الفصل الأول

التربية لمقاومة الأمراض الفطرية

أولاً : مقاومة أمراض الذبول والمجموع الجذرى وقاعدة الساق

الذبول الفيوزارى

يسبب الفطر *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* مرض الذبول الفيوزارى Fusarium Wilt فى الطماطم. ويتخصص هذا الطراز النوعى للفطر (f. sp. *lycopersici*) على الطماطم والأنواع الأخرى البرية القريبة منها ولا يصيب غيرها، كما لا تصاب أى من هذه الأنواع بأى من الطرز النوعية الأخرى للفطر.

مصادر المقاومة لمختلف السلالات الفسيولوجية للفطر ووراثتها

لم يكن يعرف قبل عام ١٩٣٩ أى مصدر لمقاومة الذبول الفيوزارى فى الطماطم، لكن كان من المعروف — حينئذٍ — أن بعض الأصناف أكثر قدرة على تحمل الإصابة من غيرها؛ مثل الصنفين: رتجرز Rutgers، ومارجلوب Marglbe. وفى عام ١٩٣٩.. اكتشف Bohn & Tucker المقاومة للفطر فى السلالة Accession 160 من النوع البرى *Solanum pimpinellifolium*، ووجدا أنها صفة سائدة يتحكم فيها جين واحد يعطى مناعة تامة ضد الإصابة بالفطر. وقد أُعطى هذا الجين الرمز I للدلالة على المناعة Immunity. وبالتربية.. نقل هذا الجين إلى الطماطم بإنتاج الصنف بان أمريكا Pan America، الذى كان أول صنف طماطم مقاوم للذبول الفيوزارى (Porter & Walker ١٩٤١). وأعقب ذلك إنتاج عديد من الأصناف التجارية الأخرى التى تحمل هذا الجين أيضًا. ولكن — فى غضون أربع سنوات من إنتاج الصنف بان أميركا — اكتشفت سلالة جديدة من الفطر كانت قادرة على كسر المقاومة التى يوفرها هذا الجين، وهى التى عرفت برقم ٢. وبالرغم من انتشار هذه السلالة حاليًا فى معظم أنحاء العالم، إلا أنه لم

يمكن التعرف عليها – حتى عام ١٩٨٢ – فى عدد من عزلات الفطر التى اختبرت فى مصر، والتى وجد أنها كانت جميعها من السلالة الأولى (Hassan وآخرون ١٩٨٢).

ولقد أجريت عديد من الدراسات على وراثة المقاومة للذبول الفيوزارى المتحصل عليها من السلالة 160 للنوع البرى *S. pimpinellifolium*. واستدل من هذه الدراسات على أن المقاومة سائدة سيادة تامة (Hutton وآخرون ١٩٤٧)، ويتحكم فيها جين واحد (Dennett ١٩٥٠)، أو يتحكم فيها أكثر من جين ذى سيادة تامة تقريبًا (Gilles & Hutton ١٩٥٨)، أو بسيطة وسائدة مع احتمال وجود جينات محورة (Suzuki وآخرون ١٩٦٢). وفى مصر.. دُرست وراثة المقاومة للذبول الفيوزارى فى الصنفين VF 365، و VFN 8، ووجد أنها بسيطة وسائدة مع وجود جينات محورة تؤثر فى شدة الإصابة فى الأصناف القابلة للإصابة (Ali وآخرون ١٩٧٢). ومن المعروف جيدًا – حاليًا – أن المقاومة لفطر الذبول الفيوزارى (السلالة رقم ١) يتحكم فيها جين واحد سائد (الجين I)، مع وجود جينات محورة تجعل الانعزال الوراثى ينحرف عن النسب المتوقعة (عن Russell ١٩٧٨). ويرتبط هذا الجين بالجين Sm المسئول عن المقاومة للفطر *Stemphylium* المسبب لمرض تبقع الأوراق، وقدرت المسافة بينهما بنحو ٣٦,٧٧ ± ٢,٤١ وحدة عبور (Dennett ١٩٥٠).

هذا.. ويقع هذا الجين على الكروموسوم ١١ (El-Mohtar وآخرون ٢٠٠٧).

ويذكر أن الجين Frl (قد يكون هو الجين I) يتحكم فى المقاومة للفطر *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* بينما يتحكم الجين Tm-2 فى المقاومة لعدة سلالات من فيرس موزايك التبغ. ويتلقيح سلالة الطماطم IRB-301-31 ذات التركيب الوراثى Frl/Frl,Tm-2/Tm-2 مع السلالة Motelle ذات التركيب الوراثى $Frl^{+}/Frl^{+},Tm\text{-}2^{+}/Tm\text{-}2^{+}$ ظهر من الانعزالات وجود ارتباط قوى جدًا (٥,١ ± ١,٠٧ وحدة) بين Frl، و Tm-2 (Vakalounakis وآخرون ١٩٩٧).

وأمكن التعرف على جين جديد بالنوع البرى *S. pennellii* يتحكم فى المقاومة للسلالة ١ من فطر الذبول الفيوزارى، وأُعطى الرمز I1، وتبين أنه يختلف عن الجين المعروف I الذى حُصِلَ عليه من *S. pimpinellifolium*. ووجد أن هذا الجين الجديد يقع بين واسمتى RFLP؛ هما: TG20، و TG128 على الكروموسوم ٧ (Sarfatti وآخرون ١٩٩١).

وقد وجد Alexander (١٩٥٩) المقاومة لسلالتى الفطر ١و ٢ فى عدة سلالات برية أخرى، هى:

١- المقاومة لسلالة الفطر رقم ١ فى السلالات:

S. peruvianum PI 126928 & PI 212407.

S. pimpinellifolium PI 211838, PI 211839 & PI 212408.

S. lycopersicum × *S. pimpinellifloium* PI 205033.

٢- المقاومة لسلالة الفطر رقم ٢ فى السلالات:

S. peruvianum PI 126928 & PI 212407.

S. pimpinellifolium PI 211840, PI 212408 & PI 212409.

كذلك اختبر الباحثون عديدًا من أصناف الطماطم (Henderson & Winstead ١٩٦١، و Winstead & Hendeson ١٩٦٤)، وأعطوا قوائم بأسماء الأصناف المقاومة. ويُستدل من الدراسات التى أجريت فى مصر على أن أصناف الطماطم التى تحمل الجين I (المسئول عن المقاومة للسلالة رقم ١ من الفطر) على درجة عالية من المقاومة تحت الظروف المحلية (Ali وآخرون ١٩٧٢، و Hassan وآخرون ١٩٨٢).

