



## Transcriptomics: A High-Throughput Approach to Studying Plants Responses to Abiotic Stresses; A review

Mahdieh Modareskia<sup>1</sup>, Maryam Kholghi<sup>2</sup>, Reza Darvishzadeh<sup>2</sup>, Hadi Alipour<sup>2</sup>, Somaieh Soufimaleky<sup>3</sup> & Hamid Hatami Maleki<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Department of Horticulture Science, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Western Azerbaijan, Iran.

<sup>2</sup>Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Western Azerbaijan, Iran.

<sup>3</sup>MSc Graduate, Institut des Sciences du Cerveau de Toulouse, France.

<sup>4</sup>Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, University of Maragheh, Maragheh, Iran.

✉ Corresponding author. E-mail: [r.darvishzadeh@urmia.ac.ir](mailto:r.darvishzadeh@urmia.ac.ir)

### ABSTRACT

**Introduction:** Global food security is threatened by numerous challenges such as rapid population growth, climate change, environmental degradation, drought, the emergence of new diseases, and soil salinity. In natural environments, plants frequently encounter unfavorable environmental factors that significantly impact their survival and growth; these factors are collectively referred to as adversities. Plant stresses are generally categorized into abiotic stresses and biotic stresses. Abiotic stresses primarily arise from physical or chemical conditions such as high temperatures, drought, cold damage, high salt concentrations, the presence of heavy metals, and mechanical injuries. On the other hand, biotic stresses are caused by various biological agents such as fungi, bacteria, viruses, nematodes, and parasitic plants. Enhancing plant performance and improving tolerance to abiotic stresses remain central aims in modern breeding programs. Recent advances in omics technologies have enabled deeper exploration of the molecular mechanisms that govern plant stress responses. Among these, transcriptomics has emerged as a core analytical platform, offering genome-wide insights into gene expression dynamics and facilitating the identification of stress-responsive genes, regulatory mechanisms, and adaptive physiological pathways.

**Materials and methods:** This review synthesizes findings from peer-reviewed studies retrieved from major scientific databases including, PubMed, Web of Science, Scopus, and Google Scholar using targeted keywords related to transcriptomics, abiotic stress, and gene expression. Content analysis was used to evaluate transcriptomic technologies, their applications in cereal breeding, and their integration with other omics approaches.

**Results:** Transcriptomics, through comprehensive profiling of RNA transcripts, provides a powerful tool for uncovering molecular pathways associated with plant adaptation to environmental stresses. Key platforms include Microarray, RNA-Seq, and Third-Generation Sequencing (TGS). RNA-Seq offers high sensitivity, broad dynamic range, and the ability to detect rare transcripts, alternative isoforms, and non-coding RNAs, while TGS improves reconstruction of full-length transcripts and complex gene architectures. Case studies in cereals demonstrate that transcriptomic analyses have successfully identified transcription factors, ROS-regulatory pathways, ion transporters, hormone-mediated signaling components, and multiple candidate genes underlying tolerance to drought, salinity, temperature extremes, and oxidative stress. Integrating transcriptomic datasets with advanced bioinformatics pipelines further enhances predictive accuracy and supports more robust functional interpretations.

**Conclusion:** Transcriptomics represents a key component of modern molecular breeding by enabling precise characterization of gene regulatory networks involved in tolerance to abiotic stresses. Its integration with complementary omics approaches such as, genomics, proteomics, and metabolomics provides a systems-level framework for identifying key molecular targets and accelerating the development of stress-resilient crop varieties. Continued advances in sequencing technologies and computational analytics are expected to further expand the utility of transcriptomics in sustainable crop improvement.

**Keywords:** Environmental stress, Gene expression, Plant response, Transcriptomic techniques, Molecular breeding.

**Article Type:** Review Article

**Article history:** Received: 12 Aug 2025, Revised: 28 Sep 2025, Accepted: 23 Nov 2025, Published online: 26 Dec 2025

**Cite this article:** Modareskia, M., Kholghi, M., Darvishzadeh, R., Alipour, H., Soufimaleky, S. & Hatami Maleki, H. (2025). Transcriptomics: A High-Throughput Approach to Studying Plants Responses to Abiotic Stresses. *Cereal Biotechnology and Biochemistry*, 4(4), 589-627. DOI: [10.22126/cbb.2026.12913.1118](https://doi.org/10.22126/cbb.2026.12913.1118)



© The Author(s).

[doi 10.22126/cbb.2026.12913.1118](https://doi.org/10.22126/cbb.2026.12913.1118)

**Publisher:** Razi University



# بیوتکنولوژی و بیوشیمی غلات

شاپا الکترونیکی: ۵۱۷۰-۲۷۸۳



بیوتکنولوژی و بیوشیمی غلات

Homepage: <https://cbb.razi.ac.ir>

ترنسکرپتومیکس: رویکردی با کارایی بالا در مطالعه واکنش گیاهان به تنش‌های غیر زیستی؛

مروری

مهدیه مدرس کیا<sup>۱</sup>، مریم خلقی<sup>۲</sup>، رضا درویش زاده<sup>۲</sup>✉، هادی علیپور<sup>۲</sup>، سمیه صوفی ملکی<sup>۳</sup> و حمید حاتمی ملکی<sup>۴</sup>

<sup>۱</sup> گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

<sup>۲</sup> گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

<sup>۳</sup> دانش آموخته کارشناسی ارشد، انستیتو علوم اعصاب تولوز، فرانسه.

<sup>۴</sup> گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه، مراغه، ایران.

✉ نویسنده مسئول. رایانامه: [r.darvishzadeh@urmia.ac.ir](mailto:r.darvishzadeh@urmia.ac.ir)

## چکیده

**مقدمه:** امنیت غذایی جهانی با چالش‌های متعددی نظیر رشد سریع جمعیت، تغییرات اقلیمی، تخریب محیط زیست، خشکسالی، ظهور بیماری‌های جدید و شوری خاک‌ها تهدید می‌شود. در محیط طبیعی، گیاهان به طور مکرر با عوامل محیطی نامطلوبی مواجه می‌شوند که بر بقا و رشد آن‌ها تأثیرات قابل توجهی می‌گذارد و این عوامل به طور کلی تحت عنوان ناملایمات شناخته می‌شوند. تنش‌های گیاهی به طور کلی شامل تنش‌های غیر زیستی و تنش‌های زیستی هستند. تنش‌های غیرزیستی عمدتاً ناشی از شرایط فیزیکی یا شیمیایی مانند دماهای بالا، خشکی، آسیب‌های ناشی از سرما، غلظت بالای نمک، وجود فلزات سنگین و آسیب‌های مکانیکی هستند. از سوی دیگر، تنش‌های زیستی به واسطه عوامل بیولوژیکی مختلفی نظیر قارچ‌ها، باکتری‌ها، ویروس‌ها، نماتدها و گیاهان انگلی ایجاد می‌شوند. بهبود عملکرد گیاهان و افزایش مقاومت آن‌ها در برابر تنش‌های غیرزیستی، از اهداف کلیدی در برنامه‌های به‌نژادی مدرن محسوب می‌شود. پیشرفت فناوری‌های آمیکس در دهه‌های اخیر، چشم‌انداز جدیدی برای درک مکانیسم‌های مولکولی پاسخ گیاهان به تنش‌های محیطی فراهم کرده است. در این میان، ترنسکرپتومیکس به عنوان یکی از رویکردهای کلیدی، امکان تحلیل جامع الگوهای بیان ژن را در شرایط مختلف تنش فراهم می‌آورد و می‌تواند در شناسایی ژن‌های مسئول تحمل تنش، مسیرهای تنظیمی و مکانیسم‌های سازگاری گیاه نقشی مؤثر ایفا کند.

**مواد و روش‌ها:** مقاله حاضر یک مقاله مروری می‌باشد که به شیوه تحلیل محتوا با جستجوی کلید واژه‌های ترنسکرپتومیکس، تنش‌های غیر زیستی، بیان ژن در مقاله‌های مرتبط در پایگاه‌های اینترنتی PubMed، Web of Science، Scopus و Google Scholar تهیه شده است.

**یافته‌ها:** نتایج نشان داد که ترنسکرپتومیکس، با تمرکز بر بررسی کل مجموعه رونوشت‌های RNA، ابزار مؤثری برای شناسایی ژن‌ها و مسیرهای مولکولی دخیل در پاسخ به تنش‌های محیطی است. فناوری‌های مختلف مورد استفاده در این حوزه شامل ریزآرایه (Microarray)، توالی‌یابی آر ان ای (RNA Sequencing; RNA-Seq) و توالی‌یابی نسل سوم (Third-Generation Sequencing) می‌باشند که هر یک دارای مزایا و محدودیت‌های خاصی هستند. مطالعات نشان می‌دهد که RNA-Seq نسبت به روش‌های مبتنی بر ریزآرایه، دقت و گستره‌ی دینامیکی بیشتری دارد و قادر است رونوشت‌های نادر، ایزوفرم‌های متفاوت و RNAهای غیرکدکننده را شناسایی کند. در مقابل، توالی‌یابی نسل سوم با توانایی خواندن (خوانش) طولانی‌تر و پوشش کامل‌تر، به شناسایی ساختارهای پیچیده‌تر ژن‌ها کمک می‌کند. بررسی‌های موردی در غلات نشان می‌دهند که تحلیل‌های ترنسکرپتومی به‌طور موفقیت‌آمیز عوامل مهمی مانند فاکتورهای رونویسی، مسیرهای تنظیم ROS، انتقال‌دهنده‌های یونی، اجزای سیگنالینگ هورمونی و ژن‌های مرتبط با سازگاری به خشکی، شوری، دماهای شدید و تنش اکسیداتیو را شناسایی کرده‌اند. ترکیب داده‌های ترنسکرپتومی با ابزارهای پیشرفته بیوانفورماتیکی، دقت تحلیل را افزایش داده و فهم عمیق‌تری از سازوکارهای مولکولی تحمل تنش فراهم می‌سازد.

**نتیجه‌گیری:** ترنسکرپتومیکس به‌عنوان یکی از ارکان اصلی زیست‌فناوری مدرن، نقشی اساسی در شناسایی ژن‌ها و مسیرهای مولکولی مرتبط با تحمل به تنش‌های غیرزیستی ایفا می‌کند. تلفیق این فناوری با سایر رویکردهای آمیکس نظیر ژنومیکس، پروتئومیکس و متابولومیکس، درک جامع‌تری از تعاملات مولکولی در گیاهان فراهم کرده و مسیر جدیدی برای توسعه‌ی گیاهان مقاوم به تنش و کشاورزی پایدار هموار می‌سازد.

**واژه‌های کلیدی:** بیان ژن، به‌نژادی مولکولی، پاسخ گیاهی، تکنیک‌های ترنسکرپتوم، تنش محیطی.

**نوع مقاله:** مقاله مروری

**نوع مقاله: دریافت:** ۱۴۰۴/۰۵/۲۱ **اصلاح:** ۱۴۰۴/۰۷/۰۶ **پذیرش:** ۱۴۰۴/۰۹/۰۲ **انتشار آنلاین:** ۱۴۰۴/۱۰/۰۵

**استناد:** مدرس کیا، م.، خلقی، م.، درویش زاده، ر.، علیپور، ه.، صوفی ملکی، ص. و حاتمی ملکی، ح. (۱۴۰۴). ترنسکرپتومیکس: رویکردی با کارایی بالا در مطالعه واکنش

گیاهان به تنش‌های غیر زیستی. *بیوتکنولوژی و بیوشیمی غلات*، ۴(۴)، ۵۸۹-۶۲۷. DOI: [10.22126/cbb.2026.12913.1118](https://doi.org/10.22126/cbb.2026.12913.1118)



© نویسندگان

ناشر: دانشگاه رازی

## مقدمه

امنیت غذایی جهانی با چالش‌های متعددی نظیر رشد سریع جمعیت، تغییرات اقلیمی، تخریب محیط زیست، خشکسالی، شوری خاک و شیوع بیماری‌های نوظهور تهدید می‌شود (Nejat et al., 2018; FAO, 2023; Von Braun et al., 2023). روش‌های سنتی (کلاسیک یا متداول) به‌نژادی گیاهان که عمدتاً بر پایه انتخاب فنوتیپی و تجربه به‌نژادگران بنا شده‌اند، اگرچه منجر به تولید ارقام پربازده شده‌اند، اما به دلیل حجم بالای ژرم پلاسما، زمان‌بر بودن فرآیند، راندمان پایین و وابستگی شدید به شرایط محیطی، با محدودیت‌های جدی مواجه‌اند. در دهه‌های اخیر، بهره‌گیری از گزینش به کمک نشانگر<sup>۱</sup> (MAS) کارایی برنامه‌های اصلاحی را به‌طور فزاینده‌ای ارتقا داده است (Nair and Pandey, 2024). پیاده‌سازی این راهبرد مستلزم شناسایی دقیق جایگاه‌های صفت کمی<sup>۲</sup> (QTL) است تا بتوان از طریق روش‌هایی همچون گزینش دوره‌ای به کمک نشانگر<sup>۳</sup> (MARS)، تلاقی برگشتی به کمک نشانگر<sup>۴</sup> (MABC) و ... فرآیند غربالگری ژنوتیپ‌های مطلوب را تسهیل و تسریع نمود (Maheendran et al., 2022). با این حال، به منظور تعدیل اثرات منفی تنش‌های محیطی بر تولیدات کشاورزی، لازم است از رویکردهای پیشرفته‌تر و فراتر از اصلاح کلاسیک و مولکولی بهره‌گرفت، زیرا هر دو دارای محدودیت‌های خاص خود هستند. در این راستا، شناسایی

و درک عناصر تنظیم‌کننده رونوشت‌برداری (شکل ۱) که از مراحل کلیدی بیان ژن محسوب می‌شوند، برای اصلاح دقیق‌تر گیاهان و پیشگیری از اثرات ناخواسته بر سلامت انسان اهمیت دارد.

در محیط طبیعی، گیاهان به‌طور مداوم در معرض تنش‌های زیستی و غیرزیستی قرار می‌گیرند. تنش‌های غیرزیستی ناشی از شرایط فیزیکی یا شیمیایی مانند خشکی، دماهای بالا و پایین، شوری، فلزات سنگین و آسیب‌های مکانیکی هستند؛ در حالی که تنش‌های زیستی شامل حمله قارچ‌ها، باکتری‌ها، ویروس‌ها و نماتدها می‌شود (Maheendran et al., 2022; Nair and Pandey, 2024, 2025). گیاهان برای سازگاری با این ناملایمات، تغییراتی در سطوح سلولی، فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و مولکولی ایجاد می‌کنند که در نهایت در فنوتیپ و شکل ظاهری تظاهر می‌یابد. افزایش شدت تغییرات اقلیمی، این تنش‌ها را به عامل محدودکننده اصلی در کشاورزی مدرن تبدیل کرده است و پژوهش درباره مکانیسم‌های مولکولی پاسخ به تنش، اهمیت فزاینده‌ای یافته است (Maheendran et al., 2022). پاسخ گیاه به تنش فرآیندی پیچیده است که هنوز به‌طور کامل شناخته نشده است. برای درک بهتر این فرآیند، ترکیب روش‌های به‌نژادی به کمک نشانگر (MAB<sup>۵</sup>) و رویکردهای آمیکس<sup>۶</sup> ضروری است، زیرا فناوری‌های آمیکس در مقایسه با روش‌های کلاسیک، دیدگاه جامع‌تری از شبکه‌های مولکولی و مسیرهای

<sup>۱</sup> Marker-assisted selection<sup>۲</sup> Quantitative trait loci<sup>۳</sup> Marker-assisted recurrent selection<sup>۴</sup> Marker assisted backcrossing<sup>۵</sup> Marker-assisted breeding<sup>۶</sup> Omics

رونویسی ژن‌ها، شامل نوع، ساختار و عملکرد آن‌ها، و همچنین قوانین تنظیمی حاکم بر این فرآیند در سطح سلولی می‌پردازد. این حوزه شامل بررسی عملکرد نواحی غیرکدکننده، تحلیل ساختار رونوشت، اندازه‌گیری سطح رونویسی ژن‌ها و شناسایی نواحی رونویسی جدید است. ترنسکریپتومیکس به عنوان ابزاری کارآمد برای تجزیه و تحلیل کمی تغییرات بیان ژن‌های گیاهی در زمان و شرایط خاص مورد استفاده قرار می‌گیرد. این روش قادر است شبکه‌های تنظیمی پیچیده و الگوهای بیان را در سطح کل ژنوم تحت تنش‌های محیطی شناسایی کرده و ژن‌های جدید مرتبط با مقاومت گیاه را غربال کند (Anderson and Mitchell-Olds, 2011). با پیشرفت فناوری‌های توالی‌یابی، روش توالی‌یابی رونوشت به طور گسترده‌ای در گونه‌هایی نظیر آرابیدوپسیس تالیانا<sup>۱۱</sup>، ذرت، گندم، برنج، سویا و دیگر محصولات کشاورزی به کار گرفته شده است. هدف این مطالعه، مرور پیشرفت‌های اخیر در مطالعات رونویسی مرتبط با تنش‌های غیرزیستی در گیاهان است. با معرفی تغییرات در ژن‌های متفاوت بیان‌شده<sup>۱۲</sup> (DEGs) در مسیرهای متابولیک گیاهان تحت تأثیر تنش چشم‌اندازی به روند تحقیقات آینده ارائه می‌شود تا راهنمایی‌های لازم برای تحقیقات بیش‌تر در زمینه تنش در گیاهان فراهم گردد.

تنظیمی گیاه ارائه می‌دهند (Khan et al., 2023). تجزیه و تحلیل فناوری‌های آمیکس بخشی از رویکرد زیست‌شناسی سامانه‌ای است که با هدف درک تعاملات پیچیده میان ژن‌ها، متابولیت‌ها و پروتئین‌ها در شکل‌گیری فنوتیپ انجام می‌شود و می‌تواند ژن‌ها و مسیرهای جدید مرتبط با تحمل تنش‌های غیرزیستی را شناسایی کند که ممکن است قبلاً توسط رویکردهای به-نژادی به کمک نشانگر شناسایی یا هدف قرار نگرفته باشند (Vennapusa et al., 2023). علاوه بر این، روش-های نوین مبتنی بر آمیکس<sup>۷</sup> امکان غربالگری با توان بالا و انتخاب ژرم‌پلاسما را بر اساس ترکیب ژنتیکی، الگوهای بیان ژن، پروفایل‌های پروتئینی یا ترکیبات متابولیتی فراهم می‌آورند. این امر به به‌نژادگران اجازه می‌دهد تا به طور مؤثری، افراد با ویژگی‌های مطلوب تحمل به تنش را شناسایی و انتخاب کنند (Parida et al., 2023). در شکل ۲، نمای دقیقی از هر یک از رویکردهای آمیکس و همچنین تلفیق چندین زمینه از آمیکس ارائه شده است تا مکانیسم تحمل به تنش‌های غیرزیستی در گیاهان به‌طور واضح روشن گردد.

رونوشت<sup>۸</sup> به مجموعه‌ای از تمامی RNAهای رونویسی شده توسط یک سلول یا بافت خاص در یک وضعیت عملکردی معین اطلاق می‌شود. این مجموعه شامل RNA پیام‌رسان (mRNA) و RNAهای غیرکدکننده<sup>۹</sup> می‌باشد. اصطلاح ترنسکریپتومیکس<sup>۱۰</sup> به مطالعه فرآیند

<sup>7</sup> Omics pipelines

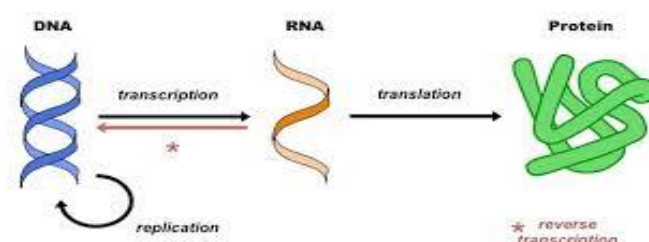
<sup>8</sup> Transcriptome

<sup>9</sup> Noncoding RNA

<sup>10</sup> Transcriptomics

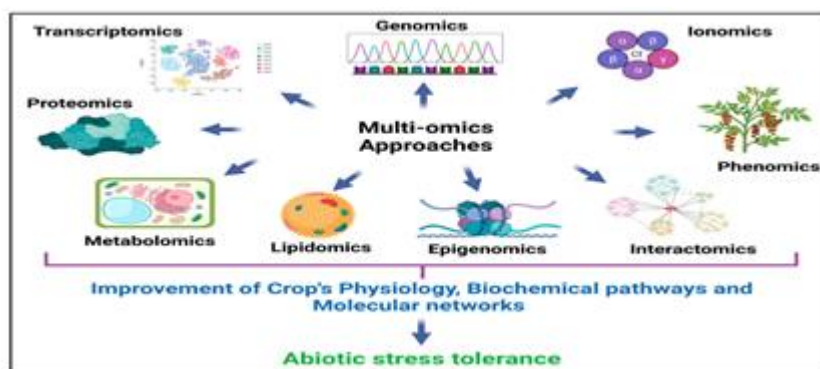
<sup>11</sup> *Arabidopsis thaliana*

<sup>12</sup> Differentially expressed genes



شکل ۱- جریان اطلاعات ژنتیکی در سیستم‌های بیولوژیکی. رونوشت‌برداری و ترجمه دو مرحله اساسی طی فرایند بیان ژن می‌باشند که توسط عوامل مختلف تنظیمی کنترل می‌شوند.

