الطفيليات الداخلية المتجولة:
نيماتودا التقرح والنيماتودا الحفارة

Migratory Endoparasites:
Pratylenchus and *Radopholus* Species

D. De Waele and A. Elsen
Laboratory of Tropical Crop Improvement, Catholic University Leuven (K.U. Leuven), Kasteelpark Arenberg 13, 3001 Leuven, Belguim

تعد أنواع نيماتودا التقرح *Pratylenchus* والنيماتودا الحفارة *Radopholus* من أنواع النيماتودا صغيرة الحجم (طول الأنثى أقل من ١ مم)، متنوعة مصادر التغذية Polyphagous. وتتجول هذه النيماتودا بين الخلايا وداخلها في الجذور والكورمات والدرنات، وتتغذى أساساً على سيتوبلازم خلايا نسيج القشرة. وقد تنهار جدر الخلايا المصابة فتتلاشى تلك الخلايا تاركة مكانها فجوات وقنوات تظهر في صورة بقع موضعية ميتة أو تقرحات ميتة قد تعم كل نسيج القشرة. ويكون لون التقرحات بنياً غامقاً أو قرمزياً محمراً أو أسود، وشكلها بيضوي أو إهليجي، يتوازى محورها مع محور الجذر. ويؤدي ذلك إلى انخفاض قدرة الجذر على امتصاص الماء والمغذيات من التربة. أما أعراض الإصابة على أجزاء النبات فوق سطح التربة فتشمل الاصفرار والتقزم. وفي الموز (موز الفاكهة وموز الطعام) يؤدي ضعف المجموع الجذري المصاب إلى سقوط النباتات عند اكتمال وكبر حجم السباطات، وخصوصاً في الأجواء العاصفة الشديدة. وفي الحقول الملوثة بنيماتودا التقرح قد تصل الخسارة في المحصول إلى نسب كبيرة.

وأهم الأنواع التي تنتمي إلى جنس نيماتودا التقرح *Pratylenchus* spp. في المناطق المعتدلة، وتحت المدارية، والأجزاء الباردة من المناطق المدارية هي الأنواع: *P. crenatus* Loof، و *P. phexincisus* Taylor and Jenbins، و *P. neglectus* (Rensch) Filipjev and Schuurmans Stekhoven، و *P. penetrans* (Cobb) Filipjev and Schuurmans Stekhoven، و *P. scribneri* Steiner، و *P. thornei* Sher and Allen، و *P. vulnus* Allen and Jensen. أما أهم الأنواع في المناطق المدارية فهي: *P. brachyurus* (Godfrey) Filipjev and Schuurmans Stekhoven، و *P. coffeae* (Zimmermann) Filipjev and Schuurmans Stekhoven، و *P. goodeyi* Sher and Allen، و *P. zeae* Graham. ويبدو أن أنواع نيماتودا التقرح تظهر في أي مكان حيث تكون الظروف الحرارية، وخاصة درجة الحرارة، تسمح لها بالحياة.

وبصفة عامة، يمكن القول بأن التوزيع الجغرافي لهذه الأنواع من النيماتودا هو توزيع مناخي جغرافي. أما أهم أنواع نيماتودا الجنس *Radopholus* spp. فهو النوع *R. similis* Cobb الذي يعرف باسم النيماتودا الحفارة Burrowing nematode. ومادام أن فاليتي وآخرين Valette *et al.* (1998) قد اعتبروا أن النوع *R. citrophilus* Huttel, Dickson and Kaplan ما هو إلا اسم مرافق للنوع *R. similis*، فإن النوع *R. similis* يشمل الآن عدداً من عشائر نيماتودا الجنس *Radopholus* (وخاصة في منطقة فلوريدا الأمريكية) التي يمكنها اختراق جذور الموالح. وتنتشر النيماتودا الحفارة *R. similis* في المناطق المدارية وتحت المدارية، وكذلك البيوت المحمية في أوروبا. أما الأنواع الأخرى من الجنس *Radopholus* فتوجد في مواطنها الطبيعية في أستراليا الآسيوية Australasia.

تعد دورة حياة هذه الأجناس من الدورات البسيطة فيوضع البيض في الجذور والكورمات والدرنات، وينسلخ الطور اليرقي الأول إلى الطور اليرقي الثاني داخل البيض. يفقس البيض عن الطور اليرقي الثاني الذي يتطور وينسلخ إلى الطور اليرقي الثالث، فالرابع، فالأطوار الكاملة (طور ما قبل التطفل) في التربة. تتكاثر الأنواع التي تحتوي على إناث وذكور بطريقة التكاثر الخلطي، وذلك كما في الأنواع؛ *R. similis*، و*P. coffeae*، و*P. goodeyi*، و*P. penetrans*، و*P. vulnus*. أما الأنواع الأخرى التي يندر فيها وجود الذكور مثل الأنواع؛ *P. brachyurus*، و*P. neglectus*، و*P. thornei*، و*P. zeae* فتتكاثر بكرياً Parthenogenetically. أما الوقت الذي تستغرقه دورة الحياة فيختلف فيما بين الأنواع، ويعتمد ذلك على درجة الحرارة السائدة. فالأنواع التي تعيش في المناطق المدارية مثل: *P. brachyurus*، و*P. zeae* تكمل دورة حياتها في غضون ٣-٤ أسابيع على درجة حرارة ٣٠ °م (Olowe and Corbett, 1976). أما الأنواع التي تعيش في المناطق الباردة مثل النوع *P. penetrans* فتكمل دورة حياتها في غضون ٦-٧ أسابيع على درجة حرارة ٢٠ °م (Mamiya, 1971).

توجهت الجهود المبذولة في اختبارات تقويم مقاومة الأصناف للنيماتودا المتطفلة على النباتات بصفة أساسية نحو تعريف صفة المقاومة تجاه أنواع النيماتودا الداخلية التطفل الساكنة مثل: نيماتودا تعقد الجذور *Meloidogyne* spp.، ونيماتودا الحوصلات *Globodera* spp. و*Heterodera* spp.. وبالفعل تم تعريف صفة المقاومة تجاه هذه الأنواع من النيماتودا التي تعد أساساً أكثر أنواع النيماتودا تخصصاً على عوائلها (Cook and Evans, 1987؛ Roberts, 1992؛ De Waele, 1996). ولأن العلاقة بين الطفيل والعائل هي علاقة محكومة وراثياً، فيبدو أن الانتخاب الطبيعي لجينات المقاومة يظهر بأكثر ما يمكن في أكثر التداخلات تعقيداً بين الطفيل والعائل (Roberts, 1972؛ Sidhu and Webster, 1981). وعلى العكس من ذلك، كانت المجهودات المبذولة في نقل صفة المقاومة إلى المحاصيل الزراعية التي تعاني من الانخفاض في محصولها بسبب الإصابة بنيماتودا التقرح *Pratylenchus*، والنيماتودا الحفارة *Radopholus* قليلة، وذلك لأن العلاقات بين العائل والطفيل في هذه المجموعة من النيماتودا الداخلية التطفل المتجولة هي علاقات أقل

تخصصاً مقارنة بمثيلتها في حالة النيماتودا داخلية التطفل الساكنة، كما كانت تلك المجهودات أيضاً أقل نجاحاً. ومع ذلك، فإنه من الممكن الحصول على مصادر للمقاومة أو التحمل تجاه أنواع نيماتودا التقرح والنيماتودا الحفارة.

يبنى تقييم المحاصيل الزراعية من حيث قدرتها على دعم تكاثر النيماتودا وتأثرها بالضرر الذي تحدثه النيماتودا جراء ذلك على أربعة مصطلحات هي المقاومة Resistance، والقابلية للإصابة Susceptibility، والتحمل Tolerance، والحساسية Sensitivity، وقد تم تعريف المقاومة/القابلية للإصابة من جهة والتحمل/الحساسية من جهة أخرى بواسطة بوس وبارليفليت Boss and Barlevliet (1995) كصفات نسبية مستقلة في العائل النباتي بناءً على المقارنات التي شوهدت بين التراكيب الوراثية المختلفة. فقد يوقف العائل النباتي تكاثر النيماتودا (مقاوم)، أو يسمح لها بالتطور والتكاثر (قابل للإصابة)، وقد لا يتضرر العائل النباتي إلا قليلاً (متحمل) حتى لو كان مصاباً بشدة بالنيماتودا، أو قد يعاني ضرراً شديداً (حساس) حتى لو كان مستوى إصابته بالنيماتودا ضئيلاً. ومن ثم فإنه يمكن تقسيم التراكيب الوراثية المقاومة للنيماتودا إلى: مقاوم تماماً، أو شديد المقاومة، أو مقاوم جزئياً، وذلك إذا كانت تلك التراكيب لا تسمح للنيماتودا بالتكاثر عليها مطلقاً، أو تسمح بتكاثر متوسط للنيماتودا، أو تسمح بتكاثر قليل للنيماتودا، على الترتيب. أما التركيب الوراثي غير المقاوم أو القابل للإصابة فإنه يسمح للنيماتودا بالتكاثر عليه بحرية تامة (انظر الفصل الثاني).

المصادر والتوارث
Sources and Genetics

محاصيل الحبوب Cereals

وجدت صفة المقاومة تجاه العديد من أنواع نيماتودا التقرح *Pratylenchus* spp. في الذرة *Zea mays*، وكذلك في النوعين *Z. diploperennis*، و*Z. perennis*، وهما نوعان ذوا أصول قريبة جداً من الذرة، بل يمكن اعتبارهما أبوين لها. ويمكن تهجين النوع *Z. diplopernnis* الثنائي الأساس الكروموسومي بنجاح مع الذرة (Pohl and Albertsen, 1981)، بل قد أمكن الحصول على هجن خصبة بواسطة الكثير من مربيي النباتات. وفي البيوت الزجاجية، وجد أن النوعين *Z. diploperennis* و*Z. perennis* لا يدعمان تكاثر نيماتودا التقرح *P. hexincisus*، مقارنة ببعض سلالات الذرة العادية، إلا أنه لم يشاهد مثل ذلك في الحقول المكشوفة (Norton, 1989). وفي الولايات المتحدة الأمريكية، تم تسجيل مقاومة بعض الهجن المحسنة من الذرة لنيماتودا التقرح *P. hexincisus*، وتشمل تلك الهجن كلاً من: "SD101 (PI533.658)"، و"SD102 (PI533.659)"، و"SD103 (PI533.660)" (Wicks *et al.*, 1990a;b). ويعد الهجين "SD101" مقاوماً لكل من نوعي نيماتودا التقرح *P. hexincisus*، و*P. scribneri*، وكذلك الفطرين *Exserohilum turcicum* (*Setosphaera turcica*)، و*Diplodia maydis* (*Stenocarpella maydis*).

وجدت أيضاً صفة المقاومة تجاه النوعين *P. brachyurus*، و*P. zeae* في الذرة، كما شوهدت اختلافات في قابلية الذرة للإصابة بالنوع *P. penetrans*. وفي عام ١٩٩٨م، قام كنج يو وآخرون Qing-Yu *et al.* (1998) بتقييم قدرة ١٣ سلالة من الذرة تم اختيارها عشوائياً على دعم تكاثر عشيرة من نيماتودا التقرح *P. penetrans* تحت ظروف البيت الزجاجي وغرفة النمو. وقد كشفت نتائج هذه الدراسات عن تكاثر ضئيل للنيماتودا على الأصناف "Earlivee"، و"Seneca Horizon"، و"Lyric"، و"Grant"، و"King Arthur"، وذلك في كل من البيت الزجاجي وغرفة النمو على حد سواء. أما عن توارث صفة المقاومة في الذرة تجاه نوعي نيماتودا التقرح *P. zeae*، و*P. brachyurus* فقد درست بواسطة سوازاكي وآخرين Sawazaki *et al.* (1987)، وذلك باستخدام عشائر انعزالية تم الحصول عليها من التهجين بين السلالة "Col 2(22)" المقاومة والسلالة "IP 48-5-3" القابلة للإصابة، وقد تمت تلك الدراسات بزراعة هذه العشائر النباتية الانعزالية في حقل ملوث طبيعياً بكل من نوعي نيماتودا التقرح *P. zeae*، و*P. brachyurus*. وبناءً على مقياس عدد النيماتودا/جم جذور، وذلك بعد ٨٠ يوماً من الإنبات، خلص الباحثون إلى أن صفة المقاومة في هذه العشائر النباتية الانعزالية تعود إلى جينين سائدين لهما أيضاً تأثيرات إضافية Additive effects.

وجدت بعض المصادر النباتية المقاومة أو المتحملة لنيماتودا التقرح *P. thornei* و*P. neglectus* في أستراليا، وقد نتج عن تلك المصادر عدة أصناف من القمح *Triticum asetivum* المتحملة لأحد النوعين أو كلاهما معاً. وكانت الأصناف "Sunvale"، و"Baxter"، و"Sturt"، و"Kennedy"، و"Pelsart"، و"Tasman"، و"Houtman" متحملة لنيماتودا التقرح *P. thornei*، بل أيضاً تمتلك جينات مرتبطة للمقاومة تجاه فطر الصدأ المخطط *Puccinia striiformis* وفطر الصدأ الأسود *P. graminis*، وفطر الصدأ الأصفر *P. recondita*. كما كان الصنف "Sunvale" أيضاً متحملاً بدرجة متوسطة لمرض عفن التاج Crown rot الذي يسببه الفطر *Gibberella zeae*، كما كان الصنف "Pelsart" مقاوماً لمرض التفحم اللوائي Flag smut الذي يسببه الفطر *Urocystis agropyri*، ومتوسط التحمل لنيماتودا حوصلات الحبوب *Heterodera avenae*، وكان الصنف "Houtman" مقاوماً لمرض التفحم اللوائي، ومقاوماً جزئياً لمرض عفن التاج وعفن الجذور العادي الذي يسببه الفطر *Cochliobolus sativus* (Anon., 1994 ؛ Anon., 1997a,b,c ؛ Brennan *et al.*, 1994a,b,c ؛ Ellison *et al.*, 1995). وجدت أيضاً صفة المقاومة تجاه نيماتودا التقرح *P. thornei* في بعض أنواع محاصيل الحبوب البرية مثل النوع *Aegilops tauschii*. وقد اختبر طومسون وهيك Thompson and Heak (1997) مقاومة ٢٤٤ تركيباً وراثياً من حبوب النوع *A. tauschii* تم جمعها من وسط آسيا تجاه نيماتودا التقرح *P. thornei* في سلسلة من التجارب في البيت المحمي. والنوع *A. tauschii* هو نبات بري عشبي يشبه القمح وهو مصدر غني بجينات المقاومة تجاه مجموعة من الآفات والأمراض (Cox *et al.*, 1992). وقد أوضحت نتائج تلك الاختبارات أن هناك ٣٩ تركيباً وراثياً accessions من حبوب *A. tauchii* لم تدعم نباتاتها تكاثر نيماتودا التقرح *P. thornei*. حيث كانت

أعداد النيماتودا في جذورها أقل كثيراً مما هي عليه في جذور السلالة "GS50a" المقاومة جزئياً لهذه النيماتودا التي تم استخدامها كصنف قياسي قابل جزئياً للإصابة في تلك الاختبارات. وقد كانت المقاومة صفة شائعة في النبات *A. tauschii* subsp. *strangulata* حيث وجدت في ٢٠ تركيباً وراثياً من أصل ٤٠ تركيباً من هذه النباتات، وقد تم تصنيف هذه المجموعات العشرين على أنها مقاومة، بينما لم تصنف أية مجموعة على أنها قابلة للإصابة. أوضحت النتائج أيضاً وجود ثلاثة من أصل أربعة تراكيب وراثية من النبات *A. tauschii* var. *meyeri* كانت تحتوي على الجين *Cre3* المقاوم لنيماتودا حوصلات الحبوب *H. avenae*، وكانت هذه المجموعات مقاومة أيضاً لنيماتودا التقرح *P. thornei*. ولو كان الجين *Cre3* يمنح بالفعل صفة المقاومة تجاه نيماتودا التقرح *P. thornei* فإنه سوف يكون ذا قيمة كبيرة جداً في برامج تربية القمح في المناطق التي يوجد فيها كل من نيماتودا حوصلات الحبوب *H. avenae*، ونيماتودا التقرح *P. thornei*. وقد أوضحت الدراسات أيضاً أن جميع التراكيب الوراثية من النبات *A. tauschii* subsp. *strangulata* المقاومة لنيماتودا التقرح *P. thornei* كانت قابلة للإصابة بنيماتودا حوصلات الحبوب *H. avenae*. وفي صدد آخر، قام نومبلا وروميرو Nombela and Romero (1999) باختبار رد فعل السلالة "H93-8" التي تحتوي على الجين *Cre2* المقاوم لنيماتودا حوصلات الحبوب *H. avenae* تجاه نيماتودا التقرح *P. thornei*. وقد أوضحت تجارب غرف النمو أن هذه السلالة كانت مقاومة لنيماتودا التقرح *P. thornei*، ولكن في تجربة حقلية مدتها خمسة أشهر كانت هذه السلالة على نفس الدرجة من القابلية للإصابة كالصنف القياسي المقارن القابل للإصابة. وفي دراسة أخرى، تم تقييم ١٨ صنفاً من القمح (تختلف في ردود أفعالها تجاه نيماتودا التقرح *P. thornei*) وسلالة وتحت سلالة تشابه في تركيبها الوراثي ذلك التركيب الوراثي الموجود في الشيلم Rye (بما فيها التريتيكال Triticales) من حيث مقاومتها جميعاً لنيماتودا التقرح *P. neglectus* تحت ظرف البيت المحمي (Farsi *et al.*, 1995). وقد أوضحت النتائج وجود اختلافات معنوية في أعداد النيماتودا/نبات، وكذلك في أعداد النيماتودا/جم من الجذور الجافة فيما بين المجموعات النباتية الثلاثة المختبرة. وكانت أعداد النيماتودا على جذور سلالتي التريتيكال "Abacus"، و"Muir" أقل ما يمكن. وبذلك يمكن اعتبار التريتيكال (هجين بين القمح والشيلم) محصول دورة ناجح في حقول القمح الملوثة بنيماتودا التقرح *P. neglectus*. أما أصناف القمح التي تختلف في ردود أفعالها تجاه نيماتودا التقرح *P. thornei* فلم يكن بينها صنف واحد مقاوم، مما يدل على أن الميكانيكية الوراثية التي تمنح صفة المقاومة أو التحمل تجاه نيماتودا التقرح *P. thornei* ليست فعالة تجاه نيماتودا التقرح *P. neglectus*. وقد قام فانستون وآخرون Vanstone *et al.* (1998) بترتيب تسعة أصناف من القمح من حيث قابليتها بنوعي نيماتودا التقرح *P. thornei*، و*P. neglectus*. وقد وجدوا أن الصنف المتحمل "Excalibur" يتفوق في إنتاجيته بنسبة ٣٣٪ في حالة وجود نيماتودا التقرح *P. thornei*، وبنسبة ١٩ - ٢٣٪ في حالة وجود نيماتودا التقرح *P. neglectus*، مقارنة بإنتاجية الأصناف غير المتحملة. كما وجدوا أن هذا الصنف تنخفض نسبة وجود

النيماتودا أيضاً في جذوره بحوالي ٦٣ – ٦٩٪، مقارنة بالأصناف غير المتحملة الأخرى التي شملتها تجربتهم الحقلية. وعلى عكس ذلك، وجد فارسي وآخرون Farsi *et al.* (1995) أن ردود أفعال الأصناف كانت – على غير المتوقع– متماثلة لكلا النوعين من النيماتودا. ومع ذلك، اعتبر فانستون وآخرون Vanstone *et al.* (1998) أنه من المشكوك فيه أن تكون صفة المقاومة أو التحمل في صنف ما تجاه أنواع نيماتودا التقرح قادرة على مقاومة أو تحمل نوع آخر من نفس النيماتودا، أو أنه ليس بالضرورة أن يتم ذلك. ومن ثم فإنه من المستحيل أن يتماثل رد فعل جميع أصناف القمح تجاه نوعين معينين من تلك النيماتودا. وتتميز أصناف القمح المتحملة ليس فقط بزيادة محصولها، ولكن أيضاً بخفض التكاليف التي يتحملها المزارع في إدارة النيماتودا.

