وفى دراسة أخرى وجد أن المقاومة للذبابة البيضاء فى النباتات التى تحمل الجين Mi مردها إلى عوامل فى البشرة أو فى خلايا النسيج الوسطى تثبط الحشرة من الوصول إلى نسيج اللحاء، ولكن ما أن يصل قليم الحشرة إلى إحدى أوعية اللحاء فإن سلوكها لا يختلف بعد ذلك فى كل من الأصناف الحاملة للجين Mi وغير الحاملة له؛ ويبدو أن نسغ اللحاء يُعد — فى كل الأصناف — مقبولاً للذبابة البيضاء (Jiang وآخرون ٢٠٠١).

طرق التقييم للمقاومة

تعتمد طرق التقييم الشائعة لمقاومة نيماتودا تعقد الجذور على الفحص المباشر للجذور المصابة فى النباتات الصغيرة النامية فى تربة ملوثة — بشدة — بالنيماتودا. تزرع البذور فى التربة المصابة مباشرة، أو قد تزرع أولاً فى تربة معقمة، ثم تشتل النباتات الصغيرة فى التربة المصابة.

ويلزم — لكى يكون التقييم دقيقًا — أن يتضمن الاختبار أصنافًا معروفة بمقاومتها، وأخرى تعرف بقابليتها للإصابة لمقارنة الأصناف المختبرة بها. ويظهر فى غضون ٣–٨ أسابيع من بدء الاختبار (حسب درجة الحرارة) عدد كبير من العقد على جذور النباتات القابلة للإصابة، بينما تكون جذور النباتات المقاومة خالية من تلك الأعراض. تقلع النباتات حين التأكد من ظهور الإصابة على نباتات المقارنة القابلة للإصابة، وتغسل جذورها، ثم تفحص، وتقسم إلى درجات حسب شدة الإصابة. تكون النباتات الأصيلة فى صفة المقاومة خالية — غالبًا — من أية أعراض، بينما قد تظهر عقد قليلة الحجم والعدد على جذور النباتات الخليطة فى صفة المقاومة. أما النباتات القابلة للإصابة.. فتظهر بجذورها عقد أكثر عددًا وأكبر حجمًا.

وتُحدث العدوى بنيماتودا تعقد الجذور — عادة — إما بخلط تربة الزراعة بكمية من الجذور المصابة بعد تقطيعها إلى أجزاء صغيرة (Abdel-Al & Hassan ١٩٦٥)، وإما بإضافة عدد معلوم من بيض ويرقات النيماتودا لكل إناء (أصيص أو حوض زراعة) من تلك المستخدمة فى الزراعة (Hassan وآخرون ١٩٨٠).

ومن الأهمية بمكان التحكم فى درجة الحرارة التى يجرى عليها الاختبار؛ لما لذلك من تأثير فى شدة الإصابة. وتتراوح أفضل حرارة لذلك من ٢٢ إلى ٢٥°م؛ ففى هذا المجال الحرارى تظهر أعراض الإصابة فى غضون ٤–٦ أسابيع وتطول المدة عن ذلك بانخفاض الحرارة عن ٢٢°م إلى أن تتوقف الإصابة تمامًا فى حرارة ١٠–١٢°م، كما تقصر المدة عن ذلك بارتفاع الحرارة عن ٢٥°م. إلا أن ارتفاعها إلى حرارة ثابتة مقدارها ٣٠°م، أو أعلى من ذلك يؤدى إلى كسر المقاومة وإصابة النباتات المقاومة والقابلة للإصابة على حد سواء (Holtzman ١٩٦٥).

ولقد حدث تقدم فى طريقة التقييم لمقاومة نيماتودا تعقد الجذور فى الطماطم بعد أن قام Rick & Fobes عام ١٩٧٤ بدراسة الإنزيمات المتناظرة isoenzymes التى توجد فى الطماطم، وفصلها بطريقة الـ starch gel electrophoresis، وقد تبين لهما أن صنف الطماطم VFN8، وخمسة أصناف أخرى — مقاومة لنيماتودا تعقد الجذور — تختلف عن باقى الأصناف المختبرة — التى كانت قابلة للإصابة بالنيماتودا — فى الأيزوانزيمات الخاصة بالـ acid phosphatse، فكانت الأصناف القابلة للإصابة تحمل الآليل $Aps\text{-}1^{+}$، بينما احتوت الأصناف المقاومة على الآليل $Aps\text{-}1^{1}$. هذا.. مع العلم بأن الآليل الأخير لم يكن معروفًا قبل ذلك إلا فى النوع البرى *S. peruvianum*.

