus</i> L.G.Don.	عين اليزون
+	+	+	مكتبة الساحرة	Compositae	<i>Carthamus oxyacantho</i> M.B.	كسوب أصفر
+	+	+	تورق الأزهار Phyllody	Compositae	<i>Lactuca serriola</i> L.Mesa	خس بري
+	+	+	تورق الأزهار Phyllody	Compositae	<i>Tagetes patula</i> L.	قديفة/قطيفة
+	+	+	تقطيع الساق Fasciation	Cucurbitaceae	<i>Cucumis sativus</i> L.	خيار
+	+	+	مكتبة الساحرة Witches'broom	Chenopodiaceae	<i>Suaeda baccata</i> Forssk.	الطرطيع
+	+	+	تقطيع الساق Fasciation	Buxaceae	<i>Buxus sempervirens</i> L.	شمثار
+	+	+	تقطيع الأغصان Fasciation	Moraceae	<i>Morus alba</i> L.	التوت الأبيض
+	+	+	تورق الأزهار Phyllody	Myrtaceae	<i>Callistemon viminale</i> (Sol. Ex. Goertn.) G.Don.	فرشة البطل
+	+	+	تورق الأزهار Phyllody	Myrtaceae	<i>Eucalyptus</i> sp.	يوكانليس
+	+	+	تقطيع الساق Fasciation	Meliaceae	<i>Melia azedarach</i> L.	سبحنج/زنزرتخت
+	+	+	تورق الأزهار وتقطيع الساق Phyllody & Fasciation	Oleaceae	<i>Jasminum sambae</i> (L.) Ait	رازجي
-	-	-	صغر حجم الأوراق Little leaves	Oleaceae	<i>Olea europaea</i> L.	زيتون
+	+	+	تقطيع الساق Fasciation	Papilionaceae	<i>Vigna unguiculata</i> (L.) Walp.	لوباء
+	+	+	تورق الأزهار وتقطيع الساق Phyllody & fasciation	Pedaliaceae	<i>Sesamum indicum</i> L.	سمسم
+	+	+	حرن واصفار النبات Stubborn & Yellowing	Rutaceae	<i>Citrus sinensis</i> (L.) Osbeck	برنفال
+	+	+	حرن واصفار النبات Stubborn & Yellowing	Rutaceae	<i>C. deliciosa</i> Ten.	لانكي
+	+	+	تورق الأزهار Phyllody	Rubiaceae	<i>Gardenia jasminoides</i> Ellis.	كاردينيا
-	-	-	صغر حجم الأوراق Little leaves	Rosaceae	<i>Rosa</i> sp.	الورد الجوري
+	+	+	فرط النمو الذهري وتقطيع الأغصان Proliferation & Fasciation	Rosaceae	<i>Pyrus malus</i> L.	التفاح
-	-	-	مكتبة الساحرة Witches'broom	Sapindaceae	<i>Dodoneae viscosa</i> (L.) Jacq.	دودونيا
+	+	+	الدرنات الهوانية والتلاف القمة البنفسجي	Solanaceae	<i>Solanum tuberosum</i> L.	بطاطا/بطاطس
			Aerial tubers & Purple top roll	Solanaceae	<i>S. melongena</i> L.	بانجوان
+	+	+	تورق الأزهار Phyllody	Solanaceae	<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.	طماطم/بندورة
+	+	+	تورق الأزهار وتضخم البراعم Phyllody & Bigbud			

(+) Presence and (-) absence of causal agent

(+) وجود المسبب المرضي (الفايتو بلازما أو السيبروبلازما).

(-) عدم وجود المسبب المرضي.

ثانياً: المسح الحقل

بعد التوصل إلى وضع طريقة ملائمة للكشف عن الفايتو بلازما في أنسجة النباتات المصابة، أصبح من الممكن دراسة انتشار الفايتو بلازما حقلياً. أظهرت نتائج المسح الحقل انتشار الفايتو بلازما في العديد من المحاصيل الاقتصادية ونباتات الأدغال/الأعشاب. فقد بلغت نسبة الإصابة في نباتات الطرطيع في بعض مناطق أبي غريب 82%. وشخص وجود الفايتو بلازما في 25 نوعاً نباتياً تعود إلى 17 عائلة منتشرة في مناطق بغداد، ديالى وبابل ولعرض تحديد أهميتها من الناحية الاقتصادية فقد قدرت النسبة المئوية للإصابة بها على محاصيل: السمسم، الطماطم/البندورة، البانجان والبطاطا (جدول 2). ونظرأً للإصابة العالية لنباتات الطرطيع وانتشاره الواسع في الحقول وخارجها، فقد اعتمد هذا الدغل/العشب أساساً لدراسة الفايتو بلازما وتحديد علاقتها مع فايتو بلازما أخرى على المحاصيل الاقتصادية ونباتات الأدغال/الأعشاب الأخرى ستكون موضوعاً لبحث آخر.

