

شناسایی ژن‌های کاندیدای گلو‌تاتیون اس ترانسفراز (GST) در سن گندم، *Eurygaster*

integriceps Put. (Hem.: Scutelleridae) با آنالیز کل ترانسکریپتوم

مهدی دسترنج^۱، محمدرضا غفاری^۲، علیرضا بندانی^۱ و قاسم حسینی سالکده^{۲*}

۱- گروه گیاه‌پزشکی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران و ۲- بخش زیست‌شناسی سامانه‌ها، پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران.

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

چکیده

ژن‌های گلو‌تاتیون اس ترانسفراز (GST) صفات حیاتی برای متابولیسم سموم مختلف را کنترل می‌کنند که شامل سامانه‌های دفاعی گیاه میزبان و محیط (حشره‌کش‌ها)، که حشره با آن روبرو می‌شود، می‌باشند. سن گندم، مهم‌ترین آفت مزارع گندم و جو در خاورمیانه است که امنیت غذایی را تهدید می‌کند. در این مطالعه با استفاده از توالی یابی RNA، امکان پوشش در سطح ترانسکریپتوم برای شناسایی، بررسی ساختار و عملکرد خانواده‌های مختلف ژنی در سن گندم فراهم شد. برای اولین بار با استفاده از آنالیزهای بیوانفورماتیک ۴۳ ژن کاندیدای GST در سن گندم شناسایی شد. آنالیزهای فیلوژنی نشان داد این ژن‌ها در پنج دسته GST سیتوزولی (دلتا، تتا، زتا، امگا، سیگما) و GST میکروزومی طبقه‌بندی می‌شوند. زیرگروه سیگما با ۲۲ ژن کاندیدا، بزرگ‌ترین زیرگروه و GST میکروزومی با یک ژن کوچک‌ترین گروه شناسایی شد. با توجه به نقش این ژن‌ها در میانکشی بین حشره، سموم و محیط، نتایج این تحقیق می‌تواند نقشه راه تحقیقاتی در زمینه مقاومت به سموم را فراهم و برای برنامه کاربردی کنترل سن گندم در آینده مورد استفاده قرار گیرد.

واژگان کلیدی: گلو‌تاتیون اس ترانسفراز، *Eurygaster integriceps*، مقاومت، ترانسکریپتوم و RNA-seq

Identification of candidate Glutathione S-transferase (GST) genes in Sunn pest, *Eurygaster integriceps* Put. (Hem.: Scutelleridae), using RNA-seq analysis

Mehdi Dastranj^{1&2}, Mohammad Reza Ghaffari², Alireza Bandani¹
& Ghasem Hosseini Salekdeh^{2&*}

1-Department of Plant Protection, University of Tehran, Karaj, Iran and 2- Systems Biology Department, Agricultural biotechnology Research Institute of Iran, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran.

*Corresponding author, E-mail: h_salekdeh@abrii.ac.ir

Abstract

Glutathione S-transferase (GST) genes control vital traits for metabolism of the variety of toxins that expose insects to the environment (insecticide) or plant defense systems. Sunn pest is the most important pest of wheat and barley in the Middle East where it threatens food security throughout the region. Sequencing the sunn pest's RNA provides an opportunity to identify the structure and function of the different gene families. To our knowledge, this is the first study to identify 43 GST candidate genes in sunn pest using bioinformatics tools. The identified candidate genes clustered in 5 cytosolic GST (Delta, Theta, Zeta, Omega, and Sigma) and Microsomal GST using phylogenetic analysis. The Sigma subclass was identified as the biggest subclass with 22 candidate genes, while microsomal GST found to be the smallest group with one candidate gene. Given the role of GST in the interactions among the insect, toxins, and environment, our results facilitate future investigations on insecticide resistance and their utilization in pest management programs against sunn pest.

Keywords: Glutathione S-transferase, *Eurygaster integriceps*, Resistance, Transcriptome, RNA-seq

Received: 10 November 2016, Accepted: 12 February 2017

مقدمه

گلوپاتینون اس ترانسفرازها (Glutathione S-transferase) خانواده گسترده‌ای از آنزیم‌های چندمنظوره هستند که در بسیاری از فعالیت‌های فیزیولوژیک از قبیل سم‌زدایی ترکیبات سمی خارجی و داخلی، انتقالات بین سلولی، بیوسنتز هورمون‌ها و دفاع در برابر تنش‌های اکسایشی نقش دارند (Fang, 2012; Shi *et al.*, 2012). گلوپاتینون اس ترانسفرازهای انسانی نقش مهمی در حفاظت از ساختار سلولی و DNA علیه مواد سمی و سرطان‌زا دارد. با این حال به نظر می‌رسد GST نقش مهمی در سم‌زدایی حشره‌کش‌ها ایفا کند. فعالیت این آنزیم در استرین‌های مقاوم به سموم پاپروتروئید و ارگانوفسفوره در حشره *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) افزایش معنی‌داری نسبت به استرین حساس داشته است (Yu, 1992). در حشره *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) GST سه برابر برخی ارگانوفسفوره‌ها افزایش فعالیت نشان داده است که حاکی از نقش این آنزیم در سم‌زدایی و مقاومت به ارگانوفسفوره‌های در شب‌پره پشت الماسی است (Huang *et al.*, 1998). از لحاظ مکانیسم عمل این آنزیم واکنش پیوند بین ترکیبات الکترون‌دوست با گروه تیول مولکول گلوپاتینون احیاء شده را تسهیل می‌کند. این عمل سبب افزایش قابلیت انحلال در آب و دفع شدن محصول واکنش می‌شود (Habig *et al.*, 1974; Clark *et al.*, 1984).

بر اساس جایگاه سلولی GSTها به شکل کلی به GST سیتوزولی (Cytosolic)، میکروزومی (Microsomal) و میتوکندریایی تقسیم می‌شوند. تاکنون در حشرات GST میتوکندریایی شناسایی نشده است (Shi *et al.*, 2012). GST سیتوزولی پروتئین‌هایی با ۲۰۰-۲۵۰ اسیدآمینو هستند. در حالت فعال این آنزیم‌ها به دو شکل هترودیمر و همودیمر می‌باشند. این نوع GST در حشرات بر اساس شباهت توالی، واکنش‌های ایمنی و حساسیت به مهارکننده‌های مختلف به شش دسته دلتا (Delta)، اپسیلون (Epsilon)، امگا (Omega)، سیگما (Sigma)، تتا (Theta) و زتا (Zeta) تقسیم می‌شود (Ranson *et al.*, 2001; Ranson *et al.*, 2002; Ding *et al.*, 2003). از لحاظ ساختار سه‌بعدی GST میتوکندریایی با GST سیتوزولی شباهت دارند اما شباهت ساختاری با GST میکروزومی ندارند. اگرچه هر سه خانواده GST دارای اعضای هستند که کانون‌های گلوپاتینون احیاء شده را با سوبسترای (1-chloro-2,4-dinitrobenzene) CDNB را کاتالیز می‌کنند و فعالیت گلوپاتینون پراکسیدازی روی کیومین هیدروپروکساید (Cumenehydroperoxide (CuOOH)) دارند (Hayes *et al.*, 2005).

از زمان توالی‌یابی ژنوم در زوفیلا، پیشرفت‌های زیادی در حوزه فیزیولوژی حشرات و اندوکرینولوژی ایجاد شده است (Hewes & Taghert, 2001). با این حال در تحقیقات آینده در حوزه مدیریت مقاومت به حشره‌کش‌ها، به‌ویژه در حشراتی که ژنوم آن‌ها توالی‌یابی نشده است، داشتن اطلاعات در حوزه مولکولی در مورد ژن‌ها و آنزیم‌هایی که دخیل در مقاومت هستند بسیار ضروری به نظر می‌رسد. برای رسیدن به این منظور و تولید داده‌های ترانسکریپتوم برای آنالیز پروفایل بیان ژن‌ها در سطح ژنوم، توالی‌یابی RNA از طریق فناوری نسل بعد که توانایی تولید توالی‌های با حجم بالا و هزینه کم را دارد می‌تواند مورداستفاده قرار بگیرد (Hsu *et al.*, 2012).

