NCMBJ
Research article

New Cell Mol Biotech
j.13/51 , 2023

Scan online to view this article

Comparative transcriptome analysis and identification of key genes involved in the water deficit (WD) stress response of wheat roots inoculated with arbuscular mycorrhiza

Elahe Dookhe[1], Alireza Iranbakhsh[1*], Iraj Mehregan[1], Rahim Ahmadvand[2], Mostafa Ebadi[3]

1. Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
2. Department of Vegetables Research, Seed and Plant Improvement Institute, Agricultural Research, Education & Extension Organization, Karaj, Iran.
3. Department of Biology, Damghan Branch, Islamic Azad University, Damghan, Iran.

Abstract

Aim and Background: Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) can improve the adaptation and stress tolerance by making changes in the gene expression pattern of the host plant. Therefore, investigating the expression profile of genes induced in the host plants mediated by mycorrhiza is necessary to further understand the molecular mechanisms of response to water stress. This research was conducted with the aim of studying the transcriptomics of wheat roots, in order to identify key genes and molecular mechanisms of mycorrhiza-mediated water deficit (WD) tolerance.

Materials and Methods: In the present study, the pattern of expression of Triticum aestivum L. roots (Chamran Cultivar) inoculated with AMF, Funneliformis mosseae was investigated. For this purpose, four different treatment combinations were performed: inoculated plants under water deficit condition (AMF+/WD), inoculated plants under normal irrigation (AMF+/Ctrl), non-inoculated plants under water deficit condition (AMF-/WD), non-inoculated plants under normal irrigation (AMF-/Ctrl). Total RNA was extracted from the roots of mycorrhizal and non-mycorrhizal plants and cDNA libraries were built and sequenced with Illumina technology.

Results: The result showed that 235 differentially expressed genes (DEGs) were detected from 4 different comparisons. Based on Venn diagram analysis, 70 water deficit responsive DEGs were identified that were regulated by AMF exclusively under water deficit (WD) stress.

Conclusion: Gene ontology (GO) enrichment and KEGG analysis showed that DEGs are involved in many different pathways including the regulation of the cellular redox state, and osmotic regulation such as proline biosynthesis, cell wall synthesis and formation. The data shows that symbiosis with AMF under water deficit (WD) stress, changes the expression of response to stress genes that leads to higher adaptation to water deficit (WD). These genes can be used in breeding programs and genetic engineering to improve wheat tolerance to water deficit conditions.

Keywords: Water Deficit (WD), Transcriptome, Wheat, Mycorrhizal symbiosis, Proline, Iau Science

Corresponding author:
Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
Email: : iranbakhsh@iau.ac.ir

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1402.13.51.6.8]

مجله تازه های بیوتکنولوژی سلولی مولکولی
دوره ۱۳ - شماره۵۱ - تابستان ۱۴۰۲
NCMBJ
مقاله پژوهشی

برای مشاهده این مقاله به صورت آنلاین اسکن کنید

آنالیز مقایسه‌ای ترانسکریپتوم و شناسایی ژن‌های کلیدی مقاومت به کم‌آبی در ریشه گندم تلقیح‌شده با میکوریزا آربوسکولار

الهه دوخه[۱]، علیرضا ایرانبخش[۱*]، ایرج مهرگان[۱]، رحیم احمدوند[۲]، مصطفی عبادی[۳]

۱. گروه زیست شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
۲. مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران
۳. گروه زیست شناسی، دانشکده علوم زیستی، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران

چکیده

سابقه و هدف: قارچ‌های میکوریزا آربوسکولار (AMF) با ایجاد تغییراتی در الگوی بیان ژن‌های گیاه میزبان می‌توانند سازگاری و تحمل به تنش را در گیاه بهبود بخشند. بنابراین بررسی پروفایل بیانی ژن‌های القا شده توسط میکوریزا در گیاه میزبان، برای درک بیشتر سازوکارهای مولکولی پاسخ به تنش کم‌آبی ضروری است. این مطالعه با هدف بررسی ترانسکریپتومی ریشه گندم، به‌منظور شناسایی ژن‌های کلیدی و مکانیزم‌های تحمل به کم‌آبی به‌واسطه همزیستی میکوریزایی انجام شد.

مواد و روش‌ها: در تحقیق حاضر، الگوی ترانسکریپتوم ریشه گندم نان[۱] (رقم چمران) تلقیح شده با قارچ میکوریزا آربوسکولار[۲] در ۴ تیمار: گیاهان تلقیح شده با میکوریزا در شرایط کم‌آبی (AMF+/WD)، گیاهان تلقیح شده با میکوریزا در شرایط آبیاری نرمال (AMF+/Ctrl)، گیاهان تلقیح نشده تحت شرایط کم‌آبی (AMF-/WD) و گیاهان تلقیح نشده در شرایط آبیاری نرمال (AMF-/Ctrl) بررسی شد. RNA کل از ریشه گیاهان میکوریزایی و غیرمیکوریزایی استخراج شد و کتابخانه‌های cDNA با فناوری ایلومینا ساخته و توالی‌یابی شدند.

یافته‌ها: در مجموع ۲۳۵ ژن با بیان افتراقی[۳] (DEGs) از ۴ مقایسه شناسایی شد. براساس تجزیه و تحلیل نمودار Venn، ۷۰ ژن پاسخ‌دهنده به تنش کم‌آبی با تغییر بیان افتراقی شناسایی شد که به‌طور انحصاری به‌واسطه همزیستی AMF القاء می‌شوند.

نتیجه‌گیری: تجزیه و تحلیل انتولوژی ژن[۴] (GO) و KEGG نشان داد ژن‌های DEG در مسیرهای مختلف و متعددی مشارکت دارند. بیشترین تعداد DEGها در مسیرهای بیوسنتز و شکل‌گیری دیواره سلولی، تنظیم ردوکس سلولی و تنظیم اسمزی نظیر بیوسنتز پرولین، شناسایی شدند. این نتایج نشان می‌دهد میکوریزا با اعمال تنظیمات دقیق، بیان ژن‌های کلیدی پاسخ به استرس در ریشه گیاه را تغییر می‌دهد و بر ظرفیت سازگاری گیاه گندم در طول کمبود آب می‌افزاید. از این ژن‌ها می‌توان در برنامه‌های اصلاحی و مهندسی ژنتیک گندم جهت بهبود تحمل به کم‌آبی استفاده کرد.

واژگان کلیدی : تنش کم‌آبی (WD)، ترانسکریپتوم، گندم، همزیستی میکوریزایی، پرولین، Iau Science.

نویسنده مسئول:
گروه زیست شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
پست الکترونیکی: iranbakhsh@iau.ac.ir
تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۴/۰۵
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۶/۲۳

۱- *Triticum aestivum* .L
۲- *Funneliformis mosseae*
۳- Differentially expressed genes (DEGs)
۴- Gene Ontology (GO)

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]
[DOR: 20.1001.1.22285458.1402.13.51.6.8]

مقدمه

گندم یکی از اولین غلات اهلی شده است که طی ۸۰۰۰ سال گذشته، بیشترین اهمیت را در تغذیه انسان به خود اختصاص داده است (https://www.fao.org). گندم با حدود ۷۸۰ میلیون تُن تولید سالانه در بیش از ۲۴۰ میلیون هکتار، پس از برنج، دومین و مهم‌ترین محصول زراعی از نظر امنیت غذایی است (۱). با توجه به تغییرات شدید و سریع اقلیم جهان و نیز افزایش گرمایش جهانی، محدودیت منابع آبی، چالش اصلی در تولید محصولات کشاورزی است (۲). تنش کم‌آبی (WD) یک مشکل جهانی و یکی از عوامل محدودکننده رشد و نمو گندم است که از جدی‌ترین تهدیدها برای تولید گیاهان زراعی به‌ویژه در ایران به‌شمار می‌رود (۳).

هنگامی‌که گیاهان با تنش WD روبرو می‌شوند سیگنال‌های تنشی ابتدا توسط ریشه گیاه دریافت و آغازگر آبشار پیام-رسانی از ریشه به شاخه‌ها می‌شود (۴،۵). این مسیرهای پیام-دهی در سطح ریختی، آناتومیک و هیستوشیمیایی آشکار می‌شوند که با تغییرات قابل‌توجهی در پاسخ فیزیو-مولکولی گیاه همراه هستند (۵،۶).

