

مطالعه خانواده ژنی ساکارز سینتاز (*SUS*) گندم (*Triticum aestivum* L.) بر اساس روش‌های بیوانفورماتیکی

ناصر محمدیان روشن*

استادیار گروه زراعت، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، ایران.

(تاریخ دریافت: 1398/11/7 - تاریخ پذیرش: 1399/2/1)

Analysis of the sucrose synthase (*SUS*) gene family in wheat (*Triticum aestivum* L.) based on bioinformatics methods

Naser Mohammadian Roshan*

Assistant Professor, Department of Agriculture, Lahijan Branch, Islamic Azad University, Lahijan, Iran.

(Received: Jan. 25, 2020 - Accepted: Apr. 20, 2020)

Abstract

In higher plants, sucrose synthase (SuS, EC 2.4.1.13) is widely considered as a key enzyme involved in sucrose metabolism and catalyzes the reversible cleavage of sucrose into fructose and UDP- glucose. Here, 22 SuS genes have been identified in the genome of wheat by using bioinformatics methods and renamed *TaSuS1* to *TaSuS22* according to their chromosomal locations. Phylogenetic analysis revealed that the sucrose synthase genes in wheat and other plants were divided into three evolutionary groups, named SUS I, SUS II and SUS III, respectively. *SuS* genes in the same group showed similar structural characteristics, such as exon number, size and length distribution. The upstream regions of *TaSuS* genes had variable frequencies of *cis*-regulatory elements that could show regulation at different developmental stages and/or differential regulation in response to stress, while 21 genes had targets for 16 different miRNA families that show the importance of posttranscriptional regulation for *TaSuS* genes. Temporal and spatial expression profiling indicates a potential role for SUSI genes during growth and development in wheat. These results give new insights into the evolution and basic information that will aid in elucidating the functions of the wheat SuS gene family.

چکیده

در گیاهان عالی، ساکارز سینتاز (SuS, EC 2.4.1.13) به‌عنوان آنزیم کلیدی در متابولیسم ساکارز شناخته می‌شود. این آنزیم صورت برگشت پذیر و در حضور یوریدین دی‌فسفات (UDP)، ساکارز را به فروکتوز و UDP-گلوز تبدیل می‌کند. در این مطالعه 22 ژن ساکارز سینتاز با استفاده از روش‌های بیوانفورماتیکی در ژنوم گندم شناسایی شد که براساس جایگاه کروموزومی از *TaSuS1* تا *TaSuS22* نامگذاری شدند. آنالیز فیلوژنتیکی نشان داد که ژن‌های ساکارز سینتاز گندم و سایر گیاهان از نظر تکاملی به سه گروه *SUSI*، *SUSII* و *SUSIII* تقسیم می‌شوند. ژن‌های *TaSuS* هر گروه از نظر ویژگی‌های ساختاری مانند تعداد، طول و توزیع اگزونها حفاظت شده هستند. ناحیه بالادست ژن‌های *TaSuS* دارای فراوانی متفاوتی از عناصر تنظیمی *cis* است که دلیلی بر پیچیدگی تنظیم بیان این ژن‌ها در مراحل نمو و یا پاسخ به تنش‌ها می‌باشد. همچنین 21 ژن *TaSuS* هدف *miRNA* مربوط به 16 خانواده متفاوت قرار می‌گیرند که اهمیت تنظیم بیان ژن پس از رونویسی در این خانواده را نشان می‌دهد. پروفایل بیانی مکانی/زمانی این ژن‌ها مشخص کرد که ژن‌های *TaSuS* مربوط به زیرگروه *SUSI* نقش مهمی در رشد و نمو گندم بر عهده دارند. این نتایج نگاه جدیدی به تکامل ژن‌های *TaSuS* بوده و اطلاعات پایه از نظر تکاملی و کارکردی احتمالی، برای انتخاب و ارزیابی نقش این ژن‌ها در متابولیسم ساکارز در شرایط رشدی مختلف در گندم را فراهم می‌کند.

Keywords: Database, Evolution, Gene Expression, Metabolism, Phylogeny Tree.

واژگان کلیدی: بیان ژن، پایگاه داده، تکامل، درخت فیلوژنی، متابولیسم.

مقدمه

یافتن راهکارهایی برای حفظ و افزایش بازده گیاهان زراعی از اهداف مهم محققان کشاورزی می‌باشد زیرا در سال 2030 تقاضای غلات برای تغذیه انسان و دام تا 2/8 میلیارد تن در سال خواهد رسید که 50 درصد از نیاز سال 2000 بیشتر است (Lobell et al., 2009). افزایش بازده تولید گونه‌های زراعی از دو دیدگاه قابل بررسی است. نخست افزایش کارایی فتوسنتز و در نتیجه افزایش تولید ماده خشک و دوم تغییر الگوی تولیدات فتوسنتزی و افزایش برداشت که می‌تواند موجب افزایش تولید محصول شود (Wardlaw and Willenbrink, 2000). در این راستا شناخت ویژگی‌های مربوط به تحمل گیاه در مقابله با تنش‌ها و نیز افزایش عملکرد از اهمیت ویژه‌ای برای اصلاح و معرفی ارقام پر محصول و متحمل به تنش برخوردار است. لذا شناسایی ژن‌های درگیر در عملکرد و در پاسخ به تنش‌های زیستی و غیر زیستی از چالش‌های عمده در تحقیقات بیولوژی مولکولی می‌باشد.

کربوهیدرات‌ها در برگ‌ها و اندام‌های سبز گیاهان و طی فتوسنتز تولید شده و از طریق آوند آبکشی به سایر اندام‌ها نظیر گل، میوه، ریشه و بذر انتقال یافته و نیازهای انرژی و کربن را برای این اندام‌ها تأمین می‌کنند (Juárez-Colunga et al., 2018). ساکارز منبع اصلی کربن در گیاهان است، لذا سنتز، انتقال، ذخیره و تجزیه ساکارز فاکتور تعیین کننده برای تولید بیوماس و محصول گیاه است (Braun et al., 2013). در سال‌های اخیر توجه به قندها و کربوهیدرات‌ها به‌عنوان ترکیبات بالقوه برای افزایش تحمل گیاهان به تنش‌ها افزایش یافته است. مطالعات نشان داده است که ساکارز در بسیاری از فرآیندهای بیولوژیکی گیاهان نظیر تقسیم سلولی، نمو میوه، جوانه‌زنی، القاء گلدهی، بیوسنتز آنتوسیانین، بیوسنتز نشاسته و پاسخ به تنش‌ها نقش دارد. لذا مطالعه متابولیسم ساکارز برای درک جنبه‌های مختلف آن در فیزیولوژی گیاه و استفاده از آن برای افزایش تولید دارای اهمیت است (Islam et al.,

2018; Abdullah et al., 2014). مسیر متابولیسم ساکارز به اختصار این گونه است که تری‌بوز فسفات تولیدشده از طریق چرخه کلونین به سیتوزول منتقل شده و به فروکتوز 6- فسفات تبدیل می‌شود. این ترکیب از طریق فعالیت آنزیم‌های فسفوجلوکو ایزومراز و فسفو گلوکو موتاز، ابتدا به گلوز 6- فسفات و به دنبال آن به گلوز 1- فسفات تبدیل می‌شود. آنزیم UDP- گلوز پیروفسفو فسفریلاز (UDPGP) تبدیل گلوز 1- فسفات به UDP- گلوز را کاتالیز می‌کند. ترکیب تولید شده از طریق فعالیت آنزیم ساکارز فسفات سینتاز (SPS) به ساکارز 6- فسفات تبدیل می‌شود. در نهایت ساکارز 6- فسفات با فعالیت آنزیم ساکارز فسفات فسفاتاز (SPP) به ساکارز تبدیل می‌شود (Jiang et al., 2015).

استفاده کارآمد از این ساکارز تولید شده به‌عنوان منبع اصلی کربن و انرژی به توانایی تجزیه آن به فروکتوز و گلوز بستگی دارد. این فرآیند با فعالیت دو آنزیم کلیدی ساکارز سینتاز (SUS: EC 2.4.1.13) و اینورتاز (INV: EC 3.2.1.26) انجام می‌شود (Koch, 2004). آنزیم اینورتاز موجب تجزیه ساکارز به گلوز و فروکتوز می‌شود. ساکارز سینتاز به صورت برگشت پذیر و در حضور یوریدین دی فسفات (UDP)، ساکارز را به فروکتوز و UDP- گلوز تبدیل می‌کند (Su et al., 2018). SUS به‌عنوان تسهیل کننده ورود کربن به مسیرهای متابولیسمی در سلول‌های غیر فتوسنتز کننده گیاه عمل کرده و در تخصیص ساکارز در کارکردهای ساختاری، ذخیره‌ای و یا مسیرهای متابولیسمی نقش دارد (Xu et al., 2019). به‌عنوان نمونه مهمترین کربوهیدرات‌های ذخیره‌ای گیاه نشاسته می‌باشد که تولید آن هم از نظر عملکرد و هم برای کیفیت کلی دانه بسیار مهم است. نشاسته 70 درصد وزن خشک دانه را تشکیل داده و به صورت مستقیم بر کیفیت آرد و محصولات وابسته به آن تأثیرگذار است. همچنین نشاسته به‌عنوان یک مولکول کلیدی در پاسخ گیاه به

