

**ORIGINAL ARTICLE**

# Examination and analysis of genes responsive to pathogens in potato

Abbas Saidi<sup>1\*</sup>, Zahra Hajibarat<sup>1</sup>, Ahmad Mosuapour Gorji<sup>2\*</sup>, Rahim Ahmadvand<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of Plant Biology & Biotechnology, Faculty of Life science and biotechnology, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran

<sup>2</sup>Department of Vegetable Research, Seed and Plant Improvement Institute (SPII), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran.

<sup>3</sup>Seed and Plant Improvement Institute (SPII), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran.

**Correspondence**

Abbas Saidi

Ahmad Mosuapour Gorji

Email:

[abbas.saidi@gmail.com](mailto:abbas.saidi@gmail.com)

[mousapour\\_gorji@yahoo.com](mailto:mousapour_gorji@yahoo.com)

**How to cite**

Saidi, A., Hajibarat, Z., Mosuapour Gorji, A., & Ahmadvand, R. (2023). Examination and analysis of genes responsive to pathogens in potato. *Crop Biotechnology*, 12(42), 1-15.

**ABSTRACT**

Potato is one of the most important sources in the supply of food and industrial raw materials not only in Iran but also in the world which its yield is affected by various pathogens. Among these pathogens, PVY, PVX and nematode are the main factors of yield reduction. The molecular mechanism underlying disease resistance in potato remains largely unknown. In this study, analysis of gene expression profiles from the GEO data of three pathogen infections in potato was performed and morphological traits under four stresses were investigated. For this purpose, 501 common genes with different expression (DEGs) were studied in two experiments. Functional enrichment analysis showed that DEGs are more involved in nitrogen and primary metabolic cycle, GTP binding and GTPase binding, which are continuously up-regulated after inoculation with different pathogens. Based on the analysis of morphological traits under four stresses, PVY and PVX/PVY interaction left a significant difference with other stresses (PVX and nematode) on these traits. Potato microarray data extracted from GEO database were used for weighted gene co-expression network analysis (WGCNA). Based on the results of the network, 2 groups (modules) of genes were obtained whose expression profiles were highly correlated with each other in response to the above-mentioned four stresses. The results of this experiment provide valuable insight into the pathways and genes affected by PVY, PVX, PVX/PVY and potato nematode viruses, which may facilitate to identify genes resistant to many diseases in potato.

**KEYWORDS**

Candidate, Module, Pathogen, virus, WGCNA.

نشریه علمی

## زیست فناوری گیاهان زراعی

«مقاله پژوهشی»

# بررسی و آنالیز ژن‌های پاسخگو به پاتوژن‌ها در سیب‌زمینی

عباس سعیدی<sup>۱\*</sup>، زهرا حاجی‌برات<sup>۱</sup>، احمد موسی‌پور گرجی<sup>۲\*</sup>، رحیم احمدوند<sup>۳</sup>

### چکیده

عملکرد سیب‌زمینی به عنوان یکی از منابع مهم در تأمین مواد اولیه غذایی و صنعتی در ایران و جهان، تحت تأثیر پاتوژن‌های مختلف می‌باشد. از بین این پاتوژن‌ها، PVY، PVX و نماتد جزء اصلی‌ترین عوامل کاهش عملکرد هستند. مکانیسم مولکولی زمینه‌ساز مقاومت بیماری در سیب‌زمینی تا حد زیادی ناشناخته باقی‌مانده است. در این مطالعه، آنالیز پروفایل‌های بیان ژن از مجموعه داده‌های GEO سه آلودگی پاتوژن در سیب‌زمینی انجام شد و صفات مورفولوژیکی تحت چهار تنش مورد بررسی قرار گرفت. برای این منظور ۵۰۱ ژن مشترک با بیان متفاوت (DEGs) در دو آزمایش بر روی سیب‌زمینی بررسی شد. تجزیه و تحلیل غنی‌سازی عملکردی نشان داد که DEGs بیش‌تر در چرخه نیتروژن و متابولیسم اولیه، اتصال GTP و اتصال GTPase نقش دارند که پس از تلقیح با پاتوژن‌های مختلف به طور مداوم تنظیم می‌شوند. بر اساس آنالیز صفات مورفولوژیکی تحت چهار تنش، PVY و برهم‌کنش PVX/PVY اختلاف معنی‌داری را با سایر تنش‌ها (PVX و نماتد) بر روی این صفات بر جای گذاشت. از داده‌های ریزآرایه مربوط به سیب‌زمینی استخراج شده از پایگاه داده GEO برای تجزیه و تحلیل شبکه هم‌بیان ژن وزن‌دار (WGCNA) استفاده شد. بر اساس نتایج شبکه ۲ گروه (ماژول) ژنی به دست آمد که پروفایل بیان آن‌ها در پاسخ به چهار تنش فوق‌الذکر همبستگی بالایی با یکدیگر داشتند. نتایج این آزمایش بینش ارزشمندی را در مورد مسیرها و ژن‌های تحت تأثیر ویروس‌های PVY، PVX، PVX/PVY و نماتد سیب‌زمینی ارائه می‌دهد که ممکن است شناسایی ژن‌های مقاومت به بیماری‌های متعدد در سیب‌زمینی را تسهیل کند.

### واژه‌های کلیدی

پاتوژن، شبکه هم‌بیانی، کاندید، ماژول، ویروس.

<sup>۱</sup>گروه علوم و زیست فناوری گیاهی، دانشکده علوم و فناوری زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران.  
<sup>۲</sup>گروه تحقیقات سبزیجات، موسسه اصلاح بذر و گیاه (SPII)، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی (AREEO)، کرج، ایران.  
<sup>۳</sup>موسسه تحقیقات، اصلاح و تهیه نهال و بذر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران.

نویسندگان مسئول:

عباس سعیدی

احمد موسی‌پور گرجی

رایانامه: abbas.saidi@gmail.com

mousapour\_gorji@yahoo.com

استناد به این مقاله:

سعیدی، عباس، حاجی‌برات، زهرا، موسی‌پور گرجی، احمد و احمدوند، رحیمی (۱۴۰۲). بررسی و آنالیز ژن‌های پاسخگو به پاتوژن‌ها در سیب‌زمینی. فصلنامه علمی زیست فناوری گیاهان زراعی، ۱۳(۴۲)، ۱-۱۳.

## مقدمه

سیب‌زمینی (*Solanum tuberosum*) در بین محصولات گیاهی ضروری در سرتاسر جهان رتبه بالایی را به خود اختصاص داده است و در بین مهم‌ترین محصولات غذایی اصلی پس از گندم و برنج در رتبه سوم به لحاظ مصرف قرار دارد (Birch et al., 2012). سیب‌زمینی یک محصول تغذیه‌ای ایمنی است که می‌تواند برای افزایش امنیت غذایی و کاهش سوء تغذیه در کشورهای در حال توسعه مورد استفاده قرار گیرد (Devaux et al., 2020). ترکیب غذایی غده‌های سیب‌زمینی پیش‌نیازی برای تعیین کیفیت و فراوری مواد غذایی در بخش صنعتی است. اگرچه رشد جمعیت و تقاضا برای غذا در دهه‌های اخیر رو به افزایش بوده است، لیکن هم‌زمان کاهش قابل توجهی در عملکرد سیب‌زمینی تحت تأثیر بیماری‌های مختلف مشاهده شده است (Schulte-Geldermann et al., 2012). سیب‌زمینی برای مصرف تازه و فراوری از غده‌های بذری رشد می‌کند و از این طریق تعداد زیادی پاتوژن از نسلی به نسل دیگر منتقل می‌شوند. برای جلوگیری از بیماری‌های ویروسی و کاهش عملکرد، بذری سیب‌زمینی باید عاری از آلودگی باشد. میزان خسارت از نظر کیفیت و کمیت غده و بسته به عوامل بیماری‌زا بین ۱۰ تا ۸۰ درصد است (Hosseini et al., 2011). تحقیقات نشان داده که ارقام سیب‌زمینی از نظر پاسخ به عوامل بیماری‌زا با یکدیگر تفاوت دارند (Hajibarat et al., 2022, Hajibarat and Saidi, 2023). تجزیه و تحلیل رونوشت برای بررسی بیان ژن و مکانیسم مولکولی درگیر در این استرس مورد استفاده قرار گرفت.

فرآیند تنظیم بیان ژن‌ها توسط پروتئین‌ها که محصول ژن‌ها هستند، به سلول‌ها این امکان را داده است که از مجموعه محدودی از ژن‌ها برای رشد و عبور از شرایط محیطی مختلف استفاده کنند. کشف چگونگی تنظیم ژن‌ها از اهمیت بالایی برخوردار بوده و موضوع بسیاری از تحقیقات بوده است. ترسیم ژن‌ها به عنوان گره‌ها و کشیدن لبه‌ها بین ژن‌های هم‌بیان شبکه‌ای ایجاد می‌کند که به آن شبکه هم‌بیان ژنی می‌گویند. این شبکه دارای کاربردهای فراوان از جمله یافتن ژن‌های بیماری‌زا می‌باشد. روش‌های مختلف با ایده‌های متفاوت برای استنتاج شبکه ژن‌های داده شده ارائه شده است. هدف برخی از این روش‌ها یافتن اجزایی است که به طور مستقیم بیان ژن را تنظیم می‌کنند. برخی دیگر تعامل مستقیم بین اجزا را نادیده می‌گیرند و سعی می‌کنند اثر یک ژن را بر بیان ژن دیگر بیابند. اصولاً روش‌های موجود از اطلاعات داده شده در مورد ژن‌های ورودی

