Sari Agriculture Sciences and Natural Resources University

Journal of Crop Breeding Vol. 17, Issue 1, 2025 p: 50-62

OPEN ACCESS

Research paper

Identification of Gene Pathways Involved in Tolerance to End-of-Season Drought Stress in the Dayton/Ranney Barley Genotype using Transcriptomics

Saeedeh Alidoust[1], Sara Dezhsetan[2] and Mahdi Behnamian[3]

1- Ph.D. Student of Agricultural Biotechnology, Department of Plant Production & Genetics, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
2- Associate Professor, Department of Plant Production & Genetics, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran (Corresponding Author: sdezhsetan@uma.ac.ir)
3- Associate Professor, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

Received: 02 June, 2024 Revised: 10 July, 2024 Accepted: 29 September, 2024

Extended Abstract

Background: The expression of genes changes under the influence of different developmental stages and various environmental factors. Drought stress at the flowering and seed-filling stage, which is known as end-of-season drought stress, can lead to a sharp decrease in yield or complete failure of crop production. Genetic analysis of drought resistance in the reproductive stage is necessary to understand the mechanism of plant response to drought conditions in the face of the challenges of maintaining food security. Assessment of the transcript profile of genes in different tissues and developmental stages under different conditions of environmental stress can provide insight into the molecular mechanisms and plants' reactions to stress. Barley is known as a model plant for deciphering the mechanisms of drought tolerance, and the study of molecular mechanisms of barley is important for breeding crops because it can tolerate water limitations at the flowering and grain-filling stages. This research aimed to identify differentially expressed genes in barley under end-of-season drought stress using the RNA-Seq technique. Based on the study of Amini et al. on 13 genotypes of spring two-row barley under drought stress, the Dayton/Ranney genotype (modified by ICARDA) was identified as a drought-tolerant genotype. Thus, they were used in this study to investigate the gene expression profile of barley under end-of-season drought stress.

Methods: The Dayton/Ranney spring barley genotype was subjected to drought stress treatment (70% available water depletion) at the stage of flag leaf emergence. Total RNA was extracted from the leaves of the control and drought-treated plants, followed by qualifying the extracted RNA. After sequencing and analyzing, the expression profiles of differentially expressed genes were obtained under end-of-season drought stress. Moreover, the differentially expressed genes were functionally investigated using gene ontology enrichment analysis. The binding site of transcription factors in the promoter sequence of differentially expressed genes was identified using PlantPAN 3.0 online software, and the frequency of binding sites was reported as a percentage of all identified sites.

Results: Under end-of-season drought stress, 2920 and 2290 genes showed significant increases and decreases in expression, respectively, in barley plants. The identified genes were involved in the processes of photosynthesis, carbohydrate and lipid metabolism, regulatory processes, response to abiotic stimuli and stress, seed development, and maturation. Based on gene ontology analysis, these genes were involved in the metabolic and biosynthetic processes of carboxylic acid, sucrose, and glucan cellular metabolism, proteolysis, phosphorylation, RNA metabolism and biosynthesis, and serine family amino acid metabolism. Among the genes with the highest increase in expression under drought stress are the family of abundant proteins in late embryogenesis, a phenylpropanoid pathway gene called anthranilate N-benzoyltransferase protein 1, the xyloglucan-endotrans-glucosylate/hydrolase gene, protein serine/threonine-phosphatase, a mitochondrial arginine transporter, an endonuclease gene, laccase enzyme, and several transcription factors. Besides, the genes that showed the most significant decrease in expression under drought stress include an L-type lectin-containing receptor kinase (Hv-LecRK), a ribonuclease III-like gene, the HEC1-like transcription factor, methyljasmonate II -inducible lipoxygenase, glucan endo-1,3-beta-glucosidase GIII, PIP2;5 aquaporin, 70-kDa heat shock protein (HSP70), and an aspartic proteinase nepenthesin-1 gene. Moreover, two unknown genes 2HG0195510 and 4HG0389440 showed significant increases in expression. These genes are involved in the metabolic and biosynthetic processes of carboxylic acid, response to abiotic

Copyright ©2025 Alidoust et al. Published by Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University.
This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 Unported License which allows users to read, copy, distribute and make derivative works for non-commercial purposes from the material, as long as the author of the original work is cited properly.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-04-30]

[DOI: 10.61186/jcb.17.1.50]

stimuli and stress, response to endogenous stimuli, proteolysis, phosphorylation, RNA metabolism and biosynthesis, the protein metabolic process, and serine family amino acid metabolism and transport. At the level of molecular function, the groups of catalytic activity and connection assigned the largest number of genes to themselves for all the genes with differential expression. Other molecular functions identified for genes responsive to drought stress include protein binding, nucleotide binding, transport activity, DNA binding, transferase, kinase, hydrolase, and pyrophosphatase activity. In addition, these increased genes expressed specifically had the functions of message transmission, transcription factor, enzyme regulation, molecular transport, and receptor activities. The binding positions of transcription factors in genes with differential expression were classified into 64 families. The highest percentage of binding sites in the up-expressed genes belongs to ERF/AP2 transcription factors, followed by the most abundant binding sites belonging to the transcription factor family of bZIP, bHLH, DOF, and GATA. Furthermore, the most abundant binding sites in the down-expressed genes included AP2/ERF, BES1, EIL, TCP, Myb/SANT, GATA, and DOF.

Conclusion: By evaluating the gene expression under end-of-season drought stress, aspects of the resistance mechanism of barley to drought stress were identified that are related to the metabolic and biosynthetic activities of the plant in the reproductive stage. The results show that diverse and complex gene networks play a role in the response of the barley plant to end-of-season drought stress, which mainly decreased the biological processes related to photosynthesis and the production of precursor metabolites and increased the metabolic processes. Additionally, the response process to the stimulus was observed in both sets of increased and decreased expressed genes.

Keywords: Drought Resistance Mechanisms, Gene Expression Profile, Gene ontology, RNA-Seq analysis

How to Cite This Article: Alidoust, S., Dezhestan, S., & Behnamian, M. (2025). Identification of Gene Pathways Involved in Tolerance to End-of-Season Drought Stress in the Dayton/Ranney Barley Genotype using Transcriptomics. *J Crop Breed,* 17(1), 50-62. DOI: 10.61186/jcb.17.1.50

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-04-30]

[DOI: 10.61186/jcb.17.1.50]

مقاله پژوهشی

شناسایی مسیرهای ژنی دخیل در تحمل تنش خشکی انتهای فصل در ژنوتیپ جو Dayton/ Ranney با استفاده از ترنسکریپتومیکس

سعیده علیدوست[۱]، سارا دژستان[۲] و مهدی بهنامیان[۳]

۱- دانشجوی دکتری بیوتکنولوژی کشاورزی، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
۲- دانشیار، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران، (نویسنده مسوول: sdezhsetan@uma.ac.ir)
۳- دانشیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۳/۱۳ تاریخ ویرایش: ۱۴۰۳/۰۴/۲۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۷/۰۸
صفحه: ۵۰ تا ۶۲

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: بیان ژن‌ها تحت تاثیر مراحل مختلف رشدی و عوامل مختلف محیطی متغییر است. تنش خشکی در مرحلهٔ گل‌دهی و پرشدن دانه که به‌عنوان تنش خشکی پایان فصل شناخته می‌شود، می‌تواند منجر به کاهش شدید عملکرد یا شکست کامل تولید محصول شود. تجزیه و تحلیل ژنتیکی مقاومت به خشکی در مرحلهٔ زایشی به‌منظور درک مکانیسم واکنش گیاه به شرایط خشکی در مواجهه با چالش‌های حفظ امنیت غذایی ضروری است. بررسی پروفایل رونوشت ژن‌ها در بافت‌ها و مراحل مختلف رشدی تحت شرایط مختلف تنش‌های محیطی می‌تواند بینشی در مورد مکانیسم‌های مولکولی و نحوه‌ی واکنش گیاهان به تنش ارائه دهد. جو به‌عنوان یک گیاه مدل برای رمزگشایی مکانیسم‌های تحمل به خشکی شناخته شده است و مطالعه مکانیسم‌های مولکولی جو برای اصلاح محصولات مهم است، زیرا توانایی تحمل محدودیت‌های آبی در مراحل گلدهی و پر شدن دانه را دارد. هدف این پژوهش شناسایی ژن‌های دارای بیان افتراقی تحت تنش خشکی پایان فصل در گیاه جو با استفاده از تکنیک RNA-Seq بود. براساس مطالعه‌ی امینی و همکاران روی ۱۳ ژنوتیپ جو دو ردیفه‌ی بهاره تحت تنش خشکی، ژنوتیپ Dayton/ Ranney (اصلاح شده توسط ICARDA) به‌عنوان یک ژنوتیپ متحمل به خشکی شناسایی شد و در این مطالعه برای بررسی پروفایل بیان ژن گیاه جو تحت تنش خشکی انتهای فصل استفاده شد.

مواد و روش‌ها: ژنوتیپ جو بهاره Dayton/ Ranney در مرحلهٔ ظهور برگ پرچم در معرض تیمار تنش خشکی ۷۰ درصد تخلیهٔ آب در دسترس قرار گرفت. RNA کل از برگ‌های گیاهان شاهد و تنش دیده استخراج و کیفیت RNA استخراج شده بررسی شد. پس از توالی‌یابی، آنالیز انجام شد و الگوی بیان ژن‌های دارای بیان افتراقی تحت تنش خشکی پایان فصل به‌دست آمد. همچنین، ژن‌های دارای بیان افتراقی، از نظر عملکردی با استفاده از آنالیز غنی‌سازی ژن بررسی شدند. محل اتصال عوامل رونویسی در توالی راه‌انداز ژن‌های دارای بیان افتراقی با استفاده نرم‌افزار آنلاین PlantPAN 3.0 شناسایی و فراوانی جایگاه‌های اتصال به‌صورت درصدی از کل جایگاه‌های شناسایی شده گزارش شد.

