مجله ایمنی زیستی

دوره ۱۸، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۴

شاپای چاپی: ۰۶۳۲ – ۲۷۱۷، شاپای الکترونیکی: ۹۸۰۴ - ۲۷۱۶

شناسایی نشانگرهای زیستی کلیدی مرتبط با پاسخ‌های دفاعی خیار به پژمردگی آوندی فوزاریومی در راستای امنیت غذایی

نوع مقاله: پژوهشی 20.1001.1.27170632.1404.18.3.2.1

زهرا امجدی[۱]، زهرا زینتی[۲*]، فریده فرح‌بخش[۳]

۱. گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

۲. گروه آگرواکولوژی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی داراب، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

۳. بخش تحقیقات گیاه‌پزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان فارس، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، داراب، ایران

zahrazinati@shirazu.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۹/۱۰، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۱۱/۲۸

صفحه ۳۸-۲۲

چکیده

پژمردگی آوندی در خیار، ناشی از قارچ *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum* (Foc)، یکی از عوامل مهم کاهش عملکرد این محصول در سطح جهانی است. کنترل این بیماری بسیار دشوار است و درک سازوکارهای مولکولی مقاومت برای تولید ارقام مقاوم، ضروری است. در این پژوهش، از الگوریتم انتخاب ویژگی لاسو (LASSO) روی داده‌های RNA-Seq (با دسترسی PRJNA916850) برای شناسایی نشانگرهای زیستی کلیدی مرتبط با مقاومت یا حساسیت به Foc استفاده شد. این روش با حذف ژن‌های کم‌اهمیت، مجموعه‌ای کوچک و قابل تفسیر از مؤثرترین ژن‌ها را ارائه داد. چهار ژن کلیدی شناسایی شد: دو تنظیم‌کننده منفی (LOC101215771 و LOC101209793)که حساسیت را افزایش می‌دهند، و دو تنظیم‌کننده مثبت (LOC101211117 و LOC101214807)که در پاسخ دفاعی و مقاومت نقش دارند. نتایج نشان داد که تلفیق توالی‌یابی آران‌ای و الگوریتم لاسو، ابزاری مؤثر و کارآمد برای کشف نشانگرهای زیستی مرتبط با بیماری‌های گیاهی است. به‌کارگیری این ژن‌ها در برنامه‌های به‌نژادی، گامی اساسی برای تولید ارقام مقاوم، کاهش وابستگی به آفت‌کش‌ها، تضمین عملکرد پایدار و در نهایت، تقویت امنیت غذایی خواهد بود.

واژه‌های کلیدی: انتخاب ویژگی، بیماری گیاهی، لاسو، مقاومت، یادگیری ماشین

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-13]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1404.18.3.2.1]

مقدمه

خیار (*Cucumis sativus*) یکی از قدیمی‌ترین سبزیجات کشت‌شده در جهان است که قدمت آن به حدود ۵۰۰۰ سال می‌رسد (Sharma and Shukla, 2021). امروزه، یکی از مهم‌ترین چالش‌های پیش‌روی تولید این محصول، شیوع بیماری پژمردگی فوزاریومی (FW) ناشی از قارچ *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum* (Foc) است که خسارات اقتصادی قابل توجهی (۴۰-۹۰٪) در سطح جهانی به ویژه در چین وارد کرده است (Yang *et al*., 2024).

تاکنون چهار نژاد متمایز از Foc در سطح جهانی شناسایی شده است. مطالعات نشان می‌دهند که نژاد ۱ عمدتاً در ایالات متحده، نژاد ۲ در اسرائیل، نژاد ۳ در ژاپن و نژاد ۴ در چین گسترش دارد (Dong *et al*., 2020). ریسه‌های این بیمارگر به ریشه‌های خیار نفوذ می‌کند، سپس به بافت‌های آوندی گسترش می‌یابد و با تولید ماکروکنیدی و کلامیدوسپور آوندهای چوبی را مسدود می‌کند و همچنین یک سم کشنده سلولی تولید می‌کند که منجر به پژمردگی برگ‌ها یا حتی کل گیاه می‌شود و در نهایت مرگ گیاه چند روز یا چند هفته پس از آلودگی رخ می‌دهد (Yuan *et al*., 2025). کنترل پژمردگی فوزاریومی خیار بسیار دشوار است زیرا می‌تواند در تمام مراحل رشد خیار رخ دهد. علاوه بر این، Foc می‌تواند سال‌ها یا حتی دهه‌ها در خاک یا بقایای گیاهی به عنوان کلامیدوسپور (اسپورهای زمستان‌گذران) زنده بماند و منجر به چرخه‌های طولانی مدت بیماری شوند. همچنین، بیماری‌زایی قارچ Foc، اثربخشی برخی از قارچ‌کش‌ها را محدود کرده است (Li *et al*., 2016).

تأمین امنیت غذایی پایدار در گرو رویکردهای علمی برای مقابله با خسارات ناشی از بیماری‌های گیاهی است (Khademi and Abedfar, 2024). در این چارچوب، ایمنی زیستی با تمرکز بر مدیریت پایدار عوامل بیماری‌زا، از طریق درک مکانیسم‌های مولکولی و توسعه ارقام مقاوم، نقش کلیدی ایفا می‌کند. این مطالعه با هدف شناخت سازوکارهای مقاومت در برابر بیماری پژمردگی فوزاریومی خیار، به عنوان یکی از موانع اصلی تولید این محصول، در راستای همین ضرورت‌ها انجام شده است.

مقاومت ژنتیکی مؤثرترین راهکار مدیریت FW محسوب می‌شود، اما سازوکارهای مولکولی پاسخ‌های دفاعی خیار به Foc هنوز به‌طور کامل شناخته نشده‌اند (Xu *et al*., 2021b). مطالعات اخیر نشان می‌دهند که مسیرهای پیام‌رسانی اتیلن (Dong *et al*., 2020) و اسید جاسمونیک (Xu *et al*., 2021c)، میکروآران‌ای‌ها (مانند *miR319*a و *miR6300*) و ژن‌های کدکننده کیتیناز (مانند Chi2 و Chi14) در مقاومت به Foc نقش کلیدی دارند (Xu *et al*., 2021b). همچنین، ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی مانند بیس (۲-اتیل هگزیل) فتالات، دی ایزو اکتیل فتالات و گالوکاتچین ۳-O-گالات دارای اثرات بازدارنده بر رشد قارچ هستند (Yang *et al*., 2024).

با ظهور فناوری‌های اُمیکس، روش‌های یادگیری ماشین مانند رگرسیون لاسو (Logistic Least Absolute Shrinkage, And Selection Operator = LASSO) به‌عنوان ابزاری کارآمد برای شناسایی ژن‌های کاندیدای مقاومت از داده‌های با ابعاد بالا (مانند RNA-seq) مطرح شده‌اند (Nazari *et al*., 2023). این روش با اعمال جریمه L1، متغیرهای کم‌اهمیت را حذف و ژن‌های کلیدی مرتبط با پاسخ به تنش را انتخاب می‌کند. شناسایی ژن‌های مهم که نقش اساسی در پاسخ به تنش دارند، می‌تواند توسعه ارقام متحمل یا مقاوم به تنش را از طریق مهندسی ژنتیک تسهیل کند (Nazari *et al*., 2023). این روش به‌ویژه در مواردی که تعداد متغیرها (ژن‌ها) بسیار بیشتر از تعداد نمونه‌ها است (مانند داده‌های ژنومی یا ترنسکریپتومی) بسیار

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-13]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1404.18.3.2.1]

مفید است (Nazari *et al*., 2023). رگرسیون لاسو در بیماری‌شناسی گیاهی برای کارهای مختلفی از جمله طبقه‌بندی بیماری، ارزیابی خطر و درک سازوکارهای دفاعی به کار رود (Zhang and Zhang, 2023).

