



Comparative Transcriptomic Meta-Analysis of Salinity Stress Response in Rice and Tomato

Asma Mollazadeh¹, Mahdi Naghizadeh³, Sepideh Gotbzadeh-Kermani², Hassan Farahbakhsh¹, Azam Nikbakht Dehkordi² & Ali Kazempour^{1,2} ✉

¹ Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran.

² Research and Technology Institute of Plant Productions, Afzalipour Research Institute, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran.

³ Department of Plant Productions, Agricultural Faculty of Bardsir, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran.

✉ Corresponding author. E-mail: ali.kazemi@uk.ac.ir

ABSTRACT

Introduction: Soil salinity represents a formidable obstacle to global food security, exerting negative pressure on crop productivity across a wide array of botanical species. Despite the substantial body of research dedicated to deciphering salt tolerance in individual crops, there remains a persistent gap in comparative, cross-species analyses that delineate conserved mechanisms of resilience. This study was specifically designed to bridge the chasm between molecular responses and observed morpho-physiological traits. By conducting a parallel investigation into rice (*Oryza sativa*) and tomato (*Solanum lycopersicum*), we aimed to identify both the evolutionarily conserved and species-specific genetic architectures governing salt responsiveness. Our ultimate objective was to prioritize core genes and metabolic pathways, thereby providing reliable, high-value targets for precision breeding programs aimed at developing climate-resilient cultivars.

Materials and methods: To achieve a robust overview, we employed a comprehensive meta-analysis approach utilizing transcriptomic (microarray) data archived in the NCBI Gene Expression Omnibus (GEO). Two high-quality datasets were curated for this study: GSE16401, which contrasts the salt-tolerant tomato genotype PL36 against the sensitive ‘Money Maker’ cultivar, and GSE58603, which compares the salt-tolerant rice genotype PL177 with the sensitive IR64 variety. Differential gene expression (DGE) analysis was rigorously performed using the GEO2R analytical platform, applying strict statistical thresholds of $|\log_2FC| \geq 1$ and a False Discovery Rate (FDR) ≤ 0.05 to ensure the reliability of the identified candidates. Differentially Expressed Genes (DEGs) were categorized into conserved and species-specific sets using Venny 2.1.0. Subsequently, to decipher the complex biological roles and the broader metabolic frameworks involved in salinity adaptation, we conducted functional enrichment analyses, specifically Gene Ontology (GO) and KEGG pathway mapping, using WebGestalt 2024.

Results: Our analysis unveiled distinct transcriptomic signatures that clearly differentiate tolerant genotypes from their sensitive counterparts in both species. In tolerant genotypes, we observed a sophisticated and highly coordinated upregulation of genes involved in critical physiological processes, including cell wall remodeling, osmotic adjustment (notably P5CS and TPS pathways), and the mobilization of secondary metabolites. Critically, key ion transporters, particularly members of the HKT and NHX families, were significantly upregulated, underscoring their pivotal role in maintaining ion homeostasis under osmotic stress. Furthermore, the robust expression of antioxidant defense genes—including various SOD, CAT, and APX isoforms—highlighted a proactive strategy to mitigate salt-induced oxidative damage. We also identified several transcription factor families, such as DREB, NAC, and WRKY, as central hubs regulating the salt-stress response network. Conversely, sensitive genotypes displayed a pronounced downregulation in genes fundamental to photosynthesis, carbon metabolism, and hormonal signaling pathways, suggesting a catastrophic breakdown in physiological coordination and metabolic homeostasis under high-salinity conditions.

Conclusion: The findings of this research provide a comprehensive and integrative landscape of the molecular machinery governing salt tolerance in two evolutionary distinct, yet economically vital, crops. The identification of shared pathways—specifically those related to antioxidant capacity, osmotic regulation, and transcriptional control—suggests a fundamental “toolkit” that plants utilize for salinity adaptation. These results offer a set of validated molecular candidates for enhancing salt tolerance through advanced biotechnological tools, such as genomic selection or targeted genome editing. Ultimately, this study offers a strategic roadmap for breeders and biotechnologists to accelerate the development of resilient crop varieties capable of thriving in increasingly challenging and deteriorating environmental conditions.

Keywords: Precision Breeding; Salt Tolerance; Comparative Transcriptomics; Transcription Factors; Ion Homeostasis; *Oryza sativa*; *Solanum lycopersicum*.

Article Type: Research Article

Article history: Received: 29 Jul 2025, Revised: 24 Sep 2025, Accepted: 27 Nov 2025, Published online: 26 Dec 2025

Cite this article: Mollazadeh, A., Naghizadeh, M., Gotbzadeh-Kermani, S., Farahbakhsh, H., Nikbakht Dehkordi, A. & Kazempour, A. (2025). Comparative Transcriptomic Meta-Analysis of Salinity Stress Response in Rice and Tomato. *Cereal Biotechnology and Biochemistry*, 4(4), 568-588. DOI: [10.22126/cbb.2026.13980.1147](https://doi.org/10.22126/cbb.2026.13980.1147)



© The Author(s).

[doi:10.22126/cbb.2026.13980.1147](https://doi.org/10.22126/cbb.2026.13980.1147)

Publisher: Razi University



بیوتکنولوژی و بیوشیمی غلات

شاپا الکترونیکی: ۵۱۷۰-۲۷۸۳



بیوتکنولوژی و بیوشیمی غلات

Homepage: <https://cbb.razi.ac.ir>

متاآنالیز مقایسه‌ای ترانسکریپتومی پاسخ به تنش شوری در برنج و گوجه‌فرنگی

اسما ملازاده^۱، مهدی نقی‌زاده^۲، سپیده قطب‌زاده کرمانی^۲، حسن فرح‌بخش^۱، اعظم نیک‌بخت دهکردی^۲ و علی کاظمی‌پور^۱✉

^۱ گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران.
^۲ پژوهشکده فناوری تولیدات گیاهی، پژوهشگاه افضلی‌پور، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران.
^۳ گروه تولیدات گیاهی مرکز آموزش عالی کشاورزی بردسیر، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران.

✉ نویسنده مسئول. رایانامه: ali.kazemi@uk.ac.ir

چکیده

مقدمه: شوری خاک همچنان یکی از چالش‌های اصلی امنیت غذایی جهانی است که بهره‌وری محصولات کشاورزی را در گونه‌های مختلف به شدت تحت تأثیر قرار می‌دهد. با وجود مطالعات متعدد پیرامون تحمل به شوری در گیاهان زراعی مختلف، بررسی‌های تطبیقی بین گونه‌ای همچنان محدود است. این پژوهش با هدف پر کردن شکاف میان پاسخ‌های مولکولی و صفات مرفوفیزیولوژیک از طریق شناسایی مکانیسم‌های پاسخ به شوری (مشترک و اختصاصی گونه) در برنج (*Oryza sativa*) و گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum*) طراحی شد. هدف نهایی این مطالعه، اولویت‌بندی ژن‌های کلیدی و مسیرهای متابولیکی است که می‌توانند به عنوان اهداف قابل اطمینان در برنامه‌های اصلاح نژاد دقیق مورد استفاده قرار گیرند.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه از رویکرد متاآنالیز داده‌های ترانسکریپتومیک (ماکرواری) استخراج‌شده از پایگاه داده NCBI GEO استفاده شد. دو مجموعه داده انتخاب گردید: GSE16401 (گوجه‌فرنگی: رقم متحمل PL36 در مقابل رقم حساس Money Maker) و GSE58603 (برنج: رقم متحمل PL177 در مقابل رقم حساس IR64). تحلیل بیان افتراقی ژن‌ها (DGE) با استفاده از ابزار GEO2R و با اعمال آستانه سخت‌گیرانه $|\log_2FC| \geq 1$ و $FDR \leq 0.05$ انجام گرفت. ژن‌های بیان‌یافته افتراقی (DEGs) مشترک و اختصاصی از طریق ابزار Venny 2.1.0 شناسایی شدند. در ادامه، برای روشن شدن نقش‌های بیولوژیکی و چارچوب‌های متابولیکی درگیر در تحمل به شوری، تحلیل غنی‌سازی عملکردی (GO و KEGG) با استفاده از پایگاه WebGestalt 2024 صورت گرفت.

یافته‌ها: نتایج نشان‌دهنده یک الگوی ترانسکریپتومیک متمایز بین ژنوتیپ‌های متحمل و حساس در هر دو گونه بود. در ژنوتیپ‌های متحمل، افزایش بیان هماهنگ ژن‌های مرتبط با بازسازی دیواره سلولی، تنظیم اسمزی و متابولیسم ثانویه مشاهده شد. به‌طور خاص، انتقال‌دهنده‌های یونی کلیدی نظیر خانواده‌های NHX و HKT، در کنار ژن‌های دفاع آنتی‌اکسیدان، بیان افتراقی معنی‌داری را نشان دادند که بر نقش آن‌ها در حفظ هموستاز یونی و کاهش خسارات اکسیداتیو تأکید دارد. علاوه بر این، چندین خانواده فاکتور رونویسی شامل DREB، NAC و WRKY به عنوان تنظیم‌کننده‌های مرکزی پاسخ به شوری شناسایی شدند. در مقابل، ژنوتیپ‌های حساس کاهش بیان شدیدی را در ژن‌های مرتبط با فتوسنتز، متابولیسم کربن و پیام‌رسانی هورمونی نشان دادند که می‌تواند نشان‌دهنده فروپاشی هماهنگی فیزیولوژیک تحت تنش شوری شدید باشد.

