الفصل الثاني

المقاومة الجهازية المكتسبة

Systemic Acquired Resistance

أولاً: تعريف وتطور اكتشاف المقاومة الجهازية المكتسبة

تعريف:

تعرف المقاومة الجهازية المكتسبة : بأنها نظام مستحث للمقاومة ينبه بواسطة الكائنات الممرضة التي تسبب نكروزز خلوي سريع في الأنسجة المصابة . يمكن وصفها نموذجياً ، بأن عملية الإصابة ، تنشط مقاومة المرض في نسيج المجموع الخضري غير المصاب وتزوده بوقاية تدوم طويلاً ضد مجال واسع من الكائنات الدقيقة مسببة الأمراض . ثبت حديثاً بأن المقاومة الجهازية المكتسبة تستحث بالمواد الكيماوية ، وأن حمض السلسليك ممر أساسي فيها. وفيما يلي بعض الصفات الحيوية للمقاومة الجهازية المكتسبة :

١ – تستحث بواسطة عوامل أو كائنات ممرضة مسببة أعراض نكروزز (بقع موضعية) .

٢ – تكون فترة الحضانة بين الحقن وظهور كامل التعبير حوالي سبعة أيام .

٣ – تمنح الوقاية للأنسجة غير المعرضة للكائن المحقون (الحاث) .

٤ – يظهر التعبير على شكل خفض في عدد البقع ، حجم ، إنتاج الجراثيم ، تكاثر الكائن الممرض .

٥ – تستمر الوقاية لمدة طويلة غالباً لعدة أسابيع أو حتى شهور .

٦ – الوقاية ليست متخصصة حيث أنها تكون فعالة ضد كائنات ممرضة غير ذات علاقة مع العامل الحاث .

٧ – الإشارات للمقاومة الجهازية المكتسبة تترجم وتنقل بالتطعيم .

٨ – لا تنقل المقاومة عبر البذور إلى الأجيال القادمة . أما الانتقال إلى الأنسجة المتكاثرة خضريا لم تكتمل الدراسة عليها بعد .

اكتشاف المقاومة الجهازية المكتسبة :

مقدمة :

تكون المقاومة الطبيعية في النبات ، ضد الكائنات الممرضة أو الحشرات الماضغة ، مبنية بشكل جزئي ، على موانع أساسية مختلفة ، موجودة مسبقاً في النباتات قبل المهاجمة الحقيقية. إن التأثير المتجمع لجميع هذه الموانع يشار إليه باسم المقاومة التأسيسية Constitutive Resistance . بالإضافة لهذه الموانع ، فإن النبات يمكنه أن ينشط ميكانزم الوقاية عند مهاجمته من قبل الكائنات الغازية . هذا الميكانزم اصطلح على تسميته بالمقاومة المستحثة Induced Resistance ثم غير بعد ذلك وسمي المقاومة المكتسبة Acquired Resistance .

بعض النباتات المقاومة للأمراض ، توقف وتحصر إنتشار الكائنات الممرضة ، الفطرية ، البكتيرية أو الفيروسية في مساحات صغيرة حول المنطقة الأولية للاختراق ، حيث يظهر بقع نكروزز . هذا التفاعل الخلوي مع الكائنات المهاجمة والذي يؤدي إلى موت الخلية ، يسمى الانتحار الذاتي أو تفاعل فرط الحساسية أو الحساسية الفائقة Hypersensitive Reaction (HR) . هذا التفاعل يمكن أن يؤدي إلى المقاومة المكتسبة ، وتعرف هذه ، بأنها مقاومة النبات للمهاجمات التالية من الكائن الممرض الذي أحدث بقعاً موضعية ولغيره من الممرضات النباتية .

تطور أبحاث المقاومة الجهازية المكتسبة :

لقد ظهرت أهمية المقاومة المكتسبة عن طريق كثير من الأبحاث منذ مدة طويلة ، حيث تبين أن النباتات المحقونة بالكائنات الحية الدقيقة المضعفة Attenuated ، يحدث فيها وقاية ضد الإصابات التالية من قبل الكائنات الممرضة نفسها أو ذات القرابة بها . هذه النتائج والملاحظات لم تحاول أن تفرق بين تفاعل التضاد Antagonistic Interaction الناتج من الكائن المضعف ، أو الكائن غير الممرض والكائن الممرض ، من حيث تنشيط ميكانزم الدفاع في العائل .

كان أول اكتشاف للمقاومة المكتسبة سنة ١٩٥٢ في *Dianthus barbatus* الذي أصيب بفيرس موزايك القرنفل ، وذلك من قبل العالم Gilpatrick والذي نشرذلك في مجلة Science 115 : 701 - 702 . ثم بعد ذلك أثبتت الأبحاث أن المقاومة المكتسبة تقسم

إلى قسمين ، النوع الأول يسمى مقاومة مكتسبة موضعية Local Acquired (LAR) Resistance ، هذه تحدث في المنطقة المجاورة لبقع تفاعل فرط الحساسية . أما النوع الثاني يسمى المقاومة الجهازية المكتسبة Systemic Acquired Resistance (SAR) ، هذه تتواجد في أجزاء النبات غير المحقونة والخالية من الكائن الممرض . تتكشف المقاومة الجهازية المكتسبة في عديد من تفاعلات الكائن الممرض والنبات ، تظهر بعد عدة أيام من الحقن الأولي ، ويمكن أن تستمر لعدة أسابيع وتكون فعالة ضد مجال واسع من الكائنات الممرضة، والتي يمكن أن تكون ليست ذات علاقة مع الكائن الدقيق الحاث على هذه المقاومة .

من الشائع دائماً أن يترافق مع تفاعل فرط الحساسية ، ومع المقاومة الجهازية المكتسبة بناء مجموعات (تسمى عائلات) مختلفة من البروتينات ، ذات تأثير سيرولوجي متميز ويكون بناؤها جهازياً . تتميز هذه العائلات بأنها ذات وزن جزيئي منخفض وتسمى البروتينات ذات العلاقة بالمرضية Pathogenesis - related proteins وتكتب باختصار PRs . بعض هذه العائلات معروفة الوظائف ، والبعض الآخر يحتاج إلى تحديد وظائف . فمثلاً عائلة بروتينات PR-2 تحتوي نشاط وفعالية β-1,3-glucanase ، بينما عائلة بروتينات PR-3 هي مجموعة من Chitinases . إن دراسة موقع ، توقيت ظهور ووظائف العائلات الأخرى من PRs يدل على أن كثيراً منها يدخل في المقاومة المكتسبة .

إن تنشيط ميكانزم مقاومة الجينوم ، قد ذكر أخيراً بواسطة كثير من الباحثين ، من أشهرهم Ross A.F سنة ١٩٦٦ ، حيث كتب مقالاً طويلاً عن هذا الموضوع في مجلة Viruses of Plants ثم تلاه في الشهرة Hammerschmidt R. ، ففي سنة ١٩٩١ نشر مقالاً طويلاً في كتاب The Fungal Spore and Diseases Inhibition In Plants . ثم في سنة ١٩٩٥ كتب بتوسع عن المقاومة الجهازية المكتسبة في مجلة Dordrecht . ولقد أظهر بوضوح أن الإصابة الموضعية يمكن أن تؤدي إلى مقاومة ضد الإصابة اللاحقة في مجال واسع من الكائنات الممرضة المختلفة . وقد ذكر أن المقاومة تظهر موضعياً في المنطقة الابتدائية للحقن ، وبعدها يمكن أن تمتد جهازياً في الأنسجة بعيداً عن مكان الإصابة الأولية وتمتد إلى الجذور ، هذا النوع من المقاومة المستحثة ، قال ، من الأفضل أن تسمى المقاومة الجهازية المكتسبة Systemic Acquired Resistance وتكتب باختصار (SAR) . وبشكل عام فإن ظاهرة SAR يمكن أن تقارن مع المناعة المكتسبة أو التحصين

Immunization في الإنسان والحيوان ، مع أن الميكانزم الأساسي مختلف في كلتا الحالتين (النبات والحيوان) .

نظراً لوجود النباتات في الطبيعة ، معرضة باستمرار ، لمهاجمة أعداداً كبيرة من الكائنات الدقيقة ، وبالتالي فإن الله سبحانه وتعالى قد زودها بمقاومة أصلية موجودة فيها ضد الإصابات المختلفة . وبالتالي فإن SAR بجانب الدفاعات الأصلية في النبات ، هي سلاح آخر يشارك في المقاومة العامة التي يظهرها النبات ، وبالتالي تزود النبات بطريقة جديدة للبقاء.

هذا النوع من المقاومة (SAR) يمكن أن يظهر ضد مدى واسع من الكائنات الدقيقة، والتي يمكن أن تختلف عن الكائنات المسببة لحدوثها أصلاً . فمثلاً في الخيار فإن الحقن الابتدائي بالفطر *Colletotrichum lagenarium* ، مسبب مرض الانثراكنوز ، فإنه يحث على تكوين SAR ضد عشرات من الأمراض المتسببة عن فطريات أو بكتيريا بالإضافة إلى الأمراض الفيروسية . في معظم الحالات فإن الحقن الأولي يؤدي إلى حدوث نكروزز موضعي ثم بعد ذلك تظهر SAR .

في نظرية المقاومة المسماة Gene - for - Gene ، فإن النبات إما أن يكون مقاوم أو قابل للإصابة ، ضد سلالات معينة من الكائن الممرض ، أما SAR فهي نسبة عالية من المقاومة ضد مدى واسع من الكائنات الحية الدقيقة . أما عن الوقت اللازم لظهور هذه المقاومة فإنه يعتمد على كل من النبات ونوع الكائن الحاث على ظهور مقاومة SAR . لقد ذكر في أبحاث كثيرة على الخيار ، أن المقاومة SAR تظهر بسرعة كبيرة جداً ، حيث أن SAR تظهر بعد حوالي سبعة ساعات من الحقن الأولي بالبكتيريا *Pseudomonas syringae* . أما في تجارب على الدخان ، فقد تبين أن حقن جراثيم الكائن الممرض المسبب العفن الأزرق *peronospora parasitica* pv. *tabaci* ، تحت بشرة الساق في نباتات الدخان ، يؤدي إلى ظهور SAR في الأوراق ضد نفس الفطر بعد حوالي ٢ – ٣ أسابيع من الحقن الأولي .

إن مستوى الوقاية يمكن أن يختلف اعتماداً على الكائن المستعمل في الحقن الأولي وبشكل خاص على امتداد النكروزز . مع أن طرق القياس الحساسة لإحداث المقاومة ، لا تزال غير معروفة حتى الآن (١٩٩٨) ، إلا أن الصفة العامة التي تحدد مدى قوة الـ SAR ، هو التكشف الموضعي للنكروزز ، حيث أن نوع النكروزز والوقت اللازم لتكشفه من الأمور

الحاسمة في تحديد قوة SAR . فمثال على ذلك وجد أن الجروح التي تحدث في النبات نتيجة احتكاكه مع أشياء ساخنة أو باردة جداً ، تظهر SAR خلال ساعات ، ولكنها بشكل عام لا تحث على تكوين SAR . إذا ما تكونت الـ SAR في النبات فإنها تستمر لعدة أسابيع . وجد في الخيار أن حقن الورقة الأولي بأي كائن يسبب نكروزز ، ثم بعد ذلك بحوالى ٢ – ٣ أسابيع يحقن مرة أخرى ، فإن ذلك يحفظ النبات من الإصابة بعديد من الأمراض لغاية فترة الازهار . وجد أيضاً أن SAR يمكن إحداثها تحت الظروف الحقلية ، كما هو الحال في التجارب التي أجريت على الفول ، الدخان والخيار . إن كلاً من النباتات أحادية الفلقة وثنائية الفلقة ، يمكن أن يظهر فيها تفاعل SAR . إن عملية الحث على ظهور المقاومة في الأجزاء البعيدة عن مناطق الحقن الأولي ، يفترض أنها ناتجة عن عملية نقل إشارات جهازية تكونت في منطقة الحقن الأولي . هذه الإشارات تملأ النبات وتجهزه ضد الإصابات اللاحقة من الكائن الممرض ، وذلك عن طريق تنبيه مجموعة معقدة من الاستجابات الدفاعية والتي سنذكرها فيما بعد .

ثانياً : الميكانزم الداخل في المقاومة الجهازية المكتسبة

The Mechanisms Involved IN (SAR)

I : اللجننة والحواجز التركيبية الاخرى

Lignification and Other Structural Barriers

لقد لوحظت ظاهرة اللجننة في كثير من الأنواع النباتية ، حيث أنها عملية محاولة لمنع الإصابة بالكائنات الدقيقة الممرضة مثل ، الفطريات ، البكتيريا ، الفيروسات والنيماتودا . هناك دليل واضح يدل علي أن اللجننة ميكانزم مهم في مقاومة المرض ، وقد درس هذا الموضوع من قبل كثير من الباحثين . ليست اللجننة مقصورة على التفاعل غير المتوافق بين الكائن الممرض والنبات ، كما هو في نظام Gene-for-Gene إلا أنها أيضاً لوحظت في العائل غير المقاوم وفي حالة SAR .

يتكون اللجنين عن طريق Random Dehydrogenative Polymerization of Precursors الناتجة عن ممر الفينايل بروبانويد . تكون الخطوة الأولى في هذا الممر عبارة عن إزالة مجموعة الأمين للفينايل الانين إلى حمض السينامك Cinnamic acid وذلك باستعمال أنزيم فينايل الانين امونياليز (PAL) . إن الأنزيم PAL يزيد من البوادئ لبناء اللجنين ولعديد من مشتقات الفينايل بروبانويد ، المنتجات الثانوية للنبات الداخلة في المقاومة . من الأمثلة على هذه المواد ، مادة الـ Furanocoumarin ، وهي فايتوالكسن في البقوليات ، وكذلك مادة Isoflavonoid وهي فايتوالكسن في البقدونس ، بالإضافة إلى حمض السلسليك . إن أنزيم أل PAL يستحث في كثير من تفاعلات المقاومة الجهازية المكتسبة ، وبعد المعاملة بالمثيرات المختلفة للتفاعلات الدفاعية في النبات . وقد تبين أن تثبيط كفاءة PAL في الطبيعة عن طريق مثبطات متخصصة ، يؤدي إلى خفض المقاومة في نباتات مختلفة . هذا التخفيض في المقاومة ، يمكن أن يكون راجعاً بشكل جزئي إلى غياب مشتقات الفينايل بروبانويد .

من الأنزيمات الأخرى الداخلة في ممر الفينايل بروباونويد والتي تستحث أيضاً في تفاعلات المقاومة الجهازية المكتسبة :

١ – أنزيم Cinnamyl alcohol dehydrogenase ، حيث أن هذا الأنزيم هو المشخص الجيد لعملية اللجننة التي تحدث في جدر خلايا النبات .

٢ – 4 - Coumarate : Co A ligase .

٣ – Peroxidase .

يمكن أن تشارك عملية اللجننة في المقاومة ضد الأمراض ، بطرق مختلفة كثيرة ، إلا أن دورها في المقاومة الجهازية المكتسبة قليل . من الأمور الواضحة في تفسير دور اللجننة في المقاومة هي :

أولاً : دمج اللجنين في جدار خلية النبات ، حيث يرتبط به ويقويه ميكانيكياً ويجعله أكثر مقاومة للتحطيم بواسطة الأنزيمات المفرزة من قبل الكائنات الممرضة الغازية . يمكن لأنبوبة الانبات الفطرية أن تخترق خلايا النبات بالقوة الميكانيكية ، كما هو الحال في *Magnaporthe grisea* أو عن طريق تليين وإذابة جدار خلية النبات أنزيمياً .

ثانياً : صعوبة تحطيم تركيبات اتحاد اللجنين مع جدار خلية النبات . لقد تبين أن الحلمات الملجننة والهالات المتكونة على أوراق القمح المحقونة بالفطر *Botrytis cinerea* تكون عالية المقاومة للتحطيم في المعمل بالأنواع الفطرية المختلفة . هذه المقاومة تكون مدعومة أيضاً بالتجارب التي تختبر انطلاق الكربوهيدرات (بواسطة ترشيح المزرعة الفطرية) من الجذر الملجننة .

ثالثاً : تشكيل حاجز مانع للحركة الحرة للمغذيات . وجد أيضاً أن جدار الخلية الملجننة يمكن أن يشكل حاجزاً مانعاً للحركة الحرة للمغذيات ، وبالتالي تساعد في مجاعة الكائن الممرض .

رابعاً : يمكن لبوادئ اللجنين أن تمارس تأثيراً سامّاً علي الكائن الممرض . وجد أيضاً أن بوادئ اللجنين نفسها يمكن أن تكون سامة للكائن الممرض وبالتالي تمنعه من اتمام عملية الاختراق .

خامساً : ترتبط بوادئ اللجنين مع جدر الخلية الفطرية جاعلة إياها أكثر قساوة وغير منفذة ، وبالتالي تعوق احداث النمو أو امتصاص الماء أو المغذيات للفطر فيموت جوعاً . وجد أن Coniferyl alcohol له سمية عالية في المعمل ضد كثير من الفطريات على تركيزات منخفضة . ولقد اقترح أن حدوث Polymerization لبوادئ اللجنين بواسطة الجذور الحرة Free radicals في المسافات البينية للخلايا ، يمكن أن يؤدي أيضاً إلى لجننة تركيبات الكائن الممرض . ولقد ذكر Kue and Hammerschnidt سنة ١٩٨٢ أن

ميسيليوم الفطر *Colletotrichum lagenarium* والفطر *Cladosporium cucumerinum* تصبح ملجننة في المعمل في وجود Coniferyl alcohol ، الماء الأكسجيني H_2O_2 ، البيروكسيديز الخام المأخوذ من النباتات المنيعة . ولقد تبين حديثًا أن هيفا الفطر *Peronospora parasitica* مخترقة الـ ecotype المقاوم من نبات *Arabidopsis* تظهر ملجننة تحت الظروف الطبيعية . إن الأجزاء من الفطر الموجودة بين الخلايا ، فقط ، هي التي تصبح ملجننة ، بينما الممصات الداخلة في الخلايا تبقى غير متأثرة . لوحظ نفس التفاعل أيضاً في نبات الأرابدوبسز التي عوملت بالمادة الكيماوية الحاثة على المقاومة 2,6-dichloroisonicotinic acid (INA) وحقنت بعد ذلك بسلالة قوية من الفطر *P. parasitica* .

سادساً : تظهر اللجننة كاستجابة لتفاعل فرط الحساسية . وجد في نباتات الخيار التي حقنت بعزلة غير قوية من الفطر *C. lagenarium* ، أن المقاومة تكون متبوعة بتفاعل فرط الحساسية hypersensitive reaction (HR) من الخلايا التي اخترقت بواسطة أنبوبة الانبات . عندما تحصن أوراق أخرى من مثل هذه النباتات بنفس الفطر ، فإن المقاومة عندئذ تظهر على شكل لجننة في جدار خلية البشرة تحت عضو الامتصاص ، ولا يستطيع الفطر إختراق الخلية ولا يظهر تفاعل فرط الحساسية في الأوراق الأخرى .

سابعاً : تكوين تركيبات إضافية (حليمات) . وجد أن عملية تكوين تركيبات إضافية على جدار الخلية في مواقع محاولة الاختراق معروفة جيداً في كل من نباتات ثنائية الفلقة وإحادية الفلقة ، كطريقة لوقف إختراق بشرة الخلايا . وجد في كل من الخيار والبطاطس أن عملية الحث على المقاومة الجهازية المكتسبة ، تؤدي إلى معدل عال من تكوين الحليمات في الأوراق المحصنة والتي لم تهاجم سابقاً . كذلك أيضاً في الشعير فإن تكوين الحليمات يزداد في النباتات المستحثة . تتكون الحليمات أساساً من السليلوز، سليكون و UV fluorescent materials .

إن الدور المهم للسليلوز في توضيح المقاومة الجهازية المكتسبة قد دعم بدراسة طفرات نبات *Arabidopsis Isd* ، وهي تسمى البقع المشابهة للمرض (Lesion Simulating disease) والتي تبدي ترسبات من السليلوز في مواقع إختراق الكائن الممرض ، أكثر منه في أنواع النباتات البرية القابلة للإصابة .

بعد الإصابة ، يمكن أيضاً أن يحدث تقوية لجدار الخلية ، بواسطة أنزيم البيروكسيديز ،

المحفز بوصلات متقاطعة من جلايكو بروتينات تركيبات جدار الخلية ، الغنية بالهيدروكسى برولاين . كذلك فإن البروتينات الغنية بالجلايسين ، والتي تكون موجودة في جدار الخلية لكثير من النباتات ، تتراكم جهازياً في نباتات الدخان المصابة بفيرس موزايك الدخان TMV وفي نباتات الأرز المصابة بالفيرس . في نباتات الارابدوبسز فإن مستوى النسخ لعديد من البروتينات الغنية بالجلايسين يكون مرتفع قليلاً بعد المعاملة بحمض السلسليك .

جميع هذه التغيرات التي تحدث في تركيب جدر خلية النبات ، بعد الإصابة ، يمكن أن تشارك في المقاومة ، إما عن طريق وقف دخول الكائن الممرض مباشرة ، أو عن طريق إبطاء عملية الاختراق ، وبالتالي يسمح للنبات بأن ينشط ميكانيكيات دفاعية أخرى .

II : البروتينات المتعلقة بالمرضية Pathogenesis - Related Proteins

كان أول وصف للبروتينات المتعلقة بالمرضية (PRs) ، في أوائل السبعينيات ، في أوراق نبات الدخان المصابة بفيرس TMV . لقد كان أول تحديد لها على أساس أنها بروتينات تذوب في الأحماض ، مقاومة لإنزيم Protease ، بروتينات حامضية تتواجد في المسافات بين الخلايا ، أخيراً حددت فيها Basic homologs . تتجمع معظم البروتينات المتعلقة بالمرضية في الفراغات خارج الخلية أو في الفجوات الخلوية . وجد في الدخان أن البروتينات الحمضية المتعلقة بالمرضية ، تكون بشكل عام بين الخلايا ، والبروتينات القاعدية المتعلقة بالمرضية ، تكون في الفجوات الخلوية ، إلا أن هذا لا يكون قاعدة عامة لجميع أنواع النباتات الأخرى .

إن الـ PRs الموجودة في الفجوة الخلوية ، من المحتمل أن تمارس تأثيراً على التفاعل الدفاعي بعد عملية De compartimentalization للخلية ، بينما الـ PRs الموجودة بين الخلايا تكون على إتصال مباشر مع الكائن الممرض المخترق النسيج . تكون الـ PRs متواجدة في كثير من النباتات في المواقع المرضية .

وضع تعريف جديد للبروتينات المتعلقة بالمرضية (حديثاً) : وهو أنها بروتينات نباتية تتجمع بعد مهاجمة الكائن الممرض للنبات (أو الحالات المماثلة) ويكون لها دور كبير في المقاومة الجهازية المكتسبة ، وإن تجمع هذه البروتينات من أولى علامات حدوث المقاومة الجهازية المكتسبة . الكائنات الممرضة المقصودة في هذا التعريف تشمل ، الكائنات الحية الدقيقة ، وكل من النيماتودا ، الحشرات ، الحيوانات المتغذية على الأعشاب . أما المقصود

بالحالات المماثلة ، فهي تعني معاملة النبات بكيماويات معينة أو معاناة النبات من أي مسببات أخرى . ولقد ذكر العالم Van Loon سنة ١٩٩٤ أن هناك إحدى عشر مجموعة من هذه البروتينات قد تم تصنيفها وتعريفها ، وفي سنة ٢٠٠٠ ارتفع هذا العدد ووصل أربعة عشر مجموعة وهي كما في جدول رقم ٢ .

جدول رقم ٢ : يبين البروتينات المتعلقة بالمرضية من حيث رقم العائلة ونوع النبات وصفاتها . الجين ، والمراجع

Families Type member	Properties	Gene symbol	Reference
PR-1 Tobacco PR-1a	antifungal	Ypr 1	Antoniw et al., 1980
PR-2 Tobacco PR-2	β-1.3-glucanase	Ypr 2, [Gns2 ('Glb')	Antoniw et al., 1980
PR-3 Tobacco P , Q	chitinase type I,II	Ypr 3, Chia	Van Loon, 1982
PR-4 Tobacco 'R'	IV, V, VI, VII	Ypr 4, Chid	Van Loon, 1982
PR-5 Tobacco S	chitinase type I, II	Ypr 5	Van Loon, 1982
PR-6 Tomato Inhibitor I	thaumatin-like	Ypr6, Pis ('Pin')	Green and Ryan, 1972.
PR-7 Tomato P_{69}	proteinase-inhibitor	Ypr7	Vera and Conejero, 1988
PR-8 Cucumber chitinase	endoproteinase	Ypr8, Chib	Métraux et al., 1988
PR-9 Tobacco 'lignin-forming peroxidase'	chitinase type III	Ypr9, Prx	Lagrimini et al., 1987
PR-10 Parsley 'PR1'	peroxidase	Ypr10	Somssich et al., 1986
PR-11 Tobacco 'class V' chitinase	'ribonuclease-like'	Ypr11, Chic	Melchers et al., 1994
PR-12 Radish Rs-AFP3	chitinase type I	Ypr12	Terras et al., 1992
PR-13 Arabidopsis THI2.1	defensin	Ypr13, Thi	Epple et al., 1995
PR-14 Barley LTP4	thionin	Ypr14, Ltp	Garcia-Olmeda et al., 1995
	lipid-transfer protein		

هناك العديد من البروتينات المتعلقة بالمرضية ، منها PR-1 ، PR-2، β-1,3-glucanases ، Chitinases PR-3 ، PR-4 ، (PR-5) Osmation ، تظهر نشاطات ضد الميكروبات في المعمل . زيادة على ذلك ، فإن كلاً من الـ Chitinases ، والـ β-1,3-glucanases ذات تأثيرات تعاونية ضد النشاطات الفطرية ، وهي أيضاً تطلق جزيئات والتي يمكن أن تعمل كمثيرات .

أما بالنسبة لنباتات الطماطم ، فقد تم تعريف تسع عائلات من البروتينات المتعلقة بالمرضية عرفت لغاية الآن (سنة ٢٠٠٠) على أساس مستوى mRNA فقط وهي مذكورة في جدول رقم ٣ .

جدول رقم ٣ : البروتينات المتعلقة بالمرضية في نباتات الطماطم وصفاتها

Families	Member	Mol. wt. (kDa)	Isoel. point	Biochemical properties	Also known as
PR-1	a	14	10.7	unknown	P14 [3], P4 [4], c_4 [5], P14 [8], PR-1b2 [15], P14b [16]
	b	14	10.9		p14 [3], p6 [4], c_2 [5], PR-1b1 [15], P14a [16]
	c	14			P14c [16]
PR-2	a (II)	35	6.4	ß-1,3-glucanase	P3 [4], c_5 [5], P36 [8]
	b (I)	33	> 7		P5 [4], c_3 [5], P31 [8]
PR-3	a (II)	26	5.0	chitinase	P2 [4], p26 [8]
	b (I)	30	9.0		c_6 [5], P30 [8], p32 [10]
	c (I)	32	> 7		c_7 [5], p31 [8], p34 [10]
	d (II)	27	3.9		27 kD chitinase [9]
PR-4	(a)	13	> 7	chitinase	P2 [4]
PR-5	(a)	24	7	thaumatin-like	NP24 [6], P23 [11], AP24 [12]
PR-6	a	8	> 7	proteinase-inhibitor	Inhibitor I [4]
	b	13	> 7		Inhibitor II [5]
PR-7	(a)	69		endoproteinase	P69 [7], P70 [8]
PR-9	*	35	4.4	peroxidase-like	cevi-1 peroxidase [13]

أما في نباتات الدخان ، فقد تم تعريف وتحديد إحدى عشر عائلة من البروتينات المتعلقة بالمرضية ، وهي مذكورة بالتفصيل في جدول رقم ٤ . وهي أيضاً عرفت على أساس مستوى mRNA فقط .

جدول رقم ٤ : البروتينات المتعلقة بالمرضية في نبات الدخان *Nicotiana tabacum* والأنواع الأخرى التابعة لجنس *Nicotiana*

Families	Member	Mol. wt. (kDa)	Isoelectric point	Biochemical properties	Also known as
PR-1	(Nt.) a	15	4.0	unknown	IV [1], b_1 [2]
	(Nt.) b	15	4.4		III [1], b_2 [2]
	(Nt.) c	15	4.5		II [1], b_3 [2]
	(Nt.) d	15			b_1 [3]
	(Ns.) e	15			b_0 [3]
	(Ng.) f	14			b_1 ' [3]
	(Nt.) g	17	10.7		basic PR-1 [8,23]
	(Nl.) h	15			
PR-2	a (II)	31	4.1	ß-1,3-glucanase	I [1], b_4 [2]
	b (II)	33	4.6		N [4], b_5 [6]
	c (II)	35	4.7		O [4], $b_{6(b)}$ [6,9], O' [7]
	d (III)	35	5.3		Q' [7], PR-35 [13]
	e (I)	33	> 7		basic glucanase [10]
PR-3	a (II)	27	4.5	chitinase	p [4], b_7 (h) [6,9]
	b (II)	28	4.8		Q [4], $b_{8(b)}$ [6,9]
	c (I)	34	> 7		chitinase 3 [11], chi 34 [20]
	d (I)	32	> 7		b13 [9], chitinase 4 [11], chi 32 [20]
	e (I)	28	> 7		chi 28 [20,24]
PR-4	a_1	15	6.0	chitinase	R [4], R' [5], b_{9c} [9], r_1 [14]
	a_2	13			R [4], R' [5], b_{9b} [9], r_2 [14]
	b_1	15	5.6		s_1 [14]
	b_2	13			s_2 [14]
	c	20	> 7		CBP 20 [22]
PR-5	a	24	5.0	thaumatin-like	S [4], R [5], $b_{9(a)}$ 6,9), R [14]
	b	24	5.2		S [14]
	c	26	> 7		osmotin [16], AP24 [17]
	d	26	> 7		n-osmotin [20]
PR-6	a	6	8.7	proteinase-inhibitor	subtilisin inhibitor [15,19], TIMPa [20]
	b	6	8.7		TIMPb [20]
PR-8	a (III)	28	4.4	chitinase/lysozyme	O [7], b_{6c} [9], acidic class III chitinase [18], lys 28a [20,24]
	b (III)	28	8.3		lys b_1 [20,24]
	c (III)	28	8.3		lys b_2 [20,24]
PR-9	a	39		peroxidase	P39a [20]
	b	40			P40a [20]
PR-11	a	41	> 7	chitinase	45 K [12,20], type V chitinase [21]

تتجمع الـ PRs بوفرة في مواقع الإصابة ، ولكن بعض منها تتجمع أيضاً في الأجزاء غير المحقونة من النبات المصاب ، ولكن تجمعها في هذه الأجزاء يكون بدرجة منخفضة عنه في الأجزاء المحقونة ، فمثلاً أوراق الدخان غير المحقونة ، يتجمع فيها ٥ – ١٠ ٪ فقط من كمية الـ PRs التي لوحظت في الأوراق المحقونة بالفيرس ، مظهرة تفاعل فرط الحساسية HR . إن الـ PRs التي تستحث جهازياً تسمى Systemically induced PRs وتسمى أيضاً بروتينات المقاومة الجهازية المكتسبة SAR proteins ، والجينات المتعلقة بها تسمى جينات المقاومة الجهازية المكتسبة SARgenes .

إن جينات وبروتينات المقاومة الجهازية المكتسبة ، تستحث جهازياً في العديد من الأنواع النباتية ، وأشهرها نبات الدخان ونبات *Arabidopsis thaliana* ، الطماطم ، البطاطس ، الخيار ، البطيخ و Stylosanthes . كذلك فإن الـ PRs توجد أيضاً في نباتات الفلقة الواحدة.

تختلف طبيعة ومستوى تعبير بروتينات SAR باختلاف أنواع النبات . فمثلاً في الدخان والارابدوبسز ، فإن PR-1 بين الخلايا ، هو البروتين الرئيسي المستحث أثناء المقاومة الجهازية المكتسبة ، بينما في الخيار فإن البروتين PR-1 يكون ضعيف التعبير ، ولكن البروتين Chitinase (PR-8) يكون عال التعبير . أما في الارابدوبسز فإن الحث على SAR بواسطة *Fusarium oxysporum* وفيرس تجعد اللفت ، بالإضافة إلى المعاملات بمادة INA و SA مرتبطة مع التخليق (الحث على) الجهازي لعديد من جينات SAR .

يمكن أن يحدد دور الـ PRs في الدفاع ، باستعمال النباتات المحولة وراثياً ، مظهرة الجينات ذات العلاقة . في الدخان فإن التعبيرات العالية لمادة PR-1 تزيد المقاومة معنوياً ضد الإصابة بالفطر المسمى *Peronospora tabacinia* و *Phythophtora parasitica* var. *nicotianae* . إن التعبيرات العالية لمادة Osmotin الدخان في البطاطس ، تؤخر تكشف الاعراض بعد الحقن بالفطر *P. infestans* . كذلك فإن التعبير العالي لمادة β-1,3-glucanase لفول الصويا ، في الدخان ، يزيد المقاومة ضد الفطر *Phytophthora megasperma* والفطر *Alternaria alternata* . وجد أن نباتات الكرنب والدخان عالية التعبير لـ Chitinase – الفاصوليا تكون أكثر مقاومة للفطر *R.solani* ولثلاثة كائنات ممرضة أخرى في التجارب الحقلية . إن التعبير العالي لمادة β-1,3-glucanase الشعير ، Chitinase أو البروتين المثبط للرايبوسوم في الدخان ، يؤدي إلى زيادة المقاومة للفطر

R.solani ، وتتعاون في إظهار تعبيرها مع كل من β-1,3-glucanase والـ Chitinase أو الـ Chitinase والبروتين المثبط للرايبوسوم ، تزيد التأثير الوقائي المتحصل عليه مع التعبير الناتج من بروتين واحد لوحده . ومن ناحية أخرى فإن خفض β-1,3-glucanase ، الموجود داخلياً في الفجوات النباتية في الدخان بواسطة Antisense transformation ، فإن الأوراق القابلة للإصابة بالفطر *Cercospora nicotianae* لا تتأثر ، والتعبير العالي لكل من PR-1 و PR-5 في نباتات الدخان المحولة وراثياً لا تمنح زيادة في المقاومة لفيرس TMV . في حالات معينة ، فقط ، تكون النباتات المحولة وراثياً عالية التعبير لواحد من الـ PRs ، أكثر مقاومة للكائن المرض ، ومن المحتمل أن التعبير الملائم لعديد من PRs يمكن أن يكون ضرورياً في المقاومة الواسعة .

تكون نباتات الارابدوبسز نظام نموذجي مفيد لدراسة SAR ، والتحليل الوراثي للميكانزم المؤدي إلى SAR عن طريق التحليل للطفرات . إن كلا من الطفرتين *lsd* و *acd2* المسرعة لموت الخلية تظهر تكوين بقع أساسية في غياب الكائن المرض ، زيادة التعبير لـ PRs والمقاومة للكائنات المرضة الشديدة . إن الطفرة المكونة للمناعة immunity (*cim3*) تظهر تعبيراً أساسياً لـ PRs في حالة غياب موت الخلية وزيادة المقاومة للكائن المرض شديد المرضية . عند المقارنة مع النوع الأصلي ، فإن طفرة عدم المناعة *(nim3)* لا تدوم مقاومتها للفطر *Peronospore parasitica* وتظهر إنخفاضاً كبيراً في تجمع الناسخات لـ PRs بعد المعاملة بمادة INA أو SA . إن مقدرة الجينات على عمل تشفير لـ PRs ، كانت قد استعملت أيضاً لعزل طفرات الارابدوبسز الأخري . إن الطفرة *CPr1* توضح بشكل أساسي PRs ، وتكون أكثر مقاومة للفطرين *P. parasitica* و *Pseudomonas syringae* . أما الطفرة *npr1* (وهي غير معبرة عن جينات PRs) فإنها لا تظهر حثاً لجينات PRs عن طريق المعاملة بمادة INA أو SA ولا تحفظ الوقاية طويلاً ، ضد الإصابة بالفطر *P.syringae* بعد الحث البيولوجي أو الكيماوي .

تكون العلاقة بين تعبيرات بروتينات PRs والمقاومة ، أيضاً ملاحظة في الهجين *Nicotiana glutinosa X N.debneyi* ، والتي تظهر تعبيرات بمستوى عال لعديد من PRs بالإضافة إلى البيروكسيديز والبولي فينول اكسيديز ، وتظهر زيادة في المقاومة ضد الإصابات الفيروسية ، البكتيرية والفطرية ، مقارنة مع الأنواع الأصلية الأخرى .

III: التكيف Conditioning

عندما تعامل النباتات بكائن حي ممرض ، مسبب أعراض النكروزز ، أو بمادة صناعية حاثة على الـ SAR ، فإن الأوراق التي تظهر فيها المقاومة الجهازية المكتسبة ، تتفاعل بسرعة أكثر وبكفاءة أكثر ضد الإصابة بالكائن الممرض شديد المرضية ، هذه العملية تسمى التكيف Conditioning أو إكساب الحساسية Sensitizing . التغيرات البيوكيميائية التي تحدث في النبات مكتسب الحساسية ، عادة ما تصبح ظاهرة ، فقط ، في لحظة حقنة بكائن التحصين . يظهر هناك ، على المستوى الخلوي ، تحول جهة الحساسية ، ليس فقط للكائنات الممرضة ، ولكن أيضاً للمثيرات الحيوية وغير الحيوية . مع أن هذه الظاهرة معروفة منذ مدة طويلة ، إلا أن الميكانزم الأساسي لا يزال غير واضح تماماً على مستوى بيوكيماوي أو جزيئي .

لقد قام العالمان Skipp & Deverall سنة ١٩٧٣ بعملية الحث على المقاومة في فلقات الفاصوليا من خلال عملية HR موضعية متسببة عن الفطر *Colletotrichum lindemuthianum* . تفاعلت الفلقات التي ظهرت فيها المقاومة بسرعة وأصبحت مقاومة للإصابة بنفس الكائن الممرض عند حقنها به مرة ثانية . وعلى أية حال فإن الأنسجة المحيطة بالمنطقة الابتدائية للإصابة ولتفاعل HR ، لم تصبح أكثر مقاومة ، فقط ، ضد الفطر ، ولكنها أظهرت أيضاً أعراض نكروزز بعد تعرضها لصدمة بالحرارة المعتدلة . وبالتالي فإن التغير في الحساسية في الخلايا المستحثة يؤدي إلى تغيير التفاعل مع الظروف البيئية القاسية ، بالإضافة إلى تغير وتفاعل أكثر سرعة للإصابة بالكائن الممرض .

في أنظمة (النبات -الكائن الممرض) فإن نظام الخيار مع الفطر الممرض *Colletotrichum* ونظام الطماطم مع الفطر فايتوفثورا ، فإن توقيت استجابة الدفاع يتغير أيضاً بعد المعاملة الحاثة . في كلتا الحالتين ، بالإضافة لحدوث المقاومة الزائدة ، فإن النباتات المستحثة تتفاعل بسرعة أكثر ضد الفطر الغازي (المخترق النسيج) . عند استعمال كربون ١٤ في بادئ معلم لمادة اللجنين ، فينايل بروبانويد ، مأخوذ من راشح أقراص ورقة من نباتات مستحثة بالفطر *C.lagenarium* ، أظهر أن النسيج ذو المقاومة ، عمل اتحاد للكربون ١٤ في اللجنين، مع الملاحظة بأن عملية اللجننة ، أو على الأقل الإشعاع الذاتي ، يدل على تجمع الفينولات ، هذا يكون غالباً ملاحظاً في النبات في أو حول منطقة محاولة أنبوبة الإنبات الفطرية للاختراق .

في التجارب التي أجريت على البقدونس ، وجد أن المعاملة بمادة SA أو INA لا تحدث بنفسها زيادة في مشتقات الـ Coumarin المفرزة ، ولكن تزيد بقوة مقدرة النبات على إنتاج Coumarins بعد المعاملة بمثير ، مثل الفطر *Phytophthora megasperma* f. sp. *glycinea* . كذلك تبقى لهذه النباتات القدرة الحقيقية على أن تدمج مشتقات الفينايل بروبانويد في جدار الخلية . في هذا النظام يبدو أن التكيف يكون راجعاً جزئياً إلى تحسين نقل الإشارات ، مؤدياً إلى تنشيط الجينات المشفرة لـ PAL و :4-coumarate COA ligase . مثل هذه الخلايا المحدث فيها الحساسية (التكيف) أيضاً تستجيب لكميات أقل من المثيرات الفطرية . كذلك فإن الحقن المسبق للمزارع الخلوية للبقدونس بمادة methyl jasmonate يؤدي إلى نتائج مماثلة . وجد أيضاً أن زيادة إفراز الكومارين وزيادة اندماج الفينولات في جدار الخلية يكون تابعاً للمعاملة بالمثيرات الفطرية .

التجارب التي أجريت على فلقات الخيار الشاحبة (البيضاء) ، أظهرت أن عملية حك الكيوتكل بالمغذيات المختلفة الحاثة على SAR ، أيضاً ، تزيد كفاءة الخلايا المحصنة في سرعة إزالة الماء الأكسجيني . كذلك فإن الظهور السريع للحلمات المحتوية كالوس بعد التحصين بالكائن الممرض الفطري ، في الأوراق المستحثة ، مقارنة مع الأوراق غير المستحثة ، يمكن أن يكون راجعاً إلى زيادة النشاط للغشاء المتخصص المرتبط بالكالسيوم الثنائي الموجب Ca^{++} المنتظم مع أنزيم β-1,3 glucan synthase الذي يتواجد في النسيج المتكيف . أما في الأوراق السليمة غير المحصنة ، فإن نشاط هذا الانزيم يكون خامداً ، ولكنه سرعان ما ينشط عندما تصبح نفاذية الغشاء للكالسيوم الثنائي الموجب Ca^{++} فاسدة عن طريق محاولة الاختراق الفطرى . عندما يحدث التنشيط ، يمكن للخلايا أن تنتج كالوس بسرعة .

نظراً لأن تكييف الخلايا أو النباتات كلها ، لا يؤدي إلى تغييرات ظاهرة مباشرة ، إلا أن هذا التكييف يمكن ملاحظته أو إثباته ، فقط ، بعد المعاملة بالمثيرات أو التحصين بالحقن . ولقد تقرر لغاية سنة ١٩٩٧ أن المكونات غير المعروفة الداخلة أو المنتقلة خلال ممر نقل الإشارات يمكن أن تكون مستحثة .

لقد ثبت حديثاً أن SA يستطيع أن يقوي تعبيرات جينات الدفاع والتي لا تستجيب مباشرة لـ SA ولكنها تصبح مستحثة بعد المهاجمة بالكائن الممرض أو بعد عملية التجريح . هناك الكثير من طفرات نبات الارابدوبسز في الوقت الحالي تحت الدراسة والبحث ، قد فقدت مقدرتها على الاستجابة لتخليق SAR .

ثالثاً : المواد الحاثة على تخليق المقاومة الجهازية المكتسبة

I : المواد الكيماوية

Induction of Systemic Acquired Resistance In Plants By Chemicals

مقدمة :

هناك مواد طبيعية أو صناعية تكون حاثة للمقاومة الجهازية المكتسبة في النبات . كذلك فإن هناك مقاييس يجب أن تتوفر في أي عامل يستعمل في وقاية النبات حتى يوصف بأنه حاث على المقاومة الجهازية المكتسبة ، هذه المقاييس هي :

١ - يجب أن لا يكون هذا العامل ولا أي من مشتقاته التمثيلية ، ذو تأثير مباشر على نشاط أو حيوية الميكروبات ، لا في المعمل ولا في الحقل .

