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 الممرضة المثال الكلاسيكى الذى درس جيداً ، هو المقاومة المستحثة للمرض حيوياً Biologically-induced disease Resistance والتى تتصف بأنها تنشط بعد الإصابة بكائن ممرض ، يسبب نكروزز ، وتقوم بالأداء عن بعد وتحدث مقاومة فى أجزاء النبات غير المصابة ، ضد مجال واسع من الكائنات الممرضة 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 البكترى *nahG* والتى 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 الممر 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 lysates 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 وفى الصوبات الزجاجية الإنتاجية ، هذه الظاهرة يمكن أن تكون نتيجة التنافس على الغذاء أو المنافسة بواسطة السايدروفور على الحديد أو التضاد الحيوى . بعض هذه السلالات ذات القدرة على المقاومة الحيوية ، يكون عندها القدرة أيضاً ، على خفض شدة المرض عن طريق ميكانزم يتوسط فيه النبات ، والذى فى شكله الظاهرى 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 Rhizobacteria - medi - (ISR) ated Induced Systemic Resistance .

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

المقاومة الجهازية المستحثة فى الارابدوبسز :

لقد استعمل نبات الأرابدوبسز 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 الجازية 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 الأرابدوبسز بهذه السلالة يقى النباتات ضد أنواع مختلفة من الكائنات المرضة من ضمنها البكتيريا المرضة للأوراق *P.syringae* pv. *tomato* DC 3000 (تكتب باختصار Pst DC 3000) وبكتيريا *Xanthomonas campestris* pv. *amoracia* ، والفطر المرض لجذور الفجل *Fusarium oxysporum* f. sp. *raphani* وكذلك الفطر الذى يصيب الأوراق *Peronospora para-sitica* . تكون المقاومة ضد هذه الكائنات المرضة ظاهرة بشكل نموذجى ، حيث أنها تسبب خفض أعراض المرض وتثبط نمو الكائن المرض . نظراً لأن الرايزوبكتيريا تبقى موضعية على الجذور ، وبالتالى 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 : التنبيه Triggering

١ – المشجعات المختلفة للمقاومة الجهازية المستحثة

تعتمد إثارة الـ ISR على اتحادات العائل / الرايزوبكتيريم . مثال على ذلك السلالة البكتيرية *P.putida* WCS 358r والسلالة *P.fluorescens* WCS 374r ، تسلك سلوكاً مختلفاً على أنواع النباتات المختلفة . فمثلاً نبات الأرابدوبسز 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 الأرابدوبسز لا يكون كذلك .

يحدث أيضاً تخليق مختلف للمقاومة ISR بين الأنواع المختلفة ظاهرياً من الأرابدوبسز 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 الحاثة 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 الأرابدوبسز للمقامتين ISR ، SAR .

Genotype	Phenotype	ISR	SAR
Ecotypes			
Columbia	Wild-type	+	+
landsberg *erecta*	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		+	+
Mutnts/transgenics[2]			
SA related			
NahG	SA deficient	+	-
sid1-1	SA deficient	+	-
sid2-1	SA deficient	+	-
npr1-1	SA deficient; non-expressor of PR genes	-	-
cpr1-1	SA overproducer; constitutive expressor of PR genes	++	+
JA related			
jar1-1	Affected in JA response	-	+
S-12	*Lox2* co-suppressor; no induced JA levels	+	+
Ethylene related			
etr1-1	Ethylene insensitive	-	+
ein2-1	Ethylene insensitive	-	+
ein3-1	Ethylene insensitive	-	+
ein4-1	Ethylene insensitive	-	+
ein5-1	Ethylene insensitive	-	+
ein6-1	Ethylene insensitive	-	+
ein7-1	Ethylene insensitive	-	+
eir1-1	Ethylene insensitive in the roots only	- / +	+

٢ – المحددات البكتيرية الداخلة فى إثارة المقاومة الجهازية المستحثة فى الأرابدوبسز

فى الدراسات التى أجريت على الفجل ، تبين أن التحضيرات النقية من الـ Lipopol-ysaccharides ويكتب LPS ، وتحضيرات جدار الخلية ، المحتوى LPS من السلالة WCS 417r ، تكون فعالة فى تخليق المقاومة الجهازية المستحثة ، كما فى حالة البكتيريا المذكورة عندما تكون حية . إن الطفرة الحاصلة من هذه السلالة والتى تسمى WCS 417r $\overline{OA}$ أو B4 والتى 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 رئيسى فى تخليق المقاومة الجهازية المستحثة فى الفجل ، بطريقة مماثلة فى الأرابدوبسز ، 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 احداث 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 جزئى فقط فى إثارة المقاومة الجهازية المستحثة فى الأرابدوبسز، وأن المركبات البكتيرية الأخرى تكون داخلة أيضاً.

بالنسبة للمقاومة الجهازية المستحثة فى الفجل ، والتى تنبه بواسطة السلالة WCS 417r، فإن المحددات الإضافية قد افترضت بأنها الحديد المنظم ، نظراً لأنه تحت الظروف التى يكون فيها الحديد متوفراً بشكل منخفض، فإن الـ LPS للطفرة يقوم بحث المقاومة الجهازية المستحثة . إما بالنسبة للسلالة *P.putida* WCS 358r 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 النقى أو معقد هذا السايدروفور مع الحديد الثلاثى ، لا يخلق مقاومة جهازية ضد بكتيريا *P.syringae pv. tomato* DC 3000 . وعلى أية حال فإن الطفرة التى ينقصها البناء الحيوى لهذا السايدروفور، تكون غير فعالة فى تخليق مقاومة كما فى سلالة النوع الأصلى .

بالإضافة لذلك فإن هناك طفرتين من السلالة WCS 358r كلاهما يفتقر إلى O - antigenic side chain of the LPS ، وتفتقر أيضاً إلى البناء الحيوى للسايدروفور المذكور سابقاً ، تكون فى فعاليتها مشابهة للسلالة الأبوية فى تخليق المقاومة . لقد درس تأثير الأسواط (الأهداب) ومدى دخولها فى 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 الأرابدوبسز هى طريقة معقدة ، ويمكن أن يدخل فيها عديداً من الصفات البكتيرية .

II : التأشير Signalling

١ – الممر الإشارى الجديد الذى ينظم المقاومة الجهازية المستحثة فى الأرابدوبسز

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 الأرابدوبسز ، 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 بوساطة WCS 417r ، هذا يدل ثانية على أن ISR الناتجة بوساطة هذه السلالة تكون مستقلة عن حمض السلسليك .

عند دراسة الطفرة التى تستجيب لحمض الجسمنك *jar1-1* والتى تستجيب للإثيلين etr1-1 وطفرة تنظيم المقاومة الجهازية المكتسبة *npr1-1* ، تبين أن النقل الإشارى يؤدى 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 جسمونات MeJA والإثيلين تكون بادئ لـ 1-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

jar1-1 ، *etr-1* و npr1-1 ، بينما الوقاية المستحثة بواسطة ACC كانت مؤثرة فى نباتات ذات الطفرة *etr-1* و *npr1-1* ولم تؤثر فى نباتات الطفرة *jar1-1* . لهذا افترض بأن ISR الناتجة بوساطة WCS 417r تتبع ممر اشارى جديد الذى فيه مكونات من الجسمنك 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 في ذلك على الممر الذى ينشط قبل بدء النسخ .

