# • اثر سالیسیلیك اسید بر افزایش عملکرد گیاهان براي مقابله با پاتوژن ها

سیده معصومه ابراهیمی
دانشجوی کارشناسی مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشگاه گیلان

## چکیده

گیاهان ترکیبات ثانویه گوناگونی تولید می‌کنند، تعدادی از آن‌ها می‌توانند رشد میکروب ها را در شرایط آزمایشگاهی مهار کنند. این ترکیب‌های مهارکننده ممکن است طی رشد و نمو طبیعی گیاه، تنها در پاسخ به حمله عوامل بیماری زا یا استرس تولید شوند. سالیسیلیک‌اسید یک ترکیب پیغام دهنده ثانویه در گیاهان است که با اتصال و ممانعت از فعالیت آنزیم کاتالاز باعث افزایش هیدروژن پراکسید در سلول شده و ژن های مرتبط با دفاع گیاه را فعال می کند. بعد از حمله پاتوژن، غلظت سالیسیلیک‌اسید افزایش یافته و هم‌زمان با فعال شدن NPR1 و ورود آن به هسته، PR1 بیان می شود، که به‌عنوان نشانگری برای مقاومت اکتسابی سیستمیک شناخته شده است. هورمون های سالیسیلیک‌اسید، اسیدجاسمونیک، اتیلن و هیدروژن پراکسید بر میزان بیان این پروتئین ها اثر بسزایی دارند.

کلمات کلیدی: سالیسیلیک‌اسید، پاتوژن ، مقاومت اکتسابی.

## مقدمه

گیاهان دارای مکانیسم های مختلف دفاع از خود در برابر حملات مداوم عوامل بیمارگر هستند. یکی از این مکانیسم ها فعالیت های ضد میکروبی اختصاصی پس از شناسایی بیمارگر است. به طورکلی گیاهان به بیمارگر های مرده پَرور (Necrotroph pathogen) از طریق فعالسازی مسیر جاسمونیك اسید (JA) واکنش نشان می دهند، در حالی که پاسخ دفاعی به بیمارگرهای زیواپَرور (Biotroph pathogen) به مسیر سالیسیلیك‌اسید (SA) وابسته می باشد. در گیاهان تنش‌های زنده و غیره‌زنده ممکن است باعث القا مقاومت شود که منجر به مقاومت به استرس‌های بعدی گردد. این مقاومت می تواند موضعی یا سیستمیك باشد. نقش سالیسیلیك‌اسید به عنوان ماده تنظیم کننده رشد در القای تحمل به بسیاری از تنش های زیستی و غیر زیستی همچون باکتری ها، قارچ ها، ویروس ها، تنش سرمازدگی و تنش خشکی مورد توجه بسیاری از دانشمندان قرار گرفته است .سالیسیلیک اسید نقش مهمی در دفاع گیاهان علیه ویروس ها دارد. مقاومت اکتسابی سیستمیک القا شده توسط سالیسیلیک اسید باعث مقاومت طولانی مدت به طیف وسیعی از بیمارگرها از جمله ویروس‌ها می شود. سالیسیلیک‌اسید می تواند از سه مرحلهٔ اساسی در چرخه ی بیماری‌زایی ویروس شامل همانندسازی، حرکت سلول به سلول و حرکت در مسافت طولانی جلوگیری کند. سالیسیلیک اسید بیان پروتئین های مرتبط با بیماریزایی را از طریق یک مسیر وابسته به NPR1 در پاسخ فوق حساسیت و مقاومت اکتسابی سیستمیک القا می کند. سالیسیلیک اسید همچنین بیان ژن‌های RNA پلیمراز وابسته به RNA آرابیدوپسیس و توتون را القا می کند و نقش مهمی در خاموشی RNA ایفا می کند. سالیسیلیک اسید به اغلب آنزیم های حاوی آهن از قبیل کاتالاز، آکوتیناز، لیپوکسیداز و پراکسیداز متصل می‌شوند و به آنزیم های گیاهی فاقد آهن متصل نمی شوند. این اسید یک ترکیب پیغام دهنده ثانویه در گیاهان است که با اتصال و ممانعت از فعالیت آنزیم کاتالاز باعث افزایش سوپر اکسید هیدروژن در سلول شده و ژن های مرتبط با دفاع گیاه را فعال می کند. از طرف دیگر سالیسیلیک‌اسید با تنظیم ساختار دفاعی آنتی اکسیدانی آنزیمی و غیرآنزیمی، گیاه را در برابر تنش اکسیداتیو حمایت می کند. تیمار سالیسیلیک‌اسید می تواند از طریق دخالت در فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان و سطوح پروتئین ها در تنظیم مرگ برنامه ریزی شده سلولی دخالت داشته باشد. از طرفی سالیسیلیک‌اسید با کاهش اسیدیته دیواره سلولی موجب فعال شدن آنزیم هایی از جمله اکسیداز ها می شود و از آنجایی که سالیسیلیک‌اسید یک ترکیب فنولی است، فرایند چوبی شدن را تشدید می کند. سالیسیلیک‌اسید اهمیت متفاوتی در طول پاسخ فوق حساسیت (Hypersensitive Response-HR) دارد اما یک عملکرد ثابت در طول مقاومت اکتسابی سیستمیک (-SAR Systemati acquired resistance) نیز دارد. یکی از نشانه های □□□ القای مجموعه ای از پروتئین های مرتبط با بیماری زایی است. به‌طورکلی کاربرد خارجی سالیسیلیک‌اسید در گیاهان، سبب القای مقاومت نسبت به انواع مختلف بیمارگرهایی که تأثیر خود را از طریق تولید گونه‌های اکسیژن فعال، تأثیر بر دیواره سلولی و کم و زیاد کردن بیان ژن های مقاومت اعمال می کنند، می شود.

