

## تجزیه عملکردی QTL های مرتبط با مقاومت میزبانی و غیر میزبانی در گیاه جو به قارچ های عامل زنگ برگی با استفاده از نشانگرهای SNP

### توالی یابی

#### Functional analyses of QTLs conferring host and non-host resistance of barley to leaf rust fungi using sequence- based SNP markers

انسیه میرزاعلی بابایی<sup>۱\*</sup>، حسین جعفری<sup>۲</sup>، محمد رضا عظیمی<sup>۳</sup>

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه اصلاح نباتات، دانشگاه زنجان

۲- دانشیار، بخش تحقیقات گیاه پزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، زنجان، ایران

۳- استادیار، گروه اصلاح نباتات، دانشگاه زنجان

Mirza Ali Babaei E<sup>\*1</sup>, Jafary H<sup>2</sup>, Azimi MR<sup>3</sup>

1- MSc Student, Department of Plant Breeding, University of Zanjan

2- Associate Professor, Plant Protection Research Department, Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Zanjan, Iran

3- Assistant Professor, Department of Plant Breeding, University of Zanjan

\* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: e.babaei@znu.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۹۵/۴/۲۶ - تاریخ پذیرش: ۹۶/۵/۱۷)

### چکیده

استفاده از گیاهان مقاوم، بهترین و مؤثرترین راه برای کنترل بیماری هایی مانند زنگ ها است. مقاومت میزبانی و غیرمیزبانی دو نوع از مقاومت ذاتی گیاهان در برابر عوامل بیماری زا است که به ترتیب در مقابل پاتوژن های سازگار و ناسازگار بروز می یابد. یکی از راه های اطلاع از ماهیت ژن های دخیل در این دو نوع مقاومت، استفاده از تجزیه عملکردی QTL های مقاومت می باشد. برای این منظور، QTL های مرتبط با مقاومت میزبانی و غیرمیزبانی در جو بر علیه تعدادی از قارچ های عامل زنگ برگی که در مطالعات قبلی در دو توده نقشه یابی Vada × Susprtrit و Cebada Capa × Susprtrit مکان یابی شده بودند استخراج شد و هموقوعی نشانگرهای مرتبط با هر یک از QTL ها با نشانگرهای SNP بررسی شد. نشانگرهای SNP دارای هموقوعی بالا به عنوان نشانگرهای مرتبط با مقاومت انتخاب و با استفاده از توالی هر یک از نشانگرها نسبت به بلاست آن ها در بانک های اطلاعاتی اقدام شد. با بررسی همولوژی توالی نشانگرهای SNP با ژن های موجود در بانک های اطلاعاتی، خصوصیات هر یک از ژن های با تشابه بالا از نظر عملکرد، دمین های حفاظت شده و ساختار ژن ها مورد بررسی قرار گرفت. نتایج بررسی ها نشان داد بیش تر ژن های مقاومت میزبانی و غیرمیزبانی در فعالیت انتقال، هدایت پیام و رونویسی DNA مشارکت دارند و از نظر عملکرد مولکولی، مشابه اند. مشاهده شد، محصولات هر دو گروه ژن در محل غشای پلاسمایی، هسته و کلروپلاست، فعالیت دارند و فرایندهای رونویسی، متابولیک، پاسخ به تنش و پردازش RNA، مشابه اند. نتایج این تحقیق نشان داد که علاوه بر مکانیسم، احتمالاً ژنتیک دو نوع مقاومت میزبانی و غیرمیزبانی شباهت های زیادی دارد.

### واژه های کلیدی

تجزیه عملکردی

جو

مقاومت

QTL

است (Young 1996). مطالعات انجام گرفته نشان داده که مقاومت نسبی برعلیه زنگ‌ها، در غلاتی مانند گندم و جو، ماهیتی پلی ژنیک داشته و به وسیله ژن‌های کوچک اثر (QTL)، کنترل می‌شوند (Qi et al. 1998). براساس تحقیقات انجام یافته، چندین QTL مرتبط با مقاومت نسبی و مقاومت غیر میزبانی به قارچ‌های عامل زنگ برگی در جو مکان یابی شده‌است (Jafary et al. 2008; Jafary et al. 2006). در این مطالعات همپوشانی‌های قابل توجهی در خصوص QTL های دخیل در مقاومت میزبانی و غیر میزبانی نشان داده شده‌است. با این حال از آنجایی که QTL ها در واقع منطقه‌ای از ژنوم را، که با صفت مورد مطالعه ارتباط دارد مشخص می‌کنند و اطلاعات دیگری در خصوص ماهیت، ساختار و توالی ژن‌ها ارائه نمی‌کنند، با مکان‌یابی آن‌ها عملاً اطلاعاتی در خصوص عملکرد ژن‌های دخیل در مقاومت حاصل نمی‌شود. یکی از راه‌های به دست آوردن این اطلاعات استفاده از تجزیه عملکردی QTL های مکان‌یابی شده‌است که به وسیله آن می‌توان ساختار و ماهیت ژن‌ها را مطالعه و در خصوص تشابه یا تمایز ساختاری و عملکردی ژن‌های دخیل در مقاومت میزبانی و غیر میزبانی اظهار نظر نمود.

