مقاله پژوهشی، صفحات ۲۴۷-۲۷۲
DOI: 10.22034/cmr.2026.8694.3336

# شناسایی مسیرهای عملکردی و ژنهای کلیدی پاسخ دهنده به خشکی در دوره رویشی و زایشی سویا

**زینب شم آبادی[۱]، مریم پسندیده ارجمند[۱و۲*]، محمدمحسن زاده گلفزانی[۱]، حبیب اله سمیع زاده لاهیجی[۱]**

[۱] گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

[۲] واحد فناور زیست رادان ژن کاسپین (بیوژن تک)، مرکز رشد واحدهای فناور، پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی منطقه شمال کشور، رشت، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۶/۳۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۷/۲۷

## چکیده

سویا (*Glycine Max*) یکی از مهمترین محصولات دانه روغنی در جهان است که تنش خشکی سبب کاهش رشد و عملکرد آن میشود. شناسایی مسیرهای عملکردی و ژنهای کلیدی پاسخ دهنده به خشکی در دوره رویشی و زایشی میتواند برای تولید ارقام سویای متحمل به خشکی کمک کننده باشد. از این رو داده های میکروآرایه گیاه سویا تحت تنش خشکی هم در دوره رویشی و هم در دوره زایشی با ابزار GEO2R مورد آنالیز قرار گرفت. بررسی هستی شناسی ژنهای با بیان افتراقی و شناسایی ژنهای کلیدی در دوره رویشی، زایشی و ژنهای مشترک در هر دو دوره انجام شد. نتایج نشان داد در دوره رویشی ۹۳۲ ژن افزایش بیان و ۹۱۸ ژن کاهش بیان و در دوره زایشی ۷۵۸ ژن افزایش بیان و ۶۱۰ ژن کاهش بیان داشتند. ژنهای با افزایش بیان در دوره رویشی در فرآیندهای بیولوژیکی مهمی مانند فرآیند بیوسنتزی لیپید، پاسخ به اسید آبسیزیک و پاسخ به تنش و ژنهای با کاهش بیان در فتوسنتز و فرآیند بیوسنتزی گلیکوژن و نشاسته و ساکارز نقش داشتند. ژنهای با افزایش بیان در دوره زایشی در پاسخ به اسید آبسیزیک و پاسخ به تنش و ژنهای با کاهش بیان در فرآیند بیوسنتزی کلروفیل و نمو اندام گیاهی نقش داشتند. ژنهای شناسایی شده در دوره رویشی و یا زایشی مانند *I1JLN5* و *I1J6X7* که با سنتز پرولین در ارتباط هستند و همچنین ژنهای *C6TKW2* و *C6T868* که مرتبط با فتوسنتز هستند در پاسخ به تنش خشکی سویا بسیار کلیدی بوده و میتوانند در برنامه های بهنژادی سویا مورد توجه قرار گیرند.

**واژگان کلیدی:** پرولین، ریزآرایه، Cytoscape، in silico، *I1JLN5*

*نویسنده مسئول، پست الکترونیک: Pasandide.m92@gmail.com

## مقدمه

گیاه سویا از مهمترین دانه های روغنی و ششمین محصول زراعی مهم دنیا است [۶]. سویا در مناطق گرمسیری، نیمه گرمسیری و معتدل کشت میشود. با این حال اکثر تولیدات جهانی به دلیل تنشهای آب و هوایی به ویژه تنش خشکی، کاهش آب در دسترس برای کشاورزی و افزایش دمای هوا محدود شده است [۲۸]. گیاهان از طریق انواع انتقال و پاسخهای فیزیولوژیکی، مانند مسیر اسید آبسیزیک (ABA)، رشد ریشه، بسته شدن روزنه، مهار گونه های اکسیژن فعال (ROS) و

مقاله پژوهشی، صفحات ۲۴۷-۲۷۲
DOI: 10.22034/cmr.2026.8694.3336

بیوسنتز لیگنین به تنش خشکی پاسخ میدهند [۵۴]. هدف حمله رادیکالهای آزاد، لیپیدهای غشای سلول، پروتئین بافتی یا آنزیمها، کربوهیدراتها و DNA است که موجب اکسیداسیون آنها می‌شود و در نتیجه غشا، DNA و ساختار پروتئینها آسیب می‌بیند [۴۳]. همچنین در تنش خشکی بیان ژنها دچار تغییر شده و محتوای کل پروتئینها در سلول تغییر میکند. در شرایط تنش خشکی تغییر کل محتوای پروتئینی محلول در برگ و نیز تجمع پرولینها بیشتر از سایر تغییرات گزارش شده است [۲۴ و ۴۶]. شناسایی ژنهای تغییر بیان یافته و مسیرهای عملکردی فعال شده در شرایط تنش خشکی در دوره های مختلف رشدی میتواند در انتخاب بهترین راهبرد برای مدیریت زراعی اهمیت داشته باشد [۳۲ و ۳۵]. طبق گزارشات فائو مرحله اواخر گلدهی تا اوایل غلافدهی حساسترین مرحله رشدی گیاه است. وقتی تنش آبی در اواخر رشد سویا اتفاق بیفتد مقدار روغن دانه افزایش مییابد، اما محتوای پروتئینی دانه کاهش مییابد. نهایتا به دلیل کاهش عملکرد، تنش خشکی تاثیر منفی بر روغن و پروتئین حاصله از محصول گیاه را دارد [۱۴]. از طرفی نشان داده شده است که اعمال تنش خشکی در مرحله رویشی گیاه سویا نیز می تواند خسارتهای جبران ناپذیری در مراحل بعدی رشد و نمو بر جای بگذارد [۲۷].

فناوری بیوانفورماتیک یک ابزار نوظهور برای بررسی داده های زیستی و ابزاری مؤثر در شناسایی نشانگرهای زیستی در تنشها است و میتواند تفاوتهای بیان ژنها را تعیین کرده و ژنهای موثر در تنش را شناسایی نماید [۱۱]. ریزآرایهها از با ارزشترین روشها در بررسی بیان ژن هستند که به دلیل حجم بالایی از داده های تولید شده در هر آزمایش منفرد، امکان مطالعه را از چشم انداز وسیعتر و بهتر فراهم میکند و برای نشان دادن و توصیف بیان هزاران ژن به طور همزمان به کار میرود [۴]. امروزه در مطالعات مختلف از ابزارهای بیوانفورماتیکی در بررسی داده های بیان ژن برای شناسایی ژنهای کلیدی در پاسخ به تنشهای محیطی در دورههای مختلف رشدی گیاهان استفاده میشود [۱ و ۳۹]. در مطالعه ای داده های میکروآرایه گیاه مدل آرابیدوپسیس در سطوح مختلف تنش خشکی مورد بررسی قرار گرفت و با استفاده از ابزارهای بیوانفورماتیکی ژنهای کلیدی در پاسخ به تنش خشکی شناسایی شدند [۱۹]. در پژوهشی داده های میکروآرایه گیاه سویا در شرایط تنش خشکی آنالیز شد و ژنهای کلیدی پاسخ دهنده به خشکی در دوره رویشی شناسایی شدند [۴۰]. در مطالعه دیگری نیز داده های بیانی میکروآرایه گیاه سویا تحت تنش خشکی در دوره رویشی مورد آنالیز قرار گرفت. نتایج نشان داد مسیرهای علامتدهی مرتبط با MAPK و ABA و همچنین ژنهای فتوسنتزی در شرایط تنش خشکی بسیار کلیدی هستند [۵]. بررسی داده های بیان ژن در سویا تحت شرایط خشکی اطلاعات ارزشمندی را در رابطه با مسیرهای بیولوژیکی درگیر در تنش خشکی و ژنهای کلیدی پاسخ دهنده به خشکی فراهم میکند. در اکثر مطالعات فقط یک دوره رشدی از گیاه سویا مورد مطالعه قرار گرفته است و اطلاعات کمی در مورد بیان ژنهای کلیدی پاسخ دهنده به تنش خشکی هم در دوره رویشی و هم دوره زایشی به طور همزمان وجود دارد. این اطلاعات در تولید ارقام سویا که در هر دو دوره متحمل به تنش خشکی باشند بسیار مهم است. از این رو هدف از این پژوهش شناسایی ژنهای کلیدی و موثر گیاه سویا در مواجه با تنش خشکی هم در مرحله رویشی و هم در مرحله زایشی

مقاله پژوهشی، صفحات ۲۴۷-۲۷۲
DOI: 10.22034/cmr.2026.8694.3336

و ژنهای کلیدی که در هر دو مرحله زندگی گیاه سویا به صورت مشترک موثر هستند و معرفی آنها در راستای به نژادی گیاه سویا در شرایط تنش خشکی بود.

## مواد و روشها

### آنالیز داده های میکروآرایه گیاه سویا تحت شرایط تنش خشکی در دوره رویشی و زایشی

داده های میکروآرایه گیاه سویا (*Glycine Max*) تحت شرایط تنش خشکی هم در دوره رویشی و هم در دوره زایشی از پایگاه داده NCBI بدست آمد و مورد آنالیز قرار گرفت. داده های مربوط به دوره رویشی با کد دسترسی GSE29663مربوط به گیاهانی بود که تنش خشکی در آنها به مدت ۶ روز توسط قطع آبیاری اعمال شد تا زمانی که محتوای رطوبت خاک به ۵ درصد کاهش یافت. همچنین داده های میکروآرایه سویا در دورهی زایشی با کد دسترسی GSE40604 مربوط به گیاهانی بود که اعمال تنش خشکی در آنها در مرحله ابتدایی گلدهی به مدت ۵ روز با قطع آبیاری انجام شد. این تنش ادامهدار بود تا زمانی که رطوبت خاک به ۵ درصد کاهش یافت. هر کدام از آزمایشها دارای سه تکرار بود و پس از رسیدن محتوای رطوبت خاک به ۵ درصد از گیاهان تحت تنش خشکی و همچنین گیاهانی که به طور مطلوب آبیاری شده بودند نمونهبرداری انجام شد و بررسی بیان ژنها با استفاده از روش میکروآرایه ( Affymetrix Soybean Gene 1.0 ST) انجام شد. آنالیز دادهها پس از نرمال سازی توسط ابزار GEO2R (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/geo2r) که یک ابزار مبتنی بر برنامه R است، در ۳ تکرار انجام شد. به طور کلی ۱۲ نمونه مورد آنالیز قرار گرفت که ۶ نمونه مربوط به نمونه های تحت تنش خشکی و ۶ نمونه مربوط به نمونه های شاهد بود.

### شناسایی ژنهای با بیان افتراقی (DEGs)

برای شناسایی ژنهای با بیان افتراقی، ژنهای با Adjust p-value کمتر از ۰/۰۵ و Log Fold Change ( Log FC) بزرگتر مساوی ۲ و کوچکتر مساوی ۲- انتخاب شدند. ژنهایی که Log FC آنها بزرگتر و مساوی ۲ بود ژنهایی بودند که در شرایط تنش خشکی بیان آنها افزایش پیدا کرده بود (Up-regulate) و ژنهای با Log FC کوچکتر مساوی ۲- ژنهایی بودند که در شرایط تنش خشکی کاهش بیان داشتند (Down-regulate).

### آنالیز هستی شناسی و مسیرهای عملکردی ژنهای با بیان افتراقی در گیاه سویا در دوره رویشی و زایشی

برای شناسایی هستی شناسی ژنها که شامل فرآیندهای بیولوژیکی (BP)، جایگاه سلولی (CC) و عملکرد مولکولی (MF) بود و همچنین بررسی مسیرهای عملکردی (KEGG Pathways) از پایگاه DAVID (https://david.ncifcrf.gov/) استفاده شد. سپس BP، CC و MF درنهایت KEGG Pathwaysهای بدست آمده با Adjust p-value کمتر از ۰/۰۵ انتخاب شد. برای نمایش بصری آنالیز هستی شناسی و مسیرهای عملکردی ژنهای با بیان افتراقی در دوره رویشی و زایشی از ابزار SRPlot استفاده شد (https://www.bioinformatics.com).

