الندوة المتأخرة

يسبب الفطر *Phytophthora infestans* مرض الندوة المتأخرة Late Blight فى الطماطم والبطاطس.

مصادر المقاومة لمختلف السلالات الفسيولوجية للفطر ووراثتها

يتوفر نوعان من المقاومة للمرض: مقاومة بسيطة (نوعية) simple أو رأسية vertical، ومقاومة كمية quantitative أو أفقية horizontal. يتحكم فى المقاومة البسيطة جينات سائدة، يختص كل واحد منها بمقاومة سلالة معينة من الفطر. اكتشف أول هذه الجينات فى عام ١٩٥٢ فى إحدى السلالات البرية، وأعطى الرمز TR_1. يقاوم هذا الجين الإصابة بسلالة الفطر التى تعرف بالرقم صفر. وتلا ذلك اكتشاف جينات أخرى أخذت الرموز TR_2، وTR_3... وهكذا، وتقاوم – على التوالى – السلالات أرقام (صفر، و١)، و(صفر، و١، و٢)... وهكذا.

وقد اتبع – فى إعطاء رموز الجينات المقاومة للندوة المتأخرة فى الطماطم – نفس الطريقة التى اتبعت مع البطاطس، مع إضافة الحرف T؛ لتمييز جينات الطماطم عن جينات البطاطس التى تأخذ الرموز R_1، و R_2، و R_3 ... وهكذا. ولكن أعيد النظر – بعد ذلك – فى نظام إعطاء الرموز لجينات المقاومة؛ حيث استبدل الرمز TR بالرمز Ph لتصبح الجينات Ph_1، وPh_2 ... وهكذا.

اكتشف أول جينات المقاومة (TR_1) فى السلالة رقم PI 204996 من *S. pimpinellifolium*، وهى التى كانت تعرف باسم West Virginia Accesion 700، وقد حُصل عليها من المكسيك، وتُعد من أكثر السلالات مقاومة؛ لأنها تقاوم سلالات الفطر أرقام صفر، و١، و٢، بالإضافة إلى كونها على درجة عالية من المقاومة الأفقية، التى يتحكم فيها عدد كبير من الجينات (عن Gallegly ١٩٦٠). وتتوفر المقاومة لسلالة الفطر رقم صفر فى معظم سلالات النوع *S. pimipiellifolium*، بينما تتوفر المقاومة

للسلالة رقم ١ من الفطر فى السلالتين PI 205016، و PI 205017 من نفس النوع (Alexander ١٩٥٩).

تعد السلالة PI 204996 من *S. pimpinellifolium* من أفضل مصادر المقاومة الكمية كما أسلفنا، وهى تستخدم فى برامج التربية كمصدر للمقاومة. كذلك تستخدم السلالة L 1197 كأفضل مصدر للمقاومة فى المركز الآسيوى لبحوث وتطوير الخضر (Yang ١٩٧٩). تكون هذه المقاومة فى أفضل صورها فى الظروف البيئية التى لا تسمح بتراكم الأحماض الأمينية الحرة فى الأنسجة النباتية. وهى لا تظهر فى طور البادرة فى كل الظروف، كما لا تظهر فى النباتات الأكبر سنًّا التى تكون نامية فى ظروف خصوبة عالية، وإضاءة ضعيفة، ونهار قصير؛ لأن تلك الظروف تشجع على تراكم مستويات مرتفعة من الأحماض الأمينية الذائبة فى الأنسجة النباتية.

وتتوفر المقاومة الكمية — كذلك — فى سلالات أنواع برية أخرى (عن Sotirova & Beleva ١٩٧٦)؛ وهى:

S. lycopersicum (cerasiforme طراز)

S. habrochaites

ومن الأصناف المقاومة للندوة المتأخرة ما يلى:

١- أصناف صادقة التربية مثل: Pieraline، و Pierfit، و Heline، و Hessoline.

٢- أصناف هجين مثل: Pyros، و Juboline، و Fandango، و Flamingo، و Jango.

وقد وُجد أعلى مستوى من المقاومة للندوة المتأخرة فى اختبارات حقلية أجريت فى كل من تايوان، وإندونيسيا، ونيبال، والفلبين، وتنزانيا، وتايلاند فى السلالتين L 3707، و L 3708 من *S. pimpinellifolium*، وتلاهما السلالتين L 3683، وL 3684 من *S. habrochaites* (Black وآخرون ١٩٩٦).

