مهندسی ژنتیک و ایمنی زیستی
دوره پنجم، شماره ۱، بهار و تابستان ۱۳۹۵
صفحه ۲۲-۱۵

گونه‌های شدید و خفیف ویروس پیچیدگی برگ گوجه‌فرنگی مورد هدفmiRNA های متفاوتی از میزبان قرار می‌گیرند

Various Tomato microRNAs could target a Mild and a Severe Strain of *Tomato Leaf Curl Virus*

نفیسه طوسی[۱] و امید عینی[۲]*
Nafiseh Tousi[1] and Omid Eini[2]*

۱- دانشجوی دکتری، ۲- استادیار بخش گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، ایران

1- PhD student, 2- Assistant Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: omid.eini@znu.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۹۵/۵/۱۷- تاریخ پذیرش: ۹۵/۷/۲۴)

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-01-08]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1395.5.1.6.1]

چکیده

جمینی‌ویروس‌ها یکی از مهمترین عوامل محدود کننده کشت گوجه‌فرنگی در سراسر جهان محسوب می‌شوند. ویروس پیچیدگی برگ گوجه‌فرنگی (ToLCV) *Tomato leaf curl virus* یکی از اعضای خانواده جمینی‌ویریده می‌باشد که دارای گونه‌های با بیماریزایی شدید و خفیف است. مشخص شده است که برخی از miRNAهای میزبان قادرند ویروس‌های حیوانی را هدف قرار داده و مانع از استقرار آنها شوند. تاکنون هیچ گزارشی مبتنی بر روش‌های آزمایشگاهی، در مورد ویروس‌های گیاهی ارائه نشده است. با این‌وجود براساس تحلیل‌های بیوانفورماتیکی، ویروس‌های گیاهی نیز می‌توانند به‌وسیله miRNAهای میزبان هدف قرار گیرند. در این تحقیق، با استفاده از روش‌های بیوانفورماتیکی امکان اتصال miRNAهای مختلف میزبان به گونه‌های شدید و خفیف ToLCV بررسی شده‌است. نتایج نشان‌داد miR156 امکان اتصال به هر دو گونه ToLCV را دارد. گونه خفیف ویروس، مورد هدف miR157، miR168، miR396 و miR166 قرار می‌گیرد درحالی که گونه شدید، ToLCV-Au، توسط گروه دیگری از miRNAها شامل miR159، miR319 و miR403 هدف قرار می‌گیرد. تمام miRNAها بجز miR156a با نواحی کد کننده ژنوم ویروس‌ها جفت می‌شوند. در مورد ویروس ToLCV-Au، miRNA319c به ژن V1 متصل می شود. miR159c و miR403 به ترتیب به ژن های C1 و C3 متصل می شوند. ژن C1 گونه ToLCV-Ir، توسط miR157a و miR156h و ژن V2 آن نیز در محل های مختلف مورد هدف miRNAها شامل miR168b، miR396b و miR166i قرار می‌گیرد. نقش احتمالی miRNAهای به‌دست آمده در تولید علائم شدید و خفیف توسط هر دو گونه بحث شده است.

واژه‌های کلیدی

بیوانفورماتیک
ToLCV
miRNA
RNA hybrid
گوجه فرنگی

مقدمه

میکروآر.ان.ای‌ها (miRNAs) آر.ان.ای‌های کوچک اندوژن و غیر کدکننده هستند که بین ۲۴-۲۰ نوکلئوتید طول دارند. در گیاهان، miRNAها نقش کلیدی در رشد، نمو و پاسخ به استرس‌های زنده و غیرزنده بازی می کنند (Jin *et al.*,2013). miRNAها از یک آر.ان.ای اندوژن پس از تشکیل ساختارهای حلقه‌های بنیادی یا سنجاق سری (stem-loop) توسط پروتئین دایسر (DICER-LIKE1 (DCL1)) تولید می شوند. miRNAی بالغ به کمپلکس RISC (RNA-induced silencing complex) متصل شده که رونوشت (transcript) توالی هدف را شناسایی و در مرحله نسخه برداری یا پس از نسخه برداری مانع از بیان آن می‌شود (Llave *et al.*, 2002; Bartel, 2004). مشخص شده است که miRNAهای اندوژن میزبان ویروس های حیوانی را هدف قرار داده و سبب مهار رونوشت های حاصل از ژنوم ویروسی می‌شوند (Jopling *et al.*, 2005). به عنوان مثال، نشان داده شده است که miR507 انسانی رونوشت آنزیم پلیمراز B2 را در ویروس آنفلونزا هدف قرار داده و سبب کاهش سطح بیان این فاکتور ضروری ویروس می شود. با این حال miRNAهایی نیز وجود دارند که سبب افزایش بیان و تکثیر ویروس می شوند، مانند miR122 که به ناحیه 5'-UTR ویروس هپاتیت نوع C (HCV) متصل می شود. اما تاکنون، در مورد ویروس های گیاهی هیچ گزارش آزمایشگاهی وجود ندارد و تنها روش‌های محاسباتی به منظور تشخیص miRNAهای گیاهی که قادر به اتصال به ژنوم ویروس هستند استفاده شده‌اند (Li *et al.*, 2010). به عنوان مثال، با استفاده از بررسی‌های بیوانفورماتیکی مشخص شده است که دو miRNA کلیدی، miR159 و miR319، امکان اتصال به ژنوم ویروس *Tomato leaf curl New Delhi virus* را در گیاه گوجه فرنگی دارد (Naqvi *et al.*, 2011).

