



Semarak Proceedings of Natural and Environmental Sciences

Journal homepage:
<https://semarakilmu.my/index.php/spnes/index>
ISSN: 3083 - 8191



Meneroka Keluarga Gen WRKY dalam Tanaman Bijirin *Exploring the WRKY Gene Family in Cereals*

Kalaivani K. Nadarajah^{1,*}, Grace Law Kai Lee¹

¹ Department of Biological Science and Biotechnology, Faculty Science and Technology, Universiti Kebangsaan Malaysia, Bangi, 43600, Selangor

ABSTRACT

Kajian ini meneliti gen WRKY dalam tanaman bijirin yang berperanan penting dalam tindak balas terhadap tekanan abiotik dan biotik. Dengan menggunakan 26 jujukan gen WRKY dari spesies seperti *Oryza sativa* (Japonica Group), *Glycine max*, *Sorghum bicolor*, dan *Zea mays*, kajian ini mengkaji motif dan domain yang berkaitan dengan tindak balas terhadap tekanan menggunakan alat bioinformatik seperti MEME dan Mega11. Analisis mengenal pasti 10 motif utama, termasuk motif terpulihara dalam semua gen WRKY. Analisis filogeni menunjukkan pengelompokan gen WRKY adalah berdasarkan spesies tanaman. Kajian ini menunjukkan bahawa gen WRKY ini berupaya digunakan sebagai gen saringan dalam pembiakbakaan atau sebagai gen dalam penghasilan tumbuhan transgenik.

*This study investigates WRKY genes in cereal crops that play a crucial role in responses to abiotic and biotic stresses. Using 26 WRKY gene sequences from species such as *Oryza sativa* (Japonica Group), *Glycine max*, *Sorghum bicolor*, and *Zea mays*, the study examines motifs and domains associated with stress responses using bioinformatics tools like MEME and Mega11. The analysis identified 10 key motifs in all WRKY genes. Phylogenetic analysis revealed that WRKY gene clustering is species-specific. This study suggests that these WRKY genes have potential applications as marker genes in breeding programs or as genes in the development of transgenic plants.*

Kata Kunci: Analisis filogeni; bijirin; faktor transkripsi WRKY; tekanan abiotik dan biotik

Keywords: Phylogenetic analysis; cereals; WRKY transcription factor; biotic and abiotic stress

1. Pendahuluan

Tumbuhan sering menghadapi pelbagai jenis tekanan abiotik seperti kemarau, suhu sejuk, kecederaan fizikal, dan kemasinan, serta tekanan biotik termasuk serangan kulat, bakteria, dan virus. Tekanan ini dikesan melalui rangkaian transduksi isyarat yang kompleks, yang menyebabkan perubahan fisiologi, biokimia, dan pengekspresan gen dalam tumbuhan [1]. Famili faktor transkripsi, terutamanya WRKY, telah berkembang secara unik dalam tumbuhan untuk mengawal selia pengekspresan gen sebagai tindak balas kepada tekanan [2].

Faktor transkripsi WRKY pertama kali ditemui lebih daripada dua puluh tahun yang lalu dalam kentang manis (*Ipomoea batatas*) sebagai gen *SPF1*, yang mempunyai domain WRKY yang terpulihara [3]. WRKY dikelaskan kepada tiga kumpulan berdasarkan bilangan domain WRKYGQK dan motif jejari zink: Kumpulan I mempunyai dua domain, manakala Kumpulan II dan III masing-masing mempunyai

* Corresponding author.

E-mail address: vani@ukm.edu.my

satu domain. Kumpulan II seterusnya dibahagikan kepada subkumpulan IIa hingga IIe berdasarkan motif struktur tambahan yang terpulihara [4].

WRKY memainkan peranan penting dalam pelbagai proses biologi tumbuhan seperti perkembangan rerambut akar [5], saiz biji [6], perkembangan debunga [7], pertumbuhan [8], pembungaan [8], pematangan buah, dan penuaan daun [8]. Selain itu, *WRKY* juga terlibat dalam modifikasi laluan isyarat hormon tumbuhan seperti asid absisik (ABA) dan etilena, yang penting untuk adaptasi tumbuhan terhadap tekanan persekitaran [9].

