

## Proteome analysis of sugar beet root in response to drought stress

**Hamed Shams** 

MSc graduate, Department of Plant Breeding & Biotechnology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran. E-mail: biohamed313@gmail.com

**Mahmoud Toorchi** 

\*Corresponding author. Professor, Department of Plant Breeding & Biotechnology, Faculty of Agriculture, Tabriz University, Tabriz, Iran. E-mail: mtoorchi@tabrizu.ac.ir

**Komatsu Setsuko** 

Professor, National Institute of Crop Science, Tsukuba, Japan. E-mail: skomatsu@affrc.go.jp

---

### Abstract

#### Objective

To investigate the effects of drought stress and identify the proteins involved in drought tolerance in sugar beet roots.

#### Materials and methods

For this purpose, the drought-tolerant sugar beet genotype Full sib S1-10-8001 was evaluated under normal conditions and drought stress. Seeds were planted in polyvinyl chloride tubes, one meter long and 20 centimeters in diameter. Four weeks after planting, drought stress was applied by interrupting irrigation for seven days in a cyclic manner. Subsequently, the protein pattern of the samples was assessed using two-dimensional electrophoresis and quantitative analysis of the spots.

#### Results

Statistical analysis of the traits of underground organ length and tuber length showed significant differences between drought stress and normal conditions, with drought stress leading to a reduction in these parameters and an increase in proline levels in the roots. The results obtained from protein separation using two-dimensional electrophoresis, with IEF in the first dimension and SDS-PAGE in the second dimension, indicated the identification of 59 protein spots from polyacrylamide gels using PDQuest software. Among these spots, 15 protein spots showed significant differences between normal and drought stress conditions, with three spots showing decreased expression and 12 spots showing increased expression. The results indicated that the identified proteins were involved in four functional groups related to stress adaptation mechanisms and defense, metabolism, energy production, and oxidative stress.

#### Conclusion

The biological role of the identified proteins in this study suggests that the studied sugar beet genotype likely utilizes various mechanisms, such as controlling reactive oxygen species,

increasing lignin production, enhancing defense responses against pathogens, increasing the production of sterol compounds, protecting various biological mechanisms including photosynthesis, nitrogen fixation, and protein assembly, as well as accumulating compounds such as glycerol within cells to cope with the negative effects of stress.

**Keywords:** drought stress, proteomics, root, sugar beet, two-dimensional electrophoresis

**Paper Type:** Research Paper.

**Citation:** Shams, H., Toorchi, M., & Komatsu, S. (2026). Proteome analysis of sugar beet root in response to drought stress. *Agricultural Biotechnology Journal*, 18(3), 55-76.

---

*Agricultural Biotechnology Journal*, 18(3), 55-76.

DOI: 10.22103/jab.2026.25090.1686

Received: March 25, 2026.

Received in revised form: May 19, 2026.

Accepted: May 20, 2026.

Published online: June 30, 2026.

Publisher: Shahid Bahonar University of Kerman & Iranian  
Biotechnology Society.



© the authors

---

## Introduction

Sugar beet (*Beta vulgaris* L.) is a vital global crop, providing approximately 35% of the world's sugar. However, its production is severely hampered by various environmental stresses, particularly drought. Drought stress, characterized by limited water availability, disrupts numerous physiological and biochemical processes in plants, leading to reduced growth, development, and ultimately, yield. Understanding the complex mechanisms underlying drought tolerance in sugar beet is essential for developing resilient varieties. Traditional breeding approaches, while effective, can be time-consuming. In recent years, the advent of "omics" technologies, especially proteomics, has revolutionized our ability to investigate plant responses to stress at the molecular level. Proteomics, defined as the large-scale study of the entire protein complement of a cell, tissue, or organism, offers a powerful tool for dissecting the intricate molecular events associated with stress responses. Unlike the genome, which is relatively static, the proteome is highly dynamic, reflecting the real-time physiological state of the cell. By analyzing changes in protein abundance, post-translational modifications, and protein-protein interactions, proteomics can provide valuable insights into the mechanisms underlying stress tolerance. In the context of drought stress, proteomic studies have identified a wide range of proteins involved in various processes, including osmotic adjustment, antioxidant defense, protein folding and stabilization, and metabolic regulation. While previous studies have investigated the effects of drought stress on sugar beet at the physiological and biochemical levels, the proteomic response of this essential crop to water deficit has not been fully elucidated. This study aims to address this gap by employing a gel-based proteomic approach to identify and characterize proteins differentially expressed in the roots of a drought-tolerant sugar beet genotype under drought stress conditions. The identification of key proteins involved in drought tolerance will not only enhance our understanding of the molecular mechanisms underlying stress adaptation in

sugar beet but also provide potential targets for genetic engineering and marker-assisted selection to develop drought-resistant varieties.

### **Materials and methods**

The sugar beet genotype Full sib S1-10-8001, previously identified as drought-tolerant, was used in this study. This genotype was cultivated in PVC pipes (1 meter long, 20 cm diameter) filled with field soil under both well-watered (control) and drought stress conditions. The experiment consisted of seven replicates for the control group and eight replicates for the drought stress group. Drought stress was imposed by withholding irrigation after the plants reached the eight-leaf stage (approximately four weeks after planting). Specifically, the control group was irrigated every two days, while the drought stress group was irrigated only once every seven days. This cyclical drought treatment was continued for four months. At the end of the four-month stress treatment period, roots were carefully extracted from the PVC pipes, and various morphological parameters were assessed. Root length was measured, and root fresh weight was determined. For biochemical analysis, root tissue samples were collected, immediately frozen in liquid nitrogen, and stored at  $-80^{\circ}\text{C}$  until further use. Proline content in the root tissue was measured using a standard technique for quantifying proline accumulation in plant tissues. The data for morphological traits were analyzed using a t-test to compare the means of the control and drought stress treatments. Total proteins were extracted from the frozen root tissue samples using a standard protein extraction method. The extracted proteins were then subjected to 2-DE using a well-established method. Briefly, proteins were first separated based on their isoelectric point (pI) using immobilized pH gradient (IPG) strips in the first dimension (IEF). The IPG strips covered a pH range of 5-8. Following IEF, the IPG strips were equilibrated in a buffer containing SDS and then placed on polyacrylamide gels for separation in the second dimension based on molecular weight (SDS-PAGE). After the second-dimension electrophoresis, the gels were stained with Coomassie Brilliant Blue to visualize the protein spots. The stained gels were then scanned to capture digital images. The images were analyzed using image analysis software to quantify the intensity of each protein spot. The percentage volume of each spot was calculated and compared between the control and drought stress treatments using a t-test. Protein spots exhibiting statistically significant differences in expression levels between the control and drought stress treatments were selected for further identification. The molecular weight and pI of each selected spot were determined using software. These parameters were then used to search protein databases and published proteomic studies on sugar beet using software to identify the most probable protein for each spot. The induction factor (IF) was calculated to determine the fold change in protein abundance between the drought stress and control treatments.

### **Results**

The analysis of morphological data using a t-test revealed a significant decrease in both root length and root fresh weight under drought stress conditions ( $P < 0.05$ ). These results indicate that drought stress negatively impacts root growth and development in sugar beet. The reduction in root length can limit the plant's ability to access water and nutrients from deeper soil layers, while

the decrease in root fresh weight reflects a general decline in biomass accumulation. These findings are consistent with previous reports on the effects of drought stress on root morphology in sugar beet. In contrast to the decrease in root growth, proline content in the root tissue significantly increased ( $P < 0.05$ ) in response to drought stress. Proline is a well-known osmoprotectant that accumulates in plant cells under various stress conditions, including drought. Its accumulation helps to maintain cell turgor, stabilize proteins and membranes, and protect cellular structures from damage caused by water deficit. The observed increase in proline content in our study suggests that this amino acid plays an important role in the drought tolerance response of sugar beet. Similar increases in proline levels have been reported in other studies on sugar beet subjected to drought stress, further supporting its role as a key player in stress adaptation. 2-DE analysis of root proteins from control and drought-stressed sugar beet plants revealed significant changes in the root proteome in response to water deficit. A total of 59 reproducible protein spots were detected on the 2-DE gels, of which 15 showed significant changes in expression levels ( $P < 0.05$ ) under drought stress, based on the t-test and IF calculation. These differentially expressed protein spots represent potential candidates involved in the drought tolerance mechanisms of sugar beet. The 15 differentially expressed protein spots were categorized into four main functional groups based on their known or predicted functions: (1) proteins involved in stress adaptation and defense, (2) proteins involved in metabolic processes, (3) proteins involved in energy production pathways, and (4) proteins involved in oxidative stress response. The largest group (53%) consisted of proteins related to stress adaptation and defense, highlighting the importance of these proteins in mediating the plant's response to drought. Proteins involved in metabolism (20%), energy production (13%), and oxidative stress (13%) also constituted significant proportions of the identified proteome, suggesting that these processes are also crucial for drought tolerance in sugar beet. Several key proteins were identified as being differentially expressed under drought stress. These include: 1) This enzyme is involved in the biosynthesis of polyamines, which are known to play a role in stress tolerance by protecting cellular membranes and scavenging reactive oxygen species. The increased expression of arginine dehydrogenase under drought stress in our study suggests that polyamine biosynthesis is up-regulated in response to water deficit, potentially contributing to stress adaptation. 2) Transcription factors play a critical role in regulating gene expression in response to stress. MADS-box transcription factors are known to be involved in various developmental processes and stress responses in plants. The increased expression of a MADS-box transcription factor in our study suggests that it may be involved in regulating the expression of genes related to drought tolerance in sugar beet. 3) Chaperonins are molecular chaperones that assist in protein folding and prevent protein aggregation under stress conditions. CPN60 is a member of the chaperonin family that is often induced by stress. The increased expression of CPN60 in our study suggests that it may play a role in protecting proteins from damage caused by drought stress. 4) Serine/threonine kinases are involved in signal transduction pathways and play a role in regulating various cellular processes, including stress responses. The increased expression of a serine/threonine kinase in our study suggests that it may be involved in activating downstream signaling pathways that lead to drought tolerance.