آنالیز ترانسکریپتوم به‌روش‌های مختلفی شامل نورترن بلات، واکنش زنجیره‌های پلیمرز رونوشت‌برداری معکوس (RT-PCR)، ریزآرایه (Microarray) و توالی‌یابی به روش‌های سنتی انجام می‌شود (Morozova and Ma Marra, 2008). روش‌های یادشده دارای معایب خاصی هستند که از مهم‌ترین آن‌ها می‌توان به استفاده از مواد رادیواکتیو در نورترن بلات، کارایی پایین در روش واکنش زنجیره‌های پلیمرز رونوشت‌برداری معکوس، عدم شناسایی رونوشت‌های جدید و عدم توانایی برای استفاده برای موجوداتی که ژنوم شان توالی‌یابی نشده است توسط ریزآرایه و هزینه، زمان و پیچیدگی بالای توالی‌یابی سنتی اشاره کرد. توالی‌یابی ژنوم و ترانسکریپتوم به شکل High-throughput پنجره جدیدی

برای مطالعه اطلاعات ژنتیکی و عملکردی با سرعت بالا و در مقیاس وسیع باز کرده است. برای مثال با توالی یابی RNA محققین قادر به مطالعه ساختار رونوشت (از قبیل پیرایش RNA)، اطلاعات آللی (برای مثال SNP ها)، بررسی بیان با دقت بالا و شناسایی و بررسی وجود ژن‌های مختلف می‌سازد. این مزایا به شکل کلی تحقیق در ژنومیکس عملکردی را در گونه‌هایی مانند موجودات غیر مدل (موجوداتی که باوجود اهمیت‌های تکاملی و اکولوژیکی مطالعات کمی روی آن‌ها صورت گرفته است) که دارای محدودیت منابع مالی و ژنتیکی مقدر می‌سازد (Haas et al., 2013).

سن گندم (*Eurygaster integriceps* Put. (Heteroptera: Scutellaridae)) مهم‌ترین آفت مزارع گندم و جو در ایران است و همچنین در بسیاری از کشورهای منطقه خاورمیانه، شرق اروپا و شمال آفریقا پراکنده است. این آفت امنیت غذایی را تهدید می‌کند و کاهش پایداری سامانه‌های کشاورزی گندم‌کاری را به دنبال دارد (Critchley (1998; Yandamuri et al., 2014). سن گندم در مرحله پورگی و حشره کامل با تغذیه از گیاه میزبان باعث خسارت به گندم می‌شود و سبب کاهش محصول به دنبال تغذیه آفت از برگ، ساقه و دانه‌های گندم هست. در کنار اثرات مستقیم روی محصول، ترشحات بزاقی سن‌ها باعث کاهش کیفیت نان می‌شود (Critchley, 1998). مدیریت این آفت تا به امروز به شکل گسترده بر اساس استفاده از حشره‌کش‌ها بوده است اما سطح کنترل کاملاً متغیر هست و نگرانی‌هایی به دلیل پیدایش مقاومت به حشره‌کش‌ها نیز وجود دارد (Iranipour et al., 2010).

هدف از مطالعه حاضر پویش ترانسکریپتوم سن گندم به منظور شناسایی ژن‌های GST بود. از آنجایی که ژنوم سن گندم تاکنون توالی یابی نشده است برای رسیدن به این منظور از فناوری مقرون‌به‌صرفه نسل بعد RNA-seq استفاده شد. با توجه به نقشی که این ژن‌ها در سم‌زدایی آفت‌کش‌ها دارند، شناسایی گروه‌های مختلف ژن GST به نظر می‌رسد در برنامه مدیریت مقاومت احتمالی سن گندم به حشره‌کش‌ها کمک کند.

مواد و روش‌ها

پرورش حشره و استخراج RNA

پوره‌های سن چهارم و پنجم سن گندم در خردادماه از مزارع جو موسسه تحقیقات ورامین که سم‌پاشی علیه پوره انجام نشده بود جمع‌آوری شدند. سن‌های جمع‌آوری شده روزانه بازدید و هم‌سن‌سازی به شکل روزانه انجام می‌گرفت. حشرات هم‌سن تا زمان ظهور حشرات کامل، در اتاقک رشد با شرایط دمایی 26 ± 1 رطوبت 60 ± 10 و رژیم نوری (۱۶:LAD) نگهداری و توسط خوشه‌های تازه و بریده گندم تغذیه شدند. از فالکن‌های آب ۱۰ میلی‌لیتری که درب آن با پنبه پوشیده شده است به‌عنوان منبع آب استفاده شد. استخراج RNA از تک حشره سن گندم با استفاده از کیت RNasy mini و با توجه به دستورالعمل شرکت صورت گرفت. کمیت RNA استخراج شده از سن گندم به‌وسیله نانودراپ و کیفیت آن بر روی ژل آگارز ۱ درصد مورد ارزیابی قرار گرفت. در نهایت از میزان ۱۵ میکروگرم RNA برای سنتز cDNA به‌منظور توالی یابی استفاده شد.

RNA-seq

۲۰۰ نانوگرم از RNA استخراج شده با استفاده از oligo-dT beads خالص‌سازی شد و سپس mRNA که حاوی دم (A) poly بود با بافر تجزیه‌کننده تیمار و به قطعات کوتاه شکسته شد. با استفاده از First Strand Master Mix and Super Script II شرکت Invitrogen سنتز رشته اول cDNA (شرایط واکنش: دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد برای ۱۰ دقیقه، دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد برای ۵۰ دقیقه، دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد برای ۱۵ دقیقه) انجام شد. سپس دومین رشته

cDNA به‌وسیله second Strand Master Mix در دمای ۱۶ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت ساخته شد. سپس قطعات کوچک cDNA خالص‌سازی و برای ترمیم و افزودن زنجیره پلی آ در بافر EB حل و در دمای ۳۷ درجه ۳۰ دقیقه انکوبه شد. سپس قطعات کوچک cDNA همراه Adenylate 3'Ends DNA، RNA Index Adapter و Ligation Mix به‌خوبی با پاییت کردن مخلوط شدند. واکنش اتصال آداپتور در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد برای مدت ۱۰ دقیقه صورت گرفت. در نهایت با Ampure XP Beads (AGENCOURT) خالص‌سازی صورت گرفت. در مرحله بعد تکثیر به‌وسیله واکنش زنجیره پلی مرز (PCR) همراه با مستر میکس PCR و پرایمرهای Cocktail برای تقویت قطعات cDNA انجام شد و نهایتاً محصول PCR به‌وسیله Ampure XP Beads (AGENCOURT) خالص شد. کیفیت کتابخانه سنتز شده به‌وسیله Agilent 2100 bioanalyzer (Agilent DNA 1000 Reagents) و Real-time PCR مورد تأیید قرار گرفت. در مرحله پایانی، کتابخانه cDNA، توسط دستگاه Illumina HiSeq™ 2500 با استفاده از فناوری خوانش دوطرفه (Pair- end) طبق دستورالعمل موسسه ژنوم بیجینگ (Shenzhen, China) توالی‌یابی شد. نتیجه توالی‌یابی در مجموع ۳۲۰ میلیون جفت باز با طول توالی ۱۵۰ جفت باز بود. حذف آداپتور و دور انداختن خوانش‌های با کیفیت پایین توسط موسسه بیجینگ (Beijing Genome Institute) انجام شد.

