

الفصل الرابع

المقاومة الجهازية المستحثة الناتجة بواسطة الرايزوبكتيريا

أولاً: تنبيه - تأشير - تعبير

Rhizobacteria - mediated Induced

Systemic Resistance

Triggering - Signalling - Expression

مقدمة :

تمتلك النباتات أساليب دفاعية مستحثة مختلفة ، لتقي نفسها ضد مهاجمة الكائنات المرضية المثال الكلاسيكى الذى درس جيداً ، هو المقاومة المستحثة للمرض حيويًا Biologically-induced disease Resistance والتي تتصف بأنها تنشط بعد الإصابة بكائن ممرض ، بسبب نكروزز ، وتقوم بالأداء عن بعد وتحدث مقاومة فى أجزاء النبات غير المصابة ، ضد مجال واسع من الكائنات المرضية النباتية شديدة المرضية . هذا الشكل من مقاومة الأمراض ، غالباً ما يشار إليه باسم المقاومة الجهازية المكتسبة (SAR) Systemic Acquired Resistance . ولقد ذكرت هذه الظاهرة فى مجالات مختلفة من علاقة النبات مع الكائن الممرض .

تتصف المقاومة الجهازية المكتسبة بالصفات الآتية :

- ١ - حدوث زيادة مبكرة فى البناء الداخلى حمض السلسليك .
- ٢ - حدوث تشجيع للجينات المشفرة للبروتينات المتعلقة بالمرضية Pathogenesis related proteins لقد وجد أن النباتات المحولة وراثياً NahG التى توضح جين هيدروكسيليز السلسيلات البكتري nahG والتي لا تستطيع تجميع حمض السلسليك ، تكون غير قادرة على إظهار المقاومة الجهازية المكتسبة ولا تظهر تنشيط لجين PR بعد الإصابة بالكائن الممرض ، هذا يدل على أن حمض السلسليك ضرورياً فى التوسط فى المعمر الاشاري للمقاومة الجهازية المكتسبة .

يتواجد في منطقة الرايزوسفير للنباتات ، اعداداً كبيرة جداً من البكتيريا ، هذه البكتيريا تعيش على سطوح جذور النبات ، حيث افرازات الجذر والـ *Iysates* التي تزودها بالمغذيات . هناك سلالات معينة من بكتيريا الرايزوسفير تشجع نمو النبات وبالتالي تسمى الرايزوبكتيريا المشجعة لنمو النبات *Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR)* . هناك سلالات بكتيرية عزلت من التربة الكابحة للمرض طبيعياً . تسمى البكتيريا الضوئية *Pseudomonas sp.* تشجع نمو النبات عن طريق كبح شدة الكائنات الممرضة الكامنة في التربة ..

يكون نشاط المقاومة الحيوية ، هذا ، فعال تحت ظروف الحفل وفي الصوبات الزجاجية الإنتاجية ، هذه الظاهرة يمكن أن تكون نتيجة التنافس على الغذاء أو المنافسة بواسطة السابيدروفور على الحديد أو التضاد الحيوى . بعض هذه السلالات ذات القدرة على المقاومة الحيوية ، يكون عندها القدرة أيضاً ، على خفض شدة المرض عن طريق ميكائزم يتوسط فيه النبات ، والذي في شكله الظاهري يكون مشابهاً للمقاومة الجهازية المكتسبة المستحثة بواسطة الكائن الممرض . هذا النوع من المقاومة يسمى المقاومة المستحثة ، نظراً لأن المقاومة المستحثة تكون مشجعة جهازياً وتمتد إلى الأجزاء النباتية فوق سطح التربة ، لذا فإنه يطلق عليها اسم المقاومة الجهازية المستحثة بواسطة الرايزوبكتيريا (*ISR - mediated Rhizobacteria - Induced Systemic Resistance*).

لقد ذكرت المقاومة الجهازية المستحثة بواسطة الرايزوبكتيريا في كثير من الأنواع النباتية ، مثل الفاصوليا ، القرنفل ، الخيار ، الفجل ، الدخان ، الطماطم . النبات النموذجي الذي درست عليه هذه المقاومة بتوسع هو نبات الأرابيدوسز *Arabidopsis thaliana* . ولقد ذكر أن هذه المقاومة فعالة ضد مجال واسع من الكائنات الممرضة النباتية فطرية، بكتيرية وفيروسية

المقاومة الجهازية المستحثة فى الأرابيدوسز :

لقد استعمل نبات الأرابيدوسز كنموذج مثالى لدراسة المقاومة الجهازية المستحثة ، وطبقت عليه أبحاث كثيرة جداً فى هذا المجال . لقد استعملت السلالة الرايزوبكتيرية غير الممرضة *P.fluorescens WCS 47r* فى دراسة المقاومة الجهازية المستحثة ، كعامل حاث لهذه المقاومة ، نظراً لأن هذه السلالة أثبتت قدرتها على تنبيه هذه المقاومة فى كثير من

الأنواع النباتية ، مثل القرنفل ، الفجل والطماطم . إن استعمار جذور نبات الأرابيدوسيز بهذه السلالة يقى النباتات ضد أنواع مختلفة من الكائنات المرضية من ضمنها البكتيريا المرضية للأوراق *P.syringae* pv. *tomato* DC 3000 (تكتب باختصار Pst DC 3000) وبكتيريا *Fusarium* ، والفطر المرض لجذور الفجل *Xanthomonas campestris* pv. *amoracia* وكذلك الفطر الذى يصيب الأوراق *Peronospora para-sitica* . تكون المقاومة ضد هذه الكائنات المرضية ظاهرة بشكل نموذجي ، حيث أنها تسبب خفض أعراض المرض وتنشط نمو الكائن المرض . نظراً لأن الرايزوبكتيريا تبقى موضعية على الجذور ، وبالتالي تكون منفصلة مكانياً وزمانياً عن الكائن المرض المتحدى (الذى يحقن للدراسة) ولقد ثبت أن طريقة فعلها فى كبح شدة المرض ، يكون عن طريق تنشيط المقاومة الجهازية المستحثة فى النبات .

I : التنبه Triggering

١ - المشجعات المختلفة للمقاومة الجهازية المستحثة

تعتمد إثارة الـ ISR على اتحادات العائل / الرايزوبكتيريوم . مثال على ذلك السلالة البكتيرية *P.putida* WCS 358r والسلالة *P.fluorescens* WCS 374r ، تسلك سلوكاً مختلفاً على أنواع النباتات المختلفة . فمثلاً نبات الأرابيدوسيز يكون حساس وسريع الاستجابة للسلالة WCS 385r بينما الفجل والقرنفل لا تكون كذلك . وعلى العكس من ذلك ، فإن نبات الفجل يكون حساس وسريع الاستجابة للسلالة WCS 374r ، فى حين أن الأرابيدوسيز لا يكون كذلك .

يحدث أيضاً تخليق مختلف للمقاومة ISR بين الأنواع المختلفة ظاهرياً من الأرابيدوسيز مثل Columbia و Landsberg ، يكون معظم هذه الأنواع حساس للمعاملة بالسلالة WCS 417r ، بينما النوع RLD والنوع Wassilewskija لا تكون كذلك (كما فى جدول ٤٢) . هذا يؤدى إلى القول ، بأن هناك صفات خاصة متميزة ، بين النبات والرايزوبكتيريا الحائثة على المقاومة الجهازية المستحثة ، يجب توافرها (أو هى مطلوبة) لتخليق ISR وأن هذه المقاومة تكون محددة وراثياً .

جدول رقم (٤٢) : يبين استجابة الأنواع المختلفة من الأرابيدوسيز للمقامتين ISR ، SAR .

Genotype	Phenotype	ISR	SAR
Ecotypes			
Columbia	Wild-type	+	+
landsberg <i>erecta</i>	Wild-type	+	+
RLD	Wild-type	-	+
Wassilewskija	Wild-type	-	+
Weiningen	Wild-type	+	+
C24	Wild-type	+	+
Cape Verd. islands	Wild-type	+	+
Shahdara	Wild-type	+	+
Kashmir	Wild-type	+	+
Renkum	Wild-type	+	+
Dijon	Wild-type	+	+
Mutants/transgenics²			
<i>SA related</i>			
<i>NahG</i>	SA deficient	+	-
<i>sid1-1</i>	SA deficient	+	-
<i>sid2-1</i>	SA deficient	+	-
<i>npr1-1</i>	SA deficient;	-	-
	non-expressor of PR genes		
<i>cpr1-1</i>	SA overproducer; constitutive expressor of PR genes	++	+
<i>JA related</i>			
<i>jar1-1</i>	Affected in JA response	-	+
<i>S-12</i>	<i>Lox2</i> co-suppressor; no in- duced JA levels	+	+
<i>Ethylene related</i>			
<i>etr1-1</i>	Ethylene insensitive	-	+
<i>ein2-1</i>	Ethylene insensitive	-	+
<i>ein3-1</i>	Ethylene insensitive	-	+
<i>ein4-1</i>	Ethylene insensitive	-	+
<i>ein5-1</i>	Ethylene insensitive	-	+
<i>ein6-1</i>	Ethylene insensitive	-	+
<i>ein7-1</i>	Ethylene insensitive	-	+
<i>eir1-1</i>	Ethylene insensitive in the roots only	- / +	+

٢ - المحددات البكتيرية الداخلة في إثارة المقاومة الجهازية المستحثة في الأرابدوسز

في الدراسات التي أجريت على الفجل ، تبين أن التحضيرات النقية من الـ Lipopol-ysaccharides ويكتب LPS ، وتحضيرات جدار الخلية ، المحتوى LPS من السلالة WCS 417r ، تكون فعالة في تخليق المقاومة الجهازية المستحثة ، كما في حالة البكتيريا المذكورة عندما تكون حية . إن الطفرة الحاصلة من هذه السلالة والتي تسمى WCS 417r O \bar{A} أو B4 والتي تفتقر إلى O - antigenic side chain of the LPS ، تفقد مقدرتها على الحث على المقاومة الجهازية المستحثة ، هذا يدل على أن LPS للسلالة المذكورة هو محدد رئيسي في تخليق المقاومة الجهازية المستحثة في الفجل ، بطريقة مماثلة في الأرابدوسز ، فإن تحضيرات جدار الخلية المحتوية LPS من السلالة WCS 417r تكون قادرة على حث المقاومة الجهازية المستحثة ، بينما تحضيرات جدار الخلية من LPS الطفرة B4 تكون غير قادرة على إحداث ذلك . وعلى أية حال فإن البكتيريا الحية من الطفرة B4 تستحث مستويات عادية من الوقاية ضد كل من *P. syringae* pv. *tomato* DC 3000 والفطر فيوزاريوم مسبب ذبول الفجل ، يودى إلى القول بأن LPS له دور جزئي فقط في إثارة المقاومة الجهازية المستحثة في الأرابدوسز، وأن المركبات البكتيرية الأخرى تكون داخلة أيضاً. بالنسبة للمقاومة الجهازية المستحثة في الفجل ، والتي تنبه بواسطة السلالة WCS 417r ، فإن المحددات الإضافية قد افترضت بأنها الحديد المنظم ، نظراً لأنه تحت الظروف التي يكون فيها الحديد متوفراً بشكل منخفض، فإن الـ LPS للطفرة يقوم بحث المقاومة الجهازية المستحثة . إما بالنسبة للسلالة WCS 358r *P.putida* المخلقة للمقاومة الجهازية المستحثة ، فإن هذه المحددات البكتيرية لتنظيم الحديد ، افترضت بأنها تكون عبارة عن سايدروفور نوع بسيدوبكتين Pseudopactin لهذه السلالة . إن استعمال هذا السايدروفور النقي أو معقد هذا السايدروفور مع الحديد الثلاثي ، لا يخلق مقاومة جهازية ضد بكتيريا *P.syringae* pv. *tomato* DC 3000 . وعلى أية حال فإن الطفرة التي ينقصها البناء الحيوي لهذا السايدروفور، تكون غير فعالة في تخليق مقاومة كما في سلالة النوع الأصلي .

بالإضافة لذلك فإن هناك طفرتين من السلالة WCS 358r كلاهما يفتقر إلى O - antigenic side chain of the LPS ، وتفتقر أيضاً إلى البناء الحيوي للسايدروفور المذكور سابقاً ، تكون في فعاليتها مشابهة للسلالة الأبوية في تخليق المقاومة . لقد درس تأثير الأسواط (الأهداب) ومدى دخولها في المقاومة المستحثة . لقد ثبت بأن الأسواط تنبه

المقاومة الجهازية المستحثة ، ولكن الطفرات التى ينقصها أسواط لا تكون متساوية التأثير إلى حد ما . هذا يدل على أن المقاومة الجهازية المستحثة الناتجة بواسطة الرايزوبكتيريا فى الأرابيدوسيز هي طريقة معقدة ، ويمكن أن يدخل فيها عدداً من الصفات البكتيرية .

II : التاشير Signalling

١ - المرالإشارى الجديد الذى ينظم المقاومة الجهازية المستحثة فى الأرابيدوسيز

عند دراسة المقاومة الجهازية المكتسبة SAR تبين أنها تعتمد على ممر حمض السلسليك وأن هذا الحمض مطلوب لتخليق هذه المقاومة ، أما بالنسبة للمقاومة الجهازية المستحثة ISR ، فإنها تكون مستقلة عن حمض السلسليك وتعتمد على حمض الجسمنك أو الإيثلين .

عند مقارنة المقاومة الجهازية المكتسبة (SAR) المستحثة بواسطة الكائن الممرض ، مع المقاومة الجهازية المستحثة (ISR) الناتجة من وساطة السلالة WCS 417r فى الأرابيدوسيز ، تبين أن الأخيرة تكون مستقلة عن تجميع حمض السلسليك أو تنشيط الجين المتعلق بالبروتينات المتعلقة بالمرضية . ونظراً لأن نباتات NahG لا تسبب تجمع حمض السلسليك ، فإنه يتكشف فيها مستويات من المقاومة الجهازية المستحثة ضد Pst DC 3000 بعد استعمار جذورها بالسلالة المذكورة سابقاً . وبالمثل فإن الطفرات التى لا تستطيع تخليق حمض السلسليك مثل *sid1-1* و *sid2-1* ، فإنها لا تظهر المقاومة الجهازية المستحثة الناتجة بواسطة WCS 417r ، هذا يدل ثانية على أن ISR الناتجة بواسطة هذه السلالة تكون مستقلة عن حمض السلسليك .

عند دراسة الطفرة التى تستجيب لحمض الجسمنك *jar1-1* والتى تستجيب للإيثلين *etr1-1* وطفرة تنظيم المقاومة الجهازية المكتسبة *npr1-1* ، تبين أن النقل الإشارى يؤدي إلى الاستنتاج بأن الـ ISR الناتجة من وساطة WCS 417r تتطلب الاستجابة لكل من حمض الجسمنك والإيثلين ، وبالمثل بالنسبة لـ SAR تكون متعمدة على NPR1 (العامل المنظم) . كما فى WCS 417r فإن ميثايل جسمونسات MeJA والإيثلين تكون بادئ لـ I-aminocyclopropane 1-carboxylate (ACC) تكون فعالة فى تخليق مقاومة ضد Pst DC 3000 فى نباتات الطفرة NahG غير المجمعة لحمض السلسليك . زيادة على ذلك فإن المقاومة الجهازية المستحثة بواسطة MeJA تكون مقفلة فى النباتات ذات الطفرات

etr-1 ، *jarl-1* و *npr1-1* ، بينما الوقاية المستحثة بواسطة ACC كانت مؤثرة في نباتات ذات الطفرة *etr-1* و *npr1-1* ولم تؤثر في نباتات الطفرة *jarl-1* . لهذا افترض بأن ISR الناتجة بواسطة WCS 417r تتبع ممر اشارى جديد الذى فيه مكونات من الجسمتك أسد والإيثلين ، تكون داخله فيه على التعاقب ، لتنبه تفاعل دفاعى والذى يشبه SAR ، ويكون منظماً بواسطة NPR1 باتجاه تيار التفاعل لـ NPR1 ، فإن الجينات المتعلقة بالمرضية تنشط فى ممر الـ SAR وليس فى ممر ISR . يبدو بوضوح أن عامل التنظيم NPR1 ينظم بطرق مختلفة تعبير الجين المتعلق بالمقاومة ISR والمقاومة SAR ، معتمداً فى ذلك على الممر الذى ينشط قبل بدء النسخ .

