# تأثیرعلف‌کش گلیفوسیت در بیان ژن‌های مرتبط با بیماری‌زایی و القای مقاومت در گیاهان سیب‌زمینی تراریخت تیمارشده با دو سویه بیمارگرهای سیب‌زمینی

حسین پاسالاری[1*]، چمران همتی[1] و آناتولی نیکلایویچ یوتوشنکوف[2]

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۰/۱۷؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۲/۱۸)

## چکیده

**هدف اصلی، بررسی تأثیر گلیفوسیت در بروز القای مقاومت نسبت به باکتری‌های بیماری‌زای سیب‌زمینی بود. بدین منظور، از علف‌کش گلیفوسیت در غلظت بهینه ۱/۸ میلی‌گرم در لیتر بر رقم سیب‌زمینی تراریخت جهت القای مقاومت به دو سویه از باکتری‌های بیمارگر سیب زمینی (سویه *21A* از باکتری *Pectobacterium atrosepticum* و سویه *ENA49* از باکتری *Dickeya dadantii*) استفاده شد. آنالیز*PCR* نمونه های *cDNA* جداشده و سنتزشده از گیاهان تراریخت نشان داد که ژن‌های *aroA* و ژن‌های پاسخ دفاعی سیب زمینی به میزان بیشتری بیان شدند. در اثر آلودگی برگ‌های سیب‌زمینی با باکتری‌های بیمارگر، و تیمار آنها با گلیفوسیت، یک سطح بالایی از بیان ژن‌های مرتبط با بیماری‌زایی، بویژه ژن *PR-2* و ژن‌های پاسخ دفاعی بویژه ژن*HSR-203j* مشاهده شد. بهرحال بیان ژن‌های مذکور در نمونه های شاهد، تغییر پیدا نکرد. نتایج نشان داد که بین میزان بیان ژن‌ها در نمونه‌های موردآزمایش و شاهد (گیاهان تیمارنشده با گلیفوسیت) ارتباط معنی-داری وجود دارد. نتایج نشان داد که تیمار با گلیفوسیت، می تواند با القای پروتئین‌ها و ژن‌های پاسخ دفاعی، نوعی مقاومت اکتسابی سیستمی نسبت به باکتری‌های بیماری‌زای گیاهی، ایجاد کند.**

**کلیدواژه:** سیب زمینی، بیمارگرهای باکتریایی، گلیفوسیت، ژن‌های پاسخ دفاعی سیب‌زمینی، مقاومت اکتسابی سیستمی

---

* مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: hossein.pasalari@hormozgan.ac.ir

۱. استادیار بخش کشاورزی، مجتمع آموزش عالی میناب، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران.

۲. پروفسور بخش زیست‌شناسی مولکولی، دانشگاه دولتی بلاروس، مینسک، بلاروس.

# The effect of glyphosate herbicide on the expression of pathogenesis related genes and resistance induction in transgenic Potato plants treated with two strains of Potato pathogens

**H. Pasalari[1*], C. Hemmati[1], and E.A. Nikolaevich[2]**

(Received: 6.1.2021; Accepted: 8.5.2021)

## Abstract

Our objective was to investigate the effect of glyphosate in induction of resistance to two plant bacterial pathogens. To do so, glyphosate at an optimal concentration of 1.8 mg / l was used on the transgenic potato, *Odyssay* cultivar, to induce resistance to two strains of pathogenic bacteria (21A of *Pectobacterium atrosepticum* and ENA49 of *Dickeya dadantii*). RT-PCR analysis on RNA isolated from transgenic plants, showed overexpression of aroA and potato defense response genes. Transgenic potato leaves infected with potato pathogenic bacteria, and then treated with glyphosate showed a high level of expression of pathogenesis-related genes (*PR-2*, *PR-3*, *PR-5*), especially PR-2 and defense response genes (*HSR-203j*, *HIN1*), especially *HSR-203j*. However; the plants infected with bacteria and non-treated by glyphosate did not significantly change the expression of these genes. The results showed that the treatment of plants by glyphosate may not only eliminate weeds of farmland but can also induces a systemic acquired resistance to pathogenic bacteria by expressing of PR proteins and defense response genes.

**Keywords:** Transgenic Potato, Bacterial Pathogens, Glyphosate, Defense Response Genes of Potato, Systemic Acquired Res

* Corresponding author's E-mail: hossein.pasalari@hormozgan.ac.ir

1. Assistant professor of Agriculture Department, Minab Higher Education Center, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran.
2. Professor of Molecular Biology Department, Belarusian State University, Minsk, Belarus.

