جـدًا إلى درجـة أن النباتـات لا تكـون مقاومـة. فمـثلاً تكـون مقاومـة البطـاطس بفـرط الحساسية لفيرس M البطاطس مصاحبة بانتشار شديد للفيرس تحت ظروف الحقل (عن Swiezynski ١٩٩٤).

المقاومة النشطة : تكوين الفيتوألاكسينات

تعريف الفيتوألاكسينات

يقـوم النبـات بتمثيـل مركبـات معينـة اسـتجابة لأى محفـز خـارجى (سـواء أكـان كيميائيًا، أم طبيعيًا، أم بيولوجيًا) بما فى ذلك مسببات الأمراض، ويطلق على تلك المركبات اسم فيتوألاكسينات Phytoalexins، وهى التى تعد الأساس فى حالات المقاومة الرأسية التى يتحكم فيها جين واحد.

وكـان Muller (١٩٥٦) قـد أعطـى الفيتوألاكسـينات التعريـف الأصـلى علـى أنهـا "مضادات حيوية antibiotics تنتج من تفاعل نظامين حيويين – هما العائل والطفيل – وتـؤدى إلى وقـف نمـو الكائنـات الدقيقـة المرضـة للنباتـات"؛ أمـا التعريـف الحـديث للفيتوألاكسـينات فيقـرر أنهـا مركبـات مضـادة للكائنـات الدقيقـة، ذات وزن جزيئـى منخفض. تمثل وتتراكـم فـى النباتـات كنـواتج أيضـية ثانويـة بعـد تعرضـها للكائنـات الدقيقة، أو لمعاملات أو لظروف بيئية قاسية (Cruickshank ١٩٨٠).

وتشتق كلمة Phytoalexin من الأصلين اليونـانيين Phyton بمعنـى نبـات، و alexin بمعنى مركب عازل Wording off Compound.

كانت بداية اكتشـاف الفيتوألاكسـينات فـى عـام ١٩٤٠ بواسـطة Müller & Börger اللذان قاما بعدوى سطح مقطوع لدرنات بطاطس بسـلالة عديمـة الضـراوة avirulent مـن الفطر *Phytophthora infestans*. وأعقب ذلك – بعـد فـترة – بعـدوى السـطح المقطـوع ذاته بسلالة ممرضة virulent من نفس الفطر. ولقد أدى ذلك إلى فشـل السـلالة المرضـة فى إحداث الإصابة. ولقد كانت هذه المقاومة فعالـة – كـذلك – ضـد فطريـات أخـرى. مثـل *Fusarium caeruleum*. ممـا حـدا بالبـاحثين إلى اقـتراح أن مـادة دفاعيـة (هـى الفيتوألاكسين) كان لها دورًا فى هذا الأمر.

ولقد كانت الخطوة التالية هى عزل الفيتوألاكسين، واستُعمل لهذا الغرض أنصاف قرون الفاصوليا الخضراء التى أزيلت منها القرون، وكذلك أنصاف قرون مماثلة من البسلة الخضراء. وقد كللت تلك الدراسات بعزل Müller وجماعته للفيتوألاكسين: phaseollin من الفاصوليا بعد عدواها بالفطر *Monilinia fructicola* وذلك عام ١٩٦٢، وبعزل Cruickshank وجماعته للفيتوألاكسين: pisatin من البسلة بعد عدواها بعديد من الفطريات وذلك فى عام ١٩٦٣. ومنذ ذلك الوقت أمكن عزل عدة مئات من الفيتوألاكسينات، كان قرابة المائة منها من العائلة البقولية (عن Strange ١٩٩٣).

خصائص الفيتوألاكسينات

لخص Cruickshank (١٩٦٣) الحقائق التى توصلوا إليها من دراسته وجماعته على الـ pisatin فيما يلى:

١ – عندما يلامس الكائن المرضى خلايا العائل فإنه يحدث بينهما تفاعل تتكون على أثره مادة – أطلق عليها اسم فيتوألاكسين – تمنع استمرار نمو الكائن المرضى فى أنسجة العائل، وهى – بمقتضى هذا التفاعل – أنسجة مفرطة الحساسية لهذا المسبب المرضى.

٢ – لا يحدث هذا التفاعل إلا فى الخلايا الحية فقط، ولكنه يؤدى إلى موتها.

٣ – إن المادة المتكونة نتيجة لهذا التفاعل هى مركب كيميائى، وربما تكون أحد نواتج عملية التحلل البيولوجى Necrobiosis التى تحدث لخلايا العائل.

٤ – لا يكون هذا الفيتوألاكسين متخصصًا فى مفعوله السام على الفطريات، وتختلف الفطريات فى مدى حساسيتها له.

٥ – يحدث نفس التفاعل فى كل من الأصناف المقاومة والقابلة للإصابة، ولكنه يكون أسرع فى الأصناف المقاومة بدرجة تسمح بوصول تركيز الفيتوألاكسين إلى المستوى المطلوب للتأثير فى المسبب المرضى قبل انتشاره فى النبات.

٦ – لا يحدث التفاعل إلا فى الأنسجة المصابة، والأنسجة المحيطة بها والقريبة منها فقط.

٧ – إن ما يورث هو حساسية خلايا العائل التى تحدد سرعة تكوين الفيتوألاكسين.

وتتراوح الجرعة المؤثرة EC_{50} من الفيتوألاكسينات على الفطريات بين ١٠$^{-٣}$، و ١٠$^{-٥}$ مولار؛ وبذا فهى تعد مضادات فطرية ضعيفة نسبيًا. ولا تتوفر أدلة على انتقال الفيتوألاكسينات فى النباتات، إلا إن سرعة تراكمها ومحدودية تكوينها عند موضع الإصابة يجعل من الممكن أن يُواجَه المسبب المرضى بتركيزات من الفيتوألاكسين تزيد كثيرًا فى المراحل المبكرة من الإصابة عن الـ EC_{50}.

الشروط التى يجب توافرها فى الفيتوألاكسين

يذكر Müller (١٩٦١) أنه لكى يمكن اعتبار المادة الناتجة من هذا التفاعل من الفيتوألاكسينات، فإن يتعين أن تتوفر فيها الشروط التالية:

١ - يجب أن يحدث التفاعل بين العائل والطفيل تحت ظروف يستبعد منها أية تأثيرات لأية كائنات دقيقة أخرى قد تكون موجودة كملوثات Contaminants.

٢ - ألا يتعرض العائل أثناء إجراء الاختبار إلى أية أضرار ميكانيكية قد تؤدى إلى إنتاجه مواد أخرى مثبطة للنمو الميكروبى.

٣ - يفضل أن يستعمل فى الاختبار طفيليات يمكنها النمو على البيئات المغذية العادية، حتى لا يُعَد نقص العناصر المغذية أحد العوامل التى يمكن أن تحد من نمو المسبب المرضى.

٤ - ألا توجد بالعائل — قبل العدوى بالمسبب المرضى — أية مثبطات للنمو بتركيزات تكفى لوقف نموه.

٥ - تجنب إجراء الاختبار بأية طريقة قد يترتب عليها حدوث تغييرات فى تركيبه الكيميائى.

٦ - الالتزام بطريقة محددة لاختبار مفعول الفيتوألاكسين بعد استخلاصه.

٧ - التأكد من وجود الفيتوألاكسين فى أنسجة النبات بتركيزات كافية لوقف نمو المسبب المرضى.

ومن الشروط الأخرى التى أقترحت لكى يمكن اعتبار أن للفيتوألاكسين دورًا فى عملية الدفاع النباتى ضد المسببات المرضية، ما يلى:

١ — يجب أن يتراكم المركب استجابة للإصابة.

٢ – يجب أن يكون المركب مثبطًا للمسبب المرضى المهاجم للنبات.

٣ – يجب أن يتراكم المركب بتركيزات مثبطة للمسبب المرضى فى الخلايا النباتية المجاورة له عند توقف نمو المسبب المرضى.

٤ – يسبب التباين فى معدل تراكم الفيتوألاكسين تباينًا مماثلاً فى مستوى مقاومة النبات.

٥ – يسبب التباين فى حساسية المسبب المرضى – المهاجم – للفيتوألاكسين تباينًا مماثلاً فى ضراوته (عن Strange ١٩٩٣).

دور الفيتوألاكسينات فى مقاومة الأمراض

أوضحت الدراسات التى أجريت على الفيتوألاكسينات الحقائق التالية (عن Keen ١٩٨١):

١ – تكون الطفيليات القادرة على إحداث الإصابة – غالبًا – قادرة على تحمل الفيتوألاكسينات. أو إحداث تغيرات كيميائية فيها تفقدها فاعليتها. لكن الطفيليات القريبة منها التى تكون غير قادرة على إحداث الإصابة بنفس العائل لا تتحمل الفيتوألاكسينات ولا تكون لديها القدرة على تغييره كيميائيًا.

٢ – تؤدى معاملة النباتات القابلة للإصابة بأى من العوامل التى تزيد إنتاج الفيتوألاكسينات – مثل الأشعة فوق البنفسجية – قبل العدوى إلى جعلها مقاومة.

٣ – يؤدى التعرض للعوامل البيئية التى تضعف قدرة النبات على إنتاج الفيتوألاكسينات – دون أن يكون لها نفس التأثير السلبى فى الطفيل – إلى إضعاف مقاومة النباتات.

٤ – لا تنتج الفيتوألاكسينات بتركيزات عالية فى العوائل ذات المقاومة الرأسية إلا عندما لا يوجد توافق بين العائل والطفيل.

٥ – تزداد سرعة تكوين الفيتوألاكسينات عند منافذ الإصابة فى حالات المقاومة التى يصاحبها توقف سريع لنمو الطفيل عما فى الحالات التى تبطئ فقط من نمو الطفيل وتقدمه.

٦ – يصل تركيز الفيتوألاكسين إلى المستوى السام للمسبب المرضى فى الوقت والمواقع التى يتوقف فيها نمو وتطور سلالات الطفيل غير المتوافقة.

٧ – تؤدى العدوى المزدوجة بسلالة متوافقة وأخرى غير متوافقة من المسبب المرضى إلى وقف نمو كليهما، ويكون ذلك مصاحبًا بتركيزات عالية من الفيتوألاكسين المنتج.

٨ – تؤدى المعاملة بالفيتوألاكسينات النقية فى منافذ الإصابة عند العدوى بسلالة متوافقة من المسبب المرضى إلى جعلها غير متوافقة، كما تؤدى زيادة الكمية المضافة إلى زيادة حالة عدم التوافق.

٩ – أحيانًا .. تؤدى المعاملة بالسموم المحدثة للأمراض – والمستخلصة من المسببات المرضية – إلى إحداث نفس التفاعلات المؤدية إلى إنتاج الفيتوألاكسينات مثل المسببات المرضية ذاتها.

