

## ORIGINAL ARTICLE

# Analysis of root proteome in wheat (Kavir variety) under drought stress

Samira Mardani Zonouz<sup>1</sup>, Mahmoud Toorchi<sup>1\*</sup>, Shaghayegh Aslzad<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Plant Breeding & Biotechnology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran.

### Correspondence

Mahmoud Toorchi  
Email: [mtoorchi@tabrizu.ac.ir](mailto:mtoorchi@tabrizu.ac.ir)

### How to cite

Mardani Zonouz, S., Toorchi, M., & Aslzad, Sh. (2023). Analysis of root proteome in wheat (Kavir variety) under drought stress. *Crop Biotechnology*, 13(43), 29-41.

### Abstract

Drought is one of the most important factors causing abiotic stress in plants. Wheat, as a vital crop, is extensively cultivated in regions that face water scarcity at least during one period of the year. Proteomic approach is one of the ways to identify proteins involved in plant tolerance to water stress. In order to investigate the effect of water deficit stress on the root proteome pattern of desert-tolerant wheat, an experiment was conducted in the form of a completely randomized design with seven replications. Root proteins were extracted by TCA/acetone method and the protein expression pattern was analyzed using two-dimensional electrophoresis. Potential proteins involved in the response to water deficiency were identified by comparing the protein expression patterns under water deficit stress with the expression pattern in control conditions. The results revealed significant differences in root weight and root length at a 5% probability level, indicating the detrimental effects of water stress on plant roots. The proteomic analysis identified 98 reproducible protein spots, of which 10 exhibited statistically significant changes, with eight spots showing increased expression and one showing decreased expression. These protein spots were identified based on their molecular weight (*MW*) and isoelectric point (*pI*) through database searches. The identified proteins were classified into various functional categories related to stress response, including protein synthesis and accumulation, oxidative stress, response and defense against stress and metabolic pathways.

### KEYWORDS

Protein extraction, two-dimensional electrophoresis, expression pattern, isoelectric point.

© 2023, by the author(s). Published by Payame Noor University, Tehran, Iran.

This is an open access article under the CC BY 4.0 license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

<https://cropbiotech.journals.pnu.ac.ir/>

نشریه علمی

## زیست فناوری گیاهان زراعی

«مقاله پژوهشی»

# تجزیه پروتئوم ریشه گندم رقم کویر تحت تنش کمبود آب

سمیرا مردانی زنوز<sup>۱</sup>، محمود تورچی<sup>۱\*</sup>، شقایق اصلزاد<sup>۱</sup>

### چکیده

خشکی یکی از مهمترین عوامل ایجادکننده تنش غیرزیستی در گیاه محسوب می‌شود. گندم به عنوان یک گیاه زراعی مهم، اغلب در مناطقی کشت می‌شود که حداقل در دوره‌ای از سال با کم‌آبی مواجه است. یکی از راهکارهای شناسایی پروتئین‌های درگیر در تحمل گیاه به تنش کمبود آب رهیافت پروتئومیک است. به منظور بررسی اثر تنش کمبود آب بر الگوی پروتئوم ریشه گندم رقم متحمل کویر، آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با هفت تکرار انجام شد. استخراج پروتئین‌های ریشه به روش TCA/استون انجام و الگوی بیان پروتئینی با استفاده از الکتروفورز دوبعدی بررسی گردید. پروتئین‌های احتمالی درگیر در تنش کمبود آب با مقایسه‌ی الگوی بیان تحت تنش کمبود آب با الگوی بیان در شرایط کنترل شناسایی شد. نتایج نشان داد که اختلاف بین تیمارها برای صفات وزن تر ریشه و طول ریشه در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار ولی برای صفات وزن خشک ریشه، وزن خشک اندام هوایی و وزن تر اندام هوایی از نظر آماری معنی‌دار نبود. بررسی الگوی بیان پروتئوم ریشه، ۹۸ نقطه‌ی پروتئینی تکرارپذیر را نشان داد که از میان آنها تعداد ۱۰ نقطه از لحاظ آماری دارای اختلاف بیان معنی‌دار بین شرایط کنترل و تنش بودند. از این تعداد هشت نقطه افزایش بیان و یک نقطه کاهش بیان را نشان دادند. این نقطه‌های پروتئینی بر اساس وزن مولکولی (Mw) و نقطه ایزوالکتریک (pI) با جستجو در بانک‌های اطلاعاتی شناسایی شدند. پروتئین‌های پاسخ دهنده به تنش در گروه‌های عملکردی مختلف قرار دارند. این گروه‌ها شامل سنتز و تجمع پروتئین، تنش اکسایشی، پاسخ و دفاع در برابر تنش و مسیرهای متابولیکی بودند.

### واژه‌های کلیدی

استخراج پروتئین، الکتروفورز دوبعدی، الگوی بیان، نقطه ایزوالکتریک.

<sup>۱</sup>گروه به نژادی و بیوتکنولوژی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.

نویسنده مسئول:

محمود تورچی

رایانامه: mtoorchi@tabrizu.ac.ir

استناد به این مقاله:

مردانی زنوز، سمیرا، تورچی، محمود و شقایق اصلزاد (۱۴۰۲). تجزیه پروتئوم ریشه گندم رقم کویر تحت تنش کمبود آب. فصلنامه علمی زیست فناوری گیاهان زراعی، ۱۳(۴۳)، ۲۹-۴۱.

## مقدمه

گندم (*Triticum aestivum* L.) به عنوان یک گیاه زراعی شناخته شده، از زمان اهلی شدن تاکنون همواره مورد توجه بشر بوده و بیشترین سطح زیر کشت را در بین محصولات زراعی به خود اختصاص داده است. گندم به عنوان اصلی ترین غله در بسیاری از مناطق جهان، غذای عمده اکثر مردم را تشکیل می‌دهد (Shewry, 2009). با این وجود، اغلب مناطق تولید گندم در جهان در بخشی از فصل رشد با کمبود آب مواجه هستند. میزان تولید گندم طبق آخرین آمار سازمان خوار و بار جهانی سازمان ملل متحد در سال ۲۰۱۶ برابر با ۷۴۹ میلیون تن بود که این میزان در کشور ایران در همان سال حدود ۱۱/۱ میلیون تن بوده است. آمارها حاکی از کاهش تولید گندم هم در سطح جهان و هم در ایران است (Naghavi et al., 2015). دوره‌های با کمبود آب اغلب در چرخه‌ی زندگی گیاه، حتی در گیاهانی که خارج از نواحی خشک و نیمه خشک رشد می‌کنند مانند گیاهان جنگل‌های مناطق معتدله رخ می‌دهد (Wilson et al., 2001).

کمبود آب یکی از مهمترین عوامل تنش‌زای محیطی است که تولید محصولات کشاورزی را در مناطق خشک و نیمه‌خشک تحت تاثیر قرار داده و باعث کاهش قابل توجه عملکرد می‌شود. بطور کلی تنش کمبود آب زمانی اتفاق می‌افتد که آب قابل استفاده در خاک کاهش می‌یابد و شرایط اتمسفری نیز به کاهش میزان آب از طریق تبخیر و تعرق ادامه می‌دهد (Valizadeh-Kamran et al., 2017). تحمل به تنش کمبود آب در اکثر گیاهان دیده می‌شود اما از گونه‌ای به گونه‌ی دیگر و حتی درون افراد یک گونه متفاوت است. استراتژی گیاهان برای مقابله با خشکی معمولاً شامل ترکیبی از دو عمل اجتناب از تنش و تحمل تنش می‌باشد که بسته به ژنوتیپ متفاوت است (Nakayama, 2007). تحمل در برابر تنش‌های غیر زیستی بسیار پیچیده است و بستگی به اثر متقابل عوامل تنش‌زا و انواع مختلفی از فرآیندهای مولکولی، بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی دارد که طی رشد و نمو گیاه رخ می‌دهند (Razmjoo et al., 2008). کمبود آب فرآیندهای بیوشیمیایی متعدد شامل فتوسنتز، سنتز پروتئین و تجمع مواد محلول را تغییر می‌دهد. از جمله رایج‌ترین پاسخ‌ها به کمبود آب نشت الکترون از غشای تیلاکوئیدی در کلروپلاست، آسیب به کلروفیل، کاهش فتوسنتز، افزایش تولید  $H_2O_2$  و  $O_2^-$ ، پراکسیداسیون لیپیدی، اثرات منفی روی طویل شدن سلول، کاهش دسترسی سلول به آب و پسابیدگی (دهیدراسیون) است

