

مجله ایمنی زیستی

دوره ۱۶، شماره ۴، زمستان ۱۴۰۲

ISSN 2716-9804 الکترونیکی، ISSN 2717-0632 چاپی

کاربرد رویکردهای نوین بر پایه‌ی Small RNA در کنترل بیماری‌های گیاهی

نوع مقاله: مروری

مهسا ساکی^۱، زهرا میرسلیمانی^{۲*}

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد بیماری‌شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، گروه گیاهپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

۲- استادیار بیماری‌شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، گروه گیاهپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

z.mirsoleimani@scu.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۲/۲۴، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۵/۰۷

صفحه ۱-۱۶

چکیده

بیمارگرهای گیاهی به دلیل کاهش قابل توجه عملکرد و کیفیت محصولات کشاورزی، تهدیدی جدی برای امنیت غذایی هستند. امروزه بکارگیری ابزار آر.ان.ای مداخله‌گر برای حفاظت از محصولات گیاهی در برابر بیمارگرها، نتایج امیدبخشی را نشان داده است. آر.ان.ای‌های کوچک از جمله، میکرو آر.ان.ای و آر.ان.ای مداخله‌گر کوچک در تنظیم بیان ژن و خاموش کردن آر.ان.ای هنگام رونویسی و پس از رونویسی نقش دارند. در رویکردی تحت عنوان خاموشی ژن از طریق میزبان (HIGS)، آر.ان.ای‌های کوچک گیاه میزبان می‌توانند وارد سلول‌های بیمارگر شوند و ژن‌های آن‌ها را خاموش کنند. در این فرآیند، گیاهان تراریخته تولیدکننده آر.ان.ای‌های کوچک برای خاموش کردن ژن‌های بیمارگر مهندسی می‌شوند. در رویکرد دیگر به‌طور مشابه، آر.ان.ای‌های کوچک به‌طور مستقیم با اسپری روی سطح میزبان وارد سلول‌های بیمارگر می‌شوند و ژن‌های هدف را خاموش می‌کنند. این فرآیند تحت عنوان خاموشی ژن از طریق اسپری (SIGS) مورد استفاده قرار گرفته است. این بررسی بر عملکرد آر.ان.ای‌های کوچک پرداخته و نحوه استفاده از آن‌ها در برابر بیمارگرهای مختلف گیاهی از طریق روش‌های HIGS و یا SIGS را بررسی و مزایا و معایب این رویکردها را مورد بحث قرار می‌دهد.

واژه‌های کلیدی: آر.ان.ای مداخله‌گر، آر.ان.ای کوچک، گیاهان تراریخته، HIGS، SIGS.

مقدمه

می‌شود: این دو رویکرد عبارتند از: خاموشی ژن توسط میزبان (HIGS; host induced gene silencing) و خاموشی ژن به وسیله اسپری (SIGS; spray induced gene silencing). سازوکار HIGS فناوری در گیاهان تراریخته است که در آن آر.ان.ای دورشته‌ای (dsRNA; double-stranded RNA) یک ژن بیمارگر در گیاه میزبان بیان می‌شود و آر.ان.ای‌های کوچک (siRNA; small RNA) (شکل ۱) مشتق شده از آن توسط بیمارگر شناسایی و سبب خاموش شدن ژن هدف می‌شوند (Sang and Kim, 2020).

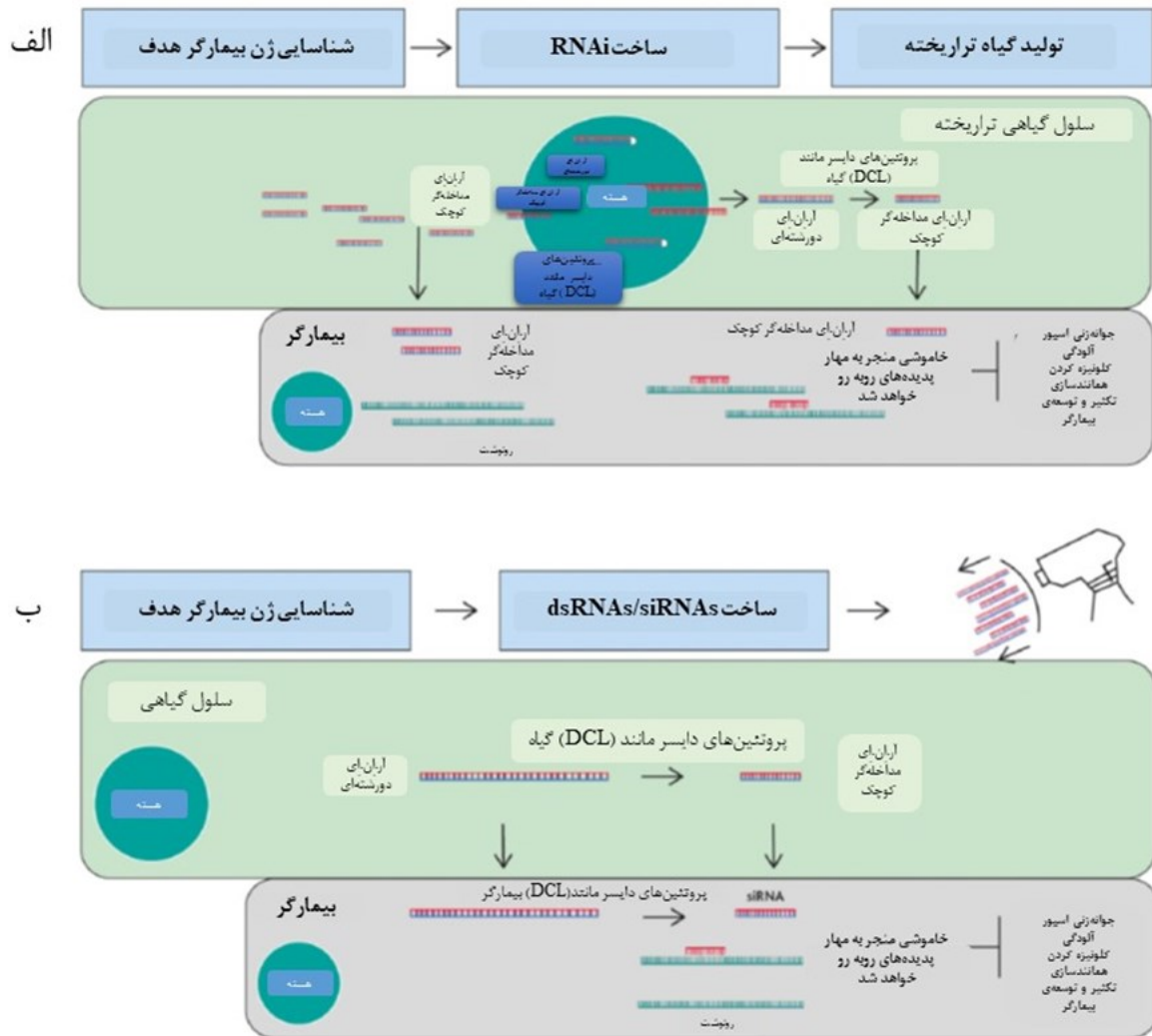
بیان آر.ان.ای‌های دو رشته‌ای در گیاهان می‌تواند باعث خاموش شدن آر.ان.ای‌های همولوگ در بیمارگرهای قارچی شود (Bornieogo et al. 2024). در مقابل، SIGS متکی به کاربرد خارجی آر.ان.ای‌های دو رشته‌ای یا siRNA (به‌عنوان مثال، پاشش روی سطح برگ) است که ژن‌های بیمارگر را هدف قرار می‌دهند (Bilir et al. 2019). از رویکردهای HIGS و SIGS (شکل ۱) به‌عنوان رویکردهایی نوین و موثر برای کنترل بیماری‌های گیاهی استفاده می‌شود. در جدول ۱ به‌طور خلاصه به نمونه‌هایی از کاربرد این دو رویکرد برای کنترل بیمارگرهای گیاهی اشاره شده است.

