

آنالیز بیوانفورماتیکی EST ژن‌های القاء شده در برنج بعد از تیمار به وسیله بنزوتیادiazole

In-Silico EST analysis of rice genes induced by Benzothiadiazole treatment

ندا زند^{۱*}، رضا فوتوت^۲، دیاکو رسولی^۳

۱- دانشجوی دکتری، گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان

۲- دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان

۳- دانشجوی دکتری، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان

Zand N^{*1}, Fotovat R², Rasouli D³

1- PhD Student, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Zanjan

2- Associate Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, University of Zanjan

3- PhD Student, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, University of Zanjan

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: Nedazand495@yahoo.com

(تاریخ دریافت: ۹۶/۱/۱۴ - تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۲/۱۳)

چکیده

مقاومت القایی (IR) نوعی از مقاومت است که هم با آلودگی با مواد بیولوژیکی قبل از آلودگی با پاتوژن و هم به وسیله تیمار با مواد شیمیایی فعال می‌شود. یکی از مهم‌ترین انواع آن، که بیش‌ترین مطالعات بر روی آن انجام شده، مقاومت اکتسابی سیستمیک (SAR) است که نقش مهمی در مقاومت به بیماری‌ها در گیاهان به عهده دارد. برخی از مواد شیمیایی باعث ایجاد SAR در گیاهان می‌شوند. بنزوتیادiazole (BTH) از جمله مواد شیمیایی مؤثر است که کاربرد خارجی آن به عنوان یک ترکیب جدید برای کنترل بیماری‌ها شناخته شده می‌باشد که پاسخ آن در سرتاسر گیاه انتقال می‌یابد و پاسخ‌های دفاعی در مقابل بیماری را افزایش می‌دهد. به منظور بررسی مکانیسم‌های فعالیت بیوشیمیایی BTH و ژن‌های القا شده توسط آن، داده‌های توالی EST‌های مربوط به BTH در برنج از سایت NCBI اخذ شدند. با دسته‌بندی و هم‌گذاری حدود ۳۷۰ توالی EST برنج بعد از تیمار با BTH ۳۳ کانینگ و ۲۳۴ سینگلتن تشکیل شد، سپس گروه‌های کارکردی مشخص و با انجام مقایسه بین دو کتابخانه ژن‌های مشترک تعیین شدند. نتایج حاصل از این تحقیق مشخص کرد که پس از کاربرد BTH در برنج پروتئین‌های کیناز، LHCb، OEEP، هم‌چنین آنزیم کربنیک انهیدراز و نیز آنزیم Ribulose بیان می‌شوند. در این مطالعه برای نخستین بار تأثیر BTH بر دستگاه فتوسنتزی گیاهان مشاهده شد، هم‌چنین مسیرهای سیگنال‌دهی دفاعی در برنج را پس از تیمار با BTH مشخص کرد. در این مطالعه ژن‌هایی که ممکن است در تنظیم مکانیسم‌های دفاعی گیاه در برابر بیماری‌ها دخالت داشته باشند شناسایی شدند. این نوع مطالعات بیوانفورماتیکی می‌تواند در طرح‌های اصلاحی برای توسعه واریته‌های متحمل در برابر بیماری‌ها کمک‌کننده باشد.

واژه‌های کلیدی

بنزوتیادiazole

مقاومت القایی

مقاومت اکتسابی سیستمیک
EST

بنزوتیادiazول (BTH^3) به عنوان یک عامل ایجاد مصونیت برای گیاهان حساس در برابر بیماری‌ها شناخته شده است که گیاهان را به وسیله افزایش مکانیسم‌های مقاومت، در برابر بیماری‌ها حفاظت می‌کند. BTH به صورت تجاری می‌تواند سطح قابل توجهی از مقاومت در برابر بیماری‌ها در محصولات مختلف مانند توتون، گندم، برنج، خیار و کاهو ایجاد کند (Gorlach et al. 1996).

