بسم الله الرحمن الرحيم

علم أمراض النبات - تقنيات وبروتوكولات

طرائق في البيولوجيا الجزيئية

تحرير

Christophe Lacomme

ترجمة

د. محمد أحمد محمد

أستاذ أمراض النبات والبيولوجيا الجزيئية المساعد

جامعة الملك سعود

دار جامعة الملك سعود للنشر
KING SAUD UNIVERSITY PRESS

ص.ب ٦٨٩٥٣ - الرياض ١١٥٣٧ المملكة العربية السعودية

ح دار جامعة الملك سعود للنشر، ١٤٤٤هـ (٢٠٢٢م)

فهرسة مكتبة الملك فهد الوطنية أثناء النشر

لاكوم، كريستوف.

علم أمراض النبات – تقنيات وبروتوكولات: طرائق في البيولوجيا الجزيئية / كريستوف لاكوم؛ محمد أحمد محمد- الرياض، ١٤٤٣هـ.

٥٧٠ ص؛ ١٧سم × ٢٤ سم

ردمك: ٣ - ٠٢٤ - ٥١٠ - ٦٠٣ - ٩٧٨

١- علم الأحياء ٢- النبات – أمراض أ. محمد، محمد أحمد (مترجم) ب. العنوان

ديوي ٥٧٤ ١٤٤٣/٤٠٤٤

رقم الإيداع: ١٤٤٣/٤٠٤٤

ردمك: ٣ - ٠٢٤ - ٥١٠ - ٦٠٣ - ٩٧٨

هذه ترجمة عربية محكمة صادرة عن مركز الترجمة بالجامعة لكتاب:

Techniques and Protocols, Methods in Molecular Biology
By: Christophe Lacomme (ed.), Plant Pathology
© Springer Science+Business Media New York. 2015
وقد وافق المجلس العلمي على نشرها في اجتماعه الخامس عشر للعام الدراسي ١٤٤٢هـ، المعقود بتاريخ ٢/٨/١٤٤٢هـ، الموافق ١٥/٣/٢٠٢١م. ليكون مرجعاً علمياً في مجاله.

جميع حقوق النشر محفوظة. لا يسمح بإعادة نشر أي جزء من الكتاب بأي شكل وبأي وسيلة سواء كانت إلكترونية أو آلية بما في ذلك التصوير والتسجيل أو الإدخال في أي نظام حفظ معلومات أو استعادتها بدون الحصول على موافقة كتابية من دار جامعة الملك سعود للنشر.

دار جامعة الملك سعود للنشر
KING SAUD UNIVERSITY PRESS

مقدمة المترجم

الحمد لله حمداً كثيراً كما ينبغي لجلال وجهه وعظيم سلطانه، والحمد لله الذي بنعمته تتم الصالحات، وصلِّ اللهم وبارك على نبينا محمد وعلى آله وذريته وسلم تسليماً كثيراً وبعد،

أبدأ بالتوجه بالشكر لجامعة الملك سعود، ولمركز الترجمة بالجامعة على دعمهم الدائم لكل ما هو نافع من العلوم التي تساعد على نقل الخبرات الأخرى والمعارف العلمية والإنسانية، النظرية منها والعملية إلى مجتمعاتنا العربية ولصقل المهارات وتنويع مصادر التعلم وتوفير المراجع العلمية والإنسانية الحديثة مما لا يستغني عنها أي مجتمع في وقتنا الحاضر.وإنني ممتن جداً لهم لإتاحة الفرصة لي حتى أقدِّم عملاً وعلماً نافعاً وأتمنى أن يكون كذلك على مستوى جامعاتنا ومجتمعاتنا العربية.

