

مجله ایمنی زیستی

دوره ۱۳، شماره ۱، بهار ۱۳۹۹

ISSN 2716-9804 الکترونیکی، ISSN 2717-0632 چاپی

بررسی نقش گلایفوسیت در پاسخ گیاهان به بیمارگرها

حسین پاسالاری

استادیار گروه کشاورزی، مجتمع آموزش عالی میناب، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران

hpasalary@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۹/۱۰/۱۵، تاریخ پذیرش: ۹۹/۱۱/۱۷

صفحه ۱۲۰-۱۱۱

چکیده

گیاهان در تماس دائمی با انواع مختلفی از بیمارگرها از قبیل قارچ‌ها، باکتری‌ها، ویروس‌ها و دیگر موجودات قرار دارند. مسیرهای دفاعی مختلف در گیاهان در پاسخ به بیمارگرها، تکامل یافته‌اند. مشخص شده است که پاسخ‌های دفاعی گیاه به بیمارگرها می‌تواند با تیمار گیاهان در غلظت بهینه گلایفوسیت تحریک شود. در مهندسی ژنتیک گیاهی از نتایج مطالعات انجام‌شده بر روی خواص علف‌کشی، قارچ‌کشی و ضدباکتریایی گلایفوسیت برای تولید گیاهان مقاوم به علف‌های هرز و کنترل بیماری‌های قارچی و باکتریایی گیاهان استفاده شده است. نتایج نشان دادند که گیاهان در اثر تیمار با گلایفوسیت با بیان ژن‌های وابسته به بیماری‌زایی (*PR-2*، *PR-3* و *PR-5*) و ژن‌های پاسخ دفاعی (*HIN1* و *HSR-203j*) می‌توانند با القای سیستم مقاومت اکتسابی، نسبت به بیمارگرهای گیاهی واکنش نشان دهند. این مقاله با مرور مطالعات انجام‌شده نشان می‌دهد که تیمار گیاهان با گلایفوسیت علاوه بر ریشه‌کن کردن علف‌های هرز در مزارع کشاورزی می‌تواند با بیان پروتئین‌ها و ژن‌های پاسخ دفاعی، نوعی مقاومت اکتسابی سیستمی نسبت به بیمارگرهای گیاهی بخصوص قارچ‌ها و باکتری‌ها، ایجاد کند.

واژه‌های کلیدی: بیمارگرهای گیاهی، ژن‌های وابسته به بیماری‌زایی، ژن‌های پاسخ دفاعی، گلایفوسیت، مقاومت القایی.

مقدمه

بیوسیدها، مانند آفت کش ها، علف کش ها و قارچ کش ها، برای چندین دهه در شیوه های کشاورزی معمول مورد استفاده قرار گرفته اند. در حالی که کاربرد آنها باعث افزایش تولید محصولات و کمک به تغذیه جمعیت در حال رشد جهان شده است، ملاحظات آنها به طور اصلی بر اثرات سلامت انسان متمرکز هستند. اثرات غیرمستقیم استفاده در حال افزایش جهانی از بیوسیدها بر ارگانسیم های غیرهدف، به ندرت مورد توجه قرار می گیرند (۱). این می تواند به عنوان ناچیز شماری ملاحظات مربوط به استفاده در حال افزایش جهانی از بیوسیدها برای کارکردها و خدمات اکوسیستم تفسیر شود (۲). گلایفوسیت به طور کلی به عنوان یک علف کش شناخته و معرفی شده است و از نظر اندازه و گستردگی کاربرد، در سراسر جهان یک علف کش برجسته در کشاورزی، باغبانی، جنگلداری و محیط های شهری به شمار می رود (۳) و در گروه مهارکننده های سنتز آمینوآسیدها قرار می گیرد. گلایفوسیت، مهارکننده آنزیم ۵- انول پیروویل

