ژنتیک نوین
دوره هجدهم، شماره ۱، بهار ۱۴۰۲
صفحه ۳۲ - ۲۱

داده کاوی پروفایل ترانسکریپتومی کتان تحت تنش سمیت آلومینیوم و کمبود روی

Data mining of flax transcriptome profile under stress aluminum toxicity and zinc deficiency

زهرا دانایی‌پور[۱]، قاسمعلی گروسی[۱]، مسعود توحیدفر*[۲]، محمدرضا بختیاری‌زاده[۳]، محمد حسین میرجلیلی[۴]

۱- به‌ترتیب دانشجو دکتری، دانشیار، گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره)، قزوین

۲- استاد تمام، گروه زیست شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده علوم و فناوری زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران

۳- استادیار، گروه علوم دام و طیور، پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران

۴- دانشیار، گروه کشاورزی، پژوهشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران

Danaeipour Z[1], Garoosi Gh[1], Tohidfar M*[2], Bakhtiarizadeh MR[3], Mirjalili MH[4]

1- PhD Student, Associate Profeesor, Department of Biotechnology, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Imam Khomeini International University, Qazvin, Iran

2- Professor, Department of Cell and Molecular Biology, Faculty of Life Sciences and Biotechnology, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran

3- Assistant Professor, Department of Animal and Poultry Science, College of Aburaihan, University of Tehran, Tehran, Iran

4- Associate Professor, Department of Agriculture, Medicinal Plants and Drugs Research Institute, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: m_tohidfar@sbu.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۵/۰۹ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۰/۰۵)

چکیده

گیاه کتان (*Linum usitatissimum* L.) در سراسر جهان به‌دلیل کاربرد گسترده در صنایع غذایی، نساجی و دارویی در مقیاس وسیع کشت می‌شود. یکی از عواملی که کشت و کار این گیاه را تحت تاثیر قرار می‌دهد تنش‌های غیر زیستی از جمله pH نامناسب و خاک دارای کمبود یا سمیت عناصر غذایی است که منجر به کاهش کمیت و کیفیت آن می‌شود. بنابراین شناسایی ژن‌های پاسخگو به تنش‌های مختلف ضروری است. در مطالعه حاضر، با استفاده از داده‌های RNA-Seq به‌دست آمده از ریشه گیاه کتان تحت تنش سمیت آلومینیوم و کمبود روی به بررسی DEGها به‌منظور شناسایی تغییرات پاسخگو به تنش در دو کلتیوار مقاوم و حساس پرداخته شد. در مجموع ۳۰ تا DEG مشترک بین کلتیوارهای مقاوم و ۹۷ تا DEG مشترک بین کلتیوارهای حساس در هر دو تنش شناسایی شد که در آن تعداد DEGها در رقم حساس بیشتر بوده و چهار ژن مشترک بین حساس و مقاوم بود. بیشترین تغییرات کلی DEGهای مشترک مربوط به فرآیندهای زیستی اختصاصی کتان، فرآیندهای متابولیکی و فرآیندهای سلولی بود که نشان‌دهنده وضعیت فعال متابولیکی سلول گیاهی است. کلتیوارهای مقاوم به‌طور اختصاصی‌تر پاسخ داده و بیشتر ژن‌ها در GO مرتبط پاسخ به محرک‌ها قرار گرفتند. در شبکه برهمکنش پروتئین-پروتئین کلتیوارهای حساس، کیتینازها و ژن PR4 بیشترین ارتباط را با سایر پروتئین‌ها داشتند، در حالی‌که در کلتیوارهای مقاوم استراتژی مقاومت متفاوت بود و بیان ژن‌های تغییر دهنده دیواره سلولی بیشترین ارتباط را با سایر پروتئین‌ها نشان دادند. به‌طور کلی پروفایل بیانی ژن‌های پاسخگو به تنش نشان داد که در هر دو کلتیوار ژن PR1 بیشترین تغییرات را داشت و می‌توان به‌عنوان مارکر مقاومت برای اهداف به‌نژاد گیاهی استفاده نمود. همچنین بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه که به نوعی پاسخ به تنش است به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. نتایج به‌دست آمده بینش‌های جدیدی در مورد مکانیسم تحمل به تنش‌های غیرزیستی کتان ارائه می‌دهد که می‌توان جهت بهبود عملکرد کمی و کیفی گیاهان مورد استفاده قرار داد.

واژه‌های کلیدی

سمیت آلومینیوم
کمبود روی
هستی شناسی ژن
***Linum usitatissimum* L**
RNA-Seq

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-21]

مقدمه

گیاهان به‌دلیل عدم تحرک به‌طور مداوم در معرض طیف وسیعی از شرایط تنش‌زا قرار می‌گیرند که باعث کاهش عملکرد آن‌ها می‌شود. تنش‌های غیرزیستی اصلی شامل خشکی، شوری، گرما، سرما، انجماد، شدت نور بالا و عدم تعادل عناصر غذایی است و به‌صورت گسترده مورد مطالعه قرار گرفته‌اند (Cohen and Leach 2019) اما گیاه در اکوسیستم طبیعی خود با ترکیبی از دو یا چند تنش مواجه می‌شود. برای مثال آن‌ها تحت شرایط طبیعی ممکن است در معرض تنش خشکی و شوری، خشکی و گرما، گرما و شدت نور بالا و یا تغییر pH و عدم تعادل مواد مغذی قرار گیرند. امروزه پدیده گرم شدن کره زمین همراه با تغییرات شدید آب و هوایی احتمال بروز تنش‌های چندگانه را در زمین‌های زراعی افزایش می‌دهد (Suzuki et al. 2014). تعداد زیادی از این تنش‌ها pH خاک را تغییر می‌دهند که به‌صورت مستقیم و غیرمستقیم تاثیر زیادی برفرآیندهای بیوژئوشیمیایی خاک دارد به‌طوری که می توان آن را به‌عنوان متغیر اصلی خاک توصیف کرد. pH خاک به‌طور مستقیم ظرفیت تبادل کاتیونی (CEC) را تغییر می‌دهد (Neina 2019). وجود بارهای منفی روی کلوئیدهای خاک باعث ایجاد CEC خاک می‌شود و CEC خاک به‌دلیل تغییر بار منفی به‌طور قابل توجهی در نوسان است (Gondal et al. 2021). زمانی‌که pH خاک بر اساس شرایط آب وهوایی به‌ویژه باران‌های اسیدی در طول زمان و نوع سنگ مادری اسیدی می‌شود، در بخش قابل توجهی از ظرفیت تبادل کاتیونی آن، آلومینیوم و هیدروژن به‌جای یون‌های بازی کلسیم، منیزیم، پتاسیم و سدیم قرار می‌گیرد. آلومینیوم و هیدروژن جایگزین یون‌ها در محل‌های تبادلی شده و این یون‌ها به اعماق پروفیل خاک شسته می‌شوند (Khadem et al. 2015). در این شرایط فرم محلول Al^{3+} قادر به عبور از غشای گیاه است، رشد را محدود می‌کند و برای گیاهان بسیار سمی است. تجمع Al ابتدا در راس ریشه صورت می‌گیرد به‌طوری‌که غلظت‌های بسیار کم آن نیز می‌تواند رشد ریشه را در عرض چند دقیقه یا چند ساعت در بسیاری از گونه‌های گیاهی مهار کند (Eekhout et al. 2017; Shavrukov and Hirai 2016). از آثار سمیت Al در اندام هوایی می‌توان به تغییرات فیزیولوژیکی از قبیل کاهش منافذ روزنه‌ای و کاهش فعالیت فتوسنتزی اشاره نمود که سبب کلروزه و نکروزه شدن برگ‌ها می‌شود. در سطح سلولی، Al بر طویل شدن و تقسیم سلولی، جذب و انتقال مواد مغذی و هموستاز کلسیم تأثیر منفی می‌گذارد و ساختار و عملکرد غشای پلاسما، دیواره سلولی و کروماتین را مختل می‌کند. در طی تکامل دو مکانیسم اصلی مقاومت در برابر سمیت آلومینیوم در گیاهان ایجاد شده است (Ramzi et al. 2018). در مکانیسم حذف خارجی، گیاهان با ترشح و کلاته کردن اسیدهای آلی یا فنل‌ها در ریشه‌ها، تغییر ویژگی‌های دیواره سلولی و قلیایی شدن ریزوسفر، مقدار سمیت Al^{3+} در سلول‌ها را کاهش می‌دهند که منجر به تحمل درونی و سپس کاهش سمیت Al را در سمپلاست ریشه و اندام هوایی می‌شود (Yan et al. 2022). در این مکانیسم ژن‌های کدکننده ناقل‌های اسیدهای آلی (OA)، از جمله ناقل مالات فعال شده با آلومینیوم (ALMT1) و اعضای خانواده ژنی ناقل سیترات اکستروژن چند دارویی و ترکیبات سمی (MATE) درگیر هستند (Liu et al. 2009). مکانیسم دیگر سم‌زدایی داخلی است که شامل سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی، توزیع مجدد Al^{3+} مانند بخش‌بندی واکوئلی و پاسخ اکسین است (Yan et al. 2022).