**Figure 1. Flow of genetic information in biological systems. Transcription and translation are two fundamental steps in the process of gene expression, which are regulated by various regulatory factors**



شکل ۲- استفاده از رویکردهای مختلف آمیکس بصورت تلفیقی به منظور ایجاد تحمل به تنش غیر زیستی در گیاهان (Roychowdhury et al., 2023)

**Figure 2. Integrative multi-omics approaches to confer abiotic stress tolerance in plants (Roychowdhury et al., 2023)**

معیارهای ورود شامل مطالعات مرتبط با گیاهان زراعی،

روش‌شناسی تحقیق

بررسی یکی از تنش‌های غیرزیستی (خشکی، شوری، دما، فلزات سنگین یا غرقابی) و استفاده از حداقل یکی از فناوری‌های ترنسکریپتومیک (RNA-Seq،

Microarray یا Third-Generation Sequencing)

بود. مقالات غیرمرتبط، تکراری یا دارای کیفیت علمی پایین از فرآیند تحلیل حذف شدند. داده‌های استخراج‌شده از مطالعات منتخب بر اساس موضوع تحقیق، نوع تنش، روش‌های تحلیلی به‌کاررفته و یافته‌های کلیدی طبقه‌بندی و سازمان‌دهی گردید. در

این مقاله به‌عنوان یک مطالعه مروری با بهره‌گیری از رویکرد تحلیل محتوا طراحی و اجرا گردید. به‌منظور گردآوری داده‌های علمی مرتبط، از پایگاه‌های اطلاعاتی معتبر بین‌المللی شامل PubMed، Scopus، Web of Science و Google Scholar استفاده شد. فرآیند جستجو با استفاده از کلیدواژه‌های تخصصی از جمله Abiotic stress، RNA-Seq، Transcriptomics، Plant breeding، Gene و Omics approach، expression در بازه زمانی ۲۰۱۰ تا ۲۰۲۴ انجام گرفت.

اصلی این تحلیل‌ها محسوب می‌شود، زیرا نخستین تغییرات سلولی در مواجهه با تنش در سطح بیان ژن رخ می‌دهد و الگوهای رونویسی بهترین شاخص اولیه برای مطالعه مسیرهای فعال‌شده هستند (Wang *et al.*, 2009; Stark *et al.*, 2019). سایر لایه‌های آمیکس زمانی بیشترین کارایی را دارند که در کنار داده‌های ترنسکریپتومی و به‌صورت یکپارچه مورد بررسی قرار گیرند و به تفسیر دقیق‌تر آن‌ها کمک کنند.

### پن‌ژنوم (Pan-genome)

ارتباط میان ژنوتیپ و فنوتیپ از اصول بنیادی در به‌نژادی گیاهی است و شناسایی تنوع ژنتیکی و ساختاری ژنوم نقش مهمی در بهبود صفات زراعی دارد. طی دهه‌های اخیر، پیشرفت در فناوری‌های توالی‌یابی DNA، روش‌های فنوتیپ‌سنجی با توان بالا و توسعه پن‌ژنوم، کارایی مطالعات ژنومی را به‌طور چشمگیری افزایش داده است (Shendure *et al.*, 2017; Liu *et al.*, 2023; Kumar *et al.*, 2024). به‌ویژه با ظهور NGS، تعیین توالی ژنوم گیاهان با دقت و سرعت بیشتری انجام شده و تاکنون بیش از ۸۰۰ ژنوم مرجع منتشر شده است. بر اساس مطالعات پن‌ژنوم، تفاوت در ساختار و محتوای ژنی میان ژنوتیپ‌ها می‌تواند علت تفاوت در بیان برخی ژن‌ها یا تفاوت الگوهای پاسخ به تنش میان ژنوتیپ‌های مقاوم و حساس باشد. از این‌رو، پن‌ژنوم بستر ژنتیکی ضروری برای تفسیر صحیح داده‌های بیان ژن را فراهم می‌کند و نقش تکمیلی ارزشمندی در مطالعات ترنسکریپتومیکس دارد (Bayer *et al.*, 2020).

مرحله‌ی تحلیل، الگوها و روندهای مشترک در پاسخ‌های ترنسکریپتومی گیاهان شناسایی و نقش فناوری‌های نوین از جمله توالی‌یابی نسل جدید<sup>۱۳</sup> (NGS) و مدل‌سازی بیوانفورماتیکی در ارتقای دقت و عمق مطالعات ترنسکریپتومیکس ارزیابی شد. در نهایت، به‌کارگیری روش تحلیل محتوا به شناسایی شکاف‌های دانشی موجود، استخراج روندهای نوظهور در پژوهش‌های ترنسکریپتومیکس، و ترسیم چشم‌اندازی روشن برای بهره‌گیری از این فناوری در به‌نژادی گیاهان تحت تنش‌های غیرزیستی منجر شد.

### تحول در رویکردهای نوین مطالعه ژنوم

تحولات چشمگیر در حوزه مطالعات ژنومی، از اختراعات پیشگامانه تا نوآوری‌های علمی معاصر، بیانگر پیشرفت‌های قابل‌توجهی است که پژوهشگران در سراسر جهان در راستای افزایش دقت تحلیل‌های ژنومی و کاربرد آن‌ها در کشاورزی به دست آورده‌اند. با پیشرفت‌های تصاعدی در فناوری‌های توالی‌یابی، دهه گذشته شاهد جهش‌های چشمگیری در درک و توسعه پلتفرم‌های مختلف آمیکس، شامل ژنومیکس<sup>۱۴</sup>، اپی‌ژنومیکس<sup>۱۵</sup>، متابولومیکس<sup>۱۶</sup>، ترنسکریپتومیکس و پروتئومیکس<sup>۱۷</sup> بوده است (Maheendran *et al.*, 2022). درک جامع پاسخ گیاهان به تنش نیازمند تحلیل چندلایه‌ای از سطوح مختلف تنظیم ژنی است. با وجود اهمیت تمامی رویکردهای آمیکس، ترنسکریپتومیکس همچنان هسته

<sup>13</sup> Next-Generation Sequencing

<sup>14</sup> Genomics

<sup>15</sup> Epigenomics

<sup>16</sup> Metabolomics

<sup>17</sup> Proteomics

## اپیژنومیکس (Epigenomics)

اپیژنومیکس به مطالعه تغییرات قابل برگشت در تنظیم بیان ژن، بدون تغییر در توالی DNA می‌پردازد و شامل فرایندهایی مانند متیلاسیون DNA، اصلاحات هیستونی و بازآرایی کروماتین است (Saeed et al., 2022). این تغییرات به‌عنوان یک لایه تنظیمی بالادست، نقش مهمی در فعال یا خاموش شدن ژن‌ها تحت شرایط تنش ایفا می‌کنند و می‌توانند مسیرهای پاسخ گیاه به تنش را به‌صورت مستقیم تحت تأثیر قرار دهند (Zhang et al., 2017; Springer and Schmitz, 2018). مطالعات نشان داده‌اند که الگوهای متیلاسیون متفاوت در گیاهان مقاوم، با ژن‌های مرتبط با سازوکارهای بقا مانند مرگ برنامه‌ریزی‌شده سلولی مرتبط است. افزایش متیلاسیون می‌تواند به بهبود تحمل به شوری در گیاهانی نظیر یونجه منجر شود، درحالی‌که مهار متیلاسیون با ماده 5-AzaC سبب کاهش مقاومت به شوری شده است. هیپرمتیلاسیون نیز در برخی موارد به‌عنوان سازوکاری احتمالی برای مقاومت در برابر فلزات سنگین مطرح شده است (Mahmood et al., 2022). ادغام داده‌های اپیژنومیک با ترنسکریپتومیکس این امکان را فراهم می‌کند که ژن‌هایی شناسایی شوند که تنظیم آن‌ها عمدتاً ناشی از تغییرات اپیژنتیکی است و صرفاً با فاکتورهای رونویسی قابل توضیح نیست. با وجود این مزایا، تفسیر الگوهای اپیژنتیکی، ناپایداری آن‌ها در نسل‌های مختلف، هزینه بالای روش‌های توالی‌یابی و نبود پایگاه‌های داده

جامع برای گیاهان از چالش‌های مهم این حوزه محسوب می‌شوند (Singh et al., 2021).

برخی فناوری‌ها و روش‌های مبتنی بر توالی‌یابی برای شناسایی تغییرات اپیژنتیکی مانند متیلاسیون DNA، تغییرات هیستونی و معماری کروماتین عبارت‌اند از: Whole Genome Bisulfite Sequencing (WGBS): روشی برای تعیین متیلاسیون DNA در سطح کل ژنوم با تفکیک تکنوکلوئیدی. Reduced Representation Bisulfite Sequencing (RRBS): روشی مقرون‌به‌صرفه برای بررسی نواحی غنی از CpG با استفاده از تیمار بی‌سولفیت. Methylated DNA Immunoprecipitation Sequencing (MeDIP-seq): توالی‌یابی DNA متیله‌شده با استفاده از آنتی‌بادی خاص mC-5. Chromatin Immunoprecipitation Sequencing (ChIP-seq): روشی برای شناسایی تغییرات هیستونی، توزیع فاکتورهای رونویسی و پروتئین‌های کروماتینی. Assay for Transposase-Accessible Chromatin Sequencing (ATAC-seq): روشی برای بررسی نواحی باز و در دسترس کروماتین (Chromatin accessibility). Hi-C / Capture Hi-C / ChIA-PET: روشی برای مطالعه ساختار سه‌بعدی ژنوم و تغییرات معماری کروماتین. Single-Cell ATAC-seq: روشی برای بررسی دسترسی کروماتین در سطح تک‌سلول. Single-Cell Bisulfite Sequencing (scBS-seq): روشی برای تعیین متیلاسیون DNA در سطح تک‌سلولی. CUT&RUN و CUT&Tag: روش‌های جدیدتر و

یابی به امنیت مواد غذایی به‌طور قابل‌توجهی با پیشرفت‌های اخیر در مطالعات رونوشت هم‌خوانی دارند. این امر به افزایش علاقه‌مندی‌ها به این موضوع دامن زده است. به همین دلیل، دانشمندان در حال توسعه یک مفهوم جامع و پیچیده از رونوشت در کشاورزی و زمینه‌های وابسته هستند (Maheendran *et al.*, 2022).

### پروتئومیکس (Proteomics)

پروتئومیکس به مطالعه‌ی جامع مجموعه پروتئین‌های بیان‌شده در یک سلول یا بافت می‌پردازد و شامل شاخه‌های توالی، ساختاری، عملکردی و بیانی است. پیشرفت در روش‌های استخراج، جداسازی و شناسایی پروتئین‌ها نظیر کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا<sup>۲۲</sup> (HPLC)، طیف‌سنجی جرمی،<sup>۲۳</sup> NMR، و میکروسکوپ الکترونی سبب افزایش دقت و کارایی مطالعات پروتئومیکس در گیاهان شده است (Mahmood *et al.*, 2022; Yan *et al.*, 2022). یافته‌های پروتئومیک نشان می‌دهد که تغییرات پروتئینی بازتاب مستقیمی از سازگاری گیاه با شرایط متغیر محیطی است. از آنجا که سطح mRNA همواره بیانگر مقدار پروتئین نیست، پروتئومیکس شکاف میان بیان ژن (ترنسکریپتوم) و عملکرد واقعی سلول را تکمیل می‌کند. ادغام داده‌های پروتئومیک با ترنسکریپتومیکس مشخص می‌کند کدام ژن‌های با بیان متفاوت واقعاً به تغییرات عملکردی در سطح پروتئین منجر می‌شوند و بنابراین دارای نقش

دقیق‌تر برای بررسی تغییرات هیستونی و اتصال پروتئین‌ها به DNA با نويز کمتر نسبت به ChIP-seq (de Abreu *et al.*, 2025).

### ترنسکریپتومیکس (Transcriptomics)

داده‌های رونویسی شامل اطلاعات بیولوژیکی فعالیت‌های رونویسی ژن در یک سلول خاص، یک بافت، یا یک فرد یا جمعیتی از سلول‌ها در یک وضعیت خاص است. اصطلاح «ترنسکریپتوم» برای اولین بار به مجموعه‌ای کامل از رونوشت‌ها اشاره داشت که شامل مولکول‌های اسید ریبونوکلیک<sup>۱۸</sup> (RNA) از جمله RNA کدکننده (mRNA) و RNAهای غیر کدکننده تنظیمی (tRNA، rRNA و غیره) می‌شود (Piétu *et al.*, 1999; Morozova *et al.*, 2009; Morozova *et al.*, 2009). داده‌های ترنسکریپتوم نمایان‌گر مجموعه‌های کامل ژن و الگوهای بیان، عملکرد و تنظیم در جمعیت‌های سلولی مجزا هستند. این داده‌ها شامل اطلاعات زیستی مکانی-زمانی<sup>۱۹</sup> هستند که تحت تأثیر انواع مختلف بافت‌ها، مراحل رشد و رویدادهای تجربی و همچنین محیطی قرار دارند. بنابراین، داده‌های رونویسی به‌طور قابل‌توجهی پیچیده‌تر از داده‌های ژنوم هستند. محققان می‌توانند با استفاده از این داده‌ها بینش عمیق‌تری در شناسایی ژن‌های با بیان متفاوت<sup>۲۰</sup> (DEGs)، اتصالات متقابل<sup>۲۱</sup>، انواع برش و پیوند و شناسایی ژن‌های جدید به دست آورند. ابزارها و استراتژی‌های مورد استفاده برای دست-

<sup>18</sup> Ribonucleic acid molecule

<sup>19</sup> Spatio-temporal

<sup>20</sup> Differentially expressed genes

<sup>21</sup> Splice junctions

<sup>22</sup> High-Performance Liquid Chromatography

<sup>23</sup> Nuclear Magnetic Resonance

دشواری در ردیابی دقیق متابولیت‌ها به مسیرهای زیستی خاص، شناسایی متابولیت‌های ناشناخته، حجم بالای داده‌ها و پیچیدگی تحلیل آن‌ها، و تأثیر عوامل زیستی مانند تنوع ژنتیکی و شرایط رشدی بر ارزیابی ارتباط متابولیت‌ها با فنوتیپ، تحلیل‌های یکپارچه و استفاده از مدل‌سازی پیشرفته برای تفسیر داده‌های متابولومیک ضروری است (Yadav et al., 2018).

تکنیک‌های ترنسکریپتومیکس و کاربرد آن‌ها در

#### پاسخ غلات به تنش‌های غیرزیستی

ترنسکریپتومیکس به بررسی جامع و سیستماتیک تمامی RNAهای رونویسی شده در یک سلول یا بافت خاص، شامل RNAهای کدکننده و غیرکدکننده در شرایط عملکردی معین، می‌پردازد. این حوزه شامل مطالعه نوع، ساختار، عملکرد و تنظیم رونویسی ژن‌ها می‌باشد (Nejat et al., 2018). ترنسکریپتومیکس با تحلیل کمی تغییرات در بیان ژن‌های گیاهی، بینش ارزشمندی ارائه داده و امکان شناسایی شبکه‌های تنظیمی و الگوهای بیان ژنوم را فراهم می‌کند که به کشف ژن‌های جدید مرتبط با تحمل تنش در گیاهان زراعی منجر می‌شود. پیشرفت‌های اخیر در فناوری‌های توالی‌یابی و روش‌های تحلیلی بیوانفورماتیکی، موجب افزایش چشم‌گیر دقت در مطالعات بیان ژن و کشف مسیرهای مولکولی جدید شده‌اند (Wang et al., 2020). در زمینه اصلاح محصولات کشاورزی در برابر تنش‌های غیرزیستی، رویکردهای مختلف ترنسکریپتومیکس به طور خلاصه در شکل ۳ ارائه شده است.

کلیدی در پاسخ به تنش هستند (Vogel and Marcotte, 2012). با وجود مزایا، پروتئومیکس با چالش‌هایی نظیر پیچیدگی نمونه‌ها، دشواری استانداردسازی روش‌ها، تفاوت‌های زیستی میان پروتئین‌ها و تکیه‌ی زیاد بر پیش‌بینی‌های بیوانفورماتیکی روبه‌رو است. این عوامل می‌توانند قابلیت تکرارپذیری مطالعات و صحت تفسیر عملکردهای پروتئینی را محدود کنند (Yadav et al., 2018).

#### متابولومیکس (Metabolomics)

متابولومیکس یکی از رویکردهای پیشرفته آمیکس است که به شناسایی متابولیت‌های دخیل در واکنش گیاهان به تنش‌های محیطی کمک می‌کند. متابولیت‌های اولیه، مانند قندها، لیپیدها و اسیدهای آمینه، نقش اساسی در سوخت‌وساز سلولی دارند و می‌توانند به‌طور مستقیم با ژنوم، پروتئوم و فنوتیپ مرتبط باشند، در حالی که متابولیت‌های ثانویه مانند فلاونوئیدها، کاروتنوئیدها و آنتی‌اکسیدان‌ها عمدتاً در پاسخ‌های دفاعی و زیست‌فعال گیاه نقش دارند (Mahmood et al., 2022). در واقع، متابولومیکس بازتاب نهایی مسیرهای مولکولی است و مشخص می‌کند که آیا تغییرات رونویسی و پروتئینی به تغییرات واقعی در مسیرهای متابولیکی منجر شده‌اند یا خیر. ادغام داده‌های متابولومی با ترنسکریپتومیکس امکان ردیابی مسیر "از رونوشت تا متابولیت" را فراهم می‌کند؛ مسیری که برای درک شبکه‌های پیچیده پاسخ گیاه به تنش‌های غیرزیستی حیاتی است (Carrera et al., 2021). با این حال، به دلیل محدودیت‌هایی از جمله

## روش‌های سنتی ترنسکریپتومیکس و ریزآرایه‌ها

### (Microarray)

در مراحل اولیه پژوهش‌های مولکولی، روش‌هایی مانند نوردن بلات، RT-PCR، توالی‌یابی EST<sup>۲۴</sup> و آنالیز سریالی بیان ژن<sup>۲۵</sup> (SAGE) ابزارهای اصلی برای بررسی بیان ژن محسوب می‌شدند (Nejat et al., 2018). این روش‌ها گرچه بنیان‌گذار مطالعات ترنسکریپتومی بودند، اما به دلیل محدودیت در مقیاس، توان تفکیک پایین و هزینه زیاد، کاربرد گسترده‌ای در تحلیل ژنوم نداشتند. به عنوان مثال، RT-PCR دقت بالایی در اندازه‌گیری بیان ژن‌های خاص دارد، اما به دلیل محدودیت در ظرفیت پردازش، تنها برای مجموعه‌های کوچک از رونوشت‌ها مناسب است (Wang et al., 2020). روش EST با استخراج رونوشت‌های تصادفی از کتابخانه‌های cDNA و توالی‌یابی به روش سانگر، اطلاعات ارزشمندی از ژن‌های فعال بدون نیاز به توالی‌یابی کل ژنوم فراهم کرد، ولی پوشش ناقص و تکرارپذیری پایین از نقاط ضعف آن بود (Nejat et al., 2018). روش SAGE نیز به شناسایی و کمی‌سازی بیان ژن از طریق توالی‌یابی قطعات کوتاه RNA کمک نمود، اما به علت هزینه بالا و نیاز به داده‌های مرجع گسترده، به تدریج جای خود را به فناوری‌های مدرن‌تر داد (Wang et al., 2009).