استفاده می‌کنند و با محاسبه تأثیر ژن‌ها بر یکدیگر، شبکه‌ای را که ژن‌ها بر روی آن ساخته شده‌اند، پیدا می‌کنند. چندین روش شبکه‌ای از ژن‌های داده شده را از غلظت محصولات آن ژن‌ها می‌سازند. برخی دیگر میزان رونوشت‌های ایجاد شده از ژن‌ها را در نظر می‌گیرند. همه این روش‌ها با ظهور فناوری‌های با خروجی بالا محبوبیت بیش‌تری پیدا کرده‌اند. به عنوان مثال، فناوری ریزآرایه به محققان این امکان را داده است که سطوح رونوشت هزاران ژن را در لحظه دلخواه به دست آورند. علاوه بر این، تعدادی از روش‌ها از داده‌های مکانی-زمانی مرتبط با خود ژن‌ها مانند توالی‌های بالادست استفاده کرده‌اند. با وجود پیشرفت فوق‌العاده در تعیین توالی ژنوم گیاهان، اطلاعات کمی در مورد نحوه عملکرد ژن‌ها وجود دارد (Saidi and Hajibrat, 2021a). امروزه ابداع روش‌های جدید با کارایی بالا امکان مطالعه هم‌زمان بیان هزاران ژن را فراهم کرده است. با تجزیه و تحلیل چنین داده‌هایی می‌توان اطلاعات بیش‌تری در مورد سیستم‌های بیولوژیکی به دست آورد (Schaefer et al., 2016). یکی از راه‌حل‌های رایج در زیست‌شناسی سیستم‌ها، بررسی روابط بین ژن‌ها است. از جمله این روش‌ها می‌توان به شبکه هم‌بیان ژنی اشاره کرد که با استفاده از محاسبه همبستگی پیرسون ساخته می‌شوند (Serin et al., 2016). در این شبکه‌ها، ژن‌ها به گونه‌ای به هم متصل می‌شوند که نمایه بیان آن‌ها به طور هم‌زمان در پاسخ به شرایط بیرونی و درونی سلول تغییر می‌کند (Zhang & Horvath, 2005). در گیاهان، از روش شبکه‌های هم‌بیان ژن برای بررسی روابط بین ژن‌ها در ارقام مختلف استفاده شده است (Omranian et al., 2015). با استفاده از ضریب همبستگی پیرسون (PCC) برای تعیین همبستگی بیان بین جفت‌های ژن از آزمایش فردی، که هم‌زمان بیان شده از طریق روش تحلیل شبکه هم‌بیان ژن وزنی مونتاژ شده است، ممکن است جفت‌های ژنی با PCC بزرگ‌تر از مقدار آستانه انتخاب شده را در ماژول‌های شناسایی شده خوشه‌بندی کند (Langfelder and Horvath, 2008). ژن‌های با عملکردهای مرتبط اغلب دارای الگوهای بیانی مشابهی هستند، ژن‌ها (گره‌ها) و اتصالات (لبه‌ها) در ماژول ممکن است پویایی بیان مشترک را در مجموعه داده‌های بیان ژنی مختلف نشان دهند. چندین مطالعه هم‌زمان در ذرت و آرابیدوپسیس انجام شده است که اکثر آن‌ها مجموعه داده‌های بیان ریزآرایه ارقام در سراسر جهان را ادغام می‌کنند (Bassel et al., 2011, Schaefer et al., 2014). داده‌های بیان ژن در دسترس بودن منابع ژنتیکی را گسترش داده است، که نه

شبکه وزن دار شامل ۱۲۳۴۶ ژن در ۱۴ ماژول ژنی مجزا می‌باشد (Yan *et al.*, 2018). این ژن‌ها به شدت در شبکه‌های هم‌بیانی سیب‌زمینی بیان می‌شوند و به ارقام یا بافت‌های خاص به شکل ماژول‌هایی مرتبط هستند که بر آسیب‌های ناشی از بیماری بر عملکرد سیب‌زمینی و پاسخ‌های استرس، فتومورفوژن و رفع خواب غده تأکید دارند. نکته مهم این است که این ماژول‌های شناسایی شده می‌توانند بیشتر برای تجزیه و تحلیل فاکتورهای رونویسی که به عنوان تنظیم کننده‌های کنترل کننده الگوهای بیان ژن عمل میکنند، استفاده شوند.

مطالعه شبکه‌های هم‌بیانی سیب‌زمینی می‌تواند منابع ارزشمندی را با قوانین بیان ژن سیب‌زمینی در اختیار ما قرار دهد و به طراحی طرح‌های تلاقی مناسب در کشت سیب‌زمینی در مناطق مختلف جغرافیایی و تحلیل زیست‌شناسی سیستم کمک کند (Yan *et al.*, 2018). از آنجایی که اکثر صفات مهم و اقتصادی گیاهان زراعی کمی هستند و توسط چندین جایگاه ژنی کنترل می‌شوند، برای درک اساس مولکولی ژن‌ها، لازم است ژنوتیپ‌سازی را با کمک توالی‌یابی و تجزیه و تحلیل بیان ژن‌های مرتبط ادغام کرد. درک مکانیسم‌های مولکولی مقاومت گیاه در برابر پاتوژن‌ها با روش‌ها و تکنیک‌های شبکه هم‌بیان وزنی تسهیل می‌شود. یکی از روش‌های مهم برای درک عملکرد ژن و ارتباط ژن از بیان ژنوم، تجزیه و تحلیل شبکه هم‌بیانی است. رویکرد شبکه هم‌بیانی، شبکه‌ای از ژن‌ها را با فعال‌سازی مشترک در میان گروهی از نمونه‌ها می‌سازد.

امروزه، تجزیه و تحلیل شبکه هم‌بیانی ژن وزنی متداول‌ترین رویکرد زیست‌شناسی سیستمی برای شناسایی الگوی همبستگی‌ها بین ژن‌ها است. برای شناسایی ماژول‌های ژن‌های هم‌بیان، همبستگی آن‌ها با صفات خارجی، و تعیین دقیق ژن‌های هاب کلیدی مفید است. به طور گسترده‌ای برای تشخیص ژن‌های هم‌بیان شده پاسخ‌گو به استرس و سازماندهی دیواره سلولی در پنبه، پاسخ تنش شوری در آراییدوپسیس و برنج، و پاسخ استرس زیستی در آراییدوپسیس استفاده شده است (Wolf *et al.*, 2012). شبکه‌های هم‌بیان شده به عنوان ابزاری هستند که تجزیه و تحلیل بیان ژن را از طریق روابط بین الگوهای بیان ژن به صورت دوتایی توصیف می‌کنند. بررسی‌های هم‌زمان درون و بین گونه‌ها نشان داد که ژن‌های متناظر در الگوهای ژنی اغلب از نظر عملکردی مرتبط هستند. در این مقاله، روش جدیدی برای ساخت شبکه هم‌بیان ژن بر اساس اطلاعات هستی‌شناسی و داده‌های مربوط به بیان آن‌ها ارائه شده است. در این بررسی، آنالیزهای

تنها به عنوان مکمل برای حاشیه‌نویسی عملکرد ژن در مقیاس ژنومیک استفاده شده است، بلکه به شناسایی الگوهای بیان ژن فردی در بین بافت‌ها، گونه‌ها یا شرایط محیطی کمک می‌کند.

## پیشینه پژوهش

در شبکه‌های هم‌بیان وزن دار، از حد آستانه برای تعیین وجود یا عدم وجود رابطه بین دو ژن استفاده می‌شود که منجر به حذف اطلاعات زیادی می‌شود. در حالی که در شبکه‌های هم‌بیان وزنی از محدودیت‌های بحرانی استفاده می‌شود و نتایج دقیق‌تری نسبت به شبکه‌های غیر وزنی ایجاد می‌کند (Zhang & Horvath, 2005). در این روش پس از ایجاد شبکه، ژن‌ها در گروه‌های جداگانه (ماژول) قرار می‌گیرند. ماژول‌ها به عنوان خوشه‌هایی از ژن‌ها تعریف می‌شوند که نمایه‌های بیان آن‌ها به شدت با یکدیگر همبستگی دارند (Bergmann *et al.*, 2004). در روش شبکه‌های هم‌بیان وزنی، هر ماژول هم‌بیانی می‌تواند یک پیام بیولوژیکی واقعی را منعکس کند. تجزیه و تحلیل هستی‌شناسی ژن (GO) می‌تواند برای بررسی اهمیت بیولوژیکی یک ماژول استفاده شود (Langfelder and Horvath, 2008). شبکه‌های هم‌بیان وزنی در بررسی رابطه بین ژن‌های دخیل در تنش شوری در آراییدوپسیس، پیری برگ در آفتابگردان، خشکی و شوری در انگور، فرآیندهای رشد و نمو در سیب‌زمینی، خشکی در ریشه سیب‌زمینی و بیماری باکتریایی در بادمجان استفاده شده است (Seo *et al.*, 2011, Moschen *et al.*, 2019, Qin *et al.*, 2020, Peng *et al.*, 2021, Li *et al.*, 2023, Tan *et al.*, 2023). با توجه به گسترش ژرم‌پلاسما سیب‌زمینی از طریق اینترگرسیون و هیبریداسیون بین گونه‌ای، محققان بینشی در مورد عملکردهای ژنتیکی در سیب‌زمینی، از ساختار اصلی ژن و عملکرد بیولوژیکی گرفته تا پروفایل‌های بیان آن‌ها را دارند (Yan *et al.*, 2018). در حالی که پیشرفت‌ها در سال‌های اخیر تعداد فزاینده‌ای از مجموعه داده‌های بیان ژن را ایجاد کرده است که پویایی بیان ژن را در بین ارقام سیب‌زمینی در سراسر جهان با استفاده از پایگاه‌های داده ایجاد شده فراهم می‌کند، استنباط مدارهای تنظیمی ژن در فرآیند تنوع ژنتیک سیب‌زمینی همچنان یک چالش کلیدی است. برای پرداختن به این مشکل، مجموعه داده‌های بیان ژن بیش‌تری را می‌توان با هم ادغام کرد تا نتایج دقیق و قابل اجرا ارائه شود. بر اساس مطالعه‌ای که بر روی ۱۶ مجموعه داده از ۱۱ رقم سیب‌زمینی انجام شد و همبستگی الگوهای بیان ژن این ارقام بررسی شد، نتایج مطالعه نشان داد که

شرط‌های توپولوژی بدون مقیاس تقریبی و معیارهای برش بیش‌تر از ۳۰ ژن و ارتفاع برش = ۰/۱۵ تعریف شدند. عدم تشابه ماتریس مجاورت ۰/۲ بود. در مجموع دو ماژول WGCNA (شبکه هم‌بیانی) از ژن‌های ویژه شناسایی شد و همبستگی شبکه‌ها با مقاومت به هر دو بیماری با معیار همبستگی پایداری  $p \leq 0.05$  ترسیم شد. ماژول‌های با اهمیت ژن (ضریب همبستگی پیرسون  $\leq 0.6$ ) برای آلوده‌سازی PVX، PVY و استفاده از هر دو ویروس، نماد در بافت برگ برای تجزیه و تحلیل بیش‌تر حفظ شدند.

