الفصل الثالث

تعريف وصفات المقاومة الجهازية المستحثة

Identivication And Characteristics of ISR

تعريف :

تعرف المقاومة الجهازية المستحثه Induced Systemic Resistance (ISR) بأنها المقاومة المتخلقة جهازياً فى النبات ، تحت تأثير أو نتيجة ، حث النبات بواسطة أنواع من الرايزوبكتيريا ، ليس لحمض السلسليك تعبير اشارى فى هذه المقاومة وإنما تعتمد علي ممرات إشارية أخري أهمها حمض الجسمنك والاثيليين . وكذلك ليس للبروتينات المتعلقه بالمرضية دور فى هذه المقاومة . لهذه المقاومة ممر يختلف عن ممر المقاومة الجهازية المكتسبه Systemic Acquired Resistance (SAR) . لم يثبت لغية سنة ٢٠٠١ بأن هذه المقاومة تتخلق فى نباتات الفلقه الواحدة .

مقدمة :

إن معاملة أجزاء من النبات معاملة موضعية ، بعوامل حيوية أو غير حيوية ، معينة ، يؤدى إلي تكشف وحدوث مقاومة ضد الكائنات الممرضة فى الأجزاء البعيدة من النبات . والمقاومة المتخلقة بمثل هذه المعاملات ، تتميز ، بشكل عام بمقدرتها علي وقف نمو الكائن الممرض وخفض شدة الإصابة .

يمكن تقسيم طرق الحصول علي المقاومة المتخلقة فى النبات إلي قسمين :

١ – الطريقة الكلاسيكية فى الحصول على مقاومة مخلقة ، عن طريق الإصابة ، المسبقة بالكائنات الممرضة المسببة نكروزز ، مؤدية إلي مقاومة جهازيه فى الاجزاء البعيدة من النبات، هذا الشكل من المقاومة المخلقه ، يشار إليه بشكل عام باسم المقاومة الجهازية المكتسبة (SAR) . تتميز هذه المقاومة بالاتي .

أ – زيادة التجمعات الداخلية لحمض السلسليك .

ب – يكـون دائماً مصاحباً لها تعبيرات لتشفير الجينات الخاصة بالبروتينات المتعلقة بالمرضية.

٢ – النوع الثانى عن المقاومة المتخلقة فى النبات ، تتكشف كإستجابة لاستعمار جذور النبات ببعض سلالات معينة من الرايزوبكتيريا غير الممرضة ، غالباً ما يشار إلى هذا النوع من المقاومة باسم المقاومة الجهازية المستحثة (ISR) .

لقد وجد بان المقاومة الجهازيه المستحثه الناتجه بواسطة الرايزوبكتيريا Rhizobacteria mediated ISR ، تكون فعالة في مجموعة مختلفة من أنواع النباتات ، تحت الظروف التي تبقى فيها الرايزوبكتيريا منفصله مكانياً عن الكائن الممرض الذي تتخلق ضده هذه المقاومة . كذلك وجد أيضاً أن هذه المقاومة ، تزيد الكفاءة الدفاعية فى النبات وتكون فعاله ضد مجال واسع من الكائنات الممرضة النباتية .

أكثر النباتات التي أجري عليها دراسات عديدة ومتنوعة في هذا المجال ، هو نبات الأرابدوبسز *Arabidopsis* وسوف يتكرر هذا الاسم مرات عديدة جداً فى هذا الجزء من الكتاب.

وجد فى نبات الأرابدوبسز أن مستوي المقاومة المستحثة ، يمكن أن يتوسع أكثر ، عندما يحدث تنشيط لكلتا المقاومتين معاً ، هذا يدل على أن SAR و ISR تكون مقاومات تجمعية أو تراكمية وتشكل ميكانزمين مختلفين فى المقاومة المخلقة .

لقد درست المقاومة الجهازية المستحثة ، الناتجة بواسطة الرايزوبكتيريا ، بشكل واسع فى نبات الأرابدوبسز *Arabidopsis* ، باستعمال السلالة غير الممرضة من الرايزوبكتيريا *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC WCS 417r كعامل حاث ، والبكتيريا 3000 (Pst) ، على أساس أنها كائن ممرض يجرى التحصين به (أو كائن ممرض متحدى). في هذه التركيبة فأن المعر الاشارى للمقاومة الجهازية المستحثة، يختلف بشكل واضح عن ذاك الذي ينظم المقاومة الجهازية المكتسبة ، المستحثه من قبل الكائن الممرض . النباتات التي تحمل جين *NahG* ، غير المجمع لحمض السلسليك ، توضح تعبيرات جين Salicylatc hydrixylase gene *NahG* البكتيري ، تفشل فى إحداث تعبيرات المقاومة الجهازية المكتسبة ، ولكنها تظهر مستويات عادية من المقاومة الجهازية المستحثة ، بعد معاملة الجذور بالبكتيريا WCS 417r . هذا يدل على أن حمض السلسليك يكون اشارة Signal ضرورية لاستجابة المقاومة الجهازية المكتسبة ولكنه غير مطلوب للتاشير للمقاومة الجهازية المستحثة .

لقد وجد أن بعض طفرات نبات الأرابدوبسز ، التى ضعفت في إستجابتها إلى الهرمونات النباتيه ، Jasmonat (JA) أو الإثيلين ، تظهر مستويات عادية من المقاومة الجهازية المكتسبة، ولكنها غير قادرة على التعبير عن المقاومة الجهازية المستحثة الناتجه عن توسط WCS 417r . هذا يؤدي إلي القول (أنه علي العكس من SAR) ، فإن ISR تتطلب تأشيراتها ، مكونات الجسمونات واستجابة الاثيلين . بالرغم من هذه الاختلافات ، فإن ممر المقاومة SAR و ISR كلاهما ينظم بواسطة بروتين منظم NPR1/NIM1 ، ولكن إذا نظرنا إلى اتجاه NPR1/NIM1 نجد أن كلا الممرين يتباعد . هـــذا يدل ، علـــي أن هـــذا البروتين المنظم ، ينظم استجابات الدفاع بطرق مختلفة معتمده على الممر الذى يشجع بالاتجاه العكسي.

الرايزوبكتيريا في النبات

تتواجد بكتيريا الرايزوسفير ، باعداد كثيرة على سطوح جذور ، أنواعاً كثيرة من النباتات، حيث أن جذور النبات ، تزودها بالمواد الغذائية عن طريق افرازات الجذور وعن طريق فضلات هذه الجذور . هناك سلالات معينة من البكتيريا تتواجد فى منطقة الرايزوسفير ، تسمي البكتيريا المشجعة لنمو النبات Plant Growth - Promoting Rhizobacteria وتكتب باختصار (PGPR) . عند اضافة هذه البكتيريا إلى جذور النبات ، فإنها تشجع نمو النبات وتحسن مقدرته على تحمل الظروف القاسية. إن زيادة نمو وازدهار النبات ، يؤدي إلى زيادة تكاثر هذه ال PGPR ، وهذه بدورها تقلل من الاضرار الناشئة على النبات من قبل الكائنات الدقيقة الضارة والكائنات الممرضة .

تعتبر البكتيريا الضوئية *Pseudomonas* sp. ، من بين أكثر بكتيريا الرايزوسفير فعالية في خفض الأمراض الكامنة في التربة ، في الأراضي الكابته للأمراض ، حيث يكون حدوث المرض منخفضاً بالرغم من وجود الكائنات الممرضة والظروف البيئية المساعدة لحدوث المرض . هذه البكتيريا يمكن أن تضاد الكائنات الممرضة الكامنة في التربة عن طريق ميكانزمز مختلفة . مثلاً السايدروفورز البكتيري Bacterial Siderophores ، يثبط الكائنات الممرضة النباتيه عن طريق المنافسة علي الحديد ، كذلك فإن المضادات الحيوية يمكن أن توقف المنافسة بين الكائنات الحية الدقيقة نتيجة لتأثيرها على بعض هذه الكائنات ، وعدم تأثيرها

على البعض الأخر ، كذلك أنزيمات ال Chitinases وال Glucanases التي تحلل الخلايا الميكروبية .

أثبتت الدراسات التي أجريت علي تثبيط ذبول الفيوزاريوم في القرنفل والذي يتسبب عن الفطر *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* وذبول الفيوزاريوم في الفجل المتسبب عن الفطر *F. oxysporum* f.sp. *raphani* أن هذا التثبيط مبنياً على التنافس على الحديد كميكانزم لخفض المرض بواسطة السلالة WCS 358 من البكتيريا *Pseudomonas putida* . تفرز السلالة WCS 358 ، تحت الظروف التي تفتقر إلى الحديد في منطقة الرايزوسفير ، أو يكون الحديد متوفراً بكمية قليلة جداً ، سايدروفور نـــــوع Pyoverdin (يسمى Pseudobacin 358) والذي يتمخلب Chelates مع أيونات الحديد الثلاثي ، قليلة التواجد ويكون ما يسمى معقد السايدروفور الحديدي Ferric Siderophore والذي يمكن أن ينتقل بشكل خاص إلى داخل الخلية البكتيرية . السايدروفورز المنطلقة بواسطة فيوزاريوم القرنفل أو الفجل ، تحت هذه الظروف تكون حديد مخلبي أقل كفاءة من Pseudobacin 358 ، وبالتالـــي يصبـــح الحديـــد المتوفر للكائنات الممرضة محدود جداً فـــي وجود السلالة WCS 358 . يسبب نقص الحديد تثبيط إنبات الجرائيم الفطرية ويتوقف نحو الهيفات ، وهذا يقلل فرصة الكائن الممرض في احداث اصابة للنبات ، وبالتالي يخفض نسبة حدوث المرض وشدته . وبالمقابل فإن النبات لا يظهر وكأنه يعاني من نقص الحديد .