وبتلقيح نبات مقاوم للنيماتودا ذى تركيب وراثى $Aps\text{-}1^{1}$ $Aps\text{-}1^{1}$ مع نبات آخر قابل للإصابة ذى تركيب وراثى $Aps\text{-}1^{+}$ $Aps\text{-}1^{+}$ انعزل الجيل الثانى إلى ++، و+1، و11 بنسبة ١٦: ١٩: ١٠، على التوالى، وكانت النباتات ذات التركيب الوراثى ++ وحدها هى القابلة للإصابة بالنيماتودا. ولذا.. افترض وجود علاقة بين الآليل $Aps\text{-}1^{1}$ والمقاومة مردَّها إما إلى وجود تأثير متعدد للجين، وإما إلى وجود ارتباط وثيق بين هذا الجين والجين المسئول عن المقاومة، لكن الاحتمال الأول استُبعد بعد اكتشاف وجود الآليل $Aps\text{-}1^{+}$ فى بعض النباتات المقاومة. وبذا.. تأكد أن العلاقة ليست سوى ارتباط وثيق بين الجين $Aps\text{-}1^{1}$ والجين Mi المسئول عن المقاومة للنيماتودا.

وتدل المشاهدات على أن هذا الارتباط لابد وأن يكون وثيقًا لأن الجينين انتقلا معا من النوع البرى *S. peruvianum* إلى الصنف VFN8، ثم إلى الأصناف الأخرى المقاومة للنيماتودا بعده، بالرغم من إجراء عديد من التلقيحات الرجعية. إلا أن الجين $Aps\text{-}1^{1}$ لا يوجد إلا فى الأصناف التى حصلت على مقاومتها من الصنف VFN8، بينما يوجد الجين $Aps\text{-}1^{+}$ فى الصنف المقاوم Anahu وجميع الأصناف التى حصلت على مقاومتها منه، مما يدل على أن العبور حدث فى الأجيال المبكرة أثناء إنتاج الصنف Anahu. وعندما لُقِّح الصنفان المقاومان Short Red Cherry (وتركيبه الوراثى $Aps\text{-}1^{1}$ $Aps\text{-}1^{1}$) مع الصنف Nematex (وتركيبه الوراثى $Aps\text{-}1^{+}$ $Aps\text{-}1^{+}$) كانت جميع نباتات الجيل الثانى مقاومة للنيماتودا، بينما انعزلت بالنسبة للموقع الجينى Aps-1، الأمر الذى يفيد اشتراكهما فى نفس جين المقاومة.

ولكى يمكن الاستفادة من هذا الارتباط الشديد بين جين مقاومة النيماتودا Mi، والجين Aps-1.. فإن النباتات التى تُستخدم كمصدر للمقاومة يجب أن يكون تركيبها الوراثى $Aps1^{1}$ $Aps1^{1}$. ويتوفر هذا التركيب الوراثى فى الصنف VFN8 والأصناف الأخرى التى حصلت على مقاومتها منه. ويجرى التقييم بسهولة كبيرة بالاستعانة بطريقة الفصل الكهربائى Electrophoresis التى يمكن بواسطتها تمييز التراكيب الوراثية $Aps\text{-}1^{1}$ $Aps\text{-}1^{1}$، و $Aps\text{-}1^{1}$ $Aps\text{-}1^{+}$ ، و $Aps1^{+}$ $Aps1^{+}$ عن بعضها البعض. وهى التى تكون — على التوالى — مقاومة أصيلة، ومقاومة خليطة، وقابلة للإصابة أصيلة بسبب الارتباط الشديد بين الجين Mi، و Aps-1.

يستخدم للاختبار — أى جزء من أنسجة النباتات المختبرة، وإن كان التقييم يجرى — عادة — على بادرات عمرها ثلاثة أسابيع. يعمل الفصل الكهربائى على تمييز الإنزيمات المتناظرة isoenzymes التى يتحكم فى إنتاجها الآليلان Aps-1، و $Aps\text{-}1^{+}$.

وتتميز طريقة التقييم هذه لمقاومة نيماتودا تعقد الجذور بما يلى:

١–التوفير فى الوقت والجهد.

٢–لا يلزم إجراء اختبار النسل للتمييز بين النباتات المقاومة الأصيلة والمقاومة الخليطة، لأن اختبار التقييم يميز بينهما مباشرة.

٣–يمكن انتخاب النباتات المقاومة فى طور البادرة، ثم شتلها فى الحقل؛ لتقييم الصفات البستانية، وهو ما يصعب تحقيقه عند إجراء تقييم المقاومة بالطريقة العادية.

