# متابولیت‌های گیاهی و مقاومت به آفات

نازنین حاتمی [1]، دانشجوی دکتری حشره‌شناسی کشاورزی
پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران

گیاهان منبع بسیاری از مواد شیمیایی هستند که به‌عنوان ترکیب دارویی مصرف می‌شوند و فرآورده‌های حاصل از متابولیسم ثانویه گیاهی در دسته‌ی گران‌بهاترین ترکیبات شیمیایی گیاهی می‌باشند. گیاهان گروه بزرگ و متنوعی از ترکیبات آلی به نام متابولیت‌های ثانوی را تولید می‌کنند که پراکنش محدودی در سلسله‌ی گیاهان دارند و میزان آن‌ها اغلب کم (کمتر از یک درصد وزن خشک) است. این ترکیبات معمولاً دارای وزن مولکولی پایینی (کمتر از صد و پنجاه‌ویک کیلو دالتون) هستند و تاکنون بیش از صد هزار متابولیت ثانویه شناسایی‌شده‌اند و هنوز هم تعداد بیشتری در حال اضافه شدن و بررسی هستند. در جدول ۱ انواع مختلفی از متابولیت‌های گیاهی، منشأ و عملکرد زیستی آن‌ها آورده شده است. متابولیت‌های ثانویه منحصر به گونه یا حتی نژاد بوده و اغلب در طی یک دوره رشد و نموی خاص در گیاه تولید می‌شوند و دارای عملکردهای اکولوژیکی مهم در گیاهان هستند. این دسته از ترکیبات در حفاظت گیاهان مقابل گیاه خواران و عوامل بیماری‌زای میکروبی، به‌عنوان جذب گرده‌افشان‌ها و جانوران منتشرکننده‌ی بذر، رقابت گیاه با گیاه و همزیستی گیاه با میکروب نقش دارند. متابولیت‌های ثانویه به‌عنوان دارو، علف‌کش‌های زیستی، عوامل طعم‌دهنده، رنگ‌های طبیعی، سم‌ها، مواد توهم‌زا (مانند کوکائین، هروئین و مورفین) و عطرها برای استفاده در حوزه‌ی زیست‌فناوری موردتوجه قرار گرفته‌اند.

فراورده‌هایی را که از راه‌های متابولیکی حاشیه‌ای تولید می‌شوند، متابولیت ثانویه می‌نامند. تعدادی از متابولیت‌های ثانویه وظیفه حیاتی مهمی در گیاهان ایفا می‌نمایند. گرچه محصولات ثانویه گیاهی درگذشته به‌صورت ترکیبات شیمیایی تعریف می‌شدند که دارای نقش بیوشیمیایی حیاتی در ساختار و حفظ سلول گیاهی نیستند، تحقیقات اخیر نشان داده که این ترکیبات دارای نقش‌های حیاتی در اکوفیزیولوژی گیاهان هستند. علی‌رغم پیشرفت‌های حاصل در علم شیمی آلی، گیاهان هنوز هم به عنوان منابع تجاری مهم برای تهیه و تأمین ترکیبات شیمیایی و طبیعی مورد استفاده قرار می‌گیرند. متابولیت‌های ثانویه گیاهان دارای کاربردهای مهمی در صنایع مختلف می‌باشند که در ادامه توضیح داده خواهد شد.

متابولیت‌های ثانویه گستره‌ی وسیعی از ترکیبات اقتصادی نظیر استروئیدها، آلکالوئیدها، فلاونوئیدها، ساپونین‌ها،اسانس‌ها، رزین‌ها و... را در برمی‌گیرند. این متابولیت‌ها کاربردهای مختلفی در صنایع گوناگون و به‌ویژه پزشکی دارند. اسانس‌ها و مواد معطر، مواد مؤثره دارویی، فرمون‌ها، حشره‌کش‌ها، علف‌کش‌ها، قارچ‌کش‌ها، هورمون‌های گیاهی و مواد آللوپاتیک ) ایجادکننده‌ی انواع مقاومت‌ها و یا بازدارنده رشد و نمو (از این جمله هستند. در این میان ترکیبات دارویی و اسانس‌ها دارای اهمیت ویژه‌ای هستند.

| گروه | واحد ساختمانی | منابع گیاهی | فعالیت زیستی |
|---|---|---|---|
| الکالوئیدها | استات<br>امینواسید<br>ترپنوئید<br>کلسترول | گیاهان، جلبک‌ها، قارچ‌ها، باکتری‌ها | منبع نیتروژن، سمیت‌زدا، بازدارنده، آللوشیمی |
| ترپنوئیدها | ایزوپرن | گیاهان، قارچ‌ها، باکتری‌های روده‌ای | ضد میکروبی |
| فلاونوئیدها | مالونیل COA<br>سینامیل COA<br>فنیل‌پروپانوئید | بازدانگان، نهاندانگان، خزه‌ها، باکتریها، سرخس‌ها، جلبک‌ها | آنتی بیوتیک، رنگیزه<br>جذب کننده نور |
| لیگنین | فنیل پروپانوئیدها | بازدانگان، نهاندانگان، سرخس‌ها | حفاظت ساختاری<br>سد دفاعی |
| لیگنان ها | فنیل پروپانوئیدها | بازدانگان، نهاندانگان، سرخس‌ها | فیتوآلکسین، ضد قارچی، ضد میکروبی، ضد ویروسی |