ونظرًا لأهمية الدور الذى تلعبه الفيتوألاكسينات فى مقاومة الأمراض، فإننا نلقى عليه مزيدًا من الضوء فيما يلى:

١ – تُنتج الفيتوألاكسينات فى كل من الأصناف المقاومة وتلك القابلة للإصابة، ولكن بقدر أكبر فى الأصناف المقاومة (جدول ٧–٢).

٢ – تزداد سرعة تكوين الفيتوألاكسينات فى الأصناف المقاومة عما فى الأصناف القابلة للإصابة:

يُنتج فول الصويا الفيتوألاكسين glyceollin لدى تعرضه للعدوى بالفطر *Phytophthora megasperma* f. sp. *glycinea*، وقد تبين أن الأصناف المقاومة للفطر يتراكم فيها الفيتوألاكسين بتركيزات بلغت EC_{90} فى موقع الإصابة، و EC_{50} فى الخلايا المجاورة لموقع الإصابة مباشرة، وذلك فى خلال ٨ ساعات من العدوى بالفطر، وازداد التركيز عن ذلك فى خلال الساعتين التاليتين. وبالمقارنة .. فلم يتراكم الـ glyceollin بتركيزات تذكر فى صنف قابل للإصابة خلال تلك الفترة. وقد حدث تثبيط لتطور الفطر فى الصنف المقاوم عندما ازداد تركيز الـ glyceollin إلى المستوى اللازم لذلك على أساس قيم الـ EC. وعلى الرغم من ذلك فإن تركيز الـ glyceollin ازداد فى خلال ٢٤ ساعة من

العدوى فى الصنف القابل للإصابة إلى مستوى أعلى من EC_{∞}، وخاصة فى طبقات الأنسجة القريبة من موقع الإصابة، وهذا دليل على أن التأخير فى تراكم الفيتوألاكسينات لم يكن فعّالاً فى تثبيط النمو الفطرى، وأن الـ gyceollin الموجود فى النسيج التالى – مباشرة – للغزل الفطرى المتقدم هو الذى يؤثر فى الحد من تطور ونمو الفطر. هذا .. إلاّ أن استمرار نمو الفطر فى الأنسجة القابلة للإصابة التى ارتفع فيها تركيز الفيتوألاكسينات إلى EC_{∞} يثير عديد من الأسئلة حول مدى فاعلية الفيتوألاكسين المنتج فى مقاومة الفطر (عن Kuć ١٩٩٥).

جدول (٧-٢): تمثيل الفيتوألاكسينات فى نباتات فول صويا تمت عدواها بسلالات مختلفة من الفطر ***Phytophthora megasperma* var. *sojae*** (عن **Vidhyasekaran** ١٩٨٨).

الصنف	سلالة الفطر	الاستجابة المنظورة للنباتات	تركيز الفيتوألاكسين PA_k (ميكروجرام/جم)	تركيز الفيتوألاكسين هيدروكسى فاصيولين hydroxyphaseollin (ميكروجرام/جم)
Harosoy	١	S	١٨٠	١٩٠
	٢	S	٢٠٠	٣٦٠
	٣	S	٢٠٠	٣٠٠
	٤	S	١٧٠	١٩٠
Harosoy 63	١	R	١١٠٠	٥٤٠
	٢	R	١٠٠٠	٧٣٠
	٣	S	٢٥٠	٢٨٠
	٤	S	١٦٠	١٤٠
D60-9647	١	R	١١٠٠	٦١٠
	٢	S	١٦٠	١٤٠
	٣	R	٦٨٠	٤٤٠
	٤	R	٣٧٠	٤٨٠
Semmes	١٠	R	٧٩٠	٥٩٠
	٢	R	٧٧٠	٦٨٠
	٣	R	٩٠٠	٥٠٠
	٤	S	١١٠	١٣٠

ونقدم فى جدول (٧-٣) مثالاً لآخر يوضح السرعة التى تتكون بها الفيتوألاكسينات فى الأصناف المقاومة مقارنة بالأصناف القابلة للإصابة (عن Vidhyasekaran ١٩٨٨).

جدول (٧-٣): سرعة تراكم الفيتوألاكسينين: أفينالومين١ avenalumiu I، وأفينالومين ٢ فى الأوراق الأولية لأصناف الشوفان المقاومة والقابلة للإصابة بالفطر *Puccinia coronata avenae* race 203.

أصناف وسلالات الشوفان	الوقت الذى يستغرقه وقف النمو الفطرى (ساعة)	تراكم الـ Avenalumins I & II (ميكروجرام/جم وزن طازج) بعد الوقت المبين (بالساعة) من العدوى بالفطر				
		٢٤	٣٦	٤٨	٧٢	٩٦
أصناف عالية المقاومة						
١٤	٣٦	٢٢	٨٣	١٩٨	٢٣٨	٣٦٣
٥٠	٣٦	٢٥	٩٠	١٩٠	٢٧٨	٣٤٧
أصناف متوسطة المقاومة:						
٣٨	٧٢	آثار	آثار	٢١	١١٣	١٥٦
٣٩	٧٢	آثار	١٥	٢٦	٩٥	١٥٦
٣٥	٩٦	آثار	آثار	آثار	١٨	١٢٥
٥٥	٩٦	آثار	آثار	آثار	٤٥	٥٣
٥٤	٩٦	آثار	آثار	آثار	٣١	٤٨
أصناف قابلة للإصابة:						
٤٥	—	آثار	آثار	آثار	آثار	آثار
Shokan 1	—	آثار	آثار	آثار	آثار	آثار

٣ - يكون إنتاج الفيتوألاكسينات فى الخلايا المصابة ذاتها:

تأكد إنتاج الفيتوألاكسينات - فى الحالات غير المتوافقة - فى الخلايا المصابة ذاتها، وذلك بالاعتماد على تقنيات خاصة، كما يلى:

أ - ينتج الشوفان فيتوألاكسينات ذات طبيعة فينولية، هى الـ avenalumins فى التفاعلات غير المتوافقة، وبالاعتماد على خاصية امتصاص تلك الفيتوألاكسينات للأشعة فوق البنفسجية وعلى ما لها من autofluoresence spectra، وباستعمال الـ microspectrophotometry أمكن اكتشاف فلورة fluorescence كثيفة فى الخلايا المتواجدة مباشرة فى موقع الإصابة.

ب – فى دراسة مماثلة على تفاعل الفاصوليا مع الفطر *Botrytis cinerea* تراكم الفيتوألاكسينين: wyerone، و wyerone acid فى الخلايا المتحللة فى موقع الإصابة، وكذلك فى الفجوات العصارية بالخلايا المجاورة لها غير المصابة.

جـ – فى التفاعلات غير المتوافقة بين القطن والبكتيريا *Xanthomonas campestris* pv. *malvacearum* أمكن بالاعتماد على الـ fluorescence microscopy إظهار أن تراكم الفيتوألاكسينات (وهى sesquiterpenoid عطرية) يحدث فى الخلايا عند موقع الإصابة ذاته.

د – فى التفاعلات غير المتوافقة بين فول الصويا والنيماتودا *Heterodera glycines* أمكن بالاعتماد على اختبار مناعى (radioimmunoassy) خاص بالفيتوألاكسين glyceolin I إظهار أنه لم يتراكم سوى فى الخلايا المجاورة لرأس النيماتودا (عن Nicholson & Hammerschmidt ١٩٩٢).

٤ – تتفاعل المسببات المرضية غير المتوافقة مع العائل بطريقة تؤدى إلى إنتاج الفيتوألاكسينات بتركيزات تزيد عما تؤدى إليه الكائنات المرضة المتوافقة، فمثلاً يتسبب الفطر *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* – وهو ليس ممرضًا للبسلة – فى إنتاج الفيتوألاكسين: pisatin فى البسلة بتركيزات تزيد عما يؤدى إليه الفطر *F. solani* f. sp. *pisi* الذى يُعد ممرضًا للبسلة.

٥ – تتحلل الفيتوألاكسينات بفعل كلا من الفطريات المرضة وغير المرضة، ولكن تحللها يكون بسرعة أكبر بواسطة الفطريات المرضة.

ومن الأمثلة على ذلك أن الفطر *Botrytis fabae* يصيب الفول الرومى محدثًا بأوراقه بقعًا متحللة تزداد فى المساحة وتلتحم معًا إلى أن تغطى الورقة بأكملها، هذا بينما تقتصر الأعراض التى يُحدثها الفطر *Botrytis cinerea* على ظهور بقع صغيرة محدودة العدد والمساحة. ولقد تبين أن الفول الرومى ينتج فيتوألاكسين يعرف باسم wyerone. وأن هذا الفيتوألاكسين يتراكم بتركيزات سامة للفطريات بعد الإصابة بالفطر *B. cinerea*. ولكن ليس بعد الإصابة بالفطر *B. fabae*. وقد وجد أنه لدى عدوى أوراق الفول بكل من الفطرين أن الفيتوألاكسين تراكم فى موقع البقع دون أن يتراكم فى الحلقة المحيطة بها

فى حالة العدوى بالفطر *B. cinerea*، بينما حدث العكس فى حالة العدوى بالفطر *B. fabae*. وقد اقترح فى تفسير ذلك أن ميسيليوم الفطر *B. fabae* ربما يقوم بتحويل الفيتوألاكسين إلى صورة غير سامة للفطر (عن Vidhyasekaran ١٩٨٨).

٦ – تتباين مسببات الأمراض فى حساسيتها للفيتوألاكسين الواحد:

تعرف من الفطر *Gibberella pulicaris* سلالات حساسة للفيتوألاكسين rishitin وأخرى غير حساسة. ولقد وجد أن إحدى سلالات الفطر غير الحساسة (المتحملة) للـ rishitin يمكنها تحليل الفيتوألاكسين إلى: 13-hydroxyrishitin، و 11,12-epoxyrishitin. كما تبين أن المركب الأخير لم يكن له تأثير على إحدى سلالات الفطر الحساسة للفيتوألاكسين (Gardner وآخرون ١٩٩٤).

٧ – تعد الكائنات غير المرضة nonpathogens أكثر حساسية للفيتوألاكسينات:

تبينت تلك الحقيقة من الدراسات المبكرة التى أجريت على إنتاج الفيتوألاكسين pisatin؛ حيث ظهر أن الفطريات غير المرضة للبسلة كانت شديدة الحساسية للبيزاتين، بينما لم تكن الكائنات المرضة للبسلة حساسة له؛ فمثلاً كانت قيم الـ ED_{50} (الجرعة الفعالة effective dose بنسبة ٥٠٪) – عادة – أقل من ٥٠ ميكروجرام بيزاتين لكل ملليلتر بالنسبة لكل من الفطريات غير المرضة للبسلة *Alternaria solani*، و *Botrytis allii*، و *Colletotrichum lindemuthianum*، بينما كانت تلك القيم أعلى من ١٠٠ ميكروجرام بيزاتين لكل ملليلتر بالنسبة للفطريات المرضة للبسلة *Ascochyta pisi*، و *Mycosphaerella pinodes*.

