الفصل الرابع

نيماتودا الحوصلات: *Globodera* و *Heterodera*

Cyst Nematodes: *Globodera* and *Heterodera* species

R. Cook[1] and G. R. Noel[2]
[1]Institute of Grassland and Environmental Research, Aberystwyth, SY23 3EB, Wales, UK
[2]USDAARS, Department of Crop Sciences, University of Illinois, Urbana, IL 61801, USA

تضم نيماتودا الحوصلات حوالي مائة نوع معروف تنتمي إلى ستة أجناس. وكلها متطفلات على النباتات ذات المحاصيل التي تنمو في المناطق المعتدلة والمدارية وتحت المدارية (Sharma, 1998). ويهتم هذا الفصل بالجنسين *Globodera*، و *Heterodera*، وخاصة الأنواع ذات الأهمية الاقتصادية منها التي يمكن مكافحتها باستخدام الأصناف المقاومة. وتسمى نيماتودا الحوصلات بهذه التسمية نظراً لأن جسم الأنثى يتحول بعد موتها إلى تركيب مقاوم يحمي البيض بداخله من العوامل الأرضية غير المناسبة. وتختلف الأنواع فيما بينها في بعض الخصائص البيولوجية الهامة، مع تحورات في بعض هذه التخصصات أيضاً لتناسب البيئة الزراعية التي تعيش فيها تلك الأنواع. وتشمل هذه الخصائص كلاً من: طريقة التكاثر (جنسي أو لا جنسي)، وعدد الأجيال في السنة أو في المحصول الواحد (تتراوح من جيل واحد في المحاصيل الحولية في المناطق المعتدلة إلى تكاثر مستمر في الظروف المناسبة في محاصيل المناطق المدارية)، والاختلافات في الفقس (من فقس استجابة للتغيرات في درجات الحرارة إلى فقس يتطلب وجود منبهات خاصة من إفرازات جذور العائل)، وتحمُّل إجهادات العوامل غير الحية. وهناك أيضاً اختلافات فيما بين الأنواع من حيث المدى العوائلي لكل منها.

ومن الخصائص العامة في نيماتودا الحوصلات دورة حياتها التي فيها تخرج يرقات الطور الثاني J_2 من البيض ممثلة الطور المعدي لتخترق جذور النبات العائل، وتتحرك داخل خلايا نسيج القشرة في هذه الجذور متجهة نحو نسيج الأسطوانة الوعائية. ولا يحدث أي تطور لهذه اليرقات بعد ذلك حتى تبدأ هي في استحثاث الخلايا النباتية المجاورة للأنسجة الوعائية لتحولها إلى مدمج خلوي Syncytium، وهي الخلايا التي تمد جميع الأطوار اليرقية –بعد ذلك بما فيها أيضاً الإناث الكاملة– بالغذاء اللازم لتطورها. وبعد بدء التغذية تنمو يرقات الطور الثاني وتمر بثلاثة انسلاخات. وفي العديد من الأنواع، تتطور أيضاً الذكور الكاملة برغم أنها لا تتغذى. ومن المهم حدوث التزاوج بين الذكور والإناث قبل وضع البيض في بعض الأنواع وليس كلها. وقد توضع أول دفعة تكونت من البيض في كتلة جيلاتينية خارج الفتحة التناسلية للأنثى. وسواء حدث ذلك أو لم يحدث فإن أغلب البيض يظل داخل جسم الأنثى التي تموت بعد ذلك ويتحول جسمها إلى حوصلة كما سبق شرحه. وفي بعض الأنواع، يستطيع البيض البقاء داخل

الحوصلة في الفترات غير المناسبة لنمو العائل النباتي. وبهذه الطريقة ينتقل البيض بكامل حيويته من مكان إلى آخر، كما يحدث في حالة انتقال الحوصلات على أسطح درنات البطاطس أو مع حبيبات التربة المحمولة بواسطة الرياح على سبيل المثال. ومعظم هذه الاختلافات الحيوية يمكن استخدامها في عملية التقييم لصفة المقاومة (الجدول رقم ٤,١).

الجدول رقم (٤,١). الخصائص الحياتية لنيماتودا الحوصلات (*Heterodera* و*Globodera*) ذات الصلة بقواعد التقييم.

السمة	الحالة	*H. glycines*	*H. avenae*	*H. schachtii*	*H. trifolii*	*G. rostochiensis*	*G. pallida*
التكاثر	جنسي	+	+	+		+	+
	لا جنسي				+		
السكون		+	+	+	(-)	+	+
خروج الطور اليرقي الثاني استجابة للإفرازات الجذرية	+ ضروري (+) استجابة جزئية - غير ضروري	+	(+)		-	+	+
عدد الأجيال/المحصول		٣-٧	١	١-٥	١-٨	١(٢)	١(٢)
درجة الحرارة المثلى (°م)	للفقس	٢٥-٣٠	١٠-٢٢	٢٥	١٥-٢٥	٢٠-٢٥	١٥-٢٠
	للتطور	٢٦-٢٨	١٥-٢٠	٢١-٢٧	١٥-٢٥		
	عدد الأيام اللازمة للوصول إلى طور الأنثى الكاملة	١٤	٦٥-٤٠	١٧	٤٥-٢٠		
احتواء كتل البيض على بيض		+	-	+	-	-	-
المدى العوائلي	العائلة النباتية الأساسية	البقولية	النجيلية	الزربيحية والخردلية	البقولية	الباذنجانية	الباذنجانية
	عائلات نباتية أخرى	قليل	لا يوجد	عديدة جدا	عديدة	قليلة	قليلة

التعريف
Identification

يتم تعريف نيماتودا الحوصلات عادة عن طريق الصفات المورفولوجية للأنثى الكاملة (الحوصلة)، وأيضاً عن طريق العائل النباتي (الجدول رقم ٤,٢). ولكن هذه الطرق أيضاً لا تسلم من الأخطاء إذا ما تم الاعتماد بطريقة مفرطة على العائل النباتي فقط في التعريف. فعلى سبيل المثال، نجد أن محاصيل الحبوب تصاب بمجموعة نيماتودا حوصلات الحبوب التي تتبع الجنس *Heterodera*، وهذه المجموعة من النيماتودا هي في الحقيقة عبارة عن عدة أنواع متميزة ومختلفة تماماً فيما بينها من الناحية المورفولوجية. أما الجنسان *Heterodera*، و*Globodera* فهما جنسان مختلفان تماماً مورفولوجياً، ومن السهل التمييز بينهما عن طريق شكل الحوصلة، فهي ليمونية الشكل في الجنس *Heterodera*، وكروية في الجنس *Globodera*. ولكن التعريف إلى مستوى النوع يحتاج عادة إلى دراسات وقياسات مورفولوجية مفصلة. وتشمل الخصائص التشخيصية للحوصلة كلاً من: الحجم، واللون، والنمط الكيوتيكلي،

إضافة إلى خصائص المنطقة الفرجية للحوصلة التي تشمل وجود أو غياب القنطرة الفرجية Vulval cone، وطول الفتحة التناسلية Vulva slit، والمسافة بين الفتحة التناسلية Vulva والفتحة الشرجية Anus، وطبيعة جدار الجسم حول الفتحة التناسلية والفتحة الشرجية، وكذلك التفاصيل التركيبية داخل القمع الفرجي نفسه (الأجسام البيولية Bullae، وتحت القنطرة Underbridge، والغلاف المهبلي Vaginal sheath). ومن الصفات التشخيصية أيضاً، الخواص الشكلية ليرقات الطور الثاني J_2، وخاصة الحجم، وعدد الخطوط الجانبية في الحقل الجانبي للكيوتيكل، وطول وشكل الرمح، وطول وشكل الذيل. وهناك مفاتيح تصنيفية جيدة متوفرة يمكن الاستفادة منها، ولكن يجب ملاحظة احتمال وجود أنواع برية وأنواع أخرى لم يتم تعريفها حتى الآن، خاصة في المناطق المدارية. كما يمكن الاستعانة بنصائح علماء تصنيف النيماتودا في العديد من مناطق العالم المختلفة، مع عدم إغفال دور التعاون الدولي الهام جداً في توثيق تعريف النوع.

الجدول رقم (٤,٢). السمات المورفومترية المفتاحية المستخدمة في التمييز بين أنواع نيماتودا الحوصلات *Heterodera*، و*Globodera*. (القياسات بالميكروميتر).

السمة	*H. glycines*	*H. avenae*	*H. schachtii*	*H. trifolii*	*G. rostochiensis*	*G. pallida*
يرقات الطور الثاني J_2						
طول الجسم	٤٧٠	٥٧٥	٤٧٠	٥١٠	٤٦٨	٤٨٦
الخطوط الجانبية	٤	٤	٤	٤	٤	٤
طول الرمح	٢٣	٢٧	٢٥	٢٧	٢٢	٢٤
طول الذيل	٤٥	٥٦		٥٩	٤٤	٥١
٪ جزء الذيل الشفاف إلى الذيل الحقيقي	٥٠	٧٠		٦٠	٦٠	٥٠
شكل قواعد الرمح من الأمام	مسطحة إلى بارزة أمامياً	مسطحة إلى مقعرة قليلاً	ناتئة/بارزة للأمام	مقعرة للأمام	مستديرة، مميل خفيفاً للخلف	ناتئة/بارزة للأمام
الفازميد	دقيق	واضح	غير واضح	صغير، غير واضح		غير واضح
المسافة من الفازميد إلى الفتحة الشرجية	١٠ للخلف	بعدها مباشرة	بعدها مباشرة	في منتصف الذيل	في منتصف الذيل	
المسافة من فتحة الغدة الظهرية إلى الرمح	٥,٣		٤ – ٣	٩ – ٥	٢,٦	٣,٤
الحوصلات Cysts						
الشكل	ليموني	ليموني	ليموني	ليموني	كروي	كروي
الحجم	٧٠٠ × ٤٩٠	٧١٠ × ٥٠٠	٧٥٠ × ٤٥٠	٦٥٠ × ٤٠٠	٤٤٥ × ٣٨٢	٥٧٩ × ٥٣٤

تابع الجدول رقم (٤,٢).

السمة	*H. glycines*	*H. avenae*	*H. schachtii*	*H. trifolii*	*G. rostochiensis*	*G. pallida*
تابع الحوصلات Cysts						
الطول : العرض	١,٤٣	١,٤٣	١,٦٧	١,٦٣	١,٢٧	١,١١
الطبقة البللورية	++	++	+	+	-	-
كيس البيض	+ ٢٠٠	صفر	+ قليل	+ ٢٠٠	صفر	صفر
نمط الكيوتيكل	متعرج	متعرج	مجعد خفيف			
تنقيط الكيوتيكل					شبكي	
اللون	بني	بني داكن	بني	بني/بني داكن	أصفر ذهبي ثم بني	أصفر باهت ثم بني
القمع الفرجي	مخروط منفرج	منفرج	ناتئ/بارز	ناتئ/بارز	لا يوجد	لا يوجد
طول الفتحة التناسلية	٥٠	١٢	< ٣٥	٤٧	١٠	١١,٥
الفتحة التناسلية - الفتحة الشرجية			٧٧	٦٢	٦٠	٤٥
تحت القنطرة	++	-	ناتئ/بارز	ناتئ/بارز جدا	-	-
الأجسام البيولية	+ متطاولة	++ مرتفعة	+	+	-	-
شكل نوافذ القمع الفرجي	ثنائيتان نصف دائريتان	ثنائيتان نصف دائريتان	ثنائيتان نصف دائريتان	ثنائيتان نصف دائريتان	نافذة واحدة دائرية	نافذة واحدة دائرية
نسبة Granek	-	-	-	-	٣,٦	٢,١

يمكن التمييز بين الأنواع قريبة الصلة مثل أنواع نيماتودا حوصلات البطاطس باستخدام طرق التفريد الكهربي للبروتينات وكذلك بالطرق الجينية. ويمكن أيضاً في الوقت الحالي إعادة تلك التعريفات بالطرق الجزيئية الحديثة التي يمكنها تمييز الأنواع النيماتودية التي تمثل آفات زراعية هامة (انظر على سبيل المثال Subbotin *et al.*, 2000a). وفي بعض الحالات، لا يمكن تمييز بعض آفات المحاصيل عن الأنواع البرية القريبة منها بالطرق الجزيئية، ولكن ذلك قد يكون ممكناً في المستقبل القريب باستخدام طريقة تفاعل البلمرة المتسلسل Polymerase chain reaction (PCR) الذي لا يتطلب أكثر من عينات صغيرة تكفي لتعريف الأنواع، بل وتعريف الاختلافات بين عشائر النوع الواحد وداخلها. أما تمييز وتعريف الطراز الإمراضي Pathotype كفئة تقع تحت النوع فإنه يعتمد على اختبارات العوائل المفرقة Host differentials (وهي نباتات ذات مقاومة وراثية ثابتة ومميزة). وهناك تسميات أخرى مختلفة أعطيت لهذه الفئة مثل: السلالة Race بالنسبة لنيماتودا حوصلات فول الصويا، فيما ظلت تسمية الطراز الإمراضي Pathotype باقية لبقية أنواع نيماتودا الحوصلات الأخرى بما فيها نيماتودا حوصلات الحبوب ونيماتودا حوصلات البطاطس. وفي هذا الفصل نستخدم الكلمات المصطلح عليها حالياً لكل نوع. ويرتكز تمييز هذه الفئة من النيماتودا التي تقع تحت النوع عادةً على الشراسة الإمراضية للعشيرة أو الفرد، والتي لا يمكن تمييزها حتى الآن بالطرق الجزيئية، ولكن لأن الاختلافات في الشراسة الإمراضية هي في الأصل تعتمد على التركيب الوراثي، فإن

ذلك سوف يكون ممكناً في المستقبل. وحتى الآن يمكن تمييز أنواع نيماتودا حوصلات البطاطس فعلياً بعضها عن بعض باستخدام هذه الطريقة الجزيئية، وقد تمكن روب فان دير فورت Rouppe van der Voort (1998) من التمييز بين جيني *Ro1* و*Ro5* باستخدام تقنية تضاعف قطع الحامض النووي DNA متباينة الأطوال (AFLP)، كما تمكن سبوتين وآخرون Subbotin *et al.* (2000b) من التمييز بين أنواع نيماتودا حوصلات الحبوب باستخدام هذه الطريقة، ولكنهم لم يتمكنوا من التمييز بين الطرز الإمراضية داخل النوع نفسه باستخدام هذا الاختبار.

مصادر المقاومة
Sources of Resistance

هناك دائماً سبب منطقي للبحث عن مصادر للمقاومة. وكما تمت الإشارة إليه في الفصل الثالث حول نيماتودا تعقد الجذور، تمت الاستفادة من صفة المقاومة الموجودة في الأصناف أوالسلالات المتقدمة من المحاصيل في برامج التربية. وقد يزيد التوجه نحو مصادر المقاومة الأخرى الأقل تطوراً التي توجد في السلالات المحلية والبرية أو حتى الأنواع القريبة منها من فرص نقل صفة المقاومة إلى أصناف زراعية مرغوبة. وتبعاً لوجود العديد من أنواع نيماتودا الحوصلات التي يمكنها أن تصيب عائلاً نباتياً ما، هناك أيضاً العديد من جينات المقاومة Resistance genes (R-genes)، وكذلك جينات عدم الشراسة الإمراضية المكملة لها Complementary avirulence genes (Avr-genes) في العشائر النيماتودية.

وقد أفرزت الدراسات حول المقاومة النباتية ميكانيكيات مختلفة يمكن بواسطتها لصفة المقاومة أن تعبر عن نفسها، وبالطبع فإن فهم هذه الميكانيكيات قد يسهل عملية الانتخاب لمصادر مختلفة من المقاومة. وفي الزراعات المحلية، يتجه الانتخاب للصفات المحصولية عالية القيمة والاستخدام عادةً على حساب الانتخاب لصفة المقاومة أو التحمل تجاه الآفات والأمراض النباتية. أما في الطبيعة، فإن تباين أشكال المقاومة النباتية وجينات عدم الشراسة الإمراضية في النيماتودا يعد ذا قيمة تأقلمية لكل من النبات والطفيل بالنسبة للعشائر متباينة الزيجوت. وقد تضاءلت المعوقات الدفاعية كثيراً في السلالات الزراعية النقية حيث تنخفض أعداد جينات المقاومة R-genes في الأصناف المؤقلمة. وقد يحدث ذلك بسبب أن هذه الأصناف يتم تطويرها في غياب النيماتودا. وتلك هي الحالة دائماً في المشاتل الحقلية للمربين حيث تكون تلك المشاتل خالية من التلوث بالنيماتودا، أو أن المشاكل النيماتودية فيها تحت السيطرة عن طريق استخدام الدورات الزراعية التي تدخل فيها نباتات غير عائلة للنيماتودا. وقد تظهر الأصناف التي تمت تربيتها في مثل تلك الظروف قابليتها للإصابة بالنيماتودا فيما بعد عندما تزرع في تربة ملوثة بها.

وهناك اعتبار هام جداً لا يجب إغفاله عند التربية لصفة المقاومة وهو وجود صفة تباين الزيجوت في العشائر النيماتودية. فمن الواضح أن بعض عشائر نيماتودا الحوصلات التي يتم تعريفها في النظم الزراعية تمتلك واحداً أو

أكثر من جينات عدم الشراسة الإمراضية Avr-genes مقابل وجود جينات مقاومة R-genes في الأصناف المتوفرة حالياً من المحاصيل. وتعرف هذه العشائر كطرز إمراضية Pathotypes وذلك للاختلافات الواضحة في قدرتها على التكاثر على النباتات التي تحتوي على جينات المقاومة. وفي حالات أخرى، حيث تكون حالات التداخل بين جينات المقاومة R-genes وجينات عدم الشراسة الإمراضية Avr-genes مختلفة ومتنوعة، يكون تعريف الاختلافات في صفة الشراسة الإمراضية في العشائر النيماتودية أقل وضوحاً. ويمكن تفسير الأمثلة التي تحدث من هذه التداخلات الوراثية المتغايرة المستمرة بأن صفة المقاومة في تلك التداخلات تكون إما صفة وصفية أو كمية، على الترتيب.