ریزآرایه‌ها از رویکردی مبتنی بر هیبریداسیون برای پروفایل‌سازی بیان ژن در مقیاس کل ترنسکریپتوم استفاده می‌کنند، به طوری که شدت فلورسانس حاصل از

رونوشت‌های از پیش تعیین‌شده اندازه‌گیری می‌شود. این فناوری دارای مزایایی از جمله آماده‌سازی ساده نمونه‌ها، هزینه پایین برای هر نمونه، و وجود روش‌های استاندارد و تثبیت‌شده برای پردازش و تحلیل داده‌ها است (Shi et al., 2010). با وجود مزایای متعدد، فناوری ریزآرایه با محدودیت‌هایی همراه است که دقت و جامعیت تحلیل‌های ترنسکریپتومی را تحت تأثیر قرار می‌دهد. محدوده‌ی دینامیکی محدود، نویز زمینه‌ای بالا و بروز اتصال‌های غیراختصاصی از مهم‌ترین چالش‌های فنی این روش هستند که می‌توانند به کاهش صحت اندازه‌گیری سطوح بیان ژن منجر شوند (Kinaret et al., 2020). افزون بر این، فناوری‌های مبتنی بر هیبریداسیون مانند ریزآرایه‌ها، در مقایسه با RNA-Seq از کیفیت داده و حساسیت پایین‌تری برخوردارند. در مطالعاتی که از داده‌های ترنسکریپتومی با مقیاس سلولی یا تک‌سلولی استفاده می‌شود، این محدودیت‌ها برجسته‌تر هستند، زیرا کمبود مواد ژنتیکی، پوشش ناکافی توالی‌یابی و وجود تکرارهای ژنی یا پدیده‌ی دوبرابر شدن ژنوم در گیاهان، تفسیر نتایج محاسباتی را دشوارتر می‌سازد (Challam et al., 2019; Wang et al., 2020). پروفایل‌سازی رونوشت‌ها با استفاده از ریزآرایه‌ها و EST‌ها نشان داده است که گلوپاتین S-ترانسفرازها<sup>۲۶</sup> (GSTs) در مراحل مختلف رشد برنج عملکردهای مشابه و خاصی را از خود بروز می‌دهند و همچنین نقش میانجی در تلاقی مسیرهای مختلف تنش و پاسخ‌های هورمونی ایفا می‌کنند

<sup>26</sup> Glutathione S-transferases

<sup>24</sup> Expressed sequence tags

<sup>25</sup> Serial analysis of gene expression

(Jain et al., 2010). تجزیه و تحلیل بیان با استفاده از ریزآرایه‌ها نشان‌دهنده افتراق قابل توجهی در بیان ژن‌ها تحت تأثیر تنش‌های غیرزیستی مانند خشکی، شوری و سرما بوده است. این تغییرات در مراحل مختلف رشد و تولیدمثل در خانواده‌های ژنی مهمی نظیر پروتئین فسفاتازها (Singh et al., 2010)، فسفولیپازهای A و D (Singh et al., 2012)، فسفولیپاز C (Ray et al., 2007)، انتقال‌دهنده‌های کلسیم (Singh et al., 2014)، خانواده MADS box (Arora et al., 2007)، و خانواده فاکتورهای رونویسی Zinc finger C<sub>2</sub>H<sub>2</sub> در برنج مشاهده شده است (Agarwal et al., 2007). الگوهای بیان بسیاری از این ژن‌های بیان شده افتراقی با استفاده از qRT-PCR تایید شده‌اند. پروتئین‌های شوک حرارتی<sup>۲۷</sup> (HSPs) نیز گروه مهمی از پروتئین‌ها هستند که در پاسخ گیاه به تنش گرمایی نقش کلیدی ایفا می‌کنند و بیان آن‌ها تحت کنترل عوامل شوک حرارتی<sup>۲۸</sup> (HSFs) قرار دارند. در برنج، HSFها به سه دسته A، B و C تقسیم‌بندی می‌شوند (Andrási et al., 2021). پروفایل بیان از طریق ESTها، ریزآرایه‌ها و qRT-PCR نشان داد که هشت OsHSF در طول رشد بذر و شش HSF در شرایط تنش غیر زیستی هم در ریشه و هم در اندام هوایی تنظیم می‌شوند. به‌ویژه، OsHSFA2 و OsHSFA3 به‌طور مثبت در پاسخ به تنش سرما و خشکی تنظیم می‌شوند، در حالی که OsHSFB4a تغییر اندکی یا هیچ‌گونه تغییری در میزان بیان نشان نمی‌دهد

(Chauhan et al., 2011). فناوری ریزآرایه Affymetrix برای تجزیه و تحلیل بیان خانواده ژن AP2/EREBP در برنج وحشی Chaling و رقم Pei'ai64S که حساس به سرما است، مورد استفاده قرار گرفت. ریزآرایه نشان داد که ۳۶ ژن AP2/EREBP در برنج وحشی Chaling نسبت به Pei'ai64S سطح بیان بسیار بالاتری دارند (Yang et al., 2023). برنج به عنوان یک گیاه C3 شناخته می‌شود و به یک مدل مناسب برای مطالعه مهندسی ژنتیک مسیر C4 تبدیل شده است. چندین خانواده ژن C4 در ژنوم برنج از طریق هم‌سانی توالی با توالی ژن‌های ذرت C4 شناسایی شده‌اند (Muthusamy et al., 2018). تجزیه و تحلیل بیان با استفاده از پایگاه‌های داده EST و FL-cDNA<sup>۲۹</sup> وجود حداقل یک EST یا FL-cDNA را برای تمامی ژن‌های شناسایی‌شده نشان داد. علاوه بر این، ژن‌های مرتبط با تنش غیر زیستی نیز شناسایی شدند (Muthusamy et al., 2018). در گیاه جو، یک ژن پیش mRNA پردازش کننده (Prp1) در طول رشد بذر و تحت شرایط تنش غیرزیستی شناسایی شد که بسیار حائز اهمیت است (Jiang et al., 2011). علاوه بر این، در جو، پایگاه‌های داده EST نقش پروتئین‌های HKT (ناقل K<sup>+</sup> میل ترکیبی بالا<sup>۳۰</sup>) را در تنظیم جذب پتاسیم (K<sup>+</sup>) تحت شرایط شوری روشن ساختند (Mian et al., 2011). همچنین، SbDREB2A، که یک فاکتور رونویسی

<sup>۲۹</sup> ناحیه: اشاره دارد که شامل cDNA به نسخه‌های Full-Length cDNA تعیین اولیه ساختار ژن، ۳۰ است که برای UTR، ناحیه CDS، کدکننده (UTR) شناسایی ایزوفرم‌های ژنی، ساخت بانک‌های ژنی دقیق و حاشیه‌نویسی ژنوم در پروژه‌های آمیکس مهم است.

<sup>۳۰</sup> High-affinity K<sup>+</sup> transporter

<sup>۲۷</sup> Heat shock proteins

<sup>۲۸</sup> Heat shock factors

DREB را رمزگذاری می‌کند، تحت شرایط خشکی با استفاده از ESTها و تجزیه و تحلیل ریزآرایه به‌طور مثبت تنظیم شد. بیش بیان این ژن باعث افزایش تحمل به خشکی در گیاهان تراریخته سورگوم گردید (Akbuldak *et al.*, 2018). برای تسهیل چنین تحقیقاتی، دو مخزن بزرگ EST به نام‌های edbEST و UniGene وجود دارد که هر دو توسط NCBI میزبانی می‌شوند. این مخازن شامل داده‌های EST از ارگانسیم‌های مختلف هستند (Singh *et al.*, 2019) و به عنوان منابع ارزشمندی برای دانشمندان جهت دسترسی و تجزیه و تحلیل داده‌های رونویسی برای اهداف مختلف تحقیقاتی عمل می‌کنند.

### RNA sequencing

تکنیک RNA-Seq که بر پایه فناوری توالی‌یابی نسل دوم (NGS) توسعه یافته است، به‌عنوان یکی از پیشرفته‌ترین و دقیق‌ترین ابزارها در تجزیه و تحلیل بیان ژن شناخته می‌شود. این روش با بهره‌گیری از توالی‌یابی با توان عملیاتی بالا و پردازش‌های محاسباتی پیچیده، امکان کمی‌سازی، شناسایی و تحلیل جامع رونوشت‌های RNA را فراهم می‌آورد. در این فناوری، خوانش‌های نوکلئوتیدی (معمولاً با طول حدود ۱۰۰ جفت‌باز) با ژنوم مرجع یا با یکدیگر هم‌تراز می‌شوند و از این طریق ژن‌های فعال در شرایط زمانی یا محیطی خاص قابل شناسایی هستند (Singh *et al.*, 2017; Hrdlickova *et al.*, 2017). یکی از مهم‌ترین برتری‌های RNA-Seq، عدم وابستگی به پروب‌های از پیش تعریف‌شده و دامنه دینامیکی بسیار گسترده‌تر آن نسبت به ریزآرایه‌ها است. این ویژگی سبب

می‌شود RNA-Seq قادر به شناسایی رونوشت‌های نادر، ایزوفرم‌های جدید، RNAهای غیرکدکننده، رویدادهای پیوند جایگزین، محل‌های شروع رونویسی جایگزین، و سایر فرآیندهای تنظیمی پس از رونویسی باشد (Wang *et al.*, 2009; Kinaret *et al.*, 2020). همین توانایی‌ها سبب شده است که RNA-Seq، به‌ویژه در گونه‌هایی که ژنوم مرجع کامل ندارند یا دارای ژنوم‌های پیچیده هستند، فناوری مرجع در مطالعات ترنسکرپتومی تلقی شود. با وجود این مزایا، RNA-Seq چالش‌های قابل‌توجهی نیز دارد. مراحل ساخت کتابخانه‌های cDNA ممکن است با ایجاد پیچیدگی‌هایی بر پروفایل‌سازی ترنسکرپت‌ها تأثیر بگذارد. علاوه بر آن، حجم بسیار بالای داده‌های تولیدشده نیازمند زیرساخت‌های محاسباتی قوی، فضای ذخیره‌سازی مناسب، نرم‌افزارهای تحلیلی پیچیده و حتی بهره‌گیری از الگوریتم‌های یادگیری ماشین برای بهبود دقت تحلیل است. از سوی دیگر، حضور miRNAها و نقش آن‌ها در خاموشی ژنی و تنظیم پس از رونویسی، لایه جدیدی از پیچیدگی را به تحلیل داده‌های RNA-Seq اضافه می‌کند، زیرا نقش بسیاری از آن‌ها هنوز به‌طور کامل شناخته نشده است (Challam *et al.*, 2019; Rich-Griffin *et al.*, 2020). با وجود پیشرفت‌های چشم‌گیر RNA-Seq، انتخاب میان RNA-Seq و ریزآرایه همچنان وابسته به هدف مطالعه، نوع گونه مورد بررسی، بودجه و دسترسی‌پذیری زیرساخت‌های تحلیلی است. RNA-Seq از منظر دقت، حساسیت، توان کشف، کاربردپذیری بین‌گونه‌ای، و دامنه دینامیکی برتری

آشکاری دارد. این روش قادر است داده‌هایی با کیفیت بسیار بالا تولید کند و برای مطالعاتی که نیازمند کشف ژن‌های جدید، بررسی ایزوفرم‌ها یا تحلیل پیچیده مسیرهای تنظیمی هستند، بهترین گزینه است. در مقابل، ریزآرایه با وجود محدودیت‌هایی مانند وابستگی کامل به پروب‌ها، ناتوانی در شناسایی توالی‌های جدید و دامنه دینامیکی محدود، همچنان برای پروژه‌های کم‌هزینه، دارای تعداد نمونه زیاد، یا مطالعاتی با اهداف مشخص و ژن‌های شناخته‌شده گزینه‌ای اقتصادی و قابل اتکا محسوب می‌شود. علاوه بر این، داده‌های ریزآرایه به دلیل حجم کمتر و سادگی پردازش، به زیرساخت‌های محاسباتی سنگین نیاز ندارند (Wang et al., 2009). در مجموع، RNA-Seq فناوری غالب در مطالعات ترنسکریپتومی به‌شمار می‌آید، اما انتخاب نهایی میان این دو رویکرد باید براساس ماهیت پروژه، سطح دقت موردنیاز، بودجه، ژنوم گونه مورد بررسی، و توان محاسباتی در دسترس انجام شود.

تجزیه و تحلیل RNA-Seq بین بذره‌ای اشباع شده و دانه‌های خشک برنج نشان داد که ژن‌های مرتبط با دیواره سلولی، پاسخ به تنش‌های غیرزیستی و آنتی‌اکسیدان‌ها در طول جذب آب و جوانه‌زنی نقش دارند (Zhao et al., 2020). از جمله ژن‌هایی که به طور قابل توجهی بیان شدند، گیرنده کیناز (به عنوان مثال، OsCRK2)، پکتین استراز (به عنوان مثال، OsPME3)، پلی گالاکتروناز (به عنوان مثال، OsPGIP1)، پروتئین Cupin-domain (به عنوان مثال، OsCP1)، متیل ترانسفرازها (به عنوان مثال،

OsTRMT1)، SPX domain (به عنوان مثال، OsPHR2)، GSTs (به عنوان مثال، OsGSTL3)، و پراکسیداز (به عنوان مثال، OsAPX2) بودند. GST‌ها در جلوگیری از تجمع  $H_2O_2$  در مراحل اولیه جذب آب نقش حیاتی ایفا کرده و به جوانه‌زنی موفق بذر کمک می‌کنند (Zhao et al., 2020). علاوه بر این، تجزیه و تحلیل RNA-Seq بر روی رقم Aus، یک رقم برنج مقاوم به خشکی و گرما، ۵۶ ژن افتراقی بیان شده را در بذره‌ای در حال رشد تحت تنش‌های ترکیبی خشکی و گرما شناسایی کرد (Schaarschmidt et al., 2020). در میان این ژن‌ها، B12288 (RAB21)، یک پروتئین LEA از خانواده دهیدرین، به طور قابل توجهی القا شد. اگرچه تفاوت‌های توالی چندان زیاد نبود، اما اثرات عملکردی مشاهده شده نشان‌دهنده نقش مهم دهیدرین‌ها در پاسخ به تنش‌ها است. همچنین، تجزیه و تحلیل RNA-Seq برنج تحت تیمار با Cd (کادمیوم) و As (آرسنیک) نشان داد که ژن‌های مرتبط با کنترل ردوکس، پاسخ به تنش، تنظیم رونویسی، انتقال غشایی، انتقال سیگنال، بیوسنتز و متابولیسم ماکرومولکول‌ها و ترکیبات گوگرد فعال هستند (Huang et al., 2019). در گیاه گندم (*Triticum aestivum*)، تجزیه و تحلیل RNA-Seq نشان داد که ژن‌های خانواده R2R3-MYB به تنش‌های غیر زیستی پاسخ می‌دهند (Wei et al., 2020). در ذرت (*Zea mays*)، آنالیز RNA-Seq تحت تنش غیر زیستی نشان‌دهنده دخالت عوامل رونویسی متنوعی از جمله ERF، NAC، ARF و HDZIP در آغاز

پاسخ به این تنش‌ها بود (Li et al., 2017). مرور مطالعات ارائه‌شده در جدول ۱، که مجموعه‌ای از پژوهش‌های موردی درباره‌ی کاربرد ترنسکریپتومیکس در به‌نژادی غلات را شامل می‌شود، نشان می‌دهد که داده‌های حاصل از RNA-Seq به‌طور قابل توجهی در توسعه دانش ما درباره پاسخ‌های گیاهان به تنش‌های غیرزیستی نقش داشته و مبنایی برای طراحی استراتژی‌های هدفمند در اصلاح محصولات و ارتقای امنیت غذایی فراهم کرده است. تحلیل این مطالعات بیان-گر آن است که با وجود تفاوت در گونه‌ها و نوع تنش، چند الگوی مشترک در پاسخ‌های ترنسکریپتومی قابل شناسایی است. نخست آن‌که، بیش‌تر پژوهش‌ها فعال‌شدن مجموعه‌ای از فاکتورهای رونویسی تنظیم‌کننده تنش نظیر خانواده‌های bZIP و C3H، و ژن‌های دفاعی مانند PRs و LEAs را گزارش کرده‌اند، عناصری که نقش کلیدی در سازگاری گیاه دارند. در مطالعات مرتبط با شوری، ژن‌های انتقال‌دهنده یونی از جمله HKT و SOS1 به‌عنوان عوامل اصلی حفظ تعادل یونی و کاهش سمیت سدیم شناسایی شده‌اند. در مقابل، پژوهش‌های مرتبط با خشکی نشان داده‌اند که مسیرهای هموستازی آبی، تنظیم رشد ریشه و سیگنال‌دهی هورمونی، به‌ویژه ABA، به‌طور گسترده بازتنظیم می‌شوند. یافته‌های مربوط به سورگوم و ذرت نیز اهمیت مسیرهای تنظیم ردوکس، پاسخ اکسیداتیو و بازآرایی رشد را به‌ویژه در شرایط مزرعه برجسته می‌کنند. مجموعه این نتایج نشان می‌دهد که غلات در مواجهه با تنش‌های غیرزیستی از

مکانیسم‌های مشترکی شامل تنظیم فاکتورهای رونویسی، مسیرهای آنتی‌اکسیدانی، تعادل یونی و بیان ژن‌های محافظتی بهره می‌برند. این الگوهای مشترک می‌توانند مبنای شناسایی ژن‌های کاندیدای کلیدی برای به‌نژادی دقیق و توسعه ارقام مقاوم به تنش قرار گیرند. در طول سال‌ها، پایگاه‌های اطلاعاتی مختلفی که شامل توالی‌های mRNA حاصل از محصولات زراعی هستند، توسعه یافته‌اند. فهرستی از این پایگاه‌های داده مرتبط با بیان ژن‌های گیاهی در جدول ۲ ارائه شده است.

### فناوری‌های توالی‌یابی نسل سوم (Third-Generation Sequencing; TGS)

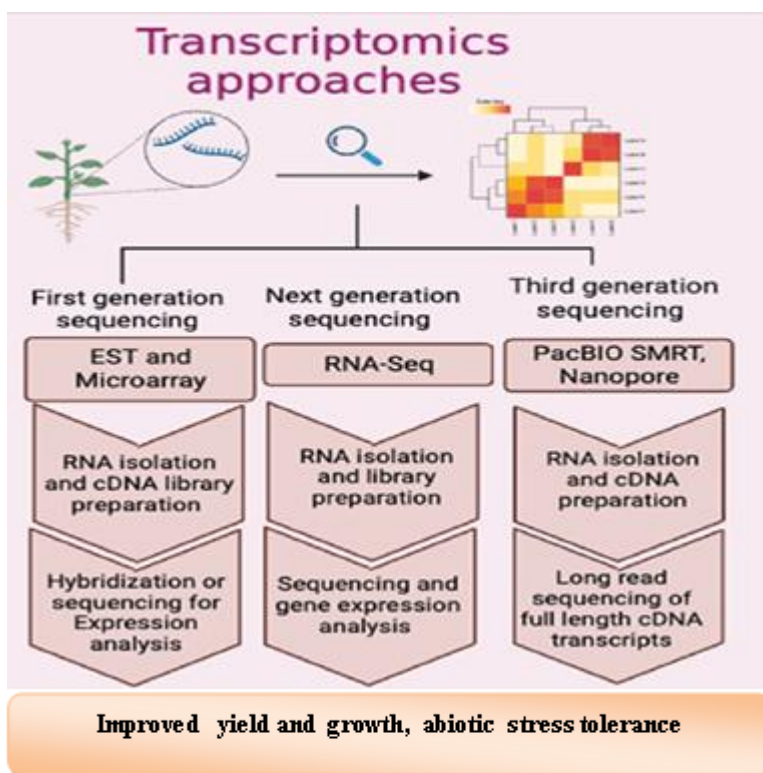
پیشرفت فناوری‌های توالی‌یابی نسل سوم (TGS) مانند PacBio<sup>31</sup> و فناوری‌های نانوپور آکسفورد (ONT<sup>32</sup>), گامی بزرگ در جهت افزایش دقت و عمق تحلیل داده‌های ترنسکریپتومی محسوب می‌شود. این فناوری‌ها امکان خوانش مستقیم مولکول‌های RNA با طول زیاد را بدون نیاز به مونتاژ فراهم می‌کنند و در نتیجه در شناسایی ایزوفرم‌های پیچیده، بررسی ساختار کامل ژن‌ها و تحلیل پدیده‌های اتصال جایگزین بسیار مؤثرند. از مهم‌ترین مزایای این فناوری‌ها می‌توان به خوانش‌های بلند و پیوسته، کاهش سوگیری ناشی از مونتاژ، و توانایی در شناسایی رونوشت‌های کامل اشاره کرد. با این حال، نرخ خطای بالاتر در مقایسه با RNA-seq، هزینه زیاد و نیاز به ابزارهای بیوانفورماتیکی برای تصحیح خطا از جمله محدودیت‌های قابل توجه این روش‌ها هستند

<sup>31</sup> Pacific Biosciences

<sup>32</sup> Oxford Nanopore Technology

بوده است. برای کاهش تعداد و فراوانی توالی‌ها، ایزوفرم‌ها ادغام و از نظر کامل بودن پروتئین مورد ارزیابی قرار گرفتند. تقریباً ۴۰ درصد از رونوشت‌های شناسایی شده، ایزوفرم‌های جدیدی را نشان می‌دهند که در رونوشت مرجع برنج Nipponbare وجود ندارد. علاوه بر این، در رقم N22 مقاوم به خشکی و گرما، ۵۶ ژن با بیان افتراقی در بذره‌ای در حال رشد تحت تنش ترکیبی گرما و خشکی شناسایی شد (Schaarschmidt *et al.*, 2020).