كذلك وجد لدى مقارنة حساسية عدة عزلات من كل من الفطرين *Verticillium albo-atrum*، و *V. dahliae* من البرسيم الحجازى، ودوار الشمس، والبسلة، والطماطم، والبطاطس، والأقحوان، وحشيشة الدينار، والنعناع الفلفلى أن عزلات البرسيم الحجازى فقط كانت هى الأقل حساسية لفيتوألاكسينات البرسيم الحجازى. كما يلى:

سلالات الـ *Verticillium*	إنبات الجراثيم (%) بعد معاملتها بفيتوألاكسينات البرسيم الحجازى
● *V. albo-atrum*	
من البرسيم الحجازى	٨٥,٩
من الطماطم	٢٢,٧
من البطاطس	٢٩,٣
من الأقحوان	٢٩,٦
من حشيشة الدينار	٢٦,٠
● *V. dahliae*	
من البرسيم الحجازى	٥٢,٩
من دوار الشمس	٢٩,٦
من البسلة	٤٠,٠
من النعناع الفلفلى	٢٩,٠

كذلك وجد أن إنبات جراثيم *Celletotrichum lindemuthianum* الذى يصيب الفاصوليا يُثبط عند تركيزات منخفضة من كل من الفيتوألاكسينات الأربعة للفاصوليا (الـ phaseollin، والـ phaseollidin، والـ phaseollinisoflavan، والـ kievitone). بينما لم تتأثر فطريات أخرى ليست من المسببات المرضية للفاصوليا (مثل *Alternaria brassicicola*، و *Aspergillus niger*، و *Botrytis cinerea*) بتركيزات عالية كثيرًا من تلك الفيتوألاكسينات (جدول ٧-٤).

٨ – تتأقلم الفطريات المرضة – سريعًا – على الفيتوألاكسينات التى تنتجها النباتات:

يعد هذا التأقلم السريع على الفيتوألاكسينات – من قبل الكائنات المرضة – ضروريًا لأجل أن تصبح تلك الكائنات قادرة على إفقاد الفيتوألاكسينات لسميتها عندما تُنتج بتركيزات عالية.

٩ – تُنتج الفيتوألاكسينات فى تفاعلات المقاومة فى المواقع المناسبة وبالتركيزات المناسبة وفى التوقيت المناسب.

تعد تلك الأمور ضرورية لكى تظهر المقاومة. وهى تفاعلات تحدث فى كل حالات المقاومة.

وعلى الرغم من كثرة الحالات التى أُرجعت فيها المقاومة إلى إنتاج النباتات للفيتوألاكسينات. فإن حالات أخرى كثيرة - لا تقل عددًا - لم تلعب فيها الفيتوألاكسينات أى دور فى المقاومة (عن Vidhyasekaran ١٩٨٨).

جدول (٧-٤): سمية فيتوألاكسينات الفاصوليا لبعض الفطريات الممرضة أو غير الممرضة للفاصوليا.

الفطر	التركيز الأدنى القاتل (ميكروجرام/مل) من مختلف الفيتوألاكسينات			
	Phaseollin	Phaseollidin	Phaseolliniso-flavan	Kievitone
فطريات غير ممرضة للفاصوليا				
Alternaria brassicicola	< ٤٠٠	< ٤٠٠	٤٠٠	٤٠٠
Botrytis cinerea	< ٤٠٠	٢٠٠	٤٠٠	٢٠٠
Colletotrichum lagenarum	١٠	٤	١٠	٢٠
Glomerella cingulata	٤٠٠	٤٠٠	٤٠٠	٢٠٠
Septoria nodorum	١٠٠	٢٠٠	١٠٠	٢٠٠
فطريات ممرضة للفاصوليا				
Colletotrichum lindemethianum	٤	٢	٤	٢٠
فطريات رمية				
Aspergillus niger	< ٤٠٠	< ٤٠٠	٤٠٠	٤٠٠

الكائنات والعوامل والمعاملات المحفزة لإنتاج الفيتوألاكسينات:

تنوع العوامل والمعاملات المحفزة

إن تمثيل الفيتوألاكسينات وتراكمها فى النسيج النباتى لا يتطلب تواجد محدد لفطريات، أو بكتيريا، أو فيروسات خاصة، أو نواتج أيضية ميكروبية، أو أى مستحثات بذاتها؛ ذلك أن إنتاج الفيتوألاكسين الواحد يمكن أن يُستحث فى النوع النباتى الواحد بفعل أى من المسببات المرضية أو العوامل السابقة منفردة. فضلاً عن النيماتودا. إن قائمة المركبات التى يمكنها حث تراكم الفيتوألاكسينات تعد طويلة ومتنوعة، وتتضمن الأملاح العضوية، والـ oligoglucans، والإثيلين، والأحماض الدهنية، والـ chitosan oligomers، والبوليببتيدات، ولقد وجد أكثر من ٢٠٠ عامل،

كان منها مركبات كيميائية، وعديد من الكائنات الدقيقة، ومختلف ظروف الشدّ الفسيولوجى التى أمكنها حث تراكم الـ pisatin فى البسلة، والـ phaseollin والـ kievitone فى الفاصوليا الخضراء، والـ glyceollins فى فول الصويا. كذلك فإن المركبات النباتية التى تنطلق أثر الأضرار الميكانيكية أو الإصابات المرضية يمكن أن تصبح مستحثات لإنتاج الفيتوألاكسينات. وليس هذا فقط، بل أن بعض المبيدات الفطرية، والحرارة المنخفضة، والأشعة فوق البنفسجية تعد من مستحثات إنتاج وتراكم الفيتوألاكسينات، فضلاً عن أن بعض المستحثات تعد مضادات فطرية عند التركيزات التى تستحث إنتاج الفيتوألاكسين.

وبناء على ما تقدم بيانه فإن العامل المحدد لتمثيل الفيتوألاكسين وتراكمه فى النبات هو — فى الغالب — الاضطراب الأيضى، وليس التركيب المعين للعامل الحاث، إلاّ فيما يتعلق بما يسببه ذلك التركيب من اضطراب أيضى. ولا يستبعد ذلك أهمية المركبات التى تطلقها الكائنات الدقيقة والنباتات أثناء الإصابة كمستحثات لإنتاج المركبات الدفاعية.

وبطريقة ما فإن أى عامل من هذا العدد الكبير من العوامل (الحية وغير الحية) التى يمكنها أن تستحث إنتاج الفيتوألاكسينات تسبب اضطرابًا أيضيًّا يترجم كيميائيًّا كعلامة أو علامات خطر، يترتب عليها بدء سلسلة من الأحداث المتعاقبة تقود — ضمن ما تقود — إلى التمثيل الموضعى للفيتوألاكسين وتراكمه. ويمكن لتلك السلسلة من الأحداث أن تتضمن زيادة فى نشاط وتنظيم عمل ما قد يصل إلى ٢٠ جينًا لأجل تمثيل الفيتوألاكسين. يحدث هذا التوجيه والتنظيم لعمل الجينات وسط حالة من الفوضى الخلوية الظاهرة، التى قد تبدو كتغيرات غير مترابطة، ولكنها تكون فى الواقع منظمة بهدف العودة إلى الحالة الطبيعية لأجل البقاء (عن Kuć ١٩٩٥).

المستحثات

تحتوى غالبية الجدر الخلوية للهيفات الفطرية والخلايا البكتيرية على نوعين

من الجليكوبروتينات، تعرف إحداها بالمستحثات elicitors – وهى التى تستحث إنتاج وتراكم الفيتوألاكسينات. وخاصة فى التفاعلات المرضة غير المتوافقة – وتعرف الأخرى باسم المعيقة أو المانعة suppressors، وهى التى تعيق إنتاج وتراكم الفيتوألاكسينات، وخاصة فى التفاعلات المرضية المتوافقة. وبينما تكون المستحثات – غالبًا – مواد ذات وزن جزيئى مرتفع، فإن المانعات تكون – غالبًا – ذا وزن جزيئى منخفض. يتم تمثيل المانعات – غالبًا – فى الجدار الخلوى لأنبوبة الإنبات ذاتها أثناء تقدمها.

هذا .. وتقوم كلا من الكائنات المرضة المتوافقة مع العائل وغير المتوافقة معه بإنتاج كلا النوعين من الجليكوبروتينات: المستحثات والمانعات. إلا أن المستحثات الخاصة التى تنتجها الكائنات غير المتوافقة غير المرضة قد تستحث إنتاج كميات أكبر من الفيتوألاكسينات، كما أنه قد لا توجد أى اختلافات كمية بين المانعات التى تنتجها الكائنات المرضة والكائنات غير المرضة nonpathogens فى عائل معين، إلا أنه توجد بينهما اختلافات نوعية.

وقد ترتبط المستحثات بموقع خاص لمستقبل receptor فى الجدر الخلوية للعائل؛ لتستحث إنتاج الفيتوألاكسينات. وفى المقابل فإن المانعات قد تنافس المستحثات فى شغل المستقبلات؛ لتمنع بذلك استقبالها للمستحثات؛ ومن ثم إنتاج الفيتوألاكسينات. وتعد حالة المقاومة محصلة للتفاعل الذى يحدث بين المستحثات، والمانعات، والمستقبلات.

إن المستحثات قد تكون غير متخصصة nonspecific، فلا تكون خاصة بسلالة معينة من المسبب المرضى ولا بعائل معين. ومن أمثلة ذلك إنتاج سلالتين من الفطر *Cladosporium fulvum* – الذى يصيب الطماطم – مستحثات لإنتاج الـ rishitin فى الطماطم والـ pisatin فى البسلة، والـ glyceollin فى فول الصويا، ولكنها لا تستحث إنتاج الـ rishitin فى البطاطس. كذلك قد تكون المستحثات متخصصة specific؛ فلا تنتج إلا فى تفاعلات معينة غير متوافقة، كما فى حالات التفاعل بين سلالات معينة من *Cladosporium fulvum* وأصناف الطماطم (Vidhyasekaran ١٩٨٨).

أمثلة متنوعة

نقدم – فيما يلى – بيانًا ببعض الكائنات والعوامل والمعاملات المحفزة لإنتاج الفيتوألاكسينات.