زمانی‌که pH خاک بر اثر تجمع نمک افزایش می‌یابد، روی در خاک به اشکال مختلف $ZnCO_3$ و $Zn(OH)_2$ رسوب می‌کند که منجر به کاهش حلالیت آن در خاک می‌شود (Sadeghzadeh et al. 2021). بنابراین میزان عنصر روی در دسترس گیاه کاهش می‌یابد. با توجه به نوع گیاه و حتی ژنوتیپ میزان جذب روی از خاک متفاوت است. گیاهان بر اساس ماده‌ای که از ریشه ترشح می‌کنند، دو استراتژی فیزیولوژیکی در جذب روی دارند: استراتژی اول شامل جریان احیاکننده‌ها، اسیدهای آلی و یون‌های H^+، که حلالیت روی را برای جذب توسط سلول‌های اپیدرمی ریشه افزایش می‌دهد، و دیگری شامل خروج فیتوسیدروفورها و ایجاد کمپلکس‌های پایدار با Zn^{2+} است (Wang et al. 2019). سپس به بافت‌های دیگر مانند آوند چوبی، برگ‌ها و دانه‌ها منتقل می‌شود. در طی این فرآیند، پروتئین‌های متعددی دخیل هستند که به گیاه اجازه می‌دهند نه تنها روی را جذب و توزیع کند، بلکه روی اضافی را از طریق واکوئل‌ها حذف و هموستازی روی را تقویت کند (Sinclair and Krämer 2012). در مطالعه‌ای در گیاه گندم تحت تنش کمبود روی گزارش شد که بیان هماهنگ ژن‌های کدکننده خانواده ZIP در بافت‌ها برای

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-21]

اطمینان از افزایش جذب روی و انتقال ریشه به ساقه ضروری است (Gong et al. 2022). عنصر روی یکی از اجزاء ساختاری بسیاری از فاکتورهای رونویسی است و تنها یون فلزی می‌باشد که در تمام شش کلاس آنزیمی حضور دارد لذا کمبود آن منجر به اختلال در فعالیت آنزیم‌ها، مهار فتوسنتز، تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و افزایش تجمع آهن و در نهایت کاهش عملکرد می‌شود (Gupta et al. 2016).

گیاه کتان (*Linum usitatissimum* L.) از خانواده Linaceae یکی از گیاهان صنعتی مهم در سراسر جهان است که کاربرد گسترده‌ای در صنایع غذایی، نساجی و دارویی دارد. این گیاه در نواحی زیادی از جهان با خاک‌هایی با ویژگی‌های مختلف در مقیاس وسیع کشت می‌شود (Jhala and Hall 2010). محیط‌های نامساعد مانند pH نامناسب خاک دارای کمبود یا سمیت عناصر غذایی منجر به کاهش کمیت و کیفیت کتان می‌شود (Rozhmina et al. 2017). بنابراین ضروری است که برای بهبود کلتیوارها، ژن‌های پاسخگو به تنش‌های چندگانه شناسایی شوند. توالی‌یابی با توان بالا برای مطالعه پاسخ کتان به تنش‌های مختلف مورد استفاده قرار گرفته است اما در بیشتر مطالعات پاسخ به یک نوع تنش بررسی شده و مطالعات کمی در مورد تنش‌های چندگانه به‌ویژه در راستای بررسی میزان تحمل ژنوتیپ مورد نظر به تنش در دسترس است (Dmitriev et al. 2019). برای مثال، تغییرات بیان ژن در چهار ژنوتیپ کتان با تحمل متفاوت در مواجه با تنش کوتاه مدت سمیت آلومینیوم با استفاده از توالی‌یابی RNA-Seq بررسی شد. نتایج نشان داد که فاکتورهای رونویسی NAC همراه با MADS-box، رشد و نمو گیاه را تنظیم می‌کنند و با دخالت در تغییر دیواره سلولی منجر به تحمل آلومینیوم می‌شوند (Krasnov et al. 2019). نقش UDP–گلیکوزیل ترانسفرازها، گلوتاتیون S–ترانسفرازها و Ca2+/H+-changer CAX3 در تحمل کتان به آلومینیوم اثبات شده است (Dmitriev et al. 2016; Zyablitsin et al. 2018). *miR319*، *miR390* و *miR393* نیز از طریق تنظیم فرآیندهای رشد در پاسخ آلومینیوم شرکت می‌کنند (Dmitriev et al. 2017). در مطالعه‌ای دیگر پروفایل ترانسکریپتوم کتان در واکنش به افزایش سطح pH و کمبود روی در دو رقم کتان با تحمل متفاوت بررسی شد. ژن‌هایی با تغییرات بیانی شناسایی شده که در فرآیندهای متنوعی از جمله انتقال یون، زیست‌زایی دیواره سلولی و فتوسنتز نقش داشتند. علاوه بر این، ژن‌هایی با تغییرات بیان معنی‌دار بین ژنوتیپ‌های متحمل و حساس کشف شد (Dmitriev et al. 2019). با این حال شناخت مکانیسم‌های پاسخ کتان به تنش‌ها و شناسایی نامزدهای ژن مقاومت نیاز به مطالعه بیشتری دارد. در مطالعه حاضر، با استفاده از داده‌های RNA-Seq به‌دست آمده از ریشه گیاه کتان تحت تنش pH نامناسب، کمبود روی و سمیت آلومینیوم به بررسی ژن‌های با بیان متفاوت به‌منظور شناسایی تغییرات پاسخگو به تنش پرداخته شد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه از داده‌های RNA-Seq مربوط به ۱۲ نمونه از ریشه کتان زراعی تحت تیمار کمبود روی با طول خوانش ۷۹ نوکلئوتید و میانگین مقدار ۱/۴ گیگا باز برای هر نمونه و ۱۶ نمونه تحت سمیت آلومینیوم با طول خوانش ۲۰۲ نوکلئوتید و میانگین مقدار ۴ گیگا باز برای هر نمونه استفاده شد (جدول ۱).

