ژنتیک نوین
دوره دوازدهم، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۶
صفحه ۲۷۱ - ۲۶۵

هتروزیس در گندم نان از دیدگاه پروتئومیکس

Proteome study of heterosis phenomenon in bread wheat

کیانا کبیر[۱]، احد یامچی*[۲]، حسن سلطانلو[۲]، سیده ساناز رمضانپور[۲]، علی‌اصغر نصراله نژاد قمی[۲]

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

۲- به‌ترتیب استادیار، دانشیاران، استادیار، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

Kabir K[1], Yamchi A[*2], Soltanloo H[2], Ramezanpour SS[2], Nasrollahnejad Ghomi AA[2]

1- Graduate MSc Student, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

2- Assistant Professor, Associate Professors, Assistant Professor, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: yam12001@yahoo.com

(تاریخ دریافت: ۹۳/۱۱/۲۳ - تاریخ پذیرش: ۹۶/۲/۳۱)

چکیده

گندم نان از مهم‌ترین گیاهان زراعی به شمار می‌رود و ارقام هیبرید آن نقش مهمی را در عرضه غذای جهان ایفا می‌کنند. تفاوت معنی‌دار بعضی از صفات در هیبرید نسبت به والدین در نتیجه بروز پدیده هتروزیس می‌باشد. این پدیده توسط ژن‌ها کنترل می‌شود که شناسایی آن‌ها از دیدگاه ملکولی در پروژه‌های اصلاح گیاهان از اهمیت زیادی برخوردار است. هدف ازانجام این تحقیق شناسایی پروتئین‌های دخیل در پدیده هتروزیس در گندم نان به کمک پروتئومیکس می‌باشد. بدین منظور، سه رقم زاگرس، N8118 و هیبرید حاصل از آن‌ها در ایستگاه تحقیقات کشاورزی گرگان در سه تکرار و در قالب طرح بلوک کامل تصادفی مورد کشت قرار گرفتند. داده‌های آزمایشی وجود اختلاف معنی‌داری را در صفات طول ساقه و طول سنبله در هیبرید نسبت به والدین نشان داد. هم‌چنین نتایج حاصل از تجزیه پروتئوم گیاهان نشان داد که بیان یک لکه پروتئینی در والد زاگرس نسبت به هیبرید و والد N8118 در موقعیت مکانی ژل (Shift position) تغییر کرده است. طیف سنجی جرمی مشخص کرد که این لکه مربوط به پروتئین cytochrome b6/f complex می‌باشد و نقش کلیدی در مسیر تولید NADPH و ATP در فرایند فتوسنتز دارد.

واژه‌های کلیدی

پروتئومیکس
گندم نان
هتروزیس
هیبرید

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.2.11.3]

مقدمه

گندم نان با نام علمی *Triticum aestivum* از گسترده‌ترین گیاهان زراعی می‌باشد و به‌عنوان غذای اصلی در بیشتر کشورها به شمار می‌رود (Hemdan et al. 2015). یکی از بزرگ‌ترین دستاوردهای کاربردی از علم اصلاح گیاهان که به‌طور گسترده در بهبود گیاهان و تولید واریته هیبرید استفاده می‌شود پدیده هتروزیس است (Alam et al. 2004). بهره‌گیری از هتروزیس را برای تولید محصول بیش‌تر وابسته به گیاهان دگرگشن می‌دانستند، اما امروزه مدارکی دال بر وجود هتروزیس در گندم در صفاتی مانند بیوماس و تولید بالا گزارش شده‌است (Sun et al. 2004). هتروزیس با افزایش هتروزیگوسیتی منجر به افزایش شایستگی و قدرت گیاه می‌شود. این پدیده نیرویی قوی در تحول گیاهان می‌باشد و به‌طور گسترده‌ای در تولیدات گیاهی به‌کار برده شده‌است (Paschold et al. 2009). هتروزیس منجر به برتری عملکرد هیبرید نسبت به والدین می‌شود (Brichler et al. 2003). بررسی مولکولی هتروزیس در برگ گندم بیان افتراقی شش ژن در سطح mRNA را در هیبرید نسبت به والدین نشان داده است (Sun et al. 2004). هم‌چنین در بررسی اثر هتروزیس بر رشد ریشه گندم، نتایج حاصل از نمایش افتراقی تغییرات بیان ژن بین هیبرید و والدین نشان داد که تعداد ۹ cDNA کلون شده در هیبرید نسبت به والدین بیان بیشتری داشته‌اند (Zhangkui et al. 2006). اگرچه تغییرات در سطح mRNA اطلاعات مهمی را از بروز بیان ژن‌ها در سلول نشان می‌دهد، با این حال میزان بیان mRNA همیشه با میزان پروتئین به‌طور کامل سازگار نیست (Gygi et al. 1999; Pandey et al. 2008; Tian et al. 2004). دلیل این عدم سازگاری می‌تواند ویرایش تناوبی و پردازش mRNA، سرعت متفاوت تخریب mRNA و پروتئین در سلول، پروتئولیز پروتئین و تغییرات پس از ترجمه یک ژن باشد (Gygi et al. 1999; Pandey et al. 2008; Tian et al. 2004). در یک تحقیق انجام یافته، شناسایی بعضی پروتئین‌های بیان شده افتراقی در برگ‌های جوانه گندم به‌وسیله طیف سنجی جرمی آن‌ها را در شش گروه عملکردی متابولیسم، انتقال سیگنال، انرژی، رشد و تقسیم سلول، بیماری و دفاع طبقه‌بندی نمود. این نتایج نشان می‌دهد که هیبریداسیون گندم باعث تفاوت الگوی پروتئوم در والدین و هیبرید شده و این پروتئین‌ها در مسیرهای فیزیولوژیک مختلفی درگیرند که می‌تواند مرتبط با هتروزیس باشد (Song et al. 2007). در دو دهه گذشته در مطالعات متعددی از پروتئومیکس برای شناسایی پروتئین‌های کنترل کننده صفات مهم زراعی گیاهان از جمله مقاومت به تنش‌های زنده (Guan et al. 2015)، غیر زنده (Huang et al. 2016) و کیفیت غذایی (Branlard et al. 2015) استفاده کرده‌اند. در سال‌های اخیر توجه خاصی به روش‌هایی می‌شود که محققین را در ارزیابی کمی بیان هزاران ژن به‌طور هم-زمان یاری می‌کند و هم‌چنین اطلاعات حاصل از ژنوم به تنهایی بیانگر عملکرد ژن در یک مرحله خاص از زندگی گیاه و وقایع بیولوژیکی و شیمیایی که در هر مرحله رخ می‌دهد، نیست (Munns 2005). دانش ما در رابطه با اساس ملکولی هتروزیس بسیار اندک و ناچیز است و گزارش‌های اندکی در این زمینه وجود دارد. لذا هدف از اجرای این تحقیق، شناسایی پروتئین‌های دخیل در پدیده هتروزیس در گندم نان به کمک پروتئومیکس می‌باشد.