١ – الفطريات:

إن معظم معلوماتنا عن الفيتوألاكسينات حُصِل عليها من دراسات استخدمت فيها الفطريات لتحفيز إنتاج الفيتوألاكسينات. ولا يشترط لإنتاج الفيتوألاكسينات أن تكون الفطريات المستخدمة فى العدوى من بين الطفيليات الطبيعية للعائل، فقد وجد Cruickshank (١٩٦٥) أن البسلة تنتج الفيتوألاكسين بيزاتين Pisatin لدى عدوى قرونها بأى واحد من عدد كبير من الفطريات سواء أكانت من بين الطفيليات الطبيعية للبسلة، أم غير ذلك، إلا أن تركيز البيزاتين المنتج اختلف من فطر لآخر. كذلك اختلفت الفطريات المستخدمة فى مدى حساسيتها للبيزاتين، وأمكن تقسيمها إلى مجموعتين: حساسة للبيزاتين، وتشمل كل الطفيليات الطبيعية للبسلة، وغير حساسة وتشمل كل الفطريات الأخرى التى شملها الاختبار وهى ليست من الطفيليات الطبيعية للبسلة.

وفى العائل الواحد .. ينتج عادة نفس الفيتوألاكسين وإن تعددت جينات المقاومة الرأسية ما دامت سلالات الفطر المستخدمة غير متوافقة مع جين المقاومة الرأسية؛ ففى البطاطس .. تمكن Sato وآخرون (١٩٦٨) من عزل الفيتوألاكسين Rishitin من درنات الأصناف ذات التركيب الوراثى r، و R_1، و R_2، و R_3، و R_4 لدى عدوى أى منها بسلالة غير متوافقة من الفطر *Phytopthora infestans*.

٢ – البكتيريا:

لم يعرف دور الفيتوألاكسينات فى مقاومة الأمراض البكتيرية إلا فى عام ١٩٧١ حينما أمكن عزل كميات كبيرة نسبيًا من الفيتوألاكسين فاصيولين Phaseollin من أوراق أصناف الفاصوليا (٢٢٦ ميكروجرامًا/جم من الأوراق) المفرطة الحساسية للبكتيريا *Pseudomonas phaseolicola* لدى عدواها بتلك البكتيريا. كما أمكن عزل فيتوألاكسينات أخرى من الفاصوليا – بنفس البكتيريا – وهى: Phaseollidin، و Phaseollinisoflavan، و Kievitone، و Coumestrol.

وقد عزلت بعد ذلك فيتوألاكسينات أخرى فى حالات مرضية بكتيرية أخرى. فمثلاً .. وجد أن البكتيريا *Pseudomonas glycinea* تحفز تكوين الفيتوألاكسينات التالية فى فول الصويا: glyceollin، و coumestrol، و daidzein، و sojagol. وفى البطاطس .. عزلت الفيتوألاكسينات Rishitin، و Phytuberin بتركيزات عالية نسبيًا من درنات البطاطس (١٠٠-١٠٠٠ ميكروجرام/جم من النسيج المعدى) لدى عدواها بالبكتيريا *Erwinia atroseptica*. كما عزلت نفس هذه الفيتوألاكسينات — مع غيرها — لدى عدوى الدرنات بالبكتيريا *E. carotovora*. كذلك عزل الفيتوألاكسين Cspsidiol من أوراق الفلفل لدى عدواها بالبكتيريا *E. carotovora*.

٣ — الفيروسات:

أمكن فى عام ١٩٧٢ عزل عدد من الفيتوألاكسينات من الفاصوليا الخضراء لدى عدواها بفيرس تحلل التبغ Tobacco Necrosis Virus، وهى: Phaseollin، و Phaseollidin، و Phaseollinisofhavan، و Kievitone.

وقد تبين بعد ذلك أن البقع المحلية التى تتكون فى بعض حالات الإصابات الفيروسية تعد مواقع ممتازة لعزل الفيتوألاكسينات، حيث عزلت الفيتوألاكسينات من الحالات المرضية الفيروسية التالية:

العائل	الفيروسات	الفيتوألاكسينات المنتجة
الفاصوليا	فيرس تحلل التبغ	**Phaseollinisoflavan, Kievitone**
Vigna spp.	متنوعة	**Phaseollin, Phaseollidin, Kievitone, 2-o-methylphaseollidinisoflavan, Vignafuran**
البسلة	متنوعة	**Pisatin**
N. tabacum	فيرس تحلل التبغ	**Capsidiol, Solascone, Phytuberin, Phytuberol, 3-hydroxysolavetivone**

٤ – النيماتودا:

أمكن عزل الفيتوألاكسينات من الحالات المرضية النيماتودية التالية:

العائل	النيماتودا	الفيتوألاكسينات المنتجة
البطاطا	*Cylas formicarius* أو *Euscepes postfasciatus*	**Ipomeamarone**
		Ipomeamarol
		Dehydroipomeamarone
فاصوليا الليما	***Pratylenchus scribneri***	**Coumestans**
الفاصوليا الخضراء	***P. penetrans***	**Phaseollin**
فول الصويا	***Meloidogyne incognita***	**Glyceollin**

وفى جميع الحالات .. كان تركيز الفيتوألاكسينات أعلى فى الأنسجة المتحللة (عن Bailey ١٩٨٢).

٥ – المركبات الكيميائية:

تبين أن عديدًا من المركبات الكيميائية تعمل كمنبهات لإنتاج الفيتوألاكسينات لدى معاملة النباتات بها. ومن هذه المركبات، ما يلى:

فئة المركبات	أمثلة للمركبات
مثبطات التنفس	**Sodium iodoacetate**
	Sodium fluoride
	Potassium cyanide
	2,4-dinitrophenol
مضادات الحيوية	**Actinomycin D**
	Puromycin
	Cycloheximide
منظمات النمو	**Ethylene**
	Indole acetic acid
	2,4-D
	2,4-5-trichlorophenoxyacetic acid

وتعرف مركبات كيميائية أخرى عديدة، ولكن تأثيرها المحفز لإنتاج الفيتوألاكسينات لم يدرس إلا فى البسلة، ومن أمثلتها: أملاح المعادن الثقيلة كالنحاس، والزئبق.

٦ – نواتج الأيض الميكروبى Microbial Metabolites:

تبين أن راشح المزارع الميكروبية، وكذلك الخلايا الفطرية المقتولة بالحرارة كانت قادرة على تحفيز إنتاج الفيتوألاكسينات مثل الكائنات الحية المأخوذة عنها تمامًا. ومن أهم نواتج الأيض الميكروبى التى وجدت فيها وكانت مؤثرة فى إنتاج الفيتوألاكسينات كل من: الـ Peptides، والـ Glycopeptides، والـ Polysaccharides.

٧ – المعاملات الفسيولوجية:

حفّز تجريح الأنسجة النباتية بالقطع، أو بالخدش، أو بالوخز بالإبر إنتاج الفيتوألاكسينات، ولكن بتركيزات منخفضة جدًّا. كما أُنتجت الفيتوألاكسينات بتعريض الأنسجة لدرجة –٢٠م لمدة ١٠–٢٠ دقيقة، أو بجعلها تلامس النيتروجين السائل ثم تفكيكها. وكانت أكثر المعاملات تأثيرًا فى إنتاج الفيتوألاكسينات هى التعريض للأشعة فوق البنفسجية (Bailey ١٩٨٢).

طرق إنتاج الفيتوألاكسينات

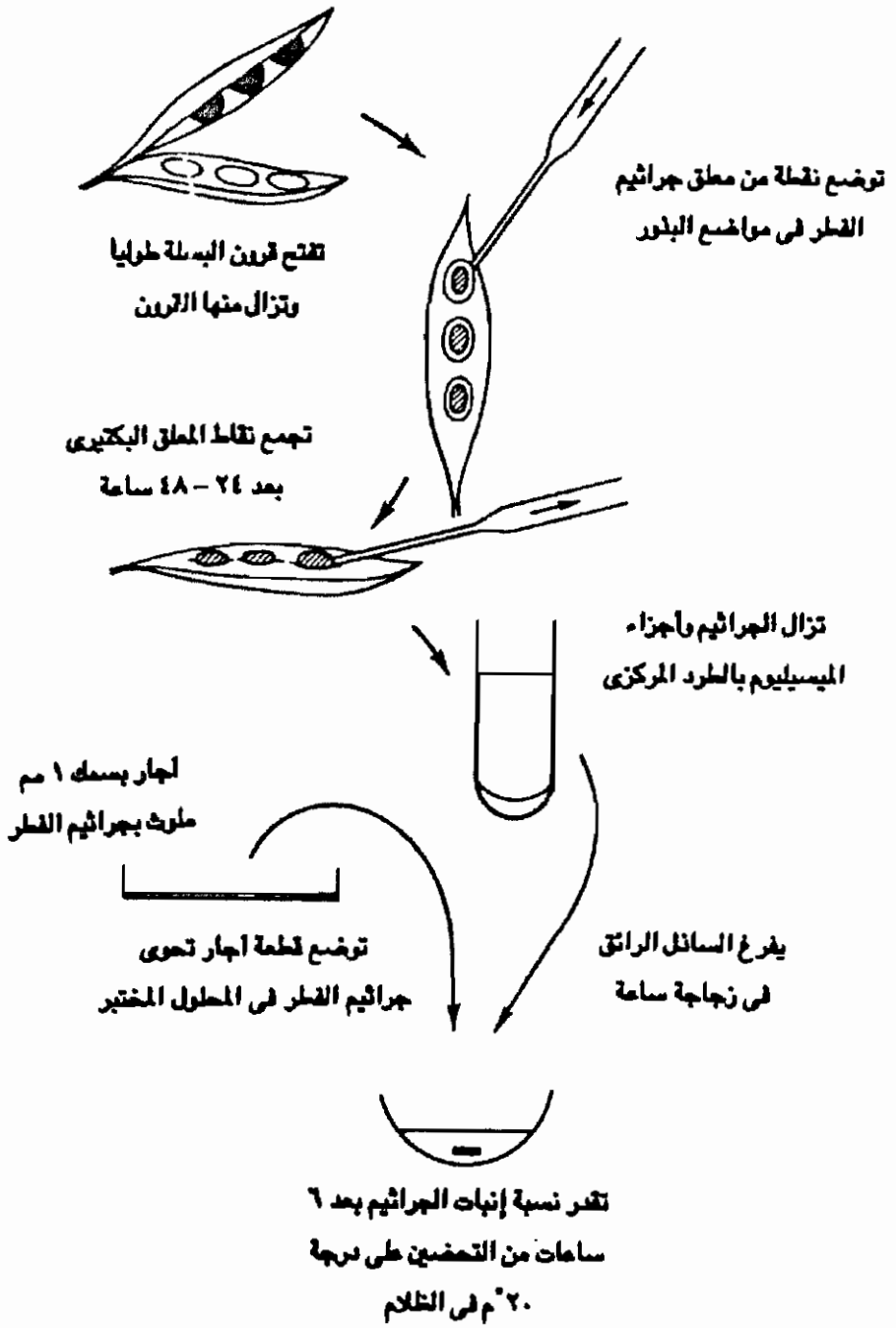
اتبعت عدة طرق لإنتاج الفيتوألاكسينات فى الأنسجة النباتية عقب عدواها بالمسببات المرضية، نذكر منها ما يلى:

١ – رش الأوراق والسيقان بمعلق المسبب المرضى بعد إزالة الطبقة الشمعية عنها.

