Journal of Abiotic Stress in Horticultural Crops
https://jabssh.znu.ac.ir

Research Article
Vol. 1, No. 1, Autumn and Winter 2026, p. 65-83

A systems biology perspective on drought tolerance in tea *(Camellia sinensis)*: from genes to networks

Seyede Mehri Javadi [1]

1 - Department of Petroleum Microbiology, Research Institute of Applied Sciences, ACEC, shahid Beheshti University, Tehran, Iran.

(*- Corresponding author's Email: ghazalehjavadi.z@gmail.com)

Received: 4 October 2025 Received in revised form: 06 December 2025 Accepted: 06 December 2025	**How to cite this article:** Javadi, S. (2026). A systems biology perspective on drought tolerance in tea (*Camellia sinensis*): from genes to networks. *Journal of Abiotic Stress in Horticultural Crops*, 1(1), 65-83. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.30470/ashc.2026.742847

Introduction

Climate change, decreasing precipitation, and the increasing frequency of drought periods have posed unprecedented challenges to the sustainability of agricultural ecosystems and commercial crop production. Tea (*Camellia sinensis*), as a perennial and strategic crop of high economic and export value, is critically dependent on stable soil moisture availability. Drought stress disrupts osmotic potential balance, reduces stomatal conductance, inhibits carbon dioxide fixation, and consequently leads to the accumulation of reactive oxygen species (ROS), triggering severe oxidative stress in photosynthetic tissues. These physiological and cellular perturbations not only cause a marked decline in vegetative growth and biomass yield, but also impair the secondary metabolite profile and commercial leaf quality traits. Given the prolonged breeding cycles characteristic of perennial woody plants, deciphering the molecular mechanisms underlying drought response and identifying key hub genes via systems biology and bioinformatics approaches represent an essential and fundamental step toward accelerating breeding programs and genetic engineering of drought-tolerant cultivars.

Materials and Methods

In this study, a comprehensive bioinformatics and analytical pipeline based on transcriptomic (RNA-Seq) and genomic datasets of tea was employed. Gene expression profiles under drought-stressed and control conditions were retrieved from authoritative international databases, such as NCBI SRA. Following rigorous data quality control, differentially expressed genes (DEGs) were identified using statistically significant thresholds. Functional annotation and sequence homology analyses were performed using BLAST alignment tools and the UniProt database. A protein-protein interaction (PPI) network was constructed using the STRING database, and its topological properties—including node degree and betweenness centrality—were evaluated within the Cytoscape environment to determine central hub genes. Gene Ontology (GO) enrichment analysis was conducted using AgriGO, while signaling and metabolic pathways were interrogated via the PANTHER classification system and the KEGG database to model cellular stress responses. Furthermore, tissue-specific expression patterns were characterized across various plant organs.

Results

Transcriptomic profiling identified a total of 193 genes with significant differential expression in response to drought stress in tea. Expression profiling across diverse tissues demonstrated that transcriptional induction was predominantly concentrated in leaves, roots, and buds, with young apical leaves emerging as the most active tissue in triggering adaptive responses and antioxidant defense mechanisms. Structural topology analysis of the PPI network revealed that transcription factors from key families (including AP2/ERF, WRKY, MYB, and bZIP) alongside protein kinases (such as calcium-dependent protein kinases [CDPKs] and MAPK cascades) occupied top-tier positions in the signaling cascade. Genes encoding protective proteins, particularly heat shock proteins (HSPs) and late embryogenesis abundant (LEA) proteins, played crucial roles in stabilizing membrane integrity

Authors retain the copyright. This is an open access article distributed under Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC BY 4.0).
https://doi.org/10.30470/ashc.2026.742847

and shielding macromolecules against dehydration. In addition, genes involved in osmolyte biosynthesis (e.g., proline, terpenoids, and soluble sugars), ABA-dependent and ABA-independent signaling pathways, secondary metabolism of polyphenols and catechins, and ROS-scavenging enzymes (such as SOD and APX) were significantly enriched and activated.

Conclusions and Perspectives

The findings of this study demonstrate that the drought stress response in tea is a multifaceted and tightly orchestrated process governed by an integrated network of membrane sensors, hormonal signaling, transcriptional reprogramming, and metabolic reconfiguration. Providing a comprehensive interaction landscape and highlighting the key hub genes identified in this research establishes a precise foundation for marker-assisted selection (MAS), CRISPR/Cas-mediated genome editing target prioritization, and the formulation of novel genetic engineering strategies aimed at developing climate-resilient and drought-tolerant cultivars in tea-growing regions.

Keywords: Tea (*Camellia sinensis*), Drought stress, Bioinformatics, Transcriptome, Protein-protein interaction network, Hub genes, Osmolytes.

نشریه تنش‌های غیر زیستی در محصولات باغبانی
https://jabssh.znu.ac.ir

مقاله پژوهشی

جلد ۱، شماره ۱، پاییز و زمستان ۱۴۰۵، ص. ۶۵ – ۸۳

سامانه‌نگری بر مقاومت به خشکی در گیاه چای (*Camellia sinensis*): از ژن تا شبکه

سیده مهری جوادی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۷/۱۲

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۹/۱۵

چکیده

تنش خشکی یکی از مهم‌ترین عوامل محدودکننده رشد، عملکرد و پایداری محصولات کشاورزی، به‌ویژه گیاهان چندساله‌ای مانند *Camellia sinensis*، در مناطق حساس اقلیمی به‌شمار می‌رود. این تنش با ایجاد اختلال در فرایندهای فیزیولوژیکی و مولکولی، موجب کاهش عملکرد و کیفیت محصول می‌شود. هدف از این پژوهش، شناسایی و تحلیل سامانه‌ای ژن‌های مرتبط با تحمل به خشکی در گیاه چای به‌منظور بهره‌گیری از آن‌ها در اصلاح ژنتیکی و توسعه ارقام مقاوم است. در این مطالعه، با استفاده از رویکرد بیوانفورماتیکی و تحلیل داده‌های ترنسکریپتومی، ژن‌های دارای بیان افتراقی در پاسخ به تنش خشکی شناسایی شدند. داده‌ها از منابع علمی معتبر گردآوری و شباهت توالی‌ها با BLAST بررسی شد. برای تحلیل شبکه تعاملات ژنی از STRING و برای بررسی عملکرد و مسیرهای زیستی از ابزارهای AgriGO و PANTHER استفاده گردید. در مجموع، ۱۹۳ ژن مرتبط با پاسخ به تنش خشکی شناسایی شد که بیشترین فعالیت آن‌ها در برگ، ریشه و جوانه، به‌ویژه در برگ‌های انتهایی، مشاهده گردید. تحلیل شبکه ژنی نشان داد فاکتورهای رونویسی، پروتئین‌کینازها، ژن‌های دخیل در سنتز اسمولیت‌ها و پروتئین‌های محافظ، مانند HSP و LEA، نقش کلیدی در پاسخ دفاعی گیاه دارند. همچنین مسیرهای زیستی فعال شامل تنظیم بیان ژن، متابولیسم ثانویه، سیگنالینگ هورمونی و پاسخ‌های دفاع سلولی بودند. این پژوهش با ارائه نقشه‌ای جامع از پاسخ‌های ژنتیکی چای به تنش خشکی، مبنایی برای طراحی راهبردهای اصلاحی، انتخاب مارکرهای مولکولی و توسعه ارقام مقاوم با استفاده از ابزارهای زیست‌فناوری و بیوانفورماتیک فراهم می‌سازد.

کلمات کلیدی: گیاه چای، تنش خشکی، بیوانفورماتیک، ژن‌های کاندید، شبکه ژنی، ترنسکریپتوم.

مقدمه

چای (*Camellia sinensis*) از مهم‌ترین و پرمصرف‌ترین گیاهان زراعی جهان به‌شمار می‌رود که علاوه بر ارزش غذایی، از جایگاه فرهنگی، اجتماعی و اقتصادی قابل توجهی در بسیاری از کشورهای آسیایی، آفریقایی و حتی برخی کشورهای اروپایی برخوردار است (Chen *et al*,.2021). چای دومین نوشیدنی پرمصرف در جهان پس از آب محسوب می‌شود و در اقتصاد ملی بسیاری از کشورها، ازجمله چین، هند، سریلانکا، ژاپن، کنیا و ایران، نقش حیاتی ایفا می‌کند (Ahmed *et al*., 2014; FAO,2023). در ایران، چای نه‌تنها بخش قابل توجهی از عادات مصرفی روزانه مردم را تشکیل می‌دهد، بلکه به‌عنوان محصول استراتژیک کشاورزی، نقشی کلیدی در اشتغال‌زایی، توسعه روستایی و پایداری اقتصادی نواحی شمالی کشور، به‌ویژه استان‌های گیلان و مازندران دارد. در مناطق چای‌خیز ایران، ده‌ها هزار خانوار به شکل مستقیم یا غیرمستقیم در زنجیره تولید، فراوری و توزیع چای فعالیت می‌کنند (Hosseini *et al*., 2021). با وجود آنکه ایران از شرایط اقلیمی متنوعی برخوردار است، کشت چای عمدتاً در نواحی شمالی با بارندگی مناسب و اقلیم مرطوب انجام می‌گیرد. با این حال، یکی از چالش‌های جدی و رو به افزایش در سال‌های اخیر، تغییر الگوی بارندگی و کاهش نسبی نزولات آسمانی، به‌ویژه در فصل رشد گیاه است. پراکنش نامنظم باران، وقوع خشکسالی‌های فصلی و گرمایش جهانی، منجر به بروز تنش خشکی در مراحل حساس رشد چای شده است (IPCC,2021)؛ مسئله‌ای که به‌طور مستقیم بر عملکرد کمی و کیفی این محصول تأثیر منفی می‌گذارد و موجب کاهش تولید برگ سبز و به تبع آن، چای خشک می‌شود (Zhao *et al*.,2019). تنش خشکی که به‌عنوان یکی از رایج‌ترین تنش‌های غیرزیستی[1] در گیاهان شناخته می‌شود، طیف وسیعی از پاسخ‌های فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی، سلولی و مولکولی را در گیاه فعال می‌کند. این تنش از طریق کاهش پتانسیل آب، اختلال در فتوسنتز، بسته شدن روزنه‌ها، تولید ترکیبات اکسیداتیو و ایجاد نوسانات در تعادل اسمزی، می‌تواند رشد و توسعه طبیعی گیاه را مختل کند (Nakashima *et al*.,2014; Farooq *et al*.,2009). در گیاه چای که گیاهی دائمی با برگ‌های اقتصادی است، کاهش آب در دوره‌های بحرانی رشد نه‌تنها منجر به توقف توسعه برگ‌ها می‌شود، بلکه می‌تواند باعث افزایش غلظت ترکیبات تلخ، کاهش عطر و افت کیفیت کلی چای خشک گردد (Wang *et al*.,2016). از سوی دیگر، با پیشرفت فناوری‌های مولکولی و بیوانفورماتیکی در سال‌های اخیر، امکان تحلیل دقیق‌تر پاسخ‌های گیاه به شرایط تنش فراهم شده است. یکی از رویکردهای کلیدی در این حوزه، تحلیل ترانسکریپتوم[2]، به‌ویژه با استفاده از تکنیک‌هایی مانند RNA-Seq است که به شناسایی و کمّی‌سازی دقیق بیان ژن‌ها در شرایط مختلف کمک می‌کند (Wang *et al*.,2006). مطالعات متعددی در سال‌های اخیر به بررسی الگوی بیان ژن در گیاه چای تحت تنش خشکی پرداخته‌اند؛ برای مثال، در پژوهش ارزشمند لیو و همکاران (Liu *et al*., 2016) با استفاده از RNA-Seq، بیان بیش از ۵۹،۰۰۰ ژن بررسی شد و مشخص گردید که حدود ۶۰۰۰ ژن دارای تغییرات معنی‌دار در شرایط کنترل، خشکی و بازیابی هستند. ژن‌های فعال‌شده شامل آن‌هایی بودند که در مسیرهای سیگنالینگ هورمون‌هایی نظیر اسیدآبسیزیک (ABA)، جاسمونیک‌اسید (JA) و اتیلن، ایفای نقش می‌کنند. این نتایج حاکی از آن است که سیستم پاسخ به خشکی در چای، به‌صورت پیچیده‌ای توسط عوامل هورمونی، پیام‌رسان‌های سلولی و عناصر تنظیم‌کننده رونویسی کنترل می‌شود. همچنین بیان ژن‌های اسمولیت‌ساز مانند *P5CS* (در سنتز پرولین)، ژن‌های درگیر در سنتز ترهالوز، مانیتول و قندهای محلول دیگر، در شرایط خشکی افزایش می‌یابد و نقش حفاظتی این ترکیبات در مقابله با تنش اسمزی تأیید می‌گردد. از دیگر ژن‌های شاخص می‌توان به پروتئین‌های محافظت‌کننده سلولی مانند LEA[3] و HSPs[4] اشاره کرد که در جلوگیری از دناتوراسیون پروتئین‌ها و تثبیت ساختار غشای سلولی تحت تنش نقش دارند. تحلیل‌های ژنومی نشان داده‌اند که علاوه بر ژن‌های عملکردی، ژن‌های تنظیمی مانند فاکتورهای رونویسی DREB، bZIP، MYB و NAC نیز در تنظیم مسیرهای پاسخ به خشکی اهمیت زیادی دارند.