اسمبلی ترانسکریپتوم به روش De novo

کیفیت توالی‌ها با استفاده از نرم‌افزار FASTQC کنترل شد. نتیجه کنترل کیفیت خوانش‌ها فاقد آلودگی به آداپتور، فاقد توالی‌های بی‌کیفیت (Sequences flagged as poor quality) و نزدیک به ۴۰ درصد محتوی GC بودند. خوانش‌های خام در مرحله بعد با استفاده از نرم‌افزار Trinity در ۳۲ K-mer برای مونتاژ به‌صورت de novo مورد استفاده قرار گرفتند (Haas *et al.*, 2013). این نرم‌افزار از الگوریتم de Bruijn در طی سه مرحله Inchworm، Chrysalis و Butterfly برای مونتاژ خوانش‌ها استفاده می‌کند (Haas *et al.*, 2013). جدول ۱ نشان‌دهنده پارامترهای کیفیت مونتاژ در توالی‌یابی RNA سن گندم است.

| پارامترهای کیفیت مونتاژ | |
|-------------------------|--------------------------|
| ۵۸۲۳۹۸ | کل کانتیگ‌های تولیدشده |
| ۲۶۰۲۶ | بیشترین طول کانتیگ |
| ۲۰۱ | کمترین طول کانتیگ |
| ۵۵۷/۶ | میانگین طول کانتیگ |
| ۴۴۱۰۶۳ | کانتیگ‌های بین ۲۰۰-۵۰۰ |
| ۷۷۶۷۵ | کانتیگ‌های بین ۵۰۰-۱۰۰۰ |
| ۳۷۶۱۸ | کانتیگ‌های بین ۱۰۰۰-۲۰۰۰ |
| ۱۴۱۳۳۵ | کانتیگ‌های بیش از ۲۰۰۰ |
| ۶۹۳ | N50 |

جدول ۱- خلاصه کیفیت مونتاژ توالی‌یابی RNA سن گندم

Table 1. Summary of assembly quality for Sunn pest RNA-seq

شناسایی ژن‌های کاندیدای گلو تاتیون اس ترانسفراز در سن گندم

با استفاده از توالی‌های اسید آمینه GST در سه حشره *Laodelphax* و *Sogatella furcifera* *Nilaparvata lugens* *striatellus* (به‌عنوان جستار)، جست‌وجوی TBLASTn با Evaluate 10^{-10} برای شناسایی GST کانیدها بر روی ترانسکریپتوم اسمبل شده (به‌عنوان مرجع) صورت گرفت. بعد از شناسایی ژن‌ها، جست‌وجو برای دومین‌های حفاظت‌شده GST در Conserved domain NCBI انجام شد.

آنالیز فیلوژنی

برای مقایسه ترادف‌های به‌دست‌آمده ابتدا کلیه توالی‌های به‌دست‌آمده در نرم‌افزار Bioedit به فرمت Fasta تبدیل شدند و پس‌از آن آنالیز فیلوژنی بر اساس هم‌ردیفی توالی‌های آمینواسید با استفاده از Clustal omega انجام گرفت (Sievers et al., 2011). درخت‌های فیلوژنی با روش neighbor-joining و بر اساس مدل پویسن با استفاده از نرم‌افزار MEGA7 و با بوت استرپ ۱۰۰۰ ترسیم شد.

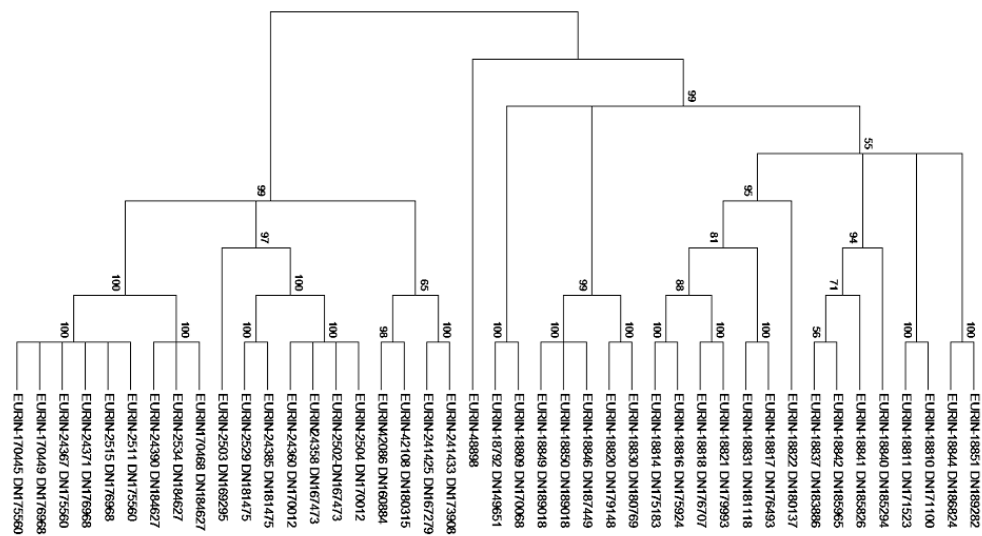
نتایج و بحث

شناسایی ژن‌ها یا آنزیم‌هایی که در پدیده مقاومت به شکل بالقوه یا بالفعل دخیل هستند بسیار ضروری است. گلو تاتیون اس ترانسفراز به‌عنوان یکی از آنزیم‌هایی است که سبب ایجاد مقاومت متابولیکی در حشرات می‌شود تاکنون، اطلاعاتی در زمینه ژن‌های GST در سن گندم وجود ندارد. بنابراین شناسایی پروفایل ژن‌های خانواده بزرگ GST در سطح ترانسکریپتوم در سن گندم برای فهم سازگاری‌های متابولیکی این حشره ارزشمند خواهد بود. بعد از چندین پروژه ژنوم حشرات از قبیل *Drosophila melanogaster* *Anopheles gambiae* *Apis mellifera* و *Bombyx mori* به ترتیب ۳۷، ۲۸، ۸ و ۲۳ GST سیتوزولی شناسایی شد (Claudianos et al., 2006).

بر اساس نتایج داده‌کاوی روی ترانسکریپتوم سن گندم و آنالیز فیلوژنی، ۴۳ توالی کاندید GST از ترانسکریپتوم حشره بالغ سن گندم در فصل بهار شناسایی شد (شکل ۱ و جدول ۲). از این میان یک توالی مربوط به GST میکروزومی و ۴۲ توالی مرتبط با GST سیتوزولی است. در تمامی این ۴۳ توالی، دو دومین حفاظت‌شده GST (N و C) وجود داشت. این دو دومین حفاظت‌شده در انتهای آمینی و کربوکسیلی GST واقع شده و دارای نقش عملکردی می‌باشند. دومین GST_N که در انتهای آمینی است، یک ساختار شبه تیوردکسین تشکیل می‌دهد که به بخشی از گلو تاتیون متصل می‌شود. درحالی‌که دومین GST_C که در انتهای کربوکسیلی است شامل چندین ماریپچ آلفا بوده که به شکل اختصاصی به سوبستراهای آب‌گریز متصل اتصال دارند.

در مجموع این تعداد ژن GST قابل مقایسه با *Drosophila melanogaster* با ۳۷ ژن، *Culex quinquefasciatus* با ۳۸ ژن و *Tribolium castaneum* با ۳۵ ژن است (Fang, 2012; Samra et al., 2012; Shi et al., 2012). در حالی‌که این تعداد در برخی از حشرات مثل *Apis mellifera* ملخ‌ها به‌شدت کاهش یافته است (Claudianos et al., 2006; Qin et al., 2011). از میان ژن‌های شناسایی‌شده، درحالی‌که ۶ ژن در دسته دلتا قرار می‌گیرد، دسته اپسیلون حاوی هیچ‌یک از توالی‌های شناسایی‌شده نیست (شکل ۲). عدم شناسایی دسته اپسیلون در سایر حشرات نظیر ملخ‌ها، *Pediculus humanus* *Myzus persicae* *Nasonia vitripennis* *Acyrtosiphon pisum* *Chironomus tentans* نیز مشاهده شده است

(Li *et al.*, 2009; Oakeshott *et al.*, 2010; Ramsey *et al.*, 2010; Fang, 2012) این دودسته از GST در واقع دسته‌های اختصاصی در حشرات هستند و فقدان اپسیلون و داشتن فقط یک ژن دلتا در زنبورعسل دلیل حساسیت بالای این گونه به حشره‌کش‌ها خاصی است (Claudianos *et al.*, 2006).



شکل ۱- دندروگرام Maximum-likelihood بر اساس توالی‌های پروتئین کاندیدای GST در سن گندم

Fig. 1. Maximum-likelihood dendrogram based on protein sequences of candidate GST in Sunn pest

دسته‌های دیگر GST شامل امگا، سیگما، زتا و تتا به شکل اختصاصی در سایر گونه‌ها گزارش شده است. از میان GST مشاهده‌شده، ۲۲ ژن در دسته سیگما قرار می‌گیرند (شکل ۲). به شکل کلی دسته سیگما در سایر حشرات مانند سخت‌بال‌پوشان، سفید بالک‌ها، *L. migratoria*، *M. persicae*، *A. pisum*، *N. vitripennis*، نیز به شکل گسترده‌ای تکثیر شده است (Richards *et al.*, 2008; Ramsey *et al.*, 2010; Karatolos *et al.*, 2011; Qin *et al.*, 2011). نقش ساختاری برای GST دسته سیگما در حشرات پیشنهاد شده که وجود اسید آمینه پرولین و آلانین در انتهای آمینی آن ممکن است به اتصال ماهیچه‌های پرواز کمک کند. نقش دیگری که برای دسته سیگما در حشرات وجود دارد حذف محصولات جانبی فرآیند پراکسید شدن چربی‌ها است که دیواره سلولی آسیب می‌رساند؛ بنابراین وجود چندین ژن دسته سیگما ممکن است برای حذف محصولات جانبی استرس‌های اکسیداتیو باشد (Singh *et al.*, 2001).