### سالیسیلیك اسید علیه بیمارگرهاي غیر ویروسي

فاکتور هاي رونویسي خانواده هايMYB ، TGA وWRKY در مقاومت اکتسابي به بیماري ها نقش دارند. فعال شدن TGA توسط NPR1 برای مقاومت وابسته به سالیسیلیك اسید علیه بیمارگرهای غیر ویروسی ضروری است. فاکتور هاي TGA به توالي فعال کننده 1-as ژن PR1 (که در ناحیه پروموتر آن وجود دارد) پیوند ایجاد می کند. NPR۱ ممکن است با افزایش فعالیت باندشوندگی DNA به بعضی پروتئین های TGA روی بیان ژن PR1 اثر بگذارد. پروتئین هایی که دارای فعالیت کیتیناز یا β-1وβ-3 گلوکانازی می باشند دارای خاصیت ضدمیکروبی مستقیم می باشند که باعث تجزیه ي دیواره سلولی قارچ ها می شوند. مشابه NPR1، فعالیت بعضی پروتئین های TGA توسط وضعیت ردوکس سلولی تنظیم مي شود. سالیسیلیك‌اسید بیان ژن های دفاعی را از طریق پروتئین تنظیمی NPR1، که یك مولکول کلیدی واسطه مقاومت اکتسابی سیستمیك در تك لپه ای ها و دولپه ای ها مي باشد، افزایش می دهد. میزان سالیسیلیك‌اسید پس از آلودگی گیاه توسط پاتوژن ها افزایش می یابد، که این امر منجر به تولید گونه های فعال اکسیژن در گیاه می شود که نتیجه آن انتقال NPR1 از سیتوپلاسم به هسته می باشد. NPR1 در هسته به همراه عوامل رونویسی سبب بیان برخی از ژن های مرتبط با ساز و کارها تحمل در گیاه می شود. که از جمله این ژن ها می توان به پروتئین های مرتبط با بیمار ی زایی (Pathogenesis relat-ed proteins- PRPs) اشاره کرد. بیان برخی از ژن های رمزکننده پمپ هایABC-transporter نیز پس از افزایش سالیسیلیك‌اسید تغییر می کند. این پمپ ها قادرند مواد متنوعی شامل: لیپیدها، یون هاي فلزات سنگین، اسیدهای غیرآلی، قندها، آمینواسیدها، پپتیدها و متابولیت هاي ثانویه را انتقال دهند. از جمله عوامل ضدمیکروبی که پس از حمله پاتوژن ها در گیاه تولید مي شود و توسط پمپ های ABC منتقل می شود، فایتوالکسین ها هستند.

