



## مروری بر ژن های مؤثر بر بیماری زایی قارچ *Alternaria*

شیما زارعی نوذری

دانشجوی بیماری شناسی گیاهی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

محمدعلی تاجیک قنبری

هیئت علمی گروه گیاهپزشکی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

ولی الله بابایی زاد

هیئت علمی گروه گیاهپزشکی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

### چکیده

جنس قارچ *Alternaria* از گونه های مختلف ساپروفیت و همچنین اندوفیت تشکیل شده است و به قارچ بیماری زای گیاهی مخرب شناخته شده است. اکثر اعضای *Alternaria* به طور کلی فاقد تمایلات جنسی هستند، اگرچه تعداد کمی از گونه ها در چرخه زندگی خود دارای مرحله جنسی هستند. چندین نوع ژن، از ژن های کدکننده پروتئین گرفته تا آن هایی که در آبشارهای انتقال سیگنال نقش دارند، مسئول پاتوژنز هستند. تولید سموم اختصاصی میزبان (HSTs) یک عامل تایید کننده پاتوژنز است. بیشتر سموم مخصوص میزبان قارچی متابولیت هستند، اگرچه مواد سمی شامل دسپیپتیدها و ترکیبات شبه فوسیکوسین هستند. ژن هایی که بیوسنتز این HST ها را کد می کنند، اغلب در کروموزوم های غیرقابل مصرف مشروط وجود دارند. ماهیت نکروتروف گونه آلترناریا معمولاً منجر به آسیب گسترده به گیاه و محصول برداشت می شود و نهال ها به ندرت از حمله جان سالم به در می برند. جدا از نقش سموم در پاتوژنز *Alternaria*، تعداد کمی از ژن ها و یا محصولات ژنی به عنوان یک پیش-نیاز برای بیماری زایی، اثر برجسته ای دارند. برای کنترل بیماری ها، تعداد مواد شیمیایی جدید همراه با عوامل کنترل بیولوژیکی مختلف از جمله باکتری ها، اکتینومیست ها و قارچ ها ارزیابی می شود. برخی از گیاهان و محصولات گیاهی نیز در کنترل عفونت *Alternaria* مفید هستند.

واژگان کلیدی: *Alternaria*، مدیریت بیماری، عوامل بیماری زایی، toxins (سموم).

### مقدمه

جنس *Alternaria* متعلق به شاخه ای Ascomycota، راسته ای Pleosporales و خانواده ای Pleosporaceae است. هاگ های رنگدانه ای چند سلولی آن به صورت زنجیره ای یا به صورت شاخه ای تولید می شوند. هاگ ها در نزدیکی قاعده گسترده تر هستند و به-



تدریج به سمت منقاری کشیده می‌شوند. هنگامی که آلترناریا به برگ میزبان حمله می‌کند، از نظر مورفولوژیکی یک سری حلقه‌های متحدالمرکز در اطراف محل اولیه‌ی حمله ایجاد می‌کند که با سوختگی زودرس همراه است. گونه‌های این جنس پراکنش جهانی دارند و می‌توانند به عنوان ساپروفیت و همچنین انگل ضعیف زنده بمانند. این جنس دارای کنیدی‌های چندشکلی به صورت منفرد یا در زنجیره‌های کوتاه یا بلندتر و سپتوم‌های متقاطع، طولی و همچنین مورب و دارای منقار بلندتر یا کوتاه است. هاگ‌های این قارچ‌ها معمولاً در جو و همچنین در خاک وجود دارند. تلئومورف‌ها (مرحله جنسی) در تعداد کمی از گونه‌ها شناخته شده‌اند (Verma, 2010). تعداد زیادی از گونه‌های جنس *Alternaria* می‌تواند بسیاری از گیاهان را آلوده کند و باعث زیان اقتصادی در سراسر جهان شود. همچنین این قارچ باعث عفونت‌های دستگاه تنفسی فوقانی در بیماران مبتلا به ایدز و آسم در افراد حساس می‌شود و در رینوسینوزیت مزمن نقش دارد (Kirk, 2018).