٤–يمكن تقييم النباتات للمقاومة فى أى وقت، وفى أية مرحلة للنمو من بداية الإنبات حتى الحصاد. كما يمكن إجراء التقييم على عينات الأوراق المجمدة، وعلى المتوك الجافة للنباتات التى تؤخذ منها البذور.

٥–يمكن إجراء الاختبار بسرعة على نباتات يبلغ عمرها ثلاثة أسابيع مع الحصول على نتائج مؤكدة، بينما يلزم مرور من ٦–١٠ أسابيع ليمكن إجراء الاختبار بالطريقة العادية، مع احتمال فقدان بعض النباتات بسبب الإصابة بالذبول الطرى. وإفلات البعض الآخر من الإصابة بالنيماتودا.

٦–يمكن لشخص واحد تقييم نحو ١٤٠ نباتًا يوميًا.

٧–يمكن التعاون بين موقعين بحثيين بإجراء اختبار المقاومة بهذه الطريقة فى أحدهما، وتقييم النباتات المنتخبة للصفات البستانية فى الموقع الآخر.

هذا.. ويعطى Medina Filho & Stevens (١٩٨٠) التفاصيل العملية لتقييم المقاومة للنيماتودا بهذه الطريقة باستعمال الـ Starch Gel Electrophoresis.

وقد أمكن باستخدام إنزيم الأسيد فوسفاتيز acid phosphatase (Aps-1) isozyme – كجين معلم لجين المقاومة للنيماتودا Mi – وكذلك استخدام واسمات دنا DNA markers – مثل Rex-1 – أمكن نقل الجين Mi إلى عديد من أصناف الطماطم الجديدة. كما أمكن عن طريقها – وكذلك واسمات دنا أخرى – تحديد موقع الجين

Mi بدقة فى الذراع القصير لكروموسوم الطماطم السادس (عن Williamson ١٩٩٨).

ووجد أن التقييم لصفة المقاومة لنيماتودا تعقد الجذور فى الحرارة العالية يمكن إجراؤه بكفاءة فى مزارع الجذور root cultures؛ حيث تنهار مقاومة الجين Mi إذا ما عُرِّضت المزارع لحرارة ٣٢°م لمدة أربعة أيام (Remeeus وآخرون ١٩٩٨).

طبيعة المقاومة

وجد Riggs & Winstead (١٩٥٩) أن يرقات النيماتودا يمكنها اختراق جذور النباتات المقاومة، إلاّ أن الخلايا المصابة سريعًا ما تموت لفرط حساسيتها؛ وبذا.. تجد اليرقة نفسها محاطة بنسيج متحلل؛ فلا تلبث أن تموت هى الأخرى. ويبدو أن حالة فرط الحساسية — هذه — تنشأ تحت تأثير السموم التى تفرزها النيماتودا (Barham & Winstead ١٩٥٧). وتكون النتيجة النهائية لحالة فرط الحساسية عدم قدرة النيماتودا على النشاط والنمو لانحصارها داخل خلايا متحللة (Hung & Rohde ١٩٧٣).

وبمقارنة الجذور بمقاومة السويقة الجنينية العليا فى الصنف Nematex عند حرارة ٢٨–٣٣°م (وهو المدى الذى تفقد فيه النباتات المقاومة مقاومتها وتصاب بالنيماتودا).. وجد Dropkin (١٩٦٩) أن مقاومة السويقة الجنينية العليا كانت أعلى بكثير من مقاومة الجذور؛ حيث لم يخترقها سوى ٨٪ – ١٥٪ من اليرقات، ولم ينم بداخلها سوى عدد قليل منها.

تنجذب النيماتودا لاختراق الجذور، ثم تُهاجر إلى الاسطوانة الوعائية بطريقة واحدة فى كل من النباتات المقاومة والقابلة للإصابة. هذا.. إلاّ إنه لا يحدث أى تطور للنيماتودا فى موقع التغذية فى النباتات المقاومة. وبديلاً عن ذلك.. تظهر استجابة فرط حساسية على شكل منطقة صغيرة محددة من خلايا متحللة قريبًا من رأس يرقة الانسلاخ الثانى J2 التى اخترقت الجذر عند أو بالقرب من الموضع الذى تتكون فيه الخلايا المغذية (فى النباتات القابلة للإصابة) بصورة طبيعية. ونتيجة لعدم قدرة الـ J2

على تطوير موقع للتغذية فى جذور النباتات المقاومة، فإنها إما أن تموت، وإما أن تترك الجذور. وتبدأ أولى مظاهر فرط الحساسية بعد نحو ١٢ ساعة من عدوى الجذور بالـ J2. هذا.. ولا تبدأ الـ J2 فى حثّ تفاعل فرط الحساسية أثناء هجرتها خلال نسيج الجذر، ولكن يحدث ذلك عند محاولتها تكوين موقع للتغذية. ويعنى ذلك أن ظهور تفاعل فرط الحساسية يتطلب اختراق مسبار stylet اليرقة للجذر (Williamson ١٩٩٨).

