



مقاله پژوهشی

تأثیر علف‌کش گلِفوسیت در بیان ژن‌های مرتبط با بیماری‌زایی و القای مقاومت در گیاهان سیب‌زمینی تراریخت تیمار شده با دو سویه بیمارگرهای سیب‌زمینی

حسین پاسالاری^{۱*}، چمران همتی^۱ و آناتولی نیکلایویچ یوتوشنکوف^۲

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

چکیده

هدف اصلی، بررسی تأثیر گلِفوسیت در بروز القای مقاومت نسبت به باکتری‌های بیماری‌زای سیب‌زمینی بود. بدین منظور، از علف‌کش گلِفوسیت در غلظت بهینه ۱/۸ میلی‌گرم در لیتر بر رقم سیب‌زمینی تراریخت جهت القای مقاومت به دو سویه از باکتری‌های بیمارگر سیب‌زمینی (سویه 21A از باکتری *Pectobacterium atrosepticum* و سویه ENA49 از باکتری *Dickeya dadantii*) استفاده شد. آنالیز PCR نمونه‌های cDNA جدا شده و سنتز شده از گیاهان تراریخت نشان داد که ژن‌های *aroA* و ژن‌های پاسخ دفاعی سیب‌زمینی به میزان بیشتری بیان شدند. در اثر آلودگی برگ‌های سیب‌زمینی با باکتری‌های بیمارگر، و تیمار آنها با گلِفوسیت، یک سطح بالایی از بیان ژن‌های مرتبط با بیماری‌زایی، بویژه ژن *PR-2* و ژن‌های پاسخ دفاعی بویژه ژن *HSR-203* مشاهده شد. بهر حال بیان ژن‌های مذکور در نمونه‌های شاهد، تغییر پیدا نکرد. نتایج نشان داد که بین میزان بیان ژن‌ها در نمونه‌های مورد آزمایش و شاهد (گیاهان تیمار نشده با گلِفوسیت) ارتباط معنی‌داری وجود دارد. نتایج نشان داد که تیمار با گلِفوسیت، می‌تواند با القای پروتئین‌ها و ژن‌های پاسخ دفاعی، نوعی مقاومت اکتسابی سیستمی نسبت به باکتری‌های بیماری‌زای گیاهی، ایجاد کند.

کلیدواژه: سیب‌زمینی، بیمارگرهای باکتریایی، گلِفوسیت، 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. پروفیسور 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. Hemmati¹, and E.A. Nikolaevich²

(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, *Odyssey* 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

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. مسیره‌های دفاعی مختلف در گیاهان در پاسخ به بیمارگرها، تکامل یافته‌اند. این مسیره‌های مختلف می‌تواند 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 پیدا کرده 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 پرازار 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^۱ به صورت مستقیم یا غیرمستقیم باعث ممانعت از عمل پروتئین‌های موثر بیماری‌زایی بیمارگرها می‌شوند. همچنین این پاسخ‌های دفاعی می‌توانند به وسیله واکنش فوق حساسیت^۲ و

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، *Dickeya dadantii* و *Pectobacterium atrosepticum* این توانایی را دارند که باعث ایجاد تخریب بافت سیب‌زمینی در گونه‌های مختلف، در طول فصل رشد و در طول انبارداری شوند. خاصیت اصلی باکتری‌های ذکر شده، توانایی ترشح تعدادی آنزیم دپلیمرزکننده خارج سلولی (پکتولیتیک، سلولزی و پروتولیتیک) است که به عنوان فاکتورهای بیماری‌زایی این باکتری‌ها عمل می‌کنند (Pitman et al. 2010. Tratsiakova 2011). گلیفوسیت (N- فسفونومتیل گلیسین)، مهارکننده آنزیم ۵- انول پیروویل 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 آمینه‌های 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 استفاده مستقیم و گسترده‌ی

¹ Resistant genes

² Hypersensitive reaction

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 می‌باشد (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، بیدگیه (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^۴، یک کلاس ویژه از پروتئین‌های محافظ هستند که در پاسخ به تأثیرات استرس‌زا و عفونت بیمارگر بیان می‌شوند. پروتئین‌های مرتبط با بیماری‌زایی در بسیاری از گونه‌های

سیستم مقاومت اکتسابی^۳ 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، پروتئین‌ها، گلیکوپروتئین‌ها، فنل‌ها، تولید فیتوالکسین‌ها و لیگنینی شدن مراحل بروز این نوع مقاومت در گیاهان هستند (Brandazza et al. 2004). تیمار گیاهان با گلیفوسیت می‌تواند 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 می‌توانند 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 قارچ‌کش‌ها را کاهش دهد (Duke et al. 2007). مطالعات انجام شده روی گندم مقاوم به گلیفوسیت نشان داد که این علف‌کش 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 علف‌کش روی گیاه سویا مقاوم به گلیفوسیت، سبب سرکوبی

