شرکت نهاده گستر گوهر ثمر

افزایش ایمنی گیاه با استفاده از تریکودرما

Enhanced Plant Immunity Using Trichoderma

ترجمه شده توسط واحد فنی
شرکت نهاده گستر گوهر ثمر

مقدمه

ریشه گیاهان در ارتباط نزدیک با گونه های متعددی از باکتریها و قارچها است که این روابط می توانند خنثی، بیماری زا یا مفید باشند. چندین گونه تریکودرما به عنوان همزیست در نظر گرفته می شوند که با مکانیسم های : کمک به کنترل بیولوژیکی پاتوژن های ریشه، افزایش رشد و توسعه گیاه و القای پاسخ های دفاعی به گیاهان کمک می کنند.

همچنین چهار سطح از فعل و انفعالات در فرآیند تحریک گیاهی ناشی از تریکودرما بدین صورت می باشد: ارتباط بر اساس انتشار ترکیبات آلی فرار (VOCs) ، تولید اکسین و پیش سازهای اکسین، فعال سازی پاسخ های موضعی و سیستمیک از طریق تماس فیزیکی بین هیف قارچ و اپیدرم ریشه یا با آزاد کردن الیسیتورها و تکثیر میسلیوم در قسمت های داخلی گیاه.

مکانیسم های حفاظت از گیاهان توسط میکروب ها

در طول تکامل، گیاهان مکانیسم‌های بسیار حساسی که از طریق آنها می‌توانند به محرک‌های زیستی پاسخ دهند و فیزیولوژی و مورفولوژی آن‌ها را برای اطمینان از بقا تغییر دهند، توسعه داده اند. بنابراین یکسری عناصر سیگنالینگ و پاسخ باید قبلا در گیاه سازماندهی شود تا به سرعت محرک های خارجی را شناسایی کند.

برخی از این مکانیسم های دفاعی از پیش ساخته شده اند و سبب ایجاد موانع فیزیکی و شیمیایی می شوند و برخی دیگر تنها پس از دریافت مولکول های مشتق شده از میکروب القا می شوند. در مواد مغذی ریزوسفر، گونه های بی شماری از میکروارگانیسم ها، برای کسب غذا رقابت می کنند.

برای تعریف برهمکنش بین گیاه و میکروارگانیسم ها: به‌عنوان خنثی، بیماری‌زا یا مفید برای گیاهان، فرآیند شناسایی است که می‌تواند از طریق انتشار ترکیبات فرار آلی، توسط مولکول‌های قابل انتشار رخ دهد. میکروب‌ها چندین مولکول تولید می‌کنند که تعاملاتی را با گیاهان سبب میشوند. به آنهایی که مربوط به پاتوژن ها هستند الگوهای مولکولی مرتبط با پاتوژن (PAMPs) گفته می شود. فلاژلین، کیتین، ارگوسترول، کوپروتئین و لیپوپلی ساکاریدها نمونه هایی از PAMPهای اولیه که توسط پروتئین های مقاومت گیاهی (PR) شناسایی می شوند و در نتیجه باعث افزایش ایمنی گیاهان می شوند.

پاسخی به نام ایمنی محرک اثرگذار(پاسخ دفاعی اولیه) در دفاع گیاه شامل تغییراتی در سطوح کلسیم سیتوزولی (Ca2+)، در تولید گونه های فعال اکسیژن (ROS) مانند سوپر اکسید و پراکسید هیدروژن (H2O2) و واکنش هایی به عنوان فسفوریلاسیون پروتئین و فعال سازی فسفولیپازها و همچنین پروتئین های متصل شونده، می باشد.

علاوه بر برانگیختن پاسخ های دفاعی اولیه، سیگنال های میکروب ها ممکن است سبب تولید هورمون های گیاهی مانند اسید سالیسیلیک (SA)، اسید جاسمونیک (JA)و اتیلن (Et)شوند. SA و JA می توانند متیله باشند (به ترتیب SA-Me و JA-Me،)و سپس تبدیل به مواد فراری شوند که القا کننده های قوی ژن ها هستند.