الطفرة البكتيرية الناشئة من Tn5 محول الطفرات ، وغير قادرة على إنتاج بـــيدوباسن ٣٥٨ ، والتي تكتب (WCS 358 Sid$^-$) لا تخفض حدوث المرض . هناك سلالة بكتيرية مختلفة هي البكتيريا *Pseudomonas fluorescens WCS 417* لها تأثير يساوي ضعف تأثير السلالة WCS 358 في كبح شدة مرض ذبول الفيوزاريوم في القرنفل . وعلى أية حال وجد في بعض الدراسات أن الطفرة غير القادرة علي إنتاج السايدروفور من هذه السلالة ، كانت فعالة في كبح المرض كما في السلالة الأصلية ذات المقدرة على إنتاج السايدروفور. هذا يدل على أن هناك ميكانزم آخر غير المنافسة على الحديد مسئولاً عن وقاية نباتات القرنفل ضد فيوزاريوم الذبول بواسطة البكتيريا WCS 417 . عندما تضاف هذه البكتيريا إلى جذور نباتات القرنفل ، ثم بعد ذلك بمدة أسبوع يحقن فطر ذبول القرنفل في ساق النبات عن طريق التجريح ، يحدث خفض في شدة مرض الذبول مماثلاً لما يحدث عندما يكون الفطر والبكتيريا موجدين معاً في التربة بالقرب من الجذر . نظراً لتواجد السلالة

البكتيرية والكائن الممرض الفطري منفصلين مكانياً ، هذا يدل عن أن السلالة البكتيرية WCS 417 تقي نبات القرنفل من فطر الذبول عن طريق ميكانزم يتدخل فيه النبات .

لقد وجد أن قتل البكتيريا WCS 417 حرارياً قبل وضعها في التربة ، أنها لا تزال فعاله في كبح المرض ، كما لو أنها كانت لا تزال حية ، هذا يؤكد أن التأثير الواقي للبكتيريا يتداخل معه دور وسيط من قبل النبات ، أو أن النبات يستجيب بطريقة معينة ليقاوم الكائن الممرض تحت تأثير تواجد هذه البكتيريا . لقد تم الحصول على نتائج مشابهة ، عندما عوملت قمم جذور نبات الفجل بالسلالة نفسها أو السلالة WCS 374 ثم حقن بعد ذلك فطر ذبول الفجل في قواعد الجذور .

هذه النتائج والملاحظات وضعت أساساً علمياً ، مفاده ، أن بعض سلالات الرايزوبكتيريا غير الممرضة يمكن أن تكبح شدة المرض عن طريق خلق أو إستحداث مقاومة في النبات ، هذه المقاومة المستحثه ، يشار إليها أو تسمى المقاومة الجهازية المستحثه (ISR) Induced Systemic Resistance .

المقاومة الجهازية المستحثه الناتجة عن رايزوبكتيريا :

اولاً : المقاومة الجهازية المستحثه كميكانزم لكبح المرض :

أ – وقاية المجموع الجذري

لقد سبق أن تكلمنا في الجزء الأول من هذا الكتاب ، عن المقاومة الجهازية المكتسبة، وأنها تستعمل على نطاق واسع فى كثير من أنواع النباتات ، بينما الدراسات التي أجريت على المقاومة الجهازية المستحثه ، لاتزال قليلة ، ولغاية سنه ١٩٩٩ ، لاتزال محدودة في عدد قليل من الأنواع النباتية . والجدير بالذكر أنه لغاية سنة ٢٠٠٠ لم يذكر بأن المقاومة الجهازية المستحثه قد اكتشفت أو استعملت فى نباتات ذات الفلقه الواحدة . المعلومات المتوفره لدينا عن الأنواع النباتية التي تحدث فيها المقاومة الجهازية المستحثه مذكورة في جدول رقم ٤٠ .

الاجراءات العامة التي تتبع في الاختبارات ، للحصول على المقاومة الجهازية المستحثه فى النباتات تكون باحدى الطرق الأتيه :

١ – سكب المعلق البكتيري (المحضر من مزارع البكتيريا) على كمية التراب المراد زراعتها والمعقمه بالاوتوغليف .

٢ – غمر جذور البادرات في المعلق البكتيري أثناء النقل من المشتل إلى الارض الدائمة .

٣ – تغليف البذور بالمعلق البكتيري المحضر علي شكل معجون .

جدول رقم ٤٠ : يبين السلالات البكتيريه التي تحدث المقاومة الجهازية المستحثه وأنواع النباتات التي تحدث فيها

Plant species	Bacterial strain	Challenging pathogen	Disease symptoms
Arabidopsis	*Pseudomonas fluorescens* WCS417	*Fusarium oxysporum* f. sp. *raphani*	Vascular wilt
		Pseudomonas syringae pv. *tomato*	Bacterial speck
		Peronospora parasitica	Downy mildew
	Pseudomonas putida WCS358	*Fusarium oxysporum* f. sp. *raphani*	Vascular wilt
		Pseudomonas syringae pv. *tomato*	Bacterial speck
Bean	*Pseudomonas aeruginosa* 7NSK2	*Botrytis cinerea*	Gray mold
		Colletotrichum lindemuthianum	Anthracnose
	Pseudomonas fluorescens S97	*Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*	Halo blight
Carnation	*Pseudomonas fluorescens* WCS417	*Fusarium oxysporum* f. sp. *raphani*	Vascular wilt
Cucumber	*Pseudomonas aureofaciens* 25-33	*Colletotrichum orbiculare*	Anthracnose
	Pseudomonas aureofaciens 28-9	*Colletotrichum orbiculare*	Anthracnose
	Pseudomonas aureofaciens 36-5	*Colletotrichum orbiculare*	Anthracnose
	Pseudomonas corrugata 13	*Pythium aphanidermatum*	Crown rot
	Pseudomonas fluorescens C15	*Pythium aphanidermatum*	Crown rot
	Pseudomonas fluorescens G8-4	*Colletotrichum orbiculare*	Anthracnose
	Pseudomonas putida 34-13	*Colletotrichum orbiculare*	Anthracnose
	Pseudomonas putida 89B-27	*Acalymma vittatum*	Herbivory
	Pseudomonas putida 89B-27	*Colletotrichum orbiculare*	Anthracnose
	Pseudomonas putida 89B-27	*Cucumber mosaic virus*	Systemic mosaic
	Pseudomonas putida 89B-27	*Diabrotica undecimpunctata*	Herbivory
	Pseudomonas putida 89B-27	*Erwinia tracheiphila*	Bacterial wilt
	Pseudomonas putida 89B-27	*Fusarium oxysporum* f. sp. *lachrymans*	Angular leaf spot
	Pseudomonas putida 89B-27	*Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*	Vascular wilt
	Serratia marcescens 90-166	*Acalymma vittatum*	Herbivory
	Serratia marcescens 90-166	*Colletotrichum orbiculare*	Anthracnose
	Serratia marcescens 90-166	*Cucumber mosaic virus*	Systemic mosaic
	Serratia marcescens 90-166	*Diabrotica undecimpunctata*	Herbivory
	Serratia marcescens 90-166	*Erwinia tracheiphila*	Bacterial wilt
	Serratia marcescens 90-166	*Fusarium oxysporum* f. sp. *lachrymans*	Angular leaf spot
	Serratia marcescens 90-166	*Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*	Vascular wilt
	Serratia plymuthica 2-97	*Colletotrichum orbiculare*	Anthracnose
Radish	*Pseudomonas fluorescens* WCS374	*Fusarium oxysporum* f. sp. *raphani*	Vascular wilt
	Pseudomonas fluorescens WCS417	*Alternaria brassicicola*	Necrotic lesions
	Pseudomonas fluorescens WCS417	*Fusarium oxysporum*	Necrotic lesions
	Pseudomonas fluorescens WCS417	*Fusarium oxysporum* f. sp. *raphani*	Vascular wilt
	Pseudomonas fluorescens WCS417	*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*	Necrotic lesions
Tobacco	*Pseudomonas aeruginosa* 7NSK2	*Tobacco mosaic virus*	Necrotic lesions
	Pseudomonas fluorescens CHAO	*Thielaviopsis basicola*	Black root rot
	Pseudomonas fluorescens CHAO	*Tobacco necrosis virus*	Necrotic lesions
	Serratia marcescens 90-166	*Pseudomonas syringae* pv. *tabaci*	Wildfire
Tomato	*Pseudomonas fluorescens* WCS417	*Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*	Vascular wilt
	Pseudomonas fluorescens 89B-27	*Cucumber mosaic virus*	Systemic mosaic
	Serratia marcescens 90-166	*Cucumber mosaic virus*	Systemic mosaic

بعد أي من هذه الاجراءات ، تحقن البادرات بالكائن الممرض المراد إختباره . ونظراً لأن الرايزوبكتيريا تتواجد على الجذور ، فإن المقاومة الجهازية ضد الكائنات الممرضة للجذر ، يجب أن تتحقق بوضوح عن طريق اضافة البكتيريا الحاثه على واحد من أجزاء النظام الجذري، ويضاف الفطر الممرض على جزء آخر من الجذر ، مثلاً يمكن إتباع طريقة الجذر المشقوق .

ب : وقاية المجموع الخضري :

الاجراءات التي تتبع للوقاية من الاصابة بالكائنات الممرضة للمجموع الخضري ، هي أسهل من الطرق المذكورة بالنسبة للجهاز الجذري ، لأن كلاً من الرايزوبكتيريا والكائن الممرض يكونان منفصلين بشكل طبيعي . وعلى أية حال ، فإن اضافة الرايزوبكتيريا إلى البذور أو الى التربة حيث تزرع فيها البذور ، أو تنقل إليها البادرات ، فإن هذه الرايزوبكتيريا ، يمكن أن تتحرك وتنتقل داخلياً في نسيج الاجزاء النباتية الهوائية ، وتمكن نفسها ، إلى حد ما ، على السطوح في الاجزاء الهوائية الخارجية .

