مقاله علمی پژوهشی
مجله دوفصل نامه
مهندسی ژنتیک و ایمنی زیستی
ISSN 2588-5073 چاپی
ISSN 2588-5081 الکترونیکی
دوره ۱۰، شماره ۱، بهار وتابستان ۱۴۰۰
صفحه ٤٦-۲۳

https://dorl.net/dor/20.1001.1.25885073.1400.10.1.2.2

DOR:20.1001.1.25885073.1400.10.1.2.2

Genetic Engineering and Biosafety Journal
Volume 10, Number 1
2021

http://gebsj.ir/

https://ecc.isc.ac/showJournal/23064

شناسایی خانواده ژنیABC-Transporter و آنالیز الگوی همزمانی شبکه بیان ژنی در مراحل مختلف نموی استولون سیب زمینی در پاسخ به تنش‌های خشکی و شوری

Identification of ABC-Transporter gene family and analysis of gene co-expression network pattern in different stages of potato stolone development in response to drought and salinity stress

بهاره پورفرید[۱]، کریم سرخه[۱*]، پدرو مارتینز گومز[۲]
Bahareh Pourfarid[1], Karim Sorkheh[1], Pedro Martinez-Gomez[2]

۱- گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز ایران
۲- دانشکده کشاورزی دانشگاه باسیلیکاتا اسپانیا

1-Department of Production engeneering and Plant Genetics, Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz, Iran.
2-Department of Plant Breeding, CEBAS-CSIC, P.O. Box 164, Espinardo, Murcia, 30080, Spain

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: k.sorkheh@scu.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۹۹/۱۲/۱۷ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۳/۱۴)

چکیده

ژنهای ABC transporter (ATP-binding Cassette) یکی از بزرگ‌ترین خانواده‌های ژنی هستند که در سه قلمرو باکتریها، یوباکتریها و یوکاریوت‌ها یافت می‌شوند. بیشتر پروتئین‌های شناخته شده ABC، وابسته به ATP بوده و ناقلین غشایی قادر به جابجایی و انتقال محدوده وسیعی از مولکول‌های درون و بیرون غشای سلولی‌اند. این ناقلین در فرآیندهای زیستی متنوعی نقش مهمی دارند. از آنجا که تاکنون مطالعه جامعی در رابطه با شناساییABC transporterها در گیاه سیب‌زمینی انجام نشده است، در این تحقیق با جستجو در پایگاه اطلاعاتی NCBI و غربالگری ژن‌های شناسایی شده، در نهایت ۲۲۸ ژن ABC transporter شناسایی شد. تجزیه و تحلیل هستی‌شناسی (GO) نشان داد که حدود ٪۵۳ از ABC transporterها در فرآیندهای بیولوژیکی وظیفه انتقال و جابجایی مواد را برعهده دارند. همچنین، تجزیه و تحلیل عملکرد مولکولی و محتوای سلولی نشان داد به ترتیب ٪۳۲ به عنوان ATP-binding و٪۴۳ از آنها جزء عملگرهای غشاهای درونی هستند. همچنین بررسی عناصر *Cis* در پروموتور ژن‌های ABC transporter انجام گرفت که در نهایت ۱۳عنصر در تنش خشکی و ۳ عنصر در تنش شوری مشخص گردید. درنهایت الگوی بیانی ۸ ژنABC transporter انتخاب شده تحت تنش‌های خشکی و شوری با استفاده از روش qPCR مورد تائید و بررسی قرار گرفت. نتایج بررسی‌ها نشان داد، ژن‌های مورد مطالعه تحت تاثیر تنش‌ها بودند. ژن‌هایStABC-050 ، StABC-084 و StABC-124 در تنش خشکی و نیز ژن‌های StABC-084 وStABC-001 در برابر تنش شوری دارای افزایش بیان بودند. در ادامه جهت اطمینان از اعمال تنش‌های وارد شده، میزان پرولین و RWC و نیز سدیم- پتاسیم اندازه‌گیری شد. طبق نتایج به دست آمده با افزایش تنش خشکی، مقدار پرولین در مراحل نموی مختلف روند افزایشی و رطوبت نسبی دارای روند کاهشی بود به طوری که این کاهش در میزان RWC با کنترل، در سطح ٪۱ اختلاف معنی‌داری را نشان داد. هدف از این تحقیق، شناسایی بیوانفورماتیکی و بررسی الگوی بیان ژن‌های انتخابی ABC transporter تحت تنش خشکی و شوری در سیب زمینی بود.

واژه‌های کلیدی

استولون سیب‌زمینی،
بیان ژن،
بیوانفورماتیک،
تنش‌های خشکی و شوری،
ATP-binding cassette (ABC) transporter.

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1400.10.1.2.2]

مقدمه

سیب‌زمینی با نام علمی (*Solanum tuberosum* L.) از نظرگیاه‌شناسی به خانواده Solanaceae و جنس Solanum تعلق دارد. در این خانواده، گیاهان مهم دیگری نظیر گوجه‌فرنگی، بادنجان و فلفل نیز وجود دارد (Jalali *et al.* 2019). در بین گیاهان زراعی که به عنوان غذای انسانی مصرف می‌شوند، سیب-زمینی از نظر میزان مصرف در جهان بعد از برنج و گندم در جایگاه سوّم و پس از آن ذرت در مقام چهارم قرار دارد (Devaux *et al.* 2014). تنش‌های غیرزیستی از جمله مهم‌ترین عوامل محدودکننده رشد و تولید در گیاهان محسوب می‌شوند. گیاهان به دلیل عدم قدرت جابجایی قادر به فرار از تغییرات ایجاد شده در محیط اطراف خود نبوده و به همین علت به طور دائم در معرض تنش‌های محیطی مختلفی قرار دارند. گیاهان جهت بقاء به این تنش‌ها پاسخ داده و سازگار می‌شوند. این تنش‌ها پاسخ‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی مختلفی را در گیاهان القاء می‌کنند (Rahnama *et al.* 2012). تنش خشکی می‌تواند از یک یا چند فعالیت فیزیولوژیکی مانند تعرق، فتوسنتز، طویل شدن بافت واندام و یا فعالیت‌های آنزیمی سلول ممانعت نموده و یا حتی باعث توقف آن شود (Loon, 1981). با توجه به این که تحت شرایط تعرق شدید یا کمبود آب، مقدار محتوای آب نسبی (RWC:Relative Water Content) سیب‌زمینی از بسیاری از گونه‌ها مثل گوجه‌فرنگی و چچم کمتر است، جبران شبانه این گونه نیز نسبت به سایر گونه‌ها مثل پنبه و سورگوم کمتر می‌باشد. این موضوع، می‌تواند یکی از دلایل حساسیت سیب‌زمینی به کمبود آب باشد. عامل مؤثر دیگر، عمق محدود ریشه‌دهی سیب-زمینی است (Harris, 1992). این گیاه سیستم ریشه‌ای ضعیف و پراکنده‌ای دارد و در حدود ۸۵ درصد طول ریشه آن در عمق ۳۰ سانتی متری خاک تمرکز یافته است (Shiri-Janagard *et al.* 2009). به همین دلیل، سیب‌زمینی در مقایسه با سایر گیاهان زراعی به تنش خشکی حساس‌تر است (Loon, 1981). تنش شوری، رشد گیاهان را به دو صورت تحت تاثیر قرار می‌دهد. اثر نخست و غالب آن مربوط به تجمع املاح محلول در خاک مانند کلسیم، منیزیم، کربنات، سولفات و بسیاری از عناصر دیگر در خاک که باعث کاهش پتانسیل اسمزی شده و جذب آب توسط گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Hanson *et al.* 2006). اثر دوّم مربوط به وجود یون‌های خاصی نظیر کلر، سدیم و یا بُر در محلول خاک می‌باشد که به‌تنهایی می‌توانند باعث بروز سمیت در گیاه شده و در جذب گیاه اختلال ایجاد کنند. این اثر علاوه بر سمیت یونی موجب به هم خوردن تعادل تغذیه‌ای نیز می‌شود (Botella *et al*, 2005). حد آستانه تحمل شوری آب آبیاری که در مقادیر بالاتر از آن کاهش عملکرد سیب‌زمینی آغاز می‌شود، ۲ دسی‌زیمنس بر متر در نظر گرفته شده است (Van Hoom *et al*, 1993). برای ارقام تتراپلوئید سیب‌زمینی آستانه تحمل به شوری ۱/۵ تا ۳ دسی زیمنس بر متر بوده (Mass and Hoffman, 1997) در حالی که ارقام دیپلوئید سیب‌زمینی تحمل بیشتری دارند (Khrais *et al.* 1998). تکثیر و نسخه‌برداری ژنی به عنوان یک محرک بزرگ اجباری در طول تکامل شناخته شده است (Ohno, 1970). ABC transporterها یکی از بزرگ‌ترین خانواده‌های چند ژنی پروتئینی را تشکیل می‌دهند. اعضای این خانواده از نقطه نظر عملکرد، متنوع و در کلیه ارگانیسم‌های سلولی یافت می‌شوند و در انسان بسیار مورد مطالعه قرار گرفته‌اند. ABC transporterها برای جابجایی طیف گسترده‌ای از سوبسترا در عرض غشاء و درون سلول از انرژی حاصل از هیدرولیز ATP استفاده می‌کنند. همچنین، ژن‌هایABC مسئول بخش بزرگی از مقاومت چند دارویی سلول‌های سرطانی و پاتوژن‌ها هستند. جهش در ژن-هایABC عامل ۱۸ بیماری متمایز وراثتی مانند سیستیک فیبروزیس، بیماری استارگارد و برخی از اختلالات متابولیسم کلسترول است (Hyde and Emsley, 1990). ژنوم‌های گیاهی به وسیله تعداد زیادی (بیش از ۱۰۰ ناقل) از ژن‌های ABC (ATP Binding Cassette) کدگذاری می‌شوند که در آن‌ها بیشتر از موجودات دیگر، در محدوده وسیعی از عملکردهای زیستی درگیر هستند (Kang *et al.* 2011). به طور معمول برای تعریف پروتئین‌هایABC از دُمین (Nucleotide-Binding Domains) NBD استفاده می‌شود. این دُمین‌ها شامل چندین موتیف به شدت حفاظت شده و نیز دارای دو دسته توالی Walker A و Walker B می‌باشند. اثر موتیفABC ایجاد لوپ H و لوپ Q می‌باشد (Higgins and Linton, 2004). این پروتئین‌ها علاوه بر

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1400.10.1.2.2]

دُمین NBD، دارای غشای آبگریز TMD (Transmembrane Domains) نیز می‌باشند. به طورمعمول چندین آلفا هلیکس درغشای TMDها وجود دارد. دُمین‌های NBD تأمین کننده انرژی‌اند و با اتصال و هیدرولیز ATP برای جابجایی مواد عمل می‌کنند. وظیفه TMD نیز شناسایی و انتقال مواد از یک لایه به غشای لیپیدی دو لایه‌ای می‌باشد (Sánchez-Fernández *et al*, 2001). در یوکاریوت‌ها دو نوع طبقه‌بندی رایج برای ناقلین ABCها وجود دارد؛ ناقلین با اندازه کامل و ناقلین نیمه کامل (ناقص). ساختار استاندارد ژن‌های ABC با اندازه کامل شامل دو دُمین NBD و دو دُمین TMD می‌باشد و حاملین نیمه کامل دارای یک دُمین TMD و یک دُمین NBD می‌باشند. چندین روش طبقه‌بندی برای پروتئین‌های ABC پیشنهاد شده است که طبقه بندی و شبیه‌سازی ژنوم انسانی در حال حاضر به طور گسترده با پروتئین‌های ABC انسانی و گیاهان پذیرفته شده است (Dean *et al*, 2001; Verrier *et al*, 2008; Khan *et al*, 2020; Yan *et al*, 2021). براساس شبیه‌سازی طرح ژنوم انسانی، پروتئین‌های ABC یوکاریوتی درون ۸ زیرخانواده بر پایه روابط فیلوژنتیکی NBD، روابط همولوگی و طبقه‌بندی دُمین‌ها از زیرخانواده ABCA تا ABCH تقسیم‌بندی می‌شوند. گروه ABCH در ژنوم بندپایان شناسایی شده است ولی در قارچ‌ها و پستانداران و گیاهان هنوز ناشناخته می‌باشند (Annilo *et al*. 2006; Dermauw and Leeuwen, 2014). اخیراً زیرخانواده ABCI نوع پروکاریوتی در گیاهان شناخته شده‌اند امّا در بیشتر ژنوم‌های حیوانی وجود ندارند. در کل، ۹ زیرخانواده از این پروتئین‌ها شناخته شده‌اند و ۸ زیرخانواده آن در ژنوم گیاهان وجود دارند (Kang *et al*, 2011; Lopez-Ortiz *et al*, 2019). این آزمایش به منظور شناسایی، تجزیه و تحلیل گسترده خانواده پروتئینی ABC Transporter و بررسی روابط فیلوژنتیکی و نیز الگوی همزمانی شبکه بیانی ژن‌های ABC Transporter در گیاه سیب‌زمینی تحت تنش‌های خشکی و شوری انجام پذیرفت.

مواد و روش‌ها

شناسایی ABC Transporterهای گیاه سیب زمینی: در بخش بیوانفورماتیکی، ابتدا به منظور شناسایی ABC Transporterهای گیاه سیب‌زمینی، توالی‌های پروتئینی این خانواده ژنی با استفاده از پایگاه اطلاعاتی NCBI (http://www.ncbi.nlm.nih) استخراج و در نهایت ۲۲۸ژن ABC Transporter شناسایی شد. سپس تمامی توالی‌های استخراج شده، از نظر وجود یا عدم وجود دُمین ABC Transporter با استفاده از پایگاه‌های اطلاعاتی Pfam (http://www.ncbi.nlm.nih.org) و Smart (http://www.smart.org) مورد بررسی قرار گرفتند.

تجزیه و تحلیل فیلوژنتیکی توالی‌های پروتیینی ABC Transporterهای گیاه سیب زمینی: با استفاده از نرم افزار ClustalX همردیفی و ترسیم درخت فیلوژنتیک توالی‌های پروتئینی بدست آمده در سیب زمینی انجام پذیرفت و درخت فیلوژنتیکی آن‌ها براساس روش نزدیک‌ترین همسایگی و با انجام بوت استراپ (bootstrap) با تکرار ۱۰۰۰ بار توسط نرم افزار MEGA ver.7 ترسیم شد.

