دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشنامه اصلاح گیاهان زراعی

بررسی اثر کیتوزان بر الگوی بیان برخی از ژن‌های مرتبط با بیماری‌زایی در گندم آلوده به بیماری سفیدک پودری

منصوره راه‌نشان[۱]، فاختک طلیعی[۲]، لیلا آهنگر[۳]، حسین صبوری[۴] و شعبان کیا[۵]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد رشته بیوتکنولوژی، دانشگاه گنبد کاووس
۲- استادیار گروه تولیدات گیاهی، دانشگاه گنبد کاووس، (نویسنده مسوول: Taliei@gonbad.ac.ir)
۳ و ۴- استادیار و دانشیار گروه تولیدات گیاهی، دانشگاه گنبد کاووس
۵- مربی پژوهش، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان گلستان
تاریخ دریافت: ۹۶/۱۰/۱۸ تاریخ پذیرش: ۹۷/۷/۸
صفحه: ۱۲۴ تا ۱۳۲

چکیده

بیماری سفیدک سطحی گندم که توسط قارچ *Blumeria graminis* f.sp.*tritici* ایجاد می‌شود، یکی از مهم‌ترین بیماری‌های گندم می‌باشد که همه ساله باعث کاهش شدید عملکرد می‌گردد. استفاده از مواد شیمیایی برای کنترل بیماری‌های گیاهی هزینه‌بر بوده و آثار زیست محیطی نامطلوبی را ایجاد می‌کند، بر همین اساس استفاده از مواد شیمیایی غیرسمی که سیستم ایمنی گیاه را فعال کند مطلوب به‌نظر می‌رسد. در این پژوهش تاثیر کیتوزان به‌عنوان یک عامل تحریک‌کننده سیستم دفاعی گیاه بر روی الگوی بیان ژن‌های مرتبط با بیماری‌زایی مورد بررسی قرار گرفت. برای بررسی الگوی بیان ژن‌های *PR1, PR2, PR5* در گندم تیمار شده با غلظت‌های مختلف کیتوزان (صفر، ۲۵۰و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر)، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب کاملا تصادفی با سه تکرار و در چهار زمان مختلف با استفاده از تکنیک Real time PCR انجام شد. براساس نتایج به‌دست آمده، درصد تعداد کلنی رشدیافته در برگ گیاهان تیمارشده با کیتوزان ۲۵۰ نسبت به گیاهان شاهد ۴۲/۳ درصد کاهش یافت. نتایج حاصل از *qPCR* نشان داد که پس از آلودگی با بیمارگر، میزان بیان هر سه ژن در گیاهان تیمارشده با کیتوزان افزایش معنی‌داری نسبت به گیاهان شاهد داشته است. حداکثر میزان بیان ژن‌ها در ساعت ۱۲ پس از آلودگی مشاهده شد و پس از آن کاهش یافت. تغییرات در گیاهان شاهد ناچیز و تدریجی بود در حالی که در گیاهان تیمارشده القای ژن‌های دفاعی در ساعات اولیه پس از آلودگی نسبت به گیاهان شاهد با سرعت بیشتری رخ داد. همچنین غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر کیتوزان تأثیر قوی‌تری در القای ژن‌های دفاعی گیاه نسبت به غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر نشان داد. نتایج نشان می‌دهد کاربرد کیتوزان می‌تواند نقش مهمی درافزایش مقاومت گیاه گندم در برابر بیماری سفیدک پودری ایفا نماید.

واژه‌های کلیدی: سفیدک سطحی گندم، القای مقاومت، کیتوزان، ژن‌های مرتبط با بیماری‌زایی

مقدمه

بیماری سفیدک سطحی گندم یکی از مهم‌ترین بیماری‌های مهم گندم در جهان و ایران می‌باشد که به وسیله‌ی قارچ *Blumeria graminis* f.sp.*tritici* ایجاد می‌شود (۶). این بیماری موجب کاهش عملکرد ۴۳-۱۴ درصدی در زمان آلودگی کم و ۱۰۰-۵۰ درصد در زمان اپیدمی بیماری می‌گردد (۴۴،۳). بررسی‌ها نشان داده است که روش‌های زراعی و شیمیایی موفقیت چندانی در کنترل بیماری‌های گیاهی نداشته است. یکی از مهمترین روش‌های مبارزه با بیماری‌های گیاهی به‌کارگیری ارقام مقاوم است. با این حال نسخه‌های جدید از پاتوژن‌ها به‌سرعت در حال ظهور و غلبه بر مقاومت میزبان می‌باشند (۷). در ارقام حساس پاسخ‌های دفاعی معمولا با سرعت کمی فعال می‌گردند یا بروز آن‌ها با تأخیر رخ می‌دهد. بنابراین استفاده از مواد شیمیایی که مکانیزم‌های دفاعی گیاه را قبل از رویارویی با بیمارگر فعال می‌کنند و فاقد اثرات زیست‌محیطی زیان‌آور باشد در سال‌های اخیر به‌میزان زیادی مورد استقبال قرار گرفته است (۸). از این رو پدیده مقاومت القایی، می‌تواند به‌عنوان یک جایگزین طبیعی و دوستدار محیط زیست در این عرصه مورد بهره‌برداری قرار گیرد و این مقدمه‌ای است برای سایر فعالیت‌های کشاورزی که قادر است کاربرد سموم شیمیایی را کاهش دهد و به این ترتیب در گسترش کشاورزی پایدار نقش داشته باشد (۱۱).

در سال‌های اخیر استفاده از مواد طبیعی که از جانوران به‌دست می‌آید برای کاهش خسارت ناشی از بیماری‌های گیاهی مورد توجه قرار گرفته است. از جمله این مواد می‌توان به کیتوزان اشاره کرد. کیتوزان، یک کاتیون چند قطبی شتق‌شده از پوست میگو و خرچنگ است که به‌عنوان یک عامل قوی الیگوساکارید عمل می‌کند و می‌تواند پاسخ‌های دفاعی را در بافت گیاهی القا نماید (۴۲،۳۶). کیتوزان به‌دلیل خواص بیولوژیکی آن از جمله سازگاری زیستی، القای مقاومت، خاصیت ضدقارچی و غیرسمی‌بودن به‌عنوان یک منبع بیولوژیکی بالقوه مهم مورد توجه قرار گرفته است (۲۰).