نتایج کاربرد رگرسیون لاسو در شناسایی تک نوکلئوتیدهای چند شکلی (SNP) مقاومت به لکه برگ خاکستری ذرت نشان داد که این روش به طور مؤثری توانسته است با اعمال جریمه L1، از میان هزاران SNP، نشانگرهای ژنی کلیدی مرتبط با مقاومت به بیماری را انتخاب کند. برخی از این SNPها در نواحی ژنی دخیل در مسیرهای دفاعی گیاه، مانند سنتز لیگنین و تولید پروتئین‌های PR، قرار داشتند که نقش مهمی در مقاومت به قارچ *Cercospora zeae-maydis* ایفا می‌کنند (Patel *et al*., 2012). در مطالعه‌ای دیگر با بهره‌گیری از رگرسیون لاسو، مدلی پیش‌بینی کننده برای خطر آلودگی ذرت به مایکوتوکسین دئوکسی‌نیوالنول (متابولیت ثانویه قارچ *Fusarium graminearum*) توسعه دادند. این پژوهش با تحلیل داده‌های هواشناسی کلیدی مانند رطوبت نسبی، دما و بارندگی در دوره‌های بحرانی رشد ذرت، موفق به شناسایی الگوهای محیطی مؤثر در تولید توکسین شد. نتایج نشان داد مدل لاسو با انتخاب بهینه متغیرها و کاهش ابعاد داده‌ها، قابلیت پیش‌بینی ۷۸ درصدی خطر آلودگی را داراست. این یافته‌ها ابزار ارزشمندی برای تصمیم‌گیری‌های مدیریتی پیش از برداشت (مانند زمان بهینه برداشت) و ارزیابی کیفیت دانه در صنایع غذایی و خوراک دام فراهم می‌کند. کاربرد این مدل به ویژه در مناطق با اقلیم مرطوب که خطر آلودگی این قارچ افزایش می‌یابد، از اهمیت بسزایی برخوردار است (Dalla Lana *et al*., 2021). همچنین در مطالعه‌ای دیگر از لاسو برای طبقه‌بندی موفقیت‌آمیز پنج بیماری رایج محصول سویا، یعنی پوسیدگی قهوه‌ای ساقه، لکه قهوه‌ای، آنتراکنوز، لکه برگی آلترناریا و لکه برگی چشم قورباغه‌ای، با دقت بالا بر اساس عوامل ریخت‌شناسی، بیماری و محیطی استفاده شد. این روش به کشاورزان اجازه می‌دهد تا بیماری‌های رایج سویا را در موقعیت‌های دنیای واقعی به طور موثر تشخیص دهند (Zhang and Zhang, 2023).

در این مطالعه از داده‌های RNA Seq (PRJNA916850) دو لاین تقریباً ایزوژنیک خیار مقاوم و حساس استفاده شد. خوانش‌ها پس از کنترل کیفیت و تریم با HISAT2 روی ژنوم مرجع هم‌تراز و شمارش ژن‌ها با FeatureCounts انجام شد. برای انتخاب نشانگرهای ژنی مرتبط با مقاومت، رگرسیون لجستیک لاسو با بهینه‌سازی λ توسط LOOCV به‌کار رفت؛ ژن‌های با ضرایب غیرصفر به‌عنوان کاندیدا انتخاب شدند. عملکرد مدل چهارژنی نهایی با رگرسیون لجستیک ساده وLOOCV، و با معیارهایی مانند ماتریس درهم‌ریختگی و ROC/AUC ارزیابی شد. هدف اصلی، کشف شبکه‌های تنظیمی جدید و ارائه بینش‌های مولکولی در مورد مقاومت یا حساسیت به FW بود تا زمینه برای توسعه ارقام مقاوم از طریق به‌نژادی دقیق فراهم شود.

مواد ور روش‌ها

انتخاب داده

در این پژوهش، داده‌های توالی‌یابی آران‌ای با شماره دسترسی PRJNA916850 از بانک اطلاعاتی SRA (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/sra) مورد استفاده قرار گرفت. این داده‌ها مربوط به مطالعه پاسخ‌های رونویسی دو لاین تقریباً آیزوژنیک خیار (شامل لاین مقاوم NR و لاین حساس NS) به آلودگی ایجادشده توسط نژاد ۴ قارچ Foc بود. گیاهان تحت شرایط کنترل شده (دمای ۱۸/۲۵ سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۷۵٪ و چرخه نوری ۸/۱۶ ساعت) کشت شدند و در مرحله اولین برگ

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-13]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1404.18.3.2.1]

حقیقی با محلول اسپور قارچ (غلظت ۱۰۶ ×۴ اسپور/میلی‌لیتر) به روش غرقاب کردن ریشه مایه‌زنی شدند. نمونه‌برداری از بافت‌های ریشه و ساقه در زمان صفر (شاهد) و ۴ روز پس از مایه‌زنی انجام شد. در کل ۱۲ نمونه شامل سه تکرار زیستی برای هر یک از تیمارهای NS0d (شاهد حساس)، NS4d (حساس آلوده)، NR0d (شاهد مقاوم)، و NR4d (مقاوم آلوده) مورد بررسی قرار گرفت (Yang *et al*., 2024).

پردازش داده‌های توالی‌یابی آران‌ا

فایل‌های خام FASTQ برای مجموعه داده‌های ذکر شده بازیابی شدند و کیفیت خوانش‌های کوتاه با استفاده از نرم‌افزار FastQC در پلت فرم گلکسی اروپا (https://usegalaxy.org) ارزیابی شد (Anders and Huber, 2010). خوانش‌ها با امتیاز کیفی کمتر از ۳۰ با استفاده از نرم‌افزار Trimmomatic با پارامترهای زیر حذف شدند: SLIDINGWINDOW: 5:20، HEADCUP: 10، MINLEN: 30 و AVGQUAL: 28. ژنوم مرجع خیار (9930-V3) از پایگاه داده https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/genome/GCF_000004075.3/ در هر دو قالب GTF و GFF به دست آمد. سپس خوانش‌های کنترل‌شده با کیفیت برای تعیین کمیت تعداد خوانش‌های نقشه‌برداری شده برای هر ژن با استفاده از HISAT2 با توالی ژنوم مرجع خیار هم‌تراز شدند (Kim *et al*., 2015). شمارش‌های خوانش‌ها با استفاده از FeatureCounts در پلت فرم گلکسی اروپا انجام شد. از فایل‌های Hisat2 BAM به عنوان فایل‌های هم‌تراز ورودی استفاده شد. داده‌های RNA-seq مورد استفاده در این مطالعه، همانطور که اطلاعات حاصل از مطالعات در پایگاه داده SRA نشان می‌دهد، جفت (PAIRED) و بدون رشته (UNSTRANDED) بودند. نوع ویژگی روی «ژن» تنظیم شد تا اطمینان حاصل شود که فقط خطوطی در فایل حاشیه‌نویسی GTF ارائه شده که با ژن مربوطه مطابقت دارند، شمارش می‌شوند (Liao *et al*., 2014). داده‌های شمارش به‌دست‌آمده از FeatureCounts با استفاده از DESeq2 در پلت فرم گلکسی اروپا برای شناسایی ژن‌های با بیان افتراقی نرمال‌سازی شدند (Love *et al*., 2014).

رگرسیون لجستیک لاسو و انتخاب ویژگی‌ها

در این مطالعه از بسته tidyverse در محیط R برای عملیات آماده‌سازی داده و ترسیم نمودارها استفاده شد. برای شناسایی ژن‌های منتخب که همبستگی ثابتی با پژمردگی فوزاریومی خیار دارند، از بسته R glmnet (نسخه ۴.۱.۴) در محیط R استفاده گردید. داده‌های بیان ژنی نرمال‌سازی‌شده شامل ۲۳۶۲۹ ژن در قالب ماتریس شمارش وارد محیط تحلیل آماری R شدند. متغیر پاسخ به صورت دوتایی (binary) تعریف شد؛ نمونه‌های مقاوم مقدار ۱ و نمونه‌های حساس مقدار صفر گرفتند که از این طبقه‌بندی برای اجرای مدل رگرسیون لجستیک استفاده گردید. برای شناسایی ژن‌های مرتبط با مقاومت، مدل رگرسیون لجستیک با جریمه L1(لاسو) روی کل ماتریس بیان اجرا شد. این امر منجر به شناسایی ژن‌هایی با ضرایب غیر صفر شد که نشان‌دهنده نقش مهم آنها در شرایط پژمرگی آوندی ناشی Foc در خیار است. همچنین مقدار بهینه پارامتر تنظیمی (λ) با استفاده از اعتبارسنجی متقاطع حذف یک نمونه (LOOCV) تعیین شد؛ در این روش مدل به‌طور متوالی روی داده‌ها بدون یک نمونه آموزش دید و نمونه حذف شده برای تست استفاده شد. مقدار λ که میانگین خطای مدل را کمینه کرد، انتخاب گردید. پس از آموزش مدل و تعیین λ بهینه، ضرایب ژن‌ها استخراج و ژن‌هایی با ضریب غیرصفر به عنوان ژن‌های منتخب مشخص شدند. همچنین منحنی

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-13]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1404.18.3.2.1]

تغییرات خطای مدل بر حسب مقادیر مختلف λ رسم و تحلیل شد.

