

Network topology reveals metabolic resilience of resistant wheat to WSMV under heat stress

Pages
53-69

F. Farahbakhsh^{1*}, H. Hamzehzarghani², Z. Amjadi³, M. Yassaei⁴, & V.M. Rodríguez Graña⁵

1) Plant Protection Research Department, Fars Agricultural and Natural Resources and Education Center, Agricultural Research, Education, and Extension Organization (AREEO), Darab, Iran.

2 & 3) Plant Protection Department, College of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran.

4) Agricultural and horticultural Research Department, Fars Agricultural and Natural Resources and Education Center, Agricultural Research, Education, and Extension Organization (AREEO), Zarghan, Iran.

5) Group of Genetics, Breeding, and Biochemistry of Brassicas, Misión Biológica de Galicia (MBG-CSIC), Pontevedra, Spain.

*Corresponding author : f.farahbakhsh@areeo.ac.ir

Received date: 2025.08.11

Accepted date: 2025.11.15

Abstract

Wheat streak mosaic virus (WSMV), a member of the *Potyviridae* family, is one of the most important viruses infecting wheat worldwide, including Iran. In this study, LC-qTOF-MS data were used to investigate the metabolic network of a resistant wheat cultivar (Cross Adl), 24 hours after WSMV inoculation at both optimal (20 °C) and high (32 °C) temperatures using MetaboAnalyst 6.0 software. Network parameter measurements revealed distinct systemic metabolic responses in the resistant cultivar under WSMV infection at optimal versus high temperatures. At optimal temperature, increased levels of nucleotides (adenine, guanine) and sphingolipids (sphinganine) were detected, which contribute to antiviral defense by inducing programmed cell death and promoting ROS accumulation. Conversely, decreased levels of aromatic amino acids (phenylalanine and tryptophan) were detected, likely indicating a redirection of carbon sources towards defense pathways. Under high temperatures, levels of compounds such as choline (a marker of cell membrane damage) and 2-aminobenzoic acid (a viral inhibitor) were reduced, while amino acids proline (enhancing tolerance to high temperatures) and arginine (strengthening RNA silencing-based defense and stress-related protein synthesis) showed increased abundance. Our results indicate that resistance to WSMV is the outcome of the precise coordination of multidimensional metabolic networks to respond to simultaneous stresses such as viral infection and high temperature. These findings pave the way for the development of cultivars with durable resistance to both biotic and abiotic stresses under climate change conditions.

Keywords: Abiotic stress, Biotic stress, Metabolomics and Network analysis.

تحلیل توپولوژیکی شبکه‌های متابولیتی، الگوی مقاومت گندم مقاوم به ویروس موزائیک رگه‌ای گندم را در شرایط تنش دمایی آشکار می‌کند

شماره صفحات

۵۳-۶۹

فریده فرح بخش^{۱*}، حبیب الله حمزه زرقانی^۲، زهرا امجدی^۳، محسن یاسایی^۴ و ویکتور مانوئل رودریگز گرانادا^۵

- (۱) بخش تحقیقات گیاهپزشکی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی فارس، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، داراب، ایران.
- (۲ و ۳) گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران.
- (۴) بخش تحقیقات گیاهان زراعی و باغی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی فارس، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، زرقان، ایران.
- (۵) گروه ژنتیک، اصلاح و بیوشیمی براسیکا، موسسه بیولوژی گالیسیا، مرکز تحقیقات ملی اسپانیا، پونته و درا، اسپانیا.

* نویسنده مسئول: f.farhabakhsh@areeo.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۸/۲۴

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۵/۲۰

چکیده

ویروس موزائیک رگه‌ای گندم (wheat streak mosaic virus=WSMV) از خانواده پوتی‌ویریده (*Potyviridae*) از مهمترین ویروس‌های آلوده کننده گندم در جهان و ایران محسوب می‌شود. در این تحقیق تجزیه و تحلیل شبکه متابولیتی مربوط به آنالیز LC-qTOF-MS در رقم مقاوم کراس عدل، ۲۴ ساعت پس از مایه‌زنی در دماهای بهینه (۲۰°C) و بالا (۳۲°C) با استفاده از نرم افزار تحت وب Metaboanalyst 6.0 مورد بررسی قرار گرفت. با سنجش پارامترهای شبکه مشخص شد که پاسخ‌های متابولیکی سیستمیک نسبتاً متفاوتی در رقم مقاوم آلوده به WSMV در دماهای بهینه و بالا وجود دارد. در دمای بهینه، افزایش بیان نوکلئوتیدها از قبیل آدنین، گوانین و اسفینگولیپیدها (اسفینگین) مشاهده شد که در دفاع ضد ویروسی از طریق القای مرگ برنامه‌ریزی شده در تجمع ROS نقش دارند. از طرفی کاهش اسیدهای آمینه آروماتیک (فنیل آلانین و تربیتوفان) دیده شد که احتمالاً منابع کربن را به سمت مسیرهای دفاعی هدایت می‌کنند. تحت تنش دمای بالا کاهش میزان ترکیباتی از قبیل کولین (تخریب غشای سلولی در دمای بالا) و ۲-آمینوبنزویک اسید (به عنوان مهارکننده ویروس) و افزایش اسید آمینه‌های پرولین (افزایش تحمل گیاه به دمای بالا) و آرژینین (افزایش دفاع مبتنی بر خاموشی آر.ان.ای و سنتز پروتئین‌های مرتبط با تنش میزبان) رخ داد. این پژوهش نشان داد که مقاومت به WSMV نتیجه هماهنگی دقیق شبکه‌های متابولیتی چند بعدی در مبارزه با چندین تنش همزمان مثل بیمارگر و دمای بالا می‌باشد. از یافته‌های بدست آمده می‌توان برای توسعه ارقام با مقاومت پایدار در برابر تنش‌های زیستی و غیرزیستی در شرایط تغییر اقلیم استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: تنش غیرزیستی، تنش زیستی، متابولومیکس، تجزیه و تحلیل شبکه.

مقدمه

ویروس موزاییک رگه‌ای گندم (wheat streak mosaic virus=WSMV) با نام علمی *Tritimovirus tritici* عامل بیماری موزاییک رگه‌ای گندم، یک بیمارگر بالقوه مخرب گندم (*Triticum aestivum* L.) در ایالات متحده، ایران و برخی دیگر از کشورهای تولیدکننده گندم محسوب می‌شود (Soylu et al., 2024; Nunna et al., 2025). از علائم این بیماری می‌توان به کوتولگی، ایجاد رگه‌های سبز کم‌رنگ تا زرد، موزاییک، تعداد خوشه‌های کوچکتر و کمتر، چروکیدگی بذر و مرگ گیاه اشاره کرد. این ویروس عمدتاً توسط کنه پیچیدگی برگ گندم (*Aceria tosichella*, Keifer) و در سطوح پایین از طریق بذر منتقل می‌شود (Shubert et al., 2015). WSMV یک ویروس آرنا‌ای تک‌رشته‌ای، با قطبیت مثبت و تک‌جزئی متعلق به خانواده پوتی ویریده^۱ و جنس *Tritimovirus* است. ژنوم ویروس شامل ۹۳۸۴ نوکلئوتید است و فاقد دم پلی A می‌باشد (Nunna et al., 2025). WSMV را می‌توان از طریق اقدامات زراعی مانند تأخیر در تاریخ کاشت، حذف گندم‌های خودرو و علف‌های هرز و یا با استفاده از منابع ژن مقاومت در برابر WSMV یا ناقل آن مدیریت کرد (Nachappa et al., 2021). مقاومت در برابر ویروس موزاییک رگه‌ای گندم (WSMV) برای اولین بار در یکی از اجداد وحشی گندم به نام *Thynopyrum intermedium* شناسایی شد (Soylu et al., 2024). تاکنون چهار ژن مقاومت (*Wsm1*, *Wsm2*, *Wsm3*, *c2652*) موثر در ایجاد مقاومت ویروس موزاییک رگه‌ای گندم (WSMV) شناسایی شده‌اند که از این میان، ژن‌های *Wsm1* و *Wsm3* از این گونه وحشی از طریق انتقال ژن به گندم منتقل شده‌اند (Soylu et al., 2024). از جمله اینها، رقم Mace حامل ژن *Wsm1* (Graybosch et al., 2009) و لاین Co960293-2 حامل ژن غالب *Wsm2* (Lu et al., 2011) می‌باشند. نکته قابل توجه، وابستگی تمامی این منابع مقاومت به WSMV به دما است؛ به گونه‌ای که مقاومت در لاین Co960293-2 در دماهای پایین (۱۸ درجه سانتیگراد) پایدار می‌ماند، اما در دماهای بالاتر از بین می‌رود (Singh et al., 2018). رقم ایرانی کراس عدل نیز نمونه‌ای از این مقاومت وابسته به دما است که توسط یک ژن غالب کنترل می‌شود (Hassani and Assad, 2004). تحقیقات نشان می‌دهد که رقم کراس عدل در دمای ۲۵°C بدون علائم باقی می‌ماند، اما در دمای ۳۲°C، علائم موزاییک مشاهده شد. به عبارت دیگر، در دمای بالا، شکست مقاومت احتمالاً از طریق تغییر بیان ژن‌های مقاومت رخ می‌دهد (Zinati et al., 2012). مکانیسم‌های دفاعی گیاهان در برابر بیماری‌ها شامل فعال‌سازی ترکیبات دفاعی، تولید گونه‌های فعال اکسیژن و سنتز فنول‌ها می‌شود (Castro and Fontes, 2005). مطالعات نشان می‌دهند که افزایش دما ایمنی ذاتی گیاه را سرکوب می‌کند و باعث گسترش عوامل بیماری‌زا می‌شود. در این زمینه، متابولومیکس با توانایی شناسایی سریع تغییرات متابولیتی، ابزار قدرتمندی برای تحلیل عمیق پاسخ‌های زیستی گیاهان فراهم می‌آورد (López-Gresa et al., 2012). امروزه در بیولوژی سیستم گیاهی، تجزیه و تحلیل شبکه به عنوان یک ابزار مورد استفاده

