الفصل الأول

المقاومة المحدثة في النبات

Inducing Resistance

أولاً: تحصين النبات

من عهد الخرافات إلى وقت المقاومة الجهازية المكتسبة

Plant Immunisation from myth to SAR

مقدمة :

ظهرت فكرة في السنوات الأخيرة من القرن التاسع عشر ، تقول : إن النبات عنده القدرة ، في أن يتكشف لديه شكل من أشكال المناعة المكتسبة للإصابة ، بعد أن يكون قد تعرض للإصابة بكائن ممرض سابق أو لمواد أنتيجينيه Antigenic مأخوذة من كائن ممرض . ظهرت هذه الفكرة منذ اكتشاف جهاز المناعة في الحيوان . اتجهت معظم الأبحاث إلى إثبات وجود أجسام مضادة مترسبة في تجارب التخثر ، وأثبتت بشكل غير حاسم ، بسبب ما يتوفر في عصارة النبات من بروتينات Cross-reaction مثل Lectins والذى يعطى تفاعل ارتباط غير متخصص . مع ذلك حصل على علامات تدل على أن عملية التحصين Vaccination ، ممكن أن تؤدى إلى تغييرات فى استجابة الأنسجة للإصابة الميكروبية اللاحقة . ظهرت محاولات لإثبات أن هذه الظاهرة تكون بسبب إنتاج أجسام مضادة متخصصة مشابهة لتلك الموجودة فى الحيوانات ، إلا أن هذه المحاولة حكم عليها بالفشل .

من إحدى النتائج التي حصل عليها من الدراسات المبكرة على المناعة في النبات ، هي أن زيادة المقاومة للكائن الممرض ، تكون عادة محدودة في الأماكن الأولية للحقن ، وتكون عادة موضعية أكثر منها جهازية بعكس ما هو حادث في الحيوان . الأساس الميكانيكي لهذه الملاحظة ، قد تم توضيحه بواسطة الاكتشاف الذي أدى إلى القول بأن أنسجة النبات المعرضة لظروف قاسية (غير طبيعية) أو لمهاجمة كائن ممرض ، يتجمع فيها مركبات ذات وزن جزيئي منخفض ومضادة للميكروبات تسمى فايتوالكسن phytoalexins ، ثم بعد ذلك

درست هذه الظاهرة بتوسع من حيث التخليق والبناء الحيوي ، مع أنه الآن يبدو واضحاً أن الفايتوالكسن ، هي واحدة فقط من مكونات معقدة لمنظومة الاستجابات الدفاعية المسئولة عند حدوث الإصابة الموضعية .

تجارب إثبات وجود المقاومة الجهازية المكتسبة :

كان أول دليل مقنع يثبت بأن النباتات يمكن أن يتكشف فيها مقاومة جهازية للكائنات الممرضة ، قد تم الحصول عليه من التجارب التي أجريت على نبات الدخان . إن الكائن الممرض المسبب مرض البياض الزغبى فى الدخان *Peronospora tabacina* ، عادة ما يهاجم الأوراق مسبباً ما يسمى بمرض العفن الأزرق . تبين أن حقن أنسجة الساق بالفطر المذكور يحدث مقاومة ضد ظهور المرض في الأوراق الواقعة فوق منطقة الحقن . يبدو أن تكشف مناطق متحللة موضعية نتيجة لنمو الكائن الممرض في الأنسجة الخارجية للساق ، يكون مهماً في الحث على المقاومة ، لأن الحقن بالكائن الممرض المقتول بالحرارة أو بالتفريغ الصوتي يكون غير فعال . تظهر الوقاية وتتكشف بعد فترة ثلاثة أسابيع من الحقن وتكون عالية بشكل فعال بحيث تخفض الإصابة بنسبة أكبر من ٩٠٪ مقارنة مع نباتات الكنترول غير المعاملة . ولقد تبين أن مثل هذا الحقن يمكن أن يقاوم المرض تحت ظروف الحقل ، مقارنة مع المعاملة بأفضل المبيدات الفطرية المتوفرة مثل الـ Metalaxyl . في هذا النظام مـن المقاومة ، فإن الوقاية من المرض تدوم طويلاً ، أقلها لنهاية موسم النمو فى النبات . إن الزيادة الحاصلة فى المقاومة ، على أية حال لا تنتقل خلال البذور .

هذه الزيادة فى المقاومة تسمى المقاومة الجهازية المكتسبة Systemic Acquired Resistance ويشار إليها (SAR) . لغاية سنة ١٩٩٩ لم يحدث لها كلونة cloned في مزارع تكاثر أنسجة الدخان . لقد ذكر Lucas *et al* سنة ١٩٨٥ ، أن النباتات التى حصل عليها من إعادة تكاثر أجزاء من قمم الفروع أو الأوراق من النباتات التى حصل فيها SAR كانت قابلة للإصابة بالمرض كما في حالة الكنترول . فى حين أن Tuzun & Kuc سنة ١٩٨٧ ، ذكرا بأن هناك نسبة معنوية من المقاومة الجهازية المكتسبة تظهر في الأجيال الناشئة عن طريق التكاثر بالأنسجة . إن هذا الاختلاف في النتيجتين يعود لاختلاف طرق الدراسة التي اتبعها كل منهما .

ذكر Ross سنة ١٩٦١ أن حقن ورقة واحدة من نبات الدخان المزروع المحتوي بقعه

موضعية مقاومة للفيرس TMV ، بنفس الفيرس ، يزيد المقاومة في الأوراق الأخرى لنفس النبات ولنفس الفيرس . لقد ظهرت هذه الاستجابة على شكل خفض في عدد وحجم البقع الموضعية . لقد بينت الأبحاث الأخيرة ، أن اللقاح الحاث لا يزيد المقاومة للفيرس TMV فقط ، لكن أيضاً للكائنات الممرضة الفطرية والبكتيرية غير ذات القرابة . فمثلاً إن نتائج أبحاث McIntyre سنة ١٩٨١ ذكرت بأن حقن نبات الدخان ذو الحساسية الفائقة (الكاشف) لإظهار البقع الموضعية بالفيرس TMV ، يحدث مقاومة لنوعين من الفطريات البيضية هما *Phytophthora parasitica* والفطر *Peronospora tabacina* وللبكتيريا *Pseudomonas tabaci* ، بالإضافة لنفس الفيرس TMV . كما وأن تكاثر حشرة المن *Myzus persicae* قد إنخفض أيضاً على النباتات المحقونة بالفيرس TMV. هذا أهم دليل واقعي يبين الاختلافات بين SAR فى النبات والمناعة فى الحيوان ، هذا يعنى أن هناك نقصاً في الاستجابة المتخصصة في النبات .

