مهندسی ژنتیک و ایمنی زیستی
ISSN 2588-5073 چاپی
ISSN 2588-5081 الکترونیکی
دوره ۸، شماره ۱، بهار و تابستان ۹۸
صفحه ۳۷-۲۵

Genetic Engineering and Biosafety Journal
Volume 8, Number 1

پاسخ پروتئومیکی گندم نان و دوروم به بیماری سوختگی فوزاریومی خوشه گندم

Bread and Durum Wheat Proteome Response to Wheat Fusarium Head Blight.

طیبه شیخ حسابی[۱]، سدابه جهانبخش*[۲]، مهدی داوری[۳]

Tayebeh Sheikhhesabi[1], Soodabeh Jahanbakhsh Godehkahriz*[2], Mahdi Davari[3]

۱ و۲- گروه زراعت و اصلاح نباتات، ۳- بخش بیماری‌شناسی گیاهی گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه محقق اردبیلی، ایران

1,2- Department of Agronomy and Plant Breading, 3- Department of Plant Protection, Agriculture Faculty, University of Mohaghegh Ardabili, Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: jahanbakhsh@uma.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۹۷/۱۱/۱۲ - تاریخ پذیرش: ۹۸/۴/۴)

چکیده

بیماری سوختگی فوزاریومی سنبله (FHB) گندم و جو با عامل قارچی *Fusarium graminearum*، به دلیل آلودگی به زهرابه‌های قارچی گوناگون، آسیب قابل توجهی به عملکرد محصول گندم و کیفیت آن وارد می‌کند و تهدیدی جدی برای تندرستی انسان و جانوران به شمار می‌رود. از این رو، ارزیابی و بررسی سازوکار مولکولی مقاومت به بیماری در ارقام گوناگون گندم می‌تواند از اهمیت ویژه‌ای در دستیابی به روش‌های کنترل غیرشیمیایی این بیماری برخوردار باشد. در این پژوهش، برای بررسی تأثیر بیماری FHB بر الگوی پروتئوم خوشه، شش رقم گندم نان و دوروم در گلخانه با جدایه *F. graminearum* تلقیح و علاوه بر اندازه‌گیری تغییرات صفات مورفولوژیک، ۱٤ روز پس از تلقیح، تغییرات الگوی پروتئوم آن‌ها بررسی شد. جهت بررسی پاسخ بافت سنبله گندم به فوزاریوم، از تکنیک الکتروفورز دو بعدی استفاده شد. استخراج پروتئین به روش TCA- استون انجام و الکتروفورز دو بعدی در بعد اول به روش ژل-های نواری و در بعد دوم با استفاده از ژل پلی‌اکریل‌آمید دودسیل سولفات انجام شد. نتایج حاصل از بررسی ژل‌ها نشان داد که از میان ۵۷ لکه پروتئینی دارای تکرارپذیری، تعداد ۱۳ لکه پروتئینی دارای تفاوت معنی‌دار در بین تیمارها بودند که از میان آن‌ها ۱۱ لکه پروتئینی، افزایش بیان و دو لکه پروتئینی کاهش بیان نشان دادند. پروتئین‌های دارای تغییرات بیان بر اساس عملکرد زیستی در گروه‌های مختلفی دسته‌بندی شدند که پروتئین‌های دخیل در مسیرهای متابولیکی و درگیر در مقابله با بیماری (پروتئین Hypothetical و PR پروتئین‌ها) بیشترین سهم را در میان پروتئین‌های دارای تغییرات معنی‌دار به خود اختصاص دادند. نتایج این پژوهش می‌تواند در برنامه‌های به نژادی گندم استفاده شود.

واژه‌های کلیدی

مقاومت،
پروتئومیک،
پروتئین

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1398.8.1.2.8]

مقدمه

تنش‌های زیستی ناشی از بیمارگرها (قارچ‌ها، باکتری‌ها، ویروس-ها) و جانوران (حشرات، گیاهخواران) تأثیر به‌سزایی بر روی رشد و متابولیسم گیاه دارند. یکی از این تنش‌های زیستی، بیماری بلایت فوزاریومی خوشه گندم یا FHB (Fusarium Head Blight) است که عموما اسکب یا بادزدگی نامیده می‌شود که یکی از بیماری‌های مخرب گندم در مناطق گرم و مرطوب جهان می-باشد (Bai and Shaner, 1995). بیمارگر قارچی *Fusarium graminearum* (با فرم جنسی *Gibberella zeae*) عامل سوختگی خوشه گندم و جو می‌باشد و باعث خسارات قابل توجهی در عملکرد محصول به ویژه کیفیت آن از طریق آلودگی به زهرابه-های قارچی گوناگون می‌شود که تهدید جدی برای تندرستی انسان و دام می‌باشد. این بیماری از سال‌ها پیش به طور پراکنده در ایران وجود داشته و یکی از بیماری‌های مهم گندم در استان-های مازندران، گلستان، زنجان، فارس و اردبیل به حساب می‌آید (Davari *et al*, 2012; Bernusi *et al*, 2002).

برای کنترل سوختگی فوزاریومی خوشه گندم، همه روش‌های زراعی، مکانیکی، شیمیایی و زیست‌شناختی مؤثر هستند، اما به علت گستردگی دامنه میزبانی، تاثیر شرایط گوناگون آب و هوایی، همه‌جازی بودن بیمارگر، تولید زهرابه قارچی و وجود دشواری-های فراوان در استفاده از سموم شیمیایی برای مقابله با این بیماری، استفاده از ارقام مقاوم همراه با تلفیقی از روش‌های گوناگون مدیریت درست بیماری به عنوان بهترین روش پیشنهاد می‌شود (Bai and Shaner, 1995). درک بهتر ارتباط بین ویژگی-های ریخت‌شناختی گیاه و مقاومت به بادزدگی فوزاریومی خوشه می‌تواند در اجرای یک برنامه‌ی اصلاحی موفق، مؤثر باشد (Choo *et al*, 2004). Mesterhazy در سال ۱۹۹۵ پنج راهکار گوناگون را به عنوان راهکارهای مقاومت فعال در مقابل بادزدگی فوزاریومی خوشه معرفی کرد. این راهکارها شامل تیپ یک مقاومت یا مقاومت در برابر آلودگی اولیه، تیپ دو مقاومت یا مقاومت در برابر گسترش آلودگی درون خوشه، تیپ سوم یا مقاومت در برابر آلوده شدن دانه‌ها در خوشه‌چه‌های آلوده، تیپ چهارم مقاومت یا مقاومت در برابر کاهش عملکرد و تیپ پنجم مقاومت یا مقاومت در برابر تجمع زهرابه‌ها در دانه‌های آلوده می-باشند. اثرات فیزیولوژیک عوامل بیماری‌زای گیاهی به صورت سه دسته پاسخ‌های فتوسنتزی، تنفسی و دفاعی در گیاهان ظاهر می-شوند. در زمان آلودگی بافت با بیمارگر، فتوسنتز کاهش می‌یابد و همزمان، یاخته‌های گیاهی به دلیل فعالیت‌های دفاعی به مقدار انرژی بیشتری نیاز پیدا می‌کنند که این امر باعث آغاز انتقال انرژی از منبع به بافت آلوده می‌شود (Kocal *et al*, 2008).

شرایط تنش باعث شکل‌گیری رادیکال سوپر اکسید (O_2^-)، پراکسید هیدروژن (H_2O_2) و رادیکال هیدروکسیل (OH^-) می-گردد. فعالیت این گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن (ROS) باعث بروز صدماتی مثل اکسید شدن چربی‌ها و تغییر ساختار غشاء و از هم پاشیدگی یکپارچگی آن و تغییر ساختار پروتئین‌ها و غیر فعال شدن آنزیم‌ها و بی‌رنگ شدن یا از بین رفتن رنگدانه‌هایی مانند کلروفیل و حمله به مولکول‌های آلی مانند DNA و اختلال در آن‌ها می‌گردد. گیاه می‌تواند با انباشتن پرولین، افزایش انباشت کربوهیدرات‌ها و پروتئین‌سازی می‌تواند در برابر تنش ایجاد شده مقاومت کند (Hong *et al*, 2000).

