مجله ایمنی زیستی
دوره ۹، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۵

مطالعه تاثیر تنش خشکی روی الگوی پروتئینی و صفات مرفوفیزیولوژیکی گیاهان

معروف خلیلی* و محمدرضا نقوی
استادیار بخش کشاورزی، دانشگاه پیام نور مهاباد، ایران
استادیار بخش کشاورزی، دانشگاه پیام نور تبریز، تبریز، ایران

makhalily@yahoo.com

چکیده

خشکی از مهم‌ترین عوامل تنش‌زای محیطی است که تولید محصولات کشاورزی را در مناطق خشک و نیمه خشک تحت تاثیر قرار داده و باعث کاهش آن می‌شود. کاهش اثر تنش‌های محیطی مانند خشکی با استفاده از روش‌هایی مانند آبیاری، مصرف کود و روش‌های مناسب کاشت، با محدودیت مواجه است. بنابراین اصلاح ژنتیکی گیاهان برای به حداقل رساندن اثر تنش‌های محیطی، تلاشی مهم به شمار می‌آید. تحمل به خشکی یک صفت ساده از نظر ژنتیکی نبوده، بلکه صفتی کمی و پیچیده با جنبه‌های مختلف می‌باشد که بطور مثال با صفات محتوای آب نسبی، فلورسانس کلروفیل، تجمع پرولین، تجمع آبسزیک اسید و تنظیم اسمزی ارتباط دارد. گرچه انتخاب از طریق صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک از اهمیت بالایی برخوردار است، اما در مورد صفت پیچیده مقاومت به خشکی، نیاز به استفاده از روش‌های مولکولی برای بررسی مکانیسم‌های مربوطه الزامی است. در این راستا پروتئومیکس می‌تواند به عنوان ابزاری نیرومند برای تفکیک، جداسازی و تشخیص پروتئین‌های پاسخ‌دهنده به تنش مورد استفاده قرار گیرد. همچنین با ترکیب اطلاعات حاصل از این روش با ژنومیکس و بیوانفورماتیک، امکان شناسایی سازوکارهای مولکولی و ژن‌های دخیل در پاسخ گیاهان به تنش‌ها فراهم می‌شود. در راستای اهمیت موضوع، مقاله حاضر به مطالعه تنش خشکی و تاثیر آن در سطح پروتئینی، فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی در گیاهان می‌پردازد.

کلمات کلیدی: پاسخ مولکولی گیاهان، پروتئین، تنش خشکی، صفات فیزیولوژیک

مقدمه

گیاهان همواره با تنش‌های مختلف زیستی و غیرزیستی که حیات آن‌ها را به خطر می‌اندازد، مواجه هستند. تنش خشکی از جمله تنش‌های غیرزیستی است که تاثیر زیادی در عملکرد و حیات گیاهان دارد و یکی از علل اصلی کاهش عملکرد گیاهان زراعی است (٦٠). بیش از یک چهارم سطح کره زمین در مناطق خشک و نیمه خشک قرار دارد و طبق یک برآورد حدود یک سوم از اراضی قابل کشت دنیا در

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-08-23]
[DOR: 20.1001.1.27170632.1395.9.2.3.7]

شرایط کمبود آب قرار دارند (۲۵). بنابراین با توجه به این امر وجود تنش خشکی از اهمیت خاص برخوردار خواهد بود. اظهار شده است که خشکی به‌عنوان مهمترین فاکتور کنترل کننده عملکرد محصولات، تقریبا روی کلیه فرآیندهای رشد گیاه تاثیرگذار است (۵۳،۲). گیاهان در سطوح مورفولوژیکی، آناتومیکی، سلولی و مولکولی به تنش خشکی پاسخ نشان می‌دهند. برای غلبه بر تنش خشکی گیاهان پاسخ‌های گوناگونی از قبیل تولید اسمولایت (Osmolyte) برای تنظیم اسمزی و تغییر در بیان پروتئین‌ها را نشان می‌دهند (۸) که نحوه سازوکار فیزیولوژیکی گیاهان در شرایط تنش را تغییر می‌دهد (۵٦). پاسخ به تنش خشکی به سه مرحله یعنی تشخیص تنش، ترارسانی پیام و تولید اجزاء برای پاسخ فیزیولوژیکی نیاز دارد (۵٦). اخیرا نتایج تحقیقات نشان داده است که علاوه بر تغییرات فیزیولوژیکی که در اثر کمبود آب در گیاه ایجاد می‌شود، صدمات اکسیداتیو نیز از عوامل مهم محدود کننده رشد و تولیدات گیاهی هستند که در اثر عدم وجود شرایط مناسب ایجاد می‌شود. همچنین اظهار شده است که بیشترین خسارت تنش‌های مختلف به گیاهان، در ارتباط با خسارت اکسیداتیو در سطوح مختلف سلولی است (٤). در شرایط تنش کمبود آب روزنه‌ها در گیاه بسته می‌شوند و متعاقب آن غلظت CO_2 در بافت مزوفیل کاهش می‌یابد و به دنبال این وضعیت واکنش‌های تاریکی فتوسنتز مختل شده و محصولات حاصل از واکنش‌های روشنایی، که شامل ATP و NADPH است، مصرف نمی‌شود. در چنین شرایطی به دلیل عدم اکسید شدن مولکول NADPH، مصرف $NADP^+$ جهت دریافت الکترون کاهش می‌یابد. بنابراین مولکول اکسیژن در مسیر زنجیره انتقال الکترون به عنوان پذیرنده جانشین الکترون عمل می‌کند و منجر به شکل‌گیری رادیکال سوپر اکسید (O_2^-)، پراکسیدهیدروژن (H_2O_2) و رادیکال هیدروکسیل (OH^-) می‌شود (٤۹). فعالیت گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) ممکن است سبب بروز صدماتی همچون اکسید شدن لیپیدها (که در نتیجه آن ساختار غشاء تغییر کرده و باعث از هم پاشیدگی یکپارچگی آن می‌شود)، تغییر ساختمان پروتئین‌ها و اکسید شدن گروه‌های سولفیدریل (-SH)، غیرفعال شدن آنزیم‌ها، بی‌رنگ شدن و یا از بین رفتن رنگدانه‌هایی مانند کلروفیل و سایر ترکیبات رنگیزه‌ای و همچنین حمله مداوم به مولکول‌های آلی مثل DNA و در نتیجه اختلال در رشته‌های DNA گردد (۳٦). گیاهان برای مقابله با تنش اکسیداتیو ایجاد شده در طی تنش خشکی، دارای سیستم دفاعی با کارایی بالاتری هستند که می‌تواند رادیکال‌های آزاد را از بین برده و یا خنثی کنند. این سیستم دفاعی شامل سوپر اکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT)، آسکوربات پراکسیداز (APX) و گلوتاتیون ردوکتاز (GR) است و سیستم غیرآنزیمی شامل اسکوربات، توکوفرول، کاروتنوئیدها و ترکیبات متفرقه (از جمله فلاونوئیدها، مانیتول‌ها و پلی‌فنل‌ها) می‌باشد (٦). تنوع مولکول‌های دفاعی در برابر تنش خشکی به این خاطر است که انواع اکسیژن‌های واکنش‌زا (ROS) در سلول‌ها و بخش‌های زیر سلولی مختلف تولید می‌شوند که در خاصیت‌هایی چون توانایی انتشار، حلالیت و تمایل به واکنش دادن با مولکول‌های بیولوژیک مختلف، متفاوت هستند. بنابراین به مجموعه‌ای بهم پیوسته از مولکول‌های دفاعی برای عمل در هر دو مرحله آلی و