### هستی شناسی و آنالیز شبکه هم‌بیانی

برای ژن‌های هر ماژول آنالیز GO توسط نرم‌افزار آنالیز agriGO (<http://bioinfo.cau.edu.cn/agriGO>) انجام شد. DEGها در ماژول‌های مرتبط با مقاومت PVX، PVY و نماد به طور جداگانه تحت تجزیه و تحلیل غنی‌سازی برای مسیرهای هستی‌شناسی ژن (Blast2GO) انجام شد. به منظور شناسایی تعاملات مستقیم (فیزیکی) و هم‌چنین غیرمستقیم (عملکردی) پروتئین‌های هر ماژول، آنالیز شبکه ژنی با استفاده از STRING (<https://string-db.org>) پایگاه صورت گرفت.

### رشد گیاه و آلوده‌سازی

آگریا یکی از پرمصرف‌ترین ارقام سیب‌زمینی در ایران است. برای بررسی واکنش رقم آگریا به ویروس سیب‌زمینی (PVY) Y، ویروس سیب‌زمینی (PVX) X، غده‌های سیب‌زمینی با استفاده از تکنیک‌های الکتروشیمی‌درمانی برای حذف هرگونه عفونت ویروسی بالقوه تیمار شدند. سپس برگ‌های نهال سیب‌زمینی سه هفته‌ای با سه تکرار در شرایط گلخانه (دمای ۲۳ درجه سانتی‌گراد، ۱۶ ساعت نور و رطوبت نسبی ۷۰ درصد) به‌صورت مکانیکی تلقیح شدند. در مرحله چهار تا شش برگی، گیاهان آزمایشی با پودر کربوراندوم تیمار شدند. برگ‌های آلوده به ویروس PVY و PVX با استفاده از بافر فسفات (pH 7.5، ۰.۱M K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>، ۰.۰۲۵ M KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) همگن شدند. سپس برگ‌های تلقیح شده پس از ۵ دقیقه آلودگی با آب مقطر شسته شدند. یک و دو روز پس از تلقیح، عفونت ویروسی با علائم موضعی کنترل شد. برگ، ساقه و ریشه بافت‌های آلوده در هفت روز پس از تلقیح از گیاهچه‌های سیب‌زمینی در گلخانه جمع‌آوری شدند. برای نماد، برگ بعد از سه هفته رشد، با سطح نماد ۵۰۰ لاور سن دوم

همبستگی بیان ژن و شبکه هم‌بیان ژن را برای شناسایی همبستگی‌ها و واگرایی‌های بیان ژن، که ممکن است حاکی از عملکردهای مشترک یا مسیرهای تنظیمی در بین ارقام مختلف سیب‌زمینی باشد، ترکیب شده‌اند.

### روش شناسی پژوهش

#### تجزیه و تحلیل شبکه هم‌بیان وزنی

برای این بررسی، داده‌های ریزآرایه خام مربوط به پروفایل رونویسی در *S.tuberosum* در PVX، PVY، و آلوده‌سازی نماد از پایگاه داده ریزآرایه GEO بازیابی شدند. مجموعه داده شامل GSM389325 (GSM389326، GSM389327)، GSM389328، GSM389329، GSM389330، GSM389331، GSM389332 و GSM389333) بعد از ۶ روز از آلودگی و برای نماد از مجموعه داده‌های GPL1902 (GSM203093، GSM203094، GSM203095، GSM203096، GSM203097، GSM203098، GSM203099، GSM203100، GSM203101، GSM203102، GSM203103، GSM203104 و GSM203105) در سه مرحله (۵، ۱۰ و ۱۵ روز پس از آلودگی) با چهار تکرار برای هر مرحله انجام شد. برای تبدیل مجموعه پروب به شناسه ژن، از سایت DAVID (<https://david.ncifcrf.gov>) استفاده شد. ژن‌های با بیان کم فیلتر (حذف) شده و ژن‌های باقی‌مانده در آنالیز شبکه هم‌بیان ژن استفاده شدند. ژن‌های بیان‌شده متفاوت (DEGs) با معیارهای  $\log_2 FC \geq 2$  و  $p < 0.05$  ژن‌های با  $\log_2 FC > 2$  و  $\log_2 FC < -2$  به ترتیب به‌عنوان DEG با بیان بالا و پایین شناسایی شدند. متعاقباً، WGCNA (تجزیه و تحلیل شبکه هم‌بیان ژن وزنی) برای ایجاد شبکه هم‌بیانی DEGs سیب‌زمینی با استفاده از بسته R (flashClust) انجام شد. WGCNA برای شناسایی ماژول‌هایی با ژن‌های بسیار بیان‌شده استفاده شد و آن‌ها را با ماژول eigengene (ME) دسته‌بندی کردیم. آنالیز WGCNA بر روی گیاهچه‌های سیب‌زمینی سه هفته‌ای انجام شد. بسته WGCNA (R v1.61) (<https://cran.r-project.org/web/packages/WGCNA/index.html>) برای تجزیه و تحلیل ماژول هم‌بیانی DEGها استفاده شد. پارامترهای WGCNA توان آستانه نرم ماتریس مجاورت و معیارهای مجذور ضریب همبستگی ژن‌های ویژه با توجه به پیش

صفتی که فاقد تفاوت معنی‌داری بودند مقایسه میانگین برای آن‌ها انجام نشد.

نماتد در سه تکرار مایه‌زنی شدند و بعد از گذشت ۱۴ روز صفات مورفولوژی مورد بررسی قرار گرفتند.

### یافته‌های پژوهش

نتایج حاصل از بررسی داده‌های ریزآرایه برای این آنالیز از آزمایشات مختلف فراهم شد. ژنوتیپ‌های سیب‌زمینی مورد استفاده تحت تنش‌های PVY، PVX و نماتد بررسی شدند. شبکه هم‌بیانی ایجاد شده ژن‌ها را درون دو گروه ژنی یا ماژول قرار داد و با استفاده از امکانات نرم‌افزار R هر ماژول با رنگ خاصی نشان‌مند گردید. ماژول آبی (blue) دارای بیش‌ترین تعداد ژن با ۲۲۲ ژن و و ماژول خاکستری (gray) دارای کم‌ترین تعداد ژن با ۱۱ ژن بودند. از آن‌جا که همه ژن‌های سیب‌زمینی برای آنالیز شبکه استفاده شدند، معنی‌داری آماری این ماژول‌ها مورد بررسی قرار گرفت. حاشیه نویسی GO ماژول‌های کلنید با استفاده از Blast2GO برای مقایسه حاشیه نویسی عملکردی DEG‌های جدید در برابر پایگاه داده پروتئین غیرتکراری NCBI با مقدار E برش  $10^{-8}$  انجام شد (شکل‌های ۱ و ۲).

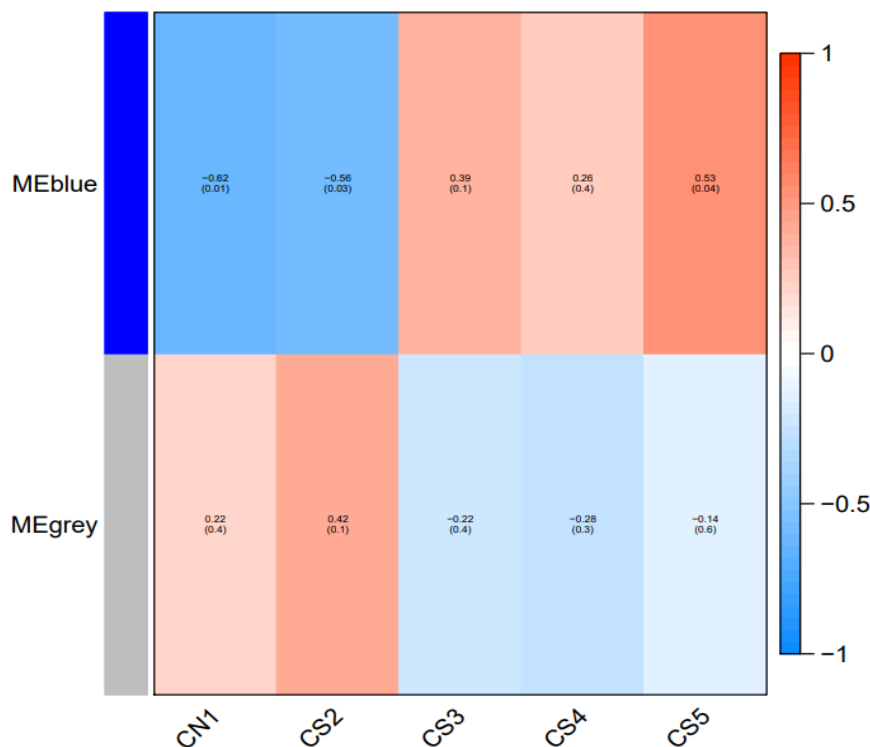
### اندازه‌گیری مورفولوژی ریشه و اندام هوایی

در مجموع هشت صفت فنوتیپی نهال، شامل پنج صفت اندام هوایی و سه صفت ریشه‌اندازه‌گیری شدند. ریشه‌ها و شاخساره‌های تازه در ۱۴ روز پس از تیمارهای نرمال و تنش ویروس X، Y و نماتد نمونه‌برداری شدند. صفات ریشه و اندام هوایی بر حسب طول کل ریشه و ساقه، قطر ساقه، وزن تر و خشک ساقه، وزن تر و خشک ریشه و تعداد ساقه توصیف شدند.