ژن‌های *SUS9* و *SUS7* محدود به غنچه گل و کاسبرگ می‌باشد علاوه بر این *SUS1* و *SUS2* در پاسخ به تنش خشکی القا می‌شوند ولی بیان ژن *SUS2* علاوه بر خشکی در پاسخ به تنش سرما نیز افزایش می‌یابد (Wang et al., 2015). فرایان ژن ساکارز سینتاز سیب زمینی در پنبه موجب افزایش رشد برگ، نمو بذر و طول شدن فیبر می‌شود (Xu et al., 2012). همچنین فرایان ژن *SUS4* سیب زمینی در ذرت موجب افزایش سطح نشاسته و ADP-گلوکز در بذرها می‌شود (Li et al., 2013). با این توضیحات شناسایی و مشخص کردن ویژگی‌های تکاملی، ساختاری و کارکردی ژن‌های کد کننده ساکارز سینتاز اولین قدم در فهم نقش فیزیولوژیکی آن‌ها و استفاده در برنامه‌های اصلاحی مدرن با هدف تولید گیاهان متحمل به تنش و پرمحصول می‌باشد. گندم نان (*Triticum aestivum* L.) به‌عنوان یکی از مهم‌ترین محصولات زراعی از لحاظ سطح زیر کشت و میزان تولید در جهان است و نقش مهمی در تأمین نیاز غذایی جوامع بشری دارد (Royo et al., 2004). گندم تأمین کننده 21 درصد کالری و 20 درصد پروتئین غذایی مورد نیاز بیش از 4.5 میلیارد نفر در 94 کشور جهان است (Braun et al., 2010). توالی یابی ژنوم گندم (Appels et al., 2018) این فرصت را در اختیار محققان قرار داده است که بتوانند با استفاده از این داده‌ها ژن‌های مهم در رشد و نمو این گیاه استراتژیک را شناسایی و مورد مطالعه قرار داده و ژن‌های موثر در افزایش عملکرد و مقاومت گندم به تنش‌های زیستی و غیر زیستی را شناسایی کنند. این مطالعه با هدف شناسایی خانواده ژنی *SUS*، گندم انجام و در طی آن ویژگی‌های فیزیوشیمیایی، روابط تکاملی، ساختار اگزون-اینترونی، موتیف‌های حفاظت‌شده، عناصر سیس ناحیه پروموتری، miRNAهای درگیر در تنظیم بیان ژن و بیان دیجیتال اعضای این خانواده ژنی براساس ابزارها و

تنش‌هایی مانند خشکی، شوری و دمای بالا شناخته می‌شود. در شرایط تنش نشاسته ذخیره شده انرژی و کربن مورد نیاز گیاه را تأمین می‌کند. واکنش هیدرولازی ساکارز سینتاز اولین مرحله تبدیل ساکارز به نشاسته می‌باشد (Volpicella et al., 2016; Thalmann and Santelia, 2017).

از نظر ساختاری *SUS* دارای چهار زیر واحد است که وزن مولکولی آن 83 تا 100 کیلودالتون می‌باشد. مونومر این آنزیم دارای دو دمین کارکردی است. دمین ساکارز سینتاز با طول 500 اسید آمینه و دمین گلیکوزیل ترانسفراز که از حدود 250 اسید آمینه تشکیل شده است (Granot and Stein, 2019). مشخص شده است که محل فعالیت این آنزیم در سیتوپلاسم می‌باشد و نوع فعالیت آن تحت شرایط pH می‌باشد به طوری که pH بهینه آن برای سنتز ساکارز بین 7/5 تا 9/5 است. اما برای تجزیه ساکارز به pH در محدوده 5/5 تا 7/5 نیاز دارد (Schmölzer et al., 2016).

مطالعات نشان داده است که ایزوزیم‌های *SUS* به‌وسیله یک خانواده ژنی چند عضوی کد می‌شوند. با کامل شدن توالی ژنوم گیاهان مشخص شده است که آرآبیدوپسس 6 ژن، برنج 7 ژن، ذرت 5 ژن، انگور 5 ژن، سویا 12 ژن و سیب 11 ژن *SUS* دارند (Tong et al., 2018; Xu et al., 2019). مطالعه روابط تکاملی خانواده ژنی *SUS* در گیاهان نشان داده است که این خانواده به سه گروه اصلی *SUSI*، *SUSII* و *SUSIII* تقسیم می‌شوند که در هر گروه ژن‌های *SUS* تک‌لپه و *SUS* دولپه به صورت مجزا در زیرگروه اختصاصی خود قرار می‌گیرند (Granot and Stein, 2019). اعضای این خانواده ژنی در تمامی گونه‌های گیاهی دارای تنوع کارکردی بوده و به شکل متفاوتی در طی نمو گیاه بیان می‌شوند. برای مثال ژن‌های *SUS2* و *SUS3* توتون در تمامی بافت‌های گیاه بیان می‌شوند اما بیان

روش‌های بیوانفورماتیکی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

شناسایی ژن‌های ساکارز سینتاز گندم

توالی پروتئینی ساکارز سینتازهای برنج (Hirose *et al.*, 2008) از پایگاه داده RGAP (Kawahara *et al.*, 2013) و آراییدوپسیس (Bieniawska *et al.*, 2007) از پایگاه داده Tair10 (Lamesch *et al.*, 2012) به‌عنوان توالی اولیه با روش BlastP (2012) به‌عنوان توالی اولیه با روش BlastP (2012) برای شناسایی پروتئین‌های هومولوگ در بانک اطلاعاتی اختصاصی ژنوم گندم در پایگاه داده Ensembl Plants استفاده شد (Bolser *et al.*, 2016). پس از دریافت تمام توالی‌ها، توالی‌های تکراری حذف شده و وجود دومین‌های ساکارز سینتاز (PF00534, Glycos_transf_1) و گلیکوزیل ترانسفراز (Sucrose_synthPF00862) با استفاده از پایگاه داده Pfam تأیید شد (El-Gebali *et al.*, 2019). ویژگی‌های عمومی پروتئین‌های ساکارز سینتاز مانند وزن مولکولی، نقطه ایزوالکتریک، و طول پروتئین با استفاده از ابزار ProtParam سرور Expasy دریافت (Artimo *et al.*, 2012) و جایگاه فعالیت آنزیم‌ها در سلول با استفاده از سرور CELLO مشخص شد (Yu *et al.*, 2006).

رسم درخت فیلوژنتیکی

در این مطالعه هم‌مدیف‌سازی طول کامل پروتئین‌ها با استفاده از نرم‌افزار ClustalX انجام شد (Larkin *et al.*, 2007). در مرحله بعد نتیجه الاینمنت در فرمت fasta برای رسم درخت فیلوژنتیکی به نرم‌افزار MEGA7 ارائه شد (Kumar *et al.*, 2016). رسم درخت فیلوژنتیکی براساس الگوریتم نزدیک‌ترین همسایه‌ها (NJ) انجام و از آزمون Bootstrap با هزار تکرار برای ارزیابی صحت درخت رسم شده استفاده شد.

ساختار ژنی و موتیف‌های حفاظت‌شده

ساختار ژنی (تعداد و طول اگزون/اینترون) خانواده

ژنی ساکارز سینتاز گندم با استفاده از سایت GS2.0 به صورت گرافیکی بررسی شد (Hu *et al.*, 2015). موتیف‌های حفاظت‌شده در خانواده ژنی ساکارز سینتاز با استفاده از سرور MEME براساس پارامترهای پیش‌فرض ارزیابی شد. پارامترها شامل تعداد موتیف شناسایی‌شده حداکثر 10 عدد، طول حداقل و حداکثر موتیف‌های شناسایی شده 6 و 50 اسید آمینه می‌باشد (Bailey *et al.*, 2015).

آنالیز پروموتور و شناسایی miRNAهای درگیر با ژن‌های ساکارز سینتاز

ناحیه 1500 جفت باز بالا دست کدون شروع ژن‌های ساکارز سینتاز گندم به‌عنوان ناحیه پروموتوری با هدف شناسایی Cis element های در PlantCare مورد ارزیابی قرار گرفت (Lescot *et al.*, 2002). پیش‌بینی miRNAهایی که در تنظیم بیان ژن‌های ساکارز سینتاز گندم نقش دارند با استفاده از سرور psRNATarget و امتیاز مورد انتظار (Expectation) بالای چهار انجام شد (Dai *et al.*, 2018).

بیان دیجیتالی ژن‌های ساکارز سینتاز در مراحل نمو و تنش‌های غیر زیستی

بررسی پروفایل بیانی ژن‌های ساکارز سینتاز گندم در بافت‌های مختلف با استفاده از داده‌های RNA-seq پایگاه داده expVIP انجام شد. داده‌ها به‌صورت لگاریتم بر مبنای دو TPM (رونوشت در هر میلیون) مربوط به بافت‌های ریشه (R) در مراحل گیاهچه‌ای (S)، رویشی (V) و زایشی (R)، ساقه/برگ (L/Sh) در مراحل گیاهچه‌ای (S)، رویشی (V) و زایشی (R)، خوشه در مراحل رویشی (V) و زایشی (R) و بذر در مرحله زایشی (R) و همچنین تنش‌های سرما، خشکی، گرما و خشکی/گرما می‌باشد (Borrill *et al.*, 2016). رسم نقشه حرارتی با استفاده از بسته gplots نرم‌افزار R انجام شد.

معنی‌داری بین تعداد اعضای خانواده ژنی ساکارز سینتاز و اندازه ژنوم وجود ندارد زیرا براساس اطلاعات پایگاه داده phytozome و Ensembl Plants اندازه ژنوم آرآبیدوپسیس، برنج، گلایبی، هلو و انگور به ترتیب 152، 372، 512، 225 و 450 مگاجفت‌باز و بسیار کوچک‌تر از اندازه ژنوم توتون و گندم می‌باشد که به ترتیب 4/5 و 15 گیگاجفت‌باز می‌باشد (Bolser et al., 2012; Goodstein et al., 2016). با این حال تعداد ژن‌های ساکارز سینتاز در گلایبی بیشتر از گندم و توتون است. همچنین اندازه ژنوم انگور سه برابر ژنوم آرآبیدوپسیس است اما تعداد اعضای خانواده ژنی در هر دو گیاه تفاوت زیادی باهم ندارند.

