ژنتیک نوین
دوره دوازدهم، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۶
صفحه ۴۳۰ - ۴۲۱

تجزیه عملکردی QTLهای مرتبط با مقاومت میزبانی و غیر میزبانی در گیاه جو به قارچ‌های عامل زنگ برگی با استفاده از نشانگرهای SNP توالی‌یابی

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

انسیه میرزاعلی بابایی*[۱]، حسین جعفری[۲]، محمد رضا عظیمی[۳]

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[*1], Jafary H[2], Azimi MR [3]

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: ۹۵/٤/۲٦ - تاریخ پذیرش: ۹٦/۵/۱۷)

چکیده

استفاده از گیاهان مقاوم، بهترین و مؤثرترین راه برای کنترل بیماری‌هایی مانند زنگ‌ها است. مقاومت میزبانی و غیرمیزبانی دو نوع از مقاومت ذاتی گیاهان در برابر عوامل بیماری‌زا است که به‌ترتیب در مقابل پاتوژن‌های سازگار و ناسازگار بروز می‌یابد. یکی از راه‌های اطلاع از ماهیت ژن‌های دخیل در این دو نوع مقاومت، استفاده از تجزیه عملکردی QTLهای مقاومت می‌باشد. برای این منظور، QTLهای مرتبط با مقاومت میزبانی و غیرمیزبانی در جو بر علیه تعدادی از قارچ‌های عامل زنگ برگی که در مطالعات قبلی در دو توده نقشه‌یابی Susptrit × Vada و Susptrit × Cebada Capa مکان‌یابی شده بودند استخراج شد و هم‌وقوعی نشانگرهای مرتبط با هر یک از QTLها با نشانگرهای SNP بررسی شد. نشانگرهای SNP دارای هم‌وقوعی بالا به‌عنوان نشانگرهای مرتبط با مقاومت انتخاب و با استفاده از توالی هر یک از نشانگرها نسبت به بلاست آن‌ها در بانک‌های اطلاعاتی اقدام شد. با بررسی همولوژی توالی نشانگرهای SNP با ژن‌های موجود در بانک‌های اطلاعاتی، خصوصیات هر یک از ژن‌های با تشابه بالا از نظر عملکرد، دمین‌های حفاظت شده و ساختار ژن‌ها مورد بررسی قرار گرفت. نتایج بررسی‌ها نشان داد بیش‌تر ژن‌های مقاومت میزبانی و غیرمیزبانی در فعالیت انتقال، هدایت پیام و رونویسی DNA مشارکت دارند و از نظر عملکرد مولکولی، مشابه‌اند. 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، مشابه‌اند. نتایج این تحقیق نشان داد که علاوه بر مکانیسم، احتمالا ژنتیک دو نوع مقاومت میزبانی و غیرمیزبانی شباهت‌های زیادی دارد.

واژه‌های کلیدی

تجزیه عملکردی
جو
مقاومت
QTL

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.3.10.4]

مقدمه

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* otth 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 امریکا، 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 می شوند (Niks et al. 2011). مقاومت غیرمیزبانی به‌علت پایداری بیش‌تری که دارد، از یک گیاه، در برابر بسیاری از پاتوژن‌های باالقوه 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) است (Young 1996). مطالعات انجام گرفته نشان داده که مقاومت نسبی برعلیه زنگ‌ها، در غلاتی مانند گندم و جو، ماهیتی پلی‌ژنیک داشته و به‌وسیله ژن‌های کوچک اثر[1](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 QTLهای دخیل در مقاومت میزبانی و غیر میزبانی نشان داده شده‌است. با این حال از آن‌جایی که QTLها 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 ارایه نمی‌کنند، با مکان‌یابی آن‌ها عملا اطلاعاتی درخصوص عملکرد ژن‌های دخیل در مقاومت حاصل نمی‌شود. یکی از راه‌های به‌دست آوردن این اطلاعات استفاده از تجزیه عملکردی QTLهای مکان‌یابی شده‌است که به‌وسیله آن می‌توان ساختار و ماهیت ژن‌ها را مطالعه و درخصوص تشابه یا تمایزساختاری 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 QTLهای 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. 2007; Eilbeck et al. 20040). در این پژوهش با بررسی دمین‌های حفاظت شده و تجزیه هستی‌شناسی ژن اقدام به گروه‌بندی ژن‌ها از نظر عملکرد شد. تجزیه بر اساس دمین‌های پروتئینی تأثیر عمیقی بر تکمیل اطلاعات مربوط به پروتئین‌ها