وتبين من دراسة الارتباط بين شدة الإصابة بالندوة المتأخرة فى نباتات الجيل الثانى ومتوسط الإصابة فى نسلها فى الجيل الثالث، وبين الإصابة فى نباتات الجيل الثالث وفى متوسط نسلها فى الجيل الرابع أن معامل التوريث (فى المعنى الخاص h^2) كان ٠,٧٩، و ٠,٩٤ فى الحالتين، على التوالى، وكان مصدر المقاومة للفطر *P. infestans* فى هذه الدراسة هو السلالة PI 163245 من النوع البرى *S. pimpinellifolium*. وبناء على الاستجابة للانتخاب للمقاومة من الجيل الثانى حتى الجيل الرابع فإن معامل التوريث المتحقق realized h^2 قُدِّر بنحو ٠,٦٣ وكل ذلك يعنى إمكانية الانتخاب لصفة المقاومة فى الأجيال الإنعزالية. وقد قدر الحدُّ الأدنى لعدد الجينات المتحكمة فى صفة المقاومة بزوج واحد (Ohlson & Foolad ٢٠١٦).

وتبين أن السلالة L3708 من *S. pimpinellifolium* تحمل الجين Ph-3 المسئول عن مقاومة السلالة Pi-16 من الفطر *P. infestans*، وهى السلالة التى تتغلب على المقاومة التى يوفرها الجينين Ph، وPh-2. وتبين أن هذا الجين Ph-3 غير آليلى لأى من الجينين Ph (الذى يُحمل على الكروموسوم ٧)، و Ph-2 (الذى يُحمل على الكروموسوم ١٠) (Chunwongse وآخرون ٢٠٠٢).

يوفر الجين Ph-3 درجة عالية من المقاومة للندوة المتأخرة فى الطماطم. وقد أمكن تطوير واسمات SCAR لهذا الجين أفادت فى الانتخاب لمقاومة المرض (Park وآخرون ٢٠١٣).

إن الجين Ph-3 المتحصل عليه من *Solanum pimpinellifolium* – والذى تم نقله إلى عديد من أصناف الطماطم – يُكسب النباتات مقاومة لعدد من عزلات الفطر *P. infestans*. ولقد وجد أن هذا الجين يُحمل على الذراع الطويل من الكروموسوم ٩ فى منطقة تحمل جينات مقاومة مماثلة (R gene analogues). يُشفر هذا الجين لإنتاج بروتين يتماثل محتواه من الأحماض الأمينية بدرجة عالية مع محتوى الأحماض الأمينية للبروتين المماثل المضاد للندوة المتأخرة فى البطاطس والذى يُشفَر له فى منطقة كروموسومية بالكروموسوم التاسع كذلك (Zhang وآخرون ٢٠١٤).

كذلك تتوفر المقاومة للندوة المتأخرة فى السلالة PI 270443 من *S. pimpinellifolium*، ويتحكم فيها زوجان من الجينات. وقد قُدرت كفاءة توريث هذه الصفة فى المعنى الخاص بنحو ٨٦٪، وهى درجة عالية تجعل من الممكن الانتخاب للصفة على أساس الشكل المظهرى (Merk & Foolad ٢٠١٢). وقد أمكن باتباع طريقة الـ selective genotyping تحديد منطقتين على الكروموسومين ١، و١٠ ذواتا صلة بالمقاومة للندوة المتأخرة فى تلك السلالة (Merk وآخرون ٢٠١٢).

كما وُجد أن مقاومة السلالة PI 224710 من *S. pimpinellifolium* للفطر *P. infestans* يتحكم فيها جين واحد، وأن كفاءة توريثها فى المعنى الضيق عالية وتقدر بنحو ٠,٨٧ (Ohlson & Foolad ٢٠١٥).

وقد تمكن مربى الطماطم من إدخال جينات المقاومة للندوة المتأخرة Ph-1، و Ph-2، و Ph-3 فى عدد من أصناف الطماطم التجارية.