اعتبارات عامة في اختبارات المقاومة
General Considerations in Screening

هناك اعتبارات عامة قد تقود اختبارات المقاومة إلى نتائج عملية معينة، ومن هذه الاعتبارات التقدير المباشر لنمو وتكاثر النيماتودا. وسوف تكون هذه الاختبارات ممكنة التطبيق العملي في اختبارات المقاومة التقليدية، كما سوف تكون أيضاً ممكنة التحوير لأغراض أخرى؛ كاختبارات النباتات المقاومة المهندسة وراثياً. وعادة يكون قياس معدل تكاثر النيماتودا من المتطلبات، بالرغم من أنه عند اختبار تأثير الجينات المنقولة لا يتم تقدير معدل تكاثر النيماتودا بصفة مباشرة. فعلى سبيل المثال، أثبت أتكينسون وآخرون Atkinson *et al.* (1996) أن التعبير الجيني للجينات المنقولة قد أنقص المساحة السطحية لإناث نيماتودا حوصلات البطاطس.

تربية وإعداد اللقاح Rearing and Preparation of Inoculum

يعتمد اختبار أي من طرق الدراسة على حياتية النيماتودا أولاً. فلقاح نيماتودا حوصلات البطاطس على سبيل المثال يمكن جمعه وتخزينه في صورة حوصلات جافة. ويمكن للبيض داخل هذه الحوصلات أن يحتفظ بحيويته لفترات طويلة دون اتخاذ أية إجراءات تخزينية خاصة. وفي حالات أخرى، مثل نيماتودا حوصلات الحبوب *H. avenae* على سبيل المثال، من الممكن الاحتفاظ بحيوية البيض الذي سيستخدم كلقاح داخل الحوصلات المحفوظة رطبة على درجات حرارة منخفضة جداً حتى يمكن ليرقات الطور الثاني J_2 أن تفقس. أما الأنواع التي تضع جزءًا من البيض في كتلة جيلاتينية خارج جسم الأنثى مثل الأنواع *H. glycines*، و*H. schachtii*، و*H. trifolii* فإنها تحتاج إلى حذر واهتمام خاص عند جمع البيض لاستخدامه في عملية التلقيح. وهناك دائماً اختلافات في القدرة على الفقس بين البيض الذي تم وضعه في كتل جيلاتينية وذلك الذي يبقى موجوداً داخل الحوصلة.

وعند الرغبة في إنتاج كميات كبيرة من اللقاح عن طريق إكثار النيماتودا على النباتات في التربة، فإن ذلك قد يحتاج إلى أكثر من جيل من النباتات. وخلافاً لذلك، فإن عدة أجيال من النيماتودا قد تكتمل في محصول معين دون

توقف، كما في حالة نيماتودا حوصلات البرسيم *H. trifolii*. ويجب تنمية النباتات التي ستربى عليها النيماتودا في ظروف نظيفة قدر الإمكان، وذلك للحصول على لقاح نظيف، سواء كان نوعاً أو طرازاً إمراضياً معيناً، دون أن يتلوث بأي نيماتودا أخرى أو كائن ممرض آخر، وأيضاً لضمان خلو اللقاح من مفترسات النيماتودا نفسها. فالفطريات التي تتطفل على الحوصلات والبيض قد تمثل مشكلة إذا تمت تنمية النيماتودا في مزرعة من تربة أخذت مباشرة من الحقل. ومع ذلك، فإن الكميات الكبيرة من اللقاح الجيد يمكن أيضاً الحصول عليها من الحقل أو القطع الحقلية الصغيرة Microplots تماماً كتلك التي يمكن الحصول عليها من مزارع البيوت الزجاجية أو البيئات الصناعية.

انتخاب العزلات Selection of Isolates

أينما وجدت الاختلافات داخل النوع النيماتودي، فإنه ينصح بتربية كل لقاح على حدة. فعلى سبيل المثال، عندما يخطط الباحث لاستخدام خليط من اللقاح ليستخدمه في الانتخاب لصفة مقاومة عريضة القاعدة، فإن المحافظة على كل عشيرة نيماتودية بمفردها يسمح باستخدام كل عشيرة على حدة كلقاح، كما يسمح أيضاً باستخدام خليط من تلك العزلات في الاختبارات المتتالية التي قد تتطلب ذلك، كما يفيد أيضاً في تجنب انتخاب عشيرة خاصة تمتلك صفة الشراسة الإمراضية.

ومن الضروري معرفة بعض المعلومات حول تلك الاختلافات داخل النوع الواحد، فخلط ما يعرف بالعشائر العدوانية Aggressive populations لنوع ما من النيماتودا دون معرفة مدى المقاومة في التراكيب الوراثية النباتية المختبرة قد يعطي الفرصة للانتخاب لصفة مقاومة فعالة تجاه العديد من العشائر النيماتودية. أما إذا أجري الانتخاب جزافاً دون معرفة أية معلومات حول الاختلافات في العشائر النيماتودية المستخدمة فإن ذلك يؤدي إلى إخراج بعض مصادر المقاومة بدعوى أنها غير فعالة بالدرجة الكافية، وذلك لأنها أظهرت فاعلية تجاه نسبة معينة فقط من اللقاح وليس تجاه اللقاح بأكمله. ومن الممكن تخيل أن مثل ذلك العمل سوف يؤدي إلى تنحية المصادر الفردية للمقاومة التي إذا أمكن جمعها في نبات مفرد قد تعطينا المستوى المطلوب من المقاومة. فإذا ما توفرت لدينا المعلومات عن كل جينات المقاومة R-genes الموجودة في عشيرة نباتية داخلية التربية، فإن اللقاح الخليط يكون هو المناسب هنا لتعريف النباتات التي تحتوي على هذه الجينات مجتمعة.

تلقيح النباتات Inoculating Plants

تستخدم النيماتودا في تلقيح النباتات في صورة حوصلات أو بيض أو يرقات فاقسة. وإذا ما رتبنا هذه الصور تبعاً لأفضلها من حيث نوعية وكمية اللقاح فإنها تكون كالآتي: اليرقات، فالبيض، فالحوصلات. وقد تؤدي التغيرات البيئية القوية إلى عكس ذلك الترتيب. ومن ثمَ فإن الصورة المثلى من اللقاح هي تلك التي تجابه الظروف البيئية المعاكسة، مع الأخذ في الاعتبار أن يكون هناك دائماً معاملة للمقارنة تحكم التغير في الظروف البيئية للاختبار.

وكذلك يجب أن يؤخذ في الاعتبار أيضاً كلٌ من عدد الأصناف المراد تقييمها، والمساحة المتوفرة، والتكاليف، ومصاريف العمالة.

وفي الاختبارات المتحكم في ظروفها، يكون اللقاح دائماً عبارة عن يرقات حديثة الفقس لكي تعطي تحكماً دقيقاً في الكثافة العددية للنيماتودا (Pi)، ولكي تعطي أيضاً تطوراً متساوياً لليرقات حتى الوصول إلى طور الإناث الكاملة. أما الطريقة الأخرى التي تشمل- من بين ما تشمل- خلط الحوصلات مع التربة، ووضعها في مناخل ذات سعة ثقوب مختلفة (لكي يمكن فصل الحوصلات الحديثة عن القديمة) فسوف تناقش بالتفصيل فيما بعد لكل نوع من النيماتودا. وهناك عامل آخر في غاية الأهمية، وهو استجابة النيماتودا لعامل الفقس الذي تفرزه جذور النباتات. فنيماتودا حوصلات البطاطس مثلاً، ونيماتودا حوصلات فول الصويا يختلفان في استجابتهما لإفرازات الأصناف المختلفة من البطاطس وفول الصويا، على الترتيب (Dale and de Scurrah, 1998 ؛ Sikora and Noel, 1996). وتؤدي مثل هذه التداخلات إلى اختلافات في نتائج اختبارات التقويم تعتمد بصورة أساسية على اختيار نوع اللقاح؛ فالاختبارات التي تستخدم البيض الحر، أو البيض الموجود داخل حوصلات قد تعطي نتائج مختلفة عن تلك التي استخدمت فيها اليرقات حديثة الفقس. وقد يكون لاستخدام معلق البيض كلقاح أو البيض الموجود داخل الحوصلات ميزة هامة، حيث تطول المدة التي يحدث فيها الفقس ثم اختراق اليرقات للجذور، مما يجعل الاختبار أكثر قوة في مجابهة التغيرات البيئية. ولكن الشيء الأهم في ذلك، هو تجنب احتواء اللقاح على عدد كبير من اليرقات التي قد تسبب أضراراً للجذور فتؤثر سلبياً على نمو النباتات وتطور النيماتودا فيما بعد. وفي ظل ظروف النباتات المعرضة للإجهاد أو التنافس بين النيماتودا وبعضها على أماكن الغذاء، فإن بعض يرقات الطور الثاني المأمول تطورها إلى إناث قد تتطور إلى أفراد بين جنسية Intersexes، وقد يفشل البعض الآخر في التطور أساساً.

وعموماً، يجب أن يعرف الباحث كيف يتجنب التنافس المفرط. ومن غير المناسب أيضاً عدم السماح للنباتات بالتجذير قبل إضافة اللقاح النيماتودي، ومن ثم تقليص فرصة النيماتودا في ملاقاة الجذور لاختراقها، ومن ثمَ تقليص فرصتها في الحصول على مصادر لغذائها. وفي بعض الأنواع من المحاصيل كمحاصيل الحبوب والنجيليات في طور نموها الخضري، وكذلك المحاصيل الأخرى ذات النمو غير المحدود، فإن النمو الجذري الزائد قد يؤدي إلى صعوبات في استخلاص وعدّ النيماتودا.

تداخلات التقييم Evaluating interactions

المقاومة Resistance

المقاومة هي منظور نسبي يعبر عن تأثير التركيب الوراثي النباتي على تكاثر النيماتودا. وحتى في حالة تقييم صفة المقاومة عالية التأثير، فإنه لابد من نسبتها إلى تكاثر النيماتودا على صنف مقارن معلوم القابلية للإصابة، وإذا

أمكن، إلى صنف مقاوم معلوم أيضاً. وتوصف المقاومة عادة ببعض الصور المعبرة عن دليل تكاثر النيماتودا. وأكثر هذه الصور استخداماً هو دليل التكاثر Reproduction index (RI) الذي يمكن حسابه من المعادلة:

$$RI = 100\ Pf \div Pi$$

حيث: Pi = الكثافة الابتدائية، وPf = الكثافة النهائية للنيماتودا. ويستخدم هذا الدليل بالمقارنة مع دليل تكاثر النيماتودا على صنف قابل للإصابة معلوم. وعادة يتم التقييم لجيل حديث من الإناث؛ حيث من السهل عدّ هذه الإناث قبل تلونها وتحولها إلى حوصلات. وعند تنمية النباتات في بيئة تجذير (تربة أو غيرها)، يجب تحري هذه الإناث من الجذور قبل عدّها. ولمزيد من الدقة، يجب غسل الجذور وتحرير الإناث منها ثم إضافتها إلى تلك الحوصلات المستخلصة من التربة بطريقة الطفو والمناخل، ثم عد الجميع. وهناك عدة طرق لاستخلاص إناث نيماتودا الحوصلات من التربة تتراوح ما بين الأجهزة المعقدة إلى التصفية والمناخل البسيطة. ويمكن الاطلاع على وصف ومقارنات أكثر لهذه الطرق في المرجع Eisenback and Zunke (1998). كما تعد بيئات التجذير Rooting media واحدة من الطرق الهامة التي يمكن بواسطتها الحصول على جيل جديد من إناث نيماتودا الحوصلات. وعند استخدام التربة كبيئة تجذير، يفضل أن تكون تربة ذات محتوي عال من الرمل. ويعكس استخدام الطرق المعقدة الدقيقة في التقييم التغاير الواضح المعلوم بين التراكيب الوراثية المقاومة والقابلة للإصابة وكذلك الغرض من الاختبار. وتعد المقارنات بين أعداد الحوصلات التي يمكن رؤيتها على جذور النباتات النامية في الأصص (اللوحة الملونة رقم ٦) كافية للتمييز بين النباتات القابلة للإصابة التي تحتوي جذورها على مئات الإناث والحوصلات، والنباتات المقاومة التي لاتحتوي جذورها على أي من ذلك أو تحتوي على عدد قليل منها. وفي حالات أخرى، يتم عد الإناث والحوصلات بدقة في كمية معلومة من الجذور.

وفي بعض الحالات، يتم قياس معدل تكاثر النيماتودا عن طريق عدّ البيض في الحوصلات التي يتم استخلاصها من التربة؛ ولكن هذا يتطلب عمالة مكلفة بالرغم من كونه الأكثر قبولاً في حالة استخدام البيض أو اليرقات حديثة الفقس كلقاح، على عكس استخدام التربة الملوثة طبيعياً بالنيماتودا، أو التربة المخلوطة بالحوصلات صناعياً، حيث تكون طريقة عدّ البيض في الحوصلات أقل قبولاً، حتى لو استخدم الحذر في الفصل بين الحوصلات الحديثة والقديمة. وعادةً يكون استخلاص الحوصلات أكثر فعالية ودقة إذا كانت الحوصلات جافة في تربة قد تم تجفيفها بالهواء مقارنة بالحوصلات الرطبة المستخلصة من تربة رطبة.

وفي بعض الحالات العرضية، قد تنسب المقاومة إلى استجابات معينة لجذور النباتات. فعلى سبيل المثال، يظهر على الجذور الملقحة بنيماتودا حوصلات الحبوب عقداً جذرية مميزة تتميز بانتفاخ جذري يخرج منه تفرعات جذرية عند مكان تغذية وتطور أنثى النيماتودا. وعلى خلاف ذلك، لاتظهر مثل هذه الاستجابات على جذور

الشوفان والشعير الملقحة بنفس النوع من النيماتودا، وعليه لايمكن استخدامها كدلالة على المقاومة أو القابلية للإصابة في مثل هذه النباتات.

التحمل Tolerance

يتطلب تحديد تحمل النبات للإصابة بالنيماتودا من عدمه مقارنة حالة النمو في كل من النباتات المصابة وغير المصابة. وفي الظروف المتحكم بها، قد يكون من الصعب تحديد ذلك في وقت واحد، كما يحدث في حالة تقييم المقاومة. وفي بعض الحالات، يمكن مشاهدة بعض ردود الأفعال النباتية التي يبدو أن لها علاقة بصفة التحمل. ففي التراكيب الوراثية من البرسيم المقاوم لنيماتودا حوصلات البرسيم *H. trifolii*، نجد أن بعض النباتات يظهر على جذورها تلون بني نتيجة للموت الموضعي الذي يحدث في هذه الجذور ربما بسبب تفاعل شدة حساسية، ومن ثمَ فإنه من الممكن أن يتم الاختبار على أساس الجذور التي لايظهر عليها تلون وكذلك عدم تكون للحوصلات عليها.

يتم تقدير النمو النباتي والإنتاجية المحصولية كمقياس لصفة التحمل دائماً في الحقل أو في تجارب القطع الحقلية. وفي بعض الحالات، يمكن استخدام القطع الحقلية الصغيرة في ذلك. فعلى سبيل المثال، تم إجراء مثل هذه الاختبارات لقياس صفة التحمل لكل من نيماتودا حوصلات الحبوب في الشوفان الربيعي في أستراليا، ونيماتودا حوصلات فول الصويا في فول الصويا بالولايات المتحدة الأمريكية. وفي حالة الشوفان، تم تصنيف النباتات إلى أربع مجموعات تمثل المقاومة، والقابلية للإصابة، والمتحملة، والحساسة. وفي البطاطس، تم تقدير عدة صفات تشمل النمو النباتي واستجابة الجذور للعدوى بالنيماتودا، وذلك لتقدير تحمل تلك النباتات لنيماتودا حوصلات البطاطس (van Riel and Mulder, 1998 ؛ Trudgill *et al.*, 1998). كما تم تقدير صفة التحمل لنيماتودا حوصلات فول الصويا في نباتات فول الصويا بمقارنة إنتاجية النباتات في قطع حقلية أو أصص مملوءة بتربة ملوثة طبيعياً بالنيماتودا، تمت معاملة بعضها بالمبيدات النيماتودية، وترك البعض الآخر بدون معاملة. وقد أثبتت هذه الطريقة فاعليتها في التقييم لأكثر من طراز إمراضي من هذه النيماتودا (Hussey and Boerma, 1992). وإذا ما أخذنا في الاعتبار أن صفة التحمل هي صفة معقدة في الأصل، نجد أنه من الواجب أن تستمر اختبارات الأصص والقطع الحقلية لانتخاب صفة التحمل، أو على الأقل لتعريف التوافيق الأبوية التي يمكننا أن نحصل منها على صفة التحمل.

وسوف يسهل تطوير الخرائط الوراثية للنباتات العائلة باستخدام الانتخاب المبني على الدلائل الجزيئية Marker-assisted selection لمواقع الصفات الكمية Quantitative trait loci (QTLs)، واتخاذه كطريقة غير مباشرة للانتخاب لصفة التحمل. ولقد ثبت بالفعل أن صفتي التحمل والمقاومة هما صفتان مستقلتان (Trudgill, 1991). وهناك العديد من العوامل الأخرى التي تسهم في صفة التحمل وتشمل: حجم الجذر، ومعدل النمو، والمقاومة

للإجهادات غير الأحيائية الأخرى. إذاً فصفة التحمل هي صفة معقدة تتأثر بالعديد من العوامل الوراثية والبيئية، وتؤثر بذلك في كمية الفقد في إنتاجية المحصول التي تحدث بسبب الإصابة بالنيماتودا. ومن الضروري في برامج الانتخاب أن نحدد كفاءة الأداء المحصولي للأصناف المقاومة في أرض ملوثة بالنيماتودا تحت الظروف الحقلية (اللوحة الملونة رقم ٥).