بالإضافة إلى WCS 417r فإن السلالة WCS 358r ، تبين بأنها تحت على تكوين ممر ISR مستقل عن حمض السلسليك فى الأرابدوسز . زيادة على ذلك فإن السلالة المستعملة فى المقاومة الحيوية 90-166 *Serratia marcescens* تكون قادرة على تخليق مقاومة فى كل من نباتات الدخان النوع الأصلى والنوع المحول وراثياً NahG ضد البكتيريا *P. syrin-gae pv. tabaci* دالاً على قدرتها فى تنبيه ممر مستقل عن حمض السلسليك ، ينظم المقاومة الجهازية ، وهو شائع بين الرايزوبكتيريا المخلقة مقاومة جهازية مستحثة ، ولكن ليس كل الرايزوبكتيريا المخلقة مقاومة ، تنبه المقاومة المستقلة عن حمض السلسليك . مثلاً فإن السلالة NSK2 7 التابعة لـ *P. aeruginosa* والمحمسة وراثياً والسلالة المنتجة حمض السلسليك بكمية كبيرة *P. fluorescens* P₃ تبين بأنها قادرة على تنبيه ممر SAR المعتمد على حمض السلسليك عن طريق انتاج حمض السلسليك على سطح الجذر .

٢ - تشرب الأوراق بالرايزوبكتيريا المخلقة ISR تنبه ممر الـ ISR

إن تشرب أوراق النبات بالبكتيريا المخلقة للمقاومة الجهازية المستحثة *P. fluorescens* WCS 417r تستحث مقاومة ضد *P. syringae* pv. *tomato* DC 3000 فى الأوراق غير المشربة . لدراسة فيما إذا كانت الأوراق المشربة بالرايزوبكتيريا المخلقة ISR ، يمكنها أن تنبه نفس الممر الإشارى كما فى حالة معاملة الجذور ، فإن الجينوتايب من الأرابدوسز Co-*lumbia* ، *etr1-1* ، *jarl-1* ، *npr1-1* ، قد اختبرت لمعرفة قدرتها على تعبير ISR ضد المرض المذكور سابقاً ، بعد تشرب الثلاثة أوراق السفلية بالضغط وادخال البكتيريا WCS 417r المخلقة ISR . كانت النتائج ، أن الورقة المشربة ، والجذر المعامل بهذه السلالة البكتيرية ذات تأثير مشابه فى إثارة المقاومة الجهازية المستحثة فى نباتات النوع الأصلى

كولمبيا . أما النباتات نوع NahG غير المجمعة لحمض السلسليك ، أيضاً تظهر مستوى معنوى من المقاومة الجهازية المستحثة بعد حقن الورقة . وبالمقابل فإن الطفرات الأربعة الأخرى المذكورة سابقاً لم تظهر أى تعبير للمقاومة الجهازية المستحثة بعد تشرب الأوراق بالسلالة البكتيرية المذكورة والحائنة على تخليق مقاومة جهازية مستحثة . زيادة على ذلك فإن تشرب الثلاثة أوراق السفلية من كل نبات بنفس السلالة البكتيرية السابقة أو السلالة WCS 358r تؤدي إلى مستوى معنوى من الوقاية ضد الإصابة بالكائن الممرض *P.syringae pv. tomato* DC 3000 فى الأوراق غير المعاملة ، بينما السلالة WCS 374r لا تستحث المقاومة . هذه النتائج متوافقة تماماً مع تلك المتحصل عليها بعد المعاملة بالسلالة البكتيرية WCS 417r ، WCS 358r أو WCS 374r على الجذور وتدل على أن الرايزوبكتيريا المخلفة مقاومة جهازية مستحثة تنبه نفس المرر الإشارى الجهازى عندما تضاف إما إلى الجذور أو إلى الأوراق .

٣ - المقاومة ISR تتطلب تأشيراً معتمداً على الاثيلين فى موقع التخليق

لقد ذكر Rnoester *et al* سنة ١٩٩٩ عند اختياره مجموعة من طفرات الأرابدوسز الموصوفة جيداً والتي تأثرت على مراحل مختلفة فى المرر الإشارى للاثيلين لمعرفة مقدرتها على التعبير عن المقاومة الجهازية المستحثة . وجد أنه ولا أى من الطفرات تكشفت بها مقاومة جهازية مستحثة ضد الفطر Pst DC 3000 بعد معاملة الجذور بالسلالة WCS 417r يبدو بوضوح أن المرر الإشارى للاثيلين ، السليم يكون مطلوباً للتعبير عن المقاومة الجهازية المستحثة . بينت الدراسة المهتمة بالفطرات أن الطفرة *eir1-1* والتي تكون غير حساسة للاثيلين فى الجذور فقط كانت قادرة على أن تحث مقاومة جهازية مستحثة عندما شُرِبَت السلالة WCS 417r فى الأوراق ، ولكن ليس عندما استعملت البكتيريا على الجذور. إذا كان تأشير الاثيلين مطلوب فقط للتعبيرات الجهازية للمقاومة الجهازية المستحثة فى مواقع دخول الكائن (المتحدى) الممرض ، عندئذ فإن نباتات *eir1-1* من المتوقع أن تسبب ظهور مستويات عادية من المقاومة الجهازية المستحثة فى الأوراق بعد استعمال السلالة WCS 417r على الجذور ، وعلى أية حال فليس هذا هو كل الحقيقة الفعلية . وبالتالي لقد افترض بأن تأشير الاثيلين يكون مطلوباً فى مناطق اضافة المادة الحائنة . هذا يؤدي إلى القول بأن الاثيلين يكون داخلاً فى توليد أو نقل اشارة المقاومة الجهازية المستحثة المنقولة . هذا لا يظهر امكانية استجابة مكونات الاثيلين التى يمكن أيضاً أن تكون مطلوبة لتعبيرات المقاومة الجهازية المستحثة فى أنسجة بعيدة عن موقع التخليق .

٤ - المقاومتان المستحثة والمكتسبة تعملان بصورة تجمعية :

تلعب الجزيئات الإشارية ، حمض السلسليك وحمض الجسمنك دوراً مهماً في ممرات مقاومة المرض المستحثة . يمكن أن يعمل حمض الجسمنك والاثيلين بانسجام في تشجيع استجابات الدفاع ، بينما حمض السلسليك يمكن أن يثبط الاستجابات المعتمدة على حمض الجسمنك . جريباً مع حقيقة أن المقاومتين المكتسبة والمستحثة ، تتشارك في العامل المنظم NPR1 . السؤال الذى يطرح نفسه هو إلى أى مدى يتفاعل ممر المقاومة الجهازية المستحثة المعتمدة على حمض الجسمنك وممر المقاومة الجهازية المكتسبة المعتمدة على حمض السلسليك ؟؟ أجاب على هذا السؤال حديثاً Van Wees *et al* سنة ٢٠٠٠ ، بعد أن درس تفاعلات ممكنة بين كلا الممرين . يؤدي التنشيط المتزامن لكلا الممرين إلى تأثير تجمعى على مستويات الوقاية المستحثة ضد الكائن المرض Pst DC 3000 فى الجينوتاييس للأرابيدوسز التى حصل فيها توقف إما فى SAR أو ISR ، فإن هذا التأثير التجمعى لم يكن واضحاً . زيادة على ذلك فإن تعبير الجين المعلم PR-1 للمقاومة الجهازية المكتسبة لم يكن متغيراً فى النباتات المعبرة لكلا المقاومتين ISR و SAR مقارنة مع النباتات المعبرة للمقاومة SAR لوحدها . هذا يدل على أن ممر SAR و ISR تكون متوافقة وبالتالي لا يكون هناك تداخل معنوى بين ممرات هذه التأشيريات . زيادة على ذلك فإن النباتات المعبرة لكلا النوعين من المقاومة المستحثة لا تظهر مستويات مرتفعة من نسخ Npr1 . يبدو بوضوح أن المستوى التأسيسى لـ NPR1 يكون كافياً لتسهيل التعبيرات المتزامنة لكل من SAR و ISR . هذا يؤدي إلى القول بأن زيادة مستويات المقاومة قد تأسست من خلال التنشيط المتوازى المكمل لاستجابات الدفاع المعتمدة على NPR1 .

III : التعبير

١ - البحث عن جينات متعلقة بالمقاومة الجهازية المستحثة

تتصف حالة المقاومة الجهازية المكتسبة ، المستحثة بواسطة الكائن المرض عن طريق التنشيط المصاحب لمجموعة جينات متعلقة بالمرضية . فى النباتات المعبرة للمقاومة الجهازية المكتسبة ، تتجمع منتجات الجين المتعلق بالمرضية جهازياً إلى مستويات من ٠,٣ ٪ إلى ١ ٪ من مجموع mRNA ومحتوى البيروتين . وعلى أية حال ، مع أن بعض البيروتينات المتعلقة بالمرضية تمتلك صفة النشاط ضد الميكروبات ، هذه الصفة جعلت هناك علاقة بين

تجمع البروتينات المتعلقة بالمرضية والمجال الواسع للمقاومة التي تتميز به المقاومة الجهازية المكتسبة إلا أنه لم يكن هناك إثباتاً مقنعاً . من بين الجينات المتعلقة بالدفاع المختبرة في الأرابدوسيز (مثل الجينات المستحثة بحمض السلسليك ، PR-1 - PR-2 و PR-5 والجينات المستحثة بالاثيلين أو حمض الجسمنك *Hel* ، *ChiB* ، *Pdf1.2* ، *Atvsp* ، *Lox1* ، *Lox2* و *pall*) لم يتبين أن أى منها منظم في تعبير النباتات للمقاومة الجهازية المستحثة . زيادة على ذلك ، لا الفصل المميز القياسى لـ cDNA مجموعة WCS 417r الحاتة للنباتات ، ولا طريقة 2D-gel لتحليل البروتينيات من النباتات المستحثة وغير المستحثة أنتجت اختلافات معنوية ، وبالتالي فإنه يعكس ماهو في SAR ، فإن بداية ISR تكون مترافقة مع تغيرات كبيرة في جين التعبير . بالرغم من ذلك ، فإن النباتات المعبرة للمقاومة ISR ، تكون بوضوح أكثر مقاومة لأنواع مختلفة من الكائنات الممرضة . وبالتالي فإنه من المفروض أن تمتلك النباتات حتى الآن منتجات جين متعلق بالدفاع غير مكتشف والتي تشارك في مقاومة مدى واسع من الأمراض .

في دراسات أخرى ، وجد أنه لكي نبحث عن جينات متعلقة بالمقاومة ISR ، فصلت مجموعة كبيرة من خطوط lines نباتات الأرابدوسيز محتوية - trap Ds trans Enhancer - gene reporter (GUS) and B-glucuronidase . احدى هذه الخطوط المسماه enhancer - trap أظهر نشاط موضعى لمادة GUS فى الجذور بعد أن تم استعمارها بواسطة WCS 417r . ولقد تبين بوضوح أن جذور هذا الخط ، أظهرت نظام تعبيرى مماثل بعد معاملة الجذور بمادة 1-aminocyclopropane -1- carboxylate يرمز لها (ACC) بادئ الاثيلين . هذا يدل على أن هذا الخط يحتوى Transposon داخل فى The vicinity الجين المستحث بالاثيلين والذي ينظم فى الجذور بعد استعمارها بواسطة السلالة WCS 417r . هناك عديداً من الجينات مرشحة فى الـ Vicinity لـ -DS trans Enhancer trap Ds trans Enhancer trap . إن الأبحاث الجارية فى تعريف الجين المفترض بأنه متعلق بالمقاومة الجهازية المستحثة والذي يكون مسؤولاً عن تعبير GUS ، فى تقدم ، ويمكن أن تزودنا بتفهم أكثر لميكانيزم الجزئ الداخل فى المقاومة الجهازية المستحثة الناتجة بواسطة الرايزوبكتيريا .

٢ - تحديد موقع جديد (ISR-1) ينظم ISR الناتجة بواسطة الرايزوبكتيريا

فى الدراسات الوراثية لتحديد الجينات المتعلقة بالمقاومة الجهازية المستحثة ، جمع

احدى عشر ايكوتايب من نبات الأرابيدوسز وأجرى عليها فصل لمعرفة كفاءتها فى التعبير عن ISR و SAR ضد Pst DC 3000 (المذكور سابقا) ، جميع الأيكوتايب المختبرة تكشف فيها SAR . وعلى أية حال فإنه من الأحد عشر أيكوتايب المختبرة فإن RLD و WWJ ، هما فقط الذين لم يتكشف فيهما ISR بعد معاملة الجذور بالسلالة WCS 417r وجد أن الجينوتايب غير المستجيب للسلالة البكتيرية المذكورة كان مترافقا معه ، مستوى عال من القابلية للإصابة بالكائن الممرض Pst DC 3000 المذكور سابقاً ، والذي يبدو واضحاً وكأنه يسبب تكاثر كبير للكائن الممرض فى الأوراق وأيضاً أعراض شديدة جداً للمرض . أظهر التحليل الوراثى لأفراد الجيل الأول ، الثانى والثالث للتهجين بين الأيكوتايب (كوليبيا) الحساس والمستجيب للسلالة WCS 417r والأيكوتايب RLD غير المستجيب لنفس السلالة ، أن كلاً من كفاءة تعبير ISR والمستوى العالى نسبياً للمقاومة الأساسية ضد Pst DC 3000 تكون مونوجنك والميزة السائدة تلك تكون مرتبطة وراثياً . المكان المطابق والمسمى ISR-1 قد حدد موضعه فى الخريطة الجينية بين معلمات CAPS B4 (ومعناها Clear amplified polymorphic sequence) و GL1 على الكروموسوم رقم ٣ . تبين أنه لا الاستجابة للسلالة البكتيرية السابقة ولا المستوى العالى نسبياً للمقاومة القاعدية ضد Pst DC 3000 كان مكتملاً فى أفراد الجيل الأول من التهجين بين كل من الأيكوتايب RLD و WWJ هذا يدل على أن كلاً من الأيكوتايب الأول والثانى قد تأثرت فى نفس الموقع .

من الجدير بالذكر أن طفرات jar1-1 و etr1-1 والتي تتأثر فى استجابتها لحمض الجسمنك والايثلن بالترتيب أظهرت الفينوتايب نفسه كما فى الأيكوتايب RLD و WWJ فى ذلك ، كان كلاهما غير قادر لتوضيح المقاومة الجهازية المستحثة الناتجة بواسطة WCS 417r وأظهرت زيادة القابلية للإصابة بالكائن الممرض Pst DC 3000 .

وجد عند تحليل كل من الأيكوتايب RLD و WWJ ذوات الاستجابة للايثلين ، تبين أن كلا النوعين يظهر حساسية منخفضة للايثلين تكون Co-segregated مع الاليلات المتنحية للموضع ISR-1 . وبالتالى اقترح بأن الموقع ISR-1 فى الأرابيدوسز يشفر مكون جديد لممر استجابة الايثلين والذي يلعب دوراً مهماً فى تأشير مقاومة المرض .

