مکانیسم بیوشیمیایی دفاع القایی با واسطه بنزوتیادیازول در درخت به تحت شرایط باغی

Biochemical basis of Benzothiadiazole-mediated defense in quince under orchard condition

پریناز اعتصام‌زاده[۱]، منصوره کشاورزی[۲*]، عادله سبحانی‌پور[۳] و اسفندیار ظهور[۴]

دریافت: ۱۳۹۵/۱/۲۳ پذیرش: ۱۳۹۵/۴/۳۰

چکیده

با توجه به نتایج تحقیقات اخیر مبنی بر کارایی ماده محرک بنزوتیادیازول (بیون، Benzothiadiazole) در افزایش مقاومت درخت به (*Cydonia oblanga*) به بیماری آتشک با عامل *Erwinia amylovora*، در این تحقیق مکانیسم بیوشیمیایی دفاع القایی با واسطه بیون در گیاه به برای اولین بار بررسی شد. آزمایش در شرایط باغی بر روی نهال‌های به رقم اصفهان پیوندی روی پایه بذری انجام گرفت. در فصل بهار، گیاهان پیوندی ۳ ساله دو بار با فاصله ۴ روز با محلول بیون در غلظت۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر محلول‌پاشی شده و ۴ روز بعد، از برگ‌های جوان آن‌ها برای استخراج و سنجش فعالیت آنزیم‌های دفاعی کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز نمونه‌برداری شد. در طی دوره آزمایش، اثر گیاهسوزی ماده بیون با بررسی احتمال بروز علائم سوختگی در برگ‌های جوان نیز بررسی شد. بر اساس نتایج، تیمار بیون در شرایط باغی در گیاه به گیاهسوزی ایجتاد نکرد. میانگین فعالیت آنزیم کاتالاز در تیمارهای شاهد و بیون به‌ترتیب معادل ۲۸/۸۱ΔOD_{240}/min/mg protein و۲۳/۹۲ΔOD_{240}/min/mg protein بود و تفاوت معنی‌داری نداشت. تیمار بیون باعث افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز نسبت به شاهد شد (میانگین‌ها به‌ترتیب ۰/۴۳ و ۰/۲۳ D_{460}/min/mg protein). همچنین میانگین فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز در تیمار بیون با میانگین ۱۸/۴۷ΔOD_{348}/min/mg proteinبیش از تیمار شاهد با میانگین ۹/۴۱OD_{348}/min/mg protein بود. در مجموع، نتیجه‌گیری شد که تیمار بیون باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های پلی‌فنل اکسیداز و پر اکسیداز اما نه کاتالاز شد. بر این اساس، به‌نظر می‌رسد بخشی از مکانیسم دفاع القایی در گیاه به، افزایش فعالیت‌های آنزیم‌های اکساینده پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز باشد؛ در حالی‌که فعالیت آنزیم کاتالاز، به‌دلیل نقش آن در شکار گونه‌های فعال اکسیژن، بی‌تغییر باقی می‌ماند.

واژگان کلیدی: *Erwinia amylovora*، به، پروتئین‌های دفاعی، مقاومت

۱ و ۳- به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و استادیار، گروه بیماری شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد دامغان، دامغان، ایران
۲- استادیار، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، موسسه تحقیقات علوم باغبانی، پژوهشکده میوه‌های معتدله و سردسیری، کرج
۴- مربی پژوهش، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مرکز تحقیقات کشاورزی، خراسان رضوی، ایران
نویسنده مسئول مکاتبات: kmansureh@gmail.com