شناسایی خصوصیات فیزیکی، شیمیایی و موقعیت سلولی ABC Transporterهای گیاه سیب زمینی: جهت تعیین ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی پروتئین‌های ABC Transporter شامل تعداد اسیدهای آمینه هر پروتئین، وزن مولکولی و نقطه ایزوالکتریک، از پایگاه اطلاعاتی Expasy (http://www.expasy.com) و برای پیش‌بینی این که هر کدام از پروتئین‌های ABC Transporter در کدام قسمت از سلول واقع و فعالیت دارند از پایگاه اطلاعاتی Softberry (http://www.linux1.softberry.com) استفاده گردید.

پراکنش کروموزومی، ساختار ژنی و موتیف ژن‌های ABC Transporterهای سیب‌زمینی: برای تعیین پراکنش ۲۲۸ ژن ABC Transporter بر روی ۱۲ کروموزوم سیب‌زمینی، دانسته‌های مربوط به نقاط شروع و پایان هر ژن و نیز شماره کروموزوم هر ژن از پایگاه اطلاعاتی Expasy استخراج و سپس موقعیت هر ژن روی کروموزوم با استفاده از نرم‌افزار Mapchart ver.2.3 به صورت گرافیکی ترسیم شد. جهت بررسی ساختار ژن‌های ABC Transporter و پیش‌بینی نواحی اگزون و اینترون ژن‌های مورد بررسی، با استفاده از توالی CDS و توالی ژنومیک هر ژن از طریق پایگاه اطلاعاتی Gene Structure Display Server

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1400.10.1.2.2]

(http://www.gsds.cbi.pku.edu.cn) به صورت گرافیکی به نمایش درآمد. در ادامه با استفاده از پایگاه داده‌ای MEME، موتیف‌های حفاظت شده پروتئین‌های StABC Transporter شناسایی و مورد بررسی قرار گرفتند. در این راستا موتیف‌های اصلی و فرعی و تعداد و نقش هر کدام از آنها در ارتباط با گروه-بندی بدست آمده ازتجزیه و تحلیل فیلوژنتیکی و نیز روابط آنها مورد شناسایی قرار گرفت.

شناسایی شبکه ارتباطی و تعاملات پروتیینی ABC Transporterهای سیب زمینی: جهت شناسایی شبکه ارتباطی و اثرهای متقابل بین پروتئین‌ها و تعاملات فیزیکی عملکردی، از پایگاه اطلاعاتی STRING (https://string-db.org) استفاده شد. به این صورت که هر پروتئین ABC Transporter در سیب‌زمینی در مقابل با یک پروتئین از گیاه مدل آرابیدوپسیس قرار گرفته و سپس شبکه ارتباطی و پروتئین‌های دخیل در این مسیر ارتباطی نمایش داده شد.

شناسایی عناصر تنظیمی *Cis* پروموتور: به منظور شناسایی عناصر تنظیم کننده *Cis* در نواحی پروموتوری ژن‌های ABC Transporter و نقش احتمالی آن‌ها در میزان و روند بیان این ژن-ها در ایجاد مقاومت به تنش‌های خشکی و شوری، ناحیه ۲۰۰۰ جفت باز بالادست هر ژن با استفاده از پایگاه اطلاعاتی PLACE (http://www.dna.affrc.go.jp/PLACE) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

تجزیه و تحلیل ساختار ژنتیکی ABC Transporter: خصوصیات، تعداد و پراکنش نواحی اینترونی و اگزونی در میان پروتئین های ABC Transporter توسط پایگاه اطلاعاتی GSDS (http://gsds.gao-lab.org) شناسایی و تعیین گردید.

شناسایی میزان واگرایی ژن های مضاعف شده ABC Transporter : جهت تعیین میزان واگرایی ژن‌های مضاعف شده از نسبت Ka/Ks استفاده شد. میزانKa/Ks برای جفت ژن-های تندم و ژن‌های سگمنتال ABC trasporter در سیب‌زمینی با استفاده از نرم‌افزار DnaSP ver. 5.10.1 (Librado and Rozas, 2009) محاسبه گردید. روابط بین جفت ژن‌های سگمنتال با کمک نرم افزار آنلاین Circos(Krzywinski *et al*, 2009) به صورت گرافیکی نمایش داده شد.

تجزیه و تحلیل هستی‌شناسی و همولوژی سه بعدی پروتیین-های ABC Transporterهای سیب‌زمینی: جهت پیش‌بینی نقش، عملکرد و ویژگی ژن‌های مورد استفاده و انجام محاسبات مبتنی بر توالی‌ها شامل فرآیندهای زیستی، عملکرد مولکولی و اجزاء سلولی از نرم‌افزار Blast2GO استفاده شد و در نهایت برای تعیین مدل سه بعدی پروتئین‌هایABC Transporter از طریقBLASTP در پایگاه داده‌های PDB، پروتئین‌هایی که ۹۰٪ به بالا با توالی‌های پروتئین شناسایی شده در پایگاه PDB دارای شباهت بودند، مشخص شدند.

آزمایش‌های گلخانه‌ای و اعمال تنش‌های خشکی و شوری: در بخش گلخانه‌ای غده‌های سیب‌زمینی (رقم مارفونا) تهیه شده از مرکز تحقیقات همدان پس از گذراندن یک ماه دوره کمون و شروع جوانه‌زنی در یخچال و نیز ضدعفونی شدن با استفاده از قارچ کش پنتاکلروبنزن، در گلخانهٔ دانشگاه شهید چمران اهواز، در دمای ۱۷ درجه سانتی‌گراد درون گلدان‌هایی با حجم مشخص (۵ کیلویی) کشت شدند. سپس نمونه‌های استولون در مراحل نموی مختلف (شکل-۱ الف نمونه استولون سیب زمینی در مرحله قلابی شکل توسط نویسنده مقاله و ب: مراحل مختلف نمونه برداری استولون) که شامل سه مرحله نموی ۲، ۳ و ٤ جمع‌آوری و در نیتروژن مایع فریز شدند. نحوه اعمال تنش خشکی به روش قطع آبیاری بود. برای اعمال این تنش، از ظهور ۵۰٪ بوته‌ها تاگلدهی ٪۵۰ بوته‌ها (تشکیل استولون) با سطوح کنترل، ٤۰٪، ٦۰٪، ۸۰٪ ظرفیت زراعی خاک به مدت ۲ هفته تحت شرایط تنش قرار گرفتند (خورشیدی بنام و همکاران، ۱۳۸۱). برای تأیید وقوع تنش در گیاهان مورد بررسی، محتوای نسبی آب (RWC) طبق روش (Catsky,1960) محاسبه شد. برای اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ از هر گلدان، دیسک‌های سطحی به اندازه یک سکه توسط پانچ تهیه و بلافاصله وزن‌تر برگ(WF) توسط ترازوی حساس، اندازه‌گیری و یادداشت سپس با استفاده از آب مقطر برگ‌های مورد نظر داخل ظروف یکبار مصرف به مدت ٢٤ ساعت در دمای اتاق به حالت اشباع (WS)

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1400.10.1.2.2]

درآورده شد. نمونه‌های برگی دوباره توزین شدند، در نهایت برگ‌ها در آون ۷۲ درجه به مدت ۲٤ ساعت قرار گرفتند و سپس وزن خشک (WD) آن‌ها نیز تعیین شد (Catsky,1960). در نهایت محتوای نسبی آب‌برگ طبق فرمول زیر محاسبه شد.

$$RWC\% = [(WF-WD)/ (WS-WD)] \times 100$$

همچنین برای اعمال تنش شوری، غده‌های سیب‌زمینی تحت تیمار ۱۵۰ و ۱۸۰ میلی‌مولار Nacl قرار گرفتند. بعد از دو هفته از مراحل نموی غده‌ها، نمونه‌برداری صورت پذیرفت (Carlos *et al*, 1996). نسبت سدیم به پتاسیم نیز جهت ارزیابی سطوح تنش به عنوان معیاری جهت سنجش سطوح تنش شوری، اندازه‌گیری گردید. به این صورت که ابتدا ۰/۱ گرم از نمونه پودر شده را توزین و درون فالکون قرار داده سپس ۱۰ سی‌سی اسید استیک گلایسال ۰/۱ نرمال را روی هر یک از نمونه‌ها ریخته و به مدت ۲٤ ساعت در محیط آزمایشگاه قرار داده شد. پس از گذشت ۲٤ ساعت، نمونه‌ها را به مدت ۲ ساعت درون دستگاه بن‌ماری (حمام آب گرم) با دمای حدود ۹۰ درجه سانتیگراد قرار داده و بعد از گذشت این زمان نمونه‌ها را از دستگاه خارج نموده و با استفاده از کاغذ صافی واتمن ٤۱ صاف کرده سپس عصاره‌های به دست آمده با استفاده از دستگاه فلیم فتومتر قرائت گردید. البته قبل از قرائت نمونه‌ها، دستگاه با استفاده از آب مقطر و محلول استاندارد ۱۰۰ppm سدیم و یا پتاسیم کالیبره شد. غلظت معادل برای اعداد قرائت شده با کمک منحنی استاندارد به صورت میلی-گرم بر کیلوگرم محاسبه و عدد حاصل از منحنی با استفاده از رابطه زیر بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن خشک به دست آمد.

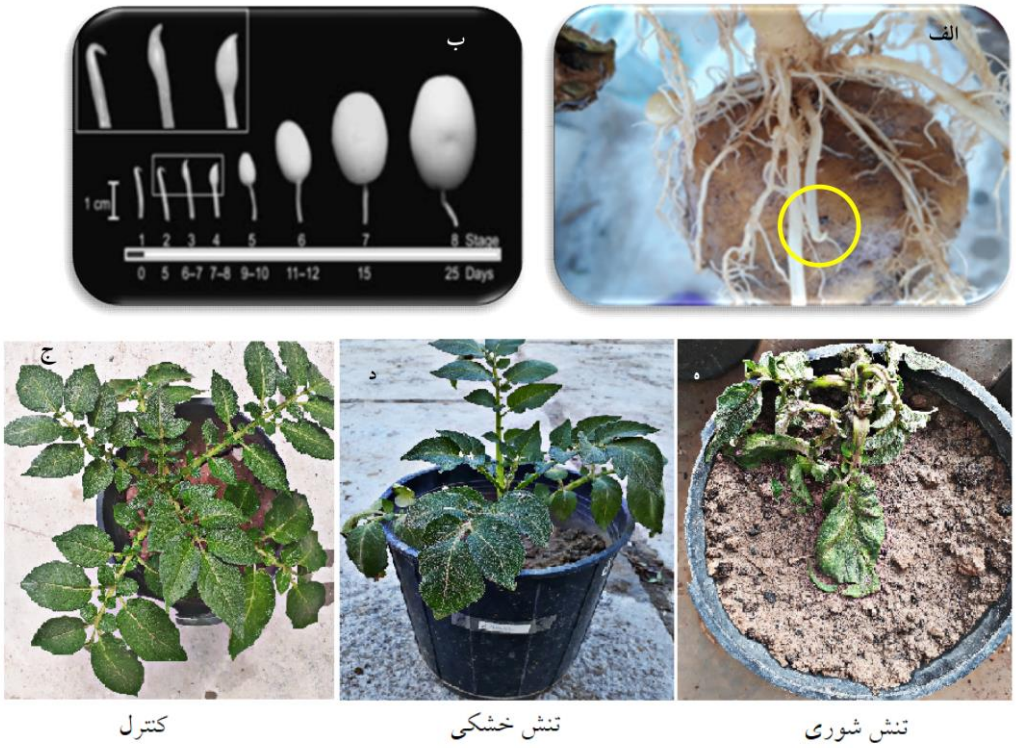
$$Y = X \times 10 \times \times \frac{1}{Z} \times \frac{1}{1000}$$

X= عدد حاصل از منحنی بر اساس میلی گرم بر کیلوگرم

Z = وزن نمونه استفاده شده در آزمایش (۰/۱ گرم)،

Y = میزان سدیم یا پتاسیم (میلی‌گرم بر گرم)

سنجش پرولین: در کنار پارامترهای ویژه برای هر تنش، سطوح پرولین آزاد (میلی گرم بر گرم) به عنوان شاخصی برای ارزیابی تنش خشکی و شوری مطابق روش (Bates *et al*, 1973) در مراحل نموی اندازه‌گیری شد.



شکل۱- الف) مراحل مختلف نموی استولون سیب‌زمینی: (Pourfarid, 2019، نویسنده مقاله)، ب) (Kloosterman *et al*, 2005) و ج) تأثیر تنش‌های خشکی (٤۰ درصد ظرفیت زراعی)(ه) و شوری (۱۸۰ میلی مولار)(د) بر گیاه سیب زمینی نسبت به شرایط کنترل (ج)(نویسنده مقاله)

Figure 1. Different stages of potato stolone development: A (Pourfarid, 2019), B (Kloosterman *et al*, 2005), The effect of drought (C) and salinity (D) stresses on potato plants compared to control (E) conditions (Pourfarid, 2019)

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1400.10.1.2.2]

ابتدا ۵۰۰ میلی‌گرم از بافت تازه گیاهی در ۱۰ میلی‌لیتر سولفوسالسیلیک اسید ۳٪ ساییده و مخلوط یکنواختی تهیه شد. مخلوط به دست آمده با استفاده از کاغذ صافی واتمن ۲۰ صاف و دو میلی‌لیتر از عصاره صاف شده با دو میلی‌گرم معرف ناین هیدرین و دو میلی لیتر اسید استیک گلایسال مخلوط و یک ساعت در بن‌ماری جوشان (۱۰۰ درجه سانتی گراد) قرار داده شد. در ادامه چهار میلی‌لیتر تولوئن به مخلوط اضافه و لوله‌ها به‌خوبی تکان داده شدند. با ثابت نگه داشتن لوله‌ها به مدت ۱۵-۲۰ دقیقه دو لایه به طور مجزا در آن‌ها تشکیل شد. از لایه رنگی بالایی که حاوی تولوئن و پرولین بود برای اندازه‌گیری غلظت پرولین استفاده شد. جذب مقدار مشخصی از این ماده رنگی در طول موج ۵۲۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری و مقدار پرولین در هر نمونه با استفاده از منحنی استاندارد تعیین و نتایج حاصل از اندازه‌گیری مقدار پرولین بر حسب میلی‌گرم در گرم وزن‌تر محاسبه شد.

