التعرف على التنظيم الجيني والمسارات الأيضية تحت ظروف أجهادي الجفاف والحرارة في نبات السنا

نادية بخيت السلمي

تحت إشراف

أ.د. احمد بهي الدين محمد **أ.د. حسن سعيد الزهراني**

المستخلص

الهدف من هذه الدراسة هو الكشف عن الميكانيكيات الجزيئية لتحمل الإجهاد الناتج عن الجفاف في النوع النباتي البري سنا (*Cassia angustifolia Vahl*) التابع للعائلة Caesalpiniaceae ذات التطبيقات الصيدلانية المهمة. وقد تم دراسة مجموعات بيانات RNA-Seq الناتجة عن طريق تسلسل الجيل التالي (NGS) للأوراق النباتية قبل (اليوم ١) وبعد (اليوم ٢) الري في ثلاث مراحل زمنية (بعد الفجر ومنتصف النهار وما بعد الغسق) ، وتم تجميع البيانات الأولية بطريقة *de novo* assembly لدراسة الاستجابة التفاضلية بسبب الري باستخدام برنامج Trinity ، كما تم التعرف على تسلسل الحمض النووي المشفر (CDS) والتعبير التفاضلي differential expression وتحليل المجموعات التعبيرية cluster analysis. وأظهر التحليل الهرمي للتعبير الجيني أن الترانسكربتومات في أي وقت معين كانت متشابهه بشكل وثيق ، باستثناء تلك التي كانت في منتصف النهار التي كانت مفصولة تماما بسبب الري. وأشار تصنيف GO وجود العديد من مسميات الـ GO المرتبطة بتحمل الإجهادات البيئية وغير البيئية. أشار تحليل المجموعات التعبيرية cluster analysis إلى حدوث العديد من أنماط التعبير المرتبطة بوجود الضوء وارتفاع الحرارة ومرحلة الفجر والليل. وتم الكشف عن استجابات الري التفاضلية فقط في منتصف النهار. وأظهرت الدراسة وجود عدد كبير من الجينات المرتبطة بعوامل الجفاف وعائلات عوامل النسخ بما في ذلك NAC و MYC2 و CCCH zinc finger (أي TZF) التي لها دور رئيسي في مراحل نمو النبات والاستجابة للظروف غير المواتية مثل الجفاف والملوحة. ونتج عن تحليل KEGG للجينات التي وصل تفاوت التعبير الجيني منتصف النهار بين اليومين خمسة أضعاف أو أكثر عددًا من الإنزيمات التي حدث لها تثبيط بسبب الري ، وبالتالي من المحتمل مشاركتها في الآليات الجزيئية التي يستخدمها هذا النبات للتكيف مع إجهاد الجفاف طويل الأمد. وتم الحصول على عدد من المركبات الحيوية والإنزيمات المنظمة منها مستقبلات حمض الأبسيسيك PYL4 و PYL9 ، وعامل استجابة أوكسين 5 ARF و ١٥ ARF، و كذلك بروتينات الـ IAA / Aux المسماه IAA7 و IAA14 ، والعديد من الإنزيمات مثل monooxygenase (or flavin) indole-3-pyruvate و phosphoinositide phosphatase SAC1 and SAC6, وعوامل قطع الإنترونات introns و المسماه 8, 8A, 19, 40A and ISY1 بالإضافة إلى العوامل المنظمة لقطع الإنترونات والمسماة serine/arginine-rich splicing regulators SCL33, RS31 and RS34. وأظهر المساران الأيضان تحليل التربتوفان tryptophan metabolism ونقل الإشارة عن طريق هرمون النبات plant hormone signal transduction الحديث المتبادل أو التكامل في نبات السنا (*C. angustifolia*) نحو الحفاظ على النمو الطبيعي للنبات في ظل ظروف الإجهاد البيئي الضار. كذلك ظهرت استجابة العديد من المستقلبات والبروتينات الأخرى بما في ذلك مركب brassinosteroid ، بروتين الصدمة الحرارية 95 ، وإنزيم ATPase ، وعدة بروتينات مثل البروتين كيناز MAPK وإنزيم أكسيداز السيتوكروم c. وتشتمل أيضاً على الإنزيمات الأخرى على فسفولييز C2 بالإضافة إلى تلك في مسار isochorismate. في الختام يمكن القول أن الدراسة ألقت الضوء على الآليات الجزيئية المحتملة وراء تحمل إجهاد الجفاف في نبات سنا البري (*C. angustifolia*) والتي يمكن الاستفادة منها مستقبلاً في برامج تربية النبات.

Detection of gene regulation and metabolic pathways under drought and heat stresses in senna (*Cassia angustifolia*)

Nadiah Bakheet al-Sulami

Supervised by

Prof. Dr. Ahmed Bahieldin **Prof. Dr. Hassan Said Alzahrani**

Abstract

This study aimed the detection the molecular dynamics of drought stress tolerance in the wild plant species senna (*Cassia angustifolia* Vahl.) that has important pharmaceutical applications as mainly being used as a laxative. We have studied RNA-Seq datasets produced by next-generation sequencing (NGS) of leaf before (day 1) and after (day 2) watering at three time points (post-dawn, midday and post-dusk). Raw data were *de novo* assembled to study the differential response due to watering. Hierarchical cluster analysis of gene expression showed that transcriptomes within any given time point were closely related, except for those of the midday that were completely separated due to watering. GO classification indicated that several GO terms participate in processes related to tolerance under abiotic stress. Cluster analysis indicated the occurrence of several expression patterns that were light-, heat-, dawn- and night-specific. Differential watering responses were detected only at midday. A large number of drought-related genes and transcription factor families including NAC, MYC2 and CCCH zinc finger family of TFs (namely TZF) that are major player in plant growth and responses to stresses such as drought and salinity. KEGG analysis for genes whose differential expression in midday between the two days was ≥5 FC resulted in a number of enzymes that were found repressed due to watering, thus likely participate in the molecular mechanisms utilized by the organism to adapt to the long-lasting drought stress. The recovered regulated metabolites and enzymes included abscisic acid (ABA) receptor PYL4 and PYL9, auxin response factors (ARF) 5 and 15, Aux/IAA proteins IAA7 and IAA14, indole-3-pyruvate (or flavin) monooxygenase, phosphoinositide phosphatase SAC1 and SAC6, pre-mRNA splicing factors 8, 8A, 19, 40A and ISY1, and serine/arginine-rich splicing regulators SCL33, RS31 and RS34. The two pathways tryptophan metabolism and plant hormone signal transduction likely crosstalk in senna (*C. angustifolia*) towards the maintenance of normal growth under adverse condition. Many other regulated metabolites and proteins in senna (*C. angustifolia*) including brassinosteroid, heat shock protein 95s, ATPase, several protein kinases such as mitogen-activated protein kinase (MAPK) and cytochrome c oxidase. Other enzymes include phospholipase C2 and allene oxide cyclase as well as isochorismate pathway were also regulated in senna (*C. angustifolia*). In conclusion, we have scoped the light on the possible molecular mechanism underlying drought stress tolerance in the wild plant senna (*C. angustifolia*) that can be utilized in further plant breeding programs.