مهندسی ژنتیک و ایمنی زیستی
دوره چهارم، شماره ۱، بهار و تابستان ۱۳۹۴
صفحه ۵۴-۴۱

شناسایی و گروه بندی خانواده عوامل رونویسی WRKY در جو

Identification and classification of the WRKY transcription factors family in barley

بنیامین یزدانی[۱]، رسول اصغری زکریا[۲]، زهرا سادات شُبَّر[۳*]
Beniamin Yazdani[1], Rasoul Asghari-Zakaria[2], Zahra-Sadat Shobbar[3]

۱- دانشجوی دکتری و ۲- دانشیار، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
۳- استادیار، پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

1. Ph.D. Student and 2. Associate Professor, Department of Agricultural Science, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
3. Assistant Professor, Department of Systems Biology, Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran (ABRII), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran.

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: shobbar@abrii.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۹۳/۹/۱۲ - تاریخ پذیرش: ۹۴/۱۰/۲۰)

چکیده

تنش‌های زیستی و غیرزیستی از مهمترین عوامل محدودکننده عملکرد گیاهان زراعی مانند جو هستند. عوامل رونویسی در تنظیم ژن‌های پاسخ‌دهنده به این تنش‌ها دخالت دارند که خانواده ژنی *WRKY* رمز کننده گروه بزرگی از آنهاست. بنابراین شناسایی و مطالعه این خانواده ژنی می‌تواند گامی موثر برای ایجاد تحمل به تنش‌ها در گیاهان باشد. در پژوهش حاضر، دانستنی‌های مربوط به اعضای خانواده WRKY جو از پایگاه‌های داده جمع آوری شدند. با انتخاب یک عضو از هر زیر گروه ژن‌های *WRKY* در برنج، tBLASTN در پایگاه داده‌های IBSC و NCBI انجام شد تا اعضای احتمالی دیگر این خانواده نیز اضافه شدند. بر اساس مدل مخفی مارکوف، جستجو برای توالی‌های دارای منطقه حفاظت شده WRKY علیه همه پروتئین‌های این خانواده و هر زیر گروه آنها انجام شد. اعضای پیدا شده که شامل ۹۶ عضو و یک توالی از هر زیرگروه عوامل رونویسی WRKY از گیاهان آرابیدوپسیس، برنج و گندم بودند، به صورت چندگانه همردیف شده و درخت فیلوژنتیک آنها رسم شد. توالی‌های موجود بر مبنای تعداد پهنه‌های WRKY و ساختار انگشت روی موجود در سه گروه دسته‌بندی شدند. بر این اساس ۱۳پروتئین در گروه I، ۳۰ پروتئین با ساختار انگشت روی $Cx_7Cx_{23}HxC$ در گروه III و بقیه پروتئین‌ها با ساختار انگشت روی $Cx_{4-5}Cx_{22-23}HxH$ در گروه II قرار گرفتند. با توجه به نقش گروه III در تحمل گیاه به تنش‌های زیستی و غیر زیستی، فزونی درصد حضور اعضای این گروه در جو همانند گندم نسبت به میانگین گیاهان عالی را می‌توان با مضاعف شدگی در اجداد وحشی تک لپه‌ای‌ها و انتخاب طبیعی برای ارقام مقاوم‌تر در شرایط نامساعد محیطی در ارتباط دانست.

واژه‌های کلیدی

جو
خانواده ژنی *WRKY*
درخت فیلوژنتیک
عوامل رونویسی
مدل مخفی مارکوف

[Downloaded from gebsj.ir on 2025-12-13]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1394.4.1.3.1]

مقدمه

تنش‌های زیستی و غیرزیستی از مهمترین عوامل محدود کننده عملکرد گیاهان زراعی محسوب می‌شوند (Zhang *et al.* 2010). بسیاری از پاسخ‌های گیاهان به تنش‌های زیستی و غیر زیستی در نتیجه تنظیم بیان ژن‌ها در رونویسی توسط عوامل رونویسی هستند (Eulgem, 2005).

غلات مهمترین منبع تامین کننده غذای بشر هستند (Garcia, 2003). جو (*Hordeum vulgare* L.) از اولین گیاهانی است که اهلی گشته و یکی از مهمترین گیاهان زراعی است. جو دیپلوئید بوده و اندازه ژنوم هاپلوئید آن ۵/۱ گیگاباز (Gb) است رقم‌های تجاری جو مشتق شده از جد وحشی (*Hordeum vulgare* spp. *Spontaneum*) آنها بوده (Purugganan and Fuller, 2009) و بر اساس آمار فائو (جدول ۱) ۷۵ درصد تولید جهانی آن برای تغذیه دام، ۲۰ درصد در صنایع تولید نوشیدنی و ۵ درصد در تولید طیف وسیعی از غذاها استفاده می‌شود (Blake *et al.* 2011). در کشورهای فقیرتر همچنان از جو به عنوان منبع غذایی اصلی استفاده می‌شود و عملکرد مناسب آن در شرایط سخت محیطی مورد توجه است (Grando and Macpherson, 2005). جو به عنوان گیاهی خودگشن و معتدل، همیشه گیاهی مدل برای پژوهش‌های ژنتیکی بوده است (Bockelman and Valkoun, 2011).

عوامل رونویسی پروتئین‌هایی هستند که به‌طور اختصاصی به فعال کننده‌های اطراف ژن یا نواحی پیشبر متصل شده (Latchman, 1997) و بسته به نوع آن بعد از اتصال عامل رونویسی بیان ژن کم یا زیاد می‌شود (Babu *et al.* 2004). عوامل رونویسی با مهار یا تحریک فعالیت RNA پلیمراز موجب تنظیم بیان ژن می‌شوند. تعداد عوامل رونویسی در هر موجود زنده بستگی به اندازه‌ی ژنوم آن دارد، هر چه اندازه ژنوم بزرگتر باشد، تعداد عوامل رونویسی بیشتری وجود دارد (Nimwegen, 2006).

خانواده عوامل رونویسی WRKY – نام این خانواده از چهار اسید آمینه حفاظت‌شده آن (tryptophan-arginine-lysine-tyrosine) گرفته شده است – از بزرگ‌ترین خانواده‌های تنظیم کننده رونویسی در گیاهان هستند و به عنوان فعال‌کننده و مهارکننده در فرآیندهای مهم گیاهی شرکت می‌کنند (Rushton *et al* 2010). *WRKY* یکی از قدیمی‌ترین خانواده‌های ژنی عوامل رونویسی است که در تکامل سلسله گیاهی دچار مضاعف شدگی گسترده شده‌اند (Berri *et al.* 2009). حدود ۲۰ سال از اولین گزارش مربوط به کشف عوامل رونویسی خانواده‌ی ژنی *WRKY* در سیب زمینی شیرین (*Ipomoea batatas*) می‌گذرد (Ishiguro and Nakamura, 1994). اولین بار نام‌گذاری اعضای این خانواده یک سال بعد در گیاه جعفری (*Petroselinum sativum*) با شناسایی سه عضو (ژن‌های *WRKY*1، *WRKY*2 و *WRKY*3) انجام شد (Rushton *et al.* 1995). عوامل رونویسی WRKY تنظیم کننده‌هایی هستند که هم فعالیت‌های تنظیمی مثبت و هم منفی دارند (Eulgem and Somssich, 2007). *WRKY* یکی از ده خانواده بزرگ ژنی است که در گیاهان عالی و تمام اجداد سبز گیاهی کشف شده است (Ulker and Somssich, 2004). ژن‌های این خانواده در طی تکامل خود را با پیچیدگی‌های زیاد سازوکارهای دفاعی مقابله کننده با پاتوژن‌ها وفق داده‌اند (Eulgem *et al.* 2000). تکامل اجدادی خانواده ژنی *WRKY* ویژه بوده و دامنه ژن‌های موجود در گیاهان از یک ژن در جلبک سبز تک سلولی کلامیدوموناس (*Chlamydomonas nivalis*)، ۳۷ ژن در خزه (Bryophytes)، ۷۴ ژن در آرابیدوپسیس (*Arabidopsis thaliana*) تا تقریبا ۲۰۰ ژن در سویا (*Glycine max*) متغیر است (Ulker and Somssich, 2004).