نظراً لأن كثيراً من الرايزوبكتيريا التي تنبه ال ISR ، يمكن أيضاً أن تثبط نمو الكائن الممرض مباشرة ، فإن كفاءتها على كبح شدة المرض ، يمكن أن يشمل أكثر من ميكانزم. وبالتالي ، لكي نثبت أن المقاومة قد استحثت وأنها فعلاً جهازية ، يجب أن يكون واضحاً أن الرايزوبكتيريا الحاثة تكون غائبة من موقع دخول الكائن الممرض ، وأن ذلك البكتيريا الحاثة والكائن الممرض المحقون ، يبقى كل منهما بعيداً عن الاخر خلال فترة التجربة .

في كثير من الدراسات التي تعتبر فيها المقاومة المستحثه كميكانزم مسئول عن خفض المرض ، لم يكن هناك رفضاً قاطعاً عن احتمالية دخول ميكانزمز أخرى . فمثلاً معاملة بذور الفاصوليا بالبكتيريا *P. fluorescens* S_{97} ، يخفض عدد البقع الناتجه عن اللفحة الهالية إلى ١٧ ٪ من تلك الموجودة في نباتات الكنترول . لقد استبعدت الوقاية عندما عقم المعلق البكتيري في الاوتوغليف . هذا يدل على ضروره استعمال بكتيريا حية للحصول على وقاية. وسواء أكان وقف شدة المرض ناتجاً عن كائن حي دقيق أو من ISR فليس هذا واضحاً ، بسبب غياب البكتيريا المضادة من الاجزاء الهوائية في النباتات التي لم تجرى عليها الدراسة . علاوة على ذلك ، فإنه حتى عند غياب دليل مقنع ، يمكن أن تكون المقاومة المستحثه نتيجة مهمة لاستعمار النسيج النباتي ببكتيريا أو فطر متخصصين وغير ممرضين .

فـــي دارســـة مختصـــرة على المقاومة المستحثه بواسطة *P. aeruginosa* 7NSK$_2$ فى الفاصوليا ضد مرض العفن الرمادي ، والوقاية الناتجة من توسط *P. fluorescens* WCS 417 في القرنفل ضد مرض ذبول الفيوزاريوم ، والمقاومة في الخيار ضد مرض الانثراكنوز المستحثه بواسطة اي من السته PGPR فإن كلاً من السيقان ، حوامل الأوراق، الفلقات و/أو مستخلص الورقة ، كلها تكون خالية من أو ملوثه علي الاكثر ، بكمية لا قيمة لها من البكتيريا الحائه ، دالاً على دخول ال ISR في المقاومة .

عند استعمال الطفرات الذاتية المقاومة لمادة Rifampicin المستعملة لمعاملة البذور ، اكتشفت بعض السلالات من داخل جذور غير ملوثة السطح . وعلى أية حال ، ولا أي من هذه السلالات الحائه قد وجدت في الأوراق المستعملة في الحقن . بعد حقن فلقات الخيار بالبكتيريا *P. putida* 898-27 و *Serratia marcescens* 90-166 ، تكاثرت فى النسيج ولكن لم تستعاد ثانية من السيقان على بعد ١ أو ٢سم فوق أو تحت الفلقات . وبالتالي ، بينما بعض البكتيريا التي تحث المقاومة الجهازية تستعمر الأنسجة الداخلية ، فانها لا تبدو أنها تثبت نفسها علي الأوراق المحقونة بالكائن الممرض . هذا يؤدى إلى القول بأنه لا المنافسة ولا التضاد Antibiosis يكون داخلاً في كبح شدة المرض .

في الدراسات التي أجريت على وقاية الخيار ضد أمراض متسببة عن الفطريات الكامنة فى التربة ، استعملت إختبارات الجذر المشقوق ، التي فيها تحقن البكتيريا الحائه والكائن الممرض معاً على أنصاف متباعدة من جذر البادرة ، ثم بعد ذلك زرعت البادرة بحيث يكون كل نصف جذر في وعاء منفصل . لقد وصفت المقاومة الجهازية المستحثة بأنها قادرة على تأخير تكشف الاعراض ، خفض شدة المرض ، وخفض حدوث المرض مقارنة مع نباتات الكنترول . لقد درست حركة البكتيريا الحائة بواسطة كاميرات خاصة ، تبين أن البكتيريا ذات حركة محدوده ضمن الأوعية المحقونة فقط ، ولا تنتقل إلى الاوعيه التي فيها تم حقن الكائن الممرض . هذا يدل على أن PGPR والكائن الممرض يبقيان بعيدان مكانياً .

أما المقاومة الجهازية المستحثة في الفجل ، ضد ذبول الفيوزاريوم ، فقط ظهرت بوضوح في التحليل الحيوي الداخل فيه اختبار الصوف الصخري المبلل بمحلول غذائي . عندما وضعت البادرات بشكل أفقي على كؤوس من الصوف الصخري مع وضع الاجزاء البعيدة من الجذور على الكؤوس الموضوعة في اكياس بلاستيكية متقاربة مع كيس آخر به كؤوس تدعم الجزء الأقرب للنظام الجذري . تركت الجذور منبطحة خلال شقوق في

الاكياس . تم بعد ذلك عوملت الاجزاء البعيدة من الجذور بمعلق بكتيري في مستحلب التلك . بعد ٢ – ٣ أيام يحقن الطرف الأقرب من النظام الجذري بالكائن الممرض الفطري. تبقى البكتيريا مستعمرة الجذر محددة في الجزء البعيد من الجذر ولم يمكن استعادة الفطر من هذا الجزء . هذا يدل بوضوح على أن البكتيريا تبقى بعيده مكانياً من الكائن الممرض خلال فترة التجربة .

ثانيا : مقاييس تخليق المقاومة الجهازية المستحثه :

في بعض الدراسات التي أجريت للمقارنة بين المقاومة الجهازية المستحثه بواسطة الرايزوبكيتريا ، والمقاومة الجهازية المكتسبة المستحثه بواسطة الكائن الممرض . (أجريت هذه المقارنة مباشرة حيث يكون مستوي كبح شدة المرض فيهما متشابهاً) . يمكن القول باختصار بأن ISR الناتجه من توسط الرايزوبكتيريا بانها ظاهرة تحدث بشكل عام مشابهة لـــ SAR المستحثه بواسطة الكائن الممرض . مع أن تخليق SAR لا يعتمد على تكشف تفاعل فرط الحساسيه ، إلا أن أعلى تكشف لتأثيرها يكون عندما يسبب الكائن الحاث نكروزز ، وبالمقابل فإن الرايزوبكتيريا الحاثه ، بشكل نموذجي ، لا تسبب أيه اعراض ظاهرة على العائل ، بل بالعكس فانه يحدث زيادة في نمو النبات .

لقد وضع Steiner & Schonbeck سنه ١٩٩٥ معايير وأسس للتحقق من ISR وذلك لتمييز هذه المقاومة عن أي ميكانزمز أخرى ، التي يمكن بها تخفيض شدة المرض او حدوثه. هذه المعايير تكون ذات فائدة فى المقارنة بين صفات كل من ISR و SAR .

١ – غياب التأثيرات السامة للعامل الحاث على الكائن الممرض المقصود :

تستبعد هذه الصفة ، أية تأثيرات مضادة مباشرة ، لنواتج التمثيل الفسيولوجي للكائن الحاث على الكائن الممرض ، وبشكل خاص مع المضادات الحيوية المنتجة بكتيرياً . من الصعب وضع وصف مطلق لـ ISR ، عندما تنتج البكتيريا الحاثه مواد ميتابولزمية تؤدي إلى تثبيط الكائن الممرض . حتى عندما لا يكون الكائن الدقيق الحاث ، موجوداً في المنطقة المحقونة بالكائن الممرض ، فإن الميتابولزم المنتج بواسطة الرايزوبكتيريا يمكن أن ينتقل خلال النبات مثبطاً الكائن الممرض مباشرة . مع أن المقاومة المستحثة ظهرت في تثبيط اللفحة الهالية halo blight على الفاصوليا بواسطة ال *P. fluorescens* S_{97} ، فإن الرايزوبكتيريم يظهر نشاط ال Bacteriostatic ضد الكائن الممرض للفاصوليا .. يمكن أن تنتج البكتيريا

المذكوره سابقاً ، مواد علي سطح البذور المنبته ، والتى يمكن أن تمتص إلى أعلى وتنتقل إلى المجموع الخضرى . يمكن أن تصبح تركيزات هذه المواد المثبطة ، مرتفعة إلى مقدار كافٍ لوقف تكاثر الكائن الممرض ، أو حتى يمكن بنفسها ، أيضاً ، أن تحث القاومة .

بعض المضادات الحيوية المنتجة بواسطة الرايزوبكتيريا مثل 2,4 - diacetyl phlero glucinol (DAP) أو Phenazine-1- Carboxylic acid (PCA) ، تكون سامة للنبات على تركيزات عالية ويمكن أن تحث ISR بنفس الطريقه التي يسبب فيها الكائن الممرض نكروزز موضعي . الرايزوبكتيريا *P. fluorescens* CHAO وهي سلالة من PGPR له ميكانزم متعدد في كبح شدة المرض ويسلك وكأنه endophte وينتج مواد ميتابولزمية عديدة سامة شاملة DAP ، Pyoluteorin وهيدرووجين السيانيد . هذه المضادات الحيوية يمكن أن تؤثر فى نباتات الدخان وأحياناً تؤدي إلي تخليق استجابات دفاعية متعلقة بالظروف الصعبة. هناك مشتق من CHAO والذى ينتج بكميات كبيرة DAP و Pyoluteorin ، يحفظ جذور الدخان أفضل معنوياً مما يفعله النوع الأصلي ضد مرض العفن الأسود المتسبب عن القطر *Thielaviopsis basicola* ولكن فى نفس الوقت تخفض نمو النبات بشدة .