(Qureshi et al., 2007). یکی از اولین رویدادهایی که تحت شرایط خشکی ادامه می‌یابد بسته شدن روزنه‌ها در پاسخ به انتقال اجزا شیمیایی سنتز شده در ریشه‌های دهیدراته (مثل اسید آبسزیک) می‌باشد. مطالعات نشان داده است که تغییرات بیان ژن در سطح رونویسی اغلب رابطه‌ای با تغییرات در سطح پروتئین ندارد. بنابراین مطالعه تغییرات پروتئوم گیاهان در پاسخ به تنش‌ها مهم و سودمند می‌باشد. بسیاری از پروتئین‌ها تحت تغییرات پس از ترجمه قرار می‌گیرند که قابل رهایی با تجزیه ترانسکریپتوم نیست (Kosová et al., 2011). گیاهان با القای تولید دسته‌ای از پروتئین‌های تنشی که موجود را از آسیب سلولی محافظت می‌کنند، به انواع تنش‌های محیطی پاسخ می‌دهند. بنابراین، با مطالعه الگوی پروتئوم، درک ساز و کار پاسخ به تنش کم آبی امکانپذیر است (Kamal et al., 2010). از آنجایی که پروتئین‌ها به طور مستقیم در پاسخ به تنش‌های محیطی درگیر هستند، تجزیه پروتئوم یک روش ایده‌آل شناسایی الگوی بیان و عملکرد پروتئین‌های مرتبط با تنش است. پروتئین‌ها نه تنها شامل آنزیم‌های کاتالیز کننده تغییرات در سطح متابولیت بلکه شامل فاکتورهای رونویسی و ترجمه نیز می‌باشند که پاسخ گیاه به تنش را در سطوح رونوشت و پروتئین تنظیم می‌کنند (Shahbazi et al., 2023). پروتئین‌ها عملکردهای سازگاری به تنش را جهت‌دهی می‌کنند که منجر به بروز تغییر در غشای پلاسمایی، سیتوپلاسم سلولی، بعلاوه ترکیب اجزای داخل سلولی می‌شوند که در نهایت خصوصیات آنها مثل تمایل سیتوپلاسم سلولی به آب را تغییر می‌دهد. ژن‌های شناسایی شده توسط پروتئومیک می‌تواند در برنامه‌های اصلاح به کمک نشانگر و انتقال ژن برای بهبود تحمل به تنش مفید باشد (Kamal et al., 2010). در این پژوهش به بررسی تاثیر کمبود آب بر پروتئوم ریشه گندم و نقش پروتئین‌ها در پاسخ به این تنش پرداخته می‌شود.

## روش شناسی پژوهش

### مواد گیاهی و روش انجام آزمایش

در این پژوهش از رقم گندم متحمل به تنش کمبود آب به نام "کویر" استفاده شد. بذور این رقم از مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج تهیه شد. رشد گیاهان در شرایط کنترل شده در محیط آزمایشگاه پروتئومیک دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز انجام شد. برای اندازه‌گیری صفات مورفولوژیکی، تعداد ۱۰ بذر در گلدان‌های پلاستیکی استوانه‌ای با قطر ۱۰ سانتیمتر و ارتفاع

یخچال با دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند و هر ۱۵ دقیقه یکبار چند ثانیه به صورت دستی تکان داده شدند. پس از آن، نمونه‌ها با تنظیمات ۹۰۰۰ دور در دقیقه و دمای چهار درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفوژ (Hermle z326 K) شدند. به هر نمونه ۱/۵ میلی‌لیتر محلول شستشو افزوده شد که ترکیب آن استون ۵۰ میلی‌لیتر و مرکاپتواتانول ۷۰ میکرولیتر می‌باشد. سپس نمونه‌ها به تنظیمات ۲۰۰۰ دور در دمای چهار درجه بمدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شدند. رسوب پروتئینی حاصل درون هاون خشک و سپس خرد شد. ۱۰ میلی‌گرم از رسوب خشک وزن شد و به آن ۲۰۰ میکرولیتر بافر حلال افزوده شد. نمونه‌ها با استفاده از میله شیشه‌ای حدود ۵ دقیقه هم‌زده و سپس چند دقیقه ورتکس شدند. بعد از آن، نمونه‌ها با تنظیمات ۲۵۰۰۰ دور به مدت ۲۰ دقیقه در دمای اتاق سانتریفوژ و سپس سوپرناتانت جمع‌آوری شدند. محلول پروتئینی آماده برای بارگذاری در برنامه الکتروفورز می‌باشد. در مرحله بعد، بافر حلال یک دوم با ترکیب یک به یک با آب دیونیزه به مقدار ۶۰ میکرولیتر تهیه شد. در نهایت، برای انجام الکتروفورز، نمونه‌ها در لوله‌های شیشه‌ای با اضافه کردن مواد مناسب و با تنظیمات مشخص به دستگاه الکتروفورز منتقل شدند و در برنامه تعریف شده برای دستگاه منبع برق، الکتروفورز اجرا گردید.

**جدول ۱.** ترکیب محلول استخراج پروتئین

مقدار	موارد مورد استفاده
۵ میلی‌لیتر	TCA 100%
۴۵ میلی‌لیتر	استون
۷۰ میلی‌لیتر	۲۰- مرکاپتواتانول
۵۰ میلی‌لیتر	حجم نهایی مورد استفاده

## الکتروفورز دو بعدی

### الکتروفورز بعد اول

در الکتروفورز بعد اول، پروتئین‌ها بر اساس بارالکتریکی در میدان الکتریکی از یکدیگر جدامی‌شوند. برای تهیه ژل بعد اول از مواد آورده، پلی آکریل آمید ۳۰ درصد، پرسولفات آمونیوم (APS)، آمفولین‌ها با دو pH (۳- و ۵-) و Nonidet P-40 با مقادیر مشخص استفاده شد. همچنین، از تترائیل متیلن دی آمین (TEMED) به عنوان غلیظ‌کننده برای رسیدن به شرایط ایده‌آل در الکتروفورز استفاده شد. الکتروفورز بعد اول با سه ولتاژ ۲۰۰ ولت به مدت نیم ساعت، ۴۰۰ ولت به مدت ۱۶ ساعت و ۶۰۰ ولت به مدت یک

۱۵ سانتیمتر، حاوی ماسه شسته الک‌شده کاشته شد. دمای روز طی رشد ۲۵ و دمای شب ۱۹ درجه سانتی‌گراد در نظر گرفته شد. گلدان‌ها در معرض تابش نور خورشید با شدت نور حدود ۱۰۰۰ میکرومول بر متر بر ثانیه، و دوره روشنایی ۱۴ ساعت در شبانه روز قرار گرفتند (Torabian et al., 2018).

## طرح آزمایشی و نحوه اعمال تنش کمبود آب

آزمایش بصورت طرح کاملاً تصادفی با هفت تکرار انجام شد. آبیاری عادی و تنش کمبود آب تیمارهای آزمایش را تشکیل دادند. آبیاری گلدان‌های شاهد بصورت روزانه انجام شدند. تنش با قطع آبیاری در مرحله دوبرگی برای گلدان‌های تحت تنش بمدت هفت روز اعمال شد. پس از مشاهده علائم ظاهری تنش، بوته‌ها برای اندازه‌گیری صفات زراعی مورد استفاده قرار گرفتند. برای استخراج پروتئین، نمونه‌های ریشه با احتیاط و با دقت شسته شده و برای استخراج عصاره پروتئینی استفاده گردید.