وقد وجدت علاقة مباشرة بين المقاومة للنيماتودا *M. incognita* ومحتوى جذور النباتات من مركب التوماتين tomatine. وتراوح الحد الأدنى اللازم من التوماتين — لكى يكون النبات مقاومًا — من ٣,٨–٦,١ مجم/جم وزنًا جافًا. وتراوح محتوى جذور الأصناف العالية المقاومة من التوماتين من ١٠,٩–١٢,٤ مجم/جم وزنًا جافًا. كذلك كانت الأصناف العالية المقاومة مرتفعة فى نشاط إنزيمات الكاتاليز Catalase، والبيروكسيديز peroxidase، والبولى فينول أوكسيديز polyphenoloxidase، وهى الإنزيمات التى يعتقد أنها تلعب دورًا فى تمثيل التوماتين (Okopnyi & Sadykin ١٩٧٧).

وتأكيدًا لذلك.. وجد Cantliffe (١٩٨١) تناسبًا طرديًا بين درجة مقاومة النيماتودا ومحتوى النبات من الفينولات؛ فكان أعلى مستوى من الفينولات فى صنف من الطماطم وسلالة من *S. peruvianum* منيعتين ضد الإصابة بالنيماتودا، ثم تدرج مستوى الفينولات بالنقصان فى أصناف الطماطم المقاومة؛ فالأصناف التى تتحمل الإصابة؛ فالأصناف القابلة للإصابة. كما توصل Wehner & Gritton (١٩٨١) إلى أن حامض الكلوروجنيك Chlorogenic acid — الذى يعد من أهم المركبات الفينولية التى توجد طبيعيًا فى جذور الطماطم — يتركز فى البشرة الداخلية. وقد كان أعلى تركيز له فى الصنف المقاوم نيمارد Nemared، ثم فى الصنف المتوسط المقاومة Hawaii 7153، ثم السلالة القابلة للإصابة B5.

كذلك وجد Gangully & Dasgupta (١٩٨٠) زيادة فى نشاط إنزيمى الـ peroxidase، والـ IAA-oxidase عقب العدوى بالنيمانودا، وكانت الزيادة فى الصنف المقاوم SL20 أكبر مما فى الصنف القابل للإصابة Pusa Ruby.

وأظهرت دراسة على عدد من التراكيب الوراثية الثابتة وراثيًا من الطماطم المقاومة والقابلة للإصابة بنيماتودا تعقد الجذور *M. incognita* والهجن المقاومة ارتباط صفة المقاومة بزيادة المحتوى النباتى من الفينولات الكلية، وبزيادة فى نشاط إنزيمات البيروكسيديز peroxidase، والبولى فينول أوكسيديز polyphenol oxidase (Rani وآخرون ٢٠٠٨).

وقد أُجريت — أيضًا — دراسات على علاقة المقاومة للنيماتودا بمنظمات النمو، فوجد Dropkin وآخرون (١٩٦٩) أن معاملة نباتات الطماطم من الصنف المقاوم Nematex بالكاينتين وبعض السيتوكينينات الأخرى أفقدها المقاومة للنيماتودا *M. incognita acrita*، وصاحب ذلك فقدها — أيضًا — لخاصية فرط الحساسية المسئولة عن المقاومة.

كما توصل Staden & Dinalla (١٩٧٧) إلى أن الجذور السليمة من نباتات الطماطم القابلة للإصابة تحتوى على كميات من السيتوكينينات الطبيعية أكبر من الجذور السليمة للنباتات المقاومة، ويزداد محتوى الجذور من السيتوكينينات — فى كلا الصنفين — عند عدواها بالنيماتودا، وهو ما يعضد الرأى القائل بأن السيتوكينينات ربما كانت أحد العوامل الهامة التى تتحكم فى تكوين الخلايا العملاقة giant cells، التى يعد وجودها ضروريًا لتطفل النيماتودا.

التربية للمقاومة

التربية التقليدية

قدمنا فى بداية هذا الفصل سردًا تاريخيًا لأول دراسات تربية الطماطم لمقاومة نيماتودا تعقد الجذور التى أجريت فى هاواى وكاليفورنيا بواسطة كلٍ من Smith،

و Frazier & Dennett، و Gillert وآخرون، وانتهت بإنتاج صنفى الطماطم المقاومين VFN8، و Anahu.

