**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، ایران

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

z.mirsoleimani@scu.ac.ir

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

صفحه ۱۶-۱

## 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.ا و آر.ان.ای مداخله‌گر کوچک در تنظیم بیان ژن و خاموش کردن آر.ان.ا 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.

[ Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-07-13 ]

## مقدمه

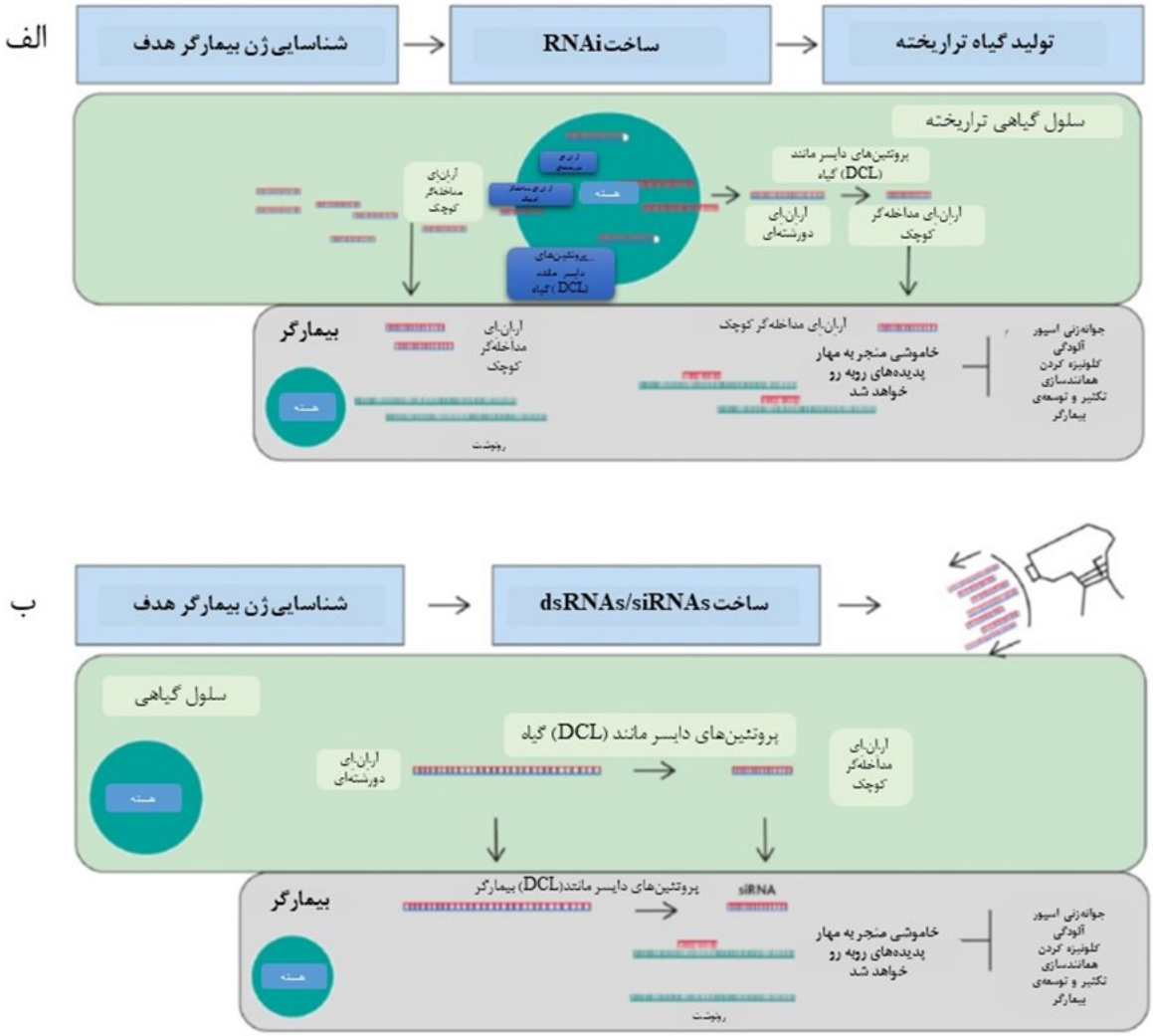
گونه‌های گیاهی به‌طور معمول توسط آفات و میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا از جمله ویروس‌ها، باکتری‌ها، اوومیست‌ها، قارچ‌ها، گیاهان انگلی و نماتدها مورد آسیب قرار می‌گیرند (Jones and Dangl, 2006; Bilir et al. 2019). بسیاری از بیمارگرهای گیاهی آسیب قابل توجهی به تولید محصولات کشاورزی وارد می‌کنند، کیفیت آن‌ها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