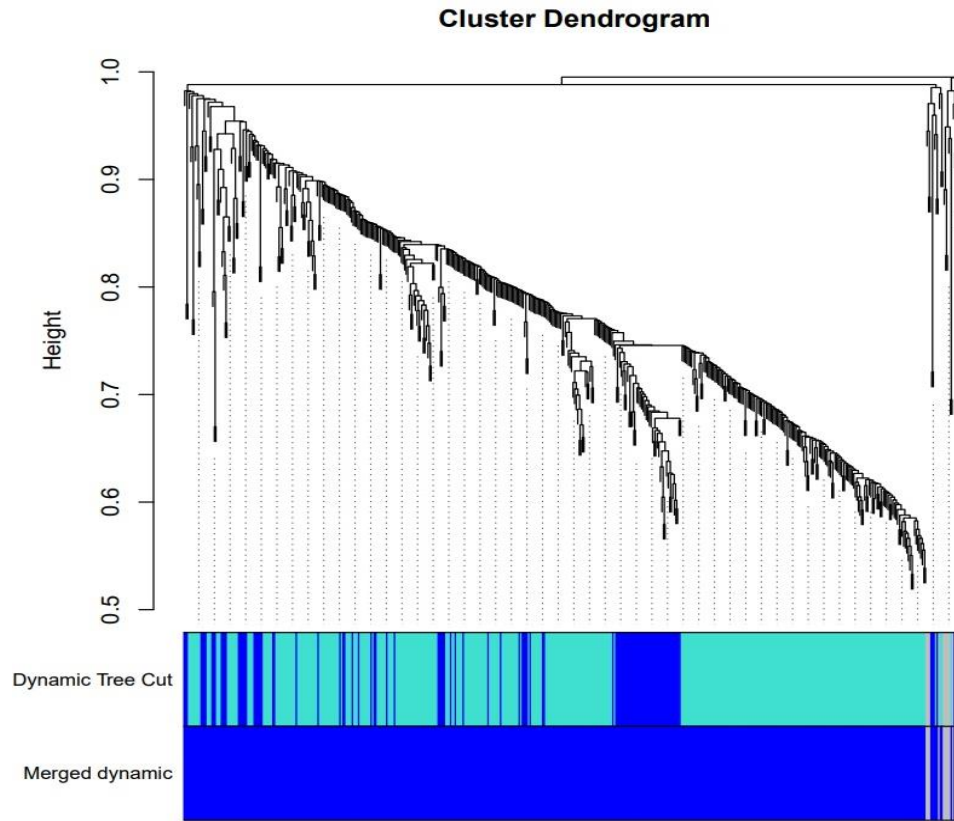
### آنالیز داده‌ها

این آزمایش به صورت طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در سال ۱۴۰۲ در دانشگاه شهید بهشتی انجام شد. صفات ریشه و اندام هوایی بر حسب طول کل ریشه و ساقه، قطر ساقه، وزن تر و خشک ساقه، وزن تر و خشک ریشه و تعداد ساقه توصیف شد. میانگین‌ها از طریق آزمون دانکن در سطح ۰/۰۵ مقایسه شدند.

Module-trait relationships



شکل ۱. نقشه حرارتی خوشه‌بندی سلسله مراتبی از دو ماژول برای چهار تنش CN1، تنش نرمال؛ CS2، تنش PVY؛ CS3، تنش PVX؛ CS4، تنش نماتد و CS5، تنش PVX/PVX.



شکل ۲. دندوگرام خوشه‌بندی سلسله مراتبی پیوند متوسط ژن‌ها. ورودی عدم تشابه مبتنی بر هم‌پوشانی توپولوژیکی بود. ماژول‌ها که با کد رنگ مشخص می‌شوند، شاخه‌های درخت خوشه بندی هستند.

فعالیت فسفاتاز مقاوم به مولیبدات را با مونوفسفات‌های نوکلئوزیدی به عنوان سوبسترا نشان داد، که تأیید می‌کند که ژن شناسایی شده یک نوکلئوتیداز را کد می‌کند. pH بهینه برای فعالیت ۷-۷/۵ بود. الگوی بیان PvNTD2 نشان می‌دهد که در همه بافت‌های مورد تجزیه و تحلیل، با بیان بالاتر در گره‌های گیاهان بالغ بیان می‌شود. بیان در طول انتونژن برگ حفظ شد و در طول رشد گیاهچه القا شد (Galvez-Valdivieso *et al.*, 2020). این آنزیم برای فسفریله کردن طیف گسترده‌ای از سوبستراهای با وزن مولکولی کم و بالا با ویژگی‌های اغلب بدیع تکامل یافته و در تنش‌های زیستی و غیر زیستی فعال می‌شود (Yin *et al.*, 2018).

در ماژول آبی، شبکه ژنی که با استفاده از گروه‌های ژنی موجود در این ماژول ترسیم شده، ژن PGSC0003DMT400039497 به عنوان پروتئین مرکزی در شبکه‌های هم‌بیان شناسایی شد. این پروتئین به عنوان پروتئین ریپوزومی زیر واحد کوچک است. از جمله پروتئین‌های دیگر در این شبکه مانند کمپلکس پیرووات دهیدروژناز شامل نسخه‌های متعدد از سه جزء آنزیمی است: پیرووات دهیدروژناز (E1)، دی هیدرولیپوآمید استیل ترانسفراز (E2)

## آنالیز شبکه ژنی

با استفاده از سایت string (<https://org.db-string>) شبکه‌ی ژنی ترسیم گردید، سپس ژن‌های به دست آمده از سایت string که برای به تصویر درآوردن شبکه‌های برهمکنش پروتئینی، مسیرهای بیولوژیکی و ادغام این شبکه‌ها با انوتیشن‌ها و سایر اطلاعات زیستی است، در دو شبکه ترسیم شده از دو ماژول نشان داد که در شبکه ترسیم شده برای ماژول (گروه‌های ژنی) خاکستری شامل دو ژن پروتئین حاوی دامنه هیدرولاز شبه هالواسید دهالوژناز ۳ (PGSC0003DMT400018901) و پروتئین خاص گرده مانند sf21، پروتئین خانواده Ndr (PGSC0003DMT400008412) است (شکل ۳).

نوکلئوتیدها علاوه بر این که واحدهای اولیه ماده ژنتیکی هستند، در فرآیندهای انرژی زیستی به عنوان کوفاکتورها نقش دارند و همچنین اجزای متابولیت‌های ثانویه و هورمون سیتوکینین هستند. در مطالعه‌ای که بر روی لوبیای معمولی انجام شد مشاهده گردید که پپتید پیش‌بینی شده شامل حوزه‌های حفاظت شده برای ابرخانواده هیدرولاز دی‌هالوژناز مانند هالواسید است. این پروتئین در اشرشیاکلی بیش از حد بیان شده است، و پروتئین خالص شده

