



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

Sahand Sasani¹ , Sajad Rashidi Monfared¹  , Danial Kahrizi¹  & Masoumeh Khanahmadi² 

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

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 BLASTN 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](https://doi.org/10.22126/cbb.2024.10624.1072)



© The Author(s).
[10.22126/cbb.2024.10624.1072](https://doi.org/10.22126/cbb.2024.10624.1072)

Publisher: Razi University



بررسی سینتینی 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

چکیده

مقدمه: گیاه برنج یکی از اصلی‌ترین 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 خانواده Poacea است که دارای ۲۴ گونه مختلف می‌باشد. گونه‌ها در این جنس از لحاظ ژنوم به دو دسته دیپلوئید و تتراپلوئید تقسیم می‌شوند. وجود سینتینی بین ژن‌های عامل ایجاد مقاومت در سایر گونه‌ها راهکار بسیار مناسبی برای شناسایی ژن‌های مقاومت محسوب می‌شود. در این پروژه وجود سینتینی 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 این صورت 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 گونه *Oryza* انجام گرفت. توالی‌های رمزکننده گونه‌های مختلف جنس *Oryza* نیز از پایگاه NCBI دریافت شدند. به منظور نقشه‌یابی ژن‌های مربوط به هر گونه با ژنوم همان گونه 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 MCSanX بلوک‌های ژنی دارای سینتینی مشخص شدند.

یافته‌ها: نتایج بررسی سینتینی ژن‌های عامل مقاومت به بلاست در ۱۴ گونه مورد مطالعه نشان داد که در پنج گونه *O. sativa indica*، *O. meridionalis*، *O. glaberrima* و *O. barthii* سینتینی مشاهده می‌شود و در سایر گونه‌ها از جمله *O. sativa japonica* در مورد خوشه‌های ژنی مقاومت به بلاست سینتینی مشاهده نشد. نتایج تجزیه سینتینی 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 سینتینی بین برنج و گونه‌های *O. sativa*، *O. meridionalis*، *O. glaberrima* و *O. barthii* برای خوشه‌های ژنی حامل ژن‌های مقاومت مورد بررسی در این پژوهش اثبات شد. اما سینتینی برای پنج گونه دیگر برنج و سه خویشاوند وحشی مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: وجود سینتینی 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، MCSanX.

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 سینتینی بلوک‌های ژنی *pizh* و *pigm* عامل مقاومت به بیماری بلاست برنج

در ۱۱ گونه *Oryza* و سه گونه خویشاوند. بیوتکنولوژی و بیوشیمی غلات، ۱(۱)۳، ۶۱-۷۳. DOI: [10.22126/cbb.2024.10624.1072](https://doi.org/10.22126/cbb.2024.10624.1072)



مقدمه

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 مقاومت xa21 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 سیننتی برای اولین بار توسط John H Renwick 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 سیننتی محسوب می‌شود و تعریف بیولوژیک و نوین سیننتی عبارت است از حفظ

گیاه برنج با نام علمی *Oryza sativa* یکی از اصلی‌ترین گیاهان زراعی است که برای تقریباً بیش از ۵۰۰۰ سال توسط انسان‌ها مصرف می‌شود و یکی از غذای‌های اصلی مردم در کل دنیا و به‌ویژه قاره آسیا محسوب می‌شود. از این محصول به طور گسترده‌ای در رژیم غذایی مردم دنیا برای تامین انرژی و مواد مغذی استفاده می‌شود به طوری که 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 معروف‌ترین 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 طور کلی 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

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 ۱۱ و 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 موفقیت‌آمیزی 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 طوری که 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

بلوک‌های ژنی درون کروموزوم گونه‌هایی که با یکدیگر سیننتی دارند (McCouch, 2001). در یکی از تحقیقات انجام شده بر روی گیاهان گونه‌های مختلف جنس *Prunus* (شامل هلو، آلو، زردآلو، گیلان و بادام) یک سیننتی کاملاً حفظ شده یافت شد. در این بررسی گونه‌های مختلف جنس *Prunus* را با گیاهان مدل شامل صنوبر، ارایدوپسیس و یونجه به منظور یافتن مناطق دارای سیننتی مقایسه کردند که نتیجه آن یافتن یک سیننتی کاملاً حفظ شده بین گونه‌های مختلف جنس *Prunus*، صنوبر و یونجه می‌باشد. مناطق دارای سیننتی در صنوبر دارای طول‌هایی تا ۴۷۷ کیلو باز بودند و همچنین هیچ گونه سیننتی بین ارایدوپسیس و درختان این تیره در این تحقیق شناسایی نشده است. الگوی سیننتی‌های مشاهده شده از فرضیه‌ی مضاعف شدن کامل ژنوم در گونه‌های صنوبر و یونجه پشتیبانی می‌کند، همچنین به طور جالب توجه‌ای سطح سیننتی 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 می‌کنند. همچنین در اصلاح نباتات تنها از تعداد کمی از این ژنها به طور تجاری استفاده شده است. در این تحقیق تمامی ژنهای مقاومتی

