الفصل التاسع

نيماتودا الموالح

The Citrus nematode: *Tylenchulus semipenetrans*

S. Verdejo-Lucas[1] and D.T.Kaplan[2]
[1]Departamento de Protección Vegetal,
Institute de Recerca i Technologia Agrolimentarias,
Crta, de Cabrils s/n, 08348 Cabrils, Barcelona, Spain;
[2]US Department of Agriculture, Agriculture Research
Service, 2120 Camden Road, Orlando, Fl 32803, USA

تصيب نيماتودا الموالح *Tylenchulus semipenetrans* Cobb نباتات الموالح في كافة أنحاء العالم (Van Gundy and Heald and O´Bannon, 1987 ؛ Meagher, 1977)، وتعد هذه النيماتودا أكثر أنواع النيماتودا المتطفلة نباتياً ظهوراً وسيادة في بساتين الموالح. ويقدر الفقد المحصولي نتيجة للإصابة بحوالي ١٠٪ على مستوى العالم. ودائماً ما يصاحب الإصابة بهذه النيماتودا ضعف في نمو شجيرات الموالح الصغيرة، وضعف في الأداء المحصولي لأشجار الموالح القائمة (Duncan and Cohn, 1990). ويضم المدى العوائلي لهذه النيماتودا جميع أنواع الموالح وأغلب هجن الموالح مع النباتات الأخرى من العائلة السذبية Rutaceae مثل البرتقال ثلاثي الأوراق *Poncirus trifoliata* L. Rof، وهناك عوائل أخرى من خارج العائلة السذبية مثل: العنب *Vitis vinifera* L.، والزيتون *Olea europaea*، والبرسيمون *Diospyrus* spp.

تصبح إناث نيماتودا الموالح نصف داخلية التطفل ساكنة عقب اختراقها لجذيرات الأصول النباتية القابلة للإصابة، وتكوينها لمناطق تغذية داخل نسيج القشرة بهذه الجذيرات تتكون من خلايا مغذية Nurse cells تحيط برؤوس تلك الإناث. ويصبح سيتوبلازم الخلايا المغذية كثيفاً حبيبياً كلما تقدمت في العمر. يبرز الجزء الخلفي للإناث الكاملة خارج الجذيرات المصابة، ويحاط بكتلة جيلاتينية يوضع فيها البيض (Cohn, 1965). أما ذكور نيماتودا الموالح فيبدو أنها تكمل دورة حياتها دون تغذية (Van Gundy, 1958). وتكمل نيماتودا الموالح جيلاً واحداً في غضون ٦– ٨ أسابيع عندما تكون درجة حرارة التربة ٢٤ – ٢٦ °م. وعقب الفقس، قد يبقى الطور اليرقي الثاني القادر على العدوى لأكثر من أسبوعين في التربة قبل أن يخترق الجذور المغذية للشجيرات أو الأشجار القابلة للإصابة. وليرقات هذه النيماتودا القدرة على البقاء في التربة لأكثر من عام في غياب عوائلها (Baines *et al.*, 1962)، وهي تفضل إما التربة ناعمة القوام الثقيلة، أو التربة الطميية الرملية. ويمكن ليرقات نيماتودا الموالح أن تصيب نباتات

الموالح النامية في الترب خشنة القوام (الرملية) أيضاً، ولكنها ستحتاج إلى فترة أطول من الوقت ليمكنها أن تستوطن هذه الأنواع من الترب (Bello *et al.*, 1986 ؛ O´Bannon, 1968 ؛ Van Gundy *et al.*, 1964 ؛ Van Gundy, 1958). وتسود نيماتودا الموالح بشكل عام في التربة التي تتراوح درجة حرارتها بين ٢٠ و٣٥ °م (O´Bannon *et al.*, 1966)، كما يمكنها أن تبقى حية في الترب الجافة، ولكنها غير قادرة على الدخول في حالة سكون جاف Anhydrobiotic state كما في بعض الأنواع الأخرى من النيماتودا (Tasi and Van Gundy, 1989). ويتأثر حد الضرر (الكثافة العددية التي يحدث عندها الضرر) لهذه النيماتودا على أشجار الموالح بعدة عوامل، ومنها شراسة العشيرة النيماتودية ذاتها، ونوع وقوام التربة، والأصل النباتي، والأمراض النباتية الأخرى، وطرق الإدارة المتبعة في المزرعة. وقد افترض جاربيديان وآخرون Garbedian *et al.* (1984) حداً للضرر يساوي ٥٠٠٠يرقة/٢٥٠سم^{٣} تربة و١٢٠٠أنثى/جم جذور، وذلك في فصل الربيع. وتكون طرق وإستراتيجيات الإدارة لهذه النيماتودا في أوج فعاليتها إذا أجريت في فترات نشاط الجذور حيث تكون الظروف مهيأة أيضاً لنشاط نيماتودا الموالح (Duncan and Noling, 1987).

يحتوي الجنس *Tylenchulus* Cobb على أربعة أنواع هي: *T. semipenetrans* Cobb, 1913، و *T. palustris* Inserra *et al.*, 1988، و*T. furcus* Van der Berg and Spaull, 1982 و*T. graminis* Inserra *et al.*, 1988. ومن هذه الأنواع الأربعة هناك نوع واحد فقط يتطفل على الموالح هو النوع *T. semipenetrans*. وتستخدم الصفات والقياسات المورفولوجية في تعريف الطور اليرقي الثاني والذكور والإناث لهذه الأنواع (Siddiqi, 1974). كما أعطى إنسيرا وآخرون Inserra *et al.* (1988) صفات تشخيصية لتمييز النوع *T. semipenetrans* عن النوعين؛ *T. graminis*، و*T. palustris* (الجدول رقم ٩,١). وقد كان من المعتقد فيما سبق أن النوعين *T. graminis* و*T. palustris* ما هما إلا سلالات برية للنوع *T. semipenetrans* ويتميز النوع *T. furcuc* عن الأنواع الثلاثة الأخرى بذيله المفروق Furecate tail (Van den Berg and Spaull, 1982). أما الطرق الكيموحيوية والسيرولوجية فلم تستخدم حتى الآن في تعريف نيماتودا الموالح، ربما بسبب عدم تطويرها بدرجة تكفي لذلك.

تم تعريف السلالات الفسيولوجية أو الطرز الحيوية من نيماتودا الموالح *T. semipenetrans* التي تختلف في تفضيلها لعوائل معينة دون أخرى، وذلك لأول مرة في ولاية كاليفورنيا الأمريكية (Baines *et al.*, 1969؛ Baines *et al.*, 1974). وقد تم بالفعل تمييز ثلاثة طرز حيوية هي: سلالة الموالح Citrus race، وسلالة البحر المتوسط Mediterranean race، وسلالة البرتقال Poncirus race (Inserra *et al.*,1980؛ Inserra *et al.*,1994؛ Gottlieb *et al.*, 1987؛ Verdejo-Lucas *et al.*, 1997a). وتصيب سلالة الموالح عدة أجناس نباتية في العائلة السذبية Rutaceae، وتشمل هذه الأجناس كلا من جنس الموالح *Citrus* spp.، والترويير *Troyer*، والسيترانج (وهو هجين *Citrus sienensis* × *P. trifoliata*)، والزيتون، والعنب، والبرسيمون، ولكنها تتكاثر بدرجة منخفضة جداً على البرتقال ثلاثي الأوراق *P. trifoliata*، وبعض الهجن منه. ويماثل المدى العوائلي لسلالة البحر المتوسط مثيله لسلالة

الموالح عدا الزيتون، أما سلالة البرتقال Poncirus type فتتكاثر على جنس الموالح .*Citrus* spp، والبرتقال ثلاثي الأوراق *P. trifoliata* وبعض الهجن منه، والعنب، ولكنها لا تتكاثر على الزيتون.

الجدول رقم (٩,١). الصفات المفتاحية الرئيسة لتعريف أنواع نيماتودا الموالح *Tylenchulus semipenetrans*، و*T. graminis*، و*T. palustris*.

الطور النيماتودي	الصفات المورفولوجية المفرقة	*T. semipenetrans* المدى	*T. semipenetrans* المتوسط	*T. graminis* المدى	*T. graminis* المتوسط	*T. palustris* المدى	*T. palustris* المتوسط
الإناث الكاملة	شكل الجسم معبراً عنه كنسبة مئوية لانتفاخه	٦٠,٠ – ٣٤,٤	٤٧,٤	٨٥,١ – ٦٦,٠	٧٢,٧	٥٣,٨ – ٣٢,٣	٤٠,٠
	سمك الكيوتيكل	٥,٦٥ – ٢,٩	٣,٧	٤,٠ – ١,٠	٢,١	٤,٤ – ٢,٥	٣,٥
	فراغ الكيس الرحمي الخلفي	٧,١ – ١,٨	٤,٣	١١,٢ – ٥,١	٧,٥	١٢,٢ – ٥,١	٧,١
	طول الكيس الرحمي الخلفي	٥٢,٠ – ٢٦,٥	٤٠,٠	٤٥,٩ – ٣٤,٦	٤٠,١	٣٣,٦ – ٢٠,٤	٢٧,٥
	عرض الكيس الرحمي الخلفي	١٣,٢ – ٩,١	١٠,٩	١٤,٢ – ١٢,٢	١٢,٩	١٧,٣ – ١١,٢	١٤,٠
	المستقيم وفتحة الشرج	غير ملحوظ		ملحوظ		غير ملحوظ	
الذكور الكاملة	عرض الانتفاخ القاعدي للمريء	٨,٠ – ٥,١	٦,٤	١٢,٢ – ٨,١	٩,٢	١١,٢ – ٨,١	٩,١
	عرض الجسم	١٢,٢ – ١٠,٢	١١,٢	١٦,٢ – ١٣,٢	١٤,٦	١٤,٢ – ١٢,٢	١٣,٣
	عرض قواعد الرمح	١,٢ – ٠,٩	١,٠	٢,١ – ١,٦	٢,٠	٢,١ – ١,٧	١,٩
	طول الذيل	٤٤,٨ – ٣٤,٦	٣٩,٩	٦٥,٩ – ٤٨,٩	٥٥,٦	٤٣,٨ – ٣٣,٦	٣٧,١
يرقات الطور الثاني	طول الجزء الخلفي من الجسم بدون الكريات الدهنية الكبيرة	٦٠,١ – ٤٨,٩	٥٥,٣	٧٦,٦ – ٥٨,١	٦٩,٦	٥٩,١ – ٢٨,٥	٤٩,٨
	المستقيم وفتحة الشرج	غير ملحوظ		يمكن تعيينه		يمكن تعيينه أحياناً	
	طول الذيل (من فتحة الشرج إلى نهاية الجسم الخلفية)	لا يمكن تقديره		٧٢,٤ – ٥٩,١	٦٥,٠	لا يمكن تقديره	
	المسافة من الفتحة الإفرازية إلى الغدة التناسلية	٢٤,٤ – ٦,١	١٦,٥	٤٣,٨ – ٢٢,٤	٣٣,٥	٢٥,٥ – ٢,٠	١٢,٨

عن: Inserra *et al.* (1988)