گیاهان دارای سازوکارهای ضد اکسیداسیونی برای کاستن اثر رادیکال‌های آزاد می‌باشند. این سازوکارها شامل بروز تغییراتی در میزان آنزیم‌های دفاعی گیاه مانند پراکسیدازها، کاتالازها و نیز ترکیبات دیگر همچون فنل‌ها می‌باشند (Staskawicz *et al*, 1995). کاتالازها نقش مهمی در برابر تنش اکسایشی در واکنش-های سازش‌یابی یاخته‌ها بازی می‌کنند. یافته‌های بیوشیمیایی نشان داده‌اند که کاتالازها در یاخته‌های گیاهی تنها در پراکسی‌زوم و گلی‌اکسیزوم جای دارند. شاید کاتالازهای این دو اندامک، تخریب H_2O_2 تولید شده از فعالیت اکسیدازهای فلاوین را کاتالیز می‌کنند و آنزیم‌هایی هستند که از یون‌های فلزی به عنوان کوفاکتور استفاده می‌نمایند (Saei, 2004).

از آن‌جایی‌که پروتئین‌ها برخلاف رونوشت‌ها از عوامل مستقیم پاسخ به تنش به شمار می‌روند، بررسی تغییرات پروتئوم گیاه زیر تنش از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. پروتئین‌ها نه تنها شامل آنزیم‌ها بلکه در برگیرنده اجزای سازوکار رونویسی و ترجمه نیز هستند. این ترکیبات نقش مستقیمی در سازگاری به تنش داشته و

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1398.8.1.2.8]

به تغییر در غشای پلاسمایی، سیتوپلاسم، ترکیبات داخل سلولی و اسکلت سلولی می‌انجامند. تغییر در انباشت پروتئین‌ها در شرایط تنش با پاسخ فنوتیپی گیاه و تحمل آن به تنش در پیوند نزدیک است (Bradford, 1976).

جهت بررسی پاسخ‌های تنشی و مقاومت درونی گیاه، پروتئومیک ابزار قدرتمندی برای جداسازی و شناسائی پروتئین‌های پاسخ-دهنده به تنش می‌باشد. به طور کلی، مطالعه پروتئین‌ها برای بررسی فعالیت آن‌ها در بافت‌های ویژه یا در پاسخ به شرایط محیطی خاص از اهمیت بالقوه‌ای برخوردار است. هم‌چنین این روش، بینش بایسته درباره چندوچون فرآورده‌های نهایی ژن‌ها را در دسترس پژوهشگر می‌گذارد (Zivy and vienne, 2003). بررسی مقایسه‌ای ریشه‌های مایه‌زنی شده گیاه پنبه آلوده به قارچ خاکزاد *Verticillium dahliae* و گیاه پنبه شاهد، به شناسایی ۵۱ پروتئین با افزایش بیان و ۱۷ پروتئین دارای کاهش بیان انجامید که در دفاع و پاسخ به تنش، متابولیسم‌های اولیه و ثانویه و انتقال چربی‌ها بسیار کارور بودند (Wang *et al*, 2011). همچنین این پژوهشگران در سال ۲۰۰۵ به منظور شناسائی تغییرات پروتئین-های برانگیخته شده در گیاه گندم به دنبال مایه‌زنی با قارچ *F. graminearum* در رقم مقاوم به این بیماری، سی لکه‌ی پروتئینی با تغییر فراوانی سه برابر در زمان را به دست آوردند و مقایسه‌ی نمونه‌های مایه‌زنی شده یا نشده، انجام شد و پروتئین‌های با تغییرات فراوانی به چهار دسته طبقه‌بندی شدند: ۱) پس از مایه-زنی اولیه، مقدار پروتئین به سرعت کاهش یافت و سپس در زمان‌های ۱۲ یا ۲٤ ساعت افزایش یافت، ۲) به‌طور قابل توجهی پس از مایه‌زنی، پروتئین کاهش یافت و در سطح پایین باقی ماند، ۳) در آغاز مایه‌زنی، افزایش و پس از آن در زمان‌های ۱۲ یا ۲٤ ساعت کاهش یافت و ٤) پس از مایه‌زنی افزایش ثابتی نشان داد و در سطح بالا باقی ماند. بسیاری از پروتئین‌های شناسایی شده در دو گروه نخست با سوخت و ساز کربن و فتوسنتز در پیوند بودند. در حالی که بسیاری از پروتئین‌های شناسایی شده در دو دسته پسین با دفاع گیاهان در برابر تنش در پیوند بودند. نتایج نشان داد که پروتئین‌های در پیوند با واکنش‌های دفاعی در زمان کوتاهی پس از مایه‌زنی فعال و یا ترجمه می‌شوند. در سال ۲۰۰٦، شماری از بررسی‌های پروتئومیکی برای پی بردن به راهکار مولکولی برهمکنش قارچ *F. graminearum* و گندم انجام شد که در این بررسی‌ها، نزدیک به ۱۳۸۰ لکه پروتئینی مشخص شد و در مجموع، ٤۱ پروتئین ناهمگون در نمونه‌های آلوده به *F. graminearum* بازشناخته شدند (Zhou *et al*, 2006). با توجه به لزوم تأمین مواد غذایی جمعیت جهان و اهمیت گیاهان زراعی از جمله گندم در این فرآیند، توسعه‌ی تولید گیاهان مقاوم به تنش-های زیستی از جمله بیماری سوختگی فوزاریومی خوشه ضروری به نظر می‌رسد که هر ساله بخش قابل توجهی از محصول گندم جهان را از بین می‌برد. هدف از این پژوهش، تعیین الگوی پروتئوم و شناخت پروتئین‌های درگیر در مقابله با بیماری FHB می‌باشد، بدین منظور در این بررسی سعی شد تأثیر بیماری بر پروتئین‌های درون یاخته‌ای چند رقم گندم با روش الکتروفورز ۲ بعدی انجام شود.

مواد و روش‌ها

تهیه مواد گیاهی

در این پژوهش، سه رقم گندم نان (*Triticum aestivum*) با نام-های ۱- N-80-19 و ۲- مروارید و ۳- گنبد و سه رقم گندم دوروم (*Triticum durum*) با نام‌های ٤- دهدشت، ۵- سیمره، ٦- URDY T-90 به عنوان ماده گیاهی مورد استفاده قرار گرفت. بذور پس از جوانه‌زنی اولیه روی کاغذ صافی در شرایط گلخانه-ای با رطوبت نسبی ٦۵ درصد و دمای ۲۵-۱۵ درجه سانتیگراد در گلخانه گیاهپزشکی دانشگاه محقق اردبیلی کشت شد. ترکیب خاک مورد استفاده برای کشت شامل کود، خاک و ماسه بود و تا رسیدن گیاهچه‌ها به مرحله سه برگی و خوشه‌دهی آبیاری شدند.