وفى عام ١٩٦٥ تمكن Stall & Walter من اكتشاف المقاومة للسلالة ٢ من الفطر فى نسل التلقيح الناتج بين أحد أصناف الطماطم التجارية والسلالة PI 126915 من النوع البرى *S. pimpinellifolium*، وكانت هذه المقاومة — أيضًا — بسيطة وسائدة،

وأعطى الجين المسئول عنها الرمز I_2. وقد نقل هذا الجين – كذلك – إلى الطماطم بإنتاج الصنف والتر Walter، وهو أول صنف طماطم يحمل المقاومة لكل من سلالتى الفطر ١ و٢ (Strobel وآخرون ١٩٦٩). وأعقب ذلك إنتاج عديد من الأصناف التجارية التى تحمل جينى المقاومة، ومن أمثلتها: Petopride No. 2، وPeto 95، و Peto 98، والهجن Duke، و President، و Bonanza وغيرها. وعلى خلاف الاعتقاد الذى كان شائعًا بأن الجين I_2 يتحكم فى المقاومة لسلالتى الفطر ١، و٢ .. وجد Laterrot & Philouze (١٩٨٤) أن هذا الجين يتحكم فى المقاومة للسلالة رقم ٢ فقط.

ويقع الجين I-2 الذى يتحكم فى المقاومة للسلالة ٢ من فطر الذبول الفيوزارى على الكروموسوم ١١ بين واسمتى RFLP؛ هما: TG105، و TG36، وعلى مسافة ٠,٤ سنتى مورجان من TG105 (Ori وآخرون ١٩٩٤، El-Mohtar وآخرون ٢٠٠٧).

وقد وُجد مستوى عالٍ من المقاومة للسلالتين ١، و٢ ومن فطر الذبول الفيوزارى فى كل من السلالة G1.1615 (وهى: PI 266375) من *S. cheesmanii*، والسلالتين G1.1556، و G1.1558 من *S. chilense*، وهو مستوى من المقاومة أعلى من المستوى الذى يوفره جينات I المعروفة (Huang & Lindhout ١٩٩٧).

هذا.. وكان Alexander & Hoover قد اكتشفا عام ١٩٥٥ سلالة جديدة من الفطر كانت قادرة على كسر المقاومة التى يوفرها الجينان I، وI_2، وهى التى عرفت بالسلالة رقم ٣.

كذلك عثر Grattidge & O'brien (١٩٨٢) فى كوينزلاند بأستراليا على سلالة مشابهة كانت قادرة على كسر مقاومة الجينات I، و I_2. وقد تكرر ذلك فى أماكن أخرى من العالم، إلا أن تحديد العلاقة بين سلالة الفطر الجديدة فى هذه الأماكن لم يكن ممكنًا – حينئذ – لأنه يتطلب وجود عوائل مفرقة differential hosts، وهو الأمر الذى لم يكن – حينئذ – متوفرًا؛ لعدم وجود أى مصدر للمقاومة لغير السلالتين ١، و٢، وإثر

اكتشاف سلالة جديدة من الفطر (السلالة رقم ٣) فى فلوريدا عام ١٩٨٢.. قام Scott & Jones (١٩٨٦) بتقييم نحو ٩٠٠ صنف وسلالة من الطماطم والأنواع البرية القريبة منها لمقاومة هذه السلالة، وتوصلا إلى مصادر للمقاومة فى عدد من سلالات النوع البرى *S. peruvianum*، بينما كانت أعلى درجة للمقاومة فى السلالة LA 716 من النوع *S. pennelli*. وقد تبين من الدراسات الوراثية الأولية التى أجرياها على هذه السلالة أن صفة المقاومة فيها بسيطة وسائدة. وقد تبين — بعد ذلك — أن هذه السلالة (LA 716) مقاومة كذلك للسلالتين الأخريين المعروفتين من الفطر (السلالتان ١، ٢)، بالإضافة إلى مقاومتها للسلالة الجديدة (رقم ٣)، كما تأكد أن صفة مقاومتها للسلالة رقم ٣ يتحكم فيها جين واحد سائد (Bournival وآخرون ١٩٨٨). أُعطى هذا الجين الرمز I_3. وبرغم ظهور بعض الانحرافات عن النسب المتوقعة.. إلا أنها أُرجعت إما إلى وجود جينات محورة، وإما إلى عدم نفاذية تأثير هذا الجين بشكل كامل (Scott & Jones ١٩٨٩). كذلك اكتشفت المقاومة لهذه السلالة (رقم ٣) فى سلالة أخرى من نفس النوع (*S. pennellii*) هى PI 414773، كما وجد أن مقاومتها صفة بسيطة سائدة كما هى الحال فى السلالة LA 716 (عن McGrath ١٩٨٨).

وقد أوضح تحليل الإنعزالات من تلقيحات تضمنت السلالة PI 414773 من *S. pennellii* — المقاومة للسلالتين 2، و3 من الفطر *F. oxysparum* f. sp. *lycopersici* وصنفا الطماطم Contender — الذى يحمل الجين I_2 المسئول عن المقاومة للسلالة 2 فقط — و Rouge de Marmande — القابل للإصابة بسلالتى الفطر — أن المقاومة للسلالة 2 فى PI 414773 يتحكم فيها زوجان من العوامل الوراثية السائدة، أحدهما آليلى للجين I_2، وأن جين واحد سائد يتحكم فى المقاومة للسلالة 3، أُعطى الرمز I_3 (McGrath وآخرون ١٩٨٧).

ولقد وُجدت المقاومة للسلالة ٣ من فطر الذبول الفيوزارى فى سلالتى *S. pennellii* رقما PI 414773، وLA 716، وتبين — كذلك — أن جميع سلالات *S. pennellii*

مقاومة للسلالات ١، ٢، ٣ من فطر الذبول، ويتحكم فيها جين واحد أُعطى الرمز I_3 (Scott & Jones ١٩٩١).

