ترکیبات ضدمیکروبی پیش‌ساخته در گیاه علیه عوامل بیمارگر

Preformed antimicrobial compounds in plant against pathogenic agents

جلال غلام‌نژاد[۱]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۵/۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۹/۲۴

چکیده

گیاهان ترکیبات متنوعی با خاصیت ضدقارچی تولید می‌کنند. تعداد زیادی از این ترکیبات جزء سامانه‌های اصلی گیاه بوده و در حالت عادی در گیاهان موجود هستند. عامل بیماری‌زا می‌بایست به منظور ایجاد اختلال از سد مواد پیش ساخته شده یا فیتوآنتی‌سیپین عبور نماید. گروه دیگری از ترکیبات به نام فیتوآلکسین‌ها گیاهان در حالت عادی غیر فعال بوده و در شرایط بدون تنش ساخته نمی‌شوند. اولین سد شیمیایی که در بدو ورود بیمارگر در برابر آن قرار می‌گیرد، فیتوآنتی‌سیپین‌ها هستند. توزیع فیتوآنتی‌سیپین‌ها در داخل گیاه اغلب به صورت اختصاصی انجام می‌گیرد و غلظت این ترکیبات در لایه‌های سلولی که در بافت‌هایی بیرونی گیاه قرار دارد بیش‌تر است. مطالعه بر روی فیتوآنتی‌سیپین‌ها اغلب با تمرکز بر روی گیاهان جهش‌یافته صورت می‌گیرد. فیتوآنتی‌سیپین‌ها اغلب بر اساس وزن مولکولی به دو گروه تقسیم‌بندی می‌شوند. فنل‌ها و کوئینون‌ها، لاکتون‌های اشباع نشده، ترکیبات گوگردی، ساپونین‌ها، گلیکوزیدهای سیانوژنیک، گلوکوزینولیت‌ها، ترپنوئیدها و استیل‌بین‌ها دارای وزن مولکولی کم هستند. ترکیبات دارای وزن مولکولی بالا عبارتند از تانین‌ها و پروتئین‌ها. در این پژوهش ترکیبات دفاعی که قبل از حمله در گیاه وجود دارد، در مقابل تنش بیمارگرها مورد بررسی قرار می‌گیرند.

واژگان کلیدی: فیتوآنتی‌سیپین، فنل، کوئینون، ساپونین، تانین

۱- استادیار، دانشکده کشاورزی و منابع‌طبیعی، دانشگاه اردکان، اردکان، ایران

نویسنده مسئول مکاتبات: jgholamnezhad@ardakan.ac.ir

مقدمه

سلول‌های گیاهی توسط دیواره‌های سلولی احاطه شده‌اند، که موانعی مستحکم در برابر هجوم بیمارگرها به شمار می‌آیند. بنابراین، بیمارگرهای گیاهی باید با استفاده از مکانیسم‌ها یا عوامل نفوذکننده بتوانند از این موانع عبور کنند. شواهد غیرمستقیم در رابطه با موثر بودن این موانع، از مطالعات بر روی بیمارگرهای جهش یافته‌ای که فاقد یک یا چند آنزیم تجزیه‌کننده دیواره سلولی هستند، به‌دست آمده است؛ به عبارت دیگر این آنزیم‌ها و ترکیبات مترشحه از بیمارگرها قادر به شکستن سد دیواره سلولی گیاهان هستند (Thompson, 2008). گیاهان دارای ترکیبات متعددی با خواص ضدمیکروبی هستند. تاکنون شواهدی مبنی بر تأیید نقش این ترکیبات به عنوان عوامل مقاومت به‌دست آمده است (Weller *et al*., 2007).

گیاهان ترکیبات متنوعی با خاصیت ضدقارچی تولید می‌کنند. تعداد زیادی از این ترکیبات جزء سامانه اصلی گیاه بوده و در حالت عادی نیز در گیاهان موجود هستند. گروه دیگری از ترکیبات غیر فعال نیز در گیاهان وجود دارند که به طور معمول و در شرایط بدون تنش ساخته نمی‌شوند، و تنها با حمله یک بیمارگر ساخته شده یا بر مقدار آن‌ها افزوده می‌شود. این نوع فعالیت‌ها اغلب با واکنش‌های آنزیمی همراهند که با تنش در سلول‌های گیاهی فعال شده‌اند (Weller *et al*., 2007).

بعضی از متابولیت‌های ثانویه به صورت دایمی تولید شده و به‌طور طبیعی با مصرف انرژی و کربن به عنوان اولین سد دفاع شیمیایی عمل می‌کنند. عامل بیماری‌زا می‌بایست بتواند از سد این گروه از تریکبات به نام فیتوآنتی سیپین Phytoanticipin عبور نماید. گروه دیگری از متابولیت‌های ثانویه القاء شونده تنها در پاسخ به حمله بیمارگر تولید شده و به بیان دیگر ژن تولید آن‌ها بیان می‌شوند، به این ترکیبات القاپذیر درگیر در واکنش‌های دفاعی فیتوآلکسین (Phytoalexin) گفته می‌شود (VanEtten *et al*., 1995). van Etten و همکاران (۱۹۹۵) واژه فیتوآنتی‌سیپین را برای ترکیباتی که قبل از حمله بیمارگر در گیاه وجود دارند، به کار بردند و به این صورت این ترکیبات از فیتوآلکسین‌ها متمایز شدند. در واقع فیتوآلکسین‌ها متابولیت‌های ثانویه القاء شونده هستند و در پاسخ به آلودگی به وسیله بیمارگر شکل می‌گیرند و برای انجام اولین سنتز پروتئینی و آنزیمی به زمان نیازمندند. به بیان دیگر، فیتوآلکسین‌ها ترکیباتی هستند که توسط گیاه در واکنش به حمله بیمارگرها ساخته می شوند و در گیاه تجمع پیدا می‌کنند؛ و احتمالاً محصول سنتز مجدد آنزیمی باشند (Bergman and Noordermeer-Luyk, 1973). در سال‌های گذشته، اکثر مطالعات انجام شده بر روی در مورد مکانیسم‌های مقاومت گیاهان، بر بیوسنتز فیتوآلکسین‌ها و دیگر ترکیباتی متمرکز شده‌اند که پس از حمله بیمارگر به گیاه بر مقدار آن‌ها افزوده شده است (Hammond-Kosack and Jones, 1996).. علیرغم آن‌که ترکیبات از پیش ساخته شده گیاه می‌توانند به‌عنوان اولین سد دفاعی در برابر عوامل بیمارگر مؤثر باشند، ولی مطالعات کم‌تری به بررسی و تحقیق در مورد آن‌ها پرداخته‌اند. توزیع فیتوآنتی‌سیپین‌ها در داخل گیاه اغلب به صورت اختصاصی است، (Bennett and Wallsgrove RM. 1994) و غلظت این ترکیبات در لایه‌های سلولی بافت‌هایی بیرونی گیاه بیش‌تر است. به عبارت دیگر این ترکیبات در سطوح تماس با محیط خارج با غلظت بیش‌تری وجود دارند تا بتوانند به عنوان موانع بالقوه در برابر بیمارگرها و آفات گیاهی عمل نمایند. نمونه بارز این ترکیبات، دو ماده کاتکول (Catechol) و اسید پروتوکاتکوئیک (Protocatechuic acid) هستند. این ترکیبات در فلس‌های پیاز یافت می‌شوند، و بر رشد قارچ بیمارگر در اندام‌های گیاهی تأثیر می‌گذارند. فیتوآنتی‌سیپین‌ها به طور معمول در واکوئل‌ها و اندامک‌های گیاهان سالم موجودند و غلظت آن‌ها در رویارویی با عوامل بیماری‌زای قارچی، بسته به میزان گسترش آلودگی در بافت‌های مورد حمله متغیر است (Osbourn, 1996).