پس از اندازه‌گیری وزن تر بخش‌های هوایی، نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت داخل آون در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. سپس وزن خشک بخش هوایی برحسب میلی‌گرم تعیین شد. برای اندازه‌گیری صفات مرتبط با ریشه گیاهان، ریشه‌ها از محل طوقه بریده شده و پس از شستشوی کامل خاک ریشه و خشک کردن آب سطحی آنها توسط کاغذ خشک‌کن، وزن آنها برحسب میلی‌گرم اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری وزن خشک ریشه‌ها، نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت داخل آون در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و سپس وزن خشک آنها برحسب میلی‌گرم تعیین شد. طول ریشه‌ها با اندازه‌گیری میانگین طول ۱۰ ریشه تصادفی از هر گلدان از محل طوقه تا نوک ریشه برحسب سانتیمتر بوسیله خط‌کش تعیین گردید.

## استخراج پروتئین

ریشه‌های چندروزه پس از شستشوی کامل با قیچی بریده و ۰/۵ گرم از آن در هاون چینی خرد شدند. پس از خرد کردن، حدود ۰/۲ گرم پودر حاصله به تیوب ۲ میلی‌لیتری منتقل شد و به آن ۱/۸ میلی‌لیتر محلول استخراج افزوده شد که دارای TCA (تری کلرو استیک اسید) بود (جدول ۱). تیوب حاوی محلول استخراج و نمونه پودر شده به مدت یک دقیقه ورتکس شد و سپس به مدت ۱۵ دقیقه سونیکیت شد. نمونه‌ها در دمای چهار درجه سانتی‌گراد نگه داشته شدند سپس نمونه‌ها به مدت یک ساعت در

سطوح تنش انجام شد. در نهایت نقاطی که تغییرات بیان معنی‌دار داشتند از بین کلیه نقطه‌ها مشخص و روند افزایشی و یا کاهش‌ی آنها طی تنش کمبود آب براساس شاخص IF مشخص شدند. نقاطی که دارای IF بالاتر از دو بودند نقطه‌های پروتئینی با افزایش بیان و نقاطی که IF کمتر از ۰/۵ داشتند به عنوان نقطه‌های پروتئینی با کاهش بیان معرفی شدند. شاخص IF براساس رابطه زیر محاسبه گردید:

$$IF = \frac{\text{درصد حجمی نقطه‌های پروتئینی در حالت تنش}}{\text{درصد حجمی نقطه‌های پروتئینی در حالت شاهد}}$$

برای شناسایی پروتئین‌ها، از پایگاه‌های اطلاعاتی اینترنتی مانند UniProt، ExPASy، Wheat proteomics، NCBI و مقالات منتشر شده استفاده شد. با مقایسه نقطه ایزوالکتریک ( $pI$ ) و وزن مولکولی ( $MW$ ) پروتئین‌های حاصل از این آزمایش با پروتئین‌های موجود در این داده‌ها پایگاه‌ها و مقالات پروتئین‌ها شناسایی شدند.

## یافته‌های پژوهش

### تجزیه و تحلیل صفات اندازه‌گیری شده

ابتدا آزمون نرمال بودن برای داده‌های صفات مورفولوژیکی مورد مطالعه انجام شد و نتایج نشان داد که کلیه صفات دارای توزیع نرمال بودند. نتایج حاصل از آزمون  $t$  در جدول ۲ آمده است. اختلاف بین شرایط تنش برای صفات وزن تر ریشه، و طول ریشه از نظر آماری در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار شد که نشان دهنده وجود تفاوت آماری بین سطوح تنش از لحاظ این صفات است ولی برای صفات وزن خشک اندام هوایی، وزن تر اندام هوایی و وزن خشک ریشه، معنی‌دار نشد. نمونه‌برداری در مراحل اولیه رشد دلیل معنی‌دار نشدن صفات وزن خشک اندام هوایی، وزن تر اندام هوایی و وزن خشک ریشه است (جدول ۲).

### جدول ۲. نتایج آزمون $t$ برای صفات مورد مطالعه در گندم رقم

کویر تحت تنش کمبود آب

وزن تر ریشه	وزن تر اندام هوایی	وزن خشک ریشه	وزن خشک اندام هوایی	طول ریشه
۸/۴۰۳*	۱/۲۸	۰/۱۶	۰/۲۸۴	-۴/۹۵۵*
۱۳/۱۷	۷/۹۹	۱۰/۸۰	۳/۴۶	۵/۸۲

آماره  $t$

ضریب تغییرات (%)

ساعت انجام گردید. این مراحل به پروتئین‌ها اجازه می‌دهند تا بر اساس بار الکتریکی از یکدیگر جدا شده و تفکیک شوند.

## الکتروفورز بعد دوم

در الکتروفورز بعد دوم (SDS-PAGE)، پروتئین‌ها بر اساس وزن مولکولی خود از یکدیگر جدا می‌شوند. این روش از یک ژل دو قسمتی تشکیل شده است که شامل یک ژل جداکننده و یک ژل نگهدارنده است. قبل از انجام الکتروفورز بعد دوم، ژل‌های بعد اول دو مرتبه در بافر SDS sample به مدت ۱۵ دقیقه شناور شدند تا متعادل سازی صورت گیرد. سپس این ژل‌ها روی ژل آکریل آمید ۱۵ درصد برای تفکیک بر اساس وزن مولکولی قرار گرفتند. به ازای هر ژل، ۲۰۰ میکرولیتر از نشانگر آبی بروموفنول به بافر افزوده گردید. عملیات الکتروفورز با جریان ثابت به اندازه ۳۵ میلی‌آمپر برای هر ژل و به مدت زمان حدود ۳ ساعت انجام شد تا نشانگر آبی بروموفنول به انتهای ژل جداکننده برسد.

## رنگ آمیزی، تصویربرداری و تجزیه نقطه‌های پروتئینی

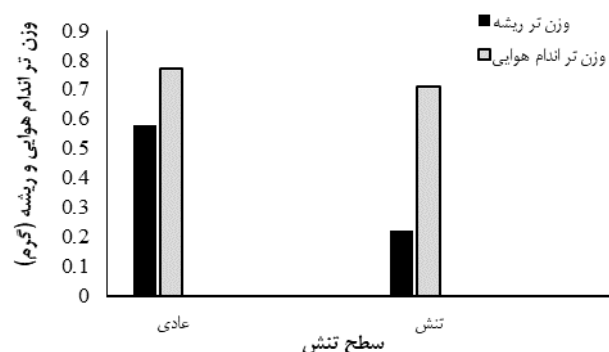
پس از پایان الکتروفورز بعد دوم، ژل نگه‌دارنده حذف و ژل‌های جداکننده در محلول تثبیت‌کننده قرار گرفتند سپس ژل‌ها با آب دیونیزه شسته شده و محلول نیترات نقره ریخته شد. پس از ۲۰ دقیقه، ژل‌ها به مدت ۳۰ ثانیه با آب دیونیزه شستشو داده شدند. سپس به ازای هر ژل ۳۰۰ میلی‌لیتر از محلول توسعه دهنده اضافه گردید. به محض مشاهده نقطه‌های پروتئینی روی ژل‌ها، رنگ‌آمیزی با ریختن محلول تمام‌کننده روی ژل‌ها متوقف شد.

برای تصویربرداری و تجزیه نقطه‌های پروتئینی، ابتدا از دستگاه اسکنر Bio Rad GS-800 برای تصویربرداری استفاده شد. نوع ماده (ژل) و نوع رنگ‌آمیزی (نیترات نقره) در نرم‌افزار Quantity one تنظیم شد. نقطه‌های پروتئینی شناسایی و وزن مولکولی آن‌ها محاسبه شد. پس از غربال‌گری داده‌ها و حذف نقاط ناخواسته، داده‌های کمی در فایل Excel ذخیره شد. برای تجزیه و تحلیل بیان نقطه‌های پروتئینی، تصاویر توسط نرم‌افزار PDQuest برای تمام تکرارها به طور همزمان استفاده شدند و نقطه‌های مشترک بین تکرارها شناسایی شدند. سپس نقاط بر اساس درصد حجمی در تنش‌های مختلف تجزیه شدند و نقاط با تغییرات بیان معنی‌دار مشخص شدند. پس از پایان نقطه یابی، درصد حجمی نقاط برای تکرارهای مختلف به دست آمد و تجزیه جداگانه براساس درصد حجمی هر نقطه در بین

\* معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد.