جدول ۱) گروه‌های مختلف متابولیت‌های ثانوی، منابع و عملکرد زیستی آن‌ها

همچنین این ترکیبات خاص در گیاهان نقش عمده‌ای در دفاع گیاهان در برابر حشرات گیاه‌خوار دارند. ترکیباتی از قبیل الکل‌ها، ترپن‌ها و ترکیبات حلقوی توسط گیاهان آزاد می‌شوند. این مواد فرار می‌توانند باعث دور کردن آفات گیاه‌خوار، اعمال

1. n.hatami@ut.ac.ir

سمیت و یا جلب پارازیتوئیدها و شکارگرها در پاسخ به خسارت‌های ناشی از تغذیه آفات باشند. از گیاهان عصاره و اسانس تهیه می‌کنند. اسانس‌های گیاهی یکی از انواع متابولیت‌های ثانویه می‌باشند که در اغلب موارد فرار بوده و گاهی معطر می‌باشند .مواد موجود در اسانس‌ها علاوه بر خواص جلب‌کنندگی دارای خواص دورکنندگی، بازدارندگی از تخم‌ریزی و حتی حشره کشی هستند. هم‌چنین اثرات سمیت اسانس‌ها بر روی باکتری‌ها، قارچ‌ها و نماتدها نیز ثابت شده است. مهم‌ترین ترکیبات سازنده اسانس‌های گیاهی، ترپنوئیدها با ساختار حلقوی یا زنجیری می‌باشند که از واحدهای ایزوپرن ($C_5H_8$) تشکیل‌شده‌اند و بسته به تعداد مولکول‌های ایزوپرن به چندین گروه تقسیم می‌شوند؛ مثلاً سسکوئی ترپنوئیدها که بزرگ‌ترین دسته ترپنوئیدها با ساختار متنوع هستند از سه مولکول ایزوپرن و تری‌ترپنوئیدها مانند آزادیراختین که خاصیت تنظیم‌کنندگی رشد دارد از یک مولکول ایزوپرن تشکیل‌شده‌اند.

هیدروکربن‌ها، الکل‌ها، کتون‌ها و سایر مشتقات نیز در اسانس موجود هستند. اسانس‌های گیاهی از راه تماس و تنفس بر روی حشرات و کنه‌ها تأثیر می‌گذارند. بین اسانس و عصاره‌ی گیاهی تفاوت‌هایی وجود دارد. اسانس‌ها فرار بوده و وزن مخصوصی کمتر از یک دارند و همچنین بو و مزه آن‌ها خاص است. این ترکیبات دارای گروه ترپن‌ها بوده و یا منشأ ترپنی دارند درصورتی‌که عصاره‌ی گیاهی محلولی است که حاوی کلیه مواد موجود در گیاه ازجمله اسانس ها، تانن‌ها و آلکالوئیدها است. عصاره را به کمک آب یا یک حلال آلی مانند متانول، اتانول و روغن استخراج می‌کنند؛ درحالی‌که اسانس ها را معمولاً در مسیر تقطیر با بخارآب جدا می‌کنند. عصاره گیاهی نیز از راه تماس و تنفس روی بندپایان تأثیر می‌کند.

تصور عمومی بر این است که متابولیت‌های گیاهی که دارای اثر حشره کشی هستند فقط به ضرر حشرات بوده و منجر به کاهش جمعیت آن‌ها می‌شود. تحقیقات جالبی که در سال‌های اخیر انجام‌شده نشان داده این ترکیبات خود می‌توانند به‌عنوان سلاحی کشنده توسط برخی حشرات علیه دشمنان طبیعی‌شان استفاده شود که در ادامه توضیح داده خواهد شد.

**مقاومت حشرات گیاه‌خوار به متابولیت‌های گیاهی**

حشرات گیاه‌خواردر جهت رشد و تولیدمثل با موانع زیادی روبرو هستند. دفاع گیاه در بسیاری از موارد منجر به سخت‌تر شدن فرایند هضم مواد غذایی در دستگاه گوارش حشره شده و درعین‌حال منجر به تداخل برخی مسیرهای فیزیولوژی در بدن حشره می‌شوند. از طرف دیگر دشمنان طبیعی حشرات نیز عامل محدودکننده‌ی جمعیت این موجودات هستند.

