



Extensional Article

Role of betasatellites in interaction of viruses with plants

NADIA MOSHARAF¹, SAEID TABEIN¹✉,
SEYED ALI AKBAR BEHJATNIA², ATENA SAFI¹

1- Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

2- Faculty of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran

Received: 15.11.2019

Accepted: 05.03.2020

Mosharaf N, Tabein S, Behjatnia SAA, Safi A (2019) Role of betasatellites in interaction of viruses with plants. *Plant Pathology Science* 9(1):78-90. DOI: 10.2982/PPS.9.1.78.

Abstract

Betasatellites, as begomovirus-dependent small circular single-stranded DNAs, are multifunctional agents that trigger disease symptoms, suppress gene silencing pathways and also interact with various cellular pathways and factors. These subviral elements have a conserved genome organization that encodes only a functional open reading frame on the complementary sense strand β C1. The encoded beta satellite protein affects only the helper begomovirus cycle factor. The small size with a strong promoter sequence and the ability to replace β C1 with foreign genes made beta satellites suspected tools for the investigation of functional genes. As we expand our knowledge of begomovirus / beta satellite complexes and their interactions with host plants, we develop management approaches for the expansion of begomoviral destructive diseases.

Keywords: Begomoviruses, Betasatellite, Geminivirus, Gene study

✉Tabein.saeid@gmail.com

مقاله ترویجی

نقش بتاستلایت‌ها در برهمکنش ویروس‌ها با گیاهان

نادیا مشرف^۱، سعید تابعین^۱ ✉، سید علی اکبر بهجت‌نیا^۲، آتنا صافی^۱

۱- دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز

۲- دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز

پذیرش: ۱۳۹۸/۱۲/۱۵

دریافت: ۱۳۹۸/۰۸/۲۴

مشرف ن، تابعین س، بهجت‌نیا س ا، صافی ا (۱۳۹۸) نقش بتاستلایت‌ها در برهمکنش ویروس‌ها با گیاهان.

دانش بیماری‌شناسی گیاهی ۹(۱): ۷۸-۹۰. DOI: 10.2982/PPS.9.1.78.

چکیده

بتاستلایت‌ها به عنوان دی‌ان‌ای‌های کوچک حلقوی وابسته به بگوموویروس‌ها، عواملی چندکاره هستند که علاوه بر القای علائم بیماری و سرکوب مسیرهای خاموشی آر‌ان‌ای، با طیف وسیعی از عوامل و مسیرهای سلولی برهمکنش می‌دهند. بتاستلایت‌ها از سازمان ژنومی محافظت‌شده‌ای برخوردارند و یک چارچوب خوانش فعال $\beta C1$ روی رشته مکمل ژنوم خود دارند. با وجود ناحیه حفاظت‌شده و ناحیه غنی از آدنین در ژنوم بتاستلایت‌ها، تنها پروتیین کدشده توسط بتاستلایت است که می‌تواند بر چرخه بگوموویروس کمکی خود اثرگذار باشد. اندازه کوچک، داشتن توالی پیش‌برقوی و امکان جایگزین کردن توالی ژن‌های خارجی با توالی ژن رمزگذاری‌کننده $\beta C1$ ، باعث شده است که بتاستلایت‌ها به عنوان ابزاری مناسب در مطالعات تعیین عملکرد ژن‌ها، بیان ژن‌ها و تراریخت‌سازی مورد استفاده قرار بگیرند. افزایش دانش ما در مورد چگونگی برهمکنش‌های چندگانه بتاستلایت/بگوموویروس و گیاه میزبان می‌تواند منجر به توسعه و پیشرفت شیوه‌های مدیریت خسارت ناشی از این گروه از بیمارگرها شود.

واژگان کلیدی: بتاستلایت، بگوموویروس، جمینی‌ویروس، مطالعه ژن

مقدمه

در بین جنس‌های تیره *Geminiviridae*، جنس *Begomovirus* به عنوان بزرگ‌ترین جنس در طبقه‌بندی ویروس‌ها دارای بیش از ۴۰۰ گونه است (ICTV). اعضای این جنس با داشتن ژنوم یک یا دوبخشی که همگی با سفیدبالک *Bemisia tabaci* در گیاهان دولپه‌ای انتقال می‌یابند، از سایر جمینی‌ویروس‌ها متمایز می‌شوند (Brown et al. 2015). بگوموویروس‌ها، مسئول بروز بسیاری از بیماری‌های مخرب در گیاهان مهم اقتصادی از قبیل پنبه، کاساوا، گوجه‌فرنگی و سیب‌زمینی هستند (Brown and Bird, 1992, Moriones and Navas-Castillo 2000). بر اساس سازمان‌دهی ژنوم و مطالعات تبارزایی، بگوموویروس‌ها به دو گروه بگوموویروس‌های دنیای جدید و دنیای قدیم تقسیم شده‌اند (Nawaz-ul-Rehman et al. 2009b). اغلب بگوموویروس‌های دنیای جدید دارای ژنوم دوبخشی هستند که با عنوان DNA A و DNA B شناخته می‌شوند، در حالی که بگوموویروس‌های دنیای قدیم اغلب دارای ژنوم یک‌بخشی هستند (Nawaz-ul-Rehman et al. 2009b).