استخراج RNA و سنتز cDNA: RNA کل، از مراحل نموی مختلف استولون با استفاده از کیت استخراج RNA بیوبیسیک (کانادا) طبق دستور العمل کیت انجام گردید. سنتز cDNA از مولکول‌های RNA با استفاده از کیت Primescript RT reagent تاکارا محصول کشور ژاپن و با استفاده از الیگو نوکلئوتیدهای dTطبق دستورالعمل کیت انجام گرفت. استفاده از آغازگرهای عمومی Oligo dt و Random 6mers می‌تواند باعث افزایش کارایی ساخت cDNA از mRNA کل شود. واکنش رونوشت برداری معکوس طی سیکل حرارتی ۱۰ دقیقه در دمای ۲۵°C، ۶۰ دقیقه در دمای ۴۷°C و سپس خاتمه واکنش در دمای ۸۵°C به مدت ۵ دقیقه و در نهایت برروی یخ نگهداری می‌شود.

طراحی آغازگرهای اختصاصی ژن‌های ABC Transporter: در این تحقیق آغازگرهای مورد نیاز با استفاده از نرم‌افزار آنلاین Primer3 طراحی شد. تعداد ۸ جفت آغازگر اختصاصی ژن‌های ABC Transporter براساس گروهبندی انجام شده و همچنین عملکرد بیولوژیکی و آغازگرهای عمومی *Elf* و *Seq3* به صورت رفت و برگشتی (Mariot *et al.* 2015) توسط شرکت بیوتکنولوژی پیشگام تهران سنتز شدند (جدول ۱). در نهایت آغازگرها را براساس فرمول ارائه شده توسط شرکت سازنده رقیق‌سازی نموده و در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شدند.

بررسی الگوی بیانی توسط واکنش زنجیره‌ای در زمان واقعی(Real Time PCR): به منظور بررسی الگوی بیان ژن‌های ABC Transporter در پاسخ به تنش‌های محیطی اعمال شده، از واکنش زنجیره‌ای در زمان واقعی استفاده شد. همچنین برای واکنش زنجیره‌ای پلیمراز، رنگ سایبرگرین (SYBER Green I) و مسترمیکس شرکت تاکارا مورد استفاده قرار گرفت. از آنجایی که کارایی PCR با استفاده از نرم افزار LinregPCR معادل ۲ محاسبه گردید از این رو به منظور افزایش دقت از دو ژن‌های *Elf* و *Sec3* به عنوان ژن مرجع که دارای بیان ثابتی در بافت های مورد مطالعه می‌باشند، به کار گرفته شد تا به عنوان کنترل داخلی در نرمال‌سازی نتایج مورد استفاده قرار گیرند. تمام مراحل تهیه محلول واکنش Real Time PCR و نیز افزودن cDNA به طورکامل بر روی یخ طبق دستورالعمل کیت در سه مرحله نموی استولون تحت تنش خشکی و شوری در سه تکرار صورت گرفت. سیکل حرارتی واکنش زنجیره ای در زمان واقعی به صورت: واسرشت سازی اولیه در دمای ۹۵°C به مدت ۵ دقیقه سپس به تعداد ۴۵ سیکل شامل واسرشت سازی در دمای ۹۵°C به مدت ۱۰ دقیقه، ۱۵ دقیقه در دمای (اتصال پرایمرها) و ۷۲°C به مدت ۳۰ و در پایان یک سیکل به عنوان بسط نهایی در دمای ۷۲°C به مدت ۳۰ ثانیه.

تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از Real Time PCR: تجزیه و تحلیل داده‌های مربوط به الگوی بیان ژن با استفاده از روش مقایسه ای $2^{-\Delta\Delta CT}$ انجام شد (Schmittgen and Livak, 2008). ابتدا برای هر نمونه میزان CT نسبت به خط پایه مشخص و سپس CT تمام نمونه‌ها به وسیله ژن‌های مرجع نرمال شده و در نهایت برای هر ژن در هر بافت میزان بیان محاسبه شد. در نهایت تجزیه و تحلیل‌های آماری توسط نرم‌افزار Excel انجام شد. رسم نقشه حرارتی ژن‌های مورد مطالعه در بافت‌ها توسط نرم‌افزار HemI-windiws-1-0-win64bit انجام پذیرفت (Wankun *et al.* 2014).

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1400.10.1.2.2]

جدول۱- توالی آغازگرهای مورد استفاده در qRT-PCR

Table 1. Primer sequence used in qRT-PCR

Name	Sequence(5'- 3')	Tm°	Product (length bp)
StABC-001-F	TGGGAGTGCTGTACTTGCTG	59.96	390
StABC-001-R	TGGAGACTGTTTCGTCGTGG	59.97	
StABC-012-F	TGGAATGACCGTGGATAGCG	59.90	768
StABC-012-R	TGCAAGCATGGAGATGCGTA	60.11	
StABC-024-F	AGTGTCCTTCAGAGTGCTGC	59.97	975
StABC-024-R	AGGGCCAGTTACAAGAAGGC	59.96	
StABC-050-F	CACCTGCCGTCTCCATCTAC	59.90	849
StABC-050-R	ACTCCCTTGCGTAGCCTTTC	60.04	
StABC-084-F	GCAGTTCAAGGAAACGTCGG	59.77	578
StABC-084-R	AATTCACCCTCGGCAACCTT	59.89	
StABC-002-F	CGGTGTATGAGTAGTCGGGC	59.97	638
StABC-002-R	AGACCAGACGTTGGTTCGTC	59.97	
StABC-138-F	AGGCTTGCGTGTGGTTAGAA	58	286
StABC-138-R	TGTGCTTGACGGGCTAGTTT	58	
StABC-124-F	ATTGGAAGGCTCGTGCAGAT	58	327
StABC-124-R	GTTGCTGCGTGCTACTCTTG	60	
Elf-F	GTCACACTTCCCACATTGCT	60	223
Elf-R	CCAGCATCACCGTTCTTCAA	60	
Sec3-F	CGAGCAACTCCCTCTCTTCA	60.1	215
Sec3-R	GCAAGCGTGGCAAATCTACA	60	

نتایج و بحث

خصوصیات فیزیکی پروتئین‌های ABC transporter از قبیل موقعیت کروموزومی، نقطه شروع و خاتمه ژنومی کروموزوم، طول هر پروتئین، نقطه ایزوالکتریک و وزن مولکولی هر پروتئین در جدول ۲ نشان داده شد. جزئیات کامل یافته‌های حاصل، با توجه به جدول۲ نشان داد که بیشترین طول توالی مربوط به توالی شماره٤٧ (٦٣٤٧) و کمترین طول مربوط به توالی شماره ۲۲۸ (۲۱۹) بود. بیشترین وزن مولکولی مربوط به توالی شماره۲ (۲۳۸۳۰۳/۲۳) و کمترین وزن مولکولی مختص به توالی شماره ٦٣ (٤٩٤٦٢) و بیشترین و کمترین نقطه ایزوالکتریک به ترتیب مربوط به توالی شماره ١٤٨ (٩/٧١) و توالی٢١٤ (٤/٨٧) بود. همان‌طور که انتظار می‌رفت مکان بیشتر توالی‌ها نیز با توجه به نقش ABC transporterها در انتقال و جابجایی مواد، غشای پلاسمایی تعیین شد.

جدول۲- موقعیت، طول پروتئین و محل کروموزومی ژن‌های ABC transporterهای شناسایی شده در گیاه سیب زمینی

Table 2. Position, sequence length and chromosolal localization of ABC transporters identified in potato

Generic Name	Sequence length	PI	MW(Kda)	Subcellular Localization	Start position(bp)	End position(bp)
StABC transporter-001	6238	6.68	212331.56	Plasma membrane	7831967	7831258
StABC transporter-002	6295	7.92	238303.23	Plasma membrane	57399479	57401137
StABC transporter-003	3887	8.58	137052.5	Plasma membrane	1045965	1046700
StABC transporter-004	4430	8.31	139513.87	Plasma membrane	3337157	3336266
StABC transporter-005	4097	7.48	139209.54	Plasma membrane	3329919	3329019
StABC transporter-006	4170	6.74	139783.65	Plasma membrane	66331849	66330973
StABC transporter-007	3651	8.88	133255.89	Plasma membrane	59218130	59216756

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1400.10.1.2.2]

StABC transporter-008	3609	9.05	132251.83	Plasma membrane	59197421	59196047
StABC transporter-009	4509	8.03	138575.71	Plasma membrane	3337157	3336266
StABC transporter-010	3961	6.99	136961.15	Plasma membrane	52011910	52012705
StABC transporter-011	4005	8.67	137797.09	Plasma membrane	35706984	35707644
StABC transporter-012	4174	6	138650.47	Plasma membrane	66308955	66309813
StABC transporter-013	4180	8.59	126242.12	Plasma membrane	37412089	37412899
StABC transporter-014	3765	9.01	137231.31	Plasma membrane	10531411	10529457
StABC transporter-015	3792	8.25	137488.42	Plasma membrane	67875236	67876625
StABC transporter-016	4394	8.1	136236.51	Plasma membrane	67545860	67547412
StABC transporter-017	3834	8.5	134333.68	Plasma membrane	52011925	52012419
StABC transporter-018	4476	8.28	159710.54	Plasma membrane	52692719	52693183
StABC transporter-019	3617	9.18	130203.08	Plasma membrane	46229864	46227930
StABC transporter-020	4357	8.81	157358.17	Plasma membrane	58819553	58819968
StABC transporter-021	4566	8.78	159992.74	Plasma membrane	44412175	44411841
StABC transporter-022	5057	8.24	170088.85	Plasma membrane	47188030	47187408
StABC transporter-023	4562	7.11	162135.55	Plasma membrane	20888571	20889008
StABC transporter-024	4728	9.12	150809.9	Extracellular	43882852	43882433
StABC transporter-025	3630	7.91	134756.93	Plasma membrane	15840250	15841010
StABC transporter-026	4668	8.66	160746.52	Plasma membrane	15840250	15841010
StABC transporter-027	5064	8.07	163997.32	Plasma membrane	15840250	15841010
StABC transporter-028	5082	8.08	164722.05	Plasma membrane	15840250	15841010
StABC transporter-029	5028	8.43	166842.45	Plasma membrane	15840250	15841010
StABC transporter-030	5605	6.11	181889.23	Plasma membrane	1402315	1403075
StABC transporter-031	4713	5.82	154801.71	Plasma membrane	4513473	4512212
StABC transporter-032	4654	9.12	150809.9	Extracellular	43882852	43882397
StABC transporter-033	4717	9.12	150809.9	Extracellular	43882852	43882397
StABC transporter-034	4633	8.32	150809.9	Plasma membrane	15840250	15841010
StABC transporter-035	5133	7.94	154923.85	Plasma membrane	15840250	15841010
StABC transporter-036	4518	7.74	167164.89	Plasma membrane	15840250	15841010
StABC transporter-037	5205	7.74	169233.35	Plasma membrane	15840250	15841010
StABC transporter-038	4810	6.15	169233.35	Plasma membrane	33038658	33040997
StABC transporter-039	4848	6.52	135697.03	Plasma membrane	43853486	43851327
StABC transporter-040	4921	7.12	169799.96	Plasma membrane	17926196	17928236
StABC transporter-041	4580	6.51	163624.13	Plasma membrane	42642801	42644851
StABC transporter-042	4241	8.17	164784.44	Plasma membrane	11316470	11315039
StABC transporter-043	4964	8.21	155422.21	Plasma membrane	11360883	11362316
StABC transporter-044	4526	6.78	162716.4	Extracellular	42954106	42954399
StABC transporter-045	4828	6.67	157675.61	Plasma membrane	58353936	58351997
StABC transporter-046	4089	6.8	162221.46	Plasma membrane	35541172	35539625
StABC transporter-047	6347	8.77	146163.95	Plasma membrane	34000368	34003964
StABC transporter-048	4914	6.52	164312.44	Plasma membrane	43853496	43851320
StABC transporter-049	4867	6.34	169799.96	Plasma membrane	66767362	66769618
StABC transporter-050	5507	7.25	168573.02	Plasma membrane	22626607	22624309
StABC transporter-051	5052	7.93	170370.09	Plasma membrane	15840250	15841010
StABC transporter-052	4801	7.12	163620.09	Plasma membrane	17926196	17928236
StABC transporter-053	4880	7.12	163624.13	Plasma membrane	17926056	17928236
StABC transporter-054	5008	6.11	167703.48	Plasma membrane	52794091	52796531
StABC transporter-055	2149	9.07	64235.05	Extracellular	40722731	40723076

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1400.10.1.2.2]

StABC transporter-056	3346	6.96	106494.57	Plasma membrane	37698952	37699608
StABC transporter-057	3113	7.13	106066.45	Plasma membrane	37716811	37717281
StABC transporter-058	4714	6.51	164784.44	Plasma membrane	42642801	42644851
StABC transporter-059	4650	6.78	163284.11	Plasma membrane	42954106	42954399
StABC transporter-060	4485	6.94	167526.64	Plasma membrane	34424325	34426659
StABC transporter-061	3087	8.62	107399.21	Endoplasmic	46747932	46748415
StABC transporter-062	2011	6.35	72630.93	Plasma membrane	88125521	88124797
StABC transporter-063	1362	7.02	49462	Plasma membrane	47715759	47715404
StABC transporter-064	2448	8.7	84928.28	Plasma membrane	48163277	48162847
StABC transporter-065	2321	9.05	73596.49	Plasma membrane	3580235	3579370
StABC transporter-066	2330	9.05	73853.78	Plasma membrane	3580235	3579370
StABC transporter-067	3709	9.01	72067.86	Plasma membrane	34483145	34480933
StABC transporter-068	1912	8.59	70195.73	Plasma membrane	813719	814520
StABC transporter-069	1964	8.47	69913.27	Plasma membrane	809427	810228
StABC transporter-070	2146	8.92	77557.45	Plasma membrane	52375900	52375542
StABC transporter-071	2171	8.22	68527.69	Extracellular	40722731	40723076
StABC transporter-072	2260	8.68	68411.61	Extracellular	40722731	40723076
StABC transporter-073	2513	7.03	78004.55	Plasma membrane	3771696	3771347
StABC transporter-074	2655	5.93	79359.91	Plasma membrane	3772093	3771347
StABC transporter-075	2556	5.71	80342.62	Cytoplasmic	41759391	41759001
StABC transporter-076	1507	6.96	34098.38	Extracellular	31265547	31266061
StABC transporter-077	2388	9.03	74308.46	Plasma membrane	10705261	10703953
StABC transporter-078	4159	8.56	74439	Plasma membrane	88144433	88142220
StABC transporter-079	2230	8.87	74113.58	Plasma membrane	48400224	48400686
StABC transporter-080	3118	6.64	106162.68	Extracellular	37676346	37675877
StABC transporter-081	2300	9.02	69779.19	Extracellular	6928149	6928847
StABC transporter-082	2387	9.02	72770.87	Extracellular	6928149	6928843
StABC transporter-083	2271	8.2	68097.62	Plasma membrane	6044058	6043742
StABC transporter-084	2347	8.2	68097.62	Plasma membrane	6044261	6043742
StABC transporter-085	2329	9.11	76616.04	Plasma membrane	3581726	3581217
StABC transporter-086	2226	8.88	76095.73	Plasma membrane	34885907	34886368
StABC transporter-087	2364	9.35	76080.77	Plasma membrane	34877671	34878244
StABC transporter-088	2526	9.27	81057.78	Extracellular	4673741	4671216
StABC transporter-089	2166	9.05	80878.65	Extracellular	4665557	4667722
StABC transporter-090	2267	8.32	68181.96	Plasma membrane	34409687	34409260
StABC transporter-091	2917	6.78	100151.09	Plasma membrane	46736887	46736468
StABC transporter-092	3128	8.66	105488.87	Extracellular	46735574	46736088
StABC transporter-093	3114	5.58	104017.4	Plasma membrane	46724799	46724256
StABC transporter-094	2625	7.94	78919.32	Plasma membrane	19522881	19523380
StABC transporter-095	2050	8.59	72455.58	Plasma membrane	4265609	4265144
StABC transporter-096	2050	7.53	69765.02	Plasma membrane	88152188	88151404
StABC transporter-097	2607	8.6	79063.15	Plasma membrane	37255025	37254191
StABC transporter-098	1919	8.76	68618.94	Extracellular	46716636	46718554
StABC transporter-099	2678	8.83	82927.88	Plasma membrane	2061389	2060845
StABC transporter-100	2227	8.78	69167.78	Extracellular	49091716	49093942
StABC transporter-101	2654	8.91	93962.11	Extracellular	81288934	81287210
StABC transporter-102	2001	7.99	74543.87	Plasma membrane	48391986	48392343
StABC transporter-103	2519	9.12	80851.98	Plasma membrane	49920084	49920709

