

## Plants Defense Mechanisms Against Pathogens

JALAL GHOLAMNEJAD

Ardakan University, Ardakan, Iran (jgholamnezhad@ardakan.ac.ir)

Received: 03.05.2016

Accepted: 28.04.2017

Gholamnejad J. 2017. Plants defense mechanisms against pathogens. *Plant Pathology Science* 6(2):24-32.

**Abstract:** Plants have many defense mechanisms against pathogens that can be stimulated and activated by some microorganisms or chemicals. There are five types of induced resistance in plants that are included: localized acquired resistance, systemic acquired resistance, systemic gene silencing, induced systemic resistance, and systemic wounding response. Systemic acquired resistance is the most important type of induced resistance in plants that result in continuous and prolonged protection from infection against a wide range of pathogens. Formation of pathogenesis related proteins, alteration of cell wall with sedimentation and binding of polysaccharides, proteins, glycol-proteins, phenols, phytotoxins, and lignification are the stages of occurrence of this type of resistance in plants.

**Key words:** Protein, Peroxidase, Lignin, Induced resistance

## سازوکارهای دفاعی گیاهان در برابر بیمارگرها

جلال غلام‌نژاد ✉

دانشگاه اردکان

پذیرش: ۱۳۹۶/۰۲/۰۸

دریافت: ۱۳۹۵/۰۲/۱۴

غلام‌نژاد ج. ۱۳۹۶. سازوکارهای دفاعی گیاهان در برابر بیمارگرها. *دانش بیماری‌شناسی گیاهی* ۶(۲): ۳۲-۲۴. **چکیده:** گیاهان دارای سازوکارهای دفاعی متعددی هستند، که می‌توان آن‌ها را با ریزجانداران یا مواد شیمیایی تحریک و فعال کرد. پنج نوع مقاومت القایی در گیاهان عبارتند از مقاومت اکتسابی موضعی، مقاومت اکتسابی سیستمیک، تنظیم سیستمیک خاموشی ژن‌ها، مقاومت سیستمیک القاشده و واکنش سیستمیک در برابر زخم. مقاومت اکتسابی سیستمیک مهمترین نوع مقاومت القایی است، که حفاظت مداوم و طولانی‌مدت علیه آلودگی در برابر دامنه وسیعی از بیمارگرها را در گیاهان موجب می‌شود. تشکیل پروتئین‌های مرتبط با بیماری‌زایی، تغییر دیواره سلولی با رسوب و اتصال پلی‌ساکاریدها، پروتئین‌ها، گلیکوپروتئین‌ها، فنل‌ها، تولید فیتوآلکسین‌ها و لیگنینی شدن مراحل بروز این نوع مقاومت در گیاهان هستند.

**واژه‌های کلیدی:** پروتئین، پراکسیداز، لیگنین، مقاومت القایی

## مقدمه

گیاهان در برابر اغلب بیمارگرها سازوکارهای دفاعی متعددی دارند. القای مقاومت در گیاهان سال‌های طولانی است که شناخته شده است. القای مقاومت به معنی بالا بردن مقاومت گیاه با تحریک سیستم دفاعی آن توسط یک محرک است. محرکین مقاومت می‌توانند یک ماده شیمیایی یا یک جاندار باشند (Farhbakhsh and Massah 2015, Mandal 2010).

## ۱- انواع مقاومت القایی در گیاهان

۱-۱- مقاومت اکتسابی موضعی (Localized acquired resistance= LAR): در اثر تماس محرک با بافت

گیاه سازوکارهای واکنش فوق حساسیت (Hypersensitivity reaction=HR) به بیمارگر در همان محل‌های تماس، به صورت موضعی فعال می‌شوند.

۱-۲- مقاومت اکتسابی سیستمیک (Systemic acquired resistance= SAR): در اثر تماس محرک، مقاومت نسبی به بیمارگر در تمام بافت‌های گیاه به وجود می‌آید.

۱-۳- تنظیم سیستمیک خاموشی ژن‌ها (Systemic gene silencing= SGS): در این نوع القای مقاومت گروهی از ژن‌ها که قبلاً خاموش بودند، فعال می‌شوند و شروع به بیان شدن می‌کنند. به‌طور مثال اگر گیاهی به ویروس آلوده شود و این آلوده شدن در بخش‌های پایینی گیاه باشد می‌تواند این مقاومت را در بخش‌های بالایی خود هم نشان دهد. البته این بیان شدن در نهایت باعث ایجاد مقاومت اکتسابی عمومی (SAR) می‌شود.