٢ – عدوى الأسطح المقطوعة للنسيج النباتى المتشحم كالدرنات.

٣ – عدوى مواضع البذور – بعد إزالتها – من أنصاف قرون البقوليات.

تعرف هذه الطريقة باسم drop-diffusate method، وفيها تُزال البذور من القرون الخضراء للبقوليات بعد تفصيصها، ثم يضاف المعلق الفطرى أو البكتيرى .. إلخ فى تجويف البذور، وتحفظ أنصاف القرون المعاملة بهذه الطريقة فى مكان محكم مغلق ترتفع فيه نسبة الرطوبة. تُنتج بعد ساعات قليلة الفيتوألاكسينات فى خلايا العائل، لتنتشر منها إلى السائل الموجود فى تجويف البذور، حيث يمكن استخلاصها بسهولة (شكل ٧–٢٢).



شكل (٧–٢٢): طريقة أنصاف قرون البقوليات لإنتاج الفيتوألاكسينات.

وقد كان Muller هو أول من استخدم أنصاف قرون البسلة المفرغة من البذور فى إنتاج الفيتوألاكسينات، حيث قام بوضع نقاط من معلقات لجراثيم فطرية غير ممرضة للبسلة (استعمل ابتداء الفطرين *Monolinia fructicola*، و *Phytophthora infestans*). فى مواضع البذور، وتبين بعد فحص تلك المعلقات على فترات زمنية أنها احتوت بعد أقل من ٨ ساعات على ٢٠°م على مركبات سامة للفطريات، وأن تلك المركبات لم تظهر فى القرون التى عوملت بالماء فقط. وكانت تلك المركبات هى الفيتوألاكسينات (عن Kué ١٩٩٥).

اتبعت هذه الطريقة فى إنتاج الـ Pisatin من البسلة، والـ Viciatin من الفول الرومى، والـ Phaseollin من الفاصوليا. ويتراوح - عادة - تركيز الفيتوألاكسينات فى السائل الموجود فى فجوات البذور بين ١٠ و ٢٠٠ ميكروجرام/مل (عن Bailey ١٩٨٢). ولمزيد من التفاصيل عن هذه الطريقة لإنتاج الفيتوألاكسينات .. يراجع Kiraly وآخرون (١٩٧٤).

كذلك يمكن حقن القرون الخضراء — وهى على النبات — فى تجاويف البذور بمعلق المسبب المرضى، وقد اتبعت هذه الطريقة فى إنتاج الـ Pisatin بعد الحقن بمعلق الفطر *Monilinia fructicola*.

٤ - اقترح Kué (١٩٧٢) استخدام أنصاف ثمار الأفوكادو والقاوون فى إنتاج كميات كبيرة من الفيتوألاكسينات بطريقة مماثلة لطريقة أنصاف قرون البقوليات. وقد اتبعت هذه الطريقة بالفعل فى إنتاج الفيتوألاكسينات من ثمار السترون المقاوم للفطر المسبب للذبول الفيوزارى (Helal ١٩٧٦).

٥ — استخدام مزارع الأنسجة:

يمكن استخدام مزارع الأنسجة النباتية فى إنتاج الفيتوألاكسينات بعد عدواها بالمسببات المرضية. وللتفاصيل الخاصة بهذه الطريقة .. يراجع Dixon (١٩٨٠).

هذا .. ويمكن فصل الفيتوألاكسينات بسهولة بطرق الفصل الكروماتوجرافى، ويستخدم لذلك الكروما تواجرافى الورقى. وقد اتبعت هذه الطريقة لفصل كل من الـ Pisatin (Cruickshank ١٩٦٥). والـ Rishitin (Tomiyama وآخرون ١٩٦٨).

كما يتم الفصل أيضًا باختبار الـ thin layer chromatography، وفيه توضع المستخلصات النباتية على الشريحة الزجاجية المعدة للفصل الكروماتوجرافى. وبعد عمل الكروماتوجرام chromatogram (أى انفصال مكونات المستخلص على الشريحة) فإنه يرش بجراثيم أحد الفطريات المناسبة وهى معلقة فى محلول مغذ. يترك الكروماتوجرام بعد ذلك فى حضّان ذى رطوبة مرتفعة لعدة أيام. حيث ينمو الفطر على كل الشريحة فيما عدا فى المناطق التى توجد بها الفيتوألاكسينات (Wain ١٩٧٧).

العوامل المؤثرة فى إنتاج النباتات للفيتوألاكسينات

يتأثر إنتاج النباتات للفيتوألاكسينات بعديد من العوامل. وقد أجريت الدراسات فى هذا الشأن على إنتاج الفيتوألاكسين Pisatin من البسلة بطريقة عدوى تجويف البذور فى أنصاف القرون، ووجد أنه يتأثر بالعوامل التالية:

١ – الحالة الفسيولوجية للقرون، ولجراثيم الفطر المستخدم فى العدوى، وكان ذلك مرتبطًا أيضًا بدرجة ظهور المرض.

٢ – مدة تخزين القرون قبل إجراء الاختبار. ودرجة الحرارة التى خزنت عليها القرون آنذاك، وما إذا كان التخزين قد أجرى فى أوعية مغلقة، أم مهواة.

٣ – درجة نضج القرون المستخدمة فى الاختبار، حيث العلاقة عكسية بين درجة النضج وإنتاج الـ Pisatin.

٤ – درجة الحرارة أثناء إجراء الاختبار، حيث يبلغ إنتاج الـ Pisatin أقصاه فى حرارة ١٥–٢٠°م، وينخفض إنتاجه تدريجيًّا كلما اقتربت الحرارة من الدرجتين الصغرى والعظمى لإنتاجه، وهما صفر، و ٣٥°م على التوالى.

٥ – لا يتكون الـ Pisatin فى غياب الأكسجين بعد العدوى. ويمكن القول إن التهوية بعد العدوى تؤثر فى العمليات الحيوية فى كل من العائل والطفيل. ونظرًا لأن بعض المسببات المرضية قد يمكنها تحمل نقص الأكسجين بدرجة أكبر من النباتات الراقية، لذا .. فإن سوء التهوية قد يكون له تأثير سلبى كبير فى المقاومة، وهو ما يلاحظ عند ارتفاع منسوب الماء الأرضى؛ حيث تزداد الإصابة ببعض الأمراض.

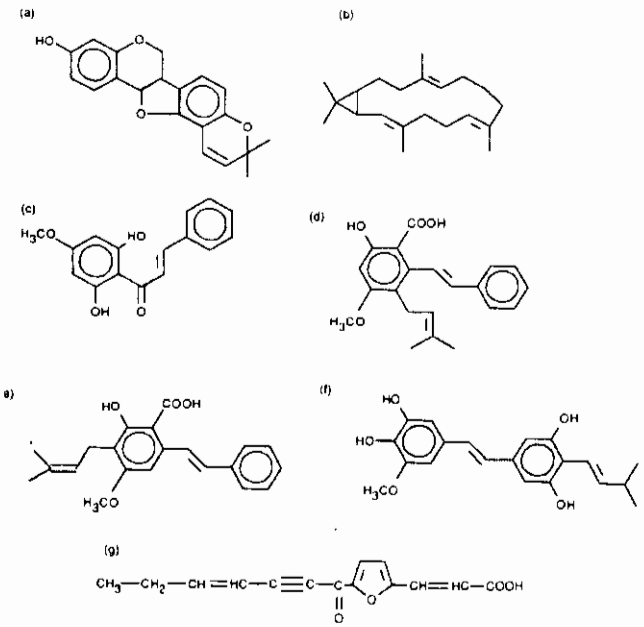
٦ – توجد علاقة طردية موجبة بين إنتاج الـ Pisatin وتركيز معلق جراثيم الفطر المستخدم فى العدوى، سواء أكان الفطر من طفيليات البسلة الطبيعية، أم غير ذلك.

أنواع الفيتوألاكسينات التى تنتجها النباتات

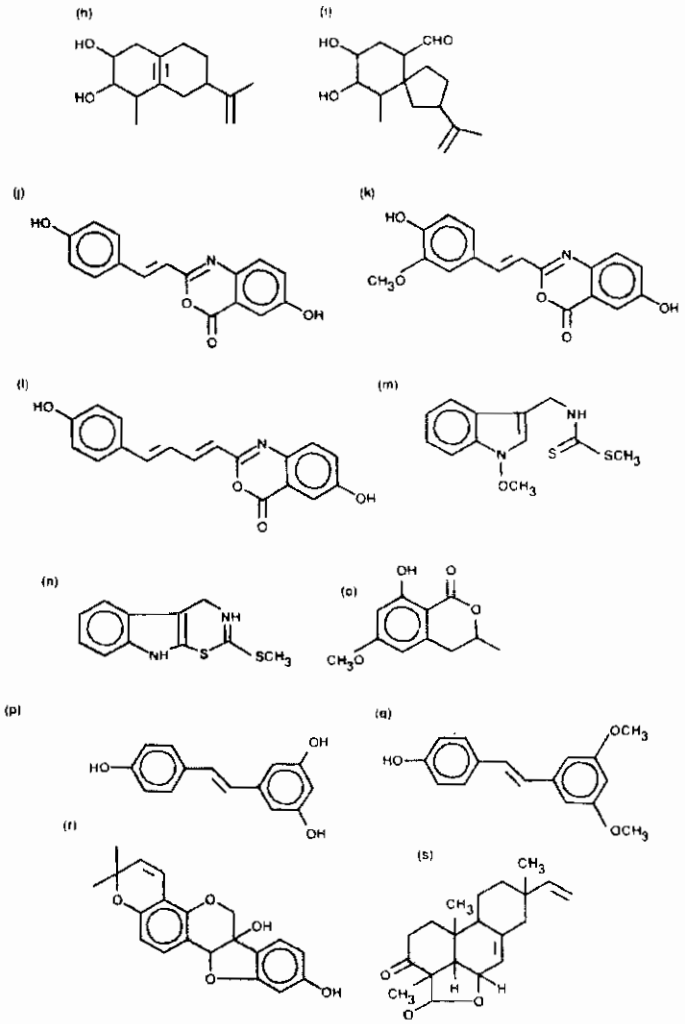
يعتقد Keen (١٩٨١) أن إنتاج الفيتوألاكسينات ظاهرة عامة فى جميع النباتات، ويرجع عدم اكتشافها فى بعض الأمراض إلى أن الطرق المعروفة لإنتاج واستخلاص الفيتوألاكسينات ليست صالحة لكل الحالات المرضية.