وفي الأرز *Oryza sativa*، قد توجد أصناف ترتبط فيها صفة التحمل تجاه نيماتودا التقرح *P. zeae* بمقاومة الجفاف حيث تكون جذور هذه الأصناف متعمقة في التربة (Plowright *et al.*, 1990). وقد قام تاونشند Townshend (1989) باختبار رد فعل صنفين من الشوفان *Avena sativa* هما "Saia"، و"OAC Woodstock" تجاه كل أنـواع نيماتـودا التقرح ؛ *P. neglectus*، و*P. crenatus*، و*P. penetrans*، و*P. sensillatus* تحت ظروف البيت الزجاجي، وقد وجد أن كلا الصنفين كان مقاوماً للنوع *P. penetrans*، وقابلاً للإصابة بالنوع *P. sensillatus*، وأن الصنف "Saia" كان أقل قابلية للإصابة بكل من النوعين *P. neglectus*، و*P. Penetrans*، مقارنة بالصنف "OAC Woodstock".

وفي عام ١٩٩٠م، سجل ساتو وآخرون Sato *et al.* (1990) صنف العشب الغيني "Natsukaze" المقاوم لنيماتودا التقرح *P. brachyurus* وعدة أنواع من نيماتودا تعقد الجذور. وقد اشتق هذا الصنف من عزلات من عشبة القصبة *Panicum maximum*.

محاصيل الجذور والدرنات Root and tuber crops

أجريت أبحاث تفصيلية لدراسة مقاومة أصناف مختلفة من البطاطس *Solanum tuberosum* لنيماتودا التقرح *P. penetrans*، وذلك عندما قام برودي وبليستد Broodie and Plaisted (1993) بتقييم مقاومة سلالات بطاطس تم الحصول عليها من خمس عشائر من نيماتودا التقرح *P. penetrans*. وقد أوضحت تلك الدراسة أن سلالات البطاطس التي كان تكاثر النيماتودا عليها أقل ما يمكن هي السلالات الناتجة من عشيرة تربـوية مشتقة من الهجين الناتج عن التهجين بين النوعـين *S. tuberosum* spp. *andigena*، و*S. tuberosum* spp. *tuberosum*. ويحتوي هذا الهجين على بعض التركيب الوراثي للنوع *S. vernei* المقاوم لنيماتودا حوصلات البطاطس *Golobodera pallida*. وقد كان معظم، وليس كل، السلالات ذات القابلية المنخفضة للإصابة بنيماتودا التقرح *P. penetrans* مقاومة لنيماتودا حوصلات البطاطس *G. pallida* (P_4A، وP_5A) و*G. rostochiensis* (Ro1). وبالرغم من أن توارث صفة المقاومة تجاه نيماتودا التقرح *P. penetrans* لم يكن قد درس بعد، إلا أن التغير في المستويات المختلفة للمقاومة فيما

بين التجارب المختلفة قد يقود إلى اقتراح أن ردود الأفعال هذه ربما تتوارث كمياً وليست محكومة بجين مفرد سائد. ومن ثم، فإن هذه المقاومة هي صفة يتدخل فيها كل من التركيب الوراثي، والظروف البيئية. ومثل هذه التداخلات قد تكون هي المسؤولة عن هذا التغير الكبير نسبياً المشاهد فى صورة أعداد النيماتودا بكل وحدة من الجذور في النباتات المقاومة في الاختبارات المختلفة. وقد كان هناك فيما سبق بعض الدراسات الأقل تفصيلاً حول تقييم أصناف البطاطس التجارية من حيث قدرتها على دعم تكاثر نيماتودا التقرح *P. penetrans* (Bernard and Laughlin, 1976 ؛ Olthof, 1986). وقد وصف صنفا البطاطس "Peconic"، و"Hudson" بأنهما منخفضي القابلية للإصابة بنيماتودا التقرح *P. penetrans*، ولكن ليس هناك ما يؤيد ذلك (Broodie and Plaisted, 1993). وتبعاً لما أورده برودي وبليستد Broodie and Plaisted (1993) فإن قدرة الصنف "Hudson" على دعم تكاثر بعض العزلات المختلفة جغرافياً من نيماتودا التقرح *P. penetrans*، ولو بنسب مختلفة، تؤدي إلى اقتراح وجود سلالات بيولوجية Biological races لهذا النوع من النيماتودا. أما صنف البطاطس "Butte" فقد ورد على أنه صنف عالي المقاومة لنيماتودا التقرح *P. neglectus*، وأن لديه بعض المقاومة للنوع *P. penetrans* (Davis *et al.*, 1992).

وفي اليابان، تم اختبار مقاومة أصناف من البطاطا الحلوة *Ipomoea batatas* لنيماتودا التقرح *P. coffeae*، وقد أسفر ذلك عن الإعلان عن وجود أصناف مقاومة هي: "Fusabeni"، و"Joy White"، و"J-Red"، و"Sunny Red" (Tarumoto *et al.*, 1990 ؛ Yamakawa *et al.*, 1995 ؛ Yamakawa *et al.*, 1998 ؛ Yamakawa *et al.*, 1999). ومن المشوق أن نجد أن هذه الأصناف الأربعة مقاومة أيضاً لنيماتودا تعقد الجذور *M. incognita*. وإضافة إلى ذلك، فقد وجد أن الصنف "Fusabeni" متوسط المقاومة لكل من مرض عفن التربة الذي تسببه البكتيريا *Streptomyces ipomea*، ومرض عفن الساق الذي يسببه الفطر *Fusarium oxysporum*، بينما كان الصنف "Joy White" متوسط المقاومة للفطر *Ceratocystis fimbriata*. وفي تجارب أولية داخل البيوت الزجاجية، لم تنجح نيماتودا التقرح *P. flakkensis* في التكاثر على ٢٠ صنفاً من البطاطا الحلوة التي تم اختبارها (Anguiz and Canto-Saenz, 1991).

موز الفاكهة وموز الطعام (*Musa* spp.)

Banana and Plantain (*Musa* spp)

هناك مصدران ثابتان للمقاومة في الموز *Musa* للنيماتودا الحفارة *R. similis* هما مجموعة Pisang Jari Buaya، ومجموعة Yangambi km5 (Wehunt *et al.*, 1978 ؛ Pinochet and Rowe, 1979 ؛ Sarah *et al.*, 1992 ؛ Price, 1994b ؛ Viaene *et al.*, 1997 ؛ Fogain and Gowen, 1998 ؛ Stoffelen *et al.*, 2000a ؛ Stoffelen *et al.*, 2000a ؛ Stoffelen *et al.*, 2000b). وتتكون المجموعة Pisang Jari Buaya من تركيب وراثي ثنائي الأساس الكروموسومي AA، وقد وجد من هذه المجموعة عدة أصناف يمكنها أن تنمو في التربة الملوثة بالنيماتودا الحفارة *R. similis* دون أن تظهر عليها أية

أعراض (تقرحات) مرضية (Wehunt *et al.*, 1978). وقد نتج عن استخدام المجموعة Pisang Jari Buaya في برامج تربية الموز بواسطة هيئة FHIA في هندوراس ظهور الهجين ثنائي الأساس الكروموسومي AA المقاوم للنيماتودا الحفارة *R. similis* والمعروف بالاسم "SH-3142" (Pinochet and Rowe, 1979). وقد نتج عن التهجين بين الهجين "SH-3142" والصنف "Prata Aña" ثلاثي الأساس الكروموسومي AAA ظهور الهجين "FHIA-01" الرباعي الأساس الكروموسومي AAAB (Rowe and Rosales, 1993). وقد كان الهجين "FHIA-01" مقاوماً جزئياً للنيماتودا الحفارة *R. similis*، وذلك عند تقييم النباتات ذات العمر ٣–٤ أشهر الناتجة من الكورمات، ولكنه كان قابلاً للإصابة تماماً كالصنف القابل للإصابة القياسي، وذلك عند تقييم النباتات الناتجة من مزارع الأنسجة بنفس العمر (Viaene *et al.*, 1998). وتعد المجموعة Yangambi km5 من التراكيب الوراثية ثلاثية الأساس الكروموسومي AAA، وقد تم جمعها من جمهورية الكونغو الديموقراطية ويبدو أنها قريبة الصلة من بعض التراكيب الوراثية الماليزية. وبالرغم من خصوبة كل من النباتات الذكرية والأنثوية في هذه المجموعة، فإن هذه التراكيب الوراثية لا تستخدم في برامج تربية الموز *Musa* بسبب أن النباتات البنوية (الذرية) الناتجة منها تكون عادة ذات أوراق غير طبيعية المظهر، وأفرع قائمة أو نصف قائمة. وبالإضافة إلى هذين المصدرين المعروفين للمقاومة تجاه النيماتودا الحفارة *R. similis*، فهناك مصادر أخرى محتملة للمقاومة تم الحديث عنها في بعض التقارير، ولكن هذه المصادر تحتاج إلى من يثبت مقاومتها بالفعل. وفي الكاميرون، وجدت ثلاث مجموعات ثنائية الأساس الكروموسومي نتجت من مجموعة الموز البري *Musa balbisiana* (BB)، وكانت هذه المجموعات الثلاث مماثلة في مقاومتها للنيماتودا الحفارة *R. similis* تماماً المجموعة Yangambi km5، وذلك في اختبارات البيوت الزجاجية، في حين كانت ثلاثة تركيبات ثلاثية الأساس الكروموسومي من المجموعة AAB ("Pisang Kelat"، و"Foconah" من مجموعة Pome group، و"Pisang Celan" من مجموعة Mysore group) أقل قابلية للإصابة بالنيماتودا الحفارة *R. similis* من نباتات المقارنة (Fogain, 1996). وقد شوهد انخفاض قابلية التراكيب الوراثية الثلاثة الأخيرة للإصابة أيضاً في بعض الاختبارات الحقلية الأخرى (Price and McLare, 1996). وفي نيجيريا، وجد أن الهجين "PITA-8" وهو هجين موز طعام رباعي AAAB مقاوم لمرض سيجاتوكا الأسود black Sigatoka disease الذي يسببه الفطر *Mycosphaerella fijiensis* لا يصاب بالنيماتودا الحفارة *R. similis* تحت الظروف الحقلية (Afreh-Nuamah *et al.*, 1996). وفي تجارب في البيت المحمي ببلجيكا، أسفرت نتائج تقييم رد فعل ٢٥ صنف موز من مجموعة *Eumusa* (AA)، وسبعة أصناف من مجموعة *AustraliMusa* (Fe' i) تم جمعها من غينيا الجديدة تجاه الإصابة بالنيماتودا الحفارة *R. similis* ظهور الصنف المقاوم "Rimina" وهو من مجموعة Fe'i، والصنف "Menei" من نفس المجموعة أيضاً كمصدر ممكن للمقاومة تجاه النيماتودا الحفارة *R. similis* (Stoffelen *et al.*, 2000b ؛ Stoffelen *et al.*, 1999b). وبالرغم من أن الموز من مجموعة Fe'i ذي بذور وحبوب لقاح

شديدة العقم، ودليل حصاده أيضاً منخفض جداً، وتنمو عذوقه بشكل قائم، إلا إن مقاومته للنيماتودا الحفارة توجب البحث في إمكانية تهجين ودمج هذا الموز مع مجموعة موز *Eumusa* وقد ورد الصنف "Gros Michel" وهو صنف موز ثلاثي AAA كصنف منخفض القابلية للإصابة بالنيماتودا الحفارة *R. similis* (Mateille, 1992 ؛ Price, 1994b)، ولكن هذا لم يتم تأكيده بشكل قاطع (Stoffelen *et al.*, 2000a).

شوهدت العديد من الاختلافات التشريحية المرضية بين التراكيب الوراثية للموز *Musa* المقاوم والقابل للإصابة بالنيماتودا الحفارة *R. similis*. وفي الصنف "Gros Michel"، وجد أن حركة النيماتودا، وتطور أعراض الموت الموضعي في أنسجة القشرة الخارجية بطول محور الجذر قد انخفضت كثيراً مقارنة بمثيلتها في الصنف القابل للإصابة "Poyo" (Mateille, 1994). وفي مجموعة الموز Yangambi km5 شوهدت النيماتودا الحفارة *R. similis* فقط في نسيج القشرة في الجذر، ولم تشاهد في نسيج الأسطوانة الوعائية كما هو الحال في الصنف "Poyo" القابل للإصابة (Valette *et al.*, 1997). ولكن الأساس الوراثي لصفة المقاومة في الموز *Musa* تجاه النيماتودا الحفارة لم يتضح تماماً حتى الآن. وقد أثبتت الاختبارات الأولية أن توارث صفة المقاومة في مجموعة Pisang Jari Buaya تجاه النيماتودا الحفارة محكومة بواحد أو أكثر من الجينات السائدة (Pinochet, 1988a).

ولايعد الموز من مجموعة Yangambi km5 مقاوماً فقط للنيماتودا الحفارة، ولكن ذكر أيضاً أنه مقاوم جزئياً لنيماتودا التقرح *P. goodeyi* (Fogain and Gowen, 1998 ؛ Pinochet *et al.*, 1998). وبناءً على نتائج تجارب حقلية، وجد أن كلاً من صنفي الموز *M. acuminata*، و*M. balbisiana* كان منخفض القابلية للإصابة بنيماتودا التقرح *P. goodeyi*، وبالمثل كان صنف موز الطعام "Banana Cochon" وهو من أنواع الموز الثلاثية AAA من تحت المجموعة Lujugira (Price, 1994a). وفي منطقة كوجيرا بتنزانيا، يدل استبدال الأصناف المحلية بين موز الطعام وموز البيرة بأصناف مثل: "Gros Michel"، و"Pisang Awak" (من المجموعة الثلاثية ABB)، و"Kanana" (من المجموعة الثنائية AB)، وجميعها أصناف منخفضة القابلية للإصابة بنيماتودا التقرح *P. goodeyi*، وهي النيماتودا الشائعة الانتشار على الموز في هذه المنطقة (Speijer and Bosch, 1996)، أن المزارعين قد اختاروا هذه التراكيب الوراثية تلقائيا ودون قصد بسبب وجود النيماتودا.