نتیجه‌گیری: یافته‌های این پژوهش، چشم‌انداز جامعی از مکانیسم مولکولی حاکم بر تحمل به شوری در دو محصول با تبار تکاملی متفاوت ارائه می‌دهد. شناسایی مسیرهای مشترک (به‌ویژه آن‌هایی که با ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و تنظیم اسمزی مرتبط هستند) نشان‌دهنده وجود یک «جعبه‌ابزار» بنیادی برای سازگاری با شوری در گیاهان است. این نتایج کاندیدهای مولکولی ارزشمندی را جهت ارتقای تحمل به شوری از طریق انتخاب ژنومیک یا ویرایش ژنی فراهم کرده و نقشه راهی برای توسعه ارقام مقاوم در برابر شرایط محیطی نامساعد در غلات و صیفی‌جات ارائه می‌دهند.

واژه‌های کلیدی: اصلاح نژاد دقیق، تحمل به شوری، ترانسکریپتومیکس مقایسه‌ای، فاکتورهای رونویسی، هموستازی یونی، *Solanum lycopersicum*.

نوع مقاله: مقاله پژوهشی

نوع مقاله دریافت: ۱۴۰۴/۰۵/۰۷ **اصلاح:** ۱۴۰۴/۰۷/۰۲ **پذیرش:** ۱۴۰۴/۰۹/۰۶ **انتشار آنلاین:** ۱۴۰۴/۱۰/۰۵

استناد: ملازاده، ا.، نقی‌زاده، م.، قطب‌زاده کرمانی، س.، فرح‌بخش، ح.، نیک‌بخت دهکردی، ا. و کاظمی‌پور، ع. (۱۴۰۴). متاآنالیز مقایسه‌ای ترانسکریپتومی پاسخ به تنش

شوری در برنج و گوجه‌فرنگی. *بیوتکنولوژی و بیوشیمی غلات*، ۴(۴)، ۵۶۸-۵۸۸. DOI: [10.22126/cbb.2026.13980.1147](https://doi.org/10.22126/cbb.2026.13980.1147)



© نویسندگان

ناشر: دانشگاه رازی

مقدمه

شوری یکی از تنش‌های غیرزیستی مهم است که به شدت بر رشد، توسعه و در نهایت عملکرد گیاه تأثیر گذاشته و تهدیدی جدی برای امنیت غذایی جهانی محسوب می‌شود. برای مقابله با این مشکل، تولید ارقام زراعی با تحمل بالاتر به شوری برای بهره‌برداری پایدار از اراضی کشاورزی ضروری است (Tibesigwa *et al.*, 2025). در اصلاح‌نباتات مرسوم، اصلاح‌گران جهت اصلاح ارقام، عمدتاً بر رویکردهای تجربی مبتنی بر مشاهده پاسخ‌های فنوتیپی (مورفولوژیکی و عملکردی) در محیط هدف، تکیه دارند. با این حال، این انتخاب فنوتیپی اغلب زمان‌بر و پرهزینه بوده و به دلیل رفتار ژنتیکی پیچیده صفات و برهم‌کنش قابل‌توجه ژنوتیپ در محیط، نتایج ناپایداری تولید کرده است. عواملی مانند غلظت‌های متفاوت نمک می‌توانند بیان صفات را به شدت تغییر دهند، که انتخاب زود هنگام را دشوار و احتمال از دست رفتن ژنوتیپ‌های مطلوب را افزایش می‌دهد. لذا درک عمیق از اساس ژنتیکی و پاسخ‌های گیاه به تنش جهت تعیین استراتژی-های اصلاحی ضروری است. یک استراتژی اصلاحی ایده‌آل مستلزم مشخص کردن ویژگی‌های هدف و محیط‌هایی است که رقم بهبود یافته برای آن‌ها در نظر گرفته شده است. اصلاح مدرن با بهره‌گیری از ژنومیکس و زیست‌شناسی مولکولی، انتخاب صفات را متحول کرده است (Ammar *et al.*, 2024). نشانگرهای عملکردی (Functional Markers (FMs)) نسل پیشرفته‌تری از نشانگرهای مولکولی هستند که مستقیماً از توالی ژن‌های

مسئول یک صفت خاص استخراج می‌شوند. بر خلاف نشانگرهای سنتی (مانند SSR یا AFLP) که فقط همبستگی فنوتیپی یا نزدیکی ژنتیکی به ژن هدف را نشان می‌دهند، نشانگرهای FMs به‌طور ۱۰۰ درصد پیش‌بینی‌کننده فنوتیپ هستند، چون خود ژن یا ناحیه کدکننده/تنظیمی صفت مورد نظر را هدف قرار می‌دهند (Kage *et al.*, 2016; Chaudhary *et al.*, 2024). اولین قدم در شناسایی این نشانگرها، شناسایی ژن‌های بیان‌شده در شرایط مختلف (مانند تنش شوری) و یافتن ژن‌های با تفاوت بیان معنی‌دار (DEGs) بین ژنوتیپ‌های متحمل و حساس از طریق تکنیک‌هایی مانند ماکرواری یا RNA-seq است. این نشانگرها تحت تأثیر عوامل محیطی، مراحل نمونه‌برداری یا مراحل رشد گیاه قرار نمی‌گیرند و امکان انتخاب دقیق‌تر و کارآمدتر را فراهم می‌کنند (Liu *et al.*, 2021). آن‌ها انتخاب مستقیم ژن‌های مرتبط با صفات فنوتیپی را ممکن ساخته و کارایی انتخاب را افزایش می‌دهند. تحمل به شوری یک صفت کمی است که تحت تأثیر چندین ژن، ژنوتیپ، محیط و برهم‌کنش آن‌ها (G×E) قرار دارد. درک جامع از عوامل مؤثر بر رشد و توسعه، شامل پارامترهای مورفوفیزیولوژیکی و بیوشیمیایی، برای شناسایی ابزارهای انتخاب غیرمستقیم جهت بهبود تحمل به شوری ضروری است (Soltabayeva *et al.*, 2021). عملکرد بیوماس یا عملکرد محصول تحت شرایط تنش نسبت به شرایط شاهد، رویکرد رایجی برای ارزیابی تحمل است. گام سرنوشت‌ساز در اصلاح برای افزایش عملکرد و

تحمل به تنش، انتخاب صفات هدف است. اصلاح برای تحمل به شوری باید مبتنی بر چارچوبی دقیق از انتخاب صفات مؤثر و قابل اندازه‌گیری باشد. صفاتی چون نسبت سدیم به پتاسیم، کلروفیل کل، شاخص قدرت جوانه‌زنی، شاخص بقاء در تنش، و اجزای عملکرد، بارها در مقالات علمی به عنوان شاخص‌های قابل اعتماد معرفی شده‌اند. زمانی که این صفات با نشانگرهای مولکولی دقیق (مانند ژن‌های کاندیدا، QTL‌های تثبیت‌شده، ژن‌های شناسایی شده، یا هاپلوتیپ‌های مفید) پشتیبانی شوند، پایه‌ای قوی برای انتخاب فراهم می‌کنند (Younis *et al.*, 2020). برای پر کردن فاصله میان روش‌های سنتی و ابزارهای پیشرفته، لازم است اصلاح‌گران از نقشه راه یکپارچه‌ای پیروی کنند که شامل انتخاب صفات فنوتیپی دقیق، اعتبارسنجی مولکولی، تجمیع آلل‌های مطلوب، تسریع چرخه‌های اصلاحی، و در نهایت ارزیابی انتخاب‌ها در شرایط واقعی مزرعه‌ای است. ادغام ابزارهای مولکولی مانند نشانگرهای عملکردی و انتخاب ژنومی به‌طور چشمگیری کارایی و دقت برنامه‌های اصلاحی را افزایش می‌دهد (Soltabayeva *et al.*, 2021; Chaudhary *et al.*, 2024).

در سال‌های اخیر، رویکردهای مولکولی امکان تجزیه دقیق‌تر اساس ژنتیکی تحمل به شوری را فراهم کرده‌اند. ژنومیک عملکردی، به‌ویژه توالی‌یابی RNA، این امکان را می‌دهد که تغییرات ترنسکرپتومی گیاهان تحت تنش شوری به‌صورت جامع بررسی شود (Kage *et al.*, 2016). با شناسایی ژن‌های بیان‌شده متفاوت (DEG) و

ارتباط آن‌ها به مسیرهای عملکردی، می‌توان عوامل مولکولی کلیدی تحمل را که در پشت صفات فنوتیپی مورد استفاده در برنامه‌های اصلاحی قرار دارند، شناسایی کرد. مطالعات متعددی با استفاده از داده‌های ماکروآری و RNA-seq در برنج یا گوجه‌فرنگی تحت شوری، بیان بیش‌تر ناقل‌های یونی (HKT و NHX)، ژن‌های بیوسنتز اسمولیت‌ها (P5CS برای پرولین، TPS برای تری‌هالوز)، ژن‌های دفاع آنتی‌اکسیدانی (SOD، CAT و APX) و فاکتورهای رونویسی (DREB، NAC و WRKY) را گزارش کرده‌اند (Chen *et al.*, 2024; Guo *et al.*, 2026). این یافته‌ها فهرستی از ژن‌های کاندیدا را ارائه داده‌اند، اما دو شکاف مهم همچنان وجود دارد: نخست، اغلب این مطالعات تنها یک گونه را به‌صورت مجزا بررسی کرده‌اند و کمتر به مقایسه بین گونه‌ای پرداخته‌اند؛ دوم، ارتباط مستقیم بین پاسخ‌های مولکولی و صفات مورفوفیزیولوژیکی مورد استفاده اصلاح‌گران به ندرت به‌طور شفاف بیان شده است. انتخاب مولکولی، از جمله انتخاب به کمک نشانگر و مهندسی ژنتیک، اگرچه نوید دقت و کارایی بالاتر را می‌دهد، اما محدودیت‌هایی مانند انتقال ناخواسته صفات نامطلوب، تأثیر زمینه ژنتیکی و محیطی بر QTL‌ها، و فقدان ارزیابی‌های میدانی جامع وجود دارد (Sharma *et al.*, 2021). این فاصله بین ظرفیت ابزارهای مولکولی و کاربرد گسترده و موفق آن‌ها در شرایط مزرعه، همچنان چالشی کلیدی برای برنامه‌های اصلاح نباتات به شمار می‌آید. بنابراین مطالعات اخیر اهمیت ادغام اطلاعات صفات با داده‌های مولکولی را برای