بیماری پیچیدگی برگ گوجه فرنگی یکی از مهمترین عوامل محدودکننده کشت گوجه‌فرنگی در سراسر جهان است (Moriones & Navas-Castillo, 2000). از اولین گزارش TYLCV در ایران (Hajimorad, *et. al.*, 1996)، بیماری ناشی از این ویروس و ویروس‌های مشابه به سرعت و به‌طور وسیعی در تمام مناطق کشت گوجه‌فرنگی کشور گسترش یافته است به‌طوری که در سالهای اخیر حداقل ژنوم شش سویه از چهار گونه T(Y)LCV از مزارع گوجه‌فرنگی استان‌های سیستان و بلوچستان، هرمزگان، فارس، خوزستان، مرکزی، یزد، خراسان، کرمان و سایر مناطق ایران گزارش شده‌اند. خسارت این ویروس در برخی نواحی ایران به‌خصوص در استان‌های جنوبی کشور به حدی بالاست که کشاورزان مجبورند گیاهان دیگری نظیر بادمجان را جایگزین گوجه‌فرنگی کنند و در غیر این صورت هیچ محصولی نمی‌توانند برداشت کنند (Behjatnia *et. al.* 2011). گونه‌های مختلف جنس جمینی ویروس عامل ایجاد این بیماری مهم هستند. ژنوم ویروس پیچیدگی برگ گوجه فرنگی (ToLCV) *Tomato leaf curl virus* شش ژن را کد می کند، چهار ژن (C1، C2، C3 و C4) روی رشته مکمل و دو ژن (V1 و V2) روی رشته اصلی قرار دارند. C1 پروتئین مرتبط با تکثیر و C2 پروتئین فعال کننده نسخه برداری است. C3 سبب افزایش تکثیر ویروس می شود. C4 پروتئین مرتبط با بیماری‌زائی بوده و در تولید علائم در میزبان نقش مهمی بازی می کند. V1 پروتئین پوششی و V2 پیش پروتئین پوششی هستند. در بین آنها گونه استرالیایی ویروس پیچیدگی برگ گوجه فرنگی (ToLCV-Au) علائم بسیار شدیدی شامل پیچیدگی برگ، زردی و کوتولگی ایجاد می کند (Dry,*et al.*, 1993). درحالی که گونه ایرانی ویروس (ToLCV-Ir) علائم خفیف‌تری در گیاهان گوجه‌فرنگی ایجاد می‌نماید (Behjatnia *et al*, 2009).

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-01-08]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1395.5.1.6.1]

در این مطالعه، با استفاده از روشهای بیوانفورماتیکی، miRNAهای گوجه‌فرنگی که قادر به اتصال به هر دو گونه شدید و خفیف ویروس هستند بررسی شده‌اند. نقش احتمالی miRNAهای پیش‌بینی شده در تولید علائم توسط این گونه‌ها، بحث شده است.