لقد تبين في أبحاث كثيرة متتابعة أن المقاومة الجهازية المكتسبة يمكن أيضاً أن تحدث في الفاصوليا والخيار ، حيث أنه في الخيار فإن النطاق الحيوي للوقاية التى منحت بواسطة SAR تشمل الكائنات الممرضة ، مثل فطريات البياض الدقيقي والبياض الزغبي وفطريات الذبول الوعائي وانثراكنوز المجموع الخضري وبكتيريا تبقع الأوراق والذبول ، فيرس نكروزز الدخان TNV وفيرس موزايك الخيار CMV .

هناك عدة صفات للمقاومة الجهازية المكتسبة ، ذكرها العلماء في أوائل السبعينيات منها:

١ – تحدث هذه المقاومة تحت تأثير بعض العوامل أو الكائنات الممرضة المسببة نكروزز ، مثل أعراض البقع الموضعية .

٢ – يحدث فترة حضانة لعدة أيام بين عملية الحث والظهور الكامل للمقاومة .

٣ – تمنح الوقاية للأنسجة التي لم تتعرض للحقن بالحاث .

٤ – يظهر التفاعل على شكل خفضاً في عدد البقع ، حجم ، إنتاج الجراثيم وتكاثر الكائن الممرض .

٥ – تدوم الوقاية لمدة طويلة غالباً لعدة أسابيع وأحياناً شهور .

٦ – الوقاية ليست متخصصة ، هذا يعني أنها فعالة ضد كائنات ممرضة غير ذات قرابة للعامل الحاث .

٧ – تنتقل إشارات المقاومة SAR وتكون قابلة للانتقال بواسطة التطعيم .

٨ – لا تنتقل الوقاية إلى البذور ولم يتحدد بعد ، الانتقال إلى الأنسجة الخضرية الداخلة فى التكاثر .

لغاية سنة ١٩٩٧ تبين أن SAR تظهر فى ٢٠ نبات على الأقل تتبع ستة عائلات نباتية مختلفة . بعض أنواع هذه المقاومة الجهازية قد ذكرت أيضاً مع الحلَم والحشرات .

مختصر لميكانيكية SAR

يمكن وضع تمثيل مبسط لظاهرة SAR ، بحيث ، يمكن تخيل أن المعاملة بالحاث الأولي يولد إشارات في الأنسجة المعرضة والتي بعد ذلك تنتقل إلى الأجزاء البعيدة من النبات ، حيث تكون الخلايا قد أعدت إلى حد ما ، للمقاومة عند الحقن بالكائن المتحدي الثاني . يمكن القول بأن النقاط المهمة في تفسير ميكانيكية SAR كانت :

١ – إن القول بأن المقاومة الجهازية تحدث في نبات الـ *Arabidopsis* تهيء الفرصة إلى القول بأن الجزيئات الوراثية والهندسة الوراثية المستقبلية سوف تؤدي إلى تفسير كامل لميكانيكية SAR .

٢ – إن استعمال النباتات المحولة وراثياً يؤدي إلى القول بأن Salicylate hydroxylase هو المفتاح الأساسي لدور حمض السلسليك في دفاع النبات . إن تكشف المقاومة الوراثية هو الآن معروفاً ، بأن يكون مترافقاً مع التوضيحات المتناسقة لمجموعة من الجينات تنسخ بروتينات متعلقة بالدفاع ، وهذه تعمل كجزيئات نافعة تكون علامة على الاستجابة . وعلى أية حال ، لا يزال هناك فرضيات معقدة متعلقة بالعلاقة بين SAR وموت خلية النبات أثناء إحداث الاستجابة ، الدور الحيوي للجزيئات الإشارية Signal molecules ، عدا عن حمض السلسليك ، مثل Systemin ، Ethylene ، Jasmonates ، ولماذا بعض الكائنات الممرضة تبدو غير متأثرة بـ SAR . كل هذه الأمور سنوضحها في هذا الكتاب إن شاء الله . يبين جدول رقم ١ بعض تطور الأبحاث في SAR .

جدول رقم ١ : تسلسل اكتشاف وأبحاث SAR

السنة	الاكتشـــاف
١٩٣٣	دراسة حول إمكانية وجود مناعة جهازية في النبات .
١٩٥٩	ملاحظات حقلية على وجود بعض أنواع المقاومة المكتسبة في الدخان .
١٩٦٠	ملاحظة المقاومة الجهازية المكتسبة في الدخان ضد مرض العفن الأزرق .
١٩٦١	ملاحظة المقاومة الجهازية المكتسبة في الدخان لفيرس موزايك الدخان .
١٩٧٥	ملاحظة المقاومة الجهازية المكتسبة في العائلة القرعية لبعض الأمراض الفيروسية .
١٩٨٢	ملاحظة المقاومة الجهازية المكتسبة في الشعير ضد بعض الأمراض الفطرية .
١٩٨٩	اكتشاف المقاومة الجهازية ضد بعض الحشرات .
١٩٩٢	اكتشاف المقاومة الجهازية في نبات *Arabidopsis* .
١٩٩٤	اكتشاف الدور الرئيسى والمركزى لحمض السلسليك في المقاومة الجهازية المكتسبة .
١٩٩٥	اكتشاف أول حاث يستعمل تجارياً للحصول على المقاومة الجهازية المكتسبة .
١٩٩٦	اكتشاف أن المقاومة الجهازية المستحثة تحدث بدون الحث على تكوين بروتينات متعلقة بالمرضية .
١٩٩٧	أثبت Press *et al* دور الكائنات PGPR فى إحداث مقاومة جهازية مستحثة .
١٩٩٨	إدخال بعض المستخلصات النباتية كمواد حاثة على المقاومة الجهازية المكتسبة .
١٩٩٩	أثبت العالم Chen أن دور حمض السلسليك يكون فقط فى المقاومة الجهازية المكتسبة وليس المستحثة .
٢٠٠٠	أثبت كل من Dong و Beer أن الرايبوفلافين يشجع تكوين ممر إشاري جديد إلى المقاومة الجهازية المكتسبة .
٢٠٠١	—

الاستغلال العملي للمقاومة الجهازية المكتسبة

استمرت الصناعات الزراعية الكيماوية ، لمدة طويلة مهتمة في اكتشاف مركبات ، يمكن أن تعمل بشكل غير مباشر ضد الكائنات الممرضة ، من خلال طرق دفاعية داخلية في النبات . لقد وجد فعلاً أن بعض المركبات ، والتي وضعت في البداية كمبيدات فطرية ، تعرف الآن بأنها تقوي الاستجابات الدفاعية في النبات ، أكثر من كونها ذات تأثير مباشر على الكائن الممرض . مثال ذلك مادة Probenazole .