البرسيم الحجازي (*Medicago sativa*) Lucerne

أوردت الكثير من التقارير وجود اختلافات في ردود أفعال التراكيب الوراثية من البرسيم الحجازي تجاه نيماتودا التقرح *P. penetrans* (Townshend and Baenziger, 1977 ؛ Nelson *et al.*, 1985 ؛ Christie and Townshend, 1992)، وقد تختلف النباتات فيما بينها داخل التركيب الوراثي الواحد في خصائصها الوراثية، ومن بينها المقاومة

للنيماتودا (Thies *et al.*, 1994). وتساهم خصائص التلقيح الخلطي، والوراثة الرباعية في البرسيم الحجازي كثيراً في وجود مثل هذه الاختلافات. وفي عام ١٩٨٩م، ظهر تركيبان وراثيان من البرسيم الحجازي هما: "MNGRN-2"، و"MNGRN-4" المتحملان لنيماتودا التقرح *P. penetrans* في الولايات المتحدة الأمريكية (Barnes *et al.*, 1990). وقد أظهر هذان التركيبان الوراثيان تفوقاً في الأداء المحصولي عند زراعتهما في حقول شديدة التلوث بنيماتودا التقرح *P. penetrans*. كما أظهرت الدراسات المخبرية والحقلية أن تكاثر النيماتودا *P. penetrans* قد انخفض بنسبة ٢٠ – ٣٠٪ على هذين التركيبين الوراثيين مقارنة بالصنف القابل للإصابة "Baker". وتتميز التراكيب الوراثية المتحملة للإصابة باحتواء جذورها على العديد من الجذور الليفية Fibrous roots حتى في وجود النيماتودا. وقد أظهر التركيبان الوراثيان "MNGRN-2" و"MNGRN-4" أيضاً بعض المقاومة لكل من: البكتيريا *Clavibacter michiganensis* subsp. *insidiosus*، والفطر *Fusarium oxysporum* f. sp. *medicaginis*، والفطر *Phytophthora megasperma* f. sp. *medicaginis*. وقد تمت دراسة توارث صفة المقاومة في التركيب الوراثي MNGRN-4 تجاه نيماتودا التقرح *P. penetrans* باستخدام نظام التزاوج ثنائي الأليل Diallel mating design (Thies *et al.*, 1994). ويدل الارتباط القوي بين متوسطات العزلات الأبوية ومتوسطات الذرية S1 بالنسبة لأعداد النيماتودا في الجذور أن صفة المقاومة تجاه نيماتودا التقرح *P. penetrans* هي صفة محكومة بفعل جيني تراكمي Additive gene action.

الأصول (الخوخ، والبرقوق، والمشمش، والورد، والموالح)

Rootstocks (*Prunus* spp., *Rosa* spp., *Citrus* spp.)

وجدت صفة المقاومة والتحمل للإصابة بنيماتودا التقرح *P. penetrans* في بادرات أصول الخوخ *Prunus persica* من الأصناف: "Bailey"، و"Br520-8"، و"Chui Lum Tao"، و"Guardian"، و"Higama"، و"Rubira"، و"Pisa"، و"Rutgers Red Leaf"، و"Tzim Pee Tao"، وكذلك الهجن الناتجة من التهجين بين الصنفين "Rutgers Red Leaf" و"Tzim Pee Tao" (McFadden-Smith *et al.*, 1998 ؛ Layne, 1987 ؛ Potter *et al.*, 1984). وعلى العكس من ذلك، كانت الأبحاث حول صفة المقاومة تجاه نيماتودا التقرح *P. vulnus* أقل نجاحاً، وقد أسفرت جهود الأبحاث عن المقاومة تجاه هذه النيماتودا في كل من الولايات المتحدة الأمريكية (Culver *et al.*, 1989 ؛ Ledbetter and Ledbetter, 1994 ؛ Shonnard, 1991)، وفرنسا (Scotto La Massese, 1975 ؛ Crossa-Raynaud and Audergon, 1987 ؛ Stalin *et al.*, 1994)، وإسبانيا (Marul and Pinochet, 1991 ؛ Pinochet *et al.*, 1996) عن اكتشاف مصادر جيدة للمقاومة في بادرات البرقوق من الصنفين "Bokhara"، و"Shalil" (Okie, 1987)، وكذلك في بعض الأنواع البرية والهجن من البرقوق *Prunus domestica*، والمشمش *Prunus armeniaca*، وبعض الهجن فيما بين هذين النوعين (Scotto La Massese, 1975 ؛ Ledbetter, 1994 ؛ Pinochet *et al.*, 1996). وفي فرنسا وإسبانيا، تم إدخال صفة

المقاومة تجاه نيماتودا تعقد الجذور الأكثر شيوعاً وارتباطاً بجذور أشجار الفاكهة ذات النواة الحجرية في حوض البحر الأبيض المتوسط في أصول جديدة من البرقوق. وفي معظم الحالات، كانت أصول البرقوق المقاومة لنوع أو أكثر من نيماتودا تعقد الجذور *Meloidogyne* spp. قابلة للإصابة بنيماتودا التقرح *P. vulnus* (Marull and Pinochet, 1991؛ Stalin *et al.*, 1998). ويستثنى من ذلك هجين البرقوق "Bruce"، وهو أحد الأصول القليلة المقاومة لكل من نيماتودا تعقد الجذور *M. incognita*، ونيماتودا التقرح *P. vulnus* (Pinochet *et al.*, 1996). وبناءً على نتائج تقييم خمسة أصناف في البيت الزجاجي، كان نوع اللوز *Prunus amygdalus* عائلاً فقيراً لنيماتودا التقرح *P. neglectus*، وغير عائل لنيماتودا التقرح *P. thornei* (Marull *et al.*, 1990). تم أيضاً نقل صفة المقاومة تجاه نيماتودا التقرح *P. vulnus* إلى الصنف "Ludiek" وهو من أصول الورد *Rosa multiflora* (Schneider *et al.*, 1995).

وفي الموالح، ظهر أول أصل مقاوم للنيماتودا الحفارة *R. similis* عام ١٩٦٤م (Cook and Evans, 1987). وقد تم تعريف صفة المقاومة بعد ذلك في ١٥ سلالة فقط من بين ١٤٠٠ سلالة تم اختبارها. وقد كانت الأصناف؛ "Milam" (المنتخب من الليمون المخرفش *Citrus lemon*)، والأناناس "Ridge"، والبرتقال أبو سرة الجزائري *C. sinensis* مقاومة، فيما كان صنف الليمون المخرفش "Estes" (*C. jambhiri*) متحملاً ولكنه قابل للإصابة، بينما كان الهجين "Carrizo" (*Poncirus trifoliata* × *C. sinensis*) مقاوماً بعض الشيء ويبدو أنه متحمل أيضاً. وقد وجد أن النوع *Balsamocitrus dawaii* يشكل مصدراً للمقاومة تجاه عشائر النيماتودا الحفارة *R. similis* (Kaplan, 1990).

الفراولة وتوت العليق (*Rubus* spp.) and raspberry (*Fragaria* spp.) Strawberry

في الفرولة (*Fragaria* × *ananassa*) يوجد تغير في ردود أفعال الأصناف تجاه نيماتودا التقرح *P. penetrans*. وتشمل الأصناف منخفضة القابلية للإصابة بهذه النيماتودا كلاً من "Guardian"، و"Redchief"، و" Senga Sengana"، و"Micmac" (Dale and Potter, 1998). ويبدو أن الأصناف بطيئة النمو ثنائية موسم الإثمار التي تنتمي لمجموعة Lassen family group بولاية كاليفورنيا الأمريكية هي الأكثر مقاومة، مما يدل أنه في داخل برامج التربية بشمال أمريكا، كان المربون في كاليفورنيا هم المهتمون بالانتخاب لصفة المقاومة تجاه نيماتودا التقرح *P. penetrans* دون غيرهم (Dale and Potter, 1998). ويؤدي كل من طبيعة التغير المستمر في ردود الأصناف، وما أثبته بوتر ودالي Potter and Dale (1994) من أن التهجين بين النوعي الذي تم بين الصنف القابل للإصابة "Midwag" والصنف المقاوم جزئياً "Guardian" كآباء وهو الذي أنتج ذرية بعضها كان مقاوماً بنفس درجة مقاومة الصنف "Guardian"، إلى اقتراح أن صفة المقاومة في الفراولة تجاه نيماتودا التقرح *P. penetrans* يمكن تحسينها بواسطة برامج التربية. وقد

وجدت صفة المقاومة والتحمل لنيماتودا التقرح *P. penetrans* في كل من الفـراولة البرية .*Fragaria* spp، والفراولة الشـاطئية *F. chiloensis*، والفراولة الخشبية *F. virginiana* (Potter and Dale, 1994).

تم تعريف صفة المقاومة تجاه نيماتودا التقرح *P. penetrans* أيضاً في توت العليق الأحمر .*Rubus* spp (Bristow *et al.*, 1980 ؛ Vrain and Daubeny, 1986). وقد تمت دراسة توارث هذه الصفة في بعض الهجن التي تشمل : تركيبين وراثيين مقاومين هما "Nootka" و"Dalhouse Lake"، والتوت الأحمر بشمال أمريكا *Rubus strigosus*، وتركيبين وراثيين قابلين للإصابة (Vrain *et al.*, 1994). وقد أسفرت الدراسة عن عدم ظهور التوزيع المزدوج لكل متغير، ومن ثم فقد افترض أن توارث صفة المقاومة يتم بطريقة كمية. وقد أشارت تقديرات وزن المجموع الخضري والمجموع الجذري إلى أن هناك إمكانية لوجود تأثيرات جينية مضيفة طفيفة تحكم صفة التحمل التي تمت ملاحظتها، وأنه يمكن استخدام أي من المقياسين أو كلاهما عند الانتخاب لصفة التحمل تجاه النيماتودا في برامج تربية التوت. ومن ثمَ، يمكن اختبار الآباء على أساس الشكل الظاهري الجيد.

نباتات أخرى Other plants

وجدت صفة المقاومة تجاه عشائر النيماتودا الحفارة القادرة على إصابة الموالح في نبات الأنثوريوم *Anthurium* (Wang *et al.*, 1997). وفي الهند شوهدت صفتا المقاومة والتحمل للنيماتودا الحفارة *R. similis* في كل من جوز أريكا *Areca catechu*، وجوز الهند *Cocos nucifera* (Sundrararju and Koshy, 1988 ؛ Sosamma *et al.*, 1988). وردت أيضاً صـفة المقاومة والتحمل تجـاه نيماتـودا التقرح *P. brachyurus* في كل من الكريز الباربادوسي *Malpighia glabra* (Ferraz, 1996)، وفول الصويا *Glycine max* (Ferraz *et al.*, 1998)، والفول السوداني (Smith *et al.*, 1978)، وقصب السكر *Saccharum officinarum* (Dinardo-Miranda and Ferraz, 1991)، والبن .*Coffea* spp (Oliveira *et al.*, 1999). ومن المثير حقاً، أنه قد شوهدت صفة التحمل لنيماتودا التقرح *P. brachyurus* في بعض التراكيب الوراثية للبن، حيث إنه من المعروف أن بادرات البن تتضرر كثيراً عند إصابتها ولو بأعداد قليلة من هذه النيماتودا (Inomoto *et al.*, 1998). أيضاً وردت عدة أنواع من القنب الهندي .*Crotalaria* spp كعوائل فقيرة لنيماتودا التقرح *P. brachyurus* (Da Silva *et al.*, 1989). كما وردت المقاومة تجاه نيماتودا التقرح من النوع *P. coffeae* في بن روبستا *Coffea canephora* (Wiryadiputra, 1996). وفي دراسة أخرى، قام تورون ماثينوس وآخرون .Toruan-Mathinus *et al* (1995) بدراسة التركيب التشريحي، ومحتوي الجذور من الفينولات الكلية، وتباين أشكال البروتينات في الجذور، والحامض النووي DNA، وذلك في ست سلالات من بن روبستا بعضها قابل للإصابة، وبعضها مقاوم جزئياً، والآخر مقاوم لنيماتودا التقرح *P. coffeae*. وقد أوضحت الدراسة أن السلالات المقاومة تميزت بجذورها الشعرية الكثيفة، وثخانة

جدر خلايا طبقتي البشرة Epidermis، والبشرة الداخلية Endodermis في الجذور، وكذلك ارتفاع محتوي الجذور من الفينولات الكلية. وجدت الدراسة أيضاً دليلاً بروتينياً معيناً ذا وزن جزيئي ٢٩ كيلو دالتون في السلالات المقاومة، مما يدل على أن السلالات المقاومة تحتوي على إنزيمات خاصة كنواتج للحامض النووي DNA ترتبط بصفة المقاومة. وفي صعيد آخر، وجدت صفة المقاومة تجاه نيماتودا التقرح *P. scribneri* في فاصوليا الليما *Phaseoulus lunatus* (Rich *et al.*, 1977). كما وجدت صفة التحمل لنيماتودا التقرح *P. penetrans* في العنب *Vitis* spp. (Ramsdell *et al.*, 1996). ووردت صفة المقاومة لنيماتودا التقرح *P. sefaensis* في اللوبيا *Vigna unguiculata* (Sarr and Baujard, 1988). أما المقاومة أو التحمل لنيماتودا التقرح من النوع *P. thornei* فقد وجدت في كل من أنواع الحمـــص: *Cicer arietinum*، و*C. bijugum*، و*C. cuneatum*، و*C. judaicum*، و*C. yamashitae* (Tiwari *et al.*, 1992 ؛ Simeone *et al.*, 1995 ؛ Castillo *et al.*, 1998). كما شوهدت صفة المقاومة تجاه نيماتودا التقرح *P. vulnus* في أشجار فاكهة الكيوي *Actinidia chinensis* (Simeone *et al.*, 1995). ووجدت صفة المقاومة أو التحمل لنيماتودا التقرح *P. zeae* في قصب السكر (Dinardo-Miranda *et al.*, 1996 ؛ Mehta *et al.*, 1994 ؛ Dinardo-Miranda and Ferraz, 1991 ؛ Novaretti *et al.*, 1988). أما هجن دوار الشمس *Helianthus annuus* وبعض أصناف القنب الهندي *Crotalaria* spp. فقد كانت عوائل فقيرة لنيماتودا حوصلات الذرة *P. zeae* (Da Silva *et al.*, 1989 ؛ Bolton and De Waele, 1989). كما شوهدت مقاومة وتحمل اللفت الشتوي *Brassica napus* ssp. *oleifera* لنيماتودا التقرح من الأنواع *P. scribneri*، و*P. neglectus*، و*P. fallax*، و*P. crenatus*، و*P. penetrans*، و*P. pinguicaudatus* (Webb, 1996 ؛ Bernard and Montgomery-Dee, 1993).

التعريف
Identification

من الضروري تعريف العشائر النيماتودية المستخدمة في اختبارات تقييم الأصناف النباتية تعريفاً دقيقاً حتى مستوى النوع. وقد يكون من الممكن تعريف النيماتودا الحفارة *R. similis* بسهولة باستخدام المجهر الضوئي، لكن تعريف أنواع نيماتودا التقرح *Pratylenchus* spp. يحتاج عادة إلى ماهو أكثر من ذلك، إذ إن الشكل الظاهري (المورفولوجي) لجميع أنواع نيماتودا التقرح متماثل تقريباً. وهناك عدد محدود من الصفات التصنيفية التي تلعب دوراً هاماً في التصنيف. وبدون استثناء، توضح هذه الصفات تغيراً كبيراً داخل الأنواع ذاتها. وحتى الأنواع التي تم وصفها من هذا الجنس قد تواجه أيضاً صعوبة في تعريفها عن طريق المجهر الضوئي وحده. ونظراً لأن التشخيص المعتمد على الأسس الكيموحيوية (المشابهات الإنزيمية)، أو الاختلافات الوراثية (تتابع الحمض النووي DNA) غير متاح، فإن الاعتماد على الصفات والقياسات الظاهرية في التصنيف لا زال هو المستخدم في تعريف أنواع نيماتودا التقرح حتى الآن.

ويمكن تعريف النيماتودا الحفارة *R. similis* باستخدام توليفة من الصفات المورفولوجية الآتية: التمايز الجنسي في المنطقة الأمامية من الجسم (ففي الإناث تكون منطقة الرأس منخفضة، ونصف كروية الشكل، وحدودها مستمرة مع حدود الجسم أو بارزة قليلاً، مع وجود تغليظ رأسي ورمح قويين، أما في الذكور فتكون منطقة الرأس مرتفعة، وتشبه العقدة غالباً، وأكثر بروزاً عن حدود الجسم، وذات تغليظ رأسي ضعيف، ورمح مضمحل)، وكذلك ندرة الذكور؛ ووجود الفتحة التناسلية الأنثوية في وضع متوسط من الجسم (حوالى ٥٠ - ٦٠٪ من مقدمة الجسم)؛ ووجود فرعي مبيض متساويي الطول؛ وشكل ذيل الأنثى عادة مخروطي متطاول ذو نهاية مستديرة أو منبعج؛ أما ذيل الذكر فيكون متطاولاً، مخروطياً، منحنياً من الناحية البطنية، وذا جراب تناسلي Bursa يمتد ليغطي حوالي ثلثي الذيل. وهناك وصف كامل للنيماتودا الحفارة *R. similis* في البحث الذي نشره أورتون ويليمز وسديقي Orton Williams and Siddiqi (1973).

هناك مفاتيح تصنيفية لأنواع جنس نيماتودا التقرح *Pratylenchus* تم نشرها بواسطة لوف Loof (1978)، وكافي فيلهو وهانج Café Filho and Huang (1989)، وهاندو وجولدن Handoo and Golden (1989). ويمكن الاطلاع على مفاتيح تصنيفية لكل من الأنواع، *P. brachyurus* في Corbett (1972)، و*P.coffeae* في Siddiqi (1972)، و *P. goodeyi* في Machon and Hunt (1985)، و*P. neglectus* في Townshend and Anderson (1976)، و*P. penetrans* في Corbett (1973)، و*P. thornei* في Fortuner (1977)، و*P. vulnus* في Corbett (1994)، و*P. zeae* في Fotuner (1976).

ولتحميل كامل النيماتودا على الشرائح بطريقة مناسبة للفحص بالمجهر الضوئي، يمكن الحصول على أفضل النتائج عندما يتم قتل النيماتودا سريعا، ثم وضعها في الحال في محلول ٤٪ فورمالدهيد دافئ (Seinhorst, 1966)، ونقلها بعد ذلك إلى الجليسرول بطريقة الإيثانول-جليسرول (Seinhorst, 1959)، ثم تحميلها على شرائح زجاجية بطريقة حلقة الشمع (De Maeseneer and D'Herde, 1963). أما النيماتودا التي لم يتم تحميلها على الشرائح بعد القتل والتثبيت فيمكن حفظها في محلول ٢-٤٪ فورمالدهيد، وإرسالها عند الرغبة في ذلك إلى مختبرات التصنيف ذات الخبرة.