تهیه زادمایه و هاگ‌پاشی گیاهان

در این تحقیق، جدایه‌ای از قارچ *F. graminearum* با کد بین-المللی CBS130951 و با کد دسترسی JX118867 در بانک ژن که از سنبله‌های گندم آلوده به FHB در منطقه مغان جداسازی و با روش‌های ریخت‌شناختی و مولکولی مورد شناسایی قرار گرفته بود، از کلکسیون قارچ‌شناسی گروه گیاه‌پزشکی انتخاب و در محیط PDA کشت و درون انکوباتور ۲۵ درجه سانتیگراد قرار

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1398.8.1.2.8]

داده شد، پس از نزدیک به یک هفته، قارچ همه رویه محیط کشت را پوشاند. به منظور تهیه مایه تلقیح، ۲/۵ گرم پودر کاه گندم همراه با ۲/۵ گرم پودر کاه جو درون ارلن‌مایرهای ۲۵ میلی‌لیتری ریخته شد و ۱۲۵ میلی‌لیتر آب به هر ارلن مایر افزوده شد. پس از اتوکلاو کردن (فشار یک اتمسفر و دمای ۱۲۵ درجه سانتیگراد)، ارلن‌ها زیر هود لامینارفلو جای داده شدند. محیط کشت حاوی قارچ درون تشتک پتری با استفاده از تیغ جراحی سترون خرد و بخشی به اندازه یک سانتی‌متر مربع از محیط کشت درون هر یک از ارلن‌مایرها افزوده شد، ارلن‌مایرها ۹۶ ساعت روی انکوباتور شیکردار با دمای ۲۵ درجه سانتیگراد و سرعت ۱۲۰ rpm جای داده شدند. پس از آن، محیط کشت مایع درون ارلن مایرها زیر هود لامینارفلو با کاربرد پارچه ململ سترون پالاییده گردیدند. از محیط پالاییده شده نمونه‌گیری شد که به صورت یک سوسپانسیون به رنگ قهوه‌ای تیره بود. سپس شمار ماکروکنیدی‌ها به وسیله لام همی‌سیتومتر شمارش و به میزان ۱×۱۰^{۷} تنظیم و سوسپانسیون حاصل با استفاده از یک اتومایزر دستی روی خوشه‌ها محلول‌پاشی شد. پس از ۱۵ روز، نمونه‌هایی از گیاهانی که نشانه‌های بیماری را روی خوشه‌ها نشان می‌دادند، به آزمایشگاه برده شده و در یخچال ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

برای استخراج قندها، آنزیم کاتالاز و پروتئین، از برگ‌ها در سه تکرار، ۱۵ روز پس از مایه‌زنی نمونه‌برداری شد. برای استخراج قندها از روش اوموکولو و همکاران (Omokolo *et al*, 1996) و برای استخراج پروتئین کل از روش گو و همکاران (Go *et al*, 1992) استفاده شد. با توجه به نتایج ریخت‌شناسی این پژوهش، رقم مقاوم را شناسایی کردیم و برای بررسی تفاوت پروتئین‌های موجود در گندم تحت تیمار بیماری سوختگی فوزاریومی خوشه گندم، پروتئین رقم مقاوم گندم (مروارید) در حالت مایه‌زنی با بیمارگر و شاهد با روش TCA- استون استخراج شد و غلظت پروتئین هر یک از نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. پروتئین‌های استخراجی در بعد نخست الکتروفورز با استفاده از دستگاه Bio Rad IEF CELL بر اساس بار الکتریکی و در گام دوم با شیوه SDS PAGE بر پایه وزن مولکولی بر روی ژل با روش لاملی و همکاران (Lamelli *et al*, 1970) از هم تفکیک شدند.

برای استخراج پروتئین، بافت تر در بافر تریس-HCL ۰/.۵ مولار و pH=۷/۵ خوب ساییده شد و نمونه همگن به دست آمده سانتریفیوژ گردید (Sudhakar *et al*, 2001). در پایان مرحله سانتریفیوژ، فَرماند (محلول روئی، دربردارنده عصاره پروتئینی) جهت بررسی فعالیت کاتالازی به کار گرفته شد. پس از آماده-سازی عصاره پروتئینی، سینتیک آنزیم کاتالاز با استفاده از روش چنس و مهلی (Chance and Maehly, 1995) همراه با تغییراتی سنجیده شد. منحنی تغییرات جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. فعالیت آنزیمی بر حسب تغییرات واحد جذب در دقیقه به ازای هر میلی‌گرم پروتئین محاسبه گردید.

بررسی داده‌ها با نرم‌افزار SAS انجام شد، برای شناسائی پروتئین-های دارای تغییرات بیان در اثر بیماری سوختگی فوزاریومی خوشه گندم در مقایسه با نمونه‌ی شاهد، نقشه‌ی پروتئوم (2D-PAGE) رقم مورد بررسی مقایسه و لکه‌های دارای تغییرات بیان با نرم افزار Total lab و PDQuest بر پایه بار الکتریکی (نقطه ایزوالکتریک یا PI) و اندازه (جرم مولکولی نسبی یا μ_r) ارزیابی شدند. با استفاده از اطلاعات به دست آمده در خصوص هر لکه توسط الکتروفورز دو بعدی و با مراجعه به پایگاه‌های اطلاعاتی اینترنتی در خصوص پروتئین‌ها، از جمله Expasy و Swiss-2DPAGE جستجو براساس pI و وزن مولکولی انجام گرفت. از طریق مقایسه این دو شاخص، شناسایی پروتئین‌های تفیک شده انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از بررسی تجزیه واریانس (جدول ۳) نشان داد که اثر متقابل رقم در بیماری بر تغییرات قندهای محلول معنی‌دار است (جدول ۱). بیشترین تغییرات کربوهیدرات در گندم دوروم سیمره آلوده به *F. graminearum* مشاهده شد و کمترین تغییرات کربوهیدرات در گندم نان N-80-19 آلوده به فوزاریوم مشاهده شد.

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1398.8.1.2.8]

جدول ۱- اثر برهمکنش رقم × تیمار بر کربوهیدرات **Table 1-** The interactive effect of variety ×treatment on carbohydrate

میانگین کربوهیدرات محلول برگ (در مرحله ٤ برگی) (میلی‌گرم در گرم وزن تر) Mean leaf soluable carbohydrates (mg g^{-1} FW)	رقم×تیمار Treatment× Cultivar
۰/۹۸۹ A	رقم٤ × شاهد (Control×Cultivar4)
۰/۹٥٤ AB	رقم ٥ × بیمار (Treatment × Cultivar5)
۰/۹٤۹ AB	رقم ۱× شاهد (Control × Cultivar1)
۰/۹۱۸ AB	رقم ٤ × بیمار (Treatment × Cultivar4)
۰/۸۷۸ B	رقم ٦ ×شاهد (Control × Cultivar6)
۰/۷۳۳ C	رقم ۳ × شاهد (Control × Cultivar3)
۰/٦۸٦ CD	رقم ٦ × بیمار (Treatment × Cultivar6)
۰/٦۲٤ DE	رقم ۲ × بیمار (Treatment × Cultivar2)
۰/٥٤٥ EF	رقم ۳ × بیمار (Treatment× Cultivar3)
۰/٤۹۳ F	رقم ۱ × بیمار (Treatment × Cultivar1)
۰/٤٥۸ F	رقم ٥ × شاهد (Control × Cultivar5)
۰/۳۳۹ G	رقم ۲ × شاهد (Control × Cultivar2)

جدول۲ –اثر برهمکنش رقم × بیماری بر میزان فعالیت کاتالاز **Table 2-** The interactive effect of variety ×treatment on catalase activity

میانگین فعالیت کاتالاز (تغییرات در جذب در میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) Mean catalase activity (ΔOD min^{-1}/mg Protein)	**رقم×تیمار** Treatment × Cultivar
۳۰/۷۱ A	رقم٤ × شاهد (Control × Cultivar4)
٥/٤۱ B	رقم ۳ × شاهد (Control × Cultivar3)
۲/٤۹ C	رقم ٦× بیمار (Treatment × Cultivar6)
۲/٤۲ C	رقم ۱ × شاهد (Control × Cultivar1)
۲/۲۲۸ D	رقم ٤ × بیمار (Treatment × Cultivar4)
۱/۹٥ DCE	رقم ٥ × شاهد (Control × Cultivar5)
۱/۳۹ DFE	رقم ۳ × بیمار (Treatment × Cultivar3)
۱/۱۲ EF	رقم ۱ × بیمار (Treatment × Cultivar1)
۰/۸۳ F	رقم ۲ × شاهد (Control × Cultivar2)
۰/٦۳ F	رقم ٦ × شاهد (Control × Cultivar6)
۰/٤۹ F	رقم ۲ × بیمار (Treatment × Cultivar2)
۰/٤٦ F	رقم ٥ × بیمار (Treatment × Cultivar5)

در نتیجه، کمترین تغییرات قندهای محلول در رقم حساس N-80-19 یافته شد. متابولیسم کربوهیدرات موجود در گیاه با پاسخ دفاعی گیاه رابطه مستقیم دارد، و پس از بیمار شدن گیاه، فعالیت اینورتاز دیواره سلولی نیز افزایش می‌یابد (Bolton, 2009). تولید متابولیت‌های سازگاری و مقاومت نیاز به اسکلت‌های کربنی دارد و تولید آن‌ها از طریق دسترسی به کربوهیدرات‌ها امکان پذیر است. بررسی‌های روی توتون و تنباکوی آلوده به ویروس *Potato virus Y* افزایش مقدار کربوهیدرات را پس از مایه‌زنی با بیمارگر نشان داد (Herbers *et al*, 2000). افزایش کربوهیدرات‌ها در شرایط تنش به عنوان یک پیام متابولیکی عمل کرده و موجب افزایش بیان ژن‌های مربوط به دفاع و کاهش فتوسنتز می‌شود. به عنوان مثال، قند هگزوز در خاموش کردن ژن‌های فتوسنتز (Kocal *et al*, 2008) و هگزوکینازها در تنظیم مرگ برنامه‌ریزی شده سلول در گیاهان نقش دارند (Bolton *et al*, 2009).