جدول ۱- اطلاعات مربوط به کلتیوارهای مقاوم و حساس تحت تنش سمیت آلومینیوم و کمبود روی و نتایج حاصل از هم‌ردیفی با ژنوم کتان زراعی

نوع تنش	نام نمونه‌ها	کلتیوار	بافت نمونه	تعداد کل خوانش‌های خام	تعداد کل خوانش‌ها بعد از کنترل کیفی	میانگین هم‌ردیفی با ژنوم (درصد)
کمبود روی PRJNA497472	کلتیوار مقاوم (pH=۷/۵)	Norlin	ریشه	۲۲۰۱۰۷۶۰۱	۲۱۹۷۲۴۶۸۵	۹۴/۹۶
	کلتیوار حساس(pH=۵/۵)	Mogilevsky	ریشه	۲۱۴۴۹۵۷۴۶	۲۱۴۱۷۲۹۹۴	۹۴/۶۹
سمیت آلومینیوم PRJNA343117	کلتیوار مقاوم (pH=۴/۵)	Hermes	ریشه	۱۰۸۹۱۳۹۵۲	۱۰۷۲۸۶۷۷۶	۹۳/۰۷
		TMP1919		۱۱۱۲۸۳۸۵۸	۱۰۷۰۱۵۷۷۰	۹۱/۶۵
	کلتیوار حساس (pH=۴/۵)	Orshanskiy	ریشه	۱۱۱۳۵۳۵۴۰	۱۱۰۰۵۳۴۹۴	۹۳/۷۶
		Lira	ریشه	۱۰۹۲۸۴۷۴۱	۱۰۷۶۴۷۶۳۲	۹۲//۱۳

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-21]

نمونه‌های تحت کمبود روی شامل کلتیوار حساس Mogilevsky و کلتیوار مقاوم Norlin و نمونه‌های تحت سمیت آلومینیوم شامل دو کلتیوار حساس Orshanskiy و Lira و دو کلتیوار مقاوم Hermes و TMP1919 بودند. داده‌های مربوطه از بانک اطلاعاتی مرکز ملی اطلاعات بیوتکنولوژی (NCBI)، بخش GEO دریافت شد. کیفیت خوانش‌ها با استفاده از نرم‌افزار FASTQC کنترل شد. خوانش‌های دارای آلودگی‌های آداپتوری و خوانش‌های با کیفیت کمتر از ۳۰ توسط Trimmomatic ویرایش شدند (Bolger et al. 2014). سپس هم‌ردیفی خوانش‌ها با ژنوم مرجع *L. usitatissimum* و فایل‌هایی حاشیه‌نویسی شده GTF (https://phytozome.jgi.doe.gov/pz/portal.html#!info?alias=Org_Lusitatissimum) با استفاده از HISAT ورژن 2.2.1 و HTSeq-count ورژن 0.12.4 صورت گرفت (Anders et al. 2015; Pertea et al. 2016).

به این منظور ماتریس بیان ژن هر کلتیوار در مقایسه با نمونه کنترل از همان کلتیوار مورد بررسی قرار گرفت. شناسایی ژن‌های با بیان متفاوت با استفاده از بسته DESeq2 نرم‌افزار R بر اساس مدلی مبتنی بر توزیع دوجمله‌ای منفی انجام شد. در این آنالیز ژن‌های با مقادیر $P<0.05$ که با روش FDR تصحیح شده بودند جداسازی شد (Love et al. 2014).

پس از شناسایی ژن‌های با بیان متفاوت، بهترین شناسه‌های متناظر TAIR با استفاده از حاشیه‌نویسی از پایگاه داده کتان به‌دست آمد. سپس، نمودار Venn برای شناسایی شناسه‌های TAIR مشترک متناظر با ژن‌های با بیان متفاوت در کلتیوارهای مقاوم و حساس تحت هر دو تنش با استفاده از Venny ورژن 2.1.0 رسم شد. ژن‌های مشترک با بیان متفاوت حاصل برای آنالیزهای بعدی مورد استفاده قرار گرفت.

به‌منظور بررسی GO و تعیین ویژگی‌های عملکردی ژن‌های مشترک با بیان متفاوت معنی‌دار در کلتیوارهای مقاوم و حساس از AgriGO و David استفاده شد (Du et al. 2010). GOهای شناسایی شده در سه گروه عملکردهای مولکولی، فرآیندهای بیولوژیکی و اجزای سلولی قرار گرفتند. سپس برای فرآیندهای بیولوژیکی مشترک نمودار ستونی رسم شد. مستندسازی مسیرهای مشترک نیز با استفاده از پایگاه KEGG به‌دست آمد و مسیرهای با مقادیر $P<0.05$ که با روش FDR تصحیح شده بودند به‌عنوان معنی‌دار در نظر گرفته شد.

شبکه ژنی

برای بررسی برهم‌کنش‌های پروتئین- پروتئین، ژن‌های مشترک به پایگاه String ارائه شدند. سپس برای شناسایی ژن‌های هاب (پنج گره با بیشترین برهمکنش) از نرم‌افزار Cytoscape گزینه Cytohubba براساس الگوریتم محاسباتی MNC استفاده شد (Smoot et al. 2011).

نتایج

از تمام سمپل‌ها تعداد ۸۷۵۴۳۹۴۳۸ خوانش خام به‌دست آمد که بین ۲۲/۴۵ تا ۴۱/۷ میلیون متغیر بود. در فرآیند پیرایش اگر کیفیت نوکلئوتید یا خوانشی کمتر از ۳۰ بود یا آلودگی آداپتوری داشت، آن خوانش حذف شد. برای داده‌های مورد استفاده به‌طور میانگین کمتر از یک درصد آن‌ها در طی فرآیند پیرایش حذف شد که نشان دهنده کیفیت بسیار مناسب داده‌ها بود. تعداد کل خوانش‌های با کیفیت (Q>30) پس از ویرایش برای کلتیوارهای Norlin، Mogilevsky، Hermes، TMP1919، Orshanskiy و Lira به‌ترتیب ۲۱۹۷۲۴۶۸۵، ۲۱۴۱۷۲۹۹۴، ۱۰۷۲۸۶۷۷۶، ۱۰۷۰۱۵۷۷۰، ۱۱۰۰۵۳۴۹۴ و ۱۰۷۶۴۷۶۳۲ برآورد شد. بیشترین تعداد کل خوانش‌ها برای کلتیوار Norlin تحت تیمار کمبود روی و کمترین تعداد کل خوانش‌ها برای کلتیوار TMP1919 تحت تیمار سمیت آلومینیوم بود. خوانش‌ها با میانگین ۹۳/۴ درصد با ژنوم مرجع کتان به‌طور اختصاصی هم‌ردیف شدند (جدول ۱).

ارزیابی ژن‌های با بیان متفاوت

جهت شناسایی ژن‌هایی که به‌طور معنی‌دار در کلتیوارهای مقاوم و حساس کتان نسبت به کنترل میزان بیان آن‌ها تغییرکرده است، آنالیز تفاوت بیان ژن به‌صورت جداگانه در هر آزمایش بررسی شد. نتایج نشان داد که تعداد کل ژن‌های با بیان متفاوت (DEGs) بین ۲۱ تا ۳۵۲۶ متغیر بود که به نوع کلتیوار و نوع تیمار مورد استفاده وابسته بود. بیشترین تعداد DEGها برای کلتیوار حساس Mogilevsky تحت تنش کمبود روی و کمترین DEGها متعلق به کلتیوار مقاوم TMP1919 تحت تنش سمیت آلومینیوم مشاهده شد. تعداد

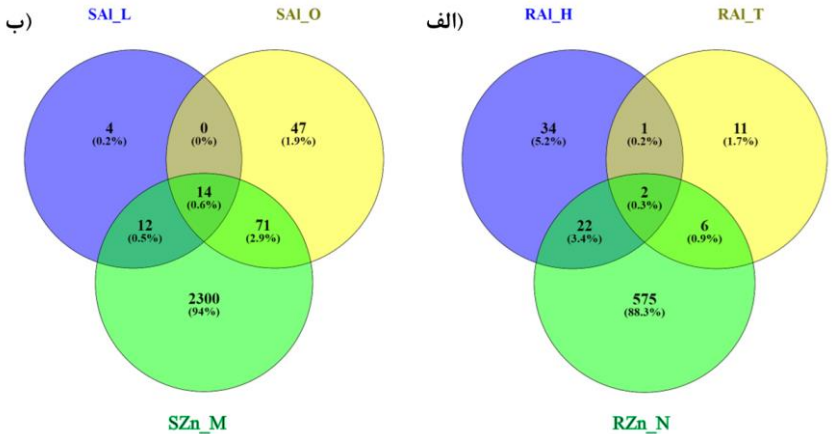
[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-21]

DEGهای با بیان پایین در تمام کلتیوارها به‌جز Hermes بیشتر از تعداد DEGهای با بیان بالا بود (شکل ۱).