تسریع پیشرفت ژنتیکی در گیاهان مهمی چون برنج و گوجه‌فرنگی تأیید می‌کند. پژوهش حاضر با هدف پر کردن این شکاف‌ها، داده‌های ترانسکریپتومی برنج و گوجه‌فرنگی تحت تنش شوری را به‌عنوان گیاهان مدل برای گیاهان تک‌لپه و دولپه هستند، یکپارچه کرده و به مقایسه بین این دو گونه پرداخته است. بنابراین، در این مطالعه ما به دنبال شناسایی ژن‌ها و مسیرهای متابولیک مشترک و گونه‌محور و بررسی ارتباط آن‌ها با صفات موثر در اصلاح گیاهی (مانند تجمع پرولین، ثبات کلروفیل، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، بیوماس و غیره) هستیم. هدف ما اولویت‌بندی صفاتی است که برای غربالگری و انتخاب مقاومت به شوری در برنامه‌های اصلاحی مؤثرتر و کاربردی‌تر هستند.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری داده‌ها

در این پژوهش، دو مجموعه داده ماکرواری با کیفیت بالا از پایگاه GEO^۱ در NCBI انتخاب شدند. معیارهای انتخاب این دیتاست‌ها شامل (۱) وجود ژنوتیپ‌های متحمل و حساس در هر گونه، (۲) طراحی آزمایش به-صورت مشابه (شامل تیمار شوری و شاهد)، (۳) وجود حداقل سه تکرار بیولوژیکی و (۴) پوشش بافت‌های مهم در پاسخ به شوری (ریشه و برگ) بود.

مجموعه داده اول (GSE16401) مربوط به گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum*) است که شامل داده‌های ماکرواری از بافت ریشه و برگ دو رقم حساس (Money

Maker) و مقاوم (PL36) در مرحله گیاهچه‌ای و ۷ روزگی می‌باشد. گیاهان تحت تنش شوری با غلظت ۲۰۰ میلی‌مولار NaCl به مدت ۵ ساعت قرار گرفتند (Sun et al., 2010). مجموعه داده دوم (GSE58603) مربوط به برنج (*Oryza sativa*) است که شامل داده‌های ماکرواری از بافت برگ و ریشه دو رقم مقاوم (PL177) و حساس (IR64) در مرحله گیاهچه می‌باشد. تیمار شوری با غلظت ۱۴۰ میلی‌مولار NaCl در ۳ مرحله اعمال شده است (Wang et al., 2016). این دو دیتاست از آزمایش‌های مستقل و در گونه‌های متفاوت بدست آمده‌اند. بنابراین، برای کاهش اثر احتمالی بین گروهی، تحلیل بیان افتراقی (DGE)^۲ به صورت جداگانه برای هر دیتاست انجام گرفت و سپس ژن‌های DEGs مشترک و اختصاصی بین دو گونه شناسایی شدند.

شناسایی ژن‌های با بیان متفاوت

تحلیل بیان افتراقی ژن‌ها با استفاده از ابزار آنالین GEO2R^۳ انجام شد. این ابزار بر پایه بسته‌های نرم‌افزاری R (نسخه 4.2.2) شامل GEOquery (نسخه 2.66.0) (برای دانلود و پیش‌پردازش داده‌ها) و بسته limma^۴ (نسخه 3.54.0) و Biobase (نسخه 2.58.0) کار می‌کند (Davis and Meltzer, 2007). پیش‌پردازش داده‌های خام ماکرواری ابتدا با روش RMA^۴ نرمال‌سازی شدند (Irizarry et al., 2003). این روش شامل quantile normalization, background correction

^۲ Differentially Expressed Genes

^۳ Linear Models for Microarray Analysis

^۴ Robust Multi-array Average

^۱ Gene Expression Omnibus

و summarization در سطح پروبست است. پروب‌های کنترل کیفیت و پروب‌های بدون annotation حذف گردیدند. برای حذف پروب‌های تکراری، میانگین شدت بیان^۱ برای هر ژن محاسبه شد و پروب با بالاترین شدت بیان به عنوان نماینده ژن انتخاب گردید.

تحلیل آماری با مدل خطی limma و طراحی آزمایشی مناسب (گروه‌های تیمار شوری در مقابل شاهد) برای هر دیتاست به صورت جداگانه اجرا شد. آزمون آماری مورد استفاده، moderated t-test بود. برای کنترل نرخ خطای چندگانه، تصحیح Benjamini-Hochberg اعمال گردید. ژن‌هایی که دارای $|\log_2FC| \geq 1$ و $FDR \leq 0.05$ بودند، به عنوان ژن‌های دارای بیان متفاوت (DEGs) در نظر گرفته شدند. برای هر گونه، لیست DEGs به صورت مستقل تهیه شد. به دلیل تفاوت در سیستم نامگذاری ژن‌ها (Ensembl ID) بین برنج و گوجه‌فرنگی، تمام ژن‌ها به همولوگ‌های مربوطه در *Arabidopsis thaliana* تبدیل شدند. سپس ژن‌های مشترک و اختصاصی بین دو گونه با استفاده از ابزار Venny 2.1.0 شناسایی گردیدند (Kazemzadeh et al., 2025).

قابل ذکر است که یکی از محدودیت‌های این پژوهش، استفاده از دو مجموعه داده مستقل از دو گونه متفاوت با شرایط آزمایشی غیر یکسان غلظت NaCl، مدت تنش و بستر کشت است. این تفاوت‌ها می‌تواند منجر به اثرات بین گروهی^۲ شود و تفسیر مقایسه مستقیم را با احتیاط مواجه سازد. برای به حداقل رساندن این سوگیری، تمام

تحلیل‌های بیان افتراقی به صورت مستقل برای هر گونه انجام شد و تنها ژن‌ها و مسیرهای غنی‌شده مشترک بین دو گونه به عنوان نتایج اصلی در نظر گرفته شدند. با این حال، امکان وجود برخی تاثیرات خاص شرایط آزمایشی را نمی‌توان رد کرد. مطالعات آینده با طراحی یکسان یا استفاده از داده‌های یکپارچه می‌توانند این محدودیت را برطرف کنند.

تحلیل غنی‌سازی و هستی‌شناسی ژن‌ها

به منظور انجام غنی‌سازی عملکردی^۳ (GO) و بررسی هستی‌شناسی^۴ و مسیرهای زیستی^۵ (KEGG) مرتبط با DEGs بدست آمده، از پایگاه Web Gestalt 2024 استفاده شد. برای درک بهتر تعاملات بین ژن‌های کلیدی، تحلیل شبکه برهم‌کنشی ژن‌ها^۶ (PPIN) با استفاده از پایگاه داده GeneMANIA انجام شد. شبکه‌های برهم‌کنشی DEGs هر دو گونه به صورت جداگانه ساخته شد و ژن‌های هاب^۷ با استفاده از نرم‌افزار Cytoscape و پلاگین CytoHubba بر اساس الگوریتم MCC شناسایی گردیدند.

نتایج و بحث

شناسایی و توزیع ژن‌های دارای بیان متفاوت افتراقی

تحلیل ترنسکریپتومی مبتنی بر ماکرواری نشان داد که پاسخ به شوری در هر دو گونه گوجه‌فرنگی و برنج با

³ Gene Ontology

⁴ Biological Process, Molecular Function, Cellular Component

⁵ KEGG pathway

⁶ Protein-Protein Interaction Network

⁷ Hub genes

¹ Average expression

² Batch effect

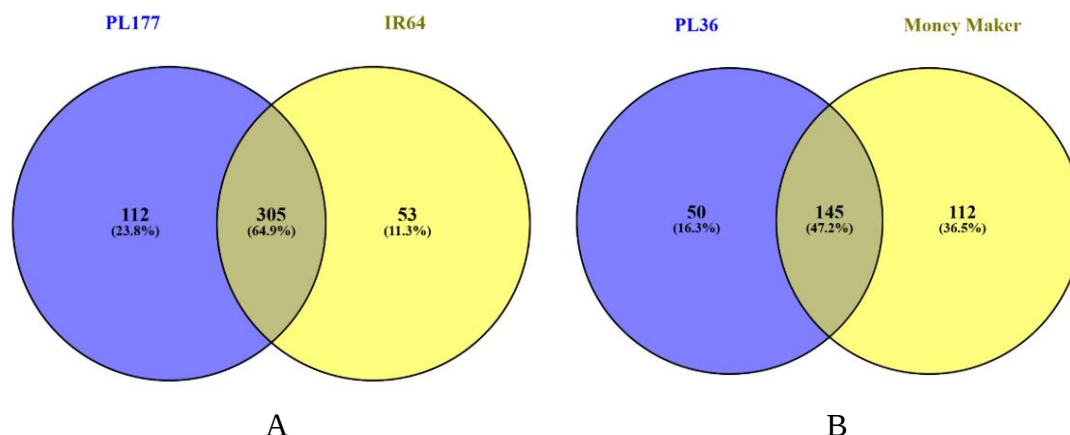
بازآرایی گسترده در الگوهای بیان ژن همراه است، اما دامنه و جهت این بازتنظیمی در ژنوتیپ‌های حساس و متحمل یکسان نبود. بر اساس معیارهای تعیین شده ($|\log_2FC| \geq 1$ و $FDR \leq 0.05$)، در مجموع ۴۷۰ ژن دارای بیان متفاوت در برنج و ۳۰۷ ژن دارای بیان متفاوت در گوجه‌فرنگی شناسایی شد (شکل ۱). لیست ژن‌ها در فایل تکمیلی ذکر شده است. وجود تعداد قابل‌توجهی از ژن‌های مشترک در هر دو ژنوتیپ، بیانگر فعال‌سازی یک هسته پاسخ عمومی به شوری است؛ هسته‌ای که احتمالاً شامل سازوکارهایی مانند تنظیم تعادل یونی، تنظیم اسمزی، پاسخ‌های آنتی‌اکسیدانی، و بازآرایی متابولیسم انرژی است ((Zhu, 2016 Deinlein et al., 2014)). مقابل، ژن‌های اختصاصی هر ژنوتیپ نشان می‌دهند که توانایی تحمل شوری تنها به فعال شدن پاسخ‌های عمومی وابسته نیست، بلکه به وجود شبکه‌های تنظیمی اختصاصی نیز نیاز دارد که شدت، زمان‌بندی، و جهت پاسخ را کنترل می‌کنند (Ismail and Horie, 2017).