در مطالعه‌ای دیگر، تیروگنانسامبارتام و همکاران (Thirugnansambartham *et al*., 2013) با ساخت کتابخانه cDNA از برگ چای و بررسی پروفایل بیان ژن‌ها تحت شرایط تنش خشکی، مجموعه‌ای از ژن‌های کلیدی را معرفی کردند که در مسیرهای سیگنالینگ، پاسخ به استرس، سنتز متابولیت‌های ثانویه و فرایندهای تنظیم اسمزی مشارکت دارند. همچنین در پژوهش تیروگنانسامبارتام و همکاران (Thirugnanasambantham *et al*,.2011) با بهره‌گیری از

1- Abiotic stress

2- Transcriptome

3- Late Embryogenesis Abundant

4- Heat Shock Proteins

تکنیک SSH[1]، ژن‌های با بیان افتراقی بین شرایط نرمال و تنش خشکی شناسایی و از نظر هستی‌شناسی[2] دسته‌بندی شدند. این تحلیل‌ها نشان داد که بیشتر ژن‌های درگیر در گروه‌های عملکردی مرتبط با چرخه‌های متابولیسمی، انتقال سیگنال، تنظیم رونویسی و حفاظت سلولی قرار دارند.

با وجود این تلاش‌ها، تاکنون مطالعه‌ای جامع با رویکرد سامانه‌نگر[3] برای بازسازی شبکه‌های ژنی و تبیین ارتباطات پیچیده بین اجزای مولکولی پاسخگو به خشکی در گیاه چای صورت نگرفته است. بیشتر مطالعات پیشین به شناسایی منفرد ژن‌ها بسنده کرده‌اند، در حالی که ویژگی‌های پیچیده‌ای مانند مقاومت به تنش خشکی نیازمند درک تعاملات میان‌ژنی، مسیرهای سیگنالینگ متقاطع و سازوکارهای هم‌تنظیمی در سطح شبکه‌های مولکولی است. از این رو، بهره‌گیری از ابزارهای نوین بیوانفورماتیکی نظیر STRING، Cytoscape، AgriGO و PANTHER، برای ترسیم شبکه‌های ژنی، شناسایی ژن‌های هاب[4] و دسته‌بندی عملکردی ژن‌ها، می‌تواند چشم‌اندازی دقیق‌تر و کاربردی‌تر از مکانیسم‌های تحمل به خشکی ارائه دهد. پژوهش حاضر با همین رویکرد طراحی شده است و هدف آن شناسایی، استخراج و تحلیل بیوانفورماتیکی ژن‌های مرتبط با تنش خشکی در گیاه چای است. در این مسیر، ابتدا مجموعه‌ای از ژن‌های گزارش‌شده در مطالعات ترانسکریپتومی و تجربی استخراج شدند. سپس اورتولوگ‌های آن‌ها در گیاه مدل *Arabidopsis thaliana* از طریق BLAST شناسایی گردیدند. با استفاده از نرم‌افزار STRING، شبکه‌های ژنی این اورتولوگ‌ها بازسازی و روابط تعاملی آن‌ها تحلیل شده است. همچنین با بهره‌گیری از پایگاه‌های Gene Ontology نظیر AgriGO و PANTHER، ژن‌ها بر اساس فرایندهای زیستی، اجزای سلولی و عملکردهای مولکولی، طبقه‌بندی شده‌اند تا درک روشن‌تری از نقش و جایگاه عملکردی این ژن‌ها فراهم گردد.

در نهایت، این پژوهش با هدف شناسایی ژن‌های فعال در پاسخ گیاه چای به تنش خشکی، تعیین مسیرهای بیولوژیکی و مولکولی مرتبط با آن‌ها و توصیف ساختار شبکه ژنی و ژن‌های مرکزی (هاب)، طراحی و اجرا شده است. یافته‌های این تحقیق نشان می‌دهد که مجموعه‌ای از ژن‌ها در گیاه چای تحت شرایط کم‌آبی فعال می‌شوند و در مسیرهای مختلفی نظیر تنظیم اسمزی، سیگنالینگ فیتوهورمون‌ها، تنظیم بیان فاکتورهای رونویسی و حفاظت سلولی، مشارکت دارند. ساختار شبکه ژنی این ژن‌ها به‌صورت سازمان‌یافته و پیمانه‌ای شکل گرفته و ژن‌های مرکزی آن شامل NAC72، DREB2A، RD29A، HSP70 و SnRK2.6 (OST1) شناسایی شده‌اند که نقش کلیدی در هماهنگی پاسخ‌های مولکولی گیاه به خشکی ایفا می‌کنند. پاسخ به این اهداف، ضمن تعمیق درک ما از فیزیولوژی و زیست‌فناوری گیاه چای، می‌تواند مبنایی علمی برای طراحی راهبردهای اصلاح ژنتیکی، انتخاب ارقام متحمل به خشکی و بهینه‌سازی عملکرد محصول در شرایط اقلیمی بحرانی فراهم سازد. از این رو، پژوهش حاضر گامی مؤثر در جهت به‌کارگیری علم بیوانفورماتیک برای حل چالش‌های واقعی کشاورزی پایدار، ارتقای امنیت غذایی و سازگاری با تغییرات اقلیمی به‌شمار می‌رود.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- گردآوری اطلاعات ژنی مرتبط با پاسخ به تنش خشکی در چای

در گام نخست، به‌منظور شناسایی ژن‌های مؤثر در پاسخ به تنش خشکی، مرور نظام‌مند منابع علمی معتبر صورت گرفت. مقالات پژوهشی منتشرشده در پایگاه‌های اطلاعاتی مانند PubMed، Scopus، Web of Science و Google Scholar که طی سال‌های اخیر با استفاده از روش‌های RNA-Seq، Real-Time PCR و سایر تکنیک‌های مولکولی به بررسی بیان ژن‌ها در گیاه چای (*Camellia sinensis*) پرداخته بودند، انتخاب شدند. کلیدواژه‌هایی از قبیل *Camellia sinensis* *drought stress genes*, *Tea* plant transcriptome under drought, Differential gene expression in tea under abiotic stress، برای جست‌وجو استفاده شدند. ژن‌هایی که در شرایط تنش خشکی دارای بیان افتراقی DEGs[5] بودند، استخراج و به تفکیک نوع بافت (برگ، ریشه و جوانه انتهایی)، طبقه‌بندی شدند. اطلاعات ژنی شامل نام ژن، کدهای شناسایی، میزان بیان logFC[6] و شرایط آزمایشگاهی، از مقالات استخراج شد. این ژن‌ها به‌عنوان ژن‌های ورودی برای مراحل بیوانفورماتیکی بعدی در نظر گرفته شدند.

1- Suppression Subtractive Hybridization
2- Gene Ontology
3- Systems Biology
4 -hub genes

5- Differentially Expressed Genes
6- Fold Change

۲-۲- شناسایی اورتولوگ‌های ژنی در گیاه مدل *Arabidopsis thaliana*

با توجه به محدودیت منابع ژنومی در چای و همچنین برای انجام تحلیل‌های شبکه‌ای و هستی‌شناسی دقیق‌تر، شناسایی اورتولوگ‌های ژن‌های چای در گیاه مدل *Arabidopsis thaliana* انجام شد. بدین منظور، توالی‌های نوکلئوتیدی یا پروتئینی ژن‌های هدف از پایگاه‌هایی مانند NCBI، TPIA[1] و Phytozome جمع‌آوری شدند و با استفاده از ابزارهای BLASTn (برای هم‌ترازی نوکلئوتیدی) و BLASTx (برای هم‌ترازی پروتئین به پروتئین) مورد مقایسه با ژنوم آرابیدوپسیس قرار گرفتند. پارامترهای هم‌ترازی شامل E-value کمتر از ۱-e۵، درصد همسانی بیشتر از ۶۰٪ و بیشترین طول هم‌پوشانی انتخاب شدند. نتایج BLAST برای اطمینان از درستی شناسایی اورتولوگ‌ها، به‌صورت دستی مرور و تطبیق شدند (Altschul *et al*., 1990; Altschul *et al*., 1997).

۲-۳- تحلیل شبکه‌های ژنی با استفاده از STRING

برای شناسایی روابط عملکردی و فیزیکی بین ژن‌های شناسایی‌شده، از پایگاه داده **STRING**[2] (نسخه ۱۱.۵) استفاده شد (https://string-db.org). اورتولوگ‌های آرابیدوپسیس وارد پلتفرم STRING شدند و بر اساس داده‌های co-expression، experimental, text mining, database و co-occurrence، نقشه تعاملات پروتئینی[3] بین ژن‌ها ترسیم شد. شبکه‌ها به تفکیک نوع بافت (برگ، ریشه و جوانه) طراحی شدند. حد آستانه اعتماد[4] برای تعاملات بین ژن‌ها برابر با ۰.۷ (high confidence) در نظر گرفته شد. سپس ژن‌های کلیدی و تعاملات مرکزی از طریق شاخص‌هایی مانند Degree و Betweenness Centrality با استفاده از ابزار Cytoscape مورد تحلیل قرار گرفتند (Smoot *et al*., 2011).