### شناسایی ژنهای مشترک تغییر بیان یافته در در دوره رویشی و زایشی

مقاله پژوهشی، صفحات ۲۴۷-۲۷۲
DOI: 10.22034/cmr.2026.8694.3336

به منظور شناسایی ژنهایی که هم در دوره رویشی و هم در دوره زایشی تغییر بیان معنادار داشتند، ژنهای مشترک دو مطالعه توسط ابزار Venny 2.0.2 (https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/index2.0.2.html) شناسایی و مورد بررسی قرار گرفت.

### آنالیز هستی شناسی و مسیرهای عملکردی ژنهای مشترک دورهی رویشی و زایشی گیاه سویا

برای شناسایی هستی شناسی ژنهای مشترک از پایگاه DAVID (https://david.ncifcrf.gov/) استفاده شد. سپس BP، CC، MF و KEGG Pathwayهای بدست آمده با Adjust p-value کمتر از ۰/۰۵ انتخاب شد و برای نمایش بصری آنالیز هستی شناسی و مسیرهای عملکردی ژنهای مشترک در دورهی رویشی و زایشی از ابزار SRPlot (https://www.bioinformatics.com) استفاده شد.

### پیدا کردن ژنهای کلیدی گیاه سویا تحت تنش خشکی در دوره رویشی، دوره زایشی و هردو دوره به طور مشترک

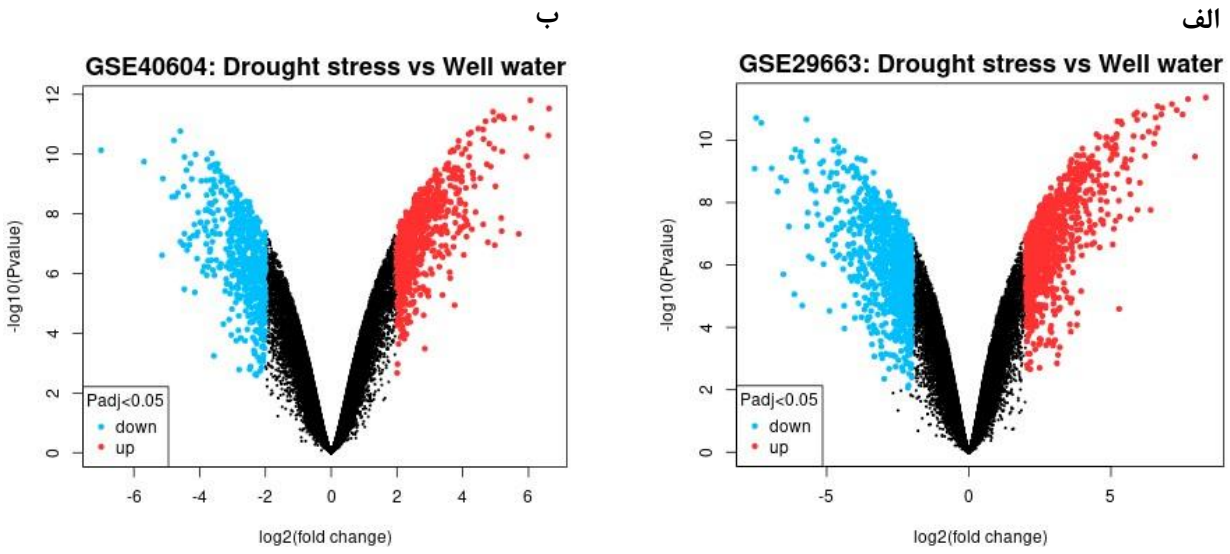
برای پیدا کردن ژنهای کلیدی (Hub Genes) از ابزار Cytoscape (3.9.1) استفاده شد (https://cytoscape.org). برای شناسایی ژنهای کلیدی از افزونه Cytohubba با استفاده از روش Closeness استفاده شد و ژنهای کلیدی در دوره رویشی، دوره زایشی و ژنهای مشترک در دوره رویشی و زایشی به طور جداگانه که بیشترین برهمکنش را در بین ژنهای با بیان افتراقی داشتند و همچنین از نظر عملکرد مولکولی در شرایط تنش خشکی مهم بودند به عنوان ژنهای کلیدی معرفی شدند.

## نتایج و بحث

### ژنهای با بیان افتراقی در دوره رویشی و زایشی گیاه سویا در شرایط تنش خشکی

آنالیز داده های میکروآرایه گیاه سویا در مواجه با تنش خشکی در دوره رویشی نشان داد که به طورکلی ۱۸۵۰ ژن دارای بیان معنادار بودند که از این تعداد ۹۳۲ ژن افزایش بیان و ۹۱۸ ژن کاهش بیان داشتند (شکل ۱ الف). همچنین آنالیز داده های میکروآرایه گیاه سویا در مواجه با تنش خشکی در دوره زایشی نشان داد که ۱۳۶۸ ژن دارای بیان معنادار بودند که از این تعداد ۷۵۸ ژن افزایش بیان و ۶۱۰ ژن کاهش بیان داشته اند (شکل ۱ ب).

مقاله پژوهشی، صفحات ۲۴۷-۲۷۲
DOI: 10.22034/cmr.2026.8694.3336




**شکل – ۱:** نمودار آتشفشانی ژنهای دارای بیان افتراقی با Log Fold Change بزرگتر مساوی ۲ (Up-regulated) و کوچکتر مساوی ۲- (Down-regulated) با Adjust p-value کمتر از ۰/۰۵ در دوره رویشی (الف) و دوره زایشی (ب) گیاه سویا تحت شرایط تنش خشکی

## هستی شناسی ژنهای با افزایش و کاهش بیان در دوره رویشی گیاه سویا در خشکی

از مهمترین فرآیندهای بیولوژیکی (BP) معنادار با p-value کوچکتر از ۰/۰۵ در دوره رویشی گیاه سویا برای ژنهای با افزایش بیان میتوان به فرآیند بیوسنتزی لیپیدی، پاسخ به اسید آبسیزیک، فرآیند بیوسنتزی اسیدهای چرب و پاسخ به تنش اشاره نمود (شکل ۲ الف). مهمترین فرآیندهای بیولوژیکی معنادار با p-value کوچکتر از ۰/۰۵ در دوره رویشی گیاه سویا برای ژنهای با کاهش بیان (Down regulate) فتوسنتز، انتقال غشایی، فرآیند بیوسنتزی گلیکوژن، فرآیند بیوسنتزی نشاسته و فرآیند بیوسنتزی ساکارز بود (شکل ۲ ب). هورمون آبسیزیک اسید یا ABA نقش مهمی در تنظیم پاسخ سازگاری گیاهان به بسیاری از تنشهای محیطی مانند خشکی ایفا میکند [۳۰]. اسید آبسیزیک در تنظیم سنتز فلاونوئیدها برای افزایش تحمل به خشکی نقش دارد [۸].

نتایج نشان داد تحت تنش خشکی در دوره رویشی ژنهای دخیل در فرآیندهای بیولوژیکی فتوسنتز، بیوسنتز نشاسته و بیوسنتز ساکارز کاهش مییابد (شکل ۲ الف). گرما سبب کاهش دو برابری فتوسنتز می شود. در حالی که تنش خشکی اثر جدی‌تری دارد و میتواند منجر به کاهش سه برابری نرخ فتوسنتزی ژنوتیپ‌های سویا شود [۳۴]. بر اساس مطالعات قبلی مشخص شده است که خشکی و شوری محتوای نشاسته را تغییر میدهد. با این حال، درجه این تغییرات به نوع گیاه، مدت زمان قرار گرفتن در معرض تنش و نوع عامل محیطی بستگی دارد [۲۲]. ساکارز، محصول اصلی فتوسنتز به طور موقت در

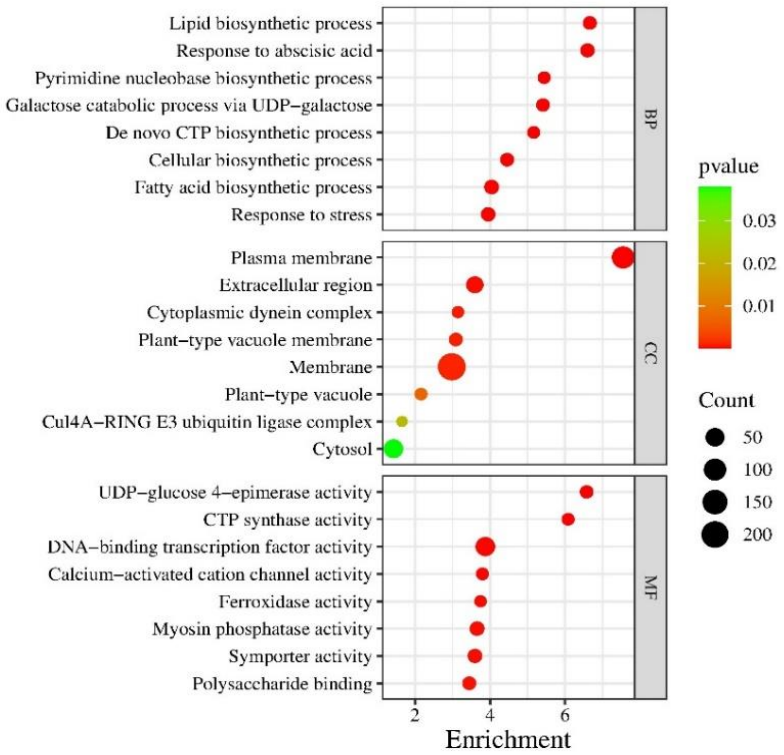
مقاله پژوهشی، صفحات ۲۴۷-۲۷۲
DOI: 10.22034/cmr.2026.8694.3336

محفظه هایی مانند واکوئل ها برای استفاده در اندامهای منبع در شب ذخیره میشود [۵۰].

طبق نتایج بدست آمده مهمترین جایگاههای سلولی (CC) برای ژنهای با افزایش بیان در دوره رویشی گیاه سویا سیتوپلاسم و اندامکهای سیتوپلاسمی بود (شکل ۲ الف) و بیشترین جایگاه سلولی برای ژنهای با کاهش بیان در اندامک کلروپلاست بود (شکل ۲ ب). تعدادی از جایگاههای سلولی معنادار با p-value کوچکتر از ۰/۰۵ در ژنهای با افزایش بیان شامل غشای پلاسمایی، ناحیه خارج سلولی و سیتوزول بود. تعدادی از جایگاههای سلولی معنادار با p-value کوچکتر از ۰/۰۵ در ژنهای با کاهش بیان در دوره رویشی سویا شامل فتوسیستم II ، فتوسیستم I و غشای پلاسمایی بود (شکل ۲).