بالإضافة إلى WCS 417r فإن السلالة WCS 358r ، تبين بأنها تحث على تكوين ممر ISR مستقل عن حمض السلسليك فى الأرابدوبسز . زيادة على ذلك فإن السلالة المستعملة فى المقاومة الحيوية *Serratia marcescens* 90-166 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* والمحسنة وراثياً والسلالة المنتجة حمض السلسليك بكمية كبيرة P_3 *P. fluorescens* 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 الأرابدوبسز Co-lumbia ، NahG ، *jar1-1* ، *etr1-1* ، *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 والحاثة على تخليق مقاومة جهازية مستحثة . زيادة على ذلك فإن تشرب الثلاثة أوراق السفلية من كل نبات بنفس السلالة البكتيرية السابقة أو السلالة WCS 358r تؤدى 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 المخلقة مقاومة جهازية مستحثة تنبه نفس الممر 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 الأرابدوبسز الموصوفة جيداً والتى تأثرت على مراحل مختلفة فى الممر 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 الممر الإشارى للاثيلين ، السليم يكون مطلوباً للتعبير عن المقاومة الجهازية المستحثة . بينت الدراسة المهتمة بالفطرات أن الطفرة eir1-1 والتى تكون غير حساسة للاثيلين فى الجذور فقط كانت قادرة على أن تحث مقاومة جهازية مستحثة عندما شُرِّبَت 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 . وبالتالى لقد افترض بأن تأشير الاثيلين يكون مطلوباً فى مناطق اضافة المادة الحاثة . هذا يؤدى 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 فى ممرات مقاومة المرض المستحثة . يمكن أن يعمل حمض الجسمنك والاثيلين بانسجام فى تشجيع استجابات الدفاع ، بينما حمض السلسليك يمكن أن يثبط الاستجابات المعتمدة على حمض الجسمنك . جرياً مع حقيقة أن المقاومتين المكتسبة والمستحثة ، تتشارك فى 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 . يؤدى التنشيط المتزامن لكلا الممرين إلى تأثير تجمعى على مستويات الوقاية المستحثة ضد الكائن الممرض Pst DC 3000 فى الجينوتايبس للأرابدوبسز 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 لكلتا المقاومتين ISR و SAR مقارنة مع النباتات المعبرة للمقاومة SAR لوحدها . هذا يدل على أن ممر SAR و ISR تكون متوافقة وبالتالى لا يكون هناك تداخل معنوى بين ممرات هذه التأشيرات . 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 يؤدى إلى القول بأن زيادة مستويات المقاومة قد تأسست من خلال التنشيط المتوازى المكمل لاستجابات الدفاع المعتمدة على NPR1 .

III : التعبيـر

١ – البحث عن جينات متعلقة بالمقاومة الجهازية المستحثة

تتصف حالة المقاومة الجهازية المكتسبة ، المستحثة بواسطة الكائن الممرض 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 البروتين . وعلى أية حال ، مع أن بعض البروتينات المتعلقة بالمرضية تمتلك صفة النشاط ضد الميكروبات ، هذه الصفة جعلت هناك علاقة بين

تجمع البروتينات المتعلقة بالمرضية والمجال الواسع للمقاومة التى تتميز به المقاومة الجهازية المكتسبة إلا أنه لم يكن هناك إثباتاً مقنعاً . من بين الجينات المتعلقة بالدفاع المختبرة فى الأرابدوبسز (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 *pal1*) لم يتبين أن أى منها منظم فى تعبير النباتات للمقاومة الجهازية المستحثة . زيادة على ذلك ، لا الفصل المميز القياسى لـ cDNA مجموعة WCS 417r الحاثة للنباتات ، ولا طريقة 2D-gel لتحليل البروتينيات من النباتات المستحثة وغير المستحثة أنتجت اختلافات معنوية ، وبالتالى فإنه يعكس ماهو فى SAR ، فإن بداية ISR تكون مترافقة مع تغيرات كبيرة فى جين التعبير . بالرغم من ذلك ، فإن النباتات المعبرة للمقاومة ISR ، تكون بوضوح أكثر مقاومة لأنواع مختلفة من الكائنات الممرضة . وبالتالى فإنه من المفروض أن تمتلك النباتات حتى الآن منتجات جين متعلق بالدفاع غير مكتشف والتى تشارك فى مقاومة مدى واسع من الأمراض .

فى دراسات أخرى ، وجد أنه لكى نبحث عن جينات متعلقة بالمقاومة ISR ، فصلت مجموعة كبيرة من خطوط lines نباتات الأرابدوبسز محتوية Enhancer - trap Ds trans-poson and B-glucuronidase (GUS) reporter gene . 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 فى الجين المستحث بالاثيلين والذى ينظم فى الجذور بعد استعمارها بواسطة السلالة WCS 417r . هناك عديداً من الجينات مرشحة فى الـ Vicinity لـ Enhancer trap *DS* trans-poson . إن الأبحاث الجارية فى تعريف الجين المفترض بأنه متعلق بالمقاومة الجهازية المستحثة والذى يكون مسئولاً عن تعبير GUS ، في تقدم ، ويمكن أن تزودنا بتفهم أكثر لميكانزم 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 الأرابدوبسز وأجرى عليها فصل لمعرفة كفاءتها فى التعبير عن ISR و SAR ضد Pst DC 3000 (المذكور سابقا) ، جميع الأيكوتايب المختبرة تكشفت 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 مترافقاً معه ، مستوى عال من القابلية للاصابة بالكائن الممرض Pst DC 3000 المذكور سابقاً ، والذى 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 (كولمبيا) 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 Cleard 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 والتى تتأثر فى استجابتها لحمض الجسمنك والاثيلن بالترتيب أظهرت الفينوتايب نفسه كما فى الأيكوتايس RLD و WWJ فى ذلك ، كان كلاهما غير قادر لتوضيح المقاومة الجهازية المستحثة الناتجة بوساطة WCS 417r وأظهرت زيادة القابلية للاصابة بالكائن الممرض Pst DC 3000 .

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

٣ – انتاج الجسمنك أسد والاثيلين أثناء تكوين ISR

إن زيادة الانتاج من الجسمنك أسد والاثيلين ، هى علاقة مبكرة للدفاع النشيط فى النباتات المصابة . كلتا الجزيئات المؤشرة تتناسق أو ترتبط مع تنشيط مجموعة كبيرة من استجابات الدفاع ، وعندما تضاف خارجياً تستطيع أن تستحث المقاومة بنفسها . فى الأرابدوبسز 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 و/أو الجسمنك أسد (مثل *Lox-1* ، *Lox-2* ، *Atvsp* ، *Pdf1-2* ، *Hel* ، ChiB ، Pal-1) فى نباتات الأرابدوبسز المعبرة للمقاومة الجهازية المستحثة الناتجة من وساطة WCS 417r ، تبين أنه ولا أى واحد من الجينات المختبرة دخلت فى تنظيم المقاومة فى النباتات المستحثة ، لا موضعياً فى الجذور ولا جهازياً فى الأوراق . هذا أدى إلى الاقتراح بأن المقاومة الجهازية المستحثة الناتجة من وساطة WCS 417r فى الارابدوبسز لم تكن مترافقة مع تغيرات كبيرة فى 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 فى إنتاج هذه الجزيئات الاشارية . باستعمال الـ Lox-2 المشترك فى التثبيط للخط المحول وراثياً S-12 ، ولقد تأكد أن الزيادة فى إنتاج حمض الجسمنك ، لا يكون مطلوباً فى التخليق أو تعبير المقاومة الجهازية المستحثة . النباتات المحولة وراثياً S-12 والتى تأثرت فى الانتاج 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 ، تؤدى إلى القول بأن تبعية الجسمنك أسد والاثيلين للمقاومة الجهازية المستحثة يكون مبنياً على زيادة الحساسية لهذه الهرمونات إذا قورنت مع الزيادة فى انتاجها .