۱-۴- مقاومت سیستمیک القا شده (Induced systemic resistance= ISR): این نوع مقاومت به‌وسیله باکتری‌های تحریک‌کننده رشد به‌صورت سیستمیک در بعضی گیاهان به وجود می‌آید.

۱-۵- واکنش سیستمیک در برابر زخم (Systemic wounding response= SWR): این نوع مقاومت به‌وسیله زخم‌هایی که غالباً بر اثر حشرات در گیاه به وجود می‌آیند، ایجاد می‌شود.

پژوهش‌هایی در مورد القای مقاومت به بیماری‌های پس از برداشت صورت گرفته است. در یکی با استفاده از دو مخمر *Candida membranifaciens* و *Rhodotorula mucilaginosa*، سیستم دفاعی میوه سیب در برابر عامل کپک آبی (*Penicillium expansum*) تحریک شده است (Gholamnejad et al. 2010).

## ۲- انواع مقاومت گیاهان در برابر بیمارگرها

۲-۱- **مقاومت غیرمیزبانی:** مقاومت غیرمیزبانی عموماً در مورد تمام ژنوتیپ‌های گوناگون یک بیمارگر در برهمکنش با همه گونه‌های یک گیاه ناسازگار گفته می‌شود. در این نوع مقاومت گیاه میزبان بیمارگر نبوده و در برابر حمله آن مصون است (Senthil-Kumar and Mysore 2013, Jafary *et al.* 2008).

۲-۲- **مقاومت اختصاصی میزبان:** این مقاومت در گیاهان با عدم توانایی بیمارگر برای رشد و گسترش و در بعضی موارد با واکنش فوق حساسیت مشخص می‌شود. این نوع مقاومت همان گونه که گفته شد مقاومت اکتسابی موضعی (LAR) نامیده می‌شود. مقاومت سیستمیک اکتسابی (SAR) حفاظت مداوم و طولانی‌مدت علیه آلودگی در برابر دامنه وسیعی از بیمارگرها را به دنبال دارد. مقاومت سیستمیک اکتسابی در بافت‌هایی به وجود می‌آید که با محل نفوذ بیمارگر فاصله داشته باشند و این نوع از مقاومت در برابر طیف وسیعی از بیمارگرها وجود دارد (Truman *et al.* 2006).

## ۳- مراحل بروز مقاومت سیستمیک اکتسابی

این نوع مقاومت طی سه مرحله بروز می‌کند.

۳-۱- تولید و تجمع پروتئین‌های مرتبط با بیماری‌زایی (PR-proteins) : این پروتئین‌ها در اثر تنش‌های مختلف اعم از زیستی مانند آلودگی به ریزجانداران و محرک‌های (Inducers) آن‌ها و غیرزیستی مانند تنش شوری و خشکی، زخم شدن مکانیکی، در گیاهان تولید می‌شوند (Tuzun and Bant 2006). بر اساس توالی آمینواسیدی و فعالیت بیوشیمیایی، این پروتئین‌ها به ۱۷ گروه PR<sub>۱</sub> تا PR<sub>۱۷</sub> طبقه‌بندی شده‌اند (Dempsey *et al.* 1998). مهمترین این پروتئین‌ها عبارتند از:

PR<sub>۱</sub>: این پروتئین‌ها در گیاهان *Arabidopsis*, *Hordeum vulgare*, *Nicotiana tabacum* و *Oryza sativa* شناسایی شده‌اند و دارای وزن مولکولی ۱۴ تا ۱۷ کیلودالتون و اغلب دارای محرک زیستی هستند (Liu and Xue 2006).

PR<sub>۲</sub>: آنزیم‌های  $\beta$ -۱,۳ گلوکاناز ( $\beta$ -1,3 Glucanase) هستند که در فرآیند دفاع علیه بیمارگرها و همچنین فرآیندهای رشد معمول در گیاه فعال هستند. وزن مولکولی آن‌ها ۳۳ الی ۴۴ کیلودالتون است (Hong and Meng 2004).