وبتقييم ٦٧ سلالة من *S. pimpinellifolium* لمقاومة المرض وُجدت درجة عالية من المقاومة فى ١٦ سلالة، وأظهرت ١٢ سلالة منها مقاومة مماثلة لتلك التى أظهرتها سلالة كنترول مقاومة تحمل الجينين Ph-2، و Ph-3 (Foolad وآخرون ٢٠١٤).

إن الجين Ph-3 المتحصل عليه من *S. pimpinellifolium* يمكن أن يوفر مقاومة جيدة للمرض فى الطماطم. وقد وجد أن طول البقعة المرضية يقل ونمو المسبب المرضى يضعف فى الصفنين Plum Regal (الذى يحمل الجين Ph-3) و Legend (الذى يحمل الجين Ph-2) — مقارنة بما يحدث فى الصنف القابل للإصابة Brandywine — عقب عدواهما بإحدى سلالات الفطر (وهى US-23)، ولكن ليس بسلالة أخرى (هى US-22). وبالمقارنة .. حدث انخفاض فى طول البقعة المرضية وضعف فى النمو الفطرى فى الصنف Mountain Magic (الذى يحمل الجينات Ph-2، و Ph-3) وفى ثلاثة من الأصناف المتوارثة (وهى: Wapsipincicon Peach، و Matt's Wild Cherryg، و Pruden's Purple) عقب عدواها بسلالة الفطر US-22 (Johnson وآخرون ٢٠١٤).

ووجد أن جين المقاومة للفطر *P. infestans* – مُسبب مرض الندوة المتأخرة فى الطماطم، والمتحصل عليه *S. pimpinellifolium* – يقع على الكروموسوم ٩، ويُكسب النباتات مقاومة عريضة broad spectrum للفطر. وقد أمكن تحديد موقع هذا الجين على مسافة ٠,٥ سنتى مورجان بين الواسمتين Indel-3، وP55، وذلك فى دراسة أجريت على الجيل الثانى لتلقيح بين السلالة CLN2037B من *S. lycopersicum* التى تحتوى على الجين Ph-3 والسلالة LA 4084 من *S. lycopersicum* (Zhang وآخرون ٢٠١٣).

وعمومًا.. فإنه فى الأنواع البرية القريبة من الطماطم مقاومة نوعية وأخرى كمية للفطر *P. infestans* مسبب مرض الندوة المتأخرة، علمًا بأن المقاومة النوعية تُكسر بسهولة بظهور سلالات جديدة من الفطر. وقد وُجد أن السلالة LA 1777 تحمل مستوى جيدًا من المقاومة للفطر، وتبين وجود خمس QTLs ترتبط بتلك المقاومة، منها واحدة فقط جديدة، والأربع الأخرى كان قد سبق التعرف عليها فى السلالة LA 2099 من نفس النوع البرى (Li وآخرون ٢٠١١).

ولقد أمكن التعرف على عدد قليل من الجينات الرئيسية لمقاومة الندوة المتأخرة (مثلاً: Ph-1، و Ph-2، و Ph-3)، بالإضافة إلى عديد من مواقع الـ QTLs غير المعنية بسلالات خاصة من الفطر. ويُعد Ph-3 جينًا قويًا للمقاومة، وقد تم نقله لعديد من سلالات طماطم الاستهلاك الطازج والتصنيع. هذا.. إلاّ أن سلالات جديدة من الفطر – تم عزلها – أمكنها كسر مقاومة الجين Ph-3. وأمكن مؤخرًا التعرف على جين جديد (وهو Ph-5) يُكسب النباتات مقاومة لعديد من عزلات الفطر، بما فى ذلك تلك التى تكسر مقاومة الجينات السابقة. وأمكن تطوير سلالات تربية تحمل الجين Ph-5 منفردًا، وكذلك مع كل من Ph-2، وPh-3 (Foolad وآخرون ٢٠٠٨).

وقد أمكن التعرف على QTL – هى T1556 – تقع على الكروموسوم ٦ وترتبط بنحو ٢٥٪ من تباين الشكل المظهرى فى المقاومة للندوة المتأخرة التى تتوفر فى *S. pennellii*، وذلك فى تلقيحات نوعية مع الطماطم (Smart وآخرون ٢٠٠٧).