مقدمه

بیماری آتشک با عامل *Erwinia amylovora* یکی از خسارت‌زاترین بیماری‌های گیاهان تیره گلسرخیان از جمله به، گلابی و سیب است. گیاه به از حساس‌ترین گونه‌های درختان میوه دانه‌دار به بیماری آتشک است. در ایران، این گیاه از اهمیت بالایی برخوردار است و در بین کشورهای جهان، پس از ترکیه، چین، ازبکستان و مراکش با ۹۰۶۱ هکتار سطح زیر کشت و ۸۲۵۲۲ تن محصول، پنجمین کشور تولید کننده آن محسوب می‌شود (Anonymous, 2012, FAO STAT, 2014). امروزه با توجه به افزایش ارزش اقتصادی به، ردیف‌های کاشت حاشیه‌ای این درختان به باغات یکدست به در استان‌های اصفهان، خراسان و زنجان تبدیل شده است (Maniee, 2000). وقوع آتشک در سال‌های اخیر خسارات شدیدی به این محصول وارد آورده و به دلیل وجود این بیماری، کشت آن در برخی مناطق کشور از جمله کرج، مقرون به صرفه نیست. این بیماری اکنون تنها در استان‌های چهار محال و بختیاری، یزد، کرمان، کهگیلویه و بویراحمد، خراسان جنوبی، خوزستان، اصفهان (به‌جز مناطق آلوده) و فارس (به‌جز مناطق آلوده) قرنطینه داخلی است و سایر مناطق کشور به آن آلوده هستند (مکاتبات شخصی، سازمان حفظ نباتات). رئوس اصلی مبارزه با بیماری آتشک، هرس و سوزاندن شاخه‌های آلوده، سم‌پاشی حفاظتی و کاشت ارقام مقاوم است (van der Zwet and Keil, 1979). اما با توجه به استفاده روز افزون از پایه‌های کوتاه‌کننده که عمدتاً به آتشک حساس‌اند در باغداری مدرن و همچنین گرایش سلیقه عمومی به ارقامی که عمدتاً به آتشک حساسند، کنترل این بیماری کماکان با دشواری همراه است (Vanneste, 2001). لذا استفاده از سموم شیمیایی کماکان رایج و روش اصلی مبارزه است که به نوبه خود توام با بروز خطرات زیست محیطی است. از این رو، استفاده از روش‌های سالم غیرشیمیایی برای کنترل این بیماری روز به روز اهمیت بیش‌تری می‌یابد.

از شیوه‌های سالم کنترل بیماری‌های گیاهی استفاده از مواد محرک دفاعی از جمله مشتقی از Benzothiadiazole با نام تجاری Bion® است. این ماده در ایالات متحده در سطح تجاری برای کنترل بیماری‌های لکه و اسپک باکتریایی گوجه‌فرنگی، سفیدک پودری اسفناج و کپک آبی توتون تولید و به‌کار برده می‌شود (Moffat, 2001). همچنین در سطح آزمایشی، در کاهش شدت بسیاری از بیماری‌های گیاهان زراعی و باغی مؤثر بوده و در درختان میوه دانه‌دار، موجب کاهش شدت بیماری آتشک شده است (Baysal *et al*., 2002; Brisset *et al*., 2000; Maxson-Stein *et al*., 2002; Sparla *et al*., 2004; Balajoo *et al*., 2012).

مکانیسم عمل ماده بیون مبتنی بر القاء سیستم‌های دفاع درونزاد گیاه است و مستقیماً اثر ضدمیکروبی ندارد و از این رو، ماده‌ای سالم و بی‌خطر محسوب می‌شود. دفاع القاء شده توسط بیون در طیف گسترده‌ای از گیاهان توأم با افزایش فعالیت پروتئین‌های دفاعی (Pathogenesis-related proteins) بوده است (Godard *et al*., 1999; Brisset *et al*., 2000; Siegrist *et al*., 1997). همچنین نتایج تحقیقات انجام شده در موسسه تحقیقات اصلاح نهال و بذر نیز نشان‌دهنده تأثیر ماده بیون در کنترل آتشک در گیاهان سیب (Shahini *et al*., 2010) و به (Balajoo *et al*., 2012) بود که بخشی از این پاسخ دفاعی در گیاه به، افزایش نسخه‌برداری ژن‌های مسئول سنتز پروتئین‌های دفاعی گروه۲ (بتاگلوکانازها) تشخیص داده‌شد (Sarhangi *et al*., 2015). با توجه به این که تاکنون بیش از ۱۶ کلاس از پروتئین‌های دفاعی شناخته شده‌اند، در این تحقیق مکانیسم بیوشیمیایی مقاومت القایی یا واسطه بیون براساس تغییر در فعالیت برخی آنزیم‌های دفاعی برای اولین‌بار در گیاه به بررسی شد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

رقم بومی به اصفهان پیوندی روی پایه بذری به مورد استفاده قرار گرفت. گیاهان پیوندی در زمستان ۱۳۹۰ در باغ بیماری‌شناسی بخش تحقیقات باغبانی موسسه تحقیقات اصلاح نهال و بذر کشت شدند و در سه سالگی مورد ارزیابی قرار گرفتند.

