

وتنتظم الجينات التي تشفر لتكوين PGIPs فى عائلات، تكون جميع بروتينات كل عائلة منها متماثلة تماماً تقريباً فى جميع خصائصها باستثناء تخصصها التى تتعرف به على بولى جالاكتورونيز معين. وتستحث الـ PGIPs للتكوين بفعل الإصابة بالمسبب المرضى وما يتبعه من إشارات الشد الذى يرافق عملية الإصابة المرضية.

أما الـ PGs فإنها تنتج بواسطة جميع الفطريات الممرضة للنباتات تقريباً (جدول ٧-٦). وتظهر تنوعاً كبيراً فى الطرز الأيزوإنزيمية، التى يبدو أنها قد تطورت لتلائم عمليات التطفل الممرض فى ظروف متباينة وعوائل مختلفة (عن De Lorenzo وآخرين ٢٠٠١).

### المقاومة النشطة: تمثيل الإنزيمات النشطة فى المقاومة

اكتشفت علاقة قوية بين نوعيات مختلفة من الإنزيمات وخاصة المقاومة للأمراض، ونقدم - فيما يلى - أمثلة لبعض تلك الإنزيمات.

#### إنزيمات الشيتينيز والبيتا-١،٣-جلوكانيز

على الرغم من أن الإنزيمات الخاصة بالـ hydrolysis قد لا تكفى - منفردة - لحماية النباتات من الإصابات المرضية. فإن لبعض طرزها الإيزوإنزيمية isozymes دور مباشر كمضادات ميكروبية. كما قد يقوم بعضها بإسراع وتضخيم عملية المقاومة للمسببات المرضية بتسببها فى تكوين المركبات التى تبدأ منها حالة فرط الحساسية.

جدول (٧-٥): قائمة ببعض جينات الـ PGIPs التى أمكن عزلها لأغراض الهندسة الوراثية.

| النوع النباتى              | الجيرمبلازم | الجين                   | طراز الـ clone |
|----------------------------|-------------|-------------------------|----------------|
| <i>Actinidia delicosa</i>  | Hayward     | <i>Adogipl (pgip)</i>   | cDNA           |
| <i>Antirrhinum majus</i>   | T153        | <i>FL2</i>              | cDNA           |
| <i>Aroidopsis thaliana</i> | Columbia    | <i>Atpgip1 (PGIP1)</i>  | cDNA           |
|                            | Columbia    | <i>Atpgip2 (PGIP2)</i>  | cDNA           |
|                            | Columbia    | <i>FLR1</i>             | Genomic        |
|                            | Columbia    | <i>FLR1</i>             | cDNA           |
|                            | Columbia    | <i>FLR2 (LRR pgip)</i>  | Genomic        |
| <i>Cirus iyo</i>           |             | <i>Cipgip1 (PGIP A)</i> | PCR            |
|                            |             | <i>Cipgip2 (PGIP B)</i> | PCR            |
|                            |             | <i>Cipgip1 (PGIP A)</i> | PCR            |
|                            |             | <i>Cipgip2 (PGIP B)</i> | PCR            |

تابع جدول (٧-٥).