به‌منظور شناسایی هسته مشترک پاسخ به تنش سمیت آلومینیوم و کمبود روی، ارتولگ‌های DEGهای کتان با آرابیدوپسیس همردیف شدند. سپس نمودار Venn بین کلیتوارهای حساس و مقاوم به‌صورت جداگانه رسم شد (شکل ۲). نتایج نشان داد که در مجموع بین دو کلتیوار مقاوم به آلومینیوم و یک کلتیوار مقاوم به کمبود روی ۳۰ ژن مشترک وجود دارد که کلتیوار Norlin در ۲۴ ژن با کلتیوار Hermes و در ۸ ژن با کلتیوار TMP1919 مشترک است. بین هر سه این کلتیوارها فقط ۲ ژن کاملاً مشترک بودند و سایر ژن‌ها به‌طور اختصاصی به تنش پاسخ دادند (شکل ۲، الف). در بین ژن‌های مشترک کلتیوارهای مقاوم بیش‌ترین افزایش بیان با مقدار ۲/۷۷ برابر برای ژن *CYP76C4* و کاهش بیان با مقدار ۳/۲۳- برابر برای ژن *AT2G47710* مشاهده شد (جدول ۲). در حالی‌که تعداد ژن‌های مشترک بین دو کلتیوار حساس به آلومینیوم و یک کلتیوار حساس به کمبود روی بیشتر بود. به‌طوری که که از ۹۷ ژن مشترک، ۸۵ ژن بین کلتیوار Mogilevsky با کلتیوار Orshanskiy و ۲۶ ژن با کلتیوار Lira برآورد شد. بین هر سه کلتیوار حساس ۱۴ ژن مشترک به‌طور معنی دار تفاوت بیان نشان دادند و سایر ژن‌ها به‌طور اختصاصی به تنش پاسخ دادند (شکل ۲، ب). در بین ژن‌های مشترک کلتیوارهای حساس اکثر ژن‌ها بیان منفی نشان دادند، بیش‌ترین افزایش بیان با مقدار ۲/۳۳ برای ژن *AT5G10130* و کاهش بیان با مقدار ۲۱/۴۷- برای ژن *AT1G52820* مشاهده شد (جدول ۳).



شکل ۱- تعداد ژن‌های با تفاوت بیان معنی‌دار شناسایی شده تحت شرایط کمبود روی و سمیت آلومینیوم در کلتیوارهای مقاوم و حساس کتان زراعی



شکل ۲- نمودار ون دیاگرام الف) کلتیوارهای مقاوم؛ ب) کلتیوارهای حساس

SAl-L: کلتیوارحساس Lira سمیت آلومینیوم؛ SAl-O: کلتیوارحساس Orshanskiy سمیت آلومینیوم؛ SZn-M: کلتیوارحساس Mogilevsky کمبود روی؛ RAl-H: کلتیوار مقاوم Hermes سمیت آلومینیوم؛ RAl-T: کلتیوار مقاوم TMP1919 سمیت آلومینیوم؛ RZn-N: کلتیوار مقاوم Norlin کمبود روی

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-21]

جدول ۳- لیست ژن‌هایی مشترک با بیشترین افزایش و کاهش بیان در کلتیوارهای حساس کتان زراعی تحت تنش کمبود روی و سمیت آلومینیوم

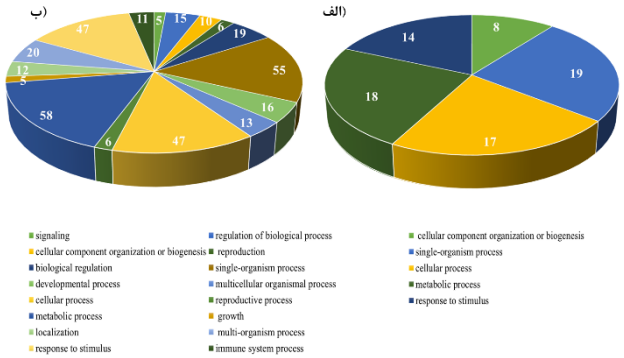
	نام ژن	عملکرد	Log2FoldChange	
			سمیت آلومینیوم	کمبود روی
Up	AT1G11340	G-type lectin S-receptor-like serine/threonine-protein kinase RKS1	۲/۰۸	۰/۹
	AT5G10130	Protein DOWNSTREAM OF FLC	۲/۳۳	۰/۵
	LCR68	Defensin-like protein 1	۲	۱/۱۵
	AT3G08030	F17A17.37 protein	۱/۵۸	۲/۱۹
	HKT1	Sodium transporter HKT1	۱/۵۲	۱/۲۲
	AT5G60520	At5g60520	۱/۳۷	۰/۶۴
	XTH5	Xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase	۱/۲۴	۱/۰۱
	BGAL5	Beta-galactosidase 5	۱/۰۸	۰/۷
Down	AT1G52820	2-oxoglutarate (2OG) and Fe(II)-dependent oxygenase superfamily protein	-۲۱/۴۷	-۲/۱
	AT1G17860	Kunitz trypsin inhibitor 2	-۹/۴۷	-۲/۸۹
	AT4G35160	Acetylserotonin O-methyltransferase	-۸/۷۴	-۰/۵۷
	PA2	Peroxidase 53	-۷/۱۷	-۳/۷۳
	BGLU17	beta glucosidase 17	-۷/۱۶	-۲/۹۸
	BG1	Probable glucan endo-1,3-beta-glucosidase BG1	-۶/۵۳	-۷/۳۷
	EXLB1	Expansin-like protein	-۵/۰۳۵	-۴/۸۸
	ChiC	Class V chitinase	-۴/۶۶	-۶/۲۳
	SHT	Spermidine hydroxycinnamoyl transferase	-۳/۸۳	-۶/۷۱
	PR4	Hevein-like preproprotein	-۳/۲۵	-۶/۱۳