إن هذا الكتاب: "علم أمراض النبات - تقنيات وبروتوكولات - طرائق في علم الأحياء الجزيئي" يُعَد أحد الكتب المرجعية المهمة والحديثة في مجال علم الأحياء الجزيئي جنباً إلى جنب مع علم أمراض النبات، ومن الجدير بالذكر أن ترجمة هذا الكتاب يعد سبقاً لجامعة الملك سعود حيث لا نعرف كتاباً مترجماً أو مؤلفاً يجمع هذه الطرائق والتقنيات الحديثة في الأحياء الجزيئية ، ورغم أن الكتاب يتخذ من أمراض النبات أمثلةً تطبيقية إلا أن هذه الطرائق والتقنيات لا يستغني عنها جميع العاملين والباحثين في العلوم الأخرى مثل علوم الطب والحيوان والكائنات الدقيقة وخاصة كل ما يتعلق بتشخيص الكائنات الحية و تعريفها وتصنيفها بدءاً من الخلية والكائنات الأولية والدقيقة حتى الوصول إلى الإنسان، حيث تعتمد هذه الطرائق على استخلاص الأحماض النووية وتكبيرها وتمييزها للتفريق بين الأجناس والأنواع وتحت الأنواع بتراكيب جينية خاصة ثم تحليل النتائج وهو ما يطلق عليه البصمة الوراثية لهذا الكائن، لذا نجد أن نفس هذه الطرائق بأدواتها وموادها تستخدم في مجال الطب والتشخيص المرضي عموما مع تعديلات بسيطة في بعض التركيزات والمواد ، ومن أشهر تطبيقات هذه الطرائق في مجال التشخيص المرضي الطبي الحديث استخدام تفاعل البلمرة المتسلسل

الذي يسمى " بي سي آر" في تشخيص المرضَى المصابين بأنواع فيروس "سي" الخطير، ويمكن أيضاً من خلال هذه التقنيات الحديثة نفي وإثبات البنوة، ونفي وإثبات الجرائم في تطبيقات الطب الشرعي، وكذلك على مستوى الحيوانات بل وعلى مستوى كل كائن حي.

وفي كتابنا هذا نجد استخداماً رائعاً ومتنوعاً لهذه التقنيات مع الوصف الدقيق لطرائق العمل ومواد الاستخدام وبيان لمصادرها وتركيزاتها المستخدمة مما لا تجده إلا في المراجع أو الأبحاث العلمية الأجنبية فقط ، ومن المعروف للعاملين والباحثين في مجال الأحياء الجزيئي أن من أشهر هذه الطرائق استخداماً وأكثرها تنوعاً وتطبيقاً هو تفاعل البلمرة المتسلسل " بي سي آر" ومن الجميل أن هذا الكتاب عرض العديد من التطبيقات والتعديلات الحديثة لهذه التقنية مثل "بي سي آر " في الوقت الحقيقي ومع النسخ العكسي والـ "بي سي آر" الرقمي وهكذا.

وربما يكون جديداً على البعض وجود تقنية حديثة تعمل عمل الـ بي سي آر حيث تكبر أجزاءً من الحمض النووي يمكن تمييزها ، ولكن بدون الاحتياج للذهاب إلى المعمل وبطريقة مباشرة في المواقع والحقول، وهي طريقة التكبير متساوي الحرارة بالحلقة الوسيطة أو ما يسمى (لامب)، والعجيب أن هذه الطريقة لا تحتاج لبرامج درجات الحرارة المتغيرة التي تستخدم في ال"بي سي آر" ومن ثم يمكن التشخيص بطريقة أسهل وأسرع وأقل تكلفة ، كما قدّم هذا الكتاب استخدام المنصات الإلكترونية الحديثة والمكتبات الجينية وبنوك الجينات في تعريف وتشخيص الكائنات الممرضة ، ووضح أهم البرامج والمصادر المستخدمة في ذلك ، وهذه البرامج تعد من أحدث التقنيات في هذا المجال.

وفي الحقيقة نجد أن هذا الكتاب يحتوي على مجموعة كبيرة من البحوث العلمية مستمدة من الخبرات المختلفة لعدد كبير من علماء العالم المتخصصين في مجال علم الأحياء الجزيئي (البيولوجيا الجزيئية) وأمراض النبات أظهرت أحدث وأهم الطرائق التطبيقية المستخدمة في مجال البيولوجيا الجزيئية وأمراض النبات ، وقد جُمِعت هذه البحوث والتقنيات الحديثة في أربعةٍ وعشرين فصلاً، وقد رتبها المحرر بشكل جيد متناسق وربما متراكب معرفياً إلى حد كبير، وهذا الكم الكبير من البحوث رغم أنه يُصَعِّب المهمة على المترجم من حيث تنوع المؤلفين والباحثين وبالتالي عدم الثبات على أسلوب واحد من كل باحث فضلاً عن طرائق تناول المواضيع من وجهات مختلفة، إلا أنه أثرى العمل جداً

ونوَّع الطرائق والأفكار وأكثر من الخبرات والتجارب والممارسات. وقد واجهتني بعض الصعوبات في تحرير معنى معين لبعض المصطلحات والتي جرت العادة على استخدامها بلفظها الإنجليزي أو اللاتيني للمشتغلين في هذا المجال، واستشرت واجتهدت في اختيار بعض المسمَّيات للمصطلحات العلمية، وأوضحت أهمها في ثبت المصطلحات، كما استخدمت الحواشي السفلية لتفسير بعض هذه المصطلحات بغرض إثراء المعلومات وتوضيح بعض الملتبسات.