جدول ۲- توالی‌های اسید آمینه ژن‌های کاندیدای GST در سن گندم

Table 2. Amino acids sequences of GST candidate genes in Sunn pest

| Amino acids sequences of GST | Candidate Gene codes |
|--|-------------------------|
| MTLKFYYDLMSQPCRAIYVFLKLNKINYERKIVNLFLEHKSEEFLKINPFG LVPVIDDNGFIVKESVGLRYLCREKNVADHWYPKESKAQAKVDEFIEWQ HLGLRLPCGMYFRINCVEPRISGEPALSDLKRFRNAMISSCDLVENVWLN NKEKFLFGSHLTIADLLAVMELEQPRPTGYDPKQGRPRLAAYMDRVRSET APFYDEANKFINILSSRTDS | EURIN- 2511_DN175560 |

| | |
|--|--------------------------|
| MTLKFYYDLMSQPCRAIYVFLKLNKINYERKIVNLRFLFLEHKSEEFKINPFG LVPVIDDNGFIVKESVGILRYLCREKNVADHWYPKESKAQAKVDEFIEWQ HLGLRRLPCGMFRINCVEPRISGEPALESDLKRFRNAMISSCDLVENVWLN NKEKFLFGSHLTIADLLAVMELEQPRPTGYDPKQGRPRLAAYMDRVRSET APFYDEANKFINILSSRTDS | EURIN- 2515_DN176968 |
| MVVKLRYFNMTGLGEPIRLMLAATKTEFEDIRLNKEEWAKMKPTLKWPFL PVLEMDGKSMVQSVSICRYIAKKNSLCGSSEDDAYACDATVDHLEDIRKKI VVNYSPDSKERDEGLEKNIKVDVPFYMKNFEEQLAENNGYL VGGKLTW ADIMFLSYCDYLSFILGHDIVTGFPKLEKHKDKISDLPGIKEWLATRPTS DLRRTLFM | EURIN- 18846_DN187449 |
| MVVKLRYFNMTGLGEPIRLMLAANKTEFEDIRLNKEEWAKMKPTLKWPFL LPVLEMDGKSMVQSVSICRYIAKKNSLCGSSEDDAYACDATVDHLEDIRK KIVVHYSPDSKERDEGLEKNIKVDVPFYMKNFEEQLAENNGYL VGGKLT WADIMFLSYCDYLSFILGHDIVTGFPKLDHKDKISDLPGIKEWLATRPTS KDLRRTLFM | EURIN- 18850_DN189018 |
| MTGREGISKLTNLFWPDWRDGIWRKMVVKLRYFNMTGLGEPIRLMLAAT KTEFEDIRLNKEEWAKMKPTLKWPFLPVLEMDGKSMVQSVSICRYIAKKN SLCGSSEDDAYACDATVDHLEDIRKIVVHYSPDSKERDEGLEKNIKVDV PFYMKNFEEQLAENNGYL VGGKLTWADIMFLSYCDYLSFILGHDIVTGFPK LKDHKDKISDLPGIKEWLATRPTSVDLRTLFM | EURIN- 18849_DN189018 |
| MVVKLYTYFQIPGRGEPIRMILLSAMKIEFEDRRVTMDEWAKLKPTLKWPHL PMLEMDGKTLFQSMSISRYLARKGGLYASSEDGSLAIDTMVDAIDDMRRK VTDYFYLRDSKERDEGLKNSSEVIVPLYMKNIEEQLAENNGYL VAGKLTW ADINFITYTSYVSYLLGHDILTDFPRLKEHEKKISELPGIKEYLDRPPFPKD MRTVFGQR | EURIN- 18830_DN180769 |
| KGKSVASISRNMVVKLTYFQIPGRGEPIRMILLSAMKIEFEDRRVTMDEWA KLKPTLKWPHLPMLEIDGKTLFQSMSISRYLARKGGLYVSSDGLAIDTM VDAIDDMRRKVTDYFYLRDSKERDEGLKNSSEVIVPLYMKNIEEQLAENN GYLVAGKLTWADINFITYTSYVSYLLGHDILTDFPRLKEHEKKISELPGI KEYLDRPPFPKDM | EURIN- 18820_DN179148 |
| MAEVS DPVHHHLRHKKPRRHKKPRYKLTYYDAKALGEPYRYYLSYLKKEF EDIRLPVNP TLDCNVTGPNFKRIPNLQIDRDQ MIDHPVAIMRHLANEAGMS GDNFKEYLEIDMIIGLFCSEMQSEITKYL NIVLEKEKKRVKELLIRQIIPSYMD RFKDSIDRNRGYMANGRLTWVDIYVVA YCESFPGMLGIDAFEKYPFLKEL KDKVQALPGIKEWINRRPVTEI | EURIN- 18822_DN180137 |
| DTTPSNRMPKYKLYYLEAKGLGESIRFILSYMGEFEDIRLPFEKVFKL RSM PEVPYGVKVPYLEVDGKVLHQSTAILRHLANKAGLNGSNENENLNIDMIAG VFGDLIVEIQRFIKAQNPSEKDQIKELLINDIIPYMEKIEAVLKENG GYLAN GKISWADLYAVGYSESVPGLIGVDLTQKYPHF KALVDRVHSLPGVIEWIEK RPVANV | EURIN- 18817_DN176493 |
| QFGDTPSNRMPKYKLYYLEAKGLGESIRFILSYMGEFEDIRLPFEKVFKL RSMPEVPYGVKVPYLEVDGKVLHQSTAILRHLANKAGLNGSNENENLNIDM IAGVFGDLIVEIQRFIKAQNPSEKDQIKELLINDIIPYMEKIEAVLKENG GY LANGKISWADLYAVGYSESVPGLIGVDLTQKYPHF KALVDRVHSLPGVIE WIEKRPVANV | EURIN- 18831_DN181118 |
| MPQYKLYFDVKALGEPYRYYLSYMGKEFEDHRLGRDEWPKFKEQMPFGK LPILEVDGQVHFQSTAILRYLAIEAGLAGN NARENLEIDMVVGAFGDFATE VSRYYRMEVPSVKEKLEKILINETIPFYSRLEQLLNNGGYLANGKLSWA ELYVVGYSTSLPGLLEIDLTEKYNFFKELTNKVHSLPGIKEWIKRPTAI | EURIN- 18821_DN179993 |