گیاهان، استراتژی‌های ذاتی متفاوتی را برای مقابله با تنش آبی ایجاد کرده‌اند که شامل پاسخ‌های سیگنالینگ، مانند Ca^{+2}، پروتئین‌کینازها، هورمون‌های‌گیاهی و پاسخ‌های سازگاری نهایی مانند تولید اسمولیت‌های سازگار به‌خصوص پرولین، حذف و جداسازی یون‌ها، مهار گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و تنظیم رشدونمو گیاه است (۷). با این‌حال، واقعیتی که نمی‌توان نادیده‌گرفت این است که ۴۰ تا ۶۰ درصد اراضی کشاورزی در سرتاسر جهان تحت تأثیر خشکی قراردارند. بنابراین، بررسی استراتژی‌های مختلف برای مهندسی افزایش تحمل به کم‌آبی در گیاهان و بهبود بهره‌وری آنها در شرایط تنش کم‌آبی چالش مهمی برای محققان است. علاوه بر سازوکارهای ذاتی گیاه برای مقابله با تنش آبی، یکی از راه‌کارهای مقابله با شرایط تنش خشکی بهره‌گیری از همزیستی میکوریزایی است (۸). بیش از ۸۰ ٪ گیاهان عالی قادر به تثبیت همزیستی با قارچ‌های میکوریزا آربوسکولار (AMF) هستند. همزیستی میکوریزایی، ارتباطی دوطرفه است، قارچ‌های میکوریزا مواد فتوسنتزی را از گیاه میزبان دریافت می‌کنند و در مقابل جذب رطوبت و موادغذایی خاک توسط گیاه را افزایش می‌دهند. مطالعات نشان داده‌اند که AMF با بهبود تنظیم اسمزی ریشه و حفظ شیب پتانسیل آب برای ورود از خاک به ریشه، از گیاهان در برابر تنش خشکی حفاظت می‌کنند و زنده‌مانی گیاهان را در بوم‌های تنشی افزایش می‌دهند. تلقیح AMF تحت تنش آبی، رشد و بازده گیاه را افزایش می‌دهد و باعث افزایش تحمل گیاه به خشکی می‌شود (۹). در هرحال، مکانیزم‌های سازگاری با تنش WD، دربرگیرنده بازبرنامه‌ریزی گسترده فرآیندهای بیان ژن و رونویسی است که مجموعه‌ای از تغییرات در سطح ریختی، تشریحی، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی را به‌دنبال دارد و مانع از دست دادن آب و مقاومت گیاه می‌شود (۱۰،۱۱). بنابراین، درک بیشتر مکانیزم‌های مولکولی و شناسایی مسیرها و شبکه‌های ژنی موثر در پاسخ به کم‌آبی برای گسترش واریته‌ها مقاوم غلات ضروری است (۱۱،۱۲،۱۳). توالی‌یابی RNA (RNA-seq) از جدیدترین فناوری‌های مولکولی است که با آنالیزهای گسترده‌ی ترانسکریپتوم، برای توصیف سطوح بیان ژن‌ها و شبکه تنظیمی ژنی استفاده می‌شود. در سال‌های اخیر، تجزیه‌وتحلیل ترانسکریپتوم، با استفاده تکنیک RNA-seq، برای شناسایی و کشف ژن‌های عملکردی و پروفایل بیانی آن‌ها در پاسخ به تنش‌های غیرزیستی مورد استفاده قرار گرفته است (۱۰،۱۳،۱۴). هدف از این تحقیق، بررسی ترانسکریپتوم و شناسایی ژن‌های کلیدی مقاومت به WD در ریشه گندم تلقیح‌شده با میکوریزا با بهره‌گیری از تکنولوژی توالی‌یابی RNA (RNA-seq) است. همچنین جهت تایید و اعتبارسنجی نتایج حاصل از تعیین توالی‌یابی RNA، بیان پنج ژن DEG با تکنیک Time-Real PCR مورد سنجش قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

رشد گیاه

در این تحقیق نمونه‌های گیاهی شامل بذرهای گندم نان رقم چمران از موسسه تحقیقات تهیه و اصلاح نهال و بذر کرج فراهم شد. رقم چمران دارای تیپ رشدی بهاره است و حداکثر ارتفاع آن به ۹۵ سانتی‌متر می‌رسد. دارای کودپذیری مناسب و مقاومت به خوابیدگی است. وزن هزار دانه آن حدود ۳۹ گرم، دانه‌های زرد رنگ، زودرس و متحمل نسبت به کم‌آبی و گرمای آخر فصل، حساس به زنگ گندم است. دلیل انتخاب این رقم به خاطر قابل کشت بودن آن برای هر دو نوع کشت آبی و دیم می‌باشد که البته روش ترجیحی کشت دیم است.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1402.13.51.6.8]

از قارچ میکوریزا آربوسکولار[1] به منظور ایجاد همزیستی استفاده شد. این گونه یکی از رایج‌ترین گونه‌های مورد استفاده جهت ایجاد همزیستی با گیاهان و بهبود ویژگی‌های گیاه می‌باشند. نمونه قارچ میکوریزایی اربوسکولار نیز به صورت اسپور از دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد رفسنجان، تهیه گردید. این مطالعه با در نظر گرفتن دو فاکتور شامل فاکتور تلقیح (در دو سطح گیاهان شاهد بدون میکوریزا و گیاهان تلقیح شده با میکوریزا آربوسکولار) و فاکتور تنش کم‌آبی (در دو سطح گیاهان با آبیاری نرمال و گیاهان در شرایط کم‌آبی) انجام شد. بدین ترتیب تعداد چهار تیمار شامل: گیاهان گندم تلقیح شده با میکوریزا در شرایط کم‌آبی (AMF+/WD)، گیاهان تلقیح شده با میکوریزا در شرایط آبیاری نرمال (AMF+/Ctrl)، گیاهان تلقیح نشده تحت شرایط کم‌آبی (AMF-/WD) و گیاهان تلقیح نشده در شرایط آبیاری نرمال (AMF-/Ctrl) و ۳ تکرار برای هر تیمار در نظر گرفته شد. برای هر یک از گلدان‌های دارای میکوریزا، مقدار ۱۲/۵ گرم اسپور وزن شد و با خاک آن‌ها مخلوط گردید. پس از آن، تعداد ۱۵ بذر با فواصل منظم در عمق ۵-۳ سانتی‌متری خاک گلدان‌های نیم‌لیتری کشت شد. آزمایش در شرایط گلخانه‌ای با دوره نوری (۸:۱۶) ساعت روشنایی:تاریکی، دمای ۲۶-۱۸ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۷۰±۵ درصد انجام شد. جهت فراهم کردن شرایط تلقیح و جلوگیری از هر گونه تنش، آبیاری با آب مقطر و به صورت روزانه صورت گرفت. اعمال تنش WD سه هفته پس از کشت آغاز گردید تا گیاهان رشد کافی کنند و همزیستی صورت گیرد. برای اطمینان از همزیستی قارچ با ریشه گیاهان از روش Phillips and Hayman (۱۹۷۰) استفاده شد. سپس تیمارهای تنش به این صورت اعمال شد: آبیاری سه مرتبه در هفته و هر بار ۵۰ میلی‌لیتر برای گلدان‌های در شرایط نرمال و ۲۵ میلی‌لیتر برای گلدان‌های در شرایط WD.

استخراج RNA، ساخت کتابخانه cDNA و توالی‌یابی

مراحل استخراج RNA با استفاده از کیت استخراج RNeasy Plant Mini Kit شرکت کیاژن بر اساس پروتکل شرکت سازنده (Qiagen-Germany) انجام گرفت. کیفیت و کمیت RNA استخراج شده توسط نانودراپ ۸۰۰۰ و بیوآنالایزور Agilent۲۱۰۰ بررسی شد و مجموعه RNA حاصل از استخراج برای ساخت کتابخانه cDNA و توالی‌یابی استفاده گردید. جهت توالی‌یابی دوطرفه (paired end) از قطعات ۱۵۰ جفت‌بازی با دستگاه Illumina HiSeq 2000 انجام شد.

نقشه‌یابی با استفاده از ژنوم مرجع، تجزیه بیان ژن و شناسایی ژن‌های افتراقی

کنترل کیفیت داده‌های خام توالی‌یابی توسط نرم‌افزار FastQC (http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/) انجام شد و طی آن آداپتورها، آغازگرها و توالی‌های بی‌کیفیت حذف شدند. سپس با نرم‌افزار HISAT2 (https://ccb.jhu.edu/software/hisat2/index.shtml) خوانش‌ها هم‌ردیف (Align) شدند (۱۵). خوانش‌های دارای کیفیت بالا روی ژنوم به‌عنوان ژنوم مرجع Triticum aestivum نقشه‌یابی شدند (ftp://ftp.ensemblgenomes.org/pub/plants/release-39/fasta/triticum_aestivum/dna/) و سپس ترانسکریپتوم توسط نرم‌افزار Cufflinks V 2.2.1 (http://cole-trapnell-lab.github.io/cufflinks/) سرهم‌بندی شد (۱۶). شناسایی ژن‌های دارای بیان افتراقی در مقایسه تیمارها با استفاده از نرم‌افزار Cuffdiff انجام شد (۱۷). بدین منظور شاخص FPKM[2] میزان بیان هر ترانسکریپت از طریق ارزش قطعه بر کیلو باز بر میلیون خوانش ترسیم شد، سپس مقدار Log_2 از نسبت این شاخص برای تک‌تک ژن‌ها در نمونه‌های مورد مقایسه بدست آمد و ژن‌های بزرگتر یا مساوی ۲ و دارای p-Value ≤ ۰/۰۵ به‌عنوان معیار معنی‌داری ژن‌های افتراقی در نظر گرفته شدند. برای بررسی آماری در مورد بیان ژن‌ها از GraphPad Prism 9.0 software (GraphPad Software, San Diego, CA, USA) استفاده شد.

تفسیر KEGG و GO

تجزیه و تحلیل انتولوژی ژن با استفاده از بانک اطلاعاتی Shinny GO v0.61 (http://bioinformatics.sdstate.edu/go/) یا AgriGO V2 (http://systemsbiology.cau.edu.cn/agriGOv2/),

[1]- *Funneliformis mosseae*

[2]- Fragment Per Kilobase Transcript per Million reads

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1402.13.51.6.8]

برای ژن‌های شناخته‌شده و دارای شناسه GO انجام شد. اطلاعات مربوط به مسیرهای زیستی از در بانک اطلاعاتی KEGG (http://www.kegg.jp/blastkoala/) و واژه‌های انتولوژی ژن (GO) مرتبط با ژن‌های همولوگ شناسایی شده از بانک اطلاعاتی Uniprot استخراج شد. جهت آزمون معنی‌داری از روش آماری hypergeometric و روش تعدیل چند آزمونه Yekutieli استفاده شد. تجزیه فرانمایش (Overrepresentation) مسیر KEGG با استفاده از آزمون hypergeometric در نرم‌افزار R انجام شد. مسیرهای معنی‌داری از طریق حد آستانه دارای p-Value ≤ ۰/۰۵ انتخاب شدند.

تایید نتایج RNA-Seq به روش qRT_PCR

جهت تایید داده‌های RNA-Seq، پنج ژن از میان ژن‌های دارای بیان افتراقی در مقایسه (AMF-/WD و AMF+/WD) برای تجزیه و تحلیل qRT-PCR انتخاب شد. آغازگرها توسط نرم‌افزار Primer Express (v3.0) طراحی شدند (جدول۱). ساخت cDNA توسط qScript cDNA Synthesis Kit (Quantabio, USA) انجام شد و کیفیت cDNA توسط نانودراپ ارزیابی شد. cDNA های ساخته شده توسط ژن خانه‌دار GAPDH نرمال و تجزیه qRT-PCR توسط دستگاه Light Cycler® 96 Real-Time PCR System (Roche Life Science, Germany) و رنگ سایبرگرین انجام شد (جدول ۱). تجزیه داده‌های qRT-PCR با روش $2^{-\Delta\Delta Ct}$ و آنالیز آماری و ترسیم گراف‌ها با نرم‌افزار GraphPad Prism 9.0 انجام گرفت.