ولن أكون مبالغاً إذا قلت إن هذا الكتاب يُعَد مرجعاً علمياً، ودليلاً تطبيقياً، وسبقاً فريداً من نوعه، وهومن العلم الحديث النافع إن شاء الله، وأرجو من الله أن يعم نفعه وأن يبارك فيه وفي كل من شارك وعاون وألف وحرر، وفي كل من ترجم وراجع وأصدر كتابنا الجميل: "علم أمراض النبات – تقنيات وبروتوكولات – طرائق في علم الأحياء الجزيئي" والحمد لله رب العالمين.

تمهيد

تشكل مسببات الأمراض خطرًا على النباتات في البيئات الطبيعية (مثل الغابات والمراعي) وكذلك تضر بالمحاصيل البستانية أو المحاصيل المزروعة، وفي الآونة الأخيرة زادت مخاطر انتشار مسببات الأمراض مع زيادة حركة البشر ومع التوسع في التجارة العالمية، بالإضافة إلى ذلك ، فإن بعض العوامل الأخرى – مثل التغيرات البيئية (تقلبات المناخ المحلية أو العالمية) أو التغييرات في التشريعات الخاصة بمبيدات الآفات – كان لها تأثير في مسببات الأمراض أو نواقلها التي تنشأ في عوائل وبيئات مختلفة أو تتعرض لظروف أو ضغوط طبيعية انتقائية، وهو ما يؤدي إلى نشأة سلالات جديدة من الكائنات الممرضة المقاومة للمضادات الحيوية أو لمبيدات الآفات، ونجد أن هناك أهمية كبيرة للأضرار ذات المدى الواسع عالمياً والتي تسببها الكائنات الممرضة الناشئة أو الجديدة أو المستوطنة، وقد وضعت المنظمات الإقليمية والوطنية لوقاية النباتات، في الاتفاقية الدولية لوقاية النباتات تدابيرَ للصحة النباتية بهدف منع انتشار مسببات الأمراض المعتادة (لا سيما مسببات الأمراض المعروفة بنظام الحجر الصحي) بين البلدان من أجل حماية النظم الزراعية والنباتات الطبيعية.

الحماية للنظام الحيوي النباتي يعتمد بشكل كبير على الكشف المبكر وتشخيص المسببات الممرضة. بخلاف التشخيصات القائمة على الخصائص أو الصفات المورفولوجية ، ويمكن تقسيم طرائق التشخيص إلى ثلاث فئات رئيسة: التحليل الحيوي ، والطرائق المصلية والجزيئية ،وأحيانًا يتم استخدام مزيج من هذه الطرائق، منذ أواخر السبيعينات ، والطريقة المصلية " إليزا" ELISA، باستخدام الأجسام المضادة متعددة النسيلة polyclonal antibodies وخاصة وحيدة النسيلة monoclonal antibodies ، كانت الطريقة الأكثر استخداماً في معظم المختبرات التشخيصية ، وذلك نظراً لفاعليتها وقدرتها على توفير الكشف والتشخيص الدقيق لعدد كبير من العينات، ومع

ذلك، على مدى العقد الماضي تزايد استخدام اختبارات الحمض النووي "دي إن إيه" / "آر إن إيه" ولا سيما تفاعل البلمرة المتسلسل " بي سي آر" PCR بشكل ملحوظ ، حيث أصبحت تلك الاختبارات تجُرَى بشكل روتيني في المختبرات التشخيصية وذلك بسبب حساسيتها المتزايدة ودقتها العالية ،كما تتميز هذه الأنواع من الاختبارات بالسهولة النسبية التي يمكن بها تطوير الاختبارات ، وإمكانية الكشف عن أهداف متعددة ، كما أنها تتطلب كميات قليلة جداً من العينات المطلوب فحصها ، وتصلح أن تكون وسيلة (آلية) اختبار عالية الإنتاجية. علاوة على ذلك فإن معرفة التتابع الجيني أو التسلسل (Sequencing) قد ساهم بشكل كبير في زيادة المعرفة بالجينومات (العوامل الوراثية) للنباتات والجراثيم وهو الآن يستخدم على نطاق واسع منفرداً أو بالإضافة إلى طرائق أخرى للتشخيص.