كذلك ثبت أن مقاومة السلالة LA 716 من *S. pennellii* لفطر الذبول الفيوزارى يتحكم فيها جين واحد (أُعطى الرمز I_3)، وأن هذا الجين يرتبط بشدة مع الجين Got-2 (الذى يُشفر للإنزيم aspartate aminotransferase) ويقع على الكروموسوم ٧؛ علمًا بأن تلك السلالة مقاومة – كذلك – للسلالتين ١، و٢ من الفطر، وأن المقاومة لهاتين السلالتين ليست أليلية للجينين I، و I_2 اللذان نُقلا إلى الطماطم من *S. pimpinellifolium* (Bournival وآخرون ١٩٩٠).

إن الجين I_3 المسئول عن المقاومة للسلالة ٣ من الفطر *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*، والذى اكتُشف فى السلالة LA716 من *S. pennillii* يقع على الكروموسوم ٧، كما أمكن التعرف على معلم وراثى – هو CT226 – للتعرف على الجين (I_3) خلال أجيال التربية (Barillas وآخرون ٢٠٠٨)، ويُعاب على النباتات التى تحمل هذا الجين صغر حجم ثمارها وارتباط الجين سلبيًا بصفات أخرى، منها أنه يزيد من قابلية الإصابة بالسلالة ٤ من بكتيريا التبقع البكتيرى (Hutton وآخرون ٢٠١٤).

هذا .. وتتوفر عدة واسمات وراثية للجين I_3 المتحصل عليه من السلالة LA 716 من *S. pennellii* المسئول عن المقاومة للسلالة ٣ من الفطر F. *oxysporum* f. sp. *lycopersici* مسبب مرض الذبول الفيوزارى الذى يقع على الكروموسوم ٧، منها الأيزوزيم السائد Got-2، وواسمتى RFLP، هما: TG216، و TG183، والواسمتين الجزيئيتين، CT226، و TG639. كما درس Li & Hutton (٢٠١٤) ست واسمات أخرى جديدة، منها واسمتى CAPS، هما: SLG-1، وbB6.

ومن بين عدد من سلالات أنواع برية مختلفة من الطماطم قُيمت لمقاومة السلالة ٣ من فطر الذبول الفيوزارى، لم يُعثر على المقاومة التامة إلاّ فى السلالة LA 1777 من *S.*

habrochaites، والسلالة LA 2133 من *S. neorickii*. لم تكن المقاومة فى أى من هاتين السلالتين بسيطة سائدة أو متنحية؛ وبذا.. فإنها تختلف عن المقاومة التى كان قد سبق رصدها فى السلالة LA716 من *S. pennellii*. وقد تبين أن مقاومة سلالة *S. neorickii* ربما يتحكم فيها زوجان من العوامل الوراثية المتنحية (Bournival & Vallejos ١٩٩١).

وفيما يتعلق بالأصناف التى تتحمل الإصابة بالمرض — والتى من أمثلتها رتجرز، ومارجلوب — فهى قابلة للإصابة، إلا أن أعراض المرض لا تظهر عليها إلا متأخرة لقدرتها على تحمل الإصابة. وينصح Crill & Jones (١٩٧٢) بعدم إضاعة الوقت مع التربية لإدخال صفة القدرة على تحمل الإصابة tolerance، مع وجود مصادر جيدة للمقاومة resistance. ويؤيد هذا الرأى دراسة أجراها Crill وآخرون (١٩٧٣) زرعوا فيها الصنفين: والتر Walter المقاوم للسلالة رقم ٢، وهومستد ٢٤ Homestead 24 القادر على تحمل الإصابة بنفس السلالة — كل على انفراد — لمدة سنتين متتاليتين فى نفس الموقع؛ فكان من نتيجة ذلك أن ظهرت أعراض الإصابة بالفطر على صورة تقزم شديد فى ٧٤٪ من نباتات الصنف هومستد ٢٤، بينما ظل الصنف والتر مقاومًا. هذا.. بينما لم تظهر أعراض شديدة للإصابة على نباتات الصنف هومستد ٢٤ حينما زرعت فى السنة الثانية فى الموقع الذى كان مزروعًا فى السنة الأولى بالصنف والتر.

وقد تبين أن صفة التحمل الظاهرة لإصابة الجهاز الوعائى للصنف مارجلوب ذى المقاومة الكمية ترجع إلى إنعزال جينات المقاومة المتوفرة بالصنف فى العشيرة. وفى المتوسط.. نجد أن تلك العشيرة متوسطة المقاومة وتنتج محصولاً مقبولاً فى حقل مصاب بالفطر. ويؤدى التباين الوراثى — نتيجة لانعزال الجينات المسئولة عن المقاومة فى نباتات مختلفة — إلى حماية العشيرة ككل من مختلف سلالات الفطر التى قد تتواجد فى حقل الزراعة (Gao وآخرون ١٩٩٥).

العلاقة بين المقاومة للذبول الفيوزارى والإصابة بنيماتودا تعقد الجذور

تتضارب نتائج الدراسات التى تتعلق بالعلاقة بين المقاومة للذبول الفيوزارى فى الطماطم، وإصابة النباتات بنيماتودا تعقد الجذور؛ فيقرر Binder & Hutchinson (١٩٥٩) أن الإصابة بنيماتودا تعقد الجذور لم تؤد إلى زيادة الإصابة بالذبول الفيوزارى، ويؤكد Jones وآخرون (١٩٧٦) أن العدوى بنيماتودا تعقد الجذور لم تؤثر فى مقاومة نباتات الصنف Manapal للسلالة رقم ١ من الفطر، أو مقاومة الصنف Florida MH-1 لسلالتى الفطر ١، و٢، سواء أحدثت العدوى بالنيماتودا مع العدوى بالفيوزاريم، أم قبلها باسبوعين.