یافته‌ها: تحت تنش خشکی انتهای فصل، در گیاه جو ۲۹۲۰ ژن افزایش بیان و ۲۲۸۹ ژن کاهش بیان معنی‌دار نشان دادند. ژن‌های شناسایی شده در فرایندهای فتوسنتز، متابولیسم کربوهیدرات و لیپیدها، فرایندهای تنظیمی، پاسخ به محرک‌های غیرزیستی و تنش، نمو و بلوغ بذر دخیل بودند. همچنین، براساس آنالیز هستی‌شناسی ژن، این ژن‌ها در فرایندهای متابولیکی و بیوسنتزی اسید کربوکسیلیک، متابولیسم ساکارز و گلوکان سلولی، پروتئولیز، فسفوریلاسیون، متابولیسم و بیوسنتز RNA و متابولیسم اسیدآمینه خانوادهٔ سرین نقش داشتند. از ژن‌های با بالاترین افزایش بیان تحت تنش خشکی می‌توان به خانوادهٔ پروتئین‌های تجمعی در اواخر جنین‌زایی، یک ژن مسیر فنیل پروپانوئید به‌نام آنترانیلات-N-بنزوئیل ترانسفراز ۱، ژن زایلوگلوکان لندوترانس گلوکوزیلات/هیدرولاز، پروتئین سرین/ترئونین فسفاتاز، یک ناقل میتوکندریایی آرژینین، یک ژن اندونوکلئاز، آنزیم لاکاز و چندین عامل رونویسی اشاره نمود. همچنین ژن‌هایی که بیشترین کاهش بیان معنی‌داری را تحت تنش خشکی نشان دادند شامل یک کیناز گیرنده حاوی دامنهٔ لکتین نوع L (Hv-LecRK)، یک ژن شبه-ریبونوکلئاز ۳، عامل رونویسی HEC1-like، لیپواکسیژناز القاشونده با متیل جاسمونات II، گلوکان اندو-۳،۱-بتا-گلوکوزیداز GIII، آکواپورین PIP2-5، پروتئین ۷۰ کیلو دالتونی شوک حرارتی و ژن آسپارتیک پروتئیناز نپنتزین-۱ بود. همچنین، دو ژن ناشناخته 2HG0195510 و 4HG0389440 افزایش بیان قابل ملاحظه‌ای را نشان دادند. این ژن‌ها در فرایندهای متابولیکی و بیوسنتزی اسید کربوکسیلیک، پاسخ به محرک‌های غیرزیستی و تنش، پاسخ به محرک‌های درون‌زا، پروتئولیز، فسفوریلاسیون، متابولیسم و بیوسنتز RNA، فرایند متابولیک پروتئین، متابولیسم اسیدآمینه خانوادهٔ سرین و حمل و نقل نقش داشتند. همچنین در سطح عملکرد مولکولی، برای کلیه ژن‌های دارای بیان افتراقی، گروه‌های فعالیت کلتالیزوری و اتصال، بیشترین تعداد ژن را به‌خود اختصاص دادند. سایر عملکردهای مولکولی شناسایی شده برای ژن‌های پاسخگو به تنش خشکی شامل اتصال به پروتئین، اتصال به نوکلئوتیدی، فعالیت حمل و نقل، اتصال به DNA، فعالیت ترانسفراز، کیناز، هیدرولاز و پیروفسفاتاز می‌باشد. علاوه براین، ژن‌های افزایش بیان یافته به‌طور خاص دارای عملکردهای انتقال پیام، عامل رونویسی، تنظیم آنزیم، انتقال مولکولی و فعالیت گیرنده بودند. جایگاه‌های اتصال عوامل رونویسی شناسایی شده در ژن‌های دارای بیان افتراقی به ۶۴ خانواده طبقه‌بندی شدند. بیشترین درصد جایگاه‌های اتصال در ژن‌های افزایش بیان یافته متعلق به عوامل رونویسی AP2/ERF و پس از آن فراوان‌ترین جایگاه‌های اتصال متعلق به خانواده‌های عوامل رونویسی bZIP، bHLH، DOF و GATA بود. همچنین فراوان‌ترین جایگاه‌های اتصال در ژن‌های کاهش بیان‌یافته شامل AP2/ERF، BES1 ، EIL، TCP، Myb/SANT، GATA و DOF بود.

نتیجه‌گیری: با بررسی بیان ژن تحت تنش خشکی پایان فصل جنبه‌هایی از مکانیسم مقاومت گیاه جو به تنش خشکی که با فعالیت‌های متابولیکی و بیوسنتزی گیاه در مرحلهٔ زایشی مرتبط است شناسایی شد. نتایج نشان داد که شبکه‌های ژنی متنوع و پیچیده‌ای در پاسخ گیاه جو به تنش خشکی انتهای فصل نقش داشتند و عمدتاً فرایندهای زیستی مرتبط با فتوسنتز و تولید متابولیت‌های پیش‌ساز و انرژی کاهش و فرایندهای متابولیکی افزایش یافت. همچنین فرایند پاسخ به محرک در هر دو مجموعه از ژن‌های افزایش و کاهش بیان یافته، مشاهده شد.

واژه‌های کلیدی: مکانیسم‌های مقاومت به خشکی، آنالیز RNA-Seq، الگوی بیان ژن، هستی‌شناسی ژن

مقدمه

امنیت غذایی و بهره‌وری بخش کشاورزی در سراسر جهان با چالش‌های مختلفی مواجه است. یکی از مهم‌ترین چالش‌هایی که عملکرد گیاهان زراعی را تحت تأثیر قرار می‌دهد تنش خشکی است. به تنش خشکی در مرحلهٔ گل‌دهی و پرشدن دانه تنش خشکی انتهای فصل گفته می‌شود. تنش خشکی در مرحلهٔ زایشی زیان‌بار تر است و وقوع خشکی در این مرحله می‌تواند منجر به کاهش شدید عملکرد یا شکست کامل تولید محصول شود (Hussain *et al.*, 2018). کاهش تخصیص زیست‌توده به اندام‌های تولیدمثلی، تضعیف ظرفیت

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-04-30]
[DOI: 10.61186/jcb.17.1.50]

آنتی‌اکسیدانی و کاهش وزن دانه از اثرات تنش خشکی طولانی‌مدت است (Du *et al.*, 2020). بر همین اساس، تجزیه و تحلیل ژنتیکی مقاومت به خشکی در مرحلهٔ زایشی و درک مکانیسم واکنش گیاه به شرایط خشکی ضروری است. بررسی پروفایل رونوشت ژن‌ها در بافت‌ها و مراحل مختلف رشدی تحت شرایط مختلف تنش‌های محیطی می‌تواند بینشی در مورد مکانیسم‌های مولکولی و نحوه‌ی واکنش گیاهان به تنش ارائه دهد.

خشکی رشد طبیعی و روابط آبی را مختل می‌کند و کارایی مصرف آب را در گیاهان کاهش می‌دهد. با این‌حال، گیاهان دارای پاسخ‌های متنوعی در سطوح مولکولی، بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی برای مقاومت به خشکی هستند (Aroca, 2012; Fracasso *et al.*, 2016). مکانیسم‌های مقاومت به خشکی در گیاهان شامل فرار از خشکی از طریق چرخه‌ی عمر کوتاه یا انعطاف‌پذیری نموی، اجتناب از خشکی از طریق افزایش جذب آب و کاهش اتلاف آب، تحمل به خشکی از طریق تنظیم اسمزی، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و تحمل خشکی است (Yue *et al.*, 2006). پاسخ به تنش خشکی شامل مسیرهای پیام‌رسانی بسیار پیچیده و متنوعی است. محصولات ژن‌های ناشی از تنش هم در پاسخ تنش اولیه و هم در ایجاد تحمل به تنش گیاه عمل می‌کنند (Shinozaki & Yamaguchi-Shinozaki, 2007).

تعدادی از ژن‌های مطالعه شده در خصوص تنش خشکی شامل ژن‌های تنظیم‌کننده رونویسی، اتصال به RNA، فعالیت کیناز و پیام‌رسانی کلسیم و اسید آبسیزیک با تأثیر بر بسته شدن روزنه است. سایر ژن‌های مؤثر در سازگاری با شرایط خشکی، در تنظیم دیواره، رسوب موم در کوتیکول، لیگنینی شدن، تنظیم اسمزی، هومئوستازی اکسیداسیون_احیا، محافظت از کم‌آبی و پیری ناشی از تنش خشکی نقش دارند (Krugman *et al.*, 2011).

برای گونه‌های زراعی مانند جو که در مناطق خشک و نیمه‌خشک رشد می‌کنند، تنش انتهای فصل در طول دورهٔ پرشدن دانه مانعی برای تولید محصول است و می‌تواند باعث نوسانات شدید در عملکرد دانه و کاهش قابل‌توجه عملکرد شود. بررسی تفاوت‌های ظریف در بیان ژن‌ها در پاسخ به تنش خشکی امکان شناسایی ژن‌های مرتبط با تحمل به خشکی را فراهم می‌کند. مطالعات ترانسکریپتومی بر پایه RNA-Seq به‌عنوان ابزاری قدرتمند در مطالعات بررسی پروفایل بیان ژن در تنش‌های زیستی و غیرزیستی در گیاهان کاربرد دارد.

جو (*Hordeum vulgare L.*, 2n = 2× = 14) چهارمین غلهٔ مهم در جهان است (Gorny, 2001) و به‌دلیل داشتن تنوع ژنومی بالا و ویژگی‌های فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی منحصر به‌فرد، مدل مناسبی برای مطالعهٔ سازگاری با تنش‌های غیرزیستی است (Hackenberg *et al.*, 2015). در مطالعهٔ امینی و همکاران (Amini *et al.*, 2018; Amini *et al.*, 2020) ۱۳ ژنوتیپ جوی دو ردیفه بهارهٔ دیم از نظر تحمل به تنش خشکی بر اساس عملکرد دانه، اجزای عملکرد دانه و شاخص‌های تحمل به خشکی مورد ارزیابی قرار گرفتند. با در نظر گرفتن تمامی صفات، دو ژنوتیپ ۷۱۹۳۸، ۱-۷۲۵۶۶ و دو رقم آبیدر و Dayton/ Ranney به‌عنوان ارقام متحمل به خشکی شناسایی شدند که بیشترین عملکرد را در شرایط آبیاری کامل و تیمار تنش خشکی داشتند. به‌منظور شناسایی ژن‌ها و مسیرهای دخیل در تحمل تنش خشکی انتهای فصل، پروفایل بیان ژنی ژنوتیپ Dayton/ Ranney (رقم اصلاح‌شده توسط ICARDA) تحت تنش خشکی انتهای فصل با استفاده از روش توالی‌یابی mRNA با توان عملیاتی بالا (RNA-seq) مورد بررسی بیشتر قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و شرایط رشد

ژنوتیپ Dayton/ Ranney تحت شرایط کنترل و تنش خشکی ۷۰ درصد تخلیهٔ آب در دسترس ارزیابی شد. بذور جو در گلدان‌های پلاستیکی به قطر ۲۰ سانتی‌متر و ارتفاع ۵۰ سانتی‌متر و مخلوطی از خاک لومی، ماسه و کود (۴:۲:۱) کاشته شدند. در زمان ظهور برگ پرچم در ۹۰ درصد گیاهان، تیمار تنش خشکی ۷۰ درصد تخلیهٔ آب در دسترس برای نیمی از گلدان‌ها (تیمار تنش) اعمال شد. رطوبت خاک با استفاده از رطوبت‌سنج TDR (Field Scout TDR 150) اندازه‌گیری و ۵ روز پس از شروع اعمال تنش خشکی روی گیاه جو، بافت‌های برگی از ۵ بوته در هر تکرار (سه تکرار) شاهد و تنش جمع‌آوری و به‌عنوان یک نمونه ادغام شدند. نمونه‌ها بلافاصله در ازت مایع منجمد و در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد برای آنالیزهای مولکولی نگه‌داری شدند.