ساختار دمین (domain) WRKY شامل چهار صفحه بتا (b-sheet) است که اسید آمینه‌های حفظ شده سیستئین و هیستیدین در ساختار انگشت روی قرار دارند (Yamasaki *et al.* 2005). توالی آمینواسیدی WRKYGQK موجب

[Downloaded from gebsj.ir on 2025-12-13]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1394.4.1.3.1]

برآمدگی بر سطح پروتئین شده و توانایی پروتئین را در اتصال به شیارهای DNA افزایش می‌دهد. این توالی از نظر طولی با توالی حفاظت‌شده W در DNA برابری می‌کند (Babu *et al.* 2006). عوامل رونویسی WRKY توالی حفاظت شده W (TTGACC/T) را به عنوان علامت موجود در پیشبر شناسایی کرده و موجب تنظیم بیان ژن می‌شوند (Rushton *et al.* 1996). ویژگی خاص عوامل رونویسی WRKY در اتصال به DNA وجود پهنه تقریبا غیر قابل تغییرWRKY در انتهای آمینی پروتئین است (Rushton *et al.* 1996). آزمایش‌های جهش‌زایی نشان می‌دهد که اسید آمینه‌های حفظ‌شده سیستئین (cysteine) و هیستیدین (histidine) و پهنه WRKYGQK برای اتصال پروتئین به DNA ضروری هستند (Maeo *et al.* 2001). در تعداد کمی از این توالی‌ها در گیاهان مختلف تغییرات کمی مانند WVKY، WKRY، WRRY، WSKY و WKKY گزارش شده است (Xie *et al.* 2005). عوامل رونویسی WRKY بر مبنای تعداد پهنه‌ها و ساختار انگشت روی (zinc finger) به سه گروه تقسیم می‌شوند (Eulgem *et al.* 2000). پروتئین‌های گروه I دارای دو پهنه و گروه II که شامل زیر گروه‌های IIa IIb IIc IId IIe بوده و III دارای یک پهنه WRKY بوده (Rushton *et al.* 2008) و الگوی انگشت روی در انتهای C آنها در گروه I و II به صورت $Cx_{4-5}Cx_{22-23}HxH$ و در گروه III به صورت $Cx_7Cx_{23}HxC$ است (Zhang and Wang, 2005).

عوامل رونویسی WRKY در هنگام مواجه گیاه با شوری زیاد، گرما، تنش اسمزی، غلظت‌های بالای CO_2 و سرما یا خشکی بیان می‌شوند (Li *et al.* 2009). در غلات آلفاآمیلاز (alpha amylase) یکی از آنزیم‌های کلیدی در فرآیند جوانه‌زنی و فرآیندهای پس از جوانه‌زنی است، در جو بعضی از عوامل رونویسی WRKY به توالی W در پیشبرهای ژن آلفاآمیلاز متصل می‌شوند (Rushton *et al.* 1995). بیشتر پروتئین‌های خانواده WRKY در پاسخ گیاه به پاتوژن‌های باکتریایی و قارچی درگیر هستند (Chen and Chen, 2000) و با تنظیم بیان ژن‌های دخیل در سیستم دفاعی به خصوص مسیر سالیسیلیک اسید (salicylic acid) کار خود را انجام می‌دهند (Du and Chen, 2000). عوامل رونویسی WRKY در تنظیم فعالیت‌های پیری در برگ دخیل هستند. پروفایل بیانی در آرابیدوپسیس نشان دهنده این است که عوامل رونویسی WRKY به طور قابل توجهی در ترانسکریپتوم پیری موجود هستند (Guo *et al.* 2004).

هدف از انجام این پژوهش شناسایی همه اعضای خانواده عوامل رونویسی WRKY در جو و طبقه بندی آنها بر اساس مناطق حفاظت شده به منظور به کارگیری نتایج آن برای پژوهش‌های بعدی از جمله بررسی الگوی بیان این ژن‌ها است که می‌تواند کمک شایانی درراستای اصلاح این گیاه زراعی برای افزایش تحمل به تنش‌های زیستی و غیرزیستی باشد.

مواد و روش‌ها

شناسایی اعضای خانواده عوامل رونویسی WRKY با استفاده از پایگاه‌های داده مرتبط ابتدا تمامی اعضای ثبت شده خانواده عوامل رونویسی WRKY در جو از پایگاه داده‌های PTFDB و GTFDB (جدول ۱) جمع‌آوری شدند.

شناسایی اعضا از طریق tBLASTN بر اساس توالی‌های حفظ‌شده در برنج با انتخاب یک عضو از هر زیر گروه ژن‌های *WRKY* در برنج (Paul *et al.* 2010)، tBLASTN در پایگاه داده‌های IBSC و NCBI (جدول ۱) انجام شد تا اعضای احتمالی دیگر خانواده عوامل رونویسی WRKY نیز اضافه شوند.

[Downloaded from gebsj.ir on 2025-12-13]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1394.4.1.3.1]

جدول۱- اسامی و آدرس پایگاه داده‌های مورد استفاده در این پژوهش

Table 1- Name and URL address of the databases exploited in the current research

Database	URL
The international barley sequencing consortium (IBSC)	http://webblastipk-gaterslebende/barley
GeneBank	http://www.ncbi.nlm.nih.gov
Plant Transcription Factors Database (PTFDB)	http://planttfdbcbi.edu.cn
Gramineae Transcription factor database (GTFDB)	http://gramineaetfdbpscrike.njp
Pfam	http://pfamsanger.ac.uk/
Ensemble Plants	http://plantsensembl.org/
Weblogo	http://weblogoberkeleyedu/logo.cgi
Fao	http://faostatfao.org

جستجو بر اساس مدل مخفی مارکوف (Hidden Markov Model)

برای جستجو بر اساس HMM ابتدا پروفایل hmm برای دمین حفاظت شده WRKY با کد PF03106hmm از پایگاه Pfam (Punta *et al*. 2014) (جدول ۱) گرفته شده و از آنها برای جستجو علیه مجموعه پروتئین های بدست آمده از IBSC (barley_HighConffa & barley_LowConffa) (Mayer *et al.* 2012) با استفاده از نرم افزار HMMER 31b1 (Finn *et al.* 2011) استفاده شد. در این مرحله پروفایل hmm دوباره بر اساس توالی‌های مناطق حفاظت‌شده همه پروتئین‌ها و ناحیه حفاظت شده در هر زیر گروه ایجاد و از پروفایل حاصل برای جستجوی مجموعه پروتئین های بدست آمده از IBSC استفاده شد.

در همه جستجوها فقط توالی هایی با E-value <1 انتخاب شده و سپس همه آنها به صورت دستی برای وجود مناطق حفاظت شده WRKY بررسی شدند و این نتایج با داده‌های پایگاه Pfam برای مناطق حفاظت شده دوباره چک شدند. جهت جلوگیری از ثبت تکراری توالی‌های مشابه گزارش شده برای هر ژن، توالی‌های یافت شده در پایگاه‌های مختلف، در NCBI جستجو شدند تا Unigene توالی‌ها در صورت وجود پیدا شد.

شایان ذکر است انواع رونوشت‌های گزارش شده یک ژن (شامل mRNA، cDNA ، EST) در یک Unigene جمع‌آوری‌شده است. در صورت عدم وجود Unigene، توالی‌های تکراری از طریق هم‌ردیفی، شناسایی و تلفیق شدند.

هم‌ردیفی و ترسیم درخت فیلوژنتیک

بعد از حذف توالی‌های ترانسکریپت‌های یک پروتئین، همردیفی توالی‌های پروتئینی WRKY بدست آمده در جو به همراه یک توالی از هر زیر گروه خانواده عوامل رونویسی WRKY در گندم (Zhu *et al.* 2013)، برنج (Paul *et al*. 2010) و آرابیدوپسیس (Wu *et al*. 2005) با استفاده از نرم افزار Clustalx 2010 انجام و درخت فیلوژنتیک آنها بر اساس روش اتصال همسایه (neighbor-joining) و با انجام خودراه‌اندازی (bootstrap) با تکرار ۱۰۰۰ بار توسط نرم افزار MEGA 60 (Tamura *et al*. 2013) رسم شد.