اسید سالیسیلیک به طور کلی با ارگانیسم بیوتروف مرتبط است، در حالی که اسید جاسمونیک واتیلن به طور کلی با مقاومت مرتبط هستند با مقاومت در برابر پاتوژن های نکروتروفیک، (مقاومتی که در پاسخ به حمله موضعی ایجاد می شود) که اغلب به طور سیستماتیک در اندام هایی که هیچ آسیبی نمی بینند گسترش می یابد. در گیاهان بر اساس تفاوت در تحریک آنها: مقاومت اکتسابی سیستمیک (SAR) و مقاومت القایی سیستمیک (ISR) وجود دارد.

SAR توسط عوامل بیماری زا ایجاد می شود مانند مواردی که باعث ایجاد نکروز می شوند و همچنین با افزایش اولیه در سنتز SA افزایش می یابد.

از سوی دیگر، ISR از طریق JA و ET هنگامی که گیاهان تحریک می شوند فعال می شود.

مکانیسم حفاظتی با بیان ژن‌های دفاعی و همچنین تولید ژن‌های دفاعی آغاز می‌شود و ترکیبات شیمیایی به نام فیتوالکسین ها که شامل: فلاونوئیدها، فنل ها، گلوکوزینولات ها، ترپن ها و آلکالویدها است را تولید می کند که طیف وسیعی از عملکردهای ضد میکروبی را دارا می باشند.

مقاومت اکتسابی سیستمیک

به نظر می رسد سالیسیلیک اسید یک تنظیم کننده حیاتی برای القای SAR است که واسطه فعال سازی یک مجموعه بزرگ و فعال شدن ژن های مرتبط با بیماریزاها (PR)، که دارای فعالیت ضد میکروبی می باشند، است.

مقاومت سیستمیک القایی

سویه هایی از ریزوباکترهای محرک رشد گیاه (PGPR)و قارچ های محرک رشد گیاه (PGPF)، سبب فعال سازی ISR می شوند تعدادی از PGPF ها از جمله قارچ های میکوریزا و سویه های غیر بیماری زای Fusarium oxysporum، Trichoderma sp.، Penicillium sp. GP16-2، Pythium oligandrum، Piriformospora indica می توانند بیماری را کاهش دهند، این نوع مقاومت زمانی رخ می دهد که گیاه در برابر پاتوژن دفاع کند.

مکانیسم ها برای مقاومت در برابر عفونت توسط عوامل بیماری زا تحریک و آماده می شوند. یک مسیر انتقال سیگنال برایISR ایجاد شده توسط PGPR نشان می دهد که مکانیسم وابسته به جاسمونیک اسید، اتیلن است، اما مستقل از سالیسیلیک اسید است. تعامل بین سیگنالینگ JA و ET ممکن است گاهی اوقات به عنوان هم افزایی باشد.