| طراز ال clone | الجين                     | الجيرميلازم      | النوع النباتي                   |
|---------------|---------------------------|------------------|---------------------------------|
| cDNA          | <i>Cspgip1</i>            | Hamlin           | <i>Cirus sinensis</i>           |
| PCR           | <i>Cupgip1</i> (PGIP)     |                  | <i>Cirus unshiu</i>             |
| cDNA          | AFP                       | Autumn King      | <i>Daucus carota</i>            |
| PCR           | <i>Ecpgip1</i> (pgip)     |                  | <i>Eucalyptus camaldulensis</i> |
| PCR           | <i>Egpgip1</i> (pgip)     |                  | <i>Eucalyptus grandis</i>       |
| PCR           | <i>Enpgip1</i> (pgip)     |                  | <i>Eucalyptus nitens</i>        |
| PCR           | <i>Espgip1</i> (pgip)     |                  | <i>Eucalyptus saligna</i>       |
| PCR           | <i>Eupgip1</i> (pgip)     |                  | <i>Eucalyptus urophylla</i>     |
| PCR           | <i>Fmpgip1</i> (PGIP)     |                  | <i>Fortunella margarita</i>     |
| PCR           | <i>Gmpgip1</i> (pgip)     | Cauton           | <i>Glycine max</i>              |
| Genomic       | <i>Gmpgip1</i>            | Williams         |                                 |
| Genomic       | <i>Gmpgip2</i>            | Williams         |                                 |
| RT-PCR        | <i>Gmpgip3</i> (Gmpgip)   | Essex; PI437654  |                                 |
| Genomic       | <i>Lmpgip1</i>            | VFNT Cherry      | <i>Lycopersicon esculentum</i>  |
| cDNA          | <i>Mdpgip1</i>            | Golden delicious | <i>Malus domestica</i>          |
| cDNA          | <i>Pvpgip1</i> (pgip-1)   | Pinto            | <i>Phaselous vulgaris</i>       |
| Genomic       | <i>Pvpgip1</i> (pgip)     | Saxa             |                                 |
| cDNA          | <i>Pvpgip2.1</i> (pgip-2) | Pinto            |                                 |
| Genomic       | <i>Pvpgip2.2</i>          | Pinto            |                                 |
| Genomic       | <i>Pvpgip3</i>            | Pinto            |                                 |
| Genomic       | <i>Pvpgip4</i>            | Pinto            |                                 |
| PCR           | <i>Ptpgip1</i> (PGIP)     |                  | <i>Poncirus trifoliata</i>      |
| PCR           | <i>Papgip1</i> (Papgip1g) |                  | <i>Prunus armeniaca</i>         |
| PCR           | <i>Pmpgip1</i> (PGIP)     |                  | <i>Prunus mahaleb</i>           |
| PCR; RT-PCR   | <i>Pcpgip1</i> (PGIP)     | Bartlett         | <i>Pyrus communis</i>           |
| cDNA          | <i>Pppgip1</i> (PPFRU19)  |                  | <i>Pyrus pyrifolia</i>          |
| cDNA          | <i>Ripgip 1</i> (PGIP1)   | Autumn Bliss     | <i>Rubus ideaeus</i>            |
| Genomic       | <i>Vvpgip1</i>            | Pinotage         | <i>Vitis vinifera</i>           |

جدول (٧-٦): الأنشطة المميزة لبعض الـ PGIPs (عن De Lorenzo وآخريين

(٢٠٠١).

| (ب) Polygalacturonases       |                          | (١) PGIP               | النسيج                    | النبات          |
|------------------------------|--------------------------|------------------------|---------------------------|-----------------|
| غير المثبطة                  | المثبطة                  |                        |                           |                 |
|                              | <i>Aspergillus niger</i> | AnPG-affinity purified | الكالاس - الأوراق القلبية | البرسيم الحجازي |
| <i>Penicillium expansum</i>  | <i>Nectria galligena</i> | Partially              | الأوراق                   |                 |
| <i>Phytophthora syringae</i> | <i>Phomopsis mali</i>    | purified               | الثمار                    | التفاح          |

| (ب) Polygalacturonases     |                                      | (١) PGIP      | النسيج                  | النبات    |
|----------------------------|--------------------------------------|---------------|-------------------------|-----------|
| غير المنبطة                | المنبطة                              |               |                         |           |
|                            | <i>Fusarium lateritium</i>           |               |                         |           |
|                            | <i>Glomerella cingulata</i>          |               |                         |           |
|                            | <i>B. cinerea</i>                    | Purified      |                         |           |
|                            | <i>Venturia inaequalis</i>           |               | الأوراق                 |           |
|                            | <i>A. niger</i>                      |               | القرون                  | الفاصوليا |
|                            | <i>F. moniliforme</i>                |               |                         |           |
|                            | <i>B. cinerea</i>                    |               |                         |           |
|                            | <i>A. niger</i>                      | PGIPA         |                         |           |
|                            | <i>F. moniliforme</i>                |               |                         |           |
| <i>F. moniliforme</i>      | <i>A. niger</i>                      | PGIPB         |                         |           |
|                            | <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> |               | السويقة الجنينية السفلى |           |
|                            | <i>F. oxysporum</i>                  |               |                         |           |
|                            | <i>Sclerotium rolfsii</i>            |               |                         |           |
| <i>S. rolfsii</i>          | <i>C. lindemuthianum</i>             | Purified      |                         |           |
|                            | <i>F. oxysporum</i>                  |               |                         |           |
|                            | <i>C. lindemuthianum</i>             | Partially     |                         |           |
|                            | <i>C. lagenarium</i>                 | purified      |                         |           |
|                            | <i>A. niger</i>                      | AnPG-affinity |                         |           |
|                            | <i>F. moniliforme</i>                | purified      |                         |           |
| <i>Erwinia carotovora</i>  | <i>C. lindemuthianum</i>             |               |                         |           |
| Tomato fruit exoPG         | <i>A. Japonicum</i> PG1              |               |                         |           |
| Tomato fruit exdoPG        | <i>A. Japonicum</i> PG2              |               |                         |           |
| <i>Rhizopus</i> sp.        | <i>Cryphonectria parasitica</i>      |               | القلف                   | الكستناء  |
|                            | <i>C. lindemuthianum</i>             |               |                         |           |
|                            | <i>A. niger</i>                      | PGIPA         | الثمار                  | العنب     |
|                            | <i>B. cinerea</i>                    |               |                         |           |
| <i>A. niger</i>            | <i>B. cinerea</i>                    | PGIPB         |                         |           |
| <i>F. moniliforme</i>      |                                      |               |                         |           |
| <i>G. cingulata</i> exoPG  | <i>B. cinerea</i>                    |               | الثمار                  | الفلفل    |
| <i>G. cingulata</i> exoPTE | <i>Glomerella cingulata</i> PG       |               |                         |           |
|                            | <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>      |               | السيقان                 | الكراث    |
|                            | <i>Sclerotinia cepivorum</i>         |               |                         |           |
|                            | <i>Didymella bryoniae</i>            |               |                         |           |
|                            | <i>B. cinerea</i>                    |               |                         |           |
|                            | <i>Macrophomina phaseolicola</i>     |               |                         |           |
|                            | <i>Phoma terrestris</i>              |               |                         |           |
|                            | <i>Phoma lycopersici</i>             |               |                         |           |