قواعد التقييم لمحاصيل معينة
Screening Protocols for Specific Crops

من الضروري أن تعطي بروتوكولات التقييم نتائج ثابتة على مدار تكرارها عبر السنين، وأيضاً (كلما أمكن) بين مناطق إجرائها. وقد يميل البعض إلى تفضيل الانتخاب عن طريق التقنيات المتحكم بها على الانتخابات الحقلية بسبب توافر عوامل الدقة، والقدرة على التكرار، وسهولة التطبيق في الطريقة الأولى، وذلك على الرغم من ارتفاع تكاليفها. ويجب أيضاً التحكم في كافة ظروف نمو المحصول، وذلك لضمان تعبير التراكيب الوراثية القابلة للإصابة عن نفسها لمقارنتها مع التراكيب الوراثية المقاومة المستخدمة كأصناف مقارنة معلومة. وتوضح البروتوكولات الموجزة الآتية بعض- وليس كل- الأمثلة حول الأسس العامة لبعض حالات الانتخاب لمحاصيل معينة تجاه نيماتودا معينة.

نيماتودا حوصلات فول الصويا *Heterodera glycines*
Heterodera glycines, soybean cyst nematode (SCN)

من الناحية التاريخية، تم إجراء أول تقييم لأصناف فول الصويا تجاه نيماتودا حوصلات فول الصويا في حقول ملوثة بتلك النيماتودا، وتم عدّ الإناث البيضاء على جذور النباتات المصابة بعد شهر واحد من الزراعة. وقد تمت مقارنة كل صنف دخل الاختبار مع صنف قابل للإصابة قياسي تمت زراعة كل منهما في خطين (اللوحة الملونة رقم ٤) (Ross and Brim, 1957). أما اختبارات الأصص (Epps and Hartwig, 1972 ؛ Noel *et al.*, 1990) التي أجريت بعد ذلك، فقد استخدم فيها أصص فخارية بقطر ٨ سم، وزرعت فيها البادرات بمعدل بادرة واحدة بكل أصيص مملوء بتربة ملوثة طبيعياً بالنيماتودا، وتم عدّ إناث النيماتودا التي ظهرت على الجذور بعد شهر واحد من الزراعة. أيضاً، تم استخدام اختبار تعريف السلالات (Golden *et al.*, 1970) بشكل واسع كاختبار تقييم. وفي هذا الاختبار، يتم شتل البادرات التي يصل طول جذورها إلى ٢-٣ سم في أصص بقطر ٧,٥ سم مملوءة بتربة أو رمل معقم، وتترك لتنمو لمدة ٣ - ٤ أيام، ثم تلقح بمعدل ١٠٠٠ - ٥٠٠٠ بيضة تؤخذ من إناث بيضاء White females حديثة. وبعد شهر من التلقيح، تستخلص الإناث البيضاء حديثة التكوين من كل أصيص، ويتم عدُّها، ثم تحويل الأعداد إلى دليل يسمى دليل الإناث Female index، وهو عبارة عن النسبة المئوية للإناث منسوبة إلى عدد الإناث

على الصنف القابل للإصابة Lee، أي عدد الإناث في الصنف المختبر مقسوماً على عدد الإناث على الصنف Lee، ثم ضرب الناتج × ١٠٠. ويستخدم هذا الدليل في تصنيف الأصناف كما يلي: صفر – ٩٪ = مقاوماً Resistance، ١٠ – ٣٠٪ = متوسط المقاومة Moderately Resistance، ٣٠ – ٦٠٪ = متوسط القابلية للإصابة moderate Susceptible، وأكثر من ٦٠٪ = قابلاً للإصابة Susceptible (Schmitt and Shannon, 1992). ويكون هذا الدليل موثوقاً به، ويمكن الاعتماد عليه عندما تكون العشيرة المختبرة من النيماتودا معلومة الشراسة الإمراضية. ولكن عندما يكون لدينا خليط من السلالات، فإن ذلك قد يسبب مشاكل في تفسير النتائج. ومع ذلك، فقد وجد أن أكثر من مائتي صنف فول صويا تنتمي إلى مجموعات النضج من الأولى حتى الثامنة تم إنتاجها في الولايات المتحدة الأمريكية لها القدرة على خفض نسبة الفقد المحصولي الذي تسببه الإصابة بالنيماتودا. وفيما يتعلق بالتربية العملية لنباتات فول الصويا في ولاية إلينوي الأمريكية، فإنه يتم تسجيل النباتات الفردية (كل نبات على حدة) كما يأتي: صفر = صفراً، ١ = ١ – ٥ ، ٢ = ٦ – ١٠، ٣ = ١١ – ٣٠، و٤ = أكثر من ٣٠ أنثى/المجموع الجذري، ويتم الاحتفاظ فقط بالنباتات التي تعطي تسجيلاً = ١ ، و٢. وقد أدى العمل بهذا التسجيل مهمته بدرجة جيدة جداً في الحفاظ على صفة المقاومة لفترة تقرب من العشرين عاماً في تلك الولاية، حيث كان يتم اختبار ما يقرب من الخمسة آلاف سلالة كل عام.

تستخدم بعض برامج التربية طريقة الانتخاب المبني على الدلائل الجزيئية (MAS) باستخدام تقنية تقطيع الحامض النووي DNA باستخدام إنزيمات القطع المقيد (RFLP)، أو تقنية التضاعف العشوائي لقطع الحامض النووي DNA متباينة الأطوال (RAPD). وسوف تنتشر هذه الطريقة للانتخاب على مستوى العالم، حيث إنها تسمح باختبار رد فعل نباتات مفردة تجاه أكثر من سلالة نيماتودية، كما تسمح أيضاً بتطوير أصناف تحتوي على جينات مقاومة متعددة Multiple R-genes. وقد وجد أن الصنف "Peking" يحتوي على دليلين مستقلي التوارث هما: الدليل pA136 والدليل pA635 الموجودان على مجموعتي الارتباط A وC، على الترتيب وأن هذين الدليلين يرتبطان بصفة المقاومة تجاه السلالة رقم ٣ من نيماتودا حوصلات فول الصويا. وهناك حالياً تزايد سريع مطرد في عدد الدلائل الجزيئية لجينات مقاومة أخرى تجاه نيماتودا حوصلات فول الصويا (Cregan and Quigley, 1997 ؛ Annad *et al.*, 1998). وتتطلب بروتوكولات التقييم للدلائل الجزيئية (انظر الفصل رقم ١٢) تطبيقاً مكثفاً للطرق التقليدية لتعريف ردود الفعل النباتية المفردة، ومتابعات مستمرة لتأكيد الارتباط بين الدليل الجزيئي ورد الفعل النباتي.

ومن الممكن إجراء التقدم الواضح في البرنامج قبل جدولة جميع التداخلات الوراثية. فقد استخدمت برامج التربية الأمريكية معلومات عن السلالات النيماتودية السائدة في مناطق مختلفة من الولايات الشمالية والجنوبية. ففي الشمال، هناك سلالتان سائدتان هما: السلالة رقم ١ ، والسلالة رقم ٣ (٢٥ و٧٠٪، على الترتيب). وقد بدأت برتوكولات التقييم بالانتخاب لصفة المقاومة تجاه عشيرة من السلالة رقم ٣، ثم تمت الاختبارات لصفة المقاومة

الكاملة أو المعتدلة تجاه السلالات رقم ١-٥ والسلالة رقم ١٤ قبل السماح بطرح الأصناف في الأسواق. أما في الجنوب، حيث ينتمي ٨٧٪ من مجموع عشائر نيماتودا حوصلات فول الصويا SCN إلى السلالات: ٢، و٤، و٥، و٦، و٩، و١٤، فقد تم التقييم أولاً للسلالتين رقمي ٦، و٢، ثم السلالات رقم ١٤، و٤، و٥. وقد أدت هذه الطريقة بفاعلية إلى انتخاب المساهمات الجينية الفعالة الموجودة في المصادر والأصناف المتوفرة حالياً من فول الصويا في الأسواق (Kim *et al.*, 1998).

نيماتودا حوصلات الحبوب *Heterodera avenae* ومجموعة Avenae

***Heterodera avenae* and the *H. avenae* group, cereal cyst nematodes (CCN)**

تم إجراء اختبارات التقييم لصفة المقاومة تجاه نيماتودا حوصلات الحبوب من النوع *H. avenae* والأنواع الأخرى القريبة منها التي تقع في مجموعة Avenae مراراً وتكراراً في تربة حقلية ملوثة طبيعياً بتلك الأنواع. وقد استخدمت الأصناف شديدة القابلية للإصابة في الحفاظ على هذه العشائر النيماتودية وإكثارها في الحقل أو في القطع الحقلية. وفي أوروبا، قد تمنع عوامل المكافحة الأحيائية الموجودة طبيعياً في التربة، أو تحد من تكاثر النيماتودا، ومن ثمَ من فرص الحصول على كميات كافية من اللقاح النيماتودي. ولهذا السبب، يستخدم بعض الباحثين الحوصلات النظيفة لتلقيح النباتات القابلة للإصابة، ثم يخزنون التربة الجافة على درجة ٢ - ٤ °م ليضمنوا بذلك الحصول على كميات وافرة من اللقاح بانتظام. ومن الممكن أن يستخدم هذا اللقاح بعد ذلك إما في صورة تربة ملوثة تخلط مع بيئة تجذير معقمة (كالرمل عادة)، أو في صورة يرقات طور ثان حديثة الفقس تستخدم في تلقيح الجذور في بيئات متعددة. ويمكن تنقية اللقاح بطرق عدة ومن بينها أنابيب الاختبار. وقد استخدم أيرولم Ireholm (1994) مائة يرقة طور ثان J_2 حديثة الفقس لعدوى البادرات النامية في ١٠٠ مل من الرمل (مائة يرقة/بادرة). وبعد ذلك يتم تغذية وري النباتات بعناية وحذر. كما قام ريفوال وآخرون Rivoal *et al.* (1991) بتنمية النباتات على آجار في أطباق بتري، ثم أضافوا إليها اللقاح النيماتودي على هيئة أربع أو ثمان يرقات طور ثان/طرف جذري (اعتماداً على الطراز الإمراضي المستخدم من النيماتودا)، وتمكنوا بهذه الطريقة من التمييز بين النباتات المقاومة والقابلة للإصابة.

استخدم ريفوال وآخرون Rivoal *et al.* (1991) طرقاً أخرى أساسها التربة، وقد كانت مادة التربة في هذه الطرق عبارة عن رمل أو طمي يوضع في أنابيب بلاستيكية سعة ٧٠ سم^3 ويضاف إليها العناصر السمادية المطلوبة. وتزرع نباتات القمح بواقع نبات واحد/أنبوبة من هذه الأنابيب، ثم يلقح كل نبات بحوصلتين جديدتين من حوصلات سبق تهيئتها بوضعها في أكياس أو حقائب صغيرة من النايلون المثقب على درجة حرارة ٣ °م لكسر طور السكون. ويعادل هذا اللقاح (الحوصلتان) ٢٢٠ يرقة طور ثان/نبات. تُنمى النباتات بعد ذلك على ١٦ °م و١٨ ساعة إضاءة، وتروى حسب الحاجة أو مرة كل أسبوع. تستخلص الإناث والحوصلات بعد ذلك من الجذور

بغسيلها على مناخل سعة ثقوبها ٦٣ ميكروميتراً وذلك بعد ٢-٥ أشهر. أما تايلور وآخرون Taylor *et al.* (1998) فقد طوروا طريقة فيشر Fisher (1982)، وذلك بأن زرعوا البادرات في تربة في أنابيب ذات أبعاد ٢٧ × ١٢٥ مم، ولقحوها عند الزراعة ثم على أربع فترات بعد ذلك، بين كل فترة والأخرى ٣ - ٤ أيام، لتصل كمية اللقاح ٥٠٠ يرقة طور ثان/نبات. تمت تنمية النباتات على ١٥ °م و١٦ ساعة إضاءة لمدة تسعة أسابيع بعد آخر تلقيح بالنيماتودا، ثم تبدأ عملية عدّ الحوصلات في كل أنبوبة.

وفي أستراليا، أمكن إجراء الكثير من الانتخابات الأولية تحت الظروف الحقلية، وذلك بقص الجذور المزروعة في مجموعات أو حفر، ثم عدّ الإناث المتكونة على تلك الجذور ومقارنتها بعدد الإناث على صنف معروف بقابليته للإصابة (قياسي). ويمكن إنجاز تلك الاختبارات بكفاءة أعلى، وذلك بزراعة النباتات في أصص مرتبة في حوامل Racks، وكل قناة تحتوي على ٥٠ أصيصاً، كل منها مملوء بحوالي ٢٠٠ جرام من تربة ملوثة طبيعياً بالنيماتودا ومخلوطة برمل مغسول ومخصبات زراعية بحيث تتراوح كثافة النيماتودا فيها بين ١٦ و٣٢بيضة/جم تربة. وفي مثل تلك الظروف، من الممكن أن تبلغ أعداد الحوصلات النيماتودية على كل كرة جذرية في جذور النباتات القابلة للإصابة حوالي ١٣ - ٤٥ حوصلة (١٣٨ - ٩٠٢ حوصلة/المجموع الجذري بأكمله)، مقارنة بعدد صفر - ٦حوصلة/كرة جذرية في النباتات المقاومة (٢٧ - ٩١ حوصلة/المجموع الجذرى بأكمله). ومن الممكن أن يقوم أربعة أشخاص مدربين بتقييم ما يقرب من ٦٠٠ نبات في اليوم الواحد. أما المستهدف تقييمه فقد يكون حوالي ١٠٠٠٠٠ نبات في الموسم، علماً بأن إجراء التقييم باستخدام الكمبيوتر في مثل هذه الحالات هو إجراء عديم القيمة أوالفاعلية (McKay, 1998). ومفتاح النجاح في مثل هذه المستويات التكاثرية العالية للنيماتودا هو التغذية الجيدة للنباتات، والري، وإجراء الاختبارات في ضوء النهار العادي خارج البيوت الزجاجية. ومن الأهمية بمكان أن يكون الصرف جيداً سواء بالنسبة للأصص أو الحوامل التي تحتويها، وذلك للوقاية من الإصابة بالآفات بما فيها الطيور، والثدييات الصغيرة، وكذلك يجب التخلص من الحشائش أو النباتات التلقائية التي قد تكون عائلة للنيماتودا، وخاصة عند استخدام التربة الملوثة طبيعياً من الحقل. وقد أمكن في بعض الاختبارات الشبيهة بالفعل تقييم ١٠٠ - ٢٠٠ نبات في اليوم الواحد. ولكن قد يحدُّ الخروج من الموسم الطبيعي لنمو النباتات من عدد النباتات التي يمكن تقييمها.

يجب تحوير طرق الاختبارات والتقييم بحيث تتلاءم مع حاجة برامج التربية. ويجب أن تكون الاختبارات قادرة على تحديد استجابة النباتات الفردية، مثل النباتات متباينة الزيجوت، وقادرة كذلك على انتخاب النباتات الأبوية، وقادرة أيضاً في نفس الوقت على اختبار نباتات متعددة. وهذا من شأنه أن يسمح بتقييم أكثر من نبات في الوحدة الواحدة، وأن يفيد في تحسين فرص اكتشاف الانعزالات في الأجيال التالية. فمثلاً، يعطي اختبار أربعة

أصص، يحتوي كل منها على أربعة نباتات احتمالاً قدره ٠,٩٥ لاكتشاف نسبة انعزالات = ١ قابل للإصابة : ٣ مقاوم في نباتات الشعير التي تحتوي على الجين *Rha2*. أما احتمالات اكتشاف انعزالات جينية أخرى فيمكن الاطلاع عليها في المرجع : Mather (1951).

وتحدد المقاومة تجاه نيماتودا حوصلات الحبوب عادة باحتواء جذور النبات على أقل من ٥٪ من عدد الحوصلات المتكونة على جذور النبات القابل للإصابة القياسي، وقد تكون المرونة مطلوبة أيضاً عند تطبيق هذا القانون. وبصفة خاصة، إذا كان معدل تكاثر النيماتودا على الصنف عالياً بمتوسط قدره مائة أنثى/مجموع جذري. علماً بأنه لم يتم حتى الآن حل معضلة تفسير نتائج النباتات التي تحتوي جذورها على حوصلة واحدة أو اثنتين/مجموع جذري (Andersen and Andersen, 1982a)، فلم يستقر الرأي حول ما إذا كانت هذه الأفراد من النيماتودا هي أفراد شرسة إمراضياً، ولكن التهجينات الخلطية Outcrossing بين النباتات قد منعت نسلها من التعبير عن صفة الشراسة الإمراضية المتنحية، أو أن هذه الحوصلات قد نتجت عن تعبير غير كامل للمقاومة. وبالرغم من أن هذه الظاهرة لم يمكن شرحها، إلا أنه لا يجب تجاهلها، وأينما ظهرت مثل هذه الإناث/الحوصلات، فإنه يجب اختبار نسلها (اليرقات الناتجة منها) لتقييم صفة الشراسة الإمراضية لديها.

ومن الممكن استخدام طرق الانتخاب المبني على الدلائل الجزيئية في بعض التهجينات باستخدام دلائل جزيئية ظاهرية Morphological markers. فمثلاً ترتبط جينات إنتاج صبغة الأنثوسيانين في الشعير بالجين *Rha2*. وأمكن لدلائل الحامض النووي DNA تعريف جين واحد في التهجينات المنتخبة من القمح (Eastwood *et al.*, 1994)، والشعير (Williams *et al.*, 1996).