تحلیل عملکرد ژنی و فرآیندهای زیستی مشترک

تحلیل غنی‌سازی ژن‌های دارای بیان متفاوت نشان داد که تنش شوری موجب فعال‌سازی مجموعه‌ای پیچیده و چندلایه از فرآیندهای زیستی در هر دو گونه برنج و گوجه‌فرنگی می‌شود که شامل پاسخ‌های دفاعی، تنظیم متابولیسمی، حفظ ساختار سلولی و کنترل بیان ژن است. اگرچه بخشی از این فرآیندها میان تمامی ژنوتیپ‌ها مشترک بود، اما تفاوت در شدت و هماهنگی فعال‌سازی

آن‌ها نقش تعیین‌کننده‌ای در سطح تحمل به شوری داشت (Van Zelm et al., 2020).

فرآیندهای مشترک میان ژنوتیپ‌های حساس و متحمل عمدتاً شامل پاسخ به تنش اکسیداتیو، تنظیم هموستازی یونی، متابولیسم کربن، انتقال یون‌ها، متابولیسم اسیدهای آمینه، کنترل کیفیت RNA و تنظیم تقسیم سلولی بودند. این مسیرها به‌عنوان پاسخ پایه گیاه به شوری عمل می‌کنند و برای حفظ بقا و پایداری اولیه سلول ضروری هستند. این موارد مشترک نشان می‌دهد که گیاهان، صرف‌نظر از سطح تحمل، مجموعه‌ای از سازوکارهای حفاظتی عمومی را در مراحل اولیه تنش فعال می‌کنند. با این حال، بررسی دقیق‌تر الگوهای غنی‌سازی GO نشان داد که ژنوتیپ‌های حساس و متحمل از راهبردهای عملکردی متفاوتی استفاده می‌کنند (شکل ۲). در ژنوتیپ‌های حساس برنج (IR64) و گوجه‌فرنگی (Money Maker)، بیش‌ترین غنی‌سازی مربوط به فرآیندهای مرتبط با گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، متابولیسم هیدروژن پراکسید، فعالیت آنزیم‌های اکسیدوردوکتاز و مسیرهای سم‌زدایی سلولی بود. غالب بودن این فرآیندها نشان‌دهنده آن است که ژنوتیپ‌های حساس عمدتاً در وضعیت «پاسخ اضطراری» باقی می‌مانند و بخش عمده منابع سلولی خود را صرف مهار آسیب ناشی از استرس اکسیداتیو می‌کنند. چنین الگویی معمولاً با افزایش مصرف انرژی، اختلال در متابولیسم و کاهش پایداری رشد همراه است.



شکل ۱- دیاگرام ون ژن‌های دارای بیان متفاوت در ژنوتیپ‌های حساس و متحمل برنج (A) و گوجه‌فرنگی (B) تحت تنش شوری.

Figure 1- Venn diagrams of differentially expressed genes (DEGs) between tolerant and sensitive genotypes under salinity stress in (A) rice and (B) tomato.

برجسته می‌کند. مطالعات اخیر نشان داده‌اند که تقویت ساختار دیواره سلولی و افزایش ترکیبات ثانویه می‌تواند از نشت یونی جلوگیری کرده و پایداری سلول را در شرایط شوری حفظ کند (Lamers et al., 2020; Colin et al., 2023). علاوه بر این، غنی‌سازی فرآیندهای مرتبط با RNA surveillance و کنترل کیفیت mRNA نشان می‌دهد که تنظیم پاسخ‌ها در سطح پسارونویسی نیز یکی از اجزای مهم تحمل به شوری است (Raza et al., 2024; Jiang et al., 2022). در مجموع، نتایج تحلیل GO نشان می‌دهد که تفاوت اصلی میان حساسیت و تحمل به شوری نه در وجود یا عدم وجود پاسخ‌های دفاعی، بلکه در میزان هماهنگی و یکپارچگی شبکه‌های تنظیمی و متابولیکی است. ژنوتیپ‌های متحمل از یک راهبرد متعادل و پیش‌نگر استفاده می‌کنند که در آن فرآیندهای دفاعی، رشد و نگهداری سلولی به‌صورت

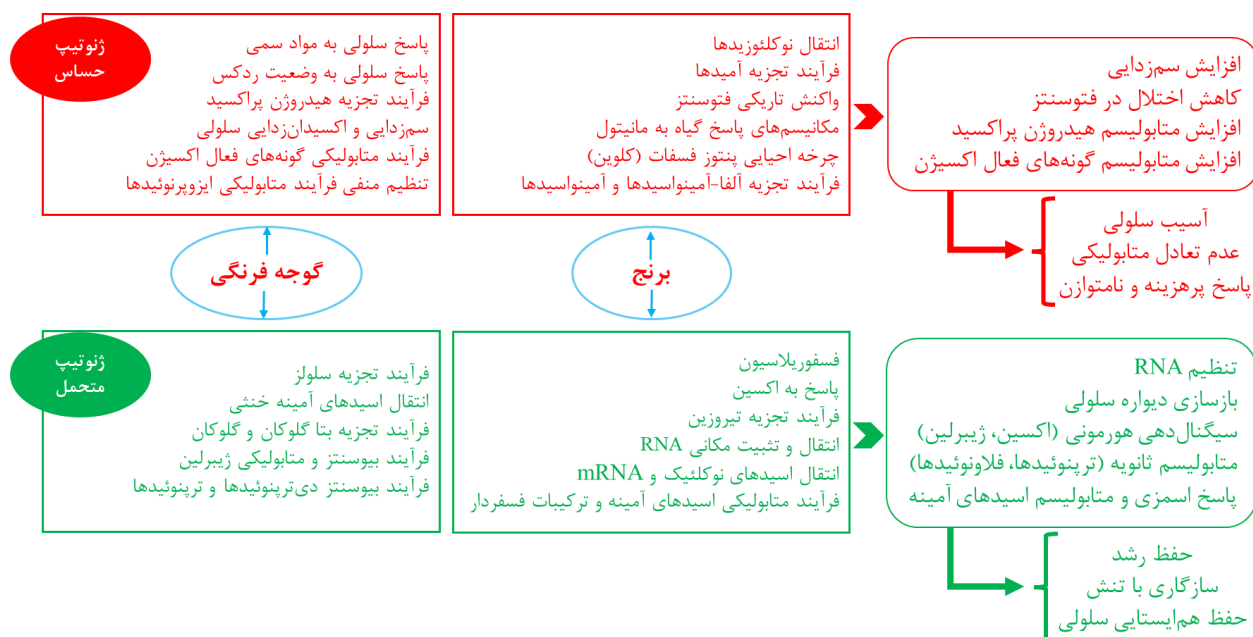
در مقابل، ژنوتیپ‌های متحمل برنج (PL177) و گوجه‌فرنگی (PL36) مجموعه‌ای گسترده‌تر و هماهنگ‌تر از فرآیندهای زیستی را فعال کردند که فراتر از پاسخ‌های دفاعی صرف بود. در این ژنوتیپ‌ها، غنی‌سازی قابل توجهی در مسیرهای مرتبط با بازسازی دیواره سلولی، سیگنالینگ هورمونی (به‌ویژه اکسین، جیبرلین و ABA)، انتقال اسیدهای آمینه، تنظیم فسفوریلاسیون، متابولیسم ثانویه و فرآیندهای مرتبط با انتقال و نظارت RNA مشاهده شد. فعال‌سازی هم‌زمان این مسیرها نشان می‌دهد که ژنوتیپ‌های متحمل از یک شبکه تنظیمی چندلایه برای حفظ تعادل متابولیکی و عملکرد سلولی استفاده می‌کنند. حضور ترم‌های مرتبط با بازآرایی دیواره سلولی و متابولیت‌های ثانویه در ژنوتیپ‌های متحمل اهمیت سازوکارهای ساختاری و متابولیکی را در تحمل شوری

هم‌زمان تنظیم می‌شوند، در حالی که ژنوتیپ‌های حساس عمدتاً پاسخ‌هایی واکنشی و تنش‌محور نشان می‌دهند (Wang et al., 2016). این یافته‌ها پایه مناسبی برای تفسیر بازآرایی متابولیکی و تحلیل مسیرهای KEGG در بخش بعدی فراهم می‌کند.

بازآرایی متابولیکی و تحلیل مسیرهای KEGG

تحلیل غنی‌سازی مسیرهای KEGG نشان داد که تنش شوری موجب بازآرایی گسترده شبکه‌های متابولیکی و تنظیمی در هر دو گونه برنج و گوجه‌فرنگی می‌شود، اما نوع و هماهنگی این بازآرایی متابولیکی میان ژنوتیپ‌های حساس و متحمل تفاوت قابل توجهی دارد. برخلاف تحلیل GO که بیش‌تر بر فرآیندهای عملکردی متمرکز بود، تحلیل KEGG نشان داد که تحمل به شوری تا حد زیادی به نحوه سازمان‌دهی و هماهنگی مسیرهای متابولیکی و تخصیص انرژی وابسته است (شکل ۳). در هر دو گونه، برخی مسیرهای پایه‌ای مانند متابولیسم کربن، چرخه TCA، متابولیسم اسیدهای آمینه و فرآیندهای مرتبط با تولید انرژی در پاسخ به شوری فعال شدند.