## Conclusions

This study provides valuable insights into the proteomic changes occurring in sugar beet root under drought stress. The identified proteins play diverse roles in various cellular processes and are likely crucial for drought tolerance in this important crop. These findings provide a foundation for future studies aimed at elucidating the precise functions of these proteins and their potential use in developing drought-resistant sugar beet varieties. The identified proteins, particularly arginine dehydrogenase, MADS-box transcription factor, chaperonin CPN60, and serine/threonine kinase, represent promising candidates for genetic engineering or marker-assisted selection to improve drought tolerance in sugar beet. Further research focusing on the functional characterization of these proteins and their corresponding genes will be essential.

## Author Contributions

Conceptualization, Hamed Shams and Mahmoud Toorchi; methodology, Mahmoud toorchi; investigation, Hamed Shams; data curation, Hamed Shams; formal analysis, Hamed Shams; writing—original draft, Hamed Shams; writing—review & editing, Mahmoud Toorchi; supervision, Mahmoud Toorchi; project administration, Mahmoud Toorchi; funding acquisition, Mahmoud Toorchi. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

## Data Availability Statement

Proteomic data generated in this study are available from the corresponding author upon reasonable request.

## Acknowledgements

The authors thank the University of Tabriz laboratory staff for technical support.

## Ethical Considerations

No human or animal subjects were involved; all procedures complied with institutional biosafety guidelines.


## Funding

This research was funded by the Vice Chancellor for Research, University of Tabriz, Tabriz, Iran.


## Conflict of Interest

The authors declare no conflict of interest.


## تجزیه پروتئوم ریشه چغندر قند در پاسخ به تنش خشکی

حامد شمس 

گروه به نژادی و بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران. رایانامه: Biohamed313@gmail.com

محمود تورچی 

نویسنده مسئول: استاد گروه به نژادی و بیوتکنولوژی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران. رایانامه: mtoorchi@tabrizu.ac.ir

ستسو کو کوماتسو 

استاد، موسسه ملی علوم زراعی، تسوکویا، ژاپن. رایانامه: skomatsu@affrc.go.jp

تاریخ دریافت: ۱۴۰۵/۰۱/۰۵ تاریخ دریافت فایل اصلاح شده نهایی: ۱۴۰۵/۰۲/۲۹ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۲/۳۰

### چکیده

**هدف:** بررسی تأثیرات تنش خشکی و شناسایی پروتئین‌های مؤثر در تحمل به تنش کمبود آب در ریشه چغندر قند می‌باشد.  
**مواد و روش‌ها:** برای این منظور ژنوتیپ چغندر قند متحمل به خشکی Full sib S1-10- 8001 تحت شرایط عادی و تنش کمبود آب مورد ارزیابی قرار گرفت. بذور در لوله‌های پلیکا به طول یک متر با قطر ۲۰ سانتی‌متر کشت و چهار هفته پس از کاشت، تنش کمبود آب با قطع آبیاری به مدت هفت روز به صورت دوره‌ای اعمال گردید. در ادامه تجزیه پروتئوم بافت ریشه با استفاده از الکتروفورز دوبعدی در بعد اول به روش IEF و در بعد دوم به روش SDS-PAGE انجام و از طیف سنجی جرمی برای شناسایی لکه های پروتئینی معنی دار استفاده گردید.

**نتایج:** تجزیه آماری صفات طول اندام زمینی و طول غده اختلاف معنی‌داری بین شرایط تنش کمبود آب و عادی نشان داد و تنش کمبود آب منجر به کاهش پارامترهای فوق و نیز افزایش میزان پرولین ریشه گردید. نتایج حاصل از تفکیک پروتئین‌ها با استفاده از تکنیک الکتروفورز دوبعدی در بعد اول به روش IEF و در بعد دوم به روش SDS-PAGE بیانگر شناسایی ۵۹ لکه پروتئینی از ژل‌های پلی آکریل‌آمید با استفاده از نرم‌افزار PDQuest بود. از بین این لکه‌ها، ۱۵ لکه پروتئینی اختلاف معنی‌داری بین شرایط عادی و تنش کمبود آب نشان دادند به طوری که تعداد سه لکه کاهش و ۱۲ لکه پروتئینی افزایش بیان داشتند. نتایج نشان داد که

پروتئین‌های شناسایی‌شده در چهار گروه عملکردی سازگاری به تنش و مکانیسم‌های دفاعی، متابولیسم، تولید انرژی و تنش اکسایشی دخیل بودند.

**نتیجه‌گیری:** نقش بیولوژیکی پروتئین‌های شناسایی‌شده در این پژوهش نشان می‌دهد که ژنوتیپ چغندرقد مورد مطالعه احتمالاً از سازوکارهای مختلفی همچون کنترل گونه‌های فعال اکسیژن، افزایش تولید لیگنین، افزایش پاسخ دفاعی در برابر عوامل بیماری‌زا، افزایش تولید ترکیبات استری، حفاظت از سازوکارهای مختلف زیستی از جمله فتوسنتز، احیای نیترژن و سرهم‌بندی پروتئین‌ها و تجمع ترکیباتی نظیر گلیسرول در داخل سلول برای مقابله با اثرات منفی تنش استفاده می‌کند.

**واژه‌های کلیدی:** الکتروفورز دوبعدی، پروتئومیک، تنش خشکی، چغندرقد، ریشه

**نوع مقاله:** پژوهشی.

**استناد:** شمس حامد، تورچی محمود، کوماتسو ستسوکو (۱۴۰۵) تجزیه پروتئوم ریشه چغندرقد در پاسخ به تنش خشکی. مجله

بیوتکنولوژی کشاورزی ۱۸(۳)، ۷۶-۵۵

Publisher: Shahid Bahonar University of Kerman & Iranian

Biotechnology Society.



© the authors

### مقدمه

چغندرقد در حدود ۱۵۰۰ سال پیش از عربستان به چین معرفی شده است و یک گیاه دوطپه‌ای با ارزش اقتصادی بالا در بسیاری از کشورها است. این گیاه گونه‌ای از خانواده اسفناجیان و یکی از مهم‌ترین منابع شکر است، به طوری که حدود ۳۵ درصد از شکر جهان را تأمین می‌کند. در ایالات متحده از اواسط سال ۱۹۹۰، چغندرقد حدود ۵۵ درصد از مجموع تولیدات شکر داخل کشور را فراهم کرده است (Benoit et al., 2015). ملاس حاصل از چغندرقد علاوه بر کاربرد در صنایع غذایی به‌عنوان طعم‌دهنده و رنگ دهنده، در فرایندهای تخمیری مانند تولید مخمر نانوبی و برخی اسیدهای آلی نیز استفاده می‌شود. همچنین این ماده به‌عنوان منبع انرژی و بهبوددهنده خوش‌خوراکی در تغذیه دام به کار می‌رود (Salamon et al., 2024). تنش خشکی با محدود کردن جذب آب، سبب کاهش فعالیت‌های متابولیکی و اختلال در فتوسنتز می‌شود که پیامد آن کاهش رشد و عملکرد گیاه است. این وضعیت علاوه بر کاهش مستقیم زیست‌توده، حساسیت گیاه را نسبت به عوامل بیماری‌زا افزایش داده و نهایتاً موجب افت کیفیت و کمیت فرآورده‌های گیاهی می‌شود (Zhu, 2016). در کل واکنش گیاه به تنش خشکی پیچیده و تحت تأثیر مدت، شدت، زمان وقوع، فراوانی وقوع تنش و همچنین نوع گیاه و مرحله‌ی رشدی آن می‌باشد. بزرگ‌ترین عامل محدودکننده بازدهی در چغندرقد کمبود آب می‌باشد، با این وجود حساسیت چغندر نسبت به کمبود آب خیلی کم مورد مطالعه قرار گرفته است (Ober et al., 2004). تحمل در برابر تنش‌های غیر زیستی بسیار پیچیده است و بستگی به اثر متقابل عوامل تنش‌زا و فرایندهای مولکولی، بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی دارد که طی رشد و نمو گیاه رخ می‌دهند (Razmjoo et al., 2008). در سال‌های اخیر استفاده از علوم اومیک (Omics) باهدف شناخت بیشتر تنش‌های زیستی و غیر زیستی در گیاهان افزایش پیدا کرده است. روش‌های موجود مشتمل بر

