

القا تغییرات بیان برخی ژن‌های آکوآپورین گیاه گندم (*Triticum aestivum* L.) در پاسخ به همزیستی میکوریز

آرباسکولار

مریم اسداللهی^۱، علیرضا ایرانبخش (نویسنده مسئول)^{۲*}، رحیم احمدوند^۳، مصطفی عبادی^۴ و ایرج مهرگان^۵

۱- دانشجوی دکتری، گروه زیست‌شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران، maryam.asadollahi@yahoo.com

۲- استاد تمام، گروه زیست‌شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران، Iranbakhsh@iau.ac.ir

۳- استادیار، مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران، Ahmadvandra@gmail.com

۴- استادیار، گروه زیست‌شناسی، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران، mtf.ebadi@gmail.com

۵- دانشیار، گروه زیست‌شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران، imehregan@gmail.com

تاریخ دریافت: شهریور ۱۴۰۲ تاریخ پذیرش: آبان ۱۴۰۲

Variations in the transcription of wheat aquaporins in response to arbuscular mycorrhizal symbiosis

Maryam Asadolahi¹, Alireza Iranbakhsh (Corresponding author)^{2*}, Rahim Ahmadvand³, Mostafa Ebadi³ and Iraj Mehregan⁵

1- Ph.D student, Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran, maryam.asadollahi@yahoo.com

2*- Professor, Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran, Iranbakhsh@iau.ac.ir

3- Assistant Professor, Department of Vegetables Research, Seed and Plant Improvement Institute, Agricultural Research, Education & Extension Organization, Karaj, Iran, Ahmadvandra@gmail.com

4- Assistant Professor, Department of Biology, Damghan Branch, Islamic Azad University, Damghan, Iran, mtf.ebadi@gmail.com

5- Associated Professor, Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran, imehregan@gmail.com

Received: September 2023

Accepted: November 2023

Aquaporins exist in almost all living organisms and play a role in regulating various physiological phenomena. Aquaporins (AQP) are not only water channels but also multifunctional membrane proteins. This study was conducted to investigate the effect of arbuscular mycorrhizal symbiosis on the expressions of some aquaporin genes in wheat plants. The expression of several aquaporins, including PIP2-6, PIP2-1, PIP2-5, PIP1-3, NIP1-3, and NIP1-4 in response to the symbiosis of wheat roots with *Glomus mosseae* fungus was evaluated by real-time PCR method. Mycorrhizal symbiosis down-regulated the expression of PIP2-6 and PIP2-1 genes. In response to the mycorrhizal symbiosis, the expression of PIP2-5 and PIP1-3 genes also showed a similar down-regulation trend compared with the control. In contrary, mycorrhizal symbiosis up-regulated the expression of NIP1-3 and NIP1-4 genes in response to the mycorrhizal symbiosis. Statistical analysis also showed that there is a significant correlation between the expressions of the genes evaluated. There was a significant positive correlation between NIP1-3 and NIP1-4 genes, while they displayed a significant negative correlation with other target genes. There was a significant positive correlation between PIP2-6, PIP2-1, PIP2-5, and PIP1-3 genes. These results indicate that the effect of mycorrhiza can vary depending on the type of mycorrhiza.

Keywords: Aquaporins, Mycorrhiza, Symbiosis, Water transport, Wheat

چکیده

آکوآپورین‌ها تقریباً در تمام موجودات زنده وجود داشته و در تنظیم پدیده‌های مختلف فیزیولوژیکی نقش دارند. آکوآپورین‌ها (AQP) فقط کانال‌های آب نیستند بلکه پروتئین‌های غشایی چند منظوره هستند. این تحقیق به منظور بررسی بیان برخی ژن‌های آکوآپورین در گیاه گندم شامل ژن‌های *PIP2-6*، *PIP2-1*، *PIP2-5*، *PIP1-3*، *NIP1-3* و *NIP1-4* در پاسخ به همزیستی ریشه گیاه گندم با قارچ *Glomus mosseae* انجام شد. نتایج نشان داد که همزیستی میکوریزایی موجب کاهش بیان ژن‌های آکوآپورین *PIP2-6* و *PIP2-1* شد. در پاسخ به همزیستی میکوریزایی، بیان ژن‌های *PIP2-5* و *PIP1-3* نیز روند کاهش مشابهی را نسبت به شاهد نشان دادند. برخلاف این ژن‌ها، همزیستی میکوریزایی اثرات تنظیمی تحریکی را بر بیان ژن‌های *NIP1-3* و *NIP1-4* در پاسخ به همزیستی میکوریزایی داشت. همچنین بررسی‌های آماری نشان داد که بین بیان ژن‌های مورد ارزیابی همبستگی معنی‌داری وجود داشته به‌طوری‌که بین ژن‌های *NIP1-3* و *NIP1-4* همبستگی معنی‌دار مثبت وجود داشته درحالی‌که بین این ژن‌ها و سایر ژن‌های مورد ارزیابی همبستگی منفی معنی‌داری وجود داشت. بین ژن‌های *PIP2-6*، *PIP2-1*، *PIP2-5*، *PIP1-3* همبستگی قوی مثبت معنی‌داری وجود داشت. این نتایج دلالت بر آن دارد که اثر میکوریزا بسته به نوع میکوریزا می‌تواند متغیر باشد.