## تاثیرات تولید سالیسیلیک‌اسید و فنیل آلانین آمونیالیاز در توتون آلوده به ویروسX سیب زمینی

میدان الکترومغناطیس میزان کدورت سنجی ویروس را در گیاه توتون کاهش داده و میزان سالیسیلیک‌اسید و آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز را افزایش می دهد. بر این اساس، برای میزان کدورت سنجی ویروس تیمار ۸، ۱۰۰ میلی تسلا و ۱۲۰ دقیقه و برای فعال کردن مکانیسم دفاعی گیاه تیمار ۷، ۵۰ میلی تسلا و ۶۰ دقیقه بهترین تیمار تشخیص داده شد. با توجه به نتایج می توان استفاده از الکترومغناطیس را به‌عنوان یک روش مناسب و جدید برای کنترل PVX در نهال های توتون در خزانه پیشنهاد کرد. باورود بیمارگر به میزبان هم سالیسیلیک‌اسید و هم فنیل آلانین‌آمونیالیاز افزایش پیدا می‌کنند. میزان کدورت سنجی اینگونه تفسیر می شود که زمان و شدت میدان از هیچ الگوی خاصی برای تغییر در سالیسیلیک‌اسید و آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز پیروی نمی کنند. در توتون به‌دنبال مقاومت ایجاد شده توسط ژن N به ویروس موزائیک توتون، سالیسیلیک اسید باعث بیان MYB1 مي شود. فاکتور رونویسی MYB1 با اتصال به توالی GTTTGGT در پروموتر پروتئین مرتبط با بیماری زایی PR-1a نقش مهمی در طول دفاع ایجاد شده توسط ژن N ایفا می‌کند. فاکتور های رونویسی خانواده WRKY موجب تشدید فرایند رونویسی از ژن N گیاه توتون می شوند. این فاکتور ها به توالی W-box پروموتر ژن های مختلفی از جمله PR۳، PR۲و PR۱ متصل می شوند. مشخص شده است که پس از فعال شدن پروتئین کینازهای SIPK و WIPK، فاکتور رونویسی WRKY به میزان زیادی بیان مي شود.

## بررسي اثر سالیسیلیک اسید بر الگوي بیان برخي از ژن هاي مرتبط با ساز و کار هاي دفاعي در برنج

گیاهان با القای مقاومت اکتسابی سیستمیک که با افزایش میزان سالیسیلیک‌اسید درونی گیاه همراه است مسیرهای پیام‌رسانی گسترده ای از قبیل رونویسی ژن های رمز کننده پروتئین های وابسته به بیماری زایي (Pathogenesis related proteins)، آنزیم هاي دخیل در سنتز فیتوالکسین ها و پمپ هاي ناقل ABC-transporter را فعال می سازند. اثر سالیسیلیک‌اسید بر بیان تعدادي از ژن هایی مرتبط با ساز و کار دفاعي شامل PDR3، NPR1 ، Thionin، PDF1.2، PR1، PDR5، PDR4، و PDR8 با استفاده ازتکنیک Real time PCR در دو رقم خزر (مقاوم به بلاست) و هاشمی (حساس به بلاست) در زمان های صفر، ۶، ۱۲، ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از اعمال سالیسیلیک‌اسید بررسی شد. نتایج نشان داد مصرف سالیسیلیک‌اسید سبب افزایش بیان ژن های مورد بررسی، شده که این افزایش در زمان های مختلف بین دو رقم متفاوت بود به‌طوری‌که PDF1.2، PR1 و PDR3 در رقم خزر افزایش بیان نشان دادند ولي در رقم هاشمي در هیچ زماني تفاوت مشاهده نشد. همچنین بیان دو ژن PDR۵ و PDR۸ در رقم هاشمی نسبت به خزر در ۴۸ ساعت پس از تیمار افزایش نشان داد. بنابراین مصرف سالیسیلیک‌اسید می تواند سبب افزایش بیان ژن هاي دفاعی و احتمالاً القای تحمل گیاه در برابر حملهٔ پاتوژن ها شود. همچنین الگوي بیان ژن ها در اثر تیمار سالیسیلیک‌اسید تا حد زیادی وابسته به ماهیت ژنتیکی ژنوتیپ باشد.