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-08-23]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1395.9.2.3.7]

غشائی در تمام بخش‌های سلول برای غیرفعال کردن رادیکال‌ها به همان سرعتی که آن‌ها شکل می‌گیرند، نیاز است (٦). همچنین، تاثیرات بازدارندگی تنش‌های محیطی روی دستگاه فتوسنتزی گیاهان اثبات شده است. در میان تنش‌های غیرزیستی، تنش خشکی از لحاظ تاثیر روی سیستم فتوسنتزی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (١٧). به عبارت دیگر، در طی تنش خشکی نسبت فتوسنتز کاهش می‌یابد و این کاهش به تفاوت‌های ژنتیکی وابسته است (٦). مشخص شده است که تحت تنش خشکی میزان پروتئین متصل شونده به روبیسکو کاهش می‌یابد (٥). از طرف دیگر، تحت تنش کمبود آب انجام پاسخ به تنش از نظر پروتئین‌ها دارای تنوع می‌باشد و برخی پروتئین‌ها تنها در رقم متحمل دیده می‌شوند و پروتئین‌های مشترک نیز بین ارقام متحمل و حساس دارای تغییر در نوع بیان هستند (٤٧). علاوه بر این ارقام متحمل‌تر به تنش خشکی، دارای فعالیت بهتر کنترل روزنه‌ای هستند که این امر تحت تاثیر بیان یکسری پروتئین‌های خاص انجام می‌شود و در مجموع به این ارقام اجازه تثبیت کربن در شرایط تنش، بهبود کارایی مصرف آب و فعالیت فتوسنتزی را می‌دهد (٦٢). در این راستا تجزیه و تحلیل پروتئینی روشی مستقیم برای تشخیص فعالیت ژن‌ها محسوب می‌شود و تجزیه ارتباط پروتئوم با اطلاعات توالی ژنوم راهبرد مهمی برای ژنومیکس کاربردی به شمار می‌آید (٢٦). پروتئومیکس ابزار قدرتمندی برای تفکیک بافت‌های پروتئینی و روشی مناسب برای بررسی تغییرات پروتئین‌ها در پاسخ به تنش‌ها و تغییرات محیطی به حساب می‌آید (٦٣). به عبارت دیگر در بررسی پاسخ به تنش و افزایش تحمل در گیاهان، پروتئومیکس ابزار مناسبی برای تفکیک، جداسازی و تشخیص پروتئین‌های پاسخ دهنده به تنش محسوب میشود (٥٦).

تنش خشکی و تاثیر آن روی گیاه

خشکی می‌تواند به طور معنی‌دار بر عملکرد و بقای گیاهان با تغییر صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی تاثیر بگذارد (٤٦،٤١). عملکرد دانه، خصوصیت پیچیده‌ای است که تحت تاثیر تعداد زیادی از فرآیندهای فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی واقع می‌شود و شرایط محیطی، ساختار ژنتیکی گیاه و اثرهای متقابل آن‌ها، عملکرد گیاهان زراعی را تحت تاثیر قرار می‌دهد (٣٧،٢). تنش خشکی عملکرد را از طریق تضعیف منبع (source) و مخزن (sink)، بسته به شدت و زمان وقوع تنش تحت تاثیر قرار می‌دهد (١٨،٧). روی گندم‌های دوروم و نان نشان داده شده که طول سنبله، تعداد سنبلچه، عملکرد دانه، ماده خشک بوته و ارتفاع بوته در شرایط تنش خشکی کاهش می‌یابد (٢١،٥٠). در یک تحقیق تعداد دانه در سنبله گندم اثر غیر مستقیم زیادی روی عملکرد دانه گذاشت و در مجموع همبستگی مثبت و بالایی با عملکرد دانه داشت (٣١). در مطالعه دیگری که روی هشت ژنوتیپ جو بهاره انجام گرفت، اثر مستقیم تعداد سنبله در متر مربع، تعداد دانه در سنبله و وزن دانه بر عملکرد دانه مثبت گزارش شد (١٣). عملکرد دانه در بوته در گندم نان تحت شرایط تنش خشکی همبستگی مثبت و معنی‌داری با طول سنبله و تعداد دانه در سنبله دارد (٣٨، ٣٤).