PR<sub>۲</sub>: گروهی از آنزیم‌ها با فعالیت کیتینازی و ضدقارچی هستند و دارای وزن ۱۵ الی ۴۳ کیلودالتون می‌باشند. کیتینازها را می‌توان به دو گروه کیتینازهای خارجی و کیتینازهای داخلی تقسیم کرد: کیتینازهای خارجی باعث هیدرولیز باندهای گلیکوزیدی از انتهای زنجیره می‌شوند، درحالی‌که اندوکیتینازها موجب هیدرولیز پیوندهای داخلی گلیکوزیدی می‌شوند (Saikia et al. 2005).

PR<sub>۶</sub>: (Chitin Binding Protein= CBP) پروتیین‌های متصل شونده به کیتین هستند. این پروتیین‌ها از گیاهانی مانند چغندر قند و سیب‌زمینی جداسازی شده‌اند. وزن مولکولی این گروه از پروتیین‌ها ۹ الی ۳۰ کیلودالتون است (Yang and Gong 2002).

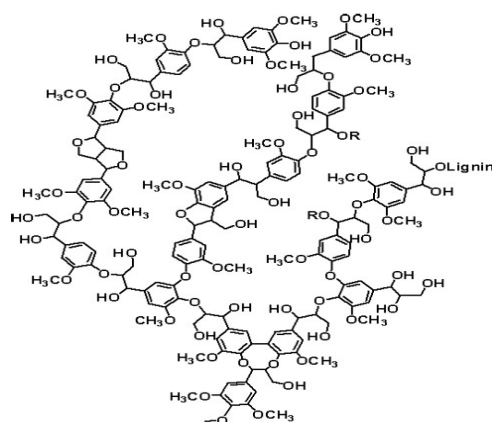
PR<sub>۵</sub>: پروتیین‌های شبه تئومتین (Thaumatin-Like Proteins= TLPs) هستند و تشکیل گروه‌های پلی‌پپتیدی را می‌دهند که شباهت بسیار بالایی با تئومتین دارند. بیشتر TLPs ها دارای وزن مولکولی ۱۸ الی ۲۵ کیلودالتون هستند (Zamani et al. 2004). این پروتیین دارای مزه شیرین است و اولین بار از درختچه‌ای در غرب آفریقا به نام *Thaumatococcus daniellii* جداسازی شده، و علت نام‌گذاری این پروتیین نام این گیاه است (Brandazza et al. 2004). این گروه از پروتیین‌ها از گیاهانی مانند جو، کیوی و ذرت نیز جداسازی شده‌اند. این پروتیین‌ها دارای خاصیت ضدقارچی قوی هستند (Shatters et al. 2006). تحقیقات جدید نشان داده است که این پروتیین‌ها در سایر جانداران هم وجود دارند (Mukherjee et al. 2010). پژوهش مولکولی نشان داده که میزان بیان ژن‌های مرتبط با TLPs در گیاهانی که به‌وسیله باکتری‌ها، قارچ‌ها و امیست‌ها (*Oomycetes*) آلوده می‌شوند، افزایش معنی‌داری پیدا می‌کند (Wang et al. 2010). گیاهانی که تحت تنش این پروتیین را می‌سازند، آن را به داخل آپوپلاست ترشح می‌کنند. بیش از ۲۰ نوع TLP در جانوران، گیاهان و قارچ‌ها شناسایی شده‌اند که خاصیت ضدقارچی دارند. سازوکارهای ضدقارچی متفاوتی برای این مواد پیشنهاد شده است. افزایش نفوذپذیری غشای سلولی، باند شدن به بتا-گلوکان و تخریب آن، جلوگیری از ترشح آنزیم‌هایی مانند زیلاناز، آلفا-آمیلاز و تریپسین، از جمله فعالیت‌های ضدقارچی این پروتیین‌ها هستند (Fierens et al. 2007).

این پروتیین‌های دفاعی هم در تک‌لپه‌ای‌ها و هم در دولپه‌ای‌ها تجمع پیدا می‌کنند و دارای فعالیت

ضد میکروبی قوی هستند (Kim et al. 2008).

۳-۲- تجمع و اتصال مواد در دیواره سلولی: دیواره سلولی گیاه با رسوب و اتصال پلی‌ساکاریدها، پروتئین‌ها، گلیکوپروتئین‌ها و فنل‌ها استحکام بیشتری می‌یابد. البته تحریک سیستم دفاعی گیاه می‌تواند زنجیره‌ای از واکنش‌ها را که منتهی به ساخته شدن متابولیت‌های ثانویه در گیاهان می‌شوند که بعضی از آن‌ها فعالیت پادزیستی دارند، مانند فیتوالکسین‌ها (Phytoalexins)، را باعث شود (Passardi et al. 2004).