از آنجایی که بیوانفورماتیک برنامه‌ای از تکنولوژی اطلاعات است که داده‌های مربوط به ژنوم گیاهی را مدیریت می‌کند (Singh et al. 2011)، می‌توان از آن به‌عنوان ابزاری برای بررسی عملکردی ژن‌ها و QTL های دخیل در مقاومت استفاده کرد. در میان مطالعات بیوانفورماتیکی، تعیین گروه‌های کارکردی یک ابزار مفید و جامع برای تفسیر کارکردی اطلاعات ژنوم محسوب می‌شود (Rupp 2003). یکی دیگر از ابتکارات بیوانفورماتیکی، هستی‌شناسی ژن است که یک زبان سیستماتیک برای توصیف ویژگی ژن‌ها و محصولات ژنی در سه حوزه کلیدی عملکرد مولکولی، فرایند بیولوژیک و ترکیبات سلولی می‌باشد (Diehl et al. 2004; Eilbeck et al. 2007). در این پژوهش با بررسی دمن‌های حفاظت شده و تجزیه هستی‌شناسی ژن اقدام به گروه‌بندی ژن‌ها از نظر عملکرد شد. تجزیه بر اساس دمن‌های پروتئینی تأثیر عمیقی بر تکمیل اطلاعات مربوط به پروتئین‌ها

با وجود پیشرفت‌های قابل توجه در استراتژی‌های کنترل بیماری‌های گیاهی، تأمین مواد غذایی در جهان، هنوز هم توسط بسیاری از پاتوژن‌ها و حشرات تهدید می‌شود (John et al. 2003). زنگ‌ها یکی از انواع پاتوژن‌های قارچی هستند که به لحاظ گسترش جهانی، اهمیت اقتصادی، تعدد میزبان‌ها و اختصاص یافتگی میزبانی دارای جایگاه ویژه‌ای بین عوامل بیماری‌زا هستند و از مخرب‌ترین بیماری‌های غلاتی مانند گندم، یولاف و جو به شمار می‌روند (Mehravaran 1998).

زنگ برگی جو با عامل *Puccinia hordei* یکی از مهم‌ترین بیماری‌های جو است که سالانه به‌طور قابل ملاحظه‌ای عملکرد آن را کاهش می‌دهد. زنگ برگی در نواحی جو کاری بهاره و زمستانه در ایالت متحده آمریکا، آفریقا، اروپا، نیوزیلند، استرالیا و بعضی از کشورهای آسیایی انتشار گسترده‌ای دارد و در مناطقی که رسیدن محصول به تأخیر می‌افتد، خسارت زیادی به محصول جو وارد می‌کند (Mathre 1985). کاهش محصول در اثر زنگ برگی در ارقام حساس، ۳۲ درصد گزارش شده‌است (Marcel 2007). استفاده از ارقام مقاوم، بهترین و مؤثرترین راه کنترل بیماری است (Eyal 1981). با توجه به ماهیت تعامل گیاه-پاتوژن، گیاهان دو مکانیسم دفاعی مهم شامل مقاومت میزبانی و مقاومت غیرمیزبانی را توسعه داده‌اند (Heath 2000). مقاومت میزبانی به دو شکل مقاومت فوق حساسیت (Hypersensitive resistance) و مقاومت نسبی (Partial resistance) بروز می‌یابد که به ترتیب با ژن‌های بزرگ اثر و کوچک اثر کنترل می‌شوند (Niks et al. 2011). مقاومت غیرمیزبانی به‌علت پایداری بیش‌تری که دارد، از یک گیاه، در برابر بسیاری از پاتوژن‌های بالقوه محافظت می‌کند (Niks and Marcel 2009). این نوع از مقاومت در طیف وسیعی توسط همه گیاهان یک گونه در برابر یک پاتوژن خاص رخ می‌دهد (Heath 2000).

دستیابی به موفقیت در برنامه‌های اصلاحی به‌منظور افزایش کارایی ارقام مقاوم به بیماری‌ها، مستلزم آگاهی و اطلاعات کافی در زمینه ماهیت ژنتیکی و عملکرد ژن‌های مؤثر در ایجاد مقاومت است. یک ابزار بسیار مؤثر برای مطالعه مقاومت به بیماری‌ها، نقشه‌یابی مکان‌های ژنی مرتبط با مقاومت کمی (QTL Mapping)

<sup>1</sup> Minor genes

ژنوتایپینگ شدند که نسخه‌های از این داده‌ها جهت تجزیه‌های اخیر در اختیار مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان زنجان قرار گرفت. در مجموع تعداد ۲۸۸۷ نشانگر SNP پلی مورفیک برای توده نقشه‌یابی  $Su \times V$  و تعداد ۲۴۸۵ نشانگر پلی مورفیک برای توده نقشه‌یابی  $Su \times CC$  توسعه داده شد. فایل اطلاعات نشانگرهای SNP علاوه بر الگوی تفرق نشانگرها دارای اطلاعات لازم در خصوص توالی پروب‌های مربوطه بود. علاوه بر آن فایل داده دیگری برای دست‌یابی به توالی کامل تری از ژن‌ها یا EST های مرتبط با هر یک از پروب‌ها در دسترس قرار گرفت. به این ترتیب برای هر یک از نشانگرهای SNP اطلاعات کامل تری از توالی پروب‌ها و ژن‌های مرتبط تهیه شد.

با بررسی هم‌وقوعی در نتایج تفرق نشانگرهای SNP با تفرق نشانگرهای AFLP مرتبط با هر یک از QTL های مقاومت میزبانی و غیر میزبانی، SNP های دارای هم‌وقوعی<sup>۱</sup> بالا با نشانگرهای مجاور مرتبط با QTL ها انتخاب و از روی توالی SNP ها، به بررسی عملکرد هر یک از ژن‌ها پرداخته شد.

با مراجعه به سایت NCBI<sup>۲</sup> و استفاده از الگوریتم BLASTX، توالی مربوط به هر یک از نشانگرهای SNP با توالی‌های ثبت شده در پایگاه داده برای گیاهان جو، برنج، گندم و برآکی پودیوم مقایسه و در صفحه نتایج حاصل از BLAST، توالی که کم‌ترین E-Value را نشان می‌داد به‌عنوان مشابه‌ترین توالی پروتئینی با توالی مورد نظر انتخاب و اطلاعات مربوط به آن ثبت شد. در گام بعدی با استفاده از این اطلاعات، اقدام به تعیین گروه‌های کارکردی ژن‌های اعطا کننده مقاومت شد. برای این منظور، دو روش مورد استفاده قرار گرفت:

در روش اول با مراجعه پایگاه اطلاعاتی NCBI و قسمت CD search، دمن‌های حفاظت شده هر یک از ژن‌ها تعیین شد و با استفاده از اطلاعات سایت Pfam و مطالعه مقالات مرتبط، دمن‌هایی که از نظر عملکرد و وظیفه مشابه بودند در یک گروه قرار گرفتند.