✉ Tabein.saeid@gmail.com

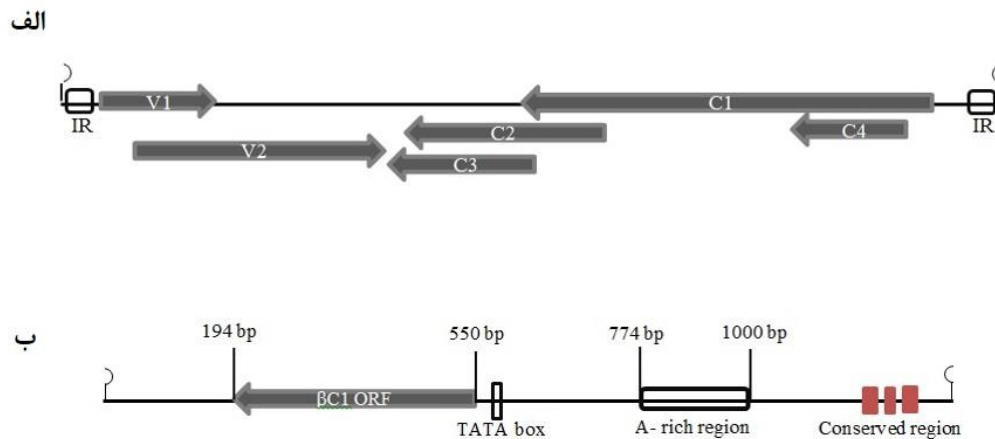
آلودگی بگوموویروس‌های یک‌بخشی عمدتاً با مولکول‌های دی‌ان‌ا کوچک حلقوی به نام بتاستلایت همراه است (Briddon et al. 2008, Stanley 2004). بتاستلایت‌ها با اندازه‌های کوچک‌تر از ژنوم ویروس، برای همانندسازی، کپسیدپوشی، حرکت در داخل گیاه و انتقال توسط ناقلین به بگوموویروس‌های کمکی خود وابسته هستند (Briddon et al. 2008, Zhou 2013). کمپلکس‌های بگوموویروس/بتاستلایت عمدتاً در دنیای قدیم از جمله کشورهای آسیایی و آفریقایی یافت می‌شوند (Briddon et al. 2003b, Ha et al. 2008).

علاوه بر بتاستلایت‌ها، انواع دیگری از مولکول‌های ستلایت همراه با آلودگی بگوموویروس‌ها شناسایی شده‌اند که عبارت از آلفاستلایت‌ها، بتاستلایت‌های ناقص و دلتاستلایت‌ها هستند (Stanley 2004, Zhou 2013, Lozano et al. 2016). این عناصر دارای تفاوت‌های ساختاری با بتاستلایت‌ها بوده و معمولاً فاقد اثرگذاری مستقیم بر کمپلکس‌های بیماری‌زایی بگوموویروس‌ها هستند (Lozano et al. 2016, Stanley 2004). از آنجایی که در بین ستلایت‌های شناسایی شده همراه با بگوموویروس‌ها، این بتاستلایت‌ها هستند که از نقش عمده‌ای در بروز علایم بیماری‌های ناشی از این گروه از ویروس‌ها برخوردارند، در این نوشتار به بررسی سازمان ژنومی و برهمکنش‌های این عوامل با میزبان پرداخته می‌شود. همچنین، جنبه‌های کاربردی استفاده از این عوامل در مطالعات تراریخت‌سازی، بیان ژن و بررسی عملکرد ژن‌ها مورد بررسی قرار می‌گیرد.

۱-بتاستلایت‌ها: سازمان‌دهی ژنوم

بررسی توالی‌های مختلف بتاستلایت حاکی از وجود سازمان‌دهی ژنومی واحدی است که شامل ناحیه حفاظت‌شده ستلایت (Satellite conserved region, SCR)، ناحیه غنی از آدنین (Adenine-rich region) و یک چارچوب خوانش روی رشته مکمل به نام $\beta C1$ می‌شود. ناحیه حفاظت‌شده بتاستلایت با طول تقریبی ۲۰۰ نوکلئوتید حامل یک ساختار ساقه-حلقه در انتهای ۳' خود است که مشابه مبدأ شروع همانندسازی در جمینی‌ویروس‌ها و نانوویروس‌ها است (Briddon et al. 2003b). ناحیه غنی از آدنین نیز به طور معمول بین ۱۶۰ تا ۲۸۰ نوکلئوتید طول دارد که دربردارنده ۵۷ تا ۶۵ درصد آدنین است (Briddon et al. 2003b). وجود ناحیه غنی از آدنین برای تکثیر و کپسیدپوشی بتاستلایت ضروری نیست (Tao et al. 2004). این احتمال وجود دارد که ناحیه غنی از آدنین به عنوان توالی انطباق‌دهنده اندازه بتاستلایت عمل کند تا بگوموویروس کمکی قادر به حفاظت و پشتیبانی از این مولکول‌ها باشد (Tao et al. 2004). طول عمومی پروتیین رمزگذاری‌شده توسط بتاستلایت‌ها، ۱۱۸ آمینواسید و دارای وزن تقریبی ۱۳/۷ کیلودالتون است (Briddon et al. 2001, Saunders et al. 2000).

بررسی توالی و نیز ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی پروتیین $\beta C1$ نشان داد که این پروتیین یک مولکول با شارژ منفی و نواحی متعدد هیدروفیلیک است که از پایداری نسبتاً پایینی برخوردار می‌باشد (Sarwar et al. 2019). تعیین ساختار سه بُعدی، وجود سه مارپیچ آلفا، چهار صفحه بتا و نیز چهار ناحیه پیچ خورده را در ساختار این پروتیین نشان داد (Sarwar et al. 2019). تمام عملکردهای بتاستلایت‌ها که تا به حال توصیف شده‌اند به پروتیین $\beta C1$ به عنوان یک پروتیین چندکاره وابسته هستند.



شکل ۱. مقایسه سازمان ژنومی بگوموویروس کمکی (الف) و بتاستلایت (ب) با در نظر گرفتن چارچوب‌های خوانش مستقر بر روی رشته ویروسی و مکمل. نواحی حفاظت‌شده بر روی ژنوم بتاستلایت نشان داده شده است. IR: ناحیه بین ژنی، V: چارچوب‌های خوانش مستقر بر روی رشته ویروسی، C: چارچوب‌های خوانش مستقر بر روی رشته مکمل.

Figure 1. Comparison of genome organization between helper begomoviruses (A) and their related betasatellites (B) with considering to virion (V) and complementary (C) sense ORFs. IR: intergenic region.

۲- عملکردهای بتاستلایت به عنوان تعیین‌کننده بیماری‌زایی

حضور بتاستلایت‌ها به هنگام آلودگی ویروس‌های کمکی، در ایجاد علائم رگبرگ زردی در گل ابری (Saunders et al. 2000)، پیچیدگی برگ در پنبه (Qazi et al. 2007)، پیچیدگی برگ زرد در گوجه‌فرنگی به هنگام آلودگی ویروس چینی پیچیدگی برگ زرد گوجه‌فرنگی (Tomato yellow leaf curl) (China virus, TYLCCNV) (Cui et al. 2004)، موزاییک رگبرگ زرد در ویروس موزاییک رگبرگ زرد بامیه (Jose and Usha 2003)، پیچیدگی برگ در بامیه توسط بگوموویروس‌های ۱ و ۲ بامیه (Kon et al. 2009) و پیچیدگی شدید برگ و توت‌های شدن در آلودگی ویروس پیچیدگی فلفل (Pepper leaf curl virus, PepLCV) (Tahir and Mansoor 2011)، مورد نیاز است.