كذلك أوضحت دراسات Abawi & Barker (١٩٨٤) عدم وجود أى تفاعل بين النيماتودا والذبول الفيوزارى فى أى من الأصناف التى استخدماها فى دراستهما، وهى: صنف مقاوم لكل من النيماتودا والفطر، وأربعة أصناف مقاومة للفطر فقط، وصنفان قابلان للإصابة بكل من النيماتودا والفطر؛ فلم تتأثر مقاومة الأصناف الحاملة لأى من الجينين I، أو I_2 للسلالة رقم ١ من فطر الفيوزاريم إذا ما حقنت بالنيماتودا قبل حقنها بالفطر. كما أصبح الصنف نيماتكس Nematex — المقاوم لكل من النيماتودا والفطر — قابلاً للإصابة بالنيماتودا فى حرارة ٣٥° م، بينما ظل مقاومًا للفيوزاريم فى وجود الطفيلين.

هذا .. إلا أن دراسات أخرى عديدة تؤكد على كسر (فقد) المقاومة للفيوزاريم عند تعرض النباتات للإصابة بنيماتودا تعقد الجذور. ونذكر على سبيل المثال دراسات Moura (١٩٧٥)، و Sidhu & Webster (١٩٧٧).

درس Sidhu & Webster (١٩٧٤) وراثة التفاعل بين الفطر المسبب للذبول الفيوزارى ونيماتودا تعقد الجذور فى التأثير على الإصابة بالفطر. وقد استخدم الباحثان — فى هذه

الدراسة صنف الطماطم وندر بوى Wonder Boy القابل للإصابة بكل من الفطر والنيماتودا، والصنف صمول فراى Small Fry المقاوم لكليهما، وكان نوع النيماتودا المستخدم هو *Meloidogyne incognita*. أُكثرت نباتات الجيل الثانى خضريًا، ليمكن اختبارها لمقاومة الفطر والنيماتودا فى اختبارات مستقلة، فضلاً على اختبار مشترك بالحقن بكليهما (النيماتودا والفطر) فى آن واحد. وقد أوضحت نتائج الجيل الثانى — عندما كان الحقن بالنيماتودا والفطر فى اختبارات منفصلة — إن الانعزال كان بنسبة ٩ مقاوم لكليهما: ٣ مقاوم للفطر فقط: ٣ مقاوم للنيماتودا فقط: ١ قابل للإصابة بكليهما؛ مما يدل على أن المقاومة لأى من الطفيلين يتحكم فيها جين واحد سائد. أما عندما حُقن كل نبات من الجيل الثانى بالطفيلين معًا .. فإن الانعزال — سواء أكان الحقن بالنيماتودا ثم الفطر،أم بالفطر ثم النيماتودا — كان كما يلى: ٩ مقاوم لكليهما: ٣ مقاوم للنيماتودا وقابل للإصابة بالفيوزاريم: ٤ قابل للإصابة بكليهما؛ ويعنى ذلك أنه — بغض النظر عن مقاومة النبات للفطر أو عدم مقاومته — فإن قابليته للإصابة بالنيماتودا تجعله — فى وجود النيماتودا — قابلاً للإصابة بالفطر. كما تعنى هذه النتائج — أيضًا — أن الانعزال بالنسبة لمقاومة الفطر يمكن أن يكون بنسبة ٩ مقاوم: ٧ قابل للإصابة إذا أُجرى التقييم فى الحقل مع وجود النيماتودا بالتربة.

وقد أوضحت دراسة أخرى لنفس الباحثين (Sidhu & Webster ١٩٧٧) أن التفاعل بين النيماتودا والفطر ينتج عنه مادة ما، مسئولة عن فقد المقاومة للفطر، وأن هذه المادة تنتقل فى النموات الخضرية للنبات لمسافات بعيدة عن موضع التفاعل. كما اقترحا كذلك (Sidhu & Webster ١٩٧٥) أن بعض سلالات الفطر تحتاج إلى توفر بعض الأحماض الأمينية فى العائل لكى يمكنها التطفل، وأن الإصابة بالنيماتودا *M. incognita* تُحدث زيادة كبيرة فى تركيز بعض هذه الأحماض فى النبات؛ الأمر الذى يزيد من قدرة هذه السلالات على التطفل.

وتبين من دراسات Orion & Hoestra (١٩٧٤) أن معاملة نباتات الطماطم من صنف منى ميكر — القابل للإصابة بالذبول الفيوزارى — بالإثيفون أحدثت نقصًا كبيرًا

فى أعراض الذبول التى تظهر عليها عند حقنها بالفطر، وكان ذلك مصاحبًا بنقص فى عدد الحزم الوعائية المصابة فى الساق، وزيادة فى طول الساق. إلا أن حقن هذه النباتات بأى من نوعى نيماتودا تعقد الجذور *M. incognita* أو *M. javanica* أضعف تأثير المعاملة بالإثيفون، وأحدث زيادة فى عدد الحزم الوعائية التى تُصاب بالفطر. أما الصنف فورتاس Fortas المقاوم للذبول الفيوزارى.. فقد احتفظ – عند معاملته بالإثيفون – بمقاومته للفطر فى وجود النيماتودا، غير أن النيماتودا أضعفت قليلاً من مقاومته للفطر؛ هذا.. بينما ازدادت إصابة نباتاته – بالنيماتودا – عند معاملتها بالإثيفون. وأوضحت الدراسات الهستولوجية عدم وجود اختلافات بين الصنفين فى التركيب التشريحى لأوعيتها الخشبية بعد مختلف المعاملات؛ ويستدل من ذلك على أن منظمات النمو تلعب دورًا فى تطفل كل من الفطر والنيماتودا، وفى التفاعل الذى يحدث بينهما.

طرق التقييم لمقاومة المرض

يمكن باختبارات التقييم التمييز بين المقاومة لأى من سلالات الفطر (التى يتحكم فيها الجين I، أو I_2، أو I_3)، والقدرة على تحمل الإصابة التى تتوفر فى بعض الأصناف مثل مارجلوب. ويتحقق ذلك عندما لا يكون الاختبار قاسيًا. أما عندما تكون العدوى (تركيز معلق جراثيم الفطر فى هذه الحالة) شديدة، والظروف البيئية مناسبة للإصابة (٢٤°م ليلاً، و ٣٠°م نهارًا) .. فإنه لا تنجو من الإصابة سوى الأصناف والسلالات الحاملة لجينات المقاومة، أما تلك التى توصف بالقدرة على تحمل الإصابة.. فإنها تصاب بشدة (عن Walker ١٩٦٥).