به‌طور هم‌زمان، رشد جمعیت در جهان تقاضای فزآینده‌ای را برای غذاهای ایمن، مغذی و در دسترس ایجاد کرده است. رویکردهای حفاظت از گیاهانِ 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.اِن.اِی مداخله‌گرِ (RNAi; interfering RNA) گیاهی است. RNAi 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 می‌شود: این دو رویکرد عبارتند از: خاموشی ژن توسط میزبان (HIGS; host induced gene silencing) و خاموشی ژن به وسیله اِسپری (SIGS; spray induced gene silencing). سازوکار HIGS فناوری در گیاهان تراریخته است که در آن آر.اِن.اِی دورشته‌ای (dsRNA; double-stranded RNA) یک ژن بیماگر در گیاه میزبان بیان می‌شود و آر.اِن.ای‌های کوچک (sRNA; small RNA) (شکل ۱) مشتق شده از آن توسط بیمارگر شناسایی و سبب خاموش شدن ژن هدف می‌شوند (Sang and Kim, 2020).

بیان آر.اِن.ای‌های دو رشته‌ای در گیاهان می تواند باعث خاموش شدن آر.اِن.ای‌های همولوگ در بیمارگرهای قارچی شود (Borniegoa et al. 2024). در مقابل، SIGS متکی به کاربرد خارجی آر.اِن.ای‌های دو رشته‌ای یا sRNA (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.

[ Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-07-13 ]




**شکل ۱**- رویکردهای کنترل بیمارگرهای گیاهی با بهره‌گیری از HIGS و SIGS.

الف) HIGS: ژنوم هدف در بیمارگر شناسایی می‌شود و آر.ان.ای مداخله‌گر کوچک از روی ژنوم هدف ساخته می‌شود. سلول‌های گیاهان تراریخته آر.ان.ای دورشته‌ای را تولید می‌کنند که توسط پروتئین‌های دایسر مانند (Dicer-like (DCL) proteins) در هسته و سیتوپلاسم شکافته شده و آر.ان.ای مداخله‌گر کوچک را تولید می‌کند و به سلول‌های بیمارگر منتقل می‌شوند. آر.ان.ای مداخله‌گر کوچک خاموشی آر.ان.ای بیمارگر را با خاموشی آر.ان.ای پیک اعمال می‌کند.

ب) SIGS: آر.ان.ای دورشته‌ای و یا آر.ان.ای مداخله‌گر کوچک تراژن تولید و به گیاه اسپری می‌شود. آر.ان.ای دورشته‌ای یا به‌طور مستقیم به سلول‌های قارچی منتقل می‌شود و یا به وسیله‌ی سلول‌های گیاه به سلول‌های قارچی می‌رسند. پروتئین‌های دایسر مانند گیاه یا سلول قارچی آر.ان.ای دو رشته‌ای را به آر.ان.ای مداخله‌گر کوچک در هسته و سیتوپلاسم تقسیم می‌کنند و آر.ان.ای مداخله‌گر کوچک منجر به خاموشی ژنوم آر.ان.ای بیمارگر از طریق آر.ان.ای پیام‌رسان می‌شود. بسته به عملکرد ژن هدف، رویکردهای HIGS و SIGS به واسطه‌ی خاموشی ژن می‌توانند منجر به مهار اسپورزایی، آلودگی، کلنیزه کردن، تکثیر یا توسعه بیمارگر شوند (Bilir et al. 2022).



[ Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-07-13 ]

**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 به‌عنوان تنظیم‌کننده‌های ژنتیکی کلیدی شناخته شده‌ای هستند که در فرآیندهای مختلف، از جمله اصلاح متیله شدن دی.اِن.اِ و یا تنظیم فراوانی آر.اِن.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). sRNAها به دو کلاس اصلی طبقه‌بندی می‌شوند: میکرو آر.اِن.ای‌ها (microRNAs; miRNAs) و آر.اِن.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.اِن.ای بلند دو رشته‌ای مشتق می‌شوند (Guleria et al. 2011). siRNAها به‌عنوان 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.اِن.اِ (RNA interference) مکانیسم تنظیمیِ 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.اِن.اِ 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.اِن.اِ، تولید sRNAها با طول ۲۱ تا ۳۰ نوکلئوتید است که می‌تواند بیان ژن را در یک توالی خاص تنظیم کند. به‌طور کلی sRNAهای تولید شده از آر.اِن.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



[ Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-07-13 ]

برابر یک یا چند ژن از بیمارگر بیان می‌کنند (santala and valkonen, 2018). تراریخته‌ها به‌طور معمول آر.ان.ای دو رشته‌ای تولید می‌کنند که توالی خاصی از ژنوم بیمارگر را شناسایی می‌کنند. گیاهان تراریخته آر.ان.ای‌های دو رشته‌ای را رونویسی می‌کند که به siRNAها پردازش شده و به نوبه خود به بیمارگرهای گیاهی منتقل می‌شوند (Sang and Kim, 2020). گام مهم برای موفقیت در HIGS، شناسایی ژن‌های هدف در بیمارگر است (Koug and Kogel, 2014). این عمل اغلب به وسیله تجزیه و تحلیل داده‌های رونویسی یا پایگاه داده‌های ژنوم به دست می‌آید. پس از شناسایی ژن‌های هدف، می‌توان بررسی آزمایشگاهی بر روی کشت‌های بیمارگر با استفاده از آر.ان.اِهای دو رشته‌ای و یا siRNAها که به‌طور مصنوعی ساخته شده است، انجام داد. متعاقباً، یک ناقل بیان ساخته می‌شود که وقتی در گیاهان بیان می‌شود، جمعیت‌هایی از آر.ان.ای دو رشته‌ای و siRNAها را تولید می‌کند که ژنوم بیمارگر را هدف قرار می‌دهد (Ghag. 2017). نکته قابل توجه دیگر در HIGS این است که آر.ان.ای دو رشته‌ای و siRNAها، اثرات خارج از هدف را اعمال نمی‌کنند (Koch and Kogel, 2014).

در اصل، HIGS می‌تواند ابزاری قوی برای کاهش بیان ژن‌های کلیدی برای پیشرفت بیمارگر در گیاه میزبان باشد. علاوه‌بر 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 عفونت‌های بیمارگر است (Koch et al. 2019; Hu et al. 2020; Sang and Kim, 2020). آر.ان.ای‌های اسپری شده روی سطوح گیاه حداقل دو مسیر ممکن برای ورود به سلول‌های بیمارگر دارند: در مسیر اول پس از ورود به سلول‌های گیاهی، آر.ان.ای‌های دو رشته‌ای توسط پروتئین‌های گیاهی دایسر مانند (DCLs; dicer like protein) به sRNAها تقسیم می‌شوند. در عین حال، برخی از این آر.ان.ای‌های دو رشته‌ای و sRNAها در سلول‌های گیاهی نیز به سلول‌های بیمارگر منتقل می‌شوند. پس از آن، آر.ان.ای‌های دو رشته‌ای به‌طور عمده توسط پروتئین‌های دایسر مانند در بیمارگر به sRNAها تبدیل می‌شوند. در مسیر دیگر، آر.ان.ای‌های دو رشته‌ای و آر.ان.ای‌های کوچک خارجی می‌توانند به‌طور مستقیم توسط سلول‌های بیمارگر جذب شوند. دوباره آر.ان.ای‌های دو رشته‌ای ممکن است توسط پروتئین‌های دایسر مانند در بیمارگر به sRNAها تبدیل شوند (Koch et al. 2016;



[ Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-07-13 ]

Wang et al. 2016). در عمل، کاربرد sRNAها 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 sRNAها 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 این‌حال، 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 HIGS و SIGS

تراریخته‌هایی که آر.اِن.اِ 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 پاپایا تراریخته در برابر ویروس‌های لکه حلقه‌ای پاپایا است (Gonsalves. 2006).