[1] Minor genes

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.3.10.4]

می‌گذارد (Copley et al. 2002). تحقیق پیش رو، با هدف تجزیه عملکردی QTLهای 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 QTLهای دخیل در مقاومت میزبانی و غیر میزبانی به گروه‌های متفاوتی تعلق دارند یا خیر؟ برای این منظور، QTLهای 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 QTLها پرداخته شد.

مواد و روش‌ها

اطلاعات مربوطه به QTLهای اعطا کننده مقاومت میزبانی در جو نسبت به قارچ عامل زنگ برگی جو (*Puccinia hordei*) وQTLهای مرتبط با مقاومت غیر میزبانی در جو نسبت به قارچ‌های عامل زنگ *Puccinia hordei-murini*، *Puccinia triticina*، *Puccinia persistens* در جمعیت نقشه‌یابی Cebada caba ×Susptrit و قارچ‌های عامل زنگ *Puccinia triticina-duri*، *Puccinia coronata agropyrina*، *Puccinia graminis f.sp. tritici* در جمعیت *Puccinia hordei* Susptrirt×Vada حاصل مطالعات Marcel et al. (2007) و Jafary et al. (2006) از بانک اطلاعاتی (http://www.wheat. pw.usda.gov/) GrainGenes 2.0 استخراج شد. جمعیت RILs تحت عنوان Su×V حاصل از تلاقی Susptrit و Vada با ۱۵۲ لاین و نقشه لینکاژی با ٤٥٠ مارکر (Jafary et al. 2006) و جمعیتRILs تحت عنوان Su×CC حاصل از تلاقی بین Susptrit و Cebada Capa با ۱۱۳ لاین، نقشه لینکاژی با ٤٥٩ مارکر (Jafary et al. 2008) در دانشگاه واخنینگن هلند تهیه شده‌است.

در سال ۲۰۱۲ تعداد ۹٤ لاین به همراه دو والد توده نقشه‌یابی Su ×V و ۹۲ لاین به‌همراه والدین توده Su × CC در دانشگاه واخنینگن هلند با استفاده ازنشانگرهای Sequenced based SNP ژنوتایپینگ شدند که نسخه‌ای از این داده‌ها جهت تجزیه‌های اخیر در اختیار مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان زنجان قرار گرفت. در مجموع تعداد ۲۸۸۷ نشانگرSNP پلی‌مورفیک برای توده نقشه‌یابیSu x V و تعداد ۲٤۸٥ نشانگر پلی‌مورفیک برای توده نقشه‌یابی Su x 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 کامل‌تری 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 کامل‌تری 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 QTLهای مقاومت میزبانی و غیر میزبانی،SNPهای دارای هم وقوعی[1] بالا با نشانگرهای مجاور مرتبط با QTLها انتخاب و از روی توالی SNPها، به بررسی عملکرد هر یک از ژن‌ها پرداخته شد.

با مراجعه به سایت NCBI[2] و استفاده از الگوریتم BLASTX، توالی مربوط به هر یک از نشانگرهایSNP با توالی‌های ثبت شده در پایگاه داده برای گیاهان جو، برنج، گندم و براکی‌پودیوم 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، دمین‌های حفاظت شده هر یک از ژن‌ها تعیین شد و با استفاده از اطلاعات سایت Pfam و مطالعه مقالات مرتبط، دمین‌هایی که از نظر عملکرد و وظیفه مشابه بودند در یک گروه قرار گرفتند.

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

[1] Association
[2] http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.3.10.4]

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 <۰/۰۵ و برای ژن‌های مقاومت میزبانی <۰/۱ 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 ٦٩ 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 1×10^{-5} انتخاب شدند. نتایج جستجوی تشابه توالی برای۲۲ درصد و ۳۱ درصد باقی‌مانده از توالی ژن‌های مقاومت میزبانی و غیرمیزبانی، بسیار ضعیف بود.