¹ Potyviridae

رو به رشد در مطالعه روابط متابولیت‌ها پس از تنش‌ها و تغییر شرایط محیطی مورد توجه قرار گرفته است (Toubiana *et al.*, 2013). یکی از اهداف متابولومیکس مشخص کردن این است که چگونه گیاهان شبکه‌های متابولیکی‌شان را در پاسخ به تنش تغییر می‌دهند. مطالعات اخیر نشان می‌دهد که ویروس‌های گیاهی نه تنها از منابع متابولیک میزبان برای چرخه زندگی خود استفاده می‌کنند، بلکه شبکه‌های متابولیک میزبان را نیز دستکاری می‌کنند تا پاسخ‌های ایمنی را سرکوب کرده و نفوذشان در گیاه را تسهیل کنند. با پیش‌بینی راهبردهای جدید برای افزایش مقاومت گیاهان در برابر بیماری‌های گیاهی، یکی از اهداف اصلی مطالعات بیمارگرهای گیاهی، درک چگونگی تنظیم ژن‌ها، رونوشت‌ها، پروتئین‌ها و متابولیت‌ها در گیاهان برای سازگاری فیزیولوژیکی و پاسخ به تهاجم بیمارگر است. از این رو، محققان از تجزیه و تحلیل شبکه برای گروه‌بندی ژن‌های هم بیان، ادغام مجموعه داده‌های آمیکس و دستیابی به اطلاعات جدید در مورد فیزیولوژی گیاه (Ployet *et al.*, 2024) و همچنین پاسخ گیاه به تنش (Budzinski *et al.*, 2019; Song *et al.*, 2024) استفاده کرده‌اند. در تحقیق قبلی‌مان، تجزیه و تحلیل متابولومیکس در گندم که همزمان در معرض آلودگی ویروس و دمای بالا قرار گرفته‌اند، صورت گرفت و تغییرات پروفایل متابولیتی غیرهدفمند برهمکنش گیاه-ویروس، ارقام گندم کراس عدل (مقاوم) و مرودشت (حساس) با جدایه WSMV-مرودشت آلوده شده و در زمان‌های مختلف پس از آلودگی (۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت) در دماهای بهینه و بالا مورد مطالعه قرار گرفتند. همچنین مسیرهای متابولیتی تغییر یافته (دارای افزایش یا کاهش بیان) در شرایط آزمایش مشخص گردید. در گیاهان مقاوم در ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از مایه زنی، مهم‌ترین متابولیت‌ها شامل کومارین‌ها، تعداد محدودی لیپیدها و ترکیبات ناشناخته بودند، در حالی که در ۷۲ ساعت پس از مایه زنی، علاوه بر کومارین‌ها، آلکالوئیدها و چندین آمینو اسید نیز افزایش یافتند. در مقایسه با ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از مایه زنی، در ۷۲ ساعت پس از مایه زنی، بیشتر مسیرهای متابولیکی در گیاهان مقاوم افزایش یافتند. مسیرهای خاص مرتبط با مقاومت شامل متابولیسم آمینواسید، متابولیسم چربی و مسیرهای آلکالوئید بودند. در دمای بالا، مسیرهای مرتبط با تنش ترکیبی گرما و بیمارگر شامل مسیرهای سوخت و ساز آمینواسید و لیپید بودند. چندین مسیر سوخت و ساز کربوهیدرات به عنوان مسیرهای اختصاصی مرتبط با تنش گرما در نظر گرفته شدند و می‌توانند مرتبط با شکست مقاومت در دمای بالا باشند. از طرفی دیگر افزایش بیان ترکیبات لیپیدی مخصوصا در ۲۴ ساعت پس از مایه زنی در ۳۲ °C همراه با کاهش بیان اجزاء مسیرهای انتقال سیگنال یا کاهش سطح متابولیت‌های مرتبط با این مسیر بویژه در زمان دیرتر پس از آلودگی منجر به کاهش سیگنال‌رسانی متابولیتی گردید. کاهش اجزاء سیگنال‌رسانی تحت تنش ترکیبی، احتمالا با غیرفعال کردن شبکه‌های سیگنال‌رسانی اختصاصی WSMV باعث ایجاد حساسیت در گیاهان مقاوم در دمای بالا گردید (Farahbakhsh *et al.*, 2019). در پژوهش حاضر تجزیه و تحلیل شبکه متابولیتی برهمکنش رقم مقاوم (کراس عدل) با جدایه WSMV-مرودشت در دماهای بهینه و بالا بررسی و مورد مقایسه قرار گرفته است. در واقع، پژوهش حاضر ادامه مطالعه قبلی (Farahbakhsh *et al.*, 2019) اما با رویکرد نوتحلیل شبکه‌ای با تفاوت در هدف و ابزار است. هدف از تجزیه و تحلیل شبکه‌ای در این پژوهش، درک ساختار تعاملات بین

متابولیت‌ها و شناسایی متابولیت‌های کلیدی در شبکه‌های متابولیکی رقم مقاوم گندم در پاسخ به آلودگی ویروس موزائیک رگه‌ای گندم (WSMV) تحت دو دمای بهینه (20°C) و بالا (32°C) می‌باشد. این تحلیل به منظور کشف روابط عملکردی بین متابولیت‌های تغییر یافته و تعیین متابولیت‌های مؤثر در مقاومت گیاه در شرایط بهینه و نیز متابولیت‌های مرتبط با شکست مقاومت در دمای بالا انجام خواهد شد. از طریق محاسبه پارامترهای توپولوژیکی شبکه مانند درجه (degree) و مرکزیت بینابینی (betweenness centrality)، متابولیت‌های حیاتی که نقش هاب (hub) در شبکه دارند، شناسایی خواهند شد.

مواد و روش‌ها

پرورش گیاه و تکثیر زادمایه ویروس

بذر گندم نان رقم کراس عدل (حامل ژن مقاومت R) از مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی فارس، ایستگاه تحقیقات کشاورزی زرگان تهیه گردید. زادمایه اولیه تکثیر WSMV از نمونه‌های گندم آلوده جمع‌آوری شده از مزارع گندم مرودشت (استان فارس، ایران) دارای علائم آلودگی به بیماری از قبیل موزائیک رگه‌ای سبزد و کاهش رشد تهیه گردید. خالص‌سازی بیولوژیکی ویروس با حداقل ده بار مایه‌زنی مکانیکی متوالی بر روی رقم حساس مرودشت انجام شد. مایه‌زنی مکانیکی با استفاده از عصاره بافت آلوده گندم دارای علائم در بافر فسفات پتاسیم $0/05$ مولار با پ‌هاش ۷ به نسبت یک به سه (وزن به حجم) و پودر کاربوراندوم انجام شد. مایه‌زنی مکانیکی بوته‌ها در مرحله دو برگی کامل صورت گرفت. از بوته‌های دارای علائم بیماری به‌عنوان زادمایه ویروس در مطالعات دیگر این تحقیق استفاده شد (Farahbakhsh *et al.*, 2019).