۲-۴- تحلیل هستی‌شناسی ژن‌ها (GO analysis)

به‌منظور درک عملکردهای بیولوژیکی و مولکولی ژن‌های شناسایی‌شده، تحلیل هستی‌شناسی ژنی انجام شد. برای این منظور از دو پایگاه معتبر AgriGO ورژن ۲.۰ (http://systemsbiology.cau.edu.cn/agriGOv) و (http://pantherdb.org) استفاده شد. ابتدا لیست ژن‌ها با شناسه‌های استاندارد آرابیدوپسیس TAIR وارد این سامانه‌ها شد. سپس آنالیز GO بر اساس سه طبقه‌بندی اصلی انجام گردید (Tian *et al*., 2017):

فرایندهای بیولوژیکی (BP)[5]: فرایندهای زیستی مرتبط با با پاسخ به خشکی؛ مانند پاسخ به استرس، تنظیم بیان ژن، بیوسنتز اسمولیت‌ها، متابولیسم ثانویه، سیگنالینگ هورمونی و دفاع سلولی.

عملکردهای مولکولی (MF)[6]: عملکردهای مولکولی مانند فعالیت پروتئین کیناز، باینـدینگ DNA، فعالیت آنزیمی و ترانسپورت یونی.

اجزای سلولی (CC)[7]: محل عملکرد ژن‌ها در سلول؛ ازجمله هسته، غشای پلاسمایی، کلروپلاست و سیتوپلاسم.

در آنالیز آماری، از آزمون Fisher Exact با اصلاح FDR[8] برای تعیین معنی‌داری دسته‌های عملکردی استفاده شد.

۲-۵- ترسیم نمودار ون برای تحلیل هم‌پوشانی ژن‌ها در بافت‌های مختلف

برای شناسایی ژن‌های مشترک یا منحصربه‌فرد در سه بافت مورد مطالعه (برگ، ریشه و جوانه انتهایی)، از ابزار آنلاین Venny ورژن ۲ (https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny) استفاده گردید. لیست ژن‌های هر بافت به‌صورت جداگانه در سامانه بارگذاری و نمودار ون[9] برای مقایسه هم‌پوشانی بین بافت‌ها ترسیم شد. نقاط تلاقی در نمودار ون نشان‌دهنده ژن‌های مشترک بین دو یا سه بافت بود و ژن‌های اختصاصی نیز به‌صورت نواحی مجزا نمایان شدند. این مقایسه به درک بهتر الگوی بیان بافت ویژه ژن‌ها کمک کرد. رویکرد ترکیبی این پژوهش شامل جمع‌آوری داده‌های تجربی، تحلیل هم‌ارزی ژنی، ترسیم شبکه‌های تعامل پروتئینی، طبقه‌بندی عملکردی و تحلیل‌های مقایسه‌ای بین بافت‌ها، دیدگاهی جامع و سامانه‌نگر از پاسخ مولکولی گیاه چای به تنش خشکی ارائه می‌دهد. استفاده از منابع داده‌ای معتبر و ابزارهای تحلیلی پیشرفته، امکان استخراج اطلاعات زیستی عمیق و کاربردی از داده‌های پراکنده ژنومی را فراهم ساخته

1- Tea Plant Information Archive
2- Search Tool for the Retrieval of Interacting Genes/Proteins
3- Protein-Protein Interaction, PPI
4- Confidence Score

5 -Biological Process
6 -Molecular Function
7 -Cellular Component
8 -False Discovery Rate
9 -Venn Diagram

است. چنین رویکردی می‌تواند به‌عنوان الگویی برای تحلیل بیوانفورماتیکی سایر گونه‌های زراعی در شرایط تنش غیرزیستی مورد استفاده قرار گیرد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- شناسایی ژن‌های دخیل در پاسخ گیاه چای به تنش خشکی

در راستای شناسایی مؤلفه‌های ژنتیکی مؤثر در سازوکارهای دفاعی و سازگاری گیاه چای (*Camellia sinensis*) با تنش خشکی، تحلیل جامعی مبتنی بر مرور نظام‌مند منابع علمی و داده‌های ترانسکریپتومی از مطالعات معتبر بین‌المللی انجام گرفت. این تحلیل با تلفیق داده‌های چندین پژوهش کلیدی صورت گرفت تا تصویری جامع از الگوی بیان ژن‌ها در اندام‌های مختلف گیاه چای تحت تنش خشکی ارائه شود (جدول ۱).

جدول ۱- فهرست مطالعات مورد استفاده در تحلیل ترانسکریپتومی و مرور نظام‌مند پاسخ گیاه چای به تنش خشکی

Table ۱. List of studies utilized in the transcriptomic analysis and systematic review of tea plant responses to drought stress.

ردیف Row	نویسندگان و سال انتشار Authors and Publication Year	هدف یا محور مطالعه Study Objective/Focus	یافته‌های کلیدی مرتبط با پاسخ به خشکی Key Findings Related to Drought Response	نوع داده و روش Data Type and Method
۱	*Zheng et al.,2016*	بررسی ترانسکریپتوم برگ و ریشه در تنش خشکی و سرما	۳۱٫۵٪ ژن‌ها دارای تغییر بیان هم‌زمان در تنش سرد و خشکی	RNA-seq
۲	*Liu et al.,2016*	شناسایی ژن‌های دخیل در پاسخ به خشکی و بازیابی رطوبت	۵٬۹۵۵ ژن با بیان افتراقی در شرایط تنش و رطوبت مجدد	RNA-seq ،qRT-PCR
۳	*Dong et al.,2017*	تحلیل فاکتورهای رونویسی در پاسخ به کم‌آبی	القای ژن‌های *WRKY*، *MYB* و *ERF* در برگ و جوانه	Comparative transcriptomics
۴	*Wang et al.,2016*	بررسی نقش هورمون‌های گیاهی در پاسخ به خشکی	افزایش بیان ژن‌های مرتبط با *ABA* و تنظیم آکواپورین‌ها	RNA-seq ، hormone assays
۵	*Ren et al.,2022*	شناسایی مسیرهای تنظیم ROS و متابولیت‌های ثانویه	فعال شدن ژن‌های مرتبط با آنتی‌اکسیدان‌ها و فلاونوئیدها	RNA-seq ،KEGG analysis
۶	*Ding & Jiang,2022*	تحلیل ژن‌های تنظیم‌کننده در ریشه	افزایش بیان ژن‌های *NCED3*، *PIP1:2* و *14 LEA* در ریشه‌ها	Root transcriptome profiling
۷	*Zuo et al.,2024*	بررسی نقش پلی‌فنول‌های چای در افزایش مقاومت به خشکی	تعدیل مسیر jasmonate–isoleucine و فلاونوئید متابولیسم	RNA-seq، Metabolomics
۸	*Parmar et al.,2019*	تحلیل جامع ژن‌های تنش خشکی در سطوح مختلف بافتی	بیش از ۶۷۰۰۰ ترانسکریپت، ۷۸٪ واجد کیفیت تحلیل بیانی	De novo transcriptome assembly
۹	*Samarina et al.,2020*	تحلیل مقایسه‌ای ترانسکریپتوم در چند رقم چای با حساسیت متفاوت به خشکی	شناسایی ژن‌های تنظیم‌کننده NAC، DREB و HSP در برگ و ریشه، الگوی چندبافتی پاسخ به خشکی	RNA-seq، GO/KEGG Enrichment

نتایج تلفیقی حاصل از مرور و تحلیل مطالعات متعدد مذکور در جدول شماره ۱ منجر به شناسایی ۱۹۳ ژن با بیان افتراقی (DEGs) در شرایط تنش خشکی در اندام‌های مختلف گیاه چای (*Camellia sinensis*) شد. این ژن‌ها در مسیرهای متنوعی، ازجمله تنظیم اسمزی، متابولیسم فلاونوئیدها، تنظیم فیتوهورمون‌هایی نظیر آبسزیک‌اسید و ژاسمونات و سیگنالینگ فاکتورهای رونویسی NAC، DREB و WRKY مشارکت دارند. به تفکیک بافتی، توزیع این ژن‌ها نشان‌دهنده الگویی چندبافتی و هماهنگ در پاسخ فیزیولوژیک و مولکولی گیاه به کم‌آبی است؛

به‌گونه‌ای که در برگ‌ها ۸۲ ژن (۴۰/۸٪)، در جوانه‌ها و برگ‌های انتهایی ۷۶ ژن (۳۹/۳٪) و در ریشه‌ها ۳۹ ژن (۲۰/۲٪) دارای بیان افتراقی گزارش شده‌اند (Zhang *et al*., 2016; Samarina *et al*., 2020; Zhou *et al*., 2022). در تطبیق با داده‌های حاصل از پژوهش‌های یادشده، بررسی‌های لیو و همکاران (Liu *et al*., 2016) وجود ۵۹۵۵ ژن با بیان افتراقی در پاسخ به خشکی و بازیابی رطوبت را نشان داد. همچنین مطالعه ژنگ و همکاران (Zheng *et al*., 2016) گزارش کرد که حدود ۳۱/۵٪ از ژن‌ها در شرایط تنش ترکیبی سرد و خشکی دچار تغییر بیان می‌شوند. در پژوهش (*Parmar et al.2019*) نیز از میان بیش از ۶۷ هزار ترانسکریپت، ۷۸/۲٪ واجد کیفیت لازم برای تحلیل بیان تفاضلی شناخته شدند؛ افزون بر این، نتایج اخیر زو و همکاران (Zuo *et al*., 2024) نشان‌دهنده آن است که پلی‌فنول‌های مشتق از چای با تنظیم مسیر سیگنالینگ jasmonate–isoleucine و جریان متابولیسم فلاونوئیدها، به‌طور معناداری تحمل گیاه به خشکی را افزایش می‌دهند. در مجموع، این یافته‌ها تصویری جامع از شبکه ژنی و تنظیم چندلایه پاسخ گیاه چای به تنش خشکی ارائه می‌دهند که در آن ژن‌های مرکزی، مانند *NAC 72*، *DREB2A*، *RD29A*، *SnRK2.6* و *HSP 70*، نقش کلیدی در هم‌پوشانی مسیرهای سیگنالینگ و تنظیم سازوکارهای مقاومت به کم‌آبی ایفا می‌کنند. این توزیع بافتی مؤید آن است که پاسخ به خشکی در چای، واکنشی چندعاملی، پویا و بافت ویژه است. بیشترین تغییرات در برگ‌ها و جوانه‌ها مشاهده شد که به نقش مستقیم این اندام‌ها در فتوسنتز، تعرق، تنظیم اسمزی و تبادل گازی مربوط می‌شود (Parmar *et a*l., 2019; Zuo *et al*., 2024). مطالعات اخیر نشان داده‌اند که تنش خشکی موجب فعال‌سازی مسیرهای سیگنالینگ هورمونی شامل ABA، JA و اتیلن، همراه با افزایش بیان ژن‌های مرتبط با ترکیبات پلی‌فنولی و فلاونوئیدی می‌شود که به حفظ پایداری غشایی و کاهش اثرات اکسیداتیو کمک می‌کنند (Zuo *et al*., 2024; Ding and Jiang, 2022). در مقابل، ریشه‌ها اگرچه سهم کمتری از نظر تعداد ژن‌های تغییریافته دارند، نقش کلیدی در درک اولیه تنش، انتقال سیگنال‌های مولکولی، تنظیم بیان فاکتورهای رونویسی *NAC*، *DREB* و *MYB* و القای پاسخ‌های ثانویه (Ren *et al*., 2022; Dong *et al*., 2017) ایفا می‌کنند. افزون بر ژن‌های عملکردی نظیر *LEA*، *HSPs*، *P5CS* و ژن‌های اسمولیت‌ساز، نتایج حاصل از تحلیل‌های شبکه ژنی در پژوهش‌های (Liu *et al*., 2016; Zheng *et al*., 2016)، نشان‌دهنده حضور ژن‌های تنظیمی مرکزی در شبکه‌های سیگنالینگ خشکی است. این ژن‌ها شامل *NAC 72*، *DREB2A*، *RD29A*، *SnRK2.6* و *HSP70* هستند که در هم‌تنظیمی مسیرهای سیگنالینگ آبسیزیک‌اسید و فاکتورهای رونویسی استرس، نقش کلیدی دارند. مرور نظام‌مند و تحلیل داده‌های چندمنبعی نشان می‌دهد که پاسخ گیاه چای به خشکی، سامانه‌ای چندبافتی و چندمسیره است که به‌واسطه تعامل پیچیده میان مسیرهای هورمونی، متابولیت‌های ثانویه و فاکتورهای تنظیمی، کنترل می‌شود. این درک جامع از معماری ژنتیکی و شبکه‌های مولکولی پاسخ به خشکی، مبنایی علمی برای توسعه مارکرهای مولکولی، اصلاح ژنتیکی ارقام متحمل و طراحی راهبردهای نوین بیوتکنولوژیک در صنعت چای فراهم می‌آورد.