(Athanasopoulou *et al.*, 2021). فناوری‌های توالی‌یابی نسل سوم به ویژه در شناسایی ژن‌های جدید مرتبط با پاسخ‌های تنش غیرزیستی در گیاهان مؤثر بوده‌اند. به عنوان مثال، اخیراً از توالی‌یابی PacBio برای تعیین توالی رونوشت‌های ده رقم برنج متعلق به سه زیرگونه مختلف تحت شرایط تنش زیستی و غیر زیستی استفاده شده است. این مطالعه توانسته است ایزوفرم‌های با کیفیت بالا و مختص گیاه را بازسازی کند که تعداد آن‌ها بین ۳۷۵۰۰ تا ۵۴۶۰۰ ایزوفرم در هر رقم متغیر



شکل ۳- رویکرد ترنسکریپتومیکس برای افزایش تحمل به تنش غیر زیستی در گیاهان: مروری بر روش‌های ترنسکریپتومیکس در مطالعه تحمل به تنش غیر زیستی. ترنسکریپتومیکس تجزیه و تحلیل جامع الگوهای بیان ژن را ممکن می‌سازد. این رویکرد به طور قابل توجهی به تلاش‌های اصلاح محصول کمک می‌کند (Kamali *et al.*, 2023).

**Figure 6. Transcriptomics Approaches for Enhancing Abiotic Stress Tolerance in Plants: an overview of the transcriptomics methodologies in the study of abiotic stress tolerance. Transcriptomics enables the comprehensive analysis of gene expression patterns. This approach contributes significantly to crop improvement efforts (Kamali and Singh, 2023).**

## جدول ۱- مطالعات موردی در استفاده از ترنسکریپتومیکس در به‌نژادی غلات

Table 1. Case studies on the use of transcriptomics in cereal

| منبع<br>Reference            | نتایج / یافته‌ها<br>Outcomes/ Findings                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | روش‌شناسی<br>Methodology  | هدف تحقیق<br>Research goal                                                                                                                                                                                   | محصول و<br>نوع تنش<br>مورد مطالعه<br>Crop &<br>Type of<br>stress<br>studied |
|------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------|
| برنج<br>Rice                 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |                           |                                                                                                                                                                                                              |                                                                             |
| Shi <i>et al.</i> , (2020)   | تنش خشکی را تحمل کند<br>OsMIOX expresses plant hormone and sugar-related genes giving rice drought tolerance                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | توالی‌یابی RNA sequencing | درک نقش ژن OsMIOX در خشکی<br>To understand role of OsMIOX gene in drought                                                                                                                                    | تنش خشکی<br>Drought stress                                                  |
| Seong <i>et al.</i> , (2020) | بیش بیان OsC3H10 منجر به افزایش بیان ژن‌های خاصی برای پاسخ‌های مرتبط با تنش یعنی ژن‌های مرتبط با پاتوژنز (PRs)، پروتئین‌های فراوان جنین‌زای تاخیری (LEAs) و پروتئین‌های ژرمین مانند (GLP) می‌شود. Overexpression of OsC3H10 results in increased expression of certain gene account for stress related responses viz., pathogenesis related genes (PRs), late embryogenesis abundant proteins (LEAS), and germin-like proteins (GLPS). | توالی‌یابی RNA sequencing | بررسی عملکرد ژن OsC3H10<br>To examine the functions of OsC3H10 gene                                                                                                                                          | تنش خشکی<br>Drought stress                                                  |
| گندم<br>Wheat                |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |                           |                                                                                                                                                                                                              |                                                                             |
| Bi <i>et al.</i> , (2021)    | یک ژن پاسخگو به تنش نمک، TabZIP15 (TraesCS7A02G488600)، شناسایی شد. A salt stress responsive gene, TabZIP15 (TraesCS7A02G488600), was identified                                                                                                                                                                                                                                                                                       | توالی‌یابی RNA sequencing | برای شناسایی ژن‌های فاکتورهای رونویسی تنظیم‌شده با تحمل تنش غیرزیستی (TFs) در گندم<br>To detect abiotic stress tolerance regulated transcriptional factors (TFs) genes in wheat                              | تنش شوری<br>Salt stress                                                     |
| Kim <i>et al.</i> , (2021)   | توسعه سه نشانگر SNP یعنی KUCMB_TRIDC2BG061830.1_05 و KUCMB_TRIDC7AG078450.6_12 (KUCMB_TRIDC2BG061830.1_08) که به طور خاص مسیرهای مقاومت به نمک را شناسایی می‌کنند.                                                                                                                                                                                                                                                                     | توالی‌یابی RNA sequencing | توسعه نشانگرهای پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی (SNP) که تحمل به شوری را در گندم دوروم نشان می‌دهد.<br>To develop single nucleotide polymorphism (SNP) markers which account for salinity tolerance in durum wheat | تنش شوری<br>Salt stress                                                     |
| جو<br>Barley                 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |                           |                                                                                                                                                                                                              |                                                                             |
| Huang <i>et al.</i> , 2018   | در مقایسه با <i>H. vulgare</i> ، انتقال‌دهنده‌های یونی مانند HKT1;1، HKT1;5، HKT2;2، و SOS1 مهمترین عوامل در تحمل تنش شوری در <i>H. maritimum</i> بودند. In comparison to <i>H. vulgare</i> , ion transporters such HKT1;1, HKT1;5, HKT2;2, and SOS1 were found to be the most important factors in salt stress tolerance in <i>H. maritimum</i>                                                                                       | توالی‌یابی RNA sequencing | کشف مکانیسم‌های اساسی تحمل به تنش شوری<br>To uncover mechanisms underlying salt stress tolerance                                                                                                             | تنش شوری<br>Salt stress                                                     |
| ذرت<br>Maize                 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |                           |                                                                                                                                                                                                              |                                                                             |

|                                                                                                                                                                                        |                                                                                                                                           |                                                                                                |                                                                   |                               |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|-------------------------------|
| Zou <i>et al.</i> , )<br>(2024                                                                                                                                                         | چندین ژن تنظیم‌کننده ردوکس و مسیرهای سازگاری<br>ریشه شناسایی شدند؛ نشان‌دهنده نقش قوی مسیرهای اکسیداتیو و تنظیم<br>ریشه در تحمل خشکی است. | توالی‌یابی RNA<br>RNA<br>sequencing                                                            | بررسی پاسخ‌های رونویسی و<br>مسیرهای مولکولی مرتبط با تحمل<br>خشکی | تنش خشکی<br>Drought<br>stress |
| A network of antioxidant-regulatory genes and root adaptation pathways was identified, underscoring the pivotal role of oxidative mechanisms and root regulation in drought tolerance. |                                                                                                                                           | Investigation of transcriptional responses and molecular pathways underlying drought tolerance |                                                                   |                               |
| سورگوم<br>Sorghum                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                           |                                                                                                |                                                                   |                               |

|                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |                                     |                                                                                                                                                                                                                                                                              |                               |
|---------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|
| Varoquaux )<br>( <i>et al.</i> , 2019 | تفاوت کلیدی وارپته‌ها در ژن‌های هموستازی آبی، پاسخ اکسیداتیو و تنظیم<br>رشد، نشان‌دهنده سازگاری فیزیولوژیک و بازتنظیم رونویسی در مزرعه است<br>Key varietal differences in water homeostasis, oxidative stress response, and growth regulation genes indicate physiological adaptation and transcriptional reprogramming under field conditions. | توالی‌یابی RNA<br>RNA<br>sequencing | پروفایل ترنسکرپتومی با<br>نمونه‌برداری مکرر در مزرعه<br>به‌منظور شناسایی پاسخ‌های<br>مولکولی به تنش خشکی به کار<br>گرفته شد.<br>A transcriptomic profiling protocol utilizing repeated field sampling was implemented to characterize molecular responses to drought stress. | تنش خشکی<br>Drought<br>stress |
|---------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|

## جدول ۲- پایگاه داده‌های بیان ژن و مبتنی بر RNA-Seq

Table 2. RNA-Seq-based and gene expression databases

| منبع<br>Reference                     | مشخصات کوتاه<br>Short particulars                                                                   | آدرس اینترنتی<br>URL                                                                  | نام پایگاه داده<br>Database name                                                                                                    |
|---------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| (Ankit <i>et al.</i> , 2023)          | مخزنی برای داده‌های بیان<br>ژن<br>A repository for gene expression data                             | <a href="https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/">https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/</a>     | پایگاه داده پشتیبانی شده توسط مرکز ملی<br>اطلاعات بیوتکنولوژی (NCBI) در کتابخانه<br>ملی پزشکی<br>NCBI Gene Expression Omnibus (GEO) |
| Kolesnikov <i>et al.</i> , )<br>(2015 | یک مخزن عمومی برای<br>داده‌های بیان ژن<br>A public repository for gene expression data              | <a href="https://www.ebi.ac.uk/arrayexpress/">https://www.ebi.ac.uk/arrayexpress/</a> | پایگاه داده‌های ریزآرایه<br>ArrayExpress                                                                                            |
| (Dash <i>et al.</i> , 2012)           | منبعی برای داده‌های بیان ژن<br>گیاهی<br>A resource for plant gene expression data                   | <a href="https://www.plexdb.org/">https://www.plexdb.org/</a>                         | پایگاه داده بیان گیاهان (PLEXdb)<br>Plant Expression Database (PLEXdb)                                                              |
| (Hruz <i>et al.</i> , 2008)           | پایگاه داده‌های بیان ژن و<br>پلتفرم تجزیه آن‌ها<br>A gene expression database and analysis platform | <a href="https://genevestigator.com/">https://genevestigator.com/</a>                 | Genevestigator                                                                                                                      |
| (Sato <i>et al.</i> , 2012)           | مخزنی برای داده‌های بیان<br>ژن برنج<br>A repository for rice gene expression data                   | <a href="http://ricexpro.dna.affrc.go.jp/">http://ricexpro.dna.affrc.go.jp/</a>       | پایگاه داده‌های بیان برنج (RiceXpro)<br>Rice Expression Database (RiceXpro)                                                         |
| (Grant <i>et al.</i> , 2009)          | مخزنی برای داده‌های<br>ژنومیک سویا<br>A repository for soybean genomics data                        | <a href="https://www.soybase.org/">https://www.soybase.org/</a>                       | SoyBase                                                                                                                             |
| Portwood <i>et al.</i> , )<br>(2018   | بانک اطلاعاتی برای ژنتیک و<br>ژنومیک ذرت<br>A database for maize genetics and genomics              | <a href="https://www.maizegdb.org/">https://www.maizegdb.org/</a>                     | MaizeGDB                                                                                                                            |

|                                                    |                                                                                                  |                                                                                                                             |                                                 |
|----------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------|
| Ramírez-<br>González <i>et al.</i> ,<br>(2018)     | پلتفرمی برای تجزیه داده‌های<br>بیان ژن گندم<br>A platform for wheat<br>gene expression data      | <a href="https://wheat.pw.usda.gov/">https://wheat.pw.usda.gov/</a>                                                         | مرورگر بیان گندم<br>Wheat Expression Browser    |
| Fernandez-Pozo )<br>( <i>et al.</i> , 2017         | منبعی برای داده‌های بیان ژن<br>گوجه‌فرنگی<br>A resource for tomato<br>gene expression data       | <a href="http://tea.solgenomics.net/">http://tea.solgenomics.net/</a>                                                       | اطلس بیان گوجه‌فرنگی<br>Tomato Expression Atlas |
| (Grant <i>et al.</i> , 2009)                       | یک پایگاه داده ژنومیک<br>کاربردی برای پنبه<br>A functional genomics<br>database for cotton       | <a href="https://cottonfgd.net/">https://cottonfgd.net/</a>                                                                 | CottonFGD                                       |
| (Tian <i>et al.</i> , 2016)                        | مخزنی برای داده‌های<br>ژنومیک سورگوم<br>A repository for<br>sorghum genomics data                | <a href="http://structuralbiology.cau.edu.cn/sorghum/index.html">http://structuralbiology.cau.edu.cn/sorghum/index.html</a> | SorghumFDB                                      |
| (Shen <i>et al.</i> , 2005)                        | یک پایگاه داده برای داده‌های<br>ژنومیک جو<br>A database for barley<br>genomics data              | <a href="https://www.plexdb.org/">https://www.plexdb.org/</a>                                                               | BarleyBase                                      |
| (Dai <i>et al.</i> , 2021)                         | یک پایگاه داده برای داده‌های<br>توالی‌یابی RNA حبوبیات<br>A database for legume<br>RNA-Seq data  | <a href="https://plantgm.noble.org/LegumeIP">https://plantgm.noble.org/LegumeIP</a>                                         | Legum IP V3                                     |
|                                                    | مخزنی برای داده‌های بیان<br>ژن برنج<br>A repository for rice<br>gene expression data             | <a href="https://rice.plantbiology.msu.edu/">https://rice.plantbiology.msu.edu/</a>                                         | Oryza Express                                   |
| Hamada <i>et al.</i> , )<br>(2011                  | یک پایگاه داده برای هم‌بیانی<br>ژن‌ها در گیاهان<br>A database for gene<br>coexpression in plants | <a href="https://bar.utoronto.ca/">https://bar.utoronto.ca/</a>                                                             | Coexpression Browser (BAR)                      |
| García-Ruiz <i>et al.</i> )<br>( <i>al.</i> , 2021 | یک مخزن برای داده‌های<br>بیان ژن گیاهی<br>A repository for plant<br>gene expression data         | <a href="https://www.plexdb.org/">https://www.plexdb.org/</a>                                                               | PLEXdb                                          |

## نقش ترنسکریپتومیکس در گیاهان تحت تنش‌های غیرزیستی

تجزیه و تحلیل مقایسه‌ای داده‌های ترنسکریپتومیکس می‌تواند در درک چگونگی سازگاری گیاهان با شرایط تنش غیرزیستی و حفظ رشد و بقا در این شرایط، مفید واقع شود. تنش‌هایی نظیر خشکی، دماهای شدید، شوری، سمیت یون‌های فلزی و سایر تنش‌های غیرزیستی می‌توانند موجب شوند که گیاهان فرآیندهای فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی، مولکولی و سلولی خود را تنظیم کنند. این تغییرات شامل تغییرات فعال در

رونویسی، فعال‌سازی مکانیسم‌های تحمل تنش و تنظیم فرآیندهای بیولوژیکی به منظور سازگاری با شرایط نامساعد محیطی است. به‌منظور درک بهتر مکانیسم‌های سازگاری گیاهان در سطح رونویسی، می‌توان با تجزیه و تحلیل و غربالگری ژن‌های عملکردی با بیان متفاوت در بافت‌ها و اندام‌های گیاهی تحت تأثیر منابع و شدت‌های مختلف تنش، به تعیین روابط بین ژن‌های کلیدی و مقاومت در برابر تنش پرداخت.

تنش خشکی<sup>۳۳</sup>

تغییرات اقلیمی گیاهان را در معرض تنش خشکی گسترده قرار داده است که تأثیر شدیدی بر بقا، رشد و توزیع آن‌ها دارد. توالی‌یابی ترنسکریپتوم به‌عنوان ابزاری مؤثر برای تجزیه و تحلیل بیان کل ژنوم تحت شرایط تنش خشکی مورد استفاده قرار می‌گیرد و به درک مکانیسم‌های تنظیمی مرتبط با سازگاری گیاهان با خشکی و بهبود مقاومت به آن کمک می‌کند. در یک مطالعه بر روی سیب‌زمینی شیرین، ۱۱۳۵۹ ژن با بیان متفاوت (DEGs) پس از تیمار با PEG6000 شناسایی شد که از میان آن‌ها ۷۶۶۶ ژن افزایش بیان و ۳۶۹۳ ژن کاهش بیان نشان دادند. مسیرهای سیگنال‌دهی اسید آبسزیک<sup>۳۴</sup> (ABA)، اتیلن<sup>۳۵</sup> (ETH) و اسید جاسمونیک<sup>۳۶</sup> (JA) نقش مهمی در تحمل خشکی سیب زمینی شیرین ایفا کرده‌اند؛ به طوری که در آن دو پروتئین شناسایی شده، پروتئین شبه ABI و  $Ca^{2+}$ -ATPase، به عنوان اجزای اصلی مقاومت به خشکی معرفی شدند (Yang et al., 2018). در گندم دوروم نیز تنش خشکی موجب تغییرات معنی‌دار در بیان ژن‌های مرتبط با پاسخ به خشکی شد و این تغییرات به شدت تنش و ژنوتیپ وابسته بود. بیان ژن‌های دهیدرین شدید به‌طور قابل‌توجهی افزایش یافت، به‌طوری‌که بیشترین بیان TdDhn5 در ژنوتیپ G14 و

TdWdhn13 در ژنوتیپ G12 مشاهده شد. همچنین، ژن‌های آنتی‌اکسیدانی TdAPX1 و TdCAT1 در پاسخ به خشکی افزایش بیان نشان دادند که این افزایش در ژنوتیپ‌های متحمل بارزتر بود؛ به‌گونه‌ای که در تنش شدید، بیشترین بیان TdAPX1 در ژنوتیپ G9 و TdCAT1 در ژنوتیپ G12 ثبت شد. عوامل رونویسی TdDREB1 و TdDRF1 نیز با افزایش بیان در تنش ملایم و اوج‌گیری در تنش شدید، به‌ویژه در ژنوتیپ‌های G12 و G14، نقش تنظیمی مهمی در پاسخ مولکولی به خشکی ایفا کردند که بیانگر پاسخ‌های ژنوتیپ‌محور و پتانسیل این ژن‌ها به‌عنوان نشانگرهای مولکولی تحمل خشکی (Simorgh et al., 2025). تجزیه و تحلیل رونوشت کل ژنوم لایه سلولی اپیدرمی تحت تنش خشکی در جو وحشی یک‌ساله در تبت، وجود یک تعامل متقابل منحصربه‌فرد<sup>۳۷</sup> بین الگوهای هورمون گیاهی، سیگنال‌دهی سلولی و انتقال غشایی را نشان داد. براسینوستروئیدها می‌توانند در تنظیم مشترک حرکت روزنه‌ای همراه با اسید آبسزیک مشارکت داشته باشند. تجزیه و تحلیل ترنسکریپتوم بر روی دو ژنوتیپ متحمل به خشکی نخود<sup>۳۸</sup> تحت تنش خشکی شبیه‌سازی شده توسط PEG 6000 انجام شد. از میان ۱۶۲۴ ژنی که در شرایط خشکی به طور متفاوت بیان شدند، ۹۷ ژن در هر دو ژنوتیپ شناسایی گردید. فاکتورهای رونویسی AP2-EREBP، WRKY، NAC، MYB، C3H، bZIP، bHLH و MADS در این مکانیسم دخیل بودند (Kumar et al., )

<sup>33</sup> Drought stress<sup>34</sup> Absciscic acid<sup>35</sup> Ethylene<sup>36</sup> Jasmonic acid<sup>37</sup> Eross-talk<sup>38</sup> Cicer arietinum