توالی‌های بیان شده رمزبایی شده (EST^4)، توالی‌های کوتاهی می‌باشند که به صورت تصادفی از کتابخانه cDNA انتخاب شده و توالی‌یابی می‌شوند. این توالی‌ها در بانک‌های اطلاعاتی ذخیره شده و در دسترس محققین در سراسر دنیا قرار می‌گیرند (Kawaura et al. 2008). توالی‌های EST نمایش لحظه‌ای از رونوشت‌های DNA یک موجود در مراحل مختلف رشد و نمو و یا شرایط محیطی مختلف مثل تنش‌های غیر زیستی هستند. لذا کتابخانه‌هایی که از بافت‌های مختلفی که در معرض تنش‌های گوناگون و مراحل نموی حاصل شده‌اند، ابزار مناسبی جهت به دست آوردن بخش بیان شده و تنظیم شده حاصل از تنش از ژنوم گیاهان می‌باشند. توالی‌یابی cDNA اطلاعات مستقیمی را از رونوشت‌های بالغ بخش کدکننده ژنوم در اختیار می‌گذارد که متعاقباً می‌تواند به منظور شناسایی ژن و مطالعات عملکردی مورد استفاده قرار گیرد (Kawaura et al. 2008). تجزیه و تحلیل ESTها از روش‌های پیشرو و مناسب برای بررسی ژن‌ها و پروفایل بیان ژن می‌باشد. توالی‌های EST برای شناسایی ژن‌های بیان شده در بافت خاص و شناسایی ژن‌هایی که تحت شرایط مختلف بیان می‌شوند مورد استفاده قرار می‌گیرند (Zhou et al. 2003). به منظور بررسی مکانیسم‌های فعالیت بیوشیمیایی BTH و ژن‌های القای شده توسط آن در برنج، ۳۷۰ توالی EST از کتابخانه cDNA برنج که پس از تیمار با BTH، در برنج تولید شده‌اند را مورد بررسی قرار دادیم، تا بر این اساس ژن‌هایی که پس از اعمال تیمار BTH در گیاه برنج بیان می‌شوند را شناسایی نماییم.

به منظور بررسی مکانیسم‌های فعالیت بیوشیمیایی BTH ابتدا داده‌های اولیه شامل توالی‌های ESTهای مربوط به BTH در برنج

برنج (*Oryza sativa* L.) از جنس *Oryza* متعلق به قبیله *Oryzae* از خانواده Poaceae می‌باشد (Van Nguyen and Ferrero, 2004). برنج یکی از مهم‌ترین محصولات زراعی جهان می‌باشد و غذای اصلی حدود ۲/۵ میلیارد نفر از جمعیت جهان می‌باشد که حدود ۲۰ درصد از انرژی مورد نیاز روزانه و پروتئین ۱۵ درصد از مردم دنیا را تامین می‌کند (Ghamar et al. 2013). تولید برنج در مناطق مختلف اغلب تحت تاثیر تنش‌های زنده و غیر زنده قرار می‌گیرد که این عوامل سبب کاهش عملکرد نهایی این محصول مهم می‌شوند. عوامل متعدد باکتریایی، قارچی، ویروسی و نماتدها از جمله تنش‌های زنده کاهش دهنده عملکرد برنج می‌باشند از جمله بیماری‌های مهم برنج بیماری سوختگی غلاف برنج (Sheath blight)، بلاست برنج، پوسیدگی ساقه و بلاست باکتریایی می‌باشد (Kumar et al. 2009).