إن CHAO نادراً ما يتواجد متصلاً مع ميسيليوم الفطر *T. basicola* ، وعندما يصبح علي اتصال مباشر مع الكائن الممرض فإن CHAO لا يؤثر على السلامة الفسيولوجية للهيفا الفطرية . مع أن Pyoluteorin و DAP توقف عفن الجذر الأسود عن طريق تثبيط *T. basicola* ، إلا أنه لا يوجد هناك علاقة بين حساسية الكائنات الممرضة المختلفة للمضادات الحيوية ودرجة تثبيط المرض ، التى حصل عليها بواسطة البكتيريا .

لا يؤثر الإنتاج الكبير للمضاد الحيوى على وقاية القمح ضد الفطرين *Pythium ultimum* و *Gaeumannomyces graminis var. tritici* مسبب المرض الماحق فى القمح ، ولا على نمو نباتات القمح ، وبالمقابل فإن الإنتاج الكبير لمشتقات CHAO أظهرت زيادة فى كفاءتها فى وقاية الخيار ضد القطرين *F. oysporum* f.sp. *cucumerinum* و *Phomopsis sclerotioides* ، مقارنة مع سلالة النوع الأصلي . ومن الممكن إفتراضه أن منتجات الميتابولزم الثانوية التى تثبط *T. basicola* مباشرة ، يمكن أيضاً أن تحث مقاومة لجذور الدخان ضد المرض .

لقد حصل على أفضل دليل للمقاومة الجهازية المستحثة الناتجة بواسطة PGPR ،

عندما ثبت بأن الرايزوبكتيريا لا تضاد الكائن الممرض فى البيئة الغذائية . مثلاً من بين ستة سلالات ، وجدت بشكل أولى بأنها قادرة على إحداث مقاومة جهازية مستحثة فى الخيار ضد مرض الانثراكنوز ، فان خمسة منها لا تثبط نمو الكائن الممرض المسبب للمرض ، وهو الفطر *Colletotrichum orbiculare* على ثلاثة بيئات غذائية . حتى عندما لا يلاحظ التثبيط فى المزرعة ، فان التثبيط المباشر للكائن الممرض فى منطقة الرايزوسفير لا يمكن استبعاده ، وذلك لأن الظروف السائدة فى منطقة الرايزوسفير تختلف عن تلك الظروف الصناعية فى البيئة الغذائية وأن أى مضاد حيوى منتج فى هذه الظروف ، يمكن أن لا يكتشف .

بشكل عام فإن جميع الباحثين أقروا أن الرايزوبكتيريا الحاثة على تخليق مقاومة جهازية مستحثة ، لا يكون لها أي تأثير مباشر على الكائن الممرض الذي تستعمل ضده . إختلفت نتائج كثير من الأبحاث فى هذا المجال ولكن التقرير النهائى يثبت ذلك . ولقد ذكر كثير من الباحثين أن من شروط الرايزوبكتيريا الحاثة على المقاومة الجهازية ، أن لا تؤثر مباشرة على الكائن الممرض وإذا حدث تأثير فتصبح هذه البكتيريا داخله فى اعداد الكائنات المستعملة فى المقاومة الحيوية تحت اسم التضاد الحيوي .

٢ – كبح شدة المقاومة المستحثة بالاستعمال المسبق لمثبطات متخصصة تؤثر على جين التعبير فى النبات :

إذا ثبت وأن المقاومة المستحثة يمكن أن تثبط بواسطة مواد متخصصة ، مثل اكتينومايسين D المسمى (AMD) الذي يؤثر على جين التعبير فى النبات ، تكون هذه المقاومة ، هي مقاومة مستحثة بـالرايزوبكتيريا . هذا المعيار من الصعب تطبيقه ، بسبب أن مثبطات مينابولزم النبات ، تؤثر على كثير من العمليات بجانب تنشيط ميكانزم الدفاع . بالنسبة لفطريات ال Eukaryotic سوف يحدث فيها اضطراب بنفس الطريقة كما فى النباتات ، عندما تكون مثبطات بناء البروتين أو ال RNA المعتمد على DNA . إن تثبيط بناء بروتين ال Prokaryotic يؤثر على البكتيريا بالإضافة إلى البلاستيدات والميتوكندريا . يكون هذا المعيار الأكثر فائدة إذا كانت فيروسات ال DNA هي الكائنات الممرضة المقصودة (المتحدى) ، بسبب أن هذه الكائنات الممرضة الفيروسية تكون غير حساسة لـ AMD . وعلى أية حال فإن هناك قليل من الدراسات قد استخدمت الفيروسات ككائنات ممرضة متحداه Challenging لاختبارات المقاومة الجهازية المستحثة بواسطة الرايزوبكتيريا .

٣ – ضرورة وجود فترة زمنية فاصلة بين استعمال العامل الحاث وبداية حصول الوقاية فى النبات :

يحتاج النبات إلى فترة زمنية ليصل إلى الحالة المستحثة ، وذلك لأن التأثير الفوري لاستعمال الحاث على وقاية النبات (لو حدث) من غير المحتمل أن يكون حاصلاً من الزيادة فى كفاءة الرفاع العامة للنبات . أظهرت دراسات عديدة ، أنه بشكل عام ، لكى تزداد الكفاءة الدفاعية فى النبات ، فإن هذا يحتاج من بضعة أيام إلى أسبوع لكي تتكشف كل من SAR أو ISR . فى حالة إثارة ISR الناتجة بوساطة البكتيريا *P.* fluorescens WCS 374 ضد ذبول الفيوزاريوم في الفجل ، فإن هذا يحتاج على الأقل يوماً واحداً بعد استعمال البكتيريا لكي يحصل مقاومة معنوية مستحثة .

هناك نتيجة مغايرة ، قد تم الحصول عليها من استعمال سلالات PGPR مثل *P. corrugata* 13 و *P. fluorescens* C15 والتى تحث المقاومة الجهازية في الخيار ضد مرض عفن التاج المتسبب عن الفطر الممرض *Pythium aphanidermatum* . عندما تستعمل سلالات PGPR وتضاف إلى أحد أنصاف الجذر (فى دراسة الجذر المشقوق) مفصولة مكانياً وزمانياً عن الجذور المحقونة بالكائن الممرض ، فإن حدوث عفن الساق قد تأخر وإنخفض دليل المرض ، ولكن إضافة البكتيريا قبل الحقن بمدة أسبوع واحد لم تخفض المرض إلي نفس الدرجة التى يصل إليها عندما تضاف البكتيريا ويحقن الكائن الممرض معاً فى نفس الوقت . هذه النتيجة غريبة ومدهشة من حيث الوقت النموذجى اللازم لحث ISR واستمراريتها . قدم الباحث تفسيراً لهذه النتيجة ، علي أساس أن الرابزوبكتيريا تنتج مواد مضادة فطرية من التمثيل الغذائى والتى تنتقل إلي نظام الجذر المقابل، ولكن هذا التفسير لا يؤخذ به وذلك لأن هذه العزلة من البكتيرية لا تثبط النمو الميسيلومى للفطر الممرض المذكور فى البيئة الغذائية (المزرعة فى العمل) .

٤ – عدم المقدرة على تحديد الجرعة النموذجية للحصول على استجابة كاملة :

تستحث المقاومة عادة ، عندما تحقن النباتات بجرعة من البكتيريا تتجاوز الحجم المطلوب لاحداث بداية تكوين المستعمرة . لا يوجد أي دليل واضح يثبت أن هناك زيادة تحدث فى المقاومة عندما تزداد كمية الجرعة البكتيرية أكثر من هذا الحجم . إذا ما حصل وتكونت مقاومة جهازية مستحثة ISR ، فإنها غالباً ، ما تستمر طول فترة حياة النبات ومع ذلك فإن مستوى المقاومة يظهر نقصاً فى أثناء نمو النبات. تبقى الأوراق المستحثة مقاومة حتى مراحل متقدمة من الشيخوخة . هذا يدل ضمناً على أن العامل الحاث ليس بالضرورة أن

يبقى موجوداً طول فترة حياة النبات . هناك فترة محددة والتى فيها يصبح حجم التجمع للبكتيريا الحاثة فوق المستوى المطلوب لبداية المقاومة . يكون هذا الحجم كافياً لحث ISR، والتى تبقى نشيطة حتى لو تضاءلت كمية التجمعات عن المستوى التى إبتدأت به . هذا القول يتعارض مع الرأي الذي يقول بأن كبح شدة المرض ، تكون ناتجة عن التأثير المباشر لتثبيط الكائن الممرض ، حيث أن حجم التجمعات للكائن المضاد يجب أن يبقى عالياً طالما أن الكائن الممرض فى وضع يهدد فيه النبات .

عندما تحقن كل من *P. putida* 89B-27 أو *S. marcescens* 90-166 علي بذور الخيار قبل الزراعة ، ثم بعد الإنبات تحقن النباتات بـ *C.* orbiculare 89B-27 ، فإن ذلك يخفض مستوى قطر البقعة المرضية حوالى ٦٠ ٪ ، بينما السلالة 90-166 تكون غالباً أقل معنوية فى فعاليتها . تنخفض تجمعات السلالة (89B-27) بمعدل ثابت مع مرور الزمن ، تنخفض إلي 10^{9} وحدة تكوين مستعمرات/غرام جذور بعد الأسبوع الأول من الزراعة . وتصل 10^{3} بعد ثلاثة أسابيع من الزراعة . تكون ISR واضحة على الطور الورقى الأول ، ثم بعد ذلك تزداد بتقدم الزمن وتستمر لأكثر من خمسة أسابيع بعد الزراعة أو على الأقل إلى الطور الورقى الخامس . تكون ديناميكية تجمعات السلالة 90-166 مشابهة لما هو فى السلالة 89B-27 . تكون المقاومة الجهازية المستحثة أكثر تغيراً ولكنها بشكل عام تلاحظ فى جميع الأطوار الورقية . مع أن كثافة تجمعات السلالتين تنخفض على الجذور ، إلا أن ISR تستمر داعمة بذلك الفكرة التى تقول إذا ما حصل وأن حدثت المقاومة الجهازية فى النبات فإنها تستمر .