٤ – فعالية الجينات المستجيبة لحمض الجسمنك فى النبات هى استجابة لـ ISR

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

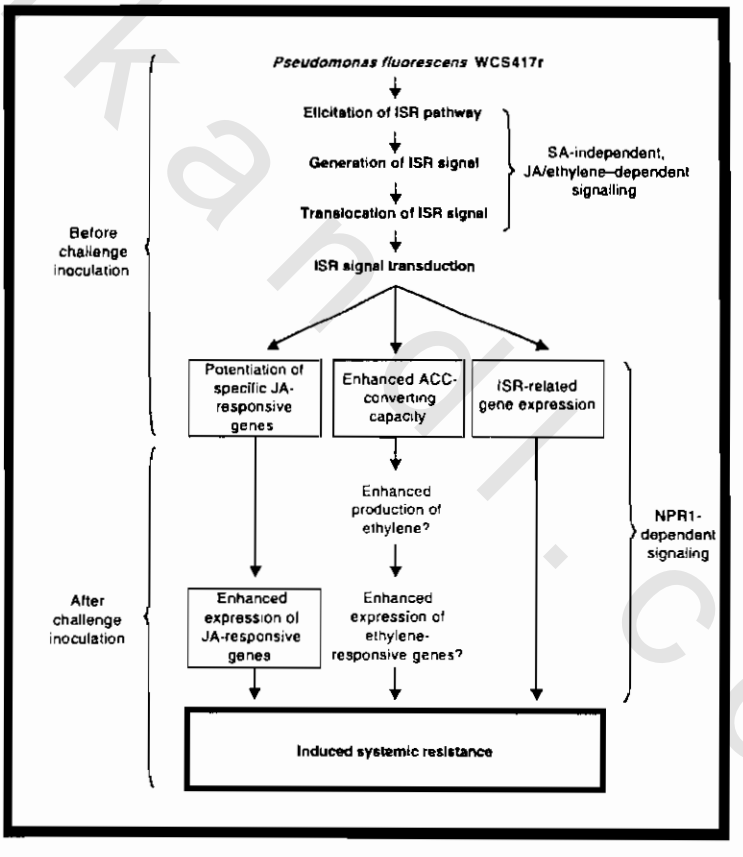
والجينات المستجيبة للاثيلين هى *Hel* و *ChiB* والجينات المستحثة بحمض السلسليك PR-2 ، PR-1 و PR-5 ، قد حللت بعد حقن نباتات الكنترول والنباتات المعبرة عن ISR و SAR . تبين أن الاصابة بالكائن الممرض Pst DC 3000 (المذكور سابقاً) استحث التعبير فى جميع الجينات المختبرة . فى النباتات المحقونة بالكائن الممرض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

٥ – ISR تكون مترافقة مع زيادة الكفاءة لقلب ACC إلى الاثيلين

فى النباتات الراقية، ينتج الاثيلين 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 → ACC → ethylene . الخطوتين الأخيرتين لهذا البناء الحيوى للممر يدخل فيها أنزيمات مساعدة هى ACC ox-ydases , ACC synthase بالترتيب . تؤدى اصابة الكائن الممرض إلى ظهور أعراض الإصفرار أو التحلل مسببة زيادة فى انتاج الاثيلين بأنزيم ACC synthase و ACC oxi-dase ، ويبدو أن نشاط هذين الأنزيمين يزداد تعاقبياً . يكون إنقلاب SAM تحت الظروف الطبيعية إلى ACC هى الخطوة المحددة لهذا المعدل ، وعلى أية حال ، فإنه خلال الاصابة ، فإن تجمعات ACC تكون مؤقتة وعابرة . هذا يدل على أن كفاءة ACC oxidase هى المقيدة لانتاج الاثيلين . ذكر فى الأبحاث القديمة أن كفاءة إنقلاب ACC إلى الاثيلين يزداد بانتظام فى نباتات الدخان المعبرة للمقاومة SAR مزوداً كفاءة أكبر لانتاج الاثيلين بعد الحقن بالكائن الممرض .

يكون انتاج الاثيلين فى نبات الارابدوبسز ، فى 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) فى انتاج الاثيلين من تلك النباتات فى الكنترول المعالة بمركب ACC بصرف

النظر عن فيما إذا كانت ISR قد استحثت بواسطة معاملة الجذور بالسلالة WCS 417r أو راشح الورقة . يختلف مقدار الزيادة فى كفاءة إنقلاب ACC من ٢٠ ٪ – ٥٠ ٪ حسب التجارب ، ويكون مشابهاً لذاك المشاهد فى النباتات المعبرة عن SAR . يبدو واضحاً أن الكفاءة فى قلب ACC إلى اثيلين يزداد فى نباتات الأرابدوبسز 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 الارابدوبسز ، 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 ابتداءاً من السلالة WCS 417r .

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

للبحث فى دور الاثيلين فى تعبير المقاومة ISR ، فإن الطفرة ذات الجين *etr-1* من نبات الارابدوبسز غير الحساسة للاثيلين قد أجرى 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 الأصلى 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 الأرابدوبسز يستحث مقاومة ضد الكائن الممرض البكتيرى *P.syringae* pv. *tomato* إلى نفس المستوى كما فى السلالات الرايزوبكتيرية ، ليس فى النوع الأصلى فقط ، ولكن أيضاً فى سلالات الارابدوبسز 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 كاشارة فى عديد من استجابات الدفاع النباتية . إن طفرة نبات الارابدوبسز ذات الجين *jar1* التى تستجيب لحمض الجسمنك ، تظهر مستويات النوع الأصلى من المقاومة الجهازية المكتسبة SAR المستحثة بواسطة الكائن المرض، 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 الجبين *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 ، وبالتالى فإن إضافة حمض الجسمنك

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

فى الاختبارات التى أجريت على نبات الارابدوبسز ، وجد أن معاملة بادرات هذا النبات بالرايزوبكتيريا الحائة ، قبل الحقن بالكائن الممرض ، بمدة بضعة أيام إلى بضعة أسابيع يؤدى إلى تخليق ISR بالرغم من الفصل المكانى والزمانى بين الرايزوبكتيريا والكائن الممرض المحقون. زيادة على ذلك فإن ISA فى الارابدوبسز 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 مستحثاً . 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 *jra1* ، *etr1* ، *npr1* ، تستبعد امكانية أن المضادات الحيوية المنتجة بواسطة الرايزوبكتيريا يمكن أن تكون مسئولة عن ، أو مشاركة فى ، المقاومة ISR ، وبالتالى فإن ISR فى الأرابدوبسز تشابه في عديد من صفاتها تلك الصفات التى فى SAR .