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-08-23]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1395.9.2.3.7]

مطالعه تاثیر تنش خشکی روی صفات مرفولوژیکی و فیزیولوژیکی در گیاهان

بسیاری از بررسی‌های انجام گرفته در مورد واکنش گیاهان به تنش خشکی، روی اندام‌های هوایی گیاه متمرکز شده‌اند. با این حال، آگاهی کافی از نحوه عمل سیستم ریشه‌ای در طول دوره خشکی و پس از آن با اهمیت به نظر می‌رسد (٤٤،٧). زمانی‌که رطوبت خاک در ناحیه ریشه کافی نیست، ریشه به سرعت به قسمت‌های دیگری از خاک که دارای رطوبت مناسب است گسترش می‌یابد (۵۲). گزارش شده است که در میزان تراکم ریشه، عوامل محیطی، بیشتر از ژنوتیپ یا عادات رویشی موثر می‌باشد و طول و عمق ریشه با کاهش قابلیت دسترسی به آب افزایش می‌یابد (۱۵). ریشه‌های گیاهان در جایی که با تنش خشکی مواجه می‌شوند، قادر هستند تا از شرایط تنش آگاه شده و به آن پاسخ مناسب ارائه دهند. تفاوت‌های آشکاری بین گونه‌های زراعی از نظر اندازه و وزن سیستم‌های ریشه‌ای، عمق نفوذ در خاک، توزیع آن در پروفیل خاک، انتقال آب توسط آوندهای چوبی ریشه، ضخامت سیستم ریشه‌ای و سازگاری صفات به شرایط خشکی گزارش شده است (۱۱). با بررسی ارقام گندم تحت تنش خشکی در مرحله گیاهچه‌ای مشخص شده است که طول، حجم و عمق ریشه با شدت گرفتن تنش خشکی افزایش می‌یابد و ارقام متحمل‌تر از خصوصیات مطلوب‌تر سیستم ریشه‌ای در شرایط تنش برخوردار می‌باشند (۱۱).

فرآیندهای فیزیولوژیکی در گیاهان عمدتا تابع آب در گیاه بوده و به طور غیر مستقیم تحت تاثیر تنش آب در خاک و هوا قرار دارند (۲۷). پژوهشگران اظهار داشته‌اند که پتانسیل آب بافت گیاهان ممکن است در بین لاین‌های مقاوم و حساس به خشکی متفاوت باشد (۳٦). با توجه به نتایج بدست آمده کومار و الستون (۲۸)، می‌توان اذعان نمود که پتانسیل آب برگ تحت شرایط تنش خشکی معمولا افت می‌کند. میزان افت پتانسیل آب برگ به ویژه در ساعات میانی روز در ژنوتیپ‌های مقاوم به طور معنی‌داری نسبت به ژنوتیپ‌های حساس کمتر است (٤۰). تاثیر تنش کمبود آب بر فرآیندهای فیزیولوژیکی مراحل مختلف رشدی و ارتباط آن‌ها با رشد و نمو و عملکرد گندم توسط گوپتا و همکاران (۱۹) مورد اشاره قرار گرفته است. بنظر سیدیک و همکاران (٥٤) پتانسیل آب برگ یک پارامتر قابل اطمینان برای ارزیابی کمی پاسخ گیاهان به تنش کمبود آب می‌باشد و با تکیه به نتایج حاصل از تحقیق خود اظهار نمودند که این صفت با حضور تنش خشکی معمولا در برگ افت می‌کند. سینگ و همکاران (۵۵) تفاوت معنی‌داری در پتانسیل آب برگ بین ژنوتیپ‌های گندم تحت تنش خشکی گزارش کردند. بطوری که ارقام متحمل‌تر دارای پتانسیل آب برگ نسبتا بالاتری در مقایسه با ارقام حساس‌تر بودند.

ویژگی‌های فیزیولوژیکی متعددی می‌توانند در تداوم رشد تحت شرایط خشکی مشارکت کنند. تنظیم اسمزی، یک مکانیسم سازگاری به کمبود آب می‌باشد که با افزایش میزان املاح در سلول‌ها می‌تواند باعث حفظ تورم و فرآیندهای مربوطه در پتانسیل‌های آب پایین گردد (۳۰). حفاظت از پتانسیل اسمزی مثبت برگ با تجمع ترکیباتی مثل مانیتول، رافینوز، تری هالوز، پرولین و گلایسین بتائین که اصطلاحا مواد حل‌شونده سازگار نامیده می‌شود، بدست می‌آید (۵۹).

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-08-23]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1395.9.2.3.7]

تنظیم اسمزی به نظر می‌رسد یک نوع سازگاری به تنش خشکی باشد، بطوری‌که افزایش مقدار مواد حل‌شونده در سلول می‌تواند منجر به حفظ تورژسانس و فرآیندهای مرتبط با تورژسانس مانند باز و بسته شدن روزنه‌ها، رشد ساقه، فتوسنتز و توسعه ریشه‌ها در لایه‌های عمیق خاک در پتانسیل‌های پایین بشود (۲۹).

در آزمایشی مشاهده شده است که ذرت خوشه‌ای در مقایسه با چغندرقند و لوبیا چشم بلبلی به هنگام کمبود آب از تنظیم اسمزی بالاتری برخوردار بوده و آب زیادی از خاک جذب کرده و احتمالا روزنه‌های خود را مدت بیشتری باز نگه می‌دارند (۱٦). نتایج حاصل از مطالعات الهفید و همکاران (۱٤) حاکی از آن است که توان ارقام مقاوم به خشکی گندم در باز نگه داشتن روزنه‌ها، در پتانسیل‌های پایین آب برگ، بطور تنگاتنگی در ارتباط با توان بالای تنظیم اسمزی آن‌ها می‌باشد. بطوریکه این ویژگی به عنوان شاخصی کارآمد برای شناسایی ارقام مقاوم به خشکی در گندم معرفی شده است. بنابراین، تنظیم اسمزی جزو شاخص‌های انتخاب ژنوتیپ‌های کاندیدا برای تحمل به تنش‌های خشکی و شوری در برنامه‌های اصلاحی محسوب می‌شود. مطالعات نشان داده‌اند که تنظیم اسمزی یک صفت کمی با کنترل ژنتیکی است (۵۵) که واکنش ارقام مختلف گندم در این مورد نیاز به مطالعه بیشتری دارد.