کلمات کلیدی: انتقال آب، آکوآپورین، گندم، میکوریزا، همزیستی

فصلنامه گیاه و زیست فناوری ایران

سال ۱۴۰۲، دوره ۱۸، شماره ۴، صص ۱-۱۱

مقدمه و کلیات

واسطه کنند و با القای ایمنی ایجاد شده توسط الگوی مولکولی مرتبط با پاتوزن (PAMP) و مقاومت اکتسابی سیستمیک (SAR) و به دنبال آن واکنش های دفاعی پایین دست، به فعال شدن سیستم دفاع گیاهی کمک کنند (Li et al., 2020). ساختار آکوپورین ها پروتئین های غشایی کوچکی با وزن مولکولی ۲۱-۳۲ کیلو دالتون شامل شش مارپیچ α هستند که بسیار حفاظت شده اند. هر دو انتهای ترمینال N و C آکوپورین ها به سمت سیتوپلاسمی غشاء قرار می گیرند (Zhang et al., 2019; Singh et al., 2020). آکوپورین های گیاهی بر اساس همسانی توالی و تا حدودی بخش بندی غشای درون سلولی خود به پنج زیرخانواده اصلی طبقه بندی می شوند. این تیپ های مختلف عبارتند از پروتئین های ذاتی غشای پلاسمایی (PIPs)، پروتئین های ذاتی تونوپلاست (TIPs)، سه پروتئین های شبه ندولین ۲۶ (NIPs)، پروتئین های ذاتی اساسی کوچک (SIPs) و پروتئین های ذاتی نامشخص (XIPs). زیرخانواده های آکوپورین PIP، TIP، NIP و SIP، در همه گیاهان خشکی زی گسترده هستند، با این حال زیرخانواده XIP در گیاهان آوندی پایین تر و همچنین در انواع گیاهان عالی آوندی گزارش شده است، اما در تک لپه ای ها و Brassicaceae وجود ندارد. PIP ها را می توان بیشتر به دو گروه طبقه بندی کرد، PIP1 که کانال آب غیرفعال یا کم کارآمد است و PIP2 که بازده کانال آب بیشتری را نشان می دهد (Zhang et al., 2019). به طور مشابه، ایزوفرم های آلفا، بتا، گاما و دلتا در میان انواع TIP ها در گیاهان رایج ترین

آب جزء ضروری هر سیستم بیولوژیکی است. گیاهان از طریق ریشه آب را از زمین جذب می کنند و در سراسر گیاه پخش می کنند. نیروی محرکه جذب آب و حرکت رو به بالا در گیاهان، تفاوت پتانسیل آب است. آکوپورین ها تقریباً در تمام موجودات زنده وجود داشته و در تنظیم پدیده های مختلف فیزیولوژیکی نقش دارند. آکوپورین ها (AQP) فقط کانال های آب نیستند بلکه پروتئین های غشایی چند منظوره هستند. جدا از انتقال آب، آن ها در تبادل گازهایی مانند O_2 و CO_2 و انتقال املاح کوچک مانند اوره، گلیسرول، NH_3 ، ریز مغذی ها از جمله سیلیکون (Si)، بور (B) یا گونه های اکسیژن فعال (ROS) نقش دارند (Singh et al., 2020). برخی از کانال ها قابلیت انتقال آب بیشتری دارند، برخی فعالیت کانال آب ذاتی ضعیفی را نشان می دهند، و برخی به شدت تنظیم شده اند، که نیاز به فعال سازی با مکانیسم های راه اندازی مختلف دارند. نقش آکوپورین ها در بهبود رشد و سازگاری گیاهان زراعی تحت تنش خشکی حائز اهمیت است (Ahmed et al., 2021; Zhang et al., 2019). AQP ها کانال هایی را تشکیل می دهد و انتقال آب را به داخل و خارج سلول ها کنترل می کند و با مکانیسم های تحمل به خشکی مرتبط است. شواهد رو به رشدی اکنون نشان می دهد که AQP ها تنظیم کننده های مهم برهم کنش گیاه و بیماری زا هستند، که در نهایت منجر به ایمنی گیاه یا بیماری زایی پاتوزن می شوند. در گیاهان، AQP ها می توانند انتقال H_2O_2 را از طریق غشای پلاسمایی

هستند. تنوع بیشتر آکوپورین‌ها در گیاهان نشان دهنده پویایی عملکرد غشای سلول گیاهی است (Singh *et al.*, 2020; Patel and Mishra, 2021). قارچ‌های میکوریزا آربوسکولار (AMF) عمدتاً در ریزوسفر گیاه قرار داشته و می‌توانند با ریشه‌های اکثر گیاهان رابطه همزیستی برقرار کنند (Zou *et al.*, 2019)، که در این رابطه همزیستی گیاهان میزبان قند و لیپید را برای تکثیر هاگ و تکمیل چرخه زندگی خود تامین کرده (Keymer and Gutjahr, 2018) و AMF جذب مواد مغذی و آب گیاهان میزبان را بهبود می‌بخشد (Cavagnaro *et al.*, 2015; Basu *et al.*, 2018). در مطالعات مختلفی گزارش شده که میکوریزاها نقش مهمی در تغذیه و رشد گیاه در شرایط تنش دارند و تعدادی از فرآیندهای ضروری اکوسیستم را تقویت می‌کنند (Diagne *et al.*, 2020; Boyno and Demir, 2022). مطالعات قبلی تأثیر مثبت میکوریز آرباسکولار را بر افزایش تحمل به خشکی گیاهان میزبان از طریق سازگاری مورفولوژیکی، پاسخ‌های فیزیولوژیکی در تنظیم اسمزی، جذب مواد مغذی و آب، سیستم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانی و تنظیم مولکولی ژن‌های مختلف از جمله آکوپورین (AQP) را تایید کرده بودند (Zhang *et al.*, 2019). آکوپورین‌ها (AQPs) ناقلین مهمی هستند که در انتقال آب و مولکول‌های کوچک دخیل بوده و به تنش‌های محیطی پاسخ می‌دهند (Zou *et al.*, 2021). به عنوان مثال، الگوهای رونویسی افتراقی آکوپورین‌ها در پاسخ به تنش‌های مختلف مثل خشکی (Yepes-Molina *et al.*, 2021) و شوری (Xu *et al.*, 2020; Shivaraj *et al.*, 2021) گزارش شده است. این فرضیه مطرح شده است که آکوپورین‌ها در برهمکنش‌های گیاه-میکروب دخالت دارند (Wang *et al.*, 2018). شواهد محدودی وجود دارد که چگونه قارچ‌های میکوریزی آربوسکولار (AMF) بیان AQP‌ها را تنظیم می‌کنند (Zou *et al.*, 2021). تحقیقات قبلی دلالت بر آن دارند که برخی از ژن‌های آکوپورین توسط تلقیح میکوریزی تنظیم شدند (Uehlein *et al.*, 2007; He *et al.*, 2016; Quiroga *et al.*, 2017, 2019). گزارش شده است که چندین ژن آکوپورین در گونه‌های گیاهی مختلف مانند *Populus canadensis* (Liu *et al.*, 2016)، ذرت (*Bárzana et al.*, 2014)، گوجه فرنگی (Chitarra *et al.*, 2016)، *Robinia pseudoacacia* (He *et al.*, 2016)، *Trifoliate orange* (Jia-Dong *et al.*, 2016) و *Poncirus trifoliata* (Zou *et al.*, 2019) در پاسخ به میکوریزا تغییر بیان دارند. شواهد مولکولی کمی وجود دارد که پاسخ دهنده به این سوال باشند که آیا همزیستی میکوریز بر سطوح بیان ژن‌های AQPs در گیاهان میکوریزی تأثیر دارد. در این تحقیق اثر همزیستی میکوریزی را بر بیان چند ژن آکوپورین در گیاه گندم (*Triticum aestivum* L.) به عنوان یک محصول مهم استراتژیک در امنیت غذایی جهان مورد ارزیابی قرار گرفت.

