Cereal Biotechnology and Biochemistry

Online ISSN: 2783-5170

Razi University

Homepage: https://cbb.razi.ac.ir

Synteny analysis of gene clusters for pizh and pigm as blast disease resistance in 11 *Oryza* and three related species

Sahand Sasani[1], Sajad Rashidi Monfared[1] ✉, Danial Kahrizi[1] & Masoumeh Khanahmadi[2] ✉

[1] Department of Biotechnology, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

[2] Department of Chemistry, Academic Center for Education, Culture & Research (ACECR), Kermanshah, Iran.

✉ Corresponding author. E-mail: rashidims@modares.ac.ir

✉ Corresponding author. E-mail: chem_khanahmadi@yahoo.com

ABSTRACT

Introduction: Rice, a key agricultural crop globally, is vital for feeding millions of people. Blast is one of the important diseases of rice and it causes severe damage to many rice fields every year. This disease is caused by the fungus *Magnaporthe oryzae*, which infects plant tissues and significantly reduces performance.The genus *Oryza* belongs to the Poaceae family and comprises 24 different species. Species within this genus are divided into two categories in terms of genome: diploid and tetraploid. The existence of synteny between genes specially those that cause resistance to plant diseases is considered a very suitable way to identify genes from other species. The pizh and pigm gene clusters play a role in rice blast disease resistance in rice. Synteny in pizh and pigm clusters was investigated in 11 species of *Oryza*and three related species.

Materials and methods: The pizh and pigm gene clusters were identified in 13 other species using the BLASTN tool. Subsequently, the genome sequences of these 13 species were obtained from the NCBI database then, all genes for all species were compared together by BLASN tool to construct the homology file (BLAST file). After, the genes were mapped to the respective species by Gmap software. Finally, gene blocks exhibiting synteny were identified through the utilization of the MCScanX software.

Results: The results of synteny analysis of blast resistance genes in 14 studied species showed synteny only in five species: *O. meridionalis, O. sativa indica, O. glumipatula, O. barthii,* and *O. glaberrima.* Synteny was not observed in other species, including *O. sativa* japonica, regarding these gene clusters for blast resistance. According to the results, it could be concluded that the gene cluster involved in blast disease resistance, has not been spread and preserved between different chromosomes of studied *Oryza* species during evolution. In fact, they are located mainly on chromosomes Number 6 and 9. Micro synteny for the species including *O. meridionalis, O.sativa indica, O. glumipatula, O. barthii and O. glaberrima* were observed, but no synteny was observed for other five *Oryza* species and three wild relatives. It is necessary to mention that these genes are clustered on chromosome Number 6 for *O. sativa japonica*, however, they have no synteny with other species.

Conclusion: Species including *O. meridionalis, O.sativa indica, O. glumipatula, O. barthii and O. glaberrima* may be used as a promising source of blast resistance for blast resistance breeding programs.

Keywords: Bioinformatic, Gene clusters, Genome evolution, MCScanX.

Article Type: Research Article

Article history: Received: 16 Dec 2023, **Revised:** 06 Feb 2024, **Accepted:** 01 Mar 2024, **Published online:** 27 Mar 2024

Cite this article: Sasani, S., Rashidi Monfared, S., Kahrizi, D. & Khanahmadi, M. (2024). Synteny analysis of gene clusters for pizh and pigm as blast disease resistance in 11 Oryza and three related species. *Cereal Biotechnology and Biochemistry*, *3*(1), 61-73. DOI: 10.22126/cbb.2024.10624.1072

© The Author(s).

10.22126/cbb.2024.10624.1072

Publisher: Razi University

بیوتکنولوژی و بیوشیمی غلات
شاپا الکترونیکی: ۵۱۷۰-۲۷۸۳
Homepage: https://cbb.razi.ac.ir

بررسی سینتنی بلوک‌های ژنی pizh و pigm عامل مقاومت به بیماری بلاست برنج در ۱۱ گونه Oryza و سه گونه خویشاوند

سهند ساسانی[۱]، سجاد رشیدی‌منفرد[۱]✉، دانیال کهریزی[۱] و معصومه خان احمدی[۲]✉

[۱] گروه بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران.
[۲] گروه شیمی، موسسه آموزش عالی جهاددانشگاهی استان کرمانشاه، کرمانشاه، ایران.
✉نویسنده مسئول. رایانامه: rashidims@modares.ac.ir
✉نویسنده مسئول. رایانامه: chem_khanahmadi@yahoo.com

چکیده

مقدمه: گیاه برنج یکی از اصلی ترین گیاهان زراعی دنیا محسوب می‌شود به طوری که قوت میلیون‌ها نفر در سراسر جهان را تامین می‌نماید. بلاست به عنوان یکی از بیماری‌های مهم برنج، هر ساله خسارت شدیدی به بسیاری از مزارع برنج در سراسر دنیا وارد می‌آورد. این بیماری توسط قارچ *Magnaporthe oryzae* ایجاد می‌شود که بافت‌های گیاه را آلوده کرده و باعث کاهش قابل توجه عملکرد می‌شود. جنس *Oryza* متعلق به خانواده‌ی Poacea است که دارای ۲۴ گونه مختلف می‌باشد. گونه‌ها در این جنس از لحاظ ژنوم به دو دسته‌ی دیپلوئید و تتراپلوئید تقسیم می‌شوند. وجود سینتنی بین ژن‌های عامل ایجاد مقاومت در سایر گونه‌ها راهکار بسیار مناسبی برای شناسایی ژن‌های مقاومت محسوب می‌شود. در این پروژه وجود سینتنی در خوشه‌های ژنی pizh و pigm که در مقاومت به بیماری بلاست برنج نقش دارند در ۱۱ گونه مختلف *Oryza* و سه گونه خویشاوند آن بررسی شده است.