هستی‌شناسی ژن‌های مشترک

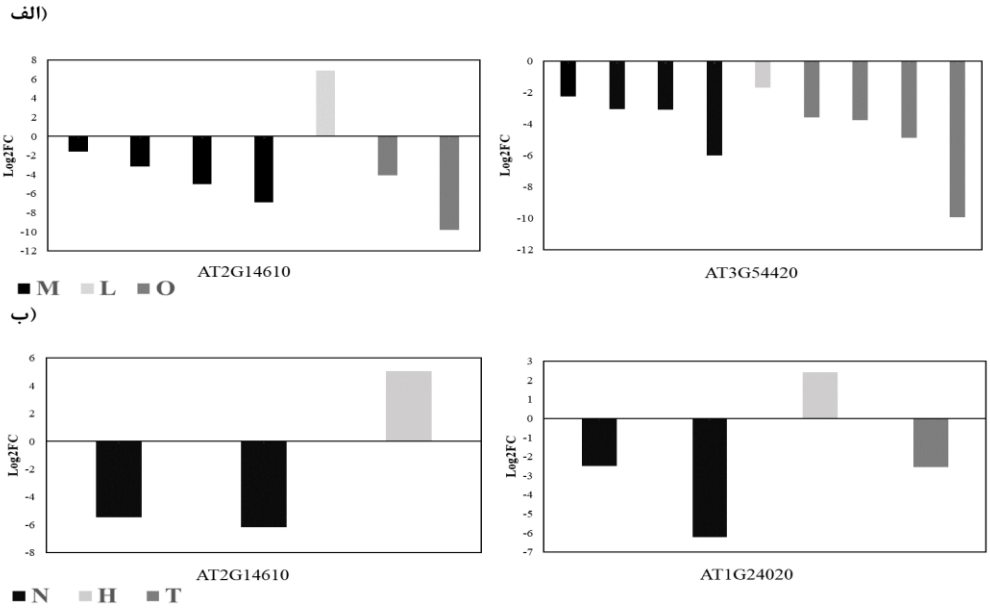
پس از یافتن ژن‌های مشترک، ارزیابی GO آن‌ها براساس فرآیندهای زیستی انجام شد. در طبقه‌بندی فرآیندهای زیستی، فرآیندهای زیستی اختصاصی کتان، فرآیندهای متابولیکی و فرآیندهای سلولی دارای بیشترین ژن‌ها به‌ترتیب ۱۹، ۱۸و ۱۷ در کلتیوار مقاوم و ۵۸، ۵۵ و ۵۷ در کلتیوار حساس بودند که نشان‌دهنده وضعیت فعال متابولیکی سلول بود (شکل ۳). علاوه بر این، GO پاسخ به محرک‌ها در کلتیوارهای حساس به تنش با ۴۷ ژن و در کلتیوارهای مقاوم با ۱۴ ژن پس از GOهای فوق بالاترین مقدار را نشان داد که به‌دلیل واکنش گیاهان در پاسخ به محرک‌ها است. در کلتیوارهای حساس ژن‌ها در سایر GOها در گروه‌های مرتبط با سیگنالینگ، فرآیندهای نموی و تولیدمثل طبقه‌بندی شدند که حاکی از مکانیسم کاهش آسیب کلتیوارها در مواجه با تنش و برنامه‌ریزی سلول به‌سمت فاز زایشی می‌باشد.

پاسخ به محرک‌ها در کلتیوارهای مقاوم شامل پاسخ به تنش‌ها، پاسخ‌های دفاعی، پاسخ به محرک‌های غیرزیستی و پاسخ به مواد شیمیایی بود. فعالیت پراکسیدازها در کلتیوارهای حساس کاهش یافت درحالی‌که در کلتیوارهای مقاوم افزایش یافت. در GO پاسخ به محرک‌ها بین سه کلتیوار مقاوم، ژن AT2G14610 بیشترین تغییر بیان را نسبت به کنترل نشان داد (شکل ۴). این ژن یک نوع PR1 است که در پاسخ به محرک‌ها به‌ویژه عوامل بیماری‌زا دخالت دارد. بیان ژن PR1 در کلتیوار مقاوم Hermes تحت سمیت آلومینیوم، ۵ برابر افزایش یافت در حالی‌که میزان بیان آن در کلتیوار مقاوم Norlin تحت تنش کمبود روی به میزان ۵/۸ برابر کاهش یافت (شکل ۴، ب).

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-21]



شکل ۳- هستی‌شناسی فرآیندهای بیولوژیکی ژن‌های همپوشان کتان زراعی تحت تنش کمبود روی و سمیت آلومینیوم. الف) هستی‌شناسی ژن‌های مشترک بین کلتیوارهای مقاوم، ب) هستی‌شناسی ژن‌های مشترک بین کلتیوارهای حساس.



شکل ۴- نمودار بیشینه و کمینه تغییرات بیان مرتبط با ژن‌های قرار گرفته در طبقه GO پاسخگو به محرک‌ها: الف) کلتیوارهای حساس، ب) کلتیوارهای مقاوم. L: کلتیوارحساس Lira؛ O: کلتیوار حساس Orshanskiy؛ M: کلتیوار حساس Mogilevsky؛ H: کلتیوار Hermes؛T: کلتیوار TMP1919 ؛ N: کلتیوار Norlin

جالب توجه اینکه بین سه کلتیوار حساس نیز ژن PR1 بیشترین میزان بیان را در کلتیوار Lira با مقدار ۶/۹ برابر نشان داد و در دو کلتیوار حساس دیگر میزان بیان به شدت کاهش یافت به‌طوری که میزان بیان یکی از ایزوفرم‌های این ژن در کلتیوار حساس Orshanskiy تحت سمیت آلومینیوم ۹/۸- به‌دست آمد (شکل ۴، الف). همچنین، ژن AT3G54420 در کلتیوار حساس Orshanskiy تحت سمیت آلومینیوم کاهش ۱۰ برابری را داشت (شکل ۴، الف). این ژن نوعی کیتیناز EP3 هست که در اندام‌ها مختلف به‌ویژه ریشه‌ها قرار دارد و نقش مهمی در حفاظت گیاهان در برابر انواع تنش‌ها به‌ویژه حمله پاتوژن‌های قارچی ایفا می‌کند. بیشترین کاهش بیان در کلتیوار مقاوم در ژن AT1G24020 با مقدار ۶/۲- برای Norlin تحت تنش کمبود روی به‌دست آمد (شکل ۴، ب). این ژن تحت تنش سمیت آلومینیوم رفتار متفاوتی را در دو کلتیوار مقاوم نشان داد به‌طوری که در کلتیوار TMP1919 همسو با کلتیوار Norlin مقدار بیان کاهش یافت اما در کلتیوار Hermes مقدار بیان آن افزایش معنی‌داری داشت. AT1G24020 با نام دیگر MLP-like protein 423، در پاسخ دفاعی و مسیر سیگنالینگ فعال شده توسط اسید آبسیزیک درگیر می‌باشد.

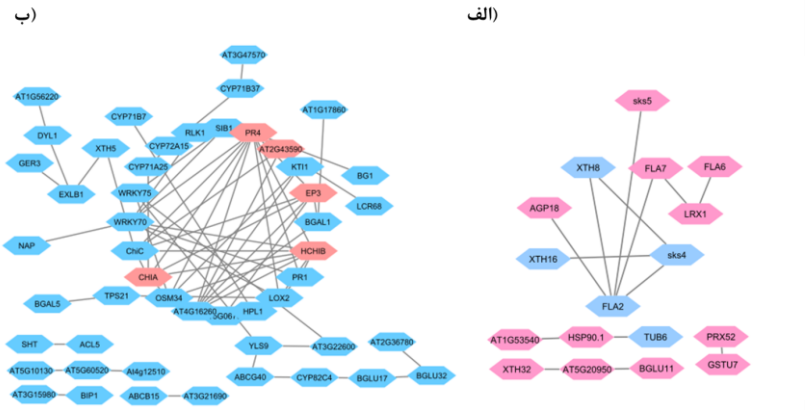
به‌منظور فهم بهتر برهمکنش‌های بین پروتئین‌های متناظر با ژن‌های هسته مشترک پاسخ به تنش‌ها، دو شبکه پروتئین-پروتئین به‌صورت

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-21]

مجزا در کلتیوارهای مقاوم و حساس بر اساس MNC در Cytoscape رسم شد (شکل ۵). در بین کلتیوارهای حساس ژن‌های PR4، AT2G3590، EP3، HCHIB و CHIA بیشترین برهمکنش را با سایر ژن‌ها نشان دادند. ژن EP3 علاوه بر اینکه با سایر ژن‌های هسته مشترک پاسخ به تنش‌ها با درجه بالایی برهمکنش می‌دهد، بیشترین کاهش بیان را داشت و به شدت تحت تاثیر تنش سمیت آلومینیوم قرار گرفت. ژن‌های هسته مشترک پاسخ به تنش‌ها در کلتیوارهای مقاوم برهمکنش‌های اولیه کمتری را بروز دادند و ۵۶/۶ درصد از ژن‌ها گره‌های ناپیوسته بودند که در شکل ۵ الف نمایش داده نشده است.