فرآیند پژوهش

بدور گندم رقم چمران مورد نیاز از موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج تهیه شد. پس از استریل سطحی توسط هیپوکلریت سدیم ۱ درصد

در پاسخ به همزیستی میکوریز آرباسکولار ۳

بررسی بیان برخی ژن های آکواپورین: در مرحله اول RNA از ریشه با کیت اختصاصی استخراج شد. رونویسی معکوس نمونه های RNA با استفاده از کیت سنتز cDNA First Strand (Thermo Scientific) براساس روش کارخانه سازنده انجام شد. cDNA با استفاده از سیستم رونویسی معکوس GoScript™ (Promega) با سه تکرار بیولوژیکی مستقل سنتز شد. توالی های پرایمری برای ژن اکواپورین PIP2-6 (LOC119353002) به ترتیب شامل TCAGGAGCAACGCGTAACAA و CCAACCACGTACTCGCACTA بود. توالی های AAGGACGAGGTGATGGAGAC و CTGGTGCTTGTACCCGATG توالی های طراحی شده برای ژن اکواپورین PIP2-1 (LOC119363263) بود. توالی های پرایمری و CTCGTCTACACCGTCTTCTCC و AAAGCTCCTTGCTGGGTTG مربوط به ژن PIP2-5 (LOC119355838) بود. و GCTTTGGAGGAAGGAAGAGG و CGGCGAAGATGAGGAAGTAG برای بررسی الگوی بیان ژن NIP1-3 (LOC119330947) طراحی شد. GACTCCGCTTACACGAATGG و GGCGAACAGCAAGAAGAATG توالی های پرایمرهای ژن هدف NIP1-4 (LOC119328472) است. AAGAGGAACGCCAGGGACT و GATCGCTCTGATGACCACCT توالی پرایمر طراحی شده جهت مطالعه الگوی بیان ژن PIP1-3 (LOC119365235) بود. ژن 3-Phosphate Dehydrogenase (GAPDH) با توالی های پرایمری

(NaClO) به مدت ۲۰ دقیقه، بذور در آب مقطر شسته شده و یک شب در تاریکی در دمای اتاق در ظروف پتری خیس شدند. بذور جوانه زده در گلدان های حاوی با مخلوط شن و ماسه کوارتز استریل و خاک (۱:۳ v/v) با ویژگی های اولیه حاصلخیزی زیر کشت شدند، خاک مورد استفاده دارای بافت: ۴۸/۷ درصد سیلت، ۳۵/۵ درصد ماسه، ۱۵/۴ درصد خاک رس و ۰/۵ درصد مواد آلی شامل: نترات ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم، آمونیوم ۲ میلی گرم بر کیلوگرم، فسفر موجود ۹ میلی گرم بر کیلوگرم، پتاسیم موجود ۲۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم کیلوگرم و مواد آلی ۹.۳ گرم بر کیلوگرم. مایه تلقیح قارچ میکوریزا ارباسکولار گونه *Glomus mosseae* تهیه شده از گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی دانشگاه رفسنجان، ایران استفاده شد. برای اعمال تیمار میکوریزا، ۱۰۰ گرم مایه تلقیح به ۵۰ درصد گلدان ها اضافه شد. هر تیمار دارای چهار تکرار با دو گلدان برای هر تکرار بود. دانه رست ها در یک اتاق رشد با شرایط دمایی ۲۵ درجه سانتیگراد / ۱۷ درجه سانتیگراد (روز / شب)، رطوبت ۴۰ درصد، و ۱۶ ساعت روشنایی و سپس ۸ ساعت تاریکی نگهداری شدند.

تعیین درصد کلونیزاسیون ریشه توسط میکوریزا: برای بررسی تشکیل همزیستی میکوریزی، ابتدا قطعات حدود ۱ سانتی متری ریشه را تهیه و با مراحل رنگ آمیزی و در نهایت درصد کلونیزاسیون با مشاهده نمونه ها توسط میکروسکوپ نوری تعیین شد (Schenck et al., 1982). برای رنگ آمیزی از رنگ لاکتوفنل کاتن بلو استفاده شد.