Kajian-kajian terdahulu menunjukkan bahawa *WRKY* berperanan penting dalam tindak balas terhadap tekanan abiotik dan biotik. Sebagai contoh, *AtABO3* dalam *Arabidopsis thaliana* terlibat dalam tindak balas terhadap tekanan kemarau [10] manakala *OsWRKY11* dalam padi diinduksi oleh tekanan haba dan meningkatkan toleransi terhadap suhu tinggi [11]. Dalam jagung, *ZmWRKY17* diketahui mengawal transkripsi gen berkaitan tekanan dan ABA, yang akhirnya meningkatkan ketahanan terhadap tekanan garam dan mengurangkan kepekaan terhadap ABA [12].

Selain itu, *WRKY* juga memodulasi tindak balas terhadap tekanan biotik. Sebagai contoh, *AtWRKY18*, *AtWRKY40*, dan *AtWRKY60* berinteraksi antara satu sama lain dalam tindak balas terhadap patogen seperti *Pseudomonas syringae* dan *Botrytis cinerea* dalam *Arabidopsis* [13]. Kajian juga menunjukkan bahawa homologi *WRKY33* dalam *Arabidopsis* dan tomato memainkan peranan penting dalam ketahanan terhadap *Botrytis*. Di dalam Sorgum, *SpWRKY* diketahui mengawal kematangan biji dan memainkan peranan penting dalam adaptasi terhadap tekanan.

Meskipun banyak yang diketahui mengenai peranan *WRKY* dalam pelbagai proses biologi, masih terdapat kekurangan pemahaman tentang bagaimana gen-gen ini mengawal proses tersebut pada tahap molekul [14]. Oleh itu, kajian ini bertujuan untuk mengenal pasti motif atau domain yang hadir dalam jujukan gen *WRKY* bijirin dan mengaitkan kehadiran motif atau domain tertentu dengan fungsinya dalam tindak balas terhadap tekanan abiotik atau biotik.

2. Metodologi

Dalam kajian ini, gen *WRKY* daripada beberapa spesies bijirin seperti padi (*Oryza sativa*), jagung (*Zea mays*), dan sorgum (*Sorghum bicolor*) telah dipilih untuk dianalisis. Langkah-langkah utama dalam kajian ini termasuk:

1. **Pengumpulan Data:** Data jujukan *WRKY* dari pelbagai spesies bijirin diperoleh daripada pangkalan data awam, NCBI.
2. **Pencirian Motif:** 10 top hit motif dalam dua puluh enam jujukan bijirin yang berkaitan dengan peranan dalam kawalan tekanan abiotik dan biotik dikenal pasti menggunakan perisian bioinformatik MEME Elicitation.
3. **Analisis Filogeni:** Pokok filogeni dibina menggunakan perisian Mega11 dengan kaedah Neighbor-Joining (NJ) dan Maximum likelihood (ML) untuk menghasilkan pengkelasan yang lebih baik.

3. Hasil Kajian

3.1 Analisis Motif Gen *WRKY* dalam Bijirin

Analisis motif dikenalpasti mempunyai lokasi yang berbeza dalam setiap jujukan gen yang dianalisis. Motif-motif yang berbeza ini ditunjukkan dengan pelbagai warna dan setiap warna mewakili satu motif yang unik. Motif 'PEDGYQ**WRKYGQ**KVIKGNPYPRAYYRCTM' dan 'TGCPVRKQVZRCADDP SMLITTYEGEHNH' adalah antara yang paling kerap muncul dan sering berada bersebelahan antara satu sama lain dalam semua jujukan bijirin yang dikaji. Motif ini diketahui

berinteraksi dengan elemen W-box dalam promotor gen yang terlibat dalam tindak balas pertahanan terhadap patogen [15]. Gen-gen seperti *WRKY* DNA-binding domain-containing protein isoform X1 (*Zea mays*), *WRKY* transcription factor *WRKY51* isoform X2 (*Zea mays*), dan *WRKY1* isoform X2 (*Oryza sativa japonica* Group) memiliki motif yang serupa.

Kebanyakan jujukan daripada spesies yang sama seperti *Zea mays*, *Oryza sativa*, *Glycine max*, dan *Sorghum bicolor* juga menunjukkan persamaan motif. Walau bagaimanapun, terdapat variasi motif dalam isoform yang berbeza dalam spesies yang sama, menunjukkan kepelbagaian dalam fungsi gen *WRKY*.