تعیین محدوده کرموزومی

برای یافتن توالی ژنومی، توالی cDNA هر یک از اعضا به عنوان الگو برای BLASTN بر علیه ژنوم جو (در بین توالی‌های Morex) در پایگاه‌های IBSC و Ensemble Plants (جدول ۱) بارگذاری شدند.

حصول توالی‌های توافقی (consensus) مناطق حفاظت شده WRKY در زیر گروه‌های این خانواده توالی‌های توافقی مناطق حفاظت شده WRKY در هرکدام از زیر گروه‌های این خانواده با استفاده از پایگاه Weblogo طراحی شدند.

[Downloaded from gebsj.ir on 2025-12-13]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1394.4.1.3.1]

نتایج

۹۶ توالی پروتئینی به عنوان اعضای خانواده عوامل رونویسی WRKY در جو یافت شد که بر طبق طبقه بندی تعریف شده (Eulgem *et al.* 2000)، بر اساس تشابه در دمین حفاظت شده، در ۳ گروه دسته‌بندی شدند (جدول ۲).

بر این اساس ۱۳پروتئین دارای ۲ دمین حفاظت شده WRKYدر گروه I، ۳۰ پروتئین دارای یک دمین WRKY با ساختار انگشت روی $Cx_7Cx_{23}HxC$ در گروه III و پروتئین‌های دارای یک دمین WRKY با ساختار انگشت روی $Cx_{4-5}Cx_{22-23}HxH$ بر اساس شباهت‌های ساختاری به کار رفته برای طبقه بندی‌های مذکور برای گندم، برنج و آرابیدوپسیس به شرح زیر در زیرگروه‌های پنج‌گانه گروه II قرار گرفتند: ۵ پروتئین در زیرگروه IIa، ۴ پروتئین در زیرگروه IIb، ۲۲ پروتئین در زیرگروه IIc، ۱۳ پروتئین در زیرگروه IId و ۹ پروتئین در زیرگروه IIe. در درخت فیلوژنتیک رسم شده مشاهده می‌شود که حدود ۳۱ درصد توالی‌های یافت شده در گروه III، حدود ۱۴ درصد آنها در گروه I و باقی در گروه II قرار دارند (شکل ۱).

شباهت ساختاری دمین‌های حفاظت شده توالی‌ها بین گروه‌ها و زیرگروه‌های IIa و IIb، IIc و I و همچنین بین III و IId مشهود است که این گروه‌ها و زیرگروه‌ها در شکل ۱ نیز کنار یکدیگر قرار گرفته‌اند. توالی حفاظت شده WRKYGQK در دمین همه توالی‌های یافت شده به همراه ساختار انگشت روی $Cx_7Cx_{23}HxC$ در گروه III و ساختار انگشت روی $Cx_{4-5}Cx_{22-23}HxH$ در گروه‌های I و II مشهود هستند (شکل ۲).

جدول ۲- فهرست اعضای خانواده عوامل رونویسی WRKYدر جو، موقعیت کروموزومی، طول پروتئین، موقعیت دمین حفاظت شده و گروه‌بندی آنها

Table 2- List of WRKY transcription factor family members in barley, chromosomal position, protein length and the position of conserved domain

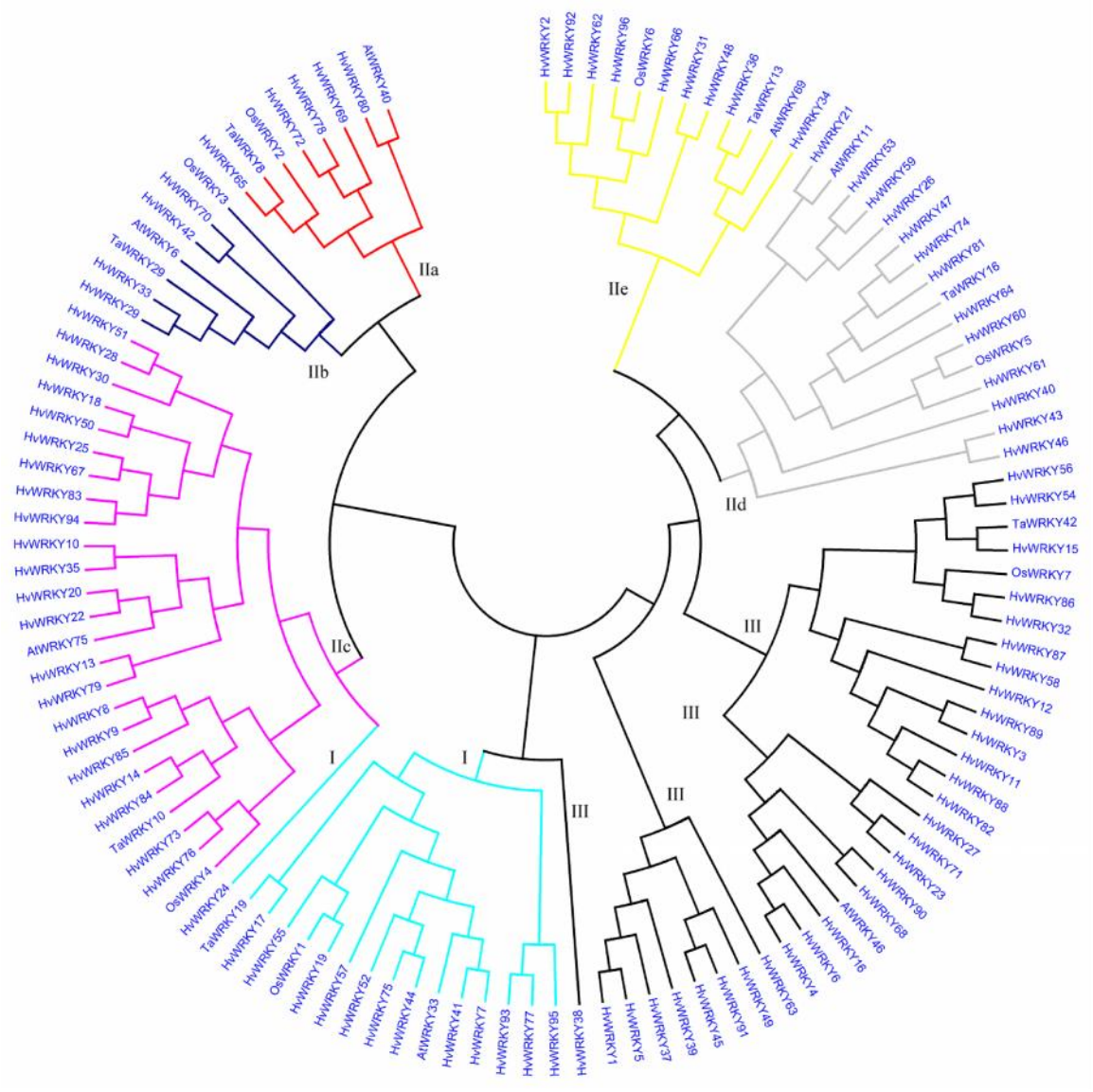
Name	Chromosome No	Pervious Name	UniGene	Protein ID	MIPS acc No	Protein Length (WRKY Domain)
HvWRKY1	1	--------	---	-------	MLOC_57051	290(138-199)
HvWRKY2	1	--------	---	-------	MLOC_71477	340(182-240)
HvWRKY3	1	--------	---	-------	MLOC_79171	140(1-50)
HvWRKY4	1	HvWRKY31	Hv29798	ABI13397	MLOC_5971	309(113-172)
HvWRKY5	1	--------	---	-------	MLOC_11088	289(135-196)
HvWRKY6	1	--------	---	-------	MLOC_15430	300(105-164)
HvWRKY7	1	HvWRKY43	Hv29827	ABI13408	MLOC_72586	512(178-235)-(344-402)
HvWRKY8	1	HvWRKY19	Hv15087	ABI13385	MLOC_81131	248(125-183)
HvWRKY9	1	HvWRKY20	Hv29796	BAJ94655	MLOC_10264	216(128-186)
HvWRKY10	1	HvWRKY13	Hv18628	ABI13379	MLOC_32433	139(60-118)
HvWRKY11	1	HvWRKY29	Hv29824	ABI13395	MLOC_65699	247(96-156)
HvWRKY12	1	--------	---	-------	MLOC_17779	149(1-53)
HvWRKY13	1	--------	---	-------	MLOC_44947	196(54-112)
HvWRKY14	1	HvWRKY17	Hv29828	BAJ98268	MLOC_12079	199(108-166)
HvWRKY15	2	HvWRKY30	Hv3567	BAJ92999	MLOC_71897	328(148-208)
HvWRKY16	2	--------	---	-------	MLOC_7000	321(140-204)
HvWRKY17	2	HvWRKY41	Hv9019	ABI13406	MLOC_5850	489(218-273)-(383-441)
HvWRKY18	2	--------	---	-------	MLOC_58026	285(127-184)
HvWRKY19	2	HvWRKY46	Hv15882	AAQ63880	MLOC_74884	573(189-246)-(362-420)
HvWRKY20	2	HvWRKY12	Hv14881	BAJ86072	MLOC_36657	216(123-181)
HvWRKY21	2	HvWRKY10	Hv7458	BAJ97150	MLOC_63184	318(247-305)
HvWRKY22	2	--------	---	ABI13378	-------	205(112-170)
HvWRKY23	2	HvWRKY4	Hv13574	BAK023311	MLOC_74606	348(117-175)
HvWRKY24	2	--------	Hv33030	BAK079591	MLOC_77883	736(300_356)-(530-587)
HvWRKY25	2	--------	---	-------	MLOC_66345	179(100-158)
HvWRKY26	2	HvWRKY7	Hv10971	BAK03156	MLOC_22106	326(230-278)
HvWRKY27	3	--------	---	-------	MLOC_68061	114(23-80)
HvWRKY28	3	--------	---	-------	MLOC_54895	205(183-205)
HvWRKY29	3	--------	Hv4932	BAJ96003	MLOC_68299	569(301-359)
HvWRKY30	3	--------	Hv16746	BAJ98040	MLOC_54606	364(168-225)s
HvWRKY31	3	--------	Hv33406	BAJ997161	MLOC_7126	320(137-198)
HvWRKY32	3	--------	Hv21259	BAJ89144	MLOC_44455	308(125-186)
HvWRKY33	3	--------	---	-------	-------	569(302-360)
HvWRKY34	3	HvWRKY45	Hv18266	ABI13410	MLOC_14821	297(74-132)
HvWRKY35	3	--------	---	-------	MLOC_54950	231(152-210)
HvWRKY36	3	HvWRKY39	Hv16074	ABI13404	MLOC_69778	275(105-163)