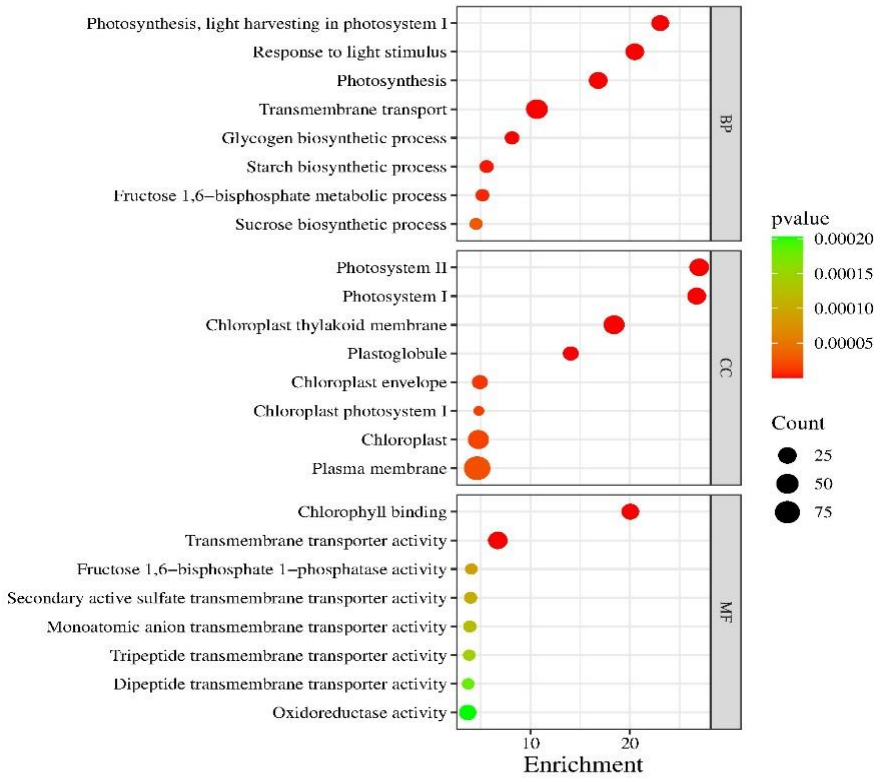
برخی از عملکردهای مولکولی (MF) معنادار با p-value کوچکتر از ۰/۰۵ که ژنهای با افزایش بیان در مرحله رویشی گیاه سویا درآن دخیل هستند شامل فعالیت-UDP گلوکز ۴-اپی مراز، فعالیت سنتاز CTP و اتصال پلی ساکارید بود (شکل ۲ الف). عملکردهای مولکولی معنادار با p-value کوچکتر از ۰/۰۵ که ژنهای با کاهش بیان در مرحله رویشی گیاه سویا درآن دخیل بودند میتوان به اتصال کلروفیل، فعالیت ناقل ترانس غشایی و فعالیت ناقل اکسیدوردوکتاز اشاره نمود (شکل ۲ ب).

**الف**



مقاله پژوهشی، صفحات ۲۴۷-۲۷۲
DOI: 10.22034/cmr.2026.8694.3336

ب




**شکل- ۲:** آنالیز هستی شناسی شامل فرآیندهای بیولوژیکی (BP)، اجزای سلولی (CC) و عملکرد مولکولی (MF) ژنهای با افزایش بیان (الف) و کاهش بیان (ب) با p-value کوچکتر از ۰/۰۵ در دوره رویشی گیاه سویا در شرایط تنش خشکی

## هستی شناسی ژنهای با افزایش و کاهش بیان در دوره زایشی گیاه سویا در خشکی

بررسی هستی شناسی ژنهای افزایش و کاهش بیان یافته در دوره زایشی گیاه سویا تحت تنش خشکی نشان داد که از مهمترین فرآیندهای بیولوژیکی معنادار با p-value کوچکتر از ۰/۰۵ در دوره زایشی گیاه سویا برای ژنهای با افزایش بیان (Up regulate) میتوان به پاسخ به اسید آبسیزیک، تنظیم فرآیند بیوسنتزی اسید سالیسیلیک و فرآیند بیوسنتزی اینوزیتول اشاره نمود (شکل ۳ الف). از مهمترین فرآیندهای بیولوژیکی معنادار با p-value کوچکتر از ۰/۰۵ در دوره زایشی گیاه سویا برای ژنهای با کاهش بیان (Down regulate) میتوان به فرآیند بیوسنتزی کلروفیل، پاسخ به محرک نورو انتقال غشایی اشاره نمود (شکل ۳ب).

هورمون‌های گیاهی در سازگاری گیاهان با خشکی نقش اساسی دارند. اسید آبسیزیک (ABA) نقش کلیدی در افزایش مقاومت به خشکی از طریق تنظیم رفتار روزنه‌ای، رشد ریشه و شروع مسیرهای سیگنالینگ وابسته به ABA ایفا می‌کند [۵۳]. نتایج نشان داد ژنهای با کاهش بیان در دوره زایشی در فرآیندهای مرتبط با فتوسنتز و رشد گل نقش دارند. اعمال تنش خشکی در گیاه سویا میتواند سبب کاهش چشمگیر فتوسنتز و در نتیجه

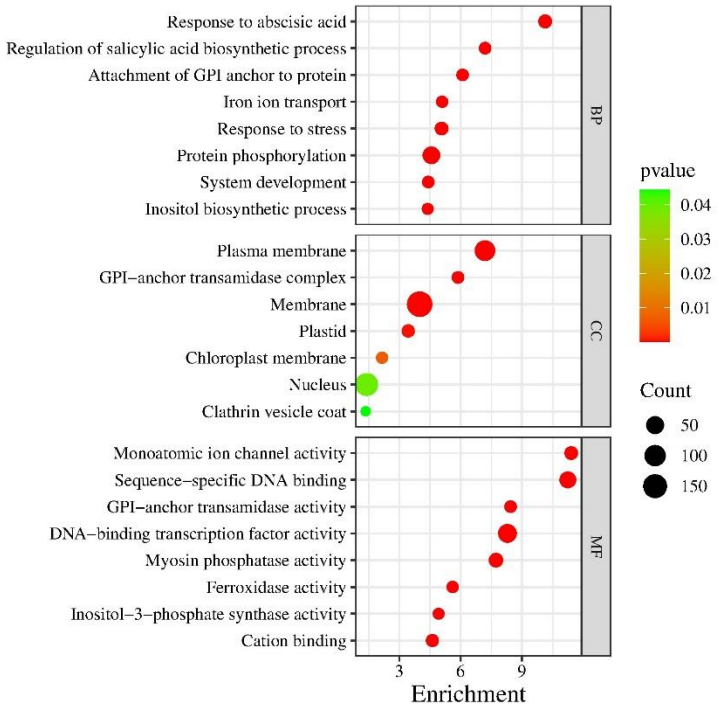
مقاله پژوهشی، صفحات ۲۴۷-۲۷۲
DOI: 10.22034/cmr.2026.8694.3336

کاهش رشد و نمو گیاه شود و در نتیجه عملکرد محصول کاهش یابد [۳۴].

تعدادی از جایگاه های سلولی معنادار با p-value کوچکتر از ۰/۰۵ که ژنهای با افزایش بیان در دوره زایشی سویا درآن مشارکت داشتند میتوان به غشای پلاسما، هسته و پوشش وزیکول کلاترین اشاره نمود (شکل ۳ الف). تعدادی از جایگاه های سلولی معنادار با p-value کوچکتر از ۰/۰۵ که ژنهای با کاهش بیان در دورهی زایشی سویا درآن مشارکت دارند میتوان به آپوپلاست، فتوسیستم II و کلروپلاست اشاره نمود (شکل ۳ ب).

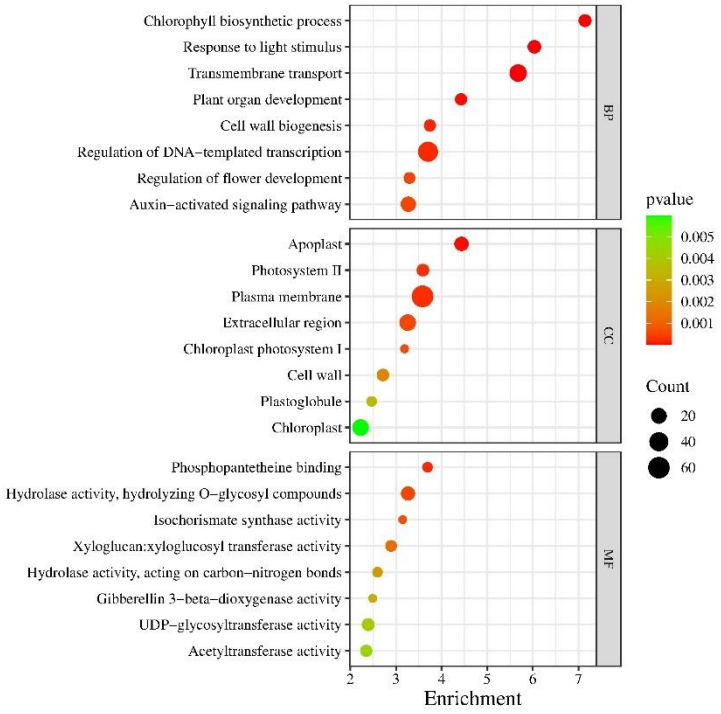
نتایج نشان داد عملکردهای مولکولی معنادار با p-value کوچکتر از ۰/۰۵ که ژنهای با افزایش بیان در مرحله زایشی گیاه سویا درآن دخیل هستند شامل فعالیت کانال یونی تک اتمی، اتصال DNA به توالی خاص و اتصال کاتیونی بود (شکل ۳ الف). عملکردهای مولکولی معنادار با p-value کوچکتر از ۰/۰۵ که ژنهای با کاهش بیان در مرحله زایشی گیاه سویا درآن دخیل بودند شامل اتصال فسفوپانتتین، فعالیت هیدرولاز و فعالیت O-استیل ترانسفراز بود (شکل ۳ ب).

**الف**



مقاله پژوهشی، صفحات ۲۴۷-۲۷۲
DOI: 10.22034/cmr.2026.8694.3336

ب



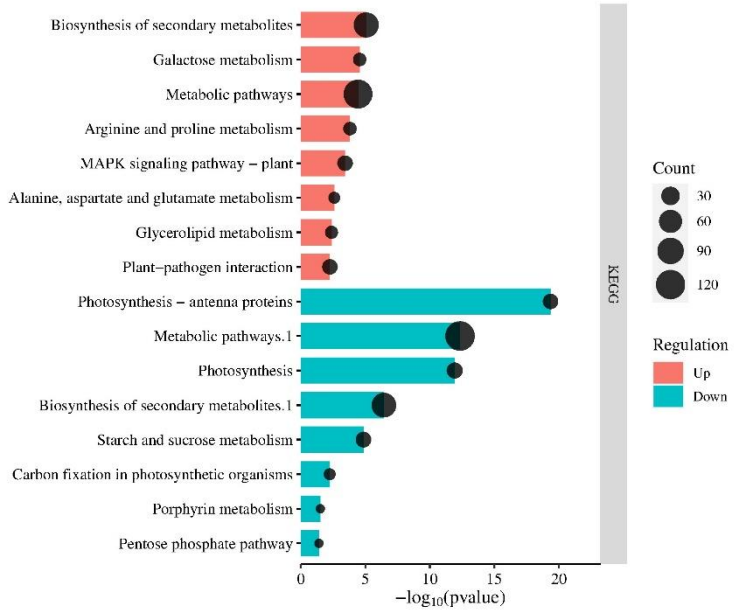

**شکل- ۳:** آنالیز هستی شناسی شامل فرآیندهای بیولوژیکی (BP)، اجزای سلولی (CC) و عملکرد مولکولی (MF) ژنهای با افزایش بیان (الف) و کاهش بیان (ب) با p-value کوچکتر از ۰/۰۵ در دوره زایشی گیاه سویا در شرایط تنش خشکی

از مهمترین مسیرهای عملکردی (KEGG Pathway) در دوره رویشی گیاه سویا میتوان به بیوسنتز متابولیتهای ثانویه، متابولیسم گالاکتوز و پاتوژن برای ژنهای با افزایش بیان و مسیرهای عملکردی فتوسنتز-پروتئینهای آنتن، مسیرهای متابولیک و مسیر پنتوز فسفات برای ژنهای با کاهش بیان اشاره نمود (شکل ۴ الف). از مهمترین مسیرهای عملکردی در دورهی زایشی گیاه سویا میتوان به برهمکنش گیاه و پاتوژن، مسیر سیگنالینگ MAPK -گیاه و متابولیسم گلیسرولیپید برای ژنهای با افزایش بیان و متابولیسم پورفیرین، بیوسنتز متابولیتهای ثانویه و بیوسنتز دی ترپنوئید گیاه برای ژنهای با کاهش بیان اشاره نمود (شکل ۴ ب).