القا تغییرات بیان برخی ژن‌های آکوپورین گیاه گندم (*Triticum aestivum* L.) در پاسخ به همزیستی میکوریز آرباسکولار ۵

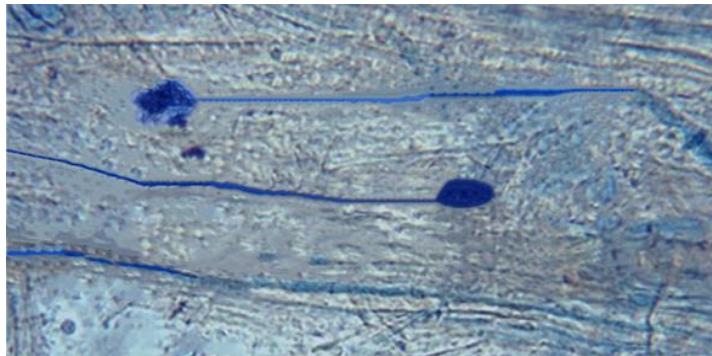
نتایج و بحث

مطالعه میکروسکوپی تشکیل همزیستی میکوریزایی را در روی ریشه گندم تایید کرد (شکل ۱). نتایج آزمایشات بیان ژن نشان داد که همزیستی میکوریزایی موجب کاهش بیان ژن‌های آکوپورین PIP2-6 (شکل 2a) و PIP2-1 (شکل 2b) می‌شود. این دو ژن روند کاهش مشابهی را نسبت به شاهد نشان دادند. در پاسخ به همزیستی میکوریزایی، بیان ژن‌های PIP2-5 (شکل 3a) و PIP1-3 (شکل 3b) نیز روند کاهش مشابهی را نسبت به شاهد نشان دادند. اما همزیستی میکوریزایی اثرات تنظیمی تحریکی را بر بیان ژن‌های NIP1-3 (شکل 4a) و NIP1-4 (شکل 4b) در پاسخ به همزیستی میکوریزایی داشته و باعث افزایش بیان این ژن‌ها در مقایسه با شاهد شد. بررسی‌های آماری نشان داد که بین بیان ژن‌های مورد ارزیابی همبستگی معنی داری وجود دارد. بین ژن‌های NIP1-3 و NIP1-4 همبستگی معنی دار مثبت وجود داشته درحالی‌که بین این ژن‌ها و سایر ژن‌های مورد ارزیابی همبستگی منفی معنی داری وجود داشت. همچنین بین ژن‌های PIP2-6, PIP2-1, PIP2-5, PIP1-3 معنی داری وجود داشت (شکل ۵).

CGCCTGGTTCATGTTAGTTGG و

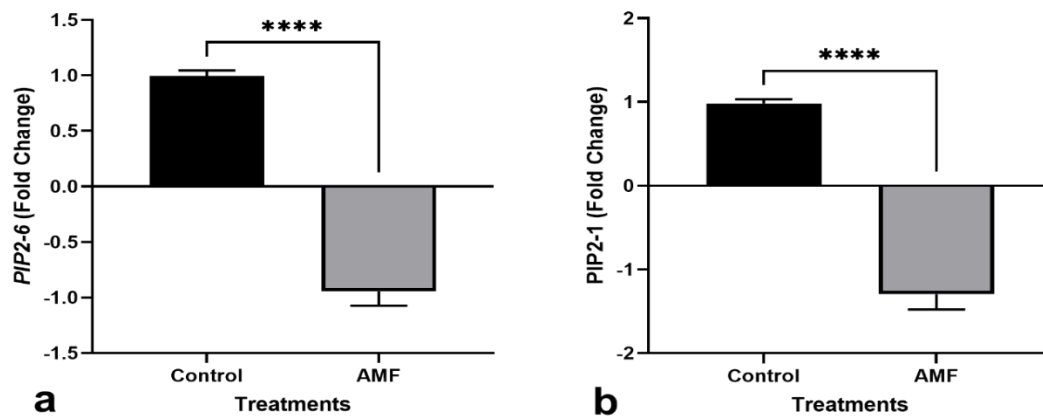
GCCCCACAGAAAGGAAGAGAA به عنوان ژن کنترل انتخاب شد. واکنش‌های RT-qPCR روی یک سیستم PCR StepOne (Applied Biosystems, Hercules, CA, USA) با استفاده از SYBR Green 2x Master Mix (Ampliqon) هر مخلوط واکنش ۱۵ میکرولیتر شامل ۱.۵ میکرولیتر cDNA رشته اول، ۳ میکرولیتر از هر پرایمر و ۷.۵ میکرولیتر SYBR Green Master Mix بود. هر اجرا نیز همراه با کنترل منفی انجام شد. برنامه PCR شامل دناتوره سازی اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتیگراد به مدت ۵ دقیقه، ۴۰ سیکل دناتوراسیون در دمای ۹۲ درجه سانتیگراد به مدت ۴۵ ثانیه، اتصال در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد به مدت ۴۵ ثانیه و گسترش در دمای ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۴۵ ثانیه بود. تجزیه و تحلیل منحنی ذوب برای تأیید ویژگی همه محصولات با افزایش دما از ۶۰ درجه سانتیگراد به ۹۵ درجه سانتیگراد استفاده شد. برای برآورد بیان کمی ژن از روش کمی نسبی و فرمول $2^{-\Delta\Delta Ct}$ استفاده شد.

آنالیز آماری اطلاعات: این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. داده‌ها با استفاده از نرم افزار GraphPad مورد مقایسه آماری قرار گرفتند.