اعتبارسنجی مدل منتخب با ژن های حاصل از مدل لاسو

برای ارزیابی عملکرد مدل ساده‌ای که تنها با استفاده از ژن‌های منتخب حاصل از مدل لاسو ساخته می‌شود بیان چهار ژن موردنظر استخراج شدند. سپس یک مدل رگرسیون لجستیک ساده (بدون جریمه) با استفاده از آن چهار ژن به عنوان متغیرهای پیش‌بین آموزش داده شد. برای ارزیابی عملکرد این مدل ساده چهار ژنی، بار دیگر از روش اعتبارسنجی متقاطع حذف یک نمونه استفاده شد. در هر مرحله از این روش، یک نمونه به عنوان مجموعه تست جدا شده و مدل روی باقی نمونه‌ها آموزش داده شد. سپس احتمال مقاومت نمونه تست پیش‌بینی و برچسب کلاس آن بر اساس آستانه ۰/۵ تعیین گردید.

معیارهای ارزیابی عملکرد

در ارزیابی عملکرد مدل‌های یادگیری ماشین، استفاده از معیارهای مختلف به درک دقیق‌تر از عملکرد مدل کمک می‌کند. ماتریس درهم‌ریختگی (Confusion Matrix) یک ابزار کلیدی برای ارزیابی مدل‌های طبقه‌بندی است. در مطالعه حاضر برای محاسبه ماتریس درهم‌ریختگی از بسته Caret در محیط R استفاده شد. همچنین برای رسم منحنی Receiver Operating Characteristic, ROC و محاسبه مقدار AUC برای سنجش قدرت تفکیک مدل از بسته pROC در محیط R استفاده شد. ROC نموداری است که نشان می‌دهد مدل چقدر توانایی تفکیک بین دو گروه (مقاوم و حساس) را دارد. AUC مساحت زیر منحنی ROC است و مقدار آن بین بین ۰/۵ (بدون قدرت تفکیک) تا ۱ (تفکیک کامل) متغیر است (Robin *et al*., 2011).

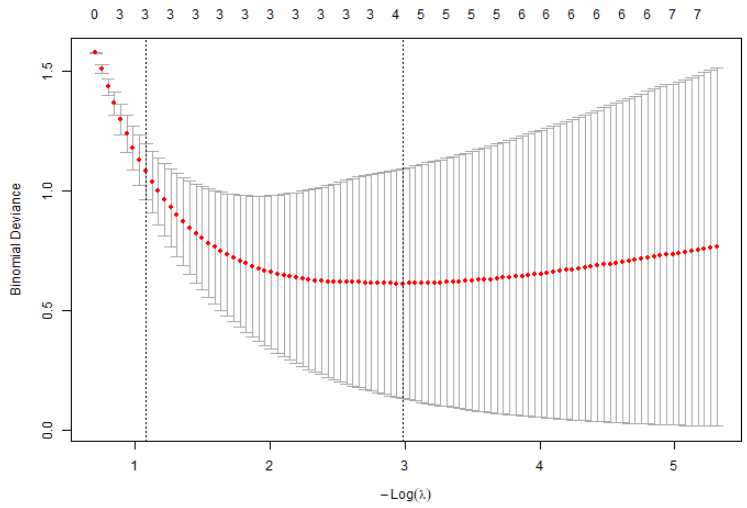
نتایج

انتخاب ژن‌های مرتبط با مقاومت یا حساسیت توسط رگرسیون لجستیک لاسو

با استفاده از رگرسیون لجستیک لاسو و اعتبارسنجی متقاطع حذف یک نمونه (LOOCV)، مقدار بهینه پارامتر تنظیمی(λ) برابر با ۰/۰۵۰۵ تعیین شد (شکل ۱). این مقدار به گونه‌ای انتخاب شد که خطای دوجمله‌ای مدل حداقل گردد. مدل در λ=۰/۰۵۰۵ موفق به انتخاب ۴ ژن با ضریب غیرصفر در خیار نسبت به بیمارگر Foc شد (جدول ۱). ضرایب مثبت ژن‌ها نشان‌دهنده ارتباط مثبت این ژن با مقاومت است، یعنی افزایش بیان آن به احتمال زیاد با افزایش مقاومت خیار نسبت به Foc مرتبط است. از سوی دیگر ضرایب منفی بیانگر کاهش احتمال مقاومت و بروز حساسیت در خیار نسبت به بیماری پژمردگی آوندی در صورت افزایش بیان این ژن‌ها هستند. در این مطالعه ژن LOC101214807 با ضریب مثبت بالا و ژن LOC101211117 با ضریب مثبت بسیار کم احتمالاً از ژن‌های کلیدی دخیل در مقاومت خیار نسبت به Foc هستند. همچنین ژن LOC101209793 و ژن LOC101215771 با ضرایب منفی در بروز حساسیت در خیار و ایجاد بیماری پژمردگی فوزاریومی نقش دارند.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-13]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1404.18.3.2.1]



شکل ۱. منحنی تغییرات خطای دوجمله‌ای مدل برحسب مقادیر مختلف مقیاس (λ)Log- نقطه‌ای که خطای مدل حداقل شده (lambda.min ≈ 0.0505) با خط عمودی مشخص شده است

جدول ۱. ژن‌های انتخاب‌شده توسط رگرسیون لاسو و ضرایب مربوطه در مقدار بهینه lambda=0.0505

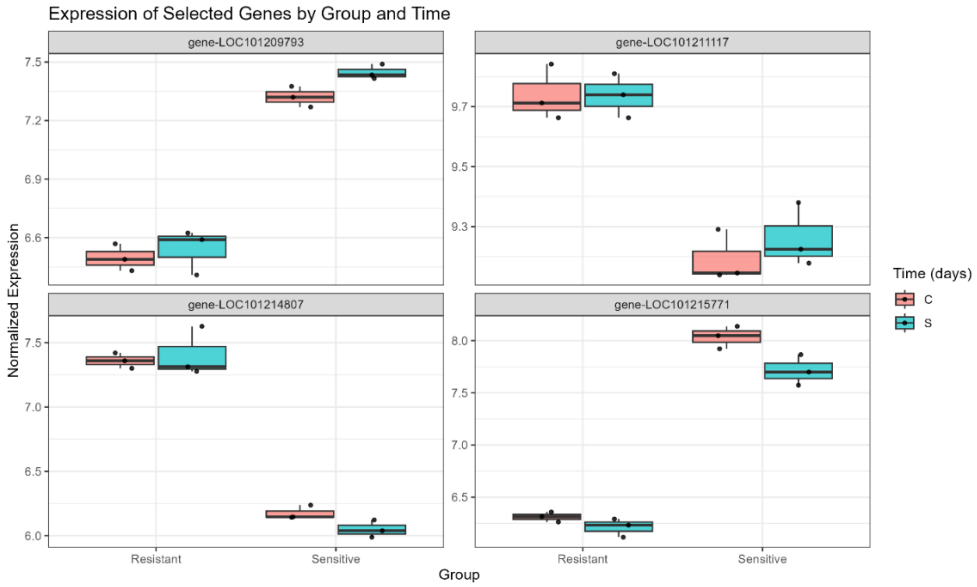
Gene	Gene name	Coefficient
LOC101209793	Unknown	-1.552
LOC101211117	probable E3 ubiquitin-protein ligase XBOS32	0.0286
LOC101214807	uncharacterized membrane protein At3g27390	1.8714
LOC101215771	leucine aminopeptidase 1	-1.3070

الگوی بیان ژن‌های منتخب

به‌طور کلی، مقاومت با سطوح پایین‌تر بیان ژن منفی و سطوح بالاتر بیان ژن‌های مثبت همراه است. همان‌طور که در شکل ۲ مشخص است، بیان ژن LOC101209793 در NS در هر دو حالت قبل و بعد از مایه‌زنی با Foc نسبت به NR بالاتر است. همچنین پس از مایه‌زنی، بیان ژن در NS در پاسخ به بیمارگر افزایش محسوسی داشته است، در حالی که در NR هم مقدار بیان پایین‌تر و هم افزایش بیان کمتر بعد از مایه‌زنی داشته است. می‌توان ژن LOC101209793 به عنوان یک تنظیم‌کننده منفی در دفاع خیار نسبت به Foc در نظر گرفت. قبل از مایه‌زنی، ژن LOC101215771 در NS نسبت به NR بیان بیشتری دارد. پس از مایه‌زنی، بیان ژن در هر دو ایزولاین کاهش می‌یابد، اما کاهش آن در NS بیشتر است. با وجود کاهش، سطح بیان این ژن در NS هنوز بالاتر از NR باقی می‌ماند. بیان ژن LOC101214807 در NR قبل از مایه‌زنی و ۴ روز بعد از مایه‌زنی نسبتاً بالا است، اما پس از مایه‌زنی، میانه بیان ژن کمی کاهش یافته است. در NS نیز بیان ژن پایین‌تر از NR است و پس از مایه‌زنی کاهش بیشتری را نشان می‌دهد. بنابراین، کاهش بیان پس از مایه‌زنی در هر دو ایزولاین دیده می‌شود، اما این کاهش در NS بیشتر است. در NR، بیان ژن LOC101211117 پس از مایه‌زنی کمی افزایش یافته است. در NS نیز بیان پس از مایه‌زنی افزایش بیشتری نسبت به NR دارد. با این وجود، بیان ژن در رقم مقاوم در هر دو زمان قبل و بعد از مایه‌زنی، بالاتر از رقم حساس باقی می‌ماند.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-13]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1404.18.3.2.1]



شکل ۲. مقایسه بیان ژن‌های انتخابی بدست آمده از رگرسیون لاسو بین ایزولاین‌های مقاوم (NR) و حساس (NS) خیار قبل و بعد از مایه‌زنی با *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*.