على فرض أن الجسمنك أسد والاثيلين مواد تأشيرية في المقاومة ISR ، فإن حمض السلسليك ليس كذلك ، وبالتالى فإن تأشير الممر الذى ينبه بواسطة هذه البكتيريا الحائة على المقاومة فى الأرابدوبسز 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 تأشير حمض السلسليك ومترافقة 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 تأشير 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 الارابدوبسز ، 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 الحائة 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 عال من الوقاية ، يكون أكبر منه فى حالة استعمال كل واحدة منهن بمفردها . كما هو معروف فإن SAR تكون مترافقة مع تجمع البروتينات المتعلقة بالمرضية 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 الحائة على ISR تكون متواجدة طبيعياً فى منطقة الرايزوسفير فى النبات ، وهى 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 ، وفى كثير من الحالات فإن كبح شدة المرض تعزى إلى المقاومة ISR . وجد فى احدى التجارب ، أنه فى أربعة سنوات متتالية ، فإن معالة البذور بالسلالة البكتيرية الحائة على المقاومة وهى *P. fluorescens* strain WCS 374 ، تخفض مرض ذبول الفيوزاريوم فى الفجل المزروع فى الصوبا الزجاجية الملوثة تربتها طبيعياً بالكائن الممرض بنسبة تصل إلى ٥٠ *l* . 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 ميكانزم مسئول 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 والانثراكنوز 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 الحائة على ISR يمكن أن تقوم بعملين هما تشجيع نمو النبات وخفض شدة حدوث المرض تحت الظروف الحقلية.

يعتمد تخليق المقاومة ، على استعمار النظام الجذرى فى النبات ، بواسطة الرايزوبكتيريا المخلقة أو الحاثة 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 لتعطى بكتيريا PGPR فوائد المنافسة ضد مكروفلورا التربة الطبيعية ، يجب أن تبقى سلالات PGPR مترافقة مع جذور النبات لكى تبقى حية ولكى تعطى مفعولها . إن أقل تركيز من هذه البكتيريا يجب أن يستعمل للحصول على ISR هو $١٠^{١٠}$ وحدة تكوين مستعمرات/مل . مع أن التجمعات البكتيرية الكلية فى منطقة الرايزوسفير يمكن أن يزيد عن هذا المستوى بكثير ، إلا أن التنوع البكتيرى 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 فى تخليق مقاومة ISR ، نظراً لأن كثير من خلايا النبات تبدو وكأنها متصلة مع البكتيريا مستعمرة الجذور أكثر من البكتيريا PGPR المتواجدة فى منطقة الرايزوسفير . مع أن السلالة WCS 417 تسلك وكأنها Endophytes فى الطماطم ، إلا أن الطفرة التى تتميز ($\overline{OA}$) تستعمر أنسجة الجذر الداخلية بصورة أقل كفاءة . وعلى أية حال فإن يعكس المقاومة الحيوية الناتجة عن طريق التضاد البكتيرى ، فإن مساندة وتأييد كبح شدة المرض ، يمكن أن يكون فعالاً حتى لو كانت تجمعات البكتيريا تنخفض مع تقدم الزمن . إذا ما حدث وأن تنشط ميكانزم المقاومة ISR طبيعياً فى العائل فإنه يحتفظ به ويؤكده بزيادة كفاءة الدفاع لمدد طويلة ويكون فعال ضد كائنات ممرضة متنوعة . يمكن للمقاومة ISR أن تكون فعالة وتنتقل حتى فى الأجيال الناتجة عن مزارع الأنسجة من النباتات المستحثة .

لكى نقلل من الاعتماد على وقاية المحاصيل كيماوياً ، لمقاومة الأمراض ، فإن العوامل الحيوية قد حصلت على اهتمام كبير فى هذا المجال . لذلك يمكن القول بأن PGPR قدمت بديلاً جذاباً فى 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 فى مقاومة المرض .

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

ثانياً: قابلية التوريث فى ISR

مقدمة :

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

أما بالنسبة للمقاومة الجهازية المستحثة ISR ، فقد عرفت منذ إكتشاف كفاءة الرايزوبكتيريا فى خلق مقاومة جهازية فى النبات فى أوائل التسعينيات . لقد ذكرت هذه المقاومة فى أنواع مختلفة من النباتات ، ضد مجال واسع من الكائنات الممرضة . إن الميكانيكيات التى 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 الأخر يشجع ممر مستقل عن حمض السلسليك .

لقد وجد أن نبات الارابدوبسز *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 WCS *Pseudomonas fluorescens* 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) والاثيلين .

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

SAR الناتجة عن الكائن الممرض ، فإن استجابة كلتا المقاومتين ، تتوقف فى 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 عل الممر الذى 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 يؤدى إلى زيادة مستوى المقاومة ضد (Pst) (سبق ذكره بالتفصيل) ، هذا ما وجده Van Wees *et al* سنة ٢٠٠٠ . هذا يدل على أن تأشيرات 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 الأرابدوبسز والذى يكتب *(Col)* وكذلك Landsberg erecta الذى يكتب *(Ler)* ، تكون حساسة لتخليق مقاومة ISR بواسطة السلالة المذكورة ، بينما الأكتوتايب RLD لم يكن كذلك . وجد فى القرنفل ، أن هناك أيضاً تخصص فى الأصناف المزروعة ، بغض النظر عن التعبير للمقاومة ISR الناتجة بواسطة نفس السلالة . إن المقاومة ISRالمخلقة بواسطة السلالة WCS 417r ضد ذبول الفيوزاريوم المتسبب عن الفطر *F. ox.* f.sp. *dianthi* فى القرنفل ، كان واضح التعبير فى الصنف توسط المقاومة Pallas ، ولكن أقل قوة وثبات فى الصنف القابل للاصابة Lena . هذا يؤدى إلى القول بأن مستوى المقاومة الأساسية يستطيع أن يؤثر فى المدى الذى تعبر فيه ISR الناتجة بواسطة WCS 417r . مثل هذه الملاحظات تناسب الفرضيات التى تقول بأن المقاومة المستحثة تشارك فى زيادة وجود الميكانيكيات الدفاعية . وعلى أية حال هناك مواقع عديدة ذكرت ، والتى فيها علاقة واضحة بين كفاءة تعبير المقاومة ISR الناتجة من وساطة الرايزوبكتيريا ومستوى المقاومة الأساسية ضد الكائن الممرض المتحدى . مثلاً فى 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 عل 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 فى الارابدوبسز . هناك دراسات وراثية اعتمدت على الاختلافات الطبيعية فى قابلية الحث للمقاومة ISR بين الأيكوتايبس كانت نتائجها مقنعة . من بين عشرة ايكوتايب 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 الحاثة ISR ، وبسبب أن كلا الأيكوتايب يسمح بمستويات من استعمار الجذر مساوية لتلك الايكوتايبس الحاثة 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 النكروتك الكبيرة أو البقع المائية ، محاطة بأفراز واضح كثيراً ، بينما الممرض على نباتات Col كانت أكثر حصراً وتقييداً وتخفض 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 الأيكوتايب الحاثة للمقاومة ISR (جدول رقم ٤٣) . يبدو بوضوح أن RLD و Ws تفتقر إلى واحد أو أكثر من الميزات الوراثية والتى 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 الممرض، والمقاومة الأساسية ضد Pst فى ايكوتايب مختلفة من الارابدوبسز.