بتاستلایت‌ها از طریق سرکوب مسیره‌های خاموشی آرانی (یا خاموشی ژن) و غلبه بر سیستم دفاع میزبانی، به عنوان تعیین‌کننده‌های بیماری‌گری در کمپلکس‌های بگوموویروس/بتاستلایت عمل می‌کنند (Bisaro 2006). پروتیین $\beta C1$ ، کمپلکس‌های چندگانه‌ای را به وجود می‌آورد که برای القای علائم در گیاهان آلوده ضروری هستند. این پروتیین همچنین در بردارنده یک سیگنال تعیین موقعیت درون هسته‌ای (Nuclear localization signal, NLS) است که وجود آن برای سرکوب خاموشی ژن ضروری می‌باشد (Cheng et al. 2011). توانایی پروتیین $\beta C1$ در برهمکنش با پروتیین پوششی ویروس همراه (Kumar et al. 2006) و مولکول‌های آرانی/آدی‌ان‌ا (Cui et al. 2005) نیز به اثبات رسیده است که می‌تواند نشان از اثرگذاری این پروتیین در حرکت کمپلکس ویروس کمکی/بتاستلایت در درون گیاه و نیز تکثیر ژنوم باشد. در طرف مقابل، برهمکنش پروتیین رمزگذاری شده توسط بتاستلایت‌ها با مسیر پروتئازوم می‌تواند تخریب این پروتیین را در

سیستم دفاع گیاهی به دنبال داشته باشد (Eini et al. 2009). در این بخش به مهم‌ترین برهمکنش‌های $\beta C1$ که سبب القا و توسعه نشانه‌های بیماری در گیاه میزبان می‌شوند، اشاره می‌شود.

۱-۲- سرکوب مسیره‌های خاموشی آران‌ا

سرکوب مسیره خاموشی آران‌ا به هنگام ترانوویسی توسط پروتیین $\beta C1$: ویروس‌های گیاهی در پاسخ به مسیره‌های دفاعی خاموشی آران‌ا در گیاه، پروتیین‌های سرکوب‌گر این مسیره‌ها را به خدمت گرفته‌اند (Bisaro 2006). بگوموویروس‌های یک‌بخشی این امکان را دارند که علاوه بر پروتیین‌های سرکوب‌گر رمزگذاری شده توسط ژنوم ویروس، از توانایی پروتیین $\beta C1$ به عنوان یک سرکوب‌گر اصلی و قدرتمند در سرکوب مسیره‌های TGS و PTGS بهره ببرند (Briddon et al. 2008). مولکول‌های دی‌ان‌ای تک‌لای ژنوم جمینی ویروس‌ها در خلال آلودگی در هسته سلول‌های گیاهی، مولکول‌های حدواسط دی‌ان‌ای دولا را تولید می‌کنند که می‌توانند به عنوان الگو در فرآیندهای ترانوویسی و تکثیر مورد استفاده قرار بگیرند و در برهمکنش با هستون‌های سلولی، مینی کروموزوم‌هایی را تشکیل دهند (Pilartz et al. 1992, Pilartz et al. 2003). چرخه متیل در هسته سلول‌ها می‌تواند گروه متیل را به مینی کروموزوم‌های ایجاد شده منتقل کند و سبب سرکوب مستقیم ترانوویسی آران‌ای‌های پیک ویروس یا همان TGS شود (Raja et al. 2008, Rodriguez-Negrete et al. 2009). پروتیین $\beta C1$ می‌تواند نقش تنظیمی منفی بر آنزیم اس-آدنوزیل هوموسیستئین هیدرولاز داشته باشد که به عنوان یک فاکتور در تولید اس-آدنوزیل متیونین عمل می‌کند؛ بنابراین، انتظار می‌رود که چرخه متیل اثرگذار بر ژنوم جمینی ویروس‌ها به واسطه کاهش و توقف تولید اس-آدنوزیل متیونین سرکوب شود چرا که این مولکول به عنوان گروه دهنده متیل و نیز یک کوفاکتور در فعالیت آنزیم متیل ترانسفراز عمل می‌کند (Yang et al. 2011). به این ترتیب، سرکوب چرخه متیلاسیون ژنوم ویروس کمکی توسط پروتیین $\beta C1$ ، می‌تواند سبب استقرار و حفاظت بیشتر از کمپلکس‌های جمینی ویروس/بتاستلایت شود.

سرکوب مسیره خاموشی ژن پس از ترانوویسی توسط پروتیین $\beta C1$: برخلاف ویروس‌های آران‌ادار، جمینی ویروس‌ها فاقد حدواسط‌های آران‌ا دولا در چرخه تکثیر خود هستند اما با وجود این، سبب القای فعالیت پروتیین‌های شبه دایسر در سلول‌های گیاه آلوده می‌شوند (Hohn and Vazquez 2011). به نظر می‌رسد که ترانوویسی دوجهته دی‌ان‌ای‌های دولای حدواسط سبب تولید برخی آران‌اهای دولای ناقص می‌شود. آران‌ا پلی‌مراز وابسته به آران‌ا شماره ۶ (RNA dependent RNA polymerase 6, RDR6) میزبان، این گروه از ترانوشته‌های ناقص همپوشان را به آران‌اهای دولای کاملی تبدیل می‌کند که پس از ورود به سیتوپلاسم می‌توانند به عنوان کلید راه‌اندازی خاموشی ژن پس از ترانوویسی عمل کنند (Muangsan et al. 2004). پروتیین $\beta C1$ می‌تواند از طریق افزایش فعالیت فاکتور Nbrgs-CaM، به عنوان یک تنظیم‌کننده منفی خاموشی آران‌ا، سبب سرکوب بیان آنزیم RDR6 شود (Li et al. 2014). بنابراین، پروتیین $\beta C1$ از طریق ممانعت از تولید آران‌اهای دولای مشتق شده از ژنوم ویروس کمکی، به طور غیرمستقیم سبب سرکوب مسیره خاموشی ژن پس از ترانوویسی می‌شود. به عنوان مثال، سرکوب‌گری پروتیین رمزگذاری شده توسط بتاستلایت همراه با ویروس چینی پیچیدگی برگ زرد گوجه‌فرنگی در گیاه *N. benthamiana* به اثبات رسیده است (Cui et al. 2005). همچنین فعالیت CLCuMuB به عنوان یک سرکوب‌گر خاموشی ژن پس از ترانوویسی نیز به اثبات رسیده است به نحوی که حتی در آلودگی همزمان با یک بگوموویروس غیرخودی

نظیر ویروس پیچیدگی برگ گوجه‌فرنگی (Tomato leaf curl virus, ToLCV) سبب کاهش سطح آران‌های کوچک مداخله‌گر مشتق شده از ژنوم ویروس شده است (Eini et al. 2012).