إن توضيح الجزيئات والصفات البيوكيميائية لـ SAR قد أعطت الفرصة لزيادة الأبحاث الهادفة لاكتشاف الحاثات الدفاعية في النبات . هناك مركبات كيماوية مصنعة مثل مادة Benzothiadiazoles كمجموعة كيماوية والتي تشجع SAR، من أهم مشتقات هذه الكيماويات مادة CGA 245704 Bion وهي تستعمل الآن على نطاق تجاري في إحداث SAR .

عند دراسة فعل حاثات الدفاع النباتية ، اقترح بأنها سوف تكون ذات قيمة حيوية عالية في المقاومة المتكاملة لأمراض النبات ، خاصة عندما تكون مسببات هذه الأمراض مقاومة للمبيدات الفطرية التقليدية . بسبب أن هذه المركبات تؤثر أو تعمل على ممر الدفاع الداخلي في النبات ، فإنها تكون ذات مدى واسع في مقاومة المرض والتي يمكن أن تكون قوية . هناك عدة أسئلة تحتاج إلى إجابة وهي ، كيفية استعمالها ، الوقت الملائم لاستعمالها وطريقة إضافتها على المحاصيل المختلفة ، توافقها مع أنواع مبيدات الآفات الأخرى ، ومدى تداخلها مع العمليات الفسيولوجية في النبات . هذه الكيماويات تتحدد عن طريق تعريفها وعن طريق تغير استجابة الجين في النبات والميتابولزم مع التأثيرات الممكنة على نمو المحصول وتكشفه . يبدو أيضاً أنها ذات صفات مختلفة غير واضحة في فعالية الحاثات الدفاعية الكيماوية على الأنواع المختلفة من المحاصيل سواء أكانت مثل هذه الاختلافات راجعة إلى التنوع في امتصاص أو إلى الاستجابة بين الأنواع أو تعكس الاختلافات الحقيقية في حث وتنظيم ممرات الدفاع في النبات . جميع هذه الاحتمالات لغاية سنة ١٩٩٩ غير واضحة التفسير . نحتاج إلى أبحاث إضافية أخرى لكي نحدد الشكل الذي يجب أن تضاف به هذه الكيماويات على الأنواع المختلفة من المحاصيل . مثلا أجريت تجارب معملية لدراسة إمكانية استعمال هذه الكيماويات على شكل معاملة بذور لوقاية البادرات من الإصابة بالأمراض ، أعطت نتائج جيدة ولكنها تحتاج إلى دراسة أكثر لاستعمالها تجارياً .

الاتجاه الآخر في كفاءة الاستغلال العملي لـ SAR ، يكون عن طريق معالجة (التلاعب) في الاستجابة في المحاصيل المحولة وراثياً . تكون بروتينات الدفاع المستقلة المستحثة خلال عملية SAR ، مثل بعض البروتينات التي تسمى PR proteins ، تكون أساساً واضحاً في النباتات المحولة وراثياً مع بعض التحسينات في المقاومة للإصابة الفطرية . يجب أن يكون هناك اهتمام أكثر في إحداث تغير في الحث أو تنظيم ممر الـ SAR ، وبالتالي تكون أنسجة النبات جاهزة مسبقاً ضد المهاجمة . هناك عديد من الطفرات والتي بشكل أساسي توضح SAR ، قد عرفت وحددت في نبات *Arabidopsis* ، مبينة أن هذا الـ Phenotype يمكن أن يحدث طبيعياً ، ولكن الشيء غير المعروف هو التأثير الأساسي لعملية SAR في أنواع المحاصيل في الحقل .

ثانياً : الدراسات الحديثة على المقاومة الجهازية المكتسبة

مقدمة :

عقد المؤتمر الأول العالمي للمقاومة المحدثة في النبات في أواخر سنة ٢٠٠٠ ، نشر ملخص عن هذا المؤتمر في مارس سنة ٢٠٠١ . لم أجد أفضل من أن أضع ملخص ما قيل في هذا المؤتمر كمقدمة عن المقاومة المحدثة في النبات في كتابي هذا .

كما هو معروف فإن المقاومة المحدثة في النبات ، نوعين ، النوع الأول هو المقاومة الجهازية المكتسبة Systemic Acquired Resistance ويرمز إليها (SAR) ، والنوع الثاني هو المقاومة الجهازية المستحثة Induced Systemic Resistance ويرمز إليها (ISR) . في هذا المؤتمر الذي حضره حوالي ١٥٠ مشارك ، إتفقوا على أن هذين الاصطلاحين يجب أن ينظر إليها كمدلولين مختلفين ، هناك بعض الباحثين لم يوافق على ذلك واعتبر أن هذين الاصطلاحين مترادفين . بغض النظر عن هذا الاختلاف في الرأي ، فإن الأبحاث العديدة المنشورة في كثير من المجلات العلمية لغاية الآن مستمرة في التفريق بين هاتين المقاومتين .

مع أن اصطلاح المناعة أو إحداث المناعة Immunization ، قد استعمل ليدل على المناعة التي تؤدي إلى زيادة الكفاءة الدفاعية في الحيوان ، والاتفاق على أن عملية التحصين Vaccination في الفقاريات بعيدة الاحتمال عن هذين النوعين من المقاومة ، وبالتالي فإن حالة المقاومة المحدثة في النبات ليس لها مشابه في الحيوان أو ليس لها معنى متخصص في الحيوان، إلا أنها تعطي مدلولاً على زيادة عامة في مقاومة النبات للأنواع المختلفة من الكائنات الممرضة . زيادة على ذلك فإنها نادراً ما تمنع حدوث المرض ، ولكنها بشكل عام تخفض إنتشاره وشدته على النبات . هذه الصفات تجعل المقاومة المحدثة في النبات ذات ميكانزم قوي يستغل لزيادة المقاومة العامة في المحاصيل النباتية . لقد وجد فعلاً أن أول مادة كيماوية تجارية تحدث أو تنبه المقاومة المحدثة في النبات هي مادة Acibenzolar - S - methyl ، ويرمز لها (BTH) . ولقد أدخلت حديثاً في الأسواق بواسطة Novartis تحت اسم تجاري Actigard وهي تستعمل في الولايات المتحدة وتباع في أوروبا تحت اسم BION .