جدول۱- لیست و توالی پرایمرهای Forward و Reverse ژن‌های مورد بررسی.

نام ژن	پرایمرَ (۳←۵َ) Forward	پرایمر (۳←۵َ) Reverse
TraesCS6D02G048300	GACTACTACCCGTCACGCC	CACGACTTGTCACACTTGGG
TraesCS2A02G083700	CAAGGTGAAGGAGGAGCTGA	TTGAGGCAGTATTCGTCGGA
TraesCS7D02G195400	GTCGTGCTCTGTTTCCTCG	GGTGTCGTCAAGCAGAATCG
TraesCS5B02G376900	CATGCTGTGTATCAAGCCGG	ACCTCTCCCACGTATTTCCC
TraesCS7D02G369400	TCTCCCAACTTCTACTCGAGG	GTCGTCAAGCAGAATCGAGC
TraesCS6A02G213700 (GAPDH)	ACGTGGATGAGGACCTTGTT	CTGTGCATGTGACGGATGAG

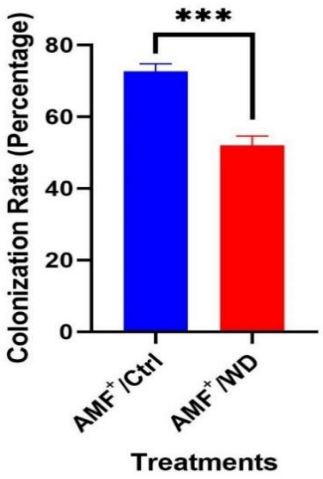
یافته‌ها

کلونیزاسیون ریشه

ریشه‌های گیاهان تلقیح‌شده و تلقیح‌نشده با قارچ F. mosseae پس از رنگ‌آمیزی با محلول رنگی تریپان‌بلو مورد مطالعه میکروسکوپی قرار گرفتند، در ریشه‌های تلقیح‌شده کلونیزاسیون موفقیت‌آمیز قارچ آربوسکولار تأیید شد و در ریشه‌های تلقیح‌نشده هیچ کلونیزاسیونی مشاهده نشد. میزان کلونیزاسیون در ریشه‌های تلقیح‌شده در شرایط کم‌آبی و آبیاری نرمال به ترتیب ۵۲٪، ۷۲/۶۷٪ بود (شکل ۱). اگرچه تیمار کم‌آبی باعث کاهش درصد کلونیزاسیون AMF در ریشه گندم شد اما نمی‌توان نقش تلقیح میکوریزا در کاهش اثرات منفی ناشی از تنش کم‌آبی (WD) را نادیده گرفت.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1402.13.51.6.8]



شکل ۱. درصد کلونیزاسیون ریشه گندم با قارچ F. mosseae در در شرایط کم‌آبی و آبیاری نرمال

توالی‌یابی ترانسکریپتوم

از توالی‌یابی دوطرفه[1] هشت کتابخانه RNA-Seq ساخته شد که شامل دو تکرار بیولوژیک از هر تیمار است. پس از حذف توالی های آداپتور و خوانش‌های دارای کیفیت پایین، به طور متوسط از گروه AMF-/Ctrl (کنترل) ۵۵/۶٪، تیمار AMF-/WD ۴۱/۶۵٪، آبیاری AMF+/Ctrl ۵۰/۳٪ و AMF+/WD ۵۰/۵۵٪ خوانش با کیفیت بالا بر روی ژنوم مرجع گندم نقشه‌یابی (Map) شد. در مجموع ۱۲۰ گیگابایت داده به دست آمد و پس از مونتاژ، در مجموع ۱۱۴۴۲۸ ژن شناسایی شد، که حدود ۱۲۷۷۴ ژن DEG بودند (جدول ۲). بر اساس یافته‌های GO، ۱۰۰۰ ژن کاندید که در پاسخ-های دفاعی نقش دارند مورد آنالیزهای بعدی قرار گرفتند.

[1]- Paired-end

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1402.13.51.6.8]

جدول ۲. نتایج حاصل از توالی‌یابی RNA-Seq

نام تیمار	خوانش تعیین توالی شده	میزان نقشه‌یابی کل خوانش (٪)	جفت های همتراز شده (٪)	همترازهای چندتایی	همترازهای نامتوازن (٪)	همترازهای متوازن
A (AMF-/WD)	۵۱/۲	۷۵۷۹۵۷ (٪ ۲/۴)	۲۷۲۰۳۸۷ (٪ ۸/۷)	۳۱۳۰۴۱۹۹	۵۶/۱	۵۹۶۵۱۲۳۵
B (AMF-/WD)	۵۰/۱	۸۹۸۵۷۳ (٪ ۲/۸)	۳۱۱۴۲۲۳ (٪ ۹/۶)	۳۲۴۹۹۹۹۲	۵۵/۱	۶۳۰۹۴۲۸۴
C (AMF+/WD)	۴۴/۹	۱۹۵۱۳۴۲ (٪ ۶)	(٪ ۱۷/۱) ۵۶۰۹۷۶۰	۳۲۷۶۲۵۸۸	۵۱/۲	۶۸۵۷۶۳۲۹
D (AMF+/WD)	۴۴/۹	۱۶۲۱۲۶ (٪ ۴/۳)	(٪ ۱۳/۵) ۵۱۴۴۱۱۰	۲۹۵۰۳۵۹۷	۴۹/۹	۸۱۰۵۳۶۲۰
E (AMF-/Ctrl)	۳۹/۷	۶۴۲۹۹۸ (٪ ۲/۲)	۲۷۰۸۰۳۸ (٪ ۹/۲)	۲۲۶۴۳۱۳۲	۴۴/۶	۷۲۶۱۸۵۵۵
F (AMF-/Ctrl)	۳۳/۵	(٪ ۵/۴) ۱۲۱۷۹۲۴	(٪ ۱۸/۱) ۴۰۹۲۳۶۸	۲۹۴۸۸۹۱۰	۳۸/۷	۶۳۹۰۵۵۷۹
G (AMF+/Ctrl)	۴۵	۶۵۶۵۳۹ (٪ ۲/۲)	۲۵۴۸۷۸۹ (٪ ۸/۶)	۲۸۴۷۳۹۰	۴۹/۴	۶۴۰۶۷۰۷۹
H (AMF+/Ctrl)	۴۶/۵	۷۴۲۲۷۴ (٪ ۲/۶)	۲۵۴۸۷۸۹ (٪ ۸/۶)	۲۸۶۷۳۹۰	۵۱/۲	۵۹۹۶۶۷۳۱