.

نتیجه‌گیری آزمون LOOCV

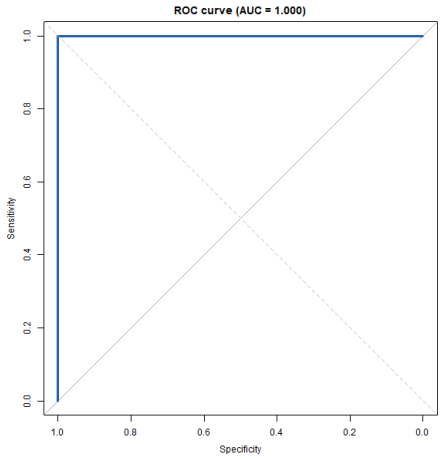
مدل چهار ژن بر پایه رویکرد اعتبارسنجی متقاطع حذف یک نمونه (LOOCV) مورد ارزیابی قرار گرفت. منحنی ROC حاصل (شکل ۳) نشان‌دهنده توانایی مدل در تفکیک نمونه‌های مقاوم و حساس است، که بر اساس این نمودار، مقدار AUC برابر با ۱ بدست آمده است. این مقدار حاکی از بهترین حالت تفکیک و کارایی مدل است، به گونه‌ای که مدل می‌تواند با دقت کامل نمونه‌های مقاوم و حساس را تمایز دهد. حساسیت (توانایی تشخیص صحیح موارد مثبت) و ویژگی (توانایی تشخیص صحیح موارد منفی) هر دو در حد مطلوب هستند که حاکی از عدم وجود خطای طبقه‌بندی (False Positive یا False Negative) است. جداول نتایج پیش‌بینی و ماتریس درهم‌ریختگی در فایل تکمیلی قرار دارند و نشان می‌دهند که عملکرد مدل در سراسر نمونه‌ها بسیار عالی بوده است.

نتایج بلاست

نتایج بلاست نوکلئوتیدی برای ژن LOC101214807 در خیار با (شماره دسترسی XM-004142793.3) که به عنوان پروتئین غشایی ناشناخته (At3g27390) معرفی شده است، نشان داد که این ژن همولوگ‌هایی در سایر گونه‌ها دارد که عموماً به عنوان پروتیئن غشایی ناشناخته طبقه‌بندی شده‌اند (جدول ۲). همچنین نتایج بلاست نوکلئوتیدی برای ژن LOC101209793 در خیار (با شماره دسترسی XM-004147681.3) نشان داد که این ژن با ژن LOC127150160 در *Cucumis melo* (واریانت X1، X2 و X3) همولوژی دارد ولی عملکرد ژن در هر دو گونه ناشناخته است.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-13]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1404.18.3.2.1]



شکل ۳. منحنی ROC حاصل از اعتبارسنجی متقاطع حذف یک نمونه (LOOCV) برای مدل چهار ژنی استخراج‌شده از رگرسیون لاسو

نتایج بلاست پروتئینی ژن LOC101214807 در خیار (با شماره دسترسی XP-004142841.1)، نشان می‌دهد که این پروتئین عمدتاً با پروتئین‌های غشایی ناشناخته (At3g27390-like) در گیاهان مختلف همولوژی دارد. همچنین همولوژی‌های دیگری نیز شناسایی شده است که برخی از آن‌ها عملکردهای متفاوتی دارند (جدول ۳). نتایج آنالیز بلاست پروتئین برای ژن LOC101209793 در خیار (با شماره دسترسی XP-004147729.1) هیچ همسانی معناداری با توالی‌های پروتئینی شناخته‌شده در پایگاه‌های داده نشان نداد، که احتمالاً نشان‌دهنده ناشناخته بودن این پروتئین یا عدم وجود توالی‌های مشابه در بانک‌های اطلاعاتی موجود است.

جدول ۲. نتایج بلاست نوکلئوتیدی ژن LOC101214807

No.	Gene	Match %	Access number	Species
1	LOC103498132	94.77	XM_008460630.3	*Cucumis melo*
2	LOC111457134	83.987	XM_023099294.1	*Cucurbita moschata*
3	LOC111487843	83.929	XM_023135393.1	*Cucurbita maxima*
4	LOC111781736	84.971	XM_023662429.1	*Cucurbita pepo*
5	LOC120079109	91.87	XM_039033293.1	*Benincasa hispida*
6	LOC111006013	85.837	XM_022277747.1	*Momordica charantia*
7	LOC105961025	70.994	XM_012985255.1	*Erythranthe guttatus*
8	LOC104896813	89.09	XM_010683606.4	*Beta vulgaris subsp. vulgaris*

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-13]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1404.18.3.2.1]

جدول ۳. نتایج بلاست پروتئینی ژن *LOC101214807*

No.	Access number	Function	Match %	Species
1	KAJ7974712.1		58.844	*Quillaja saponaria*
2	KAJ7970722.1	Steroid nuclear receptor, ligand-binding	59/844	*Quillaja saponaria*
3	KAJ4729360.1		58.844	*Melia azedarach*
4	KAF3618979.1	succinate dehydrogenase [ubiquinone]	56.311	*Capsicum annuum*
5	KAG6588925.1	Protein Low Photosynthetic Efficiency 1, chloroplastic	55.946	*Cucurbita argyrosperma*
6	KAE8694388.1	succinate dehydrogenase	55.952	*Hibiscus syriacus*

بحث

پژمردگی آوندی فوزاریومی یک بیماری شایع خاکزاد، مانعی جدی در کشت مداوم خیار محسوب می‌شود. تاکنون روش کارآمدی برای مهار این بیماری یافت نشده و تنها راهکار موجود، توسعه ارقام مقاوم از طریق اصلاح نباتات است. در این راستا، شناسایی ژن‌های دخیل در مقاومت یا حساسیت گیاهان به عوامل بیماری‌زا با بهره‌گیری از روش‌های تحقیقاتی متنوع، در کانون مطالعات علمی قرار دارد (Dong *et al*., 2020). مقاومت گیاهان در برابر بیماری‌ها حاصل تعادل پویا بین تنظیم‌کننده‌های مثبت (مانند ژن‌های مقاومت) که با تقویت مسیرهای سیگنال‌دهی، پاسخ‌های دفاعی را فعال می‌کنند، و تنظیم‌کننده‌های منفی که با تعدیل این پاسخ‌ها از فعال‌سازی بی‌رویه و آسیب به خود گیاه جلوگیری می‌کنند. این تعادل دقیق، که توسط مدل زیگزاگ توصیف می‌شود، برای تلفیق مؤثر دفاع با رشد و نمو گیاه ضروری است. درک این شبکه تنظیمی کلید توسعه راهکارهای بهبود مقاومت گیاهان است (Jones and Dangl, 2006; Spoel and Dong, 2012).