| | |
|---|--------------------------|
| EYPRLSNFSQWQSPAIIHTRSFRKMPQYKLYFDVKALGEPYRILSYMGKE FEDHRLGRDEWPKFKEQMPFGKLPILVVDGQVFHQSTAILRYLAIEAGLAG NNARENLEIDMVVGAFGDFATEVSRYYRMEVPSVKEKLEILINETIPFYM SRLEQLLNNGGYLANGKLSWAELYVVGYSTSLPGLLEIDLTEKYNFFKEL TNKVHSLPGIKEWIKRPTAI | EURIN- 18818_DN176707 |
| MSHIKLNDFDIRVIGEPIRLLFHYMGKEFEDYRVPRDQWPAYKKVTPFGKM PVLEIDGKVYCQSIPMLRYLAHEAGLTGNNPDENYEIDMIVAAGDLVSEV SRHFKAHLPQEKEIIRQGIINDAIPFYMEKLEKVVKKNNGGYLANGKLSWAE FFVVGYSSSLPLGLIGVDLTEKYPFFKELTDKVHSLPGIKEWIKRPTPL | EURIN- 18816_DN175924 |
| MSHIKLNDFDIRVIGEPIRLLFHYMGKEFEDYRVPRDQWPAYKKVTPFGKM PVLEIDGKVYCQSIPMLRYLAHEAGLTGNNPDENYEIDMIVAAGDLVSEV SRHFKAHLPQEKEIIRQGIINDAIPFYMEKLEKVVKKNNGGYLANGKLSWAE FFVVGYSSSLPLGLIGVDLTEKYPFFKELTDKVHSLPGIKEWIKRPTPL | EURIN- 18814_DN175183 |
| RADSTHSSSTLPRSTKEMPPQYKLIYFNARGKAEHIRFIFAEAGVDYIDYRIPK EKWPMMKKTMPFGMVPVLEVEGEGQVQGSNAIARYLAHKYGLAGKTPW EALCEDVLDVTLGDLKQVLWQYRTEQDPSKKEERKVNLMKEVIPFYLRFR ERIIRDNNGFVAVGNSVTWADFAFAVSLLENFELIFGKDSLDPYPNLRGLKDR VYALPRIKEWIARRPQTEF | EURIN- 18809_DN170068 |
| DHRADSTHSSSTLPRSTKEMPPQYKLIYFNARGKAEHIRFIFAEAGVDYIDYR IPKEKWPMMKKTMPFGMVPVLEVEGEGQVQGSNAIARYLAHKYGLAGKT PWEALCEDVLDVTLGDLKQVLWQYRTEQDPSKKEERKVNLMKEVIPFYLR RRFERIIRDNNGFVAVGNSVTWADFAFAVSLLENFELIFGKDSLDPYPNLRGLK DRVYALPRIKEWIARRPQTEF | EURIN- 18792_DN149651 |
| MATYKLIYFNIMGLGETIRYMLSYLGKDFEDFRIHNYSDWISEFKPKMPFQ KIPPLEIGEHRHLHQSMACRYFAKEANLYGDNAWEQLQIDMIMDSFVDFRH AVWSYFYNRDEANREHLKGNLFDKIVPLYLGNFDKIIENEYLANKKLSW ADLYFVAILGYFSFMLKLDIVKEYPNIRALRDKIHEIPNIKAWLEKRPVTDW | EURIN- 18851_DN189282 |
| MATYKLIYFNIMGLGETIRYMLSYLGKDFEDFRIHNYSDWISEFKPKMPFQ KIPPLEIGEHRHLHQSMACRYFAKEANLYGDNAWEQLQIDMIMDSFVDFRH AVWSYFYNRDEANREHLKGNLFDKIVPLYLGNFDKIIENEYLANKKLSW ADLYFVAILGYFSFMLKLDIVKEYPNIRALRDKIHEIPNIKAWLEKRPVTDW | EURIN- 18844_DN186824 |
| YWFDNSSPVLLATSRLCLIKLEDCWKMPHYKLYFPVTALAEPYRMLSYL GEDFEDYMFKREDWPSIKPKMPFGKVPVLEIDDKQVHQSTACRYFGKKA QLAGKNDWEALQIDMVVDTVHDMRQAIADYWYDDNEATRAKKKEPLM KETLPPFYLLKFDKEMVKENNGYLVNSALSWGDIYFIAISNYLIKMGFDFFEE HENLKRKLDNVLSLPIQKWIETRPKVEF | EURIN- 18810_DN171100 |
| NSSPVLLATSRLCLIKLEDCWKMPHYKLYFPVTALAEPYRMLSYLGEDF EDYMFKREDWPSLKPMPFGKVPVLEIDDKQVHQSTACRYFGKKAQLAG KNDWEALQIDMVVDTVHDMRQAIADYWYDDNEATRAKKKEPLMKETLP FYLLKFDKEMVKENNGYLVNSALSWGDIYFIAISNYLIKMGFDFFEEHENL KRLKLDNVLSLPIQKWIETRPKVEF | EURIN- 18811_DN171523 |
| MPHYKLYFDITGIAEPYRLLCILGEEFEEHKVQLEDWPSLKPTTPFGKVP VLEVDGKAVCQICIAICRYLGRKAKLTGKDEWEDLQIDMIVDTLTLRQAV SEYYWSTDEISKPKMLEVLHKETLPFYFERFDKIVKNNGGYLANGKLSWGDI FFVGLLFFHMYAGGYDYKEHFENLKGHLHDKIMALPEIKKWIQSRGNIA GVDLAKAQSMRQKLV | EURIN- 18840_DN185294 |
| MPTYKLYFDGSGVGEPIRYMLSMGDFEDKRMKFDEWPAIKPTTPFGK VPMLEVDGKTVCSQSTACRYLGRKVNLAGKDEWEDLQIDMMVDTYHDFR REVGDYRHENDVDKAKKLEVLMSSETCPAYLAKFDEYAKKNNGYLANG | EURIN- 18842_DN185965 |

RLSWGDIYFVAASHTIKNILEYDFTEKYDNLKRLQENVMSLPQIKKWVESR
AKTIKT

EURIN-
18841_DN185826

MPSYKLYFDIPGLAEPYRMYFCLLGEDFEDNRIKKEDWISIKPTTPFGKVP
LEVDGKVVVCQSVACRYLGKKAKLAGNDEWEDLQIDMMVESLQDLRQAV
GEYFREEDDTLKNKKHEVLLKETAPFYFGKFDEIVKENNGYLANGKLSWA
DIYFIGSTILMNPMLGYDFTEHFENLKRHLDTVMMLPQIKKWYDSREKVEG
N

EURIN-
18837_DN183886

MPSYKLYFDISGLAEPYRMYFCLLGEDFEDNRLKMEEWAAVKPTTPFGKL
PMLEVDGKVVVTQSTAICRFLGKKAKLAGKDEWEDLQIDMMIDTFHDLRQ
ALSDYYREKDEDSKAKKLEALKNETFPFYFGKFDEIVKNNNGYLANGRLS
WGDYFIGGSLFFKMTMTGYDFTEHFENLKRFLDTVMALPQIKKWNSRAK
DA

EURIN-
24371_DN176968

MTLKFYYDLMSQPCRAIYVFLKLNKINYERKIVNLRFLFLEHKSEEFKINPFG
LVPVIDDNGFIVKESVGILRYLCREKNVADHWYPKESKAQAKVDEFIEWQ
HLGLRPLCGMYFRINCVEPRISGEPALSDLRFRNAMISSCDLVENVWLN
NKEKFLFGSHLTIADLLAVMELEQPRPTGYDPKQGRPRLAAYMDRVRSET
APFYDEANKFINLSSRTDS

EURIN-
24367_DN175560

MTLKFYYDLMSQPCRAIYVFLKLNKINYERKIVNLRFLFLEHKSEEFKINPFG
LVPVIDDNGFIVKESVGILRYLCREKNVADHWYPKESKAQAKVDEFIEWQ
HLGLRPLCGMYFRINCVEPRISGEPALSDLRFRNAMISSCDLVENVWLN
NKEKFLFGSHLTIADLLAVMELEQPRPTGYDPKQGRPRLAAYMDRVRSET
APFYDEANKFINLSSRTDS

EURIN-
170449_DN176968

MTLKFYYDLMSQPCRAIYVFLKLNKINYERKIVNLRFLFLEHKSEEFKINPFG
LVPVIDDNGFIVKESVGILRYLCREKNVADHWYPKESKAQAKVDEFIEWQ
HLGLRPLCGMYFRINCVEPRISGEPALSDLRFRNAMISSCDLVENVWLN
NKEKFLFGSHLTIADLLAVMELEQPRPTGYDPKQGRPRLAAYMDRVRSET
APFYDEANKFINLSSRTDS

EURIN-
170445_DN175560

MTLKFYYDLMSQPCRAIYVFLKLNKINYERKIVNLRFLFLEHKSEEFKINPFG
LVPVIDDNGFIVKESVGILRYLCREKNVADHWYPKESKAQAKVDEFIEWQ
HLGLRPLCGMYFRINCVEPRISGEPALSDLRFRNAMISSCDLVENVWLN
NKEKFLFGSHLTIADLLAVMELEQPRPTGYDPKQGRPRLAAYMDRVRSET
APFYDEANKFINLSSRTDS

EURIN-
24390_DN184627

RESSDGLTKMTLKYYYDLFSQPSRAVYIFLKINSIPFESHVNLMTGEHRKK
EFKKINPLSLVPVIDDNGFILRESVGILRYLVREKNLPHWYPKESKAQARF
DEFIEWQHLGLRVPLALYFRILKLEPMLKGKPPLEHDIKRWTDVAVVYSCNI
FEKVWLNNDKKFLFGDLMSIADLLAAMELEQPRMAGYDPRIGRPVLASY
MDRVRNETNPFYDEACQMVYTSIDSKL

