

نقش پروتئین کتیناز در مقاومت به بیماری سوختگی غلاف برنج

اندیشه پور مسئله گو اندیشه^۱ و محمد مهدی سوهانی^۲

۱- به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد و ۲- هیات علمی گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان

چکیده

در میان بیماری های قارچی برنج، سوختگی غلاف از لحاظ اهمیت، بعد از بلاست قرار دارد و هر ساله بطور معنی داری باعث وارد آوردن خسارت به محصول می شود. عامل سوختگی غلاف برنج در ایران را تاکنون فرم غیر جنسی قارچ یا *Rhizoctonia solani* گزارش کرده اند. هم اکنون به نظر می رسد که با توجه به فقدان ژن کنترل کننده بیماری در ژنوم برنج، مهندسی ژنتیک یک ابزار قدرتمند و جذاب برای کنترل بیماری سوختگی غلاف است زیرا، بیان ژنهای PR را در گیاهان تراریخته بهینه می کند. تولید آنزیم هایی با قابلیت تخریب دیواره سلولی قارچهای بیماری زای گیاهی یک جزء مهم پاسخ دفاعی گیاهان است. گیاهان به حمله قارچهای پاتوژن با بکارگیری شبکه پیچیده دفاعی فعال پاسخ می دهند. اغلب روشهای دفاعی شامل سنتز ترکیبات ضد میکروبی سمی (فیتوآلکسین ها)، القاء و تجمع مهار کننده های پروتئاز و آنزیم های لیزکننده دیواره سلولی پاتوژن مانند کتیناز، β -1,3 glucanase و پروتئین شبه توئوماتین هستند. موفقیت در دفع حمله پاتوژن به هماهنگی بین استراتژی های دفاعی مختلف و سرعت پاسخ گویی سیستم دفاعی گیاه بستگی دارد. در بین پروتئین های مرتبط با پاتوژن (PR) کتیناز بطور گسترده برای فعالیت ضد قارچی آن بررسی شده است. آنزیم کتیناز (پلی [۱ و ۴] N استیل β -D گلوکز آمید) [گلیکانو هیدرولاز (EC 3.2.1.1.4) هیدرولیز کننده کتین، پلی مرهای β 1,4N-acetyl-D-glucosamine] را کاتالیز می کند. این پلیمر یک جزء اصلی دیواره سلولی اغلب قارچهای نازکدار بجز آمایست ها است. فرمهای متعدد بازی واسیدی آنزیم شناخته شده است. وزن مولکولی آنها بین ۴۳-۲۶ کیلو دالتون می باشد برطبق شباهت توالی اسید آمینه، ناحیه اتصال کتین (CBD) و ناحیه کاتالیتیکی به V کلاس تقسیم می شوند. کتیناز کلاس I بازی هستند و شامل یک ناحیه N ترمینال غنی از سیستئین حدوداً ۴۰ آمینو اسیدی- ناحیه شبه هومین اتصال به کتین، یک پروتئین مرکزی که شدیداً حفاظت شده و یک ناحیه لولایی می باشند. پروتئین های دسته II عموماً اسیدی و در توالی اسید آمینه شبیه کلاس I هستند اما فاقد ناحیه N ترمینال غنی از سیستئین می باشند. پروتئینهای کلاس IV شبیه کتینازهای دسته I هستند اما بواسطه ۴ کاهش بزرگ بطور مشخصی کوچکتر می باشند. پروتئین های دسته III هیدرولازها، خارج سلولی هستند که مشابهت توالی آمینو اسیدی با کلاس های دیگر ندارند. کتینازهای دسته V در توالی شبیه آگزوکتینازهای باکتریایی هستند.

توالی RCH10، اندوکتیناز بازی کلاس I برنج، تعیین شده و مشخص شد که این ژن دارای الگو خواندن باز و بدون اینترون می باشد که یک پلی پپتید ۳۲۶ اسید آمینه ای را کد می کند. این ژن ۶۵٪ در سطح نوکلوتیدی و ۷۵٪ در سطح آمینو اسید با ژن کتیناز سایر دو لپه ایها مشابهت دارد. هیبرید نوردن بلات خانواده ژن کتیناز را در برنج نشان داد کتیناز اغلب در حد پایین یا سطوح پایه ای در گیاهان سالم یافت می شود و بیان آن در طی حمله پاتوژن افزایش می یابد. آنجا که زمان پاسخ دفاعی سیستم گیاهی به بهبود نتیجه واکنش بین میزبان و پاتوژن کمک می کند، با حذف فاکتور زمان در بیان ژن کتیناز و بیان دائمی و زیاد آن می توان باعث افزایش حفاظت در برابر پاتوژن شد. علاوه بر آسیب به دیواره سلولی قارچ کتیناز به طور مستقیم oligo-N-acetylglucosamin هایی را رها می کند که به عنوان الیسیتورهای پاسخ دفاعی در سلولهای برنج عمل می کند. خصوصیات ضد قارچی کتینازهای گیاهی تا حد زیادی با کاربرد سنجشهای زیستی *in vitro* مختلف اثبات شده اند. ژن مورد مطالعه دارای شماره بانک ژن P25765 است و مقایسه آن در بانک اطلاعاتی پروتئین ها در سایت EXPASY مشخص کرد که این ژن دارای ۲۱ پارالوگ در گیاه برنج اعم از ایندیکا و ژاپونیکا است. پروتئین آن به طول ۳۲۶ اسید آمینه است و دارای یک پپتید نشانه به طول ۲۱ اسید آمینه در پایانه N خود است و به دنبال آن یک پپتید به طول ۳۰۵ اسید آمینه در ساختمان آن وجود دارد که اندوکتیناز را تشکیل می دهد. دومین اتصال به کیتین (۴۱ اسید آمینه) و ۷ جفت اتصالات دی سولفیدی نیز در آن وجود دارد.

واژه های کلیدی: برنج، پروتئین های مرتبط با پاتوژن، کیتیناز، بیماری سوختگی غلاف