⁴ Pathogenesis related genes

³ Systemic acquired resistance

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 کلرید سدیم 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 میلی‌لیتر از سوسپانسیون باکتری‌ها (تقریباً 2×10^7 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 RNA کل با استفاده از کیت NucleoSpin RNA Plant kit (Co, Macherey-Nagel, Germany, Cat. No: RN 7713C) انجام گرفت. رشته اول cDNA با استفاده از ۰/۵ میکروگرم RNA 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 (Real Time RT-PCR) (PCR) - با استفاده از رشته اول cDNA با ژن *aroA*، ژن‌های وابسته به بیماری‌زایی و ژن‌های پاسخ دفاعی سیب زمینی با آغازگرهای ویژه این ژن‌ها (جدول ۱- 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 $N(\text{mRNA}) = 2^{-(\Delta C_t - \min(\Delta C_t))}$ محاسبه و تعیین شد (Livak & Schmittgen 2001). مقایسه

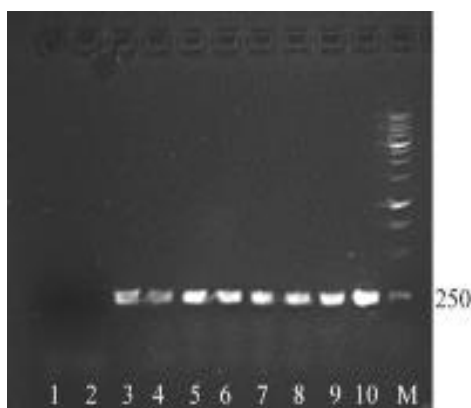
گیاهی یافت می‌شوند و در حال حاضر پروتئین‌های توصیف شده به ۱۷ خانواده اختصاص یافته است. رابطه بین تجمع پروتئین‌های PR و توسعه مقاومت اکتسابی به دست آمده، نشان داده شده است که انباشت این پروتئین‌ها با توسعه مقاومت به دست آمده از گیاه ارتباط دارد (Van Loon 2011). در مورد تأثیرات علف‌کشی و خواص ضدبیمارگری 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

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

Primers	Sequence of primers	Amplicon size (bp)
aroAseq2-f	CAGGAAACAGCTATGACGCATTAAGGCGATCTGGTTTC	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	



شکل ۱. آنالیز PCR نمونه‌های cDNA جدا شده و سنتز شده از سیب زمینی تراریخت. لاین ۱ - کنترل منفی (گیاهان تراریخت نشده)، لاین ۲ - کنترل مثبت (پلاسمید p485 aroA); لاین ۳-۶ - قطعه cDNA سنتز شده از گیاهان تراریخت با ژن aroA، لاین ۷-۱۰ - قطعات cDNA سنتز شده از گیاهان تراریخت با ژن‌های پاسخ دفاعی (ژن PR-2، PR-3، PR-5 و HSR-203j) - لاین M - (Molecular DNA weight markers (1 kb DNA ladder Mix, Fermentas)).

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).

میانگین صفات مورد بررسی به کمک آزمون دانکن در سطح ۵ درصد با کمک نرم‌افزار Excel انجام شد.

نتایج و بحث

آنالیز PCR نمونه‌های cDNA جدا شده و سنتز شده از گیاهان تراریخت از جهت بیان ژن‌های aroA و ژن‌های پاسخ دفاعی سیب زمینی، قطعاتی در حدود ۲۵۰ جفت باز بر روی ژل آگارز ۱٪ (w/v) برای ژن‌های PR-3، PR-2، PR-5، HSR-203j و ژن aroA را نشان داد (شکل ۱).

برگ‌های سیب‌زمینی تیمار شده با گلیفوسیت، با باکتری‌های P. atrosepticum 21A و D. dadantii ENA49 آلوده شدند. به عنوان کنترل (شاهد)، از برگ‌های گیاهان تراریخت همان رقم استفاده شد که با باکتری‌های مذکور آلوده شده ولی با گلیفوسیت تیمار نشدند (شکل ۲).

تکوین پاسخ حفاظتی سیستمی در سطح بیان ژن‌های مرتبط با بیماری‌زایی و ژن‌های پاسخ دفاعی سیب زمینی، بعد از تیمار با گلیفوسیت و آلودگی با باکتری‌های مذکور، افزایشی در سطح بیان ژن‌های مرتبط با بیماری‌زایی نشان



شکل ۲. برگ‌های سیب زمینی تیمار شده با گلیفوسیت و آلوده شده با باکتری‌های *Dickeya dadantii* ENA49 و *Pectobacterium atrosepticum* 21A. الف. برگ سیب‌زمینی تیمار شده با باکتری *Pectobacterium atrosepticum* 21A; ب. برگ تیمار نشده با گلیفوسیت و آلوده شده با *Pectobacterium atrosepticum* 21A; ج. برگ تیمار شده با گلیفوسیت و آلوده شده با باکتری *Dickeya dadantii* ENA49; د. برگ‌های تیمار نشده و آلوده شده 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.