پروتئومیک، ترنسکریپتومیک، ژنومیک و متابولومیک، ظرفیت‌های گوناگونی برای کشف و شناسایی ژن‌ها و پروتئین‌های مؤثر در تنش‌های زیستی و غیر زیستی می‌باشند (Zhang et al., 2016). مطالعات نشان داده است که تغییرات بیان ژن در سطح رونویسی، اغلب رابطه‌ای با تغییرات در سطح پروتئین ندارد. بنابراین مطالعه تغییرات پروتئین در گیاهان در پاسخ به تنش‌ها مهم و سودمند می‌باشد (Bogeat-Triboulot et al., 2007). گیاهان با القای انواع پروتئین‌های تنشی، موجود زنده را از آسیب سلولی محافظت می‌کند و به انواع تنش‌های محیطی پاسخ می‌دهند (Caruso et al., 2009). اصطلاح پروتئومیک اولین بار توسط ویکلینز و همکاران در دهه‌ی ۱۹۹۰ پیشنهاد شد. پروتئومیک عبارت است از مطالعه‌ی کل محتوای پروتئینی ژنوم می‌باشد. برخلاف ژنوم، پروتئوم دارای ماهیتی دینامیک است که در سلول‌های مختلف انواع مختلفی دارد (Jiang et al., 2008). پروتئومیک به‌عنوان روشی برای تجزیه‌وتحلیل پروتئین‌های یک موجود زنده، بافت یا سلول خاص تعریف می‌شود (van Wijk, 2001). پروتئومیک به سه قسمت پروتئومیک بیانی (بررسی تغییرات پروتئین‌های بیان شده در شرایط محیطی مختلف)، پروتئومیک نقشه سلول (بررسی اثر متقابل پروتئین‌ها با همدیگر) و پروتئومیک ساختاری (بررسی ساختار سه‌بعدی پروتئین‌ها) تقسیم می‌شود (Ng & Ilag, 2002). روش الکتروفورز دوبعدی (2-DE) روشی مناسب برای جدا کردن پروتئین‌های دارای ترکیبات پیچیده می‌باشد (Rabilloud et al., 2010) و با این روش می‌توان فرم‌های مشابه پروتئین‌ها را از هم تفکیک نمود (Carpentier et al., 2008). متمرکزسازی ایزو الکتريکی و سیستم ژل SDS به خاطر وضوح بالایی که دارد و از طرف دیگر توانایی آن در جدا کردن انواع مختلفی از پروتئین‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد. این تکنیک برای تجزیه‌وتحلیل کل پروتئین‌های موجودات مورد استفاده قرار می‌گیرد. از مزایای دیگر این تکنیک شناسایی تقریبی در وزن مولکولی و نقطه ایزو الکتريک پروتئین‌ها می‌باشد (May et al., 2012). در پژوهشی Zhu et al. (2009) با استفاده از الکتروفورز دوبعدی، پروتئوم لاین M14 (هیبرید بین گونه‌ای مابین دیپلوئید *Beta vulgaris* و تتراپلوئید *Beta corolliflora*) و *B. vulgaris* را مقایسه کردند. آن‌ها ۲۷ لکه پروتئینی را با استفاده از طیف‌سنجی جرمی MALDI-TOF<sup>۱</sup> شناسایی کردند. در میان این لکه‌ها تنها دو لکه‌ی پروتئینی در *B. vulgaris* و پنج لکه پروتئینی در M14 به صورت انحصاری وجود داشت. این پروتئین‌ها در انبوهی از مسیرهای زیستی درگیر بودند. در تحقیق دیگری با بررسی تأثیر تنش روی پروتئوم ریشه گیاهان، پروتئین‌های مرتبط با سوخت‌وساز نیتروژن/کربن یک روز بعد از اعمال تنش گزارش شده است. وجود این پروتئین‌ها بازتابی از افزایش تقاضای انرژی برای تقویت سلولی در بافت ریشه در شرایط تنش‌زا می‌باشد (Ghosh & Xu, 2014). در پژوهش دیگری Hajheidari et al. (2005) تغییرات پروتئوم چغندر قند در واکنش به تنش خشکی را مورد مطالعه قرار دادند که در آن بیش از حدود ۵۰۰ لکه پروتئینی به‌طور تکرارپذیری در ژل‌های رنگ‌آمیزی شده به روش نیترات نقره شناسایی شدند. با در نظر گرفتن هر دو ژنوتیپ متحمل (7219-P.69) و حساس (7112)، ۷۹ لکه پروتئینی مسئول در تنش وجود داشت که ۲۷ عدد از آن‌ها افزایش و ۴۴ عدد کاهش یافته بودند. تعداد هشت پروتئین تنها در شرایط تنش شناسایی گردید. به‌طور خلاصه تعداد و میزان پروتئین‌های کاهش یافته در ژنوتیپ ۷۲۱۹ بیشتر بود. تعداد ۲۰ عدد از پروتئین‌های مسئول در خشکی به روش LC-MS/MS<sup>۳</sup> مورد بررسی دقیق‌تر قرار گرفت. لکه‌های پروتئینی شناسایی شده از این طریق مشتمل بر دو پروتئین شوک حرارتی<sup>۴</sup> (مشاهده شده در شرایط کمبود آب)، هشت پروتئین افزایش بیان یافته و یک پروتئین کاهش یافت.

1. Two-dimensional electrophoresis

2. Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization

3. Liquid Chromatography-Mass Spectrometry

4. Heat Shock Protein

استفاده از توالی‌های آمینواسیدی منجر به شناسایی چهار پروتئین دیگر گردید که تنها گیاهان واقع در شرایط خشکی این پروتئین‌ها را دارا می‌باشند. هدف از این تحقیق بررسی تغییرات پروتئوم ریشه چغندرقد تحت تنش کمبود آب از طریق الکتروفورز دوبعدی به منظور شناسایی پروتئین‌های درگیر در تحمل تنش کمبود آب در چغندرقد می‌باشد. ژن‌های رمز گردان این پروتئین‌ها می‌توانند در تحقیقات آتی به عنوان کاندیداهایی برای تولید گیاهان تراریخته مدنظر قرار گیرند

## مواد و روش‌ها

**مواد گیاهی، روش کشت و اعمال تنش:** مواد گیاهی شامل ژنوتیپ Full-sib S1-10-8001 چغندرقد بود که بر اساس ارزیابی‌های فیزیولوژیکی انجام شده در مزرعه بصورت طرح کرت‌های خردشده مبتنی بر بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار، به‌عنوان ژنوتیپ متحمل به خشکی شناسایی شده است (Ghasemi et al., 2022). بذور این ژنوتیپ در لوله‌های پلیکا (PVC) به طول یک متر با قطر ۲۰ سانتیمتر و هفت تکرار در شرایط آبیاری عادی و هشت تکرار در شرایط تنش کمبود آب، کشت شدند. این لوله‌ها درون خاک مزرعه جاگذاری شده و با خاک معمول مزرعه پر شده و هم‌سطح خاک مزرعه بودند (شکل ۱). پس از رسیدن گیاهان به مرحله هشت برگی که حدود چهار هفته از زمان کاشت طول کشید، در تیمار شاهد، آبیاری به‌صورت دوره ای دو روز در میان و معادل حدود ۸۰-۸۵٪ ظرفیت زراعی انجام شد، در حالی که در تیمار تنش خشکی آبیاری دوره ای به هفت روز در میان که معادل ۴۵-۵۰٪ ظرفیت زراعی بود کاهش یافت. اعمال تنش به‌مدت چهار ماه و در طول مراحل رشد رویشی فعال و آغاز تشکیل ریشه غده‌ای ادامه یافت. پس از پایان دوره تنش، ریشه‌های چغندرقد از لوله‌های پلیکا خارج گردید و ظرف چندین مرحله با احتیاط با آب شست‌وشو داده شدند. ابتدا صفات طول و وزن تر ریشه اندازه‌گیری شد. در ادامه برای اندازه‌گیری مقدار پرولین ریشه و انجام الکتروفورز، نمونه‌برداری از بافت ریشه انجام و نمونه‌ها در داخل ازت مایع به آزمایشگاه انتقال داده شدند و در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان استخراج پروتئین نگهداری شدند. اندازه‌گیری مقدار پرولین در بافت ریشه چغندرقد به روش نین‌هیدرین<sup>۱</sup> انجام گرفت (Lee et al., 2018). تجزیه داده‌های مورفولوژیکی برای دو تیمار شاهد و تنش کمبود آب بر اساس آزمون t صورت گرفت.

**الکتروفورز ژل دوبعدی:** استخراج پروتئین ریشه به روش TCA انجام شد (Hajheidari et al., 2005). جداسازی پروتئین‌های استخراج شده با استفاده از تکنیک الکتروفورز دوبعدی انجام گرفت (May et al., 2012). بعد اول الکتروفورز بر اساس روش متمرکز سازی بر اساس نقطه ایزو الکتریک انجام شد. به‌منظور تهیه ژل‌های بعد اول، مواد اوره هشت مولار، پلی‌اکریل‌امید ۳/۵ درصد، NP-40 دو درصد، آمفولیت، آمونیوم پر سولفات و TEMED باهم ترکیب و سپس در داخل لوله‌های شیشه‌ای مخصوص ژل بعد اول با قطر سه میلی‌متر ریخته شد. اعمال جریان الکتریکی در بعد اول الکتروفورز به‌صورت سه مرحله‌ای (۲۰۰ ولت به مدت ۳۰ دقیقه، ۴۰۰ ولت به مدت ۱۶ ساعت و ۶۰۰ ولت به مدت یک ساعت) انجام گرفته. نهایتاً پروتئین‌ها بر اساس نقطه ایزو الکتریک در بازه‌ی pH ۵ الی ۸ از همدیگر تفکیک شدند. در ادامه بعد دوم الکتروفورز به روش SDS-PAGE در ژل‌های اکریل‌امید ۱۵ درصد انجام شد و پروتئین‌ها بر اساس وزن مولکولی از همدیگر جدا شدند. بعد از پایان الکتروفورز بعد دوم، به‌منظور قابل‌رؤیت شدن لکه‌های پروتئینی، فرآیند رنگ‌آمیزی با استفاده از محلول رنگی آبی کوماسی انجام

<sup>۱</sup>. Ninhydrin

شد. تصویربرداری از ژل‌ها توسط دستگاه اسکنر BioRad GS-800 انجام گردید. برای کمی سازی لکه‌های پروتئینی تصاویر تهیه‌شده از ژل‌ها با نرم‌افزار Quantity one به اعداد کمی تبدیل و سپس با استفاده از نرم‌افزار PDQuest مورد مقایسه قرار گرفت (Wheellock & Buckpitt, 2005). با مقایسه الگوی بیان لکه‌های پروتئینی، پروتئین‌های مؤثر در تحمل به تنش کمبود آب بر اساس آزمون t در سه تکرار در سطح احتمال ۵ درصد و فاکتور القا<sup>۱</sup> (IF) شناسایی گردید (Hajheidari et al., 2005):

$$IF = \frac{\text{درصد حجمی لکه پروتئینی‌های در حالت تنش}}{\text{درصد حجمی لکه پروتئینی‌های در حالت شاهد}}$$

به‌منظور شناسایی لکه‌های پروتئینی با تغییرات بیان معنی‌دار، ابتدا وزن مولکولی و نقطه ایزو الکتربیک هر یک از لکه‌ها با استفاده از نرم‌افزار PDQuest تعیین گردید. سپس شناسایی پروتئین‌های دارای تغییرات بیان به روش انگشت‌نگاری جرم پپتیدی MALDI-TOF در انستیتو تحقیقات علوم گیاهان زراعی ژاپن صورت گرفت.