تابع جدول (٧-٦).

| (ب) Polygalacturonases        |                                               | (١) PGIP      | النسيج | النبات                      |
|-------------------------------|-----------------------------------------------|---------------|--------|-----------------------------|
| غير المنشطة                   | المنشطة                                       |               |        |                             |
| <i>S. cepivorum</i>           | <i>Botrytis aclada</i>                        | Purified      |        | السيقان                     |
| <i>F. moniliforme</i>         | <i>S. sclerotiorum</i> PGII                   |               |        |                             |
|                               | <i>S. sclerotiorum</i> PGIV                   |               |        |                             |
|                               | <i>A. niger</i>                               |               |        | <i>Lupinus albus</i> الجذور |
| <i>F. moniliforme</i>         | <i>S. sclerotiorum</i>                        |               |        | البصل الأنبال               |
| <i>S. cepivorum</i>           | <i>D. bryonine</i>                            |               |        |                             |
| <i>P. lycopersici</i>         | <i>B. cinereu</i>                             |               |        |                             |
|                               | <i>M. phaseolicola</i>                        |               |        |                             |
|                               | <i>P. terrestris</i>                          |               |        |                             |
|                               | <i>Diplodia natalensis</i>                    |               |        | جلد الثمرة البرتقال         |
| <i>Phoma solani</i>           | <i>Ascochyta pisi</i>                         | Partially     |        | البسلة الوريقات             |
| <i>P. medicaginis</i> PG-B    | <i>C. lindemuthianum</i>                      | purified      |        |                             |
| <i>A. pisi</i> exoPG          | <i>A. niger</i>                               |               |        |                             |
|                               | <i>Mycosphaerella pinodes</i>                 |               |        |                             |
|                               | <i>Phoma medicaginis</i> PG-A                 |               |        |                             |
|                               | <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> |               |        |                             |
|                               | <i>Aphanomyces eutiches</i>                   |               |        |                             |
| <i>F. oxysporum</i>           | <i>A. niger</i>                               | Partially     |        | الكثيرى الثمار              |
|                               | <i>B. cinerea</i>                             | Purified      |        |                             |
|                               | <i>D. gregaria</i>                            |               |        |                             |
|                               | <i>P. expansum</i>                            |               |        |                             |
| <i>Postia placenta</i>        | <i>A. niger</i> PG I                          | Purified      |        |                             |
| <i>F. moniliforme</i>         | <i>C. lindemuthianum</i>                      |               |        |                             |
|                               | <i>Cochliobolus sativus</i>                   |               |        |                             |
|                               | <i>Cryphonectria parasitica</i>               |               |        |                             |
| <i>Rhizoctonia solani</i>     | <i>B. cinerea</i>                             |               |        | حبوب القمح البينونيا        |
| <i>F. moniliforme</i>         | <i>Stenocarpella maydis</i>                   |               |        |                             |
| <i>F. oxysporum</i>           | <i>Colletotrichum</i>                         |               |        |                             |
| <i>B. cinerea</i> exoPGI      | <i>B. cinerea</i> PG I                        | Partially     |        | الثمار                      |
| <i>B. cinerea</i> exoPGII     | <i>B. cinerea</i> PGII                        | Purified      |        |                             |
| <i>E. carotovora</i> endoPLI  | <i>A. niger</i>                               |               |        |                             |
| <i>E. carotovora</i> endoPLII |                                               |               |        |                             |
| <i>E. carotovora</i> endoPG   |                                               |               |        |                             |
|                               | <i>A. niger</i>                               | AnPG-affinity |        | البذور الثابتة فول الصويا   |
|                               | <i>S. sclerotiorum</i> PGII                   | purified      |        |                             |
|                               | <i>S. sclerotiorum</i> PGIV                   |               |        |                             |
|                               | <i>Ceratocystis fimbriata</i>                 |               |        | البطاطا                     |