پژوهش‌ها نشان داده است که کیتوزان یک محرک برون‌زاد است که پاسخ‌های دفاعی میزبان شامل تجمع کیتینازها، بتا ۱و ۳ گلوکانازها و مواد فنلی، لیگنینی‌شدن و تشکیل فیتوالکسین‌ها و آنزیم‌های نرم‌کننده به‌وسیله بافت میزبان را سبب می‌شود (۴۵). بررسی‌ها نشان داده است که غلظت‌های ۲۰۰ و ۴۰۰ پی‌پی‌ام کیتوزان سبب کاهش رشد میسلیومی قارچ *Fusarium fujikuroi* در شرایط آزمایشگاهی و نیز تغییر میزان فعالیت دو آنزیم کاتالاز و پراکسیداز در برنج آلوده به این قارچ می‌گردد (۱۰،۹). خیری و

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-10-31]
[DOI: 10.29252/jcb.11.32.124]

همکاران (۱۸) نشان دادند که کاربرد کیتوزان و نانوکیتوزان سبب دهیراسیون و تغییر شکل میسلیوم قارچ *Fusarium graminearum* و همچنین کاهش درصد جوانه‌زنی اسپورهای قارچ می‌گردد. همچنین کاربرد اسپری برگی کیتوزان باعث افزایش مقاومت گیاه گندم در برابر این قارچ شده و همچنین باعث افزایش مقاومت سیستمیک اکتسابی گیاهان در برابر عوامل بیماری‌زا می‌شوند (۱۲). گزارش‌ها حاکی از آن است که اسپری برگی کیتوزان به گیاه زردچوبه باعث ایجاد آنزیم‌های محافظتی نظیر کیتیناز و کیتوزاناز می‌شود، گیاهان زردچوبه تیمارشده مقاومت بیشتری نسبت به بیماری پوسیدگی ریزوم ناشی از *Pythium aphanidermatum* نشان دادند. افزایش فعالیت آنزیم‌های دفاعی در برگ گیاهان زردچوبه تیمارشده با کیتوزان ممکن است در محدودکردن نشانه‌های بیماری نقش داشته باشد به‌همین علت کیتوزان را به‌عنوان یک عامل ضدقارچی بالقوه برای کنترل بیماری پوسیدگی ریزوم زردچوبه معرفی نموده‌اند (۴). پژوهش در مورد گیاه خیار تیمارشده با کیتوزان نشان داده است که تیمار گیاه با کیتوزان سبب ممانعت کامل از جوانه‌زنی قارچ *Botrytis cinerea* می‌شود. همچنین اسپری کیتوزان یک ساعت قبل و یک ساعت بعد از مایه‌زنی با *B. cinerea*، میزان کپک خاکستری را به‌ترتیب ۶۵ و ۵۲ درصد کاهش داد (۵).

در مطالعات انجام شده روی گیاه هویج آلوده به *Alternaria radicina* که تحت تیمار با کیتوزان قرار گرفت نشان داده شد که مقدار بیماری ۱۰ روز پس از تلقیح، در گیاهان تیمارشده در مقایسه با گیاهان کنترل، به‌طور قابل توجهی کاهش داشته است. در گیاهان تحت درمان بیان پروتئین *PR1*، کیتیناز، پروتئین انتقال چربی (LTP)، چالکون سیتستاز، و پروتئین *PR5* وابسته به بیماری‌زایی در مقایسه با گیاهان کنترل افزایش معنی‌داری داشته است (۱۷). همچنین کاربرد کیتوزان روی گیاه چاودار نشان داده است که میزان بیان پروتئین *PR10* به‌شدت افزایش می‌یابد (۱۳).

در پژوهشی دیگر القای مقاومت به سفیدک داخلی ناشی از *Plasmopara halstedii* در آفتابگردان پس از تیمار با کیتوزان مورد بررسی قرار گرفت. تیمار بذرهای آفتابگردان با کیتوزان ۵٪ باعث کاهش شدت بیماری شد و سبب به‌ترتیب ۴۶ و ۵۲٪ حفاظت در شرایط گلخانه و شرایط مزرعه گردید. القای مقاومت به *P. halstedii* توسط کیتوزان همراه با انباشت آنزیم‌های مختلف مرتبط با میزبان در نهال‌های آفتابگردان حساس بود. تجزیه و تحلیل‌ها نشان داد که کیتوزان سطوح رونویسی برای پنج ژن وابسته به پاسخ دفاعی شناخته‌شده یعنی *Pr-1a*، *β-1,3*-گلوکاناز، کیتیناز، پراکسیداز و چالکون سنتاز را در این گیاهان افزایش داده است. این افزایش باعث فعال‌شدن پاسخ‌های مرتبط با دفاع در رقم حساس تحت تیمار با کیتوزان و مشابه با آن در رقم مقاوم بود (۲۵).

در این تحقیق تاثیر کیتوزان به‌عنوان عامل القای سیستم دفاعی گیاه بر الگوی بیان برخی ژن‌های دخیل در بیماری‌زایی گیاه گندم در زمان‌های مختلف پس از آلودگی با بیمارگر عامل سفیدک پودری گندم مورد مطالعه قرار می‌گیرد.

مواد و روش‌ها

تلقیح عامل بیماری

ابتدا بذور گندم رقم حساس فلات به‌مدت ۱۰ دقیقه با محلول ۱ درصد هیپوکلریت‌سدیم ضدعفونی شده و بر روی کاغذ فیلتر مرطوب در تشتک پتری قرار داده شدند. پس از جوانه‌زنی، بذور به گلدان حاوی خاک منتقل شده و در اتاقک رشد با تناوب ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی با دمای ^{0}C ۲۲ با رطوبت نسبی ۷۰٪ به‌مدت دو هفته نگهداری شدند. جدایه قارچ عامل بیماری *Blumeria graminis* f.sp. *Tritici* نیز از بخش تحقیقات پاتولوژی غلات مؤسسه اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج تهیه و در آزمایشگاه روی رقم حساس بولانی در دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی۷۰ درصد تکثیر و نگهداری شد.

پس از گذشت دو هفته گیاهچه‌ها با محلول کیتوزان (Sigma Alderich/ MMW) در غلظت های صفر، ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر تیمار شدند. گیاهان تیمارشده با کیتوزان به‌همراه گیاهان شاهد پس از ۲۴ ساعت به‌وسیله بیمارگر، با غلظت ۵۰ کنیدیوم در میلی‌متر مربع آلوده شدند و به اتاقک رشد منتقل شدند. نمونه‌برداری از بافت برگی گیاهچه‌های شاهد و تیمارشده در فواصل زمانی صفر، ۱۲، ۲۴، ۴۸ ساعت پس از اعمال آلودگی انجام شد. نمونه‌های برگی برای بررسی میزان بیان ژن‌های دفاعی به فریزر با دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد منتقل شدند.

ارزیابی توانایی کیتوزان در القای مقاومت به بیماری سفیدک سطحی

به‌منظور بررسی توانایی کیتوزان در القای مقاومت در گندم در برابر بیماری سفیدک پودری، برگ گیاهان حساس، ۲۴ ساعت پس از تیمار با غلظت‌های مختلف کیتوزان به‌همراه گیاهان کنترل در محیط آب آگار حاوی ۲۰ میلی‌گرم در لیتر بنزیمیدازول در تشتک‌های پتری قرار داده شدند. یک هفته پس از مایه‌زنی، تعداد کلنی رشد یافته در ۲/۵ سانتی‌متر مربع هر برگ شمارش گردید. آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی با پنج تکرار برای هر تیمار انجام شد و دو بار تکرار گردید.