قارچ‌های بیوتروف معمولاً به منظور پرهیز از افزایش غلظت فیتوآنتی‌سیپین‌ها، کم‌ترین آسیب را به گیاه وارد کنند، در صورتی‌که قارچ‌های نکروتروف بیش‌تر باعث تولید و بالا رفتن میزان این ترکیبات در گیاه می‌شوند (Osbourn, 2003).

غلظت و نوع این ترکیبات به وضوح در گیاهان مختلف، متفاوت است که می‌تواند متأثر از عوامل مختلف مانند ژنوتیپ گیاه، سن گیاه و شرایط محیطی باشد (Davis, 1999). اگرچه این ترکیبات می‌توانند در برابر طیف وسیعی از عوامل بیماری‌زایی گیاهی به عنوان سدی موفق عمل کنند، اما بیمارگرهای موفق و قوی می‌توانند با استفاده از مکانیسم‌های گوناگون نظیر اجتناب از این ترکیبات، بی‌اثر کردن آن‌ها و سمیت‌زدایی از اثر سوء آن‌ها در امان باشند (Osbourn, 1996).

با مطالعه بر روی گیاهان جهش یافته امکان بررسی مستقیم ژنتیک و تأثیر آن بر روی تولید فیتوآنتی سیپین‌ها امکان‌پذیر است (Mylona *et al*., 2008). اما این آزمایش‌ها اغلب به علت غربالگری و جداسازی این ترکیبات، از نظر تکنیکی بسیار مشکل و وقت‌گیر هستند. با حضور موتانت‌های گیاهی، در یک مطالعه جامع و کامل با استفاده از گیاهان جهش یافته، مکانیسم‌های مقاومت قارچ‌ها به ترکیبات این چنینی مورد مطالعه قرار گرفته است. این مطالعات در مجموع راه‌های مختلفی را در جهت شناسایی هرچند بیش‌تر این ترکیبات در اختیار ما قرار داده است (Prusky and Keen, 1993).

ترکیبات سازمانه‌ای دفاعی متعددی در گیاهان با فعالیت ضدقارچی شناخته شده‌اند. این ترکیبات به دو گروه ترکیبات با وزن مولکولی کم، و ترکیبات با وزن مولکولی بالا تقسیم‌بندی می‌شوند.

ترکیبات دارای وزن مولکولی کم شامل فنل‌ها و کوئینون‌ها (گلیکوزیدهای فنلی)، لاکتون‌های اشباع نشده، ترکیبات گوگردی، ساپونین-ها، گلیکوزیدهای سیانوژنیک، گلوکوزینولیت‌ها و ترکیبات دیگری مانند ترپنوئیدها و استیل بین‌ها می‌شوند. ترکیبات دارای وزن مولکولی بالا شامل تانین‌ها و پروتئین‌ها می‌شوند (Osbourn, 1996).

در سال‌های اخیر، ۵- آلکیل رزوسینول و دایین‌ها به عنوان عوامل درگیر با مقاومت گیاهی شناخته شده‌اند، این ترکیبات در گیاهان نیمه گرمسیری بر علیه قارچ *Collefotrichum gloeosporioides* ساخته می‌شوند که البته مطالعات کمی در این زمینه صورت گرفته است (Prusky and Keen, 1993).

۱- ترکیبات با وزن مولکولی کم

ترکیبات ضدمیکروبی گیاهان از طریق استخراج با استفاده از حلال‌های مختلف به‌دست می‌آیند. این ترکیبات به همراه ترکیبات مؤثر بر ناقلین ویروس‌های گیاهی مورد توجه بیماری شناسان گیاهی قرار دارند. شواهد مختلف نشان داده است که در گیاهان مقاوم معمولاً غلظت بالایی از این ترکیبات وجود داشته در صورتی که در گیاهان حساس غلظت این ترکیبات در سطح پایین‌تری قرار می‌گیرد. در سال ۱۹۸۶ در مطالعه‌ای یک ترکیب بازدارنده از قارچ *F. oxysporum* f.sp. *albeinis* بر روی گیاه خرما مقاوم به این قارچ گزارش شد (Assef *et al*., 1986).

۱-۱- ساپونین‌ها

این ترکیبات پتانسیل بالایی از نظر فعالیت ضدقارچی داشته و همچنین در سطوح نسبتاً بالایی در گیاهان سالم موجود می‌باشند، در نتیجه این مولکول‌ها در برهمکنش بین بیمارگر و گیاه به عنوان یک عامل تعیین کننده عمل می‌کنند. تعدادی از ترکیبات گیاهی با خاصیت حشره‌کشی و آللوپاتی با ساپونین‌ها در ارتباط هستند (Osbourn *et al*., 1994). ساپونین‌ها گلیکوزیدهایی با خواص شبه صابونی بوده و قادر به تخریب غشأهای سلولی هستند. اوناسین A-1 به عنوان یک ساپونین در سلول‌های اپیدرم ریشه یولاف وجود دارد. قارچ بیمارگر *Gaeumannomyces graminis* var. *avenae* به علت دارا بودن ژن تولیدکننده آنزیم اوناسیناز ساپونین را می‌شکند و می‌تواند گیاه جو را آلوده کند. وقتی ژن اوناسیناز در بیمارگر تخریب شود، گیاهان جهش یافته فاقد این آنزیم، قادر به آلوده کردن یولاف نیستند، در حالی که هنوز می‌توانند گندم را که فاقد اوناسین است، آلوده کنند

(Papadopoulou *et al*., 1999). توماتین نوعی ساپونین دیگر از گیاه‌گوجه فرنگی با خواص ضدمیکروبی علیه بسیاری از قارچ‌ها است. قارچ *Septoria lycopersici*، حامل ژنی با ترادف نوکلئوتیدی مشابه ژن اوناسیناز بوده و آنزیم توماتیناز مسئول شکستن توماتین را، تولید می‌کند. تخریب ژن توماتیناز، باعث کاهش شدت بیماری‌زایی *Septoria lycopersici* در گیاه گوجه‌فرنگی نمی‌شود. احتمالاً این قارچ دارای آنزیم‌های دیگری برای تجزیه ساپونین باشد (Martín-Hernandez *et al*., 2000).

ساپونین‌ها بر اساس تعداد زنجیره جانبی ساکارید به دو زیرگروه مونودسموسیدیک (Monodesmosidic) و بای دسموسیدیک (Bidesmosidic) تقسیم می‌شوند. در ابتدا ساپونین‌ها به خاطر توانایی تجزیه سلول‌های گلبول قرمز خون مورد توجه قرار گرفتند. با مطالعه ۱۷۹۰ گونه گیاهی نشان داده شد که ساپونین در ۷۹٪ از این گیاهان وجود دارد. سلول گیاهی در صورت وجود استرول در غشأ خود نسبت به ساپونین حساس است و ترکیب این استرول‌ها با ساپونین‌ها، ترکیباتی نامحلول تشکیل می‌دهند. این ترکیب باعث سخت‌تر شدن غشای سلول مذکور شده و در نتیجه منافذی به قطر هشت نانومتر در غشا ایجاد شده و محتویات سلول‌ها از طریق آن‌ها نشت می‌کنند (Hostettmann and Marston, 1995).