در روش دوم با استفاده از برنامه اینترنتی DAVID bioinformatics Resources 6.7 و جستجو در پایگاه اطلاعاتی

می‌گذارد (Copley et al. 2002). تحقیق پیش رو، با هدف تجزیه عملکردی QTL های مقاومت میزبانی و غیرمیزبانی در جو، نسبت به قارچ‌های عامل زنگ، مشخص کردن ژن‌های کاندید و تعیین میزان هم پوشانی بین ژن‌های کاندید در مقاومت میزبانی و غیر میزبانی صورت گرفت. در این مطالعه سعی شد تا به این پرسش پاسخ داده شود که آیا ژن‌های کاندید مرتبط با QTL های دخیل در مقاومت میزبانی و غیر میزبانی به گروه‌های متفاوتی تعلق دارند یا خیر؟ برای این منظور، QTL های مقاومت میزبانی و غیر میزبانی در برابر قارچ‌های مختلف زنگ که توسط (Qi et al (1998), Jafary et al (2006; 2008) و Marcel et al. (2007) نقشه‌یابی شده بودند، جمع‌آوری و با استفاده از روش‌های بیوانفورماتیکی به بررسی عملکرد ژن‌های این QTL ها پرداخته شد.

### مواد و روش‌ها

اطلاعات مربوطه به QTL های اعطا کننده مقاومت میزبانی در جو نسبت به قارچ عامل زنگ برگگی جو (*Puccinia hordei*) و QTL های مرتبط با مقاومت غیر میزبانی در جو نسبت به قارچ‌های عامل زنگ *Puccinia hordei-murini*، *Puccinia triticina*، *Puccinia persistens*، *Cebada caba* × *Susprtrit*، *Puccinia coronata agropyrina*، *Puccinia tritici*، *Puccinia graminis f.sp. tritici* در جمعیت *Susprtrit* × *Vada* حاصل مطالعات (Marcel et al. (2007) و Jafary et al. (2006) از بانک اطلاعاتی (<http://www.wheat.org>) GrainGenes 2.0 ([pw.usda.gov/](http://pw.usda.gov/)) استخراج شد. جمعیت RILs تحت عنوان  $V \times Su$  حاصل از تلاقی *Susprtrit* و *Vada* با ۱۵۲ لاین و نقشه لینکاژی با ۴۵۰ مارکر (Jafary et al. 2006) و جمعیت RILs تحت عنوان  $CC \times Su$  حاصل از تلاقی بین *Susprtrit* و *Cebada Capa* با ۱۱۳ لاین، نقشه لینکاژی با ۴۵۹ مارکر (Jafary et al. 2008) در دانشگاه واخنینگن هلند تهیه شده‌است.

در سال ۲۰۱۲ تعداد ۹۴ لاین به همراه دو والد توده نقشه‌یابی  $Su \times V$  و ۹۲ لاین به همراه والدین توده  $CC \times Su$  در دانشگاه واخنینگن هلند با استفاده از نشانگرهای Sequenced based SNP

<sup>1</sup> Association

<sup>2</sup> <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>

می‌دهد که در گیاه جو ژن‌های مقاومت میزبانی و غیرمیزبانی به پاتوژن‌های عامل زنگ با اعمال فرایندهای سلولی مشابهی منجر به مقاومت گیاه در برابر پاتوژن‌ها می‌شوند و نکته قابل توجه این است که هر دو گروه ژن‌ها در سه فرایند انتقالات غشایی، هدایت سیگنال و رونویسی، بیش‌ترین فعالیت را داشتند. فعالیت ژن‌های مقاومت میزبانی در گروه‌های عملکردی رونویسی، ترجمه و تأمین انرژی، نسبت به ژن‌های مقاومت غیر میزبانی بیشتر بود. این اختلاف در مورد ژن‌های مقاومت غیرمیزبانی، در گروه کارکردی انتقال دهنده به چشم می‌خورد. توزیع ژن‌ها در سایر گروه‌های عملکردی، بین دو گروه ژن اختلاف چندانی نداشت.

بررسی ژن‌های مقاومت، از نظر دمین‌های حفاظت شده، با استفاده از پایگاه اطلاعاتی NCBI مشخص کرد که، دمین‌های AAA و DEAD متعلق به خانواده بزرگ<sup>1</sup> P-loop\_NTPase، در ساختار هر دو گروه ژن مقاومت میزبانی و مقاومت غیر میزبانی وجود دارند. پروتئین‌های AAA+ در تعمیر وابسته به انرژی ماکرومولکول‌ها دخالت دارند و در فرایند باز کردن پیچش‌های پروتئین و تجزیه آن، بیوژنز پراکسی‌زوم، نوترکیبی و همانندسازی DNA درگیر می‌شوند (Snider et al. 2008). در یک مطالعه ژن *OsBIRHI* در برنج، که پروتئین RNA هلیکاز جعبه DEAD را کد می‌کند کلون و بررسی شد و نتایج نشان داد که *OsBIRHI*، یک RNA هلیکاز مربوط به جعبه DEAD تولید می‌کند که نقش مهمی در دفاع در برابر تنش زنده و غیر زنده بازی می‌کند. بر اساس نتایج مطالعه مذکور، RNA هلیکازهای جعبه DEAD به‌عنوان واسطه متابولیسم RNA در تنظیم پاسخ دفاعی گیاه فعالیت می‌کنند (Li et al. 2008).

هم‌چنین بر اساس نتایج به‌دست آمده از پایگاه اطلاعاتی NCBI، مشخص شد، دمین ABC<sub>2</sub>\_membrane متعلق به خانواده بزرگ ABC<sub>2</sub>\_membrane با کد CL00664 نیز در ساختار هر دو گروه ژن مورد مطالعه، وجود دارد.