كل القيم معبراً عنها بالميكروميتر.

openkandi.com

مصادر المقاومة

Sources of Resistance

اشتق المصدر الوحيد للمقاومة تجاه نيماتودا الموالح الذي تم نقله إلى أصول الموالح التجارية المقبولة من البرتقال ثلاثي الأوراق *P. trifoliata* وهذا الأصل (البرتقال ثلاثي الأوراق) يمثل أيضاً مصدراً للمقاومة تجاه فيروس ترايستيزا الموالح Citrus tristeza virus والتحمل لفطر *Phytophthora*. وهناك بعض التراكيب الوراثية من البرتقال ثلاثي الأوراق *P. trifoliata* تتكاثر عليها النيماتودا بدرجات قليلة (معدل التكاثر Pf/Pi أقل من الواحد الصحيح)، وتعتبر في نفس الوقت عالية المقاومة للعديد من عشائر نيماتودا الموالح *T. semipenetrans*. كما توجد أيضاً بعض التراكيب الوراثية الأخرى التي تعد متوسطة القابلية للإصابة (معدل التكاثر أكبر من الواحد)، ولكنها عموماً أقل في قابليتها للإصابة من الأصل القابل للإصابة القياسي (Cameron *et al.*, 1954 ؛ Ducharme, 1948 ؛ Feder, 1968 ؛ Baines *et al.*, 1969 ؛ O´Bannon and Ford, 1977 ؛ McCarty *et al.*, 1979 ؛ Reddy and Agarwal, 1987 ؛ Crozzoli and González, 1989). ويمكن تهجين البرتقال ثلاثي الأوراق بسهولة مع أغلب أنواع جنس الموالح *Citrus* spp.، ولكن أغلب الهجن الناتجة تكون قابلة للإصابة بنيماتودا الموالح *T. semipenetrans* (Hutchinson and O´Bannon, 1972)، والقليل منها أيضاً هو الذي يمكنه أن يتوارث صفة المقاومة تجاه نيماتودا الموالح. ومن هذه الهجن نجد أن الأصل الهجين "Swingle citrumelo" (*Citrus paradisi* Macf × *P. trifoliata*) عالي المقاومة لنيماتودا الموالح في كل من ولاية فلوريدا الأمريكية (Kaplan and O´Bannon, 1981)، وإيطاليا (Lo Giudice and Inserra, 1990). وقد أورد دنكن وآخرون Duncan *et al.* (1994) عشيرة من نيماتودا الموالح *T. semipenetrans* قادرة على التغلب على صفة المقاومة في الأصل "Swingle citrumelo" في ولاية فلوريدا، ولكن يبدو أن وجود هذه العشيرة كان قاصراً على المشتل الذي ظهرت فيه. وهناك أيضاً بعض التقارير حول مصادر للمقاومة تجاه نيماتودا الموالح من بين بعض أجناس النباتات البرية التي تنتمي للعائلة السذبية Rutaceae (Baines *et al.*, 1960 ؛ Kaplan and O´Bannon, 1981). ولكن هذه الأجناس ليست مقبولة زراعياً كأصول، كما أن نجاحها في التهجين مع جنس الموالح *Citrus* كان محدوداً.

اعتبارات عامة في اختبارات المقاومة لنيماتودا الموالح

General Considerations for Screening for Citrus Nematode Resistance

دائماً ما تتم برامج تربية الموالح على مستويات إقليمية، وتنحصر أهدافها عادة في العثور على الأصول التي يمكن إكثارها بسهولة، وتتميز بالقبول زراعياً، وبقدرتها على التأقلم مع الظروف البيئية الجوية والأرضية، وبمقاومتها أو تحملها لأمراض الموالح الهامة. وبالرغم من توفر صفة المقاومة لنيماتودا الموالح في أصل البرتقال ثلاثي

الأوراق *P. trifoliata*، والأصل "Swingle citrumelo"، إلا أن كلاً من هذين الأصلين له بعض المحددات الهامة مثل الأداء الضعيف في التربة الجيرية والقلوية، ومن ثم فمازالت هناك حاجة إلى أصول جديدة تلبي الاحتياجات الإقليمية. ومع ذلك لم تأخذ اختبارات المقاومة لنيماتودا الموالح *T. semipenetrans* الأولوية القصوى في العديد من برامج التربية للمقاومة لنيماتودا الموالح، وذلك بسبب عدم إدراج نيماتودا الموالح ضمن الآفات الهامة في العديد من مناطق إنتاج الموالح في العالم. وعلى عكس ذلك، تم اكتشاف العديد من الأجناس القريبة لجنس الموالح التي تتميز بمقاومتها لنيماتودا الموالح في مناطق متفرقة من العالم (Hutchinson ؛ Baines *et al*., 1960 ؛ Cameron *et al*., 1954 ؛ and O´Bannon, 1972 ؛ Lo Giudice and Inserra, 1980 ؛ Mc Carty *et al*., 1979 ؛ Chhabra and Bindra, 1974 Crozzoli and Spiegel-Roy *et al*., 1988 ؛ Reddy *et al*., 1977 ؛ Reddy and Agarwal, 1987 ؛ Geraci *et al*., 1981 Verdejo-Lucas *et al*., ؛ Verdejo-Lucas *et al*., 1997b ؛ Niles *et al*., 1995 ؛ Zhu *et al*., 1992 ؛ González, 1989 2000). وجدير بالذكر أن الطرق والمنهجيات الموصوفة هنا قد تم الحصول عليها من المراجع والدراسات السابقة، وسوف يمكن الرجوع إليها كدليل.

اللقاح Inoculum

للتقييم الجيد لصفة المقاومة في النباتات تجاه النيماتودا، يجب تلويث التربة بعدد كاف من النيماتودا، وذلك لكي نمكن النيماتودا من استيطان التربة وإحداث العدوى دون أن يسبب ذلك ضرراً من صنعنا للنبات. ولكن تربية نيماتودا الموالح بأعداد كبيرة لاستخدامها كلقاح في تجارب التقييم لصفة المقاومة يعد أمراً صعباً، وذلك لسببين وهما: أن نباتات العائلة السذبية Rutaceae هي نباتات بطيئة النمو، وأن نيماتودا الموالح تحتاج إلى ٦ – ١٢ شهراً لكي تتكاثر بأعداد كبيرة. ويمكن تربية نيماتودا الموالح في مزارع أصص في البيوت الزجاجية، أو يمكن جمعها مباشرةً من جذور أشجار موالح مصابة في الحقل (Hutchinson and O´Bannon, 1972 ؛ Niles *et al*., 1995 ؛ Verdejo-Lucas *et al*., 1997b). ويمكن المحافظة على المزارع النيماتودية الأصل في البيوت الزجاجية في صناديق كبيرة تحد من التقلبات في درجات الحرارة والرطوبة. ولكن إذا كانت الصناديق ستستخدم لفترات طويلة من الزمن فإن أعداد نيماتودا الموالح سوف تتدهور بدون شك بسبب تزايد أعداد المفترسات والمتطفلات على النيماتودا حينئذ في تلك الصناديق (Walter *et al*., 1993). وقد تظهر الطرز الحيوية لنيماتودا الموالح عادة في منطقة معينة، ويجب أن يؤخذ ذلك في الحسبان عند إجراء اختبارات التقييم لصفة المقاومة لهذه النيماتودا. ولتعريف هذه الطرز الحيوية، يجب استخدام البرتقال ثلاثي الأوراق، والموالح *Citrus* spp.، والزيتون كعوائل مفرقة يمكن بواسطتها تمييز هذه الطرز (Inserra *et al*., 1980 ؛ Inserra *et al*., 1994).

يمكن الحصول على بيض نيماتودا الموالح لاستخدامه كلقاح عن طريق تمزيق أنسجة جذور النباتات المصابة (McSorley *et al*., 1984). ويتم ذلك بغسيل الجذور لتخليصها من حبيبات التربة، ثم تؤخذ الجذور المغذية الصغيرة (ذات القطر أقل من ٢ مم)، وتقطع إلى قطع صغيرة بطول ١ – ٢ سم، ثم توضع في خلاط مع كمية من الماء، ويدار الخلاط على السرعة القصوى لمدة ١٥ ثانية. بعد ذلك، يصب قليل من الماء على جوانب دورق الخلاط الداخلية ثم يدار لمدة ١٥ ثانية أخرى. ويمكن استخلاص البيض بطريقة بديلة وهي طريقة هيبوكلوريت الصوديوم NaOCl ٠,٠٥٪. حيث تؤخذ الجذور الممزقة مع الماء وتمرر على منخلين العلوي منهما ذو ثقوب قطرها ٧٤ ميكروميتراً، والسفلي ذو ثقوب قطرها ٢٥ ميكروميتراً. بعد ذلك يتم التخلص من الشوائب الموجودة على المنخل العلوي بعد شطفها بقليل من الماء، وينقل المعلق المحتوي على البيض في المنخل السفلي إلى كأس أو دورق، ثم يتم عدّ البيض بواسطة شريحة عدّ ومجهر مركب.

يمكن أيضاً استخدام يرقات الطور الثاني لنيماتودا الموالح *T. semipenetrans* المستخلصة من جذور الموالح كلقاح (Kaplan, 1990). ولإجراء ذلك، يتم شطف الجذور المغذية المصابة في قليل من الماء على درجة حرارة الغرفة، ويتم تهوية الجذور دائماً بإدخال فقاعات من الهواء في الماء المحتوي على الجذور. كما يمكن الحصول على اليرقات أيضاً بطريقة أخرى وهي طريقة غرفة الرذاذ (Hutchinson and O´Bannon, 1972). وتجمع اليرقات المتحصل عليها في الساعات الأربع والعشرين الأولى من الاستخلاص ثم يتم التخلص منها (Hutchinson and O´Bannon, 1972). وبعد ذلك تجمع اليرقات يومياً لمدة ٥–٧ أيام وتركز في كمية قليلة من الماء وتخزن على درجة حرارة ١٥ °م لحين استخدامها كلقاح.

وتستخدم أقماع بيرمان عادة لتركيز اليرقات النشطة التي تفقس من البيض. وينصح بوضع النيماتودا قبل استخدامها في عملية التلقيح مباشرة في الماء المعقم ثم إخضاعها عدة مرات للشطف بماء مقطر معقم، ثم لعملية طرد مركزي وذلك للتخلص مما قد يكون علق بها من تلوث، ويمكن أيضاً استخدام طريقة قمع بيرمان للحصول على اليرقات الفاقسة من البيض الذي تم الحصول عليه بطريقة تمزيق الأنسجة.