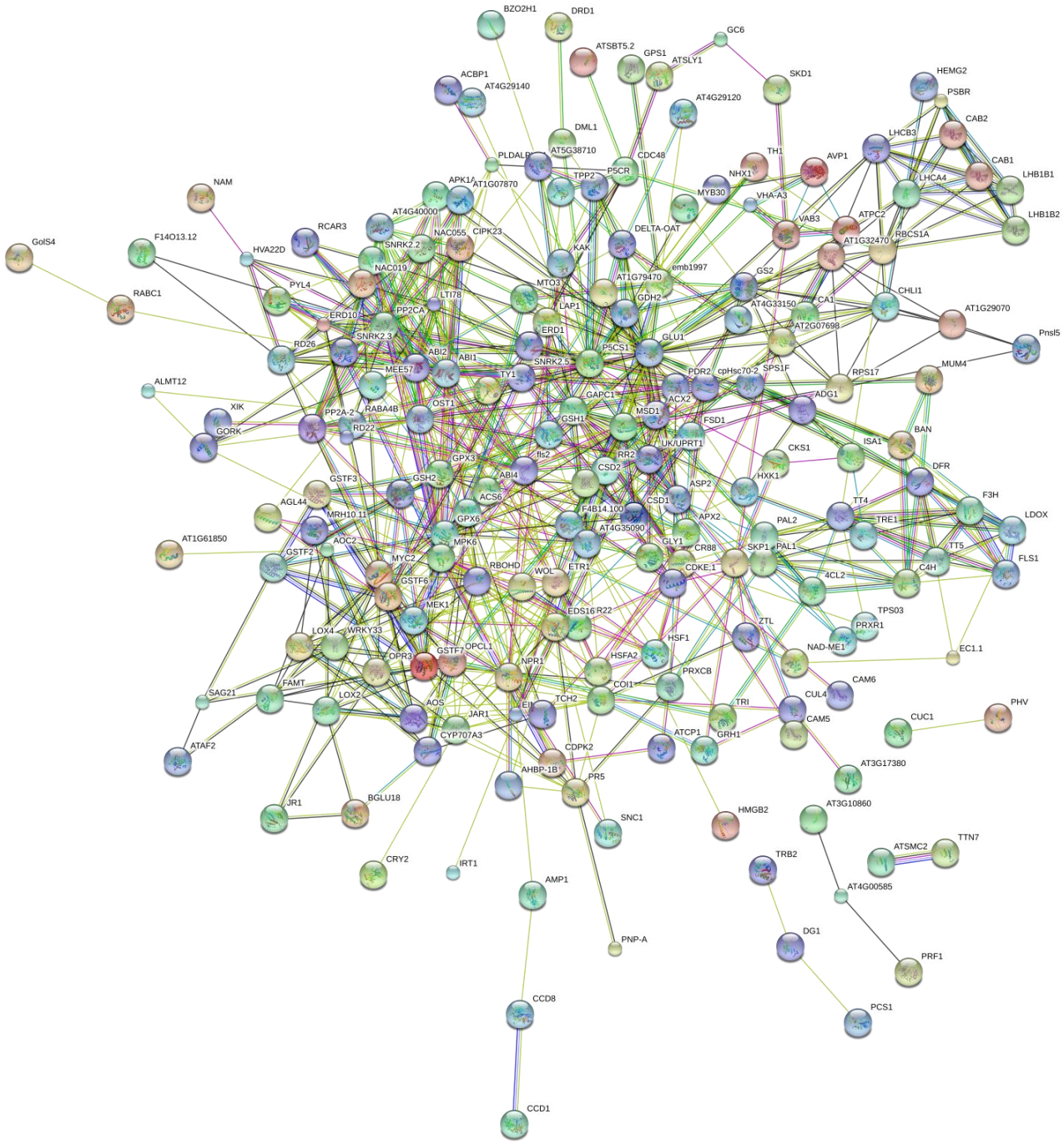
۳-۲- ترسیم شبکه ژنی[1]: تحلیل شبکه‌های ژنی و شناسایی ژن‌های کلیدی

به‌منظور درک ساختار مولکولی و تعاملات ژنی در پاسخ گیاه چای به تنش خشکی، شبکه‌های تعاملی ژنی بر پایه داده‌های ترنسکریپتومی، طراحی و تحلیل شدند. این شبکه‌ها با بهره‌گیری از پایگاه داده عملکردی STRING و با تکیه بر ۱۹۳ ژن دارای بیان افتراقی در اندام‌های مختلف گیاه، مدل‌سازی گردیدند. ساختار شبکه کلی (شکل ۱) نشان می‌دهد که این ژن‌ها با تشکیل زیرشبکه‌هایی، درگیر در مسیرهای سیگنال‌دهی، تنظیم بیان ژن و پاسخ‌های فیزیولوژیک به خشکی هستند؛ افزون بر آن، تحلیل شبکه‌ها به تفکیک بافتی شامل برگ (شکل ۲)، ریشه (شکل ۳) و جوانه‌ها (شکل ۴)، نشان از وجود الگویی پیچیده، بافت ویژه و هماهنگ در تعامل ژنی دارد که به‌وضوح نشان‌دهنده سازوکار دفاعی چندلایه در گیاه چای است. در شبکه برگ، بیشترین تراکم تعاملات در مسیرهای تنظیم اسمزی، کنترل تعرق، فتوسنتز و تبادل گازی مشاهده شد. این امر قابل انتظار است؛ چراکه برگ‌ها نخستین اندام‌هایی هستند که تحت تأثیر مستقیم تبخیر و خشکی قرار می‌گیرند و نیازمند تنظیم سریع ژن‌ها در سطح سلولی و مولکولی هستند. شبکه ریشه نیز حاوی ژن‌هایی است که با سنتز ترکیبات اسمولیت، جذب و انتقال آب و ادراک اولیه سیگنال تنش آبی در ارتباط است. شبکه جوانه‌ها با

1- Gene Network Reconstruction

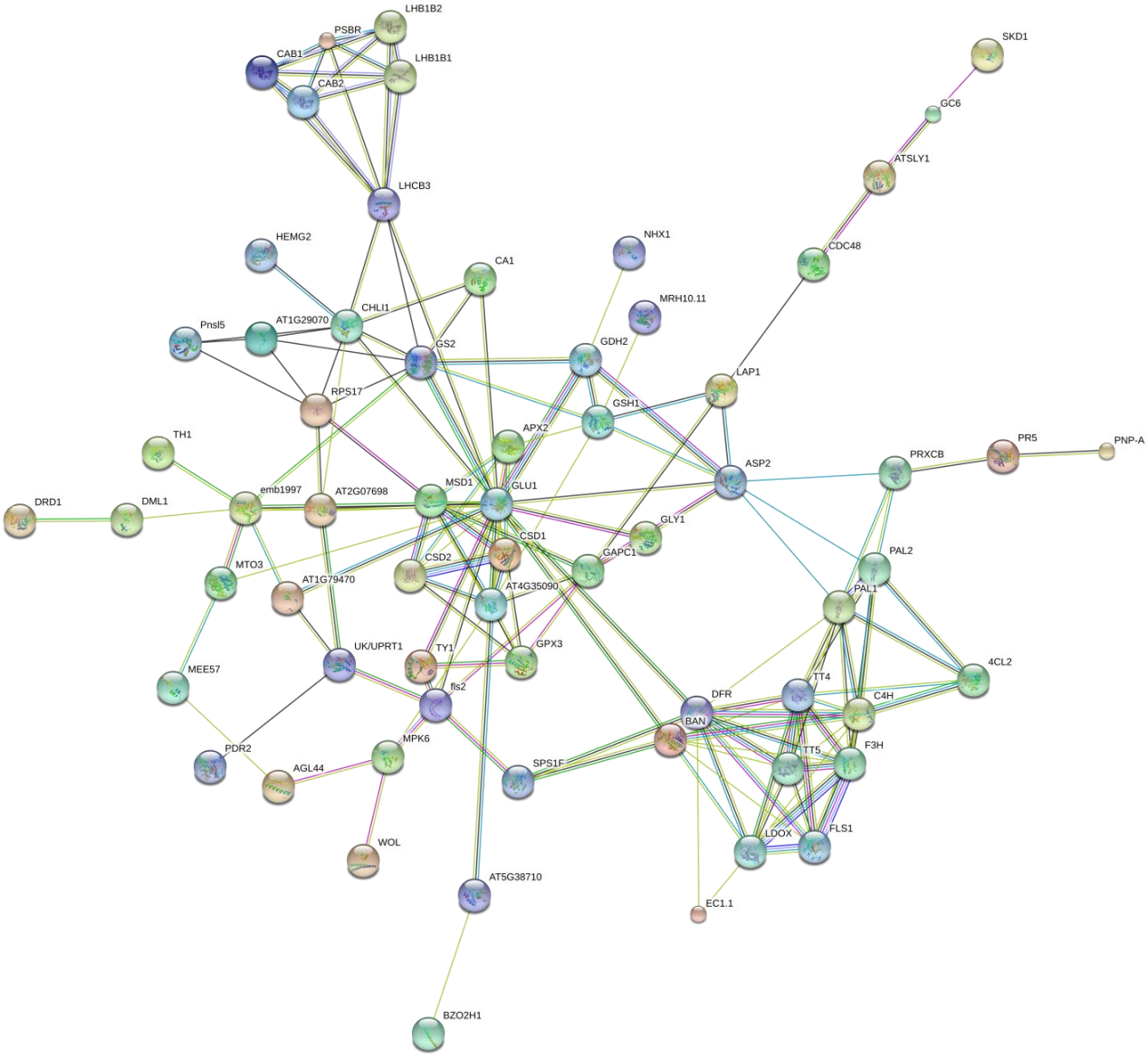
محوریت ژن‌های دخیل در تنظیم رشد، تقسیم سلولی و مکانیسم‌های دفاعی، نشان‌دهنده نقش این اندام در هماهنگ‌سازی پاسخ‌های رشدمحور و حفاظتی است. از منظر بیوانفورماتیکی، شناسایی ژن‌های هاب[1] در این شبکه‌ها اهمیت بالایی دارد. در این پژوهش، ژن‌های هاب عمدتاً شامل اعضای خانواده‌های MAPK، DREB و HSP بودند که در تمام بافت‌ها، به‌ویژه برگ و جوانه‌ها، دارای قدرت تنظیمی بالایی بودند. مسیر MAPK cascade به‌عنوان مسیر مرکزی انتقال پیام، در پاسخ به خشکی از طریق فعال‌سازی پادتنظیم‌کننده‌ها و عوامل رونویسی، نقشی کلیدی در تنظیم پاسخ‌های دفاعی بازی می‌کند (Zhang *et al*., 2023). این مسیر سیگنال‌دهی، در تعامل با گیرنده‌های سطح سلول، تحریک‌پذیری نسبت به کاهش پتانسیل آبی را افزایش می‌دهد و با تنظیم بیان ژن‌های ثانویه، سبب افزایش تحمل سلول‌ها می‌شود. بررسی‌های ژنومی در چای نشان داده‌اند که خانواده MAPK شامل حداقل ۱۶ ژن MPK و ۵ ژن MKK است که برخی از آن‌ها به‌طور ویژه در پاسخ به تنش خشکی فعال می‌شوند (Zhang *et al*., 2023). عوامل رونویسی DREB که زیرمجموعه خانواده AP2/ERF هستند، در تنظیم بیان ژن‌های پاسخگر به خشکی از طریق اتصال به عناصر DRE/CRT در پروموتر ژن‌های هدف نقش دارند. حضور این عوامل در شبکه‌های برگ و ریشه نشان می‌دهد که گیاه چای از سامانه‌ای منسجم برای فعال‌سازی پاسخ‌های آنتی‌اکسیدانی، اسمولیتی و تنظیم تعادل آبی بهره می‌گیرد (Samarina *et al*., 2020). این ژن‌ها نه‌تنها با تنش آبی، بلکه با تنش‌های ترکیبی نظیر گرما و شوری نیز هم‌پوشانی عملکردی دارند که این نکته برای اصلاح ژنوتیپ‌های مقاوم چندمنظوره بسیار ارزشمند است. ژن‌های HSP نیز در اجزای مرکزی شبکه حضور دارند. این پروتئین‌ها با نقش حفاظتی در سطح پروتئینی و تنظیم پایداری ساختار آنزیم‌ها در شرایط تنش، به‌ویژه در برگ، فعال می‌شوند؛ برای نمونه، ژن‌های HSP ۷۰ و HSP ۹۰ که در گیاه چای شناسایی شده‌اند، تحت شرایط خشکی و گرما بیان بالایی دارند و به‌عنوان چپرون‌های محافظت‌کننده، از تغییر شکل و تجمع پروتئین‌ها جلوگیری می‌کنند (Chen *et al*,.2018). بیان هم‌زمان HSPها و DREBها در شبکه‌ها نشان‌دهنده سازوکاری هم‌افزا در سطح رونویسی و پسارونویسی است که برای بقا در شرایط تنش ضروری است.