براساس 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 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 متعق به خانواده بزرگ[1] 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 *OsBIRH1* در برنج، که پروتئین RNA هلیکاز جعبه DEAD را کد می‌کند کلون و بررسی شد و نتایج نشان داد که *OsBIRH1*، 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 _membrane 2 متعلق به خانواده بزرگ ABC _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

[1] Clan

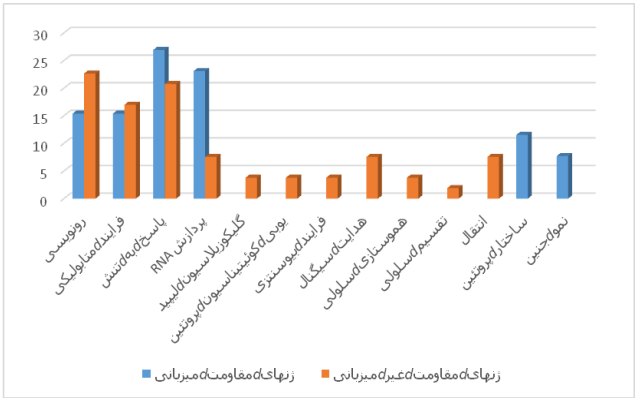
[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.3.10.4]

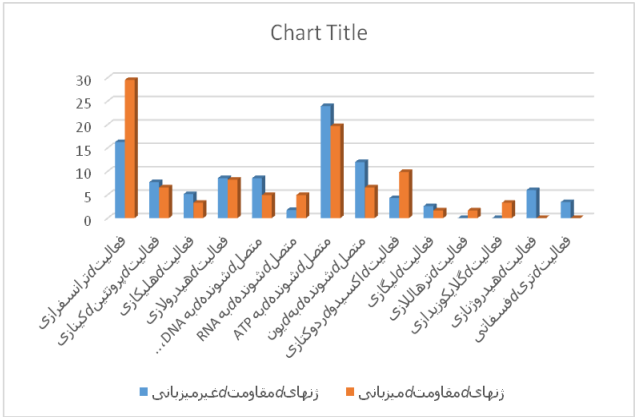
است که انتقال دهنده‌های ABC برای پاسخ به تنش‌های غیر زنده، مقاومت در برابر پاتوژن و تعامل گیاه با محیط خود، مورد نیاز هستند (Kang et al. 2011).

بررسی‌ها نشان داد، برخی از ژن‌های مقاومت میزبانی و ژن‌های مقاومت غیرمیزبانی، در ساختار خود، دمین‌های Pkinase و Pkinase_tyr، (متعلق به خانواده ژنی PKinase CL0016) دارند. نتایج مطالعات محققان نشان می‌دهد پروتئن کینازها در ایجاد مقاومت در برابر پاتوژن‌ها، نقش مهمی دارند. اغلب کینازها به‌عنوان تنظیم کننده مسیرهای انتقال سیگنال هستند که در آن‌ها یک کیناز، کیناز بعدی را فعال می‌کند. این عمل پی‌درپی، سیگنال را از سطح سلول به پروتئین هدف می‌رساند و منجر به پاسخ سلولی مناسب می‌شود (Gaestel et al. 2009). پروتئین کینازها، در طول شناسایی پاتوژن و سپس فعال‌سازی سیستم دفاعی گیاهان نقش مهمی دارند (Romeis 2001).