گونه‌های گیاهی به‌طور معمول توسط آفات و میکروارگانیزم‌های بیماری‌زا از جمله ویروس‌ها، باکتری‌ها، اوومیست‌ها، قارچ‌ها، گیاهان انگلی و نماتدها مورد آسیب قرار می‌گیرند (Jones and Dangi, 2006; Bilir et al. 2019). بسیاری از بیمارگرهای گیاهی آسیب قابل توجهی به تولید محصولات کشاورزی وارد می‌کنند، کیفیت آن‌ها را کاهش می‌دهند و منجر به خسارات اقتصادی قابل توجهی می‌شوند (Zhu et al. 2019).

به‌طور هم‌زمان، رشد جمعیت در جهان تقاضای فزاینده‌ای را برای غذاهای ایمن، مغذی و در دسترس ایجاد کرده است. رویکردهای حفاظت از گیاهان سازگار با محیط زیست، جزء جدایی‌ناپذیر برای دستیابی به افزایش عملکرد در محصولات گیاهی هستند (Liu et al. 2020). یکی از این رویکردها، بهره‌برداری از ابزار آر.ان.ای مداخله‌گر (RNAi; interfering RNA) گیاهی است. مکانیسم تنظیمی برای مبارزه با بیمارگرها است (Hameed et al. 2017; Iqbal et al. 2020; Liu et al. 2020).

به‌منظور استفاده از RNAiها جهت کنترل بیمارگر گیاهی از دو رویکرد رایج و مهم استفاده

"ساکي و ميرسليماني، کاربرد رويکردهاي نوين بر پايه ي Small RNA در کنترل بيماري هاي گياهي"



شکل ۱- رویکردهای کنترل بیمارگرهای گیاهی با بهره گیری از HIGS و SIGS.

الف) HIGS: ژنوم هدف در بیمارگر شناسایی می شود و آر.ان.ای مداخله گر کوچک از روی ژنوم هدف ساخته می شود. سلول های گیاهان تراریخته آر.ان.ای دورشته ای را تولید می کنند که توسط پروتئین های دایسر مانند (Dicer-like (DCL) proteins) در هسته و سیتوپلاسم شکافته شده و آر.ان.ای مداخله گر کوچک را تولید می کند و به سلول های بیمارگر منتقل می شوند. آر.ان.ای مداخله گر کوچک خاموشی آر.ان.ای بیمارگر را با خاموشی آر.ان.ای پیک اعمال می کند.

ب) SIGS: آر.ان.ای دورشته ای و یا آر.ان.ای مداخله گر کوچک تراژن تولید و به گیاه اسپری می شود. آر.ان.ای دورشته ای یا به طور مستقیم به سلول های قارچی منتقل می شود و یا به وسیله سلول های گیاه به سلول های قارچی می رسند. پروتئین های دایسر مانند گیاه یا سلول قارچی آر.ان.ای دو رشته ای را به آر.ان.ای مداخله گر کوچک در هسته و سیتوپلاسم تقسیم می کنند و آر.ان.ای مداخله گر کوچک منجر به خاموشی ژنوم آر.ان.ای بیمارگر از طریق آر.ان.ای پیام رسان می شود. بسته به عملکرد ژن هدف، رویکردهای HIGS و SIGS به واسطه ی خاموشی ژن می توانند منجر به مهار اسپورزایی، آلودگی، کلنیزه کردن، تکثیر یا توسعه بیمارگر شوند (Bilir et al. 2022).

آر.ان.ای کوچک (small RNA) و آر.ان.ای مداخله‌گر (RNAi)

هدف قرار دادن ژن‌ها توسط sRNAها نشان‌دهنده رویکردی کارآمد برای مهار بیمارگرهای گیاهی است (Nagasawa et al. 2024). sRNAها به عنوان تنظیم‌کننده‌های ژنتیکی کلیدی شناخته شده‌ای هستند که در فرآیندهای مختلف، از جمله اصلاح متیله شدن دی.ان.ا و یا تنظیم فراوانی آر.ان.ای‌های رمزکننده و غیررمزکننده در ارگانیسم‌های مختلف فعالیت می‌کنند (Qin et al. 2017). sRNAها در برنامه‌ها، فرآیندها و مسیرهای زیستی متنوع، در پاسخ به سیگنال‌های رشد و عفونت بیمارگر و حملات آفات نقش دارند (Chen et al. 2014). در گیاهان، sRNAها مسئول تنظیم همه‌جانبه در رشد، نمو و پاسخ به تنش‌های زیستی و غیر زیستی هستند (Yang and Huang, 2014). کلاس اصلی طبقه‌بندی می‌شوند: میکرو آر.ان.ای‌ها (miRNAs; microRNAs) و آر.ان.ای‌های مداخله‌گر کوچک (siRNAs; small interfering RNA). miRNAها دارای طول ۲۲-۲۰ نوکلئوتید هستند. این در حالی است که siRNAها دارای طول ۲۴-۲۱ نوکلئوتید هستند و از آر.ان.ای بلند دو رشته‌ای مشتق می‌شوند (Guleria et al. 2011). siRNAها به عنوان توالی‌های اختصاصی، با بهره‌گیری از توانایی در

خاموشی ژن، رونویسی سایر ژن‌ها را کنترل می‌کنند (Shakori et al. 2014). بسیاری از زیرکلاس‌های siRNAها از جمله، tasiRNAها، phasiRNAها، natsiRNAها و hc-siRNAها در گیاهان توصیف شده‌اند (Huang et al. 2016). تداخل آر.ان.ا (RNA interference) مکانیسم تنظیمی ژنتیکی برای خاموش کردن بیان ژن به شمار می‌رود (Baulcombe. 2004). این رویکرد در ابتدا در گیاهان کشف شد (Nayak and Charyulu, 2024).

رویکرد تداخل آر.ان.ا یکی از مکانیسم‌های گسترده در زیست‌شناسی سلولی است که تنظیم دقیق بیان ژن و محافظت در برابر عناصر تهاجمی را تسهیل می‌کند و یک جنبه کلیدی از ایمنی القایی گیاه را تشکیل می‌دهد (Qiao et al. 2023). یکی از ویژگی‌های اصلی تداخل آر.ان.ا، تولید sRNAها با طول ۲۱ تا ۳۰ نوکلئوتید است که می‌تواند بیان ژن را در یک توالی خاص تنظیم کند. به طور کلی sRNAهای تولید شده از آر.ان.ای دو رشته‌ای می‌توانند خاموشی ژن را هنگام و پس از رونویسی القا کنند (De Flippes. 2019).

رویکرد HIGS

خاموشی ژن به وسیله میزبان یا HIGS رویکردی به واسطه‌ی گیاهان تراریخته است که در آن گیاهان، ساختار طراحی شده‌ی RNAi را در

"ساکي و ميرسلیمانی، کاربرد رویکردهای نوین بر پایه ی Small RNA در کنترل بیماری های گیاهی"

در گیاه میزبان باشد. علاوه بر این، HIGS ممکن است برای کنترل چندین بیمارگر در یک میزبان خاص مورد استفاده قرار بگیرد (Koch and Kogel, 2014).