٣ - إنتاج الجسمنك أسد والاثيلين أثناء تكوين ISR

إن زيادة الإنتاج من الجسمنك أسد والاثيلين ، هي علاقة مبكرة للدفاع النشط في النباتات المصابة . كلتا الجزئيات المؤشرة تتناسق أو ترتبط مع تنشيط مجموعة كبيرة من استجابات الدفاع ، وعندما تضاف خارجياً تستطيع أن تستحث المقاومة بنفسها . في الأرابيدوسيز فإن كلاً من الجسمنك أسد والاثيلين تنشط مجموعات متخصصة من جينات متعلقة بالدفاع ومقاومة ضد Pst Dc 3000 . لقد راقب Van Wees et al سنة ١٩٩٩ تعبير مجموعة موصوفة جيداً من الجينات مستجيبة للاثيلين وأو الجسمنك أسد (مثل *Pal-1* ، *ChiB* ، *Hel* ، *Pdf1-2* ، *Atvsp* ، *Lox-2* ، *Lox-1*) في نباتات الأرابيدوسيز المعبرة للمقاومة الجهازية المستحثة الناتجة من وساطة WCS 417r ، تبين أنه ولا أى واحد من الجينات المختبرة دخلت في تنظيم المقاومة في النباتات المستحثة ، لا موضعياً في الجذور ولا جهازياً في الأوراق . هذا أدى إلى الاقتراح بأن المقاومة الجهازية المستحثة الناتجة من وساطة WCS 417r في الأرابيدوسيز لم تكن مترافقة مع تغيرات كبيرة في مستويات لا الجسمنك أسد ولا الاثيلين . وجد بتحليل مستويات المقاومة الجهازية والموضعية ، أن الجسمنك أسد والاثيلين ، أظهرت أن المقاومة الجهازية المستحثة بواسطة السلالة WCS 417r لا تكون مترافقة مع تغيرات في إنتاج هذه الجزئيات الاشارية . باستعمال الـ *Lox-2* المشترك في التثبيط للخط المحول وراثياً S-12 ، ولقد تأكد أن الزيادة في إنتاج حمض الجسمنك ، لا يكون مطلوباً في التخليق أو تعبير المقاومة الجهازية المستحثة . النباتات المحولة وراثياً S-12 والتي تأثرت في الإنتاج لحمض الجسمنك كاستجابة للتجريح ، عبرت عن المستويات العادية للمقاومة الجهازية المستحثة ISR ، بصرف النظر عن فيما إذا كانت ISR قد استحثت عن طريق الجذور أو الأوراق . هذه النتائج مع بعضها البعض ، تؤدي إلى القول بأن تبعية الجسمنك أسد والاثيلين للمقاومة الجهازية المستحثة يكون مبنياً على زيادة الحساسية لهذه الهرمونات إذا قورنت مع الزيادة في إنتاجها .

٤ - فعالية الجينات المستجيبة لحمض الجسمنك في النبات هي استجابة لـ ISR

إذا كان اعتماد الجسمنك أسد والاثيلين في المقاومة ISR ، مبنياً على زيادة الحساسية لهذه الجزئيات الاشارية ، فإن النباتات المعبرة عن المقاومة ISR ، من المتوقع أنها تتفاعل بأسرع أو بأكثر قوة مع حمض الجسمنك المستحث بالكائن الممرض أو إنتاج الاثيلين . وبالتالي فإن تعبير الجينات المستجيبة لحمض الجسمنك وهي *Pal-1* ، *Lox-2* ، *pdf1-2*

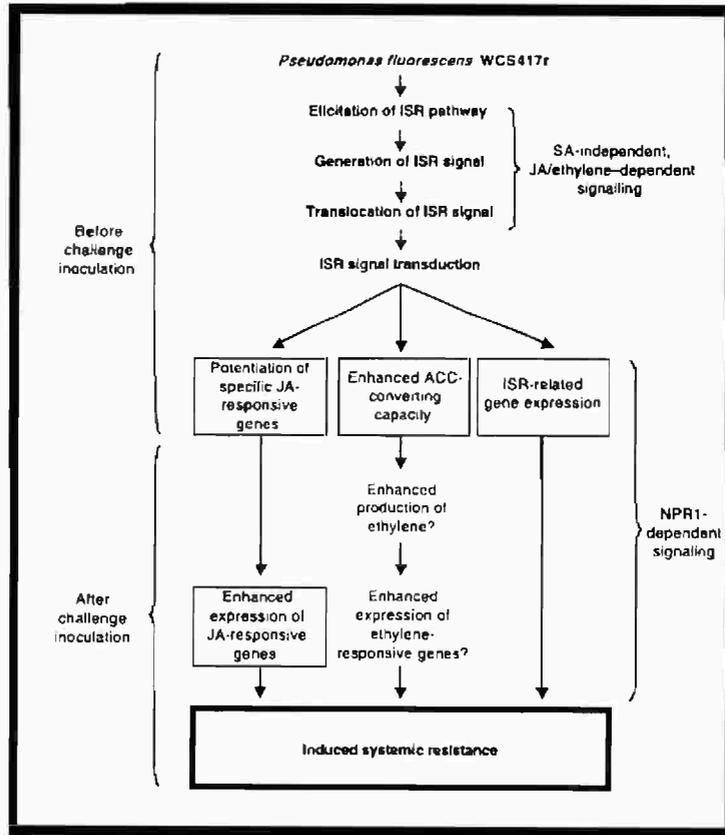
والجينات المستجيبة للايتلين هي *Hel* و *ChiB* والجينات المستحثة بحمض السلسليك PR-2 ، PR-1 و PR-5 ، قد حلت بعد حقن نباتات الكنترول والنباتات المعبرة عن ISR و SAR . تبين أن الإصابة بالكائن المرض Pst DC 3000 (المذكور سابقاً) استحث التعبير في جميع الجينات المختبرة . في النباتات المحقونة بالكائن المرض ، فإن النباتات المعبرة عن SAR والجينات المستحثة بحمض السلسليك المذكورة سابقاً ، أظهرت فعالية تعبير بالمقارنة مع نباتات الكنترول المحقونة بالكائن المرض . في النباتات المحقونة ، النباتات المعبرة عن ISR ، فقط *Atvsp* ، لعبت دوراً في زيادة مستوى التعبير بالمقاومة مع نباتات الكنترول المحقونة . لم تكن تعبيرات الجينات الأخرى المستجيبة لحمض الجسمك ذات فعالية . هذا يؤدي إلى القول بأن ISR تكون مترافقة مع فعالية مجموعة متخصصة من الجينات مستجيبة لحمض الجسمك .

٥ - ISR تكون مترافقة مع زيادة الكفاءة لقلب ACC إلى الايتلين

في النباتات الراقية، ينتج الايتلين من الميثونين عن طريق S-adenosyl-L-methionine (الذى يكتب SAM) وعن طريق 1-aminocyclopropane -1- carboxylic acid ويكتب (ACC) . على هذا الشكل $Methionen - SAM \rightarrow ACC \rightarrow ethylene$. الخطوتين الأخيرتين لهذا البناء الحيوى للممر يدخل فيها أنزيمات مساعدة هي ACC ox- ACC synthase ، بالترتيب . تؤدي إصابة الكائن المرض إلى ظهور أعراض الإصفرار أو التحلل مسببة زيادة في إنتاج الايتلين بأنزيم ACC synthase و ACC oxi- dase ، ويبدو أن نشاط هذين الأنزيمين يزداد تعاقبياً . يكون إنقلاب SAM تحت الظروف الطبيعية إلى ACC هي الخطوة المحددة لهذا المعدل ، وعلى أية حال ، فإنه خلال الإصابة ، فإن تجمعات ACC تكون مؤقتة وعابرة . هذا يدل على أن كفاءة ACC oxidase هي المقيدة لإنتاج الايتلين . ذكر في الأبحاث القديمة أن كفاءة إنقلاب ACC إلى الايتلين يزداد بانتظام في نباتات الدخان المعبرة للمقاومة SAR مزوداً كفاءة أكبر لإنتاج الايتلين بعد الحقن بالكائن المرض .

يكون إنتاج الايتلين في نبات الارابيدوسز ، في الأنسجة الجهازية معبراً عن ISR أو SAR ولا يزداد بالمقارنة مع النباتات غير المستحثة . وعلى أية حال ، بعد المعاملة بجرعة مشبعة من ١ مللى مول ACC ، فإن النباتات المعبرة عن ISR تظهر مستوى أعلى (احصائياً) في إنتاج الايتلين من تلك النباتات في الكنترول المعالة بمركب ACC بصرف

النظر عن فيما إذا كانت ISR قد استحثت بواسطة معاملة الجذور بالسلالة WCS 417r أو راسح الورقة . يختلف مقدار الزيادة فى كفاءة إنقلاب ACC من ٢٠ ٪ - ٥٠ ٪ حسب التجارب ، ويكون مشابهاً لذلك المشاهد فى النباتات المعبرة عن SAR . يبدو واضحاً أن الكفاءة فى قلب ACC إلى اثيلين يزداد فى نباتات الأرابيدوسز المعبرة أما عن ISR أو SAR مزودهما بكفاءة أكبر لانتاج الاثيلين بعد المهاجمة بالكائن الممرض . نظراً لأن اضافة ACC قد أظهرت بأنها تستحث المقاومة ضد الكائن الممرض Pst DC 3000 فى نبات الارابيدوسز ، يكون هناك انتاج أسرع أو أكبر للاثيلين فى الطور الأولى من الاصابة ، وهذا يمكن أن يشارك فى زيادة المقاومة ضد هذا الكائن الممرض (شكل رقم ٤) .



شكل رقم (٤) : خطوات تكوين المقاومة الجهازية المستحثة ISR ابتداءً من السلالة WCS 417r .

يعتبر الاثيلين مركب اشارى هام فى استجابات دفاع النبات ، مع أنه ليس مطلوباً لتكشف SAR ، إلا أنه يزيد الحساسية فى الارابيدوسز لحمض السلسليك . زيادة على ذلك فإن استعمال طفرة نبات الدخان بالجين *etr1* المأخوذ من الأرابيدوسز والذي يعطى عدم الحساسية السائدة للاثيلين . ولقد ذكر حديثاً أن وجود الاثيلين يكون مطلوباً لمستوى عال من SAR فى الدخان ضد فيروس موزايك الدخان .

للبحث فى دور الاثيلين فى تعبير المقاومة ISR ، فإن الطفرة ذات الجين *etr-1* من نبات الارابيدوسز غير الحساسة للاثيلين قد أجري عليها الاختبارات . السلالة البكتيرية WCS 417 لم تكن قادرة على تخليق مقاومة ضد التبقع البكتيرى فى هذه الطفرة . بينما SAR المستحثة بالكائن الممرض تتكشف فى الطفرة . نظراً لأن WCS 417 قد استعمرت جذور الطفرة ذات الجين *etr1* والنوع الأصلي إلى نفس المدى ، هذه المعلومات تجعل وجود الاثيلين كخطوة متخصصة وأساسية فى ممر النقل الاشارى مؤدياً إلى ISR .

وجد فعلاً إن إضافة بادئ الاثيلين ACC إلى نباتات النوع الأصلي من الأرابيدوسز يستحث مقاومة ضد الكائن الممرض البكتيرى *P.syringae* pv. *tomato* إلى نفس المستوى كما فى السلالات الرايزوبكتيرية ، ليس فى النوع الأصلي فقط ، ولكن أيضاً فى سلالات الارابيدوسز الحاملة جين *nahG* . هذه الملاحظات أدت إلى القول بأن البكتيريا المستحثة تنبه انتاج الاثيلين أو احداث تحورات للاثيلين بواسطة النبات .

لقد ثبت بأن الجسمنك أسد ، يتدخل كإشارة فى عديد من استجابات الدفاع النباتية . إن طفرة نبات الارابيدوسز ذات الجين *jar1* التى تستجيب لحمض الجسمنك ، تظهر مستويات النوع الأصلي من المقاومة الجهازية المكتسبة SAR المستحثة بواسطة الكائن الممرض ، ولكنها تفشل فى التعبير عن المقاومة الجهازية المستحثة ISR الناتجة من وساطة الرايزوبكتيريا . فى الدراسة التى طبقت على النوع الاصلى (البرى) وجد أن اضافة MeJA يستحث المقاومة كما يفعل ACC . وعلى أية حال فإن MeJA لا تستحث مقاومة فى الطفرة ذات الجين *etr1* ، بينما ACC يقوم بحث مقاومة فى الطفرة ذات الجين *jar1* ، دالاً على أن وجود حمض الجسمنك يكون مطلوباً قبل التأشير الاثيلينى . وجد أنه لا الـ MeJA ولا ACC تستحث المقاومة فى الطفرة ذات الجين *npr1* مؤكداً فعلها قبل NPR1 .

من الممكن أن تكون الهرمونات مطلوبة بدون أى زيادة فى مستوياتها الداخلية ، مثلاً يعمل الاثيلين كمنظم داخلى لشيخوخة الأوراق فى الأرز ، وبالتالي فإن إضافة حمض الجسمنك

يشجع الشيخوخة بعد فصل الأوراق . فى أجزاء ورقة الأرز المعاملة بمركب MeJA فإن انتاج الاثيلين ، أقل منه فى الأوراق المعاملة بالماء . وبالتالي فإن تشجيع الجسمنك أسد للشيخوخة يبدو بأنه راجعاً للزيادة فى الحساسية للاثيلين .

فى الاختبارات التى أجريت على نبات الارابدوسز ، وجد أن معاملة بادرات هذا النبات بالرايزوبكتيريا الحائثة ، قبل الحقن بالكائن الممرض ، بمدة بضعة أيام إلى بضعة أسابيع يؤدى إلى تخليق ISR بالرغم من الفصل المكاني والزمانى بين الرايزوبكتيريا والكائن الممرض المحقون. زيادة على ذلك فإن ISA فى الارابدوسز كانت فعالة ضد كائنات ممرضة مختلفة ، بينما الايكوتايب كولمبيا و Landsberg - erecta كانت مستجيبة للتخليق بواسطة WCS 417 أو WCS 385 ، أما الأيكوتايب RLD لم يكن مستحاً . يمتلك الايكوتايب الأخير مستوى منخفض من المقاومة القاعدية لـ *P. syringae* pv. *tomato* ، يدعم فكرة أن المقاومة المستحثة تمثل زيادة بقاء الكفاءة الدفاعية. إن نقص التعبير للمقاومة ISR فى الأيكوتايب RLD وفى الطفرات ذات الجينات *npr1* ، *etr1* ، *jral* ، تستبعد امكانية أن المضادات الحيوية المنتجة بواسطة الرايزوبكتيريا يمكن أن تكون مسؤولة عن ، أو مشاركة فى ، المقاومة ISR ، وبالتالي فإن ISR فى الأرابدوسز تشابه فى عديد من صفاتها تلك الصفات التى فى SAR .

على فرض أن الجسمنك أسد والاثيلين مواد تأشيرية فى المقاومة ISR ، فإن حمض السلسليك ليس كذلك ، وبالتالي فإن تأثير الممر الذى ينه بواسطة هذه البكتيريا الحائثة على المقاومة فى الأرابدوسز يكون مختلفاً عنه فى SAR كما فى شكل رقم (٤) . للتمييز بين المقاومتين خلال هذين الممرين المختلفين وفى مجال الاستعمال للاصطلاح SAR لوصف المقاومة المستحثة المعتمدة على تأثير حمض السلسليك ومرافقة مع حث الجينات المتعلقة بالمرضية، يبدو أنه من الأفضل استعمال اصطلاح SAR عندما تجتمع هذه الشروط . ولقد اقترح أن يقتصر اصطلاح ISR ليشير إلى المقاومة الجهازية المستحثة بواسطة الرايزوبكتيريا التى لا تعتمد على تأثير حمض السلسليك وغير مترافقة مع تجمع البروتينات المتعلقة بالمرضية فى النبات .

مع أن مستوى المقاومة المتحصل عليها بواسطة SAR و ISR يكون بشكل عام متشابه فى الارابدوسز ، إلا أن ISR ، عادة تمنح مقاومة أقل قليلاً منه فى حالة SAR . تبين النتائج الأولية أن المقاومة المستحثة بواسطة PGPR ، يمكن أن تقوى أكثر عن طريق إضافة حمض السلسليك ، هذا يدل على أن البكتيريا الحائثة لا تنشط نفس المجال من استجابة النبات كما تفعل الكائنات الممرضة .

مما سبق يمكن الاستنتاج بأن اجتماع المقاومتين SAR و ISR يمكن أن يمنح مستوى عالٍ من الوقاية ، يكون أكبر منه في حالة استعمال كل واحدة منهن بمفردها . كما هو معروف فإن SAR تكون مترافقة مع تجمع البروتينات المتعلقة بالمرض ولكن هذه تفتقر إليها ISR ، لهذا فإن ISR يجب أن تكون معتمدة على حالات أخرى مختلفة .