بررسی‌ها در پایگاه اطلاعاتی NCBI، مشخص کرد، دمین SNARE متعلق به خانواده (CL0445), SNARE-fusion دمین-های LRR8 و LRRNT متعلق به خانواده (CL0022) LRR و دمین F-box متعلق به خانواده (CL00646) F-box در ساختار هردو گروه ژن وجود دارند. به نظر می‌رسد، وجود این دمین‌ها و دمین‌های دیگر در ساختار ژن‌های مقاومت میزبانی و غیرمیزبانی، یکی از عواملی است که باعث عملکرد مشابه این ژن‌ها می‌شود. بررسی هستی شناسی ژن‌های مقاومت میزبانی و غیرمیزبانی **در** پایگاه اطلاعاتی Uniprot، مشخص کرد که فعالیت هر دو گروه ژن، در فرایندهای بیولوژیک رونویسی، متابولیک، پاسخ به تنش و پردازش RNA، بیش‌تر است. هم‌چنین نتایج نشان داد که بیشتر ژن‌های مربوط به مقاومت میزبانی در فرایند پردازش RNA دخالت دارند. در صورتی‌که بیش‌ترین فعالیت ژن‌های مقاومت غیرمیزبانی مربوط به رونویسی است. در این تحقیق مشخص شد که مشارکت در فرایندی مانند هدایت سیگنال، بیوسنتز، تقسیم سلولی و هموستازی فقط در بین ژن‌های مقاومت غیر میزبانی دیده می‌شود. در حالی‌که برخی از ژن‌های مقاومت میزبانی، در شکل‌گیری ساختار سوم پروتئین مداخله می‌کنند. در حوزه عملکرد مولکولی بیش‌تر ژن‌های مقاومت میزبانی و غیرمیزبانی رفتار مشابهی داشتند. بیش‌تر ژن‌ها در هر دو نوع مقاومت فعالیت ترانسفرازی داشته و تعداد قابل توجهی هم پروتئین‌های متصل شونده به ATP را کد می‌کردند. تعداد ژن‌هایی که در فعالیت پروتئین کینازی، هلیکازی و هیدرولازی مشارکت داشتند، در هر دو گروه مشابه بود. فعالیت ترهالازی و گلایکوزیدازی در بین ژن‌های مقاومت میزبانی و فعالیت هیدروژنازی و تری‌فسفاتازی در بین ژن‌های مقاومت غیر میزبانی مشهود بود. بررسی ژن‌ها از نظر ترکیبات سلولی نشان داد غشای پلاسمایی، هسته و کلروپلاست، محل فعالیت بیشتر پروتئین‌های مربوط به ژن‌های مقاومت میزبانی و غیرمیزبانی است. در این مطالعه سهم سیتوزول و کمپلکس اسپیلایسوزومی به‌عنوان مکانی برای فعالیت محصولات هر دو گروه ژن کم‌تر بود. نتایج هم‌چنین نشان داد که شبکه آندوپلاسمی، محل فعالیت محصول ژن‌های مقاومت غیر میزبانی است و فقط ژن‌های مقاومت میزبانی در میتوکندری فعالیت دارند. (شکل‌های ۱ تا ۳).

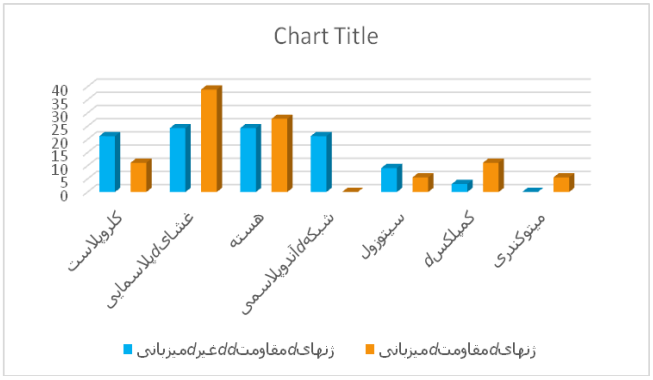


شکل ۱- میزان فعالیت ژن‌های مقاومت میزبانی و غیر میزبانی در فرایندهای بیولوژیک (بر حسب درصد)