مواد و روش‌ها

گونه‌های ویروسی و بررسی RNA hybrid

به‌منظور انجام بررسی هیبرید آر.ان.ای، توالی کامل ژنوم ToLCV-Au(GenBank accession NC_003896) و ToLCV-Ir (Genbank accession AY297924) استفاده شدند. ToLCV-Au سبب ایجاد پیچیدگی شدید برگ، زردی و کوتولگی می شود (Dry,*et al.*, 1993) درحالی که علائم ناشی ازToLCV-Ir خفیف‌تر است (Behjatnia*et al*, 2009). توالی ژنوم این دو ویروس فقط ۷۴ درصد شباهت دارد. بنابراین هر گونه می‌تواند توسطmiRNAهای متفاوتی از میزبان هدف قرار گیرد.

توالی miRNAهای گوجه‌فرنگی شامل miRNAهای پیش‌بینی‌شده و همینطور miRNAهایی که از طریق روش‌های آزمایشگاهی تأیید شده‌اند از تارنمای miRBase (release21, http://www.mirbase.org/) و سایر پژوهش‌های منتشرشده درمورد گوجه فرنگی به دست آمد (Zhang *et al.*, 2008; Valiollahi *et al.*, 2014). با استفاده از نرم‌افزار RNA hybrid (bibiserv.techfak.unibielefeld.de/rnahybrid/submission.html)، miRNA/miRNA*های گوجه فرنگی به طور جداگانه از نظر توان اتصال به ژنوم ویروس های ToLCV-Au و ToLCV-Ir بررسی شدند.

غربالگری miRNAهای پیش‌بینی شده

به‌منظور تعیین بهترین محل اتصال، برای هر توالی هدف حداکثر پنج توالی مشابه که قادر به اتصال باشد در نظر گرفته شد و حداقل میزان انرژی آزاد و تعداد اتصالات نوکلئوتیدهای نابجا به ترتیب منفی بیست و چهار تعیین شد (Naqvi *et al.*, 2011). سایر مشخصات تعیین شده در نرم‌افزار بدین شرح بود: (۱) کمتر از چهار اتصال نابجا از ۲۱ نوکلئوتید بین miRNAی گوجه‌فرنگی و ژنوم ویروس هدف، (۲) حداکثر تشابه توالی در ناحیه seed region در محل نوکلئوتیدهای ۸-۲ از انتهای ’5 توالی miRNA، (۳) فقط یک اتصال نابجا درناحیه seed region جایی که نوکلئوتیدهای اطراف آن با حداکثر قدرت جفت شده‌اند، در نظر گرفته شد (Naqvi *et al.*, Meyersa *et al.*, 2008; 2011).

جهت ردیابی miRNA/miRNA*های گوجه‌فرنگی که امکان اتصال به رونوشت های حاصل از توالی مکمل ژنوم ویروس‌های ToLCV-Au و ToLCV-Ir را داشته باشند (C1, C2, C3 and C4)، این رونوشت‌ها نیز در بررسی توالی در نظر گرفته شدند.

نتایج

miRNA های گوجه‌فرنگی به‌طور بالقوه توانایی جفت شدن با ژنوم ویروس‌های ToLCV-Au و ToLCV-Ir و نواحی کدکننده (ORFs) آنها را دارند.

نتایج حاصل از بررسی داده های نرم افزار RNA hybrid براساس قوانین مربوط به miRNAهای گیاهی نشان داد که گروههای مختلفی از miRNAهای گوجه فرنگی توانایی اتصال به ژنوم و نواحی کدکننده هر یک از دو ویروس ToLCV-Au و ToLCV-Ir را دارند (جداول ۱ و ۲). میزان انرژی مورد نیاز برای جفت‌شدن miRNA با ژنوم

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-01-08]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1395.5.1.6.1]

ویروس، محل اتصال miRNA در توالی ژنوم ویروس و نیز میزان این تشابه توالی در جداول ۱ و ۲ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که برخی از miRNAهای گوجه‌فرنگی ازجمله miR156 توانایی جفت شدن با هر دو گونه ویروسی را دارد. علاوه بر آن، مشخص شد که گونه خفیف ویروس ToLCV-Ir، می‌تواند توسط miR157، miR168، miR396 و miR166 مورد هدف قرار گیرد، درحالی که گونه شدید، ToLCV-Au، امکان اتصال به miR159، miR319 و miR403 را دارد.

جدول۱– توالی های miRNAهای گوجه فرنگی که توانایی اتصال به ژنوم ویروس ToLCV-Au و نواحی کدکننده آن را دارند.