مواد و روش‌ها: در این پروژه توالی ژنوم ۱۴ گونه جنس *Oryza* از بانک اطلاعاتی NCBI دریافت شد و توالی خوشه‌های ژنی عامل ایجاد مقاومت به بلاست در آنها با استفاده از ابزار BLASTN شناسایی شدند، به این‌صورت که در این جست‌وجو توالی‌های تقاضا مربوط به خوشه‌های ژنی pigm و pizh گیاه برنج در پایگاه nr به منظور شناسایی ژن‌های مشابه مورد استفاده قرار گرفتند. جستجوی توالی‌های مشابه در ۱۴ گونهٔ *Oryza* انجام گرفت. توالی‌های رمزکنندهٔ گونه‌های مختلف جنس *Oryza* نیز از پایگاه NCBI دریافت شدند. به‌منظور نقشه‌یابی ژن‌های مربوط به هر گونه با ژنوم همان‌گونه از نرم‌افزار Gmap استفاده گردید. سپس همه ژن‌ها در همه گونه‌ها با یکدیگر با استفاده از ابزار BLASTN همردیف شدند تا بتوان میزان تشابه آنها در همه گونه‌ها را بررسی کرد. در نهایت با استفاده از نرم‌افزار MCScanX بلوک‌های ژنی دارای سینتنی مشخص شدند.

یافته‌ها: نتایج بررسی سینتنی ژن‌های عامل مقاومت به بلاست در ۱۴ گونه مورد مطالعه نشان داد که در پنج گونه‌ی *O. meridionalis*، *O.sativa indica*، *O. glumipatula*، *O. barthii* و *O. glaberrima* سینتنی مشاهده می‌شود و در سایر گونه‌ها از جمله *O. sativa japonica* در مورد خوشه‌های ژنی مقاومت به بلاست سینتنی مشاهده نشد. نتایج تجزیه سینتنی نشان داد که خوشه‌های ژنی مورد مطالعه که روی کروموزوم‌های ۶ و ۹ برنج قرار داشتند در تعدادی از گونه‌های مورد مطالعه نیز روی همین کروموزوم‌ها و به صورت خوشه‌ای قرار دارند. طبق نتایج به دست آمده وجود سینتنی بین برنج و گونه‌های *O. meridionalis*، *O.sativa indica*، *O. glumipatula*، *O. barthii* و *O. glaberrima* برای خوشه‌های ژنی حامل ژن‌های مقاومت مورد بررسی در این پژوهش اثبات شد. اما سینتنی برای پنج گونه دیگر برنج و سه خویشاوند وحشی مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: وجود سینتنی در ژنهای مربوط به خوشه‌های ژنی عامل ایجاد مقاومت به بلاست در پنج گونه جنس *Oryza* نشان می‌دهد که می‌توان از گونه‌های مذکور برای شناسایی ژن‌های مقاومت به عنوان خزانه‌های ژنی مطلوب بهره‌برداری کرد.

واژه‌های کلیدی: بیوانفورماتیک، تکامل ژن، خوشه‌های ژنی، MCScanX.

نوع مقاله: مقاله پژوهشی

نوع مقاله: دریافت: ۱۴۰۲/۰۹/۲۵ **اصلاح:** ۱۴۰۲/۱۱/۱۷ **پذیرش:** ۱۴۰۲/۱۲/۱۱، **انتشار آنلاین:** ۱۴۰۳/۰۱/۰۸

استناد: ساسانی، س.، رشیدی‌منفرد، س.، کهریزی، د. و خان احمدی، م. (۱۴۰۳). بررسی سینتنی بلوک‌های ژنی pizh و pigm عامل مقاومت به بیماری بلاست برنج در ۱۱ گونه Oryza و سه گونه خویشاوند. *بیوتکنولوژی و بیوشیمی غلات*، ۳(۱)، ۶۱-۷۳. DOI: 10.22126/cbb.2024.10624.1072

ناشر: دانشگاه رازی

© نویسندگان.

مقدمه

گیاه برنج با نام علمی *Oryza sativa* یکی از اصلی ترین گیاهان زراعی است که برای تقریبا بیش از ۵۰۰۰ سال توسط انسان‌ها مصرف می‌شود و یکی از غذای‌های اصلی مردم در کل دنیا و به ویژه قاره آسیا محسوب می‌شود. از این محصولبه طور گسترده‌ای در رژیم غذایی مردم دنیا برای تامین انرژی و مواد مغذی استفاده می‌شود به طوریکه بیش از نصف جمعیت جهان از برنج در وعده‌های غذایی خود استفاده می‌کنند (Zhou *et al.*, 2002).

جنس *Oryza* جز خانواده‌ی Poacea است که دارای ۲۴ گونه مختلف می‌باشد. گونه‌ها در این جنس از لحاظ ژنوم به دو دسته‌ی دیپلوئید (2n=24) مانند *O. sativa* و تتراپلوئید (4n=48) مانند *O. coarctata* تقسیم می‌شوند (Vaughan, 2003).یکی از معروف ترین گونه‌های این جنس گونه‌ی *O. sativa* می‌باشد که خود دارای زیر گونه‌های مختلفی از جمله indica و japonica است. دو زیرگونه‌ی *O. sativa japonica* و *O. sativa indica* گرچه هر دو مربوط به یک گونه هستند و مبدا (چین) و اندازه ژنوم یکسانی (میلیون جفت باز ۳۸۵) دارند؛ اما به طورکلی از لحاظ صفات مورفولوژیک، زراعی، بیوشیمیایی و فیزیولوژیک و همچنین در عملکرد و مقاومت به آفات و استرس‌ها با یکدیگر متفاوت هستند (Yang Y, 2014). در این پژوهش از ۱۱ گونه مختلف *Oryza* و سه گونه خویشاوند آن استفاده شد که ژنوم آن‌ها اندازه مختلفی در محدوده ۲۶۶ تا ۱۳۴۰ میلیون جفت باز دارند. کوچکترین ژنوم مربوط به *L. perrieri* می‌است که سایز ژنوم آن ۲۶۶ میلیون جفت باز بوده و مبدا این گونه ماداگاسکار می‌باشد. همچنین گونه‌ی *E. crus-galli* دارای بزرگ‌ترین ژنوم در بین گونه‌های بررسی شده در این پروژه می‌باشد که سایز ژنوم آن ۱۳۴۰ میلیون جفت باز است و مبدا آن آسیای گرمسیری می‌باشد (Guo *et al.*, 2017). از جمله گونه‌های دیگر مطالعه شده در این پروژه می‌توان به *O. longistaminata* اشاره کرد که ژن مقاومتxa21 برای اولین بار از این گیاه جداسازی شده است.همچنین می‌توان به *O. barthii* که در واقع نوعی برنج وحشی آفریقایی می‌باشد و *O. puctata* که نام دیگر آن برنج قرمز است و به عنوان علوفه استفاده می‌شود نیز اشاره کرد (Nayar, 2014; Singh *et al.*, 2018). بیماری بلاست یک بیماری قارچی مخرب است که طیف وسیعی از محصولات از جمله برنج، گندم، جو، ذرت و بسیاری دیگر را تحت تاثیر قرار می‌دهد. بیماری توسط قارچ *Magnaporthe oryzae* ایجاد شده که بافت‌های گیاه را آلوده کرده و باعث کاهش قابل توجه عملکرد می‌شود. این بیماری در واقع یکی از مهم‌ترین بیماری‌های برنج در سراسر جهان است و در بسیاری از کشورها، به‌ویژه آسیا، خسارات اقتصادی قابل توجهی را به همراه دارد (Srivastava *et al.*, 2017). کلمه‌ی سینتنی برای اولین بار توسط John H Renwik در سال ۱۹۷۱ به کار برده شد (Stein, 2013) و به ژن‌هایی گفته می‌شد که در یک گونه بر روی یک کروموزوم قرار داشتند. امروزه این تعریف، تعریفی کلاسیک از سینتنی محسوب می‌شود و تعریف بیولوژیک و نوین سینتنی عبارت است از حفظ