٢ - يجب أن يكون فعل هذا العامل على النبات ، مشابهاً لفعل ، أو تأثير الكائنات الحية الدقيقة ، غير المتوافقة مع النبات ، من حيث إثارة ميكانزم الدفاع المستحث دون إحداث أضرار على النبات .

٣ - يجب أن يكون هذا العامل قادراً على وقاية النبات ضد مجال واسع من الكائنات الممرضة ، وأن لا يكون متخصصاً . يجب أن يستمر مفعوله لمدة طويلة في وقاية النبات وأن ينبه ، على الأقل ، تفاعل واحد من التفاعلات الدفاعية في النبات ، مثل تكوين جزيئات كيماوية جديدة خلال تفاعل الكائن الممرض مع النبات ، بالإضافة لمنتجات مخلقة ذات تأثير حاث على المقاومة .

من أهم المواد الكيماوية الداخلة في تخليق المقاومة الجهازية المكتسبة في النبات الآتي :

١ - مواد غير عضوية Inorganic compounds

أ - أملاح الفسفات تحث على المقاومة الجهازية المكتسبة في الخيار والذرة .

ب - الكالسيوم المنفصل في منطقة استعمال الفسفات ، يولد إشارة للمقاومة الجهازية المكتسبة داخلياً .

جـ – ثاني أكسيد السليكون SiO_2 يستحث المقاومة الجهازية المكتسبة ، مقروناً بزيادة نشاط الـ Chitinase والـ Peroxidase ، Polyphenol oxidase ، β-1,3 glucanase .

د – السليكون عند إضافته للتربة ، يحفظ نباتات الخيار ضد الفطر *Pythium* sp مع تخليق تغيرات بيوكيماوية متعلقة بالدفاع النباتى .

٢ - مركبات عضوية طبيعية Natural Organic Compounds

أ – أحماض دهنية (غير مشبعة ومؤكسدة) : مثل Arachidonic ، Linolenic ، Linoleic ، Oleic acid ، تستحث المقاومة الجهازية المكتسبة في البطاطس ضد الفطر *P. infestans* . هذا التأثير لا يكون مقروناً بزيادة مستويات حمض السلسليك ، أو عن طريق تعبيرات جين المقاومة الجهازية المكتسبة في الأجزاء المحفوظة جهازياً من النبات .

يعمل حمض الارشيدونك كمادة مثيرة ، نظراً لأنه يكون موجوداً طبيعياً في جراثيم الفطر فايتوفثورا وينطلق في نسيج النبات بعد الإصابة . لا يكون حمض الارشيدونك متحركاً في النباتات، ومن المحتمل أن يكون تأثيره الجهازي وسيطاً لإطلاق إشارات داخلية في النبات.

في الأرز فإن المشتقات المؤكسدة من حمض α-linolenic التي تتراكم في الأوراق المصابة ، يمكن أن تحث المقاومة الجهازية المكتسبة ، عندما تضاف إلى الجذور . أما مادة Oligomers of chitosan (Poly-N-glucosamine) ، والتي من المحتمل أن تنطلق بفعل أنزيم Chitosanase المشفر للنبات من الجدر المخترقة بالفطريات ، يمكن أن يقي جذور الطماطم من الفطر فيوزاريوم *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis lycopersici* مسبب الذبول ، عندما يضاف إلى بذور ، جذور أو إلى أوراق الطماطم . في هذا المثل فإن التغيرات الكبيرة في التركيب الخلوي ، مثل نكروزز الخلايا وترسب مادة شبيهة باللجنين ومواد شبيهة بالكالوس ، تأخذ مجراها في الجذور قبل حقنها بالكائن المحصن .

هناك أنواعاً من الفايتوفثورا تفرز مثيرات مثل Necrogenic peptides صغيرة . من هذه المثيرات مادة Cryptogein المأخوذة من الفطر *Phytophthora cryptogea* ، تحث المقاومة الجهازية المكتسبة في نباتات الدخان ضد *Peronospora Parasitica* var. *nicotianae* العامل المسبب لمرض الساق الأسود في الدخان . من المحتمل أن تكون هذه

المثيرات داخلة في إحدى خطوات الترسيب المتبوعة بالنقل الإشاري ، مؤدية إلى تنشيط الاستجابات الدفاعية .

إن جينات *hrp* البكتيرية ، مهمة لكثير من البكتيريا ، إما لاحداث المرض ، أو لتحث تفاعل الحساسية الفائقة في النباتات غير العوائل . البكتيريا *Pseudomonas* (Pss 61) *syringae 61* أو $Hrpz_{pss}$ منتجة جين *hrp* فى Pss61 ، يمكن أن تحث جينات البروتينات المتعلقة بالمقاومة ، والمقاومة الجهازية المكتسبة ، لعديد من الكائنات الممرضة عندما تضاف على نبات الخيار . في هذه الحالة فإن $Hrpz_{pss}$ يبدو أنها تنبه تفاعل فرط الحساسية الأولي والذى بدوره يتحول إلى مقاومة جهازية مكتسبة .

ب – مادة النيكوتين أمايد Nicotinamide

عند دراسة هذه المادة ، وجد أنها تزداد في أوراق نبات البسلة ، تحت ظروف قاسية من الأكسدة ، ويمكن أن تخلق التعبيرات النموذجية للجينات المتعلقة بالدفاع مثل CHS أو PAL ، ولقد افترض على أنها وسيطة في استجابات الظروف القاسية في النباتات ، يتحول الـ Nicotinamide في النباتات إلى ترايجونللين (N-methyl nicotinc acid) والذي يحث المقاومة في الشعير ضد الفطر *E. graminis* ويخفض الدرجات العالية من DNA methylation . إن التغيرات في هذه العملية الأخيرة يمكن أن تشجع ميكانزم الدفاع بعد مهاجمة الكائن الممرض ، ولكن دخول التراجونللين في المقاومة الجهازية المكتسبة يحتاج إلى كثير من الدراسة .

جـ – حمض السلسليك : ونتكلم عن حمض السلسليك بالتفصيل .

حمض السلسليك Salicylic Acid (SA)

مقدمة :

إن قصة اكتشاف وتاريخ حمض السلسليك ، مذكورة بشكل موسع في مجلة Aspirin. Sci. Am. 244: 84 - 90 من قبل العالم Weissmann G. سنة ١٩٩١ . وللفائدة ، يمكن أن نذكر ، بأن أول اكتشاف لحمض السلسليك ، كان في أوراق أشجار الصفصاف ، في القرن الرابع قبل الميلاد ، وأن كلمة Salicylic مأخوذة من الكلمة اللاتينية لشجرة الصفصاف *Salix* . إن دواء الاسبرين الذي يستعمله الانسان عبارة عن

مركب حمض السلسليك ، ومن صفات الأسبرين أنه يخضع لعمليات hydrolysis ذاتية ، ويتحول إلى حمض السلسليك في المحاليل المائية . عند الإضافة الخارجية للأسبرين على النبات أو الحيوان أو الإنسان ، فإنه يتحول إلى حمض السلسليك . يعمل حمض السلسليك على وقف بناء الغدد المكونة للالتهاب بسبب حمض الارشيدونك . وله فوائد كثيرة في العلاج .

لاحظ العالم White سنة ١٩٧٩ ، أن معاملة الدخان بحمض السلسليك يمكن أن يخفض الأعراض المرضية المتسببة عن فيرس موزايك الدخان ، ويمكن أن يؤدي إلى تجمع البروتينات المتعلقة بالمرضية PRs . هذه الملاحظة قد حدث لها فيما بعد تأكيداً ، في دراسات أخرى ، إمتدت إلى كائنات ممرضة فطرية وبكتيرية مختلفة . وبالمثل فإن استعمال حمض السلسليك على نباتات مختلفة ، أيضاً يحث جينات المقاومة الجهازية المكتسبة . كما أن العالم VanLoon سنة ١٩٨٣ ، بين أن هناك علاقة بين حمض السلسليك والمقاومة الجهازية المكتسبة ، واقترح بأن التجمعات المستحثة بالاثيلين من البروتينات المتعلقة بالمرضية، تكون وسيطة في النبات عن طريق بناء مركبات فينولية (عطرية) والتي تشابه في عملها فعل حمض السلسليك . في سنة ١٩٩٠ كان هناك باحثان منفصلان كل يعمل في معمله ، وضعا فرضيات ، مفادها أن حمض السلسليك يمكن أن يكون إشارة داخلية للمقاومة الجهازية المكتسبة . بنيت هذه الفرضيات على ملاحظة أن المستوى الداخلي لحمض السلسليك ، يزداد موضعياً وجهازياً في نباتات الدخان ، المحقونة موضعياً بفيرس موزايك الدخان . كذلك فإن حمض السلسليك يزداد فى لحاء نبات الخيار المحقون ، قبل إظهار تعبيرات المقاومة الجهازية المكتسبة ، هذا يكون متناسقاً مع دورة إشارية للمقاومة الجهازية المكتسبة .

الصفات العامة لحمض السلسليك :

يتبع حمض السلسليك مجموعة مختلفة (استثنائية) من الفينولات النباتية ، ويعرف عادة بأنه مركب كيماوي ذو حلقة عطرية ، تحمل مجموعة هيدوكسيل أو إحدى مشتقاتها الفعالة . عادة ما يشار إلى الفينولات النباتية ، بأنها منتجات ثانوية من ميتابولزم النبات . تعني كلمة ثانوية ، أن مثل هذه المركبات ذات أهمية بسيطة للنبات ، وفي بعض الأحيان ، يمكن أن تكون متوازنة مع الفضلات النباتية . هذا الاعتبار قد تغير أخيراً وأصبح ينظر إلى

الفينولات ، بأنها مركبات تلعب دوراً أساسياً في تنظيم نمو النبات وتكشفه ولها تداخلات مع الكائنات الحية الدقيقة الأخرى .

من المعروف أن الفينولات مواد أساسية للبناء الحيوي للجنين ، وهو مكون تركيبي مهم في جدر خلية النبات . زيادة على ذلك فإن معظم الفينولات يمكن أن تكون فايتوالكسين (سموم نباتية) تشارك في الدفاعات الكيماوية للنبات ضد الميكروبات ، الحشرات وأكلات العشب .

هناك عديداً من المركبات الفينولية تعمل كمركبات allelopathic ، تؤثر في إنبات ونمو بعض أنواع النباتات القريبة منها . تكون الجزيئات الفينولية المنتجة بواسطة جذور النبات، أساسية للإنبات ، تكوين الممصات والتصاق العائل في الأنواع المتطفلة من *Striga* . أوضحت الأبحاث الأخيرة ، بشكل كبير ، بأن الفينولات تعمل كإشارات Signals في التفاعل بين النبات والميكروب . ولقد وجد في بكتيريا التدرن التاجي *Agrobacterium tumefaciens* أن تعبير جين شدة المرضية ، قد تشجع بشكل خاص ، بواسطة مركبات فينولية منتجة من قبل النبات مثل Acetosyringone و α-hydroxy acetosyringone . كذلك تفرز أنواع متخصصة من الفلافونيدات من بذور وجذور البقوليات ، وتكون ضرورية لحث الجينات الخاصة بالعقد الجذرية *nod* في كل من أنواع الجنس *Rhizobium* و *Bradyrhizobium* .

يكون حمض السلسليك الحر ، عبارة عن مسحوق بللوري ، ينصهر على حرارة ١٥٧ – ١٥٩°م ، يذوب بشكل متوسط فى الماء ، وشديد الذوبان فى المذيبات العضوية القطبية، الرقم الهيدروجيني لمحلول مائي مشبع من حمض السلسليك (pH2.4) . يعطي حمض السلسليك إشعاعات فلوروسنتية بطول ٤١٢ نانوميتر ، عندما يهيج على ٣٠١ نانوميتر . يمكن أن يعتمد على هذه الصفة في الكشف عن هذا المركب ، في عدد من النظم النباتية . لقد حضرت أجسام مضادة لحمض السلسليك ولكنها لم تختبر في النبات .

أثبتت الدراسات الرياضية الحديثة لصفات حمض السلسليك أن له $pK_a = 2.94$ و $\log K_{ow} = 2.26$ وهذا يسمى (Octanol water partitioning coefficient) ، وهو ينتقل مسافات طويلة في اللحاء . وبالتالي فإن حمض السلسليك الحر ، يكون نشيطاً في الانتقال ، التمثيل ، التحويل ، ويمكن أن ينتقل بسرعة من النقطة الأولية التي يتواجد فيها أو بني فيها إلى الأنسجة النباتية البعيدة .

لقد تأكد وجود حمض السلسليك في النبات من قبل كثير من الباحثين ، ولقد أجري مسح شامل لحمض السلسليك في الأوراق ، في التركيبات التكاثرية ، لحوالي ٣٤ نوعاً مهماً من المحاصيل الزراعية ، وتأكد وجوده وإنتشاره الكلي فيها ، مثل الأرز ، الشعير ، فول الصويا وغيرها . تصل نسبته في هذه النباتات ، في الوزن الطازج ($1ug\ g^{-1}$) . تكون أعلى نسبة لوجوده ، في النباتات المصابة بالكائنات الممرضة ، مسببة النكروزز وفي النباتات الـ Thermogenic الضوئية .

حمض السلسليك والازهار :

لقد عرف معظم الباحثين تأثير حمض السلسليك على الازهار، وذلك عند وضع قرص من الاسبرين في الماء الذي توضع فيه الازهار بعد قطفها ، حيث يجعل نضارة الازهار تستمر لمدة أطول . يمكن تفسير هذه الملاحظة ، علمياً ، وذلك بأن حمض السلسليك يثبط البناء الحيوي للأثيلين ، عن طريق إيقاف تحول مادة - l-aminocyclopropane l-carboxylic acid إلى الاثيلين . يكون هذا التثبيط في أعلى درجاته عند درجة حموضة pH 3.5 - 4.5 ، وإن التركيز اللازم لتثبيط إنتاج الاثيلين بنسبة ٥٠٪ هو ٤٠ ميكرومول ، بعد ثلاثة ساعات من التحضين . أظهر الاسبرين مستويات من التثبيط ، من بين ٢٢ مادة فينولية مختبرة ، مشابهة لتلك التي يحدها حمض السلسيك . بالمقابل فإن هناك بعض النتائج حصل عليها من دراسة معلق خلايا الكمثرى ، تدل على أن المستويات غير السامة من حمض السلسليك ، لم تؤثر على بناء الاثيلين في عقل فول الصويا . كذلك أيضاً ، فإنه من غير المحتمل أن تكون المستويات الداخلية لحمض السلسليك في الأنسجة الزهرية عالية بكمية كافية لتؤثر على تكوين الاثيلين في أنسجة الزهرة . بالإضافة لذلك فإن الاثيلين لا يكون دائماً داخلاً في شيخوخة الازهار . إلا أن هذه النتائج (لو كانت مؤكدة) لا تلغي دور حمض السلسليك فى تأثيره على تأخير البناء الحيوى للأثيلين فى بقية أنواع ازهار النباتات الأخرى . ولقد ثبت فعلاً أن الاسبرين يستمر في تأخير شيخوخة الازهار في الورد ، من المحتمل أن يكون هذا التأثير راجعاً إلى تحميض الوسط المستعمل لتغذية عقل الازهار ويمكن أن يتكاتف مع أحماض عضوية أخرى .

كانت أول ملاحظة للتأثيرات الحادثة على الازهار ، من قبل حمض السلسليك ، في مزارع أنسجة بعض أنواع نبات الدخان Organogenic المزودة بالكينتين واندول أستك أسد. وجد أن جميع أحماض الهيدروكسي بنزويك الاحادية ، تشجع تكوين البرعم الزهري من

كالوس نبات الدخان ، ويكون حمض السلسليك فعال حتى بتركيز ٤ ميكرومول . هناك عدداً من الجزيئات المختلفة الأخرى تحث على تكوين البرعم الزهري في مزارع خلية الدخان.

كان أول إقتراح بأن حمض السلسليك يتدخل في تنظيم الازهار ، في النباتات ، قد جاء من التجارب التي سمح فيها لحشرات المن بالتغذية على النموات الخضرية والتكاثرية لأفرع النبات *Xanthium strumarum* ذو النهار القصير . لقد إفترض أن العامل المسئول عن الحث على الازهار يمكن أن يتواجد في الندوة العسلية المفرزة من المن ، هذا العامل ينقله المن إلى النبات الذي يتغذى عليه ويحثه على الازهار . لقد عرفت وحددت المكونات الحاثة على الازهار ، بالإضافة إلى مثبطات الازهار ، في الندوات العسلية المجموعة من النبات المذكور سابقاً ، ومن النبات ذو النهار الطويل المسمى *Lemna gibb* سلالة G3 . تبين أن حمض السلسليك هو المادة الحاثة على الازهار في النبات ذو النهار القصير المذكور سابقاً . إن تركيز ٥,٦ ميكرومول ، تسبب أعلى حث لتكوين الازهار في النبات ذو النهار الطويل المذكور سابقاً . ولقد وجد أن حمض السلسليك يسرع إنتاج الازهار في نبات *Lemma* ، بينما له تأثير قليل على معدل تكشف الزهرة فيما بعد . وجدت تأثيرات مشابهة لحمض السلسليك على الازهار ، في كثير من الأنواع النباتية ، سواء كانت ذات نهار طويل أو قصير ، تتبع لعائلات مختلفة . بالإضافة لذلك وجد أن حمض السلسليك ، الاسبرين والفينولات القريبة منها ، تنبه الازهار ، تحت ظروف غير مشجعة من الفترات الضوئية في كل من النباتات التالية : *Spirodela polyrrhiza* ، *S. punctata* و *Wolffia microscopica* والتي تتبع لاجناس أخرى من عائلة Lemnaceae . كذلك وجد أن حمض السلسيك غير المتفكك أو المعامل حرارياً والذي هو في شكله الطبيعي ، الأكثر فعالية في تنشيط الازهار ، مع بعض الاستثناءات . بشكل عام فإن الزيادة في المقدرة على الاحتفاظ بالالكترون والخفض في حجم حلقة البنزين ، يتعلق مع مقدرة أحماض البنزويك المختلفة في الحث على الازهار .

وجد أن الاسبرين عندما يتحد مع السكروز ، يزيد تفتح الازهار في Oncidium (نوع من الاركد يستعمل للزينة) . كما ثبت أيضاً بأن تأثير حمض السلسليك ، على توقيت إبتداء البرعم الزهري ، وعلى العدد الكلي للبراعم الزهرية ، يكون تعاونياً مع تأثير حمض الجبرلك ، ويكون هذا متبوعاً بالزيادة في المحتوى الكلى من RNA ، أنزيم الفسفاتيز وبعض

البروتينات الأخرى في الأعضاء الخضرية للنباتات المعاملة . هناك تعاوناً متشابهاً بين حمض الجبرلك GA_3 وحمض السلسليك ، قد لوحظ في تسريع الازهار في نبات الارابدوبسز .

أما الميكانزم الذي بواسطته يستطيع حمض السلسليك الحث على الازهار في النباتات ، فهو غير مؤكد تماماً . تقترح إحدى النظريات أن حمض السلسليك يحث الازهار عن طريق عمله كعامل مخلبي chelating agent ، بسبب أن مجموعة O-hydroxyl الحرة تمنح المعدن المخلبي نشاطاً على أحماض البنزويك . هذه الفكرة قد دعمت بحقيقة أن العوامل المخلبية يمكن أن تحث الازهار في نباتات عائلة Lemnaceae ، وأن هذا الحث مشابهاً لتأثير حمض السلسليك في حثه على الازهار . مع ذلك فإن النشاط الزهري لحمض البنزويك والفينولات الأخرى غير المخلبية ، يؤدي إلى القول بأن هناك ميكانيكيات أخرى داخلة في الحث على الازهار . إن الصفات المخلبية للحديد المتوفرة في حمض السلسليك ، يمكن بأى حال من الأحوال ، أن توضح التأثير المثبط لحمض السلسليك على أنزيم تشكيل الاثيلين ، بسبب أن الحديد عامل مساعد أساسي لانقلاب مادة 1 - aminocyclo - propane - 1 - carboxlic acid إلى الاثيلين .

تأثير حمض السلسليك على الأغشية وامتصاص الأيونات :

تفرز الكيماويات المسماه Allelopathic بواسطة بعض النباتات ، لمنع إنبات أو تثبيط نمو النباتات المجاورة لها . لقد إقترح بأن حمض السلسليك المنتج في الرايزوسفير ، لبعض النباتات يعمل كعمل الكيماويات allelopathic والتي تثبط نمو التركيبات الخضرية القريبة منها . لقد وجد أن حمض السلسليك يخفض تجمع المواد الصلبة ، في الفروع النباتية لكثير من المحاصيل وأنواع الأعشاب ، هذا ربما يكون عن طريق التداخل في إنتقال الأيون الغشائي فى الجذور.

فى الأجهزة الحيوانية فإن حمض السلسليك ، يزيد كفاءة الأغشية ، وذلك عن طريق زيادة البوتاسيوم الواصل إليها ، وتخفيض نسبة الكلوريد الممتص . وبنظرة عميقة إلى الأجهزة النباتية ، يتبين أن حمض السلسليك بتركيز ٠,٠٥ مللي مول ، يثبط امتصاص الفسفات بنسبة ٥٤ ٪ ، وينخفض فعلياً امتصاص البوتاسيوم فى جذور نبات الشعير . كذلك فإن حمض السلسليك يثبط إمتصاص البوتاسيوم في جذور الشوفان ، بصفات وتركيزات معينة للأس الهيدروجيني . وجد أنه على درجة pH منخفضة ، فإن حمض السلسليك يكون أكثر كفاءة في تثبيط امتصاص البوتاسيوم ، هذا يؤدي إلى القول بأن الشكل الـ Protonated لحمض السلسليك يكون أكثر فعالية منه في حالة Charged form . بسبب

حمض السلسليك إنهيار أو إنكماش فى الأغشية الناقلة ، والكفاءة الالكتروكيماوية في الميتوكندريا ودرجة البروتون المعتمد على ATP في الأوعية الغنية بمادة التونوبلاست .

وجد أيضاً أن حمض السلسليك بتركيز (١-١٠) مللي مول ، يخفض بشكل معنوي درجة التنفس في أوراق نبات الفاصوليا ، وخيوط البشرة الخارجية في نبات *Commelina communis* . نظراً لأن التركيزات العالية من حمض السلسليك هي المستعملة في التجارب، فإنه من غير المحتمل أن هذه التركيزات تمتلك أية تأثيرات معنوية للتنظيم الفسيولوجي لسلوك الثغور . في التجارب المتأخرة على حمض السلسليك والأحماض الفينولية الأخرى تبين أنها عكست غلق الثغور المستحث بواسطة ABA وتساقط الورقة في الفاصوليا . كذلك تبين أن حمض السلسليك والمركبات الفينولية القريبة منه ، أيضاً ، تقاوم التأثيرات المثبطة للنمو المتسببة عن ABA في بادرات الفجل و *Amaranthus caudatus* .

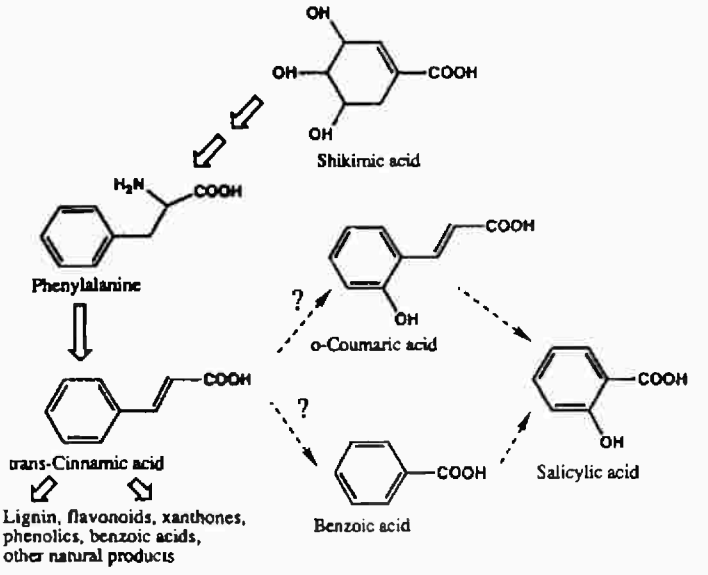
هناك تأثيرات أخرى لحمض السلسليك على تكشف النبات ، تشمل زيادة أعداد القرون والمحصول في بعض أنواع الفاصوليا Mung bean ، وتزيد في عدد وطول بذور *Panicum miliaceum* . عند استعمال حمض السلسليك مع أندول أستك أسد بتركيز ٠,١ مللي مول، فإنه يشجع تكوين بدايات الجذور العرضية في الفاصوليا المذكورة سابقاً . أما تركيز ٠,٠١ – ٠,١ مللي مول فإن حمض السلسليك يزيدنشاط أنزيم nitrate reductase في بادرات الفاصوليا بطريقة غير مباشرة ، عن طريق حفظ الأنزيم من المثبطات .

البناء الحيوى لحمض السلسليك فى النبات

Salicylic Acid Biosynthesis In Plants

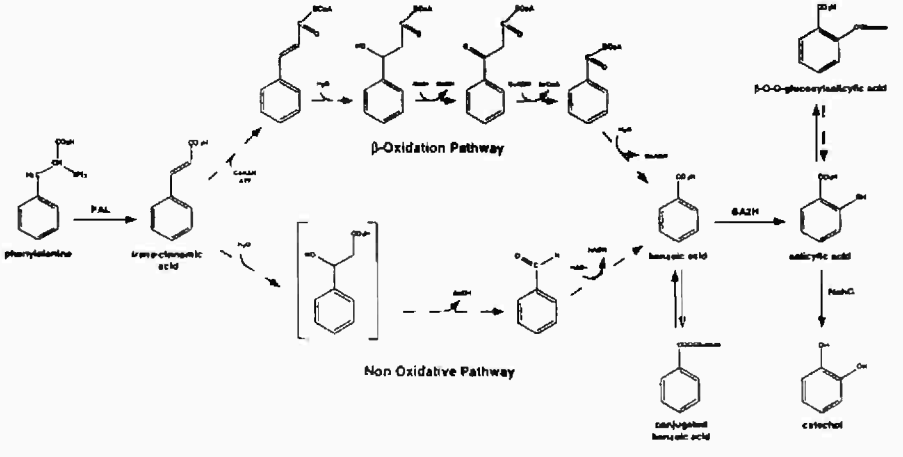
١ - ممر البناء الحيوي Biosynthetic Pathway

تعتمد أية محاولات مستقبلية ، للتعامل مع مستويات حمض السلسليك ، على فهم البناء الحيوي لهذا الحمض . إن أكثر وأشهر ميكانزم ، مهم ، لبناء أحماض البنزويك في النبات ، هو تحطيم السلسلة لأحماض السينامك، والتي تكون وسيطات مهمة في ممر حمض الشيكمك Shikimic acid ، وبالتالي فإن SA (ortho - hydroxybenzoic acid) ، يمكن أن ينظر إليها كمشتق من حمض السينامك Cinnamic acid (شكل رقم ١) . الانقلاب الذي يحدث في حمض السينامك إلى حمض السلسليك من المحتمل أن يسلك واحداً من الممرين . هذين الممرين يختلفين في موقع وترتيب وتفاعلات الـ β-oxidation و Ortho - hydroxylation ويمكن أن تعمل لوحدها في النبات .



Proposed pathway for salicylic acid biosynthesis in plants.

شكل رقم (١ : أ)



Proposed SA Biosynthetic Pathways in Plants.

Oxidative and nonoxidative pathways for the conversion of *t*-CA to BA, leading to formation of SA, are shown. Solid arrows indicate established biochemical reactions, whereas broken arrows indicate possible steps not yet described (see Yazaki et al., 1991).

شكل رقم (١ : ب)

الاقتراحات التي تقول إن كلا الممرين يمكن أن يعملا في النبات ، جاءت من الأبحاث المنشورة والتي لوحظ فيها أن إصابة نباتات الطماطم الصغيرة بالبكتيريا *Agrobacterium tumefaciens* يزيد في كمية الـ Ortho - hydroxylation الخاصة بالسينامك أسد إلى O - coumaric acid متبوعاً بواسطة β-oxidation إلى السلسليك أسد. أما في النباتات غير المصابة ، فإن السينامك أسد يتحول إلى بنزوك أسد ثم يدخل في ممر حمض السلسليك ، هذا يكون أكثر فعالية .

إن وجود كلا الممرين في النبات ، قد اقترح بواسطة El-Basyouni *et al* سنة ١٩٦٤ الذي وجد أن أحماض الهيدروكسي بنزوك يمكن أن تبنى في مجموعة من النباتات ، من تشابه وتطابق أحماض هيدروكسي سيناميك . وعلى أية حال فإن تجارب التغذية والبوادئ أظهرت أن الـ β-oxidation لنبات *Catalpa orata* هي آخر مرحلة في تكوين أحماض البنزويك من أحماض السيناميك المتطابقة . كذلك أيضاً فإن تغذية الأوراق الصغيرة لنبات *Gaultheria procumbens* بمادة البنزويك ذات كربون ١٤ أو سينامك أسد ذو كربون ١٤ يؤدي إلى تكوين سلسليك أسد معلم ، هذا يؤدي إلى القول ، بأن نماذج الـ Hydroxylation لحمض hydroxybenzoic في النباتات يمكن أن تتأسس قبل وبعد β-oxidation .

٢ - البناء الحيوي الانزيمي

معظم الدراسات التي أجريت على عملية الهيدروكسليشن لمادة Cinnamate قد استعملت trans - cinnamate - 4 - hydroxylase والتي تقلب trans - cinnamic acid إلى Para coumaric acid .

هذا التفاعل هو الخطوة الأولي للبناء الحيوي لكل من اللجنين ، فلافونويدز والـ Ubiquinone . كان أول اكتشاف لهذا الأنزيم في النبات (في بادرات البسلة) ، ثم بعد ذلك اكتشف وجوده في أجزاء ميكروسوم *Quercus peduncalata* . أما بالنسبة لأنزيم Trans - cinnamate - 4 - hydroxylase كان موصوفاً (بالمناعة) في ميكروسومات وميتوكندريا البسلة ، وذلك باستعمال أجسام مضادة عديدة . الكلونة ولدت أنزيماً ضد أنزيم البكتيريا *Pseudomonas putida* والذي يطلق عليه Camphor hydroxylase .

تم حديثاً تنقية هذا الأنزيم من مكروسومات نسيج درنة نبات الطرطوفة ، المستحث بالمنغنيز . ولقد تم اكتشاف طريقة لفحص وتحليل هذا الأنزيم في النبات ، تسمي - High performance liquid chroma - tography protocol (HPLC) . أما الأنزيم الذي يقوم بقلب حمض *trans* - cinnamic إلى حمض 2-hydroxy cinnamic (0-coumaric) قد تم عزله من كلوروبلاست *Melilotus alba* . هناك مثال آخر هو طريقة *Ortho* - hydroxylation للحمض *trans* - cinnamic قد تم وصفها في كلوروبلاست نبات *Petunia hybride* . كلتا الحالتين بالنسبة - *trans* - cinnamate hydroxylase ، تكون غالباً وبالتأكيد هي سايتوكروم P - 450 - monoxygenases معتمدة على NADPH وتمثل P-450 الأكثر شهرة والذي تم اكتشافه في النباتات .

لا يوجد معلومات عن أنزيم Monoxygenase ، الذي يمكن أن يتدخل في بناء حمض السلسليك من حمض السينامك . من غير المعروف ، فيما إذا كانت تحولات هذه التجمعات من البوادئ ، تلعب دوراً معنوياً في تجمع حمض السلسليك ، خلال تفاعل الحساسية المفرطة . لقد عرفت كفاءة مثل هذه التحولات الموجودة عن طريق عزل يوريدين داي فسفو جلوكوز *trans* - cinnamate glucosyltrans ferase والتي يمكن أن تعمل كاتليز لـ glucosylation of Q - coumaric acid من جذور نبات البطاطا الحلوة . كذلك عرف إنقلاب حمض البنزويك ذو الكربون ١٤ إلى بنزول بتادي جلوكوز في السويقة الجنينية لنبات *Helianthus* .

لا نزال نحتاج إلى دراسات كثيرة ، لتأكيد ميكانزم ومنشطات البناء الحيوي لحمض السلسليك ، من حمض السينامك ، ولتنقية الأنزيمات الداخلة في البناء الحيوي لحمض السلسليك في الطبيعة . إن اكتشاف أهمية الدور الذي يقوم به هذا المركب في تنظيم بعض العمليات الفسيولوجية في النبات ، يعطي هذه الأبحاث والدراسات الأولوية القصوي . هذه الدراسات سوف تؤدي أخيراً إلى كلونة أنزيمات البناء الحيوي لحمض السلسليك من النبات.

إنتاج حمض السلسليك ميكروبيا :

هناك كثير من الكائنات الحية الدقيقة تنتج حمض السلسليك : أولاً عن طريق كروزمك أسد ، وهو وسيط مهم في ممر حمض الشكمك . يمكن أن تكون معدلات البناء

الحيوي الميكروبي لحمض السلسليك وإفرازه حقيقة واقعة . فمثلاً الميكروب *Mycopacterium smegmatis* ، ينتج ٣٦ ملغ حمض سلسليك لكل عشرة غرام وزن جاف من الخلايا في يوم واحد . أما الميكروب *Pseudomonas aeruginosa* ، فإنه ينتج حمض السلسليك كمادة وسيطة في البناء الحيوي لكل من Pyochelin و Phenolate سايدوفور ، والتي تلعب جزءاً مهماً في تفاعلاته مع نظام تغذية الكائنات الدقيقة المتنافسة على الغذاء . كذلك فإن الكائنات الحية الدقيقة المصاحبة لنباتات المحاصيل ، تكون أيضاً قادرة على بناء وإفراز السلسليك أسد . نظراً لأن الفضلات النباتية وإفرازات الجذور ، هي مواد جيدة لإنتاج حمض السلسليك الميكروبي ، فإن كميات كبيرة من حمض السلسليك يمكن أن تتواجد في عينات التربة المأخوذة من منطقة الرايزوسفير . فمثلاً تربة الرايزوسفير لنبات الذرة وبعض أنواع الفاصوليا تحتوي ٣١ ، ٤١ ميكروغرام سلسليك أسد في كل ١٠٠ غرام تربة بالترتيب ، بينما مستويات حمض السلسليك في التربة غير الرايزوسفيرية ، إما أنها تكون صفر (لاتحتوي على أية كمية من هذا الحمض) أو أنها تحوي كمية لا تذكر . ولقد وجد أيضاً أن أنواعاً مختلفة من أحماض البنزويك في الرايزوسفير ، تقوم بدور وقاية أو allelopathic .

حمض السلسليك إشارة للمقاومة الجهازية المكتسبة

Salicylic Acid As A Signal For SAR

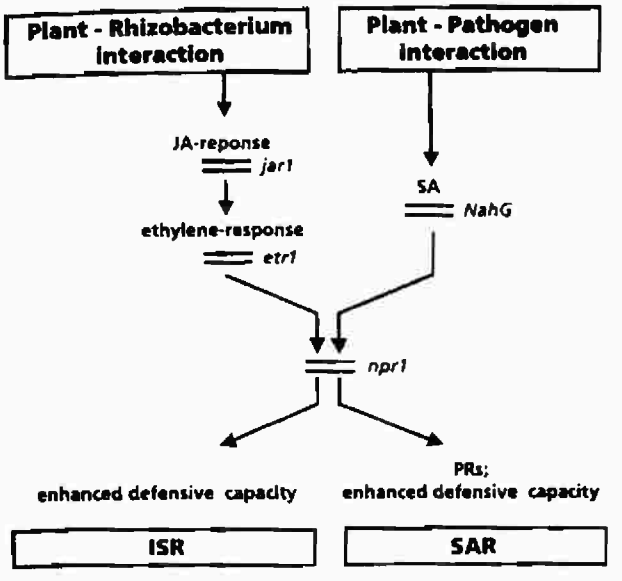
إن كلاً من توقيت الزيادة في حمض السلسليك ، بالإضافة إلى المستويات الداخلية ، التي يصل إليها ، والتي تكون كافية للحث على إنتاج البروتينات المتعلقة بالمرضية PRs ، كلها تتفق مع النظرية التي ، تقول بأن حمض السلسليك هو إشارة للمقاومة الجهازية المكتسبة . ومما يؤكد ذلك فإن نفس جينات PRs تكون مستحثة بالإضافات الداخلية لحمض السلسليك ، وخلال الحث الحيوي للمقاومة الجهازية المكتسبة . كذلك فإن تجمعات حمض السلسليك ، أيضاً ، تكون متعلقة بشكل كبير مع تعبيرات المقاومة الجهازية المكتسبة ، في نبات الدخان المحقون بفيرس موزايك الدخان الموضوع تحت مستويات حرارية مختلفة : فمثلاً على حرارة أعلى من ٣٢°م ، فإن كلا من SAR ، والتغيرات الملازمة للمقاومة ، تعبيرات PRs ، ومحتويات حمض السلسليك ، كلها تتوقف . أما على حرارة أقل من ٣٢°م فإن كل هذه العوامل تنشط وتعطي تعبيرات مجتمعة .

كانت أهمية حمض السلسليك في النقل الإشاري للمقاومة الجهازية المكتسبة ، أكثر تأكيداً باستعمال نبات الدخان المحول وراثياً ونباتات ارابدوبسز *Arabidopsis* المهندسة وراثياً لإظهار التعبير الواضح لأنزيم SA-hydroxylase ، هذا الأنزيم مأخوذ من البكتيريا *Pseudomonas putida* الداخل في ميتابولزم النفثالين ، ويكون عامل وسيط محفز لانقلاب حمض السلسليك إلى الكاتيكول غير النشط ، في المقاومة الجهازية المكتسبة في النباتات المعاملة بالجين *NahG* (جين نفثالين هيدروكسيليز) ، كما في شكل (رقم ٢) ، تكون مستويات حمض السلسليك منخفضة وتتوقف المقاومة الجهازية المكتسبة ، هذا يدل على أن حمض السلسليك يكون مطلوباً لحث المقاومة الجهازية المكتسبة . هذه الدراسات أظهرت أن استبعاد حمض السلسليك يؤثر في Gene - for - gene - resistance . إن أهمية حمض السلسليك في هذه المقاومة ، قد ثبت بوضوح باستعمال 2 - amino - indane - 2 - phosphoric acid والذي يرمز له (AIP) ، المثبط لنشاط PAL ومر البناء الحيوي لفينايل بروبانويد مؤدياً إلى حمض السلسليك . أصبح التفاعل غير المتوافق بين الايكوتايب Co1-O في نبات الارابدوبسز والفطر *Peronospora parasitica* عزلة EMWA، متوافقاً بعد معاملة هذا النبات بمادة AIP . التزويد الخارجي بحمض السلسليك يضاد تأثير AIP . وبالتالي فان نشاط كل من PAL وحمض السلسليك يكون مطلوباً للاستجابة الدفاعية بوساطة جين المقاومة .

هناك أدلة أخرى لدور حمض السلسليك في المقاومة الجهازية المكتسبة ، حصل عليها من طفرات نبات الارابدوبسز ، الطفرة *cim3* ، تظهر مناعة أساسية ضد الكائنات الممرضة الشديدة المرضية ، دون حدوث بقع نكروزز واضحة محددة ، تتجمع بمستويات تأسيسية لـ mRNAs كأداة للمقاومة الجهازية المكتسبة PR-1 ، PR-2 و PR-5 ، بالإضافة إلى مستويات مرتفعة من حمض السلسليك الحر والمحول .

إن أهمية حمض السلسليك قد ثبتت بواسطة تعبيرات الجين *nahG* في *cim3* . في هذه الحالة فإن كلاً من المناعة الأساسية والتعبيرات الأساسية لجينات المقاومة الجهازية المكتسبة تكون مفقودة . عرفت الطفرة غير الحساسة لحمض السلسليك ، بأنها التي تدوم حياتها على بيئة مزودة بتركيزات سامة من حمض السلسليك ، هذه الطفرة ليست فاقدة قدرتها على أخذ حمض السلسليك من البيئة ، ولا عندها القدرة لإنتاج مستويات عالية من حمض السلسليك بعد حقنها بكائن ممرض مسبب نكروزز . بعد الحقن الموضعي على

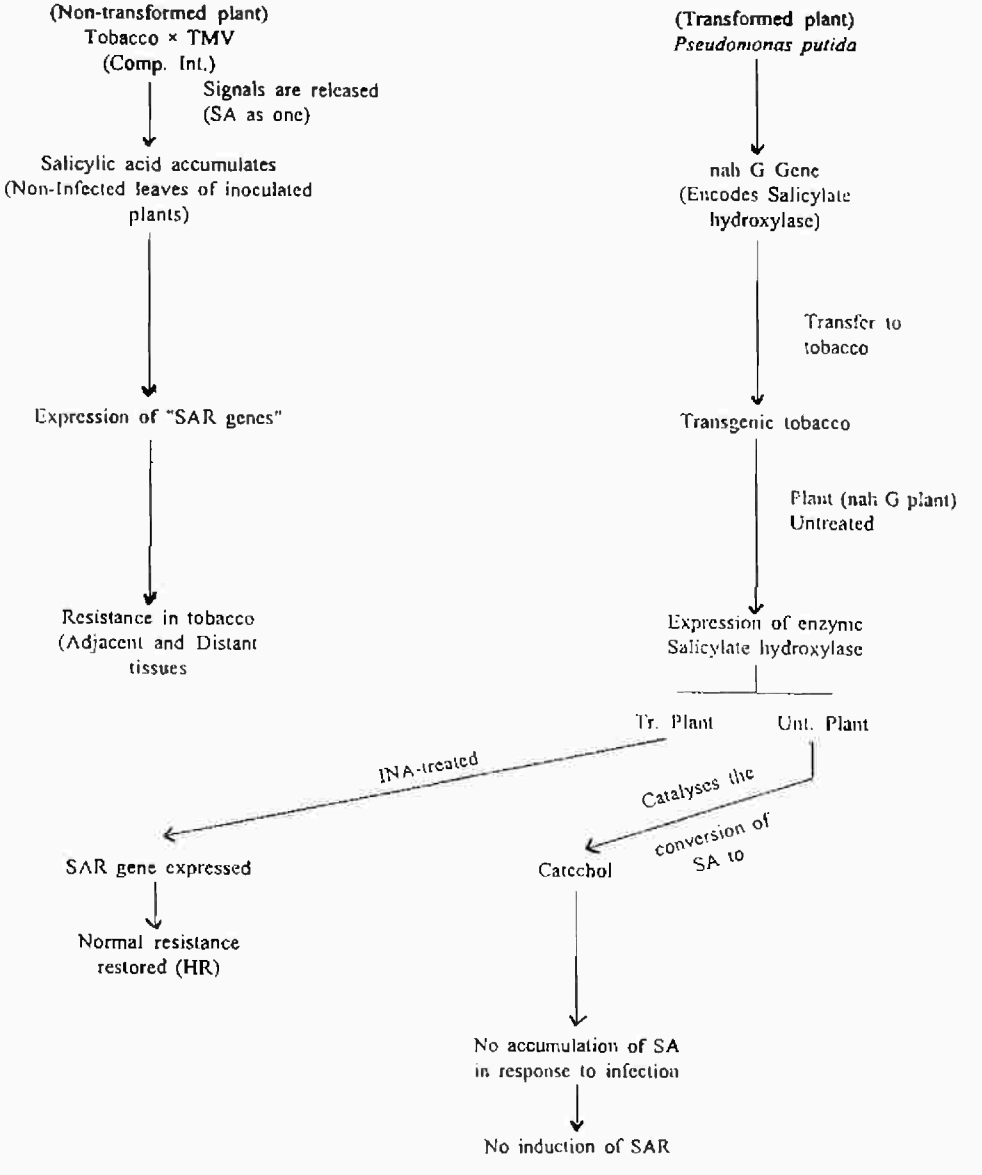
الأوراق السفلية ، فإن هذه الطفرة لم تظهر المقاومة الجهازية المكتسبة في الأوراق العلوية ، غير مشابهة فى ذلك النوع الأصلي . ليس للإضافات الخارجية لحمض السلسليك أية تأثير، بينما إضافة INA يعيد ويجدد المقاومة ، هذا يدل على أن الطفرة ، من المحتمل أن تكون في وقت ، أو بعد قليل من إدراك وصول حمض السلسليك ولكن قبل إدراك وصول INA وبالتالي فإن المقدرة على إدراك حمض السلسليك يكون أساسياً للحث على إنتاج المقاومة الجهازية المكتسبة .