مطالعات انجا شده تاکنون نشان می‌دهد که دفاع خیار در برابر Foc، عامل پژمردگی فوزاریومی، شامل شامل شبکه‌ای از ژن‌های مرتبط با دفاع است. از جمله این ژن‌های می‌توان به کیتینازهایی مانند *Chi2* و *Chi14* اشاره کرد که توسط Foc القا می‌شوند و می‌توانند مستقیماً رشد قارچ را مهار کنند (Xu *et al*., 2021c). خاموش کردن *Chi2* در خیار، فعال‌سازی ژن در مسیر اسید جاسمونیک را مختل می‌کند، که نشان می‌دهد *Chi2* در پاسخ‌های دفاعی با واسطه اسید جاسمونیک نقش دارد (Dong *et al*., 2020). در گیاهان خیار با بیان بیش از حد *CYP82D47*، ژنی که در دفاع در برابر بیمارگر نقش دارد، ژن‌های مرتبط با پیام‌رسانی اتیلن، مانند *EIN3* و *EBF2*، و ژن‌های مرتبط با پیام‌رسانی سالسیلیک اسید، مانند *PR1*، *PR2*، *PR4* و *PR5* افزایش بیان داشتند (Wang *et al*., 2024). علاوه بر این، میکروآران‌ای‌های خاصی مانند *miR6300* و *miR319a* در تنظیم پاسخ‌های دفاعی در این پاتوسیستم نقش دارند (Xu *et al*., 2021b). همچنین ژن‌های دیگری نیز به عنوان عوامل بالقوه در دفاع خیار در برابر Foc شناسایی شده‌اند. به عنوان مثال، *Csa2G007990* (کدکننده کالمودولین)، *Csa2G009430* (کدکننده یک پروتئین غشایی)، *Csa2G009440* (کدکننده یک پروتئین غنی از سرین)، *Csa2G008780* و *Csa2G009330* به عنوان ژن‌های کاندید بالقوه پیشنهاد شده‌اند (He *et al*., 2022).

مشخص شده است که برخی از ژن‌ها، مانند *TMEM115* (کدکننده یک پروتئین غشایی)، *TET8* (مربوط به عملکرد تتراسپانین)، *TPS10* (کدکننده آنزیم ترپن سنتاز) و *MGT2* (کدکننده گلیکوزیل ترانسفراز)، پس از آلودگی Foc در ارقام حساس خیار به طور قابل توجهی افزایش بیان پیدا می‌کنند و ممکن است به عنوان تنظیم‌کننده‌های منفی مقاومت به FW عمل کنند (Xu *et al*., 2021a). ژن‌های حساسیت (S) برای آلودگی و نفوذ موفقیت‌آمیز بیمارگر مورد نیاز هستند و پاسخ‌های ایمنی گیاه میزبان را به طور منفی تنظیم می‌کنند و بنابراین نقش‌های اساسی در

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-13]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1404.18.3.2.1]

همکنش‌های گیاه و بیمارگر ایفا می‌کنند. بنابراین، یک راهبرد مقرون به صرفه و سازگار با محیط زیست برای محدود کردن بیماری‌ها، ژن‌های حساسیت را مختل می‌کند تا ارقام مقاوم به بیماری به طور پایدار به دست آیند (van Schie and Takken, 2014).

در این مطالعه، برای اولین بار از رگرسیون لاسو به‌عنوان یک روش تحلیلی پیشرفته برای شناسایی ژن‌های کلیدی دخیل در مقاومت یا حساسیت خیار به قارچ Foc استفاده شد. این روش با بهره‌گیری از الگوریتم‌های تنظیم‌شده، توانست ۴ ژن مؤثر را با دقت بالا انتخاب کند و زمینه را برای درک بهتر مکانیسم‌های مولکولی مرتبط با پاسخ گیاه به این بیماری فراهم آورد. به‌کارگیری رگرسیون لاسو در این پژوهش، گامی نوین در مطالعات ژنتیکی خیار محسوب می‌شود و می‌تواند به توسعه راهکارهای مؤثر در مدیریت بیماری‌های قارچی کمک کند. هر ۴ ژن در این مطالعه برای اولین بار در دنیا گزارش می‌شوند.

الگوهای مختلفی از تنظیم بیان چهار ژن کاندید در ایزولاین مقاوم و حساس قبل و بعد از مایه‌زنی با بیمارگر، مشاهده شد که نقش متفاوتی در مقاومت یا حساسیت گیاه به بیماری دارند. ژن‌های LOC101214807 و LOC101211117 به عنوان ژن‌های احتمالی مرتبط با دفاع شناسایی شدند، زیرا بیان این دو ژن در رقم مقاوم همواره بالاتر از رقم حساس باقی مانده و پس از مایه‌زنی افزایش یا حفظ بیان نسبتاً مناسبی را نشان می‌دهد. این الگو نشان‌دهنده نقش آن‌ها در تقویت پاسخ دفاعی و مقابله با بیماری است. هر چند پس از مایه‌زنی برخی کاهش یا افزایش‌های جزیی در بیان دیده شده، اما سطح بیان بالاتر در رقم مقاوم مؤید کاربردی بودن آن‌ها در مقاومت گیاه است. از سوی دیگر، ژن‌های LOC101209793 و LOC101215771 با مشاهده بیان بالاتر در رقم حساس، به ویژه افزایش بیان قابل توجه LOC101209793 پس از مایه‌زنی در رقم حساس، به عنوان ژن‌های حساسیت یا تنظیم کننده منفی مطرح می‌شوند. این ژن‌ها ممکن است به عنوان نقاط ضعف در سیستم ایمنی گیاه عمل کنند که با فعال‌شدن یا افزایش بیان، شرایط را برای پیشرفت بیماری و آسیب‌پذیری بیشتر گیاه فراهم می‌کنند. به عبارت دیگر، این ژن‌ها نقش بازدارنده یا کاهنده پاسخ دفاعی گیاه را داشته و می‌توانند تسهیل‌کننده وقوع بیماری باشند.

براساس یافته‌های این مطالعه، ژن LOC101211117 (از خانواده لیگازهای پروتئین یوبیکوئیتین E3) به عنوان یک تنظیم‌کننده مثبت در مقاومت خیار به قارچ Foc شناسایی شد. لیگازهای E3-یوبیکوئیتین از عوامل کلیدی تنظیمی هستند که با هدف‌گیری پروتئین‌های خاص برای تجزیه در مسیر پروتئولیز یوبیکوئیتین-پروتئازوم، نقش حیاتی در پاسخ به تنش‌های زیستی و غیرزیستی در گیاهان ایفا می‌کنند (Su *et al*., 2024). این آنزیم‌ها در مراحل مختلف دفاع گیاهی، از تشخیص عوامل بیماری‌زا تا فعال‌سازی پاسخ‌های ایمنی پایین‌دست، به عنوان مولکول‌های سیگنال‌دهنده عمل می‌کنند (Duplan and Rivas, 2014). ژن *StPUB17* در سیب‌زمینی با القای ایمنی علیه طیف وسیعی از عوامل بیماری‌زای باکتریایی، قارچی و اُمیستی (مانند *Phytophthora infestans*)، مقاومت ایجاد می‌کند. مطالعات نشان داده‌اند که خاموش‌سازی این ژن منجر به افزایش تکثیر پاتوژن و مهار مرگ برنامه‌ریزی‌شده سلولی می‌شود (McLellan *et al*., 2020). ژن *XBOS32* در گوجه‌فرنگی نه‌تنها در پاسخ به *Fusarium oxysporum*، بلکه در مسیر سیگنالینگ اتیلن نیز نقش دارد (Rodrigues and Deusdado, 2022). در برنج، این ژن به عنوان کاندیدای مقاومت در برابر جدایه‌های M101 و M64 قارچ *Magnaporthe oryzae* (عامل بیماری بلاست) معرفی شده است (Saxena *et al*., 2025).

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-13]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1404.18.3.2.1]

در آرابیدوپسیس، ATL9 (یک لیگاز E3 القاپذیر توسط کیتین) در مقاومت پایه‌ای به قارچ *Golovinomyces cichoracearum* نقش دارد (Deng *et al*., 2017). نشان داده شده که در سیب پروتئین MdPUB29 با تعدیل مسیر اسید سالیسیلیک، باعث مقاومت به *Botryosphaeria dothidea* می‌شود (Han *et al*., 2019). پروتئین‌های AtRDUF1 و AtRDUF2 (از لیگازهای E3 نوع RING) در آرابیدوپسیس، پاسخ‌های ایمنی ناشی از PAMP و سیگنالینگ دفاعی وابسته به اسید سالیسیلیک را تقویت می‌کنند (Yi *et al*., 2022). لیگازهای E3-یوبیکوئیتین با تنوع عملکردی بالا، به عنوان مولکول‌های کلیدی در شبکه‌های پیچیده دفاع گیاهی عمل می‌کنند. شناسایی ژن LOC101211117 در خیار، گامی مؤثر در درک مکانیسم‌های مقاومت به بیماری پژمردگی فوزاریومی و توسعه راهکارهای زیست‌فناورانه برای بهبود مقاومت ارقام است.