EURIN-
170468_DN184627

RESSDGLTKMTLKYYYDLFSQPSRAVYIFLKINSIPFESHVNLMTGEHRKK
EFKKINPLSLVPVIDDNGFILRESVGILRYLVREKNLPHWYPKESKAQARF
DEFIEWQHLGLRVPLALYFRILKLEPMLKGKPPLEHDIKRWTDVAVVYSCNI
FEKVWLNNDKKFLFGDLMSIADLLAAMELEQPRMAGYDPRIGRPVLASY
MDRVRNETNPFYDEACQMVYTSIDSKL

EURIN-
24360_DN170012

MTIDLVMVPGSSPCRAALLAARAVGVDVNIKLTDLMKGEHLTPEFLKMNP
QHNIPTMNDNGFVINESRAIMCYLADQYKDDSLYPKDPKRAIVNQRLY
FDMGTLYLRFGLYYPMIFGGAPYDEEKAKKLHEALGFLEGFLGNSTYAA
GENLTLADLALVASLSTMEVIGCDISKYPKIIKWFNKCKETIPDYQKSNHEG
AMAFKALFDSMAKK

EURIN-
24358_DN167473

MTIDLVMVPGSSPCRAALLAARAVGVDVNIKLTDLMKGEHLTPEFLKMNP
QHNIPTMNDNGFVINESRAIMCYLADQYKDDSLYPKDPKRAIVNQRLY
FDMGTLYLRFGLYYPMIFGGAPYDEEKAKKLHEALGFLEGFLGNSTYAA

GENLTLADLALVASLSTMEVIGCDISKYPKIIKWFNKCKETIPDYQKSNHEG
AMAFKALFDSMAKK

SPASFGLTSEINNKMTITLYLPASPPCRAVLLTARALGIELDLRLTNLRKGE
HLTPEYLKLNQHTIPTMDDDDGFVINESRAIICYLADQYGKDDSLYPKDPK
KRALIHQRLYFDMGTLHIRHAELNRPILFAGAPYDEEKAKKLDEALGYLDG
YLSKSTYAAGDTLTLADLSLVATVSTLELIGFNISKHANVTRWLQRCKETIP
DYEKYNHEGALEYKAMYDAAKKKK

EURIN-
24385_DN181475

TTIENNKRENINQLSKNHHVFYPKTSRLHWKSMAAELKETPKLKLYSYWR
SSCSQRVRIALNLKGLEEYKAVNLLKGEQFTPEFEKLNPLKYVPVLVDGD
VAVSDSFAILLYLEDKYPEHPLPTDLQKALNIQAASIVGSSIQPLLNLA VL
KYIEEKISSDEKLAWVQHHISKGFEALEKLLKGCAGRYATGDEVQLADVFL
APQIEGGIKRFQLDMSPPFTLARLHEAYCEHPAFQASHPDRQPDSPPSS

EURIN-
42108_DN180315

CDGDCHLFYLLGLAYLLIMSSVGKPLLYSYWRSSCAWRVRLALNIKEMQYD
IKPINLMKDDGGEQNSEEFKNVNPMPKRVLPALFIDGHTLIESMNIMYYLEETRP
ERPLMPNDVFKRTQVRTICEIITSGIQPLQNVTVLNEIGEKKLDWAQRWINK
GFEAIEKLLAISGKYCVGNEITLADCLVPQVYNARFKVDMLPYPTILKI
EKELEMVPAFQSAHPLNQPDCEPAKK

EURIN-
42086_DN160884

KMTLKYDYDLFSQPSRAVYIFLINSIPFESHFVNLMTGEHRKKEFKKINPL
SLVPVIDDNGFILRESVILRYLVREKNLPDHWYPKESKAQARFDEFIEWQ
HLGLRVPLALYFRILKLEPMLKGGKPPLEHDIKRWTDVAVVYSCNIFEKVVWLN
NDKKFLFGDLMSIADLLAAMELEQPRMAGYDPRIGRPVLASYMDRVRNET
NPFYDEACQMVVYTSIDS

EURIN-
2534_DN184627

EGKLRLYSMRFCPYAQRHVLNNAKLNILHDVVNINLKDKPEWYLEKVPRG
KVPAlHVDGVNLYESLIADYIDEKYPQRPLFPRDPLRKALDRILIDTFSRVIT
VLHKLYVNPVMDAQHLGVPVLDDEMDFFEKELASRGTPPFSGDQPGMVDDY
IWPWCERLEMVRVLGGDQFRVPKERFQRLFQWTKGMFEDPAVKLHYCTP
EQHAKFLISHRA

EURIN-
241433_DN173908

EGKLRLYSMRFCPYAQRHVLNNAKLNILHDVVNINLKDKPEWYLEKVPRG
KVPAlHVDGVNLYESLIADYIDEKYPQRPLFPRDPLRKALDRILIDTFSRVIT
VLHKLYVNPVMDAQHLGVPVLDDEMDFFEKELASRGTPPFSGDQPGMVDDY
IWPWCERLEMVRVLGGDQFRVPKERFQRLFQWTKGMFEDPAVKLHYCTP
EQHAKFLISHRA

EURIN-
241425_DN167279

PFLVDEEFSLESAGAILIYLAEAYGNGDYLYPKDQKRAIINQRIMFDVGT
WMRLFQCYFLPVFQNMGINDLIIEVRVNDVFTLDAFLDGGKEWAAGDEIT
VADFCLITVAASEAVGYEVSKYENVSEWFKRCKEAMVDYGELIQTTPMDT
LNEYFMAKLSK

EURIN-
2503_DN169295

KMTITLYLPASPPCRAVLLTARALGIELDLRLTNLRKGEHLTPEYLKLNQ
HTIPTMDDDDGFVINESRAIICYLADQYGKDDSLYPKDPKRALIHQRLYFD
MGTLHIRHAELNRPILFAGAPYDEEKAKKLDEALGYLDGYLSKSTYAAGD
TLTLADLSLVATVSTLELIGFNISKHANVTRWLQRCKETIPDYEKYNHEGA
LEYKAMYDAAKKK

EURIN-
2529_DN181475

MTIDLVMVPGSSPCRAALLAARAVGVDVNIKLTDLMKGEHLTPEFLKMNP
QHNIPTMNDNGFVINESRAIMCYLADQYGKDDSLYPKDPKRAIVNQRLY
FDMGTLYLRFGELYPMIFGGAPYDEEKAKKLHEALGFLEGFLGNSTYAA
GENLTLADLALVASLSTMEVIGCDISKYPKIIKWFNKCKETIPDYQKSNHEG
AMAFKALFDSMAKK

EURIN-
2504_DN170012

MTIDLVMVPGSSPCRAALLAARAVGVDVNIKLTDLMKGEHLTPEFLKMNP
QHNIPTMNDNGFVINESRAIMCYLADQYGKDDSLYPKDPKRAIVNQRLY
FDMGTLYLRFGELYPMIFGGAPYDEEKAKKLHEALGFLEGFLGNSTYAA
GENLTLADLALVASLSTMEVIGCDISKYPKIIKWFNKCKETIPDYQKSNHEG