رویکرد SIGS

خاموشی ژن به وسیله اسپری رویکردی کارآمد، بسیار انعطاف پذیر و نوآورانه برای حفاظت از محصولات گیاهی در برابر عفونت های بیمارگر است (Koch et al. 2019; Hu et al. 2020; Sang and Kim, 2020). آر.ان.ای های اسپری شده روی سطوح گیاه حداقل دو مسیر ممکن برای ورود به سلول های بیمارگر دارند: در مسیر اول پس از ورود به سلول های گیاهی، آر.ان.ای های دو رشته ای توسط پروتئین های گیاهی دایسر مانند (DCLs; dicer like protein) به siRNAها تقسیم می شوند. در عین حال، برخی از این آر.ان.ای های دو رشته ای و siRNAها در سلول های گیاهی نیز به سلول های بیمارگر منتقل می شوند. پس از آن، آر.ان.ای های دو رشته ای به طور عمده توسط پروتئین های دایسر مانند در بیمارگر به siRNAها تبدیل می شوند. در مسیر دیگر، آر.ان.ای های دو رشته ای و آر.ان.ای های کوچک خارجی می توانند به طور مستقیم توسط سلول های بیمارگر جذب شوند. دوباره آر.ان.ای های دو رشته ای ممکن است توسط پروتئین های دایسر مانند در بیمارگر به siRNAها تبدیل شوند (Koch et al. 2016;

برابر یک یا چند ژن از بیمارگر بیان می کنند (santala and valkonen, 2018). تراریخته ها به طور معمول آر.ان.ای دو رشته ای تولید می کنند که توالی خاصی از ژنوم بیمارگر را شناسایی می کنند. گیاهان تراریخته آر.ان.ای های دو رشته ای را رونویسی می کند که به siRNAها پردازش شده و به نوبه خود به بیمارگرهای گیاهی منتقل می شوند (Sang and Kim, 2020). گام مهم برای موفقیت در HIGS، شناسایی ژن های هدف در بیمارگر است (Koug and Kogel, 2014). این عمل اغلب به وسیله تجزیه و تحلیل داده های رونویسی یا پایگاه داده های ژنوم به دست می آید. پس از شناسایی ژن های هدف، می توان بررسی آزمایشگاهی بر روی کشت های بیمارگر با استفاده از آر.ان.ای های دو رشته ای و یا siRNAها که به طور مصنوعی ساخته شده است، انجام داد. متعاقباً، یک ناقل بیان ساخته می شود که وقتی در گیاهان بیان می شود، جمعیت هایی از آر.ان.ای دو رشته ای و siRNAها را تولید می کند که ژنوم بیمارگر را هدف قرار می دهد (Ghag. 2017). نکته قابل توجه دیگر در HIGS این است که آر.ان.ای دو رشته ای و siRNAها، اثرات خارج از هدف را اعمال نمی کنند (Koch and Kogel, 2014).

در اصل، HIGS می تواند ابزاری قوی برای کاهش بیان ژن های کلیدی برای پیشرفت بیمارگر

از SIGS نیز برای محافظت از گیاهان در برابر ویروس‌ها استفاده شده است. در برخی از مطالعات استفاده از عصاره خام آر.ان.ای دو رشته‌ای باکتریایی برای محافظت از گیاهان در برابر عفونت‌های ویروسی گزارش شده است (Tenllado et al. 2003). به‌عنوان مثال برای محافظت از گیاه میزبان توتون (*Nicotiana benthamiana*) در برابر ویروس لکه خفیف فلفل (*PMMoV: pepper mild mottle virus*) و ویروس آبله‌ای آلو (*PPV: plum pox virus*) اسپری عصاره‌ی خام آر.ان.ای دو رشته‌ای با بیان باکتریایی روی برگ انجام شد. پس از مایه‌زنی ویروس بیمارگر، ۵ روز پس از کاربرد آر.ان.ای دو رشته‌ای، این آر.ان.ای باعث تخریب اختصاصی آر.ان.ای ویروس و محافظت از گیاهان در برابر عفونت ویروسی شدند. به‌طور قابل توجهی، سمپاشی گیاهان با یک عصاره‌ی خام باکتریایی منجر به ایجاد مقاومت توسط آر.ان.ای دو رشته‌ای می‌شود (Tenllado et al. 2003).

در آزمایشی مشابه، ذرت با عصاره خام از آر.ان.ای دو رشته‌ای با بیان باکتریایی برای کنترل ویروس موزائیک نیشکر (*SCMV: sugarcane mosaic virus*) اسپری شد. گیاهان ۳ روز پس از اسپری با عصاره‌ی ویروس خفیف مایه‌زنی شده و در نتیجه عفونت ویروسی مهار شد (Gan et al. 2010).

(Wang et al. 2016). در عمل، کاربرد RNAها خارج ژنومی به وسیله تیمارهای سطحی، مانند اسپری کردن، تزریق، مخلوط کردن با خاک اطراف ریشه یا جذب در دمبرگ است (Dalakuras et al. 2016; San Miguel and Scott, 2016). یکی دیگر از رویکردهای امیدوارکننده در این زمینه استفاده از باکتری‌ها به‌عنوان منبع RNAها است (Niño-Sánchez et al. 2021).

تفاوت و مزیت اصلی SIGS نسبت به HIGS این است که در SIGS تولید گیاهان تراریخته ضروری نیست، در نتیجه در زمان و هزینه تولید گیاهان تراریخته، صرفه‌جویی می‌شود و از اقدامات سخت و گران‌قیمت و همچنین مسائل مربوط به پذیرش گیاهان تراریخته جلوگیری می‌شود. با این حال، همچنان ابهاماتی در مورد عملکرد پایه‌ای SIGS و موانعی برای پیاده‌سازی آن نیز وجود دارد (Werner et al. 2020).

مقاومت در برابر ویروس‌های بیمارگر گیاهی مبتنی بر SIGS و HIGS

تراریخته‌هایی که آر.ان.ای را تولید و RNAi را تحریک می‌کنند، از اواسط دهه ۱۹۸۰ در خط مقدم مقاومت در برابر ویروس‌ها قرار داشته‌اند. یکی از موفق‌ترین کاربردهای این فناوری، مقاومت پایای تراریخته در برابر ویروس‌های لکه حلقه‌ای پایای است (Gonsalves. 2006).

"ساکي و ميرسليماني، کاربرد رويکردهای نوين بر پایه Small RNA در کنترل بيماری های گیاهی"

Walawage et al.) pv. *Oryzae* نشان داده شد (2013). همچنين بکارگيري HIGS در سيپ زميني سبب مقاومت اين ميزبان در برابر باکتری عامل پوسيدگی (*Pectobacterium carotovorum*) اين گیاه شد. تاکنون هيچ مطالعه ای مبني بر کنترل بيمارگرهای گیاهی باکتریایی مبتنی بر SIGS گزارش نشده است (Mahmoudi and Soleimani, 2019; Rodrigues et al. 2024).

