

Bioinformatics identification of hub genes involved in osmotic stress of Arabidopsis

Mohammad Mohsenzadeh Golfazani 

*Corresponding author. Assistant Professor, Department of Plant Biotechnology, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran, E-mail: mohsenzadeh.mohamad@guilan.ac.ir

Maryam Pasandideh Arjmand 

Ph. D. Student, Department of Plant Biotechnology, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran, E-mail: Pasandide.m92@gmail.com

Habibollah Samizadeh Lahiji 

Professor, Department of Plant Biotechnology, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran. E-mail: hsamizadeh@guilan.ac.ir

Abstract

Objective

Plants are often exposed to a variety of environmental stresses such as drought and salinity, which leads to osmotic stress in the plant and ultimately reduces crop growth and productivity. Identification of effective genes at different treatments of osmotic stress can be very helpful in finding genes that are effective in tolerating plant stresses. Therefore, the aim of this study was to identify the hub genes of Arabidopsis model plant in osmotic stress and to introduce them for crop breeding under environmental stresses

Materials and Methods

In this study, Arabidopsis microarray data that were exposed to mannitol-induced osmotic stress for 1.5, 3, 12 and 24 hours were analyzed separately by GEO2R online tool. Genes with significant expression were identified and the most important genes at each stress level were

identified using bioinformatics tools. Then, the hub genes in osmotic stress were identified and their protein interactions and biological processes were studied and discussed

Results

The result showed that 26, 79, 138 and 184 genes had significant expression at 1.5, 3, 12 and 24 hours after stress, respectively. Based on protein network analysis and biological processes, *SDA1*, *CRK11*, *CYP81F2*, *EDA39*, *PLA2A*, *T1K7_24*, *F6N7_24*, *AT2G25735* and *MRH10_18* genes were reported as hub genes at different levels of osmotic stress. The results of molecular function analysis of hub genes showed that these genes involved in oxidative stress, response to hypoxia, regulation stomata movement, hypersensitive response, response to chitin, induced systemic resistance, indole glucosinolate biosynthetic process, defense response by callose deposition in cell wall, response to cadmium ion, phytochelatin biosynthetic process, arsenite transport, defense response to bacteria, insects, fungi, viruses and other environmental stress responsive biological process.

Conclusions

It seems that the key genes introduced in this study can be used to breed crops under environmental stresses that cause osmotic stress in plants.

Keywords: *CYP81F2*, Hypersensitivity, Microarray, Protein interaction.

Paper Type: Research Paper.

Citation: Mohsenzadeh Golfazani M, Pasandideh Arjmand M, Samizadeh Lahiji H (2022) Bioinformatics identification of hub genes involved in osmotic stress of Arabidopsis. *Agricultural Biotechnology Journal* 14 (1), 155-174.

Agricultural Biotechnology Journal 14 (1), 155-174.

DOI: 10.22103/jab.2022.18411.1350

Received: December 10, 2021.


Accepted: February 9, 2022

Publisher: Faculty of Agriculture and Technology Institute of Plant Production, Shahid Bahonar University of Kerman-Iranian Biotechnology Society.




© the authors

شناسایی بیوانفورماتیکی ژن‌های کلیدی دخیل در تنش اسمزی گیاه آرابیدوپسیس

محمد محسن زاده گلفزانی 


*نویسنده مسئول: استادیار، گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران، رایانامه:

mohsenzadeh.mohamad@guilan.ac.ir

مریم پسندیده ارجمند 

دانشجوی دکتری گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران. رایانامه:

Pasandide.m92@gmail.com

حیب اب... سمیع زاده لاهیجی 

استاد، گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران.

hsamizadeh@guilan.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۱/۲۰

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۹/۱۹

چکیده

هدف: گیاهان اغلب در معرض انواع تنش‌های محیطی مانند خشکی و شوری قرار می‌گیرند که منجر به تنش اسمزی در گیاه می‌شود و در نهایت سبب کاهش رشد و بهره‌وری محصول می‌گردد. شناسایی ژن‌های موثر در سطوح مختلف تنش اسمزی می‌تواند در یافتن ژن‌های موثر در تحمل گیاه به تنش‌های محیطی بسیار کمک کند. از این رو هدف از این مطالعه، شناسایی ژن‌های کلیدی و بسیار موثر گیاه مدل آرابیدوپسیس در تنش اسمزی و معرفی آن‌ها در راستای به‌نژادی گیاهان زراعی در شرایط تنش‌های محیطی است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه داده‌های میکروآرایه آرابیدوپسیس که به مدت ۱/۵، ۳، ۱۲ و ۲۴ ساعت در معرض تنش اسمزی ناشی از مانیترول قرار داشتند، توسط ابزار آنالیز GEO2R به طور جداگانه آنالیز شدند. ژن‌های دارای بیان معنادار مشخص شدند و مهم‌ترین ژن‌ها در هر سطح تنش با استفاده از ابزارهای بیوانفورماتیکی تعیین شدند. سپس ژن‌های کلیدی موثر در تنش اسمزی شناسایی شدند و برهمکنش پروتئینی و فرآیندهای بیولوژیکی آن‌ها مورد بررسی و بحث قرار گرفت.

یافته‌ها: در ساعات ۱/۵، ۳، ۱۲ و ۲۴ ساعت پس از تنش به ترتیب ۲۶، ۷۹، ۱۳۸ و ۱۸۴ ژن دارای بیان معنادار بودند. براساس آنالیز شبکه پروتئینی و بررسی فرآیندهای بیولوژیکی ژن‌های *SDA1*، *CRK11*، *CYP81F2*، *EDA39*، *PLA2A*، *T1K7_24*، *F6N7_24*، *AT2G25735* و *MRH10_18* به‌عنوان ژن‌های کلیدی بسیار موثر در سطوح مختلف تنش اسمزی گزارش شدند. نتایج آنالیز عملکرد مولکولی ژن‌های کلیدی نشان داد که این ژن‌ها در پاسخ به تنش اکسیداتیو، پاسخ به کمبود اکسیژن، تنظیم حرکت روزه‌ها، پاسخ فوق حساسیت، پاسخ به کیتین، مقاومت سیستمیک القایی، فرآیند بیوستتزی ایندول گلوکوزینولات، پاسخ دفاعی بوسیله رسوب کالوز در دیواره سلولی، پاسخ به یون کادمیوم، فرآیندهای بیوستتزی فیتوکلاتین، انتقال آرسنیت، پاسخ دفاعی در برابر باکتری، حشرات، قارچ‌ها و ویروس‌ها و فرآیندهای بیولوژیکی مرتبط با تنش‌های محیطی نقش بسیار مهمی ایفا می‌کنند.

نتیجه گیری: به نظر می‌رسد از ژن‌های کلیدی معرفی شده در این پژوهش می‌توان در راستای به‌نژادی گیاهان زراعی در شرایط تنش‌های محیطی که سبب تنش اسمزی در گیاهان می‌شود، بهره برد.

کلمات کلیدی: برهمکنش پروتئینی، فوق حساسیت، میکروآرایه، *CYP81F2*

نوع مقاله: پژوهشی.

استاد: محسن زاده گلفزانی محمد، پسندیده ارجمند مریم، سمیع زاده لاهیجی حبیب (۱۴۰۱) شناسایی بیوانفورماتیکی ژن‌های کلیدی دخیل در تنش اسمزی گیاه آراییدوپسیس. *مجله بیوتکنولوژی کشاورزی* ۱۴(۱)، ۱۵۵-۱۷۴.

Publisher: Faculty of Agriculture and Technology Institute of Plant
Production, Shahid Bahonar University of Kerman-Iranian
Biotechnology Society.