Analisis ini juga mendapati bahawa motif yang sama sering muncul dalam lokasi yang serupa merentasi spesies bijirin, yang menunjukkan pemuliharaan yang mungkin berkaitan dengan fungsi penting gen ini dalam tindak balas terhadap tekanan. Nilai p yang dihasilkan juga menunjukkan tahap signifikan kehadiran motif-motif ini dalam jujukan gen *WRKY* yang dikaji.

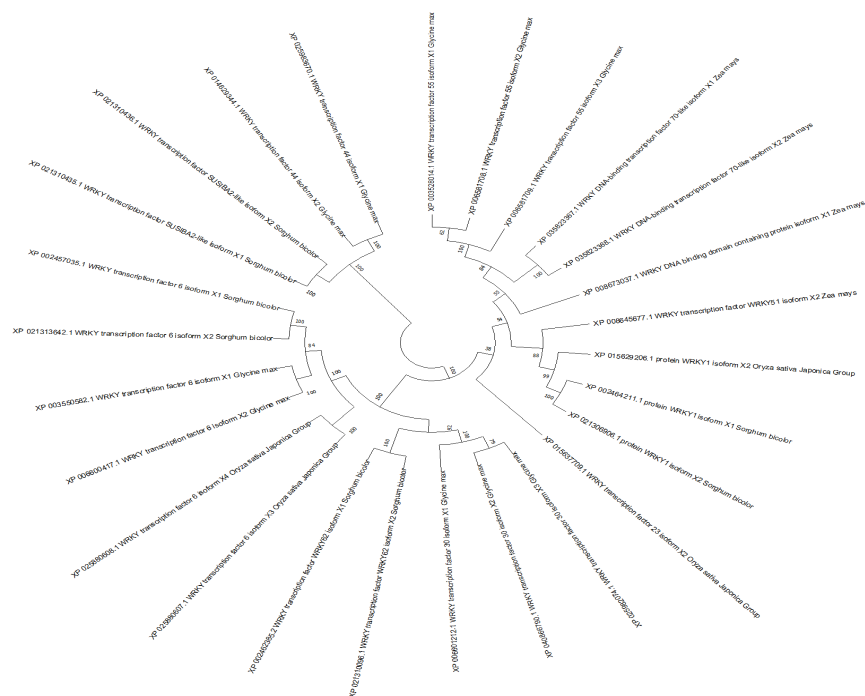


Rajah 1. Motif-motif diwakili dengan warna berbeza yang terdapat dalam jujukan gen *WRKY* bijirin

3.2 Analisis Filogeni

Pohon filogenetik telah dibina berdasarkan spesies, persamaan faktor transkripsi *WRKY*, dan kandungan motif (Rajah 2). Menurut pohon filogenetik ini, jujukan dikelompokkan tanpa mengira bentuk isoform, tanpa klad atau pengelompokan berdasarkan isoenzim yang diperhatikan. Walau bagaimanapun, spesies dengan faktor transkripsi yang sama menunjukkan hubungan yang sangat rapat antara spesies dan dalam spesies. Ini dapat dilihat pada faktor transkripsi *WRKY* daripada *Glycine max*, *Sorghum bicolor*, dan *Oryza sativa* subsp. *japonica*. Menurut Yousfi *et al.*, [48], analisis filogenetik *WRKY* dalam pelbagai spesies tumbuhan menunjukkan bahawa faktor-faktor ini sering dikelompokkan berdasarkan fungsi dan jujukan motif yang serupa berbanding jenis isoenzim. Tambahan pula, jujukan bijirin dengan motif serupa cenderung untuk berkumpul bersama; sebagai contoh, semua faktor transkripsi 6 daripada *Glycine max*, *Sorghum bicolor*, dan *Oryza sativa* subsp. *japonica* mempunyai motif yang hampir sama. Walau bagaimanapun, spesies dari genus yang sama tidak semestinya dikelompokkan bersama. Sebagai contoh, jujukan faktor 6 *Oryza sativa* tidak dikelompokkan dengan faktor *WRKY23* kerana persamaan motif yang lebih rendah. Faktor transkripsi 6 daripada *Oryza sativa* menunjukkan hubungan rapat dengan faktor daripada *Glycine max* dan *Sorghum bicolor*, menunjukkan bahawa jujukan bijirin juga dikelompokkan mengikut faktor transkripsi mereka (Rajah 2). Penyelidikan ini menyokong idea bahawa hubungan evolusi antara

faktor transkripsi dipengaruhi oleh genus, spesies, fungsi, dan motif mereka berbanding klasifikasi isoenzim.