اندازه گیری فعالیت‌های آنزیمی

به‌منظور انجام مطالعات آنزیمی، ابتدا درختان به رقم اصفهان در ۴ تکرار، دو مرتبه با فاصله ۴ روز با محلول بیون (۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) به‌طور کامل محلول‌پاشی شدند. چهار روز بعد از محلول‌پاشی دوم، از برگ‌های جوان نمونه‌برداری و در یخدان به آزمایشگاه منتقل شدند. نمونه‌ها در شرایط ۸۰- درجه سلسیوس منتقل و فعالیت‌های آنزیمی آن‌ها بررسی شد. کلیه مطالعات آنزیمی براساس رنگ‌سنجی با اسپکتروفتومتر و به‌روش ونگ و همکاران (Wang *et al*., 2004) انجام شدند. گیاهان شاهد به‌جای محلول بیون با آب استریل اسپری شدند و سایر مراحل یکسان بود.

به‌منظور تهیه عصاره آنزیمی، ۱۰ گرم برگ در هاون چینی از قبل سرد شده با ۲۵ میلی‌لیتر بافر فسفات سدیم ۱۰۰ میلی‌مولار، pH ۶/۴ حاوی ۰/۵ گرم PVP (polyvinylpyrrolidone) کاملاً هموژنیزه شد. مخلوط حاصل بلافاصله به لوله‌های اپندورف منتقل و به‌مدت یک ساعت در سرعت ۵۰۰۰ دور بر دقیقه در دمای ۴ درجه سلسیوس سانتریفوژ و محلول رویی برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز در فریزر ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شد. تهیه عصاره برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز نیز با همان روش فوق اما در بافر فسفات سدیم ۵۰ میلی‌مولار، pH ۷ انجام شد.

به‌منظور تعیین فعالیت آنزیم پراکسیداز، به ۰/۵میلی‌لیتر عصاره دو میلی‌لیتر بافر فسفات‌سدیم ۱۰۰ میلی‌مولار، pH ۶/۴ حاوی گایاکول ۸ میلی‌مولار افزوده و پس از ۵ دقیقه نگهداری در دمای ۳۰ درجه سلسیوس، ۰/۵ میلی‌لیتر آب اکسیژنه ۲۴ میلی‌مولار اضافه شد. سپس پراکسید هیدروژن به مخلوط واکنش اضافه و پس از اختلاط سریع، میزان جذب در طول موج ۴۶۰ نانومتر در فواصل ۱۰ ثانیه به‌مدت ۴ دقیقه در دمای اتاق اندازه‌گیری شد. به‌منظور تعیین فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز، ۲۵۰ میکرولیتر از عصاره را با ۱/۵ میلی‌لیتر ترکیب بافر فسفات سدیم ۱۰۰ میلی‌مولار pH ۶/۸ حاوی پیروکاتگول ۱۶۵ میلی‌مولار مخلوط کرده و تغییرات جذب در طول موج ۳۹۸ نانومتر با فواصل ۱۰ ثانیه به‌مدت ۲ دقیقه در دمای اتاق قرائت شد. برای تعیین فعالیت آنزیم کاتالاز، ۰/۵ میلی‌لیتر عصاره به دو میلی‌لیتر بافر فسفات سدیم ۵۰ میلی مولار،pH ۷ افزوده و سپس ۰/۵ میلی‌لیتر آب اکسیژنه ۴۰ میلی‌مولار اضافه شد. سپس پراکسیدهیدروژن به مخلوط اضافه و پس از اختلاط سریع، کاهش جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر در فواصل ۱۰ ثانیه به‌مدت دو دقیقه در دمای اتاق اندازه‌گیری شد. مخلوط واکنش بدون پراکسیدهیدروژن برای صفر کردن دستگاه اسپکتروفتومتر به‌کار برده شد. فعالیت کاتالاز بر اساس واحد بر میلی‌گرم پروتئین، که هر واحد یک میکرومول پراکسیدهیدروژن را در دقیقه می‌شکند، بیان شد. غلظت پروتئین برگ به روش برادفورد (Bradford, 1976) اندازه‌گیری شد. پس از اعمال تیمارها، علائم گیاهسوزی ناشی از بیون توسط مشاهدات چشمی با بررسی تغییر رنگ و شکل برگ درختان در شرایط باغی بررسی شد.