تأیید آلودگی ویروس موزائیک رگه‌ای گندم

تأیید آلودگی زادمایه و نیز مواد گیاهی استفاده شده در مراحل مختلف تحقیق به دو روش سرولوژیکی از طریق آزمون الیزا دو طرفه غیرمستقیم با استفاده از آنتی‌بادی اختصاصی ویروس و مولکولی با واکنش زنجیره‌ای پلیمرز با استفاده از آغازگرهای اختصاصی ویروس موزائیک رگه‌ای گندم مربوط به ناحیه CP-UTR (French and Robertson, 1993) انجام شد. در نهایت نمونه‌های تکثیرشده ناحیه CP-UTR ژنوم ویروس موزائیک رگه‌ای گندم با آغازگرهای اختصاصی WSMV از طریق واکنش زنجیره‌ای پلیمرز که دارای باندهای مورد نظر بودند، برای توالی‌یابی نوکلئوتیدی انتخاب شدند. پس از انجام توالی‌یابی، میزان تشابه توالی هر نمونه با توالی‌های موجود در بانک ژن از طریق نرم‌افزار BLAST n مقایسه و ارزیابی گردید.

شرایط رشد گیاه و مایه‌زنی با ویروس موزائیک رگه‌ای گندم جهت مطالعات متابولومیکس

این بخش آزمایش در گروه گیاهپزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان انجام شد. بذرها را رقم مقاوم در گلدان‌های پلاستیکی به قطر ۲۰ سانتی متر حاوی پیت‌ماس، پرلیت و ورمی‌کولایت با نسبت‌های ۱:۱:۰/۸ کاشته شدند و در فواصل زمانی منظم آبیاری گردیدند. تیمارها به طور کلی شامل هشت گلدان بود که در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا گردید. از

این تعداد، چهار گلدان در دمای 20°C و چهار گلدان در دمای 32°C قرار داده شدند. همچنین، از بین گلدان‌های هر دمای مورد نظر، چهار گلدان با ویروس مایه‌زنی شدند و چهار گلدان دیگر به عنوان شاهد در نظر گرفته شدند. هر گلدان یک تکرار بیولوژیکی محسوب می‌شد. در داخل هر گلدان چهار تکرار تعریف شد که بایستی در هر تکرار، برگ‌های دو بوته برداشت و با یکدیگر مخلوط شده تا به عنوان یک نمونه واحد استفاده شود. در مجموع، تعداد ۸ بوته در داخل هر گلدان برای آزمایش‌های متابولومیکس در نظر گرفته شدند. پس از ده روز، گیاهچه‌های در مرحله دو برگگی کامل، به صورت تصادفی به دو گروه تقسیم شدند. گیاهچه‌های اولین گروه با جدایه مرودشت WSMV و گیاهچه‌های گروه دوم با بافر فسفات $0/05$ مول بر لیتر، پ هاش ۷ و پودر کاربوراندوم مایه‌زنی شده و به عنوان شاهد در نظر گرفته شدند. گیاهچه‌های مایه‌زنی شده به اتا‌ک‌های رشد^۱ (Binder, آلمان) با دماهای 20°C و 32°C در شرایط نوری ۱۶ ساعت روز و هشت ساعت تاریکی با شدت نور 13000 لوکس و رطوبت نسبی ۷۰ درصد منتقل گردیدند. نمونه برداری از گیاهان شامل برداشت بافت‌های برگگی قسمت هوایی به طور مجزا در بازه زمانی ۲۴ ساعت پس از مایه‌زنی^۲ و در دماهای مختلف 20°C و 32°C ، در رقم مقاوم برای واکاوی‌های متابولومیکس با LC-qTOF-MS (نمونه ۱۶) در قالب طرح کاملاً تصادفی صورت گرفت. هر نمونه شامل جمع‌آوری و آمیختن برگ‌های دو بوته مجزا و تبدیل آنها به یک نمونه $0/5$ گرمی برای کاهش واریانس بیولوژیکی بود. برگ‌های برداشت شده به سرعت در ازت مایع غوطه‌ور شده و سپس در دمای منهای 80°C نگهداری و پس از یخ-خشک^۳ شدن برای تجزیه و تحلیل‌های بعدی نگهداری گردیدند.

استخراج متابولیت‌ها و تجزیه و تحلیل UPLC-QTOF/MS

استخراج متابولیت‌ها و تجزیه و تحلیل LC-QTOF/MS در موسسه بیولوژی گالیسیا مرکز تحقیقات ملی اسپانیا (Misión Biológica de Galicia (MBG-CSIC) واقع در پونته ودرایالت گالیسیا اسپانیا به روش تورتسا و همکاران (Tortosa *et al.*, 2018) انجام شد و جزئیات آن در مقاله قبل گزارش شده است (Farahbakhsh *et al.*, 2019).

شناسایی متابولیت‌ها

خروجی‌های LC/MS کل کروماتوگرام‌های یونی به طور مستقیم با استفاده از نرم افزار Data Analysis (Bruker) باز شدند و از فرمت d. به فرمت mzXML با کمک (Bruker) CompassXport تبدیل شدند. از نرم افزار ProfileAnalysis 2.1 (Bruker) برای هم‌ردیف سازی^۴ و ردیابی پیک استفاده شد. یک پنجره ده ثانیه‌ای و هشت میلی دالتون با عملکرد "split buckets with multiple features" فعال شده، استفاده شد تا پیک‌ها را هم‌ردیف کند. Buckets با استفاده از عملکرد صفات مولکولی ایجاد شدند و زمان نگهداری، الگوی ایزوتوپی m/z و وضعیت بار ترکیبات فرضی اندازه‌گیری گردید. متابولیت‌ها با میانگین فراوانی بزرگتر از 30000 ، برای تجزیه و تحلیل‌های بعدی استفاده شدند. جدول bucket به صورت

²- days post inoculation

³-freeze-dried

⁴-alignment

دستی ایجاد شد که شامل تراکم^۵ پیک‌هایی بود که شیفت بالاتر بر روی زمان نگهداری نشان می‌دادند. شناسایی متابولیت‌های فرضی با استفاده از جرم واقعی^۶ اندازه‌گیری شده برای هر یون بر اساس خطای جرمی واقعی^۷ به میزان ۵ قسمت در میلیون (AME=5ppm) با مطابقت با متابولیت‌های گزارش شده در پایگاه‌های اطلاعاتی داده‌های طیف جرمی در دسترس عمومی از قبیل METLIN (<https://metlin.scripps.edu>)، KEGG (<https://www.genome.jp/kegg>)، HMDB (<https://www.hmdb.ca>) و Plant Metabolic Network (PMN) (<https://plantcyc.org>) صورت گرفت. پایگاه METLIN توسط مؤسسه Scripps توسعه یافته و به عنوان یکی از معتبرترین منابع در زمینه متابولومیکس شناخته می‌شود. جستجو در پایگاه داده KEGG یا Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes برای تفسیر مسیرهای متابولیکی مرتبط و تعیین جایگاه عملکردی متابولیت‌های شناسایی شده انجام می‌شود. این پایگاه توسط دانشگاه کیوتو توسعه یافته و به عنوان مرجع استاندارد برای تحلیل مسیرهای متابولیک شناخته می‌شود. در مورد پایگاه HMDB شناسایی متابولیت‌ها با استفاده از پایگاه داده متابولوم انسان (HMDB) و با تطابق طیف‌های جرمی و داده‌های مرجع انجام می‌شود. این پایگاه به عنوان مرجع استاندارد برای مطالعات متابولومیکس انسانی و در مواردی گیاهی شناخته می‌شود. پایگاه دیگر به نام Plant Metabolic Network (PMN) شناسایی متابولیت‌های گیاهی با تطابق با داده‌های مرجع ترکیبات گیاهی انجام می‌شود. این پایگاه به عنوان مرجع تخصصی برای مطالعات متابولومیکس و بیوشیمی گیاهی می‌باشد.