شکل ۱. ارزیابی ژنوتیپ Full sib S1-10-8001 چغندر قند تحت شرایط آبیاری عادی و تنش کمبود آب  
Figure 1. Evaluation of the full sib genotype S1-10-8001 of sugar beet under normal irrigation conditions and water deficit stress

## نتایج و بحث

تجزیه داده‌های حاصل از اندازه‌گیری صفات مورفولوژیکی با استفاده از آماره t نشان داد که تنش خشکی منجر به کاهش معنی‌دار طول غده و اندام زمینی در سطح احتمال ۵ درصد گردید. اصلی‌ترین اندام برای جذب آب در گیاهان ریشه است و برای بهره‌وری گیاه به‌خصوص در شرایط تنش بسیار ضروری می‌باشد (Ober & Sharp, 2007). افزایش تقاضا برای آب در چغندر قند منجر به افزایش در طول ریشه به‌منظور استفاده از منابع آبی موجود در اعماق خاک می‌شود (Fitters et al., 2017). نتایج تحقیق دیگری که روی چغندر قند انجام گرفته نشان داد که ژنوتیپ مقاوم چغندر قند در شرایط اعمال تنش دارای ریشه با طول بیشتری نسبت به ژنوتیپ حساس بود (Wang et al., 2017). در این تحقیق، مقادیر پرولین اندازه‌گیری شده بین دو گروه تنش

<sup>1</sup>. Induction Factor

و شاهد در ریشه اختلاف معنی‌داری را نشان داد (جدول ۱). تنش کمبود آب باعث افزایش ۸۳ درصدی میزان پرولین گردید. در شرایط تنش اسمزی پرولین در سیتوزول سلولی انباشته می‌شود و منجر به تنظیم اسمزی سیتوپلاسم می‌گردد. نتایج تحقق انجام‌شده روی گیاه چغندر قند در معرض تنش کمبود آب نشان داد که مقادیر اسمولیت‌هایی نظیر پرولین و همچنین مقدار قندهای محلول به‌طور قابل توجهی افزایش پیدا کردند (Islam et al., 2020).

**جدول ۱. میانگین و نتایج آزمون t برای صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی مورد مطالعه در چغندر قند تحت تنش کمبود آب**

**Table 1. Mean and t-test results for studied morphological and physiological traits in sugar beet under water deficit stress**

Traits studied		صفات مورد مطالعه			
پرولین Proline μg/g (fw)	طول غده Tuber length (cm)	طول اندام زمینی Terrestrial limb length (cm)	وزن تر اندام زمینی Fresh weight of terrestrial organ (g)	وزن تر کل گیاه plant fresh weight (g)	
2308	19.28	119.66	227.08	365.88	میانگین در شرایط عادی Average under normal conditions
14209	16.28	78.42	142.28	239.97	میانگین در شرایط تنش Average under stress conditions
0.02*	0.03*	0.02*	0.17 <sup>ns</sup>	0.29 <sup>ns</sup>	سطح معنی‌داری Significance level

NS و \* به ترتیب غیر معنی‌داری و معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد را نشان می‌دهد

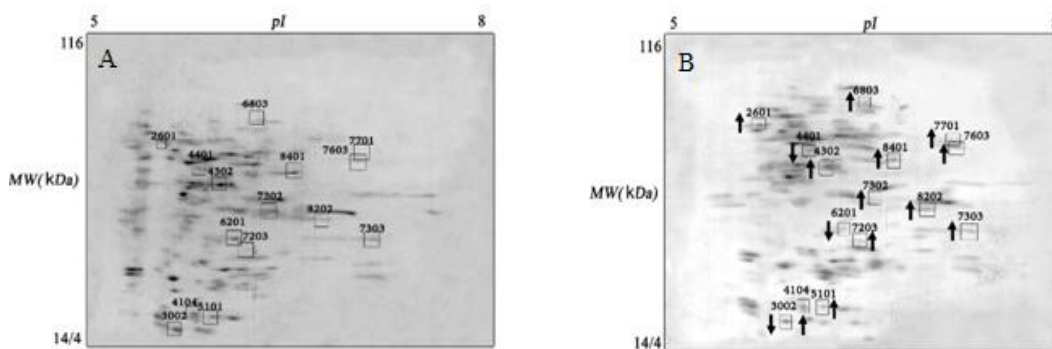
**تجزیه پروتئوم:** بررسی تغییرات پروتئوم در بافت ریشه چغندر قند منجر به شناسایی ۵۹ لکه پروتئینی تکرارپذیر گردید که با افزایش یا کاهش بیان معنی‌دار بر اساس آماره t همراه بودند. در نهایت با استفاده از فاکتور القایی از میان لکه‌های شناسایی شده با اختلاف آماری معنی‌دار، تعداد سه لکه با فاکتور القای در حدود ۰/۵ و کمتر از آن به‌عنوان لکه‌های مربوط به پروتئین‌های کاهش بیان یافته و تعداد ۱۲ عدد از لکه‌ها با فاکتور القایی بزرگ‌تر از ۲/۵ نیز به‌عنوان لکه‌های مربوط به پروتئین‌های افزایش بیان یافته، مشخص گردید (جدول ۲). موقعیت قرارگیری لکه‌های پروتئینی و وضعیت افزایش یا کاهش بیان هر یک از آن‌ها در شکل ۲ نشان داده شده است.

**نقش پروتئین‌های شناسایی شده:** پروتئین‌های شناسایی شده در چهار گروه مختلف طبقه‌بندی شدند که شامل پروتئین‌های مؤثر در تنش و دفاعی، متابولیسم، مسیر تولید انرژی و تنش اکسایشی می‌باشند. ۵۳ درصد از پروتئین‌ها در سازگاری به تنش و واکنش‌های دفاعی، ۲۰ درصد در متابولیسم، ۱۳ درصد در تولید انرژی و ۱۳ درصد در تنش اکسایشی مؤثر هستند. نمودار مربوط به عملکرد پروتئین‌های شناسایی شده نیز در شکل ۳ نشان داده شده است.

جدول ۲. مشخصات پروتئین‌های شناسایی شده دارای تغییرات بیان در شرایط تنش کمبود آب چغندر قند

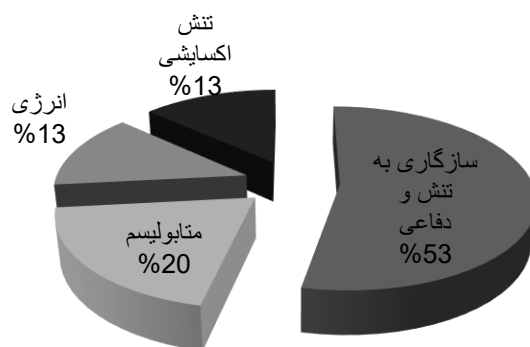
Table 2. Characteristics of identified proteins with expression changes under water deficit stress conditions in sugar beet

ردیف Row	شماره لکه Spot number	نام پروتئین Protein name	شماره دسترسی Access number	Mw (kDa)/pI		عامل القا inductio n factor	عملکرد Function
				تئوری theoretically	آزمایشگاهی experimen tally		
1	4401	Kinesin light chain-related	Q9LII8	63.55/6.5	60.08/6.3	0.42	سازگاری به تنش Stress tolerance
2	6803	Elongation Factor 2	Q9ASR1	95.1/5.89	90.82/6.8	2.61	سازگاری به تنش Stress tolerance
3	8401	Arogenate Dehydratase 5	Q9FNJ8	46.31/6.6	58.04/7.0	3.19	سازگاری به تنش Stress tolerance
4	7302	GDSL Esterase/Lipase	NP_564647.1	43.2/6.99	42.75/6.9	4.43	سازگاری به تنش Stress tolerance
5	5101	Putative MADS-domain transcription Factor	Q948U7	21.37/6.6	19.07/6.5	4.85	سازگاری به تنش Stress tolerance
6	7303	Endo-1,3-beta-glucanase	Q9UT45	34.36/7.78	34.98/7.6	6.42	سازگاری به تنش Stress tolerance
7	7603	Chaperonin CPN60-1	P29185	67.55/6.95	65.86/7.5	7.00	سازگاری به تنش Stress tolerance
8	7701	Protein Serin/Threonin Kinase	Q3C1Y5	51.88/8.03	69.04/7.5	9.92	سازگاری به تنش Stress tolerance
9	4302	GUT1; catalytic	18424516	47.69/6.8	52.57/6.5	2.61	متابولیسم Metabolism
10	2601	Methionine Synthase	Q71EW8	84.4/5.93	76.86/5.9	5.15	متابولیسم Metabolism
11	4104	Ubiquitinconjugating enzyme	NP_564011.1	17.3/6.74	19.48/6.3	7.62	متابولیسم Metabolism
12	3002	Thioredoxin	P22217	17/4/6.1	17.48/6.2	0.43	تنش stress
13	7203	Alternative Oxidase	Q39219	33.1/6.3	31.60/6.8	7.34	تنش اکسیداتیو Oxidative stress
14	6201	Malate Dehydrogenase	Q8GZN3	35.6/6.1	34.03/6.7	0.58	تولید انرژی سلول Cellular energy production
15	8202	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	D8L1X5	38.0/7.70	40.32/7.3	5.57	تولید انرژی سلول Cellular energy production