بیمارگرهای آن دسته از گیاهان دارای مقادیر بالای ساپونین‌ها، می‌توانند از طرق مختلف از اثرات میکروبی این گیاهان بگریزند. بعضی از این راه‌ها عبارتند از عدم حساسیت به ساپونین‌ها، از بین بردن اثر مسموم کننده ترکیبات و ممانعت از هیدرولیز شدن فرم غیرسمی بای‌دسموسیدیک است (Bednarek and Osbourn, 2009). بیمارگرهای گیاهی خانواده Pythiaceae به ساپونین‌ها حساس نیستند، زیرا غشأهای آن‌ها حاوی استرول نیست، اما در صورت رشد این بیمارگرها بر روی محیط کشت حاوی استرول‌ها، به واسطه ورود این استرول به درون غشأ به ساپونین حساس می‌شوند (Hill and Hausbeck, 2008). در مورد بیمارگر *Fusarium solani* در گوجه‌فرنگی نیز شرایط به همین منوال است. این قارچ در مورد گیاهان جهش یافته مقاوم به توماتین، که در مقایسه با نوع طبیعی آن دارای محتوی استرول کم‌تری بودند، بیماری‌زایی بیش‌تری نشان دادند.

۱-۱-۱- ساپونین گوجه‌فرنگی یا آلفاتوماتین (α-Tomatine)

آلفاتوماتین از گروه گلیکوآلدهیدهای استروئیدی، منودسموسیدیک و از ساپونین‌های اصلی در گیاه گوجه‌فرنگی محسوب می‌شود. آلفاتوماتین نظیر ترکیبات اوناسین در بافت‌های گیاهان سالم به فرم فعال وجود دارند. در این مولکول، قندهای اصلی شامل دو مولکول D- گلوکز و همچنین یک مولکول D- گالاکتوز، یک D- زیلوز است به کربن شماره سه متصل هستند و β- لایکوتتروز نامیده می‌شوند. ساپونین‌ها دارای سطوح بالایی در برگ‌ها، گل‌ها و میوه‌های نرسیده گوجه‌فرنگی هستند (Lairini *et al*., 1996).

۱

-۱-۲- ساختار اوناسین‌ها (Avenacins) و اوناکوزیدها (Avenacosides)

یولاف شامل دو گروه متفاوت از ساپونین‌ها است که شامل اوناسین‌های ترپنوئیدی و اوناکوزیدهای استروئیدی می‌شود. وجود اوناسین‌ها و اوناکوزیدها محدود به جنس گیاهی Avenae است اگرچه اوناسین در گونه گیاهی *Arrhenatherum elafius* نیز دیده شده است. وجود هر دو نوع ساپونین درون یک گیاه غیرممکن است. اوناسین‌ها درون ریشه گیاهان و اوناکوزیدها در برگ‌ها و جوانه‌ها یافت می‌شوند. اوناسین A_1 به عنوان یکی از مهم‌ترین اوناسین‌ها درون سلول‌های اپیدرم ریشه‌ها وجود دارد. اوناکوزیدها بیش‌تر در سلول‌های اپیدرمی انتهای برگ یافت می‌شوند (Ahmad, 2011).

۱-۱-۳- مکانیسم‌های مقاومت قارچ‌ها به ساپونین‌ها

قارچ‌های بیمارگری که به گیاهان حاوی ترکیبات ساپونینی حمله می‌کنند باید دارای استراتژی‌های محافظت در برابر ساپونین‌ها باشند. مثلاً در مورد قارچ بیوتروف *Cladosporium fulvum* در گوجه‌فرنگی این مسئله با رشد قارچ در بین سلول‌های برگ میسر می‌شود و به این وسیله خود را از ساپونین‌ها دور و از هجوم این عوامل مصون می‌دارند. به هر حال همبستگی بین توانایی قارچ‌های مختلف و محتوای ساپونین گیاهان و مقاومت این قارچ‌ها به ساپونین‌ها به اثبات رسیده است، به بیان دیگر هرچه قارچ‌های بیمارگر دارای مکانیسم‌های مقاومتی بیش‌تری در برابر ساپونین‌های گیاهی باشند به همان نسبت قادر به بیماری‌زایی بیشتری بر روی گیاه هستند (Osbourn, 1996).

۱-۲- گلیکوزیدهای سیانوژنیک

بیش از ۲۰۰۰ گونه گیاهی سیانوژنیک شناخته شده‌اند و این گیاهان می‌تواند از اسید هیدروسیانیک یا HCN در محل آسیب بیمارگر استفاده کنند (Davis, 1991). اسید هیدروسیانیک برای اکثر موجودات زنده سمی است این ماده بر روی آنزیم‌های مسیر تنفسی اثر می‌گذارد و به‌طور کلی علیه گیاه خوران و بیمارگرها به کار می‌رود (Hughes, 1991). بسیاری از گیاهان حاوی گلیکوزیدهای سیانوژنیک هستند. برای مثال ترکیب دیورین تا ۳۵ درصد از وزن خشک بعضی از اندام‌های گیاه سورگوم را تشکیل دهد (Miller and Conn, 1980). اسید هیدروسیانیک پس از آلوده و یا زخمی شدن گیاه، آزاد می‌شود. یکی از راه‌های گریزبیمارگرهای گیاهان سیانوژنیک از اثرات سمی این ماده ، تولید آنزیم‌های القای فرمامید هیدرولیاز است. این آنزیم اسید هیدروسیانیک را به $HCONH_2$ تبدیل می‌کند، احتمالاً رابطه‌ای نسبتاً ضعیف بین قابلیت تولید این آنزیم و توانایی بیماری‌زایی گیاهان سیانوژنیک وجود دارد. تحقیقات دیگر نشان داد که این گونه بیمارگرها دارای یک مسیر تنفسی غیر حساس به سیانید نیز هستند (Poulton *et al*., 1988).

تولید اسیدهیدروسیانیک مانند یک شمشیر دو لبه عمل می‌کند، زیرا از یک طرف می‌تواند در واگذاری مقاومت به گیاه در برابر میکروارگانیسم‌های حساس به سیانید مهم باشد، و از طرف دیگر ممکن است با استفاده از واکنش‌های معمول دفاعی گیاه نوهی مکانیسم بازدارندگی ایجاد کند. Lieberei و همکاران (۱۹۸۹) دریافتند که تجمعات سیانوژنیک گیاه کائوچو، در مقایسه با تجمعا تغیر سیانوژنیک، حساسیت بیش‌تری در برابر قارچ بیمارگر *Microcyclus ulei* از خود نشان دادند (Lieberei *et al*., 1989). تولید اسید هیدروسیانیک احتمالاً از تجمع فیتوآلکسین ممانعت می‌کند، زیرا در بعضی از گیاهان سیانوژنیک مانند کائوچو، در مقایسه با دیگر گیاهان، اسکوپولتین به عنوان یک فیتوآلکسین، به میزان کم‌تری تولید شد. به علاوه جداسازی اسید هیدروسیانیک از طریق عبور جریان هوای مرطوب از بالای برگ‌های آلوده یا با استفاده از تله قلیایی، هر دو موجب کاهش اندازه و تعداد زخم‌ها شد و از طرفی این گونه تیمارها تولید اسکوپولتین را افزایش دادند (Poulton, 1990).