در میان بیماری‌های مختلف ناشی از جنس آلترناریا، بیماری لکه‌برگی یکی از غالب‌ترین بیماری‌هایی است که باعث کاهش متوسط عملکرد در محدوده‌ی ۳۲ تا ۵۷ درصد می‌شود (Conn and Tewari, 2005). لکه‌برگی یک بیماری مهم اقتصادی است که می‌تواند باعث کاهش تولید و کیفیت قابل توجهی در گیاهان شود. این بیماری توسط قارچ‌های مختلفی در گیاهان ایجاد می‌شود. *Alternaria spp* مولد بیماری لکه‌برگی آلترناریایی (*Alternaria Leaf Spot*) است و می‌تواند تمام قسمت‌های هوایی گیاه را مورد حمله قرار دهد.

از علائم این بیماری می‌توان به وجود لکه‌های برگ نامنظم قهوه‌ای دایره‌ای تا قهوه‌ای تیره روی برگ‌ها با خطوط متحدالمرکز در داخل لکه‌ها اشاره کرد. اغلب لکه‌های دایره‌ای به هم می‌پیوندند و لکه‌های بزرگی را تشکیل می‌دهند که منجر به سوختگی برگ می‌شود. در چند مورد، لکه‌های کوچک تیره‌رنگ روی غلاف‌ها و شاخه‌های حساس ایجاد می‌شود (Woudenberg et al., 2015).

منابع اصلی انتقال این عوامل بیماری‌زا، بذرها، آلوده با هاگ روی پوسته‌ی بذر یا وجود میسلیم در زیر پوشش بذر است. انتشار هاگ توسط باد، آب، ابزار و حیوانات اتفاق می‌افتد. این قارچ می‌تواند در علف‌های هرز حساس یا محصولات چند ساله زنده بماند. وجود محصولات آلوده باقی‌مانده بر روی زمین پس از برداشت نیز به عنوان منبع عفونت برای اکثر گونه‌های *Alternaria* عمل می‌کند (Mamgain et al., 2013).

گونه‌های قارچی *Alternaria* سمومی تولید می‌کنند که می‌توانند به بافت‌های گیاه آسیب برسانند. سموم اغلب به عنوان میزبان انتخابی (میزبان اختصاصی) یا غیر اختصاصی طبقه‌بندی می‌شوند. سموم انتخابی میزبان (HSTs) فقط برای گیاهان میزبان قارچ تولیدکننده‌ی سم، سمی هستند. در مقابل، سموم غیر اختصاصی می‌توانند روی بسیاری از گیاهان تأثیر بگذارند، صرف نظر از اینکه آن‌ها میزبان یا غیر میزبان پاتوژن تولیدکننده‌ی سم هستند. Yoder (2007) با در نظر گرفتن احتمال دخالت سموم در بیماری‌زایی، سموم پاتوژن‌های گیاهی را به عنوان عامل بیماری‌زایی طبقه‌بندی کرد. اکثر HSTها به عنوان عوامل بیماری‌زایی در نظر گرفته می‌شوند که قارچ‌های تولیدکننده‌ی آن‌ها برای حمله به بافت و ایجاد بیماری به آن‌ها نیاز دارند (Wolpert et al., 2012; Howlett, 2016). تمام جدایه‌های پاتوژن که HST تولید می‌کنند برای میزبان خاص بیماری‌زا هستند. تمام جدایه‌هایی که موفق به تولید HSTها نمی‌شوند، بیماری‌زایی را برای گیاهان میزبان از دست می‌دهند. به بیان دیگر، گیاهانی که به پاتوژن حساس هستند درواقع به سم حساس هستند. چنین همبستگی‌هایی بین تولید HST و بیماری‌زایی در پاتوژن‌ها و بین حساسیت به سم و حساسیت به بیماری در گیاهان، شواهد قانع‌کننده‌ای ارائه می‌کند که HSTها می‌توانند مسئول عفونت انتخابی میزبان و توسعه بیماری باشند. از سوی دیگر، نقش دقیق سموم غیراختصاصی در پاتوژن‌ها تا حد زیادی ناشناخته است، اما تصور می‌شود که برخی از آن‌ها به ویژگی‌های حدت، مانند توسعه‌ی علائم و تکثیر پاتوژن گیاهی کمک می‌کنند (Mamgain et al., 2013).