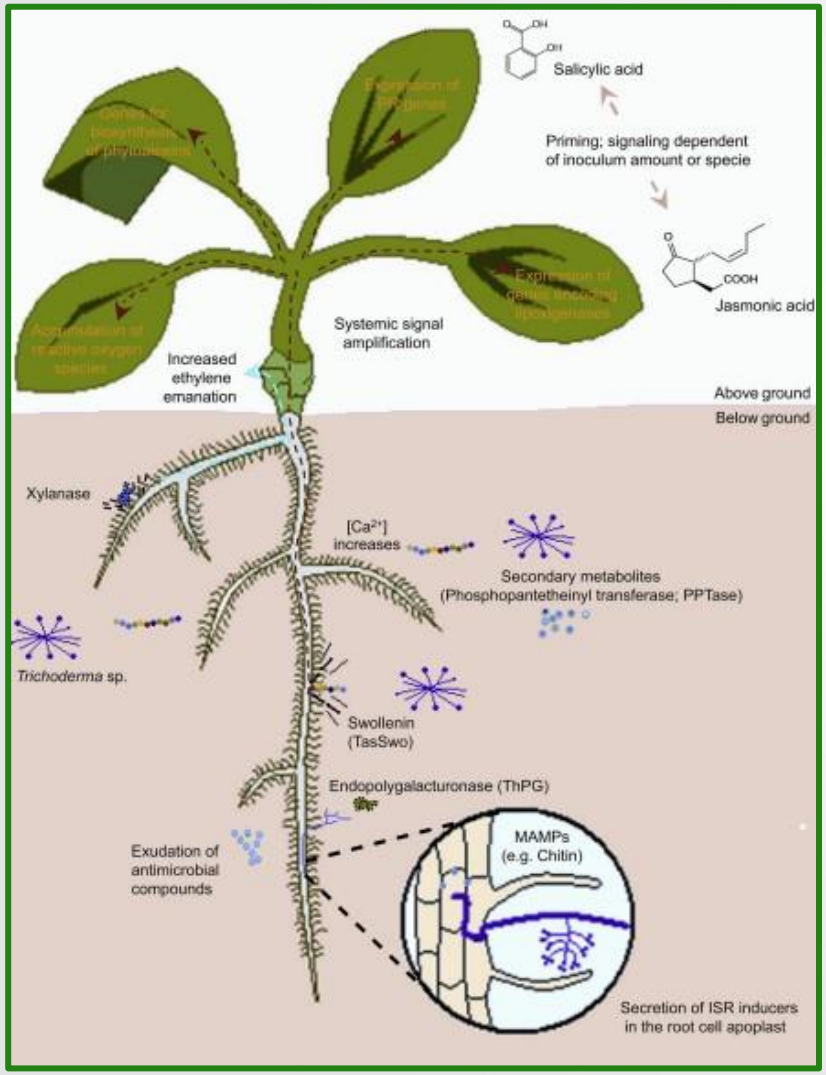
SAR و ISR از این نظر مشابه هستند که هر دو طیف وسیعی از مقاومت در برابر بیماری را ایجاد می کنند.

دفاع های شیمیایی

به عنوان یک نتیجه یا دفاع فعال هورمونی، بیوسنتز فیتوالکسین ها به ایمنی گیاه کمک می کنند. این فیتوالکسین ها آنتاگونیست های وسیع الطیفی هستند و به سرعت در مناطق عفونت تجمع می یابند. برنج ۱۵ فیتو الکسین، از جمله مومیلاکتون های A (MA) و B (MB)تولید می کند. این ترکیبات به سرعت انباشته شده و فعالیت آنتی بیوتیکی برای مهار تهاجم پاتوژن های بلاست برنج (Magnaporthe grisea) و Rhizoctonia solani، شروع می کنند. تجمع فیتوالکسین کامالکسین در آرابیدوپسیس در پاسخ به تریکودرما اخیراً گزارش شده است که نشان دهنده سطح حفاظت گیاه توسط این قارچ های مفید می باشد.

ایمنی ناشی از تریکودرما

میکروسکوپ الکترونی مقاطع بسیار نازک از ریشه های تیمار شده با تریکودرما و نفوذ هیف ها به اپیدرم ریشه را نشان می دهد. کلونیزه کردن ریشه ها توسط تریکودرما منجر به فعال سازی مقاومت القایی می شود، پاسخ های دفاعی به دست آمده پیچیده و بسته به مقدار تلقیح ممکن است هورمون‌های دفاعی متعارف سالیسیلیک اسید و جاسمونیک اسید را شامل شود، همچنین بیوسنتز فیتوالکسین کامالکسین را سبب میشود.