شكل رقم ٢ :أ :

ممرات النقل الإشاري تؤدي إلى المقاومة الجهازية المكتسبة المستحثة بالكائن الممرض (SAR)

المقاومة الجهازية المستحثة بالرايزوبكتيريا (ISR)



شكل رقم ٢ : ب : النقل الإشاري للمقاومة الجهازية المكتسبة

SA: Salicylic acid; SAR: Systemic acquired resistance

Tr : Treated; Unt.: Untreated

تجارب التطعيم Grafting بين NahG ونباتات النوع الأصلي ، أظهرت أن حمض السلسليك يكون ضرورياً للحث على المقاومة الجهازية المكتسبة ، ولكن هناك إشارة أخرى غير حمض السلسليك يمكن أن تنقل إلى الأوراق العلوية وتحث على المقاومة .

في تجارب أجريت على الورقة المفصولة من الخيار ، أدت إلى نتائج مفادها أن هناك إشارة جهازية أولية عدا من حمض السلسليك ، بإمكانها الحث على تجمع جهازي لحمض السلسليك . نباتات الدخان المحولة وراثياً ، تعبر بإدراك تنظيمي لجين PAL من الفاصوليا ، تظهر تثبيط مزدوج وراثي لنشاط PAL مع ملازمة تثبيط منتجات الفينايل بروبانويد . بعد الإصابة الموضعية لفيرس موزايك الدخان ، هذه النباتات تنتج كميات منخفضة من حمض السلسليك موضعياً وجهازياً . أما PRs فإنها تستحث موضعياً فقط وليس جهازياً ، كما وأن تحصين الأوراق العلوية لا يؤدي إلى تقييد أو حصر البقع كما هو ملاحظ في نباتات الكنترول . إن إجراء عملية التطعيم ، باستعمال طعوم من النوع الأصلي على أصول ذات جذور مثبطة لـ PAL ، فإنه لا يلغي المقاومة الجهازية المكتسبة . وعلى أية حال فإن المقاومة الجهازية المكتسبة ، تفقد ، عندما توضع طعوم مثبطة لـ PAL على أصول نباتات النوع الأصلي (البري) ، وبالمثل بالنسبة للتطعيم بالنباتات ذات الجين NahG . هذه التجارب دعمت الفكرة أو النظرية (فيما بعد) التي تقول إن الإشارات الجهازية قد تكون مركبات أخرى عدا عن حمض السلسليك الداخل في المقاومة الجهازية المكتسبة .

بجانب هذه التقارير الدالة على وجود إشارات جهازية ، عدا عن حمض السلسليك ، هناك دراستين أظهرتا أن حمض السلسليك المنتج في منطقة الإصابة ، ينتقل فعلاً إلى الأجزاء الجهازية في إطار الوقت السليم ، ليعمل كعامل حيوي إشاري للمقاومة الجهازية المكتسبة . وجد أنه عند معاملة الأوراق السفلية لنبات الدخان بالأكسجين ١٨ ، يتبين في حوالي ٦٠٪ من النباتات المعلمة أنه يمكن اكتشاف حمض السلسليك في الأوراق العلوية ، هذا يدل على الزيادة الجهازية لحمض السلسليك في الأوراق العلوية ، مؤدياً إلى درجات كبيرة من نفس الحمض منقولة من الورقة السفلية المحقونة . أما في الخيار فإن حمض السلسليك الداخلي المعلم إشعاعياً بعد تغذية بوادئه بحمض البنزويك BA في النسيج المصاب يسمح بحركة حمض السلسليك ذو الكربون ١٤ بحيث يمكن تتبعه . لقد تم اكتشاف حمض السلسليك ذو الكربون ١٤ في الورقة الأولى في النبات بعد يومين من تعليم الفلقة بحمض البنزويك ذو الكربون ١٤ وحقنها بفيرس نكروزز الدخان ، بينما المقاومة الجهازية

المكتسبة يمكن قياسها في الورقة الأولى بعد ثلاثة أيام من حقن الفلقة . كذلك فإن حقن الفلقة يزيد نقل حمض السلسليك إلى الورقة الأولى ، وبالتالي يبدو أن هناك غزارة في التأشير signaling لحمض السلسليك بالإضافة إلى مؤشرات جهازية أخرى يمكن أن تتدخل في المقاومة الجهازية المكتسبة .

طريقة فعل حمض السلسليك :

باستعمال الأبحاث البيوكيميائية ، تبين أن البروتين المرتبط بحمض السلسليك هو كاتليز . ونظراً لأن حمض السلسليك يوقف جزئياً نشاط الكاتليز لهذا البروتين المرتبط مع حمض السلسليك ، لذلك إقترح بأن الماء الأكسجيني (H_2O_2) ، يعمل كناقل ثانوي لحمض السلسليك للحث على تفاعلات متعلقة بالدفاع بالإضافة إلى المقاومة الجهازية المكتسبة . على أية حال ، هناك تقارير عديدة أظهرت أن الماء الأكسجيني ، من غير المحتمل أن يكون ناقل ثانوي لحمض السلسليك . إن المستوى الداخلي للماء الأكسجيني في الأوراق غير المصابة من نباتات الدخان المصابة، لا يتعلق مع تأسيس وتوطيد المقاومة الجهازية المكتسبة . تكون المستويات الداخلية من الماء الأكسجيني المتكشفة في النسيج غير المحقون من النباتات المحقونة موضعياً ، في مستوى النانومولر ، تحت الـ Kd لربط الكاتليز والذي ذكر بأنه يجب أن يكون ١٤ ميكرومول . بالإضافة لذلك ، وجد أنه ، مع أن أوراق نبات الكنترول المرشحة بواحد مول من الماء الأكسجيني يتجمع فيها PR-1mRNA ، إلا أن أوراق نباتات NahG المرشحة بالماء الأكسجيني على نفس التركيز لا يحدث فيها ذلك ، هذا الذي يدل على أن حمض السلسليك مطلوب لكي يقوم الماء الأكسجيني بعمله . تحت المستويات المرتفعة من الماء الأكسجيني على تجمع حمض السلسليك ، هذا أيضاً ، يؤدي إلى القول ، بأن الماء الأكسجيني ، من الممكن أيضاً أن يحث على تجمع PR-1mRNA أثناء تكوين حمض السلسليك .

إن الدور الحيوي لحمض السلسليك في تثبيط الكاتليز غير معروف . هناك تقارير عديدة أظهرت أن حمض السلسليك في تركيزات عالية (١ مللي مول) يمكن أن يرتبط مع ويثبط عديداً من الأنزيمات المحتوية هيماتين ، مثل الكاتليز ، اسكوربيت أو اكونيتيز بواسطة فعالية المحبة للحديد . في منطقة الإصابة (إذا ما حدثت) فإن مستوى حمض السلسليك يكون في المدى اللازم لتثبيط الكاتليز أو الأنزيمات الأخرى قريبة الصلة . وبالتالي فإن الماء الأكسجيني المنتج ، من الممكن تخيله أنه يضيف إلى/و يقوي تفاعل oxygen species

(OH، O_2، H_2O_2) الأكسجين المشحون الجاهز الإنتاج خلال oxidative burst ، بعد الحقن وينبه نظام الاستجابات الدفاعية الموضعية . وبالتالي فإن حمض السلسليك يمكن أن يمتلك فعاليات مختلفة على المستويات الموضعية والجهازية .

من الفعاليات الأخرى المعروفة لحمض السلسليك، هو تأثيره المباشر المضاد للميكروبات . كذلك فإن حمض السلسليك يمكنه أن يعمل كمثبط لخطوة من خطوات البناء الحيوي لحمض الجسمنك ، مركب يتدخل في التعبير الجيني المستحث بالجروح . والسؤال الذى بقى أن تعرف اجابته هو فيما إذا كانت هذه الأفعال كلها ذات صلة وثيقة مباشرة بالمقاومة الجهازية المكتسبة ؟؟

هناك اهتمامات كبيرة أعطيت لفعل حمض السلسليك فيما يتعلق بحادث عملية النكروزز الأولية ، هل حمض السلسليك مسبب لموت الخلية أم أنه نتيجة هذا الموت ؟؟ للإجابة على هذا السؤال يمكن القول :

١ – يمكن أن يكون حمض السلسليك سامًا .

٢ – عند إضافة حمض السلسليك بالمستويات المثالية ، فإنه يحث أو يخلق المقاومة الجهازية المكتسبة دون تكوين بقع نكروزز .

٣ – في النباتات المعبرة *nahG* ، حيث المستوى الداخلي لحمض السلسليك منخفض ، فإن تكوين البقع لا يكون ضعيفاً .

٤ – هناك عديداً من الطفرات مثل (Isd) وواحدة من (acd) تظهر البقع الموضعية وتجمع كميات عالية من حمض السلسليك ، وتعبر عن مستويات عالية من mRNA لجينات المقاومة الجهازية المكتسبة بالإضافة لزيادة المقاومة باتجاه الكائن الممرض .

تكون هذه المعلومات همزة الوصل بين النكروزز الأولي والمقاومة الجهازية المكتسبة . أظهرت تجارب الـ Epistasis أن التهجين بين نباتات الطفرات Isd_7 ، Isd_6 ، Isd_4 ، Isd_2 ، Isd_1 و NahG ، يعطي نباتات لا تعبر عن PR-1 وفقدت المقاومة ضد العزلات الشديدة للفطر *Peronospora parasitica* ، ونظراً لأن تكوين البقع يكون مقصوراً فقط في Isd_4 و Isd_2 موضحة *nahG* ، على الأقل ، فإن هذا النوع من النكروزز يكون مستقلاً عن حمض السلسليك . وبالمقابل فإنه في طفرات Isd_7 ، Isd_6 ، Isd_1 المعبرة عن *nahG*، يتوقف تكوين البقع ، هذا يدل على أن موت الخلية يكون معتمداً على أمور ذات

صلة بحمض السلسليك . هذه النتيجة محيرة إلى حد ما ، إلا أنه قد تم توضيحها بواسطة تجارب أخرى طويلة مذكورة فى مجلة Plant Cell 7: 2013 - 2022 الصادرة سنة ١٩٩٥ تحت اسم الباحث Weymann *et al* .

هناك بعض النباتات تشكل البقع ذاتياً ، قد حصل عليها عن طريق التعبير العالي باستعمال أنزيم Invertase المأخوذ من الخمائر في الدخان ، من الفجوات العصارية يسمى (Vac Inv) أو المأخوذ من جدار الخلية ويسمى (CwIv) . مثل هذه النباتات تكون بقع ذاتية مترافقة مع ارتفاع مستويات حمض السلسليك ، يزيد تعبيرات جينات المقاومة الجهازية المكتسبة ، وتزيد المقاومة لفيرس X البطاطس ، ويبدو أن حمض السلسليك وسيط هام وحرج بين النكروزز وتكشف المقاومة الجهازية المكتسبة . الدراسة المهتمة بالنباتات عالية التعبير لأنزيم الانفرتيز السيتوبلازمي ، وتزيد الهكسوز إلى مستويات مشابهة لتلك التي في نباتات cwInv ، و vacInv ، ولكنها لم تظهر تعبيرات المقاومة الجهازية المكتسبة . تدل نتائج الدراسة على أن الهكسوز المدرك في النظام المفرز يكون أساسياً لتنشيط SAR syndrom . هذا يعطي مثالاً بأن ميكانزم الانتقال يتصل مع تمثيل أولي في ممر الإفراز إلى ميكانزم الدفاع .

في إحدى الأمثلة ، تبين أن موت الخلية يمكن أن ينفصل عن المقاومة . في طفرة الـ *ndr-1* (طفرة سلالة متخصصة في مقاومة المرض) في نبات الأرابدوبسز ، فإن القابلية للإصابة ، يمكن أن يعبر عنها ضد *P. syringae* DC 3000 ملجأ لجينات مختلفة ضعيفة الشدة المرضية ، مثل كل من *avrPph3* ، *avrRpt2* ، avrRpm1 ، *avrB* ، ولكنها تكون غائبة بعد الإصابة بالبكتيريا السابقة حاملة *avrRpt2* . هذه الطفرة يمكن أن تحث على بعض الاهتمام ، بمعلومات عن طبيعة حوادث الربط لعملية النكروزز للحث على استجابة المقاومة .

هناك حالة أخرى جديرة بالاهتمام ، حيث أن عملية النكروزز مفصولة عن المقاومة في نبات الارابدوبسز الخاضع للمقاومة الجهازية المستحثة ، بعد معاملة الجذور بالسلالة *Pseudomonas fluorescens* WCS 417r والذي هي من الرايزوبكتيريا المشجعة لنمو النبات (PGPR) . إن فهم المقاومة الجهازية المستحثة في هذا المثال الأخير ، يعطي إضاءة على ممر النكروزز المستقل للمقاومة الجهازية المستحثة .

إن دراسة الحالات المختلفة لـPRs ، وكذلك المقاومة لفيرس موزايك الدخان فى الدخان قد أظهرت، أن حمض السلسليك وجلوكوسايد حمض السلسليك المتكونة بعد المعاملة تكون متناسقة مع فكرة أن حمض السلسليك ، وجلوكوسايد حمض السلسليك المكتونة بعد المعاملة تكون متناسقة مع فكرة أن حمض السلسليك يحتل دور مركزي في الممر لحث جينات المقاومة الجهازية المكتسبة . وعلى أية حال ، فإن المعاملة بمادة بولي اكرلك أسد يؤدي إلى حث PR-1 ومقاومة فيرس موزايك الدخان ، بدون تجمع لحمض السلسليك أو جلوكوسايد حمض السلسليك ، وبالتالي ، في هذه الحالة ، فإن تعبير جين PR والمقاومة يمكن أن تستحث بواسطة ممر مستقل عن حمض السلسليك . إن تأثير حمض البولي اكرلك يستمر آخذاً مجراه على حرارة أعلى من ٣٢°م والتي عادة تبطل تجمع حمض السلسليك والمقاومة بعد المعاملة بالكائنات الممرضة أو حائات أخرى . مثل هذه الكيماويات يمكن أن تزودنا بأدوات للتبصر في الممر المؤدي إلى المقاومة .

حمض السلسليك ومقاومة الأمراض :

إن مقاومة الكائنات الممرضة ، وإنتاج البروتينات المتعلقة بالمرضية، في النباتات ، يمكن أن تستحث بواسطة حمض السلسليك أو اسيتايل سلسليك أسد ، حتى في غياب الكائن الدقيق الممرض . كان أول اكتشاف للوظيفة الوقائية لـ Salicylates في سنة ١٩٧٩ في نوع من الدخان يسمى Xanthi - nc حيث أن هذا النوع من الدخان يحوي جين يسمى (N) والذي نشأ أصلاً فى الدخان *Nicotiana glutinosa* ، هذا الجين يمنح صفة تفاعل فرط الحساسية استجابة لفيرس موزايك الدخان . وجد أن حقن أوراق الدخان بمحلول حمض السلسليك تركيز ٠,٠١٪ ومحلول الأسبرين ٠,٠٢٪ ، بالإضافة إلى رش وري نباتات الدخان بالاسبرين قبل حقنها بفيرس موزايك الدخان ، سبب إنخفاض كبير جداً في عدد البقع المتكونة نتيجة الحقن بالفيرس . بالإضافة لذلك فإن حمض السلسليك خفض حجم البقعة في نوع الدخان Xanthi - nc . وبشكل عام ، فإن معظم الأبحاث ، تعتبر أن الخفض في حجم بقع فرط الحساسية ، قياساً مباشراً ومتكرراً لقياس المقاومة ، أكثر منه اعتماداً على الخفض في عدد البقع . وجد أيضاً أن المعاملة بالسلسيلات تؤدي إلى إنتاج بروتينات العائلة PR-1 في الأوراق المعاملة .

فيما بعد تبين أن الأسبرين يسبب زيادة في المقاومة وبروتينات العائلة PR-1 ، في أربعة أنواع مختلفة من الدخان *N.tabacum* . إن مستوى البروتينات PR المستحثة والوقاية من

فيرس موزايك الدخان ازدادت مع زيادة تركيز الأسبرين . يبدأ بناء البروتينات PR في الدخان بعد حوالي ١٨ ساعة في أقراص الورقة المعاملة بحمض السلسليك . إن الحث على إنتاج البروتينات المتعلقة بالمرضية في أقراص ورقة الدخان ، قد تم نسخه بانتظام بالهندسة الوراثية . كذلك فإن mRNAs للأيزوزايم القاعدي أو الحامضي لمادة β-1,3-glucanase إحدى أعضاء عائلة PR-2 ، قد استحثت بقوة بعد الحقن بفيرس موزايك الدخان أو المعاملة بحمض السلسليك لنباتات الدخان . وبالمثل في الخيار فإن الـ Chitinase الداخلي الموجود بين الخلايا وهو من عائلة البروتينات PR-3 قد استحثت جهازياً بعد الإصابة الفيروسية ، البكتيرية أو الفطرية . هذا البروتين يمكن أن يستحث بكفاءة بواسطة حمض السلسليك على مستوى تجمع RNA . يستحث الأسبرين بناء بروتينات PR-1 في نبات الدخان نوع Xanthi - nc وقد تم التحكم به على مستوى النسخ .

الإضافة الخارجية لحمض السلسليك ، تحث تكوين البروتينات المتعلقة بالمرضية ، أساساً في موقع الإضافة ، وبعكس الكائنات الممرضة التي تحث تكوين هذه البروتينات جهازياً . في الدخان ، فإن حمض السلسليك يحث بقوة كل من التشفير لـ mRNAs الحامضي والقاعدي لبروتينات PR-1 ، Basic acidic glucanases و Chitinases . وعلى أية حال فإن الدراسات الحديثة باستعمال التقنيات الجزئية المتقدمة ، أثبتت أن هناك أكثر من تسعة صفوف من PRs mRNAs والتي تستحث خلال تكشف المقاومة الجهازية المكتسبة لفيرس موزايك الدخان في الدخان ، ويمكن أن تستحث بواسطة حمض السلسليك بدرجات متشابهة . في نباتات الدخان ، النوع المزروع Samsun القابل للإصابة بفيرس موزايك الدخان ، والذي يحمل الجين الاليل (n) لا ينبه الحث على تكوين البروتينات المتعلقة بالمرضية وتفاعل فرط الحساسية ، بدلاً من ذلك فإن الفيرس ينتشر جهازياً مسبباً صفات الموزايك في الأوراق الأقل سناً . على أية حال فإن الأسبرين يحث على تكوين البروتينات المتعلقة بالمرضية في صنف الدخان المذكور سابقاً ، وفي نفس الوقت يخفض الإنتشار والتجمع الكلي لفيرس موزايك الدخان . أما الاثيلين و 1-amino cyclopropane - 1 - carboxylic acid (وهو بادىء مباشر للاثيلين) ، ومعاملات كيميائية مختلفة ، والتي تؤدي إلى إنتاج الاثيلين ، تكون أيضاً قادرة على الحث على إنتاج ، على الأقل ، بعض البروتينات المتعلقة بالمرضية .

بالإضافة إلى حمض السلسليك والأسبرين ، وجد أيضاً أن حمض

2,6 - dihydroxybenzoic قادر مباشرة على أن يحث البروتينات المتعلقة بالمرضية والمقاومة للفيروسات ، بدون زيادة البناء الحيوي للاثيلين . هذه الملاحظة هامة بشكل خاص منذ عرف أن هذا الحمض هو المادة الكيماوية الثالثة بعد حمض السلسليك والأسبرين والتى تحث Thermogenesis في ذنيبات زنبق الودنية .

إن إضافة حمض السلسليك أو الأسبرين مباشرة إلى الأنسجة المحقونة بالكائن الممرض ، تحث على تخليق البروتينات المتعلقة بالمرضية (PRs) ، وتعطي بعض أشكال المقاومة للكائنات الممرضة ، في معظم الأبحاث التي أجريت على النباتات المختلفة باستثناء فول الصويا . أيضاً عند إضافة هذه المواد على شكل محاليل مائية إلى التربة ، وجد أن لها تأثير في خلق مقاومة جهازية مكتسبة ، وجد أن حمض السلسليك يخفض حجم البقع الناتجة من فيرس نكروتك الدخان في نباتات الدخان . أما بالنسبة للسلسيلات ، فإنها تخفض أعراض فيرس نكروزز الدخان عند حقنة في الهليون والفاصوليا بنسبة ٩٠٪ ، وتحث على تكوين البروتينات المتعلقة بالمرضية والمقاومة لفيرس موزايك الدخان في الفاصوليا واللوبيا . كذلك فإن حمض السلسليك يثبط تضاعف فيروس موزايك البرسيم الحجازي في بروتوبلاست اللوبيا بحوالي ٩٠٪ وهذا يعتمد على طريقة الإضافة . بعد ذلك يمكن القول ، أنه بالتأكيد ، فإن هناك مقاومات أخرى كثيرة يشجعها حمض السلسليك .

هناك حالات نادرة يقوم فيها حمض السلسليك بتثبيط ميكانزم معين في المقاومة ، فمثلاً ، تجريح الطماطم أو معاملتها بجزيئات البكتك ، تسبب التجمعات الجهازية لمثبط أنزيم البروتينيز والذي يمكن أن يزود النبات ببعض الوقاية ضد الحشرات الماصة أو القارضة . هذه الاستجابة يمكن أن تثبط عن طريق معاملة النباتات بالأسبرين أو حمض السلسليك . إن مقاومة عقل نبات القرنفل للفطر *Phytophthora parasitica* يمكن أن تستحث عن طريق غمر العقل في مستخلص فطري يحتوي مثيرات . عندما يضاف حمض السلسليك بتقدير ٠,٠٥ – ٠,٢ مللي مول إلى مستخلص الفطر المذكور سابقاً ، فإن بناء الفايتوالكسن في العقل ، يتثبط كلية وتبقى العقل قابلة للإصابة عندما تهاجم لاحقاً .

حمض السلسليك إشارة محتملة لمقاومة المرض في النبات :

نظراً لأن المقاومة الجهازية المكتسبة ، يمكن أن تستحث عن طريق الإصابات الموضعية، فإن وجود إشارات جهازية ، والتي تنشط البروتينات المتعلقة بالمرضية و/أو

ميكانيكيات مقاومات أخرى ، قد تم إفتراضه ، على الأقل منذ خمسة وعشرون عاماً ، من قبل كثير من الباحثين . إن الدليل الذي استخلص من نتائج تجارب التطعيم أو تطويق الساق ، دل على أن هناك إشارات تتحرك خلال نسيج اللحاء في الجهاز الوعائي في النبات .

الملاحظات الناتجة من أن الإضافات الخارجية من حمض السلسليك ، تحث على كل من تخليق المقاومة ، والبروتينات المتعلقة بالمرضية في النبات ، تدل على أن حمض السلسليك يكون ناقل مهم داخلي في النباتات مسببة الحرارة التي تسمي Thermogenic ، كذلك فإن تطور طرق تحليلية لتحديد مستوياته الداخلية في أنسجة النبات ، تهيء الطريق لمعرفة ، إمكانية أن حمض السلسليك يكون ناقل داخلي ، ينشط عناصر هامة في مقاومة العائل للكائنات الممرضة . لقد تبين أن هناك جين وحيد متوارث في مقاومة فيرس موزايك الدخان في الدخان ، هو الذي يزود الباحثين بجهاز تجريبي مناسب والذي به يمكن إختبار هذه الفرضية .

تكون مستويات حمض السلسليك في أصناف الدخان المقاومة لفيرس موزايك الدخان، خمسون ضعف (تقريباً) ، لما هو في الأصناف القابلة للإصابة ، (تصل حوالي ١٠ ميكروغرام لكل غرام وزن طازج) في الأوراق ، وعشرة أضعاف في الأوراق غير المصابة لنفس النبات . يكون حث الجينات المكونة للبروتينات المتعلقة بالمرضية رقم PR-1 متوازياً مع ارتفاع مستويات حمض السلسليك .

بينما فيرس موزايك الدخان يحث البروتينات المتعلقة بالمرضية ، فقط ، في أصناف الدخان المقاومة للمرض ، يكون هناك حمض سلسليك فعال في كل من الأصناف القابلة والمقاومة للإصابة . عند تغذية الأوراق المفصولة من نبات الدخان المقاوم ، المحتوي على جينات (NN) على حمض السلسليك ، تبين أن هناك زيادة في المستويات الداخلية لحمض السلسليك ، تكون كافية للحث الجهازي للبروتينات المتعلقة بالمرضية عائلة PR-1 ، وتزيد المقاومة لفيرس موزايك الدخان .

تصبح إصابات فيرس موزايك الدخان جهازية ، وأن الأصناف المقاومة تفشل في تجميع البروتينات المتعلقة بالمرضية عائلة PR-1 على حرارة ٣٢°م . هذا الفقد لتفاعل الحساسية الفائقة على درجات الحرارة العالية ، يكون مترافقاً مع عدم المقدرة على تجمع حمض

السلسليك . وعلى أية حال فإن رش الأوراق بحمض السلسليك يحث تكوين البروتينات المتعلقة بالمرضية PR-1 على كل من درجات الحرارة ٢٤°م و ٣٢°م .

ينتقل حمض السلسليك أيضاً ، من المواقع الأولية للإصابة إلى الأنسجة غير المصابة . عندما تفصل أوراق نبات الدخان المقاوم بعد ٢٤ ساعة من حقنها بفيرس موزايك الدخان ، فإن الإفرازات المتجمعة من أعناق الأوراق المفصولة ، تثبت أن الزيادة في حمض السلسليك الداخلي في الأوراق المحقونة بفيرس موزايك الدخان ، تكون متوازية مع مستويات حمض السلسليك في الإفرازات . تكون تجمعات حمض السلسليك في الورقة وكذلك الإفرازات متناسبة مع تركيز فيرس موزايك الدخان ، وتكون في الضوء أعلى منها في الظلام . قورنت مكونات أخرى مختلفة لفيرس موزايك الدخان ، لمعرفة مقدرتها على حث تجمعات حمض السلسليك والإفرازات ، وجد أن الغلاف البروتيني بتجمعاته المختلفة يفشل في الحث على تكوين حمض السلسليك ، ولكن الحمض النووي RNA الفيروسي غير المغلف ، يهيج تجمعات حمض السلسليك في الأوراق وفي اللحاء . كذلك فإن الأضرار الميكانيكية الحادثة في الورقة ، لا تشجع إنتاج حمض السلسليك والإفرازات .

يكون أعلى تركيز لحمض السلسليك الحر ، في ، وحول بقع تفاعل فرط الحساسية . أمكن اكتشاف وجود حمض السلسليك حراً ، فقط ، في اللحاء والأوراق الخالية من الفيرس في نباتات الدخان المقاومة والمحقونة بفيرس موزايك الدخان . هذه النتائج دعمت الفرضيات التي تقول بأن حمض السلسليك يعمل كإشارة داخلية في نظام حث البروتينات المتعلقة بالمرضية عائلة PR-1 وبعض مكونات المقاومة الجهازية المكتسبة في نبات الدخان المقاوم المحتوي (NN) .

هناك مجموعة أخرى من التجارب ، استعملت فيها تقنيات حديثة ، ذكرت أن حمض السلسليك يزيد بشكل مثير في لحاء نباتات الخيار المحقونة بفيروس نكروزز الدخان ، أو الكائن الممرض *Colletotrichum lagenarium* . تزداد مستويات حمض السلسليك لفترة قصيرة بعد الحقن ، بحيث تصل القمة قبل الكشف عن وجود مقاومة جهازية مكتسبة . وعلى أية حال ، فإن تحليل إفرازات اللحاء من أوراق الخيار ، يدل على أن الزيادة المكتشفة مبكراً من حمض السلسليك تحدث بعد ثمانية ساعات ، بعد الحقن بالبكتيريا الممرضة *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* . على الرغم من ذلك فإن التجمع الجهازي لحمض السلسليك ، قد لوحظ حتى عندما تبقى الأوراق المحقونة متعلقة مع النبات لمدة ٤

ساعات فقط ، بينما تدعم دور حمض السلسليك كمكون للممر الانتقالى مؤدياً إلى المقاومة. تؤدى هذه النتائج إلى القول بأن هناك إشارات كيميائية أخرى يمكن أن تكون مطلوبة للتجمعات الجهازية لحمض السلسليك . وعلى أية حال فإن طرق التحليل غير الحساسة نسبياً ، المستعملة في هذه الأوراق المدروسة ، أعطت فرصة للقول بأن كمية حمض السلسليك المفرز من الورقة المحقونة في الأربعة ساعات الأولى كانت كافية بكمية كبيرة لهذا المركب ليقوم بعمله كناقل إشاري أولي في المقاومة الجهازية المكتسبة .

تبين في الدراسات الحديثة ، عديداً من الملاحظات على الفعل الجزيئى لحمض السلسليك . وجد أن العنصر AS-1 الواقع بين منطقة 65-to-85. من فيرس موزايك القرنبيط 35S المشجع على المقاومة ، تبين بأنه كان ذو استجابة عالية لحمض السلسليك . تم الحصول على ١٠ – ١٢ ضعفاً من مقدرة الحث لـ GUS mRNA ، تم الحصول عليها ، بمعاملة نباتات الدخان المحولة وراثياً AS-1 GUS المندمجة مع حمض السلسليك ، كان الحث سريعاً وغير حساس لمادة السايكلوهكسمايد .

البروتينات المرتبطة مع حمض السلسليك ذات كتلة ظاهرة من 650KDa ، تظهر Kd لحمض السلسليك من ١٤ ميكرومول ، قد حددت وعرفت في نبات الدخان . كذلك وجد أن مادة 2,6-dihydroybenzoic acid والأسبرين تتنافس مع حمض السلسليك للارتباط. يبدو أن البروتينات المرتبطة مع حمض السلسليك تكون داخلة في اكتشاف وإنتقال حمض السلسليك الإشاري ، وهذا يشجع الاستجابة لمقاومة المرض عن طريق المقاومة الجهازية المكتسبة .

يتبين لنا من كل هذه التجارب والأبحاث ، أن حمض السلسليك يلعب دوراً أساسياً كمادة إشارية ، للمقاومة الجهازية المكتسبة في النبات ، وله دور فعال في تشجيع المقاومة ضد الإصابات الممرضة ، وأن حمض السلسليك هو المحور الأساسي للمقاومة الجهازية المكتسبة حيث أن وجوده يدل على وجدها وبنفس النسبة المتزايدة .

من هذا المنطلق إتجهت الأبحاث لاستعمال حمض السلسليك في تخفيض أو وقف الإصابة بكثير من الأمراض النباتية والتي سنذكرها فيما بعد إن شاء الله .

تطبيقات عملية لحمض السلسليك
في إحداث مقاومة جهازية مكتسبة فى النبات

١ - احداث مقاومة جهازية في البسلة ضد مرض البياض الدقيقي

مقدمة :

يتسبب مرض البياض الدقيقي في البسلة *Pisum sativum* ، عن الفطر الممرض *Erysiphe pisi* ، ينتشر هذا المرض في مناطق واسعة من العالم ، بشكل يؤثر على الإنتاج . يكون أكثر إنتشار هذا المرض في المناطق ذات الأيام الجافة الحارة والليالي الباردة ، يؤثر المرض على الأوراق ، السيقان وعلى القرون لنباتات البسلة والبقوليات الأخرى ، يؤثر المرض على الاقتصاد الزراعي في الأقطار التي تعتبر فيها البسلة المصدر الأساسى للبروتين .

حالياً ، فإن المقاومة الأساسية للمرض المعتمد عليها ، هي استعمال المبيدات الفطرية واستعمال الأصناف المزروعة المقاومة ، المعتمدة على الجينات المفردة . إن المخاطر المرافقة لاستعمال هاتين الطريقتين ، جعلت هناك باعثاً للحصول على طرق أكثر إقتصادية ونستجيب لنداء البيئة وموثوقة في مقاومة المرض . لهذه الأهداف بدأت كثير من الأبحاث تتجه إلى إبراز وتأكيد مقاومة المرض طبيعيا تحت سيطرة عمليات فسيولوجية معقدة ، بيوكيميائية ووراثية ، والتي يجب أن تكون حصينة بحيث لا تزول وتنجرف عند حدوث تغير في شدة الكائن الممرض .

من المؤكد الآن أن هناك كثيراً من العوامل ، يمكن أن تعمل على النباتات لتحثها على تكوين مستويات عالية من المقاومة الجهازية ، للمهاجمة التالية من الكائن الممرض . تشمل هذه العوامل المهاجمة الأولية بالكائن الممرض ، عوامل كيميائية مختلفة ، ومواد حائة بيئية . يكون تخليق المقاومة الجهازية مترافقاً مع الحث الجيني ، وتنشيط ميكانزم المدى الواسع من مقاومة المرض ، وإنتاج مركبات دفاعية ذات مدى واسع بحيث تكون غير متخصصة ، وكثيراً ما تكون فعالة ضد مدى واسع من العوامل الوراثية .

استعمال حمض السلسليك :

حمض السلسليك Salicylic acid هو (2- hydroxy benzoic acid) ويكتب SA ،

هو واحداً من مدى واسع من الكيماويات التي تحث على المقاومة الجهازية . في بعض الحالات ، فإن المعاملة الكيماوية ، تخلق تعبيرات لنفس الجينات ، وتخلق مقاومة ضد نفس مستوى الكائنات الممرضة ، والتي تسمى مقاومة مستحثة من الكائن الممرض . المقاومة المستحثة بواسطة المعاملات الكيماوية ، يمكن أن تكون فعالة جداً ، وأن تستعمل تجارياً وذات فائدة كبيرة ، لوقاية النباتات من مدى واسع من الكائنات الممرضة ، وتكون ثابته ، وتدوم طويلاً وغير ذات أثر ضار على البيئة .

إن الإضافة الخارجية لحمض السلسليك ، باستعماله كمحلول على أوراق نبات البسلة، خلق مقاومة جهازية ضد الكائن الممرض المسبب البياض الدقيقي ، وخفض حدوث الإصابة بنسبة ٢٠ – ٣٠٪ من نسبة النموات الفطرية التي استطاعت أن تنجح في إختراق الأوراق غير المعاملة بحمض السلسليك . يستعمل حمض السلسليك بنسبة ١,٥ – ١٥ مللي مول وتكون له نفس الفعالية في هذا المدى من التركيز ، إلا أنه عندما يستعمل بتركيز ١٥,٠ مللي مول لم يكن له تأثير ملموس على خفض المرض ، كذلك فإن استعمال الحمض بنسبة ١٥ مللي مول يكون محلوله ذو تأثير سام على النبات . أما تركيز ١,٥ مللي مول لم يسبب أضراراً ظاهرة على النبات . هذا يدل على أن تخليق المقاومة لم يكن راجعاً لأضرار تحدث في النسيج .

تدوم المقاومة المستحثة لمدة ١٣ يوم على الأقل بعد المعاملة ، ولكن إثارة الأوراق المعاملة بعد يوماً واحداً من إستعمال حمض السلسليك ، يمنع الظهور الكامل للمقاومة الجهازية المكتسبة . لا يظهر أي تعبير للمقاومة ، إذا ما حقنت الأوراق غير المعاملة بمدة أقل من ٣ أيام بعد استعمال حمض السلسليك . ينتقل تأثير حمض السلسليك إلى الأوراق في العقد فوق وأسفل الأوراق المعاملة . وبالتالي يمكن القول بأن الكيماويات الحاثة على المقاومة الجهازية ، يمكن أن تكون طريق إضافي في مقاومة أمراض البسلة . يتبين مما سبق أن مقاومة البسلة للبياض الدقيقي ، يمكن أن تزداد جهازياً باستعمال حمض السلسليك . ومن المهم ذكره أن حمض السلسليك ليس له أي تأثير على إنبات جراثيم الفطر الممرض ولا على تكوين الممصات الفطرية ولكن تأثيره يكون بتخليق مقاومة جهازية في النبات تمنع تقدم وإصابة الفطر الممرض ، وبالتالي تقلل نسبة الإصابة بالمرض .

٢ - احداث مقاومة جهازية في الأرز ضد بعض الأمراض

مقدمة :

كان أول توضيح بأن حمض السلسليك ، الفينول النباتي العام ، يلعب دوراً منظماً مهماً في النباتات ، نتيجة دراسات على النباتات الـ Thermogenesis من النباتات الضوئية، والزنبق Arum والتي قام بها Raskin *et al* سنة ١٩٨٧ . بعد ذلك تبين أن حمض السلسليك هو إشارة أساسية في المقاومة المكتسبة ضد الكائن الممرض في الدخان ، وفي الخيار. إن تكشف المقاومة المكتسبة ، غالباً ما يتبع موت نسيج موضعي في منطقة دخول الكائن الممرض ، هذا التفاعل يسمى تفاعل فرط الحساسية أو الحساسية الفائقة (HR) . بعد الحقن بالكائن الممرض الحاث ، فإن المقاومة الجهازية المكتسبة ، تتكون بالنسبة للكائن الممرض ، الذي سيغزو النبات فيما بعد ، وتتكشف في الأنسجة الخالية من الكائن الممرض . يمكن أن يكون حمض السلسليك إشارة مسئولة عن خلق (أو حث) المقاومة الجهازية المكتسبة واستمراريتها ، تكون الزيادة في حمض السلسليك ، مطلوبة لحث المقاومة الجهازية المكتسبة في الدخان ، وأن حمض السلسليك يعمل على الحث وتخليق البروتينات المتعلقة بالمرضية PRs موضعية وجهازية والتي تمتلك نشاط مضاد للكائن الممرض .

تكون الزيادة الجهازية في المستويات الداخلية لحمض السلسليك ، متوازية مع تخليق البروتينات المتعلقة بالمرضية والمقاومة الجهازية المكتسبة . مع أن الكمية الكلية لحمض السلسليك في نباتات الدخان السليمة *Nicotiana tabacum* L.cv *Xanthi* - nc نادراً ما تزيد عن ١٠٠ – ٢٠٠ نانوغرام لكل غرام وزن طازج ، إلا أنها تزيد وتصل إلى مقدار ٧٥ ميكوغرام/غرام وزن طازج موضعياً ، وتصل إلى ١,٥ ميكوغرام/غرام وزن طازج جهازياً ، بعد أن يستحث تفاعل فرط الحساسية بواسطة فيرس موزايك الدخان .

لقد شرح ممر البناء الحيوي لحمض السلسليك حديثاً بواسطة *Yalpani et al* سنة ١٩٩٣ في الدخان ، وتبين أن حمض السلسليك يبنى من حمض السينامك Cinnamic acid عن طريق حمض البنزويك ويتدخل في هذا التفاعل Benzoic - 2- hydroxylase كعامل مساعد حاث لحمض البنزويك ، والذي يعمل مثل Cyt P450 mono oxgenase

أما المادة B - O - D - glucosyl salicylic acid فهي أكبر مادة ناشئة عن تمثيل حمض السلسليك الخارجي والداخلي في الدخان ، ذكر أيضاً أن هناك إنتاج إستر GIC .

تنتج كميات كبيرة من B-O-D-glucosyl حمض السلسليك (٥٠ ميكروغرام/ غرام وزن طازج) في وجود بقع تفاعل فرط الحساسية المستحثة بواسطة فيرس موزايك الدخان ، بينما هناك نسبة قليلة من هذه المادة تتواجد في اللحاء والأوراق المحفوظة جهازياً . لقد وصف الأنزيم الذي يعمل كعامل مساعد لتحويل حمض السلسليك في جذور الشوفان وأوراق الدخان، هذا الأنزيم Salicylic acid glucosyl - transferase ، هذا الأنزيم قوي ومتخصص، ويستحث بواسطة SA والذي يتجمع في المناطق القريبة من بقع فرط الحساسية.

إن ظاهرة المقاومة المكتسبة ، غير محددة في النباتات ذات الفلقتين . إن كلاً من القمح والشعير ، يتكشف فيهما مقاومة للبياض الدقيقي المتسبب عن الفطر *Erysiphe graminis* f.sp. *tritici* بعد الحقن بالسلالات غير المتوافقة من البياض الدقيقي . من أفضل نتائج الأبحاث التي ذكرت عن المقاومة الجهازية المكتسبة في الحبوب كانت من الدراسات التي أجريت على الأرز (*Oryza sativa*) . أظهرت الأوراق العلوية فى نبات الارز مقاومة عالية ضد الفطر *Magnaportha grisea* العامل المسبب للفحة الارز (نتيجة ارتفاع مستوى حمض السلسليك فيها) ، بعد حقن الأوراق السفلى بالبكتيريا *Pseudomonas syringae* . إن أهمية البروتينات المتعلقة بالمرضية في المقاومة الجهازية المكتسبة في الأرز ليست واضحة كما هو الحال في الدخان والخيار .

اكتشفت زيادة في نشاط كل من الأنزيمين Chitinase و Glucanase ، فقط في الأوراق المحقونة بالبكتيريا السابقة الذكر ولم تكتشف جهازياً . وعلى أية حال فإن نسخ هذين الأنزيمين ، قد استحث في الأرز بواسطة مثيرات مأخوذة من الكائن الممرض وحمض السلسليك. زيادة على ذلك فإن إضافة 2,6 - dichloro - isonicotinic acid المحتمل أن يكون مماثلاً لحمض السلسليك ، تنشط الدفاعات الطبيعية في النبات وتحث على المقاومة في الأرز ضد كل من *M. grisea* والبكتيريا *Xanthomonas oryzae* .

لقد تبين أن نبات الأرز يحتوي على أعلى مستويات من حمض السلسليك الداخلي من بين كثير من النباتات التي درست ، حيث أن مستويات هذا الحمض في الأوراق السليمة تصل ٣٠,٤ ميكوغرام/غرام وزن طازج والذي هو ضعف الكمية الموجودة في أوراق نباتات الدخان السليمة .

مستويات حمض السلسليك في الأرز المحقون بالكائن الممرض :

يظهر في جدول (رقم ٥) المستويات الحرة لحمض السلسليك في بادرات الأرز العادية النامية لمدة ٣٥ يوم ، وتؤخذ منها الأوراق أسبوعيًا لتقدير حمض السلسليك فيها . يتبين من الجدول أن كمية حمض السلسليك في البادرات تتراوح من ٧,٤ – ١٥,٣ ميكروغرام/غرام مادة طازجة .

جدول رقم ٥ : كمية حمض السلسليك في أوراق بادرات الأرز بعد الزراعة .

عدد الأيام بعد الزراعة	كمية حمض السلسليك في الأوراق مقدرة على أساس ميكوغرام/غرام وزن طازج في الأوراق				
	الورقة الأولى	الورقة الثانية	الورقة الثالثة	الورقة الخامسة	الورقة السادسة
٧	٩,٢٨	–	–	–	–
١٤	٩,٤٠	١١,٤٠	–	–	–
٢١	٧,٣٧	١٢,٦٦	١٥,١	–	–
٢٨	٨,٧٥	١٣,٥٠	١٤,٢٠	١٢,٩٠	–
٣٥	٨,٣٢	١٥,٤	١٢,٨	١٢,١	١١,٨

أما بالنسبة للنباتات المحقونة بالكائن الممرض ، فقد تبين أن التفاعل بين نبات الأرز والكائن الممرض غير الشديد المرضية *P. syringae* D20 أدى إلى تفاعل فرط الحساسية وتخليق البروتينات المتعلقة بالمرضية . وعلى أية حال ، فإن الحقن بالكائن المذكور لم يسبب تغيرات معنوية ، موضعية ولا جهازية في مستويات حمض السلسليك في أوراق الأرز . كذلك فإن كمية حمض السلسليك في مناطق البقع التي استحثت بالبكتيريا ، أيضًا ، لا يحدث فيها تغيرات معنوية . بالنسبة لتفاعل فرط الحساسية ، فإنه يتكشف خلال ٤٨ ساعة في مناطق الحقن بالكائن الممرض . زيادة على ذلك فإن مستويات حمض السلسليك في الأوراق الخالية من الكائن الممرض لا تتغير . أما بالنسبة للحقن بالكائن *M. grisea* ، فإنه مثل الحقن بالبكتيريا *P. syringae* لا تغير مستويات حمض السلسليك في نبات الأرز . أما

بالنسبة للبقع المستحثة من قبل *M. grisea* فإنها تصبح واضحة بعد ٤٨ ساعة من الحقن وتستمر وتكبر حتى تصبح بمعدل ١,١ ملم طولاً بعد ٧ أيام من الحقن .