يكون مطلوب علي الأقل 10^{6} وحدة تكوين مستعمرات لكل غرام جذور ، من البكتيريا *P. putida* WCS 358 لوقف شدة مرض ذبول الفيوزاريوم على الفجل عن طريق التنافس على الحديد ، المعتمد على السايدروفور ، وأن هذا التجمع يجب أن يستمر لاستمرار كبح المرض . كذلك فإن كلاً من *P. fluorescens* WCS 374 و WCS 417 ، يمكن أيضاً أن توقف شدة مرض ذبول الفيوزاريوم فى الفجل عن طريق حث المقاومة الجهازية . كذلك فإن التركيز المطلوب أن يتوفر من البكتيريا على الجذور لحث المقاومة ISR هو 10^{6} وحدة تكوين مستعمرات / غرام جذور ، لا يلاحظ أى تثبيط لشدة المرض عندما تنخفض تجمعات بكتيريا الرايزوسفير WCS 417 أو WCS 374 على الجذور عن هذا المستوى . وعلى أية حال فإنه لا يوجد أية علاقة ظاهرة بين حدوث المرض فى الأطوار المتأخرة واستمرارية كثافة تجمعات منطقة الرايزوسفير . وبالتالى فإن التنبيه الأولي للنبات ،

يؤدي إلى حالته المستحثة ، وفرضاً لو حدث هذا ، فإن الزيادة فى الوقاية ضد الأمراض تكون مستقلة عن فعل التجمعات الباقية من البكتيريا الحاثة فى منطقة الرايزوسفير ، هذا يعنى أنه إذا انطلقت الشرارة الأولى فى حث النبات علي المقاومة ، فإن الاعداد الأخرى من البكتيريا فى الرايزوسفير ، لا يكون لها بعد ذلك أي دور في زيادة شدة الوقاية .

٥ – عدم تخصص الوقاية :

تكون المقاومة المستحثة بواسطة *P. Fluorescens* WCS 417 فى الفجل ، فعاله ضد ذبول الفيوزاريوم ، وتخفض من تكوين بقع النكروزز المتسببة عن الكائن الممرض البكتيرى غير شديد المرضية *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* والكائن الممرض الفطرى غير شديد المرضية الذي يهاجم الأوراق *Alternaria brassicola* وعزلات مختلفة من *F. oxysporum* . لقد تم الحصول على نفس النتائج عندما استعمل الرايزوبكيتريم الحاث منفصلاً مكانياً وزمانياً على الجذور ، أو على ورقة مفردة تختلف عن الأوراق التى حقنت بالكائن الممرض . كذلك فإن السلالة WCS 417 تحث أيضاً المقاومة ضد عفن الجذر الرايزوكتونى ، ولكن فقط إذا كانت كثافة اللقاح للكائن الممرض المسبب *R.solani* منخفضة نسبياً .

أمراض الخيار المتسببة عن الفطرين ، الفطر الأول الذي يهاجم الجذور *F. ox.* f.sp. *Cucumerinum* والفطر الثاني الذى يهاجم المجموع الخضرى *C. orbiculare* ونوعين من بكتيريا تبقع الأوراق ، النوع الأول *P. syringae* pv. *lachrymans* والنوع الثاني *Erwinia tracheiphila* قد كبحت شدتها بواسطة نفس السلالات من PGPR عن طريق تخليق مقاومة جهازية (جدول رقم ٤٠) . تدل هذه النتائج على أن ISR الناتجة بواسطة الرايزوبكتيريا تشبه المقاومة الجهازية المكتسبة SAR فى فعاليتها ضد الأمراض المتجمعة أو المتضاعفة . زيادة على ذلك كان هناك دراستين حديثتين ذكرتا أن نباتات الخيار النابتة من بذور معاملة بـ PGPR فى الحقل تساعد فى مقاومة أعداد قليلة من خنافس الخيار المبقعة والمخططة ، حيث أن المعاملة بهذه البكتيريا تؤدي إلى زيادة مقاومة الخنافس أكثر من استعمال المبيدات الحشرية اسبوعياً . ولقد وجد أيضاً أن الرايزوبكتيريا تزيد بشكل معنوي نمو وإنتاجية نباتات الخيار . يبدو أن البكتيريا الحاثة تخفض مستوي المركب الثانوي Cucurbitacin فى النباتات والتى تعمل كمنشطات غذائية للخنافس . تعتبر هذه الملاحظة

هامة جداً وذلك لأنها تبين أن تخليق المقاومة الجهازية بواسطة البكتيريا PGPR يكون مترافقاً مع تغيرات واضحة فى ميتابولزم النبات .

٦ – تكون المقاومة جهازية وموضعية :

كما ذكرنا سابقاً ، فإن الوقاية المستحثة ليست بالضرورة أن تكون جهازية ، وعلى أية حال فإنه فى وجود الرايزوبكتيريا الحاثة على المقاومة ، يجعل هذه المقاومة جهازية ومستمرة . يمكن إثبات ذلك باستعمال طفرات الكائن الممرض التي تكون غير حساسة للتضاد . ولقد ثبت أن المقاومة الجهازية المستحثة تنتقل من مكان التخليق إلى كلا الاتجاهين أعلى وأسفل النبات ، وتتولد حالة مستحثة فى الأنسجة البعيدة . كذلك تنبعث إشارة منقولة تحث المقاومة فى كل من الجذور والأغصان .

٧ – الاعتماد على جينوتايب النبات :

تفترض هذه الصفة وجود إختلافات معنوية فى مستوى ونوع المقاومة فى أنواع النباتات المزروعة المختلفة . مع أن المعلومات المتوفرة لدينا قليلة فى هذه الموضوع ، إلا أن الاختلافات المختصة فى الجينوتايب وعلاقتها فى مستوى المقاومة ، يمكن أن يكون متوقعاً إذا كانت المقاومة المستحثة تعطى زيادة فى كفاءة الدفاع الموجودة .

درست الأصناف المزروعة من الخيار والتى يظهر فيها ISR ضد مرض الأنثراكنوز ، درست فى صنف واحد مقاوم وثلاثة أصناف قابلة للإصابة . وجد أن السلالة *P.putida* 89B-27 تسبب حدوث مقاومة جهازية مستحثة فى الثلاثة أصناف المزروعة القابلة للإصابة، بينما السلالة *S.marcescens* 90-166 تسبب أيضاً فى صنفين فقط . فشلت كلتا السلالتين فى زيادة المقاومة فى الصنف المقاوم . لم يتبين أن هناك صنف متخصص يجذب إليه البكتيريا بحيث تستعمر جذوره بطريقة معينة (من السلالتين السابقتين) ، وبالتالى فإن فشل السلالات فى زيادة المقاومة فى الصنف المقاوم ، لا يمكن توضيحها عن طريق الاستعمار الضعيف للجذر . يبدو بوضوح أن المقاومة الموجودة مسبقاً فى الصنف المقاوم وراثياً ، لا يمكن أن تزداد أكثر من ذلك بواسطة PGPR . تدل هذه النائج على أن أصناف النبات المزروعة تختلف فى استجابتها للرايزوبكتيريا .

وجد فى القرنفل أن البكتيريا *P.fluorescens* WCS 417 ، تخفض حدوث ذبول الفيوزاريوم فى صنف القرنفل متوسط المقاومة (Pallas) والصنف الأكثر قابلية للإصابة

(Lena) . هذه النتائج تدعم المقياس الذى يحدد وراثياً الاختلافات فى مستوى ISR الناتجة بواسطة PGPR الحادثة فى أصناف مختلفة وتؤكد وجود كفاءة دفاعية إضافية قد تم الحصول عليها عندما تعبر المقاومة المستحثة عن نفسها . وبالمقابل فإنه لا يوجد اختلافات وراثية فى المقدرة على الحث قد لوحظت فى نبات الفجل .

على المستويات العالية من جرعات الكائن الممرض ، فإن ISR تكون غير كافية لخفض شدة المرض ، وكذلك على المستويات المنخفضة من جرعات الكائن الممرض لا يظهر تأثير ISR بشكل كبير أو معنوى ، هذه النتائج ظهرت فى نبات الفجل فقط ولكنها لم تعمم فى بقية النباتات وإن كان يبدو من الوهلة الأولى أنها منطقية .

ثالثا : المحددات البكتيرية للمقاومة الجهازية المستحثة :

Bacterial Determinants of ISR

يبين جدول رقم (٤١) المحددات البكتيرية وأنواع النبات والسلالات البكتيريا الداخلة فى تخليق المقاومة الجهازية المستحثة .

جدول رقم (٤١) : يبين السلالات البكتيرية وأنواع النبات والمحددات البكتيرية ونوع المقاومة .

Bacterial strain	Plant species : bacterial determinnt	Type
Pseudomonas aeruginos strain 7NSK2	Tobacco : salicylic acid	SAR
	Bean : salicylic acid	SAR
Pseudomonas fluorescens CHAO	Tobacco : siderophore	SAR
WCs374	Radish : lipopolyacchride siderophore	ISR
	iron-regulated factor	
WCS417	Carnation : lipopolysaccharide	ISR
	Radish : lipopolysaccharide iron-regulated factor	ISR
	Arabidopsis : lipopolysaccharide	ISR
Pseudomonas putida WCS358	*Arabidopsis* : lipopolysaccharide siderophore	ISR

هناك عدة عوامل تتدخل فى قدرة الرايزوبكتيريا على تخليق المقاومة الجهازية المستحثة . نتكلم عن هذه العوامل بالتفصيل :

١ – Lipopolysaccharid عديدات التسكر الدهنية (LSP) :

فى نظام وقاية القرنفل ضد مرض ذبول الفيوزاريوم بسلالة البكتيريا *P.fluorescens* WCS 417 وجد أن البكتيريا المقتولة حرارياً ، أو الغشاء الدهنى عديد التسكر البكتيرى الخارجى النقى LPS ، تكون فعالة فى حث المقاومة ، كما لو أن البكتيريا حية . تدل هذه الملاحظة على أن LPS البكتيرى يعمل كمحدد لتخليق المقاومة بواسطة السلالة WCS 417 فى القرنفل .