ولقد دُرست مقاومة ٣٩ صنفًا وسلالة من الطماطم للسلالة US-23 من الفطر *P. infestans* تحت ظروف الحقل. تضمنت المجموعة المقيمة سلالات وأصناف تحمل أى من الجينات: Ph-1، أو Ph-2، أو Ph-3، أو Ph-2 + Ph-3، وعدد من الأصناف المتوارثة heirloom التى يعتقد مقاومتها، وأصناف أخرى لا يُعرف إن كانت مقاومة من عدمه.

وقد كانت النتائج كما يلى:

١– أظهرت جميع الأصناف التى تحمل الجينين Ph-2 + Ph-3 (وعددها ستة)، وكذلك الصنف NC25P الأصيل فى الجين Ph-3 – ولا يحمل غيره – مستوى عاليًا من المقاومة.

٢– كان الهجين Plum Regal الخليط فى الجين Ph-3 متوسط المقاومة.

٣– أظهر الصنف الوحيد الذى يحمل الجين Ph-2 منفردًا – وهو Legend – مستوى متوسطًا من المقاومة.

٤– أظهرت ثلاثة من الأصناف المتوارثة – هى: Matt's Wild Cherry، و Lemon Drop، و Mr. Stripey مستوى عال من المقاومة مماثلاً لتلك التى تتحقق بالجينين Ph-2 و Ph-3 معًا (وإن لم يعرف ما تحمله تلك الأصناف من جينات المقاومة).

٥– لم يُظهر الصنف New Yorker – الذى يحمل الجين Ph-1 فقط – أى مقاومة.

٦- كانت شدة المرض أقل معنويًا فى الأصناف غير المحدودة النمو عما فى الأصناف المحدودة فى تجربتين من بين ثلاث تجارب أُجريت.

وعمومًا.. فإن الأصناف التى تحمل الجينين Ph-2 و Ph-3 – معًا – وتلك التى تحمل الجين Ph-3 بصورة أصيلة تقاوم المرض بصورة جيدة، وتلك التى تحمل الجين Ph-2 فقط، أو Ph-3 بحالة خليطة تقاوم المرض بصورة أفضل من تلك التى لا تحمل أى جينات للمقاومة، ولكنها تتطلب الرش بالمبيدات الفطرية (Hansen وآخرون ٢٠١٤).

طرق التقييم لمقاومة المرض

يراعى عند إجراء اختبارات المقاومة للندوة المتأخرة أنها – أى المقاومة – تزداد مع تقدم النباتات فى العمر، وأن الأصناف القابلة للإصابة تكون فى أقل درجات قابليتها للإصابة فى المراحل المتوسطة من نموها، ثم تزداد قابليتها للإصابة مع تقدمها فى العمر (Bowley وآخرون ١٩٧٥).

تتنوع الطرق المتبعة فى اختبارات المقاومة. وعلى سبيل المثال.. تتبع فى فرنسا (فى الـ INRA) الطريق التالية: ينمى الفطر فى أطباق بترى على حرارة ١٨ °م، ويحضَّر من مزارع الفطر معلق لجراثيم الفطر الكونيدية لا يحتوى على أية جراثيم سابحة Zoospores. يستخدم المعلق فى عدوى النباتات بعد شتلها بنحو ٤٥ يومًا. تغطى النباتات بعد العدوى بشريحة بلاستيكية لمدة أربعة أيام، يُحتفظ خلالها بإضاءة منخفضة ورطوبة عالية. يرفع الغطاء البلاستيكى بعد ذلك؛ حيث تظهر أعراض الإصابة فى غضون ثلاثة أيام أخرى.

هذا.. وتتوافق نتائج التقييم لمقاومة الفطر *P. infestans* – مسبب مرض الندوة المتأخرة – بين طريقتى التقييم الحقلى والتقييم فى البيوت المحمية.

وقد تبين عندما قيمت ٢٧ سلالة وصنفًا — من نوعين من الطماطم — تختلف فى مستوى مقاومتها وقابليتها للإصابة بالفطر — بطريقة الوريقات المفصولة.. تبين وجود ارتباطات موجبة وجوهرية جدًّا بين نتائج هذا الاختبار ونتائج اختبارات التقييم الحقلى (ر = ٠,٨٢)، والتقييم فى البيوت المحمية (ر = ٠,٨٤)، كما كانت نتائج التقييم ذاته على درجة عالية من التجانس (Foolad وآخرون ٢٠١٥).