انتقال دهنده‌های ABC پروتئین‌های انتقال دهنده غشایی هستند که از انرژی حاصل از هیدرولیز ATP برای انجام فرآیندهای بیولوژیکی خاص مانند انتقالات غشایی و ترمیم DNA و ترجمه RNA، استفاده می‌کنند (Davidson et al. 2008). نشان داده شده

Uniprot، هستی شناسی ژن‌ها در سه حوزه عملکرد مولکولی، فرایندهای بیولوژیک و اجزای سلولی بررسی شده و پروتئین‌هایی که از لحاظ هستی شناسی ژن در هر یک از سه حوزه مشابه بودند در یک گروه قرار گرفتند. سرویس اینترنتی DAVID شاخص P-Value را برای ژن‌های غیر میزبانی  $< 0.05$  و برای ژن‌های مقاومت میزبانی  $< 0.1$  در نظر گرفت.

## نتایج

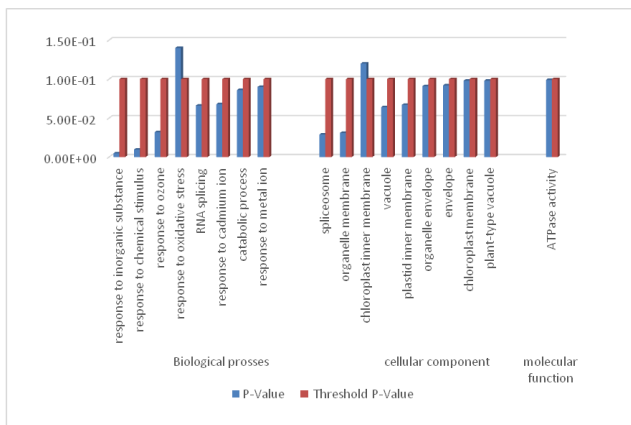
تشابه توالی نشانگرهای SNP که به‌عنوان ژن کاندید انتخاب شده بودند، با استفاده از الگوریتم BLASTX در پایگاه اطلاعاتی NCBI بررسی شد و نتایج نشان داد که توالی ۷۸ درصد از ژن‌های مرتبط با مقاومت میزبانی و ۶۹ درصد از ژن‌های مرتبط با مقاومت غیر میزبانی با توالی‌های پروتئینی موجود در پایگاه اطلاعاتی NCBI دارای تشابه بالایی (بین ۱۰۰ - ۸۰ درصد) است. این توالی‌های مشابه با E-Value های کمتر از  $1 \times 10^{-5}$  انتخاب شدند. نتایج جستجوی تشابه توالی برای ۲۲ درصد و ۳۱ درصد باقی‌مانده از توالی ژن‌های مقاومت میزبانی و غیرمیزبانی، بسیار ضعیف بود.

بر اساس اطلاعات به‌دست آمده از بررسی دمین‌ها، دمین‌های مربوط به ژن‌های مقاومت میزبانی و غیر میزبانی به پاتوژن‌های عامل زنگ، در ۸ گروه عملکردی انرژی، انتقال دهنده‌ها (ترانسفراز و ترانسپورتر)، متابولیسم، پاسخ به تنش، رونویسی و ترمیم DNA، هدایت سیگنال، فعالیت هیدرولازی، ترجمه و پردازش RNA قرار گرفتند. تعدادی از دمین‌ها عملکرد شناخته شده‌ای نداشته و در پایگاه‌های اطلاعاتی متعلق به یک ابر خانواده بودند از این رو آن‌ها در یک گروه به‌نام ناشناخته، دسته بندی شدند. بر اساس نتایج به‌دست آمده از این گروه‌بندی، مشخص شد ژن‌های مرتبط با مقاومت غیرمیزبانی به پاتوژن عامل زنگ، بیش‌تر از طریق کنترل فرایند هدایت سیگنال و نقل و انتقالات داخل سلولی، مکانیسم‌های مقاومت را کنترل می‌کنند. هم‌چنین نتایج این بررسی نشان داد، بیش‌تر ژن‌های مقاومت میزبانی در گروه‌های عملکردی رونویسی و ترمیم DNA، انتقالات غشایی یا درون سلولی و هدایت سیگنال، فعالیت دارند. این یافته نشان