مواد و روش‌ها

هفت ژنوتیپ شامل ارقام N8119، N8118، تجن، زاگرس، هیبرید تجن *N8019، هیبرید زاگرس*N8019 و هیبرید زاگرس *N8118 در ایستگاه تحقیقات کشاورزی گرگان (عراقی محله) در سه تکرار و در قالب طرح بلوک کامل تصادفی کشت شدند. از بافت برگ پرچم در زمان ظهور سنبله کامل[1] برای بررسی ملکولی نمونه‌گیری به عمل آمد. نمونه‌های مورد نظر برای بررسی پروتئوم پس از تیمار با ازت مایع به فریزر ۸۰°C- منتقل شدند.

بررسی پدیده هتروزیس به‌صورت مورفولوژیکی برای صفات مختلف در اندام‌های ریشه و بخش‌های هوایی گیاه، شامل بیوماس گیاه، وزن دانه، تعداد دانه در سنبله، طول سنبله، تعداد سنبله در هر بوته، وزن سنبله، تعداد سنبلچه در هر سنبله و طول ساقه در زمان ظهور سنبله کامل انجام شد و تجزیه داده‌های حاصل از بررسی مورفولوژیک با استفاده از نرم‌افزار SPSS 24.0 صورت گرفت.

[1] Head completely emerged

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.2.11.3]

مقدار ۲۰۰ میلی‌گرم از بافت برگ پرچم ارقام زاگرس، N8118 و هیبرید حاصل از آن‌ها در هاون‌های چینی جداگانه، با استفاده از ازت مایع، پودر و به تیوب‌های مجزا منتقل شدند. استخراج پروتئین با روش تغییریافته Damerval et al. (1986) انجام شد (Yamchi 2010). برای سنجش مقدار پروتئین از کیت (GE Healthcare) 2D Quant و بر اساس دستورالعمل کیت استفاده شد. برای تعیین غلظت پروتئین از دستگاه اسپکتوفوتومتر با طول موج جذب ٤٨٠ نانومتر برای نمونه‌ها استفاده شد.