استخراج RNA، ساخت کتابخانه و توالی‌یابی

۲۵ تا ۸۰ میلی‌گرم از نمونه‌های فریز شده با استفاده از ازت مایع و هاون به‌طور کامل پودر شد. استخراج RNA کل با استفاده از کیت GeneX براساس دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد. به‌منظور اطمینان از صحت استخراج انجام شده نمونه‌ها به‌وسیله دستگاه نانودراپ تعیین غلظت شدند. RNA استخراج شده به درون میکروتیوب‌هایی با قابلیت حفظ RNA از شرکت GeneTegra منتقل و جهت پایداری بیشتر نمونه‌ها، فرایند خشک کردن انجمادی روی آن‌ها انجام شد. ساخت کتابخانهٔ cDNA و توالی‌یابی mRNA توسط شرکت Novogene با استفاده از پلتفرم Illumina با مشخصات خوانش دو طرفه، طول خوانش ۱۵۰جفت بازی و حجم دادهٔ ۶ گیگابایت انجام شد.

کنترل کیفیت استخراج RNA و ارزیابی داده‌ها

ارزیابی شاخص کیفیت RNA (RIN) با استفاده از دستگاه بیوآنالایزر انجام شد. پس از توالی‌یابی mRNA، کیفیت توالی‌ها با استفاده از FastQC تأیید شد (http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/ projects/fastqc/). خوانش‌های خام برش داده شدند تا توالی‌های با کیفیت پایین و دارای نوکلئوتیدهای مبهم حذف شوند. قرائت‌های تمیز از هر مجموعه داده با ژنوم مرجع رقم Morex جو (پایگاه داده https://plants.ensembl.org/Hordeum_vulgare/) هم‌ردیف شدند. تجزیه و تحلیل رونوشت‌های دارای بیان افتراقی براساس داده‌های مکان‌یابی شده ژنومی انجام شد.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-04-30]

[DOI: 10.61186/jcb.17.1.50]

تهیه پروفایل بیانی و تجزیه و تحلیل بیان افتراقی ژن‌ها با استفاده از نرم‌افزار CLC Genomic Workbench نسخهٔ ۲۱ (CLC Bio, Qiagen) انجام شد. آستانهٔ (cutoff) FDR<0.05 و log2FoldChange حداقل ۲ برابر برای شناسایی ژن‌های بیان شده افتراقی لحاظ شد.

آنالیز غنی‌سازی عملکردی ژن‌های دارای بیان افتراقی

آنالیز آنتولوژی (هستی‌شناسی) ژن برای توالی‌های دارای بیان افتراقی با استفاده از سایت agriGO انجام شد. به‌دلیل اینکه حاشیه‌نویسی دقیقی برای بسیاری از ژن‌های ژنوم جو در دسترس نیست، ابتدا ژن‌های ارتولوگ‌های گندم برای ژن‌های جو دارای بیان افتراقی از بخش Biomart سایت Ensemble Plants (https://plants.ensembl.org/biomart/martview) به‌دست آمد. سپس از آنها برای شناسایی عملکرد ژن تحت آنالیز غنی‌سازی منفرد (Singular enrichment analysi: SEA) در سایت agriGO استفاده شد.

شناسایی جایگاه اتصال عوامل رونویسی

توالی‌های ژنومی (۱۵۰۰ جفت باز بالادست) ژن‌های افزایش و کاهش بیان‌یافته از سایت Ensemble Plants (http://plants.ensembl.org/biomart/martview/) استخراج شد. این مجموعه از توالی‌ها از نظر جایگاه‌های اتصال عوامل رونویسی به‌کمک ابزار آنالیز موجود در سایت PlantPAN 3.0 (http://plantpan.itps.ncku.edu.tw/plantpan3/promoter.php) بررسی شدند. فراوانی جایگاه‌های اتصال به‌صورت درصدی از کل جایگاه‌های شناسایی شده گزارش شد (Bhargava *et al.*, 2013).

در نتایج این تحقیق، HORVU.MOREX.r3 از ابتدای نام تمام ژن‌ها حذف شده است.

نتایج و بحث

شناسایی ژن‌های دارای بیان افتراقی تحت تنش خشکی انتهای فصل در گیاه جو

نتایج نشان داد که در برگ گیاه جو ژن‌های زیادی به‌صورت افتراقی تحت تنش انتهای فصل در مقایسه با شرایط کنترل بیان می‌شوند. از میان ژن‌های دارای بیان افتراقی در پاسخ به تنش خشکی ۲۹۲۰ ژن افزایش بیان و ۲۲۸۹ ژن کاهش بیان نشان دادند (جدول پیوست). ژن‌های القا شونده تحت تنش را می‌توان به دو دسته ژن‌های عملکردی و تنظیم‌کننده طبقه‌بندی کرد. ژن‌های رمزگذار پروتئین‌های موردنیاز برای تحمل تنش سلولی، مانند پروتئین‌های LEA، چاپرون‌های مولکولی، آنزیم‌های سم‌زدای گونه‌های فعال اکسیژن یا آنزیم‌های بیوسنتزی پرولین در دستهٔ اول قرار می‌گیرند و ژن‌های رمزگذار پروتئین‌هایی که در انتقال پیام و تنظیم بیان ژن نقش دارند، در دستهٔ دوم قرار می‌گیرند، مانند پروتئین کینازها، اجزای فرایند پیام‌رسانی ABA، آنزیم‌های پیام‌رسانی لیپیدی و عوامل مختلف رونویسی (Yamaguchi-Shinozaki & Shinozaki, 2006). از بین ژن‌های شناسایی شده در این مطالعه که دارای بیشترین بیان تحت تنش خشکی در جو بودند می‌توان به ژن‌های متعلق به خانوادهٔ پروتئین‌های تجمعی در اواخر جنین‌زایی (*LEA*)، ژن‌های مربوط به متابولیسم کربوهیدرات و جابجایی قندها، یک ژن مسیر فنیل پروپانوئید به‌نام آنترانیلات-N-بنزوئیل‌ترانسفراز ۱، ژن زایلوگلوکان اندوترانس گلوکوزیلات/هیدرولاز، پروتئین سرین/ترئونین فسفاتاز، یک ناقل میتوکندریایی آرژینین (*BAC2*)، یک ژن اندونوکلئاز (*Bnuc1*) و چندین عامل رونویسی اشاره نمود. از سایر ژن‌های عملکردی با بیان بسیار بالا در این آزمایش می‌توان به ژن لاکاز (Laccase) اشاره کرد. این ژن یک مالتی-کوپر اکسیداز را رمز می‌کند و می‌تواند اکسیداسیون سوبستراهای مختلف را کاتالیز کند (Mot & Silaghi-Dumitrescu, 2012). برخلاف فعالیت لیگنولیتیک لاکازهای قارچی، لاکازهای گیاهی در پلیمریزاسیون لیگنین نقش دارند (Schuetz *et al.*, 2013). در این پژوهش ۳ ژن لاکاز شناسایی شده است که یکی از آن‌ها تحت تنش خشکی انتهای فصل افزایش بیان بسیار بالا (6HG0614790) و دو ژن دیگر (2HG0158150 و 1HG0008790) افزایش بیان متوسطی را نشان دادند. همچنین براساس بررسی الگوی تفرق بیان ژن، دو ژن جدید و با عملکرد ناشناخته شناسایی شدند که به تنش خشکی انتهای فصل پاسخگو بودند. ژن ناشناخته 2HG0195510 که بیان آن تحت تنش خشکی انتهای فصل به‌شدت افزایش یافت، با جستجو در پایگاه داده‌های Prosite و Uniprot مشخص شد که این ژن دارای دامنهٔ PROKAR_LIPOPROTEIN 1 و ۶۸٪ مشابهت با Hblt14.2 است. Hblt14.2 یک پروتئین انتقال لیپید (LTP) است و توانایی انتقال فسفولیپیدها را بین دهنده و گیرنده در غشای گیاهان دارد. LTPها در تشکیل غشا در سلول‌ها مهم هستند و نقش Hblt14.2 در مقاومت در برابر محیط‌های سخت مانند شرایط سرد شناسایی و افزایش بیان آن برای مقاومت در برابر بیماری زنگ برگ در گندم گزارش شده است (Deng *et al.*, 2012; He & Jia, 2009; Manickavelu *et al.*, 2010).

بر اساس هستی شناسی، ژن 4HG0389440، دارای ۷۱٪ شباهت ساختاری به N-rRNA-گلیکوزیداز گیاه *Oryza barthii* است. براساس نتایج جستجو در پایگاه داده panther (https://www.pantherdb.org) از زیرخانوادهٔ پروتئین OS07G0231800 برنج و دارای بیان دائمی در غنچه‌های گل است و در برگ پیش از زمان گل‌دهی و چند بافت دیگر است. از بین ژن‌هایی که کاهش بیان معناداری را تحت تنش خشکی نشان دادند می‌توان به یک کیناز گیرنده حاوی دامنهٔ لکتین نوع L (Hv-LecRK)، یک ژن شبه ریبونوکلئاز ۳، عامل رونویسی HEC1-like، لیپواکسیژناز القا شونده با متیل جاسمونات II، گلوکان اندو-۳،۱-بتا-گلوکوزیداز GIII، آکواپورین PIP2-5 و پروتئین ۷۰ کیلو دالتونی مربوط به شوک حرارتی (HSP70) اشاره نمود. همچنین بیان ژن آسپارتیک پروتئیناز نپنتزین۱ نیز در پاسخ به تنش خشکی به‌شدت کاهش یافت. آسپارتیک پروتئینازها (AP) به‌طور گسترده در انواع فرایندهای فیزیولوژیکی گیاهان از جمله نمو، مقاومت در برابر تنش و پیری نقش دارند و نقشی اساسی در واکنش گیاهان به خشکی، به‌ویژه در زمان افزایش ROS ایفا می‌کنند (Gou *et al.*, 2020; Marques *et al.*, 2023).

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-04-30]
[DOI: 10.61186/jcb.17.1.50]

نقش ژن نپنتزین۱ در مقاومت در برابر پاتوژن فوزاریوم در گیاه جو نشان داده شده است (Bekalu *et al.*, 2020). در مطالعهٔ پرینسی و همکاران (Prinsi *et al.*, 2018) بر اثر تنش خشکی در تغییرات پروتئوم و متابولوم گیاه انگور، گزارش شده است که پروتئین نپنتزین۱ در یک ژنوتیپ نسبتاً حساس انگور افزایش یافته و در ژنوتیپ متحمل به خشکی این پروتئین تحت تنش خشکی ناپدید شده است.