آزمایشات در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۴ واحد آزمایشی (نهال) انجام شد. میانگین داده‌ها براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن و توسط نرم‌افزار SAS مقایسه و نمودار توسط برنامه Excel ترسیم شد.

نتایج و بحث

براساس نتایج تحقیقات قبلی انجام شده در موسسه تحقیقات باغبانی، ماده محرک بیون موجب کاهش شدت بیماری آتشک در گیاهان سیب (Shahini *et al*., 2010) و به (Balajoo *et al*., 2012) شد. مطالعات تکمیلی نشان دادند که بخشی از مکانسیم ملکولی این دفاع القایی، افزایش بیان ژن کد کننده پروتئین‌های دفاعی گروه PR2 بود (Sarhangi *et al*., 2015). در تحقیق حاضر برای اولین بار در گیاه به، مبنای بیوشیمیایی این مقاومت با مطالعه فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز بررسی شد. بدین منظور، فعالیت‌های دفاعی سه آنزیم فوق چهار روز پس از دو محلول‌پاشی پیاپی بیون روی درختان در شرایط باغی بررسی شد. انجام دو نوبت محلول‌پاشی بیون براساس نتایج موجود مبنی بر نیاز به بیش از یک نوبت محلول‌پاشی بین برای القای بالای پاسخ‌های دفاعی بود (Faize *et al*., 2004).

براساس نتایج مطالعات بیوشیمیایی، تیمار بیون در مقایسه با شاهد موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و پلی‌فنل‌اکسیداز شد اما بر فعالیت آنزیم کاتالاز تاثیر معنی‌داری نداشت (جدول ۱، شکل ۱). تاثیر ماده محرک بیون بر افزایش فعالیت پروتئین‌های دفاعی در پاسخ به بیمارگرهای باکتریایی و قارچی از جمله باکتری عامل بیماری آتشک در بسیاری از درختان میوه دانه‌دار از جمله سیب و گلابی نیز مشاهده داده شده است (Baysal and Zeller, 2004; Brisset *et al*., 2000; Sklodowska *et al*., 2011; Hassan and Bachenaur, 2007; Ziadi *et al*., 2001; 2008; Maxson-Stein *et al*., 2002)

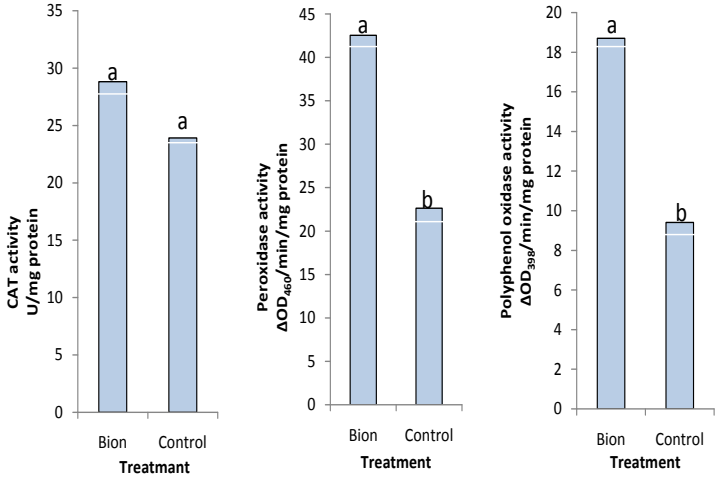
جدول ۱- تجزیه واریانس فعالیت آنزیم‌های دفاعی در تیمارهای بیون و شاهد

Table 1. Analysis of variance of activity of defense-related enzymes in bion and control treatments

Source of variance	منابع تغییرات	درجه آزادی	Mean square پلی فنل اکسیداز Polyphenol oxidase	میانگین مربعات پراکسیداز Peroxidase	کاتالاز Catalase
Treatment	تیمار	1	133.31*	598.6**	35.82
Error	خطا	4	21.34	9.24	4.74
CV %	درصد ضریب تغییرات		22.13	9.33	8.26

** و * به ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد

*,*Significat different at 5% and 1% probability level, respectively



شکل ۱- مقایسه میانگین مقادیر فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز در تیمارهای بیون و شاهد

Fig. 1. Mean comparison of catalase, peroxidase and polyphenol oxidase activities in bion-treated and control plants.