© the authors

مقدمه

بسیاری از تنش‌های محیطی مانند خشکی، شوری، سرما و تابش بیش از حد می‌تواند منجر به کمبود آب در گیاهان شود. سیگنال‌دهی کمبود آب در گیاهان بسیار پیچیده بوده و برای درک و سپس سازگاری و تحمل تنش بسیار مهم است. کمبود آب باعث ایجاد استرس اسمزی در گیاهان می‌شود که احتمالاً توسط سلول به عنوان از دست دادن تورگر درک می‌شود و باعث ایجاد آبشارهای سیگنالینگ برای تنظیم تنش اسمزی می‌شود (Bremer and Krämer 2019). غلبه بر تنش‌های غیر زیستی به مکانیسم‌های ژنتیکی گیاهان وابسته است که در طی تکامل ایجاد شده است (Wang et al. 2018; Zenes et al. 2020). در واقع تنش باعث ایجاد شبکه پیچیده‌ای از انتقال سیگنال استرس اسمزی و اسید آبسزیک (ABA) می‌شود (Takahashi et

al. 2020). اکثر تنش‌های محیطی با کاهش پتانسیل آبی محیط، تنش اسمزی را به گیاهان تحمیل می‌کنند. پیامدهای تنش اسمزی در مه‌ار طویل شدن سلول، بسته شدن روزنه‌ها، کاهش فعالیت فتوسنتز، اختلال در جذب آب و یون، انتقال مواد جذب شده و تغییر در فرآیندهای مختلف متابولیک آشکار می‌شود. مطالعات گسترده بر روی مکانیسم‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی واکنش گیاهان به استرس اسمزی، چندین متابولیت اولیه و ثانویه را که در پاسخ و تحمل به استرس گیاه نقش دارند، مشخص کرده است. استرس اسمزی باعث تجمع اسیدهای آمینه و مشتقات آن‌ها، قندهای محلول، الکلهای قندی و پلی آمین‌ها می‌شود (Darko et al. 2019). در شرایط تنش اسمزی که می‌تواند ناشی از تنش‌های محیطی مانند خشکی، شوری و غیره باشد، هدایت روزنه‌ای در گیاهان کنترل می‌شود تا از هدررفت آب جلوگیری کرده و بازدهی مصرف آب بهبود یابد. بررسی فیزیولوژی مولکولی گیاهان نشان می‌دهد که تنظیم اسمزی، دفاع آنتی اکسیدانی و بهبود بهره‌وری مصرف آب از استراتژی‌های بسیار مهم و اساسی برای افزایش تحمل به خشکی در سطح سلول و بافت است (Polle et al. 2019). کمبود آب بسیاری از واکنش‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی را القا می‌کند (Wang et al. 2018; Rehschuh et al. 2020). بیان ژن‌ها تحت تنش خشکی در بسیاری از گونه‌های مدل مانند آرابیدوپسیس، برنج، ذرت، گوجه فرنگی و سویا تغییر می‌کند (Liu et al. 2018). تجزیه و تحلیل فیزیولوژیکی و مولکولی در آرابیدوپسیس نشان داد که علامت‌دهی فیتوهورمون در تنظیم واکنش در برابر خشکی بسیار مهم است (Gupta et al. 2020). خشکی سبب افزایش تجمع ABA در برگ‌ها می‌شود و این باعث کاهش هدایت روزنه‌ای، کاهش جذب CO₂ و کاهش فعالیت‌های فتوسنتزی می‌شود و گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) به دلیل کاهش فتوسنتز و اختلال در عملکرد اجزای مختلف سلولی تولید می‌شوند. گزارش شده است که چندین پروتئین تنظیمی در انتقال سیگنال و تنظیم ژن‌های پاسخ دهنده به تنش اسمزی در گیاهان نقش دارند (Pervaiz et al. 2021). تنش‌های محیطی سالانه سبب کاهش شدید عملکرد گیاهان می‌شود. شناسایی ژن‌های موثر در سطوح مختلف تنش اسمزی در گیاه مدل آرابیدوپسیس می‌تواند در یافتن ژن‌های موثر در تحمل گیاه به تنش‌های محیطی بسیار مهم باشد. اطلاعات به دست آمده از تحلیل داده‌های زیستی به وسیله علم بیوانفورماتیک، در به خط کردن توالی‌ها در بانک‌های اطلاعاتی برای یافتن شباهت‌ها و تفاوت‌های ژنی، پیش‌گویی ساختار و عملکرد محصولات ژن‌ها و یافتن ارتباط فیلوژنتیک میان ژن‌ها و توالی‌های پروتئینی کمک می‌کند (Hadizadeh et al. 2013; Hadizadeh et al. 2014; Mohammadipour et al. 2021). از این رو در این مطالعه داده‌های میکروآرایه آرابیدوپسیس که به مدت ۱/۵، ۳، ۱۲ و ۲۴ ساعت در معرض تنش اسمزی ناشی از مانیتول قرار داشتند، مورد آنالیز قرار گرفتند و با استفاده از ابزارهای بیوانفورماتیک ژن‌های بسیار مهم و موثر در تنش اسمزی به عنوان ژن‌های کلیدی جهت استفاده در برنامه‌های به‌نژادی گیاهان در تحمل به تنش‌های محیطی معرفی شدند.

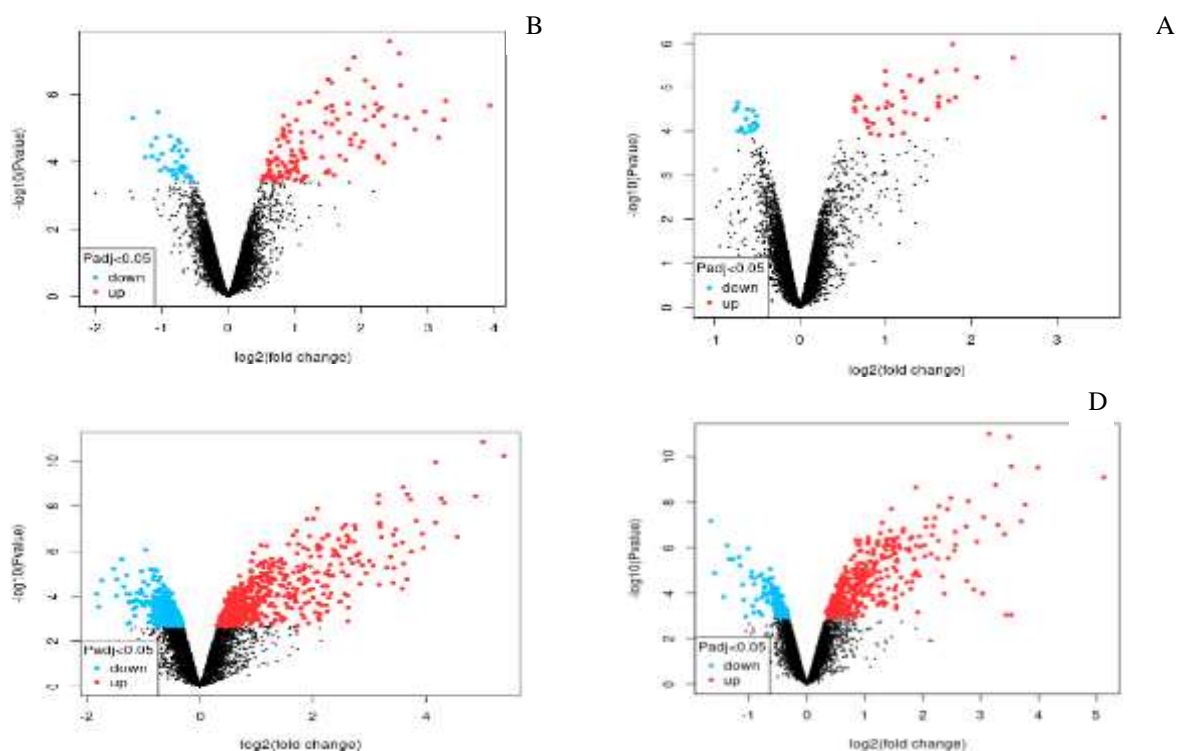
مواد و روش‌ها

داده‌های میکروآرایه گیاه آرابیدوپسیس (*Arabidopsis thaliana*) ژنوتیپ کلمبیا (GSE22107) که به مدت ۱/۵، ۳، ۱۲ و ۲۴ ساعت در شرایط تنش اسمزی ناشی از مانیتول قرار گرفته بودند، توسط ابزار GEO2R (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>) آنالیز شدند. هر سطح تنش دارای نمونه‌های کنترل جداگانه و در سه تکرار بیولوژیکی بود. تمامی داده‌ها در همه سطوح تنش ابتدا نرمال شدند. پس از آنالیز داده‌ها، ژن‌های شناسایی شده در هر سطح تنش به طور جداگانه با Adjust *p*-value کمتر از ۰/۰۵ انتخاب شدند. سپس ژن‌های با LogFC^۱ بزرگ‌تر از ۱ به عنوان ژن‌های با افزایش بیان و ژن‌های با LogFC کوچک‌تر از -۱ به عنوان ژن‌های با کاهش بیان در نظر گرفته شدند. سپس با استفاده از ابزار VENNY 2.1.0 (Oliveros 2007) (<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/>) ژن‌های مشترک سطوح مختلف تنش مشخص شدند. سپس شبکه پروتئینی ژن‌ها در هر سطح تنش به طور جداگانه در Cytoscape 3.8.2 آنالیز شدند (Shannon et al., 2003) و ژن‌های بسیار مهم در هر سطح تنش با استفاده از افزونه Cytohubba و با استفاده از روش MCC^۲ انتخاب شدند. ژن‌های با بالاترین نمره^۳ و مساوی و بیشتر از نمره ۵۰ گزینش شدند. سپس مجدداً با استفاده از ابزار VENNY 2.1.0 ژن‌های مشترک از میان ژن‌های بسیارمهم در هر سطح تنش انتخاب شدند و به عنوان ژن‌های کلیدی گزارش شدند. بررسی فرآیندهای بیولوژیکی ژن‌های کلیدی با استفاده از ابزار DAVID^۴ (<https://david.ncifcrf.gov>) انجام شد. همچنین برهمکنش پروتئینی ژن‌های کلیدی نیز با استفاده از STRING (<https://string-db.org>) رسم شد.