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]

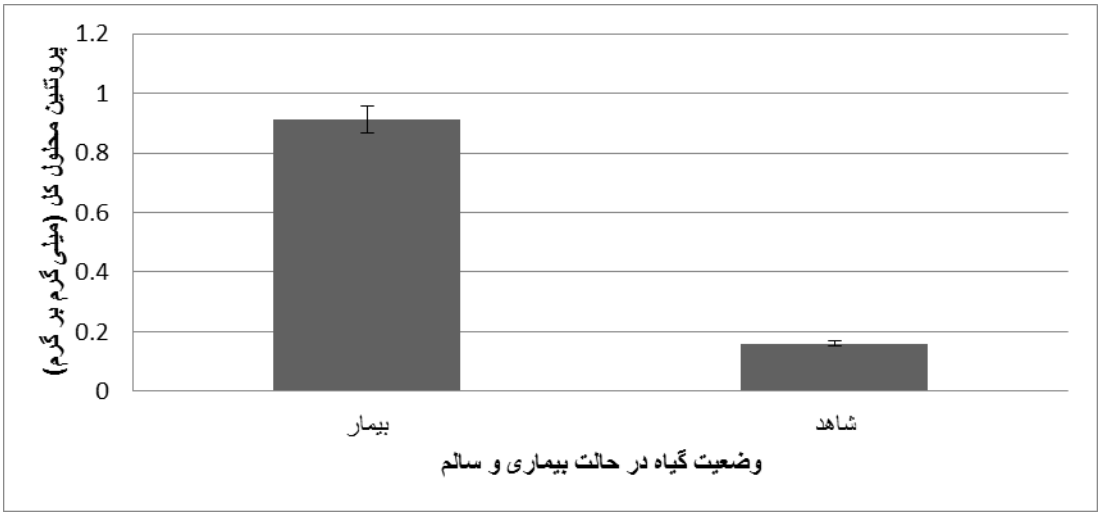
[DOR: 20.1001.1.25885073.1398.8.1.2.8]

بررسی تغییرات فعالیت آنزیم کاتالاز: نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول ۳) نشان داد که اثر متقابل رقم در بیماری در بررسی تغییرات فعالیت آنزیم کاتالاز معنی‌دار بوده است. آنزیم کاتالاز دارای ساختار پروتئینی پورفیرینی چهار تایی با آهن می-باشد که وظیفه شکستن ترکیبات رادیکال‌های آزاد اکسیژن به ویژه پراکسیدهیدروژن را دارد (Yang and Poovaiah, 2002; Du *et al*, 2007). ابدل – مونایم و همکاران (Abdel- Monaim *et al*, 2012) بیان کردند که پراکسیدهیدروژن در انگیزش مقاومت به بیماری پوسیدگی زغالی در بسیاری از گونه‌های گیاهان کاروری دارد. فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاهان بیمار رقم ٦ و رقم ٤ نسبت به شاهد افزایش یافت (شکل ۱). از آن‌جایی‌که کاتالاز به پاسداری از هموستازی اکسیژن واکنشگر در زمان تنش‌های زنده و غیر زنده یاری می‌دهد، فعالیت آن در گیاه به هنگام تنش بیشتر می‌شود (Magbanua *et al*, 2007). بیشتر بودن میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاه آلوده نسبت به شاهد شاید پیامد پاسخ گیاه به انباشتگی پراکسیدهیدروژن در یاخته‌هایی است که بیماری سوختگی فوزاریومی خوشه به آن رخنه کرده و به فعال شدن فعالیت‌های دفاعی گیاه در برابر تنش انجامیده است.

جدول ۳- تجزیه واریانس کربوهیدرات و پروتئین محلول کل در اثر سوختگی فوزاریومی خوشه گندم

Tabel 3- Analysis of variance of carbohydrate and total soluble protein under the effect of Fusarium Head Blight.

		Mean square میانگین مربعات		
منابع تغییرات Source of variation	درجه آزادی df	کربوهیدرات carbohydrate	توتال پروتئین Total protein	کاتالاز Catalase
بیماری (Timar)	۱	۰/۰۰٤ ns	۲/۰٦**	۲۸٤/۹۰**
رقم (Cultivar)	٥	۰/ ۱٤٦ **	۰/۰٥۷ns	۲۲۲/٤۳**
رقم × بیماری (Timar× Cultivar)	٥	۰/ ۱۸۲ **	۰/۰۹٥ns	۱۹۳/٦۳ **
خطا (Error)	۲٤	۰/۰٤۱	۰/۰۳۱	۰/ ۳٥۹
ضریب تغییرات (CV(%))	-	٥/۷۹	۲۷/۱۷	۱٤/۳٥



شکل ۱- اثر بیماری سوختگی فوزاریومی خوشه گندم بر میزان پروتئین محلول در برگ‌ها

Figure 1- Effect of fusarium head blight disease on soluble protein content of leafs

فعالیت آنزیم کاتالاز در برگ‌های آلوده شده‌ی گیاهان مقاوم کتان به دنبال حمله‌ی بیمارگر سفیدک پودری نسبت به ارقام حساس بیشتر است (Naglaa *et al*, 2011). با توجه به اینکه فعالیت آنزیم کاتالاز در این آزمایش در رقم مقاوم شناخته شده افزایش نشان نداد به نظرمی‌رسد که از بین بردن گونه‌های فعال اکسیژن در این گیاه تحت تنش بیماری توسط مواد یا آنزیم‌های آنتی اکسیدان

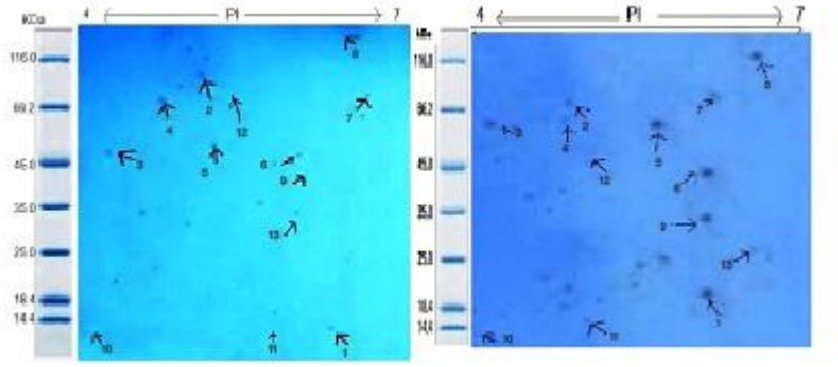
[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1398.8.1.2.8]

دیگر صورت می‌گیرد. این نتیجه مغایر نتایج برخی از محققین است.