یک مدل ساده شده برای پاسخ های دفاعی گیاهی ناشی از تریکودرما و تشخیص میزبان از محرک های تریکودرما (MAMPs) مانند : زایلاناز، ThPG، TasSwoو سیگنالینگ اولیه مانند: فسفوریلاسیون–دفسفوریلاسیون پروتئین، شار یون و انفجار اکسیداتیو.

رویدادهای بعدی شامل بیوسنتز فیتوهورمون هایی مانند SA، JAو ET، تولید ترکیبات ضد میکروبی و القای ژن های دفاعی گیاهی مانند LOX2و PR1 . جهش PPTase در T. virens بر پاسخ های دفاعی ناشی از این قارچ از طریق مسیر SA تأثیر می گذارد.

تشخیص قارچ

به طور کلی، گیاهان تشخیص قارچ ها را با MAMPsارگوسترول و الیگومرهای کیتین آزاد شده از دیواره سلولی قارچی حس می کنند؛ این فرآیند از طریق LysM رخ می دهد.

پروتئین های گیرنده CERK1 و CEBiPبه ترتیب در آرابیدوپسیس و برنج شناسایی شدند.

اولین MAMP شناخته شده از تریکودرما یک زایلاناز القا کننده (Xyn2/Eix) ET بود که توسط Trichoderma virideتولید شد که به عنوان یک تحریک کننده قوی عمل می کند. سایر محرک های این تریکودرما عبارتند از سلولاز، swollenin TasSwo، endopolygalacturonase ThPG1، آلامتیسین (ALA)، و یک پروتئین غنی از سیست کوچک به نام Sm1، که عضوی از خانواده سراتو پلاتانین است.

در حال حاضر، الیسیتورهای مختلفی از تریکودرما گزارش شده است که حرکت Ca+2 را تحریک وتجمع ROSها را افزایش می دهد. تغییرات Ca2 + سیتوزولی توسط MAMPها نقش اساسی در ایمنی ذاتی در گیاهان دارد. پروتئین های شبه کلسینورین (CBLs) Bبه عنوان الیسیتورهای Ca2+ برای فعال کردن پروتئین کینازهای خاص و پروتئین کینازهای متقابل (CIPKs) CBL عمل می کنند. دو عدد CIPK از برنج تحت عنوان OsCIPK14 و OsCIPK15 شناسایی شده است، که شامل chitooligosaccharides و زایلاناز می باشند و از T. viride القا شدند.

سیگنال دهی هورمونی

مطالعات مختلف نشان می دهد که القای مقاومت ژن توسط تریکودرما ممکن است تا حدی با تغییرات متابولیکی مشخص در میزبان، از جمله افزایش تولید JA، SA و ET مرتبط باشد.

در گیاهان تلقیح شده با تریکودرما میزان JA به سرعت افزایش می یابد. کلونیزاسیون ریشه ذرت توسط T. virens سبب افزایش بیان ژن های سنتز JA شد.

مدولاسیون بیان ژن

در گیاهان جهش یافته ی Arabidopsis ein2-1، eto2، eto3 و npr1-5 که با T. harzianum تلقیح و با B. cinerea آلوده شدند، و به طور افزاینده ای تحت تأثیر این پاتوژن قرار گرفتند، نشان داده شد که مقاومت ناشی از T. harzianum در برابر B. cinereaبه مسیرهای JA/ET وابسته است. در گیاه آرابیدوپسیس، بیان یک مجموعه ژن های مربوط به SARو ISRارزیابی شد، نتیجه بدین صورت بود که Trichoderma asperelloidesباعث تغییراتی در بیان فاکتور رونویسی ژن MYB51 که در تنظیم بیوسنتز گلوکوزینولات نقش دارد، فاکتور رونویسی WRKY40، ETO3 که در بیوسنتز ETنقش دارد و بیوسنتز LTP4 a که پروتئین ترانسفراز لیپیدی است، نقش دارد.

در بذرهایی که با Trichoderma atroviride تلقیح شده بودند، تغییراتی در بیان ژن PAD3 که کد آخرین آنزیمی که در سنتز کامالکسین نقش دارد ایجاد شد.