نتایج و بحث

آنالیز داده‌های میکروآرایه نشان داد که در سطوح ۱/۵، ۳، ۱۲ و ۲۴ ساعت پس از تنش به ترتیب ۵۸، ۱۶۱، ۲۵۰ و ۲۵۰ ژن به طور کلی بیان شدند. که از میان این ژن‌ها به ترتیب تعداد ۲۶، ۷۹، ۱۳۸ و ۱۸۴ ژن دارای بیان معنادار بودند (شکل ۱). تمامی ۲۶ ژن بیان شده در سطح ۱/۵ ساعت پس از تنش افزایش بیان نشان دادند. در سطح ۳ ساعت پس از تنش اسمزی از میان ۷۹ ژن که به طور معنادار بیان شده بودند، تعداد ۷۱ ژن دارای افزایش بیان و تعداد هشت ژن دارای کاهش بیان بودند. همچنین در سطح ۱۲ ساعت پس از تنش اسمزی تعداد ۱۲۹ ژن افزایش بیان و نه ژن کاهش بیان نشان دادند. در سطح ۲۴ ساعت پس از تنش اسمزی تعداد ۱۷۴ ژن دارای افزایش بیان و ۱۰ ژن دارای کاهش بیان بودند.

1. Log Fold Change
2. Maximal clique centrality
3. Score
4. The database for annotation, visualization and integrated discovery

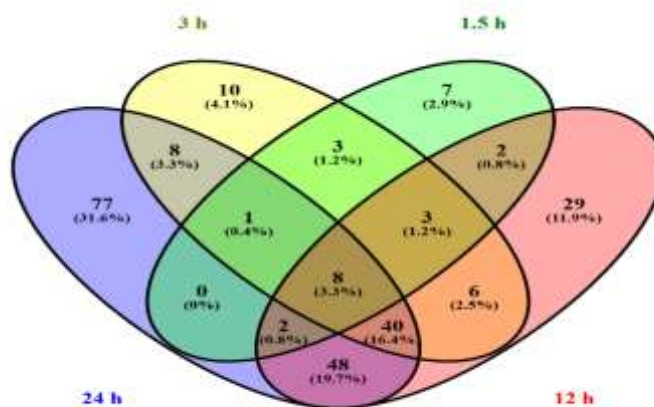


شکل ۱. نمودار آتشفشانی ژن‌ها در ۱/۵ (A)، ۳ (B)، ۱۲ (C) و ۲۴ ساعت (D) پس از تنش اسمزی

Figure 1. Volcano Plot of genes at 1.5 (A), 3 (B), 12 (C) and 24 hours (D) after osmotic stress

آنالیز نمودار ون^۵ نشان داد که تعداد هشت ژن در سطوح ۱/۵، ۳، ۱۲ و ۲۴ ساعت پس از تنش مشترک بودند و در همه این سطوح بیان شدند. تعداد ۴۰ ژن در سطوح ۳، ۱۲ و ۲۴ ساعت پس از تنش و تعداد ۴۸ ژن بین سطوح ۱۲ و ۲۴ ساعت پس از تنش مشترک بودند. همچنین تعداد سه ژن هم در سطح ۱/۵ و هم در سطح ۳ ساعت پس از تنش بیان شدند. تعداد هفت ژن فقط در ۱/۵ ساعت پس از تنش بیان شدند و در سایر ساعات تنش بیان معناداری نداشتند. ۱۰ ژن نیز فقط در ۳ ساعت پس از تنش اسمزی بیان شدند و در سایر سطوح تنش بیان معناداری نشان ندادند. تعداد ۲۹ ژن فقط در سطح ۱۲ ساعت پس از تنش بیان معناداری داشتند. همچنین در سطح ۲۴ ساعت پس از تنش تعداد ۷۷ ژن بیان معناداری نشان دادند که در سایر سطوح تنش بیان معناداری نداشتند (شکل ۲).

⁵. Venn diagram



شکل ۲. ژن‌های مشترک بیان شده در ۱/۵، ۳، ۱۲ و ۲۴ ساعت پس از تنش اسمزی

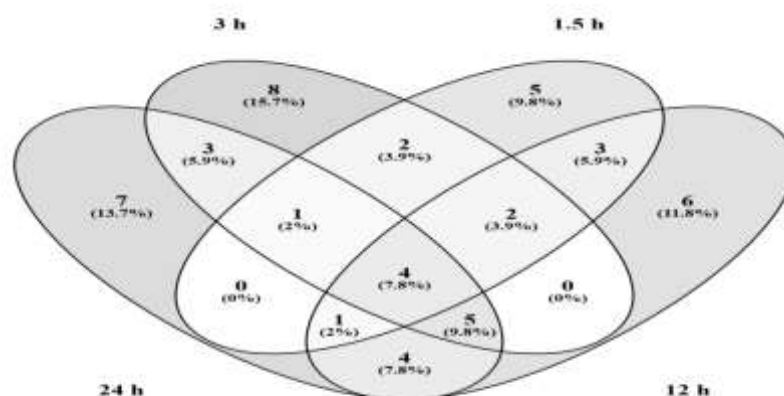
Figure 2. Common genes expressed at 1.5, 3, 12 and 24 hours after osmotic stress

بر اساس آنالیز شبکه پروتئینی در هر سطح، ژن‌های بسیار مهم در سطوح ۱/۵، ۳، ۱۲ و ۲۴ ساعت پس از تنش اسمزی شناسایی شدند. تعداد چهار ژن شامل *SDA1* (*AT1G19020*)، *EDA39* (*AT4G33050*)، *MRH10_18* (*AT5G44070*) و *AT2G25735* در تمامی سطوح تنش ۱/۵، ۳، ۱۲ و ۲۴ ساعت پس از تنش حضور داشتند و به عنوان ژن‌های کلیدی در نظر گرفته شدند. علاوه بر این تعداد پنج ژن دیگر شامل *CRK11* (*AT4G23190*)، *CYP81F* (*AT5G57220*)، *PLA2A* (*AT2G26560*)، *TIK7_24* (*AT1G26380*) و *F6N7_24* (*AT5G52750*) که بین سطوح ۳، ۱۲ و ۲۴ ساعت پس از تنش حضور داشتند، به عنوان ژن‌های کلیدی گزارش شدند. به طور کلی تعداد نه ژن شامل *SDA1*، *CRK11*، *CYP81F2*، *EDA39*، *PLA2A*، *TIK7_24*، *F6N7_24*، *AT2G25735* و *MRH10_18* به عنوان ژن‌های کلیدی بسیار موثر در سطوح مختلف تنش اسمزی معرفی شدند (جدول ۱ و شکل ۳). بررسی شبکه پروتئینی در STRING نشان داد که ژن‌های کلیدی شناسایی شده دارای برهمکنش بسیار زیادی با یکدیگر هستند. ارتباط ژن‌های کلیدی با یکدیگر می‌تواند نشان‌دهنده هم‌افزایی اثر ژن‌ها در پاسخ به تنش اسمزی باشد (شکل ۴). بررسی میزان LogFC ژن‌های کلیدی در ساعات مختلف تنش با استفاده از آنالیز داده‌های میکروآرایه نشان داد که همه ژن‌های کلیدی در همه ساعات تنش افزایش بیان نشان دادند. در همه ژن‌های کلیدی میزان LogFC در ۲۴ ساعت پس از تنش بیش‌تر از ساعات دیگر بود. بیان ژن *TIK7_24* در ۲۴ ساعت پس از تنش بیش‌تر از سایر ژن‌ها بود. با افزایش ساعات تنش از ۱/۵ ساعت تا ۲۴ ساعت پس از تنش، میزان بیان ژن‌های *TIK7_24*، *PLA2A*، *CRK11* و *SDA1* دارای روند صعودی بود.