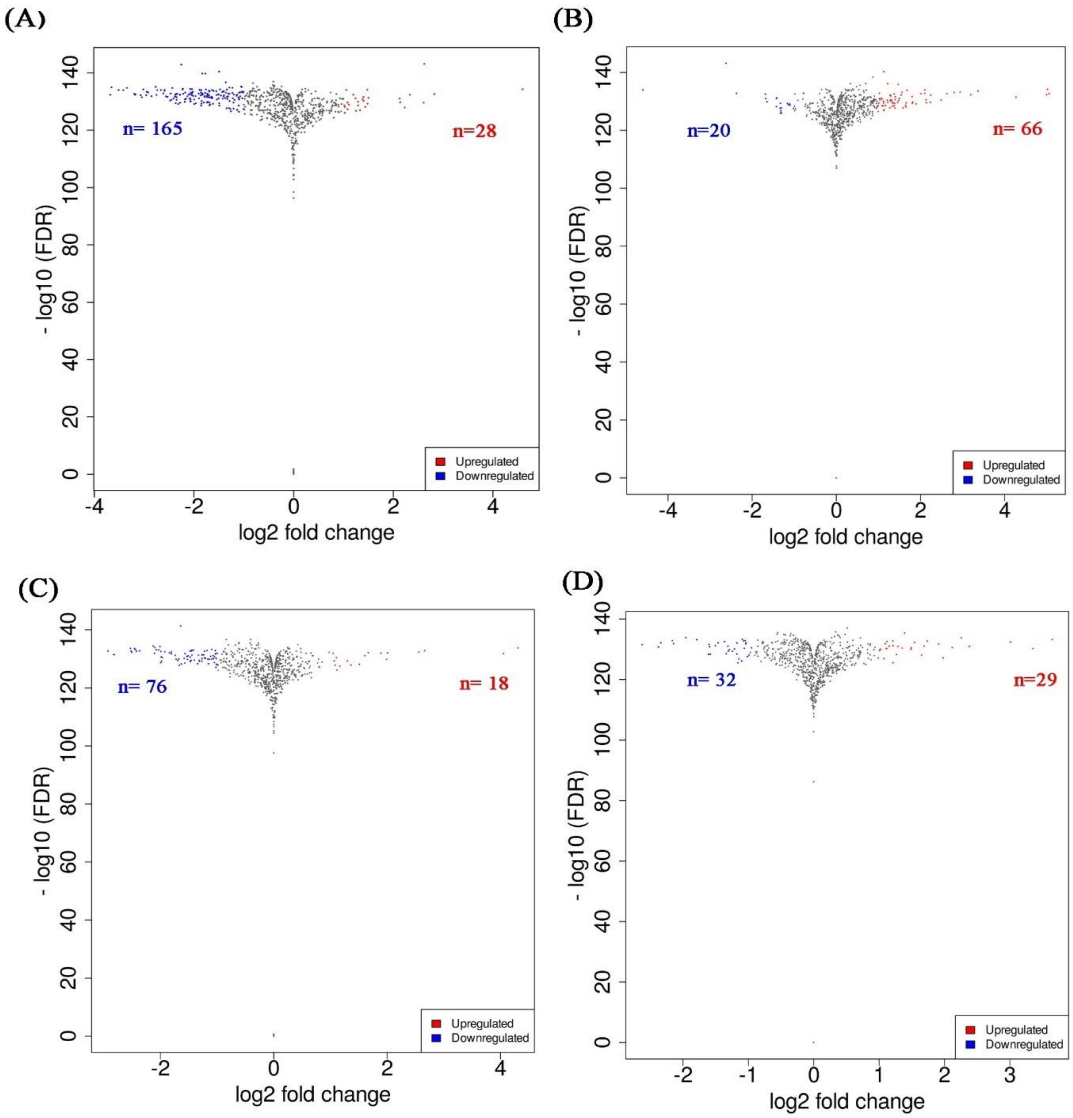
شناسایی DEGs

نمودارهای آتش‌فشانی، توزیع کلی DEGs در ریشه گندم در پاسخ به تنش کم‌آبی و تلقیح میکوریزایی را نمایش می‌دهند (شکل۲). در مجموع، تعداد ۱۹۳ ژن با بیان افتراقی در گیاهان تلقیح‌نشده تحت تنش کم‌آبی شناسایی شد (شکل ۲A). در مقایسه گیاهان تلقیح‌شده با AMF با گیاهان تلقیح‌نشده ۸۶ ژن در شرایط تنش کم‌آبی (شکل ۲B) و ۹۴ ژن در شرایط آبیاری نرمال (شکل ۲C) بیان افتراقی نشان دادند. همچنین درگیاهان تلقیح‌شده با AMF ۶۱ ژن دارای بیان افتراقی تحت شرایط استرس کم‌آبی شناسایی شد (شکل ۲D). بررسی آماری میزان بیان ژن‌ها نشان داد، بیشترین تعداد DEGها مربوط به مقایسه گیاهان تلقیح‌نشده تحت شرایط تنش کم‌آبی (AMF-/Ctrl و AMF-/WD) است که نشان‌گر اثرات تنش غیرزیستی است. در این مقایسه تعداد ژن‌های کاهش بیان‌یافته در پاسخ به کم‌آبی، بیش از پنج برابر تعداد ژن‌های افزایش بیان‌یافته است (۵/۸۹۲= $\text{Ratio}^{\text{Downregulated}}/_{\text{Upregulated}}$).

جالب آنکه تحت شرایط کم‌آبی مقایسه گیاهان تلقیح‌شده با AMF با گیاهان تلقیح‌نشده (AMF-/WD و AMF+/WD) نشان داد، تعداد DEGهای افزایش بیان‌یافته بیش از سه برابر تعداد ژن‌هایی است که کاهش بیان داشته‌اند ($\text{Ratio}^{\text{Upregulated}}/_{\text{Downregulated}}$ =۳/۳). در این مقایسه که نشان‌گر اثرات هر دو تنش‌های غیرزیستی و زیستی است، از مجموع ۸۶ ژن با بیان افتراقی ۲۰ ژن کاهش بیان و ۶۶ ژن افزایش بیان داشتند.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1402.13.51.6.8]



شکل ۲. نمودار آتش‌فشانی ژن‌های DEGs، تعداد DEGهای افزایش و کاهش بیان‌یافته در ریشه گیاه گندم، در ۴ مقایسه (A-D).

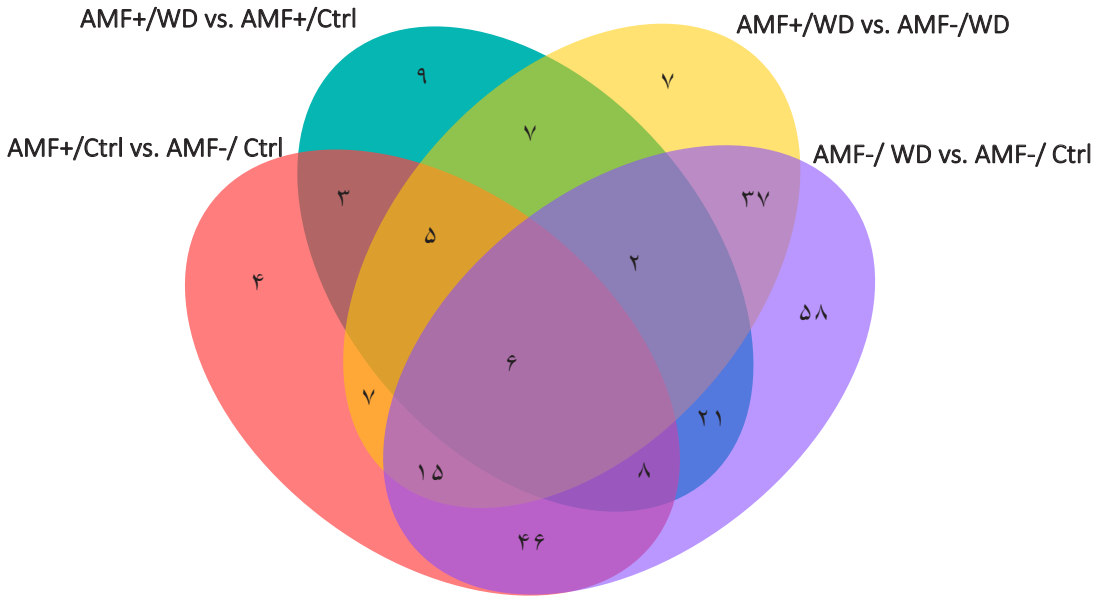
ژن‌های DEGs در ریشه گیاه گندم: (A) تلقیح‌نشده در شرایط کم‌آبی نسبت به کنترل (آبیاری نرمال) (AMF-/WD vs. AMF-/Ctrl) ، (B) تلقیح‌شده در مقایسه با تلقیح‌نشده تحت شرایط کم‌آبی (AMF+/WD vs. AMF-/WD) ، (C) تلقیح‌شده در مقایسه با تلقیح‌نشده در شرایط کنترل (آبیاری نرمال) (AMF+/Ctrl vs. AMF-/ Ctrl) و (D) تلقیح‌شده در شرایط کم‌آبی نسبت شرایط کنترل (آبیاری نرمال) (AMF+/WD vs. AMF+/Ctrl). تغییرات بیش از ۲ برابری و احتمال خطای کمتر از پنج‌صدم (Fold Change <-۲ ، Fold Change >+۲ ، p_value ≤۰/۰۵) به‌عنوان معیار معنی‌داری ژن‌های دارای بیان افتراقی در نظر گرفته شد. نقاط قرمز ژن‌های افزایش بیان‌یافته و آبی کاهش بیان‌یافته را نشان می‌دهند که دارای بیان معنی‌دار هستند، نقاط سیاه مربوط به ژن‌هایی است که تفاوت بیان معنی‌داری ندارند.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1402.13.51.6.8]

بیان افتراقی ژن‌های القاء شونده توسط میکوریزا در پاسخ به تنش کم‌آبی در ریشه گندم

از نمودار Venn برای مقایسه دوبه‌دو تیمارها و بررسی دقیق‌تر روابط بین ژن‌های بیان افتراقی استفاده شد (شکل۳). به‌منظور شناسایی ژن‌های القاءشده توسط AMF که منحصراً تحت تنش کم‌آبی بیان افتراقی داشتند، DEGهای انحصاری (مختص هر یک از تیمارها) و مشترک بین تیمارهای مختلف تعیین شد. میزان هم‌پوشانی در مقایسه گیاهان تلقیح‌شده با تلقیح‌نشده تحت شرایط تنش کم‌آبی (AMF-/WD و AMF+/WD) و در شرایط آبیاری نرمال (AMF-/Ctrl و AMF+/Ctrl) مورد ارزیابی قرار گرفت. ۳۳ ژن با بیان افتراقی در دو گروه مشترک بود و ۵۳ ژن به‌طور اختصاصی در مقایسه AMF-/WD و AMF+/WD تفاوت بیان معنی‌دار نشان دادند. علاوه بر این، ۳۷ ژن مشترک از مقایسه دو گروه گیاهان غیرمیکوریزایی در شرایط AMF-/Ctrl و AMF-/WD با گیاهان میکوریزایی در شرایط AMF+/Ctrl و AMF+/WD شناسایی شد. از مقایسه گیاهان AMF+/Ctrl و AMF+/WD، ۲۴ ژن با بیان افتراقی به‌صورت انحصاری شناسایی شد که در مقایسه گیاهان غیرمیکوریزایی در شرایط کم‌آبی و آبیاری نرمال دارای تفاوت بیان معنی‌دار نبودند. در مجموع از مقایسه دوبه‌دو تیمارها، دو گروه ژن شامل ۵۳ ژن (۳۹ ژن افزایش و ۱۴ ژن کاهش‌بیان یافته) از یک مقایسه و ۲۴ ژن (۱۰ ژن افزایش و ۱۴ ژن کاهش‌بیان یافته) از مقایسه دیگر شناسایی شد که منحصرا در پاسخ به تنش کم‌آبی، توسط میکوریزا تنظیم می‌شوند. بنابراین، می‌توان استنباط کرد که ژن‌هایی با این الگوهای بیانی ممکن است ژن‌های کلیدی القا شده توسط میکوریزا در شرایط کم‌آبی باشند. پس از حذف ژن‌های تکراری در مجموع ۷۰ ژن انحصاری پاسخ‌دهنده به کم‌آبی توسط میکوریزا برای بررسی توصیف عملکرد ژن‌ها و کشف مکانیزم مولکولی احتمالی در القاء تحمل به تنش کم‌آبی توسط میکوریزا انتخاب شدند. سطح معناداری $P \leq ۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.



شکل ۳. نمودار ون، DEGهای اختصاصی و مشترک را بین جفت گروه‌ها در ۴ مقایسه نشان می‌دهد.