وقد تطابقت نتائج هذه الطرائق مع نتائج المجهر الإلكتروني مما يشير إلى إمكانية استخدامها في الكشف عن هذه الكائنات الأمر الذي جعل عملية التحري عن حالات الإصابة بالفايتو بلازما ومتابعتها ودراسة انتشارها في الحقول أمراً ممكناً. ومن مقارنة بسيطة بين هذه الطرق البديلة نرى أن أكثرها دقة وسهولة هو استخدام صبغة داين والمجهر الضوئي وصبغة دايني والمجهر الاستشعاعي كما تظهرها الصور التي تم الحصول عليها. يلاحظ أيضاً في بعض الصور ظهور بعض التغيرات في حجم وشكل المناطق المصابة مقارنة بالسليمة وهذا ربما يعود إلى الإصابة والاضطرابات التي تحدثها في مناطق اللحاء وحتى الخشب. من النتائج يلاحظ أن نسبة كبيرة من نباتات الأدغال/الأعشاب تصاب بالفايتو بلازما وقد تعمل هذه مصادر لإصابة المحاصيل الاقتصادية تنقل إليها بواسطة التواكل كما أشار إلى ذلك عدد من الباحثين (2، 16).

جدول 2. النسبة المئوية للنباتات المصابة بالفايتو بلازما لعدد من المحاصيل الاقتصادية.

Table 2. The incidence of phytoplasma infection on some economic crops.

الإصابة % % infection	منطقة الجمع Sampling area	طبيعة الاعراض المرضية Symptoms	المحصول Crop
32.0	بغداد/أبو غريب	تورق الأزهار	السمسم
30.5	Baghdad/ Abu-Ghreib	Phyllody	<i>Sesamum indicum</i> L.
25.0	بغداد/توبينة	تفلطخ الساق	السمسم
1.5	Baghdad/ Toutha	Fasciation	<i>Sesamum indicum</i> L.
10.0	ديالى/الخلوص	تورق الأزهار وتضخم البراعم	الطماطم/البندورة
	Diahla/ Al-Kalis	Phyllody & Bigbud	<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.
	ديالى/الخلوص	تورق الأزهار	البانجان
	Diahla/ Al-Kalis	Phyllody	<i>Solanum melongena</i> L.
	بغداد/اليوسفية	الدرنات الهوائية والسيقان البنفسجية	البطاطس/البطاطا
	Baghdad/ El-Yousfiya	Aerial tubers	<i>Solanum tuberosum</i> L.

Abstract

Al-Rawi A.F., F.K. Al-Fadil and R.A. Al-Ani. 2001. Histological Methods for Detection and Monitoring Distribution of Phytoplasmas in Some Crops and Weed Plants in Central Iraq. Arab J. Pl. Prot. 19: 3-11.

This study was conducted to evaluate the efficacy of several histological methods for the detection and monitoring the multiplication of phytoplasma in infected plants. Results obtained showed that electron microscopy was the most efficient and direct method. Other methods such as, Diene's stain with light microscopy and DAPI stain with fluorescence microscopy, were found to be efficient. These methods made the detection of the phytoplasma in infected plants possible by using limited facilities. Phytoplasmas were detected in more than 25 species belonging to 17 plant families collected from locations in Baghdad, Diahla and Babylon. The highest incidence (82%) was in Suaeda plants showing witches' broom symptoms followed by 30.5-32% in sesame plants and 25% in tomatoes.

Key words: Electron microscopy, Suaeda, Phytoplasma, Fluorescence microscopy.

Corresponding author: A. Farkhad Al-Rawi, Plant Protection Department, College of Agriculture, University of Baghdad, Abu-Ghreib, Iraq.