تولید این گلیکوزیدهای سیانوژنیک نتیجه منطقی تولید آنزیم‌های هیدرولیتیک در گیاهان است. هیدرولیز ابتدایی این ترکیبات از طریق شکستن کربوهیدرت‌ها و هیدرولیز β-glycosyl انجام می‌شود که در نهایت باعث تبدیل آن به α-hydroxynitrile خواهد شد. ماده واسط این واکنش a-hydroxynitrile lyase است، که در نهایت HCN و آلدهید یا کتون تولید می‌کند. در همه گلیکوزیدهای سیانوژنیک واحدهای قندهای منوساکاریدی به‌طور مستقیم به یکدیگر می‌پیوندند تا تشکیل اگلیکون β-D-glucose دهند، اگرچه این گلوکز ممکن است از طریق پیوند با یک منوساراید ثانویه یا تشکیل قند استری تغییر شکل پیدا کند (Nielsen and Olsen, 2002).

بافت‌های سالم گیاهان سیانوژنیک دارای اسید هیدروسیانیک قابل ردیابی نیستند، با توجه به این نکته، گلیکوزیدهای سیانوژنیک از آنزیم‌هایی که تولید و آزادسازی این ترکیبات را انجام می‌دهند، منفک و مجزا هستند. ولی وقتی این ترکیبات با روش جزء به جزء مورد بررسی قرار بگیرند، ممکن است در سطح سلول یا حتی داخل سلول با مقادیر زیاد

یافت شوند. بالاترین سطوح گلیکوزیدها معمولاً در لایه‌های خارجی سلول ها یافت می‌شود که نقش بسیار مهمی در دفاع گیاهی دارند (Czaban *et al*., 2013). گیاهان می‌توانند اثرات سمی اسید هیدروسیانیک را به وسیله آنزیم‌هایی مانند رودانز و بتاسیانوآلانین سینتاز از طریق مکانیسم‌های مانند سمیت‌زدایی از بین ببرند (Popovich *et al*., 2010).

تاکنون بیش از ۳۰۰ عدد گلیکوزید سیانوژنیک شناخته شده که فرایند تولید آن‌ها، تشکیل هیدروکسی‌نیتریل‌ها از آمینواسیدها است. هیدروکسی‌نیتریل‌ها ابتدا گلیکوزیله و در نهایت سیانوگلیکوزیله می‌شوند. مهم‌ترین این ترکیبات آمیگدالین Amygdalin است، که در دانه‌های بادام تلخ و دیگر اعضای خانواده گلسرخیان دارای خاصیت سمی است (Pegg and Woodward, 1986).

از دیگر گلیکوزیدهای سیانوژنیک که از نظر ساختاری با هم مرتبط هستند می‌توان به لینامارین (Linamarin) و لوتاسترالین (Lotaustralin) اشاره کرد. این دو ترکیب در گونه‌های مهم گیاهی از جمله کاساوا، کتان، گیاه کائوچو، لوبیا و گیاهان علوفه‌ای مانند شبدر و شبدر سه برگی یافت می‌شوند. بعضی از گونه‌های گیاه سورگوم dhurrin تولید می‌کنند که از گلیکوزیدهای سیانوژنیک شناخته شده است.

۱-۲-۱- مقاومت گیاهان به گلیکوزیدهای سیانوژنیک

احتمال سمیت اسید هیدروسیانیک موجود در گیاهان علفی برای دام‌های چراکننده نیز وجود دارد؛ با این حال، همبستگی وجود این ترکیبات در گیاه با مقاومت گیاه در برابر چرای دام‌ها به اثبات نرسیده است (Fry and Evans, 1977). شواهد به دست آمده از گیاهان دارای این ترکیبات نشان‌دهنده حساسیت بیش‌تر آن‌ها نسبت به گیاهان فاقد این ترکیبات است. گلیکوزیدهای سیانوژنیک در برهمکنش بین بیمارگر *Microcyelus ulmi* و گیاه کتان از تولید فیتوآلکسین اسکوپولتین (Scopoletin) در گیاه جلوگیری به‌عمل آوردند. بنابراین آزاد شدن اسید هیدروسیانیک در گیاهان سیانوژنیک ممکن است مانع از فعال شدن مکانیسم‌های دفاعی در این گیاهان شود (Tan *et al*., 2011).

اگرچه هیچ همبستگی مشخصی بین گیاهان سیانوژنیک و مقاومت گیاهی وجود ندارد، ولی به طور مشخص بین توانایی قارچ در ایجاد آلودگی بر روی گیاهان سیانوژنیک و مقاومت این قارچها به اسیدهیدروسیانیک ارتباط مستقیم دیده می‌شود. بعضی از بیمارگرها مانند *M.ulmi*، بر روی گیاه کائوچو، بیمارگر از طریق تنفس نسبت به این ترکیبات مقاومت نشان می‌دهد و به این صورت باعث غیرسمی شدن این ترکیبات می-گردد. فعالیت ضدقارچی این ترکیبات اختصاصی بوده و شامل باکتری‌های بیماری‌زای گیاهی نمی‌شود. البته بر اساس شواهد به دست آمده تعداد زیادی از قارچ‌های ساپروفیت و قارچهایی که گیاهان غیرسیانوژنیک را آلوده می‌کنند، توانایی متابولیزه کردن اسید هیدروسیانیک را نداشتند، و بر اساس این مشاهدات متابولیزه کردن این ترکیب نمی‌تواند عامل تعیین کننده‌ای برای بیماری‌زایی قارچها باشد (Miller and Conn, 1980).

۱-۳- گلوکوزینولیت‌ها (Glucosinolates)

گلوکوزینولیت‌ها، در واقع گلیکوزیدهای محتوی گوگرد هستند که در گیاهان خانواده چلیپائیان (Cruciferae) یافت می‌شوند. این ترکیبات در جنس Brassica وجود دارد. و مانع از تغذیه مهره‌داران و بی‌مهرگان از گیاهان جنس Brassica می‌شوند. بر خلاف ساپونین‌ها و گلیکوزیدهای سیانوژنیک، مطالعات کمی در مورد مقاومت این ترکیبات نسبت به قارچ‌های بیمارگر گیاهی صورت گرفته است (Bak *et al*., 2006). گلوکوزینولیت‌ها بر اساس ماهیت زنجیره‌ها به سه زیر شاخه تقسیم می‌شوند: آلیفاتیک، ایندولایل یا ارالکیل (Aralkyl) آمینواسید باشد. در مورد بعضی از گیاهان توزیع گلوکوزینولیت‌ها در بافت‌ها اختصاصی است. برای مثال گلوکوزینولیت‌ها در دانه‌های روغنی به طور غالب در برگ‌ها

حضور دارند اما ایندولیل (Indolyl) و فنیل گلوکوزینولیت‌ها (Phenylethyl glucosinolates) بیش‌تر در ریشه‌ها یافت می‌شوند.

گلوکوزینولیت‌هایی نظیر بای‌دسموزیک ساپونین‌ها و همچنین گلیکوزیدهای سیانوژنیک در واکنش به آسیب تولید می‌شوند. فعال شدن این ترکیبات در گیاهان به وسیله آنزیم مایروسیناز (Myrosinase) صورت می‌گیرد. این آنزیم در واکنش‌های دفاعی گیاهی علیه علف‌خواران نقش دارد. اگلیکون‌های ناپایدار در سلول به وسیله این آنزیم ساخته می‌شوند. محصولات اولیه این واکنش ایزوتیوسیانات‌های فرار، نیتریل‌ها و تیوسیانات‌ها هستند (Mikkelsen *et al*., 2004). گلوکوزینولیت‌های هیدرولیز شده، در آزمایشگاه اثرات قارچکشی بسیار خوبی علیه قارچ‌های بیمارگری در مورد گیاه Brassica دارند. درصورتی‌که مکانیسم اثر آن‌ها به خوبی مشخص نیست. از آن‌جا که تخصصی شدن این گلوکوزینولیت‌ها به عوامل مختلفی از جمله pH محیط، سن گیاه غلظت یون‌های فلزی بستگی دارد، لذا تعیین میزان تخصصی شدن در آن‌ها بسته به گیاه تولیدکننده بسیار مشکل است (Fahey *et al*., 2001).