يبين جدول (رقم ٦) ، مستويات حمض السلسليك في الأنسجة المختلفة ، لصنف الأرز M-201 بعد الإصابة بالفطر *R. solani* شديد المرضية ، والذي ينتج بقع مائية كثيرة على غمد الورقة . خلال ٤٨ ساعة بعد الحقن فإن البقع المتكونة بواسطة هذا الفطر تمتد إلى أعلى غمد الورقة ، حتى تصل نصل الورقة الأولي ثم تصل إلى الورقة الثانية خلال ١٢٠ ساعة. تنخفض مستويات حمض السلسليك ، في غمد ورقة النبات في النباتات المحقونة بالفطر . ترجع هذه الزيادة إلى كتلة النسيج غير المتعضي والموت المرافق للإصابة .

مع أن النتائج السابقة لا تدعم الدور الإشاري لحمض السلسليك في المقاومة المكتسبة للمرض في الأرز ، الا أن الاحتمالية لا تزال قائمة ، بأن المستويات العالية غير العادية لحمض السلسليك في الأرز يمكن أن تعمل كأساس دفاعي ضد *M. grisea* .

أجريت دراسة على ٢٨ صنف من الأرز ، من ضمنها أصناف أمريكية ، يابانية وهندية ومن مناطق عالية أخرى ، من بين هذه الأصناف ، تبين أن الصنف Jasmine 85 ، يحتوي أعلى مستوى من حمض السلسليك ، حوالي ٣٠,٤ ميكوغرام/غرام وزن طازج ، بينما الصنف A-301 يحتوي ٧,٦ ميكوغرام/غرام وزن طازج (جدول ٧) . درست مقاومة الأمراض ، في الأرز في التجارب الحقلية وفي الصوبا الزجاجية بعد الحقن بثلاثة سلالات من الفطر *M. grisea* مسبب مرض لفحة الأرز Rice blast والفطر *R. solani* مسبب مرض لفحة الغمد sheat blight ، تبين أن مقاومة نباتات الأرز للمرض تكون معنوية بارتفاع محتوى البادرات من حمض السلسليك . كلما ارتفع المستوى من حمض السلسليك كلما زادت درجة المقاومة للمرض كما في جدول رقم ٧ .

جدول رقم ٦ : مستويات حمض السلسليك (ميكوغرام/غرام وزن طازج) في الصنف M-201 بعد الحقن بالفطر الممرض *R. solani* .

التجـــربة	الوقت بعد الحقن بالساعات	مستوى حمض السلسليك		
		أسفل الغمد	أعلى الغمد	نصل الورقة
نباتات محقونة بالفطر رايزوكتونيا	٤٨	٥,٠٦	٩,٨٧	٩,٦٩
نباتات محقونة بالفطر رايزوكتونيا	١٢٠	٢,١٧	٣,٨٨	٨,٦٩
كنترول	٤٨	٩,٢١	٨,٨٠	٩,١١
كنترول	١٢	٩,٢٦	١١,٧	٨,٧١

جدول رقم ٧ : بعض أصناف الأرز ومحتواها من حمض السلسليك ميكوغرام/غرام وزن طازج وصفة المقاومة لمرض لفحة الغمد .

اسم الصنف	مقدار حمض السلسليك ميكوغرام/غرام	صفة المقاومة للمرض
A-301 ياباني	٧,٦	شديد القابلية للاصابة
M.201 أمريكي	١٥,١	قابل للإصابة
Katy هندي	١٠,٢	شديد القابلية للإصابة
Texmont هندي	١٦,١	قابل للإصابة
Gui chow صيني	٢٦,٥	شديد المقاومة
Rico ياباني	٢٠,١	مقاوم
Jasmine أمريكي	٣٠,٤	شديد المقاومة
Cypress قبرص	١٣,٨	متوسط المقاومة
Jackson أمريكي	١١,٣	قابل للإصابة

٣ - دور حمض السلسليك في مقاومة الفطر *Pythiium* aphanidermatum في جذور الخيار

مقدمة :

لقد ثبت فعلاً في كثير من الأبحاث ، أن حمض السلسليك ، يعمل كإشارة جهازية، حاث أو عامل مخلق مطلوب في المقاومة الجهازية المكتسبة (هذا واضح في نباتات الدخان ، الفاصوليا والخيار) . يمكن لحمض السلسليك أن يعمل كإشارة جهازية والتي تنبه أو تحث استجابة المقاومة الجهازية أو الموضعية .

يبدو أن حمض السلسليك يفرز من اللحاء في الخيار ، من النباتات المصابة بـ *Pseudomonas syringae* p.v. *syringae* . كذلك وجدت زيادة مماثلة من حمض السلسليك في إفرازات اللحاء ، ظهرت بعد الإصابة بفيرس نكروتك الدخان أو بالفطر *Colletotrichum lagenarium* (الاسم المرادف *C. orbiculare*) ، هذان الكائنين الممرضين يسببان اعراض تبقع ويحثان على المقاومة الجهازية المكتسبة في الخيار . يزداد حمض السلسليك في أوراق الخيار ويصل إلى مستوى عال بعد خمسة أيام من الحقن بفيرس نكروزز الدخان أو *Sphaerotheca fuliginea* . ولقد أثبت بعض الباحثين أن الإضافة الخارجية لحمض السلسليك تحث المقاومة ضد فيرس موزايك الدخان . كذلك وجد أن حمض السلسليك الخارجي يحث على تجمع البروتينات المتعلقة بالمرضية في الدخان ، وهذا التجمع يتعلق مع زيادة المقاومة لفيرس موزايك الدخان .

من ناحية أخرى ، أثبتت بعض الدراسات أن حمض السلسليك ، يمكن أن لا يكون ناقلاً للإشارة الأولية الجهازية المكتسبة ، ويمكن أن يقوم فقط ، بدور منظم في إظهار تعبيرات جينات المقاومة الجهازية المكتسبة . ولقد أثبت Pieterse سنة ١٩٩٦ أن حمض السلسليك لا يدخل في المقاومة الجهازية المستحثة كإشارة في نباتات *Arabidopsis* NahG المحولة وراثياً ، والذي يوقف أنزيم تحطيم حمض السلسليك البكتيري . هذا يدل على أن حمض السلسليك يلعب دوراً كبيراً في المقاومة الجهازية المكتسبة ، وليس له دور في المقاومة الجهازية المستحثة .

حمض السلسليك وأمراض الجذور فى الخيار :

أثبتت الدراسات التي أجراها Chen *et al* سنة ١٩٩٩ ، أن كثيراً من سلالات البكتيريا *Pseudomonas* تحث جهازياً المقاومة ضد مرض جذر الخيار ، المتسبب عن الفطر *P. aphanidermatum* ، وأن الدليل المرضي على الجذور المستحثة كان منخفض بشكل معنوي ، أكثر منه في الكنترول (جدول رقم ٨) . ولقد أثبت هذا العالم أن حمض السلسليك لايثبط معنوياً (في المعمل) نمو ميسيليوم الفطر على تركيز ١٠٠٠ ميكوغرام/ مل أو أقل . لقد تم تثبيط النمو بتركيزات ٣٠٠٠ – ٣٠٠٠٠ ميكوغرام/ مل (جدول رقم ٩) حيث تم تثبيط نمو الميسيليوم كلية .

جدول رقم ٨ : تثبيط النمو الميسيليومي للفطر *P. aphanidermatum* باستعمال حمض السلسليك في أطباق بتري على حموضة ٦,٥ – ٧ وعلى حرارة ٢٥° م . بعد ٢٤ ساعة من التحضين .

تركيز حمض السلسليك في البيئة الغذائية ميكوغرام/ $\frac{١}{١٠}$ غرام	ملم قطر المستعمرة الفطرية
صفر	٥٦
١٠٠	٥٤
٢٠٠	٥٣
٣٠٠	٤٧
٤٠٠	٤٥
٥٠٠	٤٠
٦٠٠	٣٢
٨٠٠	٢٥
١٠٠٠	٢٠
٢٠٠٠	٠٣
٣٠٠٠	صفر

كانت الجراثيم الهدبية أكثر حساسية لحمض السلسليك ، من الميسيليوم على تركيزات منخفضة . إن تركيز ١٠٠ – ٥٠٠٠ ميكوغرام/ مل كان مشجعاً لإنبات الجراثيم (جدول رقم ٩) . أما على تركيز ٥٠٠ ميكوغرام/ مل يزداد إنبات الجراثيم بنسبة ٧٠٪ أو أكثر مقارنة مع الكنترول . أما على تركيز ١٠٠٠ ميكوغرام فإنه يثبط إنبات الجراثيم .

جدول رقم ٩ : علاقة تركيز حمض السلسليك مع أنواع جراثيم الفطر الممرض *P. aphanider* matum **المتكونه وانباتها.**

نسبة تركيز الحمض	٪ نسبة إنبات الجراثيم	٪ تكوين الجراثيم الهدبية	٪ تكوين الحويصلات الجرثومية
صفر	٤٢	٢٠	٣٨
١٠٠ ميكوغرام/مل	٤٢	١٧	٤٥
١٠ ميكوغرام/مل	٤٧	١٧,٥	٤٦
١ ميكوغرام/مل	٤٢	١٧	٤٢
٠,١ ميكوغرام/مل	٧٨	١٥	٣٨
٠,٠١ ميكوغرام/مل	٧٦	٠٥	٣٥
١٠٠٠ ميكوغرام/مل	٣٥	٧	٧٥

ملاحظات على الجدول :

١ – كانت تحقن نسبة حمض السلسليك في ساق النبات .

٢ – كانت توضع جراثيم الفطر على جذور نبات الخيار بتركيز 10^4 جرثومة هدبية/ نبات بعد أربعة أيام من حقنها بحمض السلسليك .

٣ – كانت تؤخذ النتائج بعد ١٠ أيام من الحقن بالجراثيم الهدبية .

ولقد لخص العالم Chen سنة ١٩٩٩ هذه النتائج ، بالقول بأن الإضافات الخارجية من حمض السلسليك ، تفشل في خلق أو الحث على مقاومة جهازية أو موضعية ضد الكائن

الممرض للجذر المذكور سابقاً في الخيار ، ولكن التجمعات الداخلية لحمض السلسليك في جذور الخيار ، يمكن أن تتدخل في المقاومة الجهازية للمرض .

٤ - تأثير الظروف البيئية وحمض السلسليك والهرمونات النباتية على لفحة اوراق البسلة

مقدمة :

يتسبب مرض لفحة أوراق البسلة عن الفطر *Alternaria alternata* . ذكر أن هذا المرض يسبب خسارة تصل ٨٠٪ من إنتاج الحقول في بعض السنوات (Sharma 1983) . ثبت حديثاً أن حمض السلسليك (المركب الفينولي) يلعب دوراً مهماً في خلق مقاومة للمرض في النباتات (Delaney *et al* 1994) ، في حين أن الهرمونات النباتية ، تجعل النبات أكثر فعالية فسيولوجية وتزيد في إنتاج المحصول . إن تأثير كل من حمض السلسليك والهرمونات النباتية على لفحة الأوراق في البسلة ، قد درس بتوسع من قبل العالم Anita *et al* سنة ١٩٩٩ وفيما يلي نتائج الدراسة :

تأثير حمض السلسليك لوحدة أو مقترنا مع الهرمونات النباتية على المرض :

عند رش المجموع الخضري لنباتات البسلة ، بحمض السلسليك لوحده ، أو الهرمونات النباتية لوحدها أو رشهما معاً على النباتات ، يتبين من جدول رقم (١٠ ، ١١) أن استعمال حمض السلسليك بتركيز ١٠٠ جزء في المليون متحداً مع الهرمونات النباتية ، يزيد من إنتاج المحصول ويخفض نسبة الإصابة المرضية ، باستثناء استعمال حمض السلسليك بنفس النسبة مع ٢٠ جزء في المليون من مادة الـ Kinetin . يكون أكبر خفض للمرض عندما ترش النباتات بحمض السلسليك بتركيز ١٠٠ جزء في المليون + ١٠ جزء في المليون من الهرمون النباتي أندول بيوترك أسد ABA ، حيث كانت نسبة الخفض في المرض ٦٠,٥٦٪ .

جدول رقم ١٠ : تأثير الاتحادات المختلفة من حمض السلسليك والهرمونات النباتية على شدة مرض لفحة الأوراق في البسلة .

المعاملات جزء في المليون	دليل شدة المرض					
	عدد الأيام بعد الزراعة					
	٩٨	١٢٨	١٣٥	١٤٢	١٤٩	١٥٦
كنترول	١١,٨	١٥,٨	٢٠,٤	٢٤,٤	٢٦,٨	٣٠,٠
١٠٠ جزء حمض سلسليك	٥,٨	٩,٦	١١,٨	١٥,٦	١٥,٠	٢٤,٠
٥٠ جزء جبرلك أسد	١٣,٢	١٥,٤	١٨,٤	٢٦,٥	٢٤,٨	٣٠,٠
٢٠ جزء كاينتين	٥,٦	٧,٠	١٧,٤	٢٤,٤	٣٢,٦	٤٢,٠
١٠٠ جزء نفثالين أستك اسد	٩,٠	١١,٠	١٨,٦	٢٧,٠	٣٤,٤	٤٢,٠
١٠٠ جزء ايثيرال	٥,٠	٨,٠	١٦,٢	٢٣,٨	٢٩,٤	٣٧,٠
١٠ جزء أندول بيوترك أسد	١٠,٦	١٢,٠	١٨,٢	٢٧,٦	٣٤,٤	٣٧,٠
معاملة ٢ + ٣	٩,٦	١٤,٨	١٩,٠	٢٥,٤	٣٣,٤	٣٢,٠
معاملة ٢ + ٤	١٠,٦	١٥,٢	٢٠,٤	٢٨,٦	٣٨,٤	٤٥,٠
معاملة ٢ + ٥	٧,٦	١٣,٤	١٨,٤	٢٥,٦	٣١,٨	٣٧,٠
معاملة ٢ + ٦	٥,٠	٦,٨	١٣,٤	٢٠,٢	٢٤,٦	٣٠,٠
معاملة ٢ + ٧	٠,٨	١,٢	٦,٦	١١,٤	١٩,٦	٢٤,٠

ملاحظات على الجدول :

كان يحسب دليل المرض كما في معاملة Anita *et al* سنة ١٩٩٩

$$\text{دليل المرض} = \frac{\text{عدد الوريقات} \times \text{معدل الإصابة الورقية}}{\text{عدد الأوراق الكلية المصابة بالمرض} \times ٤} \times ١٠٠$$

أما عند استعمال حمض السلسليك لوحده بتركيز ١٠٠ جزء في المليون ، كانت نسبة الخفض في المرض ٣٧,٨٩ ٪ . أما عند استعمال حمض السلسليك بنسبة ١٠٠ جزء في المليون + الايثيرال ١٠٠ جزء في المليون ، كانت نسبة الخفض في المرض ٣٠,٤٦ ٪ . وعلى أية حال فإن حمض السلسليك متحداً مع الهرمونات النباتية الأخرى (حمض الجبرلك ، كاينتين ، نفثالين أستك أسد) لم تكن فعالة .

بالنسبة لإنتاج المحصول ، فقد تم الحصول على أعلى إنتاج باستعمال ١٠ جزء في المليون من أندول بيوترك أسد كانت قيمة الزيادة ٢٧,٨٥ ٪ عن الكنترول ، يتلوه بعد ذلك استعمال حمض السلسليك متحداً مع الهرمونات النباتية الأخرى . كانت شدة المرض ذات علاقة موجبة معنوية ، مع كمية جراثيم الفطر المتوفرة في الجو ودرجة الحرارة ، بينما كان هناك علاقة سلبية مع الرطوبة أو سقوط الأمطار . هذا يدل على أن ارتفاع درجة الحرارة مع إنخفاض الرطوبة تناسب تكاثر جراثيم الفطر *A. alternata* في الهواء ، وهذا يؤدي بدوره إلى زيادة شدة المرض ويكون ذلك بالقرب من نهاية موسم النمو .

جدول رقم ١١ : العلاقة بين شدة المرض ، الإنتاج ، درجة الحرارة ، الرطوبة النسبية ، الجراثيم في الجو وسقوط الأمطار .

شدة المرض	الرطوبة النسبية	متوسط درجات الحرارة	٪ للجراثيم في الجو	كمية الإنتاج كغم/هكتار
١٠	٨٠	١٢	–	٣٢
١٥	٧٢	١٤,٥	١٠	٣٠
٢٠	٦٥	١٥,٨	٢٠	٢٥
٢٥	٥٢	١٦	٢٨	١٥
٣٠	٥٠,٢	١٧,١	٣٨	١٢
٣٥	٣٧,٦	١٨,٥	٥٠	١٠

ملاحظات على الجدول :

كانت تحدد النسبة المئوية للجراثيم في الجو ، وذلك باستعمال أطباق يترى بها ٢٠ مل PDA وبضع

قطرات من الستربتومايسين ، وتعرض هذه الأطباق مكشوفة ، لمدة خمسة دقائق ، بعد أن توضع على ارتفاعات ٥ ، ٥٠ ، ١٠٠ سم من سطح التربة ، ثم بعد ذلك تؤخذ هذه الأطباق وتحضن على حرارة ٢٧° م ، ثم بعد ثلاثة أيام تعد المستعمرات التي في الطبق وتحسب مستعمرات الفطر مسبب المرض ، على أساس أن كل مستعمرة ناتجة من جرثومة واحدة ، وتحسب النسبة المئوية بالنسبة لباقي أنواع الفطريات في الطبق . دليل المرض كما في الجدول السابق .

٥ - مقاومة مرض اللفحة المبكرة في الطماطم باستعمال حمض السلسليك

مقدمة :

يتسبب مرض اللفحة المبكرة في الطماطم عن الفطر *Alternaria solani* . يصنف هذا الفطر على أنه من تحت قسم فطريات Deuteromycotina (Imperfect fungi) ثم صف Hyphomycetes ثم من رتبة Hyphales . يسبب هذا المرض خسائر إقتصادية في كل من الطماطم ، البطاطس والباذنجان . يمكن أن يهاجم هذا المرض المجموع الخضري ، السيقان والثمار في النباتات المصابة . إذا كان حدوث المرض شديداً ، يمكن أن يسبب الفطر تساقط الأوراق وهذا يؤدي إلى خفض كمية الإنتاج .

تعتمد مقاومة هذا المرض بشكل أساسي ، على المبيدات الفطرية الكيماوية ، الدورة الزراعية الطويلة ، تطهير مراقد البذور بالبخار أو المدخنات ، ثم إتجهت المحاولات إلى طريقة تربية النبات لإنتاج أصناف من الطماطم مقاومة للمرض . ونظراً لافتقاد الجين الوحيد للمقاومة والطرق المعقدة فى التطبيقات الوراثية أدى إلى عدم توافر أصناف الطماطم التجارية التي يتوفر فيها مستوى عال أو كافٍ من المقاومة للفطر *A. solani* .

نظراً للمخاطر البيئية والصحية الناتجة عن استعمال المبيدات الفطرية الكيماوية ، اتجهت الأنظار لاستعمال بدائل لهذه الطريقة ، من بينها ، استعمال عوامل تحث وتنشط الوسائل الدفاعية في النبات ، وذلك لتزويده بوقاية ضد الفطر الممرض المذكور . من بين هذه العوامل التي تستجيب لها النباتات ما يعرف باسم المقاومة الجهازية المكتسبة (SAR) ، حيث أنها يمكن أن تزود النبات بوقاية كافية ضد هذا الكائن الممرض .

يمكن للمقاومة الجهازية المكتسبة ، أن تستحث في الدخان والارابدوبسز باستعمال

الهرمون النباتي ، حمض السلسليك Salicylic acid . هناك تقارير عديدة تفيد بأنه يمكن أن تستحث المقاومة الجهازية المكتسبة في الطماطم باستعمال مثيرات (أو مهيجات) حيوية مثل فيرس نكروزز الدخان أو فطر *P. infestans* . في حالة استعمال الفطر *P. infestans* ، فإن المقاومة المستحثة ، يمكن أن يكون لها بعض الفعالية ضد الفطر *A. solani* . لا يوجد هناك تقارير تدل على أن المقاومة الجهازية المكتسبة ، يمكن أن تستحث في الطماطم باستعمال مثير مأخوذ من مزارع *A. solani* ، مع أن الفطر *A. cassiae* ، يمتلك الفعالية ليحث المقاومة الجهازية المكتسبة في بعض أنواع الأعشاب المعمرة مثل *Cassia obtusifolia* .

إن إثارة الاستجابة للمقاومة الجهازية المكتسبة ، تسبب التجمع السريع لعديد من عائلات البروتينات المتعلقة بالمرضية (PRs) في المناطق بين الخلايا وخارج الخلايا في الورقة . بعض هذه البروتينات التي تتجمع خلال عملية المقاومة الجهازية المكتسبة ، ذكر على أنها ذات نشاطات أنزيمية (مثل Chitinase و Glucanase) ، هذه النشاطات تتفق مع ميكانزم الدفاع ضد الكائنات الممرضة الفطرية ، الفيروسية ، والبكتيرية. مع أن معظم الجزيئات المتوفرة والمعروفة والمتعلقة تماماً بالمقاومة الجهازية المكتسبة ، هي عائلة بروتينات PR-1 ، إلا أن الدور البيوكيميائي الدقيق لهذه البروتينات يبقى محتاجاً إلى شرح أكثر . إن تعبيرات جينات PR وخلق المقاومة الجهازية المكتسبة ، يمكن أن يحدث في غياب الكائنات الممرضة ، عن طريق إضافة مركبات صناعية مثل ، 2,6- dichloro isonicotinic acid ، والمركب Benzothiadiazole - 7 - carbothioic acid . وعلى أية حال فإن حمض السلسليك ، هو أول مركب مشتق نباتي أظهر مقدرته على احداث مقاومة جهازية مكتسبة .

لقد أصبح من المؤكد أن خلق المقاومة الجهازية المكتسبة ، وزيادة مقاومة المرض ، ينتج من المستويات الداخلية المرتفعة لحمض السلسليك في النسيج النباتي . بالإضافة إلى المقاومة الجهازية المكتسبة الناتجة عن رفع مستويات حمض السلسليك في النباتات ، فإن الإضافة الخارجية من حمض السلسليك يمكن أن تحث بكفاءة ، المقاومة الجهازية المكتسبة في بعض النباتات ضد بعض الأمراض إن لم يكن كلها .

لقد ذكر في بعض الأبحاث الحديثة ، أن تغذية حوامل أوراق نباتات الطماطم المفصولة بمادة dichloro-isonicotinic acid أو حمض السلسليك ، يزيد تعبيرات PRs mRNA .

وعلى أية حال فإن هذه الأبحاث لم تذكر محتوى التغيرات الداخلية لحمض السلسليك كإستجابة للمعاملة ، ولا لتكشف المقاومة الجهازية المكتسبة ، نظراً لأن الأوراق المتصلة لم تدخل في الدراسة .

١ - التأثير المباشر لحمض السلسليك على نمو الفطر *A. solani* في المعمل :

لا يتأثر النمو الميسيليومي للفطر *A. solani* عند إضافة حمض السلسليك إلى البيئة النامي فيها الفطر (جدول رقم ١٢) . كان متوسط قطر المزرعة للفطر ، لا يختلف معنوياً في الكنترول ، عنه عندما يضاف تركيزات مختلفة ، من حمض السلسليك إلى البيئة الغذائية ، من مجال صفر إلى ٢٠٠ ميكرومول .

جدول رقم ١٢ : تأثير حمض السلسليك على النمو الميسليومي للفطر *A. solani* في المعمل .

تركيز SA في البيئة الغذائية ميكرومول	سم قطر المستعمرة	٪ نمو المستعمرة
كنترول	٤,٧	١٠٠
٥٠	٤,٩	١٠٢
١٠٠	٤,٩٥	١٠٢,٥
١٥٠	٤,٨٩	٩٩,٦
٢٠٠	٤,٩	١٠٠,١

٢ - تأثير حمض السلسليك على تعبير جين PR-1B :

لو استحثت تجمعات PR-1B mRNA بواسطة معاملة أوراق الطماطم ، بحمض السلسليك ، فإن تجمعات PR-1B المنسوخة تستحث بعد ٢٤ ساعة من المعاملة بتركيز ٢٠٠ ميكرومول حمض السلسليك . تستمر تجمعات PR-1B mRNA في التعبير القوي بعد ٤٨ ساعة من المعاملة . لا يتكون تخليق أو تعبيرات إضافة لـ PR-1B المنسوخة في الأوراق غير المعاملة بحمض السلسليك خلال فترة الزمن المثالية .

٣ - تأثير الإضافة الخارجية لحمض السلسليك على الطماطم :

إن إضافة ٢٠٠ ميكرومول من حمض السلسليك في البيئة الغذائية (مزارع مائية) لجذور الطماطم ، لم يسبب أية تغيرات في إنتفاخ الورقة أو احداث أية مظاهر خارجية للتسمم في المجموع الخضري . وجد في دراسات سابقة أن نباتات الطماطم المعاملة بتركيز ٥٠٠ ميكرومول حمض سلسليك ، يسبب فقداً في انتفاخ الورقة ، وهذا يؤدي بعد ذلك إلى ذبول الورقة . بعد ٢٤ ساعة من المعاملة بحمض السلسليك بتركيز ٢٠٠ ميكرومول ، فإن المستويات الداخلية لحمض السلسليك الحر يزداد معنوياً (حوالي أربعة أضعاف) . أما بعد ٤٨ ساعة فإن المحتوى الداخلي يزداد بحوالي ٦٥ ضعف .

٤ - تأثير الإضافة الخارجية لحمض السلسليك على إصابة الطماطم بالفطر A. solani

إن إضافة حمض السلسليك ، إلى البيئة الغذائية السائلة ، النامية فيها جذور نباتات الطماطم، يؤثر تأثيراً معنوياً على الإصابة ، وتكشف البقع كاستجابة للحقن بالفطر الممرض *A.solani* . يكون عدد البقع لكل ورقة ومساحة النسيج الملفوح الكلي ، منخفضاً معنوياً عندما يضاف الحمض بتركيز ٢٠٠ ميكرومول في البيئة . تصبح نباتات الطماطم المحقونة بالجراثيم الكونيدية للفطر والتي لم يضاف إليها حمض سلسليك خارجي مريضة ، تظهر فيها لفحة الأوراق بحوالي ٤,٨ ضعف ما هو حادث في النباتات المعاملة بحمض السلسليك . الزيادة الطبيعية الحادثة داخلياً لمستوى حمض السلسيك الحر ، لم تتغير معنوياً كاستجابة للإصابة بالفطر . ويمكن القول باختصار :

١ – إن إضافة ٢٠٠ ميكرومول من حمض السلسليك إلى الجذور تزيد معنوياً المحتوى الداخلي للحمض في الأوراق .

٢ – يزداد مستوى الحمض الحر ، حتى يصل ٦٥ ضعف بعد ٤٨ ساعة من الإضافة ، وهذا ليس له أية تأثيرات سامة على النبات .

٣ – يزداد المحتوى الكلي لحمض السلسليك (الحر + SA - glucose conjugate) زيادة معنوية .

٤ – تعبيرات جين البروتينات المتعلقة بالمرضية PR-1B ، تستحث بقوة خلال ٢٤ ساعة من إضافة كمية أل ٢٠٠ ميكرومول من الحمض ويستمر هذا التعبير بعد ٤٨ ساعة ،

مع أن تخليق هذا الـ PR-1B لا يلاحظ في النباتات التي لا تعامل بحمض السلسليك .

٥ – إن حقن النباتات المعاملة بحمض السلسليك ، بالجراثيم الكونيدية للفطر الممرض *A. solani* يؤدي إلى خفض بنسبة ٨٣٪ من عدد البقع/ ورقة ، وخفض بنسبة ٧٧٪ في مساحة الورقة الملفوحة بالمقارنة مع الكنترول . هذا يعني أن حمض السلسليك يشجع المقاومة الجهازية المكتسبة في نباتات الطماطم ضد الفطر الممرض *A. solani* .

٤ - الجسمونات JASMONATES

مقدمة :

إن التواجد الكلي المنتشر للجسمونات JA والميثايل إستر لها MeJA ، في جميع أنواع النباتات الراقية قد درس بتوسع ، وهذا أدى إلى معرفة الدور السائد لهذه الجزيئات في ميتابولزم النبات .

تشتق الجسمونات من حمض الـ Linolenic ، وذلك بواسطة عملية الأكسدة الوسيطة لأنزيم Lipoxygenase (LOX) . ولها تركيبات مشابهة لـ eicosanoids في الثدييات والتي هي أيضاً تشتق من الأحماض الدهنية من خلال فعل أنزيم LOX . تتحرك الجسمونات في النبات بسهولة في كل من الطور السائل والطور الغازى . أما بالنسبة لميثايل جسمونات ، فهي تكون موجودة على شكل بخار (متطاير) ، مما يؤدي إلى القول ، بأنها يمكن أن تعمل أيضاً في الشكل الغازي في النظير المماثل للهرمون النباتي إثيلين .

تؤثر الجسمونات على عديد من العمليات الفسيولوجية المختلفة في النبات ، من ضمنها نمو الجذور ، تكوين الدرنات ، التفاف المحاليق ، شيخوخة الأوراق وفتح الثغور . هناك دور إضافي للجسمونات ، حيث أنها يمكن أن تقع في دور وسيط لاستجابة النباتات للضغوطات الخارجية ، مثل المهاجمة من قبل الكائنات الممرضة أو الحشرات الماضغة . التركيزات المنخفضة من JA تحث مثبطات أنزيم الـ Proteinase ، وهي Thionin ، Osmotin ، بروتين جدار الخلية الغني بالبرولين ، وأنزيمات أخرى مختلفة ، داخلة في تفاعلات دفاع النبات، مثل Chalcone synthose ، PAL و LOX . إن تخليق هذه البروتينات يؤدي إلى القول ، بأن هناك دوراً لـ JA في مساعدة النباتات لوقف نمو الكائنات الدقيقة الممرضة . هناك أدلة إضافية تدعم فكرة دخول الـ JA في المقاومة النباتية ، قد تم الحصول عليها من ملاحظة ، أن تجريح النباتات أو معاملة مزارع الخلية بمثيرات فطرية ، يؤدي إلى زيادة في عملية البناء الحيوي لـ JA .

دور الجسمونات في المقاومة الجهازية المكتسبة :

إن دور الجسمونات و MeJA في تخليق المقاومة الجهازية المكتسبة ، بقي غير واضحاً حتي سنة ١٩٩٧ ، ثم بعد ذلك أجريت دراسات عديدة على هذه المادة ، تبين أن جزيئات

JA تعمل كناقل ثانوي في نظام المقاومة الجهازية المكتسبة ، بشكل مماثل للاستجابة الجهازية المستحثة بواسطة التجريح .

التقارير المذكورة عن تخليق حالة مقاومة في النباتات باستعمال JA ، بقيت متناقضة لغاية سنة ١٩٩٤ ، إلا أن Mitchell & Walters سنة ١٩٩٥ قاما بتجارب مؤكدة تنفي كل ما سبق من تناقضات . أثبت هذان العالمان أنه يمكن تخليق مقاومة جهازية في نبات الشعير ضد الإصابة بفطر البياض الدقيقي *Erysiphe graminis* f. sp. *hordei* ، عن طريق معاملة الأوراق الأولى في البادرات بمادة MeJA . وكذلك فإنهما قاما بقياس الزيادة في نشاطات الـ PAL ، Peroxidase و LOX في الأجهزة الورقية . عند معاملة بادرات القمح بمادة MeJA ، قبل حقنها بالسلالة شديدة المرضية لفطر البياض الدقيقي للقمح *E. graminis* f. sp. *tritici* ، فإن نباتات القمح تعطي درجة عالية من المقاومة تظهر على شكل حليمات في منطقة محاول دخول الكائن الممرض ، مقارنة مع نباتات الكنترول . كذلك فإن Cohen *et al* سنة ١٩٩٦ خلق مقاومة جهازية في نباتات البطاطس والطماطم ضد الفطر *Phytophthora infestans* عن طريق استعمال JA و MeJA . أما في الأرز فإن حقن النباتات بالكائن الممرض مسبب لفحة الأرز *Magnaporthe grisea* ومعاملة النباتات بمادة 2,6 - dichloro - isonicotinic acid (INA) وهو حاث صناعي على المقاومة ، أدى إلى زيادة في مستويات JA وبالتالي أدى إلى زيادة مقاومة النبات للمرض . وفي تجارب مماثلة تبين أن استعمال JA لم يؤدي إلى مقاومة موضعية ، إلا أنه يؤدي إلى مقاومة جهازية في الجزء العلوي من الورقة . كذلك تبين أن الجروح تحث على التجمع الجهازي والموضعي لـ JA ، إلا أنه لم يتواجد جينات معلمه للجروح المستحثة .

لقد تبين حديثاً أن حقن نبات الارابدوبسز ، بسلالة ضعيفة الشدة المرضية ، من الفطر *A. brassicola* يؤدي إلى زيادة في الـ JA الداخلي في الأوراق المعاملة ، بالإضافة إلى الأوراق العلوية غير المعاملة . ولقد بين Penninck سنة ١٩٩٧ أن معاملة النباتات بمادة MeJA ، تحث على تجميع مادة دفاعية ، مضادة فطرية ، ليست PR-1 ، بينما إضافة حمض السلسليك أو المركب INA المذكور سابقاً يؤدي إلى تجميع PR-1 ولكنها ليست دفاعية . هذه النتائج ، بالإضافة إلى نتائج تجارب استعمال طفرات نبات الارابدوبسز المتأثرة في مواقع مختلفة من ممر النقل الإشاري ، أدى إلى القول، بأن هناك ممرين مختلفين ، كلاهما يستحث بواسطة الكائنات الممرضة ، ولكن إحداهما يؤدي إلى تعبيرات PR-s عن

طريق حمض السلسليك ، والآخر يؤدي إلى تجمع الجسمونات وتخليق مقاومة جهازية مكتسبة .

هناك عوامل إضافية تقوي هذه الفرضية ، أتت من حقيقة أن جينات دفاع أخرى تتبع النظام المستقل عن حمض السلسيك في تخليق المقاومة ، مثل Thionin (Thi 2 - 1) حيث أنه يستحث في نبات الارابدوبسز بعد الحقن بالفطر فيوزاريوم و MeJA ، ولكن ليس بواسطة المعاملة بحمض السلسليك . يبدو أيضاً أن هناك بعض التداخلات بين الممرين ، نظراً لأن الاسبرين وحمض السلسليك كلاهما يثبط البناء الحيوي للجسمونات في النبات .

تأثير الجسمونات على لفحة الفايتوفثورا في البطاطس والطماطم :

إن كلاً من حمض الجسمونك Jasmonic acid (JA) ومادة ميثيل إستر جسمونك Jasmonic methyl ester (MeJA) ، هي مشتقات دهون نباتية والتي ثبت بأنها تلعب دوراً هاماً عند تجريح النبات ، وكذلك تدخل في تخليق مقاومة جهازية مكتسبة .

١ - سمية الجسمونات على النبات :

عند استعمال JA أو MeJA بتركيز أعلى من ١٠٠٠ ميكروغرام/مل على النبات ، فإن ذلك يسبب اصفرار خفيف في نبات الطماطم والبطاطس بعد ٢ - ٣ أيام من الرش ، بغض النظر عن التشكيلات التي استعمل عليها . يكون تركيز الاصفرار شديداً عند استعمال تركيز ٢٥٠٠ ميكروغرام/مل ، ويكون مصحوباً بخفض نمو النبات عند تركيز أعلى من ٥٠٠٠ ميكروغرام/مل .

عند استعمال JA و MeJA بتركيز ١٠٠ ميكروغرام بالإضافة إلى ١٠٠٠ ميكروغرام/مل ، لا تؤثر بشكل معنوي على محتويات النبات من كلوروفيل A أو B . وعلى أية حال فإن MeJA بتركيز ١٠٠٠ ميكروغرام لكل مل يخفض محتوى كلوروفيل A بنسبة ١٨٪ وكلوروفيل B بنسبة ١٩٪ ، والكاروتينات الكلية بنسبة ٢٠٪ . يكون المحتوى الداخلي للجسمونات في النباتات غير المعاملة أقل من ٠,١ ميكرومول/غرام من الوزن الطازج. يمكن القول بأنه لا يوجد فايتوالكسن ، لا في الطماطم ولا في البطاطس نتيجة استعمال JA أو MeJA .

٢ - الوقاية الموضعية لنباتات البطاطس :

عند استعمال كل من JA أو MeJA رشاً على سطوح الأوراق ، فإنه يقيها عندما تحقن بالفطر الممرض رشاً على الأوراق كما في جدول (رقم ١٣) . تعتمد درجة الوقاية على تركيز الجسمونات ، وعلى الفترة الفاصلة بين استعمال هذه المركبات والرش بالكائن الممرض . عندما تكون الفترة الفاصلة ساعتين ، فإن وقاية النبات تصل ٩٢٪ عند استعمال JA بتركيز ١٠٠ ميكروغرام/مل وتصل إلى نسبة ١٠٠٪ عند تركيز ١٠٠٠ ميكروغرام/مل. عندما تكون الفترة الفاصلة خمسة أيام ، يكون هناك أعلى حفظ ووقاية للنبات باستعمال JA . إذا زادت الفترة الفاصلة إلى ثمانية أيام ، تنخفض نسبة الوقاية إلى ٦٧ ، ٧٧ ، ٧١ ، ٢٤٪ عند استعمال MeJA بتركيز ١٠٠ و ١٠٠٠ ميكروغرام .

أما عند استعمال JA رشاً على السطح السفلي للأوراق ، فإن نسبة الوقاية تنخفض إلى ٨٥٪ على تركيز ١٠٠٠ ميكروغرام/مل مقارنة مع السطح العلوي . أما عند استعمال JA على السطح السفلي للأوراق ويحقن الفطر الممرض على السطح العلوي للأوراق ، تكون أعلى نسبة للوقاية ، حيث تصل إلى ٨٥٪ وذلك عند استعمال تركيز ٥٠٠٠ ميكروغرام/مل.

جدول رقم ١٣ : تأثير استعمال JA و MeJA رشاً على نباتات البطاطس ، على تكشف مرض اللفحة المتأخرة ، وتأثير الفترة الفاصلة بين الحقن والرش على تكشف المرض .

الفترة بين الرش والحقن	ميكروغرام/مل تركيز المحلول	عدد البقع لكل نبات	ملم حجم البقعة	ملم٢ المساحة الملفوفة من الورقة	٪ نسبة الوقاية
٢ ساعة	كنترول	٤٨	٤,١	٦٠٣	–
	JA ١٠٠	٧	٣	٤٩	٩٢
	JA ١٠٠٠	صفر	–	–	١٠٠
	MeJA ١٠٠	٣٧	٤	٤٦٥	٢٣
	MeJA ١٠٠٠	٦,٠	٣,٥	٥٨,١	٩٠,٠
٥ أيام	كنترول	٢٨,٢	٤,٢	٣٨٨	–
	JA ١٠٠	١٠,١	٣,١	٧١,–	٨٢
	JA ١٠٠٠	٣,٢	٢,٤	١١,–	٩٧
	MeJA ١٠٠	–	–	–	–
٨ أيام	كنترول	١٢١	٦,٧	٤٣٠٠	–
	JA ١٠٠	٧٩	٤,٧	١٤٠٠	٦٧
	JA ١٠٠٠	٥٢	٤,٩	٩٨٠	٧٧
	MeJA ١٠٠	٨٣	٤,٤	١٢٦٠	٧١
	MeJA ١٠٠٠	١١٨	٥,٩	٣٢٧٠	٢٤
١١ يوم	كنترول	–	–	٦٤	–
	JA ١٠٠	–	–	٦٩	٨
	JA ١٠٠٠	–	–	٤٤	–
	MeJA ١٠٠	–	–	٦٣	٢
	MeJA ١٠٠٠	–	–	٥٣	١٧

٣ - الوقاية الجهازية لنباتات البطاطس :

يتبين من الجدولين (١٤ ، ١٥) أن استعمال JA بتركيز ٢٠٠٠ ميكروغرام/مل ، أعطى أعلى نسبة وقاية للنباتات ، ٨٠٪ ، عندما تكون الفترة الفاصلة بين الرش والحقن

بالكائن الممرض خمسة أيام ، وأعطى نسبة وقاية ٨٥٪ عندما كانت الفترة الفاصلة ٣ أو ٤ أيام . أما استعمال MeJA بتركيز ٢٠٠٠ ميكروغرام/مل ، أعطت وقاية ٧٧٪ عندما كانت الفترة الفاصلة خمسة أيام ، وأعطت نسبة وقاية ٩٣٪ عندما كانت الفترة الفاصلة ٣ أو ٤ أيام .

جدول رقم ١٤ : تكشف مرض اللفحة المتأخرة على نباتات البطاطس المعاملة على السطح السفلي للأوراق بمادة JA والمحقونة على السطح العلوي للأوراق بالفطر الممرض وكانت الفترة بين الحقن والرش خمسة أيام .

التركيز ميكروغرام/مل	عدد البقع لكل نبات	ملم٢ مساحة البقعة	ملم٢ المساحة الملفوفة من الورقة	٪ نسبة الوقاية من المرض
كنترول	٤٢	٤,٨	٧٦٠	–
١٠٠٠	١٠	٤,٢	١١٣	٨٥
٢٥٠٠	١٦	٤,٣	٢٣٢	٧٠
٥٠٠٠	١٠	٣,٨	١١٣	٨٥
١٠٠٠٠	١٢	٤,٤	١٨٢	٧٦

جدول رقم ١٥ : الوقاية الجهازية المستحثة في الأوراق العلوية لنباتات البطاطس ضد الفطر المسبب لمرض اللفحة المتأخرة ، باستعمال JA أو MeJA المضاف إلى الأوراق السفلية .