وهناك تقنيات أخرى مثل نقطة النهاية (التقليدية) لتفاعل البلمرة المتسلسل PCR end-point (conventional) PCR,، أو اختبار الوقت الحقيقي لتفاعل البلمرة المتسلسل "Real-time PCR " ، وكذلك اختبارات رقائق الفصل الدقيقة التشخيصية لها استخدامات كثيرة ومتعددة ، حيث يمكن استخدامها إما كطريقة تشخيص عام أو تشخيص جيني (للعوامل الوراثية) لتحديد النوع أو الجنس، ومع ذلك ، فإن أحد عيوبها هو اعتمادها على المعرفة المسبقة لجينوم (الشريط الوراثي) الكائن الممرض أو مسببات الأمراض محل الدراسة، ويلاحظ أن التطور السريع للمعلوماتية الحيوية وتقنية الحوسبة التي تعمل على تحليل أعداد كبيرة جدًا من مجموعات البيانات المعقدة ، ستجعل الجيل التالي عالي الإنتاجية موازياً لمنصات التتابع الجيني (المعروف أيضا باسم التسلسل العميق) باعتبارها إحدى طرائق الكشف والتشخيص. وتطبيق مثل هذه الأساليب المتعددة ذات العلاقة بالنظام الجيني (العوامل الوراثية) للعينات المريضة يوفر إمكانية التعرف على مسببات الأمراض التي لم يتم توصيفها بالكامل بعد، والأهم من ذلك، هو أن التطورات الحديثة في تشخيص العوامل المسببة للأمراض النباتية توفر أنظمة تشخيص محمولة قابلة للانتشار والتي لا تتطلب أجهزة أو أدوات لعمل دورات حرارية. وهذا يسمح بتحديد المسببات الممرضة سريعاً في الموقع، دون الحاجة للتحليل المعملي، ومن الجدير بالذكر أن إنشاء أو تطوير أي اختبار تشخيص يتطلب التحقق لضمان – على سبيل المثال–

مستوى الحساسية، والدقة والتخصص، والتكرار، والاستنساخ أو إعادة الإنتاج والدليل على أن هذا الاختبار مناسب للغرض الذي يستخدم له.

هذه الطبعة الثانية من كتاب تقنيات وبروتوكولات النبات تضمنت الطرائق المستخدمة حديثا في المختبرات لمجموعة واسعة من الأنواع والعوائل النباتية والمصفوفات. وتشمل هذه الطرائق الاختبارات المصلية والجزيئية التي لديها واحد أو أكثر من الخصائص التالية:

الملاءمة لاختبار الإنتاجية العالية، وإمكانية الكشف عن مجموعة من مسببات الأمراض أو الكشف عن مسببات الأمراض غير المعروفة في بعض الأحيان، وتحديد الأنواع لمسببات مرضية متخصصة، بالإضافة لدرجة الدقة العالية، ويتم في هذا الكتاب وصف الاختبارات النوعية والكمية، وكذلك أساليب التشخيص الحديثة التي تم تطويرها مؤخرًا. وهذه الفصول تستهدف في المقام الأول جمهوراً من علماء الأمراض النباتية وعلماء الأحياء الجزيئية الذين سيقدمون معلومات حول كيفية القيام بذلك لأداء الاختبارات في مختبراتهم أو معاملهم، كما تقدم فصول هذا الكتاب معلومات أساسية عن عديد من مسببات الأمراض المستوطنة أو غير المستوطنة أو الناشئة مع شرح لدورات الحياة المختلفة لكل نوع خاصة تلك التي تسبب أكثر الأمراض أهمية في مجموعة واسعة من العوائل، وأخيراً أود أن أشكر جميع المؤلفين الذين ساهموا في إصدار هذه الطبعة الثانية من علم أمراض النبات – التقنيات والبروتوكولات.

كريستوف لاكوم إيدنبرج المملكة المتحدة.