## مقدمه

سیب‌زمینی از محصولات مهم و باارزشی است که نقش مهمی در تغذیه مردم جهان دارد (Hoque 2010). بیمارگرهای باکتریایی از جمله عوامل محدودکننده کاشت این محصول محسوب می‌شوند. (Muslim Khani & Mozaffari 2015). باکتری‌های عامل پوسیدگی نرم، *Pectobacterium atrosepticum* و *Dickeya dadantii* این توانایی را دارند که باعث ایجاد تخریب بافت سیب-زمینی در گونه‌های مختلف، در طول فصل رشد و در طول انبارداری شوند. خاصیت اصلی باکتری‌های ذکر شده، توانایی ترشح تعدادی آنزیم دپلیمراز کننده خارج سلولی (پکتولیتیک، سلولزی و پروتئولیتیک) است که به عنوان فاکتورهای بیماری‌زایی این باکتری‌ها عمل می‌کنند (Pitman et al. 2010. Tratsiakova 2011). گلیفوسیت (N- فسفونومتیل‌گلیسین)، مهار کننده آنزیم ۵ – انول پیرویل شیکیمات ۳ – فسفات سنتتاز، آنزیمی از مسیر شیکیمات که در هسته کدگذاری می‌شود، می‌باشد. این آنزیم در پلاستیدهای گیاهی موضع می‌گیرد و واکنش پیشین این مسیر را کاتالیز می‌کند و برای سنتز اسید آمینه های آروماتیک در باکتری‌ها، قارچ‌ها و گیاهان ضروری است. مطالعات تایید می‌کنند که گلیفوسیت اثر ممانعت-کنندگی خود را با اشغال جایگاه فسفوانول پیروات انجام می‌دهد (Stallings et al. 1991. Pasalari et al. 2015). استفاده در حال گسترش جهانی گلیفوسیت از دهه ۱۹۹۰، تا حد زیادی نتیجه توسعه گونه‌های اصلاح شده و مقاوم در برابر گلیفوسیت برخی از محصولات مهم می‌باشد (Benbrook 2016. Duke & Powles 2008. Pasalari & Yevtushenkov 2016)، بطوریکه گیاهان زراعی مقاوم به گلیفوسیت، زمینه‌ای برای استفاده‌ی مستقیم و گسترده‌ی این علف‌کش، فراهم کرده و مدیریت علف‌های هرز را ساده نموده است. در نتیجه کشاورز ملزم به استفاده از راهکارهای مدیریتی پیچیده جهت مبارزه با علفهای هرز نمی‌باشد (Bonny 2008). گیاهان در تماس دائمی با انواع مختلفی از بیمارگرها از قبیل قارچ‌ها، باکتری‌ها، ویروس‌ها و غیره قرار دارند. آنها بطور متداول مورد حمله بیمارگرهای مختلف قرار می‌گیرند. مسیرهای دفاعی مختلف در گیاهان در پاسخ به بیمارگرها، تکامل یافته‌اند. این مسیرهای مختلف می تواند بوسیله بیمارگرهای گیاهی یا بوسیله مواد شیمیایی تحریک شود (Tahmasebi & Ghodoum-Parizipour 2020). برای مبارزه با این عوامل بیماری‌زا، گیاهان باید سریعاً این عوامل بیماری‌زا را شناخته و سازوکارهای دفاعی خود را فعال نمایند. با پیشرفت فناوری‌های جدید در سال‌های اخیر و شناخت بیشتر بشر از سیستم‌های بیولوژیکی، استفاده از فناوری‌های مبتنی بر زیست‌شناسی مولکولی در کنترل بیماری‌های گیاهی رواج پیداکرده است (Dickinson 2003). تشخیص الگوهای مولکولی همراه بیمارگر به وسیله گیرنده‌های تشخیص الگوی گیاه، باعث حفاظت گیاه در مقابل بیمارگرها و همچنین موجب محدودکردن بیماری‌هایی می‌شود که به وسیله بیمارگرهای پرآزار ایجاد می‌شود (Sadravi 2012). از طرف دیگر، بیمارگرها می‌توانند با واردکردن پروتئین‌های موثر خود به داخل میزبان از وقوع واکنش‌های دفاعی توسط گیاه جلوگیری کنند و در مقابل، گیاهان نیز با استفاده از ژن‌های مقاومت [1] به صورت مستقیم یا غیرمستقیم باعث ممانعت از عمل پروتئین‌های موثر بیماری‌زایی بیمارگرها می‌شوند. همچنین این پاسخ های دفاعی می‌توانند به وسیله واکنش فوق حساسیت [2] و