كذلك وجد فى الفجل أيضاً ، أن الـ LPS هو المنبه المسئول عن تخليق المقاومة . كذلك وجد أيضاً أن مستخلصات جدار الخلية للسلالتين WCS 374 و WCS 417 من نفس البكتيريا أو الـ LPS النقي محتوياً (OA) inner core -o- antigenic side chain ، تكون فعاليتها كفعالية البكتيريا الحية عندما تضاف إلى جذور الفجل . أما الطفرات البكتيرية المفتقدة (OA^-) بالإضافة لمستخلصات جدار الخلية تكون غير فعالة .

تبين هذه النتائج أن أية تأثيرات وقائية ، تكون ناتجة من الميتابولزم البكتيرى ، وتبين أيضاً أن هناك تخصصية ضمن تركيب O - antigenic side chain لعديدات التسكر الدهنية التى تحدد تخليق المقاومة الجهازية بهذه الرايزوبكتيريا . إن السلالاة WCS 374 التى بها OA الحائة للمقاوكمة تكون فعالة ليس فقط على الجذور ولكن أيضاً عندما تضاف على الفلقات . وبالتال فإن النبات يكون قادر على أن يدرك وجود OA ليس فقط على سطح الجذر ولكن على سطح الورقة أيضاً .

كذلك فى الطماطم فإن مستوى المقاومة المستحثة بواسطة السلالة WCS 417 ضد فيوزاريوم الذبول تبدو أيضاً وبطريقة مماثلة أن لها علاقة بوجود OA الخاصة بـ LPS .

تشارك عديدات التسكر الدهنية فى نمو وبقاء البكتيريا فى النبات بواسطة عدة طرق منها :

١ – المساعدة فى الاستيطان وتكوين المستعمرات .

٢ – خلق ظروف بيئية مناسبة micro - environment .

٣ – تعل كحاجز أو عائق ضد المركبات الدفاعية فى النبات .

٤ – لها تأثير على تغيير أو تعديل تفاعلات العائل .

٢ – السايدروفورز Siderophores :

إن الـ O- antigenic side chain لمادة عديدات التسكر الدهنية ، تعتبر أكبر محدد للمقاومة الجهازية المستحثة ، تحت ظروف توفر الحديد بكمية كبيرة ، ولكن تحت ظروف كمية الحديد المحدودة فإن الطفرات التى ينقصها (OA^-) من السلالة WCS 374 و WCS 417 لم تضعف فى مقدرتها فى احداث مقاومة فى الفجل ضد فيوزاريوم الذبول . تدل هذه النتائج على أن هناك عامل محدد أو محددات بكتيرية ، تبدى أثرها فقط تحت ظروف توفر كمية قليلة من الحديد .

نظراً لأن السايدروفورز تنتج بواسطة البكتيريا تحت هذه الظروف ، فإن نوع الـ Pyo-verdin و Pseudopactin المنتجة من السلالات البكتيرية WCS ، قد أجرى عليها تجارب ، حيث عزلت وأضيفت إلى جذور الفجل . وجد أن السايدروفور المنقى من WCS 374 يستحث المقاومة بنفس المستوى الذى يؤديه LPS البكتيرى . فى حين أن السايدروفور المأخوذ من WCS 417 لايحدث ISR . وبالمثل فإن السايدروفور الخاص بالسلالة *P.putida* WCS 358 لا يحدث مقاومة جهازية ، وبالتالى فإن هذه السلالة لا تحث على المقاومة . السايدروفورز نوع بسيدوباكتين المأخوذة من الثلاثة سلالات لها نفس الانجذاب للحديد الثلاثى Ferric . وبالتالى فإن احتمالية أن البسيدوباكتين المنتج بواسطة السلالة WCS 374 ، يعمل بدون تخصص ، عن طريق خلق معاناة للحديد المحدود (كمية قليلة) فى النبات .

الطفرات التى لا تنتج سايدروفور (Sid^-) من السلالتين WCS 417 و WCS 374 ، تخلق مقاومة أقوى ، تحت ظروف نقص الحديد ، منه فى توفر كمية كبيرة من الحديد ، وتصل إلى نفس المستوى الذى قد تم التوصل إليه بعد المعاملة بالبكتيريا النوع الأصلى . يستطيع البسيدوبكتين المنتج من السلالة WCS 374 أن يخلق مقاومة ولكن لا يبدو بأنه مسئولاً عن ISR المتسببة عن WCS 374 تحت ظروف الحديد المنخفض . يبدو بوضوح أن المحددات البكتيرية المختلفة ، يمكن أن تخلق مقاومة فى الفجل ، إلا أن تأثيراتها تكون متكاملة أكثر منها تجمعية وأن التخليق الكامل بواحد من العوامل يخفى أى مشاركة من العوامل الأخرى .

٣ - حمض السلسليك Salicylic Acid :

لقد تكلمنا عن حمض السلسليك بتوسع كبير فى الجزء الأول من هذا الكتاب . إن لحمض السلسليك دور كبير فى المقاومة الجهازية المكتسبة ، أما دوره هنا فى المقاومة الجهازية المستحثة يختلف عن ذلك ، حيث أنه فى المقاومة الجهازية المستحثة ينظر إليه على أنه سايدروفور . لقد ذكر هذا التداخل لحمض السلسليك بين المقاومتين SAR و ISR فى كثير من الأبحاث ، حاولنا فى هذا الكتاب أن نحدد دور حمض السلسليك فى كل قاومة لوحدها حتى يسهل على القارئ فهم الموضوع بسهولة ويسر .

هناك عديداً من الأنواع البكتيرية الحاثة على المقاومة ، يمكن أن تنتج حمض السلسليك على أنه سايدروفور ، تحت ظروف محددة للحديد فى المزرعة . نظراً لأن التنافس الناتج بواسطة السايدروفورز على الحديد ، يحدث فى منطقة الرايزوسفير ، يجب أن يستدل على أن التحديد العام للحديد يحدث حول جذور النبات جاعلاً اياه ملائماً لتلك البكتيريا التى تستطيع انتاج حمض السلسليك على سطح الجذر . إن كلتا السلالتين WCS 374 و WCS 417 تنتج حمض السلسليك بنسبة ٥٠٠ ، ١٠٠ ميكروغرام/مل بالترتيب فى بيئة قياسية من الـ Succinate (SSM) . ينخفض تخليق حمض السلسليك بسرعة مع زيادة تركيز الحديد في بيئة SSM . السلالة WCS 358 لا تستحث المقاومة فى الفجل ضد فيوزاريو الذبول تحت تركيزات منخفضة من الحديد ولا تنتج حمض السلسليك فى المزرعة . يحث حمض السلسليك المقاومة فى الفجل ضد ذبول الفيوزاريوم عندما يضاف على الجذور بتركيزات منخفضة ($100fgg^{-1}$) فى مستحلب التلك . إن كفاءة السلالتين WCS 374 و WCS 417 فى انتاج حمض السلسليك فى المزرعة يكون متناسق مع مقدرتها على تنبيه ISR فى الفجل النامى تحت ظروف منخفضة من توفر الحديد .

السلالة WCS 374 لديها أكبر كفاءة لتنتج حمض السلسليك ، وبالتالى فإن انتاج حمض السلسليك فى هذه السلالة قد درس بتفصيل كبير . نتيجة الدراسات الوراثية الواسعة وتنقية الطفرات أدى ذلك إلى تعريف Cosmid يحتوى 28kb من جينومك DNA من هذه السلالة 5-kb *Eco* R1 أجزاء تحتوى Therein يكون كاف ليمنح انتاج حمض السلسليك فى السلالة التى ينقصها سايدروفور (-WCS 358 sid) . تعاقب جينات الأجزاء فى 5-kb يظهره ليكون جزء من أوبرون منظم الحديد محتوياً اطارات مقروءة مفتوحة متجانسة مع جينات البناء الحيوى لحمض السلسليك فى البكتيريا *P.aeruginosa* بالإضافة إلى جينات

داخلة فى ممر من isochorismate إلى سايدروفور واحد أو أكثر من نوع الإنتيروبكتين . عندما يحتوى الكوزمد جميع 28kb من جينومك DNA ، ينتقل فى السلالة WCS 358 ينقصها مستقبل (-Sid) . لقد حصل على سايدروفور جديد مضئ بلون أخضر مزرق تحت الإضاءة الفوق بنفسجية ، سمى هذا السايدروفور fluorebacin . إن إفراز كميات كبيرة من حمض السلسليك بواسطة WCS 374 فى SSM ، من المحتمل أن يكون artefact ناتجاً من نقص مادة أو مواد مطلوبة لبناء الـ fluorebacin ، من المحتل أن هذا المركب إذا قورن مع حمض السلسليك ، يمكن أن يكون عاملاً حاثاً للمقاومة . يبدو أن السايدروفورز المختلفة تنبه ISR . لقد وجد حديثاً أن Pseudopacin 358 يمكن أن يعمل كحاث للمقاومة الجهازية المستحثة فى نبات الأرابدوبسز .