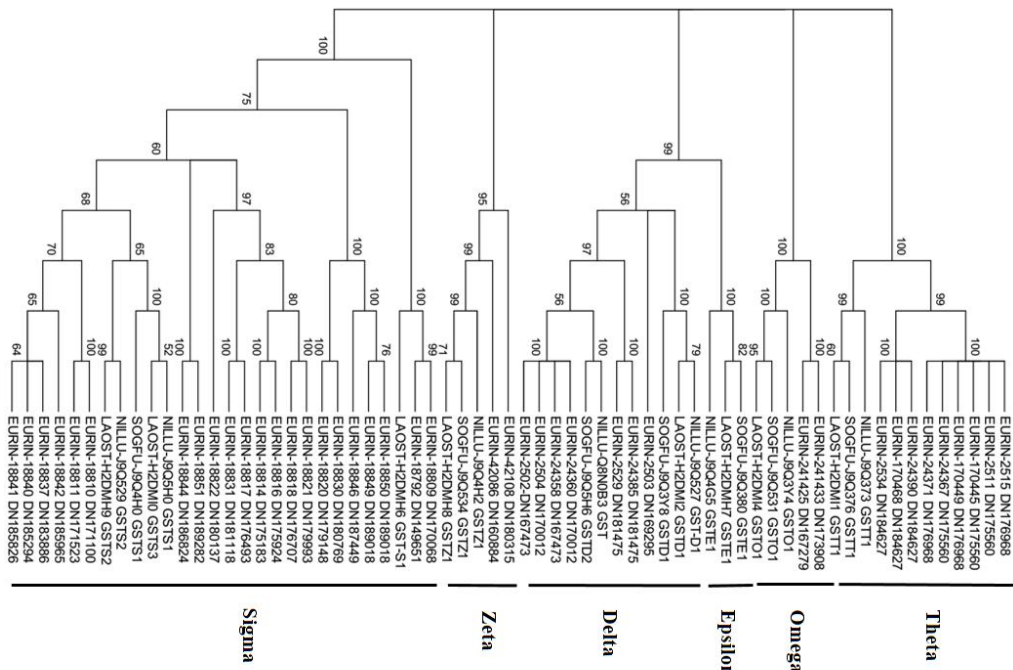
EURIN-2502-
DN167473

AMAFKALFDSMAKK

TDISELSMLKNPVFRAYIFYNSVLVLKMLSMSVLTRMRFAKKVFTSPEDT
 SLLKGSKVGANDPDVERVRRHRNDMENILVYFVAAFVYLLTNPAAATTAI
 MLMRLFTVARIVHTLVYAVVVIPQPTRAIAFGVAYFITGYMAVNTILTFI

EURIN-48898

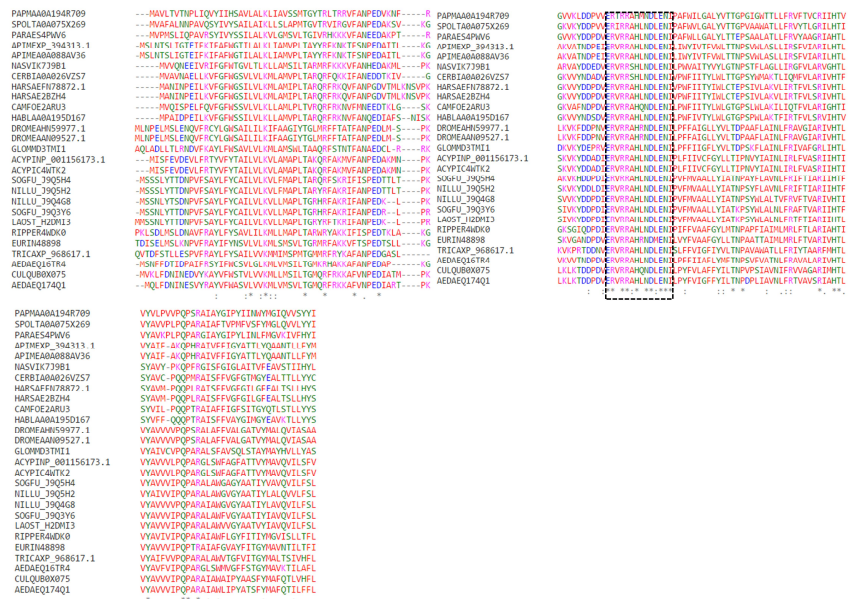
دسته امگا با وجود دو ژن، دسته GST دیگر غیراختصاصی حشرات است که از ترانسکرپتوم سن گندم شناسایی شد (شکل ۲). وجود GST امگا از سایر حشرات مانند *A. mellifera*، *A. pisum*، *T. castaneum* که به ترتیب دارای یک، دو و سه ژن کدکننده GST امگا هستند نیز گزارش شده است. در کرم ابریشم بیان ژن‌های دسته امگا در پاسخ به تنش‌های محیطی از قبیل باکتری، اشعه ماورای بنفش و سه آفت‌کش تجاری القا شد (Yamamoto et al., 2011).



شکل ۲- درخت Neighbor-joining گلوپروتئین اس ترانسفراز سیتوسولی در سن گندم و سه زنجبرک برنج. *Eurygaster integriceps* (پیشوند EURIN)، *Nilaparvata lugens* (پیشوند NILU)، *Sogatella furcifera* (پیشوند SOGFU) و *Laodelphax striatellus* (پیشوند LAOST).

Fig. 2. Neighbor-joining tree of glutathione S-transferase (GST) genes of sunn pest and three rice planthoppers. *Eurygaster integriceps* (EURIN prefix), *Nilaparvata lugens* (NILU prefix), *Sogatella furcifera* (SOGFU prefix) and *Laodelphax striatellus* (LAOST prefix).

آنالیز فیلوژنی neighbor-joining پروتئین GST میکروزمی حشرات مختلف حاکی از این بود که آن‌ها در ۶ گروه دسته‌بندی می‌شوند. از میان GST شناسایی شده، یک ژن اختصاص به GST میکروزمی در ترانسکریپتوم سن گندم دارد (شکل ۳). تعداد GST میکروزمی در سایر حشرات نیز مشابه با سن گندم است. ناحیه حفاظت‌شده با ترکیب آمینواسیدی ERVRRRAHLNDLENI در تمام GST میکروزمی حشرات وجود دارد که نشان‌دهنده پتانسیل این دومین به‌عنوان دومین عملکردی هست (شکل ۴). در *A. pisum* و *D. melanogaster*، *A. gambiae*، در برابر خسارت‌های GST میکروزمی شناسایی شده است (Fang, 2012). این دسته GST در حفاظت سلولی در برابر خسارت‌های اکسیداتیو و عوامل خارجی مؤثر است. طول عمر *D. melanogaster* موتانت در ژن MGGST که GST میکروزمی است در مقایسه با نوع غیر موتانت به شکل معنی‌داری کاهش یافت که منعکس‌کننده نقش مهم این ژن در بیولوژیک حشره است (Toba & Aigaki 2000).



شکل ۴- هم‌ردیفی توالی اسیدآمینو ژن GST میکروزمی سن گندم با سایر حشرات با Clustal Omega. نقطه چین نشان‌دهنده ناحیه حفاظت‌شده با ترکیب آمینواسیدی ERVRRRAHLNDLENI است. *Drosophila melanogaster* (DROME), *Glossina morsitans morsitans* (GLOMM), *Culex quinquefasciatus* (CULQU), *Tribolium castaneum* (TRICA), *Riptortus pedestris* (RIPPE), *Eurygaster inegriceps* (EURIN), *Apis melifera* (APIME), *Habropoda laboriosa* (HYBLA), *Cerapachys biroi* (CERBI), *Camponotus floridanus* (CAMFO), *Spodoptera litura* (SPOLT), *Sogatella furcifera* (SOGFU), *Nilaparvata lugens* (NILLU), *Papilio machaon* (PAPMA), *Acyrtosiphon pisum* (ACYPI), *Aedes aegypti* (AEDAE), *Harpegnathos saltator* (HARSA), *Laodelphax striatellus* (LAOST), *Pararge aegeria* (PARAE), *Nasonia vitripennis* (NASVI).

Fig. 4. Sequence alignment of microsomal GST with other insect microsomal GST using clustal omega. Dotted box indicate highly conserved region with the amino acids ERVRRRAHLNDLENI. *Drosophila melanogaster* (DROME), *Glossina morsitans morsitans* (GLOMM), *Culex quinquefasciatus* (CULQU), *Tribolium castaneum* (TRICA), *Riptortus pedestris* (RIPPE), *Eurygaster inegriceps* (EURIN), *Apis melifera* (APIME), *Habropoda laboriosa* (HYBLA), *Cerapachys biroi* (CERBI), *Camponotus floridanus* (CAMFO), *Spodoptera litura* (SPOLT), *Papilio machaon* (PAPMA), *Nilaparvata lugens* (NILLU), *Sogatella furcifera* (SOGFU), *Laodelphax striatellus* (LAOST), *Harpegnathos saltator* (HARSA), *Aedes aegypti* (AEDAE), *Acyrtosiphon pisum* (ACYPI), *Nasonia vitripennis* (NASVI), *Pararge aegeria* (PARAE).