مطالعه تغییرات کمی غلظت پروتئین: اثر بیماری سوختگی فوزاریومی خوشه بر میزان تغییرات کل محتوای پروتئینی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۳)، و رخداد بیماری به افزایش پروتئین کل انجامید (شکل ۱). گیاه با انباشتن پرولین، پلی آمین، ترهالوز، افزایش فعالیت آنزیمی نیترات ردوکتاز، افزایش انباشت کربوهیدرات‌ها و پروتئین‌سازی می‌تواند در برابر تنش ایجاد شده مقاومت کند (Hong, 2000). شاید افزایش پروتئین با توسعه و رشد گیاه در پیوند باشد. با پیشرفت رشد، گیاه در طی مراحل رویشی، پروتئین‌های بیشتری در جهت تأمین نیازها و مقابله با شرایط محیطی و انجام راهکارهای متداول خود تولید می‌کند. به نظر می‌رسد گیاه در راستای مقابله با بیمارگر ساخت پروتئین‌های دفاعی را آغاز می‌کند که به افزایش غلظت کل پروتئین‌ها می‌انجامد. هر گونه آسیب‌دیدگی ساختار DNAی یاخته از گونه‌های واکنشگر اکسیژن، به نساختن پروتئین-های شایسته برای عملکرد گیاه می‌انجامد (Mundree *et al*,2002). افزایش سرعت تجزیه پروتئین‌ها ممکن است از نتایج بروز تنش باشد (Bolen and Baskakov, 2001).

بررسی پروتئوم

در این پژوهش، تغییرات بیان پروتئین‌های خوشه گندم در رقم مروارید (مقاوم) آلوده به بیماری سوختگی فوزاریومی خوشه گندم در دو حالت شاهد و تنش، با رهیافت پروتئومیک و تکنیک الکتروفورز دو بعدی بررسی شد. الکتروفورز دوبعدی در بعد نخست به روش ژل‌های نواری و در بعد دوم به روش SDS-PAGE انجام شد. ژل‌های اکریل آمید با کوماسی بریلیانت بلو رنگ‌آمیزی و پس از دو مرحله رنگبری با نرم افزار PDQuest واکاوی شدند. مقایسه ژل‌های الکتروفورز دو بعدی نمونه شاهد و تنش بیماری در رقم مقاوم گندم (مروارید) به پدیدار شدن ۵۷ لکه‌ی پروتئینی تکرارپذیر انجامید (شکل ۲). آزمون t برای شناسایی لکه‌های پروتئینی با بیان معنی‌دار استفاده گردید. همچنین، برای شناسایی لکه‌های دارای کاهش و یا افزایش بیان معنی‌دار از شاخص IF (کُناگ انگیزش، Induction Factor) که از نسبت درصد حجمی لکه پروتئینی در حالت تنش به حالت شاهد به دست می‌آید، استفاده گردید. از میان ۵۷ لکه‌ی پروتئینی تکرارپذیر، ۱۳ لکه‌ی پروتئینی از نظر آماری و کُناگ انگیزش معنی‌دار بودند (جدول ٤).



الف (a) ب (b)

شکل۲- نقشه پروتئوم گندم (رقم مروارید) (الف) تحت تأثیر بیماری سوختگی فوزاریومی خوشه؛ و در (ب) شاهد

Figure 2- Proteome map of wheat (cv. Morvarid) as (a) affected with fusarium head blight disease; and in (b) control.

این پروتئین‌های متفاوت بیان شده ممکن است در فرآیندهای متعددی دخیل باشند که درک رویدادهای مولکولی مرتبط با بیماری سوختگی فوزاریومی خوشه گندم مشکل می‌باشد (Zhang et al. 2013 & Chetouhi et al. 2015). برگار و همکاران (Bregar *et al*, 2012) با بررسی‌هایی که روی سیب آلوده به قارچ *Monilia* انجام دادند، توانستند ۵۰ پروتئین با بیان ناهمگون

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1398.8.1.2.8]

را در گیاه تیمار و شاهد شناسایی نمایند که از آن میان، ٤١ پروتئین دارای افزایش بیان بودند و با پروتئین‌های درگیر در سوخت و ساز اسیدهای آمینه و پروتئین‌ها، تولید انرژی، سوخت و ساز کربوهیدرات‌ها، پاسخ به تنش و سوخت و ساز اسیدهای چرب در پیوند بودند.

گروه‌بندی عملکردی پروتئین‌های شناسایی شده

پروتئین‌های شناسائی شده، بر پایه کارکرد زیست شناختی آن‌ها در سه گروه پروتئین‌های درگیر در سوخت و ساز کربوهیدرات-ها، پروتئین‌های درگیر در مقابله با بیماری و پروتئین‌های در پیوند با مسیر انرژی دسته‌بندی شدند (جدول ٤).

جدول ٤- پروتئین‌های شناسایی شده در گندم در برابر بیماری سوختگی فوزاریومی خوشه

Tabel 4- Protein identified in Wheat against Fusarium head blight.

Change the expression	Spot[a]	Protein ID[b]	Theo pI/ Mw kd[c]	Exp pI/ Mw kd[c]	Predict ID[e]
کاهش (decrease)	١	HSP18(heat shock protein)	٥/٣٥, ١٨/٣٣	٦/٢, ١٨/٤٨	Q05832
افزایش(increase)	٢	Hypothetical proteine	٥/٣١, ٦٦/٣٦	٥/٢٤, ٦٦/٤	Q75L89
افزایش(increase)	٣	Unknown	-	٤/٢, ٦١/٢	
افزایش(increase)	٤	Hsp70 stromal (70-KDa theat shock- related protein)	٤/٩, ٦٤/٩	٥, ٦٥/٦	Q08080
افزایش(increase)	٥	70 KDa heat shock protein (*Triticum aestivum*)	٤/٥٣, ٦٠	٥/٩, ٦١/٥	gi 254211611
افزایش(increase)	٦	Hcf136 (stability/ assembly factor PSII)	٦/٨, ٤٤/١١	٦/٦, ٤٤/٨	32672156
کاهش(decrease)	٧	Unknown	-	٦/٤٧, ٧٦/٢	
افزایش(increase)	٨	Alpha- mannosidase	٦, ١١٦/٩	٦/٨, ١١٧	Q9FFX7
افزایش(increase)	٩	Triosephosphate isomerase, chloroplastic	٦, ٣١/٩٥	٦/٦, ٣٤	gi 1174745
افزایش(increase)	١٠	PR10 protein	٤/٥, ٦/١٦	٤/٣, ٧/١	gi 1616609
افزایش(increase)	١١	Ribulose- 1,5-bisphosphate carboxylase / oxygenase Small subunit	٥/٨, ١٣/٣	٥, ١٥	gi 132107
افزایش(increase)	١٢	ATP syntase beta subunit	٥, ٥٣/٧	٥/٣, ٤٨	gi 21684925
افزایش(increase)	١٣	Glutathione_ s transferase	٦/٣٥, ٢٥/٠٩	٦/٧٤, ٢٧	gi 20067415

a -لکه‌های پروتئینی شماره‌گذاری شده بر روی ژل‌های دو بعدیProtein spots numbered on two-dimensional gels

b - نام پروتئین شناسایی شده Protein name detected

c - وزن مولکولی پروتئین پیش‌بینی شده Molecular Weight of Predicted Protein .

d -نقطه ایزوالکتریک پروتئین پیش‌بینی شده Isoelectric point of the predicted protein

e - شماره پروتئین در پایگاه‌های اطلاعاتیProtein number in databases .