Table 1. Tomato miRNA sequences binding to ToLCV-Au genome and its encoded Open Reading Frames (ORFs).

miRNA	ΔG (kcal/mol)	Binding position on Virus genome	Target-miR hybrid
miR156a	-23.3	89	target 5' C AAG U 3' GCUUAUUU UUUUUUGUCG CGAGUGAG AGAAGACAGU miRNA 3' CA 5'
miR159c	-26.0	2463	target 5' A G AC A 3' UGGAGUUCUCU CAA UUUAAU ACCUCGAGGGA GUU AGGUUA miRNA 3' A 5'
miR319c	-27.7	151	target 5' U C 3' GGGA UCCUUUAGUCCA UCCU GGGAAGUCAGGU miRNA 3' CGA U 5'
miR319c	-25.2	151	target 5' U C 3' GGGA UCC UUUAGUCCA UCCU AGG AAGUCAGGU miRNA 3' CG A U 5'
miR403	-29.1	1454	target 5' A CCCC C 3' UGGGUU UGUGCGUGAAUC GCUCAA ACACGCACUUAG miRNA 3' AUU 5'

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-01-08]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1395.5.1.6.1]

جدول۲- توالی های miRNAهای گوجه فرنگی که توانایی اتصال به ژنوم ویروس ToLCV-Ir و نواحی کدکننده آن را دارند.

Table 2. Tomato miRNA sequences binding to ToLCV-Ir genome and its encoded Open Reading Frames (ORFs).

miRNA	ΔG (kcal/mol)	Binding position on Virus genome	Target-miR hybrid
miR156a	-23.3	89	target 5' C AAG U 3' GCUUAUUU UUUUUUGUCG CGAGUGAG AGAAGACAGU miRNA 3' CA 5'
miR157a	-22.6	2528	target 5' A AA 3' GUGC CUCU UCUUU GUUAG CACG GAGA AGAAG CAGUU miRNA 3' A U A 5'
miR156h	-22.6	2528	target 5' A AA 3' GUGC CUC UUCUUU GUUAG CACG GAG AAGAAG CAGUU miRNA 3' A A A 5'
miR168b	-27.8	485	target 5' C G U G U 3' CCUGAU U CCCAAG GA GGGCUA A GGGUUC CU miRNA 3' CA G C G 5'
miR396b	-24.7	940	target 5' A G 3' UCAAG AAGCUG GGAA AGUUC UUCGAC CCUU miRNA 3' UUCA U A 5'
miR166i	-25.7	591	target 5' A C A 3' GGGGAAUGG GUUUGA CC CUCCUUACU CGGACU GG miRNA 3' U A CU 5'

شکل ۱ محل اتصال miRNAهای گوجه‌فرنگی را به ژنوم ویروس‌های ToLCV-Au و ToLCV-Ir نشان می‌دهد. تمام miRNAها بجز miR156a با نواحی کدکننده ژنوم ویروس‌ها جفت می‌شوند. در مورد ویروس ToLCV-Au، miRNA319c به ژن V1 متصل می شود که پیش پروتئین پوششی را کد می کند و در بروز علائم و تکثیر ویروس نقش دارد. miR159c و miR403 به ترتیب به ژن های C1 و C3 که در تکثیر ویروس نقش دارند، متصل می شوند.

ژن C1 گونه ی ToLCV-Ir، توسط miR157a و miR156h هدف قرار می‌گیرد. با توجه به نقش مهم ژن C1 در تکثیر ویروس ToLCV-Ir، نقش تنظیمی احتمالی این ژن به وسیله miRNAهای مختلف می‌تواند به‌طور بالقوه پاسخ دفاعی گیاه میزبان را در برابر ویروس از طریق دخالت miRNA ها افزایش دهد. همچنین مشخص شد که ژن V2 در ویروس ToLCV-Ir نیز می‌تواند در محل‌های مختلف مورد هدف miRNAها قرار گیرد (miR168b، miR396b و miR166i). این مسأله نشان دهنده اهمیت نقش تنظیمی این ژن توسط miRNAها است. ژن V2، که پروتئین پوششی ویروس را کد می‌کند، مسئول کپسیده شدن ژنوم ویروس بوده و ضمناً در حرکت ویروس در داخل گیاه میزبان و تشخیص توسط ناقلین حشره‌ای ویروس نقش دارد. پروتئین پوششی ویروس‌های گیاهی با توجه به نقش‌های کلیدی ذکر شده یکی از مهمترین پروتئین‌های ویروسی می‌باشد که درصورت عدم کارایی مناسب این پروتئین به تنهایی،

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-01-08]