وقد اتبع Crill وآخرون (١٩٧٢) فى تقييم مقاومة المرض – عند إجراء عملية الانتخاب فى برامج التربية – الطريقة التالية:

١– تعزل مزارع للفطر من جراثيم مفردة monospore cultures يُحصل عليها من نباتات مصابة. تختبر هذه المزارع للتعرف على درجة ضراوتها Virulence (كفاءتها أو

قدرتها على الإصابة، وشدة الأعراض التى تُحدثها)، وتُختار أكثرها ضراوة. تُكثر العزلات المنتخبة فى أنابيب اختبار تحتوى على بيئة متصلبة مائلة (slants)، وتخزن على ١٣°م لحين الحاجة إليها.

٢- تستخدم المزارع المحفوظة فى أنابيب الاختبار فى عدوى (تلقيح) أطباق بترى تحتوى على بيئة البطاطس والدكستروز والأجار (PDA Medium)، وتحضَّن على ٢٨°م لمدة ٥-٧ أيام. تستخدم هذه المزارع فى إكثار الفطر بكميات كبيرة فى أطباق أخرى بها طبقة رقيقة جدًا من نفس البيئة، وتحضن كذلك على ٢٨°م لمدة ٥-٧ أيام قبل استعمالها فى عدوى النباتات التى يُراد تقييمها.

٣- عند إجراء العدوى inoculation (أو ما يعرف - أيضًا - بعملية الحقن.. وهى ليست حقنًا بالمعنى المفهوم للكلمة).. تُضرب مزارع الفطر النامية فى أطباق بترى جيدًا فى الخلاط، ويحضر منها ثلاثة تركيزات من معلق الفطر؛ هى:

أ- تركيز منخفض: يحتوى على ٠,٢٥ × ١٠ ٦ جرثومة بكل ملليلتر من المعلق.

ب- تركيز متوسط: يحتوى على ٤,٢٥ × ١٠ ٦ جرثومة بكل ملليلتر من المعلق، وهو الذى يفضل استعماله.

ج- تركيز مرتفع: يحتوى على ١٠,٥٠ × ١٠ ٦ جرثومة بكل ملليلتر من المعلق.

تجرى العدوى على بادرات طماطم عمرها أسبوعان، تكون قد سبقت زراعتها فى تربة معقمة بالبخار، ونُميت على حرارة ٢٧°م. تقلع البادرات وتغسل جذورها جيدًا بالماء لإزالة معظم التربة العالقة بها، ثم تُغمس الجذور فى معلق جراثيم الفطر؛ حيث يلتصق بها جيدًا لاحتوائه على البيئة. وقد تبين بالخبرة أن الآجار ليس له أى تأثير فى الإصابة بالفطر، أو فى قدرة الفطر على التطفل. تشتل البادرات - بعد ذلك - مباشرة فى تربة معقمة بالبخار، وتترك على ٢٨°م.

٤- يحسن دائمًا أن تتضمن كل مكررة صنفًا يتحمل الإصابة مثل رتجرز أو مارجلوب، وصنفًا شديد القابلية للإصابة مثل بونى بست Bonny Best؛ للمساعدة على تفسير النتائج. كما يُرجع إلى الأصناف المبينة فى جدول (١-١)؛ كشاهد للمقارنة فى اختبارات التقييم للاستدلال على سلالة الفطر، وحالات القدرة على تحمل الإصابة.

جدول (١-١): عوائل الطماطم (الأصناف المفرقة Differential Varieties) فى اختبارات السلالات، وتقييم المقاومة والقدرة على تحمل الإصابة بفطر *F. oxysporum* f. *lycopersici*.

الصنف	الاستجابة للسلالة	
	١	٢
والتر Walter	مقاوم	مقاوم
بونى بست Bonny Best	يصاب	يصاب
إنديان رفر Indian River	مقاوم	يتحمل الإصابة
فلورادل Floradel	مقاوم	يتحمل الإصابة
مانابال Manapal	مقاوم	يتحمل الإصابة
هومستد ٢٤ Homestead 24	مقاوم	يتحمل الإصابة
تروبك Tropic	مقاوم	يتحمل الإصابة
مارجلوب Marglobe	يتحمل الإصابة	يتحمل الإصابة
رتجرز Rutgers	يتحمل الإصابة	يتحمل الإصابة

٥- يجب التحكم فى كل العوامل البيئية التى يمكن أن تؤثر فى نتائج الاختبار؛ مثل الفترة الضوئية، وشدة الإضاءة، ودرجة الحرارة، والتغذية، و pH التربة، والرطوبة الأرضية. وبالنسبة للتغذية .. يراعى توفير العناصر الدقيقة فى التربة؛ لأنها ضرورية لنمو وتجرثم الفطر؛ حيث يؤدى نقصها إلى جعل الإصابة ضعيفة وغير متجانسة. وعلى العكس من ذلك.. يجب خفض مستوى النيتروجين فى التربة؛ لأن النباتات التى تعانى نقص هذا العنصر تكون أكثر عرضة للإصابة بالمرض.

٦- يستدل على شدة الإصابة بتسجيل بيانات عما يلى:

أ- عدد النباتات المصابة.

ب- عدد النباتات الميتة.

ج- درجة الإصابة: تقدر على مقياس وصفى من صفر إلى ٥، يعنى فيه الصفر: عدم ظهور أية أعراض للمرض، و٥: موت النباتات.

وقد أمكن عن طريق عدوى نسيج الكالس بالجراثيم الكونيدية للسلالة ١ من فطر الفيوزاريم المسبب للذبول الفيوزارى التمييز بين التراكيب الوراثية المقاومة والقابلة للإصابة؛ حيث توقف النمو الفطرى على الكالس المتحصل عليه من نباتات مقاومة، بينما سيطر النمو الفطرى على الكالس المتحصل عليه من نباتات قابلة للإصابة فى خلال سبعة أيام، وكان تركيز الفيتوألاكسين ريشيتين rishitin أعلى جوهريًا فى الكالس المقاوم عما فى الكالس القابل للإصابة فى خلال ثلاثة أيام من العدوى بالفطر (Kroon وآخرون ١٩٩١).