شیکیمات ۳- فسفات سنتتاز، آنزیمی از مسیر شیکیمات که در هسته رمزگذاری می شود، است. این آنزیم در پلاستیدهای گیاهی موضع می گیرد و واکنش پیشین این مسیر را کاتالیز می کند و برای سنتز اسیدآمینوهای معطر در باکتری ها، قارچ ها و گیاهان ضروری است. مطالعات تایید می کنند که گلایفوسیت اثر ممانعت کنندگی خود را با آشغال جایگاه فسفوانول پیروات انجام می دهد (۴-۶). استفاده در حال گسترش جهانی از گلایفوسیت از دهه ۱۹۹۰، تا حد زیادی نتیجه توسعه گونه های اصلاح شده و مقاوم در برابر گلایفوسیت برخی از محصولات مهم است (۷-۹). محصولات مقاوم در برابر گلایفوسیت، کنترل علف های هرز مزارع کشاورزی را پس از جوانه زنی محصولات امکان پذیر می کند (۴). گیاهان زراعی مقاوم به گلایفوسیت، زمینه ای برای استفاده ی مستقیم و گسترده ی این علف کش، فراهم کرده و مدیریت علف های هرز را ساده کرده است. در نتیجه کشاورز ملزم به استفاده از راهکارهای مدیریتی پیچیده جهت مبارزه با علف های هرز نیست (۱۰).

گیاهان در تماس دائمی با انواع مختلفی از آفات و بیمارگرها از قبیل قارچ‌ها، باکتری‌ها، و قرار دارند. برای دور کردن این عوامل بیماری‌زا، گیاهان باید سریعاً آن‌ها را شناخته و سازوکارهای دفاعی خود را فعال کنند. تشخیص الگوهای مولکولی همراه بیمارگر به وسیله گیرنده‌های تشخیص الگوی گیاه، باعث حفاظت گیاه در مقابل بیمارگرها و همچنین موجب محدود کردن بیماری‌هایی می‌شود که به وسیله بیمارگرهای خسارت‌زا ایجاد می‌شود (۱۱)، (۱۲). از طرف دیگر، بیمارگرها می‌توانند با وارد کردن پروتئین‌های مؤثر خود به داخل میزبان از وقوع واکنش‌های دفاعی توسط گیاه جلوگیری کنند. در مقابل، گیاهان نیز با استفاده از ژن‌های مقاومت یا ژن‌های R (resistance genes) به صورت مستقیم یا غیرمستقیم باعث ممانعت از عمل پروتئین‌های مؤثر بیماری‌زایی بیمارگرها می‌شوند. همچنین این پاسخ‌های دفاعی می‌توانند به وسیله واکنش فوق حساسی یا HR (hypersensitive reaction) و سیستم مقاومت اکتسابی یا SAR (systemic acquired resistance) نیز تشدید شوند

(۱۳). مقاومت اکتسابی سیستمیک، مهمترین نوع مقاومت القایی است، که حفاظت مداوم و طولانی مدت علیه آلودگی در برابر دامنه وسیعی از بیمارگرها را در گیاهان موجب می‌شود. مقاومت اکتسابی عمومی توسط طیف گسترده‌ای از عوامل بیماری‌زا به ویژه در هنگام بروز نکرز تحریک و فعال می‌شود. این فرایند به فعال شدن تعداد بسیاری ژن یا پروتئین‌های مرتبط با بیماری‌زایی و جمع شدن اسید سالیسیلیک درون‌زاد در گیاه وابسته است. تشکیل پروتئین‌های مرتبط با بیماری‌زایی، تغییر دیواره سلولی با رسوب و اتصال پلی‌ساکاریدها، پروتئین‌ها، گلیکوپروتئین‌ها، فنل‌ها، تولید فیتوآلکسین‌ها و لیگنینی شدن مراحل بروز این نوع مقاومت در گیاهان هستند (۱۴). تیمار گیاهان با گلایفوسیت می‌تواند بر مقاومت آنها در برابر بیماری‌ها تأثیر بگذارد (۱، ۱۵). در مطالعه‌ای گزارش شده است که گیاهان پس از تیمار با گلایفوسیت به بیمارگرهای قارچی از جمله *Phytophthora infestans* مقاومت نشان داده‌اند. علف‌کش که برای میکروارگانیزم‌ها سمی است در اندام‌های