نتیجه گیری

در این مطالعه، تمام ژن‌های خانواده بزرگ GST، در سن گندم که به‌عنوان مهم‌ترین آفت مزارع گندم ایران و خاورمیانه محسوب می‌شود شناسایی شد. با استفاده از آنالیز فیلوژنتیک و شباهت‌های آمینواسیدی، این خانواده ژنی در سن گندم مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج این مطالعه پروفایل GST در سن گندم را به‌خوبی آشکار کرده که به‌نوبه خود می‌تواند منجر به کنترل شیمیایی پایدارتر و مدیریت مقاومت در برنامه کنترل سن گندم شود. در نهایت این ژن‌ها می‌توانند به‌عنوان بیومارکرهای مقاومت متابولیکی معرفی شده تا با بررسی بیان آن‌ها به کمک کشف مقاومت و در صورت تأیید در سرکوب مقاومت در سن گندم استفاده شوند. در ادامه این پروژه مطالعات عملکردی ژن‌های شناسایی شده در زیست‌شناسی سن گندم و همچنین بررسی نقش متابولیکی آنزیم‌های GST برای دفاع علیه اللوکمیکال‌های گیاهی و برهمکنش‌های گیاه-حشره در مطالعات آینده پیشنهاد می‌شود.

سپاسگزاری

بدین وسیله از موسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور به دلیل همکاری در جمع‌آوری و پرورش سن گندم صمیمانه تشکر می‌نمایم. از سرکار خانم مهندس آثاری کارشناس بیوانفورماتیک بخش زیست‌شناسی سامانه‌ها پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی به خاطر همکاری در آنالیز داده‌های ترانسکریپتوم، سپاسگزاری می‌شود. این تحقیق با حمایت مالی پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی انجام شده است.

References

- Claudianos, C., Ranson, H., Johnson, R.M., Biswas, S., Schuler, M.A., Berenbaum, M.R., Feyereisen, R. & Oakeshott, J.G. (2006) A deficit of detoxification enzymes: Pesticide sensitivity and environmental response in the honeybee. *Insect Molecular Biology* 15, 615–636.
- Critchley, B.R. (1998) Literature review of sunn pest *Eurygaster integriceps* Put. (Hemiptera, Scutelleridae). *Crop Protection* 17, 271–287.
- Ding, Y., Ortelli, F., Rossiter, L.C., Hemingway, J. & Ranson, H. (2003) The *Anopheles gambiae* glutathione transferase supergene family: annotation, phylogeny and expression profiles. *BMC Genomics* 4, 35.
- Fang, S. 2012. Insect glutathione S-transferase: a review of comparative genomic studies and response to xenobiotics. *Bulletin of Insectology* 65, 265–271.
- Haas, B.J., Papanicolaou, A., Yassour, M., Grabherr, M., Blood, P.D., Bowden, J., Couger, M.B., Eccles, D., Li, B., Lieber, M., Macmanes, M.D., Ott, M., Orvis, J., Pochet, N., Strozzi, F., Weeks, N., Westerman, R., William, T., Dewey, C.N., Henschel, R., Leduc, R.D., Friedman, N. & Regev, A. (2013). De novo transcript sequence reconstruction from RNA-seq using the Trinity platform for reference generation and analysis. *Nature Protocol* 8, 1494–1512.

- Hayes, J.D., Flanagan, J.U. & Jowsey, I.R.** (2005). Glutathione Transferases. *Annual Review of Pharmacology Toxicology* 51–88.
- Hewes, R.S. & Taghert, P.H.** (2001) Neuropeptides and neuropeptide receptors in the *Drosophila melanogaster* genome. *Genome Research* 11, 1126–1142.
- Hsu, J.C., Chien, T.Y., Hu, C.C., Chen, M.J.M., Wu, W.J., Feng, H.T., Haymer, D.S. & Chen, C.Y.** (2012) Discovery of genes related to insecticide resistance in *Bactrocera dorsalis* by functional genomic analysis of a De novo assembled transcriptome. *PLoS One* 7.
- Iranipour, S., Kharrazi Pakdel, A. & Radjabi, G.** (2010) Life history parameters of the Sunn pest, *Eurygaster integriceps*, held at four constant temperatures. *Journal of Insect Science* 10, 1–9.
- Karatolos, N., Pauchet, Y., Wilkinson, P., Chauhan, R., Denholm, I., Gorman, K., Nelson, D.R., Bass, C., Richard, H. & Williamson, M.S.** (2011) Pyrosequencing the transcriptome of the greenhouse whitefly, *Trialeurodes vaporariorum* reveals multiple transcripts encoding insecticide targets and detoxifying enzymes. *BMC Genomics* 12, 56.
- Li, X., Zhang, X., Zhang, J., Zhang, X., Starkey, S.R. & Zhu, K.Y.** (2009) Identification and characterization of eleven glutathione S-transferase genes from the aquatic midge *Chironomus tentans* (Diptera: Chironomidae). *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 39, 745–754.
- Oakeshott, J.G., Johnson, R.M., Berenbaum, M.R., Ranson, H., Cristino, A.S. & Claudianos, C.** (2010) Metabolic enzymes associated with xenobiotic and chemosensory responses in *Nasonia vitripennis*. *Insect Molecular Biology* 19, 147–163.
- Qin, G., Jia, M., Liu, T., Xuan, T., Yan Zhu, K., Guo, Y., Ma, E. & Zhang, J.** (2011). Identification and characterisation of ten glutathione S-transferase genes from oriental migratory locust, *Locusta migratoria manilensis* (Meyen). *Pest Management Science* 67, 697–704.
- Ramsey, J.S., Rider, D.S., Walsh, T.K., De Vos, M., Gordon, K.H.J., Ponnala, L., MacMil, S.L., Roe, B.A. & Jander, G.** (2010) Comparative analysis of detoxification enzymes in *Acyrtosiphon pisum* and *Myzus persicae*. *Insect Molecular Biology* 19, 155–164.
- Ranson, H., Claudianos, C., Ortelli, F., Abgrall, C., Hemingway, J., Sharakhova, M. V, Unger, M.F., Collins, F.H. & Feyereisen, R.** (2002) Evolution of supergene families associated with insecticide resistance. *Science* 298, 179–81.
- Ranson, H., Rossiter, L., Ortelli, F., Jensen, B., Wang, X., Roth, C.W., Collins, F.H. & Hemingway, J.** (2001) Identification of a novel class of insect glutathione S-transferases involved in resistance to DDT in the malaria vector *Anopheles gambiae*. *The Biochemical journal* 359, 295–304.
- Richards, S., Gibbs, R. a, Weinstock, G.M., Brown, S.J., Denell, R., Beeman, R.W. & Gibbs, R.** (2008) The genome of the model beetle and pest *Tribolium castaneum*. *Nature* 452, 949–55.
- Samra, A.I., Kamita, S.G., Yao, H.W., Cornel, A.J. & Hammock, B.D.** (2012) Cloning and characterization of two glutathione S-transferases from pyrethroid-resistant *Culex pipiens*. *Pest Management Science* 68, 764–772.
- Shi, H., Pei, L., Gu, S., Zhu, S., Wang, Y., Zhang, Y. & Li, B.** (2012) Glutathione S-transferase (GST) genes in the red flour beetle, *Tribolium castaneum*, and comparative analysis with five additional insects. *Genomics* 100, 327–335.
- Sievers, F., Wilm, A., Dineen, D., Gibson, T.J., Karplus, K., Li, W., Lopez, R., McWilliam, H., Remmert, M., Söding, J., Thompson, J.D. & Higgins, D.G.** (2011) Fast, scalable generation of high-quality protein multiple sequence alignments using Clustal Omega. *Molecular Systems Biology* 7, 539.

-
- Toba, G. & Aigaki, T.** (2000) Disruption of the Microsomal glutathione S-transferase-like gene reduces life span of *Drosophila melanogaster*. *Gene* 253, 179–187.
- Yamamoto, K., Teshiba, S., Shigeoka, Y., Aso, Y., Banno, Y., Fujiki, T. & Katakura, Y.** (2011) Characterization of an omega-class glutathione S-transferase in the stress response of the silkworm. *Insect Molecular Biology* 20, 379–386.
- Yandamuri, R.C., Gautam, R., Darkoh, C., Dareddy, V., El-bouhssini, M. & Clack, B.A.** (2014) Cloning, Expression, Sequence Analysis and Homology Modeling of the Prolyl Endoprotease from *Eurygaster integriceps* Puton. *Insects* 762–782.