[1] Resistant genes
[2] Hypersensitive reaction

سیستم مقاومت اکتسابی [3] نیز تشدید شوند (Yasuda et al. 2008). 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 تحریک و فعال می‌شود. تشکیل پروتئین‌های مرتبط با بیماری‌زایی، تغییر دیواره سلولی با رسوب و اتصال پلی‌ساکاریدها، پروتئین ها، گلیکوپروتئین‌ها، فنل‌ها، تولید فیتوآلکسین‌ها و لیگنینی شدن مراحل بروز این نوع مقاومت در گیاهان هستند (Brandazza et al. 2004). تیمار گیاهان با گلیفوسیت می تواند بر مقاومت آنها در برابر بیماری‌ها تأثیر بگذارد (Antonio et al. 2011. Pline et al. 2002). نشان داده شده است که گیاهان پس از تیمار با گلیفوسیت می توانند مقاومت به بیمارگرهای قارچی از جمله *Phytophthora infestans* و *Ralstonia solanacearum* را به دست آورند، زمانی که علف‌کش در اندام‌های رویشی، که برای میکروارگانیسم‌ها سمی است، تجمع می‌یابد (Pontier et al. 1998. Pasalari & Evtushenkov 2016). علف‌کش گلیفوسیت برای قارچ‌ها سمی بوده و می‌تواند مانع از خسارت بیماری‌های قارچی گیاهی شده و مصرف قارچ کش‌ها را کاهش دهد (Duke et al. 2007). مطالعات انجام شده روی گندم مقاوم به گلیفوسیت نشان داد که این علف کش در پیشگیری و درمان زنگ نواری و زنگ برگ گندم موثر است. اسپری گلیفوسیت با دوز معمول، در مراحل مختلف رشدی گیاه، سبب کنترل زنگ زرد گندم همراه با نابودی کامل علف‌های هرز شد. همچنین کاربرد این علف کش روی گیاه سویا مقاوم به گلیفوسیت، سبب سرکوبی بیماری زنگ آسیایی شد. یکی از دلایل اثر همزمان گلیفوسیت بر کنترل علف‌های هرز و بیمارگرهای گیاهی، مشابهت در مکان هدف این علف‌کش در گیاهان و قارچ‌ها می‌باشد. برای مثال مسیر شیکیمات و مسیرهای سنتز آمینواسیدهای ضروری، در قارچ‌ها و گیاهان سبز مشترک می باشد (Duke et al. 2008). برهمکنش گلیفوسیت با بیماری‌های قارچی گیاهی، به دلیل واکنش‌های متفاوت در دوزهای مختلف علف‌کش، نوع خاک و موجودات زنده خاک، نوع فرمولاسیون، شرایط محیطی، نوع پاتوژن و ذات گیاه، بسیار پیچیده می‌باشد (Duke & Powles 2008). در تحقیقی بوسیله (Helander et al. 2012) اثرات گلیفوسات اعمال شده در پاییز را بر رشد یک علف دائمی، بیدگیاه (گیاه هدف) و یک علف، فتوک (گیاه غیرهدف) و کلونیزاسیون ریشه گیاه قارچی میکوریزا آربوسکولار بررسی شد. نتایج نشان داد که استفاده گلیفوسیت، کلونیزاسیون میکوریزا کل و به خصوص آربوسکول‌های موجود در ریشه‌های گیاهان هدف و غیر هدف را به طور قابل توجهی کاهش می‌دهد. گلیفوسیت توانست، ماده میکوریزا (هاگ‌ها) موجود در خاک را تحت تأثیر قرار دهد و بنابراین باعث کاهش کلونیزاسیون ریشه‌ها شود (Druille et al. 2013a,b). تیمار گیاهان با گلیفوسیت سبب واکنش ژن‌های واکنش محافظتی می‌شود که سطح مقاومت گیاه را به عفونت‌های ایجاد شده بوسیله بیمارگر افزایش می‌دهد. مقاومت گیاه به بیمارگرها با تجمع پروتئین‌های PR مرتبط است. ژن‌های مرتبط با بیماری‌زایی [4]، یک کلاس ویژه از پروتئین های محافظ هستند که در پاسخ به تأثیرات استرس‌زا و عفونت بیمارگر بیان می‌شوند. پروتئین‌های مرتبط با بیماری‌زایی در بسیاری از گونه های

[3] Systemic acquired resistance

[4] Pathogenesis related genes

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، نشان داده شده است که انباشت این پروتئین‌ها با توسعه مقاومت به دست آمده از گیاه ارتباط دارد (Van Loon 2011). در مورد تأثیرات علف‌کشی و خواص ضدبیمارگری گلیفوسیت در القای سیستم مقاومت اکتسابی در گیاهان بخصوص خاصیت ضدقارچی آن مطالعاتی انجام شده بود (Pontier et al. 1998. Pasalari & Yevtushenkov 2016). اما در مورد خواص ضدباکتریایی آن تا حالا گزارشی اعلام نشده است. در پژوهش حاضر سعی شده است که رابطه بین تجمع پروتئین‌های مرتبط با بیماری‌زایی، ژن‌های پاسخ دفاعی سیب زمینی و القای سیستم مقاومت اکتسابی بعد از تیمار با گلیفوسیت گیاهان سیب زمینی آلوده شده با بیمارگرهای باکتریایی، مطالعه و بررسی شود.