## اثر تنش کمبود آب بر صفات رشدی گیاه وزن تر اندام هوایی و ریشه

وزن تر اندام هوایی و وزن تر ریشه، در شرایط تنش میانگین پایین‌تری نسبت به شاهد داشتند که نشان‌دهنده کاهش شدید میزان آب بافت در اثر تنش کم‌آبی است. تجزیه آماری داده‌ها نیز اختلاف معنی‌دار بین گیاه شاهد و تنش در مورد وزن تر ریشه را تأیید می‌کند (شکل ۱).



شکل ۱. میانگین وزن تر ریشه و اندام هوایی رقم کویر تحت آبیاری عادی و تنش کمبود آب

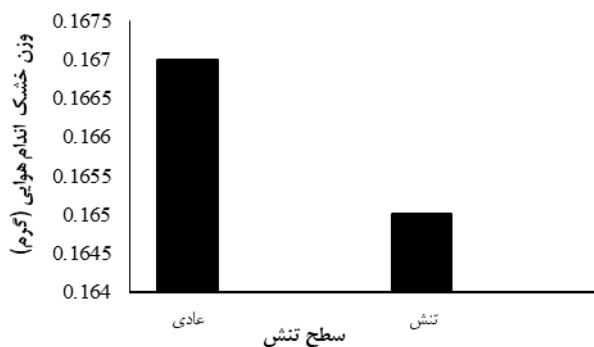
گزارشات مختلف حاکی از آن است که بخش هوایی گیاه حساسیت بیشتری به تنش کمبود آب دارد. خشکی و دمای بالا از طریق کاهش میزان فتوسنتز و افزایش تبخیر و تعرق باعث کاهش تولید ماده خشک گیاه می‌شود. همچنین تنش کمبود آب باعث کاهش رشد برگ و در نتیجه کاهش سطح برگ و فرآیند فتوسنتز شده و منجر به کاهش بیوماس گیاهی می‌گردد. گیل و همکاران (Gill et al., 2003) در مطالعه تاثیر تنش اسمزی روی سورگوم نشان دادند که وزن تر و ارتفاع بوته در گیاهان تحت تنش کاهش می‌یابد.

## وزن خشک اندام هوایی و ریشه

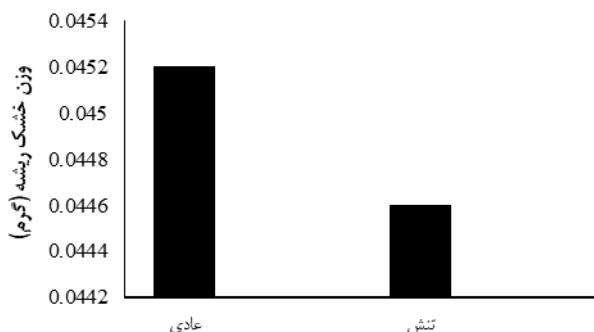
اختلاف معنی‌داری بین وزن خشک اندام هوایی و وزن خشک ریشه در سطوح مختلف تیماری مشاهده نشد. هر چند میانگین این صفات تحت شرایط تنش کاهش یافت (شکل های ۲ و ۳).

به نظر می‌رسد که سنتز اسمولیت‌ها و سایر متابولیت‌ها برای مقابله با تنش کمبود آب منجر به افزایش بیوماس در گیاهان تحت تنش می‌شود. با در نظر داشتن نمونه‌برداری در مرحله گیاهچه‌ای این افزایش تا حدی بوده که گیاهان تحت تنش با

حالت شاهد در میزان بیوماس از نظر آماری برابری کرده است. نتایج متناقضی درباره اثر تنش کمبود آب روی وزن ریشه و تاج بدست آمده‌است. برخی نتایج حاکی از آن است که تنش کمبود آب وزن تاج و ریشه را کاهش می‌دهد. در مطالعه دیگری تنش کمبود آب باعث افزایش حجم و وزن خشک ریشه‌ها در برنج شده‌است (Toorchi et al., 2009).



شکل ۲. وزن خشک اندام هوایی رقم کویر تحت آبیاری عادی و تنش کمبود آب



شکل ۳. وزن خشک ریشه رقم کویر تحت آبیاری عادی و تنش کمبود آب

## طول ریشه

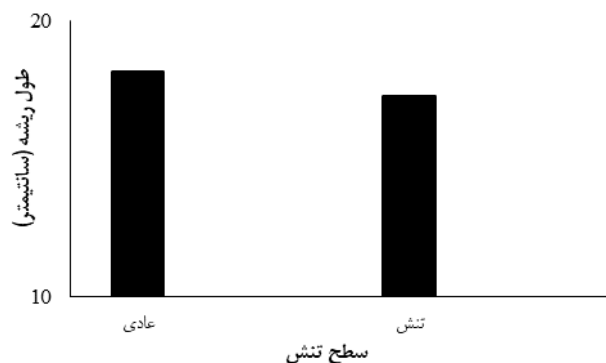
در این آزمایش طول ریشه در حالت تنش کاهش یافت. این کاهش از نظر آماری نسبت به شرایط شاهد معنی‌دار بود (شکل ۴) که نشان‌دهنده توانایی بالای این رقم در حفظ رشد ریشه در شرایط تنش است.

پژوهشگران گزارش کردند که تنش کمبود آب موجب کاهش طول ریشه می‌شود که این امر احتمالاً به دلیل کاهش فتوسنتز و انتقال مواد فتوسنتزی به ریشه‌ها می‌باشد که در نهایت رشد ریشه‌ها

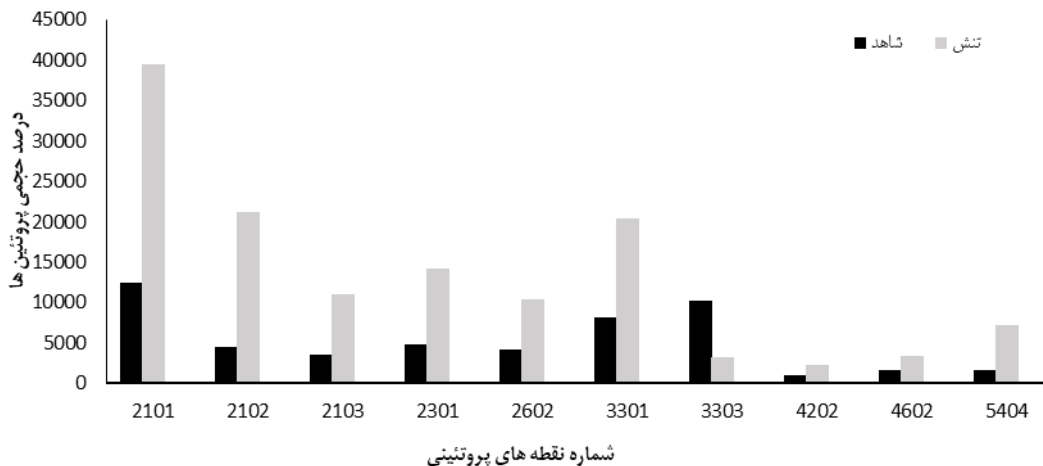
### تجزیه پروتئوم

بررسی تغییرات پروتئوم منجر به شناسایی ۹۸ نقطه پروتئینی تکرارپذیر شد. در مجموع تعداد ۱۰ نقطه تفاوت بیان نشان دادند که تعداد نقطه‌های دارای افزایش بیان معنی‌دار ۹ و نقطه‌های با کاهش بیان معنی‌دار برابر یک بود (شکل ۵). افزایش و کاهش بیان به ترتیب بوسیله فاکتور القا بزرگتر از دو یا کوچکتر از ۰/۵ تعیین شدند. شماره و میزان افزایش و کاهش بیان نقطه‌های انتخابی در جدول ۳ نشان داده شده‌است. موقعیت نقطه‌های شناسایی شده در روی ژل‌های اسکن شده در شکل ۶ نشان داده شده‌است. همچنین عملکرد این پروتئین‌ها بطور خلاصه در جدول ۴ آورده شده‌است. تنش‌های محیطی از جمله خشکی پروتئین‌ها و آنزیم‌های مختلفی را تحت‌تأثیر قرار می‌دهند و این پروتئین‌ها جزئی از متابولیسم‌ها و چرخه‌های حیاتی سلول می‌باشند.