جدول ۱- ژن‌های برتر افزایش بیان یافته در برگ‌های گیاه جو در پاسخ به تنش خشکی انتهای فصل

Table 1. The top genes expressed in barley leaves in response to terminal drought stress

موقعیت روی کروموزوم Chromosomal Position	کروموزوم Chromosome	حاشیه نویسی ژن Annotation	شناسه ژن GeneID
559007283-559008691	3H	Dhn10	3HG0305460
58427786-58430321	7H	SWEET15-like	7HG0658900
457557579-457558993	1H	GDSL esterase/lipase	1HG0072170
8593105-8594173	5H	LEA3-like	5HG0424060
502855885-502858161	6H	Laccase	6HG0614790
97733451-97739317	2H	SuSy2	2HG0124890
613116808-613117363	2H	—	2HG0195510
446660682-446662086	6H	Putrescine hydroxycinnamoyltransferase 1-like	6HG0604660
606313853-606316585	2H	Xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase	2HG0192890
473115570-473116758	7H	LEA31-like	7HG0711550
32910429-32911843	2H	MYB2-like TF	2HG0110490
479481127-479481755	5H	Anthranilate N-benzoyltransferase protein 1	5HG0491090
505296663-505298216	1H	Protein-serine/threonine phosphatase	1HG0090670
535897883-535899999	2H	Malate synthase	2HG0176940
36485040 -36485600	6H	LEA	6HG0553460
450723326-450724822	3H	Protein kinase domain-containing protein	3HG0282920
126631130-126633287	3H	BAC2 arginine transporter	3HG0247870
610627283-610629516	2H	PPO I	2HG0194630
531670232-531670720	3H	Ubiquitin-like domain-containing protein	3HG0297880
407749531-407750365	7H	—	7HG0702620
631788095-631790531	2H	Endonuclease 4-like (Bnuc1)	2HG0203620
26943992-26945305	2H	Dirigent	2HG0108100
534378587-534379296	6H	Dhn4	6HG0622760
556416749-556418991	2H	Caleosin	2HG0181160
85777176-85777766	1H	Peripheral-type benzodiazepine receptor	1HG0022750
512130403-512132071	5H	11S globulin seed storage protein 2-like	5HG0504040
25065100-25067418	1H	SWEET14-like	1HG0010640
267009294-267015029	1H	Aldehyde oxygenase	1HG0041720

تنش آب در طول دورهٔ پر شدن دانه، با کاهش فتوسنتز باعث پیری زودرس می‌شود و دورهٔ پرشدن دلنه را کوتاه می‌کند (Yang & Zhang, 2006). تنش‌های غیرزیستی به‌دلیل تأثیرات منفی که بر بیوسنتز کلروفیل، عملکرد فتوسیستم‌ها، مکانیسم‌های انتقال الکترون، پارامترهای تبادل گاز و بسیاری از موارد دیگر دارند، در درجهٔ اول کارایی فتوسنتزی گیاهان را کاهش می‌دهند (Sharma *et al.*, 2020). براساس نتایج این پژوهش، بیان دو ژن دخیل در فتوسنتز تحت تنش خشکی به‌طور قابل‌توجهی کاهش یافت که نشان دهندهٔ سرکوب تثبیت کربن در طول تنش خشکی است. یکی از این ژن‌ها پروتوکلروفیلید ردوکتاز یک پروتئین کلیدی دخیل در سنتز کلروفیل و دیگری ژن رمزگذار زیر واحد کوچک ریبولوز-۵،۱-بیس فسفات کربوکسیلاز/اکسیژناز (RBCS) است. روبیسکو شامل هشت زیرواحد کوچک رمزگذاری شده در هسته و هشت زیرواحد بزرگ رمزگذاری شده در کلروپلاست است (Khrebtukova & Spreitzer, 1996). آنزیم ریبولوز-۵،۱-بیس فسفات کربوکسیلاز-اکسیژناز (روبیسکو) مرحلهٔ محدود کنندهٔ تثبیت کربن فتوسنتزی است و فعال شدن آن توسط چاپرون روبیسکواکتیواز (Rca) تنظیم می‌شود. Rca مهارکننده‌های قند_فسفات را که جایگاه فعال روبیسکو را اشغال کرده‌اند حذف می‌کند و به RuBP اجازه می‌دهد به دو مولکول ۳-فسفوگلیسرات تقسیم شود (Waheeda *et al.*, 2023). در این آزمایش، کاهش جزئی اما معنی‌دار در بیان ژن RcaA مشاهده شد. RcaA به‌عنوان یک ژن کلیدی در پاسخ‌های تنش ترکیبی خشکی شوری شناسایی شده است و بیان آن به‌تدریج در طول تنش ترکیبی خشکی و شوری کاهش می‌یابد. با این‌حال، واریته‌های متحمل سطح بالاتری از بیان RcaA را نسبت به گونه‌های حساس حفظ می‌کنند (Aliakbari *et al.*, 2021).

همچنین در این مطالعه دو ژن گلوتامین سنتتاز (GS، EC6.3.1.2) با تنظیم بیانی متفاوت شناسایی شدند. بیان یکی از آن‌ها (4HG0337240) تحت تنش خشکی ۳۳ برابر افزایش و دیگری (2HG0202350) ۱۴ برابر کاهش یافت. گلوتامین سنتتاز گیاهی، سنتز گلوتامین را کاتالیز می‌کند و یک آنزیم کلیدی در مسیر متابولیسم نیتروژن است و در بسیاری از فرایندهای فیزیولوژیکی گیاهان ضروری است (Yin *et al.*, 2022). دو ایزوفرم GS گندم قبلاً شناسایی شده‌اند که به دو روش مختلف تحت تنش خشکی تنظیم می‌شوند. مشاهده شده است که در طول پیری، GS کلروپلاستی (GS2) ناپدید می‌شود، در حالی‌که سطوح ایزوفرم سیتوسولی (GS1) ثابت می‌ماند و تنها در مرحلهٔ نهایی این فرایند کاهش می‌یابد، که نشانگر خوبی از روند پیری است. ایزوآنزیم‌های گلوتامین سنتتاز همچنین نشانگرهای خوبی برای وضعیت پلاستید (GS2) و متابولیسم نیتروژن (GS1) هستند (Nagy *et al.*, 2013). نقش نیتروژن در تولید کشاورزی ارتباط تنگاتنگی با فتوسنتز دارد و سنتز آمینو اسیدها، پروتئین‌ها (به‌عنوان مثال روبیسکو) و در نهایت، تمام اجزای سلولی را تعیین می‌کند (Lawlor, 2002).

بسیاری از تنش‌های غیرزیستی باعث کاهش قندهای محلول موجود در گیاه می‌شود و این شرایط منجر به بیان افتراقی چندین پروتئین مرتبط با متابولیسم کربوهیدرات می‌گردد. در مراحل اولیهٔ پرشدن دانه، پروتئین‌های دخیل در متابولیسم کربوهیدرات عمدتا در گلیکولیز (گلیسرآلدئید-۳-فسفات دهیدروژناز، فسفوگلیسرات کیناز، فسفوگلیسرات موتاز، آنولاز، پیرووات-Pi-دی‌کیناز)، چرخهٔ اسید سیتریک (مالات

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-04-30]

[DOI: 10.61186/jcb.17.1.50]

دهیدروژناز و آکونیتاز) و بیوسنتز نشاسته (ADP– و UDP گلوکز پیروفسفریلاز و فسفوگلوکوموتاز) نقش دارند (Hurkman *et al.*, 2009). نتایج این مطالعه نشان می‌دهد یک ژن مالات سنتاز و یک ژن فسفوگلیسرات موتاز تحت تنش خشکی انتهای فصل افزایش بیان قابل‌توجهی دارد. ژن مالات سنتاز در مسیرهای متابولیک پیرووات، گلی‌اگزالات و دی‌کربوکسیلات شرکت می‌کند. به این ترتیب، مالات می‌تواند به اگزالواستات، یک پیش‌ساز مهم برای بیوسنتز گلوکونئوژنیک گلوکز و سایر قندها اکسید شود (Dunn *et al.*, 2009). فراوانی مالات سنتاز در مرحلهٔ پایانی نمو بذر در گیاه جو بدون پوسته مشاهده شده است، که تطابق متابولیکی برای تأمین منبع کربن و انرژی در بذر جو در حال نمو را در زمان محدودیت سایر منابع تأمین کربن مانند فتوسنتز فراهم می‌کند (Curaba *et al.*, 2012). فسفوگلیسرات موتازها نیز برای متابولیسم گلوکز در تمام سلول‌ها ضروری هستند و واکنش‌های مربوط به انتقال گروه‌های فسفو را در بین سه اتم کربن فسفوگلیسرات کاتالیز می‌کند. به‌عنوان مثال، آنها ایزومریزاسیون برگشت‌پذیر ۳–فسفوگلیسرات و ۲–فسفوگلیسرات، که مرحله‌ای از گلیکولیز است را کاتالیز می‌کنند. این واکنش‌ها اجزای ضروری در متابولیسم گلوکز و یا ۲، ۳–بیس فسفوگلیسرات هستند (Duminil *et al.*, 2021).

در اواخر پرشدن دانه، به‌جای بیوسنتز نشاسته پروتئین‌های دخیل در متابولیسم کربوهیدرات (ساکارز سنتاز) و تجزیهٔ گلوکز (β–آمیلاز، گلوکز و ریبیتول دهیدروژناز) عمل می‌کنند (Hurkman *et al.*, 2009). در این مطالعه نیز مشاهده شد که ساکارز سنتاز ۲ (*Susy2*) تحت تنش خشکی افزایش بیان نسبتاً بالایی دارد. همچنین نتایج نشان می‌دهد حداقل سه گلوکان-۳،۱-بتا–گلوکوزیداز در جو به تنش خشکی پاسخگو هستند. به این ترتیب که تحت تنش خشکی یک ژن گلوکان-۳،۱-بتا-گلوکوزیداز (1HG0000950) افزایش بیان بسیار بالا و ۲ ژن گلوکان-اندو–۳،۱–بتا گلوکوزیداز (3HG0318530 و 3HG0318620) کاهش بیان شدید و ژن 3HG0318620 کاهش بیان متوسطی را نشان دادند. گلوکان-۳،۱-بتا-گلوکوزیدازها می‌توانند پیوندهای بتاگلیکوزیدی گلوکان‌ها را بشکنند و به دو گروه اگزو یا اندو تقسیم می‌شوند. اگزوهیدرولازها هیدرولیز زنجیرهٔ بتاگلوکان را از انتهای غیراحیاکننده کاتالیز و گلوکز را به‌عنوان یک محصول آزاد می‌کنند. اندوهیدرولازها پیوندهای β را در مکان‌های تصادفی در امتداد زنجیرهٔ پلی‌ساکارید می‌شکافند و اولیگوساکاریدهای کوچک‌تری آزاد می‌کنند (Pitson *et al.*, 1993). کاهش بیان یک گلوکان-۳،۱-بتا-گلوکوزیداز، در کینوا و یک اندو-۳،۱-بتا-گلوکوزیداز در لوکوت نیز تحت تنش خشکی گزارش شده است (Huan *et al.*, 2022; Wang *et al.*, 2023). در حالی‌که بیان سه پروتئین شبه–گلوکان اندو–۳،۱–بتاگلوکوزیداز در پنبه ۴۵ روز پس از تیمار خشکی افزایش یافت (Xiao *et al.*, 2020). همچنین گزارش شده است که فراوانی لندو-۳،۱-بتاگلوکوزیداز در ریشه یا برگ ژنوتیپ گندم متحمل به تنش خشکی به‌طور معنی‌داری افزایش و در ژنوتیپ حساس تحت شرایط تنش کاهش می‌یابد (Faghani *et al.*, 2015).