رویشی تجمع پیدا می کند (۱۶). علف کش گلایفوسیت برای قارچ ها سمی است و می تواند مانع از خسارت بیماری های قارچی گیاهی شده و مصرف قارچ کش ها را کاهش دهد (۴). مطالعات انجام شده روی گندم مقاوم به گلایفوسیت نشان داد که این علف کش در پیشگیری و درمان زنگ نواری و زنگ برگ گندم مؤثر است. اسپری گلایفوسیت با دوز معمول، در مراحل مختلف رشدی گیاه، سبب کنترل زنگ زرد گندم همراه با نابودی کامل علف های هرز شد. همچنین کاربرد این علف کش روی سویاهای مقاوم به گلایفوسیت، سبب سرکوبی زنگ آسیایی ناشی از عامل *Phakopsora pachyrhizi* شد (۱۷). یکی از دلایل اثر همزمان گلایفوسیت بر کنترل علف های هرز و بیمارگرهای گیاهی، مشابهت در مکان هدف این علف کش در گیاهان و قارچ ها است. برای مثال مسیر شیکیمات و مسیرهای سنتز آمینواسیدهای ضروری، در قارچ ها و گیاهان سبز مشترک است (۱۸). برهمکنش گلایفوسیت با بیماری های قارچی گیاهی، به دلیل واکنش های متفاوت در دوزهای مختلف

علف کش، نوع خاک و موجودات زنده خاک، نوع فرمولاسیون، شرایط محیطی، نوع بیمارگر و ذات گیاه، بسیار پیچیده است (۸). همچنین زمان مواجهه با بیمارگر در مقابل زمان تیمار علف کش، اثر زیادی بر این برهمکنش دارد. در تحقیقی بوسیله هلاندر و همکاران (۲۰۱۲) اثرات گلایفوسیت بر رشد یک علف دائمی، بید گیاه (گیاه هدف) و یک گیاه علفی دیگر با نام فتوک (گیاه غیرهدف) و کلونیزاسیون ریشه گیاه توسط قارچ میکوریزا آربوسکولار بررسی شد. نتایج نشان داد که استفاده از گلایفوسیت، کلونیزاسیون میکوریزایی کل و به خصوص آربوسکول های موجود در ریشه های گیاهان هدف و غیرهدف را به طور قابل توجهی کاهش می دهد. همچنین گلایفوسیت توانست، ماده میکوریزا (هاگ های) موجود در خاک را نیز تحت تأثیر قرار دهد و بنابراین باعث کاهش کلونیزاسیون ریشه ها شود (۳). تیمار گیاهان با گلایفوسیت سبب واکنش ژن های پاسخ محافظتی می شود که سطح مقاومت گیاه را به عفونت های ایجاد شده به وسیله بیمارگر افزایش می دهد.

"پاسالاری، بررسی نقش گلائیفوسیت در پاسخ گیاهان به بیمارگرها"

پاسالاری و همکاران در سال ۲۰۱۶ بر روی گیاه سیب‌زمینی تراریخته مقاوم به علف‌کش گلائیفوسیت (حاوی ژن *aroA*، ژن مقاومت به علف‌کش و بیمارگرها) انجام شده بود (۴)، نشان داد که تیمار گیاهان سیب‌زمینی آلوده‌شده با دو سویه باکتری‌های بیمارگر *Dickeya dadantii* و *Pectobacterium atrosepticum* ENA49 21A با گلائیفوسیت، بیان ژن‌های پاسخ دفاعی و ژن‌های وابسته به بیماری‌زایی را در سیب‌زمینی القا می‌کند (جداول ۱ و ۲). در این پژوهش، سطح بالایی از بیان ژن‌های وابسته به بیمارگر (*PR-2*, *PR-3*, *PR-5*)، به‌ویژه ژن *PR-2* و ژن‌های پاسخ دفاعی (*HIN1*, *HSR-203j*) به‌ویژه ژن *HSR-203j* مشاهده شد (۲۰).