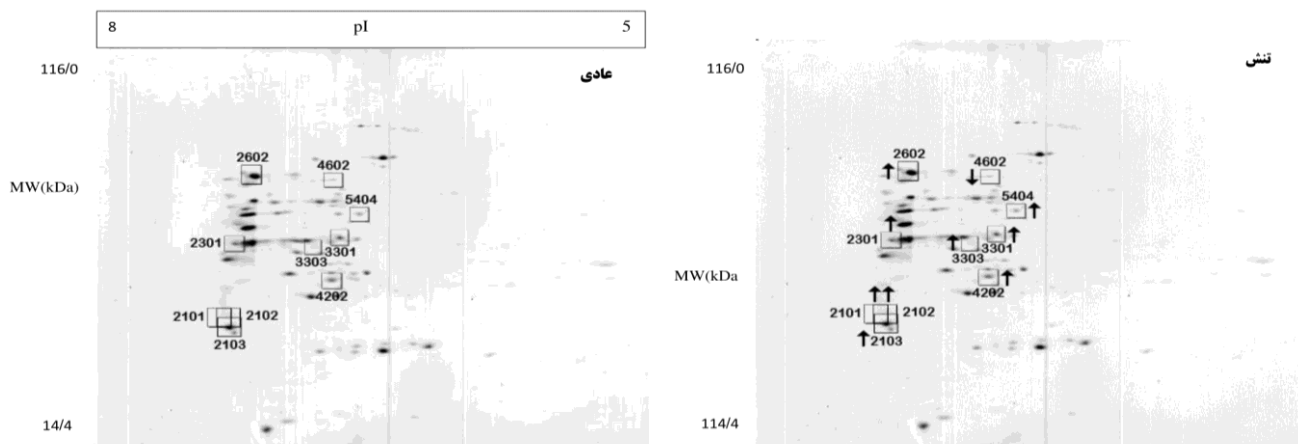
را محدود می‌کند (Toorchi *et al.*, 2009). تحت تنش کمبود آب ریشه‌ها کمتر از اندام هوایی متأثر می‌شوند (Toorchi *et al.*, 2009). تحت تنش کمبود آب طول ریشه در ذرت کاهش، ولی در ارزن و سورگوم افزایش یافت، و همچنین همبستگی مثبتی بین طول ریشه و مقاومت به تنش کمبود آب در گیاهان سورگوم و ارزن مشاهده شد (Mohammadi *et al.*, 2007).



شکل ۴. میانگین طول ریشه رقم کویر تحت آبیاری عادی و تنش کمبود آب



شکل ۵. درصد حجمی پروتئین‌های دارای تفاوت بیان معنی‌دار تحت شرایط تنش کمبود آب و شاهد



شکل ۶. موقعیت نقطه‌های پروتئینی انتخابی روی ژل‌های الکتروفورز دوبعدی  
جدول ۳. نقش پروتئین‌های انتخابی در فعالیت‌های زیستی و نوع بیان آنها

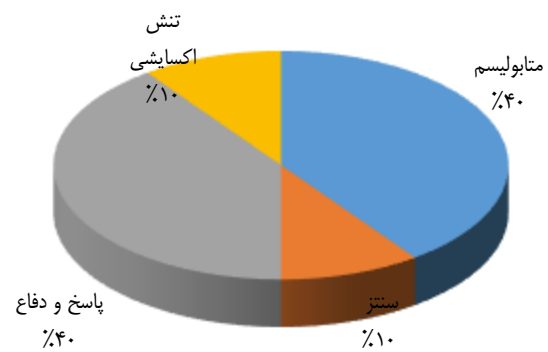
شماره نقطه پروتئینی	نام پروتئین	نوع فعالیت	نوع بیان
۲۳۰۱	Peroxidase	متابولیسم	افزایش
۳۳۰۱	Enolase mRNA	متابولیسم	افزایش
۴۲۰۲	Malat dehydrogenase	سنتز اسیدامینه	افزایش
۲۶۰۲	HSP 70	پاسخ و دفاع در برابر تنش	افزایش
۵۴۰۴	Polyphenol oxidase	تنش اکسایشی	افزایش
۲۱۰۲	Caffeoyl-coA O-methyltransferase	پاسخ و دفاع در برابر تنش	افزایش
۲۱۰۳	Triosephosphate isomerase	متابولیسم	افزایش
۲۱۰۱	Phosphoglycerate mutase	متابولیسم	افزایش
۳۳۰۳	S-adenosylmethionin synthetase 1	متابولیسم	کاهش
۴۶۰۲	Beta-glucosidase	پاسخ و دفاع در برابر تنش	افزایش

جدول ۴. مشخصات ۱۰ نقطه پروتئینی دارای تغییرات بیان معنی‌دار در پاسخ به تنش کمبودآب

ردیف	شماره نقطه	نام پروتئین‌های شناسایی شده	تئوری		آزمایشی		عامل القا	شماره ثبت	گونه
			pI	MW	pI	MW			
۱	2301	Peroxidase	5/85	46/23	5/58	47/59	2/94	gi/474004599	<i>Triticum urartu</i>
۲	3301	Enolase mRNA	5/57	2/22	5/67	47/79	2/47	AY496909	<i>Glycine max</i>
۳	4202	Malat dehydrogenase	5/7	35/80	6/08	38/87	2/26	gi/3273828	<i>Triticum aestivum</i>
۴	2602	HSP 70	5/76	67/1	5/64	69/6	2/4	476003	<i>Hordeom vulgare</i>
۵	5404	Polyphenol oxidase	5/8	55/6	6/24	55/89	4/20	343489333	<i>Triticum aestivum</i>
۶	2102	Caffeoyl-CoA O-methyltransferase	5/30	28/6	5/55	28/35	3/1	Q41720	<i>Zinnia violacea</i>
۷	2103	triosephosphate isomerase	5/38	27/0	5/56	27/1	3/03	Q9FS79	<i>Triticum aestivum</i>
۸	2101	Phosphoglycerate mutase	5/43	30	5/54	32/37	3/1	32400802	<i>Triticum aestivum</i>
۹	3303	S-adenosylmethionin synthetase 1	5/61	43	5/99	46/29	0/3	gi 115589744	<i>Triticum monococcum</i>
۱۰	4602	Beta-glucosidase	6/01	69/34	6/1	69/58	2/07	Q1XIR9	<i>Triticum aestivum</i>



**نقش پروتئین‌های شناسایی شده تحت تنش کمبود آب**  
 پروتئین‌های انتخابی از نظر کارکردی به گروه‌های عملکردی مطابق شکل ۷ تقسیم‌بندی شدند.



**شکل ۷.** گروه‌های عملکردی پروتئین‌های پاسخ دهنده به تنش کمبود آب

#### پروتئین‌های درگیر در مسیرهای متابولیسمی

از بین پروتئین‌های شناسایی شده نقطه‌های ۲۱۰۱، ۲۱۰۳، ۲۳۰۱ و ۳۲۰۱ در مسیرهای متابولیسمی گیاهان نقش دارند. پروتئین شماره ۲۱۰۱ مربوط به آنزیم فسفوگلیسرات موتاز می‌باشد که تحت تنش کمبود آب در ریشه‌های گندم افزایش یافت. فسفوگلیسرات موتاز یا PGM یک آنزیم گلیکولیزی است که باعث تبدیل گلیسرات-3 فسفات و گلیسرات-2 فسفات به یکدیگر می‌شود (Toorchi *et al.*, 2009). افزایش بیان این آنزیم ممکن است به تولید انرژی بیشتر مورد نیاز در فرآیندهای دفاعی متعدد کمک کند.