اطلاعات مربوط به جایگاه فیزیکی این ژن‌ها از پایگاه داده Ensembl Plants دریافت و مشخص شد که این ژن‌ها به صورت غیریکنواخت در ژنوم گندم پخش شده‌اند. کروموزوم‌های 7A، 4A و 7D دارای دارای سه ژن، کروموزوم‌های 2A، 2B و 7B دارای دو ژن و کروموزوم‌های 4B، 6B، 4D و 6D دارای یک ژن ساکارز سینتاز می‌باشند. همچنین یک ژن روی اسکافولد قرار دارد (جدول 1).

نتایج و بحث

خانواده ژنی ساکارز سینتاز گندم

به منظور شناسایی ژن‌های ساکارز سینتاز در ژنوم گندم؛ توالی پروتئینی مربوط به این آنزیم برای آرآبیدوپسیس (Hirose et al., 2007) و برنج (Bieniawska et al., 2008) که قبلاً شناسایی شده بودند از پایگاه داده‌های اختصاصی آن‌ها دریافت و سپس با استفاده از الگوریتم BlastP در ژنوم گندم، اعضای خانواده ژنی ساکارز سینتاز گندم شناسایی شدند. نتیجه نهایی این جستجو پس از حذف توالی‌های تکراری و تأیید وجود 22 ژن دمین‌های اختصاصی این خانواده شناسایی 22 ژن کدکننده ساکارز سینتاز می‌باشد. بر این اساس تعداد ژن‌های خانواده ساکارز سینتاز گندم بیشتر از تعداد ژن‌های این خانواده ژنی در آرآبیدوپسیس (6 عضو) (Bieniawska et al., 2007)، برنج (7 عضو) (Hirose et al., 2008)، انگور (7 عضو) (Zhu et al., 2017)، توتون (14 عضو) (Wang et al., 2015) و هلو (6 عضو) (Zhang et al., 2015) و کمتر از گلایبی (30 عضو) (Abdullah et al., 2018) می‌باشد. بر این اساس به نظر می‌رسد که رابطه

جدول 1. مشخصات عمومی ژن‌های ساکارز سینتاز گندم

نام ژن	مشخصات عمومی	مشخصات فیزیکی					جایگاه سلولی	
		شماره لوکوس	کروموزوم	شروع ژن	پایان ژن	طول پروتئین		
TaSuS1	TraesCS2A02G168200	2A	121141338	121145857	831	94.42	6.23	سیتوپلاسمی
TaSuS2	TraesCS2A02G406700	2A	662338440	662342920	864	98.82	8.47	سیتوپلاسمی
TaSuS3	TraesCS4A02G140000	4A	213024884	213036054	809	92.3	6.26	سیتوپلاسمی
TaSuS4	TraesCS4A02G446700	4A	714175903	714181005	815	92.63	5.9	سیتوپلاسمی
TaSuS5	TraesCS4A02G492600	4A	741545979	741549092	560	63.61	6.02	سیتوپلاسمی
TaSuS6	TraesCS7A02G040900	7A	19002179	19007777	815	92.63	5.9	سیتوپلاسمی
TaSuS7	TraesCS7A02G158900	7A	115203634	115208689	808	92.41	5.72	سیتوپلاسمی
TaSuS8	TraesCS7B02G557600	7A	730425419	730429850	861	98.44	8.55	سیتوپلاسمی
TaSuS9	TraesCS2B02G194200	2B	171030105	171036053	831	94.37	6.15	سیتوپلاسمی
TaSuS10	TraesCS2B02G424300	2B	610415870	610420284	864	98.83	8.55	سیتوپلاسمی
TaSuS11	TraesCS4B02G167500	4B	364656435	364682505	809	92.22	6.2	سیتوپلاسمی
TaSuS12	TraesCS6B02G466600	6B	716618123	716622318	868	98.36	6.39	سیتوپلاسمی
TaSuS13	TraesCS7B02G063400	7B	68344037	68349270	826	94.73	6.06	سیتوپلاسمی
TaSuS14	TraesCS7B02G482200	7B	740032525	740041980	861	98.52	8.69	سیتوپلاسمی
TaSuS15	TraesCS2D02G175600	2D	119066592	119072213	832	94.51	6.06	سیتوپلاسمی
TaSuS16	TraesCS2D02G403600	2D	518265279	518269636	866	99.04	8.47	سیتوپلاسمی
TaSuS17	TraesCS4D02G169800	4D	295013101	295026519	809	92.27	6.15	سیتوپلاسمی
TaSuS18	TraesCS6D02G403800	6D	471917727	471921914	867	98.3	6.31	سیتوپلاسمی
TaSuS19	TraesCS7D02G036600	7D	18678820	18684207	815	92.67	5.85	سیتوپلاسمی
TaSuS20	TraesCS7D02G159800	7D	109170863	109176000	826	94.76	6.02	سیتوپلاسمی
TaSuS21	TraesCS7D02G552800	7D	635584924	635589335	861	98.47	8.55	سیتوپلاسمی
TaSuS22	TraesCSU02G082000	Un	74817236	74821587	868	98.64	6.43	سیتوپلاسمی

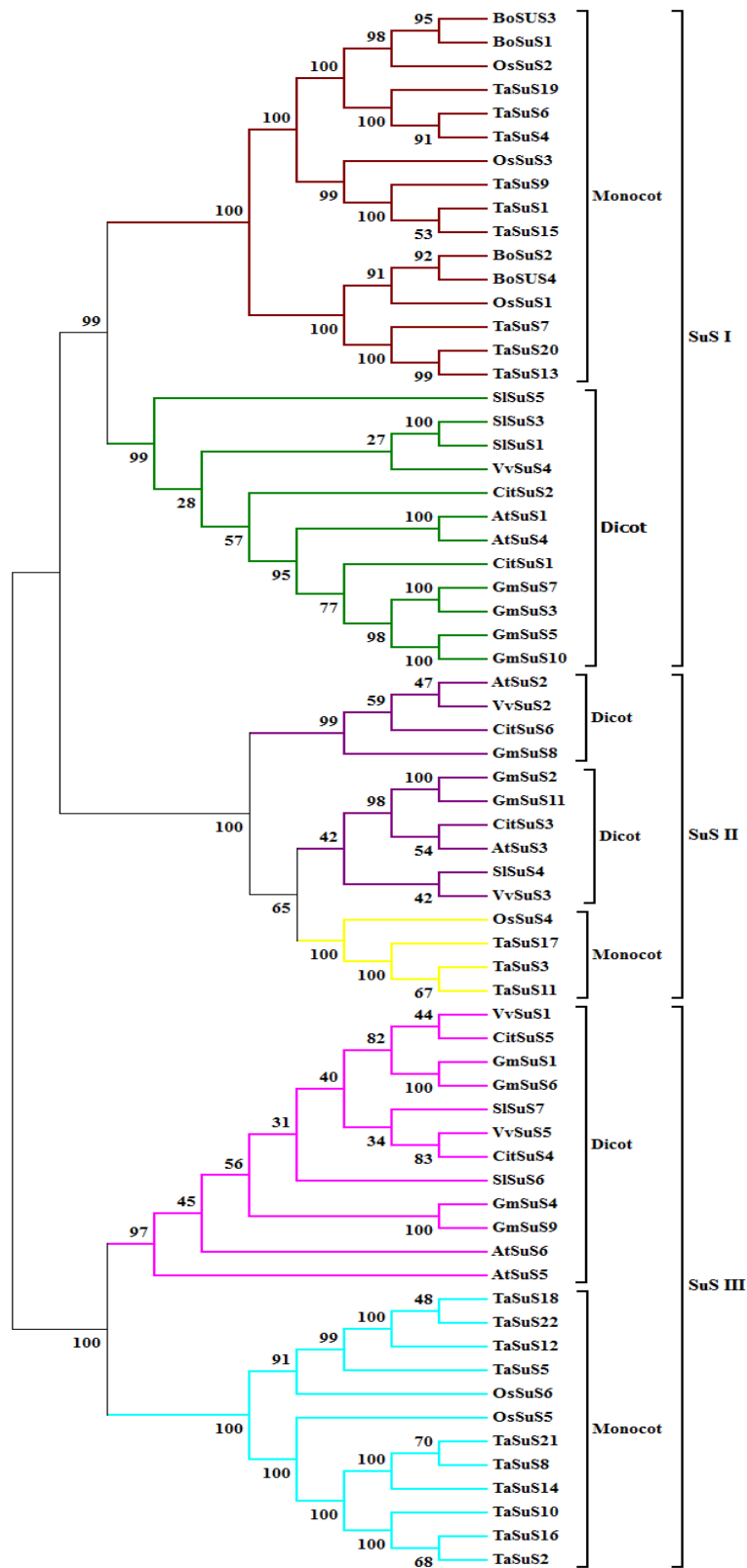
دارند و بر این اساس زیرگروه I شامل 9 ژن *TaSUS19*، *TaSUS6*، *TaSUS4*، *TaSUS9*، *TaSUS1*، *TaSUS15*، *TaSUS7*، *TaSUS20* و *TaSUS13* می‌باشد. در زیرگروه II ژن‌های *TaSUS17*، *TaSUS3* و *TaSUS13* و در گروه III ژن‌های *TaSUS18*، *TaSUS22*، *TaSUS12*، *TaSUS21*، *TaSUS5*، *TaSUS8*، *TaSUS14*، *TaSUS10*، *TaSUS16* و *TaSUS2* قرار دارند (شکل 1). قرار گیری ژن‌های *TaSUS* در این سه گروه با فراوانی متفاوت می‌تواند نشان‌دهنده مسیر تکاملی متفاوت هر یک از این ژن‌ها در گندم باشد.

