#### المحاضره الرابعه عشر

# طرق جمع العينات Sampling methods

توجد عدة طرق لجمع العينات من التربه ، تختلف بأختلاف الهدف من جمع العينه (تشخيص، مسح عام ، تجارب ، خدمات أرشاديه ) وحالة الحقل ( بور ، بستان ، مزروع بمحاصيل حقليه ، مزروع بحاصيل خضر ،مزروع بمحاصيل حوليه ) وكذلك نوع النيماتودا . ومهما أختلفت طرق الجمع للعينات يجب أن تكون العينه المأخوذه ممثله تماما لكثافة النيماتودا في الحقل أثناء فترة الجمع.

#### أدوات أخذ العينات

تستخدم عدة أدوات لجمع العينات أهمها أسطوانة جمع العينات تكون بطول 30سم وقطر 2.5سم مفتوحه من جانب واحد يعلوها مقبض يدوي ، طرفها الاسفل دائري حاد لتسهيل أختراقها التربه ، تؤخذ عينه مركبه بأدخال الاسطوانه في التربه 5- 10 مرات في منطقة أخذ العينات وبطريقه منتظمه . كما تستخدم المجرفه Augar لجمع العينات من التربه . كذلك من أدوات أخذ العينات أكياس بلاستيكيه شفافه (أكياس بولي أثلين ) لوضع نموذج العينه ، وبطاقات لتثبيت المعلومات المتعلقه بالعينه ( أسم الباحث ، أسم المنطقه ، أسم المحصول ، تاريخ الجمع ، وقت أخذ العينه ، طبيعة تربة الحقل ... الخ ) . وحافظه حقليه مبرده لوضع العينات فيها لكي يتم نقلها للمختبر .

## المتطلبات العامه لأخذ عينات من التربه

هنالك عدة متطلبات يجب مراعاتها عند أخذ العينات من التربه يمكن أجمالها بما يلي :-

- 1- تؤخذ العينه عندما تكون رطوبة التربه مناسبه مع تجنب المناطق الغدقه والجافه جدا .
  - 2- تجنب المناطق الصلبه أو الموبوءه بالحشائش وأطراف الحقل.
- 3- عند أخذ العينات من النباتات لغرض التشخيص فيجب تجنب النباتات الميته والبقع شديدة الأصابه جدا، أذ تؤخذ العينات من حواف هذه البقع، ويفضل أخذ عينات من حول النباتات السليمه لأجل المقارنه.
- 4- في حالة تربة الحقل غير متجانسه مثلا تكون طينيه في جزء من الحقل ورمليه في الجزء الأخر
  ، تؤخذ عينات مستقله من كل نوع من التربه
- 5- يقسم الحقل الى أقسام متساويه أذا كان متماثلا ، حيث تؤخذ عينات من كل قسم وبعمق حوالي 2ig-zag سم وبطريقه منتظمه متعاقبه 2ig-zag . هذا النمط فعال للحقول البور والحقول المزروعه بمحاصيل حقليه أو مزروعه في خطوط أو مزروعه بمحاصيل حوليه .
- 6- أما أخذ العينات من التربه المزروعه بالأشجار والشجيرات ، أذ تؤخذ العينات في أي وقت ، بشرط أن تكون النباتات في حاله نمو والتربه بحاله جيده ، لذا تؤخذ العينات من على مماس محيط دائره نصف قطرها حوالي نصف متر من جذع الشجره أو الشجيره وبعمق منطقة الجذور الشعريه وبنظام متعاقب بطريقة zig zag.
  - 7- يجب أن تحتوي العينه على جزء من الجذور.
- 8- عند أخذ العينات تخلط كل عينه مركبه وتوضع في كيس بلاستيكي ويدون عليه جميع المعلومات الضروريه.
- 9- يجب أن لاتتعرض العينات للشمس مباشرة أو الحراره لأكثر من 30 درجه مئويه. لذلك يجب وضعها في صناديق مبرده وعازله للحراره وتنقل مباشرة للمختبر.

10-يفضل أستخلاص النيماتودا من العينات خلال فتره لاتتجاوز اليومين وفي حالة تعذر الاسخلاص يجب أن تحفظ العينات على درجة حراره 10-15م لابقاء النيماتودا حيه فسيولوجيا وبتعذر وجود براد فتحفظ في درجة حرارة الغرفه مده لا تزيد عن 2- 3 أسابيع