التلقيح Inoculation

يمكن تنمية بادرات الموالح في صواني ٥٠ × ٤٠ سم، ثم تلقيحها بحقن معلق البيض واليرقات في التربة حول الجذور. تنمو البادرات لمدة ٤ – ٥ أسابيع بعد التلقيح لضمان إصابتها قبل شتلها في صناديق أكبر (Van Gundy and Martin, 1961). وإذا لم يمكن اجراء ذلك، فتنمى البادرات في تربة معقمة لمدة ٢ – ٦ أشهر ثم تشتل في تربة ملوثة بالنيماتودا، ويمكن أن تستمر البادرات في النمو داخل الصناديق ذات التربة الملوثة بالنيماتودا لمدة ستة أشهر، وذلك

لضمان إصابتها بالنيماتودا. ويجب أن تشتل البادرات دائماً في أصص ذات قطر ٢٠ سم تحتوي على نفس الخليط من التربة وذلك بمعدل بادرة/أصيص. تترك النباتات لتنمو لمدة ستة أشهر أخرى قبل تقدير معدل تكاثر النيماتودا عليها (O´Bannon and Ford, 1977). هذا وقد قارن فان جندي وتاسو Van Gundy and Taso (1963) بين طريقتين لتلقيح النباتات بالنيماتودا، ووجد أن طريقة تلقيح البادرات في الصواني أفضل من تلقيحها عند الشتل. وقد يكون ذلك بسبب الإجهاد الذي يقع على البادرات عند شتلها. ويمكن خلط التربة الملوثة بالنيماتودا بنسب وأحجام معينة، وذلك للحصول على مستوى كثافة اللقاح النيماتودي المطلوب (Lo Guidice and Inserra, 1980). وعند استخدام جذور مصابة بالنيماتودا كمصدر للقاح (Crozzoli and González, 1989)، يجب أن تؤخذ عينة موزونة من هذه الجذور وتستخلص النيماتودا منها بطريقة تمزيق الأنسجة في الخلاط على سبيل المثال، ثم يتم تقدير عدد النيماتودا بكل جرام من الجذور. وفي ضوء ذلك، يتم تقدير كمية الجذور المطلوبة للحصول على اللقاح المطلوب. ومن الممكن أيضاً، كطريقة بديلة، أن تلقح بادرات الموالح المنماة فردياً في الأصص عن طريق حقن التربة بمعلق مائي من البيض أو اليرقات (Verdejo-Lucas *et al.*, 1997b ؛ Kaplan, 1990 ؛ Cameron *et al.*, 1954). وقد يوضع لقاح نيماتودا الموالح سواء كان بيضاً أو يرقات مرة واحدة في التربة أو يوزع على فترات أسبوعية (McCarty *et al.*, 1979 ؛ Niles *et al.*, 1995). وقد تم تقدير كثافة اللقاح المثلى من نيماتودا الموالح وذلك من خلال عدة دراسات. ولكن ظروف التجربة، بما فيها من طريقة التلقيح، وحجم الأصص، ونوع التربة قد تؤثر على معدل تكاثر النيماتودا (Verdejo-Lucas *et al.*, 1997b ؛ Niles *et al.*, 1995 ؛ O´Bannon *et al.*,1966 ؛ Van Gundy and Taso, 1963). وبصفة عامة، يجب إضافة عدد كبير من النيماتودا لتلقيح النباتات. وعادة يستخدم معدل لقاح من نيماتودا الموالح *T. semipenetrans* قدره ٥٠٠٠ أو ١٠٠٠٠ بيضة/ نبات. ويوضع اللقاح في ثلاثة ثقوب على الأقل يتم عملها في التربة حول قاعدة ساق النبات لضمان التوزيع المتجانس للقاح. ويجب تجنب الري الزائد عقب التلقيح كيلا يتسرب اللقاح النيماتودي إلى خارج الأصص.

قواعد الاختبار
Screening Protocols

نظراً لوجود اختلافات في القابلية للإصابة بنيماتودا الموالح فيما بين التراكيب الوراثية المختلفة من البرتقال ثلاثي الأوراق *P. trifoliata*، فإن الأصول المختارة من جنس الموالح *Citrus* spp.، وهجنه لإجراء اختبارات التقييم عليها قد تحتوي على نسبٍ معينة من التركيب الوراثي للبرتقال ثلاثي الأوراق وقد لا تحتوي على هذه النسب. وقد يكون تعريف المستويات المتوسطة من المقاومة لنيماتودا الموالح *T. semipenetrans* مفيداً في التطبيق الحقلي إذا كانت تلك الأصول تمتلك الصفات البستانية المرغوبة، أو تمتلك مقاومة معينة لمسببات مرضية أخرى. ويتم التقييم الأولي

عادة تحت ظروف البيت الزجاجي لأن تقييم النباتات قد يحتاج إلى عام أو عامين بسبب الطبيعة النباتية لنباتات الموالح وبطء دورة حياة نيماتودا الموالح.

تتكاثر نباتات الموالح وهجنها عادة بالبذرة، ولكن من الممكن أيضاً أن تتكاثر النباتات خضرياً عن طريق عملية الترقيد (Gottlieb *et al.*,1987)، ولو أنه ليس من السهل استخدام هذه العملية في جميع الأحوال ومع جميع النباتات. وفيما يتعلق بالأنواع عديدة الأجنة Polyembryonic species فمن الممكن أيضاً أن يتم تكاثرها خضرياً (Kaplan, 1990). تنبت البذور في مراقد البذور، وتشتل فردياً في أصص بعد ٢ – ٣ أشهر، وتترك لتنمو لمدة ستة أشهر قبل عدواها ببيض أو يرقات النيماتودا. ويجب أن تكون جميع النباتات متجانسة وممثلة للتركيب الوراثي الذي تتبعه بقدر الإمكان. ويجب أن تنمو نباتات الاختبار في ظروف صحية صارمة، وذلك لتجنب إصابتها بكائنات أخرى ممرضة من ممرضات الجذور. ويجب أيضاً أن تكون الأصص ذات أحجام مناسبة تتيح للنباتات فرصة النمو الجيد، كما يجب العمل على خفض التقلبات في درجة حرارة ورطوبة المجموع الجذري قدر الإمكان. وتستخدم الأصص المصنوعة من الطمي أو البلاستيك، أو الأكياس البلاستيكية السوداء في اختبارات تقييم الأصناف المقاومة للنيماتودا، ويقترح أن يكون حجم الأصيص حوالي ٣ ديسميتر^{3}. وتساعد الأصص الطمية الكبيرة في تقليص درجات التلقب الحراري في التربة، كما تساعد أيضاً في حفظ التربة باردة، ولكن يعيبها ثقل الوزن وصعوبة التداول. وعلى عكس ذلك، نجد أن الأصص البلاستيكية خفيفة الوزن وسهلة التداول، كما يسهل رفع النباتات منها، ولكن يعيبها أن التغيرات في درجة الحرارة والرطوبة بداخلها تكون كبيرة. أما التربة التي يفضل استخدامها في اختبارات تقييم مقاومة أصناف الموالح لنيماتودا الموالح فهي التربة التي تحتوي على نسبة عالية من المادة العضوية حيث تشجع هذه التربة على زيادة كفاءة نيماتودا الموالح في اختراق جذور نباتات الموالح (O´Bannon *et al.*, 1966). وعموماً، من الممكن استخدام خليط تربة البيتموس (٥٠ – ٦٠٪) والرمل الناعم (٥٠ – ٤٠٪) مضافاً إليه سماد عناصر كبرى وصغرى. ويجب أن يكون تركيز أيون الهيدروجين pH للتربة حوالي ٦,٥، ويمكن ضبط ذلك بإضافة كربونات الكالسيوم $CaCO_3$ (Verdejo-Lucas *et al.*, 1970a). ويجب أيضاً أن تعقم التربة بالبخار بسبب محتواها العالي من المادة العضوية.

وإضافة إلى نباتات الاختبار، يجب أن يشمل الاختبار أيضاً أصولاً قياسية مقاومة وأخرى قابلة للإصابة لتأكيد القدرة الإمراضية لعزلة النيماتودا المختبرة، وأيضاً للتأكد من مناسبة ظروف الاختبار لتطور النيماتودا. ونظراً لاحتمالية وجود تغيرات في الكثافة العددية للنيماتودا من أصيص لآخر، يجب استخدام ستة إلى عشرة مكررات لكل تركيب وراثي. أما التصميم الإحصائي الأنسب لاختبارات تقييم مقاومة الأصناف للنيماتودا فهو التصميم العشوائي الكامل، كما يمكن أيضاً استخدام تصميم القطاعات العشوائية المنشقة Randomized split block design

التي تمتد مكرراتها من جانب في البيت الزجاجي إلى الجانب الآخر عند وجود تغير في الظروف البيئية المحيطة. ومن الناحية الاعتيادية، يجب أن يستمر الاختبار في البيت الزجاجي لمدة ستة أشهر عقب تلويث التربة بالنيماتودا. ويجب عند التخطيط للتجربة- مراعاة وقت الذروة في نشاط النيماتودا في المنطقة، فتتم الزراعة في الوقت المناسب لأن يكون وقت الحصاد واستخلاص النيماتودا متماشياً مع هذه الفترة. وبصفة عامة، توفر الاختبارات التي تجرى في فترة الربيع إلى الخريف ظروفاً مثلى لتطور النيماتودا مقارنة بالمواسم الأخرى، كما أن هذه الفترة (الربيع – الخريف) تكون مناسبة أيضاً لنمو وتطور نباتات الموالح.

يجب التحكم في درجات الحرارة دائماً خلال فترة التجربة حيث إن التقلبات في درجات الحرارة تؤثر معنوياً في الكثافة العددية للنيماتودا. وتتراوح درجات الحرارة المناسبة لتطور نيماتودا الموالح بين ١٩ و٣٢ °م، ويجب أيضاً استخدام مصدر مياه خال من النيماتودا لري نباتات الاختبار، التي يجب أيضاً تسميدها من فترة لأخرى. كما يجب المرور دورياً على نباتات الاختبار لاكتشاف أية إصابات حشرية أو مرضية تنتابها خلال مدة التجربة. ويجب الحذر أيضاً من استخدام أية مبيدات حشرية جهازية، حيث إنها تؤثر على تطور النيماتودا.