ساختار اگزون-اینترونی و موتیف‌های حفاظت شده
ساختارهای اگزون اینترونی اطلاعات با ارزشی در مورد مسیر تکاملی خانواده ژنی ارائه می‌دهند (Liu *et al.*, 2014). آنالیز ساختار اگزون-اینترونی ژن‌های SUS گندم براساس مقایسه طول کامل CDS و DNA ژنومی در سرور GSDS نشان داد که بیشترین طول ژن به ترتیب مربوط به ژن *TaSUS11* (26 کیلو جفت باز)، *TaSUS17* (13 کیلو جفت باز) و *TaSUS3* (12 کیلو جفت باز) می‌باشد. همچنین تعداد اگزون‌های این ژن‌ها بین 14 تا 17 عدد متغیر می‌باشد (شکل 2). ژن *TaSUS5* دارای نه اگزون می‌باشد که با توجه به طول کوتاه پلی‌پپتیدی آن (540 اسید آمینه) نسبت به سایر ژن‌های *TaSUS* می‌توان گفت که بخشی از این ژن در طی تکامل این خانواده ژنی حذف شده است، زیرا عموماً ژن‌های هر زیرگروه درخت فیلوژنتیکی دارای تعداد اگزون مشابه هستند (شکل 2). مطالعات نشان داده است که حذف اینترون راحت‌تر از دریافت آن در طی تکامل می‌باشد، لذا می‌توان فرض کرد که تفاوت اندک مشاهده شده در تعداد اینترون‌های هر زیرگروه می‌تواند به دلیل حذف برخی از اینترون‌ها در طی تکامل ژن‌های *TaSUS* باشد (Roy and Gilbert, 2006).

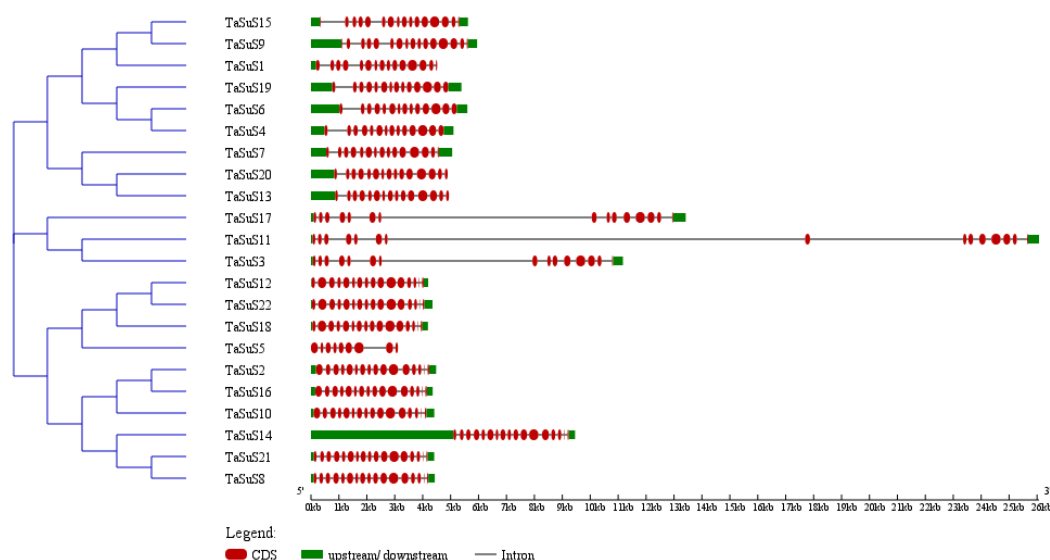
ژن‌های ساکارز سینتاز گندم براساس جایگاه کروموزومی از 1 تا 22 نامگذاری شدند. در تمام این ژن‌ها دمین‌های کارکردی ساکارز سینتاز و گلیکوزیل ترانسفراز وجود دارد. این دودمین ویژگی اختصاصی خانواده ژنی SUS می‌باشد. آنالیز مولکولی طول کامل پلی‌پپتیدهای *TaSUS* نشان داد که طول آن‌ها از 560 اسید آمینه در *TaSUS5* تا 868 اسید آمینه در *TaSUS12* و *TaSUS22* می‌باشد. وزن مولکولی اعضاء این خانواده در دامنه 63/62 تا 99/04 کیلودالتون و نقطه ایزوالکتریک در دامنه 5/72 تا 8/69 می‌باشد. پیش‌بینی جایگاه فعالیت این ژن‌ها نشان داد که تمامی آن‌ها در سیتوپلاسم فعالیت دارند (جدول 1).

روابط تکاملی ژن‌های SUS گندم

برای مطالعه روابط فیلوژنتیکی و تکاملی خانواده *TaSUS* و سایر گیاهان، درخت فیلوژنتیکی بر مبنای هم‌ردیف سازی طول کامل پروتئین‌های ساکارز سینتاز گندم و هفت گیاه دیگر شامل 33 توالی گیاهان تک‌لپه و 33 توالی مربوط به گیاهان دولپه رسم شد. براساس تائیدیه آماری قوی (بوت استراپ 1000)، 66 ژن ساکارز سینتاز گیاهان تک‌لپه و دولپه در سه گروه I، II و III قرار گرفتند (شکل 1). نگاه دقیق‌تر به درخت فیلوژنتیکی نشان داد که گروه‌های I و III هر کدام به دو زیرگروه اختصاصی دولپه‌ای و تک‌لپه‌ای تقسیم شده‌اند. همچنین ژن‌ها در گروه II به دو زیرگروه دو لپه‌ای و یک زیرگروه تک‌لپه‌ای قرار گرفته‌اند. لذا براساس این نتایج به نظر می‌رسد مضاعف‌شدگی که موجب افزایش تعداد اعضای این خانواده ژنی شده است قبل از انشقاق تک‌لپه‌ای‌ها و دولپه‌ای‌ها حادث شده است. نتایج بررسی تکاملی خانواده ژنی ساکارز سینتاز در هلو و سیروس نیز نتایج مشابهی را نشان داده است (Abdullah *et al.*, 2014; Islam *et al.*, 2018). 22 ژن *SUS* گندم در این سه گروه در کنار سایر ژن‌های *SUS* تک‌لپه قرار



شکل 1. درخت فیلوژنتیکی خانواده ژنی *TaSuS* همراه با توالی ژن‌های *SUS* آرکیدوپسیس، برنج، سویا، گوجه فرنگی، انگور و بامبو (*Bambusa oldhamii*) که به سه گروه اصلی *SUS*I، *SUS*II و *SUS*III تقسیم شدند. الاینمنت توالی‌ها براساس طول کامل پروتئین انجام و رسم درخت به‌وسیله نرم‌افزار MEGA7 انجام شد. برای تأیید صحت درخت رسم‌شده از آزمون بوت‌استرپ با هزار تکرار استفاده شد.



شکل 2. ساختار ژنی خانواده *TaSUS* و روابط فیلوژنی آن‌ها. اگزون، اینترون و نواحی UTR به ترتیب با رنگ‌های قرمز، خاکستری و سبز نشان داده شده‌اند.

عناصر تنظیمی ناحیه پروموتری و miRNAهای واکنش‌گر نسبت به ژن‌های *TaSUS*

عناصر تنظیم‌کننده سیس برای کنترل بیان ژن‌ها در مراحل رشد و نمو گیاه و نیز پاسخ به تنش‌ها ضروری هستند. به‌منظور پیش‌بینی کارکردهای بیولوژیکی که ژن‌های *TaSUS* در آن می‌توانند نقش داشته باشند و نیز نوع تنظیم بیان آن‌ها 1500 جفت باز بالا دست کدون شروع با استفاده از سرور PlantCare ارزیابی شدند. بر این اساس 30 نوع عنصر تنظیمی سیس با فراوانی کلی 364 عدد که در پاسخ به هورمون‌ها (15 نوع)، تنش (9 نوع) و نیز مراحل نمو (6 نوع) نقش دارند در پروموتور ژن‌های *TaSUS* شناسایی شد (شکل 4، جدول 3). از عناصر تنظیمی پاسخ به هورمون‌ها، عناصر ABRE، CGTCA-motif و TGACG بیشترین فراوانی را دارا می‌باشند و به ترتیب در پروموتور 18 ژن با فراوانی 42 عدد، 17 ژن با فراوانی 39 عدد و 17 ژن با فراوانی 39 شناسایی شدند. سیس المنت‌های STRE در پروموتور 19 ژن با فراوانی 58 عدد، ARE در پروموتور 18 ژن با فراوانی 29 عدد و WRE3 در پروموتور 19 ژن با فراوانی 29 عدد شناسایی شدند که

با استفاده از سرور برخط MEME 10 موتیف حفاظت‌شده شناسایی شد. بررسی کارکردی این موتیف‌ها در سرور Pfam مشخص کرد که موتیف یک مربوط به گلیکوزیل ترانسفراز و موتیف‌های 2، 3، 5، 6، 8، 9 و 10 مربوط به ساکارز سینتاز می‌باشند. برای دو موتیف 4 و 7 کارکردی شناسایی نشد (جدول 2).