اعتبارات عامة في اختبارات التقييم
Screening: General Considerations

هناك بعض المشكلات التي تجابه علماء النيماتولوجي أثناء إجراء اختبارات تقييم الأصناف لصفة المقاومة أو التحمل لنيماتودا التقرح *Pratylenchus* ، والنيماتودا الحفارة *Radopholus*. ومن هذه المشكلات ما يأتي: وجود اختلافات في القدرة التكاثرية والإمراضية فيما بين عشائر النيماتودا الحفارة، وكذلك فيما بين العشائر المختلفة

لنفس النوع من نيماتودا التقرح، ٢) الاختلافات في رد العائل وقدرة النيماتودا التكاثرية فيما بين التجارب المختلفة، ٣) عدم توافر المعلومات المتعلقة بتأثير تطور ونمو المجموع الجذري على رد فعل العائل وتكاثر النيماتودا.

الاختلافات داخل النوع في القدرة التكاثرية والإمراضية فيما بين عشائر نيماتودا التقرح والنيماتودا الحفارة

Intraspecific differences in reproductive fitness and pathogenicity between *Pratylenchus* and *Radopholus* populations

شوهدت الاختلافات البيولوجية فيما بين عشائر النيماتودا الحفارة *R. similis* أول ما شوهدت عن طريق كل من الدراسات البيولوجية، والوراثة الخلوية، والمدى العوائلي، والقدرة التدميرية والتكاثرية للنيماتودا (Pinochet, 1988b). وقد أوضحت اختبارات عشائر النيماتودا الحفارة في مناطق زراعات الموز الرئيسية بالعالم تغيرات واسعة في القدرة الإمراضية لهذه العشائر على الموز سواء كان موز الفاكهة أو موز الطعام، وكذلك الذرة، وبعض النباتات الأخرى (Pinochet, 1979 ؛ Tarte *et al*., 1981 ؛ Sarah *et al*., 1993 ؛ Fallas and Sarah, 1995 ؛ Fallas *et al*., 1995 ؛ Fogain and Gowen, 1995 ؛ Hahn *et al*., 1996).

وقد وجدت علاقة مباشرة بين الكفاءة التكاثرية (معدل التكاثر) لعشائر هذه النيماتودا على أقراص الجزر وقدرتها الإمراضية (قدرتها على إحداث الضرر) على جذور الموز، فكلما زادت الكفاءة التكاثرية لهذه العشائر على أقراص الجزر زادت قدرتها الإمراضية أيضاً على جذور الموز (Sarah *et al*., 1993 ؛ Fallas *et al*., 1995). ولكن الكفاءة التكاثرية العالية للنيماتودا ليست بالضرورة دائماً مرتبطة بقدرة إمراضية عالية (Tarte *et al*., 1981 ؛ Hahn *et al*., 1996). وعادةً، تتم مقارنة الكفاءة التكاثرية للنيماتودا الحفارة *R. similis* ونيماتودا التقرح *Pratylenchus* spp. في وقت ثابت بعد العدوى. لكنه من غير الممكن قياس معدل تكاثر كلا النوعين من النيماتودا معاً في وقت واحد. هذا وقد حصل ستوفيلين وآخرون Stoffelen *et al*., (1999a) على مفهوم أوسع للتكاثر (أعلى معدل نمو، ووجود مرحلة بطؤ النمو، ثم بدء مرحلة النمو المستقرة)، وذلك عندما قاموا بدراسة ديناميكية التكاثر باستخدام نموذج جومبرتز Gompertz. وقد كانت معدلات النمو القصوى ومرحلة الثبات المبكرة من أهم خصائص العشائر ذات الكفاءة التكاثرية العالية. كما استخدمت أيضاً تقنيات البيولوجيا الجزيئية مثل أنماط المشابهات الإنزيمية، وتقنية تقطيع الحامض النووي DNA باستخدام إنزيمات القطع المقيد (RFLP)، وتقنية التضاعف العشوائي لقطع الحامض النووي DNA متباينة الأطوال (RAPD) في الدراسات المتقدمة للتنوع الحيوى فيما بين عشائر النيماتودا الحفارة *R. similis* (Hahn *et al*., 1994 ؛ Hahn *et al*., 1996 ؛ Fallas *et al*., 1996). وقد أوضحت الدراسات الجزيئية درجة عالية من التماثل الوراثي بين تلك العشائر التي جلبت من مناطق مختلفة من العالم. كما أوضح التحليل العنقودي

Cluster analysis لأنماط تقنية التضاعف العشوائي لقطع الحامض النووي DNA متباينة الأطوال (RAPD) وجود عنقودين (مجموعتين) منفصلين تماماً (Fallas *et al.*, 1996). ويبدو أن كلا المجموعتين من التراكيب الوراثية قد انتشرت بطريقة مستقلة، ولا توجد علاقة واضحة بين التنوعين الوراثي، والبيولوجي. ويبدو أيضاً أن الكفاءة التكاثرية والقدرة الإمراضية يتطوران كل منهما مستقل عن الآخر، ولكن بطريقة مماثلة في كلا المجموعتين من التراكيب الوراثية، وذلك تحت تأثير الظروف البيئية المحلية.

ومبدئياً لم يمكن التمييز المورفولوجي بين عشائر النيماتودا الحفارة *R. similis* القادرة على إصابة الموالح في ولاية فلوريدا الأمريكية عن عشائر نفس النيماتودا القادرة على إصابة الموز في أنحاء متفرقة من العالم. وقد أدى ذلك إلى تعريف عشائر النيماتودا الحفارة التي تصيب الموالح فيما بعد باسم سلالة الموالح Citrus race من النيماتودا الحفارة (Ducharme and Birchfield, 1956). وبناءً على الاختلافات في التركيب النووي Karyotype، والمشابهات الإنزيمية، والبروتينات، والسلوك الجنسي (Huettel and Dickson, 1981 ؛ Huettel *et al.*, 1982 ؛ Huettel *et al.*, 1983a ؛ Huettel *et al.*, 1983b ؛ Huettel *et al.*, 1984a)، تم توطيد النوعين القريبين (الأخوين) ؛ *R. similis*، و*R. citrophilus* من سلالات الموز والموالح للنوع *R. similis*، على الترتيب (Huettel *et al.*, 1984b). وفي عام ١٩٨٨م قام هوتيل وييجاشي Huettel and Yaegashi (1988) بوصف اختلافات مورفولوجية بسيطة في منطقة الذيل فيما بين ذكور كلا النوعين *R. similis*، و*R. citrophilus*، يمكن بواسطتها التمييز بين هذين النوعين. وعلى عكس ذلك، أوضحت الدراسات الحديثة أن عشائر النيماتودا الحفارة *R. similis* التي تصيب كلاً من الموز والموالح كانت متماثلة جداً من حيث الشكل الظاهري والتركيب الوراثي (Kaplan, 1999 ؛ Hahn *et al.*, 1996). وقد بدا أن تطفل النيماتودا الحفارة على الموالح في ولاية فلوريدا الأمريكية كان دائماً مصحوباً بتغيرات محدودة في التركيب الوراثي (Kaplan, 1994 ؛ Kaplan *et al.*, 1996 ؛ Kaplan *et al.*, 1997 ؛ Kaplan and Opperman, 1997). وإضافة إلى ذلك، أدى توارث دليل وراثي معين، والقدرة على إصابة الموالح في نسل حيوي نتج عن التزاوج بين عشائر نيماتودية مختارة من النيماتودا الحفارة إلى اقتراح أن الانتقال الوراثي Gene flow بين عشائر النيماتودا الحفارة التي تصيب الموز والموالح غير محدود (Kaplan *et al.*, 1997). وعندما لاحظ فاليتي وآخرون Valette *et al.* (1988) أيضاً أن الاختلافات المورفولوجية البسيطة في منطقة الذيل لذكور النوعين ؛ *R. similis*، و*R. citrophilus* التي وصفها هوتيل وييجاشي Huettel and Yaegashi (1988) كلها تتداخل مع بعضها، قام باقتراح أن تكون التسمية *R. citrophilus* مرادفاً صغيراً لاسم النوع *R. similis*، ومن ثم تصبح سلالتا الموالح والموز من النيماتودا الحفارة تمثلان طرزاً إمراضية Pathotypes مختلفة.

أما في نيماتودا التقرح *Pratylenchus* ، فإن التنوع البيولوجي فيما بين عشائر نفس النوع قد شوهدت في الأنواع ؛ *P. brachyurus* (Payan and Dickson, 1990)، و*P. coffeae* (Wehunt and Edwards in Stover, 1972 ؛ Mizukubo, 1995 ؛ Bridge *et al.*1997 ؛ Waeyenberghe *et al.*, 2000)، و*P. goodeyi* (Pinochet, 1998c)، و*P. loosi* (Waeyenberghe *et al.*, 2000)، و*P. neglectus* (Hafez *et al.*, 1999 ؛ Griffin, 1991)، و*P. penetrans* (Olthof, 1968 ؛ Griffin and Gray, 1990 ؛ Griffin, 1991 ؛ Brodie and Plaisted, 1993 ؛ France and Brodie, 1995 ؛ France ؛ Pinochet *et al.*, 1992 ؛ Pinochet *et al.*, 1993 ؛ Pinochet ؛ and Brodie, 1996)، و*P. vulnus* (Hafez *et al.*, 1999 ؛ Pinochet *et al.*, 1994). وفي النوع *P. coffeae*، وجد أن الصفات التصنيفية للعشائر المنتمية لهذا النوع، التي لازالت تحت الفحص والتدقيق ترجح أن هذه العشائر ربما تمثل معقداً نوعياً Species complex (Mizukubo, 1992 ؛ Duncan *et al.*, 1999 ؛ Waeyenberghe *et al.*, 2000). ومع ذلك، فمن الممكن أن يكون التنوع البيولوجي المشاهد بين عشائر النوع *P. coffeae* ممثلاً في الحقيقة لاختلافات بين الأنواع.

وقد تؤثر الاختلافات في الكفاءة التكاثرية (في القدرة الإمراضية) فيما بين عشائر كل من النيماتودا الحفارة *R. similis*، ونيماتودا التقرح *Pratylenchus* التي تنتمي إلى نفس النوع على تفسير نتائج تجارب التقييم لصفتي المقاومة والتحمل. وبذلك، يجب تحديد الكفاءة التكاثرية للعشيرة المستخدمة في تجارب التقييم، ومقارنتها بالكفاءة التكاثرية للعشائر الأخرى، كما يجب استخدام نفس العشيرة في جميع تجارب التقييم. ويفضل استخدام العشيرة ذات الكفاءة التكاثرية العالية دائماً. كما يعني أيضاً وجود اختلافات في الكفاءة التكاثرية بين عشائر نيماتودا التقرح في نفس الحقل الواحد، أنه في نهاية المطاف، يجب تقييم رد فعل التركيب الوراثي النباتي الواعد تجاه خليط من العشائر النيماتودية التي تم جمعها من مناطق جغرافية مختلفة (Alcaniz *et al.*, 1996).

الاختلافات في رد فعل العائل وتكاثر النيماتودا فيما بين التجارب المختلفة

Differences in host response and nematode reproduction between expirements

عند اختبار مقاومة النباتات للنيماتودا الحفارة *R. similis* ونيماتودا التقرح *Pratylenchus* spp.، فليس من المعتاد أن نشاهد اختلافات في ردود أفعال العائل أو في معدل تكاثر النيماتودا فيما بين تجارب الحقل والبيت المحمي، أو حتى فيما بين سلسلة من التجارب المتعاقبة التي تجري تحت نفس الظروف المتحكم بها. ولكنه قد لوحظ في بعض الحالات ظهور صفة المقاومة تجاه نيماتودا التقرح في البيت المحمي وعدم ظهورها في الحقل أو العكس (انظر على سبيل المثال: Norton, 1989 ؛ Nombela and Romero, 1999). وقد تكون الاختلافات في معدل تكاثر النيماتودا كبيرة، حيث شوهدت اختلافات كبيرة في أعداد النيماتودا الحفارة *R. similis* ونيماتودا التقرح *P. thornei* التي تم استخلاصها من جذور أصناف مختلفة من الموز *Musa* والقمح، على الترتيب، وذلك في تجارب البيت الزجاجي

التي أجريت في وقت متزامن (في حالة الموز)، أو في أوقات متعاقبة (في حالة القمح) في ظل ظروف متماثلة متحكم بها. هذا وقد بلغت الأعداد النهائية للنيماتودا الحفارة *R. similis* على صنف واحد هو الصنف "Cavendish 901" ؛ ٢٢٣٤٧، و٧٣٢، و٢٧٢٠١ فرداً في ثلاث تجارب مختلفة (Stoffelen *et al*., 2000b). وبلغت أعداد نيماتودا التقرح *P. thornei* على ثلاثة أصناف من القمح هي: "GS50a" ؛ و"Gatcher"، و"Potam" ١٠٠٨٥ – ٣٣٣٩٠ ؛ و٣٦٦٥٠ – ٩٥٦٨٠ ؛ و٣٧٧٥٠ – ١٢٨٦٦٥ نيماتودا/نبات، على الترتيب، وذلك في تجربتين منفصلتين (Thompson and Haak, 1997). وقد تعود مثل هذه الاختلافات إلى التباين في كل من الظروف البيئية الحية وغير الحية، وتطور النباتات، وقدرة اللقاح النيماتودي على إحداث العدوى. وحتى في البيت الزجاجي، قد تتأرجح الظروف البيئية بدرجة تكفي لأن تؤثر على نتائج التجارب (Stoffelen, 2000). ومن المعروف أن كلاً من درجة الحرارة، ورطوبة التربة، وقوام التربة، والعوامل الأرضية الأخرى تؤثر بشدة على فقس بيض نيماتودا التقرح *Pratylenchus* spp.، وقدرة يرقاتها على الاختراق، وتطور هذه اليرقات أيضاً داخل النباتات المصابة (انظر على سبيل المثال ؛ Florini *et al*., 1987 ؛ Castillo *et al*., 1996 ؛ Mizukubo and Adachi, 1997). وقد تغير الظروف المثلى في الأصص الصغيرة معدل تكاثر أنواع نيماتودا التقرح (Farsi *et al*., 1995). ولا تؤثر الظروف البيئية الحية وغير الحية فقط على النيماتودا، وإنما أيضاً على تطور النبات. ويوضح ظهور هذه الاختلافات في ردود أفعال النباتات العائلة وكذلك في معدل تكاثر النيماتودا أهمية وجود صنف قياسي قابل للإصابة في كل تجربة، وكذلك وجود صنف مقارن مقاوم (أو أقل قابلية للإصابة) إذا أمكن ذلك. ومن شأن ذلك أن يسمح بمقارنة تكاثر النيماتودا على التراكيب الوراثية المختبرة بتكاثرها على الأصناف المقارنة، وأيضاً بمقارنة النتائج المتحصل عليها في التجارب المختلفة. وإضافة إلى ذلك، فإنه يجب ألا تُقيّم صفة المقاومة تجاه نيماتودا التقرح *Pratylenchus* spp. فقط في البيت الزجاجي، وإنما أيضاً تحت الظروف الحقلية، شريطة أن تكون النباتات في نفس المرحلة من التطور.

تأثير تطور الجذر وتركيب المجموع الجذري على استجابة العائل وتكاثر النيماتودا

Effect of root development and root system structure on host response and nematode reproduction

تخترق نيماتودا التقرح *Pratylenchus* والنيماتودا الحفارة *R. similis* جذور النباتات العائلة، وتتغذى، وتتطور، وتتكاثر داخلها، كما تتجول أيضاً بين خلايا تلك الجذور وداخلها. وسوف يؤثر تطور الجذر على هذه العملية الديناميكية، ومن ثم على معدل تكاثر النيماتودا الذي ترتكز عليه عملية التقييم لصفة المقاومة. وقد يفسر تطور الجذر أيضاً صفة التحمل، ففي الموز *Musa* تمت ملاحظة الاختلافات في كل من معدل تكاثر النيماتودا الحفارة *R. similis* والضرر الواقع على الجذور (عدد الجذور الوظيفية، والنسبة المئوية للجذور الميتة، والنسبة المئوية للموت الموضعي في الجذور Necrosis)، وذلك في فسائل بعمر شهرين وأشجار قائمة. وقد تبين من ذلك أن هناك

اختلافات في ردود أفعال نباتات الموز تجاه الإصابة بالنيماتودا تبعاً لعمر المجموع الجذري لتلك النباتات (Speijer *et al.*, 1999). وفي الموز أيضاً، لوحظ وجود اختلافات في التجارب الأولية بالبيت الزجاجي عند اختبار رد فعل النباتات تجاه كل من النيماتودا الحفارة *R. similis* ونيماتودا التقرح *P. coffeae*، وذلك فيما بين النباتات المنماة خارجياً *in vitro*، والنباتات المأخوذة من الكورمات، وذلك في نفس التراكيب الوراثية (Viaene *et al.*, 1998). وبالرغم من أهمية التداخل المعقد بين النيماتودا والتطور الجذري، إلا أن الدراسات عليه كانت ضئيلة وتلقائية. وقد قامت ستوفيلين Stoffelen (2000) باختبار تطور المجموع الجذري لعدة تراكيب وراثية من الموز، وذلك من أجل التصميم الأمثل لاختبارات التقييم لصفتي المقاومة والتحمل للنيماتودا، وللتقليل من تأثير نمو الجذور على تكاثر النيماتودا، وأوصت بأنه يجب تأجيل تلقيح النباتات بالنيماتودا إلى حين خروج الجيل الثاني من الجذور الأولية التي تخرج في الصنف "Grande Naine" بعد ثمانية أسابيع تقريباً من الزراعة في مزارع الأنسجة *in vitro*.