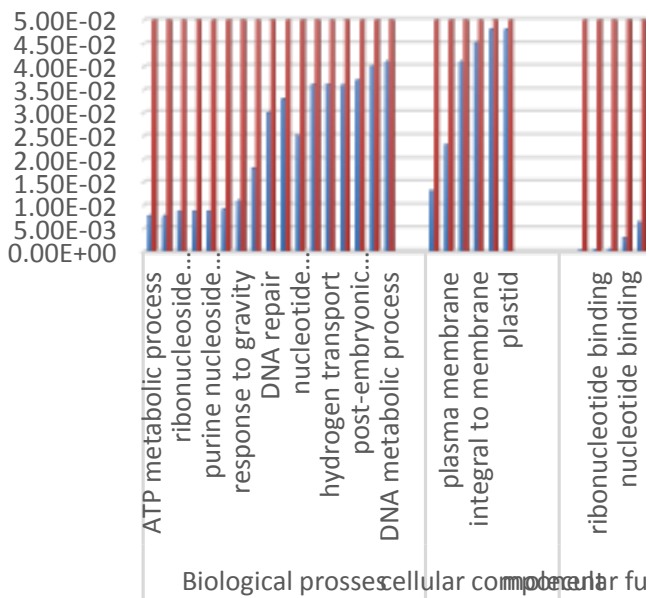
<sup>1</sup> Clan



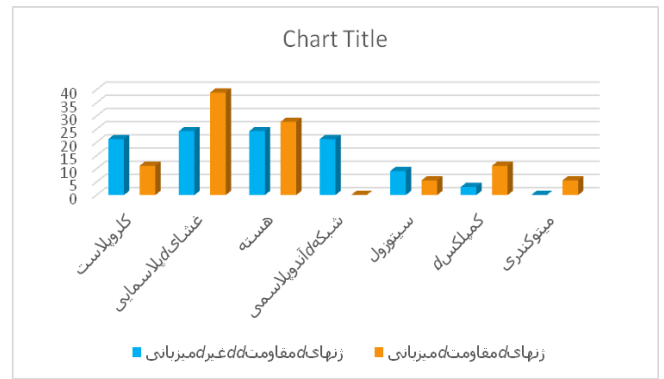
آنزیم‌های متیل ترانسفراز<sup>۴</sup> و گلوکوتایون -اس- ترانسفراز<sup>۵</sup> توسط ژن‌های مقاومت میزبانی به پاتوژن‌های عامل زنگ کد می‌شوند. نتایج همچنین نشان داد بین ترانسفرازها، پروتئین‌های انتقال دهنده لیپید نیز در مقاومت گیاه جو نسبت به پاتوژن‌های عامل زنگ، نقش دارند. (Shah (2005) در گزارش مطالعات خود بیان می‌کند که لیپیدها، مکانیسم تعامل گیاه - پاتوژن را تحت تأثیر قرار می‌دهند و طبق اظهارات (Sing et al. (2002) لیپیدها برای فعال شدن پاسخ دفاعی گیاهان ضروری هستند.



شکل ۴- تجزیه هستی شناسی ژن‌های مقاومت غیر میزبانی با  $P\text{-Value} < 0.05$



شکل ۵- آنالیز هستی شناسی ژن‌های مقاومت غیر میزبانی با  $P\text{-Value} < 0.05$



شکل ۳- محل فعالیت محصولات ژن‌های مقاومت میزبانی و غیر میزبانی

نتایج بررسی هستی شناسی ژن‌های مقاومت غیر میزبانی با استفاده از برنامه اینترنتی DAVID، تنوع زیادی را نشان داد. در حوزه فرایندهای بیولوژیکی، فعالیت‌هایی نظیر فرایندهای متابولیسم، بیوسنتزی و متابولیسم DNA و در حوزه عملکرد مولکولی، فعالیت ترانسفراز و متصل شونده به نوکلئوتید از نظر آماری معنی‌دار بودند. از نظر محل فعالیت ژن‌های مقاومت، اجزای سلولی نظیر کلروپلاست و غشای پلاسمایی  $P\text{-Value} < 0.05$  را نشان می‌داد (شکل ۴).

عملکرد ژن‌های مرتبط با مقاومت میزبانی نسبت به قارچ‌های عامل زنگ، با  $P\text{-Value} < 0.1$  بررسی شد. این بررسی مشخص کرد که در حوزه فرایندهای بیولوژیکی، فعالیت‌های پاسخ به مواد شیمیایی و مواد غیرآلی پردازش RNA، پاسخ به یون‌های کادمیوم و یون‌های فلزی و همچنین فرایندهای کاتابولیسم معنی‌دار هستند. نتایج بررسی‌ها همچنین مشخص کرد که ژن‌های مقاومت در اندامک‌هایی نظیر غشای پلاسمایی، اسپیلیسوزوم، واکوئل و غشای کلرو پلاست فعالیت دارند. در حوزه عملکرد مولکولی، تنها فعالیت ATP از ژن‌های مقاومت معنی‌دار بود (شکل ۵). نتایج بررسی‌ها در مطالعه حاضر، نشان داد که ترانسفرازها و ATP‌آزها، آنزیم‌هایی هستند که به‌طور قابل ملاحظه‌ای توسط ژن‌های مقاومت میزبانی و غیرمیزبانی کد می‌شوند. نتایج حاصل از این تحقیق، نشان داد که آنزیم‌های یوبی کوئیتین-پروتئین ترانسفراز<sup>۱</sup>، انتقال دهنده گروه هگزوزیل<sup>۲</sup> و دی متیل ترانسفراز<sup>۳</sup>، توسط ژن‌های مقاومت به زنگ‌های غیرمیزبان و

<sup>۱</sup> ubiquitin-protein transferase

<sup>۲</sup> transferring phosphorus-containing groups

<sup>۳</sup> rRNA (adenine-N6,N6-)-dimethyltransferase

<sup>۴</sup> methyltransferase activity

<sup>۵</sup> glutathione S-transferase

مطالعات محققان نشان داده است که در گیاه آرابیدوپسیس بیان ژن های *UGT* که کد کننده گلاکوسیل ترانسفرازها هستند، در پاسخ به پاتوژن ها ضروری است (Langlois-Meurinne et al. 2005). آنزیم هایی مانند  $H^+$ -ATPase و گلیکوزید هیدرولاز، آنزیم هایی با فعالیت هیدرولازی هستند که در این مطالعه مشاهده شدند. بنا بر اظهارات دانشمندان، وجود الیستور پاتوژن در غشای پلاسمایی موجب تحریک فعالیت  $H^+$ -ATPase در گیاه میزبان می شود (Palmgren. 2001). (Elmore and Coaker. 2010). عنوان کردند ATPase های غشای انتقال دهنده اتفاقات هدایت پیام را در پاسخ به انواعی از تنش های محیطی، کنترل می کند و در طول پاسخ ایمنی گیاه به پاتوژن، به طور پیوسته تولید می شود. بر اساس نتایج به دست آمده از تجزیه هستی شناسی ژن های مقاومت به پاتوژن عامل زنگ برگی در جو، تعداد قابل توجهی از ژن های مورد بررسی، در تنظیم فرایند و تولید فاکتورهای رونویسی درگیر هستند. پژوهشگران معتقدند، برای ایجاد یک پاسخ دفاعی مناسب، سلول ها به تعدادی از فاکتورهای رونویسی نیاز دارند که فعالیت آن ها را به سرعت افزایش دهد (Moore et al. 2011). *WRKY* و *bzip* دو خانواده بزرگ از فاکتورهای رونویسی هستند که پاسخ دفاعی گیاه در برابر تنش ها را تنظیم می کنند (Singh et al. 2002). تجزیه هستی شناسی ژن ها با استفاده از برنامه اینترنتی David، مشخص کرد، تعداد زیادی از ژن های مقاومت میزبانی و غیرمیزبانی، در تنظیم پردازش RNA نقش دارند. پردازش RNA یکی از جنبه های اساسی ایمنی گیاهی است. طبق اظهارات Woloshen et al. (2011) پاسخ دفاعی گیاهان، نه فقط در مرحله رونویسی، بلکه در مرحله بعد از رونویسی بیان ژن نیز، تنظیم شده و باعث می شود گیاهان نسبت به تنش های محیطی زنده و غیر زنده سریع تر پاسخ دهند نتایج تجزیه داده ها بر اساس هستی شناسی ژن های مقاومت میزبانی و غیر میزبانی، همچنین نشان دهنده دخالت ژن های مورد بررسی در تنظیم فرایندهای متابولیکی و هدایت سیگنال بود. به نظر می رسد حضور متابولیت ها برای ایجاد یک پاسخ دفاعی مؤثر، ضروری است.