بررسی میزان تغییرات بیان ژن

به‌منظور بررسی میزان بیان ژن‌های مرتبط با بیماری‌زایی، میزان۵۰۰ میلی‌گرم از بافت برگ به‌وسیله ازت مایع آسیاب و برای استخراج RNA استفاده شد. استخراج RNA با استفاده از کیت RNX-Plus شرکت سیناکلون (Cat. No.:EX6101) انجام گرفت. سنجش کیفیت RNA استخراج‌شده بر روی ژل آگاروز ۱/۲ درصد و کمیت آن توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (Model 6300Jenway -Uk) انجام شد.

به‌منظور حذف آلودگی‌های احتمالی DNA از RNA از کیت DNase I, RNase-free ساخت شرکت سیناکلون (Cat. No.MO5401) مطابق دستورالعمل شرکت استفاده گردید. جهت سنتز cDNA نیز از کیت cDNA synthesis

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-10-31]

[DOI: 10.29252/jcb.11.32.124]

kit (Cat. No: RT5201) ساخت شرکت سیناکلون مطابق با دستورالعمل شرکت سازنده در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر استفاده گردید.

برای انجام واکنش RT-PCR از ۲ میکرولیتر cDNA رقیق‌شده و آغازگرهای مرتبط با اکتین به‌عنوان ژن مرجع استفاده شد. این آغازگرها به‌وسیله نرم‌افزار BioEdit 7.0.9.0 و Oligoexplorer V1.4 طراحی شدند. محاسبه و تغییرات بیان ژن نیز مطابق با روش $2^{\Delta\Delta ct}$ اندازه‌گیری شد (۲۲). واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در زمان واقعی با استفاده از دستگاه C1000^{TM} Thermal Cycler شرکت اپلاید با استفاده از کیت سایبربلو (SinaSYBR Blue HS-qPCR Mix, 2X. Cat. No.:MM2171) شرکت سیناکلون انجام گرفت. واکنش RT-PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل ۲ میکرولیتر cDNA، ۱۲/۵ میکرولیتر مخلوط سایبربلو، ۰/۳ ماکرومولار از هر آغازگر و آب عاری از RNase انجام گرفت. واکنش زنجیره‌ای شامل واسرشت اولیه، دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه، سپس واسرشت سازی، ۴۰ چرخه در ۹۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۵ ثانیه، اتصال آغازگرها، به‌مدت یک دقیقه در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد و سپس نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد بود. بلافاصله برای عملکرد اختصاصی واکنش PCR منحنی ذوب با برنامه دمایی ۰/۵ درجه در هر چرخه بین دمای ۶۰–۹۵ درجه سانتی‌گراد رسم شد. مقدار تکثیر در انتهای هر چرخه اندازه‌گیری شد. سپس تغییرات نسبی بیان ژن‌های مورد بررسی نسبت به ژن اکتین نرمالیزه شد. میزان بیان قبل از آلودگی به‌عنوان کالیبراتور در نظر گرفته شد.

این آزمایش به‌صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار زیستی بود و تکرار فنی انجام گردید و پس از محاسبه بیان ژن‌های مورد مطالعه برای هر نمونه، انحراف معیار آن‌ها محاسبه و در نهایت نتایج برای مقایسه بین ساعات پس از آلودگی در گیاه تیمارشده با گیاه کنترل مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

جدول ۱– لیست آغازگرها و توالی آن‌ها به همراه محصول نهایی و شماره دستیابی در NCBI

Table 1. List of primers, their sequences, final products and accession numbers in NCBI

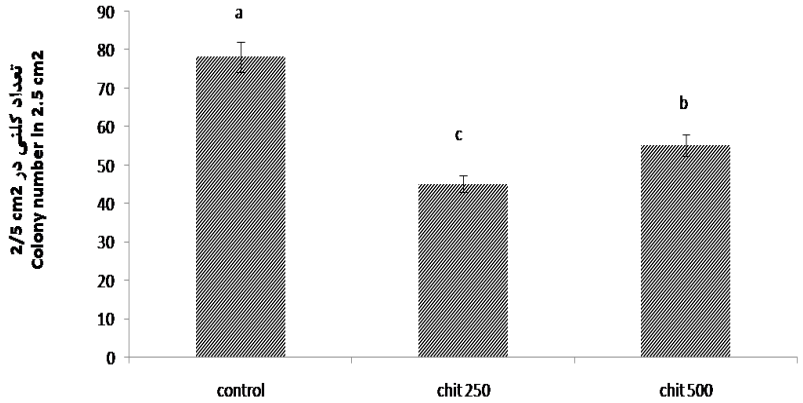
Genes	Sequence Primer	Product	GeneBank ID
TaActin	F:AGCCCAATCATAGGAAAAGTGC R:AGTGTCTGGATCGGTGGTTC	150	DN551593
Ta PR1-1	F:ACTACGACTACGCCTCCAACA R:TCGTAGTTGCAGGTGATGAAG	154	AJ007348
Ta PR2	F:AGCAGAACTGGGGACTCTTCT R:CACATACGTACCGCATACACG	150	Z22874
Ta PR5	F:CAGGACTTCTACGACATCTCG R:TCTGGTAGTTATTATTGCCACTGC	143	X58394.1 و AF389883.1

نتایج و بحث

ارزیابی توانایی کیتوزان در القای مقاومت

نتایج نشان داد که اختلاف معنی‌داری ($p<۰/۰۱$) بین تیمارها از نظر تعداد کلنی حاصل از بیمارگر روی برگ گیاهان تحت بررسی وجود دارد. بررسی القای مقاومت با استفاده از غلظت‌های مختلف کیتوزان در گندم در برابر بیماری سفیدک پودری بیانگر کاهش درصد تعداد کلنی رشدیافته در برگ گیاهان تیمارشده با کیتوزان ۲۵۰ (۴۲/۳ درصد) و کیتوزان ۵۰۰ (۲۹/۵ درصد) نسبت به گیاهان شاهد بود (شکل ۱). این نتایج حاکی از توانایی کیتوزان در القای مقاومت در برابر بیماری مذکور از طریق ممانعت از توسعه بیماری بود. کورس و همکاران نشان دادند علائم بیماری سفیدک سطحی جو با مصرف کیتوزان کاهش می‌یابد (۱۹).

مطالعه تاثیر کاربرد سالیسیلیک‌اسید بر روی تعداد کلنی‌های حاصل از بیماری روی رقم حساس فلات، نتایج مشابهی به همراه داشته است (۲).