1 -Hub genes



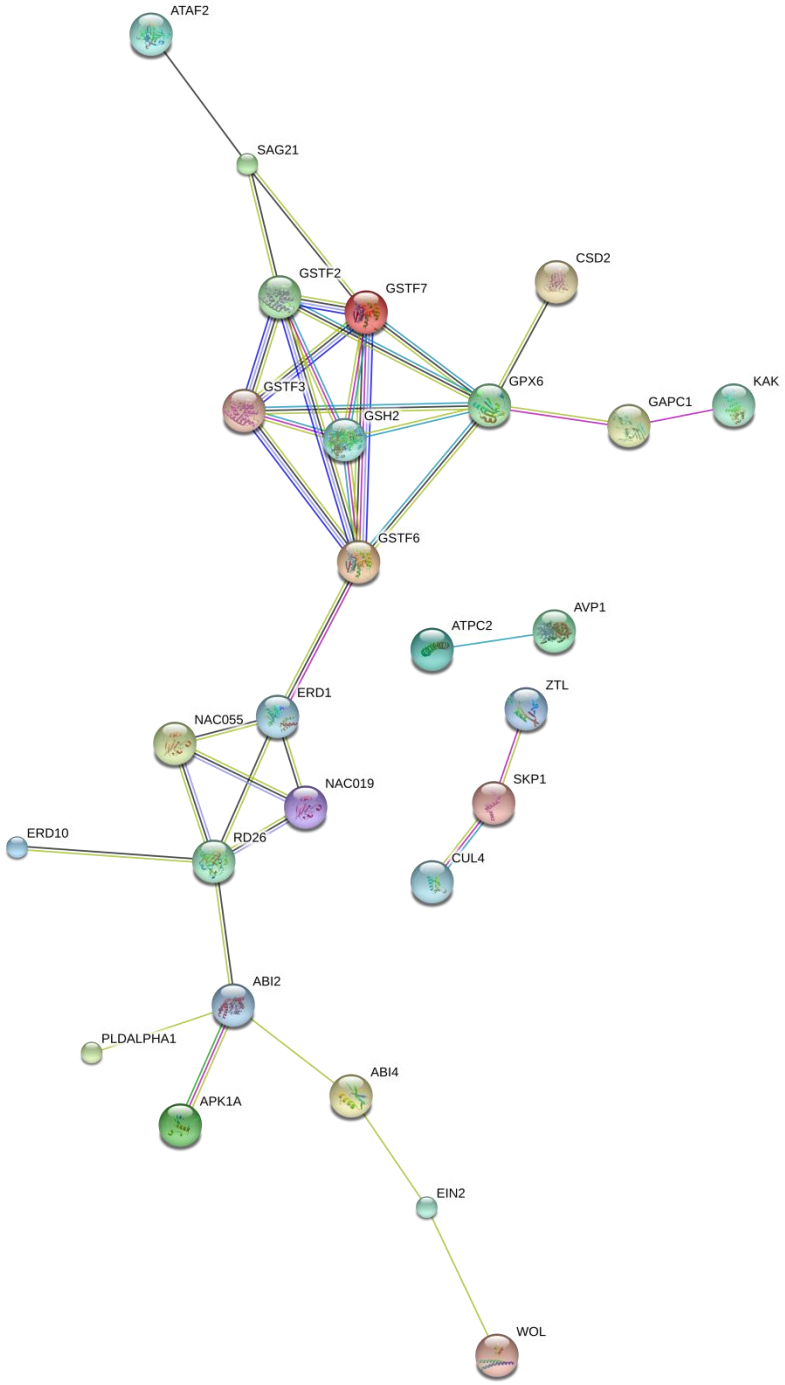
شکل ۱- شبکه ژنی روابط ۱۹۳ ژن با بیان افتراقی در شرایط تنش خشکی و همسایه‌های شناخته‌شده در تمام اندام‌های گیاه چای بر اساس داده-های String های روش مرور منابع با استفاده از نرم‌افزار

Figure 1. The interaction network of 193 differentially expressed genes (DEGs) and their known neighbors under drought stress across all tea plant organs, generated from literature review data using the STRING tool.



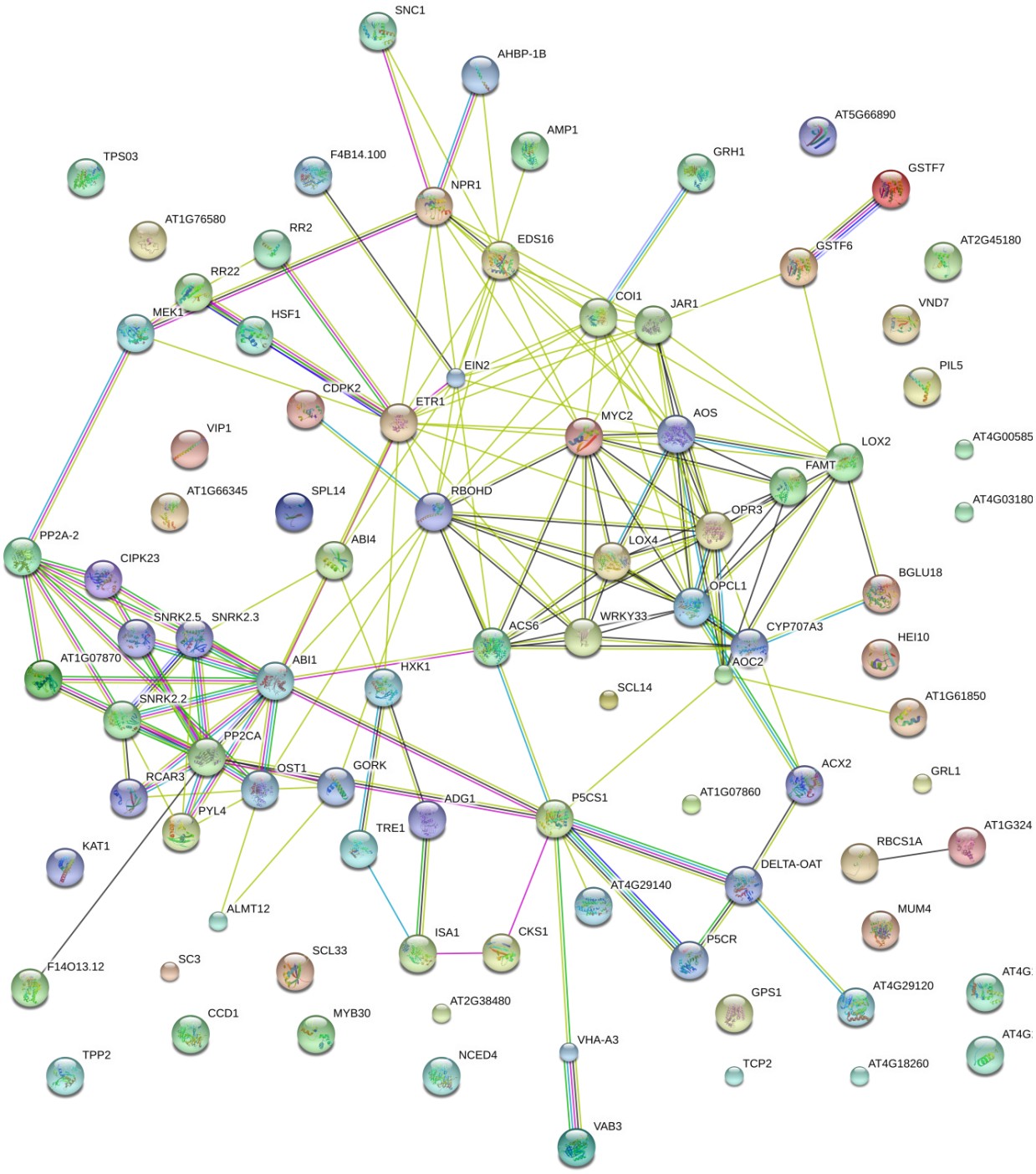
شکل ۲- شبکه ژنی روابط ۸۲ ژن با بیان افتراقی در شرایط تنش خشکی و همسایه‌های شناخته‌شده در بافت برگ گیاه چای بر اساس داده‌های روش مرور منابع با استفاده از نرم‌افزار String

Figure 2. Gene interaction network of 82 differentially expressed genes under drought stress conditions and their known neighbors in tea leaf tissue, based on systematic literature review data constructed using STRING.