قواعد اختبارات التقييم
Screening:Protocols

اللقاح النيماتودي Nematode inoculum

كثيراً ما تستخدم أقراص الجزر *Daucus carota* L. لتربية نيماتودا تقرح الجذور (O'Bannon and Taylor, 1968؛ Moody *et al.*, 1973؛ Verdejo-Lucas and Pinochet, 1992؛ Fallas and Sarah, 1994؛ Pinochet *et al.*, 1995). ويمكن عمل مزارع النيماتودا الحفارة *R. similis* ونيماتودا التقرح *Pratylenchus* spp. من إناث مفردة في مرحلة وضع البيض. ويتطلب إنشاء مزارع النيماتودا خارجياً على أقراص الجذر أربع خطوات وهي: ١) استخلاص النيماتودا من الجذور المصابة، ٢) التعقيم السطحي للنيماتودا، ٣) التعقيم السطحي لأقراص الجزر، ٤) تلقيح أقراص الجزر بالنيماتودا.

البروتوكول الأول: تربية نيماتودا تقرح الجذور على أقراص الجزر
Protocoal 1: Culturing root-lesion nematodes on carrot discs

١ – استخلاص النيماتودا من الجذور المصابة: يمكن استخلاص اليرقات والأطوار الكاملة للنيماتودا داخلية التطفل المتجولة من الجذور بعدة طرق. ومن أهم هذه الطرق؛ طريقة التمزيق – قمع بيرمان Maceration-Baerman funnel، وطريقة التمزيق – المناخل Maceration-sieving method اللتان سيرد شرحهما فيما بعد. وعلى عكس طريقة الطرد المركزي والطفو Centrifugal-Floatation. تتطلب الطريقتان المذكورتان أدوات قليلة وبسيطة. ويمكن الاطلاع على وصف لطريقة التمزيق – المناخل في المرجع Coolen and D´Herde (1972). ومن الطرق الأخرى المستخدمة في

هذا الصدد أيضاً طريقة غرفة الضباب Mist Chambers. وطريقة التحضين مع التهوية أو الرج Incubation with aeration or agitation (Young, 1954 ؛ Sienhorst, 1950).

طريقة التمزيق– قمع بيرمان Maceration-Baerman funnel: تغسل الجذور بماء الصنبور، ثم تقطع إلى قطع صغيرة بطول ١سم. بعد ذلك توضع هذه القطع في خلاط مطبخ عادي يحتوي على ماء مقطر، ويدار الخلاط ثلاث مرات فيما مجموعه عشر ثوان، مع توقف بسيط بين كل دورة والأخرى (وتتوقف مدة الدوران عموماً على نوعية الجذور). بعد ذلك تصب محتويات الخلاط في منخل قطر ثقوبه ٤٠ ميكروميتراً، ثم تنقل محتويات المنخل إلى دورق في ماء مقطر، ثم إلى قمع أو طبق بيرمان (قطر ثقوبه ١مم) مبطن بورق نسيجي Tissue paper. وبعد ١٢ – ١٤ ساعة من التحضين، تجمع النيماتودا من ساق القمع أو من الطبق في دورق. يمرر معلق النيماتودا في الدورق من خلال منخل قطر ثقوبه ٢٥ ميكروميتراً وتنقع المتبقيات الموجودة على المنخل في ماء صنبور (لمنع نمو البكتيريا وغيرها). وأخيراً، تجمع النيماتودا الموجودة على المنخل في ماء مقطر في دورق، وينظف الخلاط والمناخل وجهاز بيرمان بكحول الإيثايل (لقتل ما تبقى من النيماتودا) ثم بالماء الدافئ والصابون.

طريقة التمزيق–المناخل Maceration-sieving method: تغسل الجذور بماء الصنبور وتقطع إلى قطع صغيرة بطول ١ سم. وبعد ذلك توضع هذه القطع في خلاط مطبخ عادي مع ١٠٠مل ماء مقطر، وتمزق فيه (بإدارة الخلاط لمدة ٣٠ ثانية، ثلاث دورات كل منها عشر ثوان، يفصل بين الدورة والأخرى خمس ثوان من التوقف). واعتماداً على نوعية الجذور يمكن زيادة أو خفض مدة التمزيق في الخلاط. بعد ذلك يصب المعلق بما فيه من نيماتودا وشوائب على ثلاثة مناخل؛ العلوي منها قطر ثقوبه ٢٥٠ ميكروميتراً والأوسط ١٠٦ ميكروميترات والأسفل ٤٠ ميكروميتراً، على أن يتم شطف المنخل الأخير في الماء العادي (لمنع نمو البكتيريا وخلافها). تنقل النيماتودا أخيراً من المنخل الأخير (٤٠ ميكروميتراً) في ماء مقطر إلى دورق.

٢– التعقيم السطحي لنيماتودا تقرح الجذور (انظر أيضاً الفصل السادس للمزيد من طرق التعقيم)

تحت غرفة التحضير ذات التدفق الهوائي Under Laminar Flow

الخطوة الأولى: انتقاء النيماتودا الحية من المعلق: يصب معلق النيماتودا في طبق عدّ Counting dish، وتلتقط النيماتودا المطلوبة. وفي حالة معلق النيماتودا شديد العكارة، يمكن التقاط النيماتودا يدوياً باستخدام إبرة رفيعة جداً. أما في حالة معلق النيماتودا النظيف، فتسحب النيماتودا بواسطة ماصة دقيقة سبق تعقيمها بالتلهيب. تنقل النيماتودا بعد ذلك إلى ماء مقطر معقم في طبق بتري معقم.

Obeikandl.com

الخطوة الثانية: التعقيم في كلوريد الزئبقيك: يبدأ العمل بطبق بتري معقم يحتوي على نيماتودا في ماء معقم. تنقل النيماتودا مع الماء المعقم بواسطة ماصة معقمة إلى منخل صغير معقم سعة ثقوبه ٢٠ ميكروميتراً، ثم يوضع المنخل بما فيه من نيماتودا في وعاء يحتوي على ٠,٠١٪ كلوريد زئبقيك لمدة دقيقتين. يُشطف المنخل بعد ذلك بما فيه من نيماتودا مرتين في ماء مقطر معقم. وأخيراً، يوضع المنخل بما فيه من نيماتودا في ماء معقم، ثم تسحب النيماتودا بماصة معقمة إلى ماء معقم في أنبوبة اختبار.

الخطوة الثالثة: التعقيم في كبريتات الاستربتومايسين: نبدأ في وضع النيماتودا في ٢مل ماء معقم في أنبوبة اختبار معقمة. يضاف إلى الأنبوبة ١ مل من محلول كبريتات الإستربتومايسين (٦٠٠٠ميكروجرام/مل) باستخدام ماصة معقمة. وبعد فترة تحضين مدتها ١٢ ساعة، يسحب معلق كبريتات الإستربتومايسين من راسب النيماتودا بواسطة ماصة معقمة، ويضاف بدلاً منه ماء معقم. ننتظر حتى ترسب النيماتودا إلى قاع الأنبوبة ثم يسحب المعلق ثانية. تكرر هذه الخطوة مرتين أو ثلاث مرات، مع تحضير محلول كبريتات إستربتومايسين جديد في كل مرة.

٣- التعقيم السطحي لأقراص الجزر: يستخدم الجزر السميك (الصنف "Nantes" على سبيل المثال) الطازج المحتوي على أوراقه. لا تستخدم أطباق بتري الزجاجية أو تلك المستخدمة في تقنية مزارع الأنسجة، وذلك كيلا تلتصق النيماتودا بجدر الطبق. تقطع أوراق الجزر ويتم إزالتها، ثم تغسل الجذور بماء الصنبور وتجفف باستخدام الورق النسيجي.

تحت غرفة التحضير ذات التدفق الهوائي Under Laminar Flow: تغطس جذور الجزر أو ترش بكحول الإيثايل ٩٥٪ وتمرر على لهب حتى يحترق كحول الإيثايل ويسود لون أنسجة البشرة. بعد ذلك، وباستخدام مقشرة خضراوات معقمة بالتلهيب، يتم تقشير عدة طبقات من أنسجة البشرة. ويجب التأكد من تعقيم المقشرة بعد إزالة كل طبقة من أنسجة الجزر. تقطع بعد ذلك جذور الجزر إلى أقراص، ويوضع قرص أو قرصان من الجزر في كل طبق بتري. تغلق أطباق بتري باستخدام شرائط البارافيلم، وتوضع في صندوق بلاستيكي لحمايتها من الإصابة بالحلم Mites، ثم يوضع الصندوق البلاستيكي في حضان على درجة حرارة ٢٥ °م.

٤- تلقيح أقراص الجزر بالنيماتودا: يتم العمل تحت غرفة التحضير ذات التدفق الهوائي Laminar flow، وتُستخدم أقراص الجزر مباشرة بعد إعدادها (قبل نمو البكتيريا والفطريات عليها). ويجب عدم استخدام أقراص جزر من مناطق مختلفة لتلقيحها بعشيرة واحدة من النيماتودا (وهذا من شأنه خفض مخاطرة التلوث بالبكتيريا والفطريات في الجزر). وللحصول على كثافة عددية عالية من النيماتودا، يستخدم أكثر من ٧٥ نيماتودا لتلقيح

قرص الجزر الواحد. أما عند الرغبة في تجديد المزارع Culture maintainence، فيلقح كل قرص بحوالى ٢٠ – ٥٠ نيماتودا. تستخدم ماصة معقمة في نقل قطرة واحدة من معلق النيماتودا المعقمة من أنبوبة الاختبار إلى طبق بتري معقم. ويجب الحرص على وضع النيماتودا على حواف أقراص الجزر وليس في منتصفها. وبعد التلقيح، تغلق أطباق بتري بواسطة شرائط البارافيلم، وتحضن في صندوق بلاستيك على درجة حرارة ٢٥ °م. يمكن أن تستخلص نيماتودا تقرح الجذور من أقراص الجزر سواء لاستخدامها في عمل مزارع جديدة من أقراص الجزر في المعمل بعد تعقيمها بكبريتات الإستربتومايسين كما سبق وصفه، أو لاستخدامها كلقاح لتجارب التقييم في الأصص في البيوت الزجاجية.

وحتى الآن، لم يتم تقرير فقد أنواع نيماتودا التقرح أو النيماتودا الحفارة المنماة على أقراص الجزر لقدرتها الإمراضية. ويبدو أن عشائر هذه النيماتودا يمكنها الحفاظ على كفاءتها التكاثرية.

البرتوكول الثاني: استخلاص نيماتودا تقرح الجذور من أقراص الجزر

Protocol 2: Extraction of root lesion nematodes from carrot discs

تستخدام مزارع أقراص الجزر فقط عندما يمكن رؤية أعداد كبيرة من النيماتودا على أطباق بتري أو على أقراص الجزر. وللحصول على النيماتودا من الطبق، تنقع محتويات طبق بتري في ماء مقطر، ثم يصب الماء المقطر على منخل قطر ثقوبه ٢٥ ميكروميتراً. وتشطف النيماتودا الموجودة على المنخل بماء الصنبور (لمنع نمو البكتيريا وخلافها)، ثم تجمع النيماتودا بواسطة ماء معقم في دورق. ولجمع النيماتودا من أقراص الجزر يمكن استخدام أي من تقنيات الاستخلاص السابق وصفها (انظر البروتوكول الأول)، وتستخدم النيماتودا المستخلصة أيضاً في عمل مزارع جديدة أو في تجارب تقييم الأصناف، أو مختلف التجارب.

التلقيح بالنيماتودا Nematode Inoculation

يمكن تلقيح النباتات بنيماتودا تقرح الجذور عن طريق تلويث التربة بالنيماتودا المتحصل عليها من مزارع أقراص الجزر أو من أية مصادر أخرى، أو بزراعة النباتات في تربة ملوثة طبيعياً بالنيماتودا. وفي تجارب البيوت الزجاجية، تلقح النباتات عادة بواسطة ١٠٠٠ – ٢٥٠٠ نيماتودا (تحتوي على أطوار حياتية مختلفة) لكل نبات. ومن الممكن أن نحصل على اللقاح النيماتودي من أقراص الجزر أو باستخلاصها من الجذور النباتية المصابة لنباتات نامية في حقول ملوثة بالنيماتودا.

البرتوكول الثالث: تلقيح النباتات Protocol 3: Inoculation of Plants

تستخلص النيماتودا من أقراص الجزر باستخدام (على سبيل المثال) طريقة التمزيق–المناخل (انظر البروتوكول الأول). تُشطف النيماتودا المتحصل عليها من المنخل ٢٥ ميكروميتراً في ماء مقطر في دورق ويضبط

حجم المعلق حسب المطلوب. يضخ الهواء في المعلق النيماتودي بواسطة ماصة أو يقلب باستخدام مقلب مغناطيسي، وذلك لتوزيع النيماتودا في المعلق وعدم ركودها في القاع. بعد ذلك تؤخذ عينة من المعلق لعدّ النيماتودا (البيض، واليرقات، والأطوار الكاملة). وتضبط كثافة اللقاح النيماتودي في المعلق بعد ذلك إلى حوالي ٣٠٠ – ١٠٠٠ نيماتودا/مل. وعند التلقيح، يتم عمل ثلاث حفرات في تربة الأصص حول قاعدة ساق النبات ويوزع اللقاح النيماتودي بواسطة ماصة على الحفرات الثلاث. وبعد إتمام التلقيح، تُغلق الحفر بالتربة. ويجب التأكد من درجة الرطوبة المناسبة للتربة قبل تلويثها بالنيماتودا، أو ري التربة رية خفيفة بعد عملية التلقيح.

تقييم صفة المقاومة أو التحمل Assessment of resistance and tolerance

الاختبارات خارج الأنسجة الحية *in vitro* screening

تتم اختبارات تقييم الأصناف لصفة المقاومة أو التحمل للنيماتودا الحفارة *Radopholus* أو نيماتودا التقرح *Pratylenchus* إما تحت الظروف الحقلية أو داخل البيوت الزجاجية، كما يمكن استخدام مزارع الأنسجة خارج النبات الحي *in vitro* كطريقة سريعة ومعقولة لتحديد صفة المقاومة تجاه هذه النيماتودا.

وفي حالة التجارب خارج الأنسجة الحية فإننا نحتاج إلى نيماتودا غير ملوثة. لذلك فإن كلا من نيماتودا التقرح، والنيماتودا الحفارة التي تُنمى على أقراص الجزر لا تكون خالية من التلوث مادام أن أقراص الجزر لم يتم تطهيرها إلا سطحياً فقط. كما أن التعقيم السطحي أيضاً للنيماتودا المستخلصة من هذه الأقراص بواسطة مادة كبريتات الإستربتومايسين لا يكون كافياً. ويعطي نسيج الكالس Callus tissue بديلاً جيداً للحصول على نيماتودا مطهرة. وقد ثبت أن كالس البرسيم الحجازي يعد مادة جيدة لاستزراع أفراد مطهرة من النيماتودا داخلية التطفل المهاجرة مثل: النيماتودا الحفارة *R. similis*، ونيماتودا التقرح *Pratylenchus* spp. (Myers *et al.*, 1965؛ Mitsui *et al.*, 1975؛ Elsen *et al.*, 2001). ويتطلب إنشاء مزارع كالس البرسيم الحجازي ثلاث خطوات هي: (١) إنتاج الكالس؛ (٢) تلقيح الكالس بالنيماتودا؛ (٣) استخلاص النيماتودا من الكالس.

١– إنتاج كالس البرسيم الحجازي: تُعقم بذور البرسيم الحجازي بنقعها لمدة ١٥ق في حامض الكبريتيك H_2SO_4 (٩٥ – ٩٧٪)، ثم شطفها أربع مرات متتالية في ماء مقطر معقم، ثم نقعها لمد ١٥ ق أخرى في كلوريد الزئبقيك $HgCl_2$ (١٠٠٠ميكروجرام/مل إيثانول ٣٠٪)، ثم شطفها أربع مرات في ماء مقطر معقم (Riedel and Foster, 1970). تنبت هذه البذور بعد ذلك على أطباق تحتوي على ١٪ آجار + ١٠ جم سكروز + ٢ جم مستخلص خميرة لكل لتر ماء معقم. وبعد الإنبات، تؤخذ البادرات ذات العمر أربعة أيام وتوضع على آجار مائل في أنابيب تحتوي على ١٤ مل من بيئة وايت السائلة White´s medium (White, 1963)، مع تحوير بسيط وهو إضافة

٠,٢ ميكروجرام من مادة ألفا نفثالين حامض الخليك α-naphthalene acetic acid (α-NAA)، و٢ميكروجرام من مادة ٢، ٤-ثنائي كلوروفينوكسي حامض الخليك 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) وذلك لكل مل واحد من البيئة. وبعد حوالي سبعة إلى عشرة أيام من ذلك، ينقل نسيج الكالس إلى أطباق بتري تحتوي على نفس البيئة.

٢- تلقيح كالس البرسيم الحجازي بالنيماتودا: تُعقم نيماتودا التقرح المرباة على أقراص الجزر تعقيماً سطحياً في ٠,٠١٪ كلوريد زئبقيك لمدة دقيقتين، ثم تُشطف مرتين في ماء مقطر معقم. وبواسطة ماصة دقيقة معقمة، تنقل ٢٥ أنثى إلى نسيج كالس برسيم حجازي. تحضن أطباق بتري المحتوية على الكالس والنيماتودا بعد ذلك في الظلام على درجة حرارة ٢٨ °م. وبعد خمسة أسابيع، تبدأ النيماتودا في التحرك خارج نسيج الكالس. وللمحافظة على المزارع الأصل من نيماتودا تقرح الجذور المطهرة، يمكن عمل مزارع بنوية جديدة Subculture بنقل أجزاء صغيرة مطهرة من نسيج الكالس الملقح بالنيماتودا إلى نسيج كالس جديد مطهر أيضاً.