| (ب) Polygalacturonases |                          | (١) PGIP | النسيج        | النبات  |
|------------------------|--------------------------|----------|---------------|---------|
| غير المنبطة            | المنبطة                  |          |               |         |
|                        | <i>C. lindemuthianum</i> |          | مزارع الخلايا | الجميع  |
|                        | <i>F. oxysporum</i>      |          |               |         |
|                        | <i>S. rolfsii</i>        |          |               |         |
|                        | <i>F. oxysporum</i>      |          | السيقان       | الطماطم |
|                        | <i>C. lindemuthianum</i> |          |               |         |
|                        | <i>S. rolfsii</i>        |          |               |         |
| <i>B. cinerea</i>      | <i>G. cingulata</i>      |          | الثمار        |         |
| <i>F. moniliforme</i>  | <i>A. niger</i>          | Purified | الثمار        |         |
|                        | <i>B. cinerea</i>        |          |               |         |
| <i>F. moniliforme</i>  | <i>A. niger</i> PGH      | Purified |               |         |
| <i>P. placenta</i>     | <i>A. niger</i> PGI      |          |               |         |
|                        | <i>C. lindemuthianum</i> |          |               |         |
|                        | <i>C. sativus</i>        |          |               |         |
|                        | <i>C. parasitica</i>     |          |               |         |

أ - حالة تحضير الـ PGIP.

ب - مصدر الـ PG.

تقوم إنزيمات الشيتيناز chitinases بتحليل الشيتين chitin. وهو عبارة عن سلسلة طويلة من الـ N-acetylglucosamine ترتبط معاً برابطة  $\beta$ -1,4. هذا .. ويشكل الشيتين المكون السائد في الجدر الخلوية للفطريات، وبيض الديدان، وطبقات المعى الأوسط للحشرات. كذلك فإن بعض إنزيمات الشيتيناز النباتية تظهر نشاطاً في عملية التحليل (تظهر lysozymal activity).

وقد وصفت ثلاثة طرز من إنزيمات الشيتيناز النباتية اعتماداً على تركيبها البروتيني الأولى. ونظراً للتنوع الشديد لتلك الإنزيمات وكثرة أعدادها في النباتات، فقد اقترح أنها تلعب أدواراً خاصة ومتنوعة. فمثلاً .. نجد أن لبعض إنزيمات الشيتيناز - دون غيرها - نشاطاً مضاداً للفطريات. كما أن إنزيمات الشيتيناز التي عزلت من التبغ والطماطم كانت متخصصة على مسببات مرضية معينة دون غيرها.

إن كثيراً من الفطريات الممرضة للنباتات تحتوى في جدرها الخلوية على الـ  $\beta$ -1,3-

glucans بالإضافة إلى الشيتينين. ولقد وجد أن إنزيمات الشيتينينز chitinases والبيتا جلوكانيز  $\beta$ -1,3-glucanases المستخلصة من الطماطم والتبغ والبسلة تأثيرات تداؤمية synergistic مضادة للفطريات في البيئات الصناعية. كذلك ثبت وجود التأثيرات المضادة للفطريات - في النباتات - لكل من إنزيمات الشيتينينز والبيتا جلوكلونيز الخاصة بالطماطم والتبغ. ولقد اقترح أن التأثير التداؤمي لتلك الإنزيمات وخصوصيات تأثيرها ربما يكون مرده إلى التركيب الخاص بالجدر الخلوية في الفطر المعنى. فمثلاً... يبدو أن طبقات الشيتينين لبعض الجدر الخلوية الفطرية تكون مطمورة في بيتا جلوكانات  $\beta$ -glucans. مما يجعل الشيتينين في منأى عن تأثير إنزيمات الشيتينينز ما لم تقم إنزيمات البيتا جلوكانيز بتحليل البيتا جلوكونات أولاً.