یکی از نظرهای جالب و قابل‌قبول در بین اکولوژیست‌ها این است که دو عامل اشاره‌شده یعنی دفاع گیاه و دشمنان طبیعی حشرات گیاه‌خوار را اصلی‌ترین عوامل غالب بودن گیاه نسبت به حشرات گیاه‌خوار می‌دانند؛ اما با نگاهی دقیق‌تر پی به این واقعیت می‌توان برد که حشرات گیاه‌خوار از همین سیستم دفاعی گیاه در جهت مبارزه با دشمنان خود استفاده کرده و در حقیقت باعث خنثی شدن اثرات مخرب این دو عمل به‌صورت هم‌زمان می‌شود.

ذخیره‌سازی ایمن یا Sequestration به فرایند تجمع اختصاصی و انتخابی توکسین‌های گیاهی توسط حشرات اطلاق می‌شود. این فرایند یک فرایند کلیدی و تعیین‌کننده در شکست یا موفقیت بقاء حشرات گیاه‌خوار در اکوسیستم‌هایی است که جمعیتی از دشمنان طبیعی حشره حضور دارند. به‌عبارت‌دیگر حشراتی که قادر به انجام این فرایند هستند، پس از تغذیه قادر خواهند بود توکسین‌های گیاهی را در بدن خود نگه داشته و علیه دشمنان طبیعی خود به‌کارگیرند. بسیاری از حشرات گیاه‌خوار نیز در طول دوره تکامل خود این توانایی را کسب‌می‌کنند.

این موجودات قادر به تحمل، انتقال و فعال کردن این توکسین‌ها علیه دشمنان طبیعی خود هستند. برخلاف استراتژی‌های سم‌زدایی (Detoxification) که در طی آن خاصیت توکسین کمتر یا به‌طورکلی دفع می‌شود و در بسیاری از موجودات ازجمله گیاه، جانور و ... دیده می‌شود، در خلال فرایند ذخیره‌سازی ایمن حشرات نیازمند ذخیره توکسین به شکل فعال خود هستند. درک صحیح این فرایند درگرو آگاهی از مسیرهای مولکولی است که در سال‌های اخیر در مورد تعدادی از حشرات شناخته شده است. به‌عنوان‌مثال پروانه *Danaus plexippus* با نام عمومی Monarch Butterfly، با

جایگزین کردن تعداد مشخصی از آمینواسیدها مانند لوسین، هسیتیدین و ... در ATPase خود منجر به کاهش حساسیت این آنزیم به توکسین گیاهی می‌شود. این ATPase وظیفه انتقال یون‌های K و Na را در طول رشته عصبی به عهده دارد که در ادامه به آن اشاره می‌شود. زمانی که حساسیت آنزیم به توکسین کم می‌شود، هیچ‌گونه اختلالی در انتقال پیام عصبی رخ نداده و فعالیت حشره کاملاً طبیعی خواهد بود. یکی دیگر از مثال‌های جالب در این زمینه، گیاهان متعلق به خانواده کلمیان Brassicaceae است. تقریباً تمام گونه‌های گیاهی متعلق به این خانواده ترکیبات توکسینی گلوکوزینالات تولید می‌کنند. بسیاری از حشراتی که از این گیاه تغذیه می‌کنند ترکیبات پروتئینی سولفات دار تولید می‌کنند که در درجه اول باعث کاهش اثرات سمی این توکسین‌ها شده اما درعین‌حال باعث حفظ ماهیت سمی این توکسین‌ها می‌شود. بنابراین حشرات در طول تاریخ تکامل به‌منظور ابقا خود توانایی جذب توکسین‌های گیاهی را کسب کرده و از آن‌ها برای دفاع در برابر سایر دشمنان طبیعی خود استفاده می‌کنند. شایان ذکر است در همه موارد حشرات قادر به ذخیره‌سازی ایمن نیستند و مواردی مشاهده شده است که تنها راه بقا حشره در اکوسیستم از بین بردن کامل اثر توکسین در بدن خود بوده است.