مقاومت گیاه به بیمارگرها با تجمع پروتئین‌های PR مرتبط است. ژن‌های مرتبط با بیماری‌زایی (pathogenesis related genes)، یک کلاس ویژه از پروتئین‌های محافظ هستند که در پاسخ به تأثیرات تنش‌زا و عفونت بیمارگر بیان می‌شوند. پروتئین‌های PR در بسیاری از گونه‌های گیاهی یافت می‌شوند و در حال حاضر پروتئین‌های توصیف شده به ۱۷ خانواده اختصاص یافته است. رابطه بین تجمع پروتئین‌های PR و توسعه مقاومت اکتسابی به دست آمده، منجر به این فرض شده است که بیان این ژن‌ها به‌عنوان نشانگرهای این مقاومت محسوب می‌شود. نشان داده شده است که انباشت این پروتئین‌ها با توسعه مقاومت به دست آمده از گیاه ارتباط دارد (۱۹). پژوهشی که به‌وسیله

جدول ۱- مقایسه سطوح بیان ژن‌های PR و ژن‌های پاسخ دفاعی سیب‌زمینی زمانی که گیاه با باکتری *Pectobacterium atrosepticum* 21A آلوده شده و سپس با گلائیفوسیت تیمار شد. برای نمونه‌های شاهد از گیاه آلوده‌شده با باکتری ولی تیمارنشده با گلائیفوسیت استفاده شد (۲۰).

ژن‌ها	Relative value of mRNA copies	
	<i>Pectobacterium atrosepticum</i> 21A (control)	<i>Pectobacterium atrosepticum</i> 21A
<i>PR-2</i>	۱۴/۹۰±۰/۱۵	۴۲/۷۰±۲/۳۱*

<i>PR-3</i>	۷/۳۰±۲/۰۱	۱۳/۶۵±۰/۱۲*
<i>PR-5</i>	۶/۵۰±۲/۰۱	۱۰/۴۰±۳/۲۱*
<i>HIN-1</i>	۷/۲۰±۰/۲۳	۱۳/۰۵±۶/۱۴*
<i>HSR-203J</i>	۱۲/۰۶±۲/۱۰	۲۹/۱۲±۲/۱۴*
<i>aroA</i>	۷/۹۰±۲/۰۱	۱۴/۹۰±۲/۱۰*

*: معنی داری (P<0.05).

جدول ۲- مقایسه سطوح بیان ژن های *PR* و ژن های پاسخ دفاعی سیب زمینی زمانی که گیاه با باکتری *Dickeya dadantii* ENA49 آلوده شده و سپس با گلیفوسیت تیمار شد. برای نمونه های شاهد از گیاه آلوده شده با باکتری ولی تیمار نشده با گلیفوسیت استفاده شد (۲۰).

ژن ها	Relative value of mRNA copies	
	<i>Dickeya dadantii</i> ENA49 (control)	<i>Dickeya dadantii</i> ENA49
<i>PR-2</i>	۱۳/۲۵±۰/۳۳	۱۹/۷۰±۷/۲۶*
<i>PR-3</i>	۷/۰۷±۰/۳۸	۱۲/۷۸±۲/۳۳*
<i>PR-5</i>	۷/۰۶±۰/۸۰	۹/۴۰±۱/۲۶*
<i>HIN-1</i>	۶/۹۱±۰/۲۸	۱۲/۵۰±۱/۸۰*
<i>HSR-203J</i>	۱۰/۸۵±۰/۸۲	۲۷/۳۷±۲/۷۳*
<i>aroA</i>	۹/۱۰±۲/۳۲	۱۴/۱۶±۲/۶۷d*

*: معنی داری (P<0.05).

در مطالعات آنها بیان ژن های *PR-2* به اندازه ۱/۵ و ۲/۹ بار، ژن *PR-3* به اندازه ۱/۷ و ۱/۷ بار، برای ژن *PR-5* به اندازه ۱/۳ و ۱/۵ بار، بیان ژن *HSR-203J* به اندازه ۲/۵ و ۲/۴ بار و برای ژن *HIN1* به اندازه ۱/۷ و ۱/۷ بار، به ترتیب با باکتری های *Dickeya dadantii* و *Pectobacterium atrosepticum* افزایش پیدا کرده بود (۲۰). بیان ژن های مذکور در نمونه های شاهد (گیاهان تراریخته تیمار نشده با گلیفوسیت)، تغییر پیدا نکرده بود. نتایج نشان داده بود که بین افزایش بیان ژن ها در نمونه های مورد آزمایش و کاهش آنها در نمونه های شاهد (گیاهان تیمار شده با گلیفوسیت نسبت به گیاهان تیمار نشده) ارتباط معنی داری وجود داشت.