حضور این مسیرهای مشترک نشان می‌دهد که بازتنظیم متابولیسم مرکزی، یکی از نخستین پاسخ‌های گیاه به تنش شوری است و نقش مهمی در تأمین انرژی موردنیاز برای حفظ هموستازی سلولی دارد. مطالعات متعددی نیز نشان داده‌اند که پایداری متابولیسم کربن و حفظ تعادل انرژی از عوامل کلیدی تحمل به تنش‌های اسمزی و یونی محسوب می‌شوند (Munns and Tester, 2008; Zhu, 2016). با این حال، تفاوت اصلی میان ژنوتیپ‌های حساس و متحمل در نحوه استفاده از این مسیرها مشاهده شد. در ژنوتیپ‌های حساس برنج (IR64) و گوجه‌فرنگی (Money Maker)، غنی‌سازی عمدتاً در مسیرهای مرتبط با تجزیه اسیدهای آمینه، متابولیسم تنشی و فرآیندهای تولید سریع انرژی مشاهده شد. این الگو نشان می‌دهد که گیاهان حساس برای مقابله با تنش، به سمت مصرف سریع منابع متابولیکی و فعال‌سازی پاسخ‌های اضطراری حرکت می‌کنند.



شکل ۲- نمایش مفهومی تفاوت‌های عملکردی مبتنی بر Gene Ontology (GO) بین ژنوتیپ‌های حساس و متحمل تحت تنش شوری.

Figure 2- Conceptual representation of Gene Ontology (GO)-based functional differences between sensitive and tolerant genotypes under salinity stress.

افزایش فعالیت مسیرهای مرتبط با ROS و متابولیسم استرسی در این ژنوتیپ‌ها احتمالاً منجر به ناپایداری متابولیکی، کاهش کارایی فتوسنتز و کاهش رشد می‌شود. چنین الگویی پیش‌تر نیز به‌عنوان یکی از ویژگی‌های اصلی گیاهان حساس به شوری معرفی شده است (Srivastav *et al.*, 2018; Sahoo *et al.*, 2020).

در مقابل، ژنوتیپ‌های متحمل برنج (PL177) و گوجه‌فرنگی (PL36) الگوی متعادل‌تر و هماهنگ‌تری از بازآرایی متابولیکی را نشان دادند (شکل ۳). در این ژنوتیپ‌ها، علاوه بر مسیرهای مرتبط با متابولیسم کربن و تولید انرژی، غنی‌سازی قابل‌توجهی در مسیرهای سیگنالینگ هورمونی، بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه، مسیرهای فنیل پروپانویید، متابولیسم لیپیدها، انتقال RNA و تنظیم فسفوریلاسیون مشاهده شد. فعال‌سازی هم‌زمان این مسیرها نشان می‌دهد که ژنوتیپ‌های متحمل نه‌تنها انرژی موردنیاز برای پاسخ به تنش را تأمین می‌کنند، بلکه از شبکه‌ای تنظیمی برای حفظ رشد، ثبات غشایی و سازگاری سلولی بهره می‌برند.

غنی‌سازی مسیرهای مرتبط با متابولیت‌های ثانویه و فنیل پروپانوییدها در ژنوتیپ‌های متحمل اهمیت نقش ترکیبات حفاظتی و آنتی‌اکسیدانی را در کاهش آسیب ناشی از شوری نشان می‌دهد. مطالعات اخیر بیان می‌کنند که ترکیبات ثانویه نظیر فلاونوئیدها و ترپنوئیدها علاوه بر نقش آنتی‌اکسیدانی، در تنظیم سیگنالینگ تنش و حفظ پایداری غشای سلولی نیز مشارکت دارند (Hasanuzzaman and Fujita, 2022; Zhou *et al.*,

2019). همچنین، حضور مسیرهای مرتبط با متابولیسم لیپیدها احتمالاً بیانگر نقش بازآرایی غشاها در حفظ عملکرد سلولی و کاهش سمیت یونی در شرایط شور است. یکی از یافته‌های مهم تحلیل KEGG، تفاوت در نحوه تنظیم متابولیسم کربن میان ژنوتیپ‌های حساس و متحمل بود. اگرچه این مسیر در هر دو گروه فعال شد، اما در ژنوتیپ‌های متحمل الگوی هماهنگ‌تری از ارتباط میان تولید انرژی، تنظیم رشد و پاسخ‌های دفاعی مشاهده شد. این موضوع با مدل‌های جدید تحمل شوری مطابقت دارد که بیان می‌کنند موفقیت گیاهان متحمل در شرایط شور ناشی از توانایی آن‌ها در ایجاد تعادل میان مصرف انرژی، رشد و حفاظت سلولی است، نه صرفاً شدت پاسخ دفاعی (Hao *et al.*, 2021; Van Zelm *et al.*, 2020). در مجموع، نتایج تحلیل KEGG نشان می‌دهد که تحمل به شوری حاصل بازآرایی هدفمند و هماهنگ شبکه‌های متابولیکی و سیگنالینگ است. ژنوتیپ‌های متحمل با حفظ تعادل میان متابولیسم انرژی، تنظیم هورمونی، متابولیسم ثانویه و پایداری ساختاری قادر به حفظ عملکرد سلولی در شرایط شور هستند، در حالی که ژنوتیپ‌های حساس عمدتاً به پاسخ‌های اضطراری و پرهزینه وابسته‌اند که در نهایت منجر به کاهش کارایی فیزیولوژیک می‌شود. این یافته‌ها نشان می‌دهد که تفاوت میان حساسیت و تحمل به شوری نه‌تنها در نوع مسیرهای فعال شده، بلکه در میزان هماهنگی و یکپارچگی آن‌ها در سطح شبکه‌های متابولیکی نهفته است (شکل ۳).

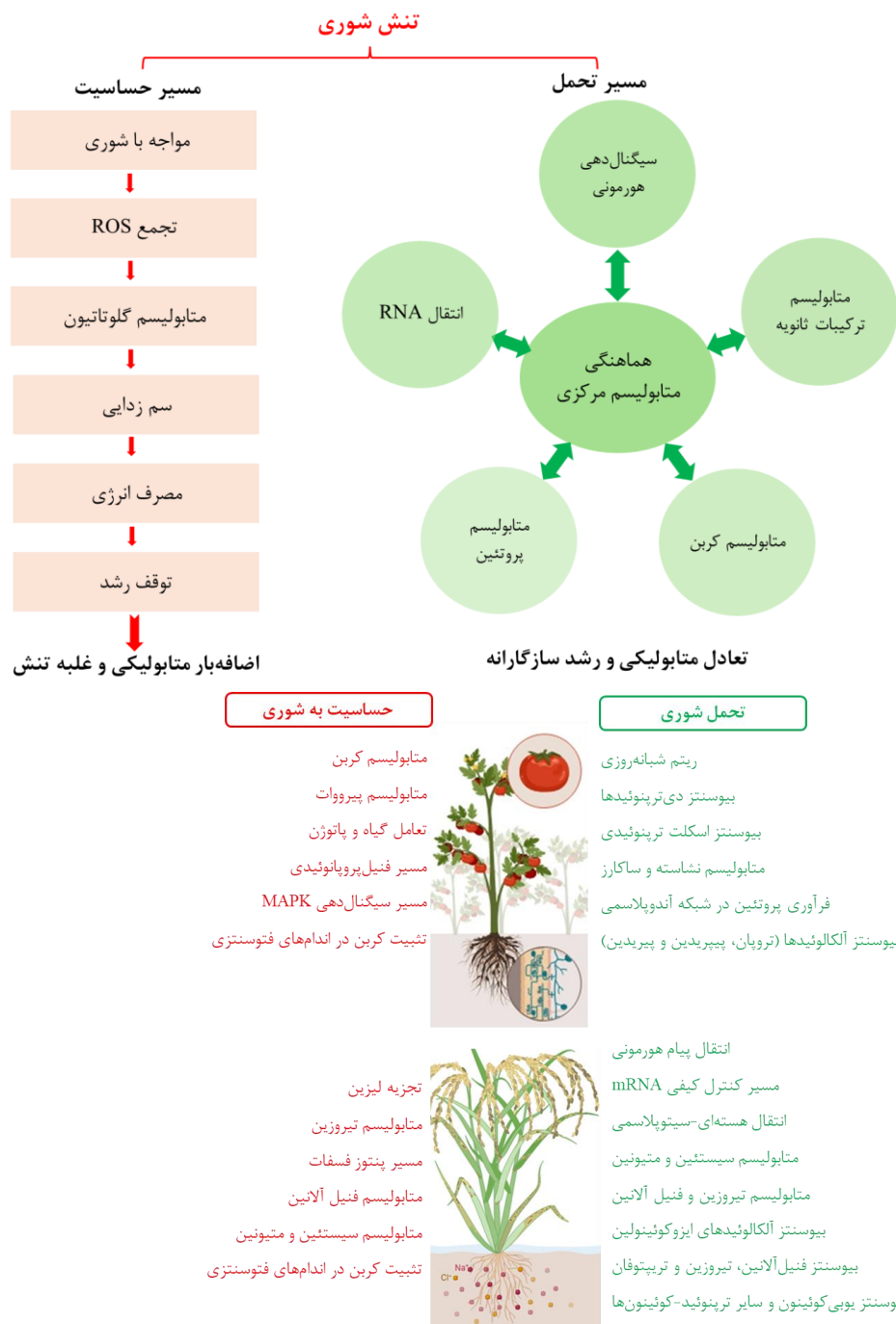
نتایج این پژوهش نشان داد که پاسخ به تنش شوری در برنج و گوجه‌فرنگی عمدتاً از طریق بازآرایی گسترده در مسیرهای مرتبط با انتقال یون‌ها، حفظ هموستازی یونی، پاسخ به تنش، سیگنال‌دهی هورمونی، و تنظیم فرایندهای رشد و دیواره سلولی اعمال می‌شود. تحلیل‌های غنی‌سازی عملکردی مرتبط با هاب‌ژن‌ها، بر اهمیت فرایندهای زیستی کلیدی در تحمل به شوری تأکید داشت. همان‌طور که در شکل ۴ مشاهده می‌شود، مهم‌ترین فرایندهای زیستی شناسایی‌شده شامل مدیریت تنش، انتقال یون‌ها، حفظ هموستازی یونی، سیگنال‌دهی هورمونی و بازسازی دیواره سلولی است. این نتایج نشان می‌دهد که هاب‌ژن‌های شناسایی‌شده به‌عنوان مراکز تنظیمی، نقش محوری در هماهنگ‌سازی پاسخ‌های سلولی به استرس شوری ایفا می‌کنند. گذار از پاسخ‌های صرفاً واکنشی به این شبکه‌های تنظیمی هماهنگ و چندبعدی، احتمالاً عامل تعیین‌کننده اصلی تحمل به شوری در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه است. اگرچه این تحلیل‌ها پتانسیل بالایی برای شناسایی مسیرهای هدف در برنامه‌های اصلاح نژاد فراهم می‌آورد، اما اعتبار عملکردی این هاب‌ژن‌های کاندید، نیازمند مطالعات تجربی تکمیلی است.