نوارهای خشک (18 cm 3-11 NL, immobline dry strip, Amersham Biosience) IPG در ۳۰۰ میکرولیتر بافر لیز کننده حاوی ۲۰۰ میکروگرم پروتئین در دستگاه (GE Healthcare) IPGphor در ۲۰ درجه سانتی‌گراد بدون جریان الکتریکی به مدت ۱۲ ساعت قرار گرفتند. سپس دستگاه روشن شده و برای تثبیت لکه‌های پروتئین[1] از برنامه زیر در دستگاه IPGphor استفاده شد: ۳۰۰ ولت به مدت ۲ ساعت، ۵۰۰ ولت به مدت ۲ ساعت، ۱۰۰۰ ولت به مدت ۲ ساعت و افزایش تدریجی ولتاژ تا ۸۰۰۰ ولت در عرض ۵ ساعت و نهایتا در ۸۰۰۰ ولت به مدت ٦۰۰۰۰ ولت ساعت تنظیم شد (Yamchi 2010). نوارهای IPG بعد از الکتروفورز بعد اول به مدت ۱۵ دقیقه در بافر اشباع (Urea 6M, Tris-cl 50 mM pH 8.8, DTT 1%, SDS 2%, glycerol 30%, a trace of bromophenol blue) قرار گرفته سپس برای ۱۵ دقیقه دیگر در همان بافر ولی با جایگزینی آیدواستامید ۲/۵ درصد به جای DTT قرار گرفتند. سپس نوارهای IPG به بالای ژل‌های SDS-PAGE با غلظت ۱۲/۵ درصد اکریل آمید منتقل شد و در جریان ثابت ۳۰ میلی‌آمپر به مدت ۳۰ دقیقه و سپس ۱۰۵ میلی-آمپر به مدت ٤ ساعت برای ۳ ژل SDS-PAGE در ۲۰ درجه سانتی‌گراد الکتروفورز شد (Yamchi 2010). در مرحله بعد ژل-های SDS-PAGE در محلول رنگ‌آمیزی حاوی Colloidal CBB G-250 رنگ شدند (Candiano et al. 2004). برای این کار ژل‌ها ابتدا در محلول تثبیت (methanol 40%, acetic acid 10%) به مدت یک ساعت قرار گرفتند وبعد از آن به مدت ۳۰ دقیقه در آب دو بار تقطیر شستشو شدند و سپس برای ۳۰ ساعت در محلول رنگ (ammonium sulphate 10%, methanol 20%, phosphoric acid 10%, CBB G-250 0.12%) قرار گرفتند. ژل‌ها بعد از رنگ‌آمیزی توسط اسکنر Image (GE Healthcare) scanner اسکن شدند و از نرم‌افزار Image (GE Healthcare) master 2D platenium ver.6 برای تجزیه وتحلیل تصاویر استفاده شد. نسبت اندازه لکه‌ها در بین ژل‌ها بر اساس درصد حجم به کمک نرم‌افزار محاسبه شد. نحوه نرمال سازی لکه‌های پروتئین به روش Scotter plot بود (Salekdeh et al. 2002). آزمایشات الکتروفورز دوبعدی در دو تکرار بیولوژیک انجام شد. لکه‌های پروتئین‌های مرتبط با هتروزیس پس از مقایسه ژل‌ها از روی ژل بریده شدند و به‌منظور حذف رنگ کوماسی از تیمار لکه‌ها با محلول استونیتریل و ۲۵ میلی‌مولار بی کربنات آمونیوم به نسبت‌های مساوی (v/v) ۱:۱ استفاده شد. پس از هر ۳۰ دقیقه تعویض محلول جهت حذف رنگ کوماسی اقدام شد. سپس لکه-های ژل با سانتریفیوژ تحت شرایط خلا خشک شدند. به این لکه‌های خشک شده ۲۰ میکرولیتر بی کربنات آمونیوم ۲۵ میلی-مولار اضافه شد و پس از آن به این محلول آنزیم تریپسین (Promega) با غلظت ۱۰ نانو گرم در هر میکرولیتر واکنش افزوده شد و به مدت ٢٤ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. در نهایت به‌منظور خاتمه واکنش هضم آنزیمی، ۸۰ میکرولیتر محلول (formic acid 10%, acetoniteile 62.5%, H_2O 27.5%) به ۲۰ میکرولیتر واکنش آنزیمی اضافه شد. سپس روشناور حاوی پروتئین هضم شده از پلیت جدا شده و به دوقسمت ۲۰ و ۸۰ درصدی به دو ویال جداگانه تقسیم شدند و پس از آن توسط سانتریفیوژ تحت شرایط خلأ خشک شدند. ویال قسمت ۲۰ درصدی برای شناسایی پروتئین‌های هضم شده از طریق طیف سنجی جرمی از نوع MALDI-MS (Applied Biosystem) استفاده شد. نتایج حاصل از طیف‌سنجی جرمی به کمک نرم افزار MASCOT با پروتئین‌های موجود در بانک‌های اطلاعاتی مقایسه شدند و برای شناسایی پروتئین استفاده شد. پارامترهای مورد استفاده برای نرم‌افزار MASCOT شامل: (C) carbamidomethyl به‌عنوان تغییر ثابت پروتئین و (NQ) deamidated و oxidation (M) به‌عنوان تغییرات متغییر به نرم‌افزار معرفی شدند (Yamchi 1389).

[1] Focusing

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.2.11.3]

نتایج

به‌منظور بررسی پدیده هتروزیس، تجزیه واریانس پارامترهای مورفولوژی رشد انجام شد. نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که بین ژنوتیپ‌ها در صفات طول ساقه و طول سنبله اختلاف بسیار معنی‌داری به‌ترتیب در سطح پنج و یک درصد وجود دارد، اما بین ژنوتیپ‌ها در صفات تعداد سنبلچه، وزن هر سنبله، تعداد دانه در سنبله، وزن دانه‌های هر سنبله، وزن ۱۰۰ دانه، بیوماس اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۱).