میانگین فعالیت آنزیم کاتالاز در تیمارهای شاهد و بیون تفاوت معنی‌داری نداشت (به‌ترتیب ۲۸/۸۱ و ۲۳/۹۲ U/mg protein) بود که مبین عدم دخالت آنزیم کاتالاز در مقاومت القاء شده توسط بیون در گیاه به بود. عدم دخالت آنزیم کاتالاز در مقاومت القا شده توسط بیون علیه بیماری آنتراکنوز در گیاه انبه نیز گزارش شده است. در گیاه مانگو، مکانیسم مقاومت القا شده توسط بیون بر مهار آنزیم کاتالاز، افزایش غلظت پراکسیدهیدروژن و فعال شدن سایر پروتئین‌های دفاعی مبتنی بود (Zhu *et al*., 2007). تیمار برگ گلابی ژاپنی با بیون موجب افزایش ضعیف فعالیت کاتالاز شد اما این افزایش موقتی بود و سطوح کاتالاز سریعاً به سطوح اولیه

برگشت (Faize *et al*., 2004). بر این اساس نتیجه‌گیری می‌شود که آنزیم کاتالاز در سیستم مقاومت القایی توسط بیون دخالت ندارد.

تیمار بیون باعث افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز نسبت به شاهد شد (میانگین‌ها به‌ترتیب ۴۳ و ۲۳ ΔOD_{460}/min/mg protein). این ماده در کنترل آتشک در سیب از طریق بالا بردن فعالیت آنزیم پراکسیداز نیز موثر گزارش شده‌است (Baysal and Zeller, 2004; Brisset *et al*., 2000; Hassan and Buchnaur, 2007; Sklodowska *et al*., 2011; Maxson-Stein *et al*., 2002).

افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز در مقاومت‌های القاء شده توسط مواد مختلف شیمیایی به‌خصوص ماده محرک یبون در گیاهان دیگری نیز مشاهده شده است (Goodman and Novacky, 1994; Abdel-Monaim *et al*., 2012; Siegrist *et al*., 1997; Smith and Hammerschmidt, 1998).

براساس مطالعات Basal and Zeller (2004)، تیمار بیون با افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز و کاهش رشد باکتری عامل آتشک ارتباط داشت. در لوبیای آلوده به *Fusarium oxysporum* نیز فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز پس ار تیمار بیون افرایش یافت (Abdel-Monaim *et al*., 2012). در گوجه‌فرنگی نیز القای مقاومت با بیون توام با افزایش کیتیناز و پراکسیداز بود (بیسال و همکاران، ۲۰۰۲).

کاربرد بیون باعث افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز نیز شد به‌طوری‌که میانگین فعالیت آن در تیمار بیون با میانگین ΔOD_{398}/min/mg protein ۱۸/۴۷بیش از شاهد با میانگین ΔOD_{398}/min/mg protein ۹/۴۱ بود. در سیب (Baysal and Zeller, 2004) و برخی گیاهان دیگر نیز فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز در اثر تیمار بیون افزایش یافت (Goodman and Novacky, 1994; Abdel-Monaim *et al*., 2012).

یکی از خطوط اولیه پاسخ‌های دفاعی گیاهان به عوامل بیماریزای مهاجم تولید مازاد انواع گونه‌های فعال اکسیژن (Reactive oxygen species) شامل پراکسیدهیدروژن (H_2O_2) و رادیکال‌های هیدروکسیل (OH) و سوپراکسید (O_2) و ملکول‌های غیررادیکال مثل اکسیژن نوزاد ($^1O_2$) است. این‌ها مشتقاتی از ملکول اکسیژن (O_2) هستند که از آن فعال‌تراند و در مسیرهای دفاعی گیاهان متعددی نقش دارند (Doke *et al*., 2001). از آن میان، پراکسیدهیدروژن به دلیل ثبات نسبی بالاتر، بیش‌تر مورد بررسی قرارگرفته است. پراکسیدهیدروژن از چندین جهت در دفاع گیاهی اهمیت دارد از جمله این‌که خواص میکروب‌کشی دارد و به‌عنوان یک ماده سیگنال، سیستم‌های دفاع ثانویه اکثر گیاهان را فعال می‌کند (Mehdy *et al*., 1996).