شکل ۱– مقایسه میانگین تاثیر غلظت‌های کیتوزان و شاهد در القای مقاومت در گندم در برابر بیماری سفیدک پودری

Figure 1. Comparison of the mean effect of different concentration of chitosan and control on induction of resistance in wheat against powdery mildew disease

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-10-31]

[DOI: 10.29252/jcb.11.32.124]

تغییرات الگوی بیان ژن‌ها

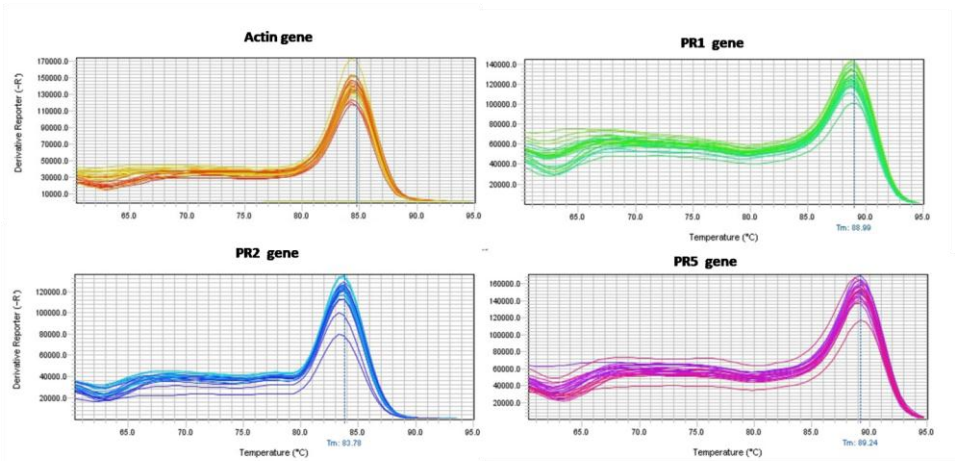
آنالیز منحنی ذوب

عدم وجود هر نوع پیک اضافه در نتایج حاصل از منحنی ذوب، نشان‌دهنده اختصاصی بودن آغازگرهاست که تکثیر اختصاصی ژن مورد نظر را تایید می‌کند. نقطه‌ی ذوب محصولات PCR برای ژن‌های *Actin*، *PR1*، *PR2* و *PR5* به‌ترتیب حدود ۷۷/۸۴، ۹/۸۸، ۷۸/۸۳ و ۲۴/۸۹ بود (شکل ۲).

تغییرات الگوی بیان ژن *PR1*:

نتایج بررسی بیان ژن نشان داد که میزان بیان ژن *PR1* در گیاهان تیمارشده روند افزایشی داشته است. همان گونه که در شکل ۲ مشاهده می‌شود میزان بیان این ژن در گیاهان کنترل و تیمارشده با کیتوزان و همچنین بین غلظت‌های مختلف کیتوزان تفاوت معنی‌داری را در سطح ۵ درصد نشان می‌دهند، روند افزایشی بیان ژن در گیاهان تیمارشده به‌طور معنی‌داری بیشتر از گیاه کنترل می‌باشد. به‌طوری که میزان افزایش بیان این ژن در همان ساعات اولیه پس از آلودگی در غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر کیتوزان ۱۶/۴۴ برابر نسبت به گیاهان کنترل می‌باشد. این روند افزایشی همچنان ادامه داشته و در ۱۲ ساعت پس از آلودگی به حداکثر میزان خود می‌رسد. میزان رونوشت در زمان اوج بیان در گیاهان تیمارشده با غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر ۲۳/۳۴ برابر زمان کنترل می‌باشد. این افزایش بیان برای غلظت۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر کیتوزان نیز صادق است، اما میزان افزایش بیان برای این غلظت در مقایسه با غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر کمتر می‌باشد، در نهایت بالاترین میزان بیان برای ژن *PR1* در غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر و ۱۲ ساعت پس از آلودگی مشاهده شد.

پروتئین‌های *PR1* گروه یاز پروتئین‌های مرتبط با بیماری‌زایی می‌باشند که معمولا روی غشاء بیمارگر موثر هستند اما سازوکار دقیق عمل آنها هنوز به‌درستی شناسایی نشده است (۳۸). سلطانلو و همکاران (۳۳) نیز طی تحقیقات خود به این نتیجه رسیدند که این پروتئین‌ها با اثر مستقیمی که روی بیمارگر دارند می‌توانند باعث کاهش رشد بیمارگر شوند. ایشان نشان دادند که میزان افزایش بیان ژن *PR1* در گندم‌های آلوده به *Fusarium graminearum* باعث افزایش مقاومت گیاه می‌گردد. در پژوهشی دیگر روی بیماری سفیدک پودری روی گیاه جو نشان داده شد که پروتئین‌های *PR1-b* در ایجاد مقاومت و کاهش علائم بیماری دخیل هستند (۳۱). همچنین نتایج پژوهش‌های انجام‌شده روی بیماری سفیدک سطحی کدو تحت تیمار با سالیسیلیک‌اسید نشان داد که بیان ژن *PR1* در گیاهان تیمارشده افزایش می‌یابد (۴۶) که در راستای نتایج به‌دست آمده در این پژوهش می‌باشد. نتایج تحقیقات آهنگر و همکاران (۲) روی بیماری سفیدک سطحی گندم نشان داده است که بیان ژن *PR1b* در همان ساعات اولیه پس از آلودگی افزایش‌یافته و سپس در زمان اوج حمله قارچ (۲۴ ساعت پس از آلودگی) به حداکثر میزان رونوشت خود می‌رسد. قاضی محسنی و صباغ (۱۲) در تحقیق انجام‌شده روی قارچ عامل بلایت فوزاریومی خوشه گندم نشان دادند که در گیاهان تیمارشده با کیتوزان افزایش معنی‌داری در مقاومت سیستمیک اکتسابی ایجاد شده است. در تحقیقی دیگر که روی بیان ژن‌های *Cupi4* و *Lipoxygenase* در بیماری بوته‌میری خیار آلوده به قارچ *Pythium aphanidermatum* انجام گرفت، بیان شد که غلظت‌های مختلف کیتوزان در بازه‌های زمانی ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از آلودگی باعث افزایش بیان این ژن‌ها و افزایش مقاومت گیاهان شده است (۲۹). افزایش سطح رونوشت ژن *PR1* در تمامی ساعات نمونه‌برداری در گیاهان تیمارشده در مقایسه با گیاه کنترل را می‌توان به نقش موثر این ژن در کنار ژن‌های اصلی به القای مقاومت در گندم در برابر این بیماری نسبت داد. نقش ضدقارچی *PR1* در سیستم دفاعی گندم برای جلوگیری از نفوذ سفیدک سطحی توسط زین و همکاران (۴۳) تایید شده است. همچنین تحقیقات نشان داده است که میزان بیان این ژن در ارقام جوی مقاوم به سفیدک پودری بیشتر از ارقام حساس به بیماری است (۲۳).



شکل ۲- منحنی ذوب محصولات PCR ژن‌های Actin، *PR1*، *PR2* و *PR5* که نشان‌دهنده تکثیر اختصاصی ژن مورد نظر می‌باشد.