جدول ۱- تجزیه واریانس پارامترهای مورفولوژی رشد در گیاه گندم

		میانگین مربعات صفات اندازه گیری شده							
منبع تغییرات	درجه آزادی	طول ساقه	طول سنبله	تعداد سنبلچه	وزن هر سنبله	تعداد دانه در سنبله	وزن دانه هر سنبله	وزن ۱۰۰ دانه	بیوماس
ژنوتیپ	٦	٦١/٤٧٦*	٣/٧٩٠**	٤/٠٥٣ns	١٧/٦٦٦ ns	١٢٣/٩٧٦ns	٠/٤١٦ ns	٠/٢٨٣ ns	٤٧/٥٩٥ ns
خطا	١٤	١٨/٩٧٢	٠/٦٥٠	٢/٦٩٦	١٩/٠١٩	١٣٨/٧٨٧	٠/٣٣٠	٠/٢٤١	٤٠/٢٣٣

ns، * و** به‌ترتیب غیر معنی‌دار، معنی‌دار در سطح پنج درصد معنی‌دار در سطح یک درصد

جدول ۲- مقایسه میانگین چند دامنه‌ای دانکن (α=%5) برای صفات اندازه‌گیری شده

ژنوتیپ	طول ساقه	طول سنبله	تعداد سنبلچه	وزن هر سنبله	تعداد دانه سنبله	وزن دانه سنبله	وزن ۱۰۰ دانه	بیوماس
N8019	٤٧/٩٧±٣/١٩^{abc}	١٠/٧٧±١/١٢^{a}	١٧/٦٦±٢/٢٧^{a}	١٦/٩٧±٥/٢٣^{a}	٦٢/٠٩±١٥/٨٥^{a}	٢/٠٩±١/٠٨^{ab}	٣/٢٥±٠/٩^{ab}	٢٥/٦٦±٤/٧٢١^{a}
N8118	٥٣/٤±٠/٧٣٤^{ab}	٧/٨٦±٠/٥٢٧^{c}	١٥/٦٦±٠/٥٨١^{ab}	١٢/٠٨±١/٥٦٣^{a}	٥٤/٠٦±٥/٦٦٢^{a}	١/٩٤±٠/٢٣١^{ab}	٣/٥٩±٠/٠٧٥^{ab}	١٩/٥٤±١/٣٩٠^{a}
تجن	٤١/٨٣±٤/٢٧٥^{cb}	١٠/٣٦±٠/٠٧٣^{a}	١٥/٠٠±١/٢٨٦^{ab}	١٠/٣١±٣/٥٧٩^{a}	٥٠/٤٠±٧/٤٩٤^{a}	١/٧٠±٠/٣٤٦^{ab}	٣/٣٠±٠/٢١٠^{ab}	١٣/٢٤±٤/٣٠٧^{a}
نجن×N8019	٤٩/١١±٢/١٢٢^{abc}	١٠/٣٠±٠/٤٢٢^{ab}	١٦/٧٣±٠/٨٦٧^{ab}	١٥/٠٣±٢/٥١٩^{a}	٦٦/٢٩±٢/١١٦^{a}	٢/٦٢±٠/١٢٠^{a}	٣/٩٥±٠/١٨٧^{a}	٢٠/٨٣±٤/٣٩٨^{a}
زاگرس	٤٥/٢٣±٠/٧٨٣^{bc}	٨/٩٥±٠/٦٦١^{bc}	١٤/٢٢±٠/٨٤٠^{b}	١٢/٠٨±٢/٦٨٦^{a}	٥٠/٠٥±١٠/٨١٧^{a}	١/٤٨±٠/٢٨٧^{b}	٢/٩٨±٠/٠٨٣^{b}	١٩/٧٤±٣/٩٤٨^{a}
زاگرس×N8019	٤٤/٦٠±٣/٦٣٧^{c}	٨/٢٦±٠/٢٧٧^{c}	١٥/٢٠±١/٠٣٩^{ab}	١١/٢٤±١/٠٧٧^{a}	٥٠/٥٠±٤/٦٧٧^{a}	١/٦٧±٠/٢١٧^{ab}	٣/٢٧±٠/١٢٧^{ab}	١٦/٢٨±٢/١٧٧^{a}
زاگرس×N8118	٥٣/٩٤±١/٩٢٤^{a}	٩/٧٨±٠/٣٤٣^{ab}	١٦/٢٩±٠/١٩٩^{ab}	١٠/٩٦±٢/٣٠٠^{a}	٥٨/٠٤±٢/٩٠٧^{a}	١/٩٦±٠/٢٥١^{ab}	٣/٣٩±٠/٤٢٩^{ab}	١٦/٥٠±٣/٣٠٢^{a}