حفاظت از گیاهان در برابر عفونت های قارچی

مبتنی بر HIGS و SIGS

رويکرد خاموشی آر.ان.ا، انقلابی در يوکاریوت ها است که دانش ما را در مورد بيان و تنظيم ژن در گیاهان بسيار گسترش داده است (Koeppel et al. 2023). بيشتر مطالعات انجام شده روی بيمارگرهای قارچی در گندم و جو با استفاده از HIGS با بکارگيري ناقل های ویروسی ناپایا انجام شده است. از HIGS با واسطه BSMV (barley stripe mosaic virus) برای خاموش کردن ژن بيمارگر به منظور کنترل زنگ زرد گندم نیز (*Puccinia striiformis* f.sp. *tritici*) استفاده شده است. مشاهدات گویای اين است که ژن هدف، يک عامل بيماری زایی مهم برای زنگ زرد گندم است و خاموشی اين ژن منجر به کاهش شدت بيماری می شود. ايجاد لاین هایی از گندم تراریخته با رويکرد HIGS در برابر بيمارگر *Blumeria graminis* f. sp.) سفیدک پودری گندم

مقاومت در برابر باکتری های بيمارگر مبتنی بر

HIGS و SIGS

باکتری ها فاقد سازوکار RNAi همانند يوکاریوت ها هستند. اين موجودات تک سلولی از سازوکارهایی از جمله CRISPR (clustered regularly interspaced short palindromic repeats) برای تنظيم ژن ها استفاده کرده که از جذب دی.ان.ا خارجی و sRNA جلوگیری می کنند و به پروتئين ها یا جفت بازها با اهداف آر.ان.ا متصل می شوند. سازوکاری مبتنی بر HIGS برای بهبود مقاومت در برابر باکتری مولد گال (*Agrobacterium*) به کار گرفته شده است (Escobar et al. 2001).

گیاهان آرابیدوپسيس (*Arabidopsis thaliana*) و گوجه فرنگی (*Lycopersicon esculentum*) برای شروع فعاليت RNAi در برابر اين باکتری تراریخته شدند. پس از مایه زنی به وسیله ی تراریخته های *Agrobacterium tumefaciens*، تراریخته های *A. Thaliana* و *L. esculentum* به ترتیب ۰-۱/۵ درصد و ۰-۲۴ درصد گال زایی را در مقایسه با گیاهان شاهد که نزدیک به ۱۰۰ درصد گال زایی داشتند، نشان دادند (Waters and Storz, 2009). در پژوهشی دیگر با بهره گیری از رويکرد HIGS، ژن های القاکننده حساسیت به بيمارگر در گیاهان ميزبان مورد هدف قرار گرفتند و نتایج موفقی در برنج در برابر *Xanthomonas oryzae*

کرد و منجر به پیشگیری از بروز بیماری آنتراکنوز شد. در طی پژوهشی، با تراریخته کردن گیاه *Festuca ovina* با ساختارهایی از RNAi در برابر چهار ژن عامل بیماری از *Rhizoctonia solani* مشاهده شد که شش گیاه از ۱۹ گیاه تراریخته مقاومت بهتری در برابر *R. Solani* نشان دادند و میزان خسارت تا ۹۰٪ کاهش پیدا کرد که نشان دهنده ارزش ساختارهای متعدد HIGS برای کنترل بیماری است (Zho et al. 2016). در یک رویکرد خلاقانه از HIGS برای کاهش آلودگی آفلاتوکسین ذرت، توسط *Aspergillus flavus* استفاده شد و در نتیجه بیان آفلاتوکسین و بیماری‌زایی کاهش پیدا کرد (Mesanga et al. 2015).

به‌منظور آزمایش SIGS در چندین گیاه میزبان در برابر چندین بیمارگر قارچی sRNAها و آر.ان.ا. دو رشته‌ای روی سطح میوه‌ها، سبزیجات و گل‌ها اسپری شدند. آر.ان.ای دو رشته‌ای و sRNA هر دو به صورت مستقیم توانستند باعث خاموشی ژن‌های عامل بیماری در *Botrytis cinerea* شده و سبب کاهش قابل توجه رشد قارچ و علائم بیماری کپک خاکستری و در نهایت سرکوب بیمارگر شدند (Wang et al. 2016).

هم‌چنین بکارگیری آر.ان.ای دو رشته‌ای برای کنترل بیمارگر *Fusarium asiaticum* سبب مقاومت گیاه میزبان به چندین بیمارگر گیاهی دیگر از جمله *B. cinerea*, *Colletotricum* spp.

(*Triticici*) سبب هدف قرار گرفتن ژن‌هایی از جمله بتاتوبولین و در نتیجه خاموش شدن این ژن‌ها و اختلال در فعالیت بیمارگر در مرحله تشکیل مکینه شد (Qi et al. 2017).

به‌طور مشابه رویکرد HIGS با هدف قرار دادن ژن عامل بیماری برای محافظت از گندم و جو در برابر بکارگرفته شده است *Blumeria graminis* (Nowara et al. 2010). این روش در جو در برابر پروتئین‌های موثر ترشح شده توسط ۷ کاندید از *B. graminis* f. sp. *hordei* مورد استفاده قرار گرفت. پتانسیل رویکرد HIGS از طریق هدف قرار دادن ژن‌های قارچی تولیدکننده ارگسترول در بیمارگرهای *Fusarium* spp. با هدف کنترل آلودگی در گیاهان آرابیدوپسیس و جو مورد ارزیابی قرار گرفته است (Koch et al. 2013). نتایج بیانگر مهار بیمارگر، تغییر در ریخت‌شناسی قارچ در کشت و محدودیت در تشکیل ریشه در برگ‌ها بود. بهره‌برداری از HIGS برای کنترل بیمارگرهای *Fusarium* spp. در محصولات غذایی دولپه‌ای، نتایج موفقیت‌آمیزی را نشان دادند. در موز نیز هدف قرار دادن ژن بیمارگر *F. oxysporum* f. sp. *cubense* به دنبال داشت (Ghag et al. 2014). استفاده از HIGS در برابر بیمارگر *Colletotrichum gloeosporioides* از رخنه و عفونت این بیمارگر در میوه‌ها در سردخانه و گوجه‌فرنگی جلوگیری

"ساکي و ميرسليماني، کاربرد رويکردهاي نوين بر پايه Small RNA در کنترل بيماري هاي گياهي"

مولد سفيدک کرکي انگور (*Plasmopara viticol*)، کاهش سطح بيان اين ژن ها و به دنبال آن کاهش نرخ رشد بيماري مشاهده مي شود (Haile et al. 2021). گزارش مشابهي از کاربرد رويکرد SIGS با آر.ان.اي دو رشته اي در برابر بيمارگر بادزدگي سيب زميني وجود دارد. با هدف قرار دادن چندين ژن از جمله *PiCut3*، *PiHmp1*، *PiGPB1* و *PiEndo3* و ارزيابي دقيق، مشخص شد که برخي از اين ژن ها به طور قابل ملاحظه اي رشد بيمارگر را مهار مي کنند (Kalyandurg et al. 2021). براي افزايش عملکرد SIGS در برابر *P. infestans* چند پارامتر، مانند استفاده از ماده محرک و تقويت کننده ايمني همراه آر.ان.اي دو رشته اي توصيه مي شود. نتايج دلگرم کننده ي اين مطالعات الهام بخش سرمايه گذاري بيشتر در رويکردهاي مبتني بر sRNA در برابر اووميستهاست (Kalyandurg et al. 2021).