۲-۲- برهمکنش با سایر مسیرها و فاکتورهای میزبانی

توسعه علائم بیماری به طیفی از برهمکنش‌های اختصاصی بین ویروس و اجزای گیاهی نیاز دارد که منجر به اختلال در فرآیندهای فیزیولوژیکی و نمو گیاه و در نهایت بروز علائم بیماری می‌شود. سازوکار پروتیین $\beta C1$ در برهمکنش با میزبان که سبب بروز نمو غیرطبیعی در میزبان می‌شود، چندان شناخته‌شده نیست. مطالعات مختلف، برهمکنش بتاستلایت‌ها را با طیفی از مسیرها و فاکتورهای میزبانی به اثبات رسانده است که سبب به کارگیری فرآیندهای میزبان برای ایجاد آلودگی توسط ویروس و نیز مداخله با مسیرهای دفاعی میزبان می‌شوند.

مسیرهای هورمونی: جاسمونیک اسید و مشتقات آن، ژن‌هایی را فعال می‌کنند که در مقاومت در برابر بیمارگرها و حشرات دخیل هستند (Creelman and Mullet 1997). آلودگی گیاهان توسط بگوموویروس‌های همراه با بتاستلایت‌ها نه تنها با بیان بیش از حد علائم همراه است بلکه افزایش جمعیت حشره ناقل *B. tabaci* روی این گیاهان را نیز به دنبال داشته است (Jiu et al. 2007, Zarate et al. 2007). در همین راستا، توانایی پروتیین $\beta C1$ در سرکوب برخی از ژن‌های واکنش‌دهنده به جاسمونیک‌اسید که پروتیین‌های مورد نیاز برای دفاع گیاه در برابر سفیدبالک‌ها را رمزگذاری می‌کنند، به اثبات رسیده است (Yang et al. 2008). توسعه شدید بگوموویروس‌ها طی سال‌های اخیر با گسترش و افزایش فعالیت بیوتیپ B سفیدبالک *B. tabaci* همراه بوده است. به نظر می‌رسد که توانایی بتاستلایت‌ها در افزایش جمعیت حشرات ناقل بر روی گیاهان آلوده به کمپلکس‌های بگوموویروس/بتاستلایت می‌تواند در توسعه آلودگی به این عوامل اثرگذار بوده باشد.

مسیرهای کینازی: فاکتور کینازی *SlSnRK1* (SUCROSE-NONFERMENTING1-related kinase) در گوجه‌فرنگی با پروتیین رمزگذاری‌شده توسط بتاستلایت برهمکنش داده و سبب فسفوریله شدن این پروتیین می‌شود (Shen et al. 2011). به عنوان یک واکنش دفاعی، فسفوریلاسیون پروتیین $\beta C1$ توسط این فاکتور می‌تواند سبب افزایش فعالیت مسیر خاموشی ژن به هنگام ترانویسی و در نتیجه کاهش سطح تجمع ژنوم ویروس و بیان علائم شود (Shen et al. 2011). در طرف مقابل، در کمپلکس *TYLCCNV* و بتاستلایت همراه با آن، پروتیین رمزگذاری‌شده توسط بتاستلایت با دو جز از مسیر کینازی وابسته به میتوزن (Mitogen-activated protein kinase, MAPK) برهمکنش داده و سبب سرکوب فعالیت کینازی این اجزا می‌شود (Hu et al. 2019). در این حالت، بتاستلایت به عنوان یک عامل پرآزاری سبب افزایش حساسیت میزبان در برابر جمینی‌ویروس‌ها می‌گردد. در همین کمپلکس، بگوموویروس همراه در یک رفتار دوگانه سبب القا و سرکوب مسیر کینازی MAPK می‌شود (Hu et al. 2019).

اصلاحات پس از ترجمه: یوبیکوئیتیلیلاسیون (Ubiquitylation) و سایر مسیرهای شبیه به آن از جمله سوموئیلیلاسیون (SUMOylation) و میریستوئیلیلاسیون (Myristoylation)، فرآیندهای اصلاحی پس از ترجمه‌ای هستند که عملکرد، ساختار و موقعیت درون سلولی پروتیین‌ها را تعیین می‌کنند (Hanley-Bowdoin et al. 2013, Sanchez-Duran et al. 2011). یوبیکوئیتیلیلاسیون شامل فعالیت سه گروه آنزیمی است. آنزیم E1 که فعال‌سازی گروه یوبیکوئیتین را انجام می‌دهد، آنزیم E2 که به گروه یوبیکوئیتین

متصل می‌شود و در نهایت آنزیم E3 که اتصال گروه یوبیکوئیتین به پروتئین‌های هدف را ممکن می‌سازد (Hanley-Bowdoin et al. 2013). اضافه شدن یک گروه یوبیکوئیتین به پروتئین هدف می‌تواند سبب اصلاح در ساختار و فعالیت‌های آن شود، در حالی که اضافه شدن چند گروه یوبیکوئیتین (Polyubiquitylation) می‌تواند سبب تخریب پروتئین هدف به واسطه معرفی آن به مسیر پروتئازوم (Proteasome) گردد (Hanley-Bowdoin et al. 2013). پروتئین β C1 رمزگذاری شده توسط CLCuMuB با یک آنزیم متصل‌شونده به یوبیکوئیتین به نام SIUBC3 به شیوه‌ای اختصاصی برهمکنش می‌دهد. مطالعات از طریق ایجاد جهش یافته‌های مختلف نشان داد که وجود یک موتیف شبه میریستوئیلایسون در β C1 برای برقراری این برهمکنش و نیز القای علایم آلودگی ضروری است که دلیل آن می‌تواند کاهش اثر مسیر پروتئازوم بر پروتئین رمزگذاری شده توسط بتاستلایت باشد (Eini et al. 2009). در سمت مقابل مشخص شده است که یکی از آنزیم‌های E3 کاربردی در توتون به نام NtRFP1، توانایی برهمکنش با پروتئین β C1 را دارد و به واسطه اضافه کردن بیش از یک گروه یوبیکوئیتین سبب معرفی این پروتئین به مسیر پروتئازوم و تخریب آن و در نتیجه کاهش علایم آلودگی می‌شود (Shen et al. 2016).