إن ظاهرة المقاومة المحدثة في النبات قد وضعت تحت اسمين ، المقاومة الجهازية المكتسبة ، كما ذكر سابقاً ويرمز لها SAR ، والمقاومة الجهازية المستحثة ويرمز لها ISR . إن كـلا الاسمين يؤكد كلمة جهازية Systemic ، هـذا يدل على التأكيد على نقطة معينة ، وهي أن المقاومة التي تحدث في النبات ليست محددة في أجزاء النبات التي عوملت (بالحاثات) ولكنها تمتد إلى الأجزاء الأخرى غير المعاملة ، وغالباً إلى النموات المتكشفة الحديثة من أجزاء النبات . وعلى أية حال ، فإن هناك عوامل معينة تمنح الوقاية الموضعية فقط . هذا الشرح آثار سؤالاً مفاده ، هل هذه المقاومة الموضعية المستحثة تكون مشابهة لكل من SAR / ISR ؟؟ . باستثناء افتقارها إلى إنتاج إشارات منطلقة أو فيما إذا كانت تعكس ميكانزم معين فإن المقاومة الموضعية تختلف عن كلتا المقاومتين .

إن كلا من SAR / ISR جزء من الاستجابات الدفاعية المستحثة والتي يحدث لها إثارة بواسطة كائنات ممرضة ضعيفة المرضية ، وبالتالي فـإن بعض الباحثين قد أكد في أبحاثه، أن هـذا النوع مـن المقاومة حتى يحدث يحتاج إلى شيء يستحثه ، وبالتالي يمكن أن تسمى مقاومـة جهازية مستحثة . بعض الباحثين مقتنع بأن تلك المقاومة المستحثة ، تعكس حالة فسيولوجية مخلقة ، هذا يعني أنها مخلقة من قبل النبات كنتيجة لتحريض مسبق ، وبالتالـي تكون مقاومة جهازية مكتسبة ، هذا هو التفسير الذي قدم لإظهار الاختلاف في التسمية .

في جلسة المناقشة في المؤتمر الدولي الأول ، قد تم الاتفاق على أن المقاومة المستحثة Induced Resistance ، هو اصطلاح عام ، والذي بواسطته فإن جميع أنواع الاستجابات المثارة ، التي تؤدي إلى زيادة الوقاية ضد أمراض النبات ، شاملاً كلاً من المقاومة المستحثة الجهازية والموضعية – يمكن أن تسمى بذلك – هذا الاصطلاح هو نفسه مثل الاصطلاح الذي استعمل بواسطة علماء البيئة ليدل على خفض أضرار النبات بواسطة الحشرات الماضغة بعد المهاجمة الأولى من قبل الحشرة . لكي نشير إلى المقاومة الجهازية الناتجة من ، مثلاً ، الإصابة بكائن ممرض ضعيف المرضية ، فإن الاصطلاحين ISR و SAR يمكن استعمالهما مترادفين ، هذه التسوية (حل وسط) يمكن أن تكون عادلة لكلا الاصطلاحين بالإضافة إلى استعمالهما الحالي في المراجع الموجودة الآن .

هناك دراسة قليلة لظاهرة المقاومة المستحثة الخاصة بظاهرة المقاومة المكتسبة الموضعية Localized Acquired Resistance (LAR) ، هذه قد وصفت بالتفصيل للكائنات الممرضة البكتيرية وفيرس موزايك الدخان . إن العلاقة بين LAR كجزء من مقاومة المرض الموضعية استجابة لـ TWV في الدخان ، مثل تفاعل فرط الحساسية (HR) Hypersensitive Reaction وكيف أن LAR تختلف عن استجابات المقاومة الجهازية المستحثة على مستويات جزيئية ووظيفية قد درست . تظهر في الدخان LAR في حلقة من الخلايا محيطة بمنطقة فرط الحساسية . لقد تبين أن حمض السلسليك (SA) عامل هام في تأسيس LAR و SAR ، ولكن نوع الأكسجين النشيط من المحتمل أن لا يلعب دوراً معنوياً في الـ LAR . كذلك فإن المقاومة المستحثة الموضعية يمكن أيضاً تنشيطها بواسطة بكتيريا حية وميتة ، بالإضافة إلى السكريات العديدة الدهنية البكتيرية Lipopoly saccharide (LPS) . تحدث المقاومة الموضعية المستحثة البكتيرية في طورين زمنيين متميزين : الطور الأول المقاومة المستحثة المبكرة وهذا يحتاج إلى (٦ - ٢٠) ساعة والذي يمكن أن يثبط بمثبطات بناء البروتين . الطور الثاني هو طور المقاومة المستحثة المتأخر، وهذا يحتاج إضاءة وحوالي ٢٤ ساعة ليتكشف . ماذا يحدث للنبات عند ظهور المقاومة المستحثة ؟؟ . في نباتات القمح التي استحثت بواسطة المادة التجارية BION أظهرت كمية قليلة من الفروع الجانبية (الاشطاءات) ، وكان إنتاج الحبوب أقل نسبياً . هذه الاستجابة السلبية كانت متعلقة بأطوار التكشف النباتي عند المعاملة ، بالإضافة إلى كمية النيتروجين المتوفرة للنبات . أما نباتات الفول بعد معاملتها بمادة BION كانت ذات حجوم أصغر نسبياً بالمقارنة مع الكنترول ، مع كمية قليلة من العقد الجذرية أيضاً .