الدراسات التى أجريت على البكتيريا *P.aeruginosa* 7 NSK2 كعامل حاث للمقاومة من مجموعة الرايزوبكتيرم ، وعلى الفيرس TMV كعامل ممرض يصيب الأوراق (متحدى) أدت إلى القول بأن حمض السلسليك المنتج بكتيريا يشارك فى تخليق مقاومة جهازية بواسطة هذه السلالة . عندما استعمل لقاح من هذه البكتيريا كان نامياً على بيئة منخفضة المحتوى من الحديد فى الدراسة على نباتات مختلفة ، فإن ذلك أدى إلى خفض أعداد البقع المنتشرة المتسببة عن الفطر *Botrytis cinerea* على الفاصوليا بحوالى ٥٠ ٪ . أما عندما أخذ لقاح من هذه البكتيريا كان نامياً على بيئة غنية بالحديد فإنه لم يؤدى إلى كبح جماح المرض .

تحت الظروف ذات الحديد المنخفض ، فإن هذه السلالة من البكتيريا تنتج ثلاثة سايدروفورز هى : Pyoverdin ، Pyochelin وحمض السلسليك . إن كلاً من الطفرات التى لا تنتج المركب الأول والطفرات التى ينقصها المركبين الأول والثانى ، تحث المقاومة ضد العفن الرمادى فى الفاصوليا وضد فيرس موزايك الدخان فى الدخان ، بينما تلك السلالات التى لا تستطيع أن تنتج حمض السلسليك لم يكن لها أى تأثير فى هذين المرضين . ونظراً لأن حمض السلسليك يكون بادئ لمركب Pyochelin ، حيث أن لهذا الأخير دوراً فى ISR لا يمكن استبعاده .

لقد وجد أن النشاط الانتقالى لحمض السلسليك وجينات البناء الحيوى لمركب Pyochelin ، قد اكتشفت أثناء تكوين المستعمرات للسلالة NSK_2 7 على جذور الفاصوليا ، هذا يدل على أنه يمكن للحديد أن يصبح محدداً فى منطقة الرايزوسفير . تشرح

هذه النتائج أن تخليق المقاومة الجهازية فى الفاصوليا بواسطة السلالة NSK_2 7 يعتمد على حالة التغذية بالحديد وتدل على أن فعل السايدروفورز المتخصصة ليس فقط على اكتساب الحديد بواسطة البكتيريا ، ولكن أيضاً فى تخليق المقاومة الجهازية فى النبات . نباتات الدخان المحولة وراثياً مع الجين *nahG* لا تستحث بواسطة البكتيريا المذكورة سابقاً ضد فيرس موازيك الدخان . وبالتالى فإن المقاومة المستحثة بواسطة السلالة NSK_2 7 فى الفاصوليا والدخان كلاهما يعتمد على حمض السلسليك المنتج بكتيرياً .

ليس من الواضح فيما إذا كانت الزيادة فى حمض السلسليك فى النباتات المبكترة ، يكون نتيجة التخليق بواسطة البكتيريا التى تبنى حمض السلسليك فى النبات أو فيما إذا كانت النباتات تمتص حمض السلسليك المتكون بكتيريا وتنقله إلى الأوراق . لقد وجد أن إدخال مجموعة الجينات المسئولة عن البناء الحيوى لحمض السلسليك pch DCBA من البكتيريا سلالة *P. aeruginosa* PAO1 تحت مؤثر أساسى فى السلالة CHAO ، لا يعطى زيادة أكثر فى تثبيط فيرس نكروزز الدخان أو العفن الأسود فى جذور الدخان . على أية حال فإن التدخل فى السلالة P_3 غير المنتجة لحمض السلسليك يؤدى إلى انتاج ٠,٨ ميكروغرام حمض سلسليك وأن تركيز $^{١٠}١٠$ وحدة تكوين مستعمرات من هذه السلالة يجعل عامل المقاومة الحيوية الضعيف هذا ، عامل حاث فعال ، مدخلاً بوضوح حمض السلسليك كعامل حاث محدد للمقاومة الجهازية المستحثة ISR فى هذا النظام .

السلالة الرايزوبكتيرية المنتجة حمض السلسليك *S.marcescens* 90-166 تخلق مقاومة لمرض اللفحة النارية فى الدخان المتسبب عن *P. syringae* pv. *tabaci* فى كل من الدخان المحول وراثياً وغير المحول وراثياً من حيث الجين *nahG* . زيادة على ذلك فإن الطفرات ذات *mini-Tns-phoA* والتى لا تنتج كمية يمكن اكتشافها من حمض السلسليك ، تخلق مقاومة إلى نفس المستوى فى كلا النوعين من النبات بالإضافة إلى المقاومة الحيوية المستحثة فى الخيار ضد الأنثراكنوز . وبالتالى فإ حمض السلسليك البكتيرى لا يبدو أنه داخلاً فى مقاومة المرض المتسبب بواسطة هذه السلالة .

تدل النتائج السابقة على تدخل حمض السلسليك المنتج بواسطة السلالة NSK2 7 فى تخليق المقاومة الجهازية فى الفاصوليا والدخان ولكن ليس بواسطة السلالة 166-90 فى تلك المقاومة المتخلقة فى الخيار والدخان . أما فى الفجل ، فإن تخليق المقاومة الجهازية بواسطة السلالتين WCS 417 و WCS 374 يكون واضح الارتباط بكفاءة هذه السلالات فى انتاج

حمض السلسليك ، ولكن تدخل حمض السلسليك فى التخليق يبقى محتاجاً إلى إثبات . الأخير هذا يمكن أن يطبق على المقاومة الجهازية المستحثة فى الدخان بواسطة السلالة CHAO . من الممكن أن يكون ذلك عن طريق استطاعة السلالة الرايزوبكتيرية على تخليق مقاومة بواسطة ميكانزمز مختلفة ، معتمدة على الظروف الموضعية فى الرايزوسفير . مثلاً تستطيع سلالة معينة أن تخلق ISR عن طريق ميكانزم أساسى أثناء إبتداء انتاج حمض السلسليك ، وبالتالى يحدث تنبيه لمقاومة أكثر أثناء انتاج حمض السلسليك عندما تكون الظروف المواجهة له ذات كمية حديد محدودة .

الحالة المستحثة فى النبات

The Induced State In The Plant

١ - المقاومة الجهازية المستحثة وعلاقتها بالبروتينات المتعلقة بالمرضية

إن تخليق المقاومة الجهازية المكتسبة SAR بواسطة حمض السلسليك ، يكون مترافقاً مع تجمع البروتينات المتعلقة بالمرضية (PRs) . هناك على الأقل أحد عشر من هذه البروتينات معروفة تستحث فى الدخان كاستجابة للكائنات الممرضة المسببة نكروزز ناتج عن تفاعل فرط الحساسية ، وجدت فى السائل المغسول من بين الخلايا Intercellular washing fluid (IWF) . وعلى أية حال فإن المقاوة المعتمدة على حمض السلسليك المستحثة بواسطة السلالة *P.aeruginosa* 7 NSK2 كانت واضحة بأنها ليست متعلقة مع التغيرات فى تركيب البروتين فى الأوراق التى حدث فيها وقاية .

إن معاملة أوراق الفجل بسلالة شديدة المرضية ، من الكائن الممرض ، أو باستعمال تركيز مللى مولر من حمض السلسليك ، تستحث المقاومة الجهازية المكتسبة والبروتينات المتعلقة بالمرضية المتجانسة من البروتينات ذات العائلات PR-1 إلى PR-5 . وعلى أية حال فإنه لا معاملة الجذر بتركيزات منخفضة من حمض السلسليك ولا بسلالات الرايزوبكتيريم (منبهة للمقاومة الجهازية المستحثة ISR) تستحث البروتينات المتعلقة بالمرضية سواء تحت تركيزات عالية أو منخفضة من توفر الحديد . بينما المقاومة الجهازية المستحثة يمكن أن تستحث بواسطة طفرات الرايزوبكتيريا (OA^-) تحت ظروف منخفضة الحديد ، وفى هذه الحالة يبدو أن حمض السلسليك لا ينتج بكميات كافية لتخليق PRs .

لقد تبين أن الكائن الممرض *P. syringae* pv. *tabaci* يستحث تخليق مستويات عالية من البروتينات المتعلقة بالمرضية ، فى حين أن الرايزوبكتيريا لا تعمل ذلك حتى عندما تستحث مستويات من الوقاية ضد فيوزاريوم الذبول فى الفجل . من هذا يتبين أن البروتينات المتعلقة بالمرضية لا يبدوا أنها تساهم فى تخليق وقاية فى النبات ناتجة عن المقاومة الجهازية المستحثة .

هذا النقص الواضح فى عدم دخول البروتينات المتعلقة بالمرضية فى المقاومة الجهازية المستحثة يدل على عدم وجود تعبير لجين هذه البروتينات فى نباتات الفجل المعاملة ، هذا يدل على أن ميكانزم المقاومة المخلقة بواسطة السلالة WCS 374 والسلالة WCS 417 يختلف عن المقاومة الجهازية المكتسبة SAR . وبالمقابل فإن ترافق البروتينات المتعلقة بالمرضية مع المقاومة المستحثة بواسطة CHAO فى الدخان ضد فيرس موازيك الدخان يدل على دخولها فى SAR .

٢ – التغيرات في ميتابولزم الفايتو الكسنز أو المثبطات تكون غير منتظمة :

تعتمد الزيادة فى الكفاءة الدفاعية فى النبات ، والتى تظهر على شكل ISR ، على وجود مستويات عالية من المركبات التى تثبط الكائنات الممرضة النباتية مثل الفايتوالكسنز. إن مقاومة القرنفل لمرض ذبول الفيوزاريوم هى من نوع Polygenic وتكون مترافقة مع تجمعات الفايتوالكسنز . لا يلاحظ أى زيادة فى مستويات الفايتوالكسن فى القرنفل بعد الحقن بالسلالة WCS 417 وقبل الحقن بالكائن الممرض . تصبح مستويات الفايتوالكسن بعد الحقن مباشرة بفطر فيوزاريوم الذبول ، أعلى بكثير فى النباتات المحقونة بالسلالة WCS 417 منه فى النباتات غير المبكترة . أما المقاومة البولى جنك فى الفجل لفيوزاريوم الذبول ، فإنها لا تظهر أية ترافق مع الفايتوالكسن . بالرغم من الدراسات العديدة التى أجريت فى هذا المجال ، فإنه لم يكن بالإمكان ربط المقاومة الجهازية المستحثة ISR مع تغيرات فى المركبات المثبطة أو نظام البروتين Electrophoretic أو التنشيط الأنزيمى فى الفجل . بالرغم من ذلك ، فإنه بعد الحقن بالكائن الممرض فإن استجابة المقاومة فى الفجل تسرع وتزيد .