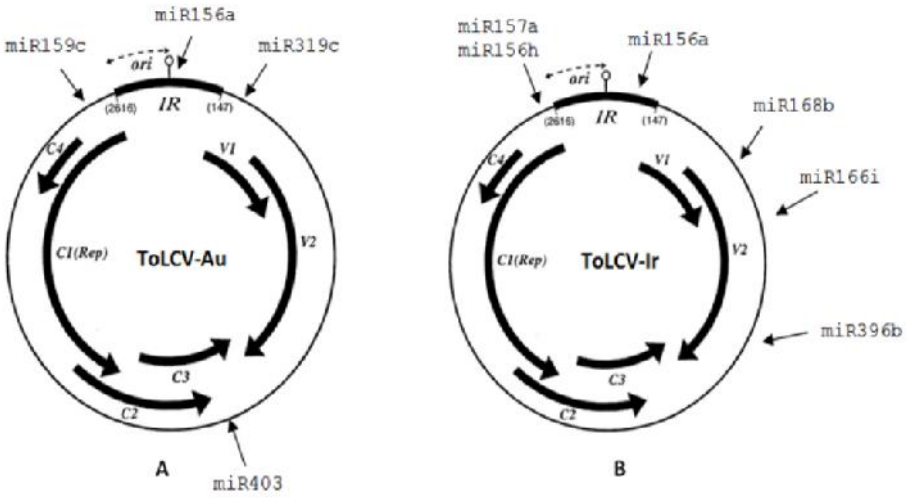
[DOR: 20.1001.1.25885073.1395.5.1.6.1]

ویروس توانایی انتقال، حرکت و تکثیر و در نهایت بیماری‌زائی خود را از دست خواهد داد. بنابراین دور از ذهن نیست که میزبان در سیستم دفاعی خود این ژن کلیدی را هدف قرار داده و ساز و کارهای خاصی را جهت کاهش کارایی این پروتئین به کارگیرد. با توجه به موارد ذکرشده گونه‌ی ToLCV-Ir مورد هدف تعداد بیشتری از miRNA ها درمقایسه باگونه ToLCV-Au قرار می‌گیرد و ژن‌های مورد هدف از اهمیت بالاتری برخوردارند.

بحث

miRNAهای گوجه‌فرنگی به ژنوم ویروس‌های ToLCV-Au و ToLCV-Ir و نواحی کدکننده آنها متصل می‌شوند.

در این تحقیق با استفاده از روش RNA hybrid miRNA/miRNA* (Krüger&Rehmsmeier, 2006)های گوجه‌فرنگی که می‌توانند به‌طور بالقوه به ژنوم ویروس‌های ToLCV-Au و ToLCV-Ir و رونوشت‌های آنها متصل شوند، پیش بینی شد. نتایج نشان داد که گروه‌های مختلف miRNA در میزبان به دو گونه متفاوت ویروس ToLCV متصل می شوند. سطوح پایین انرژی مورد نیاز برخی از miRNAهای گوجه فرنگی برای اتصال به ژنوم ویروس، از جمله miR403 در ToLCV-Au و miR168b در ToLCV-Ir، موید این مسأله است که این تعامل ممکن است در طبیعت در گیاهان آلوده نیز اتفاق بیفتد. سطح مشابهی از این انرژی آزاد معادل kcal/mol ۲۳- در موارد آزمایشگاهی تأیید شده از اتصال miRNAها به توالی هدفشان قبلاً گزارش شده است (Perez-Quintero *et al.*, 2010).



شکل ۱- محل اتصال miRNAها توسط پیکان‌های کوچک روی ژنوم ToLCV-Au (a) وToLCV-Ir(b) نشان داده شده است. پیکان-های ضخیم نشان دهنده محل ژن‌های مختلف ویروسی روی توالی اصلی ویروس(V) و توالی مکمل آن (C) است.

Fig1. The position of miRNAs binding sites is shown by small arrows on the genome of ToLCV-Au (left) and ToLCV-Ir (right). Thick arrows indicate the Open Reading Frames (ORFs) on the virion- (V) or complementary- (C) sense strands.