در واکنش به بیمارگرها تکامل یافته است. این مکانیزم‌های دفاعی می‌تواند بوسیله تعدادی از میکروارگانیزم‌ها یا مواد شیمیایی تحریک و فعال شود. شناسایی مکانیزم‌های مولکولی مقاومت گیاهان به عوامل بیماری‌زا می‌تواند به روند افزایش مقاومت آنها در برابر بیمارگرها کمک کند. تیمار سیب‌زمینی با گلیفوسیت می‌تواند بر روی مقاومت سیب‌زمینی‌های آلوده به بیمارگرها تأثیر بگذارد. هنگامی که برگ‌های سیب‌زمینی با علف‌کش گلیفوسیت تیمار شدند و سپس با باکتری‌های بیمارگر آلوده شدند سطح بالایی از بیان ژن‌های وابسته به بیمارگر (*PR-2*, *PR-3*, *PR-5*),

داد. قوی‌ترین بیان برای ژن *PR-2* و ژن *HSR - 203j* (Hypersensitive Response - 203j) را نشان داد. جدول ۲ مقایسه سطوح بیان ژن برای ژن‌های مرتبط با بیماری-زایی و ژن‌های پاسخ دفاعی سیب زمینی را هنگامی که برگ‌های سیب زمینی با گلیفوسیت تیمار شدند و سپس با باکتری‌های مذکور آلوده شدند، را نشان می‌دهد.

بحث

گیاهان معمولاً بوسیله تعداد زیادی از بیمارگرها مورد هجوم واقع می‌شوند. چرخه‌های دفاعی مختلفی در گیاهان

جدول ۲. 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 تیمار نشده با گلیفوسیت و آلوده شده 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	<i>Pectobacterium Atrosepticum</i> (control)	<i>Pectobacterium atrosepticum</i> (21A) + glyphosate	<i>Dickeya dadantii</i> (ENA49) + glyphosate	<i>Dickeya dadantii</i> (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 تیمار شده با گلیفوسیت نسبت به برگ‌های غیر تیمار شده 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).

شدن با بیمارگر با القای ژن‌های پاسخ دفاعی واکنش نشان می‌دهد، نسبت داد که این یافته‌های جدید در مورد تأثیرات گلیفوسیت در بیان ژن‌های مرتبط با بیماری‌زایی با یافته‌های وان لون (Van Loon 2011)، پلینه و همکاران (Pline et al. 2002) در گیاه پنبه، پنتیر و همکاران با قارچ *R. solanacearum* (Pontier et al. 1998) و نتایج پاسالاری و یوتوشنکوف (Pasalari & Evtushenkov 2016) بر روی خاصیت ضدقارچی گلیفوسیت، مطابقت و همسویی دارد. غلظت بسیار بالای گلیفوسیت (۳/۶ میلی-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 بررسی‌ها بر روی اثرات جانبی و همچنین اثرات ضدبیماری‌زایی گلیفوسیت بخصوص خواص آنتی‌باکتریایی آن بر روی گیاهان، می‌توان نتیجه‌گیری نمود که تیمار گیاهان با گلیفوسیت، نه تنها علف‌های هرز مزارع را از بین می‌برد بلکه می‌تواند با القای پروتئین‌ها و ژن‌های پاسخ دفاعی، نوعی مقاومت

بویژه ژن *PR-2* و ژن‌های پاسخ دفاعی (*HSR-203j*, *HIN1*) بویژه ژن *HSR-203j* مشاهده شد. در این حالت 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* 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، بترتیب با باکتری‌های *D. dadantii* و *P. atrosepticum* افزایش می‌یابد که این حالت نسبت به گیاهان شاهد (تیمار نشده با گلیفوسیت) مقایسه شده بود (جدول ۲). بیان ژن‌های مذکور در نمونه‌های شاهد، تغییر معنی‌داری پیدا نکرد. تأثیر گلیفوسیت در افزایش بیان ژن‌های پاسخ دفاعی سیب‌زمینی (جدول ۲)، که منجر به القای مقاومت و زنده ماندن گیاه در نتیجه آلودگی با باکتری‌های بیمارگر شده است، با نتایج مورفولوژیکی خواص آنتی‌باکتریایی گلیفوسیت (شکل ۲) همسویی دارد و علت زنده ماندن گیاه آلوده شده با باکتری‌ها در نتیجه تیمار آنها با گلیفوسیت را می‌توان احتمالاً به اینکه گیاه هنگام مواجهه

بیماری‌های گیاهی / جلد ۵۷ / شماره ۱ / سال ۱۴۰۰: ۱-۱۰

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., Saloniemä 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.