الطرق العملية المستخدمة في دراسة نيماتودا النبات

أولا
طرق جمع العينات
Sampling

ثانيا
طرق استخلاص العينات
Extraction

ثالثا
طرق عمل التحضيرات المجهرية

رابعا
طرق حفظ الأجزاء النباتية المصابة بالنيماتودا

خامسا
طرق صبغ النيماتودا داخل الأجزاء النباتية

الأدوات المستخدمة فى جمع العينات

- الجاروف
- المنقرة
- أقلام فلوما ستر لتدوين البيانات على الأكياس
- ايس يوكس لحفظ العينات حتى النقل للمعمل
- اسطوانة اخذ العينات
- المنقرة
- أقلام فلوما ستر لتدوين البيانات على الأكياس
- ايس يوكس لحفظ العينات حتى النقل للمعمل

- اسطوانة اخذ العينات
- أكياس بلاستيك و مقص تقليم
- الجاروف
- أكياس بلاستيك و مقص تقليم

ب: طرق جمع العينات من التربة

يتم تجميع عينات التربة من الحقول الخالية من المحاصيل إما بواسطة اسطوانة جمع العينات على أعماق مختلفة أو قد تجمع بواسطة الجاروف و يجب أن تتناسب عدد العينات مع المساحة المأخوذة منها و أن يكون حجم اى عينة تربة لا يقل عن 250-300 سم^3

المساحة (م2)	عدد العينات
100	6-4
300	9-7
500	12-10
4000	27-20
5000	30-28

يجب إن تكون العينة الواحدة مركبة من أربعة مواقع و تخلط جيدا و توضع في كيس بلاستيك و عند وصولها للمعمل تحفظ في الثلاجة (5 م) لحين استخلاص النيماتودا منها و بحيث لا تزيد المدة عن أسبوع.

إما إذا أخذت عينات التربة من حقل مزروع فان العمق الذي تؤخذ منه العينة يجب إن يتناسب مع وجود جذور هذه النباتات و خاصة الجذور الرفيعة و الشعرية و بصفة عامة فان العينات تؤخذ في هذه الحالة من الطبقة السطحية للتربة بعمق 30 سم على الأقل إما في حالة الشجيرات و الأشجار فتحفر التربة أولا إلى عمق حوالي 90-120 سم ثم تؤخذ العينات بعد ذلك(يجب إن تكون التربة عند اخذ العينات بها نسبة من الرطوبة).

ج- طرق جمع العينات من النبات

يتم جمع العينات من جذور النباتات الضعيفة و التي تبدو عليها أعراض الإصابة و لا تجمع جذور النباتات الميتة.

ويفضل اقتلاع النبات بأكمله بواسطة الجاروف و لينزع النبات بالقوة حتى لا تتمزق الجذور الشعرية الرفيعة. و قد يقتضى الأمر جمع عينات من أجزاء نباتية أخرى كالسوق و الأوراق والأبصال والدرنات و في هذه الحالة تغلف هذه العينات بورق الشمع أو في قطن مرطب بالماء و توضع في أكياس بلاستيك لحين نقلها للمعمل.

د- نقل العينات

يتم نقل العينات في ليس يوكس للحفاظ على العينات من التلف و يراعى تدوين البيانات الخاصة بالعينات على الكيس البلاستيك.

ثانيا طرق استخلاص العينات Extraction

(ا) طرق استخلاص النيماتودا من التربة:-

- 1- استخلاص النيماتودا من عينات التربة الصغيرة:-
- 1- طريقة الفحص المباشر Direct examination
- 2- طريقة قمع برمان Baermann funnel-

(ب)- استخلاص النيماتودا من عينات التربة الكبيرة :-

- 1- طريقة المصافي Sieves
- 2- طريقة الجمع بين المصافي و قمع برمان
- 3- طريقة الطرد المركزي Centrifuge
- 4- طريقة الطفوFlotation method

ثانيا طرق استخلاص العينات Extraction

(ب) طرق استخلاص النيماتودا من الأجزاء النباتية:-

- 1- طريقة تمزيق الأنسجة النباتية Teasing
- 2- طريقة الحضانة Incubation method
- 3- طريقة الخلاط Blender

ثالثا طرق عمل التحضيرات المجهرية

- تجميع الديدان النيماتودية Collecting
- تخدير النيماتودا Anaesthetizing
- قتل النيماتودا Killing
- التثبيت Fixation
- التحميل Mounting

رابعا طرق حفظ الأجزاء النباتية المصابة بالنيماتودا

يستخدم لحفظ العينات محلول الفورمالين 5% أو الكحول 70% والفورمالين أكثر المحاليل شيوعا حيث تظل الأجزاء النباتية في حالة جيدة لمدة طويلة و دون أن يطرأ عليها تغيير في لونها الطبيعي.

خامسا : طرق صبغ النيماتودا داخل الأجزاء النباتية

- طريقة فلمنج
- طريقة اللاكتوفينول

طرق جمع العينات النيماتودية

1 – طرق جمع العينات من التربة

* الادوات المستخدمة

الجاروف	اسطوانة أخذ العينات
المنقرة	أكياس بلاستيك
مقص تقليم	أقلام فلوماستر
آيس بوكس	

شكل رقم (١٤): كشط الطبقة السطحية من التربة قبل أخذ العينة للفحص النيماتودي بواسطة الجاروف

شكل رقم (١٥): وضع عينة التربة في الكيس البلاستيكي

شكل رقم (١٦): أخذ جزء من الجذور المصابة مع عينة التربة للفحص النيماتودي

طرق أخذ العينات

نقل العينات

طرق استخلاص النيماتودا من التربة و النبات

الفحص الميكرسكوبى