يجب أيضاً مراقبة الكثافة العددية للنيماتودا خلال مدة الاختبار، وذلك بجمع عينات من التربة والجذور على فترات منتظمة باستخدام أسطوانة جمع العينات (الأوجر) حتى انتهاء فترة الاختبار. وفي نهاية مدة الاختبار، تحرر النباتات من الأصص، وتنظف الجذور من حبيبات التربة، ثم تغطس الجذور بعد ذلك في أوعية تحتوي على الماء، وذلك لتجنب الغسيل اليدوي الذي قد يؤدي إلى فقد الكثير من كتل البيض النيماتودية. توزن الجذور الصغيرة الليفية Fibrous roots بعد أخذها مباشرة من الجذور الابتدائية Primary roots والثانوية Secondary roots، وتفحص مباشرة أو تخزن في ظروف تجميد على درجة حرارة -٢٠ °م (Verdejo-Lucas *et al*., 1997b)، أو تحفظ في ٠,٥٪ فورمالين (Baines *et al*., 1969) حتى يمكن استخدامها لاحقاً. يفيد وزن المجموع الجذري بأكمله في مقارنة قوة نمو الأصول في ظل إصابتها بالنيماتودا. تستخلص النيماتودا من جميع الجذور الليفية للنبات الواحد جيداً، وذلك لتقدير معدل التكاثر، ولكن يمكن إنجاز ذلك أيضاً بأخذ عينة عشوائية بحوالي ٣ – ٥ جم من تلك الجذور من كل نبات واستخلاص النيماتودا منها، ثم حساب معدل تكاثر النيماتودا بعد ذلك على كل نبات. وتستخلص النيماتودا من الجذور الليفية بتقطيع تلك الجذور إلى قطع صغيرة، ثم تحضينها في مرطبانات زجاجية سعة ٢٥٠ مل تحتوي على ١٠ مل ماء لمدة ٢ – ٥ أيام (Young, 1954). يمكن أيضاً تحضين الجذور في أكياس مغلقة من البولي إيثيلين ذات سعة ٥٠٠ مل تحتوي على فوق أوكسيد الهيدروجين ٣٪ وعلى درجة حرارة ٢١ °م لمدة يومين (Tarjan, 1972). ويمكن أيضاً استخدام طريقة التمزيق بالخلاط (McSorley *et al*., 1984) لاستخلاص النيماتودا من الجذور الليفية، ثم فصل النيماتودا من المعلق بواسطة طريقة الطرد المركزي والطفو باستخدام محلول ١ جزيئي من السكروز

وسلفات الماغنيسيوم 1 M sucrose, $MgSO_4.7H_2O$ على قوة جاذبية نوعية Specific gravity = ١,١ (Kaplan, 1990)، أو استخدام السيليكا الغروية على قوة جاذبية نوعية = ١,١٦ (Greco and D´Addabbo, 1990). ولتسهيل عملية عدّ النيماتودا، يمكن صبغ النيماتودا في المعلق باستخدام صبغة الفوكسين الحامضي (Baines *et al*., 1969). وتعرض النتائج عادة في صورة عدد النيماتودا/جم من الجذور الطازجة. وفي حالة النيماتودا المستخلصة بطريقة التحضين، يمكن تجفيف الجذور في فرن على درجة حرارة ٧٦ °م لمدة ٢٤ ساعة، وتعرض النتائج في صورة عدد النيماتودا/جم من الجذور الجافة. ويمكن أيضاً عرض النتائج في صورة عدد النيماتودا/سم من الجذور (Baines *et al*., 1960)، ولو أن هذا المقياس قد يتطلب الكثير من العمالة في حالة اختبار أعداد كبيرة من النباتات (Hutchinson and O´Bannon, 1972).

تم أيضاً استخدام أحد الاختبارات الفعالة السريعة في تقدير مقاومة النباتات للنيماتودا الحفارة *R. similis* Cobb (Kaplan, 1994)، وذلك في تقدير مقاومة النباتات أيضاً لنيماتودا الموالح *T. semipenetrans*. ويجرى هذا الاختبار في أنابيب اختبار معقمة في الأوتوكلاف ذات أبعاد ٢٤ × ١٥٠ مم مملوءة بحوالي ٥٥ سم^3 من الرمل الناعم المجفف بالهواء، والمزود بحوالي ١٥٪ بيتموس، على أن تكون درجة تركيز أيون الهيدروجين في هذه البيئة ٥,٨ (ويمكن ضبط ذلك باستخدام كربونات كالسيوم). تنزع قشور بذور الموالح، ثم تطهر البذور سطحياً باستخدام هيبوكلوريت الصوديوم ٠,٢٪ لمدة ٢٠ دقيقة، ثم تشطف أربع مرات في ماء مقطر معقم. يرطب الرمل في كل أنبوبة بإضافة ٣ مل من الماء المقطر المعقم مباشرة قبل زراعته ببذرة واحدة توضع في حفرة على السطح. تغطى البذرة بعد ذلك بطبقة رقيقة من الرمل المعقم. تحضن الأنابيب على درجة حرارة ٢٥ ± ١,٥ °م، وتضبط درجة الرطوبة دائماً عند مستوى ٠,٣٪ حجم : حجم باستخدام ماء مقطر معقم. أما الإضاءة فتستمد من مصباح هاليد معدني ٤٠٠ وات (٣٥٠ ميكرومول/م^2/ثانية عند مستوى النباتات). تُلوث التربة في الأنابيب بعد ٤٥ يوماً من الزراعة بإضافة ١ مل من معلق مائي يحتوي على نيماتودا الموالح بواقع ٣٢٥ يرقة/مل من الماء المقطر المعقم. وتكرر عملية العدوى بعد سبعة أيام. وبعد ٩٠ يوماً من أول عملية عدوى، يؤخذ المجموع الجذري لكل نبات على حدة، وذلك باستخدام أنبوبة نحاسية ذات قطر ٦ مم من أعلى ويقل تدريجياً حتى ينتهي إلى ٣ مم عند قاعها، وتثبت هذه الأنبوبة على مصدر مائي. يضبط المصدر المائي ليعطى تياراً خفيفاً من الماء، وتدخل الأنبوبة النحاسية في أنبوبة الاختبار التي تحتوي على نبات الاختبار ليتم تحرير المجموع الجذري من التربة بلطف. يعاد المجموع الجذري إلى الأنبوبة بعد ذلك، وتغطى كل أنبوبة، ثم تحضن على درجة حرارة ٢٥ °م لمدة خمسة أيام. يضاف بعد ذلك ٢ مل ماء إلى الأنبوبة التي توضع في هزاز كهربي لمدة ٢٠ ثانية على سرعة ٢٥٠ دورة/دقيقة. ينقل المعلق الناتج في الأنبوبة بعد ذلك إلى طبق عدّ، ويتم عدّ البيض واليرقات في كل طبق. تعرض النتائج في صورة عدد النيماتودا/المجموع الجذري، أو في صورة عدد النيماتودا/جم من الجذور الطازجة.

تم تعريف صفة التحمل لنيماتودا الموالح *T. semipenetrans* بناءً على مستوى الضرر الذي تسببه النيماتودا للنبات (انظر الفصل الثاني)، كما تم تقدير هذه الصفة أيضاً في بعض الدراسات اعتماداً على وزن المجموعين الجذري والخضري الطازجين (Crozzoli and González, 1989 ؛ McCarty *et al*., 1979 ؛ O´Bannon and Ford, 1977). وليس بالضرورة أن تكون الاختلافات في نمو المجموع الجذري مصاحبة دائماً للإصابة بنيماتودا الموالح. وفي العادة، تكون نباتات الموالح متحملة لأنواع نيماتودا الموالح التي تأقلمت مع عوائلها النباتية (Cohn *et al*., 1965). ومن ثم، فإن تقييم صفة التحمل لنيماتودا الموالح في الأصص داخل البيوت الزجاجية قد تكون غير ذات معنى. وإضافة إلى ذلك، فإنه لا يمكن استخدام النمو الخضري لتقدير صفة التحمل في الأصول النباتية لنيماتودا الموالح في تجارب البيوت الزجاجية، حيث إن نمو المجموع الخضري يعتمد بشكل كبير على توفر الماء، فالعناية المتوفرة داخل البيوت الزجاجية تمكن الشجيرات الصغيرة من إنتاج مجموع خضري نضر ومجموع جذري صغير.

يعد التطور في درجة الإصابة (عدد الإناث/جم جذور) ومعدل تكاثر النيماتودا (عدد البيض واليرقات/جم جذور) مؤشرات لرد فعل الأصل النباتي المختبر. ويعطي عدد الإناث/جم جذور تقديراً لحجم العشيرة النيماتودية المتطفلة والموجودة في المجموع الجذري، بينما يعطي عدد البيض واليرقات معلومات حول تأثير النبات على معدل تكاثر النيماتودا. وحيث إن أشجار الموالح نباتات معمرة، فمن المفيد أن يكون لدينا مؤشر لجهد نمو العشيرة النيماتودية بخلاف عدد الإناث النيماتودية. و قد لا تضعف بعض النباتات تطور النيماتودا بداخلها، ولكنها قد تؤثر سلبياً على معدل تكاثرها (Kaplan, 1990). ولكي نحدد الحالة العوائلية للأصول المختبرة، يجب مقارنة أعداد إناث النيماتودا، ومعدل تكاثرها على تلك الأصول بمثيلاتها على الأصول القياسية القابلة للإصابة. ولتعريف الأصول النباتية المقاومة لنيماتودا الموالح *T. semipenetrans*، يجب مقارنة الحالة العوائلية للأصول المختبرة بالحالة العوائلية لأصول مقاومة قياسية. ويستخدم مقياس أو دليل تدرج صفة المقاومة عند اختبار عدد كبير من الأصول التي تختلف في مستويات مقاومتها وقابليتها للإصابة بالنيماتودا (Baines *et al*., 1960 ؛ Hutchinson and O´Bannon, 1972 ؛ Reddy and Agarwal, 1987 ؛ O´Bannon and Ford, 1977). وأخيراً يجب تأكيد صفة المقاومة التي تظهر في اختبارات البيوت الزجاجية على المستوى الحقلي.

توارث صفة المقاومة

Genetics of Resistance

يبدو أن صفة المقاومة لنيماتودا الموالح *T. semipenetrans* هي صفة سائدة Dominant محكومة بعدد بسيط من الجينات Oligogenic (Hutchinson, 1985). ويدعم هذا القول نتائج تم الحصول عليها بواسطة لينج وآخرين Ling *et al*. (2000). وقد أوضحت الدراسات التشريحية المرضية أن صفة المقاومة تتميز برد فعل شديد الحساسية

Hypersensitive response تجاه محاولات النيماتودا للتغذية، وما يتبعها من تكوين لبريديرم الجروح (Van Gundy and Kaplan and O´Bannon, 1981 ؛ Kaplan, 1981 ؛ Kirkpatrick, 1964).

ويمكن للأصول النباتية المقاومة لنيماتودا الموالح أن تلعب دوراً هاماً في تقليص الفقد المحصولي الذي تحدثه نيماتودا الموالح، ولكن هذه الأصول يجب أيضاً أن تكون مقاومة لأمراض الموالح الأخرى الهامة. وقد تم تعريف الجينات التي تمنح صفة المقاومة لنيماتودا الموالح، ولكن ميكانيكية فعل هذه الجينات لا زالت تحتاج للدراسة (Kaplan, 1988). وقد يسرع الانتخاب المبني على الدلائل الجزيئية من عملية الاختيار لصفة المقاومة. وقد قام لينج وآخرون Ling *et al.* (2000) بتعريف ١١ دليلاً جزيئياً DNA (RAPD) مرتبطاً بموقع جيني يمنح صفة المقاومة لنيماتودا الموالح *T. semipenetrans*. وقد أوضح تحليل مواقع الصفات الكمية (QTL) أن ٥٤٪ من التغير في الشكل الظاهري للنباتات قد تم تفسيره بهذا الموقع.

شكر وتقدير

يشكر المؤلف الرئيسي لهذا الفصل الدعم المقدم من المعهد الوطني للأبحاث الزراعية (INIA) المشروع رقم SC94-037-C2-2 and Sc98-103-C2-2

المراجع

References

Baines, R.C., Bitters, W.P. and Clarke, O.F. (1960) Susceptibility of some species and varieties of some citrus and some other rutaceous plants to the citrus nematode. *Plant Disease Reporter* 44, 281-285.