مقایسه‌ی نقشه پروتئوم گیاهان شاهد و تنش‌دیده، نشان داد که بیان پروتئین لکه‌ی شماره ٩ در گیاهان تنش‌دیده افزایش آماری معنی‌داری داشته است. با توجه به نتایج به دست آمده در خصوص واکاوی هر لکه توسط الکتروفورز دوبعدی و مراجعه به پایگاه‌های اطلاعاتی اینترنتی (Expasy و Swiss-2DPAGE)، این پروتئین آنزیم تریوزفسفات ایزومراز می‌باشد که در سوخت و ساز کربوهیدرات‌ها کاروری دارد. افزایش بیان این آنزیم در برگ گندم نان (Gao *et al*, 2011; Wang *et al*, 2008) و در گندم دوروم (Caruso *et al*, 2008) دستخوش تنش شوری گزارش شده است. تریوز فسفات ایزومراز واکنش تبدیل دوسویه دی-هیدروکسی‌استون فسفات و دی گلیسرآلدئید تری فسفات را کاتالیز می‌کند. دو نوع ایزوفرم از این آنزیم وجود دارد: سیتوسولی و کلروپلاستی که ایزوفرم پلاستیدی در چرخه‌ی کالوین کاروَری دارد (Gao *et al*, 2011). در مقایسه‌ی نقشه پروتئوم گیاهان شاهد و تنش‌دیده لکه‌ی شماره ٨ در گیاهان تنش‌دیده افزایش آماری معنی‌داری داشته است. با توجه به نتایج به دست آمده این پروتئین می‌تواند آلفامانوزیداز باشد که آلفا مانوزیدازها از جمله گلوسیدازهایی هستند که در کاتابولیسم و دگرگونی زنجیره‌های قندی سرشاز از مانوز از الیگوساکاریدهای موجود در گلیکوپروتئین‌ها نقش بسیار مهمی را ایفا می‌کنند (Ashraf Modares *et al*, 2011). در سال ٢٠١٣ در پژوهشی که روی مواد مترشحه عامل پوسیدگی ریشه و زوال بوته‌های خربزه

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1398.8.1.2.8]

Monosporascus cannonballus انجام دادند باند ۵۷ کیلودالتونی به عنوان آنزیم آلفا- مانوزیداز شناسایی شد تاکنون چگونگی مکانیسم بیماریزایی این آنزیم شناخته نشده است (Hoseini *et al*, 2013).

مانوزیداز در گلیکوپروتئین‌ها و گلیکولیپیدها به علت جدانمودن اتصال مانوز به پروتئین و لیپید دارای اهمیت فراوان می‌باشد، چرا که گلیکوپروتئین‌ها و گلیکولیپیدها جزو ترکیبات به کار رفته در دیواره سلولی می‌باشند (Hase *et al*, 1987).

لکه‌ی شماره ٤، در مقایسه‌ی شاهد و تنش از نظر آماری افزایش بیان معنی‌داری به هنگام تنش بیماری نشان داد. این لکه‌ی پروتئینی می‌تواند Hsp 70 (پروتئین تنش گرمایی) باشد که از پروتئین‌های دفاعی در رویارویی با بیماری به شمار می‌آید. پروتئین‌های تنش گرمایی به عنوان پروتئین‌های با ساختمان ناپایدار شناخته شده‌اند که فعالیت‌های فیزیولوژیکی مهمی را انجام می‌دهند و فعالیت آن‌ها با مقاومت به گرما و دیگر تنش‌ها در پیوند است. در همه جانداران، انگیزش پروتئین‌های تنش گرمایی در روند تنش بسیار تند و سخت می‌باشد. غلظت برخی از این پروتئین‌ها ممکن است به ۱٪ کل پروتئین‌های یاخته‌های بافت برگ و ریشه برسد. گمان می‌رود که خانواده پروتئینی Hsp 70 به علت پیوند به زنجیره‌های پلی‌پپتیدی سایر پروتئین‌ها در تاخوردگی درست پروتئین‌ها و همچنین پاسداری از آن‌ها در برابر تخریب شدن و یا انباشته شدن کارور هستند. همچنین، گزارش شده است که پروتئین‌های Hsp 70 در جابجایی پروتئین‌ها از میان غشاهای اندامک‌های یاخته کارور هستند (Ndimba *et al*, 2005). افزایش بیان این پروتئین‌ها در چندین آزمایش گزارش شده است (Wang *et al*, 2008). این پروتئین در گیاه موجب مقاومت گیاه در برابر بیمارگر می‌شود. افزایش بیان این پروتئین در گندم آلوده به قارچ بیمارگر زنگ زرد گزارش شده است (Rampitsch *et al*, 2006). پروتئین‌های تنش گرمایی در مقاومت به تنش‌ها بسیار ارزشمند هستند و به سازگاری با پیرامون می‌انجامند.

در مقایسه‌ی نقشه پروتئوم گیاهان شاهد و تنش‌دیده لکه‌ی شماره ۲ در حالت شاهد از نظر آماری افزایش بیان معنی‌دار نشان داد، این پروتئین می‌تواند پروتئین فرضی (Hypothetical) باشد که از پروتئین‌های کارور در رویارویی با بیماری می‌باشد. با توجه به این موضوع که این پروتئین‌ها در ایجاد پاسخ‌های ایمنی گوناگون در میزبان، چه ضد میکروبی و چه خودایمنی موثر هستند، انواعی از آن‌ها با فعالیت آنتی‌ژنیک، به عنوان اهدافی برای پاسخ‌های ایمنی یاخته‌ها به شمار می‌روند. تنش در بیشتر جانداران، چه یوکاریوتی و چه پروکاریوتی، ژن‌های شوک گرمایی را فعال می‌کند و به ساخت پروتئین شوک گرمایی می‌انجامد (Steen *et al*, 2002). این پروتئین‌ها علاوه بر نقش چاپرونی، سلول را در مقابل آسیب‌های ناشی از تنش‌های محیطی محافظت می‌کنند (Milan *et al*، ۲۰۰٤).

در مقایسه‌ی نقشه پروتئوم گیاهان شاهد و تنش‌دیده لکه‌ی شماره ۱۰، در حالت تنش نسبت به شاهد از نظر آماری افزایش بیان معنی‌داری نشان داد که این لکه می‌تواند مربوط به پروتئین‌های وابسته به بیماری‌زایی (PR proteins) باشد. این پروتئین‌ها دارای وزن مولکولی کم بوده و به مقادیر قابل توجهی در بافت‌های گیاهی انباشته می‌شوند. گروه‌های اصلی پروتئین‌های وابسته به بیماری‌زایی عبارتند از: PR-1، PR-2 (بتاگلوکاناز)، PR-3 (کیتینازها)، PR-4 (Heveine-مانند) و PR-5 (اسموتین و توماتین-مانند، Thaumatin, Osmotin) در توتون. آن‌ها پروتئین‌های ویژه میزبان هستند که در بیشتر گونه‌های گیاهی در برابر آفند بیمارگرها و شرایط همانند برانگیخته می‌شوند (Dong *et al*, 2000). در مقایسه با سرشت میان یاخته‌ای بیشتر پروتئین‌های وابسته به بیماری‌زایی برای نخستین بار در سلول‌های تیمارشده جعفری توصیف شد (Van Loon *et al*, 2006). در این بررسی، این پروتئین پس از تیمار آلودگی، افزایش بیان داشت که به گمان می‌رسد با پاسخ پدافندی گیاه در برابر بیمارگر مهاجم در پیوند است. هم‌اکنون ۱۷ خانواده از این پروتئین‌ها شناسایی شده‌اند (Van Loon *et al*, 1999). نوع، میزان و جایگاه یاخته‌ای پروتئین‌های وابسته به بیماری‌زایی ساخته شده به نوع تنش و گونه گیاهی زیر بررسی بستگی دارند (Krishnaveni *et al*, 1999).

در مقایسه نقشه پروتئوم گیاهان شاهد و تنش‌دیده لکه‌ی شماره ۱۳، در گیاهان تنش‌دیده افزایش بیان معنی‌داری نشان داد. این لکه شاید همان پروتئین گلوتاتیون S ترانسفراز باشد. این آنزیم‌ها در

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1398.8.1.2.8]

سوخت و سازهای درونی شامل تنش اکسیداتیو، پیوستن فلاونوئیدها و تنظیم آپوپتوزیز کاروَری دارند (Kilili *et al*, 2004). افزون بر فعالیت آنزیم گفته شده در تنش‌های گوناگون، این آنزیم‌ها در رشد و نمو یاخته نیز کاروَر می‌باشند و در دریافت و پاسخ گیاه به تنش‌های محیطی به خوبی کار می‌کنند. گروهی از آنزیم‌های دایمری چند عملکردی می‌باشند که در سم‌زدایی آنزیمی ترکیبات زنوبیوتیک و آندوبیوتیک کاروَری دارند (Moons, 2005). گلوتاتیون S ترانسفرازها از گروه آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان هستند که این دسته از آنزیم‌ها یاخته را در برابر گونه‌های واکنشگر اکسیژن نگه می‌دارند. در گیاه فرفیون، رونویسی و فعالیت این آنزیم به گستردگی در بافت‌های دستخوش تنش‌های پیرامونی افزایش می‌یابد (Anderson and Davis, 2003). این پروتئین در راهکارهای پدافندی گیاه نقش به‌سزایی دارد (Asher and Kerr, 1996).