متابولیسم اولیه، آبخارهای هدایت سیگنال را راه اندازی می کند که منجر به پاسخ دفاعی گیاه در برابر پاتوژن ها می شود (Rojas et al. 2014). (Glazebrook. 2001). گزارش کرد که شناسایی پاتوژن و پاسخ دفاعی گیاه توسط تعدادی از مسیرهای هدایت سیگنال اتفاق می افتد و هسته در هدایت سیگنالی بیش تر درگیر است زیرا سیگنال ها در نهایت باعث فعال سازی رونویسی تعدادی از ژن ها می شود که پروتئین ها و ترکیبات ضد میکروبی را سنتز می کند. انتقال سیگنال های اولیه دفاعی در برابر بیمارگرها از طریق مسیرهای غشایی و سیتوزولی امکان پذیر است (Blumwald et al. 1998). مطالعات اخیر دانشمندان، نشان داده است که غشای پلاسمایی سطحی را فراهم می کند که در آن پروتئین های مقاومتی گیاه وجود افکتورها را تشخیص می دهند (Shah 2005).

تجزیه هستی شناسی ژن ها، همچنین نشان داد که تعدادی از محصولات ژن های مقاومت به زنگ در کلروپلاست فعالیت می کنند. کلروپلاست در گیاهان، یک واسطه مهم در ایمنی گیاهی است (Nomura et al. 2009). نتیجه مطالعات (Belhaj et al. 2009) نشان داد، ژن *RPHI* در آرابیدوپسیس یک نقش مقاومتی نسبت به بیماری ها دارد. مشخص شده است که این ژن یک پروتئین کلروپلاستی را کد می کند که نقش آن در این اندامک، فعال سازی یک زیر مجموعه از پاسخ های ایمنی در واکنش به پاتوژن ها است.

### بحث

تجزیه ژن های مقاومت میزبانی و غیر میزبانی به قارچ های عامل زنگ، بر اساس دمین های حفاظت شده، نشان داد که هر دو گروه ژن، با عملکرد مشابهی در کنترل مقاومت شرکت می کنند. احتمالاً وجود دمین های مشترک در ساختار ژن های مقاومت میزبانی و غیر میزبانی، باعث مشابهت عملکرد دو گروه ژن می شود. تجزیه ژن ها بر اساس هستی شناسی نشان داد، تعداد زیادی از ژن های مقاومت میزبانی و غیرمیزبانی در فرایندهای پاسخ به تنش، متابولیکی، رونویسی و پردازش RNA فعالیت دارند. نتایج همچنین، نشان داد که هر دو گروه ژن ها به طور عمده در گروه های کارکردی ترانسفرازی، اتصال به DNA و ATP، فعالیت

پاتوژن‌های میکروبی کنترل می‌کند وجود دارد (Heath 2000). علاوه بر ژن‌های ایجاد کننده مقاومت، افکتورهایی نیز بین گونه‌های میزبان و غیرمیزبان سازماندهی شده است که مشخص می‌کند در مقاومت میزبانی و غیرمیزبانی، مکانیسم مشابهی وجود دارد (Vega-Arreguin, 2014). با وجود مکانیسم یکسان در مقاومت میزبانی و غیر میزبانی، شواهدی وجود دارد که مشخص می‌کند این مکانیسم در هر دو نوع مقاومت به طور مشابه عمل نمی‌کند. به عنوان مثال، فرایند مرگ سلولی در مقاومت غیر میزبانی سریعتر رخ می‌دهد ولی در طول مقاومت میزبانی مرگ سلولی زمان بیشتری طول می‌کشد (حدود ۲ ساعت یا بیشتر) (Gill et al. 2015). ممکن است علت ماهیت ژنتیکی یکسان در ژن‌های مقاومت میزبانی و غیر میزبانی به علت تکامل همزمان گیاه میزبان و پاتوژن باشد زیرا تعامل میزبانی و غیرمیزبانی بین گیاه و پاتوژن به طور عمده تحت تاثیر تکامل است (Senthil-Kumar and Schulze and Panstruga 2011; Mysore 2013). برخی گیاهان میزبان، در اثر تکامل یک طرفه و در اثر رشد، وضعیت غیرمیزبان به دست می‌آورند و این در صورتی است که پاتوژن اختصاصی میزبان است (Gill et al. 2015). از طرفی Heath (2000) عنوان می‌دارد که قارچ‌های بایوتروف اجباری مانند قارچ عامل زنگ در اثر جهش مکرر در طبیعت و در طول تکامل خود با میزبان به تکامل همزمان دست یافته‌اند. اعتقاد وی این است احتمالاً این قارچ‌ها به صورت ابتدایی رشد کرده‌اند و در تکامل همزمان با لاین‌های گیاهی، با آن‌ها تعامل ایجاد کرده‌اند. به علاوه فهرست بزرگی از ژن‌های R که پیوسته در اثر فرایندهای حذف و اضافه، نوترکیبی، جهش و فشار انتخاب در اثر مقاومت، توسعه می‌یابند، باعث ایجاد تنوع مقاومت در بین ارقام گیاهی می‌شود (Gill et al. 2015). همچنین انتقال افقی ژن‌های بیماری‌زا بین گونه‌های پاتوژن، باعث می‌شود پاتوژن‌ها میزبان خود را تغییر دهند و غیر میزبان را آلوده کنند (Gill et al. 2015).