شکل ۲. مقایسه الگوی الکتروفورز دوبعدی چغندر قند در شرایط شاهد (A) با تنش خشکی (B)

Figure 2. Comparison of two-dimensional electrophoresis pattern of sugar beet in control condition (A) with drought stress (B)



شکل ۳. نمایش تصویری نوع و درصد پروتئین‌های دارای تغییرات بیان در شرایط تنش کمبود آب چغندر قند بر اساس عملکرد

Figure 3. Visual display of the type and percentage of proteins with changes in expression under sugar beet water shortage stress conditions based on yield

**پروتئین‌های درگیر در سازگاری به تنش و دفاعی:** لکه شماره ۴۴۰۱ مربوط به پروتئین کاینزین می‌باشد. میزان بیان این پروتئین در شرایط تنش کمبود آب کمتر از شرایط عادی بود. کاینزین‌ها پروتئین‌های حرکتی سیتوسکلتی مبتنی بر میکروتوبول هستند. این پروتئین‌ها در اندام‌زایی آرایه‌های مختلف اسکلت سلولی در طول تقسیم و رشد سلولی در بافت گیاه نقش دارند. همچنین این پروتئین در پاسخ‌های زیستی گیاه به تنش‌ها و حمله عوامل بیماری‌زا نیز تاثیرگذار است (Lee & Liu, 2004). شواهد نشان می‌دهد که کاهش در میزان آب منجر به واکنش‌های فیزیولوژیکی و سوخت‌وسازی مختلفی می‌شود که از جمله آن‌ها می‌توان به کاهش در تقسیم سلولی اشاره کرد (Skiryecz et al., 2011). کاهش در بیان این پروتئین با توجه به کارکرد آن در تقسیم و رشد سلولی و همچنین در فرایندهای تولیدمثلی، می‌تواند در نتیجه کاهش رشد به وجود آمده در نتیجه تنش خشکی باشد. لکه شماره ۶۸۰۳ مربوط به پروتئین فاکتور طویل سازی می‌باشد. نتایج بررسی‌ها نشان داد که میزان بیان این پروتئین در شرایط تنش کمبود آب نسبت به شرایط عادی افزایش پیدا کرده است. مرحله‌ی طویل سازی زنجیره پلی پپتیدی در

طول فرآیند ترجمه مابین پروکاریوت‌ها و یوکاریوت‌ها حفظ شده است. آنزیم فاکتور طولیل کننده، جز قطعی تنظیم کننده ساخت پروتئین است که تحت تأثیر دمای بالا و تنش خشکی قرار می‌گیرد (Rizhsky et al., 2004). این پروتئین در گیاه کلزا تحت تنش خشکی، افزایش بیان پیدا می‌کند که این افزایش بیان منجر به افزایش سایر پروتئین‌ها می‌شود و در کاهش اثرات ناشی از تنش خشکی مؤثر است. همچنین نتایج حاصل از این تحقیق نشان می‌دهد که میزان این آنزیم در لاین حساس به خشکی کاهش و در لاین مقاوم افزایش بیان پیدا می‌کند (Mohammadi et al., 2012). لکه شماره ۸۴۰۱ مربوط به پروتئین آروژنات‌دهیدروژناز می‌باشد. مقدار بیان این پروتئین در شرایط تنش نسبت به شرایط عادی افزایش پیدا کرده است. نقش این آنزیم در تبدیل پروفانات<sup>۷</sup> تولید شده از مسیر شیکمات\_کوريسمات به فینیل آلانین می‌باشد. آنزیم آرژنین‌دهیدروژناز در واقع وظیفه‌ی انجام فرآیند دکربوکسیلاسیون‌دهیدراته آرژنین برای تولید فینیل آلانین را دارد (Cho et al., 2007). افزایش در بیان این پروتئین می‌تواند در نتیجه تلاش گیاه برای کنترل گونه‌های فعال اکسیژن ایجاد شده در شرایط تنش و همچنین افزایش پاسخ دفاعی در برابر عوامل بیماری‌زا باشد. لکه شماره ۷۳۰۲ مربوط به پروتئین GDSL استراز/لیپاز می‌باشد. نتایج کمی سازی لکه‌های پروتئینی نشان می‌دهد که مقدار بیان این پروتئین در شرایط تنش کمبود آب نسبت به شرایط عادی افزایش پیدا کرده است. این آنزیم‌ها پتانسیل لازم برای مورداستفاده قرار گرفتن در هیدرولیز و سنتز ترکیبات استری مهم با خواص داروئی، غذایی، بیوشیمیایی و زیستی را دارند (Akoh et al., 2004). تحقیقات نشان می‌دهد که این آنزیم به‌طور عمده در ریشه بیان می‌شود (Nagano et al., 2008). آنزیم استراز/لیپاز GDSL، به‌عنوان یک آنزیم کلیدی برای بسیاری از مسیرهای زیستی گیاهان و همچنین پاسخ به انواع مختلفی از تنش‌ها شناخته شده است (Zhao et al., 2020). تحقیق انجام شده بر روی گیاه آرابیدوپسیس نشان می‌دهد که در شرایط کمبود آب مقدار برخی از استرها همانند استرهای مومی افزایش پیدا می‌کند (Patwari et al., 2019). افزایش بیان این پروتئین می‌تواند در نتیجه افزایش در تولید ترکیبات استری و یا به‌منظور ایجاد مقاومت در برابر عوامل بیماری‌زا صورت گرفته باشد. لکه شماره ۵۱۰۱ مربوط به فاکتور رونویسی می‌باشد. میزان بیان این پروتئین در شرایط تنش کمبود آب بیشتر از مقدار بیان آن در حالت عادی بود. این آنزیم دارای کارکردهای مختلفی است. از جمله نقش‌های آن می‌توان به نقش دفاعی آن اشاره کرد (Toorchi et al., 2009). این پروتئین به‌عنوان عامل پاسخ‌دهنده به تنش شوری در گیاه *Thellungiella halophila* شناسایی شده است (Fang et al., 2006). همچنین در گیاه برنج دیده شده است که انواع مختلفی از ژن‌های جعبه MADS در طول مراحل رشد بذر و همچنین شرایط تنش افزایش بیان پیدا کرده‌اند (Arora et al., 2007). افزایش در بیان این پروتئین می‌تواند به دلیل پاسخ گیاه به تنش اسمزی حاصل از کم‌آبی و همچنین افزایش قدرت دفاعی صورت گرفته باشد. لکه شماره ۷۳۰۳ مربوط به پروتئین ۳و۱ بتا گلوکاناز می‌باشد. نتایج این آزمایش نشان‌دهنده افزایش در میزان بیان این پروتئین در شرایط تنش نسبت به شرایط عادی می‌باشد. این آنزیم با هیدرولیز گلوکان‌های ساختاری دیواره سلولی قارچ‌ها، نقش مهمی در دفاع گیاهان در برابر پاتوژن‌های قارچی ایفا می‌کند. مطالعات نشان داده‌اند که بیان هم‌زمان این آنزیم و آنزیم کایتیناز، می‌تواند مقاومت گندم به پاتوژن قارچی را به‌طور قابل توجهی افزایش دهد (Mohammadzadeh-Heydari et al., 2024). لکه شماره ۷۶۰۳ مربوط به پروتئین دسته چپرونین می‌باشد. بر اساس نتایج به‌دست آمده، مقدار بیان این پروتئین در شرایط تنش بیشتر از شرایط عادی بود. این پروتئین جز دسته‌ی پروتئین‌های شوک حرارتی بوده و موجب حفظ پایداری فولیدنگ پروتئین‌ها تحت تنش گرمایی

7. Profanate

می‌شود. این پروتئین معمولاً در گونه‌های داری مقاومت به تنش خشکی دیده می‌شود (Xu & Huang, 2010). وقتی که گیاه در شرایط تنش خشکی ناشی از نور آفتاب قرار می‌گیرد، این پروتئین به‌منظور جلوگیری از تغییر ساختار سایر پروتئین‌ها و همچنین به‌منظور حفظ ساختار سلولی بیان می‌شود (Paul et al., 2015). نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که بیان بیش‌ازحد پروتئین CPN60 به‌طور معنی‌داری منجر به در امان بودن رشد، سیستم فتوسنتزی و احیای نیتروژن در برابر تنش گرمایی می‌شود (Rajaram & Apte, 2008). افزایش بیان این پروتئین می‌تواند به‌منظور حفاظت از سازوکارهای مختلف زیستی گیاه از جمله فتوسنتز، احیای نیتروژن و سرهم‌بندی پروتئین‌ها، از تأثیرات مخرب شرایط گرمایی حاصل از تنش اتفاق افتاده باشد. لکه شماره ۷۷۰۱ مربوط به پروتئین سرین/ترئونین‌کیناز می‌باشد. نتایج آزمایش نشان داد که میزان بیان این پروتئین در شرایط تنش بیشتر از شرایط عادی می‌باشد. پروتئین‌های سرین/ترئونین‌کیناز در فسفریلاسیون دارای نقش می‌باشند (Damuni & Reed, 1988). انجام فرآیند فسفریلاسیون برای فعال‌سازی پاسخ‌های گیاه در برابر تنش دارای اهمیت می‌باشد (Jiang et al., 2003). افزایش در بیان این پروتئین نیز می‌تواند باهدف فعال‌سازی پاسخ‌های طبیعی گیاه به شرایط تنش اتفاق افتاده باشد.

