

## التلقيح الميكانيكي

التلقيح الميكانيكي: هي عملية نقل العصير الخام من النبات المصاب ال النبات السليم بعد فتح جروح دقيقة غير مميتة في بشرة اوراق، ويطلق عل هذا العصير المستعمل مصطلح القاح لأنه يحتوي عل الجسيمات الفايروسية.

### طريقة نقل الفايروسات بطريقة التلقيح الميكانيكي

١. يتم تقطيع اوراق الحديثة المختارة والتي تظهر اعراض شديدة واضحة مثل الموزائيك وبعدها يتوافق مع كمية اللقاح التي يحتاجها الباحث.
٢. تقطع انصال اوراق ال قطع صغيرة مع ازالة عنق الورقة والعرق الوسطي إذا كان كبيراً (كما في الخس)
٣. يتم اضافة المحلول المنظم وبمقدار ضعف وزن الاوراق (أي إذا كان وزن قطع اوراق ١٠ غم يضاف ٢٠ مل من المحلول المنظم).
٤. تسحق قطع اوراق جيداً وبشدة بواسطة مقبض الهاون لغرض اخراج الجسيمات الفايروسية من الخلايا النباتية ال المستخلص.
٥. يرشح المستخلص بواسطة قطعة من الشاش فوق بيكر ويضاف اليها المستخلص ويعصر جيداً للحصول عل أكبر كمية من العصير.
٦. تهيأ نباتات الاختبار السليمة المراد تلقيحها وهي بمرحلة نمو ٢-٤ اوراق والتي يجب ان يتأكد الباحث خلوها من أي اعراض غير طبيعية إذ يستبعد أي نوع من هذه النباتات.
٧. يعفر السطح العلوي لأوراق النباتات كافة بكمية مناسبة من مسحوق المادة المخدشة وهي الكاربورندم او السيللايت.
٨. يغمر اصبع السبابة في اللقاح ثم تسند الورقة المراد تلقيحها بكف اليد الاخر بجعل النصل يستلقي عل راحة الكف ويتم مسحه باللقاح لمرة واحدة و باتجاه واحد وبقوة تكفي لأحداث جروح دقيقة وغير مميته.
٩. تغسل اوراق الملقحة فوراً بتيار ماء قوي بواسطة قنينة غسل بلاستيكية لمدة عشر ثواني لأزالة اثر اللقاح والمادة المخدشة لأن اول قد يحوي مواد مثبطة والثاني يسبب تراكم طبقة قد تخفي اعراض الموضوعية التي قد تظهر عل الاعراض الموضوعية.
١٠. تحفظ النباتات الملقحة في البيت الزجاجي بدرجة حرارة ٢٥ م واطاعة مناسبة لحين ظهور الاعراض.

### المواد المساعدة في اجراء عملية التلقيح الميكانيكي

المواد المخدشة : هي مساحيق لحبيبات بلورية تعفر الاوراق بها او تخلط مع اللقاح قبل اجراء التلقيح الميكانيكي لتزيد من كفاءته إذ تزيد من اعداد نقاط دخول (مداخل) الفايروس ال النبات الملقح من خلال احداثها جروح دقيقة في بشرة النبات بإزالتها للجدار الخلوي عند المسح بها، ومن اهمها مسحوق الكاربورنوم والسيلايت.

### ملاحظات مهمة عند اجراء التلقيح الميكانيكي

١. يمكن تحضير اللقاح من الجذور او الثمار المصابة او أي جزء يكون فيه تركيز الفايروس عالياً وليس فقط من الاوراق المصابة وان كانت هي اكثر استعمالاً.
٢. عند تلقيح النباتات فإنه يجب تلقيح عدد من افراد انواع النباتات الكاشفة نفسها المستعملة بالماء المقطر لغرض المقارنة.
٣. يساعد حفظ النباتات في الظلام لمدة ٢٤ ساعة قبل التلقيح على زيادة حساسيتها للإصابة وبالتالي نجاح الإصابة.
٤. يجب ان تكون الزجاجيات وادوات المستعملة معقمة لمنع حدوث تلوث بأي من الفايروسات الملوثة.
٥. عند اجراء التلقيح الميكانيكي يتم اختيار اوراق الغضة التي تظهر اعراض شديدة، الا انه في حالة الإصابة الكامنة او المخفية فإن عدم ظهور الاعراض لا يعني عدم وجود الفايروس، لذلك يجب مراعاة عند التعامل مع هذه الاصابات
٦. يفضل اجراء التلقيح الميكانيكي في الصباح الباكر او وقت قبل الغروب.

### مراقبة الاعراض على النباتات الكاشفة ووصفها

تستعمل النباتات الكاشفة غالباً لغرض تشخيص الفايروسات التي تظهر على مختلف انواع النباتات وخاصة تلك التي يسهل نقلها ميكانيكياً ولتحقيق ذلك فإنه يتوجب على الباحث مراقبة النباتات الكاشفة بعد تلقيحها يومياً وتسجيل وقت ظهور الاعراض ووصفها بدقة لحين اكتمال ظهورها على اجزاء النباتات الخضرية ليتسنى مراقبتها مع البحوث السابقة في وصف استجابة تلك النباتات للفايروس، ان اعراض التي تظهر هي: (١) اعراض موضعية والتي تظهر على الاوراق الملقحة ذاتها ولا تظهر على الاوراق الجديدة النامية بعد التلقيح وخلال مدة لا تتجاوز خمسة ايام من التلقيح وتكون بهيئة بقع موضعية مينة او بقع حلقيه مصفرة. (٢) الاعراض الجهازية والتي تظهر على الاوراق الحديثة غير الملقحة وقد يستغرق ظهورها بين ٧-١٥ يوماً في النباتات العشبية اما النباتات الخشبية فقد يحتاج ظهورها عدة اشهر.