جدول ۳- خصوصیات کمی لکه پروتئینی با بیان افتراقی و مقایسه درصد حجمی آن در الگوی پروتئوم هیبرید و والدین گندم نان بدست آمده از نرم‌افزار Image master 2D platenium

Spot ID	Genotype	pI	MW	Intensity	Area	Vol%	Intensity%	Ratio Vol% Hybrid/ Vol% Zagros	Ratio Vol% Hybrid/ Vol% N8118
1	زاگرس	5.5	23.4	15788	15.4	0.54	0.47	-	-
1	N8118	5.7	23.4	18320	10	0.43	0.60	-	-
1	هیبرید	5.7	23.4	18452	14	0.50	0.77	0.9	1.1

جدول ٤- شناسایی لکه پروتئینی بافت برگ پرچم گیاه از طریق طیف‌سنجی جرمی (MALDI/MS)

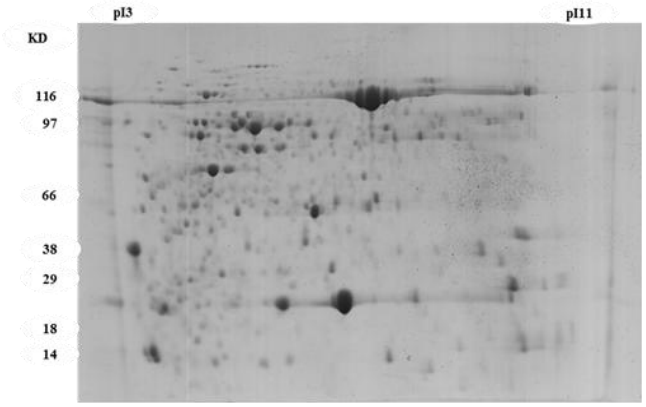
Sample	Database	Accession	MW	Name	Mascot score	Peptides	Sc%	RMS(ppm)	RMS90(ppm)	Rank
1	NCBIplanta	Gil2695939	9.75	Cytochrome b6/f complex	218.0	6	49.5	25.8	25.8	1

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.2.11.3]

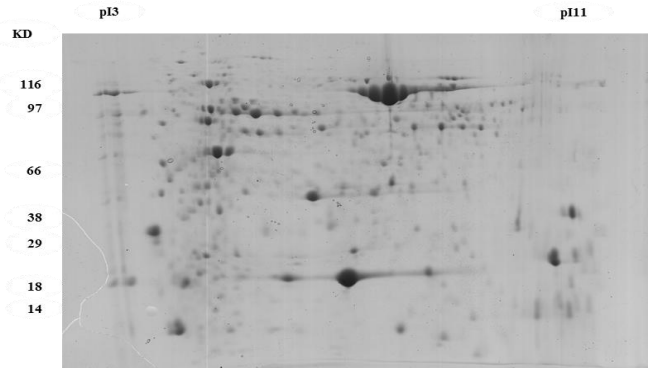
نتایج حاصل از مقایسه میانگین بین ژنوتیپ‌ها نشان داد که بین هیبرید زاگرس *N8118 و والد زاگرس در صفت طول ساقه اختلاف معنی‌داری وجود دارد و بین همین هیبرید و والد N8118 نیز در صفت طول سنبله اختلاف معنی‌داری وجود دارد، این اختلاف معنی‌دار بین هیبرید و والدین بیانگر هتروزیس موجود در این صفات می‌باشد (جدول ۲).

برای شناسایی تفاوت بیان پروتئین‌های مرتبط با پدیده هتروزیس از بافت برگ پرچم در زمان ظهور سنبله کامل نمونه‌گیری به عمل آمد. نقشه پروتئوم (2D-PAGE) گیاهان والد و هیبرید حاصل از آن‌ها به صورت جداگانه با هم مقایسه شدند. لکه‌های تکرارپذیر نقشه پروتئوم هر گروه در دو تکرار بیولوژیک Image master 2D ver.6 (Amersham Biosience) در دو بعد برای خصوصیات pI از محدوده ۳ تا ۱۱ و وزن مولکولی از محدوده ۱۰ تا ۱۰۰ کیلو دالتون قابل مشاهده هستند (شکل‌های ۱ و ۲ و۳). به کمک نرم-افزار Image master 2D و روش استخراج پروتئین استفاده شده در تحقیق تعداد ۱۰۰۰ لکه در ژل دو بعدی ردیابی شد و سپس خصوصیات کمی لکه پروتئینی با بیان افتراقی از جمله درصد حجمی لکه‌ها (V%) که بیانگر میزان بیان پروتئین می‌باشد، به کمک نرم‌افزار در الگوی پروتئوم هیبرید نسبت به والدین محاسبه شد (جدول ۳). مقایسه ژل الکتروفورز حاصل از دو رقم والد زاگرس و N8118 و هیبرید آن‌ها در دو تکرار بیولوژیک به کمک نرم‌افزار نشان داد که یک لکه پروتئینی در ژل دو بعدی رقم والد N8118 و هیبرید با نقطه ایزوالکتریک ۵/۷ قرار گرفته ولی همان لکه پروتئینی در رقم والد زاگرس با نقطه ایزوالکتریک ۵/۵ به طرف pH اسیدی تغییر مکان داده‌است (شکل ٤). نسبت مقایسه میانگین درصدهای حجمی لکه پروتئینی مذکور در سه ژل از طریق آزمون t-student در دو تکرار نشان داد که این لکه‌های پروتئینی از لحاظ میزان بیان پروتئین بین هیبرید و دو والد اختلاف معنی‌داری نداشتند (جدول ۳).