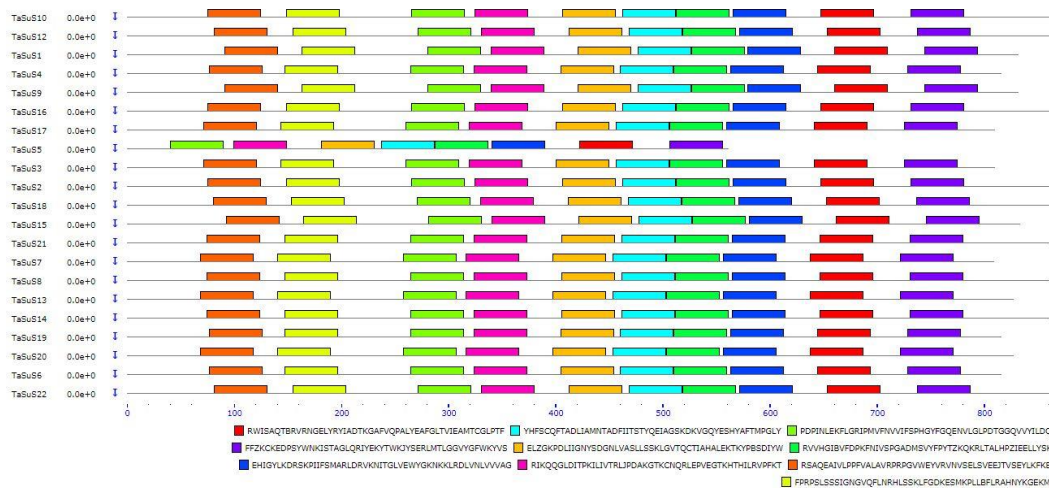
تمامی پروتئین‌های *TaSUS* به‌جز *TaSUS5* دارای هر 10 موتیف شناسایی‌شده هستند. موتیف‌های 9 و 10 در توالی پروتئین *TaSUS5* شناسایی نشد (شکل 3). همان‌گونه که نتایج ساختار اگزون-اینترون نشان داد این ژن کمترین تعداد اگزون و کمترین طول پروتئین را دارا می‌باشد. لذا نتایج آنالیز MEME تأییدکننده نتایج آنالیزهای پیشین بوده و نشان می‌دهد که اگزون‌های حذف‌شده این ژن مربوط به موتیف‌های 9 و 10 هستند که کارکرد ساکارز سینتازی داشته و لذا مکانیسم فعالیت این ژن با سایر ژن‌های این خانواده می‌تواند متفاوت باشد که نیاز به مطالعات بیشتر دارد. در حالت کلی ترکیب موتیف‌های شناسایی‌شده و نیز ترتیب آن‌ها (1, 4, 7, 6, 5, 2, 8, 3, 10, 9) در تمامی ژن‌های *TaSUS* مشابه می‌باشد (شکل 3).

TaSUS19، *TaSUS20* و *TaSUS22* می‌باشد که بیش از 20 سیس المنت دارند (شکل 4). وجود سیس المنت‌های با کارکرد و فراوانی متفاوت در پروموتور ژن‌های *TaSUS* دلالت بر تنوع کارکردی و پیچیدگی تنظیم بیان این ژن‌ها دارد.

بیشترین حضور و فراوانی مربوط به سیس المنت‌های پاسخ به تنش‌ها می‌باشد (شکل 4). در بین ژن‌های *TaSUS*، بیشترین فراوانی سیس المنت‌های شناسایی شده مربوط به پروموتور ژن‌های *TaSUS6*، *TaSUS8*، *TaSUS12*، *TaSUS13* و *TaSUS16* است.

جدول 2. توالی و کارکرد موتیف‌های حفاظت شده در پروتئین‌های *TaSUS*

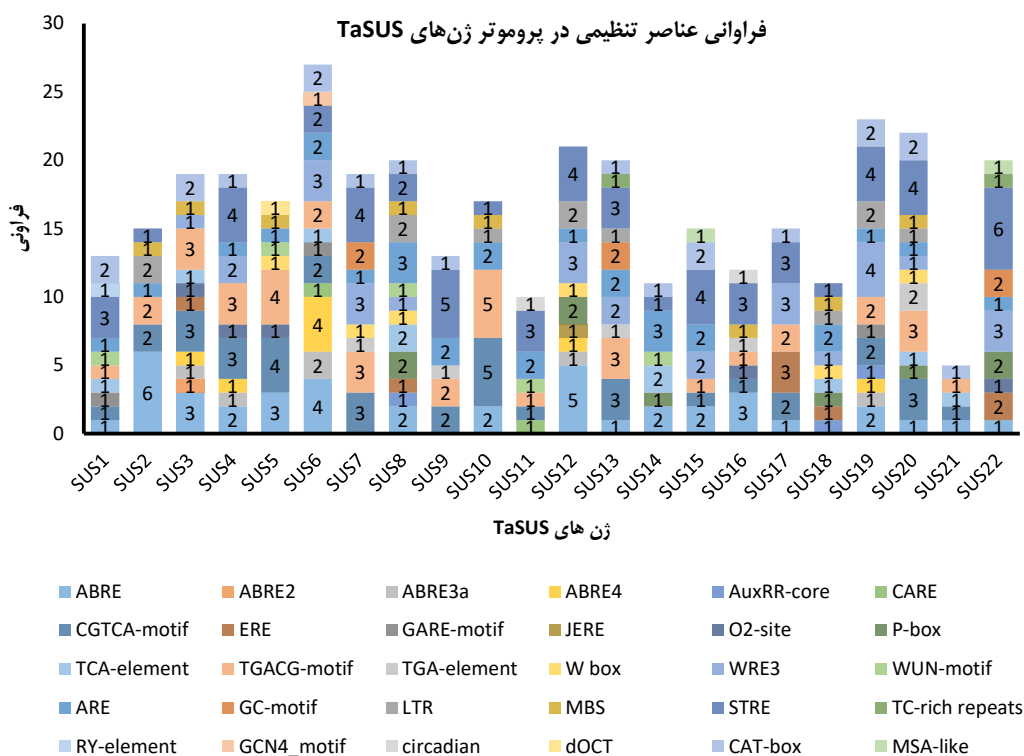
موتیف	E-value	فراوانی	طول	توالی	کارکرد موتیف
MEME1	2.3e-988	22	50	RWISAQTBVRVNGELYRYIADTKGAFVQPALYEAFLTVIEAMTCGLPTF	Glycosyl transferases group 1
MEME2	2.8e-975	22	50	YHFSCQFTADLIAMNTADFIITSTYQEIAGSKDKVQYESHYAFTMPGLY	Sucrose synthase
MEME3	1.9e-882	22	50	PDPINLEKFLGRIPMVFNVVIFSPHGFYQENVLGLPDTGGQVVYILDQV	Sucrose synthase
MEME4	1.6e-876	22	50	FFZKCKEDPSYWNKISTAGLQRIYEKYTWKJYSERLMTLGGVYGFWYKVV	Sucrose synthase
MEME5	3.7e-867	22	50	ELZGKPDLIIGNYSDGNLVA SLLSSKLGVTQCTIAHALEKTKYPBSDIYW	Sucrose synthase
MEME6	7.3e-833	22	50	RVVHGIBVDFDPKFNIVSPGADMSVYFPYTZKQKRLTALHPZIEELLSYKE	Sucrose synthase
MEME7	5.7e-823	22	50	EHIGYLKDRSKPIIFSMARLDRVKNITGLVEWYGNKCLRDLVNLVVVAG	Sucrose synthase
MEME8	2.7e-812	22	50	RIKQQGLDITPKLIVTRLJPDAGTKCNQRLEPVEGTHKHTHLRVPFKT	Sucrose synthase
MEME9	1.0e-736	21	50	RSQAQEAIVLPPFVALAVRPRPGVWEYVRVNVSELSVEEITVSEYLKFKQEQ	Sucrose synthase
MEME10	5.3e-726	21	50	FPRPSSSSIGNGVQFLNRHLSSKLFQDKESMKPLLBFLRAHNYKGEKMM	Sucrose synthase



شکل 3. موتیف‌های حفاظت شده در خانواده ژنی *TaSUS*. مشخصات موتیف‌های شناسایی شده در جدول 2 ارائه شده است.