References

- associated with safflower phyllody in Iraq. Indian J. Plant Pathol., 6(1):77-78.
14. Gibb, K.S., A.C. Padovan and B.D. Mogan. 1995. Studies on sweet potato little-leaf phytoplasma detected in sweet potato and other plant species growing in northern Australia. Phytopathology, 85:169-174.
 15. Graf, M.G., R. Ehrenfeld and R.E. Davis. 1978. Stereoelectron microscopy of mycoplasma-like organisms in *Erodium cicutarium* with yellow disease symptoms. Plant Disease Reporter, 62:535-538.
 16. Gries, S.Z. and M. Klein. 1978. A tomato big bud-like disease of tomatoes and its association with mycoplasma-like organisms. Plant Disease Reporter, 62:590-594.
 17. Guo, Y.H., J.A. Walla, Z.M. Cheng and I.M. Lee. 1996. X-disease confirmation and distribution in chokecherry in north Dakota. Plant Disease, 80:95-102.
 18. Hiruki, C. 1987. Witch's broom of *Hibisus heterophyllus*, a mycoplasma disease occurring in Australia. Ann. Phytopath. Soc. Japan, 53:1-6.
 19. Hiruki, C., J. Giannotti and J. Dijkstra. 1974. A comparative study of fluorescence in stems of *Vinca rosea* infected with mycoplasma of different plant origins. Neth. J. Pl. Path., 80:145-153.
 20. Hiruki, C. and S. Deng. 1992. Distribution of plant pathogenic mollicutes in *Catharanthus roseus* determined by *in situ* molecular hybridization and DNA staining with DAPI. Proc. Japan Acad., 68B:187-190.
 21. Kirkpatrick, B.C. and B.B. Sears. 1995. International committee on systematic bacteriology subcommittee on the taxonomy of mollicutes minutes of the interim meetings, 17 and 26 July, 1994. France, Int. J. Syst. Bacteriol., 45:415-417.
 22. Lorenz, K.H., B. Schneider, U. Ahrens and E. Seemuller. 1995. Detection of the apple proliferation and pear decline phytoplasma by PCR amplification of ribosomal and nonribosomal DNA. Phytopathology, 85:771-776.
 23. Matsuoka, K. and M.G. Carvalho. 1987. Mycoplasma-like organisms associated with kaki decline in Brazil. Plant Pathology, 36:417-419.
 24. Tamimi, K.M., F.A. Fattah and M.A. AL-Hamdany. 1989. Shoot apex fasciation in *Sesamum indicum* associated with mycoplasma like organisms. Plant Pathology, 38(1):300-304.
 25. Verma, O.P. and L.N. Daftari. 1985. Effect of phyllody on plant yield, germination, test weight and oil contents of sesame seeds. Rev. Pl. Path., 64: 5056.
 26. Wilson, K.I., A.S. AL-Beldawi and H.A. Nema. 1981. Big bud disease on tomato. FAO Pl. Protec. Bull., 29(314):78-79.
- اللامي، سهيلة حسين. 1981. تشخيص مرض تحرن الحمضيات وتأثيره على اشجار البرتقال في العراق. رسالة ماجستير، كلية الزراعة، جامعة بغداد. 80 صفحة.
- الراوي، فرقـ عبد الرحيم، رقـ عاكـف العـتي و مـيسـر مجـيد جـرجـيس. 1990. اثـباـه الـمـيكـوـبـلـازـما الـمـرـاقـة لـمـرـض تـسـورـقـ اـنـهـارـ الخـسـ البرـي *Lactuca serriola* فـيـ العـراـقـ. مجلـةـ وـقاـيةـ النـبـاتـ العـربـيـةـ، 8: 48-45.
- الـعاـلـىـ، رـقـبـ عـاكـفـ وـيـاشـ بـالـراـشـيـ. 1984. فـاـيـروـسـاتـ النـبـاتـ - أـسـاسـيـاتـ التـجـارـبـ الـعـلـىـ. وزـارـةـ التـعـلـيمـ الـعـالـىـ وـالـبـحـثـ الـعـلـىـ، كلـيـةـ الـزـرـاعـةـ، جـامـعـةـ بـغـدـادـ، العـراـقـ. 128 صـفـحةـ.
4. Al-Heeti, A.A., H.M. Aboud and H.M. Saleh. 1995. Unusual growth malformation, a new disease incited by mycoplasma like organisms on eggplant. Iraqi J. Agric. Sci., 26(1):154-158.
5. Ali, M.I.M., M. Balasundaran and S.K. Ghosh. 1987. Histopathological detection of little leaf disease of eucalyptus in karata. Rev. Pl. Path. 66: 2529.
6. Back, W.C. 1991. The use of acridine orange for the detection of mycoplasma-like organisms in plant by fluorescence microscopy. Korean J. Plant Pathol. 7(2):130-132.
7. Bagashev, V.I., R.A. Karabakhtsyan and N.I. Ledouskay. 1981. The main mycoplasma disease of solanaceae and leguminosae in southern regions of the USSR. Rev. Pl. Path. 60: 5543.
8. Borth, W.B., J.S. Hu, B.C. Kirkpatrick, D.E. Gardner and T.L. German. 1995. Occurrence of phytoplasma in Hawaii. Plant Disease, 79:1094-1097.
9. Dale, J.L. 1988. Rapid compression technique for detecting mycoplasma-like organisms in leaf midrib sieve tubes by fluorescence microscopy. Phytopathology, 78:118-120.
10. Deeley, J., W.A. Stevens and R.T.V. Fox. 1979. Use Diene's stain to detect plant disease induced by mycoplasma-like organisms. Phytopathology, 69:1169-1171.
11. Doi, Y., N. Teranaka, K. Yora and H. Asuyama. 1967. Mycoplasma or PLT group-like microorganisms found in the phloem elements of plant infected with mulberry dwarf, potato witch's broom, aster yellow or paulownia witch's broom. Ann. Phytopathol. Soc. Jpn., 33:259-266.
12. Douglas, S.M. 1986. Detection of mycoplasma-like organisms in peach and chokecherry with x-disease by fluorescence microscopy. Phytopathology, 76:784-787.
13. El-Behadeli, A.H., A.M. Al-Shahwani, Y.P. Rathi and L. Maki. 1988. Mycoplasma-like organisms