جدول ۱. ژن‌های بسیار مهم در ۱/۵، ۳، ۱۲ و ۲۴ ساعت پس از تنش اسمزی

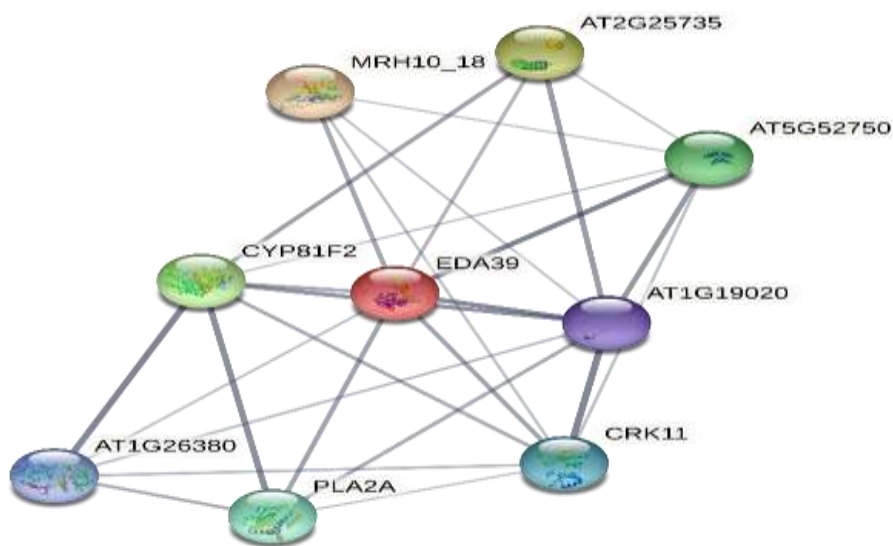
Table 1. Important genes at 1.5, 3, 12 and 24 hours after osmotic stress

ژن‌های مهم Important genes	سطوح تنش Stress levels
<i>WRKY33, SDA1, TCH3, MPK3, EDA39, WRKY53, XBAT34, MRH10_18, AT2G25735, AT4G36500, NUDT7, CBP60G, AR781, ERD6, AT5G35735, AT1G05575</i>	1.5 h
<i>EDA39, TCH3, AT1G55450, AT2G24600, F6N7_24, XBAT34, MRH10_18, SDA1, AT5G19240, CRK11, CRK10, CYP81F2, AT2G25735, AT2G18690, ERD6, AT1G18390, PLA2A, T1K7_24, AT5G18470, AT4G08850, ABCG36, AT4G38550, BCB, NAC036, AT5G48540</i>	3 h
<i>SDA1, WRKY33, CN11, F6N7_24, HSFA4A, WRKY40, AT2G24600, EDA39, AT2G25735, AT1G55450, AT4G36500, CRK11, STZ, APK2A, AT5G35735, AT1G50740, CYP81F2, MRH10_18, AT3G54150, AT3G19010, PLA2A, ZAT6, AT1G05575, AT1G26420, T1K7_24</i>	12 h
<i>SDA1, AT5G25930, CN11, AT3G54150, AT2G18690, CRK11, CYP81F2, AT1G18390, EDA39, PLA2A, AT1G26420, T1K7_24, MYB51, AT1G61360, XBAT34, F6N7_24, AT5G18470, ZAT11, AT3G19010, AT2G25735, AT5G35735, AT5G25440, YLS9, AT1G66880, MRH10_18</i>	24 h



شکل ۳. ژن‌های کلیدی مشترک در ساعات مختلف تنش اسمزی

Figure 3. Common hub genes at different hours of osmotic stress

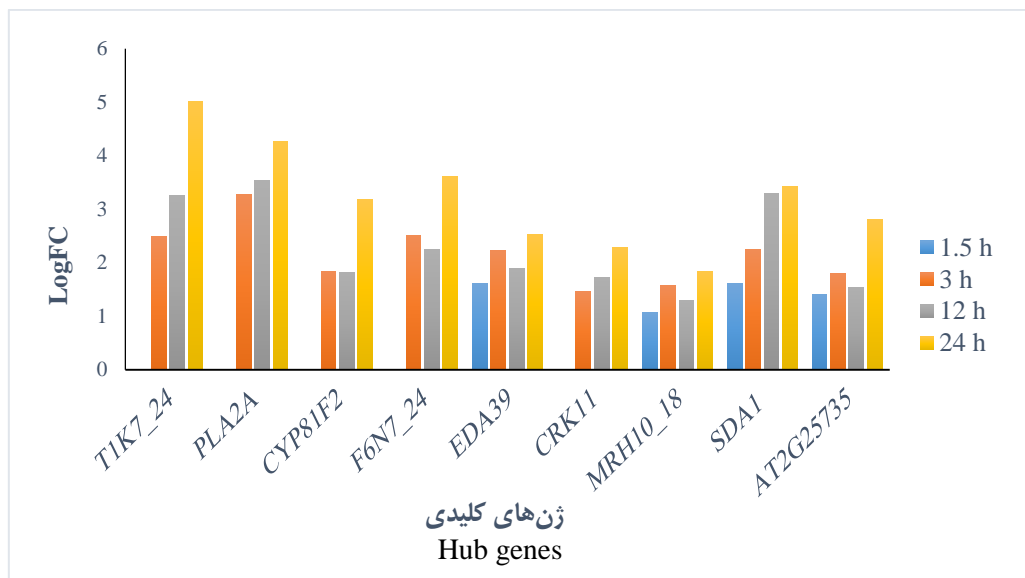


شکل ۴. شبکه برهمکنش پروتئینی ژن‌های کلیدی در تنش اسمزی در آراییدوپسیس

Figure 4. Protein interaction network of hub genes in osmotic stress in Arabidopsis

میزان بیان *CYP81F2* در ۳ و ۱۲ ساعت پس از تنش تقریباً مشابه بود و با افزایش زمان تنش، میزان بیان آن نیز افزایش یافت. به طور کلی بیان ژن‌های کلیدی با افزایش ساعات تنش روند صعودی داشت. ژن‌های *SDA1*، *EDA39*، *AT2G25735* و *MRH10_18* از همان ساعات ابتدایی تنش بیان معناداری داشتند که می‌تواند نشان دهنده اهمیت حضور این ژن‌ها بلافاصله پس از شروع تنش اسمزی باشد. از طرفی ژن‌های *CRK11*، *CYP81F*، *PLA2A*، *T1K7_24* و *F6N7_24* از ۳ ساعت پس از تنش اسمزی بیان معناداری نشان دادند و با افزایش زمان تنش تا ۲۴ ساعت روند صعودی نشان دادند (شکل ۵). نتایج آنالیز غنی سازی ژن‌ها نشان داد که هر کدام از ژن‌های کلیدی در فرآیندهای بیولوژیکی مشابه یا متفاوتی نقش دارند. ژن‌های کلیدی در پاسخ به تنش اکسیداتیو، پاسخ به کمبود اکسیژن، انتقال یون‌های فلزی، تنظیم حرکت روزنه‌ها، پاسخ به کیتین، پاسخ فوق حساسیت، پاسخ دفاعی در برابر باکتری، حشرات، قارچ‌ها و ویروس‌ها و فرآیندهای بیولوژیکی مرتبط با تنش‌های محیطی نقش بسیار مهم و موثری ایفا می‌کنند.

⁶ Gene ontology enrichment analysis



شکل ۵. بیان ژن‌های کلیدی در سطوح ۱/۵، ۳، ۱۲ و ۲۴ ساعت پس از تنش اسمزی

Figure 5. The expression of hub genes at 1.5, 3, 12 and 24 hours after osmotic stress