Figure 2. Melting curves of PCR products for Actin, PR1, PR2 and PR5 which show the specific amplification of the target genes.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-10-31]

[DOI: 10.29252/jcb.11.32.124]

تغییرات الگوی بیان ژن *PR2*:

میزان بیان ژن *PR2* (شکل ۳) تفاوت معنی‌داری را در سطح احتمال ۵ درصد بین گیاهان شاهد و آلوده نشان می‌دهد به‌طوری که آغاز این اختلاف در همان ساعات اولیه پس از آلودگی مشاهده می‌شود. میزان تفاوت بین گیاهان تیمارشده با کیتوزان در غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر ۲/۷ و در غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر ۱/۸ برابر نسبت به گیاهان شاهد در زمان صفر می‌باشد. این افزایش بیان همچنان ادامه داشته و در ۱۲ ساعت پس از آلودگی به حداکثر میزان خود رسیده است میزان رونوشت در زمان اوج بیان در گیاهان تیمارشده در غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم کیتوزان ۴/۴۱ و در غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر ۲/۵۹ برابر نسبت به گیاهان شاهد و ۱/۶۳ نسبت به زمان صفر خود در غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر و ۱/۴۳ برابر نسبت به زمان صفر گیاهان تیمارشده با غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر می‌باشد. سپس در زمان ۲۴ ساعت پس از آلودگی هر سه گروه از گیاهان روند کاهشی از بیان ژن را نسبت به زمان صفر نشان می‌دهند. با توجه به اینکه در زمان ۲۴ ساعت پس از آلودگی زمان توسعه هوستوریوم می‌باشد، این کاهش بیان ممکن است به‌دلیل از بین رفتن موثر آن‌ها به‌دنبال تشکیل هوستوریوم باشد (۲۴). در انتها نیز بیشترین میزان بیان برای این ژن در ۱۲ ساعت پس از آلودگی و در غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر می‌باشد. خانواده *PR2* گروهی از پروتئین‌های مرتبط با بیماری‌زایی هستند که توانایی هیدرولیز پلیمرهای گلوکوزیدی را که واحدهای آن با پیوند بتا- ۱و۳ گلوکان به یکدیگر متصل شده‌اند دارد، بتا گلوکونازها زمانی که گیاه با بیمارگر مواجه می‌شود و یا در زمان وقوع تنش‌های زیستی و غیرزیستی القاء می‌شوند و به‌صورت سینرژیست با آنزیم کیتیناز عمل می‌کند (۳۲). گلوکانازها در تخریب دیواره سلولی قارچ‌ها نقش دارند (۳۰). اعتقاد بر این است که این پروتئین‌ها نقش مهمی را در پاسخ گیاهان به عفونت‌های قارچی بازی می‌کنند (۲۶). بتا-۱و۳ گلوکاناز معمولا در غلظت کم در گیاهان بیان می‌شود، اما هنگامی که گیاهان با قارچ، باکتری یا پاتوژن‌های ویروسی مواجه می‌شود غلظت این آنزیم به‌طور چشم‌گیری افزایش می‌یابد. به‌عنوان مثال، ون‌کان و همکاران نشان دادند که مقدار mRNA انباشته شده در برگ‌های آلوده‌شده با قارچ *Cladosporium fulvum* نسبت به برگ‌های غیرآلوده سطح بالاتری دارد (۳۷). بتا ۱و۳-گلوکانازها با شکستن باندهای بتا ۱و۳ گلوکان به‌طور مستقیم با هیدرولیز کردن دیواره سلولی قارچ از رشد آن جلوگیری می‌کنند (۳۴). با توجه به تحقیقات انجام‌شده روی برگ گندم خاصیت ضدقارچی بتا ۱و ۳- گلوکاناز بر روی قارچ‌های *Alternaria longipes* و *Rhizoctonia solani* اثبات شده است، همچنین این ترکیب مانع از رشد لوله تندشی و جوانه زدن اسپور در *Verticillium dahlia* و *Fusarium oxysporum* می‌شوند (۳۵). آهنگر و همکاران (۲) با مطالعه‌ی الگوی بیان ژن *PR2b* در رقم حساس گندم (فلات) پس از تیمار با سالیسیلیک‌اسید و بیماری سفیدک پودری نشان دادند که این القاکننده، تأثیر بالایی در فعال‌کردن مکانیسم مقاومتی و افزایش بیان ژن مورد نظر در گیاه دارد. هرناندز و همکاران (۱۴) نشان دادند که این پروتئین با تخریب دیواره سلولی قارچ سبب آزادسازی الیگوساکاریدها می‌شود که متعاقب آن پاسخ‌های دفاعی ثانویه گیاه در برابر بیمارگر را با تولید فیتوالکسین‌ها فعال می‌نماید.

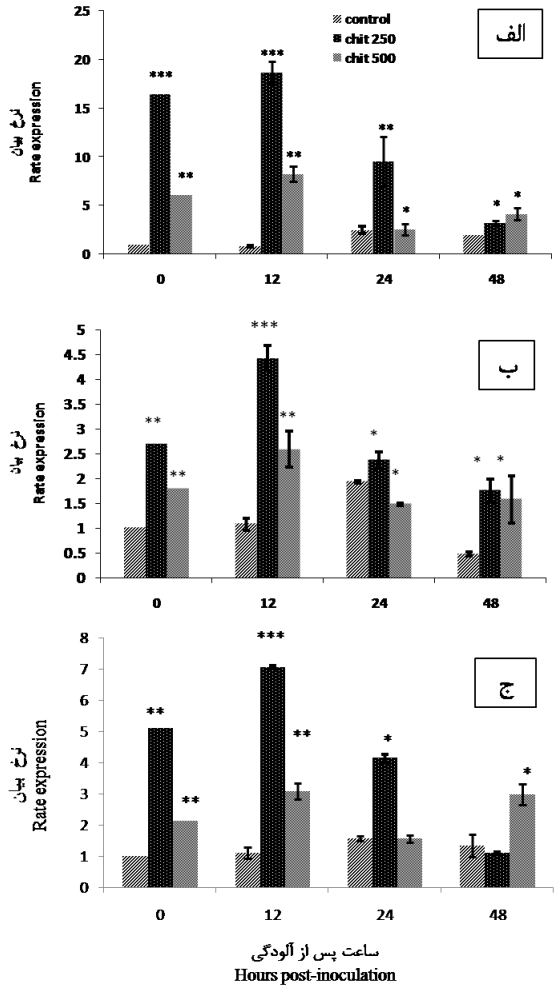
تغییرات الگوی بیان ژن *PR5*:

نتایج حاصل از بررسی الگوی بیان ژن *PR5*، وجود تفاوت معنی‌دار بین گیاه شاهد و گیاهان تیمارشده با غلظت‌های مختلف کیتوزان را نشان می‌دهد. طبق این بررسی‌ها میزان بیان این ژن در گیاهان تیمارشده با غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر ۵/۱ و در گیاهان تیمارشده با غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر ۲/۱۲ برابر نسبت به زمان صفر گیاهان کنترل افزایش ($p<۰/۰۱$) نشان داده است. میزان افزایش رونوشت نیز در ۱۲ ساعت پس از آلودگی به اوج خود رسیده است. میزان بیان ژن در این زمان برای گیاهان تیمارشده با غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر کیتوزان ۶/۴۱ و در گیاهان تیمارشده با غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر ۲/۸ برابر نسبت به زمان اوج بیان گیاهان شاهد می‌باشد. همچنین میزان بیان ژن در گیاهان تیمارشده با غلظت‌های ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر کیتوزان به‌ترتیب ۱/۳۸ و ۱/۴۵ برابر نسبت به زمان صفر در همان تیمار افزایش نشان داد. بالاترین میزان بیان برای ژن *PR5* نیز در غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر و ۱۲ ساعت پس از آلودگی می‌باشد (شکل ۳).