Baines, R.C., Martin, J.P., De Wolfe, T.A., Boswell, S.B. and Garber, M.J. (1962) Effect of high doses of D-D on soil organisms and the growth and yield of lemon trees. *Phytopathology* 52, 723 (Abstract).

Baines, R.C., Miyakawa, T., Cameron, J.W. and Small, R.H. (1969) Infectivity of two biotypes of the citrus nematode on citrus and on some other hosts. *Journal of Nematology* 1, 150-159.

Baines, R.C., Cameron, J.W. and Soot, R.K. (1974) Four biotypes of *Tylenchulus semipenetrans* in California and their importance to the development of resistant citrus rootstocks. *Journal of Nematology* 6, 63-66.

Bello, A., Navas, A. and Belart, C. (1986) Nematodes of citrus groves in the Spanish Levante. Ecological study focused to their control. In: Cavalloro, R. and Di Martino, E. (eds) *Integrated Pest Control in Citrus Groves*. Balkema, A.A., Rotterdam, Boston, pp. 211-226.

Cameron, J.W., Baines, R.C. and Clarke, O.F. (1954) Resistance of hybrid seedlings of the trifoliate orange to infestation by the citrus nematode. *Phytopathology* 44, 456-458.

Chhabra, H.K. and Bindra, O.S. (1974) Screening of citrus rootstocks against the citrus nematode, *Tylenchulus semipenetrans* Cobb, 1913. *Indian Journal of Horticulture* 31, 194-195.

Cohn, E. (1965) On the feeding and histopathology of the citrus nematode. *Nematologica* 11, 47–54.

Cohn, E., Minz, G. and Monselise, S.P. (1965) The distribution, ecology and pathogenicity of the citrus nematode in Israel. *Israel Journal of Agricultural Research* 15, 187–200.

Crozzoli, R. and González, A. (1989) Reacción de once patrones de cítricos al nematodo *Tylenchulus semipenetrans*. *Agronomía Tropical* 39, 4-6.

Ducharme, E. (1948) Resistance of *Poncirus trifoliata* rootstock to nematode infestation in Argentina. *The Citrus Industry* 29, 9-15.

obeikandl.com

Duncan, L.W. and Cohn, E. (1990) Nematode diseases of citrus. In: Bridge, J., Luc, M. and Sikora, R. (eds) *Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture*, CAB International, Wallingford, UK, pp. 321-346.

Duncan, L.W. and Noling, J.W. (1987) The relationship between development of the citrus root system and infestation by *Tylenchulus semipenetrans*. *Revue de Nématologie* 10, 61-66.

Duncan, L.W., Inserra, R.N., O'Bannon, J.H. and El-Morshedy, M.M. (1994) Reproduction of a Florida population of *Tylenchulus semipenetrans* on resistant citrus rootstocks. *Plant Disease* 78, 1067–1071.

Feder, W.A. (1968) Differential susceptibility of selections of *Poncirus trifoliata* to attack by the citrus nematode, *Tylenchulus semipenetrans*. *Israel Journal of Agricultural Research* 18, 175–179.

Garabedian, S., Van Gundy, S.D., Mankau, R. and Radewald, J.D. (1984) Nematodes. *Integrated Pest Management for Citrus*. Division of Agriculture and Natural Resources Publications. University of California, Berkeley, California, pp. 129–131.

Geraci, G., Lo Giudice, V. and Inserra, R.N. (1981) Response of *Citrus* spp. and hybrid rootstocks to *Tylenchulus semipenetrans*. *Rivista Ortoflorofrutticola Italiana* 65, 169-172.

Gottlieb, Y., Cohn, E. and Spiegel-Roy, P. (1986) Assessing resistance of citrus rootstocks to *Tylenchulus semipenetrans* with rooted leaves. *Revue de Nématologie* 10, 119-121.

Greco, N. and D'Addabbo, T. (1990) Efficient procedure for extracting *Tylenchulus semipenetrans* from citrus roots. *Journal of Nematology* 22, 590-593.

Heald, C.M. and O'Bannon, J.H. (1987) Citrus declines caused by nematodes. V. Slow decline. *Nematology Circular No. 143*. Florida Department of Agriculture and Consumer Services, Division of Plant Industry, 4 pp.

Hutchinson, D.J. (1985) Rootstock development, screening and selection for disease tolerance and horticultural characteristics. *Fruit Varieties Journal* 39, 21–25.

Hutchinson, D.J. and O'Bannon, J.H. (1972) Evaluating the reaction of the citrus selections to *Tylenchulus semipenetrans*. *Plant Disease Reporter* 56, 747-751.

Inserra, R.N., Vovlas, N. and O'Bannon, J.H. (1980) A classification of *Tylenchulus semipenetrans* biotypes. *Journal of Nematology* 12, 283–287.

Inserra, R.N., Esser, R.P. and O'Bannon, J.H. (1988) Identification of *Tylenchulus* species from Florida. *Nematology Circular No. 153*. Florida Department of Agriculture and Consumer Services, Division of Plant Industry, 4 pp.

Inserra, R.N., Duncan, L.W., O'Bannon, J.H. and Fuller, S.A. (1994) Citrus nematode biotypes and resistant citrus rootstocks in Florida. *Nematology Circular No. 205*. Florida Department of Agriculture and Consumer Services, Division of Plant Industry, 4 pp.

Kaplan, D.T. (1981) Characterization of the citrus rootstock responses to *Tylenchulus semipenetrans* (Cobb). *Journal of Nematology* 13, 492-498.

Kaplan, D.T. (1988) Future considerations for nematode management in citrus. In: Goren, R. and Mendel, K. (eds) *Proceedings of the Sixth International Citrus Congress,* Balaban Publishers, Tel Aviv, Israel, pp. 969-975.

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

Kaplan, D.T. (1994) Measuring burrowing nematode virulence to select rootstocks for Florida citrus groves. *Florida State Horticultural Society* 107, 84-89.

Kaplan, D.T. and O'Bannon, J.H. (1981) Evaluation and nature of citrus nematode resistance in Swingle citrumelo. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society* 94, 33–36.

Ling, P., Duncan, L.W., Zeng, Z., Dunn, D., Hu, S., Huang, S. and Gmitter, F.G. Jr. (2000) Inheritance of citrus nematode resistance and its linkage with molecular markers. *Theoretical and Applied Genetics* 100, 1010–1017.

Lo Giudice, V. and Inserra, R, N. (1980) Reaction of citrus and noncitrus rootstocks to *Tylenchulus semipenetrans*. *Nematologia Mediterranea* 8, 103-105.

McCarty, C.D., Bitters, W.P. and Van Gundy, S.D. (1979) Susceptibility of 25 citrus rootstocks to the citrus nematode. *HortScience* 14, 54-55.

McSorley, R., Parrado, J.L. and Dankers, W.H. (1984) A comparative method for extraction of nematodes from roots. *Nematropica* 14, 72-84.

Niles, R.K., Freckman, D.W. and Roose, M.L. (1995) Use of trifoliate orange as a standard for assessing the resistance of citrus rootstocks to citrus nematode. *Plant Disease* 79, 813-818.

O'Bannon, J.H. (1968) The influence of an organic soil amendment on infectivity and reproduction of *Tylenchulus semipenetrans* on two citrus rootstocks. *Phytopathology* 58, 597–601.

O'Bannon, J.H. and Ford, H.W. (1977) Resistance in citrus rootstock to *Rodopholus similis* and *Tylenchulus semipenetrans* (Nematoda). *Proceedings International Society Citriculture* 2, 544-549.

O'Bannon, J.H., Reynolds, H.W. and Leathers, C.R. (1966) Effect of temperature on penetration, development and reproduction of *Tylenchulus semipenetrans*. *Nematologica* 12, 483–487.

Reddy, P.P. and Agarwal, P.K. (1987) Resistance in citrus rootstocks to the citrus nematode, *Tylenchulus semipenetrans*. *Indian Journal of Horticulture* 44, 111-114.

Reddy, P.P., Khan, R.M. and Agarwal, P.K. (1987) Selection of citrus rootstocks and hybrids resistant to the citrus nematode, *Tylenchulus semipenetrans*. *Pakistan Journal of Nematology* 5, 69-72.

Siddiqi, M.R. (1974) *Tylenchulus semipenetrans*. *C.I.H. Descriptions of Plant-parasitic Nematodes* Set 3, No. 34. CAB International, Wallingford, UK, 4 pp.

Spiegel-Roy, P., Vardi, A., Elhanati, A., Solel, Z. and Bar-Joseph, M. (1988) Rootstock selections from a poorman orange x *Poncirus trifoliata* cross. In: Goren, R. and Mendel, K. (eds) *Proceedings of the Sixth International Society of Citrus Congress,* Balaban Publishers, Tel Aviv, Israel, pp. 195-200.

Tarjan, A.C. (1972) Observations on extracting citrus nematodes, *Tylenchulus semipenetrans*, from citrus roots. *Plant Disease Reporter* 56, 186-188.

Tsai, B.Y. and Van Gundy, S.D. (1989) Tolerance of proto-anhydrobiotic citrus nematodes to adverse conditions. *Revue de Nématologie* 12, 107-112.

Van den Berg, E. and Spaull, V.W. (1982) Two new species of Tylenchuloidea (Nematoda) on sugar-cane in South Africa. *Phytophylactica* 14, 131-144.

Van Gundy, S.D. (1958) The life history of the citrus nematodes *Tylenchulus semipenetrans* Cobb. *Nematologica* 3, 283-294.

Van Gundy, S.D. and Kirkpatrick, J.D. (1964) Nature of resistance in certain citrus rootstocks to citrus nematodes. *Phytopathology* 54, 419–427.

Van Gundy, S.D. and Martin, J.P. (1961) Influence of *Tylenchulus semipenetrans* on the growth and chemical composition of sweet orange seedlings in soils of various exchangeable cation ratios. *Phytopathlogy* 51, 146–151.

Van Gundy, S.D. and Meagher, J.W. (1977) Citrus nematode (*Tylenchulus semipenetrans*) problems worldwide. *Proceedings of the International Society of Citriculture* 3, 823-826.

Van Gundy, S.D. and Tsao, P.H. (1963) Infesting citrus seedlings with the citrus nematode, *Tylenchulus semipenetrans*. *Phytopathology* 53, 228-229.

Van Gundy, S.D., Martin, J.P. and Taso, P.H. (1964) Some soil factors influencing reproduction of the citrus nematode and growth reduction of sweet orange seedlings. *Phytopathology* 54, 294–299.

Verdejo-Lucas, S., Sorribas, F.J., Pons, J., Forner, J.B. and Alcaide, A. (1997a) The mediterranean biotypes of *Tylenchulus semipenetrans* in Spanish citrus orchards. *Fundamental and Applied Nematology* 20, 399–404.

Verdejo-Lucas, S., Sorribas, F.J., Forner, J.B. and Alcaide, A. (1997b) Screening hybrid citrus rootstocks for resistance to *Tylenchulus semipenetrans* Cobb. *Hortscience* 32, 1116-1119.