المساهمون
Contributors

IAN ADAMS • Food and Environment Research Agency , York , UK
DENISE A'HARA • Science and Advice for Scottish Agriculture , Edinburgh , UK
JAN H. W. BERGERVOET • Wageningen UR , Wageningen , The Netherlands
ASSUNTA BERTACCINI • DipSA, Plant Pathology, Alma Mater Studiorum – University of Bologna , Bologna , Italy
NEIL BOONHAM • Food and Environment Research Agency , York , UK
JOHAN T. BURGER • Department of Genetics , Stellenbosch University , Stellenbosch , South Africa
GREIG CAHILL • Science and Advice for Scottish Agriculture , Edinburgh , UK
MOHAMAD CHIKH-ALI • Department of Plant Soil and Entomological Sciences , University of Idaho , Moscow , ID , USA
YVONNE COLE • Science and Advice for Scottish Agriculture , Edinburgh , UK
NICOLETTA CONTALDO • DipSA, Plant Pathology, Alma Mater Studiorum – University of Bologna , Bologna , Italy
SYLVIE DALLOT • INRA-Cirad-Montpellier SupAgro, UMR 385 BGPI, Cirad TA A-54K , Montpellier cedex , France
AGNÈS DELAUNAY • INRA-Cirad-Montpellier SupAgro, UMR 385 BGPI, Cirad TA A-54K,
Montpellier cedex , France
MATT DICKINSON • School of Biosciences , University of Nottingham , Loughborough , UK
TANJA DREO • Department of Biotechnology and Systems Biology , National Institute of Biology , Ljubljana , Slovenia
VIRGINIE DUPUY • INRA-Cirad, UMR 15 CMAEE, Cirad TA A-15G,
Montpellier cedex, France
MATTHEW ELLIOT • Centre for Ecosystems, Society and Biosecurity , Forest Research , Edinburgh , UK
JOHN G. ELPHINSTONE • Food and Environment Research Agency , York , UK
DANIEL ESMENJAUD • INRA-UMR1355 Institut Sophia Agrobiotech , Nice , France ; UMR Institut Sophia Agrobiotech, Université de Nice-Sophia Antipolis , Nice , France ; CNRS-UMR7254 Institut Sophia Agrobiotech , Nice , France
FIONA EVANS • Science and Advice for Scottish Agriculture , Edinburgh , UK
DENIS FILLOUX • Cirad-INRA-Montpellier SupAgro, UMR 385 BGPI, Cirad TA A-54K, Montpellier Cedex , France
JAMES FOUNTAINE • Biological Sciences, Jealott's Hill International Research Centre, Bracknell, UK
SERGE GALZI • CIRAD-UMR BGPI , Montpellier , France
CYRIL VAN GHELDER • INRA-UMR1355 Institut Sophia Agrobiotech , Nice , France ; UMR Institut Sophia Agrobiotech, Université de Nice-Sophia Antipolis , Nice , France ; CNRS-UMR7254 Institut Sophia Agrobiotech , Nice , France
LAURENT GLAIS • INRA-UMR1349 IGEPP , Le Rheu , France ; Fédération Nationale des Producteurs de Plants de Pomme de Terre (FN3PT) , Paris , France
KALINA GORNIAK • Crop and Soils Systems , Edinburgh , UK