وتتوفر المقاومة لنيماتودا تعقد الجذور — فى الوقت الحاضر — فى عديد من الأصناف التجارية؛ بعضها صادقة التربية، وأكثرها من الهجن. وقد أعطى Hadisoeganda & Sasser (١٩٨١) بيانًا بنتائج اختبار ٥٠ صنفًا من تلك المعروفة بمقاومتها لنيماتودا تعقد الجذور. كانت أغلب هذه الأصناف مقاومة لأنواع النيماتودا *Meloidogyne incognita*، و *M. javanica*، و *M. arenaria*؛ إلا أن جميعها كانت قابلة للإصابة بالنوع *M. hapla*. كما قام Hassan وآخرون (١٩٨٠)، و Desouki وآخرون (١٩٨٢) باختبار نحو ٤٠ صنفًا وسلالة من الطماطم المعروفة بمقاومتها لنيماتودا تعقد الجذور، ووجدوا أن جميعها كانت مقاومة — تحت الظروف المصرية — لكل من *M. incognita*، و *M. javanica*.

وقد أمكن إجراء تهجين نوعى ناجح بين سلالات *S. peruvianum* مقاومة لنيماتودا تعقد الجذور فى حرارة تربة مقدارها ٣٠°م، وذلك بالاستعانة بكل من مزارع كالس الأجنة وتقنية زراعة الأجنة، وكانت نباتات الجيل الأول مقاومة للنيماتودا *M. incognita* على حرارة ٣٠°م (Cap وآخرون ١٩٩١).

واستخدمت السلالتان PI 1270435، و PI 126443 من *S. peruvianum* كمصدرين للجينين Mi-2، وMi-3 — على التوالى — لمقاومة النيماتودا *M. incognita*، وذلك فى تهجينات مع الطماطم، مع الاستعانة بمزارع البيضات ovule culture، ووصلت التربية إلى مستوى التلقيح الرجعى الثالث (Doganlar وآخرون ١٩٩٧).

ولقد استخدمت الواسمة acid phosphate isozyme (وهى Aps-1)، ثم بعد ذلك استخدمت واسمة الدنا Rex-1 فى مساعدة المربين فى نقل الجين Mi لعديد من أصناف الطماطم. كما استخدمت هاتان الواسمتان — وغيرهما — فى التحديد الدقيق لموقع الجين Mi بالذراع القصير للكروموسوم ٦ (Williamson ١٩٩٨).

إنتاج الأصول المقاومة

يُنبه López-Pérez وآخرون (٢٠٠٦) إلى وجود تباينات كبيرة بين أصناف الطماطم الحاملة لجين المقاومة لنيماتودا تعقد الجذور Mi فى شدة ظهور الثآليل بجذورها وفى تكاثر النيماتودا عليها؛ الأمر الذى يجب أخذه فى الحسبان عند اختيار الأصول المقاومة للتطعيم عليها.

وقد أظهرت أصول الطماطم PG76، و Gladiator، و MKT-410 مقاومة عالية لنيماتودا تعقد الجذور *M. javanica*، بينما تباين مستوى المقاومة فى الأصول Brigeor، و 42851، و 43965، و Big Power، و He-Man تبعًا لطول مدة الاختبار؛ هذا.. بينما كان الأصلان Beaufort، و Maxifort قابلين للإصابة (Cortada وآخرون ٢٠٠٨).

وتباينت أصول الطماطم التى تحتوى على الجين Mi لمقاومة نيماتودا تعقد الجذور فى مدى مقاومتها لعدد من عشائر النيماتودا من الأنواع: *M. incognita*، و *M. javanica*، و *M. arenaria*. كان الأصل PG76 (وهو هجين نوعى: *Solanum* sp. × *Solanum lycopersicum*) عالى المقاومة لجميع العشائر، بينما كان الأصل Brigeor (وهو هجين نوعى: *S. habrochaites* × *S. lycopersicum*) والصنف Monika عاليا إلى متوسطا المقاومة. وأما الأصلان Beaufort، و Maxifort فكانا قليلا المقاومة أو قابلين للإصابة (Cortado وآخرون ٢٠٠٩).

التحويل الوراثى

أمكن تحويل الطماطم وراثيًا بجين الشيتينيز chitinase (وهو PjCHI-1) من الفطر غير المتطفل على النيماتودا *Pacilomyces javanicus*، وأظهرت النباتات المحولة نشاطًا عاليًا لإنزيم الـ endochitinase، ومقاومة للنيماتودا *M. incognita* تمثلت فى خفض إنتاج كتل البيض، والتطور الجنينى للنيماتودا (Chan وآخرون ٢٠١٠).