الحث على المقاومة باستعمال عوامل حيوية وغير حيوية :

ذكرت المقاومة المكتسبة في كثير من الأنواع النباتية ، هذه المقاومة تستحث بالفطريات، البكتيريا ، المثيرات الميكروبية والكيماويات . بالإضافة إلى معاناة النبات من ظروف حيوية ، فإن البيئة أيضاً يمكن أن تغير استجابة العائل للإصابات . إن معاملة نبات القمح الشتوي بالبرد الشديد ، يؤدي إلى حالة من التقسية الشتوية ، تحث على المقاومة لأعفان الثلج *Microdochium nivale* . كذلك فإن النباتات المقساة بالبرد تظهر مستويات عالية من نسخ الـ Chitinase والـ Peroxidase . إن حقن مثل هذه النباتات المقساة بالبرد يؤدي

إلى زيـادة فـي إظهار PR - 1a (إحدى البروتينات المتعلقة بالمرضـية) ، وعديد مـن الأنزيمات الدفاعية المرافقة ، عند مقارنتها مع النباتات غير المقسـاة . كذلك وجد أن معاملة كل من القمح والشعير بالحمض غير الأميني β - aminobutyric acid (BABA) تحث المقاومة لنوعين من النيماتودا الحويصلية *Heterodera* عندما قدرت قيمتها عن طريق الخفض في تكوين الحويصلات ، كذلك فإن المعاملة بمادة BABA تخفض الإنتاج الكبير للبيض مـن قبل الأنواع المتخصصة من أنواع نيماتودا النجيليات *Meloidogyne* . أما التأثيرات علـى تكشف الأجيال الشبابيه للنيماتودا *Heterodera* إلى ديدان يافعة فلها أبحاث أخرى .

إن اكتشاف مادة الـ BION كمادة حاثة للمقاومة ، أدت إلى الحصول على معلومات وافرة على فعاليتها تحت الظروف الحقلية . إن هذه المادة تشجع مقاومة المرض في كثير من المحاصيل لمجال واسع من الكائنات الممرضة النباتية ، ولها تأثير مستمر يكون أكثر وضوحاً في نباتات إحادية الفلقة منه في ثنائية الفلقة . كذلك وجد أن هذه المادة لوحدها أو متحدة مع المبيدات الحشرية ، لها تأثير فعال في تنشيط المقاومة ضد الأمراض . استعملت هذه المادة بنجاح على محصول الطماطم ضد الفطر *Bemisa tabaci* ، فيرس تجعد أوراق الطماطم ، مؤدية إلى معدل إنتاج أفضل وإنخفـاض في حـدوث المرض . وبالتالي فإن مادة BION تدخـل في كثير من برامج وقاية النباتات ، وأظهـرت فوائد إضافيـة كثيرة للمزارعـين . أما نبات الـ *Arabidopsis* شـديد الإظهـار لتأثير الجـين NIMI ، يبدي حسـاسية فائقـة لمادة الـ BION ،وتستحث المقاومة بكمية أقل بمقدار عشرة أضعاف عنه في الخطوط غير المحولة وراثياً . هذا يؤدي إلى القول بأن مادة BION تتدخل مباشرة أو بشكل غير مباشر مع NIMI فى تنشيط SAR .

أما مادة Oxycom TM ، وهي عبارة عن مادة مركبة من اتحاد مادتين لهما دور في توليد الأكسـجين وهي مادة تجارية حاثة على المقاومة . أجريت تجارب على نبات الفاصوليا وجد أن Oxycom TM مبيد فطري هامشي ويحث الجينات المتعلقة بدفاع النبات على حل شيفرة البروتينات الداخلة في ميتابولزم الفينولات وتقسية جدار خلية النبات . نفس نظام الحث الجيني هذا لوحظ بعد الحث بواسطة حمض السلسليك أو الماء الأكسجيني .

أمـا مادة DF - 391 فهـي مادة مخلقة (وليسـت مبيد فطـري) مـن مشتقات

الـ Pyridine وتنتجها شركة (Dainippon Ink & Chemicals) ولقد ثبت بأنها مادة فعالة في الحث على المقاومة الجهازية المكتسبة في الخيار ضد مرض الانثراكنوز .

كما هو معروف ، فإن أمراض ذبول الفير تسليم ، مشهورة بالأضرار السيئة وصعوبة المقاومة . هذا النوع من الأمراض هدفاً كبيراً لكل الباحثين ، كل منهم يصبوا في الحصول على طرق جديدة لمقاومتها . إذا ما أخذ راشح مزراعة الفطر *Verticillium - albo - atrum* ورش على المجموع الخضري لنبات الخيار (الأوراق) ، فإنه يحفظ النباتات إذا ما حقنت عن طريق الجذور بالفطر الممرض نفسه . إذا ما رشت مادة RNAse A على أوراق الخيار قبل أو بعد الحقن بالفطر *V . albo - atrum* ، أيضاً فإنها تحدث أو تنبه استجابة النبات لمقاومة الفطر *Verticillium* . تبين أن نشاط الحث لهذه المادة يفقد تحت تأثير الحرارة والسستين ، إلا أن الحمض الأميني الموجود في هذا المادة يستمر فعال . بعض المواد الكيماوية مثل داي بوتاسيوم فسفيت عند إضافتها على المجموع الخضري لنبات الخيار ، تحدث موتاً لخلية موضعية ، وبالتالي فإن SAR تكون معتمدة على حمض السلسليك المثير .

الهندسة الوراثية الداخلة في مقاومة الكائنات الممرضة باستعمال جينات مشفرة لبروتينات متعلقة بالمرضية PRs أو بروتينات مضادة للفطريات R-genes ، Switches (NDR, EDS) أو جينات Avr لها دور في المقاومة المكتسبة .

التمييز والإشارات العابرة Recognition and Signal Transduction

أجريت دراسات عديدة واسعة على نبات الـ *Arabidopsis* ، فتحت الطريق لفهم الجزيء الداخل في المقاومة المكتسبة . ولقد أصبح واضحاً أن الاعتماد على الحاثات الأولية (الكائن الممرض الورقي ، الحقن بالرايزوبكتيريا أو التجريح) مختلفة في نقل الإشارات عبر الممرات وتكوين الحافز . هذه الممرات تعتمد على المنظمات الداخلية ، مثل حمض السلسليك ، الاثيلين وحمض الجسمنك (JA) ، للحث على تفاعلات دفاعية ، (وتتطلب أو لا تتطلب NPR1/ NIMI) ، مجموعة من التفاعلات الدفاعية تعمل ضد مجموعات من الكائنات الممرضة . يكون التداخل الواقع بين هذه الممرات موح إلى تركيبات شبكية والتي فيها يتكون إشارات خارجية مختلفة مندمجة . فمثلا الممر العابر الإشاري للضوء مطلوب لحث أو تنبيه PR-1 (البروتين المتعلق بالمرضية) بواسطة حمض السلسليك مؤدياً إلى دفاعات

ظلام ضد إضاءة . إن التمثيل المنطقي للممرات وللتداخل يمكن أن يخفض إلى شبكة بسيطة نسبياً من عمليات العوامل الميكانيكية Boolean .