ژن مانان اندو-۴،۱-بتا-مانوزیداز از دیگر ژن‌های بیان‌شونده در خشکی (Yu *et al.*, 2020) و همچنین شوری است (Zhang *et al.*, 2020). به‌طور مشابه در این پژوهش نیز مشاهده شده است که مانان اندو-۴،۱-بتا-مانوزیداز تحت تنش خشکی به‌میزان کم ولی معنی‌داری افزایش بیان یافت. مانان یک پلی‌ساکارید خطی متشکل از پیوندهای ۴،۱-بتا-دی-مانوزیدی یا ترکیبی از گلوکز و مانوز با گروه‌های جانبی گالاکتوزیل متصل شده با پیوند آلفا–۶،۱ است (Akita *et al.*, 2004). مانان اندو–۴،۱–بتا–مانوزیداز به‌طور تصادفی پیوندهای ۱و۴–بتا–دی–مانوزیدی را در پیکرهٔ اصلی مانان‌ها، گالاکتومانان‌ها و گلوکومانان‌ها هیدرولیز می‌کند و الیگوساکاریدهای زنجیره کوتاه و زنجیره بلند را آزاد می‌کند (Zhang *et al.*, 2020). افزایش بیان این ژن تحت تنش خشکی در ترانسکریپتوم بذر گیاه ارزن دم‌روباهی در طی جوانه‌زنی گزارش شده است (Yu *et al.*, 2020).

ساکارز محصول نهایی فتوسنتز و قند اولیهٔ انتقال یافته در آوند آبکش اکثر گیاهان است. نرخ فتوسنتز تحت تنش خشکی به‌سرعت کاهش می‌یابد. با این‌حال تحت تنش خشکی در طول پرشدن دانه، جابجایی فتوآسیمیلات‌ها از اندام‌های منبع در حفظ عملکرد نقش دارد (Egashira *et al.*, 2020). در این مطالعه یک ناقل قند دوطرفه، SWEET15-like، به‌میزان بالایی و دو ژن دیگر SWEET16-like و SWEET17-like به‌میزان متوسط تحت تنش خشکی افزایش بیان یافتند. انتقال‌دهنده‌های قند SWWET در فرایندهای رشدی مختلفی که در آن‌ها جریان قند ضروری است از جمله بارگیری ساکارز در آوند آبکش برای انتقال قند از راه دور، ترشح شهد، تغذیه جنین و گرده، و حفظ همئوستازی قند در اندام‌های گیاهی نقش دارند. SWEETها همچنین ممکن است در تحمل تنش اسمزی و خشکی نقش داشته باشند (Chandran, 2015; Chen *et al.*, 2022).

در انتهای مرحلهٔ بلوغ بذر، محتوای آب به‌شدت کاهش می‌یابد. پروتئین‌های تجمعی در انتهای جنین‌زایی (LEA) به‌عنوان یک محافظ اسمزی در تحمل گیاه به خشکی نقش ایفا می‌کنند (McIntosh *et al.*, 2007; Shih *et al.*, 2008). این پروتئین‌ها در شروع خشک شدن بذر و در پاسخ به کمبود آب در بافت‌های رویشی گیاه تجمع می‌یابند (Liang *et al.*, 2017). بیشتر ژن‌های LEA پاسخ‌دهندهٔ زودهنگام به تنش خشکی (دهیدرین‌ها، Dhn) به گروه II پروتئین‌های LEA تعلق دارند و در شکل‌گیری واکنش‌های حفاظتی گیاهان به کم‌آبی نقش دارند (Liang *et al.*, 2017; Liu *et al.*, 2017). نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که *Dhn4* و *Dhn10* به‌شدت و *Dhn3* به‌میزان متوسطی تحت تنش خشکی افزایش بیان می‌یابد. همچنین *LEA3* و پنج عضو دیگر از خانوادهٔ LEA نیز به‌عنوان ژن‌های با بیان بالا در این مجموعه داده شناسایی شدند.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-04-30]
[DOI: 10.61186/jcb.17.1.50]

گلوبولین 11S پروتئینی ذخیره‌ای است که تجمع آن در دانهٔ گندم زمستانه تحت تنش خشکی گزارش شده است (Lakhneko *et al.*, 2023). در این پژوهش نیز دو ژن 5HG0504040 و 3HG0328330 با شباهت به پروتئین ذخیره‌ای گلوبولین 11S در دانه جو شناسایی شدند که به‌ترتیب تحت تیمار تنش خشکی انتهای فصل افزایش بیان بالا و خفیفی نشان دادند.

از کالئوزین می‌توان به‌عنوان یکی دیگر از ژن‌های با افزایش بیان بالا تحت تنش خشکی انتهای فصل در جو نام برد که در پیام‌رسانی کلسیم و تجمع چربی نقش دارند (Shen *et al.*, 2014). کالئوزین‌ها در سطوح نسبتاً کم در گیاه وجود دارند و عمدتاً در مراحل اولیهٔ نمو بذر به بخش‌های غشای میکروزومی متصل می‌شوند. همچنان‌که دانه‌ها بالغ می‌شوند، سطوح کلی کالئوزین‌ها به‌طور چشمگیری افزایش می‌یابد و آنها تقریباً به‌طور انحصاری با اجسام لیپیدی ذخیره‌ای مرتبط هستند (Lu *et al.*, 2020). دو GDSL استراز/لیپاز (GELP) جو نیز به‌ترتیب افزایش بیان بالا (1HG0072170) و متوسطی (3HG02282900) را تحت تنش خشکی انتهای فصل نشان دادند. این آنزیم‌ها سوبستراهای لیپیدی متنوعی از جمله تیواسترها، آریل استرها و فسفولیپیدها را هیدرولیز می‌کنند (Shen *et al.*, 2022). نقش GDSLها در نمو تخمک، بذر، فیبر و تحمل به تنش خشکی گزارش شده است (Liu *et al.*, 2023; Ma *et al.*, 2018).

نتایج این پژوهش افزایش بیان ۷۰ برابری آسپاراژین سنتتاز وابسته به گلوتامین را تحت تنش خشکی انتهای فصل در برگ جو نشان داد. تحت شرایط تنشی مختلف غلظت‌های بالای آسپاراژین در بافت‌های گیاهی مختلف گزارش شده است (Moller *et al.*, 2003; Paz *et al.*, 2014; Stewart & Larher, 1980). تجمع ترکیبات نیتروژن‌دار مانند آسپاراژین و گلایسین بتائین ممکن است ابزاری برای محافظت در برابر آسیب در بخش‌های حساس به الکترولیت در سلول‌های تحت تنش شوری، یخ‌زدگی و خشکی فراهم کند (Stewart and Larher, 1980). آسپاراژین همچنین نقش عمده‌ای در انتقال مجدد نیتروژن در برگ‌های پیر دارد. در این برگ‌ها سطوح بالایی از آسپاراژین سنتز می‌شود و از طریق آوند آبکش به نواحی راسی در حال رشد و دانه‌های در حال نمو منتقل می‌شود (Lea and Ireland, 1999).

ژن‌های دخیل در تنظیم بیان ژن و پیام‌رسانی تنش خشکی در گیاه جو

عوامل رونویسی پروتئین‌های تنظیمی هستند که می‌توانند بیان مجموعهٔ خاصی از ژن‌ها را از طریق اتصال به راه‌انداز ژن تنظیم کنند. آن‌ها نقش مهمی در تبدیل پیام‌های ناشی از تنش به پاسخ‌های سلولی دارند و هر دو مسیر وابسته به ABA و مستقل از ABA پاسخ رونویسی را با تأثیر بر یک یا چند رگولون (مجموعه‌ای از ژن‌هایی که تحت تنظیم پروتئین تنظیم‌کننده‌ی یکسانی هستند، رگولون نامیده می‌شوند) فعال تحت تنش خشکی تنظیم می‌کنند (Nakashima *et al.*, 2009). عوامل اصلی رونویسی در شبکهٔ پیام‌رسانی تنش خشکی عبارتند از MYB، bHLH، bZIP، ERF، NAC و WRKY (Tripathi *et al.*, 2014). در این مطالعه از عوامل رونویسی متعلق به خانوادهٔ MYB، یک عامل رونویسی REVEILLE 7-like و دو عامل رونویسی Myb2-like شناسایی شده‌اند که در تنش خشکی افزایش بیان بالایی را نشان داده‌اند. REVEILLE 7 (RVE7) یک تنظیم‌کنندهٔ مهم رشد در پاسخ به گرما است که از طریق کنترل رونویسی ژن *ELF4* (Early Flowering 4) عمل می‌کند (Tian *et al.*, 2022). RVE7 همچنین در کنترل فرایندهای پایین‌دست ساعت شبانه‌روزی مانند رشد هیپوکوتیل و گل‌دهی فعال است (Badhan *et al.*, 2021). سایر عوامل رونویسی شناسایی شده در این پژوهش شامل یک عامل رونویسی پاسخ به اسید جاسمونیک (JAMYB-like) و یک عامل رونویسی پاسخ به اتیلن (ERF110-like)، یک عامل رونویسی تنش گرمایی (HSF) و یک عامل رونویسی انگشت‌روی نوع C2H2 (C2H2 type ZINC finger transcription factor family-related) (5HG0438880) است که بیان بالایی تحت تنش خشکی انتهای فصل داشتند. این عامل رونویسی انگشت‌روی با توجه به وجود موتیف QALGGH در توالی پروتئینی آن، در گروه Q از عامل‌های رونویسی انگشت‌روی قرار می‌گیرد و گزارش شده است که این عامل‌های رونویسی احتمالاً نقش مهمی در ریشه‌ها و در تنظیم فعالیت‌های سلولی در طی تغییر وضعیت فیزیولوژیکی سلول‌های گیاهی مانند تنش خشکی، رشد یا پیری برگ ایفا می‌کنند (Kam *et al.*, 2008). همچنین مشاهده شد که بیان عامل رونویسی HEC1-like به‌طور معنی‌داری تحت تنش خشکی سرکوب می‌شود. HEC1، با فرایندهای انتقال پیام نور و نمو مادگی مرتبط است و به‌عنوان یک تنظیم‌کنندهٔ موضعی پاسخ‌های اکسین و سیتوکینین برای کنترل نمو مادگی عمل می‌کند (Gaillochet *et al.*, 2018; Schuster *et al.*, 2015).

در میان ژن‌های دارای بیان افتراقی بالا، چندین پروتئین کیناز نیز یافت شد که شامل پروتئین کینازهای فعال شونده با میتوژن، پروتئین کینازهای گیرندهٔ مرتبط با دیواره سلولی، سرین/ترئونین پروتئین کیناز شبه‌گیرنده، پروتئین کیناز سرین ترئونین شبه–گیرنده LRR است. بیان یک ژن شبه‌پروتئین فسفاتاز 51–2C (PP2C like-51) (1HG0090670) نیز در جو تحت تنش خشکی به‌شدت افزایش یافت. PP2Cها در کاتالیز فسفوریلاسیون پروتئین‌های سوبسترا نقش دارند و مسیرهای پیام‌رسانی را تنظیم و در فرایندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی مختلف در گیاهان شرکت می‌کنند. همچنین مطالعات نشان داده‌اند که PP2Cها در فرایندهای مختلف، مانند پیام‌رسانی ABA، پاسخ‌های تنش زیستی و غیرزیستی، ایمنی گیاه، پیام‌رسانی K^+ و رشد گیاه نقش‌های حیاتی ایفا می‌کنند (Singh *et al.*, 2016; Sugimoto *et al.*, 2014).

