نهمین کنفرانس ملی و اولین کنفرانس بین‌المللی فیزیولوژی گیاهی
9th National and 1st International Conference of Plant Physiology
۱۳-۱۱ بهمن ۱۴۰۴، دانشگاه گیلان

پیش‌بینی برهم‌کنش miRNAها با رونوشت‌های پیرایش یافته متناوب در پاسخ به تنش کم‌آبی در ذرت (اینبرد لاین B73)

هنگامه طاهری[1*]
- [1*]گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران
- Taheri@asnrukh.ac.ir

چکیده

خشکی یکی از اصلی‌ترین تنش‌های غیرزیستی مؤثر بر ذرت است که بر عملکرد گیاه تأثیر منفی می‌گذارد. ریزRNAها (miRNAs) از طریق تخریب mRNA ژن‌های هدف یا مهار ترجمه آن‌ها نقش مؤثری در تنظیم پاسخ به این تنش دارند. در این مطالعه لیستی از برهم‌کنش ریزRNAها با رونوشت‌های حاصل از فرایند پیرایش متناوب در پاسخ به تنش خشکی در ذرت پیش‌بینی شد. نتایج نشان داد که بیشترین برهم‌کنش‌ها متعلق به رونوشت‌های *Zm00001eb094520*، *Zm00001eb390790*، *Zm00001eb074430* و *Zm00001eb156610* بود که عمدتاً توسط طیفی از ریزRNAهای خانواده‌های miR166، miR395 و miR444 مورد هدف واقع می‌شوند. این یافته‌ها اهمیت تمرکز بر این RNAهای غیرکدکننده را در شناخت سازوکارهای تنظیمی پسارونویسی و بهبود مقاومت به تنش خشکی در برنامه‌های به‌نژادی روشن ساخت.

مقدمه

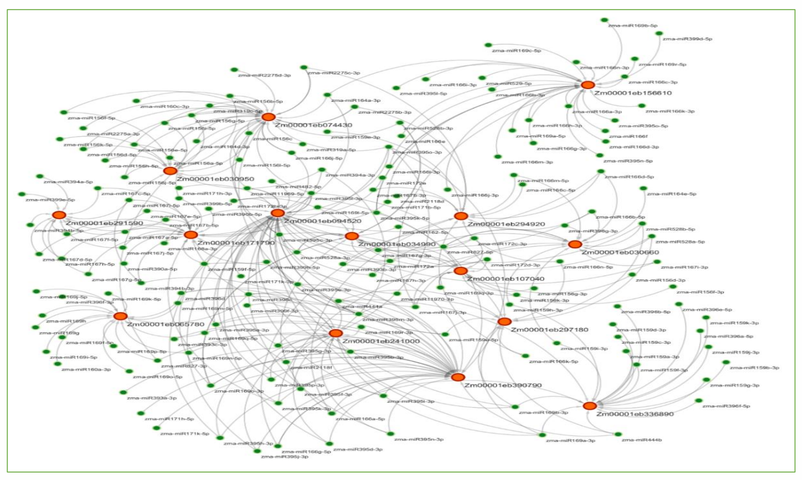
با وجود تحقیقات گسترده در مورد سازوکارهای مولکولی و ژنتیکی سازگاری با تنش، درک ما از پاسخ گیاهان به تنش خشکی هنوز مبهم است. با این حال، مطالعات اخیر نشان داده‌اند که یکی از سازوکارهایی که گیاهان از طریق آن به تنش خشکی پاسخ می‌دهند، تنظیم بیان ژن توسط RNAهای کوچک غیر کدکننده، به ویژه ریزRNAها (miRNAs) می‌باشد. این RNAها به‌عنوان عناصر کلیدی در تنظیم سازگاری گیاه با تنش خشکی شناخته می‌شوند و توانایی قابل توجهی در تعدیل سازوکارهای مختلف فیزیولوژیکی و مولکولی دارند. ریزRNAها، ژن‌های خاصی را مهار می‌کنند تا گیاهان بتوانند در تنش‌های بعدی خشکی و گرما بهتر پاسخ دهند (Sintaha, 2025). در مطالعه اخیر نیز با توجه به اهمیت پیرایش متناوب در انعطاف‌پذیری ترانسکریپتومی و پروتئومی، شناسایی ریزRNAهایی که در برهم‌کنش با این ژن‌ها مشارکت دارند، تصویر روشنی از سازوکار تنظیم پس از رونویسی این ژن‌ها در پاسخ به تنش خشکی در گیاهچه‌های ذرت ارائه می‌دهد.