تجزیه و تحلیل آماری

آنالیزهای آماری با استفاده از ابزار مبتنی بر وب MetaboAnalyst 6.0 (Pang *et al.*, 2024) برای تجزیه و تحلیل مولفه‌های اصلی^۵ (PCA) و تجزیه و تحلیل تعیین کننده مربعات حداقل نسبی^۸ (PLSDA) انجام شد تا تفاوت‌های متابولیکی بین گروه‌های مایه‌زنی شده و گروه‌های شاهد مشخص شود. همچنین با استفاده از اولین مولفه اصلی اهمیت متغیر در پیش آمدگی (VIP) در ترکیب با تجزیه و تحلیل تک متغیره (تغییر پیچشی) ($p < 0.05$) در رقم مقاوم بر اساس، متابولیت‌های مرتبط با مقاومت یا تنش گرما تعیین شد که نتایج بدست آمده در مقاله قبلی آورده شده است (Farahbakhsh *et al.*, 2019).

تجزیه و تحلیل شبکه متابولیتی

برای تجزیه و تحلیل شبکه متابولیکی نیز از نرم‌افزار تحت وب MetaboAnalyst 6.0 استفاده گردید. برای ساخت شبکه متابولیتی با استفاده از داده‌های بدست آمده مربوط به رقم مقاوم آلوده به WSMV در ۲۴ ساعت پس از مایه زنی تحت شرایط دماهای بهینه و بالا، یک شبکه تعاملی بین متابولیت‌ها با استفاده از پایگاه داده‌های بیوشیمیایی KEGG تحت $p\text{-value} < 0.05$

⁵-intensity

⁶-Accurate mass

⁷-accurate mass error

⁸-partial least squares discriminant analysis

و آستانه همبستگی $(Correlation\ Threshold): |r| > 0.6$ بدست آمد. نتایج به صورت گراف‌های شبکه‌ای تعاملی و نقشه‌های مسیر متابولیکی بود و از طریق الگوریتم‌های شبکه برهمکنش‌های کلیدی و متابولیت‌های مهم مشخص گردید. شناسایی متابولیت‌های کلیدی^۹ با محاسبه درجه^{۱۰} گره و مرکزیت بینابینی^{۱۱} صورت گرفت (Singh *et al.*, 2023). به طور کلی آنالیز شبکه نشان می‌دهد که چگونه متابولیت‌ها با یکدیگر و با مسیرهای بیولوژیکی ارتباط دارند. اجزای شبکه شامل گره^{۱۲} که هر گره نشان دهنده یک متابولیت است. یال^{۱۳} شامل خطوطی که گره‌ها را به هم وصل می‌کنند و نشان‌دهنده تعامل بین متابولیت‌ها هستند و نقاط کانونی^{۱۴} مربوط به متابولیت‌های کلیدی که نقش مرکزی در شبکه دارند و ممکن است تنظیم‌کننده‌های اصلی باشند. شبکه برهمکنش متابولیت-متابولیت به برجسته کردن روابط عملکردی بالقوه بین مجموعه وسیعی از متابولیت‌های شناسایی شده کمک می‌کند. ارتباطات شیمیایی-شیمیایی برای شبکه متابولیت‌ها از پایگاه شبکه‌های برهمکنش مواد شیمیایی و پروتئین‌ها^{۱۵} (STITCH) استخراج شده است، به طوری که فقط از شبکه‌های برهمکنش با قطعیت و اعتماد بالا استفاده می‌شود. اکثر ارتباطات در STITCH بر اساس ارجاع به چکیده‌های تاکید شده در PubMed از جمله واکنش‌های ساختارهای شیمیایی مشابه و فعالیت‌های مولکولی مشابه می‌باشند (Singh *et al.*, 2023).

نتایج و بحث

پس از اندازه گیری پروفایل متابولیکی مربوط به ۱۲ نمونه از برگ‌های گندم رقم مقاوم در ۲۴ ساعت پس از آلودگی و گیاهان شاهد نمونه برداری شده در همان نقطه زمانی از طریق LC-QTOF/MS، در مجموع، ۲۲۹۱ پیک ردیابی شد و پس از حذف adducts، ایزوتوپ‌ها و losses خنثی، میانگین فراوانی هر متابولیت اندازه‌گیری شد. متابولیت‌های با میانگین فراوانی بیش از ۳۰۰۰۰ نانوگرم بر میلی لیتر) برای تجزیه و تحلیل‌های بعدی انتخاب شدند. در مجموع، ۵۷۷ و ۷۹ متابولیت در هر دو حالت یونیزاسیون مثبت و منفی به ترتیب در تجزیه و تحلیل چند متغیره استفاده شد. در میان این متابولیت‌ها، در کل، ۲۲۰ مورد بر اساس تطابق با پایگاه‌های داده عمومی مانند METLIN، KEGG، Pubchem و PMN شناسایی شدند. از بین این ترکیبات شناسایی شده، ۱۹۸ و ۲۲ ترکیب به ترتیب مربوط به حالت یونیزاسیون مثبت و منفی بودند و ۴۳۶ ترکیب به صورت ناشناخته باقی ماندند. به منظور فراهم ساختن رویکرد کلی از تغییرات متابولوم در رقم مقاوم پس از آلودگی به WSMV تحت دماهای بهینه و بالا، شبکه‌های متابولیکی مستقل مربوط به تجزیه و تحلیل‌های LC-MS با استفاده از نرم‌افزار تحت وب Metaboanalyst 6.0 ساخته شدند. در این راستا یک شبکه متابولیکی نشان‌دهنده الگوهای رابطه متابولیتی بین متابولیت‌های شناسایی شده،

⁹ seeds

¹⁰ Degree

¹¹ Betweenness Centrality

¹² Node

¹³ Edge

¹⁴ Seeds

¹⁵ interaction networks of chemicals and proteins

تهیه گردید. شبکه برهمکنش متابولیت- متابولیت (Metaboanalyst 6.0)، رابطه عملکردی بالقوه بین متابولیت‌های شناسایی شده را مشخص می‌کند. نتایج بدست آمده تفاوت‌هایی را در شبکه‌های توپولوژیکی تحت تاثیر هر دو دما نشان داد. در این شبکه متابولیتی مشخص شد که چگونه متابولیت‌ها با مسیرهای بیوسنتزی و متابولیسم مربوطه‌شان به یکدیگر مرتبط هستند. در دمای بهینه، در رقم مقاوم، متابولیت‌های دارای افزایش بیان ($FC \geq 1$, $VIP \geq 1$) دارای ۴۶ گره، ۱۴۲ یال و ۱۱ نقطه کانونی بودند (شکل ۱- الف). از طرفی شبکه‌های برهمکنش متابولیتی دارای کاهش بیان در شبکه دارای ۳۳ گره، ۱۱۶ یال و ۷ نقطه کانونی بودند (شکل ۱- ب). متابولیت‌های دارای افزایش بیان (سبز) با ترکیباتی از قبیل گروه اسیدهای نوکلئیک مثل آدنین، آدنوزین، یوراسیل، گوانین، یوریدین، همچنين با سیس-آکونیتیک اسید^{۱۶} و اسفینگانین^{۱۷} مرتبط بودند. در شبکه متابولیت‌های دارای کاهش بیان (قرمز)، ارتباطاتی با اسیدهای آمینه از قبیل ال-تریپتوفان، ال-لیوسین، ال-فنیل‌آلانین و ال-تیروزین و ترکیباتی مثل پیروودوکسال^{۱۸} و فنیل پیروویک اسید^{۱۹} وجود داشت. همچنین جدول ۱، نتایج تحلیل شبکه متابولیت‌های تغییر یافته در پاسخ به آلودگی ویروسی (WSMV) در دمای بهینه 20°C و در زمان ۲۴ ساعت پس از مایه‌زنی بر اساس پارامترهای درجه و مرکزیت بینابینی برای هر متابولیت را نشان می‌دهد. بر اساس این جدول، متابولیت‌های با بیشترین مقدار درجه و مرکزیت بینابینی دارای اهمیت بالاتری در شبکه برهمکنش متابولیت-متابولیت می‌باشند. به عنوان مثال، در دمای بهینه، آدنین با درجه ۱۳ و مرکزیت بینابینی ۲۸ بوده و به عنوان یکی از متابولیت‌های دارای اهمیت بالاتر در شبکه می‌تواند در نظر گرفته شود. در دمای 32°C ، در رقم مقاوم متابولیت‌های دارای افزایش بیان ($FC \geq 1$, $VIP \geq 1$) حاوی ۳۶ گره، ۱۰۳ یال و ۵ نقطه کانونی بودند (شکل ۲- الف). همچنین متابولیت‌های دارای کاهش بیان در شبکه دارای ۱۰۲ گره، ۴۴۶ یال و ۲۴ نقطه کانونی بودند (شکل ۲- ب). متابولیت‌های دارای افزایش بیان (سبز) در شبکه با ترکیباتی شامل ال-آرژنین، ال-پرولین، آدنین، گوانین و فنیل استالدهید مرتبط بودند. در حالیکه در شبکه متابولیت‌های دارای کاهش بیان در دمای بالا با ترکیباتی از قبیل اسیدهای آمینه مثل ال-فنیل‌آلانین، ال-تریپتوفان، ال-لیوسین وال-والین و ترکیباتی مثل کولین، یوراسیل، بتائین و ۲-آمینوبنزویک اسید مرتبط بودند. در جدول ۲ نیز نتایج تحلیل شبکه متابولیت‌های تغییر یافته رقم مقاوم در پاسخ به آلودگی در دمای 32°C در سانتیگراد در ۲۴ ساعت پس از مایه‌زنی بر اساس پارامترهای درجه و مرکزیت بینابینی برای هر متابولیت آورده شده است. بر اساس جدول ۲، اسید آمینه ال-آرژنین با درجه ۲۸ و مرکزیت بینابینی ۱۹۵ به عنوان یکی از با اهمیت‌ترین متابولیت‌ها در شبکه برهمکنش متابولیت-متابولیت در دمای بالا می‌تواند در نظر گرفته شوند و نشان دهنده هاب‌های کلیدی در شبکه متابولیکی تحت تنش می‌باشند. گیاهان قادرند تا کل یا بخشی از شبکه‌های دفاعی را از طریق الگوهای فعال‌سازی مختلف تحت