تحت تنش کمبود آب در گیاهچه‌های گندم برای دفاع از سلول در برابر رادیکال‌های آزاد از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی آسکوربات پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و پروکسی ردوکسین استفاده شده و با تغییر بیان آنزیم‌های تریوزفسفات ایزومراز، فسفوگلیسرات موتاز و مالات دهیدروژناز احتمالاً بخشی از انرژی مورد نیاز برای واکنش‌های سمیت‌زدایی از سلول فراهم می‌شود. افزایش بیان این آنزیم در گندم دوروم تحت تنش شوری و نیز در برنج تحت تنش سرما (Yan *et al.*, 2006) گزارش شده‌است. همچنین در آزمایش کاروسو و همکاران کاهش بیان قطعه فسفوگلیسرات موتاز در شرایط تنش کمبود آب در گندم مشاهده شده‌است (Caruso *et al.*, 2009).

نقطه شماره ۲۱۰۳ که در گیاهان تحت تنش به میزان قابل توجهی افزایش نشان‌داد که مربوط به تریوزفسفات ایزومراز (TPI) است که یکی از آنزیم‌های مهم چرخه گلیکولیز می‌باشد. تنظیم تریوزفسفات ایزومراز، انولاز، UGPase و COX6b-1 احتمالاً برای شروع چرخه تولید انرژی ضروری باشد. واضح است که گیاهان این توانایی را دارند که در حین سنتز ساکارز میزان مصرف گلوکز را کاهش دهند و اینکار را با کاهش بیان UGPase انجام می‌دهند و بنابراین می‌توانند گلوکز بیشتری را در مسیر گلیکولیز فراهم کنند در صورتی که یکی از آنزیم‌های اساسی مثل تریوزفسفات ایزومراز افزایش بیان نشان می‌دهد.

دو نوع ایزوفریم از این آنزیم وجود دارد: ایزوفریم سیتوسولی و ایزوفریم کلروپلاستی، ایزوفریم پلاستی در چرخه کالوین دخیل است (Gao *et al.*, 2011). به نظر می‌رسد که افزایش بیان آنزیم تریوز فسفات ایزومراز کلروپلاستی به علت نیاز به انرژی جهت سمیت‌زدایی و بازسازی آسیب‌های ناشی از تخریب اکسیداتیو است. گزارشات قبلی نیز افزایش بیان آنزیم مذکور را در برگ گندم نان تحت تنش شوری نشان‌دادند. افزایش یا کاهش بیان این آنزیم در گیاهان مختلف بسته به شرایط و مدت زمان اعمال تنش نتایج متفاوتی نشان داده‌است. برای مثال یوشیمورا و همکاران افزایش بیان آن را در هندوانه وحشی اعلام کردند (Yoshimura *et al.*, 2008). در این آزمایش نیز بیان تریوزفسفات ایزومراز افزایش داشته‌است که نشان‌دهنده این است که گیاه تحت شرایط کم‌آبی، با این مکانیسم انرژی مورد نیاز خود را تامین می‌کند.

میزان بیان پروتئین شماره ۲۳۰۱ در گیاهان تحت تنش در این آزمایش به میزان قابل توجهی افزایش نشان‌داد. این نقطه آنزیم پراکسیداز شناخته‌شد. تحقیقات ثابت کرده‌است که در تمام فرآیندهای فیزیولوژیکی و تغییرات فنولوژیکی گیاه ماده سمی هیدروژن پراکسید در بافت‌های گیاهی تولید می‌شود که دو آنزیم پراکسیداز و کاتالاز به دو شکل متفاوت این ماده را از محیط دور می‌کنند و ثابت شده‌است که آنزیم پراکسیداز از عوامل مهم لیگنین‌سازی درختان بخصوص در مرحله آخر پلیمریزاسیون سه الکل اصلی (P-کوماریل، کونیفیریل و سیناپین) است.

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت به سلول‌های گیاهی کمک می‌کنند که با حذف رادیکال‌های آزاد اکسیژن، تحمل شرایط تنش را آسان‌تر کنند. برای کاهش این اثرات تخریبی، فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز زیاد شده که نقش مهمی در پاکسازی رادیکال‌های آزاد خواهند داشت (Zhang *et al.*, )

(2006). کاروسو و همکاران نیز کاهش بیان این آنزیم را در شرایط تنش گزارش کرده‌اند (Caruso et al., 2009). مرویتز و همکاران افزایش بیان قطعه مربوط به آنزیم فوق را در گیاه جهش یافته و کاهش آن را در گیاه نرمال مورد آزمایش بیان کردند (Merewitz et al., 2011).

### پروتئین‌های درگیر در پاسخ و دفاع در برابر تنش

نقطه شماره ۲۱۰۲ مربوط به O-Caffeoyl-CoA methyltransferase گیاهان برای مقابله با عواقب تنش‌های محیطی دارای مکانیسم‌های بازسازی هستند که این بازسازی با سنتز مواد و پروتئین‌هایی همراه است. همچنین محتوای ساختاری دیواره سلولی ریشه نیز در این مرحله دچار تغییر می‌شود. از جمله این پروتئین‌ها، پروتئین‌های دخیل در سنتز لیگنین هستند. یکی از مهم‌ترین آنها Caffeoyl-CoA O-methyltransferase است که نقش کلیدی در سنتز مونولیگنولز دارد که به عنوان پیش ساز در ساخت لیگنین عمل می‌کند. این پروتئین و پراکسیدازهای نوع ۳ در هندوانه وحشی تحت تنش کمبود آب و در ذرت افزایش یافتند. افزایش ساختارهای سازنده لیگنین، باعث تقویت دیواره سلولی و مقاومت ریشه در برابر خشکی خاک می‌شود. همچنین اصلاح و بازسازی دیواره سلولی باعث می‌شود میزان آب تلف شده از سلول به حداقل ممکن برسد و دهیدراسیون انجام نگیرد، بنابراین به گیاه کمک می‌کند تا در برابر خشکی مقاومت داشته باشد. این پروتئین‌ها در هندوانه وحشی در مراحل ابتدایی اعمال تنش، کاهش داشتند ولی با افزایش مدت زمان تنش افزایش یافتند (Yoshimura et al., 2008). در این آزمایش نیز میزان بیان این پروتئین در گیاه تحت تنش افزایش بیان داشته است.

نقطه شماره ۲۶۰۲: این نقطه مربوط به پروتئین شوک حرارتی (HSP70) می‌باشد که در این آزمایش افزایش بیان نشان داد. پروتئین‌های شوک حرارتی در مقابله با تنش گرمایی و همچنین تاخوردگی پروتئین‌ها نقش دارند. سلول‌های یوکاریوتی تحت شرایط استرس با سنتز گروهی از پروتئین‌ها تحت عنوان پروتئین‌های شوک حرارتی که در کنار متابولیت‌های دیگر تولید می‌کنند توانایی پاسخ به تحریکات بالقوه و مضر را دارند. در واقع پاسخ به شوک حرارتی واکنشی است که وقتی سلول‌ها و بافت‌های گیاهی در معرض استرس ناگهانی قرار می‌گیرد از خود نشان داده و شروع به بیان موقتی HSP می‌کنند. HSP70

(2010). در این تحقیق مشخص گردید که تنش خشکی باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز می‌شود. افزایش فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز همزمان با افزایش تنش کمبود آب در مطالعه آلگوسی و همکاران روی گیاه *Juniperus oxycedrus* نیز مشاهده شد (Alguacil et al., 2006).

پروتئین شماره ۳۳۰۱: این نقطه پروتئینی احتمالا مربوط به آنزیم انولاز می‌باشد که افزایش بیان نشان داده است. انولاز یکی از آنزیم‌های دخیل در فرآیند گلیکولیز است. این آنزیم در برابر بسیاری از تنش‌های محیطی از جمله تنش شوری، کمبود آب، سرما، و تنش‌های غیرهوازی در انواع مختلفی از گیاهان پاسخ نشان می‌دهد. تحت شرایط تنش، فعالیت آنزیمی پروتئین‌ها تحت تاثیر قرار گرفته و متابولیسم‌های پایه و اساسی گیاه مختل می‌گردد (Michaletti et al., 2018).