عامل رونویسی در فرآیندهای رشد گیاه و پاسخ به تنش‌های غیرزیستی نقش دارد، تحت شرایط تنش سرما تغییر می‌کند. افزایش بیان MeTCP4 می‌تواند توانایی گیاه را برای مقاومت در برابر تنش سرما افزایش دهد. در این راستا، mRNA گیاهان با بیش بیان MeTCP4 و گیاهان نوع وحشی<sup>۴۲</sup> (WT) برای توالی‌یابی کل ژنوم جدا شدند. تجزیه و تحلیل‌ها نشان داد که ۱۳۴۱ و ۷۹۷ ژن با بیان متفاوت (DEG) در شرایط عادی و سرما به ترتیب شناسایی شدند. پس از تیمار سرما، مشخص شد تعدادی از DEGs در فرآیند متابولیسم گونه‌های اکسیژن فعال<sup>۴۳</sup> (ROS) نقش ایفا می‌کنند. بیش بیان MeTCP4 منجر به افزایش بیان ژن‌های مرتبط با پاسخ به سرما و همچنین ژن‌های مرتبط با حذف ROS در گیاهان گردید؛ که این امر ممکن است به کاهش سطح ROS و افزایش مقاومت به سرما در گیاهان تراریخته منجر شود (Cheng *et al.*, 2019). در گیاه اکالیپتوس<sup>۴۴</sup>، تجزیه و تحلیل داده‌های توالی‌یابی RNA از برگ و ریشه تحت شرایط سازگاری به سرما، ۵۱ ژن EglWRKY<sup>۴۵</sup> را شناسایی کرد که با فعال‌سازی بیان این ژن‌ها ارتباط داشتند. از میان این ژن‌ها، ۱۱ ژن EglWRKY در بافت‌های برگ وجود داشتند که در طول فرایند عادت به سرما تنظیم می‌شوند (Aguayo *et al.*, 2019). تجزیه و تحلیل رونویسی مقایسه‌ای<sup>۴۶</sup> توسعه بساک در برنج تحت تنش سرما نشان

2019). ژن *A. thaliana* YUCCA6 (AtYUCCA6) مسیر بیوسنتز اکسین وابسته به تریپتوفان را در *A. thaliana* میانجی‌گری می‌کند، که مانع از تشکیل ریشه ذخیره‌ای در سیب‌زمینی شیرین می‌شود. گیاهان تراریخته سیب‌زمینی شیرین که بیان کننده ژن AtYUCCA6 تحت تنظیم پروموتور SWPA2 هستند، فنوتیپ با اکسین بالا را نشان دادند. تولید بیش از حد اکسین ناشی از AtYUCCA6 با تحمل به تنش‌های اکسیداتیو و خشکی همراه بود (Park *et al.*, 2019). تجزیه و تحلیل ترنسکرپتوم افتراقی<sup>۳۹</sup> ژنوتیپ مقاوم به خشکی (C306) و حساس به خشکی (WL711) نشان‌دهنده القا یا سرکوب قابل توجهی از ژن‌های دخیل در متابولیسم ثانویه، سنتز اسید نوکلئیک، سنتز پروتئین و انتقال در C306 نسبت به WL711 بود. افزایش بیان و کاهش بیان قابل توجه رونوشت آنزیم‌ها، متابولیسم هورمون‌ها و الگوهای پاسخ به تنش در C306 تحت شرایط خشکی مشاهده شد. سایر ژن‌های تنظیمی مانند MT, FT, AP2, SKP1, ABA2, ARF6, WRKY6, AOS و LOX2 نیز در پاسخ دفاعی مقاومت به خشکی ژنوتیپ C306 نقش داشتند (Kumar *et al.*, 2018).

#### تنش‌های دمای پایین و دمای بالا<sup>۴۰</sup>

کاساوا<sup>۴۱</sup> به عنوان یک گیاه مقاوم به شرایط خشکی شناخته می‌شود، اما در برابر سرما حساسیت بالایی از خود نشان می‌دهد. بیان ژن MeTCP4، که به عنوان یک

<sup>۴۲</sup> Wild-type

<sup>۴۳</sup> Reactive oxygen species

<sup>۴۴</sup> *Eucalyptus globulus*

<sup>۴۵</sup> فاکتورهای رونویسی WRKY، به دلیل داشتن هپتاپپتید WRKYGQK در

انتهای N-ترمینال به این نام خوانده می‌شوند.

<sup>۴۶</sup> Comparative transcriptome analysis

<sup>۳۹</sup> Differential transcriptome analysis

<sup>۴۰</sup> Low temperature and high temperature stresses

<sup>۴۱</sup> *Manihot esculenta*

کنند. همچنین، تعدادی از یونی‌ژن‌ها<sup>۵۶</sup> (۲۰ درصد) که کدکننده پروتئین‌های ناشناخته هستند، شناسایی شدند و برخی از آنها ممکن است در تنظیم پاسخ *D. morifolium* به تنش سرما مؤثر باشند (Lu et al., 2018). تنش دمای بالا نیز تغییرات قابل توجهی در بیان رونوشت‌های صنوبر کره‌ای<sup>۵۷</sup> ایجاد کرد. تحت تاثیر ترکیبی CO<sub>2</sub> بالا و تنش‌های دمای بالا، تغییرات کمتری در بیان ژن مشاهده شد فاکتورهای رونویسی مهمی مانند ERF<sup>۵۸</sup>، bHLH و NAC<sup>۵۹</sup> شناسایی شدند که رونوشت‌های متفاوت بیان شده عمدتاً به پاسخ‌های نوری، پاسخ‌های تنش زیستی و غیرزیستی و نمو مرتبط هستند (Hwang et al., 2019). پاسخ سطح رونویسی درخت چای به تنش گرمایی با واسطه کلسیم نشان داد که ژن CML ممکن است تأثیر مثبتی بر پاسخ به تنش گرمایی داشته باشد. این DEG عمدتاً مربوط به انتقال سیگنال، تنظیم رونویسی و اصلاح پس از ترجمه بود. بیش بیان ژن CsCML45 به طور قابل توجهی میزان بقا و تحمل گرما را در *A. thaliana* تراریخته تحت تنش گرما افزایش داد (Wang et al., 2018).

### سوری و تنش فلزات سنگین<sup>۶۰</sup>

کادمیوم<sup>۶۱</sup> (Cd) به عنوان یک آلاینده فلز سنگین با خاصیت فیتوتوکسیک شناخته می‌شود. در مطالعه‌ای بر

داد که متابولیسم نشاسته و ساکارز به عنوان دو مسیر کلیدی شناسایی شدند که شامل ۴۷ DEG در طول دوره‌های سرما بودند (Guo et al., 2019). فاکتورهای رونویسی اصلی مارپیچ-حلقه-مارپیچ (bHLH<sup>۴۷</sup>) در پاسخ‌های مختلف به تنش‌های غیر زیستی نقش دارند. تحت تأثیر PEG و تنش سرما، به ترتیب ۲۲ و ۱۷ ژن bHLH در گیاه انگور<sup>۴۸</sup> القا شدند. همچنین، PEG یا تیمار سرما قادر به القای قابل توجه ژن ICE<sup>۴۹</sup> VvbHLH007(MYC2) بودند. شش ژن ICE هیچگونه افزایش بیانی نشان ندادند. فاکتورهای رونویسی CBF<sup>۵۰</sup>، Myb، Hsf<sup>۵۱</sup> و سایر bHLHs ممکن است برخی از اعضای خانواده bHLH در انگور را تنظیم کنند و این عوامل رونویسی ممکن است تحت تأثیر تنش‌های غیرزیستی و سایر فاکتورهای رونویسی قرار گیرند (Wang et al., 2018). در *Dendranthema morifolium* چندین ژن که فاکتورهای مهم رونویسی (CBF/DREB، bHLH، MYC و ZAT<sup>۵۲</sup>) و پروتئین‌های مرتبط با انتقال سیگنال سرما (CCX<sup>۵۳</sup>، CBP<sup>۵۴</sup>، CML<sup>۵۵</sup> و MAPK) را کد می‌کنند، تحت دماهای پایین افزایش یا کاهش بیان می‌یابند. این ژن‌ها ممکن است در انتقال سیگنال سرما نقش اساسی ایفا

<sup>۵۶</sup> Unigenes

<sup>۵۷</sup> *Abies koreana*

<sup>۵۸</sup> Ethylene Response Factor

<sup>۵۹</sup> نام NAC از سه فاکتور رونویسی، یعنی (No Apical Meristem from

Arabidopsis transcription activation) .NAM (*Petunia hybrida*

cup-shaped cotyledon from *Arabidopsis*) و ATAF1/2 (factor

CUC2 (*thaliana*) گرفته شده است که همگی یک دامنه اتصال به DNA مشابه

دارند.

<sup>۶۰</sup> Salinity and heavy metal stress

<sup>۴۷</sup> Basic Helix-Loop-Helix

<sup>۴۸</sup> *V. vinifera*

<sup>۴۹</sup> Inducer of CBF Expression

<sup>۵۰</sup> C-repeat Binding Factor

<sup>۵۱</sup> Heat Shock factor

<sup>۵۲</sup> Zinc Finger of *Arabidopsis thaliana*

<sup>۵۳</sup> Ca<sup>2+</sup>/Ca<sup>2+</sup> eXchanger

<sup>۵۴</sup> CREB (cAMP Response Element Binding protein) Binding Protein;

<sup>۵۵</sup> Calmodulin-like

با حفظ بهتر کلروفیل‌های a و b و پاسخ آنتی‌اکسیدانی قوی‌تر، تحمل بالاتری به تنش نشان داد. همچنین، افزایش بیان نسبی ژن‌های MAPK3 و MAPK6 در این رقم همبستگی مثبتی با سطوح بالاتر پیش‌تیمار اسید آسکوربیک داشت که بیانگر نقش فعال مسیرهای سیگنال‌دهی وابسته به MAPK در افزایش تحمل به تنش‌های فلزی و اکسیداتیو است (Navabpour *et al.*, 2024). فاکتور رونویسی MdMYB46 توانایی گیاه سیب در برابر نمک و تنش اسمزی را افزایش می‌دهد. این فاکتور با اتصال مستقیم به پروموتور ژن‌های مرتبط با بیوسنتز لیگنین، بیوسنتز دیواره سلولی ثانویه و رسوب لیگنین را تشدید می‌کند. همچنین، MdMYB46 می‌تواند به طور مستقیم تحت تأثیر سیگنال‌های پاسخ به تنش قرار گیرد تا تحمل نمک و تنش اسمزی را در گیاه سیب افزایش دهد (Chen *et al.*, 2019). تحلیل ترنسکریپتوم مقایسه‌ای در لاین اینبرد ذرت حساس و متحمل به شوری (L87) نشان داد که L87 دارای ۱۸۵۶ DEG منحصر به فرد است که افزایش بیان نشان داده‌اند. این شامل پروتئین‌های شوک حرارتی (Hsp70s) و آکوپورین‌ها<sup>۶۳</sup> در خانواده ۷۰ کیلو دالتونی<sup>۶۴</sup> است. DEG‌های مرتبط با انتقال سیگنال هورمون‌هایی نظیر ABA، ETH، JA و SA ممکن است بر تحمل به شوری بین دو گونه تأثیرگذار باشند. در L87، SnRK2، که جزء مرکزی سیگنال‌دهی مثبت ABA است، افزایش بیان داشت. همچنین DEG‌های مربوط به مهار اکسیژن

روی *Brassica juncea*، ۱۱۲۹۴ DEGs تحت تنش کادمیوم شناسایی شد. این ژن‌ها عمدتاً به تنش‌های شیمیایی، تنش اکسیداتیو و فرآیندهای متابولیک ثانویه و انتقال مرتبط بودند. ناقل‌های مرتبط با کادمیوم مانند ناقل فلز (Nramp1)، پروتئین‌های متحمل به فلز (MTPC2) و (MTP11)، ATPase انتقال‌دهنده کادمیوم و پروتئین‌های مقاوم به کادمیوم گیاهی (PCR2 و PCR6) نیز افزایش بیان نشان دادند. در مقابل، ژن‌های مرتبط با فرآیندهای رشد و فتوسنتز در ارگان‌های چند سلولی کاهش بیان یافتند. به عنوان نمونه ATPase ناقل کادمیوم/روی (HMA2، HMA3 و HMA4)، پروتئین انتقال معکوس کلسیم با میل ترکیبی بالا (CAX1) و ناقل آهن (IRT1) کاهش بیان نشان دادند (Thakur *et al.*, 2019). نانوذرات اکسید روی (nZnO) (ZnO) اثرات منفی بر گیاهان دارند. داده‌های ترنسکریپتوم نشان می‌دهد که هم nZnO و هم  $Zn^{2+}$  مانع از رشد ریشه اولیه<sup>۶۲</sup> (PR) گیاه می‌شوند. nZnO از طریق تعاملات فیزیکی و تنظیم رونویسی، ساختار دیواره‌های سلولی را تحت تأثیر قرار داده و مانع از رشد اولیه می‌شود، در حالی که  $Zn^{2+}$  اثر سمی بیشتری بر روی مریستم‌ها دارد (Wang *et al.*, 2019). در گندم نان نیز تنش فلزی منجر به تغییرات معنی‌دار بیوشیمیایی و مولکولی شد. تیمار نیترا نقره موجب افزایش تنش اکسیداتیو گردید، در حالی که پیش‌تیمار با اسید آسکوربیک اثرات منفی این تنش را کاهش داد. در میان ارقام بررسی‌شده، رقم احسان

<sup>63</sup> Aquaporins<sup>64</sup> 70-kDa<sup>61</sup> Cadmium<sup>62</sup> Primary root

فعال<sup>۶۵</sup> ممکن است تحمل به شوری را در این لاین افزایش دهند و TF های WRKY ممکن است موجب تفاوت در تحمل به شوری بین دو لاین ذرت شوند (Wang et al., 2019). پاسخ بادمجان به تنش شوری به ژنوتیپ و اندام خاص بستگی دارد. سطوح بالای رونویسی برخی ژن های خاص از جمله ژن های C2C2-CO-like، WRKY، اعضای خانواده MYB و NAC می تواند تحمل به شوری را افزایش دهد. ژن های AKT1، KAT1 و SOS1 تنها در برگ های واریته های متحمل به شوری افزایش بیان نشان دادند. بیان هترولوگ SmAKT1 موجب افزایش تحمل به شوری در مخمر و جهش یافته های Arabidopsis akt1 می شود (Li et al., 2019). تحلیل رونوشت تحت تنش شوری در بید<sup>۶۶</sup> نشان داد که ژن هایی که افزایش بیان داشته اند عمدتاً در مسیرهای هورمونی گیاهی و متابولیسم  $\beta$  آلانین، گالاکتوز و بتالاین نقش دارند. مشخص شد که ETH به عنوان یک مولکول سیگنال دهنده اولیه در فعال سازی TF ها برای مدت ۱۲ ساعت تحت تنش شوری عمل می کند. ژن هایی که افزایش بیان نشان دادند با سطوح بالایی از اسیدهای آمینه، ساکارز، اینوزیتول، پروتئین های تنش و آنزیم های مهار کننده ROS که به حفظ تعادل آب کمک می کنند، مرتبط بودند (Zhou et al., 2020). بیش بیان ترنسژن (تراریخت) HvBADH1 در گندم تراریخته به طور معنی داری تحمل کلی گیاهان هدف به شوری را افزایش داده و آسیب های ناشی از شوری بالا را کاهش می دهد

(Li et al., 2019). بیان OsRH58 در برنج تحت تنش شوری، خشکی یا دمای بالا افزایش یافت، اما تحت تیمار دمای پایین، UV یا ABA کاهش بیان نشان داد. در شرایط تنش شوری و خشکی بالا، سطوح چندین پروتئین کلروپلاست در گیاهان آراییدوپسیس که بیان کننده OsRH58 بودند، افزایش یافت که نشان دهنده انتقال این پروتئین توسط کلروپلاست و فعالیت چاپرون<sup>۶۷</sup> RNA است، این فعالیت می تواند با افزایش ترجمه mRNA کلروپلاست، تحمل تنش گیاهان را افزایش دهد (Nawaz et al., 2019). تجزیه و تحلیل رونویسی ریشه و ساقه برنج<sup>۶۸</sup> تحت تنش شوری نشان داد که تنش شوری به طور معنی داری بر متابولیسم کربوهیدرات و اسیدهای آمینه تأثیر می گذارد و ژن های مرتبط با متابولیت های ثانویه، نمک های فنلی و تجمع فلاونوئیدها را در ریشه ها القا می کند (Chandran et al., 2019). تحلیل رونویسی تنش سمیت ریشه در *A. thaliana* نشان داد که مسیر متابولیکی گوگرد فقط تحت تنش شدید آلومینیوم فعال می شود و تنش های کادمیوم و مس منجر به پاسخ های رونویسی معمولی می شوند که ممکن است با شدت تنش مرتبط باشد (Kusunoki et al., 2019).

#### تنش غرقابی<sup>۶۹</sup>

در شرایط تنش غرقابی، بیان ژن هایی که در سیستم های آنتی اکسیدانی، گلیکولیز، مسیرهای تخمیر، متابولیسم کلروفیل و متابولیسم اسیدهای آمینه نقش دارند، تحت

<sup>67</sup> Chaperone

<sup>68</sup> *Oryza sativa*

<sup>69</sup> Waterlogging Stress

<sup>65</sup> Active oxygen scavenging

<sup>66</sup> Salix

## تناقضات و شکاف‌های موجود در مطالعات

### ترنسکریپتومیکس

با وجود پیشرفت‌های قابل‌توجه در فناوری‌های تحلیل بیان ژن، بررسی مطالعات مختلف نشان می‌دهد که در پژوهش‌های ترنسکریپتومی مرتبط با تنش‌های غیرزیستی، ناسازگاری‌ها و شکاف‌های معنی‌داری وجود دارد که تفسیر نتایج را دشوار می‌سازد. یکی از مهم‌ترین منابع این تناقضات، تفاوت در شرایط آزمایشی است، به‌گونه‌ای که شدت تنش، مدت اعمال آن، نوع بافت نمونه‌برداری و ژنوتیپ مورد مطالعه می‌تواند الگوهای کاملاً متفاوتی از بیان ژن ایجاد کند. به همین دلیل، ژن‌هایی که در یک آزمایش به‌عنوان DEGs معرفی می‌شوند، در مطالعه‌ای دیگر ممکن است تغییر معنی‌داری نشان ندهند (Des Marais *et al.*, 2012). علاوه بر این، اختلاف میان پلتفرم‌های مختلف ترنسکریپتومیکس نیز منجر به نتایج ناهمسان شده است. مطالعات تطبیقی نشان داده‌اند که RNA-Seq قادر به شناسایی رونوشت‌های نادر و ایزوفرم‌های جدید است، در حالی‌که ریزآرایه به‌شدت به کیفیت و طراحی پروب‌ها وابسته بوده و تنها ژن‌های شناخته‌شده را پوشش می‌دهد. همین موضوع سبب شده است که برخی ژن‌های گزارش‌شده در RNA-Seq در ریزآرایه قابل تشخیص نباشند یا دقت آماری کمتری داشته باشند (Wang *et al.*, 2009). گسست میان سطح RNA و پروتئین نیز یکی دیگر از عوامل ایجاد تناقض است، زیرا سطوح رونوشت لزوماً منعکس‌کننده سطح پروتئین یا فعالیت زیستی آن نیست.

تأثیر قرار می‌گیرد. همچنین، برخی هورمون‌ها نیز در این شرایط فعال می‌شوند. به‌طور خاص، بسیاری از ژن‌های مرتبط با سنتز کلروفیل و فرآیند فتوسنتز دچار کاهش بیان می‌شوند، در حالی که ژن‌های مرتبط با تحمل به تنش ممکن است افزایش بیان نشان دهند. این تغییرات می‌توانند به کاهش آسیب‌های ناشی از غرقابی بر روی گیاهان، به ویژه انگور، کمک کنند. هورمون‌های اتیلن (ETH) و اسید آبسزیک (ABA) در پاسخ گیاهان به تنش غرقابی تأثیرگذار هستند و منجر به تغییراتی در بیان ژن‌های مرتبط با عملکردهای مولکولی<sup>۷۰</sup> (MFs) در برگ‌ها می‌شوند (Zhu *et al.*, 2018). در مواجهه با تنش‌های شوری و خشکی، بیان چندین ژن مرتبط با تنش در لاین‌های تراریخته به‌طور قابل توجهی کاهش یافته است. این ژن‌ها شامل ژن اندوکیتیناز<sup>۷۱</sup>، ژن پراکسیداز<sup>۷۲</sup>، ژن کد کننده کانال پتاسیم KAT3-like و ژن SIMAPKKKK11 هستند. همچنین، ژن SlbZIP1 با تنظیم مسیرهای وابسته به ABA، نقش مهمی در اعمال تحمل به شوری و خشکی ایفا می‌کند (Zhu *et al.*, 2018). فهرستی از ژن‌های کلیدی مرتبط با پاسخ به تنش‌های غیرزیستی در گیاهان در جدول ۳ ارائه شده است. این ژن‌ها برای تجزیه و تحلیل رونوشت‌های بیشتر تحت شرایط تنش متنوع و ترکیبی از اهمیت بالایی برخوردارند.