نيماتودا حوصلات البطاطس *Globodera rostochiensis* و *G. pallida*

***Globodera rostochiensis* and *G. pallid*, potato cyst nematodes (PCN)**

تتشابه (من حيث الأساس) التقنيات المستخدمة في اختبارات المقاومة تجاه كلا نوعي نيماتودا حوصلات البطاطس *Globodera rostochiensis* و *G. pallida*. ولكن التنوع الكبير في عشائر النوع *G. pallida* يمثل التحدي الأكبر تجاه الحصول على اختبارات دقيقة وسريعة للتمييز الدقيق بين التراكيب الوراثية القابلة للإصابة تماماً والأخرى ذات المقاومة الجزئية للنيماتودا. وقد بدأت التجارب والاختبارات في هذا المجال بزراعة النباتات في حقول ملوثة طبيعياً بالنيماتودا، ثم تم تأكيد هذه الاختيارات باختبارات في الأصص، حيث كان يتم عد الكرات الجذرية التي تحتوي النيماتودا لتعريف المقاومة في النباتات. وقد يكون التكرار في مثل هذه الاختبارات ضرورياً، ولكن النتائج قد تختلف تبعاً لجينات المقاومة المستهدفة. وبناءً على ذلك، فقد جرت العادة على استخدام ثلاثة مكررات لتعريف السلالة

النباتية التي تحتوي على جين مقاوم مفرد تجاه نيماتودا النوع *G. rostochiensis*، بينما تستخدم عشرة مكررات لاختبار صفة المقاومة الكمية تجاه النوع *G. pallida* (Fleming, 1998). وعادة قد تزيد معدلات تكاثر النيماتودا في تجارب الأصص بمقدار المثلين أو الثلاثة أمثال عنها في تجارب الحقل، ولكنها لا تؤثر برغم ذلك عادة على الترتيب النسبي للسلالات. وفي بريطانيا، تعتمد اختبارات الترتيب الوطني National list trials، وهي اختبارات قياسية، تم وصفها بواسطة ماكنزي وتيرنر McKenzie and Turner (1987)، وتعتمد على حساب معدلات تكاثر النيماتودا بقسمة الكثافة النهائية للنيماتودا Pf على الكثافة الابتدائية Pi معبراً عنها في صورة عدد الحوصلات (النهائية أو الابتدائية) لكل أصيص. وقد أوضحت سلسلة التقييمات المتحفظة لنيماتودا حوصلات البطاطس أن التعبيرات النسبية للنيماتودا وترتيبها من حيث أعدادها التي تكونها على النباتات تكون دائماً أكثر دقة وتعطي مقارنات منطقية مقارنة بالتقديرات والأعداد المطلقة (Fleming, 1998).

ويمكن إجراء اختبارات أكثر دقة وبأعداد أكبر من النباتات باستخدام أواني اختبار صغيرة تتراوح سعتها بين ٦٠ و٢٤٠ سم^3 من بيئة التجذير الملقحة بحوالي ٥ – ٢٠ بيضة/ سم^3 من البيئة. وتنمو براعم وبادرات البطاطس جيداً في أسطوانات صغيرة تحتوي على تربة أو بيئة ذات رطوبة نسبية تساوي ٣٠٪. وتغلق تلك الأسطوانات ذات الجدران الشفافة، وتوضع في ظروف بيئية متحكم بها على درجة حرارة ٢٠ °م لمدة سبعة أسابيع. وحينئذ يمكن رؤية إناث النيماتودا بوضوح على الجذور، ويمكن عدُّها كذلك من خلال الجدر الشفافة لأسطوانة النمو أو بعد استخلاصها. وقد استخدم روب فان دير فورت وآخرون Roupe van der Voort *et al.* (1998) أيضاً طريقة الأسطوانات التي وصفها فيليبس وآخرون Phillips *et al.* (1980)، وفيها توضع درنة بطاطس واحدة في كل إناء يسع ١٢٥ سم^3 من الرمل الفضي الملقح بخمس بيضات ويرقات/سم^3 رمل، ويوضع الجميع في الظلام على درجة حرارة ٢٠ °م لمدة ثلاثة أشهر، قبل استخلاص الحوصلات وعدِّها.

وفي اختبارات المقاومة التي تجري على الأصول المحفوظة من أنواع البطاطس المستزرعة أو البرية في البنوك الوراثية التابعة للمجموعة الهولندية الألمانية، تم اختبار عينات من ١٥ إلى ٤٠ نباتاً لكل صنف بإحدى ثلاث طرق؛ ١) تربة ملوثة، أو ٢) في أصص يحتوي كل منها على لقاح نيماتودي قدره ٢٥–٣٠ حوصلة كاملة، أو ٣) في أصص يحتوي كل منها على ثلاثة حوصلات مكسورة في نايلون مثقب. ثم بعد ذلك، يتم تقدير عامل تكاثر النيماتودا على النباتات المختبرة، وذلك باستخلاص الإناث النيماتودية من الأصص بطريقة الطرد المركزي أو الطفو. وتم اعتبار النباتات التي تحتوي على أكثر من خمس إناث/نبات نباتات قابلة للإصابة، ثم تمت إعادة اختبار النباتات التي اعتبرت مقاومة مرة ثانية. وتم اختبار الطريقة رقم (٢) في معظم الاختبارات التأكيدية. وفي فرنسا، تم استخدام الطريقة رقم (٣) التي تعد الطريقة الأكثر وثوقاً (Rousselle-Bourgeois and Mugniery, 1995). وفي أوروبا

حيث يوجد خمس مجموعات شرسة إمراضياً من نيماتودا النوع *G. rostochiensis*، وثلاثة من النوع *G. pallida*، تم استخدام نتائج الاختبارات الأولية على هذه المجموعات في تعريف الطراز الإمراضي باستخدام مخطط كورت وآخرون Kort *et al.* (1977). وفي الوقت الحاضر، من السهل الحصول على المعلومات التي تفيد بعدد النباتات التي لم تتكون على جذورها أية حوصلات (0 Cysts) والتي تم تعريفها بالرمز *Pa2*، وتلك التي تراوحت أعداد الحوصلات على جذورها بين صفر، و٢ والتي تم تعريفها بالرمز *Pa3*، وذلك بالنسبة للعدّ الكلي من النباتات التي تم اختبارها في الفترة مابين ١٩٨١ و١٩٨٥م. وفي اختبار كرات الجذور Root-ball test، تم عدّ الإناث الموجودة على سطح الكرات من الخارج فقط. ولكن عندما تم إجراء الاختبار في ظروف تحت مثالية (في فصل الشتاء). تم أيضاً فحص الكرات الجذرية من الداخل بمجرد النظر. وفي الاختبارات الأكثر دقة من ذلك، استخدم موجنيري Mugniery (1983) أطباق بتري ليضع فيها بيئة آجار لتنمى فيها الجذور ثم وضع يرقات الطور الثاني J_2 بالقرب من أطراف الجذور Root tips.

وعند المقارنة بين هذه الطرق، نجد أنه بالرغم من اختلاف معدل تكاثر النيماتودا فيما بين طرق الاختبارات تحت الظروف المختلفة، إلا أن ترتيب رد فعل التراكيب الوراثية النباتية للنيماتودا كان متوافقاً بدرجة جيدة في جميع الطرق. وإضافة إلى ذلك، يجب أن يكون هناك إجراء وقائي إضافي عند إجراء هذه الاختبارات، وهو أن يشتمل كل اختبار على سلالات مقاومة جزئياً، وأن نحاول أيضاً إدخال عشائر نيماتودية قياسية للأغراض المرجعية. وعموماً تتميز طرق الأسطوانات بتقديراتها المبالغ فيها لصفة المقاومة بينما تتميز طرق أطباق بتري بانخفاض درجة تقديراتها، وذلك بالمقارنة إلى التغيرات الفعلية لصفة المقاومة تحت الظروف الحقلية.

وسوف يسمح التقدم السريع في عمل الخرائط الوراثية للتراكيب الوراثية من البطاطس باستخدام الدلائل الجزيئية في برامج تربية البطاطس، الأمر الذي يؤدي إلى انتخاب التراكيب الوراثية Genotypes أكثر منه لانتخاب الأشكال الظاهرية Phenotypes، مما يضمن وجود توليفات من الجينات المختلطة التي تمنح صفة مقاومة عملية وثابتة تجاه العشائر متباينة الزيجوت من نيماتودا حوصلات البطاطس (Dale and Scurrah, 1998). وقد تم تعريف الدلائل الجزيئية المرتبطة بالجينات السائدة في عدد من المصادر المقاومة بواسطة تقنية تقطيع الحامض النووي DNA باستخدام إنزيمات القطع المقيد (RFLP) (Fleming, 1998). وسوف تسمح معرفة تتابع جينات المقاومة لنيماتودا حوصلات البطاطس في الحامض النووي DNA باكتشاف هذه الجينات في الانعزالات النباتية، وذلك باستخدام اختبارات المقاومة عن طريق تقنيات تفاعل البلمرة المتسلسل PCR. وهناك دلائل جزيئية مرتبطة بالجين المقاوم *H1* قد تم تعريفها بواسطة تقنية تقطيع الحامض النووي DNA باستخدام إنزيمات القطع المقيد (RFLP)، وأخرى مرتبطة بالجين المقاوم *Ro1* قد تم تعريفها بواسطة تقنية تقطيع الحامض النووي DNA في مواقع الصفات الكمية باستخدام إنزيمات

القطع المقيد (RFLP QTLs)، وذلك في النبات *Solanum spegazzini*. وإذا ما تم التقدم في عمل خرائط وراثية لثلاث عائلات نباتية مختلفة، فإن ذلك سوف يزيد كثيراً من قيمة هذه الدلائل الجزيئية، ليس فقط لانتخاب جينات المقاومة السائدة بل، أيضاً وبصفة خاصة لتحسين مستويات المقاومة تجاه النوع *G. pallida*. وقد دل تحليل مواقع الصفات الكمية QTLs على أن هناك موقعاً شائعاً ذي جينات متعددة يمنح طيفاً واسعاً من المقاومة لكلا النوعين *G. rostochiensis* و*G. pallida* (Roupe van der Voort *et al.*, 1998). وقد يوفر ذلك بعداً جيداً في العمل مقارنة بتطبيق طريقة الانتخاب المبني على الدلائل الجزيئية (MAS) لجينات المقاومة المعلومة. وفي هذا العمل، تم اختبار رد فعل النباتات المنماة صناعياً *in vitro* تجاه النيماتودا بنقل هذه النباتات إلى رمل فضي معقم وخليط من الطمي الرملي، ثم تلقيحها بالنيماتودا بعد ٢-٤ أسابيع من النمو. ثم استخدمت بعد ذلك قطع ساقية أخذت من بادرات مفردة لتكرار الاختبار واستخلاص الحامض النووي DNA منها دون التضحية بالنباتات الأبوية (Roupe van der Voort *et al.*, 1997). وفي هذه الاختبارات، تم نقل النباتات ذات العمر ٣-٤ أسابيع في خليط من التربة الطميية الرملية (٩٠٠جم تربة/أصص)، وتلقيحها بمعدل خمس بيضات ويرقات طور ثان/جم تربة. وبعد ثلاثة أشهر، تم استخلاص حوصلات النيماتودا من التربة بطريقة الطفو Floatation أو قمع فنويك Fenwick can، وتم تدريج الجذور حسب حجمها على المقياس صفر-٣. بعد ذلك تم تقدير متوسط عدد الحوصلات لكل تركيب وراثي وتحويله إلى لوغاريتم س - ١ (Log x-1) لاستخدامه في تصنيف النباتات إلى ثلاث فئات؛ مقاوم، وغير محدد، وقابل للإصابة (Roupe van der Voort *et al.*, 1998).

أنواع أخرى من نيماتودا الحوصلات Other cyst nematodes

يمكن تقييم صفة المقاومة تجاه الأنواع الأخرى من نيماتودا الحوصلات تبعاً للأسس التالية، مع تحويرها تبعاً للضرورة: ١) المواءمة بين المتطلبات والمصادر في البرنامج، ٢) طبيعة النبات والنيماتودا. وقد تم انتخاب النباتات المقاومة لنيماتودا حوصلات بنجر السكر من بين الأنواع النباتية البرية في أنابيب مصنوعة من البولي فينايل PVC بأبعاد = ٢ × ٤ × ١٢ سم، تحتوي على تربة طفلية أخذت من عمق ٣ - ٥ م، ومضاف إليها المحاليل المغذية اللازمة. وقد تم تعليق الأنابيب في صفوف يحتوي كل منها على ١٢ أنبوبة، ثم لقحت النباتات في الأنابيب بعد ١٤ يوماً بمعدل ١٠٠٠ يرقة طور ثان/أنبوبة، وتركت لتنمو لمدة ستة أسابيع على درجة حرارة ٢٠ °م و١٤ ساعة إضاءة. بعد ذلك، تم استخلاص الحوصلات من الأنابيب بغسيل تربة كل أنبوبة على مناخل سعة ثقوبها ١، و٠,١ مم، وتم التخلص من الشوائب Debris باستخدام حامض خليك ٢٠٪ ليذيب التربة الطفلية قبل عد الحوصلات. ولضمان سلامة الاختبار فإن ذلك يتطلب أن تحتوي جذور الصنف "Desiree" القابل للإصابة على حد أدنى من الحوصلات قدره ٤٠ حوصلة/نبات، وتصنيف النباتات التي تحتوي جذورها على أقل من ٣٠ حوصلة/نبات

كنباتات مقاومة. أما مفتاح النجاح في هذا الاختبار فهو ألا يتأرجح عدد الحوصلات/نبات في مكررات كل معاملة بين المقاوم تارة والقابل للإصابة تارة أخرى (Muller, 1998a).

قام كابلان وآخرون Kaplan *et al.* (1999) بتربية نيماتودا حوصلات البنجر على الكرنب، ثم على عوائل مختارة في أصص فخارية مملوءة برمل نهري ملوث بحوصلات النيماتودا، وقد تم إجراء الاختبارات بحيث يزرع كل نبات في ٨٠ جم رمل (يزيد حجم حباته عن ٢٥٠ ميكروميتراً) موضوع في زجاجات ذات أبعاد ٣,٧ × ٦,٢ سم ومغطاة بأغطية مثقبة للصرف. وتزرع البذور في هذه الزجاجات مباشرة، ثم تخفف البادرات إلى بادرة واحدة/زجاجة، وتتم تغذية النباتات في الزجاجات يومياً بمحلول مغذي. وبعد خروج أول ورقة حقيقية على البادرات، تلقح النباتات بمعدل ٥٠٠ يرقة طور ثان/نبات، ويتم عدّ الحوصلات بعد ٣٨ يوماً من ذلك حيث تكون النيماتودا قد كونت جيلين.

تم انتخاب النباتات المقاومة لنيماتودا حوصلات التبغ بتنمية بادرات التبغ في فيرميكيولايت Vermiculite، ثم شتلها بعد أربعة أسابيع في أصص فخارية بقطر ١٠ سم تحتوي على ٢٥٠ سم^{3} خليط معقم متساو من التربة والرمل يوضع في الأصص بعد وضع قطعة من ورق الترشيح في قاع كل أصيص. تمت تربية النباتات لمدة أسبوعين بعد تلقيحها بمعدل ٦٠٠ بيضة/أصيص من بيض سبق تجميعه بتحطيم الحوصلات التي تم جمعها من الحقل، وتم تخزينه في أوعية مغلقة على درجة حرارة الغرفة حتى يحين وقت استخدامه. وبعد ثمانية أسابيع، تم غسل محتويات الأصص على مناخل سعة ثقوبها ٢٥٠ ميكروميتراً، وذلك لتجميع الإناث النيماتودية. تم أيضاً غسيل عينات من الجذور (١ جم) وصبغها للتعرف على الأطوار النيماتودية غير الكاملة. وقد احتوت هذه الاختبارات على ٨ – ١٠ مكررات لكل معاملة، وكان عدد الإناث على جذور النباتات يتراوح بين ٠,١ و٣٤ أنثى/جم جذور (Hayes *et al.*, 1997).

يتم الانتخاب لصفة المقاومة تجاه نيماتودا حوصلات البرسيم في أصص بقطر ٦,٥ سم تحتوي على خليط من التربة الرملية المعقمة على درجة حرارة ١٨ – ٢٥ °م. وتروى النباتات في هذه الأصص بطريقة تشبه الخاصية الشعرية حيث توضع الأصص في صواني تحتوي على الماء الذي يضاف إليه أيضاً المخصبات الزراعية حسب الحاجة. يتم تلقيح البادرات ذات عمر أسبوعين بالنيماتودا عن طريق حقن التربة بمحلول البيض تحت البادرة مباشرة، وذلك بمعدل ٢٠٠٠ بيضة لكل بادرة. وفي الأسبوع الثامن، يتم غسل الجذور والتربة، وتجمع الحوصلات على منخل سعة ثقوبه ١٨٠ ميكروميتراً، ثم يتم عدها. ويتم تجهيز البيانات المتحصل عليها من هذه التجارب في صورة عدد الحوصلات/ نبات وأيضاً عدد الحوصلات/جم من الجذور الجافة (Hussain *et al.*, 1997).

تم تعريف صفة المقاومة تجاه نيماتودا حوصلات قصب السكر *H. sacchari* في نباتات الأرز *Oryza* spp. النامية في أصص صغيرة (١٠٠سم^{3}) تم تلويث تربتها ببرقات الطور الثاني للنيماتودا. وقد ارتبطت هذه النتائج ارتباطاً جيداً مع نتائج تجارب مماثلة أجريت في الحقل في قطع تجربة ملوثة طبيعياً بالنيماتودا (Plowright *et al.*, 1999).