آنالیز مسیر ژن‌های مشترک

بررسی مسیرهای KEGG برای ژن‌های مشترک کتان تحت هر دو تنش دلالت بر معنی‌داری ۳ مسیر براساس FDR≤0.05 و ۸ مسیر براساس Pvalue≤0.05 داشت که ۳ مسیر مرتبط با کلتیوار مقاوم و ۵ مسیر مرتبط با کلتیوار حساس بود. در بین این مسیرها ژن‌های مرتبط با بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه و بیوسنتز فنیل پروپانوئیدها که مختص این نوع گونه گیاهی است و در پاسخ به شرایط نامساعد محیطی نقش مهمی دارند، بیشترین تأثیر را داشتند (جدول ۴).



شکل ۵- شبکه برهمکنش‌های پروتئین-پروتئین بین ژن‌های همپوشان کلتیوارهای مقاوم و حساس کتان زراعی تحت تنش کمبود روی و سمیت آلومینیوم؛ الف) شبکه برهمکنش ژن‌های همپوشان بین کلتیوارهای مقاوم، ب) شبکه برهمکنش ژن‌های همپوشان بین کلتیوارهای حساس. بین هر دو رقم حساس و مقاوم شبکه‌ای متصل ایجاد نشد.

جدول ۴- طبقه‌بندی مسیرهای KEGG برای ژن‌های مشترک کتان زراعی تحت تنش کمبود روی و سمیت آلومینیوم نسبت به نمونه کنترل

کلتیوار	کد شناسایی KEGG	نام مسیر	تعداد ژن	P-value	FDR
مقاوم	ath00999	بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه گیاهان مختلف	۴	4.87E-04	0.0093
	ath01110	بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه	۹	0.005497878	0.0522
	ath00940	بیوسنتز فنیل پروپانوئیدها	۳	0.040385377	0.2558
حساس	ath01110	بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه	۱۷	2.70E-04	0.0095
	ath00940	بیوسنتز فنیل پروپانوئیدها	۵	0.004788491	0.064
	ath00520	متابولیسم قند آمینه و قند نوکلئوتیدی	۵	0.00548769	0.064
	ath00999	بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه گیاهان مختلف	۳	0.047191687	0.3394
	ath01100	مسیرهای متابولیکی	۱۹	0.048479866	0.3394

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-21]

بحث و نتیجه‌گیری کلی

pH خاک یکی از عوامل ضروری در جذب مواد مغذی است. زمانی‌که pH خاک نامناسب باشد اولین جایی که تنش را تجربه می‌کند، ریشه است. در ریشه عدم تعادل جذب مواد مغذی رخ می‌دهد که سبب مهار رشد، تغییر ارتفاع، حجم فیبر و عملکرد گیاه در هر دو کلتیوار مقاوم و حساس می‌شود (Kishlyan and TA 2010). در تحقیق حاضر، هسته مشترک پاسخ به تنش‌های pH نامناسب و عدم تعادل آلومینیوم و روی در ریشه کلتیوارهای مقاوم و حساس با استفاده از داده‌های RNA-Seq مطالعه شد. در این مطالعه تعداد DEGها در رقم مقاوم نوسان داشت اما در مجموع تعداد DEGها برای کلتیوارهای حساس بیشتر از کلتیوارهای مقاوم بود که نشان می‌دهد فعالیت متابولیک سلولی در رقم حساس نسبت به رقم مقاوم فعال‌تر است. در مطالعه آلودگی غلاف برگ برنج با *Rhizoctonia solani*، تعداد DEGها در غلاف برگ تلقیح‌شده ارقام مقاوم و حساس الگوی تنظیمی متفاوتی را نشان داد. با این وجود تعداد DEGها در رقم حساس همیشه بیشتر از رقم مقاوم بود (Yang et al. 2022). در پژوهشی دیگر بر روی گیاه یونجه آلوده با تریپس گزارش شد که تعداد DEGهای یافت شده در رقم حساس حدود دو برابر تعداد DEGها در رقم مقاوم بود. با این حال ژن‌های پاسخگو به تنش مرتبط با آلودگی به پاتوژن در رقم مقاوم یونجه بیشتر از رقم حساس بود، زیرا رقم مقاوم با تولید اسیدهای چرب می‌تواند پاسخ ایمنی اختصاصی را ایجاد کند (Tu et al. 2018).

در این مطالعه ۳۰ و ۹۷ ژن مشترک به‌ترتیب برای کلتیوارهای مقاوم و حساس تحت تنش سمیت آلومینیوم و کمبود روی به‌دست آمد که چهار ژن مشترک بین رقم حساس و مقاوم بود. سپس ارزیابی GO آن‌ها بر اساس فرآیندهای زیستی انجام شد. نتایج طبقه‌بندی GO نشان داد که فرآیندهای زیستی اختصاصی کتان، فرآیندهای متابولیکی و فرآیندهای سلولی بیشترین تعداد ژن‌ها را داشتند که حاکی از وضعیت فعال متابولیکی سلول است. GOهای مرتبط با پاسخ به محرک‌ها نیز دارای بیشترین ژن‌های با تغییرات بیان معنی‌دار بودند. در این مطالعه، پاسخ به محرک‌ها در کلتیوارهای مقاوم شامل پاسخ به تنش‌ها، پاسخ‌های دفاعی، پاسخ به محرک‌های غیرزیستی و پاسخ به مواد شیمیایی می‌باشد (شکل ۳). در مطالعه گذشته بر روی تنش آلومینیوم در کتان، GOهای مرتبط با متابولیسم گلوتاتیون، اکسیدوردوکتاز و فعالیت انتقال دهنده‌های غشاء بیشترین تأثیر را از استرس داشتند (Krasnov et al. 2019). در برخی موارد، روندهای مشابهی در تغییرات بیان کلیتوارهای کتان مورد بررسی تحت تنش‌های مورد مطالعه مشاهده شد (Krasnov et al. 2019). در تحقیق ما به‌طور کلی فعالیت پراکسیدازها در کلتیوارهای حساس کاهش یافت در حالی‌که در کلتیوارهای مقاوم افزایش یافت. پراکسیدازها در مکانیسم سم‌زدایی گونه‌های فعال اکسیژن‌ها دخالت دارند و نقش آن‌ها در تحمل به تنش‌ها به‌خوبی شناخته شده است (Bela et al. 2015; Pandey et al. 2017). آن‌ها با بیان بالای ژن‌های کدکننده خود در برخی گونه‌های گیاهی موجب تحمل به تنش اکسیداتیو ثانویه ناشی از شرایط نامساعد محیطی می‌شوند (Daspute et al. 2017). بیان بیش از حد آرابیدوپسیس پراکسیداز در گیاهان تنباکو باعث بهبود تحمل آن‌ها به تنش آلومینیوم شد (Wu et al. 2017). در شرایط تنش کمبود روی در pH=7.5 بیان بالای ژن‌هایی کدکننده پراکسیدازها در هر دو کلتیوار مقاوم و حساس شناسایی شد (Dmitriev et al. 2019). در گیاه کتان تحت تنش سمیت آلومینیوم ژن‌های کد کننده پراکسیداز ۵ در هر دو ژنوتیپ کاهش یافت اما میزان کاهش آن در کلتیوار متحمل ۸ برابر بیشتر بود (Krasnov et al. 2019). پروفایل بیان ژن‌ها در GOها با میزان تحمل به آلومینیوم ارتباط نداشت برای مثال فعالیت اکسیدوردوکتازها در کلتیوار TMP1919/ Lira و Hermes/ Orshanskiy به‌ترتیب مقاوم/ حساس مشابهت بیشتری باهم داشتند (Krasnov et al. 2019).