تركيز المركب المستعمل ميكروغرام/مل	ظهور الأعراض المرضية على الأوراق العلوية				
	بعد ٣ - ٤ أيام			بعد خمسة أيام	
	عدد البقع /نبات	ملم٢ حجم البقعة	ملم٢ المساحة الملفوحة	٪وقاية	٪ مساحة الورقة الملفوحة	٪وقاية
كنترول	٩٠	٥	١٧٦٧	-	٧١	-
JA ١٠٠٠	٦٧	٥	١٣١٦	٥٦	٣٣	٥٤
JA ٢٠٠٠	٤٤	٣,٢	٣٥٤	٨٠	١٨,٣	٧٥
MeJA ١٠٠٠	٦٦	٣,٣	٥١٣	٧١	٢٨,-	٦١
MeJA ٢٠٠٠	٥٣	٤,٠	٦٦٠	٦٣	١٩	٧٣

٤ - الوقاية الجهازية والموضعية في نباتات الطماطم :

تزداد نسبة الوقاية الموضعية والجهازية في نباتات الطماطم ، بزيادة الجرعة المستعملة من JA لغاية ٢٥٠٠ ميكروغرام/مل . على هذا التركيز ، فإن الوقاية الموضعية والجهازية تصل إلى مستوى ٨٢٪ و ٦٦٪ بالترتيب . عندما ترش النباتات بمحلول الاسيتون لكل من الـ JA و MeJA (٦٢,٥ - ١٠٠٠ ميكروغرام/مل) على السطح العلوي للأوراق ، ثم تحقن النباتات بعد ذلك بمدة خمسة أيام ، بالكائن الممرض ، تبين أن JA و MeJA بتركيز ١٠٠٠ ميكروغرام/مل تسبب اصفراراً في الأوراق العلوى للنبات بعد ٢ - ٣ أيام من الرش . كانت نباتات الكنترول بعد أربعة أيام من الحقن تظهر فيها نسبة الإصابة ٨١٪ . تبين من التجارب أن JA يعطي أو يسبب مقاومة معنوية تحفظ النباتات من المرض بالمقارنة مع MeJA في جميع التركيزات . عندما كانت تركيزات JA ، ١٢٥ ، ٢٥٠ ، ٥٠٠ ، ١٠٠٠ كانت نسبة الأوراق الملفوحة من النبات ٤٢٪ ، ٥٨٪ ، ٥٠٪ و ٤٠٪ . أما عند استعمال MeJA بنفس التركيز كانت نسبة الأوراق الملفوحة ٦٢، ٦٣، ٦٠، ٦١٪ بالترتيب وكانت نسبة الإصابة في الكنترول ٨٠٪ .

نتيجة لهذه التجارب ، يمكن القول ، بأنه يفضل استعمال JA في مقاومة مرض اللفحة المتأخرة في الطماطم بالتركيزات المذكورة سابقاً .

٥ - السستمين The Systemin

مقدمة :

بعد مهاجمة الحشرات للنبات ، يحدث هناك استجابة في النبات ، تنعكس على شكل تجمع مثبطات أنزيم البروتينز Proteinase في الأوراق المجروحة وغير المجروحة . يكون عمل مثبطات الأنزيم ، تثبيط نشاط أنزيم الهضم الموجود في القناة الهضمية في الحشرة ، وهذا يؤدي إلى سوء التغذية ، خفض النمو وأحياناً موت الحشرات المتغذية . الحث أو التخليق الجهازي لمثبطات البروتين ، قد درست بشكل واسع في كل من البطاطس والطماطم ، درس بدون تفصيل في أنواع نباتية أخرى من ضمنها البرسيم الحجازي ، البطيخ والذرة . عزلت إشارة جهازية من الطماطم ، ووجد أنها تتكون من ببتايد يتكون من ١٨ حمض أميني ، يسمى سستمين Systemin . تكون كمية السستمين منخفضة كما في حال الـ Femtomoles وتحث على بناء مثبطات الأنزيم Proteinase من جديد عند إضافتها لنباتات الطماطم الحديثة . الببتايد المصنع يحتفظ بكامل كفاءته في الحث كما هو الحال في الببتايد الطبيعي .

هناك مركبات أخرى مثل حمض الابسيسك Abscisic (ABA) والجسمونات ، تحث أنزيم Proteinase (Pin2) مثبط البروتين وتعبيرات الجين في الأوراق المعاملة ، وفي الجهاز الورقي كله . يكون هناك زيادة في مستويات حمض الابسيسك والجسمونات بعد عملية التجريح .

لا يتجمع في نباتات الطماطم والبطاطس Pin2 mRNA ، عندما تفتقر إلى حمض الابسيسك بعد عملية التجريح . هذا يؤدي إلى القول بأن حمض الابسيسك يتدخل في بعض المراحل خلال تخليق Pin2 بواسطة التجريح . كما وأن معاملة أوراق البطاطس بالجسمونات تحث على تجميع Pin2 mRNA في الأنواع الأصلية (البرية) وفي نباتات الطفرة التي تفتقد حمض الابسيسك .

هذه النتائج تؤدي إلى القول ، بأن الجسمونات داخلة في خطوة من خطوات جريان حمض الابسيسك في ممر نقل إشارة الجرح ، مؤدية إلى تنشيط جين Pin2 ، ومن ناحية أخرى فإن السستمين يحث تعبيرات جين Pin2 في الأنواع الأصلية من نباتات الطماطم والبطاطس ، ولكن ليس في النباتات التي تفتقر إلى حمض الابسيسك ، نظراً لأن كل

منهما ضار ميكانيكياً . وجد أن السستمين يحث تعبيرات جين Pin2 ويؤدي إلى زيادة في المحتوى الداخلي من حمض الابسيسك والجسمونات ، ومن المحتمل أن السستمين ينظم المستويات الداخلية لكل من حمض الابسيسك والجسمونات . وبناء على نتائج الدراسات الكثيرة ، في هذه الموضوع ، تبين أن المعاملة بحمض الابسيسك ، يؤدي إلى زيادة في الجسمونات ، ولكن المعاملة بالجسمونات لا تؤدي إلى زيادة في حمض الابسيسك . من ذلك يتبين أن السستمين وحمض الابسيسك يسيران في عملهما بعكس عمل الجسمونات.

حركة السستمين في النبات :

عند دراسة حركة السستمين في النبات ، يستعمل السستمين ذو الكربون المشع ١٤ ، عند إضافة هذا المركب إلى نباتات الطماطم المجروحة ، فإنه يتوزع خلال جروح الورقة خلال نصف ساعة ، ثم ينتقل إلى حامل الورقة ، الساق والأوراق العلوية خلال عدة ساعات. تكون حركة السستمين المعلم في النبات مشابهة لحركة السكروز المعلم بكربون ١٤ المضاف إلى جروح الورقة ، كما وأن عملية الـ Translocation للسستمين (H^3) تتثبط بكاشف الـ Sulfhydrl وهو مركب كيماوي P-chloromercuri benzene sulfonic acid والذي هو مثبط لـ apoplasmic اللحاء ، محمل وغير محمل بالسكروز . وبالتالي فإن عملية الـ Translocation للسستمين من المحتمل أن تحدث بواسطة ميكانزم مشابه لعملية Translocation للسكروز من منطقة الابوبلاست إلى اللحاء حيث ينتقل جهازياً .

بناء السستمين :

يبنى السستمين على أساس أنه بادئ لبروتين يتكون من ٢٠٠ حمض أمينيي ، السستمين الأولي Prosystemin مع سلسلة سستمين تقع في C-terminus . لا يمتلك السستمين الأولي تتابع إشاري للتأشير إلى ممر الإفراز ، وبالتالي يمكن أن يخزن في السيتوبلازم . mRNA لمادة السستمين الأولي موجود خلال نباتات الطماطم ما عدا الجذور ويتجمع في الأوراق بعد التجريح . تؤدي التعبيرات العالية لجين السستمين في نباتات الطماطم المحولة وراثياً ، إلى تعبيرات أساسية لمثبطات الـ Proteinase في غياب التجريح . كما وأن تطعيم الجزء العلوي من نباتات الطماطم غير المحولة ، على الجزء السفلي المحول Transformed مع جين السستين الأولي ، يؤدي إلى تعبيرات أساسية لأنزيم

البروتينيز المثبط للبروتينات في جميع النبات . وبالتالي فإن الإشارة المتنقلة ، السستمين ، تتولد بواسطة تعبيرات السستمين الأولي المحول وراثياً وتنتقل من الجزء السفلي المحول وراثياً خلال التطعيم إلى الجزء العلوي غير المحول ، حيث أن هناك تنشيط جينات مثبط البروتينيز. نباتات الطماطم المحولة بـ Antisense prosystemin CDNA ، تظهر خفضاً كبيراً في تعبيرات مثبطات البروتينيز بعد التجريح .

السستمين وأمراض النبات :

نباتات الطماطم التي تظهر تعبيرات عالية لجين السستمين الأولى ، تظهر أيضاً زيادة في مستويات أنزيم أكسدة البولي فينولز ، وتزود نباتات الطماطم الحديثة بالسستمين من خلال السيقان المقطوعة ، التي تحث نشاط أنزيم أكسدة البولي فينولز في الأوراق . هذا الأنزيم يستحث بعد التجريح أيضاً . كذلك فإن السستمين يحث أيضاً بناء mRNA لأنزيم اسبارتك بروتينيز في نباتات الطماطم ، وتبين حديثاً أن البروتين المرتبط مع السستمين قد تم عزله من أغشية بلازما ورقة الطماطم ، وأن هذا البروتين مشابه للخميرة ولبعض الأنزيمات الحيوانية .

مع أن هناك نتائج عديدة ، قد أشارت إلى السستمين على أنه إشارة جهازية حاثه على بناء مثبط البروتينيز بعد التجريح ، إلا أن تجارب أخرى أثبتت أن هناك ثلاثة إشارات أخرى قد تم اكتشافها ، ذات تنشيط لمسافات طويلة لتعبيرات جينات مثبطات البروتينيز ، وهي حمض الابسيسك ، إشارات إلكترونية وإشارات hydraulic .

بعد رش الجزء السفلي من المجموع الخضري لنباتات البطاطس المفتقدة لحمض الأبسيسك ، بمادة حمض الابسيسك ، فإن مستويات هذا الحمض تزداد في الأنسجة البعيدة غير المرشوشة ويتجمع Pin2 mRNA . تكون النباتات المفتقدة إلى حمض الابسيسك غير قادرة على بناء هذا الحمض من جديد ، وبالتالي من الممكن أن الإضافات الخارجية لحمض الابسيسك تنقل إلى النسيج غير المرشوش . لقد وجد Pearce & Ryan سنة ١٩٦٦ أن تزويد نباتات الطماطم الصغيرة بحمض الابسيسك ، يؤدي إلى تجمع كميات صغيرة جداً من أنزيم البروتينيز مثبط البروتين ، مقارنة مع المستويات التي تصلها بعد المعاملة بالسستمين ، وبالتالي يبدو أن حمض الابسيسك يكون مطلوبا للاستجابة بالجرح ولكنها لا تسلك كإشارة أولية للجرح .

٦ - مركب الـ Benzothiadiazole
ودوره في المقاومة الجهازية المكتسبة

١ - مقاومة مرض البياض الزغبي في عباد الشمس

مقدمة :

نشرت دراسات عديدة ، في مجال مقدرة النبات على إظهار مقاومة ضد عوامل حيوية، مثل البكتيريا ، الفطريات ، والفيروسات وعوامل غير حيوية فيزيائية وكيميائية . هناك عديد من الميكانيكيات تتعلق بهذا الموضوع يمكن تنشيطها بواسطة الإصابة الموضعية الميكروبية ، والتي فيها تظهر الإستجابة الأولى للنبات ، على شكل موت خلية موضعية ، وتسمى هذه الظاهرة تفاعل فرط الحساسية (hypersensitive reaction) ثم بعد ذلك بإنتاج الفايتوالكسن ، تكوين الكالوس واللجننة . هذا بالإضافة إلى تنشيط نظام دفاعي في النبات يسمى المقاومة الجهازية المكتسبة Systemic Acquired Resistance (SAR) . أظهرت الدراسات البيوكيميائية أن استجابة SAR تكون مرتبطة بتجمع مركبات تسمى بروتينات متعلقة بالمرضية Pathogenesis Related proteins (PRs) ، هذه تشمل كل من β-1,3- glucanases و Chitinases وبروتينات غنية بالسستين متعلقة بـ Thaumatin والبروتينات PR-1 .

أثبتت الدراسات الحديثة أن معاملة النباتات بعوامل كيماوية مصنعة ، يمكن أن تستحث استجابة SAR . هناك كثير من المركبات أثبتت مقدرتها الجيدة على وقاية كثير من النباتات من الإصابة بالكائنات الممرضة الفطرية والبكتيرية ، في الصوبا الزجاجية ، بالإضافة إلى الزراعات تحت الظروف الحقلية . هذه الوقاية تكون عن طريق الحث على تخليق مقاومة جهازية مكتسبة في النبات .

هناك دراسات حديثة أخرى ، قد أثبتت أن معاملة النبات بمادة حاثة على SAR تسمى (BTH) Benzo (1,2,3) thiazole - 7 - carbothioic acid - s - methy ester ، قادرة على وقاية عديداً من المحاصيل ضد مجموعة من الأمراض ، هذا ما أثبته كل من Kessmann ومساعديه سنة ١٩٩٦ ، وكذلك Ruess *et al* سنة ١٩٩٦ و Gorlach *et al* سنة ١٩٩٦ .

يباع في الأسواق مركب BTH تجارياً تحت اسم Bion ويستعمل في كثير من مناطق العالم الزراعية .

مركب BTH ومقاومة مرض البياض الزغبي في عباد الشمس :

عند استعمال BTH على شكل معاملة تربة أو رشاً على المجموع الخضري ، فإنه يظهر وقاية جيدة ضد مرض البياض الزغبي ، المتسبب عن الفطر *Plasmopara helinthi* في نباتات عباد الشمس . إن عملية غمر التربة بمعدل ١٥٠ – ٢٠٠ ملغ/كغم تربة وتكرار ذلك ثلاثة مرات ، بمعدل كل يوم مرة ، وتوقف قبل الحقن بالكائن الممرض بثلاثة أيام ، أعطت وقاية ضد المرض بنسبة ٨٠ – ٨٢٪ . أما عند استعمال تركيز ٣٠٠ ملغ/كغم تربة أعطت وقاية ٩٠٪ ، إلا أنه هنا ، ظهرت أعراض التسمم على النبات .

كما وأن هذا المركب ، يعطي وقاية جيدة ضد الفطر الممرض المذكور ، عندما يضاف للتربة قبل الحقن بالكائن الممرض بمدة يوم واحد ، وكذلك عند استعماله بعد الحقن بيوم واحد أيضاً . (جدول رقم ١٦) . في التجارب المعملية التي أجريت لمعرفة التأثير المباشر لهذا المركب على نمو الفطر *P. helianthi* في المعمل ثبت أن ليس له تأثير على نمو الفطر .

جدول رقم ١٦ : تأثير BTH على فطر البياض الزغبي لعباد الشمس ، عند استعماله معاملة تربة أو رشاً على المجموع الخضري على فترات مختلفة قبل أو بعد الحقن بالكائن الممرض .

طريقة استعمال المركب BTH	التركيز ميكروغرام/مل	موعد المعاملة باليوم		٪ نباتات مصابة	٪ وقاية
		قبل الحقن	بعد الحقن		
كنترول	صفر	صفر	–	٧٥	–
معاملة تربة	٣	٣	–	٠٥	٩٣
معاملة تربة	٤	٣	–	٢,٠	٩٧
رش المجموع الخضري	٣٥	١	–	٢٠,٠	٧٣
رش المجموع الخضري	٧٠	١	–	٢٥,٠	٦٦
رش المجموع الخضري	٣٥	–	١	٥٠,٠	٣٣
رش المجموع الخضري	٧٠	–	١	٢٥,–	٦٧

أما عند استعمال المركب BTH مضافاً إليه مادة Metalaxyl كمعاملة تربة بمعدلات منخفضة ، فإنه أعطى معدلات عالية من المقاومة ضد المرض ، وأن هذه النتيجة لم تكن مختلفة معنوياً عن استعمال الميثالكسايل لوحده (جدول رقم ١٧) . إن مركب BTH إذا استعمل معاملة تربة أو رشاً على المجموع الخضري فإنه يقي نباتات عباد الشمس من الإصابة بالفطر سواء كانت عن طريق التربة أو عن طريق المجموع الخضري .

جدول رقم ١٧ : تأثير استعمال BTH بتركيزات مختلفة مضافاً كمعاملة تربة ، بجرعات مختلفة (ثلاثة أيام قبل الحقن) متحداً مع مادة ميثالكسايل ، مضافة كمعاملة بذور بتركيز ١٠٠ و ٢٠٠ غرام/ كنتال حبوب ، على الإصابة بفطر البياض الزغبي في عباد الشمس .

تركيز BTH ملغ/ كيلو تربة	ميثالكسايل ١٠٠ غ لكل قنطار بذور		ميثالكسايل ٢٠٠ غ لكل قنطار بذور		بدون ميثالكسايل	
	٪إصابة	٪وقاية	٪إصابة	٪وقاية	٪إصابة	٪وقاية
صفر	١٢	٩٠	١٤	٨٨	٨٥	–
١٠٠	٨	٩٤	٥	٩٥	٣٨	٦٨
١٥٠	٤	٩٧	٥,٥	٩٤	٢٠	٨٠
٢٠٠	٢	٩٩	٢	١٠٠	١٤	٨٤
٢٥٠	–	–	–	–	٥	٩٥
٣٠٠	–	–	–	–	٢	٩٣

ملاحظات على الجدول : الميثالكسايل مبيد فطري اسمه التجاري أبرون ، يوصى باستعماله بتركيز ٦٠٠ غرام لكل قنطار بذور .

ب - مقاومة مرض لفحة الأرز

Rice Blast

مقدمة :

لقد وصفت المقاومة الجهازية المكتسبة ، ضد كثير من الكائنات الممرضة ، في كثير من النباتات سواء كانت احادية الفلقة أم ثنائية ، خاصة بعد أن تهاجم هذه النباتات بكائنات ممرضة غير متوافقة معها . أما بالنسبة للأرز فقد ذكر أن المركب BTH يحث النبات على تخليق مقاومة كما في نباتات الارابدوبسز ، الفاصوليا ، الصليبيات ، الخيار ، الدخان ، القمح وعباد الشمس . يباع هذا المركب في الأسواق تجارياً تحت اسم Bion ويستعمل على نطاق واسع في أمريكا في مقاومة كثير من أمراض النبات .

في كثير من نباتات ثنائية الفلقة ، فإن BTH يستحث مجموعة من جينات SAR ، من ضمنها مجموعة من البروتينات المتعلقة بالمرضية PRs وخاصة العائلات من ١ – ٥ . كذلك فإن نفس الجينات قد استحثت بواسطة مهاجمة الكائن الممرض وبواسطة حاثات بيولوجية لـ SAR . في القمح ، فإن عدداً من cDNAs مشابهة للجينات المستحثة بواسطة BTH قد تم عزلها ، وتبين بأنها تتبع مجموعات من الجينات غير التي تتبع لـ SAR في الدخان ونبات الارابدوبسز .

وبالمثل فإن هناك جيناً في الأرز يستحث بواسطة حاث المقاومة Probenazole ، وهذا أيضاً غير تابع إلى الجينات الكلاسيكية للمقاومة الجهازية المكتسبة (SAR genes) . جينات القمح المستحثة بواسطة BTH ، غير قابلة بأن تستحث بواسطة حاثات بيولوجية لمقاومة *Erysiphe graminis* f.sp. *hordi* . بينما جينات القمح المستحثة بالكائن الممرض لم تكن تستحث بواسطة BTH . وبالمقابل فإنه في حالة الارابدوبسز والدخان والخيار فإن جينات SAR تستحث بكلا الطريقتين بالكائن الممرض الذي يستحث SAR بالإضافة إلى BTH.

مركب BTH ومرض لفحة الأرز :

إن معاملة بادرات الأرز بمادة BTH ، تكسب النباتات مقاومة ضد المهاجمات التالية بالفطر المسبب لمرض لفحة الأرز *Magnaporthe grisea* . إن هذه المادة تباع الآن في الأسواق تحت اسم Bion لوقاية نبات الأرز من هذا الفطر . إن عملية إشباع التربة بمادة

BTH ، تحث المقاومة في بادرات الأرز ضد الفطر المذكور كما يبدو من (جدول رقم ١٨). إن أفضل مقاومة قد تم الحصول عليها ، عند استعمال أقل جرعة وهى واحد جزء في المليون . إن العلاقة العكسية بين جرعة BTH وحصول الوقاية ، يدعم الرأي الذي يقول إن هذا المركب ، يعمل بشكل غير مباشر ، عن طريق استحداث المقاومة في النبات العائل ، أكثر منها عن طريق التأثير المباشر على الفطر .

أما عن الجينات المستحثة بواسطة BTH في الأرز فهى ١٤ وهي PIR 7b ، PIR2 ، PIR3 ، ITP5 ، ITP8 إلى ITP17 وهي مشابهة للجينات المستحثة بواسطة المركب INA .

جدول رقم ١٨ : وقاية نباتات الأرز من مرض اللفحة المتسبب عن الفطر *M. grisea* عن طريق معاملة التربة بمركبBTH .

المعاملة	التركيز جزء في المليون	عدد البقع / ورقة	% إصابة فعليـــة
كنترول	–	١١,٣	١٠٠
BTH	١,٠	٢,١	١٩
BTH	١٠,٠	٤,٣	٣٨
BTH	١٠٠,٠	٧,١	٦٦

جـ - مقاومة مرض اللفحة النارية في التفاح
Apple Fire Blight

مقدمة :

يعتبر مرض اللفحة النارية ، من أهم الأمراض وأكثرها خطورة والتي تهاجم التفاح والكمثرى ، ويسبب خسائر إقتصادية كبيرة في جميع مناطق زراعة هذه الأشجار . يتسبب هذا المرض عن البكتيريا *Erwinia amylovora* . يحدث إختراق الكائن الممرض أساساً عن

طريق الفتحات الطبيعية (الغدد الرحيقية) ، في الأزهار أو عن طريق الجروح التي تحدث في الأفرع الهوائية الحديثة . عندما توطد البكتيريا نفسها في النبات ، تتكاثر وتتقدم في الفراغات الخلوية ، بين خلايا البرانشيما ، مؤدية إلى سرعة تكشف نكروزز في الأنسجة المصابة . تبدأ البكتيريا في تكوين الإفرازات الهلامية ، وهذه الإفرازات تأخذ شكل خيوط العنكبوت ، وتكون متصلة مع بعضها البعض في الشجرة الواحدة أو بين الأشجار المتقاربة ، تظهر لامعة في ضوء الشمس عندما ينظر إليها عن بعد . هذه الظاهرة من أهم الأعراض التشخيصية لهذا المرض .

تعتمد المقاومة الكيماوية لهذا المرض ، على استعمال المضادات الحيوية Streptomycin أو مركبات النحاس ، التي تمنع تكاثر البكتيريا وتوقف الإصابات الجديدة . لسوء الحظ ، فإن المضادات الحيوية ، تؤدي إلى ظهور سلالات بكتيرية مقاومة أو تجمعات بكتيرية غير حساسة للمضاد الحيوي ، وبالتالي فإن استعمالها يكون محدود جداً . أما مركبات النحاس ، فهي تسبب أعراض السمية على النباتات خاصة على الثمار ، مما يقلل من نوعيتها وبالتالي يجب عدم استعمالها ، بالإضافة إلى أنه لا يوجد أي من مركبات النحاس تعمل جهازياً ، وحتى تكون فعالة يجب أن تستعمل بحيث تغطي سطح النبات قبل وصول الكائن الممرض ودخوله النسيج النباتي .

تجنباً للأوضاع سالفة الذكر ، إتجهت أنظار العلماء إلى تخليق المقاومة الجهازية المكتسبة SAR . كما سبق وذكرنا في مقدمة الكتاب ، يجب أن تتوفر شروط معينة في المادة الكيماوية المستعملة ، حتى تسمى مادة حاثة للمقاومة الجهازية المكتسبة منها :

١ – أن لا يكون لهذه المادة أو أي من مشتقاتها تأثير مباشر على الكائن الممرض .

٢ – أن تقي النبات ضد مجال واسع من مسببات الأمراض وأن لا تكون متخصصة .

٣ – أن تنبه ، على الأقل ، واحداً من النظم الدفاعية عند النبات ضد الكائنات الممرضة .

من ميكانيكيات الدفاع ضد مسببات الأمراض ، هو زيادة مقاومة جدار الخلية (اللجننة) والتجمعات الجهازية للبروتينات المتعلقة بالمرضية PRs . هناك مركبات عضوية وغير عضوية ذكرت بأنها حاثات للمقاومة الجهازية المكتسبة . من بين هذه المواد مركب BTH الذي ثبت بأنه حاث للمقاومة الجهازية المكتسبة في كثير من النباتات ، وهو يباع حالياً في الأسواق تحت الاسم التجاري Bion في أمريكا وتحت اسم Actigard في أوروبا .

هناك أبحاث قليلة عن استعمال الكيماويات الحاثة للمقاومة في أشجار الفاكهة. من بين هذه المواد بالإضافة لمادة BTH ، مادة INA وهي 2,6-dichloroisonicotinic acid وهو يعطي مقاومة جيدة لمرض اللفحة النارية في الكمثرى ، وضد مرض جرب التفاح المتسبب عن الفطر *Venturia inaequalis* . أما BTH فقد اختبر على الكمثرى اليابانية ووجد أنه فعال جداً ضد الصدأ المتسبب عن *Gymnosporangium asiaticum* ، والجرب المتسبب عن *Venturia nashicola* . أدت هذه الأبحاث إلى تأكيد أن المقاومة الجهازية المكتسبة يمكن أن تنبه في أشجار الفاكهة كما في النباتات الحولية .

ملاحظة : يجب الانتباه إلى أن هذه الأسماء التالية كلها مترادفة والمقصود بها اسم واحد ، وهي :

1 - benzo (1,2,3) thiadiazole - 7 - carbothionic acid - S - methy ester .

2 - BTH .

3 - acibenzolar - S - methyl .

مقاومة المرض :

تبين من التجارب الفعلية (العملية) على مقاومة المرض ، أن استعمال BTH يسبب مقاومة معنوية لمرض اللفحة النارية في التفاح ، عند استعماله بتركيز ١٠٠ و ٢٠٠ ملغ/لتر وذلك في غراس النوع Golden Delicious سواء للطعوم أو الأشجار ، عندما استعمل رشاً على الأشجار قبل الحقن بالكائن الممرض . تكون الوقاية المتحصل عليها في غراس التفاح مشابهة للوقاية المتحصل عليها باستعمال المضاد الحيوي Plantomycin (بمعدل ١٠٠ ملغ/لتر سلفات الستربتومايسين) المستعملة مباشرة قبل الحقن . يكون متوسط المقاومة في الأشجار المطعومة ، في الصوبا الزجاجية ، والأشجار في الحقول بحوالى ٦٩٪ و ٥٠٪ بالترتيب (جدول رقم ١٩) . تكون وقاية غراس التفاح ، مرتبطة دائماً باستمرار ، مع تنشيط عائلتين (families) من الأنزيمات المتعلقة بالدفاع ، هما الـ Peroxidase و β-1,3-glucanases (جدول رقم ٢٠) . إن تراكم كلا الأنزيمين قد استحثت ، موضعياً ، في الأوراق المعاملة وكذلك جهازياً ، خاصة β-1,3- glucanases في الأوراق العلوية غير المعاملة ، ويستمر كذلك لمدة ١٧ يوم على الأقل . تدل هذه النتائج على أن BTH يشجع المقاومة الجهازية المكتسبة في التفاح عن طريق زيادة المركبات المتعلقة بالدفاع .

جدول رقم ١٩ : فعالية مركب BTH تركيز ١٠٠٠ ملغ و ٢٠٠٠ ملغ/لتر ، ضد مرض اللفحة النارية على غراس أشجار التفاح والأشجار المطعومة .

المعاملـــــة	٪ إصابة على الغراس المعاملة						٪ اصابة	
	قبل الحقن بمدة مقدرة باليوم						الطعوم	الأشجار
	صفر	٢	٤	٦	٨	١٠		
كنترول	٨٢	–	–	–	–	–	٨٠	٧٢
١٠٠ ملغ/لتر ستربتومايسين	٢٢	–	–	–	–	–	١٢	١٥
BTH ١٠٠ ملغ/لتر	–	٢٥	١٨	٢١	٢١	٢٧	–	–
BTH ٢٠٠ ملغ/لتر	–	٤٠	١٧	٣٢	٢٥	٣١	٣١	٥٠

جدول رقم ٢٠ : تخليق البيروكسيديز والـ β-1,3 glucanases في الأوراق الحديثة لغراس التفاح ، المعاملة مسبقاً بمركب BTH بتركيز ٢٠٠ ملغ/لتر .

المعاملـــــة	البيروكسيديز						β-1,3 - glucanases					
	عدد الأيام قبل الاستخلاص						عدد الأيام قبل الاستخلاص					
	٠	٢	٤	٦	٨	١٠	٠	٢	٤	٦	٨	١٠
BTH	–	٤٢٠	٧٠٠	٧٨٠	٨٠٠	٩٠٠	–	٠,٨	٢,٢	١,٦	١,٨	٢,٤
ستربتومايسين ٢٠٠	–	–	–	–	–	–	٠,٢	–	–	–	–	–
كنترول ١٨٠	–	–	–	–	–	–	٠,١	–	–	–	–	–

ملاحظات على الجدول : طريقة حساب البيروكسيديز غير تلك المستعملة في الأنزيم الثاني وهي مشروحة بإسهاب في مجلة سنة ٢٠٠٠

European J. of pathology 106 : 529 - 536

د - تأثير المركب BTH و Milsana على فطر البياض الدقيقي في الخيار الانجليزي الطويل

مقدمة :

يتسبب مرض البياض الدقيقي في الخيار عن الفطر *Sphaerotheca fuliginea* ، وهو من أكثر الأمراض خطورة وإنتشاراً على الخيار في الحقول وفي الصوبات الزجاجية ، يسبب خفضاً كبيراً في الإنتاج في جميع أنحاء العالم . تسبب إصابة الأوراق بهذا الفطر ، خفضاً في كل من عملية التنفس وعملية التمثيل الضوئي ، وهذا يؤدي إلى خفض عقد الثمار ، وتصبح الثمار المتكونة غير متماثلة النضج وتكون الثمرة ذات طعم غير طبيعي .

تعتمد مقاومة هذا المرض ، أساساً ، على استعمال المبيدات الفطرية ، إلا أن توفر العدد الكبير من اللقاح ، والظروف البيئية المناسبة لنمو الفطر في الصوبا الزجاجية ، وعدم رغبة المستهلك في استهلاك الثمار المعاملة بالمبيدات الفطرية ، كل ذلك أدى إلى الإعراض عن استعمال المبيدات الفطرية لمقاومة هذا المرض . اتجهت الأبحاث إلى تربية نباتات مقاومة ، إلا أن هذه المقاومة سرعان ما تنكسر لظهور سلالات جديدة من الفطر . بعد كل هذا إتجهت أنظار الباحثين إلى الدخول في برنامج المقاومة الجهازية المكتسبة ، وذلك باستعمال المركبات الكيماوية الحاثة على تجمع البروتينات والأنزيمات الخاصة بذلك . من أهم هذه المركبات هو مركب BTH ومركب الـ Milsana .

يعتبر مركب BTH من المركبات الكيماوية الجديدة المشجعة لمقاومة أمراض النبات ، ليس لهذا المركب أي تأثير مباشر على نمو الفطر ، إلا أنه يعتقد ، بأنه يلعب دوراً مماثلاً للدور الذي يلعبه حمض السلسيك ، في ممر النقل الإشاري ، الذي يؤدي إلى المقاومة الجهازية المكتسبة . وجد أن استعمال هذا المركب مرة واحدة على نباتات القمح ، يزودها بوقاية ضد مرض البياض الدقيقي المتسبب عن الفطر *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* ، طيلة مدة موسم النمو ، وتكون كمية الإنتاج مشابهة لإنتاج النباتات المعاملة بالمبيدات الفطرية القياسية . ولقد أرجع المؤلف هذه المقاومة ، إلى زيادة تكوين الحليمات واستجابة الخلية لتفاعل فرط الحساسية ، إلا أن هناك بعض الباحثين ، ذكر بأن هذه الحليمات وحدها لا تكون كافية لمنع الإصابة بالبياض الدقيقي ، ولكن هذا لا ينفي دورها في وقف الإصابة ولو جزئياً .

أما مركب Milsana ، فهو الاسم المسجل والمعطي لمستخلص أوراق نبات *Reynoutria sachalinensis* ، حيث بدأ تسويقه تجارياً في بداية التسعينيات ، كمسحوق قابل للبلل ، بواسطة شركة Munster الألمانية . أما الحالة السائلة التي حضر عليها ، تسمى Milsana flussig . حدث تحسن كبير في تكنولوجيا تحضير هذه المركبات ، وذلك منذ أوائل سنة ١٩٩٨ واستطاعت شركة KHH Biosci, Inc. أن تحضر هذا المركب عن طريق معاملها وإجراء مزيد من التجارب العلمية حتى تم التأكد من أن هذا المركب ليس له أية أضرار على البيئة أو على إنتاج الثمار .

من ناحية فسيولوجية وجد أن Milsana flussig يزيد نسبة كل من البيروكسيديز وβ-1,3 glucanases ويشكل نسبة عالية من الفينولات .

المركبان الكيماويان والمرض :

تبين أن استعمال المركب Milsana ، يخفض بشكل معنوي حدوث المرض بالنسبة للكنترول ، وذلك عن طريق تخليق مقاومة موضعية . أثبتت الدراسات الميكروسكوبية أن معظم ممصات الفطر قد إنهارت في المناطق التي استعمل عليها المركب ، ولم تكن هذه الممصات مغلفة بكبسولة . يحدث انهيار الممص خلال أربعة أيام من المعاملة . ولقد اقترح بأن الفينولات يمكن أن تتدخل في الاستجابة الدفاعية لمركب Milsana . أظهرت التجارب أنه يحدث انهيار كامل للفطر دون أن يحدث أي خلل في الشيتين الموجود في جدر الميسيليوم والممصات ، وتتجمع مواد electron dense حول تركيبات الاختراق . هذا يدل على أن النشاط المحلل للشيتين غير ضروري في الاستجابة الدفاعية المنشطة بواسطة مركب Milsana .

أما عند استعمال BTH ، تبين أنه يسبب زيادة في سمك جدار الخلية ، ويحدث بعض التغييرات الفسيولوجية ، إلا أن هذه التغيرات لا تكون كافية لخفض الإصابة بفطر البياض الدقيقي في الخيار .

تبين أن الإضافة المباشرة لمركب Milsana ، على نباتات الخيار ، تسبب خفضاً معنوياً في الوقاية الموضعية ضد مرض البياض الدقيقي ، وليس لها تأثير على الوقاية الجهازية للمرض (جدول رقم ٢١) في كل من أوراق النباتات الصغيرة والمتقدمة في السن . يكون الاختلاف في شدة المرض واضحاً خلال أربعة أيام من المعاملة .

أما بالنسبة لمركب BTH فلم يكن فعالاً في مقاومة المرض ، بغض النظر عن طريقة الاستعمال ، سواء بعد أو قبل الحقن بالكائن الممرض . زيادة على ذلك فإن الاستعمال المستمر والطويل لمركب BTH ، يؤدي إلى ظهور أعراض السمية على النبات ، مثل إصفرار نصل الورقة ، بينما تبقى العروق خضراء .

جدول رقم ٢١ : فعالية كل من BTH و Bilsana ضد مرض البياض الدقيقي ، على أوراق نبات الخيار الحديثة والقديمة .

المعاملـــــة	الأوراق الحديثة		الأوراق القديمة	
	موضعياً	جهازياً	موضعياً	جهازياً
كنترول (محقون بالفطر)	٣,٣	٣,١٧	٢,٨٣	٣,١٣
BTH قبل الحقن بالفطر	٢,-	١,٧	١,٣٨	١,٨٢
BTH بعد الحقن بالفطر	٢,٢	٢,٩٢	٢,١٧	٣,٣٣
Milsana قبل الحقن بالفطر	١,٣	٣,١٧	صفر	٣,٥
Milsana بعد الحقن بالفطر	١,٥	٢,٥	صفر	٢,٨

ملاحظات على الجدول :

١ – كانت تحسب شدة المرض كما في معادلة Spencer D.M. سنة ١٩٧٧ في كتابة الصادر باسم طرق قياسية فى تقدير المبيدات الفطرية لمقاومة البياض الدقيقي في الخيار .

٢ – معاملات BTH كانت تتم قبل الحقن بالفطر الممرض بمدة ١٧ يوم في النباتات الصغيرة و ٢١ يوم في النباتات الكبيرة . أما بعد الحقن فكانت بمدة ١٧ يوم في النباتات الصغيرة و ١٣ يوم في النباتات الكبيرة .

٣ – كان يتم حقن النبات بالجراثيم بتركيز ٤ × $١٠^{٣}$ وحدة تكوين مستعمرات/ سم٣.

٤ – كان يستعمل BTH بتركيز ٢,٨ مللي مول .

٥ – كان يستعمل Milsana بنسبة ٠,٥ ٪ (وزن/حجم) .

هـ - مقاومة مرض البياض الدقيقي في القمح باستعمال المركب BTH

يتسبب مرض البياض الدقيقي في القمح عن الفطر *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* ، الاسم القديم المرادف له هو *Erysiphe graminis* f. sp. *tritici* . يؤثر هذا المرض على الإنتاج الكلي للقمح ، ويهاجم نباتات القمح في معظم مناطق زراعته في العالم . لعدة سنوات مضت كان استعمال الأصناف المقاومة أهم ، بل وأفضل طريقة لمقاومة مرض البياض الدقيقي في الحبوب ، طالما أن الجينات المسئولة عن المقاومة لا تزال فعالة .

تختلف أصناف القمح المزروعة كثيراً فيما بينها من حيث تكشف مرض البياض الدقيقي عليها في الحقل ، الأصناف غير كاملة المقاومة تظهر فيها سلالات المرض بشكل وبائي ، أما ذات المقاومة المتوسطة ، فيكون إنتشار المرض فيها أقل منه في الحالة الأولى . لهذه الأسباب اهتم كثير من الباحثين في دراسة تربية نباتات مقاومة لهذا المرض .

إن تكوين الحليمات التي تحدد الاختراق الأولي لفطر البياض الدقيقي ، قد تدخلت كثيراً في نوعية المقاومة الحقلية لنباتات القمح . مع أن الأصناف الألمانية (Zentos) قد أظهرت درجة عالية من المقاومة تحت الظروف الحقلية ، إلا أنه لا يعرف جين مقاومة ، عرف وحدد خاص بمرض البياض الدقيقي في القمح ، وأن الأسس السيتولوجية لهذه المقاومة غير معروفة .

يمكن أيضاً أن يشجع ميكانزم الدفاع النباتي جهازياً بواسطة عوامل ، أما حيوية أو غير حيوية دون تغير في جينوم النبات .إن المركب الاصطناعي BTH هو أول منتج كيماوي يدل على توليد جيل جديد من واقيات النبات ، والتي تكون فعالة عن طريق تنشيط المقاومة . يصنع هذا المركب منذ سنة ١٩٩٦ ويباع تجارياً في الأسواق في ألمانيا تحت اسم Bion لمقاومة البياض الدقيقي في القمح . إن استعمال هذا المركب مرة واحدة بنسبة ٣٠ غرام من المادة الفعالة/ هكتار على بعض أصناف القمح القابلة للإصابة ، يشجع فيها المقاومة وتدوم هذه المقاومة لمدة طويلة ، تأخذ الموسم الزراعي بأكمله في القمح الشتوي .

يكون فعل المركب BTH مماثلاً لفعل جزئ حمض السلسليك ، المعطي الإشارة الداخلية للدفاع . إن تشجيع عملية المقاومة في النبات ، يكون متبوعاً بتخليق ما يسمى جينات القمح المستحثة كيماوياً Wheat chemically induced genes ، وتكتب باختصار

(WCIG) . ونظراً لأن المعاملة بالمركب BTH تفشل في تشجيع الجينات التي نسخها يتجمع بعد التخليق الحيوي للمقاومة في القمح ، وبالتالي فإن Schaffrath *et al* سنة ١٩٩٧ قد اقترح بأن هناك ممرين إشاريين مختلفين موجودين لتخليق المقاومة في النباتات إحادية الفلقة .

يبدو أن عملية إفساد أو منع الاختراق الفطري في القمح ، تلعب دوراً فاصلاً في المقاومة المستحثة بواسطة المركب BTH ، ضد مرض البياض الدقيقي . مع أن الاختراق الفطري غير الناجح للنباتات المعاملة بالمركب BTH ، قد شرح عن طريق تكوين كثير من الحليمات غير الفعالة ، إلا أن العوامل المشاركة بكفاءتها العالية لا تزال غير واضحة .

٧ - مادة 2,6 - dichloro isonicotinic acid

INA

يشار إلى هذه المادة وإلى الميثايل أستر لها بالحروف INA . اكتشفت هذه المواد كعوامل قادرة على حث المقاومة الجهازية المكتسبة في النباتات ، من قبل كثير من الباحثين منهم Kessmann *et al* سنة ١٩٩٣ و Metraux *et al* سنة ١٩٩١ و Staub *et al* سنة ١٩٩٢ . هذه المواد تزود بعض النباتات مثل الخيار والأرز وكثير من المحاصيل الأخرى ، بوقاية جيدة ضد الكائنات الممرضة الفطرية والبكتيرية والفيروسية في الصوبات الزجاجية ، بالإضافة إلى التجارب الحقلية (كما في جدول رقم ٢٤) . لقد درس تأثير هذه المادة على الخيار ، ولقد تبين أن نطاق فعاليتها يكون نموذجياً للمقاومة الملاحظة بعد الإصابة الموضعية بالكائنات الحية الدقيقة . هذا المركب ليس له فعالية معنوية في المعمل ، كما وأنه لا ينقلب في الظروف الحقلية إلى نواتج تمثيل مضادة للميكروبات .

جدول رقم ٢٤ أ : يبين نشاطة مادة INA في تجارب الحقل :

الكائن الممرض + العائل	معدل استعمال INA غ/ هكتولتر	٪ نسبة مساحة الورقة المصابة	
		الكنترول	التجربة
دخان + *Peronospora*	٢٠	٢٩	١٢
كمثرى + *Erwinia*	٢٥	٤٥	١٨
فلفل + *Xanthomonas*	٢٥	٦٦	١٠
أرز + *Pyricularia*	١ كيلو غرام	١٢	٣,٥
أرز + *Xanthomonas*	٢ كيلو غرام	٨,٢	٠,٢

جدول رقم ٢٤ ب : مقارنة المبيدات الفطرية مع المركب INA :

الكائن الممرض + العائل	المبيدات المستعملة	تركيز المبيد غم/ هكتولتر	٪ مساحة الورقة المصابة
دخان + *Peronospora*	رايدومول+ مانكوزب	٢٤ + ٢٥	١٧
كمثرى + *Erwinia*	ستربتومايسين	٢٥	٤
فلفل + *Xanthomonas*	نحاس + مانكوزب	٢٠٠ + ١٠٠	٦,٥
أرز + *Pyricularia*	اورزيمات	٢,٥ كيلو غرام	٠,٥
أرز + *Xanthomonas*	TF - 130	٢ كيلو غرام	٠,١

ملاحظات على الجدول : كانت تضاف المادة الكيماوية على المجموع الخضري ، باستثناء الأرز ، أما مادة الاورزيمات فهي الاسم التجاري لمركب البروبينازول .

أجريت دراسات عديدة على هذا المركب ، أظهرت أنه في الدخان ، فإن النباتات المصابة بفيرس موزايك الدخان ، عند معاملتها بالمركب INA ، فإنه يحث تسعة (عائلات) من الجينات . لقد لوحظت علاقات مشابهة لما يحدث بين الجينات المستحثة جهازياً عند الإصابة بالكائن الممرض أو بواسطة استعمال INA في أنواع نباتية أخرى ، منها الخيار ونبات الارابدوبسز . لقد تبين أن INA يستحث كل من المركبات الآتية في الدخان :

1 - β - 1,3 - glucanases　　2 - chitinase

3 - 6 - phosphogluconate - dehydrogenase (6-PGD)

بينما المركبات الآتية لم تتأثر بهذا المركب :

1 - Peroxidase　　2 - Acidic protease　　3 - Ammonia - lyase

4 - Phenylalanine ammonia - lyase　　5 - Polyphenolxidases

الأنزيمات التي لم تتأثر بالمركب INA ، هي نموذجية لاستجابات الدفاع الموضعية شاملة تفاعل فرط الحساسية . وبالتالي يبدو أن دور INA يشبه التخليق الحيوي لمقاومة المرض جهازياً مؤثراً على أي من الاستجابات المختبرة المرتبطة بالنكروزز الموضعي .