هناك من الدراسات ما يدعم ، وجود نوعين مختلفين ، من ممرات المقاومة المستحثة في الشعير ، إلى كل من الفطريات *Blumeria graminis* f. sp. *hordei* والفطر *Bipolaris sorokiniana* كانت موجودة . إن كلاً من حمض السلسليك ومثيلاته - 2,6 dichloroisonicotinic acid (INA) والمركب BION تحث مقاومة لـ *Blumeria* ولكن ليس لـ *Bipolaris* ، بينما JA فقط يحث مقاومة لـ *Bipolaris* استعملت طرقاً من التهجين لعزل تسعة جينات جديدة تسمى جينات الشعير المستحث كيماوياً (BCI) معزولة من الشعير المستحث بواسطة INA أو BION ، معظم هذه الجينات أو على الأقل واحداً منها قد استحثت بواسطة JA . ولقد أثبتت التجارب أن التداخل بين هذه الممرات يؤدي إلى المقاومة المكتسبة .

تهاجم النباتات في الحقل ، بالكائنات الدقيقة الممرضة ، وكذلك بالحشرات الماضغة ، هذه الأنواع المختلفة من المهاجمات ، يمكن أن تؤدي إلى توضيح الدفاعات التي يمكن التحكم بها بواسطة ممرات إشارية مختلفة ، وبالتالي يكون من الممكن ، القول بأن الحث على ممرات إشارية مختلفة بواسطة الحشرات الماضغة والكائنات الممرضة النباتية يؤدي إلى نماذج غير متوقعة للتعبيرات الدفاعية . لقد وجد أن معاملة نبات القطن بمادة BTH يؤدي إلى زيادة في كل من البروتينات المتعلقة بالمرضية الموضعية والجهازية . على أية حال لم يكن هناك تأثيراً على الذبابة البيضاء المتغذية مسبقاً على نباتات القطن وكذلك ديدان اللوز .

أنزيمات تحطيم جدار الخلية المفرزة من قبل الكائن الممرض *Erwinia carotovora* مسبب العفن الطري البكتيري ، تنبه ممر غير معتمد على حمض السلسليك في نبات الـ *Arabidopsis* ، وهذا يكون معتمداً على التأثيرات التعاونية للأثيلين و JA ولا يتطلب حمض السلسليك ولا NPR1 ، وعلى أية حال ، فإن هذا الممر يمكن أن يقوى بواسطة حمض السلسليك وحمض الجسمنك ، إلا أنه يثبط نشاط الجينات المستحثة بواسطة الجسمنك أسد لوحده . التداخلات المعقدة بين الانتقال الإشاري للممرات ، كانت قد اكتشفت في نبات *Arabidopsis* باستعمال DNA microarrays (مكون من 2400 ESTs) . قياسات RNA النسبي المتوفر (٢ – ٥ أضعاف المستحث فوق المستويات الأصلية) ، قد حدد في النباتات المتطابقة بعد الحقن بكائن ممرض غير متوافق أو عوملت

بإشارات مختلفة . أظهر التحليل التجميعي أن هناك انحرافاً في الحث الجيني بين المعاملات. لوحظ أكبر حث بعد المعاملة بحمض السلسليك وحمض الجسمنك حيث أن هناك ٥٥ جيناً قد استحثت بشكل عام .

لقد تبين أن BABA ذو قوة مكيفة عالية لميكانزم دفاع النبات . في الـ *Arabidopsis* فإن BABA يحفظ النبات ضد الإصابة بالفطر *P. parasitica* ، دون أن يعتمد على حمض السلسليك أو الجسمنك أسد أو الاثيلين ، ويحث على إنتاج سريع لترسيبات في جدار الخلية ، وبالتالي يوقف تقدم الفطر . كذلك فإن BABA يمكن أن يحفظ النبات ضد الفطر *P. syringae* ، ولكن في هذه الحالة ، فإن الوقاية تعتمد على حمض السلسليك والحث على البروتينات المتعلقة بالمرضية . أما في الدخان فإن نفس المركب يحفظ الدخان ضد مرض البياض الزغبي دون الاعتماد على حمض السلسليك ، ولكن حفظ الدخان ضد فيرس TMV يكون معتمداً على حمض السلسليك. يستعمل هذا المركب إما رشاً على المجموع الخضري أو على شكل معاملة تربة . في تجارب أخرى أظهر تفاعلاً واسعاً ضد الفطريات الكامنة في التربة ، والمحمولة في الهواء بالإضافة للنيماتودا.

المكونات الأولية لممر الإشارات المنتقلة مبكراً يشمل أكسيد النيتريك (NO) والذي ينشط بروتينات G ويفتح قنوات Ca^{++} . يكون أنزيم الـ Aconitase هدفاً ممكناً لأكسيد النيتريك ويمكن أن ينظم الحديد المتوفر المطلوب لإنتاج الجذر الهيدروكسيلي السام الذي يمكن أن يدخل في تفاعل الحساسية الفائقة لموت الخلية . اقترح أن حمض السلسليك يعمل من خلال الارتباط مع مستقبل ينشط فيما بعد ، من قبل أنزيم البروتين الحاث لحمض السلسليك والمسمى SA-inducible protein kinase (SIPK) والذي هو من أفراد عائلة MAP Kinase والذي يمكن أن يعمل في سلسلة MAPK مؤدياً إلى تنشيط الاستجابة الدفاعية . هناك نوعين من البروتينات رابطة لحمض السلسليك تسمى (SABPs) قد حددت وعرفت تماماً ، إحداهما يقع في الكلوروبلاست والآخر في الميتوكندريا . يكون إنجذاب هذه البروتينات لحمض السلسليك عالياً وحتى أعلى منه في الـ BION . الهدف المتوقع لمادة الـ BION قد عرف في شكل بروتين الذي يعمل فسفرة لـ NIM . إن مادة الـ BION ، حمض السلسليك و INA وجد أنها تنشط الفسفرة لـ NIM Kinase . كذلك وجد أن حمض السلسليك يثبط كلاً من تكاثر وحركة فيرس موزايك الدخان من خلية إلى أخرى في نبات الدخان ، ولكن يتدخل فقط في الانتقال الجهازي لفيرس

موزايك الخيار . المادة المثبطة للاكسيديز البديل وهي (SHAM) تثبط المقاومة لفيرس موزايك الدخان ، بينما المثبط لممر السايتوكروم ، سيانيد ، يحث على مقاومة فيرس موزايك الدخان .