پروتئین کینازی و انتقال سیگنال درگیر می‌شوند. بر اساس نتایج به دست آمده هسته، غشای پلاسمایی و کلروپلاست از اجزای سلولی فعال در واکنش به بیماری زنگ هستند. با توجه به تشابه عملکرد ژن‌های مقاومت میزبانی و غیر میزبانی، در حوزه تجزیه هستی شناسی، می‌توان نتیجه گرفت که احتمالاً ماهیت ژنتیکی و عملکرد مولکولی هر دو گروه ژن یکسان است این ادعا با نتایج مطالعات Poland et al. (2009) و Pieterse et al. (2009) که برای شناسایی QTL های مربوط به مقاومت سویا در برابر *Phytophthora sojae*، ویژگی‌های مشترکی را برای هر دو نوع مقاومت گزارش کردند مطابقت دارد. مشخص شده است، بسیاری از پاسخ‌های دفاعی که در طول مقاومت غیرمیزبانی رخ می‌دهند، شباهت زیادی به پاسخ‌های دفاعی ایجاد شده در طول مقاومت میزبانی دارند (Mysore and Ryu 2004) و هر دو گیاه میزبان و غیرمیزبان فاکتورهای مشابهی را برای آغاز یک پاسخ دفاعی شناسایی می‌کنند (Gill et al. 2015).

گیل و همکاران (Gill et al. 2015) طی مطالعات خود به این نتیجه رسیدند که مکانیسم مقاومت میزبانی و غیرمیزبانی در برابر پاتوژن‌های قارچی مشابه بوده و در عملکرد ژن‌هایی که در هر دو نوع مقاومت مشارکت دارند، هم‌پوشانی وجود دارد. گزارش سایر دانشمندان در مورد عملکرد مشابه ژن‌های مقاومت میزبانی و غیرمیزبانی این مطلب را تایید می‌کند (Heath 2000; Mysore and Ryu 2004; Vega-Arreguin et al. 2014). اخیراً در یک مطالعه، بیان حدود ۸۰۰۰ ژن آرآیدوپسیس در برابر پاتوژن غیرمیزبان *Pseudomonas syringae* PV. *Phaseolicola* بررسی شد و نتایج آن نشان داد، بیان ژن‌ها در طول مقاومت غیرمیزبانی مشابه مقاومت میزبانی است (Mysore and Ryu 2004). همچنین مشخص شده است یک ژن مقاومت غیرمیزبانی که در ریشه گل جعفری در پاسخ به پاتوژن گیاهان آوندی *Striga asiatica* بیان می‌شود، یک پروتئین سیتوپلاسمی حاوی دمین TIR را کد می‌کند که این دمین در برخی R ژن‌ها که مقاومت میزبانی را در برابر

### منابع

Agrios G n Plant pathology. Translation by Mehravaran h. (1376) Oromieh University 291-301. (In Farsi).  
Atkinson N J, Lilley CJ and Urwin PE (2013) Identification of Genes Involved in the Response of Arabidopsis to

Simultaneous Biotic and Abiotic Stresses. Plant Physiology 162: 2028-2041.  
Belhaj, Beihaj, K, Lin, B , Mauch, F (2009) The chloroplast protein RPH1 plays a role in the immune