HSTهای *Alternaria* شامل گروه متنوعی از مواد با وزن مولکولی کم است و بیشتر آن‌ها در فیلترهای کشت به عنوان خانواده‌هایی از ترکیبات نزدیک به هم یافت شدند. HSTهای *Alternaria* باعث نکروز در برگ‌های ارقام حساس در غلظت‌های کمتر از ۱۰-۸ تا ۹-۱۰ M و عدم نکروز در برگ‌های ارقام مقاوم حتی در غلظت‌های بالاتر می‌شوند (Matic et al., 2020).



چندین نوع مختلف ژن، مسئول بیماری زایی قارچ *Alternaria* هستند. ژن هایی که برای پارامترهای فیزیولوژیکی مختلف مانند آنزیم-های تخریب کننده دیواره سلولی، سموم و پروتئین های ناقل دخیل در آبخارهای انتقال سیگنال مانند پروتئین های فعال شده با میتوژن (MAP) کینازها، برخی از انواع مختلف ژن های مسئول بیماری زایی هستند. سموم تولید شده توسط پاتوتیپ های مختلف *Alternaria* عمدتاً متابولیت های ثانویه با وزن مولکولی کم هستند. گزارش شده است که برخی از انواع سموم دارای ساختار مولکولی شبیه اسفنگولیپید هستند. انواع دیگر سموم شامل برخی از مولکول های مبتنی بر دزی پپتید است. اکثر سموم قارچی متابولیت هستند اما در برخی موارد یک پپتید سمی به عنوان یک عامل بیماری زای اصلی در مورد پاتوژن گندم *Pyrenophora tritici-repentis* شناخته شده است. به همین ترتیب، سم پروتئینی (AB-toxin) توسط *A. brassicicola* و فقط در گیاهان میزبان تولید می شود (Mamgain et al., 2013).

گونه های آلترناریا انواع سموم غیر اختصاصی میزبان را نیز تولید می کنند. علاوه بر توکسین AB، مواد سمی دیگری از جمله دزی پپتیدها و ترکیبات فوسیکوکسین نیز توسط پاتوتیپ های مختلف آلترناریا تولید می شوند. اگرچه انواع مختلفی از مواد سمی از نظر ساختاری توسط گونه های آلترناریا تولید می شود، برخی از پاتوتیپ های این گونه بلوک های ساختمانی بیوسنتزی سمی مشترک دارند (Matic et al., 2020).

### شناسایی عوامل بیماری زایی

یکی از عوامل مسبب بیماری زایی تولید متابولیت ثانویه است. Oide و همکاران (۲۰۰۶) در یک بررسی، ژن پپتید سنتاز غیر ریبوزومی (NPS6) در گندم و *A. brassicicola* برای هدایت بیوسنتز یک متابولیت سیدروفور را برای تحمل استرس اکسیداتیو و بیماری زایی یافت کردند. یکی دیگر از زمینه های مهم بررسی در سیستم پاتولوژی *Alternaria brassicaceae* انتقال سیگنال قارچی است. به عنوان مثال، اختلال در همولوگ MAP Fus3/Kss1 کیناز (Amk1) در *A. brassicicola* منجر به از دست دادن کامل بیماری-زایی می شود. همچنین افزودن مواد مغذی پلی پپتیدی طولانی تا حدی بیماری زایی را به جهش یافته ها بازمی گرداند. علاوه بر این، مطالعات نشان می دهد که دو عامل بیماری زایی جدید، یک فاکتور رونویسی (AbPro1) و یک ژن هیستیدین کیناز دو جزیی (AbNIK1) را رمزگذاری می کند. هر دوی این کینازها عوامل بیماری زایی در قارچ های بیماری زای گیاهی هستند. مشخص شد که Slit2 با یکپارچگی دیواره سلولی و HOG با تحمل استرس اکسیداتیو مرتبط است. یکی دیگر از کارهای مهم مربوط به مطالعات مربوط به شناسایی فاکتورهای حدت، اختلال Aso-1 می باشد که یک ژن مورد نیاز برای همجوشی هیف (آناستوموز) و بیماری زایی در گونه های آلترناریا است (Craven et al., 2008). در نهایت، بیش از صد ژن از طریق تکنیک های مختلف مورد تجزیه و تحلیل عملکردی قرار گرفتند.