بالرغم من المحاولات العديدة لفهم طبيعة الإشارات المنتقلة جهازياً ، إلا أنها لغاية الآن لم توضح . في دراسة نبات الـ *Arabidopsis* وجد أن الطفرة *dir1* (غير قادرة على إحداث مقاومة مكتسبة) هي الوحيدة التي ضعفت في مقدرتها على الحث على استجابات دفاعية جهازية . إن *dir1* هو دهن ينقل بروتين ، والذي لا يكون موجوداً في إفرازات اللحاء من طفرات *dir1* . لوحظت الإفرازات من الأنواع البرية للنباتات بشكل طبيعي بواسطة أوراق *dir1* مؤدية على الحث لـ PR-1 ، وبالتالي فإن الدهن الناقل للبروتين يمكن أن يكون إشارة لحائية متحركة أو مترافقة تماماً مع إنتاجها . إن دور حمض السلسليك المنتقل باللحاء في نقل المقاومة الجهازية المكتسبة ، اختبر باستعمال طفرة من نباتات الدخان المحول وراثياً (NahG) موضحة أنزيم هيدروكسيليز السلسيلات تحت تأثير مشجع لبناء السكروز المتخصص باللحاء. مثل هذه النباتات ، يحدث فيها إنخفاض كبير في مستويات حمض السلسليك في اللحاء وتخفض أو تلغي المقاومة الجهازية المكتسبة ، بينما لا تزال مسئولة عن تفاعل فرط الحساسية لفيرس TMV . إن نقل أو بناء حمض السلسليك في اللحاء ، بالتالي يجب أن يكون أساسياً للمقاومة الجهازية المكتسبة .

كيفية ظهور المقاومة :

السؤال الذي يطرح نفسه هو كيف تستطيع النباتات أن توقف تكشف الكائن الممرض في أنسجتها ؟؟ لقد تمت الإجابة على هذا السؤال عن طريق دراسة مجموعة الدفاعات المفترضة والتي تظهر كنتيجة للمقاومة المستحثة ، بعد تحصين النبات بالكائن الممرض . يبدو واضحاً أن هناك عديداً من العوائل النباتية تستجيب للمقاومة المستحثة ، ولكن الاشتراك النسبي لكل منهما في دفاع النبات لم تثبت بعد . جميع العمليات التي تحدث في النبات تكون تحت التحكم الوراثي ، وبالتالى فهي تشمل جميع أشكال المقاومة . إن استعمال التحليلات الوراثية لتحديد طبيعة مقاومة المرض ، شاملة الجينات المضاعفة والتي من المحتمل أن تدخل في توضيح الجين الرئيسي ، بالإضافة إلى الحث على المقاومة قد درست بتوسع.

إن عملية المقاومة المعقدة قد شرحت بالملاحظات الحديثة والتي تفسر المقاومة ، جين

لكل جين ، والتي يمكن أن تكون كثيرة القرب للوضع الطبيعي ، كما وأن الجينات المركبة يمكن أن تدخل في تفاعل (النبات – الكائن الممرض) العلاقة والتشابه بين المقاومة المكتسبة والمحولة وراثيًا ، قد تم بحثها من قبل كثير من الباحثين الذين أظهروا أن المقاومة المحولة وراثياً في بعض الأنظمة (نبات –كائن ممرض) ، يمكن أن تكون مرتبطة ، مع التوضيح الأساسي للانزيمات ، مثل Chitinase والتي تمت مرافقتها مع المقاومة الجهازية المكتسبة . إن عملية الـ hydrolases في النبات توضح المقاومة المحولة وراثياً إلى كائن ممرض معين ، ذكرت أيضاً بأن تكون أكثر نشاطاً ضد الكائن الممرض المعين .

إن استعمال المقاومة الجهازية المكتسبة لمقاومة *Rynchosporiurn secalis* وفيرس التقزم الأصفر في الشعير ، قد وصفت بعلاقتها الوراثية في المقاومة المستحثة في الشعير . ولقد ذكر أنه ليس جميع الايكوتايب في نبات الـ *Arabidopsis* توضح هذا النوع من المقاومة الجهازية المستحثة إلى نفس المستوى . أثبتت التحليلات الوراثية أن هذه المقدرة كانت مترافقة مع موقع مفرد ISR-1 في النبات العائل .

إن عملية الحث على المقاومة الجهازية المكتسبة في فول الصويا يمكن أن تشمل الإثارة الكافية لتجمعات الـ Glyceollin من خلال ممر أكسدة والحث على تجمع الايزوفلافون عن طريق مستقبلات نووية (Ligands) . هذا يوضح أن عديداً من الممرات الإشارية المكملة تحدد ممرات المنتجات الثانوية الدفاعية خلال المقاومة الجهازية المكتسبة في فول الصويا . أما في الأرز فإن مادة BTH تحث إنتاج أنزيم Lipoxygenase ، ولكن دوره في المقاومة المكتسبة لم يوضح حتى سنة ٢٠٠١ . أما في نبات الـ *Arabidopsis* فإن مادة الـ BTH تزيد الحساسية للبكتيريا *Pseudomonas syringae* عن طريق تقوية تأثير جينات الـ PAL ، حيث أن هذه الجينات وعملية ترسيب السليلوز ، يمكن أيضاً أن تقوى بواسطة BTH بعد التجريح ، التأثير الذي يعتمد على وظائف الجين *NPR1* ، حيث أن هذا الجين يمكن أن يغير أو يعدل المقاومة الجهازية المكتسبة والممر الإشاري للجروح . أما في الخيار ، عند معاملة الفلقات مسبقاً بمادة BTH أو INA فإن ذلك يكيف النسيج لمثيرات حائة أقوى لتجمعات mRNA chitinase أو إنتاج الماء الأكسجيني . هناك بروتينات متخصصة ، بالإضافة إلى عملية تنشيط نظام الـ Ubiquitin proteasome ، مطلوبين للتكييف ، هذا يدل على أن هناك أبحاث أخرى مطلوبة على البروتينات . كذلك فإن حمض السلسليك يقوي عمليات الأكسدة التي تندفع في نبات الدخان ، وبالتالي تسرع في

كل من ، موت الخلية وتعبيرات جين الدفاع . جميع هذه الاستجابات تكون أقل سرعة في النباتات المحولة وراثيا NahG . مثل هذه النباتات أظهرت أن المقاومة لفيرس موزايك الدخان والبكتيريا ، تعتمد على حوادث تقع في الطور قبل النكروتك ، من تفاعل فرط الحساسية ، مؤكدة أهمية المقياس لحركة المقاومة .