وقد أنتجت الفيتوألاكسينات بالفعل من ١٠٠ نوع نباتى على الأقل تمثل ٢١ عائلة. ومن أمثلة النباتات التى عزلت منها الفيتوألاكسينات: الفاصوليا، واللوبيا، وفاصوليا الليما، وفول الصويا، والفول الرومى، والبسلة، والتبغ، والبطاطس، والفلفل، والبنجر، والقطن، والجزر، والبطاطا.

وتنتمى الفيتوألاكسينات إلى مجموعات كيميائية كثيرة وشديدة التباين، ويظهر التركيب الكيميائى لعدد منها فى شكل (٧–٢٣).



شكل (٧–٢٣) مستمر.



شكل (٧-٢٣): التركيب الكيميائي لعدد من الفيتوألاكسينات، وهي: كما يلي:

(a)	Phaseollin from *Phaseolus vulgaris*
(b)	Casbene from *Ricinus communis*
(c)	Pinostrobin chalcone from *Cajanus cajan*
(d) and (e)	Two isomeric stilbene-2-carboxylic acids from *cajanas cajan*
(f)	Arachidin I, a stilbene phytoalexin from *Arachis hypogaea*
(g)	Wyerone acid from *Vicia faba*
(h) and (i)	Rishitin and phytuberin, respectively from *Solanum tuberosum*
(j), (k) and (l)	Avenalumins I, II and III, respectively from *Avena sativa*
(m) and (n)	Methoxybrasinin and cyelobrassinin, respectively from *Brassica juncea*
(o)	6-Methoxymellein from *Daucus carota*
(p) and (q)	Resveratrol and pterostibene from *Vitis vinifera*
(r)	Glyceollin I from *Glycine max*
(s)	Momilactone A from *Oryza sativa*

يلاحظ أن النبات الواحد قد ينتج أكثر من فيتوألاكسين واحد، كما قد يُنتَج الفيتوألاكسين الواحد بأكثر من نوع نباتي، وبفعل أكثر من عامل أو مسبب مرضي. فمثلاً:

١ - تنتج الفاصوليا الفيتوألاكسينات: Phaseollin، و Phaseollidin، و Kievitone، و Phaseollinisoflavan.

٢ - تنتج اللوبيا الفيتوألاكسينات: Phaseollin، و Phaseollidin، و Kievitone.

٣ - تنتج البسلة الفيتوألاكسينات: Pisatin، و Mackiain (Deverall ١٩٧٧).

٤ - عُزِلَ الفيتوألاكسين: Hydroxyphaseollin من أوراق فول الصويا بعد نحو ٣٠ ساعة من عدواها بفيرس تحلل التبغ Tobacco Necrosis Virus، وازداد تركيز الفيتوألاكسين المنتج بالأوراق تدريجيًا حتى ٤٨-٧٢ من العدوى بالفيرس، ثم انخفض بعد ذلك. وكان إنتاج الفيتوألاكسين متناسبًا - طرديًا - مع عدد البقع المرضية بالورقة (Klarman & Hammerschlag ١٩٧٢).

ونذكر - فيما يلي - قائمة بالفيتوألاكسينات التي تنتجها بعض العائلات النباتية التي درست فيها ظاهرة إنتاج الفيتوألاكسينات بشئ من التفصيل (عن Dixon ١٩٨١):

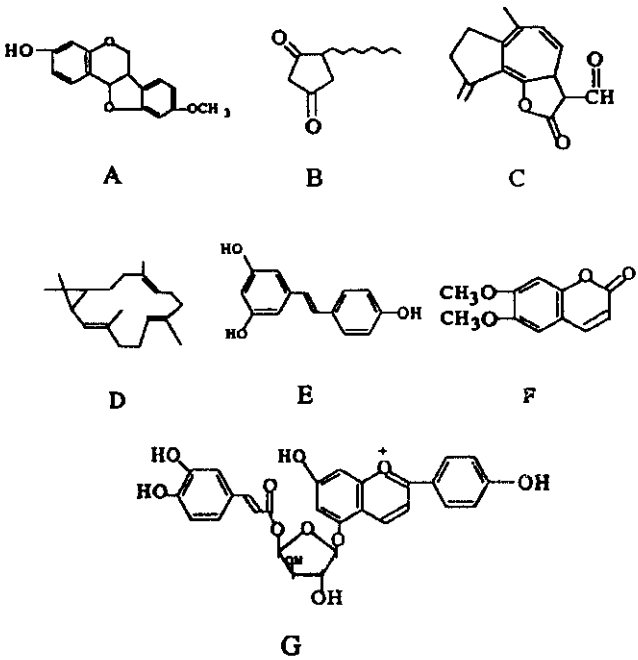
العائلة	أنواع الفيتوألاكسينات التي تنتجها
البقولية Leguminosae	**medicarpin, pisatin, phaseollin, glyceollin (peterocarpans), vetitol, sativan, phaseollin-isoflavan (isoflavans), kievitone (isoflavanone), wyerone, wyerone acid**
الباذنجانية Solanaceae	**rishitin, phytotuberin, capsidol, glutinosone (terpenoids)**
الخبازية Malvaceae	**vergosin, hemigossypol**
الخيمية Umbelliferae	**xanthotoxin**
العليقية Convolvulaceae	**ipomeamarone**
المركبة Compositae	**safynol, dehydroxysafynol**
الأوركيدية Orchidaceae	**orchinol, hircinol**

ولمزيد من التفاصيل عن الدراسات المبكرة حول الفيتوألاكسينات التي تنتجها مختلف العائلات النباتية .. يراجع Ingham (١٩٨٢) بشأن العائلة البقولية، و Kuc (١٩٨٢) بشأن العائلة الباذنجانية، و Coxon (١٩٨٢) بشأن العائلات الأخرى.

أيض الفيتوألاكسينتات وخصائصها الكيميائية والبيولوجية

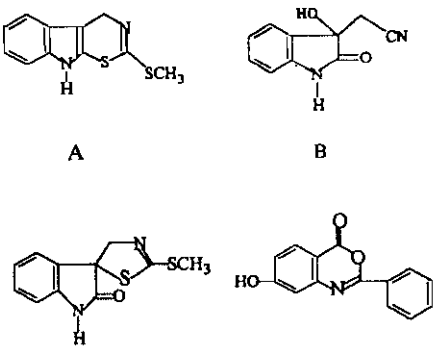
كما التنوع الهائل فى نوعيات العوامل التى يمكنها استحثاث تكوين وتراكم الفيتوألاكسينات، والعدد الكبير المعروف منها. فكذلك يتنوع تركيب الفيتوألاكسينات تنوعًا هائلاً، وتعرف منها أعداد كبيرة. وحتى عام ١٩٩٥ كان قد تم تعريف أكثر من ٣٥٠ فيتوألاكسين كيميائيًا عزلت من حوالى ٣٠ عائلة نباتية، وكان أكثرها (١٣٠ فيتوألاكسين) من العائلة البقولية. كما كانت غالبيتها من ذوات الفلقتين، ولكنها عزلت من ذوات الفلقة الواحدة كذلك، مثل الأرز، والذرة، والسورجم، والشعير، والبصل، والزنبق. وقد أمكن عزل الفيتوألاكسينات من السيقان، والجذور، والأوراق، والثمار. إلاّ أنه لم يمكن فى كل الحالات عزلها أو عزل الفيتوألاكسين الواحد من مختلف الأعضاء النباتية، الأمر الذى يتوافق – غالبًا – مع تخصص المسببات المرضية على إصابة مختلف الأعضاء النباتية.

وبصورة عامة .. تقسم الفيتوألاكسينات إلى مجموعتين: تلك التى تحتوى فى تركيبها على ذرات كربون، وأيدروجين، وأكسجين فقط (شكل ٧-٢٤)، وتلك التى تحتوى فى تركيبها على ذرات أخرى بالإضافة إلى الكربون والأيدروجين والأكسجين (شكل (٧-٢٥).



شكل (٧-٢٤): فيتوألاكسينات تحتوى – فقط – على كربون وأيدروجين وأكسجين فى تركيبها:

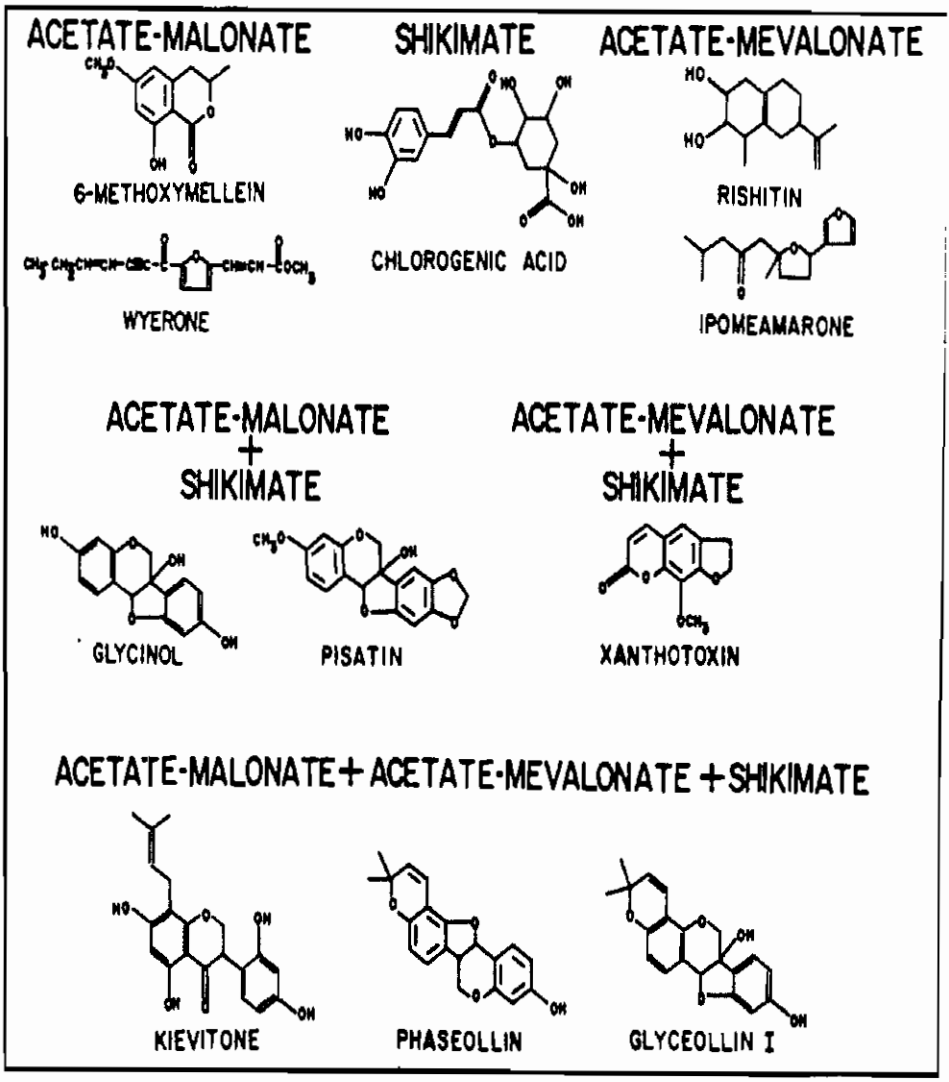
A: Medicarpin-red clover, white clover, alfalfa, chickpea; B: Tsibulin Id-onion; C: Lettucenin A-lecttuce; D: Casbene-castor bean; E: Reveratrol-peanut, grape; F: Scoparone-cirus; G: Caffeic acid ester of arabinosyl-5-0-apogenindin-sorghum.