**جنگ شیمیایی، پاسخ دفاعی و وظایف متابولیت‌های گیاهی در مقاومت به آفات**

در طی دهه‌های اخیر تلاش‌های بسیار زیادی برای درک بهتر سیستم دفاعی گیاه انجام شده است. ازجمله مهم‌ترین دستاوردهای این بخش، کشف الگوهای تشخیصی مولکولی وابسته به میکروب یا (Microbe-Associated Molecular Pattern (MAMPs است. گیاهان به‌واسطه برخی از ترکیبات مولکولی که به آن‌ها افکتور گفته می‌شود، حضور ارگانیسم بیماری‌زا را تشخیص داده و به‌واسطه این تشخیص سیستم دفاعی خود را فعال می‌کنند . در حقیقت افکتورها ترکیبات تولیدشده توسط میکروارگانیزم‌ها هستند که توسط سیستم‌های ترشحی به محیط پیرامونی ترشح‌شده و در صورت تشخیص توسط گیاهان، علیه آن‌ها پاسخ‌های ایمنی ظاهر می‌شود. پس از شروع پاسخ ایمنی توسط گیاه، مجموعه‌ای از واکنش‌های بیوشیمیایی زنجیروار به‌صورت آبشاری تحریک و راه‌اندازی می‌شود. به‌عبارت دیگر بیان بسیاری از ژن‌ها دستخوش تغییر قرارگرفته که یکی از آثار آن تولید هرچه بیشتر متابولیت‌های گیاهی است. هرچند هنوز مراحل نهایی دفاع گیاه و حذف کامل پاتوژن دقیق مشخص نیست ولی به نظر می‌رسد یکی از مهم‌ترین عوامل دخیل در موفقیت گیاه و شکست پاتوژن، متابولیت‌های گیاهی هستند. به‌منظور درک هرچه بهتر این رخدادها خصوصاً در مراحل پایانی این مبارزه، مطالعات عمیق‌تری موردنیاز است

یکی از جذاب‌ترین موضوعات در بحث مقاومت به آفات، بررسی مسیرهای متابولیتی راه‌اندازی شده در طی پروسه آلودگی گیاه است. از مجموعه مطالعاتی که در حال حاضر در دسترس است این‌طور نتیجه‌گیری می‌شود که طیف بسیار گسترده‌ای از این مسیرهای بیوشیمیایی در گیاه وجود دارند که هر یک نهایتاً منجر به تولید متابولیت خاصی می‌شود. مطالعات نشان داده‌اند مجموعه متابولیت‌های تولیدشده در گیاه لزوماً به تنهایی عمل‌نکرده و این مجموعه در کنار هم برای غلبه گیاه بر پاتوژن موردنیاز هستند. تحقیقات جالبی که اساس آن‌ها ایجاد موتاسیون در ژن‌های بیان‌کننده‌ی این مسیرهاست نشان داده قطع یا بلوکه شدن هر یک از این مسیرها منجر به تغییرات بزرگی درنتیجه‌ی این مبارزه می‌شود. بنابراین نه‌تنها مطالعه بر روی انواع این مسیرها موردنیاز است، بلکه هر یک از این هزاران مسیر بر روی یکدیگر اثر داشته و مجموعه این اثرهاست که منجر به موفقیت یا شکست گیاه در برابر حمله پاتوژن می‌شود.

ازاین‌رو یکی از چالش‌های بزرگ محققین شناسایی و مطالعه برهمکنش این مسیرها بر روی یکدیگر است. همان‌طور که ذکر شد یکی از روش‌ها برای شناسایی این مسیرها ایجاد موتاسیون در ژن‌ها و بررسی تغییر رفتار دفاعی گیاه است. در این روش محققین به کمک روش‌های مختلفی ازجمله PCR کمی، Real Time PCR و... ژن‌های مشکوک در پروسه تولید متابولیت‌های گیاهی را تشخیص و در گام بعد در آن جهش ایجاد می‌کنند تا محصول نهایی و عملکردی این ژن فرم عملکردی خود را از دست بدهد. به عنوان‌مثال، نقش Benzoxazinones در غلات، Glucosinolates در گیاهان متعلق به تیره Brassicales و Camalexin در گیاه مدل آرابیدوبسیس به کمک این روش شناسایی شد.

یکی دیگر از روش‌های شناسایی این مسیرها، شناسایی افکتورهایی است که بعد از ورود پاتوژن به گیاه مجدداً توسط خود پاتوژن جذب‌شده و درنهایت گیاه توانایی شناسایی

آن‌ها را ندارد. درنتیجه پاسخ دفاعی در گیاه نیز راه‌اندازی نمی‌شود. در این روش محققین می‌کوشند تا با شناسایی این افکتورها گیرنده‌های هدف آن‌ها را در گیاه شناسایی کنند. پس از تشخیص گیرنده‌ها، ژن‌های دخیل در تولید این گیرنده‌ها شناسایی می‌شود. این ژن‌ها درنهایت ممکن است توسط محققین دست ورزی شده و درجات دفاع گیاه را افزایش دهند. به‌عنوان مثال می‌توان با قرار دادن پروموتور قوی بر روی این ژن‌ها و انتقال آن به گیاه، تعداد گیرنده‌ها را افزایش داد و به‌تبع آن حساسیت گیاه در برابر دزهای بسیار ناچیز افکتورهای پاتوژن نیز افزایش‌یافته و پاسخ‌های دفاعی در گیاه زودتر و بهتر راه‌اندازی می‌شود.