أما عن دور حمض الابسيسك (ABA) في مقاومة الكائنات الممرضة ، قد درس في نباتات الطماطم ذات الـ *sitiens* المفتقرة إلى ABA ، مثل هذه النباتات كانت أكثر مقاومة لكل من *Botrytis cinerea* ، *Sclerotinia sclerotiorum* ، *Alternaria solani* منه في الأنواع البرية للنبات . بينما BTH كان فعالاً في الحث على المقاومة ضد *B. cinerea* في أنواع النباتات البرية ، فإن الـ *sitiens* كانت أكثر حساسية واستجابة بمقدار عشرة أضعاف لهذا الحاث . هناك بعض الأبحاث تدل على أن ABA الداخلي يمكن أن يكون منظم سالب لاستجابة SAR .

إن التفاعل غير المتوافق بين الفلفل وبكتيريا زانثومونس كامبسترس ، استعمل لدراسة تأثير الوقاية الموضعية LPS البكتيري ضد تفاعل الحساسية الفائقة ، المستحثة بواسطة بكتيريا غير شديدة المرضية . وجد أن المعاملة التى تنتج LPS لم تنشط جينات البروتينات المتعلقة بالمرضية مباشرة ولكنها زودت قوة تعبيراتها بعد الحقن بالبكتيريا . كذلك فإن LPS أيضاً تقوي ميتابولزم الفينول بعد الحقن البكتيري . هناك نوعين من المضادات الميكروبية الفينولية مترافقة وهي Coumaroyl tyramine (CT) و Feruloyl tyramine (FT) تجمعت بسرعة أكثر بعد الحقن في الفلفل المعامل مسبقاً بـ LPS . واحداً من أكثر الاستجابات المستحثة شهرة في التفاعلات غير المتوافقة هو تجمع البروتينات المتعلقة بالمرضية PRs ، وبسبب إمتداد حثها إلى الأجزاء غير المحقونة من النبات حيث تتكشف المقاومة الجهازية المكتسبة ، يكون حدوثها مترافقاً مع حالة المقاومة المستحثة . بعض هذه الـ PRs ذات تأثير مضاد فطري أو مضاد بكتيري ، وهذا يؤدي إلى القول بأن هناك دوراً لهذه البروتينات في زيادة الوقاية ضد المرض في النباتات المستحثة . وبالتالي يمكن القول بأن هذه البروتينات غالباً ما تستعمل كعلامات للمقاومة الجهازية المكتسبة . يمكن أن يتكشف أثناء تفاعل المقاومة بقعاً متحللة، ولكن عملية التحلل هذه ليست من متطلبات تنبيه المقاومة الجهازية المكتسبة ، وتنشيط الجين الجهازي ، وعلى العكس من ذلك فإن النكروزز والحث المصاحب للمقاومة الجهازية المكتسبة ، يمكن أيضاً أن يحدث في التفاعلات غير المتوافقة .

يتطلب التأشير الجهازي وحث PRs تفاعل الإشارات المنتجة موضعياً والتي يمكن أن تتدخل في الضغط الميكانيكي بالإضافة إلى Oxygen species متفاعل . بالإضافة لذلك فإن التعبيرات لـ PRs المختلفة يمكن تنظيمها بواسطة إشارات مختلفة وعديد من PRs ، تكون أيضاً مستحثة في التكشفات المتحكم بها . بعض الاختبارات Organ - specific manner أدت إلى الاقتراح بأنها يمكن أن تعمل ليس فقط في الدفاعات ضد الكائنات الممرضة أو الضغوطات المماثلة، ولكن أيضاً تلعب دوراً شكلياً في النبات . بعض المهيجات الفطرية يمكن أن تحث PRs عن طريق تأثيرها السام على النباتات ، بينما أخرى تظهر بأنها تحتاج إلى منبه متخصص لحثها عن طريق تنشيط التأشيرات الداخلة في الممرات .

بالإضافة إلى الـ PRs ، فإن بناء الفاتيوالكسن وتقسية جدار الخلية هي استجابات دفاعية والتي تستحث خلال التفاعلات غير المتوافقة أو بالمعاملة بالمهيجات . هذه الاستجابات تتدخل في الزيادات في نشاطات أنزيمات الأكسدة بالإضافة إلى بناء الـ Terpenoid و/أو بوادئ اروماتيكية . بعض هذه الاستجابات تحدث بجانب منطقة العبور أو المعاملة ، وتخفض نشاط الإصابات اللاحقة . فمثلا نشاط البيروكسيديز يزداد جهازياً وبالتالي يكون مزوداً كفاءة اللجنين بعد الحقن التحصيني . تحدث كمية كبيرة من الأكسدة وتظهر بسرعة ، هذه الأكسدة يمكن أن تكون أداة في سرعة موت الخلية وتزيد اللجننة .

في أقراص الورقة المأخوذة من نبات الخيار ، المظهر للمقاومة الجهازية المكتسبة ، والمحصنة بالفطر *Colletotrichum orbiculare* ، فإن السايكلوهكسامايد يخفض إنطلاق الماء الأكسجيني ويزيد الاختراق الفطري وتكشف المرض ، وفي نفس الوقت يحدث زيادة في تعبيرات PRs . مثل هذه الملاحظات دعمت أهمية الـ Oxygen species النشط في توضيح المقاومة . وبشكل عام فإن العلاقة بين المقاومة المستحثة وتجمع PRs أقل وضوحاً .