الطرز الإمراضية والسلالات
Pathotypes and races

نيماتودا حوصلات فول الصويا *Heterodera glycines*

***Heterodera glycines*, soybean cyst nematode (SCN)**

تم بيان التغير في صفة الشراسة الإمراضية لنيماتودا حوصلات فول الصويا بشكل أساسي في الولايات المتحدة الأمريكية حيث ظهرت الاختلافات بين العشائر النيماتودية في الحقول بشكل واضح وأكيد بمجرد زراعة الأصناف المقاومة في تلك الحقول. ومن ثم، فقد اتضح أن صفة الشراسة الإمراضية في النيماتودا هي صفه متباينة الزيجوت. وقد أفصحت الاختبارات باستخدام مجموعة من أربعة نباتات مفرقة Differential Plants تحتوي على جينات للمقاومة عن إمكانية وجود ١٦ سلالة (الجدول رقم ٤.٣)، بالرغم من عدم التعرف على كل هذه السلالات فعلياً في الحقول. ويصنف النبات المفرق بأنه مقاوم لعشيرة نيماتودية إذا كان عدد الإناث النيماتودية المتكونة على جذوره أقل من ١٠٪ من عدد الإناث المتكونة على جذور الصنف القابل للإصابة Lee. ولكن هذا يبخس تقدير التنوع في عشائر نيماتودا حوصلات فول الصويا، بالرغم من أنه قد يكون تصنيفاً مفيداً للمربي أو المزارع في الولايات المتحدة الأمريكية. وفي الصين، أدى اختيار سلالة واحدة لعدة أجيال على أربعة أصناف من فول الصويا إلى ظهور أربعة سلالات مختلفة.

الجدول رقم (٤.٣). سلالات نيماتودا حوصلات فول الصويا التي تم تمييزها بواسطة أربعة عوائل مفرقة، وتمت مقارنتها بعائل خامس قابل للإصابة (صنف فول الصويا "Lee").

عوائل فول الصويا المفرقة	السلالة[1]															
	١[2]	٢	٣	٤	٥	٦	٧	٨	٩	١٠	١١	١٢	١٣	١٤	١٥	١٦
Pickett	-[3]	+	-	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-
Peking	-	+	-	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	-	+
PI88.788	+	+	-	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	+
PI90.763	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+

[1] تعيين السلالة تبعاً لمقترح Riggs and Schmitt (1988).

[2] السلالات الموجودة في الولايات المتحدة الأمريكية.

[3] قابل للإصابة (دليل الإناث = ١٠٪ منها على الصنف القابل للإصابة "Lee").

+ مقاوم (دليل الإناث = < ١٠٪ منه على الصنف القابل للإصابة "Lee").

وقد عززت الدراسات الحديثة حول السلالات النيماتودية مفهوم أن الجينات الرئيسية Major genes تحكم نواتج التداخلات بين جينات المقاومة في أصناف فول الصويا وجينات عدم الشراسة الإمراضية في نيماتودا حوصلات فول الصويا (Opperman and Bird, 1998). وتستلزم التداخلات غير المتوافقة وجود جينات مقاومة سائدة Dominant R-genes، وجينات شراسة إمراضية متنحية Recessive v-genes. ولو ثبت ذلك، فإن التصنيفات السابقة غير المحددة لاستجابة النباتات تجاه العشائر النيماتودية سينتج عنها تراكيب وراثية نيماتودية معقدة من حيث صفة الشراسة الإمراضية.

وقد افترض مخطط حديث لتصنيف التنوع في نيماتودا حوصلات فول الصويا في أمريكا بواسطة نيبلاك وآخرون Niblack *et al.* (2001). وفي هذا المخطط يشار إلى عشيرة نيماتودية معينة بالرمز Hg Type بناءً على تطور إناث النيماتودا على مصادر معينة للمقاومة سواء كانت أصنافاً مسجلة أو مجرد تراكيب وراثية غير معرفة (انظر الجدول رقم ٤.٦). أما الأصناف المفرقة التي سوف تستخدم في هذا المخطط فتشمل الصنف Peking (PI548.402)، والسلالات PI88.788، وPI90.763، و PI437.654، وPI209.332، وPI89.772، وCloud (PI548.316). وسوف تعرّف السلالات النيماتودية التي لاتتكاثر على أي من هذه الأصناف أو السلالات بأنها Hg Type 0 ، أما التي ستتكاثر على السلالتين PI548.402 وPI88.788 فقط فستعرف بالرمز Hg Type 1.2. وسوف يكون هذا المخطط مفتوح النهايات، وقادراً على ضم مصادر مقاومة جديدة كتلك التي سيتم إدخالها في تراكيب وراثية أو أصناف قابلة للإصابة، وسوف يكون أيضاً قابلاً للتحوير والتطوير في كل مكان في العالم.

نيماتودا حوصلات الحبوب *Heterodera avenae* ومجموعة Avenae

***Heterodera avenae* and *H. avenae* group, cereal cyst nematodes (CCN)**

تتميز عشائر نيماتودا حوصلات الحبوب بأنها دائماً متباينة الزيجوت فيما يتعلق بصفة الشراسة الإمراضية، وبأنها أيضاً تختلف في المدى العوائلي لكل منها. ولذلك نجد أن عشائر هذه النيماتودا في شمال أوربا تتكاثر جيداً على الشوفان، بينما في جنوب أوروبا وشمال إفريقيا وبعض المناطق في آسيا لا يصاب الشوفان بأغلب عشائر نيماتودا حوصلات الحبوب هناك. ومع ذلك، فإن هناك بعض الاستثناءات، ومنها على سبيل المثال، أن بعض العشائر السويدية لا تتكاثر على الشوفان. وقد اعتمدت التصنيفات الأولى لنيماتودا حوصلات الحبوب على استخدام أربعة أصناف مفرقة من محاصيل الحبوب، وأيضاً على عشائر نيماتودية تنتمي إلى أكثر من جنس نيماتودي واحد. وقد كانت الأصناف المستخدمة مفيدة بالفعل في تصنيف عشائر شمال أوروبا من هذه النيماتودا، ومفيدة بصفة خاصة أيضاً في أغراض تطوير أصناف شعير ربيعي مقاوم (الجدول رقم ٤.٤)، ولكنها لم تفد في التقدير الكامل للتغير في جينات الشراسة الإمراضية لعشائر النيماتودا، بل ربما كانت مبخسة في ذلك التقدير. وفي هذا الصدد أوضح أيرولم Ireholm في الكتاب المحرر

بواسطة كوك وريفوال Cook and Rivoal (1998) أنه باستخدام أربعة فقط من الأصناف المفرقة من الشعير والقمح والشوفان تم تصنيف ٦٩ عشيرة من النيماتودا جمعت من كل أنحاء العالم إلى ٣٠ طرازاً إمراضياً فقط. ولذلك، فإنه بالرغم من أن مخطط أندرسن وأندرسن Andersen and Andersen (1982b) للطرز الإمراضية كانت لديه ميزة البساطة لكونه مبنياً على جينات مقاومة معروفة، إلا أنه كان يعاني من مشكلة عجزه عن فهم وتفسير ظاهرة تعدد أشكال جينات المقاومة والشراسة الإمراضية. وفي الواقع العملي، نجد أن العديد من أصناف الشعير والشوفان الأوروبية التي تمتلك جينات مقاومة قد تم التغلب عليها بواسطة عشائر نيماتودا حوصلات الحبوب في بعض المناطق. ونتيجة لفعل الجينات أو لغيرها التي تساهم في المقاومة الكمية، فإن العديد من الأصناف التقليدية كانت لديها مستويات جيدة من المقاومة الجزئية تجاه العشائر الحقلية من النيماتودا. وكمثال على ذلك، كان صنف الشوفان السويدي القديم "So1 II" (Sun II) لا تتكون على جذوره سوى ٢٥٪ فقط من عدد الحوصلات التي تتكون على جذور الصنف الإنجليزى الشديد القابلية للإصابة "Milford" (Cook and Mizen, 1991). ومن الممكن اختبار التراكيب الوراثية المستوردة، وأن يتم عزل التراكيب الوراثية شديدة القابلية للإصابة عن بقية الأصناف الشائع زراعتها، واستخدامها كأصناف مقارنة قياسية قابلة للإصابة. ويتبع ذلك، أن يكون من الصعب التحديد الدقيق للطرز الإمراضية اعتماداً على التداخلات بين التراكيب الوراثية غير المحددة والعشائر النيماتودية المجهولة. كما يتبع ذلك أيضاً أن يتم تقييم صفة الشراسة الإمراضية للعشائر المحلية من النيماتودا بواسطة أصناف محلية قابلة للإصابة، وإذا أمكن أيضاً بأصناف مقاومة للمقارنة، بالإضافة إلى الأصناف المفرقة المستوردة. وقد تكون هناك استثناءات لهذه الصورة المعقدة؛ كأن يكون للعشيرة النيماتودية المستجلبة تركيباً وراثياً محدود الشراسة الإمراضية على عائل ما ذي تركيب وراثي محدود المقاومة أيضاً، كما في حالة النيماتودا *H. avenae* ومحاصيل الحبوب في أستراليا. وأينما كنا في أي مكان من العالم، نجد أنه من الواضح أن كلاً من: صفة الشراسة الإمراضية الكاملة التي تمثل مشاكل كبيرة، والتداخلات الجزئية غير الكاملة التي تسبب مشاكل أيضاً في مخططات الطرز الإمراضية قد تدلان على ظاهرة تباين كبيرة في الزيجوت بالنسبة للتداخلات بين النيماتودا والنبات. وكل ذلك يتطلب استمرار الحذر من كل من علماء النيماتولوجى، ومربيي النباتات.

لم تتم تجربة الزراعة المستمرة للأصناف المقاومة من محاصيل الحبوب. ولكن على المدى البعيد، نجد أن زراعة صنف شعير يحتوي على الجين *Rha2* قد أدى إلى انتخاب طراز إمراضي شرس من النيماتودا *H. avenae* في الدنمارك، وكذلك من النوع القريب *H. filipjevi* في السويد. كما أدت زراعة أصناف الشوفان التي تحتوي على جين سائد للمقاومة في فرنسا إلى انتخاب طراز إمراضي شرس من النوع *H. avenae* (Lasserre *et al.* 1996).

الجدول رقم (٤,٤). مجموعات الطرز الإمراضية لنيماتودا حوصلات الحبوب التي تم تعريفها بناءً على اختبار العوائل المفرقة الدولي لأنـــواع وأصناف محاصيل الحبوب. (عن: Cook and Rivoal, 1998).

الأنواع المفرقة	مجموعة Ha1							مجموعة Ha2	مجموعة Ha3		
	Ha11	Ha21	Ha31	Ha41	Ha51	Ha61	Ha71	Ha12	Ha13	Ha23	Ha33
الصنف (جينات المقاومة)[1] الشعير Barley:											
Varde	+[2]	..	..	+	..	+	+	+	+	+	+
Emir [+ ex Emir]	+	+	..	+	..	−	+	+	+	+	+
Cristian [*Rha1*]	−	−	−	−	−	−	−	+	+	+	+
Morocco [*Rha3*, +]	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
Siri [*Rha2* + ex Heils]	−	−	−	+	+	+	−	−	+	+	+
RVL191 [*Rha2*, +]	−	−	−	..	+	−	+	−	+	+	..
Bajo Aragon	−	..	..	−	..	−	−	−	+	+	+
Heils	+	+	−	..	−	..	−	+	+	..	..
Martin 403 [2 dom]	−	..	..	−	..	−	−	−	−	+	+
Dalmatische	(−)	..	..	+	..	−	(+)	+	+	(−)	+
La Estanzuela	..	..	..	..	..	..	+	..	..	(−)	..
Harlan43	−	..	..	..	..	..	−	−	..	−	+
الصنف (جينات المقاومة)[1] الشوفان Oat:											
Nicki	+	..	..	(+)	..	+	−	+	+	+	+
Sol II [minor genes]	+	−	−	−	−	+	−	+	+	+	+
Pava Hybrid BS1 [1 dom]	−	−	..	−	−	−	−	−	−	−	−
A. sterilis 1376 [1 to 3 dom]	−	−	..	−	−	−	−	−	−	−	−
Silva [> 1 gene]	(−)	..	..	−	..	(−)	−	(−)	(−)	(−)	+
IGV H 72-646	−	..	..	−	..	−	−	−	+	+	+
القمح Wheat:											
Capa	+	+	..	+	..	+	+	+	−	+	−
AUS 10894 [*Cre1* +]	−	..	..	−	..	−	+	−	(−)	+	+
Loros [*Cre1* +]	−	−	..	−	..	(−)	−	−	(−)	+	+
Pershing	..	..	..	+	..	..	..	+	+	+	−
Ekamish K-2-light	+	..	..	−	..	(−)	..	+	+	+	+

[1] جينات المقاومة = الجينات *Rha 1*، و*Rha 2*، و*Rha 3* تحدد ثلاث مجموعات من الطرز الإمراضية، dom = الجـين الـسائد، + = جينـات إضافية، +[2] = قابل للإصابة، − = مقاوم (عدد الإناث = < ٥٪ من عددها على الصنف المقارن القابل للإصابة)، () = متوسط، .. = لا توجد ملاحظة.

نيماتودا حوصلات البطاطس *Globodera rostochiensis* و *G. pallida*

***Globodera rostochiensis* and *G. pallida*, potato cyst nematodes (PCN)**

شوهد هذان النوعان من النيماتودا والطرز الإمراضية المختلفة منهما على أصناف البطاطس الأوروبية التي تحتوي على جينات مقاومة R-genes، وكذلك على أصناف البطاطس المزروعة في جنوب أمريكا، وأيضاً على

الأنواع البرية من الجنس *Solanum*. وتختلف هذه العشائر المميزة من النيماتودا فيما بينها من حيث صفة الشراسة الإمراضية. وقد أمكن وضع هذه العشائر (الطرز) في مخطط للطرز الإمراضية يعتمد على فرضية الجينات المتناظرة Gene-for-gene hypothesis. وهناك مخططات أخرى منفصلة لكل من العشائر الأوروبية (Kort *et al.*, 1977)، والجنوب أمريكية (Canto Saenze Scurrah, 1977)، قد تم تطوير كل منها مستقلاً عن الآخر (الجدول رقم ٤,٥). ولكن التأثيرات البيئية على تكاثر نيماتودا حوصلات البطاطس، واستخدام بعض الأصناف المقاومة من البطاطس، وتطبيق نسب تكاثر النيماتودا الاعتباطية قد تؤدي كلها إلى إضعاف تلك المخططات (Trudgill, 1985). ويبدو أنه من الممكن وضع عشائر نيماتودا النوع *G. rostochiensis* في أوروبا في ثلاث مجموعات من الطرز الإمراضية، ولكن التغير الواضح في صفة الشراسة الإمراضية فيما بين العشائر الحقلية من نيماتودا النوع *G. pallida* قد يكفي تماماً لاعتبار هذه العشائر طرزاً إمراضية مختلفة فيما بينها بالنسبة لصفة الشراسة الإمراضية. وقد تغير هذه العشائر من صفة شراستها الإمراضية استجابة للضغط الانتخابي الذي يقع عليها بزراعة الأصناف المقاومة. وسوف تساعد التقنيات الجزيئية مثل: تقنية تقطيع الحامض النووي DNA باستخدام إنزيمات القطع المقيد (RFLP)، وتقنية التضاعف العشوائي لقطع الحامض النووي DNA متباينة الأطوال (RAPD) المرتبطة بجينات عدم الشراسة الإمراضية في الوصف الدقيق للعشائر النيماتودية في إطار التغيرات الوراثية العامة وبصفة خاصة أيضاً في إطار التراكيب الوراثية الشرسة إمراضياً.

أدت زراعة أصناف البطاطس التي تحمل في تركيبها الوراثي الجين *H1* المقاوم لنيماتودا حوصلات البطاطس *G. rostochiensis* إلى تغيرات في العشائر الأوروبية من نيماتودا حوصلات البطاطس *G. pallida*. وباستخدام أصناف البطاطس المقاومة للعشائر الأوروبية من نيماتودا حوصلات البطاطس، اتضح أن عشائر النوع *G. pallida* تتميز بقدر أكبر من الاختلافات في شراستها الإمراضية مقارنة بعشائر جنوب أمريكا.

تؤدي المقاومة الجزئية لنيماتودا النوع *G. pallida* في البطاطس إلى انتخاب طرز نيماتودية شرسة إمراضياً، ونظراً للثبات المحدود لهذه المقاومة (٧-١٠ محاصيل من البطاطس أو أجيال من النيماتودا)، يقوم مربي البطاطس دائماً بتعريف وإدخال مصادر جديدة للمقاومة. ويجب أن تكون طرق العمل مرنة عند اختبار المصادر أو التراكيب الوراثية ذات طبيعة النمو المختلفة عن البطاطس الدرنية، كما يجب جمع معلومات وفيرة حول التداخل بين النيماتودا والنبات لتوسيع قاعدة المعلومات الوراثية لصفة المقاومة.

الجدول رقم (٤,٥). التداخلات بين أصناف البطاطس التي تحمل جينات مقاومة وعشائر نيماتودا حوصلات البطاطس، التي تلخص نظم الطرز الإمراضية وتحويراتها. (عن: Cook and Rivoal, 1998).

Globodera spp.	*G. pallida*							*G. rostochiensis*					النوع والتركيب الوراثي	المضاعف الكروموسومي	جينات المقاومة
مجموعات الشراسة الإمراضية	*Pa2/3*							*Ro5*	*Ro3*		*Ro1*				
الطراز الإمراضي الأوروبي	–	*Pa3*	*Pa2*	–	–	–	*Pa1*	*Ro5*	*Ro3*	*Ro2*	*Ro4*	*Ro1*			
الطرز الإمراضية بأمريكا الجنوبية	*P6A*	*P5A*	*P4A*	*P3A*	*P2A*	*P1B*	*P1A*	-	*R3A*	*R2A*	*R1B*	*R1A*			
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+/(-)	*S. tuberosum* ssp. *tuberosum*	4X	(شاهد التأثير)
	..	+	+	..	..	..	+	+	+	+	-	-	*S. t.* ssp. *andigena* CPC 1673	4X	*H1* على الكروموسوم رقم ٥
	+	+	+	-	+	+	+	(+)	(+)	-	(+)	-	*S. kurnatzum* KTT 60.21.19	2X	B و K1 K2 A
	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-	*S. vernei* GLKS 58.1642.4	2X	كمية التأثير Quantitative
	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	*S. vernei* VP 62.33.8	2X	كمية التأثير Quantitative
	+	+	+	-	-	-/+	-	+	+	+	+	+	ex. *S. stoloniferum* hybrid PS5/7	2X	أكثر من ١ + جينات متعددة *H2*
	..	(-)	(-)	..	..	..	(-)	..	..	..	..	+	*S. t.* ssp. *andigena*	4X	*H3* + جينات متعددة
	+	-	-	..	..	..	..	..	..	..	..	..	CIP 280090.10		كمية التأثير Quantitative
	..	-	-	..	..	..	-	-	-	-	-	-	*S. vernei* hybrid 69.1377/94	2X	جينات متعددة
	..	+	+	..	..	..	+	-	-	-	-	-	*S. vernei* hybrid 65.346/19	2X	جينات متعددة
	..	..	..	..	..	..	..	+	+	+	-	-	*S. spegazzinii*	2X	*H1* = *Ro*
	..	..	..	..	..	..	..	-	-	+	-	+	*S. spegazzinii*		*Rb* + جينان ثانويا التأثير
	..	..	..	..	..	..	..	+	+	+	+	(-)			*Gro1* على الكروموسوم رقم ٧

[1] + تداخل متوافق: نيماتودا شرسة، وصنف بطاطس قابل للإصابة؛ – تداخل غير متوافق: نيماتودا غير شرسة، وصنف بطاطس مقاوم؛ () تداخل جزئي أو غير محدد؛ .. لا توجد معلومات.