شکل۲- مقایسه عملکرد مولکولی ژن‌های مقاومت میزبانی و غیرمیزبانی

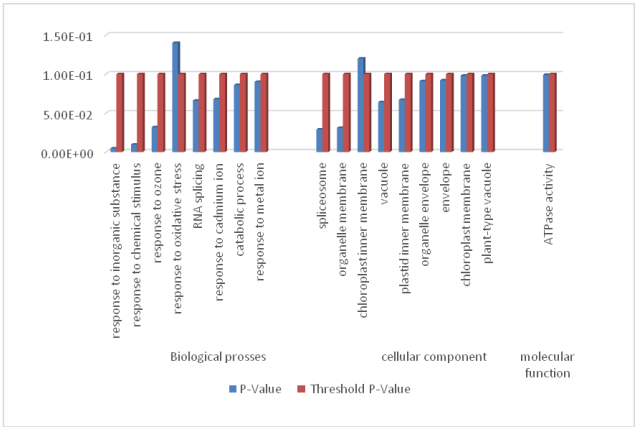
[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.3.10.4]



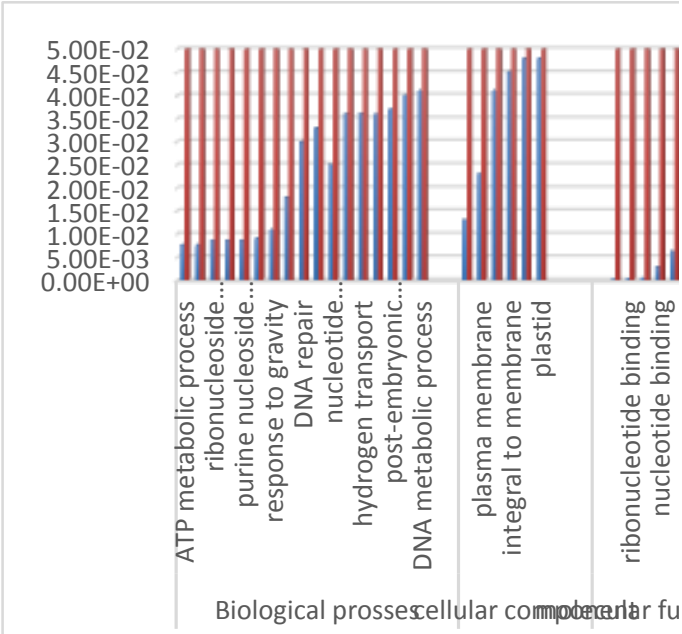
شکل ۳- محل فعالیت محصولات ژنهای مقاومت میزبانی و غیر میزبانی

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 متابولیکی، بیوسنتزی و متابولیسم DNA و در حوزه عملکرد مولکولی، فعالیت ترانسفرازی و متصل شونده به نوکلئوتید از نظر آماری معنی‌دار بودند. از نظر محل فعالیت ژنهای مقاومت، اجزای سلولی نظیر کلروپلاست و غشای پلاسمایی P-Value<0.05 را نشان می‌داد (شکل ٤) .

عملکرد ژنهای مرتبط با مقاومت میزبانی نسبت به قارچ‌های عامل زنگ، با P-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 کاتابولیکی معنی‌دار هستند. نتایج بررسی‌ها هم‌چنین مشخص کرد که ژنهای مقاومت در اندامک‌هایی نظیر غشای پلاسمایی، اسپیلایسوزوم، واکوئل و غشای کلرو پلاست فعالیت دارند. در حوزه عملکرد مولکولی، تنها فعالیت ATPآزی 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 یوبی‌کوئیتین-پروتئین ترانسفراز[1]، انتقال دهنده گروه هگزوزیل[2] و دی متیل ترانسفراز-rRNA[3]، توسط ژنهای مقاومت به زنگ‌های غیرمیزبان و آنزیم‌های متیل ترانسفراز[4] و گلوتاتیون –اس- ترانسفراز[5] توسط ژنهای مقاومت میزبانی به پاتوژن‌های عامل زنگ کد می‌شوند. نتایج همچنین نشان داد بین ترانسفرازها، پروتئین‌های انتقال دهنده لیپید نیز در مقامت 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 وطبق اظهارات Sing et al. (2002) لیپیدها برای فعال شدن پاسخ دفاعی گیاهان ضروری هستند.