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1400.10.1.2.2]

StABC transporter-104	2935	8.89	83430.34	Extracellular	59633854	59635680
StABC transporter-105	3142	6.47	106941.57	Plasma membrane	37676346	37675877
StABC transporter-106	2726	8.96	76793.04	Extracellular	13384926	13384276
StABC transporter-107	2313	8.85	69814.41	Extracellular	6928151	6928843
StABC transporter-108	2520	8.86	80509.68	Plasma membrane	39179569	39180219
StABC transporter-109	2326	6.18	67124.76	Nuclear	38190848	38192315
StABC transporter-110	3033	8.78	111527.58	Plasma membrane	49852192	49851327
StABC transporter-111	1162	6.24	30902.92	Plasma membrane	45244978	45244502
StABC transporter-112	2120	8.86	73737.43	Plasma membrane	55629652	55629149
StABC transporter-113	2425	8.76	82065.58	Plasma membrane	55674573	55673996
StABC transporter-114	2190	9.12	81481.54	Extracellular	52864024	52863285
StABC transporter-115	2109	9.31	66398.86	Extracellular	15849510	15851618
StABC transporter-116	2219	9.09	72186.33	Extracellular	60925523	60923305
StABC transporter-117	2759	9.3	82584.39	Extracellular	1412754	1415512
StABC transporter-118	2382	8.55	74141.98	Extracellular	39375211	39377592
StABC transporter-119	2605	7.21	82513.76	Extracellular	10033313	10033755
StABC transporter-120	1511	5.52	28968.45	Plasma membrane	43119754	43119133
StABC transporter-121	4254	8.92	121783.73	Plasma membrane	38937928	38937037
StABC transporter-122	1417	5.42	14641.06	Plasma membrane	56311379	56310881
StABC transporter-123	1521	7.8	29920.67	Extracellular	48452765	48453095
StABC transporter-124	1890	7.8	29920.67	Extracellular	48434395	48434929
StABC transporter-125	1318	8.85	32304.27	Extracellular	48452756	48453095
StABC transporter-126	1654	8.63	34853.23	Extracellular	48452765	48453095
StABC transporter-127	1882	8.63	34853.23	Extracellular	48452765	48453095
StABC transporter-128	4533	8.87	42750.7	Plasma membrane	47718662	47714906
StABC transporter-129	1078	6.11	28544.98	Extracellular	38368515	38368119
StABC transporter-130	1197	5.42	14641.06	Plasma membrane	56311379	56310878
StABC transporter-131	1017	8.37	28814.08	Plasma membrane	48433424	48433656
StABC transporter-132	1569	8.75	30436.19	Plasma membrane	48452765	48453095
StABC transporter-133	1449	8.63	34853.23	Plasma membrane	48452765	48453095
StABC transporter-134	1677	8.63	34853.23	Plasma membrane	48452765	48453095
StABC transporter-135	2497	5.83	78812.91	Plasma membrane	44761641	44760574
StABC transporter-136	2601	5.62	81293.97	Cytoplasmic	6557873	6560332
StABC transporter-137	2983	5.6	81327.95	Cytoplasmic	5451647	5454502
StABC transporter-138	2452	5.97	67849.7	Cytoplasmic	49961770	49960273
StABC transporter-139	3708	8.96	125698.58	Plasma membrane	27934956	27934023
StABC transporter-140	1881	9.66	61494.98	Mitochondrial	2	859
StABC transporter-141	1015	9.2	27729.76	Chloroplast	48433424	48433656
StABC transporter-142	924	9.2	27729.76	Chloroplast	48433424	48433656
StABC transporter-143	793	9.24	28115.44	Plasma membrane	4485316	4484524
StABC transporter-144	1382	5.93	32143.91	Cytoplasmic	39513498	39512847
StABC transporter-145	1474	8.99	36884.57	Cytoplasmic	84516824	84517335
StABC transporter-146	1265	9.35	18637.2	Plasma membrane	88171209	88170418
StABC transporter-147	874	5.9	15326.73	Plasma membrane	11454092	11454739
StABC transporter-148	1550	9.71	25709.16	Plasma membrane	2136302	2134902
StABC transporter-149	1590	7.69	31791.65	Chloroplast	48452765	48453095
StABC transporter-150	887	8.73	25269.93	Chloroplast	48433424	48433656
StABC transporter-151	462	9.2	16721.29	Plasma membrane	4479228	4478767

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1400.10.1.2.2]

StABC transporter-152	1543	5.07	11157.66	Plasma membrane	47720345	47718803
StABC transporter-153	2031	8.48	58783.92	Extracellular	49217009	49218778
StABC transporter-154	891	8.73	25269.93	Chloroplast	48433424	48433656
StABC transporter-155	3416	4.92	108238.64	Extracellular	83919474	83921496
StABC transporter-156	1861	8.3	50017.41	Extracellular	8377564	8378826
StABC transporter-157	2002	8.65	53762.95	Extracellular	8377560	8378826
StABC transporter-158	672	8.73	16971.57	Extracellular	25990001	25990184
StABC transporter-159	4272	5.95	160427.2	Plasma membrane	27434304	27433967
StABC transporter-160	3519	6.29	131184.3	Plasma membrane	84798104	84797719
StABC transporter-161	3099	6.26	116894.68	Plasma membrane	44406158	44405827
StABC transporter-162	4689	5.98	156402.13	Plasma membrane	50201299	50202078
StABC transporter-163	546	4.95	17140.61	Plasma membrane	27434186	27433647
StABC transporter-164	565	5.4	17041.6	Plasma membrane	84791077	84790513
StABC transporter-165	550	5.69	17136.75	Plasma membrane	50199353	50199902
StABC transporter-166	547	6.38	16853.66	Plasma membrane	44406047	44405501
StABC transporter-167	4272	5.95	160427.2	Plasma membrane	27434304	27433967
StABC transporter-168	4689	5.98	156402.13	Plasma membrane	50201299	50202078
StABC transporter-169	4635	7.72	163258.98	Plasma membrane	84798279	84797719
StABC transporter-170	3780	9.01	137937.76	Plasma membrane	50607450	50605475
StABC transporter-171	4560	6.78	166948.08	Plasma membrane	6243899	6242994
StABC transporter-172	4325	6.44	160289.39	Plasma membrane	6234839	6233928
StABC transporter-173	4483	7.55	166911.88	Plasma membrane	6234839	6233928
StABC transporter-174	4389	7.93	166236.66	Plasma membrane	6225621	6224710
StABC transporter-175	4389	7.92	166163.54	Plasma membrane	6225621	6224710
StABC transporter-176	4901	7.24	166719.31	Plasma membrane	37053348	37052445
StABC transporter-177	5021	8.16	166969.97	Plasma membrane	60043216	60042310
StABC transporter-178	4436	8.15	164865.1	Plasma membrane	27420992	27420590
StABC transporter-179	4632	6.32	164815.83	Plasma membrane	27439325	27438888
StABC transporter-180	4630	8.55	162634.28	Plasma membrane	67428695	67429182
StABC transporter-181	4356	7.94	164785	Plasma membrane	6225621	6224710
StABC transporter-182	4484	6.02	161618.19	Plasma membrane	50194438	50194890
StABC transporter-183	4701	6.64	162565.07	Plasma membrane	50178938	50179489
StABC transporter-184	4468	6.88	161241.39	Plasma membrane	65674958	65674511
StABC transporter-185	5019	7.54	167893.44	Plasma membrane	60028230	60029142
StABC transporter-186	4090	8.29	143500.53	Plasma membrane	4463724	4462265
StABC transporter-187	4090	8.29	143500.53	Plasma membrane	4463724	4462265
StABC transporter-188	3872	8.29	143500.53	Plasma membrane	4463724	4462443
StABC transporter-189	3942	8.29	143500.53	Plasma membrane	4463724	4462443
StABC transporter-190	3942	8.29	143500.53	Plasma membrane	4463724	4462443
StABC transporter-191	3942	8.29	143500.53	Plasma membrane	4463724	4462443
StABC transporter-192	3942	8.29	143500.53	Plasma membrane	4463724	4462443
StABC transporter-193	3942	8.29	143500.53	Plasma membrane	4463724	4462443
StABC transporter-194	3705	6.1	139869.13	Plasma membrane	27434302	27433967
StABC transporter-195	3914	8.52	137720.46	Plasma membrane	42396653	42397121
StABC transporter-196	1744	6.73	47853.97	Chloroplast	42429277	42429748
StABC transporter-197	4276	5.87	152953.46	Nuclear	58461667	58461994
StABC transporter-198	3530	8.71	120851.93	Extracellular	18771577	18768135
StABC transporter-199	3692	9.2	121166.75	Nuclear	4148326	4147422

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1400.10.1.2.2]

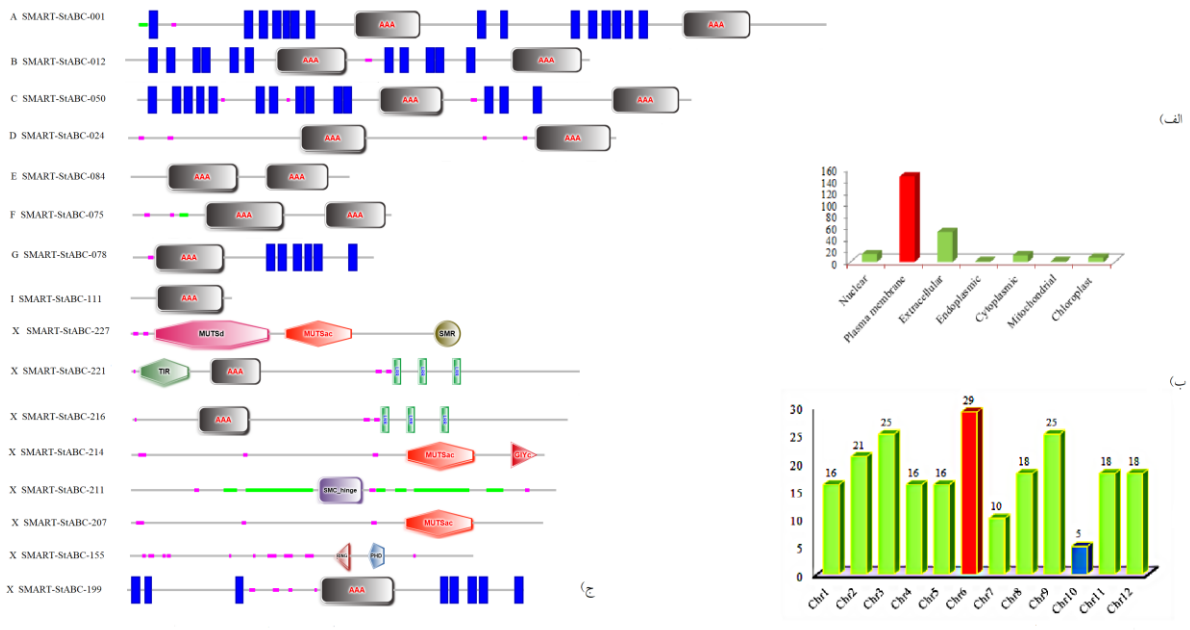
StABC transporter-200	4129	8.47	141046.51	Nuclear	53966881	53967576
StABC transporter-201	3672	5.85	120572.03	Extracellular	71269122	71268733
StABC transporter-202	4116	6.19	141603.25	Nuclear	67473157	67472819
StABC transporter-203	2564	7.32	77303.68	Extracellular	72761044	72761812
StABC transporter-204	3407	8.65	115894.33	Extracellular	18771577	18768479
StABC transporter-205	4842	6.23	117608.8	Extracellular	49038440	49037323
StABC transporter-206	4966	6.23	117608.8	Extracellular	49038440	49037115
StABC transporter-207	3852	7.94	126902.86	Extracellular	49001092	49000363
StABC transporter-208	3999	6.54	139578.3	Nuclear	49579684	49579932
StABC transporter-209	2542	7.32	77303.68	Extracellular	72761044	72761812
StABC transporter-210	4035	7.52	131587.66	Nuclear	36459028	36458345
StABC transporter-211	3288	5.97	105715.24	Nuclear	45939373	45938299
StABC transporter-212	3509	6.58	118890.88	Nuclear	20979683	20979054
StABC transporter-213	3845	7.81	126647.54	Extracellular	49001092	49000363
StABC transporter-214	3240	4.87	93408.83	Extracellular	17756824	17756263
StABC transporter-215	3761	8.27	136661.07	Cytoplasmic	1360274	1359178
StABC transporter-216	1692	7.53	63316.49	Plasma membrane	34179187	34178866
StABC transporter-217	4016	6.23	123746.89	Nuclear	18698057	18699234
StABC transporter-218	1184	8.06	40007.22	Chloroplast	42429277	42429748
StABC transporter-219	3745	8.83	130228.47	Cytoplasmic	47133142	47131799
StABC transporter-220	3869	8.26	140713.7	Cytoplasmic	1360274	1359178
StABC transporter-221	2450	8.63	88875.85	Extracellular	310558	310347
StABC transporter-222	4020	6.23	123671.76	Nuclear	18698057	18699234
StABC transporter-223	2411	8.01	76433.87	Extracellular	44431744	44431025
StABC transporter-224	4264	5.98	145691.4	Nuclear	68913706	68914752
StABC transporter-225	3328	8.83	92651.47	Extracellular	22498023	22498927
StABC transporter-226	2928	5.84	100575.48	Extracellular	55339357	55338422
StABC transporter-227	771	7.84	29104.15	Nuclear	53978097	53978373
StABC transporter-228	219	9.45	8837.32	Plasma membrane	50186302	50186519

مکان هر پروتئین در سلول با استفاده از پایگاه اطلاعاتی Softberry تعیین شد. طبق نتایج به دست آمده از ۲۲۸ پروتئین، مکان ۱٤٦ پروتئین (٦٤٪) در غشای پلاسمایی و مکان ۵۱ پروتئین (۲۲٪) در خارج از سلول، ۱۸ پروتئین (۸٪) در میتوکندری و کلروپلاست و سیتوپلاسم، ۱۳پروتئین (٦٪) در هسته پیش‌بینی شد (شکل۲- الف). به دلیل فعالیت ABC transporter ها با توجه به نقش آن‌ها که در جابجایی و انتقال مواد بوده و مکان بیشترآن‌ها در غشای پلاسمایی پیش‌بینی شد.