نتایج نشان داد که افزایش ساعات تنش اسمزی سبب روند صعودی در بیان ژن *SDA1* (CDP-diacylglycerol-3-phosphate 3-phosphatidyltransferase) می‌شود (شکل ۵). مشخص شده است که *SDA1* آنزیمی است که در متابولیسم گلیسرول فسفولیپید شرکت می‌کند. گلیسرول فسفولیپیدها به عنوان تنظیم‌کننده‌های اصلی واکنش استرس و سیگنال‌دهی SA توصیف شده‌اند (Appel et al. 2014; Dutta et al. 2020). آنالیز غنی‌سازی ژن‌ها نشان داد ژن *SDA1* در پاسخ به تنش‌های اکسیداتیو (GO:0006979) نقش دارد. این ژن در تمامی ساعات تنش اسمزی بیان معناداری را نشان داد که می‌تواند نشان‌دهنده اهمیت این ژن در پاسخ به تنش اسمزی باشد. در مطالعات گسترده‌ای که با استفاده از میکروآرایه انجام شد، *SDA1* به عنوان ژنی شناسایی شد که به شدت در پاسخ به پاتوژن‌های باکتریایی القا می‌شود (Appel et al. 2014). همچنین در مطالعه‌ای مشخص شد که این ژن دفاع در برابر عوامل بیماری‌زای باکتریایی و تحمل استرس اکسیداتیو را تعدیل می‌کند. گیاهانی که در ژن *SDA1* دارای جهش بودند در بیان ژن‌های دفاعی ضعف داشتند و در معرض خطر مرگ بودند. کاربرد سالیسیلیک اسید (SA) سبب بهبود وضعیت این گیاهان شد. بیان بیش از حد *SDA1* منجر به افزایش مقاومت در برابر عوامل بیماری‌زای باکتریایی و تحمل استرس اکسیداتیو می‌شود (Dutta et al. 2020). علاوه بر عوامل بیماری‌زا، بیان *SDA1* در پاسخ به انواع تنش‌های زیستی از جمله شته و لارو حشرات القا می‌شود. بیان *SDA1* همچنین در پاسخ به تنش‌های غیر زیستی مانند خشکی، شوری، زخم و ROS ایجاد می‌شود. این نتایج نشان می‌دهد که *SDA1* به عنوان یک پروتئین گیاهی با طیف گسترده و پاسخ‌دهنده به استرس عمل می‌کند (Appel et al. 2014). در واقع *SDA1* ایمنی گیاه را از طریق مسیر دفاعی با واسطه‌گری SA و تحمل استرس اکسیداتیو تنظیم می‌کند. *SDA1* یک پروتئین گیاهی کوچک حاوی یک دومین حفاظت شده

در پایانه N را کد می‌کند که برای عملکرد آن در دفاع در برابر پاتوژن و تحمل استرس اکسیداتیو بسیار مهم است. همولوگ‌های SDA1 در چندین گونه گیاهی از جمله لوبیا، انگور، صنوبر، تنباکو، یونجه، سویا و برنج وجود دارد. همه همولوگ‌های SDA1 دارای یک دومین کوچک هفت آمینو اسیدی در پایانه N پروتئین هستند و این نشان‌دهنده اهمیت این بخش در عملکرد پروتئین است. به تازگی نقش‌های زیست شناختی دومین حفاظت‌شده در عملکرد SDA1 به طور خاص برای دفاع باکتریایی و تحمل ROS شناسایی شده است، که اهمیت این دومین را بیشتر برجسته می‌کند. مطالعات نشان می‌دهد که SDA1 نقش مهمی در تعدیل هر دو تنش زیستی و غیرزیستی در آرابیدوپسیس ایفا می‌کند و به نظر می‌رسد یک پروتئین پاسخگو به استرس مخصوص گیاهان است (Appel et al. 2014; Dutta et al. 2020). ژن کلیدی دیگر ژن *EDA39* بود که در تمامی ساعات تنش اسمزی بیان معناداری نشان داد و در ۳ ساعت پس از تنش میزان بیان آن نسبت به ۱/۵ ساعت کمی کاهش و با افزایش زمان تنش مجدداً افزایش یافت (شکل ۵). آنالیز غنی‌سازی ژن‌ها نشان داد که *EDA39* در فرآیندهای مولکولی مختلف مانند تنظیم حرکت روزنه‌ها (GO:0010119)، امتزاج هسته‌های قطبی^۷ (GO:0010197) و پاسخ به کیتین (GO:0010200) نقش دارد. این فرآیندها می‌توانند در پاسخ‌های فیزیولوژیکی گیاه به تنش‌های محیطی مانند خشکی و شوری موثر باشند (Zhou et al. 2012). ژن *EDA39* پروتئین متصل شونده به کالمودولین (calmodulin-binding family protein (CaMBP)) را کد می‌کند. در شرایط تنش‌های محیطی کالمودولین از طریق پروتئین‌های پایین دست CaMBP بر بیوسنتز یا سیگنال‌دهی هورمون‌های گیاهی مانند اسید جاسمونیک (JA) و SA تأثیر می‌گذارد. با این حال، نحوه واسطه شدن این CaMBP‌ها در هورمون‌های گیاهی و سایر سیگنال‌های مربوط به مقاومت در برابر استرس تا حد زیادی ناشناخته است. مقاومت در برابر بیماری‌های گیاهی شامل مسیرهای پاسخ‌دهی از جمله کلسیم-کالمودولین (Ca²⁺/CaM)، ROSها و فیتوهورمون‌ها می‌باشد. این عوامل با یکدیگر تعامل دارند و حلقه‌های بازخورد مثبت یا منفی پیچیده‌ای را برای هماهنگ کردن کل سیستم ایمنی گیاه تشکیل می‌دهند (Lv et al. 2019; Noman et al. 2021). Ca²⁺/CaM پیام رسان ثانویه رایج است که در پاسخ به آبشارهای مختلف سیگنالینگ در تمام فرایندهای حیات گیاهان نقش مهمی ایفا می‌کند. کالمودولین به تنهایی معمولاً هیچ فعالیت بیوشیمیایی یا آنزیمی ندارد. اما به عنوان حسگر کلسیم با اتصال به پروتئین‌های متصل شونده به کالمودولین در بسیاری از فرآیندهای رشد و نمو گیاهی و پاسخ به تنش‌های زیستی و غیرزیستی بسیار اهمیت دارد (Dai et al. 2018; Khare et al. 2020). امروزه حداقل ۵۰۰ CaMBP در گیاهان شناسایی شده است. این CaMBPها شامل کانال‌های یونی و پمپ‌ها، پروتئین‌های ساختاری، پروتئین‌های کیناز/فسفاتاز، آنزیم‌های متابولیک، فاکتورهای رونویسی، چارپرونین‌ها و سایر پروتئین‌ها با عملکردهای ناشناخته هستند. تحقیقات زیادی نشان داده است که CaMBPs ارتباط تنگاتنگی با دفاع گیاهی دارد. مکانیسم نظارتی خاص در بین CaMBPs، ROS و هورمون‌های گیاهی مهم است. بنابراین تعیین پروتئین‌های متصل شونده به کالمودولین و درک

⁷. Polar nucleus fusion

عملکردهای بیولوژیکی آن‌ها می‌تواند به شفاف‌سازی مکانیسم‌های مولکولی پیچیده سیگنال‌دهی Ca_2^+ کمک کند. Lv et al. (2019). همچنین مشخص شده است که اعضای خانواده CaMBP در حرکت روزنه‌ها پاسخ به کیتین نقش بسیار مهمی دارند. کیتین پلیمر N-acetyl-d-glucosamine است که در اسکلت خارجی بندپایان و دیواره‌های سلولی قارچ‌ها وجود دارد. کیتین القاکننده PTI است و باعث بسته شدن روزنه و مقاومت در برابر بیماری و کنترل آن استفاده می‌شود. Liu et al. 2019; Lv et al. 2019). اگرچه مطالعاتی برای روشن کردن انتقال سیگنال کیتین در مقاومت ناشی از بیماری انجام شده است، اما بسیاری از اجزای مسیر انتقال، به ویژه مواردی که مربوط به بسته شدن روزنه فعال شده با کیتین است، ناشناخته مانده است (Song et al. 2021). عوامل بیماری‌زای باکتریایی عمدتاً از طریق روزنه به داخل گیاه وارد شده و باعث بیماری می‌شوند. کنترل فعال بسته شدن روزنه مانع از تهاجم پاتوژن می‌شود. هنگامی که برگ در معرض قارچ‌ها یا کیتین قرار می‌گیرد، سلول‌های محافظ بستن دهانه روزنه‌ها پاسخ می‌دهند و مانع از نفوذ عوامل بیماری‌زا می‌شود (David et al. 2019; Song et al. 2021). حرکات روزنه‌ای با تنش‌های زیستی و غیرزیستی از جمله خشکی، شوری، نور بیش از حد و پاتوژن‌ها تنظیم می‌شوند. مکانیسم‌های حرکت روزنه‌ها شامل گیرنده‌ها، پروتئین کینازها، کانال‌های یونی و پیام‌رسان‌های ثانویه مانند ROS و نیتریک اکسید (NO) است که نشان می‌دهد سلول‌های محافظ روزنه‌ای گیاهان دارای شبکه‌های تنظیمی پویا در گیاهان هستند. عوامل مولکولی مربوط به سیگنال‌دهی سلول نگهبان ناشی از کیتین می‌توانند در آینده به عنوان عاملی مهم در فعال کردن مکانیسم‌های مقاومتی گیاهان و طراحی استراتژی‌های کارآمد برای محافظت از محصولات در برابر تنش‌های محیطی مورد استفاده قرار گیرند (Murata et al. 2015; Song et al. 2021). ژن کلیدی دیگر *CRK11* بود که در ۱/۵ ساعت پس از تنش بیان معناداری نداشت. اما از ۳ ساعت پس از تنش شروع به بیان نمود و با افزایش ساعات تنش به ۱۲ و ۲۴ ساعت بیان آن روند صعودی داشت (شکل ۵). آنالیز غنی‌سازی ژن‌ها نشان داد که *CRK11* در فرآیندهای بیولوژیکی فسفریلاسیون پروتئین (GO:0006468)، پاسخ به تنش اکسیداتیو (GO:0006979)، پاسخ دفاعی به باکتری و برهمکنش ناسازگار^۸ (GO:0009816) نقش دارد. ژن *CRK11* ژنی از خانواده Cysteine (Cys)-rich receptor-like kinases است که در پاسخ به محرک‌های محیطی پاسخ می‌دهد. *CRK11* چندین فرآیند بیولوژیکی، از جمله توسعه گیاه و سازگاری با تنش را تنظیم می‌کند. *CRK*ها یک کلاس مهم از (Receptor like kinase) RLK هستند که نقش مهمی در مقاومت به بیماری و مرگ سلولی در گیاهان ایفا می‌کنند (Quezada et al. 2019). افزایش بیان *CRK* در آرابیدوپسیس مقاومت گیاه را در برابر بیماری افزایش داد. بیان *CRK* در *Nicotiana benthamiana* باعث مرگ سلولی شد. *CRK*های آرابیدوپسیس بر اساس درک پاتوژن توسط گیاه سنتز می‌شوند و به طور هماهنگ با سایر عوامل تنظیمی برای افزایش پاسخ‌های ایمنی گیاه عمل می‌کنند (Yadeta et al. 2017). ژن *CRK11* به عنوان ژن کلیدی و موثر در تنش اسمزی می‌تواند سبب ایجاد پاسخ به تنش‌های محیطی شود. نتایج نشان داد که ژن