بمنظور حفظ هموستازی در شرایط تنش، گیاهان نیاز دارند مکانیسم‌های دفاعی خود را تقویت کنند مانند مکانیسم‌های انتقال یون، مهار اکسیژن غیرفعال ROS و سنتز اسمولیت‌ها. این فرآیندها نیازمند انرژی فوق العاده زیاد هستند. تنظیم آنزیم‌های انولاز، تریوزفسفات ایزومراز UGPase برای ورود به مسیر تولید انرژی بسیار ضروری است. با اینکه فعالیت آنزیمی و فراوانی انولاز توسط تنش بسیار افزایش می‌یابد اما فراوانی پروتئین آن در ذرت به میزان ۱/۴ افزایش داشته است و در گیاه برنج نتایج کلی و قابل تعمیم نبوده است. مرویتز و همکاران افزایش بیان قطعه مربوط به انولاز را در ریشه گیاه تحت تنش کمبود آب گزارش دادند. آنزیم‌های متعددی در مسیرهای اساسی متابولیک سلولی از قبیل گلیکولیز و چرخه کربس (انولاز و تریوز فسفات ایزومراز) و بسیاری از پروتئین‌های دیگر مانند کافئات- متیل ترانسفراز مرتبط با لیگنین شدن نسبت به تنش آبی از خود واکنش نشان می‌دهند (Merewitz et al., 2011).

پروتئین شماره ۳۳۰۳: این نقطه پروتئینی مربوط به آنزیم اس-آدنوزیل متیونین سنتاز (SAMS) می‌باشد که یکی از آنزیم‌های انتقال دهنده متیل و دخیل در مسیرهای بیولوژیکی از جمله متیلاسیون‌های مختلف و بیوسنتز اتیلن می‌باشد. بیان و همکاران افزایش بیان این آنزیم را تحت تنش سرما در برنج گزارش کرده‌اند. آنها نتیجه‌گیری کرده‌اند که افزایش بیان آنزیم آدنوزیل متیونین سنتاز موجب سنتز افزایش یافته اتیلن و تسریع پیری گیاه برای اجتناب از تنش کمبود آب می‌شود (Yan et al.,

دارند کاتالیز می‌کند. تغییرات در میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در شرایط تنش‌های محیطی از جمله تنش کمبود آب گزارش شده‌است.

### پروتئین‌های درگیر در سنتز اسید آمینه

نقطه ۴۲۰۲ متعلق به پروتئین مالات‌دهیدروژناز سیتوسولی است که تحت تنش کمبود آب در ریشه‌های گندم افزایش بیان یافت. آنزیم مالات‌دهیدروژناز واکنش تبدیل دوطرفه مالات به اگزالواستات و برعکس را کاتالیز می‌کند. این آنزیم در سیتوسول، میتوکندری و پراکسیزوم، وابسته به  $NAD^+$  است. در سیتوسول آنزیم مالات‌دهیدروژناز وابسته به  $NAD^+$  واکنش تبدیل اگزالواستات به مالات را کاتالیز می‌کند، سپس مالات از طریق ناقل دکربوکسیلات وارد میتوکندری می‌شود و در آنجا وارد چرخه تری‌کربوکسیلیک‌اسید می‌شود. این امر باعث عملکرد بهتر این چرخه می‌شود. همچنین اگزالواستات به عنوان پیش‌ماده اسید آمینه در گیاهان عمل می‌کند (Kosová et al., 2011). بنابراین به نظر می‌رسد که افزایش فعالیت مالات‌دهیدروژناز در حفظ فعالیت بالاتر چرخه تری‌کربوکسیلیک‌اسید و نیز سنتز بیشتر اسید آمینه‌ها کمک می‌کند. افزایش فعالیت این آنزیم در برگ گندم نان (Wang et al., 2008) و آراییدوپسیس (Ndimba et al., 2005) تحت تنش کمبود آب مشاهده شده‌است. کاهش فعالیت این آنزیم در ابتدای اعمال تنش و افزایش آن در مراحل بعدی اعمال تنش در هندوانه وحشی (Yoshimura et al., 2008) مشاهده گردید.

### نتیجه‌گیری و پیشنهادات

تفاوت معنی‌داری برای صفات وزن تر ریشه و طول ریشه در اثر تنش کمبود آب دیده شد که نشان‌دهنده اثرات زیانبار تنش روی ریشه گندم رقم کویر است. تجزیه پروتئوم ریشه رقم کویر به روش الکتروفورز دو بعدی تحت تنش کمبود آب منجر به شناسایی ۹۸ نقطه پروتئینی از طریق رنگ‌آمیزی با نیترات‌نقره شد. از این تعداد ۱۰ نقطه پروتئینی تغییرات بیان معنی‌داری از نظر آماری نشان دادند. ۹ نقطه پروتئینی افزایش بیان و یک نقطه کاهش بیان نشان دادند. پروتئین‌های شناسایی شده در بیوسنتز و متابولیسم پروتئین‌ها، پاسخ به تنش و دفاع نقش داشتند. الگوی تغییر بیان پروتئین‌های دخیل در تنش‌ها به خصوص تنش اکسایشی حاکی از افزایش فعالیت پروتئین‌های دخیل در مهار گونه‌های فعال اکسیژن است. پروتئین‌های دخیل در سنتز و

چپرون مولکولی دخیل در تجمع پروتئین‌ها و بازکردن تاخوردگی آن‌ها تحت شرایط معمولی و تنش می‌باشد. این مولکول همچنین در واردات، جابجایی و تجزیه پروتئین‌ها دخیل است. پژوهشگران افزایش بیان انواع مختلفی از پروتئین‌های شوک حرارتی از جمله Hsp20، Hsp70، Hsp82، Hsp90 را در هندوانه وحشی تحت تنش کمبود آب نشان دادند (Demirevska et al., 2008). افزایش بیان Hsp70 را در گندم و در نیشکر اعلام کردند (Jangpromma et al., 2010).

نقطه ۴۶۰۲: این نقطه مربوط به آنزیم بتاگلوکوزیداز است. تحت شرایط خشکی گیاهان مکانیسم‌های دفاعی متعددی اتخاذ می‌کنند. آنزیم بتاگلوکوزیداز یکی از آنزیم‌هایی هست که پیوند گلیکوزیدی بین ترکیبات مختلف را می‌شکند در بسیاری از فعالیت‌های سلولی از جمله تجزیه پیوند دی‌ساکاریدها، الیگوساکاریدها، ترکیبات دیواره سلولی، فعال‌سازی هورمون‌های گیاهی از ترکیب غیرفعال گلیکوزیده شده و مقاومت به تنش‌های زنده و غیر زنده نقش ایفا می‌کند (Caruso et al., 2009). گلوکوزیداز در حین جوانه‌زنی بذر به میزان زیادی تولید می‌شود تا مانع از بین رفتن ذخیره دانه هنگام هیدرولیز دیواره سلولی اندوسپرم گردد. بوداک و همکاران نشان دادند که افزایش میزان سنتز بتاگلوکوزیداز در حین تنش‌های اسمزی با تحمل گیاهان در برابر این تنش‌ها در ارتباط بوده و عاملی برای افزایش تحمل گیاه به تنش است (Budak et al., 2013). این آنزیم با رشد بافت گیاهی تحریک شده و باعث سازگاری گیاه در برابر تغییرات محیطی ناشی از کاهش پتانسیل آب سلول می‌شود (Mohammadi et al., 2007).

### پروتئین‌های درگیر در تنش اکسایشی

نقطه شماره ۵۴۰۴: این نقطه مربوط به پلی‌فنول‌اکسیداز (کتنگول‌اکسیداز) می‌باشد که افزایش بیان داشت. پروتئین مذکور در مهار گونه‌های فعال اکسیژن نقش دارد. فعالیت پروتئین‌های آنتی‌اکسیداتیو به طریق افزایش بیان پروتئین‌های پلی‌فنول‌اکسیداز و آلترناتیو اکسیداز افزایش یافته‌است. تنش اکسیداتیو القا شده توسط تنش کمبود آب موجب اختلال در انتقال الکترون فتوسنتزی از طریق تولید گونه‌های فعال اکسیژن در کلروپلاست و میتوکندری و در نتیجه موجب تخریب سلول‌ها و بافت‌ها می‌شوند. آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز، هیدرولاسیون مونو فنول‌ها را به دی‌فنول‌ها کاتالیز می‌کند. همچنین این آنزیم اکسیداسیون دی‌فنول‌ها را به کوئینون‌ها که در پلیمریزاسیون رنگدانه‌ها نقش

متحمل باشد.