SARAH GREEN • Centre for Ecosystems, Society and Biosecurity , Forest Research , Edinburgh , UK
DENNIS C. GROSS • Department of Plant Pathology and Microbiology , Texas A&M University , College Station , TX , USA
ION GUTIÉRREZ-AGUIRRE • Department of Biotechnology and Systems Biology , National Institute of Biology , Ljubljana , Slovenia
CATHERINE HARRISON • Food and Environment Research Agency , York , UK
NEIL HAVIS • Crop and Soils Systems , Edinburgh , UK
THIEN HO • University of Arkansas , Fayetteville , AR , USA
ROSS HOLMES • Science and Advice for Scottish Agriculture , Edinburgh , UK
SONIA N. HUMPHRIS • The James Hutton Institute , Dundee , UK
EMMANUEL JACQUOT • INRA-Cirad-Montpellier SupAgro, UMR 385 BGPI, Cirad TA A-54K , Montpellier cedex , France
COLIN JEFFRIES • Science and Advice for Scottish Agriculture , Edinburgh , UK
ALEXANDER V. KARASEV • Department of Plant Soil and Entomological Sciences, University
of Idaho , Moscow , ID , USA
RACHEL KELLY • Science and Advice for Scottish Agriculture , Edinburgh , UK
DAVID KENYON • Science and Advice for Scottish Agriculture , Edinburgh , UK
CHRISTOPHE LACOMME • Science and Advice for Scottish Agriculture , Edinburgh , UK
JULIEN LÉVY • Department of Horticultural Sciences , Texas A&M University , College Station , TX , USA
STUART MACFARLANE • The James Hutton Institute , Dundee , UK
OLGA MAKAROVA • Department of Agroecology , Aarhus University , Slagelse , Denmark
HANS J. MAREE • Department of Genetics , Stellenbosch University , Stellenbosch , South Africa ; The Fruit, Vine and Wine Institute of the Agricultural Research Council , Stellenbosch , South Africa
ROBERT R. MARTIN • Horticulture Crops Research Unit, United States Department of Agriculture , Agricultural Research Service , Corvallis , OR , USA
WENDY MCGAVIN • The James Hutton Institute , Dundee , UK
WENDY A. MONGER • Science and Advice for Scottish Agriculture , Edinburgh , UK
VINCE MULHOLLAND • Science and Advice for Scottish Agriculture , Edinburgh , UK
MOGENS NICOLAISEN • Department of Agroecology , Aarhus University , Slagelse, Denmark
SABRINA PALMANO • Istituto per la Protezione Sostenibile delle Piante (IPSP) C.N.R, Torino , Italy
SAMANTA PALTRINIERI • DipSA, Plant Pathology, Alma Mater Studiorum – University of Bologna , Bologna , Italy
NEIL M. PARKINSON • Food and Environment Research Agency , York , UK
LINDA PATERSON • Crop and Soils Systems , Edinburgh , UK
JON PICKUP • Science and Advice for Scottish Agriculture , Edinburgh , UK
ELIZABETH PIERSON • Department of Horticultural Sciences , Texas A&M University, College Station , TX , USA
LEIGHTON PRITCHARD • The James Hutton Institute , Dundee , UK
HENRY VAN RAAIJ • Wageningen UR , Wageningen , The Netherlands
NEJC RAČKI • Department of Biotechnology and Systems Biology , National Institute of Biology , Ljubljana , Slovenia
ARAVIND RAVINDRAN • Department of Plant Pathology and Microbiology , Texas A&M University , College Station , TX , USA
MAJA RAVNIKAR • Department of Biotechnology and Systems Biology , National Institute of Biology , Ljubljana , Slovenia
ALEX REID • Science and Advice for Scottish Agriculture , Edinburgh , UK
PHILIPPE ROUMAGNAC • Cirad-INRA-Montpellier SupAgro, UMR 385 BGPI, Cirad TA A-54K, Montpellier Cedex , France

GERRY S. SADDLER • Science and Advice for Scottish Agriculture , Edinburgh , UK
JEANETTE TAYLOR • Crop and Soils Systems , Edinburgh , UK
JENNY TOMLINSON • Food and Environment Research Agency , York , UK
IAN K. TOTH • The James Hutton Institute , Dundee , UK
IOANNIS E. TZANETAKIS • University of Arkansas , Fayetteville , AR , USA
RENÉ A. A. VAN DER VLUGT • Wageningen UR , Wageningen , The Netherlands
MARJANNE DE WEERDT • Wageningen UR , Wageningen , The Netherlands
DOMINIE G. WRIGHT • Department of Agriculture and Food , Bentley Delivery Centre, Bentley , WA , Australi.