### بررسی صفات مورفولوژی ریشه و ساقه

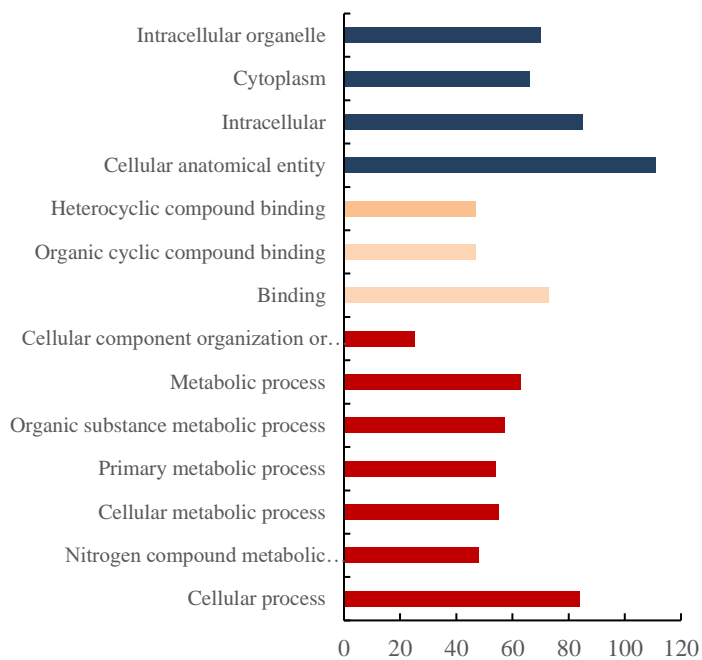
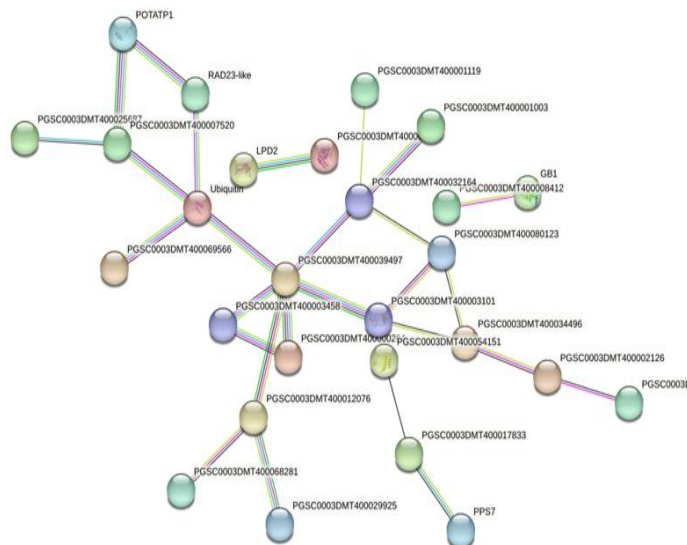
براساس آنالیز تجزیه واریانس از میان هشت صفت اندازه‌گیری شده ۷ صفت شامل طول ریشه، طول ساقه، وزن خشک ساقه، وزن تر ساقه، وزن خشک ریشه، وزن تر ریشه و قطر ساقه تحت تنش‌های PVY، PVX و PVY معنی‌دار شدند. براساس این نتایج، وزن تر و خشک ساقه تحت تنش‌های PVX/PVY، PVY، PVX) داشتند. تحت برهم‌کنش هر دو تنش PVY و PVX، وزن تر و خشک ریشه، طول ساقه و قطر ساقه اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد را در مقایسه با سه تنش دیگر ایجاد نمود. طول ریشه تحت تنش PVX، اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد با سایر تنش‌ها داشت (جدول ۱، شکل ۴). هم‌چنین قطر ساقه تحت تنش نامادی اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد با دو تنش دیگر PVY و PVX داشت. دو فرضیه برای مکانیسم‌های فیزیولوژیکی زیربنایی اثر ناماد مطرح شده است. Trudgill (1980) و Trudgill *et al.* (1975) و Trudgill & Cotes (1983) پیشنهاد کردند که نامادها اندازه و کارایی سیستم ریشه را کاهش می‌دهند و در نتیجه منجر به کمبود مزمن مواد مغذی و پیری زودرس محصول می‌شوند. از سوی دیگر، Schans & Arntzen (1991) اظهار داشتند که نامادها در درجه اول بر تعادل هورمونی گیاه تأثیر می‌گذارند و منجر به بسته شدن روزنه و اختلال در فتوسنتز گیاه می‌شوند. بر اساس فرضیه اخیر، اختلال در متابولیسم کربن، و نه متابولیسم مواد مغذی، رشد محصول را مختل می‌کند. فرضیه Schans (1991) تاکنون در این زمینه آزمایش نشده است، در حالی که Trudgill (1980) شواهد کاهش شدیدتر غلظت عناصر غذایی گیاهی توسط نامادها را در آزمایش‌های گلدانی نسبت به مزرعه را گزارش نمود. کاهش عملکرد ممکن است بیش‌تر با اثرات نامادها بر فتوسنتز همراه باشد. سی روز پس از کاشت چهار رقم سیب‌زمینی در گلدان‌های خاکی با ۱۰۰ تخم *G. pallida*، میزان فتوسنتز در واحد سطح برگ ۷۰ درصد کم‌تر از کنترل‌های بدون آلودگی بود (Schans & Arntzen, 1991). براساس مطالعه دیگر، کاهش زیست توده ریشه، جذب بهینه آب و مواد مغذی را که برای عملکرد کافی سیب زمینی لازم است، محدود می‌کند. بنابراین، کاهش عملکرد یافت شده مطالعه حاضر به احتمال زیاد به کاهش مشاهده‌شده زیست توده ریشه در حضور نامادها، صرف‌نظر از زمان تلقیح بستگی دارد (Edin *et al.*, 2019).

و لیپوآمید دهیدروژناز (E3). هم‌چنین پروتئین خاص گرده مانند sf21، پروتئین خانواده Ndr، فاکتور شروع ترجمه فرضی شبیه eIF-1A، پروتئین مانند کونژوگه یوبیکوئیتین، S۲۶ پروتئازوم تنظیمی زیرواحد B۶ همولوگ، فاکتور شروع رونویسی tftiid زیرواحد ۱۲b-like، RNA سی‌تیدین استیل ترانسفراز، سرین/ترئونین-پروتئین کیناز rio1-like و کازئین کیناز؛ متعلق به ابرخانواده پروتئین کیناز است. دانش سطح سیستم از تغییرات در میزبان برای روشن کردن رویدادهای مولکولی پاتوژن و ویروسی و توسعه استراتژی‌هایی برای جلوگیری از استقرار و تقویت ویروس بسیار مهم است. در مطالعه مذکور، از رویکرد پروتئومیکس کمی برای مطالعه تغییرات پروتئوم جهانی در میزبان استفاده شد. آلودگی توسط باکولوویروس، *Spodoptera litura* NPV در دو مرحله یعنی ۱۲ ساعت و ۷۲ ساعت پس از آلودگی تجزیه و تحلیل عملکردی نشان داد. تنظیم دخیل قابل توجهی از جابجایی و ماشین‌آلات پروتئازومی در حالی که مسیرهای ترجمه، رونویسی، صادرات پروتئین و فسفوریلاسیون اکسیداتیو تحت تأثیر منفی قرار گرفتند (Nayyar *et al.*, 2017, Saidi *et al.*, 2020, Saidi and Hajibarat, 2021b).

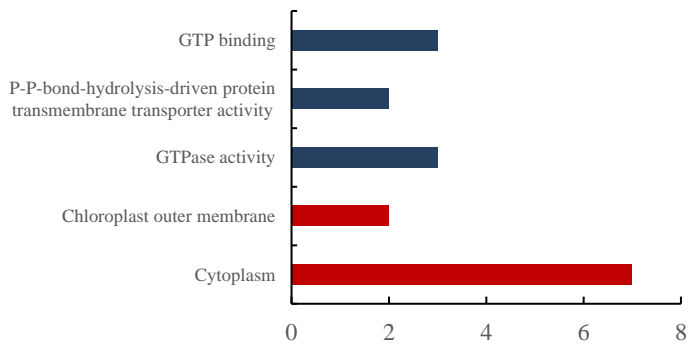
### آنتولوژی ژن‌ها

برای کشف مکانیسم دفاعی بالقوه در ژن‌ها با بیان افتراقی، تحلیل مسیر آنتولوژی برای دو ماژول استفاده شد. اصطلاحات آنتولوژی به سه گروه تقسیم شدند: فرآیند بیولوژیکی (BP)، جزء سلولی (CC) و عملکرد مولکولی (MF). شکل ۳ نتایج تجزیه و تحلیل GO مرتبط با دو ماژول مربوط به مقاومت PVY، PVX و ناماد را نشان می‌دهد. در ماژول آبی، فرآیندهای بیولوژیکی به طور قابل توجهی غنی شده برای رونوشت‌های تنظیم شده بالا شامل پاسخ به محرک‌ها، تنظیم فرآیند بیولوژیکی، متابولیسم اولیه، فرآیندهای سلولی، فرآیندهای نیتروژن است. مهم‌ترین اجزای سلولی برای رونوشت‌های تنظیم شده سیتوپلاسم، اندامک درون سلولی، درون سلول بود. عملکرد مولکولی غنی شده به طور قابل توجهی برای رونوشت‌های تنظیم شده، اتصال ترکیب حلقوی آلی، اتصال ترکیب حلقوی هتروارگانیک بود. در ماژول خاکستری، مهم‌ترین اجزای سلولی برای رونوشت‌های تنظیم شده سیتوپلاسم، غشا خارج سلولی بود. عملکرد سلولی شامل اتصال GTP، اتصال GTPase و فعالیت ناقل گذرنده پروتئین مبتنی بر هیدرولیز پیوند P-P است (شکل ۳).