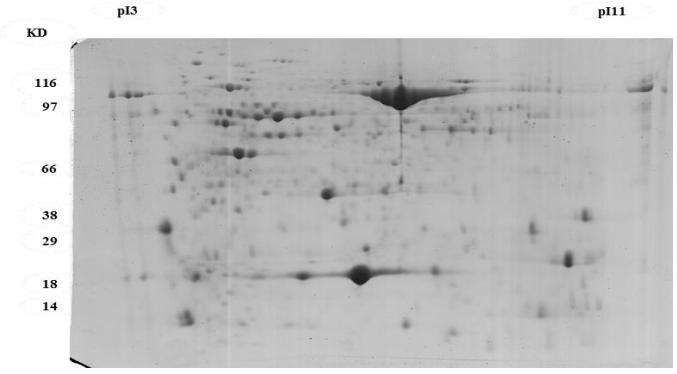
لکه پروتئینی با موقعیت نقطه ایزوالکتریک متفاوت در هیبرید و والدین که در هر مورد دو تکرار بیولوژیک تکرار پذیر بود از هر سه ژل مربوط به هیبرید و والدین جداسازی و از طریق طیف سنجی جرمی به روش MALDI/MS شناسایی شد. قطعات پپتیدی حاصل از طیف‌سنجی جرمی شش قطعه بود که نرم‌افزار Mascot از طریق انگشت‌نگاری جرمی مقایسه شش قطعه پپتیدی حاصل از پروتئین هدف را با تمام پروتئین‌های موجود در بانک اطلاعاتی NCBI انجام داده و با امتیاز ۲۱۸ پروتئین cytochrome b6/f complex شناسایی کرد (جدول ٤). قابل ذکر است که لکه پروتئینی مذکور از هر سه ژل مربوط به هیبرید و والدین در طیف‌سنجی جرمی به‌عنوان پروتئین cytochrome b6/f complex شناسایی شدند.



شکل۱- الگوی پروتئوم بافت برگ در رقم والد زاگرس

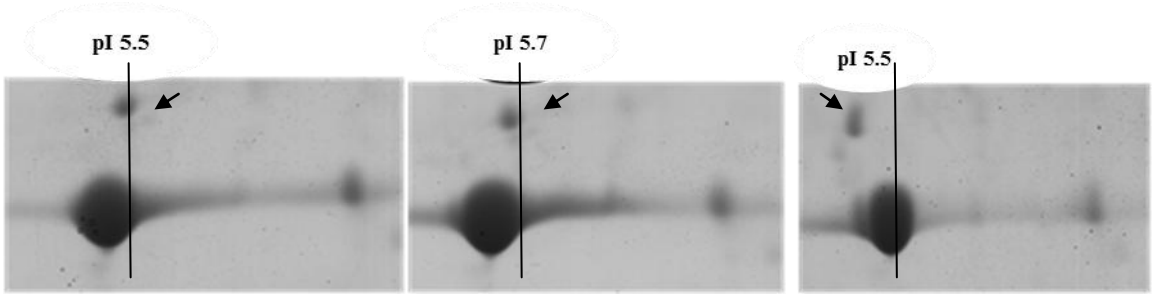


شکل۲- الگوی پروتئوم بافت برگ در رقم والد N8118



شکل۳- الگوی پروتئوم بافت برگ پرچم هیبرید حاصل از N8118 و زاگرس

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.2.11.3]



شکل٤ – مقایسه الگوی پروتئوم بافت برگ در سه رقم زاگرس(سمت راست)، هیبرید (سمت چپ) و N8118 (وسط)