بیشترین تغییر بیان ژن در هر دو هسته مشترک ژن‌های پاسخگو به تنش بین کلتیوارهای مقاوم و حساس مربوط به ژن PR1 مشاهده شد. ایزوفرم‌های مختلف PR1 الگوهای بیانی متفاوتی را نشان داند به‌طوری که در کلتیوار مقاوم Hermes و کلتیوار حساس Lira تحت سمیت آلومینیوم میزان بیان آن به شدت افزایش یافت در حالی‌که در چهار کلتیوار دیگر به شدت کاهش یافت. خانواده ژن PR به‌طور گسترده‌ای به‌عنوان نشانگرهای مولکولی در پاسخ‌های دفاعی گیاه شناخته شده است (Liu et al. 2013). بیان این ژن در پاسخ به

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-21]

محرک‌ها به‌ویژه عوامل بیماری‌زا به سرعت القا می‌شود (Mitsuhara et al. 2008). در یک مطالعه‌ای تحت تنش غیرزیستی خشکی بیان PR1 افزایش یافت، به‌طوری‌که منجر به افزایش تحمل به تنش خشکی نسبت به گیاهان کنترل شد (Liu et al. 2022). بیشترین کاهش بیان در کلتیوار مقاوم در ژن MLP-like protein 423 برای Norlin تحت تنش کمبود روی مشاهده شد در حالی‌که بیان این ژن در Hermes افزایش یافت. بیان خانواده ژن MLP در بافت‌های مختلف به‌طور قابل توجهی متفاوت است و در پاسخ دفاعی و مسیر سیگنالینگ فعال شده توسط ABA درگیر می‌باشد (Singh et al. 2022). درگیاه تنباکو NtMLP 423 تحمل به خشکی را با افزایش سطوح ABA تنظیم نمود. همچنین، بیان بیش از حد NtMLP423 آسیب به غشاء و تجمع ROS را کاهش داد و بیان ژن‌های مرتبط با استرس را نیز افزایش داد (Liu et al. 2020). در مطالعه‌ای بیان بیش از حد GhMLP منجر به افزایش محتوای فلاونوئید آرابیدوپسیس شد در نتیجه تحمل به تنش شوری را بهبود بخشید (Chen and Dai 2010) همچنین در تحقیق حاضر در کلتیوار حساس Orshanskiy، بیان ژن EP3 تحت سمیت آلومینیوم کاهش ۱۰ برابری را داشت. این ژن نوعی کیتیناز است که مانند PR1 در پاسخ دفاعی به تنش‌ها به‌ویژه حمله عوامل بیماری‌زا نقش دارد (Boba et al. 2021). در شبکه برهمکنش پروتئین-پروتئین ژن‌های مشترک کلتیوارهای حساس نیز نشان داده شد که ژن EP3 به‌همراه سه نوع کیتیناز دیگر CHIA، HCHIB و AT2G43590 و ژن PR4 بیشترین ارتباط را با سایر پروتئین‌ها دارد و نقش مهمی در سیستم دفاعی کتان در هر دو تنش ایفا می‌کنند که در سایر گیاهان نیز نقش دفاعی آن‌ها به‌خوبی شناخته شده است (RAWAT et al. 2015). در حالی‌که در کلتیوارهای مقاوم استراتژی مقاومت متفاوت بود و بیان ژن‌های تغییر دهنده دیواره سلولی از جمله XTH8 و XTH16، و ژن‌های FLA2، sks4 و TUB6 بیشترین ارتباط را با سایر پروتئین‌ها داشتند و در پاسخ به تنش‌ها دخالت دارند (Reim et al. 2022).

آنالیز مسیرهای KEGG برای ژن‌های مشترک کتان تحت هر دو تنش نشان داد که در بین این مسیرها ژن‌های مرتبط با بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه و بیوسنتز فنیل پروپانوئیدها در پاسخ به شرایط نامساعد محیطی نقش مهمی دارند. در کلتیوارهای حساس مسیرهای دیگر هم تغییر بیان معنی‌داری نشان دادند. این حالت نشان می‌دهد که گیاه برای حفظ حالت پایدار خود در پاسخ به محرک‌ها انرژی بیشتری را مصرف می‌کند در حالی‌که در کلتیوارهای مقاوم به‌طور اختصاصی‌تر مسیرهای متابولیت‌های ثانویه تغییر کردند. به‌طور کلی تحقیقات روی ژن‌های مقاومت و مسیرهای مرتبط نشان داده است که مکانیسم تحمل یک صفت پیچیده است که توسط ژن‌های متعدد و مسیرهای مختلف کنترل می‌شود (Liu et al. 2022). بنابراین انتخاب دقیق استراتژی تنظیم بیان ژن در طول تنش‌های چندگانه تحت تأثیر عواملی مانند شدت تنش، دوره زمانی تنش، سن گیاه و ژنوتیپ متحمل یا حساس به هر یک از تنش‌های فردی می‌باشد (Rivero et al. 2022). در این تحقیق، تعدادی از ژن‌های کاندید را برای مطالعه برای بهبود تحمل به تنش کتان و در نتیجه بهبود عملکرد در شرایط تنش‌های موجود در خاک و عدم تعادل مواد مغذی ارائه کردیم که می‌تواند برای برنامه‌های اصلاحی و مهندسی ژنتیک مورد استفاده قرار گیرد.

منابع

Anders S, Pyl PT, Huber W (2015) HTSeq-a Python framework to work with high-throughput sequencing data. bioinformatics 31:166-169.

Bela K, Horváth E, Gallé Á, Szabados L, Tari I, Csiszár J (2015) Plant glutathione peroxidases: emerging role of the antioxidant enzymes in plant development and stress responses. Journal of Plant Physiology 176:192-201

Boba A, Kostyn K, Kozak B, Zalewski I, Szopa J, Kulma A (2021) Transcriptomic profiling of susceptible and resistant flax seedlings after *Fusarium oxysporum* lini infection. PLoS One 16:e0246052.

Bolger, A.M., Lohse, M., Usadel, B., 2014. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. Bioinformatics 30:2114-2120.

Chen J-Y, Dai X-F (2010) Cloning and characterization of the *Gossypium hirsutum* major latex protein gene and functional analysis in *Arabidopsis thaliana*. Planta 231:861-873.

Cohen SP, Leach JE (2019) Abiotic and biotic stresses induce a core transcriptome response in rice. Scientific Reports 9:1-11

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-21]

Daspute AA, Sadhukhan A, Tokizawa M, Kobayashi Y, Panda SK, Koyama H (2017) Transcriptional regulation of aluminum-tolerance genes in higher plants: clarifying the underlying molecular mechanisms. Frontiers in Plant Science 8:1358.

Dmitriev AA, Krasnov GS, Rozhmina TA, Kishlyan NV, Zyablitsin AV, Sadritdinova AF, Snezhkina AV, Fedorova MS, Yurkevich OY, Muravenko OV, et al (2016) Glutathione S-transferases and UDP-glycosyltransferases are involved in response to aluminum stress in flax. Frontiers in Plant Science 7:1920.

Dmitriev AA, Krasnov GS, Rozhmina TA, Zyablitsin A V., Snezhkina A V., Fedorova MS, Pushkova EN, Kezimana P, Novakovskiy RO, Povkhova L V., et al (2019) Flax (*Linum usitatissimum* L.) response to non-optimal soil acidity and zinc deficiency. BMC Plant Biology 19:5-15.

Dmitriev AA, Kudryavtseva A V, Bolsheva NL, Zyablitsin A V, Rozhmina TA, Kishlyan N V, Krasnov GS, Speranskaya AS, Krinitsina AA, Sadritdinova AF (2017) *miR319*, *miR390*, and *miR393* are involved in aluminum response in flax (*Linum usitatissimum* L.). BioMed research international. 2017.

Du Z, Zhou X, Ling Y, Zhang Z, Su Z (2010) agriGO: a GO analysis toolkit for the agricultural community. Nucleic Acids Research. 38, W64–W70.