## مواد و روش‌های بررسی

در این پژوهش که در آزمایشگاه تحقیقاتی زیست مولکولی گیاهی دانشگاه دولتی بلاروس انجام شده بود، از یک رقم معروف سیب زمینی (*Odyssay*) استفاده شده است که با استفاده از سویه‌ای از باکتری *Agrobacterium tumefaciens* و استفاده از ژن موتانت *aroA* که یک ژن مقاوم به علف‌کش و بیمارگرها می‌باشد، تراریخت شده بود (Pasalari et al. 2015). برای مطالعه سازوکارهای اثربخشی گلیفوسیت در القای سیستم مقاومت اکتسابی در گیاهان، در این پژوهش از دو سویه باکتریایی (سویه 21A از باکتری *Pectobacterium atrosepticum* و سویه ENA49 از باکتری *Dickeya dadantii*) استفاده شد. سویه‌های باکتریایی به مدت ۱۵ ساعت در دمای ۲۸ درجه سانتیگراد با تکان دادن (حدود ۵۰ دور در دقیقه) در محیط LB (Luria-Bertani Broth؛ میلر، ۱۹۷۲) رشد داده شده و سپس رقیق‌سازی آنها، در محلول فیزیولوژیکی کلریدسدیم استریل، صورت گرفت. جهت تیمار با گلیفوسیت، برگ‌های سیب زمینی مذکور در سه تکرار با گلیفوسیت در غلظت ۱/۸ میلی‌گرم در لیتر اسپری شده و سپس با باکتری‌های مذکور آلوده شدند. به اینصورت که ۱۰ میلی لیتر از سوسپانسیون باکتری‌ها (تقریباً $2\times10^7$ CFU/ml) بر روی سطح آسیب دیده گیاه که بوسیله اسکالپل ایجاد زخم شده بود، قرار داده شد. بعد از ۳ روز از برگ‌های آلوده شده با باکتری‌ها و تیمار شده و غیر تیمار شده با گلیفوسیت، جهت آنالیزهای مولکولی، استخراج RNAی کل با استفاده از کیت NucleoSpin RNA Plant kit (Co, Macherey-Nagel, Germany, Cat. No: RN 7713C) انجام گرفت. رشتهٔ اول cDNA با استفاده از ۰/۵ میکروگرم RNAی کل نمونه‌های گیاهی و با استفاده از کیت First Strand cDNA Synthesis Kit (Fermentas Co, Cat. No: K1611) سنتز شد. جهت تعیین مقدار بیان ژن‌های وابسته به بیماری‌زایی و ژن‌های پاسخ دفاعی سیب زمینی، واکنش RT-PCR (Real Time – PCR) با استفاده از رشتهٔ اول cDNA با ژن aroA، ژن های وابسته به بیماری‌زایی و ژن‌های پاسخ دفاعی سیب زمینی با آغازگرهای ویژه این ژن‌ها (جدول۱- آغازگرهای استفاده شده در این پژوهش مربوط به ژن‌های پاسخ دفاعی سیب‌زمینی می‌باشد که توسط پاسالاری و همکاران طراحی شده بود (Pasalari et al. 2015) و از شرکت اپرون Eurofins MWG Operon-Company (Ebersberg, Germany) خریداری شد)، انجام شد. مقدار نسبی نسخه mRNA با فرمول $N\ (mRNA) = 2^{(\Delta Ct - \min(\Delta Ct))}$ محاسبه و تعیین شد (Livak & Schmittgen 2001). مقایسه

جدول ۱. آغازگرهای استفاده شده در این پژوهش (Pasalari et al. 2015)

**Table 1. Used primers in this research**

| Primers | Sequence of primers | Amplicon size (bp) |
|---|---|---|
| aroAseq2-f | CAGGAAACAGCTATGACGCATTAAAGGCGATCTGGTTTC | 250, 750 |
| aroA r_ch | TCAGAGCTCAGCCGTGCTGACTCAGA | |
| nt CTP-f | GTTTCTAGAAAAATGGCACAGATTAGCAGCATG | 200-250 |
| nt CTP-r | CAATGAGCTCCATGGTCTGTGCAGTGACCACTGAT | |
| St PR2-f | CTAATGCGGTGGTACAAGATGG | 250-300 |
| St PR2-r | TGACACAACAATTCCTACAGATCC | |
| St PR3-f | ATAAGCCATCATGCCACAACG | 200-250 |
| St PR3-r | GCAGTATTCGGACCCATCC | |
| St PR5-f | ATCTCCCGTCTCGCATTTGC | 200-250 |
| St PR5-r | GGGCCAAACTTGGAACCTTAATG | |
| St HSR-203j-f | GTAATGATAGTTCGGTTGATAAGC | 200-250 |
| St HSR-203j-r | AGAGGTAGGAAGACGGAAAC | |
| St HIN-1f | GCAACTGCATTTTCCAAATCATC | 200 |
| St HIN-1r | CACGTAGAAATTGACCTTGTTAGG | |
| St EF1-α f | TTGATGCTCTTGACCAGATTAACG | 250-300 |
| St EF1- α r | ACGGGCACAGTTCCAATACC | |