ایمنی اکتسابی شامل چندین مکانیسم مستقل از جمله حفاظت تقاطعی ویروس‌ها، باکتری‌ها و قارچ‌های آنتاگونیست و پاسخ‌های بعد از آلودگی است که به عنوان مقاومت القایی (IR^1) شناخته می‌شوند. این نوع مقاومت (مقاومت القایی)، هم با آلودگی با مواد بیولوژیکی قبل از آلودگی با پاتوژن و هم به وسیله تیمار با مواد شیمیایی فعال می‌شود که هر دو می‌تواند از حفاظت تقاطعی (در زمانی که مقاومت غیره اختصاصی است) و از آنتاگونیسم در زمانی که مکانیسم شامل فرآیند فعال گیاه است شناسایی شود (Ryals et al. 1994). مقاومت القایی نقش مهمی در حفاظت گیاهان در طبیعت به عهده دارد. اگرچه انواع مختلفی از IR شناسایی شده است اما یکی از مهم‌ترین انواع آن که بیشترین مطالعات بر روی آن انجام شده مقاومت اکتسابی سیستمیک (SAR^2) است (Ross 1961; Ryals et al. 1994). سالیسیلیک اسید (SA) به عنوان یک سیگنال ضروری در القای SAR می‌باشد (Gaffney et al. 1993). همچنین کاربرد خارجی SA و آنالوگ‌های مرتبط به آن مانند benzo (1,2,3) thiadiazole-7- S-methyl ester (BTH) و 2,6-dichloroisonicotinic acid (INA) موجب القای SAR و ایجاد مقاومت در گیاه می‌شوند (Metraux et al. 1990).

³ Benzothiadiazole

⁴ Expressed sequence tag

¹ Induced Resistance

² Systemic acquired resistance

کانتینگ و ۱۰۵ سینگلتن تشکیل داد (جدول ۱). بعد از تشکیل کانتینگ‌ها و سینگلتن‌ها، شناسایی ژن‌ها و گروه‌بندی عملکردی‌شان انجام شد. بر اساس اجزای سلولی پس از تیمار برنج به‌وسیله BTH اجزای درون سلولی شامل ترکیبات درون سلولی، ترکیبات سیتوپلاسمی، کلروپلاست، پلاستید، غشای پلاسمایی و سیتوسول دارای بالاترین درصدها و اجزای دیگر شامل میتوکندری، ریبوزوم و دستگاه گلژی کمترین درصدها را داشتند (شکل ۱).

بر اساس نتایج حاصل از فرایندهای بیولوژیکی پس از تیمار برنج به‌وسیله BTH فرایندهای سلولی و متابولیکی، پاسخ به محرک‌های زنده و غیره زنده، پاسخ به استرس و متابولیسم پروتئین دارای بالاترین درصد بودند، هم‌چنین انتقال الکترون یا مسیر انرژی، رونویسی، فرایندهای بیولوژیکی ناشناخته و متابولیسم DNA یا RNA کمترین درصد را داشتند (شکل ۲).

در گروه‌بندی بر اساس عملکرد مولکولی فعالیت ترانسفراز، فعالیت آنزیم کیناز، سایر فعالیت‌های آنزیمی، سایر اتصالات و اتصالات نوکلئوتیدی و هیدرولاز با بالاترین درصدها و فعالیت‌های ساختاری مولکول، اتصالات اسید نوکلئیک کم‌ترین درصدها را دارا بودند (شکل ۳).

پس از ترجمه توالی‌های به‌دست آمده و انجام Blastx مشخص شد که BTH بیش‌تر سبب القای ژن‌های مربوط به پروتئین‌های Kinase, Light-harvesting chlorophyll a/b-binding (LHCB), Oxygen Evolving Enhancer Protein, Carbonic Anhydrase Ribulose-1/5-Bisphosphate (OEEP), Carboxylase/Oxygenase می‌شود.

(*Oryza sativa*) از پایگاه داده NCBI^۱ دریافت شدند. سپس دسته‌بندی و هم‌گذاری^۲ توالی‌های EST مربوط به برنج به‌صورت جداگانه برای هر دو کتابخانه (*Oryza sativa Indica*, *Oryza sativa Japonica*) با استفاده از نرم‌افزار EGAssembler به‌صورت online^۳ انجام شد. توالی‌های کانتینگ و سینگلتن حاصل از هم‌گذاری توالی‌ها، جهت تعیین گروه‌های کارکردی در برابر بانک پروتئین‌های گیاه آرکیدوپسیس^۴ به‌صورت جداگانه با استفاده از نرم‌افزار CLC Protein Workbench^۵ بلاست^۶ شدند و توالی‌های مشابه با کانتینگ‌ها و سینگلتن‌های مورد نظر با Evaluate^۷ ≤ ۰-۵ شناسایی شدند. جهت بررسی نوع عملکرد توالی‌های شناسایی شده از بانک گیاه آرکیدوپسیس^۶ استفاده شد. در پایان گروه‌های کارکردی پروتئینی هر توالی بر اساس خروجی مرحله بلاست با مراجعه به آدرس اینترنتی^۷ موردنظر تعیین شد و سپس مطالعه نقش احتمالی ژن‌ها در القاء مقاومت در اثر استفاده از BTH در برنج مورد بررسی قرار گرفت.