megray



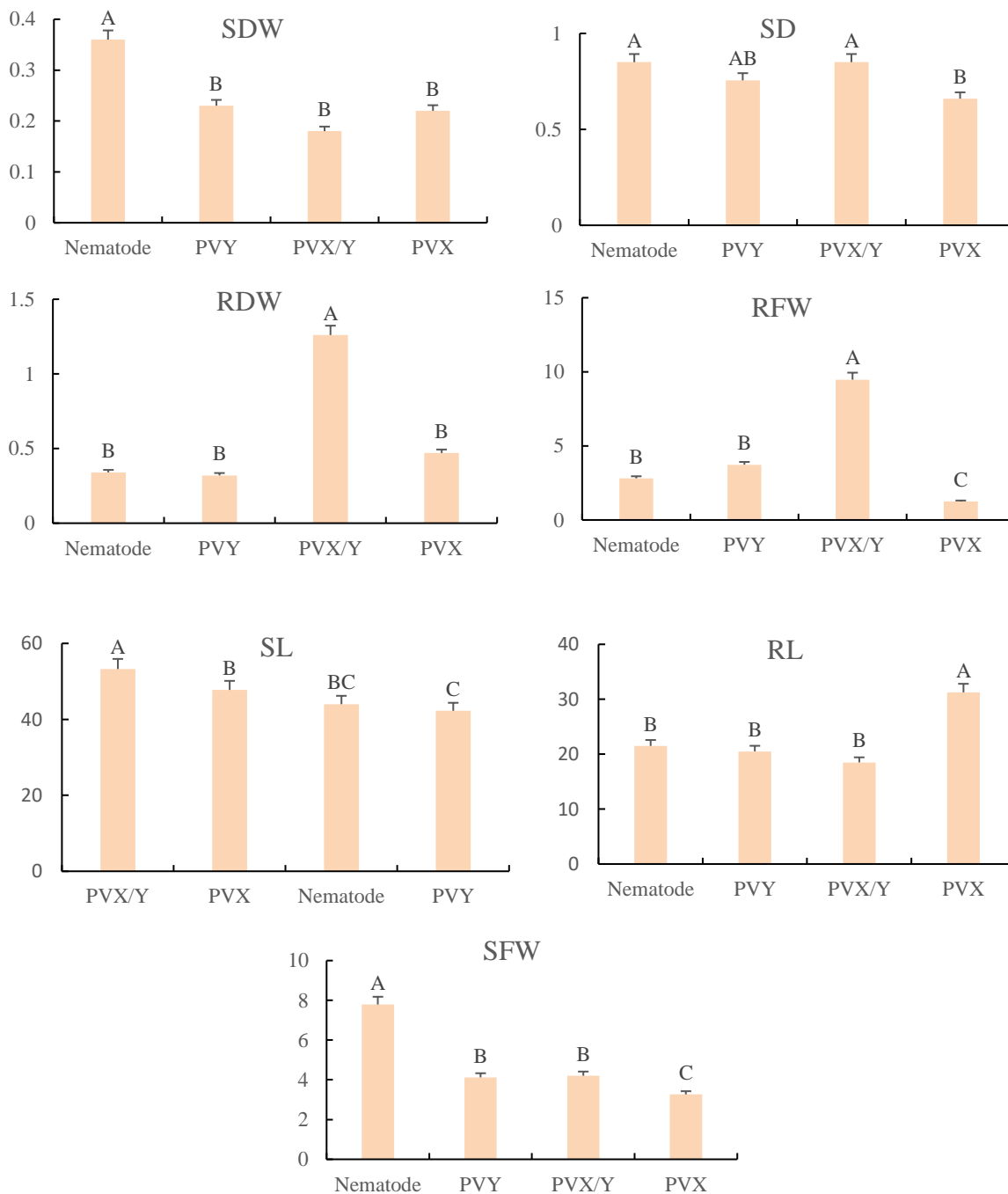
شکل ۳. حاشیه نویسی عملکردی (GO) ماژول خاکستری و ماژول آبی.

جدول ۱. تجزیه واریانس بین تیمارهای مختلف تحت شرایط ویروس و نماتد.

منابع تغییرات	درجه آزادی	تعداد ساقه	قطر ساقه	طول ساقه	طول ریشه	وزن خشک ریشه	وزن خشک ساقه	وزن تر ساقه	وزن تر ریشه
تیمار	۳	0.25ns	0.074**	213.1**	290.39**	1.7909**	0.056**	**۳۶.۰۷	124.861**
خطا	۸	2.0	0.024	30.37	12.63	0.14	0.017	0.49	1.040
کل	۱۱	2.25	0.099	303.02	303.02	1.93	0.073	36.57	125.9

ns, \*\*: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد و عدم معنی‌دار.

## meblue



شکل ۴. بررسی صفات مورفولوژی تحت چهار تنش، PVX، PVY، برهم‌کنش PVX/PVY و نماتد در سیب‌زمینی.

علائم اختصاری شامل SDW، RDW و RFW، SD، SL، RL، SFW، به ترتیب قطر ساقه، طول ساقه، طول ریشه، وزن خشک ساقه، وزن تر ریشه، وزن تر ساقه، وزن خشک ریشه.

بوده و تحت چهار تنش میزان کلروفیل کل کاهش پیدا کرده است. درحالی‌که میزان کارتنوئید در شرایط نرمال بسیار پایین می‌باشد و تحت تنش ویروس X و Y بعد از هفت روز بالاترین میزان را به خود اختصاص داده است. میزان کلروفیل a بین نمونه نرمال و تنش‌های مختلف اختلاف معنی‌داری نشان نداد. میزان کلروفیل b در نمونه نرمال میزان پایینی داشته است. میزان کلروفیل تحت تنش ویروس X و Y بعد از هفت روز بالاترین مقدار را داشت. این میزان بعد از ۱۴ روز در هر دو تنش کاهش معنی‌داری را نشان داد. تحت تنش هم‌زمان دو ویروس میزان کلروفیل بعد از هفت روز تغییر معنی‌داری را نشان نداد اما بعد از ۱۴ روز میزان کلروفیل بالاتر رفت (جدول ۲).

## جدول ۲. بررسی میزان تغییرات کلروفیل و کارتنوئید تحت تنش

ویروس X، Y، X/Y و نماد.

کلروفیل b	کارتنوئید	کلروفیل کل	تیمار
7.137e	10.65d	45a	نرمال
17.74a	2689.20a	31.06b	تنش ویروس X بعد از ۷ روز
12.19cd	2044.55b	23.69b	تنش ویروس X بعد از ۱۴ روز
17.41ab	2666.96a	31.48b	تنش ویروس Y بعد از ۷ روز
8.41de	1473.97c	17.06b	تنش ویروس Y بعد از ۱۴ روز
12.19cd	2045.49b	24.135b	تنش نماد بعد از ۷ روز
7.09e	1510.91c	17.55b	تنش نماد بعد از ۱۴ روز
7.17e	1395.46c	16.29b	تنش ویروس X/Y بعد از ۷ روز
13.83bc	2158.46b	25.34b	تنش ویروس X/Y بعد از ۱۴ روز

## شناسایی ژن‌های هاب

شش ژن هاب که در دو ماژول شناسایی شدند شامل استرازاها، پروتئین LRR<sup>۱</sup>، پروتئین STY، پروتئین ترنسپورتر ویکول شبکه آندوپلاسمی، زیرواحد بتا فاکتور ۲ شروع ترجمه یوکاریوتی (-eIF-2-beta) و کمپلکس هیستون داستیلاز می‌باشند (جدول ۳). پروتئین LRR به عنوان اولین خط دفاعی، پاسخ ایمنی ذاتی از طریق سنجش الگوهای مولکولی مرتبط با پاتوژن (PAMPs) آغاز می‌شود. در گیاهان، پروتئین‌های NBS (محل اتصال به نوکلئوتید)-LRR شناسایی محصولات پاتوژن ژن‌های بی‌ثباتی (AVR) را فراهم می‌کنند. LRRها هم‌چنین در holcal برهمکنش بین پروتئین‌های مختلف با عملکردهای متنوع در گیاه، انسان، مخمر فعالیت می‌کنند (Torii, 2004).

آلودگی مخلوط با هر دو ویروس (PVM + PVS) وزن غده در هر بوته را ۳۱ درصد و وزن غده متوسط را تا ۶۴ درصد در مقایسه با گیاهان فقط آلوده به PVM کاهش داد. در کلون‌های R1 به‌دست‌آمده از میکروغده‌ها، آلودگی مخلوط منجر به کاهش قابل توجه تعداد غده در هر بوته (۵۹ درصد) و هم‌چنین وزن کم‌تر غده در هر بوته (۴۴ درصد) شد. تفاوت حتی بیش‌تر در کلون‌های R1 تولید شده از غده‌های کوچک مشاهده شد، که در آن کاهش وزن غده در هر بوته در گیاهان با آلودگی مخلوط در مقایسه با گیاهان آلوده به PVM به تنهایی ۸۶ درصد بود. تطابق نتایج به‌دست‌آمده با مطالعات قبلی نشان می‌دهد که آلودگی مختلط با دو ویروس منجر به کاهش عملکرد بسیار بیش‌تر از آلودگی منفرد می‌شود. مطالعه دیگر نشان داد که آلودگی هم‌زمان PVA، PVX و PVS باعث از دست دادن عملکرد تا ۴۰٪ در سیب زمینی می‌شود (Hameed *et al.*, 2014). در توتون و تنباکو، آلودگی چندتایی با PVY و PVX به طور قابل ملاحظه‌ای با افزایش بیماری‌زایی مرتبط بود (Balogun *et al.*, 2002). استفاده از ارقام مقاوم در برابر ویروس موثرترین و بادوام‌ترین مقاومت برای به حداقل رساندن کاهش عملکرد مرتبط با ویروس‌ها تلقی می‌شود. در برنامه‌های تلاقی، اصلاحگران از ژنوتیپ‌هایی استفاده می‌کنند که مقاومت در برابر چندین عامل ویروس را داشته باشند. براساس پژوهش دیگر آلودگی هم‌زمان PVY و PLRV باعث کاهش عملکرد شدید از نظر کاهش اندازه غده و کیفیت نامطلوب سیب‌زمینی نسبت به آلودگی منفرد PVY یا PLRV در چین شده است (Wang *et al.*, 2011). تلاش اصلاحگران، توسعه و ایجاد ارقامی است که دارای هر دو آل مقاومت به PVY و PVX باشند. انتقال این نوع مقاومت در ارقام در برابر ویروس، منجر به مقاومت قابل توجهی در آن‌ها می‌شود (Pourrahim & Farzadfar, 2007). پژوهش‌های قبلی نشان داد که ویروس‌های سیب‌زمینی اغلب در آلودگی‌های هم‌زمان چند ویروس ایجاد می‌شوند و همیشه از نظر دید قابل تشخیص نیستند. استفاده از ارقام مقاوم در برابر ویروس موثرترین و بادوام‌ترین مقاومت برای به حداقل رساندن کاهش عملکرد مرتبط با ویروس‌ها تلقی می‌شود. اصلاحگران از ژنوتیپ‌هایی برای تلاقی استفاده می‌کنند که مقاومت در برابر چندین عامل ویروس را داشته‌باشند.