⁸. Defense response to bacterium, incompatible interaction

TIK7_24 (FAD-binding Berberine family protein) از ۳ ساعت پس از تنش بیان معناداری نشان داد و با افزایش سطح تنش میزان بیان نیز افزایش یافت (شکل ۵). نتایج آنالیز غنی سازی ژن‌ها نیز نشان داد که این ژن در فرآیندهای اکسیداسیون و احیا (GO:0055114) و پاسخ سلولی به کمبود اکسیژن (GO:0071456) نقش دارد. ژن *TIK7_24* از خانواده FAD-binding Berberine family protein است. این خانواده ژنی دارای ۲۷ عضو است که عملکرد بیوشیمیایی و بیولوژیکی آن‌ها تا حد زیادی ناشناخته است. با این حال در برخی مطالعات مشخص شده است که این ژن در تنش‌های محیطی نقش دارد (Friedel et al. 2012). همچنین در مطالعه دیگری گزارش شده است که گیاهانی که ژن‌های این خانواده ژنی را بیش از حد بیان می‌کنند، در برابر قارچ‌ها مقاوم‌تر هستند و این به نقش این ژن در ایمنی گیاهان اشاره می‌کند (Benedetti et al. 2018). ژن *F6N7_24* از خانواده Heavy metal transport/detoxification superfamily protein است. این ژن در ۳، ۱۲ و ۲۴ ساعت پس از تنش به طور معناداری بیان شد (شکل ۵). آنالیز غنی سازی ژن‌ها نشان داد این ژن در انتقال یون فلزی^۹ (GO:0030001) و هموستازی یون فلزات واسطه سلولی^{۱۰} (GO:0046916) نقش دارد. گزارش شده است که این ژن در پاسخ به قارچ‌ها نقش مهمی ایفا می‌کند (Huipers et al. 2009). همچنین مشخص شده است که ژن *F6N7_24* در پاسخ به تنش‌های محیطی و مکانیسم‌های دفاعی گیاهان بسیار موثر است. فلزات در عملکردهای سلولی مانند هیدرولیز، اکسیداسیون مولکول‌های مختلف و انتقال الکترون ضروری هستند. طبق یک برآورد، یک سوم تا نیمی از پروتئین‌ها به یون‌های فلزی احتیاج دارند. بنابراین ژن‌های حاوی دومین مرتبط با فلزات سنگین می‌تواند نقش مهمی در توسعه و ایمنی گیاه داشته باشد (Imran et al. 2016). ژن *CYP81F2* (cytochrome P450, family 81, subfamily F, polypeptide 2) در ۳ ساعت پس از تنش اسمزی دارای بیان معناداری بود و با افزایش سطح تنش به ۲۴ ساعت بیان آن روند صعودی داشت (شکل ۵). نتایج آنالیز غنی سازی ژن‌ها نشان داد که این ژن در پاسخ دفاعی به حشره (GO:0002213)، پاسخ به باکتری (GO:0009617)، مقاومت سیستمیک القایی (GO:0009682)، فرآیند بیوسنتزی ایندول گلوکوزینولات (GO:0009759)، فرآیند متابولیک گلوکوزینولات (GO:0019760)، فرآیند متابولیکی ایندول گلوکوزینولات (GO:0042343)، پاسخ دفاعی به باکتری (GO:0042742)، پاسخ دفاعی به قارچ (GO:0050832)، پاسخ دفاعی بوسیله رسوب کالوز در دیواره سلولی (GO:0052544)، فرآیند اکسیداسیون-احیا (GO:0055114) و پاسخ سلولی به کمبود اکسیژن (GO:0071456) نقش دارد. نتایج مطالعات نشان داده است که در زمان آلودگی قارچی در گیاه، ایندول-۳- γ متیل گلوکوزینولات توسط *CYP81F2* فعال می‌شود، تا دفاعی با طیف وسیع در برابر قارچ‌ها ایجاد کند. این‌که چگونه این ماده

⁹. Metal ion transport

¹⁰. Cellular transition metal ion homeostasis

بیوسنتز می‌شود و به محافظت از سلول‌های اپیدرمی در برابر قارچ‌ها کمک می‌کند، ناشناخته است. با آلودگی گیاه آنزیم CYP83B1 در سلول‌های اپیدرمی ایجاد می‌شود. در واقع سنتز اپیدرمی ایندول-3-Y متیل گلوکوزینولات به واسطه CYP81F2 به پاسخ ایمنی در برابر عوامل آلوده کننده کمک می‌کند (Hunziker et al. 2020). همچنین مشخص شده است که این ژن در پاسخ به کمبود اکسیژن نقش مهمی دارد. القای شرایط بی‌هوازی سبب القای CYP81F2 می‌شود (Yang et al. 2011). این ژن همچنین در پاسخ دفاعی به تجمع کالوس در شرایط تنش نقش مهمی برعهده دارد (Clay et al. 2009). ژن Phospholipase A 2A (PLA2A) در سطوح ۳، ۱۲ و ۲۴ ساعت پس از تنش اسمزی بیان معناداری داشت و افزایش ساعات تنش سبب افزایش بیان آن شد (شکل ۵). آنالیز غنی سازی ژن‌ها نشان داد که این ژن در فرآیندهای متابولیسم لیپید (GO:0006629)، مرگ سلولی (GO:0008219)، پاسخ فوق حساسیت گیاه (GO:0009626)، فرآیندهای کاتابولیسم لیپید (GO:0016042) و اکسی لیپین^{۱۱} (GO:0031408) نقش دارد. مشخص شده است که در شرایط تنش ژن PLA2A سبب مرگ سلولی بافت شده و به عنوان ژن تنظیم کننده منفی علیه قارچ‌ها و باکتری‌ها ایفا می‌کند. همچنین این ژن در پاسخ به ویروس سبب القای واکنش فوق حساسیت در گیاه می‌شود و از این طریق سبب کاهش اثرات ناشی از تنش می‌گردد (Camera et al. 2009). پاسخ فوق حساسیت (HR) نوعی مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی (PCD) است که در محل آسیب، معمولاً با سنتز ترکیبات ضد میکروبی، تقویت دیواره‌های سلولی، فعال شدن چندین ژن دفاعی، تولید ROS، تغییر در شار یون و فسفوریلاسیون پروتئین همراه است. HR با فعال شدن یک مقاومت طولانی مدت و با مقاومت اکتسابی سیستمی (SAR) ایجاد می‌شود. این مقاومت با افزایش سطح SA و بیان ژن‌های PR در بافت‌های سیستمیک اتفاق می‌افتد (Dutta et al. 2020). ژن PLA2A توسط تنش‌های محیطی مختلف افزایش می‌یابد. این خانواده ژنی شامل نه عضو است که دو مورد از آن‌ها (PLP2 و PLP7) به شدت در برگ‌هایی که با عوامل بیماری‌زای قارچی و باکتریایی آلوده شده است، ایجاد می‌شود. تجمع پروتئین PLP2 در پاسخ به عفونت‌های قارچی به سیگنال‌دهی JA و اتیلین وابسته بوده، اما به SA وابسته نیست. PLP2 مرگ سلول‌های گیاهی ناشی از قارچ‌ها را تقویت می‌کند (La Camera et al. 2005). PLP2 یک هیدرولاز لیپیدی سینتوپلاسمی را کد می‌کند. هیدرولیز لیپید یکی از ویژگی‌های مهم پاسخ به تنش گیاهان در دوره رشد گیاه است که سبب تولید مشتقاتی با اثرات بیولوژیکی مختلف می‌شود. برخی از این مشتقات مرگ سلولی را گسترش می‌دهند، که نشانه بارز دفاع ضد میکروبی است. در حالی که برخی دیگر مانع مرگ سلولی و محافظت از بافت‌های سلولی می‌شوند. این مشتقات فعالیت ضد حشرات یا ضد میکروبی قوی نشان می‌دهند و تجمع آنها احتمالاً بر برخی از فعل و انفعالات گیاه اثر بسزایی دارد. تولید بیش از حد اسیدهای چرب آزاد، ساختار غشا را مختل می‌کنند. بنابراین سطح آنها باید به شدت کنترل شود و در صورتی که مورد نیاز هستند افزایش یابد. مکانیسم‌های فیزیولوژیکی هیدرولیز لیپید در گیاهان به خوبی شناسایی نشده است (La Camera et al. 2005; Légeret et al. 2016);