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-01-08]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1395.5.1.6.1]

بنابراین، انتظار می‌رود که بیشتر *miRNAs/miRNAs پیش‌بینی شده در میزبان قابلیت تعامل با ژنوم و رونوشت‌های ویروس‌های ToLCV-Au و ToLCV-Ir را در گیاهان گوجه فرنگی نیز داشته باشند. کاربرد موفقیت‌آمیز miRNAهای مصنوعی به‌منظور کنترل جمینی‌ویروس‌ها نیز می‌تواند موید این مسأله باشد که ویروس‌های گیاهی نیز می‌توانند توسط miRNAهای میزبان هدف قرار گیرند (Van Vu *et al*, 2013).

جداول ۱ و ۲ نشان می‌دهند که miRNAهای گوجه‌فرنگی شامل miR156 توان اتصال به هر دو گونه ToLCV را دارد. علاوه‌بر آن، مشخص شد که گونه خفیف ویروس ToLCV-Ir، می‌تواند توسط تعداد بیشتری miRNA شامل miR157، miR168، miR396 و miR166 هدف قرار گیرد، درحالی‌که گونه شدید، ToLCV-Au، امکان اتصال به miR159، miR319 و miR403 را دارد. گزارش شده است که این miRNAها نقش‌های مهمی را در سیستم دفاعی میزبان (mir396 و mir319)، رشد و نمو برگ (mir319 و mir166) و نمو گیاه (mir168) بازی می کنند (Palatnik*et al.*, 2003; Carla Schommer & Palatnik, 2012). درنتیجه ایجاد علائم شدید توسط گونه ToLCV-Au ممکن است نتیجه تعامل این ویروس با miR319 و miR159 باشد که در نمو برگ نقش دارند.

در حضور مسیر miRNAهای میزبان، هر دو ویروس مذکور، تکثیر شده و علائم خفیف و شدید تولید می‌نمایند. این امر می‌تواند چنین توجیه شود که بیان پروتئین‌های بازدارنده ویروس و تداخل این عوامل در مسیر خاموشی ژن، قادر است مراحل مختلف این ساز و کار را به منظور محافظت از ویروس مختل نماید. در گیاهان و بی‌مهرگان خاموشی ژن توسط miRNA بعنوان یک روش دفاعی مهم در برابر ویروس‌های مهاجم می‌باشد (Danielson & Pezacki, 2013). جهت مقابله با مسیر خاموشی ژن، در تمام ویروس‌های گیاهی و تعداد زیادی از ویروس‌های حشرات و پستانداران بازدارنده‌های خاموشی ژن (Viral suppressors of RNA silencing (VSRS)) تکامل یافته است (Ding, and Voinnet, 2007; Li, & Ding, 2006). از جمله پروتئین p38 در ویروس مضرس لاله (*Turnip crinkle virus*) و پروتئین 2b در ویروس موزائیک خیار (*Cucumber mosaic virus*) که هردو از طریق مداخله در عملکرد ژن *AGO1* سبب بازداری از خاموشی ژن می‌شوند (Azevedo *et al*., 2010 ; Giner *et al*., 2010).

درمورد ToLCV-Au، دو ژن C2 و C4 به عنوان بازدارنده‌های خاموشی گزارش شده‌اند (Dogra *et al*., 2009; Selth *et al*., 2004) که می تواند تولید علائم شدید توسط این ویروس را با وجود امکان اتصال miRNAهای مختلف میزبان به ژنوم آن توجیه نماید. درمورد گونه خفیف، ToLCV-Ir، ژن موثر در بازدارندگی از مسیر خاموشی ژن هنوز شناسایی و معرفی نشده است. فقدان یا ضعیف بودن بازدارنده خاموشی ژن به وسیله این گونه خفیف ToLCV ممکن است به miRNAهای پیش‌بینی شده این امکان را بدهد که ژنوم ویروس را به طور موثرتری مورد هدف قرار دهند.

مطالعات بیشتری مورد نیاز است تا مشخص شود آیا سطح بیان miRNAهای میزبان، که به طور بالقوه قادرند ژنوم ویروس را هدف قرار دهند، در پاسخ به آلودگی ویروسی به حد کافی افزایش می یابد تا بتواند به ساز و کار بازدارنده خاموشی ژن توسط ویروس غلبه یابد. به‌عنوان مثال، مشخص شده است که سطح بیان دو miRNA کلیدی، miR159 و miR319، که امکان اتصال به ژنوم ToLCV-Au را دارند، در گیاهان گوجه فرنگی آلوده به ویروس *Tomato leaf curl New Delhi virus* افزایش می یابد (Naqvi *et al*., 2010). نتایج منتشر نشده طوسی و همکاران، ۲۰۱۶، نیز حاکی از افزایش بیان miR156، miR159 و miR403 در گیاهان گوجه فرنگی آلوده به ToLCV-Au بوده است.