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

ملاحظات على الجدول :

١ – المقاومة ISR استحثت عن طريق نقل البادرات ذات عمر أسبوعين إلى تربة محتوية البكتيريا WCS 417r بتركيز ٥ × $١٠^{٨}$ وحدة تكوين مستعمرات/غرام جذور .

٢ – المقاومة SAR استحثت عن طريق التشرب بالضغط بمعلق من الكائن الممرض غير شديد المرضية السلالة avrRpt2 من Pst بتركيز $١٠^{٨}$ وحدة تكوين مستعمرات/مل فى الورقتين السفليتين ، ويتم الحقن قبل الحقن بالكائن المتحدى بمدة أربعة أيام ، عندما تصبح النباتات بعمر خمسة أسابيع . كانت النباتات تحقن بالكائن المتحدى عن طريق غمر الأوراق فى معلق بكتيرى من Pst بتركيز ٢,٥ × $١٠^{٨}$ وحدة تكوين مستعمرات/مل . بعد ٣–٥ أيام تحسب الأعراض المرضية فى النبات .

٣ – كانت تحسب الوقاية المستحثة على أساس خفض فى النسبة المئوية 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 تحقن بالتشرب بالضغط بمعلق من السلالة الشديدة المرضية من Pst بتركيز ٥ × $١٠^{٦}$ وحدة تكوين مستعمرات/مل فى 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 الأساسية 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 حساسة 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 .

للدراسة 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 حقنت 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 الممرض 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 وساطة 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 .

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

ملاحظات على الجدول :

١ – كانت ISR تستحث عن طريق نقل بادرات ذات عمر أسبوعين إلى تربة ملوثة بالسلالة البكتيرية المذكورة فى أعلى الجدول بتركيز ٥ × $١٠^{٨}$ وحدة تكوين مستعمرات لكل غرام .

٢ – كانت تحقن النباتات ذات عمر خمسة أسابيع بالكائن الممرض عن طريق غمر الأوراق فى معلق بكتيرى من Pst بتركيز ٢,٥ × $١٠^{٨}$ وحدة تكوين مستعمرات/مل كانت تحسب أعراض المرض بعد ٣ أيام من الحقن .

٣ – الوقاية ISR ، تتمثل كخفض فى 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 تحقن بالضغط المشرب بمستخلص سلالة شديدة المرضية من Pst بتركيز ٥ × $١٠^{٦}$ وحدة تكوين مستعمرات/مل فى الأوراق ، مباشرة بعد الحقن التشربى وبعد ثلاثة أيام ، عدد البكتيريا من Pst لكل غرام من وزن الورقة الطازج قد حددت .

مدى تأثر 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 أباءها فى عدم استحداثها للمقاومة ISR ، حيث أنها فشلت فى تخليق ISR تحت تأثير السلالة WCS 417r وسمحت بمستويات عالية نسبياً من نمو Pst فى أوراقها مشابهاً لما يحدث فى أبوي كليهما (جدول رقم ٤٤) . وتدل هذه النتائج على أن RLD و Ws تكون غير قادرة على أن تكمل بعضها البعض فى المقدرة لتعبير عن ISR والمقاومة الأساسية ضد Pst مؤكداً أن كلا الأيكوتايب متأثراً بموقع ISR-1 .

موقع الـ ISR-1 لا يكون متدخلاً فى المقاومة الأساسية ضد Peronospore parasitica

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

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

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

ملاحظات على الجدول :

كان يحسب معدل المرض على أساس كثافة الجراثيم على كل ورقة . صفر = لا يوجد تجرثم . 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 وانهيار الورقة . كانت المقاومة الجهازية المستحثة تستحث عن طريق نقل البادرات ذات عمر أسبوعين إلى تربة ملوثة بالبكتيريا WCS 417r بتركيز ٥ × $١٠^{٨}$ وحدة تكوين مستعمرات/مل . تحقن النباتات بعد ٣ أسابيع بالكائن المتحدى عن طريق اضافة قطيرات تحتوى معلق جراثيم *P.parasitica* السلالة ACOq بتركيز ٥ × $١٠^{٥}$ جرثومة/مل على سطوح الأوراق ، بعد ١١ يوم من الحقن بالمتحدى ، تدرس أعراض المرض وتفصل الجراثيم وتعد .

الصفات الفسيولوجية للفينوتايب الذى يحمل ISR-1

من المعلومات المذكورة سابقاً يتبين أن موقع ISR-1 فى الارابدوبسز يتصف بالآتى :

١ – يتدخل فى المقاومة ISR ضد كائنات ممرضة مختلفة بالاضافة إلى المقاومة الأساسية المتخصصة ضد *Pst* ، بينما لا يتدخل فى المقاومة الأساسية ضد الكائن الممرض *P.parasitica* .

٢ – استجابة الطفرة etr1-1 للاثيلين واستجابة الطفرة jar1-1 للجسمنك أسد تظهر فينوتايب مشابه مثل الايكوتايب RLD و Ws ويكونا توقفا فى ISR الناتجة من وساطة السلالة WCS 417r ومؤثرة فى المقاومة الأساسية ضد Pst ، وغير متأثرة فى المقاومة الأساسية ضد *P.parasitica* . هذا التشابه فى صفات الفينوتايب يؤدى إلى القول بأن موقع ISR-1 يمكن أن يكون متدخلاً فى 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 فى الحساسية للاثيلين بالمقارنة مع Col (ISR-1 / ISR-1) كما قد حدد بواسطة الاستجابات الفسيولوجية وتعبيرات الجين المعتمد على الاثيلين . هذا يخفض الحساسية للاثيلين فى تجميع الانعزالات بالاليلات المتنحية فى موقع ISR-1 . هذا ما وجده Ton *et al* سنة ٢٠٠٠ .

٤ – اعتماداً على ما سبق ، إقترح بأن موقع ISR-1 يشفر إلى مكونات الممر المستجيب للاثيلين الذى يلعب دوراً فى استجابة المقاومة المعتمدة على الاثيلين ويكون مطلوب فى تعبير ISR الناتجة من وساطة الرايزوبكتيريا .

دراسة ISR فى نبات الارابدوبسز

١ – زيادة المقاومة المستحثة للمرض بواسطة التنشيط المتزامن لممرات الدفاع المعتمدة على الجسمونات والسلسيلات في الارابدوبسز Arabidopsis thaliana

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

فى الجينوتايب الخاصة بالارابدوبسز والتى تتعطل فيها إما SAR أو ISR ، هذا التأثير التجمعى 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 . تؤدى 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 . وبالتالى فإن الاتحاد بين SAR و ISR يزودنا بأداة فعالة فى تحسين مقاومة المرض .

٢ – المقاومة ISR فى الأرابدوبسز تتطلب حساسية للجسمونات والاثيلين 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 المرضة (الرايزوبكتيريا) . فى نبات الأرابدوبسز ، فإن المقاومة المخلقة 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 والاثيلين.