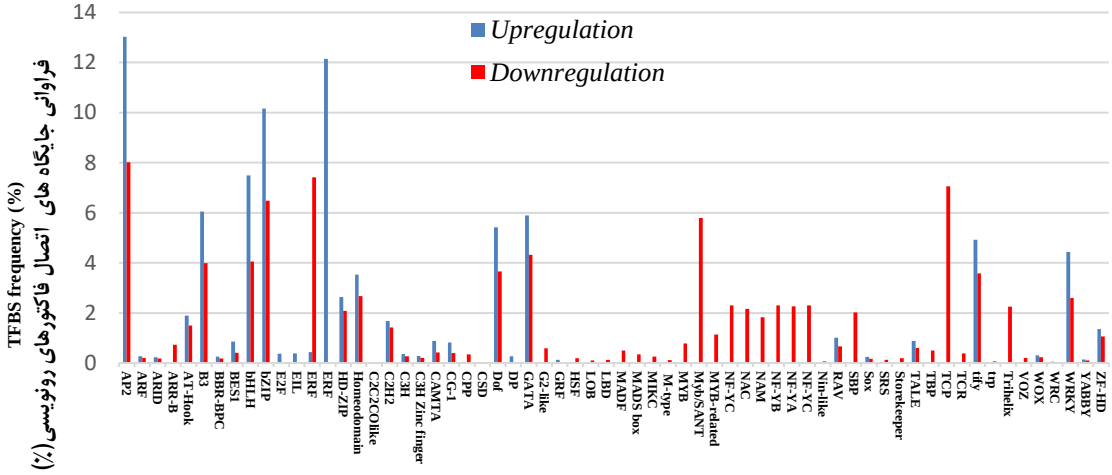
شناسایی جایگاه‌های اتصال عوامل رونویسی ژن‌های دخیل در مقاومت به تنش خشکی

توالی راه‌انداز (۱۵۰۰ جفت باز) ژن‌های افزایش و کاهش بیان یافته از بخش Biomart سایت plants.ensembl.org به‌دست آمدند و محل اتصال عوامل رونویسی (TFBS) در

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-04-30]

[DOI: 10.61186/jcb.17.1.50]

توالی راه‌انداز با کمک ابزار آنلاین Plant PAN 3.0 اسکن و بررسی شد. جایگاه‌های اتصال عوامل رونویسی به ۶۴ خانواده طبقه‌بندی شدند. بیشترین درصد جایگاه‌های اتصال در ژن‌های افزایش بیان یافته تحت تنش خشکی انتهای فصل متعلق به عوامل رونویسی AP2/ERF می‌باشد که عامل رونویسی پاسخ به اتیلن است. پس از آن فراوان‌ترین جایگاه‌های اتصال متعلق به خانواده‌های bZIP، bHLH، DOF و GATA از عوامل رونویسی بودند. فراوان‌ترین جایگاه‌های اتصال در ژن‌های کاهش بیان یافته تحت تنش خشکی شامل AP2/ERF و BES1 و پس از آن به‌ترتیب شامل EIL، TCP، Myb/SANT، GATA و DOF است. بررسی توزیع جایگاه اتصال عوامل رونویسی درناحیهٔ راه‌انداز ژن‌های تغییر بیان یافته نشان می‌دهد که ترکیب خاصی از عوامل رونویسی بیان ژن‌ها را در پاسخ به تنش خشکی تنظیم می‌کنند.



شکل ۱- جایگاه‌های اتصال عوامل رونویسی در ژن‌های شناسایی شده تحت تنش خشکی انتهای فصل
Figure 1. Transcription factor binding sites in genes indentified under termainal drought stress

دسته‌بندی عملکردی ژن‌های دارای بیان افتراقی

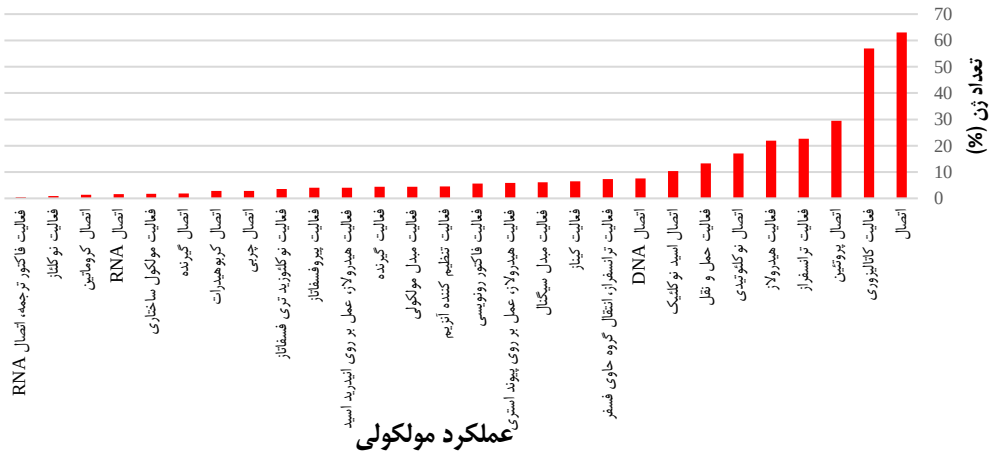
به‌منظور بررسی و شناسایی عملکرد ژن‌ها، آنالیز هستی‌شناسی ژن برای ژن‌های دارای بیان افتراقی تحت تنش خشکی انجام و ژن‌های دارای بیان افتراقی به سه هستی‌شناسی اصلی، یعنی عملکرد مولکولی، فرایند بیولوژیکی و اجزای سلولی دسته‌بندی شدند. گروه‌بندی سلولی ژن‌های دارای بیان افتراقی بر اساس جزء سلولی نشان داد که در هر دو دستهٔ ژن‌های افزایش و کاهش بیان یافته، گروه‌های سلول و ناحیه‌ی سلولی با بیشترین تعداد از ژن‌ها غنی شده‌اند. در این گروه‌بندی، سایر پروتئین‌های شناسایی‌شده بر اساس مکان‌یابی درون سلولی‌شان برای ژن‌های افزایش بیان یافته، عمدتاً در دسته‌های سیتوپلاسم، غشا، هسته، پلاستید، میتوکندری، اندامک‌های داخل سلولی، سیستم غشایی داخلی، کمپلکس‌های ماکرومولکولی، ساختار محصور کنندهٔ خارجی، دیوارهٔ سلولی، دستگاه گلژی و اندامک داخل سلولی غیرمتصل به غشا غنی شدند. همچنین برای ژن‌های کاهش بیان یافته بیشترین تعداد ژن‌های غنی شده مربوط به سیتوپلاسم، پلاستید، فضای خارج سلولی، غشای اندامک، سیتوسل، تیلاکوئید و غشای پلاسمایی است.

در سطح عملکرد مولکولی، برای کلیه ژن‌های دارای بیان افتراقی، گروه‌های فعالیت کاتالیزوری و اتصال، بیشترین تعداد ژن را به‌خود اختصاص دادند. سایر عناوین شامل اتصال پروتئین، فعالیت ترانسفراز، فعالیت هیدرولاز، اتصال نوکلئوتیدی، فعالیت حمل و نقل، اتصال به DNA، فعالیت ترانسفراز (انتقال گروه‌های حاوی فسفر)، فعالیت کیناز، فعالیت هیدرولاز (اثر بر پیوندهای استری)، فعالیت هیدرولاز (اثر بر اسید انیدریدها) و فعالیت پیروفسفاتاز اکثریت این دسته را تشکیل می‌دهد. علاوه بر این فعالیت‌های انتقال پیام، عامل رونویسی، تنظیم کنندهٔ آنزیم، انتقال مولکولی و فعالیت گیرنده سایر عناوین این گروه‌بندی هستند که به‌صورت اختصاصی بخشی از ژن‌های افزایش بیان یافته تحت تنش خشکی را به‌خود اختصاص می‌دهند (شکل ۲).

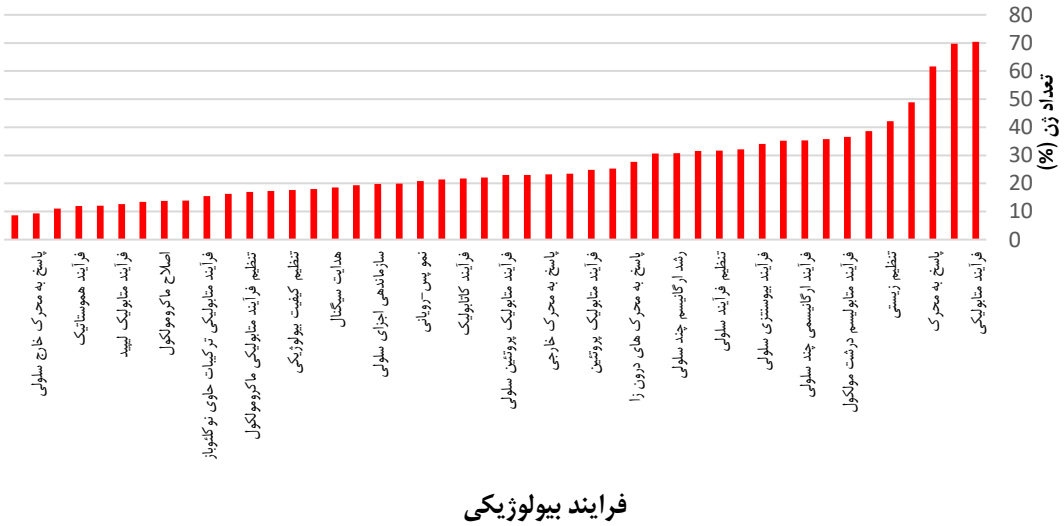
در طبقه‌بندی ژن‌های پاسخ دهنده به خشکی بر اساس فرایند بیولوژیکی، دو گروه فرایند متابولیکی و فرایند سلولی بالاترین درصد ژن‌های افتراقی را به‌خود اختصاص دادند. پس از آن‌ها برای مجموع ژن‌های دارای بیان افتراقی، پاسخ به محرک، پاسخ به تنش، تنظیم زیستی، پاسخ به محرک غیرزیستی، فرایند متابولیسم درشت مولکول‌ها، فرایند بیونتزی، فرایند ارگانیسمی چندسلولی، تنظیم فرایند بیولوژیکی، فرایند بیوسنتزی سلولی، فرایند نمو، تنظیم فرایند سلولی، نمو ساختار آناتومی، رشد ارگانیسم چندسلولی، فرایند متابولیک ترکیبات نیتروژن، پاسخ به محرک‌های درون‌زا، جایگاه‌یابی، فرایند متابولیک پروتئین و نقل و انتقال رایج‌ترین دسته‌بندی‌ها در

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-04-30]
[DOI: 10.61186/jcb.17.1.50]

فرایند بیولوژیکی بودند. ســـایر دته‌بندی‌های این گروه‌ها در شکل ۳ ارائه شده است.