۳-۳- لیگنینی شدن: بعد از سلولز فراوان‌ترین ماده آلی در دیواره سلول‌های گیاهان، لیگنین است (Theis and Lerdau 2003). لیگنین پلیمری بسیار منشعب و پیچیده از اسیدهای آمینه‌ای فنیل‌پروپان است (شکل ۱). لیگنینی شدن از سازوکارهای سریع دفاعی است که در هنگام هجوم بیمارگر، گیاه از خود بروز می‌دهد. لیگنینی شدن هم در آوند آبکش و هم آوند چوبی آلوده اتفاق می‌افتد. این واکنش در شدت‌های بالاتر در گیاهان مقاوم نسبت به حساس مشاهده می‌شود. زمانی که برگ‌های برنج با استرین ناسازگار باکتری *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* تلقیح شوند ترکیباتی مشابه ساختار لیگنین در برگ‌ها تجمع پیدا می‌کنند. از میان ایزوآنزیم‌های مختلف آنزیم پراکسیداز تنها تعدادی در القای عمل لیگنینی شدن و مقاومت به بیماری نقش دارند (Giberti et al. 2012). در برگ‌های اولیه گیاه لوبیای Red Mexican تلقیح شده با *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*، رسوب لیگنین در نواحی تلقیح شده در واکنش ناسازگار مشاهده می‌شود. فعالیت پراکسیداز هم در ناحیه موردنظر در واکنش ناسازگار، به میزان زیادی می‌تواند به پراکسیداز آبیونی پس از تلقیح نسبت داده شود (Nowogórska and Patykowski 2015). امروزه به‌وسیله روش‌های جدید، انتقال ژن سنتزکننده لیگنین به درختان به‌خصوص درختان جنگلی میسر شده است. با



شکل ۱- لیگنین Figure 1- Lignin

استفاده از روش‌های مهندسی ژنتیک می‌توان روی کیفیت لیگنین تأثیر گذاشت. هدف از تغییر لیگنین افزایش میزان آن و همچنین افزایش کیفیت آن جهت بالا بردن دفاع گیاهی و همچنین قابلیت برداشت آسان‌تر آن جهت تسهیل در فرایند کاغذسازی می‌باشد. در زمینه بیوسنتز لیگنین، هدف جدا کردن آنزیم لیگنین پلیمرز و ژن مربوط به آن است (Ten et al. 2014).

تأثیر اسید سالیسیلیک (Salicylic acid) روی نشانه‌های بیماری سپتوریای برگی در ارقام گندم حساس (اترک و کویر) و متحمل (دریا و زاگرس) در شرایط گلخانه بررسی شده است. رقم زاگرس در سطح چهار میلی‌مولار اسید سالیسیلیک با کمترین شدت بیماری و رقم اترک در سطح ۰/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک بیشترین شدت بیماری را در این آزمون نشان دادند. بر اساس نتایج این تحقیق بهترین غلظت پیشنهادی برای پاشش روی برگ‌های گندم ۲ میلی‌مولار است و اسید سالیسیلیک به‌عنوان یک القاگر قوی برای تحریک سیستم دفاعی گیاه در نظر گرفته شد (Gholamnezhad et al. 2013). همچنین در پژوهشی دیگر با مخمر *Rhodotorula mucilaginosa* (A1) باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز به عنوان القای پاسخ‌های دفاعی و مهار کپک آبی سیب *Penicillium expansum* شده است (Gholamnezhad et al. 2011).