[Downloaded from gebsj.ir on 2025-12-13]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1394.4.1.3.1]

HvWRKY37	3	--------	---	-------	MLOC_3853	189(117-175)
HvWRKY38	3	--------	---	-------	MLOC_6114	256(54-112)
HvWRKY39	3	--------	---	-------	MLOC_34506	360(120-183)
HvWRKY40	3	HvWRKY36	Hv29825	ABI13412	MLOC_19031	197(37-97)
HvWRKY41	3	--------	---	-------	MLOC_67851	207(23-81)
HvWRKY42	3	HvWRKY37	Hv19834	BAJ992451	MLOC_7939	475(216-274)
HvWRKY43	3	--------	---	-------	MLOC_7470	230(152-208)
HvWRKY44	4	--------	---	-------	MLOC_31894	372(90-148)-(250-308)
HvWRKY45	4	--------	---	-------	MLOC_57764	206(33-94)
HvWRKY46	4	--------	---	-------	MLOC_16746	96(42-96)
HvWRKY47	4	--------	Hv26258	BAJ85995	MLOC_77258	360(225-283)-(286-344)
HvWRKY48	4	--------	---	-------	MLOC_56822	225(140-1198)
HvWRKY49	4	HvWRKY34	Hv1750	ABI13400	MLOC_34522	223(45-103)
HvWRKY50	5	HvWRKY15	Hv15485	BAK01500	MLOC_59259	303(136-193)
HvWRKY51	5	--------	Hv36645	BAJ950061	MLOC_59246	87(1-35)
HvWRKY52	5	--------	---	-------	MLOC_69575	360(92-148)-(248-306)
HvWRKY53	5	--------	---	-------	MLOC_22356	286(220-278)
HvWRKY54	5	HvWRKY22	Hv29810	ABI13388	MLOC_45055	187(130-188)
HvWRKY55	5	HvWRKY40	Hv29818	ABI13405	MLOC_10687	181(145-181)
HvWRKY56	5	HvWRKY28	Hv13249	ABI13394	MLOC_52504	346(123-181)
HvWRKY57	5	HvWRKY42	Hv15670	ABI13407	MLOC_58019	274(86-144)
HvWRKY58	5	HvWRKY24	Hv29804	ABI13390	MLOC_74974	214(18-56)
HvWRKY59	5	--------	---	-------	MLOC_66612	299(231_289)
HvWRKY60	5	HvWRKY9	Hv17161	ABI13375	MLOC_76441	339(269-328)
HvWRKY61	5	HvWRKY11	Hv15434	ABI13377	MLOC_67268	87(12-69)
HvWRKY62	5	--------	---	-------	MLOC_58349	256(154-215)
HvWRKY63	5	--------	---	-------	MLOC_68369	337(149-207)
HvWRKY64	5	HvWRKY8	Hv29784	BAK059431	MLOC_56247	355(289-346)
HvWRKY65	6	HvWRKY1	Hv20710	BAJ91478	MLOC_60890	353(187-244)
HvWRKY66	6	--------	Hv33156	BAK03476	MLOC_64446	488(234-291)
HvWRKY67	6	--------	---	-------	MLOC_12078	227(153-211)
HvWRKY68	7	--------	---	-------	MLOC_66134	308(110-168)
HvWRKY69	7	HvWRKY23	Hv4870	ABI13413	MLOC_70190	382(310-368)
HvWRKY70	7	--------	---	-------	MLOC_60283	609(230-258)
HvWRKY71	7	--------	---	-------	MLOC_78461	341(115-173)
HvWRKY72	------	HvWRKY2	Hv13583	CAH68818	-------	314(166-224)
HvWRKY73	------	HvWRKY5	Hv22109	CAH68821	MLOC_66204	245(123-181)
HvWRKY74	------	--------	Hv26258	-------	-------	340(273-231)
HvWRKY75	------	--------	Hv25183	-------	-------	493(208-266)-(376-434)
HvWRKY76	------	--------	Hv22109	-------	-------	237(116-173)
HvWRKY77	------	--------	Hv20442	-------	-------	521(199-255)-(367-424)
HvWRKY78	------	--------	Hv13583	BAJ90162	-------	264(127-186)
HvWRKY79	------	--------	Hv33326	BAJ98419	-------	314(165-223)
HvWRKY80	------	--------	Hv32682	BAJ99717	-------	229(69-128)
HvWRKY81	------	--------	Hv26258	BAK00560	-------	353(275-313)
HvWRKY82	------	--------	Hv1115	BAK01005	-------	254(94-155)
HvWRKY83	------	HvWRKY14	Hv29823	ABI13380	-------	88(11-69)
HvWRKY84	------	HvWRKY16	Hv29833	ABI13382	-------	169(113-169)
HvWRKY85	------	HvWRKY18	Hv29775	ABI13384	-------	187(127-185)
HvWRKY86	------	HvWRKY21	Hv21259	ABI13387	-------	266(136-204)
HvWRKY87	------	HvWRKY25	Hv29821	ABI13391	-------	168(27-85)
HvWRKY88	------	HvWRKY26	Hv1115	ABI13392	-------	209(63-121)
HvWRKY89	------	HvWRKY27	Hv29820	ABI13393	-------	173(125-163)
HvWRKY90	------	HvWRKY32	Hv15495	ABI13398	-------	330(145-203)
HvWRKY91	------	HvWRKY33	Hv16020	ABI13399	-------	142(70-128)
HvWRKY92	------	HvWRKY44	Hv29819	ABI13411	MLOC_58423	144(46-104)
HvWRKY93	------	--------	---	ABR87003	MLOC_21482	281(80-138)
HvWRKY94	------	--------	---	ABL11228	-------	103(65-103)
HvWRKY95	------	--------	---	-------	-------	53(23-53)
HvWRKY96	------	HvWRKY6	---	-------	-------	219(186-219)