شکل ۲- هستی‌شناسی ژن‌های دارای بیان افتراقی تحت تنش خشکی انتهای فصل براساس عملکرد مولکولی
Figure 2. Ontology of differentially expressed genes under drought stress based on molecular function



شکل ۳- هستی‌شناسی ژن‌های دارای بیان افتراقی تحت تنش خشکی انتهای فصل براساس فرایندهای بیولوژیک
Figure 3. Ontologies of differentially expressed genes under terminal drought stress based on biological processes

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این تحقیق نشان داد که شبکهٔ گسترده‌ای از ژن‌ها و فرایندهای بیولوژیک در پاسخ گیاه به تنش خشکی دخیل هستند و پاسخ‌های سلولی به تنش خشکی را تعدیل و تنظیم می‌کند تا آسیب‌های تنش خشکی را کاهش دهند. به‌کمک تکنیک RNA-Seq امکان شناسایی ژن‌های تاثیرگذار در مقاومت به تنش‌ها فراهم شده است. برای پیش‌برد برنامه‌های اصلاحی گیاهان زراعی و تولید گیاهان متحمل به تنش‌های زیستی و غیرزیستی شناسایی ژن‌های منتخب و شبکه‌های ژنی دخیل در پاسخ و ایجاد مقاومت امری اجتناب‌ناپذیر است.

در این پژوهش، ژنوتیپ Dayton/ Ranney (رقم اصلاح شده توسط ICARDA) تحت تنش خشکی انتهای فصل قرار گرفت. تنش خشکی انتهای فصل رشد در کشور ایران به‌خصوص در مناطق دیم‌کاری مکرر رخ می‌دهد و با افزایش تغییرات آب و هوایی این امر شدت گرفته است. آنالیز مقایسه‌ای رونوشت‌ها به‌منظور شناسایی شبکه‌های ژنی دخیل در تحمل به خشکی انتهای فصل رشد در این رقم مقاوم به خشکی انجام گرفت.

تعداد قابل‌توجهی از ژن‌ها در پاسخ و ایجاد مقاومت به تنش خشکی دخیل هستند و در مطالعات متعدد اثرات آنها و ارتباط آنها با پاسخ و ایجاد مقاومت به تنش خشکی بررسی شده است. روی‌هم رفته می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که مجموعه‌ای از ژن‌هایی که فراتنظیم و یا فروتنظیم می‌شوند منجر به تنظیم سازوکارهای یک سیستم بیولوژیک و در نهایت ایجاد مقاومت و یا حساسیت می‌گردند. در کل، افزایش یا کاهش یک یا چند ژن نمی‌تواند یک سیستم بیولوژیک را مدیریت کند و در نهایت

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-04-30]
[DOI: 10.61186/jcb.17.1.50]

منجر به رخداد مقاومت یا حساسیت در پاسخ به تنش پیچیده‌ای مانند خشکی گردد.

References

Akita, M., Takeda, N., Hirasawa, K., Sakai, H., Kawamoto, M., Yamamoto, M., ... & Horikoshi, K. (2004). Crystallization and preliminary X-ray study of alkaline mannanase from an alkaliphilic Bacillus isolate. *Biological Crystallography*, *60*(8), 1490-1492. https://doi.org/10.1107/S0907444904014313.

Aliakbari, M., Cohen, S. P., Lindlöf, A., & Shamloo-Dashtpagerdi, R. (2021). Rubisco activase A (RcaA) is a central node in overlapping gene network of drought and salinity in Barley (Hordeum vulgare L.) and may contribute to combined stress tolerance. *Plant Physiology and Biochemistry*, *161*, 248-258. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2021.02.016.

Amini, F., Dezhsetan, S., & Rasoulzadeh, A. (2018). Evaluation the effects of water stress on some phenological, physiological and morphological traits in rainfed spring barley (*Hordeum vulgare* L.) Genotypes. *Journal of Crop Breeding*, *10*(27), 160-170. https://doi.org/0.29252/jcb.10.27.160 [In Persian]

Amini, F., Dezhsetan, S., & Sadeghzadeh, B. (2020). Evaluation of drought stress tolerance based on grain yield, grain yield components and drought tolerance indices in cold rainfed spring barley genotypes. *Iranian Journal of Field Crop Science*, *50*(4), 137-154. https://doi.org/10.22059/IJFCS.2018.248130.65442.

Aroca, R. (2012). Plant responses to drought stress. *From morphological to molecular features*, 1-5.

Badhan, S., Ball, A. S., & Mantri, N. (2021). First report of CRISPR/Cas9 mediated DNA-free editing of 4CL and RVE7 genes in chickpea protoplasts. *International Journal of Molecular Sciences*, *22*(1), 396. https://doi.org/10.3390/ijms22010396.

Bekalu, Z. E., Dionisio, G., & Brinch-Pedersen, H. (2020). Molecular properties and new potentials of plant nepenthesins. *Plants*, *9*(5), 570.

Bhargava, A., Clabaugh, I., To, J. P., Maxwell, B. B., Chiang, Y. H., Schaller, G. E., ... & Kieber, J. J. (2013). Identification of cytokinin-responsive genes using microarray meta-analysis and RNA-Seq in Arabidopsis. *Plant Physiology*, *162*(1), 272-294.

Chandran, D. (2015). Co-option of developmentally regulated plant SWEET transporters for pathogen nutrition and abiotic stress tolerance. *International Union of Biochemistry and Molecular Biology Life*, *67*(7), 461-471. https://doi.org/10.1002/iub.1394.

Chen, Q., Hu, T., Li, X., Song, C. P., Zhu, J. K., Chen, L., & Zhao, Y. (2022). Phosphorylation of SWEET sucrose transporters regulates plant root: shoot ratio under drought. *Nature Plants*, *8*(1), 68-77.

Deng XiaoQing, D. X., Yao XiaoHua, Y. X., Wu KunLun, W. K., & Chi DeZhao, C. D. (2012). Isolation of a bit14. 2 gene encoding LTP protein of hulless barley and its expression in low temperature.

Du, Y., Zhao, Q., Chen, L., Yao, X., Zhang, W., Zhang, B., & Xie, F. (2020). Effect of drought stress on sugar metabolism in leaves and roots of soybean seedlings. *Plant Physiology and Biochemistry*, *146*, 1-12. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.11.003.

Duminil, P., Davanture, M., Oury, C., Boex-Fontvieille, E., Tcherkez, G., Zivy, M., ... & Glab, N. (2021). Arabidopsis thaliana 2, 3-bisphosphoglycerate-independent phosphoglycerate mutase 2 activity requires serine 82 phosphorylation. *The Plant Journal*, *107*(5), 1478-1489.

Dunn, M. F., Ramirez-Trujillo, J. A., & Hernández-Lucas, I. (2009). Major roles of isocitrate lyase and malate synthase in bacterial and fungal pathogenesis. *Microbiology*, *155*(10), 3166-3175. https://doi.org/10.1099/mic.0.030858-0.

Egashira, C., Hashiguchi, Y., Kurauchi, E., Tatsumi, Y., Nakagawa, A. C. S., Hamaoka, N., ... & Ishibashi, Y. (2020). A rapid translocation of photoassimilates from source organs maintains grain yield in cowpea subjected to drought stress during grain filling. *Biologia Plantarum*, *64*(1), 529-534. https://doi.org/10.32615/bp.2019.129.

Faghani, E., Gharechahi, J., Komatsu, S., Mirzaei, M., Khavarinejad, R. A., Najafi, F., ... & Salekdeh, G. H. (2015). Comparative physiology and proteomic analysis of two wheat genotypes contrasting in drought tolerance. *Journal of Proteomics*, *114*, 1-15. https://doi.org/10.1016/j.jprot.2014.10.018.

Fracasso, A., Trindade, L. M., & Amaducci, S. (2016). Drought stress tolerance strategies revealed by RNA-Seq in two sorghum genotypes with contrasting WUE. *BMC Plant Biology*, *16*, 1-18. https://doi.org/10.1186/s12870-016-0800-x.

Gaillochet, C., Jamge, S., van der Wal, F., Angenent, G., Immink, R., & Lohmann, J. U. (2018). A molecular network for functional versatility of HECATE transcription factors. *The Plant Journal*, *95*(1), 57-70. https://doi.org/10.1111/tpj.13930.

Górny, A. G. (2001). Variation in utilization efficiency and tolerance to reduced water and nitrogen supply among wild and cultivated barleys. *Euphytica*, *117*, 59-66. https://doi.org/10.1023/A:1004061709964.

Gou, J. Y., Sun, H. J., Wang, C. Y., & Zhang, G. L. (2020). Genomic analyses of wheat Aspartic proteinase gene family provide novel insights for wheat stress responses. *SDRP Journal of Plant Science*, *4*(1), 174-185. https://doi.org/10.25177/jps.4.1.ra.10593.

Hackenberg, M., Gustafson, P., Langridge, P., & Shi, B. J. (2015). Differential expression of micro RNA s and other small RNA s in barley between water and drought conditions. *Plant Biotechnology Journal*, *13*(1), 2-13. https://doi.org/10.1111/pbi.12220.

He, T., & Jia, J. (2009). Cloning and function analysis of hblt14. 2 gene in highland barley (*Hordeum vulgare* L. var. nudum Hook. f.). *Acta Agronomica Sinica*, *35*(2), 295-300.

Huan, X., Li, L., Liu, Y., Kong, Z., Liu, Y., Wang, Q., ... & Qin, P. (2022). Integrating transcriptomics and metabolomics to analyze quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) responses to drought stress and rewatering. *Frontiers in Plant Science*, *13*, 988861.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-04-30]

[DOI: 10.61186/jcb.17.1.50]

Hurkman, W. J., Vensel, W. H., Tanaka, C. K., Whitehand, L., & Altenbach, S. B. (2009). Effect of high temperature on albumin and globulin accumulation in the endosperm proteome of the developing wheat grain. *Journal of Cereal Science*, *49*(1), 12-23. https://doi.org/10.1016/j.jcs.2008.06.014.

Hussain, M., Farooq, M., Sattar, A., Ijaz, M., Sher, A., & Ul-Allah, S. (2018). Mitigating the adverse effects of drought stress through seed priming and seed quality on wheat (*Triticum aestivum* L.) productivity. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*, *55*(2).

Kam, J., Gresshoff, P. M., Shorter, R., & Xue, G. P. (2008). The Q-type C 2 H 2 zinc finger subfamily of transcription factors in Triticum aestivum is predominantly expressed in roots and enriched with members containing an EAR repressor motif and responsive to drought stress. *Plant Molecular Biology*, *67*, 305-322. https://doi.org/10.1007/s11103-008-9319-3.

Khrebtukova, I., & Spreitzer, R. J. (1996). Elimination of the Chlamydomonas gene family that encodes the small subunit of ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase/oxygenase. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *93*(24), 13689-13693. https://doi.org/10.1073/pnas.93.24.13689.

Krugman, T., Peleg, Z., Quansah, L., Chagué, V., Korol, A. B., Nevo, E., ... & Fahima, T. (2011). Alteration in expression of hormone-related genes in wild emmer wheat roots associated with drought adaptation mechanisms. *Functional & Integrative Genomics*, *11*, 565-583.

Lakhneko, O., Stasik, O., Škultéty, Ľ., Kiriziy, D., Sokolovska-Sergiienko, O., Kovalenko, M., & Danchenko, M. (2023). Transient drought during flowering modifies the grain proteome of bread winter wheat. *Frontiers in Plant Science*, *14*, 1181834. https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1181834.

Lawlor, D. W. (2002). Carbon and nitrogen assimilation in relation to yield: mechanisms are the key to understanding production systems. *Journal of Experimental Botany*, *53*(370), 773-787. https://doi.org/10.1093/jexbot/53.370.773.