بلوک‌های ژنی درون کروموزوم گونه‌هایی که با یکدیگر سینتنی دارند (McCouch, 2001).

در یکی از تحقیقات انجام شده بر روی گیاهان گونه‌های مختلف جنس prunus (شامل هلو، آلو، زردآلو، گیلاس و بادام) یک سینتنی کاملا حفظ شده یافت شد. در این بررسی گونه‌های مختلف جنس prunus را با گیاهان مدل شامل صنوبر، ارابیدوپسیس و یونجه به منظور یافت مناطق دارای سینتنی مقایسه کردند که نتیجه آن یافت یک سینتنی کاملا حفظ شده بین گونه‌های مختلف جنس Prunus، صنوبر و یونجه می‌باشد. مناطق دارای سینتنی در صنوبر دارای طول‌هایی تا ۴۷۷ کیلو باز بودند و همچنین هیچ گونه سینتنی بین ارابیدوپسیس و درختان این تیره در این تحقیق شناسایی نشده است. الگوی سینتنی‌های مشاهد شده از فرضیه‌ی مضاعف شدن کامل ژنوم در گونه‌های صنوبر و یونجه پشتیبانی می‌کند، همچنین به طور جالب توجه‌ای سطح سینتنی مشاهده شده بین گیاهان تیره prunus با صنوبر نسبت به گیاهان این تیره با یونجه بالاتر می‌باشد در حالیکه از لحاظ تکاملی گیاهان تیره prunus به گیاه یونجه نزدیک تر هستند تا گیاه صنوبر (Jung *et al.*, 2009). در تحقیقات دیگری که در ارتباط با بیماری بلاست انجام شده است مشخص شده که تنها تعداد کمی ژن مقاومت وجود دارند که نسبت به بلاست در مرحله گیاهچه‌ای و زایشی به طور مشترک مقاومت ایجاد می کنند. همچنین در اصلاح نباتات تنها از تعداد کمی از این ژنها به طور تجاری استفاده شده است. در این تحقیق تمامی ژن‌های مقاومتی که از دهه ۱۹۶۰ تا سال ۲۰۲۰ شناخته شده بودند مورد مطالعه قرار گرفتند که تعداد این ژنها به بیش از ۱۰۰ می‌رسد.، همچنین در این تحقیق مشخص شده است که این تعداد ژن مقاومت بر روی ۱۱ کروموزوم از ۱۲ کروموزوم برنج پخش شدند و تنها بر روی کروموزوم شماره ۳ دیده نمی‌شوند. در واقع ۶۴ درصد از این ژنهای مقاومت به بیماری بلاست بر روی کروموزوم‌های شماره ۱۱، ۶، ۱۲ قرار دارند (۱۸ درصد بر روی کروموزوم شماره ۶، ۲۵ درصد بر روی کروموزوم شماره ۱۱و ۲۱ درصد بر روی کروموزوم شماره ۱۲) (Chung *et al.*, 2022). از زمان کلونینگ اولین ژن مقاومت در سال ۱۹۹۹ که ژن pib بوده است تا سال ۲۰۲۰ تعداد ۳۱ ژن مقاومت به طور موفقی کلون شده‌اند که همه این ژن‌ها به غیر از pi21، ژن غالب هستند. همچنین در میان این ژنها همگی به غیر از ژن‌های pi21، pi35، pi63، pb1، pbd3-II باعث ایجاد مقاومت کامل نسبت به بیماری بلاست می‌شوند (Martin-Urdiroz *et al.*, 2016; Nalley *et al.*, 2016). عمده‌ی ژن‌های مقاومت استفاده شده و کلون شده باعث مقاومت نسبت به بلاست برگ در دوران جوانه زنی می‌شوند به طوریکه تنها تعداد کمی شامل pb1، pi25 و pi64 باعث مقاومت به بلاست پانیکول می‌شود (Ning *et al.*, 2020). در این تحقیق از ژنهای مقاومت به بلاست در گیاه برنج نظیر Pi1، Pi2، Pi9، Pigm و Piz-t استفاده شده و از دستاوردهای این بررسی می‌توان به شناسایی تعدادی ژن جدید مقاومت و تعدادی آلل جدید برای ژن‌های Pik، Pikx، pif مانند Pipr1 و Prps در ۱۱ گونه

مورد مطالعه *Oryza* و سه گونه خویشاوند آن اشاره کرد. هدف از این پژوهش بررسی وجود سینتنی خوشه‌های ژنی عامل مقاومت به بیماری بلاست در ۱۴ گونه جنس *Oryza* و سه خویشاوند وحشی به منظور شناسایی آلل‌های جدید برای ژن‌های عامل مقاومت بود. این نتایج می‌تواند خزانه‌های ژنی مطلوب عامل مقاومت به بیماری بلاست و روابط تکاملی بین گونه‌های مورد مطالعه از جنبه سینتنی بین ژن‌های موجود در این دو خوشه ژنی ارزشمند را نشان دهد.

