جامعة دمشق
كلية الهندسة الزراعية
قسم وقاية النبات

عزل وتنسيل وتعبير مورثة Hrp N من البكتيريا *Erwinia amylovora* وتقييم فعالية الهاربين بتحريض بعض ردود الفعل الدفاعية على نبات القمح

Cloning the *HrpN* gene from *Erwinia amylovora* and evaluating of Harpin efficiency in stimulating of some wheat defense response

اسم الطالب: إسماعيل محمد الصالح

المشرف: أ.د.محمود أبو غرة المشرف المشارك: د.عروب المصري

الملخص

هدف هذا البحث إلى دراسة تأثير بروتين الهاربين المؤشب المنتج محلياً بتحريض ردود فعل دفاعية في نبات القمح، حيث دُرست الفعالية الأنزيمية للسوبركسيد دسموتاز SOD والبيروكسيداز PODعن طريق المطياف الضوئي ورحلان البروتين الكهربائي native-PAGE، وذلك على فترات زمنية مختلفة بعد معاملة بادرات القمح بالهاربين مقارنة بالمعاملة بالماء، كذلك دُرس التعبير المورثي لمورثة *zn-SOD* ومورثة *GPX* ومورثة الشاهد الداخلي *actin*– Taβ، إضافة لذلك تم تقدير الفلافونيدات الكلية واليخضور الكلي في بادرات القمح المعاملة بالهاربين مقارنة بالشاهد المعامل بالماء، وتم تقييم كفاءة البروتين المنتج في تحريض مقاومة القمح تجاه أعفان الجذور الشائعة وتخطط الأوراق البكتيري.

القسم النظري

يعد القمح من أهم المحاصيل الاستراتيجيّة العالمية، يصاب بالعديد من الأمراض ومنها أعفان جذور القمح الشائعة ومرض تخطط الأوراق البكتيري (Maraite *et al*., 2007)، اتجهت العديد من الأبحاث لإيجاد طرق مكافحة فعالة وغير ضارة بالصحة العامة وأهمها محفزات المقاومة التي تحفز الاستجابات الدفاعية مؤدية إلى المقاومة الجهازية المكتسبة SAR التي تعطي النبات مقاومة لمجموعة واسعة من مسببات الأمراض (McDowell and Woffenden, 2003)، يعد بروتين الهاربين من أهم محفزات المقاومة البروتينية التي تحرض فرط الحساسية تليها مقاومة جهازية مكتسبة، عزت الدراسات فعالية الهاربين في تحريض ردود الفعل الدفاعية لارتفاع مستويات الجزيئات المرتبطة بالآلية الدفاعية عند النباتات المعاملة بالهاربين كحمض الصفصاف والبيروكسيداز (Li *et al*., 2012)، أجري تنسيل المورثة المرمزة للهاربين *Hrp* N في سلالة (*E. coli* K-12) *Escherichia coli*، لتنتج هذه السلالة المحورة كميات كبيرة من الهاربين (Walters *et al*., 2008)، صنفت وكالة حماية البيئة منتج الهاربين على أنه مبيد منخفض الخطورة low risk pesticide وهو يقع ضمن تصنيف "محرض مقاومة للنبات (Kothari and Patel, 2004).

بينت دراسات عديدة فعالية الهاربين في تحريض مقاومة نباتات لأمراض متنوعة فعلى سبيل المثال حرض تطبيق الهاربين على الرز *Xanthomonas oryzae pv. oryzae* والممرض *Magnaporthe grisea* في ظروف البيت الزجاجي والحقل مقاومة فعالة ضد الممرض (Chen *et al*., 2008).

النتائج والمناقشة

أظهر بروتين الهاربين المؤشب محلياً من بكتيريا *E.amylovora* تطابق مع المواصفات المرجعية للهاربين حيث كان وزنه الجزيئي 44 كيلو دالتون وامتاز بثباتيته الحرارية.

حرضت معاملة بادرات القمح ببروتين الهاربين الفعالية الأنزيمية لأنزيم السوبركسيد دسموتاز SOD، وارتبطت زيادة الفعالية الأنزيمية للـ SOD بالتعبير المورثي لمورثة الـ *zn-SOD*، أي تحريض الفعالية كان على مستوى نسخ المورثة، كذلك حرضت المعاملة ببروتين الهاربين لبادرات القمح الفعالية الأنزيمية لأنزيم البيروكسيداز POD لكن لم ترتبط زيادة الفعالية الأنزيمية للـ POD بالتعبير المورثي لمورثة الـ GPX إحدى مورثات البيروكسيداز، أي أن تحريض الفعالية إما لم يكن على مستوى نسخ المورثة، أو هناك مورثات أخرى مسؤولة عن الأنزيم قد زاد تعبيرها، كذلك زادت تراكيز الفلافونيدات الكلية -والتي تعمل كمضادات بكتيرية- بشكل معنوي في بادرات القمح نتيجة معاملتها بالهاربين.

تعد زيادة فعالية أنزيمي السوبركسيد دسموتاز والبيروكسيداز وزيادة تركيز الفلافونيدات الكلية في بادرات القمح بعد معاملتها بالهاربين مؤشر واضح لتحريض المقاومة في القمح.

لم يظهر تأثير إيجابي لبروتين الهاربين في تحسين نسبة الإنبات، بالمقابل معاملة القمح بالهاربين حسنت معنوياً من مؤشرات النمو الأولية للبادرات من طول الجذير والسويقة وتركيز اليخضور الكلي.

أظهر بروتين الهاربين كفاءة جيدة في تحريض مقاومة القمح تجاه الممرضات المدروسة حيث خفض من شدة الإصابة بأعفان الجذور الشائعة، وخفض من شدة الإصابة والنمو البكتيري للبكتيريا المسببة لمرض تخطط الأوراق البكتيري.

المراجع

- **Chen, L., Qian, J., Qu, S., Long, J., Yin, Q., Zhang, C., Wu, X., Sun, F., Wu, T., Hayes, M. and Beer, S.V. (2008).** Identification of specific fragments of HpaGXooc, a harpin from *Xanthomonas oryzae pv. oryzicola*, that induce disease resistance and enhance growth in plants. Phytopathology, 98(7), 781-791.
- **Kothari, I. L., and Patel, M. (2004).** Plant immunization.Indian journal of Experimental biology.42, 244-252.
- **Li, M., Yu, M. L., Zhang, Z. Q., Wu, Y. C., Liu, Z. G., and Zhao, C. H. (2012).** Harpin induces rust disease (*Phakopsora zizyphi-vulgaris*) resistance on winter jujube (*Ziziphus jujuba Mill. cv. Dongzao*). Biological Agriculture & Horticulture, 28(3), 177-184.
- **Maraite, H., Bragard, C., and Duveiller, E. (2007).** The status of resistance to bacterial diseases of wheat.In wheat production in stressed environments. Springer, New York. 37-49.
- **McDowell, J. M., and Woffenden, B. J. (2003).** Plant disease resistance genes: recent insights and potential applications. TRENDS in Biotechnology, 21(4), 178-183.
- **Walters, D., Newton, A. C., and Lyon, G. (Eds.). (2008).** Induced resistance for plant defence: a sustainable approach to crop protection. John Wiley & Sons.