مقایسه مکانیسم‌های مشترک و اختصاصی تحمل به

شوری

ادغام نتایج حاصل از تحلیل DEGs، غنی‌سازی GO و مسیرهای KEGG نشان داد که پاسخ به شوری در برنج و گوجه‌فرنگی بر پایه مجموعه‌ای از سازوکارهای عمومی و

در عین حال مسیرهای اختصاصی مرتبط با تحمل شکل می‌گیرد. اگرچه تمامی ژنوتیپ‌ها مجموعه‌ای از پاسخ‌های پایه برای مقابله با تنش شوری را فعال می‌کنند، اما تفاوت در نحوه هماهنگی و یکپارچگی این پاسخ‌ها تعیین‌کننده سطح تحمل یا حساسیت گیاه است (جدول ۱). در هر دو گونه، مسیرهای مرتبط با متابولیسم کربن، پاسخ به استرس اکسیداتیو، تنظیم تعادل یونی، انتقال یون‌ها، کنترل کیفیت RNA و فرایندهای پایه متابولیسم انرژی به‌عنوان بخش مشترک پاسخ به شوری مشاهده شدند. این فرایندها احتمالاً نخستین لایه دفاعی گیاه در برابر تنش را تشکیل می‌دهند و برای حفظ بقای سلولی در شرایط شور ضروری هستند. مطالعات پیشین نیز نشان داده‌اند که تنظیم ROS و حفظ تعادل یونی از بنیادی‌ترین مؤلفه‌های پاسخ گیاهان به شوری محسوب می‌شوند (Zhu, 2016; Munns and Tester, 2008). با این حال، ژنوتیپ‌های حساس عمدتاً پاسخ‌هایی تنش‌محور و واکنشی نشان دادند که با فعال‌سازی شدید مسیرهای مرتبط با ROS، سم‌زدایی و تجزیه متابولیکی همراه بود.



شکل ۳- نمایش شماتیک بازآرایی متابولیکی تحت تنش شوری در ژنوتیپ‌های حساس و متحمل.

Figure 3- Schematic representation of metabolic reprogramming under salinity stress in sensitive and tolerant genotypes.

متابولیکی می‌شود. غالب بودن مسیرهای دفاعی فوری در ژنوتیپ‌های حساس نشان می‌دهد که این گیاهان بیشتر در وضعیت «پاسخ اضطراری» باقی می‌مانند و توانایی

در این ژنوتیپ‌ها، بخش قابل توجهی از منابع سلولی صرف مهار آسیب ناشی از تنش شد که احتمالاً منجر به افزایش هزینه انرژی، اختلال در فرآیندهای رشد و کاهش پایداری

محدودی برای تنظیم هماهنگ پاسخ‌های رشد و سازگاری دارند. در مقابل، ژنوتیپ‌های متحمل مجموعه‌ای پیچیده‌تر و هماهنگ‌تر از سازوکارهای زیستی را فعال کردند که شامل تنظیم هورمونی، بازسازی دیواره سلولی، متابولیسم ثانویه، کنترل پسا رونویسی RNA، تنظیم فسفوریلاسیون و هماهنگی شبکه‌های سیگنالینگ بود (جدول ۱).

فعال‌سازی هم‌زمان این مسیرها نشان می‌دهد که تحمل به شوری صرفاً نتیجه تقویت پاسخ‌های دفاعی نیست، بلکه حاصل ایجاد تعادل میان حفاظت سلولی، تنظیم رشد و پایداری متابولیکی است. این یافته‌ها با مدل‌های جدید تحمل شوری هم‌خوانی دارد که بیان می‌کنند گیاهان متحمل از راهبردهای «تنظیمی و پیش‌نگر» استفاده می‌کنند، در حالی که گیاهان حساس عمدتاً به پاسخ‌های واکنشی وابسته‌اند (Hao et al., 2021; Van Zelm et al., 2020). یکی از تفاوت‌های مهم میان ژنوتیپ‌های متحمل و حساس، نقش فرآیندهای مرتبط با RNA و

شبکه‌های تنظیمی بود. در ژنوتیپ‌های متحمل، غنی‌سازی فرآیندهای مرتبط با RNA transport، RNA localization و mRNA surveillance نشان داد که کنترل پاسخ‌های تنشی تنها در سطح رونویسی محدود نمی‌شود و فرآیندهای پسا رونویسی نیز نقش مهمی در پایداری پاسخ‌ها دارند. این موضوع اخیراً به‌عنوان یکی از مؤلفه‌های کلیدی تحمل گیاهان در شرایط شور معرفی شده است (Jiang et al., 2022). علاوه بر این، حضور مسیرهای مرتبط با بازآرایی دیواره سلولی و متابولیسم ترکیبات ثانویه در ژنوتیپ‌های متحمل اهمیت حفظ ساختار سلولی و ثبات غشایی را در شرایط شور برجسته می‌کند. مطالعات نشان داده‌اند که تقویت دیواره سلولی و افزایش متابولیت‌های ثانویه می‌تواند از نشت یونی جلوگیری کرده و تحمل گیاه به تنش‌های اسمزی و یونی را افزایش دهد (Lamers et al., 2020; Colin et al., 2023).

جدول ۱- نمای مقایسه‌ای از مکانیسم‌های مشترک (پایه) و اختصاصی ژنوتیپ‌ها در پاسخ به تنش شوری در برنج و گوجه‌فرنگی

Table 1- Comparative overview of core (shared) and genotype-specific mechanisms in response to salinity stress in rice and tomato

پیامد	متحمل	حساس	مشترک	دسته
تعادل انرژی	حفظ‌شده	نامتعادل	فعال	متابولیسم کربن
رشد	حفظ‌شده	مختل	مشترک	فتوسنتز
پایداری	تقویت‌شده	محدود	بازسازی	دیواره سلولی
تنظیم ژن	فعال	ضعیف	انتقال	RNA
رشد	تنظیم‌شده	مختل	—	هورمون
سازگاری	فعال	کم	—	متابولیسم ثانویه
انرژی	متعادل	تجزیه ↑	پایه	آمینواسید
همه‌پایه‌ای	فعال	ضعیف	—	سیگنالینگ

مدل یکپارچه تحمل به شوری

ادغام نتایج حاصل از تحلیل‌های ترانسکریپتومی، عملکردی، متابولیکی و شبکه‌ای، امکان ارائه یک مدل یکپارچه از تحمل به شوری را فراهم کرد که ارتباط میان پاسخ‌های مولکولی و پیامدهای فنوتیپی را در برنج و گوجه‌فرنگی توضیح می‌دهد. این مدل نشان می‌دهد که تفاوت اصلی میان ژنوتیپ‌های حساس و متحمل نه در وجود مسیرهای پاسخ به تنش، بلکه در نحوه سازمان‌دهی، همه‌پایه‌ای و کارایی شبکه‌های تنظیمی نهفته است. بر اساس این مدل، تمامی ژنوتیپ‌ها در مراحل اولیه مواجهه با شوری مجموعه‌ای از پاسخ‌های عمومی شامل تنظیم ROS، کنترل تعادل یونی، تغییر در متابولیسم انرژی و

فعال‌سازی فرآیندهای دفاعی را آغاز می‌کنند. این پاسخ‌ها به‌عنوان سیستم حفاظتی اولیه برای حفظ بقای سلولی عمل می‌کنند و در اغلب گیاهان تحت تنش مشاهده می‌شوند (Zhu, 2016; Munns and Tester, 2008). با این حال، در ژنوتیپ‌های حساس، پاسخ به شوری عمدتاً در سطح دفاعی باقی می‌ماند و بیشتر با تحریک مسیرهای مرتبط با تنش اکسیداتیو، سم‌زدایی و بسیج سریع منابع انرژی همراه است؛ الگویی که معمولاً با افزایش هزینه متابولیکی، اختلال در فتوسنتز و کاهش کارایی رشد همراه می‌شود (Munns and Tester, 2008; Sun *et al.*, 2010; Hao *et al.*, 2021). در چنین شرایطی، گیاه بخش زیادی از ظرفیت سلولی خود را صرف مقابله با آسیب می‌کند و در نتیجه توان کمتری برای حفظ هموستازی یونی، پایداری متابولیسم کربن و

چندلایه موجب حفظ تعادل انرژی، پایداری غشایی، تنظیم بهتر هموستازی یونی و تداوم رشد در شرایط شور می‌شود و پاسخ به شوری را از یک واکنش صرفاً دفاعی به یک سامانه تنظیمی پایدار تبدیل می‌کند (Ismail and Horie, 2017; Zhou et al., 2019). بر این اساس، الگوی مشاهده شده در ژنوتیپ‌های متحمل را می‌توان به‌عنوان گذار از یک راهبرد واکنشی به یک راهبرد تنظیم‌محور و سازگارانه تفسیر کرد؛ الگویی که از ویژگی‌های اصلی تحمل به شوری به شمار می‌رود (Deinlein et al., 2014; Hao et al., 2021).