تعدادی از بیمارگرهای گیاهان خانواده چلیپائیان مانند *Mycosphaerella brassica*، *Peronospora parasitica* و *Alternaria* نسبت به محصولات مشتق شده از گلوکوزینولیت‌ها حساس هستند. علاوه بر این، گلوکوزینولیت‌ها علیه دامنه وسیعی از قارچ‌های غیر بیماری‌زا بر روی چلیپائیان نیز عمل می‌کنند. در حال حاضر، تحقیقات بیش‌تر بر استفاده از این ترکیبات برای غلات و همچنین بیماری‌ها و خسارات بعد از برداشت معطوف شده است (Davis *et al*., 1953).

۱-۴- فنول‌ها و کوئینون‌ها

فنول‌ها و کوئینون‌ها اولین‌بار توسط Walker و همکاران در پیاز شناسایی شدند، و عاملی اصلی مقاومت ارقام مقاوم تشخیص داده شدند. براساس یافته‌های این محققین ارقام پیاز دارای پوسته بیرونی قرمز در برابر بیماری آنتراکنوز حاصل از *Colletotrichum circinans*، مقاوم می‌باشند، در صورتی که پیازهای دارای برگ‌های سفید نسبت به این بیماری حساس بودند. عصاره برگ‌های پیاز با پوستهٔ رنگی اثر ضدقارچی داشته، در حالی که عصاره پیازها با پوسته سفید چنین اثری نداشتند. ترکیباتی که از پیاز پوسته قرمز جدا شدند عبارت بودند از کاتکول و اسید پروتوکاتکیوئیک. تحقیقات دیگر نشان دادند که شرایط محیطی که بتواند باعث از بین رفتن این ترکیبات گردد، افزایش حساسیت گیاه پیاز به بیمارگرها را به دنبال خواهد داشت. در نتیجه این یافته‌ها نقش این ترکیبات را در مقاومت بیش از پیش مورد تأیید قرار داد (Muller *et al*., 2011).

۱-۵- ترکیبات آلیفاتیک با زنجیره بلند

قارچ بیمارگر *Alternaria alternata* عامل ایجاد بیماری لکه سیاه انبه است. این قارچ تا مرحله رسیدگی فیزیولوژیکی میوه انبه در حالت استراحت باقی می‌ماند. در میوه انبه دو ترکیب ضدقارچی به نام‌های هپتادسینیل رزورسینول (5- (12 cis- heptadecenyl)- resorcinol) و پنتادسینیل رزوسینول (5- pentadecylresorcinol) شناسایی شده‌اند. میزان این دو ترکیب قبل از رسیدگی فیزیولوژیکی در سطح بالایی قرار دارد، اما با نزدیک شدن میوه به مرحله رسیدگی فیزیولوژیکی، مقدار این دو ترکیب به شدت کاهش یافت (Droby *et al*., 1986). بیماری آنتراکنوز آووکادو به عنوان مهم‌ترین عامل پوسیدگی میوه‌های آووکادو توسط بیمارگر *Colletotrichum gloeosporioides* به وجود می‌آید، و هستند. آلودگی در اول فصل رشد، صورت می‌گیرد و قارچ بیمارگر از ۷ الی ۱۵ روز پس از برداشت به صورت نهفته باقی می‌ماند. عدم وجود مواد غذایی ظاهراً در القا حالت نهفتگی اثری ندارد، زیرا گسترش بیماری با تزریق مواد غذایی تشدید نمی‌گردد. پوست میوه آووکادو حاوی ترکیبی به نام دایین (Diene) بود که از جوانه‌زدن اسپور قارچ جلوگیری می‌کند، غلظت این ترکیب در میوه‌های نرسیده ۱۶۰۰ µg/ml بود که در میوه‌های رسیده به ۱۲۰ µg/ml کاهش یافت. در نتیجه

علایم بیماری از زمان کاهش که این ترکیب در میوه‌ها به تدریج ظاهر می‌شوند. کاهش سریع این ترکیب در زمان رسیدگی میوه‌ها، به خاطر افزایش سریع فعالیت آنزیم لیپوکسیژناز است (Prusky *et al*., 1990)؛ در صورت تزریق آلفاتوکوفرول به درون میوه‌ها به عنوان بازدارنده فعالیت لیپوکسیژناز، کاهش غلظت ترکیب و همچنین آغاز گسترش زخم‌ها به دلیل بازدارندگی از این ترکیب به تعویق می‌افتاد. شواهد دیگری منجربه شناسایی یک بازدارنده طبیعی لیپوکسیژناز در پوست آووکادوی نرسیده، به نام اپیکاتکین گردید. غلظت اپیکاتین در پوست میوه نرسیده ۵۱۴ µg/gfw بود، که در هنگام رسیدگی میوه قبل از ظهور علایم بیماری به ۸µg/gfw کاهش یافت. مقایسه دو رقم متفاوت از نظر حساسیت با یکدیگر نشان داد که مقدار اپیکاتکین در رقمی که زودتر علایم بیماری را نشان داد، سریع‌تر کاهش می‌یابد. این رابطه به واسطه آزمایش‌هایی با پنج رقم مقاوم و چهار رقم حساس مورد تأیید قرار گرفت، به این صورت که غلظت اپیکاتکین در رقم‌های مقاوم، در مقایسه با رقم‌های حساس به مدتی طولانی‌تر بالا باقی ماند (Reymond and Farmer, 1998).

در سال ۱۹۹۱، در مطالعه‌ای غلظت‌های ترکیب دایین در رابطه با برداشت و تیمار حرارت انجام شد. طی کم‌تر از ۲۴ ساعت پس ازبرداشت، غلظت ترکیب از حدود ۲۸۰۰ µg/g در وزن تر به ۱۹۰µg/g کاهش یافت. بعد از آن غلظت ترکیب به سرعت طی مدت ۴۸ ساعت افزایش یافت و به ۳۰۰۰ µg/g رسید. با حرات دادن میوه‌ها از طریق فرو بردن آن‌ها در آب ۵۵ درجه سلسیوس به مدت ۵ تا ۱۰ دقیقه فوراً بعد از برداشت، افزایش غلظت دایین به تعویق می‌افتاد، و افزایش میزان پوسیده شدن میوه‌ها خود نمایان‌گر این تعویق بود (Prusky *et al*., 2007).