شكل (٧-٢٥): فيتوألاكسينات تحتوى فى تركيبها على ذرات أخرى بالإضافة إلى الكربون والأيدروجين والأكسجين:

A: Cyclobrassinin-cabhage, Chinese cabbage, rapem turnips; B: 3-Cyanomethyl-3-bydroxy-oxindole-cabbage; C: Spirobrassinin-turnip; D: Dianthalexin-carnation.

وبسبب التنوع الكبير فى التركيب الكيميائى للفيتوألاكسينات (شكل ٧-٢٦) فإنه لا تعرف علاقة واضحة تربط بين نشاطها المضاد للكائنات الدقيقة وتركيبها الكيمائى.



شكل (٧-٢٦): المسارات الأيضية الخاصة بتمثيل بعض الفيتوألاكسينات (عن Kuć ١٩٩٥).

كذلك لا توجد قواعد محددة تربط ما بين التركيب الكيميائى للفيتوألاكسينات والعائلات التى تنتج فيها كما يلى:

الفيتوألاكسينات (PA) أو المجموعة الكيميائيـــــــة التى ينتمى إليها	العائلات النباتية أو الأنواع النباتية التى تنتج فيها
Phenyl propanoid PAs	البقوليـــة – الباذنجانيـــة – العليقيـــة – الخيمية – النجيلية
Isflavonoid PAs	البقولية ولا تنتج فى الباذنجانية
Sesquiterpenoid PAs	الباذنجانية ولا تنتج فى البقولية
الـ **rishitin** (وهو: **norsesquiterpenoid PA**)	البطاطس والتبغ ولا ينتج فى الفلفل
الـ **capsidol** (وهو: **sesquiterpenoid PA**)	التبغ والفلفل ولا ينتج فى البطاطس

إن المسارات الأيضية الرئيسية (الـ shikimate، والـ acetate-malonate، و الـ acetate-mevalonate) التى توفر بادئات تكوين الفيتوألاكسينات توجد فى جميع النباتات، وهى المسئولة عن تمثيل جميع المركبات الحيوية التى تلزم لتأمين تمثيل مختلف المركبات الضرورية لمختلف مراحل النمو والتطور النباتى (housekeeping compounds)، وتنشأ الفيتوألاكسينات عن طريق انحراف – جزئى – لبعض من الـ housekeeping precusors، وما يرتبط بذلك من نشاط يحدث فى إنزيمات مسارات تمثيل الـ housekeeping compounds وظهور لإنزيمات تختص بخطوات أيضية وثيقة الصلة بتمثيل الفيتوألاكسين.

هذا ويمكن أن تتوفر البادئات التى تلزم لتمثيل الفيتوألاكسين من مسار أيضى واحد أو من مسارين أو ثلاثة (شكل ٧–٢٦)؛ فمثلاً .. يُتحصل على بادئات تمثيل الـ phaseollin من المسارات الأيضية الثلاثة. وبذا .. فإنه لا يتعين – فقط – تنظيم المسارات الثلاثة لتوفير بادئات بقدر كافٍ. ولكن يتعين – كذلك – تمثيل أو تنشيط عمل الإنزيمات التى تلزم لتحويل البادئات إلى مركبات وسطية مناسبة. ويجب أن يتم كل ذلك دون أن يتسبب فى حدوث انقطاع فى إمدادات الـ housekeeping compounds لفترات طويلة (عن Kuć ١٩٩٥).

وللتفاصيل الخاصة بالخصائص الطبيعية والكيميائية للفيتوألاكسينات .. يراجع Cruickhank & Perrin (١٩٧٣) بخصوص Phaseollin، و Cruickshank (١٩٦٥)

بخصوص الـ Pisatin، و Katsui وآخرون (١٩٦٨) بخصوص الـ Rishitin، و Deverall (١٩٧٧)، و Wain (١٩٧٧) بخصوص الفيتوألاكسين بصورة عامة.

تأثير الفيتوألاكسينات على الكائنات الدقيقة وعلاقة ذلك بالمقاومة

دُرس تأثير الفيتوألاكسين بيزاتين Pisatin الذى تنتجه البسلة — كمثال — على عدد كبير من الفطريات، كان بعضها من تلك التى تتطفل طبيعيًّا على البسلة، بينما لم يكن بعضها الآخر كذلك، وكانت جميعها من الفطريات الهامة التى تمثل مختلف المجاميع الفطرية.

وقد أوضحت هذه الدراسة أن الفطريات التى تصيب البسلة أقل حساسية للبيزاتين من الفطريات التى لا تتطفل طبيعيًّا على البسلة. وقد حُصل كذلك على نتائج مشابهة بالنسبة لكل من الفيتوألاكسينين الـ Viciatin الذى ينتجه الفول الرومى، والـ Phaseollin الذى تنتجه الفاصوليا.

وجدير بالذكر أن إنتاج الـ Pisatin فى قرون البسلة لا يبدأ قبل مرور ٦–٨ ساعات من حقن (عدوى) القرون — فى أماكن البذور — بالفطر المناسب، ثم يزداد تركيز الفيتوألاكسين تدريجيًّا مع الوقت لمدة ١٢–٣٠ ساعة (عن Cruickshauk ١٩٦٥).

ويمكن القول إن المقاومة هى الحالة التى يتمكن فيها العائل من الاستجابة — للإصابة — بإنتاج فيتوألاكسين بتركيز يصل إلى الحد اللازم لوقف نمو المسبب المرضى أو يزيد عليه. كما يمكن تعريف القابلية للإصابة بأنها الحالة التى لا يمكن فيها للعائل الاستجابة للإصابة بالسرعة الكافية لإنتاج الفيتوألاكسين بالتركيز المناسب لوقف نمو المسبب المرضى.

إن الفيتوألاكسينات مركبات قاتلة تؤثر على كل من البكتيريا، والفطريات، والنيماتودا، والحيوانات الأرقى، والنباتات. ومع التباين الشديد للفيتوألاكسينات فإن الكائنات الحية تتباين بشدة فى مدى حساسيتها لها. وعلى سبيل المثال .. تعد

البكتيريا الموجبة لصبغة جرام أكثر حساسية – بصورة عامة – عن البكتيريا السالبة. كذلك تتباين سلالات المسبب المرضى الواحد، حيث تكون السلالات ذات الضراوة العالية – عادة – أقل حساسية وتتحمل تركيزات أعلى من الفيتوألاكسينات عن السلالات عديمة الضراوة. وغالبًا ما يرتبط ذلك بقدرة السلالات العالية الضراوة على تحويل الفيتوألاكسينات المتراكمة فى موقع الإصابة إلى مركبات غير سامة لها.

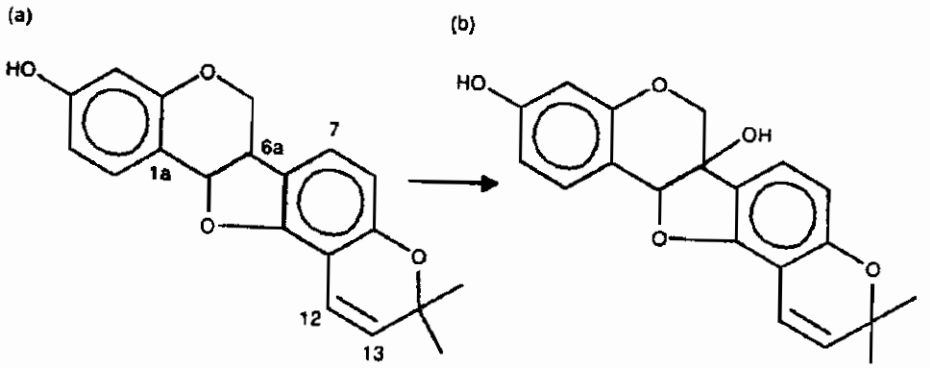
ومن أهم خصائص الفيتوألاكسينات أنها غير متخصصة non-specific على مجموعات معينة من المسببات المرضية وأن تأثيرها السام متعدد المواقع، أى إنها multisite toxicants. وتؤدى معاملة الفطريات بالفيتوألاكسينات إلى تحبب السيتوبلازم واختفاء محتويات الخلية؛ مما يدل على أن الأغشية الخلوية هى أحد المواقع التى تؤثر فيها الفيتوألاكسينات. ومن التأثيرات السامة المعروفة للفيتوألاكسينات التأثير على الأغشية البلازمية لليبوسومات lyposomes. وإنبات الجراثيم الفطرية. والنمو الميسيليومى، وإتلاف الريبوسومات، والشبكة الإندوبلازمية، وأغشية الميتوكوندريات. والأغشية النووية، والأغشية البلازمية المحيطة بالسيتوبلازم والمحيطة بالفجوات العصارية.

كذلك تتباين الكائنات الدقيقة فى قدرتها على تحويل الفيتوألاكسينات إلى مركبات غير سامة، ومما يدعم ذلك الأمر تباين الفيتوألاكسينات ذاتها فى خصائصها الكيميائية.