برای تأیید وجود یا عدم وجود دُمین ABC transporter، توالی‌های پروتئینی به دست آمده از طریق پایگاه اطلاعاتی Pfam و SMART مورد بررسی قرار گرفتند. در نهایت ۲۲۸ ژن ABC transporter به دست آمد که از StABC transporter-001 تا StABC-transporter-228 نام‌گذاری شدند. این توالی‌ها براساس ساختار دُمین به ۸ گروه اصلی و ۸ گروه فرعی تقسیم شدند. هر ۸ گروه اصلی دارای دم پلیA بودند. دُمین‌هایی که در زیرخانواده‌های فرعی قرار گرفتند به ترتیب MUTSci، MUTSac، SMR در توالی StABC-226، دمین TIR در توالی StABC-221، دمین GYIc در توالی StABC-214، دمین SMC-hinge در توالی StABC-211 و دمین Ring و PHD در توالی StABC-155 بودند. بنابراین تنوع در دُمین‌های محافظت شده نشان دهنده تنوع در عملکرد بیولوژیکی این ساختارها می‌باشد (شکل ۲- ج).

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1400.10.1.2.2]



شکل۲- الف) پیش‌بینی موقعیت سلولی ، ب) پراکنش کروموزومی ABC transporter و ج) گروه‌بندی اصلی و فرعی دمین های شناسایی شده در ABC transporter در سیب زمینی

Figure 2. A) Cell position prediction, B) chromosomal distribution of ABC transporter and C) main and subgrouping of domains identified in ABC transporter in potatoes

در ادامه جهت بررسی پراکنش ژن‌های ABC transporter در گیاه سیب زمینی مشخص شد که این ژن‌ها به‌صورت نامتعادل بر روی۱۲ کروموزوم توزیع شده‌اند. شکل۲- ب نشان می‌دهد که کروموزم شماره ٦ دارای ۲۹ ژن که بیشترین تعداد (۱۳٪) و کروموزوم ۱۰ دارای ۵ ژن که کمترین تعداد (۲٪) ژن‌ها را به خود اختصاص داده است.

نتایج بدست آمده از پایگاه اطلاعاتیMEME نشان داد که تعداد ۱۲۰ موتیف شناسایی و به ترتیب موتیف ۱ تا موتیف ۱۲۰ نامیده شدند. ارتفاع حروف مختلف نشان دهنده آمینواسیدهایی است که بدون تغییر در تمام پروتئین‌ها تکرار شده و در واقع همان نواحی حفاظت شده هستند (شکل۳- الف).

در ادامه پس از هم‌ترازی توالی‌های پروتئینی دارای دمین ABC transporter با استفاده از نرم‌افزار Clustal X ver.2.1، درخت فیلوژنتیکی ۲۲۸ پروتئین بر مبنای روش Maximum likelihood (ML) با bootstrap ۱۰۰۰ ترسیم شد (شکل-۳ب). براساس تجزیه و تحلیل فیلوژنتیکی، پروتئین‌های ABC transporter درون ۷ خانواده از گروه A تا گروه G تقسیم‌بندی شدند. گروه I به دلیل مشخص نبودن عملکرد به صورت پراکنده در گروه‌های دیگر درآمده است. براساس نتایج به دست آمده، گروه ABCG (۹۲ عضو)، ABCC (٥٤ عضو)، ABCB (٤٠ عضو)، ABCA (۳۳ عضو) و ABCE (۸ عضو) و ABCF (۲ عضو) به ترتیب دارای بیشترین عضو و زیرگروه ABCD دارای کمترین عضو (۱عضو) بود.

در ادامه، تجزیه و تحلیل ساختار ژنی خانواده ABC transporter با استفاده از پایگاه اطلاعاتی GSDS نشان داد که تعداد نواحی اگزونی اینترونی این ژن‌ها ۱تا ۹ ناحیه اگزونی و ۱تا ۸ ناحیه اینترونی می‌باشد. توالیStABC transporter-189 دارای بیشترین نواحی اگزون (۹ عدد) و اینترونی (۸ عدد) بود.

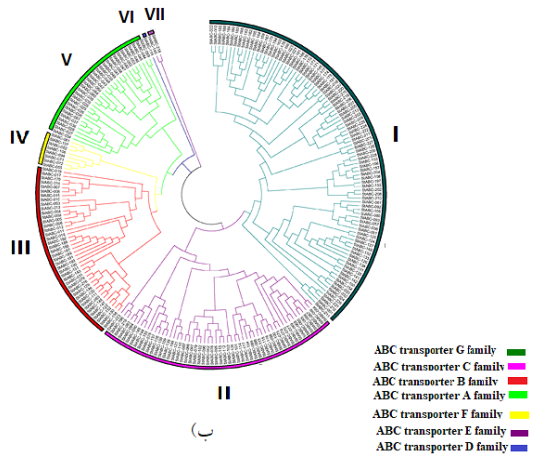
روابط بین ٥٦ جفت ژن سگمنتال به صورت گرافیکی در شکل-٤ج نمایش داده شده است. سپس جهت تعیین ژن‌های ارتولوگ بین سیب‌زمینی و چهار گیاه سویا (شکل ٤-الف)، آرابیدوپسیس (شکل ٤ب)، گوجه فرنگی (شکل ٤-د) برنج (شکل- ه) از سایتPGDB استفاده شد. ژن‌هایی که با ضریب خطای$1e^{-10}$به میزان ۸۰ درصد به یکدیگر شباهت داشتند به عنوان ژن‌های

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1400.10.1.2.2]

ارتولوگ در نظر گرفته شدند. برای آگاهی از اتفاق‌های تکثیر، تجزیه و تحلیل روابط تکامل و واگرایی بین ژن‌های ABC transporter و چهار گونه‌های دیگر شامل آرابیدوپسیس، برنج، سویا و گوجه فرنگی صورت پذیرفت. روابط ارتولوگی بین ژن-های ABC transporter سیب‌زمینی و چهارگیاه دیگر با استفاده از پایگاه اطلاعاتی Circos به صورت گرافیکی به نمایش درآمد که در شکل-٤ نشان داده شده است.

تجزیه و تحلیل GO برای پیش‌بینی عملکرد و محاسبه فراوانی دسته‌های عملکردی مبتنی بر توالی‌های بدست آمده مورد استفاده قرار می‌گیرد. این تجزیه و تحلیل، مشارکت پروتئین‌های ABC transporter درفرآیندهای زیستی، سلولی و مولکولی متنوع را در ۲۲۸ توالی StABC transporter نشان داد. نتایج حاصل نشان داد که ۵۳٪ از پروتئین‌های ABC transporter در فرایندهای زیستی دخیل می‌باشند تعداد قابل توجهی از پروتئین‌های ABC transporter در فرایندهای زیستی مهم از قبیل انتقال و جابجایی مواد نقش دارند. نتایج حاصل از بررسی ژن‌های موردنظر در سیب‌زمینی نشان داد که ۳۲ درصد از StABC transporterها به عنوان ATP binding فعالیت می‌کنند. طبق نتایج حاصل از پیش-بینی موقعیت سلولی برای پروتئین‌های ABC transporter، حدود ۸٤ درصد پروتئین‌هایABC درون غشای سلولی فعالیت دارند و ۱٦ درصد باقیمانده در ۸ موقعیت دیگر و خارج از هسته قرار گرفته‌اند که فراوانی آنها در هر دسته در شکل-۵ نشان داده شده است.

برای درک بهتر قوانین رونویسی و عملکرد بالقوه ژن‌های ABC transporter در *Solanum tuberosum*، مناطق ۲۰۰۰ جفت بازی بالادست هر ژن برای پاسخ دادن به تنش مورد بررسی قرار گرفت. از این رو ناحیه پیشبر توالی ژن‌های ABC transporter با استفاده از پایگاه داده PLACE از نظر نوع عناصر تنظیمی و نقش آن‌ها شناسایی شد. به عنوان مثال عناصر *Cis* S000133 ، S000173 و S000415 برای تنش خشکی و S000418 برای تنش شوری به طور گسترده‌ای در نواحی پیشبری ژن‌های ABC transporter وجود داشتند. نتایج حاصل بیانگر این بود که ژن‌های ABC transporter در پاسخ به تنش‌های غیرزیستی نقش داشته و موجب افزایش مقاومت گیاه به این تنش‌ها می‌شود. ژن StABC transporter-010، با دارا بودن ۳۸ عنصر تنظیمی مربوط به تنش خشکی (S000415)، ۲۱ عنصر تنظیمی (S000176) و نیز ١٤ عنصر تنظیمی (S000408) دارای بالاترین تعداد عناصر پیشبر در خود می‌باشد. همچنین این توالی دارای ۲۳ عنصر تنظیمی مربوط به تنش شوری (S000453) می‌باشد که این عامل می‌تواند بیانگر نقش مؤثر این ژن در پاسخ به تنش‌های غیرزیستی باشد (جدول ۳).



ب)

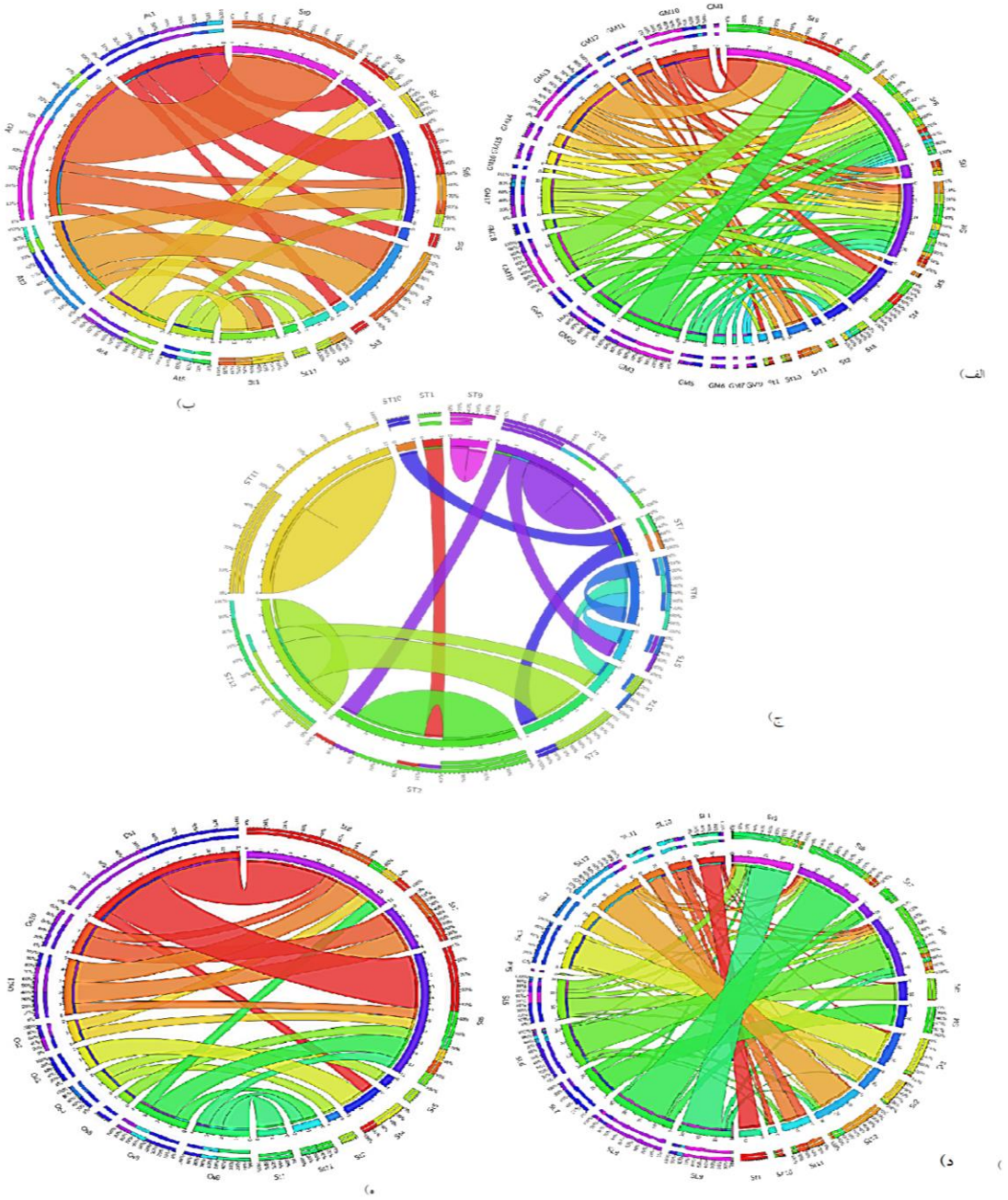


الف)