۱-۶- لاکتون‌های اشباع نشده

لاکتون‌های اشباع نشده معمولاً به شکل گلوسیدها در گیاهان حضور دارند. از این گروه ترکیبات تولیپوساید در گیاه لاله، و در مادگی آن با غلظت بالا دیده می‌شوند. در مطالعه‌ای نقش این ترکیبات در فعالیت دفاعی گیاه لاله در برابر سه قارچ *Fusarium oxysporum* f.sp. *tulipae*، *Botrytis tulipae* و *Botrytis cinerea* بررسی شد (McClean *et al*., 1997). قارچ بیمارگر فوزاریوم، در تمام طول سال در خاک وجود دارد، اما گیاه فقط چند هفته قبل از برداشت به آن حساس است. طی این دوره، برگ‌های پولک‌دار بیرونی که قبل از این مرحله سفید و حاوی مقدار زیادی از تولیپوساید هستند، تغییر رنگ داده و به رنگ قهوه در می‌آیند؛ همزمان غلظت این ترکیبات نیز به شدت کاهش پیدا می‌کند. برگ‌های پولک‌دار زیرین نیز حاوی مقدار پایینی از این ترکیبات هستند، اما غلظت این ترکیبات طی گذشت چند روز از انبارداری گیاه، به حدود ۲۰۰ ppm افزایش می‌یابد. بنابراین رابطه زمانی معکوس بین حضور ترکیبات بازدارنده و مقاومت وجود دارد، به این صورت که هرچه از عمر انبارداری گیاه می‌گذرد غلظت تولیپوسایدها در گیاه کم‌تر و متعاقب آن آلودگی قارچی افزایش و عمر انبارداری کاهش پیدا می‌کند (Bergman and Noordermeer-Luyk, 1973).

۱-۷- ترپنوئیدها

Cruickshank و همکاران (۱۹۷۷) دریافتند که دوواترین‌دیول‌های مرتبط با کوتیکول برگ‌های توتون، خاصیت قارچ‌کشی دارند (Davis, 1991). Reuveni (1986) توانست ۹۵٪ از ترکیب آلفاوبتا دوواترین ۱،۳ دیول (α وβ -4,8,13-duvatriene-1,3-diol) را با فرو بردن نوارهای برگ توتون به دورن استون به مدت یک ثانیه، از کوتیکول برگ جدا کند. سپس این برگ‌ها با قارچ عامل بیماری کپک آبی *Peronospora tabacina* تلقیح شدند. نتایج نشان داد که شدت بیماری در برگ‌های تیمارشده در مقایسه با برگ‌های شاهد فرو برده نشده در استون سه برابر بود (Cruickshank et al., 1977). دوواترین‌دیول‌ها در غلظت ۲۵ ppm به کلی از جوانه اسپورهای قارچ جلوگیری کردند و زمانی که این ترکیب به برگ‌های فرو برده شده در استون افزوده شدند، مقاومت آن‌ها به میزان اولیه برگشت. به علاوه

میـزان مقـاومت دوواترین‌دیول‌ها با افـزایش سـن گیـاه افـزایش یـافت. Watanabe و همکـاران (۱۹۹۱) یک مورد استثنـایی C19-kaurane دی‌ترپیـن را از برگ‌های سـالم برنج استخـراج کـردند که خسـارت ناشی از بیمارگـر برنج، *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae* را کاهـش می‌داد (Watanabe, 1991).

۲- ترکیبات با وزن مولکولی بالا

۲-۱- تانین‌ها (Tanin)

Brownlee (1990) با استفـاده از عصـاره حـاصـل از متـانـول کـاکـائـو تـوانـست از رشـد ژرم تیـوب‌هـای قـارچ *Crinipllis perniciosa* جلوگیـری کند. این قارچ عامل بیماری بسیـار مخرب جاروی جـادوگر در کاکائو است. ترکیب ضدقارچی با روش دیالیز نگهداشته شد و به اریتوسیس و روتئین متصل شد. این خواص مربوط به یک جز اصلی از عصاره‌های دیالیز شده بود، که به عنوان پلیمریک پروسیانیدین، که یک تانین متراکم با ساختمانی متغیر است، شناسایی شد (Serrano, 2009).

۲-۲- پروتئین‌ها

نقش پروتئین‌ها در دفاع از گیاهان عالی توسط دانشمندی به نام Bowles (1990) مورد بررسی قرار گرفت. بعضی از پروتئین‌ها جزء سامانه گیاهی بوده و قبل از حمله بیمارگر در گیاه وجود دارند و بعضی دیگر (که اکثریت پروتئین‌های گیاهی را تشکیل می‌دهند) پس از حمله قارچ در گیاه تولید می‌شوند (Bowles *et al*., 1990). گلیکوپروتئین‌های غنی از هیدروکسی پرولین (Hydroxy prolin) یا HPGPs، علیرغم افزایش استحکام دیواره‌های سلولی، قابلیت تولید آنزیم‌های مناسب تجزیه بیمارگرها را دارند. با این که HPGP سامانه‌ای بوده و ۵ تا ۱۰ درصد از وزن خشک دیواره‌های اولیه سلولی را تشکیل می‌دهند، تولید آن‌ها به واسطه هجوم بیمارگرها نیز القا می‌گردد (Furden *et al*., 2005).

مطالعات در موردگیاه توتون ترانس‌ژنیک که حاوی بازدارنده‌های تریپسین باقلا، به میزان حدود یک درصد پروتئین برگ، نشان داد که توتون‌های ترانسژنیک در برابر تغذیه لارو *Heliothis virescens* مقاومت بیش‌تری نشان می‌دهند. در تحقیق دیگری، برگ‌های گیاه توتون ترانسژنیک حاوی پروتئین‌های بازدارنده گیاه گوجه‌فرنگی به میزان ۱۰۰-۵۰ µg/g، بـه شـدت از خسـارت لارو *Manduca sexta* جلـوگیـری کرده و حتـی موجب مرگ بعضـی از این لاروها نیـز شدند (Pujol *et al.*, 2005).

دور از انتظـار نیست کـه درباره اهمیت پلی‌گالاکتـرونازها این‌طـور بیان گـردد که هر عامل اختلال گر در فعالیت پلی‌گالاکترونار یک بیمارگر، احتمالاً در مقاومت گیاهی نیز نقش مهمی دارد. پروتئین‌ها در بسیاری از گیاهان دارای خاصیت مشابه هستند. این نوع پروتئین‌ها تاکنون از تمامی گیاهان دو لپه مورد آزمایش استخراج شده‌اند. تصور بر این است که این پروتئین‌ها به مقاومت عمومی گیاه در برابر بیمارگرهای قارچی کمک می‌کنند، و این فرایند به واسطه بازدارندگی آنزیم‌های بیمارگر، و همچنین افزایش تولید محرک‌های موثر در عکس العمل‌های دفاعی، مانند واکنش فوق حساسیت، لیگنیفیکاسیون و سنتز فیتوآلکسین‌ها انجام می‌گیرد (Di *et al*., 2013).

لکتین‌ها، پروتئین‌های متصل کننده کربوهیدرات‌ها هستند و میل ترکیبی بالایی با گلیکان‌های گلیکوپروتئین‌ها، گلیکوپپتیدها و پلی‌ساکاریدها دارند. اغلب پروتئین‌هایی که در این مورد شناسایی شده‌اند، پروتئین‌های ترشحی هستند که به سیستم ترشحی وارد شده و سپس در واکوئل‌ها، یا دیواره سلولی و فضاهای بین سلولی تجمع پیدا می‌کنند (Vandenborre *et al.*, 2011a). برخی از لکتین‌ها به کیتین متصل می‌شوند و بر روی رشد حشرات و قارچ‌ها که هر دو حاوی کیتین هستند، اثر می‌گذارند. خواص حشره‌کشی و ضدقارچی مشترکاً در پروتئین‌هایی به نام تیونین‌ها، که دارای شش یا هشت زیر واحد سیستئین بوده و نه تنها برای قارچ‌ها، بلکه باکتری‌ها، سلول‌های گیاهی و حیوانی بسیار سمی

می‌باشند، وجود دارند. شواهد بسیار مستدلی وجود دارد که یک گروه از تیونین‌ها از برگ‌های جو در مقابل بیمارگرها محافظت می‌کنند. این ترکیبات در واکوئل‌ها و در دیواره سلولی برگ‌ها وجود دارند و برای قارچ‌ها به‌شدت سمی هستند.