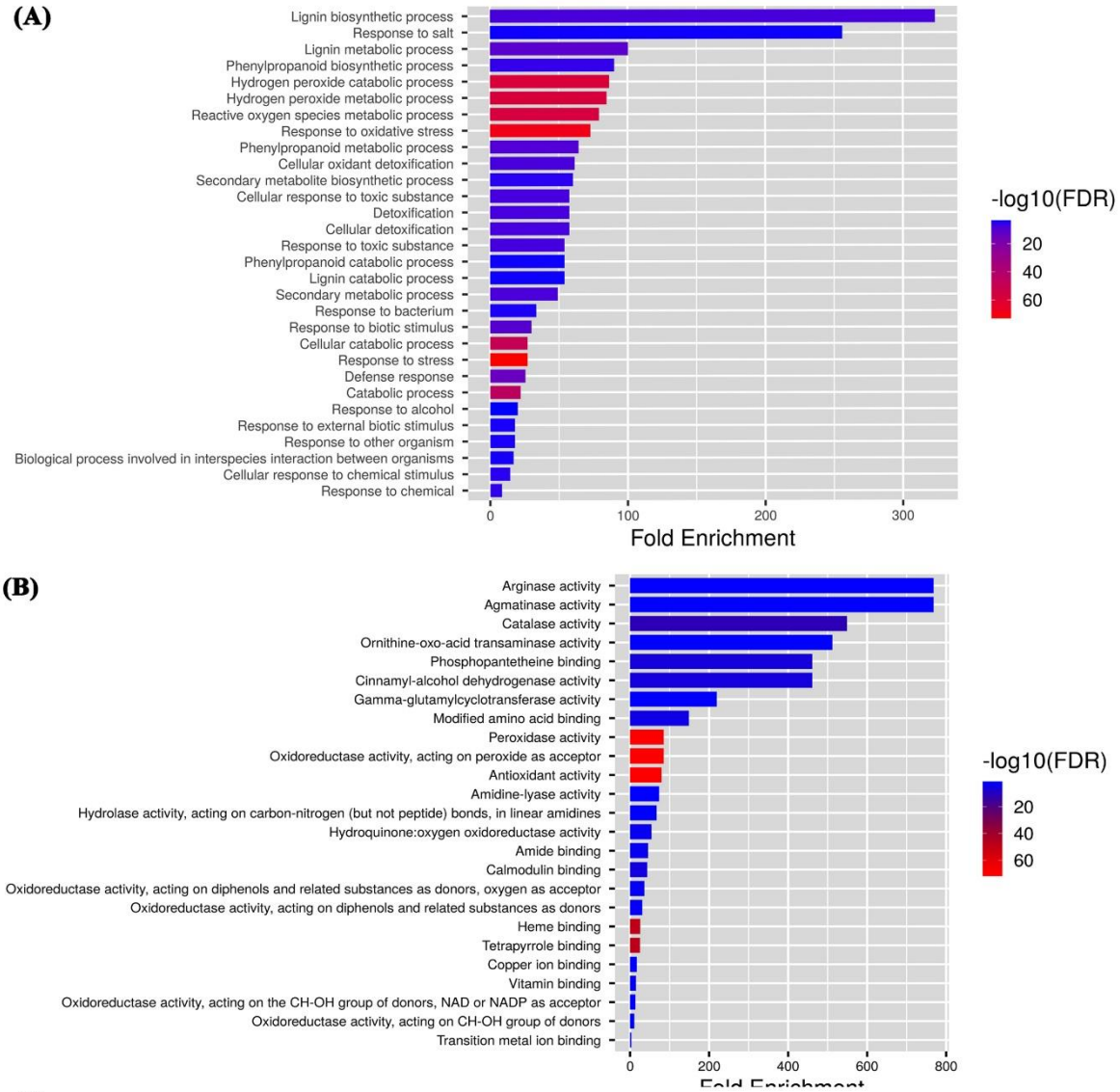
[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1402.13.51.6.8]

به‌منظور بررسی نقش میکوریزا در بهبود تحمل به کم‌آبی، تجزیه و تحلیل‌های GO و مسیر KEGG برای DEGهای القاشده توسط میکوریزا در پاسخ به WD انجام شد. ژن‌هایی با حداقل ۱ واژه GO، بر اساس آزمون Bonferroni در (FDR < 0.05) برای توصیف فرآیندهای زیستی (BP)، عملکردهای مولکولی (MF) و جایگاه سلولی (CC) گروه‌بندی شدند (شکل B و ۴A). تحلیل GO نشان داد که بسیاری از MFها مربوط به فعالیت پراکسیداز، اکسیدوردوکتاز، آنتی‌اکسیدانت، سینامول الکل دهیدروژناز، اکسیدوردوکتاز، کاتالاز، آرژیناز، هیدرولاز، ترانس‌آمیناز، تنظیم‌کننده آنزیمی، کاتالیزکننده، انتقال‌دهنده (برای مثال O-متیل ترانسفرازی)، اتصال (برای مثال اتصال به کاتیون، یون، یون فلزی، روی، مس، ویتامین، پروتئین) می‌باشد و BPها شامل پاسخ دفاعی، پاسخ ایمنی، واکنش به محرک‌ها (برای مثال پاسخ به استرس، استرس اکسیداتیو، پاسخ به محرک زیستی)، فرآیندهای متابولیک و فرآیندهای بیوسنتزی (برای مثال متابولیت‌های ثانویه، پرولین و لیگنین) می‌باشند. آنالیز فرانمایش KEGG برای تعیین مسیرهای متابولیسمی DEGهای القاشده توسط میکوریزا در پاسخ به WD صورت گرفت. از میان ۷۰ ژن DEG تعداد ۵۸ ژن در ۲۳ مسیر بیوشیمیایی و ۷ زیرگروه KEGG، طبقه‌بندی شدند. مسیرها با بیشترین تعداد DEGها غنی‌شده شامل «مسیر بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه» (01110) با ۴۵ ژن، «مسیرمتابولیک» (01100) با ۴۴ ژن و پس از آن «بیوسنتز فنیل پروپانوئید» (00940) با ۳۹ ژن بودند. سایر مسیرهای شاخص، شامل متابولیسم کربن (01200) با ۲ ژن، بیوسنتز آمینواسیدها (01230) با یک ژن، متابولیسم گلی‌اکسالات و دی‌کربوکسی‌لات (00630) با ۲ ژن، متابولیسم α- لینولئیک اسید (00592) با ۲ ژن، بیوسنتز آرژنین (00220) با ۱ ژن، متابولیسم آرژنین و پرولین (00330) با ۲ ژن، بیوسنتز تریپتوفان (00380) با ۳ ژن، متابولیسم گلوتاتیون (00480) با ۱ ژن می‌شود. هم‌چنین، در مسیر سیگنالینگ MAPK (04016) ۳ ژن، برهم‌کنش گیاه-پاتوژن (04626) یک ژن و در بخش فرآیندهای سلولی پراکسی‌زوم (04146) با ۲ ژن غنی شد (شکل ۴C). این نتایج نشان‌دهنده اهمیت این مسیرها در شرایط کم‌آبی است که توسط میکوریزا در ریشه گیاهان گندم القا شده‌اند.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1402.13.51.6.8]



شکل۴. بررسی GO و طبقه‌بندی عملکردی مسیرهای متابولیکی KEGG. (A) فرآیند زیستی (B) عملکرد مولکولی (C) مسیر متابولیسم KEGG.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1402.13.51.6.8]

واژه‌های GO منحصر به تنش WD در ریشه گندم میکوریزایی

افزون بر بررسی‌های فوق، مقایسه GO برای DEGها در تیمار AMF+/Ctrl و AMF+/WD، با DEGها در تیمار AMF-/Ctrl و AMF-/WD انجام شد. آنالیز GOهای DEGsها نشان داد واژه‌های GO مرتبط با فعالیت کاتالیتیک[۸]، اتصال[۹]، فعالیت آنتی‌اکسیدان[۱۰]، فعالیت تنظیم‌کننده آنزیم[۱۱]، فعالیت ترارسانی مولکولی[۱۲]، فعالیت پراکسیداز[۱۳] و فاکتورهای رونویسی متصل‌شونده به توالی DNA [۱۴] به‌صورت مشترک در هر دو مقایسه با امتیاز بالایی غنی شدند. قابل ذکر است برخی DEGهای مشترک که واژه‌های GO ذکر شده در بالا را اشباع کردند، در یک مقایسه بیان افزایشی داشتند و در مقایسه دیگر کاهش بیان یافته بودند. علاوه بر این، برخی واژه‌های GO به‌طور انحصاری در گیاهان تلقیح‌شده با AMF در شرایط تنش WD غنی شدند: مانند فعالیت کاتالاز[۱۵]، فعالیت هیدرولاز[۱۶]، فعالیت N-گلیکوزیلاز rRNA[۱۷]، فعالیت گلیکوزیلاز RNA[۱۸]، فعالیت اتصال فسفوپانتتئین[۱۹] و فعالیت داکسیژناز[۲۰]. در دسته BPها پاسخ به ROS، پاسخ به هیدروژن پراکسید، فرآیندهای ریتمیک و سیرکادین ریتمیک، تنظیم پس از رونویسی بیان ژن، تنظیم فرآیند ترجمه، تنظیم منفی فرآیند ترجمه، تنظیم منفی بیان ژن، تنظیم سلولی فرآیند متابولیسم آمیدها، تنظیم منفی سلولی فرآیند متابولیسم آمیدها غنی شدند (جدول ۳). این تفاوت‌ها مکانیزم‌های پیچیده‌ای را پیشنهاد می‌کنند که توسط میکوریزا ممکن است بر پاسخ گیاهان به تنش WD تأثیر بگذارد.

الگوی بیان DEGهای درگیر در مهار ROS و فرآیندهای کلیدی متابولیک سلولی القاشده توسط AMF در شرایط تنش WD

مرتبط با مهار ROS و فرآیندهای متابولیک سلولی، الگوهای بیانی DEGها در مقایسه گیاهان میکوریزایی با گیاهان غیرمیکوریزایی در شرایط تنش AMF-/WD و AMF+/WD بیشتر مورد تجزیه‌وتحلیل قرار گرفت (شکل ۵). در مسیر بیوسنتز پرولین دو ژن کدکننده اورنیتین آمینوترانسفراز (OAT) و آرژیناز (ARG) کاهش بیان داشتند، متابولیسم پرولین و آرژنین از مهم‌ترین مسیرهای متابولیسم آمینو اسیدها است که به سنتز پرولین منجر می‌شود. با تلقیح AMF، بیشتر DEGهای کدکننده اعضای سیستم مهار ROS، از جمله ۴۰ از ۵۱ ژن کدکننده پراکسیداز (POD)، ۵ ژن کدکننده کاتالاز (CAT) و یک ژن کدکننده سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، تحت تنش کم‌آبی افزایش بیان نشان دادند. علاوه بر این، در پاسخ متابولیسم سلولی به تلقیح AMF، بخش قابل‌توجهی از ژن‌های دخیل در سنتز و شکل‌گیری دیواره سلولی، تحت تنش کم‌آبی، افزایش بیان نشان داشتند. بیشتر ژن‌های کدکننده POD، یک ژن کدکننده لاکیز (LAC)، ۳ ژن کدکننده CAD و یک ژن کدکننده O-متیل‌ترانسفراز (OMT) که نقش های کلیدی در ساختن و رسوب لیگنین دارند، با تلقیح AMF در شرایط تنش کم‌آبی افزایش بیان داشتند (شکل ۶).