شکل ۳- شبکه ژنی روابط ۳۹ ژن با بیان افتراقی در شرایط تنش خشکی و همسایه‌های شناخته‌شده در بافت ریشه گیاه چای بر اساس داده‌های روش مرور منابع با استفاده از نرم‌افزار String

Figure 3. Gene interaction network of 39 differentially expressed genes under drought stress conditions and their known neighbors in tea root tissue, based on systematic literature review data constructed using STRING.



شکل ۴- شبکه ژنی روابط ۷۶ ژن با بیان افتراقی در شرایط تنش خشکی و همسایه‌های شناخته‌شده در بافت جوانه و دو برگ انتهایی گیاه چای بر اساس داده‌های روش مرور منابع با استفاده از نرم‌افزار String

Figure 4. Gene interaction network of 76 differentially expressed genes under drought stress conditions and their known neighbors in bud and two apical leaves tissue of the tea plant, based on systematic literature review data constructed using STRING.

۳-۳- تحلیل هستی‌شناسی عملکرد ژن‌ها[1]

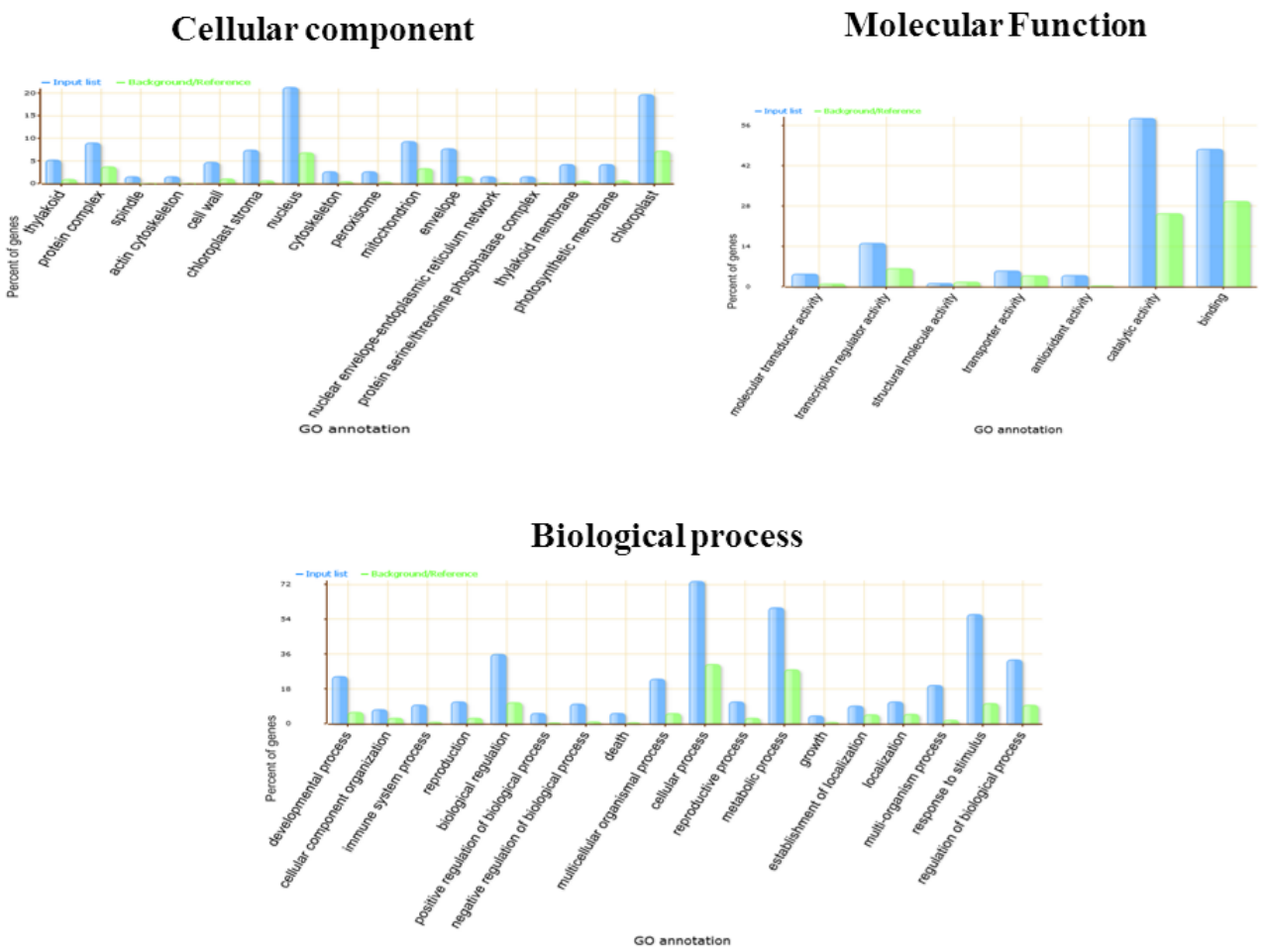
در راستای تبیین نقش زیستی ژن‌های شناسایی‌شده با بیان افتراقی در پاسخ به تنش خشکی، تحلیل عملکردی و هستی‌شناسی این ژن‌ها در سه سطح فرایندهای زیستی، اجزای سلولی و عملکردهای مولکولی، برای کل گیاه چای و نیز به تفکیک اندام‌ها انجام شد. نتایج حاصل از این تحلیل‌ها، تصویری ژرف از سازوکارهای دفاعی، تنظیمی و متابولیکی گیاه چای در برابر شرایط کم‌آبی ارائه می‌دهد.

1- Gene Ontology Analysis

در سطح فرایندهای زیستی[1]، مشخص شد که بخش عمده‌ای از ژن‌ها در مسیرهایی نظیر پاسخ به تنش اکسیداتیو، تنظیم بیان ژن‌ها در شرایط تنش، بیوسنتز اسمولیت‌ها، فعال‌سازی مکانیسم‌های آنتی‌اکسیدانی و تنظیم تعادل یونی و اسمزی فعالیت دارند؛ برای نمونه، ژن‌های مربوط به تولید آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نظیر سوپراکسید دیسموتاز (**SO**D)، کاتالاز (CAT) و پراکسیدازها (POD) که نقش کلیدی در کاهش آسیب‌های ناشی از گونه‌های فعال اکسیژن دارند، در شرایط خشکی به‌طور قابل توجهی بیان شده‌اند (Dong *et al.*, 2017; Liu *et al.*, 2016)؛ افزون بر این، افزایش بیان ژن‌های درگیر در تولید پرولین و مانیتول که به‌عنوان اسمولیت‌های سازگارکننده شناخته می‌شوند، نشان‌دهنده تلاش گیاه در حفظ فشار اسمزی و پایداری ساختارهای سلولی در شرایط تنش است (Zhang *et al.*, 2017).

در سطح اجزای سلولی[2]، تحلیل هستی‌شناسی نشان داد که ژن‌های مورد بررسی در چهار ساختار کلیدی سلولی، یعنی هسته، ریبوزوم، کلروپلاست (به‌ویژه تیلاکوئیدها) و غشای پلاسمایی، بیشترین فعالیت را دارند. در هسته، حضور چشمگیر ژن‌های تنظیمی نظیر اعضای خانواده‌های DREB، NAC و WRKY (به‌عنوان فاکتورهای رونویسی عمل می‌کنند)، نشان‌دهنده نقش برجسته این بخش در تنظیم پاسخ به تنش است (Samarina *et al.*, 2020). در ریبوزوم‌ها، افزایش بیان ژن‌های دخیل در سنتز پروتئین، ازجمله پروتئین‌های حفاظتی و آنزیم‌های استرس پاسخ، به تولید سریع مولکول‌های عملکردی برای مقابله با تنش خشکی منجر شده است (Liu *et al.*, 2016). همچنین ژن‌های فعال در کلروپلاست‌ها و تیلاکوئیدها نقش حیاتی در حفظ کارایی فتوسنتز، تنظیم تعادل انرژی و کنترل تولید گونه‌های فعال اکسیژن دارند (Zhang *et al.*, 2017). در نهایت، در غشای سلولی، ژن‌های مرتبط با تنظیم کانال‌های یونی و انتقال‌دهنده‌های فعال در کنترل تعادل یونی و سیگنال‌دهی میان سلول و محیط، نقش ایفا کرده‌اند (*Dong et al. 2017*). در سطح عملکردهای مولکولی[3]، تنوع گسترده‌ای از عملکردها شناسایی شد که مهم‌ترین آن‌ها شامل اتصال اختصاصی به DNA، فعالیت‌های آنزیمی و کاتالیتیکی، تنظیم رونویسی، فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و تعاملات پروتئین - پروتئین بودند. فاکتورهای رونویسی نظیر DREB و WRKY از طریق اتصال به عناصر پاسخ‌دهنده در پروموتر ژن‌های هدف، الگوی بیان ژنی را در شرایط خشکی بازبرنامه‌ریزی و نقش تعیین‌کننده‌ای در تنظیم مسیرهای استرس پاسخ ایفا کرده‌اند (Samarina *et al.*, 2020). فعالیت آنزیم‌های کاتالیتیکی نیز موجب تسهیل واکنش‌های متابولیکی ضروری برای تولید ترکیبات سازگار با تنش، مانند اسمولیت‌ها و آنتی‌اکسیدان‌ها، شده است (Liu *et al.*, 2016). همچنین نقش ژن‌ها در ایجاد و حفظ تعاملات مؤثر پروتئین - پروتئین، هماهنگی در مسیرهای سیگنال‌دهی و تقویت پاسخ جامع گیاه را میسر ساخته است (Samarina *et al.*, 2020). در مجموع، تحلیل‌های عملکردی و GO نشان‌دهنده آن است که پاسخ گیاه چای به خشکی، واکنشی پیچیده، بافت ویژه و تنظیم‌شده در چند سطح ساختاری و عملکردی است. توزیع یکنواخت اما متمایز ژن‌های فعال در اندام‌های مختلف، ازجمله برگ، جوانه و ریشه، مؤید آن است که هریک از این بخش‌ها به‌نحوی خاص در تحمل خشکی مشارکت دارند. برگ‌ها و جوانه‌ها به‌واسطه نقش مستقیم در فتوسنتز و تعرق، تغییرات بیانی گسترده‌تری نشان داده‌اند، در حالی که ریشه‌ها درک اولیه از تنش و انتقال سیگنال‌های پاسخ را بر عهده داشته‌اند. این نتایج علاوه بر ایجاد درک عمیق‌تر از معماری ژنتیکی سازوکارهای دفاعی در گیاه چای، زمینه‌ساز توسعه راهبردهای مولکولی نوین برای اصلاح ژنتیکی ارقام مقاوم به خشکی، طراحی مارکرهای اختصاصی و ارتقای عملکرد زراعی چای در شرایط اقلیمی بحرانی خواهد بود.

1- Biological Processes
2- Cellular Components
3- Molecular Functions



شکل ۵- بررسی هستی‌شناسی (فرایندهای زیستی، عملکردهای مولکولی و اجزای سلولی) ژن‌های شناسایی‌شده دخیل در تحمل به تنش خشکی بر اساس مرور منابع در گیاه چای AgriGo

Figure 5. Gene Ontology analysis (biological processes, molecular functions, and cellular components) of identified genes involved in drought stress tolerance based on literature review in tea plant using AgriGO.