لدراسة الدور الذى يقوم به JA والاثيلين فى الممر الاشارى لـ ISR ، حددت مستويات هذه الجزيئات التأشيرية فى نبات الأرابدوبسز بعد تخليق ISR بواسطة الرايزوبكتيريا *P.fluorescens* WCS 417r ، ثم بعد ذلك تحقن بالكائن الممرض *P. syringae* pv. *tomato* DC 3000 . بعد معاملة الجذور بهذه السلالة البكتيرية الحائة 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 بوساطة 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-aminocyclopropane -1- carboxy- (ACC) late إلى الاثيلين تزداد بشكل معنوى مؤدية إلى زيادة عالية فى القدرة على انتاج الاثيلين بعد مهاجمة الكائن الممرض .

٣ – تتطلب ISR فى الأرابدوبسز تأشير يعتمد على الاثيلين فى موقع دخول البكتيريا الحائة 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 الأرابدوبسز من التى تستجيب للاثيلين ، وأظهرت أعراض طبيعية أساسية للاصابة

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

إن تخليق ISR بواسطة WCS 417r لم يكن مترافقاً مع زيادة انتاج الاثيلين فى الجذور أو الأوراق ، ولا فى الزيادة فى تعبير الجينات المشفرة لأنزيم البناء الحيوى للاثيلين ACC synthase و ACC oxidase . الطفرة التى تحمل *eir-1* مظهرة عدم الحساسية للاثيلين فى الجذور فقط ، لا تظهر تعبير ISR بعد اضافة WCS 417r إلى الجذور ولا تظهر سلوك ISR عندما حقنت البكتيريا الحائة تشرباً فى الأوراق . تؤدى هذه النتائج إلى القول بأنه لكى تتخلق ISR فإن الاستجابة للاثيلين تكون مطلوبة فى مواقع اضافة الرايزوبكتيريا الحائة على المقاومة ISR .

٤ – الممر الجديد الذى ينظم ISR فى الأرابدوبسز

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

بناء على ذلك يمكن الافتراض بأن ISR تتبع ممر اشارى جديد الذى فى مكوناته الاستجابات من الاثيلين والجسمونات تكون مرتبطة لتنبه تفاعل الدفاع الذى (مثل SAR) يكون منظماً بواسطة *NPR-1* . بهذا يمكن تقديم الدليل على أن العمليات التى 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 فى الارابدوبسز ينظم تعبير كلتا المقاومتين ، المقاومة ISR والمقاومة الأساسية ضد Pst .

لقد اختيرت عشرة أنواع من الأيكوتايب من نبات الأرابدوبسز فى الدراسة ، وذلك لكفاءتها فى التعبير عن ISR ، وكذلك في التعبير عن SAR ضد الكائن الممرض Pst . أظهرت جميع هذه الأنواع المقاومة SAR ، بينما أظهر ثمانية المقاومة ISR واثنان من العشرة (RLD و Ws) عدم استجابة ولم تتكشف فيهما ISR ، بعد معاملة الجذور بالبكتيريا غير الممرضة WCS 417r . النوع غير الحساس من الفينوتايب كان مترافقاً مع قابلية عالية للاصابة بالكائن الممرض Pst . أفراد الجيل الأول الناتجة من التلقيح بين RLD و Ws (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 WSC 417r . هذا يدل على أن الكفاءة فى التعبير أو إظهار ISR والمستوى العالى نسبياً من المقاومة الأساسية ضد Pst تكون صفة سائدة وراثية . تحليل أفراد الجيل الثانى 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 يؤدى إلى القول بأن ميكانيكيات المقاومة تكون محددة مونوجنك ومرتبطة وراثياً . تبين أنه لا السلالة المستجيبة لـ WCS 417r ولا المستوى العالى نسبياً من المقاومة الأساسية ضد Pst كانت متكاملة فى أفراد الجيل الأول من التلقيح بين RLD و Ws . هذا يدل على أن RLD و Ws كلاهما يتأثر بنفس الموقع ، هذا ضرورياً للتعبير وإظهار ISR والمقاومة الأساسية ضد Pst . هذا الموقع يشار إليه ISR-1 وقد وضع فى الخريطة الجينية بين العلامة B4 و GL1 على الكروموسوم III .

الملاحظات التى يمكن اكتشافها من العلاقة بين ISR والمقاومة الأساسية ضد Pst ، هى أن ISR الناتجة ضد Pst تتطلب وجود جين مفرد سائد والذى يقوم بدوره فى إظهار المقاومة الأساسية ضد الإصابة بالكائن الممرض Pst .

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

فى نبات الارابدوبسز ، 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 الممرض شديد المرضية (Pst) أو النباتات التى تظهر تعبير SAR المستحثة بواسطة إعادة الاصابة للأوراق السفلية بالكائن الممرض غير شديد المرضية Pst (avrRpt2) ، تظهر مستوى عال من التعبير لمعظم الجينات المتعلقة بالدفاع .

بعد الحقن بالكائن الممرض Pst فإن الجين PR المنسوخ يتجمع بمستوى عال فى النباتات المظهره 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 الممرض المحقون ، تؤدى 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 تؤدى المعاملة الموضعية للنباتات بالكائنات الممرضة ، سواء شديدة القدرة المرضية ، أو غير شديدة ، والتى 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 التى تهاجم هذه النباتات المعاملة . المقاومة المستحثة الناتجة عن المعاملة المسبقة ، بأى من العوامل المذكورة، تتميز بشكل عام بالخفض فى حجم وعدد البقع التى تتكشف بعد حقن النبات المستحث بالكائن الممرض 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 التى 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 الممرض الذى يسبب بقع متحللة (نكروزز) . البقعة الموضعية إما أن تكون نتيجة لاصابة ناجحة أو تفاعل فرط الحساسية Hypersinsitive (response) reaction (HR) . يكون ظهور المقاومة (التعبير) بشكل عام فعال ضد مدى واسع من الكائنات الممرضة ، وتكون مترافقة مع إنتاج بروتينات متعلقة بالمرضية Pathogensis Related proteins (PRs) ، ويمكن أن تكون ناتجة عن عمليات معتمدة على وساطة حمض السلسليك أو مركبات مصنعة مثل CGA-24574 (مشتقات البنزوثيادوزول ويشار إليها BTH) ومركب (2,6 - dichloroisonicotinic acid أو CGA-41396) إليها INA والتى 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

Obeikandl.com

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

أدى التحليل الوراثى للمقاومة الجهازية المكتسبة إلى تعريف وكلونه Cloing جينات عديدة والتى تبدو وكأنها مفتاحاً لتنظيم هذا النوع من المقاومة . درست سلسلة من الطفرات في نبات الارابدوبسز *Arabidopsis* والذي هو أساس الأبحاث كلها في هذا المجال. هذه الدراسة شملت ، الطفرات التى تعبر عن البقع الذاتية (مثل طفرة Isd) بالاضافة إلى مجموعة من الطفرات التى تعبر عن المقاومة ، أو تظهرها بدون بقع ذاتية (مثل طفرة *cpr*) . هناك مجموعة أخرى من الطفرات عزلت من نبات الارابدوبسز ، 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 فى التعبير عن المقاومة الناشئة عن وساطة حمض السلسليك . كذلك فإن استعمال تكنولوجيا التحولات الوراثية سمح بالحصول على تقديرات أكثر لدور حمض السلسليك والـ Catalases فى ممر التأشير الذى يؤدى إلى المقاومة . بالإضافة لذلك فإن الطفرات التى تكون غير حساسة لحمض الجسمنك، أو لا تستطيع بناء هذا الجزئ الاشارى، لها قيمة عالية فى تفهم تنظيم المقاومة الجهازية المستحثة المعتمدة على الجسمينات .