نتایج پیش‌بینی نشان داد که هر یک از گونه‌های ویروسی بررسی شده توسط گروه‌های متفاوتی از miRNA های میزبان هدف قرار می‌گیرند. پژوهش‌های بیشتری نیاز است تا عکس‌العمل متقابل این miRNA ها با گونه‌های ToLCV و نیز اثرهای احتمالی این تعاملات روی استقرار ویروس و ایجاد علائم توسط آن به اثبات برسد.

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-01-08]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1395.5.1.6.1]

منابع

Azevedo, J., Garcia, D., Pontier, D., Ohnesorge, S., Yu, A., Garcia, S., Braun, L., Bergdoll, M., Hakimi, M.A., Lagrange, T. and Voinnet, O. 2010. Argonaute quenching and global changes in Dicer homeostasis caused by a pathogenencoded GW repeat protein. Genes & Development 24:904–915.

Bartel D. P. 2004. MicroRNAs: Genomics, Biogenesis, Mechanism, and Function. Cell116: 281-297.

Behjatnia, S. A. A., Izadpanah, K. and Afsharifar, A. 2011. The status of geminivirus species in Iran. First Iranian Plant Virologist symposium, Shiraz, Iran. (In Farsi with English abstract)

BehjatniaSa. A., Eini O., Rasulpour R. 2009. Pathogenecity demonstration, transferring and host range of *Tomato leaf curl Iranian virus*Infectous clone. Plant Pathology 1: 47-59.

Carla Schommer E. G. B., Silvana V. Spinelli, Palatnik a. J. F. 2012. Role of MicroRNA miR319 in Plant Development. and Stress Responses Signaling and Communication in Plant.(Sunkar, R., ed.). Springer: 29-47.

Danielson, D. C. and Pezacki, J. P. 2013. Studying the RNA silencing pathway with the p19 protein. FEBS Letters 587: 1198–1205.

Ding, S. and Voinnet, O. 2007. Antiviral immunity directed by small RNAs. Cell 130: 413–426.

Dogra S., Eini O., Rezaian M., Randles J. 2009. A novel shaggy-like kinase interacts with the *Tomato leaf curl virus* pathogenicity determinant C4 protein. Plant Molecular Biology 71: 25-38

Dry I. B., Rigden J. E., Krake L. R., Mullineaux Ph. M., Rezaian M. A. 1993. Nucleotide sequence and genome organization of *Tomato leaf curl geminivirus*. Journal of General Virology 74: 147 151.

Giner, A., Lakatos, L., Garcia-Chapa, M., Jose Lopez-Moya, J. and Burgyan, J. 2010. Viral protein inhibits RISC activity by Argonaute binding through conserved WG/GW motifs. PLOS Pathogens 6: e1000996.

Hajimorad, M. R., KheyrPour, A., Alavi, V., Ahoonmanesh, A., Bahar, M., Rezaian, M. A. and Gronenborn, B. 1996. Identification of whitefly transmitted tomato yellow leaf curl geminivirus from Iran and a survey of its distribution with molecular probes. Plant Pathology 45: 418-425.

Jin D., Wang Y., Zhao Y., Chen M. 2013. MicroRNAs and Their Cross-Talks in Plant Development. Journal of Genetics and Genomics 40: 161-170.

Jopling C. L., Yi M., Lancaster A. M., Lemon S. M., Sarnow P. 2005. Modulation of hepatitis C virus RNA abundance by a liver-specific microRNA. Science 309**:** 1577-1581.

Krüger J. and Rehmsmeier M. 2006. RNAhybrid: microRNA target prediction easy, fast and flexible Nucleic Acids Research 34**:** 451-454.

Li, F. and Ding, S. 2006. Virus counterdefense: diverse strategies for evading the RNA-silencing immunity. Annual Review of Microbiology. 60: 503–531.

Llave C., Xie Z., Kasschau K. D., Carrington J. C. 2002. Cleavage of Scarecrow-like mRNA Targets Directed by a Class of Arabidopsis miRNA. Science 297**:** 2053-2056.

Meyersa B. C., Axtellb M. J., Bartelc B., Barteld D. P., Baulcombee D., Bowmanf J. L., 2008. Criteria for Annotation of Plant MicroRNAs. The Plant Cell 20: 3186-3190.