¹¹. Oxylin

Gao et al. 2021). ژن *MRH10_18* (*Phytochelatase 1 (PCS1)*) در تمامی ساعات تنش دارای بیان معناداری بود. میزان بیان این ژن در ۲۴ ساعت پس از تنش بیش‌تر از سایر ساعات تنش بود (شکل ۵). بررسی فرآیندهای مولکولی نشان داد که این ژن در واکنش به یون فلزی (GO:0010038)، انتقال آرسنیت (GO:0015700)، فرآیند کاتابولیک ایندول گلوکوزینولات (GO:0042344)، پاسخ دفاعی به باکتری (GO:0042742)، پاسخ به ماده حاوی آرسنیک (GO:0046685)، پاسخ به یون کادمیوم (GO:0046686)، فرآیند بیوسنتز فیتوکلاتین (GO:0046938) و پاسخ دفاعی بوسیله رسوب کالوز در دیواره سلولی (GO:0052544) نقش بسزایی دارد. فیتوکلاتین‌ها پپتیدهای مشتق شده از گلوکاتینون هستند که سبب زدایی فلزات سنگین و متالوئیدها مانند آرسنیک می‌شوند. واکوئل‌های گیاهی به عنوان ذخایر سم‌زدایی نهایی برای فلزات سنگین و آرسنیک عمل می‌کنند (Song et al. 2010). ژن *MRH10_18* در سیگنالینگ ایمنی گیاهان نقش دارد. جهش در این ژن سبب عدم تنظیم سیگنالینگ ایمنی و کاهش مقاومت گیاه در برابر تنش‌ها شد. این ژن در سیتوسول و غشای پلاسمایی حضور دارد و سبب ایجاد ایمنی در برابر تنش‌های محیطی می‌شود (Holmes et al. 2021). همچنین این ژن به کادمیوم نیز پاسخ می‌دهد. گیاهان از طریق القای فیتوکلاتین‌ها به تنش‌های فلزات سنگین پاسخ می‌دهند. جهش در ژن *MRH10_18* سبب شد که گیاهان توانایی خود را در تشکیل کمپلکس‌های پپتیدی کادمیومی و تجمع فیتوکلاتین‌ها از دست بدهند (Howden et al. 1995). یکی دیگر از ژن‌های کلیدی که در همه ساعات تنش به طور معناداری بیان شد، ژن *AT2G25735* بود. این ژن در ۱/۵ ساعت پس از تنش بیان معناداری داشت. در ۳ ساعت پس از تنش اسمزی بیان آن کمی کاهش و مجدداً در ۱۲ ساعت پس از تنش افزایش یافت و سپس با افزایش مدت زمان تنش به ۲۴ ساعت، بیان آن افزایش یافت (شکل ۵). این ژن در شرایط تنش اسمزی نسبت به شرایط عادی افزایش بیان معناداری نشان داد و برهمکنش پروتئینی زیادی با سایر ژن‌های کلیدی داشت (شکل ۴). در آنالیز شبکه پروتئینی نیز یکی از ژن‌های بسیار مهم در تمامی ساعات تنش بود و به همین دلیل به عنوان یکی از ژن‌های کلیدی معرفی شد. اطلاعات زیادی در مورد این ژن و فرآیندهای بیولوژیکی آن وجود ندارد. در مطالعه‌ای مشخص شد که این ژن در پاسخ به کمبود اکسیژن نقش دارد (Lee and Bailey-Serres 2019). احتمالاً این ژن در فرآیندهای بیولوژیکی مرتبط با تنش‌های محیطی که سبب ایجاد تنش اسمزی می‌شوند، موثر است. با توجه به موقعیت این ژن در شبکه ژنی و بیان معنادار در تمامی ساعات تنش اسمزی، این ژن پتانسیل تبدیل به یک ژن پاسخ دهنده به تنش اسمزی را دارد و نیازمند مطالعات بیش‌تری است.

نتیجه‌گیری: ژن‌های زیادی در شرایط تنش اسمزی نقش دارند که می‌توانند در ساعات مختلف اعمال تنش به طور

معناداری بیان شوند. ژن‌های *SDA1*، *CRK11*، *CYP81F2*، *EDA39*، *PLA2A*، *T1K7_24*، *F6N7_24*، *MRH10_18* و *AT2G25735* از میان مهم‌ترین ژن‌های موثر در ساعات مختلف تنش اسمزی گزینش و به عنوان ژن‌های کلیدی بسیار موثر در تنش اسمزی گزارش شدند. نتایج نشان داد که این ژن‌های کلیدی در سایر فرآیندهای مولکولی که مرتبط با

پاسخ گیاه به محرک‌های خارجی و تنش‌های محیطی هستند، نقش بسزایی دارند و شبکه پیچیده‌ای از مکانیسم‌های پاسخ دهنده به شرایط محیطی را ایجاد می‌کنند. تنش‌های محیطی مانند خشکی، شوری و یخ زدگی همگی باعث کمبود آب در گیاهان شده و می‌توانند تنش اسمزی را در گیاه ایجاد کنند. بنابراین بسیاری از این ژن‌ها در انواع تنش‌های محیطی می‌توانند نقش مهمی ایفا کنند. شناسایی ژن‌های پاسخ دهنده به تنش در گیاهان مدل و بررسی نقش آن‌ها در فرآیندهای مولکولی، می‌تواند درک جامعی از نحوه بیان ژن‌ها در شرایط تنش در گیاهان زراعی ارائه دهد. به نظر می‌رسد از ژن‌های کلیدی معرفی شده در این پژوهش می‌توان در راستای به‌نژادی گیاهان زراعی در شرایط تنش‌های محیطی همچون خشکی، شوری، یخ زدگی و غیره که سبب تنش اسمزی در گیاهان زراعی می‌شوند، بهره برد.

سپاسگزاری: نگارندگان بر خود لازم می‌دانند از زحمات هیات محترم تحریریه مجله و همچنین دقت نظر

داوران ارجمند به خاطر مطالعه متن مقاله حاضر و ارائه نظرهای ارزشمند سپاسگزاری نمایند.

References

- Appel HM, Maqbool SB, Raina S et al. (2014) Transcriptional and metabolic signatures of Arabidopsis responses to chewing damage by an insect herbivore and bacterial infection and the consequences of their interaction. *J Front Plant Sci* 5, 441.
- Benedetti M, Verrascina I, Pontiggia D et al. (2018) Four Arabidopsis berberine bridge enzyme- like proteins are specific oxidases that inactivate the elicitor- active oligogalacturonides. *Plant J* 94 (2), 260-273.
- Bremer E, Krämer R (2019) Responses of microorganisms to osmotic stress. *J Annu Rev Microbiol* 73, 313-334.
- Camera SL, Balagué C, Göbel C et al. (2009) The Arabidopsis patatin-like protein 2 (PLP2) plays an essential role in cell death execution and differentially affects biosynthesis of oxylipins and resistance to pathogens. *J MPMI* 22 (4), 469-481.
- Clay NK, Adio AM, Denoux C et al. (2009) Glucosinolate metabolites required for an Arabidopsis innate immune response. *J Science* 323 (5910), 95-101.
- Dai C, Lee Y, Lee IC et al. (2018) Calmodulin 1 regulates senescence and ABA response in Arabidopsis. *J Front. Plant Sci.* 9, 803.
- Darko E, Végh B, Khalil R et al. (2019) Metabolic responses of wheat seedlings to osmotic stress induced by various osmolytes under iso-osmotic conditions. *J PLoS One* 14 (12), e0226151.
- David L, Harmon AC, Chen S (2019) Plant immune responses-from guard cells and local responses to systemic defense against bacterial pathogens. *J Plant Signal Behav* 14 (5), e1588667.