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

١ – التغيرات التى تحصل فى النبات قبل تحصينها والتى تعبر عن المقاومة المكتسبة

كما ذكرنا سابقاً ، فإن احدى نتائج تخليق المقاومة الجهازية المكتسبة SAR ، فى النبات ، هو نظام التعبير المسمى البروتينات المتعلقة بالمرضية PRs . يمكن تخيل الأدوار التى 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 الاصابة . 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 ميكروبى 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 المرضة 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 وتنبهها أما الاصابة المرضية وإما ممرات حمض السلسليك .

٢ – استجابة النبات ومقدرته على إظهار المقاومة المستحثة

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

١ – الفطريات وخاصة الفطريات البيضية

المقاومة المستحثة للأمراض فى الفاصوليا الخضراء ضد الفطر *Colletotrichum lindemuthianum* قد ذكرت على أنها ظاهرة موضعية فى عديد من أجزاء النبات ، تستحث على مسافة قصيرة من موقع تخليق المقاومة فى السويقة الجنينية السفلية المستطيلة بالإضافة إلى الظاهرة الجهازية فى النبات الأخضر الأكبر . فى أنسجة السويقة الجنينية السفلية ، فإن تكشف الأطوار المبكرة من السلالات المتوافقة من الفطر الممرض فى النسيج المظهر المقاومة المستحثة ، يكون مشابهاً لتلك المرئية فى أنسجة الكنترول . ينتج الفطر أعضاء التصاق ، توطد نفسها فى النسيج النباتي وتؤسس هيفا اصابة أولية فى 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 الهيفا الأولية . فى نباتات الكنترول يحدث انتشار سريع للهيفا الثانوية المتكشفة من الهيفا الأولية ، أما فى النباتات المستحثة يتوقف تكشف نمو الفطر فى طور الهيفا الأولية . يكون توقف تكشف الهيفا متبوعاً بتلون بنى فى خلايا العائل (أحياناً يكون متبوع أيضاً بتأخر فى الاستجابة لتفاعل فرط الحساسية) وتجمع الفايتوالكسنز . إن تكشف الفطر الممرض المذكور سابقاً فى الأنسجة المستحثة يكون مشابهاً لتلك الملاحظ فى المقاوة المتعلقة بالعمر فى الفاصوليا للسلالات المتوافقة من نفس الفطر . نظراً لأن المقاومة المتعلقة بالعمر فى السويقات الجنينية السفلى فى فول الصويا للفطر *Phytophthora megasperma* var. *sojae* . يكون مترافقاً مع انتاج

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 التغير التطورى فى حالته من طور التغذية الحيوية فى الاصابة إلى حالته فى طور التغذية الترممية . هذا الميكانزم الأخير قد شرح باختصار بواسطة Elliston *et al* سنة ١٩٧٦ من حيث علاقته مع الأبحاث الأخرى ، التى اقترحت أن هناك علاقة بين أفراز الـ Polygalacturonases والانقلاب من طور التغذية الحيوية إلى طور التغذية الرمية . ولقد ذكر هذا العالم أن التغيرات 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 أنسجةة 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 للاصابة بأنزيم Pectinases ، أكثر منه فى الجدر غير المحورة . لقد درس دراسة تامة نظام التغيرات التركيبية فى جدر خلية الفاصوليا فى علاقته مع المقاومة المستحة 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 . وبالتالى 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 فى النقطة التى 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 فى نباتات الكنترول مع عدد الاختراقات غير الناجحة فى النباتات المستحثة .

أما عن دراسة كيمياء النسج Histochemistry ، فقد اعتمد عليها لاكتشاف كل من ترسبات اللجنين والسليلوز تحت أعضاء الالتصاق التى لم تنجح فى الاختراق . كذلك فإن الدراسة الدقيقة لتركيب الخلايا الذى 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 ممكناً لفشل الكائنات الممرضة الفطرية لكى تخترق بنجاح أوراق نبات الخيار موضحة (معبرة) عن المقاومة المستحثة للمرض . إن الفشل فى الاختراق والدخول داخل الأنسجة ، يعطينا تفسيراً منطقياً ، أيضاً ، فى توضيح إنخفاض الأعداد والحجوم للبقع التى تتكشف فى نبات الخيار الذى فيه مقاومة مستحثة للمرض . وعلى أية حال فإنه ليس من الواضح أى من التحورات (إذا وجدت بكثرة) لجدار الخلية ، التى تكون هى المفتاح لقفل أو منع دخول الكائن الممرض فى النسيج ، وإذا ما كانت هذه التغيرات هى السبب فى المقاومة أو أنها تحدث فقط بعد أن تكون الاصابة قد توقفت .

ليس كل أعضاء الالتصاق التى تتكون على خلايا البشرة الخارجية لنبات الخيار ، تكون موقوفة عن الاختراق إلى داخل النسيج . فى بعض الحالات ، تتكون هيفا الاختراق الأولية ، ولكن يبدو بأنها ، أما أن تتغطى أو تنغمر فى بولمر شبيه اللجنين والذى يمكنه بكفاءة وقف أى تكشفات أخرى للهيفا ، أو أن يحدث لجننة 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 التى تؤدى إلى اختراق ناجح للنسيج ، دون ظهور أى استجابة للعائل . تعتبر هذه الملاحظات التى ذكرت سابقاً هامة ، وذلك لأنها تساعد فى 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 للاصابة ؟؟ الاجابة عن هذا السؤال سوف تكون لاحقاً إن شاء الله . أما السؤال الثانى فهو ماهو دور البروتينات المتعلقة بالمرضية والأنزيمات الأخرى المستحثة جهازياً ؟؟

للاجابة على هذا السؤال يمكن القول بأن المقاومة المستحثة للمرض فى الخيار ، تكون مصحوبة بتجمعات من الـ Chitinase والـ Peroxidase فى الفراغات ما بين الخلوية 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 في 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 ، في قد تم أجراؤها أيضاً مع الفطريات البيضية . فمثلاً أوراق نبات الارابدوبسز 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* . وبالتالى يبدو من المحتمل أن عملية اللجننة تكون أيضاً جزءاً من دفاعات المقاومة المستحثة للأمراض فى نبات الارابدوبسز . 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 تقى 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 فى تحصين النبات فى النسيج المستحث وانتاج 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 فى أعوراض النكروتك التى تتكشف فى النباتات المعبرة عن الأمراض المستحثة ، بعد الحقن بالبكتيريا ، قد افترض بأنها تكون نتيجة لتثبيط المرض أو لاندماجها فى أعراض تفاعل فرط الحساسية . بناء على الملاحظات التى تفيد بأن التجمعات البكتيرية فى نباتات الكنترول لم تكن مختلفة عن هذه التجمعات فى النباتات المعبرة عن المقاومة المستحثة للمرض . لقد ذكر أن هناك زيادة فى الـ Antioxidants تحدث جهازياً فى الدخان كاستجابة للمقاومة المتخلقة وكاستجابة للمعاملة بحمض السلسليك ، وهذا التغير فى حالة الـ Antioxidant قد اقترحت بأنها الأساس للتعبير عن بقعة النكروتك .