سطح بیان ژن‌های *PR-2* و ژن *HSR-203j* نسبت به ژن‌های دیگر تا اندازه بیشتری افزایش پیدا کرده بود که این امر توانسته بود، توجیه‌کننده تأثیر گلایفوسیت در ارتباط با القای سیستم مقاومت اکتسابی گیاه نسبت به بیمارگرهای مذکور باشد. تأثیر ضدباکتریایی گلایفوسیت با افزایش بیان ژن‌های پاسخ دفاعی سیب‌زمینی (پاسخ مولکولی)، با نتایج مورفولوژیکی خواص ضدباکتریایی گلایفوسیت نیز همسویی داشت (۹). یافته‌های آنها با یافته‌های پنتیر و همکاران (۱۶)، پلینه و همکاران (۱۵) در گیاه پنبه، وان لون (۱۹) و پاسالاری و همکاران (۲۰) در گیاه سیب‌زمینی تراسیخته علیه قارچ‌های بیمارگر سیب‌زمینی مبنی بر اینکه تیمار گیاهان با گلایفوسیت می‌تواند سطح مقاومت گیاه را به عفونت‌های ایجادشده به‌وسیله بیمارگر افزایش دهد، مطابقت و همسویی داشت.

نتیجه‌گیری نهایی

در بیشتر موارد، اثر گلایفوسیت روی خاک، آب و جمعیت‌های میکروبی خاک بسیار کوچک بوده و از نظر آماری،

معنی‌دار نیست. فرسایش خاک در طولانی‌مدت باعث آسیب جدی به محیط زیست و زمین‌های کشاورزی می‌شود. بنابراین استفاده از یک علف‌کش سیستمیک با طیف کارایی گسترده مثل گلایفوسیت می‌تواند به کاهش یا حذف خاک‌ورزی کمک کند. در این میان استفاده از گیاهان زراعی مقاوم به گلایفوسیت می‌تواند در رسیدن به هدف موردنظر، بسیار مؤثر باشد. استفاده از گیاهان مقاوم به گلایفوسیت توانسته به پژوهشگران در راه کشف سازوکارهای مقاومت گیاهان به آفات و عوامل بیمارگر گیاهی کمک کند. بررسی‌ها بر روی اثرات جانبی و همچنین اثرات ضدبیماری‌زایی گلایفوسیت بر روی گیاهان نشان داده شده است که تیمار گیاهان با گلایفوسیت علاوه بر ریشه‌کن کردن علف‌های هرز در مزارع کشاورزی می‌تواند با القای پروتئین‌ها و ژن‌های پاسخ دفاعی، نوعی مقاومت اکتسابی سیستمی نسبت به بیمارگرهای گیاهی بخصوص قارچ‌ها و باکتری‌ها، ایجاد کند. پژوهش‌ها در مورد خواص ضدباکتریایی و مکانیسم‌های عمل

گلایفوسیت می تواند به طور قابل توجهی علف های هرز و بیمارگرهای گیاهی را تلفات محصولات کشاورزی ناشی از کاهش دهد.

References

فهرست منابع

1. Antonio L., Cerdeira-Dionsio L.P and Gazziero-Stephen O. (2011). Impacts of glyphosate-resistant soybean cultivation in South America. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 59: 5799-5807.
2. Tilman D., Cassman K.G., Matson P.A., Naylor R, Polasky S. (2002). Agricultural sustainability and intensive production practices. Nature. 418: 671-677.
3. Helander M., Saloniemi I. and Saikkonen K. (2012). Glyphosate in northern ecosystems. Trends in Plant Science. 17: 569-574.
4. Pasalari H.M., Tratsiakova O.M. and Evtushenkov A.N. (2015). Glyphosate tolerance transgenic Potato plants containing *aroA* gene. Proceeding of Belarusian State University. Series. Physiological, Biochemical, Molecular, Biological Sciences. 10: 123-126 (In Russ.).
5. Seadati F., Kahrizi D. and Nosratti I. (2018). The response of transgenic *Brassica napus* with *aroA* gene to glyphosate treatment. Genetic Engineering and Biosafety. 7(1): 41-52.
6. Stallings W.C., Abdel-Meguid S.S. and Lim L.W. (1991). Structure and topological symmetry of the glyphosate target 5-enopyruvylshikimate-3-phosphate synthase: a distinctive protein fold. Proceedings of the National Academy of Sciences USA. 88: 5046-5050.
7. Benbrook C. (2016). Trends in glyphosate herbicide use in the Unites States and globally. Environmental Sciences Europe. 28 (3): 548-555.
8. Duke S.O. and Powles S.B. (2008). Glyphosate: a once in a century herbicide. Pest Management Science. 64: 319-325.
9. Pasalari H. and Evtushenkov A.N. (2016). PR-genes expression in the leaves of transgenic potato plants after glyphosate treatment. Vestnik Belarusian State University. Series, 2, Chemistry. Biology. Geography. 1: 31-35 (In Russ.).
10. Bonny S. (2008). Genetically modified glyphosate-tolerant soybean in the USA: Adoption factor impacts and prospects: a review. Agronomy for Sustainable Development. 28: 21-32.
11. Gholamnezhad J. (2017). Plants defense mechanisms against pathogen. Plant Pathology Science. 6: 24-32.