#### جمع العينات من النبات

يتم جمع العينات من النباتات بعد أن يقسم الحقل الى عدة أقسام حسب مساحة الحقل وتؤخذ العينات من كل قسم بمعدل 10- 30 عينه كل على حده وتؤخذ العينات من جذور النباتات الضعيفه والتي يبدو عليها أعراض ألأصابه ولا تجمع جذور النباتات الميته ، لذا فأن العمق الذي تؤخذ منه العينه يجب أن يتناسب مع وجود جذور هذه النباتات وخاصة الجذور الرفيعه والشعريه . وبصفه عامه فأن العينات تؤخذ في هذه الحاله من الطبقه السطحيه للتربه وبعمق 20- 30 سم على الأقل . أما في حالة الأشجار والشجيرات فتحفر التربه أو لا الى عمق 40- 70 سم ثم تؤخذ العينات (يجب أن تكون التربه عند أخذ العينات تحتوي على نسبه من الرطوبه ) . وفي بعض الأحيان يفضل أقتلاع النبات بأكمله بواسطة المسحاه (الكرك) وينزع النبات بالقوه حتى لاتتمزق الجذور الشعريه الرفيعه وقد يقتضي الأمر جمع عينات من أجزاء نباتيه أخرى مثل السيقان والأوراق والأبصال والدرنات والبذور التي تظهر أعراض الأصابه وتقارن هذه الأنسجه مع الأنسجه للنبات السليم . وبعد ذلك توضع العينات في أكياس بلاستيكيه وترطب بالماء لحين نقلها للمختبر . ويجب أن تدون البيانات الخاصه بالعينه على الكيس البلاستيكي وتحفظ في صناديق مبرده .

### وقت أخذ العينه

يختلف وقت أخذ العينه بأختلاف المحصول ومرحلة نموه والهدف من أخذ العينه (لغرض التنبؤ أو التشخيص) ، عينات التنبؤ تؤخذ بوقت مبكر في بداية الموسم أو قبل الزراعه أو نهاية موسم المحصول السابق لتقدير كثافة النيماتودا . معظم أنواع النيماتودا تزداد كثافتها خلال موسم النمو وتنخفض في فصل الجفاف لاسيما في المحاصيل الحوليه . أما العينات لغرض التشخيص فيجب أن تجمع بشكل مثالي في منتصف الموسم أو نهاية موسم النمو للمحصول . أما النباتات المعمره فتجمع العينات أثناء فترة نشاط النيماتودا في مواسم تساقط الأمطار والربيع .

# تهيئة العينه لأستخلاص النيماتودا

تجمع عينات الحقل الواحد وتخلط جيدا للحصول على عينه مركبه يتم التقاط الأحجار والجذور وبقايا النبات منها وتنخل بمنخل 1-2 ملم ، يؤخذ حجم معين من التربه 200-500 غم وتستخلص منها النيماتودا وفق الطريقه المناسبه وتعتمد على نوع وبايولوجية وطبيعة تطفل النيماتودا والعائل النباتي وطبيعة وقوام التربه ووقت أخذ العينه والهدف من الأستخلاص ومدى توفر الأدوات والأجهزه الخاصه وكذلك الوقت اللازم للأستخلاص .

أما عينات الجذور فتحضر بأزالة التربه الملتصقه بها أذ تغسل بلطف تحت ماء حنفيه جاري وتقطع قطع صغيره بطول 1-2 سم وتستخلص النيماتودا والبيوض وفق الطريقه المناسبه للأستخلاص.

# طرق أستخلاص النيماتودا من التربه والنبات

## أولا: طرق إستخلاص النيماتودا من التربه

تستخلص النيماتودا من التربه بعدة طرق تتفاوت فيما بينها من حيث كفاءتها وقدرتها على الأستخلاص ومن هذه الطرق مايلي:

#### 1- طریقة قمع بیرمان Baermann funnel

تفيد هذه الطريقه في أستخلاص النيماتودا النشطه من عينات التربه الصغيره وكذلك في أستخلاص النيماتودا الداخليه المتحركه من أجزاء الجذور الموجوده في عينة التربه. وهي طريقه سهلة التطبيق و لا تحتاج الى أجهزه ومعدات خاصه. وكذلك تتيح فحص عينات عديده في وقت واحد.

#### عيوبها:-

- 1- النيماتودا الكبيرة الحجم والبطيئة الحركه لا تستخلص بصوره جيده.
  - 2- قد لا يتم الأستخلاص جيدا أذا كانت كمية الطين في العينه كبيره.
- 3- تباين نسبة النيماتودا المستخلصه بسبب الحراره بالنسبه للعينات التي تستخلص بأوقات مختلفه مما يؤدي الى تباين القراءات .

#### الأدوات والمواد اللازمه: ـ

- 1- قمع زجاجي .
- 2- أنبوب مطاط بطول 5سم يدخل فيه باحكام نهاية ساق القمع الزجاجي .
  - 3- قطعة قماش شاش ذات ثقوب صغيره (قماش ململ ).
    - 4- ملقط ماسكه حجم صغير.
- 5- منخل حجم صغير 50 مش . (Mesh هو عدد الثقوب في الأنج المربع).
  - 6- زجاجة ساعه أو طبق زجاجي أو بلاستيكي .