سازگاری بلندمدت خواهد داشت (Deinlein et al., 2014; Van Zelm et al., 2020). این وضعیت در شکل ۵ به‌صورت یک پاسخ واکنشی و تنش‌محور نمایش داده شده است. در مقابل، ژنوتیپ‌های متحمل قادرند پاسخ‌های دفاعی را با شبکه‌های تنظیمی و متابولیکی به‌صورت هماهنگ ادغام کنند، به‌طوری‌که تنظیم بیان ژن، سیگنالینگ هورمونی، بازآرایی دیواره سلولی، متابولیسم ثانویه و کنترل فرآیندهای فسفوریلاسیون به‌طور هم‌زمان در خدمت پایداری سلولی قرار می‌گیرند (Wang et al., 2016; Hasanuzzaman and Fujita, 2022; Colin et al., 2023). این هماهنگی

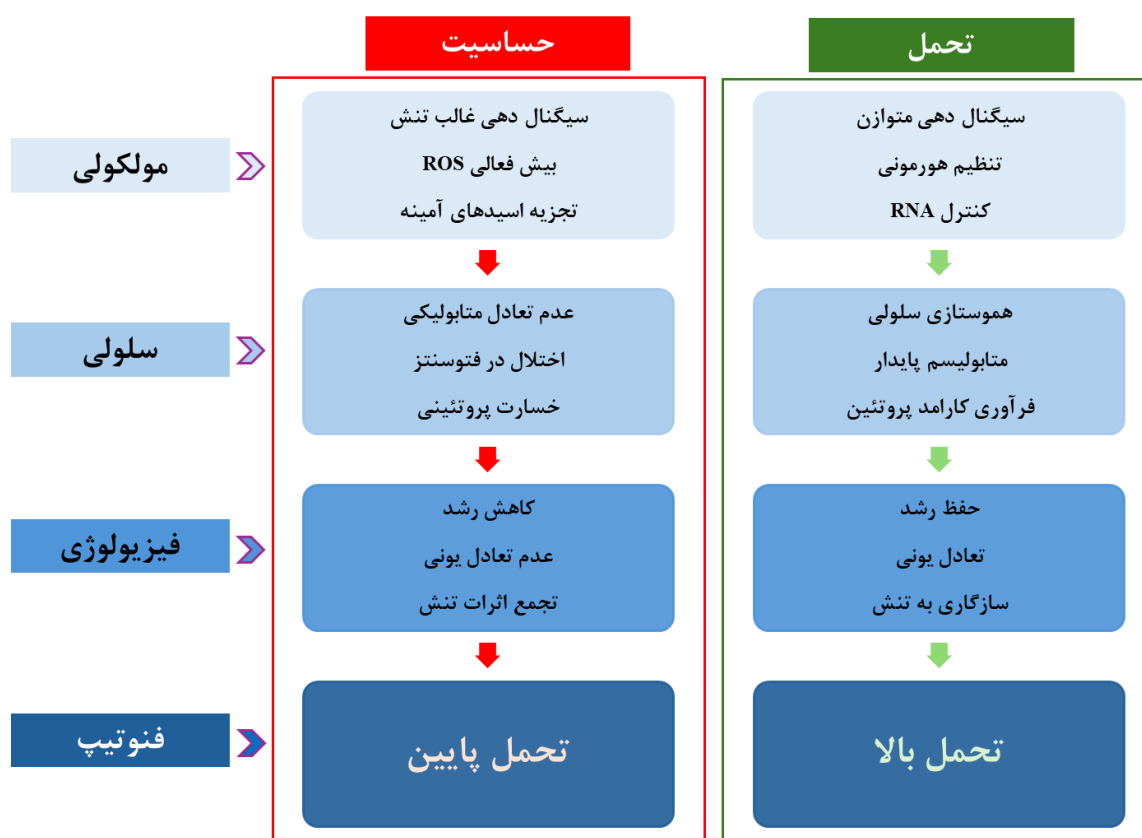


شکل ۴- شبکه برهمکنشی DEGs برنج و گوجه، لیست هاب ژن‌های هر شبکه و ترم‌های غنی‌شده GO مرتبط با هاب ژن‌ها.

Figure 4- Protein-protein interaction networks of DEGs in rice and tomato, the hub gene lists for each network, and the enriched GO terms associated with the hub genes.

تاب‌آوری گیاهان در شرایط تنش معرفی کرده‌اند (Jiang *et al.*, 2022). علاوه بر این، ارتباط نزدیک میان متابولیسم ثانویه، بازسازی دیواره سلولی و تنظیم هورمونی در ژنوتیپ‌های متحمل نشان می‌دهد که تحمل به شوری حاصل تعامل هم‌زمان فرآیندهای دفاعی، ساختاری و تنظیمی است. این موضوع بیانگر آن است که موفقیت گیاهان متحمل در شرایط شور نه به فعال‌سازی یک مسیر خاص، بلکه به توانایی آن‌ها در ایجاد هماهنگی میان شبکه‌های زیستی وابسته است.

یکی از جنبه‌های مهم این مدل، نقش فرآیندهای پسارونویسی و شبکه‌های تنظیم‌RNA در تحمل به شوری است. حضور گسترده فرآیندهای مرتبط با RNA transport, surveillance و کنتترل کیفیت mRNA در ژنوتیپ‌های متحمل نشان می‌دهد که تنظیم پاسخ‌های تنشی در این گیاهان تنها به سطح رونویسی محدود نیست و کنترل دقیق RNA نقش مهمی در حفظ پایداری پاسخ‌ها دارد. مطالعات اخیر نیز RNA regulation را به‌عنوان یکی از مؤلفه‌های کلیدی



شکل ۵- مدل یکپارچه چندسطحی که ارتباط بین پاسخ‌های مولکولی و پیامدهای فنوتیپی تحت تنش شوری را نشان می‌دهد.

Figure 5- Multi-level integrative model linking molecular responses to phenotypic outcomes under salinity stress.

نتیجه گیری کلی

این پژوهش با بهره‌گیری از تحلیل‌های جامع ترانسکریپتومی، غنی‌سازی عملکردی (GO) و مسیرهای متابولیکی (KEGG)، چارچوبی مولکولی برای درک تحمل به شوری در برنج و گوجه‌فرنگی ارائه نمود. نتایج نشان داد که هر دو گونه گیاهی پاسخ‌های فیزیولوژیکی پایه‌ای مشترکی نظیر تنظیم تعادل یونی، مدیریت استرس اکسیداتیو و تعدیل متابولیسم انرژی را فعال می‌کنند؛ با این حال، تمایز اصلی بین ژنوتیپ‌های متحمل و حساس در سطح هماهنگی و یکپارچگی این پاسخ‌ها نهفته است. برای درک بهتر تعاملات بین ژن‌های کلیدی، تحلیل شبکه برهم‌کنشی ژن‌ها انجام و ژن‌های هاب شناسایی گردیدند. تصاویر شبکه‌های برهم‌کنشی، لیست ژن‌های هاب و ترم‌های غنی‌شده GO مرتبط با هاب ژن‌ها ارائه شده است. ژنوتیپ‌های حساس عمدتاً پاسخی واکنشی و تنش محور نشان دادند، در حالی که ژنوتیپ‌های متحمل از یک سیستم تنظیمی چندلایه و هماهنگ بهره می‌بردند. این سیستم شامل تعامل مؤثر میان مسیرهای تنظیم هورمونی، بازسازی دیواره سلولی، متابولیسم ترکیبات ثانویه، و شبکه‌های سیگنالینگ است. تحلیل‌های GO و KEGG همراه با تحلیل شبکه، بر اهمیت بازآرایی هماهنگ شبکه‌های متابولیکی و تنظیمی فراتر از فعال‌سازی یک مسیر منفرد تأکید دارند. شناسایی هاب ژن‌ها و فاکتورهای رونویسی کلیدی مانند DREB، NAC و WRKY نقش محوری این تنظیم‌کننده‌های مرکزی را در ایجاد انعطاف‌پذیری سلولی برجسته ساخت.

مدل یکپارچه پیشنهادی این مطالعه نشان می‌دهد که گذار از پاسخ‌های صرفاً واکنشی به شبکه‌های تنظیمی هماهنگ و چندبعدی، عامل تعیین‌کننده اصلی تحمل به شوری است. یافته‌های این تحقیق، ضمن ارتقاء درک مولکولی از سازوکارهای تحمل به شوری، پتانسیل بالایی برای شناسایی ژن‌ها و مسیرهای هدف در برنامه‌های اصلاح نژاد دقیق^{۱۲} فراهم می‌آورد.