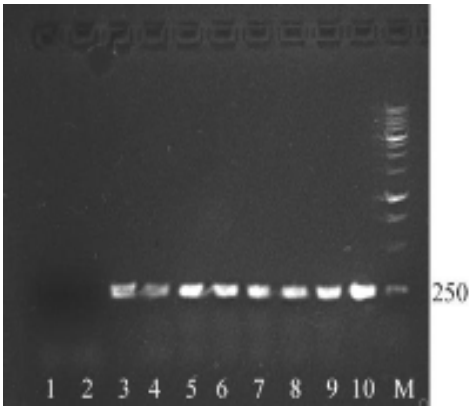
میانگین صفات مورد بررسی بـه کمـک آزمـون دانکـن در سطح ۵ درصد با کمک نرم‌افزار Excel انجام شد.

## نتایج و بحث

آنالیز PCR نمونه های cDNA جداشده و سنتزشـده از گیاهان تراریخت از جهت بیـان ژن‌هـای *aroA* و ژن‌هـای پاسخ دفاعی سیب زمینی، قطعاتی در حدود ۲۵۰ جفت باز بر روی ژل آگارز ۱٪ (w/v) بـرای ژن‌هـای *PR-2*، *PR-3*، *PR-5*، *HSR-203j* و ژن *aroA* را نشان داد (شکل ۱).

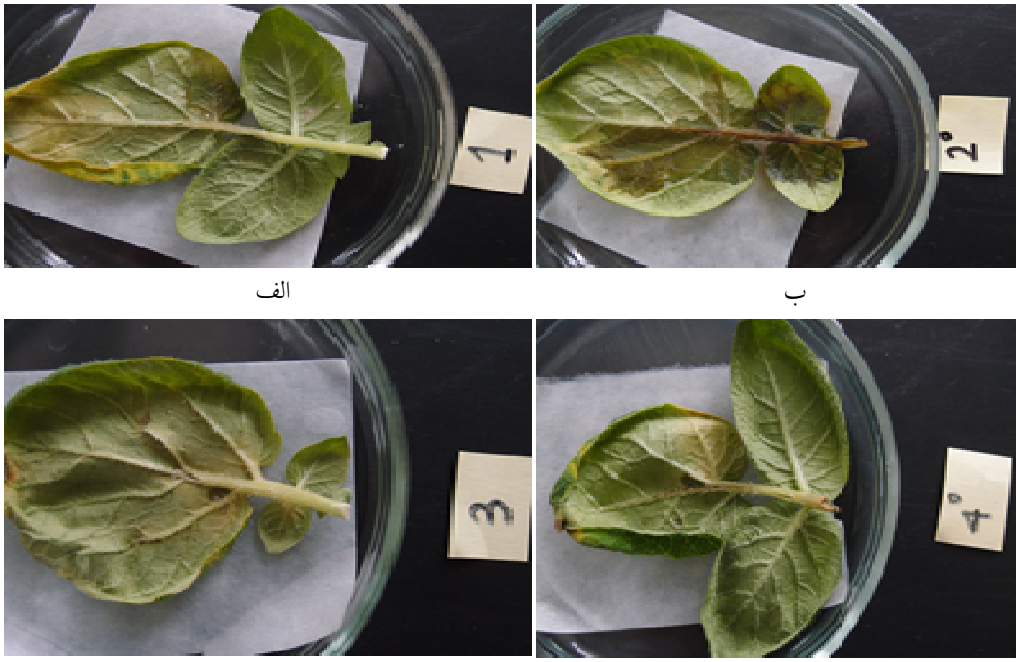
بـرگ‌هـای سـیب‌زمینـی تیمارشـده بـا گلیفوسـیت، بـا بـاکتری‌هـای *P. atrosepticum* 21A و *D. dadantii* ENA49 آلوده شدند. به عنوان کنترل (شاهد)، از برگ‌های گیاهان تراریخت همان رقم استفاده شد که با بـاکتری‌هـای مذکور آلوده شده ولی با گلیفوسیت تیمار نشدند (شکل۲).