۳-۴- هم‌پوشانی ژن‌ها: بازتابی از هماهنگی عملکردی بین بافتی در گیاه چای

تحلیل هم‌پوشانی ژن‌های دارای بیان افتراقی در بافت‌های مختلف گیاه چای تحت تنش خشکی، با استفاده از نمودارهای ون[1]، نشان‌دهنده وجود ساختار تنظیمی چندبافته و هماهنگ در سراسر اندام‌های گیاه بود. بررسی این هم‌پوشانی آشکار ساخت که بخش قابل توجهی از ژن‌ها نه‌تنها به‌صورت اختصاصی در یک بافت، بلکه به‌طور مشترک در دو یا چند بافت فعال هستند. این الگو مؤید وجود شبکه تنظیمی سیستمیک و منسجم در پاسخ به تنش خشکی است که از طریق مسیرهای سیگنال‌دهی میان‌بافتی، موجب هماهنگی واکنش‌ها در سراسر گیاه می‌شود. مطالعه (Zhang *et al.*, 2017) بر گیاه چای نیز نشان داد که هم‌پوشانی میان ژن‌های پاسخگر به تنش‌های شوری و خشکی، به‌ویژه در بافت‌های برگ و ریشه، نقش کلیدی در تطابق گیاه ایفا می‌کند و نشان‌دهنده تعامل بین مسیرهای محافظتی مختلف است (Zhang *et al.*, 2023). همچنین یافته‌های (Samarina *et al.*, 2020) نشان داد که پاسخ به تنش خشکی در چای، حاصل عملکرد ژن‌هایی با فعالیت مشترک در بافت‌های مختلف است که به کمک مسیرهای انتقال سیگنال، مانند ABA و ROS، هماهنگ می‌شوند. این هم‌پوشانی ژنی نه‌تنها نشانه سازمان‌دهی منسجم در سطح سلولی است، بلکه نشان‌دهنده نقش چندگانه بسیاری از ژن‌ها در عملکردهای متنوع سلولی و مولکولی است. از منظر زیست‌شناسی سامانه‌ای، این یافته‌ها تأکید می‌کنند که به‌منظور طراحی راهکارهای اصلاحی مؤثر، تمرکز باید بر ژن‌هایی باشد که در بیش از یک بافت فعال هستند و نقش تنظیمی در سطوح بالادست شبکه‌های ژنی ایفا می‌کنند.

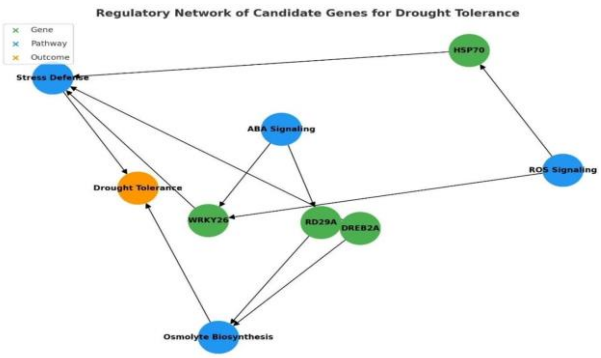
1 -Venn Diagram

۳-۵- ژن‌های کاندید برای اصلاح ژنتیکی: اهداف استراتژیک در بهبود مقاومت به خشکی

تحمل به خشکی یکی از مهم‌ترین صفات زیستی است که در بهبود عملکرد گیاهان در شرایط تنش‌های آبی نقش حیاتی ایفا می‌کند. با توجه به اهمیت روزافزون این ویژگی در کشاورزی پایدار و امنیت غذایی، شناسایی و به‌کارگیری ژن‌های کلیدی مؤثر در افزایش مقاومت به خشکی، از اولویت‌های اساسی تحقیقات زیستی و اصلاح نباتات به‌شمار می‌رود. در این راستا، مطالعات عملکردی و بیوانفورماتیکی متعددی به شناسایی ژن‌هایی پرداخته‌اند که در مسیرهای تنظیم پاسخ گیاه به کمبود آب نقش محوری دارند و می‌توان آن‌ها را به‌عنوان اهداف استراتژیک برای اصلاح ژنتیکی و مهندسی مقاومت به خشکی معرفی کرد. یکی از برجسته‌ترین ژن‌های کاندید در این زمینه، DREB2[1] است که به‌عنوان یکی از عوامل رونویسی مهم خانواده AP2/ERF شناخته می‌شود. این پروتئین به‌واسطه اتصال اختصاصی به توالی‌های DRE[2] در نواحی پروموتر ژن‌های هدف، مسیرهای متعدد تنظیمی مرتبط با پاسخ به خشکی را فعال می‌سازد. این مسیرها شامل تنظیم تعادل اسمزی سلولی، القای سنتز و تجمع اسمولیت‌ها (مولکول‌های سازگار با تنش نظیر پروتئین‌ها، قندها و آمینواسیدها) و تحریک سیستم‌های دفاعی سلولی است. پژوهش‌ها نشان داده‌اند که افزایش بیان DREB2A در گیاهان مدل نظیر *Arabidopsis thaliana* و برنج *Oryza sativa*، باعث بهبود چشمگیر در تحمل به خشکی و افزایش بقای گیاه تحت شرایط تنش آبی می‌شود (Agarwal *et al.*, 2006). این یافته‌ها تأکید بر نقش کلیدی DREB2A به‌عنوان تنظیم‌کننده اصلی در شبکه‌های ژنی پاسخ به تنش خشکی دارند و آن را به هدفی ارزشمند برای مهندسی ژنتیکی تبدیل کرده‌اند. در کنار DREB2A، ژن RD29A[3] نیز یکی از ژن‌های حساس و پاسخگو به خشکی است که فعالیت آن عمدتاً تحت کنترل هورمون آبسیزیک‌اسید (ABA) قرار دارد. RD29A در شرایط کم‌آبی فعال می‌شود و در مسیرهای وابسته به ABA نقش حیاتی دارد. این ژن با دخالت در تجمع اسمولیت‌ها و حفظ ثبات ساختار سلولی، به گیاهان کمک می‌کند تا مقاومت خود را در برابر تنش کم‌آبی افزایش دهند. مطالعات متعددی اهمیت RD29A را در تنظیم پاسخ‌های تطبیقی گیاه به خشکی و حفظ کارکرد سلولی تأیید کرده‌اند (Yamaguchi-Shinozaki and Shinozaki, 2006). به همین دلیل، این ژن نیز به‌عنوان یکی از اهداف مهم در برنامه‌های اصلاح ژنتیکی مطرح است. پروتئین‌های شوک حرارتی، ازجمله HSP ۷۰، نقش محافظتی کلیدی در شرایط تنش‌های مختلف، ازجمله خشکی، ایفا می‌کنند. این پروتئین‌ها با تثبیت و حفظ ساختار سه‌بعدی پروتئین‌ها و جلوگیری از دناتوره شدن آن‌ها در برابر تنش‌های حرارتی و اکسیداتیو، موجب حفظ عملکرد بهینه آنزیم‌ها و پروتئین‌های سلولی می‌شوند. در شرایط خشکی، افزایش بیان HSP ۷۰ کمک می‌کند تا غشاهای سلولی و فرایندهای متابولیکی درون سلول حفظ شود و گیاه بتواند به‌صورت مؤثرتری با تنش مقابله کند (Wang *et al.*, 2003)؛ بنابراین، تقویت مسیرهای مرتبط با HSP ۷۰، ازجمله راهکارهای مؤثر برای افزایش مقاومت به خشکی در گیاهان است؛ علاوه بر این، عوامل رونویسی خانواده WRKY، به‌ویژه ژن WRKY ۲۶، نقش مهمی در تنظیم پاسخ‌های دفاعی و تحمل به خشکی دارند. مطالعات انجام‌شده بر گیاه چای و سایر گونه‌های مدل نشان داده‌اند که WRKY ۲۶ با تنظیم متقابل مسیرهای سیگنالینگ دفاعی و پاسخ به تنش، به تقویت مقاومت گیاه در برابر خشکی کمک می‌کند (Chen *et al.*, 2021). این ژن قادر است از طریق تنظیم بیان ژن‌های مرتبط با دفاع سلولی و سیستم‌های محافظتی، پاسخ‌های گیاه به تنش‌های محیطی را هماهنگ سازد. تلفیق و هم‌افزایی عملکرد این ژن‌ها در برنامه‌های اصلاحی و مهندسی ژنتیکی، به‌ویژه با بهره‌گیری از فناوری‌های نوین مانند ویرایش ژن با CRISPR/Cas۹ و سیستم‌های RNAi، می‌تواند منجر به تولید ارقامی با مقاومت بالا به خشکی شود. این ارقام جدید نه‌تنها توان فتوسنتزی مطلوب را حفظ می‌کنند، بلکه قادرند در شرایط سخت محیطی، عملکرد پایداری ارائه دهند که این امر اهمیت ویژه‌ای در کشاورزی مناطق خشک و نیمه‌خشک دارد. در نهایت، تمرکز بر این ژن‌های کلیدی و به‌کارگیری رویکردهای مدرن اصلاحی، فرصت بی‌نظیری برای افزایش کارایی و پایداری محصولات کشاورزی فراهم می‌آورد. توسعه ارقام مقاوم به خشکی، به‌ویژه در گیاهان استراتژیکی مانند چای، می‌تواند به بهبود امنیت غذایی، حفظ منابع آبی و افزایش بهره‌وری کشاورزی در مواجهه با تغییرات اقلیمی کمک کند؛ لذا برنامه‌ریزی‌های هدفمند در جهت شناسایی،

1-dehydration Responsive Element Binding Protein DREB2
2 -Dehydration Responsive Element
3 -Responsive to Desiccation 29A

اصلاح و بهینه‌سازی این ژن‌ها، از گام‌های اساسی در راستای توسعه کشاورزی مقاوم و پایدار به‌شمار می‌رود.



شکل ۶- شبکه تنظیمی ژن‌های کاندید در تحمل به تنش خشکی گیاه چای

Figure 6. Regulatory network of candidate genes involved in drought stress tolerance in the tea plant.

دیاگرام ارائه‌شده در شکل ۶، به‌صورت بصری ارتباط میان ژن‌های کاندید معرفی‌شده، یعنی DREB2A، RD29A، ۷۰ HSP و WRKY ۲۶ و مسیرهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی مرتبط با مقاومت به خشکی را به تصویر می‌کشد. این ژن‌ها به‌عنوان اهداف استراتژیک در اصلاح ژنتیکی مطرح شده‌اند و هریک نقش کلیدی در مسیرهای سیگنال‌دهی گیاه دارند که با فعال‌سازی یا حمایت از فرایندهای ویژه، سازگاری گیاه را در شرایط کم‌آبی افزایش می‌دهند. در این شکل، این ژن‌ها در تعامل با دو مسیر اصلی سیگنال‌دهی اسیدآبسیزیک[1] و گونه‌های فعال اکسیژن[2] قرار گرفته‌اند که پیام‌های ناشی از تنش خشکی را دریافت و به شبکه‌ای از پاسخ‌های سلولی منتقل می‌کنند. این پاسخ‌ها موجب فعال‌شدن دو فرایند اساسی می‌شوند: نخست، سنتز اسمولیت‌ها[3] که به حفظ تعادل اسمزی و محافظت سلولی کمک می‌کند و دوم، فعال‌سازی سازوکارهای دفاعی[4] که از سلول در برابر تنش اکسیداتیو محافظت و ساختار پروتئینی و غشایی آن را حفظ می‌کند. تعامل هماهنگ این مسیرها و ژن‌ها منجر به افزایش تحمل به خشکی[5] می‌شود که هدف نهایی اصلاحات ژنتیکی است. این ارتباط بصری، زنجیره علت و معلولی مطرح‌شده در متن را به‌روشنی نشان می‌دهد و تأکید می‌کند که بهره‌گیری هم‌زمان از این ژن‌ها در مهندسی ژنتیک، به‌ویژه با فناوری‌های پیشرفته مانند CRISPR/Cas۹ و RNAi، می‌تواند راهکاری مؤثر برای تولید ارقامی پایدار و مقاوم در برابر خشکی باشد؛ زیرا عملکرد مطلوبی در شرایط تنش آبی دارد.