Lea, P. J., & Ireland, R. J. (1999). Nitrogen metabolism in higher plants. *Plant Amino Acids: Biochemistry and Biotechnology*, *1*.

Liang, J., Chen, X., Deng, G., Pan, Z., Zhang, H., Li, Q., ... & Yu, M. (2017). Dehydration induced transcriptomic responses in two Tibetan hulless barley (Hordeum vulgare var. nudum) accessions distinguished by drought tolerance. *BMC Genomics*, *18*, 1-15. https://doi.org/10.1186/s12864-017-4152-1.

Liu, J., Liu, J., Wang, H., Khan, A., Xu, Y., Hou, Y., ... & Cai, X. (2023). Genome wide identification of GDSL gene family explores a novel GhirGDSL 26 gene enhancing drought stress tolerance in cotton. *BMC Plant Biology*, *23*(1), 14. https://doi.org/10.1186/s12870-022-04001-0.

Liu, Y., Song, Q., Li, D., Yang, X., & Li, D. (2017). Multifunctional roles of plant dehydrins in response to environmental stresses. *Frontiers in Plant Science*, *8*, 1018.

Lu, S., Wang, J., Chitsaz, F., Derbyshire, M. K., Geer, R. C., Gonzales, N. R., ... & Marchler-Bauer, A. (2020). CDD/SPARCLE: the conserved domain database in 2020. *Nucleic Acids Research*, *48*(D1), D265-D268. https://doi.org/10.1093/nar/gkz991.

Ma, R., Yuan, H., An, J., Hao, X., & Li, H. (2018). A Gossypium hirsutum GDSL lipase/hydrolase gene (GhGLIP) appears to be involved in promoting seed growth in Arabidopsis. *PLoS One*, *13*(4), e0195556. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0195556.

Manickavelu, A., Kawaura, K., Oishi, K., Shin-I, T., Kohara, Y., Yahiaoui, N., ... & Ogihara, Y. (2010). Comparative gene expression analysis of susceptible and resistant near-isogenic lines in common wheat infected by Puccinia triticina. *DNA Research*, *17*(4), 211-222. https://doi.org/10.1093/dnares/dsq009.

Marques, I., Fernandes, I., Paulo, O. S., Batista, D., Lidon, F. C., Partelli, F., ... & Ramalho, J. C. (2023). Overexpression of water-responsive genes promoted by elevated CO2 reduces ROS and Enhances drought tolerance in Coffea species. *International Journal of Molecular Sciences*, *24*(4), 3210. https://doi.org/10.3390/ijms24043210.

McIntosh, S., Watson, L., Bundock, P., Crawford, A., White, J., Cordeiro, G., ... & Henry, R. (2007). SAGE of the developing wheat caryopsis. *Plant Biotechnology Journal*, *5*(1), 69-83. https://doi.org/10.1111/j.1467-7652.2006.00218.x.

Møller, M. G., Taylor, C., Rasmussen, S. K., & Holm, P. B. (2003). Molecular cloning and characterisation of two genes encoding asparagine synthetase in barley (Hordeum vulgare L.). *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Gene Structure and Expression*, *1628*(2), 123-132. https://doi.org/10.1016/S0167-4781(03)00137-4.

Mot, A. C., & Silaghi-Dumitrescu, R. (2012). Laccases: complex architectures for one-electron oxidations. *Biochemistry (Moscow)*, *77*, 1395-1407. https://doi.org/10.1134/S0006297912120085.

Nagy, Z., Németh, E., Guóth, A., Bona, L., Wodala, B., & Pécsváradi, A. (2013). Metabolic indicators of drought stress tolerance in wheat: Glutamine synthetase isoenzymes and Rubisco. *Plant Physiology and Biochemistry*, *67*, 48-54. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2013.03.001.

Nakashima, K., Ito, Y., & Yamaguchi-Shinozaki, K. (2009). Transcriptional regulatory networks in response to abiotic stresses in Arabidopsis and grasses. *Plant Physiology*, *149*(1), 88-95. https://doi.org/10.1104/pp.108.129791

Paz, R. C., Rocco, R. A., Jiménez-Bremont, J. F., Rodríguez-Kessler, M., Becerra-Flora, A., Menéndez, A. B., & Ruíz, O. A. (2014). Identification of differentially expressed genes potentially involved in the tolerance of Lotus tenuis to long-term alkaline stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, *82*, 279-288. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2014.06.009.

Pitson, S. M., Seviour, R. 8., & McDougall, B. M. (1993). Noncellulolytic fungal β-glucanases: their physiology and regulation. *Enzyme and Microbial Technology*, *15*(3), 178-192.

Prinsi, B., Negri, A. S., Failla, O., Scienza, A., & Espen, L. (2018). Root proteomic and metabolic analyses reveal specific responses to drought stress in differently tolerant grapevine rootstocks. *BMC plant Biology*, *18*, 1-28. https://doi.org/10.1186/s12870-018-1343-0.

Schuetz, M., Smith, R., & Ellis, B. (2013). Xylem tissue specification, patterning, and differentiation mechanisms. *Journal of Experimental Botany*, *64*(1), 11-31. https://doi.org/10.1093/jxb/ers287.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-04-30]

[DOI: 10.61186/jcb.17.1.50]

Schuster, C., Gaillochet, C., & Lohmann, J. U. (2015). Arabidopsis HECATE genes function in phytohormone control during gynoecium development. *Development*, *142*(19), 3343-3350. https://doi.org/10.1242/dev.120444.
Sharma, A., Kumar, V., Shahzad, B., Ramakrishnan, M., Singh Sidhu, G. P., Bali, A. S., ... & Zheng, B. (2020). Photosynthetic response of plants under different abiotic stresses: a review. *Journal of Plant Growth Regulation*, *39*, 509-531. https://doi.org/10.1007/s00344-019-10018-x.
Shen, G., Sun, W., Chen, Z., Shi, L., Hong, J., & Shi, J. (2022). Plant GDSL esterases/lipases: evolutionary, physiological and molecular functions in plant development. *Plants*, *11*(4), 468. https://doi.org/10.3390/plants11040468.
Shen, Y., Xie, J., Liu, R. D., Ni, X. F., Wang, X. H., Li, Z. X., & Zhang, M. (2014). Genomic analysis and expression investigation of caleosin gene family in Arabidopsis. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *448*(4), 365-371. https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2014.04.115.
Shih, M. D., Hoekstra, F. A., & Hsing, Y. I. C. (2008). Late embryogenesis abundant proteins. *Advances in Botanical Research*, *48*, 211-255. https://doi.org/10.1016/S0065-2296(08)00404-7.
Shinozaki, K., & Yamaguchi-Shinozaki, K. (2007). Gene networks involved in drought stress response and tolerance. *Journal of Experimental Botany*, *58*(2), 221-227.
Singh, A., Pandey, A., Srivastava, A. K., Tran, L. S. P., & Pandey, G. K. (2016). Plant protein phosphatases 2C: from genomic diversity to functional multiplicity and importance in stress management. *Critical Reviews in Biotechnology*, *36*(6), 1023-1035. https://doi.org/10.3109/07388551.2015.1083941.
Stewart, G. R., & Larher, F. (1980). Accumulation of amino acids and related compounds in relation to environmental stress. In *Amino Acids and Derivatives* (pp. 609-635). Academic Press.
Sugimoto, H., Kondo, S., Tanaka, T., Imamura, C., Muramoto, N., Hattori, E., ... & Ohto, C. (2014). Overexpression of a novel Arabidopsis PP2C isoform, AtPP2CF1, enhances plant biomass production by increasing inflorescence stem growth. *Journal of Experimental Botany*, *65*(18), 5385-5400. https://doi.org/10.1093/jxb/eru297.
Tian, Y. Y., Li, W., Wang, M. J., Li, J. Y., Davis, S. J., & Liu, J. X. (2022). REVEILLE 7 inhibits the expression of the circadian clock gene EARLY FLOWERING 4 to fine-tune hypocotyl growth in response to warm temperatures. *Journal of Integrative Plant Biology*, *64*(7), 1310-1324. https://doi.org/10.1111/jipb.13284.
Tripathi, P., Rabara, R. C., & Rushton, P. J. (2014). A systems biology perspective on the role of WRKY transcription factors in drought responses in plants. *Planta*, *239*, 255-266. https://doi.org/10.1007/s00425-013-1985-y.
Waheeda, K., Kitchel, H., Wang, Q., & Chiu, P. L. (2023). Molecular mechanism of Rubisco activase: Dynamic assembly and Rubisco remodeling. *Frontiers in Molecular Biosciences*, *10*, 1125922. https://doi.org/10.3389/fmolb.2023.1125922.
Wang, J., Sun, Z., Wang, X., Tang, Y., Li, X., Ren, C., ... & Yu, H. (2023). Transcriptome-based analysis of key pathways relating to yield formation stage of foxtail millet under different drought stress conditions. *Frontiers in Plant Science*, *13*, 1110910. https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1110910.
Xiao, S., Liu, L., Zhang, Y., Sun, H., Zhang, K., Bai, Z., ... & Li, C. (2020). Tandem mass tag-based (TMT) quantitative proteomics analysis reveals the response of fine roots to drought stress in cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *BMC Plant Biology*, *20*(1), 328. https://doi.org/10.1186/s12870-020-02531-z.
Yamaguchi-Shinozaki, K., & Shinozaki, K. (2006). Transcriptional regulatory networks in cellular responses and tolerance to dehydration and cold stresses. *Annual Review of Plant Biology*, *57*(1), 781-803. https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.57.032905.105444.
Yang, J., & Zhang, J. (2006). Grain filling of cereals under soil drying. *New Phytologist*, *169*(2), 223-236. https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2005.01597.x.
Yin, H., Yang, F., He, X., Du, X., Mu, P., & Ma, W. (2022). Advances in the functional study of glutamine synthetase in plant abiotic stress tolerance response. *The Crop Journal*, *10*(4), 917-923. https://doi.org/10.1016/j.cj.2022.01.003.
Yu, A., Zhao, J., Wang, Z., Cheng, K., Zhang, P., Tian, G., ... & Wang, Y. (2020). Transcriptome and metabolite analysis reveal the drought tolerance of foxtail millet significantly correlated with phenylpropanoids-related pathways during germination process under PEG stress. *BMC Plant Biology*, *20*, 1-17. https://doi.org/10.1186/s12870-020-02483-4.
Yue, B., Xue, W., Xiong, L., Yu, X., Luo, L., Cui, K., ... & Zhang, Q. (2006). Genetic basis of drought resistance at reproductive stage in rice: separation of drought tolerance from drought avoidance. *Genetics*, *172*(2), 1213-1228. https://doi.org/10.1534/genetics.105.045062.
Zhang, S. B., Zhang, W. J., Li, N., Zhai, H. C., Lv, Y. Y., Hu, Y. S., & Cai, J. P. (2020). Functional expression and characterization of an endo-1, 4-β-mannosidase from Triticum aestivum in Pichia pastoris. *Biologia*, *75*, 2073-2081. https://doi.org/10.2478/s11756-020-00525-8.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-04-30]

[DOI: 10.61186/jcb.17.1.50]