[Downloaded from gebsj.ir on 2025-12-13]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1394.4.1.3.1]

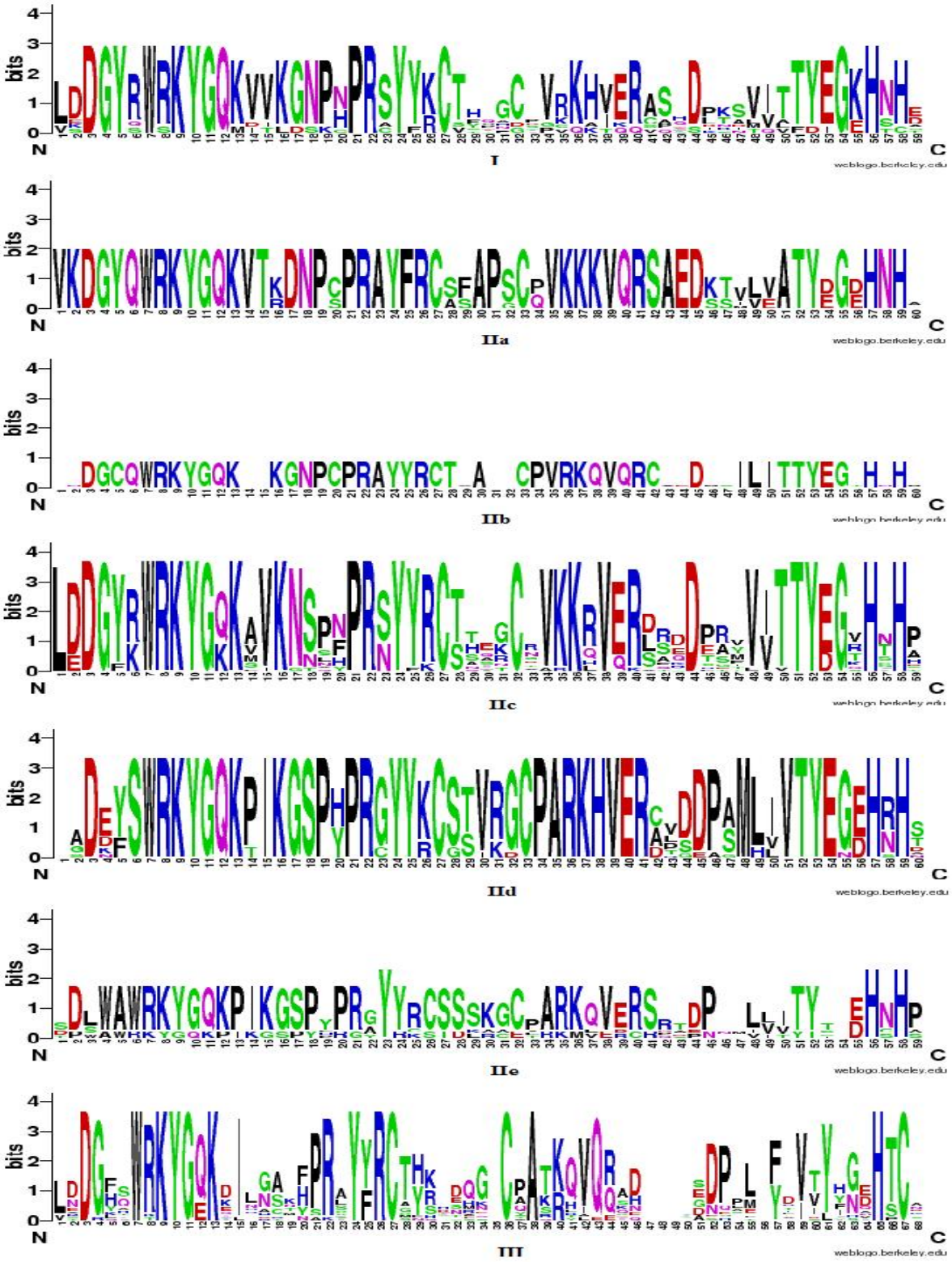


شکل ۱- درخت فیلوژنتیک اعضای خانواده عوامل رونویسی WRKY در جو، توالی‌ها با استفاده از نرم‌افزار Clustalx 2010 به صورت چندگانه همردیف شده و بر اساس روش اتصال همسایه و با انجام خودراه‌اندازی با تکرار ۱۰۰۰ بار توسط نرم‌افزار MEGA6 درخت فیلوژنتیک آنها رسم شد.

Figure 1- Phylogenetic tree of WRKY transcription factor family members in barley, multiple sequence alignment were performed using Clustalx 2010 software and phylogenetic trees were constructed using the Neighbor-Joining (NJ) method with bootstrap values from 1,000 replicates and drawn by MEGA4.

[Downloaded from gebsj.ir on 2025-12-13]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1394.4.1.3.1]



شکل ۲- توالی‌های توافقی مناطق حفاظت شده در زیر گروه‌های خانواده عوامل رونویسی WRKY که با استفاده از پایگاه Weblogo (جدول ۱) طراحی شده‌اند.

Figure 2. The consensus sequences of the conserved regions in WRKY transcription factor family subgroups of barley, designed by Weblogo tool (table 1).

[Downloaded from gebsj.ir on 2025-12-13]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1394.4.1.3.1]

بحث

در این مطالعه به دلیل قرابت ژنتیکی جو به برنج و همچنین تک-لپه‌ای بودن هر دو گیاه، از توالی‌های پروتئینی حفاظت شده هرکدام از زیرگروه‌های برنج (Wu *et al.* 2005) برای پیداکردن اعضای جدید خانواده WRKY در جو استفاده شد. در پایگاه‌های داده، بسیاری از توالی‌ها شرح نویسی نشده‌اند؛ بنابراین برای پیدا کردن اعضای جدید جستجوی توالی‌ها با BLAST آگاهی بیشتری را در دسترس قرار می‌دهد، از طرفی توالی‌های نوکلئوتیدی بسیار بیشتری نسبت به توالی‌های پروتئینی موجود هستند؛ و چون برای پیدا کردن اعضای جدید و داشتن عملکرد مشابه نیاز به توالی حفاظت‌شده پروتئین است، استفاده از tBLASTN برای پیدا کردن اعضای جدید از میان توالی‌های نوکلئوتیدی با استفاده از توالی‌های حفاظت شده پروتئینی منطقی به نظر می‌رسد. در پیدا کردن اعضای خانواده ژنیWRKY داشتن ساختار حفاظت‌شده WRKYGQK و توالی انگشت روی به‌دقت بررسی و تائید شد شایان‌ذکر است دلیل انتخاب توالی‌های ناقص گزارش شده به‌عنوان اعضای این خانواده، دارا بودن موتیف WRKYGQK و شباهت زیاد ساختاری با توالی‌های WRKY و یا ثبت در پایگاه NCBI به نام WRKY بوده است.

مطالعات بیوانفورماتیک و عملکردی پیشبرهای گیاهی نشان می‌دهد توالی‌های W و توالی‌های مشابه آن در بسیاری از پیشبرهای القایی تحت تنش مشارکت فعال دارند (Maleck *et al.* 2000). گزارش‌های کمی درباره وجود اتصال پروتئین WRKY, به توالی‌های حفاظت شده غیر ازW وجود دارد (Cai *et al.* 2007). عامل رونویسی SUSIBA2 که نام دیگر عامل رونویسی HvWRKY46 است (Mangelsen *et al.* 2008) توانایی اتصال به دو توالی حفاظت شده W و SURE (TAAAGATTACTAATAGGAA) را دارد (Grierson *et al.* 1994).