تنظیم نمو برگ: دو فاکتور (ASYMMETRIC LEAVES 1) AS1 و (ASYMMETRIC LEAVES 2) AS2 به عنوان تنظیم‌کننده‌های نمو برگ شناخته می‌شوند (Yang et al. 2008). به فرم کمپلکس AS1/AS2، به عنوان تنظیم‌کننده‌های نمو برگ شناخته می‌شوند (Yang et al. 2008). مشخص شده است که پروتئین رمزگذاری شده توسط بتاستلایت وابسته به ویروس چینی پیچیدگی برگ زرد گوجه‌فرنگی قادر به برهمکنش با فاکتور AS1 است و این موضوع می‌تواند سبب تغییراتی در نمو برگ شود که در نهایت بروز علایم بیماری را به همراه دارد. همچنین، پروتئین β C1 به طور نسبی قادر به انجام وظایف فاکتور AS2 در جهش یافته‌های *as2* بود که نشان‌دهنده تقلید پروتئین β C1 از فاکتور نمو برگ است (Yang et al. 2008).

موقعیت درون سلولی پروتئین رمزگذاری شده توسط بتاستلایت‌ها مطابق با الگوی بگوموویروس‌های یک‌بخشی کمکی آنها به بافت آبکشی میزبان محدود می‌شود (Eini et al. 2017). تغییری دیگر در ارتباط با موقعیت درون سلولی این عوامل که در رشد و نمو برگ‌ها اثرگذار است، علایم رگبرگ روشنی است که در آلودگی‌های سیستمیک برخی از کمپلکس‌های بگوموویروس/بتاستلایت مشاهده می‌شود. در این کمپلکس‌ها، پروتئین β C1 در ارتباط با کلروپلاست‌های سلول‌های بافت آبکشی میزبان استقرار می‌یابد و سبب کاهش بیان ژن‌های فعال در بیوسنتز کلروفیل، ساختمان کلروپلاست‌ها و نیز جایگیری پلاستیدها می‌شود (Bhattacharyya et al. 2015). بنابراین وجود و اثرگذاری بتاستلایت‌ها، سبب تخریب یکپارچگی ساختاری و عملکردی کلروپلاست‌ها و به دنبال آن توسعه علایم رگبرگ روشنی در میزبان می‌شود (Bhattacharyya et al. 2015).

۳- بتاستلایت‌ها به عنوان ابزارهای ژنتیکی

مطالعات کاربردی مختلف شیوه‌هایی را برای استفاده از بتاستلایت‌ها به عنوان ابزارهایی در الف. خاموشی ژن القاشده توسط ویروس (Virus Induced Gene Silencing, VIGS)، ب. بیان ژن و نیز در ج. القای مقاومت علیه جمینی‌ویروس‌ها، معرفی نموده‌اند (Ataie Kachoeie et al. 2016, Kharazmi et al. 2012, Kharazmi et al. 2010b, Pakniat-Jahromy et al. 2010b).

خاموشی ژن القا شده توسط ویروس: بر سازوکار خاموشی استوار است که بیان ژن‌ها را از طریق تخریب اختصاصی مولکول‌های آرنا تنظیم می‌کند (Robertson, 2004). این سیستم می‌تواند در مطالعات تعیین عملکرد ژن‌ها به واسطه کاهش بیان یک ژن و بررسی فنوتیپ‌های ایجاد شده مورد استفاده قرار گیرد (Carrillo-Tripp *et al.* 2006). ناقلین VIGS مختلفی بر اساس استفاده از ویروس‌های آرنا دار و دی‌ان‌ا دار ایجاد شده و توسعه یافته‌اند که به منظور مطالعه عملکرد ژن‌ها در طیف وسیعی از گیاهان مورد استفاده قرار گرفته‌اند (Fofana *et al.* 2004, Peele *et al.* 2001). اندازه کوچک ژنوم، سهولت مایه‌زنی، دامنه میزبانی وسیع و سازمان‌بندی ژنومی محافظت‌شده از جمله مزایای جمینی‌ویروس‌ها است که آنها را به ناقلین VIGS کارآمدی تبدیل کرده است (Turnage *et al.* 2002). جایگزینی چارچوب خوانش $\beta C1$ در CLCuMuB با بخش کوچکی از توالی پیش‌بر ژن چالکون سنتاز A (مسئول تولید رنگدانه در گیاه اطلسی، Chalcone synthase, *ChsA*) و مایه‌زنی آن با استفاده از سازه‌های عفونت‌زای بتاستلایت نوترکیب در حضور ویروس کمکی به گیاهان اطلسی سبب سرکوب ژن داخلی گیاه اطلسی و در نتیجه کاهش رنگ گل‌ها در گیاهان مورد تیمار شد (Kharazmi *et al.* 2012, Xiaorong *et al.* 2006). سازوکار جایگزینی توالی چارچوب خوانش $\beta C1$ با توالی ژن‌های بیگانه، امکان ایجاد علایم شدید در گیاهان به هنگام آلودگی با بگموویروس کمکی را از بین می‌برد و بنابراین امکان بررسی فنوتیپ خاموشی ژن مورد نظر وجود خواهد داشت. همچنین با توجه به استفاده بتاستلایت‌ها از یک توالی پیش‌بر قوی در بالادست چارچوب خوانش $\beta C1$ (Eini *et al.* 2005, Saeed *et al.* 2009)، امکان افزایش کارایی خاموشی ژن در استفاده از این گروه از ناقلین وجود خواهد داشت.