جدول 3. کارکرد عناصر تنظیمی شناسایی شده در ناحیه پروموتوری ژن‌های *TaSUS*

عناصر تنظیمی	کارکرد	عناصر تنظیمی	کارکرد
ABRE	عناصر تنظیمی پاسخ به آبسازیک اسید	W box	عناصر تنظیمی پاسخ به الیستور
ABRE2	عناصر تنظیمی پاسخ به آبسازیک اسید	WRE3	عناصر تنظیمی پاسخ به الیستور
ABRE3a	عناصر تنظیمی پاسخ به آبسازیک اسید	WUN-motif	عناصر تنظیمی پاسخ به الیستور
ABRE4	عناصر تنظیمی پاسخ به آبسازیک اسید	ARE	عناصر تنظیمی پاسخ به شرایط بی‌هوایی
AuxRR-core	عناصر تنظیمی پاسخ به اکسین	GC-motif	عناصر تنظیمی پاسخ به انوکریا
CARE	عناصر تنظیمی پاسخ به جبرلین	LTR	عناصر تنظیمی پاسخ به سرما
CGTCA-motif	عناصر تنظیمی پاسخ به متیل جازمونات	MBS	عناصر تنظیمی پاسخ به خشکی
ERE	عناصر تنظیمی پاسخ به اتیلن	STRE	عناصر تنظیمی پاسخ به تنش
GARE-motif	عناصر تنظیمی پاسخ به جبرلین	TC-rich repeats	عناصر تنظیمی پاسخ به تنش
JERE	عناصر تنظیمی پاسخ به جازمونات و الیستور	RY-element	عناصر تنظیمی بیان اختصاصی بذر
O2-site	عناصر تنظیمی بیوسنتز زئین	GCN4_motif	عناصر تنظیمی بیان مرستم
P-box	عناصر تنظیمی پاسخ به جبرلین	circadian	عناصر تنظیمی سیرکادین
TCA-element	عناصر تنظیمی پاسخ به سالیسیک اسید	dOCT	عناصر تنظیمی بیان در مرستم
TGACG-motif	عناصر تنظیمی پاسخ به متیل جازمونات	CAT-box	عناصر تنظیمی بیان در مرستم
TGA-element	عناصر تنظیمی پاسخ به اکسین	MSA-like	عناصر تنظیم کننده چرخه سلولی



شکل 4. فراوانی عناصر تنظیمی در ناحیه پروموتوری (1500 جفت باز بالا دست کدون شروع) ژن‌های *TaSUS* شناسایی شده با سرور PlantCARE

بیان ژن‌های *TaSUS7*، *TaSUS13* و *TaSUS20* از طریق ممانعت از ترجمه می‌باشد. همچنین *tae-miR9657b-3p* و *tae-miR9657c-3p* با ممانعت از ترجمه ژن *TaSUS22* توانایی تنظیم فعالیت آن را دارند (جدول 4). بررسی نقش *miRNA*ها در شرایط مختلف رشدی گیاه در پیش‌بینی نقش ژن‌های هدف مفید باشد. به‌عنوان مثال فرایبان *tae-miR9657b-3p* در برنج موجب کاهش باروری می‌شود لذا ژن‌های هدف این *miRNA* می‌تواند در تنظیم مسیر تولید مثل گیاهان نقش داشته باشد (Wang *et al.*, 2018) لذا می‌توان گفت *TaSUS22* در تولید مثل و محصول گندم نقش دارد. همچنین *tae-miR9677a* از جمله *miRNA*های موثر در پاسخ گندم به فسفر و نیتروژن می‌باشد (Kumar *et al.*, 2018). بر این اساس می‌توان گفت ژن‌های ساکارز سینتاز گندم که هدف این *miRNA* می‌باشند در جذب فسفر و نیتروژن گندم می‌تواند نقش داشته باشند.

*miRNA*ها کلاس خاصی از *RNA*های غیرکدشونده با توالی‌های کوتاه و شدیداً حفاظت‌شده هستند که در تنظیم بیان حدود 30 درصد ژن‌های یوکاریوتی از طریق تخریب *mRNA* و یا سرکوب ترجمه ژن هدف نقش دارند، لذا دارای نقش حیاتی در تنظیم بیان ژن‌ها بعد از رونویسی در طی رشد و نمو گیاه و پاسخ آن به تنش‌ها می‌باشند (Kumar and Biotechnology, 2014). بنابراین شناسایی *miRNA*هایی که در تنظیم ژن‌های *TaSUS* نقش دارند می‌تواند در درک کارکرد آن‌ها مفید باشد. براساس آنالیز انجام‌شده مشخص شد که 16 خانواده *miRNA* توانایی تأثیر و تنظیم بیان پس از رونویسی 21 ژن *TaSUS* را دارند. ژن *TaSUS5* هدف هیچ *miRNA* نیست (جدول 4). بیشتر *miRNA*های شناسایی شده از طریق برش در *mRNA* موجب تنظیم بیان ژن‌های *TaSUS* می‌شوند، با این حال *tae-miR9778* قادر به تنظیم

جدول 4. مشخصات miRNAهای درگیر در تنظیم بیان ژنهای TaSUS

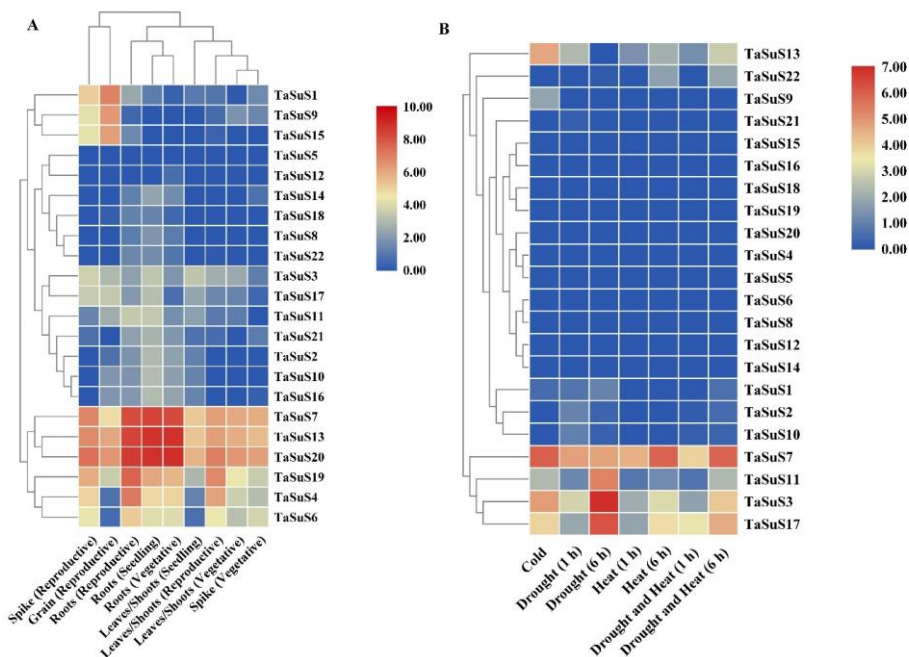
ژن	miRNA	شروع	پایان	یازداندگی	ژن	miRNA	شروع	پایان	یازداندگی
TaSuS1	tae-miR9782	1805	1828	Cleavage	TaSuS12	tae-miR1135	666	689	Cleavage
TaSuS2	tae-miR1127b-3p	818	838	Cleavage	TaSuS12	tae-miR5085	918	937	Cleavage
TaSuS2	tae-miR9677a	1033	1054	Cleavage	TaSuS13	tae-miR9778	2018	2038	Translation
TaSuS3	tae-miR9677b	46	66	Cleavage	TaSuS14	tae-miR1127b-3p	793	813	Cleavage
TaSuS3	tae-miR9665-3p	2557	2579	Cleavage	TaSuS14	tae-miR9677a	46	67	Cleavage
TaSuS3	tae-miR1120b-3p	1334	1354	Cleavage	TaSuS15	tae-miR9782	2125	2148	Cleavage
TaSuS4	tae-miR9677b	1048	1068	Cleavage	TaSuS16	tae-miR1127b-3p	790	810	Cleavage
TaSuS6	tae-miR9677b	1021	1041	Cleavage	TaSuS17	tae-miR9668-5p	2574	2594	Cleavage
TaSuS6	tae-miR9775	1513	1534	Cleavage	TaSuS17	tae-miR1120b-3p	1355	1375	Cleavage
TaSuS7	tae-miR396-5p	1630	1650	Cleavage	TaSuS18	tae-miR5085	941	960	Cleavage
TaSuS7	tae-miR9778	2118	2138	Translation	TaSuS19	tae-miR5062-5p	2584	2606	Cleavage
TaSuS8	tae-miR1127b-3p	733	753	Cleavage	TaSuS19	tae-miR9677b	815	835	Cleavage
TaSuS8	tae-miR9652-5p	1385	1406	Cleavage	TaSuS19	tae-miR9775	1307	1328	Cleavage
TaSuS9	tae-miR9782	2005	2028	Cleavage	TaSuS20	tae-miR9778	1980	2000	Translation
TaSuS9	tae-miR396-5p	1635	1655	Cleavage	TaSuS20	tae-miR396-5p	1492	1512	Cleavage
TaSuS10	tae-miR395a	1934	1954	Cleavage	TaSuS21	tae-miR9677a	950	971	Cleavage
TaSuS10	tae-miR395b	1934	1953	Cleavage	TaSuS22	tae-miR1135	680	703	Cleavage
TaSuS10	tae-miR9677a	947	968	Cleavage	TaSuS22	tae-miR5085	932	951	Cleavage
TaSuS11	tae-miR1120b-3p	1320	1340	Cleavage	TaSuS22	tae-miR9657b-3p	2501	2520	Translation
TaSuS12	tae-miR1122b-3p	2666	2686	Cleavage	TaSuS22	tae-miR9657c-3p	2501	2520	Translation

پروتئین کمتر، تعداد آگرون کمتر و عدم وجود موتیف‌های حفاظت شده 9 و 10، عدم تنظیم بیان پس از رونویسی به وسیله miRNA) لذا می‌توان فرض کرد که در طی تکامل TaSuS5 به ژن کاذب تبدیل شده است. اثبات این نظر نیاز به مطالعه بیشتر دارد. برای سایر ژن‌ها می‌توان گفت که الگوی بیانی موجود ایجاد چهار گروه کلی شده است. گروه اول شامل ژن‌های TaSuS7, TaSuS13, TaSuS20, TaSuS4, TaSuS6 و TaSuS19 است (شکل 5-5-A). بیان ژن‌های این گروه نشان می‌دهد که در هر بافتی و در هر مرحله نمو حداقل یک ژن دارای بیان بالا یا بسیار بالا می‌باشد به ویژه سه ژن TaSuS20, TaSuS13 و TaSuS7 که در تمامی بافت‌ها مخصوصاً ریشه (در هر سه مرحله گیاهچه‌ای، رویشی و زایشی) بیان شده‌اند. به نظر می‌رسد این گروه نقش اصلی در فعالیت ساکارز سینتازی گندم را بر عهده دارند. گروه دوم ژن‌ها شامل ژن‌هایی است که الگوی بیانی بسیار کم تا متوسط داشته و شامل ژن‌های TaSuS16, TaSuS10, TaSuS2, TaSuS21, TaSuS11, TaSuS3 و TaSuS17 می‌باشد. گروه سوم ژن‌هایی هستند که بیان بسیار کم تا کم داشته و شامل ژن‌های TaSuS8, TaSuS22, TaSuS18, TaSuS14, TaSuS5 و TaSuS12 می‌باشد (شکل 5-A).