یکی از ترکیباتی که در تنظیم پتانسیل اسمزی سلول نقش دارد، پرولین است. تجمع پرولین در بسیاری از گونه‌های گیاهی تحت تنش‌های غیرزیستی مورد گزارش قرار گرفته است (۱۲). وندروسکولو و همکاران (۵۸) حضور پرولین در گیاه را یک راهکار اصلی برای جلوگیری از اثرات زیان‌بار تنش کمبود آب دانستند و افزایش معنی‌دار میزان آن با حضور تنش کمبود آب در گندم را گزارش کردند. پوستینی و همکاران (٤۳) افزایش میزان پرولین را در شرایط تنش‌زا در گندم و برخی گیاهان دیگر مورد اشاره قرار داده‌اند. نتایج حاصل از مطالعات الهفید و همکاران (۱٤)، حاکی از آن است که توان ارقام مقاوم به خشکی گندم و دوروم در باز نگه داشتن روزنه‌ها، در پتانسیل‌های پایین آب برگ، به طور تنگاتنگی در ارتباط با توان بالای تنظیم اسمزی آن‌ها است. به‌طوریکه این ویژگی به عنوان شاخصی کارآمد در شناسایی ارقام متحمل خشکی در گندم معرفی شده است.

محتوای آب نسبی برگ (RWC) نیز یک صفت فیزیولوژیکی است که بارها به عنوان معیار گزینش برای تحمل خشکی پیشنهاد شده است (۵۳). افزایش دوره و شدت تنش، RWC برگ را کاهش می‌دهد. ارقام متحمل در گندم دوروم نسبت به ارقام حساس از مقدار آب نسبی برگ بالاتری برخوردار بودند (۱٤). لی و استادن (۳۲) نیز دریافتند که تنش کمبود آب، محتوای آب نسبی را در گیاهچه‌های ارقام حساس ذرت کاهش می‌دهد. لوزکانوفرات و لوات (۳۳) نیز نشان دادند که تنش کمبود آب باعث کاهش معنی‌دار RWC در بخش هوایی لوبیا می‌گردد. آن‌ها همبستگی منفی و معنی‌داری بین RWC اندام هوایی و غلظت پرولین مشاهده کردند.

میزان کلروفیل برگ هم یک شاخص مفید برای بهره‌وری از پتانسیل فتوسنتزی و قدرت عمومی گیاه

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-08-23]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1395.9.2.3.7]

است. کاهش معنی‌دار آن در برگ گندم و در پاسخ به خشکی تایید شده است، بطوری که ارقام مقاوم کاهش کمتری در طی تنش خشکی نشان داده‌اند (۵۷). پیری واتلو و همکاران (٤٢) به همبستگی مثبت میزان کلروفیل با عملکرد دانه و شاخص سطح برگ در ژنوتیپ‌های گندم تحت تنش خشکی اشاره کرده‌اند. فلورسانس کلروفیل، بازده مکانیزم جذب نور را در ارتباط با فعالیت فتوسیستم II نشان می‌دهد (۳۵) و اجزای آن با استفاده از روابطی در ارزیابی این کارایی مورد استفاده قرار می‌گیرد. نسبت *Fv/Fm* به عنوان یک شاخص گزینش قابل اطمینان برای شرایط تنش‌دار استفاده شده است (۵۱).

تنش خشکی و مطالعات پروتئومیکس

مطالعاتی که به منظور درک مکانیسم پاسخ به تنش خشکی انجام می‌شود، در راستای توسعه ارقام متحمل گندم به تنش خشکی است. گیاهان به منظور رهایی از شرایط نامطلوب رشد، حفظ هموستازی، سم‌زدایی عناصر مضر و بازیابی رشد، اقداماتی در سطوح فیزیولوژیکی و مولکولی را به اجرا می‌گذارند (٤٥). با این وجود دانش حاضر در مورد ژن‌های درگیر در مکانیسم پاسخ به تنش خشکی هنوز دارای محدودیت‌هایی است (۹). با استفاده از پروتئومیکس می‌توان اثر تنش‌های غیرزیستی از جمله کمبود آب، شوری و دماهای بالا و پایین را با اطمینان کافی بررسی نمود (٦٣). این رهیافت امکان تشخیص ژن‌های جدید را در شرایط محیطی مختلف فراهم می‌کند. تجزیه پروتئوم روشی مستقیم برای تشخیص عمل ژن‌ها است و تجزیه و تحلیل ارتباط پروتئوم با اطلاعات توالی ژنوم، در ژنومیک کاربردی یک راهبرد با ارزش محسوب می‌شود (٢٦). خشکی باعث تجمع گروه پیچیده‌ای از پروتئین‌ها می‌شود که از سلول‌ها در برابر خسارت‌های ناشی از آن حفاظت می‌کنند. این پروتئین‌ها شامل چاپرون‌ها، LEA_s (Late embryogenesis abundants) و بازدارنده پروتئینازهای عمل‌کننده (تقاطعی) (Intercepter proteinase) هستند. اگرچه بخش عمده‌ای از پروتئین‌های درگیر هنوز ناشناخته هستند (٦١،٨).