تکوین پاسخ حفاظتی سیستمی در سـطح بیـان ژن‌هـای مرتبط با بیماری‌زایی و ژن‌های پاسخ دفاعی سـیب زمینـی، بعد از تیمار با گلیفوسیت وآلودگی با باکتری‌هـای مـذکور، افزایشی در سطح بیان ژن‌های مرتبط با بیماری‌زایـی نشـان




**شکل ۱. آنالیز PCR نمونه های cDNA جداشـده و سنتزشـده از سـیب زمینی تراریخت. لاین ۱ – کنترل منفی (گیاهان تراریخت نشده)، لایـن ۲ – کنتـرل مثبـت (پلاسـمید *aroA* p485)؛ لایـن ۳-۶ – قطعـه cDNA سنتزشده از گیاهان تراریخت با ژن *aroA*، لاین ۷-۱۰ – قطعات cDNA سنتزشده از گیاهان تراریخت با ژن‌های پاسخ دفاعی (ژن *PR-2*، *PR-3*، *PR-5* و ژن *HSR-203j*)- لایـن M – ( kb DNA ladder Mix, Fermentas۱).**

**Fig 1. PCR analysis of cDNA isolated and synthesized from the transformed Potatoes. - Line 1 – negative control (untransformed plant). Line 2 – positive control p485 *aroA*, Line 3-6 – the synthesized cDNA fragment of plants transformed with the p485 *aroA*, Line 7-10 – the synthesized cDNA fragment of plants transformed with the Defense response genes (*PR-2*, *PR-3*, *PR-5* and *HSR-203j*) - Line M – Molecular DNA weight markers (1 kb DNA ladder Mix, Fermentas).**




الف ب

ج د

**شکل۲. برگ‌های سیب زمینی تیمار شده با گلیفوسیت و آلوده شـده بـا بـاکتری‌هـای *Dickeya dadantii* ENA49 و *Pectobacterium atrosepticum* 21A. الف. برگ سیب‌زمینی تیمارشده و آلوده‌شده با باکتری *Pectobacterium atrosepticum* 21A ; ب. بـرگ تیمـار-نشده با گلیفوسیت و آلوده‌شده با *Pectobacterium atrosepticum* 21A ; ج. برگ تیمارشده بـا گلیفوسـیت و آلـوده‌شـده بـا بـاکتری *Dickeya dadantii* ENA49 ; د. برگ‌های تیمارنشده و آلوده‌شده با *Dickeya dadantii* ENA49.**

**Fig 2. The treated leaves of potato by glyphosate and infected with bacteria, *Pectobacterium atrosepticum* 21A and *Dickeya dadantii* ENA49. a. The treated leaf of potato by glyphosate and infected with *Pectobacterium atrosepticum,* 21A; b. The untreated leaf by glyphosate and infected with *Pectobacterium atrosepticum* 21A; c. The treated leaf by glyphosate and infected with *Dickeya dadantii* ENA49; d. The untreated leaf by glyphosate and infected with *Dickeya dadantii* ENA49.**

داد. قـوی‌تـرین بیـان بـرای ژن *PR-2* و ژن *HSR – 203j* (Hypersensitive Response – 203j) را نشان داد. جدول ۲ مقایسه سطوح بیان ژن برای ژن‌های مـرتبط بـا بیمـاری-زایی و ژن‌های پاسخ دفاعی سـیب زمینـی را هنگـامی کـه برگ‌های سیب زمینی با گلیفوسیت تیمار شدند و سپس بـا باکتری‌های مذکور آلوده شدند، را نشان می‌دهد.

## بحث

گیاهان معمولاً بوسیله تعداد زیادی از بیمارگرهـا مـورد هجوم واقع می‌شوند. چرخه‌های دفاعی مختلفی در گیاهان در واکنش به بیمارگرها تکامل یافته است. این مکانیزم‌های دفاعی می‌تواند بوسیله تعدادی از میکروارگانیسم‌ها یا مـواد شـیمیایی تحریـک و فعـال شـود. شناسـایی مکـانیزم‌هـای مولکولی مقاومت گیاهان به عوامل بیماری‌زا مـی‌توانـد بـه روند افزایش مقاومت آنها در برابر بیمارگرهـا کمـک کنـد. تیمار سیب‌زمینی با گلیفوسیت می تواند بـر روی مقاومـت سیب‌زمینی‌های آلوده به بیمارگرها تأثیر بگذارد. هنگامی که برگ‌های سیب‌زمینی با علف‌کش گلیفوسیت تیمار شدند و سپس با باکتری‌های بیمارگر آلوده شـدند سـطح بـالایی از بیان ژن‌هـای وابسـته بـه بیمـارگر (*PR-2, PR-3, PR-5*)،