امکان استفاده از بتاستلایت‌ها به عنوان ناقلین انتقال و بیان ژن‌های بیگانه در شرایط درون-گیاهی (In planta) نیز در صورت حذف چارچوب خوانش $\beta C1$ وجود دارد. بر این اساس، امکان انتقال و بیان ژن B-cell lymphoma 2 انسانی (Bcl-2) و نیز ژن پروتیین پوششی ویروس نقص سیستم ایمنی انسان (Human immune deficiency virus, HIV) در گیاهان گوجه‌فرنگی و توتون با استفاده از CLCuMuB فاقد چارچوب خوانش $\beta C1$ مورد ارزیابی قرار گرفت و نشان داده شد که پروتیین‌های مذکور در حضور ویروس کمکی خود به میزان قابل توجهی در گیاه هدف بیان می‌شوند (Ataie Kachoeie *et al.* 2018, Kharazmi *et al.* 2016).

القای مقاومت: در طی دو دهه گذشته استراتژی‌های متعدد مهندسی ژنتیک در راستای ایجاد تداخل در بیان ژن‌های ویروسی مورد استفاده قرار گرفته‌اند که اغلب آنها بر مقاومت مشتق شده از بیمارگر از قبیل بیان پروتیین‌های ناقص ویروسی و یا ترانویسی توالی‌های آرنا ویروسی تأکید داشته‌اند (Vanderschuren *et al.* 2007). با وجود این، برخی از استراتژی‌های مستقل از بیمارگر نیز جهت القای مقاومت به جمینی‌ویروس‌ها معرفی شده‌اند که سبب جلوگیری از آلودگی این گروه از ویروس‌ها و یا کاهش اثرات مخرب آنها شده‌اند. از جمله این استراتژی‌ها می‌توان به بیان پروتیین‌های کشنده القا پذیر توسط جمینی‌ویروس‌ها و یا بیان پروتیین‌های متصل‌شونده به دی‌ان‌ا جمینی‌ویروس‌ها در گیاهان از قبیل همولوگ‌های GroEL اشاره نمود (Shepherd *et al.* 2009). یکی از مهم‌ترین پروتیین‌های کشنده‌ای که در این مطالعات مورد استفاده قرار گرفته است، پروتیین بارنیز (Barnase) رمزگذاری شده توسط ژنوم باکتری *Bacillus amyloliquefaciens* است که در صورت بیان در سلول‌ها، سبب مرگ سلولی و جلوگیری از گسترش آلودگی به سلول‌های مجاور

آن می‌شود (Brett 2007). بتاستلایت حامل توالی ژن بارنیز (جایگزین شده با توالی ژن $\beta C1$) در صورت حضور بگوموویروس کمکی، قادر به همانندسازی است (Pakniat-Jahromy et al. 2010). انتقال سازه بتاستلایت بیان‌کننده بارنیز به گیاه توتون، سبب ایجاد گیاهان تراریخت مقاوم در برابر ToLCV-Au شد (Pakniat-Jahromy et al. 2010). این سازه، در غیاب ویروس بیان نمی‌شود، اما در صورت بروز آلودگی امکان بیان می‌یابد که در نتیجه آن پروتیین بارنیز بیان شده و در اثر مرگ سلولی از گسترش آلودگی ویروس به سلول‌های مجاور جلوگیری می‌کند. از آنجایی که جمینی‌ویروس‌های مختلف امکان حمایت از تکثیر بتاستلایت را دارند، می‌توان انتظار داشت که استفاده از ناقل بتاستلایت گزینه مناسبی برای القای مقاومت در برابر طیف وسیعی از جمینی‌ویروس‌ها و نیز استفاده در مطالعات تعیین عملکرد ژن‌ها باشد.

نتیجه‌گیری

در طی دو دهه گذشته آلودگی بگوموویروس‌های یک‌بخشی به دامنه میزبانی بیشتر و مناطق جغرافیایی وسیع‌تری گسترش یافته است. می‌توان گفت که موفقیت این گروه از بیمارگرها تا حدود زیادی مدیون بتاستلایت‌ها است چراکه این دی‌ان‌های کوچک، شرایط را برای آلودگی و انتقال بگوموویروس‌ها تا حدود زیادی تسهیل می‌کنند. بتاستلایت‌ها این توانایی را دارند که آلودگی‌های معمولی را از طریق اثرگذاری بر تنظیم‌کننده‌های رشدی، مسیرهای دفاعی، اصلاحات پروتیینی پس از ترجمه و نیز کارایی ناقلین، به کمپلکس‌های بیماری‌زایی مخربی تبدیل کنند. در طرف مقابل نیز، گیاهان به واسطه مسیرهای فسفوریلاسیون و پروتئازوم سعی بر سرکوب اثرگذاری پروتیین رمزگذاری‌شده توسط بتاستلایت‌ها دارند. کنار قدرت مخرب بیماری‌زایی این گروه از ستلایت‌ها، امکان استفاده از آنها به عنوان ناقلین VIGS و نیز ناقلین بیان و مقاومت، فرصت مناسبی را در ایجاد شیوه‌های نوین در کنترل و کاهش خسارت ناشی از آلودگی جمینی‌ویروس‌ها فراهم آورده است.

References

منابع

1. Ataie Kachoie E, Behjatnia SAA, Kharazmi S (2018) Expression of Human Immunodeficiency Virus type 1 (HIV-1) coat protein genes in plants using cotton leaf curl Multan betasatellite-based vector. PLoS One 13:e0190403.
2. Bhattacharyya D, Gnanasekaran P, Kumar RK, Kushwaha NK, Sharma VK, Yusuf MA, Chakraborty S (2015) A geminivirus betasatellite damages the structural and functional integrity of chloroplasts leading to symptom formation and inhibition of photosynthesis. Journal of Experimental Botany 66:5881-5895.
3. Bisaro DM (2006) Silencing suppression by geminivirus proteins. Virology 344:158-168.
4. Brett W (2007) Development of a novel Rep-inducible Tomato leaf curl virus expression system. A thesis submitted for the degree of doctor of philosophy at the Queensland University of Technology, Queensland, Australia.
5. Briddon RW, Brown JK, Moriones E, Stanley J, Zerbini M, Zhou X, Fauquet CM (2008) Recommendations for the classification and nomenclature of the DNA-beta satellites of begomovirus. Archives of Virology 153:763-781.
6. Briddon RW, Bull SE, Amin I, Idris AM, Mansoor S, Bedford ID, Dhawan P, Rishi N, Siwatch SS (2003) Diversity of DNA β , a satellite molecule associated with some monopartite begomoviruses. Virology 312:106-121.