شکل ٤- تجزیه هستی شناسی ژنهای مقاومت غیر میزبانی با P-Value<0.05



شکل ٥- آنالیز هستی شناسی ژنهای مقاومت غیر میزبانی با P-Value<0.05

[1] ubiquitin-protein transferase
[2] transferring phosphorus-containing groups
[3] rRNA (adenine-N6,N6-)-dimethyltransferase
[4] methyltransferase activity
[5] glutathione S-transferase

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.3.10.4]

مطالعات محققان نشان داده است که در گیاه آرابیدوپسیس بیان ژن‌های *UGT* که کد کننده گلایکوسیل ترانسفرازها هستند، در پاسخ به پاتوژن‌ها ضروری است (Langlois-Meurinne et al. 2005). آنزیم‌هایی مانند H^+-ATPase و گلیکوزید هیدرولاز، آنزیم‌هایی با فعالیت هیدرولازی هستند که در این مطالعه مشاهده شدند. بنا بر اظهارات دانشمندان، وجود الیسیتور پاتوژن در غشای پلاسمایی موجب تحریک فعالیت H+-ATPas در گیاه میزبان می‌شود (Palmgren. 2001). Elmore and Coaker.(2010) عنوان کردند ATPasهای غشای انتقال دهنده اتفاقات هدایت پیام را در پاسخ به انواعی از تنش‌های محیطی، کنترل می‌کند و در طول پاسخ ایمنی گیاه به پاتوژن، به طور پیوسته تولید می‌شود. بر اساس نتایج به‌دست آمده از تجزیه هستی شناسی ژن‌های مقاومت به پاتوژن عامل زنگ برگی در جو، تعداد قابل توجهی از ژن‌های مورد بررسی، در تنظیم فرایند و تولید فاکتورهای رونویسی درگیر هستند. پژوهشگران معتقدند، برای ایجاد یک پاسخ دفاعی مناسب، سلول‌ها به تعدادی از فاکتورهای رونویسی نیاز دارند که فعالیت آن‌ها را به‌سرعت افزایش دهد (Moore et al. 2011). bzip و WRKY دو خانواده بزرگ از فاکتورهای رونویسی هستند که پاسخ دفاعی گیاه در برابر تنش‌ها را تنظیم می‌کنند (Singh et al. 2002). تجزیه هستی شناسی ژن‌ها با استفاده از برنامه اینترنتی David، مشخص کرد، تعداد زیادی از ژن‌های مقاومت میزبانی و غیرمیزبانی، در تنظیم پردازش RNA نقش دارند. پردازش RNA یکی از جنبه‌های 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 می‌شود گیاهان نسبت به تنش‌های محیطی زنده و غیر زنده سریع‌تر پاسخ دهند نتایج تجزیه داده‌ها بر اساس هستی شناسی ژن‌های مقاومت میزبانی و غیر میزبانی، هم‌چنین نشان دهنده‌ی دخالت ژن‌های مورد بررسی در تنظیم فرایندهای متابولیکی و هدایت سیگنال بود. به‌نظر می‌رسد حضور متابولیت‌ها برای ایجاد یک پاسخ دفاعی مؤثر، ضروری است.

زمانی که شرایط نامطلوب محیطی، رشد گیاهان را تحت تأثیر قرار می‌دهند، متابولیت‌ها در هدایت سیگنال، تنظیمات فیزیولوژیک گیاهان و پاسخ دفاعی درگیر می‌شوند (Fraire-Velázquez and Balderas-Hernández et al. 2013). تنظیم متابولیسم اولیه، آبشارهای هدایت سیگنال را راه‌اندازی می‌کند که منجر به پاسخ دفاعی گیاه در برابر پاتوژن‌ها می‌شود (Rojas et al. 2014). Glazebrook. (2001) گزارش کرد که شناسایی پاتوژن و پاسخ دفاعی گیاه توسط تعدادی از مسیرهای هدایت سیگنال اتفاق می‌افتد و هسته در هدایت سیگنالی بیش‌تر درگیر است زیرا سیگنال‌ها در نهایت باعث فعال سازی رونویسی تعدادی از ژن‌ها می‌شود که پروتئین‌ها و ترکیبات ضد میکروبی را سنتز می‌کند. انتقال سیگنال‌های اولیه دفاعی در برابر بیمارگرها از طریق مسیرهای غشایی و سیتوزولی امکان‌پذیر است (Blumwald et al. 1998). مطالعات اخیر دانشمندان، نشان داده است که غشای پلاسمایی سطحی را فراهم می‌کند که در آن پروتئین‌های مقاومتی گیاه وجود افکتورها را تشخیص می‌دهند (Shah 2005).