كذلك أمكن عزل سُمّ السلالة ١ من فطر الذبول الفيوزارى، وبحقنة فى نباتات طماطم قابلة للإصابة أو مقاومة للفطر، وجد أنه يحدث فى الصنف Ace القابل للإصابة أعراضًا مماثلة لتلك التى تحدث بالعدوى الطبيعية، بينما لم يُحدث حقن السُمّ أية أعراض على نباتات الصنف Royal Ace المقاوم للفطر (Sutherland & Pegg ١٩٩٥).

طبيعة المقاومة

أوضح Brock (١٩٤٨) أن ظهور بعض التلون فى الحزم الوعائية لجذور النباتات المقاومة أمر ممكن، كما يمكن عزل الفطر من هذه المناطق المتلونة؛ إلا أن سيقان هذه النباتات تكون خالية تمامًا من أى تلون فى الحزم الوعائية، ولا يمكن عزل الفطر منها.

وقد تمكن Scheffer & Walker (١٩٥٤) من إثبات أن مقاومة الطماطم للذبول الفيوزارى ليست مقصورة على الجذور، وإنما توجد كذلك فى السيقان. وتحقق ذلك بإدخال جراثيم الفطر فى الحزم الوعائية للسيقان، ثم دفعها إلى التحرك لأعلى مع تيار

ماء النتح؛ فلم تظهر أعراض المرض إلا على الأصناف القابلة للإصابة فقط. كذلك طُعِّمت سيقان أصناف قابلة للإصابة على جذور نباتات مقاومة، وسيقان نباتات مقاومة على جذور نباتات قابلة للإصابة، ثم حقنت الطعوم بالفطر، فلم تصب – منها – إلا القابلة للإصابة فقط؛ مما يدل على أن المقاومة لا تعتمد على عوامل أو مواد تنتج فى الجذور (Scheffer ١٩٥٧، و Keyworth ١٩٦٣).

وقد بُذلت محاولات لاستخلاص مواد مثبطة لنمو الفطر من نباتات الطماطم المقاومة للمرض، فوجد Gothoskar وآخرون (١٩٥٥) أن مستخلصات نباتات الطماطم من الصنف جفرسون Jefferson المقاوم لم يكن لها أى تأثير فى نمو الفطر فى بيئة صناعية، إلا أن Baumgardt (١٩٥٣) أوضح احتمال وجود بعض البولى فينولات التى تثبط نمو الفطر فى النباتات المقاومة. كما وجد Hemmerschlag & Mace (١٩٧٥) أن مستخلصات جذور أصناف الطماطم المقاومة للذبول تحتوى على نشاط مثبط للنمو الفطرى، يبلغ تأثيره ضعف ما يوجد فى مستخلصات جذور الأصناف غير القابلة للإصابة، سواء أكانت تلك المستخلصات من نباتات سبقت عدواها، أم لم تسبق عدواها بالفطر المسبب للمرض.

وأوضحت الاختبارات الحيوية واختبار الفصل الكروماتوجرافى لمثبطات النمو الفطرى أن هذا النشاط يرجع إلى مركب ألفاتوماتين alpha-tomatine الذى قُدِّر تركيزه بنحو ١٨٠ × ١٠$^{-٩}$ جرامات بكل جرام من الأنسجة الطازجة لجذور النباتات المقاومة التى سبقت عدواها بالفطر. هذا .. إلا أن Kern (١٩٥٢) كان قد أوضح أن مركب الألفاتوماتين ليس له سوى تأثير طفيف مثبط للنمو الفطرى، وأنه لا يوجد أى مبرر للاعتقاد بوجود أية علاقة بينه وبين المقاومة. كذلك بيَّن Smith & McHardy (١٩٨٢) أن هذا المركب لا يمكن أن يكون عاملاً أساسيًّا فى المقاومة للمرض؛ نظرًا لأنه شجع الفطر (السلالتين ١، و٢) على إنتاج الجراثيم بوفرة.

وتؤثر عديد من المعاملات السابقة للعدوى فى شدة الإصابة بالمرض، وتفيد تلك المعاملات فى تفهم بعض جوانب طبيعة المقاومة. فقد وجد Scheffer & Walker (١٩٥٤) أن أعراض الإصابة تظهر على العقل الورقية للنباتات المقاومة إذا سُمح لها أولاً بامتصاص بعض المحاليل الكحولية مع تيار ماء النتح قبل عدواها بالفطر؛ مما يدل على اعتماد المقاومة على النشاط الدائم فى ميتابوليزم النبات. كذلك وجد Gothoskar وآخرون (١٩٥٥) أن المقاومة تكسر فى العقل الساقية للنباتات المقاومة، إذا عوملت بأى من مثبطات التنفس التالية:

٢، ٤ — داى نيتروفينول 2,4 dinitrophenol.

الثيوريا thiourea.

فلوريد الصوديوم sodium fluoride.

صوديوم داى ميثيل داى ثيوكارباميت sodium dimethyl dithopcarbmate

هذا.. بينما لم تُشجع أى من هذه المركبات على نمو الفطر فى البيئة الصناعية. واستدل الباحثون من ذلك على أن المقاومة تعتمد على إنتاج النبات المستمر لمواد معينة، وأن إنتاج هذه المواد يعتمد على الطاقة المستمدة من التنفس، كذلك وجد Danko & Gorden (١٩٨٤) أن معاملة جذور نباتات الطماطم من الصنف جفرسون Jefferson المقاوم للسلالة رقم ١ من الفطر بالإيثانول بتركيز ١٪ أدت إلى كسر المقاومة للفطر تمامًا، وظهور التلون بالحزم الوعائية، وأعراض المرض على النموات الخضرية كما فى الصنف بونى بست Bonny Best القابل للإصابة. وقد كان ذلك مُصاحبًا بنقص فى النشاط المضاد للفطريات فى مستخلص الأوعية الخشبية (مستخلص بالأسيتون)، بينما كان النشاط عاليًا فى مستخلص جذور النباتات غير المعاملة بالإيثانول.