ژن‌های تنظیم‌کننده‌ی بیان به فراوانی در ژنوم گیاهان و جانوران حضور دارند و تنوع و تکامل یوکاریوت‌ها مربوط به گسترش و تکامل انواع خاص ژن‌های تنظیم‌کننده بیان است (Riechmann *et al.* 2000). روند تکاملی خانواده WRKY از موجودات تک-سلولی به سمت موجودات پرسلولی است. گیاهان گل‌دار در مقایسه با مخروطیان، سرخس‌ها و خزه‌ها دارای اعضای بیشتری از خانواده ژنی *WRKY* هستند و این عوامل رونویسی نقش تنظیمی بسیار مهمی را در گیاهان گل‌دار بازی می‌کنند (Berri *et al.* 2009). بر اساس مطالعات صورت گرفته در جلبک کلامیدوموناس (*Chlamydomonas reinhardtii*) به‌عنوان یک گیاه پست که قرابت ژنتیکی فراوانی با اجداد گیاهی دارد فقط یک ژن *WRKY* وجود دارد که این ژن جزء گروه I است (دارای دو دمین WRKY) و نشان‌دهنده‌ی این است که گروه I جد واقعی خانواده‌ی WRKY بوده و دیگر گروه‌های این خانواده از تکامل گروه اول حاصل‌شده‌اند. جستجو بر مبنای داده‌های موجود در GeneBank نشان می‌دهد ژن‌های *WRKY* مشابه گروه I در دو یوکاریوت غیرفتوسنتزکننده، یکی در کپک *Dictyostelium discoideum* (شماره‌ی شناسایی: AAO52331) و دیگری در یک تک‌یاخته‌ای به نام *Giardia lamblia* (شماره‌ی شناسایی: EAA40901) وجود دارد و به‌طور کلی مؤید این فرضیه هستند که جد واقعی ژن‌های *WRKY* گروه I هستند و قبل از اینکه ژن-های *WRKY* وارد سلسله گیاهی شوند، حدود یک و نیم تا دو میلیارد سال پیش از یوکاریوت‌های اولیه منشأ گرفته‌اند، اما چگونگی گسترش ژن‌های این خانواده در گیاهان و عدم وجود آنها در مخمرها و در جانوران مشخص نیست (Ulker and Somssich, 2004). در این مطالعه ۱۳ پروتئین دارای ۲ دمین حفاظت شده WRKY بر اساس شباهت‌های ساختاری به‌کاررفته برای طبقه‌بندی‌های مذکور برای گندم، برنج و آرابیدوپسیس در گروه I قرار گرفتند.

دلیل قرار گرفتن زیرگروه IIc در کنار گروه I در درخت فیلوژنتیک شباهت ساختاری در توالی‌های این دو گروه است به طوری که گمان می‌رود رابطه تکاملی این دو گروه نزدیک‌تر بوده و زیر گروه IIc در اثر حذف یکی از دو منطقه حفاظت شده WRKY از گروه I مشتق شده باشد. اما باید توجه داشت که ممکن است بعضی از اعضای زیرگروه IIc در واقع توالی‌های ناقص گروه I باشند. همچنین در مطالعاتی که بر روی آرابیدوپسیس و گوجه‌فرنگی صورت گرفته است نشان داده شده است که بعضی از ژن‌ها مثل *AtWRKY10* فقط دارای یک دمین

[Downloaded from gebsj.ir on 2025-12-13]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1394.4.1.3.1]

هستند. اما در گروه‌بندی این ژن در گروه ژن‌های دو دمینی (گروه I) قرارگرفته است (Rushton *et al*. 2000) بنابراین به دلیل قرابت ژنتیکی بالای گروه IIc با دمین کربوکسیلی ژن‌های گروه I می‌توان نتیجه گرفت که زیرگروه IIc در طی دوران تکامل دمین انتهایی آمینی خود را ازدست داده‌اند که این مساله تایید کننده این است که گروه I جد واقعی خانواده‌ی WRKY هستند و دیگر گروه‌های این خانواده از تکامل گروه اول حاصل‌شده‌اند (Ulker and Somssich, 2004). در پژوهش‌های دیگر به ایجاد و تکامل گروه II از گروه I به دلیل از دست رفتن دمین انتهای آمینی (N) اذعان شده و نتایج نشان داد که گروه II از تکامل دمین کربوکسیلی (C) گروه I ایجاد شده‌اند (Zhang and Wang, 2005). در پروتئین‌های گروه I دمین کربوکسیلی کار اتصال به DNA و دمین آمینی به تخصصی بودن این اتصال کمک می‌کند، بنابراین به دلیل ماهیت یک عامل رونویسی مبنی بر اتصال به DNA، تکامل گروه II از دمین کربوکسیلی منطقی است.

با توجه به اینکه گروه‌های II و III تک دمینی هستند برای جداسازی و مشخص کردن آن‌ها از یکدیگر تفاوت ساختار انگشت روی آن‌ها مورد بررسی قرار گرفت. به این صورت که مطابق گزارش‌های قبلی (Zhang, 2005) توالی‌های دارای ساختار انگشت روی با الگوی $Cx_7Cx_{23}HxC$ در گروه III و توالی‌هایی که دارای ساختار انگشت‌روی با الگوی $Cx_{4-5}Cx_{22-23}HxH$ هستند در گروه I و II قرار گرفتند گروه II نیز در برنج به چهار زیرگروه IIa، IIb، IIc و IId تقسیم‌بندی می‌شوند (Guo *et al.* 2005). توالی‌های گروه II در این مطالعه مانند تقسیم بندی خانواده عوامل رونویسی WRKY در گندم (Zhu *et al*. 2013) به زیرگروه‌های IIa، IIb، IIc، IId و IIe تقسیم شدند. اساس این طبقه بندی شباهت ساختاری توالی‌های پروتئین‌های WRKY است. در گروه‌بندی گروه II به ترتیب ۵، ۴، ۲۲، ۱۳ و ۹ عضو در زیرگروه‌های IIa، IIb، IIc، IId و IIe قرار گرفتند.

به‌طور میانگین حدود ۲۰ درصد از ژن‌های خانواده‌ی ژنی *WRKY* در گیاهان عالی مربوط به گروه III هستند. درحالی‌که اعضای این گروه در خزه‌ی فیسکومترلا (*Physcomitrella patens*) وجود ندارند و نشان دهنده این است که این گروه از ژن‌های *WRKY* در طی دوران تکامل بعد از گروه‌های I و II بوجود آمده‌اند (Dong and chen, 2003; Kalde and Barth, 2003). گروه II فقط در گیاهان عالی وجود دارند. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که این گروه از ژن‌های خانواده *WRKY* در اثر مضاعف شدگی ایجاد شده‌اند و به دلیل ایفای نقش در تحمل فشارهای محیطی و تنش‌های وارده بر گیاه انتخاب شده‌اند. این میزان در پژوهش حاضر حدود ۳۱ درصد است. می‌توان فزونی حضور این گروه در جو نسبت به میانگین گیاهان عالی را با مقاومت بالای آن در بین غلات و انتخاب اجداد وحشی مقاوم‌تر برای بدست آوردن ارقام مقاوم‌تر و تکامل آن برای حصول عملکرد نسبی بالاتر در شرایط نامساعد در ارتباط دانست. ژن‌های گروه III نقش بسیار مهمی را در تک‌لپه‌ای‌ها بازی می‌کنند، این گروه ازنظر تکاملی پیشرفته‌ترین گروه خانواده WRKY به‌حساب آمده و موجب سازگاری گیاه می‌شوند (Zhang and Wang 2005) . گروه III در برنج نسبت به آرابیدوپسیس ازنظر تکاملی بسیار فعال‌تر هستند، زیرا در توالی‌های گروه III برنج مضاعف شدگی پی‌درپی دیده می‌شود (Eulgem *et al* 2000). ۳۴ درصد از(ژن‌های خانواده‌ی ژنی *WRKY* در برنج نیز مربوط به گروه III هستند (Christian *et al.* 2007). با توجه به نتایج به دست آمده گروه III در اجداد جو در دوران تکامل بعد از گروه II ایجاد شده‌اند و این گروه نسبت به گروه II قرابت ژنتیکی کمتری نسبت به گروه I به‌عنوان جد خانواده‌ی WRKY دارند (شکل ۲) و این نشان‌دهنده‌ی تائید مباحث مبتنی بر حفاظت شدگی گروه II در جو همانند گندم به دلیل سازگاری این گیاه با شرایط و فشارهای محیطی است.