شکل۳- الف) نمایش موتیف در میان پروتئین‌هایABC transporter در گیاه سیب زمینی، ب) درخت فیلوژنتیکی ۲۲۸ توالی پروتئینی شناسایی شده در گیاه سیب زمینی

Figure 3. A) Motif display among ABC transporter proteins in potato plant, B) Phylogenetic tree 228 protein sequences identified in potato plant

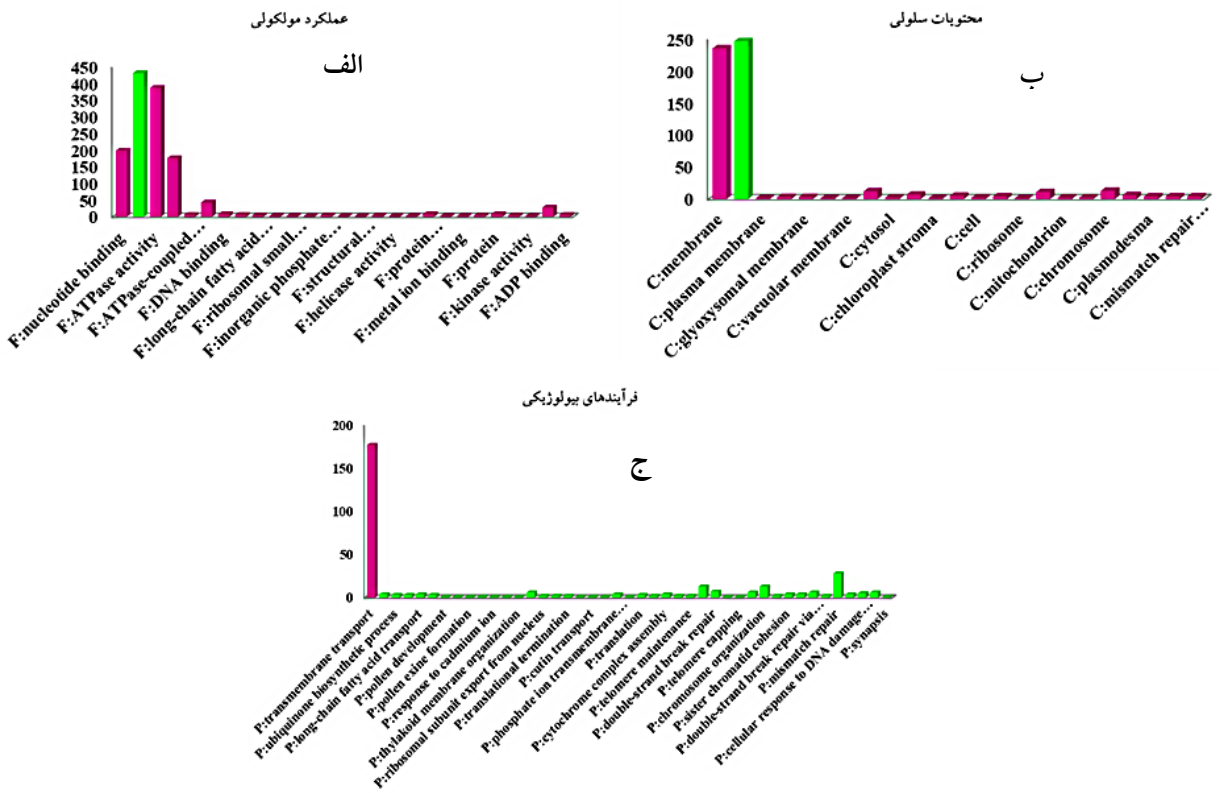
[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1400.10.1.2.2]



شکل٤- مقایسه روابط ارتولوگی بین ژن های StABC transporter درسیب زمینی و چهار گیاه الف) سویا، ب)آرابیدوپسیس، ج) پراکنش سگمنتال بین کروموزوم‌های سیب‌زمینی، د) گوجه‌فرنگی و ه) برنج

Figure 4. Comparison of orthologous relationships between StABC transporter genes in potatoes and four plants A) soybean, B) arabidopsis, C) segmental distribution between potato chromosomes, D) tomato and e) rice

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1400.10.1.2.2]



شکل۵- تجزیه و تحلیل هستی شناسی شامل عملکرد مولکولی (الف)، محتویات سلولی (ب) و فرایند بیولوژیکی (ج) ژن هایStABC transporter

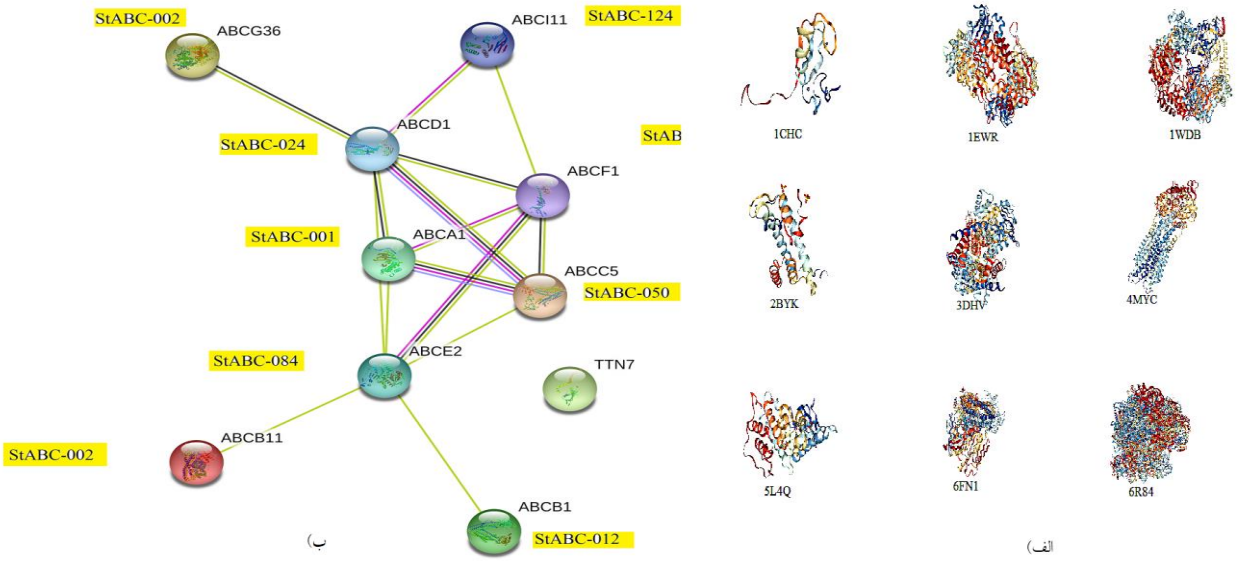
Figure 8. Go ontology of biological process of identified ABC transporter genes: A) Molecular function, B) Cellular content and C) Biological processes

جدول ۳- عناصر *Cis* در نواحی پروموتوری ژن های شناسایی شده StABC transporter در تنش خشکی و شوری

Table 3. *Cis* elements of regions promoters ABC transporter genes under drought and salinity stress

	عناصر تنظیمی	توالی عناصر تنظیمی
تنش خشکی	S000133	CCACGTGG
	S000153	CCGAC
	S000174	CACATG
	S000175	CTAACCA
	S000176	CNGTTR
	S000177	TAACTG
	S000402	ACCGAC
	S000408	WAACCA
	S000413	CATGTG
	S000414	ACGTG
	S000415	ACGTG
	S000418	RCCGAC
	S000497	RYCGAC
تنش شوری	S000453	GAAAAA
	S000402	ACCGAC
	S000418	RCCGAC

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1400.10.1.2.2]



شکل٦- الف) ساختار و ب) شبکه ارتباطی ۸ پروتئین StABC transporter با سطح اطمینان ۹۰٪

Figure 6. A) Structure and B) communication network of 8 StABC transporter proteins with 90% confidence level

در این مطالعه تجزیه و تحلیل شبکه ارتباطی بین ۱۰ پروتئین StABC transporter که به صورت انتخابی و در آزمایشگاه مورد بررسی قرار گرفتند، صورت پذیرفت. اثر متقابل پروتئین های سیب زمینی و آرابیدوپسیس، از جمله تعاملات فیزیکی عملکردی با استفاده از پایگاه داده STRING مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. نتایج شبکه ارتباطی بین پروتئین‌های مورد مطالعه انتخابی در شکل-٦ب نشان داده شده است. هر پروتئین ABC transporter در سیب‌زمینی در مقابل یک پروتئین از آرابیدوپسیس قرار گرفت. از ۱۰ پروتئین مورد بررسی، پروتئین-های ABC-001، ABC-050، ABC-024، ABC-084 در شبکه ژنی، روابط قدرتمندتری را برقرار نمودند.

در ادامه مدل‌های پروتئینی سه بعدی با استفاده از شباهت توالی با پایگاه داده‌ای PDB با استفاده از BLASTP به نمایش درآمد. از بین پروتئین‌های شناسایی شده، ساختار۸ پروتئین با همولوژی بالای۹۰ درصد با استفاده از پایگاه اطلاعاتی PDB تعیین و با استفاده از پایگاه اطلاعاتی Phyer2 مدل سه بعدی آن‌ها ترسیم گردید. در نتیجه، تمام ساختارهای پیش‌بینی شده برای پروتئین-های مورد مطالعه قابل اعتماد بودند. در این راستا از بین ۲۲۸ توالی StABC transporter حدود ٤٥ گروه از لحاظ ساختار دُمین پیش‌بینی شد که شامل ساختارهای 1WDB ،EWR1، 6R84 ،6FN1 ،5L4Q ،4MYC ،3DHV،2BYK که به ترتیب مربوط به گروه B، G، G، G، E، G، G و C بود که بیشترین فراوانی مربوط به گروه G می‌باشد که در شکل نمایش داده شده است. ساختار سه بعدی این دسته از پروتئین‌ها مقدمه‌ای را برای درک عملکرد مولکولی پروتئین‌های StABC transporter ارائه می‌دهد.

نتایج حاصل از پراکنش ژن‌ها نشان داد که از ۲۲۸ ژن StABC transporter، بیشترین و کمترین تعداد ژن‌ها به ترتیب روی کروموزوم شماره ٦ (۲۹ ژن) و کروموزوم شماره ۱۰ (۵ ژن) قرار دارند (شکل۷).

ارزیابی پارامترهای محتوای نسبی آب، غلظت سدیم و پتاسیم و پرولین

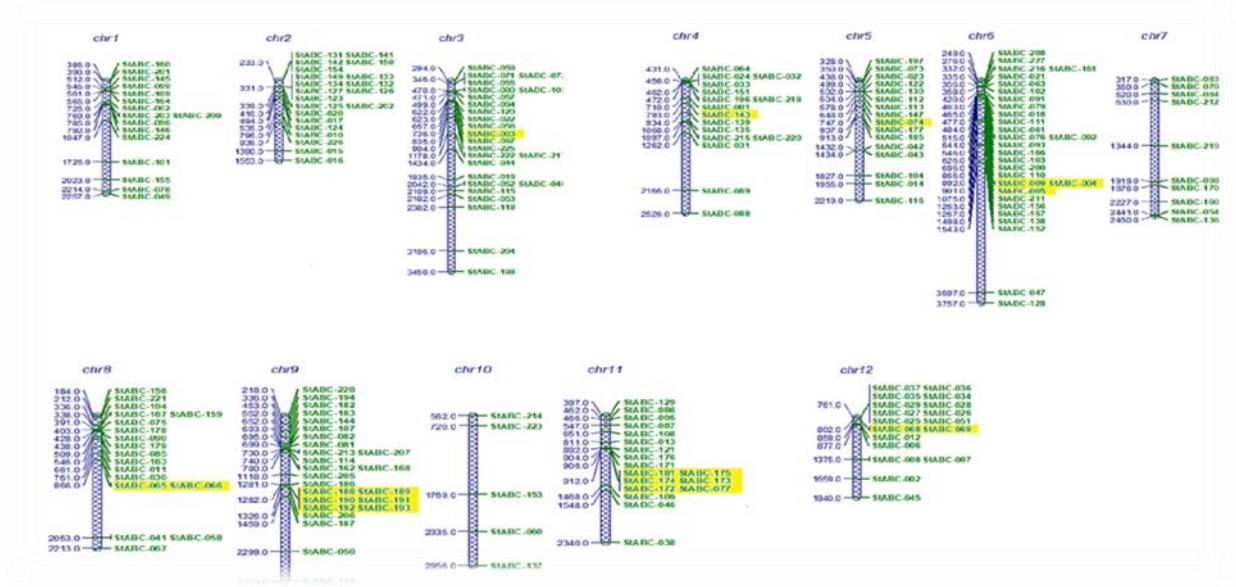
به منظور اطمینان از تیمار تنش‌های اعمال شده بر روی مراحل نموی مختلف سیب‌زمینی، با اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ-ها (RWC)، غلظت سدیم و پتاسیم و پرولین، ارزیابی‌های اولیه انجام گرفت. پس از تأیید تنش‌های موردنظر، ارزیابی ژن‌های موردنظر StABC transporter صورت پذیرفت. نتایج حاصل از مقایسات میانگین نشان می‌دهد که مرحله نموی اوّل با ۸۰ درصد ظرفیت زراعی بیشترین (۰/۷۷٦) و مرحله نموی اوّل با ٤٠ درصد ظرفیت زراعی (۰/٤١٤) کمترین میزان رطوبت نسبی را داشتند.

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1400.10.1.2.2]

درنتیجه طبق نتایج حاصل با افزایش تنش خشکی، رطوبت نسبی کاهش می‌یابد به طوری که این کاهش در میزانRWC با کنترل در سطح ۱ درصد، اختلاف معنی‌داری را نشان می‌دهد (جدول ٤).

نتایج مقایسه‌ای میانگین حاصل نشان داد که افزایش سطح تنش، باعث افزایش سطح سدیم در مراحل نموی مختلف شده است این در حالی است که با افزایش پتانسیل اسمزی در محیط تحت تأثیر سدیم، جذب پتاسیم کاهش پیدا کرده است. نتایج به دست آمده از بررسی نسبت پتاسیم به سدیم نشان داد که با افزایش سطح تنش شوری، میزان آن در گیاه کاهش پیدا کرده است (جدول ٥).

جهت اطمینان از تنش وارد شده به گیاهان، میزان پرولین در مراحل نموی مختلف سیب‌زمینی مورد بررسی قرارگرفت. با افزایش میزان تنش، مقدار پرولین نیز در مراحل نموی مختلف روند افزایشی را نشان داد (جدول ٦).