- response of *Arabidopsis* to *Phytophthora brassicae*. *Plant Journal* 58: 287-98.
- Blumwald, E, Aharon, G S, Lam, B C (1998) Early signal transduction pathways in plant-pathogen interactions. *Elsevier Science* 3: 342-346
- Copley RR, Doerks T, Letunic I, Borka P (2002) Protein domain analysis in the era of complete genomes. *Federation of European Biochemical Societies Letters* 513: 129-134.
- Davidson AL, Dassa E, Orelle C, Chen J (2008) Structure, function, and evolution of bacterial ATP-binding cassette systems. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 72: 317-64.
- Diehl AD, Lee JA, Scheuermann RH, Blake JA (2007) Ontology development for biological systems immunology. *Bioinformatics* 23: 913-925.
- Ilbeck K and Lewis SE (2004) Sequence Ontology annotation guide. *Compar Funct Genom* 5: 642-647.
- Elmore J M & Coaker G (2010) The Role of the Plasma Membrane H<sup>+</sup>-ATPase in Plant-Microbe Interactions. *Molecular plant* 4: 416-427.
- Flor H H (1971) Current status of the gene-for-gene concept. *Annual Review Phytopathology* 9:275-296.
- Fraire-Velázquez S & Balderas-Hernández V E (2013) Abiotic Stress - Plant Responses and Applications in Agriculture, *Abiotic Stress in Plants and Metabolic Responses* (pp:25-48), Vahdati k and Leslie C (ed)
- Gaestel M, Kotlyarov A, Kracht M (2009) Targeting innate immunity protein kinase signalling in inflammation. *Nature Reviews Drug Discovery* 8:480-99.
- Glazebrook J (2001) Genes controlling expression of defense responses in *Arabidopsis*. *Current Opinion in Plant Biology* 4: 301-308.
- Heath MC (2000) Nonhost resistance and nonspecific plant defenses. *Current Opinion in Plant Biology* 3:315-319.
- Heath MC (1997) *Plant Relationships, Evolution of Plant Resistance and Susceptibility to Fungal Parasites* (pp: 257-276) Carroll GC, and Tudzynski P (eds) Springer, Verlag Berlin Heidelberg.
- Jafary H, Szabo Les J and RE Niks (2006) Innate Nonhost Immunity in Barley to Different Heterologous Rust Fungi Is Controlled by Sets of Resistance Genes with Different and Overlapping Specificities. *The American Phytopathological Society* 19: 1270-1279.
- Jafary H, Albertazzi G, Marcel TC and Niks RE (2008) High Diversity of Genes for Nonhost Resistance of Barley to Heterologous Rust Fungi. *Genetics Society of America* 178: 2327-2339
- John M, Dowell Mc and Woffenden BJ (2003) Plant disease resistance genes recent insights and potential applications. *TRENDS in Biotechnology* 21.
- Kang J, Park J, Choi H, Burla B, Kretschmar T, Leea Yc, and Martinoia E (2011) *The Arabidopsis Book. Plant ABC Transporters*. American Society of Plant Biologists. 9: e0153. 2011
- Lahiry P, Torkamani A, Schork NJ, Hegele RA (2010) Kinase mutations in human disease: interpreting genotype-phenotype relationships. *Nature Review Genetics* 11:60-74.
- Langlois-Meurinne M, Gachon MM, and Saindrenan P (2005) Pathogen-Responsive Expression of Glycosyltransferase Genes UGT73B3 and UGT73B5 Is Necessary for Resistance to *Pseudomonas syringae* pv tomato in *Arabidopsis*. *Plant Physiology* 139: 1890-1903.
- Lecourieux D, Ranjeva R & Pugin A (2006) Calcium in plant defence-signalling pathways. *New Phytologist* 171: 249-269.
- Li D, Liu H, Zhang H, Wang X & Song F (2008) OsBIRH1, a DEAD-box RNA helicase with functions in modulating defence responses against pathogen infection and oxidative stress. *Journal of Experimental Botany* 59:2133-2146.
- Marcel TC, Varshney RK, Barbieri M, Jafary H, de Kock, M J D, Graner A, Niks R E (2007) A high-density consensus map of barley to compare the distribution of QTLs for partial resistance to *Puccinia hordei* and of defence gene homologues. *Theoretical and Applied Genetics* 114: 487-500.
- Moore J W, Loake GJ, and Spoel SH (2011) Transcription Dynamics in Plant Immunity. *The Plant Cell* 23: 2809-2820.
- Mysore KS and Ryu CM (2004) Nonhost resistance: how much do we know?. *TRENDS in Plant Science*, 9.
- Niks, RE and Marcel TC (2009) Nonhost and basal resistance: How to explain specificity? *New Phytologist journal* 182: 817-828.
- Niks R, Lindhout P, Bai Y & Parleviet J (2011) Plant Breeding for resistance to diseases and pests. *Laboratory of Plant Breeding*. Wageningen University, The Netherlands
- Nomura Hi, Komori T, Uemura S, Kanda Y, Shimotani K, Nakai K, Furuichi T, Takebayashi K, Sugimoto T, Sano Si, Suwastika I, Fukusaki E, Yoshioka H, Nakahira Y, Shina T (2013) Chloroplast-mediated activation of plant immune signalling in *Arabidopsis*. *Nature Communications* 7: 293-296.
- Pieterse CM, Leon-Reyes, Van der Ent AS and Van Wees SCM (2009) Networking by small-molecules hormones in plant immunity. *Nature Chemical Biology* 5: 308-316.
- Poland JA, Balint-Kurti PJ, Wisser RJ, Pratt RC, and Nelson RJ (2009) Shades of gray: the world of quantitative disease resistance. *Trends Plant Science* 14:1360-1385.
- Qi X, Niks R E, Stam P and Lindhout P (1998) Identification of QTLs for partial resistance to leaf rust (*Puccinia hordei*) in barley. *Theoretical and Applied Genetics* 96: 1205-1215.
- Rudd S (2003) Expressed sequence tags: alternative or complement to whole genome sequences. *Trends Plant Science* 8:321-9.
- Rojas CM, Senthil-Kumar M, Tzin V and Mysore KS (2014) Regulation of primary plant metabolism during plant pathogen interactions and its contribution to plant defense. *Plant science* 5:1-12.
- Romeis T (2001) Protein kinases in the plant defence response. *Current Opinion in Plant Biology* 4:407-414.
- Singh KB, Foley RC and Sanchez LO (2002) Transcription factors in Plant defense and stress responses. *Plant Biology* 5:430-436.

- Singh VK, Singh AK, Chand R And Kushwaha C (2011) role of Bioinformatics in agriculture and sustainable development. *International Journal of Bioinformatics Research* 3: 221-226.
- Shah, J 2005 Lipids, Lipases, and Lipid-Modifying Enzymes in Plant Disease Resistance *Annual Review of Phytopathology* 43: 229-260.
- Schulze- Lefert p and Panstruga R (2011) A molecular evolutionary concept connecting nonhost resistance, pathogen host range, and pathogen speciation. *Trends Plant Science* 16: 117-125.
- Senthi-Kumar M and Mysore KS (2013) Nonhost resistance against bacterial pathogens: Retrospectives and prospects. *Annu Rev Phytopathology* 51:407-427.
- Snider J, Thibault G and Houry WA (2008) The AAA+ superfamily of functionally diverse proteins. *Genome Biology* 9:1-9.
- Vega-Arreguin J C, Jalloh A, Bos JI, and Moffett P (2014) Recognition of an Avr3 a homologue plays a major role in mediating nonhost resistance to *Phytophthora capsici* in *Nicotiana* species. *Molecular Plant-Microbe Interaction* 27: 770-780.
- Vera-Estrella R, Barkla BJ, Higgins VJ & Blumwald E (1994) Plant Defense Response to Fungal Pathogens (Activation of Host-Plasma Membrane H<sup>+</sup>-ATPase by Elicitor-Induced Enzyme Dephosphorylation. *Plant Physiology* 104: 209-215.
- Woloshen V, Huang S and Li X (2011) RNA-Binding Proteins in Plant Immunity. *Journal of Pathogens* 2011: 1-11.
- Young ND (1996) QTL mapping and quantitative disease resistance in plants. *Annual Review of Phytopathology* 34: 479-501.