در سال ۱۹۹۱، وجود یک خانواده جدید از پروتئین‌های ضدقارچی در دانه‌های چندین گیاه گزارش شد. اطلاعات به دست آمده نشان داد که تشابه فراوانی بین پروتئین‌های دفاعی در گونه‌های مختلف گیاهان وجود دارد و این پروتئین‌ها به تاماتین، که یک پروتئین مرتبط با بیماری‌زایی در توتون است، شباهت دارند (Vigers *et al*., 1991).

گیاهان خانواده Carophyllaceae حاوی پروتئین‌های بازدارنده ویروس‌ها هستند. تحقیقات اولیه بر روی گیاه *Phytolacca americana* نشان داد که ترکیب بازدارنده در این گیاه یک پلی‌پپتید با ۱۱۶ اسید آمینه است. این ترکیب یک بازدارنده بسیار قدرتمند برای ترجمه mRNA بوده و اثر آن از طریق یک زیر واحد ۶۰S ریبوزوم ایجاد می‌گردد. البته ریبوزوم‌های *P.americana* حساسیتی به این بازدارنده نداشتند (Fernández-Puentes and Carrasco, 1980). نتایجی مشابه برای دیگر اعضای خانوده Carophylaceae در این زمینه به‌دست آمد. Straub و همکاران (۱۹۸۶) نشان دادند که ترکیبات بازدارنده‌ای در اسفناج با وزن ملکولی ۲۹۰۰۰ دالتون از نظر سرولوژیکی با ترکیبات بازدارنده ویروسی که از دیگر اعضای Carophylaceae به دست آمد، مرتبط هستند. این ترکیب در میزبان به صورت موضعی و سیستمیک موجب کاهش زخم‌های به وجود آمده شده و کم‌ترین غلظت موثر آن ۶۰ ng/ml است (Hughes, 1991).

نتیجه‌گیری

بررسی نمونه‌های متعددی از متابولیت‌های ثانویه و فیتوآنتی‌سیپین‌ها در گیاهان نشان می‌دهد که این ترکیباب یکی از مهم‌ترین مکانیسم‌های گیاهی برای جلوگیری از گسترش بیمارگرها در گیاهان هستند. نکته جالب توجه این است که این ترکیبات از دو طریق بیماری را کاهش می‌دهند، اول بیمارگر را با حمله به فرایندهای بیوشیمیایی حیاتی سلولی از پای در می‌آورند، و دوم کاهش قدرت بیماری‌زایی بیمارگرها را می‌کاهند. با توجه به اهمیت متابولیت‌های ثانویه (فیتوآنتی‌سیپین‌ها و فیتوآلکسین‌ها) و نقش آن‌ها در فعالیت‌های دفاع گیاهی، و از طرفی نظر به این‌که با افزایش تولید این ترکیبات در گیاه استفاده از ترکیبات قارچ‌کش کاهش پیدا می‌کند، لذا بررسی ژن‌های تولید کننده این متابولیت‌ها در آینده می‌تواند بسیار مفید باشد. در راستای افزایش این ترکیبات در گیاه می‌توان ژن‌های تولیدکننده این ترکیبات را در گیاهان مقاوم شناسایی کرد، و با استفاده از روش‌های مهندسی ژنتیک این ژن‌ها را به گیاهان فاقد این ترکیبات و یا گیاهان با میزان تولید کم این ترکیبات منتقل نمود.

References

Ahmad, S., Veyrat, N., Gordon-Weeks, R., Zhang, Y., Martin, J., Smart, L., Glauser, G., Erb, M., Flors, V. and Frey, M. 2011. Benzoxazinoid metabolites regulate innate immunity against aphids and fungi in maize. Plant Physiology 157: 317–327.

Assef, G. M., Assari, K., and Vincent, E. J. 1986. Occurrence of an antifungal principle in the root extract of a bayoud-resistant date palm cultivar. Journal of Plant Pathology 92: 43-47.

Bak, S., Paquette, S., Morant, M. and Morant, A. 2006. Cyanogenic glucosides: a case study for evolution and application of cytochromes P450. Phytochemistry Review 5: 309-329.

Bednarek, P. and Osbourn, A. 2009. Plant-microbe interactions: Chemical diversity in plant defense. Science 324: 746–748.

Bennett, R. N. and Wallsgrove, R. M. 1994. Secondary metabolites in plant defence mechanisms. New Phytology 127: 617-633.

Bergman, B. H. H. and Noordermeer-Luyk, C. E. I. 1973. Influence of soil temperature on field infection of tulip bulbs by *Fusarium oxysporum*. European Journal of Plant Pathology 79(5): 221-228.

Bowles, D.J. 1995. Defense-related proteins in higher plants. Annul Review Biochemistry 59: 873-907.

Cruickshank, I. A. M., Perrin, D. R. and Mandryk, M. 1977. Fungitoxicity of Duvatrienediols associated with the Cuticular Wax of Tobacco Leaves. Journal of Phytopathology 90(3): 243–249.

Czaban, J., Moldoch, J., Wroblewska, B. and Szumacher-strabel M, Cieslak, A., Oleszek, W. and Stochmal, A. 2013. Effects of triterpenoid saponins of field scabious (*Knautia arvensis* L. Coult.), alfalfa, red clover and common soapwort on growth of *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* and *Fusarium culmorum*. Allelopathy Journal 32 (1): 79-89.

Davis, D., Waggoner, P. E. and Dimond, A. E. 1953. Conjugated phenolic in the fusarium wilt syndrom. Nature 172: 959.

Davis, R. H. 1991. Glucosinolates. Pp. 202-225. In: DMello, J. P., Duffus, C. M. and Duffus, J. H. (eds.) Toxic Substances in Crop Plants. Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK.

Droby, S., Prusky, D., Jacoby, B. and Goldman, A. 1986. Funngal compound and its relation to the latency of *Alternaria alternata* in unripe peel of mango fruits. Physiological and Molecular Plant Pathology 29(2): 173-183.

Fathey, J. W., Zalcmann, A. T. and Talalay, P. 2001. The chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among plants. Phytochemistry 56: 5–51.

Fernandez-Puentes, C. and Carrasco, L. 1980. Viral infection permeabilizes mammalian cells to protein toxins. Cell 20: 769–775.

Fry, W. E. and Evans, P. H. 1977. Association of formamide hydrolyase with fungal pathogenicity to cyanogenic plants. Phytopathology 6(2): 420-432.

Furden, B. V., Humburg, A. and Fuss, E. 2005. Influence of methyl jasmonate on podophyllotoxin and 6- methoxypodophyllotoxin accumulation in *Linum album* cell suspension cultures. Plant Cell Report 24: 312–317.

Hammond-Kosack, K. E, and Jones J. D. 1996. Resistance gene-dependent plant defense responses. Plant Cell 8(10): 1773–1791.

Hill, S. N. and Hausbeck, M. K. 2008. Virulence and fungicide sensitivity of *Phytophthora cactorum* isolated from American ginseng gardens in Wisconsin and Michigan. Plant Disease 92: 1183-1189.