شکل ۷- پراکنش ABC transporter شناسایی شده روی ۱۲ کروموزوم سیب زمینی

Figure 7. Distribution of ABC transporter identified on 12 chromosomes of *Solanum tubersoum* L.

جدول٤- تغییرات محتوای رطوبت نسبی در مراحل نموی سیب زمینی تحت تنش خشکی در مقایسه با گیاه کنترل

Table 4. Changes in relative water content (RWC) in developmental stages of potato under drought stress compared to control plant

تغییرات رطوبت نسبی	سطح تنش
١/٥٤	کنترل
٠/٧٧٦**	مرحله نموی اول-٨٠٪ظرفیت زراعی
٠/٦٦٨**	مرحله نموی دوم-٨٠٪ظرفیت زراعی
٠/٧٥٩**	مرحله نموی سوم٨٠٪ظرفیت زراعی
٠/٥٩٤**	مرحله نموی اول ٦٠٪ ظرفیت زراعی
٠/٦٢٢**	مرحله نموی اول ٦٠٪ ظرفیت زراعی
٠/٦٠٥**	مرحله نموی سوم٦٠٪ ظرفیت زراعی
٠/٤١٤**	مرحله نموی اول ٤٠٪ ظرفیت زراعی
٠/٤٤٥**	مرحله نموی دوم ٤٠ ٪ ظرفیت زراعی
/٠٤٥٩**	مرحله نموی سوم ٤٠٪ ظرفیت زراعی

** نشان دهنده معنی داری در سطح ١٪ می باشد

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1400.10.1.2.2]

جدول۵- مقایسه میانگین غلظت سدیم و پتاسیم بر حسب میلی گرم در هر گرم وزن خشک مراحل نموی سیب زمینی تحت سطوح مختلف تنش شوری و کنترل

Table 5. Comparison of average sodium and potassium concentrations (mg/g dry weight) of potato developmental stages under different levels of salinity and control stress

عامل آزمایشی	سطح تنش شوری	مرحله نموی اول	مرحله نموی دوم	مرحله نموی سوم
Na^+	کنترل	۲۸/۰±۵۲/۲۷۹	٦۸۹/۰±۷۸/۳٤	۵۹/۳۹±۲۱/۵٦
	۱۵۰ میلی مولار	۸۰/۱±٤۵/۲۰۰	۵/۱±۹٦/۲۲۰	۷۸/٤۸±۷۱/٦۷
	۱۸۰ میلی مولار	۸۲/٤۷±۷۵/٤۹*	۹۲/۱۷±٤٦/٤۷*	٦۰/۳۳±۸۲/٤٦*
K^+	کنترل	۳۰/۳۹±٤۰/۳۵	۳٤/۳۹±۷۰/۳۸	۵٤/۵۸±٤۳/۲۳
	۱۵۰ میلی مولار	۳۸/۳۹±٦٤/٤۸	٤۹/٦۰±۹۲/۳۹	۷۲/۲۱±۸۳/٤۹
	۱۸۰ میلی مولار	٦٤/٤۹±۳۳/۵۳	۷۸/۵۲±۷۳/٤۵	۸۳/٦۰±۵٦/٤۹
K^+/Na^+	۱۵۰ میلی مولار	۰/٤۷۸	۱/۰۰۸	۹۱/٤۵
	۱۸۰ میلی مولار	۰/٦۷۵	۱/۳۵۰	٤۳/۵۷

جدول ٦- مقایسه میانگین محتوای پرولین آزاد (میلی گرم در گرم) در مراحل نموی مختلف سیب زمینی در شرایط تنش و کنترل

Table 6. Comparison of average free proline content in different developmental stages of potato under stress and control conditions

نمونه آزمایشی	سطوح تنش	مرحله نموی اول	مرحله نموی دوم	مرحله نموی سوم
	کنترل	۲۲/۱۱±۵/۱۳	۳٤/۲۰±۵٤/۳۱	**٦۱/۳۱±۱۲/٤۵**
تنش خشکی	٤۰٪ظرفیت زراعی	٦۷/۳۳±٤۵/٦۰	۲۸/۱۳±٤۹/۲۳	**۸۱/۳٤±۷۲/۷۱**
	٦۰٪ ظرفیت زراعی	۵۰/۲۸±٦/۹۸	۵۹/۸۹±۷۱/٤۳	**۳۳/٤۸/۵۸±/۳۷**
	۸۰٪ظرفیت زراعی	۹۰/۳٦±٤٦/٤۸	±۷۵/۹۲/۷٦	**۱۹/۹۳±٦۷/٤۸**
تنش شوری	۱۵۰ میلی مولار	٤۹/۵۸±۲۸/۳٤	٤۰/٤٤±۹٤/۷۵	**۵۹/٦٤±۸۳/۵٦**
	۱۸۰میلی مولار	٦۳/۸۲±۷۰/۳۳	۳۹/٤۹±۷۵/۳۸	**۷۸/۷۸±٤۸/۲۸**

از بین ژن‌های StABC transporter شناسایی شده در گیاه سیب-زمینی به صورت انتخابی براساس عملکرد پروتئین آن‌ها، ۱۰ ژن را انتخاب و میزان تغییرات نسبی بیان آن‌ها در پاسخ به تنش خشکی و شوری در مراحل نموی مختلف سیب‌زمینی مورد مطالعه قرار گرفت که در ذیل به بررسی نتایج بدست آمده پرداخته شده است.

تغییرات نسبی بیان ژن های StABC transporter در پاسخ به تنش خشکی و شوری

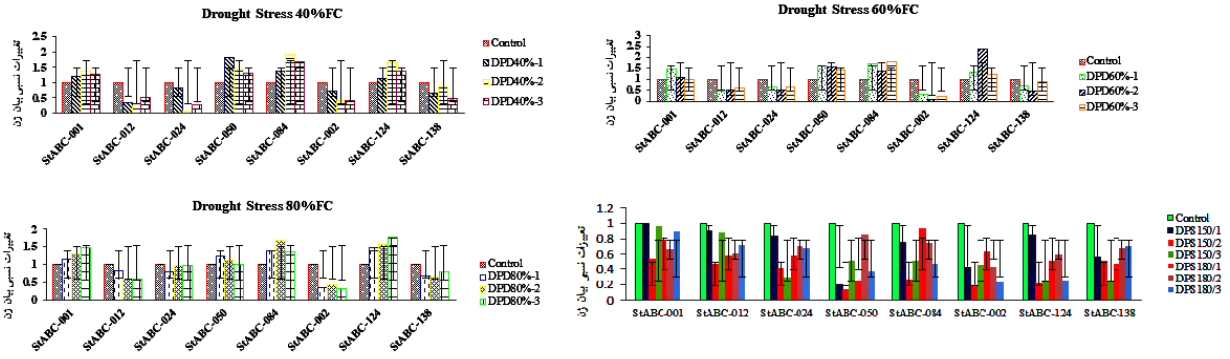
به منظور بررسی میزان تغییرات نسبی بیان ژن‌های StABC transporter در پاسخ به تنش‌های غیرزیستی از Real-time PCR جهت ارزیابی بیان ژن استفاده شد. بدین ترتیب برای هر نمونه، میزانCT با استفاده از ژن اصلی مرجع(*Seq3* و *Elf*) با تعیین خط پایه معین و سپس با استفاده از روش $^{-\Delta\Delta CT}$۲ تغییرات نسبی بیان ژن (افزایش و یا کاهش در بیان ژن) مورد سنجش قرار گرفت. تغییرات نسبی بیان ژن در پاسخ به تنش خشکی نشان داد که از بین ژن‌های به کاربرده شده، ژن StABC-001، StABC -050، StABC-084 و StABC-124 دارای بیشترین بیان و StABC-002 نیز دارای کمترین بیان ژن بودند. بنابراین، این گونه استنتاج می-شود که می‌توان از ژن‌هایی که دارای بیان بالایی بوده به عنوان ژن‌های مقاوم به تنش خشکی استفاده نمود (شکل۸).

نتایج حاصل از بررسی تغییرات نسبی بیان ژن‌های StABC transporter سیب زمینی در پاسخ به تنش شوری در شکل ۹ نشان داد که تمام ژن‌های StABC transporter دارای بیان کمتری نسبت به شرایط کنترل بوده و این نتیجه را می‌توان استنباط کرد که گیاه سیب زمینی بسیار به شوری حساس می‌باشد.نمایش الگوی بیان ژن‌های مورد مطالعه StABC transporter در گیاه

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1400.10.1.2.2]

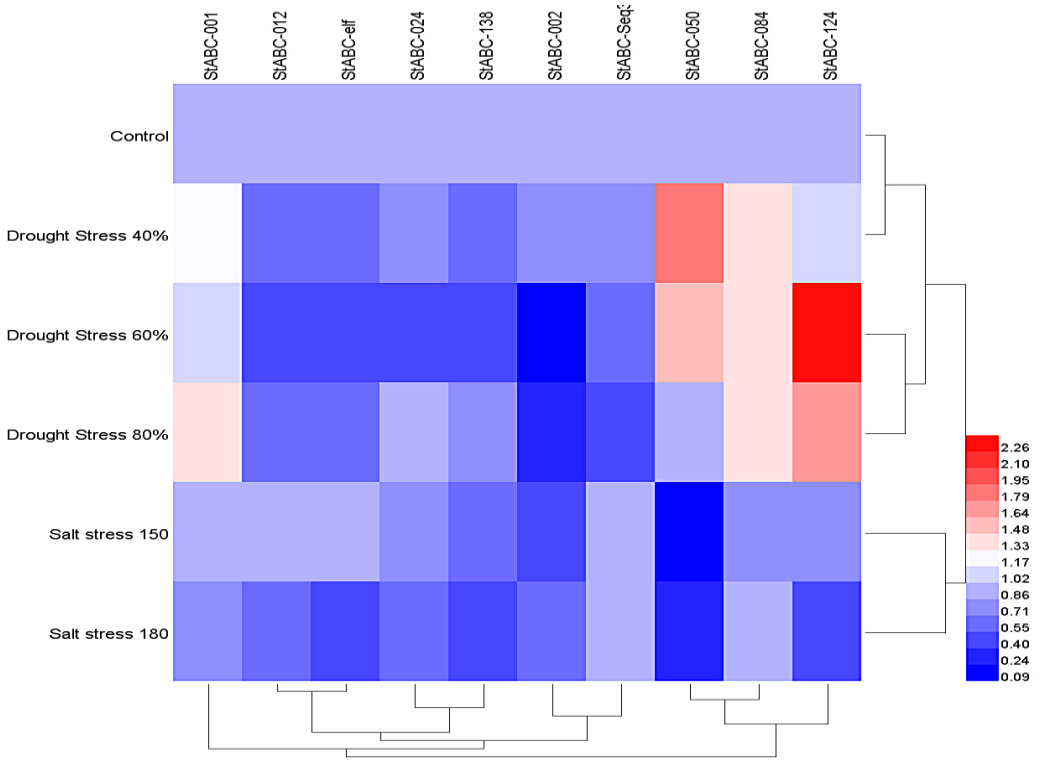
سیب‌زمینی در پاسخ به تنش‌های غیرزیستی خشکی و شوری با استفاده از نقشه حرارتی (Heat map) در شکل ۹ نمایش داده شده است.

در انسان ٤٨ پروتئین ABC درون ۸ زیرخانواده از A تا H قرار گرفته است که بر اساس طبقه‌بندی ساختاری و تجزیه و تحلیل فیلوژنتیکی دسته‌بندی می‌شوند. این پروتئین‌ها شامل ناقلین کامل با ۲ دُمین TMD و ۲ دُمین NBD هستند که به ترتیب یک پروتئین کامل را کدگذاری می‌کنند و ساختارهای نیمه اندازه که هترو و هومودایمرها را تشکیل می‌دهند.



شکل۸- تغییرات نسبی بیان ژن StABC transporter در مراحل نموی مختلف سیب زمینی در پاسخ به تنش خشکی و شوری

Figure 8. Relative gene expression of StABC transporter in different developmental stages in response to drought and salt stress



شکل۹- نقشه حرارتی ژن های StABC transport گیاه سیب زمینی در پاسخ به تنش خشکی و شوری

Figurer 9. Heat map StABC transporter genes of potato in response to drought and salinity stress

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1400.10.1.2.2]