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 آل‌های 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 NCBI¹ 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 ۱۷۸۷۰۴ جفت باز و pizh با شماره دستیابی MH807580.1 در پایگاه NCBI که ۱۶ عدد CDS و طول کلی ۱۶۵۲۰۷ جفت 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 Bedtools²(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 استفاده قرار گرفتند. نمودار بلوک‌های ژنی دارای سینتنی شناسایی شده با استفاده از نرم افزار MCScanX (Wang *et al.*, 2012) به‌وسیله نرم افزار SynVisio³(v1.0x-dev) ترسیم شد.

² <https://bedtools.readthedocs.io/en/latest/>

³ <https://synvisio.github.io/#/>

¹ <https://www.ncbi.nlm.nih.gov>

جدول ۱- اسامی گونه‌های مورد استفاده، اندازه 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	<i>O. nivara</i>
2n=24	386Mb	<i>O. rufipogon</i>
2n=24	362Mb	<i>O. brachyanth</i>
2n=24	423Mb	<i>O. punctate</i>
2n=24	464Mb	<i>O. glumipatula</i>
2n=24	435Mb	<i>O. meridionalis</i>
2n=24	411Mb	<i>O. barthii</i>
2n=24	340Mb	<i>O. longistaminata</i>
2n=24	358Mb	<i>O. glaberrima</i>
2n=24	385Mb	<i>O. sativa japonica</i>
2n=24	385Mb	<i>O. sativa indica</i>
2n=34	603Mb	<i>Zizania latifolia</i>
2n=54	1,340Mb	<i>Echinochloa crus-galli</i>
2n=24	266Mb	<i>Leersia perrieri</i>

نتایج و بحث

مقاومت بر روی کروموزوم شماره ۶ و ۹ قرار دارند و اگرچه در گونه‌های مورد مطالعه که سیننتی 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* بالایی این ژن‌ها به صورت خوشه بر روی کروموزوم شماره ۶ قرار داشتند اما سیننتی با سایر گونه‌ها نشان ندادند.

نتایج بررسی سیننتی ژن‌های عامل مقاومت به بلاست در ۱۴ گونه مورد مطالعه نشان داد که در پنج گونه *O. glaberrima*, *O. meridionalis*, *O. sativa indica*, *O. sativa japonica* و *O. barthii* سیننتی مشاهده می‌شود و در سایر گونه‌ها از جمله *O. sativa japonica* در مورد این خوشه‌های ژنی مقاومت به بلاست سیننتی مشاهده نشد. همچنین مشخص شد که عمده‌ی این خوشه‌های ژنی



شکل ۱- خروجی نرم افزار synvisio برای گونه‌هایی که با یکدیگر سینتینی دارند. کدهای (oba6) (*O. glaberrima*)، (ogl6) (*O. glaberrima*)، (ogu9) (*O. glumipatila*)، (si6) (*O. sativa indica*) و شماره ۶ و ۹ شماره کروموزوم در گونه‌های مورد مطالعه است.

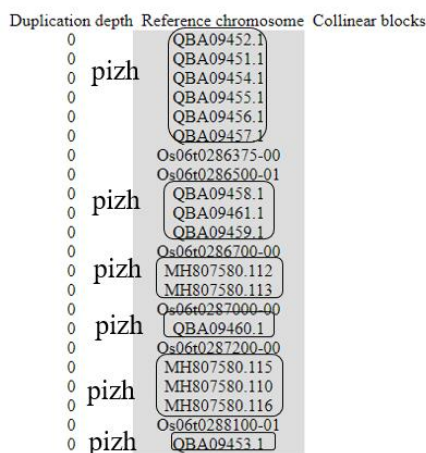
Figure 1. Synteny graph constructed using Synvisio program. Abbreviations: gl (*O. glaberrima*), oba (*O. barthi*), ogu (*O. glumipatila*), si (*O. sativa indica*), 6 and 9 are chromosome numbers.

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

بررسی سینتینی 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^۴ بین گونه *O. sativa japonica* و ۱۳ گونه دیگر دیده نشد که نشان دهنده عدم مشاهده سینتینی برای این ژن‌ها در این گونه است. اما این به معنی عدم وجود این ژن‌ها روی این کروموزوم نیست بلکه صرفاً سینتینی 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 Pi و Piz) را برعهده دارند که لیست کامل این ژن‌ها را می‌توانید در جدول ۲ مشاهده کنید.