<sup>70</sup> Molecular functions

<sup>71</sup> Endochitinase gene

<sup>72</sup> Peroxidase gene

فرایندهایی نظیر پایداری mRNA، ترجمه، و اصلاحات پس از ترجمه می‌توانند سبب شوند که تغییرات رونویسی مشاهده‌شده در نهایت منجر به تغییرات عملکردی نشوند (Vogel and Marcotte, 2012). در سطح بیوانفورماتیک نیز شکاف‌هایی گزارش شده است. تنوع در الگوریتم‌های پیش‌پردازش، نرمال‌سازی داده و روش‌های تشخیص ژن‌های با بیان متفاوت می‌تواند خروجی‌های متفاوتی ایجاد کند. در بسیاری از مطالعات، عدم شفافیت در گزارش پارامترهای محاسباتی نیز کار مقایسه نتایج را دشوار می‌سازد (Conesa et al., 2016). در مجموع، این تناقضات و شکاف‌ها نشان می‌دهند که برای دستیابی به نتایج قابل‌اطمینان در مطالعات ترنسکریپتومی، ضروری است که استانداردهای پروتکل‌ها، در دستور کار قرار گیرد.

### جدول ۳- ژن‌های مهمی که در پاسخ گیاهان به تنش‌های غیر زیستی نقش دارند

Table 3. Important genes involved in plants' responses to abiotic stresses

| منابع<br>References         | توجه/ملاحظه<br>Note/Remarks                                                                      | تنش‌های<br>زیستی<br>Abiotic stresses                                          | عمل<br>Function                                                                              | ژن‌ها<br>Genes                  | گیاهان<br>Plants           |
|-----------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------|----------------------------|
| Kaur et al., )<br>(2021     | جهش از دست دادن عملکرد<br>Loss of function mutation                                              | خشکی<br>Drought                                                               | محدود کردن ریشه‌های موئین<br>Restriction of root hairs                                       | rhl1.a                          | جو<br>Barley               |
| (Zhang et al., 2022)        |                                                                                                  | شوری<br>Salinity                                                              | القای فاکتورهای رونویسی<br>Induce TFs                                                        | Zm00001d010956                  | ذرت<br>Maize               |
| Guo et al., )<br>(2022      |                                                                                                  | خشکی، شوری<br>Drought, Salinity                                               | بیوسنتز گلیکول آلکالوئیدهای استروئیدی (SGAs)<br>Steroidal glycoalkaloids (SGAs) biosynthesis | SlERF.D6                        | گوجه‌فرنگی<br>Tomato       |
| Song et al., )<br>(2019     |                                                                                                  | گرما<br>Heat                                                                  | مسیر سیگنال‌دهی<br>Signaling pathway                                                         | HAMK                            | یونجه<br>Alfalfa           |
| Samtani et al., )<br>(2022  | <i>Hordeum vulgare</i> aleurone 1                                                                | گرما، خشکی<br>Heat, Drought                                                   | مسیر سیگنال‌دهی<br>Signaling pathway                                                         | HVA1                            | گندم نان<br>Bread wheat    |
| El-Esawi et al., )<br>(2019 | بیوسنتز آنتی‌اکسیدان، اسمولیت‌ها<br>Antioxidant, osmolytes biosynthesis                          | گرما، خشکی<br>Heat, Drought                                                   | فاکتورهای رونویسی<br>TFs                                                                     | AtWRKY30                        | گندم<br>Wheat              |
| Sun et al., )<br>(2007      | جهش از دست دادن عملکرد<br>Loss of function mutation                                              | شوری<br>Salinity                                                              | ژن‌های تنظیم‌کننده پاسخ به نمک<br>Regulate salt-responsive genes                             | AtSZF2                          | آرابیدوپسیس<br>Arabidopsis |
| Yun et al., )<br>(2022      | C-Repeat Binding Factor1                                                                         | سرما، گرما<br>Cold, Heat                                                      | فاکتورهای رونویسی<br>TFs                                                                     | CBF1                            | آرابیدوپسیس<br>Arabidopsis |
| Yang et al., )<br>(2019     | تری متیلاسیون هیستون H3 لیزین ۲۷ (H3K27me3)<br>Trimethylation of histone H3 lysine 27 (H3K27me3) | سرما<br>Cold                                                                  | بازسازی‌کننده کروماتین<br>CHD3-type<br>CHD3-type chromatin remodeler                         | PICKLE (PKL)                    | آرابیدوپسیس<br>Arabidopsis |
| Xu et al., )<br>(2022       |                                                                                                  | شوری<br>Salinity                                                              | فاکتورهای رونویسی<br>TFs                                                                     | SlAREB1                         | گوجه‌فرنگی<br>Tomato       |
| Klay et al., )<br>(2018     |                                                                                                  | سرما، گرما، شوری، خشکی، غرقابی<br>Cold, Heat, Salinity, Drought, Waterlogging | فاکتورهای رونویسی<br>TFs                                                                     | Ethylene Response Factors (ERF) | گوجه‌فرنگی<br>Tomato       |

|                                  |                                                                                   |                                             |                                                                                   |                                                                |
|----------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------|
| Liu <i>et al.</i> , )<br>(2020   | UV-B                                                                              | گیرنده نور UV-B<br>UV-B photoreceptor       | SIUVR8                                                                            | گوجه‌فرنگی<br>Tomato                                           |
| Munir <i>et al.</i> , )<br>(2016 | افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی<br>Enhances antioxidants capacity                      | سرما، خشکی، شوری<br>Cold, Drought, Salinity | Calmodulin-like (ShCML44)                                                         | گوجه‌فرنگی وحشی<br>Wild tomato ( <i>Solanum habrochaites</i> ) |
| Lee <i>et al.</i> , )<br>(2018   |                                                                                   | گرما<br>Heat                                | HSP70                                                                             | کلم<br>Cabbage                                                 |
| Meena <i>et al.</i> , )<br>(2022 | بیان بیش از حد ژن‌های ترانس‌ژنی در تنباکو<br>Transgenic overexpression in tobacco | گرما، خشکی، شوری<br>Heat, Drought, Salinity | PgDREB2A                                                                          | ارزن مرواریدی<br>Pearl millet                                  |
| Hu <i>et al.</i> , )<br>(2011    |                                                                                   | خشکی، شوری، سرما<br>Drought, Salinity, cold | مسیر سیگنال‌دهی<br>Signaling pathway                                              | برنج<br>Rice                                                   |
| Yan <i>et al.</i> , )<br>(2021   |                                                                                   | خشکی، شوری<br>Drought, Salinity             | افزایش توانایی اتصال به DNA<br>Increase DNA-binding ability                       | برنج<br>Rice                                                   |
| Gupta <i>et al.</i> , )<br>(2020 | ناقل اولیه<br>Primary transporter                                                 | شوری<br>Salinity                            | پمپ پروتونی<br>Proton pump                                                        | برنج<br>Rice                                                   |
| Zhao <i>et al.</i> , )<br>(2022  | پاسخ اسمزی ناشی از ABA<br>ABA-induced osmotic response                            | شوری<br>Salinity                            | سنتز پلی ساکارید دیواره سلولی<br>Cell wall polysaccharide synthesis               | برنج<br>Rice                                                   |
| Zhong <i>et al.</i> , )<br>(2020 |                                                                                   | سرما، خشکی، شوری<br>Cold, Drought, Salinity | پروتئین کیناز سرین/ترئونین (Ser/Thr)<br>Serine/threonine (Ser/Thr) protein kinase | برنج<br>Rice                                                   |
| (Li <i>et al.</i> , 2022)        |                                                                                   | نور اضافی<br>Excess light                   | مسیر سیگنال‌دهی<br>Signaling pathway                                              | سویا<br>Soybean                                                |
| Kokkanti <i>et al.</i> , 2022    |                                                                                   | خشکی<br>Drought                             | فاکتورهای رونویسی TFs                                                             | بادام زمینی<br>Ground nut                                      |
| Kokkanti <i>et al.</i> , 2022    | پروتئین شوک حرارتی<br>Heat shock protein                                          | گرما<br>Heat                                | چاپرون<br>Chaperon                                                                | بادام زمینی<br>Ground nut                                      |
| Chen <i>et al.</i> , )<br>(2019  | پروتئین LEA (فراوان در اواخر جنین‌زایی)<br>Late embryogenesis abundant protein    | خشکی، شوری، گرما<br>Drought, Salinity, Heat | محافظت از سلول در هنگام تنش<br>Cellular protection during stress                  | سیب زمینی<br>Potato                                            |

### محدودیت‌های ترنسکریپتومیکس

نیز مواجهه است که باید به‌طور جدی مورد بررسی قرار گیرند. یکی از مهم‌ترین محدودیت‌ها، حجم عظیم داده‌های تولید شده در فرایندهای ترنسکریپتومیکس است. این داده‌ها نیاز به ذخیره‌سازی، پردازش و تحلیل دقیق دارند که خود مستلزم منابع محاسباتی بالایی است. به‌علاوه، این حجم بالای داده‌ها می‌تواند منجر به

ایجاد یک رونوشت جامع و کامل از ترنسکریپتوم، نیازمند شناسایی دقیق و تعیین کمیت رونوشت‌ها با استفاده از روش‌های بی‌طرفانه، کارآمد و مقرون به صرفه است. علی‌رغم مزایای قابل توجهی که ترنسکریپتومیکس ارائه می‌دهد، این رویکرد با چالش‌ها و محدودیت‌های متعددی

پیچیدگی در تفسیر نتایج و استخراج اطلاعات مفید شود. در این راستا، مرحله اعتبارسنجی تجربی شبکه‌ها و مسیرهای پیش‌بینی‌شده توسط آنالیز رونویسی، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. این مرحله نه تنها به تأیید دقت داده‌های حاصل از ترنسکریپتومیکس کمک می‌کند، بلکه نقش و موقعیت دقیق تمامی ژن‌ها در گیاه را به همراه عملکرد نسبی آن‌ها مشخص می‌سازد (Wang et al., 2009; Maheendran et al., 2022; Singh et al., 2022). علاوه بر این، محدودیت‌های مفهومی مهم‌تری نیز وجود دارد. یکی از چالش‌های بنیادی، عدم همبستگی کامل میان سطح رونوشت‌ها و سطح پروتئین است، زیرا بیان ژن در سطح mRNA لزوماً با مقدار پروتئین یا فعالیت بیوشیمیایی آن متناظر نیست. عواملی مانند پایداری mRNA، نرخ ترجمه و اصلاحات پس از ترجمه پروتئین‌ها می‌توانند باعث شوند تغییرات مشاهده شده در RNA در نهایت به تغییرات عملکردی منجر نشوند (Vogel and Marcotte, 2012; Liu et al., 2016). چالش مفهومی دیگر، مطالعه رونوشت‌های ناپایدار یا کم‌بازده، نظیر بسیاری از RNAهای تنظیمی کوچک همچنان چالش‌برانگیز است. نیمه‌عمر کوتاه این مولکول‌ها و سطح بیان پایین آن‌ها موجب می‌شود که حتی فناوری‌های حساس مانند RNA-seq نیز نتوانند به‌طور دقیق آن‌ها را شناسایی یا کمی‌سازی کنند، که این خود خطر سوگیری در شناسایی مسیرهای کلیدی پاسخ به تنش را افزایش می‌دهد (Hrdlickova et al., 2017). در کنار این مسائل، نیاز روزافزون به پایگاه‌های داده جامع

و قابل اعتماد نیز مطرح است. توسعه و نگهداری مخازن داده‌ای استاندارد برای ذخیره و اشتراک نتایج ترنسکریپتومیکس نقش مهمی در تسهیل دسترسی پژوهشگران و افزایش قابلیت بازتولید نتایج دارد (Singh et al., 2022). استفاده از رویکردهای چندآمیکس، و ترکیب داده‌های RNA، پروتئین و متابولیت می‌تواند به شناسایی مکانیزم‌های واقعی دخیل در تحمل تنش کمک کرده و از تفسیرهای نادرست مبتنی بر داده‌های تک‌لایه جلوگیری کند.

### نتیجه‌گیری

ترنسکریپتومیکس به‌طور قابل توجهی درک ما را از الگوهای بیان ژن و چگونگی عملکرد شبکه‌های تنظیمی در پاسخ به تنش‌های غیرزیستی گسترش داده است. پیشرفت فناوری‌های زیستی در سه دهه گذشته و ادغام ترنسکریپتومیکس با دیگر رویکردهای آمیکس مانند پروتئومیکس، متابولومیکس و اپی‌ژنومیکس امکان ترسیم چشم‌اندازی جامع‌تر از پیچیدگی‌های حیات سلولی و سازوکارهای سازگاری گیاهان را فراهم کرده است. کاهش هزینه‌های توالی‌یابی و توسعه کنسرسیوم‌های رونوشت‌شناسی در مقیاس بزرگ سبب شده است که این فناوری حتی برای آزمایشگاه‌های کوچک نیز قابل استفاده باشد و امکان مقایسه هزاران رونوشت در شرایط مختلف فراهم گردد. این مطالعه نشان می‌دهد که ترنسکریپتومیکس و رویکردهای مختلف امیکس می‌توانند بینش عمیقی درباره مکانیسم‌های پاسخ گیاهان به

تنش‌های محیطی ارائه دهند و مسیر توسعه ارقام مقاوم‌تر را هموار سازند. با این حال، بهره‌برداری عملی از این ظرفیت نیازمند برنامه‌ریزی دقیق و هدفمند پژوهشی است. یکی از چالش‌های کلیدی، محدودیت درک فعلی از تعاملات پیچیده مسیرهای متابولیک و سیگنال‌دهی است. از این رو به‌کارگیری رویکردهای چندرشته‌ای شامل فیزیولوژی، بیوشیمی، ژنتیک و زیست‌شناسی سامانه‌ها ضروری است. در نهایت، آینده پژوهش در این حوزه نه تنها به توسعه فناوری‌های آمیکس و ابزارهای پیشرفته تحلیل داده وابسته است، بلکه مستلزم طراحی آزمایش‌های هدفمند، انتخاب دقیق گونه‌های زراعی با ارزش پژوهشی بالا، و توجه به مسیرهای مولکولی کلیدی در تحمل تنش است. ادغام رویکردهای آمیکس با فناوری‌های توالی‌یابی نسل جدید و روش‌های بیوانفورماتیکی مبتنی بر یادگیری ماشین، می‌تواند درک ما را از شبکه‌های ژنی تنظیم‌کننده پاسخ‌های تنشی متحول کرده و افق جدیدی برای اصلاح ژنتیکی گیاهان و توسعه کشاورزی پایدار در عصر تغییر اقلیم فراهم آورد.

### پیشنهادهای

با توجه به شکاف موجود در داده‌های مربوط به محصولات زراعی اقتصادی به‌ویژه در قیاس با گونه‌های مدل اولویت پژوهش‌های آینده باید به‌سمت گونه‌های زراعی کم مطالعه شده سوق یابد. غلات محلی، ژرم‌پلاسم‌های بومی

مقاوم به خشکی و شوری، و ارقام زراعی مناطق خشک از جمله مجموعه‌هایی هستند که می‌توانند اطلاعات ارزشمندی در خصوص مکانیسم‌های تطبیقی گیاهان فراهم کنند. تمرکز بر این گونه‌ها، شکاف دانشی موجود را کاهش داده و زمینه را برای اصلاح ژنتیکی و کشف مسیرهای تحمل تنش فراهم می‌کند. برای تقویت یکپارچگی داده‌های آمیکس، اجرای طرح‌های آزمایشی مبتنی بر نمونه‌برداری زمان‌مند و شرایط کنترل‌شده پیشنهاد می‌شود. ترکیب ترنسکریپتومیکس با پروتئومیکس و متابولومیکس در چارچوب تحلیلی مشترک، به شناسایی نقاط کنترل کلیدی در مسیرهای سیگنالینگ و شبکه‌های ژنی کمک می‌کند. مدل‌سازی این شبکه‌ها می‌تواند ژن‌ها و مسیرهایی را مشخص کند که نقش محوری در تحمل تنش دارند و اهداف مناسبی برای مهندسی ژنتیک یا ویرایش ژنی محسوب می‌شوند. چندین مسیر مولکولی به‌عنوان اهداف نویدبخش برای مهندسی تحمل به تنش از جمله مسیرهای تنظیم گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، هورمون‌های گیاهی مرتبط با تنش مانند ABA، پروتئین‌های شوک حرارتی، و کانال‌های یونی مرتبط با تنظیم هموستازی آب و نمک شناسایی شده‌اند. تمرکز راهبردی بر این مسیرها می‌تواند نقش مهمی در توسعه ارقام مقاوم‌تر و سازگار با شرایط اقلیمی آینده ایفا کند.

### References

Agarwal, P., Arora, R., Ray, S., Singh, A. K., Singh, V. P., Takatsuji, H., Kapoor, S., & Tyagi, A. K. 2007. Genome-wide identification of C2H2 zinc-finger gene family in rice

- and their phylogeny and expression analysis. *Plant Molecular Biology*, 65(4): 467–485. <https://doi.org/10.1007/s11103-007-9199-y>
- Aguayo, P., Lagos, C., Conejera, D., Medina, D., Fernandez, M., & Valenzuela, S. 2019. Transcriptome-wide identification of WRKY family genes and their expression under cold acclimation in *Eucalyptus globulus*. *Trees (Berl)*, 33(10): 1313–1327. <https://doi.org/10.1007/s00468-019-01860-3>
- Akbudak, M., Filiz, E., & Kontbay, K. 2018. DREB2 (dehydration-responsive element-binding protein 2) type transcription factor in sorghum (*Sorghum bicolor*): Genome-wide identification, characterization and expression profiles under cadmium and salt stresses. *3 Biotech*, 8: 426. <https://doi.org/10.1007/s13205-018-1454-1>
- Anderson, J. T., & Mitchell-Olds, T. 2011. Ecological genetics and genomics of plant defenses: Evidence and approaches. *Functional Ecology*, 25(2): 312–324. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2010.01785.x>
- Andrási, N., Pettkó-Szandtner, A., & Szabados, L. 2021. Diversity of plant heat shock factors: Regulation, interactions, and functions. *Journal of Experimental Botany*, 72(5): 1558–1575. <https://doi.org/10.1093/jxb/eraa576>
- Ankit, A., Singh, A., Kumar, S., & Singh, A. 2023. Morphophysiological and transcriptome analysis reveal that reprogramming of metabolism, phytohormones and root development pathways governs the potassium (K<sup>+</sup>) deficiency response in two contrasting chickpea cultivars. *Frontiers in Plant Science*, 13: 1054821. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1054821>
- Arora, R., Agarwal, D., Singh, A. K., Singh, V. P., Tyagi, A. K., & Kapoor, S. 2007. MADS-box gene family in rice: Genome-wide identification, organization and expression profiling during reproductive development and stress. *BMC Genomics*, 8(1): 242. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-8-242>
- Athanasopoulou, K., Boti, M. A., Adamopoulos, P. G., Skourou, P. C., & Scorilas, A. 2021. Third-generation sequencing: The spearhead towards the radical transformation of modern genomics. *Life*, 12: 30. <https://doi.org/10.3390/life12010030>
- Bayer, P.E., Golicz, A.A., Scheben, A., Batley, J. and Edwards, D. 2020. Plant pan-genomes are the new reference. *Nature Plants*, 6(8): 914-920. <https://doi.org/10.1038/s41477-020-0733-0>
- Bi, C., Yu, Y., Dong, C., Yang, Y., Zhai, Y., Du, F., Xia, C., Ni, Z., Kong, X., & Zhang, L. 2021. The bZIP transcription factor TabZIP15 improves salt stress tolerance in wheat. *Plant Biotechnology Journal*, 19(2): 209. <https://doi.org/10.1111/pbi.13453>
- Carrera, F. P., Noceda, C., Maridueña-Zavala, M. G., & Cevallos-Cevallos, J. M. 2021. Metabolomics, a Powerful Tool for Understanding Plant Abiotic Stress. *Agronomy*, 11(5): 824. <https://doi.org/10.3390/agronomy11050824>
- Challam, C., Nandhakumar, N., & Kardile, H. B. 2019. Advances in crop improvement: Use of miRNA technologies for crop improvement. *OMICS-Based Approaches in Plant Biotechnology*, 55–74. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00208>
- Chandran, A. K. N., Kim, J. W., Yoo, Y. H., Park, H. Y., Kim, Y. J., Cho, M. H., & Jung, K. H. 2019. Transcriptome analysis of rice-seedling roots under soil-salt stress using RNA-Seq method. *Plant Biotechnology Reports*, 13(6): 567–578. <https://doi.org/10.1007/s11816-019-00550-3>
- Chauhan, H., Khurana, N., Agarwal, P., & Khurana, P. 2011. Heat shock factors in rice (*Oryza sativa* L.): Genome-wide expression analysis during reproductive development and