¹⁶ Cis-Aconitic acid

¹⁷ sphinganine

¹⁸ Pyridoxal

¹⁹ Phenylpyruvic acid

شرایط تنش، فعال کنند (Jiang *et al.*, 2025). به طور کلی فعال‌سازی پاسخ هماهنگ متابولیکی از طریق جریان هدفمند منابع گیاهی قادر است تا بیان پروتئین‌های بیماری‌گر را مسدود کند. هماهنگی تنگاتنگ پاسخ‌های متابولیتی و ارتباطات شبکه قبلاً در پاسخ انگور به تنش آبی (Hochburg *et al.*, 2013) و در ژنوتیپ‌های لوتوس در معرض تنش شوری (Sanchez *et al.*, 2011) مشاهده شده که پیشنهاد می‌کند که این ویژگی‌ها در افزایش تحمل نقش دارند (Sade *et al.*, 2015). در مورد شبکه‌های متابولیتی، برهمکنش متابولیت-متابولیت در رابطه با متابولیت‌های دارای افزایش یا کاهش بیان (شکل‌های ۱ و ۲)، ارتباط بین متابولیت‌های افتراقی در رقم مقاوم پس از آلودگی با WSMV در دماهای بهینه و بالا را نشان داد. در این راستا براساس اطلاعات موجود، بسیاری از متابولیت‌های مهم در گندم شناسایی شده در تجزیه و تحلیل شبکه به شرایط تنش محیطی پاسخ می‌دهند. به عنوان مثال، پلی‌آمین‌ها فرآیندهای فیزیولوژیکی مختلفی از جمله جمع‌آوری ROS و پایداری غشا را تنظیم می‌کنند (Liu *et al.*, 2025). اسیدهای آمینه مانند آرژنین در سنتز پروتئین‌های مرتبط با تنش نقش دارند (Jiang *et al.*, 2025). ترکیبات فنلی به عنوان آنتی‌اکسیدان عمل می‌کنند و با تنش اکسیداتیو مقابله می‌کنند. لیپیدها و اسیدهای چرب بر سیالیت و یکپارچگی غشا در شرایط تنش تأثیر می‌گذارند (Hu *et al.*, 2023). به عنوان مثال، در تحقیقی نشان داده شده که بازهای آزاد اسفینگوئید از قبیل اسفینگنین^{۲۰}، فیتواسفینگوزین^{۲۱} و اسفینگوزین^{۲۲} که در سلول‌های گیاهی بکارگرفته شده، باعث اکسیداسیون ROS پس از مرگ سلولی ناشی از القای مرگ برنامه‌ریزی شده می‌شوند (Takahashi *et al.*, 2009). متابولیت‌های ثانویه مختلف، مانند آلکالوئیدها و فلاونوئیدها، راهبردهای دفاعی گیاه و مقاومت در برابر تنش را بهبود می‌بخشند (Salam *et al.*, 2023). به طور خلاصه، تنظیم متابولیت برای هماهنگی سازگاری‌های پیچیده گیاه با عوامل تنش‌زای مختلف اساسی است (Liu *et al.*, 2025). برای مثال، در گیاه آرابیدوپسیس، پرولین در طول پاسخ فوق حساسیت (HR) تجمع می‌یابد تا با القای مرگ برنامه‌ریزی شده سریع سلولی در محل‌های آلودگی، گسترش ویروس را محدود کند. کاربرد خارجی پرولین قادر است حتی در غیاب عوامل بیماری‌زا، مرگ سلولی شبیه به HR را تحریک کند، که نشان می‌دهد پرولین مسیرهای پیام‌رسانی دفاعی، به‌ویژه متابولیسم پرولین-۵-کربوکسیلات را فعال می‌کند. این فرآیند متابولیکی، تجمع ROS را افزایش می‌دهد که به عنوان مولکول‌های دفاعی حیاتی برای محدود کردن تکثیر عوامل بیماری‌زا عمل می‌کنند (Jiang *et al.*, 2025). از طرفی در تحقیقات مختلف، نقش تنظیمی پرولین و چرخه پرولین در افزایش تحمل به دمای بالا تایید شده است (Lehr *et al.*, 2022; Kavi Kishor *et al.*, 2022). در این تحقیق نیز افزایش میزان پرولین در دمای بالا نیز می‌تواند با افزایش تحمل گندم به افزایش دما مرتبط باشد. در سازوکاری مشابه با پرولین، آرژنین نیز با مهار پروتئین‌های ویروسی از طریق متیلاسیون پروتئین آرژنین، نقش دفاعی ایفا می‌کند. برای مثال، پروتئین آرژنین متیل ترانسفر^۶، فعالیت پروتئین TBSVP19، یک سرکوبگر خاموش‌کننده آران‌ای ویروسی،