مقدرة ISR على كبح شدة المرض تحت الظروف الحقلية

نظراً لأن PGPR الحائثة على ISR تكون متواجدة طبيعياً في منطقة الرايزوسفير في النبات ، وهي من سكان التربة ، السؤال الذى يطرح نفسه هو ، هل النباتات النامية تحت الظروف الحقلية يمكن أن تستحث طبيعياً ؟؟

لا يوجد دراسات متوسعة تهتم بهذا الموضوع ، إلا أن PGPR تستطيع أن تقى النباتات من المرض تحت ظروف الزراعة الحقلية التجارية ، وفي كثير من الحالات فإن كبح شدة المرض تعزى إلى المقاومة ISR . وجد فى احدى التجارب ، أنه فى أربعة سنوات متتالية ، فإن معاملة البذور بالسلالة البكتيرية الحائثة على المقاومة وهي *P. fluorescens strain WCS 374* ، تخفض مرض ذبول الفيوزاريوم فى الفجل المزروع فى الصوبا الزجاجية الملوثة تربتها طبيعياً بالكائن الممرض بنسبة تصل إلى ٥٠ ٪ . إن استعمال نفس هذه التربة فى الاختبارات الحيوية ، أثبت أن الطفرة التى تفتقر إلى (OA⁻) لا تكبح شدة المرض . ونظراً لأن (OA) فى الـ LPS يستحث المقاومة الجهازية المستحثة ولكنه غير سام للكائن الممرض المسبب ذبول الفجل ، أعطت هذه الملاحظة برهاناً قوياً جداً للتأكيد بأن ISR هى ميكانيزم مسؤل عن كبح جماح المرض .

استعملت أربعة سلالات من PGPR ، بأن أضيفت إلى البذور (معاملة بذور) ثم بعد ذلك غمرت التربة بمعلق من هذه السلالات عند نقل البادرات إليها . أدت هذه المعاملة إلى كبح شدة المرض ، فى كل من مرض تبقع الورقة الزاوى والانشراكنوز فى الخيار ، فى ثلاثة تجارب حقلية لمدة سنتين متتاليتين . فى التجارب الثلاثة الأخرى ، فإن معظم سلالات PGPR شجعت النمو الموسمى للنبات وسببت زيادة فى الانتاج . تحت نفس الظروف فإن مرض الذبول البكتيرى ، الذى يحدث طبيعياً والمتسبب عن *E.tracheiphila* قد حصل له أيضاً خفضاً معنوياً . تدل هذه النتائج على أن المعاملة بالرايزوبكتيريا الحائثة على ISR يمكن أن تقوم بعملين هما تشجيع نمو النبات وخفض شدة حدوث المرض تحت الظروف الحقلية .

يعتمد تخليق المقاومة ، على استعمار النظام الجذري في النبات ، بواسطة الرايزوبكتيريا المخلقة أو الحاتة للمقاومة بأعداد كافية لتنبيه ISR . هذا عادة ما يتم إنجازه عن طريق إضافة المعلقات البكتيرية إلى التربة قبل الزراعة أو أثناء نقل البادرات ، أو عن طريق تغليف البذور بأعداد هائلة من هذه البكتيريا . لقد صممت هذه المعاملات لتعطي بكتيريا PGPR فوائد المنافسة ضد ميكروفلورا التربة الطبيعية ، يجب أن تبقى سلالات PGPR مترافقة مع جذور النبات لكي تبقى حية ولكي تعطي مفعولها . إن أقل تركيز من هذه البكتيريا يجب أن يستعمل للحصول على ISR هو 10^{10} وحدة تكوين مستعمرات/مل . مع أن التجمعات البكتيرية الكلية في منطقة الرايزوسفير يمكن أن يزيد عن هذا المستوى بكثير ، إلا أن النوع البكتيري الهائل والمنافسة الشديدة بين هذه السلالات على سطح الجذر ، يجعل من غير المحتمل أن تكون بداية نشاط هذه الـ PGPR تتجاوز هذه الكمية .

بعض البكتيريا مستعمرة الجذور ، يمكن أن تدخل جذور النبات وتعيش على أنها En-dophytes داخل النبات . يمكن الاعتقاد بأن سلوك هذا النوع من البكتيريا يساعد في تخليق مقاومة ISR ، نظراً لأن كثير من خلايا النبات تبدو وكأنها متصلة مع البكتيريا مستعمرة الجذور أكثر من البكتيريا PGPR المتواجدة في منطقة الرايزوسفير . مع أن السلالة WCS 417 تسلك وكأنها Endophytes في الطماطم ، إلا أن الطفرة التي تتميز (OA) تستعمر أنسجة الجذر الداخلية بصورة أقل كفاءة . وعلى أية حال فإن يعكس المقاومة الحيوية الناتجة عن طريق التضاد البكتيري ، فإن مساندة وتأييد كبح شدة المرض ، يمكن أن يكون فعالاً حتى لو كانت تجمعات البكتيريا تنخفض مع تقدم الزمن . إذا ما حدث وأن تنشط ميكائزيم المقاومة ISR طبيعياً في العائل فإنه يحتفظ به ويؤكد به زيادة كفاءة الدفاع لمدة طويلة ويكون فعال ضد كائنات ممرضة متنوعة . يمكن للمقاومة ISR أن تكون فعالة وتنتقل حتى في الأجيال الناتجة عن مزارع الأنسجة من النباتات المستحثة .

لكي نقلل من الاعتماد على وقاية المحاصيل كيميائياً ، لمقاومة الأمراض ، فإن العوامل الحيوية قد حصلت على اهتمام كبير في هذا المجال . لذلك يمكن القول بأن PGPR قدمت بديلاً جذاباً في تزويد النبات بمقاومة يمكن أن تتصف بأنها طبيعية ، بدون مخاطر ، فعالة ، دائمة ومتينة . وعلى أية حال فإنه يمكن اجراء اتحاد بين طرق المقاومة المختلفة للحصول على أفضل نتيجة في مقاومة المرض .

في النهاية يمكن القول بأن ISA سوف تكون طريقة قيمة وفعالة وصديقة للبيئة عند انتشار استعمالها في مقاومة أمراض النبات على نطاق واسع في المستقبل .

ثانياً: قابلية التوريث في ISR

مقدمة :

عندما يكون هناك منبه ملائم ، بحيث يؤثر على النباتات جهازياً ، ويزيد كفاءة الدفاع فيها ضد مهاجمة الكائنات المرضية ، هذه المقاومة تسمى المقاومة الجهازية المستحثة أو المقاومة الجهازية المكتسبة . المقاومة المستحثة ، تتصف بشكل عام ، بأنها تقيد نمو الكائن المرض وتحدث خفصاً في شدة المرض . إن تكشف المجال الواسع للمقاومة الجهازية المكتسبة SAR ، بعد الاصابة الأولية بالكائن المرض قد درست بتوسع من قبل Ryal et al سنة ١٩٩٦ . وقد كتبنا عنها بالتفصيل في الجزء الأول من الكتاب .

أما بالنسبة للمقاومة الجهازية المستحثة ISR ، فقد عرفت منذ إكتشاف كفاءة الرايزوبكتيريا في خلق مقاومة جهازية في النبات في أوائل التسعينيات . لقد ذكرت هذه المقاومة في أنواع مختلفة من النباتات ، ضد مجال واسع من الكائنات المرضية . إن الميكانيكيات التي بواسطتها تستحث البكتيريا هذه المقاومة ، مختلفة . بعض سلالات الرايزوبكتيريا تنبه ممر المقاومة المعتمد على حمض السلسليك عن طريق انتاج حمض السلسليك على سطح الجذر ، البعض الآخر يشجع ممر مستقل عن حمض السلسليك .

لقد وجد أن نبات الارابيدوسز *Arabidopsis thaliana* هو من أفضل أنواع النباتات لدراسة المقاومتين ISR ، SAR وهو موديل جيد لجذب الأبحاث وشرح ميكانزم الجزئ الأساسى للمقاومة ISR وذلك باستعمال السلالة *Pseudomonas fluorescens* WCS 417r كعامل حاث للمقاومة . لقد ذكر أن ISR يمكن أن تستحث مستقلة عن SAR ودون الاعتماد على تعبير جيناتها . زيادة على ذلك فإن الممر التأشيرى للمقاومة ISR يعمل باستقلالية عن حمض السلسليك ، ولكن يتطلب استجابة كاملة لهرمونات النبات ، الجسمونات *Jasmonte* (JA) والايثيلين .

أظهرت الأبحاث المستفيضة التي أجراها *Pieterse et al* سنة ٢٠٠٠ أن تخليق المقاومة ISR لا يؤدي إلى زيادة انتاج حمض الجسمنك والايثيلين ولا يؤدي إلى زيادة في التعبير للجينات الحساسة أو المستجيبة لحمض الجسمنك أو الايثيلين . هذه الملاحظات أدت إلى القول بأن المقاومة ISR منبهة على حساسية الأنسجة لهذه الهرمونات ، وليس على الزيادة في انتاجها . بالرغم من الاختلافات بين ISR الناتجة من وساطة WCS 417r ، والمقاومة

SAR الناتجة عن الكائن الممرض ، فإن استجابة كلتا المقاومتين ، تتوقف في الطفرة ذات الجين *npr1-1* . هذا يدل على أن كلتا المقاومتين تنظم بواسطة بروتين منظم يسمى NPR-1 . بعد بدء النسخ لهذا البروتين ، فإن كلا الممرين يتشعب دالاً على أن هذا البروتين ينظم بطرق مختلفة لاستجابات الدفاع ، معتمداً على الممر الذي ينشط قبل بدء النسخ له . والجدير بالذكر أن تنشيط كل من ممر ISR المعتمد على الاثيلين أو الجسمنك أسد وممر SAR المعتمد على حمض السلسليك يؤدي إلى زيادة مستوى المقاومة ضد (Pst) (سبق ذكره بالتفصيل) ، هذا ما وجدته Van Wees *et al* سنة ٢٠٠٠ . هذا يدل على أن تأثيرات ISR و SAR تكون تجمعية Additive .

اختلافات قابلية ISR للحث أو التخليق :

وجد أن كفاءة المقدرة على التعبير عن ISR الناتجة بواسطة WCS 417r ، تكون معتمدة على جينوتايب النبات . مثلاً الاكتوتايب Columbia من نبات الأرابيدوسز والذي يكتب (Col) وكذلك Landsberg erecta الذي يكتب (Ler) ، تكون حساسة لتخليق مقاومة ISR بواسطة السلالة المذكورة ، بينما الأكتوتايب RLD لم يكن كذلك . وجد في القرنفل ، أن هناك أيضاً تخصص في الأصناف المزروعة ، بغض النظر عن التعبير للمقاومة ISR الناتجة بواسطة نفس السلالة . إن المقاومة ISR المخلقة بواسطة السلالة WCS 417r ضد ذبول الفيوزاريوم المتسبب عن الفطر *F. ox. f.sp. dianthi* في القرنفل ، كان واضح التعبير في الصنف توسط المقاومة Pallas ، ولكن أقل قوة وثبات في الصنف القابل للاصابة Lena . هذا يؤدي إلى القول بأن مستوى المقاومة الأساسية يستطيع أن يؤثر في المدى الذي تعبر فيه ISR الناتجة بواسطة WCS 417r . مثل هذه الملاحظات تناسب الفرضيات التي تقول بأن المقاومة المستحثة تشارك في زيادة وجود الميكانيكيات الدفاعية . وعلى أية حال هناك مواقع عديدة ذكرت ، والتي فيها علاقة واضحة بين كفاءة تعبير المقاومة ISR الناتجة من وساطة الرايزوبكتيريا ومستوى المقاومة الأساسية ضد الكائن الممرض المتحدى . مثلاً في الخيار ، هناك نوعين قابلين للاصابة وتظهر تعبير ISR بعد المعاملة بـ *Serratia marcescens* 90-166 ، بينما الصنف المقاوم لا يظهر ذلك . زيادة على ذلك فإن كل الأصناف القابلة للاصابة والمقاومة من الفجل كانت قادرة على التعبير عن ISR الناتجة بواسطة WCS 374 ضد فيوزاريوم الذبول إلى نفس المدى .

هناك توضيح أكثر للعلاقة بين المقاومة ISR الناتجة بواسطة WCS 417r والمقاومة الأساسية ضد Pst في الارابيدوسيز . هناك دراسات وراثية اعتمدت على الاختلافات الطبيعية فى قابلية الحث للمقاومة ISR بين الأيكوتاييس كانت نتائجها مقنعة . من بين عشرة ايكوتاييس اختبرت ، وجد أن كل من الصنف RLD و Wassilewskija (Ws) فشلت فى إظهار ISR بعد معاملة الجذور بالبكتيريا WCS 417r بينما كان عندها قدرة كاملة على إظهار SAR بعد الاصابة المسبقة بالسلالة غير شديدة المرضية (avrRpt2) من Pst جدول رقم ٤٣ . هذا الفينوتايب من RLD و Ws غير الحاث للمقاومة ISR ، لا يمكن أن يعزى إلى فقر استعمار الجذر بواسطة البكتيريا WCS 417r الحائثة ISR ، وبسبب أن كلا الأيكوتاييس يسمح بمستويات من استعمار الجذر مساوية لتلك الايكوتاييس الحائثة على ISR . على نحو لافت للنظر فإن الفينوتايب غير القادر على حث ISR من RLD و Ws تكون مرتبطة مع المستوى المنخفض نسبياً من المقاومة الأساسية ضد Pst . بعد الحقن بالكائن الممرض فإن أعراض المرض فى كل من RLD و Ws كانت تتميز بوجود كثير من بقع النكرونك الكبيرة أو البقع المائية ، محاطة بأفراز واضح كثيراً ، بينما الممرض على نباتات Col كانت أكثر حصرأ وتقييدأ وتخفيض شدة المرض معنوياً . زيادة على ذلك فإن كلا من RLD و Ws سمحت بمستوى نمو لـ Pst أعلى ، يقدر على الأقل بخمسة أضعاف مقارنة مع الأيكوتاييس الحائثة للمقاومة ISR (جدول رقم ٤٣) . يبدو بوضوح أن RLD و Ws تفتقر إلى واحد أو أكثر من الميزات الوراثية والتي لا تتدخل فقط فى التعبير الخاص لـ ISR ، ولكن أيضاً تشارك فى المقاومة الأساسية ضد Pst .

جدول رقم (٤٣) : قياسات للمقاومة ISR الناتجة من البكتيريا WCS 417r ، وقياسات للمقاومة SAR المستحثة بالكائن المرضي ، والمقاومة الأساسية ضد Pst في ايكوتايب مختلفة من الارابيدوسيز.

المقاومة الأساسية	% وقاية مستحثة بالمقاومة SAR	% وقاية مستحثة بالمقاومة ISR	الايكوتايب
٢,٣٦	٦١,٨	٤٢,٢	Col
٢,٨٣	٥٧,٨	٤٥,٨	Ler
٣,٠٦	٣٧,٦	١٩,٣	Cvi
٢,٧١	٤٣,١	٣٢,٣	Sha
٢,١٧	٤٥,٢	١٧,٠	Kas
٢,١٢	٣٨,٧	٢٥,٧	C24
٢,٩٦	٣٨,٠	٢٧,٩	Wei
٢,٧٧	٥٤,٩	٤١,٥	Ren
٣,٦١	٦٢,٨	(٤,٩-)	RLD
٣,٧١	٤٢,٨	(٥,٣-)	Ws

ملاحظات على الجدول :

- ١ - المقاومة ISR استحثت عن طريق نقل البادرات ذات عمر أسبوعين إلى تربة محتوية البكتيريا WCS 417r بتركيز ١٠×٥ وحدة تكوين مستعمرات/غرام جذور .
- ٢ - المقاومة SAR استحثت عن طريق التشرب بالضغط بمعلق من الكائن المرضي غير شديد المرضية السلالة avrRpt2 من Pst بتركيز ١٠×١ وحدة تكوين مستعمرات/مل في الورقتين السفليتين ، ويتم الحقن قبل الحقن بالكائن المتحدى بمدة أربعة أيام ، عندما تصبح النباتات بعمر خمسة أسابيع . كانت النباتات تخضع للكائن المتحدى عن طريق غمر الأوراق في معلق بكتيري من Pst بتركيز ٢,٥ $١٠ \times$ وحدة تكوين مستعمرات/مل . بعد ٣-٥ أيام تحسب الأعراض المرضية في النبات .
- ٣ - كانت تحسب الوقاية المستحثة على أساس خفض في النسبة المئوية للموتية للأوراق ذات الأعراض المرضية مقارنة مع نباتات الكنترول .
- ٤ - كانت تحسب قيمة المقاومة الأساسية كمتوسط لوغاريتم تكاثر Pst كل ثلاثة أيام . النباتات ذات عمر خمسة أسابيع كانت تخضع بالتشرب بالضغط بمعلق من السلالة الشديدة المرضية من Pst بتركيز ١٠×٥ وحدة تكوين مستعمرات/مل في الأوراق . كان يحدد عدد البكتيريا Pst لكل غرام من وزن الورقة الطازجة ، فوراً بعد التشرب بالضغط وبعد ثلاثة أيام .