#### پروتئین‌های درگیر در مسیرهای متابولیسمی: لکه شماره ۲۶۰۱ مربوط به پروتئین متیونین سنتاز می‌باشد. بیان این

پروتئین در شرایط تنش کمبود آب نسبت به شرایط عادی افزایش پیدا کرده بود. کارکرد اصلی آنزیم متیونین سنتاز در باز فرآوری متیونین در چرخه‌ی متیونین اس-آدنوزینی است. با توجه به اهمیت زیستی اس-آدنوزین متیونین<sup>۸</sup> به‌عنوان منبع تأمین‌کننده گروه فعال متیلی، این چرخه و در نتیجه آنزیم متیونین سنتاز دارای اهمیت بالایی می‌باشد (Hesse & Hoefgen, 2003). نقش پلی آمین‌ها در سازگاری به تنش غیر زیستی نیز قبلاً مشخص شده است (Jang et al., 2012). در آزمایش انجام‌گرفته بر روی ریشه گیاه سویا، اعمال تنش خشکی منجر به افزایش در میزان بیان پروتئین متیونین سنتاز شد (Mohammadi et al., 2012). افزایش بیان این آنزیم می‌تواند در نتیجه افزایش تلاش گیاه برای ایجاد مقاومت به تنش خشکی انجام‌گرفته باشد. لکه شماره ۴۱۰۴ مربوط به آنزیم یوبی کوئین-کنجوگینگ می‌باشد. نتایج کمی‌سازی لکه‌های پروتئینی نشان داد که مقدار بیان این پروتئین در شرایط تنش بیشتر از شرایط عادی می‌باشد. فرآیند یوبی کوئینیشن در تنظیم عملکردهای مختلفی در سلول دارای نقش می‌باشند که از جمله آن‌ها می‌توان به نقش دفاعی در برابر تنش‌های زیستی و غیر زیستی اشاره کرد (Vierstra, 2003). در شرایط تنش نیاز به حضور پروتئین‌های پروتئولایتیکی است تا آمینواسیدها برای تولید ترکیبات پروتئینی غیر ضروری استفاده نشوند بلکه صرف تولید پروتئین‌هایی شوند که در شرایط تنش مورد نیاز ضروری است. افزایش بیان این پروتئین نیز که از اجزای مجموعه یوبی کوئینیتی می‌باشد، می‌تواند به همین منظور اتفاق افتاده باشد. لکه شماره ۴۳۰۲ مربوط به پروتئین GUT1 می‌باشد. مقدار بیان این پروتئین در شرایط تنش کمبود آب بیشتر از شرایط عادی بود. این آنزیم در تولید گلیسرول دارای نقش می‌باشد (Grauslund et al., 1999). مطالعات روی گونه‌های *Chlamydomonas* نشان داده‌اند که تولید گلیسرول تحت شرایط تنش شوری و اسیدی افزایش یافته و به بقای سلول‌ها در محیط‌های تنش‌زا کمک می‌کند (Raymond et al., 2020).

#### پروتئین‌های درگیر در مسیرهای تولید انرژی: لکه شماره ۶۲۰۱ مربوط به آنزیم مالات دهیدروژناز می‌باشد.

مالات-دهیدروژناز میتوکندریایی (mMDH) یکی از آنزیم‌های کلیدی چرخه کربس است که اکسیداسیون مالات به اکزالواستات را در ماتریکس میتوکندری کاتالیز می‌کند (Lindén et al., 2016). در تحقیقی که بر روی قارچ گوش ژله‌ای انجام شده است

8. S-Adenosyl methionine

نتایج نشان‌دهنده کاهش در بیان این پروتئین در شرایط تنش کم‌آبی می‌باشد (Ma et al., 2015). بررسی‌ها نشان می‌دهد که در شرایط تنش خشکی میزان اکسیژن دریافتی کاهش پیدا می‌کند (Qiao et al., 2024). از جمله عواقب این پدیده کاهش در مسیر چرخه کربس و در نتیجه آن کاهش در پروتئین‌های درگیر در این چرخه از جمله آنزیم مالات دهیدروژناز می‌تواند باشد. لکه شماره ۸۲۰۲ مربوط به آنزیم گلیسرآلدئید-۳-فسفودئیدروژناز می‌باشد. مقدار بیان این پروتئین نسبت در شرایط تنش نسبت به شرایط عادی افزایش پیدا کرده است. این آنزیم مرحله شش از فرآیند گلیکولیز را سنتز می‌کند و بنابراین در کاهش و شکستن گلوکز به انرژی و مولکول‌های کربن دارای نقش می‌باشد (Tarze et al., 2007). نتایج حاصل از آزمایش انجام‌شده بر روی گیاه پنبه نشان می‌دهد که این پروتئین در شرایط تنش افزایش پیدا می‌کند (Geng et al., 2023). تنش خشکی در نهایت منجر به کاهش میزان جذب اکسیژن می‌گردد (Qiao et al., 2024). در چنین شرایطی مسیر گلیکولیز به یک سازوکار پایدار به‌منظور تأمین ATP موردنیاز برای انجام فعالیت‌های زیستی سلول تبدیل می‌گردد (Khanna et al., 2014). بنابراین در شرایط تنش خشکی افزایش در بیان پروتئین‌های درگیر در مسیر گلیکولیز همانند آنزیم گلیسرول آلدئید-۳-فسفو دهیدروژناز می‌تواند برای بهبود شرایط حاصل از تنش کمک‌کننده باشد.

**پروتئین‌های درگیر در تنش اکسایشی:** لکه شماره ۳۰۰۲ مربوط به پروتئین تیوردوکسین می‌باشد. شواهد به‌دست‌آمده از این آزمایش نشان داد که مقدار بیان این پروتئین در شرایط تنش کمبود آب نسبت شرایط عادی کاهش پیدا کرده است. آنزیم تیوردوکسین در بسیاری از عملکردهای حیاتی گیاهان دارای نقش می‌باشد که از جمله آن‌ها می‌توان به فتوسنتز، رشد، گل‌دهی و جوانه‌زنی دانه اشاره کرد (Meng et al., 2010). از جمله تأثیراتی که تنش خشکی بر روی گیاهان می‌گذارد کاهش در میزان رشد گیاه است (Khamis et al., 2025). کاهش در بیان این پروتئین با توجه به درگیر بودن آن در فرآیند رشدی، می‌تواند علت کاهش رشد گیاه در شرایط تنش باشد. لکه شماره ۷۲۰۳ مرتبط با پروتئین آلترناتیواکسیداز می‌باشد. مقدار بیان این پروتئین در شرایط تنش کمبود آب نسبت به شرایط عادی افزایش پیدا کرده است. آنزیم آلترناتیواکسیداز دارای نقش‌های بسیاری است که از جمله آن‌ها می‌توان به جذب حشرات گرده‌افشان از طریق تولید گرما و همچنین ایجاد مقاومت در برابر عوامل تنش‌زا اشاره کرد (Saha et al., 2016). تحقیقات نشان می‌دهد که طیف گسترده‌ای از انواع مختلف تنش‌های محیطی در افزایش بیان پروتئین AOX دارای نقش می‌باشد (Vanlerberghe, 2013). به طوری که بین مقادیر اکسیژن‌های فعال تولیدشده در نتیجه تنش و AOX موجود در سلول ارتباط وجود دارد و به عبارتی ROS منجر به القای پروتئین AOX می‌شود (Qiao et al., 2023). همچنین بر اساس تحقیقات انجام‌شده افزایش در بیان پروتئین AOX در نهایت منجر به اتفاقاتی می‌شود که نتیجه نهایی آن مرگ برنامه‌ریزی‌شده سلول می‌باشد (Ordog et al., 2002). افزایش بیان این پروتئین می‌تواند به‌منظور استفاده از سازوکار مرگ برنامه‌ریزی‌شده و باهدف مقابله با عوامل بیماری‌زا صورت گرفته باشد. افزایش در بیان این پروتئین می‌تواند در نتیجه افزایش گونه‌های فعال اکسیژنی به وجود آمده از تنش نیز اتفاق افتاده باشد. مطالعات پروتئومیک پیشین در چغندر قند تحت تنش خشکی نشان داده‌اند که پاسخ پروتئینی گیاه شامل تغییر بیان پروتئین‌های رویسکو، چاپرون‌ها، پروتئین‌های مرتبط با تنش اکسیداتیو و فاکتورهای رونویسی می‌باشد، به طوری که در برگ، سلول‌ها و ارقام با تحمل متفاوت به خشکی، تعداد زیادی پروتئین پاسخ‌دهنده شناسایی شده است (Pavoković et al., 2023; Wang et al., 2017). در مطالعه حاضر، تمرکز بر بافت ریشه ژنوتیپ Full-sib S1-10-8001 است که متحمل به خشکی گزارش شده بود. این رویکرد امکان شناسایی پروتئین‌های کلیدی مرتبط با تحمل خشکی در مرحله عملکردی غده‌ها را فراهم نمود. علاوه بر این، استفاده از فاکتور القایی (IF) برای کاهش تعداد

پروتئین‌های دارای تغییرات بیان مفید واقع شد. به این ترتیب، مطالعه حاضر مکمل یافته‌های قبلی و پروتئین‌های شاخصی را معرفی نمود که می‌توانند هدف تحقیقات آینده در بهبود تحمل چغندر قند به تنش خشکی باشند.