20- sphinganine

21-phytosphingosine

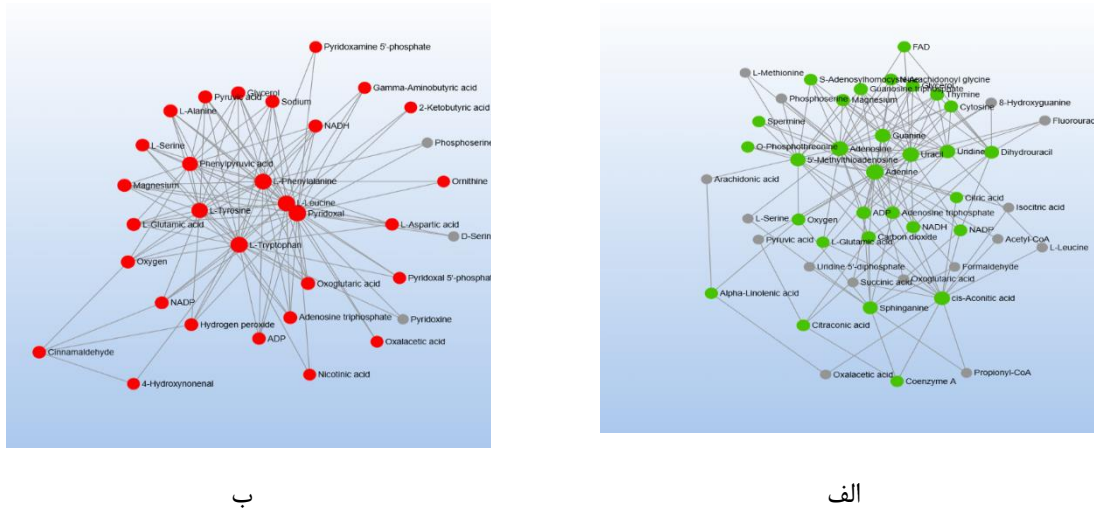
22- sphingosine

را سرکوب می‌کند و در نتیجه دفاع مبتنی بر خاموش‌کننده آران‌ای میزبان را افزایش می‌دهد (Zhu et al., 2024). به طور متناقض، تجمع اسید آمینه نیز می‌تواند در حساسیت به بیمارگر نقش داشته باشد. به عنوان مثال، جهش‌یافته‌های *lht1* آرابیدوپسیس، که سطوح کاهش‌یافته‌ای از اسیدهای آمینه مانند آلانین، گلوتامین و پرولین را نشان می‌دهند، مقاومت بیشتری در برابر آلودگی‌های ویروسی و سایر بیمارگرها نشان می‌دهند. کمبود گلوتامین در این جهش‌یافته‌ها تجمع SA را افزایش می‌دهد که پاسخ‌های دفاعی، از جمله بیان ژن‌های *PR-1* و افزایش تولید ROS را فعال می‌کند (Liu et al., 2010). از سوی کولین در سنتز غشای فسفولیپیدی فسفاتیدیل کولین در گیاهان نقش دارد (Mauck 2016). در اینجا کاهش میزان کولین در دمای بالا احتمالاً بخاطر تخریب غشای فسفولیپیدی گیاه در اثر دمای بالا که منجر به افزایش حساسیت گیاه نسبت به بیمارگر و دمای بالا می‌شود. در مورد ترکیب ۲-آمینوبنزواتیک اسید^{۲۳}، افزایش بیان این ترکیب در گیاهان کلزا دارای ژن مقاومت *Rlm1* علیه آلودگی ساق سیاه کلزا (Zhu et al. 2025) مشاهده گردیده است. همچنین این ترکیب در استرین *Bacillus sp.* باکتری BS107 به عنوان تعیین کننده مقاومت القایی سیستمیک^{۲۴} (ISR) علیه *Pectobacterium carotovorum subsp. carotovorum* SCC1 در توتون عمل می‌کند (Yang et al., 2011). در این تحقیق کاهش میزان ۲-آمینوبنزواتیک اسید در دمای بالا احتمالاً به علت اثر دمای بالا بر گندم در برابر WSMV و کاهش مقاومت آن باشد. به طور کلی، الگوهای تغییر در دینامیک متابولیتی می‌تواند از طریق سازوکارهایی توصیح داده شود که منجر به کاهش سطوح مقاومت گندم به WSMV در اثر افزایش دما ایجاد شده باشد. این کاهش سطح مقاومت، احتمالاً به علت تکثیر بیشتر ویروس در گیاه میزبان و مصرف بیشتر اسیدهای آمینه میزبان برای ساخت پروتئین‌های مختلف ویروس باشد. از طریق تجزیه و تحلیل شبکه مشخص شد که در برهم‌کنش بین متابولیت‌ها در پاسخ گیاه علیه حمله بیمارگر، چگونه متابولیت‌های مشابه در یک کلاس ترکیبی با واکنش‌های بیوشیمیایی مرتبط می‌شوند (Dai et al., 2025). در واقع تجزیه و تحلیل شبکه، غالبیت متابولیت‌ها و مسیرها را نشان داده و کمک می‌کند تا پاسخ‌های بیولوژیکی گیاه در جهت دفاع، مقاومت و بقا تنظیم شود. در مواردی، پاسخ‌های متابولیکی اختصاصی به تنش‌های خاص ممکن است در شبکه‌های تنظیمی گسترده‌تر اختلال ایجاد کنند و توانایی گیاه را در پاسخ به تنش‌های همزمان یا متوالی، مانند دمای بالا، خشکی و حمله بیمارگر مختل کنند (Dai et al., 2025). با توجه به ردیابی متابولیت‌های ثانویه، پاسخ به WSMV در گیاهان مقاوم در دو سطح تشخیص داده می‌شود. ابتدا پاسخ هماهنگ متابولیت‌های اولیه از قبیل اسیدهای آمینه، اسیدهای نوکلئیک و دوم پاسخ‌های متابولیکی ثانویه. چنین پاسخ دو مرحله‌ای در مقابله با تنش‌های زیستی و غیرزیستی مختلف مشخص شده است (Sade et al., 2015; Singh et al., 2023). متابولیت‌های شاخص شناسایی شده در تجزیه و تحلیل شبکه می‌تواند به توسعه متابولیت-QTLs (mQTLs) کمک کنند و می‌توانند در اصلاح

²³ 2-aminobenzoic acid

²⁴ Induced systemic resistance

مولکولی برای ایجاد مقاومت در گیاهان زراعی در برابر تنش‌های زیستی و غیر زیستی بکار روند. همچنین تغییرات هدفمند مسیرهای کلیدی با ابزارهای زیست‌فناوری شامل ویرایش ژنومی همراه با اصلاح کلاسیک در جهت بهبود عملکرد گیاه علیه بیمارگرها و تنش‌های غیر زیستی در مزرعه میسر خواهد شد.



شکل ۱- تجزیه و تحلیل برهمکنش متابولیتی. شبکه برهمکنش متابولیت-متابولیت در رقم مقاوم دمای ۲۰°C که بر اساس آستانه $FC \geq 1$ ($p < 0.05$) و $VIP \geq 1$ برای متابولیت‌های دارای افزایش بیان با رنگ سبز (الف) و متابولیت‌های دارای کاهش بیان با رنگ قرمز (ب) مشخص شده‌اند. گره‌های رنگی نشان دهنده متابولیت‌هایی هستند که شبکه‌های تعاملی با سایر متابولیت‌های مرتبط از نظر بیولوژیکی و عملکردی دارند.

Figure 1 - Metabolite interaction analysis. Metabolite- metabolite interaction network in the resistant cultivar at 20°C ($p < 0.05$, $VIP \geq 1$), showing up-regulated (green) (a) and down-regulated (red)(b) annotated metabolites. Colored nodes indicate interactive metabolites with biological and functional relationships.



شکل ۲- تجزیه و تحلیل برهمکنش متابولیتی. شبکه برهمکنش متابولیت-متابولیت در رقم مقاوم دمای ۳۲°C که بر اساس آستانه $FC \geq 1$ ($p < 0.05$) و $VIP \geq 1$ برای متابولیت‌های دارای افزایش بیان با رنگ سبز (الف) و متابولیت‌های دارای کاهش بیان با رنگ قرمز (ب) مشخص شده‌اند. گره‌های رنگی نشان دهنده متابولیت‌هایی هستند که شبکه‌های تعاملی با سایر متابولیت‌های مرتبط از نظر بیولوژیکی و عملکردی دارند.

Figure 2 - Metabolite interaction analysis. Metabolite- metabolite interaction network in the resistant cultivar at 32°C ($p < 0.05$, $VIP \geq 1$), showing up-regulated (green)(a) and down-regulated (red)(b) annotated metabolites. Colored nodes indicate interactive metabolites with biological and functional relationships.

جدول ۱- نتایج تجزیه و تحلیل برهمکنش شبکه متابولیت‌های معنی دار مربوط به رقم مقاوم آلوده به ویروس در دمای °C

۲۰ و ۲۴ ساعت پس از مایه زنی شناسایی شده با Metaboanalyst 6.0

Table 3- Results of interaction analysis of significant metabolites related to the R cultivar infected to WSMV at 20°C/24 hpi identified with Metaboanalyst 6.0

شماره Number	ترکیب Compound	درجه Degree	مرکزیت بینابینی Betweenness centrality
متابولیت‌های دارای افزایش بیان (Up-regulated Metabolites)			
1	Adenine	13	28.3
2	Adenosine	12	25.37
3	Uracil	11	10.11
4	Guanine	10	4.44
5	Uridine	10	4.44
6	Adenosine tri phoshate	8	15.80
7	ADP	8	15.80
8	-۵'Methylthioadenosine	6	3.22
9	Carbon dioxide	6	13.57
10	Guanosine	6	0.93
11	Magnesium	6	0.93
12	Cytosine	6	1.66
13	Thymine	6	1.66
متابولیت‌های دارای کاهش بیان (Down-regulated Metabolites)			
1	Pyridoxal	25	142.5
2	L-tryptophan	23	91.56
3	L-Leucine	22	72.78
4	L-Phenylalanine	22	71.58
5	L-Tyrosine	17	20.12
6	Phenylpyruvic acid	13	7.08
7	Oxoglutaric acid	6	0.402
8	NADH	6	0.402
9	Oxygene	6	0.402
10	L-Glutamic acid	6	0.402
11	Magnesium	6	0.402
12	L-Alanine	6	0.402
13	Pyruvic acid	6	0.29
14	Glycerol	6	8.30