٣- استخلاص النيماتودا من كالس البرسيم الحجازي: لاستخلاص نيماتودا تقرح الجذور من أنسجة الكالس، يتم تقطيع نسيج الكالس في ماء مقطر على منخل قطر ثقوبه ٧٥ ميكروميتراً موضوع داخل إناء زجاجي معقم على شكل زجاجة الساعة. وفي خلال ٤٨ ساعة، تهاجر النيماتودا من نسيج الكالس مارة من خلال ثقوب المنخل إلى الماء في الإناء الزجاجي، ثم تجمع النيماتودا من الإناء لتستخدم في التلقيح. ويجب أن يتم كل ذلك تحت ظروف معقمة وعلى درجة حرارة الغرفة.

وبخلاف نسيج كالس البرسيم الحجازي، يمكن أيضاً تربية نيماتودا تقرح الجذور على نسيج كالس الموز (Brown and Vessey, 1985) ونسيج كالس أوراق الموالح (Inserra and O´Bannon, 1975)، ونسيج كالس البامية (Feder, 1958)، وعلى مزارع قطع الجذور (Huettel, 1990). هذا ولم يلاحظ كل من إلسن وآخرون؛ Elsen *et al.* (2001)، وهوجر Högger (1969) أية تغيرات في قدرة النيماتودا الحفارة على إصابة جذور الموز، أو نيماتودا تقرح الجذور في إصابة جذور البطاطس نتيجة لتربية هذه النيماتودا على مزارع كالس البرسيم الحجازي. وعلى عكس ذلك، أوضحت ستوفيلين Stoffelen (2000) أنه بعد تربية النيماتودا الحفارة *R. similis* على كالس الجزر فقدت هذه النيماتودا قدرتها في التكاثر على جذور الموز في التربة داخل الأصص.

ويتطلب تطوير اختبارات المقاومة تجاه النيماتودا خارج الأنسجة *in vitro* ثلاث خطوات رئيسية. وأول هذه الخطوات هي تربية كل من النبات والنيماتودا في ظروف مطهرة. وثانياً، إثبات قدرة النيماتودا على إصابة النباتات القابلة للإصابة والتكاثر عليها. وأخيراً، تأكيد صحة الاختبار عن طريق معرفة رد فعل نبات مقاوم قياسي من نفس النباتات المختبرة.

obeikandi.com

لوحظت اختلافات جوهرية في قدرة النيماتودا الحفارة *R. similis* على التكاثر خارجياً *in vitro* على أصناف مقاومة وأخرى قابلة للإصابة من الأنثوريوم *Anthurium*.

وجدت أيضاً اختلافات في مدى تضرر النباتات نتيجة للإصابة بالنيماتودا فيما بين الأصناف المتحملة والحساسة للإصابة. وبناءً على هذه النتائج، استخدمت هذه الطريقة بنجاح في تقييم صفة المقاومة أو التحمل للنيماتودا في ١٧ صنفاً من نبات الأنثوريوم *Anthurium* (Wang *et al.*, 1997). لوحظت كذلك اختلافات جوهرية في معدل تكاثر النيماتودا الحفارة *R. similis* خارجياً في المعمل *in vitro* على التراكيب الوراثية المقاومة والقابلة للإصابة من الموز *Musa* (De Waele, 1998).

ولاختبارات المقاومة خارج النبات الحى *in vitro* في المعمل عدة مميزات مقارنة باختبارات البيوت الزجاجية، وهي أنه من الممكن إجراؤها تحت ظروف متحكم بها. وإضافة إلى ذلك، تحتاج هذه الاختبارات إلى كميات صغيرة من اللقاح النيماتودي يمكن الحصول عليها مسبقاً حتى ولو بالتقليط اليدوي. كما أنها تحتاج إلى مساحة أقل، ووقت أقل للوصول إلى مرحلتي الحصاد والتقييم، ومن ثم يقل أيضاً الوقت اللازم للتجربة. إلا أن من عيوبها صعوبة استخلاص النيماتودا من البيئة، مما يستهلك وقتاً أكثر. أيضاً لا يمكن استخدام هذه الطريقة إلا في النباتات التي يمكنها التعبير عن صفة المقاومة للنيماتودا خارج النسيج الحي في المعمل، وهو أمر غير شائع بالضرورة في كل النباتات (Stoffelen, 2000 ؛ De Waele, 1998).

اختبارات البيت الزجاجي Glasshouse Screening

يعتمد حجم الأصص المستخدمة في تلك الاختبارات على نوع النباتات المراد اختبارها، وكذلك على كيفية زراعتها، والهدف من الاختبار. فعند الرغبة في البحث حول قدرة النيماتودا على التكاثر، أو رؤية الأعراض الظاهرية المبكرة مثل أعراض الموت الموضعي، فإنه يمكن الحصول على نتائج بعد ٢-٣ أشهر. وفي هذه الحالة يكفي استخدام أصص ذات قطر ١٥ سم. أما التربة المستخدمة فيجب أن تكون ممثلة لنوعية التربة التي تزرع فيها النباتات المختبرة في المنطقة. وأخيراً، يجب أن تكون المعدلات الرطوبية والسمادية عند الحد الأمثل لنمو النباتات المختبرة.

الاختبارات الحقلية Field Screening

عند إجراء الاختبارات الحقلية، يجب أخذ عينات من الموقع وفحصها لتحديد الأنواع والأجناس النيماتودية الموجودة. ونموذجياً، يجب اختيار موقع ملوث بالنوع النيماتودي المراد اختباره فقط، أو موقع ملوث بطيف من أنواع النيماتودا السائدة في المنطقة. كما يجب تحديد مستوى الكثافة العددية للنيماتودا بالموقع، وذلك بفحص عينات

تربة وجذور نباتية أيضاً للنباتات النامية فيه. وإذا كانت الكثافة العددية للنيماتودا في الموقع عالية بدرجة تكفي لبدء الاختبار، تتم الزراعة في الحال. أما إذا كانت تلك الكثافة منخفضة جداً، فإنه إما أن يزرع هذا الموقع بعائل جيد لتكاثر النوع النيماتودي المراد تقييمه فتزداد كثافته، أو تضاف كميات من الجذور المصابة (على هيئة قطع صغيرة) عند زراعة النباتات.

تقييم صفة المقاومة Evaluation of Resistance

ليس هناك اتفاق عام على مقياس معين يمكن استخدامه لتقدير الكثافة العددية لنيماتودا تقرح الجذور *Pratylenchus* spp. أو النيماتودا الحفارة *Radopholus* في الجذور. ولكن مقياس عدد النيماتودا/جم جذور طازجة قد تم استخدامه على نطاق واسع حتى في حالة اختلاف معدل نمو الجذور فيما بين التراكيب الوراثية المختلفة من النباتات. ومع ذلك، فإن اختيار المجموع الجذري بأكمله يبدو أنه المقياس الأكثر دقة، ولكنه ليس ممكناً دائماً، وخاصة تحت الظروف الحقلية. ولتفادي الأخطاء، يجب تقدير عدد النيماتودا في النبات (المجموع الجذري بأكمله) وأيضاً في كل جرام من الجذور الطازجة.

البروتوكول الرابع: تقدير النيماتودا داخلية التطفل المتجولة

Protocol 4: Estimation of Migratory Endoparasitic Nematodes

١- تقدير الوزن الطازج للجذور: تحرر النباتات من الأصص، وتغسل الجذور بماء الصنبور العادي، ثم تقطع إلى قطع صغيرة بطول ١سم وتوزن. بعد ذلك تؤخذ عينة من الجذور المقطعة، ويعتمد حجم هذه العينة على حجم المجموع الجذري نفسه (وبالنسبة للموز يكون دائماً ١٥ جم). ويمكن تخزين الجذور في الثلاجة حتى يحين وقت الفحص إذا كانت محفوظة في ماء مقطر.

٢- استخلاص النيماتودا: (انظر البروتوكول الأول).

٣- تقدير الكثافة العددية النهائية للنيماتودا: يتم تخفيف معلق النيماتودا باستخدام الماء المقطر في مخبار مدرج حتى حجم ٢٠٠ مل. بعد ذلك يتم ضخ الهواء في المعلق لتقليبه، أو يقلب باستخدام مقلب مغناطيسي، ثم تؤخذ عينة حجمها ٦ مل، ليتم فيها عدّ النيماتودا في طبق العدّ Counting dish، ثم يحسب العدد النهائي للنيماتودا في المعلق، ثم في النباتات، ثم في كل جرام من الجذور الطازجة للنبات.

يجب أن يتراوح عدد المكررات في اختبارات التقييم لصفة المقاومة أو التحمل بين ٨ و١٥ مكرراً. وللتغلب على التغيرات في الظروف البيئية، يجب أن توزع المكررات إما في تصميم عشوائي كامل، أو قطاعات عشوائية كاملة، أو قطع منشقة. يمكن أيضاً الاطلاع على إرشادات لتقييم مقاومة أو تحمل التراكيب الوراثية للموز لنيماتودا تقرح الجذور في المرجع Speijer and De Waele (1997).

المراجع

References

Afreh-Nuamah, K., Ahiekpor, E.K.S., Ortiz, R. and Ferris, R.S.B. (1996) Advanced *Musa* yield trial at the University of Ghana Agricultural Research Station, Kade. 2 Banana weevil and nematode resistance. In: Ortize, R. and Akoroda, M.O. (eds) *Plantain and Banana Production and Research in West and Central Africa. Proceedings of a Regional Workshop*, 23-27 September, 1995, Onne, Nigeria. IITA, Ibadan, Nigeria, pp. 133-135.

Alcañiz, E., Pinochet, J., Fernandez, C., Esmenjaud, D. and Felipe, A. (1996) Evaluation of *Prunus* rootstocks for root-lesion nematode resistance. *HortScience* 31, 1013-0116.

Anguiz, R. and Canto-Saenz, R. (1991) Reaction of sweet potato cultivars (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) to *Pratylenchus flakkensis* Seinhorst. *Nematropica* 21, 197-201.

Anon. (1994) Variety: Pelsart. Application no. 93/187. *Plant Varieties Journal* 7, 23.

Anon. (1997a) Variety: Kennedy syn QT6063. Application no. 96/209. *Plant Varieties Journal* 10, 46-48.

Anon. (1997b) Variety: Sturt syn QT6285. Application no. 96/208. *Plant Varieties Journal* 10, 50.

Anon. (1997c) Variety: Baxter syn QT625. Application no. 97/283. *Plant Varieties Journal* 10, 55-56.

Barnes, D.K., Thies, J.A., Rabas, D.L., Nelson, D.L. and Smith, D.M. (1990) Registration of two alfalfa germplasm with field resistance to the root-lesion nematode. *Crop Science* 30, 751-752.

Bernard, E.C. and Laughlin, C.W. (1976) Relative susceptibility of selected cultivars of potato to *Pratylenchus penetrans*. *Journal of Nematology* 8, 239-242.

Bernard, E.C. and Montgomery-Dee, M.E. (1993) Reproduction of plant-parasitic nematodes on winter rapeseed (*Brassica napus* spp. *oleifera*). *Journal of Nematology* 25, 863-868.

Bolton, C. and De Waele, D. 1989. Host suitability of commercial sunflower hybrids to *Pratylenchus zeae*. *Journal of Nematology* 21(S), 682-685.

Bos, L. and Parlevleit, J. (1995) Concepts and terminology on plant/pest relationships: Toward consensus in plant pathology and crop protection. *Annual Review of Phytopathology* 33, 69-102.

Brennan, P.S., Martin, D.J., Eisemann, R.L., Mason, L.R., Sheppard, J.A., Keys, P.J., Norries, R.G., Uebergang, R.W., The, D., Agius, P.J. and Fiske, M.L. (1994a) *Triticum aestivum* ssp. *vulgare* (bread wheat) cv. Tasman. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 34, 872.

Brennan, P.S., Martin, D.J., Eisemann, R.L., Mason, L.R., Sheppard, J.A., Keys, P.J., Norries, R.G., Uebergang, R.W., The, D., Agius, P.J. and Fiske, M.L. (1994b) *Triticum aestivum* ssp. *vulgare* (bread wheat) cv. Houtman. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 34, 859-860.

Brennan, P.S., Martin, D.J., Thompson, J.P., Mason, L.R., Sheppard, J.A., Keys, P.J., Uebergang, R.W., The, D., Agius, P.J., Fiske, M.L., Ross, J. and Clewett, T.G. (1994c) *Triticum aestivum* ssp. *vulgare* (bread wheat) cv. Pelstar. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 34, 853-854.

Bridge, J. Fogain, R. and Speijer, P. (1997) The root lesion nematodes of banana. *Musa Pest Fact Sheet No. 2*. INIBAP, Montpellier, France, 4 pp.

Bristow, P.R., Barritt, B.H. and Mcelroy, F.D. (1980) Reaction of raspberry clones to the root lesion nematode. *Acta Horticulture* 112, 39-34.

Brodie, B.B. and Plaisted, R.L. (1993) Resistance in potato to *Pratylenchus penetrans*. *Journal of Nematology* 25, 466-471.

Brown, S.M. and Vessey, J.C. (1985) Rearing of *Radopholus similis* on banana fruit callus. *Revue de Nématologie* 8, 179-190.

Café Filho, A.C. and Huang, C.S. (1989) Description of *Pratylenchus pseudofallax* n. sp. with a key to species of the genus *Pratylenchus* Filipjev, 1936 (Nematoda Pratylenchidae). *Revue de Nématologie* 12, 7-15.

Castillo, P., Trapero-Casas, J.L. and Jimenez-Diaz, R.M. (1996) The effect of temperature on hatching and penetration chickpea roots by *Pratylenchus thornei*. *Plant Pathology* 45, 310-315.

Castillo, P., Vovlas, N. and Jimenez-Diaz, R.M. (1996) Pathogenicity and histopathology of *Pratylenchus thornei* populations on selected chickpea genotypes. *Plant Pathology* 47, 370-376.

Christie, B.R. and Townshend, J.L. (1992) Selection for resistance to the root-lesion nematode in alfalfa. *Canadian Journal of Plant Science* 72, 593-598.

Cook, R. and Evans, K. (1987) Resistance and tolerance. In: Brown, R.H. and Kerry, B. (eds) *Principles and Practice of Nematode Control in Crops*. Academic Press, Orlando, Florida, pp. 179-231.

Coolen, W.A. and D'Herde, C.J. (1972) *A Method for the Quantitative Extraction of Nematodes from Plant Tissue*. Ghent State Agriculture Research centre, Merelbeke, Belgium, 77 pp.

Corbett, D.C.M. (1973) *Pratylenchus penetrans. C.I.H. Descriptions of Plant-parasitic Nematodes* Set 2, No. 25, 4 pp.

Corbett, D.C.M. (1974) *Pratylenchus vulnus. C.I.H. Descriptions of Plant-parasitic Nematodes* Set 3, No. 37, 3 pp.

Corbett, D.C.M. (1976) *Pratylenchus brachyurus. C.I.H. Descriptions of Plant-parasitic Nematodes* Set 6, No. 89, 4 pp.

Cox, T.S., Raupp, W.J., Wilson, D.L., Gill, B.S., Leath, S., Bockus, W.W. and Browder, L.E. (1992) Resistance to foliar diseases in a collection of *Triticum tauschii* germ plasm. *Plant Disease* 76, 1061-1064.

Crossa-Rayanaud, P. and Audergon, J.M. (1987) Apricot rootstocks. In: Rom, R.C. and Carlson, R.F. (eds) *Root-stocks for Fruit Crops*. Johan Wiley & Sons, New York, pp. 295-320.

Culver, D.J., Ramming, D.W. and McKenry, M.V. (1989) Procedures for field and greenhouse of *Prunus* genotype for resistance and tolerance to root lesion nematode. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 114, 30-35.

Dale, A. and Potter, J. (1998) Strawberry cultivars vary in their resistance to northern lesion nematode. *Journal of Nematology* 30 (5), 577-580.

Da Silva, G.S., Ferraz, S., Dos Santos, J.M. and Da Silva Soares, G. (1989) Resistance to *Crotalaria* species to *Pratylenchus brachyurus* and *P. zeae*. *Nematologia Brasileria* 13, 81-86.

Davis, J.R., Hafez, S.L. and Soressen, L.H. (1992) Lesion nematode suppression with the Butte potato and relationships to Verticillium wilt. *American Potato Journal* 69, 371-383.

De Maeseneer, J. and D'Herde, C.J. (1963) Méthodes utilisées pour l'etude des anguillules libres du sol. *Revue Agriculture, Bruxelles* 16, 441-447.

De Waele, D. (1996) Plant resistance to nematodes in other crops: relevant research that may be applicable to *Musa*. In: Frison, E.A., Horry, J.P. and De Waele, D. (eds) *Proceedings of the Workshop on New Frontiers in Resistance Breeding for Nematode, Fusarium and Sigatoka*, 2-5 October, 1995, Kuala Lumpur, Malaysia. INIBAP, Montepellier, France, pp. 108-115.

De Waele, D. (1998) Identification of the nematode resistance sources in banana and plantain by induced mutations. *Report of the Second Research Co-ordination Meeting of FAO/IAEA/BADC Co-ordinated Research Project on 'Cellular Biology and Biotechnology including mutation Techniques of Creation of New Useful Banana Genotypes'*, 13-17 October, 1997, Kuala Lumpur, Malaysia. IAEA, Vienna, Austria, pp. 79-83.