Verdejo-Lucas, S., Sorribas, F.J., Forner, J.B. and Alcaide, A. (2000) Resistance of hybrid citrus rootstocks to a mediterranean biotype of *Tylenchulus semipenetrans* Cobb. *Hortscience* 35, 296-273.

Walter, D.E., Kaplan, D.T. and Davis, E.L. (1993) Colonization of greenhouse nematode cultures by nematophagous mites and fungi. *Journal of Nematology* 25 (4S), 789-794.

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

Zhu, W.S., Chen, H., Lan, X.Y., Chen, Q.Y. and Chian, K.M. (1992) Observation of the population of citrus root nematode in the soil and the resistance of different rootstocks. *China-Citrus* 22, 17-18.

الفصل العاشر

نيماتودا اليام

The Yam Nematode: *Scutellonema bradys*

C. Kwoseh*, R.A. Plowright and J. Bridge
CABI Bioscience UK Centre, Bakeham Lane, Egham, Surry TW20 9TY, UK
**Present address: c/o Crop Science Department, University of Science and Technology, Kumasi, Ghana.*

ربما يكون اليام *Dioscorea* spp. واحداً من أقدم محاصيل الأغذية الكربوهيدراتية التي عرفها الإنسان (Alexander and Coursey, 1969)، وهو يزرع للحصول على درنات تستخدم كغذاء. كما أنه أيضاً أحد أكثر محاصيل الجذور والدرنات الاستوائية التي تتحمل التخزين لفترات طويلة (٢ –٥ أشهر) بعد الحصاد، مما يجعله مناسباً للاستهلاك كمحصول كربوهيدراتي على مدار العام (IITA, 1985)، ومساهماً كبيراً في سياسة الأمن الغذائي. ومن أوائل أنواع اليام التي تم استزراعها في غرب ووسط إفريقيا كل من: *D. rotundata* Poir، و*D. cayenensis* Lam، و*D. dumetorum* (Knuth) Pax. أما في وسط شرق آسيا فيعد النوع *D. alata* L. هو أول الأنواع التي تم استزراعها (Orkwor, 1998). وتزرع محاصيل اليام كمحاصيل غذاء على نطاق واسع في كل من غرب إفريقيا، وبعض مناطق المحيط الهادي كاليابان، وجزر الكاريبي (Jatala and Bridge, 1990). ولليام أيضاً أهمية اقتصادية أيضاً في بعض مناطق شرق إفريقيا وأمريكا الاستوائية. ويعد النوعان *D. rotundata*، و*D. cayenensis* أكثر أنواع اليام التي يتم إنتاجها في قارة إفريقيا، بينما يسود النوع *D. alata* في آسيا (Ng, 1990) وقد انتشر النوع *D. alata* من جنوب شرق آسيا إلى الهند والمحيط الهادي منذ أكثر من ألفي عام (Coursey and Martin, 1970).

يصاب اليام بالعديد من أنواع النيماتودا المتطفلة على النباتات، ولكن أهمها، وخاصة في شرق إفريقيا، هي نيماتودا اليام *Scutellonema bradys* (Steiner and LeHew) Andrassy (Jalata and Bridge, 1990 ؛ Bridge, 1972)، وتسبب هذه النيماتودا مرض تعفن درنات اليام المعروف باسم مرض العفن الجاف في درنات اليام. وينتشر هذا المرض انتشاراً واسعاً في المناطق المدارية (الاستوائية)، وخاصة في المناطق التي تزرع اليام. كما سجل المرض أيضاً في بلدان غرب إفريقيا مثل: نيجيريا، وساحل العاج، والسنغال، وجامبيا، وغانا، وتوجو، والكاميرون، إضافة إلى

بعض دول أمريكا اللاتينية مثل: كوبا، وجامايكا، وجواتيمالا، وبورتوريكو، وجواديلوبي، وهاييتي، وجزر المالديف في البحر الكاريبي، والهند، وفنزويلا، والبرازيل (Jatala and Bridge, 1990 ؛ Crozzoli and Parra, 1991 ؛ Park *et al*., 1998 ؛ Plowright and Kwoseh, 1998). وينتمي نوع نيماتودا اليام *S. bradys* إلى العائلة Hoplolaimidae، وكأفراد هذه العائلة، يتميز هذا النوع بكبر حجمه نسبياً وشكله الدودي، ويبلغ طوله حوالى ١ مم، ويمتلك رمحاً قوياً حسن التكوين. ويتم التكاثر في هذا النوع خلطياً Amphimectic، وتضع الإناث البيض في التربة والجذور والدرنات، وتتطور اليرقات إلى أطوار كاملة في غضون ٢١ يوماً. وتعد نيماتودا اليام من الأنواع داخلية التطفل المهاجرة التي تتغذى على أنسجة البشرة المحيطية الخارجية (البريديرم) Periderm وتحت البشرة المحيطية Subepiderm في درنات اليام مسببة مرض العفن الجاف (اللوحة الملونة رقم ١٠). وتعد جميع الأطوار النشطة لهذه النيماتودا أطواراً معدية تخترق درنات اليام الصغيرة النامية من خلال نقاط النمو على هذه الدرنات، وكذلك من مناطق خروج الجذور والسيقان، والشقوق والجروح التي تحدث في بشرة الدرنة (Bridge, 1972).

تتعرض درنات اليام المصابة للضرر الشديد أثناء التخزين نتيجة لاستمرار تكاثر النيماتودا عليها في المخزن، واستمرار تطور أعراض العفن الجاف عليها (Bridge, 1973 ؛ Jalata and Bridge, 1990 ؛ Kwoseh, 2000). يبدأ ظهور الأعراض على الدرنات المصابة بشكل اصفرار في طبقة الأنسجة الخارجية للدرنة، ولا يلبث هذا الاصفرار أن يتحول إلى اللون البني فالأسود بتقدم أعراض المرض، كما تظهر التشققات أيضاً على أسطح الدرنات المصابة (اللوحة الملونة رقم ١٠)، وفي حالات الإصابة الشديدة، قد تتعفن الدرنات بأكملها في المخزن. وينحصر الضرر الحادث في خلايا الدرنة نتيجة الإصابة بالنيماتودا على أنسجة البشرة المحيطية الخارجية، وتحت البشرة المحيطية، والأنسجة البرانشيمية الخارجية للدرنة حتى عمق ١ – ٢ سم، وفي بعض الأحيان إلى أعمق من ذلك. وقد تسبب الإصابة بنيماتودا اليام *S. bradys* خفضاً في وزن الدرنة يقدر بحوالي ٢٠ – ٣٠٪ عند الحصاد (Smit and Bridge, 1982). ولكن الفقد الكبير في وزن الدرنات يحدث في المخزن ويصل إلى حوالي ٢٥٪، وقد تصبح الدرنات غير صالحة للأكل، حيث إن الفقد في وزن الدرنات يكون غالباً تراكمياً تعاقبياً (Adesiyan and Odihirin, 1975 ؛ Adesiyan *et al*., 1975).

وتعد أغلب محاصيل اليام الغذائية التابعة للجنس *Dioscorea* عوائل لنيماتودا اليام *S. bradys*، كما تعد جميعها قابلة للإصابة بمرض العفن الجاف. وهناك محاصيل أخرى عائلة لهذا النوع من النيماتودا، ولكنها كلها عوائل فقيرة مقارنة باليام عدا اللوبيا *Vigna unguiculata*، والسمسم (Beniseed أو Sesame) *Sesamum indicum*، والشمام (Jalata and Bridge, 1990 ؛ Adesiyan, 1976).

لم توجد صفة المقاومة لنيماتودا اليام *S. bradys* حتى الآن في أي من السلالات المحلية أو التراكيب الوراثية التي تم اختبارها من نوعي اليام *D. alata* و*D. rotundata*. بينما وجدت هذه الصفة في صنف واحد من اليام الأصفر *D. cayenensis* وبعض التراكيب الوراثية لنوعين آخرين من يام الأكل (*D. esculenta* و*D. dumentorum*) (Bridge, 1982 ؛ Kwoseh, 2000). ويجب معرفة أن صفة المقاومة ليست صفة شائعة تجاه أنواع النيماتودا داخلية التطفل المتجولة مثل *S. bradys*، كما هو الحال بالنسبة لصفة المقاومة تجاه الأنواع داخلية التطفل الساكنة التي تكون مناطق تغذية متخصصة مثل أنواع نيماتودا تعقد الجذور *Meloidogyne*، ونيماتودا حوصلات البطاطس *Globodera*، ونيماتودا الحوصلات *Heterodera*، والنيماتودا الكلوية *Rotylenchulus*، ونيماتودا الموالح *Tylenchulus*. ومن الممكن مكافحة نيماتودا اليام *S. bradys* في اليام بمعاملة درنات التقاوي بالماء الساخن (Bridge, 1975)، على الرغم من أن هذه المعاملة نادرة الاستخدام والقبول لدى المزارعين في مناطق إنتاج اليام. ولذلك قد تكون المقاومة هي الوسيلة الأفضل في إدارة هذه النيماتودا.

التراكيب الوراثية ومصادر المقاومة
Germplasm and Sources of Resistance

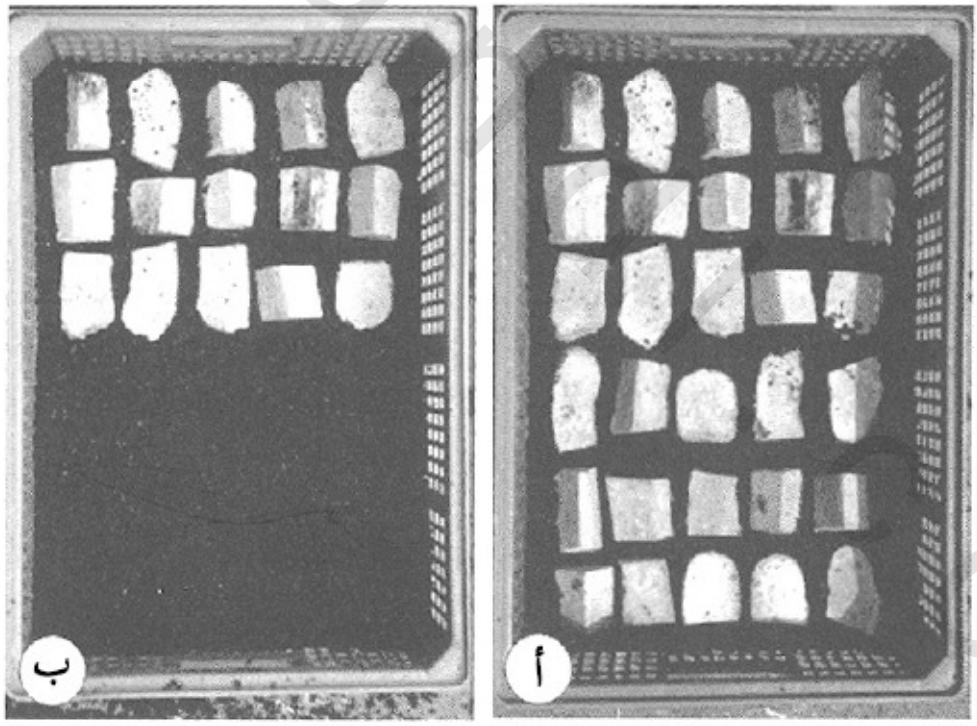
كسائر أنواع النيماتودا الأخرى، من الممكن العثور على مصادر للمقاومة تجاه نيماتودا العفن الجاف *S. bradys*، وحينئذ تكون هذه المصادر أفضل ما يمكن عمله في برامج التربية . ومن أفضل وأشهر تلك البرامج هو برنامج تربية اليام في المعهد الدولي للزراعات الاستوائية International Institute of Tropical Agriculture (IITA) في إبادان بنيجيريا.