در مقایسه نقشه پروتئوم گیاهان شاهد و تنش‌دیده، لکه‌های شماره ۱۱ و ۱۲ در گیاهان تنش‌دیده افزایش بیان معنی‌داری را نشان دادند. این لکه‌ها می‌توانند به ترتیب با پروتئین‌های ATP-synthase و Ribulose -1,5-bisphosphate carboxylase / oxygenase در پیوند باشند که هر دو از پروتئین‌های کاروَر در مسیر انرژی می‌باشند. گیاهان مقادیر بسیاری ATP برای رشد و نمو و رویارویی با تنش نیاز دارند (gyang *et al*, 2008) که پروتئین ATP-synthase انرژی بسیاری را برای فرآیندهای زیستی فراهم می‌کند (Mclean *et al*, 2003). در این پژوهش، بیان پروتئین ATP-synthase در گیاه بیمار افزایش یافت که نمایانگر افزایش تولید انرژی برای رویارویی با بیماری است.

Ribulose -1,5-bisphosphate carboxylase / oxygenase از آنزیم‌های کلیدی چرخه کلوین است و واکنش تبدیل دی-ریبولوز ۱و۵ بیس فسفات و دی‌اکسید کربن به دو مولکول ۳-فسفودی گلیسرات را کاتالیز می‌کند. تنش‌های پیرامونی می‌توانند موجب غیر فعال شدن قابل برگشت یا غیر قابل برگشت روبیسکو شوند. روبیسکوی غیرفعال شده غیر قابل برگشت به‌وسیله نسخه-های جدید ساخته شده جایگزین می‌شود. به گمان می‌رسد که به-واسطه ناپایدار بودن زیرواحدهای روبیسکو بیان آن‌ها در گیاه دستخوش تنش افزایش یافته است. در سازگاری با گزارش پیشین (Srivall *et al*, 2004)، می‌توان نتیجه گرفت که بنیان‌های واکنشگر اکسیژن پروتئین‌های استرومای کلروپلاست به ویژه آنزیم روبیسکو را به شیوه غیر آنزیمی در شرایط تنش اکسیداتیو تخریب می‌کنند.

نتایج حاصل از بررسی غلظت اسیدهای آمینه و کربوهیدرات محلول نشان داد که گیاهان مقاوم برای رویارویی با گسترش بیماری در شرایط تنش، بیشتر انرژی خود را صرف سنتز عوامل کارور در راهکارهای پدافندی می‌کنند. داده‌های به دست آمده از بررسی فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی کاتالاز نشان دادند که مقدار بیان آن‌ها در هر دو رقم به دنبال بیماری افزایش یافت. الکتروفورز دو بعدی خوشه گندم در رقم مورد مطالعه براساس کناگ انگیزش (IF) به شناسایی ۱۳ لکه‌ی پروتئینی با تغییرات معنی‌دار بیان انجامید که به طور کلی پروتئین‌های درگیر در رویارویی با بیماری و پروتئین‌های کارور در مسیرهای سوخت و ساز، بیشترین سهم را در میان پروتئین‌های دارای تغییرات معنی-دار بیان به خود اختصاص دادند.

منابع

Anderson J, Davis D. 2003. Abiotic stress alters transcript profiles and activity of glutathion S-transferase, glutathione peroxidase, and glutathione reductase in *Euphorbia esula*. Plant Biology 32: 430-441.

Arzani A. 2008. Breeding field crops, fifth edition, Translation, Esfahan: Esfahan University of Technology publishing center, fourth edition, 606. (In Persian with English Abstract).

Asher M, Kerr S. 1996. Rhizomania: progress with resistant varieties, British Sugar Beet Review 64: 19-22.

Ashraf Modares K, Abromand M, Ebrahimi M. 2011. Separate purification of alpha mannosidase from soybean and inhibitory effect NaN_3 and KCN, and ions of phytocarbonate, nickel, copper and zinc on its activity in vitro. Thesis of Payame Noor University of Karaj. Abstract. (In Persian with English Abstract).

Bai GH, Shaner G. 1994. Scab of wheat: prospects for control. Plant Disease 78: 760-765.

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1398.8.1.2.8]

Ballhorn DJ, Kautz S, Heil M, Hegeman AD. 2009. Cyanogenesis of wild lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) is an efficient direct defence in nature. Plant Signaling and Behavior 48: 735-745.

Behnia MR. 1994. Cold Cereals, Tehran University, Tehran, Iran. (In Persian with English Abstract).

Bernusi I, Ghanadha MR, Omidi M, Samadi BY, Hosseinzadeh A. 2002. Inheritance of resistance to Fusarium within a spike of wheat. Pajouhesh Sazandegi 63: 57-62.

Bolen DW, Baskakov IV. 2001. The osmophobic effect: Natural selection of a thermodynamic force in protein folding. Journal of Molecular Biology 310: 955-963.

Bolton MD. 2009. Primary Metabolism and Plant Defense-Fuel for the Fire. Molecular Plant-Microbe Interactions

22: 487-497.

Bradford MM. 1976. Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein- dye binding. Analytical Biochemistry 72: 248-254.

Bregar O, Mandelc S, Celar F, Javornik B. 2012. Proteome Analysis of the Plant Pathogenic Fungus *Monilinia laxa* Showing Host Specificity. Food Technology and Biotechnology 50: 326-333.

Caruso G, Cavaliere C, Guarino C, Gubbiotti R, Foglia P, Lagana A. 2008. Identification of changes in *Triticum durum L*. leaf proteome in response to salt stress by two-dimensional electrophoresis and MALDI-TOF mass spectrometry. Analytical and Bioanalytical Chemistry 391: 381-390.

Chetouhi C, Bonhomme L, Lecomte P, Cambon F, Biron DG. 2015. A proteomics survey on wheat susceptibility to Fusarium head blight during grain development. European Journal of Plant Pathology 141: 407-418.

Choo TM, Vigier B, Shen QQ, Martin RA, Ho KM, Savard M. 2004. Barley traits associated with resistance to Fusarium head blight and deoxynivalenol accumulation. Phytopathology 94: 1145-50.

Davari M, Wei SH, Babai-Ahari A, Arzanlou M, Waalwijk C, van der Lee TAJ, Zare R, Gerrits van den Ende AHG, de Hoog SG, van Diepeningen AD. 2013. Geographic differences in trichothecene chemotypes of *Fusarium graminearum* in the Northwest and North of Iran. World Mycotoxin Journal 6: 137-150

Dong H, Beer SV. 2000. Riboflavin induces disease resistance in plants by activating a novel signal transduction pathway. Phytopathology 90:801-811.

Gao L, Yan X, Li X, Guo G, Hua Y, Ma W, Yan Y. 2011. Proteome analysis of wheat leaf under salt stress by two-dimensional difference gel electrophoresis (2D-DIGE). Phytochemistry 72: 1180-91.

Hase S, Natsuka S, Oku H, Ikenaka T. 1987. Identification method for twelve oligomannose-type sugar chains thought to be processing intermediates of glycoproteins. Analytical Biochemistry 167: 321-6.

Herbers K, Takahata Y, Melzer M, Mock HP, Hajirezaei M, Sonnewald U. 2000. Regulation of carbohydrate partitioning during the interaction of *Potato Virus Y* with tobacco. Molecular Plant Pathology 1: 51-59

Hong Z, Lakkineni K, Zhang Z, Verma DS. 2000. Removal of feedback inhibition of 1- pyrrolin -5-carboxylate synthetase results in increased prolin accumulation and production of plant from osmotic stress. Plant Physiology 122: 1129-1136 .