مواد و روش‌ها

در این پروژه از ۱۱ گونه مختلف جنس *Oryza* و سه خوشاوند آن استفاده شده، که در اولین مرحله توالی ژنوم هر ۱۱ گونه *مختلف Oryza* و سه گونه خویشاوند (متعلق به خانواده *Poaceae*) آن از بانک اطلاعاتی NCBI[1] دریافت شد. اسامی گونه‌های مذکور در جدول ۱ آمده است.

در این مطالعه پس از بررسی مقاله‌های دنگ و همکاران (Deng *et al.*, 2017) و ژی و همکاران (Xie *et al.*, 2019) دو خوشه ژنی عامل مقاومت به بیماری بلاست برنج انتخاب شدند. دو خوشه ژنی عامل مقاومت با اسامی pigm با شماره دست‌یابی KU904633.2 در پایگاه NCBI که شامل ۱۶ عدد CDS و طول کلی ۱۷۸۷۰۴جفت باز و pizhبا شماره دست‌یابی MH807580.1 در پایگاه NCBI که ۱۶ عدد CDS و طول کلی ۱۶۵۲۰۷جفت باز از پایگاه NCBI دریافت شدند. در مرحله بعد ژن‌هایی که از طریق مقالات برای این پژوهش انتخاب شدند در تمام ۱۳ گونه‌ی دیگر به منظور شناسایی توالی‌های مشابه برنج با استفاده از ابزار BLASTN(v2.13.0) شناسایی شد. خروجی این مرحله ۱۳ فایل مختلف بود (برای هر گونه یک فایل). در ادامه همه ژن‌ها در همه گونه‌ها با یکدیگر با استفاده از ابزار BLASTN همردیف شدند تا بتوان میزان تشابه آنها در همه گونه‌ها را بررسی کرد. سپس به منظور نقشه‌یابی ژن‌های مربوط به هر گونه با ژنوم همان گونه (در واقع همردیف کردن ژن‌ها با ژنوم آن گونه) و مشخص شدن مکان آنها بر روی کروموزومها از نرم افزار Gmap2022.08.25 استفاده گردید که خروجی این نرم افزار به فرمت GFF3 می‌باشد. در ادامه فایل‌های خروجی مرحله قبل در همه گونه‌ها با یکدیگر ادغام شدند و پس از ادغام، قالب GFF3 موجود به قالب bed با استفاده از نرم افزار Bedtools[2](v2.31.0) تبدیل شد. در نهایت دو فایل شناسنامه ژنومی تلفیقی برای همه گونه‌ها در قالب bed و فایل نتیجه همردیفی ژنها بین همه گونه‌ها به‌منظور بررسی سینتنی ژن‌های مورد مطالعه با استفاده از نرم افزار MCScanX(v3.3.2) مورد ستفاده قرار گرفتند. نمودار بلوک‌های ژنی دارای سینتنی شناسایی شده با استفاده از نرم افزار MCScanX (Wang et al., 2012) به‌وسیله نرم افزار SynVisio[3](v1.0x-dev) ترسیم شد.

[1] https://www.ncbi.nlm.nih.gov

[2] https://bedtools.readthedocs.io/en/latest/

[3] https://synvisio.github.io/#/

جدول ۱- اسامی گونه‌های مورد استفاده، اندازهٔ ژنوم و تعداد کروموزوم‌های هر گونه.

Table 1 –List of species, genome size and chromosome number of each species used in this study.

تعداد کروموزوم Chromosome number	اندازه ژنوم Genome size	گونه species
2n=24	448Mb	*O. nivara*
2n=24	386Mb	*O. rufipogon*
2n=24	362Mb	*O. brachyanth*
2n=24	423Mb	*O. punctate*
2n=24	464Mb	*O. glumipatula*
2n=24	435Mb	*O. meridionalis*
2n=24	411Mb	*O. barthii*
2n=24	340Mb	*O. longistaminata*
2n=24	358Mb	*O. glaberrima*
2n=24	385Mb	*O. sativa japonica*
2n=24	385Mb	*O. sativa indica*
2n=34	603Mb	*Zizania latifolia*
2n=54	1,340Mb	*Echinochloa crus-galli*
2n=24	266Mb	*Leersia perrieri*

نتایج و بحث

نتایج بررسی سینتنی ژن‌های عامل مقاومت به بلاست در ۱۴ گونه مورد مطالعه نشان داد که در پنج گونه *O. meridionalis*، *O.sativa indica*، *O. glumipatula*، *O. barthii*و *O. glaberrima* سینتنی مشاهده می‌شود و در سایر گونه‌ها از جمله *O. sativa japonica* در مورد این خوشه‌های ژنی مقاومت به بلاست سینتنی مشاهده نشد. همچنین مشخص شد که عمده‌ی این خوشه‌های ژنی مقاومت بر روی کروموزوم شماره ۶ و ۹ قرار دارند و اگرچه در گونه‌های مورد مطالعه که سینتنی برای ژن‌های مربوط به خوشه‌های ژنی شناسایی نشد اما ژن‌های مطبوع در همه گونه‌ها وجود داشتند که بیانگر حفظ شدگی بالایی ژن‌های مورد نظر است. در گونه *O. sativa japonica* این ژن‌ها به صورت خوشه بر روی کروموزوم شماره ۶ قرار داشتند اما سینتنی با سایر گونه‌ها نشان ندادند.

شکل ۱-خروجی نرم افزار synvisio برای گونه‌هایی که با یکدیگر سینتنی دارند. کدهای ogl (*O. glaberrima*)، oba (*O. barthi*)، ogu (*O. glumipatila*) و si (*O. sativa indica*) و شماره ٦ و ۹ شماره کروموزوم در گونه‌های مورد مطالعه است.