یکی دیگر از روش‌های پرکاربرد در شناسایی ژن‌های دخیل در مقاومت به آفت و بیماری‌ها، روش Association Mapping است. روشی که محققین به کمک آنالیز (Quantitative Trait Loci (QTL یا جایگاه صفات کمی پی به وجود یا عدم وجود ژن مقاومت و همچنین جایگاه احتمالی ژن بر روی کروموزوم می‌برند. آنالیز QTL بسیار دشوار بوده ولی اعتبار بسیار زیادی دارد. در این روش در حقیقت Candidate Genes یا ژن‌های کاندید انتخاب می‌شود. ژن‌های کاندید ژن‌هایی هستند که به‌احتمال‌زیاد در پروسه مقاومت گیاه به آفات و بیماری‌ها دخیل هستند. Association Mapping امکان بررسی و غربال‌گری سریع جمعیت‌های بزرگ (در اینجا گیاه) را فراهم کرده و صفات مطلوب (در اینجا مقاومت به حشره) را از صفات نامطلوب (عدم مقاومت گیاه به حشره) تمیز می‌دهد.

از این روش در بررسی مقاومت گیاه به بیماری به‌خصوص قارچ‌های بیمارگر استفاده می‌شود اما کاربرد آن در مورد مقاومت به آفات بسیار دشوار است. بیشترین مطالعه در این زمینه بر روی گیاه آرابیدوپسیس و تریپس غربی گل *Frankliniella occidentalis* و شته سبز هلو *Myzus persicae* انجام شده است. اساس این روش بررسی میزان توارث پذیری یک یا چند صفت در نسل‌های مختلف و میزان نوترکیبی این صفات بین نتایج نسل‌های آینده است. با انجام این آنالیز علاوه بر پی بردن به وجود یا عدم وجود ژن یا ژن‌های مقاومت، فاصله یا جایگاه تقریبی این ژن بر روی کروموزوم نیز مشخص می‌شود.

**افزایش تولید متابولیت‌های ثانوی گیاهی با استفاده از الیسیتورهای‌زیستی**

یکی از روش‌هایی که امروزه بیش از هر موضوع دیگر در زمینه بررسی متابولیت‌های گیاهی موردتوجه قرار دارد روش کشت اندام، بافت و سلول گیاهی است. محققین با استفاده از این روش سعی می‌کنند تا شواهد بیشتری در رابطه با چگونگی بیوسنتز متابولیت‌ها و نیز مکانیسم تنظیمی آن به دست آورند و با این روش‌ها توانسته‌اند تولید متابولیت‌های ثانویه با ارزش در گیاهان را افزایش دهند. روش‌های مختلفی به‌منظور افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه در کشت سلول گیاهی استفاده می‌شود که شامل استفاده از الیسیتورها، افزودن پیش سازها، بهینه‌سازی محیط کشت، کشت ریشه‌های موئین و مهندسی متابولیت است. استفاده از الیسیتورها یکی از مهم‌ترین روش‌ها برای افزایش تولید متابولیت‌های ثانوی است. الیسیتورها مواد شیمیایی یا عوامل زیستی مختلفی هستند که می‌توانند تغییرات فیزیولوژیکی و تجمع فیتوآلکسین (Phytoalexin) را القا کنند. الیسیتورهای زیستی به‌طور کارآمدی برای افزایش تولید متابولیت‌های ثانوی در کشت سلول گیاهان دارویی زیادی به‌کاررفته‌اند .الیسیتورهای زیستی، ترکیباتی با منشأ زیستی یا غیر زیستی هستند که از طریق القای پاسخ‌های دفاعی باعث بیوسنتز و انباشت متابولیت‌های ثانوی می‌شوند و شامل پلی ساکاریدها، پروتئین‌ها، گلیکوپروتئین‌ها و یا قطعات دیواره سلول قارچ‌ها، گیاهان (سلولز و پکتین) و میکروارگانیسم‌ها (کیتین و گلوکان) است. این الیسیتورها ممکن است دارای ترکیب مشخص مانند کیتین و کیتوزان و یا مانند قارچ و عصاره مخمر مجموعه‌ای از ترکیبات زیستی باشند. در بین الیسیتورهای زیستی، الیسیتورهای قارچی و ترکیبات اصلی دیواره‌ی سلول بسیاری از گونه‌های قارچی مانند کیتین و کیتوزان به‌طور گسترده به‌منظور تولید متابولیت‌های ثانوی در کشت سلول گیاهان به کار می‌روند. امروزه از حشرات نیز به‌عنوان افزایش‌دهنده‌ی تولید متابولیت‌های گیاهی استفاده می‌شود. عوامل مختلفی مانند غلظت الیسیتور، سن محیط کشت، زمان افزودن الیسیتور به محیط کشت و مدت زمانی که محیط در معرض الیسیتور قرار می‌گیرد بر افزایش تولید متابولیت‌های ثانوی تأثیر می‌گذارد.

**روغن‌های فرار گیاهان دارویی جایگزینی مناسب برای آفت کش‌های مصنوعی متداول در کنترل آفات**

روغن‌های فرار گیاهی در گیاهان دارویی معطر وجود داشته و با ترشح آن‌ها به‌صورت ذرات بسیار ریز از غده‌های موجود بر روی اندام‌های گیاه، بوی خاصی که ویژه آن گیاه است تولید می‌شود.