طبيعة المقاومة

ترجع المقاومة البسيطة (أو الرأسية) إلى تكوين النباتات — فى موضع الإصابة — بقع صغيرة متحللة بطريقة فرط الحساسية hypersensitivity، يترتب على تكوينها إعاقة نمو الفطر؛ فيتوقف تقدم الإصابة عند حدود تلك البقع، التى تكون صغيرة المساحة جدًّا. وقد وجد أن هذه البقع تحتوى على مركبات فينولية سامة للفطر المسبب للمرض ولفطريات أخرى؛ مما يوحى بأن تلك المركبات هى فيتوألاكسينات يكونها النبات المقاوم بعد مهاجمة الفطر لخلاياه. كما وجد أن أنسجة النباتات المقاومة يتكون فيها — بعد الإصابة مباشرة — مركب مثبط لإنزيم البروتينيز proteinase؛ مما يدل على أن المقاومة تتكون بفعل تثبيط النبات للـ proteolytic enzymes التى يكونها الفطر.

أما المقاومة الكمية (أو الأفقية).. فإنها تؤدى إلى إبطاء دورة حياة الفطر على النبات بإبطائها لسرعة الإصابة وتقدمها، وسرعة نمو الفطر وتجرثمه، وخفضها لكثافة النمو الفطرى، وأعداد الجراثيم التى يكونها. ومحصلة كل ذلك هى إبطاء تقدم المرض فى الحقل خلال موسم الزراعة؛ فلا تصل الإصابة إلى ذروة الحالة الوبائية قبل الحصاد (عن Gallegy ١٩٦٠).

التربية للمقاومة

على الرغم من أن معظم أصناف الطماطم التجارية قابلة للإصابة بالندوة المتأخرة، فإنه يعرف عدد قليل من جينات المقاومة الرئيسية وعدد من الـ QTLs للمقاومة

للمرض، وتُجرى عدة برامج للتربية فى أنحاء متفرقة من العالم لأجل إنتاج سلالات تربية وأصناف تجارية مقاومة للمرض (Nowicki وآخرون ٢٠١٢).

ولقد أمكن إنتاج سلالتين من طماطم التصنيع مقاومتين للندوة المتأخرة، أُعطيتا الإسمين CULBPT-A46، و CULBPT-A48 (Kim & Mutschler ٢٠٠٦).

وأدى التحويل الوراثى للطماطم بجينى stilbene من العنب إلى تراكم الرنا الرسول لـ stilbene synthase فيها بعد عدواها بالفطر *P. infestans* بنحو ٣٠ دقيقة – وهو فيتو ألاكسين – وجعلها مقاومة للفطر (Thomzik وآخرون ١٩٩٧).

كما أدى تحويل الطماطم وراثيًّا بجين الفلفل CaMsrB2 – الخاص بتمثيل الإنزيم methionine sulfoxide reductase B2 – إلى جعلها أكثر مقاومة لكل من الفطرين *Phytophthora capsici*، و *Phytophthora infestans*. وقد انخفض فى تلك النباتات إنتاج فوق أكسيد الأيدروجين. وأدى تثبيط فعل الجين CaMsrB2 إلى زيادة إنتاج العناصر المحبة للأكسدة reactive oxygen species؛ بما يعنى أن له وظائف – لم تعرف من قبل – فى الدفاع النشط ضد المسببات المرضية من خلال تنظيم حالة الأكسدة والاختزال فى الخلية (Oh وآخرون ٢٠١٠).

البياض الدقيقى

يختلف الفطر *Oidium lycopersici* (وهو الذى يطلق عليه أحيانًا اسم *O. lycopersicum*) – مسبب مرض البياض الدقيقى powdery mildew – عن *Leveillula taurica* الذى ينمو داخل الأوراق ويظهر على سطحها السفلى، ويختلف كذلك عن كل من *Erysiphe cichoracearum*، و *E. polyphaga*، و *E. polygonia*، وجميعها من مسببات مرض البياض الدقيقى فى الطماطم. كذلك يُعد الفطر *Oidium neolycopersici* من مسببات البياض الدقيقى فى الطماطم. هذا.. علمًا بأنه يُعرف حوالى ٧٠٠ نوع فطرى تسبب البياض الدقيقى فى حوالى ١٠ آلاف نوع نباتى.