حفاظت از گياهان در برابر نماتدها مبتني بر

آر.ان.اي هاي کوچک

خاموشي ژن از طريق HIGS با موفقيت براي کنترل نماتدهاي انگلي گياهي از جمله نماتدهاي مولد سيست، ريشه گره ي و به تازگي، نماتدهاي ايجادکننده زخم ريشه استفاده شده است (Alkharouf et al. 2007; hung et al. 2006; Shivokamela et al. 2017; Chaydhary et al. 2019). به عنوان مثال بيان آر.ان.اي دورشته اي در

F. tricinctum، *F. oxysporum* و *F. asiaticum* و *F. graminearum* شده، و در نتيجه نياز به قارچ کش کاربندازيم کاهش پيدا کرده، رشد قارچ مهار و باعث تغيير شکل و چند شاخه شدن ريسه قارچ شد. اين نتايج رويکرد SIGS را به ابزاري گسترده براي حفاظت از گياهان در برابر بيمارگرها تبديل کرده است (Gu et al. 2019).

خاموشي ژن به وسيله HIGS و SIGS در کنترل

اووميستهاي بيمارگر

در مقايسه با پژوهش هاي گسترده در زمينه بکارگيري sRNA در قارچ هاي بيمارگر گياهي، مطالعات مبتني بر فعاليت sRNA در کنترل اووميستها نسبتاً اندک است. اولين بار، ژن عامل بيماري در بيمارگر اووميستي عامل بادزدگي سيب زميني (*Phytophthora infestans*) مورد هدف قرار گرفت و توليد مولکول هاي RNAi در سلول هاي ميزبان منجر به مهار بيان ژن عامل بيماري در *P. infestans* از طريق HIGS شد و شدت بيماري کاهش پيدا کرد (sanju et al. 2015). استفاده از SIGS در برابر *Hyaloperonospora arabidopsidis* با هدف قرار دادن ژن سلولز سنتاز A3 (*CesA3*)، سبب کنترل عامل سفيدک کرکي مي شود (Covindarajula et al. 2015). در استفاده از آر.ان.اي دو رشته اي با هدف قراردادن ژن هاي عامل بيماري در بيمارگر

گسترده‌ای در برابر *Meloidogyne chitwoodi* در RNAi تولید آن دنبال و به دنبال آن تولید و هدف قرار دان ژن نماتد انگل، آلودگی را کاهش داد (Huang et al. 2006). در مطالعه‌ی دیگری بکارگیری آر.ان.ای دورشته‌ای در آرابیدوپسیس تراریخته سبب کاهش بیان ژنی شد که عامل تسهیل‌کننده بیماریزایی نماتد بود و در نتیجه کاهش بیماری‌زایی مشاهده شد (Joshi et al. 2019). طبق گزارش‌ها، کاهش بیان ژن در نماتد بیمارگر به واسطه HIGS سبب ایجاد مقاومت

گسترده‌ای در برابر *Meloidogyne chitwoodi* در سبب‌زمینی و آرابیدوپسیس می‌شود (Dinh et al. 2014). هدف قرار دادن سه ژن نماتد سیست سویا که از ریشه‌های گیاه مو تراریخته تغذیه می‌کنند توسط میکروآر.ان.ای مصنوعی منجر به کاهش بیان این ژن‌ها در جمعیت تخم‌های نماتد سیست سویا شد (Tian et al. 2016). تا به امروز القای خاموشی ژن از طریق SIGS در کنترل نماتدها آزمایش نشده‌است (Bilir et al. 2022).

جدول ۱- نمونه‌هایی از بکارگیری SIGS و HIGS در کنترل بیمارگرهای گیاهی

نوع خاموشی ژن	بیمارگر	میزبان	ژن(های) هدف	منبع
	Wheat streak mosaic virus (WSMV)	گندم	<i>Nla</i>	Fahim et al. 2010
	Rice stripe virus (RSV)	برنج	<i>pC2, pC3, pC4, p4</i>	Shimizu et al. 2011
	<i>A. tumefaciens</i>	آرابیدوپسیس، تنباکو	<i>iaaM, ags</i>	Dunoyer et al. 2006
	<i>A. tumefaciens</i>	برنج	<i>OsPDS, OsSLRI</i>	Andrieu et al. 2012
	<i>Puccinia triticina</i>	گندم	<i>PtMAPK1, PtCYC1, PtCNB</i>	Panwar et al. 2013
HIGS	<i>Blumeria graminis</i> f. sp. <i>Hordei</i>	جو	<i>CSEP0139, CSEP0182</i>	Li et al. 2021
	<i>Aspergillus flavus</i>	ذرت	<i>aflR</i>	Masanga et al. 2015
	<i>Phytophthora infestans</i>	سبب‌زمینی	<i>PiGPB1, PiCESA2, PiPE</i>	Jahan et al. 2015
	<i>Heterodera glycines</i>	سویا	<i>J15, J20, J23</i>	Tian et al. 2016
	<i>Meloidogyne incognita</i>	آرابیدوپسیس	<i>MiPDII</i>	Zhao et al. 2020
	Pea seed borne mosaic virus (PSbMV)	نخود	<i>CP</i>	Safarova et al. 2014
	Pepper mild mottle virus (PMMoV)	لوبیا چشم بلبلی	<i>RP gene of PMMoV,</i>	Mitter et al. 2017
	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	جو	<i>Ss-ThioR, Ss-TIM44, Ss-CHC</i>	Wythinck et al. 2020
SIGS	<i>Fusarium graminearum</i>	آرابیدوپسیس	<i>FgCYP51, FgCYP51C</i>	Hofle et al. 2020
	<i>Plasmopara viticola</i>	انگور	<i>PvDCL1/2</i>	Haile et al. 2021
	<i>Phytophthora infestans</i>	سبب‌زمینی	<i>PiGPB1, PiHmp1, PiCut3</i>	Kalyandurg et al. 2021

"ساکي و ميرسليماني، کاربرد رويکردهای نوين بر پایه Small RNA در کنترل بيماری های گیاهی"

نتایج و بحث

باشد، می تواند سبب کاهش عملکرد و شکست این رويکرد شود. علاوه بر این، بيمارگر ممکن است فقط در قسمت های خاصی از گیاهان مانند ریشه و میوه بيماری ایجاد کند، و هدف گذاری بافت خاص به وسیله سیستم HIGS دشوار و تاحدی امکان ناپذیر است.

رويکرد SIGS با موفقیت در مورد گیاهان تک لپه ای و دو لپه ای مورد استفاده قرار گرفته است و به نظر می رسد به عنوان رويکردی بالقوه برای حفاظت از گیاه کارآمد باشد (Bilir et al. 2022). در مقایسه با روش های فعلی کنترل بيماری، SIGS می تواند از نظر زیست محیطی پایدار باشد و روشی سریع و مناسب برای حفاظت گیاه، قبل و بعد از برداشت ارائه می دهد. به عنوان یک رويکرد غیر تراژنی، رويکرد SIGS به طور بالقوه برای مصرف کنندگان قابل قبول تر است (Bilir et al. 2022). علاوه بر این، فناوری SIGS با استفاده از ابزار بیوانفورماتیک ژن های خاصی را هدف قرار می دهد و هر گونه اثرات خارج از هدف کاهش می یابد. از سوی دیگر اسپری ها را می توان به صورت خاصی تنظیم کرد که مختص به آفات یا عوامل بيماری زای خاص باشند (Bilir et al. 2022). با این حال، کنترل بيمارگر مبتنی بر SIGS با چالش هایی از جمله؛ کاهش ماندگاری این روش بر گیاهان میزبان به دلیل تخریب آر.ان.ا، محدودیت در بکارگیری میزان آر.ان.ای مورد