يعمل الـ LPS كعامل محدد قوى فى المقاومة ISR فى الفجل . أما فى الدخان فإن الـ LPS المأخوذ من الكائن الممرض *P.solanacearum* فإنه يحث على بناء عديدات البيتايد الشبيهة بالبروتينات المتعلقة بالمرضية ، أما تحضيرات LPS المأخوذة من البكتيريا

P.syringae pv. *syringae* ، فإنها تعمل بضعف ، مثيرات غير متخصصة للبناء الحيوى للفايتوالكسن فى فلقات فول الصويا . أما الـ LPS المنقى من البكتيريا *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* يخلق كميات كبيرة من β-1,3-glucanase mRNA فى اللفت على تركيزات منخفضة تصل ١٠ ميكروغرام/مل . فى هذه الحالة فإن The lipid A-inner core يكون مطلوباً للتنشيط ، ولكن OA ليس له دور . هذا يتعارض مع تخليق المقاومة بواسطة سلالات WCS والتى تعتمد على OA ولا تكون مترافقة مع تخليق الفايتوالكسنز أو البروتينات المتعلقة بالمرضية قبل الحقن بالكائن الممرض . بالرغم من ذلك فإن LPS ينبه بوضوح الممر الإشارى للمقاومة الجهازية المستحثة المتعلقة بالدفاع . إن دخول المقاومة الجهازية المستحثة فى وقاية الفاصوليا باستعمال *P.fluorescens* S97 يكون مقبول ظاهرياً على أساس تغيرات النبات العائل . المستويات المنخفضة من الكائن الممرض المحقون فى الأوراق التى حصل فيها وقاية ، وفى الـ IWF (المذكور سابقاً) ، من هذه الأوراق يكون متعلقاً مع ارتفاع عام فى محتوى البروتين فى الـ IWF ومترافقاً مع تجمع بعض المركبات الفينولية . إذن فإن التغيرات فى ميتابولزم النبات ، تحدث كنتيجة لبكترة البذرة مسبقاً ، ولكن أى علاقة سببية مع كبح شدة المرض لم تتأكد بعد علمياً .

إن دلائل تخليق استجابات دفاعية فى النبات ، قد أمكن الحصول عليها بعد استعمار الجذر بواسطة البكتيريا الضوئية *Pseudomonas* spp. خاصة *P.aureofaciens* تستحث أعراض لاستجابة تفاعل فرط الحساسية على فلقات الفاصوليا وفى مزارع معلق الفاصوليا ، وتستحث البروتينات الدفاعية مشابهة لاستجابات النبات للكائنات الممرضة الحاثة على تكوين المقاومة الجهازية المكتسبة SAR . العزلات من *P.tolaasii* ومن *P.putida* تستحث فقط بروتينات ذائبة فى أحماض معينة . بعد حقن الفلقات ، يحدث بعض التجمعات من الفايتوالكسنز ، وتكون الفينولات مترافقة مع تفاعل بنى خفيف ، هذا يدل على أن نباتات الفاصوليا تستجيب دفاعياً إلى رش المجموع الخضرى بهذه الأنواع من الرايزوبكتيريا . وعلى أية حال ، فإنه بعد معاملة الجذر ، لا يظهر أية تغيرات تمثيلية ، هذا يؤدى إلى القول بأن الرايزوبكتيريا لها تأثير بسيط جداً ، فقط على ميتابولزم الجذر . هذه الملاحظات تكون مهمه فى إظهار أن بعض الأنواع الرايزوبكتيرية لها نشاط ممرض محدود عندما تضاف على الأوراق، وكذلك فإن تفاعلات الدفاع الأولية لوحظت أيضاً فى الأوراق مظهرة المقاومة الجهازية المكتسبة SAR .

النشاط المثبط لثلاثة أنواع مختلفة من الخليط (خليط مواد عضوية) على عفن الجذر المتسبب عن الفطر *P.ultimum* و *P.aphanidermtum* والأنثراكنوز المتسبب عن *C.orbiculare* ، تكون مترافقة مع زيادة نشاط بيروكسيديز الورقة فى الخيار . تستحث البكتيريا بواسطة المواد الموجودة فى الخليط ، يعتقد بأنها متدخلة فى هذه المقاوة المستحثة ولكن مشاركتها لم تتوضح بعد . إن إجراء الحقن باستعمال الكائن الممرض *C.orbiculare* يزيد بشكل هائل نشاط البيروكسيديز الرئيسى مشابه الأنزيم فى النباتات النامية فى خليط المادة العضوية المساعدة على إحداث المرض ، ولكن هذه الزيادة تكون بشكل كبير حتى فى النباتات النامية فى خليط معدل من المواد العضوية الكابحة .

هناك سلالات من PGPR مثل *P.putida* 89 B-27 و *S.marcescens* 90-166 تحث المقاومة ضد فيرس موازيك الخيار وتظهر وكأنها تخفض عدد النباتات التى تظهر عليها أعراض . لا يتكشف فى النباتات التى حصل فيها مقاومة ، أعراض الموزايك خلال فترة التجربة ، بينما المقاومة الجهازية المكتسبة المستحثة بالكائن المرض ، تكون مظهرة تأثيرها كتأخير فى تكشف الأعراض . لم يمكن اكتشاف أى أنتجين فيروسى بواسطة اختبار الـ ELISH فى أى من النباتات التى لا تظهر أعراض المعاملة بـ PGPR . هذا يدل على أن النباتات المحقونة بالبكتيريا الحاثة أصبحت مقاوة للإصابة الفيروسية . المثيرات قليلات التسكر Oligosaccharide ذات المنشأ الفطرى ، قد ذكرت بأنها تمنع إصابة الدخان بفيرس موزايك الدخان ، من الممكن أن تكون الوقاية التى تظهر فى الخيار المعامل بـ PGPR ضد فيرس موزايك الخيار تكون راجعة إلى قليلات التسكر النصف مشتقة بكتيرياً والتى تعمل مباشرة أو بشكل غير مباشر فى منع دخول الفيرس فى الورقة .

٣ - التغيرات التركيبية :

الدراسات التى أجريت على نبات الفجل ، الذى حدث فيه مقاومة جهازية مستحثة ضد ذبول الفيوزاريوم ، قد عبر عنها بشكل أولى ، على شكل خفض فى النسبة المئوية للنباتات المريضة ، هذا يبدو بوضوح أنه راجعاً من تكرار الفشل الذريع للكائن الممرض المسبب ذبول الفيوزاريوم فى الفجل ، فى أن يصل أو يستعمر النسيج الوعائى . مثل هذه الإعاقة للدخول الفطرى ، يمكن أن تشمل تغيرات خلوية فى خلايا البشرة والقشرة والتى تؤدى إلى تثبيط أكبر فى عملية تكوين المستعمرات .

الدليل على مثل هذه التحورات التركيبية المستحثة بواسطة PGPR ، قد وصفت حديثاً فى نسيج جذر البسلة . جذور البسلة المحقونة مسبقاً بسلالة Endophytic والمستعملة فى المقاومة الحيوية *Bacillus pumilus* SE 34 ، قد حدث فيها وقاية ضد فطر عفن الجذر *F.oxysporum* f. sp. *pisi* ، مع أن الفطر والبكتيريا كانا على اتصال ، حيث تتدخل الهيفات الفطرية مع خلايا البكتيرية على سطح الجذر ، وتبقى فى نمو نشيط وتخترق بشرة الجذر ، وبالتالى فإن ميكانزم الوقاية لا يظهر أنه يعتمد على التضاد المباشر فى الرايزوسفير . أما فى الجذور غير المبكترة ، فإن الكائن الممرض يتكاثر باعداد هائلة خلال مساحة كبيرة من النسيج شاملاً الأنبوب الوعائى . إن بكترة الجذر بنفسه لا تؤدى إلى تغيرات ظاهرية (شكلية) فى نسيج الجذر . بعد الحقن بالكائن الممرض ، فإن نموه يكون محدوداً فى المبشرة والقشرة الخارجية . تكون جدر هذه الخلايا قوية فى المناطق التى يحاول الفطر الدخول منها وذلك عن طريق النمو التراكبى محتوياً كميات كبيرة من السليلوز ومواد فينولية تمنع بشكل فعال الدخول الفطرى . تظهر المواد الفينولية أيضاً فى المسافات بين الخلايا بالإضافة إلى السطح أو داخل الهيفات المخترقة من الكائن الممرض . وبالتالى فإن الوقاية المتحصل عليها بواسطة السلالة SE 34 تشمل تقسية جدار خلية العائل بعد الحقن بالكائن الممرض (فيوزاريوم ذبول البسلة) . ترى تركيبات جدارية وحليمات فى جذور البسلة المعاملة بالرايزوبكتيريم *P. fluorescens* R 63-28 ، بعد الحقن بالكائن الممرض ، إما بفطر ذبول الفيوزاريوم فى البسلة أو الفطر *Pythium ultimum* . هذا يدل على وجود التخليق العام للحواجز الدفاعية الفيزيائية التى تعوق تقدم الكائن الممرض . ذكر أيضاً أن السلالة WCS 417 تحث على تخليق جدر خلوية ذات قشرة سميكة فى جذور الطماطم إذا ما كانت خلايا الأبيديرمال أو الهايبوديرمل قد استعمرت بكثافة بواسطة البكتيريا .