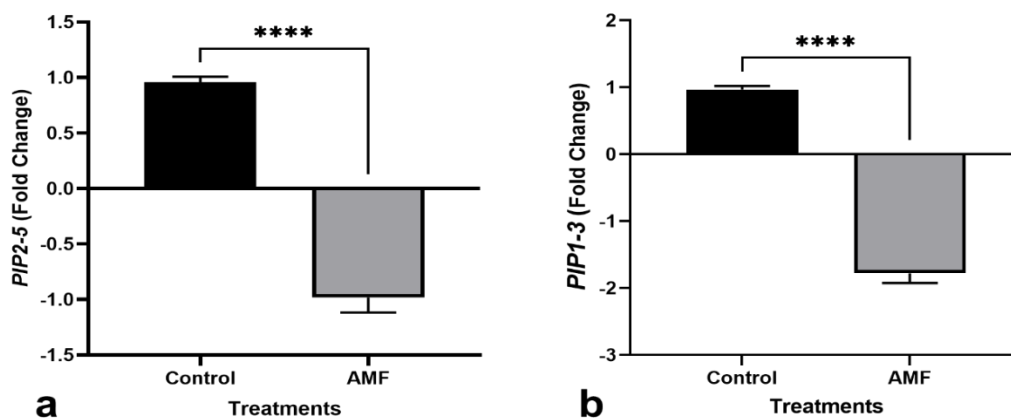
شکل ۱- کلونیزاسیون ریشه گندم با میکوریزا

Fig 1- mycorrhizal colonization of wheat root



شکل ۲- اثر همزیستی میکوریزا بر بیان ژن های (a) PIP2-6 و (b) PIP2-1

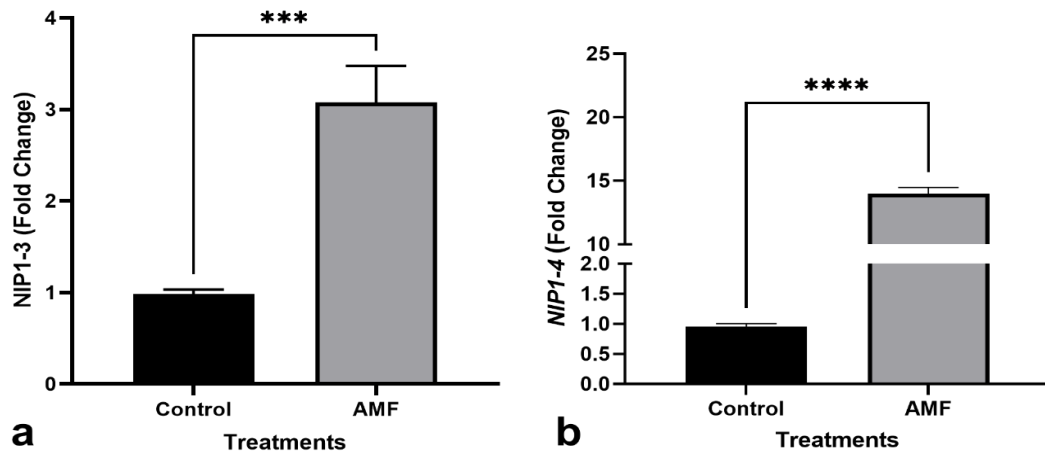
Fig 2- effect of mycorrhizal symbiosis on expression of PIP2-6 (a) and PIP2-1 (b) genes



شکل ۳- تغییر در بیان ژن های (a) PIP2-5 و (b) PIP1-3 در پاسخ به همزیستی میکوریزایی

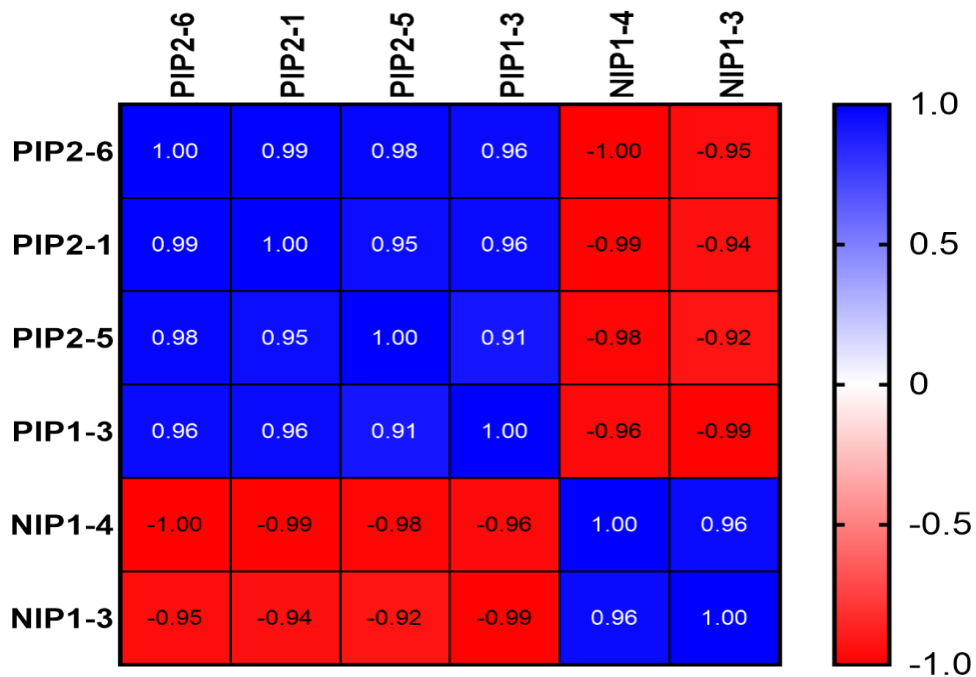
Fig 3- changes in expression of PIP2-5 (a) and PIP1-3 (b) genes in response to the mycorrhizal symbiosis

الفا تغییرات بیان برخی ژن‌های آکوپورین گیاه گندم (*Triticum aestivum* L.) در پاسخ به همزیستی میکوریز آرباسکولار ۷



شکل ۴- تغییر در بیان ژن‌های (a) NIP1-3 و (b) NIP1-4 در پاسخ به همزیستی میکوریزایی

Fig 4- changes in expression of *NIP1-4* (a) and *NIP1-3* (b) genes in response to the mycorrhizal symbiosis