تولید این مواد در گیاهان نتیجه تکامل متقابل گیاه و گیاه‌خوار است. پیدایش گیاهان و گیاه‌خواران به حدود ۵۵۱ میلیون سال پیش برمی‌گردد و از آن زمان این موجودات زنده دائماً در حال جنگ و دفاع بوده‌اند. این تکامل متقابل هنوز هم ادامه دارد و نتیجه‌ی آن تولید هزاران ماده شیمیایی مختلف در گیاهان است که تحت عنوان متابولیت‌های ثانویه گیاهی نام برده شد. روغن‌های فرار گیاهی از این نوع ترکیبات بوده و از ریشه‌ها، برگ‌ها، میوه‌ها، بذرها، پوست و گل‌های گیاهان متعددی به‌دست‌آمده و بسیاری از آن‌ها علاوه بر دارا بودن ویژگی‌های دارویی، بر روی طیف وسیعی از آفات دارای تأثیرات بیولوژیکی از قبیل خاصیت حشره‌کشی، ضد تغذیه‌ای، دورکنندگی، بازدارندگی تخم‌گذاری و بازدارندگی رشد و نمو می‌باشند. کاربرد غیراصولی و مکرر آفت‌کش‌های متداول و مشکلات بهداشتی و زیست‌محیطی منتج از آن‌ها، دانشمندان را بر آن داشته تا جستجو برای یافتن ترکیبات ایمن‌تر را به‌طورجدی دنبال کنند تا بتوانند با تولید آفت‌کش‌های طبیعی ضمن کنترل مؤثر آفات، از مشکلات مذکور بکاهند. اهمیت بخش کشاورزی در تولید و اشتغال، مصرف مقادیر قابل‌توجه آفت‌کش‌های مصنوعی خطرناک و وارداتی بودن قسمت اعظم این آفت‌کش‌ها، وجود باقی‌مانده غیرمجاز آفت‌کش‌ها در محصولات کشاورزی، عدم تمایل مشتری‌های خارجی برای خرید این محصولات، وجود تنوع کم‌نظیر پوشش گیاهی در کشور ایران، انجام پژوهش‌های برنامه‌ریزی‌شده و منسجم در تولید آفت‌کش‌های گیاهی را ایجاب می‌نماید.

## مکانیسم اثر حشره کشی متابولیت‌های گیاهی

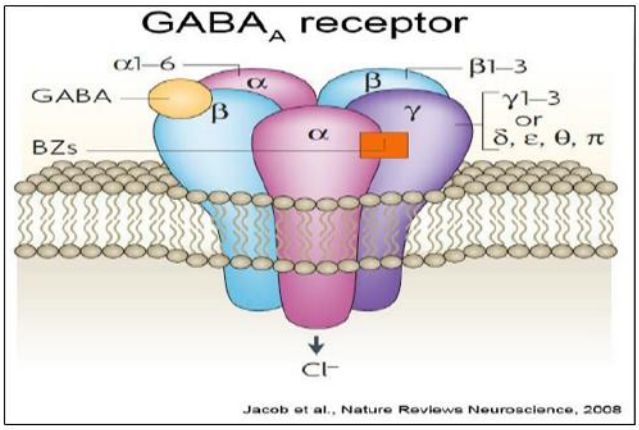
### بازدارنده استیل کولین استراز

یکی از ویژگی‌های ساختاری ترپینوئیدها، اسکلت هیدروکربنی آن‌ها است که موجب آب‌گریز بودنشان می‌شود. خیلی از این ترکیبات آب‌گریز موجب غیر فعال کردن پروتئین یا آنزیم‌ها می‌شوند. یکی از این ترکیبات حساس، استیل کولین استراز است. ترکیباتی که استیل کولین استراز را مهار یا غیرفعال می‌کنند موجب تجمع استیل کولین در سیناپس محل‌های کولینرژیک می‌شوند. این عمل موجب تحریک مداوم در فیبرهای کولینرژیک در اتصالات عصبی عضلانی می‌شود. همچنین در سیستم عصبی مرکزی و محیطی نیز موجب پاسخ‌های سمیت عصبی می‌شود که منجر به فلج شدن و درنهایت مرگ می‌شود. مهار رقابتی استیل کولین استراز در چندین مونوترپن مشاهده شده است. بعضی منوترپن‌ها به‌طور مشابه برای اثرات روی استیل کولین استراز آزمایش شدند و نتایج مقایسه‌ای نشان داد که هر دو گروه اپوکسی و کتو برای مهار غیرقابل‌برگشت موردنیاز است. بااین‌حال مطالعاتی که در شرایط آزمایشگاهی انجام شده است نشان داده که هیچ‌گونه همبستگی معنی‌داری بین شروع علائم (قبل و بعد از مرگ) و مهار استیل کولین استراز وجود ندارد. به‌عبارت‌دیگر علائمی که منجر به مرگ می‌شود را نمی‌توان به مهار استیل کولین استراز نسبت داد.