وعند إجراء تجارب التقييم للمقاومة، يمكن استخدام تقاوي في شكل درنات كاملة او أجزاء منها، أو بذور، أو نباتات منتجة في مزارع الأنسجة، أو شرائح درنات (Otoo *et al.*, 1987). ويفضل استخدام شرائح الدرنات لانخفاض تكاليفها. وتجرى هذه الطريقة بإزالة رأس الدرنة ثم تقطيعها إلى شرائح رقيقة بسمك ١ – ٢ سم. بعد ذلك، تقطع الأجزاء الخارجية لهذه الشرائح إلى مجموعات من القطع الصغيرة المسطحة بوزن ٤٠ – ٥٠ جم إذا كانت الزراعة تتم في الأصص، أو ١٠٠ جم للزراعة في الحقل. ويجب معاملة هذه المجموعات من القطع سطحياً بمبيد فطري بالملامسة مخلوطاً مع تراب الخشب، أو بالمبيد الفطري وحده، أو بتراب الخشب وحده. ويسمح للمجموعات المعاملة بالإنبات في وسط بيئي معقم مثل خشب جوز الهند المرطب، أو الرمل، أو قش الأرز، أو نشارة الخشب داخل صناديق في البيت الزجاجي. وتبلل هذه العينات بواسطة مبيد البنليت بمعدل ٢,٣ جم/لتر ماء، أو مبيد آخر. تنثر المجموعات المعاملة على سطح البيئة الرطبة (الشكل رقم ١٠,١). وتعطي هذه الطريقة نباتات

متماثلة، ودرنات ذات حجم ودرجة نضج جيدتين. وتكون الشتلات الناتجة بهذه الطريقة جاهزة للشتل بعد ٤-٥ أسابيع من زراعة المجموعات.

وسط الزراعة في الأصص والقطع الحقلية
Potting Medium and Field Plots

يمكن استخدام وسط زراعي في الأصص مكوناً من خليط (١ : ١، أو ١ : ٢) من خشب جوز الهند والتربة بعد تعقيمه بالحرارة. وعادة يتراوح حجم الأصص بين ٦٠٠ و١٠٠٠سم^3، وتحتوي على ٥٠٠ - ٩٠٠ سم^3 من الوسط الزراعي لكل أصيص. أما شتلات اليام المستخدمة للتقييم فيكون عمرها أربعة أشهر، وتترك لتنمو لمدة أسبوعين بعد الشتل داخل البيت الزجاجي، على درجة حرارة لاتقل عن ٢٥ °م. ويجب أن تكون كمية الماء المستخدم في ري جميع النباتات متساوية، وأن يكون الماء المستخدم في الري خالياً من النيماتودا. أما في التجارب الحقلية، فتزرع نباتات أو درنات اليام في خطوط على مسافة ١×١ متر.



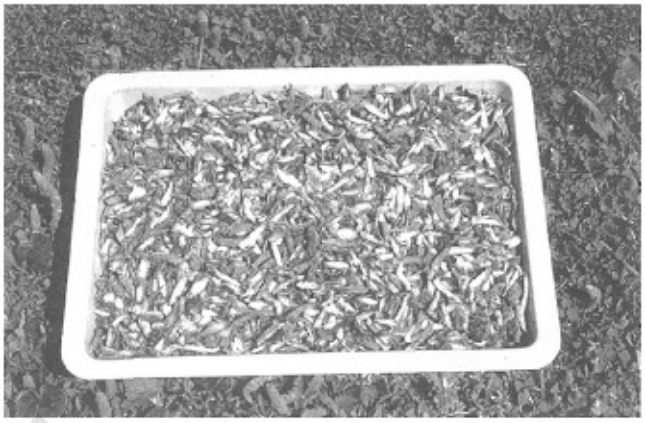
الشكل رقم (١٠,١). قطع صغيرة من اليام منماة على بيئة من بيتموس جوز الهند cocopeat في أوعية بلاستيكية: أ) قطع اليام على بيتموس جوز هند رطب، ب) قطع اليام مغطاة جزئياً ببيتموس جوز هند رطب.

اللقاح النيماتودي

Nematode Inoculum

يمكن الحصول على اللقاح النيماتودي المطلوب استخدامه في تقييم صفة المقاومة تجاه نيماتودا اليام من مزارع أحادية (وحيدة نوع النيماتودا) Monoxenic cultures لهذه النيماتودا على شرائح كالس من درنات اليام منماة في أطباق بتري (Kwoseh, 2000 ؛ Kwoseh *et al.*, 1998). تُغسل درنات اليام *D. rotundata* الخالية من النيماتودا، وتُقشر، وتُقطع إلى شرائح صغيرة تُعامل بمبيد فطري مثل الكاربندازيم أو غيره، ويجب أن يكون المبيد الفطري غير سام للنيماتودا. ومن الأفضل لضمان ذلك أن يتم اختبار حساسية النيماتودا للمبيد الفطري الموجود أولاً. بعد ذلك تُوضع شرائح اليام في محلول المبيد الفطري لمدة ١٥ ق. تُجفف بعد ذلك شرائح اليام في الهواء، وتُنزع عنها بشرتها يدوياً، وتُعقم في محلول هيبوكلوريت الصوديوم (١٪ كلور حر) لمدة ١٥ ق). تُشطف شرائح اليام ست مرات بالماء المقطر المعقم، ثم تُنشر لتجف فوق سطح ورق ترشيح معقم. بعد ذلك، يُؤخذ منها شرائح صغيرة تزن كل منها ٣- ٦ جم، وتوضع كل شريحة فوق سطح بيئة آجار مائي ١٪ في طبق بتري، وتحفظ الأطباق لمدة ثلاثة أسابيع حتى ينمو الكالس (الذي يُستدل على نموه بابيضاض الأنسجة الخارجية لشريحة اليام). بعد ذلك، تُعقم النيماتودا سطحياً في محلول أخضر المالاكيت ٠,١٪ لمدة ٥ ق، ثم تُشطف عشر مرات بواسطة ماء مقطر معقم. يُلقح كل طبق من أطباق بتري بعد ذلك بحوالي ٢٠ — ٣٠ نيماتودا نشطة من نيماتودا اليام *S. bradys* تُلقّط واحدة تلو الأخرى من معلق يحتوي على هذه النيماتودا موضوع في زجاجة ساعة Watch glass. تُغلق أطباق بتري بعد تلقيحها بالنيماتودا بواسطة شرائط بارافيلم، وتحفظ على درجة حرارة ٢٥ °م في الظلام. وبعد خمسة أشهر من التلقيح، يمكن الحصول على إنتاج جيد من النيماتودا بهذه الطريقة، ويمكن استخلاص النيماتودا من شرائح اليام وبيئة الآجار (بعد تقطيعها) باستخدام طريقة طبق بيرمان على مدار فترة تبلغ عدة أيام.

يمكن أيضاً الحصول على نيماتودا اليام *S. bradys* مباشرة من درنات اليام المصابة بالحقل أو المخزن. وفي هذه الحالة، تؤخذ الدرنات التي تبدو عليها أعراض الإصابة بالعفن الجاف، وتُقشر، وتؤخذ القشور لتقطع إلى قطع صغيرة بطول ١ — ٢ سم وعرض ٣ — ٤ مم (الشكل رقم ١٠,٢). تُخلط القشور بعد ذلك خلطاً جيداً، وتؤخذ منها عينة بوزن ٥ — ١٠ جم لتستخلص منها النيماتودا بطريقة طبق بيرمان المحوّرة لمدة ٤٨ ساعة على الأقل، وبذلك، يمكن تقدير الكثافة العددية للنيماتودا بتلك القشور. بعد ذلك، تُستخدم القشور في عدوى نباتات الأصص أو الحقل.



الشكل رقم (١٠,٢). قطع قشور درنات اليام التي تستخدم في التلقيح.

طرق التلقيح
Inoculation Methods

لتحديد رد فعل نباتات اليام تجاه النيماتودا، يكون اللقاح النيماتودي المناسب في غاية الأهمية، وذلك لأن الأصناف القابلة للإصابة قد لاتصنف على النحو الصحيح إذا كانت مستويات اللقاح النيماتودي منخفضة جداً. ويتم التلقيح عن طريق وضع عدد معروف من النيماتودا في كمية صغيرة من الماء في حفرة صغيرة في التربة عند قاعدة ساق نبات اليام (ومن الممكن توزيع اللقاح النيماتودي على عدة حفر صغيرة تبعد مسافات متساوية من ساق النبات). ويتم مجانسة اللقاح النيماتودي بنفخ الهواء فيه من خلال ماصة، أو بواسطة مقلب مغناطيسي وذلك قبيل إجراء التلقيح، كما تزداد عملية التجانس أيضاً بعدوى تربة كل أصيص على مرتين (وليكن باستخدام ١ مل من معلق النيماتودا في كل مرة مثلاً)، على أن نبدأ بوضع ١ مل في الأصص من رقم ١ حتى الأخير، ثم العودة بوضع ١ مل آخر بدايةً من الأصيص الأخير وانتهاءً بالأصيص رقم واحد. ويجب عدّ النيماتودا بدقة دائماً في كل ١ مل من المعلق النيماتودي المستخدم في اللقاح. تترك النباتات لتنمو تسعة أسابيع بعد التلقيح ثم تحصد وتبدأ عملية التقييم.

يمكن تلقيح نباتات اليام في الأصص أيضاً بنيماتودا العفن الجاف *S. bradys* بتلويث تربة الأصص بواسطة قشور درنات اليام المصابة بتلك النيماتودا بعد تقطيعها إلى قطع صغيرة (الشكل رقم ١٠,٢). ويتم إجراء ذلك بإزالة جزء من التربة من حول النبات، حتى تظهر جذوره، ثم توضع قشور الدرنات المصابة بالنيماتودا، وتغطى مرة أخرى بالتربة. وتصلح تلك الطريقة لتلقيح نباتات اليام سواء في اختبارات الأصص أو الاختبارات الحقلية.

وقد وجد أن مستويات اللقاح تؤثر بشدة على رد فعل نباتات اليام لنيماتودا العفن الجاف في درنات اليام *S. bradys*. ويمكن استخدام كثافة ابتدائية من اللقاح النيماتودي تتراوح بين ١٢٠ و٢٨٠٠ فرد نشط من النيماتودا (أو ما يعادلها من قشور درنات اليام المصابة) لتلقيح نبات اليام النامي في أصيص بحجم ٦٠٠ – ١٠٠٠ سم^{٣}

ويحتوي على ٥٠٠ – ٨٠٠ سم^{٣} خليط معقم من التربة، وذلك لتحديد مقاومة أو قابلية هذا النبات للإصابة. يمكن أيضاً استخدام تربة ملوثة طبيعياً أو صناعياً في الحقل أو البيت الزجاجي تحتوي على ١ – ٢ نيماتودا/سم^{٣} تربة في تحديد مقاومة أو قابلية نباتات اليام للإصابة بنيماتودا العفن الجاف *S. bradys*.