با توجه به اهمیت پدیده‌ی در حال گسترش خشکسالی در جهان و ایران، و محدودیت‌های گسترده‌ای که بر کشاورزی کشور تحمیل می‌کند، تلاش برای ایجاد گیاهان متحمل به خشکی و شوری اجتناب ناپذیر به نظر می‌رسد. از آنجایی که صفاتی مانند تحمل به تنش خشکی دارای کنترل چند ژنی هستند، بررسی ژن‌های تنظیمی که خوشه‌های ژنی را تنظیم می‌کنند یکی از راهکارهای امید بخش برای متحمل کردن گیاهان حساس به تنش خشکی است. نظر به وقت و هزینه بالای مورد نیاز برای بررسی‌های آزمایشگاهی و به ویژه مهندسی ژنتیک، منطقی است قبل از اقدام به هرگونه دستورزی ژنتیکی، خانواده‌های ژنی مهم و

[Downloaded from gebsj.ir on 2025-12-13]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1394.4.1.3.1]

کلیدی، مورد بررسی دقیق و جامعی قرار گیرند و تمامی داده‌های موجود در مورد این ژن‌ها جمع‌آوری، تجزیه و تحلیل و تفسیر و تلفیق شوند تا بهترین ژنهای نامزد برای بررسی‌های آزمایشگاهی پیشنهاد شوند. مطالعه بر روی عوامل رونویسی WRKY به عنوان یکی از مهم‌ترین تنظیم کننده‌های رونویسی در گیاهان با توجه به نقش اثبات‌شده‌ی آنها در تحمل به تنش‌های زیستی و غیرزیستی می‌تواند ما را در ایجاد بستری برای افزایش تحمل به خشکی یاری کند.

منابع

Babu MM, Iyer LM, Balaji S, Aravind L. 2006. The natural history of the WRKY–GCM1 zinc fingers and the relationship between transcription factors and transposons. Nucleic acids research 34: 6505-6520.

Babu MM, Luscombe NM, Aravind L, Gerstein M, Teichmann SA. 2004. Structure and evolution of transcriptional regulatory networks. Current opinion in structural biology 14: 283-291.

Berri S, Abbruscato P, Faivre-Rampant O, Brasileiro A, Fumasoni I, Satoh K, Kikuchi S, Mizzi L, Morandini P, Pè M. 2009. Characterization of WRKY co-regulatory networks in rice and Arabidopsis. BMC plant biology 9: 120-126.

Blake T, Blake V, Bowman J, Abdel-Haleem H. 2011. In Barley: Production Improvement and Uses (ed SE Ullrich) 522–531 (Wiley-Blackwell).

Bockelman HE, Valkoun J. 2011. In Barley: Production Improvement and Uses (ed SE Ullrich) 144–159 (Wiley-Blackwell).

Brivanlou AH, Darnell Jr J E. 2002. Signal transduction and the control of gene expression. Science 295: 813-818.

Cai M, Qiu D, Yuan T, Ding X, Li H, Duan L, Xu C, Li X, Wang S. 2007. Identification of novel pathogen-responsive cis-elements and their binding proteins in the promoter of OsWRKY13 a gene regulating rice disease resistance. Plant Cell &Environment 31: 86-96.

Ciolkowski I, Wanke D, Birkenbihl RP, Somssich IE. 2008. Studies on DNA-binding selectivity of WRKY transcription factors lend structural clues into WRKY-domain function. Plant molecular biology 68: 81-92.

Chen C, Chen Z. 2000. Isolation and characterization of two pathogen-and salicylic acid-induced genes encoding WRKY DNA-binding proteins from tobacco. Plant molecular biology 42: 387-396.

Collins HM, Burton RA, Topping DL, Liao ML, Bacic A, Fincher GB. 2010. Variability in fine structures of noncellulosic cell wall polysaccharides from cereal grains: potential importance in human health and nutrition. Cereal Chemistry 87: 272–282.

Christian AR, Liu Y, Shen QJ. 2007. The *WRKY* Gene Family in Rice. Journal of Integrative Plant Biology 49(6): 827-842.

De Pater S, Greco V, Pham K, Memelink J, Kijne J. 1996. Characterization of a zinc-dependent transcriptional activator from Arabidopsis. Nucleic acids research 24: 4624-4631.

Dong J, Chen C. 2003. Expression profiles of the Arabidopsis WRKY gene superfamily during plant defense response. Plant Molecular Biology 51(1):21-37.

Du L, Chen Z. 2000. Identification of genes encoding receptor-like protein kinases as possible targets of pathogen-and salicylic acid-induced WRKY DNA-binding proteins in Arabidopsis. The Plant Journal 24: 837-847.

Eulgem T. 2005. Regulation of the Arabidopsis defense transcriptome. Trends in Plant Science 10: 71-78.

Eulgem T, Rushton PJ, Robatzek S, Somssich IE. 2000. The WRKY superfamily of plant transcription factors. Trends in Plant Science 5: 199-205.

Eulgem T, Somssich IE. 2007. Networks of WRKY transcription factors in defense signaling. Current opinion in plant biology 10: 366-371.

FAO. 2009. FAOSTAT. Food and agricultural commodities production. Available on: http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx. FAO, Rome, Italy.

Garcia DELM. 2003. Evaluation of grain yield and its components in durum wheat under Mediterranean conditions. An ontogenic approach Agronomy Journal 95: 266-274.

Grando S, Macpherson HG. 2005. In Proceedings of the International Workshop on Food Barley Improvement 14–17 January Hammamet Tunisia 156 (ICARDA Aleppo Syria).

Grierson S, Zabala M, Beggs K, Smith C, Holdsworth M, Bevan M. 1994. Separate cis sequences and trans factors direct metabolic and developmental regulation of a potato tuber storage protein gene. The Plant Journal 5: 815-826.

[Downloaded from gebsj.ir on 2025-12-13]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1394.4.1.3.1]

Guo Y, Cai Z, Gan S. 2004. Transcriptome of Arabidopsis leaf senescence. Plant Cell & Environment 27: 521-549.

Kalde M, Barth M. 2003. Members of the Arabidopsis WRKY group III transcription factors are part of different plant defense signaling pathways. Molecular plant-microbe interactions 16(4): 295-305.

Iida K, Seki M, Sakurai T, Satou M, Akiyama K, Toyoda T, Konagaya A, Shinozaki K. 2005. RARTF: database and tools for complete sets of Arabidopsis transcription factors. DNA research 12: 247-256.

Ishiguro S, Nakamura K. 1994. Characterization of a cDNA encoding a novel DNA-binding protein SPF1 that recognizes SP8 sequences in the 5′ upstream regions of genes coding for sporamin and β-amylase from sweet potato. Molecular and General Genetics MGG 244: 563-571.

Jiang W, Yu DQ. 2009. Arabidopsis WRKY2 transcription factor mediates seed germination and post-germination arrest of development by abscisic acid. BMC Plant Biology 22: 994–996.

Karin M. 1990. Too many transcription factors: positive and negative interactions. The New biologist 2: 126-131.

Latchman DS. 1997. Transcription factors: an overview. The international journal of biochemistry & cell biology 29: 1305-1312.

Li S, Fu QT, Huang WD, Yu DQ. 2009. Functional analysis of an Arabidopsis transcription factor WRKY25 in heat stress. Plant Cell Rep 28: 683–693.

Maeo K, Hayashi S, Kojima-Suzuki H, Morikami A, Nakamura K. 2001. Role of conserved residues of the WRKY domain in the DNA-binding of tobacco WRKY family proteins. Bioscience biotechnology and biochemistry 65: 2428-2436.