Moriones E, Navas-Castillo J. 2000. Tomato yellow leaf curl virus, an emerging virus complex causing epidemics worldwide. Virus Research 71: 123-34.

Naqvi A. R., Choudhury N. R., Mukherjee S. K., Haq Q. M. R. 2011. In silico analysis reveals that several tomato microRNA/microRNA∗ sequences exhibit propensity to bind to tomato leaf curl virus (ToLCV) associated genomes and most of their encoded open reading frames (ORFs). Plant Physiology and Biochemistry 49: 13-17.

Naqvi A., Haq Q., Mukherjee, S. 2010. MicroRNA profiling of tomato leaf curl new delhi virus (tolcndv) infected tomato leaves indicates that deregulation of mir159/319 and mir172 might be linked with leaf curl disease. Virology Journal 7: 281.

Palatnik J. F., Allen E., Wu X., Schommer C., Schwab R., Carrington J. C., *et al.* 2003. Control of leaf morphogenesis by microRNAs. Nature 425: 257-263.

Perez-Quintero A., Neme R., Zapata A., Lopez C. 2010. Plant microRNAs and their role in defense against viruses: a bioinformatics approach. BMC Plant Biology 10: 138.

Selth L. A., Randles J. W., Rezaian M. 2004. Host responses to transient expression of individual genes encoded by Tomato leaf curl virus. Molecular Plant-Microbe Interactions Journal 17: 27-33.

Valiollahi E., Farsi M., Fevereiro P., Kakhki A. M. 2014. Bioinformatic characterization and expression analysis of miRNAs in Solanum lycopersicum. Plant Omics Journal 7: 108-116.

Van Vu T., Roy Choudhury N., Mukherjee S. K. 2013. Transgenic tomato plants expressing artificial microRNAs for silencing the pre-coat and coat proteins of a begomovirus, *Tomato leaf curl New Delhi virus*, show tolerance to virus infection. Virus Research 172: 35– 45.

Zhang J., Zeng R., Chen J., Liu X., Liao Q. 2008. Identification of conserved microRNAs and their targets from Solanum lycopersicum Mill. Gene 423: 1

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-01-08]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1395.5.1.6.1]

Genetic Engineering and Biosafety Journal
Vol5, Number1, Spring and summer 2016, Bi-seasonal

Various Tomato microRNAs could target a Mild and a Severe Strain of *Tomato Leaf Curl Virus*

Nafiseh Tousi[1] and Omid Eini[2]*

1- PhD student, 2- Assistant Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran

* Corresponding Author, Email: omid.eini@znu.ac.ir

ABSTRACT

Geminiviruses are one of the main constraints in tomato production worldwide. *Tomato leaf curl virus* (ToLCV) is a geminivirus (family *geminiviridae*) that produces various symptoms in plants including leaf curling, yellowing and stunting. MicroRNAs are endogenous small RNAs which play a key role in both plants and animal defense and development. Certain animal viruses were found to be targeted by host miRNA which prevent their establishments. In plants, on the other hand, there is no experimental evidence for such an effect on plant viruses. However, based on in silico analysis, viral plants also could be targeted by host miRNAs. Here, we investigated if different sets of tomato miRNAs could potentially bind to a mild and severe species of ToLCV using in silico analysis. We found that tomato miRNAs including mir156 bind to both strains of ToLCV. The mild strain, ToLCV-Ir, was found to be targeted by mir157, 168, 396 and 166 while the severe strain, ToLCV-Au, was targeted by other groups of miRNAs including mir159, mir319 and mir403. The possible role of the identified miRNAs in production of mild and severe symptoms by both strains is discussed. All sequences except miR156a target the coding regions of the virus. In ToLCV-Au miRNA319c binds to the V1 gene, which encodes the precoat protein and which is involved in symptom expression and virus movement. miR159c and miR403 bind to the C1 and C3 genes, respectively, that are involved in virus replication. The C1 ORF of ToLCV-Ir can be targeted by both miRNAs miR157a and miR156h. The V2 gene can be targeted by three miRNAs (miR168b, miR396b and miR166i) at different sites. This suggests the potential importance of regulation of this particular ORF by miRNAs. The possible role of the identified miRNAs in production of mild and severe symptoms by both strains is discussed.

Key Words

Bioinformatics, ToLCV, miRNA, RNA hybrid, Tomato

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-01-08]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1395.5.1.6.1]