از SIGS نیز برای محافظت از گیاهان در برابر ویروس‌ها استفاده شده است. در برخی از مطالعات استفاده از عصاره خامِ آر.اِن.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.اِن.ای دو رشته‌ای با بیان باکتریایی روی برگ انجام شد. پس از مایه‌زنی ویروس بیمارگر، ۵ روز پس از کاربرد آر.اِن.ای دو رشته‌ای، این آر.اِن.اِ باعث تخریب اختصاصی آر.اِن.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.اِن.ای دو رشته‌ای می‌شود (Tenllado et al. 2003).

در آزمایشی مشابه، ذرت با عصاره خام از آ.رِان.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 درنتیجه عفونت ویروسی مهار شد (Gan et al. 2010).



[ Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-07-13 ]

**مقاومت در برابر باکتری‌های بیمارگر مبتنی‌بر HIGS و SIGS**

باکتری‌ها فاقد سازوکار RNAi همانند یوکاریوت‌ها هستند. این موجودات تک‌سلولی از سازوکارهایی از جمله CRISPR (clustered regularly interspaced short palindromic repeats) برای تنظیم ژن‌ها استفاده کرده که از جذب دی.اِن.اِ خارجی و sRNA جلوگیری می‌کنند و به پروتئین‌ها یا جفت بازها با اهداف آر.اِن.اِ متصل می‌شوند. سازوکاری مبتنی‌بر HIGS برای بهبود مقاومت در برابر باکتری مولد گال (*Agrobacterium*) به کار گرفته شده است (Escobar et al. 2001).

گیاهان *آرابیدوپسیس* (*Arabidopsis thaliana*) و گوجه‌فرنگی (*Lycopersicon esculentum*) برای شروع فعالیت RNAi در برابر این باکتری تراریخته شدند. پس از مایه‌زنی به وسیله‌ی *Agrobacterium tumefaciens*، تراریخته‌های *A. Thaliana* و *L. escutelum* به ترتیب ۰-۱/۵ درصد و ۰-۲۴ درصد گال‌زایی را در مقایسه با گیاهان شاهد که نزدیک به ۱۰۰ درصد گال‌زایی داشتند، نشان دادند (Waters and Storz, 2009). در پژوهشی دیگر با بهره‌گیری از رویکرد HIGS، ژن‌های القاکننده حساسیت به بیمارگر در گیاهان میزبان مورد هدف قرار گرفتند و نتایج موفقی در برنج در برابر *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae* نشان داده شد (Walawage et al. 2013). همچنین بکارگیری HIGS در سیب‌زمینی سبب مقاومت این میزبان در برابر باکتری عامل پوسیدگی (*Pectobacterium carotovorum*) این گیاه شد. تاکنون هیچ مطالعه‌ای مبنی بر کنترل بیمارگرهای گیاهی باکتریایی مبتنی‌بر SIGS گزارش نشده است (Mahmoudi and Soleimani, 2019; Rodrigues et al. 2024).

**حفاظت ازگیاهان در برابر عفونت‌های قارچی مبتنی‌بر HIGS و SIGS**

رویکرد خاموشی آر.اِن.اِ، انقلابی در یوکاریوت‌ها است که دانش ما را در مورد بیان و تنظیم ژن در گیاهان بسیار گسترش داده است (Koeppe et al. 2023). بیشتر مطالعات انجام شده روی بیمارگرهای قارچی در گندم و جو با استفاده از HIGS با بکارگیری ناقل‌های ویروسی ناپایا انجام شده است. از HIGS با واسطه BSMV (barley stripe mosaic virus) برای خاموش کردن ژن بیمارگر به‌منظور کنترل زنگ زرد گندم نیز (*Puccinia striiformis* f.sp. *tritici*) استفاده شده است. مشاهدات گویای این است که ژن هدف، یک عامل بیماری‌زایی مهم برای زنگ زرد گندم است و خاموشی این ژن منجر به کاهش شدت بیماری می‌شود. ایجاد لاین‌هایی از گندم تراریخته با رویکرد HIGS در برابر بیمارگر سفیدک پودری گندم (*Blumeria graminis* f. sp.



[ Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-07-13 ]

*Tritici*) 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 *Blumeria graminis* بکارگرفته شده است (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 ریسه 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* مهار بیمارگر را به دنبال داشت (Ghag et al. 2014). استفاده از HIGS در برابر بیمارگر *Colletotrichum gloesporioides* از رخنه و عفونت این بیمارگر در میوه‌ها در سردخانه و گوجه‌فرنگی جلوگیری 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.اِن.اِ دو رشته‌ای روی سطح میوه‌ها، سبزیجات و گل‌ها اسپری شدند. آر.اِن.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.اِن.ای دو رشته‌ای برای کنترل بیمارگر *Fusarium asiaticum* سبب مقاومت گیاه میزبان به چندین بیمارگر گیاهی دیگر از جمله *Colletotricum* spp.، *B. cinerea*،



[ Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-07-13 ]

*F. oxysporum*، *F. tricinctum*، *F. graminearum* و *F. asiaticum* شده، و در نتیجه نیازبه قارچ‌کش کاربندازیم کاهش پیدا کرده، رشد قارچ مهار و باعث تغییر شکل و چند شاخه شدن ریسه قارچ شد. این نتایج رویکرد SIGS را به ابزاری گسترده برای حفاظت از گیاهان در برابر بیمارگرها تبدیل کرده است (Gu et al. 2019).

**خاموشی ژن به وسیله HIGS و SIGS در کنترل اوومیست‌های بیمارگر**

در مقایسه با پژوهش‌های گسترده در زمینه بکارگیری sRNA در قارچ‌های بیمارگر گیاهی، مطالعات مبتنی‌بر فعالیت sRNA در کنترل اوومیست‌ها نسبتاً اندک است. اولین بار، ژن عامل بیماری در بیمارگر اوومیستی عامل بادزدگی سیب‌زمینی (*Phytophthora infestans*) مورد هدف قرار گرفت و تولید مولکول‌های RNAi در سلول‌های میزبان منجر به مهار بیان ژن عامل بیماری در *P. infestans* از طریق HIGS شد و شدت بیماری کاهش پیدا کرد (sanju et al. 2015). استفاده از SIGS در برابر *Hyaloperonospora arabidopsidis* با هدف قرار دادن ژن سلولز سنتاز A3 (*CesA3*)، سبب کنترل عامل سفیدک کرکی می‌شود (Covindarajula et al. 2015). در استفاده از آ.ر.ان.ا دو رشته‌ای با هدف قراردادن ژن‌های عامل بیماری در بیمارگر مولد سفیدک کرکی انگور (*Plasmopara viticol*)، کاهش سطح بیان این ژن‌ها و به دنبال آن کاهش نرخ رشد بیماری مشاهده می‌شود (Haile et al. 2021). گزارش مشابهی از کاربرد رویکرد SIGS با آر.اِن.ای دو رشته‌ای در برابر بیمارگر بادزدگی سیب‌زمینی وجود دارد. با هدف قرار دادن چندین ژن از جمله *PiGPB1*، *PiHmp1*، *PiCut3* و *PiEndo3* و ارزیابی دقیق، مشخص شد که برخی از این ژن‌ها به‌طور قابل ملاحظه‌ای رشد بیمارگر را مهار می‌کنند (Kalyandurg et al. 2021). برای افزایش عملکرد SIGS در برابر *P. infestans* چند پارامتر، مانند استفاده از ماده محرک و تقویت‌کننده ایمنی همراه آر.اِن.ای دو رشته‌ای توصیه می‌شود. نتایج دلگرم‌کننده‌ی این مطالعات الهام‌بخش سرمایه‌گذاری بیشتر در رویکردهای مبتنی‌بر sRNA در برابر اوومیست‌ها است (Kalyandurg et al. 2021).