تحديد موقع ISR-1 المتحكم فى المقاومتين

الاساسية و ISR الناتجة بواسطة WCS 417r ضد Pst

لدراسة التغير الحادث طبيعياً فى قابلية ISR لأن تستحث ضد Pst وكذلك المقاومة الأساسية ، أجرى تحليل وراثى بواسطة التهجين بين الأيكوتايب RLD والأيكوتايب Ws غير القابلة لأن تستحث ISR ، مع الأيكوتايب Col و *Ler* القادرة على أن تستحث ISR . كانت أفراد الجيل الأول كلها قادرة على التعبير عن ISR وأظهرت مستويات من النمو مشابهة لما فى Pst فى أوراقها ، متشابهة مع الأباء التى تستحث ISR (جدول رقم ٤٤) . تبين هذه النتائج أن حث ISR والمقاومة الأساسية ضد Pst كلاهما يكون وراثياً ومن الصفات السائدة . لكى نعرف فيما إذا كانت هذه الصفات *mono or multigenic* ، فإن أفراد الجيل الثانى الناتج من تهجين RLD x Col اختبرت لعزل أو فصل صفات حث ISR والمقاومة الأساسية . من بين الثمانية وتسعون نباتاً ، أفراد الجيل الثانى التى اختبرت كان هناك ٢٨ فرداً غير حساساً للمعاملة بالسلالة WCS 417r ، وتظهر مستوى شدة مرض مشابهاً لتلك التى تظهرها نباتات RLD ، بينما كان هناك سبعون نباتاً حساساً للمعاملة بنفس السلالة وأظهرت شدة مرض مشابهة لما تظهره نباتات Col المعبرة عن ISR . هذه النتائج متطابقة مع نسبة العزل الوراثى ٣ : ١ ، هذا يدل على أن كلاً من المقدرة على استحداث المقاومة ISR والمقاومة الأساسية ضد Pst تكون متوارثة على شكل *monogenic* .

للدراية المستفيضة على توريث صفة استحداث المقاومة ISR وعلاقتها مع المقاومة الأساسية ، فإن أفراد الجيل الثانى الناتج من RLD x Col أجري فيها تلقيح ذاتى ، هذا أدى إلى الحصول على ٧٤ مجموعة من الجيل الثالث ، ثم بعد ذلك ١٦ نبات من الجيل الثالث غيرمستحثة من كل مجموعة ، قد حققت بالكائن الممرض Pst ثم بعد ذلك حددت أعراض المرض بعد ٣ ، ٤ ، ٥ أيام . أظهر تقدير الأعراض أن ١٧ مجموعة من الجيل الثالث كانت متشابهة الزيجوت *homozygous* لمتوسط الأعراض المرضية *Col-like* ، ٤٠ مجموعة نباتية من الجيل الثالث كانت مختلفة الزيجوت *Heterozygous* مظهرة كلاً من متوسط وشديد الأعراض المرضية ، ١٧ مجموعة من الجيل الثالث كانت متشابهة الزيجوت لشدة الأعراض المرضية مثل *RLD-like* . هذه الانعزالات بين أفراد الجيل الثالث فى شدة المرض تناسب نظرية مندل التى تذكر الانعزال بنسبة ١ : ٢ : ١ هذا يؤكد أن المقاومة

الأساسية تورث على شكل monogenic ضد المرض Pst . هناك خمسة مجموعات من RLD-like وخمسة مجموعات Col-like قد اختبرت لمعرفة نمو Pst فى الأوراق وحساسيتها لتخليق ISR بواسطة WCS 417r . خمسة مجموعات من أفراد الجيل الثالث تتصف بواسطة أعراض المرض Col-like كانت كاملة المقدرة على التعبير عن ISR الناتجة من مساطة السلالة المذكورة سابقاً وسمحت بمستويات منخفضة نسبياً من نمو Pst . وبالمقابل فإن خمسة مجموعات من أفراد الجيل الثالث تتصف بأنها ذات أعراض مرضية مثل RLD-like لم تستحث ISR بعد معاملتها بنفس السلالة البكتيرية وسمحت بمستويات عالية نسبياً من نمو Pst . هذا يبين الانعزال الجماعى Co-segregation لمقدرة استحداث المقاومة ISR ومقاومة أساسية عالية نسبياً . ومن ناحية أخرى فإن ISR غير القابلة للحث والمقاومة الأساسية المنخفضة نسبياً ، ذكر أن النظامين الدفاعيين لهما يكونان مرتبطين وراثياً وأن الموقع المشابه حدد بأنه الجين ISR-1 ، هذا ما قرره Ton *et al* سنة ١٩٩٩ .

بتطبيق دراسات وراثية معقدة وحسابات تفاضلية طويلة (لا مجال لذكرها هنا) لتحديد مكان هذا الجين ، وجد أنه من بين ٣٢ اختبار عزل ، قد درست وحدد ١٥ كروموزوم ، واحد منها عليه الجين ، وبعد دراسة التباديل والتوافيق عليها ، تبين أن الجين ISR-1 يقع على الكروموسوم الثالث بين العلامتين *Ein3* و *GL1* .

جدول رقم (٤٤) : قياسات للمقاومة ISR الناتجة بواسطة WCS 417r والمقاومة الأساسية ضد Pst فى ايكوتايب مختلفة من أفراد نباتات الجيل الأول لنباتات الارابروبسز .

المقاومة الأساسية	% وقاية مستحثة	الجينوتايب
٢,٣٦	٣٥,٧	Col
٢,٢٤	٤٩,٩	Col x RLD
٢,٣٥	٥٠,٠	Col x Ws
٢,٨٣	٣٦,٠	Ler
٢,٨	٢٩,٠	Ler x Ws
٣,٦١	٣,١	RLD
٣,٧١	٠,٥	Ws
٣,٥١	٠,١	Ws x RLD

ملاحظات على الجدول :

- ١ - كانت ISR تستحث عن طريق نقل بادرات ذات عمر أسبوعين إلى تربة ملوثة بالسلاطة البكتيرية المذكورة في أعلى الجدول بتركيز 5×10^8 وحدة تكوين مستعمرات لكل غرام .
- ٢ - كانت تخمّن النباتات ذات عمر خمسة أسابيع بالكائن الممرض عن طريق غمر الأوراق في معلق بكتيري من Pst بتركيز $2,5 \times 10^8$ وحدة تكوين مستعمرات/مل كانت تحسب أعراض المرض بعد ٣ أيام من الحقن .
- ٣ - الوقاية ISR ، تمثّل كخفض في النسبة المئوية للنباتات ذات الأعراض المرضية مقاسه نسبياً مع نباتات الكنترول المتحدى .
- ٤ - كانت تقدر المقاومة الأساسية عن طريق حساب متوسط لوغاريتمات تكاثر Pst على فترات كل ثلاثة أيام . النباتات ذات عمر خمسة أسابيع كان تخمّن بالضغط المشرب بمستخلص سلالة شديدة المرضية من Pst بتركيز 5×10^6 وحدة تكوين مستعمرات/مل في الأوراق ، مباشرة بعد الحقن التشرّبي وبعد ثلاثة أيام ، عدد البكتيريا من Pst لكل غرام من وزن الورقة الطازج قد حددت .

مدى تأثير كل من الايكوتايب RLD و Ws بالموقع ISR-1

يظهر الايكوتايب Ws نفس سلوك الفينوتايب ، مثل RLD ، وبعد التهجين بـ Col أو *Ler* ، وجد أن الفينوتايب بطريقة مماثلة يكون متنحى ، لاختبار فيما إذا كان RLD و Ws كل منهما متأثر بنفس الصفة ، أجرى تهجين بين الايكوتايبين ، وحللت الذرية لدراسة الصفتين ، استحداث ISR والمقاومة الأساسية ضد الكائن الممرض Pst . من نتائج دراسة أفراد الجيل الأول تبين أنها سلكت مثل أباؤها في عدم استحداثها للمقاومة ISR ، حيث أنها فشلت في تخليق ISR تحت تأثير السلالة WCS 417r وسمحت بمستويات عالية نسبياً من نمو Pst في أوراقها مشابهاً لما يحدث في أبوي كليهما (جدول رقم ٤٤) . وتدل هذه النتائج على أن RLD و Ws تكون غير قادرة على أن تكمل بعضها البعض في المقدرة لتعبير عن ISR والمقاومة الأساسية ضد Pst مؤكداً أن كلا الأيكوتايب متأثراً بموقع ISR-1 .

موقع الـ ISR-1 لا يكون متدخلًا في المقاومة

الأساسية ضد *Peronospora parasitica*

إن تدخل موقع ISR-1 في كلتا الحالتين ، المقاومة الجهازية المستحثة والمقاومة الأساسية ضد Pst ، أدت إلى الاقتراح بأن ISR-1 يشفر إلى مكون عام والذي يتدخل في استجابة المقاومتين . لاختبار فيما إذا كان هذا الموقع ينظم بالتماثل كل من ISR والمقاومة الأساسية ضد كائنات ممرضة مختلفة ، فإن استجابات المقارنة للايكوتايب Col و Ws ضد البياض الزغبى التسبب عن الفطر *P. parasitica* قد درست . في هذا التفاعل بين النبات والكائن الممرض ، فإن المقاومة المستحثة قد عبر عنها كخفض في شدة الأعراض المرضية وخفض في تجزؤ الكائن الممرض في (ISR-1 / ISR-1) Col . معاملة الجذور بالسلالة البكتيرية WCS 417r أدت إلى مقاومة مستحثة حقيقية واقعية ضد الفطيرة *P. parasitica* (جدول رقم ٤٥) . وبالمقابل فإن الايكوتايب (ISR-1/ISR-1) Ws لم تكشف فيه مقاومة ضد هذا الكائن الممرض بعد معاملة الجذور بنفس السلالة البكتيرية . وبالتالي فإن الموقع ISR-1 ، لا يكون فقط متدخلًا في المقاومة المستحثة ضد الكائن الممرض البكتيري Pst ، ولكن أيضاً ضد الفطر *P. parasitica* . وعلى أية حال فإن النباتات غير المستحثة من Ws المصابة بالفطر المذكور ، لا تظهر زيادة في القابلية للإصابة بالمرض مقارنة مع Col جدول ٤٥ . يبدو أيضاً أن موقع الـ ISR-1 لا يشارك في المقارنة الأساسية ضد الفطر *P. parasitica* مع أنه متدخل في تنظيم المقاومة الجهازية المستحثة ضد الكائن الممرض .

جدول رقم (٤٥) : قياسات للمقاومة ISR الناتجة من وساطة السلالة WCS 417r والمقاومة الأساسية ضد الفطر *P. parasitica* في الايكوتايب Col (ISR-1 x ISR-1) و Ws (ISR-1 x ISR-1) من نبات الارابيدوسز .

الايكوتايب	المعاملة	معدل المرض على عدد الأوراق الموجودة/صنف				مجموع عدد الأوراق	% عدد الجراثيم بالأوراق	عدد الجراثيم المعزولة جرثومة/غرام وزن طازج من الورقة
		صفر	١	٢	٣			
Col	كنترول	٨٠	٤٥	٦٦	٤٣	٢٣٤	٦٦	٦١٠ × ١٠,٨
Col	WCS 417r	١٢٨	١٢	٣٣	٢٧	٢٠٠	٣٦	٦١٠ × ١,٥
Ws	كنترول	١١٨	٢١	٢٠	٢١	١٨٠	٣٤	٦١٠ × ٥,٣
Ws	WCS 417r	١٢٧	١٩	٣٠	٣٩	٢٠٥	٣٨	٦١٠ × ٦,٢

ملاحظات على الجدول :

كان يحسب معدل المرض على أساس كثافة الجراثيم على كل ورقة . صفر = لا يوجد تجزئم . ١ = أقل من ٥٠٪ من سطح الورقة مغطى بالجراثيم . ٢ = أكثر من ٥٠٪ من سطح الورقة مغطى بالجراثيم . ٣ = سطح الورقة مغطى كله بكثافة بالجراثيم بالإضافة إلى الأصفرار وانهباء الورقة . كانت المقاومة الجهازية المستحثة تستحث عن طريق نقل البادرات ذات عمر أسبوعين إلى تربة ملوثة بالبكتيريا WCS 417r بتركيز 10×5 وحدة تكوين مستعمرات/مل . تحقن النباتات بعد ٣ أسابيع بالكائن المتحدي عن طريق اضافة قطرات تحتوي معلق جراثيم *P.parasitica* السلالة ACOq بتركيز 10×5 جرثومة/مل على سطوح الأوراق ، بعد ١١ يوم من الحقن بالمتحدي ، تدرس أعراض المرض وتفصل الجراثيم وتعد .

الصفات الفسيولوجية للفينوتايب الذي يحمل ISR-1

- من المعلومات المذكورة سابقاً يتبين أن موقع ISR-1 في الاريابوسيز يتصف بالآتي :
- ١ - يتدخل في المقاومة ISR ضد كائنات ممرضة مختلفة بالإضافة إلى المقاومة الأساسية المتخصصة ضد *Pst* ، بينما لا يتدخل في المقاومة الأساسية ضد الكائن الممرض *P.parasitica* .
 - ٢ - استجابة الطفرة *etr1-1* للثايلين واستجابة الطفرة *jar1-1* للجسمنك أسد تظهر فينوتايب مشابه مثل الايكوتايب RLD و *Ws* ويكونا توقعنا في ISR الناتجة من وساطة السلالة WCS 417r ومؤثرة في المقاومة الأساسية ضد *Pst* ، وغير متأثرة في المقاومة الأساسية ضد *P.parasitica* . هذا التشابه في صفات الفينوتايب يؤدي إلى القول بأن موقع ISR-1 يمكن أن يكون متدخلاً في التأثير المعتمد على الاثيلين/حمض الجسمنك .
 - ٣ - بنيت الدراسات الحديثة أن RLD (*isr-1 / isr-1*) و *Ws* (*isr-1 x isr-1*) تظهر خفضاً في الحساسية للثايلين بالمقارنة مع Col (*ISR-1 / ISR-1*) كما قد حدد بواسطة الاستجابات الفسيولوجية وتعبيرات الجين المعتمد على الاثيلين . هذا يخفض الحساسية للثايلين في تجميع الانعزالات بالاليلات المنحنية في موقع ISR-1 . هذا ما وجدته *Ton et al* سنة ٢٠٠٠ .
 - ٤ - اعتماداً على ما سبق ، اقترح بأن موقع ISR-1 يشفر إلى مكونات الممر المستجيب للثايلين الذي يلعب دوراً في استجابة المقاومة المعتمدة على الاثيلين ويكون مطلوب في تعبير ISR الناتجة من وساطة الرايزوبكتيريا .

دراسة ISR فى نبات الارابيدوسيز

١ - زيادة المقاومة المستحثة للمرض بواسطة التنشيط المتزامن لممرات الدفاع المعتمدة على الجسمونات والسلسيلات فى الارابيدوسيز *Arabidopsis thaliana*

تلعب الجزيئات المؤشرة النباتية ، حمض السلسليك AS ، حمض الجسمنك JA ، دوراً مهماً فى ممرات المقاومة المستحثة للأمراض . يؤدي التداخل بين الممرات المعتمدة على JA و SA إلى تثبيط الاستجابات الدفاعية الناتجة بواسطة JA . عند إجراء دراسات على امكانية تفاعلات التضاد بين ممر SAR المعتمد على حمض السلسليك والذي يستحث بعد الاصابة بالكائن المرض ، وممر المقاومة المستحثة ISR المعتمد على حمض الجسمنك والذي ينبه بواسطة *Pseudomonas* وهي رايزوبكتيريا غير ممرضة ، فى نبات الارابيدوسيز *Arabidopsis thaliana* ، فإن كلاً من SAR و ISR ، تكون فعالة ضد مجال واسع من الكائنات الممرضة ، من ضمنها ، الكائن المرض (Pst) (سبق ذكره مراراً) الذى يصيب المجموع الخضرى . يؤدي التنشيط المتزامن لكل من SAR و ISR إلى التأثير التجميعى على مستوى الوقاية المستحثة ضد Pst .