## بررسی تغییرات میزان کلروفیل تحت تنش‌های مختلف

### در سیب‌زمینی

میزان کلروفیل در شرایط نرمال نسبت به سایر تنش‌ها بیش‌تر

(Horvath, 2008). در سیب زمینی، قرار گرفتن در معرض تنش‌های ویروسی مخصوصاً PVY و PVX نشان‌دهنده یک استرس زنده است که می‌تواند به‌طور قابل توجهی بر رشد، عملکرد، کیفیت و اقتصاد محصول تأثیر بگذارد. در حالی که مخزن ژنی کشت شده برای سیب‌زمینی فاقد تنوع زیادی برای مقاومت به PVY است. در نتیجه شناسایی ارقام یا گونه‌های وحشی دارای ژن مقاومت به PVY برای اصلاح‌گران بسیار ارزشمند است. این امر باعث می‌شود که از روش‌های جدید و مکمل برای بررسی ارقام به این صفت انجام شود. مطالعه قبلی نشان داد که حمله پاتوژن می‌تواند به بافت‌های گیاه آسیب برساند. این ممکن است منجر به آزاد شدن کلروفیل از تیلوکوئید شود. کلروفیل‌ها باید به سرعت تجزیه شوند تا از آسیب سلولی توسط عملکرد فتودینامیک آن‌ها جلوگیری شود (Takamiya et al., 2000). به‌طوری که شکست در تخریب کلروفیل می‌تواند میزان ROS تولید شده را افزایش دهد. در نهایت، مولکول‌های سمی تشکیل شده ممکن است منجر به آسیب اندامک و مرگ سلولی شود. رابطه تجزیه کلروفیل، وقوع پیری برگ، و پاسخ به تنش به‌طور گسترده در گیاهان گزارش شده است. با این حال، فعالیت هیدرولیتیک آنزیم کلروپلاستیکی کلروفیل‌لاز معمولاً در مسیرهای تخریب کلروفیل شناخته شده است. ارتباط آن با سایر مسیرهای تجزیه کلروفیل مشخص نیست (Chairat et al., 2013; Moshe et al., 2012). مطالعه قبلی گزارش کرده است که کاهش کلروفیل‌ها در برگ‌های پیر شده با فعالیت آنزیم کلروفیل‌لاز در لوبیا و آرابیدوپسیس ارتباطی ندارد (Schenk & Horowitz, 2007). بررسی دیگری نشان داد که کلروفیل‌لاز با سطوح کلروفیل پایین‌تر در برگ‌های در حال پیری مطابقت دارد (Trebitch et al., 1993). این استدلال نشان داد که کاتابولیسم کلروفیل هنوز یک فرآیند مبهم در گیاهان است. برخی مطالعات نشان می‌دهد که تغییر کلروفیل در ارقام متحمل بیش‌تر از ارقام حساس می‌باشد (Gorovits & Czosnek, 2008).

### نتیجه‌گیری و پیشنهادها

مبتنی بر نتایج مطالعه حاضر، اثر تنش‌های PVY، PVX و نماد بر صفات طول ریشه، طول ساقه، وزن خشک ساقه، وزن تر ساقه و وزن تر ریشه معنی‌دار شدند. در برهم‌کنش هر دو تنش PVY و PVX، وزن تر ریشه اختلاف معنی‌دار به میزان ۸۰ درصد در مقایسه با میزان تنش PVX ایجاد کرده است. طول ریشه تحت تنش PVX، اختلاف معنی‌داری با سایر

خانواده Ser/Thr/Tyr کیناز به‌طور گسترده مورد مطالعه قرار نگرفته است، اما شواهد نشان می‌دهد که برخی ایزوفرم‌ها می‌توانند پاسخ گرسنگی قدر را تنظیم کنند (Arias et al., 2014). اعضای خانواده کیناز STY کینازهایی با ویژگی دوگانه هستند که دارای دامنه‌های کاتالیزوری Ser/Thr و Tyr هستند و برخی از فرآیندهای متابولیک و رشد گیاه را از طریق فسفوریلاسیون پروتئین‌های هدف تنظیم می‌کنند (Rudrabhatla et al., 2006). به عنوان مثال، به نظر می‌رسد پروتئین کینازهای STY نقش مهمی در انتقال آمونیوم در ریشه‌های نهال برنج (Beier et al., 2018)، در تجمع روغن ذخیره در سیلیکس‌های آرابیدوپسیس (Ramachandiran et al., 2018) و در پاسخ به استرس و رشد بذر در خیار و بادام زمینی دارند. از ژن دیگر درگیر در شبکه شامل eIF2B $\beta$  یک کلاس جدید از ژن مقاومت به ویروس را نشان می‌دهد که به هر بیماری‌زایی مقاومت ایجاد می‌کند. ژن eIF2B به عنوان یک فاکتور تبادل نوکلئوتیدی گوانین (GEF) برای eIF2 شریک پروتئین متصل به GTP از طریق برهم‌کنش با GTP x eIF2 در مرحله اولیه شروع ترجمه عمل می‌کند. از جمله ژن دیگر درگیر در شبکه همبسته می‌توان به هیستون داستیل‌لاز اشاره نمود. هیستون داستیل‌لازها گروه‌های استیل را از پروتئین‌های هیستون حذف می‌کنند و نقش مهمی در بسیاری از فرآیندهای ژنومی ایفا می‌کنند. HDA9 به ۹۲ ژن متصل می‌شود و مستقیماً آنها را سرکوب می‌کند، که بسیاری از آنها به محرک‌های زنده و غیرزنده، از جمله خانواده‌ای از ژن‌های فاکتور پاسخ اتیلن، پاسخ‌گو هستند.

### جدول ۳. لیست ژن‌های هاب موجود در دو ماژول آبی و خاکستری تحت

تنش ویروس و نماد در سیب‌زمینی

شماره	نام ژن	عملکرد
۱	BQ506236	هیستون داستیل‌لاز
۲	BQ518797	پروتئین ترنسپورتر وزیکول شبکه آندوپلاسمی
۳	BQ505556	زیرواحد بتا فاکتور ۲ شروع ترجمه یوکاریوتی
۴	BQ115588	پروتئین STY-L
۵	BQ115083	پروتئین LRR
۶	BQ516294	وابسته به استراز دارای شباهت به استراز است.

در روش شبکه‌های هم‌بیان وزن‌دار، هر ماژول هم‌بیان می‌تواند بازتاب‌دهنده یک پیام زیستی حقیقی باشد. برای بررسی معنی‌داری یک ماژول از نظر زیستی از تجزیه و تحلیل هستی‌شناسی ژن (GO) می‌توان استفاده کرد (Langfelder &

کاهش رشد کلی و در نتیجه کوتاه شدن گیاهان، ساقه‌های باریک و کاهش زیست توده می‌شود. تحت چهار تنش میزان کارتنوئید نسبت به نرمال افزایش یافته است. براساس یافته‌های موجود می‌توان رقم آگریا را به عنوان رقم نیمه متحمل به چهار تنش معرفی نمود.

تنش‌ها داشت. هم‌چنین طول ساقه تحت تنش PVX و PVX/PVY اختلاف معنی‌داری با دو تنش دیگر PVY و نماد داشت. از آن جایی که میزان کلروفیل ارتباط مستقیمی با فعالیت‌های فتوسنتزی دارد که انرژی لازم برای رشد و دفاع در برابر تنش‌ها را فراهم می‌کند، کاهش این پارامترها باعث

## References

- Arias, M. C., Pelletier, S., Hilliou, F., Wattebled, F., Renou, J. P., & D'hulst, C. (2014). From dusk till dawn: the *Arabidopsis thaliana* sugar starving responsive network. *Frontiers in plant science*, 5, 482.
- Balogun, O. S., Xu, L., Teraoka, T., & Hosokawa, D. (2002). Effects of single and double infections with Potato virus X and Tobacco mosaic virus on disease development, plant growth, and virus accumulation in tomato. *Fitopatologia Brasileira*, 27, 241-248.
- Bassel, G.W., Lan, H., Glaab, E., Gibbs, D.J., Gerjets, T., Krasnogor, N., Bonner, A.J., Holdsworth, M.J. and Provart, N.J. (2011). Genome-wide network model capturing seed germination reveals coordinated regulation of plant cellular phase transitions. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(23), 9709-9714.
- Beier, M.P., Obara, M., Taniai, A., Sawa, Y., Ishizawa, J., Yoshida, H., Tomita, N., Yamanaka, T., Ishizuka, Y., Kudo, S. & Yoshinari, A., (2018). Lack of ACTPK 1, an STY kinase, enhances ammonium uptake and use, and promotes growth of rice seedlings under sufficient external ammonium. *The Plant Journal*, 93(6), 992-1006.
- Bergmann, D. C., Lukowitz, W., & Somerville, C. R. (2004). Stomatal development and pattern controlled by a MAPKK kinase. *Science*, 304(5676), 1494-1497.
- Birch, P.R., Bryan, G., Fenton, B., Gilroy, E.M., Hein, I., Jones, J.T., Prashar, A., Taylor, M.A., Torrance, L. & Toth, I.K. (2012). Crops that feed the world 8: potato: are the trends of increased global production sustainable?. *Food Security*, 4, 477-508.
- Chairat, K., Tarning, J., White, N. J., & Lindegardh, N. (2013). Pharmacokinetic Properties of Anti-Influenza Neuraminidase Inhibitors. *The Journal of Clinical Pharmacology*, 53(2), 119-139.
- Devaux, A., Goffart, J.P., Petsakos, A., Kromann, P., Gatto, M., Okello, J., Suarez, V. & Hareau, G., (2020). Global food security, contributions from sustainable potato agri-food systems. The potato crop: Its agricultural, nutritional and social contribution to humankind, 3-35.
- Edin, E., Gulsher, M., Andersson Franko, M., Englund, J. E., Flöhr, A., Kardell, J., & Viketoft, M. (2019). Temporal Interactions between root-lesion nematodes and the fungus *Rhizoctonia solani* lead to reduced potato yield. *Agronomy*, 9(7), 361.
- Galvez-Valdivieso, G., Delgado-Garcia, E., Diaz-Baena, M., Montaña, O., Quiles, F. A., Pineda, M., & Piedras, P. (2020). Biochemical and molecular characterization of PvNTD2, a nucleotidase highly expressed in nodules from *Phaseolus vulgaris*. *Plants*, 9(2), 171.
- Gorovits, R., & Czosnek, H. (2008). Expression of stress gene networks in tomato lines susceptible and resistant to Tomato yellow leaf curl virus in response to abiotic stresses. *Plant Physiology and Biochemistry*, 46(4), 482-492.
- Hameed, A., Iqbal, Z., Asad, S., & Mansoor, S. (2014). Detection of multiple potato viruses in the field suggests synergistic interactions among potato viruses in Pakistan. *The plant pathology journal*, 30(4), 407.
- Hajibarat, Z., & Saidi, A. (2023). Filamentation Temperature-Sensitive (FtsH); Key Player in Response to Multiple Environmental Stress Conditions and Developmental Stages in Potato. *Journal of Plant Growth Regulation*, 42(7), 4223-4239.
- Hajibarat, Z., Saidi, A., & Hajibarat, Z. (2022). Genome-wide identification of 14-3-3 gene family and characterization of their expression in developmental stages of *Solanum tuberosum* under multiple biotic and abiotic stress conditions. *Functional & Integrative Genomics*, 22(6), 1377-1390.
- Hosseini, M. B., Afshari, R. T., & Salimi, K. (2011). Breaking dormancy of potato minitubers with thiourea. *Potato Journal*, 38(1), 9-12.
- Langfelder, P., & Horvath, S. (2008). WGCNA: an R package for weighted correlation network analysis. *BMC bioinformatics*, 9(1), 1-13.