این مطالعه به‌طور قابل‌توجهی نقش حیاتی ژن LOC101215771 (لوسین آمینوپپتیداز ۱) را در تنظیم پاسخ دفاعی خیار در برابر قارچ Focشناسایی کرده است. یافته‌ها نشان می‌دهد که این ژن به عنوان یک تنظیم‌کننده منفی عمل می‌کند و افزایش بیان آن منجر به حساسیت بیشتر گیاه به بیمارگر می‌شود. آمینوپپتیدازهای لوسین (LAPs) نقش حیاتی در مکانیسم‌های دفاعی گیاهان ایفا می‌کنند و دارای عملکرد دوگانه به عنوان آنزیم‌های پپتیداز و همچنین چاپرون‌های مولکولی هستند (Scranton *et al*., 2012). لوسین آمینوپپتیدازها به طور خاص مسیر پیام رسانی زخم را در پاسخ به حشرات و حمله بیمارگر تعدیل کنند (Scranton *et al*., 2013). مطالعات نشان داده‌اند که در گیاه گوجه فرنگی، لوسین آمینوپپتیداز به عنوان یک تنظیم‌کننده کلیدی در بیان ژن‌های پس از آسیب زخم عمل می‌کند. این آنزیم همزمان می‌تواند به عنوان تنظیم‌کننده مثبت ژن‌های انتهایی مسیر پیام‌رسانی زخم (مانند PinI، PinII و PPO) و نیز تنظیم‌کننده منفی ژن‌های *Dhns* (شامل *TAS14* و *Dhn3*) که در همان بازه زمانی بیان می‌شوند، عمل نماید (Scranton *et al*., 2013). تصور می‌شود که این تنظیم یا شامل تأثیر بر درک هورمون‌های دفاعی مانند اسید جاسمونیک یا تأثیر مستقیم بر مسیرهای پیام رسانی است که منجر به تولید پروتئین‌های مرتبط با دفاع می‌شوند (Fowler *et al*., 2009). کاهش سطح بیان ژن LOC101215771 از طریق روش‌های ویرایش ژن مانند CRISPR/Cas9 یا RNAi می‌تواند منجر به مهار این ژن و افزایش مقاومت گیاه شود. با توجه به نقش احتمالی LAPs در تنظیم هورمون جاسمونیک، دستورزی مصنوعی این مسیر ممکن است پاسخ دفاعی گیاه را بهبود بخشد. این ژن پتانسیل آن را دارد که به عنوان یک نشانگر مولکولی در برنامه‌های اصلاح نژاد خیار برای تولید ارقام مقاوم به پژمردگی فوزاریومی مورد استفاده قرار گیرد. با این حال، پیش از بهره‌برداری عملی، لازم است پرسش‌های کلیدی مانند تأثیر مستقیم ژن LOC101215771 بر پروتئین‌های مسیر جاسمونیک، اثر تغییر بیان آن بر سایر بیمارگرهای خاکزاد و همچنین بررسی سطح بیان این ژن در گونه‌های مقاوم خیار به‌طور طبیعی، در پژوهش‌های آینده مورد بررسی قرار گیرند.

ژن LOC101214807 یک پروتئین غشایی با عملکرد ناشناخته در خیار است و در مطالعه به عنوان یک تنظیم کننده مثبت در مقاومت گیاه نسبت به بیمارگر معرفی شده است. نتایج بلاست نوکلئوتیدی و پروتئینی نشان می‌دهد که این پروتئین عمدتاً با پروتئین‌های غشایی ناشناخته (At3g27390-like) در گیاهان مختلف همولوژی دارد. همچنین همولوژی‌های دیگری نیز شناسایی شده است که ممکن است در مسیرهای متابولیکی

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-13]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1404.18.3.2.1]

مختلف مانند متابولیسم استروئیدی یا تنفس میتوکندریایی نیز نقش داشته باشد.

پروتئین‌های غشایی نقش کلیدی در سیستم دفاعی گیاهان ایفا می‌کنند. این مولکول‌ها با عملکردی چندوجهی، هم به عنوان حسگرهای تشخیص عوامل بیماری‌زا (PAMPs) عمل می‌کنند و هم در انتقال پیام‌های دفاعی نقش دارند. آنها با شناسایی مولکول‌های بیگانه، زنجیره‌ای از واکنش‌های دفاعی را فعال می‌سازند که شامل تولید ترکیبات ضدمیکروبی، تقویت دیواره سلولی و القای مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی در محل آلودگی می‌شود. این مکانیسم‌های پیچیده، گیاهان را قادر می‌سازد تا به سرعت به تهاجم عوامل بیماری‌زا پاسخ دهند و از گسترش آلودگی جلوگیری کنند (Zhou *et al*., 2022). علاوه بر این، برخی از پروتئین‌های غشایی در هماهنگی بین مسیرهای مختلف دفاعی نقش دارند. به عنوان مثال، آنها می‌توانند با هورمون‌های دفاعی مانند اسید جاسمونیک و سالیسیلیک تعامل داشته باشند و پاسخ‌های ایمنی را تنظیم کنند. این پروتئین‌ها همچنین ممکن است در حفظ هموستاز سلولی و تعادل انرژی در طول پاسخ دفاعی مشارکت داشته باشند، که برای تداوم مقاومت گیاه ضروری است. مطالعات اخیر نشان داده‌اند که اختلال در عملکرد این پروتئین‌ها می‌تواند منجر به افزایش حساسیت گیاه به بیماری‌ها شود، که اهمیت آنها را در سیستم ایمنی گیاه برجسته می‌سازد (Boutrot and Zipfel, 2017). ژن LOC101214807 همچنین با ژن‌های چندین گونه گیاهی از لحاظ عملکرد به عنوان گیرنده هسته‌ای استروئیدی و سوکسینات دهیدروژناز همولوژی دارد. مشخص شد است که سوکسینات دهیدروژناز (SDH) در مسیر سیگنال رسانی تنش القایی گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) دخیل است و احتمالاً توسط اسید سالیسیلیک آغاز می‌شود. به عنوان مثال در پنبه مشخص شده که ژن *GhSDH1-1* به طور مثبت مقاومت پنبه را علیه قارچ *Verticillium dahlia* از طریق مسیر سالیسیلیک اسید تنظیم می کند (Zhang *et al*., 2020). برای تعیین دقیق عملکرد آن، مطالعات بیشتری مانند آنالیز بیان ژن، جهش حذفی (knockout mutagenesis) یا مطالعات تعامل پروتئینی نیاز است.

در مطالعه حاضر، ژن LOC101209793 به عنوان یک ژن کاندیدای مهم در پاسخ به بیماری پژمردگی آوندی در خیار شناسایی شد، چرا که بیان آن پس از مایه‌زنی در رقم حساس به‌طور قابل‌توجهی افزایش یافت. با توجه به عدم گزارش‌های پیشین درباره عملکرد این ژن در خیار یا سایر گیاهان، این یافته می‌تواند گامی نوین در درک مکانیسم‌های مقاومت و حساسیت گیاهی باشد. افزایش بیان این ژن در رقم حساس، همراه با نقش احتمالی آن به عنوان تنظیم‌کننده منفی یا ژن حساسیت نیازمند مطالعات بیشتر برای تعیین دقیق عملکرد مولکولی ژن، از جمله بررسی برهمکنش‌های پروتئینی، نقش آن در شبکه‌های رونویسی و تأثیر دست‌ورزی بیان آن بر فنوتیپ مقاومت/حساسیت است. چنین تحقیقاتی می‌تواند به توسعه راهبردهای جدید برای بهبود مقاومت بیماری در خیار منجر شود.

به طور کلی تعادل میان ژن‌های مرتبط با دفاع به عنوان تنظیم کننده مثبت و ژن‌های حساسیت یا تنظیم کننده‌های منفی در کنترل موفقیت آمیز دفاع گیاه علیه بیمارگر حیاتی است. ارقام مقاوم با حفظ یا افزایش بیان ژن‌های مرتبط با دفاع و پایین نگه داشتن یا محدود کردن بیان ژن‌های حساسیت، می‌توانند پاسخ دفاع کارآمدتری ایجاد کنند که منجر به مقاومت بیش‌تر نسبت به بیماری شود.