در بسیاری از مطالعات، بررسی الگوی پروتئینی گیاهان تحت تنش خشکی با استفاده از روش الکتروفورز دوبعدی و طیف‌سنجی جرمی (MALDI-TOF) انجام شده است که در ادامه نتایج چندین مورد از این پژوهش‌ها ارائه می‌شود. در این راستا، حاج‌حیدری و همکاران (۲۰) دو ژنوتیپ چغندرقند را تحت تنش فزآیندهٔ ملایم کمبود آب در طول فصل رشد قرار دادند و سپس تجزیه پروتئوم برای آن‌ها انجام گرفت. بیشتر پروتئین‌های برگی پاسخ‌دهنده به تنش کمبود آب توسط 2-DE (الکتروفورز دوبعدی) در هر دو ژنوتیپ جدا و تفکیک شدند. تحت تنش کمبود آب، مقدار ٤٥ پروتئین کاهش و مقدار ۳۵ لکه پروتئینی افزایش یافت. از میان این پروتئین‌ها می‌توان به پلی‌پپتید متصل به مجموعه زنجیره آلفا اشاره کرد که مقدار آن کاهش پیدا کرد و مقدار چهار پیش ماده زیر واحد بزرگ Rubisco افزایش یافت. بنابراین، در طی تنش خشکی تولید انرژی از ارجحیت بیشتری برخوردار است. در بررسی ریکاردی و همکاران (٤٨) الگوی پروتئوم دو لاین ذرت و نسل F_1 آن‌ها در شرایط تنش کمبود آب با الکتروفورز دوبعدی مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج آن‌ها نشان داد که میزان ۷۸ پروتئین از ٤١٣ پروتئین مشاهده شده از تغییرات

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-08-23]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1395.9.2.3.7]

معنی‌داری برخوردار است. از میان ۷۸ لکه پروتئینی، ۲۳ لکه پروتئینی کاهش مقدار و ٤۰ لکه در اثر تنش افزایش مقدار نشان داد. رفتارهای متفاوت ۳۸ پروتئین نیز در دو ژنوتیپ مقاوم و حساس مشاهده شد. تعداد ۱۱ پروتئین به میزان ۱/۳ الی ۵ برابر افزایش بیان نشان دادند و ۸ پروتئین فقط در شرایط تنش مشاهده شد. آن‌ها نتیجه گرفتند که پروتئین‌های خاصی در پاسخ به تنش ایجاد می‌شوند که می‌توان با بررسی آن‌ها و انتقال ژن‌های این پروتئین‌ها به گیاهان حساس مکانیسم تحمل به تنش را دقیق‌تر بررسی کرد.

مشتاق و همکاران (۳۹) تجزیه پروتئوم را به منظور ارزیابی اثر تنش کمبود آب روی کیفیت دانه‌های برنج در مرحله سه تا چهار روز قبل از گلدهی انجام دادند. پروتئین‌های آندوسپرم دانه توسط الکتروفورز دوبعدی و رنگ آمیزی آبی کوماسی همراه با MALDI-TOF انجام شد. در نمونه‌های تحت تنش بیشتر از ٤۰ لکه پروتئینی قابل تکرار مشاهده شد. مقدار سه پروتئین افزایش و پنج پروتئین کاهش یافت. به کمک طیف‌سنجی جرمی شش لکه‌ی برخوردار از پروتئین‌های متفاوت تشخیص داده شدند. پروتئین‌های شناسایی شده، پروتئین‌های مرتبط با ساخت پروتئین و متابولیسم کربوهیدرات‌ها بودند. برخی از این پروتئین‌ها نقش مهمی در ساخت نشاسته و کیفیت دانه دارد و عامل حیاتی در تعیین کیفیت دانه برنج محسوب می‌شوند. علی و کوماتسو (۳) بمنظور ارزیابی تاثیر تنش خشکی در مراحل اولیه رشد برنج بر تغییرات بیان پروتئین‌های غلاف برگ این گیاه آزمایشی انجام دادند. آن‌ها گیاهچه‌های دو هفته‌ای برنج را به مدت دو تا شش روز تحت تنش خشکی قرار دادند و تجزیه پروتئوم توسط الکتروفورز دوبعدی و رنگ آمیزی آبی کوماسی انجام دادند. نتایج نشان داد که تعداد ۱۰ پروتئین افزایش بیان و ۲ پروتئین کاهش بیان معنی‌داری دارند که با گروه‌بندی این پروتئین‌ها مشخص شد که در فعالیت‌های دفاعی، تامین انرژی، متابولیسم، ساختار سلولی و ترارسانی پیام نقش دارند. همچنین آن‌ها اظهار داشتند که فاکتور actin depolymerizing یک پروتئین هدف القایی تحت تنش خشکی می‌باشد.

در تجزیه‌ی پروتئوم برگ‌های برنج تحت تنش کمبود آب و بازیابی بعد از تنش که توسط حسینی سالکده و همکاران (۲۲) انجام شد. دو رقم برنج، CT9993 و IR62266، بعد از سه هفته رشد، بیش از ۲۳ روز تحت تنش کمبود آب قرار گرفتند. در طی این مدت پتانسیل آب برگ در وسط روز در گیاهان تحت تنش تقریبا ۲/٤- مگاپاسکال بود، در حالی که پتانسیل آب برگ در گیاهان شاهد ۱- مگاپاسکال بود. بیشتر از ۱۰۰۰ لکه پروتئینی قابل تکرار در تجزیه پروتئوم برگ‌های تحت تنش به روش الکتروفورز دوبعدی و رنگ‌آمیزی نقره شناسایی شد. تغییر مشخصی در فراوانی ٤۲ لکه تحت شرایط تنش در مقایسه با شاهد مشاهده شد. بطور کلی تنظیم میزان این پروتئین‌ها توسط گیاه موجب حفظ ساختار و مقاومت بیشتر گیاه در شرایط تنش‌خشکی می‌شوند. در ارقام متحمل نیز پروتئین‌های جدید مرتبط با تحمل تنش خشکی ساخته می‌شود و یا مقدار پروتئین‌های پاسخ‌دهنده به تنش، که بین ارقام مشترک است، تغییر می‌یابد (۲۲).