7. Briddon RW, Mansoor S, Bedford ID, Pinner MS, Saunders K, Stanley J, Zafar Y, Malik KA, Markham PG (2001) Identification of DNA components required for induction of cotton leaf curl disease. *Virology* 285:234-243.
8. Brown JK, Bird J (1992) Whitefly-transmitted geminiviruses and associated disorders in the Americas and the Caribbean Basin. *Plant Disease* 76:220-225.
9. Brown JK, Murilo Zerbini F, Navas-Castillo J, Moriones E, Ramos-Sobrinho R, Silva JCF, Fiallo-Olive E, Briddon RW, Hernandez-Zepeda C, Idris A, Malathi VG, Martin DP, Rivera-Bustamante R, Ueda S, Varsani A (2015) Revision of *Begomovirus* taxonomy based on pairwise sequence comparisons. *Archives of Virology* 160:1593-1619.
10. Carrillo-Tripp J, Shimada-Beltran H, Rivera-Bustamante R (2006) Use of geminiviral vectors for functional genomics. *Current Opinion of Plant Biology* 9:209-215.
11. Cheng X, Wang X, Wu J, Briddon RW, Zhou X (2011) β C1 encoded by tomato yellow leaf curl China betasatellite forms multimeric complexes in vitro and in vivo. *Virology* 409:156-162.
12. Creelman RA, Mullet J (1997) Biosynthesis and action of jasmonates in plants. *Plant Physiology* 48:355-381.
13. Cui XF, Li GX, Wang DW, Wu DW, Zhou XP (2005) A begomoviral DNA (encoded protein bind DNA, functions as a suppressor of RNA silencing and targets to the cell nucleus. *Journal of Virology* 79:10764-10775.
14. Cui XF, Tao XR, Xie Y, Fauquet CM, Zhou XP (2004) A DNA beta associated with *Tomato yellow leaf curl china virus* is required for symptom induction. *Journal of Virology* 78:13966-13974.
15. Eini O, Dogra S, Selth LA, Dry IB, Randles JW, Rezaian MA (2009) Interaction with a Host Ubiquitin-Conjugating Enzyme Is Required for the Pathogenicity of a Geminiviral DNA β Satellite. *Molecular Plant Microbe Interaction* 22:737-746.
16. Eini O, Dogra SC, Dry IB, Randles JW (2012) Silencing suppressor activity of a begomovirus DNA β encoded protein and its effect on heterologous helper virus replication. *Virus Research* 167:97-101.
17. Eini O, Rasheed MS, Randles JW (2017) In situ hybridization and promoter analysis reveal that cotton leaf curl Multan betasatellitelocalizes in the phloem. *Acta Virologica* 61:23-31.
18. Fofana IBF, Sangare A, Collier R, Taylor C, Fauquet CM (2004) A geminivirus-induced gene silencing system for gene function validation in cassava. *Plant Molecular Biology* 56:613-624.
19. Ha C, Coombs S, Revil P, Harding R, Vu M, Dale J (2008) Molecular characterization of begomoviruses and DNA satellites from Vietnam: Additional evidence that the New World geminiviruses were present in the Old World prior to continental separation. *Journal of General Virology* 89:312-326.
20. Hanley-Bowdoin L, Bejarno ER, Robertson D, Mansoor S (2013) Geminiviruses: masters at redirecting and reprogramming plant processes. *Nature Reviews Microbiology* 11:777-788.
21. Hohn T, Vazquez F (2011) RNA silencing pathways of plants: silencing and its suppression by plant DNA viruses. *Biochim Biophys Acta* 1809:588-600.
22. Hu T, Huang C, He Y, Castillo-Gonzalez C, Gui X, Wang Y, Zhang X, Zhou X (2019) β C1 protein encoded in geminivirus satellite concertedly targets MKK2 and MPK4 to counter host defense. *PLoS Pathogen* 18:e1007728.

23. Jiu M, Zhou XP, Tong L, Xu J, Yang X, Wan FH, Liu SS (2007) Vector-virus mutualism accelerates population increase of an invasive whitefly. *PLoS One* 2:e182.
24. Jose J, Usha R (2003) Bhendi yellow vein mosaic disease in India is caused by association of a DNA beta satellite with a begomovirus. *Virology* 305:310-317.
25. Kharazmi S, Ataie Kachoie E, Behjatnia SAA (2016) Cotton leaf curl Multan betasatellite DNA as a tool to deliver and express the human B-cell lymphoma2 (*Bcl-2*) gene in plants. *Molecular Biotechnology* 58:362-372.
26. Kharazmi S, Behjatnia SAA, Hamzehzarghani H, Niazi A (2012) Cotton leaf curl Multan betasatellite as a plant gene delivery vector trans-activated by taxonomically diverse geminiviruses. *Archives of Virology* 157:1269-1279.
27. Kon T, Rojas MR, Abdourhamane IK, Gilbertson RL (2009) Roles and interactions of begomoviruses and satellite DNAs associated with okra leaf curl disease in Mali, West Africa. *Journal of General Virology* 90:1001-1013.
28. Kumar PP, Usha R, Zrachya A, Levy Y, Spanov H, Gafni Y (2006) Protein-protein interactions and nuclear trafficking of coat protein and β C1 protein associated with Bhendi yellow vein mosaic virus. *Virus Research* 122:127-136.
29. Li F, Huang C, Li Z, Zhou X (2014) Suppression of RNA silencing by a plant DNA virus satellite requires a host calmodulin-like protein to repress *RDR6* expression. *PLoS Pathogens* 10: e1003921.
30. Lozano G, Trenado HP, Fiallo-Olivé E, Chirinos D, Geraud-Pouey F, Briddon RW, Navas-Castillo J (2016) Characterization of Non-coding DNA Satellites Associated with Sweepviruses (Genus Begomovirus, Geminiviridae) - Definition of a Distinct Class of Begomovirus-Associated Satellites. *Frontiers in Microbiology* 7:162.
31. Moriones E, Navas-Castillo J (2000) Tomato yellow leaf curl virus, an emerging virus complex causing epidemics worldwide. *Virus Research* 71:123-134.
32. Muangsan N, Beclin C, Vaucheret H, Robertson D (2004) Geminivirus VIGS of endogenous genes requires SGS2/SDE1 and SGS3 and defines a new branch in the genetic pathway for silencing in plants. *Plant Journal* 38:1004-1014.
33. Nawaz-ul-Rehman MS, Mansoor S, Briddon RW, Fauquet CM (2009b) Maintenance of an old world betasatellite by a new world helper begomovirus and possible rapid adaptation of the betasatellite. *Journal of Virology* 83:9347-9355.
34. Pakniat-Jahromy A, Behjatnia SAA, Dry IB, Izadpanah K, Rezaian MA (2010) A new strategy for generating geminivirus resistant plants using a DNA betasatellite/splite barnase construct. *Journal of Virological Methods* 170:57-66.
35. Peele C, Jordan CV, Muangsan N, Turnage M, Egelkrout E, Eagle P, Hanley-Bowdoin L, Roberson D (2001) Silencing of a meristematic gene using geminivirus derived vectors. *Plant Journal* 27:357-366.
36. Pilartz M, Jeske H (1992) Abutilon mosaic virus double-stranded DNA is packed into minichromosomes. *Virology* 189:800-802.
37. Pilartz M, Jeske H (2003) Mapping of abutilon mosaic geminivirus minichromosomes. *Journal of Virology* 77:10808-10818.
38. Qazi J, Amin I, Mansoor S, Iqbal MJ, Briddon RW (2007) Contribution of the satellite encoded gene beta C1 to cotton leaf curl disease symptoms. *Virus Research* 128:135-139.
39. Raja P, Sanville BC, Buchmann RC, Bisaro DM (2008) Viral genome methylation as an epigenetic defense against geminiviruses. *Journal of Virology* 82:8997-9007.