**حفاظت از گیاهان در برابر نماتدها مبتنی‌بر آر.اِن.ای‌های کوچک**

خاموشی ژن از طریق HIGS با موفقیت برای کنترل نماتدهای انگلی گیاهی از جمله نماتدهای مولد سیست، ریشه گرهی و به‌تازگی، نماتدهای ایجادکننده زخم ریشه استفاده شده است (Alkharouf et al. 2007; hung et al. 2006; Shivokamela et al. 2017; Chaydhary et al. 2019). به‌عنوان مثال بیان آر.اِن.ای دورشته‌ای در



[ Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-07-13 ]

*آرابیدوپسیس* تراریخته و به دنبال آن تولید RNAi و هدف قرار دان ژن نماتد انگل، آلودگی را کاهش داد (Huang et al. 2006). در مطالعه‌ی دیگری بکارگیری آر.اِن.ای دورشته‌ای در *آرابیدوپسیس* تراریخته سبب کاهش بیان ژنی شد که عامل تسهیل‌کننده بیماریزایی نماتد بود و درنتیجه 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 سیب‌زمینی 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.اِن.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 |
|---|---|---|---|---|
| HIGS | Wheat streak mosaic virus (WSMV) | گندم | *NIa* | Fahim et al. 2010 |
| | Rice stripe virus (RSV) | برنج | *pC2, pC3, pC4,p4* | Shimizu et al. 2011 |
| | *A. tumefaciens* | *آرابیدوپسیس*، تنباکو | *iaaM, ags* | Dunoyer et al. 2006 |
| | *A. tumefaciens* | برنج | *OsPDS, OsSLRI* | Andrieu ae al. 2012 |
| | *Puccinia triticina* | گندم | *PtMAPK1, PtCYC1 PtCNB* | Panwar et al. 2013 |
| | *Blumeria graminis* f. sp. *Hordei* | جو | *CSEP0139, CSEP0182* | Li et al. 2021 |
| | *Aspergillus flavus* | ذرت | *aflR* | Masanga et al. 2015 |
| | *Phytophthora infestans* | سیب‌زمینی | *PiGPB1, PiCESA2, PiPE* | Jahan et al. 2015 |
| | *Heterodera glycines* | سویا | *J15,J20,J23* | Tian et al. 2016 |
| | *Meloidogyne incognita* | *آرابیدوپسیس* | *MiPDI1* | Zhao et al. 2020 |
| SIGS | Pea seed borne mosaic virus (PSbMV) | نخود | *CP* | Safarova et al. 2014 |
| | Pepper mild mottle virus (PMMoV) | لوبیا چشم بلبلی | *RP gene of PMMoV,* | Mitter et al. 2017 |
| | *Sclerotinia sclerotiorum* | جو | *Ss-ThioR, Ss-TIM44, Ss-CHC* | Wytinck et al. 2020 |
| | *Fusarium graminearu* | *آرابیدوپسیس* | *FgCYP51, FgCYP51C* | Hofle et al. 2020 |
| | *Plasmopara viticola* | انگور | *PvDCL1/2* | Haile et al. 2021 |
| | *Phytophthora infestans* | سیب‌زمینی | *PiGPB1, PiHmp1,PiCut3* | Kalyandurg et al. 2021 |



[ Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-07-13 ]