حساسیت استیل کولین استراز به حشره‌کش‌ها کاملاً اثبات شده است. محققین با استفاده از استیل کولین استراز استخراج‌شده از آفت انباری *Rhizopertha dominica* نشان دادند که مهار فعالیت استیل کولین استراز فقط در غلظت‌های بالای اسانس اتفاق می‌افتد. این دزها در چنان سطح بالایی بودند که اثر سمی مشاهده شده در in vivo با ترکیبات مشابه و حتی حشرات مشابه قابل اندازه‌گیری نبود. شکست این اسانس‌ها در ایجاد یک مهارکننده آنزیم قوی نشان داد که احتمالاً استیل کولین استراز محل اثر اصلی این اسانس‌ها نیست.

### اثر روی گیرنده‌های GABA

گیرنده‌های گابا از دو زیرگروه آلفا، دو زیرگروه بتا و یک زیرگروه گاما تشکیل شده است. وقتی گابا به محل اتصال خود در گیرنده گابا متصل می‌شود، باعث باز شدن کانال کلر شده و یون‌های کلر وارد سلول می‌شوند و بار داخل سلول را منفی تر می‌کنند. بدین ترتیب نیاز به ورود یون‌های سدیم بیشتری هنگام تحریک هست تا سلول بتواند به آستانه‌ی تحریک برسد. کانال‌های کلر سایت هدفی برای فعالیت آفت‌کش‌ها به‌عنوان آنتاگونیست هستند که با ثابت نگه‌داشتن ساختارهایی موجب این کار می‌شوند.




زیرواحدهای تشکیل‌دهنده‌ی گیرنده‌ی گابا

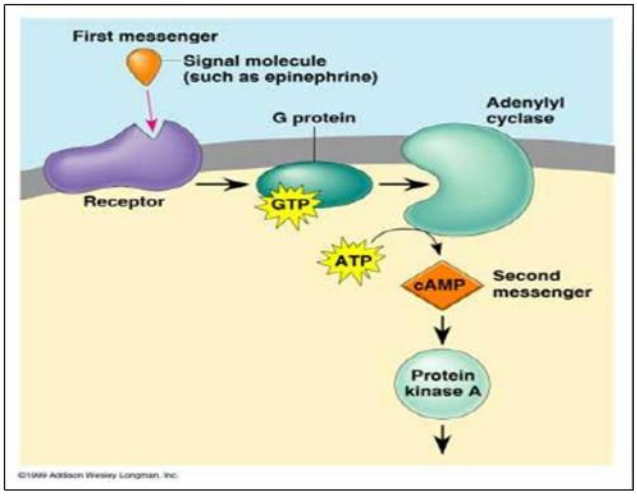
بلوکه کردن کانال‌های کلر، مهار عصبی را کاهش می‌دهد که منجر به تحریک بیش‌ازحد سیستم عصبی، تشنج و مرگ می‌شود. از مطالعات صورت گرفته چنین می‌توان نتیجه گرفت که اسانس دارای خاصیت آنتاگونیستی با GABA می‌باشد اما در این بین، مونوترپنوئید Thymol دارای اثر آگونیستی با گابا می‌باشد یعنی عمل گابا را تقلید کرده و موجب کاهش بیش‌ازحد تحریکات سلولی می‌شود. یکی از معروف‌ترین متابولیت‌های گیاهی که توسط اعضای متعلق به راسته Brassicales تولید می‌شود، Glucosinolates است. این ماده پیش ساز اولیه برای ساخت تعداد زیادی متابولیت دفاعی گیاه در برابر حشره است. زمانی که یک حشره از قسمتی از گیاه هدف تغذیه

می‌کنـد، فعالیـت آنزیـم Myrosinases بـا نـام علمـی TGGs (B ThioGlucoside Glucohydrolases) تحـت تأثیـر قرارگرفتـه و ایـن تغییـر درنهایـت منجـر بـه تولیـد پیـش سـاز اولیه Glucosinolates می‌شـود. در سـلول‌های آسـیب‌ندیده یـا سـالم، ترکیب TGGs همیشه حضور دارد و در لایه‌های عمیق‌تر سلولی غلظت آن بیشـتر اسـت. تجزیـه Glucosinolates منجـر بـه تولید ترکیب Aglycone می‌شـود. ایـن ترکیـب پایـدار نبـوده و تنهـا در شـرایط تنـش تولیـد می‌شـود. در گام بعـد ایـن ترکیـب بـه انـواع مختلفـی از ترکیبـات از جملـه IsoThioCyanate یـا ITCs تبدیـل می‌شـود ITCs. یـک ترکیـب شـیمیایی بسـیار فعـال اسـت کـه خاصیـت بـالای آنتی‌بیوتیکـی دارد. ایـن ترکیـب در فعالیت‌هـای عادی حشره اختلال ایجاد می‌کند.