با دسته‌بندی و هم‌گذاری ۲۵۰ توالی EST برنج ایندیکا (*Oryza sativa Indica*) بعد از تیمار با BTH ۲۷ کانتینگ و ۱۲۹ سینگلتن تشکیل شد همچنین دسته‌بندی و هم‌گذاری ۱۲۰ توالی EST برنج ژاپونیکا (*Oryza sativa Japonica*) بعد از تیمار با BTH نیز ۶

^۱ <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>

^۲ assembling

^۳ <http://egassembler.hgc.jp>

^۴

^۵ ftp://ftp.arabidopsis.org/home/tair/sequences/blast_dataset/s/TAIR8_blastsets

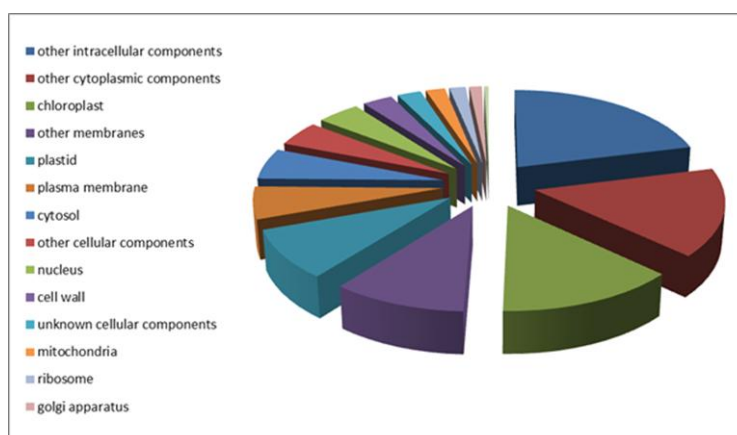
^۶ BlastX

^۷ Tair

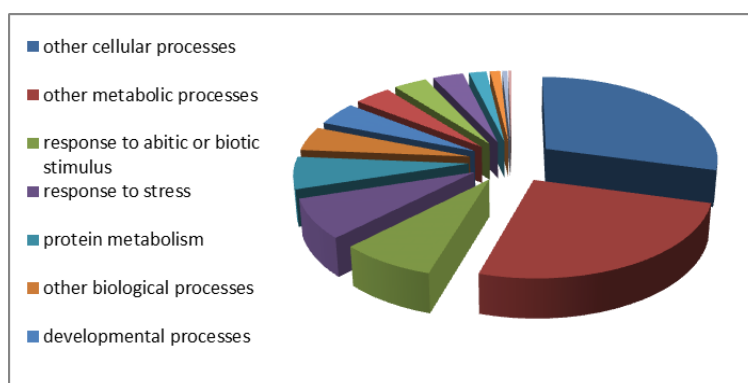
^۷ <http://www.arabidopsis.org/tools/bulk/index.jsp>

جدول ۱- مشخصات کتابخانه‌های EST برنج مورد استفاده در این مطالعه

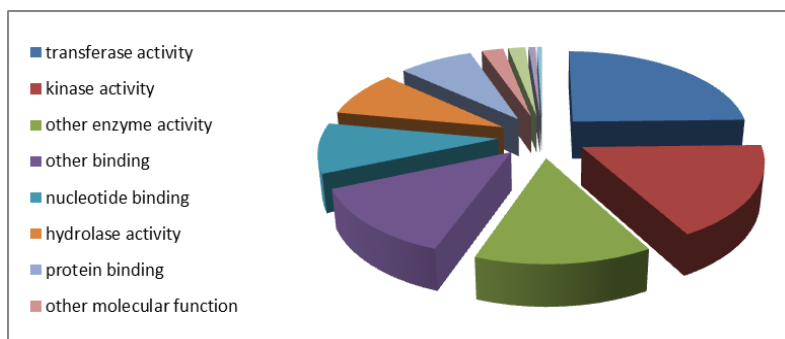
تعداد سینگلتن	تعداد کانتینگ	ESTها	گونه	کتابخانه‌های مورد استفاده
Number of Singleton	Number of Contig	Number of EST	species	Library
129	27	250	<i>Oryza sativa Indica</i>	NCBI
105	6	120	<i>Oryza sativa Japonica</i>	NCBI