Eekhout T, Larsen P, De Veylder L (2017) Modification of DNA checkpoints to confer aluminum tolerance. Trends in plant science 22:102-105

Gondal AH, Hussain I, Ijaz AB, Zafar A, Ch BI, Zafar H, Sohail MD, Niazi H, Touseef M, Khan AA (2021) Influence of soil pH and microbes on mineral solubility and plant nutrition: A review. International Journal of Agriculture and Biological Sciences 5:71-81.

Gong F, Qi T, Hu Y, Jin Y, Liu J, Wang W, He J, Tu B, Zhang T, Jiang B (2022) Genome-Wide Investigation and Functional Verification of the ZIP Family Transporters in Wild Emmer Wheat. International journal of molecular sciences 23:2866.

Gupta N, Ram H, Kumar B (2016) Mechanism of Zinc absorption in plants: uptake, transport, translocation and accumulation. Reviews in Environmental Science and Bio/Technology 15:89-109.

Jhala AJ, Hall LM (2010) Flax (*Linum usitatissimum* L.): Current uses and future applications. Australian Journal of Basic and Applied Sciences 4:4304-4312.

Khadem A, Golchin A, Mashhadi Jafarloo A, Zaree E, Naseri E (2015) Effect of Highly Acidified Soil on Soil Nutrient Availability and Corn (*Zea mays* L.) Growth. Applied Field Crops Research 28:1-7.

Kishlyan N V, TA R (2010) Ocenka genofonda lna kulturnogo (*Linum usitatissimum* L.) po kislotoustojchivosti. Agric Biol 1:96-103.

Krasnov GS, Dmitriev AA, Zyablitsin A V., Rozhmina TA, Zhuchenko AA, Kezimana P, Snezhkina A V., Fedorova MS, Novakovskiy RO, Pushkova EN, et al (2019) Aluminum responsive genes in flax (*Linum usitatissimum* L.). BioMed Research International 2019.

Liu H, Ma X, Liu S, Du B, Cheng N, Wang Y, Zhang Y (2020) The *Nicotiana tabacum* L. major latex protein-like protein 423 (*NtMLP423*) positively regulates drought tolerance by ABA-dependent pathway. BMC plant biology 20:1-14.

Liu J, Magalhaes JV, Shaff J, Kochian LV (2009) Aluminum-activated citrate and malate transporters from the MATE and ALMT families function independently to confer Arabidopsis aluminum tolerance. The Plant Journal 57:389-399.

Liu T, Chen T, Kan J, Yao Y, Guo D, Yang Y, Ling X, Wang J, Zhang B (2022) The *GhMYB36* transcription factor confers resistance to biotic and abiotic stress by enhancing PR1 gene expression in plants. Plant biotechnology journal 20:722-735.

Liu W-X, Zhang F-C, Zhang W-Z, Song L-F, Wu W-H, Chen Y-F (2013) Arabidopsis Di19 functions as a transcription factor and modulates PR1, PR2, and PR5 expression in response to drought stress. Molecular plant 6:1487-1502.

Love MI, Huber W, Anders S (2014) Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. Genome Biology. 15:1-21.

Mitsuhara I, Iwai T, Seo S, Yanagawa Y, Kawahigasi H, Hirose S, Ohkawa Y, Ohashi Y (2008) Characteristic expression of twelve rice *PR1* family genes in response to pathogen infection, wounding, and defense-related signal compounds (121/180). Molecular Genetics and Genomics 279:415-427

Neina D (2019) The role of soil pH in plant nutrition and soil remediation. Applied and Environmental Soil Science. 2019.

Pandey S, Fartyal D, Agarwal A, Shukla T, James D, Kaul T, Negi YK, Arora S, Reddy MK (2017) Abiotic stress tolerance in plants: myriad roles of ascorbate peroxidase. Frontiers in plant science 8:581

Pertea, M., Kim, D., Pertea, G.M., Leek, J.T., Salzberg, S.L., 2016. Transcript-level expression analysis of RNA-seq experiments with HISAT, StringTie and Ballgown. Nat. Protoc. 11:1650-1667.

Ramzi E, Asghari A, Khomari S, Mohammaddoust e Chamanabad H (2018) Investigation of durum wheat (*Triticum turgidum* L. subsp. durum Desf) lines for tolerance to aluminum stress condition. Journal of Crop Breeding 10:63-72

RAWAT S, GROVER A, CHANDRASHEKAR N, ALI S (2015) Gene expression profiling of *Arabidopsis thaliana* chitinase genes in response to Alternaria brassicae challenge.

Reim S, Winkelmann T, Cestaro A, Rohr A-D, Flachowsky H (2022) Identification of Candidate Genes Associated With Tolerance to Apple Replant Disease by Genome-Wide Transcriptome Analysis. Frontiers in Microbiology 13:888908.

Rivero RM, Mittler R, Blumwald E, Zandalinas SI (2022) Developing climate-resilient crops: improving plant tolerance to stress combination. Plant Journal 109: 373–389

Rozhmina TA, Pavlova LN, Melnikova N V, Golubeva LM (2017) Rol'genofonda l'na v selekcii na adaptivnost'. Uspekhi Sovremennoj Nauki:184-189.

Sadeghzadeh B, Ghodsizad L, Sadeghzadeh N, Sepehr I, Feizi M (2021) Cereal Breeding For Zinc Deficiency and Its

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-21]

Importance to Alleviate Drought Stress. Journal of Crop Breeding 13:22-40.
Shavrukov Y, Hirai Y (2016) Good and bad protons: genetic aspects of acidity stress responses in plants. Journal of experimental botany 67:15-30.
Sinclair SA, Krämer U (2012) The zinc homeostasis network of land plants. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research 1823:1553-1567.
Smoot, M.E., Ono, K., Ruscheinski, J., Wang, P.-L., Ideker, T., 2011. Cytoscape 2.8: new features for data integration and network visualization. Bioinformatics 27:431-432.
Suyama T, Yamada K, Mori H, Takeno K, Yamaki S (1999) Cloning cDNAs for genes preferentially expressed during fruit growth in cucumber. Journal of the American Society for Horticultural Science 124:136-139.
Suzuki N, Rivero RM, Shulaev V, Blumwald E, Mittler R (2014) Abiotic and biotic stress combinations. New Phytologist 203:32-43.
Tu X, Liu Z, Zhang Z (2018) Comparative transcriptomic analysis of resistant and susceptible alfalfa cultivars (*Medicago sativa* L.) after thrips infestation. BMC Genomics 19:1-8.
Wang N, Qiu W, Dai J, Guo X, Lu Q, Wang T, Li S, Liu T, Zuo Y (2019) AhNRAMP1 enhances manganese and zinc uptake in plants. Frontiers in plant science 10:415.
Wu Y, Yang Z, How J, Xu H, Chen L, Li K (2017) Overexpression of a peroxidase gene (*AtPrx64*) of *Arabidopsis thaliana* in tobacco improves plant's tolerance to aluminum stress. Plant molecular biology 95:157-168.
Yan L, Riaz M, Liu J, Yu M, Cuncang J (2022) The aluminum tolerance and detoxification mechanisms in plants; recent advances and prospects. Critical Reviews in Environmental Science and Technology 52:1491-1527.
Yang X, Gu X, Ding J, Yao L, Gao X, Zhang M, Meng Q, Wei S, Fu J (2022) Gene expression analysis of resistant and susceptible rice cultivars to sheath blight after inoculation with Rhizoctonia solani. BMC Genomics 23:1-16.
Zyablitsin A V, Dmitriev AA, Krasnov GS, Bolsheva NL, Rozhmina TA, Muravenko O V, Fedorova MS, Snezhkina A V, Kudryavtseva A V, Melnikova N V (2018) *CAX3* gene is involved in flax response to high soil acidity and aluminum exposure. Molecular Biology 52:514-519.

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-21]