مطالعات گسترده در زمینه HIGS، بیان کننده موفقیت در بکارگیری این رويکرد با دستیابی به گیاهان تراریخته و آشکارسازی عملکرد ژن ها در انواع بيمارگرهای گیاهی و محافظت از گیاهان میزبان در برابر بيماری های مختلف است. HIGS بیشترین پتانسیل را نسبت به سایر روش های کنترل بيماری گیاهی دارد؛ چرا که بدون دخالت کشاورز، رويکرد محافظتی موثری از محصولات گیاهی را جایگزین بکارگیری سموم شیمیایی پرهزینه و ناسازگار با محیط زیست خواهد کرد. مقاومت در برابر بيمارگرهای گیاهی مبتنی بر HIGS در مقایسه با مقاومت های القا شده توسط ژن های القاکننده مقاومت (resistance genes) در گیاه به بيمارگر می تواند بادوام و طولانی مدت بوده و با توجه به اینکه به سرعت به جهش ژن های پرازاری (*Avr*) بيمارگر غلبه می کنند، کاربردی تر باشد. علاوه بر این، رويکرد HIGS می تواند برای کنترل چندین بيمارگر در یک میزبان استفاده شود. فناوری HIGS بر پایه ی حرکت موفقیت آمیز RNAiها از گیاه میزبان به بيمارگر متکی است، در نتیجه برخی از عوامل بيماری زا ممکن است با استفاده از این روش قابل دستکاری نباشند. اثرات خارج از هدف این رويکرد نیز عامل منفی دیگری است که باید در نظر گرفته شود. اگر منطقه هدف نیز به درستی انتخاب نشده

مصرف‌کننده نیز باید ارزیابی شود (Bilir et al. 2022). در آینده نزدیک می‌توان منتظر تحولات بیشتری در زمینه کاربرد تجاری رویکرد HIGS در مناطقی که فناوری تولید گیاهان تراریخته مرسوم است، باشیم. به همین ترتیب، مطالعات گسترده‌ای در سراسر جهان در مورد بکارگیری رویکرد SIGS در کنترل بیماری‌ها انجام شده است. با اینحال، چند جنبه از SIGS، از جمله ارزیابی خطر و قانون‌گذاری در مورد استفاده از SIGS باید بهبود پیدا کند. زمانی که توالی ژنومی گیاهان و بیمارگرهای بیشتری به‌طور گسترده در دسترس قرار بگیرد، طراحی HIGS و SIGS برای اهداف خاص آسان‌تر انجام می‌شود (Bilir et al. 2022). از پیشرفت‌های اخیر می‌توان به فناوری ویرایش تحت عنوان تکرارهای تشابه برگشتی کوتاه درون فاصله‌ای منظم خوشه‌ای مرتبط با پروتئین cas9/CRISPR اشاره کرد (Wada et al. 2020). به‌عنوان چشم‌اندازی برای آینده کاربرد همزمان HIGS و SIGS می‌تواند مقاومت بادوام‌تر و پیشرفته‌تری را در کنترل بیماری گیاهان زراعی ایجاد کند (Bilir et al. 2022).

استفاده در هر بار اسپری بر روی گیاه و عملکرد متفاوت سلول‌های گیاه میزبان و سلول‌های بیمارگرها نسبت به جذب آر.ان.ا. مواجهه است (Höfle et al. 2020). کارایی جذب آر.ان.ای دو رشته‌ای توسط میکروارگانسیم‌های یوکاریوتی و انواع سلول‌ها در گونه‌های قارچی یا اوومیستی متفاوت است (Qiao et al. 2021). لازم به ذکر است که در رویکرد اسپری آر.ان.ای دو رشته‌ای ممکن است نتیجه خاموشی ژن مورد انتظار را در پی نداشته و همچنین هزینه‌های بالایی به همراه داشته باشد (Uslu et al. 2020). برای غلبه بر این، رویکردهایی جدید در این زمینه، مانند استفاده از باکتری برای تولید sRNAها در حال بررسی است (Goodfellow et al. 2019)؛ با اینحال، تصمیم‌گیری نهایی در مورد کاربرد این روش به صورت تجاری دشوار است. همچنین، اگرچه SIGS ممکن است در شرایط آزمایشگاهی کارآمد باشد، اما در مقیاس بزرگ آزمایش‌های بسیار کمی وجود دارد و تنها چند روش، از جمله نانورس (Nanoclay)، مورد آزمایش قرار گرفته است (Bilir et al. 2022). همچنین در مورد SIGS به‌عنوان فناوری جدید مبتنی بر RNAiها، پذیرش

References

فهرست منابع

- Alkharouf NW, Klink VP, Matthews BF. 2007. Identification of *Heterodera glycines* (soybean cyst nematode [SCN]) cDNA sequences with high identity to those of *Caenorhabditis elegans* having lethal mutant or RNAi phenotypes. *Exp. Parasitol.* 115: 247–258.
- Andrieu A, Breitler JC, Siré C, Meynard D, Gantet P, Guiderdoni E. 2012. An in planta, *Agrobacterium*-mediated transient gene expression method for inducing gene silencing in rice (*Oryza sativa* L.) leaves. *Rice.* 5:23.
- Baulcombe D. 2004. RNA silencing in plants. *Nature.* 431: 356–363.
- Bilir Ö, Telli O, Norman C, Budak H, Hong Y, Tör M. 2019. Small RNA inhibits infection by downy mildew pathogen *Hyaloperonospora arabidopsidis*. *Mol. Plant Pathol.* 20: 1523–1534.
- Bilir Ö, Göl D, Hong Y, McDowell JM, Tör M. 2022. Small RNA based Plant Protection against Disease. *Frontiers in Plant. Science.* 13:951097.
- Borniego L, Singla-Rastogi M, Baldrich P, Sampangi-Ramaiah MH, Zand Karimi H, McGregor M, Meyers B and Innes RW. 2024. Diverse plant RNAs coat *Arabidopsis* leaves and are distinct from apoplastic RNAs. 2024:2024-05
- Chen IC, Griesenauer B, Yu YT, Velicer GJ. 2014. A recent evolutionary origin of a bacterial small RNA that controls multicellular fruiting body development. *Mol. Phylogenet. Evol.* 73: 1–9.
- Dalakouras A, Wassenegger M, McMillan JN, Cardoza V, Maegele I, Dadami E, Runne M, Krczal G, Wassenegger M. 2016. Induction of silencing in plants by high-pressure spraying of in vitro-synthesized small RNAs. *Front. Plant Sci.* 7:1327.
- De Felippes FF. 2019. Gene Regulation Mediated by microRNA-Triggered Secondary Small RNAs in Plants. *Plants plants.* 8050112. 8:112.
- Dunoyer P, Himber C, Voinnet O. 2006. Induction, suppression and requirement of RNA silencing pathways in virulent *Agrobacterium tumefaciens* infections. *Nat. Genet.* 38: 258–263.
- Escobar MA, Civerolo EL, Summerfelt KR, Dandekar AM. 2001. RNAi-mediated oncogene silencing confers resistance to crown gall tumorigenesis. *PNAS.* 98: 13437–13442.
- Fahim M, Ayala-Navarrete L, Millar AA, Larkin PJ. 2010. Hairpin RNA derived from viral Nia gene confers immunity to wheat streak mosaic virus infection in transgenic wheat plants. *Plant Biotechnol. J.* 8: 821–834.
- Gan D, Zhang J, Jiang H, Jiang T, Zhu S, Cheng B. 2010. Bacterially expressed dsRNA protects maize against SCMV infection. *Plant Cell Rep.* 29: 1261–1268.
- Ghag SB, Shekhawat UK, Ganapathi TR. 2014. Host-induced post-transcriptional hairpin RNA-mediated gene silencing of vital fungal genes confers efficient resistance against *Fusarium* wilt in banana. *Plant Biotechnol.* 12: 541–553.
- Gonsalves D. 2006. Transgenic papaya: Development, release, impact and challenges. *Adv. Virus Res.* 67: 317–354.
- Goodfellow S, Zhang D, Wang MB, Zhang R. 2019. Bacterium Mediated RNA Interference: Potential Application in Plant Protection. *Plants.* 8:572.
- Gu KX, Song XS, Xiao XM, Duan XX, Wang JX, Duan YB, Hou YP, Zhou MG. 2019. A b2-tubulin dsRNA derived from *Fusarium asiaticum* confers plant resistance to multiple phytopathogens and reduces fungicide resistance. *Pest. Biochem. Physiol.* 153: 36–46.
- Guleria P, Mahajan M, Bhardwaj J, Yadav SK. 2011. Plant small RNAs: Biogenesis, mode of action and their roles in abiotic stresses. *Genom. Proteom. Bioinform.* 9: 183–199.
- Haile ZM, Gebremichael DE, Capriotti L, Molesini B, Negrini F, Collina M, Sabbadini S, Mezzetti B, Baraldi E. 2021. Double-Stranded RNA Targeting Dicer-Like Genes Compromises the Pathogenicity of *Plasmopara viticola* on Grapevine. *Front. Plant Sci.* 12:667539.
- Höfle L, Biedenkopf D, Werner BT, Shrestha A, Jelonek L, Koch A. 2020. Study on the efficiency of dsRNAs with increasing length in RNA-based silencing of the *Fusarium* CYP51 genes. *RNA Biol.* 17: 463–473.
- Huang J, Yang M, Lu L, Zhang X. 2016. Diverse functions of small RNAs in different plant–pathogen communications. *Front. Microbiol.* 7: 1552.