جدول ۲- نتایج تجزیه و تحلیل برهمکنش شبکه متابولیت‌های معنی دار مربوط به رقم مقاوم آلوده به ویروس در دمای °C

۳۲ و ۲۴ ساعت پس از مایه زنی شناسایی شده با Metaboanalyst 6.0

Table 2- Results of interaction analysis of significant metabolites related to the R cultivar infected to WSMV at 32°C/24 hpi identified with Metaboanalyst 6.0

شماره (no.)	ترکیب (compound)	درجه (degree)	مرکزیت بینابینی (betweenness centrality)
متابولیت‌های دارای افزایش بیان (Up-regulated Metabolites)			
1	L-Arginine	28	195.34
2	Adenine	26	156.52
3	L-Proline	22	108.063
4	Phenylacetamide	16	43.69
5	Guanine	13	31.37
متابولیت‌های دارای کاهش بیان (Down-regulated Metabolites)			
1	L-Phenylalanine	46	692.113
2	L-Leucine	44	595.176
3	L-Tryptophan	44	642.509
4	L-Valine	39	459.915
5	Choline	35	872.808
6	L-Tyrosine	33	291.721
7	Uracil	26	413.370
8	Betaine	26	390.802
9	Phenylpyruvic acid	24	124.534
10	2-Aminobutric acid	24	176.692
11	L-Asparagine	21	76.313
12	5-Methylt	18	221.923
13	Inosine	18	172.951
14	Oxygen	17	270.878
15	NADH	16	174.284
16	Carbon dioxide	16	151.766
17	Adenosine	15	140.112

نتیجه گیری کلی

بررسی‌ها نشان داد که واکنش‌های متابولیتی رقم مقاوم گندم (کراس عدل) در برابر آلودگی به ویروس موزائیک رگه‌ای (WSMV) تحت تأثیر دما به‌طور معناداری متفاوت است. در دمای بهینه، گیاه با افزایش ترکیبات دفاعی مانند نوکلئوتیدها و اسفینگولیپیدها و کاهش اسیدهای آمینه خاص، منابع خود را به‌طور مؤثر به سمت مقابله با ویروس هدایت می‌کند. در مقابل، در دمای بالا (۳۲ درجه سانتی‌گراد)، کاهش ترکیبات محافظتی (مانند کولین و ۲-آمینوبنزواتیک اسید) و افزایش اسیدآمینه‌هایی مانند پرولین و آرژنین، نشان‌دهنده تلاش همزمان گیاه برای مقابله با تنش گرمایی و ویروس است. تحلیل شبکه‌ای نیز متابولیت‌های کلیدی مانند آرژنین را به‌عنوان عوامل مرکزی در پاسخ به تنش ترکیبی شناسایی نمود. اهمیت این یافته‌ها در شرایطی است که پدیده گرمایش جهانی، توسعه ارقام مقاوم به بیماری‌ها و تنش‌های غیرزیستی مانند دمای بالا را به ضرورتی اجتناب‌ناپذیر تبدیل کرده است. متابولومیکس گیاهی با شناسایی سازوکارهای پیچیده مرتبط با برهم‌کنش عوامل تنش‌زای زیستی و غیرزیستی، امکان انتخاب دقیق‌تر صفات مطلوب و ارائه راهکارهای نوین برای کاهش خسارات ناشی از بیماری‌های گیاهی را فراهم می‌سازد. مطالعات نشان می‌دهد که پاسخ به تنش‌های همزمان (مانند گرما و بیماری) از طریق شبکه‌های متابولیکی سلسله‌مراتبی و به هم‌پیوسته تنظیم می‌شود. تلفیق داده‌های متابولومیکس با سایر داده‌های آمیکس، درک عمیق‌تری از مکانیسم‌های پاسخ به تنش ارائه می‌دهد. در آینده، فناوری‌های نوظهوری مانند متابولومیکس تک‌سلولی، حسگرهای پیشرفته و ادغام چنداومیکس با بهره‌گیری از هوش مصنوعی، درک ما از تعاملات میزبان-عامل بیماری‌زا را متحول خواهند کرد. این فناوری‌ها زمینه را برای مهندسی دقیق متابولیسم و طراحی راهبردهای هدفمند ضدویروسی فراهم می‌سازند. با توجه به نقش کلیدی متابولیت‌ها، استفاده از نشانگرهای مولکولی مرتبط با ژن‌های کلیدی مسیرهای متابولیکی (مانند ژن‌های بیوسنتز متابولیت‌های دفاعی) در برنامه‌های انتخاب به کمک نشانگر (MAS) پیشنهاد می‌شود. همچنین، به کارگیری سیستم ویرایش ژنی (کریسپر) برای دستکاری دقیق ژن‌های تنظیم‌کننده این شبکه‌ها، می‌تواند پاسخ گیاه به تنش‌های ترکیبی را بهینه سازد. در نتیجه، این دستاوردها مسیر را برای به کارگیری مؤثر مکان‌های ژنی کمی (mQTLs)، فناوری‌های ویرایش ژنی و برنامه‌های اصلاح نباتات هدفمند برای توسعه ارقام متحمل به شرایط اقلیم گرم هموار می‌سازد.

منابع

Budzinski, I.G.F., de Moraes, F.E., Cataldi, T.R., Franceschini, L.M., & Labate, C.A. (2019). Network analyses and data integration of proteomics and metabolomics from leaves of two contrasting varieties of sugarcane in response to drought. *Frontiers in plant science*, 10, 1524.

Castro, M.S., & Fontes, W. (2005). Plant defense and antimicrobial peptides. *Protein and Peptide letters*, 12(1), 11-16.

Chong, J., Soufan, O., Li, C., Caraus, I., Li, S., Bourque, G., Wishart, D.S., & Xia, J. (2018). MetaboAnalyst 4.0: towards more transparent and integrative metabolomics analysis. *Nucleic acids research*, 46(W1), W486-W494.

Dai, J.M., Zhang, J.D., Liu, X., Zhang, L.F., Wang, J., Xu, Y., Yang, G.Y., Li, J., Chen, M.L. & Hu,