شکل ۱- شکل ژن‌های بیان شده در برنج پس از تیمار به وسیله بنزوتیادiazول بر اساس اجزای سلولی



شکل ۲- شکل ژن‌های بیان شده در برنج پس از تیمار به وسیله بنزوتیادiazول بر اساس فرآیندهای بیولوژیکی



شکل ۳- شکل ژن‌های بیان شده در برنج پس از تیمار به وسیله بنزوتیادiazول بر اساس عملکردهای مولکولی

به دلیل تخریب میزان کلروفیل نمی‌باشد و از طرفی، کارایی فتوسیستم II فتوستز در این گیاهان کاهش می‌یابد. همچنین نتایج به دست آمده در این پژوهش مبنی بر فعال شدن ژن‌های پروتئین‌های مرتبط با فتوستز با گزارش‌های قبلی مبنی بر رابطه متقابل بین مسیرهای دفاعی و مسیر سیگنال دهی فیتوکروم A/ نور قرمز سازگار است (Schenk et al. 2000).

کاربرد BTH هم‌چنین بیان چندین ژن شامل انواع فاکتورهای رونویسی از جمله NPR1، NPR like protein 1، WRKY و

در این بررسی مشخص شد که اکثر پروتئین‌هایی که پس از تیمار گیاهان با BTH تولید می‌شوند پروتئین‌های مرتبط با فتوسیستم II هستند که در فرایند فتوستز درگیر می‌باشند و احتمالاً با افزایش تولید این پروتئین‌ها فتوستز افزایش می‌یابد و عملکرد گیاه بهبود می‌یابد. همچنین نتایج به دست آمده در این پژوهش با نتایج Koch et al. (1994) مطابقت داشت که نشان دادند در گیاهان حساس به بیماری‌ها که دارای واکنش سازگار بین میزبان و پاتوژن هستند، توانایی فتوستز کاهش می‌یابد که این کاهش

دفاعی را در برنج پس از تیمار با BTH مشخص کرد، بنابراین با شناخت این ژن‌ها نتایج را می‌توان برای بهبود ارقام مقاوم برنج در برابر بیماری‌ها استفاده کرد.

در مطالعه‌ای که به منظور درک بهتر مبانی مولکولی پاسخ دفاعی گیاه برنج در برابر بیماری بلاست برنج با عامل قارچی *Magnaporthe grisea* انجام گرفت از توالی‌های EST برای شناسایی ژن‌های درگیر در مراحل ابتدایی آلودگی برنج استفاده شد و در مجموع ۶۸۹۲۰ EST از ۸ کتابخانه ژنی تولید شد و دسته‌بندی و هم‌گذاری توالی‌های EST برنج بعد از آلودگی با بیمارگر ۱۰۹۳۴ کانتیگ و ۲۶۳۶ سینگلتن تشکیل داد و مشخص شد بیان ژن‌هایی که مرتبط با عملکرد دفاعی، انتقال سیگنال، کنترل چرخه سلولی و تقسیم سلولی بودند افزایش داشته است (Jantasuiyarat et al. 2005).

به منظور شناسایی ژن‌های مسئول تنش شوری در برنج، ۷۷۴۶ توالی بیان شده در شرایط تنش شوری از NCBI استخراج شد. منابع EST دانلود شده دسته‌بندی و هم‌گذاری شد و شامل ۶۷۲ کانتیگ بود، در این مطالعه ژن‌های جدیدی که ممکن است در تنظیم مکانیسم تنش شوری دخالت داشته باشند شناسایی شدند (Bhati et al. 2016) مطالعات مشابهی به کمک EST‌ها برای شناسایی ژن‌های دخیل در مقاومت به خشکی برنج انجام گرفته است (Gorantla et al. 2007).