فى معظم الدراسات التى أجريت على البكتيريا لتخليق مقاومة ، تبين أن هناك خفضاً فى النمو البكتيرى فى النباتات المستحثة بنسبة ١–٣ درجات مقارنة مع نباتات الكنترول . هذا يؤدى إلى القول بأن مثبطات النمو البكتيرى ، تتكون كنتيجة لتخليق مقاومة ، أو لأن ذاك النبات يستجيب بسرعة للحقن عن طريق انتاج مثبطات نمو بكتيرى . وعلى أية حال فإن نباتات الارابدوبسز المستحثة ، تُستجيب للحقن بالبكتيريا *Pseudomonas* ، على شكل زيادة فى تجمع حمض السلسليك وتخليق جين PR-1 المنسوخ . بطريقة كيماوية معينة ، فإن رتبه رقم ثلاثة من الأبوبلاستك الششتينيز المحمض ، من الخيار قد تم تجانسه إلى الأيزوزايم وانتج على شكل بروتينات متعلقة بالمرضية فى الخيار ، ولكن لا نشاط هذا الإنزيم ضد البكتيريا ولا التجمعات الزائدة من هذا الإنزيم بعد التحصين البكتيرى ، قد ذكرت فى هذا المجال . نظراً لأن هناك بداية معينة من الخلايا البكتيرية مطلوبة لتسبب تفاعل فرط حساسية واضح ، أو تكشف سريع للمرض متبوعاً بالنكروزز ، 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 فى التجمعات البكتيرية فى نسيج الورقة ، يمكن أن يحسب لفينوتايب المقاومة المستحثة الملاحظة بعد التحصين بالبكتيريا .

لقد وصفت المقاومة ، فى غياب نكروزز فرط الحساسية ، جزئياً فى طفرات *dnd-1* فى نبات الارابدوبسز ، حيث أن النباتات التى بها هذه الطفرة ، تعبر بشكال أساسى 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 فى نباتات *dnd-1* منخفضة بمقدار درجة واحدة تحت الذى يرى فى النوع الأصلى . تستجيب نباتات *dnd-1* عندما تستحث بالحقن بالبكتيريا شديدة المرضية *P.syringae* عن طريق التخليق الزائد من PR-1 و Glucanase . هذا يؤدى 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 ، يؤدى إلى انخفاض فى تعبير فرط الحساسية ، ولكن التجمعات البكتيرية ، تكون أيضاً ، أقل مما يرى فى العزلات شديدة المرضية فى نباتات *dnd-1* . هذه المقاومة المتخصصة بالطفيليات والتى تتبع علاقة جين/جين ، تكون متبوعة ، أيضاً بكمية أكبر من تعبيرات PR-1 والجلوكاينز بعد التحصين ، منه فى المشاهد بعد الحقن بنفس البكتيريا *P. syringae* المتوافقة . وبالتالى فإنه حتى تعبير المقاومة فى النباتات ذات الطفرة *dnd-1* والتى تسلك سلوكاً متشابهاً جداً مع النباتات ذات المقاومة المكتسبة تكون متبوعة بتخليق زائد من الدفاع بعد التحصين ، يؤدى 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 ، فى النباتات المستحثة يكون مشابهاً لما هو ملاحظ فى النباتات المشربة أوراقها بطفرات *hrp* ، مقارنة مع سلالات النوع الأصلى شديد القوة المرضية وغير الشديدة . إن طفرات البكتيريا *hrp* تتضاعف فى أنسجة النبات إلى مستويات تصل مستويات النوع الأصلى أو أقل منه قليلاً وأحياناً تزيد . نظراً لأن طفرات *hrp* تنمو طبيعياً فى 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 الفايتوالكسنز . هناك عدة نسخ لجين جديد قد لوحظت خلال ساعة واحدة من الحقن . وبالتالى 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 الدفعات المستحثة ، يمكن أن تمنع البكتيريا من الوصول إلى التجمعات الحرجة المطلوبة لتسبب نكروزز ، أو يمكن بطريقة ما أن تثبط انتاج العوامل المطلوبة بواسطة البكتيريا لبداية موت الخلية .

الفيروسات

الدراسات الكلاسيكية التى أجريت بواسطة Ross سنة ١٩٦١ ، ذكرت أن الحقن الموضعى لنباتات الدخان ذات الجين N بفيرس موزايك الدخان ، تؤدى إلى زيادة فى المقاومة الجهازية والتى يعبر عنها بواسطة خفض فى كل من حجم وعدد البقع المتحللة . هذا يؤدى 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 ، تؤدى 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 الفيرس وليس على تكشف الأعراض . فى دراسات لاحقة أخرى ، وجد أن المقاومة الناتجة بواسطة حمض السلسليك فى الدخان لفيرس PVY و CMV ، بأنها متعلقة بتثبيط التضاعف والحركة الفيروسية .

إن معاملة نبات الارابدوبسز بالمادة الحاثة المصنعة CGA - 245704 ، يؤدى إلى مقاومة فيرس التواء اللفت Turnip crinkle virus (TCV) . تتحدد هذه المقاومة عن طريق النقص فى أعراض النكروتك . يبدو أن النقص فى الأعراض ، يكون راجعاً إلى تثبيط التضاعف الفيروسى لأنه لا يمكن اكتشاف RNA فيروسى فى النبات .

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

سرعة استجابة النبات للمواد الحاثة

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 الممرضة . 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 الحاثة أو الاصابات المرضية منها :

١ – إن منتجات جين R فى النبات تكون ضرورية للتعرف على منتجات جينات الكائن الممرض غير شديدة المرضية ، وهذا التعرف يؤدى 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 أفراز 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 تنبه وسائل الدفاع فى النبات ، سواء عن طريق الجينات أو الطرق الفسيولوجية . لوحظ هذا النوع من الاستجابة فى فول الصويا ، حيث أن المعاملة المسبقة بمادة metalaxyl تقى فول الصويا ضد الاصابة بالفطر *Phytophthora megasperma* 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 لجننة لجدر الخلايا بسرعة أكثر كاستجابة للتجريح، وأن هذه الزيادة فى اللجننة يمكن أن تكون منبهه مسبقاً بواسطة التجريح ، أو الجروح المخلقة بواسطة الاختراق الفطرى . هذه الزيادة فى القدرة على اللجننة 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 والتى تشبه حمض السلسليك ، تستجيب بسرعة للاصابة عن طريق انتاج هيدروجين بيروكسيديز . إن مصدر هذا المركب غير معروف ، ولكن فى تجارب كثيرة وجد أن apoplastic peroxidases يمكن أن يكون داخلاً فى المقاومة الجهازية المستحثة أو فى انتاج Hydrogen peroxid .