المحتويات

مقدمة المترجم ..... هـ
تمهيد ..... ط
المساهمون ..... م
الفصل الأول: الكشف عن أنواع البكتيريا الممرضة للبطاطس من أنواع البكتوباكتيريوم و ديكيا باستخدام اختبار تفاعل البلمرة المتسلسل التقليدي أو "بي سي آر" في الوقت الحقيقي ١
الفصل الثاني : الكشف عن مسببات الفوما الممرضة لنباتات البطاطس وتشخيصها.....٣١
الفصل الثالث :تشخيص النوع راموﻻريا كولو سيجني وأنواع الرينكوسبوريوم في الشعير..... ٤٩
الفصل الرابع : استخدام اختبار تفاعل البلمرة المتسلسل في الوقت الحقيقي المتعدد في تحديد الفطريات الممرضة القريبة وثيقة الصلة وتعريفها على مستوى الأنواع ٦١
الفصل الخامس: تشخيص أمراض الأشجارالتي تنتج عن الإصابة بأنواع الفطر "فيتوفثورا أوستروسيدري". ٩٣
الفصل السادس: التكبير في الوقت الحقيقي بتقنية " لامب" لتشخيص الفطر تشالارا فراكسينيا ١١٩
الفصل السابع: تكبير الحلقة الوسيطة متساوي الحرارة "لامب" للكشف عن مسببات مرض شرائح الحمار الوحشي في البطاطس.....١٣٣
الفصل الثامن: تكبير الحلقة الوسيطة متساوي الحرارة "لامب" للكشف عن الفيتوبلازما في الحقل ١٥٣
الفصل التاسع : تشخيص الفيتوبلازما بواسطة " بي سي آر" في الوقت الحقيقي باستخدام مسابر الحمض النووي المغلق ١٧١

الفصل العاشر : كيو بنك الفيتوبلازما : أداة تشفير الحمض النووي "دي إن إيه " لتعريف الفيتوبلازما ١٨٧
الفصل الحادي عشر: تشخيص عالي الكفاءة لنيماتودا حويصلات البطاطس في عينات التربة. ٢٠٧
الفصل الثاني عشر: الكشف عن ناقلات النيبوفيروس وأنواع الزيفينيا غير الناقلة في حدائق العنب. ٢٢٩
الفصل الثالث عشر: الطرائق الجزيئية والمصلية (السيرولوجية) لتشخيص الفيروسات في درنات البطاطس..... ٢٤٧
الفصل الرابع عشر: اختبار الارتباط المناعي المتعدد مع النسخ العكسي لتفاعل البلمرة المتسلسل للكشف و التعريف المتزامن للفيروسات النباتية و سلالاتها المختلفة دراسة حالة : فيروس البطاطس(PVY) Y..... ٢٧٣
الفصل الخامس عشر: طريقة اللقطة الفوتوجرافية (سناب شوت) و طريقة التفريد الكهربائي الشعري وحيد السلسلة متعدد الأشكال:طريقتان بسيطتان وذات تكلفة اقتصادية للكشف عن التباين الوراثي بين أنواع الفيروسات. ٢٨٩
الفصل السادس عشر: الكشف عن و توصيف الأنواع / تحت الأنواع الفيروسية باستخدام طريقة تكبير البلمرة المتوافق متساوي الحرارة. ٣٢١
الفصل السابع عشر: اختبار الفيروسات بواسطة تفاعل البلمرة المتسلسل " بي سي آر" وتكبيرالنسخ العكسي – لتفاعل البلمرة المتسلسل " آر تي – بي سي آر" في ثمار التوت.....٣٥١
الفصل الثامن عشر: طرائق الميتاجينوم المعتمِدة على الأحماض النووية المصاحبة للفيريون "فانا" : أداة مبتكرة للتقييم بدون التنوع الفيروسي المسبق في النباتات ٣٨٧
الفصل التاسع عشر : الكشف عن فيرويد درنات البطاطس المغزلي وغيرها من الفيرويدات ذات الصلة بواسطة مسبرات الديجوكسيجين المعلمة للحمض النووي الريبوزي..... ٤٠٣
الفصل العشرون: تقنية مصفوفة الحمض النووي ديوكسي ريبوز "دي إن إيه" الدقيقة للكشف عن مجموعة من الفيروسات و الفيرويدات النباتية..... ٤٢٣

الفصل الحادي والعشرين: الكشف المتعدد للكائنات الممرضة للنبات من خلال نظام حبيبات لومينكس المغناطيسية المتعدد..... ٤٣٩
الفصل الثاني والعشرين: الجيل القادم من تسلسل الأصول الوراثية المنتخبة لنبات التوت وتحليل البيانات باستخدام مصادر المعلومات الحيوية للكشف عن الفيروسات.....٤٦٣
الفصل الثالث والعشرين: التسلسل الميتاجينومى للجيل التالي من للفيروسات التي تصيب أشجار العنب..... ٤٨٣
الفصل الرابع والعشرين: استخدام الـ بي سي آر الرقمى القطيرى للتقدير الكمي المطلق لمسببات الأمراض النباتية..... ٥٠٧
ثبت المصطلحات. ٥٣٣
كشاف الموضوعات..... ٥٥٧