آزمایشات ناک اوت نشان داد که بیان بیش از حد ژن باعث می شود که *A. brassicicola* گونه انتخابی برای ژنومیک عملکردی باشد و با هدف شناسایی *A. brassicicola*، تلاشی برای بررسی نقش ژن های کوتیناز در پاتوژن *A. brassicicola* انجام شد. در این مطالعات، از تبدیل بیولیستیک برای ایجاد اختلال در ژن CUTAB1 استفاده شد. اختلال در CUTAB1 رشد ساپروفیت را تحت تاثیر قرار داد زیرا کوتین دیگر قادر به استفاده به عنوان منبع کربن انحصاری نبود، اما این اختلال تأثیر قابل توجهی بر بیماری زایی *A. brassicicola* نداشت بلکه یک لیپاز خارج سلولی توسط *A. brassicicola* در شرایط آزمایشگاهی تولید می شود (Mamgain et al., 2013).

### یافته ها

با در دسترس شدن توالی های DNA مربوط به ژن های بیوسنتزی سم، دو ویژگی (۱) این ژن ها بخشی از خوشه های ژنی بزرگ تر بودند که مسئول تولید سم بودند. (۲) این خوشه های بیوسنتزی سموم در کروموزوم های کوچکی محلی سازی شدند، نتیجه گیری می شود که

نشان از وقوع یک هیبرید ژنتیکی می‌دهد. از آنجایی که تعدادی از گونه‌های آلترناریا محصولات با اهمیت اقتصادی را آلوده می‌کنند، نیاز شدیدی به کنترل موثر این پاتوژن وجود دارد که می‌توان با برنامه‌ریزی و آماده‌سازی زمین، استفاده از قارچ‌کش‌های موثر، بذردرمانی، کاشت واریته‌های مقاوم، کشت مخلوط، عوامل کنترل زیستی و عصاره‌های گیاهی و محصولات طبیعی بیماری را مدیریت کرد. علاوه بر این، گنجاندن بقایا در اسرع وقت پس از برداشت، اقدام دیگری برای کاهش اثرات مضر آلترناریا است و کنترل میزبان‌های جایگزین و علف‌های هرز نیز به همین امر کمک می‌کند.

### بحث و نتیجه‌گیری

مطالعات فوق نشان داد که آلترناریا یک پاتوژن بسیار مخرب است که باعث تخریب گسترده در محصولات مهم اقتصادی می‌شود. اما با استفاده از تکنیک‌های پیشرفته، کنترل این قارچ جهانی آسان‌تر می‌شود. پیشرفت قابل توجهی در مطالعه‌ی مولکولی برای بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه فیتوتوکسیک و نقش آن‌ها در توسعه‌ی بیماری‌های گیاهی انجام شده است. استفاده از تکنیک‌های مختلف مانند اختلال ژن، درک دقیقی از عوامل بیماری‌زای مختلف و فیزیولوژی آن را ممکن می‌سازد. تا آن‌جا که به کنترل آلترناریا مربوط می‌شود، استفاده از قارچ‌کش‌ها روشی رایج برای آن است. اما با در نظر گرفتن مخاطرات مختلف سلامتی که این عوامل برای انسان ایجاد می‌کنند، تاکید بر روش‌های دیگر کنترل بیماری مانند کشت واریته‌های مقاوم به بیماری، استفاده از محصولات گیاهی و طبیعی، عوامل کنترل زیستی و تغییرات در اقدامات زراعی و غیره است، زیرا مقرون به صرفه‌تر، سازگار با محیط‌زیست و ایمن هستند.