فى الجينوتايپ الخاصة بالارابيدوسيز والتي تتعطل فيها إما SAR أو ISR ، هذا التأثير التجميعى لا يكون واضحاً . زيادة على ذلك فإن تخليق ISR ، لا يؤثر على تعبير الجين PR-1 المعلم لـ SAR ، فى النباتات التى تظهر تعبير SAR . تدل هذه الملاحظات مجتمعة على أن ممر كل من SAR و ISR تكون متوافقة ، ولا يكون هناك تعارض بين هذه المرات . إن كلاً من SAR و ISR كلاهما يتطلب مفتاح تنظيم البروتين NPR-1 . إن النباتات التى تظهر كلا النوعين من المقاومة ، لا تظهر مستويات عالية من NPR-1 المنسوخ ، هذا يدل على أن المستوى الأول (الاساسى) لـ NPR-1 يكون كافياً لتسهيل التعبير الذاتى لكل من SAR و ISR . تؤدي هذه النتائج إلى القول بأن زيادة مستوى الوقاية يكون ناشئاً من خلال التنشيط المتوازى لهما متكاملين . وكذلك فإن استجابات الدفاع المعتمدة على NPR-1 تنشط فى المقاومتين ضد Pst . وبالتالي فإن الاتحاد بين SAR و ISR يزودنا بأداة فعالة فى تحسين مقاومة المرض .

٢ - المقاومة ISR فى الأرابيدوسز تتطلب حساسية للجسمونات والايثيلين ولكنها لا تكون متلازمة (مرتبطة) مع الزيادة فى انتاجهما

يتكشف فى النباتات ، زيادة فى الكفاءة الدفاعية ، ضد مجال واسع من الكائنات الممرضة النباتية ، بعد استعمار جذورها بواسطة سلالات معينة من البكتيريا غير الممرضة (الرايزوبكتيريا) . فى نبات الأرابيدوسز ، فإن المقاومة المخلفة بهذه الطريقة تسمى مقاومة جهازية مستحثة ISA . تقوم هذه المقاومة بعملها مستقلة عن حمض السلسليك ، ولكنها تتطلب استجابة مباشرة أو حساسية لهرمونات النبات ، مثل حمض الجسمنك JA والايثيلين .

لدراسة الدور الذى يقوم به JA والايثيلين فى الممر الاشارى لـ ISR ، حددت مستويات هذه الجزيئات التأشيرية فى نبات الأرابيدوسز بعد تخليق ISR بواسطة الرايزوبكتيريا *P. syringae* pv. *P. fluorescens* WCS 417r ، ثم بعد ذلك تخقن بالكائن الممرض *tomato* DC 3000 . بعد معاملة الجذور بهذه السلالة البكتيرية الحاتة على تخليق ISR وهى المذكورة سابقاً ، فإنه ، لا المحتوى من حمض الجسمنك ولا مستوى نشوء وتكوين الاثيلين تغير مع تغير شدة المقاومة الموجودة فى الأوراق جهازياً .

كذلك وجد أن حقن الأوراق بالتشريب Infiltration بالسلالة WCS 417r أدى إلى تنبيه ممر المقاومة الجهازية المستحثة المعتمد على الاثيلين ، ولكنها لم تسبب تغيرات موضعية فى الانتاج فى أى من هذه الجزيئات المؤشرة .

تدل هذه النتائج على أن ISR الناتجة بواسطة الرايزوبكتيريا ليست مبنية على تخليق تغيرات فى البناء الحيوى لحمض الجسمنك أو الاثيلين . وعلى أية حال فإنه فى النباتات المعبرة عن ISR تكون كفاءة إنقلاب -1- carboxy-1-aminocyclopropane (ACC) late إلى الاثيلين تزداد بشكل معنوى مؤدية إلى زيادة عالية فى القدرة على انتاج الاثيلين بعد مهاجمة الكائن الممرض .

٣ - تتطلب ISR فى الأرابيدوسز تأشير يعتمد على الاثيلين فى موقع دخول البكتيريا الحاتة على تخليق هذه المقاومة

تختلف استجابة ISR عن استجابة SAR ، حيث أن ISR تكون غير معتمدة ومستقلة عن حمض السلسليك وغير مترافقة مع البروتينات المتعلقة بالمرضية . درست عدة طفرات من نبات الأرابيدوسز من التى تستجيب للاثيلين ، وأظهرت أعراض طبيعية أساسية للاصابة

بالكاثن الممرض Pst . كانت المقاومة ISR مختفية غير ظاهرة في الطفرات غير الحساسة للايثيلين (الطفرات التي تحمل جين *etr1-1*) ، بينما المقاومة SAR لم تتأثر بذلك . لقد حصل على نفس النتائج باستعمال طفرات غير حساسة للايثيلين تحمل جين *ein2* خلال *ein7* . هذا يدل على أن تعبير ISR يتطلب الممر الانتقالي الاشارى الكامل Complete signal - transduction pathway المعروف حتى الآن .

إن تخليق ISR بواسطة WCS 417r لم يكن مترافقاً مع زيادة انتاج الايثيلين في الجذور أو الأوراق ، ولا في الزيادة في تعبير الجينات المشفرة لأنزيم البناء الحيوى للايثيلين ACC synthase و ACC oxidase . الطفرة التي تحمل *eir-1* مظهرة عدم الحساسية للايثيلين في الجذور فقط ، لا تظهر تعبير ISR بعد اضافة WCS 417r إلى الجذور ولا تظهر سلوك ISR عندما حققت البكتيريا الحائثة تشرباً في الأوراق . تؤدي هذه النتائج إلى القول بأنه لكي تتخلق ISR فإن الاستجابة للايثيلين تكون مطلوبة في مواقع اضافة الرايزوبكتيريا الحائثة على المقاومة ISR .

٤ - الممر الجديد الذى ينظم ISR فى الأرابدوسز

بعد دراسة عدة طفرات لنبات الارابيدوسز ، خاصة الطفرة *jar-1* المستجيبة لحمض الجسمنك ، والطفرة *etr-1* المستجيبة للايثيلين والطفرة *npr-1* المنظمة للمقاومة SAR ، يمكن القول بأن النقل الاشارى الذى يؤدي إلى إظهار المقاومة ISR الناتجة من WCS 417r يتطلب استجابة لكل من الجسمنات والايثيلين وتكون معتمدة على NPR-1 . وبالمثل فإنه في هذه الطفرة ، فإن Me JA والايثيلين تعمل بادئ لمادة ACC حيث يكون فعال في تخليق مقاومة ضد Pst في نباتات ذات الجين NahG التي لا تجمع حمض السلسليك . زيادة على ذلك فإن المقاومة المستحثة بواسطة Me JA ، قد وقفت في النباتات التي تحمل الجينات *jar-1* ، *etr-1* و *npr-1* ، بينما الوقاية المستحثة بواسطة ACC تأثرت في النباتات ذات الجينات *etr-1* و *npr-1* وليس في نباتات الجين *jar-1* .

بناء على ذلك يمكن الافتراض بأن ISR تتبع ممر اشارى جديد الذى فى مكوناته الاستجابات من الايثيلين والجسمونات تكون مرتبطة لتنبه تفاعل الدفاع الذى (مثل SAR) يكون منظماً بواسطة NPR-1 . بهذا يمكن تقديم الدليل على أن العمليات التي تتم بعد بدء النسخ للجين NPR-1 فى ممر ISR تكون مختلفة عن تلك الموجودة فى ممر SAR .

هذا يدل على أن NPR-1 تنظم الاستجابات الدفاعية بطرق مختلفة معتمدة على إشارات تثار خلال تخليق المقاومة .

٥ - تحديد موقع في الارابيدوسيز ينظم تعبير كلتا المقاومتين ، المقاومة ISR والمقاومة الأساسية ضد Pst .

لقد اختيرت عشرة أنواع من الأيكوتايب من نبات الأرابيدوسيز في الدراسة ، وذلك لكفاءتها في التعبير عن ISR ، وكذلك في التعبير عن SAR ضد الكائن الممرض Pst . أظهرت جميع هذه الأنواع المقاومة SAR ، بينما أظهر ثمانية المقاومة ISR وإثنان من العشرة (W_s و RLD) عدم استجابة ولم تتكشف فيهما ISR ، بعد معاملة الجذور بالبكتيريا غير الممرضة WCS 417r . النوع غير الحساس من الفينوتايب كان مترافقاً مع قابلية عالية للإصابة بالكائن الممرض Pst . أفراد الجيل الأول الناتجة من التلقيح بين W_s و RLD (غير الحساسة) من ناحية والأنواع الحساسة Columbia (Col) و Landsberg erecta (*Ler*) من ناحية أخرى ، كانت قادرة بشكل كامل على إظهار ISR ، وتظهر مستوى عال نسبياً من المقاومة الأساسية مشابهة لاستجابة الأب من WCS 417r . هذا يدل على أن الكفاءة في التعبير أو إظهار ISR والمستوى العالي نسبياً من المقاومة الأساسية ضد Pst تكون صفة سائدة وراثية . تحليل أفراد الجيل الثاني والثالث من نتائج التهجين بين Col x RLD أظهرت أن عملية التخليق للمقاومة ISR والمقاومة الأساسية العالية نسبياً ضد Pst تنعزل بنسبة ٣ : ١ ، هذا يؤدي إلى القول بأن ميكانيكيات المقاومة تكون محددة مونوجنك ومرتبطة وراثياً . تبين أنه لا السلالة المستجيبة لـ WCS 417r ولا المستوى العالي نسبياً من المقاومة الأساسية ضد Pst كانت متكاملة في أفراد الجيل الأول من التلقيح بين W_s و RLD . هذا يدل على أن W_s و RLD كلاهما يتأثر بنفس الموقع ، هذا ضرورياً للتعبير وإظهار ISR والمقاومة الأساسية ضد Pst . هذا الموقع يشار إليه بـ ISR-1 وقد وضع في الخريطة الجينية بين العلامة B4 و GL1 على الكروموسوم III .

الملاحظات التي يمكن اكتشافها من العلاقة بين ISR والمقاومة الأساسية ضد Pst ، هي أن ISR الناتجة ضد Pst تتطلب وجود جين مفرد سائد والذي يقوم بدوره في إظهار المقاومة الأساسية ضد الإصابة بالكائن الممرض Pst .

٦ - المقاومة ISR فى نبات الارابيدوسز لا تكون مترافقة مع التأثير المباشر على الجينات المتعلقة بالدفاع المعروفة ، ولكنها تشجع إظهار الجين المستحث بالجسمونات *Atvsp* بعد الحقن بالكائن المتحدى

فى نبات الارابيدوسز ، تكون وظائف ممر ISR مستقلة عن حمض السلسليك ، ولكنها تتطلب استجابة لكل من الجسمونات والاثيلين . ذكر فى بعض الدراسات أن الجينات المتعلقة بالدفاع ، مثل الجينات المستجيبة لحمض السلسليك PR-1 ، PR-2 ، PR-5 ، والجين المستحث بالاثيلين *Hel* والجينات المستجيبة للاثيلين والجسمونات *ChiB* و *Pdf1-2* والجينات المستحثة بالجسمونات *Atvsp* ، *Lox2* ، *Pall* ، *Pin2* ، تكون غير مستحثة موضعياً فى الجذور ولا جهازياً فى الأوراق ، بعد تخليق ISR بواسطة WCS 417r . وبالمقابل فإن النباتات المصابة بالكائن المرض شديد المرضية (Pst) أو النباتات التى تظهر تعبير SAR المستحثة بواسطة إعادة الاصابة للأوراق السفلية بالكائن المرض غير شديد المرضية (Pst (avrRpt2) ، تظهر مستوى عال من التعبير لمعظم الجينات المتعلقة بالدفاع .

بعد الحقن بالكائن المرض Pst فإن الجين PR المنسوخ يتجمع بمستوى عال فى النباتات المظهرة SAR أكثر منه فى النباتات المظهرة ISR ونباتات الكنترول . هذا يدل على أن SAR تتدخل بتقوية إظهار جين PR المستجيب لحمض السلسليك . بالمقابل فإن النباتات المظهرة ISR ضد الكائن المرض المحقون ، تؤدي إلى زيادة مستوى تجمع نسخ *Atvsp* . الجينات الأخرى المتعلقة بالدفاع الحساسة لحمض الجسمنك لم تكن ذات كفاءة خلال ظهور ISR ، هذا يدل على أن ISR تكون مترافقة مع كفاءة الجينات المتخصصة المستجيبة للجسمونات .

ثالثاً : كيف توقف النباتات المستحثة الكائنات الممرضة ؟؟

مقدمة :

يمكن أن تؤدي المعاملة الموضعية للنباتات بالكائنات الممرضة ، سواء شديدة القدرة المرضية ، أو غير شديدة ، والتي تسبب بقع متحللة (نكروزز) Necrotic lesions ، أو ببعض الكائنات غير الممرضة ، أو ببعض الكيماويات الحيوية أو غير الحيوية ، إلى تخليق مقاومة جهازية أو موضعية للأمراض المتسببة عن المهاجمات التالية للكائنات الممرضة التي تهاجم هذه النباتات المعاملة . المقاومة المستحثة الناتجة عن المعاملة المسبقة ، بأى من العوامل المذكورة ، تتميز بشكل عام بالخفض فى حجم وعدد البقع التي تتكشف بعد حقن النبات المستحث بالكائن المرض شديد القدرة المرضية ، وأحياناً تكون استجابة النبات على شكل تفاعل الحساسية الفائقة HR .

يمكن أن يحدث هذا الشكل المستحث من المقاومة فى غياب الجينات الكبيرة المتخصصة بالتطفل (لمقاومة الأمراض) فى النبات ، ولكن من المحتمل استعمال نفس الدفاعات التي تستعمل فى أشكال أخرى من المقاومة .

يمكن أن تقسم المقاومة المستحثة ضد الكائنات الممرضة إلى مجموعتين كبيرتين . المجموعة الأولى هى المقاومة الجهازية المكتسبة Systemic Acquired Resistance (تكتب SAR) . هذا النوع من المقاومة يتكشف إما موضعياً أو جهازياً كاستجابة إلى الكائن المرض الذى يسبب بقع متحللة (نكروزز) . البقعة الموضعية إما أن تكون نتيجة لاصابة ناجحة أو تفاعل فرط الحساسية (Hypersensitive (response) reaction (HR) . يكون ظهور المقاومة (التعبير) بشكل عام فعال ضد مدى واسع من الكائنات الممرضة ، وتكون مترافقة مع إنتاج بروتينات متعلقة بالمرضية Pathogenesis Related proteins (PRs) ، ويمكن أن تكون ناتجة عن عمليات معتمدة على وساطة حمض السلسليك أو مركبات مصنعة مثل CGA-24574 (مشتقات البنزوثيادورول ويشار إليها BTH) ومركب 2,6 - dichloroisonicotinic acid (CGA-41396) أو إليها INA والتي يبدو أنها تعمل مشابهة لعمل حمض السلسليك .

أما النوع الثانى من المقاومة المستحثة ، فإنها تتكشف جهازياً ، كاستجابة لاستعمار جذور النبات بواسطة بعض أنواع بكتيريا الرايزوسفير تعرف باسم (Plnt growth promoting

PGPR (rhizobacteria) . يعرف هذا النوع من المقاومة باسم المقاومة الجهازية المستحثة Induced systemic resistance (ISR) . تكون هذه المقاومة ناجحة عن وساطة ممر حساس للثيلين / حمض الجسمنك ، ولا يتدخل في إظهارها بروتينات متعلقة بالمرضية PRs .

أدى التحليل الوراثي للمقاومة الجهازية المكتسبة إلى تعريف وكتلونه Cloing جينات عديدة والتي تبدو وكأنها مفتاحاً لتنظيم هذا النوع من المقاومة . درست سلسلة من الطفرات في نبات الارابيدوسز *Arabidopsis* والذي هو أساس الأبحاث كلها في هذا المجال . هذه الدراسة شملت ، الطفرات التي تعبر عن البقع الذاتية (مثل طفرة *Isd*) بالإضافة إلى مجموعة من الطفرات التي تعبر عن المقاومة ، أو تظهرها بدون بقع ذاتية (مثل طفرة *cpr*) . هناك مجموعة أخرى من الطفرات عزلت من نبات الارابيدوسز ، تم الحصول عليها عن طريق التنقية أو التصفية لصفة فقد تعبير المقاومة كاستجابة لحمض السلسليك أو مشجعات مقاومة اصطناعية . أدت هذه التصفية إلى عزل الطفرة *npr-1* أو *sai-1* . تعتبر هذه الاكتشافات مهمة ، لأن هذا الجين يكون مفتاح في التعبير عن المقاومة الناشئة عن وساطة حمض السلسليك . كذلك فإن استعمال تكنولوجيا التحولات الوراثية سمح بالحصول على تقديرات أكثر لدور حمض السلسليك والك Catalases في ممر التأشير الذي يؤدي إلى المقاومة . بالإضافة لذلك فإن الطفرات التي تكون غير حساسة لحمض الجسمنك، أو لا تستطيع بناء هذا الجزئ الاشاري، لها قيمة عالية في تفهم تنظيم المقاومة الجهازية المستحثة المعتمدة على الجسمينات .