بحث

در این تحقیق، بررسی پدیده هتروزیس به‌صورت مورفولوژیکی در صفات مختلف اندام‌های ریشه و بخش‌های هوایی گیاه صورت گرفت. مقایسه میانگین انجام شده بین ژنوتیپ‌ها نشان داد که بین هیبرید حاصل از تلاقی بین زاگرس وN8118 و والد زاگرس در صفت طول ساقه و بین این هیبرید و والد N8118 در صفت طول سنبله اختلاف معنی‌داری وجود دارد، این اختلاف معنی‌دار بین هیبرید و والدین می تواند بیانگر هتروزیس در این صفات باشد. در تحقیقات قبلی نیز اثر هتروزیس بر روی برخی از صفات گیاه گندم از جمله طول سنبله، تعداد سنبلچه در سنبله، تعداد دانه در سنبله، محصول دانه هر سنبله و بیوماس مشابه نتایج این تحقیق گزارش شده‌است (Sun et al. 2004). هم‌چنین Ramezanpour et al. (2010) اثر هتروزیس در مقاومت به قارچ سپتوریا را در هیبرید برخی ژنوتیپ‌ها نسبت به والدین در گیاه گندم نشان دادند. Sun et al. (2004) در طی بررسی اثر هتروزیس بر روی الگوی ترنسکریپتوم گیاه گندم از طریق تکنیک DDRT-PCR تغییرات بیان ژن‌ها در سطح mRNA در گیاه هیبرید نسبت به والدین را در شش نوع الگو نشان دادند. یکی از این الگوها، بیان بالای ژن در هیبرید و یکی از والدین نسبت به والد دیگر بود که مشابه این نوع الگو در این تحقیق نیز دیده شد با این وصف که به جای الگوی mRNA، الگوی پروتئین آن‌ها در هیبرید نسبت به والدین مقایسه شد و هم‌چنین به جای کاهش و افزایش بیان ژن، موقعیت لکه پروتئینی (cytochrome b6/f complex) از لحاظ نقطه ایزوالکتریک و وزن مولکولی در هیبرید و یکی از والدین مشابه و از والد دیگر متفاوت بود. هم‌چنین قابل ذکر است که به‌دلیل امکان بررسی تغییرات بعد از ترجمه در آزمایشات پروتئومیکس که در آزمایشات ترنسکریپتوم امکان‌پذیر نیست، یک الگوی اضافه هفتم نیز در این تحقیق به‌دست آمد که در این الگو تفاوت لکه‌های پروتئینی نه از لحاظ بیان کاهشی یا افزایشی بلکه از لحاظ موقعیت مکانی مرتبط با نقطه ایزوالکتریک و وزن مولکولی لکه‌ها می‌باشد (Thiellement et al. 2002). پروتئین‌های cyt b6/f و ATP سنتاز جز اجزای کلیدی جهت تولید NADPH و ATP برای تثبیت CO_2 در فتوسنتز می‌باشند. ATP و NADPH تولیدی به‌وسیله واکنش‌های نوری، در چرخه کالوین و چرخه تنفس نوری مورد استفاده قرار می‌گیرند. به‌طوری‌که با کاهش فعالیت cyt b6/f میزان انتقال الکترون در زنجیره تنفس نوری کاهش می‌یابد و با این کاهش، میزان فتوسنتز و عملکرد کاهش خواهد یافت (Price et al. 1995; Ruuska et al. 2000; Von Cammerer et al. 2010). هنوز مکانیسم دقیق مولکولی تنظیم کننده هتروزیس مشخص نیست اما احتمالا کنترل اپیژنتیک مانند متیلاسیون DNA (Finnegan et al. 1998)، استیلاسیون هیستون‌ها (Chen et al. 2000) و دلایل دیگر در این فرآیند دخالت دارد. در صورت افزایش اطلاعات ملکولی در مورد پدیده هتروزیس و در پی آن شناسایی ژن‌های مربوط به آن با کمک روش پروتئومیکس می‌توان پدیده هتروزیس را با دیدگاه ملکولی و مؤثر در پروژه‌های اصلاح واریته‌های گندم با تمرکز بر اکثر صفات زراعی و فیزیولوژیک که پدیده هتروزیس را نشان می‌دهند، وارد کرد.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.2.11.3]

منابع

Yamchi A, Zareie SR, Mirlohi A, Gentzbittel L, Tabatabaei BA, Omidi K 2009. Evaluation of gene expression changes in barrel medic in response to Ralstonia solanacearum. Modern Genetics. 19: 5-26. (In Farsi).

Alam M, Khan M, Nurruzzaman M, Parvez S, Swaraz A, Alam I, Ahsan N (2004) Genetic basis of heterosis and inbreeding depression in rice *(Oriza sativa L.).* Journal of Zhejiang University (Science). 5: 4. 406-411.

Branlard G, Lesage V, Bancel E, Martre P, Méleard B, Rhazi L (2015) Coping with Wheat Quality in a Changing Environment: Proteomics Evidence for Stress Caused by environmental changes. From genome to field. Chapter 28: 255-264.

Brichler J, Donald L, Riddle N (2003) In search of molecular basis of heterosis. Plant cell. 15: 2236-2239.

Candiano G, Bruschi L, Santucci G, Ghiggeri B, Carnemolla P, Orecchia L, Zardi P (2004) Blue silver: a very sensitive colloidal coomassie G-250 staining for proteome analysis. Electrophoresis. 25: 1327-1333.

Chandler V, Vaucheret H (2001) Gene activation and gene silencing. Plant Physiogy. 125: 145-148.