**نتیجه‌گیری:** نتایج حاصل از الکتروفورز دوبعدی به همراه شناسایی لکه‌های پروتئینی معنی‌دار به روش طیف سنجی جرمی نشان داد که این پروتئین‌ها در سازوکارهای مختلفی از جمله سازگاری به تنش و دفاعی، تنش اکسیداتیو، متابولیسم و تولید انرژی سلولی ایفای نقش می‌کنند. به طوری که از بین پروتئین‌های دارای تغییرات بیان معنی‌دار شناسایی شده ۵۳ درصد در سازگاری به تنش و دفاعی، ۲۰ درصد در فرآیندهای متابولیسمی، ۱۳ درصد در تولید انرژی و ۱۳ درصد در تنش اکسایشی درگیر بودند. پروتئین‌های آرژنین دهیدروژناز، دمین MADS فاکتور رونویسی، چپرونین CPN60 و آنزیم سرین/ترئونین کیناز به‌عنوان مهم‌ترین پروتئین‌های این پروژه معرفی می‌شود تا پس از تأیید، به‌عنوان پروتئین‌های کاندیدا برای کارهای آتی مهندسی متابولیک و مهندسی ژنتیک مورد بهره‌برداری قرار گیرد. ژن‌های رمز گردان این پروتئین‌ها می‌توانند در تحقیقات آتی به‌عنوان کاندیداهایی برای تولید گیاهان تراریخته مدنظر قرار گیرند. اگرچه نتایج این پژوهش نشان‌دهنده شناسایی مجموعه‌ای از پروتئین‌های درگیر در پاسخ به تنش خشکی است، باید توجه داشت که به دلیل حساسیت نسبتاً پایین رنگ‌آمیزی با آبی کوماسی ممکن است برخی از پروتئین‌های با فراوانی کم در این پژوهش شناسایی نشده باشند. ولی قدرت تشخیص LC-MS/MS در ارائه نسبت‌های جرم به بار قطعات پپتیدی حاصل از هضم آنزیمی و نرم افزار Mascot استفاده شده برای شناسایی پروتئین‌ها بر اساس نسبت‌های جرمی تأیید محکمی بر استفاده از این پروتئین‌های برای تحقیقات آتی تکمیلی است.

**سپاسگزاری:** از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه تبریز/ به خاطر حمایت مالی، معنوی و همکاری در اجرای پژوهش حاضر

سپاسگزاری می‌شود. همچنین از داوران محترم به خاطر ارائه نظرهای ساختاری و علمی سپاسگزاری می‌شود.

## References

- Akoh, C. C., Lee, G.-C., Liaw, Y.-C., Huang, T.-H., & Shaw, J.-F. (2004). GDGL family of serine esterases/lipases. *Progress in Lipid Research*, 43(6), 534-552. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2004.09.002>
- Arora, R., Agarwal, P., Ray, S., Singh, A. K., Singh, V. P., Tyagi, A. K., & Kapoor, S. (2007). MADS-box gene family in rice: genome-wide identification, organization and expression profiling during reproductive development and stress. *BMC Genomics*, 8(1), 1-21. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-8-242>
- Benoit, I., Zhou, M., Duarte, A. V., Downes, D. J., Todd, R. B., Kloezen, W.,...De Vries, R. P. (2015). Spatial differentiation of gene expression in *Aspergillus niger* colony grown for sugar beet pulp utilization. *Scientific Reports*, 5(1), 1-13. <https://doi.org/10.1038/srep13592>
- Bogeat-Triboulot, M.-B., Brosché, M., Renaut, J., Jouve, L., Le Thiec, D., Fayyaz, P.,...Teichmann, T. (2007). Gradual soil water depletion results in reversible changes of gene expression, protein profiles, ecophysiology, and growth performance in *Populus euphratica*, a poplar growing in arid regions. *Plant Physiology*, 143(2), 876-892. <https://doi.org/10.1104/pp.106.088708>
- Carpentier, S. C., Coemans, B., Podevin, N., Laukens, K., Witters, E., Matsumura, H.,...Panis, B. (2008). Functional genomics in a non-model crop: transcriptomics or proteomics?

- Physiologia Plantarum*, 133(2), 117-130. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2008.01069.x>
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2009.08.007>
- Cho, M.-H., Corea, O. R., Yang, H., Bedgar, D. L., Laskar, D. D., Anterola, A. M.,...Bernards, M. A. (2007). Phenylalanine biosynthesis in *Arabidopsis thaliana*: identification and characterization of arogenate dehydratases. *Journal of Biological Chemistry*, 282(42), 30827-30835. <https://doi.org/10.1074/jbc.M702662200>
- Damuni, Z., & Reed, L. J. (1988). Purification and properties of a protamine kinase and a type II casein kinase from bovine kidney mitochondria. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 262(2), 574-584. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(88\)90408-0](https://doi.org/10.1016/0003-9861(88)90408-0)
- Fang, Q., Xu, Z., & Song, R. (2006). Cloning, characterization and genetic engineering of FLC homolog in *Thellungiella halophila*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 347(3), 707-714. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2006.06.165>
- Fitters, T. F., Bussell, J. S., Mooney, S. J., & Sparkes, D. L. (2017). Assessing water uptake in sugar beet (*Beta vulgaris*) under different watering regimes. *Environmental and Experimental Botany*, 144, 61-67. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2017.10.001>
- Geng, S., Li, S., Zhao, J., Gao, W., Chen, Q., Zheng, K.,...Liu, P. (2023). Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase Gh\_GAPDH9 is associated with drought resistance in *Gossypium hirsutum*. *PeerJ*, 11, e16445. <https://doi.org/10.1016/10.7717/peerj.16445>
- Ghasemi, M., Toorchi, M., Aharizad, S., & Khorshid, A. (2022). Evaluation of physiological indices of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) genotypes under water deficit stress. *Iranian Journal of Field Crop Science*, 53(3), 77-91. <https://doi.org/10.22059/ijfcs.2021.326319.654838>
- Ghosh, D., & Xu, J. (2014). Abiotic stress responses in plant roots: a proteomics perspective. *Frontiers in Plant Science*, 5, 6. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00006>
- Grauslund, M., Lopes, J. M., & Rønnow, B. (1999). Expression of GUT1, which encodes glycerol kinase in *Saccharomyces cerevisiae*, is controlled by the positive regulators Adr1p, Ino2p and Ino4p and the negative regulator Opi1p in a carbon source-dependent fashion. *Nucleic acids Research*, 27(22), 4391-4398. <https://doi.org/10.1093/nar/27.22.4391>
- Hajheidari, M., Abdollahian-Noghabi, M., Askari, H., Heidari, M., Sadeghian, S. Y., Ober, E. S., & Hosseini Salekdeh, G. (2005). Proteome analysis of sugar beet leaves under drought stress. *Proteomics*, 5(4), 950-960. <https://doi.org/10.1002/pmic.200401101>
- Hesse, H., & Hoefgen, R. (2003). Molecular aspects of methionine biosynthesis. *Trends in Plant Science*, 8(6), 259-262. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(03\)00107-9](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(03)00107-9)
- Islam, M., Kim, J. W., Begum, M., Sohel, M., Taher, A., & Lim, Y.-S. (2020). Physiological and Biochemical Changes in Sugar Beet Seedlings to Confer Stress Adaptability under Drought Condition. *Plants*, 9(11), 1511. <https://doi.org/10.3390/plants9111511>

- Jang, S. J., Wi, S. J., Choi, Y. J., An, G., & Park, K. Y. (2012). Increased polyamine biosynthesis enhances stress tolerance by preventing the accumulation of reactive oxygen species: T-DNA mutational analysis of *Oryza sativa* lysine decarboxylase-like protein 1. *Molecules and Cells*, 34(3), 251-262. <https://doi.org/10.1007/s10059-012-0067-5>
- Jiang, H.-Y., Wek, S. A., McGrath, B. C., Scheuner, D., Kaufman, R. J., Cavener, D. R., & Wek, R. C. (2003). Phosphorylation of the  $\alpha$  subunit of eukaryotic initiation factor 2 is required for activation of NF- $\kappa$ B in response to diverse cellular stresses. *Molecular and Cellular Biology*, 23(16), 5651-5663. <https://doi.org/10.1128/MCB.23.16.5651-5663.2003>
- Jiang, Q., Chen, H., Pan, X., Pan, Q., Shi, Y., Li, X.,...Shen, S. (2008). Proteomic analysis of wheat (*Triticum aestivum* L.) hybrid necrosis. *Plant Science*, 175(3), 394-401. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2008.05.017>
- Khamis, G., Alsherif, E. A., Korany, S. M., Aldailami, D. A., Aloufi, A. S., Khalaf, M. H.,...Selim, S. (2025). Drought stress differentially influences growth, physiology, and metabolite accumulation in *Triticum aestivum* (C3) and *Amaranthus caudatus* (C4) plants. *BMC Plant Biology*, 25(1), 1199. <https://doi.org/10.1186/s12870-025-07022-7>
- Khanna, S. M., Taxak, P. C., Jain, P. K., Saini, R., & Srinivasan, R. (2014). Glycolytic enzyme activities and gene expression in *Cicer arietinum* exposed to water-deficit stress. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 173(8), 2241-2253. <https://doi.org/10.1007/s12010-014-1028-6>
- Lee, M. R., Kim, C. S., Park, T., Choi, Y.-S., & Lee, K.-H. J. A. b. (2018). Optimization of the ninhydrin reaction and development of a multiwell plate-based high-throughput proline detection assay. *Analytical Biochemistry*, 556, 57-62. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2018.06.022>
- Lee, Y.-R. J., & Liu, B. (2004). Cytoskeletal motors in Arabidopsis. Sixty-one kinesins and seventeen myosins. *Plant Physiology*, 136(4), 3877-3883. <https://doi.org/10.1104/pp.104.052621>
- Lindén, P., Keech, O., Stenlund, H., Gardeström, P., & Moritz, T. J. J. o. E. B. (2016). Reduced mitochondrial malate dehydrogenase activity has a strong effect on photorespiratory metabolism as revealed by  $^{13}\text{C}$  labelling. *Journal of Experimental Botany*, 67(10), 3123-3135. <https://doi.org/10.1093/jxb/erw030>
- Ma, H.-l., Xu, X.-h., Zhao, X.-y., Liu, H.-j., & Chen, H. (2015). Impacts of drought stress on soluble carbohydrates and respiratory enzymes in fruit body of *Auricularia auricula*. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 29(1), 10-14. <https://doi.org/10.1080/13102818.2014.984522>
- May, C., Brosseron, F., Pfeiffer, K., Meyer, H. E., & Marcus, K. (2012). Proteome analysis with classical 2D-PAGE. In *Quantitative Methods in Proteomics* (pp. 37-46). Springer. [https://doi.org/10.1007/978-1-61779-885-6\\_3](https://doi.org/10.1007/978-1-61779-885-6_3)
- Meng, L., Wong, J. H., Feldman, L. J., Lemaux, P. G., & Buchanan, B. B. (2010). A membrane-associated thioredoxin required for plant growth moves from cell to cell, suggestive of a role in intercellular communication. *Proceedings of the National Academy of sciences*, 107(8), 3900-3905. <https://doi.org/10.1073/pnas.0913759107>