**جدول۲. مقایسه سطوح بیان ژن‌های مرتبط با بیماری‌زایی و ژن‌های پاسخ دفاعی سیب‌زمینی، موقعی که گیاه با گلیفوسیت تیمار و سپس با باکتری‌های *Pectobacterium atrosepticum* 21A و *Dickeya dadantii* ENA49 آلوده شد. برای شاهد از گیاه تیمارنشده با گلیفوسیت و آلوده‌شده با باکتری‌ها، استفاده شد.**

**Table 2. Comparison of expression levels of PR and Potato defense response genes, when the plant treated by glyphosate and then infected with *Pectobacterium atrosepticum* 21A and *Dickeya dadantii* ENA49. For control, was been used the plant not treated by glyphosate and infected with bacteria.**

| Relative number of mRNA copies | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Genes | *Pectobacterium Atrosepticum* (control) | *Pectobacterium atrosepticum* (21A) + glyphosate | *Dickeya dadantii* (ENA49) + glyphosate | *Dickeya dadantii* (control) | Genes |
| PR-2 | 14,90 ± 0,15 | 42,70 ± 2,31* | 19,70 ± 7,26* | 13,25 ± 0,33 | PR-2 |
| PR-3 | 7,30 ± 2,01 | 13,65 ± 0,12* | 12,78 ± 2,33* | 7,07 ± 0,38 | PR-3 |
| PR-5 | 6,50 ± 2,01 | 10,40 ± 3,21* | 9,40 ± 1,26* | 7,06 ± 0,80 | PR-5 |
| HIN1 | 7,20 ± 0,23 | 13,05 ± 6,14* | 12,50 ± 1,80* | 6,91 ± 0,28 | HIN1 |
| HSR-203j | 12,06 ± 2,10 | 29,12 ± 2,14* | 27,37 ± 2,73* | 10,85 ± 0,82 | HSR-203j |
| aroA | 7,90 ± 2,01 | 14,90 ± 2,10* | 14,16 ± 2,67d* | 9,10 ± 2,32 | aroA |

نکته: * تفاوت معنی داری بیان ژن در برگ‌های تیمارشده با گلیفوسیت نسبت به برگ‌های غیرتیمارشده در سطح ($p < 0/05$).

**Note:** * - Significant differences of gene expression in the treated leaves by glyphosate compared to untreated leaves at ($p<0.05$).

بـویژه ژن *PR-2* و ژن‌هـای پاسـخ دفـاعی (*HSR-203j*, *HIN1*) بویژه ژن *HSR-203j* مشاهده شد. در ایـن حالـت بیان ژن‌های *PR-2* در برگ‌های آلوده با دو باکتری مذکور، به اندازه ۱/۵ و ۲/۹ بار، ژن *PR-3* به اندازه ۱/۷ و ۱/۷ بار، برای ژن *PR-5* بـه انـدازه ۱/۳ و ۱/۵ بـار، بیـان ژن *HSR-203J* به اندازه ۲/۵ و ۲/۴ بار و برای ژن *HIN1* بـه انـدازه ۱/۷ و ۱/۷ بار، بترتیب با بـاکتری‌هـای *D. dadantii* و *P. atrosepticum* افزایش می‌یابد که ایـن حالـت نسـبت بـه گیاهان شاهد (تیمارنشده با گلیفوسیت) مقایسـه شـده بـود (جدول۲). بیان ژن‌های مذکور در نمونه‌های شـاهد، تغییـر معنی‌داری پیدا نکرد. تأثیر گلیفوسیت درافـزایش بیـان ژن-های پاسخ دفاعی سیب‌زمینی (جدول۲)، که منجر به القـای مقاومت و زنده ماندن گیاه در نتیجه آلودگی با باکتری‌هـای بیمارگر شده است، با نتـایج مورفولـوژیکی خـواص آنتـی باکتریایی گلیفوسیت (شکل۲) همسویی دارد و علت زنـده ماندن گیاه آلوده‌شده با باکتری‌هـا در نتیجـه تیمـار آنهـا بـا گلیفوسیت را می توان احتمالاً به اینکه گیاه هنگـام مواجـه شدن با بیمارگر با القای ژن‌های پاسخ دفاعی واکنش نشـان می‌دهد، نسبت داد که این یافته‌های جدید در مورد تأثیرات گلیفوسیت در بیان ژن‌های مرتبط با بیماری‌زایی بـا یافتـه-های وان لون (Van Loon 2011)، پلینه و همکاران (Pline et al. 2002) در گیاه پنبه، پنتیـر و همکـاران بـا قـارچ *R. solanacearum* (Pontier et al. 1998) و نتایج پاسـالاری و یوتوشـنکوف (Pasalari & Evtushenkov 2016) بـرروی خاصـیت ضـدقارچی گلیفوسـیت، مطابقـت و همسویی دارد. غلظت بسیار بالای گلیفوسیت (۳/۶ میلـی-گرم در لیتر) برای گیاه سیب زمینی چه در حالت تراریخت و چه غیرتراریخت بدلیل اثر سمیت گلیفوسیت، کشنده بود (نتایج نشان داده نشده بود). از بررسی‌هـا بـر روی اثـرات جـانبی و همچنـین اثـرات ضـدبیمـاری‌زایـی گلیفوسـیت بخصوص خواص آنتی‌باکتریایی آن بر روی گیاهـان، مـی-توان نتیجه‌گیری نمود که تیمار گیاهان بـا گلیفوسـیت، نـه تنها علف‌های هرز مزارع را از بین می‌برد بلکه می‌تواند بـا القای پروتئین‌ها و ژن‌های پاسـخ دفـاعی، نـوعی مقاومـت