[۸]- Catalytic activity
[۹]- Binding
[۱۰]- Antioxidant activity
[۱۱]- Enzyme regulator activity
[۱۲]- Molecular transducer activity
[۱۳]- Peroxidase activity
[۱۴]- Sequence-specific DNA binding transcription factor activity

[۱۵]- Catalase activity
[۱۶]- Hydrolase activity, hydrolyzing N-glycosyl compounds
[۱۷]- rRNA N-glycosylase activity
[۱۸]- RNA glycosylase activity
[۱۹]- Phosphopantetheine binding
[۲۰]- Dioxygenase activity

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]
[DOR: 20.1001.1.22285458.1402.13.51.6.8]

جدول ۳. واژه‌های GO که به‌طور انحصاری توسط DEGهای پاسخ‌دهنده به کم‌آبی در گیاهان تلقیح‌شده با میکوریزا غنی شده‌اند.

فرآیندهای زیستی	
GO ID	GO Name
GO:0000302	پاسخ به گونه های اکسیژن واکنشگر
GO:0006417	تنظیم ترجمه
GO:0007623	ریتم سیرکادیان
GO:0009314	پاسخ به پرتو
GO:0009416	پاسخ به محرک نوری
GO:0010608	تنظیم پس از رونویسی بیان ژن
GO:0010629	تنظیم منفی بیان ژن
GO:0017148	تنظیم منفی ترجمه
GO:0032269	تنظیم منفی فرآیند متابولیکی پروتئین سلولی
GO:0034248	تنظیم فرآیند متابولیکی آمید
GO:0034249	تنظیم منفی فرآیند متابولیکی آمید
GO:0042542	پاسخ به پراکسید هیدروژن
GO:0048511	فرآیند ریتمیک
GO:0051248	فرآیند تنظیم منفی متابولیکی پروتئین
GO:2000112	تنظیم فرآیند بیوسنتزی ماکرومولکول سلولی
GO:2000113	تنظیم منفی فرآیند بیوسنتزی ماکرومولکول سلولی

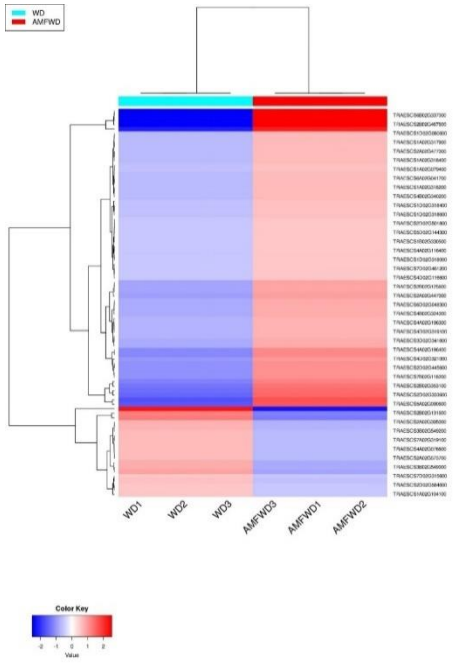
عملکرد مولکولی	
GO ID	GO Name
GO:0004096	فعالیت کاتالاز
GO:0016207	فعالیت ۴-کومارات-CoA لیگاز
GO:0016405	فعالیت CoA-لیگاز
GO:0016799	فعالیت هیدرولاز، هیدرولیز ترکیبات N-گلیکوزیل
GO:0016874	فعالیت لیگاز
GO:0016877	فعالیت لیگاز، تشکیل پیوندهای کربن-گوگرد
GO:0016878	فعالیت اسید-تیول لیگاز
GO:0030597	فعالیت RNA گلیکوزیلاز
GO:0030598	rRNA N-گلیکوزیلاز
GO:0031177	اتصال به فسفوپانتتئین
GO:0051213	فعالیت دی اکسیژناز

جایگاه سلولی	
GO ID	GO Name
GO:0005759	ماتریکس میتوکندریایی
GO:0005777	پراکسی زوم
GO:0009514	گلی اکسی زوم

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1402.13.51.6.8]

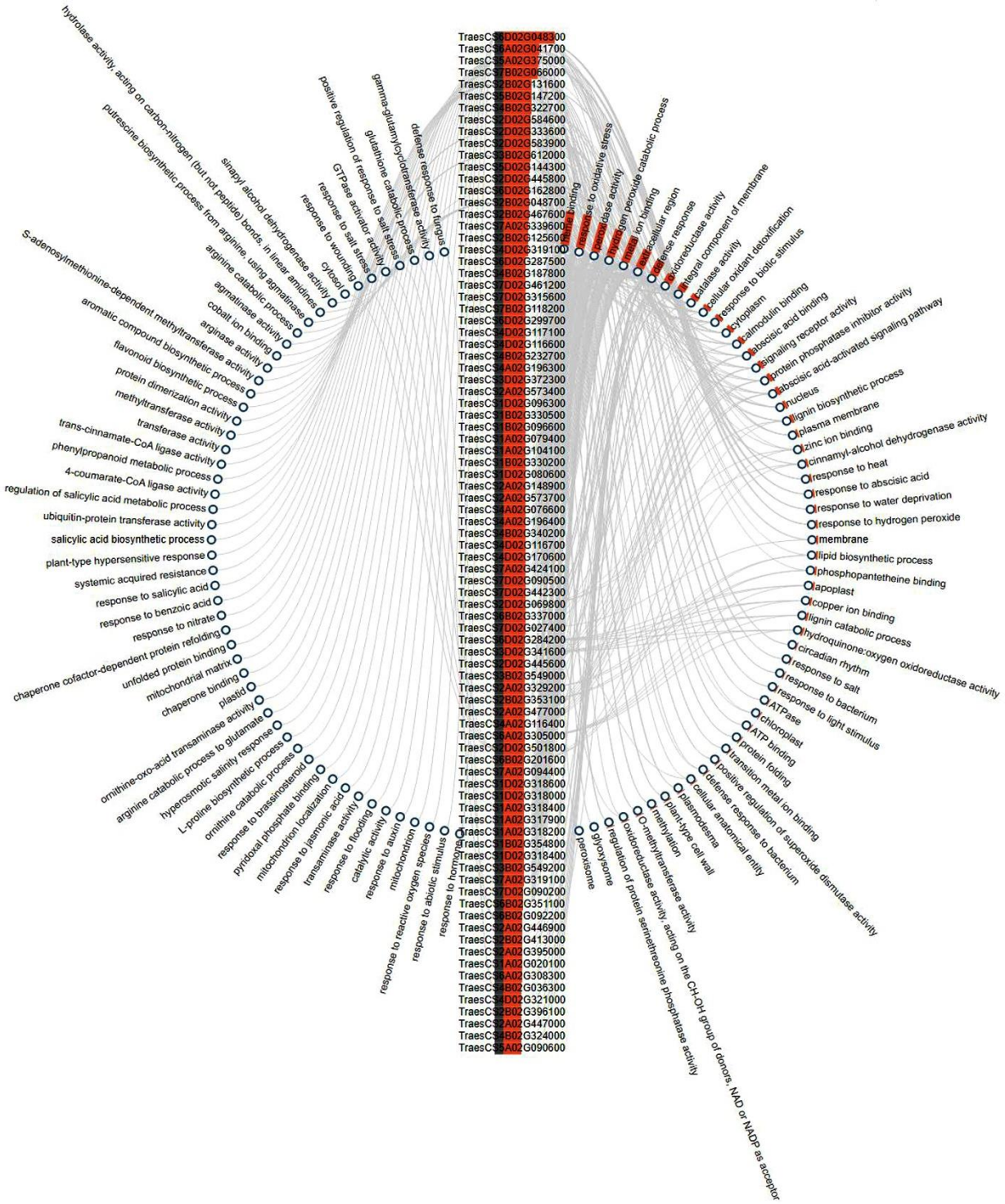
GO:0042579	میکروبادی



شکل ۵. تعداد و الگوی بیان DEGها در مقایسه گیاهان میکوریزایی با گیاهان غیرمیکوریزایی در شرایط کم‌آبی (AMF-/WD و AMF+/WD). مقیاس رنگ نشان دهنده مقدار FPKM است.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1402.13.51.6.8]



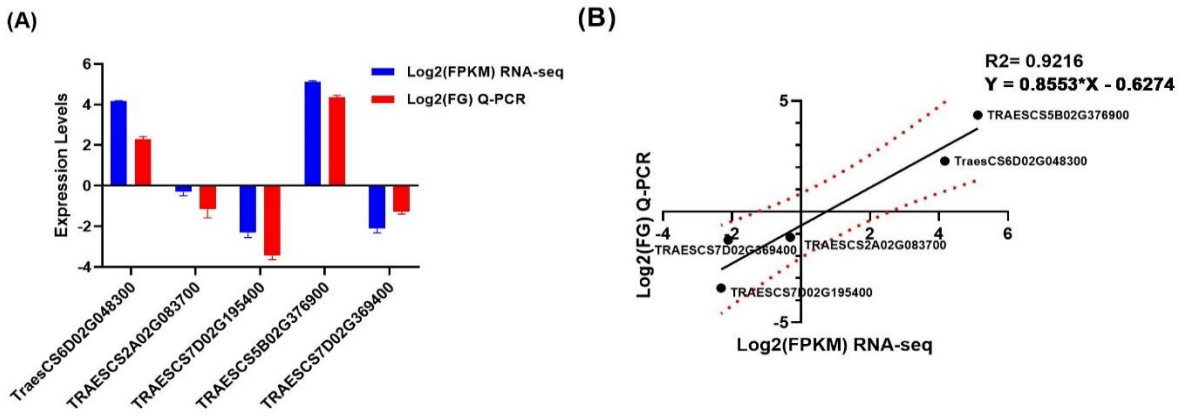
شکل ۶. آنالیز انتولوژی ژن. نقشه مفهومی WebGIVI توزیع واژگان GO ژن‌های دارای بیان افتراقی در مقایسه گیاهان میکوریزایی با گیاهان غیرمیکوریزایی در شرایط کم‌آبی (AMF-/WD و AMF+/WD). نمودار میله ای روی هر گره (node) نشان دهنده فراوانی DEGهای گره مذکور است.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1402.13.51.6.8]

تایید داده‌های RNA-Seq به روش qRT-PCR

به منظور تایید داده‌های RNA-Seq، ۵ ژن با بیان افتراقی در مقایسه (AMF-/WD و AMF+/WD) برای تجزیه و تحلیل qRT-PCR انتخاب شد. نتایج qRT-PCR نشان داد که میزان بیان نسبی این ۵ ژن با نتایج RNA-Seq همبستگی دارد (شکل۷). این نتایج به خوبی نتایج RNA-Seq را تایید می‌کند و نشان می‌دهد که تجزیه و تحلیل ژن‌های دارای بیان افتراقی قابل قبول است.