تصميم التجربة
Experimental Design

يُعد تصميم المربع اللاتيني Latin square أفضل التصميمات التي تستخدم في دراسات تقييم مقاومة النباتات تجاه النيماتودا في الحقل وذلك لفاعليته وبساطته. ومن التصميمات الجيدة أيضاً في ذلك تصميم القطاعات العشوائية الكاملة (RCBD). كما تعطي التربة الملوثة طبيعياً بالنيماتودا نتائج ثابتة، وتعد أفضل الطرق لمثل تلك الدراسات في الحقل. وتساعد الزراعة المستمرة لليام في قطعة أرض زراعية معينة في بناء عشائر نيماتودا العفن الجاف *S. bradys*. يمكن أيضاً استخدام تصميم القطاعات العشوائية الكاملة في اختبارات الأصص. ولضمان الدقة عند تقدير الاختلافات الكمية في قابلية نباتات اليام للإصابة بنيماتودا العفن الجاف *S. bradys*، يكون من الأفضل استخدام ٥– ١٠ مكررات في كل صنف. ويجب وضع تكاليف التجربة من حيث مساحة الأرض، والزمن، والعمالة، وتوفر اللقاح في الحسبان.

جمع البيانات
Data Collection

لا يتناسب معدل تكاثر نيماتودا العفن الجاف *S. bradys* في جذور اليام مع مثيله في الدرنات. وبصفة عامة، يكون عدد النيماتودا في الجرام الواحد من الجذور أكبر منه في الجرام الواحد من الدرنات. وقد يعود ذلك إلى الاختلافات الفسيولوجية بين كل من الجذور والدرنات، ووظيفة كل منها، واختلاف ميكانيكيات الإصابة أيضاً في كل منها. ونتيجة لتلك الاختلافات، فإن البرتوكول الجذري –وهو الأسهل في إجرائه– لا يمكن استخدامه لتحديد صفة المقاومة أو القابلية للإصابة في اليام تجاه نيماتودا العفن الجاف *S. bradys*. وذلك لأن صنفاً ما من اليام قد تكون جذوره قابلة للإصابة، ولكن درناته مقاومة، مما يؤدي إلى سوء التقدير. وبناءً عليه، يجب استخدام الدرنات، وهي الجزء الأهم اقتصادياً في نبات اليام، في جميع اختبارات المقاومة تجاه نيماتودا العفن الجاف *S. bradys*.

وتعتمد درجة الدقة في تقدير شدة الإصابة بنيماتودا العفن الجاف في نباتات الأصص أو درنات اليام المخزن على طريقة أخذ العينة. ومن الناحية العملية، تتضرر كل النباتات والدرنات بشدة أثناء ذلك. ويتم حصاد النباتات تبعاً للمكررات، ثم تفصل الجذور والدرنات عن كل نبات وتوضع على منخل وتغسل بالماء الجاري ثم تجفف

بنسيج ورقي. تفحص الدرنات لتسجل أعراض الإصابة والضرر بالنيماتودا على مقياس صفر – ٣ (الجدول رقم ١٠,١)، كما يسجل الوزن الرطب للدرنات أيضاً، مع مراعاة تسجيل نمط الإصابة والوزن لكل درنة على حدة. أما في الحقل، فيسجل الوزن الرطب لدرنات اليام عند الحصاد، وكذلك بعد أربعة أسابيع على الأقل من التخزين، وتسجل أعراض الضرر تبعاً لنفس المقياس السابق.

الجدول رقم (١٠,١). وصف لأنواع الإصابة وتسجيل أعراض الضرر النيماتودية على درنات اليام.

دليل الإصابة	النسبة المئوية للأنسجة الطرية	العفن الطري أو الجاف	تشقق سطح الدرنة
صفر	صفر	لا يوجد	لا يوجد
١	أقل من ٢٥	خفيف	خفيف
٢	٢٦ – ٥٠	متوسط	متوسط
٣	أكثر من ٥٠	شديد	شديد

وبعد تسجيل الأعراض الظاهرية للإصابة، تسجل أعراض العفن الداخلية في الدرنات، وكذلك أعداد النيماتودا في كل درنة. تؤخذ ثلاثة طبقات من القشور من كل درنة في صورة شريط عرضه ١,٥ – ٢ سم وسمكه ٣– ٥ مم يبدأ من أحد طرفي الدرنة وينتهي عند الطرف الآخر على أن تكون المسافات بين الأشرطة متساوية. وإلى جانب ذلك، تؤخذ أيضاً عينات عشوائية صغيرة من القشور من مختلف جوانب الدرنة. كما تسجل أعراض العفن الجاف على أنسجة الدرنات. وبعد تسجيل الأضرار النيماتودية على الدرنة، تقطع القشور وأنسجة الدرنات إلى قطع صغيرة وتخلط سوياً باليد، ثم تؤخذ عينات بوزن ٣– ٥ جم من القشور المقطعة بطريق عشوائية، وذلك لاستخلاص النيماتودا منها باستخدام طريقة قمع بيرمان المحورة على درجة حرارة ٢٥ °م ولمدة يومين على الأقل.

تتم مجانسة المعلق النيماتودي بنفخ الهواء خلاله بواسطة ماصة، أو تقليبه باستخدام مقلب مغناطيسي، ثم يؤخذ منه تحت عينة تساوي ١ – ٢ مل لعدّ النيماتودا. ولضمان الدقة، تؤخذ تحت عينتين أو ثلاث تحت عينات كل على حدة من كل عينة ويتم عدّ النيماتودا في كل منها، ثم يؤخذ متوسط القراءات.

وهناك علاقة خطية قوية بين أعراض العفن والكثافة العددية لنيماتودا العفن الجاف *S. bradys* في درنات اليام. ومن ثم، يمكن استخدام شدة أعراض العفن الجاف بفاعلية لتحديد مقاومة أو قابلية درنات اليام للإصابة عند الحصاد وبعد فترة من التخزين. وباستخدام تلك البروتوكولات، يمكن تقييم عدد لابأس به من التراكيب الوراثية لليام، واستبعاد القابل للإصابة منها في فترة قصيرة من الوقت.

تحدث أعراض العفن الجاف في اليام أيضاً بواسطة عدد من أنواع النيماتودا الأخرى مثل نيماتودا تقرح البن *Pratylenchus coffeae*، وذلك في عدة مناطق مختلفة من العالم مثل دول حوض المحيط الباسيفيكي وجزر الكاريبي. ويمكن استخدام نفس البروتوكولات المستخدمة في تقييم مقاومة أصناف اليام تجاه النيماتودا *S. bradys* للتقييم ضد النيماتودا *P. coffeae*.

المراجع

References

Adesiyan, S.O. (1976) Host range studies of the yam nematode, *Scutellonema bradys*. *Nematropica* 6, 60-63.

Adesiyan, S.O. and Odihirin, R.A. (1975) Plant parasitic nematodes associated with yam tubers in Mid-West State, Nigeria. *Nigerian Journal of Plant Protection* 3, 171-179.

Adesiyan, S.O., Odihirin, R.A. and Adeniji, M.O. (1975) Economic losses caused by the yam nematode *Scutellonema bradys* in Nigeria. *Plant Disease Reporter* 59, 477-480.

Alexander, J. and Coursey, D.G. (1969) The origin of yam cultivation. In: Ucko, P.J. and Dimpleby, G.W. (eds) *The Domestication and Exploitation of Plants and Animals*. Gerald Duckworth Press, London, pp. 405-425.

Bridge, J. (1972) Nematode problems with yam (*Dioscorea* spp.) in Nigeria. *PANS* 18, 89-91.

Bridge, J. (1973) Nematodes as pests of yams in Nigeria. *Mededelingen Fakulteit Ladbouwetenschappen Universitat Gent* 38, 841-852.

Bridge, J. (1975) Hot water treatment to control plant parasitic nematodes of tropical crops. *Mededelingen Fakulteit Ladbouwetenschappen Universitat Gent* 40, 249-259.

Bridge, J. (1982) Nematodes of yams. In: Miege, J. and Lyonga, S.N. (eds) *Yams. Igname*. Clarendon Press, Oxford, pp. 253-264.

Coursey, D.G. and Martin, R.W. (1970) The past and future of yams as crop plants. In: *Proceedings of the Second Symposium of Tropical Roots Crops*, Hawaii, pp. 87-90, 99-101.

Crozzoli, P.R. and Parra, M.D.M. (1991) Detection of the nematode *Scutellonema bradys* causing dry rot of yams in Venezuela. *Fitopatologia, Venezolana* 4, 26.

International Institute of Tropical Agriculture (IITA) (1985) *Research Highlights and Annual Report for 1984*. Ibadan, Nigeria.

Jatala, P. and Bridge, J. (1990) Nematode parasites of root and tuber crops. In: Luc, M., Sikora, R.A. and Bridge, J. (eds) *Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture*. CAB International. Wallingford, UK, pp. 137-180.

Kwoseh, C.K. (2000) Identification of resistance to major nematode pests of yams (*Dioscorea* spp.) in West Africa. Ph. D. Thesis, Department of Agriculture, Reading University, 175 pp.

Kwoseh, C.K., Plowright, R.A., Stanfield, J. and Asiedu, R. (1998) Culturing *Scutellonema bradys* on yam tuber slices. *Proceeding of the 7th Triennial Symposium of the International Society for Tropical Root Crops-Africa Branch, Cotonou, Benin*, 11-17 October 1998. Poster abstract.

Ng, S.Y.C. (1990) *In vitro* tuberisation in white yam (*Dioscorea rotundata* Poir). *IITA Research Highlight* 1990, pp. 11-13.

Orkwor, G.C. (1998) The importance of yams. In: Orkwor, G.C., Asiedu, R. and Ekanayake, I.J. (eds) *Food Yams. Advances in Research*. International Institute of Tropical Agriculture (IITA) and National Root Crops Research Institute, Nigeria, p. 249.

Otoo, J.A., Osiru, D.S.O., Ng, S.Y.C. and Hahn, S.K. (1987) *Improved Technology for Seed Yam Production*. International Institute of Tropical Agriculture (IITA), Ibadan, Nigeria, 56 pp.

Park, S.D., Khan, Z., Kim, S., Kim, K., Min, K., Kim, S.J., Kim, K.J. and Min, K.K. (1998) Occurrence and distribution of plant parasitic nematodes in yam (*Dioscorea batatas*) field in Korea. *International Journal of Nematology* 8, 141-144.

Plowright, R.A. and Kwoseh, C.K. (1998) Farmers perceptions of nematode disease in yams in Ghana and prevalence of endoparasitic nematodes in stored tubers. *Nematologica* 44, 558-559 (Abstract).