## نتایج و بحث

مطالعات گسترده در زمینه HIGS، بیان‌کننده موفقیت در بکارگیری این رویکرد با دستیابی به گیاهان تراریخته و آشکارسازی عملکرد ژن‌ها در انواع بیمارگرهای گیاهی و محافظت از گیاهان میزبان در برابر بیماری‌های مختلف است. HIGS بیشترین پتانسیل را نسبت به سایر روش‌های کنترل بیماری گیاهی دارد؛ چرا که بدون دخالت کشاورز، رویکرد محافظتی موثری از محصولات گیاهی را جایگزین بکارگیری سموم شیمیایی پرهزینه و ناسازگار با محیط زیست خواهد کرد. مقاومت در برابر بیمارگرهای گیاهی مبتنی‌بر HIGS در مقایسه با مقاومت‌های القا شده توسط ژن‌های القاکننده مقاومت (resistance genes) در گیاه به بیمارگر می‌تواند بادوام و طولانی مدت بوده و با توجه به اینکه به سرعت به جهش ژن‌های پرآزاری (*Avr*) بیمارگر غلبه می‌کنند، کاربردی‌تر باشد. علاوه‌بر این، رویکرد HIGS می تواند برای کنترل چندین بیمارگر در یک میزبان استفاده شود. فناوری HIGS بر پایه‌ی حرکت موفقیت‌آمیز RNAiها از گیاه میزبان به بیمارگر متکی است، در نتیجه برخی از عوامل بیماری‌زا ممکن است با استفاده از این روش قابل دستکاری نباشند. اثرات خارج از هدف این رویکرد نیز عامل منفی دیگری است که باید در نظر گرفته شود. اگر منطقه هدف نیز به درستی انتخاب نشده باشد، می‌تواند سبب کاهش عملکرد و شکست این رویکرد شود. علاوه‌بر این، بیمارگر ممکن است فقط در قسمت‌های خاصی از گیاهان مانند ریشه و میوه بیماری ایجاد کند، و هدف‌گذاری بافت خاص به وسیله سیستم HIGS دشوار و تاحدی امکان ناپذیر است.

رویکرد SIGS با موفقیت در مورد گیاهان تک لپه‌ای و دو لپه‌ای مورد استفاده قرار گرفته است و به نظر می‌رسد به‌عنوان رویکردی بالقوه برای حفاظت از گیاه کارآمد باشد (Bilir et al. 2022). در مقایسه با روش‌های فعلی کنترل بیماری، SIGS می‌تواند از نظر زیست محیطی پایدار باشد و روشی سریع و مناسب برای حفاظت گیاه، قبل و بعد از برداشت ارائه می‌دهد. به‌عنوان یک رویکرد غیرتراژنی، رویکرد SIGS به‌طور بالقوه برای مصرف‌کنندگان قابل قبول‌تر است( Bilir et al. 2022). علاوه‌بر این، فناوری SIGS با استفاده از ابزار بیوانفورماتیک ژن‌های خاصی را هدف قرار می‌دهد و هر گونه اثرات خارج از هدف کاهش می‌یابد. از سوی دیگر اسپری‌ها را می‌توان به صورت خاصی تنظیم کرد که مختص به آفات یا عوامل بیماری‌زای خاص باشند ( Bilir et al. 2022). با اینحال، کنترل بیمارگر مبتنی‌بر SIGS با چالش‌هایی ازجمله؛ کاهش ماندگاری این روش بر گیاهان میزبان به دلیل تخریب آر.اِن.اِ، محدودیت در بکارگیری میزان آر.اِن.ای مورد



[ Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-07-13 ]

استفاده در هر بار اسپری بر روی گیاه و عملکرد متفاوت سلول‌های گیاه میزبان و سلول‌های بیمارگرها نسبت به جذب آر.اِن.اِ مواجه است (Höfle et al. 2020). کارایی جذب آر.اِن.ای دو رشته‌ای توسط میکروارگانیسم‌های یوکاریوتی و انواع سلول‌ها در گونه‌های قارچی یا اوومیستی متفاوت است (Qiao et al. 2021). لازم به ذکر است که در رویکرد اسپری آر.اِن.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 وتنها چند روش، از جمله نانورس (Nanoclay)، مورد آزمایش قرار گرفته است (Bilir et al. 2022). همچنین در مورد SIGS به‌عنوان فناوری جدید مبتنی‌بر RNAiها، پذیرش 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. زمانی‌که 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).



[ Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-07-13 ]

## 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.

[ Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-07-13 ]

**Iqbal S, Fosu-Nyarko J, Jones MG. 2020.** Attempt to silence genes of the RNAi pathways of the root-rnot rematode, Meloidogyne incognita results in diverse responses including increase and no change in expression of some genes. Front. Plant Sci. 11: 328.

**Jahan SN, Åsman 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-msp2. 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, Rossbach O, Abdellatef 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.

**Koeppe 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.

[ Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-07-13 ]

**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-Ruíz 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.

[ Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-07-13 ]

**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 MiPDI1 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 hostinduced 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 Saki[1] 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.

[ Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-07-13 ]