40. Robertson D (2004) VIGS vectors for gene silencing: many targets, many tools. *Annual Review of Plant Biology* 55:494-519.
41. Rodriguez-Negrete EA, Carrillo-Trip J, Rivera-Bustamante RF (2009) RNA silencing against geminivirus: Complementary action of posttranscriptional gene silencing and transcriptional gene silencing in host recovery. *Journal of Virology* 83:1332-1340.
42. Saeed M, Behjatnia SA, Mansoor S, Zafar Y, Hasnain S, Rezaian MA (2005) A single complementary-sense transcript of a geminiviral DNA β satellite is determinant of pathogenicity. *Molecular Plant Microbe Interaction* 18:7-14.
43. Sanchez-Duran M, Dallas MB, Ascencio-Ibanez J, Reyes MI, Arroyo-Mateos M, Ruiz-Albert J, Hanley-Bowdoin L, Bejarano E (2011) Interaction between Geminivirus replication protein and the SUMO-conjugating enzyme is required for viral infection. *Journal of Virology* 85:9789-9800.
44. Sarwar MW, Riaz A, Nahid N, Al Qahtani A, Ahmed N, Nawaz-Ul-Rehman MS, Younus A, Mubin M (2019) Homology modeling and docking analysis of β C1 protein encoded by Cotton leaf curl Multan betasatellite with different plant flavonoids. *Heliyon* 5:e01303.
45. Saunders K, Bedford ID, Briddon RW, Markham PG, Wong SM, Stanley J (2000) A unique virus complex causes *Ageratum* yellow vein disease. *Proceedings of the National Academy of Science of the America* 97:6890-6895.
46. Shen Q, Hu T, Bao M, Cao L, Zhang H, Song F, Xie Q, Zhou X (2016) The novel tobacco RING E3 ligase NtRFP1 mediates ubiquitination and proteasomal degradation of a geminivirus-encoded β C1. *Molecular Plant* 9:911-925.
47. Shen Q, Liu Z, Sing F, Xie Q, Hanley-Bowdoin L, Zhou X (2011) Tomato SlSnRK1 Protein Interacts with and Phosphorylates β C1, a Pathogenesis Protein Encoded by a Geminivirus β -Satellite. *Plant Physiology* 157:1394-1406.
48. Shepherd DN, Martin DP, Thomson JA (2009) Transgenic strategies for developing crops resistant to geminiviruses. *Plant Science* 176:1-11.
49. Stanley J (2004) Subviral DNAs associated with geminivirus disease complexes. *Veterinary Microbiology* 98:121-129.
50. Tahir M, Mansoor S (2011) β C1 of chili leaf curl betasatellite is a pathogenicity determinant. *Virology* 8:509-511.
51. Tao XR, Qing L, Zhou XP (2004) Function of A-Rich region in DNA β associated with *Tomato yellow leaf curl china virus*. *Chinese Science Bulletin* 49:1490-1493.
52. Turnage MA, Muangsan N, Peele CG, Robertson D (2002) Geminivirus based vectors for gene silencing in *Arabidopsis*. *Plant Journal* 30:107-114.
53. Vanderschuren H, Stupak M, Fütterer J, Gruissem W, Zhang P (2007) Engineering resistance to geminiviruses-review and perspectives. *Plant Biotechnology Journal* 5:207-220.
54. Xiaorong T, Yajuan Q, Xueping Z (2006) Modification of a viral satellite DNA-based gene silencing vector and its application to leaf or flower discoloration in *Petunia hybrida*. *Chinese Science Bulletin* 51:2208-2213.
55. Yang JY, Iwasaki M, Machida C, Machida Y, Zhou X, Chau NH (2008) β C1, the pathogenicity factor of TYLCCNV, interacts with AS1 to alter leaf development and suppress selective jasmonic acid responses. *Genes and Development* 22:2564-2577.

56. Yang X, Xie Y, Raja P, Li S, Wolf SN, Shen Q, Bisaro DM, Zhou X (2011) Suppression of Methylation-Mediated Transcriptional Gene Silencing by β C1-SAHH Protein Interaction during Geminivirus-Betasatellite Infection. *PLoS Pathogens* 7:e1002329.
57. Zarate SI, Kempema LA, Walling LL (2007) Silver leaf whitefly induces salicylic acid defenses and suppresses effectual jasmonic acid defenses. *Plant Physiology* 143:866-875.
58. Zhou X (2013) Advances in understanding begomovirus satellites. *Annual Review of Phytopathology* 51:357-381.