شکل ۷. اعتبارسنجی بیان شماری از ژن‌های DEG به دو روش RNA-Seq و Realtime PCR. نتایج qRT-PCR ژن‌های انتخاب شده در تیمارهای مختلف تنش.

میله‌های روی ستون‌ها نشان دهنده میانگین ± خطای معیار برای دو تکرار تکنیکی درون هر کدام از سه تکرار زیستی می‌باشد. (B) نتایج همبستگی داده‌های qRT-PCR و داده‌های RNA-Seq برای ژن‌های انتخاب‌شده.

بحث

تأثیر همزیستی میکوریزایی بر تغییر الگوی بیان ژن‌ها در بسیاری از گونه‌های گیاهی شناسایی و گزارش شده است (۱۸). مطالعات پیشین نشان می‌دهد، همزیستی میکوریزایی طیف وسیعی از فرآیندهای متابولیک از جمله مسیر بیوسنتز متابولیت‌های اولیه و ثانویه، انتقال یون، ترارسانی پیام و تنظیم رونویسی را در مراحل نمو گیاه تحت تاثیر قرار می‌دهد که بیانگر وابستگی شدید میزبان به این نوع همزیستی است (۱۹،۲۰). در این مطالعه بررسی داده‌های حاصل از تکنیک RNA-Seq نشان داد همزیستی میکوریزا با تغییر در الگوی بیان ژن‌های پاسخ‌دهنده به تنش کم‌آبی در ریشه گندم همراه است. در مجموع ۲۳۵ ژن با بیان افتراقی در مقایسه گیاهان تلقیح‌شده با AMF و تلقیح‌نشده تحت تنش کم‌آبی (یعنی مقایسه آبیاری نرمال و تنش کم‌آبی) شناسایی شد. از میان آنها، تعداد ۷۰ ژن اختصاصی که بین تیمارها مشترک نبودند و در شرایط تنش کم‌آبی به‌صورت انحصاری توسط میکوریزا القاء شده‌اند شناسایی شد. به منظور درک مکانیزم مولکولی راه‌اندازی شده توسط AMF، این ژن‌ها مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. تجزیه و تحلیل غنی‌سازی GO و KEGG نشان داد، این ژن‌ها به‌طور قابل توجهی مسیرهای مختلف و متعددی را غنی کردند که عمدتاً در تنظیم ردوکس سلولی، حمل و نقل سلولی، متابولیسم کربوهیدرات و فاکتورهای رونویسی نقش دارند. تنش کم‌آبی با افزایش سریع سطح ROS می‌تواند هموستاز ردوکس را مختل کند و منجر به آسیب اکسیداتیو به سلول‌های گیاهی شود. تحقیقات پیشین ثابت کرده‌اند که تلقیح AMF با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند POD، سوپراکسید دیسموتاز SOD و

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1402.13.51.6.8]

CAT تحمل کم‌آبی را در گیاهان میزبان افزایش می‌دهد (۲۱). نتایج این تحقیق نشان داد در گیاهان تحت تنش کم‌آبی با تلقیح AMF، ژن‌های کدکننده آنزیم‌های POD، SOD و CAT افزایش بیان قابل توجهی داشتند. در حالی‌که در گیاهان تلقیح‌نشده، ژن‌های کدکننده آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، مانند پراکسیداز POD و گلوتاتیون S-ترانسفراز (GST) در پاسخ به تنش کم‌آبی کاهش بیان معنی‌دار نشان دادند. نتایج بسیاری از تحقیقات بر کاهش/حذف ROS توسط میکوریزا تاکید دارند (۲۲). برخی مطالعات نشان می‌دهد که AMF سطح بیان برخی ژن‌های مرتبط با متابولیسم متابولیت‌های ثانویه مانند متابولیسم ترکیبات فنلی، فلاونوئیدها و لیگنین را افزایش می‌دهد، که در پاسخ‌های دفاعی، آنتی‌اکسیدانی و تحمل تنش کم‌آبی نقش دارند (۲۳). نتایج مطالعه حاضر نیز نشان داد که همزیستی میکوریزایی در شرایط کم‌آبی، سطح بیان ژن‌های کدکننده آنزیم‌های مسیر بیوسنتز سوبرین و لیگنین از جمله CAD، OMT، POD و لاکیز را افزایش می‌دهد که در توافق با مطالعات گذشته است (۲۴). همزیستی AMF می‌تواند از طریق القا بیان ژن‌های مرتبط با بیوسنتز فنیل‌پروپانوئید یا لیگنین بر اجزای دیواره‌سلولی گیاه میزبان تأثیر بگذارد. به‌نظر می‌رسد تلقیح AMF به‌احتمال مسیر متابولیتی گیاه را به سمت تقویت دیواره سلولی سوق می‌دهد. این تغییرات ساختاری ریشه‌ها، توسط AMF باعث افزایش هدایت هیدرولیکی ریشه و انتقال سلول به سلول آب می‌شود (۲۴،۲۵). این نتایج نشان‌دهنده نقش کلیدی این ژن‌ها در سازوکارهای تحمل به کم‌آبی توسط AMF است. در مجموع، همزیستی میکوریزایی با ریشه گندم ممکن است شبکه‌ای از تغییرات سیستماتیک را برای سازگاری با تنش کم‌آبی فراخوانی کند که به‌طور عمده شامل فرآیندهای متابولیک، تنظیم ردوکس سلولی، متابولیسم کربوهیدرات، تنظیم اسمزی، پاسخ به استرس اکسیداتیو، پاسخ به هورمون و رسوب لیگنین می‌شود. در شرایط کم‌آبی، استراتژی اولیه گیاه برای بهبود تنش اسمزی، تجمع اسمولیت‌های سازگار است که پتانسیل اسمزی را در سلول کاهش می‌دهد و در تثبیت ماکرومولکول‌ها و محافظت ساختارهای سلولی نقش دارد (۲۵). بنابراین از مهم‌ترین پاسخ‌های گیاهان در برابر تنش به خصوص تنش کم‌آبی، افزایش سطح ترکیبات اسمزی از جمله پرولین و کربوهیدرات‌های محلول است که تغییرات آنمتناسب با میزان تحمل گیاه به تنش کم‌آبی است. این افزایش محتوای پرولین تحت شرایط تنش ممکن است درنتیجه القاء سنتز پرولین و یا کاهش کاتابولیسم آن باشد (۲۶). فرآیند متابولیسم پرولین و آرژنین از مهم‌ترین مسیرهای متابولیسم اسیدهای آمینه است، که به سنتز پرولین منجر می‌شود. نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که در مسیر بیوسنتز پرولین و آرژنین ژن‌های کدکننده OAT و AGR در گیاهان غیرمیکوریزایی، در پاسخ به تنش کم‌آبی افزایش بیان معنی‌دار داشتند، اما در گیاهان میکوریزایی، کاهش بیان داشتند. تنظیمات اسمزی در پاسخ به شرایط خشکی رخ می‌دهد که شامل املاح معدنی(K^+، Ca^{2+}، Mg^{2+} و غیره) و املاح آلی (پرولین، قند، پروتئین، گلیسین و غیره) می‌شود (۲۷). همزیستی AMF می‌تواند در شرایط تنش خشکی از طریق تجمع بیشتر املاح توانایی گیاهان میزبان را برای حفظ تعادل اسمزی افزایش دهد (۲۸). به عنوان مثال، گزارش شده‌است که قارچ‌های AM وضعیت آب گیاهان سیب‌زمینی شیرین را از طریق تجمع قندهای محلول و پرولین آزاد بهبود می‌بخشند (۲۹). در شرایط تنش کم‌آبی میزان تولید پرولین در گیاه افزایش می‌یابد تا گیاه را قادر سازد با شرایط کم‌آبی سازگار شود، نتایج این تحقیق نشان داد همزیستی میکوریزایی با کاهش اثرات سوء تنش در ریشه گندم نیازی به افزایش پرولین ندارد، این نتایج هم‌راستا با یافته‌های Chun و همکاران (۲۰۱۸) است (۳۰). از شاخص‌ترین پاسخ‌های گیاهان تلقیح شده با میکوریزا در شرایط کم‌آبی کاهش بیان معنی‌دار ژن‌های مسیر بیوسنتز پرولین و آرژنین است. درحالی‌که در گیاهان تلقیح نشده ژن‌های این مسیر در پاسخ به تنش کم‌آبی افزایش بیان نشان دادند. این نتایج نشان می‌دهد که میکوریزا با تعدیل اثر تنش و حفظ پتانسیل آبی سلول، نیاز به اسمولیت‌ها را کاهش می‌دهد. هم‌چنین، در شرایط تنش کم‌آبی میکوریزا باعث افزایش بیان طیف گسترده‌ای از ژن‌های کدکننده آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در ریشه گیاه گندم می‌شود که می‌تواند منجر به القاء پاسخ‌های مدیریت‌شده در ریشه گیاه و کاهش اثرات مخرب ROS شود. از سوی دیگر، افزایش بیان ژن‌های مسیر بیوسنتز لیگنین در نتیجه حضور میکوریزا با تقویت دیواره سلولی از خروج آب از سیستم ریشه‌ای جلوگیری می‌کند که نوعی مکانیزم سازگاری

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1402.13.51.6.8]

با تنش کم‌آبی می‌باشد که توسط میکوریزا القاء می‌شود.