إن تفهم التنظيم الوراثي في كل من SAR و ISR يكون مهماً في تحديد كيف تكون النباتات قادرة على نقل الاشارات ، المتولدة أثناء الاصابة ، والتي تؤدي إلى التعبير أو إظهار جينات الدفاع المفترض وجودها ، ومقدرة النبات لإظهار مقاومة فعالة ضد مدى واسع من الكائنات الممرضة .

١ - التغيرات التي تحصل في النبات قبل تحصينها والتي تعبر عن المقاومة المكتسبة

كما ذكرنا سابقاً ، فإن احدى نتائج تخليق المقاومة الجهازية المكتسبة SAR ، في النبات ، هو نظام التعبير المسمى البروتينات المتعلقة بالمرضية PRs . يمكن تخيل الأدوار التي تقوم بها PRs بسهولة ، وذلك عن طريق نشاطها كأنها Glucanases أو Chitinases أو عن طريق مرافقتها لبروتينات مضادات ميكروبية أخرى .

إن موقع الكثير من البروتينات المتعلقة بالمرضية فى الـ Apoplast فى النبات ، يؤدى أيضاً إلى القول بأن هذه البروتينات ، تكون فى موقع يسهل لها الاتصال مع الكائن الممرض أثناء عملية الإصابة . إن التحولات الوراثية التى تحدث فى النبات والخاصة بالجينات المتعلقة بالمرضية ، قد أظهر أيضاً بأنها تزيد المقاومة فى النباتات لكائنات ممرضة معينة ، وبالتالى تدعم النظرية التى تقول بأن هناك تعبير للجين المتعلق بالمرضية يظهر فى حالة المقاومة الجهازية المكتسبة . وبالمثل ، فإن تحليل الطفرات التى هى معبرة بشكل أساسى عن الجينات المتعلقة بالمرضية ، تدعم أيضاً الافتراض بأن البروتينات المتعلقة بالمرضية تكون متعلقة بالمقاومة الجهازية المكتسبة .

وعلى أية حال فإن النباتات المحولة وراثياً ، المعبرة عن الجينات المتعلقة بالمرضية ، ليس بالضرورة لأن تصبح أكثر مقاومة لجميع الكائنات الممرضة . هذا يؤدى إلى القول بأن البروتينات المتعلقة بالمرضية تكون جزء فقط من فينوتايب مقاومة المرض المستحثة . السؤال الذى لا يزال يطرح نفسه ويحتاج إلى اجابه ، هو كيف تشارك البروتينات المتعلقة بالمرضية مباشرة فى مقاومة المرض وإذا حدث ذلك فإلى أى درجة هى تشارك فى ذلك ؟؟

هناك نظامين واضحين للميكانيكية التى يمكن للبروتينات المتعلقة بالمرضية أن تلعبهما فى المقاومة الجهازية المكتسبة هما :

١ - التوقف المباشر لتكشف الكائنات الممرضة الفطرية (الفطرية البيضية) والبكتيرية ، عن طريق فعل التحلل المائى hydrolytic لجدر خلايا الكائن الممرض أو بواسطة نشاط تضاد ميكروبي آخر .

٢ - النشاط الأنزيمى لـ Glucanases والـ Chitinases ، يمكن أن تساعد أيضاً بطريق غير مباشر فى المقاومة عن طريق اطلاق منبهات غير متخصصة .

مع أن هناك فى التجارب المعملية براهين تدعم هذه القوانين ، وتشير بوضوح إلى أن البروتينات المتعلقة بالمرضية تمارس نشاطاً مباشراً كمضادات للكائنات الممرضة فى النبات و/أو تطلق مثيرات لا تكون موجودة . إن نتيجة التحصين الحقيقى ، تكون معتمدة على كيفية عمل البروتينات المتعلقة بالمرضية فى النبات ، وعلى تحديد النشاط المباشر لها كمضادات ميكروبية .

لقد وجد فى الأبحاث الأخيرة سنة ٢٠٠١ أن إطلاق المثيرات الجديدة فى النبات ، ضرورية وأساسية فى حدوث المقاومة الجهازية المكتسبة . هذه المثيرات تعتمد على البروتينات

المتعلقة بالمرضية وهذه البروتينات المتعلقة بالمرضية معتمدة على نشاط الجينات الخاصة بذلك. هذه الجينات تثيرها وتبنيها أما الاصابة المرضية وإما ممرات حمض السلسليك .

٢ - استجابة النبات ومقدرته على إظهار المقاومة المستحثة

عدا عن التغيرات البيوكيميائية التي تحدث في النباتات ، كنتيجة للمعاملة الحادة (أو الخلقية) للمقاومة ، هناك استجابات معينة يجب أن يظهرها النبات أو تكون متوفرة عنده لكي يكون ظهور المقاومة الجهازية كاملاً . هناك دراسات قليلة أجريت في هذا الموضوع (استجابة النبات العائل المستحث لما بعد الاصابة) . وفيما يلي نقدم شرحاً مفصلاً لآخر الابحاث (سنة ٢٠٠١) على هذا الموضوع .

١ - الفطريات وخاصة الفطريات البيضية

المقاومة المستحثة للأمراض في الفاصوليا الخضراء ضد الفطر *Colletotrichum lindemuthianum* قد ذكرت على أنها ظاهرة موضعية في عديد من أجزاء النبات ، تستحث على مسافة قصيرة من موقع تخليق المقاومة في السويقة الجينية السفلية المستطيلة بالإضافة إلى الظاهرة الجهازية في النبات الأخضر الأكبر . في أنسجة السويقة الجينية السفلية ، فإن تكشف الأطوار المبكرة من السلالات المتوافقة من الفطر الممرض في النسيج المظهر المقاومة المستحثة ، يكون مشابهاً لتلك المرئية في أنسجة الكنترول . ينتج الفطر أعضاء التصاق ، توطن نفسها في النسيج النباتي وتؤسس هيفاً اصباية أولية في نباتات الكنترول والنباتات المستحثة . هذا يختلف بوضوح عن تفاعل فرط الحساسية HR ، يكون هذا واضحاً بواسطة أنسجة العائل بعد الحقن بسلالة غير متوافقة من الفطر . تلاحظ الاختلافات بين نباتات الكنترول والنباتات المستحثة ، فقط ، بعد تأسيس الهيفاً الأولية . في نباتات الكنترول يحدث انتشار سريع للهيفاً الثانوية المتكشفة من الهيفاً الأولية ، أما في النباتات المستحثة يتوقف تكشف نمو الفطر في طور الهيفاً الأولية . يكون توقف تكشف الهيفاً متبوعاً بتلون بني في خلايا العائل (أحياناً يكون متبوع أيضاً بتأخر في الاستجابة لتفاعل فرط الحساسية) وتجمع الفايثوالكسنز . إن تكشف الفطر الممرض المذكور سابقاً في الأنسجة المستحثة يكون مشابهاً لتلك الملاحظ في المقاومة المتعلقة بالمر في الفاصوليا للسلالات المتوافقة من نفس الفطر . نظراً لأن المقاومة المتعلقة بالمر في السويقات الجينية السفلى في فول الصويا للفطر *Phytophthora megasperma var. sojae* . يكون مترافقاً مع إنتاج

الفايتوالكسنز ، فمن الممكن أن نحدد فيما إذا كانت المقاومة المتعلقة بالعمر فى الفاصوليا تظهر نفس السلوك فى انتاج الفايتوالكسن يمكن ملاحظته فى الأنسجة المستحثة .

بناء على توقيت وقوع هذه الحوادث الفسيولوجية الموصوفة سابقاً ، يكون من الصعب تحديد فيما إذا كانت المقاومة المستحثة ضد المرض ، يكون حدوثها عن طرق دفاعات تقليدية Traditional (مثل تفاعل فرط الحساسية ، الفايتوالكسنز) و/أو عن طريق التأثير على قابلية الكائن الممرض لجعل التغيير التطورى فى حالته من طور التغذية الحيوية فى الإصابة إلى حالته فى طور التغذية الترميمية . هذا الميكانيزم الأخير قد شرح باختصار بواسطة Elliston *et al* سنة ١٩٧٦ من حيث علاقته مع الأبحاث الأخرى ، التى اقترحت أن هناك علاقة بين إفراز الـ Polygalacturonases والانقلاب من طور التغذية الحيوية إلى طور التغذية الرمية . ولقد ذكر هذا العالم أن التغييرات المفترضة فى كيمياء جدار الخلية المتسببة عن التخليق الناتج من قابلية الكائن الممرض لأن ينتقل من الهيفا الأولية إلى الهيفا الثانوية بسبب عدم نشاط الـ polygalacturonase على الجدر الخلوية فى الأنسجة المستحثة . فى حين أن Showalter *et al* سنة ١٩٨٥ ذكر أن أنسجة السويقة الجنينية السفلى فى الفاصوليا الملاصقة لمكان الحقن بسلالة غير متوافقة من الفطر *C.lindemuthianum* ، قد رفعت بقوة النسخ لمادة hydroxyproline الغنية بـ glycoproteins . نظراً لأن جدر الخلية الغنية بهذه البروتينات تكون أقل قابلية للإصابة بأنزيم Pectinases ، أكثر منه فى الجدر غير المحورة . لقد درس دراسة تامة نظام التغييرات التركيبية فى جدر خلية الفاصوليا فى علاقته مع المقاومة المستحثة للمرض الموصوفة للسويقات الجنينية فى الفاصوليا .

وعلى العكس من نتائج الدراسات التى أجريت على السويقة الجنينية السفلى ، بواسطة Elliston *et al* سنة ١٩٧٦-١٩٧٧ ، وجد أن المرض المستحث واستجابة المقاومة فى أوراق الفاصوليا للفطر المذكور سابقاً ، المستحثة بالحقن المسبق للأوراق السفلية بنفس الفطر ، تكون مترافقة مع خفض أعداد الاصابات من أعضاء الالتصاق ، وكانت نسبة الخفض فى الاختراق مترافقة مع سرعة تكوين الحليمات تحت أعضاء الالتصاق . وبالتالي فإن انخفاض حدوث المرض فى الأنسجة المستحثة يمكن أن يعزى إلى قلة الاختراق فى أنسجة الورقة بواسطة الكائن الممرض .

كذلك فإن هناك خفضاً مشابهاً للاختراق بواسطة الفطريات ، يحدث فى نباتات الخيار التى يكون فيها التعبير عن المقاومة المستحثة للمرض للفطريات المهاجمة للورقة قد ثبت بأنها

مترافقة مع تحور سريع للبشرة الخارجية لجدار خلية العائل في النقطة التي منها يحاول الفطر الاختراق . الدراسة السيتولوجية للنباتات المستجيبة للمقاومة المستحثة للفطر *C. orbiculare*، قد تمت بتوسع كبير ، ولقد تبين أن هناك تقريباً علاقة عكسية بين عدد الاختراقات الناجحة في نباتات الكنتروول مع عدد الاختراقات غير الناجحة في النباتات المستحثة .

أما عن دراسة كيمياء النسيج Histochemistry ، فقد اعتمد عليها لاكتشاف كل من ترسبات اللجنين والسليلوز تحت أعضاء الالتصاق التي لم تنجح في الاختراق . كذلك فإن الدراسة الدقيقة لتركيب الخلايا الذي قام به *Stein et al* سنة ١٩٩٣ ، أثبت أيضاً أن جدر خلايا البشرة الخارجية تكون متحورة تحت عضو الالتصاق ، وأن هذه التحورات تشمل مركبات فينولية وسليكون .

إن التحور السريع لجدار خلية البشرة الخارجية ، مباشرة تحت عضو الالتصاق ، يمكن أن يكون توضيحاً مكملاً لفشل الكائنات الممرضة الفطرية لكي تخترق بنجاح أوراق نبات الخيار موضحة (معبرة) عن المقاومة المستحثة للمرض . إن الفشل في الاختراق والدخول داخل الأنسجة ، يعطينا تفسيراً منطقياً ، أيضاً ، في توضيح انخفاض الأعداد والحجوم للبقع التي تتكشف في نبات الخيار الذي فيه مقاومة مستحثة للمرض . وعلى أية حال فإنه ليس من الواضح أى من التحورات (إذا وجدت بكثرة) لجدار الخلية ، التي تكون هي المفتاح لقفل أو منع دخول الكائن الممرض في النسيج ، وإذا ما كانت هذه التغيرات هي السبب في المقاومة أو أنها تحدث فقط بعد أن تكون الإصابة قد توقفت .

ليس كل أعضاء الالتصاق التي تتكون على خلايا البشرة الخارجية لنبات الخيار ، تكون موقوفة عن الاختراق إلى داخل النسيج . في بعض الحالات ، تتكون هيفات الاختراق الأولية ، ولكن يبدو بأنها ، أما أن تتغطي أو تنغمر في بولمر شبيه اللجنين والذي يمكنه بكفاءة وقف أى تكشفات أخرى للهيفا ، أو أن يحدث لجنة كلية لخلية البشرة الخارجية ، تمنع وتوقف التكشفات اللاحقة لهذه الهيفا .

ومن ناحية أخرى فإن نسبة قليلة من أعضاء الالتصاق ، تكون هيفات عدوى (اختراق) Penetration pegs التي تؤدي إلى اختراق ناجح للنسيج ، دون ظهور أى استجابة للعائل . تعتبر هذه الملاحظات التي ذكرت سابقاً هامة ، وذلك لأنها تساعد في توضيح لماذا يكون

تعبير المقاومة المستحثة للفطر *C. orbiculare* على شكل اعداد أقل وأصغر من البقع ، الظاهرة وليس التثبيط الكامل للمرض .

إن الاختراق الناجح بواسطة بعض (وليس كل) أعضاء الالتصاق ، فى الأنسجة المستحثة ، يثير سؤالين : السؤال الأول لماذا خلايا العائل فى النباتات المستحثة تستجيب بسرعة للإصابة ؟؟ الاجابة عن هذا السؤال سوف تكون لاحقاً إن شاء الله . أما السؤال الثانى فهو ماهو دور البروتينات المتعلقة بالمرضية والأنزيمات الأخرى المستحثة جهازياً ؟؟

للإجابة على هذا السؤال يمكن القول بأن المقاومة المستحثة للمرض فى الخيار ، تكون مصحوبة بتجمعات من الـ Chitinase والـ Peroxidase فى الفراغات ما بين الخلية فى نسيج العائل بعد المعاملة بالعامل الحاث . مع أن هناك دوراً ممكناً فى زيادة مقدرة اللجننة يمكن أن يفترض بالنسبة للـ Peroxidase إلا أنه لا يوجد دليلاً مباشراً يدعم هذا الدور . يمكن لهيفات الفطر *C. orbiculare* التى اخترقت بنجاح ودخلت الأوراق المستحثة ، أن تصبح متصلة مع الـ Chitinases . علاوة على ذلك ، لا يوجد دليل يثبت أن نمو الهيفا يكون محدوداً بعد أن تكون قد تأسست ، أو أن هذه الإنزيمات تتدخل مباشرة مع الكائن الممرض . ملاحظة أن نشاط كلاً من الـ Chitinase والـ Peroxidase يبقى عالياً فى أوراق الخيار من النباتات التى فيها حالة المقاومة المستحثة لا تدوم طويلاً ، هذا يؤدى إلى القول بأن وجود هذه الإنزيمات لا يكون كافياً لشرح حالة المقاومة المستحثة .