Figure 1. Synteny graph constructed using Synvisio program. Abbereviations: gl (*O. glaberrima*), oba (*O. barthi*), ogu (*O. glumipatila*), si (*O. sativa indica*), 6 and 9 are chromosome numbers.

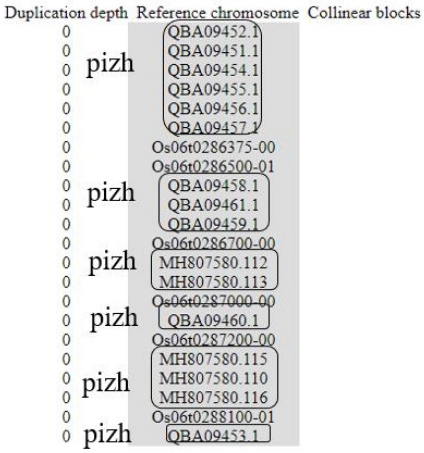
بررسی سینتنی ژن‌های عامل مقاومت به بیماری بلاست (خوشه Pizh) در کروموزوم شماره ۶ *O. sativa japonica*

خروجی نرم‌افزار MCScanX برای این کروموزوم در شکل ۲ قرار گرفته است. در خروجی این نرم افزار هیچ گونه بلوک ژنی هم ارزی[4] بین گونه ***O. sativa japonica*** و ۱۳ گونه دیگر دیده نشد که نشان دهنده‌ی عدم مشاهده‌ی سینتنی برای این ژن‌ها در این گونه است. اما این به معنی عدم وجود این ژنها روی این کروموزوم نیست بلکه صرفا سینتنی مشاهده نشده است. خوشه ژنی مقاومت به بلاست pizh با ۱۶ ژن روی این کروموزوم جای گرفته است که در شکل ۲ این cdsها را مشاهده می‌کنید. ژن‌های قرار گرفته روی این کروموزوم نیز نقش‌های مختلفی از جمله نقش‌های مقاومتی در برابر بیماری بلاست برنج (مانند ژن‌های مقاومت Piz و Pi) را برعهده دارند که لیست کامل این ژن‌ها را می‌توانید در جدول ۲ مشاهده کنید.

بررسی سینتنی ژن‌های عامل مقاومت به بیماری بلاست (خوشه pigm) در کروموزوم شماره ۶ *O. sativa indica*

خروجی نرم‌افزار MCScanX برای این کروموزوم در تصویر شماره ۳ نمایش داده شده است. همانطور که در شکل ۳ دیده می‌شود در کروموزوم شمارهٔ ۵ گونهٔ ***O. sativa indica*** سینتنی بین ژنی برای خوشهٔ ژنی pigm با شش گونهٔ دیگر دیده می‌شود و با بررسی‌های انجام شده مشخص شد که خوشه ژنی pigm با ۱۶ ژن روی این کروموزوم قرار دارد (شکل۳). در این خروجی ژن‌هایی که به رنگ قرمز هستند به‌صورت tandem repeat قرار دارند، همچنین collinear blockها نیز ژن‌هایی هستند که با ژن‌های قرار گرفته بر روی این کروموزوم سینتنی دارند. بلوک‌های ژنی نیز در این بخش نیز بر اساس کدی که دارند مشخص می‌شوند، در واقع حروف انگلیسی تعیین‌کنندهٔ گونه هستند و عدد تعین کنندهٔ شمارهٔ کروموزومی باشد. همچنین از لحاظ عملکرد نیز ژن‌های قرار گرفته بر روی این کروموزوم عمدتا نقش‌های مقاومتی دارند مانند ژن‌های pigm، لیست کامل این ژن‌ها به همراه عملکرد آن‌ها در جدول ۳ قرار گرفته است.

[4] Collinear block



شکل ۲-عدم وجود سینتنی برای خوشه ژنی pizh دارای ژن‌های عامل مقاومت به بیماری بلاست روی کروموزوم شماره ۶ *O. sativa japonica*.

Figure 2. No synteny for pizh gene cluster carried out genes resistance to blast located on chromosome 6 of *O. sativa japonica.*

جدول ۲-عملکرد ژنهای مربوط به خوشهٔ ژنی pizh واقع روی کروموزوم شماره ۶ *O. sativa japonica*

Table 1. Biological function of genes of pizh gene cluster located on chromosome 6 of *O. sativa indica.*

ژن Gene	عملکرد Function	ژن Gene	عملکرد Function
QBA09452.1	hypothetical protein	Os06t0286700-00	not found in NCBI database
QBA09451.1	ENODL1-like domain-containing protein	MH807580.112	not found in NCBI database
QBA09454.1	DUF1409 domain-containing protein	MH807580.113	not found in NCBI database
QBA09455.1	DNA oxidative demethylase ALKBH2	Os06t0287000-00	hypothetical protein
QBA09456.1	AF-4 domain-containing protein-like protein	QBA09460.1	NBS-LRR type R protein, Nbs7-Pi2
QBA09457.1	putative nitrate-induced NOI protein	Os06t0287200-00	hypothetical protein
Os06t0286375-00	hypothetical protein EE612_033423	MH807580.115	not found in NCBI database
Os06t0286500-01	putative disease resistance RPP13-like protein 3	MH807580.110	not found in NCBI database
QBA09458.1	NBS-LRR type R protein, Nbs1-Pi2	MH807580.116	not found in NCBI database
QBA09461.1	Piz-t	Os06t0288100-01	leucine-rich repeat receptor-like serine/threonine/tyrosine-protein kinase SOBIR1
QBA09459.1	NBS-LRR type R protein Pizh-2	QBA09453.1	ty3-gypsy sub-class retrotransposonable element polyprotein