### نتیجه‌گیری و پیشنهاد

گیاهان دارای سازوکارهای دفاعی متعددی هستند، که می‌توان آن‌ها را با ریزجانداران یا مواد شیمیایی تحریک و فعال کرد. مقاومت سیستمیک اکتسابی (SAR) مهمترین نوع مقاومت القایی است، که حفاظت مداوم و طولانی‌مدت علیه آلودگی در برابر دامنه وسیعی از بیمارگرها را در گیاهان موجب می‌شود. تجمع پراکسیداز و دیگر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان اغلب با شروع القای مقاومت ارتباط دارد. فنیل‌پروپانویدها نیز متابولیت‌های ثانویه گیاهی هستند که در مسیر ساخت لیگنین و ترکیبات پادزیستی فنلی تأثیر دارند. اسید سالیسیلیک و اسیدجاسمونیک نیز نقش سیگنال را در شروع این واکنش‌ها ایفا می‌کنند. اخیراً به‌وسیله روش‌های مهندسی ژنتیک، انتقال ژن‌های دفاعی از جمله ژن سنتزکننده لیگنین میسر شده است. با استفاده از روش‌های کلون‌سازی و انتقال ژن می‌توان محل این ژن‌ها را در گیاهان مقاوم شناسایی کرد و آن‌ها را به گیاهان حساس انتقال داد. با استفاده از نتایج تحقیقاتی که در زمینه ترکیبات دفاعی گیاهی از جمله لیگنین صورت گرفته است، پیشنهاد می‌شود که ژن‌هایی که در مسیرهای دفاعی در گیاهان شرکت می‌کنند مورد

شناسایی قرار بگیرند و سپس با استفاده از روش‌های انتقال ژن به گیاهان حساس با صفات مطلوب منتقل شوند و گیاهان با صفات مطلوب زراعی و مقاوم به بیمارگرها تولید شوند.

## References

## منابع

۱. فرحبخش ف. و مساح، ا. ۱۳۹۳، ژنتیک مقاومت به بیماری‌های گیاهی. *دانش بیماری‌شناسی گیاهی* ۴: ۶۳-۷۴.
2. Brandazza A., Angeli S., Tegoni M., Cambillau C. and Pelosi P. 2004. Plant stress proteins of the thaumatin-like family discovered in animals. *FEBS Letters* 572:3-7.
3. Dempsey D. M. A., Silva H. and Klessig D. F. 1998. Engineering Disease and Pest Resistance in Plants. *Trends Microbiology* 6:54-61.
4. Farahbakhsh F. and Massah A. 2015. Genetic of resistance to plant disease. *Plant Pathology Science* 4:64-74.
5. Fierens E., Rombouts S., Gebruers K., Goesaert H., Brijs K., Beaugrand J., Volckaert G., Van Campenhout S., Proost P., Courtin C. M. and Delcour J. A. 2007. TLX1, a novel type of xylanase inhibitor from wheat (*Triticum aestivum*) belonging to the thaumatin family. *Biochemical Journal* 403:583-591.
6. Gholamnejad J., Etebarian H. R., Roustae A., Sahebani N. A. 2009. Biological control of apples blue mold by isolates of *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Plant Protection Research* 49:270275.
7. Gholamnejad J., Etebarian H. R. and Sahebani N. 2010. Biological control of apple blue mold with *Candida membranifaciens* and *Rhodotorula mucilaginosa*. *African Journal of Food Science* 4:001-007.
8. Giberti S., Berteza C. M., Narayana R., Maffei M. E. and Forlani G. 2012. Two phenylalanine ammonia lyase isoforms are involved in the elicitor-induced response of rice to the fungal pathogen *Magnaporthe oryzae*. *Journal of Plant Physiology* 169:249-254.
9. Gong M., Li Y., Dai X., Tian M. and Li Z. 2001. Involvement of calcium and calmodulin in the acquisition of HS induced thermo tolerance in maize seedling. *Journal of Plant Physiology* 150:615-621.
10. Hong T. Y. and Meng M. 2004. Biochemical characterization and antifungal activity of an endo-1,3- $\beta$ -glucanase of *Paenibacillus* sp. isolated from garden soil. *Applied Microbiology and Biotechnology* 61:472-478.