أنواع أخرى Other species

تم تعريف وانتخاب الطرز الإمراضية لنيماتودا حوصلات بنجر السكر *H. schachti* باستخدام المصادر المقاومة من النباتات التي أصبحت متاحة حديثاً، مما يدل على وجود ظاهرة تباين الزيجوت فيما بين العشائر الأصلية لهذه النيماتودا. وقد تم انتخاب طرازين إمراضيين شرسين من نيماتودا حوصلات بنجر السكر من بعض العشائر الألمانية من هذه النيماتودا بعد ستة أجيال من الانتخاب على أصناف بنجر سكر تم إدخال صفة المقاومة إليها من أنواع نباتية قريبة (Muller, 1988b). وفي ولاية كاليفورنيا الأمريكية، تم انتخاب دلائل جينية في عشائر مختلفة من نيماتودا حوصلات بنجر السكر باستخدام محاصيل مختلفة في ردود أفعالها تجاه هذه العشائر، بما يثبت أيضاً ظاهرة تباين الزيجوت في هذه العشائر النيماتودية. ومثل هذا التغير في عشائر تحت النوع الواحد يجب أن يؤخذ في الحسبان عند إدارة مصادر المقاومة (Kaplan *et al.*, 1999). وقد لاحظ بلاورايت وآخرون Plowright *et al.* (1999) أن العشائر الحقلية من نيماتودا حوصلات قصب السكر *H. sacchari* تكون بضع حوصلات قليلة على التركيب الوراثي المقاوم من النبات *Oryza glaberrima*، وربما يعكس ذلك أيضاً ظاهرة تباين الزيجوت، بالرغم من أن هذه النيماتودا تتكاثر بكرياً Parthenogenetically.

الوراثة ومصادر المقاومة

Genetics and Sources of Resistance

نيماتودا حوصلات فول الصويا *Heterodera glycines*

***Heterodera glycines*, soybean cyst nematode (SCN)**

وجدت صفة المقاومة في معظم المصادر الوراثية النباتية واستمرت فيها كصفة متنحية. وقد أدت ظاهرة تباين الزيجوت في كل من المصادر النباتية والعشائر النيماتودية إلى تعقيد عملية التفسير الوراثي. وقد عرّفت الخرائط الجزيئية عدداً من المواقع المعقدة التي تتجمع فيها جينات المقاومة ضمن التركيب الوراثي لفول الصويا. والنتيجة العملية لذلك هي أن هجن الجيل الأول F1 التي تنتج من التهجين بين نباتات مقاومة وأخرى قابلة للإصابة لا تظهر عليها مظاهر المقاومة. ولكي يمكننا تعريف النباتات المقاومة فمن الضروري حينئذ أن نقوم باختبار النسل الانعزالي في الجيل الثاني F2 أو الأجيال الناتجة من التهجينات الرجعية Backcrosses. شملت مصادر المقاومة التي استخدمت دوماً في الولايات المتحدة الأمريكية على مصادر من المجموعة العالمية الأمريكية US World Collection التي تحتوي على ١٦٠٠٠ مدخل نباتي. وقد أورد دونج وآخرون Dong *et al.* (1997) أصنافاً ومصادر للمقاومة أثبتت فعاليتها في الولايات المتحدة الأمريكية. ويوضح الجدول رقم (٤.٦) جينات المقاومة التي أخذت من المدخلات النباتية

Plant introductions (PI) التي استخدمت في تطوير أصناف ناجحة في أمريكا. وقد أصبحت أغلب جينات المقاومة (R-genes) المفيدة المتوفرة في نباتات فول الصويا *Glycine max* متاحة الآن. وسوف تسمح تقنيات الدلائل الجزيئية بتطوير توافيق جديدة من جينات المقاومة، وباستخدامها أيضاً في برامج التربية، الأمر الذى سيزيد كثيراً من عدد الجينات التي يمكن استخدامها، وسيضمن استمرار مساهمة صفة المقاومة تجاه نيماتودا حوصلات فول الصويا في برامج مكافحة هذه الآفة الرئيسية على محصول فول الصويا. وقد تكون الاختبارات المباشرة لصفة المقاومة مفيدة، بالرغم من أنها تتعرف فقط على الجينات المعروفة. ويبدو أنه من الممكن الحصول على مصادر جديدة للمقاومة من نباتات فول الصويا المعمرة *G. tomentella*، ومن أنواع أخرى أيضاً؛ مما يمثل ثروة يمكن اللجوء إليها في النباتات المعمرة البرية القريبة من فول الصويا المستزرع (Singh *et al.*, 1998) ومنها يستطيع علماء الوراثة إدخال تلك الجينات المقاومة إلى نباتات مفيدة (Riggs *et al.*, 1998).

الجدول رقم (٤,٦). تاريخ ظهور المصادر المقاومة لنيماتودا حوصلات فول الصويا (SCN) *Heterodera glycines* وأمثلة لاستخداماتها في برامج التربية العامة بالولايات المتحدة الأمريكية.

	الصنف أو التركيب			
المرجع	مقاوم للسلالات[أ]	سنة ظهوره	الورالي	مصدر المقاومة
Brim and Ross (1966)	١، ٣	١٩٦٦م	Pickett	PI548.402 (Peking)
Hartwig and Epps (1978)	١، ٣، ٤[ب]	١٩٧٧م	Bedford	PI88.788 and Peking
Bernard *et al.* (1988b)	٣، ٤[ب]	١٩٨١م	Fayette	PI88.788
Hartwig and Young (1990)	٣، ٤، ٥	١٩٩٠م	Cordell	PI90.763, Peking and PI88.788
Anand (1992b)	٣، ٤، ١٤	١٩٩٢م	Delsoy 4710	PI209.332 and Peking
Nickell *et al.* (1994b)	٢، ٣، ٤، ١٤	١٩٩٣م	LN89-5699	PI209.332
Orf and MacDonald (1995)			Fairbault	
Anand (1992a)	١ – ٦، ٩، ١٤	١٩٩٢م	Hartwig	PI473.654 and Peking
Nickell *et al.* (1999)	١ – ٣، ٥، ٩، ١٤	١٩٩٧م	Ina	PI437.654 and PI88.788
Nickell *et al.* (1994a)	٢، ٣، ٤، ٥، ١٤	١٩٩٣م	LN89-5717	PI89.772
Nickell *et al.* (1994c)	٣، ١٤	١٩٩٣م	LN89-5612	PI548.316 (Cloud)

[أ] مقاوم كليا أو جزئياً

[ب] قارن مع الجدول رقم (٤.٣)، حيث يعطي التطبيق الدقيق الصارم لعشرة بالمائة من النظام الصنف PI88.788 القابل للإصابة بالسلالة رقم ٤.

نيماتودا حوصلات الحبوب *Heterodera avenae* ومجموعة Avenae

***Heterodera avenae* and the *H. avenae* group, cereal cyst nematodes (CCN)**

تم إنجاز الكثير من العمل حول الجينات الرئيسية بسيطة التوارث، كما تم اختبار مصادر مقاومة ذات جينات رئيسة سائدة (الجدول رقم ٤.٧). ويبدو أن هناك العديد من جينات المقاومة في المجموعات النباتية المتاحة، وأن ما يوجد من هذه الجينات في نباتات القمح هو عبارة عن معقد لمواقع جينات المقاومة R-genes (Lagudah *et al.*, 1997). ويبدو كذلك أن النباتات المقاومة متعددة الأساس الكروموسومي كالشوفان والقمح التي تحتوي على جينات مقاومة رئيسية، تحتوي أيضاً على جينات مقاومة أخرى ثانوية، بدليل أن نقل الجينات الرئيسية فقط لم يوفر للنباتات البنوية مقاومة كاملة كتلك الموجودة في الآباء. وعلى عكس ذلك، نجد أن الجينات المفردة كانت دائماً فعالة في منح صفة المقاومة لنباتات الشعير ثنائية الأساس الكروموسومي.

وهناك بالفعل نقصٌ في مصادر المقاومة الفعالة في نباتات القمح، ولكن البحوث العلمية التي أجريت في كل من: أستراليا، وفرنسا، وإسبانيا قد أسفرت عن تعريف نباتات قريبة تتبع الجنس *Triticum* أيضاً، وتحتوي على جينات قيمة يمكن استغلالها في برامج تربية القمح. وقد أمكن إدخال تلك الجينات بواسطة طرق التهجين التقليدية والانتخاب إلى مصادر جديدة من القمح الصلب والطري الواسعة الانتشار. فمثلاً تعد صفة المقاومة في صنف القمح "Loros" المستمدة من نبات *Aegilops ventricosa* من الصفات المميزة، وقد سمي الجين الذي يحمل هذه الصفة بالجين *Cre2* أو *Ccn2* (Delibes *et al.*, 1993). أما صفة المقاومة في أصناف القمح التي تمت تربيتها في فرنسا، والمستمدة من نبات *A. ventricosa* أيضاً فقد سمي الجين المسؤول عنها بالجين *CreX*. ويقع هذا الجين على الكروموسوم المتشابه Homologous chromosome في المجموعة الثانية كالجين *Cre1*، والجينان *Cre3* و*Cre4* في نبات *T. tauschii* (=) *A. squarrosa*).

تم استنساخ جينات المقاومة في نباتات القمح، ودراسة تتابعها الجزيئي، واستخدامها في برامج التربية في أستراليا. وقد استخدم الانتخاب المبني على الدلائل الجزيئية لإدخال هذه الجينات (سواء كانت مفردة أو في مجموعات) إلى مصادر نباتية جديدة (Ogbonnaya *et al.*, 1998 ؛ Jeffries *et al.*, 1997). وهناك أدلة على أن جين المقاومة *Cre3* المستمد من نبات *Triticum tauschii* قد تم اكتشاف جين مثيل له في نباتات الشعير في الموقع الجيني الذي يحتوي على جينات المقاومة لنيماتودا حوصلات الحبوب (Seah *et al.*, 1998).

الجدول رقم (٤,٧). مصادر المقاومة واستخداماتها في برامج تربية أصناف حبوب مقاومة لنيماتودا حوصلات الحبـــوب (CCN) *Heterodera avenae* والأنواع الأخرى.

نوع محصول الحبوب	المصـــــدر		الاستخدام والأصناف	رد الفعل للطراز الإمراضي من النيماتودا [1]
	الأصل	جينات المقاومة		
الشعير *Hordeum*	أصـــناف محليـــة بـــشمال أوروبا	*Rha1*	أصناف شمال أوروبا (١٩٠٠ – ١٩٦٠م)	مقاوم للطراز *Ha1*
	الصنف Emir	*Rha?*	قابل للإصابة في كثير من دول أوروبا	مقاوم للطراز Ha61 (النرويج، هولندا، الهند، سيبيريا)
	أصناف شمال إفريقيا	*Rha2*	أصناف دانمركية وسويدية وبريطانية	مقاوم للطرازين: *Ha1* و*Ha2*، وقابل للإصابة بالطراز *Ha3*
	مدخلات مغربية من شمال إفريقيا	*Rha3*	ليست بأصناف	مقـاوم للطـرز: *Ha1*، و*Ha2*، و*Ha3*
	الصنف "Galleon"	جين رئيسي	أستراليا	مقاوم للطراز *Ha13*
الشوفان *Avena*	الصنف "Sol II" من السويد	جينات ثانوية	أسكندنافيا	مقاوم جزئياً للعديد من الطرز
	الصنف "*A. sterilis* 1376"	١ – ٣ جينات رئيسية	بريطانيا	مقـاوم لجميـع طـرز: *Ha1*، و*Ha2*، و*Ha3*، وهنـاك بعـض الأصناف المنتجة قابلة للإصابة ببعض العشائر
	الصنف "US 1624 (CI3444)"	جين رئيسي	السويد، الدنمارك، بريطانيا	مقـاوم للطـرازين: *Ha1*، و*Ha2*، وقابل للإصابة بالطراز *Ha3*
	الصنف "Avon" وبعض الأصناف الأسترالية	؟	أستراليا	مقـاوم في أسـتراليا (*Ha13*)، وقابـل للإصـابة بـالطرازين: *Ha1*، و*Ha2*
القمح *Triticum*	الصنفان: "Loros"، و"AUS10894"	*Ccn1*	-	مقـاوم للطـرازين: *Ha1*، و*Ha2*، وقابل للإصابة بالطراز *Ha13* في أستراليا
	T. tauschii	*CcnD1*		مقاوم للطراز *Ha13*
		CcnD2		مقاوم جزئياً للطراز *Ha13*
	Ae.ventricosa	*Ccn2*		

[1] انظر أيضاً الجدولين رقمي (٤,٥)، و(٤,٩).

نيماتودا حوصلات البطاطس *Globodera rostochiensis* و *G. pallida*

***Globodera rostochiensis* and *G. pallida*, potato cyst nematodes (PCN)**

تحتوي مصادر البطاطس المقاومة لنيماتودا حوصلات البطاطس على عدة جينات للمقاومة (الجدول رقم ٤,٨). وقد تم العمل في هذه الصفة بداية مع جين مفرد سائد يمنح مقاومة فعالة كاملة تجاه نيماتودا حوصلات البطاطس *G. rostochiensis*. كما أمكن أيضاً إدخال جينات مقاومة رئيسية أخرى إلى بعض أصناف البطاطس. وتتوفر أيضاً صفة المقاومة تجاه نيماتودا حوصلات البطاطس *G. pallida* في عدد من المصادر النباتية البرية والمستزرعة من الجنس *Solanum*، ولكن هذه الصفة نادراً ما كانت تبقى فعالة بعد التهجين.

الجدول رقم (٤,٨). مصادر المقاومة في نباتات الجنس *Solanum* لنيماتودا حوصلات البطاطس (PCN) *G. pallida* و *Globodera rostochiensis*، وأمثلة على استخداماتها في برامج التربية الأوروبية، وبعض المصادر الأخرى للمقاومة. (Dale and de Scurrah, 1998 ؛Anad *et al.*, 1998).

المصدر	جين المقاومة	الأصناف	مقاوم للطرز الإمراضية[1]	
			G. rostochiensis	*G. pallida*
S. tuberosum ssp. *andigena* CPC1673	*H1*	الصنف "Maris Piper" في بريطانيا ١٩٦٣م، والصنف "Saturna" في هولندا ١٩٦٤م، وأكثر من ٧٠ صنفاً أخرى	Ro1، وRo4	
S. tuberosum ssp. *andigena* CPC2802	*H3* polygenic جينات متعددة			(*Pa1*، و*Pa2/3*)
S. multidissectum	*H2*			*Pa1*
S. vernei	Oligogenic عدد قليل من الجينات	الصنف "Morag" في بريطانيا ١٩٨٥م، والصنف "Glenna" في هولندا ١٩٨٧م، وعدة أصناف في الدغارك وهولندا وبريطانيا ١٩٩٧م		
S. brevicaule			طيف واسع من الطرز	
S. capsicibaccatum				*P4A*، و*P5A*
S. circaefolium				*Pa2*، و*Pa3*
S. gourlayi	جينات رئيسية ومقاومة كمية		طيف واسع من الطرز	*P4A*، و*P5A*
S. kurtzianum	جين رئيسي		طيف واسع من الطرز	
S. leptophytes				*P4A*، و*P5A*
S. megastacrolobum				
S. optocense			طيف واسع من الطرز	
S. santae-rosae				
S. sparsipilium				*P4A*، و*P5A*
S. spegazzinnii	جين رئيسي		طيف واسع من الطرز	
S. vernei	جينات رئيسية ومقاومة كمية		طيف واسع من الطرز	

انظر أيضاً الجدولين رقمي (٤,٥)، و (٤,٩).

أنواع أخرى من نيماتودا الحوصلات Other cyst nematodes

تم نقل صفة المقاومة من أنواع البنجر البرية إلى أنواع بنجر السكر المستزرعة. ويبدو أن ذلك قد تم عن طريق نقل جين مفرد رئيسي يكتمل تأثيره بواسطة جين آخر أقل تأثيراً. وفي نفس الوقت، لم يمكن نقل جينات مقاومة أخرى توجد في الأنواع البرية إلى سلالات التربية. وقد تم استنساخ ودراسة تتابع هذا الجين الرئيسي الذي من الممكن أن يكون ذا فائدة كبيرة في منح صفة المقاومة تجاه النيماتودا في أصناف نباتية أخرى. وتتوارث صفة المقاومة أو التحمل تجاه نيماتودا حوصلات البنجر في أصناف البنجر بصفة عامة بطريقة مستقلة (Muller, 1998a). ولكن لا توجد أية معلومات متوفرة حول الخصائص الوراثية لصفة التحمل، كما لم تذكر أية طرق انتخاب خاصة بهذه الصفة. وجدت أيضاً صفة المقاومة الجيدة تجاه نيماتودا حوصلات قصب السكر *H. sacchari* في نباتات الأرز البرية *O. glaberrima*، ويبدو أن هذه الصفة صفة وصفية بسيطة. وقد تم نقل هذه الصفة وانتخابها في بعض الهجن بين النوعية مع نبات الأرز *O. sativa* (Plowright *et al.*, 1999).