تکامل در گیاه برنج از حدود ۱۵ میلیون سال است آغاز شده است و فرآیندهایی نظیر پلی پلوئیدی[5] باعث ایجاد ۲۲ گونه خویشاوند وحشی در جنس *Oryza* شده است. گونه‌های خویشاوند در آسیا، آفریقا، استرالیا و آمریکا پراکنده شده‌اند (Tapan K. Mondal, 2018). تحقیقاتی که در دو دهه‌ی اخیر بر روی شناسایی مسیر تکاملی گونه *O. sativa japonica* در راستای شناخت بیشتر مسیر تکاملی این گونه و مشخص شدن جد مشترک[6] این گونه صورت گرفته است مشخص نموده که این گونه از گونه *O. rufipogon* اشتقاق گرفته که زمان این جدایی چیزی در حدود ۹ هزار سال پیش تخمین زده می شود، همچنین در این تحقیقات جریان شار ژنی از گونه *O. sativa japonica* به گونه *O. sativa indica* نیز به اثبات رسیده است (Choi *et al.*, 2017; Kim *et al.*, 2020). از پژوهش‌های صورت گرفته در حوزه بررسی سینتنی بین گونه‌های مختلف یک جنس اختصاصی می توان به تحقیقی که توسط لی و همکاران (Li *et al.*, 2024) بر روی گونه‌های مختلف جنس Dendrobium صورت گرفت وجود سینتنی بین خوشه‌های ژنی Cyp که دخیل در سنتز آلکالوئیدها هستند به اثبات رسید و تحقیق دیگری که بر روی گونه‌های مختلف جنس Glycine صورت گرفت وجود سینتنی بین خوشه‌های ژنی خانواده FH که در پاسخ به تنش‌های غیر زنده نقش دارند نیز به اثبات رسید (Zhang *et al.*, 2024) اشاره کرد.

با توجه به نتایج به دست آمده در این پژوهش در مورد خوشه ژنی‌های ژن‌های دخیل در مقاومت به بیماری بلاست می‌توان گفت که این ژن‌ها در طی تکامل بین کروموزوم‌های مختلف پخش نشده و حفظ شده‌اند. در واقع جایگاه آن‌ها عمدتاً بر روی کروموزوم‌های شماره ۶ و ۹ قرار دارد حتی اگر مانند گونه *O. sativa japonica* با سایر گونه‌ها سینتنی نشان ندهد نیز جایگاه این ژن تغییری نکرده (در این گونه ژن‌های مقاومت بررسی شده بر روی کروموزوم شماره ۶ قرار دارد). همانطور که در تحقیقات پیشین اثبات شده است که در گونه‌های خویشاوند برنج، ژن‌هایی که نقش‌های دفاعی و یا در پاسخ به تنش‌ها نقش دارند ژن‌هایی حفظ شده هستند و سینتنی در آن‌ها مشاهده می‌شود (Stein *et al.*, 2018)، نتایج این پژوهش نشان داد که جایگاه ژنومی خوشه‌های ژنی pigm و pizh که در مقاومت به بیماری بلاست نقش کلیدی دارند، در کروموزوم‌های شمارهٔ ۶ و ۹ گونه‌های مختلف جنس *Oryza* حفظ شده‌اند. به عبارتی این خوشه‌های ژنی در گونه‌های مختلف مورد مطالعه دارای میکروسینتنی قابل توجهی هستند.. از طرفی این موضوع که این خوشه‌های ژنی در *O. sativa japonica* باهیچکدام از سایر ۱۳ گونه بررسی شده در این پژوهش سینتنی نشان نداده‌اند (حتی با گونه *O. rufipogon* که به عنوان جد مشترک گونه *O. sativa japonica* شناخته شده است) با توجه به سرعت بالاتر تکامل ژن‌هایی که نقش‌های دفاعی دارند نسبت به سایر ژن‌ها (Richter & Ronald, 2000) و نقش غیر قابل انکار فرآیندهای انتخاب

[5] Polyploidy
[6] Common ancestor

مصنوعی و اهلی کردن که توسط انسان‌ها بر روی این گونه زراعی صورت گرفته است قابل توجیه است. در ارتباط با جایگاه حفظ شده این خوشه‌های ژنی بر روی کروموزم‌های شماره ۶ و ۹ در گونه‌های بررسی شده نیز می‌توان یکی از دلایل این امر را نیاز به هم بیانی[7] و هم تنظیمی[8] این ژن‌ها و همچنین عدم پراکنده شدن آن‌ها در طی تکامل دانست. همچنین سینتنی مشاهده شده در گونه‌های *O. meridionalis*، *O.sativa indica*، *O. glumipatula*، *O. barthii* و *O. glaberrima* باتوجه به نتایج پژوهش‌های قبلی که نزدیکی ژنتیکی بالای این گونه‌ها با یکدیگر علی‌رغم عدم شباهت مورفولوژیکی به اثبات رسیده است (Stein *et al.*, 2018)، نتیجه‌ای قابل پیش بینی می‌باشد و نشان دهنده نقطه اشتقاق نزدیک‌تر این گونه‌ها از یکدیگر نیز می‌باشد. نتایج به دست آمده دراین پژوهش که در ارتباط با سینتنی مشاهده شده در خوشه‌های ژنی مقاومت به بلاست برنج صورت گرفته است می‌تواند در پژوهش‌های آتی در اصلاح کلاسیک مورد استفاده قرار گیرد و منجر به دست یابی به آلل‌های جدیدی برای ژن‌های مقاومت موجود و یا ژن‌های مقاومت جدید با استفاده از گونه‌های دارای سینتنی در این خوشه‌های ژنی شود.

نتیجه‌گیری

بلوک‌های ژنی مورد مطالعه با هیچ یک از گونه های خویشاوند وحشی یعنی *Zizania latifolia* ، *Echinochloa crus-galli* و *Leersia perrieri* برنج سینتنی نداشتند و در بین ۱۴ گونه جنس *Oryza* تنها گونه‌های *O. meridionalis, O. sativa indica, O. glumipatula, O. barthii , O. glaberrima* دارای میکروسینتنی با گونه برنج زراعی بودند که می‌تواند بیانگر شباهت بالاتر این گیاهان از جنبه تکامل جایگاه ژنومی خوشه‌های ژنی عامل مقاومت به بیماری بلاست باشد. به طور جالب توجهی در این پژوهش مشاهده شد که بین دو نوع برنج زراعی یعنی *O. sativa indica* و *O. sativa japonica* برای این دو بلوک ژنی میکرو سینتنی مشاهده نشد که بیانگر اختلاف تکاملی دو نوع برنج زراعی از نظر جایگاه ژنومی خوشه‌های ژنی مورد مطالعه می باشد. این اختلاف تکاملی علی‌رغم شباهت بالای ژنومی آنها در مقایسه با سایر گونه‌های جنس *Oryza* است.