مجموعه‌های EST که به منظور مطالعات مولکولی و بررسی بیان ژن‌ها تهیه می‌شود یک منبع عمومی ژنومیک برای سایر مطالعات کاربردی و ژنومیک در اختیار قرار می‌دهد (Jantasuiyarat et al. 2005).

ژن‌های کدکننده کیتینازها و Heat-shock protein ها و پروتئین‌های متصل شونده به کلسیم را القای می‌کند. NPR1 تنظیم‌کننده رونویسی است که واسطه رونویسی ژن‌های پاسخ دهنده به جاسمونیک اسید و سالیسیلیک اسید شامل تعدادی از ژن‌های PR است (Pieters et al. 1998). شواهد نشان می‌دهد که فاکتورهای رونویسی WRKY در پاسخ‌های دفاعی SA شرکت دارند و در پایین دست یا همراه با NPR1 به عنوان فعال کننده یا بازدارنده ترجمه SA هستند (Wang et al. 2006). هم‌چنین مشخص شده که دو عامل فاکتور رونویسی WRKY شامل WRKY25 و WRKY33 در روند بیان MAPK4 دخالت دارند (Andreasson et al. 2005)، سه ساعت پس از تیمار برنج با BTH بیان ژن‌های عامل رونویسی WRKY افزایش می‌یابد و بیان بالای WRKY45 در برنج به طور قابل توجهی مقاومت به قارچ عامل بلاست را در برنج افزایش می‌دهد (Shimono et al. 2007) که این نتایج هم فعال شدن عوامل رونویسی WRKY در مسیرهای سیگنال دهی دفاعی را نشان می‌دهند. Heat shock protein ها که گروه بزرگی از پروتئین‌هایی هستند که در تنش‌های محیطی فعال می‌شوند (Queitsch et al. 2002). هم‌چنین کیتینازها، عضوی از خانواده PR-4 و PR-3 هستند (Neuhaus et al. 1999)، که مشخص شده است این پروتئین‌ها موجب افزایش مقاومت در برابر پاتوژن‌های قارچی از طریق تجزیه پلی ساکاریدهای دیواره سلولی می‌شوند (Niderman et al. 1995).

تاکنون گزارشی از تاثیر BTH بر دستگاه فتوسنتزی گیاهان مشاهده نشده است و اثر آن بر بیان ژن‌ها نیز مشابه با برخی از تنش‌های غیر زیستی می‌باشد. این مطالعه مسیرهای سیگنال‌دهی

منابع

- Andreasson E, Jenkins T, Brodersen P, Thorgrimsen S, Petersen NH, Zhu S, Qiu JL, Micheelsen P, Rocher A and Petersen M (2005) The MAP kinase substrate MKS1 is a regulator of plant defense responses. EMBO Journal 24:2579-2589.
- Bhati J, Chaduvula P, Rai A, Gaikwad K, Marla S and Kumar S (2016) In-Silico Prediction and Functional Analysis of Salt Stress Responsive Genes in Rice (*Oryza sativa*). Rice Research 4:1.

- Gaffney T, Friedrich L, Vernooij B, Negrotto D, Nye G, Uknes S, Ward E, Kessmann H and Ryals J (1993) Requirement of salicylic acid for the induction of systemic acquired resistance. Science 261:754-756.
- Ghamar M, Siahpoosh M. R, Hassibi P (2013). Salinity tolerance assessment of rice sucrosetransporter antisense lines (OsSUT1) at seedling stage (*Oryza sativa* var. TaiPai). Journal of Agricultural Biotechnology 11:87-98.