نتیجه‌گیری

میکوریزا در مواجهه با تنش کم‌آبی از طریق تغییر در برنامه بیانی ژن‌های میزبان، بحران کم‌آبی را مدیریت می‌کند. تجزیه و تحلیل داده‌های RNA-Seq نشان داد ۷۰ ژن با بیان افتراقی منحصراً در ریشه گندم تلقیح شده با میکوریزا تحت تنش کم‌آبی القاء شد. انتولوژی ژن و تجزیه مسیر توانست ژن‌ها و برخی مسیرهای متابولیک کلیدی در پاسخ‌های سازگاری و تحمل به کم‌آبی گیاه را شناسایی کند. به نظر می‌رسد مکانیزم مولکولی راه‌اندازی شده توسط AMF با تنظیم مهار ROS ، حفظ تعادل اسمزی و همچنین سنتز و شکل‌گیری دیواره سلولی در ریشه گندم تحمل به کم‌آبی را بهبود می‌بخشد. تحقیق حاضر در بردارنده اطلاعات ارزشمندی در مورد الگوی ترانسکریپتوم ریشه گندم تلقیح-شده با میکوریزا در واکنش به تنش WD می‌باشد. همچنین نتایج نشان داد که همزیستی میکوریزا با ریشه گندم نقش موثری در تحمل به کم‌آبی ایفا می‌کند. در این پژوهش مجموعه‌ای از ژن‌ها به عنوان ژن‌های کاندید کلیدی در افزایش مقاومت به کم‌آبی گندم گزارش شد، که با تحقیقات بیشتر در سطح مولکولی می‌توانند در انواع دستورزی‌های ژنتیکی مورد هدف قرار گیرند.

سپاسگزاری

نویسندگان این مقاله قدردانی خود را از معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات و آزمایشگاه تحقیقاتی ابن‌سینا، جهت فراهم نمودن تجهیزات و مواد لازم برای انجام این پژوهش را ابراز می‌دارند.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1402.13.51.6.8]

منابع

1. Franco AF, Marchioro VS, Montecelli TDN, Schuster I, Polo M, Souza LV, et al. CD 1303 - Short stature, high productive potential and industrial quality. Crop Breed Appl Biotechnol. 2018;18(1):123–5.
2. Hertel TW. Food Security Under Climate Change. Nat Clim Chang. 2016;6(1):10–3.
3. Rahimi-Moghaddam S, Deihimfard R, Azizi Kh, Roostaei M (2021) Characterizing spatial and temporal trends in drought patterns of rainfed wheat (Triticum aestivum L.) across various climatic conditions: a modelling approach. Eur J Agron 129:126333.
4. Scharwies JD, Dinneny JR. Water transport, perception, and response in plants. J Plant Res. 2019 May 11;132(3):311–24.
5. Janiak A, Kwasniewski M, Sowa M, Kuczyńska A, Mikołajczak K, Ogrodowicz P, et al. Insights into barley root transcriptome under mild drought stress with an emphasis on gene expression regulatory mechanisms. Int J Mol Sci. 2019;20(24).
6. Fang Y, Du Y, Wang J, Wu A, Qiao S, Xu B, et al. Moderate drought stress affected root growth and grain yield in old, modern and newly released cultivars of winter wheat. Front Plant Sci. 2017;8(May):1–14.
7. Upadhyay P. Climate change and adaptation strategies: a study of agriculture and livelihood adaptation by farmers in Bardiya District, Nepal. Adv Agric Environ Sci Open Access. 2019 Mar 27;2(1):47–52.
8. Badri D V., Weir TL, van der Lelie D, Vivanco JM. Rhizosphere chemical dialogues: plant-microbe interactions. Curr Opin Biotechnol. 2009;20(6):642–50.
9. Turlapati P V., Kim KW, Davin LB, Lewis NG. The laccase multigene family in Arabidopsis thaliana: Towards addressing the mystery of their gene function(s). Planta. 2011;233(3):439–70.
10. Tiwari P, Srivastava D, Chauhan AS, Indoliya Y, Singh PK, Tiwari S, et al. Root system architecture, physiological analysis and dynamic transcriptomics unravel the drought-responsive traits in rice genotypes. Ecotoxicol Environ Saf. 2021;207(August 2020):111252.
11. Mia MS, Liu H, Wang X, Zhang C, Yan G. Root transcriptome profiling of contrasting wheat genotypes provides an insight to their adaptive strategies to water deficit. Sci Rep. 2020;10(1):1–11.
12. Wang H, Zhou P, Zhu W, Wang F. De novo Comparative Transcriptome Analysis of Genes Differentially Expressed in the Scion of Homografted and Heterografted Tomato Seedlings. Sci Rep. 2019;9(1):1–12.
13. Moradi Tarnabi Z, Iranbakhsh A, Mehregan I, Ahmadvand R. Impact of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) on gene expression of some cell wall and membrane elements of wheat (Triticum aestivum L.) under water deficit using transcriptome analysis. Physiol Mol Biol Plants. 2020;26(1):143–62.
14. Wu Q, Zhao G, Bai X, Zhao W, Xiang D, Wan Y, et al. Characterization of the transcriptional profiles in common buckwheat (Fagopyrum esculentum) under PEG-mediated drought stress. Electron J Biotechnol. 2019;39:42–51.
15. Kim D, Langmead B, Salzberg SL. HISAT: A fast spliced aligner with low memory requirements. Nat Methods. 2015;12(4):357–60.
16. Trapnell C, Roberts A, Goff L, Pertea G, Kim D, Kelley DR, et al. Differential gene and transcript expression analysis of RNA-seq experiments with TopHat and Cufflinks. Nat Protoc. 2012;7(3):562–78.
17. Trapnell C, Hendrickson DG, Sauvageau M, Goff L, Rinn JL, Pachter L. Differential analysis of gene regulation at transcript resolution with RNA-seq. Nat Biotechnol. 2013;31(1):46–53.
18. Handa Y, Nishide H, Takeda N, Suzuki Y, Kawaguchi M, Saito K. RNA-seq Transcriptional Profiling of an Arbuscular Mycorrhiza Provides Insights into Regulated and Coordinated Gene Expression in Lotus japonicus and Rhizophagus irregularis. Plant Cell Physiol. 2015;56(8):1490–511.
19. Sharma S, Anand G, Singh N, Kapoor R. Arbuscular Mycorrhiza Augments Arsenic Tolerance in Wheat (Triticum aestivum L.) by Strengthening Antioxidant Defense System and Thiol Metabolism. Front Plant Sci. 2017;8(June):1–21.
20. Mathimaran N. Mycosphere Essay 17 Arbuscular mycorrhizal symbiosis and drought tolerance in

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1402.13.51.6.8]

crop plants. Mycosphere. 2017;8(3):361–76.
21. Ganugi P, Masoni A, Pietramellara G, Benedettelli S. A review of studies from the last twenty years on plant–arbuscular mycorrhizal fungi associations and their uses for wheat crops. Agronomy. 2019;9(12).
22. Zou YN, Wu QS, Kuča K. Unravelling the role of arbuscular mycorrhizal fungi in mitigating the oxidative burst of plants under drought stress. Plant Biol (Stuttg). 2021 May;23 Suppl 1:50-57.
23. Hu Y, Xie W, Chen B. Arbuscular mycorrhiza improved drought tolerance of maize seedlings by altering photosystem II efficiency and the levels of key metabolites. Chem Biol Technol Agric. 2020 Dec 1;7(1):20.
24. Oliveira TC, Cabral JSR, Santana LR, Tavares GG, Santos LDS, Paim TP, et al. The arbuscular mycorrhizal fungus Rhizophagus clarus improves physiological tolerance to drought stress in soybean plants. Sci Rep. 2022 Dec 31;12(1):9044.
25. Neysanian M, Iranbakhsh A, Ahmadvand R, Ardebili ZO, Ebadi M. Comparative efficacy of selenate and selenium nanoparticles for improving growth, productivity, fruit quality, and postharvest longevity through modifying nutrition, metabolism, and gene expression in tomato; potential benefits and risk assessment. PLoS One. 2020;15(12 December):1–17.
26. Adamipour N, Khosh-Khui M, Salehi H, Razi H, Karami A, Moghadam A. Metabolic and genes expression analyses involved in proline metabolism of two rose species under drought stress. Plant Physiol Biochem. 2020;155(July):105–13.
27. Ozturk, M., Unal, B. T., Garcia-Caparros, P., Khursheed, A., Gul, A., and Hasanuzzaman, M. (2021). Osmoregulation and its actions during the drought stress in plants. Physiol. Plant. 172, 1321–1335.
28. Zou, Y. N., Zhang, F., Srivastava, A. K., Wu, Q. S., and Kuèa, K. (2021). Arbuscular mycorrhizal fungi regulate polyamine homeostasis in roots of trifoliate orange for improved adaptation to soil moisture deficit stress. Front. Plant Sci. 11:600792
29. Yooyongwech S, Samphumphuang T, Tisarum R, Theerawitaya C, Cha-um S. Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) improved water deficit tolerance in two different sweet potato genotypes involves osmotic adjustments via soluble sugar and free proline. Scientia Horticulturae. 2016 Jan 26;198: 107-17.
30. Chun SC, Paramasivan M, Chandrasekaran M. Proline Accumulation Influenced by Osmotic Stress in Arbuscular Mycorrhizal Symbiotic Plants. Front Microbiol. 2018;9(October):1–13.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1402.13.51.6.8]