12. Sadravi M. (2012). The use of genetic engineering to create plants resistant to diseases. *Plant Pathology science* 1(2): 1-9. (In Persian with English Abstract).
13. Yasuda M., Ishikawa A. and Jikumaru Y. (2008). Antagonistic interaction between systemic acquired resistance and the abscisic acid-mediated abiotic stress response in *Arabidopsis*. *Plant Cell*. 20: 1678–1692.
14. Brandazza A., Angeli S. and Tegoni M. (2004). Plant stress proteins of the thaumatin-like family discovered in animals. *FEBS Letters*. 572: 3-7.
15. Pline W.A., Wilcut J.W. and Duke S.O. (2002). Tolerance and accumulation of shikimic acid in response to glyphosate applications in glyphosate resistant and non-glyphosate resistant cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50: 506- 512.
16. Pontier D., Tronchet M. and Rogowsky P. (1998). Activation of *hsr203*, a plant gene expressed during incompatible plant-pathogen interactions is correlated with programmed cell death. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 11: 544-554.
17. Feng P.C.C., Baley G.J., Clinton W.P., Bunkers G.J., Alibhai M.F., Paulitz T.C. and Kidwell K.K. (2005). Glyphosate inhibits rust disease in Glyphosate-resistant wheat and soybean. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 102: 17290-17295.
18. Duke S.O., Wedge D.E., Cerdeira A.L. and Matallo M.B. (2007). Interactions of synthetic herbicides with plant disease and microbial herbicides. In: *Novel Biotechnologies for Biocontrol Agent Enhancement and Management*. Springer Nature (Netherlands). 277-296.
19. Van Loon L.C. (2011). Significance of inducible Defense-related proteins infected plants. *Annual Review of Phytopathology*. 2006: 135–162.
20. Pasalari H., Tretyakova O.M. and Evtushenkov A.N. (2016). Induction of Potato defense response genes in Potato leaves during bacterial infection and glyphosate processing. *Journal of Agriculture and Plant Protection*. 3(106): 37-39.

Investigation of the Role of Glyphosate in Plant Response to Pathogens

Hossein Pasalari

Assistant Professor of Department of Agriculture, Minab Higher Education Center, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran.

hpsalary@yahoo.com

Abstract

Plants are usually attacked by several pathogens such as fungi, bacteria, viruses and other microorganisms. Different defense pathways in plants evolved in reaction to pathogens. It has been shown that plant defense responses to pathogens can be stimulated by plant processing at optimal concentration of glyphosate. In plant genetic engineering, the study of the effects of glyphosate in terms of herbicidal, fungicidal and antibacterial properties has been used to produce weed-resistant plants and to cure some fungal and bacterial diseases of plants. It has been shown that plants treated by glyphosate can react to phytopathogens by inducing an acquired resistance system and expressing of pathogenesis related genes and defense response genes. This article, reviewing studies, showed that, the treatment of plants by glyphosate not only eliminate weeds of farmland but can also induce a systemic acquired resistance to phytopathogens, specially to fungi and bacteria by expressing of proteins and defense response genes.

Keywords: Plant Pathogens, Pathogenesis Related Genes, Defense Response Genes, Glyphosate, Induced Resistance.