Dinardo-Miranda, L.L., Ferraz, L.C.C.B. (1991) Pathogenicity of *Pratylenchus brachyurus* and *P. zeae* to two sugarcane varieties (*Saccharum* sp.). *Nematologia Brasileira* 15, 9-16.

Dinardo-Miranda, L.L., Morelli, J.L., De, Landell, M.G.A. and De Silva, M.A. (1996) Reaction of sugarcane genotypes in relation to *Pratylenchus zeae* parasitism. *Nematologia Brasileira* 20, 52-58.

Ducharme, E.P. and Birchfield, W. (1956) Physiological races of the burrowing nematode. *Phytopathlogy* 46, 615-616.

Duncan, L.W., Inserra, R.N., Thomas, K.H., Dunn, D., Mustika, I., Frisse, L.M., Mendes, M.L., Morris, K. and Kaplan, D.T. (1999) Molecular and morphological analysis of isolates of *Pratylenchus coffeae* and closely related species. *Nematropica* 29, 61-80.

Ellison, F.W., Brown, G.N., Mares, D.J., Moore, S.G. and Brien, L. (1995) Register of Australian winter cereal cultivars. *Triticum aestivum* ssp. *vulgare* (bread wheat) cv. Sunvale. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 35, 416.

Elsen, A., Lens, K., Nguyet, D.T.M., Broos, S., Stoffelen, R. and De Waele, D. (2001) Development of aseptic culture systems of *Radopholus similis* for *in vitro* host-pathogen studies. *Journal of Nematology* 33 (2), (in press).

Fallas, G.A. and Sarah, J.L. (1994) Effect of storage temperature on the *in vitro* reproduction *Radopholus similis*. *Nematropica* 24, 175-177.

Fallas, G.A. and Sarah, J.L. (1995) Effect of temperature on the *in vitro* multiplication of seven *Radopholus similis* isolates from different banana producing zones of the world. *Fundamental and Applied Nematology* 18, 445-449.

Fallas, G.A., Sarah, J.L. and Fargette, M. (1995) Reproductive fitness and pathogenicity of eight *Radopholus similis* isolates on banana plants (*Musa* AAA cv Poyo). *Nematropica* 25, 135-141.

Fallas, G.A., Hahn, M.L., Fargette, M., Burrows, P.R. and Sarah, J.L. (1996) Molecular and biochemical diversity among isolates of *Radopholus* spp. from different areas of the world. *Journal of Nematology* 28, 422-430.

Farsi, M., Vanstone, V.A., Fisher, J.M. and Rathjen, A.J. (1965) Genetic variation in resistance to *Pratylenchus neglectus* in wheat and triticales. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 35, 597-602.

Feder, W.A. (1958) Aseptic culture of the burrowing nematode, *Radopholus similis* (Cobb) Thorne on excised okra root tissue. *Phytopathlogy* 48, 392-393.

Ferraz, L.C.C.B. (1996) Reaction of soybean cultivars to *Pratylenchus brachyurus*. *Nematologia Brasileira* 20, 22-31.

Ferraz, L.C.C.B., Monteiro, A.R., Inomoto, M.M. and Barbosa-Ferraz, L.C.C. (1989) Reaction of Barbados cherry to seven phytonematode species in Brazil. *Nematologia Brasileira* 13, 39-49.

Florini, D.A., Loria, R. and Kotcon, J.B. (1987) Influence of edaphic factors and previous crop on *Pratylenchus* spp. population densities in potato. *Journal of Nematology* 19, 85-92.

Fogain, R. (1996) Screenhouse evaluation of *Musa* for susceptibility to *Radopholus similis*: evaluation of plantains AAB and diploid AA, AB and BB. In; Frison, E.A., Horry, J.P. and De Waele, D. (eds) *Proceedings of the Workshop on New Frontiers in Resistance Breeding for nematode, Fusarium and Sigatoka*, 2-5 October, 1995, Kuala Lumpur, Malaysia. INIBAP, Montepellier, France, pp. 79-86.

Fogain, R. and Gowen, S.R. (1995) Pathogenicity on maize and banana among isolates of *Radopholus similis* from four Producing countries of Africa and Asia. *Fruits* 50, 5-9.

Fogain, R. and Gowen, S.R. (1998) Yangambi km 5 (*Musa* AAA, Ibota subgroup) a possible source to *Radopholus similis* and *Pratylenchus coffeae*. *Fundamental and Applied Nematology* 21, 75-80.

Fortuner, R. (1976) *Pratylenchus zeae. C.I.H. Descriptions of Plant-parasitic Nematodes* Set 6, No. 7, 3 pp.

Fortuner, R. (1977) *Pratylenchus thornei. C.I.H. Descriptions of Plant-parasitic Nematodes* Set 7, No. 33, 3 pp.

France, R.A. and Brodie, B.B. (1995) Differentiation of two New York isolates of *Pratylenchus penetrans* based on their reaction on potato. *Journal of Nematology* 27, 339-345.

France, R.A. and Brodie, B.B. (1996) Characterization of *Pratylenchus penetrans* from ten geographically isolated populations based on their reaction on Potato. *Journal of Nematology* 28, 520-526.

Griffin, G.D. (1991) Differential pathogenicity of four *Pratylenchus neglectus* on alfalfa. *Journal of Nematology* 23, 380-385.

Griffin, G.D. and Gray, F.A. (1990) Biology and pathogenicity of *Pratylenchus neglectus* on alfalfa. *Journal of Nematology* 22, 546-551.

Hafez, S.L., Al-Rehiayani, S., Thornton, M. and Sundararaj, P. (1999) Differentiation of two geographically isolated populations of *Pratylenchus neglectus* based on their parasitism of potato interaction with *Verticillium dahliae*. *Nematropica* 29, 25-36.

Hahn, M.L., Burrows, P.R., Gnanapargasam, N.C., Bridge, J., Vines, N.J. and Wright, D.J. (1994) Molecular diversity amongst *Radopholus similis* populations for Sri Lanka detected by RAPD analysis. *Fundamental and Applied Nematology* 17, 275-281.

Hahn, M.L., Sarah, J.L., Boisseau, M., Vines, N.J., Wright, D.J. and Burrows, P.R. (1996) Reproductive fitness and pathogenicity of selected *Radopholus* populations on banana cultivars. *Plant Pathology* 45, 223-231.

Handoo, Z.A. and Golden, A.M. (1989) A key and diagnostic compendium to the species of the genus *Pratylenchus* Filipjev, 1936. *Journal of Nematology* 21, 202-218.

Högger, C.H. (1969) Comparison of the penetration of potato roots by *Pratylenchus penetrans* grown in tissue cultures and from field populations. *Journal of Nematology* 1, 10.

Huettel, R.N. (1990) Monoxenic culturing of Plant-parasitic nematodes using carrot discs, callus tissue, and root-explants. In: Zuckerman, B.M., Mai, W.F. and Krusberg, L.R. (eds) *Plant Nematology Laboratory Manual.* University of Massachusetts Agricultural Experimental Station, Amherst, Massachusetts, pp. 163-172.

Huettel, R.N. and Dickson, D.W. (1981) Pathogenesis in the two races of *Radopholus similis* from Florida. *Journal of Nematology* 13, 13-15.

Huettel, R.N. and Yaegashi, T. (1988) Morphological differences between *Radopholus citrophilus* and *R. similis*. *Journal of Nematology* 20, 150-157.

Huettel, R.N., Dickson, D.W. and Kaplan, D.T. (1982) Sex attraction and behavior in two races of *Radopholus similis*. *Nematologia* 28, 360-369.

Huettel, R.N., Dickson, D.W. and Kaplan, D.T. (1983a) Biochemical identification of the two races of *Radopholus similis* by polyacrylamide gel electrophoresis. *Journal of Nematology* 15, 345-348.

Huettel, R.N., Dickson, D.W. and Kaplan, D.T. (1983b) Biochemical identification of the two races of *Radopholus similis* by starch gel electrophoresis. *Journal of Nematology* 15, 338-344.

Huettel, R.N., Dickson, D.W. and Kaplan, D.T. (1984a) Chromosome number of populations of *Radopholus similis* from North, Central and South America, Hawaii, and Indonesia. *Revue de Nématologie* 7, 113-116.

Huettel, R.N., Dickson, D.W. and Kaplan, D.T. (1984b) *Radopholus citrophilus* sp.n. (Nematoda), a sibling species of *Radopholus similis. Proceedings of the Helminthological Society* 51, 32-35.

Inomoto, M.M., Oliveira, G.M.G., Mazzafera, P. and Goncalves, W. (1998) Effect of *Pratylenchus brachyurus* and *P. coffeae* on seedlings of *Coffea arabica*. *Journal of Nematology* 30, 362-367.

Inserra, R.N. and O'Bannon, J.H. (1975) Rearing migratory endoparasitic nematodes in citrus callus and roots produced from citrus leaves. *Journal of Nematology* 7, 261-263.

Kaplan, D.T. (1990) Screening for resistance to *Tylenchulus semipenetrans* and *Radopholus* species. In: Starr, J.L., (ed.) *Methods for Evaluating Plant Species for Resistance to Plant-parasitic Nematode*. The Society of Nematologists, Hyattsville, Maryland, pp. 51-57.

Kaplan, D.T. (1994) Molecular characterization of the burrowing nematode sibling species, *Radopholus citrophilus* and *R. similis*. In: Lamberti, F., De Georgi, G. and Bird, McK.D. (eds) *Advances in Molecular Plant Nematology*. Plenum Press, New York, pp. 77-83.

Kaplan, D.T. (1999) Molecular, genetic, and biological characterization of *citrus* parasitism and phylogeny in the burrowing nematode. *Nematropica* 29, 124.

Kaplan, D.T. and Opperman, C.H. (1997) Genome similarity implies that citrus-parasitic burrowing nematodes do not represent a unique species. *Journal of Nematology* 29, 430-440.

Kaplan, D.T., Vanderspool, M.C., Garrett, C., Chang, S. and Opperman, C.H. (1996) Molecular polymorphisms associated with host range in the highly conserved genomes of the burrowing nematodes, *Radopholus* spp. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 9, 32-38.

Kaplan, D.T., Vanderspool, M.C. and Opperman, C.H. (1997) Sequence Tag site and host range assays demonstrate that *Radopholus similis* and *R. citrophilus* are not reproductively isolated. *Journal of Nematology* 29, 421-429.

Layne, R.E. (1987) Peach rootstocks. In: Rom, R.C. and Carlson, R.F. (eds). *Rootstocks of Fruit Crops*. John Wiley & Sons, New Yourk, pp. 385-416.

Ledbetter, C.L. (1994) Technique for screening *Prunus* rootstocks for resistance to *Pratylenchus vulnus*. In: Nyczepir, A.P., Beertand, P.F. and Beckman, T.G. (eds) *Stone Fruit Tree Decline. Sixth Workshop Proceedings. New Insights and Alternative management Strategies*, 26-28 October, 1992, Fort Valley, Georgia. Us Dept. Agric., Agric. Res. Serv., ARS-122, pp. 34-36.

Ledbetter, C.L. and Shonnard, R. (1991) Evaluation of *Prunus* germplasm for resistance to lesion nematode (*Pratylenchus vulnus*). *HortScience* 26, 709.

Loof, P.A.A. (1978) *The Genus Pratylenchus filipjev, 1936 (Nematoda: Pratylenchidae): a Review of its Anatomy, Morphology, Distribution, Systematics and Identification*. Vaxskyddsrapporter, Jordbruk 5, Uppsala, Swedan.

Machon, J.E. and Hunt, D.J. (1985) *Pratylenchus goodeyi. C.I.H. Descriptions of Plant-parasitic Nematodes* Set 8, No. 120, 2 pp.

Mamiya, Y. (1971) Effect of temperature on the life cycle of *Pratylenchus penetrans* on *Cryptomeria* seedlings and observations on its reproduction. *Nematropiac* 17, 82-92.

Marull, J. and Pinochet, J. (1991) Host suitability of *Prunus* rootstocks to four *Meloidogyne* species and *Pratylenchus vulnus* in Spain. *Nematropica* 21, 185-195.

Marull, J., Pinochet, J. and Verdejo, S. (1990) Respuesta de cinco cultivares de almendro a cuatro especies de neamtodos lesionadores en Espana. *Nematropica* 20, 143-151.

Mateille, T. (1992) Comparative development of three banana-parasitic nematodes on *Musa acuminata* (AAA group) cvs Poyo and Gros Michel vitro-palnts. *Nematologica* 38, 203-216.

Mateille, T. (1994) Comparative host tissue reactions of *Musa acuminata* (AAA group) cvs Poyo and Gros Michel roots to three banana-parasitic nematodes. *Annals of Applied Biology* 124, 65-73.

McFadden-Smith, W., Miles, N.W., Potter, J.W. and Monet, R. (1998) Greenhouse evaluation of *Prunus* rootstocks for resistance or tolerance to the root lesion nematode (*Pratylenchus penetrans*). *Proceedings of the Fourth International Peach Symposium*, 22-26 June, 1997, Bordeaux, France. *Acta Horticulturae* 465, 723-729.

Mehta, U.K., Natesan, N. and Sundararaj, P. (1994) Screening of sugarcane cultivars to *Pratylenchus zeae* for commercial release. *Afro-Asian Journal of Nematology* 4, 109-111.

Mitsui, Y., Yokozawa, R. and Ichinohe, M. (1975) Effect of temperature and pH on the propagation of *Pratylenchus* culturing with alfalfa callus tissues. *Japanese Journal of Nematology* 5, 48-55.

Mizukubo, T. (1992) Morphological and statistical differentiation of *Pratylenchus coffeae* complex in Japan (Nematoda: Pratylenchidae). *Applied Entomology and Zoology* 27, 213-224.

Mizukubo, T. (1995) Evidance for *Pratylenchus coffeae* races in differential reproduction on fifteen cultivars (Nematoda: Pratylenchidae). *Japanese Journal of Nematology* 25, 85-93.

Mizukubo, T. and Adachi, H. (1997) Effect of temperature on *Pratylenchus penetrans* development. *Journal of Nematology* 29, 306-314.

Moody, E.H., Lownsberry, B.F. and Ahmed, J.M. (1973) Culture of the root-lesion nematode *Pratylenchus vulnus* on carrot disks. *Journal of Nematology* 5, 225-226.

Myers, R.F., Feder, W.A. and Hutchins, P.C. (1965) The rearing of *Radopholus similis* (Cobb) Thorne on grapefruit, okra, and alfalfa root callus tissue. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington* 32, 94-95.

Nelson, D.L., Barnes, D.K. and MacDonald, D.H. (1985) Field and growth chamber evaluations for root-lesion nematode resistance in alfalfa. *Crop Science* 25, 35-39.

Nombela, G. and Romero, D. (1999) Host response to *Pratylenchus thornei* of a wheat line carrying the *Cre2* gene for resistance to *Heterodera avenae*. *Nematology* 1, 381-388.

Norton, D.C. (1989) Host efficiencies of *Zea diploperennis* and *Z. perennis* for *Pratylenchus* spp. *Journal of Nematology* 21, 547-548.

Novaretti, W.R.T., Carderan, J.O., Carpanezi, A. and Rodrigues, G.C.S. (1988) Reaction of three sugarcane varieties to the lesion nematode *Pratylenchus zeae* Graham, 1951. *Nematologia Brasileira* 12, 110-120.

O'Bannon, J.H. and Taylor, A.L. (1968) Migratory endoparasitic nematodes reared on carrot discs. *Phytopathology* 58, 385.

Okie, R.W. (1987) Plum rootstocks. In: Rom, R.C. and Carlson, A.F. (eds) *Root-stocks for Fruit Crops*. John Wiley & Sons, New York, pp. 321-360.

Oliveira, C.M.G., Monteiro, A.R., Antedomenico, S.R. and Inomoto, M.M. (1999) Host reaction of *Coffea* spp. to *Pratylenchus brachyurus*. *Nematropica* 29, 241-244.

Olowe, T. and Corbett, D.C.M. (1976) Aspects of the biology of *Pratylenchus brachyurus* and *P. zeae*. *Nematologica* 22, 202-211.

Olthof, T.H.A. (1968) Races of *Pratylenchus penetrans* and their effect on black root rot resistance. *Nematologica* 14, 482-488.

Olthof, T.H.A. (1986) Reaction of six *Solanum tuberosum* cultivars to *Pratylenchus penetrans*. *Journal of Nematology* 19, 424-430.

Orton Williams, K.J. and Siddiqi, M.R. (1973) *Radopholus similis*. *C.I.H. Descriptions of Plant-parasitic Nematodes* Set 2, No. 27, 4 pp.

Payan, L.A. and Dickson, D.W. (1990) Comparison of populations of *Pratylenchus brachyurus* based on isozyme phenotypes. *Journal of Nematology* 22, 538-545.

Pinochet, J. (1979) Comparison of four isolates of *Radopholus similis* from Central America on Valery bananas. *Nematropica* 9, 40-43.

Pinochet, J. (1988a) Comments on the difficulty in breeding bananas and plantains for resistance to nematodes. *Revue de Nématologie* 11, 3-5.

Pinochet, J. (1988b) Nematode problems in *Musa* spp.: pathotypes of *R. similis* and breeding for resistance. *Proceedings of a Workshop on Nematodes and* the *Borer Weevil in Bananas. Present Status of Research and Outlook*. 7-11 December, 1987, Bujumbura, Burundi. INIBAP, Montpellier, France, pp. 66-70.