- Mohammadi, P. P., Moieni, A., & Komatsu, S. (2012). Comparative proteome analysis of drought-sensitive and drought-tolerant rapeseed roots and their hybrid F1 line under drought stress. *Amino Acids*, 43(5), 2137-2152. <https://doi.org/10.1007/s00726-012-1299-6>.
- Mohammadzadeh-Heydari, N., Tohidfar, M., Maleki Zanjani, B., Mohsenpour, M., Ghanbari Moheb Seraj, R., & Esmaeilzadeh-Salestani, K. J. B. b. (2024). Co-overexpression of chitinase and  $\beta$ -1, 3-glucanase significantly enhanced the resistance of Iranian wheat cultivars to *Fusarium*. *BMC Biotechnology*, 24(1), 35. <https://doi.org/10.1186/s12896-024-00859-0>
- Nagano, A. J., Fukao, Y., Fujiwara, M., Nishimura, M., & Hara-Nishimura, I. (2008). Antagonistic jacalin-related lectins regulate the size of ER body-type  $\beta$ -glucosidase complexes in *Arabidopsis thaliana*. *Plant and Cell Physiology*, 49(6), 969-980. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcn075>
- Ng, J. H., & Ilag, L. L. (2002). Functional proteomics: separating the substance from the hype. *Drug Discovery Today*, 7(9), 504-505. [https://doi.org/10.1016/S1359-6446\(02\)02275-4](https://doi.org/10.1016/S1359-6446(02)02275-4)
- Ober, E., Clark, C., Jaggard, K., & Pidgeon, J. (2004). Progress towards improving the drought tolerance of sugarbeet. *Zuckerindustrie*, 129(2), 101-104. <https://doi.org/10.29252/jcb.12.34.83>
- Ober, E. S., & Sharp, R. E. (2007). Regulation of root growth responses to water deficit. In *Advances in molecular breeding toward drought and salt tolerant crops* (pp. 33-53). *Springer*. <https://doi.org/10.1007/978-1-4020-5578-2>
- Ordog, S. H., Higgins, V. J., & Vanlerberghe, G. C. (2002). Mitochondrial alternative oxidase is not a critical component of plant viral resistance but may play a role in the hypersensitive response. *Plant Physiology*, 129(4), 1858-1865. <https://doi.org/10.1104/pp.003855>
- Patwari, P., Salewski, V., Gutbrod, K., Kreszies, T., Dresen-Scholz, B., Peisker, H.,...Dörmann, P. (2019). Surface wax esters contribute to drought tolerance in *Arabidopsis*. *The Plant Journal*, 98(4), 727-744. <https://doi.org/10.1111/tpj.14269>
- Paul, S., Gayen, D., Datta, S. K., & Datta, K. (2015). Dissecting root proteome of transgenic rice cultivars unravels metabolic alterations and accumulation of novel stress responsive proteins under drought stress. *Plant Science*, 234, 133-143. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2015.02.006>
- Pavoković, D., Horvatić, A., Tomljanović, I., Balen, B., & Krsnik-Rasol, M. (2023). Sugar beet cells' cellular and extracellular events taking place in response to drought and salinity. *Acta Botanica Croatica*, 82(2), 128-141. <https://doi.org/10.37427/botcro-2023-008>
- Qiao, K., Yao, X., Zhou, Z., Xiong, J., Fang, K., Lan, J.,...Lin, H. J. J. o. P. P. (2023). Mitochondrial alternative oxidase enhanced ABA-mediated drought tolerance in *Solanum lycopersicum*. *Journal of Plant Physiology*, 280, 153892. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2022.153892>
- Qiao, M., Hong, C., Jiao, Y., Hou, S., & Gao, H. J. P. (2024). Impacts of drought on photosynthesis in major food crops and the related mechanisms of plant responses to drought. *Plants*, 13(13), 1808. <https://doi.org/10.3390/plants13131808>

- Rabilloud, T., Chevallet, M., Luche, S., & Lelong, C. (2010). Two-dimensional gel electrophoresis in proteomics: Past, present and future. *Journal of Proteomics*, 73(11), 2064-2077. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2010.05.016>
- Rajaram, H., & Apte, S. K. (2008). Nitrogen status and heat-stress-dependent differential expression of the cpn60 chaperonin gene influences thermotolerance in the cyanobacterium *Anabaena*. *Microbiology*, 154(1), 317-325. <https://doi.org/10.1099/mic.0.2007/011064-0>
- Raymond, J. A., Morgan-Kiss, R., & Stahl-Rommel, S. J. F. i. P. S. (2020). Glycerol is an osmoprotectant in two antarctic *Chlamydomonas* species from an ice-covered saline lake and is synthesized by an unusual bidomain enzyme. *Frontiers in Plant Science*, 11, 1259. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.01259>
- Razmjoo, K., Heydarizadeh, P., & Sabzalian, M. R. (2008). Effect of salinity and drought stresses on growth parameters and essential oil content of *Matricaria chamomile*. *International Journal of Agriculture & Biology*, 10(4), 451-454. <https://doi.org/10.4153/1560-8530>
- Rizhsky, L., Liang, H., Shuman, J., Shulaev, V., Davletova, S., & Mittler, R. (2004). When defense pathways collide. The response of *Arabidopsis* to a combination of drought and heat stress. *Plant Physiology*, 134(4), 1683-1696. <https://doi.org/10.1104/pp.103.033431>
- Saha, B., Borovskii, G., & Panda, S. K. (2016). Alternative oxidase and plant stress tolerance. *Plant Signaling & Behavior*, 11(12), e1256530. <https://doi.org/10.1080/15592324.2016.1256530>
- Salamon, A., Szafrńska, A., Baryga, A., Diowksz, A., Szymczyk, K., & Kowalska, H. (2024). Assessment of the Possibility of Using Sugar Beet Pulp with Molasses as By-Product for Enriching Flour and Production of Bread with Pro-Health Properties. *Applied Sciences*, 14(22), 10570. <https://doi.org/10.3390/app142210570>
- Skiryecz, A., Claeys, H., De Bodt, S., Oikawa, A., Shinoda, S., Andriankaja, M.,... Yoo, S.-D. (2011). Pause-and-stop: the effects of osmotic stress on cell proliferation during early leaf development in *Arabidopsis* and a role for ethylene signaling in cell cycle arrest. *The Plant Cell*, 23(5), 1876-1888. <https://doi.org/10.1105/tpc.111.084160>
- Tarze, A., Deniaud, A., Le Bras, M., Maillier, E., Mollé, D., Larochette, N.,... Brenner, C. (2007). GAPDH, a novel regulator of the pro-apoptotic mitochondrial membrane permeabilization. *Oncogene*, 26(18), 2606-2620. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1210074>
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2009.09.006>
- van Wijk, K. J. (2001). Challenges and prospects of plant proteomics. *Plant Physiology*, 126(2), 501-508. <https://doi.org/10.1104/pp.126.2.501>
- Vanlerberghe, G. C. (2013). Alternative oxidase: a mitochondrial respiratory pathway to maintain metabolic and signaling homeostasis during abiotic and biotic stress in plants. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(4), 6805-6847. <https://doi.org/10.3390/ijms14046805>
- Vierstra, R. D. (2003). The ubiquitin/26S proteasome pathway, the complex last chapter in the life of many plant proteins. *Trends in Plant Science*, 8(3), 135-142. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(03\)00014-1](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(03)00014-1)

- Wang, Y., Peng, C., Zhan, Y., Yu, L., Li, M., Li, J., & Geng, G. (2017). Comparative proteomic analysis of two sugar beet cultivars with contrasting drought tolerance. *Journal of Plant Growth Regulation*, 36(3), 537-549. <https://doi.org/10.1007/s00344-017-9703-9>
- Wheelock, Å. M., & Buckpitt, A. R. (2005). Software-induced variance in two-dimensional gel electrophoresis image analysis. *Electrophoresis*, 26(23), 4508-4520. <https://doi.org/10.1002/elps.200500253>
- Xu, C., & Huang, B. (2010). Comparative analysis of drought responsive proteins in Kentucky bluegrass cultivars contrasting in drought tolerance. *Crop Science*, 50(6), 2543-2552. <https://doi.org/10.2135/cropsci2010.03.0152>
- Zhang, Y., Nan, J., & Yu, B. (2016). OMICS technologies and applications in sugar beet. *Frontiers in Plant Science*, 7, 900. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00900>
- Zhao, J., Long, T., Wang, Y., Tong, X., Tang, J., Li, J.,...Shu, Y. (2020). RMS2 encoding a GDSL lipase mediates lipid homeostasis in anthers to determine rice male fertility. *Plant Physiology*, 182(4), 2047-2064. <https://doi.org/10.1104/pp.19.01487>
- Zhu, H., Bi, Y.-D., Yu, L.-J., Guo, D.-D., & Wang, B.-C. (2009). Comparative proteomic analysis of apomictic monosomic addition line of Beta corolliflora and Beta vulgaris L. in sugar beet. *Molecular Biology Reports*, 36(8), 2093. <https://doi.org/10.1104/pp.19.01487>
- Zhu, J. K. (2016). Abiotic Stress Signaling and Responses in Plants. *Cell*, 167(2), 313-324. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.08.029>