أظهرت دراسة النسج النباتية ، أن نباتات الارابدوبسز المعاملة بالمركب INA ، تستجيب للإصابة بالفطر *Peronospora parasitica* عن طريق نكروزز في الخلية المفردة المجاورة لمنطقة الاختراق . تصبح الهيفات القليلة التي لا تزال داخل الخلية محاطة بمجموعة من الخلايا المنكرته ويتوقف النمو ، هذا يكون مشابهاً لما يلاحظ في تفاعل فرط الحساسية الذي ينتج من الجينوتايب غير المتوافق من العائل والكائن الممرض .

باستعمال تركيزات منخفضة من الـ INA ، فإن كميات أكبر من الهيفات تنجح في اختراق النسيج ولكن الإصابة تتوقف تماماً . هناك تثبيط مشابه للإصابة ، يحدث في مناطق عديدة ، خلال عملية الإصابة ، في النباتات المستحثة كيماوياً أو حيوياً قد لوحظت في كثير من النباتات .

بالإضافة إلى تخليق جينات المقاومة الجهازية المكتسبة ، والأنزيمات المذكورة سابقاً فإن مركب INA ونظيره تكون قادرة على أن تجعل نسيج النبات مستجيباً لتفاعلات الدفاع الإضافية أسرع منه في النباتات غير المعاملة . ولقد ذكر Kauss *et al* سنة ١٩٩٢ أن

مزارع خلية البقدونس المعاملة مسبقاً بالمركب INA تحث عمليات التمثيل لمشتقات Phenylpropanoid بسرعة أكثر بعد المعاملة بالمثيرات الفطرية منه في الكنترول .

أما في الأرز فإن INA يسبب زيادة (نتيجة الحث) في نشاط الـ Lipoxygenase خلال يومين من الإضافة ، بينما المادة المشابهة لـ INA غير النشيطة ليس لها تأثير حاث . لقد ذكر Seguchi *et al* سنة ١٩٩٢ أن حمض Isonicotinic المشتق من N-cyanomethyl - 2 - chloroisonicotinamide يحتوي على مستوى عال من النشاط ضد لفحة الأرز . ولقد أثبت الباحثان أن الـ lipoxygenases (s) والنتائج العامة لتمثيل الدهن بالإضافة إلى الـ Peroxidase (s) تسرع أو تزداد في أوراق نبات الأرز المعامل كيماوياً والمحقون بفطر اللفحة مقارنة مع الكنترول . هذا يدل على أن الميكانزم بالإضافة إلى حث الجينات الموجودة مسبقاً للمقاومة الجهازية المكتسبة تكون داخلة في تفاعل الـ INA مع الحاثات الأخرى للمقاومة الجهازية المكتسبة .

وجد أن INA في بنجر السكر ، لا يحث جينات المقاومة الجهازية المكتسبة قبل الحقن بالفطر *Cercos pora beticola* ، أما في الأرز ، فإنه تحت الظروف المتحكم بها ، يمكن وقاية النبات من الفطر الممرض *M. grisea* باستعمال جزء واحد في المليون من INA رشاً على النبات ، بالإضافة إلى ١٠٠ جزء في المليون من INA تضاف إلى التربة .

أما الـ PRs فإنها تستحث فقط باستعمال ١٠٠ جزء في المليون من INA ، تكون بذلك مبعدة الشك عن الدور المحتمل لـ PRs ضد الفطر *M. grisea* . أما في الدخان ونبات الارابدوبسز فإن INA يعمل مستقلاً عن وجود حمض السلسليك ، عرف ذلك عن طريق عدم وجود تجمع لحمض السلسليك بعد المعاملة بـ INA ، وكذلك بفعل INA في نباتات NahG . كذلك فإن INA لا يزال فعال في الطفرة غير الحساسة لحمض السلسليك والذي يدل على أنه يعمل في عكس إتجاه حمض السلسليك .

هناك جزيئين لهما علاقة بمركب INA ، ذكر على أنهما يحفظان نبات الأرز ضد *M. grisea* هما :

الأول N-cyanomethyl - 2 - chloroisonicotinamide

الثاني N-phenylsulfonyl - 2 - chloro isonicotinamide

وذلك عن طريق حث المقاومة الجهازية المكتسبة . وبالتشابه مع INA ، فإن كلا المركبين ليس لهما أي تأثير مباشر على الفطر (أي ليست مضادات فطرية) في المعمل ، إلا أنها تزيد نشاطات أنزيم البيروكسيديز و LOX في النباتات المعاملة بعد الحقن بالكائن الممرض.

مقاومة العفن الابيض في فول الصويا باستعمال INA

مقدمة :

تعتبر مادة 2,6 - dichloroisonicotinic acid (INA) بأنها مادة حاثة على المقاومة ضد الأمراض تحت ظروف الحقل ، ضد عديد من الأمراض الفطرية والبكتيرية لكل من الكمثرى ، الفلفل ، الدخان والأرز ومرض الصدأ في الفاصوليا الخضراء .

أثبتت الدراسات المستفيضة على كل من الارابدوبسز والدخان بأن المعاملة بمادة BTH تحث على المقاومة ضد الكائنات الممرضة الفطرية والبكتيرية والفيروسية وتكون مترافقة مع الزيادة في تجمع mRNAs للبروتينات المتعلقة بالمرضية PRs . كما ذكر سابقاً بأن المعاملة بمركب BTH تقي نباتات القمح من الإصابة بفطر البياض الدقيقي والصدأ *Puccinia recondita* و *Septoria* sp. .

مقاومة المرض :

يتسبب مرض العفن الأبيض في فول الصويا عن الفطر *Sclerotinia sclerotiorum* . تبين من التجارب التي أجريت على نبات فول الصويا المزروع في الحقول أو في الصوبات الزجاجية ، أن المعاملة بمركب INA يخفض شدة المرض بالعفن الأبيض بعد الإصابة الطبيعية ، بنسبة ٢٠ – ٧٠٪ مقارنة مع الكنترول ، في أصناف فول الصويا Elgin 87 و Williams 82 ، وهي تعتبر من الأصناف شديدة القابلية للإصابة . لم يكن التأثير كبيراً عند استعمال Corsoy 79 و NKS19 - 90 والتي هي أكثر مقاومة للإصابة بمرض العفن الأبيض في فول الصويا . أما عند استعمال BTH ، فكانت نسبة الخفض في الإصابة بحوالي ٢٠ – ٦٠٪ . كانت شدة الخفض ملاحظة في الأصناف الأكثر قابلية للإصابة كما في جدول رقم ٢٢ .

أما بالنسبة للإنتاج ، تبين التجارب أن زيادة الإنتاج متطابقة مع زيادة مقاومة المرض ، حيث يزيد الإنتاج كلما زادت نسبة المقاومة ، خاصة بالنسبة للأصناف القابلة للإصابة . تبين في تجارب الصوبا الزجاجية أن إستعمال كل BTH و INA تؤدي إلى خفض معنوي في مساحة البقع الموضعية بعد أن تحقن النباتات بالفطر . كذلك فإن كل من المركبين لم يكن له أية آثار سامة على النبات ، وكذلك لم تكن مثبطة لنمو الفطر *Sclerotinia* في المعمل.

تبين من كل هذه التجارب أن استعمال كل من INA و BTH يؤدي إلى خفض شدة المرض كنتيجة للحث على المقاومة الجهازية في النبات ، وأن المركب INA يزيد إنتاجية النبات كما هو واضح في الجدول رقم ٢٣ .

جدول رقم ٢٢ : تأثير معاملة الأصناف القابلة للإصابة والمقاومة لمرض العفن الأبيض في فول الصويا بالمركبINA و BTH .

المعاملـــة	دليل المرض على الأصناف			
	NKS 19 - 90	Corsoy 79	Elgin 87	Williams 82
كنترول	٠,٣	١,٨	١٤,٥	٣٧,٩
INA 3 x 150 mg/L	٠,٣	٠,٩	٨,٧	٢٠,٩
INA 3 x 250 mg/L	٠,٣	٠,٦	٣,٦	١٦,٦
INA 3 x 350 mg/L	صفر	١,١	٢,٧	١٧,٧
BTH 4 x 350 mg/L	٠,٨	١,٨	١٤,٢	١٩,٥

ملاحظات على الجدول : كانت تستعمل المواد الكيماوية مقدرة بالمادة الفعالة .

كان يؤخذ دليل المرض حسب المعادلة الآتية :

$$\text{دليل المرض} = \frac{\text{مجموع الإصابات في كل نبات}}{\text{عدد البنايات} \times ٣} \times ١٠٠$$

جدول رقم ٢٣ : تأثير استعمال INA على إنتاج أصناف فول الصويا المقاومة والقابلة للإصابة بمرض العفن الأبيض.

المعاملـــة	الانتاج طن / هكتار في الأصناف			
	NKS 19 - 90	Corsoy 79	Elgin 87	Williams 82
كنترول (ماء)	٣٦,٦	٢٨,٩	٢٧,٦	١٩,٢
INA 3 x 150 mg/L	٣٦,٥	٢٨,٨	٢٩,٠	٢٠,٦
INA 3 x 250 mg/L	٣٥,٧	٢٨,٨	٢٩,٦	٢٣,٢
INA 3 x 350 mg/L	٣٥,٧	٢٨,٤	٢٩,٧	٢٢,٩

ملاحظات على الجدول : كان INA يستعمل مقدراً بالمادة الفعالة .

٨ - المركب DL - B - amino - n - butryic acid

BABA

مقدمة :

التركيب الكيماوي لهذا المركب DL - 3 - aminobutyric acid . يحفظ الطماطم ، البطاطس والدخان جهازياً ضد الفطر *Phytophthora infestans* و *Peronospora tabacina* بالترتيب . ليس لهذا المركب تأثير محسوس على الفطريات في العمل ، أو في النبات ، إلا أن له تأثير علاجي ، والذي يكون عن طريق العمل الحاث على المقاومة الجهازية المكتسبة . هناك عدة فرضيات وضعت لتفسير فعل BABA ، وهو الفعل التكافلي المؤثر على تحور جدار الخلية ، نظراً لأنه عند المعاملة بالمركب BABA ذو الكربون المشع ١٤ وجدت رابطة تكافلية في جدار الخلية والتي لاتنطلق إلا بعد التحطيم الأنزيمي لهذا الجدار .

هناك مادة قريبة الشبه من هذا المركب هي DL-3-amino - n - butanoic acid . تستعمل هذه المادة كحاثة على المقاومة في الطماطم ضد مرض البياض الزغبي . نظراً لأن التأثير لهذا المركب كمضاد فطري منخفض جداً ، فبالتالي يكون دوره في مقاومة أمراض

النبات كمادة حاثة على المقاومة الجهازية المكتسبة . يقوم هذا المركب بحث بعض البروتينات المتعلقة بالمرضية المترافقة مع المقاومة الجهازية المكتسبة في الدخان . يتطلب هذا المركب مزيداً من الأبحاث حتى يعتمد كمادة حاثة للمقاومة الجهازية المكتسبة . الحمض الأميني (غير البروتيني) aminobutyric acid قد استعمل كمادة حاثة للمقاومة في كثير من الأمراض الجهازية . وقد ذكر ظهوره مرة واحدة فقط في الطبيعة في إفرازات جذور الطماطم النامية في أرض مشمسة .

يستعمل المركب BABA لحفظ كثير من أنواع النباتات منها الطماطم ، الفلفل ، الدخان والقطن ضد مجموعات مختلفة من الكائنات الممرضة مثل :

1 - *Phytophthora* 2 - *Peronospora* 3 - *Fusarium*

4 - *Plasmopara* 5 - *Verticillium*

أ - مقاومة إنثراكنوز الفلفل باستعمال BABA

في الدراسات السابقة للعالم Jeum *et al* سنة ١٩٩٨ ، ذكر أن نباتات الفلفل المحقونة بعزلة غير شديدة المرضية من الفطر *Phytophthora capsici* ، أو المعاملة بمركب BABA، تحفظ النباتات قوية وتقاوم الإصابة التالية بسلالة الكائن الممرض شديد المرضية *P. capsici* . تختلف مستويات المقاومة المستحثة في الفلفل ، باختلاف عدة عوامل منها : Isomers of aminobutyric acid - ١ ، ٢ - التركيز ، ٣ - طريقة الاستعمال ، ٤ - المستويات الدائمة المتوفرة ، ٥ - مراحل نمو النبات ، ٦ - كثافة اللقاح . وعلى أية حال فإن ∝ - و isomers - ∀ لحمض الامانيوبيوترك ، كانت غير فعالة كعوامل حاثة على المقاومة . ومن الدراسات الحديثة ، ظهر أن تجمع البروتينات المتعلقة بالمرضية مثل β-1,3-glucanase و chitinases والمستوى الداخلي لحمض السلسليك ، كلها تتدخل في تخليق مقاومة ضد لفحة فايتوفثورا في نبات الفلفل المعاملة بالمركب BABA .

مقاومة المرض :

لقد درست ثلاثة متشابهات لأحماض الأمانيوبيوترك هي : DL - ∝ - amino - n - butyric acid ويشار إليه بالاختصار AABA . أما الثاني فهو المركب الذي يشار إليه

BABA المذكور في الصفحة السابقة . أما المركب الثالث فهو DL - ٨ - amino - n - butyric acid والذي يشار إليه GABA . درست هذه المواد كحاثات غير حيوية . كانت المركبات تذاب في الماء وتستعمل رشاً على نباتات الفلفل على المجموع الخضري أو تعامل بها التربة . التركيزات المستعملة من هذه المركبات هي : صفر ، ١ ، ١٠ ، ١٠٠ و ١٠٠٠ ميكروغرام/مل ، ثم بعد ذلك تحقن النباتات (النبات يحمل ستة أوراق) بمعلق الجراثيم الكونيدية للفطر *C. coccodes* بعد أربعة أيام .

لتقدير تأثير BABA بجرعات مختلفة ، كانت تعامل تربة النبات ، عندما يكون النبات حاملاً ثمانية أوراق ، قبل الحقن بالكائن الممرض بمدة صفر ، ٥ ، ١٠ ، ١٥ يوم . أما معاملة الرش على المجموع الخضري ، كانت ترش ورقتين من الأوراق السفلية للنبات . ثم بعد يوم أو سبعة أيام تحقن جميع النباتات التي عوملت بالمركب BABA بالكائن الممرض مسبب إنثراكنوز الفلفل *C. coccodes* وذلك برش الجراثيم الكونيدية للفطر على المجموع الخضري للنبات .

لدراسة وقف توسع البقع المرضية المتكونة ، كانت توضع قطرات محتوية 10^5 جرثومة كونيدية/مل على كل ورقة من أوراق النبات التي عوملت بتركيز ١٠٠٠ ميكروغرام/مل من مركب BABA ، بشكل خاص على الورقتين السفليتين بالقرب من سطح التربة . كانت تحضن نباتات الفلفل المحقونة بالفطر الممرض ، في مراقد رطبة وفي الظلام على حرارة ٢٨° م لمدة ٣٦ ساعة ، ثم بعد ذلك توضع في الصوبات الزجاجية على حرارة ٢٧° م تحت إضاءة ٥٠٠٠ شمعة لمدة ١٦° ساعة في اليوم .

كان يحسب عدد وحجم البقع المتكونة على أوراق نبات الفلفل بعد سبعة أيام من الحقن بالفطر الممرض . تحسب نسبة الوقاية بالمعادلة الآتية :

$$\text{نسبة الوقاية} = ١٠٠ \left(١ - \frac{\text{عدد البقع المتكونة على النبات المعامل}}{\text{عدد البقع على نبات الكنترول}} \right)$$

نتائج الدراسة :

تبين من الدراسة السابقة أن المركب BABA و GABA ليس لهما أي تأثير مثبط لنمو المسيليوم الفطري في المعمل ، حتى لو وصل التركيز ١٠٠٠ ميكروغرام/ مل ، بينما AABA ، يسبب حوالي ٢٩ ٪ تثبيط في نمو الميسيليوم على نفس التركيز . وعلى أية حال

فإن استعمال تركيز ١٠٠ ميكروغرام/مل من الثلاثة مركبات لا تؤثر على نمو الفطر الممرض .

يتبين من جدول (رقم ٢٥) أنه عند استعمال BABA ، رشاً على المجموع الخضري ، كان فعال جداً في وقاية النبات ضد الإصابة بالفطر الممرض في مرحلة ستة أوراق . أما بالنسبة لعدد البقع ، كان هناك خفضاً واضحاً في عدد البقع المتكونة على أوراق نباتات الفلفل المحقونة بجراثيم ١,٥ × ١٠^{٥} كونيدية/مل ، كلما زادت تركيزات BABA .

عندما استعمل BABA رشاً على المجموع الخضري بتركيز ١٠٠٠ ميكروغرام/مل ، حدث وقاية كاملة لنباتات الفلفل في مرحلة ستة أوراق . أما بالنسبة لمركب AABA ، فإن عدد بقع الانثراكنوز تنخفض تدريجياً بزيادة تركيز المركب . كانت أعلى نسبة وقاية ٧٠٪ في النباتات المرشوشة بتركيز ١٠٠٠ ميكروغرام/مل . أما المركب GABA ، فانه يسبب مقاومة منخفضة فى نباتات الفلفل .

أما بالنسبة لمعاملة التربة كما في جدول رقم ٢٦ ، فإن المركب BABA سبب تكوين مقاومة مستحثة قوية ضد الفطر الممرض على نباتات الفلفل ، حيث كانت نسبة المقاومة تتراوح ما بين ٧٣ - ٨٥٪ بتركيز ١٠٠ و ١٠٠٠ ميكروغرام/مل بالترتيب . أما المركب AABA و GABA كانت نسبة المقاومة ٦٠ ، ٣٥٪ عند استعمال تركيز ١٠٠٠ ميكروغرام/مل لكل منهما بالترتيب . كانت هذه النتائج مشابهة لما هو حاصل عند رشهما على المجموع الخضري .

أما بالنسبة لتأثير الفترات الفاصلة بين المعاملة بالمركب الكيماوي ، والحقن بالكائن الممرض ، تبين أن BABA فعال جداً في وقاية نباتات الفلفل من مرض الانثراكنوز على الفترات المختلفة عند معاملة التربة بالجرعات المختلفة . عندما كان يحقن الكائن الممرض بعد ٥، ١٠ و ١٥ يوماً من معاملة التربة بمركب BABA ، بتركيز ١٠٠٠ ميكروغرام/مل كانت نسبة الوقاية ٩٣ ، ٩٦ ، ٨٥٪ بالترتيب . أما عند حقن النباتات بالكائن الممرض فوراً ، بعد المعاملة بالمادة الكيماوية ، كانت نسبة الوقاية ٥٠٪ في المستويات الثلاثة من التركيز ١٠ ، ١٠٠ و ١٠٠٠ ميكروغرام/مل .

أما بالنسبة لحجم البقع المتكونة ، فقد تبين أن المعاملة بالمركب الكيماوي BABA يخفض حجم البقعة من ٢,٥ ملم في الكنترول إلى ٠,٨ ملم في المعاملة . أما عند حقن النبات فوراً بعد المعاملة الكيماوية ، فلم يكن هناك تأثير على حجم البقع المتكونة . أما تأثير

الفترات الفاصلة بين المعاملة بالمادة الكيماوية والحقن بالكائن الممرض ، كانت تزداد نسبة الخفض في حجم البقع كلما زادت الفترة الفاصلة من ٥ إلى ١٠ إلى ١٥ يوم .

درست المقاومة الجهازية المستحثة لمرض انثراكنوز الفلفل ، عندما عوملت الورقتين السفليتين بمركب BABA تركيز ١٠٠٠ ميكروغرام/مل عندما كانت النباتات تحمل ثمانية أوراق . لم يكن هناك فرق معنوي في عدد البقع في وحدة المساحة الورقية في النبات في أي من الورقتين ، قد يكون هذا راجعاً إلى عدد البقع المتكونة ، حيث أنه قليل جداً . وبالمقابل فإن النباتات التي عوملت أوراقها السفلية ، قد حفظت بشدة أوراقها العلوية ، هذا يدل على تكوين المقاومة الجهازية المكتسبة .

يمكن تلخيص ما سبق ، بأن أفضل تركيز يستعمل من مركب BABA هو ١٠٠٠ ميكروغرام/مل وأفضل فترة فاصلة بين الحقن بالكائن الممرض والرش بالمادة الكيماوية هي فترة سبعة أيام ، جدول رقم ٢٧ .

جدول رقم ٢٥ : تأثير استعمال المركبات BABA ، AABA ، GABA رشاً على المجموع الخضري بتركيزات مختلفة ضد فطر إنثراكنوز الفلفل .

التركيز المستعمل ميكروغرام/مل	BABA		AABA		GABA	
	عدد البقع / سم٢ في الورقة	٪ وقاية	عدد البقع / سم٢ في الورقة	٪ وقاية	عدد البقع / سم٢ في الورقة	٪ وقاية
٠,١	-	-	-	-	٤,٨	صفر
١	٢,٩	-	٤	٢٠	٤,٢	٢٥
١٠	٢,٨	٤٠	٣,٨	٢٥	٤,٥	١٠
١٠٠	١,٥	٨٥	٢,-	٦٠	٤,-	٢٢
١٠٠٠	صفر	١٠٠	١,٥	٧١	٣,٨	٢٨

ملاحظات على الجدول : كانت النباتات تعامل في طور ستة أوراق . ترش بالمركبات الكيماوية قبل حقنها بالكائن الممرض (لمدة أربعة أيام) بتركيز ١,٥ × ١٠^{٥} جرثومة كونيدية/مل . كانت تعد البقع المتكونة بعد سبعة أيام من الحقن بالكائن الممرض .

جدول رقم ٢٦ : تأثير معاملة التربة المزروعة بالفلفل ضد فطر الانثراكنوز بالمركبات BABA ، AABA ، GABA . تكون النباتات في طور ستة أوراق ثم تحقن بالفطر الممرض بعد ٤ أيام بتركيز ٤ × ١٠^{5} كونيدية/مل . كان يحسب عدد البقع بعد سبعة أيام من الحقن بالفطر الممرض .

التركيز المستعمل ميكروغرام/مل	BABA		AABA		GABA	
	عدد البقع / سم^{2} في الورقة	٪ وقاية	عدد البقع / سم^{2} في الورقة	٪ وقاية	عدد البقع / سم^{2} في الورقة	٪ وقاية
٠,١	–	–	–	–	٦	صفر
١	٦	١٠	٥,٢	١٨	٥,٢	٢٨
١٠	٣,٨	٢٨	٤,٨	٢٢	٥,٥	٢٠
١٠٠	١,٨	٧٢	٤,٥	٣٠	٥,٨	١٨
١٠٠٠	١	٩٠	٢,٨	٦٠	٤	٣٨

جدول رقم ٢٧ : تأثير الفترة الزمنية الفاصلة بين رش مادة BABA والحقن بالكائن الممرض ، على حدوث الوقاية أو البقع الموضعية على نباتات الفلفل التي تحمل ثمانية أوراق .

BABA ميكروغرام/مل	صفر يوم		٥ يوم		١٠ يوم		١٥ يوم	
	عدد البقع الموضعية	٪ وقاية	عدد البقع الموضعية	٪ وقاية	عدد البقع الموضعية	٪ وقاية	عدد البقع الموضعية	٪ وقاية
٠,١	–	–	–	–	٦	٥	–	–
١	–	–	–	–	–	–	–	–
١٠	٣,٢	٥٠	٣,٨	٤٠	٢	٧٥	٦,٨	١٨
١٠٠	٣,٥	–	–	–	١,٨	٨٠	٣,٨	٣٨
١٠٠٠	٣,٥	٥٠	٠,٧	٩٥	١,٥	٩٩	٠,٨	٨٥

ب - مقاومة البياض الزغبي في عباد الشمس

مقدمة :

ذكرنا في الصفحات السابقة أن هناك ثلاثة متشابهات لمركب Aminobutyric acid ، تكون فعالة في وقاية النباتات ضد الأمراض . كما وأن المتشابه الثاني والثالث تستحث بروتينات متعلقة بالمرضية في أقراص أوراق الدخان ، كذلك فإن DL-2-amino-n-butanoic acid ، يحث على تكوين بروتينات متعلقة بالمرضية من عائلة PR-1 ، Chitinases ، β-1,3-glucanases ، والفايتوالكسن Capsidiol في نباتات الدخان . لقد ذكر في الدراسات الحديثة أن المركب BABA فعال جداً في وقاية الطماطم ضد فطر *Phytophthora infestans* وضد الفطر *Peronospora tabacinia* .

هناك مستويات عالية من البروتينات المتعلقة بالمرضية ، خاصة Chitinases ، β-1,3-glucanases تستحث في نباتات عباد الشمس كاستجابة للإصابة بالكائن الممرض *Plasmopara helianthi* أو نتيجة لعوامل فسيولوجية أو كيماوية تسبب معاناة للنبات .

مقاومة المرض :

يتسبب مرض البياض الزغبي في عباد الشمس عن الفطر *Plasmopara helianthi* . كما في المرض السابق ، انثراكنوز الفلفل ، استعملت المركبات الثلاثة AABA ، BABA و GABA في مقاومة هذا المرض . لم يثبت بأن لهذه الكيماويات سمية على الفطر الممرض أو النبات عندما تستعمل بتركيز ٢٠٠ ملغ/كيلوغرام تربة ، عندما استعملت كمعاملة تربة . وعلى أية حال فإن معاملة التربة بمركب BABA بتركيز ٣٠٠ ملغ/كيلوغرام تربة ، سبب أصفراراً خفيفاً في الأوراق وظهرت النباتات المعاملة أقصر إلى حد ما من نباتات الكنترول .

أما في التجارب الأخرى ، تبين أن BABA، يزود النباتات بمقاومة معنوية ضد المرض بنسبة ٨٣٪ ، في حين أن المركبين الآخرين لم يختلف تأثيرهما عن الكنترول ، عند إستعمالهما بتركيزات مختلفة . وعلى العكس من ذلك فإن المركب BABA أظهر في النباتات مقاومة ٤٦٪ و ٩٠٪ عند تركيز ١٠٠ و ٢٠٠ ملغ/كيلو تربة بالترتيب .

عند إجراء التجربة لمعرفة تأثير الفترة الفاصلة بين المعاملة بالمركب BABA وحقن

النبات بالفطر الممرض *P. helianthi* ، أظهرت النتائج أن المركب BABA فعال جداً في وقاية نباتات عباد الشمس ضد الإصابة بالفطر الممرض ، عندما استعمل كمعاملة تربة بيوم واحد قبل الحقن بالكائن الممرض ، حيث سبب وقاية بنسبة ٨١٪ . كما هو واضح في جدول رقم ٢٨ ، فإن المعاملة بالمركب BABA بتركيز ١٠٠ ملغ/كيلوتربة قبل الحقن بالكائن الممرض بمدة ثلاثة أيام ، فإن ذلك زود النبات بوقاية ٤٩٪ ولكن عند استعماله بعد الحقن بالكائن الممرض بيوم واحد كانت نسبة الوقاية ٤١٪ .

عند استعمال التركيزات المنخفضة من BABA (٥٠ و ١٠٠ ملغ/كيلوتربة) كان هناك نسبة وقاية ٣٨٪ و ٣٩٪ بالترتيب . أما في التركيزات العالية (٢٥٠ ملغ/كيلوتربة) أعطت نسبة عالية من المقاومة ٨٠ – ٨٣٪ ضد المرض . أما على تركيز ٣٠٠ ملغ/كيلوتربة كانت نسبة الوقاية ٩٠ – ١٠٠٪ .

لم يكن للمركب BABA أي تأثير مثبط لإنبات الجراثيم الهدبية للفطر الممرض *P. helianthi* في المعمل بتركيزات ١٠٠ ، ٢٠٠ ، ٣٠٠ ميكروغرام/مل وكانت نتيجة المعاملة كما هو في حالة الكنترول . كذلك فإن تكشف المرض الذي حصل عليه في النباتات الناتجة من بذور معاملة بالمركب BABA ومعلق الجراثيم الهدبية في نفس الوقت لم يكن له أي تأثير على المرض . أما تأثير الفترات الزمنية الفاصلة بين الحقن بالكائن الممرض واستعمال المركب BABA فهي واضحة في جدول رقم ٢٩ .

جدول رقم ٢٩ : تأثير الفترات الزمنية الفاصلة بين المعاملة بالمركب BABA بتركيز ١٠٠ ملغ لكل كيلوغرام تربة ، والحقن بفطر البياض الزغبي في عباد الشمس على الوقاية من المرض .

الفترة الزمنية الفاصلة	٪ إصابة	٪ وقاية
٣ أيام قبل الحقن	٥٠	٤٩
يوم واحد قبل الحقن	١٩	٨١
يوم واحد بعد الحقن	٥٨	٤١

جدول رقم ٢٨ : تأثير استعمال المركب BABA ومثيلاته ضد فطر البياض الزغبي في نباتات عباد الشمس . كانت الكيماويات تضاف معاملة تربة قبل الحقن بالفطر الممرض بيوم واحد . حددت نسبة النباتات المصابة بعد ١٧ يوم من الحقن .

الكيماويات المستعملة	ميكروغرام لكل كيلوغرام تربة	٪ نباتات مصابة	٪ وقـــاية
كنترول	صفر	٧٧	–
AABA	١٠٠	٨٨	(١٤–)
AABA	٢٠٠	٨٠	(٥–)
BABA	٥٠	٥٠	٣٨
BABA	١٠٠	٥٠	٣٩
BABA	١٥٠	١٨	٨٥
BABA	٢٠٠	١٧	٩٠
BABA	٢٥٠	٠٤	٩٨
BABA	٣٠٠	–	١٠٠
GABA	١٠٠	٧٤	١٤
GABA	٢٠٠	٩٦	(٢٤–)

التفاعل بين مسبب البياض الزغبي في عباد الشمس ومثيرات حيوية وكيماوية

مقدمة :

خلال السنوات القليلة الماضية ، حدث خفضاً في استعمال المبيدات الكيماوية في مقاومة الآفات الزراعية ، وذلك نظراً لسميتها وتلوث البيئة بالإضافة إلى تكشف سلالات من الكائنات الممرضة ، مقاومة لهذه المبيدات . لهذه الأسباب اتجهت الأبحاث إلى طرق مقاومة

أخرى . ذكرت كثير من الأبحاث بأن هناك نوعًا من المقاومة الحيوية ، ذات تأثيرات واقية ضد كل من البكتيريا ، الفطريات والميكورهزا نوع Arbuscular .

تمتلك النباتات ميكانيكيات مختلفة للدفاع عن نفسها والتي تؤدي إلى خفض شدة المرض . إحدى هذه الميكانيكيات ، هي المقاومة الجهازية المكتسبة SAR ، وهذه يمكن أن تستحث أو تخلق بعوامل حيوية أو غير حيوية . ظهر أيضًا مشجعات نباتية كيماوية حديثة مثل INA (ذكر سابقًا بالتفصيل) و BABA و BTH وهذه تمثل فرصة هامة في مقاومة أمراض النبات .

لقد ذكر Tosi *et al* سنة ٢٠٠٠ أن فطر البياض الزغبي في عباد الشمس يمكن اعتباره نموذجًا أو موديلاً مناسبًا جدًا لدراسة التفاعل بين الكائن الممرض والميكورهزا ، وتأثير منشطات أخرى مثل BABA و BTH و CGA 245704 . عند دراسة تأثير هذه المواد فإنها تستعمل على شكل غمر للتربة ، أو رشًا على المجموع الخضري مع *Glomus mosseae* لوقاية نبات عباد الشمس من مرض البياض الزغبي .

الوقاية من المرض :

إن التفاعل بين فطر البياض الزغبي وفطر الميكورهزا والمثيرات الكيماوية BABA و BTH ، في نباتات عباد الشمس القابلة للإصابة بمرض البياض الزغبي ، قد أجري عليها تجارب كثيرة . وجد أن غمر التربة بتركيز ٠,٥ – ١ غرام/ كيلوغرام تربة من BABA أو BTH وذلك قبل حقن النبات بالكائن الممرض بمدة ثلاثة أيام أو يوم واحد (النباتات مضاف لتربتها الميكورهزا المذكورة سابقًا) ، وجد أن ذلك أدى إلى وقاية متوسطة ضد الكائن الممرض (حوالي ٥٥ – ٥٠٪) وكذلك لوحظت تغيرات مورفولوجية ونقص في استعمار الميكورهزا لجذور النباتات المعاملة بـ BTH والنباتات المعاملة بالميكورهزا والمركب BTH . حصل تأخر في الظهور ونقص في الجهاز الجذري ، كانت أكثر وضوحًا في التركيزات العالية ولكنها تنخفض مع مرور الوقت .

عند استعمال BABA و BTH رشًا على المجموع الخضري بتركيز ٤ و ٢ ملي غرام/مل بالترتيب وذلك بعد يوم واحد من الحقن بالكائن الممرض (النباتات مزروعة في أماكن مزودة بالميكورهزا) أدى ذلك إلى الحصول على وقاية تصل ٨٠٪ عندما استعمل

الفطر الممرض حقناً في الأوراق ، لم يظهر أي تأثيرات على استعمار الميكورهزا للجهاز الجذري .

أظهرت الاختبارات المعملية تأثير هذه المركبات على فطر الميكورهزا ، وظهر أن إنبات كل من الاسبوروكاربس و *G. mosseae* يزداد مع المعاملة بالمركب BABA ، بينما ثبطت كثيراً عند المعاملة بالمركب BTH .

٩ - الرايبوفلافين The Riboflavin

مقدمة :

الرايبوفلافين ، عبارة عن فيتامين ينتج بواسطة النباتات والميكروبات ، والذي يقوم بفعل مساعد أنزيم Coenzyme في كثير من العمليات الفسيولوجية في كل من الحيوان ، النبات والميكروبات. يتدخل الرايبوفلافين في مضادات الأكسدة Antioxidation والـ Peroxidation ، تؤثر هاتين العمليتين على إنتاج الأكسجين المتفاعل الوسيط (ROIs) في الجهد المؤكسد oxidative burst وما ينتج عنه من تفاعل فرط الحساسية .

إذا استعمل الرايبوفلافين رشاً على المجموع الخضري للنبات ، فإنه يؤدي إلى مقاومة كثير من الأمراض التي تصيب نباتات الدخان ، ويخفض الإصابة بمرض البياض الدقيقي في نباتات الفراولة ، عندما يتحد مع المثيونين ، أيونات معدنية ومطهرات سطحية . وبالتالي يمكن اعتبار الرايبوفلافين مادة مثيرة تهيج النبات لتكوين مقاومة جهازية مكتسبة أو أنه وسيط في نقل إشارة المقاومة .

هناك أدلة قدمها كل من Dong و Beer سنة ٢٠٠٠ ، تفيد بأن الرايبوفلافين مشجع لممر إشاري جديد ، يؤدي إلى المقاومة الجهازية ، حيث أن هذا المركب يشجع جينات البروتينات المتعلقة بالمرضية PRs في نبات الارابدوبسز والدخان ويخلق مقاومة جهازية ضد أربعة كائنات ممرضة هي :

1 - *Peronospora parasitica*　　2 - *Pseudomonas syringae*

3 - *Alternaria alternata*　　4 - *TMV*

من هذه الأربعة ، هناك ثلاثة نماذج جيدة تستعمل روتينياً في دراسة المقاومة ، هذا يؤدي إلى القول بأن الرايبوفلافين هو البادىء فى نقل إشارة المقاومة .

يمكن إلغاء الاستجابة للرايبوفلافين بواسطة الـ Kinase مثبط البروتين K252a وبواسطة الطفرة في جين NIM1/NP1 ولكن لا يتأثر في نباتات NahG . هذا يدل على أن التأشير المنبه بالرايبوفلافين يتطلب Protein kinases والفعل المنظم بواسطة جين NIM1/NP1 ولكن لا يتطلب تجمع حمض السلسليك .

١ - الرايبوفلافين يخلق مقاومة في الارابدوبسز :

عند استعمال الرايبوفلافين بتركيز من ٠,١ - ١٠ مللي مول ، رشاً على أوراق نبات الارابدوبسز فإنه يسبب خفضاً في الإصابة بالكائن الممرض مسبب البياض الدقيقي *Peronospora parasitica* ، يكون هناك إختلاف في درجات الإصابة بين المعاملات . مثلاً في النباتات المعاملة بالرايبوفلافين ، فإن الكائن الممرض ، لا ينتج كتلة مرئية من الجراثيم الكونيدية على سطوح الأوراق ، ولكن يبقى محصوراً على أطراف الورقة وعلى شكل جزر صغيرة . أما بالنسبة للحوامل الكونيدية على الورقة الواحدة ، فإنها تنخفض إلى ٠,١ ٪ مقارنة مع الكنترول ، وكذلك الجراثيم ، وبشكل عام فإنه يخفض الإصابة بالمرض بشكل معنوي بالنسبة للكنترول ، بعد ١٢ يوم من الحقن .

وبالتالي يمكن القول بأن المقاومة المخلقة بالرايبوفلافين ، ضد الممرضات الفطرية البيضية ، تكون واضحة عن طريق الخفض في الإصابة ، والخفض في أعداد الحوامل الجرثومية لكل ورقة ، وبالتالي خفض كمية الجراثيم المتكونة .

إن حدوث أعراض الإصفرار والنكروزز في نبات الارابدوبسز المحقون بالمسبب المرضي *P. syringae* pv. *tomato* DC 3000 ، قد خفضت بواسطة المعاملة بالرايبوفلافين . كان تقدير درجة الإصابة أيضاً مبنياً على كمية البكتيريا المأخوذة من نسيج الورقة ، يومياً لمدة خمسة أيام بعد الحقن . كان عدد البكتيريا المأخوذة من نباتات الكنترول في كل مرة أعلى بكثير (فرق معنوي) منه في النباتات المعاملة بمادة الرايبوفلافين . وبالتالي يمكن القول بأن الرايبوفلافين يخلق مقاومة بكفاءة ضد الكائن الممرض البكتيري .

٢ - الرايبوفلافين يخلق مقاومة في الدخان :

يتكشف في نباتات الدخان المعاملة بالرايبوفلافين ، رشاً على الأوراق بتركيز من ٠,١

– ١٠ مللي مول مقاومة ، ضد الفطر *A. alternata* وفيرس موزايك الدخان TMV . هذا يكون مبنياً على خفض أعداد وصغر أقطار البقع المتكشفة بعد الحقن بالفطر أو الفيرس . تكون درجة الخفض في أعداد البقع وأقطارها تابعاً لاستعمال الرايبوفلافين ، مختلفاً بالنسبة لكل من الفطر والفيرس المذكورين سابقاً . في النباتات المحقونة بفيرس TMV ، فإن المعاملة بالرايبوفلافين، تؤدي إلى خفض معنوي في أعداد البقع . أما بالنسبة لقطر البقعة ، فهو أيضاً ينخفض بالمعاملة بالرايبوفلافين ، ولكن لا يكون الخفض دائماً معنوياً .

أما في النباتات المحقونة بالفطر *A. alternata* ، فإن الخفض في كل من أعداد وأقطار البقع البنية يكون متماثلاً . بعد سبعة أيام من الحقن ، فإن أقطار البقع البنية في نباتات الكنترول تصل بشكل عام حوالي ١٠ ملم ، بينما البقع فى النباتات المعاملة بالرايبوفلافين كان حوالي ٣ ملم . إعتماداً على الخفض في قطر البقعة ، فإن المقاومة المخلقة بالرايبوفلافين كانت أكثر فعالية ضد الفطر الممرض *A. alternata* منه في فيرس TMV .

كان عدد البقع في أوراق الدخان ، المتسببة عن فيرس TMV ، في المعاملة بالرايبوفلافين، حوالي ٩١ بقعة ، أما في الكنترول كانت ١٨٥ بقعة ، في الأوراق السفلية، وبعد سبعة أيام كانت في الأوراق العلوية ٧٧ في النباتات المعاملة بالرايبوفلافين ، و ١٧٠ في نباتات الكنترول . أما بالنسبة لقطر البقعة فكانت في الأوراق السفلية للنباتات المعاملة بالرايبوفلافين ٥ ملم مقارنة مع ٦,٦ ملم في الكنترول ، أما في الأوراق العلوية فكانت ٣,١ ملم في النباتات المعاملة و ٥,٣ ملم في نباتات الكنترول .

٣ - نشاط أو حركة المقاومة المخلقة بالرايبوفلافين :

تتكشف المقاومة جهازيًا خلال النبات في كل من نبات الارابدوبسز ضد كل من *Peronospora parasitica* و *P. syringae* ، وفي الدخان ضد كل من TMV و *A. alternata* ، وهذا يكون مبنياً على الخفض في درجة الإصابة في أجزاء النبات العلوية غير المعاملة والتي تتبع معاملة الأوراق السفلية بالرايبوفلافين (ذكر سابقاً) (جدول رقم ٣٠) .

أما بالنسبة لزمن تقدم نمو الكائن الممرض في الأنسجة النباتية ، فإن المقاومة في نبات الارابدوبسز المعامل بالرايبوفلافين ، تصبح واضحة بعد ثلاثة أيام ، وتصل إلى أعلى مستوى لها بعد خمسة أيام وتنخفض بسرعة بعد ٩ أيام من المعاملة . تكون المدة التي تتكشف فيها

المقاومة ضد كل من TMV و *A. alternata* متشابهة في نباتات الدخان . تصبح المقاومة ظاهرة بعد خمسة أيام ، وتصل إلى أعلى مستوى لها بعد ١٠ – ١٢ يوم بعد المعاملة . وعلى أية حال فإن دورة المقاومة تختلف لكلا الكائنين الممرضين . تنخفض أعراض البقعة البنية لمدة ٤٠ يوم بعد المعاملة ، بينما أقطار وأعداد بقع TMV لا تنخفض إلا بعد ٢٠ يوماً.

جدول رقم ٣٠ : تأثير تركيزات مختلفة من الرايبوفلافين على تكشف الإصابة بالفطر *P. parasitica* في نبات الارابدوبسز والفطر *A.* alternata في الدخان وفيرس TMV في الدخان .

ملي مول تركيز الرايبوفلافين	٪ نباتات مصابة في الارابدوبسز المخقون *P. parasitica*	قطر البقعة ملم في الدخان المصاب *A.* alternata	قطر البقعة ملم في الدخان المصاب بالفيرس TMV
كنترول	٧٢,–	١٠,–	٣,–
٥٠٠	٢٤,–	٢,٦	١,١
١٠٠٠	٢٥,–	٢,٤	١,٣
١٥٠٠	صفر	٢,٤٥	١,٤
٢٠٠٠	صفر	٢,٤	١,٤
٢٥٠٠	صفر	٢,٤	١,٣
٣٠٠٠	–	–	–

ملاحظات على الجدول :

١ – كانت تحقن النباتات بالكائن الممرض بعد خمسة أيام من المعاملة بالرايبوفلافين .

٢ – كانت تقدر الإصابة بعد سبعة أيام في الفطرين وبعد عشرة أيام في الفيرس .

٣ – كان الرايبوفلافين يرش على الأوراق السفلية للنبات .