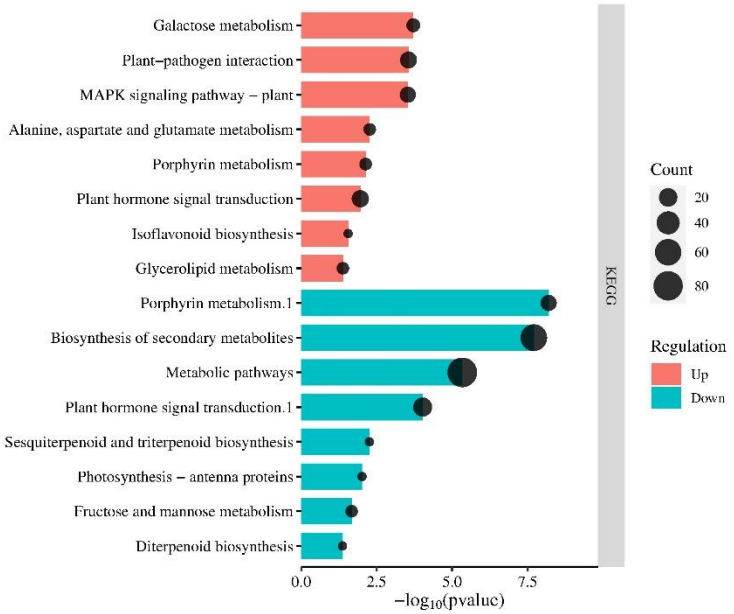
نتایج نشان داد که هم در دوره رویشی و هم در دوره زایشی ژنهای دخیل در مسیر سیگنالینگ MAPK-گیاه افزایش بیان نشان دادند. سرین کینازها که به عنوان پروتئین کینازهای فعال شده با میتوژن (MAPKs) نیز شناخته میشوند، در انتقال سیگنالهای سلولی که فرآیندهای سلولی مختلف را انجام میدهند مانند میتوز، بیان ژن، تکثیر سلولی، بقا و مرگ سلولی نقش دارند. علاوه بر این منجر به فرآیندهای فیزیولوژیکی مختلف دیگر در گیاهان از جمله متابولیسم، تمایز، پاسخ به استرس و آپوپتوز میشوند [۲۵].

مقاله پژوهشی، صفحات ۲۴۷-۲۷۲
DOI: 10.22034/cmr.2026.8694.3336

**الف**



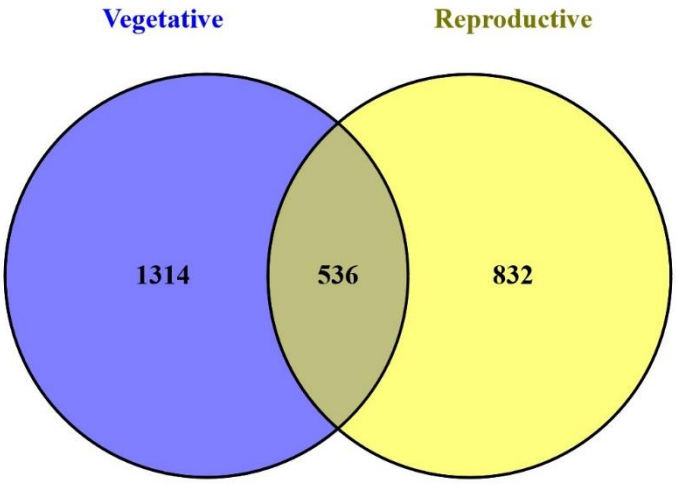

**ب**




**شکل-۴:** آنالیز مسیرهای عملکردی (KEGG) ژنهای با افزایش (Up) و کاهش (Down) بیان در دوره رویشی (الف) و دوره زایشی (ب) گیاه سویا در شرایط تنش خشکی در p-value کوچکتر از ۰/۰۵. مقادیر Count نشان دهنده تعداد ژنهای درگیر در هر مسیر عملکردی است.

مقاله پژوهشی، صفحات ۲۴۷-۲۷۲
DOI: 10.22034/cmr.2026.8694.3336

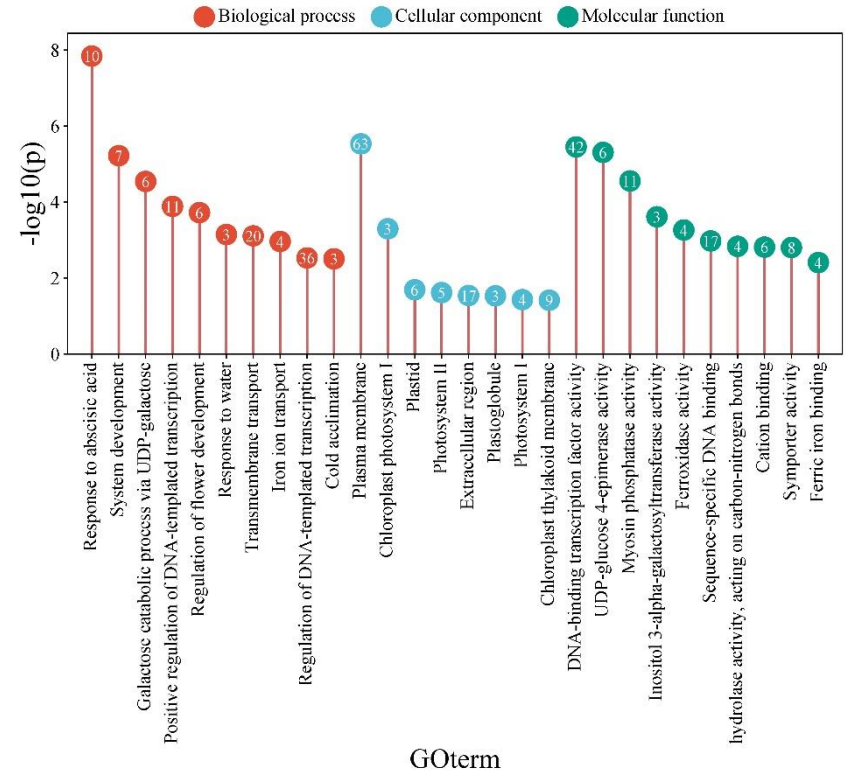
نتایج نشان داد تعداد ۵۳۶ ژن به صورت مشترک هم در دوره رویشی و هم در دوره زایشی بیان میشوند و در هر دو دوره دارای تغییر بیان معنادار بودند. همچنین ۱۳۱۴ ژن فقط در دوره رویشی و ۸۳۲ ژن فقط در دوره زایشی تغییر بیان معنادار نشان دادند (شکل ۵). بررسی ژنهای مشترک و شناسایی ژنهایی که در هر دو دوره نقش موثری در پاسخ به تنش خشکی دارند میتواند مهم باشد.

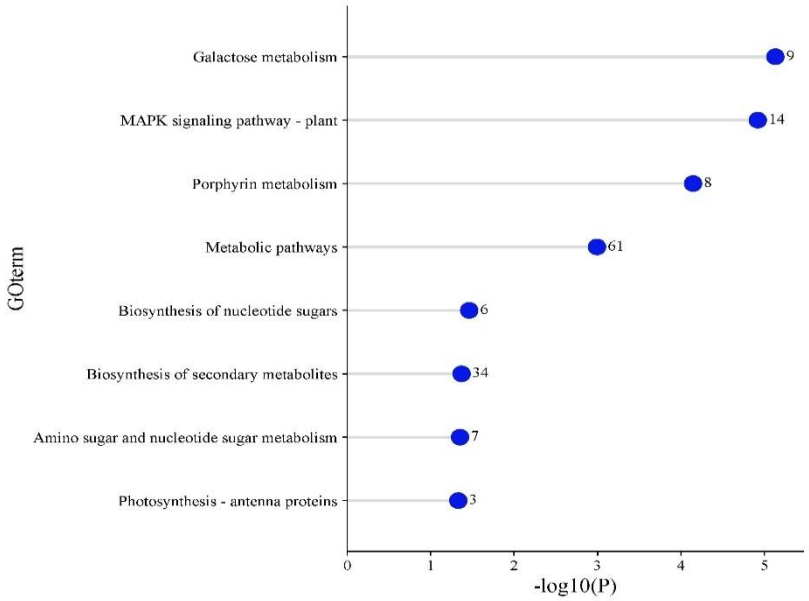



**شکل-۵:** ژنهای با بیان مشترک در دوره رویشی (Vegetative) و زایشی (Reproductive) گیاه سویا تحت شرایط تنش خشکی

آنالیز هستی شناسی و مسیرهای عملکردی ژنهای مشترک نشان داد که این ژنها در فرآیندهای بیولوژیکی و مسیرهای عملکردی نقش مهمی در پاسخ به تنش دارند. ژنهایی که هم در دوره رویشی و هم در دوره زایشی افزایش بیان نشان دادند در مسیرهای بیولوژیکی مهمی مانند پاسخ به آبسیزیک اسید، نمو و عملکردهای مولکولی مهمی داشتند (شکل۶ الف). همچنین این ژنها در مسیرهای عملکردی مرتبط با تنش خشکی مانند مسیر سیگنالینگ MAPK-گیاه و فتوسنتز نقش داشتند (شکل۶ ب). در مطالع های آنالیز داده های میکروآرایه گیاه سویا نشان داد که مسیرهای علامتدهی MAPK در پاسخ به تنش خشکی بسیار مهم هستند و میتوانند بر بیان ژنهای پاسخ دهنده به تنش اثر بگذارند [۵].

مقاله پژوهشی، صفحات ۲۴۷-۲۷۲
DOI: 10.22034/cmr.2026.8694.3336

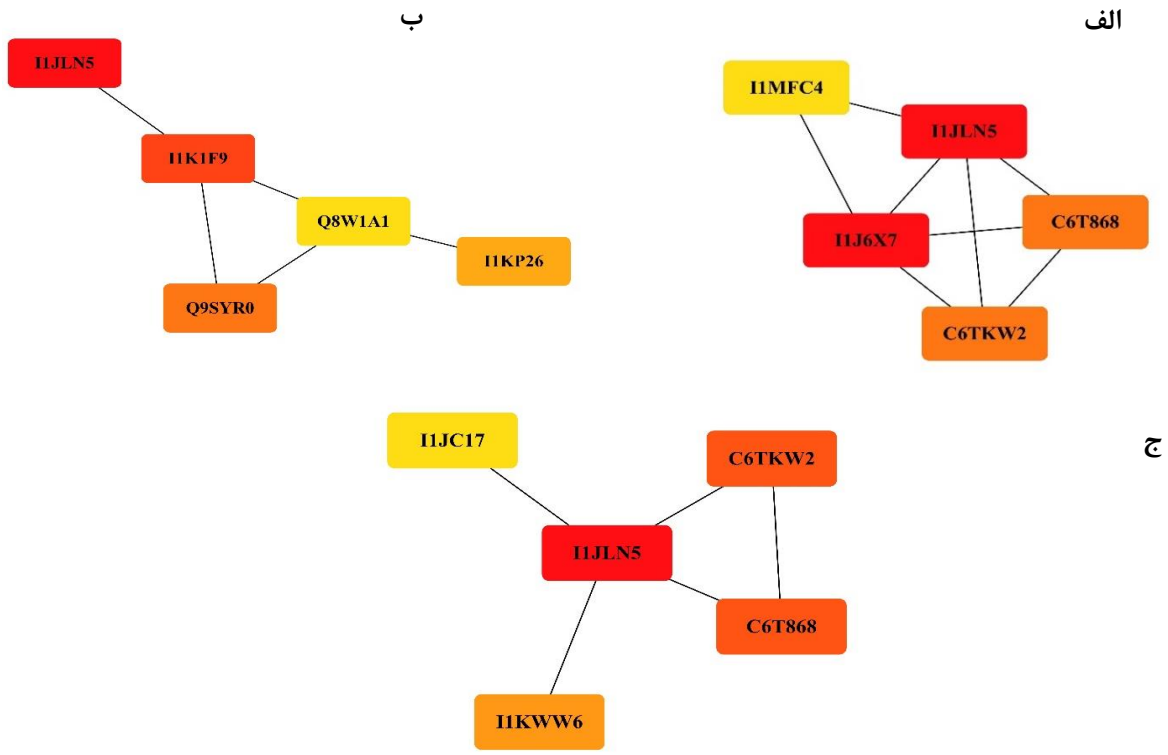



**شکل-۶:** آنالیز هستی شناسی و مسیرهای عملکردی ژنهای مشترک بیان شده هم دوره رویشی و هم در دوره زایشی گیاه سویا تحت تنش خشکی