پروتئین‌های متعلق به خانواده *PR5* به‌دلیل داشتن توالی آمینواسیدی مشابه پروتئین گیاهی *Thaumatococcus daniellii* به پروتئین‌های شبه‌تائوماتین معروف هستند، تولید این در گیاهان مختلف و در پاسخ به آلودگی‌های میکروبی به‌میزان زیادی مورد مطالعه قرار گرفته است. مشخص شده است که این پروتئین از طریق روش‌هایی از قبیل غیرفعال‌شدن پروتئیناز، ریبوزوم، هضم دیواره سلولی و پروتئین‌ها، تداخل در تکثیر و کاهش نفوذ بیمارگر، جلوگیری از رشد و شاخه شاخه شدن هیف‌های قارچ، هضم اسپور و یا کاهش جوانه‌زنی اسپور از رشد پاتوژن جلوگیری می‌کند (۴۰). اولین مدارک به‌دست آمده از فعالیت ضدقارچی پروتئین‌های شبه‌تئوماتین با شناسایی زئوماتین در بذور گیاه ذرت به دست آمده است. که توانست از رشد قارچ‌های *Neurospora crassa, Candida albicans, Trichoderma reesei* جلوگیری کند (۲۷). ایزوفرم‌های مختلفی از *PR5* وجود دارد که هر کدام از آنها دارای نقش خاصی مانند خواص ضدقارچی و حفاظت از گیاهان در مقابل تنش‌ها هستند (۱۶). مطالعات نشان داده است که پروتئین *PR5* از طریق تاثیر بر غشای قارچ، سبب تراوایی غشای سلولی قارچ *Cercospora beticola* و افزایش جذب سایر ترکیبات ضدقارچی و در نهایت از بین رفتن قارچ می‌شود (۴۱). فعالیت بالای این ژن در بازه‌های اولیه پس از آلودگی نشان از فعالیت ضدقارچی بالای این پروتئین در برابر بیماری مورد بحث دارد. همچنین محمدی و همکاران نشان دادند که میزان بیان ژن‌های *PR1*، *PR5*، *NH1* و *POX* در ارقام جوی مقاوم به سفیدک پودری بیشتر از ارقام حساس به بیماری است (۲۳).

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-10-31]

[DOI: 10.29252/jcb.11.32.124]



شکل ۳- تغییرات بیان ژن الف) *PR1*، ب) *PR2* و ج) *PR5* در گیاهان تیمار شده با کیتوزان و گیاهان کنترل پس از آلودگی با بیمارگر
* و **: به‌ترتیب بیانگر اختلاف معنی‌دار بین دو تیمار در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد در هر بازه زمانی می‌باشد.
از آلودگی با بیمارگر
* و **: به‌ترتیب بیانگر اختلاف معنی‌دار بین دو تیمار در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد در هر بازه زمانی می‌باشد.
Figure 3. Gene Expression Changes in a)PR1, b)PR2 and J)PR5 in plants treated with chitosan and control plants after inoculating with the pathogen.
* and ** showed significant difference (P<0.05) and (P<0.01) respectively in each time courses

حفاظت از گیاهان نتیجه فعال‌شدن چندین واکنش دفاعی در گیاه است و کیتوزان قادر است آغازکننده‌ی حوادث مرتبط با پاسخ مقاومت در گیاهان باشد. کیتوزان یک پلیمر پلی‌کاتیونی از β-۱ و ۴ D- گلوکوزآمین و از مشتقات کیتین بوده که کاربردهای متعددی در کشاورزی، صنایع غذایی، داروسازی، پزشکی، کاغذسازی و تصفیه آب دارد (۲۱). ازجمله خصوصیات مهم کیتوزان آثار ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی آن است که امروزه به‌عنوان ماده افزایش‌دهنده قدرت دفاعی گیاهان علیه انواع تنش‌های زیستی و غیرزیستی از جمله علیه آلودگی‌های قارچی گیاهان به‌کار می‌رود (۳۹). نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که ۱۲ ساعت پس از مایه‌زنی، بیان هر سه ژن مورد بررسی تحت تاثیر تیمار کیتوزان، به‌تدریج افزایش‌یافته و پس از ۱۲ ساعت به اوج خود می‌رسد. که میزان این افزایش در تیمار ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر کیتوزان بیشتر از تیمار دیگر است. همچنین بررسی گیاهان کنترل آلوده به بیماری نشان می‌دهد که نرخ بیان هر سه ژن مورد بررسی در بازه‌های زمانی پس از مایه‌زنی با بیمارگر، افزایش می‌یابد. اما میزان این افزایش بسیار ناچیز است و تفاوت معنی‌داری با دو تیمار کیتوزان نشان می‌دهد. این نتایج مبین تاثیر کیتوزان در القای ژن‌های دخیل در مسیر مقاومت به بیماری سفیدک پودری در گندم می‌باشد. از سوی دیگر، میزان بیان این ژن‌ها بعد از ساعت دوازدهم پس از مایه‌زنی روند کاهشی را طی می‌کنند اما این میزان در گیاهان تیمارشده با کیتوزان همچنان بیشتر از گیاهان شاهد است. که نشان‌دهنده‌ی تاثیر کیتوزان در ممانعت از توسعه‌ی آلودگی ناشی از بیمارگر می‌باشد. همچنین کاهش تعداد کلنی رشدیافته در گیاهان پیش‌تیمار شده نسبت به گیاهان کنترل تأییدکننده این مطلب می‌باشد. در مجموع براساس یافته‌های

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-10-31]
[DOI: 10.29252/jcb.11.32.124]

این تحقیق، کاربرد خارجی کیتوزان روی برگ‌های رقم حساس فلات با القای آماده‌باش در گیاه حساس سبب القای مکانیسم SAR، با پتانسیل بالاتر در گیاه و به‌دنبال آن بیان بالای ژن‌های مسیر مقاومتی از جمله *PR*ها و نهایتاً ایجاد مقاومت به بیمارگر سفیدک سطحی در گیاه می‌گردند. پژوهش‌ها در مورد بیماری سفیدک پودری جو نشان داده است که کاربرد کیتوزان با تحریک بستن روزنه‌های گیاه، سبب کاهش مقدار بیماری می‌گردد (۱۹).

تحقیقات قابل ملاحظه‌ای در مورد این خواص کیتوزان و کاربرد آن انجام شده است. در برگ گیاه برنج تجمع دو نوع پروتئین مرتبط با بیماری‌زایی و افزایش تولید فیتوالکسین‌هایی مانند فلاوونوییدها و دی‌ترپنوییدها (۱) و همچنین چندین آنزیم دفاعی تحت تاثیر کیتوزان و مشتقات آن اثبات شده است (۲۸). در تحقیق حاضر کاربرد کیتوزان باعث افزایش بیان ژن‌های دفاعی شده است که با مطالعات انجام‌شده در مورد تاثیر کیتوزان در افزایش بیان میزان ژن‌های دفاعی و پروتئین‌های مرتبط با بیماری‌زایی در گیاه جوی آلوده به سفیدک پودری (۱۸)، گندم آلوده به کپک برفی (۱۵) و گیاه گندم آلوده به *Fusarium graminearum* (۱۲) مطابقت دارد. نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که کیتوزان با القای ژن‌های مسیر مقاومت سیستمیک اکتسابی، مقاومت گیاهان را علیه قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی تحت تأثیر قرار می‌دهد.