Mangelsen E, Kilian J, Berendzen K, Kolukisaoglu Ü, Harter K, Jansson C, Wanke D. 2008. Phylogenetic and comparative gene expression analysis of barley (*Hordeum vulgare*) WRKY transcription factor family reveals putatively retained functions between monocots and dicots. BMC genomics 9: 194-201.

Maleck K, Levine A, Eulgem T, Morgan A, Schmid J, Lawton KA, Dangl JL, Dietrich RA. 2000. The transcriptome of *Arabidopsis thaliana* during systemic acquired resistance. Nature genetics 26: 403-410.

Mayer KF, Waugh R, Brown JW, Schulman A, Langridge P, Platzer M, Fincher GB, Muehlbauer GJ, Sato K, Close TJ, Wise RP, Stein N. 2012. A physical genetic and functional sequence assembly of the barley. Genome Nature 491(7426): 711-716.

Mitchell PJ, Tjian R. 1989. Transcriptional regulation in mammalian cells by sequence-specific DNA binding proteins. Science 245: 371-376.

Nevo E, Bi Fu Y, Pavlicek T, Khalifa S, Tavasi M, Beiles A. 2012. Evolution of wild cereals during 28 years of global warming in Israel. Proceeding of National Academy Science of USA 109 3412–3415.

Nimwegen E. 2006. Scaling laws in the functional content of genomes. Power Laws Scale-Free Networks and Genome Biology: 236-253.

Paul J, Rushton PJ, Somssich IE, Ringler P, Qingxi Shen J. 2010. WRKY transcription factors. Trends in Plant Science 15: 1360-1385.

Popescu SC, Popescu GV, Bachan S, Zhang Z, Gerstein M, Snyder M, Dinesh-Kumar SP. 2009. MAPK target networks in *Arabidopsis thaliana* revealed using functional protein microarrays. Genes & Development 23: 80-92.

Punta M, Coggill PC, Eberhardt RY, Mistry J, Tate J, Boursnell C, Pang N, Forslund K, Ceric G, Clements J, Heger A, Holm L, Sonnhammer ELL, Eddy SR, Bateman A, Finn RD. 2014. Nucleic Acids Research The Pfam protein families database. Database Issue 42:D222-D230.

Purugganan MD, Fuller DQ. 2009. The nature of selection during plant domestication. Nature 457:843–848.

Rushton PJ, Bokowiec MT, Han S, Zhang H, Brannock JF, Chen X, Laudeman TW, Timko MP. 2008. Tobacco transcription factors: novel insights into transcriptional regulation in the solanaceae. Plant Physiology 147: 280-291.

Rushton PJ, Macdonald H, Huttly AK, Lazarus CM, Hooley R. 1995. Members of a new family of DNA-binding proteins bind to a conserved cis-element in the promoters of α-Amy2 genes. Plant molecular biology 29: 691-702.

Rushton PJ, Somssich IE, Ringler P, Shen QJ. 2010. WRKY transcription factors Trends in Plant Science 15: 247-258.

Rushton PJ, Torres JT, Parniske M, Wernert P, Hahlbrock K, Somssich IE. 1996. Interaction of elicitor-induced DNA-binding proteins with elicitor response elements in the promoters of parsley PR1 genes. The EMBO journal 15: 569- 576.

Riechmann J, Heard LJ. 2000. Arabidopsis transcription factors: genome-wide comparative analysis among eukaryotes. Science 290: 2105-2110.

Shen QH, Saijo Y, Mauch S, Biskup C, Bieri S, Keller B, Seki H, Ülker B, Somssich IE, Schulze-Lefert P. 2007. Nuclear activity of MLA immune receptors links isolate-specific and basal disease-resistance responses. Science 315: 1098-1107.

[Downloaded from gebsj.ir on 2025-12-13]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1394.4.1.3.1]

Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipski A, Kumar S .2013. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 60. Molecular Biology Evolution 30: 2725-2729.

The International Barley Genome Sequencing Consortium (IBSC). 2012. A Physical genetic and functional sequence assembly of the barley genome. Nature 491: 711-717.

Ulker B, Somssich IE. 2004. WRKY transcription factors: from DNA binding towards biological function. Current opinion in plant biology 7: 491-498.

Wu KL, Guo HH, Wang J. 2005. The WRKY family of transcription factor in rice and Arabidopsis and their origins. *DNA research* 12: 9-26.

Xie Z, Zhang ZL, Zou X, Huang J, Ruas P, Thompson D, Shen QJ. 2005. Annotations and functional analyses of the rice WRKY gene superfamily reveal positive and negative regulators of abscisic acid signaling in aleurone cells. Plant Physiology 137: 176-189.

Xu L, Glass CK, Rosenfeld MG. 1999. Coactivator and corepressor complexes in nuclear receptor function. Current opinion in genetics & development 9: 140-147.

Yamasaki K, Kigawa T, Inoue M, Tateno M, Yamasaki T, Yabuki T, Aoki M, Seki E, Matsuda T, Tomo Y. 2005. Solution structure of an Arabidopsis WRKY DNA binding domain. The Plant Cell Online 17: 944-956.

Zhang H, Mao X, Wang C, Jing R. 2010. Overexpression of a common wheat gene TaSnRK2 8 enhances tolerance to drought salt and low temperature in Arabidopsis. PLoS One 5(12): e16041.

Zhang Y, Wang L. 2005. The WRKY transcription factor superfamily: its origin in eukaryotes and expansion in plants. BMC Evolution Biology 5: 1-6.

Zhu X, Liu S, Meng C, Qin L, Kong L, Xia G. 2013. WRKY Transcription Factors in Wheat and Their Induction by Biotic and Abiotic Stress. Plant Molecular Biology Rep 10: 1105-1113.

[Downloaded from gebsj.ir on 2025-12-13]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1394.4.1.3.1]

Genetic Engineering and Biosafety Journal
Vol4, Number1, Spring and summer 2015, Bi-seasonal

Identification and classification of the WRKY transcription factors family in barley

Beniamin Yazdani[1], Rasoul Asghari-Zakaria[2], Zahra-Sadat Shobbar[3*]

1. Ph.D. Student and 2. Associate Professor, Department of Agricultural Science, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
3. Assistant Professor, Department of Systems Biology, Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran (ABRII), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran.

*Corresponding Author, Email: shobbar@abrii.ac.ir

ABSTRACT

Biotic and abiotic stresses are the most important constraints on production by crop plants, including barley. Transcription factors are involved in the regulation of biotic and abiotic stress- response genes and the WRKY transcription factor family encodes a large group of them. Therefore, identification and classification of these factors represent important steps in our quest to find smart strategies for enhancing stress tolerance in plants. In an attempt to identify WRKY transcription factors in barley, multiple searches were done in Plant TFDB and Gramineae TFDB databases. Rice WRKY-conserved sequences were used as the templates for tBLASTN searches in the nr, EST and HTGS datasets for finding new members in barley. An HMM search was used to find sequences containing WRKY conserved domains. The identified 96 HvWRKYs as well as one member of each WRKY subgroup from Arabidopsis, rice and wheat were subjected to multiple alignment using clustalx software and phylogenetic trees were reconstructed using MEGA6 software based on neighbor-joining method with a 1000 repeats bootstrap index. Sequences were divided into 3 groups based on the number of WRKY domains and the structure of zinc-finger motifs. Conclusively, there were 13 proteins with 2 WRKY conserved domain in group I, 30 proteins with 1 WRKY conserved domain and $Cx_7Cx_{23}HxC$ zinc-finger motif in group III and other proteins with 1 WRKY conserved domain and $Cx_{4-5}Cx_{22-23}HxH$ zinc-finger motif in group II. Regarding the role of group III in plant tolerance to abiotic and biotic stresses, it can be argued that the higher percentage presence of group III members in barley that are similar to rice than to other higher plants can be attributed to duplications in wild monocotyledous ancestors and natural selection for more resistant genotypes in harsh conditions.

Key Words

Abiotic stresses, Transcription factors, HMM, Phylogenetic tree, Multiple alignment.

[Downloaded from gebsj.ir on 2025-12-13]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1394.4.1.3.1]