آنزیم‌های پلی‌فنل اکسیداز و به‌خصوص پراکسیداز مسئول تولید گونه‌های فعال اکسیژن در طی واکنش‌های دفاعی گیاهی هستند (Mehdy *et al*., 1996; Goodman and Novacky, 1994). آنزیم‌های پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز علاوه بر ایجاد محیطی سمی اطراف بیمارگر، با کراس لینک کردن اکسیداتیو پروتئین‌های دیواره سلول گیاهی با واسطه گونه‌های فعال اکسیژن، موجب افزایش استحکام دیواره و کاهش مواد غذایی در فضای بین سلولی می‌شوند (Wojtaszek, 1997). این آنزیم‌ها در فرایند پلیمریزه‌کردن اکسیداتیو واحدهای مونومری به ساختارهای پلیمری پیچیده دیواره سلولی مانند لیگنین‌ها نیز دخالت دارند. تقویت دیواره سلولی با لیگنین‌ها موجب استحکام دیواره در مقابل نفوذ بیمارگر و بی‌اثر شدن آنزیم‌های هیدورلیتیک بیمارگر می‌شود (Vance *et al*., 1980; Nicholson and Hammerschmidt, 1992). پراکسیداز می‌تواند موجب تولید لیگنین در آوند آبکش و مهار مهاجرت باکتری آتشک در آن شود (Zeller, 1985). همانند سیستم‌های دفاعی فعال شده در برابر بیمارگر، آنزیم‌های پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز در سیستم‌های دفاعی القایی نیز نقش مهمی دارند (Goodman and Novacky, 1994; Baysal and Zeller, 2004; Abdel-Monaim *et al*., 2012). فعالیت آن‌ها در بسیاری از گیاهان تیمار شده با بیون، به‌شدت افزایش می‌یابد (Baysal and Zeller, 2004; Vance *et al*., 1980; Conrath *et al*., 1995; Sklodowska *et al*., 2011). در مجموع، با توجه به نقش دو آنزیم فوق در سیستم‌های دفاعی گیاهان و افزایش فعالیت آن‌ها در گیاه به متعاقب تیمار بیون، می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که در اثر تیمار بیون، آنزیم‌های اکسیداتیو فعال شده و با تولید گونه‌های فعال اکسیژن، محیطی سمی پیرامون بیمارگر مهاجم ایجاد می‌کنند.

همچنین دیواره سلول گیاهی را محکم می‌کنند که در نتیجه، آنزیم‌های هیدرولیتیک بیمارگر بی‌اثر می‌شوند. به‌علاوه، لیگنین تولید شده در آوند آبکش مانع مهاجرت بیمارگر در گیاه و در نتیجه محدود ماندن بیماری می‌شود. از سوی دیگر، بیون تأثیر قابل توجهی در فعالیت آنزیم کاتالاز نداشت. در برخی مطالعات دیگر نیز نشان داده‌شده که بیون موجب افزایش فعالیت پروتئین‌های دفاعی اکساینده و القای مقاومت می شود اما فعالیت کاتالاز را می‌کاهد (Conrath *et al*., 1995). این تأثیر ممکن است به‌دلیل اثر مستقیم بازدارندگی بیون بر آنزیم کاتالاز باشد زیرا بیون از نظر عملی آنالوگ اسید سالیسیلیک است (Baysal and Zeller, 2004) و این اسید، کاتالاز را در شکار پراکسید هیدروژن مهار می‌کند (Durrant and Dong, 2004). کاتالاز شکارگر پراکسید هیدروژن است و دو ملکول پراکسید هیدروژن را به ملکول‌های آب و اکسیژن تبدیل می‌کند. مهار فعالیت شکارگری آنزیم کاتالاز می‌تواند به نوبه خود موجب افزایش غلظت پراکسیدهیدروژن و افزایش فعالیت سیستم‌های دفاعی وابسته به پراکسید هیدروژن شود. با توجه به نتایج می‌توان نتیجه‌گیری کرد که ماده محرک بیون قادر به فعال کردن مکانسیم‌های دفاع القایی در گیاه به است و بخشی از این دفاع القائی، افزایش تولید پروتئین‌های دفاعی است. میزان تأثیر کلیه آنزیم‌های دفاعی در این فرایند یکسان نیست و حداقل دو آنزیم اکسیدکننده پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز مؤثر هستند در حالی‌که آنزیم کاتالاز نقش قابل توجهی ندارد. با توجه به افزایش فعالیت آنزیم‌های اکسیدکننده، به‌نظر می‌رسد این دفاع القایی با واسطه گونه‌های فعال اکسیژن عمل می‌کند و توأم با اکسایش ملکول‌های ساختاری گیاه و ایجاد محیطی سمی برای بیمارگر است. فعال نشدن آنزیم کاتالاز که شکارگر گونه‌های فعال اکسیژن است نیز در همین راستا قابل توجیه است.