### طريقة العمل:

- 1- يملأ القمع بالماء حتى منتصفه مع ضرورة تفريغه من الهواء وذلك بفتح الماسكه والسماح لقليل من الماء بالتسرب للخارج شكل ( 2 ) .
- 2- توضع العينه الترابيه 50 عم في قطعة قماش شاش وتوضع بهدوء في المنخل الصغير 50 مش الموجود داخل القمع بحيث يصبح الماء ملامس لقطعة القماش من جزءها السفلي حيث تتحرك النيماتودا في التربه الرطبه لتسقط في الماء وتتجمع في الجزء الاسفل من الأنبوبه.
- 3- بعد مرور 24- 48 ساعه ترفع قطعة القماش والعينه الترابيه وتسحب 3- 5 مل من معلق النيماتودا المتمركزه في الجزء الاسفل من القمع وذلك بفتح الماسكه الى زجاجة ساعه أو طبق زجاجي وبعد ذلك يتم فحص وتقدير كثافة النيماتودا الحيه بأستخدام شريحة عد النيماتودا تحت مجهر التشريح.

تعتبر هذه الطريقه من أبسط الطرق في أستخلاص النيماتودا لكنها تتطلب كثرة تكرار عملية

التصفيه من خلال المناخل.

#### مميزاتها:

- 1- جيده لإستخلاص نيماتودا التربه الكبيرة الحجم والبطيئة الحركه .
  - 2- طريقه كفوءه لإستخلاص جميع أنواع النيماتودا .
  - 3- ملائمه لإستخلاص الحوصلات Cyst من التربه.
  - 4- ملائمه لإستخلاص النيماتودا من العينات الغدقه

#### عيوبها:

- 1- قد تتعرض النيماتودا للضرر.
- 2- كفاءتها في الإستخلاص ليست عاليه .
- 3- يمكن أن تبقى النيماتودا في عينة التربه مالم تمزج التربه جيدا بالماء .
  - 4- تحتاج الى مناخل ذات فتحات بأحجام مختلفه .

5- تتطلب بعض المواد الخاصه مثل السيبارين Separan التي تستخدم لغرض ترسيب عالق التربه وبقاء النيماتودا عالقه في المحلول.

#### المواد والأدوات اللآزمه:

- $_{1}$  بيكرات بلاستك او زجاج سعة  $_{2}$  و  $_{3}$  لتر و  $_{1}$  مل  $_{2}$
- 2- مجموعة مناخل قطرها 20سم وسعة الثقوب 350 ، 350 ، 45 ، ميكرون (50 ، 50 ، 350 ، 20
  - 3- ملعقه معدنيه أو أداة تقليب.
    - 4- قنينة غسيل

#### طريقة العمل:

- 1- تخلط عينة التربه خلطا جيدا ويؤخذ منها 200 -300 غم.
- 2- تضع العينه في بيكر زجاجي أو بلاستيكي سعة 3000 مل ويصب عليها كميه من الماء حتى يصل الحجم ثلاثة أرباع الأناء تقريبا ثم تقليب جيدا حتى تتفتت كتلة التربه المتماسكه بواسطة أداة التقليب ويصبح الماء والتربه في الوعاء معلق متجانس ثم تترك العينه لمدة 20- 30 ثانيه حتى تترسب حبيبات التربه الثقيله شكل (3).
- 3- يمرر المعلق عدا حبيبات التربه المترسبه من خلال المنخل 50 مش الى بيكر آخر نظيف ثم تغسل المحتويات فوق المنخل بتيار خفيف من الماء قبل رفعه من فوق الوعاء .
- 4- يتم تغليب محتويات الوعاء الاخير جيدا ويترك لمدة 30 ثانيه ثم يمرر العالق من خلال المنخل 150 مش الى وعاء آخر نظيف . ثم تغسل المحتويات فوق المناخل بتيار خفيف من الماء قبل رفعه من فوق الوعاء .
- 5- تنقل محتويات المنخل 150 مش الى بيكر زجاجي أو بلاستيكي سعة 100مل بواسطة تيار خفيف من الماء يسلط من خلف المنخل بواسطة قنينة الغسيل لغرض فحص النيماتودا الكبيرة الحجم مثل من الماء يسلط من خلف المنخل بواسطة قنينة الغسيل لغرض فحص النيماتودا الكبيرة الحجم مثل Xiphinema , Longidorus وأناث ديدان تعقدالجذور.
- 6- تخلط مجتويات الوعاء الذي مرر من خلال المنخل 150 مش جيدا وتترك لمدة 30 ثانيه ثم يمرر العالق من خلال المنخل 350 مش الى حوض العسيل .
- 7- تنقل المواد المتجمعه على المنخل 350 مش الى بيكر بلاستيكي او زجاجي سعة 100 مل بواسطة تيار خفيف من الماء يسلط من خلف المنخل تماما بواسطة قنينة الغسيل بحيث يكون المنخل بزاويه حاده فوق الوعاء البلاستيكي او الزجاجي.

اذا كانت المحتويات التي جمعتها في الخطوه السابقه رائقه فيمكن اضافة قطره الى قطرتين من مادة السيبارين لغرض ترسيب دقائق التربه وبقاء عالق النيماتودا خالي من دقائق التربه وبعد ذلك ينقل العالق الى يبكر زجاجي نظيف سعة 100 مل ومن ثم يؤخذ 1 الى 5 مل في زجاجة ساعه لغرض الفحص تحت مجهر التشريح.