11. Jafary H., Albertazzi G., Marcel T. C. and Niks R.E. 2008. High diversity of genes for nonhost resistance of barley to heterologous rust fungi. *Genetics* 178:2327-2339.
12. Kim Y. H., Kim C.Y., Song W. K., Park D. S., Kwon S. Y., Lee H. S., Bang J. W. and Kwak S. S. 2008. Overexpression of sweet potato swpa4 peroxidase results in increased hydrogen peroxide production and enhances stress tolerance in tobacco. *Planta* 227:867-881.
13. Lange B. M., Lapierre C., Sandermann H Jr. 1995. Elicitor-induced spruce stress lignin (structural similarity to early developmental lignins). *Plant Physiology* 108:1277-1287.
14. Liu Q. and Xue Q. 2006. Computational identification of novel PR-1-type genes in *Oryza sativa*. *Journal of Genetics* 85:193-198.
15. Mandal S. 2010. Induction of phenolics, lignin and key defense enzymes in eggplant (*Solanum melongena* L.) roots in response to elicitors. *African Journal of Biotechnology* 9:8038-8047.
16. Marjamaa K., Kukkola E. M. and Fagerstedt K. V. 2009. The role of xylem class III peroxidases in lignification. *Journal of Experimental Botany* 60:367-376.
17. Mohr P. and Cahill D. M. 2001. Relative roles of glyceollin, lignin and the hypersensitive response and the influence of ABA in compatible and incompatible interactions of soybeans with *Phytophthora sojae*. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 58:31-41.
18. Mukherjee A. K., Carp M. J., Zuchman R., Ziv T., Horwitz B. A. and Gepstein S. 2010. Proteomics of the response of *Arabidopsis thaliana* to infection with *Alternaria brassicicola*. *Journal of Proteomics* 73:709-720.
19. Niderman T., Genetet I., Buryere T. and Gees R. 1995. Pathogenesis-related PR-1 proteins are antifungal. isolation and characterization of three 14-kilodalton proteins of tomato and of a basic PR-1 of tobacco with inhibitory activity against *Phytophthora infestans*. *Plant Physiology* 108:17-27.
20. Niks R. E., Parlevliet, J. E., Lindhout P. and Y. Bai. 2011. Breeding crops with resistance to disease and pests. Wageningen Academic Press, Wageningen, The Netherlands, 202.
21. Passardi F., Tognolli M., de Meyer M., Penel C. and Dunand C. 2006. Two cell wall associated peroxidases from *Arabidopsis* influence root elongation. *Planta* 223:965-974.
22. Rengel D., Graham R. and Pedler J. 1994. Time-course of biosynthesis of phenolics and lignin in root of wheat genotypes differing in manganese efficiency and resistance to take-all fungus. *Annals of Botany* 74:471-477.



23. Saikia R., Singh B. P., Kumar R. and Arora D. K. 2005. Detection of Pathogenesis-related Proteins– Chitinase and  $\alpha$ -1,3-Glucanase in Induced Chickpea: *Current Science* 89:659-663.
24. Senthil-Kumar M., Mysore K. S. 2013. Nonhost resistance against bacterial pathogens: retrospectives and prospects. *Annual Review Phytopathology* 51:407-27.
25. Shatters R. G., Boykin L. M., Lapointe S. L., Hunter W. B. and Weathersbee A. A. 2006. Phylogenetic and structural relationships of the PR5 gene family reveal an ancient multigene family conserved in plants and select animal taxa. *Journal of Molecular Evolution* 63:12-29.
26. Ten E., Ling C., Wang Y., Srivastava A., Dempere L. A. and Vermerris W. 2014. Lignin nanotubes as vehicles for gene delivery into human cells. *Biomacromolecules* 13:327-338.
27. Theis N. and Lerdau M. 2003. The evolution of function in plant secondary metabolites. *International Journal of Plant Science* 164:93–102.
28. Truman W., de Zabala M. T. and Grant M. 2006. Type III effectors orchestrate a complex interplay between transcriptional networks to modify basal defense responses during pathogenesis and resistance. *The Plant Journal* 46:14–33.
33. Tuzun S. and Bant, E. 2006. The possible role of PR proteins in multigenic and induced systemic resistance. In *Multigenic and induced systemic resistance in plants*. 112-142. Springer US.
34. 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.
35. Wang X., Tang C., Deng L., Cai G., Liu X., Han Q., Buchenauer H., Wei G., Han D., Huang L. and Kang Z. 2010. Characterization of a pathogenesis-related thaumatin-like protein gene TaPR5 from wheat induced by stripe rust fungus. *Physiologia Plantarum* 139:27-38.
36. Yang Q. and Gong Z. 2002. Purification and characterization of an ethylene-induced antifungal protein from leaves of guelder rose (*Hydrangea macrophylla*). *Protein Expression and Purification*, 24:76-82.
37. Zamani A., Sturrock R. N., Ekramoddoullah A. K. M., Liu J. J. and Yu X. 2004. Gene cloning and tissue expression analysis of a PR-5 thaumatin-like protein in *Phellinus weirii* infected douglas-fir. *Biochemistry and Cell Biology* 94:1235-1243.