## تأثیر پیش تیمار گیاهان با سالیسیلیک‌اسید بر میزان رشد پاتوژن ها

پیش‌تیمار گیاهان با سالیسیلیک‌اسید باعث افزایش فعالیت PAL گردید که نشان دهنده نقش این آنزیم در مکانیسم دفاعی در برابر تنش بیان ژن است. سالیسیلیک‌اسید بر بیمارگرهایی مانند Fusarium solani و Rhizoctonia solani نیز مؤثر است. کاربرد خارجي سالیسیلیک‌اسید در کنترل بیماري پژمردگی گوجه فرنگی باعامل Fusarium oxyspo-rum f.sp.lycopersici، نقش مؤثری داشته است. تحقیقات نشان می دهد که سالیسیلیک‌اسید اثر ضدقارچي ندارد. بلکه باعث فعال شدن مسیر SAR و القاي PR ها می شود که مستقیما رشد قارچ را تحت تأثیر قرار می دهند. کاربرد خارجی سالیسیلیک‌اسید عملکرد گیاهی را تحت تنش های زیستی و غیرزیستی افزایش می دهد و همچنین این هورمون مرگ برنامه ریزی شده سلولی را در مواجه با انواع تنش ها کنترل می کند. یکی از واضح ترین علائم و نشانه های مرگ برنامه ریزی شده سلولی تحت تأثیر سالیسیلیک‌اسید تغییر در میزان بیان پروتئین ها می باشد. بعضی از ژن ها نظیر گلوتاتیون اس-ترنسفراز که به میزان بالایی بعد از انفجار اکسایشی توسط سالیسیلیک اسید بیان می شود در حفاظت گیاه علیه استرس اکسایشی نیاز است.

## نتیجه گیري

گیاهان از یک شبکه پیچیده مسیرهای سیگنال دهی برای افزایش پاسخ های مقاومتی استفاده می کنند. استفاده از مواد شیمیایی القا کننده که از یک‌سو سبب فعال سازی مکانیزم های دفاعی گیاه قبل از رویارویی با پاتوژن شوند و از سوی دیگر خطرات زیست محیطی نداشته باشند، در سال های اخیر مورد توجه محققین قرار گرفته است. سالیسیلیک‌اسید از مواد طبیعی القاکننده مقاومت اکتسابی است که نه‌تنها روی دفاع بلکه روی تنظیم فرایند های نمو گیاه اثر می گذارد. سالیسیلیک‌اسید در جهت کاهش وابستگی به مواد شیمیایی سمی به کار می رود که برای حفاظت گیاهان از بیماری ها و آفات، بدون به‌خطر انداختن محیط زیست و سلامتی انسان استفاده می شود.

## References

Radmard A, Nasrollah nghad S, Ahmadvand R, Rezayi asl A, Mostafavi F.2018. Effect of Electromagnetic Field on the production of salicylic acid and phenylalanine ammoniazi infertile to the potato-virus of the potato (potato virusX pvx), Journal of Plant Protection Vol. 31, No. 4, Winter 2018, P. 653-661.

Zeighami nejad R., and Sharifi S. G. 2013. Related gene expression and enzyme activity of the pathogen in the induction of resistance to powdery mildew pumpkin by salicylic acid. Journal of Agricultural Biotechnology, 5(1): 97-110. (in Persian with English abstract).

Hekmati ZH, Aalami A, Sohani, M. 1993. Effect of salicylic acid on expression of some defense-related genes in rice, Ghenetik novin, 9(3)- 363-372.

Mardani H., Bayat H., and Azizi M. 2011. Effect of foliar application of salicylic acid on morphological characterictics of cucumber seedlings under drought stress. Journal of Horticultural Science,25(3): 320-326 (in Persian with English abstract).

Hamidzade S., Kahriz J. S. and Ebadi A. 2014. How to change the content of carbohydrates, total protein Nzym Hay planned oxidant effect of salicylic acid in cell death in two wheat cultivars. Crop production, 2: 97-112. (in Persian with English abstract).