اگرچه چندین ژن ABC مثل ABCI و یاMDR، به‌طورگسترده مطالعه شده‌اند، ولی عملکرد آنها هنوز نامشخص است (Allikmets, 1996). ژن تری‌هلیکس نقش مهمی در توسعه و رشد و پاسخ به تنش‌های زیستی و غیرزیستی دارد. پروتئین‌های تری‌هلیکس یکی از اولین خانواده فاکتورهای رونویسی کشف شده در گیاهان‌اند و مانند فاکتورهای GT ناشی از اتصال خاص خود، به عناصرGT مرتب شده‌اند. ۳۰ ژن تری‌هلیکس در آرابیدوپسیس شناسایی گردیده است که در ۵ کلاس به نام GT-1، GT-2، SH-4، SIPI و GTY قرار گرفته‌اند. دُمین DNA binding فاکتورهای GT نوع خاصی از ساختار تری‌هلیکس است. یک جفت از ژن‌های آرابیدوپسیس در GT-1 شاخه‌بندی شده است و GT-3a و GT-3b در پاسخ به تنش‌های شوری و تنش پاتوژن نشان داده شده است. فاکتورهای رونویسی تری‌هلیکس نقش مهمی در تنظیم فرآیند توسعه گل‌ها، مویچه‌ها (کرک‌های گیاهی) استوماتا، ریزش برگ‌ها و پاسخ به تنش‌های زیستی و غیرزیستی و فیتوهورمون‌هایی مانند ABA و سالیسیلیک اسید (SA) دارند. طبق گزارشی که توسطZhanchao Wang *et al.* (2016) روی صنوبر کالیفرنیایی ارائه گردید، ٥٦ ژن طویل در صنوبر کالیفرنیایی شناسایی گردید که در ۵ گروه طبقه بندی گردیدند. نتایج حاصل نشان داد که بیشتر ژن‌های تری‌هلیکس دارای ساختار مشابه و موتیف‌های بشدت حفاظت‌شده بودند. این ژن‌ها در میان گروه-های پیوسته متفاوت، توزیع نامساوی داشتند. تجزیه و تحلیل پیشبر عناصر سیس نشان داد که بیشتر ژن‌های تری‌هلیکس شامل هورمون‌های مربوط به عناصر سیس می‌باشند. پروفایل بیانی ژن-های تری‌هلیکس نشان داد که آنها در درجه اوّل در برگ‌ها و ریشه‌ها بیان می‌شوند. تجزیه و تحلیل واکنش زنجیره‌ای پلیمراز معکوس در زمان واقعی نشان داد که اعضای خانواده ژن تری-هلیکس به طور قابل توجهی در پاسخ به تنش‌های اسمزی، تنش ABA، سالسیلیک اسید، متیل جاسمونات و غیره نقش دارد. این مطالعه بینش جدیدی را درباره ژن تری‌هلیکس از نقطه نظر روابط فیلوژنتیکی و توالی ژن‌های صنوبر کالیفرنیایی ارائه می‌دهد که به مطالعات کاربردی در آینده درباره نقش‌های متفاوتی از ژن‌های تری‌هلیکس متعلق به گونه‌های دیگر کمک خواهد کرد. پروتئین-های ABC transporter می‌توانند با هیدرولیز کردن ATP به عنوان حاملین مختلف ساختارهای غشای زیستی عمل کنند با این وجود دانسته‌های کمی درباره این حاملین در دسترس می‌باشد. Yan *et al.* (2017) ۱۷۹ ژن ABC transporter در کلم شناسایی نمودند که ۱۷۳ ژن از آن روی کروموزوم ۱۰ قرار داشت. براساس تجزیه و تحلیل فیلوژنتیکی و ساختار دُمین، ناقلینABC درون ۸ خانواده از ABCA تا ABCI طبقه‌بندی شدند که ١٦٢ توالی دارای یک یا چند دُمینNBD بود و ۱۷ توالی فاقد دُمین بود. خانواده‌های ABCG، ABCB، ABCI و ABCC دارای بیشترین اعضا به ترتیب ٦٣، ۳۸، ۳۰ و ۲۱ عضو بودند. خانواده-های ABCE، ABCA وABCF نیز به ترتیب شامل ۱۱، ۷ و ۷ عضو بودند. تنها ۲ عضو در زیر گروه ABCD قرار گرفت. این ناقلین در گیاهان دیگری مانند آرابیدوپسیس، صنوبر کالیفرنیایی، سویا، انگور و برنج شناسایی شده‌اند که به ترتیب دارای ۱۳۰، ٢٠٤، ٢٧١، ١٨١، ١٤١و ژن می‌باشند. خانواده‌های فرعی ABC به طورمعمول بعد از نمونه‌های اولیه انسانی یا میکروبی‌شان به عنوان مثال مقاومت دارویی پلیوتروپیک (PDR: Pleiotropic Drug Resistance) و پروتئین متصل به مقاومت چنددارویی (MRP: Multidrug Resistance-associated Protein) نامگذاری می‌شوند (Sánchez-Fernández *et al.* 2001). بررسی کل محتوای ژنوم توسطCakir and Kilickaya (2013) در انگور نشان داد که در مقایسه با گیاه آرابیدوپسیس، ۱۳۵ پروتئین ABC با ۱ یا ۲ دومین نوکلئوتیدی شناسایی شده است. از این تعداد، ۱۲۰ عدد از آنها پروتئین‌های غشایی را کدگذاری می‌کنند و ۱۵ پروتئین آن فاقد دُمین TMD می‌باشد. پروتئین‌های ABC درون ۱۳ گروه تقسیم شدند که ۷۹ عضو از آنها دارای ساختار کامل و ٤١ عضو دارای ساختار نیمه کامل و ۱۵ عضو از آنها پروتئین‌های قابل حل بودند. مشخصه‌ی اصلی خانوادهABC در انگور، حضور دو گروه بزرگ ABCG وABCC بود که به ترتیب در مقاومت دارویی پلیوتروپیک و پروتئین‌های مرتبط با مقاومت چنددارویی نقش داشتند.

شناسایی و مطالعه ABC-transporter توسط Lopez-Ortiz *et al.* (2019) بر روی گیاه فلفل نشان دادند که گروه‌های زیرخانواده-های ABCC و ABCG نقش مهمی در انتقال متابولیت‌های ثانویه

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1400.10.1.2.2]

کاپسیسین و دی هیدروکاپسیسین به درون واکوئول داشته و بدین طریق بر روی محتوای میوه فلفل اثر می‌گذارند.

سپاسگزاری: نویسندگان مقاله از دانشگاه شهید چمران اهواز و مرکز پردازش سریع دانشگاه بابت حمایت در انجام پژوهش حاضر تشکر و قدردانی می‌نمایند.

منابع

Allikmets R, Gerrard B, Hutchinson A, Dean M. 1996. Characterization of the human ABC superfamily: isolation and mapping of 21 new genes using the Expressed Sequence Tags database. Human Molecular Genetics 5(10): 1649-1655.

Annilo T, Chen Z-Q, Shulenin S, Costantino J, Thomas L, Lou H, et al. 2006. Evolution of the vertebrate ABC gene family: analysis of gene birth and death. Genomics 88, 1–11.

Bates LS, Waldren RP, Teare ID .1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant Soil 39: 205-207.

Botella MA, Rosado A, Bressan RA, Hasegawa PM. 2005. Plant adaptive responses to salinity stress. pp: 37-70. In: Jenks, M.A., and Hesgawa, P.M. (edrs.) Plant abiotic stress. Blackwell Publishing Ltd.

Çakır B, Kılıçkaya O. 2013. Whole genome survey of the putative ATP-binding cassette transporter family genes in *Vitis vinifera*. PlosOne PLoS One 8:11:e78860.

Carlos A M, Moacyr M, Elisonete G. 1996. In vitro salt tolerance and proline accumulation in Andean potato (*Solanum* spp.) differing in frost resistance. Plant Science 116: 177-184.

Catsky J. 1960. Determination of water deficit in disks cut out from leaf blades. Biologia Plantarum 2: 76–78.

Dean M, Hamon Y, Chimini G. 2001. The human ATP-binding cassette (ABC) transporter superfamily, Journal Lipid Ressearch. 42: 1007–1017.

Dermauw W, Van Leeuwen T. 2014. The ABC gene family in arthropods: comparative genomics and role in insecticide transport and resistance. Insecticide Biochemstry Molecular Biology, 45: 89–110.

Devaux A, Kromann P, Ortiz O. 2014. Potatoes for sustainable Food Security. Potato Research, 57:185–199.

Mariot RF, de Oliveira LA, Voorhuijzen MM, Staats M, Hutten RCB, Van Dijk JP, et al. 2015. Selection of Reference Genes for Transcriptional Analysis of Edible Tubers of Potato (Solanum tuberosum L.). PLoS ONE 10(4): e0120854.

Hanson BR, Grattan SR, Fulton A. 2006. Agricultural salinity and drainage. Univercity of California, Department of Land, Air and Water Resources, Davis, Technology & Engineering - 180 pages.

Harris P M. 1992. The potato crop. Chapman and Hall Ltd.910 pp.

Higgins CF, Linton KJ. 2004. The ATP switch model for ABC transporters. Natural Structure Molecular Biolology 11, 918–926.

Hyde SC, Emsley P, Hartshorn MJ, Mimmack MM, Gileadi U, Pearce SR, Gallagher MP, Gill DR, Hubbard RE, Higgins CF.1990. Structural model of ATP-binding proteins associated with cystic fibrosis, multidrug resistance and bacterial transport. Nature 346: 362-365.

Jalali AM, Esfandiari H, Bagheri MR, Asadi A, Jalali S, Dehghani M, Solhi M, Moshref L, Molk S, Salehi H. 2019. Good potato farming operation, Agricultural Research, Education and Extension Organization, pp.163 (In Farsi with English abstract).

Kang J, Park J, Choi H, Burla B, Kretzschmar T, Lee Y. et al. 2011. Plant ABC transporters. *Arabidopsis Book* 9:e0153.

Khan N, You FM, Datla R, Ravichandran S, Jia B, Cloutier S. 2020. Genome-wide identification of ATP binding cassette (ABC) transporter and heavy metal associated (HMA) gene families in flax (*Linum usitatissimum* L.). BMC Genomics. 19;21(1):722.

Khorshidibenam MB, Rahimzadeh khoie F, Mirhadi MJ, Noormohammadi GH. 2003. Investigation of the effects of drought stress on the growth stages of different potato cultivars, Iranian Journal of Crop Sciences, 1:47-58 (In Farsi with English abstract).

Khrais T, Leclerc Y, Donnelly E. 1998. Relative salinity tolerance of potato cultivars assessed by in vitro screening. American Journal of Potato Research 75:207-210.

Kloosterman B, Vorst O, Hall RD, Visser RGF, Bachem CW. 2005. Tuber on a chip: differential gene expressio n duringpotato tuber development. Plant Biotechnology Journal *3*, 505–519.

Krzywinski M, Schein J, Birol I, Connors J, Gascoyne R, Horsman D, Jones S, Marra M. 2009. Circos: An information aesthetic for comparative genomics, Genome Research 19: 1639-1645.

Librado P, Rozas J. 2009. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data, Genetics and population analysis, Vol. 25 no. 11 2009, pages 1451–1452.

Loon CD .1981. The effect of water stress on potato growth, development, and yield. American Potato Journal 58:51–69.

Lopez-Ortiz C, Dutta SK, Natarajan P, Peña-Garcia Y, Abburi V, Saminathan T, Nimmakayala P, Reddy UK. 2019. Genome-wide identification and gene expression pattern of ABC transporter gene family in *Capsicum* spp. PLoS One. 30;14(4):e0215901.

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1400.10.1.2.2]

Mass EV, Hoffman GJ. 1977. Crop salt tolerance- current assessment. American Society of Civil Engineers Proceedings Journal of Irrigation and Drainage Division 103:115-131.

Ohno S. 1970. Evolution by Gene Duplication, Springer-Verlag, New York.

Pourfarid B. 2019. Identification of ABC-Transporter gene family and analysis of gene co-expression network pattern in different stages of potato stolone development in response to abiotic stresses, Master Thesis, Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University, Ahvaz. (In Farsi with English abstract).

Rahnama A, Postini K, Sasani SH, Esavand HR. 2012. Plant response to abiotic stresses. Compiled by Hirt, H and Shinozaki, Kazuyo, Ahvaz Chamran University Press. (In Farsi with English abstract).

Sánchez-Fernández RO, Davies TE, Coleman JO, Rea PA. 2001. The *Arabidopsis thaliana* ABC protein superfamily, a complete inventory. *J. Biol. Chem.* 276, 30231–30244.

Schmittgen T, Livak D, Kenneth J. 2008. Analyzing real-time PCR data by the comparative (CT) method, Nature Protocols 3:1101–1108.

Shiri-Janagard M, Tobeh A, Abbasi A, Jmmati-Somarin SH, Hassanzadeh M, Zabihi-Mahmoodabad R. 2009. Effects of water stress on water demond, growth and tuber grade of potato (*Solanum tuberosum* L.) crop. Research Journal of Environmental Sciences 3: 476-485.

Van Hoorn JW, Katerji N, Hamdy A, Mastrorilli M. 1993. Effect of saline water on soil salinity and on water, stress, growth and yield of wheat and potatoes. Agriculturae and Water Management 23:247-265.

Van Loon CD. 1981. The effect of water stress on potato growth, development and yield. American Journal of Potato Research, 58: 51-69.

Verrier PJ, Bird D, Burla B, Dassa E, Forestier C, Geisler M, et al. 2008. Plant ABC proteins–a unified nomenclature and updated inventory. Trends Plant Science 13, 151–159.

Wankun D, Yongbo W, Zexian L, Han C, Yu X. 2014. HemI: A Toolkit for Illustrating Heatmaps. PLoS One 5:9(11):e111988.

Yan C, Duan W, Lyu S, Li Y, Hou X .2017. Genome-Wide Identification, Evolution, and Expression Analysis of the ATP-Binding Cassette Transporter Gene Family in *Brassica rapa*. Fronter in Plant Science. 8:349.

Yan L, Zhang J, Chen H, Luo H. 2021. Genome-wide analysis of ATP-binding cassette transporter provides insight to genes related to bioactive metabolite transportation in *Salvia miltiorrhiza*. BMC Genomics. 1;22(1):315.

Zhanchao W, Quangang L, Hanzeng W, Haizhen Zh, Xuemei X, Chenghao L, Chuanping Y. 2016. Comprehensive analysis of trihelix genes and their expression under biotic and abiotic stresses in *Populus trichocarpa*. Scientific reports. 36274.

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1400.10.1.2.2]

Genetic Engineering and Biosafety Journal
Volume 10, Number 1
2021

Identification of ABC-Transporter gene family and analysis of gene co-expression network pattern in different stages of potato stolone development in response to drought and salinity stress

Bahareh Pourfarid[1], Karim Sorkheh[1], Pedro Martinez-Gomez[2]

1. Department of Production engeneering and Plant Genetics, Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz, Iran.

2. Department of Plant Breeding, CEBAS-CSIC, P.O. Box 164, Espinardo, Murcia, 30080, Spain

*Corresponding Author, Email: k.sorkheh@scu.ac.ir

Abstract

ABC transporters (ATP-binding cassettes) are among the largest gene families found in the three domains of bacteria, eubacteria, and eukaryotes. Most known ABC proteins are ATP-dependent, and membrane transporter and transport a wide range of molecules. These carriers play an important role in various biological processes. Since no comprehensive study has been performed on the identifying of ABC transporters in the potato plant, in this study, by searching the NCBI database and screening the identified genes, 228 ABC transporter genes were finally identified. Analysis of gene ontology (GO) showed that about 53% of ABC transporters in biological processes are responsible for transporting materials. In the analysis of molecular function and cell content, it was found that 32% are ATP-binding and 43% of them are inner membrane actuators, respectively. Also, the *Cis* elements in the promoter of ABC transporter genes was investigated, which finally identified 13 elements in drought stress and three elements in salinity stress. Finally, the expression pattern of eight selected ABC transporter genes under drought and salinity stresses was investigated using qPCR method. The results showed the effect of the studied genes under stress. StABC-050, StABC-084 and StABC-124 genes in drought stress and StABC-084 and StABC-001 genes had high expression in salinity stress. Then, to ensure the application of the applied stresses, the amount of proline and RWC and Na^+/K^+ were measured. According to the results, with increasing drought stress, the amount of proline in different developmental stages increased and RWC decreased, so that this decrease showed a significant difference at the level of 1%. The aim of this study was to identify and evaluate the expression pattern of selected ABC transporter genes under drought and salinity stresses in potato.

Key words: ATP-binding cassette (ABC) transporter, Bioinformatics, Drought and salinity stresses, Gene expression, Stolon Potato

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1400.10.1.2.2]