کی و همکاران (٢٤) بمنظور بررسی تاثیر تنش خشکی روی تغییر بیان پروتئین‌های برگ برنج آزمایشی انجام دادند. آن‌ها گیاهچه‌های دو هفته‌ای را

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-08-23]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1395.9.2.3.7]

تحت تنش خشکی قرار دادند و قبل از پژمرده شدن برگ‌ها نمونه‌گیری انجام دادند. سپس تجزیه پروتئوم را توسط الکتروفورز دوبعدی، رنگ آمیزی آبی کوماسی، تجزیه آماری با PDQuest و توالی‌یابی طیف‌سنجی جرمی انجام دادند. نتایج نشان داد که در برگ برنج تعداد ۱۰ فسفوپروتئین به طور محسوس‌تر به تنش خشکی واکنش نشان می‌دهند که بیشتر آن‌ها افزایش بیان داشتند. حاج حیدری و همکاران (۱) برای بررسی تاثیر تنش خشکی اعمال شده از مرحله ساقه‌روی تا رسیدگی روی بذر گندم بهاره آزمایشی را انجام دادند و توسط تجزیه پروتئوم با الکتروفورز دوبعدی ۶۰۰ لکه پروتئینی تکرارپذیر بدست آوردند که ۱۵۳ لکه بین شاهد و تنش اختلاف معنی‌دار داشتند و از بین آن‌ها ۷۸ لکه پروتئینی از طریق MALDI TOF/TOF شناسایی شدند. این پروتئین‌ها به پروتئین‌های ذخیره‌ای، پروتئین‌های شوک گرمایی، بازدارنده پروتئینازهای عمل‌کننده (تقاطعی)، آنزیم‌های سم‌زدایی، آلدهید دهیدروژناز و پروتئین‌های LEA تعلق داشتند که در تحمل به تنش خشکی و کیفیت تغذیه‌ای دانه گندم نقش دارند. تاثیر انواع تنش‌های غیر زیستی شامل خشکی، شوری، سرما و گرما روی چهار رقم گندم توسط کامال و همکاران (۲۳) بررسی شده و در کلیه تنش‌ها از ۵۰ میلی‌گرم بافت بذری گندم برای الکتروفورز دوبعدی، رنگ آمیزی آبی کوماسی و روش MALDI-TOF بمنظور توالی‌یابی استفاده شد. این پژوهش نشان داد که تقریبا ترتیب نسبی ارقام از نظر تعداد پروتئین‌های پاسخ‌دهنده به تنش در انواع مختلف تنش‌ها یکسان است و عملکرد ارقام دارای پروتئین بیشتر در واکنش به تنش، بهتر از سایر ارقام بود. همچنین آن‌ها ذکر کردند که ژن‌هایی که توسط پروتئومیکس شناخته می‌شوند، می‌تواند برای انتخاب از طریق نشانگر یا برنامه‌های انتقال ژن جهت بهبود عملکرد گیاهی و تحمل به تنش‌های غیر زیستی مورد استفاده قرار گیرند. در آزمایش دیگری روی گندم دوروم که توسط کاروسو و همکاران (۱۰) انجام شد، تنش خشکی به مدت هفت روز بر گیاهچه‌های هفت روزه اعمال و با گیاهان شاهد مقایسه گردید. تجزیه پروتئوم توسط الکتروفورز دوبعدی در بعد اول به صورت IPG و بعد دوم SDS-PAGE، رنگ آمیزی توسط آبی کوماسی و طیف سنجی جرمی نشان داد که ۳۶ لکه پروتئینی به صورت تکرارپذیر دارای تغییرات بیان معنی‌دار بین تنش و شاهد بودند. با گروه‌بندی این پروتئین‌ها مشخص شد که سهم نسبی این پروتئین‌ها بصورت دخالت در گلیکولیز، ۱۸٪، دخیل در حذف گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، ۱۵٪، دخیل در بیوسنتز اسیدهای آمینه، ۱۲٪، در چرخه کالوین، ۹٪، در مکانیسم‌های دفاعی، ۶٪، و در تنظیم پس از ترجمه، ۳٪ بود.

جمع بندی

در مجموع برای حصول نتیجه مطمئن در برنامه‌های اصلاحی، مطالعات مولکولی و خصوصا بررسی الگوی پروتئینی گیاهان از اولویت برخوردار است. همچنین مطالعه صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی، در کنار مطالعات پروتئینی می‌تواند به شناسایی و درک بهتر تغییر صفات گیاهان بیانجامد و در کنار آن مسیرهای متابولیکی مهم را مشخص نماید.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-08-23]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1395.9.2.3.7]

منابع مورد استفاده References

۱- **حاج حیدری م، عیوضی ع ر، حسینی سالکده ق. ۱۳۸٤.** آنالیز پروتئوم بذر گندم تحت تنش خشکی. چهارمین همایش ملی بیوتکنولوژی ایران، کرمان، ۲٦-۲٤ مرداد ماه ۱۳۸٤، صفحه ۱۸.

۲- **کشاورز ع، جلال کمالی م ر، دهقانی ع، حمید نژاد م، صدری ب، حیدری ا، محسنین م. ۱۳۸۱.** طرح افزایش عملکرد و تولید گندم آبی و دیم کشور. مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، سازمان تحقیقات و آموزش کشاورزی، وزارت جهاد کشاورزی، صفحه ۱٤٦.

3- **Ali GM, Komatsu S. 2006.** Proteomic analysis of rice leaf sheath during drought stress. Journal of Proteome Research 5:396-403.

4- **Allen JF. 2003.** Cyclic, pseudocyclic and noncyclic photophosphorylation: new links in the chain. Trends Plant Science 8:15-19.

5- **Aranjuelo I, Molero G, Erice G, Christophe Avice J, Nogues S. 2011.** Plant physiology and proteomics reveals the leaf response to drought in alfalfa (*Medicago sativa* L.). Journal of Experimental Botany 62(1):111-123.

6- **Blokhin O, Virolainen E, Fagerstedt K. 2003.** Antioxidant oxidative damage and oxygen deprivation stress. Annual Review of Botany 91:179-194.

7- **Blum A. 1996.** Crop responses to drought and the interpretation of adaptation. Journal of Plant Growth Regulation 20:135-148.

8- **Bohnert HJ, Jensen RG. 1996.** Strategies for engineering water stress tolerance in plants. Trends in Biotechnology 14:89-97.

9- **Bray EA. 2002.** Classification of genes differentially expressed during water-deficit stress in *Arabidopsis thaliana*: An analysis using microarray and differential expression data. Annals of Botany 89:803-811.

10- **Caruso G, Cavaliere C, Foglia P, Gubbiotti R, Samperi R, Lagana A. 2009.** Analysis of drought responsive proteins in wheat (*Triticum durum*) by 2D-PAGE and MALDI-TOF mass spectrometry. Plant Science 177:570-576.