مقاله پژوهشی، صفحات ۲۴۷-۲۷۲
DOI: 10.22034/cmr.2026.8694.3336

تعداد ۵ ژن کلیدی در دوره رویشی (شکل ۷ الف)، ۵ ژن کلیدی در دوره زایشی (شکل ۷ ب) و ۵ ژن کلیدی که به صورت مشترک در هر دو دوره رویشی و زایشی بیان معنادار داشتند (شکل ۷ ج) شناسایی شدند. ژنهای کلیدی پاسخ دهنده به تنش خشکی در دوره رویشی سویا شامل *I1JLN5* (Delta-1-pyrroline-5-carboxylate synthas)، *I1MFC4* (Glutamine synthetase)، *I1J6X7* (Delta-1-pyrroline-5-carboxylate synthase)، *C6TKW2* (Chlorophyll a-b binding protein) و *C6T868* (Chlorophyll a-b binding protein) و در دوره زایشی شامل *Q8W1A1* (Adenosine 5'-phosphosulfate reductase)، *I1KP26* (Mg-por_mtran_C domain-containing protein)، *Q9SYR0* (Nitrate reductase)، *I1K1F9* (L-aspartate oxidase) و *I1JLN5* (Delta-1-pyrroline-5-carboxylate synthase) بود. همچنین ژنهای کلیدی که به صورت مشترک در هر دو دوره رویشی و زایشی بیان معنادار داشتند شامل *I1KWW6* (CTP synthase)، *I1JLN5* (Delta-1-pyrroline-5-carboxylate synthase)، *C6T868* (Chlorophyll a-b binding protein)، *I1JC17* (aldehyde dehydrogenase) و *C6TKW2* (Chlorophyll a-b binding protein) بود (پیوست ۱).

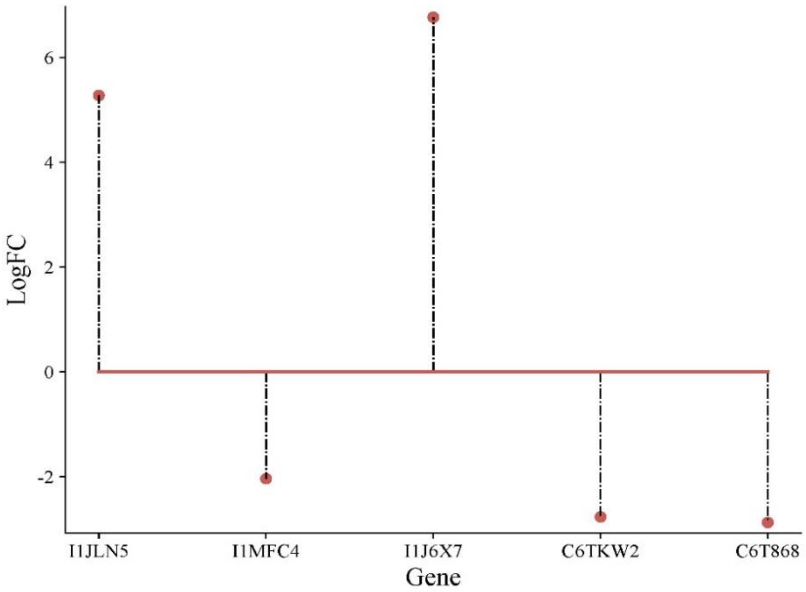



**شکل-۷:** ژنهای کلیدی پاسخ دهنده به تنش خشکی سویا در دوره رویشی (الف)، زایشی (ب) و به صورت مشترک (ج)

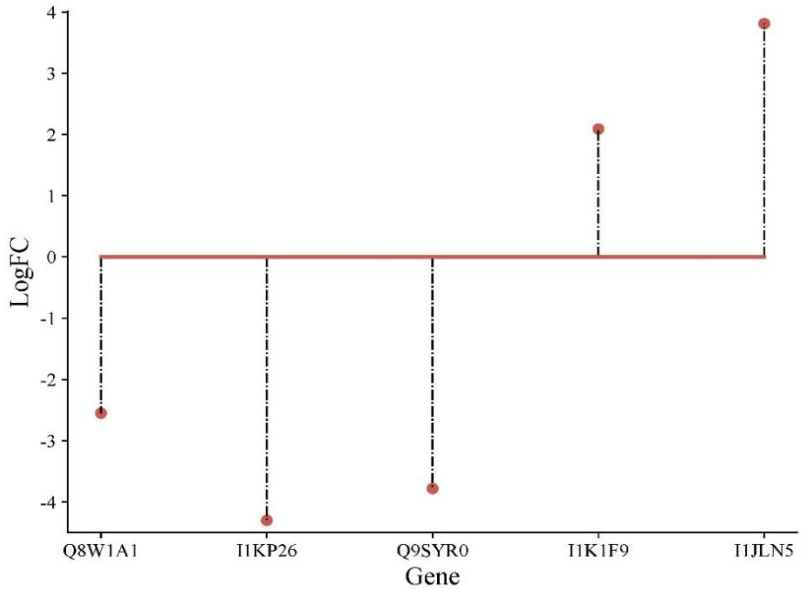
مقاله پژوهشی، صفحات ۲۴۷-۲۷۲
DOI: 10.22034/cmr.2026.8694.3336

نتایج نشان داد در دوره رویشی ژنهای *I1JLN5* و *I1J6X7* دارای افزایش بیان و ژنهای *I1MFC4*، *C6TKW2* و *C6T868* دارای کاهش بیان بودند (شکل ۸ الف). نتایج نشان داد در دوره زایشی ژنهای *I1K1F9* و *I1JLN5* دارای افزایش بیان و ژنهای *Q8W1A1*، *I1KP26* و *Q9SYR0* دارای کاهش بیان بودند (شکل ۸ ب).

**الف**



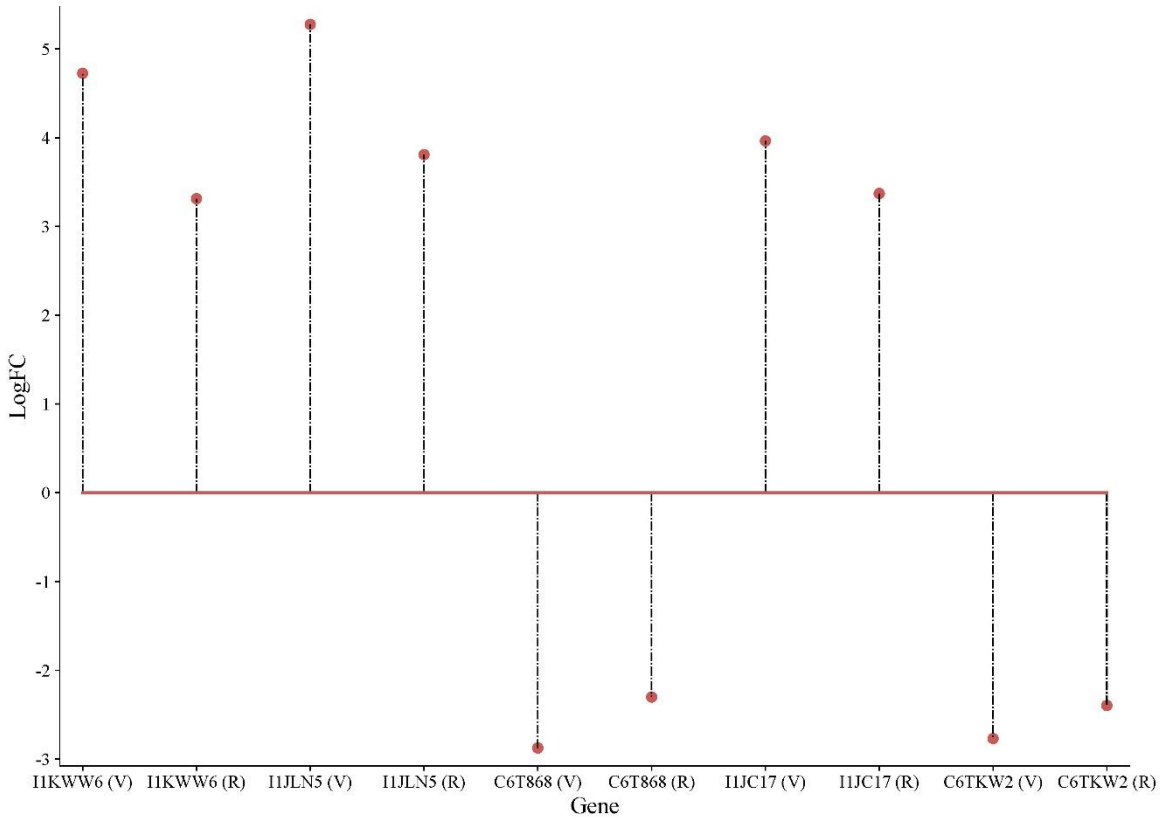

**ب**




**شکل-۸:** میزان بیان نسبی ژنهای کلیدی شناسایی شده در دوره رویشی (الف) و زایشی (ب) سویا در خشکی

مقاله پژوهشی، صفحات ۲۴۷-۲۷۲
DOI: 10.22034/cmr.2026.8694.3336

نتایج بررسی ژنهای مشترک در دوره رویشی و زایشی نشان داد که ژنهای *I1JC17*، *I1JLN5* و *I1KWW6* دارای افزایش بیان و ژنهای *C6TKW2* و *C6T868* دارای کاهش بیان بودند (شکل ۹).




**شکل-۹:** میزان بیان نسبی ژنهای کلیدی شناسایی شده مشترک در دوره رویشی (V) و دوره زایشی (R) سویا در خشکی.

## ژنهای کلیدی پاسخ دهنده به تنش خشکی در دوره رویشی سویا

نتایج نشان داد ژنهای *I1JLN5* و *I1J6X7* از ژنهای کلیدی پاسخ دهنده به تنش خشکی در دوره رویشی سویا بودند (شکل ۷ الف) که هر دوی این ژنها کد کننده Delta-1-pyrroline-5-carboxylate synthas میباشند. در شرایط تنش خشکی نسبت به حالت بدون تنش بیان ژن *I1JLN5* برابر با ۵/۲۷ و در ژن *I1J6X7* برابر با ۶/۷۷ بود (شکل ۸ الف). این ژنها با افزایش بیان در مرحله رویشی سویا در مواجه با تنش خشکی عملکرد محافظتی را در گیاهان تحت تنش اعمال میکنند [۱۵]. در مطالعه ای مشخص شد که اعمال تنش خشکی سبب تغییر بیان ژنهای سنتزکننده پرولین مانند *P5CS1* (*I1JLN5*و *I1J6X7*) در سویا میشود [۴۱]. همچنین در سطح پروتئین نیز به عنوان آنزیم محدود کننده سرعت در بیوسنتز پرولین در گیاهان عمل میکنند [۳۱]. در مطالعه ای تجزیه و تحلیل بیان ژن‌ها تحت تنش شوری، سبب تغییر بیان ژن‌های *P5CS* در گیاه پنبه شد.