- abiotic stress. *Molecular Genetics and Genomics*, 286(2): 171–187. <https://doi.org/10.1007/s00438-011-0638-8>
- Chen, K., Song, M., Guo, Y., Liu, L., Xuo, H., Dai, H., & Zhang, Z. 2019. MdMYB46 could enhance salt and osmotic stress tolerance in apple by directly activating stress-responsive signals. *Plant Biotechnology Journal*, 17(12): 2341–2355. <https://doi.org/10.1111/pbi.13151>
- Chen, Y., Li, C., Zhang, B., Yi, J., Yang, Y., Kong, C., Lei, C., & Gong, M. 2019. The role of the late embryogenesis-abundant (LEA) protein family in development and the abiotic stress response: A comprehensive expression analysis of potato (*Solanum Tuberosum*). *Genes*, 10(2): 148. <https://doi.org/10.3390/genes10020148>
- Cheng, Z., Lei, N., Li, S., Liao, W., Shen, J., & Peng, M. 2019. The regulatory effects of MeTCP4 on cold stress tolerance in *Arabidopsis thaliana*: a transcriptome analysis. *Plant Physiology Biochemistry*, 138: 9–16. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.02.015>
- Conesa, A., Madrigal, P., Tarazona, S., Gomez-Cabrero, D., Cervera, A., McPherson, A., Szczesniak, M. W., Gaffney, D. J., Elo, L. L., Zhang, X., & Mortazavi, A. 2016. A survey of best practices for RNA-seq data analysis. *Genome biology*, 17, 13. <https://doi.org/10.1186/s13059-016-0881-8>
- Dai, X., Zhuang, Z., Boschiero, C., Dong, Y., & Zhao, P. X. 2021. Legume IP V3: From models to crops—An integrative gene discovery platform for translational genomics in legumes. *Nucleic Acids Research*, 49: D1472–D1479. <https://doi.org/10.1093/nar/gkaa976>
- Dash, S., Van Hemert, J., Hong, L., Wise, R. P. & Dickerson, J. A. 2012. PLEXdb: Gene expression resources for plants and plant pathogens. *Nucleic Acids Research*, 40: D1194–D1201. <https://doi.org/10.1093/nar/gkr938>
- de Abreu, A.R., Ibrahim, J., Lemonidis, V. et al. 2025. Comparison of current methods for genome-wide DNA methylation profiling. *Epigenetics & Chromatin*, 18: 57. <https://doi.org/10.1186/s13072-025-00616-3>
- Des Marais, D. L., McKay, J. K., Richards, J. H., Sen, S., Wayne, T., & Juenger, T. E. 2012. Physiological genomics of response to soil drying in diverse *Arabidopsis* accessions. *The Plant cell*, 24(3): 893–914. <https://doi.org/10.1105/tpc.112.096180>
- El-Esawi, M. A., Al-Ghamdi, A. A., Ali, H. M., & Ahmad, M. 2019. Overexpression of AtWRKY30 transcription factor enhances heat and drought stress tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Genes*, 10(2): 163. <https://doi.org/10.3390/genes10020163>
- FAO. 2022. The future of food and agriculture – Drivers and triggers for transformation. *The Future of Food and Agriculture*, no. 3. Rome. <https://doi.org/10.4060/cc0959en>
- Fernandez-Pozo, N., Zheng, Y., Snyder, S. I., Nicolas, P., Shinozaki, Y., Fei, Z., Catala, C., Giovannoni, J. J., Rose, J. K. C., & Mueller, L. A. 2017. The tomato expression atlas. *Bioinformatics*, 33(15): 2397–2398. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btx190>
- Fu, X., Lu, Z., Wei, H., Zhang, J., Yang, X., Wu, A., Ma, L., Kang, M., Lu, J., & Wang, H. 2020. Genome-wide identification and expression analysis of the NHX (sodium/hydrogen antiporter) gene family in cotton. *Frontiers in Genetics*, 18(11): 964. <https://doi.org/10.3389/fgene.2020.00964>
- García-Ruiz, S., Gil-Martínez, A. L., Cisterna, A., Jurado-Ruiz, F., Reynolds, R. H., Cookson, M. R., Hardy, J., Ryten, M., & Botía, J. A. 2021. CoExp: A web tool for the exploitation of co-expression networks. *Frontiers in Genetics*, 12: 630187. <https://doi.org/10.3389/fgene.2021.630187>

- Grant, D., Nelson, R. T., Cannon, S. B., & Shoemaker, R. C. 2009. SoyBase, the USDA-ARS soybean genetics and genomics database. *Nucleic Acids Research*, 38: D843–D846. <https://doi.org/10.1093/nar/gkp798>
- Guo, H., Mao, M., Deng, Y., Sun, L., Chen, R., Cao, P., Lai, J., Zhang, Y., Wang, C., Li, C., Li, Y., Bai, Q., Ta, T., Yang, J., & Wang, S. 2022. Multi-omics analysis reveals that SLERF.D6 synergistically regulates SGAs and fruit development. *Frontiers in Plant Science*, 13: 860577. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.860577>
- Guo, Z. H., Liu, C. X., Xiao, W., Wang, R., Zhang, L., Guan, S., Zhang, S., Cai, L., Liu, H., Huang, X., Guo, J., Zhou, X., Du, X., Pan, G., & Chen, Z. 2019. Comparative transcriptome profile analysis of anther development in reproductive stage of rice in cold region under cold stress. *Plant Molecular Biology Reporter*, 37(03): 129–145. <https://doi.org/10.1007/s11105-019-01137-6>
- Gupta, A., & Shaw, B. P. 2020. Biochemical and molecular characterisations of salt tolerance components in rice varieties tolerant and sensitive to NaCl: The relevance of Na<sup>+</sup> exclusion in salt tolerance in the species. *Functional Plant Biology*, 48(1): 72–87. <https://doi.org/10.1071/FP20089>
- Hamada, K., Hongo, K., Suwabe, K., Shimizu, A., Nagayama, T., Abe, R., Kikuchi, S., Yamamoto, N., Fujii, T., Yokoyama, K., Tsuchida, H., Sano, K., Matsuoka, M., Kurata, N., & Yano, K. 2011. Oryza Express: An integrated database of gene expression networks and omics annotations in rice. *Plant Cell Physiology*, 52(2): 220–229. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcq195>
- Hrdlickova, R., Toloue, M., & Tian, B. 2017. RNA-Seq methods for transcriptome analysis. *WIREs RNA*, 8: e1364. <https://doi.org/10.1002/wrna.1364>
- Hruz, T., Laule, O., Szabo, G., Wessendorp, F., Bleuler, S., Oertle, L., Widmayer, P., Gruissem, W., & Zimmermann, P. 2008. Genevestigator V3: A reference expression database for the meta-analysis of transcriptomes. *Advances in Bioinformatics*, 2008: 420747. <https://doi.org/10.1155/2008/420747>
- Hu, J., Zhou, J., Peng, X., Xu, H., Liu, C., Du, B., Yuan, H., Zhu, L., & He, G. 2011. The Bphi008a gene interacts with the ethylene pathway and transcriptionally regulates MAPK genes in the response of rice to brown planthopper feeding. *Plant Physiology*, 156: 856–872. <https://doi.org/10.1104/pp.111.174334>
- Huang, L., Kuang, L., Li, X., Wu, L., Wu, D., & Zhang, G. 2018. Metabolomic and transcriptomic analyses reveal the reasons why *Hordeum marinum* has higher salt tolerance than *Hordeum vulgare*. *Environmental and Experimental Botany*, 156: 48–61. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2018.08.019>
- Huang, Y., Chen, H., Reinfelder, J. R., Liang, X., Sun, C., Liu, C., Li, F., & Yi, J. A. 2019. Transcriptomic (RNA-seq) analysis of genes responsive to both cadmium and arsenic stress in rice root. *The Science of The Total Environment*, 666: 445–460. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.02.281>
- Hwang, J. E., Kim, Y. J., Jeong, D. Y., & Park, H. C. 2019. Transcriptome analysis of Korean fir (*Abies koreana*) in response to elevated carbon dioxide and high temperature. *Plant Biotechnology Reports*, 13(6): 603–612. <https://doi.org/10.1007/s11816-019-00553-0>
- Jain, M., Ghanashyam, C., & Bhattacharjee, A. 2010. Comprehensive expression analysis suggests overlapping and specific roles of rice glutathione S-transferase genes during development and stress responses. *BMC Genomics*, 11: 73. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-11-73>

- Jiang, Q. T., Liu, T., Ma, J., Wei, Y. M., Lu, Z. X., Lan, X. J., Dai, S. F., & Zheng, Y. L. 2011. Characterization of barley Prp1 gene and its expression during seed development and under abiotic stress. *Genetica*, 139(10): 1283–1292. <https://doi.org/10.1007/s10709-012-9630-4>
- Kamali, S., & Singh, A. 2023. Genomic and Transcriptomic Approaches to Developing Abiotic Stress-Resilient Crops. *Agronomy*, 13(12): 2903. <https://doi.org/10.3390/agronomy13122903>
- Kaur, B., Sandhu, K. S., Kamal, R., Kaur, K., Singh, J., Röder, M. S., & Muqaddasi, Q. H. 2021. Omics for the improvement of abiotic, biotic, and agronomic traits in major cereal crops: Applications, challenges, and prospects. *Plants*, 10(10): 1989. <https://doi.org/10.3390/plants10101989>
- Khan, M. K. R., Ditta, A., Wang, B., Fang, L., Anwar, Z., Ijaz, A., Ahmed, S. R., & Khan, S. M. 2023. The intervention of multi-omics approaches for developing abiotic stress resistance in cotton crop under climate change. In: *Sustainable Agriculture in the Era of the OMICs Revolution*; Prakash CS, Fiaz S, Nadeem MA, Baloch FS, Qayyum A (Eds), Springer: Cham, Switzerland: 37–82. [https://doi.org/10.1007/978-3-031-15568-0\\_3](https://doi.org/10.1007/978-3-031-15568-0_3)
- Kim, S. H., Kim, D. Y., Yacoubi, I., & Seo, Y. W. 2021. Development of single-nucleotide polymorphism markers of salinity tolerance for Tunisian durum wheat using RNA sequencing. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B—Soil Plant Science*, 71(1): 28–44. <https://doi.org/10.1080/09064710.2020.1843701>
- Kinaret, P.A.S., Serra, A., Federico, A., Kohonen, P., Nymark, P., Liampa, I., Ha, M.K., Choi, J.S., Jagiello, K., Sanabria, N. & Melagraki, G. 2020. Transcriptomics in toxicogenomics, part I: experimental design, technologies, publicly available data, and regulatory aspects. *Nanomaterials*, 10(4), p.750.
- Klay, I., Gouia, S., Liu, M., Mila, I., Khoudi, H., Bernadac, A., Bouzayen, M., & Pirrello, J. 2018. Ethylene Response Factors (ERF) are differentially regulated by different abiotic stress types in tomato plants. *Plant Science*, 274: 137–145. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2018.05.023>
- Kokkanti, R. R., Vemuri, H., Gaddameedi, A., & Rayalacheruvu, U. 2022. Variability in drought stress-induced physiological, biochemical responses and expression of DREB2A, NAC4 and HSP70 genes in groundnut (*Arachis hypogaea* L.). *South African Journal of Botany*, 144: 448–457. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2021.09.025>
- Kolesnikov, N., Hastings, E., Keays, M., Melnichuk, O., Tang, Y. A., Williams, E., Dylag, M., Kurbatova, N., Brandizi, M., Burdett, T., Megy, K., Pilicheva, E., Rustici, G., Tikhonov, A., Parkinson, H., Petryszak, R., Sarkans, U., & Brazma, A. 2015. ArrayExpress update—Simplifying data submissions. *Nucleic Acids Research*, 43: D1113–D1116. <https://doi.org/10.1093/nar/gku1057>
- Kumar, J., Gunapati, S., Kianian, S. F., & Singh, S. P. 2018. Comparative analysis of transcriptome in two wheat genotypes with contrasting levels of drought tolerance. *Protoplasma*, 255: 1487–1504. <https://doi.org/10.1007/s00709-018-1237-x>
- Kumar, M., Chauhan, A. S., Yusuf, M. A., Sanyal, I., & Chauhan, P. 2019. Transcriptome sequencing of Chickpea (*Cicer arietinum* L.) genotypes for identification of drought-responsive genes under drought stress condition. *Plant Molecular Biology Reporter*, 37: 186–203. <https://doi.org/10.1007/s11105-019-01147-4>
- Kumar, R., Das, S.P., Choudhury, B.U., Kumar, A., Prakash, N.R., Verma, R., Chakraborti, M., Devi, A.G., Bhattacharjee, B., Das, R. & Das, B. 2024. Advances in genomic tools for plant breeding: harnessing DNA molecular markers, genomic selection, and genome editing. *Biological Research*, 57(1): 80. <https://doi.org/10.1186/s40659-024-00562-6>

- Kusunoki, K., Kobayashi, Y., & Koyama, H. 2018. Comparative characterization of aluminum responsive transcriptome in Arabidopsis roots: comparison with other rhizotoxic ions at different stress intensities. *Soil Science and Plant Nutrition*, 64: 1–13. <https://doi.org/10.1080/00380768.2018.1454253>
- Lee, S. S., Jung, W. Y., Park, H. J., Lee, A., Kwon, S. Y., Kim, H. S., & Cho, H. S. 2018. Genome-wide analysis of alternative splicing in an inbred cabbage (*Brassica oleracea* L.) line ‘HO’ in response to heat stress. *Current Genomics*, 19: 12–20. <https://doi.org/10.2174/1389202918666170705151901>
- Li, J., Gao, Z., Zhou, L., Li, L., Zhang, J., Liu, Y., & Chen, H. 2019. Comparative transcriptome analysis reveals K<sup>+</sup> transporter gene contributing to salt tolerance in eggplant. *BMC Plant Biology*, 19: 67–85. <https://doi.org/10.1186/s12870-019-1663-8>
- Li, P. F., Cai, J., Luo, X., Chang, T., Li, J., Zhao, Y., & Xu, Y. 2018. Transformation of wheat *Triticum aestivum* with the HvBADH1 transgene from hulless barley improves salinity-stress tolerance. *Acta Physiology Plant*, 41: 155–169. <https://doi.org/10.1007/s11738-019-2940-8>
- Li, S., Han, X., Lu, Z., Qiu, W., Yu, M., Li, H., He, Z., & Zhuo, R. 2022. MAPK cascades and transcriptional factors: Regulation of heavy metal tolerance in plants. *International Journal of Molecular Sciences*, 23: 4463. <https://doi.org/10.3390/ijms23084463>
- Li, W., Sun, Y., Wang, B., Xie, H., Wang, J., & Nan, Z. 2020. Transcriptome analysis of two soybean cultivars identifies an aluminum responsive antioxidant enzyme GmCAT1. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 84: 1394–1400. <https://doi.org/10.1080/09168451.2020.1740970>
- Liu, X., Zhang, Q., Yang, G., Zhang, C., Dong, H., Liu, Y., Yin, R., & Lin, L. 2020. Pivotal roles of tomato photoreceptor SLUVR8 in seedling development and UV-B stress tolerance. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 522: 177–183. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2019.11.073>
- Liu, Y., Beyer, A., & Aebersold, R. 2016. On the Dependency of Cellular Protein Levels on mRNA Abundance. *Cell*, 165(3): 535–550. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.03.014>
- Liu, Y., Chen, J., Yin, C., Wang, Z., Wu, H., Shen, K., Zhang, Z., Kang, L., Xu, S., Bi, A. & Zhao, X., 2023. A high-resolution genotype–phenotype map identifies the TaSPL17 controlling grain number and size in wheat. *Genome Biology*, 24(1): 196. <https://doi.org/10.1186/s13059-023-03044-2>
- Lu, J. X., Bi, H. T., Zhang, A. H., Guo, T., Li, Y., & Li, Y. 2018. Comparative transcriptome analysis by RNA-Seq of the regulation of low temperature responses in *Dendranthema morifolium*. *Horticulture Environment and Biotechnology*, 59(03): 383–395. <https://doi.org/10.1007/s13580-018-0042-y>
- Maheendran, R., Chilakala, A. R., Shankar, C., Yasodha, P., Abida, & P. S. 2022. transcriptomics and its role in crop improvement. *Advances in Agriculture: Recent Perspectives*, 179–194. <https://www.researchgate.net/publication/362931207>
- Mahmood, U., Li, X., Fan, Y., Chang, W., Niu, Y., Li, J, Qu, C., & Lu, K. 2022. Multi-omics revolution to promote plant breeding efficiency. *Front. Plant Sci.*, 13: 1062952. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1062952>
- Meena, R. P., Ghosh, G., Vishwakarma, H., & Padaria, J. C. 2022. Expression of a Pennisetum glaucum gene DREB2A confers enhanced heat, drought and salinity tolerance in transgenic Arabidopsis. *Molecular Biology Reports*, 49(12): 7347–7358. <https://doi.org/10.1007/s11033-022-07527-6>

- Mian, A., Oomen, R. J. F. J., Isayenkov, S., Sentenac, H., Maathuis, F. J. M., & Véry, A. A. 2011. Over-expression of an Na<sup>+</sup>- and K<sup>+</sup>-permeable HKT transporter in barley improves salt tolerance. *Plant Journal*, 68(3): 468–479. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2011.04701.x>
- Morozova, O., Hirst, M., & Marra, M. A. 2009. Applications of new sequencing technologies for transcriptome analysis. *Annual Review of Genomics and Human Genetics*, 10(1): 135–151. <https://doi.org/10.1146/annurev-genom-082908-145957>
- Moustakas, M. 2025. Molecular Mechanisms of Plant Abiotic Stress Tolerance. *International Journal of Molecular Sciences*, 26(6), 2731. <https://doi.org/10.3390/ijms26062731>
- Munir, S., Liu, H., Xing, Y., Hussain, S., Ouyang, B., Zhang, Y., & Li, H., Ye, Z. 2016. Overexpression of calmodulin-like (ShCML44) stress-responsive gene from *Solanum habrochaites* enhances tolerance to multiple abiotic stresses. *Scientific Reports*, 6: 31772. <https://doi.org/10.1038/srep31772>
- Muthusamy, S. K., Lenka, S. K., Katiyar, A., Chinnusamy, V., Singh, A. K., & Bansal, K. C. 2018. Genome-Wide identification and analysis of biotic and abiotic stress regulation of C4 photosynthetic pathway genes in rice. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 187(1): 221–238. <https://doi.org/10.1007/s12010-018-2809-0>
- Nair, J.R., & Pandey, K.M., 2024. Role of Molecular Markers in Crop Breeding: A Review. *Agricultural Reviews*. 45(1): 52-59. doi: 10.18805/ag.R-2322
- Navabpour, S., Najafi, H., Gharakhani, M., & Navabpour, R. 2024. Assessment of Differential Gene Expression and Biochemical Traits in Bread Wheat Cultivars in Response to Silver Nitrate Stress. *Cereal Biotechnology and Biochemistry*, 3(4), 479–497 (In Persian) <https://doi.org/10.22126/cbb.2025.4151.1094>
- Nawaz, G., & Kang, H. 2019. Rice OsRH58, a chloroplast DEAD-box RNA helicase, improves salt or drought stress tolerance in Arabidopsis by affecting chloroplast translation. *BMC Plant Biology*, 19(01): 17–28. <https://doi.org/10.1186/s12870-018-1623-8>
- Nejat, N., Ramalingam, A., & Mantri, N. 2018. Advances in transcriptomics of plants. *Plant Genetics and Molecular Biology*, 161–185. <https://doi.org/10.1007/10201752>
- Parida, S. K., Mondal, N., Yadav, R., Vishwakarma, H., & Rana, J. C. 2023. Mining legume germplasm for genetic gains: An Indian perspective. *Frontiers Genetics*, 14: 996828. <https://doi.org/10.3389/fgene.2023.996828>
- Park, S. C., Kim, H. S., Lee, H. U., Kim, Y. H., & Kwak, S. S. 2019. Overexpression of Arabidopsis YUCCA6 enhances environment stress tolerance and inhibits storage root formation in sweetpotato. *Plant Biotechnology Reports*, 13: 345–352. <https://doi.org/10.1007/s11816-019-00537-0>
- Piétu, G., Mariage-Samson, R., Fayein, N. A., Matingou, C., Eveno, E., Houlgatte, R., Decraene, C., Vandenbrouck, Y., Tahi, F., Devignes, M. D., Wirkner, U., Ansoerge, W., Cox, D., Nagase, T., Nomura, N., & Auffray, C. 1999. The genexpress IMAGE knowledge base of the human brain transcriptome: A prototype integrated resource for functional and computational genomics. *Genome Research*, 9: 195–209. <https://doi.org/10.1101/gr.9.2.195>
- Portwood, J. L. II, Woodhouse, M. R., Cannon, E. K., Gardiner, J. M., Harper, L. C., Schaeffer, M. L., Walsh, J. R., Sen, T. Z., Cho, K. T., Schott, D. A., Braun, B. L., Dietze, M., Dunfee, B., Elisk, C. G., Manchanda, N., Coe, E., Sachs, M., Stinard, P., Tolbert, J., Zimmerman, S., & Andorf, C. M. 2018. MaizeGDB 2018: The maize multi-genome