References

Abdel-Monaim, M. F., Ismail, M. E and Morsy, K. M. 2012. Induction of systemic resistance in soybean plants against *Fusarium* wilts disease by seed treatment with benzothiadiazole and humic acid. African Journal of Biotechnology 110: 2454-2465

Anonymous 2012. FAOSTAT. http://www.fao.org/faostat/en/

Balajoo, O., Kesahavarzi, M., Zahabi, A., Danesh, Y. R. and Haghjuyan, R. 2012. Protective effect of acibenzolr-s-methyl on fireblight severity in quince and characterization of the *Erwinia amylovora* strains involved. Journal of Plant Pathology 94: 211-214.

Baysal, O. and Zeller, W. 2004. Extract of *Hedera helix* induces resistance on apple rootstook M26 similar to Acibenzolar-*s*-Methyl against fireblight). Physiological and Molecular Plant Pathology 65: 305-315.

Baysal, O., Laux, P. and Zeller, W. 2002. *S*ystemic acquired resistance (SAR) against fireblight. Acta Horticulturae 590: 269-272.

Bradford, M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. Analls of Biochemistry 72: 248-50.

Brisset, M. N., Cesbron, S., Thomson, S. W. and Paulin, C. P. 2000. Acibenzolar-S-methyl induces the accumulation of defense-related enzymes in apple and protects from fire blight. European Journal of Plant Pathology 106: 529-36.

Conrath, U., Chen, Z., Ricigliano, J. W. and Klessig, D. F. 1995. Tow inducers of plant defense responses, 2,6- dichloroisonicotinic acid and salicylic acid, inhibit catalase activity in tobacco. Proceedings of National Academy of Sciences, USA 92: 7143-7147.

Doke, N., Park, H. J., Katou, S., Komatsubara, H., Makino, T., Ban, S., Sugie, K., Yoshioka, H. and Kawakita, K. 2001. The oxidative burst in plants. Pp. 184-193. In: Keen, N. T., Mayama, S., Leach, J. E. and Tsuyumu, S. (eds.) Delivery and Perception of Pathogen Signals in plants. The American phytopathological Society, St. Paul, MN.

Durrant, W. E. and Dong, X. 2004. Systemic acquired resistance. Annual Review of Phytopathology 42: 185-209

Faize, M., Faize, L., Koike, N., Ishizaka, M. and Ishii, H. 2004. Acibenzolar-S-methyl-induced resistance to Japanese pear scab is associated with potentiation of multiple defense responses. Phytopathology 94: 604-612

Godard, J. P., Ziadi, S., Monot, C., Le Corre, D. and Silue, D. 1999. Benzothiadiazole (BTH) induces resistance in cauliflower (*Brassica oleracea* var *botrytis*) to downy mildew of crucifers caused by *Peronospora parasitica*. Crop Protection 18: 397-405.

Goodman, R. N. and Novacky, A. J. 1994. The bacteria-induced hypersensitive reaction, In: The Hypersensitive Reaction in Plants to Pathogens. American Phytopathological Sociey. St. Paul, MN. pp. 117-173

Hassan, M. A. E. and Buchenauer, H. 2007. Induction of resistance to fire blight in apple by acibenzolar-S-methyl and DL-3-aminobutyric acid. Journal of Plant Diseases and Protection 114: 151-158

Maniee, A. 2000. Pear and Its Cultivation. Fanni Publication, Tehran, Iran.