مواد و روش‌ها

ابتدا داده‌های RNA-Seq حاصل از تنش سه روزه خشکی و تیمار شاهد مربوط به لاین اینبرد B73 از پایگاه داده NCBI بازیابی شدند. پس از هم ترازی خوانش‌های بازیابی شده با ژنوم مرجع ذرت در نرم‌افزار CLC Genomics Workbench 25.0، فایل‌های مپینگ آماده شدند. سپس با استفاده از افزونه Transcript discovery ایزوفرم‌های جدید شناسایی شدند. با طراحی اسکریپت‌های پایتون، مقایسه بین دو فایل اکسل تیمار و شاهد حاوی رویدادهای پیرایش متناوب انجام شد. در مرحله نهایی پیش‌بینی برهم‌کنش ریزRNAها با mRNAهای هدف، در سایت psRNATarget انجام شد و ریزRNAهایی که توالی ایزوفرم‌ها را هدف قرار دادند، شناسایی شدند. سپس لیست بیشترین برهم‌کنش‌های احتمالی به سایت Cytoscape وارد شد تا برای ساخت شبکه برهم‌کنشی ایزوفرم‌ها با ریزRNAها مورد استفاده قرار گیرد

نتایج و بحث

نتایج نشان داد که ریزRNAهایی که بیشترین ایزوفرم‌های شناسایی شده را هدف قرار می‌دهند، متعلق به اعضای خانواده *zma-miR166* (شامل *zma-miR166b-5p*، *zma-miR166d-5p*، *zma-miR166g-5p*، *zma-miR166j-5p*، *zma-miR166k-5p*، *zma-miR166n-5p*)، *zma-miR169o-3p*، *zma-miR395k-3p*، *zma-miR399e-5p* و اعضای خانواده *zma-miR444* (*a* و *b*) بودند (شکل ۱). اعضای خانواده *zma-miR166* در بین گیاهان بسیار حفاظت شده هستند و عمدتاً بیان ژن‌های هدف یعنی فاکتورهای رونویسی HD ZIP-III را مهار می‌کنند. miR166 علاوه بر دخیل بودن در فرآیندهای مختلف رشدی، در فرایندهای تنظیمی در برابر تنش‌های زیستی و غیرزیستی در گیاهان زراعی نیز نقش دارد. بر اساس مطالعات قبلی مشخص شد که تنش خشکی بیان پیش‌ساز miR166e را کاهش می‌دهد. طبق داده‌های ژنتیکی، مهار miR166e، تحمل به خشکی را بهبود بخشید، در حالی که بیش بیان miR166e، میزان تحمل گیاه را کاهش داد (Wei *et al.*, 2025).



شکل ۱- پیش‌بینی ریزRNAهایی که ایزوفرم‌های شناسایی شده حاصل از پیرایش متناوب را در پاسخ به تنش ۳ روزه خشکی در ذرت هدف قرار می‌دهد. دایره‌های سبز ریزRNAها و دایره‌های نارنجی ایزوفرم‌های هدف را نشان می‌دهد.

همچنین بر اساس نتایج این پیش‌بینی مشخص شد که ایزوفرم *Zm00001eb094520* بیشترین برهم‌کنش را با ریزRNAهای هدف دارد ؛ به‌گونه‌ای که توسط ۴۷ ریزRNA می‌تواند هدف قرار گیرد. این ژن که بر روی کروموزوم شماره ۳ ذرت قرار دارد، پروتئین E3 ubiquitin-protein ligase UPL1 را کد می‌کند، عملکرد یوبی‌کوئیتیناسیون و تجزیه پروتئازومی پروتئین هدف را برعهده دارد و در چندین پاسخ به تنش غیرزیستی (مانند خشکی و شوری بالا) نقش دارد (Shu and Yang, 2017).

منابع

Shu, K., and Yang, W. (2017). E3 ubiquitin ligases: ubiquitous actors in plant development and abiotic stress responses. Plant and Cell Physiology, 58(9): 1461-1476.doi: 10.1093/pcp/pcx071

Sintaha, M. (2025). Molecular mechanisms of plant stress memory: roles of non-coding RNAs and alternative splicing. Plants, 14(13): 2021.doi: 10.3390/plants14132021

Wei, X., Wang, C., Wang, Y., Zhao, Y., Ma, Y., Liu, S., ... and Jiao, P. (2025). miR166e/ZmATHB14 module contributes to drought tolerance in maize root. International Journal of Biological Macromolecules, 297: 139707.doi: 10.1016/j.ijbiomac.2025.139707