با توجه به نتایج درخت فیلوژنتیکی می‌توان گفت که miRNAهای شناسایی شده ژن‌های TaSUS مربوط به همه زیرگروه‌ها را هدف قرار می‌دهند لذا می‌توان گفت که این miRNA توانایی بالایی در تنظیم کارکرد اختصاصی این ژن‌ها در شرایط مختلف را دارا می‌باشند (Faraji et al., 2018).

بیان ژن‌های TaSUS در مراحل نمو و تنش‌های غیر زیستی

الگوی بیانی اعضای خانواده ژنی در پیش‌بینی نقش بیولوژیک آن‌ها می‌تواند مفید باشد. لذا برای بررسی و پیش‌بینی نقش ژن‌های TaSUS شناسایی شده از پروفایل بیان دیجیتالی گندم استفاده شد. به منظور تسهیل در تفسیر نتایج بیان ژن‌های TaSUS، فرض گرفته شد در صورتی که TPM برابر صفر باشد بیان ژن غیر قابل تشخیص است. همچنین TPM بین صفر و دو برای بیان کم، بین دو و چهار برای بیان متوسط، بین چهار و شش برای بیان بالا و بالای شش برای بیان بسیار بالا در نظر گرفته شد (Zhao et al., 2019). بر این اساس برای ژن TaSUS5 بیانی مشاهده نشد (شکل 5-A). با توجه به این که این ژن از نظر ساختار ژنی و ترکیب موتیف‌های حفاظت شده نیز نسبت به سایر ژن‌های TaSUS متفاوت است (طول



شکل 5. پروفایل بیانی ژن‌های *TaSUS* در بافت‌ها و مراحل نمو (A) و تنش‌های غیر زیستی (B) مختلف براساس داده‌های *RNA-seq*. داده‌ها به صورت لگاریتم بر مبنای دو TPM (رونوشت در هر میلیون) مربوط به بافت‌های ریشه (R) در مراحل گیاهچه‌ای (S)، رویشی (V) و زایشی (R)، ساقه/برگ (L/Sh) در مراحل گیاهچه‌ای (S)، رویشی (V) و زایشی (R)، خوشه در مراحل رویشی (V) و زایشی (R)، بذر در مرحله زایشی (R) و تنش‌های غیر زیستی شامل سرما، خشکی، گرما، خشکی/گرما می‌باشد

اختصاصی یک بافت خاص نیست (Xu *et al.*, 2019). نتایج بررسی پروفایل بیانی ژن‌های *TaSUS* نیز نشان داد که بیشترین بیان در مراحل نمو و بافت‌ها مربوط به دو گروه بیانی یک و چهار است که از نظر تکاملی جز ژن‌های SUSI می‌باشند هر چند ژن‌های گروه چهارم در خوشه و دانه بیان اختصاصی بالا نشان دادند که دلالت بر مسیر تکاملی و فشار گزینش متفاوت روی این دو ژن از سایر ژن‌های SUSI است (شکل 5-A). بررسی الگوی بیانی ژن‌های ساکارز سینتاز در شرایط تنش‌های غیر زیستی نشان‌دهنده وجود یک گروه اختصاصی شامل ژن‌های *TaSUS7*، *TaSUS11*، *TaSUS3* و *TaSUS17* با بیان متوسط تا بالا در پاسخ به تنش‌های سرما، خشکی و سرما است (شکل 5-B). ژن *TaSUS7* در تمام تنش‌ها بیان بالایی نشان داده است. همچنین بیان ژن‌های *TaSUS3* و *TaSUS17* شش ساعت پس از اعمال تنش خشکی

نکته جالب توجه این‌که بیان مشاهده شده در این گروه بیشتر برای بافت ریشه در مراحل مختلف نمو می‌باشد. از نظر تکاملی ژن‌های گروه دو و سه در گروه ژن‌های SUSII و SUSIII قرار می‌گیرند. گروه چهارم شامل ژن‌های *TaSUS9*، *TaSUS15* و *TaSUS1* است که بیان متوسط تا بالایی را فقط در خوشه و بذر در مرحله زایشی از خود نشان داده‌اند. این الگوی بیان می‌تواند نشان‌دهنده نقش کارکردی اختصاصی این سه ژن در این مراحل باشد. مطالعه پروفایل بیانی خانواده ژنی *SUS* با استفاده از داده‌های RNA-seq در آرآیدوپسیس، سویا، گوجه فرنگی، برنج و سیب زمینی نیز نشان داد که بیشترین بیان در بافت‌ها و مراحل نمو مربوط به ژن‌های گروه SUSI می‌باشد (Xu *et al.*, 2019). لذا به این نتیجه رسیدند که در حالت کلی ژن‌های گروه SUSI در گیاهان، الگوی بیانی و کارکرد بیولوژیک خود را در طی تکامل حفظ کرده و بیان آن‌ها

ژن‌های *TaSUS* در بافت‌ها و مراحل نموی مختلف بررسی شد. بر این اساس مشخص شد که همانند سایر گیاهان؛ خانواده ژنی *SUS* گندم نیز از نظر فیلوژنتیکی به سه گروه *SUSI*، *SUSII* و *SUSIII* تقسیم می‌شود. همچنین ساختار ژنی و موتیف‌های آن حفاظت شده است. وجود عناصر سیس پاسخ به هورمون‌ها و تنش‌ها در پروموتور این ژن‌ها و نیز توانایی *miRNA*‌های مختلف بر کنترل بیان پس از ترجمه آن‌ها نشان داد که تنظیم بیان ژن‌های *TaSUS* در مراحل نموی و نیز پاسخ به محرک‌های زیستی و غیر زیستی بسیار پیچیده است. داده‌های RNA-seq نشان داد که ژن‌های *TaSUS* مربوط به زیرگروه *SUSI* درخت فیلوژنتیکی نقش اصلی را در متابولیسم ساکارز در بافت‌ها و مراحل مختلف رشدی گندم بر عهده دارند. اطلاعات این مطالعه می‌تواند برای مطالعات آتی در مورد نقش فیزیولوژیکی بالقوه ژن‌های *TaSUS* در متابولیسم ساکارز در گندم مفید باشد.

و ترکیب تنش خشکی و گرما القا شده است، درحالی‌که بیان ژن *TaSUS11* تنها شش ساعت پس از تنش خشکی القاء شده است. بیان ژن *TaSUS13* طی تنش سرما القاء می‌شود که نشان‌دهنده کارکرد اختصاصی این ژن می‌باشد (شکل 5-B). دو ژن *TaSUS7* و *TaSUS13* از گروه *SUSI* می‌باشد در حالی که سه ژن *TaSUS3*، *TaSUS11* و *TaSUS17* از نظر تکاملی مربوط به ژن‌های *SUSII* می‌باشد. این نتایج نشان می‌دهد که بر خلاف بیان ژن‌های این خانواده در مراحل نموی مختلف گندم که نقش اصلی مربوط به گروه *SUSI* می‌باشد، در شرایط تنش غیر زیستی نقش کارکردی بین گروه‌های *SUSI* و *SUSII* تقسیم شده است. در این مطالعه با استفاده از روش‌های بیوانفورماتیکی 22 ژن کد کننده آنزیم ساکارز سینتاز در ژنوم گندم شناسایی و روابط فیلوژنتیکی، ساختار ژنی و موتیف‌های حفاظت شده، عناصر سیس ناحیه پروموتوری، *miRNA*‌های موثر و بیان دیجیتالی

REFERENCES

- Abdullah M, Cao Y, Cheng X, Meng D, Chen Y, Shakoor A, Gao J, Cai Y (2018) The sucrose synthase gene family in Chinese pear (*Pyrus bretschneideri* Rehd.): structure, expression, and evolution. *Molecules*. 23 (5): 1144.
- Appels R, Eversole K, Feuillet C, Keller B, Rogers J, Stein N, Pozniak CJ, Choulet F, Distelfeld A, Poland J (2018) Shifting the limits in wheat research and breeding using a fully annotated reference genome. *Science*. 361 (6403): eaar7191.
- Artimo P, Jonnalagedda M, Arnold K, Baratin D, Csardi G, De Castro E, Duvaud S, Flegel V, Fortier A, Gasteiger E (2012) ExpASY: SIB bioinformatics resource portal. *Nucleic acids research*. 40 (W1): W597-W603.
- Bailey TL, Johnson J, Grant CE, Noble WS (2015) The MEME suite. *Nucleic acids research*. 43 (W1): W39-W49.
- Bieniawska Z, Paul Barratt D, Garlick AP, Thole V, Kruger NJ, Martin C, Zrenner R, Smith AM (2007) Analysis of the sucrose synthase gene family in Arabidopsis. *The Plant Journal*. 49 (5): 810-828.
- Bolser D, Staines DM, Pritchard E, Kersey P (2016) Ensembl plants: integrating tools for visualizing, mining, and analyzing plant genomics data. In: Edwards D (ed) *Plant bioinformatics*. Humana Press, New York, pp 115-140.
- Borrill P, Ramirez-Gonzalez R, Uauy C (2016) expVIP: a customizable RNA-seq data analysis and visualization