اختبارات وتجميعات التراكيب الوراثية
Germplasm Tests and Collections

تتزايد باستمرار قاعدة بيانات البحوث العلمية حول الصفات الوراثية للمصادر النباتية في الشبكة العنكبوتية Internet. وبعض هذه النتائج كان يتعلق بصفة خاصة بالمقاومة تجاه النيماتودا، وبالتغير في رد فعل النباتات تجاه نيماتودا الحوصلات كما سيتم تناوله فيما بعد (الجدول رقم ٤.٩). وأحد مواقع البداية الجيدة في هذا المجال هو النظام الوطني للتراكيب الوراثية النباتية (NPGS) بوزارة الزراعة الأمريكية. وهذا المشروع التعاوني الذي يهدف إلى الحفاظ على التنوع الوراثي في النباتات يعد جزءًا من الشبكة المعلوماتية للمصادر النباتية (GRIN) التي تسمح بالوصول إلى البيانات العلمية. ويوفر هذا الموقع الألكتروني روابط مع العديد من المواقع الأخرى ذات العلاقة التي تشمل هيئات وطنية ودولية. وقد لا تحتوي أغلب هذه المواقع على معلومات حول رد فعل النباتات للإصابة بالنيماتودا، لكنها قد تعطي مدى محدوداً من التغيرات والمعارف التي تم اكتسابها في اختبارات التقييم. ومن نقاط البداية المفيدة أيضاً في هذا المجال هو الموقع : http://www.cgiar.org/ecpgr. وتوجد في هذا الموقع روابط تحتوي على معلومات حول تقييم صفة المقاومة تجاه النيماتودا، وكذلك حول المجموعات النباتية التي يمكن استخدامها في برامج التربية. ويجب ملاحظة أن نتائج اختبارات التقييم الموجودة في تلك المواقع هي نتائج أولية، وخاصة في حالة التراكيب الوراثية التي تم تقييمها في مناطق جغرافية مختلفة.

الجدول رقم (٤,٩). عناوين المواقع الألكترونية التي تتناول المصادر الوراثية النباتية ذات الصلة بصفة المقاومة لنيماتودا الحوصلات.

شبكة معلومات مصادر التراكيب الوراثية النباتية (GRIN)
خدمات البحوث الزراعية – وزارة الزراعة الأمريكية
الهيئة الوطنية للتراكيب الوراثية النباتية، وروابط مع مجمعات التراكيب الوراثية النباتية الأمريكية والدولية
http://www.ars-grin-gov/npgs
نيماتودا حوصلات فول الصويا
مواقع الولايات الأمريكية، قائمة بنتائج اختبارات تقييم الأصناف تجاه نيماتودا حوصلات فول الصويا
http://www.ag.uiuc/~wardt/cover.htm
نيماتودا حوصلات الحبوب
البنك الوراثي السويدي (Nordic genebank)، المحافظة على المصادر وتوزيعها
العوائل (الأصناف) المفرقة
http://www.ngb.se/cereal
نيماتودا حوصلات البطاطس
المركز الدولي للبطاطس (CIP)
http://www.cgiar.org/cip
مركز الكومنولث لجمع مصادر البطاطس
http://scri.sari.ac.uk/cpc
المركز الألماني الهولندي لجمع مصادر البطاطس
http://www.cprodlo.nl/cgn

نيماتودا حوصلات فول الصويا *Heterodera glycines*

***Heterodera glycines*, soybean cyst nematode (SCN)**

أوردت قاعدة بيانات NPGS قوائم بردود أفعال نباتات فول الصويا تجاه نيماتودا حوصلات فول الصويا *Heterodera glycines* (SCN)، وذلك في مجموعة التراكيب الوراثية لفول الصويا الخاصة بوزارة الزراعة الأمريكية. وقد استمدت جميع الأصناف المقاومة التي تم تطويرها بواسطة المعاهد الأمريكية المتخصصة مقاومتها من واحد أو أكثر من ستة تراكيب وراثية نباتية فقط (الجدولان رقما ٤,٦ و٤,٩ ؛ Bernard *et al.*, 1988a ؛ Dong *et al.*, 1997). وقد أوضح دونج وأوبرمان Dong and Opperman (1997) من خلال تفسيرهما لظاهرة عشائر نيماتودا حوصلات فول الصويا التي تحتوي على جينات القدرة على التكاثر على العوائل النباتية المقاومة *ror* genes أن التداخلات الجينية (جين مقابل جين) Gene for gene interactions تنطبق تماماً على نظام فول الصويا/نيماتودا حوصلات فول الصويا، الذي يتضمن أليلات مقاومة سائدة R-genes في النباتات المقاومة، وأليلات متنحية *ror* alleles خاصة بالقدرة على التكاثر على العائل المقاوم في النيماتودا الشرسة إمراضياً. ويتبع ذلك، أن ردود الأفعال المتوسطة التي تمت مشاهدتها في بعض الحالات من التداخل بين العائل والنيماتودا هي في الأصل قد نتجت كتعبير عن تباين

الزيجوت Heterogeneity في كل من النبات والنيماتودا. وقد يُخفي ذلك جينات مفيدة موجودة بالفعل في النبات، ولكن طرق الانتخاب بواسطة الدلائل الجزيئية قد تكون قادرة على الكشف عن هذه الجينات.

يتم تسجيل أصناف وزارة الزراعة الأمريكية دائماً في جمعية علوم المحاصيل الأمريكية. وهناك أيضاً قوائم بالأصناف المقاومة في عدد من صفحات الشبكة العنكبوتية، وتحتوي بعض هذه الصفحات أيضاً على روابط لصفحات أخرى تشمل طرق العمل والتقنيات المستخدمة. وفي بعض الولايات الأمريكية، هناك أيضاً صفحات على الشبكة العنكبوتية تتضمن معلومات عن أصناف فول الصويا المقاومة، كما تتضمن أيضاً روابط لصفحات أخرى لمصادر مقاومة من فول الصويا (الجدول رقم ٤.٩).

نيماتودا حوصلات الحبوب *Heterodera avenae* ومجموعة Avenae

***Heterodera avenae* and the *H. avenae* group, cereal cyst nematodes (CCN)**

تعطي بعض القوائم الأوربية للأصناف المسجلة تفصيلات حول أصناف محاصيل الحبوب المقاومة لنيماتودا حوصلات الحبوب. وقد أورد ريفوال وكوك Rivoal and Cook (1998) تراكيباً وراثية مقاومة لبعض الطرز الإمراضية والأنواع النيماتودية التي تتبع مجموعة Avenae مع التفاصيل الخاصة بالمكافحة الوراثية وما يتعلق بها في حالة توافرها (الجدولان رقما ٤.٧، و٤.٩).

تمت المقارنة بين أصناف الشعير المسجلة الشائع زراعتها التي تحمل صفة المقاومة (Wheeler, 1998) وتلك التي تتصف بصفات جيدة للتحمل مع أصناف الشوفان في أستراليا. وهناك أيضاً مصادر إضافية للمقاومة في جنس القمح *Triticum* تجاه عدد كبير من أنواع نيماتودا حوصلات الحبوب (Nicol, 2001). والهدف من استخدام التتابعات الجينية Gene sequences في اختبار التراكيب الوراثية مباشرة هو تعريف جينات أخرى للمقاومة. وقد استخدم تتابع الجين *Cre3* الموجود في بعض أصناف القمح لاكتشاف جينات المقاومة المماثلة على كروموسومات القمح (Spielmeyer *et al.*, 1998). وسوف يسمح تطوير هذا الهدف باختبار مباشر للجينات وتتابعاتها التي تحكم عملية المقاومة للنيماتودا. وتشمل أصناف القمح المقاومة كلاً من؛ "Festiguay" غير معروف الأبوين، و"Molineux" وأصناف أخرى مستحدثة من قمح الخبز تحتوي على أليلات من الصنفين؛ "Loros"، و"AUS 10894".

أوضحت الدراسات أن أصناف الشوفان الأسترالية المقاومة لنيماتودا حوصلات الحبوب كانت قابلة للإصابة في بريطانيا (Cook and York, 1988). أما أغلب أصناف الشيلم rye فهي مقاومة بشكل عام، في حين أن أصناف التريتكال Triticales يوجد منها ماهو مقاوم، ومنها ما يشبه في مقاومته تلك المقاومة الكمية الموجودة في الشيلم، ومنها مايحتوي على جينات سائدة للمقاومة كتلك التي توجد في القمح (Cook and York, 1998).

تحتوي المجموعة العالمية لوزارة الزراعة الأمريكية من الحبوب الصغيرة وكذلك المركز الدولي لتطوير الذرة والقمح CIMMYT على العديد من أصناف الحبوب، ولكن هذه الأصناف لم يتم اختبارها جميعها تجاه العزلات المختلفة من نيماتودا حوصلات الحبوب. أما البنك الوراثي بشمال أوروبا Nordiska Genbanken في السويد فقد أورد قائمة بمحاصيل حبوب مقاومة لنيماتودا حوصلات الحبوب، كما يقوم هذا البنك أيضاً بالمحافظة على الأصناف الدولية المفرقة التي تستخدم في تعريف عشائر نيماتودا حوصلات الحبوب على مستوى العالم.

تحتوي الأصناف القديمة (الآباء) من محاصيل الحبوب على سلالات محلية قديمة مثل الصنف Sol II الذي قد يكون مقاوماً أيضاً لعشائر نيماتودية تم جلبها من خارج منطقة نشأتها. وعلى سبيل المثال، نجد أن المصادر الأسكندنافية والشمال غرب أوروبية، على الرغم من أنها حالياً قابلة للإصابة بالعشائر الموجودة في منطقة نشأتها، إلا أنها مقاومة للعشائر في فرنسا والهند وأستراليا.

نيماتودا حوصلات البطاطس *Globodera rostochiensis* و *G. pallida*

***Globodera rostochiensis* and *G. pallida*, potato cyst nematodes (PCN)**

تم اختبار مقاومة عدة مجموعات نباتية هامة تجاه نيماتودا حوصلات البطاطس (الجدولان رقما ٤.٥ و٤.٩). وقد شملت تلك المجموعات أصنافاً محصولية وعدة أنواع قريبة منها، وذلك في مركز الكومنولث لجمع مصادر البطاطس Commonwealth Potato Collection والمركز الدولي للبطاطس Centro International de la Papa (CIP): www.cgiar.org/cip. هناك أيضاً قوائم محلية لأصناف البطاطس ومن بينها المركز الألماني – الهولندي لجمع مصادر البطاطس Dutch-German Potato Collection قد تم اختبار أصنافها في كل من: هولندا، وألمانيا، وفرنسا تجاه الطرز الإمراضية *Ro1*، و*Ro2*، و*Ro3*، و*Ro5*، *Pa1*، و*Pa2*، و*Pa3*، و (*Ro5 + Ro4 + Ro3 + Ro2 + Ro1*) مختلطة. هناك أيضاً مجموعات من التراكيب الوراثية للبطاطس يمكن الاطلاع عليها من خلال روابط لمواقع مركز الكومنولث لجمع مصادر البطاطس (CPC) ومجموعة البطاطس الألمانية-الهولندية. وهناك أيضاً اختلافات لها اعتبارها في الأنواع البرية للجنس *Solanum* (الجدول رقم ٤.٨).

نيماتودا حوصلات التبغ *Globodera tabacum*

***Globodera tabacum*, tobacco cyst nematodes**

أورد كل من لاموندیا La Mondia (1988)، وجونسون Johnson (1990) قائمة بأصناف التبغ المقاومة لنيماتودا حوصلات التبغ *G. tabacum*، كما تم اختبار مقاومة ٢٤ تركيباً وراثياً لتلك النيماتودا في اختبارات أصص تحتوي على تربة معقمة تم تلويثها ببيض النيماتودا، وقد وجد أن تسعة من هذه التراكيب كانت جيدة المقاومة

(Herrero *et al.*, 1996). وقد اشتملت التراكيب الوراثية المقاومة لعشيرة نيماتودا حوصلات التبغ من شمال كارولينا كل من الأصناف: "Burley 21"، و"PD 4"، و"VA 81"، و"VC 567"، و"Speight G-80"، و"Kutsaga Mammoth 101"، و"Kutsaga 110"، وسلالتين من التبغ لازالتا تحت التربية. وقد قام هيز وآخرون Hayes *et al.* (1997) باختبارات مماثلة باستخدام عشيرة نيماتودية من ولاية فرجينيا الأمريكية، ولكنهم قاموا بصبغ عينات من جذور النباتات بعد ثمانية أسابيع من العدوى لشتلات عمرها ستة أسابيع. وقد اشتملت التراكيب الوراثية الأكثر مقاومة كل من: "TI 1597"، و"TI 1625"، و"Burley 64"، و"MD 40"، و"Pennbell 69"، و"Kutsaga Mammoth 10".

نيماتودا حوصلات الحمص *Heterodera ciceri*

***Heterodera ciceri*, chickpea cyst nematode**

تم تقييم مقاومة أصناف من الحمص *Cicer arietinum* وبعض الأنواع القريبة منه لنيماتودا حوصلات الحمص *H. ciceri* تحت ظروف البيت الزجاجي، حيث تمت تربية النباتات في أصص تم تلويث تربتها بمعدل ٢٠ بيضة/جم تربة. تم تقييم مقاومة النباتات باستخدام مقياس صفر – ٥ يعتمد على عدد الحوصلات والإناث البيضاء لنيماتودا الجيل الأول التي تكونت على جذور النباتات. وقد أوضحت النتائج وجود بعض السلالات المقاومة التي تنتمي إلى ثلاثة أنواع ليس من بينها النوع *C. arietinum*. وقد تكون صفة المقاومة التي وجدت في سلالة تتبع النوع *C. reticulatum* هي السلالة "ILWC 292" مفيدة إذا تم تهجين هذه السلالة مع أصناف الحمص المزروعة (Singh *et al.*, 1996)، وتتم المحافظة على هذه السلالة وغيرها في المركز الدولي للزراعة في المناطق القاحلة (إيكاردا ICARDA) في مدينة حلب بسورية.

نيماتودا حوصلات الأرز *Heterodera sacchari*

***Heterodera sacchari*, rice cyst nematode**

وجدت مصادر هامة للمقاومة تجاه هذه النيماتودا في أصناف الأرز الإفريقي *Oryza glaberrima* في غرب إفريقيا، وكذلك في بعض التهجينات مع الأرز المزروع *O. sativa* (Plowright *et al.*, 1999). وقد وجد أن ١٥ من أصل ٢١ صنفاً من الأرز *O. glaberrima*، وسبعة من أصل تسعة أصناف من الأرز البري *O. breviligulata* كانت مقاومة لنيماتودا حوصلات الأرز *H. sacchari* (Reversat and Destombes, 1998). ومن الجدير ذكره، أن جميع مصادر المقاومة تجاه هذه النيماتودا كانت ذات منشأ إفريقي.

نيماتودا حوصلات البرسيم *Heterodera trifolii*

***Heterodera trifolii*, clover cyst nematode**

وجدت صفة المقاومة تجاه نيماتودا حوصلات البرسيم *H. trifolii* في بعض التراكيب الوراثية من البرسيم الأبيض في بريطانيا ونيوزيلاندة، وقد تم انتخاب النباتات المقاومة بناءً على عدد الإناث النيماتودية/نبات، أو عدد الإناث النيماتودية/جم جذور في نيوزيلاندة. وقد تم بالفعل تطوير التراكيب الوراثية التي وجدت مقاومة في نيوزيلاندة، وقد أثبتت هذه التراكيب فعاليتها في مكافحة النيماتودا على المدى الطويل في التجارب الحقلية. كما ازدادت نسب النباتات المقاومة عقب الانتخابات المتكررة التي أجريت في الأجيال المتعاقبة من البرسيم، وأثبتت هذه النباتات فعاليتها تجاه عشائر نيماتودية من شمال وجنوب نيوزيلاندة (Mercer *et al.*, 1999). وتوجد صفة المقاومة ضد هذه النيماتودا أيضاً في الأنواع قريبة الصلة، وخاصة النوع *Trifolium nigrescens*، ويمكن نقل هذه الصفة عن طريق التهجين بين الأنواع Interspecific hybridization إلى صنف البرسيم المزروع *T. repens* (Hussain *et al.*, 1997).

المراجع

References

Anand, S.C. (1992a) Registration of 'Hartwig' soybean. *Crop Science* 32, 1069-1070.

Anand, S.C. (1992b) Registration of 'Delsoy 4710' soybean. *Crop Science* 32, 1294.

Anand, S.C., Cook, R. and Dale, M.F.B. (1998) Development of varieties resistant and tolerant to cyst nematodes. In: Sharma, S.B. (ed.) *The Cyst Forming Nematodes*. Kluwer Academic, Dordrech, The Netherlands, pp. 293-321.

Andersen, K. and Anderesn, S. (1982a) Classification of plants resistance to *Heterodera avenae*. *EPPO Bulletin* 12, 435-437.

Andersen, S. and Anderesn, K. (1982b) Suggestions for determination and terminology of pathotypes and genes for resistance to cyst-forming nematodes, especially *Heterodera avenae*. *EPPO Bulletin* 12, 379-386.

Atkinson, H.J., Urwin, P.E., Clarke, M.C. and McPherson, M.J. (1996) Image analysis of the growth of *Globodera pallida* and *Meloidogyne incognita* on transgenic tomato roots expressing cystatins. *Journal of Nematology* 28, 209-215.

Bernard, R.L., Juvik, G.A., Hartwig, E.H. and Calton, J.E., Jr. (1988a) *Origins and Pedigrees of Public Soybean Varieties in the United States and Canada*. United States Department of Agriculture Technical Bulletin No. 1746, 69 pp.

Bernard, R.L., Noel, G.R., Anand, S.C. and Shannon, J.G. (1988b) Registration of □Fayette□ soybean. *Crop Science* 28, 1028.