شکل ۵- نقشه حرارتی ماتریکس همبستگی

Fig 5- heatmap correlation matrix

شد (Quiroga *et al.*, 2019). تغییرات در بیان آکوپورین های ریشه در پاسخ به کلونیزاسیون میکوریزایی، منعکس کننده تغییر اساسی در انتقال آب است (Watts-Williams *et al.*, 2019). در واقع، هیف های میکوریزا به طور مستقیم در جذب آب توسط گیاهان میزبان تحت شرایط تنش خشکی شرکت می کنند، که نشان دهنده وضعیت آبی بهتر در گیاهان میزبان است (Zhang *et al.*, 2018). بهبود وضعیت آبی گیاه در شرایط همزیستی گیاه با میکوریزا دلیل مشاهده تنظیم کاهشی در بیان ژن های آکوپورین ذکر شده است (Watts-Williams *et al.*, 2019). نتایج مطالعه Zou و همکاران (۲۰۱۹) نشان داد که قارچ های میکوریز (*Funneliformis mosseae*) تاثیر معنی دار زیادی بر بیان ژن های آکوپورین نداشت و نتیجه گیری شد که میکوریزا ممکن است به توانایی گیاه برای تحمل تنش خشکی با مکانیسم هایی کمک کنند، بدون اینکه بیان ژن های کلیدی دخیل در انتقال آب را تغییر دهند. این مطالعه نشان داد که گیاهان میکوریزی سرعت جذب آب هیف بالاتری داشتند و عملکرد رشد بهتر، وضعیت آب برگ و تبادل گاز را در هر دو شرایط نرمال و خشکی نشان دادند. تلقیح میکوریزا الگوهای بیان متنوعی را در ژن های پروتئین های ذاتی غشای پلاسما و ژن های پروتئین های ذاتی مانند nodulin-26 در شرایط عادی ایجاد کرد، اما بیان را در شرایط خشکی کاهش داد تا از دست دادن آب به حداقل برسد (Zou *et al.*, 2019). با این حال، تحقیقات بیشتری برای درک کامل اثرات همزیستی میکوریزا بر بیان آکوپورین در سایر گونه های گیاهی و در

نتایج این تحقیق نشان داد که همزیستی میکوریزایی موجب تغییر معنی دار در بیان ژن های آکوپورین می-شود. همچنین مشخص شد که همزیستی میکوریزایی اثر منفی بر بیان آکوپورین های نوع PIPs داشته درحالی که اثر مثبت تحریکی بر افزایش بیان آکوپورین های تیپ NIPs داشت. این نتایج دلالت بر آن دارد که اثر میکوریزا بسته به نوع تیپ میکوریزا می تواند متغیر باشد. تحقیقات قبلی دلالت بر آن دارند که برخی از ژن های آکوپورین توسط تلقیح میکوریزایی تنظیم شدند (Uehlein *et al.*, 2007; He *et al.*, 2016; Quiroga *et al.*, 2017, 2019). Uehlein و همکاران (۲۰۰۷) بیان تنظیم شده MtNIP1 و MtPIP2;1 را در گیاه یونجه (*Medicago truncatula*) تلقیح شده با *Funneliformis mosseae* در شرایط آبیاری کافی گزارش کرد. بیان ژن RpTIP1;1 توسط *Rhizoglomus irregularis* در گیاهان *pseudoacacia* تحت آبیاری القا شد، اما تحت شرایط تنش خشکی بیان آن کاهش یافت (He *et al.*, 2016). Quiroga و همکاران (۲۰۱۷) بیان القایی ZmTIP4;1 توسط کلونیزاسیون میکوریزا را در هر دو رقم ذرت حساس و متحمل به خشکی گزارش کرد و همچنین به این نتیجه رسید که تلقیح میکوریزا به طور کلی بیان AQPs را در ارقام حساس به خشکی نسبت به ارقام متحمل به خشکی کاهش می دهد. در ذرت، ژن های ZmPIP2; 2 و ZmPIP2; 6 در پاسخ به میکوریزا و سطح آبیاری متفاوت رفتار می کنند به نحوی که در شرایط آبیاری مناسب بیان کاهشی و در شرایط تنش خشکی بیان افزایشی ثبت

القا تغییرات بیان برخی ژن‌های آکوپورین گیاه گندم (*Triticum aestivum* L.) در پاسخ به همزیستی میکوریز آرباسکولار ۹

فعال به ویژه پراکسید هیدروژن است. در بین کلاس‌های مختلف آکوپورین‌ها، PIPs و TIPs در انتشار H_2O_2 از سلول به سلول نقش دارند. آکوپورین‌ها ابزاری برای انتشار H_2O_2 در سلول‌ها هستند، بیان آنها توسط خود ROS کاهش می‌یابد (Sorrentino *et al.*, 2022). TIP1;1 و TIP1;2 به عنوان ناقل H_2O_2 در گیاهان شناخته شده هستند. در مقابل، بیان بیش از حد TsTIP1;2 گیاه *Thellungiella salsuginea* به بهبود تحمل اکسیداتیو و کاهش H_2O_2 در سلول‌های برگ آراییدوپسیس تراریخته نسبت داده شد (Wang *et al.*, 2014). AtPIP1;2 حرکت آب و H_2O_2 را به داخل سلول‌های نگهبان برای القای بسته شدن روزنه ناشی از ABA و پاتوژن تسهیل می‌کند (Rodrigues *et al.*, 2017). برخی از آکوپورین‌ها (AQPs) می‌توانند H_2O_2 را در سراسر غشاها انتقال دهند و به سیگنال‌های ردوکس اجازه می‌دهند در داخل و بین سلول‌ها حرکت کنند. AQP11 شبکه آندوپلاسمی (ER) می‌تواند H_2O_2 را به سیتوزول هدایت کند (Sorrentino *et al.*, 2022). بنابراین به نظر می‌رسد که میکوریزا از طریق برهمکنش آکوپورین‌ها و سیگنالینگ پراکسید هیدروژن می‌تواند بیان سایر ژن‌های آکوپورین و پاسخ‌های مقاومت به تنش‌ها را تحت تاثیر قرار دهد.