[7] Co-expression
[8] Co-regulation

شکل ۳-خوشه‌های ژنی ژن‌های مقاومت به بیماری بلاست قرار گرفته بر روی کروموزوم شماره ۶ *O. sativa indica*. کد OsR (*O. sativa indica*)، OMEY (*O. meridionalis*)، ORGLA (*O. glaberrima*)، OGLUM (*O. glumipatula*) و OBAR (*O. barthii*).

Figure 3. Synteny for pigm gene cluster carried out genes resistance to Blast located on chromosome 6 of *O. sativa indica.* Abbereviations: ORGLA (*O. glaberrima*), OBAR (*O. barthi*), OGLUM (*O. glumipattula),* OMEY *(O. meridionalis)* and OsR (*O. sativa indica).*

جدول ۳-عملکرد ژن‌های مربوط به خوشهٔ ژنی pigm واقع روی کروموزوم شماره ۶ *O. sativa indica*

Table 2. Biological function of genes of pigm gene cluster located on chromosome 6 of *O. sativa indica.*

ژن Gene	عملکرد Functon	ژن Gene	عملکرد Function	ژن Gene	عملکرد Function
OsR498G061215690 0.01.T01	early nodulin-like protein 1	OsR498G06121 59700.01.T01	putative disease resistance RPP13-like protein 3	OsR498G0612 162700.01.T01	**Gumei4** **Pigm locus**
OsR498G061215830 0.01.T01	DNA oxidative demethylase ALKBH2	OsR498G06121 60500.01.T01	Piz(t) gene for NBS-LRR	OsR498G0612 162700.01.T02	**Gumei4** **Pigm locus**
OsR498G061215860 0.01.T01	sister chromatid cohesion protein PDS5 homolog A isoform X2	OsR498G06121 60900.01.T01	Pigm locus genomic sequence	OsR498G0612 164700.01.T01	**Gumei4** **Pigm locus**
OsR498G061215860 0.01.T02	sister chromatid cohesion protein PDS5 homolog A isoform X2	OsR498G06121 60900.01.T04	Pigm locus genomic sequence	OsR498G0612 164700.01.T02	**Gumei4** **Pigm locus**
OsR498G061215860 0.01.T03	sister chromatid cohesion protein PDS5 homolog A isoform X2	OsR498G06121 61300.01.T01	Pigm locus genomic sequence	OsR498G0612 165700.01.T01	**Gumei4** **Pigm locus**
OsR498G061215860 0.01.T04	sister chromatid cohesion protein PDS5 homolog A isoform X2	OsR498G06121 61300.01.T02	Pigm locus genomic sequence	OsR498G0612 165900.01.T01	**Gumei4** **Pigm locus**
OsR498G061215860 0.01.T05	sister chromatid cohesion protein PDS5 homolog A isoform X2	OsR498G06121 61300.01.T03	Pigm locus genomic sequence	OsR498G0612 165900.01.T02	**Gumei4** **Pigm locus**
OsR498G061215950 0.01.T02	protein NOI4	OsR498G06121 61300.01.T04	Pigm locus genomic sequence	OsR498G0612 165900.01.T03	**Gumei4** **Pigm locus**
OsR498G061215950 0.01.T01	protein NOI4	OsR498G06121 61300.01.T05	Pigm locus genomic sequence	OsR498G0612 167200.01.T01	**Gumei4** **Pigm locus**

References

Choi, J. Y., Platts, A. E., Fuller, D. Q., Hsing, Y. I., Wing, R. A., & Purugganan, M. D. (2017). The Rice Paradox: Multiple Origins but Single Domestication in Asian Rice. *Mol Biol Evol*, *34*(4), 969-979. https: //doi.org/10.1093/molbev/msx049

Chung, H., Jeong, D. G., Lee, J. H., Kang, I. J., Shim, H. K., An, C. J., Kim, J. Y., & Yang, J. W. (2022). Outbreak of Rice Blast Disease at Yeoju of Korea in 2020. *Plant Pathol J*, *38*(1), 46-51. https: //doi.org/10.5423/ppj.Nt.08.2021.0130

Deng, Y., Zhai, K., Xie, Z ,.Yang, D., Zhu, X., Liu, J., Wang, X., Qin, P., Yang, Y., Zhang, G., Li, Q., Zhang, J., Wu, S., Milazzo, J., Mao, B., Wang, E., Xie, H., Tharreau, D., & He, Z. (2017). Epigenetic regulation of antagonistic receptors confers rice blast resistance with yield balance. *Science*, *355*(6328), 962-965. https: //doi.org/doi: 10.1126/science.aai8898

Duncan A Vaughan, H. M., K Kadowaki,. (2003). Diversity in the Oryza genus. *Current Opinion in Plant Biology*, *6*(2), 139-146. https: //doi.org/https: //doi.org/10.1016/S13 ۸-۰۰۰۰۹(۰۳)۵۲۶۶-۶۹

Duran, C., Edwards, D., & Batley, J. (2009). Genetic maps and the use of synteny. *Methods Mol Biol*, *513*, 41-55. https: //doi.org/10.1007/978-1-59745-427-8_3

Guo, L., Qiu, J., Ye, C., Jin, G., Mao, L., Zhang, H., Yang, X., Peng, Q., Wang, Y., Jia, L., Lin, Z., Li, G., Fu, F., Liu, C., Chen, L., Shen, E., Wang, W., Chu, Q., Wu, D., . . . Fan, L. (2017). Echinochloa crus-galli genome analysis provides insight into its adaptation and invasiveness as a weed. *Nat Commun*, *8*(1), 1031. https: //doi.org/10.1038/s41467-017-01067-5

Jung, S., Jiwan, D., Cho, I., Lee, T., Abbott, A., Sosinski, B., & Main, D. (2009). Synteny of Prunus and other model plant species. *BMC Genomics*, *10*, 76. https: //doi.org/10.1186/1471-2164-10-76