Maxson-Stein, K., Shongyang, H. E., Hammerschmidt, R. and Jones, A. L. 2002. Effect of treating apple trees with ASM on fireblight and expression of PR proteins. Plant Disease 68: 785790.

Mehdy, M. C., Sharma, Y. K., Sathasivan, K. and Bays, N. W. 1996. The role of activated oxygen species in plant disease resistance. Physiological Plant Pathology 98: 365-74.

Moffat, A. S. 2001. Finding new ways to fight plant diseases. Science 292: 270-273.

Nicholson, R. L. and Hammerschmidt, R. 1992. Phenolic compounds and their role in disease resistance. Annual Review of Phytopathology 30: 369-89.

Sarhangi, N., Shakib, A. M., Keshavarzi, M., Ebrahimi, M. and Raji, M. 2015. Effect of bion elicitor on *PR2* gene expression and fireblight severity in quince. Seed and Plant Improvement Journal 31: 249-264

Shahini, F., Keshavarzi, M., Hassanzadeh, N., Abdollahi, H. and Tawoosi, M. 2010. *in vitro* evaluation of BTH efficacy in fireblight resistance in apple cv. Golden delicious. Iranian Journal of Plant Pathology 49: 275-278

Siegrist, J., Glenewinkel, D., Kolle, C. and Schmidtke, M. 1997. Chemical induced resistance in green bean against bacterial and fungal pathogens. Plant Disease Protection 104: 599-610.

Sklodowska, M., Gajewska, E., Kuzniak, E., Wielanek, M., Mikicinski, A. and Sobiczewski, P. 2011. Antioxidant profile and PPO activities in apple leaves after *Erwinia amylovora* infection and pretreatment with BTH. Phytopathology 159: 495-504

Smith, J. A. and Hammerschmidt, R. 1998. Comparative study of acidic peroxidases associated with induced resistance in cucumber, muskmelon and watermelon. Physiological and Molecular Plant Pathology 33: 255-261.

Sparla, F., Rotino, L., Valgimigli, C. M., Pupillo, P. and Trost, P. 2004. Systemic resistance induced by benzothiadiazole in pear inoculated with the agent of fireblight. Scientia Horticulturae 101: 269-279.

van der Zwet, T. and Keil, H. L. 1979. Fireblight: a Bacterial Disease of Rosaceous Plants. Agriculture Handbook No. 510**.** Washington, USA.

Vance, C. P., Kirk, T. K. and Sherwood, R. T. 1980. Lignification as a mechanism of disease resistance. Annual Review of Phytopathology 18: 259-288.

Vanneste, J. L. 2001. Fireblight, the Disease and its Causative Agent. CAB International, Wallingford, Oxon OX 10 8DE, UK

Wojtaszek, P. 1997. The oxidative burst: a plant's early response against infection. Biochemistry Journal 322: 681-92.

Zeller, W. 1985. Untersuchungen zur Feuerbrandkrankheit in der Bundesrepublik Deutschland. Habilitationsschrift: Universitat Hannover.

Zhu, X., Cao, J., Wang, Q. and Jiang, W. 2007. Postharvest Infiltration of BTH Reduces Infection of Mango Fruits (*Mangifera indica* L. cv. Tainong) by *Colletotrichum gloeosporioides* and Enhances Resistance Inducing Compounds**.** Journal of Phytopathology 156: 68-74

Ziadi, S., Poupard, P., Brisset, M. N., Paulin, J. P. and Simoneau, P. 2001. Characterization in apple leaves of two subclasses of PR-10 transcripts inducible by acibenzolar-*s*-methyl, a functional analogue of salicylic acid. Physiological and Molecular Plant Pathology 59: 33-43.

Wang, Y. S., Tian, S. P., Xu, Y., Qin, G. Z. and Yao, H. 2004. Changes in the activities of pro- and anti-oxidant enzymes in peach fruit inoculated with *Cryptococcus laurentii* or *Penicillium expansum* at 0 or 20°C. Postharvest Biology and Technology 34: 21-28