مقاله پژوهشی، صفحات ۲۴۷-۲۷۲
DOI: 10.22034/cmr.2026.8694.3336

*P5CS1* به عنوان یک تنظیم‌کننده کلیدی بالقوه نقش محوری را در پاسخ به تنش نشان داده است [۱۳]. در مطالعه دیگری در گندم، لاین‌هایی که *P5CS1* را بیش از حد بیان میکردند، سطح پرولین بیشتری نشان دادند و تحمل به خشکی آنها در مقایسه با گیاهان وحشی بیشتر بود [۱۲]. اهمیت ژنهای *PSCS* در پاسخ به تنش خشکی در گیاهان مختلف به طور کامل ثابت شده است. از این رو در مطالعهای از ژن *PSCS* به عنوان نشانگر پاسخ دهنده به تنش غیرزیستی در لگومها همچون سویا بهره گرفته شده است [۱۸]. یکی از راههای سازگاری گیاهان در مواجه با تنش اسمزی سنتز اسمولیتهای سازگار است. بدین ترتیب که اسمولیتهای سازگار از هدر رفت آب با کاهش پتانسیل اسمزی درون سلولی جلوگیری میکنند و همزمان جذب آب را تسهیل میکنند. سلولهای گیاهی تمایل به تجمع مواد تنظیم کننده اسمزی محلول به ویژه بیوسنتز پرولین را دارند تا تنش اسمزی ناشی از تنش را کاهش دهند [۲].

همچنین نتایج نشان داد که ژنهای کلیدی *I1MFC4*، *C6TKW2* و *C6T868* در شرایط تنش خشکی در سویا در دوره رویشی کاهش بیان مییابند (شکل ۸ الف). *I1MFC4* (Glutamine synthetase) در چرخه گلوتامین سنتتاز نقش مهمی دارد. چرخه گلوتامین سنتتاز (GS)/گلوتامات سنتاز (GOGAT) اساسا در جذب نیتروژن دخیل است و یک مرحله متابولیکی مهم در تنظیم بازده استفاده از نیتروژن و عملکرد دانه است [۱۷]. در مطالعه ای اعمال تنش غیرزیستی سبب کاهش فعالیت گلوتامین سینتتاز در ژنوتیپهای سویا شد [۴۲]. همچنین در مطالعه دیگری اعمال تنش خشکی سبب تغییر بیان معنادار ژن گلوتامین سنتتاز در ذرت شد و این ژن به عنوان یکی از ژنهای مهم پاسخ دهنده به خشکی معرفی گردید [۳۳]. ژنهای *C6TKW2* و *C6T868* هر دو پروتئینهای متصل شونده به Chlorophyll a-b را کد میکنند. مطالعات نشان داده است که ژنهای کد کننده پروتئینهای متصل شونده به Chlorophyll a-b (*Lhcb*) در پاسخ به تنشهای غیرزیستی موثرند [۵۱]. کاهش بیان این ژنها میتواند سبب کاهش فتوسنتز در شرایط تنش خشکی شود و در فرآیند بیوسنتز نقش مهمی دارند. گیاهان سبز از فتوسنتز برای تبدیل انرژی نور به انرژی شیمیایی استفاده میکنند، که برای سنتز مواد آلی ضروری برای رشد گیاه استفاده میشود. کلروفیل با جذب و انتقال انرژی نور نقش مهمی در این فرآیند ایفا میکند [۴۹]. در پژوهشی ژن‌های *Lhcb3* در زمان‌های مختلف در مواجهه با تنش در بافت ریشه گیاه *Prunus persica*، بیان نسبتاً افزایش‌یافته‌ای را نشان دادند، اما با افزایش زمان تیمار خشکی، بیان آنها به تدریج کاهش یافت. این نتایج نشان میدهد که برخی از اعضای خانواده ژنی پروتئینهای متصل شونده به Chlorophyll a-b در شرایط تنش در بافت‌های مختلف گیاه، واکنش‌های متفاوتی نشان میدهند [۴۴].

## ژنهای کلیدی پاسخ دهنده به تنش خشکی در دوره زایشی سویا

نتایج نشان داد در شرایط تنش خشکی در مرحله زایشی ژنهای کلیدی *I1K1F9* و *I1JLN5* نقش مهمی داشته و افزایش بیان مییابند (شکل ۸ ب). *I1K1F9* (L-aspartate oxidase) به عنوان یک بلوک ساختمانی مرکزی، علاوه بر اینکه جزو پروتئینها است، برای بسیاری

مقاله پژوهشی، صفحات ۲۴۷-۲۷۲
DOI: 10.22034/cmr.2026.8694.3336

از فرآیندهای متابولیکی در اکثر موجودات زنده مانند بیوسنتز اسیدهای آمینه، نوکلئوتیدها، نیکوتین آمید آدنین دی نوکلئوتید (NAD)، اسید تری کربوکسیلیک عمل کرده و با چرخه اسید تری کربوکسیلیک (TCA) و واسطه های مسیر گلیکولیز و هورمونها که برای رشد و دفاع حیاتی هستند ارتباط دارد [۲۱]. در مطالعه ای در مورد ژنهای پاسخ دهنده به تنش خشکی در پنبه گزارش شده است که افزایش بیان ال-آسپارتات اکسیداز، تولید NADH را افزایش داده است که این امر قابلیت آنتی‌اکسیدانی گیاه را بهبود میبخشد [۵۲]. در مطالعه دیگری بیان ژنهای ال- آسپارتات اکسیداز در شرایط تنش سرما در گندم القا شد. در مقابل، بیان اکثر ژنهای ال- آسپارتات اکسیداز در طول قرار گرفتن در معرض تنش گرما و خشکی سرکوب شد. این نتایج نشان می‌دهد که اکثر ژنهای ال- آسپارتات اکسیداز در پاسخ به سرما، گرما و خشکی نقش دارند، اما ممکن است در گیاهان مختلف بیان متفاوتی نشان دهند [۱۶].

*I1JLN5* نیز در شرایط تنش خشکی در مرحله زایشی دارای LogFC برابر با ۳/۸۰ بود که نشان دهنده اهمیت افزایش بیان این ژن در شرایط تنش خشکی است (شکل ۸ ب). افزایش بیان این ژن سبب افزایش مقاومت گیاه نسبت به تنش خشکی میشود. افزایش پرولین همچنین باعث کاهش میزان رادیکالهای آزاد در پاسخ به تنش اسمزی میشود [۱۵]. همینطور نتایج نشان داد که این ژن جزو ژنهای مشترک شناسایی شده در دوره رویشی و زایشی بود و جزو ژنهای کلیدی شبکه ژنی بود (شکل ۹).

نتایج نشان داد یکی از ژنهای کلیدی پاسخ دهنده به تنش خشکی در دوره زایشی سویا *Q8W1A1* (Adenosine 5'-phosphosulfate reductase) بود (شکل ۸ ب). این ژن با کاهش بیان در مرحله زایشی سویا در مواجه با تنش خشکی عمل میکند. گوگرد معدنی توسط گیاهان جذب میشود و سپس آن را به ترکیبات آلی گوگردی که برای رشد، نمو و کاهش تنش گیاه ضروری است، متابولیزه میکنند. در نتیجه، عرضه کافی گوگرد میتواند به طور قابل توجهی بر تولید محصول و تولید مواد شیمیایی گیاهی مفید تأثیر بگذارد. جذب گوگرد برای متابولیسم سلولی، رشد و نمو گیاه و پاسخ به عوامل تنشزای زنده و غیرزنده در گیاهان ضروری است [۱۰]. در پژوهشی سرکوب Adenosine 5'-phosphosulfate reductase با مهار NADPH اکسیداز و گلوتاتیون ردوکتاز، منجر به کاهش تولید سولفیت در آرابیدوپسیس شده است. همچنین در این مطالعه بر اهمیت این ژن و اهمیت غلظت سولفیت در از دست دادن آب در طول تنش خشکی سریع و شدید در گیاهان تراریخته و وحشی تاکید شده است [۷].

یکی دیگر از ژنهای کلیدی که در دوره زایشی تحت شرایط تنش خشکی در سویا کاهش بیان داشت *I1KP26* (Mg-por_mtran_C domain-containing protein (AT4G25080)) بود. نتایج نشان داد که میزان بیان این ژن در شرایط تنش خشکی بیش از ۴ برابر کاهش مییابد (شکل ۸ ب). در مطالعه ای در آرابیدوپسیس تحت تنش خشکی و شوری، بیان *AT4G25080* به مرور زمان به طور قابل توجهی کاهش یافت و در ۴۸ ساعت به کمترین مقدار خود رسید [۴۷]. این ژن ممکن است نقش مهمی در مکانیسمهای پاسخ دهنده به تنش داشته باشد.

مقاله پژوهشی، صفحات ۲۴۷-۲۷۲
DOI: 10.22034/cmr.2026.8694.3336

ژن کلیدی *Q9SYR0* (Nitrate reductase) نیز در مرحله زایشی سویا در مواجه با تنش خشکی کاهش بیان یافت (شکل ۸ ب). نتایج نشان داد میزان LogFC ژن *Q9SYR0* برابر با ۳/۷۸- بود (شکل ۸ ب). در پژوهشی اعمال تنش خشکی سبب کاهش فعالیت نیترات ردوکتاز در گیاه سویا شد. گزارش شده است که در طول تنش خشکی نیتریک اکسید (NO) به نیترات تبدیل شده و سپس فعالیت آنزیمی برای مهار احیای نیترات کاهش یابد [۳۶]. در مطالعه دیگری اعمال تنش خشکی سبب کاهش بیان ژن نیترات ردوکتاز در برنج شد. در این مطالعه مشخص شد که تغییر بیان ژن نیترات ردوکتاز میتواند با حرکت روزنهها در شرایط خشکی مرتبط باشد [۲۱]. در واقع افزایش دما و تنش آب باعث کاهش تبادل $CO_2$ میشود که در نهایت تثبیت نیتروژن را تحت تاثیر قرار میدهد. فعالیت نیتروژناز به طور قابل توجهی با افزایش دما کاهش مییابد و در نهایت منجر به کاهش فعالیت نیترات ردوکتاز، محتوای کلروفیل و کل اسید آمینه آزاد در دمای بالا میشود. در نتیجه کاهش تثبیت نیتروژن و کربن باعث کاهش عملکرد و کیفیت دانه میشود. تنش آب هنگامی که در دماهای مختلف اعمال میشود، اثرات دما را بیشتر تشدید میکند و ترکیب تنش آب و دمای بالا اثرات مخربتری دارد [۲۳].

## ژنهای کلیدی مشترک در دوره رویشی و زایشی سویا

یکی از ژنهای کلیدی که به طور مشترک در دوره رویشی و زایشی بیان شده بود *I1JC17* ( aldehyde dehydrogenase) بود. نتایج نشان داد که میزان بیان این ژن در تنش خشکی افزایش یافت (شکل ۹). در سویا افزایش بیان این ژن سبب افزایش مقاومت به تنش شوری و شرایط قلیایی شد. این یافتهها نشان میدهد که انتقال ژن آلدهید دهیدروژناز تحمل سویای تراریخته را در برابر تنش شوری و قلیایی افزایش میدهد که احتمالاً از طریق حفظ ساختار دیواره سلولی و انتقال متابولیتها صورت میگیرد [۹]. آلدهید دهیدروژناز (ALDH) با کاتالیز کردن اکسیداسیون آلدئیدها به اسیدهای کربوکسیلیک، مولکولهای سمی آلدهید را از بین میبرد. اعضای خانواده ژن *ALDH* در گیاهان مختلف به طور گسترده مورد مطالعه قرار گرفتهاند و مشخص شده است که پاسخ گیاه به تنش غیرزیستی را تنظیم میکنند. تحقیقات قبلی نشان داده است که ALDH نقش مهمی در بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیکی مانند متابولیسم اسید آمینه، گلوکونئوژنز، گلیکولیز و بیوسنتز کارنیتین ایفا میکند [۴۵]. ژن دیگری که افزایش بیان یافت *I1JLN5* ( Delta-1-pyrroline-5-carboxylate synthase) بود (شکل ۹). همان طور که ذکر شد این ژن نقش مهمی در پاسخ به تنش خشکی داشته و میتواند سبب محافظت از گیاه در برابر تنش خشکی شود [۱۵].