۶- نتیجه‌گیری نهایی

پژوهش حاضر با بهره‌گیری از رویکرد بیوانفورماتیکی و تحلیل داده‌های ترانسکریپتومی، تصویری ژرف و چندلایه از سازوکارهای ژنتیکی و مولکولی گیاه چای در مواجهه با تنش خشکی ارائه نمود. نتایج نشان داد که پاسخ چای به خشکی نه واکنشی منفرد، بلکه مجموعه‌ای پیچیده، هماهنگ و چندسطحی از تغییرات تنظیمی، بیوشیمیایی و شبکه‌ای است که در سطوح بافتی، سلولی و مولکولی به وقوع می‌پیوندد. فعال‌سازی ژن‌های کلیدی همچون MAPK، HSP، DREB و خانواده‌های مختلف عوامل رونویسی (TFs) در کنار مسیرهای وابسته به هورمون آبسزیک‌اسید (ABA) و سنتز ترکیبات محافظ اسمزی، گواهی بر وجود سامانه دفاعی منسجم و هوشمند در گیاه چای است که بقای آن را در شرایط اقلیمی سخت تضمین می‌نماید. از سوی دیگر، شناسایی ژن‌های هاب و مسیرهای مرکزی نه‌تنها چشم‌انداز علمی روشنی در فهم مکانیزم‌های مقاومت به خشکی فراهم ساخت، بلکه بنیانی کاربردی برای توسعه فناوری‌های نوین کشاورزی ایجاد نمود. این یافته‌ها می‌توانند در طراحی مارکرهای مولکولی به‌منظور غربالگری و انتخاب ارقام مقاوم، توسعه کیت‌های تشخیصی سریع و نیز در برنامه‌های اصلاح ژنتیکی و مهندسی مولکولی به کار گرفته شوند؛ افزون بر این، هم‌پوشانی و همگرایی شبکه‌های ژنی در بافت‌های مختلف نشان‌دهنده وجود یکپارچگی دفاعی در کل اندام گیاه است که الگویی ارزشمند برای ارتقای تحمل خشکی در سایر گونه‌های زراعی به‌شمار می‌رود. در مقایسه تطبیقی با سایر گیاهان، چای با واکنشی چندبافتی و اختصاصی متمایز می‌گردد و بدین‌سان می‌تواند به‌عنوان مدلی ممتاز برای مطالعات مولکولی تنش خشکی معرفی شود. حاصل این پژوهش نه‌تنها گامی مهم در ارتقای دانش بنیادین پیرامون سازوکارهای تحمل تنش در چای است، بلکه دستاوردی راهبردی در راستای توسعه پایدار، افزایش بهره‌وری باغات چای ایران، تضمین امنیت غذایی و صیانت از منابع طبیعی در اقلیم‌های خشک و نیمه‌خشک جهان محسوب می‌گردد.

1- ABA Signaling
2- ROS Signaling
3- Osmolyte Biosynthesis
4- Stress Defense
5- Drought Tolerance

References

Agarwal, P. K., Agarwal, P., Reddy, M. K., & Sopory, S. K. 2006. Role of DREB transcription factors in abiotic and biotic stress tolerance in plants. Plant Cell Reports, 25 (12), 1263–1274. https://doi.org/10.1007/s00299-006-0119-8.

Ahmed, S., Griffin, T. S., Kraner, D., Schaffner, M. K., Sharma, D., Hazel, M., Gaskell, M., Lerch, E., Orians, C. M., & Stepp, J. R. 2014. Effects of extreme climate events on tea functional quality. PLOS ONE, 9 (10), e109126. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0109126.

Altschul, S. F., Gish, W., Miller, W., Myers, E. W., & Lipman, D. J. 1990. Basic local alignment search tool. Journal of Molecular Biology, 215 (3), 403–410. https://doi.org/10.1016/S0022-2836%2805%2980360-2.

Altschul, S. F., Madden, T. L., Schäffer, A. A., Zhang, J., Zhang, Z., Miller, W., & Lipman, D. J. 1997. Gapped BLAST and PSI-BLAST: A new generation of protein database search programs. Nucleic Acids Research, 25 (17), 3389–3402. https://doi.org/10.1093/nar/25.17.3389.

Chen, H., Zhang, Z., Liu, W., Li, H., & Chen, S. 2018. Genome-wide characterization of HSP70 and HSP90 in tea plant and their expression under stress. International Journal of Molecular Sciences, 19 (9), 2633. https://doi.org/10.3390/ijms19092633.

Chen, W., Zheng, C., Wang, J., Hu, T., Zhang, S., Jia, L., Zhao, Y., Jin, J., & Jin, L. 2021. The tea plant CsWRKY26 promotes drought tolerance in Arabidopsis. Horticulture Research, 8, 78. https://doi.org/10.1038/s41438-021-00561-3.

Ding, F., & Jiang, Y. 2022. Root-specific transcriptome profiling reveals key regulators of drought tolerance in tea (Camellia sinensis). Plant Molecular Biology, 110(5), 439–456. https://doi.org/10.1007/s11103-022-01248-7.

Dong, B., Wu, B., Hong, W., Li, X., Li, Z., & Xie, J. 2017. Transcriptome analysis of the tea oil camellia reveals candidate drought stress genes. PLOS ONE, 12 (7), e0181835. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0181835.

Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2023. FAOSTAT statistical database. FAO. http://www.fao.org/faostat.

Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D., & Basra, S. M. A. 2009. Plant drought stress: Effects, mechanisms and management. Agronomy for Sustainable Development, 29, 185–212. https://doi.org/10.1051/agro:2008021.

Intergovernmental Panel on Climate Change. 2021. Sixth assessment report: Impacts, adaptation and vulnerability. IPCC. https://www.ipcc.ch/report/ar6/wg2/.

Liu, S. C., Zhang, L., Zhang, H., Jiang, X., & Chen, X. 2016. Transcriptomic analysis of tea plant responding to drought stress and recovery. PLOS ONE, 11 (1), e0147306. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0147306.

Liu, H., Wang, X., Zhou, X., & Li, Y. 2016. Genome-wide identification of differentially expressed genes in tea Camellia sinensis under drought stress. Frontiers in Plant Science, 7, 1265. https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01265.

Nakashima, K., Takasaki, H., Mizoi, J., Shinozaki, K., & Yamaguchi-Shinozaki, K. 2014. The transcriptional regulatory network in the drought response and its crosstalk in abiotic stress responses. Frontiers in Plant Science, 5, 170. https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00170.

Parmar, S., Selvaraj, M. G., Varghese, R., Kumar, S., & Dey, P. M. 2019. Transcriptional profiling of contrasting genotypes revealed key candidates and nucleotide variations for drought dissection in Camellia sinensis (L.) O. Kuntze. Scientific Reports, 9, 43925. https://doi.org/10.1038/s41598-019-43925-w.

Ren, Z., Chen, Y., & Xu, W. 2022. Reactive oxygen species and secondary metabolite pathways in drought-stressed tea plants. Environmental and Experimental Botany, 199, 104876. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2022.104876.

Samarina, L. V., Gorbunova, V. S., Stepanova, A. N., Ivanov, I. I., & Khlestkina, E. K. 2020. Comparative expression analysis of stress inducible candidate genes in tea plants. Frontiers in Genetics, 11, 61128. https://doi.org/10.3389/fgene.2020.61128.

Thirugnanasambantham, K. G. P., Palanisamy, S., Chandrabose, S. R. S., & Mandal, A. K. 2013. Analysis of dormant bud (Banjhi) specific transcriptome of tea (Camellia sinensis (L.) O. Kuntze) from cDNA library revealed dormancy-related genes. Applied Biochemistry and Biotechnology, 169, 1405–1414. https://doi.org/10.1007/s12010-012-0038-2.

Thirugnanasambantham, K. G. P., Palanisamy, S., Chandrabose, S. R. S., & Azad, M. A. K. 2011. Identification of differentially expressed genes in dormant (banjhi) bud of tea (Camellia sinensis (L.) O. Kuntze) using subtractive hybridization approach. Plant Physiology and Biochemistry, 49 (6), 565–571. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2011.03.014.

Tian, T., Yue, L., Hengyu, Y., Qi, Y., Xin, Y., Zhou, D., Wenying, X., & Zhen, S. 2017. agriGO v2.0: A GO analysis toolkit for the agricultural community, 2017 update. Nucleic Acids Research, 45, 122–129. https://doi.org/10.1093/nar/gkx382.

Wang, W., Vinocur, B., & Altman, A. 2003. Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: Towards genetic engineering for stress tolerance. Planta,

218 (1), 1–14. https://doi.org/10.1007/s00425-003-1105-5.

Wang, W.-D., Chen, L., Yu, J., Li, Z., & Chen, X. 2016. Transcriptomic analysis reveals the molecular mechanisms of drought-stress-induced decreases in Camellia sinensis leaf quality. Frontiers in Plant Science, 7, 385. https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00385.

Wang, X.-S., Zhu, H.-B., Jin, G.-L., Liu, H.-L., Wu, W.-R., & Zhu, J. 2006. Genome-scale identification and analysis of LEA genes in rice (Oryza sativa L.). Plant Science, 172, 414–420. https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2006.10.008.

Wang, Y., Sun, J., & Zhang, L. 2016. Hormonal regulation and transcriptomic responses of tea leaves to drought stress. Plant Physiology and Biochemistry, 107, 289–298. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.06.009.

Yamaguchi-Shinozaki, K., & Shinozaki, K. 2006. Transcriptional regulatory networks in cellular responses and tolerance to dehydration and cold stresses. Trends in Plant Science, 11 (9), 495–502. https://doi.org/10.1016/j.tplants.2006.08.004.

Zhang, Q., et al. 2017. Transcriptome dynamics of Camellia sinensis in response to continuous salinity and drought stress. Tree Genetics & Genomes, 13 (39). https://doi.org/10.1007/s11295-017-1161-9.

Zhang, Q., et al. 2023. Haplotype resolution transcriptome analysis reveals the regulatory mechanisms of Camellia sinensis response to salt and drought stress. Genes, 14 (7), 1417. https://doi.org/10.3390/genes14071417.

Zheng, X., Wang, Z., Liu, Y., & Li, F. 2016. Comparative transcriptome analysis of tea leaves and roots under drought and cold stresses. BMC Genomics, 17, 948. https://doi.org/10.1186/s12864-016-3322-2.

Zuo, H., Chen, J., Lv, Z., Shao, C., Chen, Z., Zhou, Y., & Shen, C. 2024 Tea-derived polyphenols enhance drought resistance of tea plants (Camellia sinensis) by alleviating jasmonate–isoleucine pathway and flavonoid metabolism flow. International Journal of Molecular Sciences, 25(7), 3817. https://doi.org/10.3390/ijms25073817.