### منابع

- Conn KL and Tewari JP. (2005). Survey of *Alternaria* blackspot and *Sclerotinia* stem rot in central Alberta in 1989. Can. Plant Dis. Survey. Vol. 70. 66-67.
- Craven KD, Velez H, Cho Y, Lawrence CB and Mitchell TK. (2008). Anastomosis is required for virulence of the fungal necrotroph, *Alternaria brassicicola*. Eukaryot. Cell. Vol. 7. 675-683.
- Howlett BJ. (2016). Secondary metabolite toxins and nutrition of plant pathogenic fungi. Curr. Opin. Plant Biol. Vol. 9. 371-375.
- Mamgain, Anuj., Roychowdhury, Rajib. and Tah, Jagatpati. (2013). *Alternaria* pathogenicity and its strategic controls. Research Journal of Biology. Vol. 1. 01-09.
- Matić, Slavica., Tabone, G. Iulia., Garibaldi, Angelo. And Lodovica Gullino, Maria. (2020). *Alternaria* Leaf Spot Caused by *Alternaria* Species: An Emerging Problem on Ornamental Plants in Italy. APS Publications. Vol. 3. No. 5. 67-78.
- Kirk PM, Cannon PF, Minter DW, Stalpers JA. (2018). Dictionary of the Fungi. 10th ed., Wallingford, CABI. p. 22.
- Oide S, Moeder W, Krasnoff S, Gibson D, Haas H, Yoshioka K and Turgeon BG. (2006). NPS6, encoding a nonribosomal peptide synthetase involved in siderophore-mediated iron metabolism, is a conserved virulence determinant of plant pathogenic ascomycetes. Plant Cell. Vol. 18. 2836-2853.
- Verma N and Verma S. (2010). *Alternaria* diseases of vegetable crops and new approaches for its control. Asian J. Exp. Biol. Sci. Vol. 1. No. 3. 681-692..
- Wolpert TJ, Dunkle LD and Ciuffetti LM. (2012). Host-selective toxins and avirulence determinants: what's in a name Annual Review of Phytopathology. Vol. 40. 251-285.
- Woudenberg, J. H. C., Seidl, M. F., Groenewald, J. Z., de Vries, M., Stielow, J. B., Thomma, B. P. H. J., and Crous, P. W. (2015). *Alternaria* section *Alternaria*: Species, *formae speciales* or pathotypes? Stud. Mycol. Vol. 82.1-21.

Yoder OC. (2007). Toxins in pathogenesis. Annual Review of Phytopathology. Vol. 18. 103–129.

## An overview of the genes affecting the pathogenicity of *Alternaria* fungus

**Shima zareie Nozari<sup>1</sup>**

Pathology student of Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources

**Mohammad Ali Tajick Ghanbari**

Faculty of Plant Medicine Department of Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources

**Valiyollah Babaezad**

Faculty of Plant Medicine Department of Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources

### Abstract

The Deuteromycetes fungal genus *Alternaria* comprises of different saprophytic as well as endophytic species and is well known for its notoriously destructive plant pathogen members. It has been found to have a drastic effect on the members belonging to the plant families such as Cucurbitaceae, Brassicaceae, Solanaceae which are having nutritional as well as economical food value. Majority of the members of *Alternaria* lack sexuality altogether, although few species have been found to have sexual stage in their life cycles. Several types of genes ranging from protein encoding genes to those involved in signal transduction cascades are found to be responsible for the pathogenesis. Production of host-specific toxins (HSTs) is found to be an affirming factor of pathogenesis. Most fungal host-specific toxins are metabolites although toxic substances including desipeptides and fusicoccin-like compounds. Genes encoding the biosynthesis of these HSTs are often contained on mostly conditionally dispensable chromosomes. The necrotrophic nature of *Alternaria* species typically leads to extensive damage of the plant and harvest product, with seedlings seldom surviving an attack. Apart from the role of toxins in *Alternaria* pathogenesis, few genes and /or gene products have been found to have a propounding effect as a pre-requisite for pathogenicity. For controlling the diseases, numbers of new chemicals are evaluated along with various biological control agents including bacteria, actinomycetes and fungi. Some plants and plant products are also found to be useful in controlling *Alternaria* infection.

**Keywords:** *Alternaria*, disease management, pathogenicity factors, toxins.