Rajah 2. Hubungan Filogeni antara 26 jujukan WRKY dalam bijirin

4. Kesimpulan

Kajian ini berjaya mencirikan 26 urutan gen *WRKY* dari spesies bijirin seperti *Oryza sativa japonica* Group, *Glycine max*, *Sorghum bicolor*, dan *Zea mays*. Analisis filogeni menunjukkan pengelompokan gen *WRKY* lebih cenderung berdasarkan spesies tanaman daripada isoenzim, menandakan bahawa spesies tanaman memainkan peranan utama dalam evolusi gen ini. Pohon filogeni yang dihasilkan mengelompokkan jujukan berdasarkan persamaan faktor transkripsi *WRKY* dan kandungan motif, yang menyokong teori bahawa gen-gen ini berkelompok berdasarkan fungsi dan urutan motif yang serupa.

Analisis motif mengenalpasti 10 motif yang berkaitan dengan tekanan abiotik dan biotik. Motif 'WRKYGQK' hadir dalam semua gen *WRKY*. Motif 'PEDGYQWRKYGQKVIKGNPYPRAYRCTM' dikenalpasti sebagai motif dominan dalam semua jujukan bijirin, menunjukkan kepentingan motif ini dalam fungsi gen *WRKY*. Kehadiran motif terpulihara seperti 'WRKYGQK' menunjukkan ia merupakan tapak aktif penting untuk pengikatan faktor transkripsi *WRKY* kepada promotor gen sasaran dan mengawal pengekspresan gen dalam tindak balas terhadap tekanan.

Secara keseluruhannya, gen *WRKY* berpotensi untuk meningkatkan toleransi tekanan dan ketahanan tanaman melalui pendekatan bioteknologi seperti teknologi transgenik atau pembiakbakaan. Kajian lanjut yang memberi tumpuan kepada mekanisme pengawalan gen *WRKY* penting dalam aplikasi pertanian, termasuk manipulasi genetik untuk meningkatkan ketahanan terhadap tekanan. Penyelidikan masa depan juga boleh menumpukan kepada variasi spesies-spesifik dalam gen *WRKY* untuk memahami lebih lanjut mengenai evolusi dan fungsi faktor transkripsi ini dalam pelbagai konteks persekitaran.

Penghargaan

Saya ingin merakamkan setinggi-tinggi penghargaan Universiti Kebangsaan Malaysia untuk geran GUP-2020-047 yang membolehkan perjalanan projek ini.