وتبين من دراسات Chet وآخرين (١٩٧٨) أن معاملة نباتات الطماطم بالكاتيكول Catechol بتركيز ٥٠، أو ١٠٠ جزء فى المليون يؤدى إلى خفض الإصابة بالذبول

الفيوزارى، وقد أمكن المحافظة على النباتات المحقونة (المعدية) بالفطر بحالة جيدة لمدة أربعة شهور بتكرار معاملتها بالكاتيكول مع ماء الرى. وفى المقابل.. لم يكن لهذا المركب أى تأثير على إنبات جراثيم الفطر ونموه فى البيئات الصناعية. وقد أحدثت المعاملة بالكاتيكول تأثيرات مشابهة فى حالات مرضية أخرى هى ذبول فيرتسليم فى الطماطم (المسبب: *Verticillium dalhiae*)، والذبول الفيوزارى فى الباذنجان (المسبب: *F. oxysporum* f. *melongenae*).

كذلك وجد Carrasco وآخرون (١٩٧٨) أن معاملة نباتات الطماطم القابلة للإصابة بحامض الكوينك quinic acid أحدثت زيادة فى محتواها من الفينولات الذائبة واللجنين، وفى مقاومتها للفطر؛ حيث كان النمو الفطرى فيها أقل مما فى النباتات غير المعاملة، وارتبطت درجة مقاومتها المستحدثة – طرديًا – بمستوى الفينول المنتج فيها. هذا .. بينما لم يكن لحامض الكوينك أية تأثيرات سامة على الفطر.

وأوضحت دراسات Jones & Woltz (١٩٧٣) أن معاملة نباتات الطماطم من صنف مانابال Manapal المقاوم للسلالة رقم ١ من الفطر – يوميًا لمدة ١٤ يومًا – بأى من عدة أحماض أمينية قبل حقنها بسلالة الفطر تؤدى إلى إصابتها بشدة بالمرض، إلا أن معاملة نباتات نفس الصنف بالحامض الأمينى ميثيونين methionine قبل حقنها بالسلالة رقم ٢ من الفطر أدت إلى اختفاء أعراض الذبول كلية، برغم وجود الفطر فى سيقان النباتات وعزله منها. أما الصنف والتر Walter المقاوم لسلالتى الفطر ١، و٢.. فلم يتأثر إلا قليلاً بمعاملات الأحماض الأمينية قبل الحقن بأى من سلالتى الفطر، إلا أن أعداد قليلة من النباتات ظهرت عليها أعراض الذبول حينما عوملت بأى من الأحماض الأمينية: الهستدين histidine، أو الأسبارجين aspargine، أو الثريونين thereonine قبل حقنها بأى من سلالتى الفطر.

وقد بين Retig (١٩٧٤) أن معاملة نباتات الصنف سوبر مارمند فى آر Supermarmande VR القابل للإصابة بالذبول الفيوزارى بمركب الإثيفون ethephon جعلته أكثر مقاومة للفطر، وأحدثت به زيادة فى نشاط إنزيمى البيروكسيديز، والبولى فينول أوكسيديز بصورة مشابهة لما يحدث طبيعيًا فى جذور النباتات المقاومة بعد العدوى بالفطر. وكان Menon & Schachinger (١٩٥٧) قد لاحظا زيادة فى تركيز الفينولات الكلية، وفى نشاط إنزيم البولى فينول أوكسيديز فى ثلاثة أصناف مقاومة للذبول الفيوزارى، مقارنة بأحد الأصناف القابلة للإصابة، وكان نشاط الإنزيم وتركيز الفينولات — فى الأصناف المقاومة — أكثر فى الأنسجة المحقونة بالفطر مما فى الأنسجة التى لم تتعرض للإصابة، بينما لم تشاهد تلك الاختلافات بين الأنسجة فى الصنف القابل للإصابة.

وتأكيدًا لذلك .. وجد Retig (١٩٧٤) زيادة فى نشاط إنزيمى البيروكسيديز، والبولى فينول أوكسيديز فى جذور الصنف المقاوم هوسن إيلون Hosen Eilon بعد فترة قصيرة من حقنها بالفطر، بينما لم تحدث فى جذور الصنف القابل للإصابة سوبر مارمند فى آر زيادة مماثلة فى إنزيم البيروكسيديز إلا بعد ٢٤ ساعة من الحقن بالفطر، ولم تحدث به أية زيادة جوهرية فى نشاط إنزيم البولى فينول أوكسيديز. ولا تدع هذه النتائج مجالاً للشك فى أن المقاومة لفطر الفيوزاريم فى الطماطم مردها إلى إنتاج النباتات لفيتوألاكسينات Phytoalexins معينة ذات طبيعة فينولية. وكان Matta وآخرون (١٩٦٨) قد أوضحوا أن العدوى بالفطر تدفع النباتات إلى تكوين مركبات فينولية فى كل من الأصناف المقاومة والأصناف القابلة للإصابة، إلا أنها تكونت بسرعة أكبر فى الأصناف المقاومة. كما ذكر El-Sayed (١٩٧٨) أن مقاومة ١٢ سلالة من الطماطم للفطر كان مردها إلى قدرتها على إنتاج الفيتوألاكسين ريشيتين Rishitin، وكانت المقاومة مرتبطة جوهريًا بمحتوى جذور النباتات منه.

وقد وُجد عند عدوى الطماطم بفطر الذبول الفيوزارى أن الكالوز callose يترسب بسرعة أكبر فى الخلايا الباراتشيمية المحيطة بالنسيج الوعائى فى الصنف المقاوم

Pearson VF11 عما فى الصنف القابل للإصابة Pearson (Beckman وآخرون ١٩٨٢).

التربية للمقاومة

التربية التقليدية

اعتمادًا على السلالة الاسترالية US629 .. أمكن فى فلوريدا إنتاج أربع سلالات متحملة للسلالة ٣ من فطر الذبول الفيوزارى؛ حيث كانت نسبة الإصابة ١٥٪، و١٠٪، و٥٠٪، و٣٨٪ فى السلالات الأربع: 494، و505، و498، و 510، على التوالى، مقارنة بنسبة إصابة بلغت ٢,٥٪ فى US629، و١٠٠٪ فى Bonny Best، و٩٨٪ فى Sunny، وكان النقص فى المحصول جراء الزراعة فى تربة ملوثة بالفطر ٩٪، و١٢٪، و٢٥٪، و٢٣٪، وصفر٪، و٦٩٪، و٩٠٪ فيها جميعًا، على التوالى. هذا.. إلاّ أن محصول سلالات التربية المنتجة فى التربة غير الملوثة بالفطر كان إما مساويًا لمحصول Sunny أو أعلى منه فى نفس التربة، وأعلى بكثير من محصول US629، كما كان محصول سلالات التربية فى التربة الملوثة بالفطر أعلى بكثير من محصول Sunny، و US629 فى نفس التربة (Jones & Scott ١٩٨٧).