Kim, H., Lee, K. K., Jeon, J., Harris, W. A., & Lee, Y.-H. (2020). Domestication of Oryza species eco-evolutionarily shapes bacterial and fungal communities in rice seed. *Microbiome*, *8*(1), 20. https: //doi.org/10.1186/s40168-020-00805-0

Li, K.-L., Liang, Y.-M., Chen, Z., Zheng ,P.-J., Zhang, G.-Q., Yan, B., Elshikh, M. S., Rizwana, H., Chen, B., & Xu, Q. (2024). Genome-wide identification of the alkaloid synthesis gene family CYP450, gives new insights into alkaloid resource utilization in medicinal Dendrobium. *International Journal of Biological Macromolecules*, *259*, 129229. https: //doi.org/https: //doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.129229

Martin-Urdiroz, M., Oses-Ruiz, M., Ryder, L. S., & Talbot, N. J. (2016). Investigating the biology of plant infection by the rice blast fungus Magnaporthe oryzae. *Fungal Genet Biol*, *90*, 61-68. https: //doi.org/10.1016/j.fgb.2015.12.009

McCouch, S. R. (2001). Genomics and Synteny. *Plant Physiology*, 152-155 .

Meyer, R. S., & Purugganan, M. D. (2013). Evolution of crop species: genetics of domestication and diversification. *Nat Rev Genet*, *14*(12), 840-852. https: //doi.org/10.1038/nrg3605

N.M.Nayar. (2014). *Oryza Species and Their Interrelationships*. academic press. https: //doi.org/https: //doi.org/10.1016/B978-0-12-417177-0.00004-8

Nalley, L., Tsiboe, F., Durand-Morat, A., Shew, A., & Thoma, G. (2016). Economic and Environmental Impact of Rice Blast Pathogen (Magnaporthe oryzae) Alleviation in the United States. *PLoS One*, *11*(12), e0167295. https: //doi.org/10.1371/journal.pone.0167295

Ning, X., Yunyu, W., & Aihong, L. (2020). Strategy for Use of Rice Blast Resistance Genes in Rice Molecular Breeding. *Rice Science*, *27*(4), 263-277. https: //doi.org/https: //doi.org/10.1016/j.rsci.2020.05.003

P.K.SinghK.VenkatesanT.P.Swarnam. (2018). Rice Genetic Resources in Tropical Islands. *academic press*, 355-384. https: //doi.org/https: //doi.org/10.1016/B978-0-12-813064-3.00012-0

Richter, T. E., & Ronald, P. C. (2000). The evolution of disease resistance genes. *Plant Mol Biol*, *42*(1), 195-204 .

Srivastava, D., Shamim, M., Kumar, M., Mishra, A., Pandey, P., Kumar, D., Yadav, P., Siddiqui, M. H., & Singh, K. N. (2017). Current Status of Conventional and Molecular Interventions for Blast Resistance in Rice. *Rice Science*, *24*(6), 299-321. https: //doi.org/https: //doi.org/10.1016/j.rsci.2017.08.001

Stein, J. C., Yu, Y., Copetti, D., Zwickl, D. J., Zhang, L., Zhang, C., Chougule, K., Gao, D., Iwata, A., Goicoechea, J. L., Wei, S., Wang, J., Liao, Y., Wang, M., Jacquemin, J., Becker, C., Kudrna, D., Zhang, J., Londono, C .E. M., . . . Wing, R. A. (2018). Genomes of 13 domesticated and wild rice relatives highlight genetic conservation, turnover and innovation across the genus Oryza. *Nat Genet*, *50*(2), 285-296. https: //doi.org/10.1038/s41588-018-0040-0

Stein, N. (2013). Synteny (Syntenic Genes). *Brenner's Encyclopedia of Genetics*, *6*. https: //doi.org/doi: 10.1016/B978-0-12-374984-0.01508-4

Tang, H., Bowers, J. E., Wang, X., Ming, R., Alam, M., & Paterson, A. H. (2008). Synteny and collinearity in plant genomes. *Science*, *320* .٤٨٨-٤٨٦ ,(٥٨٧٥)https: //doi.org/10.1126/science.1153917

Tapan K. Mondal, R. J. H. (2018). *The Wild Oryza Genomes*. Springer Cham. https: //doi.org/https: //doi.org/10.1007/978-3-319-71997-9

Thornton, J. W., & DeSalle, R. (2000). Gene Family Evolution and Homology: Genomics Meets Phylogenetics. *1*(1), 41-73. https: //doi.org/10.1146/annurev.genom.1.1.41

Wang, Y., Tang, H., Debarry, J. D., Tan, X., Li, J., Wang, X., Lee, T. H., Jin, H., Marler, B., Guo, H., Kissinger, J. C., & Paterson, A. H. (2012). MCScanX: a toolkit for detection and evolutionary analysis of gene synteny and collinearity. *Nucleic Acids Res*, *40*(7), e49. https: //doi.org/10.1093/nar/gkr1293

Xie, Z., Yan, B., Shou, J., Tang, J., Wang, X., Zhai, K., Liu, J., Li, Q., Luo, M., Deng, Y., & He, Z . .(۲۰۱۹)A nucleotide-binding site-leucine-rich repeat receptor pair confers broad-spectrum disease resistance through physical association in rice. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, *374*(1767), 20180308. https: //doi.org/10.1098/rstb.2018.0308

Yang Y ,Z. K., Xia H, Chen L, Chen K. (2014). Comparative proteomic analysis of indica and japonica rice varieties. . *Genet Mol Biol*, *37*(4), 652-661. https: //doi.org/doi: 10.1590/S1415-47572014005000015

Zhang, Z., Zhang, Z., Shan, M., Amjad, Z., Xue, J., Zhang, Z ,.Wang, J., & Guo, Y. (2024). Genome-Wide Studies of FH Family Members in Soybean (Glycine max) and Their Responses under Abiotic Stresses. *Plants (Basel)*, *13*(2). https: //doi.org/10.3390/plants13020276

Zhou, Z., Robards, K., Helliwell, S., & Blanchard ,C. (2002). Composition and functional properties of rice. *International Journal of Food Science & Technology*, *37*(8), 849-868. https: //doi.org/https: //doi.org/10.1046/j.1365-2621.2002.00625.x