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

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 خوشه 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	عملکرد	ژن	عملکرد
Gene	Function	Gene	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 retrotransposable element polyprotein

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 سیننتی 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 سیننتی 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 شماره ۶ و ۹ گونه‌های مختلف جنس *Oryza* حفظ شده‌اند. به عبارتی این خوشه‌های ژنی در گونه‌های مختلف مورد مطالعه دارای میکروسیننتی 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 سیننتی 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

تکامل در گیاه برنج از حدود ۱۵ میلیون سال است آغاز شده است و فرآیندهایی نظیر پلی‌پلوئیدی^۵ 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^۶ این گونه صورت گرفته است مشخص نموده که این گونه از گونه *O. rufipogon* اشتقاق گرفته که زمان این جدایی چینی در حدود ۹ هزار سال پیش تخمین زده می‌شود، همچنین در این تحقیقات جریان شارژ 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 سیننتی بین گونه‌های مختلف یک جنس اختصاصی می‌توان به تحقیقی که توسط لی و همکاران (Li et al., 2024) بر روی گونه‌های مختلف جنس *Dendrobium* صورت گرفت وجود سیننتی بین خوشه‌های ژنی *Cyp* که دخیل در سنتز آکالوئیدها هستند به اثبات رسید و تحقیق دیگری که بر روی گونه‌های مختلف جنس *Glycine* صورت گرفت وجود سیننتی بین خوشه‌های ژنی خانواده FH که در پاسخ به تنش‌های غیر زنده نقش دارند نیز به اثبات رسید (Zhang et al., 2024) اشاره کرد.

⁵ Polyploidy

⁶ Common ancestor

سیننتی نداشتند و در بین ۱۴ گونه جنس *Oryza* تنها گونه‌های *O. meridionalis*, *O. sativa indica*, *O. glumipatula*, *O. barthii*, *O. glaberrima* دارای میکروسیننتی 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 سیننتی مشاهده نشد که بیانگر اختلاف تکاملی دو نوع برنج زراعی از نظر جایگاه ژنومی خوشه‌های ژنی مورد مطالعه می‌باشد. این اختلاف تکاملی علی‌رغم شباهت بالای ژنومی آنها در مقایسه با سایر گونه‌های جنس *Oryza* است.

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^۷ و هم تنظیمی^۸ این ژن‌ها و همچنین عدم پراکنده شدن آنها در طی تکامل دانست. همچنین سیننتی مشاهده شده در گونه‌های *O. meridionalis*, *O. sativa indica*, *O. glumipatula*, *O. barthii* و *O. glaberrima* با توجه 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 در این پژوهش که در ارتباط با سیننتی 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 سیننتی در این خوشه‌های ژنی شود.

نتیجه‌گیری

بلوک‌های ژنی مورد مطالعه با هیچ یک از گونه‌های خوشیاوند وحشی یعنی *Zizania latifolia*، *Leersia perrieri* و *Echinochloa crus-galli* برنج

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. glaberrima*) ORGLA، (*O. meridionalis*) OMEY، (*O. sativa indica*) OBAR و (*O. glumipatula*) OGLUM، (*O. barthii*).

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

جدول ۳- عملکرد ژن‌های مربوط به خوشه 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 Function	ژن Gene	عملکرد Function	ژن Gene	عملکرد Function
OsR498G061215690.01.T01	early nodulin-like protein 1	OsR498G0612159700.01.T01	putative disease resistance RPP13-like protein 3	OsR498G0612162700.01.T01	Gumei4 Pigm locus
OsR498G061215830.01.T01	DNA oxidative demethylase ALKBH2	OsR498G0612160500.01.T01		OsR498G0612162700.01.T02	Gumei4 Pigm locus
OsR498G061215860.01.T01	sister chromatid cohesion protein PDS5 homolog A isoform X2	OsR498G0612160900.01.T01		OsR498G0612164700.01.T01	Gumei4 Pigm locus
OsR498G061215860.01.T02	sister chromatid cohesion protein PDS5 homolog A isoform X2	OsR498G0612161300.01.T04		OsR498G0612164700.01.T02	Gumei4 Pigm locus
OsR498G061215860.01.T03	sister chromatid cohesion protein PDS5 homolog A isoform X2	OsR498G0612161300.01.T01		OsR498G0612165700.01.T01	Gumei4 Pigm locus
OsR498G061215860.01.T04	sister chromatid cohesion protein PDS5 homolog A isoform X2	OsR498G0612161300.01.T02		OsR498G0612165900.01.T01	Gumei4 Pigm locus
OsR498G061215860.01.T05	sister chromatid cohesion protein PDS5 homolog A isoform X2	OsR498G0612161300.01.T03		OsR498G0612165900.01.T02	Gumei4 Pigm locus
OsR498G061215950.01.T02	protein NOI4	OsR498G0612161300.01.T04		OsR498G0612167200.01.T03	Gumei4 Pigm locus
OsR498G061215950.01.T01	protein NOI4	OsR498G0612161300.01.T05		OsR498G0612167200.01.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 Yeosu 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/S1385-0009\(03\)02666-6](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S1385-0009(03)02666-6)
- 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. <https://doi.org/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. *J*(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. (2019). 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>