چندین مطالعه نشان می دهد که کلونیزاسیون ریشه توسط تریکودرما در افزایش سطح آنزیم های مربوط به دفاع در گیاهان از جمله: پراکسیدازها، کیتینازها و β-1-3- گلوکاناز نقش دارد.

در طول تعامل T. asperellum وگیاه خیار، ژن HPL که با تولید ترکیبات ضد میکروبی فعال می شود، تنظیم و فعال شد.

PALیک آنزیم کلیدی برای سنتز SA و تنظیم شدن مسیر سیگنالینگ JA/ ETاست PALپیش سازهایی را برای تشکیل ترکیبات ضد میکروبی فراهم می کنند.

تنظیم مثبت PAL در گیاهان خیار تلقیح شده با T. asperellum و ذرت تلقیح شده با T. virens گزارش شد.اکثر مطالعات ذکر شده در بالا نشان دهنده دفاع ناشی از تریکو درما و محافظت در برابر پاتوژن ها با تجمع رونوشت ژن‌های تنظیم شده توسط SA، JAو ET، و همچنین ژن‌هایی که فاکتورهای رونویسی را کد می کنند مرتبط است.

ارتباطات شیمیایی و دفاع

تریکودرما تعدادی ترکیبات فرار آلی تولید می کند که ممکن است عملکردهای حفاظتی در گیاهان داشته باشند. VOCsها در فرآیندهای بیولوژیکی مختلف مانند کنترل زیستی یا ارتباط بین میکروارگانیسم ها و محیط زندگی آنها نقش دارند. و نقش کلیدی در مایکوپارازیتیسم تریکودرما و همچنین در تعامل با گیاهان دارند. سلولیزین از T. viride باعث انتشار VOCsهایی مانند (۳Z)-hexe nyl acetate، β-ocimene، linalool، 3,7-tri ene ،4,8-dimethylnona-l, indole و cis-jasmone می شود.

آلامتیسین از T.viride یک پپتید تشکیل دهنده کانال یونی است که می تواند القا کننده انتشار VOCsو افزایش سطح JAو SAدر گیاهان باشد.

Trichoderma virensو T. atroviride باعث تجمع کامالکسین در آرابیدوپسیس می شوند.

Trichoderma virensهمچنین ایندول-۳-کربوکسالدئید (ICALd) که یک ترکیب مشتق از تریپتوفان را با فعالیت در رشد گیاه تولید می کند.

حفاظت از گیاهان توسط تریکودرما

تریکودرما ایمنی ذاتی را در خیار ،پنبه، ذرت، سیب زمینی، گوجه فرنگی، کاکائو، خربزه و آرا بیدوپسیس بهبود بخشید. به عنوان مثال، کلونیزاسیون ریشه های ذرت توسط T. harzianum T22یا T. virens رشد گیاه را افزایش داد و بیماری ناشی از Colletotrichum graminicola را سرکوب کرد. به طور مشابه، زمانی که نهال‌های آرابیدوپسیس با B. cinerea، تلقیح شدند، تعدادی از گیاهان پس از ۳ روز دچار ضایعات نکروز شده و مردند، در مقابل هنگامی که نهال ها با T. virens یا T. atroviride تلقیح شدند و سپس با B. cinerea آلوده شدند، گیاهان کمتری آسیب دیدند و ضایعات نکروزه کمتری در برگها مشاهده شد.

در بوته های خیار تلقیح شده با T. asperellum T34و سپس آلوده شده با P. syringae pv lachrymans، تکثیر P. syringaeدر گیاهان تلقیح شده با تریکودرما در مقایسه با گروه شاهد تلقیح نشده محدود بود.

القای مقاومت پایه گیاه و کاهش پاسخ های هورمونی ناشی از F. oxysporum هر دو مکانیسمی هستند که توسط T. harzianumمی توانند کنترل شوند.