با وجود ارائه بینش‌های ارزشمند، این مطالعه دارای محدودیت‌هایی است که باید مورد توجه قرار گیرد. نخست، این پژوهش بر اساس داده‌های ترانسکریپتومی دو گونه گیاهی (برنج و گوجه‌فرنگی) انجام شده است. هرچند این دو گونه از تبارهای تکاملی متفاوت (تک لپه و دو لپه) انتخاب شدند و همراه با داده‌های همولوگ در *Arabidopsis thaliana* (به‌عنوان گیاه مدل) مورد بررسی قرار گرفتند، اما همچنان تعمیم مکانیسم‌های مشترک شناسایی‌شده به تمام گیاهان زراعی باید با احتیاط انجام شود. انتخاب این گونه‌ها به دلیل اهمیت اقتصادی بالا و وضعیت آن‌ها به‌عنوان گیاهان مدل، تا حدودی قدرت تعمیم‌پذیری مطالعه را افزایش داده است، اما اعتبارسنجی نتایج در گونه‌های بیشتر (به‌ویژه سایر غلات و صیفی‌جات) ضروری است. از طرف دیگر مطالعه بر پایه داده‌های ماکرواری انجام شده است. با وجود مزایایی مانند هزینه کمتر و پوشش گسترده ژنوم در زمان انجام این آزمایش‌ها، داده‌های ماکرواری دارای محدودیت‌های ذاتی نسبت به RNA-seq هستند. این

¹² Precision Breeding

محدودیت‌ها شامل حساسیت کمتر در تشخیص ژن‌های با بیان کم و عدم توانایی در شناسایی ایزوفرم‌های جدید و واریانت‌های splicing است. بنابراین، برخی تغییرات بیان ظریف، ممکن است نادیده مانده باشند. همچنین این مطالعه عمدتاً بر پایه تحلیل‌های ترانسکریپتومی و رویکردهای محاسباتی و تحلیل شبکه استوار است و فاقد اعتبارسنجی تجربی مستقیم می‌باشد. بنابراین، ژن‌های شناسایی شده به‌عنوان ژن‌های کاندید کلیدی، نیازمند اعتبارسنجی آزمایشگاهی می‌باشند. تأیید نهایی عملکرد این ژن‌ها، به ویژه هاب ژن‌ها، نیازمند مطالعات تکمیلی شامل qRT-PCR، knock-out یا overexpression با استفاده از تکنیک CRISPR-Cas9، آنالیز سطح پروتئین، اندازه‌گیری متابولیت‌ها و ارزیابی‌های فنوتیپی جامع در شرایط کنترل‌شده (آزمایشگاه، گلخانه) و میدانی است. مطالعات آتی با ادغام داده‌های چندآمیکس و اعتبارسنجی تجربی می‌توانند اعتبار نتایج حاضر را افزایش دهند و راه را برای کاربرد عملی این یافته‌ها در برنامه‌های اصلاح نژاد دقیق هموار سازند.

References

- Ammar, Ali, Zahida Iftakhar, Babur Ali Akbar, Rizwan Abid, Muhammad Gulsher, Misbah Chaudhry, Misha Khalid, Ayesha Pervaiz, Rimsha Zaheer, & Waqas Mushtaq. 2024. Plant breeding for climate resilience: Strategies and genetic adaptations. *Trends in Animal and Plant Sciences*, 3, 20-30. <https://doi.org/10.62324/TAPS/2024.023>
- Chaudhary, D., Pal, N., Arora, A., Prashant, B. D., & Venadan, S. 2024. Plant functional traits in crop breeding: advancement and challenges. In *Plant functional traits for improving productivity* (pp. 169-202). Singapore: Springer Nature Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-97-1510-7_10
- Chen, J., Zhang, L., Liu, Y., Shen, X., Guo, Y., Ma, X., Zhang, X., Li, X., Cheng, T., Wen, H., Qiao, L., & Chang, Z. 2024. RNA-Seq-based WGCNA and association analysis reveal the key regulatory module and genes responding to salt stress in wheat roots. *Plants*, 13(2), 274. <https://doi.org/10.3390/plants13020274>
- Colin, L., Ruhnnow, F., Zhu, J. K., Zhao, C., Zhao, Y., & Persson, S. 2023. The cell biology of primary cell walls during salt stress. *The plant cell*, 35(1), 201-217. <https://doi.org/10.1093/plcell/koac292>
- Deinlein, U., Stephan, A. B., Horie, T., Luo, W., Xu, G., & Schroeder, J. I. 2014. Plant salt-tolerance mechanisms. *Trends in Plant Science*, 19, 371-379. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2014.02.001>
- Davis, S., & Meltzer, P. S. 2007. GEOquery: a bridge between the Gene Expression Omnibus (GEO) and BioConductor. *Bioinformatics*, 23(14), 1846-1847. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btm254>
- Guo, W., Qu, R., Li, D., Xie, S., Liu, H., Mao, Y., Yang, L., Li, C., Wang, W., Tian, J., Gu, X., & Pu, L. 2026. Multi-omics integration maps CHH methylation and gene regulatory networks across heat, drought, and salt stress in rice. *Cell Reports*, 45(5). <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2026.117352>
- Hao, S., Wang, Y., Yan, Y., Liu, Y., Wang, J., & Chen, S. 2021. A review on plant responses to salt stress and their mechanisms of salt resistance. *Horticulturae*, 7(6), 132. <https://doi.org/10.3390/horticulturae7060132>

- Hasanuzzaman, M., & Fujita, M. 2022. Plant responses and tolerance to salt stress: physiological and molecular interventions. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(9), 4810. <https://doi.org/10.3390/ijms23094810>
- Irizarry, R. A., Hobbs, B., Collin, F., Beazer-Barclay, Y. D., Antonellis, K. J., Scherf, U., & Speed, T. P. 2003. Exploration, normalization, and summaries of high-density oligonucleotide array probe level data. *Biostatistics*, 4(2), 249-264. <https://doi.org/10.1093/biostatistics/4.2.249>
- Ismail, A. M., & Horie, T. 2017. Genomics, physiology, and molecular breeding approaches for improving salt tolerance. *Annual Review of Plant Biology*, 68, 405-434. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042916-040936>
- Jiang, X., Liu, Y., & Zhang, L. 2022. Cross-regulation of flavonoid biosynthesis and hormone signaling under salt stress in tomato leaves. *Plant Science*, 314, 111110. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2021.111110>
- Kage, U., Kumar, A., Dhokane, D., Karre, S., & Kushalappa, A. C. 2016. Functional molecular markers for crop improvement. *Critical reviews in biotechnology*, 36(5), 917-930. <https://doi.org/10.3109/07388551.2015.1062743>
- Kazemzadeh, S., Farrokhi, N., AhmadiKhah, A., & Ingvarsson, P. K. 2025. Interplay of rice vitamin E under osmotic and extreme temperature stresses revealed by a comparative transcriptomic approach. *BMC Plant Biology*, 25(1), 1302. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC12495763/>
- Lamers, J., Van Der Meer, T., & Testerink, C. 2020. How plants sense and respond to stressful environments. *Plant Physiology*, 182(4), 1624-1635. <https://doi.org/10.1104/pp.19.01464>
- Liu, H., Shi, J., Wu, M., & Xu, D. 2021. The application and future prospect of RNA-Seq technology in Chinese medicinal plants. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 24, 100318. <https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2021.100318>
- Munns, R., & Tester, M. 2008. Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology*, 59, 651-681. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092911>
- Raza, A., Tabassum, J., Fakhar, A., Sharif, R., Chen, H., Zhang, C., & Ju, L. 2024. Systems biology approaches to unravel salt stress tolerance in plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 207, 108304. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2024.108304>
- Sahoo, J. P., Behera, L., Sharma, S. S., Praveena, J., Nayak, S. K., & Samal, K. C. 2020. Omics studies and systems biology perspective towards abiotic stress response in plants. *American Journal of Plant Sciences*, 11(12), 2172. <https://doi.org/10.4236/ajps.2020.1112152>
- Sharma, R., Upadhyay, S., Bhattacharya, S., & Singh, A. 2021. Abiotic stress-responsive miRNA and transcription factor-mediated gene regulatory network in *Oryza sativa*: construction and structural measure study. *Frontiers in Genetics*, 12, 618089. <https://doi.org/10.3389/fgene.2021.618089>
- Soltabayeva, A., Ongaltay, A., Omondi, J. O., & Srivastava, S. 2021. Morphological, physiological and molecular markers for salt-stressed plants. *Plants*, 10(2), 243. <https://doi.org/10.3390/plants10020243>
- Srivastav, A., Khare, T., & Kumar, V. 2018. Systems biology approach for elucidation of plant responses to salinity stress. In *Salinity Responses and Tolerance in Plants*, Volume 2: Exploring RNAi, Genome Editing and Systems Biology (pp. 307-326). Cham: Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-90318-7_13

- Sun, W., Xu, X., Zhu, H., Liu, A., Liu, L., Li, J., & Hua, X. 2010. Comparative transcriptomic profiling of a salt-tolerant wild tomato species and a salt-sensitive tomato cultivar. *Plant and Cell Physiology*, 51(6), 997-1006. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcq056>
- Tibesigwa, D. G., Zhuang, W., Matola, S. H., Zhao, H., Li, W., Yang, L., Ren, J., Liu, Q., & Yang, J. 2025. Molecular insights into salt stress adaptation in plants. *Plant, cell and environment*, 48(7), 5604-5615. <https://doi.org/10.1111/pce.15544>
- Van Zelm, E., Zhang, Y., & Testerink, C. 2020. Salt tolerance mechanisms of plants. *Annual review of plant biology*, 71(1), 403-433. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-050718-100005>
- Wang, W. S., Zhao, X. Q., Li, M., Huang, L. Y., Xu, J. L., Zhang, F., Cui, Y., Fu, B., & Li, Z. K. 2016. Complex molecular mechanisms underlying seedling salt tolerance in rice revealed by comparative transcriptome and metabolomic profiling. *Journal of Experimental Botany*, 67(1), 405-419. <https://doi.org/10.1093/jxb/erv476>
- Younis, A., Ramzan, F., Ramzan, Y., Zulfiqar, F., Ahsan, M., & Lim, K. B. 2020. Molecular markers improve abiotic stress tolerance in crops: a review. *Plants*, 9(10), 1374. <https://doi.org/10.3390/plants9101374>
- Zhou, Y., Diao, M., Chen, X., Cui, J., Pang, S., Li, Y., Hou, C., & Liu, H.Y. 2019. Application of exogenous glutathione confers salinity stress tolerance in tomato seedlings by modulating ions homeostasis and polyamine metabolism. *Scientia Horticulturae*, 250, 45-58. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.02.026>
- Zhu, J. K. 2016. Abiotic stress signaling and responses in plants. *Cell*, 167(2), 313-324. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.08.029>