- genetics and genomics database. *Nucleic Acids Research*, 47: D1146–D1154. <https://doi.org/10.1093/nar/gky1046>
- Ramírez-González, R., Borrill, P., Lang, D., Harrington, S. A., Brinton, J., Venturini, L., Davey, M., Jacobs, J., van Ex, F., Pasha, A., Khedikar, Y., Robinson, S. J., Cory, A. T., Florio, T., Concia, L., Juery, C., Schoonbeek, H., Steuernagel, B., Xiang, D., Ridout, C. J., Chalhoub, B., Mayer, K. F. X., Benhamed, M., Latrasse, D., & Bendahmane, A. 2018. The transcriptional landscape of hexaploid wheat across tissues and cultivar. *Science*, 361: 3083–3109. <https://doi.org/10.1126/science.aar6089>
- Ray, S., Agarwal, P., Arora, R., Kapoor, S., & Tyagi, A. K. 2007. Expression analysis of calcium-dependent protein kinase gene family during reproductive development and abiotic stress conditions in rice (*Oryza sativa* L. ssp. indica). *Molecular Genetics and Genomics*, 278(5): 493–505. <https://doi.org/10.1007/s00438-007-0267-4>
- Rich-Griffin, C., Stechemesser, A., Finch, J., Lucas, E., Ott, S., Schäfer, P. 2020. Single-Cell Transcriptomics: A High-Resolution Avenue for Plant Functional Genomics. *Trends Plant Sci.*, 25(2):186-197. doi: 10.1016/j.tplants.2019.10.008.
- Roychowdhury, R., Das, S. P., Gupta, A., Parihar, P., Chandrasekhar, K., Sarker, U., Kumar, A., Ramrao, D. P., & Sudhakar, C. 2023. Multi-Omics Pipeline and Omics-Integration Approach to Decipher Plant's Abiotic Stress Tolerance Responses. *Genes*, 14(6): 1281. <https://doi.org/10.3390/genes14061281>
- Saeed, F., Chaudhry, U.K., Bakhsh, A., Raza, A., Saeed, Y., Bohra, A. & Varshney, R.K. 2022. Moving beyond DNA sequence to improve plant stress responses. *Frontiers in Genetics*, 13: 874648. <https://doi.org/10.3389/fgene.2022.874648>
- Samtani, H., Sharma, A., & Khurana, P. 2022. Overexpression of HVA1 enhances drought and heat stress tolerance in *Triticum aestivum* doubled haploid plants. *Cells*, 11(5): 912. <https://doi.org/10.3390/cells11050912>
- Sangwan, R. S., Tripathi, S., Singh, J., Narnoliya, L. K., & Sangwan, N. S. 2013. De novo sequencing and assembly of *Centella asiatica* leaf transcriptome for mapping of structural, functional and regulatory genes with special reference to secondary metabolism. *Gene*, 525(1): 58–76. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2013.04.057>
- Sato, Y., Takehisa, H., Kamatsuki, K., Minami, H., Namiki, N., Ikawa, H., Ohyanagi, H., Sugimoto, K., Antonio, B.A., & Nagamura, Y. 2012. RiceXPro Version 3.0: Expanding the informatics resource for rice transcriptome. *Nucleic Acids Research*, 41: D1206–D1213. <https://doi.org/10.1093/nar/gks1125>
- Schaarschmidt, S., Fischer, A., Lawas, L.M.F., Alam, R., Septiningsih, E.M., Bailey-Serres, J., Jagadish, S.V.K., Huettel, B., Hinch, D.K., & Zuther, E. 2020. Utilizing PacBio Iso-Seq for Novel Transcript and Gene Discovery of Abiotic Stress Responses in *Oryza sativa* L. *International Journal of Molecular Science*, 21, 8148. <https://doi.org/10.3390/ijms21218148>
- Seong, S. Y., Shim, J. S., Bang, S. W., & Kim, J. K. 2020. Overexpression of OsC3H10, a CCCH-zinc finger, improves drought tolerance in rice by regulating stress-related genes. *Plants*, 9(10): 1298. <https://doi.org/10.3390/plants9101298>
- Shen, L., Gong, J., Caldo, R. A., Nettleton, D., Cook, D., Cook, R. P., & Dickerson, J. 2005. BarleyBase--an expression profiling database for plant genomics. *Nucleic Acids Research*, 33: D614–D618. <https://doi.org/10.1093/nar/gki123>
- Shendure, J., Balasubramanian, S., Church, G. M., Gilbert, W., Rogers, J., & Schloss, J. A. 2017. DNA Sequencing at 40: past, present and future. *Nature*, 550: 345–353.

- Shi L., Campbell, G., Jones, W.D., Campagne, F., Wen, Z., Walker., S.J., Su, Z., Chu, T.M., Goodsaid, F.M., Pustai, L., et al. 2010. The MicroArray Quality Control (MAQC)- II study of common practices for the development and validation of microarray-based predictive models. *Nat Biotechnol.*, 28(8): 827–38. <https://doi.org/10.1038/nbt.1665>
- Shi, F., Dong, Y., Wang, M., & Qiu, D. 2020. Transcriptomics analyses reveal that OsMIOX improves rice drought tolerance by regulating the expression of plant hormone and sugar related genes. *Plant Biotechnology Reports*, 14(3): 339–349. <https://doi.org/10.1007/s11816-020-00608-7>
- Simorgh, S., Tahmasebi, Z., Mohammadi, R., & Etminan, A. 2025. Expression Analysis of Key Genes in Durum Wheat under Mild and Severe Drought Stress. *Cereal Biotechnology and Biochemistry*, 4(2), 164–179 (In Persian). <https://doi.org/10.22126/cbb.2025.7987.1120>
- Singh, A., Giri, J., Kapoor, S., Tyagi, A. K., & Pandey, G. K. 2010. Protein phosphatase complement in rice: Genome-wide identification and transcriptional analysis under abiotic stress conditions and reproductive development. *BMC Genomics*, 11: 435. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-11-435>
- Singh, A., Kanwar, P., Yadav, A. K., Mishra, M., Jha, S. K., Baranwal, V., Pandey, A., Kapoor, S., Tyagi, A. K., & Pandey, G. K. 2014. Genome-wide expressional and functional analysis of calcium transport elements during abiotic stress and development in rice. *FEBS Journal*, 281: 894–915. <https://doi.org/10.1111/febs.12656>
- Singh, B. A., Pandey, A., Baranwal, V., Kapoor, S., & Pandey, G. K. 2012. Comprehensive expression analysis of rice phospholipase D gene family during abiotic stresses and development. *Plant Signaling Behavior*, 7(7): 847–855. <https://doi.org/10.4161/psb.20385>
- Singh, D., Chaudhary, P., Taunk, J., Kumar Singh, C., Sharma, S., Singh, V.J., Singh, D., Chinnusamy, V., Yadav, R., & Pal, M. 2021. Plant epigenomics for extenuation of abiotic stresses: challenges and future perspectives. *J Exp Bot.* 72(20): 6836-6855. <https://doi.org/10.1093/jxb/erab337>
- Singh, N., Ujainwal, M. and Singh, A. 2022. Advances in agricultural bioinformatics: an outlook of multi “omics” approaches. In *Bioinformatics in Agriculture* (pp. 3-21). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-89778-5.00001-5>
- Singh, R. B., Singh, B., & Singh, R. K. 2019. Development of potential dbEST-derived microsatellite markers for genetic evaluation of sugarcane and related cereal grasses. *Industrial Crops and Products*, 128: 38–47. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.10.071>
- Song, Y., Lv, J., Ma, Z., & Dong, W. 2019. The mechanism of alfalfa (*Medicago sativa* L.) response to abiotic stress. *Plant Growth Regulation*, 89: 239–249. <https://doi.org/10.1007/s10725-019-00530-1>
- Springer, N. M., & Schmitz, R. J. 2017. Exploiting induced and natural epigenetic variation for crop improvement. *Nature reviews. Genetics*, 18(9): 563–575. <https://doi.org/10.1038/nrg.2017.45>
- Stark, R., Grzelak, M., Hadfield, J. 2019. RNA sequencing: the teenage years. *Nat Rev Genet.* 20(11):631-656. <https://doi.org/10.1038/s41576-019-0150-2>
- Sun, J. Q., Jiang, H. L., Xu, Y. X., Li, H. M., Wu, X. Y., Xie, Q., & Li, C. Y. 2007. The CCCH-type zinc finger proteins AtSZF1 and AtSZF2 regulate salt stress responses in *Arabidopsis*. *Plant Cell Physiology*, 48(8): 1148–1158. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcm088>
- Tahmasebi, A., Ashrafi-Dehkordi, E., Shahriari, A. G., Mazloomi, S. M., & Ebrahimie, E. 2019. Integrative meta-analysis of transcriptomic responses to abiotic stress in cotton.

- Progress in Biophysics and Molecular Biology, 146: 112–122. <https://doi.org/10.1016/j.pbiomolbio.2019.02.005>
- Thakur, S., Choudhary, S., & Bhardwaj, P. 2019. Comparative transcriptome profiling under Cadmium stress reveals the uptake and tolerance mechanism in *Brassica juncea*. Journal of Plant Growth Regulation, 38(08): 1141–1152. <https://doi.org/10.1007/s00344-019-09919-8>
- Tian, T., You, Q., Zhang, L., Yi, X., Yan, H., Xu, W., & Su, Z. 2016. SorghumFDB: Sorghum functional genomics database with multidimensional network analysis. Database 2016: baw099. <https://doi.org/10.1093/database/baw099>
- Varoquaux, N., Cole, B., Gao, C., Pierroz, G., Baker, C.R., Patel, D., Madera, M., Jeffers, T., Hollingsworth, J., Sievert, J. & Yoshinaga, Y. 2019. Transcriptomic analysis of field-droughted sorghum from seedling to maturity reveals biotic and metabolic responses. Proceedings of the National Academy of Sciences, 116(52): 27124-27132. <https://doi.org/10.1073/pnas.1907500116>
- Vennapusa, A. R., Nimmakayala, P., Zaman-Allah, M. A., & Ratnakumar, P. 2023. Physiological, molecular, and genetic perspectives of environmental stress response in plants. Frontiers in Plant Science, 14: 1213762. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1213762>
- Vogel, C., Marcotte, E. 2012. Insights into the regulation of protein abundance from proteomic and transcriptomic analyses. Nat Rev Genet. 13: 227–232. <https://doi.org/10.1038/nrg3185>
- von Braun, J., Afsana, K., Fresco, L.O., Hassan, M.H.A. & Torero, M. 2023. Food system concepts and definitions for science and political action. Science and Innovations for Food Systems Transformation, pp.11-17. <https://doi.org/10.1038/>
- Wang, A. D., Lu, X., Chen, X., Wang, S., Wang, J., Guo, L., Yin, Z., Chen, Q., & Ye, W. 2020. Temporal salt stress-induced transcriptome alterations and regulatory mechanisms revealed by PacBio long-reads RNA sequencing in *Gossypium hirsutum*. BMC Genomics, 21: 838. <https://doi.org/10.1186/s12864-020-07260-z>
- Wang, B. X., Li, N., Li, W., Gao, X., Cha, M., Qin, L., & Liu, L. 2020. Advances in transcriptomics in the response to stress in plants. Global Medical Genetics, 7(2): 30–34. <https://doi.org/10.1055/s-0040-1714414>
- Wang, M., Wang, Y., Zhang, Y., Li, C., Gong, S., Yan, S., Li, G., Hu, G., Ren, H., Yang, J., Yu, T., & Yang, K. 2019. Comparative transcriptome analysis of salt-sensitive and salt-tolerant maize reveals potential mechanisms to enhance salt resistance. Genes Genomics, 41(07): 781–801. <https://doi.org/10.1007/s13258-019-00793-y>
- Wang, M., Zhang, X., Li, Q., Chen, X., & Li, X. 2019. Comparative transcriptome analysis to elucidate the enhanced thermotolerance of tea plants (*Camellia sinensis*) treated with exogenous calcium. Planta, 249(03): 775–786. <https://doi.org/10.1007/s00425-018-3039-y>
- Wang, P., Su, L., Gao, H., Jiang, X., Wu, X., Li, Y., & Zhang, Q. 2018. Genome-wide characterization of bHLH genes in grape and analysis of their potential relevance to abiotic stress tolerance and secondary metabolite biosynthesis. Frontiers in Plant Science, 9: 64. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00064>
- Wang, Z., Gerstein, M., & Snyder, M. 2009. RNA-Seq: A revolutionary tool for transcriptomics. Nature Reviews Genetics, 10(1): 57–63. <https://doi.org/10.1038/nrg2484>
- Wang, Z., Gerstein, M., & Snyder, M. 2009. RNA-Seq: A revolutionary tool for transcriptomics. Nature Reviews Genetics, 10(1): 5763. <http://dx.doi.org/10.1038/nrg2484>
- Wei, Q., Chen, R., Wei, X., Liu, Y., Zhao, S., Yin, X., & Xie, T. 2020. Genome-wide identification of R2R3-MYB family in wheat and functional characteristics of the abiotic

- stress responsive gene TaMYB344. *BMC Genomics*, 21(1): 792. <https://doi.org/10.1186/s12864-020-07175-9>
- Xu, Z., Wang, F., Ma, Y., Dang, H., & Hu, X. 2022. Transcription factor SlAREB1 is involved in the antioxidant regulation under saline-alkaline stress in tomato. *Antioxidants*, 11(9): 1673. <https://doi.org/10.3390/antiox11091673>
- Yadav, P.K. ed. 2018. Crop improvement for sustainability. New Delhi: Daya Publishing House..
- Yan, L., Baoxiang, W., Jingfang, L., Zhiguang, S., Ming, C., Yungao, X., Bo, X., Bo, Y., Jian, L., Jinbo, L., Tinmu, C., Zhaowei, F., Baiguan, L., Dayong, X., & Bello, B. K. 2021. A novel SAPK10-WRKY87-ABF1 biological pathway synergistically enhances abiotic stress tolerance in transgenic rice (*Oryza sativa*). *Plant Physiology and Biochemistry*, 168: 252–262. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2021.10.006>
- Yan, S., Bhawal, R., Yin, Z., Thannhauser, T.W. and Zhang, S., 2022. Recent advances in proteomics and metabolomics in plants. *Molecular Horticulture*, 2(1): 17. <https://doi.org/10.1186/s43897-022-00038-9>
- Yang, J., Lv, W., Shao, L., Fu, Y., Liu, H., Yang, C., Chen, A., Xie, X., Wang, Z., & Li, C. 2021. PacBio and Illumina RNA Sequencing Identify Alternative Splicing Events in Response to Cold Stress in Two Poplar Species. *Frontiers in Plant Science*, 12: 737004. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.737004>
- Yang, R., Hong, Y., Ren, Z., Tang, K., Zhang, H., Zhu, J. K., & Zhao, C. 2019. A role for PICKLE in the regulation of cold and salt stress tolerance in *Arabidopsis*. *Frontiers in Plant Science*, 10: 900. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00900>
- Yang, S., Zhou, J., Li, Y., Wu, J., Ma, C., Chen, Y., Sun, X., Wu, L., Liang, X., Fu, Q., Xu, Z., Li, L., Huang, Z., Zhu, J., Jia, X., Ye, X., & Chen, R. 2023. AP2/EREBP Pathway Plays an Important Role in Chaling Wild Rice Tolerance to Cold Stress. *International Journal of Molecular Sciences*, 24: 14441. <https://doi.org/10.3390/ijms241914441>
- Yang, Y., Wang, Y., Jia, L., Yan, G., Xu, X., Zhai, H., He, S., Li, J., Dai, X., Qin, N., Zhu, C., & Liu, Q. 2018. Involvement of an ABI-like protein and a Ca<sup>2+</sup>-ATPase in drought tolerance as revealed by transcript profiling of a sweet potato somatic hybrid and its parents *Ipomoea batatas* (L.) Lam. and *I. triloba* L. *PLoS One*, 13(2), e0193193. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0193193>
- Yun, S.D., Kim, M.H., Oh, S.A., Soh, M.S., & Park, S.K. 2022. Overexpression of C-Repeat Binding Factor1 (CBF1) gene enhances heat stress tolerance in *Arabidopsis*. *Journal of Plant Biology*, 65: 253–260. <https://doi.org/10.1007/s12374-022-09350-9>
- Zhang, H., Lang, Z., & Zhu, J. K. 2018. Dynamics and function of DNA methylation in plants. *Nature reviews. Molecular cell biology*. 19(8): 489–506. <https://doi.org/10.1038/s41580-018-0016-z>
- Zhao, H., Li, Z., Wang, Y., Wang, J., Xiao, M., Liu, H., Quan, R., Zhang, H., Huang, R., Zhu, L., & Zhang, Z. 2022. Cellulose synthase-like protein OsCSLD4 plays an important role in the response of rice to salt stress by mediating abscisic acid biosynthesis to regulate osmotic stress tolerance. *Plant Biotechnology Journal*, 20: 468–484. <https://doi.org/10.1111/pbi.13729>
- Zhao, J., He, Y., Li, X., Weng, X., Feng, D., Ying, J., & Wang, Z. 2020. An integrated RNA-Seq and physiological study reveals gene responses involving in the initial imbibition of seed germination in rice. *Plant Growth Regulation*, 90: 249–263. <https://doi.org/10.1007/s10725-019-00567-2>

- Zhong, R., Wang, Y., Gai, R., Xi, D., Mao, C., & Ming, F. 2020. Rice SnRK protein kinase OsSAPK8 acts as a positive regulator in abiotic stress responses. *Plant Science*, 292: 110373. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2019.110373>
- Zhou, J., Huang, J., Tian, X.Y., Zheng, J., & He, X. 2020. Transcriptome analysis reveals dynamic changes in the salt stress response in *Salix*. *Journal of Forestry Research*, 31(5): 1851–1862. <https://doi.org/10.1007/s11676-019-00941-w>
- Zhu, M., Meng, X., Cai, J., Li, G., Dong, T., & Li, Z. 2018. Basic leucine zipper transcription factor SlbZIP1 mediates salt and drought stress tolerance in tomato. *BMC Plant Biology*, 18(01): 83–97. <https://doi.org/10.1186/s12870-018-1299-0>
- Zou, C., Tan, H., Huang, K., Zhai, R., Yang, M., Huang, A., Wei, X., Mo, R., Xiong, & F. 2024. Physiological Characteristic Changes and Transcriptome Analysis of Maize (*Zea mays* L.) Roots under Drought Stress. *Int J Genomics*, 17: 5681174. <https://doi.org/10.1155/2024/5681174>