11- **Clark JM, McCaig IN. 1993.** Breeding for efficient root system. In: Hayward, M.D., Bosemark, N.O. and Romago, L. (eds). Plant Breeding Principles and Prospects. Chapman and Hall, London, 256-280.

12- **Delanney AJ, Verma DPS. 1993.** Proline biosynthesis osmoregulation in plants. The Plant Journal 4:215-223.

13- **Dofing M, Knight CC. 1992.** Alternative model for path analysis of small grain yield. Crop Science 32:487-489.

14- **El-Hafid R, Smith DH, Karrou M, Samir K. 1998.** Physiological responses of spring durum wheat cultivars to early-season drought in a Mediterranean environment. Annals of Botany 81:363-370.

15- **Entz MH, Gross KG, Fowler DB. 1992.** Root growth and soil water extraction by winter and spring wheat. Canadian Journal of Plant Science 72:1109-1120.

16- **Fernandez CJ, Mc cree KJ. 1991.** Visualizing differences in plant water dynamics with a simulation model. Crop Science 31:399-404.

17- **Flexas J, Medrano H. 2002.** Drought-inhibition of photosynthesis in C3 plants: stomatal and non-stomatal limitations revisited. Annals of Botany 89(2):183-189.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-08-23]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1395.9.2.3.7]

18- Gregoire T, Menteiro A. 1998. Effects of environmental factors on progress to crop maturity in selected *Brassica* crops. Acta Horticulturae 459:69-70.

19- Gupta NK, Gupta S, Kumar A. 2001. Effect of water stress on physiological attributes and their relationship with growth and yield of wheat cultivars at different stages. Journal of Agronomy and Crop Science 186:55-58.

20- Hajheidari M, Abdollahian-Noghabi M, Askari H, Heidari M, Sadeghian SY, Ober ES, Hosseini Salekdeh GH. 2005. Proteome analysis of sugar beet leaves under drought stress. Proteomics 5:950-960.

21- Heyne EG. 1987. Wheat and Wheat Improvement. 2nd edition. American Society of Agronomy, Madison, Wisconsin, USA.

22- Hosseini Salekdeh G, Siopongco J, Wade LJ, Ghareyazie B, Bennett J. 2002. Proteomic analysis of rice leaves during drought stress and recovery. Proteomics 2:1131-1145.

23- Kamal AHM, Kim K-H, Shin K-H, Choi J-S, Baik B-K, Tsujimoto H, Heo HY, Park C-S, Woo S-H. 2010. Abiotic stress responsive proteins of wheat grain determined using proteomics technique. Australian Journal of Crop Science 4:196-208.

24- Ke Y, Han G, He H, Li J. 2009. Differential regulation of proteins and phosphoproteins in rice under drought stress. Biochemical and Biophysical Research Communications 379:133-138

25- Kirigwi FM, Van Ginkel M, Trethowan RG, Sears RG, Rajaram S, Paulsen M. 2004. Evaluation of selection strategies for wheat adaptation across water regimes. Euphytica 135:361-371.

26- Komatsu S, Tanaka N. 2004. Rice proteome analysis: A step toward functional analysis of the rice genome. Proteomics 4:938-949.

27- Kramer PJ. 1969. Plant and soil water relationships. Modem synthesis. Mc Graw-Hill Book co, New York.

28- Kumar A, Elston J. 1992. Genotypic difference in leaf water relations between *Brassica juncea* and *B. napus.* Annals of Botany 70:3-9.

29- Kumar A, Singh DP. 1998. Use of physiological indices as a screening technique for drought tolerance in oilseed *Brassica* species, Annals of Botany 81:413-420.

30- Kumar A, Singh P, Singh DP, Singh H, Sharma HC. 1984. Difference in osmoregulation in *Brassica* species. Annals of Botany 54:537-541.

31- Leilah AA, Al-Khateeb SA. 2005. Statistical analysis of wheat yield under drought conditions. Journal of Arid Environments 61:483-496.

32- Li L, Staden V. 1998. Effects of plant growth regulators on drought resistance of two maize cultivars. South Africa Journal of Botany 64:116-120.

33- Luzcano-Ferrat I, Lovatt CJ. 1999. Relationship between relative water content, nitrogen pools and growth of *Phaseolus vulgaris L.* and *P. acutifolius* during water deficit. Crop Science 39:467-475.

34- Maleki A, Babaei F, Cheharsooghi H, Amin J, Asadi Dizaji A. 2008. The study of seed yield stability and drought tolerance indices bread wheat genotypes under irrigated and non- irrigated conditions. Research Journal of Biological Sciences 3:841-844.

35- Maxwell K, Jonson GN. 2000. Chlorophyll fluorescence a practical guide. Journal of Experimental Botany 5:659-668.

36- Mohanty N. 2003. Photosynthetic characteristics and enzymatic antioxidant capacity of flag leaf and the grain yield in two cultivars of (*Triticum aestivum* L.) exposed to warmer growth conditions. Journal of Plant Physiology 160:71-74.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-08-23]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1395.9.2.3.7]

37- Monneveux P, Belhassen E. 1996. The diversity of drought adaptation in the wide. Plant Growth Regulation 20:85-92.

38- Munir M, Chowdhry MA, Malik TA. 2007. Correlation studies among yield and its components in bread wheat under drought conditions. International Journal of Agriculture and Biology 2:287-290.

39- Mushtaq R, Katiyar S, Bennett J. 2008. Proteomic analysis of drought stress-responsive proteins in rice endosperm affecting grain quality. Journal of Crop Science and Biotechnology 11:227-232.

40- Niknam SR, Turner OW. 1999. Physiolodical aspects of draught tolerance in *Brassica napus* and *B. juncea*. Proceeding of the 10th International crop seed congress, 1999. Canbera, Austuralian.

41- Passioura JB. 1996. Drought and drought tolerance. Plant Growth Regulation 20:79-83.