وأمكن نقل الجين I_3 الذى يتحكم فى المقاومة للسلالة ٣ من فطر الذبول الفيوزارى من *S. pennellii* إلى صنف تجارى من الطماطم (McGrath & Maltby ١٩٨٩).

وأنتجت جامعة فلوريدا سلالتين مقاومتين للسلالات ١، ٢، ٣ من فطر الذبول الفيوزارى، هما: Fla. 7547، و Fla. 7481. تحتوى السلالتين على الجين I_3، وهما ذواتا أصول وراثية متماثلة باستثناء أن الأولى بمفصل فى عنق الثمرة jointed والثانية بدون مفصل jointless (Scott & Jones ١٩٩٥).

ومن السلالات الأخرى المقاومة للسلالة ٣ من الفطر – والتى أنتجتها جامعة فلوريدا – كلاً من: Fla 7692B، وFla 7804، و Fla 7946 (Scott ٢٠٠٧).

كما أُنتجت السلالة E 427 المقاومة للسلالة ٣ من فطر الذبول الفيوزارى من الجيل الثالث للتلقيح الرجعى الأول، وهى التى استمدت مقاومتها من السلالة LA 716 من *S. pennellii*. وتبين أن تلك المقاومة يتحكم فيها جين واحد سائد أُعطى الرمز I_3. واستدل من الانحراف عن النسب الانعزالية المتوقعة على وجود تأثير لجينات محورة أو أن نفاذية جين المقاومة غير تامة (Scott & Jones ١٩٨٩).

تحمل سلالة الطماطم E427 جينات لمقاومة سلالات فطر الذبول الفيوزارى الثلاث ١، و٢، و٣، وهى المقاومات التى حُصِلَ عليها من السلالة LA716 من *S. pennellii*، والسلالة PI 126915 من *S. pimpinellifolium*. وأوضحت دراسة وراثية حدوث كسر فى الارتباط بين المقاومة للسلالة ٢ والمقاومة للسلالة ١ على الكروموسوم ١١. وبدا أن المقاومة للسلالة ١ المتحصَّل عليها من PI 126915 يتحكم فيها الجين I_1. وحدث بالكروموسوم ٧ كسر بين الجين I_3 والجين I_1؛ مما يدل على أن الجين I_3 لا يُكسب النباتات مقاومة للسلالة ١. وقد أحدثت حالات العبور انخفاضًا فى المقاومة للسلالة ٢؛ الأمر الذى ربما حدث بسبب كسر داخل الموقع المركب للجين I_3، أو بين I_3 وموقع شديد الارتباط لمقاومة السلالة ٢ (Scott وآخرون ٢٠٠٤).

أُنتجت — كذلك — فى جامعة فلوريدا سلالة الاستهلاك الطازج Fla. 7946 التى تحمل الجين I_3 المسئول عن المقاومة للسلالة ٣ من فطر الذبول الفيوزارى، وكذلك جين الأللوزيم Got-2 الذى يرتبط بالجين I_3. وهذه السلالة مقاومة — كذلك — للسلالتين ١، و٢ من فطر الذبول الفيوزارى، وتحمل الجين og^c المسئول عن محتوى الليكوبين المرتفع واللون القرمزى crimson (Scott ٢٠٠٤).

وتبين أن نباتات الطماطم الخليطة فى الجين I_3 المسئول عن المقاومة للسلالة ٣ من فطر الذبول الفيوزارى تُنتج ثمارًا أكبر حجمًا عن تلك التى تُنتجها النباتات الأصيلة فى الجين؛ بما يفيد تفضيل استخدام هذا الجين بصورة خليطة فى هجن الاستهلاك الطازج لأجل زيادة حجم الثمار المنتجة (Scott ١٩٩٩).

الانتخاب فى مزارع الأنسجة

أمكن انتخاب بروتوبلاستات من صنف الطماطم UC-82 مقاومة للسم (حامض الفيوزاريك) الذى تفرزه السلالة ٢ من الفطر المسبب للذبول الفيوزارى. وتأكدت تلك المقاومة بعد تنشئة النباتات من البروتوبلاستات المقاومة وتلقيحها بالفطر ذاته، ووجد أنها تحمل جينًا واحدًا سائدًا يتحكم فى مقاومتها للفطر (Shahin & Spivey ١٩٨٦).

التحويل الوراثى

أدى التحويل الوراثى للطماطم بجينى التبغ Class1 chitinase، و class1β-1,3-glucanase معًا– وليسا منفردين – إلى حماية النباتات حماية تامة من الإصابة بالفطر المسبب للذبول الفيوزارى، وحتى بعدما أصيبت نسبة منها ابتداءً، فإن النباتات تخلصت تمامًا من تلك الإصابة فى الوقت الذى ماتت فيه نباتات الكنترول (Jongedijk وآخرون ١٩٩٥).

ذبول فيرتسيليم

يسبب الفطران *Verticillium dahliae*، و *V. Albo-atrum* مرض ذبول فيرتسيليم Verticillium Wilt فى الطماطم، وبعض النباتات الأخرى؛ مثل: البطاطس، والباذنجان، والبامية.

مصادر المقاومة لمختلف السلالات الفسيولوجية للفطر ووراثتها

وجد أن مقاومة سلالة التربية W6 للفطر *V. albo-atrum* يتحكم فيها جين واحد سائد أُعطى الرمز Ve (Schaible وآخرون ١٩٥١).

ومن المعلوم – حاليًا – أن هذا الجين السائد Ve يتحكم فى المقاومة للسلالة رقم ١ من الفطر. يوجد هذا الجين فى جميع الأصناف المقاومة للمرض؛ مثل: يوسى ٨٢، ويوسى ٨٦، وفى إف ١٤٥ وغيرها. وبرغم مسئولية هذا الجين عن المقاومة فى جميع