Hostettmann, K. and Marston. A. 1995. Saponins. Cambridge University Press**.** p. 3.

Hughes, M. A. 1991. The cyanogenic polymorphism in *Trifolium repens* L. (white clover). Heredity 66: 105-115.

Lairini, K., Perez-Espinosa, A., Pineda, M. and Ruiz-Rubio, M. 1996. Purification and characterization of tomatinase from *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. Applied Environmental Microbiology 62: 411-423.

Lieberei, R., Biehl, B., Giesemann, A. and Junqueira, N. T. V. 1989. Cyanogenesis inhibits active defence reactions in plants. Plant Physiology 90: 33–36.

Martin-Hernandez, A. M., Dufresne, M., Hugouvieux, V., Melton, R. and Osbourn, A. 2000. Effects of targeted replacement of the tomatinase gene on the interaction of *Septoria lycopersici* with tomato plants. Molecular Plant Microbe Interaction 13: 1301–1311.

Matteo, D. I., Federici, L., Mattei, B., Salvi, G., Johnson, K. A., Savino, C., De Lorenzo, G., Tsernoglou, D. and Cervone, F. 2013. The crystal structure of polygalacturonase-inhibiting protein (PGIP), a leucine-rich repeat protein involved in plant defense. 100 (17): 10124–10128.

McClean, K. H., Winson, M. K., Fish, L., Taylor, A., Chhabra, S. R., Camara, M., Dayykin, M., Lamb, J. H., Swift, S., Bycroft, B. W., Stewart, G. S. A. B. and Williams, P. 1997. Quorum sensing and *Chromobacterium violaceum*: exploitation of violacein production and inhibition for the detection of N-acyl homoserine lactones. Microbiology 143(12): 3701-3711.

Mikkelsen, M. D., Naur, P. and Halkier, B. A. 2004. Arabidopsis mutants in the C-S lyase of glucosinolate biosynthesis establish a critical role for indole-3-acetaldoxime in auxin homeostasis. Plant Journal 37: 770–777.

Miller, J. M. and Conn, E. E. 1980. Metabolism of hydrogen cyanide by higher plants. Plant Physiology 65: 1199-1202.

Morrissey, J. P. and Osbourn, A. E. 1999. Fungal resistance to plant antibiotics as a mechanism of pathogenesis. Microbiology and Molecular Biology Reviews 63: 708-724.

Muller, C., Agerbirk, N., Olsen, C. E., Boeve, J. L., Schaffner, U. and Brakefield, P. M. 2001. Sequestration of host plant glucosinolates in the defensive hemolymph of the sawfly *Athalia rosae*. Journal of Chemical Ecology 27: 2505–2516.

Mylona, P., Owatworakit, A., Papadopoulou, K., Jenner, H., Qin, B., Findlay, K., Hill, L., Qi, X., Bakht, S., Melton, R. and Osbourn, A. 2008. Sad3 and sad4 are required for saponin biosynthesis and root development in oat. Plant Cell 20: 201–212.

Nielsen, K. A., Olsen, C. E. Pontoppidan, K. and Møller, B. L. 2002. Leucine-derived cyano glucosides in barley. Plant Physiology 129: 1066-1075.

Osbourn, A. E. 2003. Saponins in cereals. Phytochemistry 62: 1–4.

Osbourn, A. E. 1996. Saponins and plant defence-A soap story. Trends in Plant Science 1: 4-9.

Osbourn, A. E., Clarke, B. R., Lunness, P., Scott, P. R. and Daniels, M. J. 1994. An oat species lacking avenacin is susceptible to infection by *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*. Physiological and Molecular Plant Pathology 45:457–467.

Papadopoulou, K., Melton, R. E., Legget, M., Daniels, M. J. and Osbourn, A. E. 1999. Compromised disease resistance in saponin deficient plants. Proceedings of the National Academy of Sciences, USA 96: 12923–12928.

Pegg, G. F. and Woodward, S. 1986. Synthesis and metabolism of a-tomatine in tomato isolines in relation to resistance to *Verticillium albo-atrum*. Plant Pathology 28: 187-201.

Popovich, D. G., Li, L. and Zhang, W. 2010. Bitter melon (*Momordica charantia*) triterpenoid extract reduces preadipocyte viability, lipid accumulation and adiponectin expression in 3T3-L1 cells. Food Chemistry Toxicology 48(6): 1619-1626.

Prusky, D., Plumbley, R. A. and Kobiler, L. 2007. The relationship between antifungal diene levels and fungal inhibition during quiescent infection of unripe avocado fruit by *Colletotrichum gloeosporioides*. Plant Pathology 40(1): 45-52.

Prusky, D., Karni, L., Kobiler, I. and Plumbley, R. A. 1990. Induction of the antifungal diene in unripe avocado fruits: effect of inoculation with *Colletotrichum gloeosporioides*. Physiological and Molecular Plant Pathology 37 (6): 425-435.

Pujol, M., Hernández, C. A., Armas, R., Coll, Y., Alfonso-Rubi J., Perez, M., Ayra, C. and González, A. 2005. Inhibition of *Heliothis virescens* larvae growth in transgenic tobacco plants expressing cowpea trypsin inhibitor. Applied Biochemistry and Biotechnology 22(2): 127-130.

Reymond, P. and Farmer, E. E. 1998. Jasmonate and salicylate as global signals for defense gene expression. Current Opinion Plant Biology 1: 404–411.

Serrano, J., Puupponen-Pimia, R., Dauer, A., Aura, A. M. and Saura-Calixto, F. 2009. Tannins: current knowledge of food sources, intake, bioavailability and biological effects. Molecular Nutrition & Food Research 53: 2S310–329.

Tan, H. P., Ling, S. K. and Chuah, C. H. 2011. Characterisation of galloylated cyanogenic glucosides and hydrolysable tannins from leaves of *phyllagathis rotundifolia* by LC-ESI-MS/MS. Phytochemical Analysis 22: 516-525.

Thompson, D. S. 2008. Space and time in the plant cell wall: relationships between cell type, cell wall rheology and cell function. Annals of Botany 101(2): 203-211.

Vandenborrea, G., Smaggheb, G. and Van Dammea, E. J. M. 2011. Plant lectins as defense proteins against phytophagous insects. Phytochemistry 72(13): 1538-1550.

Vanetten, H. D., Sandrock, R. W., Wasmann, C. C., Soby, S. D., McCluskey, K. and Wang, P. 1995. Detoxification of phytoanticipins and phytoalexins by phytopathogenic fungi. Canadian Journal of Botany 73: 518–25.

Vigers, A. J., Roberts, W. K. and Selitrennikoff, C. P. 1991. A new family of plant antifungal proteins. Molecular Plant-Microbe Interactions (4): 315-23.

Watanabe, M. 1991. Analysis of complex damage to yield of the rice crop caused by plural pests and diseases in Tochigi Prefecture. Plant Protection 39 (2): 187-189.

Weller, D. M., Landa, B. B., Mavrodi, O. V., Schroeder, K. L., de la Fuente, L. Blouin Bankhead, S., Allende Molar, R., Bonsall, R. F., Mavrodi, D. V. and Thomashow, L. S. 2007. Role of 2,4-diacetylphloroglucinol-producing fluorescent *Pseudomonas* spp. in the defense of plant roots. Plant Biology 9: 4-20.

Wubben, J. P., Price, K. R., Daniels, M. J. and Osbourn, A. E. 1996. Detoxification of Oat Leaf by *Septoria avenae*. Biochemistry and Cell Biology 86: 986-992.