نتیجه‌گیری کلی

در این تحقیق، بیان برخی ژن‌های آکوپورین در گیاه گندم در پاسخ به همزیستی ریشه گیاه گندم با قارچ *Glomus mosseae* توسط real-time PCR مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج این تحقیق نشان داد که

شرایط مختلف محیطی مورد نیاز است. مطالعه ای نشان داد که دو سویه قارچ میکوریزا اثرات متفاوتی بر تنظیم آکوپورین‌ها و ناقلان کاتیونی در ارقام کاهو دارند که می‌تواند پیامدهایی برای رشد گیاه و تحمل به نمک داشته باشد (Santander *et al.*, 2021). آکوپورین‌های PIP2 به طور متفاوت توسط هر دو قارچ AM تنظیم شدند. رشد گیاه بهبود یافته به دلیل افزایش فراوانی PIP2 و همچنین با تنظیم مثبت بیان ژن LsaNHX که به طور همزمان تغذیه گیاه و حفظ هموستاز K^+/Na^+ را بهبود می‌بخشد، ارتباط نزدیکی با وضعیت آب بیشتر داشت (Santander *et al.*, 2021). مطالعه انجام شده توسط Quiroga و همکاران (۲۰۲۰) درباره نقش همزیستی آربوسکولار میکوریزا (AM) با گیاه ذرت بر بیان ژن‌های آکوپورین و انتقال آمونیوم و اوره تحت شرایط تنش خشکی انجام شد. نتایج این مطالعه نشان داد که تنش خشکی منجر به افزایش بیان ژن‌های آکوپورین می‌شود و نتیجه‌گیری شد که این ژن‌ها ممکن است در تنظیم انتقال آب در پاسخ به کمبود آب نقش داشته باشند. Jia-Dong و همکاران (۲۰۱۹) گزارش کردند که همزیستی میکوریزایی اثرات متفاوتی بر بیان انواع آکوپورین‌ها داشت. گیاهان همزیست با میکوریزا سطوح بیان بیشتری از ژن‌های PtTIP1;2، PtTIP1;3 و PtTIP4;1 و سطوح بیان پایین‌تر PtTIP2;1 و PtTIP5;1 در ریشه را نشان دادند. آن‌ها نتیجه گرفتند که تیپ‌های ریشه پاسخ‌های متنوعی به میکوریزه شدن نشان می‌دهند، که نشان‌دهنده نقش‌های متعدد AMF در جذب آب در شرایط تنش خشکی است. مسئله دیگری که باید مورد توجه قرار گیرد، نقش آکوپورین‌ها در سیگنالینگ انواع اکسیژن

- in biotic and abiotic stressed regulation. *Diversity*, 12(10), p.370.
- 7) He, F., Zhang, H. and M, Tang. 2016. Aquaporin gene expression and physiological responses of *Robinia pseudoacacia* L. to the mycorrhizal fungus *Rhizophagus irregularis* and drought stress. *Mycorrhiza*, 26: 311-323.
 - 8) Jia-Dong, H., Tao, D., Hui-Hui, W., Ying-Ning, Z., Qiang-Sheng, W. and K, Kamil. 2019. Mycorrhizas induce diverse responses of root TIP aquaporin gene expression to drought stress in trifoliolate orange. *Scientia Horticulturae*, 243: 64-69.
 - 9) Keymer, A. and C, Gutjahr. 2018. Cross-kingdom lipid transfer in arbuscular mycorrhiza symbiosis and beyond. *Current Opinion in Plant Biology*, 44:137-144.
 - 10) Li, G., Chen, T., Zhang, Z., Li, B. and S, Tian. 2020. Roles of aquaporins in plant-pathogen interaction. *Plants*, 9(9): 1134.
 - 11) Liu, T., Li, Z., Hui, C., Tang, M. and H, Zhang. 2016. Effect of *Rhizophagus irregularis* on osmotic adjustment, antioxidation and aquaporin PIP genes expression of *Populus× canadensis* 'Neva' under drought stress. *Acta Physiol Plant*, 38(8): 191.
 - 12) Patel, J. and A, Mishra. 2021. Plant aquaporins alleviate drought tolerance in plants by modulating cellular biochemistry, root-architecture and photosynthesis. *Physiologia Plantarum*, 172(2): 1030-1044.
 - 13) Quiroga, G., Erice, G., Aroca, R., Chaumont, F. and J.M, Ruiz-Lozano. 2017. Enhanced drought stress tolerance by the arbuscular mycorrhizal symbiosis in a drought-sensitive maize cultivar is related to a broader and differential regulation of host plant aquaporins than in a drought-tolerant cultivar. *Frontiers in plant science*, 8: 1056.
 - 14) Quiroga, G., Erice, G., Ding, L., Chaumont, F., Aroca, R. and J.M, Ruiz-Lozano. 2019. The arbuscular mycorrhizal symbiosis regulates aquaporins activity and improves root cell water permeability
- همزیستی میکوریزایی موجب کاهش بیان ژن‌های آکوآپورین *PIP2-6* و *PIP2-1* شد. بیان ژن‌های *PIP2-5* و *PIP1-3* نیز روند کاهش مشابهی را نشان دادند. برخلاف این ۴ ژن، همزیستی میکوریزایی اثرات تنظیمی تحریکی را بر بیان ژن‌های *NIP1-3* و *NIP1-4* در پاسخ به همزیستی میکوریزایی داشت. این نتایج دلالت بر آن دارد که اثر میکوریزا بسته به نوع میکوریزا می‌تواند متغیر باشد. با توجه به تنوع بالای آکوآپورین‌ها، اعضای آکوآپورینی بیشتری تحت شرایط آبیاری مختلف و گونه‌های مختلف باید تحقیقات آتی مورد مطالعه و بررسی قرار گیرد.
- منابع
- 1) Ahmed, S., Kouser, S., Asgher, M. and S.G, Gandhi. 2021. Plant aquaporins: A frontward to make crop plants drought resistant. *Physiologia Plantarum*, 172(2): 1089-1105.
 - 2) Basu, S., Rabara, R.C. and S, Negi. 2018. AMF: The future prospect for sustainable agriculture. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 102: 36-45.
 - 3) Boyno, G. and S, Demir. 2022. Plant-mycorrhiza communication and mycorrhizae in inter-plant communication. *Symbiosis*, 86(2): 155-168.
 - 4) Cavagnaro, T.R., Bender, S.F., Asghari, H.R. and M.G, van der Heijden. 2015. The role of arbuscular mycorrhizas in reducing soil nutrient loss. *Trends in Plant Science*, 20(5): 283-290.
 - 5) Chitarra, W., Pagliarani, C., Maserti, B., Lumini, E., Siciliano, I. and P, Cascone. 2016. Insights on the impact of arbuscular mycorrhizal symbiosis on tomato tolerance to water stress. *Plant Physiol*, 171: 1009-1023.
 - 6) Diagne, N., Ngom, M., Djighaly, P.I., Fall, D., Hocher, V. and S, Svistoonoff. 2020. Roles of arbuscular mycorrhizal fungi on plant growth and performance: Importance