- Dutta A, Choudhary P, Gupta-Bouder P et al. (2020) Arabidopsis SMALL DEFENSE-ASSOCIATED PROTEIN 1 Modulates Pathogen Defense and Tolerance to Oxidative Stress. J Front Plant Sci 11, 703.
- Friedel S, Usadel B, Von Wirén N, Sreenivasulu N (2012) Reverse engineering: a key component of systems biology to unravel global abiotic stress cross-talk. J Front Plant Sci 3, 294.
- Gao G, Zhang X, Zhao K et al. (2021) Genome wide identification and expression analysis of patatin-like protein family members in peanut (*Arachis hypogaea* L.). J Reproduction and Breeding 1 (1), 48-54.
- Gupta A, Rico-Medina A, Caño-Delgado AI (2020) The physiology of plant responses to drought. J Science 368 (6488), 266-269.
- Hadizadeh M, Mohammadabadi MR, Niazi A et al. (2013) Use of bioinformatics tools to study exon 2 of GDF9 gene in Tali and Beetal goats. MGJ 8 (334), 283-288.
- Hadizadeh M, Niazi A, Mohammad Abadi M et al. (2014) Bioinformatics analysis of the BMP15 exon 2 in Tali and Beetal goats. MGJ 9 (1), 117-120.
- Holmes DR, Bredow M, Thor K et al. (2021) A novel allele of the Arabidopsis thaliana MACPF protein CAD1 results in deregulated immune signaling. J Genetics 217 (4), iyab022.
- Holmes DR, Bredow M, Thor K et al. (2021) A novel allele of the Arabidopsis thaliana MACPF protein CAD1 results in deregulated immune signaling. J Genetics 217 (4), iyab022.
- Howden R, Andersen CR, Goldsbrough PB, Cobbett CS (1995) A cadmium-sensitive, glutathione-deficient mutant of Arabidopsis thaliana. J Plant Physiol 107 (4), 1067-1073.
- Huibers RP, De Jong M, Dekter RW, Van den Ackerveken G (2009) Disease-specific expression of host genes during downy mildew infection of Arabidopsis. J Mol 22 (9), 1104-1115.
- Hunziker P, Ghareeb H, Wagenknecht L, Crocoll C et al. (2020) De novo indol- 3- ylmethyl glucosinolate biosynthesis, and not long- distance transport, contributes to defence of Arabidopsis against powdery mildew. J Plant Cell Environ 43 (6), 1571-1583.
- Imran QM, Falak N, Hussain A, Mun BG et al. (2016) Nitric oxide responsive heavy metal-associated gene AtHMAD1 contributes to development and disease resistance in Arabidopsis thaliana. J Front Plant Sci 7, 1712.
- Khare T, Srivastav A, Kumar V (2020) Calcium/Calmodulin Activated Protein Kinases in Stress Signaling in Plants. Protein Kinases and Stress Signaling in Plants: Functional

- Genomic Perspective (1st edn). Girdhar K. Pandey (eds). John Willey and Sons, Inc, USA. pp. 266-280.
- La Camera S, Geoffroy P, Samaha H et al. (2005) A pathogen-inducible patatin-like lipid acyl hydrolase facilitates fungal and bacterial host colonization in Arabidopsis. *Plant J* 44 (5), 810-825.
- Lee TA, Bailey-Serres J (2019) Integrative analysis from the epigenome to transcriptome uncovers patterns of dominant nuclear regulation during transient stress. *J Plant Cell* 31 (11), 2573-2595.
- Légeret B, Schulz-Raffelt M, Nguyen H et al. (2016) Lipidomic and transcriptomic analyses of *Chlamydomonas reinhardtii* under heat stress unveil a direct route for the conversion of membrane lipids into storage lipids. *J Plant Cell Environ* 39 (4), 834-847.
- Liu X, Zhang R, Ou H et al. (2018) Comprehensive transcriptome analysis reveals genes in response to water deficit in the leaves of *Saccharum narenga* (Nees ex Steud.) Hack. *J BMC Plant Biol* 18 (1), 1-16.
- Liu Y, Maierhofer T, Rybak K et al. (2019) Anion channel SLAH3 is a regulatory target of chitin receptor-associated kinase PBL27 in microbial stomatal closure. *J Elife* 8, e44474.
- Lv T, Li X, Fan T et al. (2019) The calmodulin-binding protein IQM1 interacts with CATALASE2 to affect pathogen defense. *J Plant Physiol* 181 (3), 1314-1327.
- Mohammadipour SAL, Mohammadabadi M, Asadollahpour Nanaei H et al. (2021) Introducing candidate Genes Associated with the Milk and Wool Production Traits in Sheep. *MGGJ* 16 (2), 281-297.
- Murata Y, Mori IC, Munemasa S (2015) Diverse stomatal signaling and the signal integration mechanism. *J Annu Rev Plant Biol* 66, 369-392.
- Noman M, Aysha J, Ketehouli T et al. (2021) Calmodulin binding transcription activators: An interplay between calcium signalling and plant stress tolerance. *J Plant Physiol* 256, 153327.
- Oliveros JC (2007) VENNY. An interactive tool for comparing lists with Venn Diagrams. <http://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/index.html>.
- Pervaiz T, Liu SW, Uddin S et al. (2021) The Transcriptional Landscape and Hub Genes Associated with Physiological Responses to Drought Stress in *Pinus tabulaeformis*. *Int J Mol Sci* 22 (17), 9604.
- Polle A, Chen SL, Eckert C, Harfouche A (2019) Engineering drought resistance in forest trees. *J Front Plant Sci* 9, 1875.

- Quezada EH, García GX, Arthikala MK et al. (2019) Cysteine-rich receptor-like kinase gene family identification in the Phaseolus genome and comparative analysis of their expression profiles specific to mycorrhizal and rhizobial symbiosis. *J Genes* 10 (1), 59.
- Rehseh R, Cecilia A, Zuber M et al. (2020) Drought-induced xylem embolism limits the recovery of leaf gas exchange in Scots pine. *J Plant Physiol* 184 (2), 852-864.
- Shannon P, Markiel A, Ozier O et al. (2003) Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks. *J Genome Res* 13(11), 2498–2504.
- Song W-Y, Park J, Mendoza-Cózatl DG et al. (2010) Arsenic tolerance in Arabidopsis is mediated by two ABCC-type phytochelatin transporters. *J PNAS* 107 (49), 21187-21192.
- Song Z, Zhang C, Chen L et al. (2021) The Arabidopsis small G- protein AtRAN1 is a positive regulator in chitin- induced stomatal closure and disease resistance. *J Mol Plant Pathol* 22 (1), 92-107.
- Takahashi Y, Zhang J, Hsu P-K et al. (2020) MAP3Kinase-dependent SnRK2-kinase activation is required for abscisic acid signal transduction and rapid osmotic stress response. *J Nat Commun* 11 (1), 1-12.
- Wang Z, Li G, Sun H et al. (2018) Effects of drought stress on photosynthesis and photosynthetic electron transport chain in young apple tree leaves. *J Biol* 7 (11), bio035279.
- Yadeta KA, Elmore JM, Creer AY et al. (2017) A cysteine-rich protein kinase associates with a membrane immune complex and the cysteine residues are required for cell death. *J Plant Physiol* 173 (1), 771-787.
- Yang C-Y, Hsu F-C, Li J-P et al. (2011) The AP2/ERF transcription factor AtERF73/HRE1 modulates ethylene responses during hypoxia in Arabidopsis. *J Plant Physiol* 156 (1), 202-212.
- Zenes N, Kerr KL, Trugman AT, Anderegg WR (2020) Competition and drought alter optimal stomatal strategy in tree seedlings. *J Front Plant Sci* 11, 478
- Zhou YP, Duan J, Fujibe T, Yamamoto KT, Tian CE (2012) AtIQM1, a novel calmodulin-binding protein, is involved in stomatal movement in Arabidopsis. *J Plant Mol Biol* 79 (4-5), 333-346.