نتایج نشان داد یکی از ژنهای کلیدی مشترک پاسخ دهنده به تنش خشکی در دوره رویشی و زایشی سویا *I1KWW6* (CTP synthase) بود. این ژن در هر دو دوره دارای افزایش بیان بود (شکل ۹). فسفاتیدیل کولین یک فسفولیپید اصلی است که در سازگاری با تنش نقش دارد. فسفاتیدیل کولین (PC) فسفولیپید اصلی است که در غشای سلولهای گیاهی به جز غشاهای کلروپلاست یافت میشود. CTP فسفوکولین سیتیدیل ترانسفراز (CpCCT1) یک آنزیم تنظیمی کلیدی برای سنتز فسفاتیدیل کولین در گیاهان است [۲۹]. گزارش شده

مقاله پژوهشی، صفحات ۲۴۷-۲۷۲
DOI: 10.22034/cmr.2026.8694.3336

است که این ژن نقش مهمی در ایمنی ذاتی دارد، به طوری که ایجاد جهش در این ژن سبب افزایش حساسیت به تنشهای محیطی میشود [۴۸].

نتایج نشان داد ژنهای *C6T868* و *C6TKW2* هر دو کد کننده پروتئینهای متصل شونده به Chlorophyll a-b (Chlorophyll a-b binding protein) بوده و جز ژنهای مشترک در دوره رویشی و دوره زایشی میباشند و در شرایط تنش خشکی بیان آنها کاهش مییابد (شکل ۹). نتایج پژوهشی نشان داد که کاهش بیان ژنهای *C6T868* و *C6TKW2* که ارتولوگ ژن *BnLhc3* در کلزا هستند، میتواند سبب کاهش فتوسنتز در شرایط تنش خشکی شود. اعضای مختلف خانواده ژنی Chlorophyll a-b binding protein نقش مهمی در فرآیند بیوسنتز گیاه ایفا میکنند [۴۹]. با بررسی اثر تنش خشکی روی میزان کلروفیل برگ در مراحل مختلف رشد مشخص شد که خشکی باعث کاهش معنیداری در میزان غلظت کلروفیل کل، کلروفیل a و کلروفیل b در گیاه سویا میشود [۳].

نتایج نشان داد که گیاه سویا اگر در مرحله رویشی و یا زایشی تحت تنش خشکی قرار بگیرد، ژنهای دخیل در فرآیندهای بیولوژیکی پاسخ دهنده به آبسیزیک اسید و همچنین پاسخ به تنش افزایش بیان مییابند. همچنین شرایط تنش خشکی در مرحله رویشی و یا زایشی سبب کاهش بیان ژنهای دخیل در فتوسنتز شده و علاوه بر آن در مرحله رویشی سبب کاهش تولید کربوهیدراتها و در دوره زایشی سبب کاهش نمو گل و در نتیجه کاهش عملکرد میشود. فعالیتهای فیزیولوژیکی گیاه به طور مستقیم یا غیرمستقیم در تنش خشکی دچار اختلال میگردد. تنش اسمزی با تاثیر روی میزان فتوسنتز گیاه و کاهش رنگریزههای فتوسنتزی باعث کاهش عملکرد میگردد. هنگامی که گیاهان تنش را تشخیص میدهند، تجمع پروتئین تغییر میکند و میتواند عملکردهای بیولوژیکی را القا کند که محصولات متابولیکی، رونویسی و تغییرات پس از ترجمه (PTMs) را تنظیم میکند [۲۶]. در پژوهشی اعمال تنش خشکی با اثر روی میزان رنگریزههای برگ گیاه سویا باعث کاهش معنیدار رنگریزههای فتوسنتزی شد [۳]. همچنین نتایج نشان داد که ژنهای دخیل در مسیر سیگنالینگ MAPK چه در دوره رویشی و چه در دوره زایشی افزایش بیان مییابند و نقش مهمی در تنظیم سایر مسیرهای پاسخ دهنده به تنش خشکی ایفا میکنند. با اعمال تنش خشکی و فعال شدن مسیرهای علامتدهی بویژه MAPK در شرایط تنش خشکی تغییراتی در بیان ژنهای پایین دستی رخ میدهد. در مطالعه ای آنالیز داده های میکروآرایه در دوره رویشی گیاه سویا نشان داد که در شرایط تنش خشکی مسیرهای علامتدهی مرتبط با MAPK و ژنهای مرتبط با فتوسنتز فعال میشود. در این مطالعه ژنهای با بیشترین و کمترین بیان به عنوان ژنهای کلیدی در نظر گرفته شدند. بنابراین اکثر ژنهای شناسایی شده ژنهای فاکتور رونویسی پاسخ دهنده به خشکی بودند [۵]. در مطالعه حاضر ژنهای کلیدی هم در دوره رویشی و هم در دوره زایشی به طور همزمان بررسی شدند و علاوه بر میزان بیان براساس برهمکنش و جایگاه آنها در شبکه ژنی و همچنین نقش آنها در مسیرهای عملکردی انتخاب شدند. نتایج نشان داد که در شرایط رویشی و یا زایشی افزایش بیان ژنهای کلیدی مانند *I1JLN5* و *I1J6X7* که با سنتز پرولین در ارتباط هستند بسیار کلیدی بوده

مقاله پژوهشی، صفحات ۲۴۷-۲۷۲
DOI: 10.22034/cmr.2026.8694.3336

و سبب افزایش مقاومت گیاه به تنش خشکی میشوند. در شرایط تنش خشکی با افزایش نیتریک اکسید، میزان پرولین از طریق افزایش بیان ژنهای مرتبط با سنتز پرولین افزایش می یابد [۳۷]. افزایش میزان پرولین میتواند نوعی سازگاری برای غلبه بر شرایط تنش در گیاهانی که تحت تنش قرار گرفتهاند باشد. بررسی تحمل به خشکی چند رقم سویا نشان داده است که تنش خشکی باعث افزایش میزان پرولین در برگ گیاه سویا میشود [۳]. در دوره رویشی و یا زایشی برخی از ژنهای کلیدی که کاهش بیان مییابند مانند *C6TKW2* و *C6T868* مرتبط با فتوسنتز بوده و در نهایت سبب کاهش تولید کربوهیدرات در دوره رویشی و کاهش نمو گل و عملکرد در دوره زایشی میگردند. به نظر میرسد تولید رادیکالهای آزاد اکسیژن تحت تنش خشکی موجب کاهش میزان کلروفیل شده باشد که این رادیکالهای آزاد باعث پراکسیداسیون و در نتیجه تجزیه این رنگریزه میگردد. نتایج نشان داد ژنهای کلیدی شناسایی شده در این پژوهش در دوره رویشی و یا زایشی مانند *I1JLN5* و *I1J6X7* که با سنتز پرولین در ارتباط هستند و همچنین ژنهای *C6TKW2* و *C6T868* که مرتبط با فتوسنتز هستند در پاسخ به تنش خشکی سویا بسیار کلیدی بوده و میتوانند در برنامههای بهنژادی گیاه سویا مورد توجه قرار گیرند.

**تضاد منافع:** نویسندگان اعلام میکنند که هیچ تضاد منافعی ندارند.

**سپاسگزاری:** نگارندگان بر خود لازم می‌دانند از زحمات هیات تحریریه مجله و دقت نظر داوران ارجمند به خاطر مطالعه متن حاضر و ارائه نظرهای ارزشمند سپاسگزاری نمایند.

**تأمین منابع مالی:** این پژوهش هیچگونه حمایت مالی از سوی سازمان یا مؤسسه‌ای دریافت نکرده است.

## فهرست منابع

۱- پسندیده ارجمند، م؛ سمیع زاده لاهیجی، ح؛ بیگلویی، م؛ محسن زاده گلفزانی، م. (۱۴۰۲). شناسایی بیوانفورماتیکی ژن‌های هدف miRNAهای پاسخ دهنده به تنش خشکی در کلزا (*Brassica napus*). مجله پژوهشهای گیاهی (مجله زیست شناسی ایران)، ۳۶(۲):۱۱۰-۱۲۶.

۲- قلی نژاد، ا؛ درویش زاده، ر؛ ابهری، ع. (۱۴۰۳). راهکارهای مقابله با تنش شوری و اکسیداتیو در گیاهان زراعی. مجله پایداری، توسعه و محیط زیست، ۵(۱):۲۱-۴۲.

۳- کامروا، س؛ بابائیان جلودار، ن؛ باقری، ن. (۱۳۹۶). تاثیر تنش خشکی بر صفات کلروفیل و پرولین در ژنوتیپ‌های مختلف سویا (*Glycine max*). پژوهشنامه اصلاح گیاهان زراعی، ۹(۲۳): ۹۵-۱۰۴.

4- Agapito G (2019). Computer Tools to Analyze Microarray Data. Methods in Molecular Biology, 1986, 267–282.

5- Alamholo M, Murad A S (2025) Identification of Key Genes Involved in Response to Drought Stress in Soybean

مقاله پژوهشی، صفحات ۲۴۷-۲۷۲
DOI: 10.22034/cmr.2026.8694.3336

(Glycine max L.) through Bioinformatics Analysis. Russian Journal of Genetics, 61(8): 942-952.

6- Aulia R, Amanah H Z, Lee H, Kim M S, Baek I, Qin J, Cho B K (2023). Protein and lipid content estimation in Soybeans using Raman hyperspectral imaging. Frontiers in Plant Science, 14: 1167139.

7- Bekturova A, Oshanova D, Tiwari P, Nurbekova Z, Kurmanbayeva A, Soltabayeva A et al (2021) Adenosine 5′ phosphosulfate reductase and sulfite oxidase regulate sulfite-induced water loss in Arabidopsis. Journal of Experimental Botany, 72(18): 6447-6466.

8- Cao L, Zhang S, Feng L, Qiang B, Ma W, Cao S et al (2024). Metabolic pathways regulated by strigolactones foliar spraying enhance osmoregulation and antioxidant defense in drought-prone Soybean. BMC Plant Biology, 24(1): 980.

9- Cao Y, Wang J, Zhao S, Fang Q, Ruan J, Li S et al (2023) Overexpression of the aldehyde dehydrogenase AhALDH3H1 from *Arachis hypogaea* in soybean increases saline-alkali stress tolerance. Frontiers in Plant Science, 14: 1165384.

10- Chung J S, Kim S K, Leustek T (2024). The Effect of Conserved Histidine on the Proximity of Fe-S Clusters in Adenosine-5′-Phosphosulfate Reductases from *Pseudomonas aeruginosa* and *Enteromorpha intestinalis*. Microbiology Research, 15(2): 457-467.

11- Cui K, Chen J, Zou Y, Zhang S (2021). Hub biomarkers for the diagnosis and treatment of glioblastoma based on microarray technology. Technology in Cancer Research & Treatment, 20: 1–10.

12- Du L, Huang X, Ding L, Wang Z, Tang D, Chen B et al (2023) TaERF87 and TaAKS1 synergistically regulate TaP5CS1/TaP5CR1-mediated proline biosynthesis to enhance drought tolerance in Wheat. New Phytol, 237:232–250.

13- Fang H, Gao X, Wu Y, Zhang K, Wu Y, Li J et al (2025) Unveiling the role of GhP5CS1 in Cotton salt stress tolerance: A comprehensive genomic and functional analysis of P5CS genes. Plants,14(2): 231.

14- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 2023. FAOSTAT. http://faostat.faoorg/.FAOSTAT: http://www.fao.org/faostat/en/#country, last access: 18 May 2023.

15- Feng X, Hu Y, Zhang W, Xie R, Guan H, Xiong H et al (2022). Revisiting the role of delta-1-pyrroline-5-carboxylate synthetase in drought-tolerant crop breeding. The Crop Journal, 10(4): 1213-1218.

مقاله پژوهشی، صفحات ۲۴۷-۲۷۲
DOI: 10.22034/cmr.2026.8694.3336

16- Feng Y, Tang M, Xiang J, Liu P, Wang Y, Chen W et al (2023) Genome-wide characterization of L-aspartate oxidase genes in wheat and their potential roles in the responses to wheat disease and abiotic stresses. Frontiers in Plant Science, 14: 1210632.