تجمع پروتئین افزایش بیان داشتند و این می‌تواند نشانگر یکی از مهمترین مسیرهای مقابله با تنش کمبود آب در این رقم

## References

- Alguacil, M., Caravaca, F., Diaz-Vivancos, P., Hernández, J., & Roldan, A. (2006). Effect of arbuscular mycorrhizae and induced drought stress on antioxidant enzyme and nitrate reductase activities in *Juniperus oxycedrus* L. grown in a composted sewage sludge-amended semi-arid soil. *Plant and Soil*, 279, 209-218.
- Budak, H., Akpinar, B. A., Unver, T., & Turktas, M. (2013). Proteome changes in wild and modern wheat leaves upon drought stress by two-dimensional electrophoresis and nanoLC-ESI-MS/MS. *Plant Molecular Biology*, 83, 89-103.
- Caruso, G., Cavaliere, C., Foglia, P., Gubbiotti, R., Samperi, R., & Laganà, A. (2009). Analysis of drought responsive proteins in wheat (*Triticum durum*) by 2D-PAGE and MALDI-TOF mass spectrometry. *Plant Science*, 177(6), 570-576.
- Demirevska, K., Simova-Stoilova, L., Vassileva, V., Vaseva, I., Grigorova, B., & Feller, U. (2008). Drought-induced leaf protein alterations in sensitive and tolerant wheat varieties. *Gen Appl Plant Physiol*, 34(1-2), 79-102.
- Gao, L., Yan, X., Li, X., Guo, G., Hu, Y., Ma, W., & Yan, Y. (2011). Proteome analysis of wheat leaf under salt stress by two-dimensional difference gel electrophoresis (2D-DIGE). *Phytochemistry*, 72(10), 1180-1191.
- Gill, P. K., Sharma, A. D., Singh, P., & Bhullar, S. S. (2003). Changes in germination, growth and soluble sugar contents of *Sorghum bicolor* (L.) Moench seeds under various abiotic stresses. *Plant Growth Regulation*, 40, 157-162.
- Jangpromma, N., Kitthaisong, S., Lomthaisong, K., Daduang, S., Jaisil, P., & Thammasirirak, S. (2010). A proteomics analysis of drought stress-responsive proteins as biomarker for drought-tolerant sugarcane cultivars. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*, 6(2), 89-102.
- Kamal, A. H. M., Kim, K.-H., Shin, K.-H., Choi, J.-S., Baik, B.-K., Tsujimoto, H., Heo, H. Y., Park, C.-S., & Woo, S.-H. (2010). Abiotic stress responsive proteins of wheat grain determined using proteomics technique. *Australian Journal of Crop Science*, 4(3), 196-208.
- Kosová, K., Vítámvás, P., Prášil, I. T., & Renaut, J. (2011). Plant proteome changes under abiotic stress-contribution of proteomics studies to understanding plant stress response. *Journal of Proteomics*, 74(8), 1301-1322.
- Merewitz, E. B., Gianfagna, T., & Huang, B. (2011). Protein accumulation in leaves and roots associated with improved drought tolerance in creeping bentgrass expressing an ipt gene for cytokinin synthesis. *Journal of experimental botany*, 62(15), 5311-5333.
- Michaletti, A., Naghavi, M.R. Toorchi, M., Zolla, L. & Rinalducci, S. (2018). Metabolomics and proteomics reveal drought-stress responses of leaf tissues from spring-wheat. *Scientific Reports* 8:5710. DOI:10.1038/s41598-018-24012-y
- Mohammadi, M., Kav, N. N., & Deyholos, M. K. (2007). Transcriptional profiling of hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.) roots identifies novel, dehydration-responsive genes. *Plant, Cell & Environment*, 30(5), 630-645.
- Nakayama, N. (2007). Response of growth, photosynthetic gas exchange, the translocation of <sup>13</sup>C-labelled photosynthate and N accumulation in two soybean (*Glycine max* L. Merrill) cultivars to drought stress. *Int. J. Agric. & Biol.*, 9, 669-674.
- Naghavi, M.R., Toorchi, M., Moghaddam, M. & Shakiba, M.R. (2015). Evaluation of diversity and traits correlation in spring wheat cultivars under drought stress. *Notulae Scientia Biologicae*, 7, 349-354.
- Ndimba, B. K., Chivasa, S., Simon, W. J., & Slabas, A. R. (2005). Identification of Arabidopsis salt and osmotic stress responsive proteins using two-dimensional difference gel electrophoresis and mass spectrometry. *Proteomics*, 5(16), 4185-4196.
- Qureshi, M. I., Qadir, S., & Zolla, L. (2007). Proteomics-based dissection of stress-responsive pathways in plants. *Journal of Plant Physiology*, 164(10), 1239-1260.
- Razmjoo, K., Heydarizadeh, P., & Sabzalian, M. R. (2008). Effect of salinity and drought stresses on growth parameters and essential oil content of *Matricaria chamomile*. *Int. J. Agric. Biol*, 10(4), 451-454.
- Shahbazi, S., Toorchi, M., Moghaddam, M., Aharizad, S. & Bandehagh, A. (2023). Effect of salinity stress on the root proteome pattern of spring bread wheat. *Journal of Plant Physiology and Breeding*, 13(1), 51-68.
- Shewry, P. R. (2009). Wheat. *Journal of Experimental Botany*, 60(6), 1537-1553.
- Toorchi, M., Yukawa, K., Nouri, M.-Z., & Komatsu, S. (2009). Proteomics approach for identifying osmotic-stress-related proteins in

- soybean roots. *Peptides*, 30(12), 2108-2117.
- Torabian, S., Shakiba, M.R., Mohammadi-Nasab, A.D. & Toorchi, M. (2018). Leaf gas exchange and grain yield of common bean exposed to spermidine under water stress. *Photosynthetica*, 56 (4), 1387-1397.
- Valizadeh-Kamran, R., Toorchi, M., Moghadam, M., Mohamadi, H. & Pessaraki, M. (2017). Effects of freeze and cold stress on certain physiological and biochemical traits in sensitive and tolerant barley (*Hordeum vulgare*) genotypes. *Journal of Plant Nutrition*, DOI: 10.1080/01904167.2017.1381730
- Wang, M. C., Peng, Z. Y., Li, C. L., Li, F., Liu, C., & Xia, G. M. (2008). Proteomic analysis on a high salt tolerance introgression strain of *Triticum aestivum*/*Thinopyrum ponticum*. *Proteomics*, 8(7), 1470-1489.
- Wilson, K., Baldocchi, D., & Hanson, P. (2001). Leaf age affects the seasonal pattern of photosynthetic capacity and net ecosystem exchange of carbon in a deciduous forest. *Plant, Cell & Environment*, 24(6), 571-583.
- Yan, S.-P., Zhang, Q.-Y., Tang, Z.-C., Su, W.-A., & Sun, W.-N. (2006). Comparative proteomic analysis provides new insights into chilling stress responses in rice. *Molecular & Cellular Proteomics*, 5(3), 484-496.
- Yoshimura, K., Masuda, A., Kuwano, M., Yokota, A., & Akashi, K. (2008). Programmed proteome response for drought avoidance/tolerance in the root of a C3 xerophyte (wild watermelon) under water deficits. *Plant and Cell Physiology*, 49(2), 226-241.
- Zhang, Y., Zhong, C., Chen, Y., Chen, Z., Jiang, Q., Wu, C., & Pinyopusarek, K. (2010). Improving drought tolerance of *Casuarina equisetifolia* seedlings by arbuscular mycorrhizas under glasshouse conditions. *New Forests*, 40, 261-271.