٤ - تأثير الرايبوفلافين على النباتات والكائنات الممرضة :

تبين من دراسة الجرعة المؤثرة من الرايبوفلافين ، أن التركيز ٠,٥ – ١ مللي مول ، كانت فعالة وكافية لتخليق مقاومة جهازية ضد الكائنات الممرضة ، لا تؤدى زيادة التركيز إلى زيادة التأثير . لتحديد إمكانية حدوث السمية النباتية Phytotoxicity ، عوملت النباتات بتركيز من ٠,١ – ١٠ مللي مول من الرايبوفلافين . لم يظهر على الأوراق المعاملة أي نكروزز ، أو أية تشوهات أخرى عندما فحصت ميكروسكوبياً . ومن ناحية أخرى فإن تأثير الرايبوفلافين على نمو *A. alternata* و *P. syringae* ، قد حددت في المعمل عن طريق نمو الكائنات الممرضة في بيئة مزودة بالرايبوفلافين ، بتركيز يتراوح ما بين صفر إلى عشرة مللي مول . كان نمو كلا الكائنين الممرضين جيداً على جميع التركيزات ، حدد ذلك عن طريق قياس أقطار المستعمرة ، في المزرعة الفطرية في أطباق بتري بها آجار ، وعن طريق قياس المستعمرات المتكونة من المعلق البكتيري . كان قطر المستعمرة للفطر *A. alternata* عند نموه في بيئة بها رايبوفلافين بتركيز صفر ، حوالي ٢,٤ سم ، أما عند تركيز ١ مللي مول ، كان القطر ٢,٣ سم ، أما عند تركيز ٧,٥ مللي مول ، كان القطر أيضاً ٢,٣ سم وبتركيز ١٠ مللي مول كان القطر أيضاً ٢,٣ سم .

أما بالنسبة للبكتيريا *P. syringae* كان النمو في المستعمرة جيداً ، وأعطى قطر ٢,٠٣ ملم في الكنترول وكان قطر الزرعة ١,٦٨ ملم عند استعمال الرايبوفلافين بتركيز ١٠ مللي مول ، وحوالي ١,٨ ملم على تركيز ٥ مللي مول .

يتبين من ذلك أن الرايبوفلافين ليس له تأثير مثبط لنمو الكائنات الحية الدقيقة ، سواء كانت فطريات أو بكتيريا . وكذلك ليس له تأثير سام على نمو النباتات الراقية .

٥ - القيمة العملية للرايبوفلافين في أمراض النبات :

أثبتت الدراسات التي قام بها Beer & Dong سنة ٢٠٠٠ أن الرايبوفلافين ينبه المقاومة الجهازية . هذه النتائج قد دعمت بالتطبيقات العملية ، التي أظهرت تكشف المقاومة في كل من الارابدوبسز والدخان ضد أربعة كائنات ممرضة ذكرت سابقاً . بالإضافة لذلك فإن جميع التجارب ، أثبتت أن ليس لهذا المركب تأثير سام على نمو الكائن الممرض في العمل ولا على نمو النباتات المعاملة به ، وبالتالي يمكن القول بأن الزيادة في مقاومة الأمراض ، لا تكون راجعة للتأثير المباشر لفعل الرايبوفلافين على الكائن الممرض ، بل هو

يقوم بحث النبات لتخليق مقاومة جهازية ضد هذه الممرضات . كانت المقاومة المستحثة من الرايبوفلافين فعالة ضد الفطر *A. alternata* . والذي لم يذكر سابقاً في أي بحث من الأبحاث أن له مقاومة من قبل بعض سلالات الارابدوبسز .

دلت الدراسات السابقة على الرايبوفلافين ، أن له كفاءة عملية في تخليق مقاومة جهازية يمكن تطبيقها في الصوبات الزجاجية ضد بعض الأمراض . إن الكيماويات المنبه أو الحائه على تخليق المقاومة الجهازية لمقاومة الأمراض كثيرة ، ولكن الأعداد التي حققت نجاحاً عملياً لغاية الآن (سنة ٢٠٠٠) محدودة . فمثلاً حمض السلسليك ومركب INA غير ملائمة لمقاومة الأمراض وذلك لأن التركيز المطلوب لإحداث مقاومة يكون سام للنبات . بالمقابل فإن الدراسات التي أجريت على الرايبوفلافين ، أثبتت أنه غير سام ، حتى على أعلى تركيز مطلوب لتخليق المقاومة . إن مستوى المقاومة المستحثة بالرايبوفلافين ، في معظم الحالات ، يمكن تطبيقها عملياً والاستفادة منها .

تبين في بعض التجارب أن معاملة نباتات الدخان بالرايبوفلافين تخفض أقطار البقع البنية من ١٠ – ٣ ملم في معظم الحالات . يسبب هذا الخفض في قطر البقعة ، زيادة واضحة في نوعية أوراق الدخان وقيمتها التجارية . أثناء عملية تجفيف أوراق الدخان بعد الجمع ، فإن المناطق المتحللة في البقع المرضية على الأوراق تتسع كثيراً . أيضاً يمكن أن يحدث تغير في المركبات الكيماوية في الأوراق المصابة (أماكن البقع) ، مستوى السكر، البروتينات ، النوكتين ، البوتاسيوم والكلورايد والتي تتأثر سلبياً مع المرض ، حتى في أصغر خفض في حجم البقعة على الأوراق الطازجة ، هذا يؤدي إلى خفض كبير في القيمة التجارية في الأوراق الخام . يسبب الرايبوفلافين زيادة في المقاومة في نبات الارابدوبسز والدخان بنسبة ٤٠ – ٧٠٪ ، يعطي هذا المستوى فائدة كبيرة في وقاية النباتات والمحاصيل ضد الكائنات الممرضة . زيادة على ذلك فإن المقاومة المستحثة بالرايبوفلافين تبقى وتستمر حتى تكون فعالة ضد *A. alternata* في الدخان ٤٠ يوم . أخيراً فإن المقاومة المستحثة بالرايبوفلافين ليست متخصصة ويمكن أن تضع أساساً لوقاية كثير من النباتات من مدى واسع من الكائنات الممرضة .

يمكن القول بأن الرايبوفلافين يمتلك صفات مهمة وآمنة كعامل مقاومة للأمراض .

١٠ - حمض الاكساليك Oxalic Acid

أ - مقاومة العفن الأبيض (سكلوروشيم) في اللفت

مقدمة :

في المقاومة الجهازية المكتسبة ، هناك مثيرات ترفع مستوى واحد أو أكثر من الإشارات الكيميائية المنقولة ، والتي بدورها تؤدي إلى تخليق متوازي للجينات ، تنظم ممرات الدفاع في الأنسجة البعيدة عن المكان الأول لمهاجمة الكائن الممرض ، وكنتيجة لذلك فإن النبات الذي قد حصن (أو هوجم) يظهر فيه مجال واسع من المقاومة لعديد من الكائنات الممرضة ، منها فطريات ، بكتيريا ، وفيروسات .

تعتمد المقاومة الجهازية التي تظهر في النبات ، على عدة ممرات دفاعية منها : ١ – اللجنين ، ٢ بروتينات متعلقة بالمرضية ، ٣ – فايتوالكسن ، ٤ – بروتينات صغيرة مضادة للميكروبات مثل Thionins و Defensins . وقد تبين أن هناك جزيئات كبيرة مثل حمض السلسليك وحمض الجسمنك والاثيلين ، تكون داخلة في تفاعل المقاومة الجهازية المكتسبة . هناك على الأقل ممرين ناقلين للإشارة قد تم تمييزها ، الأول ممر معتمد على حمض السلسليك وممر مستقل عن حمض السلسليك ، يشمل الممر الأخير حمض الجسمنك والاثيلين . إن تعرض النباتات لهذه الكيماويات الإشارية سوف يثير ممرات دفاعية خاصة . يمكن القول بأن المقاومة الجهازية المكتسبة تشير إلى الممر المعتمد على حمض السلسليك .

يمكن أن يحدث تخليق للمقاومة الجهازية في المحاصيل ، عن طريق الإضافات الخارجية لحائات كيماوية مثل Methyl jasmonate ، وهي مماثلة في عملها لكل من حمض السلسليك ، بنزوثيادازول والمركب الكيماوي 2,6-dichloroisonicotinic acid وهي ذات فائدة كبيرة في مقاومة الكائنات الممرضة التي يصعب مقاومتها بشكل عام .

إن مرض عفن الساق في اللفت المتسبب عن الفطر *Sclerotinia sclerotiorum* ، وهو من الأمراض الكامنة في التربة ، يهاجم أصنافاً مختلفة من اللفت ، وليس لأي من طرق المقاومة الكلاسيكية فعالية ضده ، سواء بالمبيدات الفطرية أو الدورة الزراعية. اتجهت

الأبحاث لاستعمال المثيرات الفعالة في تخليق المقاومة الجهازية المكتسبة لمقاومة هذا المرض مثل حمض الاكساليك .

مقاومة المرض

وجد أن معاملة الأوراق السفلية من نبات اللفت ، بحمض الاكساليك تركيز ٢٠ مللي مول ، يؤدي إلى خلق مقاومة جهازية لمرض العفن الأبيض في الثلاثة أوراق التالية للأوراق المعاملة. هذه المقاومة لا تتسبب عن سمية فطرية لتركيز حمض الاكساليك ، يظهر كذلك تعبير لهذه المقاومة في الساق . في النباتات المعاملة بحمض الاكساليك ، فإن الانتشار العمودي لبقع الساق يتوقف وتنتقل الإشارة من أسفل إلى أعلى وكذلك من أعلى إلى أسفل. لقد تم اكتشاف تعبير المقاومة في الأوراق بعد المعاملة بستة ساعات ، وتستمر لمدة خمسة أسابيع على الأقل . يمكن اكتشاف المقاومة في الأوراق بعد ٢٤ ساعة من المعاملة، تكون هذه المقاومة تابعة لاستعمال ٠,٥ مللي مول اكساليك أسد . يمكن اكتشاف المقاومة الموضعية في الأوراق التي إنتشر فيها حمض الاكساليك ، في أوقات معينة فقط (بعد ١٢ ، ٤٨ ساعة وليس ٢٤ ساعة بعد المعاملة) ، على تركيزات منخفضة جداً من حمض الاكساليك ٠,٢٥ مللي مول أو مرتفعة قليلاً ٤٠ مللي مول . عندما يضاف حمض الاكساليك على مساحة منفصلة من الورقة ، يحدث مقاومة موضعية معنوية في نسيج الورقة المجاور . يلاحظ أكبر كمية من المقاومة في النسيج الملاصق لمنطقة حامل الورقة .

عندما إختبر تأثير حمض الاكساليك على نمو الفطر في المعمل ، استعمل بتركيز يتراوح ما بين صفر إلى ٢٠ مللي مول في بيئة مناسبة لنمو الفطر *S. sclerotiorum* . تبين أن هذه المادة غير سامة للفطر ، بل بالعكس تزيد من سرعة نمو الفطر ، كان قطر المزرعة الفطرية في الكنترول ٥١ ملم ، أما في المعاملة التي استعمل فيها حمض الاكساليك بتركيز واحد ملي مول ، كان قطرت مزرعة الفطر ٧١ ملم ، وكذلك نفس الحجم تقريباً عند استعمال الحمض بتركيز ٥ مللي مول . أما بتركيز ٠,٢٥ مللي مول كان قطر المزرعة ٥٨ ملم . كل التركيزات المستعملة أعطت زيادة في نمو المزرعة أكثر من الكنترول باستثناء تركيز ١٥ مللي مول حيث أعطى أقل من الكنترول بحوالي ٢ ملم .

يمكن القول بأن استعماض حمض الاكساليك بنسبة ٢٠ مللي مول رشاً على الأوراق السفلية ، يعطي مقاومة جهازية ضد مرض العفن الأبيض في اللفت تصل إلى ١٠٠٪ في

الأوراق الأولى من القاعدة ، وتقل في الأوراق العلوية حتى تصل ٧٠٪ ، لذلك يفضل رش النباتات بالمحلول قبل امتداد الساق وذلك لوقاية الأوراق السفلية ولكي تنتقل الإشارات إلى الأوراق العلوية وتمتد المقاومة حتى طور الأزهار (حوالي ٣٥ يوم) .

ب - مقاومة مرض موزايك الخيار على الكوسة

هناك بحث نشر في مجلة العلوم الزراعية ، في جامعة أسيوط رقم ٣٠ عدد ٤ سنة ١٩٩٩ ، ولم أستطع الحصول على أي بحث آخر مشابه لهذا البحث ، حيث أنه يتعلق بمقاومة نباتات الكوسة لفيرس موزايك الخيار . يقول الباحث في الملخص العربي المنشور .

لقد اكتسبت نباتات الكوسة مقاومة ضد الإصابة بفيرس موزايك الخيار عند معاملة البذور بحمض الاكساليك وذلك عند استعمال تركيز ١٠ مللي مول ، حيث أدى ذلك إلى خفض جزيئات الفيرس المعدية بنسبة ٣٧,٥٪ . أما عند استعمال حمض الاكساليك بنسبة ٠,١ مللي مول ، كانت نسبة إنبات بـذور الكوسة ٩٧٪ وكانت نسبة مقاومة المرض ١٠٠٪ ، أما تركيز ١ مللي مول كانت نسبة الإنبات ٩٦٪ ومقاومة المرض ٩٨,٩٪ . أما تركيز ١٠ مللي مول كانت نسبة الإنبات ٩٥٪ ومقاومة المرض ٩٤,٨٪ أما بالنسبة لتأثير حمض الاكساليك على العوامل الأخرى فهو كما في جدول رقم ٣١ ، ٣٢ .

جدول رقم ٣١ : استجابة نباتات الكوسة النامية من بذور معاملة بحمض الاكساليك ، والتي حقنت بفيرس موزايك الخيار بعد الإنبات بمدة ٧ – ١٠ أيام . أخذت الاستجابة بعد ١٤ يوم من الحقن بالفيرس .

تركيز حمض الاكساليك (مللي مول)	شدة الموزايك	عدد البقع الموضعية	٪ خفض في فعالية جزيئات الفيرس
٠,١	++++	٢٣	٤,٢
١	+++	٢١	١٢,٥
١٠	++	١٥	٣٧,٥
كنترول	++++	٢٤	صفر

جدول رقم ٣٢ : الأضرار الواقعة على غشاء البلازما ، في الأوراق الأولى من نبات الكوسة المصابة بفيرس موزايك الخيار ، والتي كانت عوملت البذور قبل زراعتها بحمض الاكساليك .

تركيز حمض الاكساليك المستعمل في معاملة البذور	٪ تحطيم غشاء البلازمة بعد الحقن بفترة		
	٤ يوم	٨يوم	١٢يوم
٠١ مللي مول	٩,١	١٣,–	١٣,٨
١ مللي مول	١٦,٨	٢٢,٨	٢٤,١
١٠ مللي مول	١٦,١	٢٢,٢	٢٤,٣
كنترول	١٤,٢	١٩,–	٢٣

١١ - مواد كيماوية أخرى

أ - مادة WL 28325 أو DCP

هذه المادة هي الاسم التجاري للاسم العلمي 2,2-dichloro - 3,3-dimethyl cyclopropane carboxyic acid ويرمز له بالرمز (DCP) . كان أول وصف لهذا المركب بواسطة Langcake & Wickins سنة ١٩٧٥ ، على أنه مركب متخصص في مقاومة مرض لفحة الأرز ، وهو ذو تأثير ضعيف على الفطريات في المعمل ، ويحث على بعض نشاط البيروكسيديز في النباتات المعاملة .

يظهر في نباتات الأرز المعاملة بمركب DCP ، نسيج بني أسرع في الاستجابة إلى حمض Picolinic (المفترض أنه فايتوتوكسن للفطر *Pyricularia oryzae*) منه في النباتات غير المعاملة . بعد الإصابة فإن النباتات المعاملة بـ DCP تتجمع فيها فايتوالكسنز تسمي Monilactone ، بمستويات أسرع وأعلى منه في الكنترول . وبالتالي فإن الدليل الأساسي للنشاط الحاث على المقاومة لمركب DCP يأتي من نتائج الأبحاث التي حصل عليها بعد الحقن ، والتي تشابه تلك المتحصل عليها عند استعمال المبيدات الفطرية ، زيادة على ذلك فإن DCP والمركبات المماثلة تزود النبات بمقاومة معنوية للفطر *C. lagenarium* في الخيار دون حث الـ Chitinase العلامة البيوكيميائية المميزة من المقاومة الجهازية

المكتسبة لهذا النبات. كذلك فإن DCP له تأثيرات على عملية الـ Melanization في المعمل ، وتأثير مضاد فطري ضعيف على جميع العوامل المثبطة للبناء الحيوي للميلانين . نظراً لأن الميلانين يكون هاماً لتكوين تركيبات إصابة النبات (عضو الالتصاق) وليس للنمو على البيئة الغذائية ، فإن التخصص الدقيق لفطريات تكوين الميلانين مع بعضها البعض ، مع التأثيرات المعملية على عملية melanization ، مع فقد العلاقة الإيجابية مع الموديل البيولوجي للمقاومة الجهازية المكتسبة ومع فقد تخليق الـ Chitinase في الخيار ، يدل على أن DCP يمكن أن تعمل مباشرة، أحياناً ، عن طريق تثبيط البناء الحيوي للميلانين .

ب - Fosethyl - AL

إن كلا من الـ Fosethyl - AL والميثالكسايل ، والمادة التي اكتشفت حديثاً Triazoles ، كلها من بين المركبات المشجعة على تكوين المقاومة الجهازية المكتسبة في النبات . إن مادة Fosethyl - AL ذات تأثير ضعيف كمضاد فطري في الاختبارات المعملية التقليدية . النباتات المعاملة مسبقاً بهذه المادة ، يتجمع فيها الفايتوالكسن بسرعة أكثر وتقل فعالية المثبطات الميتابولزمية مثل Glyphosate . قادت هذه التجارب إلى الاعتقاد بأن Fosethyl - AL مركب مستحث للمقاومة . ولقد بين كل من Fenn & Coffey سنة ١٩٨٤ ، بالاعتماد على ظروف المزرعة الغذائية ، بأن هذا المركب يتحطم إلى حمض الفسفوريك والذي هو ذو قوة عالية كمضاد فطري في المعمل . إن كلاً من المركبين لا يظهر أية نشاطات في البيئة الغذائية المحتوية تركيزات عالية من الفسفات . تعطي البيئة المصنعة والتي لا تحتوي فسفات ، دليلاً قوياً على النشاط المعملي ، نظراً لأن حمض الفسفوريك من المحتمل أن يتفاعل مع فسفات التمثيل الغذائي بين الخلايا . الدليل المقنع بأن هذا المركب ليس لديه نشاطاً حاثاً على المقاومة ، هو أن السلالات الفطرية المنتقاة ، غير حساسة له في المعمل ، لا تطول مقاومتها كثيراً بهذا المركب في النبات .

جـ - بروبينازول Propenazole

يكتب هذا المركب أحياناً Probenazole ، يطلق على التركيب المحتوي بروبينازول اسم تجاري هو Oryzemate ، وهو منتج تجاري يستعمل ضد لفحة الأرز . لهذه المادة تأثير قليل إذا استعملت قبل حقن نبات الأرز بالكائن الممرض ولكنه يقوي الاستجابات الدفاعية بعد

المهاجمة بالفطر *Magnaporthe grisea* . عند معاملة أصناف الأرز القابلة للإصابة للمرض ، بهذه المادة تتصرف وكأنها تحمل الجين الرئيسي للمقاومة .

يمكن القول بأن Probenazole ، مركب جهازي يستعمل بنجاح في وقاية الأرز ضد الإصابة بالفطر *Pyricularia oryzae* وبشكل ضعيف ضد *Xanthomonas oryzae* . يظهر المركب تفاعل ضعيف جداً في المعمل ضد هذه الممرضات .

يحث البروبينازول عديداً من الأنزيمات المختلفة المتعلقة بالدفاع النباتي ، إلى حد ما ، ولكن يسبب تجمعات معنوية لعوامل مضادة للكونيديات (Anticonidial factors) . عرفت هذه العوامل على أنها مواد سامة فطرية ، أو أنها أحماض دهنية غير مشبعة شاملة linolenic acid . بعد الإصابة بفطر اللفحة ، فإن عدداً من الأنزيمات يمكن أن تتدخل في دفاع النبات ، مظهرة نشاطاً أكثر في النباتات المعاملة بالبروبينازول منه في النباتات غير المعاملة (الكنترول) . كذلك فإن البروبينازول يقوي ما يسمى بالانفجار التنفسي Respiratory burst ويشجع تجميع جذور أنيونات السوبر أكساييد التي تلاحظ عادة بعد الإصابة بفطر اللفحة والتي يمكن أن تلعب دوراً مهماً في تفاعل النبات والكائن الممرض . وعلى أية حال فإن البروبينازول ليس له دور معنوي في حث أنزيم lipoxygenase ، جزئ معلم للمقاومة الجهازية المكتسبة في الأرز . وبالتالي فإن العلاقة بين العلامة البيولوجية للمقاومة الجهازية المكتسبة لا تزال تفتقد إلى بروبينازول بالرغم من أن هذه المادة الكيماوية تحفظ الأرز من الفطر *P. oryzae* .

د - مادة DCINA

مقاومة مرض جرب التفاح باستعمال DCINA

مقدمة :

يتسبب مرض جرب التفاح عن الفطر *Venturia inaequalis* ، وهو من أكثر الأمراض أهمية في جميع مناطق زراعة التفاح في العالم . نظراً للكفاءة الوبائية العالية للكائن الممرض ، فإنه يتطلب تكثيف استعمال المبيدات الفطرية في فترة النمو الخضري لمقاومة المرض ، وللحصول على إنتاج مضمون عالي الجودة .

لقد ذكر Parisi *et al* سنة ١٩٩٥ أن استعمال أصناف التفاح المقاومة للمرض ، يؤدي إلى خفض عدد مرات استعمال المبيد الفطري . وعلى كل حال فإن معظم الأصناف التجارية المنتشرة في العالم قابلة للإصابة بمرض جرب التفاح ، وإن إدخال صفة المقاومة الثابتة فيها يتطلب إجراءات ووقت طويل . إلا أن إجراءات المقاومة الجهازية المكتسبة ، للحصول على مستوى عال من المقاومة ، في وقت قصير ، عن طريق الإضافة الخارجية للكيماويات ، هي أكثر فائدة وأسهل تطبيقاً ، وبالتالي فإن دمج المقاومة الجهازية المكتسبة ، مع تنظيم التحكم في المرض ، يمكن أن يؤدي إلى خفض استعمال المبيدات الفطرية ، من حيث الكمية ومن حيث عدد المرات ، بالإضافة إلى فوائد تنقية البيئة ويبعد ظهور سلالات من الكائن الممرض مقاومة للمبيدات .

بالرغم من الفوائد الكبيرة لاستعمال المقاومة الجهازية المكتسبة في مقاومة مرض جرب التفاح ووقاية المحصول ، إلا أن الدراسات التي أجريت على هذا الموضوع قليلة جداً . أحدث هذه الأبحاث هي التي قام بها العالم Ortega *et al* سنة ١٩٩٦ وسنة ١٩٩٨ ، حيث ذكر أن الوقاية الجهازية المكتسبة لفطر جرب التفاح قد استحثت تحت ظروف الصوبا الزجاجية والحقلية أيضاً، بعد أن رشت النباتات بمركب 2,6-dichloroisonicotic acid (DCINA) ومركب 3,5-dichlorosalicylic .

مقاومة المرض :

إن استعمال المركب DCINA ، يستحث المقاومة في التفاح ضد فطر جرب التفاح. تتدخل المقاومة المكتسبة في جميع مراحل الإصابة ، باستثناء إنبات الجراثيم الكونيدية وتكوين أعضاء الالتصاق . أما عملية إنشاء وتأسيس الوسادة الهيفية Stromata بعد إختراق الكيوتكل قد تأثرت أيضاً بالمقاومة المكتسبة ، وقد تأكد ذلك عن طريق تأخير ظهور هذه التركيبات . كان هناك ١٠ ٪ فقط من الوسائد الهيفية الأولية قد إمتدت وتميزت إلى هيفات جارية في النباتات التي استحثت فيها المقاومة . أما في النباتات غير المعاملة ، كان تكوين الهيفات الجارية حوالي ١٠٠ ٪ في المناطق التي نجح فيها الاختراق . كذلك فإن طول وعدد الهيفات الجارية في النباتات المعاملة قد إنخفض أيضاً . وفي معظم الحالات ، لا التجرثم ولا تكوين المستعمرات قد حدث في النباتات المعاملة ، وذلك لتثبيط الوسادة الهيفية .

يستعمل المركب الكيماوي على شكل قطرات تحوي ٢٠ ميكرولتر (٢٥٠ جزء في

المليون) ، تحقن في ساق الغرسة ، ثم بعد سبعة أيام ، تحقن الغراس عن طريق رش الأوراق بمعلق جرثومي يحوي 10^5 جوثومة كونيدية/مل على الأوراق . تحضن الغراس في مراقد ذات رطوبة نسبية ١٠٠ ٪ لمدة ٢٤ ساعة قبل الحقن ، ثم لمدة ٣٦ ساعة بعد الحقن ، لتوفير أفضل ظروف للإصابة . كانت تؤخذ عينات الفحص على فترات يوم واحد حتى ١٢ يوم من الحقن .

تنبت الجراثيم الكونيدية للفطر *V. inaequalis* وتتكشف أعضاء الالتصاق خلال ١٢ ساعة من الحقن . بعد إختراق كيوتكل سطح النبات ، يبدأ الفطر في تكوين طبقة من الخلايا المستديرة ، مباشرة على خلايا البشرة ، هذه الوسادة الهيفية الأولية . يبدأ إختراق النبات العائل مع تمدد الوسادة الأولية ، بعد أن تصل إلى حجم معين وذلك بعد ٣ – ٤ أيام من الحقن . تتمايز (تتكشف) عديداً من الهيفات الجارية في كل منطقة إختراق ناجحة . تستطيل الهيفا الجارية تحت الكيونكل سامحة للفطر بالانتشار بعيداً عن خلايا البشرة . أثناء عملية تكوين المستعمرات ، يحدث تفرع قوي ويتكشف عديداً من الهيفات المتوازية ، هذا يؤدي إلى تكشف ما يسمى الوسادة الهيفية الثانوية وذلك بعد ٥ – ٧ أيام من الحقن . تشكل الهيفات الجارية والوسادة الهيفية الثانوية ، تركيب جانبي ملتف يسمى الهيفا المرجانية Corallold hyphae . بعد ذلك تتكون الحوامل الجرثومية للفطر ويتكون جراثيم كونيدية بعد ٩ – ١٢ يوم بعد الحقن . بعد تكوين الجراثيم تضغط على الكيوتكل فيندفع خارجاً ويتمزق ويشكل أعراض الجرب .

لم يؤثر المركب الكيماوي على نسبة إنبات جراثيم الفطر على أوراق التفاح . أما تأثيره على تكوين الوسادة الهيفة الأولية ، فإنه لم يوقفها ، إلا أنها تأخرت في التكوين . كانت نسبة الاختراق في الوسادة الهيفية الأولية حولي ٨٥ ٪ في النباتات المعاملة وغير المعاملة . أما الوسادة الهيفية الثانوية ، فقد توقف تكوينها تماماً في النباتات المعاملة وكانت نسبة الهيفات الجارية المتكونة ١٠ ٪ من المناطق التي نجحت فيها عملية الاختراق ، في النباتات المعاملة ، مقارنة مع ١٠٠ ٪ في نباتات الكنترول . وهذا يؤدي إلى وقف تكوين الوسادة الهيفية الثانية هذا يؤدي إلى خفض نسبة الإصابة بالمرض ٦٠ ٪ بعد ٩ أيام من الحقن بالفطر الممرض .

يمكن القول بأن معاملة نباتات التفاح بالمركب الكيماوي (DCINA) يؤدي إلى تكوين مقاومة جهازية مكتسبة ، تؤثر على كثير من مراحل الإصابة الفطرية للنبات ، وخاصة الأطوار الحرجة التي يتمكن فيها الفطر من تثبيت نفسه في خلية العائل ، وهذا

يؤدي إلى وقف إنتشار الفطر في النبات ، وإنخفاض تكوين الجراثيم الكونيدية ، وبالتالي خفض الإصابات الثانوية وبالتالي يحدث إنخفاض كبير في حدوث المرض بنسبة لا تقل عن ٨٠٪ مقارنة مع الكنترول .

هـ - حمض الارشيدونك

Arachidonic Acid (AA)

وقاية نباتات البطاطس من اللفحتين المبكرة والمتأخرة

مقدمة :

إن إصابة درنات البطاطس ، بسلالة شديدة المرضية من الكائن الممرض مسبب اللفحة المتأخرة *P. infestans* يخلق تفاعل فرط الحساسية . أمكن الحصول على تفاعل مشابه ، بعد معاملة شرائح من درنات البطاطس بحمض الارشيدونك (AA) ، وهو حمض دهني رئيسي في الغشاء الخلوي الميسيليومي وجراثيم الكائن الممرض . من المحتمل أن يعمل AA كمضاد فطري طبيعي يحث على تكوين فايتوالكسن ، بسبب أن بناء الفايتوالكسن يمكن أن يأخذ مجراه ، ويمكن لشرائح الدرنة أن لا تستعمر مدة طويلة بواسطة السلالات المتنافسة من الفطر الممرض السابق . أيضاً فإن أوراق البطاطس تستجيب للإصابة الموضعية بالسلالة شديدة المرضية من نفس الفطر ، عن طريق مقاومة الحقن بالمتحدي (التحصين) الثانوي الجهازي بسلالة شديدة المرضية من نفس الفطر ، ولكن ليس كما هو في الدرنات ، لا يوجد فايتوالكسن منتجة بعد ذلك .

لقد تم الحصول على مقاومة ، عندما عوملت أوراق البطاطس بتحضيرات جدر خلوية من الفطر الممرض المذكور *P. infestans* معروف بأنها تحتوي AA ، وبالحمض الدهني ذو القرابة معه وهو Eicosapentaenoic acid ويكتب (EAA) . أجريت دراسة مطولة بينت أنه عندما تعامل الأوراق السفلية لنباتات البطاطس بالأحماض الدهنية AA أو EAA ، فإن الأوراق العلوية تقاوم الإصابة بالفطر الممرض .

وقاية النبات :

عندما عوملت الأوراق الصغيرة السفلية من نباتات البطاطس ، النوع Bintje ، بمعلق

مائي من حمض دهني عديد غير مشبع ، الارشيدونك أسد (AA) ، حدث زيادة تقدر بثلاثة أضعاف في كمية حمض السلسليك الحر في الأوراق المعاملة ، لوحظت هذه الزيادة بعد ٣ ساعات من المعاملة . كان أعلى مستوى لحمض السلسليك الحر الذي يمكن قياسه في النباتات المعاملة ، بعد ٦ ساعات من المعاملة حيث يصل إلى ٣,٢١ ميكروغرام/غرام وزن طازج ، مقارنة مع ٠,١٥ ميكروغرام/غرام وزن طازج في الكنترول . أما مستويات حمض السلسليك المحول في الأوراق المعاملة ، يزداد حتى يصل ٥١ ميكروغرام/غرام وزن طازج بعد ٣ أيام من المعاملة ، مقارنة مع ٠,٨٣ ميكروغرام/غرام وزن طازج في الكنترول . بعد ٤ أيام من المعاملة بالمركب AA ، تصبح الأوراق العلوية مقاومة لمرض اللفحة المتأخرة في البطاطس ، ولكن لم يلاحظ أي تجمع لحمض السلسليك . لوحظت هذه الوقاية الجهازية في النباتات المعاملة بـ AA على تركيزات منخفضة حتى ١٠ جزء في المليون ، ومن غير المحتمل أن يكون ارتفاعها من AA المتنقل في النبات .

بالإضافة لذلك فإن المعاملة بالحمض AA تقي نباتات البطاطس من مرض اللفحة المبكرة المتسبب عن الفطر *Alternaria solani* . هذا يدل على المجال الواسع في الوقاية الذي تكتسبه النباتات من المعاملة بالمركب AA . يلاحظ تجمعات موضعية ، ولكن ليست جهازية للبروتينات المتعلقة بالمرضية ، أو للمواد الشبيهة بالبروتينات المتعلقة بالمرضية ، بعد ٢٤ ساعة من المعاملة بالمركب AA . إن استعمال أو إضافة حمض السلسليك على أوراق البطاطس لا يزيد المقاومة ضد الفطر *P. infestans* ، ولكن التجمعات الموضعية للبروتينات المتعلقة بالمرضية PR-1 لوحظت بعد ٢٤ ساعة من المعاملة .

تحتوي الأوراق الصغيرة السليمة من نباتات البطاطس ، القابلة للإصابة والمقاومة ، مستويات من حمض السلسليك أعلى منه في الأوراق القديمة ، ترتبط هذه الدرجة ، مع المقاومة الطبيعية للفطر مسبب مرض اللفحة المتأخرة . يمكن القول بأن أصناف البطاطس المزروعة في الحقل والتي تظهر مقاومة للمرض ، تحتوي كميات متحولة من حمض السلسليك أعلى منه في الأصناف القابلة للإصابة (جدول ٣٣ و ٣٤) .

جدول رقم ٣٣ : مستويات حمض السلسليك الحر والمتحول في أوراق نباتات البطاطس السليمة ، والبقع المرضية المتسببة على معلق للجراثيم الاسبورانجية للفطر *P. infestans* بتركيز ٥ × ١٠^{٦}/مل مضافة للأوراق . المناطق الملفوحة قيست بعد ٧ أيام من الحقن بالفطر الممرض.

الصنف المستعمل في الدراسة	مستوى حمض السلسليك ميكروغرام/غرام وزن طازج أوراق										المساحة الملفوحة في الورقة ملم				
	حر في الأوراق					محول في الأوراق									
	٢	٣	٤	٥	٦	٢	٣	٤	٥	٦	٢	٣	٤	٥	٦
Matida مقاوم	–	–	–	–	٢	٤	٤,٥	٦	١٢	١٨	١٦	٣,٥	٥	٧	١٨
Bintje قابل للإصابة	٠,٤	٠,٤	٠,٦	٠,٧	٠,٨	١	١,٠١	١,٢	١,٨	٢,٨	٤,٥	١٨٠	٢١٠	١٦٠	٨٠

جدول رقم ٣٤ : مستويات حمض السلسليك الحر والمحول ، في نباتات البطاطس ، مقدراً ميكروغرام/غرام وزن طازج في الورقة الرابعة بعد رش الورقة الثالثة بتركيز ١٥٠٠ جزء في المليون من AA .

المعاملة	الوقت بعد المعاملة بالساعات					
	١	٣	٦	٢٤	٤٨	٧٢
استعمال AA						
١ – حمض سلسليك حر	٠,٤٢	٠,٤	٠,١٢	٠,١٣	٠,٥٣	٠,٢٢
٢ – حمض سلسليك محول	١,٠٢	١,٦٦	١,٠٥	٠,٧١	١,٨٣	٠,٩٢
كنترول						
١ – حمض سلسليك حر	٠,٤٨	٠,٤٥	٠,٢٣	٠,١٨	٠,٥٤	٠,١١
٢ – حمض سلسليك محول	١,٣٧	١,٣٤	١,٤٢	١,٠٢	١,٤٨	١,٢٩

و - احداث مقاومة لبكتيريا العفن الطري في البطاطس . باستعمال بعض المثيرات

مقدمة :

غالباً ما تعتمد ، مقاومة أمراض ما بعد الجمع في الفواكه والخضار ، على التحكم في جو المخزن ، التبريد والمبيدات الفطرية . إن التشديدات التي وضعت على استعمال المواد الكيماوية على المنتجات المخزنة ، والأثر المتبقى السام في المواد الغذائية ، سببت إجراء دراسات عديدة للحصول على بديل لهذه المواد الكيماوية لمقاومة أمراض ما بعد الجمع .

المقدرة على استحداث مقاومة في النبات القابل للإصابة ، عن طريق المعاملة المسبقة بالكيماويات ، الكائنات الدقيقة الممرضة ، منتجات ميتابولزم العوائل أو العوامل المعدية ، سلالات من الكائنات الممرضة والتي ليست ممرضة للنباتات المزروعة ، أو غير ممرضة للعائل ، أدت إلى البحث عن المقاومة الجهازية المكتسبة بأى من الطرق السابقة . إن استعمال المثيرات ، وهي المركبات التي تحث الاستجابة في النبات إلى استحداث مقاومة للكائنات الممرضة في الحقل إستعملت أيضاً لمقاومة أمراض ما بعد الجمع .

توضع البطاطس في الترتيب الرابع في الإنتاج العالمي ، خزن منها ٣,٥ مليون طن بعد محصول ١٩٩٥ في بريطانيا . ينتج أكبر فقد إقتصادي في درنات البطاطس المخزنة عن الإصابة بمرض العفن الطري المتسبب عن البكتيريا *Erwinia carotovora atroseptica* . لا يوجد أي مبيدات كيماوية تعطي تأثيراً فعالاً في مقاومة هذا المرض . تكون بكتيريا العفن الطري غير قادرة على اختراق كيوتكل النبات مباشرة ، وبالتالي يجب أن يتم إختراقها خلال الجروح الحادثة ، سواء أثناء الجمع أو أثناء الإجراءات التي تتم بعد الجمع وأثناء النقل . إن استعمال المثيرات لاستحداث مقاومة في الجروح ، طريقة ممكن أن تؤدي إلى مقاومة المرض.

المثيرات التي تحدث مقاومة في نباتات البطاطس القابلة للإصابة بالممرضات النباتية في الحقل ، هي جسمنك أسد (JA) الميثايل استر للجسمنك أسد (MeJA) وذلك عند استعمالها رشاً على المجموع الخضري . تسبب هذه المواد حثاً على تخليق مقاومة موضعية وجهازية للفطر *P. infestans* . كذلك فإن استعمال مكونات الجدار الخلوي لهذا الفطر

الممرض *P. infestans* تخلق مقاومة جهازية في البطاطس . كذلك فإن استعمال حمض الارشيدونك يستحث مقاومة جهازية لنفس الفطر السابق وللفطر *Alternaria solani* .

هناك أبحاث قليلة أجريت على تأثير المثيرات ، في زيادة مقاومة الدرنة ضد الكائنات الممرضة في المخـزن . إن المركب المسمى lipoglycoprotein المعزول من ميسيليوم الفطر *P. infestans* ، قد ذكر بأنه يزيد المقاومة في الدرنات المعاملة وفي النباتات المزروعة الناتجة من هذه الدرنات ، ضد الفطر نفسه .

كذلك وجد أن الأقراص المأخوذة من الدرنة والمعاملة بحمض Acetyl salicylic يزيد المقاومة ضد البكتيريا *E. carotovora* sp. *carotovora* ، إلا أن مقاومة الدرنات ليس من الضروري أن تكون بنفس الكفاءة في المخزن ، حيث المصدر الرئيسي للإصابة هي الجروح الموجودة على السطح .

استحداث مقاومة ضد المرض :

المثيرات المستعملة في هذه الدراسة هي :

١ – مادة (OG) وهي l-oligogalacturonides .

٢ – مادة PSCWH وهي مادة مستخلصة من جدار خلية الفطر *P. sojae* .

٣ – مادة chitosan oligomers (Oligomers of β - 1,4 - glucosamine) .

كانت الدرنات تجرح على عمق ٢ ملم وتضاف إليها هذه المثيرات وتخزن الدرنات على حرارة ٢٠°م ورطوبة نسبية ١٠٠ ٪ . تتكشف مقاومة طبيعية في الدرنة خلال ٨ – ٢٤ ساعة . عند معاملة الدرنات بالمادة الأولى وذلك بوضعها في جرح الدرنة ثم إضافة الكائن الممرض تتكشف المقاومة بعد ٨ ساعات ، أما في المادة الثانية بعد ٢٤ ساعة أما المادة الثالثة لم يكـن لها أي تأثيـر معنـوي فـي احداث المقاومة . يمكن ملاحظة ذلك من الجدول رقم ٣٥.

جدول رقم ٣٥ : تأثير المثيرات الثلاثة على إصابة البطاطس بكتيريا العفن الطري .

المادة المستعملة	حجم المرض على الدرنة ملم٣ بعد الحقن بمدة	
	٨ ساعات	٢٤ ساعة
كنترول	٦٠٠	٢٤٠
OG	١٢٥	٧٠
PSCWH	٢٨٠	٢٠٠
Chitosan oligomers	٦٢٠	٢٥٠

ملاحظات على الجدول :

١ - كانت تحقن الدرنات بمعلق بكتيري يحوي ٧١٠ وحدة تكوين مستعمرات/مل .

٢ - كانت تخزن الدرنات على حرارة $٣,٥^{\circ}$ م ورطوبة نسبية ٩٥٪ .

٣ - كانت تضاف المواد الكيماوية بتركيز ٠,٥ مل/جرح على عمق ٣ ملم .

عند دراسة تأثير المواد الثلاثة على نمو البكتيريا الممرضة في المعمل ، على بيئة دكستروز آجار ، تبين أن المواد الثلاثة ليس لها أي تأثير مثبط على نمو البكتيريا ، بل بالعكس فإن الثالثة تشجع نمو البكتيريا .

II : الكائنات الحية الدقيقة

مقدمة :

سبق أن ذكرنا في أول هذا الكتاب ، أن المقاومة الجهازية المكتسبة ، يمكن أن تتخلق بواسطة مواد كيماوية أو أحياء دقيقة . ذكرنا بالتفصيل المواد الكيماوية التي تحث على تخليق المقاومة الجهازية المكتسبة ، أما في هذا الجزء نذكر الكائنات الحية الدقيقة التي تحث على تخليق هذه المقاومة .

يتبين في جدول رقم ٣٦ الكائنات الحية الدقيقة والعوائل التي يظهر فيها تخليق المقاومة الجهازية المكتسبة أو المستحثة .

جدول رقم ٣٦ : أسماء الكائنات الحية الدقيقة الحائة على كل من المقاومة الجهازية المكتسبة أو المستحثة والكائنات الممرضة التي تظهر ضدها هذه المقاومة . وأسماء العوائل النباتية والجينات المتعلقة بها .

Plant	Inducer organism	SAR	ISR	Systemic protection against	SAR genes
Alfalfa	*Colletotrichum lindemuthianum*	+		*Colletotrichum lindemuthianum*	NR
Arabidopsis	*Turnip crinkle virus*	+		*Pseudomonas syringae*	PR-1, PR-2
	Pseudomonas syringae			*Turnip crinkle virus*	
	Fusarium oxysporum			*Pseudomonas syringae*	
				Peronospora parasitica	
	Pseudomonas fluorescens		+	*Fusarium oxysporum* f. sp. *raphani*	Absent
	WCS 417			*Pseudomonas syringae* pv *tomato*	
Asparagus bean	*Tobacco necrosis virus*	+		*Tobacco necrosis virus*	NR
Barley	*Tobacco rattle virus*				
Bean*	*Erysiphe graminis* f. sp. *hordei*	+		*Erysiphe graminis* f. sp. *hordei*	NR
	Colletotrichum lindemuthianum	+		*Colletotrichum lindemuthianum*	NR
	Colletotrichum lagenarium			*TNV*	

NR: not recorded;* : SAR experiments with field tests were performed with these plants.