- Iqbal S, Fosu-Nyarko J, Jones MG. 2020.** Attempt to silence genes of the RNAi pathways of the root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* results in diverse responses including increase and no change in expression of some genes. *Front. Plant Sci.* 11: 328.
- Jahan SN, Asman AK, Corcoran P, Fogelqvist J, Vetukuri RR, Dixelius C. 2015.** Plant-mediated gene silencing restricts growth of the potato late blight pathogen *Phytophthora infestans*. *J. Exp. Bot.* 66: 2785–2794.
- Jones JDG and Dangl JL. 2006.** The plant immune system. *Nature.* 444: 323–329.
- Joshi I, Kumar A, Singh AK, Kohli D, Raman KV, Sirohi A, Chaudhury A, Jain PK. 2019.** Development of nematode resistance in Arabidopsis by HD-RNAi-mediated silencing of the effector gene Mi-mps2. *Sci. Rep.* 9:17404.
- Kalyandurg PB, Sundararajan P, Dubey M, Ghadamgahi F, Zahid MA, Whisson SC, Vetukuri RR. 2021.** Spray-Induced Gene Silencing as a Potential Tool to Control Potato Late Blight Disease. *Phytopathology.* 111: 2168–2175.
- Koch A and Kogel KH. 2014.** New wind in the sails: Improving the agronomic value of crop plants through RNAi-mediated gene silencing. *Plant Biotechnol. J.* 12: 821–831.
- Koch A, Biedenkopf D, Furch A, Weber L, Roszbach O, Abdellatif E, Linicus L, Johannsmeier J, Jelonek L, Goesmann A, Cardoza V. 2016.** An RNAi-based control of *Fusarium graminearum* infections through spraying of long dsRNAs involves a plant passage and is controlled by the fungal silencing machinery. *PLoS Pathog.* 12: e1005901.
- Koch A, Höfle L, Werner BT, Imani J, Schmidt A, Jelonek L, Kogel KH. 2019.** SIGS vs HIGS: A study on the efficacy of two dsRNA delivery strategies to silence *Fusarium* FgCYP51 genes in infected host and non-host plants. *Mol. Plant Pathol.* 20: 1636–1644.
- Koch A, Stein E, Kogel KH. 2018.** Host-induced gene silencing of cytochrome P450 lanosterolC14alpha demethylase-encoding genes confers strong resistance to *Fusarium* species. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 110: 19324–19329.
- Koepe S, Kawchuk L, Kalischuk M. 2023.** RNA interference past and future applications in plants. *International Journal of Molecular Sciences.* 24:11. 9755.
- Li X, Jin C, Yuan H, Huang W, Liu F, Fan R, Xie J, Shen QH. 2021.** The barley powdery mildew effectors CSEP0139 and CSEP0182 suppress cell death and promote B. Graminis fungal virulence in plants. *Phytopathol. Res.* 3:7.
- Liu S, Jaouannet M, Dempsey DM, Imani J, Coustau C, Kogel KH. 2020.** RNA-based technologies for insect control in plant production. *Biotechnol. Adv.* 39:107463.
- Mahmoudi E and Soleimani R. 2019.** Host-induced gene silencing of *Pectobacterium carotovorum* quorum sensing gene enhances soft rot disease resistance in potato plants. *Arch. Phytopathol. Pflanzenschutz.* 52: 371–384.
- Masanga JO, Matheka JM, Omer RA, Ommeh SC, Monda EO, Alakonya AE. 2015.** Downregulation of transcription factor aflR in *Aspergillus flavus* confers reduction to aflatoxin accumulation in transgenic maize with alteration of host plant architecture. *Plant Cell Rep.* 34: 1379–1387.
- Mitter N, Worrall EA, Robinson KE, Li P, Jain RG, Taochy C, Fletcher SJ, Carroll BJ, Lu GQ, Xu ZP. 2017.** Clay nanosheets for topical delivery of RNAi for sustained protection against plant viruses. *Nat. Plants.* 3:16207.
- Nagasawa R, Onizuka K, Komatsu KR, Miyashita E, Murase H, Ojima K, Ishikawa S, Ozawa M, Saito H, Nagatsugi F. 2024.** Large-scale analysis of small molecule-RNA interactions using multiplexed RNA structure libraries. *Communications Chemistry.* 7:(1): 98.
- Nayak P and Charyulu RN. 2024.** Small interfering RNA drug delivery system in cancer. *Biomedical and Pharmacology Journal.* 17:1.
- Niño-Sánchez J, Chen LH, De Souza JT, Mosquera S, Stergiopoulos I. 2021.** Targeted delivery of gene silencing in fungi using genetically engineered bacteria. *J. Fungi.* 7:125.
- Nowara D, Gay A, Lacomme C, Shaw J, Ridout C, Douchkov D, Hensel G, Kumlehn J, Schweizer P. 2010.** HIGS: Host-induced gene silencing in the obligate biotrophic fungal pathogen *Blumeria graminis*. *Plant Cell.* 22: 3130–3141.