منابع

1. Agrawal, G.K., R. Rakwal, M. Tamogami, A. Yonekura and H. Saji. 2002. Chitosan active defense/stress response in the leaves of *Oryza sativa* seedlings. Plant Physiology and Biochemistry, 40: 1061-1069.
2. Ahangar, L., V. Babaezad, G.A. Ranjbar, H. Najafi Zarrini and A. Biabani. 2016. Study of PR gene expression pattern related to in induced resistance to powdery mildew in susceptible wheat genotype after treating with salicylic acid. journal of crop breeding, 8(17): 208-218.
3. Alam, M.A., M.S.N. Mandal, C. Wang and W. Ji. 2013. Chromosomal location and ssr maekers of a powdery mildew resistance gene in common wheat line N0308. African Journal of Microbiology Research, 7: 477-482.
4. Anusuya, S. and M. Sathiybama. 2014. Effect of chitosan on rhizome rot disease of turmeric caused by *Pythium aphanidermatum*. ISRN Biotechnology, Article ID: 305349, 5 pp.
5. Ben-Shalom, N. and E. Fallik. 2003. Further suppression of *Botrytis cinerea* disease in cucumber seedling by chitosan-copper complex as compared with chitosan alone. Phytoparasitica, 31: 99-102.
6. Braun, U. 1987. A Monograph of Erysiphales (powdery mildew). J. Cramer, Berlin. 700 pp.
7. Chen, L.F. and J.Y. Xu. 2001. Agricultural phytopathology. China Agriculture Press, Beijing, China.
8. Dordas, C. 2009. Role of nutrients in controlling plant diseases. In Lichtfouse, E., Navarrete, M., Debaeke, P., Véronique, S., Alberola C. (Ed.), Sustainable Agriculture: A Review. Springer Netherlands, 369-360 pp.
9. Ebrahimi, A., F. Taliei and A. Zolfaghari. 2017. Study the antifungal effect of chitosan and salicylic acid on the casual agent of rice root and crown rot. The second National congress of Monitoring and Forecasting in Plant Protection, 701-704.
10. Ebrahimi, A., F. Taliei and A. Zolfaghari. 2017. Study the induction of resistance in rice against root and crown rot disease using chitosan. The second National congress of Monitoring and Forecasting in Plant Protection, 589-593.
11. Edreva, A. 2004. A novel strategy for plant protection: Induced resistance. Journal of Cell and Molecular Biology, 3: 61-69.
12. Ghazimohseni, V. and S.K. Sabbagh. 2016. Effect of chitosan on gene expression and activity of enzymes involved in resistant induction to fusariuse of wheat. Iranian Journal of Plant Protection, 46(2): 363-371.
13. Guan, Y.J., J. Hu, X.J. Wang and C.X. Shao. 2009. Seed priming with chitosan improves maize germination and seedling growth in relation to physiological changes under low temperature stress. Journal of Zhejiang Univ Science B, 10: 427-433.
14. Hernàndez, H., M. Figueredo, N. Garrido, L. Sànchez and J. Sarracent. 2005. Intranasal immunisation with a 62 kDa proteinase combined with cholera toxin or CpG adjuvant protectsagainst Trichomonas vaginalis genital tract infections in mice. International Journal for Parasitology, 35: 1333-1337.
15. Hofgaard, I., Å. Ergon, L. Wanner and A.M. Tronsmo. 2005. The Effect of Chitosan and Bion on Resistance to Pink Snow Mould in Perennial Ryegrass and Winter Wheat. Journal of Phytopathology, 153(2): 108 -119.
16. Hon, W., M. Griffith, A. Mlynarz, Y. Kwok and D. Yang. 1995. Antifreeze proteins in winter rye are similar to pathogenesis-related proteins. Plant Physiology, 109: 879-889.
17. Jayaraj, J., M. Rahman, A. Wan and Z.K. Punja. 2009. Enhanced resistance to foliar fungal pathogens in carrot by application of elicitors. Annals of Applied Biology, 155: 71-80.
18. Kheiri, A., S.A. Moosawi Jorf, A. Malihipour, H. Saremi and M. Nikkhah. 2016. Application of chitosan and chitosan nanoparticles for the control of Fusarium head blight of wheat (*Fusarium graminearum*) in vitro and greenhouse. International Journal of Biological Macromolecules, 93(A): 1261-1272.
19. Koers, S., A. Guzel-Deger, I. Marten and M.R. Roelfsema. 2011. Barley mildew and its elicitor chitosan promote closed stomata by stimulating guard-cell S-type anion channels. Plant Journal, 68: 670-680.
20. Kurita, K. 1998. Chemistry and application of chitin and chitosan. Polymer Degradation and Stability, 59(1-3): 117-120.
21. Kumar, M.N. 2000. A review of chitin and chitosan applications. Reactive and Functional Polymers, 46: 1-2.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-10-31]

[DOI: 10.29252/jcb.11.32.124]