Brim, C.A. and Ross, J.P. (1966) Registration of 'Pickett' soybean. *Crop Science* 6, 305.

Canto-Saenz, M. and de Scurrah, M.M. (1977) Races of the potato cyst nematode in the Andean region and a new system of classification. *Nematologica* 23, 340-349.

Cook, R. and Mizen, K.A. (1991) Expression of resistance in oats (*Avena* spp.) and some other cereal cyst nematode (*Heterodera avenae*). *Helminthologia* 28, 145-150.

Cook, R. and Rivoal, R. (1998) Genetics of resistance and parasitism. In: Sharma, S.B. (ed.) *The Cyst Forming Nematodes*. Kluwer Academic, Dordrech, The Netherlands, pp.322-352.

Cook, R., and York, P.A. (1987) Variation of Triticales in reaction to cereal cyst nematode. *Annals of Applied Biology 110, Tests of Agrochemicals and Cultivars* No. 8, 158-159.

Cook, R., and York, P.A. (1988) Reaction of some European and Australian oat cultivars to cereal cyst nematode. *Annals of Applied Biology 112, Tests of Agrochemicals and Cultivars* No. 9, 84-85.

Cregan, P.B. and Quigley, C.V. (1997) Simple sequences repeat DNA marker analysis. In: Caetano-Anolles, G. and Gresshojj, P.M. (eds) *DNA Markers: Protocols, Applications and Overviews*. John, Wiley & Sons, New York, pp. 173-185.

Dale, M.F.B. and de Scurrah, M.M. (1998) Breeding for resistance to the potato cyst nematodes *Globodera rostochiensis* and *G. pallida*: strategies, mechanisms and genetic resources. In: Marks, R.J. and Brodie, B.B. (eds) *Potato Cyst Nematodes: Biology, Distribution and Control*. CAB International, Wallingford, UK, pp.167-196.

Delibes, A., Romero, D., Aguaded, S., Duce, A., Mena, M., Lopez-Braña, I., Andres, M.F., Martin-Sanchez, J.A and Garcia-Olmedo, F. (1993) Resistance to cereal cyst nematode (*Heterodera avenae* Woll.) transferred from the wild grass *Aegilops ventricosa* to hexaploid wheat by a 'stepping-stone' procedure. *Theoretical and Applied Genetics* 87, 402-408.

Dong, K. and Opperman, C.H. (1997) Genetic analysis of parasitism in the soybean cyst nematode *Heterodera glycines*. *Genetics* 146, 1131-1318.

Dong, K., Barker, K.R. and Opperman, C.H. (1997) Genetic of soybean *Heterodera glycines* interactions. *Journal of Nematology* 29, 509-522.

Eastwood, R.F., Lagudah, E.S. and Appels, R. (1994) A direct search for DNA sequences tightly linked to cereal cyst nematode resistance genes in *Triticum tauschii*. *Genome* 37, 311-319.

Eisenback, J.D. and Zunke, U. (1998) Extraction, culturing and microscopy. In: Sharma, S.B. (ed.) *The Cyst Nematodes*. Kluwer Academic, Dordrech, The Netherlands, pp.141-155.

Epps, J.M. and Hartwig, E.E. (1972) Reaction of soybean varieties and strains to race 4 of the soybean cyst nematode. *Journal of Nematology* 4, 222.

Fisher, J.M. (1982) Towards a consistent laboratory assay for resistance to *Heterodera avenae*. *EPPO Bulletin* 12, 445-449.

Fleming, C.C. (1998) The evaluation and durability of potato cyst nematode resistance in the potato. In: Marks, R.J. and Brodie, B.B. (eds) *Potato Cyst Nematodes: Biology, Distribution and Control*. CAB International, Wallingford, UK, pp.197-208.

Golden, A.M., Epps, J.M., Rigss, R.D., Duclos, L.A., Fox, J.A. and Bernand, R.L. (1970) Terminology and identity of infraspecific forms of the soybean cyst nematode, *Heterodera glycines*. *Plant Disease Reporter* 54, 544-546.

Hartwig, E.E. and Epps, J.M. (1978) Registration of 'Bedford' soybeans. *Crop Science* 30, 231.

Hartwig, E.E. and Young, L.D. (1990) Registration of 'Cordell' soybeans. *Crop Science* 30, 231.

Hayes, A.J., Wilkinson, C.A. and Johnson, C.S. (1997) Evaluation of tobacco accessions for resistance to tobacco cyst nematodes and wildfire. *Crop Science* 37, 586-591.

Herrero, S., Rufty, R. and Barker, K.R. (1996) Evaluation of tobacco germplasm for resistance to tobacco cyst nematode, *Globodera tabacum solanacearum*. *Plant Disease* 80, 61-65.

Hussain, S.W., Williams, W.M., Mercer, C.F. and White, D.W.R. (1997) Transfer of clover cyst nematode resistance from *Trifolium nigrescens* Viv, to *T. repens* L. by interspecific hybridisation. *Theoretical and Applied Genetics* 95, 1274-1281.

Hussey, R. S. and Boerma, H. R. (1992) Tolerance in soybean. In: Riggs, R.D. and Wrather, J.A. (eds) *Biology and Management of the Soybean Cyst Nematode*. APS Press, St Paul, Minnesota, pp. 169-182.

Ireholm, A. (1994) Characterization of pathotypes of cereal cyst nematodes, *Heterodera* spp. in Sweden. *Nematologica* 40, 399-411.

Jeffries, S.P., Barr, A.R., Langridge, P., Chalmers, K.J., Kretschmer, P.G. and Karakousis, A. (1997) Practical application of molecular markers in barley breeding. In: *Proceedings of the 8th Australian Barley Technical Symposium*, Queensland, September 1997.

Johnson, C.S. (1990) Control of *Globodera tabacum solanacearum* by rotating susceptible and resistant flue-cured tobacco cultivars. *Journal of Nematology* 22, 700-706.

Kaplan, M., Caswell Chen, E.P. and Williamson, V.M. (1999) Assessment of host-induced selection on three geographic isolates of *Heterodera schachtii*. *Phytopathology* 89, 68-73.

Kim, D.G., Riggs, R.D. and Mauromoustakos, A. (1998) Variation in resistance of soybean lines to races of *Heterodera glycines*. *Journal of Nematology* 30, 184-191.

Kort, J., Ross, H., Rumpenhorst, H.J. and Stone, A.R. (1977) An international scheme for identifying and classifying pathotypes of potato cyst nematodes *Globodera rostochiensis* and *G. pallida*. *Nematologica* 23, 333-339.

Lagudah, E.S., Moullet, O. and Apples, R. (1997) Map-based cloning of a gene sequences encoding a nucleotide binding domain and a leucine rich region at the *Cre3* nematode resistance locus of wheat. *Genome* 40, 659-665.

LaMondia, J.A. (1988) Tobacco resistance to *Globodera tabacum*. *Journal of Nematology* 2, 77-80.

Lasserre, F., Gigault, F., Gauthier, J.P., Henry, J.P., Sandmeier, M. and Rivoal, R. (1996) Genetic variation in natural populations of the cereal cyst nematode (*Heterodera avenae* Woll.) submitted to resistance and susceptible cultivars of cereals. *Theoretical and Applied Genetics* 93, 1-8.

Mather, K. (1951) *The Measurement of Linkage in Heredity*, 2nd ed. Methuen, London, 149 pp.

McKay, A. (1998) Rapid test for resistance to cereal cyst nematode in cereal breeders lines. URL: www.sardi.sa.gov.au/crops.

McKenzie, M.M. and Turner, S.J. (1987). Assessing reproduction of potato cyst nematodes (*Globodera rostochiensis* and *G. pallida*) on potato cultivars for National Listing. *EPPO Bulletin* 17, 345-357.

Mercer, C.F., Van den Bosch, J. and Miller, K.J. (1999) Effectiveness of recurrent selection of white clover (*Trifolium repens*) for resistance to New Zealand populations of clover cyst nematode (*Heterodera trifolii*). *Nematology* 1, 449-455.

Mugniery, D. (1983) A method for screening potatoes for resistance to *Globodera* spp. under laboratory conditions. In: Hooker, W.J. (ed.) *Research for the Potato in the Year 2000*. International Potato Center (CIP), Lima, Peru, pp.137-138.

Muller, J. (1998a) Resistance and tolerance to beet cyst nematodes (*Heterodera schachtii*) in sugar beet cultivars. *Zuckerindustrie* 123, 688-693.

Muller, J. (1998b) New pathotypes of beet cyst nematodes (*Heterodera schachtii*) differentiated on alien genes for resistance in beet (*Beta vulgaris*). *Fundamental and Applied Nematology* 21, 519-526.

Niblack, , T.L., Rigss, R.D., Arelli, P.R., Noel, G.R., Opperman, C.H., Orf, J.H., Schmitt, D.P., Shannon, J.G. and Tylka, G.L. (2001) A revised classification scheme for genetically diverse populations of *Heterodera glycines*. *Phytopathology* 91, S139.

Nickell, C.D., Noel, G.R., Bernard, R.L., Thomas, D.J. and Frey, K. (1994a) Registration of soybean germplasm line 'LN89-5717' resistance to soybean cyst nematode. *Crop Science* 34, 1133.

Nickell, C.D., Noel, G.R., Bernard, R.L., Thomas, D.J. and Pracht, J. (1994b) Registration of soybean germplasm line 'LN89-5699' resistance to soybean cyst nematode. *Crop Science* 34, 1134-1135.

Nickell, C.D., Noel, G.R., Bernard, R.L., Thomas, D.J. and Frey, K. (1994c) Registration of soybean germplasm line 'LN89-5612' moderately resistance to soybean cyst nematode. *Crop Science* 34, 1134.

Nickell, C.D., Noel, G.R., Cary, T.R., Thomas, D.J. and Leitz, R.A. (1999) Registration of "Ina" soybean. *Crop Science* 39, 1533.

Nicol, J.M. (2001) Important nematode pests of cereals. In: Curtis, B.C. (ed.) *Wheat Production and Improvement*. FAO Plant Production and Protection, FAO, Rome.

Noel, G.R., Franco, J. and Jatala, P. (1990) Screening for resistance to cyst nematodes, *Globodera* and *Heterodera* species. In: Starr, J. (ed.) *Methods for Evaluation of Plant Species for Resistance to Plant-Parasitic Nematodes*. Society of Nematologists, Hyattsville, Maryland, pp.24-32.

Ogbonnaya, F.C., Moullet, O., Eastwood, R.F., Kollmorgen, J., Eagles, H., Apples, R. and Lagudah, E.S. (1998) The use of molecular markers to pyramid cereal cyst nematode resistance genes in wheat. In: Slinkard, A.E. (ed.) *Proceedings of the 9th International Wheat Genetics Symposium*, pp. 138-139.

Opperman, C.H. and Bird, D.M. (1998) The soybean cyst nematode, *Heterodera glycines*: a genetic model system for the study of plant-parasitic nematodes. *Current Opinion in Plant Biology* 1, 342-346.

Orf, J.H. and MacDonald, D.H. (1995) Registration of 'Fairbault' soybean. *Crop Science* 35, 1227.

Phillips, M.S. and Trudgill, D.H. (1998) Variation of virulence, in terms of quantitative reproduction of *Globodera pallida* populations, from Europe and South America, in relation to resistance from *Solanum vernei* and *S. tuberosum* spp. *andigena* CPC 2802. *Nematologica* 44, 409-423.

Phillips, M.S., Forrest, J.M.S. and Wilson, L.A. (1980) Screening for resistance to the potato cyst nematode using closed containers. *Annals of Applied Biology* 96, 317-322.

Plowright, R.A., Coyne, D.L., Nash, P. and Jones, M.P. (1999) Resistance to the rice nematodes *Heterodera sacchari*, *Meloidogyne graminicola* and *M. incognita* in *Oryza glaberrima* and *O. glaberrima* x *O. sativa* hybrids. *Nematology* 1, 745-751.

Reversat, G. and Destombes, D. (1998) Screening for resistance to *Heterodera sacchari* in the two cultivated rice species, *Oryza sativa* and *O. glaberrima*. *Fundamental and Applied Nematology* 21, 307-317.

Riggs, R. D. and Schmitt, D. P. (1988) Complete characterization of the race scheme for *Heterodera glycines*. *Journal of Nematology* 20, 392-395.

Riggs, R. D., Wang, S., Singh, R.J. and Hymowitz, T. (1998) Possible transfer of resistance to *Heterodera glycines* from *Glycine tomentella* to *Glycin max*. *Journal of Nematology* 30, 547-552.

Rivoal, R. and Cook, R. (1993) Nematode pests of cereals. In: Evans, K., Trudgill, D.L. and Webster, J.M. (eds) *Plant Parasitic Nematodes in Temperate Agriculture*. CAB International, Wallingford, UK, pp. 259-303.

Rivoal, R., Lasserre, F., Hulle, M. and Doussinault, G. (1991) Evaluation de la resistance et de la tolerance a *Heterodera avenae* chex le ble par tests miniatutises. *Mededelingen van den Faculteti Landbouwwettenschappen* 56, 1281-1292.

Ross, J.P. and Brim, C.A. (1957) Resistance of soybeans to the soybean cyst nematode as determined by a double row method. *Plant Disease Reporter* 41, 923-924.

Rouppe van der Voort, J.N.A.M. (1998) Mapping genetic factors controlling potato/cyst nematode interactions. Ph. D. Thesis, Landbouwuniversitcit te Wageningen, The Netherlands. 135 pp.

Rouppe van der Voort, J.N.A.M., Wolters, P., Folkertsma, R. Hutten, R., Van Zandvoort, P., Vinke, H., Kanyuka, K., Bendahmane, A., Jacobsen, E. and Bakker, J. (1997) Mapping of cyst nematode resistance locus *Gpa2* in potato using a strategy based on comigrating AFLP markers. *Theoretical and Applied Genetics* 95, 874-880.

Rouppe van der Voort, J.N.A.M., Lindeman, W., Folkertsma, R. Hutten, R., Overmars, H., Van der Vossen, Jacobsen, E. and Bakker, J. (1998) A QTL for broad-spectrum resistance to cyst nematode species (*Globodera* spp.) maps to a resistance gene cluster in potato. *Theoretical and Applied Genetics* 96, 654-661.

Rousselle-Bourgeois, F. and Mugniery, D. (1995) Screening tuber bearing *Solanum* spp. for resistance to *Globodera rostochiensis* Ro1 Woll. and *G. pallidaa* Pa2/3 Stone. *Potato Research* 38, 241-249.

Schmitt, D.P. and Shannon, G. (1992) Differentiating soybean responses to *Heterodera glycines* races. *Crop Science* 32, 275-277.

Seah, S., Sivasithamparam, K., Karakousis, A. and Lagudah, E.S. (1998) Cloning and characterization of a family of disease resistance gene analoges from wheat and barley. *Theoretical and Applied Genetics* 97, 937-945.

Sharma, S.B. (1998) *The Cyst Nematodes*. Kluwer, Dordrecht, The Netherlands, 452.

Sikora, E.J. and Noel, G.R. (1996) Hatch and emergence of *Heterodera glycines* in root leachate from resistance and susceptible soybean cultivars. *Journal of Nematology* 28, 501-509.

Singh, K.B., DiVito, M., Greco, N. and Saxena, M.C. (1996) Registration of ILWC 292, a chickpea cyst nematode resistant germplasm of *Cicer reticulatum* Ladiz. *Crop Science* 36, 1421-1422.

Singh, R.J., Kolliara, K.P. and Hymowitz, T. (1998) Monosomic alien addition lines derived from *Glycine max* (L) Merr and *G. tomentella* Hayata: production characteristics and breeding behavior. *Crop Science* 38, 1483-1489.

Spielmeyer, W., Robertson, M., Collins, N., Leister, D., SchulzeLefert, P., Seah, S., Moullet, O. and Lagudah, E.S. (1998) A superfamily of disease resistance gene analogs is located on all homologous chromosome groups of wheat (*Triticum aestivum*). *Genome* 41, 782-788.

Subbotin, S.A., Waeyenberge, L. and Moens, M. (2000a) Identification of cyst forming nematodes of the genus *Heterodera* (Nematoda: Heteroderidae) based on the ribosomal DNA-RFLP. *Nematology* 2, 153-164.

Subbotin, S.A., Waeyenberge, L., Molokanova, I.A. and Moens, M. (2000b) Identification of *Heterodera avenae* group species by morphometrics and rDNA-RFLPs. *Nematology* 1, 195-207.

Taylor, C., Shepherd, K.W. and Langridge, P. (1998) A molecular genetic map of the long arm of chromosome 6R of rye incorporating the cereal cyst nematode resistance gene *CreR*. *Theoretical and Applied Genetics* 97, 1000-1012.

Trudgill, D.L. (1985) Potato cyst nematodes: a critical review of the current pathotype scheme. *EPPO Bulletin* 15, 273-279.

Trudgill, D.L. (1991) Resistance and tolerance of plant parasitic nematodes in plants. *Annual Review of Phytopathology* 29, 167-192.

Trudgill, D.L., Evans, K. and Phillips, M.S. (1998) Potato cyst nematodes: damage mechanisms and tolerance in the potato. In: Marks, R.J. and Brodie, B.B. (eds) *Potato Cyst Nematodes: Biology, Distribution and Control*. CAB International Wallingford, UK, pp. 117-133.

Van Riel, H.R. and Mulder, A. (1998) Potato cyst nematodes (*Globodera* species) in Western Europe. In: Marks, R.J. and Brodie, B.B. (eds) *Potato Cyst Nematodes: Biology, Distribution and Control*. CAB International Wallingford, UK, pp. 271-298.

Wheeler, R. (1998) Barley varieties sowing guide, 1998. URL: www.sardi.sa.gov.au.

Williams, K.J., Fisher, J.M. and Longride, P. (199 6) Development of a PCR-based allele specific analysis for RFLP probe linked to resistance to cereal cyst nematode in wheat. *Genome* 39, 198-801.