"ساکي و ميرسليماني، کاربرد رويکردهای نوين بر پایه‌ی Small RNA در کنترل بيماری‌های گیاهی"

- Panwar V, McCallum B, Bakkeren G. 2013.** Host-induced gene silencing of wheat leaf rust fungus *Puccinia triticina* pathogenicity genes mediated by the Barley stripe mosaic virus. *Plant Mol. Biol.* 81: 595–608.
- Qi T, Zhu X, Tan C, Liu P, Guo J, Kang Z, Guo J. 2017.** Host-induced gene silencing of an important pathogenicity factor PsCPK1 in *Puccinia striiformis* f.sp. *tritici* enhances resistance of wheat to stripe rust. *Plant Biotechnol. J.* 16: 797–807.
- Qiao L, Lan C, Capriotti L, Ah-Fong A, Nino Sanchez J, Hamby R, Heller J, Zhao H, Glass NL, Judelson HS, Mezzetti B. 2021.** Spray-induced gene silencing for disease control is dependent on the efficiency of pathogen RNA uptake. *Plant Biotechnol. J.* 19: 1756–1768.
- Qiao SA, Gao Z, Roth R. 2023.** A perspective on cross-kingdom RNA interference in mutualistic symbioses. *New Phytologist.* 240.1: 68-79.
- Qin C, Li B, Fan Y, Zhang X, Yu Z, Ryabov E, Zhao M, Wang H, Shi N, Zhang P, Jackson S. 2017.** Roles of dicer like proteins 2 and 4 in intra- and inter cellular antiviral silencing. *Plant Physiol.* 174: 1067–1081.
- Rodrigues JCM, Carrijo J, Anjos RM, Cunha NB, Grynberg P, Aragão FJL, & Vianna GR. 2024.** The role of microRNAs in NBS-LRR gene expression and its implications for plant immunity and crop development. *Transgenic Research.* 1-16.
- Safářová D, Brázda P, Navratil M. 2014.** Effect of artificial dsRNA on infection of pea plants by pea seed-borne mosaic virus. *CzechJ. Genet. Plant Breed.* 50:105–108.
- San Miguel K and Scott JG. 2016.** The next generation of insecticides: dsRNA is stable as a foliar-applied insecticide. *Pest. Manag. Sci.* 72: 801–809.
- Sang H and Kim JI. 2020.** Advanced strategies to control plant pathogenic fungi by host-induced gene silencing (HIGS) and spray-induced gene silencing (SIGS). *Plant Biotechnol. Rep.* 14: 1–8.
- Sanju S, Siddappa S, Thakur A, Shukla PK, Srivastava N, Pattanayak D, Sharma S, Singh BP. 2015.** Host-mediated gene silencing of a single effector gene from the potato pathogen *Phytophthora infestans* imparts partial resistance to late blight disease. *Funct. Integr. Genom.* 15: 697–706.
- Santala J and Valkonen JP. 2018.** Sensitivity of Small RNA-Based Detection of Plant Viruses. *Front. Microbiol.* 9:939.
- Shakori Z, Azimzadeh-Jamalkandi S, Sadeghi B, Sadeghi A, Mohammadi MA. 2014.** RNAi: applications and challenges from bioinformatics and medical science aspects. *Journal of Biosafety.* 7 (2): 69-78
- Shimizu T, Nakazono-Nagaoka E, Uehara-Ichiki T, Sasaya T, Omura T. 2011.** Targeting specific genes for RNA interference is crucial to the development of strong resistance to Rice stripe virus. *Plant Biotechnol. J.* 9: 503–512.
- Shivakumara TN, Chaudhary S, Kamaraju D, Dutta TK, Papolu PK, Banakar P, Sreevathsa R, Singh B, Manjaiah KM, Rao U. 2017.** Host-induced silencing of two pharyngeal gland genes conferred transcriptional alteration of cell wall-modifying enzymes of *Meloidogyne incognitavis*-a-vis perturbed nematode infectivity in eggplant. *Front. Plant Sci.* 8:473.
- Tenllado F, Martínez-García B, Vargas M, Díaz-Ruiz JR. 2003.** Crude extracts of bacterially expressed dsRNA can be used to protect plants against virus infections. *BMC Biotechnol.* 3:3.
- Tian B, Li J, Oakley TR, Todd TC, Trick HN. 2016.** Host-derived artificial microRNA as an alternative method to improve soybean resistance to soybean cyst nematode. *Genes* 7:122.
- Uslu VV, Bassler A, Krczal G, Wassenegger M. 2020.** High-Pressure Sprayed Double Stranded RNA Does Not Induce RNA Interference of a Reporter Gene. *Front. Plant Sci.* 11:534391.
- Wada N, Ueta R, Osakabe Y, Osakabe K. 2020.** Precision genome editing in plants: State-of-the-art in CRISPR/Cas9-based genome engineering. *BMC Plant Biol.* 20:234.
- Walawage SL, Britton MT, Leslie CA, Uratsu SL, Li Y, Dandekar AM. 2013.** Stacking resistance to crown gall and nematodes in walnut root stocks. *BMC Genom.* 4:668.
- Wang M, Weiberg A, Lin FM, Thomma BP, Huang HD, Jin H. 2016.** Bidirectional cross-kingdom RNAi and fungal uptake of external RNAs confer plant protection. *Nat. Plants* 2:16151.
- Waters LS, Storz G. 2009.** Regulatory RNAs in Bacteria. *Cell.* 136: 615–628.

Werner BT, Gaffar FY, Schuemann J, Biedenkopf D, Koch AM. 2020. RNA-spray-mediated silencing of *Fusarium graminearum* AGO and DCL genes improve barley disease resistance. *Front. Plant Sci.* 11:476.

Wytinck N, Sullivan DS, Biggar KT, Crisostomo L, Pelka P, Belmonte MF, Whyard S. 2020. Clathrin mediated endocytosis is involved in the uptake of exogenous double-stranded RNA in the white mold phytopathogen *Sclerotinia sclerotiorum*. *Sci. Rep.* 10:12773.

Yang L, Huang H. 2014. Roles of small RNAs in plant disease resistance. *J. Integr. Plant Biol.* 56: 962–970.

Zhao J, Mejias J, Quentin M, Chen Y, de Almeida-Engler J, Mao Z, Sun Q, Liu Q, Xie B, Abad P, Favery B. 2020. The root-knot nematode effector MiPDII targets a stress-associated protein (SAP) to establish disease in Solanaceae and Arabidopsis. *New Phytol.* 228: 1417–1430.

Zhou B, Bailey A, Niblett CL, Qu R. 2016. Control of brown patch (*Rhizoctonia solani*) in tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb.) by host-induced gene silencing. *Plant Cell Rep.* 35: 791–802.

Zhu C, Liu T, Chang YN, Duan CG. 2019. Small RNA Functions as a Trafficking Effector in Plant Immunity. *Int. J. Mol. Sci.* 20: E2816.

Application of New Small RNA- Based Approaches in Plant Diseases Control

Mahsa Saki¹ and Zahra Mirsoleymani^{2*}

1- MSc. Student in Plant Pathology, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.

2- Assistant Professor of Plant Pathology, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.

z.mirsoleimani@scu.ac.ir

Abstract

Plant pathogens are a considerable risk to global food security due to the drastic reduction in yield and quality of crops. The deployment of RNA interference (RNAi) machinery for crop protection against plant pathogens agents is showing promising results. It is well set up that small RNA molecules, such as small interfering RNAs (siRNAs) and microRNAs (miRNAs), are included in regulating gene expression, and the process of RNA silencing at both transcriptional and post-transcriptional stages. Using host-induced gene silencing (HIGS), plants are genetically modified to produce small RNAs that infiltrate pathogen cells and deactivate specific genes. Alternatively, spray-induced gene silencing (SIGS) involves directly applying small RNAs onto plants, where they penetrate the pathogens and suppress target genes. This study delves into the roles of small RNAs and examines their potential application in combating a many plant pathogens through either HIGS or SIGS strategies providing an evaluation of their respective benefits and limitations.

Keywords: Small RNA, Interfering RNA, Transgenic Plants, HIGS, SIGS.