الدراسات التى تمت لحالة ما بعد الحقن فى الأنسجة المستحثة ، فى قد تم إجراؤها أيضاً مع الفطريات البيضية . فمثلاً أوراق نبات الارابيدوسز ذو المقاومة المكتسبة يخترق بواسطة *Peronospora parastica* ، ولكن الكائن الممرض لا يتكشف . النكروزز المنتشر فى خلايا العائل على طول الهيفا قد تمت ملاحظته فى نسيج الورقة المستحثة . كما ذكر أيضاً أن اللجننة تشارك فى المقاومة المتخصصة للطفيليات فى هذا النظام ، وأن السلوك السيتولوجى لعملية اللجننة يبدو مشابهاً لنظام نكروزز العائل الملاحظ كاستجابة من النباتات المستحثة للمرض المتسبب عن *Peronospora* . وبالتالي يبدو من المحتمل أن عملية اللجننة تكون أيضاً جزءاً من دفاعات المقاومة المستحثة للأمراض فى نبات الارابيدوسز . وعلى أية حال ، نظراً لأن الدفاعات الكثيرة من المحتمل أن يعبر عنها ، فإن اللجننة فى المقاومة المستحثة من المحتمل أيضاً أنها سوف تلعب دوراً جزئياً فى الدفاع كما هو الحال فى المقاومة المتخصصة للطفيليات .

البكتيريا :

لقد اختبرت المقاومة المستحثة للكائنات الممرضة البكتيرية . ذكرت الدراسات المبكرة أن تشريب أوراق الدخان بخلايا ميتة حرارياً من البكتيريا *Ralstonia solanacearum* يمكن أن يحث مقاومة موضعية ضد نفس الكائن الممرض . ومن الجدير بالذكر أن الخلايا الميتة حرارياً ، يمكن أيضاً أن تقي النسيج ضد تفاعل (استجابة) فرط الحساسية المنبه بواسطة عزلة غير شديدة المرضية من البكتيريا المذكورة سابقاً ، تكون المقاومة المستحثة مترافقة مع انخفاض نمو البكتيريا الداخلة في تحصيل النبات في النسيج المستحث ونتاج مواد مثبطة .

إن المقاومة الجهازية المكتسبة أو المستحثة ضد الكائنات الممرضة البكتيرية شديدة المرضية أو غير شديدة المرضية ، أيضاً قد ذكرت كمسببات تخفض أعراض النكروتك . إن النقص في أعراض النكروتك التي تتكشف في النباتات المعبرة عن الأمراض المستحثة ، بعد الحقن بالبكتيريا ، قد افترض بأنها تكون نتيجة لتثبيط المرض أو لاندماجها في أعراض تفاعل فرط الحساسية . بناء على الملاحظات التي تفيد بأن التجمعات البكتيرية في نباتات الكنترول لم تكن مختلفة عن هذه التجمعات في النباتات المعبرة عن المقاومة المستحثة للمرض . لقد ذكر أن هناك زيادة في الـ Antioxidants تحدث جهازياً في الدخان كاستجابة للمقاومة المتخلقة وكاستجابة للمعاملة بحمض السلسليك ، وهذا التغير في حالة الـ Antioxidant قد اقترحت بأنها الأساس للتعبير عن بقعة النكروتك .

في معظم الدراسات التي أجريت على البكتيريا لتخليق مقاومة ، تبين أن هناك خفضاً في النمو البكتيري في النباتات المستحثة بنسبة ١-٣ درجات مقارنة مع نباتات الكنترول . هذا يؤدي إلى القول بأن مشبطات النمو البكتيري ، تتكون كنتيجة لتخليق مقاومة ، أو لأن ذاك النبات يستجيب بسرعة للحقن عن طريق انتاج مشبطات نمو بكتيري . وعلى أية حال فإن نباتات الارابدوسز المستحثة ، تستجيب للحقن بالبكتيريا *Pseudomonas* ، على شكل زيادة في تجمع حمض السلسليك وتخليق جين PR-1 المنسوخ . بطريقة كيميائية معينة ، فإن رتبه رقم ثلاثة من الأبوبلاستك الششتينيز المحمض ، من الخيار قد تم تجانسها إلى الأيزوزايم وانتج على شكل بروتينات متعلقة بالمرضية في الخيار ، ولكن لا نشاط هذا الإنزيم ضد البكتيريا ولا التجمعات الرائدة من هذا الإنزيم بعد التحصيل البكتيري ، قد ذكرت في هذا المجال . نظراً لأن هناك بداية معينة من الخلايا البكتيرية مطلوبة لتسبب تفاعل فرط حساسية واضح ، أو تكشف سريع للمرض متبوعاً بالنكروز ، فمن الممكن أن هذه المثبطات

(أما أن تكون منتجة كنتيجة للتخليق أو التحصين) يمكن أن تحفظ تجمعات الخلايا البكتيرية تحت البداية اللازمة لتكشف أعراض ميكروسكوبية . هذا الخفض في التجمعات البكتيرية في نسيج الورقة ، يمكن أن يحسب لفينوتايب المقاومة المستحثة الملاحظة بعد التحصين بالبكتيريا .

لقد وصفت المقاومة ، في غياب نكروز فرط الحساسية ، جزئياً في طفرات *dnd-1* في نبات الارابيدوسيز ، حيث أن النباتات التي بها هذه الطفرة ، تعبر بشكل أساسي عن جينات PR-1 و Glucanase وتحتوى مستويات عالية من حمض السلسليك ، ويبدو أنها تعبر أساسياً عن المقاومة المكتسبة ضد البكتيريا *P.syringae* . تكون تجمعات هذه البكتيريا في نباتات *dnd-1* منخفضة بمقدار درجة واحدة تحت الذى يرى في النوع الأصلي . تستجيب نباتات *dnd-1* عندما تستحث بالحقن بالبكتيريا شديدة المرضية *P.syringae* عن طريق التخليق الزائد من PR-1 و Glucanase . هذا يؤدي إلى القول بأن جزءاً من المقاومة الملاحظة يمكن أن يكون بسبب التعبيرات الدفاعية لما بعد الحقن وليس فقط تغطية للأعراض .

إن حقن نباتات الطفرة *dnd-1* بعزلة غير شديدة المرضية من البكتيريا السابق ذكرها ، يؤدي إلى انخفاض في تعبير فرط الحساسية ، ولكن التجمعات البكتيرية ، تكون أيضاً ، أقل مما يرى في العزلات شديدة المرضية في نباتات *dnd-1* . هذه المقاومة المتخصصة بالطفيليات والتي تتبع علاقة جين/جين ، تكون متبوعة ، أيضاً بكمية أكبر من تعبيرات PR-1 والنجلوكاينز بعد التحصين ، منه في المشاهد بعد الحقن بنفس البكتيريا *P. syringae* المتوافقة . وبالتالي فإنه حتى تعبير المقاومة في النباتات ذات الطفرة *dnd-1* والتي تسلك سلوكاً متشابهاً جداً مع النباتات ذات المقاومة المكتسبة تكون متبوعة بتخليق زائد من الدفاع بعد التحصين ، يؤدي إلى القول بأن تعبير الأعراض يمكن أن يكون راجعاً إلى التثبيط السريع للنمو البكتيرى .

إن انخفاض انتاج البقع المتحللة المتسببة عن بكتيريا شديدة القدرة المرضية أو غير شديدة ، في النباتات المستحثة يكون مشابهاً لما هو ملاحظ في النباتات المشربة أوراقتها بطفرات *hrp* ، مقارنة مع سلالات النوع الأصلي شديد القوة المرضية وغير الشديدة . إن طفرات البكتيريا *hrp* تتضاعف في أنسجة النبات إلى مستويات تصل مستويات النوع الأصلي أو أقل منه قليلاً وأحياناً تزيد . نظراً لأن طفرات *hrp* تنمو طبيعياً في المعمل ، فمن الممكن

أن هناك عوامل متعلقة بالعائل تقيد نموها . لقد وجد كل من Lindgren و Jakobck سنة ١٩٩٣ أن طفرات *hrp* تحث على نسخ للجينات المترافقة مع الدفاعات الفعالة وتجمع الفايكسالكسنز . هناك عدة نسخ لجين جديد قد لوحظت خلال ساعة واحدة من الحقن . وبالتالي فإن واحداً من السيناريوهات الذى يمكن أن يحسب في تثبيط المرض يكون عبارة عن تخليق سريع للدفاعات التى من الممكن أن تخفض أو توقف نمو البكتيريا فى الـ *in planta* . هذه الدفاعات المستحثة ، يمكن أن تمنع البكتيريا من الوصول إلى التجمعات الحرجة المطلوبة لتسبب نكروزز ، أو يمكن بطريقة ما أن تثبط انتاج العوامل المطلوبة بواسطة البكتيريا لبدء موت الخلية .

الفيروسات

الدراسات الكلاسيكية التى أجريت بواسطة Ross سنة ١٩٦١ ، ذكرت أن الحقن الموضعي لنباتات الدخان ذات الجين N بفيرس موزايك الدخان ، تؤدي إلى زيادة فى المقاومة الجهازية والتى يعبر عنها بواسطة خفض فى كل من حجم وعدد البقع المتحللة . هذا يؤدي إلى القول بأن حالة المقاومة المستحثة تخفض تضاعف و/أو إنتشار الفيرس . مع أنه قد تم الافتراض بأن المقاومة المستحثة الملاحظة للفيروسات مثل البكتيريا ، تكون راجعة إلى تخفيض شدة أعراض النكروتك . أثبتت الدراسات الحديثة أن الدفاعات الزائدة ، هى التى تعمل عن طريق ، تثبيط شدة الاصابة .

يبدو أن المقاومة المستحثة ضد الأمراض فى الدخان (ضد فيرس موزايك الدخان) ، أيضاً تكون نتيجة للتأثير على الفيرس . لقد ذكر Mur et al سنة ١٩٩٧ أن نباتات الدخان المحولة وراثياً ، والتى تظهر Salicylate hydroxylase لوقف تجمع حمض السلسليك ، تؤدي إلى الانتشار الكبير لفيرس TMV فى نباتات الدخان ذات الجين N ، حتى النكروتك فينوتايب يستمر التعبير عنه . يمكن تفسير هذه النتيجة ، جزئياً عن طريق المعلومات التى تدل على أن حمض السلسليك يخلق ميكانيكيات تتدخل فى التأثير على تضاعف الفيرس TMV ، فى كل من نباتات الدخان الجينوتايب ذات الجين N (ذات المقاومة للحساسية الفائقة) والنباتات ذات الجين (nn) القابلة للاصابة . إن الحقيقة التى تقول بأن حمض السلسليك يتأثر بتضاعف الفيرس ، قد لوحظت فى نباتات الدخان القابلة للاصابة ، هذا يدعم بقوة دور المقاومة الناتجة بواسطة Salicylate العاملة عن طريق التأثير على تكشف

تضاعف الفيروس وليس على تكشف الأعراض . فى دراسات لاحقة أخرى ، وجد أن المقاومة الناتجة بواسطة حمض السلسليك فى الدخان لفيروس PVY و CMV ، بأنها متعلقة بتثبيط التضاعف والحركة الفيروسية .

إن معاملة نبات الارابويسز بالمادة الحائثة المصنعة CGA - 245704 ، يؤدي إلى مقاومة فيروس التواء اللفت (TCV) Turnip crinkle virus . تتحدد هذه المقاومة عن طريق النقص فى أعراض التكروتك . يبدو أن النقص فى الأعراض ، يكون راجعاً إلى تثبيط التضاعف الفيروسي لأنه لا يمكن اكتشاف RNA فيروسي فى النبات .

وبالتالى ، فإنه على الأقل ، بالنسبة للمقاومة المستحثة المعتمدة على السلسلات (SAR) ، فإن الفينوتايپ المقاوم الملاحظ ، يمكن أن يوضح بواسطة ، إما التأثير على التضاعف الفيروسي أو الحركة الفيروسية . إن كلتا الطريقتين يمكن أن تؤدي إلى تقليل المرض ، وعلى أية حال ، فإن الميكائزيم البيوكيماوى الداخلى فى توقيف التضاعف الفيروسي أو الحركة الفيروسية لغاية الآن (سنة ٢٠٠٠) تحتاج إلى شرح وتوضيح .

سرعة استجابة النبات للمواد الحائثة

يدل ملخص الابحاث التى أجريت فى هذا المجال ، أن النباتات التى تظهر المقاومة المستحثة ، تستجيب عن طريق بعض أنواع التفاعلات البيوكيميائية التى تحدث فى النبات العائل ، والتى يكون نتيجتها توقف أو تثبيط تكشف الكائنات المرضية . بالنسبة للفطريات ، تظهر المقاومة ضدها على شكل ترسبات فى الحواجز التركيبية للخلايا ، تحدث بكل عام كاستجابة للاصابة . هذا التركيب فى الحواجز لا يظهر بشكل واضح فى الاصابات البكتيرية أو الفيروسية . تحدث هذه الاستجابة بسرعة خلال ٢٤ ساعة . ولكن كيف تكون النباتات قادرة على الاستجابة السريعة للاصابة ؟؟ هذا لا يزال قيد البحث .

هناك تفسيرات كثيرة لسرعة استجابة النبات للمواد الحائثة أو الاصابات المرضية منها :

١ - إن منتجات جين R فى النبات تكون ضرورية للتعرف على منتجات جينات الكائن الممرض غير شديدة المرضية ، وهذا التعرف يؤدي إلى تفاعلات الدفاع سواء فى المقاومة المستحثة أو المكتسبة .

٢ - إن البروتينات المتعلقة بالمرضية PRs ، تعمل على اطلاق منبهات غير متخصصة من جدر الخلية ، هذه المنبهات سريعاً ما تحدث دفاعات ضد الاصابات الفطرية أو البكتيرية ،

تظهر هذه الدفاعات على شكل تكوين فينولات أو إفراز أنزيمات سريعاً ما تؤثر على الكائن الممرض . ولقد وجد أن هذه البروتينات يمكن أن تثبط التكشف الفطرى أو البكتيرى بشكل أكبر وأسرع منه فى حالة استعمال بعض المبيدات الفطرية .

٣ - إن الكائنات الممرضة التى تهاجم النبات (التى يحدث لها تثبيط) يمكن أن تطلق مثيرات تشبه وسائل الدفاع فى النبات ، سواء عن طريق الجينات أو الطرق الفسيولوجية . لوحظ هذا النوع من الاستجابة فى فول الصويا ، حيث أن المعاملة المسبقة بمادة *Phytophthora megasperma* تقمى فول الصويا ضد الاصابة بالفطر *metalaxyl glycollin* var. *sojae* وأن جزءاً من هذه الوقاية يكون مترافقاً مع الانتاج السريع لـ *glycollin* فى منطقة الاصابة (من المحتمل أن يكون هذا راجعاً إلى اطلاق مثيرات من الكائن الممرض المضعف بمادة *metalaxyl*) .

٤ - يمكن لأنسجة النبات أن تتكيف بحيث تستجيب سريعاً جداً للاصابة . وجد أن نباتات الخيار المعبرة عن SAR يحدث فيها لجنة لجدر الخلايا بسرعة أكثر كاستجابة للتجريح، وأن هذه الزيادة فى اللجنة يمكن أن تكون منبهه مسبقاً بواسطة التجريح ، أو الجروح المخلفة بواسطة الاختراق الفطرى . هذه الزيادة فى القدرة على اللجنة يمكن أيضاً أن تساعد فى توضيح النقص فى الاصابة الفيروسية بعد الحقن الميكانيكى (تجريح) بالفيروسات .

٥ - تنعكس سرعة استجابة النبات على سرعة ترسب الكالوس . وقد ذكر بأن هذه الحالة تكون مترافقة مع مقاومة المرض المستحثة فى الخيار ، وأن النباتات المظهرة أو المعبرة عن SAR ، تمتلك مستويات عالية من β - 1,3 - glucan synthase والذى من الممكن أن يشارك فى البناء السريع للكالوس فى مناطق الاصابة .

٦ - سرعة انتاج المركب *Hydrogen peroxidase* . لقد وجد أن نباتات الخيار المعاملة بحمض السلسليك أو منشطات الوقاية التى تشبه حمض السلسليك ، تستجيب بسرعة للاصابة عن طريق انتاج هيدروجين بيروكسيديز . إن مصدر هذا المركب غير معروف ، ولكن فى تجارب كثيرة وجد أن *apoplatic peroxidases* يمكن أن يكون داخلياً فى المقاومة الجهازية المستحثة أو فى انتاج *Hydrogen peroxid* .