- Li, Z., Wang, J., & Wang, J. (2023). Identification of a Comprehensive Gene Co-Expression Network Associated with Autotetraploid Potato (*Solanum tuberosum* L.) Development Using WGCNA Analysis. *Genes*, 14(6), 1162.
- Moschen, S., Marino, J., Nicosia, S., Higgins, J., Alseekh, S., Astigueta, F., ... & Heinz, R. A. (2019). Exploring gene networks in two sunflower lines with contrasting leaf senescence phenotype using a system biology approach. *BMC plant biology*, 19(1), 1-15.
- Moshe, A., Pfannstiel, J., Brotman, Y., Kolot, M., Sobol, I., Czosnek, H., & Gorovits, R. (2012). Stress responses to Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV) infection of resistant and susceptible tomato plants are different. *Metabolomics* 11, 6(10.4172), 2153-0769.
- Nayyar, N., Kaur, I., Malhotra, P., & Bhatnagar, R. K. (2017). Quantitative proteomics of Sf 21 cells during Baculovirus infection reveals progressive host proteome changes and its regulation by viral miRNA. *Scientific reports*, 7(1), 10902.
- Omranian, N., Kleessen, S., Tohge, T., Klie, S., Basler, G., Mueller-Roeber, B., Fernie, A.R. and Nikoloski, Z. (2015). Differential metabolic and coexpression networks of plant metabolism. *Trends in plant science*, 20(5), 266-268.
- Peng, J., Wang, P., Fang, H., Zheng, J., Zhong, C., Yang, Y., & Yu, W. (2021). Weighted gene co-expression analysis network-based analysis on the candidate pathways and hub genes in eggplant bacterial wilt-resistance: a plant research study. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(24), 13279.
- Pourrahim, R., Farzadfar, S., Golnaraghi, A. R., & Ahoonmanesh, A. (2007). Incidence and distribution of important viral pathogens in some Iranian potato fields. *Plant Disease*, 91(5), 609-615.
- Qin, T. Y., Sun, C., Bi, Z. Z., Liang, W. J., Li, P. C., Zhang, J. L., & Bai, J. P. (2020). Identification of drought-related co-expression modules and hub genes in potato roots based on WGCNA. *Acta Agron. Sin.*, 46(7), 19.
- Ramachandiran, I., Vijayakumar, A., Ramya, V., & Rajasekharan, R. (2018). Arabidopsis serine/threonine/tyrosine protein kinase phosphorylates oil body proteins that regulate oil content in the seeds. *Scientific Reports*, 8(1), 1154.
- Rudrabhatla, P., Reddy, M. M., & Rajasekharan, R. (2006). Genome-wide analysis and experimentation of plant serine/threonine/tyrosine-specific protein kinases. *Plant molecular biology*, 60, 293-319.
- Saidi, A., Hajibarat, Z., & Hajibarat, Z. (2020). Identification of responsive genes and analysis of genes with bacterial-inducible cis-regulatory elements in the promoter regions in *Oryza sativa* L. *Acta agriculturae Slovenica*, 116(1), 115-123.
- Saidi, A., & Hajibarat, Z. (2021a). Genome wide identification of StKNOX gene family and characterization of their expression in *Solanum tuberosum*. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 37, 102160.
- Saidi, A., & Hajibarat, Z. (2021b). Approaches for developing molecular markers associated with virus resistances in potato (*Solanum tuberosum*). *Journal of Plant Diseases and Protection*, 128, 649-662.
- Schaefer, A.M., Reif, J.S., Guzmán, E.A., Bossart, G.D., Ottuso, P., Snyder, J., Medalie, N., Rosato, R., Han, S., Fair, P.A. and McCarthy, P.J. (2016). Toward the identification, characterization and experimental culture of *Lacazia loboi* from Atlantic bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*). *Sabouraudia*, 54(6), 659-665.
- Schaefer, R. J., Briskine, R., Springer, N. M., & Myers, C. L. (2014). Discovering functional modules across diverse maize transcriptomes using COB, the co-expression browser. *PLoS one*, 9(6), e99193.
- Schans, J., & Arntzen, F. K. (1991). Photosynthesis, transpiration and plant growth characters of different potato cultivars at various densities of *Globodera pallida*. *Netherlands Journal of Plant Pathology*, 97, 297-310.
- Schans, J. (1991). Reduction of leaf photosynthesis and transpiration rates of potato plants by second-stage juveniles of *Globodera pallida*. *Plant, Cell & Environment*, 14(7), 707-712.
- Schenk, S., & Horowitz, J. F. (2007). Acute exercise increases triglyceride synthesis in skeletal muscle and prevents fatty acid-induced insulin resistance. *The Journal of clinical investigation*, 117(6), 1690-1698.
- Schulte-Geldermann, E., Gildemacher, P. R., & Struik, P. C. (2012). Improving seed health and seed performance by positive selection in three Kenyan potato varieties. *American Journal of Potato Research*, 89, 429-437.
- Serin, E. A., Nijveen, H., Hilhorst, H. W., & Ligterink, W. (2016). Learning from co-expression networks: possibilities and challenges. *Frontiers in plant science*, 7, 444.
- Seo, P.J., Park, J.M., Kang, S.K., Kim, S.G., & Park, C.M. (2011). An arabidopsis senescence-associated protein sag29 regulates cell viability under high salinity. *Planta*, 233, 189-200.

- Takamiya, K., Akamine, M., Shibata, S., Toyoshima, A., Kasamatsu, Y., & Shinohara, A. (2000). Preparation of multitracer by thermal neutron fission of  $^{235}\text{U}$ . *Journal of Nuclear and Radiochemical Sciences*, 1(2), 81-82.
- Tan, J. W., Shinde, H., Tesfamicael, K., Hu, Y., Fruzangohar, M., Tricker, P., ... & Rodríguez López, C. M. (2023). Global transcriptome and gene co-expression network analyses reveal regulatory and non-additive effects of drought and heat stress in grapevine. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1096225.
- Torii, K. U. (2004). Leucine-rich repeat receptor kinases in plants: structure, function, and signal transduction pathways. *Int Rev Cytol*, 234, 1-46.
- Trebitsh, T., Goldschmidt, E. E., & Riov, J. O. S. E. P. H. (1993). Ethylene induces de novo synthesis of chlorophyllase, a chlorophyll degrading enzyme, in Citrus fruit peel. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 90(20), 9441-9445.
- Trudgill, D. L., & Cotes, L. M. (1983). Differences in the tolerance of potato cultivars to potato cyst nematodes (*Globodera rostochiensis* and *G. pallida*) in field trials with and without nematicides. *Annals of Applied Biology*, 102(2), 373-384.
- Trudgill, D. L., Parrott, D. M., Evans, K., & Widdowson, F. V. (1975). Effects of potato cyst nematodes on potato plants. 4. Effects of fertilizers and *heterodera-rostochiensis* on yield of 2 susceptible varieties. *Nematologica*, 21(3), 281-286.
- Trudgill, D. L. (1980). Effects of *Globodera rostochiensis* and fertilisers on the mineral nutrient content and yield of potato plants. *Nematologica*, 26(2), 243-254.
- Wang, B., Ma, Y., Zhang, Z., Wu, Z., Wu, Y., Wang, Q. & Li, M., (2011). Potato viruses in China. *Crop Protection*, 30(9), 1117-1123.
- Wolf, S., Hématy, K., & Höfte, H., (2012). Growth control and cell wall signaling in plants. *Annual review of plant biology*, 63, 381-407.
- Yan, L., Lai, X., Wu, Y., Tan, X., Wang, H. & Zhang, Y. (2018). Co-Expression Network-based Analysis associated with potato initial resistance. *bioRxiv*, 496075.
- Yin, X., Wang, X., & Komatsu, S. (2018). Phosphoproteomics: protein phosphorylation in regulation of seed germination and plant growth. *Current Protein and Peptide Science*, 19(4), 401-412.
- Zhang, B., & Horvath, S. (2005). A general framework for weighted gene co-expression network analysis. *Statistical applications in genetics and molecular biology*, 4(1).