- platform. *Plant physiology*. 170 (4): 2172-2186.
- Braun DM, Wang L, Ruan YL (2013) Understanding and manipulating sucrose phloem loading, unloading, metabolism, and signalling to enhance crop yield and food security. *Journal of Experimental Botany*. 65 (7): 1713-1735.
- Braun HJ, Atlin G, Payne T (2010) Multi-location testing as a tool to identify plant response to global climate change. In: Reynolds MP (ed) *Climate change and crop production*. CABI, London, pp 115-138.
- Dai X, Zhuang Z, Zhao PX (2018) psRNATarget: a plant small RNA target analysis server (2017 release). *Nucleic acids research*. 46 (W1): W49-W54.
- El-Gebali S, Mistry J, Bateman A, Eddy SR, Luciani A, Potter SC, Qureshi M, Richardson LJ, Salazar GA, Smart A (2019) The Pfam protein families database in 2019. *Nucleic acids research*. 47 (D1): D427-D432.
- Faraji S, Rasouli SH, Kazemitabar SK (2018) Genome-wide exploration of C2H2 zinc finger family in durum wheat (*Triticum turgidum* ssp. Durum): insights into the roles in biological processes especially stress response. *Biometals*. 31 (6): 1019-1042.
- Goodstein DM, Shu S, Howson R, Neupane R, Hayes RD, Fazo J, Mitros T, Dirks W, Hellsten U, Putnam N (2012) Phytozome: a comparative platform for green plant genomics. *Nucleic acids research*. 40. (D1): D1178-D1186.
- Granot D, Stein O (2019) An overview of sucrose synthases in plants. *Frontiers in plant science*. 10: 95
- Hirose T, Scofield GN, Terao T (2008) An expression analysis profile for the entire sucrose synthase gene family in rice. *Plant Science*. 174 (5): 534-543.
- Hu B, Jin J, Guo A-Y, Zhang H, Luo J, Gao G (2015) GSDS 2.0: an upgraded gene feature visualization server. *Bioinformatics*. 31 (8): 1296-1297.
- Islam MZ, Hu X-M, Jin LF, Liu Y-Z, Peng SA (2014) Genome-wide identification and expression profile analysis of citrus sucrose synthase genes: investigation of possible roles in the regulation of sugar accumulation. *PloS one*. 9 (11).
- Jiang SY, Chi YH, Wang JZ, Zhou JX, Cheng YS, Zhang BL, Ma A, Vanitha J, Ramachandran S (2015) Sucrose metabolism gene families and their biological functions. *Scientific Reports*. 5: 17583.
- Juárez-Colunga S, López-González C, Morales-Elías NC, Massange-Sánchez JA, Trachsel S, Tiessen A (2018) Genome-wide analysis of the invertase gene family from maize. *Plant molecular biology*. 97 (4-5): 385-406.
- Kawahara Y, de la Bastide M, Hamilton JP, Kanamori H, McCombie WR, Ouyang S, Schwartz DC, Tanaka T, Wu J, Zhou S (2013) Improvement of the *Oryza sativa* Nipponbare reference genome using next generation sequence and optical map data. *Rice*. 6 (1): 4.
- Koch K (2004) Sucrose metabolism: regulatory mechanisms and pivotal roles in sugar sensing and plant development. *Current Opinion in Plant Biology*. 7 (3): 235-246.
- Kumar A, Sharma M, Kumar S, Tyagi P, Wani SH, Gajula MP, Singh KP (2018) Functional and structural insights into candidate genes associated with nitrogen and phosphorus nutrition in wheat (*Triticum aestivum* L.). *International Journal of Biological Macromolecules*. 118: 76-91.
- Kumar R (2014) Role of microRNAs in biotic and abiotic stress responses in crop plants. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 174 (1): 93-115.
- Kumar S, Stecher G, Tamura K (2016) MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology*

- and Evolution. 33 (7): 1870-1874.
- Lamesch P, Berardini TZ, Li D, Swarbreck D, Wilks C, Sasidharan R, Muller R, Dreher K, Alexander DL, Garcia-Hernandez M (2012) The Arabidopsis Information Resource (TAIR): improved gene annotation and new tools. *Nucleic acids research*. 40 (D1): D1202-D1210.
- Larkin MA, Blackshields G, Brown N, Chenna R, McGettigan PA, McWilliam H, Valentin F, Wallace IM, Wilm A, Lopez R (2007) Clustal W and Clustal X version 2.0. *bioinformatics*. 23 (21):2947-2948.
- Lescot M, Déhais P, Thijs G, Marchal K, Moreau Y, Van de Peer Y, Rouzé P, Rombauts S (2002) PlantCARE, a database of plant cis-acting regulatory elements and a portal to tools for in silico analysis of promoter sequences. *Nucleic acids research*. 30 (1):325-327.
- Li J, Baroja-Fernández E, Bahaji A, Muñoz FJ, Ovecka M, Montero M, Sesma MT, Alonso-Casajús N, Almagro G, Sánchez-López AM, Physiology C (2013) Enhancing sucrose synthase activity results in increased levels of starch and ADP-glucose in maize (*Zea mays* L.) seed endosperms. *Plant and Cell Physiology*. 54 (2): 282-294.
- Liu W, Li W, He Q, Daud MK, Chen J, Zhu S (2014) Genome-wide survey and expression analysis of calcium-dependent protein kinase in *Gossypium raimondii*. *PloS one*. 9 (6).
- Lobell DB, Cassman KG, Field CB (2009) Crop yield gaps: their importance, magnitudes, and causes. *Annual Review of Environment and Resources*. 34: 179-204.
- Roy SW, Gilbert W (2006) The evolution of spliceosomal introns: patterns, puzzles and progress. *Nature Reviews Genetics*. 7 (3): 211-221.
- Royo C, Aparicio N, Blanco R, Villegas D (2004) Leaf and green area development of durum wheat genotypes grown under Mediterranean conditions. *European Journal of Agronomy*. 20 (4): 419-430.
- Schmölzer K, Gutmann A, Diricks M, Desmet T, Nidetzky B (2016) Sucrose synthase: a unique glycosyltransferase for biocatalytic glycosylation process development. *Biotechnology advances*. 34 (2): 88-111.
- Su T, Han M, Min J, Chen P, Mao Y, Huang Q, Tong Q, Liu Q, Fang Y (2018) Genome-Wide Survey of Invertase Encoding Genes and Functional Characterization of an Extracellular Fungal Pathogen-Responsive Invertase in *Glycine max*. *International Journal of Molecular Sciences*. 19 (8): 2395.
- Thalman M, Santelia D (2017) Starch as a determinant of plant fitness under abiotic stress. *New Phytologist*. 214 (3): 943-951.
- Tong X, Wang Z, Ma B, Zhang C, Zhu L, Ma F, Li MJ (2018) Structure and expression analysis of the sucrose synthase gene family in apple. *Journal of Integrative Agriculture*. 17: 847-856.
- Volpicella M, Fanizza I, Leoni C, Gadaleta A, Nigro D, Gattulli B, Mangini G, Blanco A, Ceci LR (2016) Identification and characterization of the sucrose synthase 2 gene (*Sus2*) in durum wheat. *Frontiers in Plant Science*. 7: 266.
- Wang D, Ling L, Zhang W, Bai Y, Shu Y, Guo C (2018) Uncovering key small RNAs associated with gametocidal action in wheat. *Journal of Experimental Botany*. 69 (20): 4739-4756.
- Wang Z, Wei P, Wu M, Xu Y, Li F, Luo Z, Zhang J, Chen A, Xie X, Cao P, Lin F (2015) Analysis of the sucrose synthase gene family in tobacco: structure, phylogeny, and expression patterns. *Planta*. 242 (1): 153-166.
- Wardlaw IF, Willenbrink J (2000) Mobilization of fructan reserves and changes in enzyme activities in wheat stems correlate with water stress

- during kernel filling. *New Phytologist*. 148 (3): 413-422.
- Xu SM, Brill E, Llewellyn DJ, Furbank RT, Ruan YL (2012) Overexpression of a potato sucrose synthase gene in cotton accelerates leaf expansion, reduces seed abortion, and enhances fiber production. *Molecular Plant*. 5 (2): 430-441.
- Xu X, Yang Y, Liu C, Sun Y, Zhang T, Hou M, Huang S, Yuan H (2019) The evolutionary history of the sucrose synthase gene family in higher plants. *BMC Plant Biology*. 19 (1): 1-14.
- Yu CS, Chen YC, Lu CH, Hwang JK (2006) Prediction of protein subcellular localization. *Proteins: Structure, Function, Bioinformatics*. 64 (3): 643-651.
- Zhang C, Yu M, Ma R, Shen Z, Zhang B, Korir NK (2015) Structure, expression profile, and evolution of the sucrose synthase gene family in peach (*Prunus persica*). *Acta Physiologiae Plantarum*. 37 (4): 81.
- Zhao J, Zhang X, Wan W, Zhang H, Liu J, Li M, Wang H, Xiao J, Wang X (2019) Identification and characterization of the EXO70 gene family in polyploid wheat and related species. *International Journal of Molecular Sciences*. 20 (1): 60.
- Zhu X, Wang M, Li X, Jiu S, Wang C, Fang J (2017) Genome-wide analysis of the sucrose synthase gene family in grape (*Vitis vinifera*): structure, evolution, and expression profiles. *Genes*. 8 (4): 111.