Rujukan

- [1] Singh, Karam B., Rhonda C. Foley, and Luis Oñate-Sánchez. "Transcription factors in plant defense and stress responses." *Current opinion in plant biology* 5, no. 5 (2002): 430-436. [https://doi.org/10.1016/s1369-5266\(02\)00289-3](https://doi.org/10.1016/s1369-5266(02)00289-3)
- [2] Ülker, Bekir, and Imre E. Somssich. "WRKY transcription factors: from DNA binding towards biological function." *Current opinion in plant biology* 7, no. 5 (2004): 491-498. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2004.07.012>
- [3] Ishiguro, Sumie, and Kenzo Nakamura. "Characterization of a cDNA encoding a novel DNA-binding protein, SPF1, that recognizes SP8 sequences in the 5' upstream regions of genes coding for sporamin and β -amylase from sweet potato." *Molecular and General Genetics MGG* 244 (1994): 563-571. <https://doi.org/10.1007/bf00282746>
- [4] Eulgem, Thomas, Paul J. Rushton, Silke Robatzek, and Imre E. Somssich. "The WRKY superfamily of plant transcription factors." *Trends in plant science* 5, no. 5 (2000): 199-206. [https://doi.org/10.1016/s1360-1385\(00\)01600-9](https://doi.org/10.1016/s1360-1385(00)01600-9)
- [5] Verweij, Walter, Cornelis E. Spelt, Mattijs Blik, Michel De Vries, Niek Wit, Marianna Faraco, Ronald Koes, and Francesca M. Quattrocchio. "Functionally similar WRKY proteins regulate vacuolar acidification in petunia and hair development in Arabidopsis." *The Plant Cell* 28, no. 3 (2016): 786-803. <https://doi.org/10.1105/tpc.15.00608>
- [6] Luo, Ming, Elizabeth S. Dennis, Frederic Berger, William James Peacock, and Abed Chaudhury. "MINISEED3 (MINI3), a WRKY family gene, and HAIKU2 (IKU2), a leucine-rich repeat (LRR) KINASE gene, are regulators of seed size in Arabidopsis." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 102, no. 48 (2005): 17531-17536. <https://doi.org/10.1073/pnas.0508418102>
- [7] Lei, Rihua, Xiaoli Li, Zhenbing Ma, Yan Lv, Yanru Hu, and Diqu Yu. "Arabidopsis WRKY 2 and WRKY 34 transcription factors interact with VQ 20 protein to modulate pollen development and function." *The Plant Journal* 91, no. 6 (2017): 962-976. <https://doi.org/10.1111/tpj.13619>
- [8] Yang, Yan, Yingjun Chi, Ze Wang, Yuan Zhou, Baofang Fan, and Zhixiang Chen. "Functional analysis of structurally related soybean GmWRKY58 and GmWRKY76 in plant growth and development." *Journal of Experimental Botany* 67, no. 15 (2016): 4727-4742. <https://doi.org/10.1093/jxb/erw252>
- [9] Liu, Qiu-Ning, Yu Liu, Zhao-Zhe Xin, Dai-Zhen Zhang, Bao-Ming Ge, Rui-Ping Yang, Zheng-Fei Wang, Li Yang, Bo-Ping Tang, and Chun-Lin Zhou. "Genome-wide identification and characterization of the WRKY gene family in potato (*Solanum tuberosum*)." *Biochemical Systematics and Ecology* 71 (2017): 212-218. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2017.02.010>
- [10] Ren, Xiaozhi, Zhizhong Chen, Yue Liu, Hairong Zhang, Min Zhang, Qian Liu, Xuhui Hong, Jian-Kang Zhu, and Zhizhong Gong. "ABO3, a WRKY transcription factor, mediates plant responses to abscisic acid and drought tolerance in Arabidopsis." *The Plant Journal* 63, no. 3 (2010): 417-429. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313x.2010.04248.x>
- [11] Wu, Xiaolan, Yoko Shiroto, Sachie Kishitani, Yukihiro Ito, and Kinya Toriyama. "Enhanced Heat and Drought Tolerance in Transgenic Rice Seedlings Overexpressing OsWRKY11 Under the Control of HSP101 Promoter." *Plant Cell Reports* 28, no. 1 (September 26, 2008): 21-30. <https://doi.org/10.1007/s00299-008-0614-x>
- [12] Cai, Ronghao, Wei Dai, Congsheng Zhang, Yan Wang, Min Wu, Yang Zhao, Qing Ma, Yan Xiang, and Beiji Cheng. "The maize WRKY transcription factor ZmWRKY17 negatively regulates salt stress tolerance in transgenic Arabidopsis plants." *Planta* 246 (2017): 1215-1231. <https://doi.org/10.1007/s00425-017-2766-9>
- [13] Xu, Xinping, Chunhong Chen, Baofang Fan, and Zhixiang Chen. "Physical and functional interactions between pathogen-induced Arabidopsis WRKY18, WRKY40, and WRKY60 transcription factors." *The Plant Cell* 18, no. 5 (2006): 1310-1326. <https://doi.org/10.1105/tpc.105.037523>
- [14] Elahi, Nosheen, Robert W. Duncan, and Claudio Stasolla. "Decreased seed oil production in FUSCA3 Brassica napus mutant plants." *Plant Physiology and Biochemistry* 96 (2015): 222-230. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2015.08.002>
- [15] Pandey, Shree P., and Imre E. Somssich. "The role of WRKY transcription factors in plant immunity." *Plant physiology* 150, no. 4 (2009): 1648-1655. <https://doi.org/10.1104/pp.109.138990>