كذلك فإن مثيرات تكوين المركبات عديدة التسكر oligosaccharides - الخاصة باستجابات المقاومة النباتية - يمكن أن يكون مردها إلى إنزيمات الشيتينينز والبيتا جلوكانيز؛ فلقد وجد أن إنزيمات  $\beta$ -1,3-glucanases لقول الصويا، وأيزوإنزيمات معينة من شيتينينز وبيتا جلوكانيز الطماطم قامت بتوليد مثيرات من مسببات مرضية فطرية. كما ولدت إنزيمات شيتينينز الطماطم مثيرات من الجراثيم النابتة للفطر *Alternaria solani*، ولكن ليس من الجدر الخلوية المكتملة التكوين لهذا الفطر.

ونجد في الطماطم - على سبيل المثال - أن جميع الأصناف والسلالات المقاومة للفطر *Alternaria solani* تظهر نشاطاً طبيعياً ملحوظاً لكل من إنزيمي الشيتينينز chitinase والبيتا جلوكانيز-3,1  $\beta$ -glucanase عن تلك القابلة للإصابة. كما أن أيزوزيم الشيتينينز الـ 30 kDa ذاته الذى يظهر نشاطه في الجيرمبلازم المقاوم قبل الإصابة يتراكم - كذلك - سريعاً إلى مستويات عالية في ذلك الجيرمبلازم، وبسرعة أكبر وإلى مستويات أعلى جوهرياً فيه عما في الجيرمبلازم القابل للإصابة، وذلك بعد العدوى بالفطر. كذلك كانت تلك السلالات المقاومة أكثر كفاءة في تكوين مثيرات استجابة فرط الحساسية من الجدر الخلوية للفطر *A. solani* عن السلالات القابلة للإصابة. ولذا.. يعتقد بأن إنتاج تلك السلالات المقاومة من إنزيمات الشيتينينز والبيتا

جلوكانيز -- بصورة طبيعية - قبل الإصابة يسرع - كذلك - فى تكوين المثريات من المركبات عديدة التسكر - وبقدر أكبر - بمجرد التلامس مع الفطر، ومن ثم تنشط سلسلة التفاعلات التى تؤدى إلى المقاومة.

ولقد تكرر هذا النمط فى إنتاج إنزيمات الشيتينيز والبيتا جلوكانيز فى الأصناف المقاومة - مقارنة بغير المقاومة - بصورة تامة (قبل وبعد العدوى بالمسبب المرضى)، أو جزئية (قبل العدوى فقط أو بعدها فقط أو بالنسبة لأحد الإنزيمين دون الآخر) فى عدد كبير من المحاصيل المقاومة لمسببات مرضية معينة، مثل: الكرنب، والشعير، والبسلة، والقمح، والقطن، والأرز، والبن، والعنب، والخيار، والفاصوليا، والفلفل، والفجل وغيرهم (عن Tuzun ٢٠٠١).

### الإنزيمات المضادة للأكسدة

يقوم نظام معقد مضاد للأكسدة فى الخلايا النباتية بحمايتها من أضرار المركبات النشطة فى الأكسدة التى تتولد أثناء استجابات فرط الحساسية. يتضمن هذا النظام إنزيمات مضادة للأكسدة. مثل: superoxide dismutase (اختصاراً: SOD)، والبيروكسيداز peroxidase، والكاتاليز catalase. ويستدل من تعدد الصور الجزيئية (الإيزوزيمية) لتلك الإنزيمات وغيرها من الإنزيمات المضادة للأكسدة على أن لكل صورة منها دوراً مستقلاً.

كذلك فإن إنزيمات البيروكسيداز تعطى عند نشاطها مركبات يمكن أن تؤدى - فى وجود مركب مناسب معطى للأيدروجين مثل فوق أكسيد الأيدروجين - إلى إنتاج مركبات ذات تأثيرات مضادة للفيروسات (عن Tuzun ٢٠٠١).

### المقاومة النشطة : المقاومة المكتسبة

إن المسببات المرضية التى تُحدث فى النباتات بقعاً متحللة غالباً ما تستحث فيها حماية ضد مزيد من الإصابات بتلك المسببات أو بمسببات أخرى، وتعرف تلك الظاهرة باسم المقاومة المكتسبة acquired resistance. وقد اكتشفت تلك الظاهرة - بداية - فى