تجزیه هستی شناسی ژن‌ها، همچنین نشان داد که تعدادی از محصولات ژن‌های مقاومت به زنگ در کلروپلاست فعالیت می‌کنند. کلروپلاست در گیاهان، یک واسطه مهم در ایمنی گیاهی است (Nomura et al. 2009). نتیجه مطالعات Belhaj et al. (2009) نشان داد، ژن *RPH1* در آرابیدوپسیس یک نقش مقاومتی نسبت به بیماری‌ها دارد. مشخص شده‌است که این ژن یک پروتئین کلروپلاستی را کد می‌کند که نقش آن در ایمنی اندامک، فعال‌سازی یک زیر مجموعه از پاسخ‌های ایمنی در واکنش به پاتوژن‌ها است.

بحث

تجزیه ژن‌های مقاومت میزبانی و غیر میزبانی به قارچ‌های عامل زنگ، بر اساس دمین‌های حفاظت شده، نشان داد که هر دو گروه ژن، با عملکرد مشابهی در کنترل مقاومت شرکت می‌کنند. احتمالا وجود دمین‌های مشترک در ساختار ژن‌های مقاومت میزبانی و غیر میزبانی، باعث مشابهت عملکرد دو گروه ژن می‌شود. تجزیه ژن‌ها بر اساس هستی شناسی نشان داد، تعداد زیادی از ژن‌های مقاومت میزبانی و غیرمیزبانی در فرایندهای پاسخ به تنش، متابولیکی، رونویسی و پردازش RNA فعالیت دارند. نتایج همچنین، نشان داد که هر دو گروه ژن‌ها به طور عمده در گروه‌های کارکردی ترانسفرازی، اتصال به DNA وATP، فعالیت

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.3.10.4]

پروتئین کینازی و انتقال سیگنال درگیر می‌شوند. بر اساس نتایج به‌دست 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 احتمالا 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 QTLهای مربوط به مقاومت سویا در برابر *Phytophthora sojae*، ویژگی‌های مشترکی را برای هر دو نوع مقاومت گزارش کردند مطابقت دارد. مشخص شده‌است، 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 درمورد عملکرد مشابه ژن‌های مقاومت میزبانی و غیرمیزبانی این مطلب را تایید می‌کند (Heath 2000; Mysore and Ryu 2004; Vega- Arreguin et al. 2014). اخیرا در یک مطالعه، بیان حدود ۸۰۰۰ ژن آرابیدوپسیس 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 شده‌است 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 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 هردو نوع مقاومت به طور مشابه عمل نمی‌کند. به‌عنوان 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 به‌طور عمده تحت تاثیر تکامل است (Senthil-Kumar and Mysore 2013; Schulze and Panstruga 2011). برخی گیاهان میزبان، در اثر تکامل یک طرفه و در اثر رشد، وضعیت غیرمیزبان به‌دست 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 احتمالا این قارچ‌ها به صورت ابتدایی رشد کرده‌اند و در تکامل همزمان با لاین‌های گیاهی، با آن‌ها تعامل ایجاد کرده‌اند. به‌علاوه 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).

منابع

Agrios G n Plant pathology. Translation by Mehravaran h. (1376) Orumieh University 291-301. (In Farsi).

Atkinson N J, LilleyCJ and UrwinPE (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

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.3.10.4]

response of Arabidopsis to Phytophthora brassicae. Plant Jornal 58: 287-98.
Blumwald, E, Aharon, G S, Lam, B C (1998) Early signal transduction pathways inplant–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+-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 Barleyto 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, Kretzschmar 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. Natuere 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 Netherland
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.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.3.10.4]

Singh VK, Singh AK, Chand R And Kushwaha C (2011) role of Bioanformatics 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 capasici 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+-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.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.3.10.4]