Hoseini B, Farokhi N, Sarpeleh A, Garanjic Sh, Member abadi M. 2013. Investigation of the role embossing materials Monosporascus cannonballus fungi in the disease of the root rot and the decay of melon bushes. Thesis of industrial University of Shahroud. Abstract. (In Persian with English Abstract).

Kessmann H, Staub T, Hofmann C, Maetzke T, Herzog J, Ward E, Uknes S, Ryals J. 1994. Induction of systemic acquired resistance in plants by chemicals. Annual Review of Phytopathology 32: 439-459.

Kilili KG, Atanassova N, Vardanyan A, Clatot N, Al-Sabarna K, Kanellopoulos PN, Makris AM, Kampranis SC. 2004. Differential roles of tau class glutathione S-transferases in oxidative stress. Journal of Biological Chememistry. 279: 24540-24551.

Kingsnorth CS, Asher MJC, Keane GJP, Chwarszczynska DM, Luterbacher MC, Mutasa-Gottgens ES. 2003. Development of a recombinant antibody ELISA test for the detection of *Polymyxa betae* and its use in resistance screening. Plant Pathology. 52: 673-680.

Kocal N, Sonnewald U, Sonnewald s. 2008. Cell wall-bound invertase limits sucrose export and is involved in symptom development and inhition of photosynthesis during compatible interaction between tomato and *Xanthomonas campestris* pv. *Vesicatoria.* Plant Physiology. 148: 1523-1536.

Krishnaveni S, Muthukrishnan S, Liang GH, Wilde G, Manickan A. 1999. Induction of chitinases and b-1,3-glucanases in resistant and susceptible cultivars of sorghum in response to insect attack, fungal infection and wounding. Plant Science. 144: 9-16.

Leslie JF, Summerell BA. 2006. The *Fusarium* Laboratory Manual. Blackwell Publishing, NewYork, USA. 369 pp.

McLean MD, Yevtushenko DP, Deschene A, Cauwenberghe ORV, Makhmoudova A, Potter JW, Bown AW, Shelp BJ. 2003. Overexpression of glutamate decarboxylase in transgenic tobacco plants confers resistance to the northern root- knot nematode. Molecular Breeding 11: 277-285.

Mesterhazy A. 1995. Types and components of resistance to Fusarium head blight of wheat. Plant Breeding 114: 377-472.

Milan R, Alois R, Josef C, Jana B, Even W. 2004. Recombinant protein and DNA vaccines derived from hsp60 *Trichophyton mentagrophtosis* control the clinical course of trichophytosis in bovine species and guinea- pigs. Mycoses 47: 407-17.

Moons A. 2005. Regulatory and functional interactions of plant growth regulators and plant glutathione S-transferases (GSTs). Vitamins & Hormones 72: 155-202.

Mundree SG, Baker B, Mowla S, Peters S, Marais S, Willigen CV, Govender K, Maredza A, Muyanga S, FarrantJM, Thomson JA. 2002. Physiological and molecular insights

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1398.8.1.2.8]

into drought tolerance. African Journal of Biotechnoly 1: 2838.

Ndimba BK, Chivasa S, Simon WJ, Slabas AR. 2005. Identification of *Arabidopsis* salt and osmotic stress responsive proteins using two-dimensional difference gel electrophoresis and mass spectrometry. Proteomics 5: 4185-4196.

Nelson PE, Toussoun TA, Marasas WO. 1983. *Fusarium* Species, An Illustrated Manual for Identification Pennsylvania State Univ. Press, University Park, 193 pp.

Omokolo ND, Tsala NG, Djocgoue PF. 1996. Changes in carbohydrate, amino acid and phenol content in cocoa pods from three clones after infection with *Phytophthora megakarya* Bra. and Grif. Annals of Botany 77: 153-158.

Rampitsch C, Bykova NV, McCallum B, Beimcik E, Ens W. 2006. Analysis of the wheat and *Puccinia triticina* (leaf rust) proteomes during a compatible host-pathogen interaction. Proteomics 6: 1897-1907.

Shaner GE. 2003. Epidemiology of Fusarium head blight of small grain cereals in North America. In Leonard, K.J., Bushnell, W.R., (eds.), Fusarium Head Blight of Wheat and Barley. St Paul, MN: APS Press. Pp. 84-119.

Srivall B, Khanna-Chopra R. 2004. The developing reproductive sink induces oxidative stress to mediate nitrogen mobilization during momocarpic senescence in wheat. Biochemical and Biophysical Research Communications 325: 198-202.

Steen BR, Lian T, Zuyderduyn S, MacDonald WK, Marr aM, Jones SJ. 2002. Temperature- regulated transcription in the pathogenic fungus *Cryptococcus neoformans*. Genome Research 12: 1386-400.

Van Loon LC, Rep M, Pieterse CMJ. 2006. Significance of Inducible Defense-related Proteins in Infected Plants. Annual Reviews of Phytopathology 44: 135-62.

Wang FX, Ma YP, Yang CL, Zhao PM, Yao Y, Jian GL, Luo YM, Xia GX. 2011. Proteomic analysis of the sea-island cotton roots infected by wilt pathogen *Verticillium dahliae*. Proteomics 11: 4296-4309.

Wang MC, Peng ZY, Li CL, Li F, Liu C, Xia GM. 2008. Proteomics analysis on a high salt tolerance introgression strain of *Triticum aestivum/Thinopyrum ponticum*. Proteomics 8: 1470-1489.

Wang Y, Yang L, Xu H, Li Q, Ma Z, Chu C. 2005. Differential proteomic analysis of proteins in wheat spikes induced by *Fusarium graminearum*. Protemics 5: 4496-450.

Zhang X, Fu J, Hiromasa Y, Pan H, Bai G. 2013. Differentially expressed proteins associated with Fusarium head blight resistance in wheat. PloS One 8: 82079.

Zhou W, Eudes F, Laroche A. 2006. Identification of differentially regulated proteins in response to a compatible interaction between the pathogen *Fusarium graminearum* and its host *Triticum aestivum*. Proteomics 6: 4599-4609.

Zivy M, De Vienne D. 2000. Proteomics: a link between genomics, genetics and physiology. Plant Molecular Biology 44: 575-580.

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1398.8.1.2.8]

Genetic Engineering and Biosafety Journal
Volume 8, Number 1

Bread and Durum Wheat Proteome Response to Wheat Fusarium Head Blight

Tayebeh Sheikhhesabi[1], Soodabeh Jahanbakhsh Godehkahriz[*2], Mahdi Davari[3]

1,2- Department of Agronomy and Plant Breading, 3- Department of Plant Protection, University of Mohaghegh Ardabili, Iran *Corresponding Author Email: jahanbakhsh@uma.ac.ir

ABSTRACT

Fusarium Head blight (FHB), caused by *Fusarium graminearum* known as a destructive disease of wheat has a significant impact not only on global wheat production, but also on food safety because of grain contamination with mycotoxins during infection, a serious threat to the human and animals' health. To achieve to non-chemical control of FHB, the study of molecular mechanism of resistance to FHB in wheat varieties is important. In this research, in order to investigate the effect of FHB on spike proteome pattern, six bread and durum wheat cultivars were inoculated in a greenhouse with *F. graminearum*. In addition to measuring the morphological traits, 14 days after inoculation, changes in their proteome pattern were investigated. Two-dimensional electrophoresis technique was used to study the response of wheat spike to Fusarium. Protein extraction was performed by TCA-acetone method and two-dimensional electrophoresis was performed in the first dimension by strip gel method and in the second dimension was performed by using sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel. The results of gel analyses showed that out of 57 repeatedly found protein spots, 13 protein spots had a significant difference between treatments, among which 11 protein spots, showed increased expression and two protein spots showed reduced expression. Proteins with changes in expression based on biological function were categorized in different groups that proteins involved in the metabolic pathways which involved in infected plants (Hypothetical protein and PR proteins) had the highest contribution to proteins with significant changes. The results of this study can be used in wheat breeding programs.

Keywords: Resistance, Proteomics, Protein

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1398.8.1.2.8]