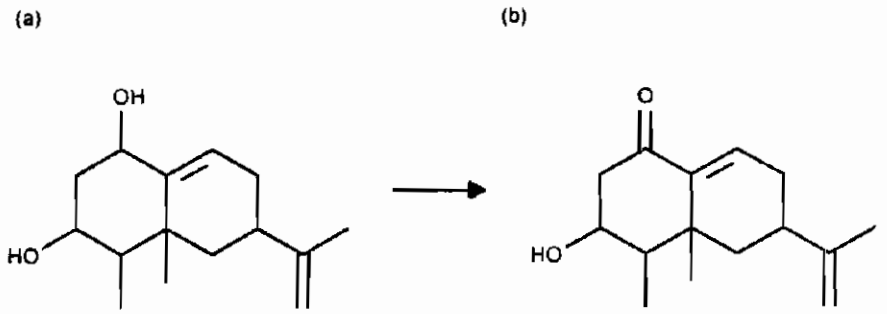
ومن بين الطرق العامة التى تتحول بها الفيتوألاكسينات إلى مركبات غير سامة detoxification، ما يلى:

١ – الأكسدة:

تعد الأكسدة عند موقع كربونى واحد إحدى الوسائل التى يمكن أن تصبح بها الـ pterocarpan phytoalexins أقل سمية (شكل ٧–٢٧). كذلك يمكن للفطرين: *Botrytis cinerea*، و *Fusarium oxysporium* f. sp. *vasinfectum* أكسدة فيتوألاكسين الفلفل capsidol إلى capsidiol (شكل ٧–٢٨).



شكل (٧-٢٧): تحويل الفيتوألاكسين **phaseollin (a)** إلى المركب غير السام **6a-hydroxyphaseollin (b)** بأكسدته عند الموقع 6a.



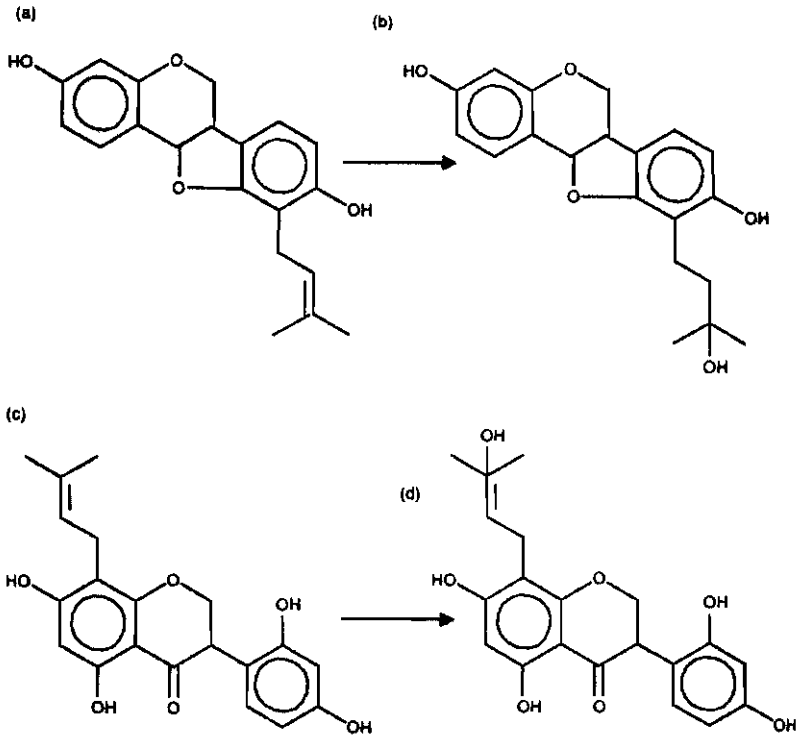
شكل (٧-٢٨): تحويل الفيتوألاكسين **capsidol (a)** إلى المركب غير السام **capsidiol (b)** بالأكسدة.

٢ - الهدرجة:

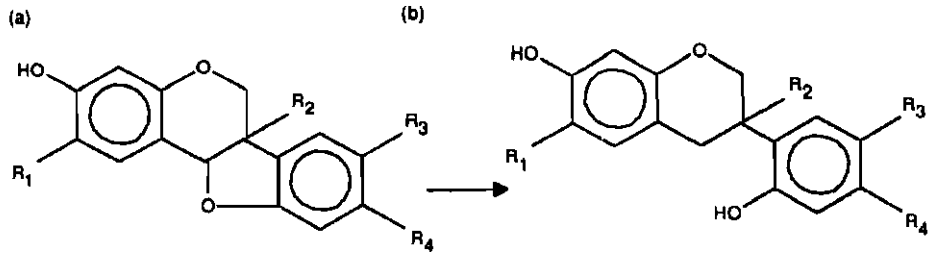
تعد الهدرجة hydration (أو الارتباط مع الماء) إحدى الوسائل التي تحول بها المسببات المرضية (مثل: *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli*) الفيتوألاكسينات السامة (مثل فيتوألاكسينا الفاصوليا: الـ phaseollidin، والـ kievitone) إلى هيدرات hydrates (شكل ٧-٢٩).

٣ - الاختزال:

يمكن أن تصبح الفيتوألاكسينات أقل سمية بالاختزال، كما يحدث عند اختزال الـ pterocarpans إلى isoflavans (شكل ٧-٣٠).



شكل (٧-٢٩): تحويل الفيتوألاكسين **phaseollidin** (a)، و **kievitone** (b) إلى مركبين غير سامين بالهدرجة.



شكل (٧-٣٠): تحويل الـ **pterocarpans** إلى **isolfavans** غير سامة بالاختزال، علمًا بأن الـ **pterocarpans** هي:

R_1, R_2, R_3 = H: R_4 = *OCH_3: medicarpin*
R_1, R_2 = H R_3 R_4 = *OCH_2O: maackiain*
R_2, R_3 = H: R_1, R_4 = *OCH_3: 3-hydroxy-2,9-dimethoxypterocarpan*
R_1, R_2, R_3 = H; R_4 = *OH: 3,9-dihydroxypterocarpan*
R_1 = H, R_2 = OH; R_3 R_4 = *OCH_2O: 3,6a-dihydroxy-8,9-methylene-dioxypterocarpan.*

٤ – إزالة مجموعات المثيل:

تعد إزالة مجموعات المثيل demethylation للفيتوألاكسين: pisatin، ليتحول إلى 6a-hydroxymaackianin (اختصارًا: HMK وسيلة لإفقاده لسميته، وذلك بالنسبة لعديد من الفطريات التى تكون أقل حساسية للمركب HMK عند الـ pisatin.

المعاملة بالفيتوألاكسينات لمكافحة الأمراض

يعتقد البعض أنه طالما أن الفيتوألاكسينات مركبات طبيعية يستخدمها النبات فى دفاعه ضد الإصابات المرضية فإنه قد يمكن استخدامها – إذا أمكن تخليقها صناعيًا – بأمان — كمبيدات فى مكافحة الأمراض، إلاّ أن هذا الاعتقاد لا يخلو من المآخذ والأخطاء. فالمركبات التى توجد طبيعيًا فى النباتات لا تكون بالضرورة آمنة؛ فعديد من المبيدات القاتلة تستخلص من النباتات، كما أن بعض الأنسجة النباتية تعد شديدة السمية للحيوانات بسبب ما تحمله من مركبات حامية للنباتات. ونظرًا لأن الفيتوألاكسينات لا تنتقل فى النباتات، فإنه سيتعين تكرار المعاملة بها عدة مرات. ونظرًا لتعقيد تركيبها الكيميائى فإن تخليقها لن يكون سهلاً. وغالبًا فإن استعمالها لن يكون اقتصاديًا.

كذلك لم تُجدِ محاولات معاملة النباتات بمستحثات تمثيل الفيتوألاكسينات من غير المسببات المرضية؛ نظرًا لأن النباتات المعاملة كانت دائمًا متقزمة وغير منتجة؛ وربما حدث ذلك بسبب تحويل المثيرات للمسارات الأيضية عن طريقها الطبيعى إلى طريق إنتاج الفيتوألاكسينات. هذا بينما نجد فى الطبيعة أن الفيتوألاكسينات لا تنتج إلاّ فى مواقع الإصابة وحولها فقط. وحينما يحتاج الأمر إليها فقط (عن Kuć ١٩٩٥).

هذا وقد أمكن تمثيل عدد من الفيتوألاكسينات معمليًا، نذكر منها ما يلى:

الفيتوألاكسين	المصدر الطبيعى له
Pisatin	البسلة
Rishitin	البطاطس
Vignafuran	اللوبيا
Orchinol	جنسان من العائلة الأوركيدية **Orchidaceae**

مصادر إضافية عن الفيتوألاكسينات

لمزيد من المعلومات عن الفيتوألاكسينات .. يراجع ما يلى:

المرجع	الموضوع
Muller (١٩٦١)	مقال كلاسيكى عن الفيتوألاكسينات
Cruickshank (١٩٦٣)	عام
Cruickshank (١٩٦٥)	دراسات مفصلة على البيزاتين
Kuć (١٩٧٢)	عام
Dixon (١٩٨٠)	إنتاج الفيتوألاكسينات فى مزارع الأنسجة
Cruickshank (١٩٨٠)	الجوانب العملية لدراسة الفيتوألاكسينات
Keen (١٩٨١)	تقييم لدور الفيتوألاكسينات
Bailey (١٩٨٢)	عام
Mansfield (١٩٨٢)	فسيولوجيى الدور الذى تلعبه الفيتوألاكسينات فى مقاومة مختلف مسببات الأمراض
Bailey & Mansfield (١٩٨٢)	شامل
Daniel & Purkayastha (١٩٩٥)	شامل

المقاومة النشطة: تمثيل البروتينات الدفاعية

يرتبط تمثيل بروتينات عديدة مختلفة بالمقاومة النشطة لعديد من الأمراض. وهى التى تعرف باسم pathogensis-related proteins (اختصارًا: PRP).

ومن أبرز الأمثلة على الـ PRP ما يلى:

١ - إنزيمات الشيتنيز chitinases والجلوكانيز glucanases التى تتكون استجابة للإصابة بأنواع عديدة من الفطريات والبكتيريا والفيروسات. وللمعاملة بالإثيلين وبعض المثيرات.

٢ - الثيونينات thionins التى يتراكم تمثيلها فى الشعير - بأكثر مما يكون عليه تركيزها العادى المنخفض - على أثر تعرضه للإصابة بالفطر *Erysiphe graminis*.

٣ - بروتنيات أخرى غير مُعَرَّفة. مثل الـ 23 kDa protein - المثبط لتكاثر الفيرس - والذى عُزِل من نباتات التبغ التى تستجيب للحقن بفيرس موزايك التبغ بتكوين بقع موضعية - على أثر تعرضها للإصابة بالفيرس (عن Strange ١٩٩٣).