Chinnasamy G, Rampitch C (2006) Efficient solubilization buffers for two dimensional gel electrophoresis of acidic and basic proteins extracted from wheat seeds. Biochimica et Biophysica Acta 1764: 641-644.

Damerval C, devienne M, Zivy H. Thiellement (1986) Technical improvements in two dimensional electrophoresis increase the level of genetic variation detected in wheat-seedling proteins. Electrophoresis. 7: 52-54.

Finnegan E, Genger R, Peacock W, Dennis E (1998) DNA methylation in plants, Annu. Rev. Plant Physiogy. Plant Molecular Biology. 49: 223-247.

Guan W, Ferry N, Edwards M, Bell H, Othman H, Gatehouse J, Gatehouse A (2015) Proteomic analysis shows that stress response proteins are significantly up-regulated in resistant diploid wheat (Triticum monococcum) in response to attack by the grain aphid (Sitobion avenae). Mol Breeding. 35-57.

Gygi SP, Rochon Y, Franza BR, and Aebersold R (1999) Correlation between protein and mRNA abundance in yeast Molecular and Cellular Biology. 19: 1720 -1730.

Hemdane S, Jacobs P, Dornez E, Verspreet J, Delcour J, Courtin C (2015). Wheat (Triticum aestivum L.) Bran in Bread Making: A Critical Review. Comprehensive reviews in food science and food safety.15.

Huang L, Raats D, Sela H, Klymiuk V, Lidzbarsky G, Feng L, Krugman T, Fahima T (2016) Evolution and Adaptation of Wild Emmer Wheat Populations to Biotic and Abiotic Stresses. Phytopathology. 54:279-301.

Kwon S, Seok Bae M, Cho E, Park O (2007) Role of the methionine sulphoxide reductase msrb3 in cold acclimation in arabidopsis. Plant and Cell Physiology 48: 1713-1723.

Munns R (2005) Genes and Salt Tolerence: Bringing them Together. New Phytol. 167: 645-663.

Pandey A, Chakraborty S, Datta A, and Chakraborty N (2008) Proteomics Approach to Identify Dehydration Responsive Nuclear Proteins. Molecular and Cellular Proteomics 4:2437-2447.

Paschold A, Marcon C, Hoecker N, Hochholdinger F (2009) Molecular dissection of heterosis manifestation during early maize root development. Springer 120:383-388.

Price GD, Yu J, Von Cammerer S, Evans JR, Chow WS, Anderson JM, Hurry V, Badger MR (1995) Chloroplast cytochrome b6/f and ATP synthase complexes in tobacco: transformation with antisense RNA against nuclear-encoded transcripts for the Rieske FeS and ATP polypeptides. Plant Physiology 22: 285-297.

Ramezanpour S, Vakili SH, Soltanloo H, Kia SH, Kalate arabi, M 2010. Estimation of combining abilities and heterosis of S.tritici blotch resistance in wheat genotypes. Australian Journal of Crop Science 4: 480-484.

Ruuska SA, Andrews TJ, Badger MR, Von Cammerer S (2000) The role of chloroplast electrone transport and metabolites in modulating Rubisco activity in tobacco: insights from transgenic plants with reduced amounts of cytochrome b6/f complex or glyceraldehydes 3-phosphate dehydrogenase. Plant Physiology 122:491-504.

Salekdeh GH, Siopongco J, Wade L, Ghareyazie B, Bennett J (2002) A proteomic approach to analyzing drought- and salt-responsiveness in rice. Field Crops Research 76:199-219.

Song J, Braun G, Bevis E, Doncaster K.(2006) A simple protocol for protein extraction of recalcitrant fruit tissues suitable for 2-DE and MS analysis. Electrophoresis 27: 3144-3151.

Song X, Ni Z, Yao Y, Xie C, Li Z, Wu H, Zhang Y, Sun Q (2007) Wheat root proteome and differentially expressed root proteins between hybrid and parents. Proteomics 7: 3538-3557.

Sun Q, Wu L, Ni Z, Meng F, Wang Z, Lin Z (2004) Differential gene expression patternes in leaves between hybrids and parental inbreds are correlated with heterosis in wheat diallel cross. Plant science. (166) 652- 657.

Thiellement H, Zivy M, Plomion C (2002) Combining proteomic and genetic studies in plants. Journal of Chromatography 782: 137-149.

Tian Q, Stepaniants SB, Mao M, Weng L, Feetham MC, Doyle M J, Yi EC, Dai HY, Thorsson V, Eng J, Goodlett D, Berger JP, Gunter B, Linseley PS, Stoughton RB, Aebersold R, Collins SJ, Hanlon WA, and Hood LE (2004) Integrated genomic and proteomic analyses of gene expression in mammalian cells. Molecular and Cellular Proteomics 3: 960-969.

Von Cammerer S, Evans JR (2010) Enhancing C3 photosynthesis. Plant Physiology 154:589-592

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.2.11.3]