در این میان ایمنی زیستی در به کارگیری یافته‌های حاصل از مطالعاتی که از رگرسیون لاسو

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-13]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1404.18.3.2.1]

برای شناسایی ژن‌های کاندید مقاومت در خیار استفاده می‌کنند، نقشی محوری ایفا می‌کند. هدف اصلی، اطمینان از این است که دست‌ورزی این ژن‌ها از طریق روش‌های پیشرفته‌ای مانند CRISPR-Cas9 برای ایجاد ارقام مقاوم به پژمردگی آوندی خیار، بدون ایجاد خطرات غیرمنتظره برای محیط‌زیست یا سلامت انسان باشد. این ارزیابی‌ها شامل بررسی مواردی از قبیل احتمال انتقال افقی ژن‌ها به ارقام وحشی یا میکروارگانیسم‌های خاک، اثرات غیرمستقیم بر روی شبکه‌های اکولوژیک (مانند حشرات مفید یا جمعیت‌های میکروبی ریزوسفر)، و همچنین پایداری و دوام مقاومت در بلندمدت برای جلوگیری از شکست سریع مقاومت در برابر بیمارگر است. برای نمونه، حتی اگر یک ژن تنظیم‌کننده مثبت (مانند LOC101214807) مقاومت را تقویت کند، باید اطمینان حاصل شود که تغییر بیان آن، متابولیسم ثانویه گیاه را به گونه‌ای تغییر نمی‌دهد که منجر به تولید ترکیبات سمی ناخواسته یا افزایش حساسیت به تنش‌های دیگر شود. بنابراین، یکپارچه‌سازی ملاحظات ایمنی زیستی از همان مراحل اولیه تحقیق و توسعه، مطابق با چارچوب‌هایی مانند پروتکل کارتاهنا، برای بهره‌برداری ایمن و پایدار از این دستاوردهای مولکولی در برنامه‌های به‌نژادی ضروری است.

دستیابی به ارقام متحمل و یا مقاوم خیار در برابر قارچ بیمارگر خاکزاد Foc، راهبردی بنیادین در تحکیم زیرساخت‌های امنیت غذایی محسوب می‌شود. مهار بیماری پژمردگی فوزاریومی خیار که باعث کاهش تا ۹۰ درصد عملکرد محصول می‌شود، منجر به افزایش بهره‌وری، پایداری در زنجیره تامین و در دسترس بودن برای مصرف کننده می‌گردد. در این راستا کاهش وابستگی به آفت‌کش‌های شیمیایی، علاوه بر کاهش هزینه تولید، منجر به تولید محصولی سالم‌تر خواهد شد. در مقیاس کلان توسعه ارقام مقاوم، مسیر را برای تامین نیازهای غذایی جمعیت هموار کرده و وابستگی به واردات را به حداقل می‌رساند. بر این اساس مقاومت ژنتیکی، کارآمدترین و پایدارترین راهبرد برای تضمین عرضه کافی مواد غذایی در حال و آینده است.

نتیجه گیری و پیشنهادها

رگرسیون لاسو ابزاری قدرتمند برای استخراج ژن‌های کلیدی مرتبط با پاسخ گیاه به بیمارگرهاست و در ترکیب با روش‌های بیوانفورماتیکی می‌تواند به شناسایی نشانگرهای مولکولی و مکانیسم‌های مقاومت کمک کند. در مطالعات ترنسکریپتومیکس یا ژنومیکس، تعداد ژن‌ها بسیار زیاد است و لاسو با انتخاب زیرمجموعه‌ای از ژن‌ها، مدل را ساده‌تر و تفسیرپذیرتر می‌کند. در این مطالعه، با تحلیل داده‌های RNA-Seq (PRJNA916850)، دو ژن تنظیم‌کننده منفی (LOC101209793 و LOC101215771) در خیار شناسایی شدند که با افزایش بیان، پاسخ دفاعی به پژمردگی فوزاریومی (Foc) را سرکوب می‌کنند. در مقابل، دو ژن تنظیم‌کننده مثبت (LOC101211117 و LOC101214807) نقش تقویت مقاومت را داشتند. اگرچه ژن *LOC101214807* در وهله‌ی اول به عنوان یک پروتئین غشایی ناشناخته طبقه‌بندی شده، اما همولوگ‌های آن با گیرنده‌های استروئیدی و آنزیم‌های متابولیکی (مانند سوکسینات دهیدروژناز) نشان می‌دهد عملکرد دقیق آن نیازمند پژوهش‌های تکمیلی است. یافته‌های حاضر با معرفی نشانگرهای مولکولی نوین، راه را برای به‌نژادی گیاهان از طریق روش‌های پیشرفته‌ای مانند انتخاب به کمک نشانگر (marker-assisted selection) یا دست‌ورزی بیان ژن‌ها (از طریق CRISPR یا RNAi) هموار می‌سازند. بااین‌حال، تأیید نهایی

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-13]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1404.18.3.2.1]

عملکرد ژن‌های کشف‌شده مستلزم انجام آزمایش‌های گسترده، از آزمایشگاه (با تکنیک‌های ویرایش ژن برای اثبات نقش آن‌ها در مقاومت گیاه) تا مزرعه (برای سنجش کارایی نشانگرهای ژنتیکی در شرایط واقعی) است. چنین دستاوردهایی با ملاحظات کامل ایمنی زیستی نه‌تنها مقاومت به بیماری‌ها را تقویت می‌کنند، بلکه با کاهش مصرف سموم شیمیایی، گامی بلند در راستای کشاورزی پایدار و حفظ محیط‌زیست برمی‌دارند.

منابع

Anders S, Huber W. (2010) Differential expression analysis for sequence count data. ***Genome Biology***. *15*: 1-1. https://doi.org/10.1186/gb-2010-11-10-r106.

Boutrot F, Zipfel C. (2017) Function, discovery, and exploitation of plant pattern recognition receptors for broad-spectrum disease resistance. ***Annual Review of Phytopathology***. *55*(1): 257-286. https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080614-120106.

Dalla Lana F, Madden LV, Paul PA. (2021) Logistic models derived via LASSO methods for quantifying the risk of natural contamination of maize grain with deoxynivalenol. ***Phytopathology***. *111*(12): 2250-2267. https://doi.org/10.1094/PHYTO-03-21-0104-R.

Deng F, Guo T, Lefebvre M, Scaglione S, Antico CJ, Jing T, Yang X. (2017) Expression and regulation of ATL9, an E3 ubiquitin ligase involved in plant defense. ***PLoS One***. *12*(11): e0188458. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0188458.

Dong J, Wang Y, Xian Q, Chen X, Xu J. (2020) Transcriptome analysis reveals ethylene-mediated defense responses to *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum* infection in *Cucumis sativus* L. ***BMC Plant Biology***. *20*(1): 334. https://doi.org/10.1186/s12870-020-02537-7.

Duplan V, Rivas S. (2014) E3 ubiquitin-ligases and their target proteins during the regulation of plant innate immunity. ***Frontiers in Plant Science***. *5*: 42. https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00042.

Fowler JH, Narváez-Vásquez J, Aromdee DN, Pautot V, Holzer FM, Walling LL. (2009) Leucine aminopeptidase regulates defense and wound signaling in tomato downstream of jasmonic acid. ***The Plant Cell***. *21*(4): 1239-1251. https://doi.org/10.1105/tpc.108.065029.

Han PL, Dong YH, Gu KD, Yu JQ, Hu DG, Hao YJ. (2019) The apple U-box E3 ubiquitin ligase MdPUB29 contributes to activate plant immune response to the fungal pathogen *Botryosphaeria dothidea*. ***Planta***. *249*(4): 1177-1188. https://doi.org/10.1007/s00425-018-03069-z.

He Y, Wei M, Yan Y, Yu C, Cheng S, Sun Y, Zhu X, Wei L, Wang H, Miao L. (2022) Research advances in genetic mechanisms of major cucumber diseases resistance. ***Frontiers in Plant Science***. *13*: 862486. https://doi.org/10.3389/fpls.2022.862486.

Jones JD, Dangl JL. (2006) The plant immune system. ***Nature***. *444*(7117): 323–329. https://doi.org/10.1038/nature05286.

Khademi M, Abedfar A. (2024) Strategies to reduce the impact of *Fusarium* fungus on wheat grains. ***Journal of Biosafety***. *17*(2): 111-132. https://dorl.net/dor/20.1001.1.27170632.1403.17.2.5.5. [In Persian]

Kim D, Langmead B, Salzberg SL. (2015) HISAT: a fast spliced aligner with low memory requirements. ***Nature Methods***. *12*(4): 357-360. https://doi.org/10.1038/nmeth.3317.

Liao Y, Smyth GK, Shi W. (2014) FeatureCounts: An efficient general-purpose program for assigning sequence reads to genomic features. ***Bioinformatics***. *30*(7): 923-930. https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btt656.

Li R, Shen Z, Sun L, Zhang R, Fu L, Deng X, Shen Q. (2016) Novel soil fumigation method for suppressing cucumber Fusarium wilt disease associated with soil microflora alterations. ***Applied Soil Ecology***. *101*: 28-36. https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2016.01.004.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-13]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1404.18.3.2.1]

Love MI, Huber W, Anders S. (2014) Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. ***Genome Biology***. *15*(12): 550. https://doi.org/10.1186/s13059-014-0550-8.