- Q.F. (2025). Gene editing, metabolomics, network pharmacology strategies to explore terpenoid content and anti-TMV activity in NtSPS1 knockout *Nicotiana tabacum*. *Scientific Reports*, 15(1), 14581.
- Farahbakhsh, F., Hamzehzarghani, H., Massah, A., Tortosa, M., Yassaie, M., & Rodriguez, V.M. (2019). Comparative metabolomics of temperature sensitive resistance to wheat streak mosaic virus (WSMV) in resistant and susceptible wheat cultivars. *Journal of plant physiology*, 237, 30-42.
- Graybosch, R. A., Peterson, C. J., Baenziger, P. S., Baltensperger, D. D., Nelson, L. A., Jin, Y., Kolmer, J., Seabourn, B., French, R., Hein, G., Martin, T. J., Beecher, B., Schwarzacher, T., & Heslop-Harrison, P. (2009). Registration of 'Mace' hard red winter wheat. *Journal of Plant Registrations*, 3:51–56.
- Hassani, F., & Assad, M.T. (2004). Inheritance and allelism of *Wheat streak mosaic virus* resistance in two Iranian wheat lines. *Euphytica*, 140, 213-216.
- Hochberg, U., Degu, A., Rachmilevitch, S., Cramer, G.R., & Fait, A. (2013). Water deficit effects on the molecular processes, physiology and quality of grapevine. In *IX International Symposium on Grapevine Physiology and Biotechnology 1157* (pp. 239-254).
- Hu, H., Jia, Y., Hao, Z., Ma, G., Xie, Y., Wang, C., & Ma, D. (2023). Lipidomics-based insights into the physiological mechanism of wheat in response to heat stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 205, 108190.
- Jiang, T., Hao, T., Chen, W., Li, C., Pang, S., Fu, C., Cheng, J., Zhang, C., Ghorbanpour, M., & Miao, S. (2025). Reprogrammed plant metabolism during viral infections: mechanisms, pathways and implications. *Molecular Plant Pathology*, 26(2):e70066. <https://doi.org/10.1111/mpp.70066>
- Kavi Kishor, P. B., Suravajhala, P., Rathnagiri, P., & Sreenivasulu, N. (2022). Intriguing role of proline in redox potential conferring high temperature stress tolerance. *Frontiers in Plant Science*, 13, 867531.
- Lehr, P., Hernández-Montes, E., Ludwig-Müller, J., Keller, M., & Zörb, C. (2022). Abscisic acid and proline are not equivalent markers for heat, drought and combined stress in grapevines. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 28, 119–130. <https://doi.org/10.1111/ajgw.12523>.
- Liu, G., Ji, Y., Bhuiyan, N.H., Pilot, G., Selvaraj, G., Zou, J., & Wei, Y. (2010). Amino acid homeostasis modulates salicylic acid-associated redox status and defense responses in *Arabidopsis*. *The Plant Cell*, 22(11), 3845-3863.
- Liu, Z., You, J., Zhao, P., Wang, X., Sun, S., Wang, X., Gu, S., & Xu, Q. (2025). Metabolomics Profiling and Advanced Methodologies for Wheat Stress Research. *Metabolites*, 15(2), 123.
- López-Gresa, M.P., Lisón, P., Kim, H.K., Choi, Y.H., Verpoorte, R., Rodrigo, I., Conejero, V., & Bellés, J.M., (2012). Metabolic fingerprinting of tomato mosaic virus infected *Solanum lycopersicum*. *Journal of plant physiology*, 169(16), 1586-1596.
- Mauck, K.E. (2016). Variation in virus effects on host plant phenotypes and insect vector behavior: what can it teach us about virus evolution?. *Current Opinion in Virology* 21: 114-123.
- Nachappa, P., Haley, S., & Pearce, S. (2021). Resistance to the wheat curl mite and mite-transmitted viruses: Challenges and future directions. *Current Opinion in Insect Science*, 45, 21-27.
- Nunna, H., Palmer, N.A., Sarath, G., Wegulo, S.N., & Tatineni, S. (2025). Synergistic interaction between *wheat streak mosaic virus* and *Triticum mosaic virus* modulates wheat transcriptome to favor disease severity. *Frontiers in Plant Science*, 15, 1504482.
- Pang, Z., Lu, Y., Zhou, G., Hui, F., Xu, L., Viau, C., & Xia, J. (2024). MetaboAnalyst 6.0: towards a unified platform for metabolomics data processing, analysis and interpretation. *Nucleic acids research*, 52(W1), W398-W406
- Ployet, R., Feng, K., Zhang, J., Baxter, I., Glasgow, D.C., Andrews, H.B., Rodriguez, M., Chen, J.G., Tuskan, G.A., Tschaplinski, T.J., & Weston, D.J. (2024). Elemental profiling and genome-wide association studies reveal genomic variants modulating ionic composition in *Populus trichocarpa* leaves. *Frontiers in Plant Science*, 15, 1450646.
- Sade, D., Shriki, O., Cuadros-Inostroza, A., Tohge, T., Semel, Y., Haviv, Y., Willmitzer, L., Fernie, A.R., Czosnek, H. & Brotman, Y. (2015). Comparative metabolomics and transcriptomics of plant response to *Tomato yellow leaf curl virus* infection in resistant and susceptible tomato cultivars. *Metabolomics*, 11(1), 81-97.
- Salam, U., Ullah, S., Tang, Z.H., Elateeq, A.A., Khan, Y., Khan, J., Khan, A., & Ali, S. (2023). Plant metabolomics: an overview of the role of primary and secondary metabolites against different environmental stress factors. *Life*, 13(3), 706.

- Sanchez, D.H., Pieckenstain, F.L., Escaray, F., Erban, A., Kraemer, U.T.E., Udvardi, M.K., & Kopka, J. (2011).** Comparative ionomics and metabolomics in extremophile and glycophytic *Lotus* species under salt stress challenge the metabolic pre-adaptation hypothesis. *Plant, Cell & Environment*, 34(4), 605-617.
- Schubert, J., Ziegler, A., Rabenstein, F. (2015).** First detection of wheat streak mosaic virus in Germany: molecular and biological characteristics. *Archives of virology*, 160(7), 1761-1766.
- Singh, D.P., Maurya, S., Yerasu, S.R., Bisen, M.S., Farag, M.A., Prabha, R., Shukla, R., Chaturvedi, K.K., Farooqi, M.S., Srivastava, S., Rai, A., Sarma, B.K., Rai, N., & Behera, T.K. (2023).** Metabolomics of early blight (*Alternaria solani*) susceptible tomato (*Solanum lycopersicum*) unfolds key biomarker metabolites and involved metabolic pathways. *Scientific Reports* 13, 21023. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-48269-0>
- Singh, K., Wegulo, S.N., Skoracka, A., & Kundu, J.K. (2018).** Wheat streak mosaic virus: a century old virus with rising importance worldwide. *Molecular Plant Pathology*, 19(9), 2193-2206.
- Song, J., Xi, X., Qian, X., Li, J., Tao, Y., Li, L., & Zhou, G. (2024).** Revealing the microbial composition changes and relationship with *Fusarium* caused by rot disease in the *Crocus sativus* L. *Annals of Microbiology*, 74(1), 24.
- Soylu, I., Lakshman, D.K., Tatineni, S., Galvez, L.C., & Mitra, A. (2024).** Differential regulation of miRNAs involved in the susceptible and resistance responses of wheat cultivars to *wheat streak mosaic virus* and *Triticum mosaic virus*. *BMC genomics*, 25(1), 221
- Takahashi, Y., Berberich, T., Kanzaki, H., Matsumura, H., Saitoh, H., Kusano, T., & Terauchi, R. (2009).** Unraveling the roles of sphingolipids in plant innate immunity. *Plant Signaling & Behavior*, 4, 536–538.
- Toubiana, D., Batushansky, A., Tzfadia, O., Scossa, F., Khan, A., Barak, S., Zamir, D., Fernie, A.R., Nikoloski, Z., & Fait, A. (2015).** Combined correlation-based network and mQTL analyses efficiently identified loci for branched-chain amino acid, serine to threonine, and proline metabolism in tomato seeds. *The Plant Journal*, 81(1), 121-133.
- Tortosa, M., Cartea, M.E., Rodriguez, V.M., & Velasco, P. (2018).** Unraveling the metabolic response of *Brassica oleracea* exposed to *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98(10), pp.3675-3683.
- Yang, S.Y., Park, M.R., Kim, I.S., Kim, Y.C., Yang, J.W., & Ryu, C.M. (2011).** 2-Aminobenzoic acid of *Bacillus* sp. BS107 as an ISR determinant against *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* SCC1 in tobacco. *European Journal of Plant Pathology*, 129, 371–378.
- Yassaie, M., Masumi, M., Amin, H., & Izadpanah, K. (2002).** Evaluation of wheat streak mosaic virus response in commercial and native wheat ancestors. In: *Proceedings of the 15th Iranian Congress of Plant Pathology*, 52p, University of Razi, Kermanshah, Iran.
- Zhang, G., Martin, T. J., Fritz, A. K., Miller, R., Chen, M. S., Bowden, R. L., et al. (2015).** Registration of 'Oakley CL' wheat. *Journal of Plant Registrations*, 9, 190–195.
- Zhu, Q., Ahmad, A., Shi, C., Tang, Q., Liu, C., Ouyang, B., Deng, Y., Li, F. & Cao, X. (2024).** Protein arginine methyltransferase 6 mediates antiviral immunity in plants. *Cell Host & Microbe*, 32(9), 1566-1578.
- Zhu, X., Gao, P., Zhao, S., Luo, X., Li, L., & Peng, G. (2025).** Metabolomic Profiling Identifies Key Metabolites and Defense Pathways in Rlm1-Mediated Blackleg Resistance in Canola. *International Journal of Molecular Sciences*, 26(12), 5627.
- Zinati, Z., Assad, M. T., Masumi, M., Alemzadeh, A., Razi, H., & Izadpanah, K. (2012).** The effect of high temperature treatment on *Wheat streak mosaic virus* resistance and certain resistance-related chemicals in bread wheat. *Iranian Journal of Virology*, 6, 27-35.