**اثر روی گیرنده‌های اکتوپامین**

اکتوپامیـن در حشـرات محل هدفی برای فعالیت اسـانس‌ها می‌باشـد. اکتوپامین به‌طور طبیعی یک آمین Biogenic چندمنظوره هست که نقـش کلیـدی به‌عنـوان یـک ناقـل عصبـی، تعدیل‌کننـده عصبـی و NeuroHormone در سیسـتم حشـرات دارد و عملکـرد فیزیولوژیکـی شـبیه نورواپـی نفریـن در مهـره‌داران را دارد. اکتوپامین خـود نمی‌توانـد وارد سـلول شـود بنابرایـن اثـر خـود را روی گیرنـده اکتوپامیـن در غشـای سـلول گذاشـته و گیرنـده فعـال می‌شـود و موجب حرکت G پروتئین به سـمت آنزیم آدنیلات سـیکلاز می‌شـود و سـپس ایـن آنزیـم را فعـال کـرده و متعاقـب آن ATP را به cAMP تبدیـل می‌کنـد cAM. نیـز پروتئین کیناز را فعـال می‌کند و درنهایت در نفوذپذیری یون‌های کلسـیم در غشـای سـلول‌های ماهیچـه‌ای اثر گذاشته و موجب انقباضات ماهیچه‌ای می‌گردد.

اثـرات رفتـاری حـاد و زیـر کشـنده ترکیبـات اسـانس روی حشـرات و همچنین سـمیت کـم در پسـتانداران و دیگر مهـره‌داران، نشـان‌دهنده سـایت هـدف اکتاپامینرژیـک در حشـرات اسـت. سیسـتم اکتوپامینرژیـک در حشـرات نشـان‌دهنده سـایت هدفـی زیسـت سـازگار بـرای عملکـرد حشـره‌کش‌ها اسـت و در گذشـته مـورد هـدف حشـره‌کش‌های مختلـف مثـل Formamidineهـا بـوده اسـت. انـواع زیرگروه‌هـای گیرنـده اکتوپامیـن وجود دارنـد که شـامل OAR۲ ،OAR۱ و OAR۳ می‌باشـند و در نـوع بافـت و تمرکـز سـلولی، تمایـل بـه اکتوپامیـن و مسـیر تولیـد پیام‌رسـان ثانـوی متفاوت‌انـد. حقایـق زیـر ایـن فرضیـه کـه اسـانس ممکـن اسـت روی سـایت‌های هـدف اکتوپامینرژیـک اثـر بگـذارد را تقویت می‌نماید: ۱- پاسـخ اسـانس‌ها هماننـد ناقـل عصبـی اکتوپامیـن به‌شـدت اختصاصـی حشـرات است ۲- توانایی تقلید اثر اکتوپامین در غلظت‌های پایین ۳- نقش بازدارندگـی Phentolamine روی اسـانس‌ها کـه یـک بازدارنـده‌ی اکتوپامیـن اسـت. بـه نظـر می‌رسـد در آینـده‌ای نه‌چنـدان دور بـا فرمولاسـیون مناسـب اسـانس‌های گیاهـی از آن‌هـا بـه صـورت تجـاری علیـه آفـات اسـتفاده شـود. ازآنجاکه اسـانس‌های گیاهـی مکانیسـم‌های اثـر متفاوتـی دارنـد، بایـد بـه ایـن نکتـه توجـه کـرد کـه مکانیسـم اثـر ترکیبـات اسـانس بایـد کامـلاً شـناخته شـود تـا عمـل هـم را خنثـی نکننـد و تـا جایـی کـه ممکـن اسـت اثـر هم‌افزایـی در آن‌هـا ایجـاد کـرد. به‌احتمـال فـراوان مکانیسـم‌های عمـل دیگـری نیـز توسـط اسـانس‌ها وجـود دارد کـه هنـوز شـناخته نشـده اسـت کـه بایـد تحقیقات در این مورد ادامه داشته باشد.




مکانیسم اثر اکتوپامین بر روی گیرنده


**منابع:**

1. Heidel-Fischer, H. M. and Vogel, H. 2015. Molecular mechanisms of insect adaptation to plant secondary compounds. Current Opinion in Insect Science. 8: 8-14.

2. Mazid, M., Khan, T. and Mohammad, F. 2011. Role of secondary metabolites in defense mechanisms of plants. Biology and Medicine. 3(2):232-249.

3. Wink, M. 2010. Functions and Biotechnology of Plant Secondary Metabolites. second edition. Inc. New Delhi, India.

4. Karen, J. Kloth, Manus P.M. Thoen, Harro J. Bouwmeester, Maarten A. Jongsma and Marcel Dicke. 2012. Asscociation mapping of plant resistance to insects. Plant Science. 17(5).