42- Pirevatlou AS, Aliyev RT, Hajieva SI, Javadova SI, Akparov Z. 2008. Structural changes of the photosynthetic apparatus, morphological and cultivation responses in different wheat genotypes under drought stress condition. Genetic Resources Institute, Baku, Republic of Azerbaijan.

43- Poustini K, Siosemardeh A, Ranjbar M. 2007. Proline accumulation as a response to salt stress in 30 wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars differing in salt tolerance. Genetic Resources and Crop Evolution 54:925-934.

44- Rajram S. 2001. Prospects and promise of wheat breeding in the 21st century. Euphytica 119:3-15.

45- Rampino P, Pataleo S, Gerardi C, Mita G, Perrotta C. 2006. Drought stress response in wheat: physiological and molecular analysis of resistant and sensitive genotypes. Plant Cell and Environment 29:2143-2152.

46- Reynolds MP, Balota M, Delgado MIB, Amani I, Fischer RA. 1994. Physiological and morphological traits associated with spring wheat yield under hot, dry irrigated conditions. Australian Journal of Plant Physiology 21:717-730.

47- Riccardi F, Gazeau P, Jacquemot M-P, Vincent D, Zivy M. 2004. Deciphering genetic variation of proteome responses to water deficit in maize leaves. Plant Physiology and Biochemistry 42:1003-1011.

48- Riccardi F, Gazeau P, Vienne D, Zivy M. 1998. Protein changes in response to progressive water deficit in maize. Plant Physiology 117:1253-1263.

49- Sairam RK, Saxena DC. 2000. Oxidative stress and antioxidant in wheat genotypes: possible mechanism of water stress tolerance Journal of Agronomy and Crop Science 184:55-61.

50- Saleem M. 2003. Response of durum and bread wheat genotypes to drought stress: Biomass and yield components. Asian Journal of Plant Science 2:290-293.

51- Schreiber U, Bilper W, Neubauer C. 1995. Chlorophyll fluorescence as a non-intrusive indicator for rapid assessment of in vivo photosynthesis. In: Schulze ED, Caldwell M. (Eds.). Ecophysiology of Photosynthesis. Springer, Berlin Heidelberg, New York, 49-70.

52- Sharma RB, Ghildyal BP. 1977. Soil water-root relations in wheat. Water extraction rate of wheat roots that develop under dry and moist conditions. Agronomy Journal 69:231-233.

53- Siddique MRB, Hamid A, Islam MS. 1999. Drought stress effects on photosynthetic rate and leaf gas exchange of wheat. Botanical Bulletin-Academia Sinica 40:141-145.

54- Siddique MRB, Hamid A, Islam MS. 2000. Drought stress effects on water relations of wheat. Botanical Bulletin of Academia Sinica 4:35-39.

55- Singh M, Srivastava JP, Kumar A. 1990. Effects of water on water potential components in wheat genotypes. Indian Journal of Plant Physiology 33:312-317.

56- Tamura T, Hara K, Yamaguchi Y, Koizumi N, Sano H. 2003. Osmotic stress tolerance of

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-08-23]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1395.9.2.3.7]

transgenic tobacco expressing a gene encoding a membrane-located receptor-like protein from tobacco plants. Plant Physiology 131:454-462.

57- **Tas S, Tas B. 2007.** Some physiological responses of drought stress in wheat genotypes with different ploidity in Turkiye. World Journal of Agricultural Sciences 3:178-183.

58- **Vendruscolo ACG, Schuster I, Pleggi M, Scapim CA, Molinari HBC, Marar CJ, Vieria GC. 2007.** Stress-induced synthesis of proline confers tolerance to water deficit in transgenic wheat. Journal of Plant Physiology 164:1367-1376.

59- **Verslues PE, Kim YS, Zhu JK. 2007.** Alterrd ABA, Proline and hydrogen peroxide in an Arabidopsis glutamate: glyoxylate aminotrasferase mutant. Plant Molecular Biology 64:205-217.

60- **Wang W, Inocur B, Altman A. 2003.** Plant responses to drought, salinity and extreme temperature: towards genetic engineering for stress tolerance. Planta 218:1-14.

61- **Wang W, Vinocur B, Soseyov O, Altman A. 2004.** Role of plant heat-shock proteins and molecular chaperones in the abiotic stress response. Trends in Plant Science 9:244-52.

62- **Yordanov I, Velikova V, Tsonev T. 2000.** Plant responses to drought, acclimation and stress tolerance. Photosynthetica 38:171-186.

63- **Zang X, Komatsu S. 2007.** A proteomics approach for identifying osmotic-stress-related proteins in rice. Phytochemistry 68:426-437.

Study of the effect of drought stress on protein patterns and morpho-physiological traits in plants

Marouf Khalily*, Mohammad Reza naghavi

Assistant Professor of Agriculture, Payam Noor University, Mahabad, Iran
Assistant Professor of Agriculture, Payame Noor University of Tabriz, Tabriz, Iran

makhalily@yahoo.com

Abstract

Drought is one of the most important environmental stresses that agricultural production in arid and semi-arid areas affected and reduce it. Reduce the effects of environmental stresses such as drought stress using methods such as irrigation, fertilizer and appropriate methods of implantation, are limited. Therefore, genetically modified plants to minimize the effect of environmental stresses come to important effort. Drought tolerance is not a trait genetically simple, but is complex quantitative trait with different aspects, for example is related with the relative water content, chlorophyll fluorescence, proline, the accumulation of abscisic acid and osmotic adjustment. Although selected through morphological and physiological traits of great importance, but the drought tolerance is a complex trait that requires to using of molecular methods to study the relevant mechanisms. In this regard proteomics can be a powerful tool for segregation, separation and detection of responsive proteins stress. Furthermore, by combining information obtained from this method genomics and bioinformatics, allowing the identification of the molecular mechanisms and genes involved in plant responses to stresses makes it. For importance of this issue, this paper is to study drought stress and its effect on the protein level, physiological and morphological in plants.

Keywords: drought stress, physiological traits, plant molecular response, protein

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-08-23]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1395.9.2.3.7]