17- Fortunato S, Nigro D, Lasorella C, Marcotuli I, Gadaleta A, de Pinto M C (2023). The role of glutamine synthetase (GS) and glutamate synthase (GOGAT) in the Improvement of nitrogen use efficiency in cereals. Biomolecules, 13(12): 1771.

18- Gerçek H M (2025) A potential common Pyrroline-5-Carboxylate Synthetase (P5CS) gene as A stress marker for qRT-PCR in legume plants. OKU Journal of the Institute of science and technology, 8(2): 739-753.

19- Guo M, Liu X, Wang J, Jiang Y, Yu J, Gao J (2022) Transcriptome profiling revealed heat stress-responsive genes in Arabidopsis through integrated bioinformatics analysis. Journal of Plant Interactions, 17(1): 85-95.

20- Han M L, Lv Q Y, Zhang J, Wang T, Zhang C X, Tan R J et al (2022) Decreasing nitrogen assimilation under drought stress by suppressing DST-mediated activation of Nitrate Reductase 1.2 in rice. Molecular Plant, 15(1):167-178.

21- Han M, Zhang C, Suglo P, Sun S, Wang M, and Su T (2021). L-aspartate: An essential metabolite for plant growth and stress acclimation. Molecules, 26(7): 1887.

22- Hasan M M, Alabdallah N M, Salih A M, Al-Shammari S, ALZahrani S S, Al Lawati A H et al (2023). Modification of starch content and its management strategies in plants in response to drought and salinity: current status and future prospects. Soil Science and Plant Nutrition, 23(1): 92-105.

23- Jumrani K, Bhatia V S, Kataria S, Rastogi A (2024). The interactive effect of high temperature and water deficit stress on nitrogen fixation, photosynthesis, chlorophyll fluorescence, seed yield and quality in Soybean (*Glycine max*). Plant Physiology Reports, 29(1): 125-140.

24- Jurkonienė S, Mockevičiūtė R, Gavelienė V, Šveikauskas V, Zareyan M, Jankovska-Bortkevič E et al (2023). Proline enhances resistance and recovery of oilseed rape after a simulated prolonged drought. Plants, 12(14): 2718.

25- Khan A, Shah S T, Basit A, Mohamed H I, Li Y (2024). Mitogen-activated protein kinase: a potent signaling protein that combats biotic and abiotic stress in plants. Plant Growth Regulation, 43(6): 1-25.

مقاله پژوهشی، صفحات ۲۴۷-۲۷۲
DOI: 10.22034/cmr.2026.8694.3336

26- Kim T, Hwang H, Bang G, Ha J, Park Y J, Kim J Y (2024). Understanding the molecular mechanisms of drought tolerance in wild Soybean (*Glycine soja*) through multi-omics-based alternative splicing predictions. Environmental and Experimental Botany, 225: 105872.

27- Kodadinne Narayana N, Wijewardana C, Alsajri F A, Reddy K R, Stetina S R, Bheemanahalli R (2024). Resilience of soybean genotypes to drought stress during the early vegetative stage. Scientific Reports, 14(1): 17365.

28- Kunert, K J, Vorster B J, Fenta B A, Kibido T, Dionisio G, Foyer C H (2016). Drought stress responses in Soybean roots and nodules. Frontiers in plant science, 7: 1015.

29- Liu X, Giarola V, Quan W, Song X, Bartels D (2021). Identification and characterization of CTP: phosphocholine cytidylyltransferase CpCCT1 in the resurrection plant Craterostigma plantagineum. Plant Science, 302: 110698.

30- Lv A, Fan N, Xie J, Yuan S, An Y, Zhou P (2017). Expression of CdDHN4, a novel YSK2-type Dehydrin gene from Bermudagrass, responses to drought stress through the ABA-dependent signal pathway. Frontiers in Plant Science, 8: 748-755.

31- Ma C, Wang M, Zhao M, Yu M, Zheng X, Tian Y et al (2022). The Δ1-pyrroline-5-carboxylate synthetase family performs diverse physiological functions in stress responses in pear (*Pyrus betulifolia*). Frontiers in Plant Science, 13: 1066765.

32- Moloi J M, van der Merwe R (2021). Drought tolerance responses in vegetable-type soybean involve a network of biochemical mechanisms at flowering and pod-filling stages. Plants, 10: 1502.

33- Nawaz A F, Zia M A, Shoukat S, Arif M, Ali S (2023) Genome-wide identification and expression analysis of the glutamine synthetase family genes in *Zea mays* under drought stress. Plant Stress, 9: 100180.

34- Parasuraman B, Rajamanickam V, Rathinavelu S, Geethanjali S, Alagarswamy S (2024). Interactive effect of drought and high temperature on physiological traits of Soybean (*Glycine max*). Plant Physiology Reports, 29(1): 116-124.

35- Pasandideh Arjmand M, Farrokhi N, Samizadeh Lahiji H, Mohsenzadeh Golfazani M (2024). Deciphering the Regulatory Network of Some Key Drought-responsive Genes and microRNAs in Canola. Genetic Resources, 10(1): 29-39.

36. Qu Z, Tian Y, Zhou X, Li X, Zhou Q, Wang X, Dong S (2023) Effects of

مقاله پژوهشی، صفحات ۲۴۷-۲۷۲
DOI: 10.22034/cmr.2026.8694.3336

exogenous sodium nitroprusside spraying on physiological characteristics of soybean leaves at the flowering stage under drought stress. Plants, 12(8): 1598.

37- Rezayian M, Ebrahimzadeh H, Niknam V (2023) Metabolic and physiological changes induced by nitric oxide and its impact on drought tolerance in soybean. Journal of Plant Growth Regulation, 42(3): 1905-1918.

38- Rizwan H M, He J, Nawaz M, Cheng K W, Wang M (2024). Comprehensive in silico characterization of soybean (Glycine max L.) isoflavone reductase genes and their expressions in response to spermidine and ultrasonication. Plant Stress, 11: 100392.

39- Sabouri H, Nikkhah N, Kazerani B, Zebarjad A, Hosseini Moghadam H, Pezeshkian, Z et al (2025). Unlocking the gene networks for tolerance to drought stress through phenotypic variability, genetic diversity and bioinformatics in Iranian *Aegilops tauschii*. Cereal Research Communications: 1-21.

40- Shahriari A G, Soltani Z, Tahmasebi A, Poczai P (2022) Integrative system biology analysis of transcriptomic responses to drought stress in soybean (Glycine max L.). Genes, 13(10): 1732.

41- Sintaha M, Man C K, Yung W S, Duan S, Li M W, Lam H M (2022) Drought stress priming improved the drought tolerance of soybean. Plants, 11(21): 2954.

42- Ullah A, Li M, Noor J, Tariq A, Liu Y, Shi L (2019) Effects of salinity on photosynthetic traits, ion homeostasis and nitrogen metabolism in wild and cultivated soybean. PeerJ, 7: e8191.

43- Urmi T A, Islam M M, Zumur K N, Abedin M A, Haque M M, Siddiqui M. H et al (2023). Combined effect of salicylic acid and proline mitigates drought stress in rice (Oryza sativa L.) through the modulation of physiological attributes and antioxidant enzymes. Antioxidants, 12(7): 1438.

44- Wang L, Wei J, Shi X, Qian W, Mehmood J, Yin Y, Jia H (2023) Identification of the light-harvesting chlorophyll a/b binding protein gene family in peach (Prunus persica L.) and their expression under drought stress. Genes, 14(7): 1475.

45- Wang X, Wu M, Yu S, Zhai L, Zhu X, Yu L, Zhang Y (2024). Comprehensive analysis of the aldehyde dehydrogenase gene family in Phaseolus vulgaris L. and their response to saline–alkali stress. Frontiers in Plant Science, 15: 1283845.

46- Wang Y, Zhang X, Yan Y, Niu T, Zhang M, Fan C et al (2024). GmABCG5, an ATP-binding cassette G transporter gene, is

مقاله پژوهشی، صفحات ۲۴۷-۲۷۲
DOI: 10.22034/cmr.2026.8694.3336

involved in the iron deficiency response in Soybean. Frontiers in Plant Science, 14: 1289801.

47- Wei G, Zhang Y, Yang Y, Yang J, Xu J (2024) CfCHLM, from Cryptomeria fortunei, promotes chlorophyll synthesis and improves tolerance to abiotic stresses in transgenic *Arabidopsis thaliana*. Forests, 15(4): 628.

48- Xiao Q, Bustos D, Caldo K M, Morales-Quintana L, Huan T et al (2025) Functions of Arabidopsis CTP: phosphocholine cytidylyltransferase 1 in phosphatidylcholine biosynthesis and root growth. Plant Physiology, 198(3): 272.

49- Xue T, Wan H, Chen J, He S, Lujin C, Xia M et al (2024). Genome-wide identification and expression analysis of the chlorophyll a/b binding protein gene family in oilseed (Brassica napus L.) under salt stress conditions. Plant Stress, 11: 100339.

50- Yoon J, Cho L H, Tun W, Jeon J S, An G (2021). Sucrose signaling in higher plants. Plant Science, 302: 110703.

51- Zhang Y, Raza A, Huang H, Su W, Luo D, Zeng, L et al (2022) Analysis of Lhcb gene family in rapeseed (Brassica napus L.) identifies a novel member “BnLhcb3. 4” modulating cold tolerance. Environmental and Experimental Botany, 198: 104848.

52- Zheng J, Zhang Z, Liang Y, Gong Z, Zhang N, Ditta A et al (2022) Whole transcriptome sequencing reveals drought resistance-related genes in upland cotton. Genes, 13(7): 1159.

53- Zhou C, Mughal N, Zhang X, Chen J, Shoaib N, Wang X et al (2024). Soybean plants enhance growth through metabolic regulation under heterogeneous drought stress. Agricultural Water Management, 303: 109029.

54- Zhu N, Duan B, Zheng H, Mu R, Zhao Y, Ke L, Sun Y (2023). An R2R3 MYB gene GhMYB3 functions in drought stress by negatively regulating stomata movement and ROS accumulation. Plant Physiology and Biochemistry, 197: 107648.

مقاله پژوهشی، صفحات ۲۴۷-۲۷۲

DOI: 10.22034/cmr.2026.8694.3336

# Identification of functional pathways and key genes responding to drought in the vegetative and reproductive stages of Soybean

**Zeinab Shamabadi[1], Maryam Pasandideh Arjmand[1,2*], Mohammad Mohsenzadeh Golfazani[1], Habibollah Samizadeh Lahiji[1]**

[1] Department of Plant Biotechnology, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran.

[2] BioGenTAC lnc., Technology Incubator of Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran-North Branch (ABRII), Rasht, Iran

[*]*Corresponding Author Email: Pasandide.m92@gmail.com*

## Abstract

Soybean (*Glycine Max*) is one of the most important oilseed crops in the world, and drought stress reduces its growth and yield. Identifying functional pathways and key genes responding to drought during the vegetative and reproductive stages can be helpful in producing drought-tolerant Soybean cultivars. Therefore, microarray data of Soybean plants under drought stress during both the vegetative and reproductive stages were analyzed using GEO2R tool. Ontology analysis of differentially expressed genes and identification of key genes during the vegetative, reproductive and both stages were performed. The results showed that 932 genes were upregulated and 918 genes were downregulated during the vegetative stage, and 758 genes were upregulated and 610 genes were downregulated during the reproductive stage. Upregulated genes during the vegetative stage were involved in important biological processes such as lipid biosynthesis, abscisic acid response, and stress response, and downregulated genes were involved in photosynthesis and glycogen, starch, and sucrose biosynthesis. Upregulated genes during the reproductive stage were involved in abscisic acid response and stress response, and downregulated genes were involved in chlorophyll biosynthesis and plant organ development. The identified genes during the vegetative or reproductive stages, such as *I1JLN5* and *I1J6X7*, which are associated with proline synthesis, as well as *C6TKW2* and *C6T868*, which are associated with photosynthesis, were key in Soybean drought stress response and could be considered in Soybean breeding programs.

**Keywords:** Cytoscape, *I1JLN5*, in silico, Microarray, Proline