اکتسابی سیستمی نسبت به بیمارگرهای گیاهی بخصوص باکتری‌های بیمارگر، ایجاد کند. تحقیقات در مورد خواص ضدباکتریایی و مکانیزم‌های عمل گلیفوسیت می‌تواند بطور قابل توجهی ضایعات محصولات کشاورزی ناشی از علف‌های هرز و بیمارگرهای باکتریایی را کاهش دهد.

## منابع


Antonio L., Cerdeira Dionsio L.P., Gazziero- Stephen O., 2011. Impacts of Glyphosate-Resistant Soybean Cultivation in South America. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59: 5799-5807.

Benbrook C. 2016. Trends in glyphosate herbicide use in the Unites States and globally. *Environmental Sciences Europe* 28 (3): 548-555.

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.

Brandazza A., Angeli S., Tegoni M. 2004. Plant stress proteins of the thaumatin-like family discovered in animals. *FEBS Letters* 572: 3-7.

Dickinson M. 2003. Molecular plant pathology. London; New York: *BIOS Scientific Publishers* 273p.

Druille M., Cabello M., Omacini M., Golluscio R.A. 2013a. Glyphosate reduces spore viability and root colonization of arbuscular mycorrhizal fungi. *Applied Soil Ecology* 64: 99–103.

Druille M., Omacini M., Golluscio R.A., Cabello M.N. 2013b. Arbuscular mycorrhizal fungi are directly and indirectly affected by glyphosate application. *Applied Soil Ecology* 72: 143–149.

Duke S.O. and Powles S.B. 2008. Glyphosate: a once in a century herbicide. *Pest Management Science* 64: 319-325.

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.

Helander M., Saloniemi I., Saikkonen K. 2012. Glyphosate in northern ecosystems. *Trends in Plant Science* 17: 569–574.

Hoque M.E. 2010. *In vitro* tuberization in potato (*Solanum tuberosum L.*). *Journal of Plant Biology* 3(1): 7-11.

Livak K.J., Schmittgen Th.D. 2001. Analysis of relative gene expression data using Real-time quantitative PCR and the 2-$\Delta_{\Delta Ct}$ method. *Methods* 25(4): 402-408.

Muslim Khani K. and Mozaffari J. 2015. Disease management of Potato bacterial wilt with tuber healthy measurement. *Knowledge and Technology Transfer for Plant Pathology* 5(1): 62-75.

Pasalari H.M., Tratsiakova O.M., Evtushenkov A.N. 2015. Glyphosate tolerance transgenic potato plants containing aroA gene. *Proceeding of Belarusian State University* 10: 123–126 (in Russian.).

Pasalari H., Evtushenkov A.N. 2016. PR-genes expression in the leaves of transgenic potato plants after glyphosate treatment. *Vestnik Belarusian State University* 1: 31–35 (in Russian).

Pitman A.R., Harrow S.A., Visnovsky S.B. 2010. Genetic characterization of Pectobacterium wasabiae causing soft rot disease of potato in New Zealand. *European Journal of Plant Pathology* 126(3): 423–435.

Pline W.A., Wilcut J.W., 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.

Pontier D., Tronchet M., 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.

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 Summary).

Stallings W.C., Abdel-Meguid S.S., 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.

Tahmasebi A.A. and Ghodoum-Parizipour M.H. 2020. The role of brassinosteroid hormones in plant response to

pathogens. *Plant Pathology Science* 9(1): 108-117.

Tratsiakova V. 2011. Temperature dependence of PR genes expression and potato tissues maceration by strains *Pectobacterium* and *Dickeya*. *Youth and Progress of Biology*. 2011. Abstracts book of the VII International Scientific Conference of Students and PhD Students, Minsk, Belarus, P. 141.

Van Loon L.C. 2011. Significance of inducible Defense-related proteins infected plants. *Annual Review of Phytopathology* 2006: 135–162.

Yasuda M., Ishikawa A., Jikumaru Y. 2008. Antagonistic interaction between systemic acquired resistance and the abscisic acid-mediated abiotic stress response in Arabidopsis. *Plant Cell* 20: 1678–1692.