McLellan H, Chen K, He Q, Wu X, Boevink PC, Tian Z, Birch PR. (2020) The ubiquitin E3 ligase PUB17 positively regulates immunity by targeting a negative regulator, KH17, for degradation. ***Plant Communications***. *1*(4): 100020. https://doi.org/10.1016/j.xplc.2020.100020.

Nazari L, Ghotbi V, Nadimi M, Paliwal J. (2023) A novel machine-learning approach to predict stress-responsive genes in *Arabidopsis*. ***Algorithms***. *16*(9): 407. https://doi.org/10.3390/a16090407.

Patel R, Caraviello D, Qian W. (2012) Improving LASSO performance for Grey Leaf Spot disease resistance prediction based on genotypic data by considering all possible two-way SNP interactions. ***Integrative Biology***. *4*(5): 564-567. https://doi.org/10.1039/c2ib00004k.

Robin X, Turck N, Hainard A, Tiberti N, Lisacek F, Sanchez JC, Müller M. (2011) pROC: An open-source package for R and S^{+} to analyze and compare ROC curves. ***BMC Bioinformatics***. *12*(1): 77. https://doi.org/10.1186/1471-2105-12-77.

Rodrigues V, Deusdado S. (2022) *Solanum lycopersicum-Fusarium oxysporum* Fo47 interaction study using ML classifiers in transcriptomic data. *In*: Pereira AI, Košir A, Fernandes FP, Pacheco MF, Teixeira JP, Lopes RP. (eds.) Optimization, learning algorithms and applications. Springer, Switzerland. https://doi.org/10.1007/978-3-031-23236-7_28.

Saxena H, Murugaiyan V, Ghimire B, Robiso CJ, De Asis EJ, Yanoria MJ, Raymer PL, Bahri BA, Ali J. (2025) Unravelling candidate genes associated with blast disease resistance in an elite green super rice varietal panel using genome-wide association study. ***Plant Pathology***. *74*(4): 968-984. https://doi.org/10.1111/ppa.14062.

Scranton MA, Yee A, Park SY, Walling LL. (2012) Plant leucine aminopeptidases moonlight as molecular chaperones to alleviate stress-induced damage. ***Journal of Biological Chemistry***. *287*(22): 18408-18417. https://doi.org/10.1074/jbc.M111.309500.

Scranton MA, Fowler JH, Girke T, Walling LL. (2013) Microarray analysis of tomato's early and late wound response reveals new regulatory targets for leucine aminopeptidase A. ***PloS One***. *8*(10): e77889. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0077889.

Sharma D, Shukla A. (2021) Fusarium wilt of cucumber-a review. ***International Journal of Economic Plants***. *8*(4): 193-200. https://doi.org/10.23910/2/2021.0423.

Spoel SH, Dong X. (2012) How do plants achieve immunity? Defence without specialized immune cells. ***Nature Reviews Immunology***. *12*(2): 89–100. https://doi.org/10.1038/nri3141.

Su Y, Ngea GLN, Wang K, Lu Y, Godana EA, Ackah M, Yang Q, Zhang H. (2024) Deciphering the mechanism of E3 ubiquitin ligases in plant responses to abiotic and biotic stresses and perspectives on PROTACs for crop resistance. ***Plant Biotechnology Journal***. *22*(10): 2811-2843. https://doi.org/10.1111/pbi.14407.

van Schie CC, Takken FL. (2014) Susceptibility genes 101: How to be a good host. ***Annual Review of Phytopathology***. *52*(1): 551-581. https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-102313-045854.

Wang HY, Li PF, Wang Y, Chi CY, Jin XX, Ding GH. (2024) Overexpression of cucumber CYP82D47 enhances resistance to powdery mildew and *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*. ***Functional & Integrative Genomics***. *24*(1): 14. https://doi.org/10.1007/s10142-024-01287-1.

Xu J, Wang K, Xian Q, Zhang N, Dong J, Chen X. (2021a) Identification of susceptibility genes for *Fusarium oxysporum* in cucumber via comparative proteomic analysis. ***Genes***. *12*(11): 1781. https://doi.org/10.3390/genes12111781.

Xu J, Xian Q, Zhang N, Wang K, Zhou X, Li Y, Dong J, Chen X. (2021b) Identification of miRNA-target gene pairs responsive to *Fusarium* wilt of cucumber via an integrated analysis of mirna and transcriptome profiles. ***Biomolecules***. *11*(11): 1620. https://doi.org/10.3390/biom11111620.

Xu J, Zhang N, Wang K, Xian Q, Dong J, Qi X, Chen X. (2021c) Chitinase Chi 2 positively regulates cucumber resistance against *Fusarium oxysporum* f. sp. cucumerinum. ***Genes***. *13*(1): 62.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-13]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1404.18.3.2.1]

https://doi.org/10.3390/genes13010062.

Yang K, Zhou G, Chen C, Liu X, Wei L, Zhu F, Liang Z, Chen H. (2024) Joint metabolomic and transcriptomic analysis identify unique phenolic acid and flavonoid compounds associated with resistance to fusarium wilt in cucumber (*Cucumis sativus* L.). ***Frontiers in Plant Science***. *15*: 1447860. https://doi.org/10.3389/fpls.2024.1447860.

Yi SY, Lee M, Kwon SY, Kim WT, Lim YP, Kang SY. (2022) RING-type E3 ubiquitin ligases AtRDUF1 and AtRDUF2 positively regulate the expression of *PR1* gene and pattern-triggered immunity. ***International Journal of Molecular Sciences***. *23*(23): 14525. https://doi.org/10.3390/ijms232314525.

Yuan Y, Ma X, Li C, Zhong X, Li Y, Zhao J, Zhang X, Zhou Z. (2025) Integration of transcriptome and metabolome reveals key regulatory defense pathways associated with high temperature stress in cucumber (*Cucumis sativus* L.). ***BMC Plant Biology***. *25*(1): 6. https://doi.org/10.1186/s12870-024-05876-x.

Zhang X, Feng Z, Zhao L, Liu S, Wei F, Shi Y, Feng H, Zhu H. (2020) Succinate dehydrogenase SDH1–1 positively regulates cotton resistance to *Verticillium dahliae* through a salicylic acid pathway. ***Journal of Cotton Research***. *3*(1): 12. https://doi.org/10.1186/s42397-020-00052-6.

Zhang H, Zhang HH. (2023) Classification of soybean diseases by logistic regression with LASSO using phenotypic and environmental features. ***Journal of High School Science***. *7*(3). https://doi.org/10.64336/001c.85157.

Zhou Y, Wang B, Yuan F. (2022) The role of transmembrane proteins in plant growth, development, and stress responses. ***International Journal of Molecular Sciences***. *23*(21): 13627. https://doi.org/10.3390/ijms232113627.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-13]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1404.18.3.2.1]

Identification of Key Biomarkers Related to Cucumber Defense Responses to Fusarium Vascular Wilt Toward Food Security

Zahra Amjadi [1], Zahra Zinati [2*], Farideh Farahbakhsh[3]

1. Plant Protection Department, College of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran
2. Department of Agroecology, College of Agriculture and Natural Resources of Darab, Shiraz University, Shiraz, Iran
3. Plant Protection Research Department, Fars Agricultural and Natural Resources and Education Center, Agricultural Research, Education, and Extension Organization (AREEO), Darab, Iran

zahrazinati@shirazu.ac.ir

Abstract

Vascular wilt in cucumber, caused by the soil-borne fungus *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum* (Foc), is one of the major causes of yield loss in this crop worldwide. The disease is very difficult to control and understanding the molecular mechanisms of resistance is essential for the development of resistant cultivars. In this study, we used the Lasso Feature Selection (LASSO) algorithm on RNA-Seq data (accession number PRJNA916850) to identify key biomarkers associated with resistance or susceptibility to Foc. This method, by eliminating less important genes, provided a small and interpretable set of the most effective genes. Four key genes were identified: two negative regulators (LOC101215771 and LOC101209793) that enhance susceptibility, and two positive regulators (LOC101211117 and LOC101214807) that play a role in defense and resistance responses. The results showed that the combination of RNA sequencing and the Lasso algorithm is an effective and efficient tool for discovering biomarkers associated with plant diseases. The use of these genes in breeding programs will be a fundamental step in producing resistant varieties, reducing dependence on pesticides, ensuring sustainable yield, and ultimately enhancing food security.

Keywords: Feature selection, Plant disease, Lasso, Resistance, Machine learning

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-13]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1404.18.3.2.1]