Plant	Inducer organism	SAR	ISR	Systemic protection against	SAR genes
	Uromyces phaseoli				
	Pseudomonas fluorescens		+	*Pseudomonas syringae phaseolicola*	Absent
Carnation	*Pseudomonas* sp.	+		*Fusarium*	NR
Cucumber*	*Colletotrichum lagenarium*	+		*Colletotrichum lagenarium*	Acidic chitinase
	Pseudoperonospora cubensis			*Cladosporium cucumerinum*	(PR-8).
	Pseudomonas lachrymans			*Fusarium oxysporum*	PR-1-like.
	Tobacco necrosis virus			*Pseudomonas lachrymans*	peroxidase
				Sphaerotheca fuliginea	
				Tobacco necrosis virus	
	Pseudomonas putida		+	*Colletotrichum orbiculare*	Absent
	Serratia marcescens				
Muskmelon	*Colletotrichum lagenarium*	+		*Colletotrichum lagenarium*	NR
Oilseed rape	*Leptosphaeria maculans*	+		*Leptosphaeria maculans*	NR
Pearl millet	*Sclerospore graminicola*	+		*Sclerospora graminicola*	NR
Potato	*Phytophthora infestans*	+		*Phytophthora infestans*	β- 1.3-glucanase
	Phytophthora cryptogea				
Radish	*Pseudomonas fluorescens*		+	*Fusarium oxysporum* f. sp. *raphani*	Absent
				Pseudomonas syringae pv *tomato*	
Red clover	*Bean yellow mosaic virus*	+		*Alternaria brassicola*	NR
Rice	*Pseudomonas syringae*	+		*Erysiphe polygoni*	
Sicklepod	*Alternaria crassiae*	+		*Magnaporthe grisea*	Lipoxygenase
Soybean	*Colletotrichum lagenarium*	+		*Alternaria crassiae*	NR
	Colletotrichum truncatum			*Colletotrichum truncatum*	NR
Stylosanthes guianensis	*Colletotrichum gloeosporioides*	+		*Colletotrichum gloeosporioides*	Acidic chitinase
Tobacco*	*Tobacco mosaic virus*	+			
	Tobacco necrosis virus			*Thielaviopsis basicola*	PR-1, PR-2,
	*Thielaviopsis basicola**			*Phytophthora parasitica*	PR-3, PR-4,
	Peronospora tabacina			*Peronospora tabacina*	PR-5, PR-Ig,
	Pseudomonas syringae			*Pseudomonas syringae*	PR-8, SAR 8.2
	Pseudomonas fluorescens			*Phytophthora parasitica*	
	CHAO			*Pseudomonas tabaci*	
				Tobacco mosaic virus	
				Tobacco necrosis virus	
Tomato	*Phytophthora infestans*	+		*Phytophthora infestans*	Chitinase, P14 (PR-1), P 70
Watermelon	*Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*	+		*Colletotrichum lagenarium*	Chitinase

NR: not recorded;* : SAR experiments with field tests were performed with these plants.

١ - مقاومة أمراض البياض الدقيقي

أ - في العنب

مقدمة :

يتسبب مرض البياض الدقيقي في العنب عن الفطر *Uncinula necator* ، وهو مرض واسع الإنتشار في جميع أنحاء العالم ، ويحطم حقول عنب كثيرة . يمكن أن يهاجم الفطر الأزهار ، العناقيد ، الأوراق ، السيقان والثمار ويسبب فقد كبير في المحصول . لقد درست كل من المقاومة المستحثة بشكل عام والمقاومة الجهازية المكتسبة بشكل خاص ، ولقد درست الأخيرة بشكل واسع في النباتات الحولية والعشبية مثل الخيار ، الفاصوليا ، الدخان ، الطماطم ونباتات الارابدوبسز المقاومة لمجال واسع مع الكائنات الممرضة الفطرية ، البكتيرية والفيروسية .

لقد وجد Cohen سنة ١٩٧٨ أن نباتات الدخان المحقونة مسبقاً بالكائن الممرض المسبب مرض العفن الأزرق في الدخان *Peronospora tabacina* ، كانت مقاومة لمرض البياض الدقيقي في الدخان . أجري قليل من الأبحاث على النباتات المستديمة ، مثل الأشجار الخشبية والأشجار المثمرة مثل الأفوكادو وغيرها . تبين أن أشجار الأفوكادو عندما تحقن بالفطر *Phytophthora parasitica* المعزول من أشجار الحمضيات ، يستحث وقاية ضد كل من *P. cinnamomi* و *P. citricola* . كذلك وجد Schnathorst سنة ١٩٦١ أن الحقن المسبق للعنب بفيرس التفاف الأوراق ، يجعلها مقاومة لمرض البياض الدقيقي .

مقاومة المرض :

لقد تبين أن الحقن المسبق لنباتات العنب بفطر البياض الزغبي *Plasmopara viticola* يحدث مقاومة ضد الإصابة بفطر البياض الدقيقي *Uncinula necator* . تبين في إحدى التجارب أنه بعد ١٤ يوم من تعرض شجيرات العنب ، للجراثيم الكونيدية المحمولة بالهواء من الفطر *U. necator* ، فإن ١,٥ مستعمرة بياض دقيقي قد تكشفت على كل ورقة محقونة بفطر البياض الزغبي ، و ٢٣,٩ مستعمرة على شجيرات الكنترول . هذه المقاومة كانت محدودة على أنسجة الورقة المستعمرة بفطر البياض الزغبي ، ولم تنتقل إلى الأوراق المتكشفة حديثاً . لا يكون هناك وقاية من فطر البياض الدقيقي إذا فشل فطر البياض الزغبي في إصابة الشجيرات .

دل الفحص الميكروسكوبي ، على أن كونيديات فطر البياض الدقيقي ، تنبت على الأوراق المصابة بفطر البياض الزغبي ، ولكنها لا تستطيع إنتاج هيفات ثانوية أو مستعمرات . هذه الوقاية يمكن أن تصبح معكوسة وذلك برش المجموع الخضري للنباتات بمحلول ٠,١ ٪ سكروز ، خاصة الأوراق المصابة بالفطر *P. viticola* والذي يؤدي إلى استعادة القابلية للإصابة بالبياض الدقيقي . إن إضافة ٠,١ ٪ محلول سكروز يزيد تكشف فطر البياض الدقيقي في كل من نباتات الكنترول والنباتات المحقونة بفطر البياض الزغبي . يدل الحقن المتبادل على أن الإصابة بفطر البياض الدقيقي لا يثبط تكشف فطر البياض الزغبي .

ب - وقاية نباتات الخيار من الإصابة بالبياض الدقيقي

مقدمة :

يتسبب مرض البياض الدقيقي في الخيار عن الفطر *Sphaerotheca fuliginea* وهو من الأمراض الهامة ، حيث أنه يهاجم النباتات النامية في كل من الحقل أو الصوبا الزجاجية . تعتمد مقاومة المرض بشكل عام على استعمال المبيدات الفطرية ، ولكن الاتجاه الحديث في خفض استعمال مبيدات الآفات على المنتجات الزراعية ، مع الافتقار إلى أصناف الخيار المقاومة لهذا المرض والمرغوبة تجارياً ، جعل هناك حاجة للبحث عن طرق بديلة لمقاومة المرض .

يمكن أن تستحث المقاومة الجهازية ضد الأمراض المختلفة ، عن طريق رش الأوراق السفلية من نباتات الخيار بمحلول أملاح الاكسالات أو الفسفات . ولقد ذكر Reuveni *et al* سنة ٢٠٠٠ أنه يمكن تخفيض شدة مرض البياض الدقيقي في الخيار ، عن طريق تخليق مقاومة جهازية ، باستعمال الفسفات على شكل hydroponic system ، وتخليق مقاومة ضد بعض أنواع الصدأ واللفحة الشمالية للذرة . أصبح هذا الإجراء الآن طريقة عملية لمقاومة أمراض البياض الدقيقي في كثير من أنواع المحاصيل والخضار وأشجار الفاكهة ، مثل العنب ، التفاح ، المانجو والنكترين .

لقد وجد أن حقن الأوراق السفلية لنبات الخيار بعوامل حيوية ، مثل كائنات ممرضة غير شديدة المرضية ، أو كائنات ممرضة شديدة القوة المرضية ، والتي تسبب بقع موضعية محدودة ، أو كائنات غير ممرضة ، كل ذلك يخلق مقاومة جهازية مكتسبة ضد مدى واسع

من الكائنات الممرضة الفطرية ، البكتيرية والفيروسية . مثل هذا الحقن يشجع ميكانيكيات المقاومة في الأوراق غير المحقونة ويزودها بوقاية على مدى طويل ضد مجال واسع من الأمراض . لقد وجد أن تخليق المقاومة ضد *Alternaria brassica* قد لوحظت في المسترده بعد الحقن بعزلة غير شديدة المرضية من الفطر نفسه ، وفي الشعير ضد مرض البياض الدقيقي المتسبب عن الفطر *Erysiphe graminis* f.sp. *hordei* بعد الحقن المسبق بالفطر الرمي *Cladosporium macrocarpum* .

الوقاية من المرض :

إن حقن الورقتين الأوليتين من نباتات الخيار ، وهو في الطور الورقي الثاني عن طريق الرش بمعلق جرائيم عزلة الفطر *Alternaria cucumarina* غير الممرض ، أو الفطر *Cladosporium julvum* وذلك قبل حقنها بالكائن الممرض ، المسبب لمرض البياض الدقيقي في الخيار *S. fuliginea* ، يخلق مقاومة جهازية لمرض البياض الدقيقي على الأوراق من الثانية إلى الخامسة . كانت تظهر المقاومة الجهازية (يعبر عنها) بواسطة الخفض المعنوي في عدد مستعمرات البياض الدقيقي ، المتكونة على كل ورقة في النباتات المستحثة بالمقارنة مع النباتات غير المعاملة (الكنترول) . لقد أمكن ملاحظة المقاومة الجهازية ، عندما تم الحقن بالفطر الحاث قبل الحقن بالفطر الممرض بمدة ١ ، ٣ أو ٦ أيام . كذلك فإن زيادة تركيز لقاح الفطرين *C. fulvum* أو *A. cucumarina* ، تزيد الوقاية الجهازية وتخفض الإصابة المرضية بحوالي ٧١٪ و ٨٠٪ على الترتيب ، في عدد المستعمرات المتكونة على الأوراق العلوية مقارنة مع الكنترول . أما زيادة تركيز الحقن بالفطر الممرض *S. fuliginea* ، فإنه يزيد من عدد مستعمرات البياض الدقيقي على النباتات سواء المعاملة بالكائن الحاث على المقاومة أو الكنترول (جدول رقم ٣٧) . وعلى أية حال فإن النباتات المعاملة مسبقاً بالكائن الحاث تستمر حالتها أفضل من الكنترول . هذا يدل على أن مستوى الوقاية الجهازية يتعلق بتركيز لقاح الفطر الممرض . وعلى أية حال فإن استعمال المقاومة الجهازية المكتسبة تعتبر وسيلة جيدة تدخل في نظم الوقاية من الأمراض .

جدول رقم ٣٧ : تأثير تركيز اللقاح المستعمل من فطر البياض الدقيقي في الخيار على تخليق وقاية جهازية لمرض البياض الدقيقي في النبات المحقون مسبقاً بالفطر *C. fulvum* و *A. cucmarina* . تحسب المقاومة على أساس عدد مستعمرات الفطر الممرض على أوراق النبات .

تركيز الفطر الممرض كونيدية لكل ملم معلق جراثيم	*A. cucumarina*						*C. fulvum*					
	نباتات كنترول			نباتات خيار مستحثة			نباتات كنترول			نباتات خيار مستحثة		
	١٤يوم	١٧يوم	٢١يوم	١٤يوم	١٧يوم	٢١يوم	١٤يوم	١٧يوم	٢١يوم	١٤يوم	١٧يوم	٢١يوم
١×١٠^{٤}	٢١	٢٨,٧	٣٤,٥	٦,٤	١٢,٢	١٨	١٣,٨	١٩,٨	٤٧,٠	٠,٨	٢,٦	١١,٦
$٤,٥ \times ١٠^{٤}$	٤٤,٣	٥٧,٠	٦٥,٥	١٢,٧	٢٤,٨	٣٣,٥	٥٤,٤	٦٥,٢	٨١,٤	٢٤,٤	٣٨,٤	٥٠,٦
٢٠×١٠^{٤}	٦١,٨	٧٧,٥	٨٦,٧	٢٦,٥	٤٠,٧	٥٣,٧	٨٤,٨	١٠٥,٨	١٤١,٤	٤١,٦	٥٣,٤	٦٩

ملاحظات على الجدول :

كانت ترش أوراق نبات الخيار بمعلق جراثيم الكائن الحاث بتركيز ٥ × $١٠^{٦}$ كونيدية/مل من الفطر الأول ، وبتركيز ١٥٠ × $١٠^{٥}$ كونيدية/ مل من الفطر الثاني . ثم بعد ٢٤ ساعة كانت ترش النباتات بجراثيم الفطر الممرض بالتركيز المذكور في الجدول ، ثم بعد ١٤ ، ١٧ ، ٢١ يوم تحسب الإصابة على الأوراق على شكل عدد المستعمرات على الأوراق.

٢ - وقاية نباتات الطماطم من الإصابة باللفحة المتأخرة باستعمال فيروس تكروزز الدخان

مقدمة :

لقد درست المقاومة الجهازية المكتسبة SAR في أنواع مختلفة من المحاصيل ، ضد مدى واسع من الأمراض . أما في العائلة الباذنجانية ، هناك اهتمام كبير ، قد تركز على تخليق مقاومة جهازية في الدخان والبطاطس ضد الأمراض الفطرية ، البكتيرية والفيروسية ، بينما هناك قليل من الأبحاث قد أجريت لمحاولة تحصين نباتات الطماطم ضد المرض المذكور (فيروس تكروزز الدخان). أجريت أبحاث بواسطة Gessler & Heller سنة ١٩٨٦ على

المقاومة الجهازية المكتسبة في الطماطم ضد مرض اللفحة المتأخرة المتسبب على الفطر *Phytophthora infestans* وذلك عن طريق حقن الأوراق السفلية بنفس الفطر . كما أن Cohn *et al* سنة ١٩٩٤ ذكر أنه حتى ال ٩٠٪ من نباتات الطماطم التي حدث فيها وقاية ضد اللفحة المتأخرة ، يمكن الحصول عليها عن طريق الرش بمركب B - isomer للمركب aminobutyric acid ، بمدة يومين قبل الحقن بالفطر *P. infestans* .

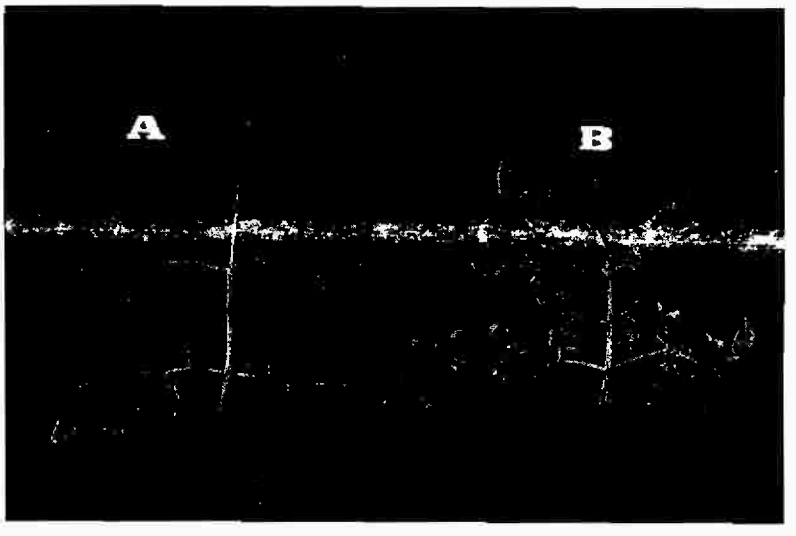
إن العلاقة بين SAR وتجمع بروتينات PR في الطماطم ، قد حصلت على اهتمام كبير من الباحثين . بعض البروتينات المتعلقة بالمرضية في نباتات الطماطم والتي تتجمع كنتيجة للمعاملة بعوامل حيوية أو غيرى حيوية قد حددت على أنها Chitinase و β-(1,3)-glucanases - . إحدي البروتينات المتعلقة بالمرضية في الطماطم عرف على أنه Endoproteinase وآخر على أساس أنه Peroxidase . البروتينات المتعلقة بالمرضية مثل P_{14} و AP_{24} (osmotin) لها نشاط كمضاد فطري ضد الفطر *P. infestans* ، قد تمت لها تنقية من نباتات الطماطم والدخان المصابة بالفطر المذكور سابقاً ، وفيرس موزايك الدخان بالترتيب . زيادة على ذلك فإن Liu *et al* سنة ١٩٩٤ ذكر أن التعبير الواضح جداً لمادة Osmotin في نباتات البطاطس المحولة وراثياً ، يؤخر إبتداء أعراض اللفحة المتأخرة بعد الحقن بالفطر *P. infestans* .

لقد ذكر بعض الباحثين بأنه يمكن تخليق المقاومة الجهازية ضد الأمراض ، عن طريق الحقن بفيرس نكروزز الدخان TNV ، في نباتات مختلفة خاصة الخيار والطماطم .

وقاية النباتات من المرض :

إن حقن نباتات الطماطم في الورقتين السفليتين ، رقم واحد ورقم إثنين بفيرس TNV ، يخلق مقاومة جهازية ضد الفطر *P. infestans* . تظهر المقاومة على شكل خفض في المساحة الكلية الملفوحة من الورقة المتسبب عن الفطر في النباتات المحقونة بالفيرس ، مقارنة مع الكنترول كما في (شكل رقم ٣) . ولقد وجد أيضاً أن معدلات المرض في الأوراق رقم ٣ ، ٤ من النباتات المعاملة بالمحلول المنظم (كنترول) كانت ٣,٢ ، ١,٩ بالمقارنة مع ٦٠ و ٢٣٪ في نسيج الورقة المصابة . كان مستوى الوقاية المخلقة بواسطة الحقن بالفيروس TNV ٥٤٪ في الورقة الثالثة و ٨٠٪ في الورقة الرابعة . تكون الوقاية واضحة في الورقة

الثالثة في اليوم الرابع ، وأن مستوى الوقاية يزداد مع الوقت ، تصل إلى أقصى وقاية بعد ثمانية أيام من الحقن بالفيرس TNV . تكون شدة المرض في نباتات الكنترول منخفضة نسبياً .



شكل رقم ٣ : الورقة الثالثة في نباتات الطماطم المعاملة ، للوقاية من مرض اللفحة المتأخرة وذلك بحقنها بالفيرس :

(A) الورقة محقونة بالفيرس TNV (تظهر سليمة) معبرة عن حصول مقاومة جهازية مكتسبة .

(B) كنترول .

البروتينات المتعلقة بالمرضية :

من الدراسات التحليلية للبروتينات المتجمعة في النباتات المحقونة بالفيرس ، قبل حقنها بالفطر الممرض ، تبين أن نباتات الطماطم التي تظهر مقاومة جهازية مكتسبة ضد الفطر *P. infestans* تحتوى على :

1 - Endoproteinase 2 - β-(1,3) - glucanases 3 - Chitinases

4 - AP_{24} 5 - P_{14}

إن تخليق المقاومة الجهازية ، كان مصحوباً بزيادة في نشاط البيروكسيديز في الأوراق المحقونة ، بالإضافة إلى نسيج الورقة العلوية رقم ٣ . ومن ناحية أخرى فإن هناك زيادة معنوية في نشاط β-(1,3) glucanase قد لوحظ فقط في الأوراق المحقونة بفيرس نكروزز الدخان . كذلك فإن تحليل أنسجة أوراق النبات المستحثة ، أظهرت أن الحقن بفيرس TNA يؤدي إلى تخليق ثلاثة بيروكسيديز جديدة وواحد β-1,3-glucanase isozymes .

٣ - وقاية الطماطم من مرض ذبول الفيوزاريوم باستعمال الفطر *Penicillium oxalicum*

مقدمة :

يتسبب مرض ذبول الفيوزاريوم في الطماطم عن الفطر *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* . هذا المرض هام إقتصادياً . يخترق الفطر الأنسجة الوعائية في النبات ويسبب ذبول حاد في المجموع الخضري ، عن طريق قفل أوعية الخشب الناقلة ، وإعاقة حركة الماء . غالباً ما تغلف جدر الأوعية بمادة أمورفية إلكترونية غير منفذة ، هذه المادة تقفل فتحات فجوات برنشيما الخشب وتلبسها بغشاء منقر . تكون الإصابة مصحوبة بالموت التدريجي لخلايا برانشيما الخشب أثناء إصابة النبات . هناك مركبات كثيرة تشارك في تكشف الأعراض ، مثل الأنزيمات المركبات المنظمة للنمو ، التوكسينات والصموغ .

ذكر Decal *et al* سنة ١٩٩٧ ، أن معاملة نباتات الطماطم بالجراثيم الكونيدية للفطر *Penicillium oxalicum* يخلق مقاومة ضد ذبول الفيوزاريوم فى الطماطم . عند وضع كل من الفطر المضاد والفطر الممرض في أماكن متباعدة على نبات الطماطم أو في التربة ، هذا يمنع التفاعل المباشر بين الفطرين ، الفطر *P. oxalicum* يخلق خفضاً في شدة المرض ويستعمر رايزوسفير الطماطم ، ولكنه لا يدخل ساق نبات الطماطم . لقد درس الدور الممكن للبروتينات المتعلقة بالمرضية ، فوجد أنه لا يوجد أي دليل على دخولها في عملية المقاومة . في المزارع المائية فإن النباتات المعاملة بالفطر *P. oxalicum* ، تمتص كمية من السائل ، أكبر من النباتات غير المعاملة ، عندما يصاب كلا النباتين بالفطر الممرض ، هذا يؤدي إلى القول بأن الفطر *P. oxalicum* يمنع ولو جزئياً قفل أو إنهيار الأوعية الخشبية في النباتات المصابة .

وقاية النبات من المرض :

عند معاملة نباتات الطماطم بمعلق من الجراثيم الكونيدية 10^7 كونيدية/مل ، من جراثيم الفطر *P. oxalicum* قبل حقنها بالفطر الممرض فيوزاريوم أوكسي سبوريوم لايكوبرسسياي ، كانت النتيجة إنخفاض كبير في شدة المرض . أظهرت الدراسة التشريحية أن النباتات غير المعاملة بالفطر *P. oxalicum* يظهر فيها فقد كامل في الكامبيوم (٧٥ – ١٠٠ ٪) وكذلك زيادة في عدد الحزم الوعائية ، ونقصاً في عدد الأوعية الخشبية (خفض بنسبة ٢٠ ٪) . كذلك يظهر خفضاً في قطر السويقة الجنينية العليا والسفلى بنسبة ٢٠ – ٣٠ ٪ . تتناسب أعداد الأوعية المستعمرة بالفطر الممرض إيجابياً مع تقدم المرض . وعلى أية حال فإن النباتات المستحثة بواسطة الفطر *P. oxalicum* تظهر خفضاً في المرض ، ولا تفقد أي نسبة من الكامبيوم ، ويتكون فيها إعداد قليلة من الحزم الوعائية ، وقليل من الأوعية تكون مستعمرة بالكائن الممرض .

لوحظت هذه التأثيرات في أصناف الطماطم ، القابلة للإصابة بالفطر سلالة (١ ، ٢) ونلاحظ جزئياً في الأصناف المقاومة لكلا السلالتين . إن عملية تجديد وإطالة فعالية الكامبيوم الذي يؤدي إلى تكوين خشب ثانوي إضافي ، يمكن أن تكون واحداً من أهم الأسباب التي تؤدي إلى خفض المرض في نباتات الطماطم المستحثة بالفطر *P. oxalicum* (جدول رقم ٣٨ ، ٣٩) .

جدول رقم ٣٨ : تأثير المعاملات المختلفة بالفطر *P. oxalicum* على تكشف مرض ذبول الفيوزاريوم في الطماطم ، وعلى الصفات المورفولوجية والتشريحية ، لساق نبات الطماطم القابل للإصابة بفيوزاريوم الذبول سلالة ٢ ومقاوم للسلالة ١ .

استعمال الفطر الحاث بتركيز ١٠^٧ كونيدية/مل ولحقن النباتات بالفطر الذبول ٩٠^٩ كونيد/مل	دليل المرض من صفر إلى خمسة	الدراسة الميكروسكوبية			
		٪ استعمار الخشب بالفطر الممرض	طبقات الكامبيوم	وعاء/حزمة	حزمة في المقطع	ميكرومتر قطر الوعاء
تلويث البذور قبل زراعتها	٣,٢	٧١,٤	صفر	١٠	٤	٢١,٧
فوراً يضاف على البذر قبل الزراعة	٢,٩	٦٤,٤	صفر	١٢	٤	٢٥,٦
على فقات البادرات	٢,٤	٥٤,١	١,٨	١٣,٦	٧,٨	٣١,٧
على البادرة عمر ٧ يوم	٢,-	٤١,٤	١,٦	١٢,٦	٥,٦	٣٧,١
على البادرة قبل نقلها ٤ يوم	٢,٥	٥٦,٣	صفر	١٢,٨	٤,-	٣٣,٧
على البادرة فور نقلها	١,٨	٥١,٧	١,-	١٣,٢	٦,٢	٣٦,٨
كنترول	٤,١	٦٤,٤	٠,٢	١١,-	٥,٦	٣١,٤

جدول رقم ٣٩ : تأثير استعمال الفطر *P. oxalicum* على تكشف مرض ذبول الفيوزاريوم في الطماطم والتركيب التشريحي للصنفين . تؤخذ النتائج بعد ٢١ يوم من الحقن بالكائن الممرض .

الصنف	فيوزاريوم الذبول	الفطر الحاث	دليل المرض من صفر إلى خمسة	الدراسة الميكروسكوبية		
				٪ استعمار الفطر	طبقات الكامبيوم عدد	عدد الحزم في المقطع
قابل للإصابة للسلالتين	+	+	٣,٢	٠,٩	٢,٣	٤
قابل للإصابة للسلالتين	*	-	٢,٤	٩٨,٩	صفر	٦
قابل للإصابة للسلالتين	-	+	صفر	صفر	٢,٣	٤
قابل للإصابة للسلالتين	*	-	صفر	صفر	٢,٣	٥
مقاوم للسلالتين	+	+	صفر	٥,٧	١,-	٤
مقاوم للسلالتين	*	-	صفر	صفر	٠,١	٧
مقاوم للسلالتين	-	+	صفر	صفر	٣,٢	٦
مقاوم للسلالتين	*	-	صفر	صفر	٤,٢	٤

ملاحظات على الجدول : النجمة تدل على عدم الاستعمال .

المراجـــــع

المراجع العامة :

1. Abdel-Aziz, N.A., 1999. Effects of chemical and heat treatments of seeds on squash infection by cucumber moasaic virus. *Assiut J. of Agri. Sci.*, 30, 4 : 193-206.

2. Anfoka, G. and H. Buchenauer. 1997. Systemic acquired resistance in tomato against *Phytophthora infestans* by pre-inoculation with tobacco necrosis virus. *Physiology and Molecular Plant Pathology*, 50 : 85-101.

3. Brisset, M.M., *et al.*, 2000. Acibenzolar–S–methyl induces the accumulation of defense – related enzymes in apple and protects from fire blight. *European J. of Plant Pathology*, 106 : 529-536.

4. Chen, C., *et al.*, 1999. Role of salicylic acid in systemic resistance induced by *Pseudomonas* sp. against *Pythium aphanidermatum* in cucumber roots. *European J. of Plant Pathology*, 105 : 477-486.

5. Coquoz, J.L., *et al.*, 1995. Arachidonic acid induces local but not systemic synthesis of salicylic acid and confers systemic resistance in potato plants to *Phytophthora infestans* and *Alternaria solani. Phytopathology*, 85 : 1219-1224.

6. Dann, E., *et al.*, 1998. Effects of treating soybean with INA and BTH on seed yields and the level of disease caused by *Sclerotinia sclerotiorum* in field and greenhouse studies. *European J. of Plant Pathology*, 104 : 271-278.

7. Dong, H. and S. Beer. 2000. Riboflavin induces disease resistance in plants by activating a novel signal transduction pathway *Phytopathology*, 90 : 801-811.

8. Dutton, M.V., *et al.*, 1997. Induced resistance to *Erwinia carotovora* f. sp. *atroseptica*, through the treatment of surface wounds of potato tubers with elicitors. *J. Phytopathology*, 145, 163-169.

9. Gahalain, N., et al., 1999. Effect of environmental conditions, salicylic acid and phytohormones on pea leaf blight. *Indian Phytopath.*, 52 (3) : 270-273.

10. Geert, D.M. and M. Hofte. 1997. Salicylic acid produced by the rhizobacterium *Pseudomonas aeruginosa* 7WSK2 induces resistance to leaf infection by *Botrytic cinerea* on bean. *Phytopathology*, 87 : 588-593.

11. Jeun, Y.C., et al., 2000. Biochemical and cytological studies on mechanisms of systemically induced resistance to *Phytophthora infestans* in tomato plants. *J. Phytopathology*, 148 : 129-140.

12. Purkayastha, R.P. 1998. Disease resistance and induced immunity in plants. *Indian Phytopath*, 51 (3) : 211-221.

13. Raskin, I. 1992. Role of salicylic acid in plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 43 : 439-463.

14. Ryals, J.A., *et al.*, 1996. Systemic Acquired resistance. *The Plant Cell*, 8 : 1809-1819.

15. Ryals, J., S., Uknes and E. Ward. 1994. Systemic Acquired Resistance. *Plant Physiology*, 104 : 1109-1112.

16. Reuveni, M. 1999. Resistance to powdery mildew in grapevine induced by *Plasmopara viticola*. *Can. J. Plant. Pathology*, 21 : 272-275.

17. Silverman, P., *et al.*, 1995. Salicylic acid in rice. *Plant Physiology*, 108 : 633-639.

18. Sticher, L.B., *et al.*, 1997. Systemic acquired resistance. *Annu. Rev. Phytopathol.* 35 : 235-270.

19. Saskia, C.M., *et al.*, 2000. Enhancement of induced disease resistance by simultaneous activation of salicylate – and jasmonate – dependent defense pathways in *Arabidopsis thaliana*. PNAS, 97,15 : 8711-8716.

20. Schweizer, P., *et al.*, 1999. Different patterns of host genes are induced in rice by *P. syringae*, a biological inducer of resistance and the chemical inducer BTH. *European J. of Plant Pathology*, 105 : 659-665.

21. Ton, J., *et al.*, 2001. Heritability of rhizobacteria – mediated induced systemic resistance and basal resistance in Arabidopsis. *European J. of Plant Pathology*, 107 : 63-68.

22. Tosi, L. and A. Zazzerini. 2000. Interactions between *Plasmopara helianthi*, *Glomus mosseae* and two plant *activators* in sunflower plants. *European J. of Plant Pathology*, 106 : 735-744.

23. Ward, E., *et al.*, 1994. Induction of systemic acquired disease resistance in plants by chemicals. *Ann. Rev. Phytopathol.* 32 : 439-459.

24. Wurms, K., *et al.*, 1999. Effects of milsana and benzothiadiazole on the ultrastructure of powdery mildew haustoria on cucumber. *Phytopathology*, 89 : 728-736.

25. Xue, L., et al., 1998. Systemic Induction of peroxidases, 1, 3-ß-Glucanases, chitinases, and resistance in bean plants by binucleate *Rhizoctonia* species. *Phytopathology*, 88 : 359-365.

26. Zhou, T. and T.C. Paulitz. 1994. Induced resistance in the biocontrol of *Pythium aphanidermatum* by *Pseudomonas* sp. on cucumber. *J. Phytopathology*. 142 : 51-63.

مراجع خاصة بالبروتينات المتعلقة بالمرضية :

1. Van Loon, L.C., Pierpoint, W.S., Boller, T. and Conejero, V. 1994. Recommendations for naming plant pathogenesis- related proteins. *Plant Mol. Biol. Reporter 12* : 245-264.

2. Van Loon, L.C. and Van Strien, E.A. 1999. The families of pathogenesis-related proteins, their activities, and comparative analysis of PR-1 type proteins. *Physiol. Mol. Plant Pathol. 55* : 85-97.

مراجع خاصة متعلقة بالطماطم والدخان :

1. Van Loon, L.C. and Van Kammen, A. 1970. Polyacrylamide disc electrophoresis of the soluble leaf proteins from *Nicotiana tabacum* var. "Samsun" and "Samsun NN". II. Changes in protein constitution after infection with tobacco mosaic virus. *Virology*, 40 : 199-211.

2. Gianinazzi, S., Martin, C. and Vallée, J.C. 1970. Hypersensibilité aux virus, température et protéines solubles chez le *Nicotiana Xanthi* n.c. Apparition de nouvelles macromolécules lors de la répression de la synthèse virale. *C.R. Acad. Sci. Paris 270D* : 2383-2386.

3. Ahl, P., Cornu, A. and Gianinazzi, S. 1982. Soluble proteins as genetic markers in studies of resistance and phylogeny in *Nicotiana*. *Phytopathology* 72 : 80-85.

4. Van Loon, L.C. 1982. Regulation of changes in proteins and enzymes associated with active defense against virus infection. In : Active Defense Mechanisms in Plants (R.K.S. Wood, ed.), pp. 247-273. Plenum Press, New York, USA.

5. Pierpoint, W.S. 1983. The major proteins in extracts of tobacco leaves that are responding hypersensitivity to virus- infection. *Phytochemistry* 22 : 2691-2697.

6. Parents, J.G. and Asselin, A. 1984. Detection of pathogenesis- related (PR or b) and of other proteins in the intercellular fluid of hypersensitive plants infected with tobacco mosaic virus. *Can. J. Bot.* 62 : 564-569.

7. Pierpoint, W.S. 1986. The pathogenesis-related proteins of tobacco leaves. *Phytochemistry* 25 : 1595-1601.

8. Cornelissen, B.J.C., Horowitz, J., Van Kan, J.A.L., Goldberg, R.B. and Bol, J.F. 1987. Structure of tobacco genes encoding pathogenesis-related proteins from the PR-1 group. *Nucleic Acids Res.* 15 : 6799-6811.

9. Hogue, R. and Asselin, A. 1987. Detection of 10 additional pathogenesis-related (b) proteins in intercellular fluid extracts from stressed 'Xanthi-nc' tobacco leaf tissue. *Can. J. Bot.* 65 : 476-481.

10. Kauffmann, S., Legrand, M., Geoffroy, P. and Fritig, B. 1987. Biological function of 'pathogenesis-related' proteins : four PR proteins of tobacco have 1,3-ß-glucanase activity. EMBO J. 6 : 3209-3212.

11. Legrand, M., Kauffmann, S., Geoffroy, P. and Fritig, B. 1987. Biological function of 'pathogenesis-related' proteins : four tobacco pathogenesis-related proteins are chitinases. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 84 : 6750-6754.

12. Fritig, B., Rouster, J., Kauffmann, S., Stintzi, A., Geoffroy, P., Kopp, M. and Legrand, M. 1989. Virus-induced glycanhydrolases and effects of oligosaccharide signals on plant-virus interactions. In : Signal Molecules in Plants and Plant-Microbe Interactions (B.J.J. Lugtenberg, ed.), pp. 161-168. Springer-Verlag, Berlin / Heidelberg, Germany.

13. Van den Bulcke, M., Bauw, G., Castresana, C., Van Montagu, M. and Vandekerckhove, J. 1989. Characterization of vacuolar and extracellular ß(1,3)-glucanases of tobacco : evidence for a strictly compartmentalized plant defense system. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86 : 2673-2677.

14. Kauffmann, S., Legrand, M. and Fritig, B. 1990. Isolation and characterization of six pathogenesis-related (PR) proteins of Samsun NN tobacco. *Plant Mol. Biol.* 14 : 381-390.

15. Geoffroy, P., Legrand, M. and Fritig, B. 1990. Isolation and characterization of a proteinaceous inhibitor of microbial proteinases induced during the hypersensitive reaction of tobacco to tobacco mosaic virus. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 3 : 327-333.

16. Stintzi, A., Heitz, T., Kauffmann, S., Legrand, M. and Fritig, B. 1991. Identification of a basic pathogenesis-related, thaumatin-like protein of virus-infected tobacco as osmotin. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 38 : 137-146.

17. Woloshuk, C.P., Meulenhoff, J.S., Sela-Buurlage, M., Van den Elzen, P.J.M. and Cornelissen, B.J.C. 1991. Pathogen-induced proteins with inhibitory activity toward *Phytophthora infestans*. *Plant Cell* 3 : 619-628.

18. Lawton, K., Ward, E., Payne, G., Moyer, M. and Ryals, J. 1992. Acidic and basic class III chitinase mRNA accumulation in response to TMV infection of tobacco. *Plant Mol. Biol.* 19 : 735-743.

19. Heitz, T., Geoffroy, P., Stintzi, A., Fritig, B. and Legrand, M. 1993. cDNA cloning and gene expression analysis of the microbial proteinase inhibitor of tobacco. *J. Biol. Chem.* 268 : 16987-16992.

20. Stintzi, A., Heitz, T., Prasad, V., Wiedemann-Merdinoglu, S., Kauffmann, S., Geoffroy, P., Legrand, M. and Fritig, B. 1993. Plant 'pathogenesis-related' proteins and their role in defense against pathogens. *Biochimie* 75 : 687-706.

21. Melchers, L.S., Apotheker-de Groot, M., Van der Knaap, J.A., Ponstein, A.S., Sela-Buurlage, M.B., Bol, J.F., Cornelissen, B.J.C., Can den Elzen, P.J.M. and Linthorst, H.J.M. 1994. A new class of tobacco chitinases homologous to bacterial exo-chitinases displays antifungal activity. *Plant J. 5* : 469-480.

22. Ponstein, A.S., Bres-Vloemans, S.A., Sela-Buurlage, M.B., Van den Elzen, P.J.M., Melchers, L.S. and Cornelissen, B.j.C. 1994. A novel pathogen- and wound-inducible tobacco (*Nicotiana tabacum*) protein with antifungal activity. *Plant Physiol.* 104 : 109-118.

23. Brunner, F., Stintzi, A., Fritig, B. and Legrand, M. 1998. Substrate specificities of tobacco chitinases. *Plant J.* 14 : 225-234.

24. Niderman, T., Genetet, I., Bruyère, T., Gees, R., Stintzi, A., Legrand, M., Fritig, B. and Mösinger, E. 1995. Pathogenesis-related PR-1 proteins are antifungal; isolation and characterization of three 14-kilodalton proteins of tomato and of a basic PR-1 of tobacco with inhibitory activity against *Phytophthora infestans*. *Plant Physiol.* 108 : 17-27.

مراجع خاصة بالبروتينات المتعلقة بالمرضية فى الدخان :

1. Antoniw, J.F., Ritter, C.E., Pierpoint, W.S. and Van Loon, L.C. 1980. Comparison of three pathogenesis-related proteins from plans of two cultivars of tobacco infected with TMV. *J. Gen. Virol.* 47 : 79-87.

2. Epple, P., Apel, K. and Bohlmann, H. 1995. An *Arabidopsis thaliana* thionin gene is inducible via a signal transduction pathway different from that for pathogenesis-related proteins. *Plant Physiol.* 109 : 813-820.

3. Garcia-Oimedo, F., Molina, A., Segura, A. and Moreno, M. 1995. The defensive role of nonspecific lipid-transfer proteins in plants. *Trends Microbiol.* 3 : 72-74.

4. Green, T.R. and Ryan, C.A. 1972. Wound-induced proteinase inhibitor in plant leaves : a possible defense mechanism against insects. *Science* 175 : 776-777.

5. Lagrimini, L.M., Burkhart, W., Moyer, M. and Rothstein, S. 1987. Molecular cloning of complementary DNA encoding the lignin-forming peroxidase from tobacco : molecular analysis and tissue-specific expression. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84 : 7542-7546.

6. Melchers, L.S., Apotheker-de Groot, M., Van der Knaap, J.A., Ponstein, A.S., Sela Buurlage, M.B., Bol. J.F., Cornelissen, B.J.C., Van den Elzen, P.J.M. and Linthorst, H.J.M. 1994. A new class of tobacco chitinases homologous to bacterial exo-chitinases displays antifungal activity. *Plant J.* 5 : 469-480.

7. Métraux, J.-P., Streit, L. and Staub. Th. 1988. A pathogenesis- related protein in cucumber is a chitinase. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 33 : 1-9.

8. Somssich, I.E., Schmelzer, E., Bollmann, J. and Hahlbrock, K. 1986. Rapid activation by fungal elicitor of genes encoding "pathogenesis-related" proteins in cultured parsley cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 83 : 2427-2430.

9. Terras, F.R.G., Schools, H., De Bolle, M.F.C., Van Leuven, F., Rees, S.B., Vanderleyden, J., Cammue, B.P.A. and Broekaert, W.F. 1992. Analysis of two novel classes of plant antifungal proteins from radish (Raphanus sativus L.) seeds. *J. Biol. Chem.* 267 : 15301-15309.

10. Van Loon, L.C. 1982. Regulation of changes in proteins and enzymes associated with active defense against virus infection. In : Active Defense Mechanisms in Plants (R.K.S. Wood, ed.), pp. 247-273, Plenum Press, New York, USA.

11. Vera, P. and Conejero, V. 1988. Pathogenesis-related proteins of tomato. P-69 as an alkaline endoproteinase. *Plant Physiol.* 87 : 58-63.

مراجع خاصة بالبروتينات المتعلقة بالمرضية فى الطماطم :

1. Green, T.R. and Ryan, C.A. 1972. Wound-induced proteinase inhibitor in plant leaves : a possible defense mechanism against insects. *Science* 175 : 776-777.

2. Gustafson, G. and Ryan, C.A. 1976. Specificity of protein turnover in tomato leaves. Accumulation of proteinase inhibitors, induced with the wound hormone, PIIF. *J. Biol. Chem.* 251 : 7004-7010.

3. Camacho Henriquez, A. and Sänger, H.L. 1982. Gelelectrophoretic analysis of phenol-extractableleaf proteins from different viroid / host combinations. *Arch. Virol.* 74 : 167-180.

4. De Wit, P.J.G.M., Buurlage, M.B. and Hammond, K.E. 1986. The occurrence of host-, pathogen- and interaction-specific proteins in the apoplast of *Caldosporium fuluum* (syn. *Fulvia fulva*) infected tomato leaves. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 29 : 159-172.

5. Granell, A., Belles, J.M. and Conejero, V. 1987. Induction of pathogenesis-related proteins in tomato by citrus exocortis viroid, silver ion and ethephon. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 31 : 83-90.

6. King, G.J., Turner, V.A., Hussey, C.E., Wurtele, E.S. and Lee, M. 1988. Isolation and characterization of a tomato cDNA clone which codes for a salt-induced protein. *Plant Mol. Biol.* 10 : 401-412.

7. Vera, P. and Conejero, V. 1988. Pathogenesis-related proteins of tomato. P-69 as an alkaline endoproteinase. *Plant Physiol.* 87 : 58-63.

8. Fischer, W., Christ, U., Baumgartner, M., Erismann, K.H. and Mösinger, E. 1989. Pathogenesis-related proteins of tomato : II. Biochemical and immunological characterization. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 35 : 67-83.

9. Joosten, M.H.A.J. and De Wit, P.J.G.M. 1989. Identification of several pathogenesis-related proteins in tomato leaves inoculated with *Cladosporium fulvum* (syn. *Fulvia fulva*) as 1,m3-ß-glucanases and chitinases. *Plant Physiol.* 89 : 945-951.

10. Garcia Breijo, F.J., Garro, R. and Conejero, V. 1990. C_7(P32) and C_6(P34) PR proteins induced in tomato leaves by citrus exocortis viroid infection are chitinases. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 36 : 249-260.

11. Rodrigo, I., Vera, P., Frank, R. and Conejero, V. 1991. Identification of the viroid-induced tomato pathogenesis-related (PR) protein P23 as the thaumatin-like tomato protein NP24 associated with osmotic stress. *Plant Mol. Biol.* 16 : 931-934.

12. Woloshuk, C.P., Meulenhoff, J.S., Sela-Buurlage, M., Van den Elzen, P.J.M. and Cornelissen, B.J.C. 1991. Pathogen-induced proteins with inhibitory activity toward Phytophthora infestans. *Plant Cell* 3 : 619-628.

13. Vera, P., Tornero, P. and Conejero, V. 1994. Cloning and expression analysis of a viroid-induced peroxidase from tomato plants. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 6 : 790-794.

14. Tornero, P., Conejero, V. and Vera, P. 1994. A gene encoding a novel isoform of the PR-1 protein family from tomato is induced upon viroid infection. *Mol. Gen. Genet.* 243 : 47-53.

15. Niderman, T., Genetet, I., Bruyère, T., Gees, R., Stintzi, A., Legrand, M., Fritig, B. and Mösinger, E. 1995. Pathogenesis-related PR-1 proteins are antifungal; isolationand characterization of three 14-kilodalton proteins of tomato and of a basic PR-1 of tobacco with inhibitor activity against *Phytophthora infestans*. *Plant Physiol.* 108 : 17-27.