22. Livak, K.J. and T.D. Schmittgen. 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{\Delta\Delta ct}$ CT method. Methods, 25: 402-408.
23. Mohammadi, M.M., V. Babaeizad, H. Rahimian and Sh. Ebrahim Nejad. 2017. Screening of some Barley Lines Against Powdery Mildew Agent and Considering of NH1 and Several Pathogenesis Related Genes in Disease Resistance. Journal of Crop Breeding, 22 (In press).
24. Molitor, A., D. Zajic, L.M. Voll, J. Pons-Hückelhoven, B. Samans, H. Kogel and F. Waller. 2011. Barley Leaf Transcriptome and Metabolite Analysis Reveals New Aspects of Compatibility and *Piriformospora indica*–Mediated Systemic Induced Resistance to Powdery Mildew. Molecular Plant-Microbe Interaction, 24: 1427-1439.
25. Nandeeshkumar, P., J. Sudisha, K. Ramachandra, H.S. Prakash, S.R. Niranjana and S. Shekar. 2008. Chitosan induced resistance to downy mildew in sunflower caused by *Plasmopara halstedii*. Physiological and Molecular Plant Pathology, 72: 188-194.
26. Pan, S.Q., X.S.Ye and J. Kuc. 1989. Direct detection of β-1,3-glucanase isozymes on polyacrylamide electrophoresis and isoelectrofocusinggels. Analls of Biochemistry, 182: 136-140.
27. Roberts, H. and P.E. Kolattukudy. 1989. Molecular cloning nucleotide sequence and abscisic acid induction of a suberization-associated highly anionic peroxidasa. Molecular Genomic and Genetic, 217: 223-232.
28. Rodriguez, A.T., M.A. Ramirez, R.M. Cardenas, A.N. Hernandez, M.G. Velazquez and S. Bautista. 2007. Induction of defense response of *Oryza sativa* against *Pyrcularia grisea* by treating seeds with chitosan and hydrolyzed chitosan. Pest Biochemistry and Physiology, 89: 206-215.
29. Sabbagh, S., A. Sabbagh, J. Abkho and F. Mostafavi. 2016. Effect of chitosan on the induction of resistance in cucumber against *Pythium aphanidermatum*. Journal of Plant Protection, 30(2): 219-229.
30. Saikia, R., B.P. Singh, R. Kumar and D.K. Arora. 2005. Detection of pathogenesis related proteins-chitinase and-1,3 glucanase in induced chickpea. Current Science, 89: 659-663.
31. Schultheiss, H., C. Dechert, L. Kiraly, J. Fodor, K. Michel, K-H. Kogel and R. Huckelhoven. 2003. Functional assessment of the pathogenesis-related proeein PR-1b in barley. Plant Science, 162: 1275-1280.
32. Simmons, C.R. 1994. The physiology and molecular biology of plant 1, 3-β-D-glucanases and 1,3;1, 4-β-D-glucanases. Crit. Review of Plant Science, 133: 325-387.
33. Soltanloo, H., E. Ghadirzade Khorzoghi, S.S. Ramezanpour, M. Kalate Arabi and M.H. Pahlavani. 2010. The expression profile of Chi-1, Glu-2, Glu3 and PR1. 2genes in scab- resistant and susceptible wheat cultivars during infection by *Fusarium graminearum*. Plant Omics Journal, 5: 162-166.
34. Stintzi, A., T. Heitz, V. Prasad, S. Wiedemann-Merdinoglu, S. Kauffmann, P. Geoffroy, M. legrand and B. Fritig. 1993. Plant Pathogenesis- related proteins and their role in defense against pathogens. Biochimistry, 75(8): 687-706.
35. Sun, B., L. Dc., C. Xy, R.F. Guo and Y. Wang. 2004. Induction ,purification and antifungal activity of beta-1,3-glucanase from wheat leaves. Plant Pathology, 30(4): 399-404.
36. Terry, L.A. and D.C. Joyce. 2004. Elicitors of induced disease resistance in postharvest horticultural crop: a brief review. Postharvest Bological Technology, 32: 1-13.
37. Van Kan, J.A.L., M. Joosten and C.A.M. Wagemakers. 1992. Differential accumulation of mRNAs encoding extracellular and intracellular PR proteins in tomato induced by virulent and avirulent races of *Cladosporium fulvum*. Plant Molecular Biology, 20: 513-527.
38. Van Loon, L.C., M. Rep and C.M.J. Pieterse. 2006. Significance of Inducible Defense-related Proteins in Infected Plants. Phytopathology, 44: 135-162.
39. Veladi, S., M.J. Soleimani pari, G.H. Khodakaramian and T. Ghyasvand. 2013. Effect of salicylic acid & chitosan on induction of resistance in chickpea against fusarial wilt and root rot. Iranian Journal of Plant Pathology, 49(2): 59-61.
40. Velazhahan, R., K. Chen-Cole, C.S. Anuratha and S. Muthukrishnan. 1998. Induction of thaumatin-like proteins (TLPs) in *Rhizoctonia solani*- infected rice and characterization of two new cDNA clones. Physiologia Plantarum, 102: 21-28.
41. Vigers, A.J., S. Wiedemann, W.K. Roberts, M. Legrand, C.P. Selitrennikoff and B. Fritig. 1992. Thaumatin-like pathogenesisrelated proteins are antifungal. Plant Science, 83: 155-161.
42. Wilson, C.L., E.L. Ghaouth, A. Ghaluts, S. Droby, C. Stevens, J.L. Lu, V. Khan and J. Arul. 1994. Potential of induced resistance to control postharvest disease of fruits and vegetables. Plant Disease, 78: 837-844.
43. Xin, T., X. Wang, H. Peng, Y. Yao, Ch. Xie, Y. Han, Zh. Ni and Q. Sun. 2012. Transcriptome Comparison of Susceptible and Resistant Wheat in Response to Powdery Mildew Infection. Genomics Proteomics Bioinformatics, 10: 94-106.
44. Zhang, K., L. Zhao, Y. Hai, G. Chen and J. Tian. 2008. QTL Mapping for Adult Plant Resistance to Powdery Mildew, Lodging Resistance, and Internode Length Below Spike in Wheat. Acta Agronomic Sinco, 34: 1350-1357.
45. Zhang, D. and P.C. Quantick. 1998. Antifungal effects of chitosan coating on fresh strawberries and raspberries during storage. Journal of Horticulture and science Biotechnology, 73: 763-767.
46. Zeighaminejad, R. and Gh.R. Sharifi Sirchi. 2013. Study of PR gene expression and activity of effective enzymes in induced resistance to powdery mildew by salicylic acid. Agricultural Biotechnology, 5(1): 97-110.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-10-31]

[DOI: 10.29252/jcb.11.32.124]

Effect of Chitosan on the Expression Pattern of Some Pathogenecity Related Genes in Wheat Infected with Powdery Mildew

Mansoure Rahneshan[1], Fakhtak Taliei[2], Leila Ahangar[3], Hossein Sabouri[3] and Shaban Kia[4]

1- M.Sc. Student of Biotechnology, Gonbad Kavous University
2- Assistant Professor, Gonbad Kavous University, (Corresponding author: Taliei@gonbad.ac.ir)
3 and 4- Assistant and Associate Professor, Gonbad Kavous University Gorgan Reaserch center of Agriculture and Natural Resources
5- Instructor of Research, Golestan Province Agricultural and Natural Resources Research Center
Received: January 8, 2018 Accepted: September 30, 2018

Abstract

Powdery mildew, caused by *Blumeria graminis* f.sp *tritici*, known as a destructive disease of wheat worldwide that led to severe crop loss, annually. As chemical control is expensive and not ecologically safe, application of non-toxic chemicals to induce defense mechanism in plant host is desirable. In present study, induction of host resistance using chitosan on the expression of pathogenicity related gene was investigated. The expression rate of *PR1*, *PR2* and *PR5* in wheat treated with chitosan (0, 250 and 500 mg/L) were examined in factorial completely randomized design with three independent replications at 5 time courses using Real Time PCR technique Based on the results, the number of mildew colony in wheat leaves treated with chitosan 250 mg/L was decreased 42.3% than control. Results of qPCR indicated that in treated plants, the gene expression were increased significantly after infection, for all three genes. Maximum expression level of genes were observed at 12 hours after infection. This process was observed slowly in control plants but in treated plants induction of plant defense genes seemed more faster than control. Furthermore chitosan 250 mg/L induced plant defense gene more effectively than chitosan 500 mg/L. The results would support the idea that application of chitosan can play an important role in inducing systemic resistance in wheat plants against powdery mildew disease.

Keyword: Chitosan, Induced Resistance, Pathogenecity Related Genes, Powdery Mildew

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-10-31]

[DOI: 10.29252/jcb.11.32.124]