- protection against multiple abiotic stresses. *Plant and Cell Physiology*, 55(1): 148-161.
- 23) Wang, M., Ding, L., Gao, L., Li, Y., Shen, Q. and S, Guo. 2016. The interactions of aquaporins and mineral nutrients in higher plants. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(8): 1229.
- 24) Wang, R., Wang, M., Chen, K., Wang, S., Mur, L.A.J. and S, Guo. 2018. Exploring the roles of aquaporins in plant-microbe interactions. *Cells*, 7(12): 267.
- 25) Watts-Williams, S.J., Cavagnaro, T.R. and S.D, Tyerman. 2019. Variable effects of arbuscular mycorrhizal fungal inoculation on physiological and molecular measures of root and stomatal conductance of diverse Medicago truncatellid accessions. *Plant, Cell & Environment*, 42(1): 285-294.
- 26) Xu, Y., Hu, W., Liu, J., Song, S., Hou, X., Jia, C., Li, J., Miao, H., Wang, Z., Tie, W. and B, Xu. 2020. An aquaporin gene MaPIP2-7 is involved in tolerance to drought, cold and salt stresses in transgenic banana (*Musa acuminata* L.). *Plant Physiology and Biochemistry*, 147:66-76.
- 27) Yepes-Molina, L., Bárzana, G. and M, Carvajal. 2020. Controversial regulation of gene expression and protein transduction of aquaporins under drought and salinity stress. *Plants*, 9(12): 1662.
- 28) Zhang, L., Chen, L. and H, Dong. 2019. Plant aquaporins in infection by and immunity against pathogens—a critical review. *Frontiers in Plant Science*, 10: 632.
- 29) Zhang, F., Zou, Y.N. and Q.S, Wu. 2018. Quantitative estimation of water uptake by mycorrhizal extraradical hyphae in citrus under drought stress. *Scientia Horticulturae*, 229: 132-136.
- 30) Zou, Y.N., Wu, H.H., Giri, B., Wu, Q.S. and K, Kuča, 2019. Mycorrhizal symbiosis down-regulates or does not change root aquaporin expression in trifoliolate in maize plants subjected to water stress. *Plant, Cell & Environment*, 42(7): 2274-2290.
- 15) Quiroga, G., Erice, G., Aroca, R., Delgado-Huertas, A. and J.M, Ruiz-Lozano. 2020. Elucidating the possible involvement of maize aquaporins and arbuscular mycorrhizal symbiosis in the plant ammonium and urea transport under drought stress conditions. *Plants*, 9(2), p.148.
- 16) Santander, C., Aroca, R., Cartes, P., Vidal, G. and P, Cornejo. 2021. Aquaporins and cation transporters are differentially regulated by two arbuscular mycorrhizal fungi strains in lettuce cultivars growing under salinity conditions. *Plant Physiology and Biochemistry*, 158: 396-409.
- 17) Schenck, N.C. 1982. Methods and Principles of Mycorrhizal Research. The American Phytopathological Society.
- 18) Shivaraj, S.M., Sharma, Y., Chaudhary, J., Rajora, N., Sharma, S., Thakral, V., Ram, H., Sonah, H., Singla-Pareek, S.L., Sharma, T.R. and R, Deshmukh. 2021. Dynamic role of aquaporin transport system under drought stress in plants. *Environmental and Experimental Botany*, 184: 104367.
- 19) Singh, R.K., Deshmukh, R., Muthamilarasan, M., Rani, R. and M, Prasad. 2020. Versatile roles of aquaporin in physiological processes and stress tolerance in plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 149:178-189.
- 20) Teste, F.P., Jones, M.D. and I.A, Dickie. 2020. Dual-mycorrhizal plants: their ecology and relevance. *New Phytologist*, 225(5): 1835-1851.
- 21) Uehlein, N., Fileschi, K., Eckert, M., Bienert, G.P., Bertl, A. and R, Kaldenhoff. 2007. Arbuscular mycorrhizal symbiosis and plant aquaporin expression. *Phytochemistry*, 68(1):122-129.
- 22) Wang, L.L., Chen, A.P., Zhong, N.Q., Liu, N., Wu, X.M., Wang, F., Yang, C.L., Romero, M.F. and G.X, Xia. 2014. The *Theillungiella salsa* tonoplast aquaporin TsTIP1; 2 functions in