- Gorlach J, Volrath S, Knauf-Beiter G, Hengy G, Beckhove U, Kogel K H, Oostendorp M, Staub T, Ward E, Kessmann H and Ryals J (1996) Benzothiadiazole, a novel class of inducers of systemic acquired resistance, activates gene expression and disease resistance in wheat. *The Plant Cell* 8:629-643.
- Gorantla M, Babu P. R., Reddy Lachagari V. B., Reddy A. M. M., Wusirika, R, Bennetzen L, and Reddy A. (2007). Identification of stress-responsive genes in an indica rice (*Oryza sativa* L.) using ESTs generated from drought-stressed seedlings. *Journal of Experimental Botany* 58:253-265.
- Jantasuriyarat CH, Gowda M, Haller K, Hatfield J, Lu G, Stahlberg E, Zhou B, Li H, Kim H, Yu Y, Dean R, Wing R, Soderlund C and Wang G. (2005) Large-scale identification of expressed sequence tags involved in rice and rice blast fungus interaction. *Plant Physiology* 138:105-115.
- Kawaura K, Mochida K and Ogihara Y (2008) Genome-wide analysis for identification of salt responsive genes in common wheat. *FunctIntegr Genomics*.
- Koch C, Noga G and Strittmatter G (1994) Photosynthetic electron transport is differentially affected during early stages of cultivar/race specific interactions between potato and *Phytophthora infestans*. *Planta* 193:551-557.
- Kumar K, Reddy M.S, Kloepper J.W, Lawrence K.S, Groth D.E and Miller M.E (2009) Sheath blight disease of Rice (*Oryza sativa* L.) An overview. *Biosciences, Biotechnology Research Asia* Vol. 6:465-480.
- Mettraux J P, Signer H, Ryals J, Ward E, Wyss-Benz M, Gaudin J, Raschdorf K, Schmid E, Blum W and Inverardi B (1990) Increase in salicylic acid at the onset of systemic acquired resistance in cucumber. *Science* 250: 1004-1006.
- Neuhaus J M (1999) Plant chitinases. In: Datta SK, Muthukrishnan S (eds) *Pathogenesis-related proteins in plants*. CRC, New York.
- Niderman T, Genetet I, Bruyere T, Gees R, Stintzi A, Legrand M, Fritig B and Mosinger E (1995) Pathogenesis-related PR-1 proteins are antifungal: isolation and characterization of three 14-kilodalton proteins of tomato and of a basic PR-1 of tobacco with inhibitory activity against *Phytophthora infestans*. *Plant Physiology* 108:17-27.
- Pieterse C M, Wees S C, Pelt J A, Knoester M, Laan R, Gerrits H, Weisbeek P J and Loon L C (1998) A novel signaling pathway controlling induced systemic resistance in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 10:1571-1580.
- Queitsch C, Sangster T A and Lindquist S (2002) Hsp90 as a capacitor of phenotypic variation. *Nature* 417:618-624.
- Ross A F (1961) Systemic acquired resistance induced by localized virus infections in plants. *Virology* 14:340-358.
- Ryals J, Uknes S and Ward E (1994) Systemic acquired resistance. *Plant Physiology* 104:1109-1112.
- Schenk P M, Kazan K, Wilson I, Anderson J P, Richmond T, Somerville S C and Manners J M (2000) Coordinated plant defense responses in *Arabidopsis* revealed by microarray analysis. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 97:11655-11660.
- Shimono M, Sugano SH, Nakayama A, Jiang C J, Ono K, Toki S and Takatsuji H (2007) Rice WRKY45 Plays a Crucial Role in Benzothiadiazole-Inducible Blast Resistance. *The Plant Cell* 19:2064-2076.
- Van Nguyen N, and Ferrero, A (2004) Meeting the challenges of global rice production. *Paddy and Water Environment* 4:1-9.
- Wang D, Amornsiripanitch N and Dong X (2006) A genomic approach to identify regulatory nodes in the transcriptional network of systemic acquired resistance in plants. *PLoS Pathogens* 2:123.
- Zhou Y, Tang J, Walker M, Zhang X, Wang J, Hu S, Xu H, Deng Y, Dong Y, Ye L and et al (2003) Gene identification and expression analysis of 86,136 expressed sequence tag (EST) from the rice genome. *Genomics, Proteomics and Bioinformatic* 1(1).