Pinochet, J. (1998) A review of banana attacking nematodes in the subtropics with emphasis on *Pratylenchus goodeyi* in the canary Island. In: Galan Sauco, V. (ed.) *International Symposium on Banana in the Subtropics*, 10-14 November, 1997, Puerto de Cruz, Tenerife, Spain. *Acta Horticulturae* 490, 353-359.

Pinochet, J. and Rowe, P.R. (1979) Progress in breeding for resistance to *Radopholus similis* on bananas. *Nematropica* 9, 76-78.

Pinochet, J., Verdejo, S., Soler, A. and Canals, J. (1992) Host range of the lesion nematode *Pratylenchus vulnus* in commercial fruit, nut tree, citrus and grape rootstocks in Spain. *Journal of Nematology* 24, 693-698.

Pinochet, J., Marull, J., Rodriguze-Kabana, R., Felipe, A. and Fernandez, C. (1993) Pathogenicity of *Pratylenchus vulnus* on plum rootstocks. *Fundamental and Applied Nematology* 16, 375-380.

Pinochet, J., Cenis, J.L., Fernandez, C., Doucet, M. and Marull, J. (1994) Reproductive fitness and random amplified polymorphic DNA variation among isolates of *Pratylenchus vulnus*. *Journal of Nematology* 26, 271-277.

Pinochet, J., Fernandez, C. and Sarah, J.L. (1995) Influence of temperature on *in vitro* reproduction of *Pratylenchus coffeae*, *P. goodeyi* and *Radopholus similis*. *Fundamental and Applied Nematology* 18, 391-392.

Pinochet, J., Angles, M., Dalmau, E., Fernandez, C. and Felipe, A. (1996) *Prunus* rootstock evaluation to root-knot and lesion nematodes in Spain. *Journal of Nematology* 28 (S), 616-623.

Pinochet, J., Jaizme, M.C., Fernandez, C., Jaumot, M. and De Waele, D. (1998) Screening bananas for root-knot nematode (*Meloidogyne* spp.) and lesion nematode (*Pratylenchus goodeyi*) resistance for the Canary Island. *Fundamental and Applied Nematology* 21, 17-23.

Plowright, R.A., Matias, D., Aung, T. and Mew, T.W. (1990) The effect of *Pratylenchus zeae* on the growth and yield of upland rice. *Revue de Nématologie* 13, 283-291.

Pohl, R.W. and Albertsen, M.C. (1981) Interspecific hybrids of *Zea mays* and *Z. diploperennis*. *Iowa State Journal de Research* 55, 257-259.

Potter, J.W. and Dale, A. (1994) Wild and cultivated strawberries can tolerate or resist root-lesion nematode. *HortScience* 29, 1074-1077.

Potter, J.W., Dirks, V.A., Johnson, P.W., Olthof, T.H.A., Layne, R.E.C. and McDonnell, M.M. (1984) Response of peach seedlings to infection by root-lesion *Pratylenchus penetrans* under controlled conditions. *Journal of Nematology* 16, 317-322.

Price, N.S. (1994a) Field trial evaluation of *Musa* varieties and of other crops as hosts of *Pratylenchus goodeyi* in Cameroon. *Afro-Asian Journal of Nematology* 4, 11-16.

Price, N.S. 1994b. Field trial evaluation of nematode susceptibility within *Musa*. *Fundamental and Applied Nematology* 17, 391-396.

Price, N.S. and McLaren, C.G. (1996) Techniques for field screening of *Musa* germplasm. In: Frison, E.A., Horry, J.P. and De Waele, D. (eds) *Proceedings of the Workshop on New Fontiers in Resistance Breeding for Nematode, Fusarium and Sigatoka*, 2-5 October, 1995, Kuala Lumpur, Malaysia. INIBAP, Montpellier, France, pp. 87-107.

Qing-Yu, Potter, J.W. and Qing-Y. (1998) Population development of *Pratylenchus penetrans* in sweet corn cultivars under controlled conditions. *Canadian Journal of Plant Science* 78, 703-706.

Ramsdell, D.C., Bird, G.W., Warner, F.W., Davenport, J.F., Diamond, C.J. and Gillett, J.M. (1996) Field pathogenicity studies of four species of plant-parasitic nematodes on French-American hybrid grapevine cultivars in Michigan. *Plant Disease* 80, 334-338.

Rich, J.R., Keen, N.T. and Thomason, I.J. (1997) Association of coumestans with hypersensitivity of Lima bean root to *Pratylenchus scribneri*. *Physiological Plant Pathology* 10, 105-116.

Riedel, R.M. and Foster, J.G. (1970) Monoxenic culture of *Ditylenchus dipsaci* and *Pratylenchus penetrans* with modified Krusberg's and White's medium. *Plant Disease Reporter* 54, 215-254.

Roberts, P.A. (1992) Current status of the availability, development and use of host plant resistance to nematodes. *Journal of Nematolgy* 24, 213-227.

Rowe, P. and Rosales, F. (1993) Diploid breeding at FHIA and the development of Goldfinger (FHIA-01). *InfoMusa* 2, 9-11.

Sarah, J.L., Balvignae, F., Sabatini, C. and Boisseau, M. (1992) Une méthode de laboratoire pour le criblage variétal des bananiers vis-à-vis de la résistance aux nématodes. *Fruit* 47, 559-564.

Sarah, J.L., Sabatini, C. and Boisseau, M. (1993) Differences in pathogenicity to banana (*Musa* sp., cv. Poyo) among isolates of *Radopholus similis* from different production areas of the world. *Nematropica* 23, 75-79.

Sarr, E. and Baujard, P. (1988) Sensibilité de trois variétés de niébe (*Vigna unguiculata*) aux nematodes dans la zone Sahelienne du Senegal. *Revue de Nématologie* 11, 451-452.

Sato, H., Shimizu, N., Nakagawa, H. and Nakajima, K. (1990) A new registered cultivar 'Natsukaze' of guineagrass. *Japan Agricultural Research Quarterly* 23, 196-201.

Sawazaki, E., Lordello, A.L.L. and Lordello, R.R.A. (1987) Inheritance of corn resistance to *Pratylenchus* spp. *Bragantia* 46, 27-33.

Schneider, J.H.M., s'Jacob, J.J. and Van De Pol, P.A. (1995) *Rosa multiflora* ludiek, a resistant rootstock with resistant features to the root lesion nematode *Pratylenchus vulnus*. *Scientia Horticulturae* 63, 37-45.

Scotto La Massese. (1975) Tests d'hôtes de quelques porte-greffe et variétés fruitiéres á l'égard de *Pratylenchus vulnus* Allen et Jensen. *Comptes rendus de L'Academie Agronomique de France* 61, 1088-1095.

Seinhorst, J.W. (1950) De betekenis van de toestand van de grond voor het optreden van aantasting door het stengelaaltje *Ditylenchus dipsaci* (Kühn) Filipjev. *Tijdschrift voorPlantenziekten* 56, 289-348.

Seinhorst, J.W. (1959) A rapid method for the transfer of nematodes from fixative to anhydrous glycerin. *Nematologica* 4, 67-69.

Seinhorst, J.W. (1966) Killing nematodes for taxonomic studies with hot F.A. 4:1. *Nematologica* 12, 178.

Siddiqi, M.R. (1972) *Pratylenchus coffeae*. *C.I.H. Descriptions of Plant-parasitic Nematodes* Set 1, No. 6, 3 pp.

Sidhu, G.S. and Webster. J.M. (1981) The genetics of plant-nematode parasitic systems. *Botanical Review* 47, 387-419.

Simeone, A.M., Nicotra, A. and Di Vito, M. (1995) Susceptibility of progenies of *Actinidia deliciosa*, *A. chinensis* and *A. arguta* to four species of *Meloidogyne* and *Pratylenchus vulnus*. *Nematologia Mediterranea* 23 (Suppl.), 85-89.

Smith, O.D., Boswell, T.E. and Thames, W.H. (1978) Lesion nematode resistance in peanuts. *Crop Science* 18, 1008, 1011.

Sosamma, V.K., Koshy, P.K. and Bhaskara Rao, E.V.V. (1988). Response of coconut cultivars to the burrowing nematode, *Radopholus similis*. *Indian Journal of Nematology* 18, 136-137.

Speijer, P.R. and Bosch, C.H. (1996). Susceptibility of *Musa* cultivars to nematodes in Kagera Region, Tanzania. *Fruit* 51, 217-222.

Speijer, P.R. and De Waele, D. (1997) Screening of *Musa* germplasm for resistance and tolerance to nematodes. *INIBAP Technical Guidelines 1,* INIBAP, Montpellier, France, 47 pp.

Speijer, P.R., Boonen, E., Vuylsteke, D., Swennen, R.L. and De Waele, D. (1999) Nematode reproduction and damage to *Musa* sword suckers and sword suckers derived plants. *Nematropica* 29, 193-203.

Stalin, N., Esmenjaud, D., Minot, J.C., Voisin, R. and Pinochet, J. (1994) Comparative host suitability to *Meloidogyne* spp. and *Pratylenchus vulnus* in Myroblam plum genotypes (*Prunus cerasifera* Ehr). *Nemtologica* 41, 344.

Stalin, N., Salesses, G., Pinochet, J., Minot, J.C., Voisin, R. and Esmenjaud, D. (1998) Comparative host suitability to *Meloidogyne* spp. and *Pratylenchus vulnus* in Myroblan plum genotypes (*Prunus cerasifera*). *Plant Pathology* 47, 211-215.

Stoffelen, R. (2000). Early screening of *Eumusa* and *Australimusa* bananas against root-lesion and root-knot nematodes. Ph. D. Thesis. Catholic University, leuven, Belgium.

Stoffelen, R., Jimenez, M.I., Dierckxsens, C., Tam, V.T.T., Swennen, R. and De Waele, D. (1999a) Effect of time and inoculum density on the reproductive fitness of *Pratylenchus coffeae* and *Radopholus similis* populations on carrot disks. *Nematology* 1, 243-250.

Stoffelen, R., Verlinden, R., Xuyen, N.T., Swennen, R. and De Waele, D. (1999b) Screening of Papua New Guinea bananas to root-lesion and root-knot nematodes. *InfoMusa* 8, 12-15.

Stoffelen, R., Verlinden, R., Pinochet, J., Swennen, R.L. and De Waele, D. (2000a) Host plant response of *Fusarium* wilt resistant *Musa* genotypes to *Radopholus similis* and *Pratylenchus coffeae*. *International Journal of Pest Management* 46, 289-293.

Stoffelen, R., Verlinden, R., Xuyen, N.T., Swennen, R. and De Waele, D. (2000b) Host plant response of *Eumusa* and *Australimusa* bananas (*Musa* spp.) to migratory and root-knot nematodes. *Nematology* 2, 907-916.

Stover, R.H. (1972) *Banana, Plantain and Abaca Diseases*. Commonweath Mycological Institute, Kew, UK.

Sundararaju, P. and Koshy, P.K. (1988) Screening of arecanut cultivars and hybrids for resistance to *Radopholus similis*. *Indian Journal of Nematology* 18, 376-378.

Tarte, R., Pinochet, J., Gabrielli, C, and Ventura, O. (1981) Differences in population increase, host preference and frequencies of morphological variants among isolates of the banana race of *Radopholus similis*. *Nematropica* 11, 43-52.

Tarumoto, I., Shiga, T., Sakamoto, S., Ando, T., Ishikawa, H., Kato, S., Takemata, T., Umehara, M. and katayama, K. (1990) New sweet potato cultivar 'Fusabeni'. *Bulletin of the National agriculture Research Centre* 19, 17-37.

Thies, J.A., Basigalup, D. and Barnes, D.K. (1994) Inheritance of resistance to *Pratylenchus penetrans* in alfalfa. *Journal of Nematology* 26, 452-459.

Thompson, J.P. and Haak, M.I. (1997) Resistance to root-lesion nematode (*Pratylenchus thornei*) in *Aegilops tauschii* Coss, the D-genome donor to wheat. *Australian Journal of Agricultural Research* 48, 553-559.

Tiwari, S.P., Vedhera, I., Shuka, B.N. and Bhatt, J. (1992) Studies on the pathogenicity and relative reactions of chickpea lines to *Pratylenchus thornei* (Filipjev, 1936) Sher and Allen, 1953. *Indian Journal of Mycology and Plant Pathology* 22, 255-259.

Toruan-Mathius, N., Pancoro, A., Sudarmadji, D., Mawardi, S. and Hutubarat, T. (1995) Root characteristics and molecular polymorphisms associated with resistance to *Pratylenchus coffeae* in Robusta coffee. *Menara-Perkebunan* 63, 43-51.

Townshend, J.L. (1989) Population densities of four species of root-lesion nematode (*Partylenchus*) in oat cultivars, Saia and OAC Woodstock. *Canadian Journal of Plant Sciences* 69, 903-905.

Townshend, J.L. and Anderson, R.V. (1976) *Pratylenchus neglectus*. *C.I.H. Descriptions of Plant-parasitic Nematodes* Set 6, No. 82, 4 pp.

Townshend, J.L. and Baenziger, H. (1977) Evidence of Resistance to root-lesion nematode in alfalfa clones. *Canadian Journal of Plant Sciences* 56, 977-979.

Valette, C., Nicole, M., Sarah, J.L., Boisseau, M., Boher, B., Fargette, M. and Geiger, J.P. (1997) Ultrastructure and cytochemistry of interactions between banana and the nematode *Radopholus similis*. *Fundamental and Applied Nematology* 20, 65-77.

Valette, C., Mounport, D., Nicole, M., Sarah, J.L. Baujard, P. (1998) Scanning electron microscope study of two African populations of *Radopholus similis* (Nematoda: Partylenchidae) and proposal of *R. citrophilus* as a junior synonym of *R. similis*. *Fundamental and Applied Nematology* 21, 139-146.

Vanstone, V.A., Rathjen, A.J., Ware, A.H. and Wheeler, R.D. (1998) Relationship between root lesion nematodes (*Pratylenchus neglectus* and *P. thornei*) and performance of wheat varieties. *American Journal of Experimental Agriculture* 38, 181-188.

Verdejo-Lucas, S. and Pinochet, J. (1992) Population densities of five migratory endoparasitic nematodes in carrot disk cultures. *Journal of Nematology* 24, 96-98.

Viaene, N., Dueñas, J. and De Waele, D. (1997) Pot Screening of *Musa* genotypes for resistance and tolerance to *Radopholus similis* and *Pratylenchus coffeae*. *Nematropica* 27, 123.

Viaene, N., Dueñas, J. and De Waele, D. (1998) Screening for resistance and tolerance to *Radopholus similis* and *Pratylenchus coffeae* in banana and plantain. *Proceedings of the 24th International Nematology Symposium*, 4-9 August, 1998, Dundee, Scotland, p. 125.

Vrain, T.C. and Daubeny, H.A. (1986) Relative resistance of red raspberry and related genotypes to the root lesion nematodes. *HortScience* 21, 1435-1437.

Vrain, T.C., Daubeny, H.A., Hall, J.W., De Young, R.M. and Anderson, A.K. (1994) Inheritance of resistance to root lesion nematode in red raspberry. *HortScience* 29, 1340-1341.

Waeyenberghe, L., Rys, A., Moens, M., Pinochet, J. and Vrain, T.C. (2000) Molecular characterization of 18 *Pratylenchus* species using rDNA Restriction Fragment Length Polymorphism. *Nematology* 2, 135-142.

Wang, K., Kuehnle, A.R. and Sipes, B.S. (1997) *In vitro* screening for burrowing nematode, *Radopholus citrophilus*, tolerance and resistance in commercial *Anthurium* hybrids. *In Vitro Cellular and Developmental Biology. Plant* 33, 205-208.

Webb, R.M. (1996) *In vitro* studies of six species of *Pratylenchus* (Nematoda: Partylenchidae) on four cultivars of oil seed rape (*Brassica napus* var. *oleifera*). *Nematologica* 42, 89-95.

Wehunt, E.J., Hutchuinson, D.J. and Edwards, D.I. (1978) Reaction of banana cultivars to the burrowing nematode (*Radopholus similis*). *Journal of Nematology* 10, 368-370.

White, P.R. (1963) *The Cultivation of Animal and Plant Cells*, 2nd ed. Ronald Press, New York.

Wicks, Z.W., Smolik, J.D., Carson, M.L. and Scholten, G.G. (1999a) Registration of SD101 parental lines of maize. *Crop Science* 30, 242.

Wicks, Z.W., Smolik, J.D., Carson,, M.L. and Scholten, G.G. (1999b) Registration of SD102 and SD103 parental lines of maize. *Crop Science* 30, 242-243.

Wiryadiputra, S. (1996) Resistance of Robusta coffee to coffee root lesion nematode, *Pratylenchus coffeae*. *Pelita-Perkebunan* 12, 137-148.

Yamakawa, O., Kukimura, H., Komaki, K., Hidaka, M., Yoshinaga, M., Yoshida, T., Tabuchi, S. and Kumagai, T. (1995) Joy White: a new sweet potato cultivar. *Bulletin of the Kyushu National Agricultural Experiment Station* 28, 297-316.

Yamakawa, O., Yoshinaga, M., Kumagai, T., Hidaka, M., Komaki, K., Kukimura, H. and Ishiguro, K. (1999) 'J-Red': a new sweet potato cultivar. *Bulletin of the Kyushu National Agricultural Experiment Station* 33, 49-72.

Yamakawa, O., Kumaga, T., Yoshinagai, M., Ishiguro, K., Hidaka, M., Komaki, K., and Kukimura, H. (1999) 'Sunny-Red': a new sweet potato cultivar for powder. *Bulletin of the Kyushu National Agricultural Experiment Station* 35, 19-40.

Young, T.W. (1954) An incubation method for collecting migratory endoparasitic nematodes. *Plant Disease Reporter* 38, 794-795.

obeikandl.com