در تحقیق بسیار اخیر علیزاده و همکاران(۲۰۱۳)، اثربخشی T. harzianum Tr6و Pseudomonas sp. Ps14 بر اثربخشی مقاومت القایی در خیار و آرابیدوپسیس بررسی شد.

هر دو عوامل کنترل بیولوژیکی از ریزوسفر خیار جدا شد و به عنوان یک کاربرد واحد مورد آزمایش قرار گرفتند. و همچنین برای بررسی اثر مقاومت القایی خیار در برابر F. oxysporum f. sp. radi cis cucumerinum در آرابیدوپسیس در برابر B. cinerea.، ترکیب Tr6 و Ps14 باعث ایجاد سطح قابل توجهی از مقاومت القایی در این گیاهان شد.

با بیان اولیه مجموعه ای از ژن های مرتبط با دفاع در هنگام آلوده سازی با فوزاریوم در آرابیدوپسیس هر دو Ps14 و Tr6 باعث ایجاد ISR در برابر B. cinerea شدند، اما ترکیب آنها افزایش مقاومت در گیاه را نشان نداد.

این نتایج نشان می دهد که در آرابیدوپسیس Ps14 و Tr6 هر دو همان مسیر سیگنالینگ را فعال می کنند و بنابراین ترکیب آنها اثر افزایشی ندارد.

نتیجه گیری

گیاهان با تعداد بیشماری از پاتوژن های میکروبی یا همزیست تعامل دارند. در چند سال گذشته، پیشرفت قابل توجهی در درک ایمنی فعال توسط قارچ های مفید تلقیح شده مثل تریکودرما با گیاه داشته ایم که منجر به بهبود مقاومت هم به صورت موضعی و هم به صورت سیستمیک شده است. ارتباط و کلونیزاسیون ریشه های گیاه با تریکودرما می توانند پاسخ های دفاعی را القا کنند و از گیاهان در برابر پاتوژن های گیاهی محافظت کنند. این پاسخ ها ممکن است توسط تحریک کننده های قارچی که شامل تجمع هورمون هایی مانند سالیسیلیک اسید، جاسمونیک اسید یا اتیلن در گیاه است، فعال شوند.

در اولین مراحل تعامل با گیاهان، MAMPsها از تریکودرما ممکن است توسط گیرنده ها درک شوند و مسیرهای سیگنالینگ و پاسخ های دفاعی میزبان را فعال کنند.

دو محرک ISR خاص ترشح شده توسط T. virens Gv29-8 گزارش شده است. پپتیدها با فعالیت ضد میکروبی به نام پپتایبول دارای اثرات ISRبوده و سیستم دفاعی در برگ های خیار را فعال می کنند. یکی دیگر از گیرنده های ISRپروتئین کوچک خارج سلولی بنام Sm1 است که بیان ژن آن در گیاهان پنبه گزارش شده است.

مطالعات بیشتر با استفاده از تجزیه و تحلیل ژنتیکی معکوس، نشان می دهد که بیان SM1 برای تحریک ISR در گیاهان ذرت و حفاظت در برابر پاتوژن برگی C. graminicolaضروری است.

منبع:

Contreras-Cornejo, H. A., Macías-Rodríguez, L., López-Bucio, J. S., & López-Bucio, J. (2014). Enhanced plant immunity using Trichoderma. In Biotechnology and biology of Trichoderma (pp. 495-504). Elsevier.

شیـــراز: چهـــار راه مصدق،
بلوار غدیر، نبـــش کوچـــه یک
۰۷۱-۳۷۲۵۴۵۹۵
۰۷۱-۳۷۲۵۴۵۵۳
ترجمه شده توسط واحد فنی
شرکت نهاده گستر گوهر ثمر
nahadeh_gostar_gohar_samar_co
www.nahadehgostar.com
نهاده
شرکت نهاده گستر گوهر ثمر